



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I627965 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：101142920

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 11 月 16 日

(51)Int. Cl. : A61K47/10 (2006.01)

C07C403/08 (2006.01)

A61K45/08 (2006.01)

A61P1/00 (2006.01)

C12N5/071 (2010.01)

(30)優先權：2011/11/18 日本

2011-253085

(71)申請人：日東電工股份有限公司 (日本) NITTO DENKO CORPORATION (JP)

日本

(72)發明人：綾部時芳 AYABE, TOKIYOSHI (JP)；中村公則 NAKAMURA, KIMINORI (JP)；

味吞憲二郎 MINOMI, KENJIRO (JP)；田中康進 TANAKA, YASUNOBU (JP)

(74)代理人：蔡坤財；李世章

(56)參考文獻：

TW 201004646A

CN 101102795A

戴萌、李弼民，克羅恩病腸壁纖維化機制研究進展，世界華人消化雜誌，2009 年，17

(11)：1117-1121。

審查人員：張榮興

申請專利範圍項數：11 項 圖式數：4 共 55 頁

(54)名稱

腸道纖維化處置劑

AGENT FOR TREATING FIBROSIS OF THE INTESTINE

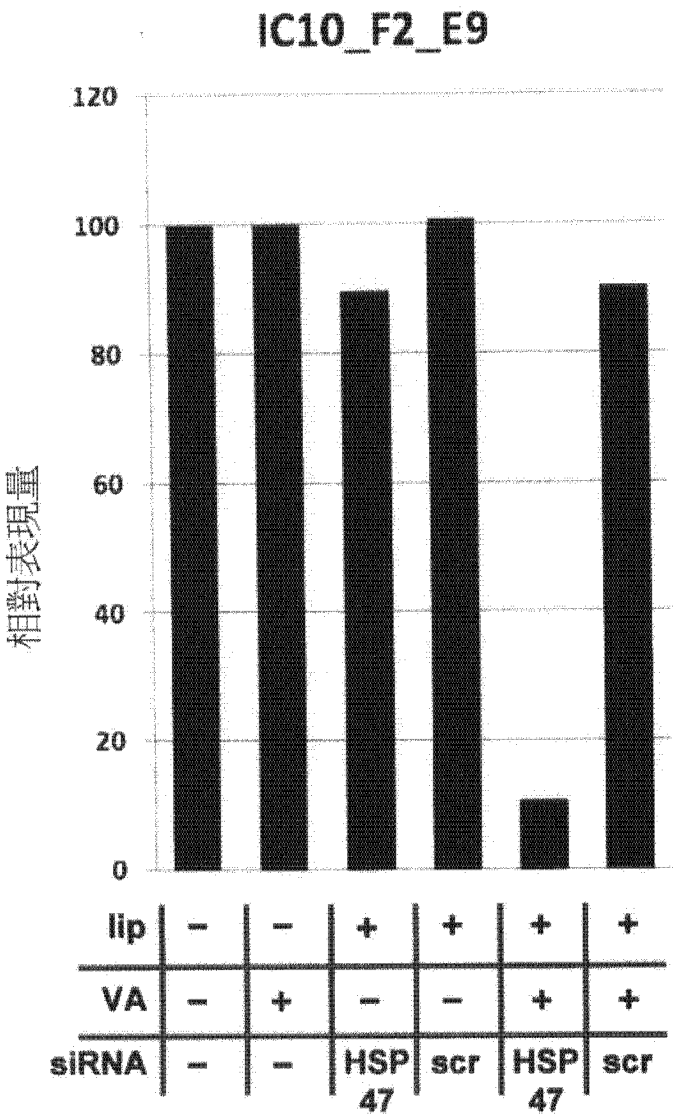
(57)摘要

本發明是關於一種物質輸送用攜帶體(carrier)以及利用該攜帶體而成之腸道纖維化處置劑，該攜帶體是用於腸道中之細胞外間質生成細胞，其中包含類視色素來作為標靶化劑。

This invention is related to a material-transporting carrier, an agent comprising the carrier for treating fibrosis of the intestine, wherein the carrier is used for extracellular matrix-synthesizing cells in the intestine, and the carrier comprises retinoid as a targeting agent.

指定代表圖：

圖4



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

腸道纖維化處置劑

AGENT FOR TREATING FIBROSIS OF THE INTESTINE

【技術領域】

【0001】

本發明是關於一種以腸道中之細胞外間質生成細胞為標的之物質輸送用攜帶體(carrier)，以及利用該攜帶體而成之腸道纖維化處置用組成物、及腸道纖維化之處置方法。又，本發明亦關於一種來自纖維化腸道的細胞外間質生成細胞株、該細胞株之製作方法、採用該細胞株而成之腸道纖維化處置藥物之篩選方法、包含該細胞株之腸道纖維化處置藥物之篩選套組。

【先前技術】

【0002】

腸道纖維化(intestinal fibrosis)是特徵在於腸壁中之疤痕組織過剩蓄積的病況，繼發於例如慢性化的炎症性腸病(IBC)等慢性腸道炎症、或因放射線照射所致之組織損傷等(非專利文獻1)。炎症性腸病中，包含了克隆氏症(Crohn's disease)及潰瘍性大腸炎等，但例如在克隆氏症中會有約25~30%的患者發生腸道纖維化。腸道纖維化若加遽，則會形成腸道狹窄(stricture)，食物難以通過，而成為損害罹患對象之生活品質(QOL)的一大原因。然而，腸

道纖維化的機制至今尚未闡明，因此，現狀是尚未確立根本的治療方法。

【0003】

以往的腸道纖維化的治療，重點放在其原因之炎症的治療上，而使用了各種抗發炎藥，例如洒拉淨(sulfasalazine)、美沙拉明(mesalamine)、奧沙拉嗪(olsalazine)、巴柳氮(balsalazide)等胺基柳酸系藥劑；培尼皮質醇(prednisolone)、亞丁皮質醇(budesonide)等皮質類固醇藥物；硫唑嘌呤、硫醇嘌呤、環孢靈素、胺甲基葉酸等免疫抑制劑；英利昔單抗(infliximab)等 TNF- α (腫瘤壞死因子)抑制劑；甚至，硝基甲嘧啶乙醇(metronidazole)、速博新(Ciproxan)等抗生素。然而，這些抗發炎藥並非直接治療纖維化的藥物，在嚴重的腸道纖維化中，必須以外科手術去除已纖維化的組織，這對於患者造成龐大的負擔。

【0004】

有鑑於此種狀況，近年來已進行了一些直接治療腸道纖維化的嘗試。結果已有報告指出，例如 TGF β 1 疫苗（非專利文獻 2）、本多非林(pentoxifylline)及其代謝物（非專利文獻 3）、磷酸二酯酶 4 抑制劑（非專利文獻 4）、HMG-CoA 還原酵素抑制劑（非專利文獻 5）、大建中湯（非專利文獻 6）、普伐他丁(pravastatin)（非專利文獻 7）、脂氧素(lipoxin)A₄ 類似物（專利文獻 1）、硫酸基轉移酶抑制劑（專利文獻 2）等藥劑，在腸道纖維化模式動物等中已獲得某種程度的成果。然而，至今仍無任何藥物能夠令人滿意，因

而仍謀求進一步的腸道纖維化治療劑的開發。

【0005】

[先前技術文獻]

[專利文獻]

專利文獻 1：WO 2008/022807

特許文獻 2：WO 2009/084232

特許文獻 3：WO 2006/068232

特許文獻 4：WO 2009/036368

特許文獻 5：WO 2010/014117

特許文獻 6：WO 2009/116257

特許文獻 7：WO 2010/026766

【0006】

[非專利文獻]

非專利文獻 1：Rieder and Fiocchi, Nat Rev Gastroenterol

Hepatol. 2009 Apr;6(4):228-35

非專利文獻 2：Ma *et al.*, Inflamm Bowel Dis. 2010 Jun;

16(6):1040-50

非專利文獻 3：Peterson *et al.*, Eur J Pharmacol. 2011 Jul 15;

662(1-3):47-54

非專利文獻 4：Videla *et al.*, J Pharmacol Exp Ther. 2006

Feb;316(2):940-5

非專利文獻 5：

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21909991>

非專利文獻 6：Inoue *et al.*, Biol Pharm Bull. 2011;

34(11):1659-65

非專利文獻 7: Haydont *et al.*, Clin Cancer Res. 2007 Sep 15;

13(18 Pt 1):5331-40

【發明內容】

【0007】

[發明所欲解決之問題]

本發明之目的在於提供一種攜帶體、利用該攜帶體而成之腸道纖維化處置劑、以及腸道纖維化之處置方法，該攜帶體能夠專一地將藥物等物質輸送至腸道中之細胞外間質生成細胞。

【0008】

[解決問題之技術手段]

本發明人在探求新穎的腸道纖維化治療劑之際，成功從已纖維化之腸道組織中分離出細胞外間質生成細胞，並進一步發現，含有類視色素(retinoid)作為標靶化劑的攜帶體能以高效率將細胞外間質生成抑制劑輸送至該細胞而顯著地抑制關於細胞外間質生成之分子的表現，而完成了本發明。

含有維生素 A 的攜帶體，雖然已知能將藥物輸送至肝臟星狀細胞（專利文獻 3、專利文獻 4）或肝臟星狀細胞株（專利文獻 3、專利文獻 5）、肺（專利文獻 6）及骨髓（專利文獻 7）中的細胞外間質生成細胞，且已知於該攜帶體上承載對應 HSP47 (heat shock protein 47，熱休克蛋白質 47) 之 siRNA 而成的組成物能夠改善肝纖維化（專利文獻 3）、

肺纖維化（專利文獻 6）及骨髓纖維化（專利文獻 7），但對於該攜帶體與腸道中之細胞外間質生成細胞或腸道纖維化之間的關係，則至今完全未知。

【0009】

亦即，本發明是關於下述。

（1）一種物質輸送用攜帶體，該攜帶體是用以將物質輸送至腸道中之細胞外間質生成細胞，其中包含類視色素(retinoid)來作為針對腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑。

（2）如上述（1）所述之攜帶體，其中，該類視色素包含視網醇(retinol)。

（3）如上述（1）或（2）所述之攜帶體，其中，包含類視色素與類視色素以外之攜帶體構成要素，且類視色素與類視色素以外之攜帶體構成要素的莫耳比是 8：1～1：4。

（4）一種腸道纖維化處置用醫藥組成物，其中包含如上述（1）～（3）中的任一項所述之攜帶體、及控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物。

（5）一種醫藥組成物，是用以從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織之醫藥組成物，其中包含如上述（1）～（3）中任一項所述之攜帶體、及控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物。

（6）如上述（4）或（5）所述之醫藥組成物，其中，該控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物，是選自由下述物質所組成之群組：抑制細胞外間質成分之生

成、分泌之物質；細胞增殖抑制物質；細胞凋亡誘導物質；TIMP(Tissue Inhibitor of Metalloproteinase，金屬蛋白酶抑制因子)抑制物質以及 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶抑制物質。

(7) 如上述(6)所述之醫藥組成物，其中，該抑制細胞外間質成分之生成、分泌之物質，是 HSP47 之抑制劑。

(8) 如上述(4)～(7)中任一項所述之醫藥組成物，其是臨用時調製之形態。

【0010】

(9) 一種調製套組，其是如上述(4)～(8)中任一項所述之醫藥組成物的調製套組，其中包含 1 個或以上的容器，該容器是單獨或組合地含有：控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物；類視色素；以及視需要而定的類視色素以外之攜帶體構成物質。

(10) 一種物質輸送用攜帶體的製造方法，該攜帶體是用以將物質輸送至腸道中之細胞外間質生成細胞，該製造方法中包含一將類視色素調配作為針對腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑之步驟。

(11) 一種醫藥組成物的製造方法，是製造腸道纖維化處置用醫藥組成物或用以從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織之醫藥組成物的方法，其中包含一分別將類視色素調配作為針對腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑、將控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物調配作為有效成分之步驟。

(12) 一種腸道中之細胞外間質生成細胞株，其是來自採

集自腸道纖維化罹患對象之纖維化腸組織，具有波形蛋白(vimentin)陽性、 α SMA(α 平滑肌肌動蛋白， α -smooth muscle actin)陰性且 GFAP(膠質纖維酸性蛋白)陰性之表現型。

【0011】

(13) 一種分離腸道中之細胞外間質生成細胞之方法，其中包含下述步驟：

(i) 從採集自腸道纖維化罹患對象之纖維化腸組織中獲得細胞之步驟；及

(ii) 從(i)獲得的細胞中選擇具有波形蛋白陽性、 α SMA 陰性且 GFAP 陰性之表現型的細胞之步驟。

(14) 一種製作腸道中之細胞外間質生成細胞株之方法，其中包含下述步驟：

(i) 從採集自腸道纖維化罹患對象之纖維化腸組織中獲得細胞之步驟；及

(ii) 從(i)獲得的細胞中選擇具有波形蛋白陽性、 α SMA 陰性且 GFAP 陰性之表現型的細胞之步驟；

並且，在步驟(i)或(ii)之後，包含將細胞不朽化(immortalize)之步驟。

(15) 一種篩選腸道纖維化處置因子之方法，其中包含下述步驟：

(i) 使如上述(12)所述之細胞株與受測因子共存之步驟；及

(ii) 檢測因與受測因子共存所致之細胞株之變化之步驟。

(16) 一種用以篩選腸道纖維化處置因子之套組，其中包含如上述(12)所述之細胞株。

【0012】

[功效]

本發明之腸道纖維化處置用組成物的正確作用機制雖然尚未完全闡明，但認為是類視色素作為針對腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑而發揮機能，其藉由將例如控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物等有效成分輸送至該細胞，而發揮抗腸道纖維化的效果。

因此，藉由包含類視色素作為標靶化劑的本發明之攜帶體，能夠有效率地將有效成分輸送至作用部位、或進一步輸送至標的細胞，所以能夠將目前尚無根本治療方法的腸道纖維化加以治癒、抑制其加遽、或是預防其發病，此對於人類醫療及動物醫療的貢獻極大。

又，本發明之攜帶體，因為能夠與任意藥劑（例如，現有的腸道纖維化治療藥）組合而提高其作用效率，所以也有著在製劑上的應用範圍廣泛、能簡便地進行有效的處置劑之製造等優點。

進而，本發明之細胞株，因為能夠利用於腸道纖維化治療藥之篩選、或是腸道纖維化機制之闡明，所以有助於開發腸道纖維化之新穎處置劑或處置方法。

【圖式簡單說明】

【0013】

圖 1 是顯示 SAMP1/Yit 小鼠的腸道纖維化部位中之類

星狀細胞之間葉系細胞的局部存在的照片；(a)顯示 Azan 染色圖像，(b)顯示藉由抗波形蛋白抗體進行之螢光免疫染色圖像，(c)顯示藉由抗 α SMA 抗體進行之螢光免疫染色圖像，(d) 顯示藉由抗 GFAP 抗體進行之螢光免疫染色圖像；箭號是表示類星狀細胞之間葉系細胞的位置，又，刻度尺在(a)表示 100 μ m，在(b)~(d)表示 50 μ m。

圖 2 是顯示在下述細胞中的波形蛋白及 α SMA 之表現的照片，該些細胞是：從 SAMP1/Yit 小鼠的腸道纖維化部位中分離而成之間葉系細胞系 IC10_F2 (上方) 以及來自該細胞之波形蛋白陽性、 α SMA 陰性、GFAP 陰性之細胞株 IC10_F2_E9 (下方)；刻度尺表示 50 μ m。

圖 3 是顯示 IC10_F2 細胞及 IC10_F2_E9 細胞中之波形蛋白、 α SMA、ADRP、LRAT 及 LXR β 的相對表現的圖表。

圖 4 是顯示使對應 HSP47 之 siRNA 承載於 VA 結合微脂粒而導入至 IC10_F2_E9 細胞中時，HSP47 的相對表現的圖表。

【實施方式】

【0014】

在本發明的一方面，是關於一種物質輸送用攜帶體，該攜帶體是用以將物質輸送至腸道中之細胞外間質生成細胞，其中包含類視色素來作為針對腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑。本發明之攜帶體的態樣之一，包含用以將腸道中之細胞外間質生成細胞作為標的之有效量的類視色素。又，本發明之攜帶體的態樣之一，是關於一種攜帶體，

其是藉由類視色素而被設成將腸道中之細胞外間質生成細胞作為標的。

【0015】

本發明中，腸道中之細胞外間質生成細胞，只要是存在於腸道中且具有細胞外間質生成能力的細胞，則無特別限定，例如包含存在於腸道中之類星狀細胞(astrocyte-like cells)、纖維母細胞、外皮細胞、纖維細胞(fibrocyte)及肌纖維母細胞。存在於腸道中之間質生成細胞，並不限於來自存在於腸道中之細胞，也可以包含：來自循環血液中之纖維細胞的間質生成細胞、藉由內皮-間葉細胞轉型(endothelial-mesenchymal transition)而從上皮細胞或內皮細胞轉換而成的間質生成細胞（非專利文獻 1）。

【0016】

類星狀細胞，例如可以舉出下述實施例所鑑別的細胞，即，具有波形蛋白陽性、 α SMA（ α 平滑肌肌動蛋白）陰性且 GFAP(膠質纖維酸性蛋白)陰性之表現型的細胞。該細胞是藉由使用下述抗體而進行之免疫染色等而被鑑別，該些抗體是：經標記而可檢測出之抗波形蛋白抗體、抗 α SMA 抗體及抗 GFAP 抗體。又，該細胞亦可表現例如 ADRP（脂肪分化相關蛋白）、LRAT（卵磷脂視黃醇醯基轉移酶）及/或 LXR β （肝 X 受體 β ）等 VA（維生素 A）貯藏相關基因。肝臟星狀細胞若在體外(in vitro)培養，則會活化而成為 α SMA 陽性且 GFAP 陽性，但上述類星狀細胞則即使在體外培養， α SMA 及 GFAP 亦不會成為陽性。由於肌纖維母細胞

的特徵在於波形蛋白及 α SMA 之表現，纖維母細胞則雖然表現在間葉系細胞中為特徵之波形蛋白但不表現 α SMA，所以能夠藉由波形蛋白及 α SMA 之雙重染色等而鑑別。腸道中之細胞外間質生成細胞，還可以藉由從取自腸道組織的細胞之中選擇具有波形蛋白陽性、 α SMA 陰性且 GFAP 陰性之表現型的細胞而獲得。

【0017】

本發明中之類視色素，會作為對於腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑 (targeting agent) 而發揮功能，促進對於該細胞的專一性物質輸送。藉由類視色素來促進物質輸送的機制雖然尚未完全闡明，但可能是例如：與 RBP (視網醇結合蛋白, retinol binding protein) 專一地結合而成的類視色素，透過位於腸道中之細胞外間質生成細胞的細胞表面上之某種受體，而被攝入該細胞。

【0018】

類視色素是具有由 4 個類異戊二烯(isoprenoid)單元以頭接尾(head to tail)方式連結之骨架的化合物群中的一種 (參照 G. P. Moss, "Biochemical Nomenclature and Related Documents," 2nd Ed. Portland Press, pp. 247-251 (1992))，維生素 A 則是定性地顯示視網醇之生物學活性的類視色素的一般的描述子(descriptor)。作為本發明中可使用的類視色素，並無特別限定，例如可舉出：視網醇 (包含全反式視網醇(all-trans-retinol))、視網醛、視網酸(retinoic acid) (包含維 A 酸)、視網醇與脂肪酸之酯、脂肪族醇與

視網酸之酯、依曲替酯、異維 A 酸、阿達帕林、依曲替酸、他扎羅汀、視網醇棕櫚酸酯等類視色素衍生物；以及芬維 A 胺（4-HPR）、蓓薩羅丁等維生素 A 類似物。

【0019】

這些之中，從對腸道中之細胞外間質生成細胞的專一性物質輸送效率的觀點而言，以下述為佳：視網醇、視網醛、視網酸、視網醇與脂肪酸之酯（例如乙酸視黃酯、棕櫚酸視黃酯、硬脂酸視黃酯、及月桂酸視黃酯等）、及脂肪族醇與視網酸之酯（例如視網酸乙酯等）。

類視色素的包含順式、反式的全部異性體，均涵蓋於本發明的範圍中。類視色素亦有以 1 或 2 個以上的取代基來取代而成者。本發明中之類視色素，當然可以是被分離之狀態者，亦包含了於能將其溶解或保持之介質中呈溶解或混合狀態的類視色素。

【0020】

本發明中之類視色素，亦進而包含了含有類視色素作為其一部份的化合物（部分含有類視色素之化合物）。該化合物，可含有 1 個或 2 個以上的類視色素部分，例如可含有 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、或多於 10 個類視色素部分。該化合物中，類視色素可以是以 RBP 結合部位（例如，若為視網醇時則為環己烯環部分）能與 RBP 結合之狀態存在。作為該化合物，並無特別限定，可以舉出由 1 個或 2 個以上的類視色素與 PEG 或其衍生物結合而成者。該類視色素-PEG 結合體中，

類視色素之非 RBP 結合部位（例如，若為視網醇時則為環己烯環部分以外的部分，例如 OH 基等）亦可與 PEG 或其衍生物共價結合。PEG 或其衍生物，亦可具有 1~50 個重複單元（ $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ）。PEG 或其衍生物之分子量，可以是 200~4000 g/mol。PEG 或其衍生物，可以是線狀或分支狀。PEG 衍生物，亦可於其末端具有適合與類視色素結合之基團，例如亦可具有胺基等。PEG 衍生物，亦可於其鏈中具有 1 個或 2 個以上的胺基，例如亦可具有 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、或多於 10 個胺基。

【0021】

本發明之攜帶體，可以僅由這些類視色素本身所構成，也可以是藉由使類視色素結合或包含於其他攜帶體構成成分而構成。因此，本發明之攜帶體，亦可含有類視色素以外之攜帶體構成成分。作為該成分，並無特別限定，可以使用在醫藥及藥學領域中已知的任意成分，但以能包含類視色素、或是能與其結合的成分為佳。

作為此種成分，可舉出脂質，例如可舉出：甘油磷脂質 (glycerophospholipid) 等磷脂質類；神經鞘磷脂 (sphingomyelin) 等神經脂質類；膽固醇等固醇類；大豆油、罌粟子油 (poppy seed oil) 等植物油；礦物油；蛋黃卵磷脂等卵磷脂類；聚合物等，但並不限定於此。其中，以能構成微脂粒 (liposome) 者為佳，例如：卵磷脂等天然磷脂質；二肉豆蔻磷脂醯膽鹼 (DMPC)、二棕櫚磷脂醯膽鹼 (DPPC)、

二硬脂磷脂醯膽鹼 (DSPC) 等半合成磷脂質；二油醯磷脂醯乙醇胺 (DOPE)、二月桂磷脂醯膽鹼 (DLPC)、膽固醇等。

【0022】

作為特佳的成分，可舉出能迴避網狀內皮系統之捕捉的成分，例如可舉出：氯化 N-(α -三甲基銨基乙醯)-二(十二烷基)-D-麩胺酸 (TMAG)、N,N',N'',N'''-四甲基-N,N',N'',N'''-四棕櫚基精胺(spermine) (TMTPS)、2,3-二油醯氧基-N-[2(精胺羧醯胺)乙基]-N,N-二甲基-1-丙烷銨三氟乙酸酯 (DOSPA)、氯化 N-[1-(2,3-二油醯氧基)丙基]-N,N,N-三甲基銨 (DOTMA)、氯化二(十八基)二甲基銨 (DODAC)、溴化二(十二基)銨 (DDAB)、1,2-二油醯氧基-3-三甲基銨丙烷 (DOTAP)、3 β -[N-(N', N'-二甲基胺基乙烷)胺甲醯基]膽固醇 (DC-Chol)、1,2-二肉豆蔻醯氧基丙基-3-二甲基羥乙基銨 (DMRIE)、氯化 O,O'-二四癸醯基-N-(α -三甲基銨基乙醯)二乙醇胺 (DC-6-14) 等陽離子性脂質。

本發明之攜帶體，也可以具有特定的立體結構。作為該結構，並無特別限定，可以舉出直鏈狀或支鏈狀的線狀結構、薄膜狀結構、球狀結構等。因此，攜帶體並無限定，也可以具有樹枝狀高分子(dendrimer)、樹枝狀聚合物(dendron)、微胞(micelle)、微脂粒、乳劑(emulsion)、微球體(microsphere)、奈米球等任意的立體形態。又，本發明中之攜帶體的態樣之一，是能藉由標靶化劑（包含標的化分

子、標的化部分等)而主動標的(active targeting)之攜帶體。具有立體形態之攜帶體或是能主動標的之攜帶體，在所屬技術領域中已經相當為人所知(例如，參照 Marcucci and Lefoulon, Drug Discov Today. 2004 Mar 1;9(5):219-28、Torchilin, Eur J Pharm Sci. 2000 Oct;11 Suppl 2:S81-91 等)。

【0023】

類視色素對於本發明之攜帶體的結合或包含，可以是藉由化學性及/或物理性的方法，也可以是藉由使類視色素結合或包含於攜帶體的其他構成成分。而且，類視色素對於本發明之攜帶體的結合或包含，也可以是藉由在製備該攜帶體時，將類視色素與類視色素以外之攜帶體構成成分混合而進行。本發明之攜帶體中的類視色素的量，例如可以設作 $0.01 \sim 1000 \text{ nmol}/\mu\text{l}$ ，以 $0.1 \sim 100 \text{ nmol}/\mu\text{l}$ 為佳。又，包含類視色素與類視色素以外之攜帶體構成成分的本發明之攜帶體中，類視色素與類視色素以外之攜帶體構成成分的莫耳比，並無特別限定，例如可以是 $8:1 \sim 1:4$ ，或是 $4:1 \sim 1:2$ 。類視色素對於攜帶體的結合或包含，可以在使輸送物承載於該攜帶體之前進行，也可以藉由將攜帶體、類視色素及輸送物予以同時混合等方式來進行，或者也可以藉由將已承載輸送物之狀態的攜帶體與類視色素混合等方式來進行。因此，本發明亦關於一種對腸道中之細胞外間質生成細胞具專一性之製劑的製造方法，其中包含使類視色素結合於既有之任意的藥物結合攜帶體或藥物包覆攜帶體的步驟，該些既有之藥物結合攜帶體或藥物包覆

攜帶體，是例如：DaunoXome^(R)、Doxil、Caelyx^(R)、Myocet^(R)等微脂粒製劑。

【0024】

本發明之攜帶體的形態，只要能將所期望的物質或物體搬運至作為標的之腸道中之細胞外間質生成細胞，則任何形態均可，例如，雖然並不限定，但可採下述中任一形態：聚合物、樹枝狀高分子、樹枝狀聚合物、高分子微胞、微脂粒、乳劑、微球體、奈米球等。在本發明中，從輸送效率之高低、可輸送物質的選擇性之廣度、或製劑之容易性等觀點而言，這些攜帶體形態之中以微脂粒的形態為佳，且其中又以含陽離子性脂質的陽離子性微脂粒為特佳。當攜帶體為微脂粒形態時，若考量類視色素對於攜帶體之結合或包含的效率性，則類視色素與類視色素以外之微脂粒構成脂質的莫耳比，以 8：1～1：4 為佳，較佳為 4：1～1：2。

【0025】

若所含之類視色素是以作為標靶化劑來發揮功能的態樣而存在，則本發明之攜帶體可以是於其內部包含搬運物、或附著於搬運物之外部、或與搬運物混合。此處，所謂的作為標靶化劑來發揮功能，意思是含類視色素的攜帶體會比不含類視色素之攜帶體更迅速且/或大量地到達且/或被攝入標的細胞也就是腸道中之細胞外間質生成細胞，這可以例如藉由下述方式來輕易地確認：將附著有標記、或含有標記之攜帶體，添加至標的細胞的培養物中，於規

定時間之後分析標記的存在部位。在構造上，例如若類視色素最遲於到達標的細胞為止時至少部分地暴露於攜帶體（例如，當攜帶體具有立體結構時等情形）或含攜帶體之製劑的外部，便可充分具備上述要件。在此，所謂的「製劑」，是包含後述的本發明之組成物，並進而具有形態的概念。類視色素是否暴露於製劑之外部，可藉由使製劑接觸例如視網醇結合蛋白（RBP）等會與類視色素專一地結合的物質，並調查其對製劑之結合，來進行評估。

【0026】

使類視色素最遲於到達標的細胞為止時至少部分地暴露於攜帶體或製劑的外部，例如可藉由調節類視色素與類視色素以外的攜帶體構成成分之間的調配比率等而達成。又，攜帶體具有微脂粒等脂質結構體之形態的情形中，例如可以使用下述手法：在將類視色素以外的攜帶體構成成分與類視色素進行複合化時，先將由類視色素以外的攜帶體構成成分所構成的脂質結構體稀釋於水性溶液中，接著將其與類視色素接觸、混合等。此時，類視色素也可以是呈現溶解於溶劑之中、例如 DMSO 等有機溶劑之中的狀態。此處，所謂的脂質結構體，意思是具有任意的立體結構，例如具有線狀、薄膜狀、球狀等形狀，並含有脂質作為構成成分的結構體，並無限定，包含了微脂粒、微胞、脂質微球體、脂質奈米球、脂質乳劑等。與標記微脂粒而成者相同的標靶化劑亦可以應用於其他藥物攜帶體，例如 Zhao and Lee, Adv Drug Deliv Rev. 2004;56(8):1193-204、

Temming *et al.*, Drug Resist Updat. 2005;8(6):381-402 等所記載。

【0027】

脂質結構體可以藉由使用下述滲透壓調整劑來調整滲透壓而安定，該些滲透壓調整劑是例如鹽或蔗糖、葡萄糖、麥芽糖等糖類、或是甘油、丙二醇等多元醇等，較佳為使用蔗糖或葡萄糖等。而且，也可以藉由添加適度的鹽或緩衝液等 pH 調整劑來調整 pH。因此，脂質結構體的製造、保存等，可以在含有這些物質的介質中進行。此時，滲透壓調整劑的濃度，以調整成與血液等張為佳。例如，在蔗糖的情形中，介質中的濃度並無限定，為 3～15 重量%，以 5～12 重量%為佳，較佳為 8～10 重量%，特佳為 9 重量%；在葡萄糖的情形中，介質中的濃度並無限定，為 1～10 重量%，以 3～8 重量%為佳，較佳為 4～6 重量%，特佳為 5 重量%。

【0028】

本發明又關於一種物質輸送用攜帶體的製造方法，該攜帶體是用以將物質輸送至腸道中之細胞外間質生成細胞，該製造方法中包含一將類視色素調配作為針對腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑之步驟。關於類視色素的調配手法，只要是類視色素能夠在所調配的攜帶體中作為針對腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑而發揮功能，則無特別限定，例如可使用本說明書中所述的各種手法。因此，類視色素的調配，可以藉由下述來進行：藉由

化學性及/或物理性的方法使類視色素結合或包含於攜帶體的其他構成成分、或是在製備攜帶體時將類視色素與類視色素以外之攜帶體構成成分混合等。類視色素的調配量等，是如同在本發明之攜帶體的說明中所記載。

【0029】

本攜帶體之輸送物並無特別限制，以其大小是能在生物體內物理性地從投予部位移動至標的細胞所存在之病變部位者為佳。因此，本發明之攜帶體當然可搬運原子、分子、化合物、蛋白質、核酸等物質，亦可搬運載體、病毒粒子、細胞、由 1 個以上之要件所構成的藥物釋放系統、微機械(micromachine)等物體。前述物質或物體，較佳為具有給予標的細胞某些影響的性質，例如包括將標的細胞予以標記者、或是控制（例如將其增強或抑制）標的細胞的活性或增殖者。

【0030】

因此，在本發明的態樣之一中，攜帶體之輸送物是「控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物」。此處，所謂的腸道中之細胞外間質生成細胞的活性，雖然是指腸道中之細胞外間質生成細胞所顯示的分泌、攝入、遊走等各種活性，但在本發明中，典型而言意思是這些之中特別與腸道纖維化之發病、加遽及/或復發等有關的活性。作為該活性，例如，並不限定而可舉出下述細胞外間質成分等之生成、分泌以及這些細胞外間質成分的分解活性之抑制，該些細胞外間質成分為：膠原蛋白、蛋白多

醣 (proteoglycan)、肌糖蛋白 (tenascin)、纖維連接蛋白 (fibronectin)、血小板活化蛋白 (thrombospondin)、造骨蛋白 (osteopontin)、骨連結蛋白 (osteonection)、彈性蛋白等細胞外間質成分等。

【0031】

因此，本說明書中，所謂的控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物，意思是只要會直接或間接抑制與腸道纖維化之發病、加遽及/或復發有關之該細胞的物理性、化學性及/或生理性作用等，則任一種藥物均可，並不加以限定，包含了：抑制上述細胞外間質成分等之生成、分泌之物質；細胞增殖抑制物質；細胞凋亡誘導物質；TIMP(Tissue Inhibitor of Metalloproteinase)抑制物質、 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶抑制物質等。

【0032】

作為抑制上述細胞外間質成分等之生成、分泌之物質，並無限定，例如可以舉出：抑制膠原蛋白、蛋白多醣、肌糖蛋白、纖維連接蛋白、血小板活化蛋白、造骨蛋白、骨連結蛋白、彈性蛋白等細胞外間質成分之表現的 RNAi 分子、核糖酶、反義核酸等物質或者顯性抑制突變體 (dominant negative mutant)等具有顯性突變抑制效果的物質、表現這些物質的載體、及經這些物質轉型而成之細胞等。上述細胞外間質成分之中，作為阻礙細胞外間質成分之生成、分泌的藥物，並無限定，例如可舉出 HSP(Heat shock protein) 47 之抑制物質，HSP47 是在各種類型之膠原蛋白

的合成過程中所共通且為細胞內輸送及分子成熟化所必須而對膠原蛋白具專一性的分子伴侶蛋白(chaperone)，該HSP47之阻礙物質則例如是對應HSP47之RNAi分子、核糖酶、反義核酸等HSP47表現抑制物質，或是HSP47之顯性抑制突變體等具有顯性突變抑制效果的物質、表現這些物質的載體、及經這些物質轉型而成之細胞等。

【0033】

作為細胞增殖抑制物質，並無限定，例如可以舉出：依弗醯胺(ifosfamide)、尼莫司汀(nimustine)（例如硫酸尼莫司汀）、環磷醯胺、達卡巴仁(dacarbazine)、氮芥苯丙胺酸(melphalan)、雷莫司汀(ranimustine)等烷化劑；吉西他濱(gemcitabine)（例如鹽酸吉西他濱）、依諾他濱(enocitabine)、阿拉伯糖基胞嘧啶·十八烷基磷酸酯(cytarabine ocfosfate)、阿拉伯糖基胞嘧啶製劑、替加氟-尿嘧啶(tegafur-uracil)、替加氟-吉莫斯特-氧酸鉀(tegafur, gimeracil, oteracil potassium)調配劑（例如，TS-1）、氟鐵龍(doxifluridine)、羥基脲、氟尿嘧啶、胺甲葉酸、硫醇嘌呤(mercaptopurine)等代謝拮抗劑；艾達魯比辛(idarubicin)（例如鹽酸艾達魯比辛）、依畢魯比辛(epirubicin)（例如鹽酸依畢魯比辛）、道諾魯比辛(daunorubicin)（例如鹽酸道諾魯比辛、檸檬酸道諾魯比辛）、杜薩魯比辛(doxorubicin)（例如鹽酸杜薩魯比辛）、畢拉魯比辛(pirarubicin)（例如鹽酸畢拉魯比辛）、博來黴素（例如鹽酸博來黴素）、培洛黴素(peplomycin)（例如硫酸培洛黴素）、邁杜蔥酮

(mitoxantrone)(例如鹽酸邁杜蔥酮)、絲裂黴素 C(mitomycin C)等抗腫瘤性抗生物質；伊妥普賽、愛萊諾迪肯(irinotecan) (例如鹽酸愛萊諾迪肯)、溫諾平(vinorelbine) (例如酒石酸溫諾平)、歐洲紫杉醇(docetaxel) (例如歐洲紫杉醇水合物)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、長春新鹼(vincristine) (例如硫酸長春新鹼)、長春地辛(vindesine) (例如硫酸長春地辛)、長春花鹼(vinblastine) (例如硫酸長春花鹼)等生物鹼；阿那曲唑(anastrozole)、它莫西芬(tamoxifen) (例如檸檬酸它莫西芬)、托瑞米芬(toremifene) (例如檸檬酸托瑞米芬)、白卡羅他邁(bicalutamide)、氟塔醯胺(flutamide)、雌二醇氮芥(estramustine) (例如磷酸雌二醇氮芥)等荷爾蒙療法劑；卡鉑定(carboplatin)、順鉑(cisplatin) (CDDP)、奈達鉑(nedaplatin)等鉑錯合物；沙利竇邁(thalidomide)、新伐司他(Neovastat)、貝伐單抗(Bevacizumab)等血管新生抑制劑；L-天冬醯胺酸酶等。

【0034】

作為細胞凋亡誘導物質，並無限定，例如可以舉出：複方 861(compound 861)、黴膠毒素(gliotoxin)、阿托伐他汀(atorvastatin)等。

作為 TIMP (例如，TIMP1、TIMP2、TIMP3 等)之抑制物質，並無限定，例如可以舉出：對應 TIMP 之抗體等 TIMP 活性抑制物質；對應 TIMP 之 RNAi 分子、核糖酶、反義核酸等 TIMP 表現抑制物質；表現這些物質的載體；及經這些物質轉型而成之細胞等。

作為 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶抑制物質，並無限定，例如可以舉出：對應 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶之抗體等 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶活性抑制物質；對應 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶之 RNAi 分子、核糖酶、反義核酸等 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶表現抑制物質；表現這些物質的載體；及經這些物質轉型而成之細胞等。

【0035】

又，本發明中的「控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物」，只要是會直接或間接關係到抑制有關腸道纖維化之發病、加遽及/或復發之腸道中之細胞外間質生成細胞的物理性、化學性及/或生理性作用等的任一種藥物均可。

本發明之攜帶體，可以輸送 1 種或 2 種以上的上述藥物。

【0036】

本發明中之 RNAi 分子，包含：siRNA (small interfering RNA，小干擾 RNA)、miRNA (micro RNA，微 RNA)、shRNA (short hairpin RNA，小髮夾 RNA)、piRNA (Piwi-interacting RNA，Piwi 交互 RNA)、rasiRNA (repeat associated siRNA，重複相關小干擾 RNA) 等雙股 RNA 及該等之變體。RNAi 分子及表現 RNAi 分子之載體，例如可以依照一般教科書（實驗醫學別冊－改編 RNAi 實驗 Protocol，2004 年，羊土社出版；RNAi 實驗之原來如此 Q & A，2006 年，羊土社出版）的教示來使用。

RNAi 分子之設計，只要是發明所屬技術領域中具有通

常知識者，即可藉由參照作為標的之基因的信使 RNA (messenger RNA) 序列及已知的 RNAi 序列，依照一般教科書（實驗醫學別冊－改編 RNAi 實驗 Protocol，2004 年，羊土社出版；RNAi 實驗之原來如此 Q & A，2006 年，羊土社出版）的教示來適當地進行。

又，本發明中之核酸，包含 RNA、DNA、PNA、或該等之複合物。

【0037】

作為本發明之攜帶體的輸送物，亦並無限定，可以舉出抑制腸道纖維化之發病、加遽及/或復發之上述以外的藥物，例如，並無限定而可舉出：TGF β 1 抑制劑（包含 TGF β 1 疫苗）、本多非林及其代謝物、磷酸二酯酶 4 抑制劑、HMG-CoA 還原酵素抑制劑、大建中湯、普伐他丁、脂氧素 A₄ 類似物、硫酸基轉移酶抑制劑、纖維化促進因子（例如 EGF、bFGF、FGF2、PDGF、IGF-I、IGF-II、CTGF、IL-1 β 、IL-4、IL-13、MCP-1、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MIP-3 α 、NOD1 配位子 (ligand)、TLR2 之配位子、TLR4 之配位子及 TLR5 之配位子、半乳糖凝集素 (galectin)-3、透明質酸 (hyaluronan)、基膜素 (laminin)、膠原蛋白等）之抑制劑，或是將腸道纖維化之發病原因之發炎加以抑制之藥物，例如洒拉淨、美沙拉明、奧沙拉嗪、巴柳氮等胺基柳酸系藥劑；培尼皮質醇、亞丁皮質醇等皮質類固醇藥物；硫唑嘌呤、硫醇嘌呤、環孢靈素、胺甲基葉酸等免疫抑制劑；infliximab 等 TNF- α 抑制劑；甚至，硝基甲嘧啶乙醇、速博

新等抗生素。這些藥物，亦可以與後述的本發明之組成物併用。此處，所謂的「併用」，包括了實質上同時投予本發明之組成物與上述藥物，以及在同一處置期間內在時間上相隔一段時間地投予。前者的情形中，本發明之組成物可以與上述藥物混合投予，亦可不混合而連續地投予。後者的情形中，本發明之組成物可以在上述藥物之前投予，亦可在之後投予。

在本發明的態樣之一中，作為控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物，可以舉出 HSP47 之抑制劑，例如對應 HSP47 之 siRNA 等。

【0038】

本發明之攜帶體所輸送的物質或物體，可以經標記或不經標記。藉由標記化，則能夠監測對標的細胞之輸送的成敗或標的細胞之增減等，因而不僅在試驗、研究層級上特別有用，在臨床層級上也很有用。標記物，可選擇發明所屬技術領域中具有通常知識者所習知的任意物，例如可選自：任意的放射性同位素、磁性物、氣體或在生理條件下會產生氣體的物質、核磁共振元素（例如氫、磷、鈉、氟等）、對核磁共振元素之緩和時間造成影響之物質（例如金屬原子或含有金屬原子之化合物）、與標記化物質結合之物質（例如抗體等）、螢光物質、螢光團(fluorophore)、化學發光物質、生物素或其衍生物、抗生物素蛋白或其衍生物、酵素等。標記物可以附著於攜帶體構成成分，也可作為獨立的輸送物而承載於攜帶體。

【0039】

本發明中所謂的「腸道中之細胞外間質生成細胞用」或「腸道中之細胞外間質生成細胞輸送用」，意思是適合於將腸道中之細胞外間質生成細胞使用作為標的細胞，包括例如能相較於其他細胞（例如正常細胞）而更迅速、更高效率且/或更大量地將物質輸送至該細胞。例如，本發明之攜帶體，能夠相較於其他細胞而以 1.1 倍以上、1.2 倍以上、1.3 倍以上、1.5 倍以上、2 倍以上、甚至以 3 倍以上的速度及/或效率將物質輸送至腸道中之細胞外間質生成細胞。

【0040】

本發明又關於一種組成物，該組成物是用以控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖、用以處置腸道纖維化、或用以從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織，其中包含了前述攜帶體、及前述控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物，本發明也關於一種將前述攜帶體使用於這些組成物之製造的用途。本發明之組成物的態樣之一，係包含用以將腸道中之細胞外間質生成細胞作為標靶的有效量的類視色素。又，本發明之組成物的態樣之一，係藉由類視色素而將腸道中之細胞外間質生成細胞作為標靶。

本發明中之腸道纖維化，是指特徵在於腸壁中之疤痕組織過剩蓄積的病況，繼發於例如慢性化的炎症性腸病（包括藥劑性腸炎、感染性腸炎等原因特定之特異性炎症性腸

病、及克隆氏症、潰瘍性大腸炎等原因不明之非特異性炎症性腸病)等慢性腸道炎症、或因放射線照射所致之組織損傷、手術或外傷所伴隨之腸道沾黏等。

【0041】

本發明中，所謂的「從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織」，意思是使因纖維化而變質之腸道組織的纖維化至少恢復至較為輕度的狀態。亦即，隨著腸道纖維化之進展，腸道組織會被取代為以細胞外間質為中心的纖維組織，但本發明中之從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織，則是逆轉其流程，而將已增生之纖維組織取代為原本正常組織。因此，本發明中之從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織，不僅包含使纖維化腸道組織完全地恢復至原本的狀態，亦包含使纖維化腸道組織部分地恢復至原本的狀態。正常組織的再生程度，可以是藉由生物檢體試樣等的組織學檢查，基於組織結構之正常化、纖維組織所佔區域之縮小、正常組織所佔區域之擴大等來進行評估，在以本組成物處置之前發現起因於纖維化的生化指標異常時，也可以是藉由該指標的改善來進行評估。

【0042】

本發明之組成物中，只要攜帶體所含的類視色素是以作為標靶化劑來發揮功能的態樣而存在，則攜帶體可以是於其內部包含輸送物、附著於輸送物之外部、或與輸送物混合。因此，可以視投予路徑或藥物釋放方式等，來將上述組成物以適當的材料來被覆，例如以腸溶性的包覆料或

經時分解性的材料來被覆，或是亦可搭配適當的藥物釋放系統。進而，本發明之組成物，也可以是結合了類視色素而成的微脂粒與輸送物之複合體，亦即採用 Lipoplex 的形態。又，攜帶體僅由類視色素構成的情形中，本發明之組成物亦可採用複合體的形態，該複合體是由控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物與類視色素所構成。

【0043】

本發明之組成物，可以使用作為醫藥（亦即醫藥組成物），可以藉包括經口及非經口之兩者的各種路徑來投予，例如，並不限定而可舉出：經口、靜脈內、肌肉內、皮下、局部、肺內、呼吸道內、氣管內、支氣管內、經鼻、經胃、經腸、直腸內、動脈內、門脈內、心室內、骨髓內、淋巴結內、淋巴管內、腦內、腦脊液腔內、腦室內、經黏膜、經皮膚、鼻內、腹腔內及子宮內等路徑，並可以適合於各投予路徑的劑型來製劑。該劑型及製劑方法，可適當採用任意的習知者（例如參照由渡邊喜照等人編輯並由南江堂於 2003 年出版的標準藥劑學）。

例如，作為適合於經口投予的劑型，並無限定，可以舉出：散劑、顆粒劑、錠劑、膠囊、液劑、懸浮劑、乳劑、凝膠劑、糖漿等，又，作為適合於非經口投予的劑型，則可以舉出溶液性注射劑、懸浮性注射劑、乳濁性注射劑、臨用時調製型注射劑等注射劑。非經口投予用製劑，可以是水性或非水性之等張性無菌溶液或懸浮液的形態。

【0044】

本發明又關於一種腸道纖維化處置用醫藥組成物或用以從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織之醫藥組成物的製造方法，其中包含一分別將類視色素調配作為針對腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑、將控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物調配作為有效成分之步驟。類視色素的調配手法，只要類視色素能夠在所調配的組成物中發揮作為對腸道中之細胞外間質生成細胞的標靶化劑的機能，則無特別限定，例如可使用本說明書所記載的各種手法。又，有效成分的調配手法，同樣是只要有效成分能夠發揮規定的效果，則無特別限定，可以使用任意的習知手法。有效成分的調配，可以是與類視色素同時進行，也可以是在調配類視色素之前、或調配之後進行。例如，組成物含有類視色素以外的攜帶體構成成分的情形中，有效成分的調配，可以是藉由混合已調配了類視色素作為標靶化劑之攜帶體與有效成分來進行，也可以是藉由同時混合類視色素、類視色素以外的攜帶體構成成分、及有效成分來進行，或者，也可以是在類視色素以外的攜帶體構成成分中調配有效成分之後，再將其與類視色素混合等方式來進行。

【0045】

類視色素的調配量等，是如同在本發明之攜帶體的說明中所記載。又，有效成分的調配量，在以組成物投予的情形中，是能夠抑制腸道纖維化之發病或復發、改善病況、

減輕症狀、或者能延遲或停止病況加遽的量，以能預防腸道纖維化之發病及復發、或將其治癒的量為佳，或者也可以是能夠從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織的量。又，以不發生超過因投予所得之利益的不良影響的量為佳。該量為習知的量，或是可藉由使用培養細胞等的體外試驗、或者在小鼠、大鼠、狗或豬等模式動物中進行的試驗來適當地決定，這些試驗方法為發明所屬技術領域中具有通常知識者所熟知。作為腸道纖維化的模式動物，例如可舉出如 Pizarro *et al.*, Trends Mol Med. 2003 May; 9(5):218-22 之記載(例如，TNBS 誘導模式、DSS 誘導模式、唑啉酮(oxazolone)誘導模式、 $CD4^+CD45RB^{high}$ SCID 轉移(transfer)模式、tge26 骨髓嵌合小鼠、IL-10 KO 小鼠、 $TNF^{\Delta ARE}$ 模式、C3H-HeJBir 小鼠、SAMP1/Yit 小鼠、SAMP1/YitFc 小鼠等)。其中又以 SAMP1/Yit 小鼠在作為人類克隆氏症中之腸道纖維化的模式動物方面較為有用。有效成分的調配量，可以根據組成物的投藥態樣而變化。例如，在 1 次投予中，當使用複數單位組成物時，每 1 單位組成物中所調配的有效成分量，可以設為在 1 次投予中所必須的有效成分量的數分之一。該調配量的調整，可由發明所屬技術領域中具有通常知識者適當地進行。

【0046】

本發明之攜帶體或組成物，雖然可以用任一形態來給予，但從保存安定性的觀點而言，較佳為能夠於臨用時調製的形態，例如能夠在醫療現場或附近，由醫師及/或藥師、

護士、或其他醫務人員等進行調製的形態來提供。此時，本發明之攜帶體或組成物，是以 1 個或 2 個以上的容器來提供，該容器含有本發明之攜帶體或組成物之必須構成要素的至少一個，並且本發明之攜帶體或組成物是在使用之前，例如 24 小時前以內、較佳為 3 小時前以內、以及更佳為正要使用前調製。於調製之際，可適當地使用在調製場所中通常可取得的試藥、溶劑、調劑器具等。

【0047】

因此，本發明又關於一種攜帶體或組成物的調製套組，其中包含 1 個或 2 個以上的容器，該容器是單獨或組合地含有：類視色素、及/或輸送物、及/或類視色素以外的攜帶體構成物質，本發明亦有關於以此種套組之形態來提供的前述攜帶體或組成物的必要構成要素。本發明之套組，除了上述之外，亦可含有關於本發明之攜帶體及組成物之調製方法或投予方法等的指示，例如說明書或 CD、DVD 等電子記錄媒體等。又，本發明之套組雖然亦可包含用以完成本發明之攜帶體或組成物的全部構成要素，但並不一定需含有全部的構成要素。因此，本發明之套組中，亦可不含有在醫療現場或實驗設施等通常可取得的試藥或溶劑，例如無菌水、生理食鹽水、或葡萄糖溶液等。

【0048】

本發明是進而關於一種用以控制腸道中的細胞外間質生成細胞的活性或增殖、用以處置腸道纖維化、或者用以從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織的方法，其中包含

將有效量的前述組成物投予至所必須的對象。此處，所謂的有效量，例如關於後者(用以處置腸道纖維化的方法)，可以是抑制腸道纖維化之發病或復發、改善病況、減輕症狀、或者延遲或停止病況加遽的量，以預防腸道纖維化之發病及復發、或將其治癒的量為佳，或者也可以是能夠從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織的量。又，以不發生超過因投予所得之利益的不良影響的量為佳。該量，可藉由使用培養細胞等的活體外試驗、或者藉由在小鼠、大鼠、狗或豬等模式動物中進行的試驗，來適當地決定，這些試驗方法為發明所屬技術領域中具有通常知識者所熟知。又，攜帶體中所含的類視色素、及本發明之方法中所使用的藥物用量，可以是發明所屬技術領域中具有通常知識者所習知，也可以藉由上述試驗等而適當決定。作為腸道纖維化的模式動物，是如上所述。

【0049】

本發明之方法中所投予的組成物之具體用量，是考慮關於需要處置之對象的各種條件來決定，該條件係例如症狀的嚴重度、對象的一般健康狀態、年齡、體重、對象的性別、飲食、投予途徑、投予的時期及頻率、所併用的醫藥、對治療的反應性、及對治療的遵從性等。

投予途徑包括經口及非經口之兩者的各種途徑，例如包含：經口、靜脈內、肌肉內、皮下、局部、肺內、呼吸道內、氣管內、支氣管內、經鼻、經胃、經腸、直腸內、動脈內、門脈內、心室內、骨髓內、淋巴結內、淋巴管內、

腦內、腦脊液腔內、腦室內、經黏膜、經皮膚、鼻內、腹腔內及子宮內等途徑。

投予頻率則是依照所使用之組成物的性狀、或上述般的對象的條件而異，例如可以是 1 日多次（亦即 1 日 2、3、4 次或 5 次以上）、1 日 1 次、每數日（亦即每 2、3、4、5、6、7 日等）1 次、1 週內數次（例如 1 週內 2、3、4 次等）、每隔 1 週、每隔數週（亦即每隔 2、3、4 週等）。

【0050】

在本發明之方法中，用語「對象」的意思是任意的生物個體，較佳為動物、更佳為哺乳動物、且更佳為人類之個體。在本發明中，雖然對象可以是健康或罹患某種疾病者，但當目的為處置腸道纖維化時，典型而言意思是已罹患腸道纖維化、或是具有罹患風險的對象。例如，當希望預防腸道纖維化時，並無限定，以已罹患成為腸道纖維化之原因的疾病的對象為典型例子，該些成為腸道纖維化之原因的疾病係如炎症性腸病、因手術或外傷等所伴隨之腸道沾黏等。

又，用語「處置」，是以疾病之治癒、暫時緩解或預防等為目的，而包含了醫學上所容許之全部種類的預防性及/或治療性之介入。例如，「處置」之用語，包括腸道纖維化加遽之延緩或停止、病變之消退或消失、腸道纖維化發病之預防或復發之防止等，而包含了各種目的之醫學上可容許之介入。

【0051】

本發明，又關於一種對於腸道中之細胞外間質生成細胞的物質輸送方法，該方法是利用上述攜帶體而成。此方法並無限定，而例如含有下述步驟：使輸送物承載於上述攜帶體之步驟；以及，將已承載輸送物之攜帶體，投予或添加至含有腸道中之細胞外間質生成細胞的生物或例如培養基等介質中之步驟。這些步驟，可依循習知的任意方法、或本說明書中所記載之方法等來適當地達成。上述輸送方法，也可以與其他輸送方法例如以腸道為標的之其他輸送方法等互相組合。又，上述方法包含了在活體外進行之態樣，亦包含以體內的腸道中之細胞外間質生成細胞為標的之態樣。關於能藉由本發明之攜帶體來輸送之物質，係如上所述。

【0052】

本發明又關於一種腸道中之細胞外間質生成細胞株，其係來自採集自腸道纖維化罹患對象之纖維化腸組織，具有波形蛋白陽性、 α SMA 陰性且 GFAP 陰性之表現型。

腸道纖維化罹患對象，並無限定，例如可以舉出被診斷為腸道纖維化之對象、或是腸道纖維化之模式動物。腸道纖維化之診斷，係藉由病歷、以鋇劑造影等進行之腸道狹窄之確認、活組織檢驗試料之病理組織檢查等來進行。纖維化腸組織之採取，可以藉由外科手術、或是使用內視鏡等之活組織檢驗等任意的可能手法來進行。表現型並無限定，例如可以藉由下述方式來確認：藉由抗波形蛋白抗體、抗 α SMA 抗體及抗 GFAP 抗體進行之免疫染色；或是

波形蛋白、 α SMA 及 GFAP 基因之表現分析等。上述各抗體可以使用市售抗體，亦可以藉由以各蛋白質將動物免疫化(誘發免疫反應)等已知手法來重新製作。上述細胞株，亦可以表現下述物質：HSP47 或其同源物(homolog)(例如 gp46)、膠原蛋白、例如 ADRP、LRAT 及/或 LXR β 等 VA 貯藏相關基因。又，上述細胞株，即便於活體外培養亦不會呈 α SMA 及 GFAP 陽性。上述細胞株亦可藉由導入不朽化基因(例如 SV40T、端粒酶(telomerase)基因等)等而被不朽化。

上述細胞株，可以藉由用於間葉系細胞之一般培養條件來培養。作為該條件，並無限定，例如可以舉出在 5%CO₂、37°C 中於含有 10%FBS 之 DMEM 中之培養。

【0053】

本發明又關於一種分離腸道中之細胞外間質生成細胞之方法，其中包含下述步驟：

(i) 從採集自腸道纖維化罹患對象之纖維化腸組織中獲得細胞之步驟；及

(ii) 從(i)獲得的細胞中選擇具有波形蛋白陽性、 α SMA 陰性且 GFAP 陰性之表現型的細胞之步驟。

從纖維化腸組織中獲得細胞的方式，並無限定，例如可以將任意地細切而成之組織加以培養、再從其中取得遊走之細胞，亦可以用蛋白質分解酵素(例如膠原蛋白酶、蛋白酶等)來處理組織、再從其中取得解離之細胞。

細胞之選擇，並無限定，例如可以藉由下述方式進行：

以極限稀釋法(limiting dilution analysis)將細胞分離為單細胞、再以免疫染色或基因表現分析等來確認各細胞株(clone)之表現型，或是藉由下述方式進行：以細胞分選儀(cell sorter)等來處理單細胞懸浮液，該單細胞懸浮液係經抗波形蛋白抗體、抗 α SMA 抗體及/或抗 GFAP 抗體所標記而成。

【0054】

本發明又關於一種製作腸道中之細胞外間質生成細胞株之方法，其中包含下述步驟：

(i) 從採集自腸道纖維化罹患對象之纖維化腸組織中獲得細胞之步驟；及

(ii) 從 (i) 獲得的細胞中選擇具有波形蛋白陽性、 α SMA 陰性且 GFAP 陰性之表現型的細胞之步驟；

並且，在步驟 (i) 或 (ii) 之後，包含將細胞不朽化 (immortalize) 之步驟。

細胞之不朽化，可以藉由導入不朽化基因（例如，SV40T、端粒酶基因等）等而進行。不朽化，可以在選擇期望之表現型的細胞之前進行，亦可在選擇之後進行。關於將細胞不朽化之步驟以外的構成方面，關於分離腸道中之細胞外間質生成細胞之方法係如上所述。

【0055】

本發明又關於一種篩選腸道纖維化處置因子之方法，其中包含下述步驟：

(i) 使上述腸道中之細胞外間質生成細胞株與受測因子共存之步驟，該腸道中之細胞外間質生成細胞株係來自

採集自腸道纖維化罹患對象之纖維化腸組織，具有波形蛋白陽性、 α SMA 陰性且 GFAP 陰性之表現型；及

(ii) 檢測因與受測因子共存所致之細胞株之變化之步驟。

本發明中，受測因子，係除了化合物等物質以外，還包含：熱、電磁波（例如，電波、光線、X 射線、 γ 射線等）、壓力、pH 等各種因子。所謂的使細胞株與受測因子「共存」，意思是將細胞株與受測因子置於同一介質中，兩者並不一定必須互相接觸。細胞株與受測因子之共存，並無限定，例如包含將細胞株與受測因子放入同一容器中等方式。細胞株與受測因子之共存，可以在活體內(in vivo)進行，亦可在活體外進行。

因與受測因子共存所致之細胞株之變化，並無限定，例如可以舉出：細胞株活性之抑制或亢進（例如，基因表現或物質生成之抑制或亢進）、細胞株增殖之抑制或增強等。因此，例如細胞株增殖藉由與受測因子共存而受到抑制、或是細胞株活性受到抑制，表示該受測因子是腸道纖維化處置因子。

【0056】

本發明又關於一種用以篩選腸道纖維化處置因子之套組，其中包含如上述腸道中之細胞外間質生成細胞株，該腸道中之細胞外間質生成細胞株係來自採集自腸道纖維化罹患對象之纖維化腸組織，具有波形蛋白陽性、 α SMA 陰性且 GFAP 陰性之表現型。本套組之中，除了前述細胞株以

外，亦可進而包含：檢測細胞株變化之試藥、關於採用本套組來篩選腸道纖維化處置因子之方法的指示，該指示係例如說明書或 CD、DVD 等電子記錄媒體等。

【0057】

[實施例]

藉由以下的例子，進而詳細地說明本發明，但該些例子僅為例示，絕非用以限定本發明。

[實施例 1]克隆氏症模式小鼠 SAMP1/Yit 之腸道中的類星狀細胞之鑑別

為了探討克隆氏症之纖維化是否與相當於肝臟星狀細胞之細胞相關，而使用克隆氏症模式小鼠 SAMP1/Yit。SAMP1/Yit 小鼠，是在將 AKR/J 小鼠之同胎小鼠進行 24 代交配而作成的 SAMP1 小鼠之中，將皮膚具有潰瘍之小鼠進而近親交配 20 代以上而獲得的自然發病模式小鼠，其於 20 週齡為止會自發性地引起迴腸炎（Matsumoto *et. al.*, Gut. 1998 Jul;43(1):71-8），病理組織上具有下述特徵：（i）類似克隆氏症之炎症好發於迴腸末端、（ii）病變為非連續且遍及全層、（iii）可觀察到肌肉層之肥厚、隱窩(crypt)之過度形成、絨毛之萎縮、炎症細胞於黏膜固有層及黏膜下層之浸潤、班尼斯細胞(Paneth cell)及杯狀細胞之過度形成、肉芽腫、隱窩膿瘍等（Kosiewicz *et al.*, J Clin Invest. 2001 Mar;107(6):695-702）。IBD 模式小鼠是幾乎都會發生大腸炎之模式，其中具有上述特徵之 SAMP1/Yit 小鼠，被認為是現有的疾病模式動物中最接近克隆氏症之病況的模式小

鼠 (Pizarro *et al.*, Trends Mol Med. 2003 May;9(5):218-22) 。

【0058】

為了 SAMP1/Yit 小鼠之腸道組織中鑑別類星狀細胞，以組織免疫染色法來探討迴腸纖維化部位。首先，採取 SAMP1/Yit 小鼠（29 週齡，由 Yakult 中央研究所供應）之迴腸組織。以 30% 中性甲醛將組織固定 24 小時之後，以石蠟包埋，製作薄切片，而作成樣品切片。將樣品切片進行 Azan 染色而觀察纖維化狀態，結果在已呈肥厚之肌肉層的細胞間觀察到膠原纖維之蓄積（圖 1(a)）。進而，對於連續切片進行免疫組織化學解析，該解析係採用了抗肝臟星狀細胞標記(marker)之抗體。作為抗體，使用了抗波形蛋白抗體（Anti-Vimentin, Abcam, clone RV202, cat. No. ab8978、標記：Alexa Fluor 488）、抗 α SMA 抗體（Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein, Dako, Polyclonal Rabbit, Code No. Z0334、標記：DyLight 633）及抗 GFAP 抗體（Anti- α -Smooth Muscle Actin, SIGMA, clone 1A4, cat. No. A2547、標記：Cy3）。依照規定方法進行螢光免疫染色之後，以共軛焦雷射掃描顯微鏡觀察，結果在迴腸肌肉層的纖維化病變部位中，沿著蓄積的膠原纖維，可以辨認到具有波形蛋白（+）/ α SMA（-）/GFAP（-）之表現型的細胞有許多局部存在的情形（圖 1(b)~(d)，參照箭號）。另一方面，背景(background)小鼠，亦即 AKR/J 小鼠的迴腸肌肉層部位則並未辨認到該細胞之存在。此結果表示，類似靜止型肝臟星狀細胞之具有波形蛋白（+）/ α SMA（-）/GFAP（-）之表現型的細

胞，係與纖維化有關連。

【0059】

[實施例 2] 從 SAMP1/Yit 小鼠之纖維化小腸組織建立類星狀細胞株

為了將實施例 1 中所觀察的細胞在體外進行功能解析，並進而利用該細胞來進行腸道纖維化治療方法等之探討，而從 SAMP1/Yit 小鼠之纖維化小腸組織中分離、培養具有波形蛋白（+）/ α SMA（-）/GFAP（-）之表現型的類星狀細胞，而建立類星狀細胞株。

首先，採取 SAMP1/Yit 小鼠（21 週齡）的迴腸組織，以剪刀細切為長度 1mm 左右之後，浸泡於 EDTA 溶液（HBSS（pH 7.5）中之 4.5mM EDTA 溶液，以下與此相同）20ml 中，輕輕振盪。於 4℃ 靜置 15 分鐘之後，去除上清液，再度懸浮於新鮮的 EDTA 溶液中。將 EDTA 溶液更新 5 次之後，將迴腸組織片懸浮於含有 10%FBS 之 DMEM 中，接種於 6 孔培養盤中，於 5%CO₂ 中以 37℃ 進行培養。培養開始起第 5 日時，呈間葉系細胞狀形態的細胞群附著於培養盤而開始增殖。此時，藉由反轉錄病毒載體 pMFG-tsT-IRES-neo（Kawano *et al.*, Blood. 2003 Jan 15; 101(2):532-40）進行不朽化基因 SV40T 之導入，而獲得 IC10_F2 細胞系（圖 2 上方）。之後，將 IC10_F2 細胞系以極限稀釋法與藉由上述抗 α SMA 抗體、抗 GFAP 抗體及抗波形蛋白抗體進行之免疫染色法，來嘗試篩選具有波形蛋白（+）/ α SMA（-）/GFAP（-）之表現型的細胞，結果得以建立具有該表現型

之來自腸道的類星狀細胞株 IC10_F2_E9 (圖 2 下方)。

【0060】

以即時 PCR (Real-time polymerase chain reaction, Real-time PCR, 即時聚合酶鏈鎖反應) 來探討前述建立之 IC10_F2_E9 是否表現星狀細胞之特徵亦即 VA 貯藏相關基因群。首先, 使用 RNeasy Mini Kit (QIAGEN, 74104) 分別自 IC10_F2 細胞及 IC10_F2_E9 細胞調製全部 RNA, 使反轉錄酶 (High Capacity RNA-to-cDNA Master Mix, Applied Biosystems, 4390713) 反應而製作 cDNA。使用所獲得之 cDNA, 以 LightCycler^(R) 480 系統 (Roche Applied Science) 之即時 PCR 來測定維生素 A 貯藏相關基因群 (ADRP、LRAT 及 LXR β) 之表現量。PCR 試劑, 係使用 LightCycler^(R) 480 Probes Master (Roche Applied Science, 4707494)。探針係使用 Universal ProbeLibrary Probes (Roche Applied Science) 中所含之探針 (波形蛋白: Probe #79, 4689020、 α SMA: Probe #11, 4685105、ADRP: Probe #79, 4689020、LRAT: Probe #79, 4689020、LXR β : Probe #106, 4692250)。

【0061】

又, 所使用之引子 (primer) 係如下所述 (以下, 「F」表示正向 (forward) 引子, 「R」表示反向 (reverse) 引子)。

波形蛋白:

F 5' TGC GCCAGCAGTATGAAA 3' (序列編號 1)

R 5' GCCTCAGAGAGGTCAGCAAA 3' (序列編號 2)

α SMA:

F 5' TCACCATTTGGAAACGAACG 3' (序列編號 3)

R 5' ATAGGTGGTTTCGTGGATGC 3' (序列編號 4)

ADRP :

F 5' CCTCAGCTCTCCTGTTAGGC 3' (序列編號 5)

R 5' CACTACTGCTGCTGCCATTT 3' (序列編號 6)

LRAT :

F 5' GAAGGTGGTCTCCAACAAGC 3' (序列編號 7)

R 5' TACTGTGTCCACACGGATGC 3' (序列編號 8)

LXR β :

F 5' GCTCTGCCTACATCGTGGTC 3' (序列編號 9)

R 5' CTCATGGCCCAGCATCTT 3' (序列編號 10)

【0062】

另外，ADRP 係局部存在於脂肪滴膜上而與脂肪滴之合成或代謝相關的 PAT (脂滴包被蛋白(perilipin)・脂肪組織分化相關蛋白(adipophilin)・TIP47)蛋白質的一種(Lee *et al.*, J Cell Physiol. 2010 Jun;223(3):648-57)，LRAT 係視網醇酯化酵素，在肝臟星狀細胞中局部存在於內質網膜上，被認為與 VA 之貯藏有關連 (Nagatsuma *et al.*, Liver Int. 2009 Jan;29(1):47-54)，LXR β ，係與脂質代謝和抗發炎相關的核內受體，在肝臟星狀細胞中可辨認到 mRNA 等級的表現(Beaven SW. *et al.*, Gastroenterology. 2011 Mar;140(3):1052-62)。結果，相較於親代細胞株之 IC10_F2，IC10_F2_E9 係關於 ADRP 顯示 2.4 倍之基因表現，關於 LRAT 顯示 27 倍之基因表現，關於 LXR β 顯示 2.4 倍之基因表現(圖 3)。

此結果表示 IC10_F2_E9 具有星狀細胞之特徵。

【0063】

[實施例 3] 含有 siRNA 之 VA 結合微脂粒的調製

(1) siRNA

HSP47 是膠原蛋白 (I~IV 型) 共通的分子伴侶蛋白，以 HSP47 (小鼠，GenBank Accession No. X60676) 之鹼基序列為標的之 siRNA，是採用以下 siRNA。

A：GGACAGGCCUGUACAACUA (自小鼠 HSP47 之鹼基序列上的第 969 個鹼基開始之正義股 siRNA 配列，序列編號 11)

B：UAGUUGUACAGGCCUGUCC (反義股 siRNA 配列，序列編號 12)

【0064】

作為對照組的 siRNA random (又稱為 siRNA scramble (縮寫：scr))，是採用以下 siRNA。

C：CCUCCAAACCAAUUGGAGG (正義股 siRNA，序列編號 13)

D：CCUCCAAUUGGUUUGGAGG (反義股 siRNA，序列編號 14)

【0065】

(2) VA-lip-siRNA 之調製

自北海道 System Science (札幌，日本) 購入陽離子性微脂粒 (LipoTrust) 作為陽離子性脂質，該陽離子性微脂粒係以 4:3:3 之莫耳比來含有：氯化 O,O'-二-四癸醯基-N-

(α -三甲基銨基乙醯基)二乙醇胺(DC-6-14)、膽固醇及二油醯磷脂醯乙醇胺(DOPE)。微脂粒係藉由在使用前，於攪拌條件下將二次蒸餾水(DDW)添加於已冷凍乾燥之脂質混合物中，而調製為 1 mM (DC-6-14) 之濃度。為了調製 VA 結合微脂粒，將溶解於 DMSO 的 20 nmol 之維生素 A (視網醇，Sigma，美國)，與微脂粒懸浮液 (DC-6-14 為 20 nmol) 一起在 1.5 ml 管中一邊攪拌一邊於 25℃ 中混合。為了調製經承載 siRNA HSP47 之 VA 結合微脂粒 (VA-lip-siRNA HSP47)，於視網醇結合微脂粒溶液中，於室溫下一邊攪拌一邊添加 siRNA HSP47 溶液(於 DDW 中為 3 nmol/ml)。siRNA 與 DC-6-14 之莫耳比是 1:400。為了獲得體外使用所期望的用量，以磷酸緩衝生理食鹽水 (PBS) 將 VA-lip-siRNA 復原。

【0066】

[實施例 4] 對於 IC10_F2_E9 細胞的 siRNA 之導入與 HSP47 表現之抑制

於 6 孔培養盤 (N140675, Nunc™) 中添加實施例 3 所獲得的含有 siRNA 之 VA 結合微脂粒 100 μ l，該 6 孔培養盤中，於含 10%FBS 之 DMEM 中含有 IC10_F2_E9 細胞 1×10^4 個/孔，將上述於 37℃、CO₂ 5%的條件下培養 1 小時之後，更新培養基，於 37℃、CO₂ 5%的條件下進而培養 48 小時。之後，回收細胞，以與實施例 2 同樣的手法來調製全部 RNA。使反轉錄酶與所獲得之全部 RNA 反應而製作成 cDNA 之後，以即時 PCR 來評估 HSP47 之表現抑制。所使用之引

子係如下所述。

F : 5' GAAGGCTGTCGCCATCTC 3' (序列編號 15)

R : 5' CCCAGTCCTGCCAGATGT 3' (序列編號 16)

【0067】

由圖 4 所示之結果可知，在 IC10_F2_E9 細胞中有 HSP47 基因表現，以及，該基因之表現僅受到含有 siRNA 之 VA 結合微脂粒所抑制。有鑑於 siRNA 於細胞內進行作用，此結果表示 IC10_F2_E9 細胞具有膠原蛋白生成能力，而類視色素則作為標靶化劑而發揮作用，其劇烈地促進 IC10_F2_E9 細胞亦即腸道中之細胞外間質生成細胞對於物質之攝入。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

無

【序列表】(請換頁單獨記載)

序列表
<110> 日東電工股份有限公司

<120> 腸道纖維化處置劑

<130> F2547ND

<150> JP2011-253085

<151> 2011-11-18

<160> 16

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 波形蛋白之正向引子

<400> 1

tgccgcccagca gtatgaaa

18

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 波形蛋白之反向引子

<400> 2

gcctcagaga ggctcagcaaa

20

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> alpha-SMA之正向引子

<400> 3

tcaccattgg aaacgaacg

19

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> alpha-SMA之反向引子

<400> 4

ataggtgggt tcgtggatgc

20

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> ADRP之正向引子

<400> 5

cctcagctct cctgtaggc

20

<210> 6

<211> 20

<212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> ADRP之反向引子

 <400> 6
 cactactgct gctgccattt 20

 <210> 7
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> LRAT之正向引子

 <400> 7
 gaagggtggtc tccaacaagc 20

 <210> 8
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> LRAT之反向引子

 <400> 8
 tactgtgtcc acacggatgc 20

 <210> 9
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> LXR beta之正向引子

 <400> 9
 gctctgccta catcgtggtc 20

 <210> 10
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> LXR beta之反向引子

 <400> 10
 ctcatggccc agcatctt 18

 <210> 11
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 小鼠HSP47 siRNA正義股

 <400> 11
 ggacaggccu guacaacua 19

 <210> 12
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> 人工序列

 <220>

<223> 小鼠HSP47 siRNA反義股

<400> 12

uaguuguaca ggccugucc

19

<210> 13

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Random siRNA正義股

<400> 13

ccuccaaacc aauggagg

19

<210> 14

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Random siRNA反義股

<400> 14

ccuccaanug guuuggagg

19

<210> 15

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠HSP47之正向引子

<400> 15

gaaggctgtc gccatctc

18

<210> 16

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠HSP47之反向引子

<400> 16

cccagtcctg ccagatgt

18



公告本

發明摘要

申請日:

IPC分類:

A61K 47/10;
C07C 403/08;
A61K 45/08;
A61P 1/00;
C12N 5/021

※ 申請案號: 101142920

※ 申請日: 2012 年 11 月 16 日

※ IPC 分類:

【發明名稱】(中文/英文)

腸道纖維化處置劑

AGENT FOR TREATING FIBROSIS OF THE INTESTINE

【中文】

本發明是關於一種物質輸送用攜帶體(carrier)以及利用該攜帶體而成之腸道纖維化處置劑，該攜帶體是用於腸道中之細胞外間質生成細胞，其中包含類視色素來作為標靶化劑。

【英文】

This invention is related to a material-transporting carrier, an agent comprising the carrier for treating fibrosis of the intestine, wherein the carrier is used for extracellular matrix-synthesizing cells in the intestine, and the carrier comprises retinoid as a targeting agent.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：圖 4。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種類視色素-PEG 結合體之用途，其係用於製造將物質輸送至腸道中之細胞外間質生成細胞的物質輸送用攜帶體，該類視色素-PEG 結合體是作為促進對於腸道中之細胞外間質生成細胞的專一性物質輸送的成分。
2. 如請求項 1 所述之用途，其中，該類視色素包含視網醇。
3. 如請求項 1 或 2 所述之用途，其中，物質輸送用攜帶體包含類視色素-PEG 結合體與類視色素-PEG 結合體以外之攜帶體構成要素，且類視色素-PEG 結合體與類視色素-PEG 結合體以外之攜帶體構成要素的莫耳比是 8：1～1：4。
4. 一種物質輸送用攜帶體及控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物的用途，其係用於製造腸道纖維化處置用醫藥組成物，其中該物質輸送用攜帶體包含類視色素-PEG 結合體作為促進對於腸道中之細胞外間質生成細胞的專一性物質輸送的成分。
5. 一種物質輸送用攜帶體及控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物的用途，其係用於製造用以從纖維化腸道組織中再生正常腸道組織之醫藥組成物，其中該物質輸送用攜帶體包含類視色素-PEG 結合體作為促進對於腸道中之細胞外間質生成細胞的專一性物質輸送的成分。

6. 如請求項 4 所述之用途，其中，該控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物，是選自由下述物質所組成之群組：抑制細胞外間質成分之生成、分泌之物質；細胞增殖抑制物質；細胞凋亡誘導物質；金屬蛋白酶抑制因子(Tissue Inhibitor of Metalloproteinase, TIMP)抑制物質以及 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶抑制物質。

7. 如請求項 5 所述之用途，其中，該控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物，是選自由下述物質所組成之群組：抑制細胞外間質成分之生成、分泌之物質；細胞增殖抑制物質；細胞凋亡誘導物質；金屬蛋白酶抑制因子(Tissue Inhibitor of Metalloproteinase, TIMP)抑制物質以及 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶抑制物質。

8. 如請求項 6 所述之用途，其中，該抑制細胞外間質成分之生成、分泌之物質，是 HSP47 之抑制劑。

9. 如請求項 7 所述之用途，其中，該抑制細胞外間質成分之生成、分泌之物質，是 HSP47 之抑制劑。

10. 如請求項 4~9 中任一項所述之用途，其中，該醫藥組成物是臨用時調製之形態。

11. 一種類視色素-PEG 結合體之用途，其係用於製造如請求項 4～10 中任一項中所述之醫藥組成物的調製套組，其包含 1 個或 1 個以上的容器，該容器是單獨或組合地含有控制腸道中之細胞外間質生成細胞的活性或增殖之藥物及類視色素-PEG 結合體。



公告本

發明摘要

申請日:

IPC分類:

A61K 47/10;
C07C 403/08;
A61K 45/08;
A61P 1/00;
C12N 5/02/

※ 申請案號: 101142920

※ 申請日: 2012 年 11 月 16 日

※ IPC 分類:

【發明名稱】(中文/英文)

腸道纖維化處置劑

AGENT FOR TREATING FIBROSIS OF THE INTESTINE

【中文】

本發明是關於一種物質輸送用攜帶體(carrier)以及利用該攜帶體而成之腸道纖維化處置劑，該攜帶體是用於腸道中之細胞外間質生成細胞，其中包含類視色素來作為標靶化劑。

【英文】

This invention is related to a material-transporting carrier, an agent comprising the carrier for treating fibrosis of the intestine, wherein the carrier is used for extracellular matrix-synthesizing cells in the intestine, and the carrier comprises retinoid as a targeting agent.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：圖 4。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無