(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103083669 A
(43)申请公布日 2013.05.08

(21)申请号 201210311130.8

(22)申请日 2011.01.11

(30)优先权数据
61/293,794 2010.01.11 US
61/405,509 2010.10.21 US

(62)分案原申请数据
201180005710.8 2011.01.11

(71)申请人 希尔洛有限公司
地址 以色列耐斯兹敖那

(72)发明人 利奥拉·布赖曼-维克斯曼
塔玛·滕宁鲍姆 尤瓦尔·萨吉夫
马里纳·加尔茨贝因
伊弗雷姆·布雷纳 摩西·本-哈莫
利亚特·哈默

(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司 11332
代理人 杨生平 钟锦舜

(51)Int.Cl.
A61K 45/00(2006.01)
A61K 38/08(2006.01)
A61K 38/10(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)
A61P 17/06(2006.01)
A61P 25/00(2006.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 21/04(2006.01)
A61P 37/02(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61P 11/06(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61P 1/16(2006.01)
A61P 13/12(2006.01)
A61P 17/00(2006.01)
A61P 27/02(2006.01)
A61P 1/00(2006.01)
A61P 17/04(2006.01)

权利要求书5页 说明书35页
序列表11页 附图57页

(54)发明名称

用于治疗炎性疾病和病症的方法

(57)摘要

本公开内容提供使用PKC同工型调节剂治疗炎性疾病和病症的组合物和套件及其用途。

CN 103083669 A

1. 一种用于治疗受治疗者体内炎性疾病或病症的套件，所述套件包括：

a) PKCα、PKCε 或 PKCη 的抑制剂；和

b) 用于向所述受治疗者施用所述 PKC 抑制剂的说明书。

2. 根据权利要求 1 所述的套件，其中所述抑制剂是多肽。

3. 根据权利要求 2 所述的套件，其中所述多肽长度上在 5 和 20 个氨基酸之间。

4. 根据权利要求 3 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被肠道外施用、皮下施用、静脉内施用、局部施用、口服施用、经粘膜施用、经直肠施用、经肺施用、经鼻施用或经耳施用。

5. 根据权利要求 3 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被每天、每周、每两周或每月施用。

6. 根据权利要求 1 所述的套件，其中所述炎性疾病或病症选自由银屑病，多发性硬化症，风湿性关节炎，骨关节炎，系统性红斑狼疮，桥本甲状腺炎，重症肌无力，糖尿病 I 或 II 型，哮喘，炎性肺损伤，炎性肝损伤，炎性肾小球损伤，特应性皮炎，变应性接触性皮炎，刺激性接触性皮炎，脂溢性皮炎，干燥综合征，角结膜炎，葡萄膜炎，炎性肠病，克罗恩病，溃疡性结肠炎，关节、皮肤或肌肉的炎性疾病，急性或慢性特发性炎性关节炎，肌炎，脱髓鞘疾病，慢性阻塞性肺疾病，间质性肺疾病，间质性肾炎和慢性活动性肝炎组成的组。

7. PKCα、PKCε 或 PKCη 抑制剂在用于治疗炎性疾病或病症的药物的制造中的用途。

8. 根据权利要求 7 所述的用途，其中所述抑制剂是多肽。

9. 根据权利要求 8 所述的用途，其中所述多肽长度上在 5 和 20 个氨基酸之间。

10. 根据权利要求 9 所述的用途，其中所述多肽被肠道外施用、皮下施用、静脉内施用、局部施用、口服施用、经粘膜施用、经直肠施用、经肺施用、经鼻施用或经耳施用。

11. 根据权利要求 9 所述的用途，其中所述多肽被以约 0.1 至约 10000 微克每千克，优选地约 0.1 至约 1000 微克每千克以及更优选地约 1.0 至约 50 微克每千克的剂量施用。

12. 根据权利要求 9 所述的用途，其中所述多肽被每天、每周、每两周或每月施用。

13. 根据权利要求 7 所述的用途，其中所述炎性疾病或病症选自由银屑病，多发性硬化症，风湿性关节炎，骨关节炎，系统性红斑狼疮，桥本甲状腺炎，重症肌无力，糖尿病 I 或 II 型，哮喘，炎性肺损伤，炎性肝损伤，炎性肾小球损伤，特应性皮炎，变应性接触性皮炎，刺激性接触性皮炎，脂溢性皮炎，干燥综合征，角结膜炎，葡萄膜炎，炎性肠病，克罗恩病，溃疡性结肠炎，关节、皮肤或肌肉的炎性疾病，急性或慢性特发性炎性关节炎，肌炎，脱髓鞘疾病，慢性阻塞性肺疾病，间质性肺疾病，间质性肾炎和慢性活动性肝炎组成的组。

14. 一种用于治疗受治疗者体内炎性疾病或病症的套件，所述套件包括：

a) PKCδ 的活化剂；和

b) 用于向所述受治疗者施用所述 PKCδ 的活化剂的说明书。

15. 根据权利要求 14 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被肠道外施用、皮下施用、静脉内施用、局部施用、口服施用、经粘膜施用、经直肠施用、经肺施用、经鼻施用或经耳施用。

16. PKCδ 的活化剂在用于治疗炎性疾病或病症的药物的制造中的用途。

17. 根据权利要求 16 所述的用途，其中所述多肽被肠道外施用、皮下施用、静脉内施用、局部施用、口服施用、经粘膜施用、经直肠施用、经肺施用、经鼻施用或经耳施用。

18. 根据权利要求 16 所述的用途，其中所述多肽被以约 0.1 至约 10000 微克每千克，优选地约 0.1 至约 1000 微克每千克以及更优选地约 1.0 至约 50 微克每千克的剂量施用。

19. 根据权利要求 16 所述的用途，其中所述炎性疾病或病症选自由银屑病，多发性硬化症，风湿性关节炎，骨关节炎，系统性红斑狼疮，桥本甲状腺炎，重症肌无力，糖尿病 I 或 II 型，哮喘，炎性肺损伤，炎性肝损伤，炎性肾小球损伤，特应性皮炎，变应性接触性皮炎，刺激性接触性皮炎，脂溢性皮炎，干燥综合征，角结膜炎，葡萄膜炎，炎性肠病，克罗恩病，溃疡性结肠炎，关节、皮肤或肌肉的炎性疾病，急性或慢性特发性炎性关节炎，肌炎，脱髓鞘疾病，慢性阻塞性肺疾病，间质性肺疾病，间质性肾炎和慢性活动性肝炎组成的组。

20. 一种用于治疗受治疗者体内瘙痒的套件，所述套件包括：

a) PKC 的抑制剂；和

b) 用于向所述受治疗者施用所述 PKC 抑制剂的说明书。

21. 根据权利要求 20 所述的套件，其中所述抑制剂是 PKC α、PKC ε 或 PKC η 的抑制剂。

22. 根据权利要求 21 所述的套件，其中所述抑制剂是多肽。

23. 根据权利要求 3 或 22 所述的套件，其中所述多肽包含选自 SEQ ID NO：1-5、14-19、26、27 的氨基酸序列及其生理学上可接受的盐，或者所述多肽选自 SEQ ID NO：6-13、20、21、28 和 29。

24. 根据权利要求 23 所述的套件，其中所述多肽包括 N 端修饰、C 端修饰或其组合，优选地，所述多肽是 N- 酰化的。并且更优选地，所述多肽是 N- 豆蔻酰化的或 N- 棕榈酰化的。

25. 根据权利要求 20 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被口服施用。

26. 根据权利要求 3 或 20 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被以约 0.1 至约 10000 微克每千克的剂量施用。

27. PKC 抑制剂在用于治疗瘙痒的药物的制造中的用途。

28. 根据权利要求 27 所述的用途，其中所述抑制剂是 PKC α、PKC ε 或 PKC η 的抑制剂。

29. 根据权利要求 28 所述的用途，其中所述抑制剂是多肽。

30. 根据权利要求 9 或 29 所述的用途，其中所述多肽包含选自 SEQ ID NO：1-5、14-19、26、27 的氨基酸序列及其生理学上可接受的盐，或者所述多肽选自 SEQ ID NO：6-13、20、21、28 和 29。

31. 根据权利要求 30 所述的用途，其中所述多肽包括 N 端修饰、C 端修饰或其组合，优选地，所述多肽是 N- 酰化的。并且更优选地，所述多肽是 N- 豆蔻酰化的或 N- 棕榈酰化的。

32. 根据权利要求 29 所述的用途，其中所述说明书指明所述多肽被口服施用。

33. 根据权利要 29 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被以约 0.1 至约 10000 微克每千克的剂量施用。

34. 一种用于治疗受治疗者体内瘙痒的套件，所述套件包括：

a) PKC δ 的活化剂；和

b) 用于向所述受治疗者施用所述 PKC δ 的活化剂的说明书。

35. 根据权利要求 14 或 34 所述的套件，其中所述抑制剂是多肽。

36. 根据权利要求 35 所述的套件，其中所述多肽包含选自 SEQ ID NO：33-30 的氨基酸序列及其生理学上可接受的盐，或者所述多肽选自 SEQ ID NO：34-37。

37. 根据权利要求 36 所述的套件，其中所述多肽包括 N 端修饰、C 端修饰或其组合，优

选地，所述多肽是 N 酰化的。并且更优选地，所述多肽是 N 豆蔻酰化的或 N 棕榈酰化的。

38. 根据权利要求 35 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被口服施用。

39. 根据权利要求 35 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被以约 0.1 至约 10000 微克每千克的剂量施用。

40. 根据权利要求 35 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被每天、每周、每两周或每月施用。

41. PKC δ 的活化剂在用于治疗瘙痒的药物的制造中的用途。

42. 根据权利要求 16 或 41 所述的用途，其中所述抑制剂是多肽。

43. 根据权利要求 42 所述的用途，其中所述多肽包含选自 SEQ ID NO :33-30 的氨基酸序列及其生理学上可接受的盐，或者所述多肽选自 SEQ ID NO :34-37。

44. 根据权利要求 43 所述的用途，其中所述多肽包括 N 端修饰、C 端修饰或其组合，优选地，所述多肽是 N- 酰化的。并且更优选地，所述多肽是 N- 豆蔻酰化的或 N- 棕榈酰化的。

45. 根据权利要求 42 所述的用途，其中所述多肽被口服施用。

46. 根据权利要 42 所述的用途，其中所述多肽被以约 0.1 至约 10000 微克每千克的剂量施用。

47. 根据权利要求 42 所述的用途，其中所述多肽被每天、每周、每两周或每月施用。

48. 一种由 SEQ ID NO :3 组成的分离的多肽或者其生理上可接受的盐，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的。

49. 根据权利要求 48 所述的多肽，其中所述多肽是 SEQ ID NO :12。

50. 一种药物组合物，所述药物组合包含 :

a) 由 SEQ ID NO :3 组成的多肽或其生理学上可接受的盐和药学上可接受的载体的药物组合物，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的 ;和

b) 药学上可接受的载体。

51. 根据权利要求 50 所述的药物组合物，其中，所述多肽是 SEQ ID NO :12。

52. 由 SEQ ID NO :3 组成的多肽或其生理学上可接受的盐在用于治疗炎性疾病或病症的药物的制造中的用途，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的。

53. 根据权利要求 52 所述的用途，其中所述多肽是 SEQ ID NO :12。

54. 一种包含 SEQ ID NO :4 的氨基酸序列的分离的多肽或者其生理上可接受的盐。

55. 根据权利要求 54 所述的多肽，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的。

56. 根据权利要求 54 所述的多肽，其中所述多肽是 SEQ ID NO :10 或 13。

57. 一种药物组合物，所述药物组合包含 :

a) 包含 SEQ ID NO :4 的氨基酸序列的多肽或者其生理上可接受的盐 ;和

b) 药学上可接受的载体。

58. 根据权利要求 57 所述的药物组合物，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的。

59. 根据权利要求 57 所述的药物组合物，其中所述多肽是 SEQ ID NO :10 或 13。

60. 包含 SEQ ID NO :4 的氨基酸序列的多肽或者其生理上可接受的盐在用于治疗炎性疾病或病症的药物的制造中的用途。

61. 根据权利要求 60 所述的用途，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的。

62. 根据权利要求 60 所述的用途，其中所述多肽是 SEQ ID NO :10 或 13。

63. 一种由选自 SEQ ID NO :30-33 的氨基酸序列组成的分离的多肽或者其生理上可接受的盐。

64. 根据权利要求 63 所述的多肽，其中所述多肽是 SEQ ID NO :34-37。

65. 一种药物组合物，所述药物组合包含 :

a) 由选自 SEQ ID NO :30-33 的氨基酸序列组成的多肽或者其生理上可接受的盐 ;和

b) 药学上可接受的载体。

66. 根据权利要求 65 所述的药物组合物，其中，所述多肽是 SEQ ID NO :34-37。

67. 由选自 SEQ ID NO :30-33 的氨基酸序列组成的多肽或者其生理上可接受的盐在用于治疗炎性疾病或病症的药物的制造中的用途。

68. 根据权利要求 67 所述的用途，其中所述多肽是 SEQ ID NO :34-37。

69. 一种用于治疗受治疗者体内多发性硬化症的套件，所述套件包括 :

a)PKC α 、PKC ε 或 PKC η 的抑制剂 ;和

b) 用于向所述受治疗者施用所述抑制剂的说明书。

70. 根据权利要求 69 所述的套件，其中所述抑制剂是多肽。

71. 根据权利要求 70 所述的套件，其中所述多肽由选自 SEQ ID NO :2、SEQID NO :26 的氨基酸序列及其生理学上可接受的盐组成，或者所述多肽选自 SEQID NO :6 或 SEQ ID NO : 28，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的。

72. 根据权利要求 70 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被静脉内、皮下或腹膜内施用。

73. 根据权利要求 70 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被以约 0.001 至约 50 微克每千克的剂量施用。

74. 根据权利要求 70 所述的套件，其中所述说明书指明所述多肽被每天、每周、每两周或每月施用。

75. 根据权利要求 70 所述的套件，其中对所述受治疗者的治疗导致减少数目的对比增加的病灶。

76. 根据权利要求 70 所述的套件，其中所述受治疗者患有复发 - 缓解型多发性硬化症或继发进展型多发性硬化症。

77.PKC α 、PKC ε 或 PKC η 的抑制剂在用于治疗多发性硬化症的药物的制造中的用途。

78. 根据权利要求 77 所述的用途，其中所述抑制剂是多肽。

79. 根据权利要求 78 所述的用途，其中所述多肽由选自 SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :26 的氨基酸序列及其生理学上可接受的盐组成，或者所述多肽选自 SEQ ID NO :6 或 SEQ ID NO : 28，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的。

80. 根据权利要求 78 所述的用途，其中所述所述多肽被静脉内、皮下或腹膜内施用。

81. 根据权利要求 78 所述的用途，其中所述所述多肽被以约 0.001 至约 50 微克每千克的剂量施用。

82. 根据权利要求 78 所述的用途，其中所述多肽被每天、每周、每两周或每月施用。

83. 根据权利要求 77 所述的用途，其中对所述受治疗者的治疗导致减少数目的对比增加的病灶。

84. 根据权利要求 77 所述的用途，其中所述受治疗者患有复发 - 缓解型多发性硬化症

或继发进展型多发性硬化症。

用于治疗炎性疾病和病症的方法

[0001] 公开内容背景

技术领域

[0002] 本公开内容一般涉及治疗疾病的方法并且更具体地涉及炎性疾病和病症的治疗。

背景技术

[0003] 炎症的起始从炎性响应开始并且导致嗜中性粒细胞、粒细胞、单核细胞、巨噬细胞以及其他免疫细胞的活化。这可导致涉及炎性细胞因子和介质（例如白介素、TNFα 和前列腺素）的局部或系统炎性级联。这一复杂的炎性介导的级联触发整体范围的响应，例如细胞趋化和内皮损伤并且导致从天然和获得性免疫系统补充另外的细胞。

[0004] 皮肤作为机体内和环境之间重要的界限而起作用，防止与可能有害的病原体接触。在抗原／病原体侵入的例子中，炎性响应常常被诱导以除去抗原。这一响应导致主要由 T 细胞、多形核细胞和巨噬细胞组成的真皮渗入。

[0005] 炎性响应不是必然与外界刺激相关或者可以由无害的环境物质导致（如果发生过敏）。在这两种情况中，没有适当控制的致炎性细胞因子的过表达导致通常为局部或系统炎症的标志的炎症，以及各种炎性疾病和病症。炎症与各种病症例如湿疹和皮肤炎相关，包括例如特应性皮炎，脂溢性皮炎，出汗障碍性湿疹，钱币状湿疹，瘀滞性皮炎，过敏性皮炎，银屑病，瘙痒症，多发性硬化症，皮肤炎症，瘢痕性类天疱疮，硬皮病，化脓性汗腺炎，中毒性表皮坏死松解症，痤疮，骨炎，移植物抗宿主病 (GVHD)，坏疽性脓皮症 (pyroderma gangrenosum) 和白塞氏综合征。

[0006] 并不意外地，致炎性细胞因子的过量产生与许多炎性和自身免疫性疾病有关联。例如，促进 Th17 细胞的存活和增殖的细胞因子（例如 TNFα 和白介素 (IL)-23) 的分泌与银屑病高度相关，而 IL-6 除了其作为致炎性细胞因子的一般作用外还是 \Th17 发育所需要的。其他细胞因子像 IL-12 和 IP-10 是引发剂并且参与银屑病和其他自身免疫性疾病的代表性的 Th1 通路。白介素 5(IL-5)，增加嗜酸性粒细胞的产生的一种细胞因子，在哮喘中过表达，导致哮喘支气管粘膜中嗜酸性粒细胞的累积（过敏性炎症的标志）。白介素 4(IL-4) 和白介素 13(IL-13) 是在炎性肠病和哮喘中存在的平滑肌过度收缩的已知的介质。另外，如下文进一步讨论的，炎性细胞因子已经显示，以实例的方式，与银屑病、多发性硬化症、关节炎、局部缺血、感染性休克和器官移植排斥有关。

[0007] 相似地，粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 是粒细胞和巨噬细胞系群落的成熟的调节剂并且已经作为关键因子与许多炎性和自身免疫性疾病相关。例如抑制GM-CSF分泌的抗体已经显示可改善自身免疫性疾病。

[0008] 因此，如本文中所讨论的，减少致炎性细胞因子分泌和调节免疫调节剂的治疗的开发通常在缓和局部和系统炎症以及许多炎性和／或自身免疫性疾病上是有益的。种种证据指明 PKC 的同工型的调节剂在获得这些结果上是有用的。

[0009] 若干项体内研究，通过皮肤相关细胞（例如角质化细胞、树状突细胞和 T 辅助细

胞）作为参与银屑病和其他自身免疫性炎性疾病的发病机制的炎性响应的发展中的关键参与者，已经显示 T 辅助 (Th)17 细胞的参与以及细胞因子例如白介素和 TNFα 的分泌。如本文所用的，体内（“在生物体内”的拉丁文）是使用与部分的或死亡的生物体或者体外（“在玻璃制品内”例如在试管或有盖培养皿中）受控的环境相对的整体的、活的生物体的实验。促进 Th17 细胞存活和增殖的细胞因子（例如 TNFα 和白介素 (IL)-23) 的分泌同样作为这些疾病的关键的主要细胞因子调节剂起作用 (Fitch 等人 (2007)Curr Rheumatol Rep.9 :461-7)。反过来真皮中的 Th17 细胞减少 IL-17A 和 IL-22 的分泌。IL-22，特别地，导致角质化细胞过度增殖并且增加银屑病中的炎性响应 (Fitch 等人 (2007)Curr Rheumatol Rep9 :461-7)。

[0010] 蛋白激酶 C(PKC) 家族代表催化磷酸从 ATP 向蛋白的丝氨酸和苏氨酸残基的共价转移的一组磷脂依赖性酶。该家族目前被认为由属于 3 个不同的类别（其以它们经由钙离子的活化和其他因素为基础）的至少 12 个单独的同工型组成。PKC 家族由至少十个成员组成，通常分为三个亚组 :传统的、新型的和非典型的 PKC(图 1)。特殊的辅助因子需求、组织分布和细胞区室化表明每个同工型的不同的功能和特定信号传递的调谐。因此，特定刺激可通过由它们的因子调节的同工型特定 PKC 信号导致不同的响应，例如 :在特定的生物学背景下的表达、定位和 / 或磷酸化状态。PKC 同工型由各种细胞外信号活化，并且反过来调节细胞蛋白包括受体、酶、细胞骨架蛋白和转录因子的活性。因此，PKC 家族在细胞信号处理（包括细胞增殖、分化、存活和死亡的调节）中起到中枢作用。

[0011] 皮肤中高度富含的 PKCα 是表皮中主要的常规的 Ca2+ 响应的 PKC 同工型并且最初仅 cPKC 在体内和体外的角质化细胞中被检测到 (Dlugosz 等人 (1992)Biomed Pharmacother46 :304 ;Wang 等人 (1993)J Cancer Res Clin Oncol119 :279-287)。因此，PKCα 已经被提出作为 Ca2+ 诱导的分化中的关键参与者 (Denning 等人 (1995)Cell Growth Differ6 :149-157 ;Dlugosz 等人 (1992)Biomed Pharmacother46 :304)。在表皮中存在和主要限制于基底上层 (Denning 等人 (2004)Int J Biochem Cell Biol36 :1141-1146)，PKCα 参与细胞周期的停止并主要与角蛋白细胞骨架和桥粒的细胞 - 细胞间连接有关 (Jansen 等人 (2001)Int J Cancer93 :635-643 ;Tibudan 等人 (2002)J Invest Dermatol.119 :1282-1289)。因此，当暴露于传统 PKC 活化剂 TPA(12-O- 十四烷酰佛波醇 -13- 醋酸酯）时，棘突的标记被抑制，PKCα 被认为很大程度上导致了作为 TPA 活化的结果的从棘突至粒状分化的转化 (Dlugosz 和 Yuspa(1993)J Cell Biol120 :217-225 ;Lee 等人 (1998)J Invest Dermatol111 :762-766 ;Matsui 等人 (1992)J Invest Dermatol99 :565-571 ;Punnonen 等人 (1993)J Invest Dermatol 101 :719-726)。事实上，通过反义寡核苷酸阻滞 PKCα 活性或其合成似乎消除了粒状标记并且使棘突标记像 K1 和 K10 复原。同样，显性负相 PKCα 的实现似乎复原（晚期）棘突标记外皮蛋白 (Deucher 等人 (2002)J Biol Chem 277 :17032-17040)。因此，皮肤癌中的不完全的分化 (Tennenbaum 等人 (1993)Cancer Res3 :4803-4810 ;Tomakidi 等人 (2003)J Pathol200 :298-307) 与升高的 PKCα 活性有关，同样在体外肿瘤细胞中观察到 (Dlugosz 等人 (1992)Biomed Pharmacother 46 :304 ;Yang 等人 (2003)J Cell Physiol.195 :249-259)。然而，正常人类角质化细胞中 PKCα 的过表达未显示改变它们的分化模式 (Deucher 等人 (2002)J Biol Chem277 :17032-17040)。PKCα 对迁移过程中 β1 整联蛋白的细胞运输和膜补充的影响 (Ng 等人 (1999)EMBO J 18 :3909-3923)

可很好地促进伤口表皮细胞再生和肿瘤细胞入侵。

[0012] 转基因小鼠中 PKCα 的过表达已经显示减少显著的炎性响应，增加嗜中性粒细胞浸润相关的表皮加厚和浮肿，微型多发性脓肿，和炎性细胞因子和趋化因子（例如 TNFα、MIP-2、COX-2 或巨噬细胞炎性蛋白 (MIP)）的显著增加。这些结果将 PKCα 牵涉到表皮炎性响应中 (Wang 和 Smart(1999)J Cell Sci 112 :3497-3506)。用 TPA（一种 PKCα 活化剂）处理似乎导致表皮增生、内表皮的炎症和大量细胞凋亡 (Cataisson 等人 (2003)J Immunol 171 :2703-2713 ;Jansen 等人 (2001)Int J Cancer93 :635-643)。此外，近来 PKC 同工酶选择性敲除和转基因小鼠中的体内研究显示在免疫系统中各个 PKC 具有突出不同的功能。这些基因分析，与生化研究一起，似乎表明 PKC 调节的信号通路在免疫响应的许多方面中起到重要的作用。例如，PKC 家族的成员在 T 细胞信号通路中显得至关重要。特别地，PKCα，同种型似乎决定体内效应子中淋巴细胞特有的性质。PKCα 还被讨论参与巨噬细胞活化并且似乎显示参与肥大细胞信号传导 (Cataisson 等人 (2005)J Immunol174 :1686-1692)。因此，PKC 同种型是获得性免疫中得有效的药物靶。

[0013] 炎性疾病的一个实例是银屑病。有关于导致银屑病发展的基本病理的两种主要的假设。第一种认为银屑病主要是皮肤细胞的过度生长和再生的病症。第二种假设认为银屑病是免疫介导的病症，其中皮肤细胞的过度再生对由免疫系统产生的因子来说是继发的。因此，银屑病的大多数药物靶向疾病的一种要素，皮肤细胞的过度增殖状态，或银屑病斑块中存在的皮肤炎性响应。

[0014] 近来的数据支持两条通路都通过皮肤细胞和免疫环境（包围环境、周围、位置和 / 或背景）之间的交互作用成为疾病的病理基础的观点。传统基因组连锁分析已经确认了与发育银屑病的趋势有关的不同染色体上的名为银屑病敏感性 1 至 9(PSORS 1 至 PSORS 9) 基因座的九个基因座（基因座 (loci)）。在这些基因座中，若干个基因被表征并且发现编码在表皮细胞中表达的蛋白，例如角膜连锁蛋白，其在表皮的粒状和角质化层中表达并且在银屑病中被上调。在其他的方面，其他银屑病关联基因编码参与免疫系统的调节的蛋白，其中表征的例如表达白介素 -12B 的染色体 5q 上的 IL12B(Frank 等人 (2009)NEngl J Med361 : 496-509)。

[0015] 炎性疾病的另一个实例是多发性硬化症 (MS)。MS 是 CNS 的慢性并不可预知的炎性疾病，其可影响脑和脊髓（其通常影响青壮年）(Hafler 等人 (2005)Immunol Rev204 : 208-31)。其目前被认为是青壮年的最常见的神经系统疾病，并且通常在 20 和 40 的年龄之间发作，具有与男性相比以几乎两倍的可能性在女性中出现的趋势。

[0016] 在 MS 中，髓鞘，环绕并且保护神经细胞的材料，和 / 或其用于生产的能力被损害，这被称为“脱髓鞘”。这一损害具有减缓或阻塞脑和身体之间的信息的影响，导致随 MS 观察到的症状。脑和 / 或脊髓中弥散的区域中的脱髓鞘和瘢痕化或其他损伤被认为是所述疾病的特征 (Beeton 等人 (2007)Journal of Visualized Experiments 594-604)。这些损伤似乎在 CNS 中改变了神经传导并且诱导随脱髓鞘的斑块的位置而变化的致残性神经功能缺损 (Beeton 等人 (2007)Journal of Visualized Experiments 594-604)。其临床征兆和症状是可变的并且取决于其影响的 CNS 的部分，并且可包括运动、感觉、自律和认知障碍 (Noseworthy 等人 (2000)N Engl J Med 343 :938-52)。

[0017] MS 的一些常见的症状包括 :1) 不可抗拒的疲倦感 ;2) 平衡 - 行走和协调困难 ;3)

视觉问题－复视和失明；4）手和脚的麻木和麻刺感；5）疼痛－轻微和严重两种；肌力损失；6）肌肉僵硬和痉挛；7）情绪不稳－抑郁和焦躁；8）记忆障碍和精神不易集中；语言障碍（The National MS Society Web Site）。

[0018] 进行性残疾是大多数患有MS的患者的命运，尤其是当包括了25年的远景时。一半的MS患者在疾病发作15年内需要拐杖行走。MS是中青年成人中神经功能障碍的主要原因，并且直到最近十年，还没有已知有益的治疗。MS因为非特异性的临床表现而难以诊断，其导致高度结构化的诊断标准的开发，包括若干技术进步，其由MRI扫描、诱发电位和脑脊液（CSF）研究组成。诊断标准通常依赖于在不同时间发生的中枢白质中的散在病灶（scattered lesions）并且没有被其他病因学例如传染、血管病症或自身免疫性病症解释的一般原则。

[0019] MS被广泛认为是一种自身免疫性疾病，由此，未知的一种或多种试剂触发T细胞介导的炎性发作，导致CNS（中枢神经系统）组织的脱髓鞘（Weiner等人（2004）Arch Neurol 61：1613-1615）。自身免疫性反应靶向髓磷脂的证据有力但是不是决定性的。有例如在淋巴细胞或髓磷脂吞噬不存在的情况下早期多发性硬化损伤中伴随小神经胶质细胞活化的原发少突胶质细胞凋亡的描述（Manuel等人（2006）Brain）。

[0020] MS被典型地报道为具有四种疾病模式：复发－缓解型MS（RRMS）、原发进展型MS（PPMS）、进展复发型多发性硬化症（PRMS）和继发进展型MS（SPMS）。估计50％患有RRMS的患者将在10年内发展SPMS，而高达90％的RRMS患者将最终发展SPMS。疾病的每种模式可表表现为轻微、中等或严重。患有RRMS的人表现出确定的恶化的神经机能的发作。这些发作之后是部分或完全的恢复期（缓和），期间不发生疾病发展，（约85％的人最初诊断患有RRMS）。PPMS由从开始缓慢恶化的神经机能表征，没有明显的复发或缓解（约10％的人被诊断为PPMS）。在SPMS中，在RRMS的初始期之后，许多人发展继发进展型疾病过程，其中疾病更加稳定地恶化（约50％的患有RRMS的人在10年内发展这一形式的疾病）。在PRMS中，人们从开始经历稳定恶化的疾病症状，但过程中伴有恶化的神经机能的清楚的发作，同时疾病似乎进行而没有缓解（5％）（The National MS Society web site）。

[0021] 尽管试图减少疾病活性和疾病进展的若干种治疗是可获得的但是目前没有对于MS的治愈。四类六种药物在美国被批准用于治疗MS。FDA批准的疾病治疗包括下列：干扰素类、IIFN-β-1a（REBIF®和AVONEX®）和IIFN-β-1b（BETASERON®）、乙酸格拉默（COPAXONE®）（一种多肽）、那他珠单抗（TYSABRI®）和米托蒽醌（NOVANTRONE®）（一种细胞毒素剂）。其他药物已经被使用，具有不同程度的成功，包括糖皮质激素、甲氨喋呤、环磷酰胺、硫唑嘌呤、静脉注射用（IV）免疫球蛋白。现有的批准的治疗的好处是在MS中相对缓和复发速度和防止残疾。

[0022] REBIF®（干扰素β1a）是由生物技术工艺（其产生与人体中存在的相同的干扰素β）制造的药物。REBIF®据报道每周皮下给药三次（来自FDA批准的REBIF®的处方信息）。

[0023] AVONEX®（干扰素β1a）是由生物技术工艺（其产生与人体中存在的相同的干扰素β）制造的药物。AVONEX®据报道每周肌肉注射一次（来自FDA批准的AVONEX®的处方信息）。

[0024] BETASERON®（干扰素β1b）是由生物技术工艺（其补充与人体中存在的相

同的干扰素 β）制造的药物。BETASERON®据报道每隔一天皮下注射（来自 FDA 批准的BETASERON ®的处方信息）。

[0025] COPAXONE®（乙酸格拉默）是模拟髓磷脂碱蛋白的合成蛋白。尽管机制没有完全了解，但这一药物似乎通过作为髓磷脂诱饵起作用来阻止髓磷脂损害 T 细胞。COPAXONE ®据报道每天皮下注射一次（来自 FDA 批准的COPAXONE®的处方信息）。

[0026] TYSABRI®（那他珠单抗）是实验室生产的单克隆抗体。它被设计以阻碍来自血液的可能有害的免疫细胞从血流，穿过“血脑屏障”进入脑和脊髓的运动。TYSABRI®据报道每四周通过静脉输液给药一次（来自 FDA 批准的TYSABRI®约处方信息）。

[0027] NOVANTRONE®（米托蒽醌）属于称为抗肿瘤剂的普通组药物。它已经被用于治疗某些形式的癌症。它据报道通过抑制 T 细胞、B 细胞和巨噬细胞（它们被推定会导致攻击髓鞘）的活性在 MS 治疗中起作用。（来自 FDA 批准的NOVANTRONE®的处方信息）。

[0028] 现有的对于组合炎性疾病的治疗通常不能提供靶向发病机制的多个要素的多要素方法。例如，对于自身免疫性疾病的许多治疗包括靶向疾病的单一要素，通过阻止细胞增殖或通过抑制免疫响应以阻止炎症。因此，有对于提供通过靶向并调节 PCK 同工型活性来靶向炎性疾病发病机制的多个要素的有效治疗的强烈需要。能够选择性抑制或活化特定 PKC 同工型的特异性靶向的治疗是必需的，并且将提供靶向炎性疾病发病机制的多个要素的治疗方法，同时保持低水平的副作用，例如当局部施用时。因此，如本文所讨论的，减少致炎性细胞因子的分泌和 / 或通过 PKC 同工型调节剂控制免疫调节剂的治疗的开发将在缓和一般局部和系统的炎症以及许多炎性和 / 或自身免疫性疾病上是有益的。

发明内容

[0029] 本公开内容涉及治疗通过向受治疗者施用 PKC 的调节剂例如 PKC ε 或 PKC η 的抑制剂或 PKC δ 的活化剂来治疗炎性疾病和病症。

[0030] 因此，在一个方面中，本公开内容提供治疗受治疗者体内炎性疾病或病症的方法。所述方法包括向受治疗者施用 PKC 的抑制剂，由此治疗受治疗者体内的炎性疾病或病症。在示例性的实施方案中，所述抑制剂是选择性地抑制 PKC α、PKC ε 或 PKC η 的多肽，例如 SEQ ID NO :1-29 的多肽。

[0031] 在另一个方面中，本公开内容提供治疗受治疗者体内炎性疾病或病症的方法。所述方法包括向受治疗者使用 PKC δ 的活化剂，由此治疗受治疗者体内的炎性疾病或病症。在不同的实施方案中，所述活化剂是选择性地活化 PKC δ 的多肽，例如 SEQ ID NO :30-37 的多肽。

[0032] 在另一个方面中，本公开内容提供治疗受治疗者体内瘙痒症的方法。所述方法包括向受治疗者施用 PKC 的抑制剂，由此治疗受治疗者体内的瘙痒症。在不同的实施方案中，所述抑制剂是 PKC α、PKC ε 或 PKC η 的抑制剂。在示例性的实施方案中，所述抑制剂是选择性地抑制 PKC α、PKC ε 或 PKC η 的多肽，例如 SEQ ID NO :1-29 的多肽。

[0033] 在另一个方面中，本公开内容提供治疗受治疗者体内瘙痒症的方法。所述方法包括向受治疗者施用 PKC δ 的活化剂，由此治疗受治疗者体内的瘙痒症。在不同的实施方案

中，所述活化剂是选择性地活化 PKCδ 的多肽，例如 SEQ ID NO：30-37 的多肽。

[0034] 在另一个方面中，本公开内容提供治疗受治疗者体内多发性硬化症的方法。所述方法包括向受治疗者施用 PKCα、PKCη、PKCε 或 PKCε 的抑制剂，由此治疗受治疗者体内的多发性硬化症。在示例性的实施方案中，所述抑制剂是选择性地抑制 PKCα 或 PKCη 的多肽，例如 SEQ ID NO：1-13 和 26-29 的多肽。

[0035] 在不同的方面中，本公开内容提供用于进行本公开内容的方法的套件。在一个实施方案中，所述套件包括 PKC 的抑制剂，例如 PKCα、PKCε 或 PKCη 的抑制剂或 PKCδ 的活化剂，以及施用所述抑制剂或活化剂的说明书。

[0036] 在另一个方面中，本公开内容提供 SEQ ID NO：3 的分离的多肽或者其生理上可接受的盐，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的。示例性的实施方案中，所述多肽是 SEQ ID NO：12。

[0037] 本公开内容还提供了包含 SEQ ID NO：3 的多肽或其生理学上可接受的盐和药学上可接受的载体的药物组合物，其中所述多肽是 N- 豆蔻酰化的。

[0038] 在另一个方面中，本公开内容提供包括 SEQ ID NO：4 的氨基酸序列的分离的多肽或其生理学上可接受的盐。在示例性的实施方案中，所述分离的多肽是 SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：13 的多肽。

[0039] 本公开内容还提供了包括分离的多肽（其包含 SEQ ID NO：4 的氨基酸序列）或其生理学上可接受的盐的药物组合物。

[0040] 在另一个方面中，本公开内容提供选自 SEQ ID NO：30-33 的分离的多肽或其生理学上可接受的盐。在示例性的实施方案中，所述分离的多肽是 SEQ ID NO：34-37 的多肽。

[0041] 本公开内容还提供了包括分离的多肽（其包含 SEQ ID NO：30-33 的氨基酸序列）或其生理学上可接受的盐的药物组合物。

附图说明

[0042] 图 1 是描述同工型的 PKC 家族的不同成员的图像表示。

[0043] 图 2 是描述调节表征银屑病的角质化细胞结构完整性的 PKCα 的抑制的一系列图像表示。皮肤组织被石蜡包埋并且用苏木精和曙红 (H&E) 一般组织学染料或用于各种皮肤层的不同标记（包括用于基底层的角蛋白 14(K14)、用于棘层的角蛋白 1(K1)，用于角质化细胞迁移的角蛋白 6(K6) 和用于角质化细胞增殖的 PCNA) 染色。结果证实 PKCα 抑制之后皮肤性质的正常化（左列是野生型 (WT)，右列是 PKCα 敲除）。

[0044] 图 3 是用 IMQ 治疗后将在不同的敲除的小鼠中的起鳞的严重度与对照相比较的直方图。

[0045] 图 4 是显示用 IMQ 治疗后与对照相比较敲除小鼠中起鳞的一系列图像表示。

[0046] 图 5 是显示丝聚蛋白 (Fil)、兜甲蛋白 (Lor) 和角蛋白 1(K1) 的表达的一系列图像表示。

[0047] 图 6A-B 是体外和体内评估角质化细胞增殖的一系列图像和图解表示。图 6A 是显示 PCNA 表达的图像表示。图 6B 是将用 HO/02/10 处理的 PCNA 阳性细胞的百分比与对照比较的直方图。

[0048] 图 7 是显示丝聚蛋白 (Fil)、兜甲蛋白 (Lor)、角蛋白 1(K1)、PCNA 和角蛋白 14(K14) 的表达的一系列图像表示。

[0049] 图 8 是显示不同肽 PKCα 抑制剂的角质化细胞中蛋白表达数据的概述的图解表示。

[0050] 图 9 是将用 HO/02/10 处理的皮肤样品的破裂压力与对照比较的直方图。

[0051] 图 10 是比较对受伤后 4 和 9 天后 B57BL/6J 小鼠体内 HO/02/10 对皮肤伤口的抗炎效果的直方图。

[0052] 图 11 是比较用 HO/02/10 处理的脾细胞中的细胞因子分泌的直方图。

[0053] 图 12 是显示在皮肤的血管中的基底角质化细胞和上皮细胞中 ICAM 表达的一系列图像表示。

[0054] 图 13 是显示在皮肤的血管中的基底角质化细胞和上皮细胞中 ICAM 表达的一系列图像表示。

[0055] 图 14 是比较在伤口边缘显示阳性 ICAM-1 染色的小鼠的百分比的直方图。

[0056] 图 15 是比较 Iba-1 阳性染色细胞的每个域中细胞数目的直方图。

[0057] 图 16A-B 是显示角质化细胞中 MAC-2 表达的一系列图像和图解表示。图 16A 是显示 MAC-2 表达的一系列染色。图 16B 是将 MAC-2 阳性染色细胞的每个域中细胞数目与对照比较的直方图，每 mL1、10 和 100 微克 P KCα 抑制剂（从左边）。

[0058] 图 17A-D 是比较在用 HO/02/10 处理的 LPS 活化的角质化细胞中的细胞因子分泌的一系列直方图。图 17A 比较 IL-6、IL-1α，和 GM-CSF 的分泌。图 17B 比较 G-CSF 的分泌。图 17C 比较 MIP-2 的分泌。图 17D 比较 KC 的分泌。

[0059] 图 18A-C 是比较在用 HO/02/10 处理的 LPS 活化的巨噬细胞中的细胞因子分泌的一系列直方图。图 18A 比较 G-CSF、KC 和 MIP-2 的分泌。图 18B 比较 IL1α（直方图对的左边）和 TNFα（直方图对的右边）的分泌。图 18C 比较 IL1β（直方图对的左边）和 IL12（直方图对的右边）的分泌。

[0060] 图 19 是比较用肽 PKCα 抑制剂处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0061] 图 20 是比较用肽 PKCα 抑制剂处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0062] 图 21A-B 是比较用肽 PKCα 抑制剂处理的 TNFα 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。图 21A 比较 ILIA 的分泌。图 21B 比较 IL-6 的分泌。

[0063] 图 22A-B 是比较用肽 PKCα 抑制剂处理的 TNFα 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。图 22A 比较 G-CSF 的分泌。图 22B 比较 GM-CSF 的分泌。

[0064] 图 23A-B 是比较用肽 PKCα 抑制剂处理的 TNFα 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。图 23A 比较 MIP-2 的分泌。图 23B 比较 IP-10 的分泌。

[0065] 图 24A-B 是比较用肽 PKCα 抑制剂处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。图 24A 比较 IL-1A 的分泌。图 24B 比较 IL-6 的分泌。

[0066] 图 25A-B 是比较用肽 PKCα 抑制剂处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。图 25A 比较 TNFα 的分泌。图 25B 比较 IP-10 的分泌。

[0067] 图 26A-B 是比较用肽 PKCα 抑制剂处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。图 26A 比较 G-CSF 的分泌。图 26B 比较 GM-CSF 的分泌。

[0068] 图 27A-B 是比较用肽 PKCα 抑制剂处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子

分泌的直方图。图 27A 比较 KC 的分泌。图 27B 比较 MIP-2 的分泌。

[0069] 图 28 是显示用 HO/02/10 处理之后炎性阶段期间 T 细胞向真皮和表皮的渗入的下调的一系列图像和图解表示。图 28A 是使用抗 CD3 抗体的一系列染色。

[0070] 图 28B 是对 CD3 阳性染色细胞的每个域中的细胞的数目比较的直方图。

[0071] 图 29 是显示使用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1 的处理对不同细胞类型的效果的概述的图解表示。

[0072] 图 30 是显示 HO/02/10 对银屑病相关通路的整体效果的概要的图解表示。

[0073] 图 31A-B 是显示用 HO/02/10 处理之后炎性阶段期间嗜中性粒细胞向真皮和表皮的渗入的下调的一系列图像和图解表示。图 31A 是使用嗜中性粒细胞特异性抗体的染色。图 31B 是比较嗜中性粒细胞特定阳性染色细胞的每个域中的细胞的数目的直方图。

[0074] 图 32 是用 Ser176/180 抗体染色的 SDS PAGE 的图像表示。

[0075] 图 33 是显示随处理的时间过程的 EAE 得分的图解表示。

[0076] 图 34 是显示随处理的时间过程的 EAE 得分的图解表示。

[0077] 图 35 是显示随处理的时间过程的 EAE 得分的图解表示。

[0078] 图 36 是显示随处理的时间过程的 EAE 得分的图解表示。

[0079] 图 37 是显示随处理的时间过程的 EAE 得分的图解表示。

[0080] 图 38 是用于点刺试验模型以评估 MPDY-1 对瘙痒症的效果的组胺的作用机制的图像表示。

[0081] 图 39 是显示用组胺注射并且用或不用 MPDY-1 处理的受治疗者的前臂的图像表示。

[0082] 图 40 是显示用组胺注射并且用或不用 MPDY-1 处理的受治疗者的前臂的图像表示。

[0083] 图 41 是显示用组胺注射并且用或不用 MPDY-1 处理的受治疗者的前臂的图像表示。

[0084] 图 42 是显示用组胺注射并且用或不用 MPDY-1 处理的受治疗者的前臂的图像表示。

[0085] 图 43 是在 PKCα 抑制剂 MPDY-1 和 PKCδ 活化剂 DAP-1(SEQ ID NO:34) 的体外免疫测试中收集的数据的表（未显示所有数据）。

[0086] 图 44 是在用 TNFα 和抑制剂处理的角质化细胞中细胞因子分泌的 PKCδ 活化剂 DAP-1(SEQ ID NO:34) 的结果的列表概述。

[0087] 图 45 是显示比较用 LPS 或 TNFα 和不同 PKCε 抑制剂处理的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0088] 图 46 是显示比较用 LPS 或 TNFα 和不同 PKCε 抑制剂处理的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0089] 图 47 是显示比较用 LPS 或 TNFα 和不同 PKCε 抑制剂处理的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0090] 图 48 是显示比较用 LPS 或 TNFα 和不同 PKCε 抑制剂处理的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0091] 图 49 是在用 LPS 或 TNFα 和抑制剂处理的角质化细胞中细胞因子分泌的各种

PKC ε 抑制剂的结果的列表概述。

[0092] 图 50 是比较用包括 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO.7)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ ID NO :9) 和 PPDY(SEQ ID NO :10) 的肽 PKC α 抑制剂处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0093] 图 51 是比较用包括 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO.7)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ ID NO :9) 和 PPDY(SEQ ID NO :10) 的肽 PKC α 抑制剂处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0094] 图 52 是比较用包括 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO.7)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ ID NO :9) 和 PPDY(SEQ ID NO :10) 的肽 PKC α 抑制剂处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0095] 图 53 是比较用包括 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO.7)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ ID NO :9) 和 PPDY(SEQ ID NO :10) 的肽 PKC α 抑制剂处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0096] 图 54 是比较用包括 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO.7)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ ID NO :9) 和 PPDY(SEQ ID NO :10) 的肽 PKC α 抑制剂处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0097] 图 55 是比较用包括 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO.7)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ ID NO :9) 和 PPDY(SEQ ID NO :10) 的肽 PKC α 抑制剂处理的 TNF α 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0098] 图 56 是比较用包括 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO.7)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ ID NO :9) 和 PPDY(SEQ ID NO :10) 的肽 PKC α 抑制剂处理的 TNF α 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0099] 图 57 是比较用包括 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO.7)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ ID NO :9) 和 PPDY(SEQ ID NO :10) 的肽 PKC α 抑制剂处理的 TNF α 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0100] 图 58 是比较用包括 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO.7)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ ID NO :9) 和 PPDY(SEQ ID NO :10) 的肽 PKC α 抑制剂处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0101] 图 59 是比较用肽 PKC α 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO :6) 处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0102] 图 60 是比较用肽 PKC α 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO :6) 处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0103] 图 61 是比较用肽 PKC α 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO :6) 处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0104] 图 62 是比较用肽 PKC α 抑制剂 AWOT-1(SEQ ID NO :7) 处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0105] 图 63 是比较用肽 PKC α 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO :7) 和 AIP-2(SEQ ID NO :8) 处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0106] 图 64 是比较用肽 PKC α 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AWOT-1(SEQ ID NO :7) 和

AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0107] 图 65 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0108] 图 66 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 TNFα 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0109] 图 67 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 TNFα 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0110] 图 68 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 TNFα 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0111] 图 69 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 TNFα 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0112] 图 70 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 TNFα 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0113] 图 71 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0114] 图 72 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0115] 图 73 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0116] 图 74 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0117] 图 75 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0118] 图 76 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0119] 图 77 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0120] 图 78 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、AWOT-1(SEQ ID NO:7) 和 AIP-2(SEQ ID NO:8) 处理的 IL-17A 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0121] 图 79 是比较用肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6) 和 PDY-1(SEQ ID NO:13) 处理的 LPS 活化的角质化细胞中细胞因子分泌的直方图。

[0122] 图 80 是用 LPS、TNFα 或 IL-17A 和抑制剂处理的角质化细胞中细胞因子分泌的不同的 PKCα 抑制剂的结果的列表概述。

具体实施方式

[0123] 本公开内容是以 PKC 同工型的调节剂可作为对炎性疾病和病症的有效治疗施用的原始发现为基础的。PKC 同工型参与皮肤细胞以及免疫系统的许多组件的主要细胞过程使得它成为治疗炎性病理的可能的靶。本文显示的数据，证实 PKC 家族同工型调节与炎症和炎性疾病有关的皮肤和免疫细胞中的活化过程。

[0124] 应当理解的是这一公开内容不限于所描述的特定的组合物、方法和实验条件，像这样的方法和条件可以变化。还应当理解的是本文所用的术语仅是为了描述特定实施方案的目的而并非旨在限制，本公开内容的范围将仅限于所附的权利要求。

[0125] 参照附图和所附的描述可更好的理解根据本公开内容的方法的原理和操作。

[0126] 如本说明书和所附的权利要求中所使用的，除非上下文明确指出，单数形式的名词和“该”包括复数引用。因此，例如，对“该方法”的引用包括一种或多种方法和 / 或当阅读本公开内容等时对于本领域中的那些技术人员来说显而易见的本文描述的类型的步骤。

[0127] 除非另外说明，本文所使用的所有技术和科学术语具有与本公开内容所属的领域中一名技术人员通常理解的相同的含义。尽管与本文描述的那些相似或等同的任何方法和材料可被用于本公开内容的实行或测试，但现在描述一些优选的方法和材料。

[0128] 如本文所用的，术语“受治疗者”是指哺乳动物受治疗者。就此而论，预想哺乳动物的目中的任何动物的治疗。这些动物包括但不限于马、猫、犬、兔、小鼠、山羊、绵羊、非人类灵长类和人类。因此本公开内容的方法预期在兽医学应用以及人类用途中使用。

[0129] 本文中受治疗者的“治疗”是指治疗性治疗和预防性 (prophylactic) 或预防性 (preventative) 措施两者。需要治疗的那些包括已经患有炎性疾病或病症的那些以及其中炎性疾病或病症有待被预防的那些。因此，受治疗者可以已经被诊断患有炎性疾病或病症或可以对炎性疾病或病症易感染或敏感。

[0130] 如本文所用的，“炎性疾病或病症”预期包括具有与 PKC 家族同工型调节有关的病因学的任何疾病和病症。这些疾病包括但不限于瘙痒，皮肤炎症，银屑病，多发性硬化症，风湿性关节炎，骨关节炎，系统性红斑狼疮，桥本甲状腺炎，重症肌无力，糖尿病 I 或 II 型，哮喘，炎性肺损伤，炎性肝损伤，炎性肾小球损伤，特应性皮炎，变应性接触性皮炎，刺激性接触性皮炎，脂溢性皮炎，干燥综合征，角结膜炎，葡萄膜炎，炎性肠病，克罗恩病，溃疡性结肠炎，关节、皮肤或肌肉的炎性疾病，急性或慢性特发性炎性关节炎，肌炎，脱髓鞘疾病，慢性阻塞性肺疾病，间质性肺疾病，间质性肾炎和慢性活动性肝炎。

[0131] 炎性疾病或病症的“症状”是受治疗者经历的并且指示炎性疾病或病症的的任何病态的现象或在结构、功能或感觉上从正常的偏离。

[0132] 表达“有效的量”是指对预防、缓解或治疗炎性疾病或病症有效的 PKC 同工型的抑制剂或活化剂（例如 SEQ ID NO :1-37 的多肽）的量。这些有效的量通常将导致炎性疾病或病症的征象、症状和 / 或其他指示的改善。例如，在皮肤炎症中，有效的量导致肿胀和 / 或炎症的减少和 / 或发红的清除。对于瘙痒症，有效的量可导致发红和 / 或瘙痒的清除。对于 MS，有效地量可导致减少复发率、预防残疾、减少脑 MRI 损伤的数目和 / 或体积，改善 25 步定时行走、延长疾病进行的时间等等。

[0133] 如本文所用的，本文所用的术语“PKC 同工型”涵盖所有的 PKC 同工型，包括 PKCα、PKCβ、PKCδ、PKCε、PKCη、PKCCζ、PKCγ、PKCθ 和 PKCλ。

[0134] 短语“调节 PKC 同工型的表达和 / 或活性”涉及增加或减少 PKC 同工型的表达和 / 或活性。表达的增加导致 PKC 同工型的产生增加。

[0135] 本文中术语“活化剂”被用于描述增加 PKC 同工型的表达和 / 或活性的分子。本文中术语“抑制剂”被用于描述抑制 PKC 同工型的表达和 / 或活性的分子。除了别的之外，磷酰基转移区、假底物结构域、佛波酯结合序列和磷酸化位点可以是用于调节同工酶特异

性 PKC 活性的靶。

[0136] PKC 同工型的“假底物区”或自体抑制结构域本文中被定义为实质上不具有可磷酸化的残基的激酶的底物的共有序列。假底物结构域位于调节区，与底物识别基序十分相似，其封闭识别位点并且防止磷酸化。因此 PKC 同工型的抑制性肽（例如本公开内容的多肽）通过用丙氨酸 (A) 替代丝氨酸 (S) 或苏氨酸 (T) 的可磷酸化的残基来获得。PKCδ 是已知的具有能够使同工型在 C2 结构域、PKCδ 的保守结构域 2 上活化的另外的结合位点的仅有的 PKC 同工型。

[0137] PKC 是调节角质化细胞增殖、迁移和分化的主要的信号通路。已知许多 PKC 同工型在皮肤组织中表达并且它们的表达 / 活性似乎在细胞增殖和 / 或细胞迁移和 / 或细胞分化中起作用。然而，特异性地调节它们的表达和活性以实行炎性疾病的治疗是之前未知的并且在本公开内容中被证实。

[0138] 总之，本文显示的结果证实调节不同 PKC 同工型的表达和 / 或活性在炎症和炎性疾病的治疗中是有效的。

[0139] 因此，在一个方面中，本公开内容提供治疗受治疗者体内炎性疾病或病症的方法。所述方法包括向受治疗者施用 PKC 的抑制剂，由此治疗受治疗者体内的炎性疾病或病症。在示例性的实施方案中，所述抑制剂是选择性地抑制 PKCα、PKCε 或 PKCη 的多肽，例如 SEQ ID NO :1-29 的多肽。

[0140] 如实施例中所公开的，PKC 同工型抑制剂的施用已经显示在各种不同的皮肤细胞类型（不仅仅是皮肤细胞，即在其他组织中存在并且有活性的巨噬细胞）中减少致炎性细胞因子、趋化因子和 Th1 细胞因子的分泌。此外，PKC 同工型的施用减少活化的因子（例如角质化细胞和内皮细胞上的 ICAM-1 和巨噬细胞上的 mac-2）的表达。此外，PKCα 抑制剂已经发现在皮肤炎症的治疗中有效并且使银屑病的炎性皮肤模型中的炎性症状减弱。如实施例中所进一步讨论的，PCK 同工型的抑制剂的作用的机制已经被阐明，显示它们作为对炎性疾病和病症的有效治疗的用途。例如，PCK 同工型的肽抑制剂已经显示 :1) 通过减少终末分化使表皮分化标记表达正常化 ;2) 减弱不正常的过度增殖 ;3) 调节皮肤结构并增加皮肤强度 ;和 / 或 4) 如所概述的，通过在炎性过程的不同步骤中差别地影响不同细胞类型的补充和活化下调炎症，例如，图 30 中。

[0141] 同样，如实施例中所公开的，PKCδ 的活化剂同样已经显示减少各种不同皮肤细胞类型中致炎性细胞因子的分泌。因此，在另一个方面中，本公开内容通过向受治疗者施用 PKCδ 的活化剂，由此治疗受治疗者体内炎性疾病或病症，提供了治疗受治疗者体内炎性疾病或病症的方法。在不同的实施方案中，活化剂是选择性地活化 PKCδ 的多肽，例如 SEQ ID NO :30-37 的多肽。

[0142] 此外，如实施例中所公开的，PKCα 抑制剂和 PKCη 抑制剂的施用已经发现减弱 MS 的症状。同样地，在另一个方面中，本公开内容提供治疗受治疗者体内多发性硬化症的方法。所述方法包括向受治疗者施用 PKCα 或 PKCη 的抑制剂，由此治疗受治疗者体内的多发性硬化症。

[0143] 此外，PKC 同工型抑制剂的施用已经发现在瘙痒症的治疗中有效。同样地，在另一个方面中，本公开内容提供治疗受治疗者体内瘙痒症的方法。所述方法包括向受治疗者施用 PKC 的抑制剂，由此治疗受治疗者体内的瘙痒症。

[0144] 实施例和附图显示表明 PKCδ 的活化剂抑制主要致炎性细胞因子（例如 IL-1，IL-6 和 TNFα）分泌的能力的数据。多种 PKC 同工型抑制剂显示相似的数据，包括 PKCα，PKCε 和 PKCη。如实施例中所示，包含本公开内容的 PKC 抑制剂和活性剂的制剂，已经显示抑制主要致炎性细胞因子的分泌。就瘙痒症而言，不受特定理论的限制，人们相信，减少致炎性剂的水平防止了附近血管中内皮细胞的活化，并因此向银屑病斑块补充嗜中性粒细胞、巨噬细胞和 T 细胞。而且，TH1 和 Th17 细胞显示通过特定细胞因子的分泌而与银屑病的发病机制有关联，其似乎分别增强炎症或促使角质化细胞过量增殖。上文提及的促炎性细胞因子对于这些 Th17 细胞的发育 (Mangan 等人 (2006)Nature 441 :231-234 ;Bettelli 等人 (2006)Nature 441 :235-238) 和 Th1 细胞活性来说是必需的。经由 PKC 抑制剂和活化剂降低它们的分泌显示它们在炎性病症和银屑病的有效治疗中的用途。

[0145] 在不同的实施方案中，PKC 同工型的抑制剂是 PKC 的假底物区的抑制剂并且是多肽，而 PKC 同工型的活化剂同样是多肽。术语“多肽”、“肽”或“蛋白”在本文可交换使用，以指明一系列彼此通过相邻残基的 α 氨基和羧基基团之间的肽键连接的线性氨基酸残基。

[0146] 在不同的实施方案中，可使用的肽 PKC 活化剂和抑制剂的实例包括但不限于如表 1 中所示的 SEQ ID NO :1-5、14-19、26、27 和 30-33 的肽或其生理学上可接受的盐，以及显示具有特定的修饰或末端的保护基团的表 1 的 SEQ ID NO :6-13、20-25、28、29、34-37 的肽。

[0147] 表 1 :PKC 同工型抑制剂和活化剂肽

[0148]

氨基酸序列	SEQ ID NO
PKCα抑制剂	
Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala	1
Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Leu-Arg-Gln	2
Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Leu	3
Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Arg-Gln	4
Thr-Leu-Asn-Pro-Gln-Trp-Glu-Ser	5
豆蔻酰基-Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Leu-Arg-Gln-OH	6
H-Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Leu-Arg-Gln-OH	7
豆蔻酰基-Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Leu-OH-三氟乙酸盐	8
H-Thr-Leu-Asn-Pro-Gln-Trp-Glu-Ser-OH	9
棕榈酰基-Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Leu-Arg-Gln-OH-乙酸盐	10
棕榈酰基-Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Arg-Gln-OH	11
豆蔻酰基-Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Leu-OH	12
H-Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala-Leu-Arg-Gln-OH-乙酸盐	13

[0149]

PKCε抑制剂	
Glu-Ala-Val-Ser-Leu-Lys-Pro-Thr	**14**
Pro-Tyr-Ile-Ala-Leu-Asn-Val-Asp	**15**
Pro-Ala-Trp-His-Asp	**16**
Leu-Glu-Pro-Glu- Ala-Ala- Ala-Ala- Ala-Ala-Gly-Lys	**17**
His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp	**18**
Val-Tyr-Val-Ile-Ile-Asp-Leu	**19**
H-Glu-Ala-Val-Ser-Leu-Lys-Pro-Thr-OH	**20**
H-Pro-Tyr-Ile-Ala-Leu-Asn-Val-Asp-OH	**21**
H-Pro-Ala-Trp-His-Asp-OH	**22**
H-Leu-Glu-Pro-Glu- Ala-Ala-Ala-Ala- Ala-Ala-Gly-Lys-OH	**23**
H-His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp-OH	**24**
H-Val-Tyr-Val-Ile-Ile-Asp-Leu-OH	**25**
PKCη抑制剂	
Thr-Arg-Lys-Arg-Gln-Arg-Ala-Met-Arg-Arg-Arg-Val-His-Gln-Ile-Asn-Gly	**26**
Lys-Arg-Thr-Leu-Arg	**27**
豆蔻酰基-Thru-Arg-Lys-Arg-Gln-Arg-Ala-Met-Arg-Arg-Arg-Val-His-Gln-Ile-Asn-Gly-OH	**28**
豆蔻酰基-Lys-Arg-Thr-Leu-Arg-OH	**29**

[0150]

PKCδ活化剂	
His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp	**30**
His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp-His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp	**31**
Met-Arg-Ala-Ala-Glu-Ala-Ala-Ala-Ala-Glu-Pro-Met	**32**
Val-Tyr-Val-Ile-Ile-Asp-Leu- His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp	**33**
H-His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp-His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp-OH	**34**
H-Met-Arg-Ala-Ala-Glu-Ala-Ala-Ala-Ala-Glu-Pro-Met-OH	**35**
H-His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp-OH	**36**
H-Val-Tyr-Val-Ile-Ile-Asp-Leu- His-Phe-Glu-Asp-Trp-Ile-Asp-OH	**37**
PKCζ抑制剂	
Ser-Ile-Tyr-Arg-Arg-Gly-Ala-Arg-Arg-Trp-Arg-Lys-Leu	**38**
豆蔻酰基-Ser-Ile-Tyr-Arg-Arg-Gly-Ala-Arg-Arg-Trp-Arg-Lys-Leu-OH	**39**

[0151] 在不同的实施方案中，肽 PKC 抑制剂或活化剂通常包含 6 和 12 个之间的氨基酸，但是在长度上可以更长或更短。在不同的实施方案中，肽 PKC 抑制剂或活化剂长度上可在 6 至 45、6 至 40、6 至 35、6 至 30、6 至 25、6 至 20、6 至 15，或 6 至 10 个氨基酸的范围内。在一个实施方案中，肽包括 6、7、8、9、10、11、12、13、14 或 15 个氨基酸。

[0152] 在不同的实施方案中，肽 PKC 抑制剂活化剂可以是 N- 酰化的，优选地被来自 C12-C20 脂肪酸的酰基基团（例如 C14 酰基（豆蔻酰基）或 C16 酰基（棕榈酰基））酰化。

[0153] 通常，肽 PKCα 抑制剂包括常见的基序序列 Phe-Ala-Arg-Lys-Gly-Ala(SEQID NO:1)。可选择地，在另一个实施方案中，PKCα 抑制剂包括常见的基序序列 Thr-Leu-Asn-Pro-Gln-Trp-Glu-Ser(SEQ ID NO:5)。

[0154] 当通过确切的序列或基序序列定义肽 PKC 抑制剂和活化剂时，所属领域技术人员将理解，具有相似序列的肽可具有相似的功能。因此，具有基本上相同的序列或具有与表 1 中的 PKC 抑制剂或活化剂基本上同一或相似序列的肽会被涵盖。如本文所使用的，术语“基本上相同的序列”包括一类肽，所述肽包含与 SEQ ID NO:1-37 定义的序列具有至少 60+%（意指百分比六十或更高），优选地 70+%，更优选地 80+%和最优选地 90+%、95+%或 98+%的序列同一性，并且抑制或活化 PKC 同工型活性。

[0155] 两个多肽是基本上同一的进一步的指示是一条肽与第二条肽免疫交联反应。因此，当例如两条肽仅因保守取代而不同时，多肽通常与第二条多肽基本上同一。

[0156] 就蛋白或肽而言，术语“保守取代”用于反映基本上没有改变分子活性（例如抗微

生物活性）的氨基酸取代。通常保守的氨基酸取代包括一种氨基酸取代具有相似化学性质（例如电荷或疏水性）的另一种氨基酸。下列六组每组包含彼此为典型的保守取代的氨基酸：1) 丙氨酸 (A)、丝氨酸 (S) 苏氨酸 (T)；2) 天门冬氨酸 (D) 谷氨酸 (E)；3) 天冬酰胺 (N)、谷氨酰胺 (Q)；4) 精氨酸 (R)、赖氨酸 (K)；5) 异亮氨酸 (I)、亮氨酸 (L)、蛋氨酸 (M)、缬氨酸 (V)；和 6) 苯丙氨酸 (F)、酪氨酸 (Y) 和色氨酸 (W)。

[0157] 术语“氨基酸”以其最广义被使用，包括天然存在的氨基酸以及包含氨基酸类似物的非天然存在的氨基酸。由这一广义来看，所属领域的技术人员将知道本文对氨基酸的引用包括，例如天然存在的成蛋白的 (L)- 氨基酸、(D)- 氨基酸、化学修饰的氨基酸例如氨基酸类似物、天然存在的非成蛋白的氨基酸例如正亮氨酸，和具有本领域中已知为氨基酸的特征的性质的化学合成的化合物。如本文所用的，术语“成蛋白的”表明氨基酸可通过代谢途径掺入细胞中的蛋白中。

[0158] 在两条多肽序列的情况下，术语“同一性”或百分比“同一性”是指，如使用序列比对算法或通过目测测量，当以最大一致性比较和比对时，相同或者具有特定的百分比的相同的氨基酸残基的两条或更多条序列或子序列。

[0159] 短语“基本上同一的”在两个多肽的情况下是指，如使用序列比对算法或通过目测测量的，当以最大一致性比较和对比时，具有至少 60+%，优选地 80+%，最优选地 90-95+% 的氨基酸序列同一性的两条或更多条序列。

[0160] 如本领域中熟知的，例如可通过 Smith & Waterman((1981)Adv Appl Math2：482) 的局部同源性算法，通过 Needleman & Wunsch((1970)J Mol Biol48：443) 的同源性比对算法，通过 Pearson & Lipman((1988)Proc Natl Acad Sci USA85：2444) 的对相似性方法的探索，通过经由目测的这些算法的计算机实现，或其他有效的方法，进行用于比较的序列的最佳比对。

[0161] 肽 PKC 抑制剂或活化剂可具有修饰的氨基酸序列或非天然存在的末端修饰。对肽序列的修饰可包括，例如氨基酸的加入、缺失或取代，条件是通过这些修饰产生的肽保留 PKCα 抑制活性。另外，肽可以具有游离末端或具有氨基保护（例如 N- 保护的）和 / 或羧基保护（例如 C- 保护的）末端的结构式存在。保护基团包括：(a) 芳香族聚氨酯类保护基团，其包括苄氧羰基、2- 氯代苄氧羰基、9- 芴甲氧羰基、异烟肼氧羰基和 4- 甲氧基苄氧羰基；(b) 脂肪族聚氨酯类保护基团，其包括叔丁氧羰基、叔戊氧羰基、异丙氧基羰基、2-(4- 联苯基)-2- 丙氧羰基、烯丙氧基羰基和甲基磺酰基乙氧基羰基 (methylsulfonylethoxycarbonyl)；(c) 环烷基聚氨酯类保护基团，其包括金刚烷氧羰基、环戊氧羰基、环己氧羰基、异冰片氧基羰基；(d) 酰基保护基团或磺酰基保护基团。另外的保护基团包括苄氧羰基、叔丁氧羰基、乙酰基、2- 丙基戊酰基、4- 甲基戊酰基、叔丁基乙酰基、3- 环己基丙酰基、正丁烷磺酰基、苄基磺酰基、4- 甲基苯磺酰基、2- 萘磺酰基、3- 萘磺酰基和 1- 樟脑磺酰基。

[0162] 在不同的实施方案中，肽 PKC 同工型抑制剂和活化剂可通过任何适合的方式施用，包括局部的、肠胃外的、皮下的、腹膜内的、肺内的、鼻内的、静脉内的和 / 或病灶内的施用，以便治疗受治疗者。然而，在示例性的实施方案中，肽被配制用于局部施用，例如以液体、霜剂、凝胶、软膏、泡沫喷雾等等。

[0163] 通过例如将具有所期望的纯度的 PKC 同工型抑制剂或活化剂与任选地药学

上可接受的载体、赋形剂和/或稳定剂(参见,例如 Remington′ s Pharmaceutical Sciences(雷明顿药学),第 16 版,Osol,A 编辑 (1980)) 混合来制备根据本公开内容使用的 PKC 同工型抑制剂或活化剂的治疗制剂。可接受的载体、赋形剂或稳定剂是在所使用的剂量和浓度对受体是无毒性的,并且可包括缓冲液例如磷酸、柠檬酸和其他有机酸;抗氧化剂包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵,氯己双铵,氯化苯甲烃铵、氯化苄乙氧铵,苯酚、丁基或苄基醇,对羟基苯甲酸烷基酯例如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯,儿茶酚,间苯二酚,环己醇,3- 戊醇和间甲酚);低分子量(小于约 10 个残基)多肽;蛋白,例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸例如甘氨酸、谷氨酰胺、天门冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、双糖和其他碳水化合物包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂例如 EDTA;糖类例如蔗糖,甘露醇,海藻糖或山梨醇;成盐反离子,例如钠;金属配合物(例如,锌 - 蛋白复合物)和/或非离子表面活性剂,例如 TWEEN™、PLURONICS™ 或聚乙二醇 (PEG)。

[0164] 在示例性的实施方案中,PKC 同工型抑制剂或活化剂是以霜剂配制的。因为 PKC 酶的活性,PKC 同工型的抑制剂和活化剂对于皮肤炎症和其他炎性疾病的局部治疗来说是理想的,可被特异地靶向。特定的 PKC 酶的抑制或活化通过以较低的浓度选择性地调节 PKC 同工型而不影响其它的 PKC 同工型的能力来获得。

[0165] 局部施用的示例性的制剂公开于实施例 4 中,其中肽 MPDY-1(SEQ ID NO:6) 被配制为用于局部施用的霜剂。然而,本领域技术人员应当理解的是可进行制剂的变化而保留霜剂的必需的特征,例如粘度、稳定性、非毒性等等。同样,本领域技术人员应认可的是制剂可被用作本公开内容的肽 PKC 抑制剂或活化剂中的任一种的载体。

[0166] 在另一个实施方案中,制品,例如包含对实行本公开内容的治疗方法有用的材料的套件被提供。在不同的实施方案中,所述套件包括 PKC 同工型活化剂或抑制剂,即如本文所公开的肽 PKC 同工型抑制剂或活化剂,和用于向受治疗者施用所述活性剂或抑制剂的说明书。

[0167] 术语“说明书”或“包装说明书”用来意指通常包括在治疗产品的商业包装中的说明书,其包含关于适应征、用法、剂量、施用、禁忌症、与所述包装的产品组合的其他治疗产品和/或关于使用这些治疗产品的警告等等的信息。

[0168] 如本文所公开的,PKCα 的抑制剂可被配制用于施用的特定路线。像这样,套件可包括一种制剂,所述制剂含有被包含在适当容器(例如,诸如管、瓶、管形瓶、注射器等等)中的 PKCα 的抑制剂。所述容器可以由各种材料例如玻璃或塑料形成。所述容器装有或含有对治疗炎性疾病有效的组合物,并且可具有无菌的存取口(例如所述容器可以是静脉用溶液袋或具有可被皮下注射针头穿刺的塞子的管型瓶)。所述制剂中的至少一种组分是 PKC 同工型的抑制剂或活化剂。标签或包装说明书指示,所述组合物按照关于给药的量和间隔的特别指导用于治疗遭受炎性疾病痛苦的受治疗者体内的炎性疾病来提供包括 PKC 同工型的抑制剂或活性剂的制剂。所述制品可进一步包括从商业和使用者立场所期望的其他材料,包括其他的缓冲液、稀释剂、滤器、针头和注射器。

[0169] 应当理解的是,对于需要治疗的任何特定的受治疗者给药的特定的剂量水平和频率可变化,并且将取决于各种因素,包括所使用的 PKC 同工型抑制剂或活化剂的活性、所述化合物的新陈代谢稳定性和作用的长度、年龄、体重、健康情况、性别、饮食、施用的方式和

时间、特定病况的严重度和经历治疗的宿主。然而通常，剂量将大约为对于特定PKC同工型抑制剂或活化剂的施用的已知方法来说是典型的。本领域的技术人员可容易地确定最佳剂量、给药方法和重复率。确切的制剂和剂量可由各个医师考虑患者的病况而选择（(Fingl等人" The Pharmacological Basis of Therapeutics(治疗的药理学基础）"，第1章，第1页(1975)）。

[0170] 因此，根据待被治疗的病况的严重度和反应性，给药可以是单次或重复的施用，伴随持续几天至几星期的治疗的过程或直到实现治愈或获得病症的减少。

[0171] 在不同的实施方案中，当PKC同工型抑制剂或活化剂是肽时，以在组合物中0.001μg/ml和100μg/ml之间的浓度提供所述肽。例如，浓度可以在0.001μg/ml和100μg/ml、0.01μg/ml和50μg/ml、0.01μg/ml和10μg/ml、0.01μg/ml和1μg/ml以及0.01和0.5μg/ml之间。

[0172] 在一个给药程序中，所述方法包括局部地向受治疗者施用肽PKC同工型抑制剂或活化剂，例如作为霜剂。所述肽以从约1μg/ml至约1000μg/ml、1μg/ml至约500μg/ml、1μg/ml至约100μg/ml、1μg/ml至约10μg/ml或者10μg/ml至约100μg/ml的浓度局部应用。每天至少施用一次所述肽直到病况被治疗。

[0173] 在另一个给药程序中，所述方法包括向受治疗者经肠道外施用、皮下施用或静脉内施用肽PKC同工型抑制剂或活化剂。所述肽以从约1μg/ml至约1000μg/ml、1μg/ml至约500μg/ml、1μg/ml至约100μg/ml、1μg/ml至约10μg/ml或者10μg/ml至约100μg/ml的浓度应用。至少每天、每周、每两周或每月一次施用所述肽直到病况被治疗。

[0174] 提供下列实施例以进一步说明本公开内容的实施方案，但是并不意为限制范围。尽管它们是可被使用的那些中的典型，但是可替代地使用本领域技术人员已知的其他操作、方法或技术。

[0175] 实施例1

[0176] PKCα的抑制调节表征炎性皮肤病症银屑病的角质化细胞结构完整性

[0177] PKCα的抑制显示调节表征银屑病的角质化细胞结构完整性。皮肤组织被石蜡包埋并且用H&E(苏木精和曙红）一般组织学染料或用于各种皮肤层的不同标记（包括用于基底层的角蛋白14(K14)、用于棘层的角蛋白1(K1)，用于角质化细胞迁移的角蛋白6(K6)和用于角质化细胞增殖的PCNA)染色。结果证实PKCα抑制之后皮肤性质的正常化（图2)。

[0178] 实施例2

[0179] 用于经由银屑病模型评估炎症的体内和离体治疗的模型

[0180] 之前已经使用多种动物模型研究银屑病，但是这些模型中没有一种足以充分地模拟以过度的皮肤产生、新血管的形成和严重的免疫功能失调为特征的人类疾病病理。通常，要被看作是有用的银屑病的模型，所述模型必须与银屑病共有某些组织病理学特征，表现出相似的发病机制和/或疾病机制，并且相似地响应于用于治疗所述疾病的治疗剂。现有的模型表现出若干种表征，包括棘层肥厚、改变的表皮分化、血管化作用的增加和白细胞/T细胞侵润。然而，在现有的小鼠模型中，没有多少响应于现有的药物和治疗。像这样，现有的模型被用于开发新的体外、离体和体内模型以评估在下列实施例中使用的银屑病治疗。

[0181] 体外模型

[0182] 所开发的模型包括使用皮肤来源的细胞以及免疫细胞的细胞系和原代培养的细胞培养研究，利用构建体和工具以将 STAT3 和 PKCα 介导的信号通路过表达并失活。用于皮肤细胞增殖、迁移、分化、炎症和信号的研究的多种技术被使用，并且证明在研究银屑病发育的机制并且研究银屑病中 PKCα 抑制的治疗效果上是有用的。

[0183] 体内模型

[0184] 使用 PKCα 过表达和敲除小鼠模型。使用 K5-PKCα 转基因小鼠的角质化细胞中 PKCα 的过表达，显示表现出模拟病况（例如脓疱性银屑病）的严重的表皮内嗜中性粒细胞浸润和表皮的破裂。建立了通过皮下应用的体内研究的 PKCα 和 DN 两种形式的转基因小鼠。此外，PKCα 敲除小鼠同样被用于研究 PKCα 失活对皮肤结构和功能的影响。

[0185] 使用了 STAT3 过表达小鼠模型。用于银屑病的主要的小鼠模型中，就与人类银屑病的相似性而言，是其中 Stat3 在表皮角质化细胞中过表达的转基因小鼠。这些小鼠发生银屑病状表皮棘层肥厚并且具有主要是真皮中的 CD4+ 和表皮中的 CD8+ 的表皮淋巴细胞性浸润，所有都是与人类中的银屑病相似的特征。

[0186] 作为用于皮肤炎症和过度增生的模型的创伤。开发了一种筛选方法学以检测并定量评估允许追踪不同皮肤区室中的表皮炎性响应并鉴定影响这一响应的试剂的创伤背景中皮肤损伤内的炎症。

[0187] 离体模型

[0188] 在鸡胚绒毛尿囊膜 (CAM) 上移植的银屑病皮肤。为了测试离体治疗应用的目的，开发了在鸡胚绒毛尿囊膜 (CAM) 上移植银屑病皮肤的技术。尽管这一技术一般用于皮肤肿瘤研究和血管生成实验，但是它被采用并用于银屑病研究。这一原创的方法允许新的药物直接用于人类银屑病皮肤，因此产生新的药物对于银屑病的治疗的更加临床相关的研究。移植后，使用形态学、组织学和生物化学分析，银屑病人类皮肤被用来确立不同制剂中的不同治疗的效用和时限。

[0189] 实施例 3

[0190] PKCα 敲除小鼠中起鳞减弱

[0191] 开发 PKCα 敲除小鼠模型并用于研究 PKCα 失活对皮肤结构和功能的影响。如图 3 和 4 中所示，在 PKCα 敲除小鼠中观察到起鳞的减弱。图 3 是显示与对照相比在 PKCα 敲除小鼠中平均起鳞严重度减少超过 50％的直方图，证明 PKCα 的抑制是治疗银屑病的关键要求。这同样显示于图 4 中，其是比较不同小鼠中的起鳞的一系列照片。

[0192] 实施例 4

[0193] 局部 PKCα 抑制剂制剂

[0194] 开发了局部 PKCα 抑制剂制剂并评估在银屑病的治疗中的效力。以霜剂配制肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)（本文也称为 HO/02/10），其组分示于表 2 中。

[0195] 表 2 :MPDY-1 霜基制剂

[0196]

成份
水

甘油
丙二醇
对羟基苯甲酸甲酯
苯氧乙醇
硬脂酸甘油酯 SE
十六醇
角鲨烷 (coscol)
PEG-40Stearath
蔗糖二硬脂酸酯
异丙基豆蔻酸酯
丁基化羟基甲苯
石蜡油
癸酸 / 辛酸三酸甘油酯
凡士林
对羟苯甲酸丙酯
MPDY-1

[0197] 实施例 5

[0198] PKCα 抑制剂对体外表皮分化的影响

[0199] 确定实施例 4 的制剂 (HO/02/10) 体外控制表皮分化。基底角质化细胞分化形成由 K1/K10 角蛋白表征的棘层，由兜甲蛋白 / 丝聚蛋白表征的颗粒层以及角质层。兜甲蛋白和丝聚蛋白丝的表达和结合上的缺陷与包括银屑病的各种免疫皮肤疾病相关。因此，评估 HO/02/10 在皮肤分化和增殖上的效果。如图 5 和 6 中所示，HO/02/10 通过减少兜甲蛋白和丝聚蛋白的表达将皮肤增殖正常化 (PCNA)（图 6）并且调节皮肤分化，同时棘层保持不受影响（图 5）。由于银屑病皮肤角质化细胞迅速分化产生粒状和主要的大量的角膜细胞（鳞屑），而棘层变薄，HO/02/10 通过向正常表型改善皮肤特征而起作用将银屑病皮肤正常化。

[0200] 图 5 显示 HO/02/10 控制体外表皮的粒状分化。将来源于 C57BL/6J 小鼠的角质化细胞在含有 Ca^{2+} 的培养基中培养以诱导角质化细胞分化。之后将细胞在 HO/02/10(1μg/ml) 存在的条件下培养。收获细胞，在 SDS PAGE 凝胶上展开并且使用抗丝聚蛋白 (Fil)、抗兜甲蛋白 (Lor) 和抗角蛋白 1(K1) 的抗体进行免疫印迹。

[0201] 图6显示HO/02/10在体外和体内减少角质化细胞增殖。来自2天的Balb/c小鼠的原代小鼠角质化细胞在0.05mM Ca^{2+}MEM培养基中生长5天以达到完全汇合(confluence)。在诱导分化之前应用HO/02/10处理(10^{-6}M和10^{-5}M)6小时。收获细胞,在SDS PAGE凝胶上展开并且使用抗PCNA抗体进行免疫印迹。结果示于图6A中。使8-10周大的C57Black小鼠经受上背部区域的全层创伤以诱导表皮重塑和分化。创伤之后,每天用HO/02/10(40-4000mg/kg/天的范围内)处理小鼠7天。在终点,将小鼠安乐死并且将上背部皮肤样品固定在4%的低聚甲醛溶液中,之后石蜡包埋并且制备切片。之后使用PCNA抗体使皮肤样品经历免疫组化染色。(n = 18)。结果示于图6B。

[0202] 图7和8显示使用MPDY-1(SEQ ID NO:6)的角质化细胞中另外的表达数据以及肽PKCα抑制剂AIP-1(SEQ ID NO:9)、AIP-2(SEQ ID NO:8)、AWOT-1(SEQ ID NO:7)和PPDY-1(SEQ ID NO:10)的数据。图7显示使用在用不同肽PKCα抑制剂处理的角质化细胞中使用抗PCNA、抗丝聚蛋白(Fil)、抗兜甲蛋白(Lor)、抗角蛋白1(K1)和抗角蛋白14(K14)抗体的免疫组化染色。图8代表对于不同的肽PKCα抑制剂角质化细胞中表达数据的概述。

[0203] 为了测试皮肤强度和弹性,破裂室被用于测量皮肤样品破裂所需要的压力(皮肤弹性和耐久性的可测量的指示参数)。图9中的结果证实HO/02/10处理的皮肤表现出增强的皮肤强度。因此,PKCα的抑制可有益于银屑病皮肤,正如它显示的增强皮肤完整性并且防止银屑病斑块的破裂。

[0204] 图9显示HO/02/10显著增强皮肤强度。将小鼠皮肤用HO/02/10处理14天并且随后经受破裂压力分析。破裂室装置由一端封闭并且经由控制阀和压强计与高压CO^2容器相连的固定体积的金属圆筒组成。在室的另一端,安装可调节的支架以便在适当的地方固定并容纳所测试的皮肤组织。将气体逐渐释放至室中并且持续监测内部压强直到发生所测试的皮肤的破裂。

[0205] 实施例6

[0206] PKC同工型抑制剂和活化剂对皮肤炎症的影响

[0207] 开发了一种筛选方法以检测并定量评估创伤背景中皮肤损伤的炎症,其允许人们追踪不同皮肤区室中的表皮炎性响应并鉴定影响这一响应的试剂(作为初筛)。当下列三个病况中的两个是明显的时,认为炎性响应是严重的:(1)脓肿形成;(2)过量白细胞增加(固定域x200中>100个细胞);(3)血管中的高WBC/RBC比率,其中在固定域x200中显示血管中>20%的WBC含量。使用标记研究免疫响应的机理特征以鉴定特定免疫细胞的浸润和活化。这些标记的实例是:ICAM-1(作为活化的基底角质化细胞和内皮细胞的标记)、MAC-2(作为活化的巨噬细胞的标记)和CD3(T细胞标记)。使用这一定量方法,证明若干个动物模型中不同细胞类型和过程中的完整皮肤和皮肤损伤中HO/02/10和其他肽PCK抑制剂的强抗炎性作用是可能的。

[0208] 下文代表性的结果证实,创伤后4和9天后B57BL/6J小鼠中HO/02/10对皮肤创伤的抗炎性效果(图10)。图10显示C57BL/6J小鼠中HO/02/10的剂量响应对炎症的影响。C57BL/6J小鼠的皮肤通过每天应用HO/02/10(4μg/kg/天)或(40μg/kg/天)(6只小鼠/组)来处理。处理是局部的应用。在创伤后4和9天后收集活检。从安乐死的动物提取组织以便通过组织学和免疫组化评估炎症。

[0209] HO/02/10同样显示降低来自LPS活化的脾细胞的致炎性细胞因子分泌。为了体

外评估总体的抗炎效果，小鼠来源的原代脾细胞被用作免疫模型。脾细胞来源于 C57BL/6J 小鼠，将红血球溶解并且将细胞在 96 孔板中以每孔 500,000 个培养。加入 LPS（用于 IL-1 和 TNFα 测试的 1μg/ml，和用于 IL-6 测试的 0.2ng/ml），并且用 MPDY-1（1μg/ml）或 PBS 处理细胞。阴性对照样品中不加入 LPS。2 天后收集培养基并且使用 ELISA 定量所分泌的细胞因子的量。

[0210] 图 11，以及图 17-27、43 和 50 证实 HO/02/10 显著减少来自活化的角质化细胞的主要致炎性细胞因子（例如 TNFα、IL-1 和 IL-6）的分泌的能力。特别地，IL-6 显示对于参与银屑病的发病机制的 TH17 细胞的发育来说是必需的，并增强已证实的对 IL-1 和 TNFα 的影响。TNFα 和 IL-6 是银屑病治疗的已知的靶。图 11 证实 1μg/ml HO/02/10 的影响。

[0211] HO/02/10 还显示体内抑制基底角质化细胞和内皮细胞免疫活性。ICAM 是允许粒细胞浸润至炎性损伤中的黏着分子。特别地，在皮肤中，基底角质化细胞在免疫活化时表达 ICAM-1，其可增加嗜中性粒细胞和 CD8-T 细胞向表皮中的浸润，是银屑病的标志中的一种。因此，皮肤中 HO/02/10 对 ICAM 表达的影响通过体内创伤炎性背景中的免疫组化来检查。

[0212] 观察到皮肤炎症中活化的角质化细胞和内皮细胞（ICAM-1 染色）的下调。在 C57BL/6J 小鼠的上背部进行 2cm 的纵切。创伤后，将无菌衬垫缝合在小鼠的皮肤上。每天用 HO/02/10 处理动物（n = 12）。创伤后五天，当炎性阶段达到其顶峰，小鼠被处死，将皮肤组织包埋到石蜡中并且用抗 ICAM-1 抗体进行免疫组化染色。

[0213] 如图 12 中所示，HO/02/10 显著减少皮肤的血管中基底角质化细胞和内皮的 ICAM 表达。这一影响显示为剂量依赖性的，在于 10μg/ml 施用时具有最大效果。

[0214] 图 13 显示另外的染色，其显示皮肤炎症中活化的角质化细胞和内皮细胞（ICAM-1 染色）的下调。如上文所述，在 C57BL/6J 小鼠的上背部进行 2cm 的纵切。创伤后，将无菌衬垫缝合在小鼠的皮肤上。每天用 MPDY-1 处理动物（n = 6）。创伤后五天，当炎性阶段达到其顶峰，小鼠被处死，将皮肤组织包埋到石蜡中并且用抗 ICAM-1 抗体进行免疫组化染色。

[0215] 图 14 是比较在伤口边缘都显示阳性 ICAM-1 染色的小鼠百分比的直方图。

[0216] MPDY-1 对巨噬细胞浸润的影响同样通过 Iba-1 染色显示。Iba-1 是巨噬细胞的一般标记。图 15 是比较显示 Iba-1 阳性染色的每个域中细胞数目的直方图。如上文所述，在 C57BL/6J 小鼠的上背部进行 2cm 的纵切。创伤后，将无菌衬垫缝合在小鼠的皮肤上。每天用 MPDY-1 处理动物（n = 6）。创伤后五天，当炎性阶段达到其顶峰，小鼠被处死，将皮肤组织包埋到石蜡中并且用抗 Iba-1 抗体进行免疫组化染色。观察到 MPDY-1 对巨噬细胞浸润的剂量依赖性的影响。

[0217] MPDY-1 对巨噬细胞活化的影响同样通过 MAC-2 染色显示。MAC-2 是活化的巨噬细胞的特异性标记。图 16 显示一系列 MAC-2 染色和将显示 MAC-2 阳性染色的每个域中细胞数目比较的直方图。如上文描述的进行 2cm 的纵切。每天用特定浓度的 $DPBS^{-/-}$（对照）或 MPDY-1 处理动物（n = 6）。5 天后，用抗 MAC-2 抗体进行免疫组化染色。Bar1μm(*p（对照对比 MPDY-110μg）= 0.0028）。巨噬细胞的活化在 MPDY-1 处理之后被显著抑制。

[0218] 如图 32 中所示 MPDY-1 同样显示以剂量依赖性方式显著降低角质化细胞中 TNFα 诱导的 IKK 活化。将小鼠原代角质化细胞生长 4 天以在低 Ca^{+2}MEM 中完全汇合。TNFα 诱导之前，如图中所描述的指定浓度的 MPDY-1 预处理细胞 1 小时。MPDY-1 预处理之后，用 TNFα 35 ng/ml 培养细胞 15 分钟。通过加入冰冻的 dPBS-/- 中止反应并且在 RIPA 缓冲液中将角

质化细胞均质化。使用磷酸化 IKKa/b(Ser176/180 抗体),样品经受 SDS PAGE 蛋白质印迹分析。使用 MPDY-1 的预处理以剂量依赖性方式显著降低角质化细胞中 TNFα 诱导的 IKK 活化,其中最低 MPDY-1 浓度 (0.1mg/ml) 显示最强的抑制,由此抑制 NFKB 活化。

[0219] 如上文所讨论的,HO/02/10 同样显示降低来自活化的角质化细胞和巨噬细胞的细胞因子分泌。在近些年,发现免疫和皮肤组分都同样地对基于银屑病发病机制的周期起作用。自身皮肤细胞和免疫细胞(自身的和浸润的细胞两者)通过细胞-细胞相互作用和细胞因子分泌在炎性银屑病过程中相互作用。因此,检查 HO/02/10 对形成角质化细胞和免疫细胞(例如巨噬细胞和树突状细胞)两者的致炎性的、趋化的和免疫的通路相关的细胞因子的分泌的直接影响。图 17 和 18 中描绘的结果证实 HO/02/10 下调来自角质化细胞和巨噬细胞的免疫相关的细胞因子例如 IL-6、IL-1a、GM-CSF、MIP-2 和 KC 的分泌。

[0220] 图 17 的结果显示 HO/02/10 对角质化细胞中细胞因子分泌的影响。角质化细胞来源于新生的 C57BL/6J 小鼠皮肤。将细胞在 24 孔板中培养 5 天。之后用 DPBS-/-、LPS(100ng/ml) 或 HO/02/10(1μg/ml)+LPS(100ng/ml) 处理细胞。48 小时后收集含有所分泌的细胞因子的培养基并且使用 Luminex 系统分析。

[0221] 图 18 的结果显示 HO/02/10 下调巨噬细胞中的细胞因子分泌。骨髓细胞来源于 B6 小鼠。将细胞在 GM-CSF(20ng/ml) 存在的条件下培养 6 天并且之后用 DPBS-/-、LPS(100ng/ml) 或 HO/02/10+LPS(分别为 1μg/ml 和 100ng/ml) 处理细胞。

[0222] 其他的肽 PKCα 抑制剂同样显示降低来自活化的角质化细胞和巨噬细胞的细胞因子分泌。图 19 至 23 显示肽抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、MPDY-1 sh(SEQ ID NO:12) 和 PDY-1(SEQ ID NO:13) 降低来自 LPS 和 TNFα 活化的角质化细胞的细胞因子分泌。图 24 至 27 显示肽抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO:6)、MPDY-1 sh(SEQ ID NO:12) 和 PDY-1(SEQ ID NO:13) 降低来自 IL-17A 活化的角质化细胞的细胞因子的分泌。

[0223] 表 3 概述根据 HO/02/10 的细胞因子作用和来源的结果。

[0224] 表 3:HO/02/10 对受刺激的小鼠来源的细胞的影响

[0225]

	致炎性的 (%抑制)	趋化的 (%抑制)	系统性的 (%抑制)	Th1 (%抑制)	Th17 (%抑制)
角质化细胞	IL-1 (80%) IL-6 (40%)	KC (65%) MIP-2 (30%)	GM-CSF (50%) G-CSF (30%)		IL-6 (40%)
脾	IL-1 (50%) IL-6 (40%) TNFa (50%)				
骨髓巨噬细胞	IL-1 50% TNFa (50%)	KC (40%) MIP-2 (30%)	G-CSF (40%)	IL-12 (40%) TNFα (50%)	
骨髓DC	IL-6 (30%)			IP-10 (20%)	

[0226] 各种其他的 PKCα 抑制剂同样显示降低活化的角质化细胞中的细胞因子分泌。为

了确定它们的影响，角质化细胞来源于新生的 BALB/C 小鼠皮肤。将细胞在 24 孔板上培养 5 天。之后用作为对照的 PBS-/- 培养细胞或用 LPS、TNF α 或 IL-17 刺激细胞。如所指示的加入 PKC α 抑制剂。48 小时后收集包含所分泌的细胞因子的培养基并且使用 ELISA 分析。图 50 是细胞因子分泌的列表概述。PKC α 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO :6)、AIP-2(SEQ ID NO :8)、AIP-1(SEQ IDNO :9)、AWOT(SEQ ID NO :7) 和 PPDY-1(SEQ ID NO :10) 都显示在降低角质化细胞中的细胞因子分泌上有效。

[0227] HO/02/10 同样显示减弱 T 细胞向皮肤的浸润。使用抗 CD3 特异性染色在体内研究 HO/02/10 对 T 细胞的浸润的影响。

[0228] 如可在图 28 中所见的，HO/02/10 下调炎性阶段期间 T 细胞对真皮和表皮的浸润。特别地，HO/02/10 抑制 T 细胞向表皮的浸润，其表明同样表征银屑病斑块的另外的抗炎性性质。如上文描述的进行 2 厘米的纵切。用 HO/02/10 每天处理动物 (n = 12)。9 天后使用抗 CD3 抗体进行免疫组化染色。图 28B 是比较 CD3 阳性染色的每个域的细胞的数目的直方图。1 μ g/ml 和 10 μ g/ml 浓度时所述影响是统计学上显著的，其中 1 μ g/ml 处理显示比 10 μ g/ml 更强的影响。

[0229] HO/02/10 同样显示减弱嗜中性粒细胞向皮肤的浸润 (图 31)。使用嗜中性粒细胞特异性染色在体内研究 HO/02/10 对嗜中性粒细胞浸润的影响。如上文描述的进行 2 厘米的纵切。用 DPBS-/-(对照) 或 PKC α 抑制剂以特定的浓度每天处理动物 (n = 6)。五天后，将小鼠处死，将皮肤组织包埋在石蜡中并进行对嗜中性粒细胞的免疫组化染色。尽管观察到剂量依赖性的趋势但是结果不是统计学上显著的。

[0230] PKC δ 活化剂同样显示具有对角质化细胞和脾细胞的抗炎性影响。角质化细胞来源于新生 BALB/C 小鼠皮肤。将细胞在 24 孔板上培养 5 天。之后用作为对照的 PBS-/- 培养细胞或者用 LPS 或 TNF α 刺激细胞。加入 PKC δ 抑制剂 DAP-1(SEQ ID NO :34)。48 小时后收集包含所分泌的细胞因子的培养基并且使用 ELISA 分析。图 43 是显示用 LPS 刺激的脾细胞中细胞因子分泌的列表概述。图 44 是用 TNF α 刺激的角质化细胞中细胞因子分泌的列表概述。DAP-1 显示显著地降低角质化细胞和脾细胞两者中炎性细胞因子分泌。

[0231] PKC ε 抑制剂同样显示具有对角质化细胞的抗炎性影响。角质化细胞来源于新生的 BALB/C 小鼠皮肤。将细胞在 24 孔板上培养 5 天。之后用作为对照的 PBS-/- 培养细胞或者用 LPS 或 TNF α 刺激细胞。加入 PKC ε 抑制剂 EPIP-1(SEQ ID NO :20)、EPIP-2(SEQ ID NO :21) 或 EPIP-4(SEQ ID NO :23)。48 小时后收集包含所分泌的细胞因子的培养基并且使用 ELISA 分析。图 45-48 显示特定细胞因子分泌的结果而图 49 是不同 PKC ε 抑制剂的细胞因子分泌的列表概述。若干 PKC ε 抑制剂显示显著地降低角质化细胞中炎性细胞因子分泌。

[0232] 总之，确定了 PKC 同工型抑制剂和活化剂的作用机制，表明它们作为对炎症和炎性疾病的有效治疗的用途。这些肽显示 1) 通过降低终末分化将表皮分化标记表达正常化 ；2) 减弱不正常的过度增殖 ；3) 调节皮肤结构并增加皮肤强度 ；和 4) 通过在炎性过程的不同步骤中的区别地影响不同细胞类型补充和活化下调炎症。

[0233] 图 30 显示描述本公开内容的 PKC 同工型抑制剂和活化剂对皮肤炎性和银屑病的相关的通路的整体影响的概要。所述概要概述所述抑制剂和活化剂对皮肤中各种细胞类型和炎性阶段的抑制性作用。PKC 同工型抑制剂和活化剂通过自身的皮肤免疫细胞抑制致炎

性细胞因子（例如 IL-1、IL-6 和 TNFα）的分泌。因此，获得内皮细胞和角质化细胞活化上的下降，导致 ICAM-1 表达、趋化因子分泌上的显著降低和粒细胞向炎症位点的浸润的减少，包括嗜中性粒细胞、巨噬细胞和 T 细胞。参与 Th1 和 Th17 通路（银屑病中两个重要的通路）的发育和进行的细胞因子同样被下调。

[0234] 实施例 7

[0235] 使用 PKCα 和 PKCη 抑制剂的多发性硬化症的治疗。

[0236] 多发性硬化症的动物模型：由于 CNS 组织不容易取样，为了获得与疾病机制相关的信息，大量模型被开发并且通常用于文献中。这些模型据报道包括髓磷脂突变体，化学诱导的损伤、病毒和模拟 MS 的临床状态和病理的自身免疫性模型 (Baker 等人 (2007)ACNR 6(6)：10-12)。在这些模型中，实验性变应性脑脊髓炎 (EAE) 据报道是最常使用的 MS 的模型 (Baker 等人 (2007)ACNR 6(6)：10-12)。

[0237] 多发性硬化症的自身免疫模型：实验性变应性脑脊髓炎 (EAE) 作为 MS 疾病和进展的模型显然受到了最多的关注，并且在通常用于检测 MS 的治疗策略中 (Baker 等人 (2007) ACNR6(6)：10-12)。

[0238] 这一疾病模型显示 MS 的许多临床和组织学特性并且据报道由对在 CNS 中天然或人工表达的抗原自身免疫的诱导所导致 (Lavi 等人 (2005)ISBN0-387-25517-6 和 Owens 等人 (2006)Adv Neurol 98：77-89)。对髓磷脂抗原敏化作用之后，动物似乎患病，以肢体麻痹为特点。这与血脑屏障机能障碍、单核细胞向 CNS 的浸润和导致受损神经传递的传导阻滞有关。

[0239] EAE 是多基因的，其中易感性和临床过程似乎根据免疫抗原和正在被研究的动物的株系 / 物种而变化。MOG，小髓磷脂蛋白，似乎诱导 C57BL/6 小鼠中的慢性麻痹的 EAE。EAE 不是单个的模型，而是存在与 MS 的相似的变化的病理学程度的许多个模型 (Lavi 等人 (2005)ISBN 0-387-25517-6)。

[0240] 为了测试若干种 PKC 抑制剂对 EAE 小鼠的发育和临床病况的影响，使用下列实验性程序进行各种研究。特别地，评估了肽 PKCα 抑制剂 MPDY-1(SEQ ID NO：6) 和肽 PKCη 抑制剂 MPE-1(SEQ ID NO：28)。

[0241] 雌性的 8-10 周大的 C57BL/6J 小鼠被用于研究。组的总数目是 7(n = 7 每组)；动物的总数是 49。麻醉后，用 MOG35-55/CFA 将小鼠免疫。用补充了 300μg 结核病 (Mt) H37RA(Difco) 的 200g MOG35-55/CFA 在侧腹部皮下 (s.c.) 免疫小鼠。在免疫时和 48(小时) 之后静脉注射 (i.v.) 百日咳毒素 (PTX)。对二次免疫的需要以使用合成的 MOG35-55 肽的初步校准实验 (20 只小鼠) 为基础确定 (作为在治疗实验之前的校准程序进行)。

[0242] 如下施用治疗。在免疫当天开始，通过 i.p(腹膜内的) 注射一周三次处理小鼠 (200μl/ 注射)。

[0243] 在 49 天的观察期 6 天 / 周进行临床观察和评分。在免疫之前和其后每周两次测定体重。如下文表 4 中所示，在取决于小鼠可定量的临床表现在 0-6 的等级上对活性 EAE 评分。

[0244] 表 4：EAE 得分

[0245]

得分	损害
0	无损害
1	尾无力
2	尾无力和后肢轻瘫
3	≥ 1 个后肢轻瘫
4	整个后肢和后体轻瘫
5	后体轻瘫和前肢轻瘫
6	死亡

[0246] 如表 5 中所示的处理小鼠的组。

[0247] 表 5 :治疗方案

[0248]

组	治疗
1	$DPBS^{-/-}$（对照）
2	CRAMP2mg/kg(CRAMP)
3	CRAMP0.2mg/kg(CRAMP)
4	MPDY-10.1mg/kg
5	MPDY-11mg/kg
6	MPE-10.1mg/kg
7	MPE-1mg/kg

[0249] 图 33-37 中显示和概述结果。

[0250] 如可从图 33 所见的，用 MPDY-10.1mg/kg 处理的小鼠在实验的第 13 天开始显示疾病迹象，比对照组晚两天。在实验的大多数天里，MPDY-10.1mg/kg 组中的小鼠与对照组的小鼠相比显示更低的得分。而且，MPDY-10.1 mg/kg 组和 MPE-10.1 mg/kg 组中没有小鼠在实验中死亡（得分 6），而在所有其他组中，小鼠随时间过程死亡（对照组 - 第一只小鼠在实验的第 34 天死亡而另一只在第 35 天死亡）。所有小鼠死亡的概述提供于下表 6 中。

[0251] 表 6 :治疗期间小鼠死亡的概述

[0252]

组	49 天期间死亡的小鼠的数目	细节（天数）

1	2	34,35
2	2	23,44
3	2	27,38
4	0	
5	2	16,38
6	0	
7	4	20,33,37,35

[0253] 在特定时间点来自图 33-37 的得分的概述示于表 7 中。

[0254] 表 7 :特定时间点得分的概述

[0255]

组	初始当天	第 18 天的得分	第 29 天的得分	第 37 天的得分
对照	11(0.285)	3.000	2.357	2.857
CRAMP0.2mg/kg	10(0.571)	3.214	2.000	2.571
CRAMP2mg/kg	11(0.143)	2.643	2.643	2.143
MPDY-10.1mg/kg	13(1.000)	2.571	2.000	1.500
MPDY-11mg/kg	11(0.214)	3.143	3.286	3.071
MPE-10.1mg/kg	11(0.429)	2.857	1.929	1.429
MPE-11mg/kg	10(0.429)	3.071	4.286	4.286

[0256] 处理的第 4 和 6 组显示对疾病的临床症状的发展的抗性,包括直到实验的第 49 天都没有死亡。0.1μg/ml 浓度的 MPDY-1 和 MPE 处理(第 4 组)减少 EAE 严重性并且使小鼠免受在对照动物中疾病的后期观察到的致死的 EAE,因此导致在实验结束时(第 42 天)平均组得分 (MPDY-1 的 1.93 ;MPE-1 的 2.00) 减少至对照组得分的平均值 (2.86) 以下。在 0.1μg 浓度的 MPDY-1 处理导致与对照组相比 EAE 比较的发展的临床病况延迟两天。因此,MPDY-1 和 MPE 表现显示为对 MS 的治疗有效的试剂。

[0257] 实施例 8

[0258] 瘙痒症治疗的体内评估

[0259] 开发了如图 8 中所示的利用组胺以评估瘙痒症的点刺试验模型。用组胺溶液和安慰剂注射各个受治疗者的前臂。实施例 4 的制剂与不同浓度的 MPDY-1 一起被局部应用并且如图 39-42 中所示经时间过程后评估瘙痒症。

[0260] 通过将一滴包含皮肤的可能的变应原的溶液放置在皮肤上并且一系列的擦伤或针头穿刺允许溶液进入皮肤，执行本试验。使用细针（例如 26G 一次性针头）使提取物进入皮肤（表皮）的外层。这一测试是无痛的，并且通常不引起流血因为针头仅擦伤皮肤的表面。如果皮肤出现红的隆起的痒的区域（称为风团），它是对变应原的变应性反应的结果。这称为阳性反应。一滴提取物通过细针（例如 26G 一次性针头）引入。试验导致无不舒适的和最小的外伤以便对照和阴性实验仅显示穿刺的位点（如果有的话）。

[0261] 26G 针头被用于引入组胺贮液 (Histatrol 阳性对照组胺，1mg/ml，代码 #HIST14999V，Trupharm)。在双盲的随机化的试验中，在健康的志愿者上进行测试。将制剂应用于前臂。选择并且标记三个治疗区域（从手肘至手腕的前臂的表面被横着分为近端、中部和远端的三部分）；在下文的治疗之前穿刺所述区域。

[0262] 用活性制剂以双盲方式处理一个区域，10 分钟 - 标记为 A。

[0263] 用安慰剂以双盲方式处理一个区域，10 分钟 - 标记为 C。

[0264] 在零点 (T0)，10、20、30 分钟之后获取彩色照片。

[0265] 处理后 5 和 15 分钟由受治疗者回答瘙痒症问卷。

[0266] 在一个研究中，用表 8 和 9 中所示的治疗测试受治疗者。

[0267] 表 8：点刺试验样品组

[0268]

	左前臂	右前臂
受治疗者 1	A5	C2
受治疗者 1	A4	C1
受治疗者 2	A2	C3
受治疗者 2	A5	C2
受治疗者 3	A4	C1
受治疗者 3	A1	C3

[0269] 表 9：点刺试验治疗

[0270]

治疗	组
MPDY-11μg/ml	A1
MPDY-110μg/ml	A2
霜剂 10ppm	A4
凝胶 10ppm	A5

霜剂 W/O 活性材料	C1
凝胶 W/O 活性材料	C2
DPBS	C3

[0271] 提供具有瘙痒症感觉形式的受治疗者并且以不同的时间间隔询问以指明从 0（无响应）至 4（不可控制的瘙痒症）的感觉的瘙痒症的水平。结果示于下文表 10。

[0272] 表 10 :结果

[0273]

组胺之后 5 分钟	
受治疗者&位点	**瘙痒症得分**
1-A5	**2**
1-A4	**1**
2-A2	**2**
2-A5	**1**
3-A4	**1**
3-A1	**3**
1-C2	**3**
1-C1	**4**
2-C3	**4**
2-C2	**3**
3-C1	**3**
3-C3	**4**
组胺之后 15 分钟	
1-A5	**0**
1-A4	**0**
2-A2	**0**
2-A5	**0**
3-A4	**0**
3-A1	**1**
1-C2	**4**
1-C1	**4**
2-C3	**4**
2-C2	**4**
3-C1	**3**
3-C3	**4**

[0274]

[0275] 此外，如图 39-42 中明显的，与对照相比随时间过程 MPDY-1 的应用显著减弱了发红、炎症和瘙痒症。

[0276] 尽管本公开内容的对象已经用对上文实施例的引用来描述，但是应当理解的是修改和变化包含在本公开内容的精神和范围内。因此，本公开内容仅由所附权利要求所限制。

[0277] 实施例 9

[0278] 将胰岛素和 PKCα 抑制剂组合避免由仅由胰岛素的治疗导致的不利的副作用。

[0279] 通过切口在 8-10 星期大的 C57BL 小鼠的背部进行创伤并且用载体 (PBS) 对照或用 1μM 胰岛素 (人体单组份胰岛素,Eli Lilly,USA) 或 1μM 胰岛素与 1μM 的 SEQ ID NO : 6 的 PKCα 抑制剂组合的混合物每天处理,共 7 天。创伤 7 天之后,将所有小鼠处死并且对处理的伤口的创伤开口处的表皮 (增殖细胞核抗原 PCNA)、血管生成、炎症、表皮细胞的增殖能力和重塑过程进行组织学的分析。

[0280] 如表 11 中所示,仅有胰岛素的治疗导致与用 PBS 的对照 (分别为 60％和 25％) 相比在创伤区域中异常的血管生成的发生率上的大大增加。由于创伤愈合过程包括迅速增殖表皮细胞,这些增加的血管生成同样可能通过延迟正常肉芽组织的形成增加受损的创伤闭合的风险。另一方面,当胰岛素与 SEQ ID NO :6 的 PKCα 抑制剂组合时,在处理的创伤区域中没有观察到异常的血管生成。

[0281] 表 11 :仅胰岛素和与 PKCα 抑制剂组合的胰岛素对创伤区域的血管生成的严重度的影响。

[0282]

治疗	表皮的增殖能力 (基底细胞层, PCNA)	血管生成
PNS (对照) N=4	5	高度异常
	7	正常
	8	正常
	6	正常
	平均值 6.5	
仅胰岛素 N=5	8	高度异常
	8	正常
	6	正常
	5	高度异常
	5	高度异常
	平均值 6.4	
胰岛素+PKCα 抑制剂 N=5	6	正常
	6	正常
	4	正常
	3	正常
	2	正常
	平均值 4.2	正常

[0283]

[0284] 此外,仅胰岛素的治疗导致增加的炎症、表皮细胞的超常增生、表皮细胞的棘层的延迟的分化和增加的起鳞。当 PKCα 抑制剂与胰岛素组合时,没有观察到仅胰岛素治疗产生的不利的副作用中的任何一种。

[0285] 实施例 10PKCα 抑制剂减少创伤炎症

[0286] 创伤中，晚期并且严重的炎性响应可抑制愈合的过程，因此防止这样的炎症发展可促进创伤愈合过程。因此，在下列实验中测试了 PKCα 抑制剂 HO/02 和胰岛素对创伤炎症的影响。

[0287] 通过切口在 C57BL 小鼠的背部进行创伤并且用下列每天处理，共 7 天：(i)PBS，对照；(ii)1μM 的 SEQ ID NO:6 的 PKCα 抑制剂；(iii)1μM 胰岛素（人体单组份胰岛素，Eli Lilly，USA）；或 (iv)1μMPKCα 抑制剂和 1μM 胰岛素的混合物。创伤后七天，将所有小鼠处死并且在显微镜下观察所处理的创伤的炎症。在创伤区域中观察到的所得到的严重炎症发病率概述于表 12 中。

[0288] 如表 12 中所示，当与对照相比时，向创伤施用 PKCα 抑制剂导致严重创伤炎症发病率的大大 (33.3％) 降低。单独的胰岛素在实验条件下没有抗炎性作用。

[0289] 表 12

[0290]

治疗	创伤中严重炎症的发病率 (％)
PBS 对照	60
PKCα 抑制剂	40
胰岛素	56
PKCα 抑制剂 + 胰岛素	50

[0291] 这些结果表明 PKCα 抑制剂可被用于控制创伤的严重炎症的治疗。所证实的 SEQ ID NO:6 的 PKCα 抑制剂减少炎症的能力，连同其促进表皮闭合、真皮闭合和表皮细胞的空间分化的能力一起，使其成为创伤愈合的可能最有效的治疗剂。

[0292] 实施例 11. 在 STZ 诱导的糖尿病小鼠中与 PKCα 抑制剂 HO/02 组合的胰岛素在创伤愈合中的效用

[0293] 在麻醉的注射链唑霉素 (STZ)(175mg/kg 体重）的糖尿病的、注射柠檬酸盐缓冲液的 (6 只小鼠 / 组）非糖尿病的和未注射的 (6 只小鼠 / 组）C57BL/6J 小鼠的上背部进行全层皮肤切口 (20mm)。STZ 注射后通过测量来自尾部静脉的葡萄糖水平进行周期性血糖监测。仅将表现出高于 450mg/dl 的血糖水平的小鼠纳入研究中。切口之后，通过直接向外科敷料应用 PBS(7/6 只小鼠 / 组）、胰岛素 (0.1 单位 /ml)(6 只小鼠 / 组）、SEQ ID NO:6 的 PKCα 抑制剂 (1μg/ml)(7/5 只小鼠 / 组）或包含胰岛素和 N- 豆蔻酰化的 SEQ ID NO:6 的 PKCα 抑制剂的制剂（在本文中称为 HO/03/03)(7/6 只小鼠 / 组）每天处理 STZ 诱导的糖尿病创伤。创伤后 9 天收集活检。从安乐死的动物切下创伤以通过组织学和免疫组化评估伤口愈合参数。

[0294] 通过角蛋白 14 染色评估伤口的表皮闭合。当观察到横过创伤缺口的完整的表皮染色时认为伤口闭合。当使用 H&E 染色在 x100 放大率的固定的域中两侧真皮边缘都可见时，认为真皮收缩。表皮分化通过角蛋白 1 染色评估。横过整个创伤缺口都表现出阳性染色的创伤被认为是分化的 (K1 阳性）。

[0295] 如表 13 中所示，STZ 诱导的糖尿病动物为伤口愈合受损的。在处理的糖尿病的、未处理的糖尿病的和非糖尿病的小鼠中，重要的创伤愈合参数的比较显示用制剂 HO/03/03 处理的组表现出协同的愈合作用。所述协同作用在包括表皮闭合 (71％对比糖尿病对照中的 17％ $p < 0.05$)，表皮分化 (28％对比 0％) 和真皮收缩 (33％对比 0％) 的所有关键性的愈合阶段中都是明显的。

[0296] 通过伤口两侧边缘处的皮下组织的存在 (或不存在) 评估皮下组织的机化。通过创伤床中成纤维细胞和胶原纤维的存在评估肉芽组织形成。当肉芽组织的连续层在创伤缺口中存在时，认为对于肉芽组织形成来说创伤是阳性的。此外，我们已经定义了 3 种表征糖尿病创伤中的严重炎症的特定的组织学参数 :(i) 创伤区域的脓肿形成，(ii) 过度的白细胞增多 (在固定的域 (x200) 中＞ 100 个细胞) 和 (iii) 固定的域 (x200) 中显示的血管中高的白血球 (WBC) / 红血球 (RBC) 比率。当这些参数中的至少 2 个存在于创伤缺口处时，创伤被认为是严重发炎的。

[0297] 表 13 :创伤后 9 天创伤愈合参数的组织学分析

[0298]

治疗组	表皮闭合 (K14)	真皮闭合 (H&E)	表皮分化 (KI)
糖尿病的+PBS	17%	0%	0%
糖尿病的+胰岛素 0.1单位	17%	0%	0%
糖尿病的+HO/02 1 ug/ml	17%	17%	17%
糖尿病的+HO/03/03	71%	28%	33%
非糖尿病的			
注射缓冲液柠檬酸盐的+PBS	100%	17%	100%

[0299] * 如上文所描述的进行愈合参数的定量分析。

[0300] 结果表示为每组中创伤的百分比。

[0301] 表 14 :创伤后 9 天创伤愈合参数的组织学分析

[0302]

治疗组	皮下组织	严重的炎症	肉芽组织
糖尿病的+PBS	25%	67%	42%
糖尿病的+ 胰岛素 0.1单位	10%	100%	40%
糖尿病的+SEQ ID NO:6 1 ug/ml	10%	30%	50%
糖尿病的+HO/03/03	43%	28%	86%
非糖尿病的			
注射缓冲液柠檬酸盐的 +PBS	100%	17%	92%

[0303] * 如上文所描述的进行愈合参数的定量分析。

[0304] 结果表示为每组中创伤的百分比。

[0305] 如表 14 中所示，糖尿病动物在其他创伤愈合参数（例如创伤边缘处皮下组织的机化、炎症和肉芽组织形成）上表现出损害。如通过创伤缺口边缘处皮下组织的机化（43％对比 25％）和肉芽组织形成（86％对比 42％）所证明的糖尿病相关的受损的愈合参数通过使用制剂 HO/03/03 的治疗来修正。使用 HO/03/03 的治疗减少了创伤缺口中的炎性响应（28％对比 67％）。配方试剂单独的愈合效用（胰岛素或 SEQ ID NO :6 的肽）仅表现出部分愈合作用。

[0306] 上文概述的结果证实在多个愈合参数上制剂 HO/03/03 在克服糖尿病相关愈合损害上表现出协同作用。

[0307] 实施例 12. 猪皮肤模型中与 PKCα 抑制剂 HO/02 组合的胰岛素在体内创伤愈合中的效用

[0308] 在猪皮肤模型系统中进行了几个创伤愈合研究以进一步了解创伤愈合过程以及制剂 HO/03/03 的愈合作用。

[0309] 在麻醉的雌性猪（5 个月大，60-70kg）的背部进行全层的 35-40mm 的皮肤切口。在背部区域的两侧以距脊柱相同的距离进行十个对称的切口（总共 20 个创伤）。通过直接向创伤区域应用 1ml1PBS(10 头每组）或包含胰岛素 0.1 单位和 N- 豆蔻酰化的 SEQ ID NO :6 的 PKCα 抑制剂 1μg/ml 的制剂（本文称为 HO/03/03)(10 头每组）每天处理创伤，一天两次。从创伤后第 7 和 22 天处死的动物切下创伤并且进行形态学、组织学和免疫组化评估。

[0310] 如表 15 中所示，使用制剂 HO/03/03 的治疗通过在愈合的早期影响表皮迁移和肉芽组织形成加速了创伤愈合。而且，这些创伤是大的并且易于感染自环境病原体（动物没有保留在无菌条件下），然而 HO/03/03 表现出减弱了创伤缺口处的炎性响应由此促进愈合过程。

[0311] 表 15 :创伤后 7 天猪中制剂 HO/03/03 的效用的组织学分析。

[0312]

治疗组	表皮迁移	严重的炎症	肉芽组织形成
PBS	30%	60%	50%
HO/03/03	80%	30%	85%

[0313] * 结果表示为每组中创伤的百分比。

[0314] 表 16 :创伤后 22 天猪中制剂 HO/03/03 的效用的组织学分析

[0315]

治疗组	表皮闭合	表皮分化	真皮收缩
PBS	88%	67%	25%
HO/03/03	100%	90%	70%

[0316] * 结果表示为每组中创伤的百分比。

[0317] 当测试晚期愈合阶段时，HO/03/03 处理的创伤还表现出加速的愈合。如表 16 中所示，在上皮闭合上没有注意到差别，但是在处理的创伤中真皮收缩和表皮分化显著更高。重要的是强调这些创伤在同一个动物上进行，由此有助于所述治疗的标记的愈合作用。

[0318] 从上文概述的结果很容易理解，制剂 HO/03/03 促进猪皮肤模型中的加速的愈合，影响创伤愈合的早期以及晚期阶段中的愈合参数。

[0001]

序列表

<110> 希尔洛有限公司

<120> 用于治疗炎性疾病和病症的方法

<130> HLOR.P0014WO

<150> 61/405509
<151> 2010-10-21

<150> 61/293794
<151> 2010-01-11

<160> 39

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 1

Phe Ala Arg Lys Gly Ala
1 5

<210> 2
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 2

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln
1 5

<210> 3
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 3

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu
1 5

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 4

[0002]

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Arg Gln
1 5

<210> 5
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 5

Thr Leu Asn Pro Gln Trp Glu Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(1)
<223> 用豆蔻酰基修饰的

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (9)..(9)
<223> C末端醇基团

<400> 6

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (9)..(9)
<223> C末端醇基团

<400> 7

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln
1 5

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0003]

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(1)
<223> 用豆蔻酰基修饰的

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (7)..(7)
<223> C末端醇基团

<400> 8

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu
1 5

<210> 9
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (8)..(8)
<223> C末端醇基团

<400> 9

Thr Leu Asn Pro Gln Trp Glu Ser
1 5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(1)
<223> 用棕榈酰基修饰的

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (9)..(9)
<223> C末端醇

<400> 10

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln
1 5

<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0004]

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(1)
<223> 用棕榈酰基修饰的

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (8)..(8)
<223> C末端醇基团

<400> 11

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Arg Gln
1 5

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(1)
<223> 用豆蔻酰基修饰的

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (7)..(7)
<223> C末端醇基团

<400> 12

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (9)..(9)
<223> C末端醇基团

<400> 13

Phe Ala Arg Lys Gly Ala Leu Arg Gln
1 5

<210> 14
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0005]

<400> 14

Glu Ala Val Ser Leu Lys Pro Thr
1 5

<210> 15
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 15

Pro Tyr Ile Ala Leu Asn Val Asp
1 5

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 16

Pro Ala Trp His Asp
1 5

<210> 17
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 17

Leu Glu Pro Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Lys
1 5 10

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 18

His Phe Glu Asp Trp Ile Asp
1 5

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0006]

<400> 19

Val Tyr Val Ile Ile Asp Leu
1 5

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (8)..(8)
<223> C末端醇基团

<400> 20

Glu Ala Val Ser Leu Lys Pro Thr
1 5

<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (8)..(8)
<223> C末端醇基团

<400> 21

Pro Tyr Ile Ala Leu Asn Val Asp
1 5

<210> 22
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (5)..(5)
<223> C末端醇基团

<400> 22

Pro Ala Trp His Asp
1 5

<210> 23
<211> 12
<212> PRT

[0007]

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (12)..(12)
<223> C末端醇基团

<400> 23

Leu Glu Pro Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Lys
1 5 10

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (7)..(7)
<223> C末端醇基团

<400> 24

His Phe Glu Asp Trp Ile Asp
1 5

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (7)..(7)
<223> C末端醇基团

<400> 25

Val Tyr Val Ile Ile Asp Leu
1 5

<210> 26
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽

<400> 26

Thr Arg Lys Arg Gln Arg Ala Met Arg Arg Arg Val His Gln Ile Asn
1 5 10 15

[0008]

Gly

<210> 27
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 27

Lys Arg Thr Leu Arg
1 5

<210> 28
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(1)
<223> 用豆蔻酰基修饰的

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (17)..(17)
<223> C末端醇基团

<400> 28

Thr Arg Lys Arg Gln Arg Ala Met Arg Arg Arg Val His Gln Ile Asn
1 5 10 15

Gly

<210> 29
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(1)
<223> 用豆蔻酰基修饰的

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (5)..(5)
<223> C末端醇基团

<400> 29

Lys Arg Thr Leu Arg

[0009]

1 5

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 30

His Phe Glu Asp Trp Ile Asp
1 5

<210> 31
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 31

His Phe Glu Asp Trp Ile Asp His Phe Glu Asp Trp Ile Asp
1 5 10

<210> 32
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 32

Met Arg Ala Ala Glu Ala Ala Ala Ala Glu Pro Met
1 5 10

<210> 33
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 33

Val Tyr Val Ile Ile Asp Leu His Phe Glu Asp Trp Ile Asp
1 5 10

<210> 34
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征

[0010]

<222> (14)..(14)
<223> C末端醇基团

<400> 34

His Phe Glu Asp Trp Ile Asp His Phe Glu Asp Trp Ile Asp
1 5 10

<210> 35
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (12)..(12)
<223> C末端醇基团

<400> 35

Met Arg Ala Ala Glu Ala Ala Ala Ala Glu Pro Met
1 5 10

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (7)..(7)
<223> C末端醇基团

<400> 36

His Phe Glu Asp Trp Ile Asp
1 5

<210> 37
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (14)..(14)
<223> C末端醇基团

<400> 37

Val Tyr Val Ile Ile Asp Leu His Phe Glu Asp Trp Ile Asp
1 5 10

<210> 38

[0011]

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 38

Ser Ile Tyr Arg Arg Gly Ala Arg Arg Trp Arg Lys Leu
1 5 10

<210> 39
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (1)..(1)
<223> 用豆蔻酰基修饰的

<220>
<221> 尚未归类的特征
<222> (13)..(13)
<223> C末端醇基团

<400> 39

Ser Ile Tyr Arg Arg Gly Ala Arg Arg Trp Arg Lys Leu
1 5 10

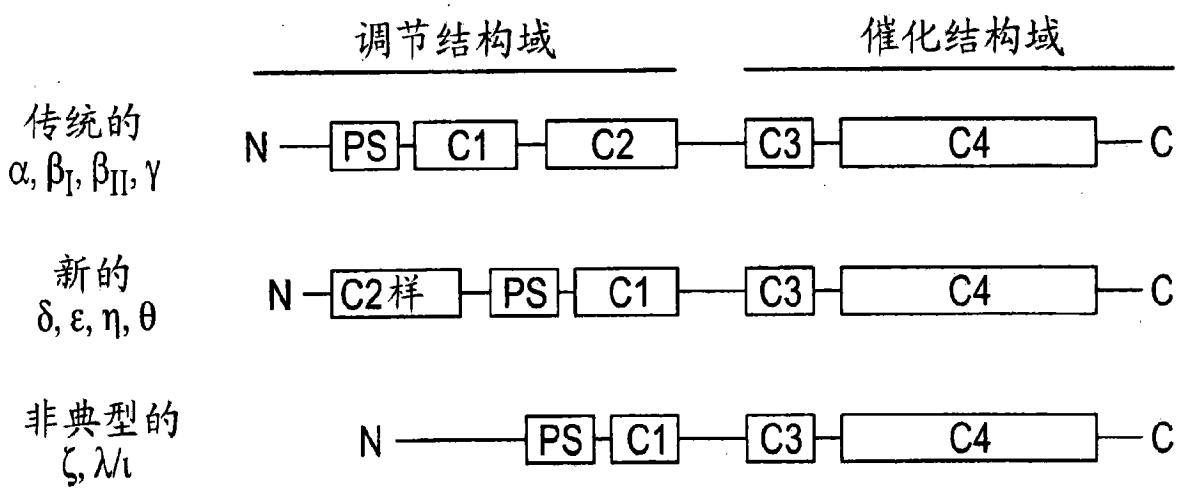

调节结构域
催化结构域
传统的
α, βI, βII, γ
N
PS
C1
C2
C3
C4
C
新的
δ, ε, η, θ
C2样
非典型的
ζ, λ/ι

图 1

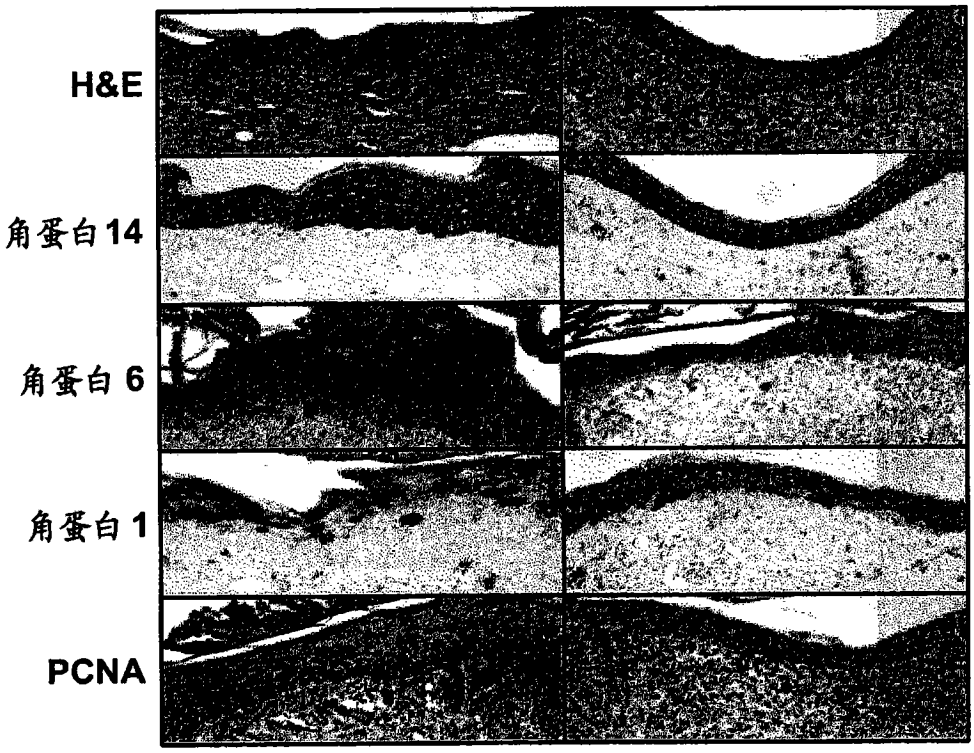

H&E
角蛋白 14
角蛋白 6
角蛋白 1
PCNA

图 2

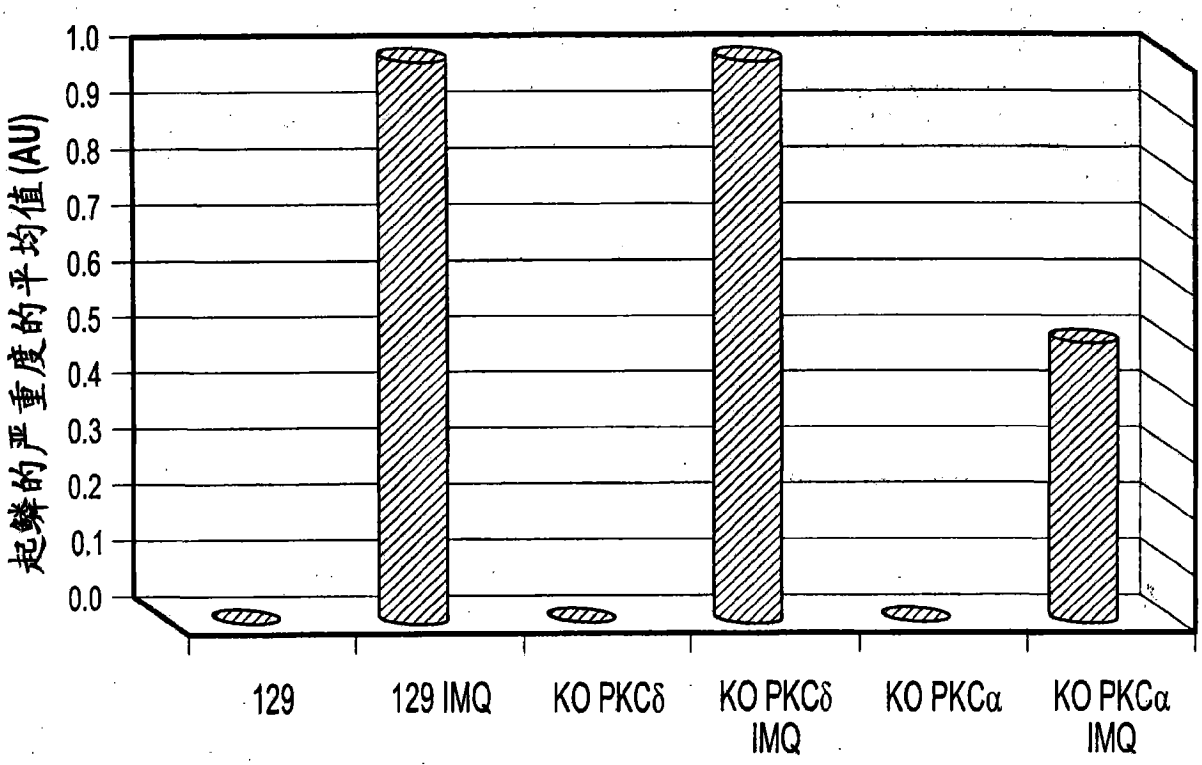

起鳞的严重度的平均值(AU)
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
129
129 IMQ
KO PKCδ
KO PKCδ IMQ
KO PKCα
KO PKCα IMQ

图 3

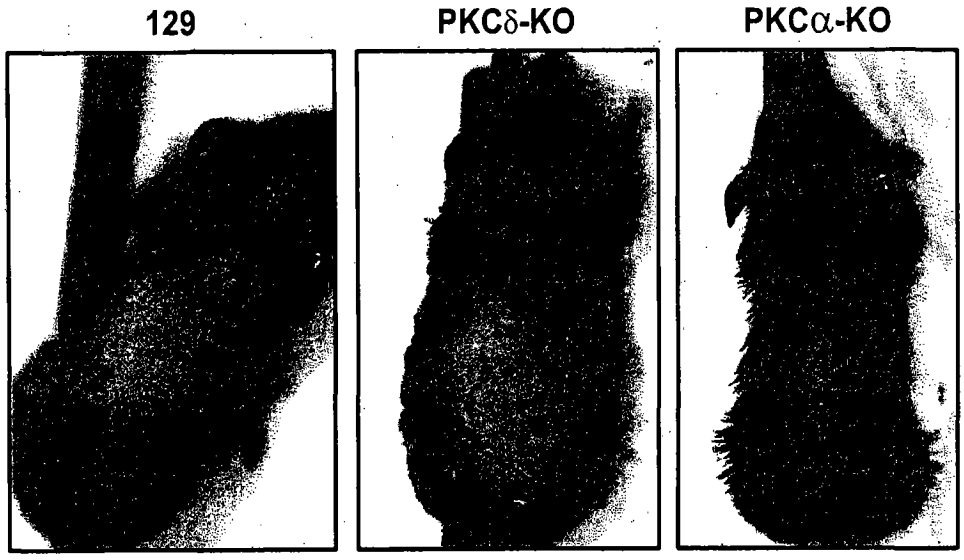

129
PKCδ-KO
PKCα-KO

图 4

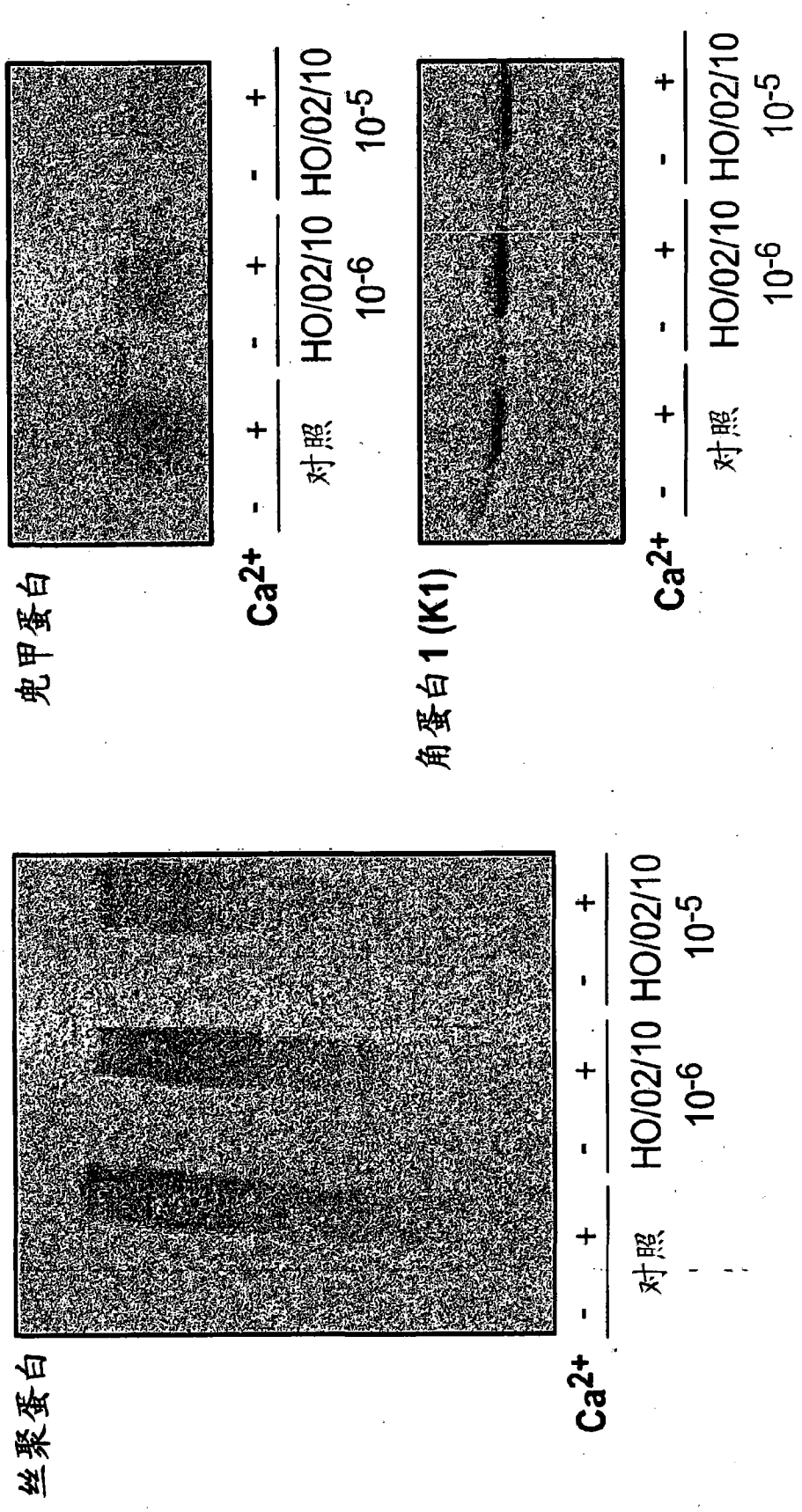
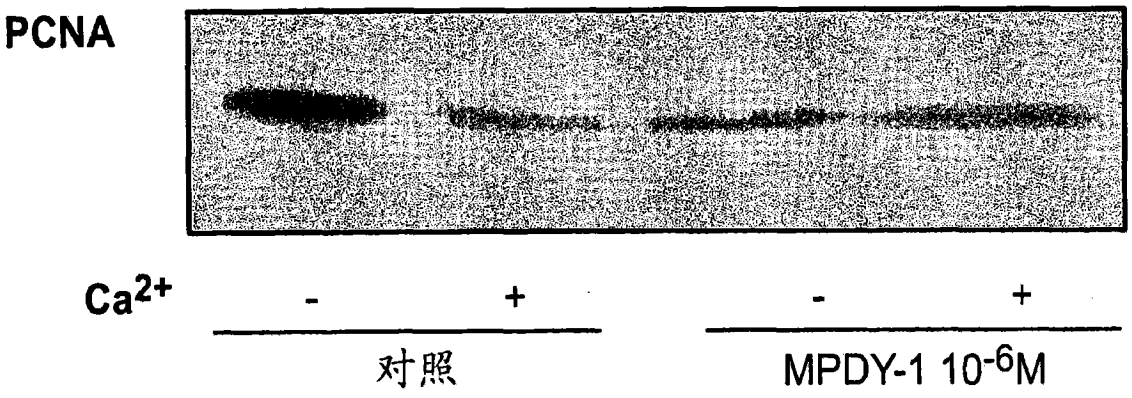

兜甲蛋白
Ca2+ - + - + - +
对照 HO/02/10 10-6 HO/02/10 10-5
角蛋白1 (K1)
Ca2+ - + - + - +
对照 HO/02/10 10-6 HO/02/10 10-5
丝聚蛋白
Ca2+ - + - + - +
对照 HO/02/10 10-6 HO/02/10 10-5

图 5

体 外


PCNA
Ca2+
-
+
-
+
对照
MPDY-1 10-6M

体 内

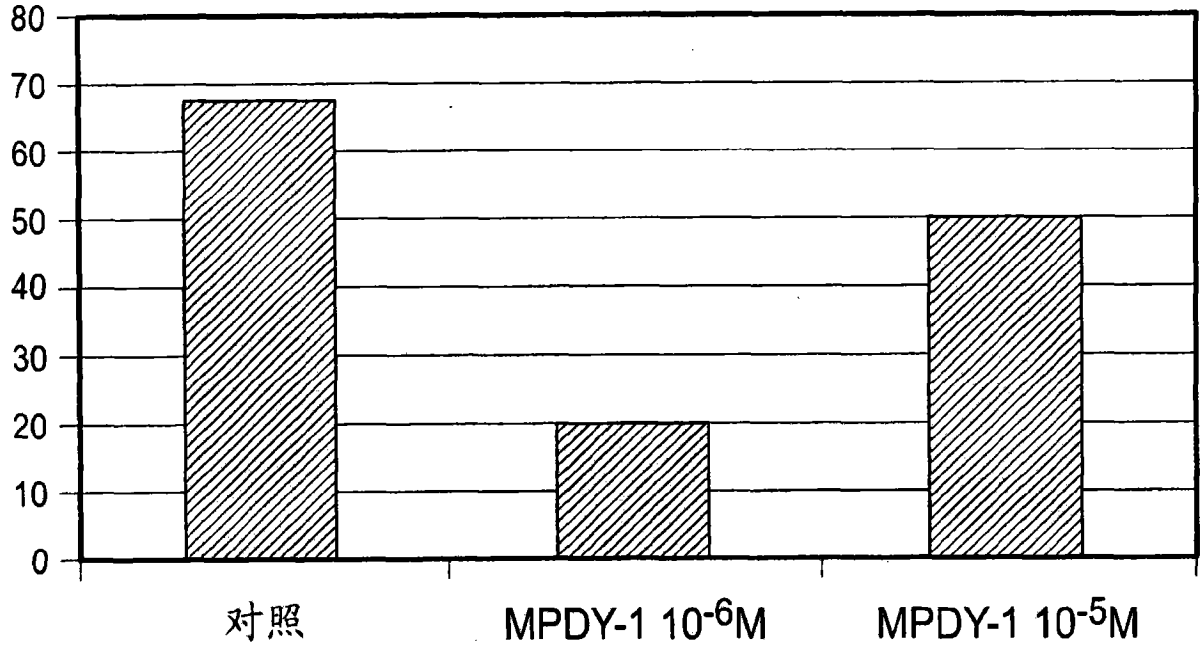

80
70
60
50
40
30
20
10
0
对照
MPDY-1 10-6M
MPDY-1 10-5M

图 6

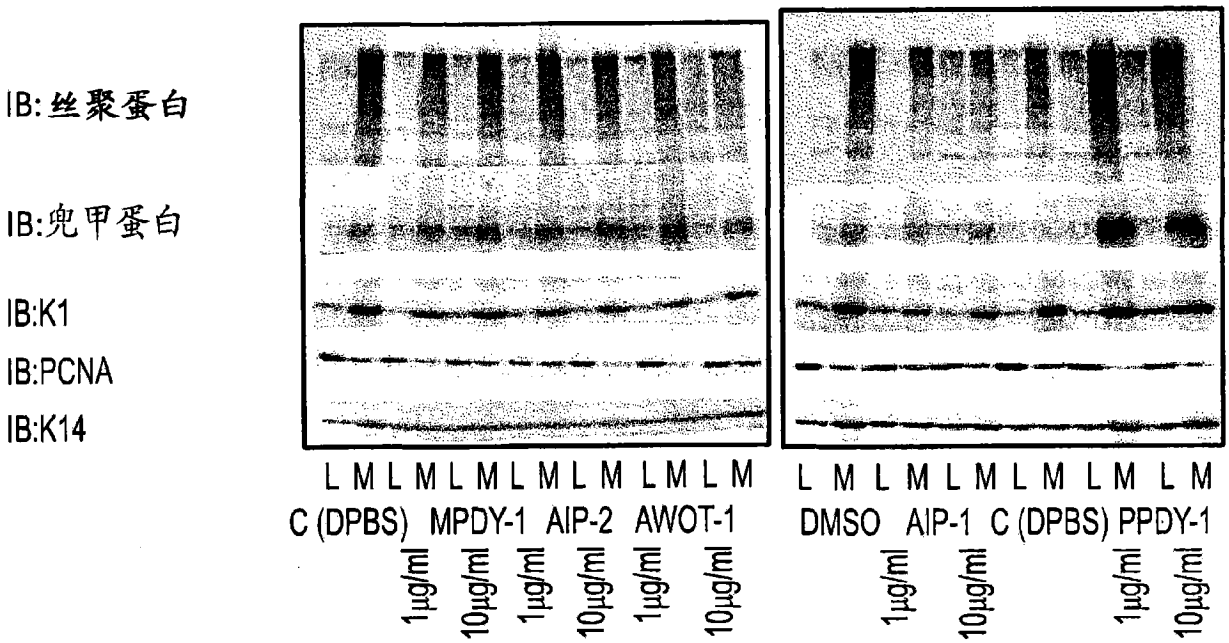


图 7

肽	浓度	丝聚蛋白	兜甲蛋白	K1	PCNA
MPDY-1	1 μg/ml	⇩	⇩	⇔	⇩
	10 μg/ml	⇩	⇩	⇔	⇔
AIP-2	1 μg/ml	⇩	⇩	⇩	⇩
	10 μg/ml	⇩	⇩	⇩	⇩
AWOT-1	1 μg/ml	⇩	⇩	⇩	⇔
	10 μg/ml	⇩	⇩	⇩	⇔
AIP-1	1 μg/ml	⇩	⇩	⇩	⇔
	10 μg/ml	⇩	⇩	⇩	⇔
PPDY-1	1 μg/ml	⇧	⇧	⇔	⇩
	10 μg/ml	⇧	⇧	⇔	⇩

图 8

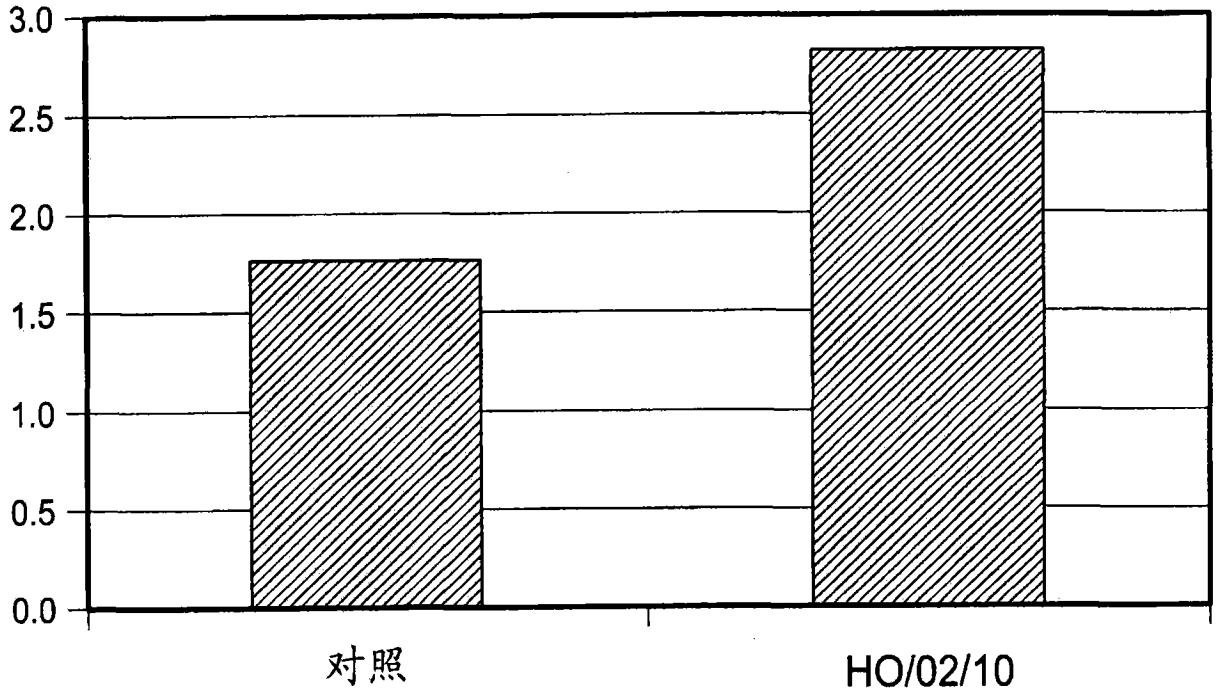

3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
对照
HO/02/10

图 9

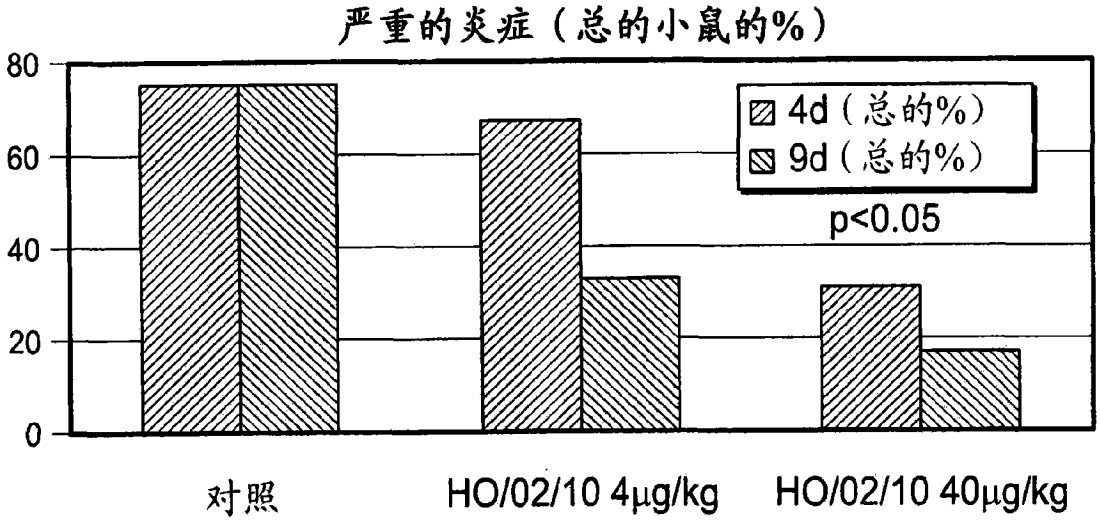

严重的炎症（总的小鼠的%）
80
60
40
20
0
4d（总的%）
9d（总的%）
p<0.05
对照
HO/02/10 4μg/kg
HO/02/10 40μg/kg

图 10

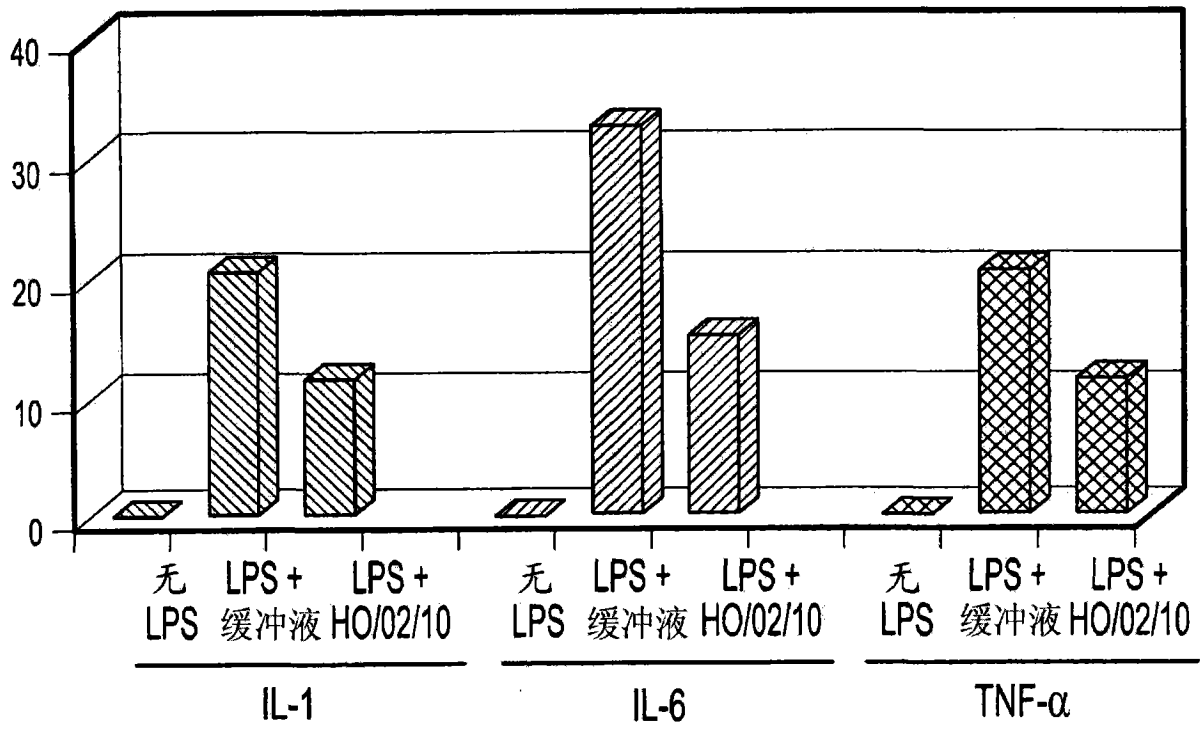

40
30
20
10
0
无 LPS
LPS + 缓冲液
LPS + HO/02/10
无 LPS
LPS + 缓冲液
LPS + HO/02/10
无 LPS
LPS + 缓冲液
LPS + HO/02/10
IL-1
IL-6
TNF-α

图 11

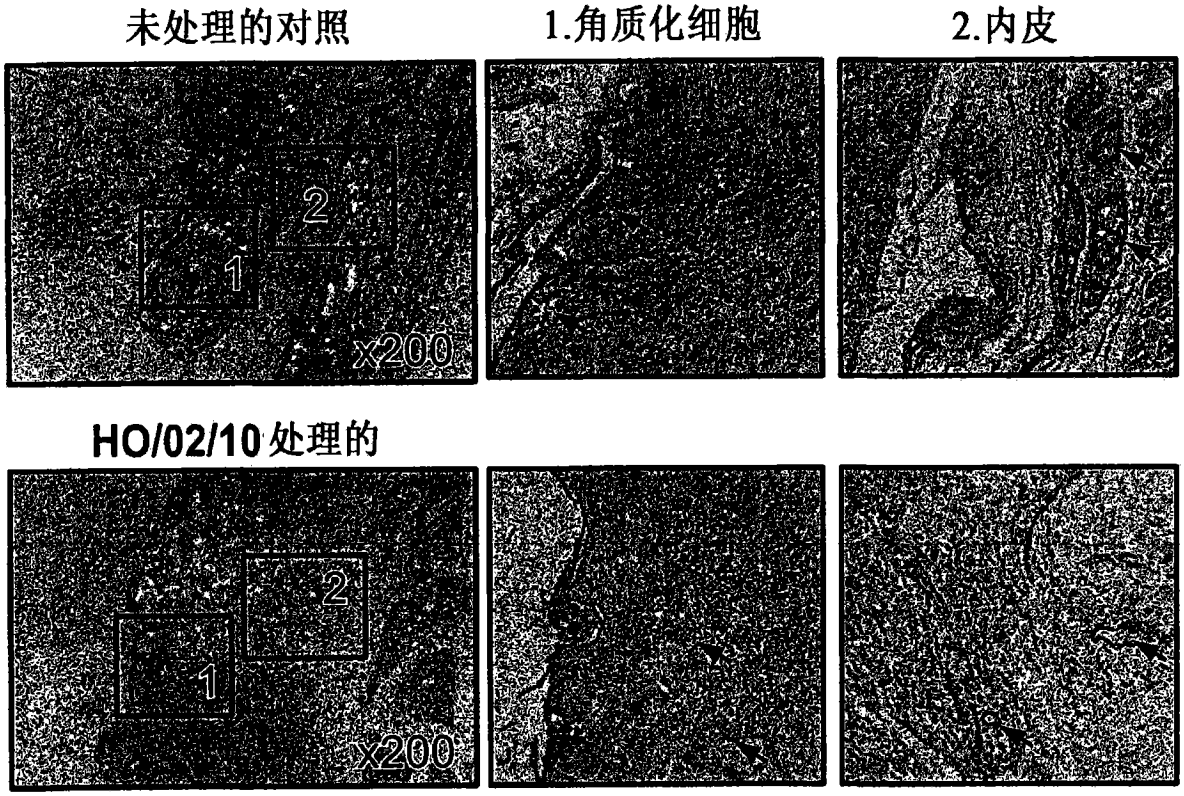

未处理的对照
1.角质化细胞
2.内皮
2
1
x200
HO/02/10处理的
2
1
x200

图 12

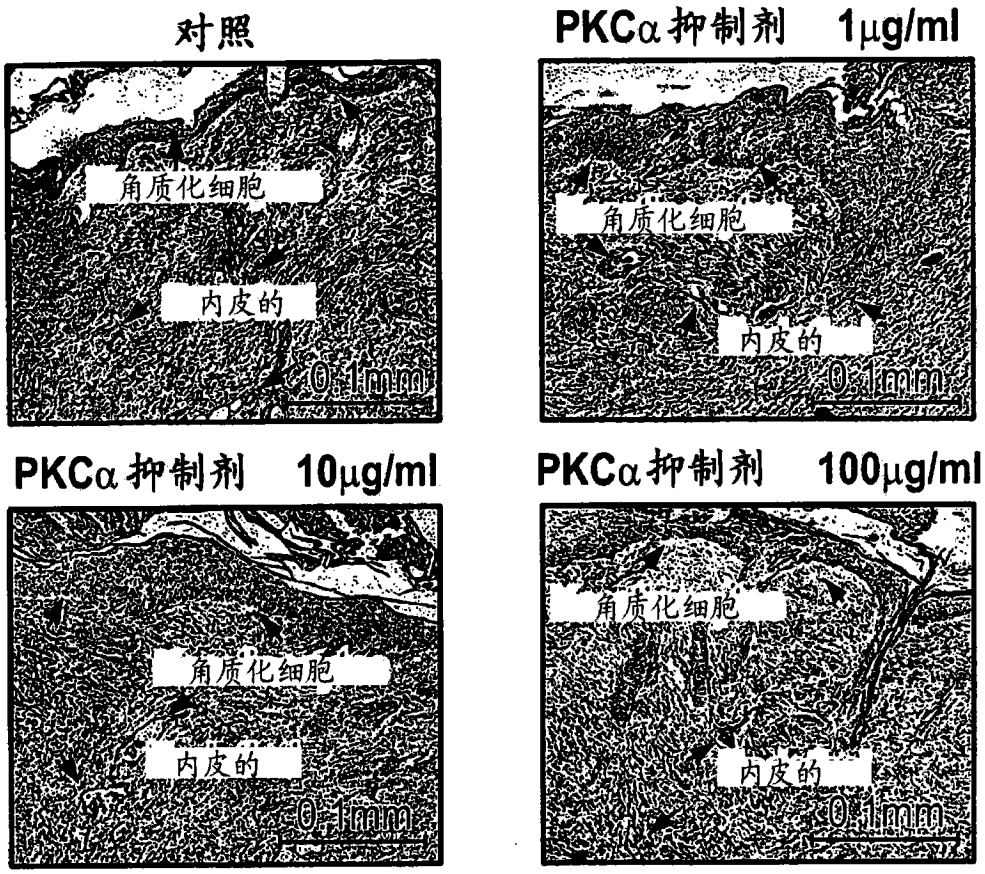

对照
角质化细胞
内皮的
0.1mm
PKCα抑制剂 1μg/ml
角质化细胞
内皮的
0.1mm
PKCα抑制剂 10μg/ml
角质化细胞
内皮的
0.1mm
PKCα抑制剂 100μg/ml
角质化细胞
内皮的
0.1mm

图 13

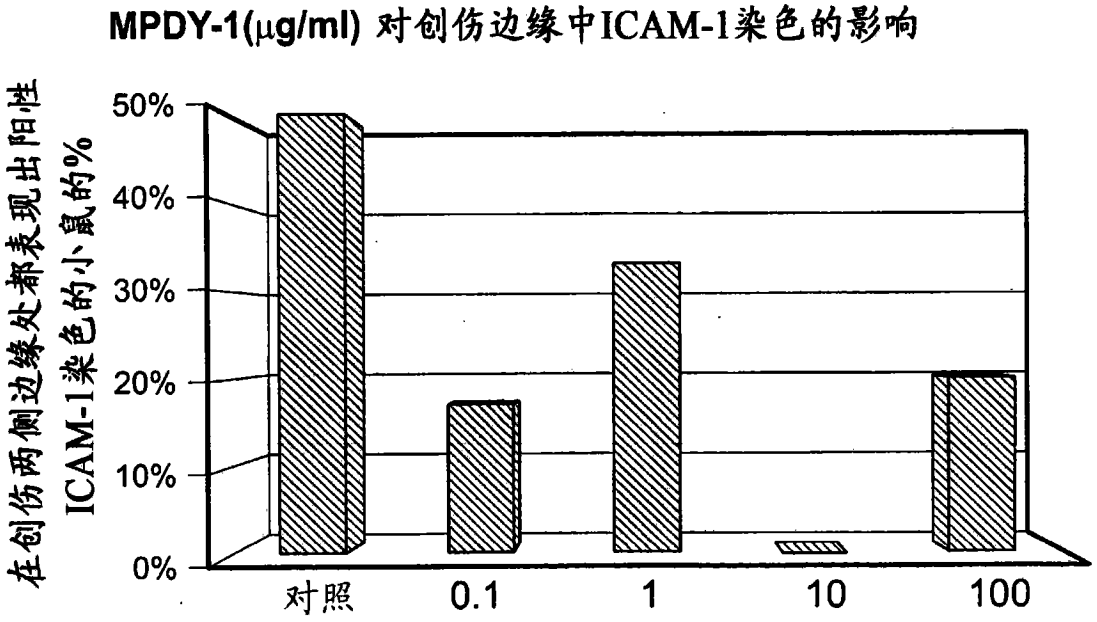

MPDY-1(μg/ml) 对创伤边缘中ICAM-1染色的影响
在创伤两侧边缘处都表现出阳性ICAM-1染色的小鼠的%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
对照
0.1
1
10
100

图 14

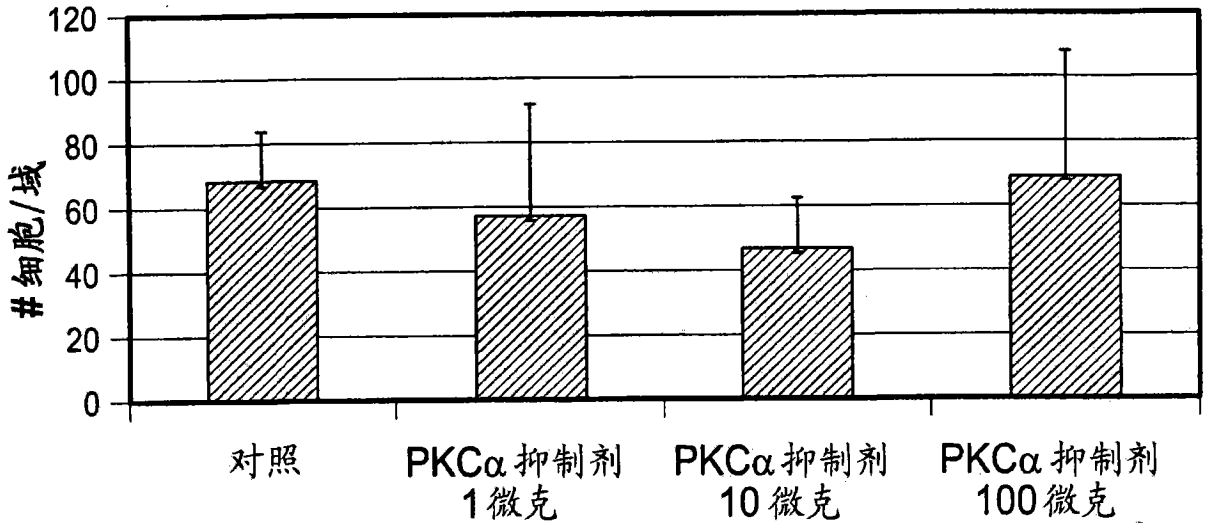

120
100
80
60
40
20
0
#细胞/域
对照
PKCα抑制剂 1微克
PKCα抑制剂 10微克
PKCα抑制剂 100微克

图 15

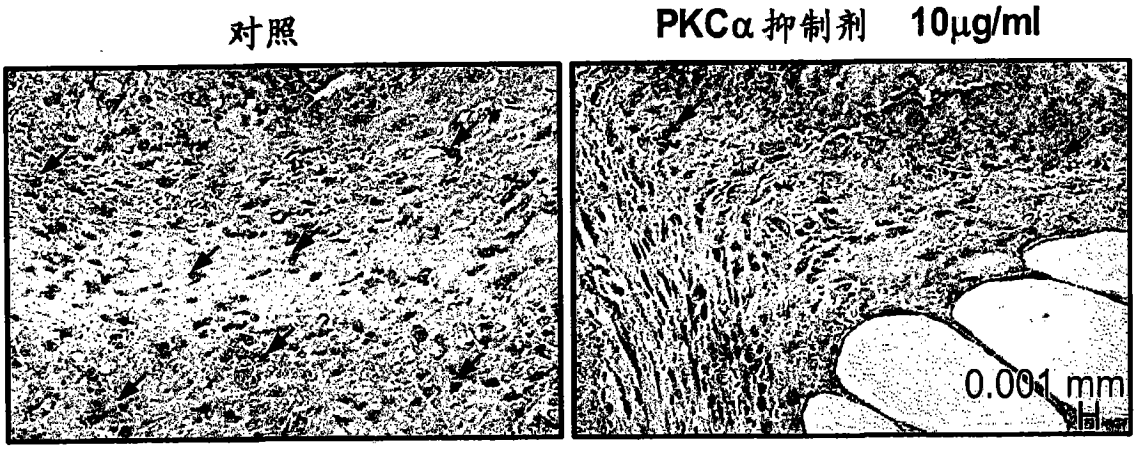

对照
PKCα抑制剂 10μg/ml
0.001 mm

图 16A

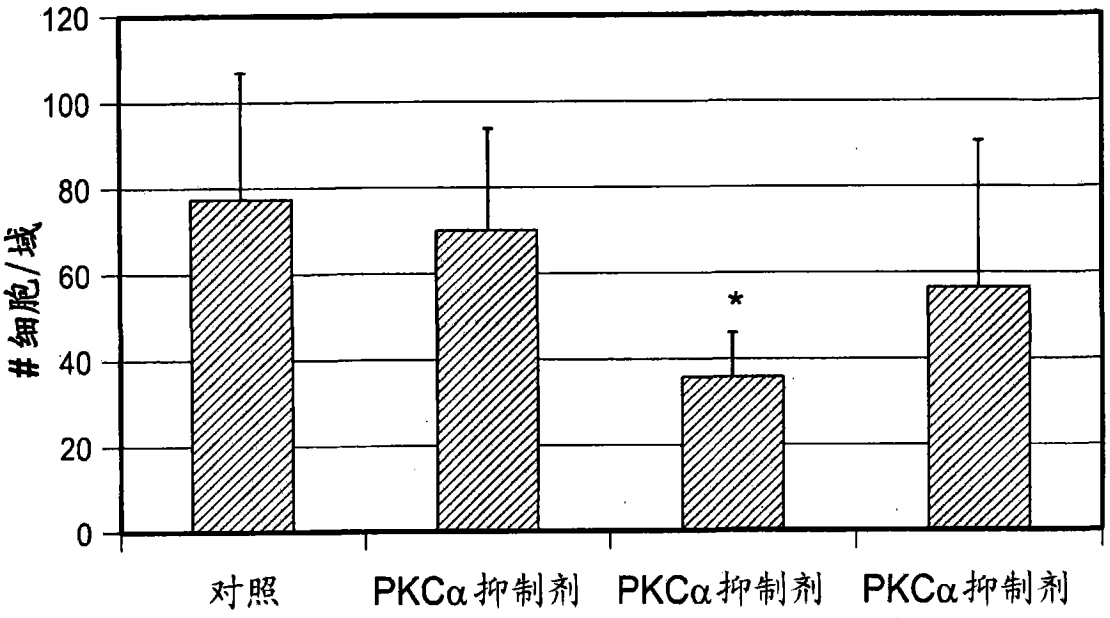

120
100
80
60
40
20
0
#细胞/域
*
对照
PKCα抑制剂
PKCα抑制剂
PKCα抑制剂

图 16B

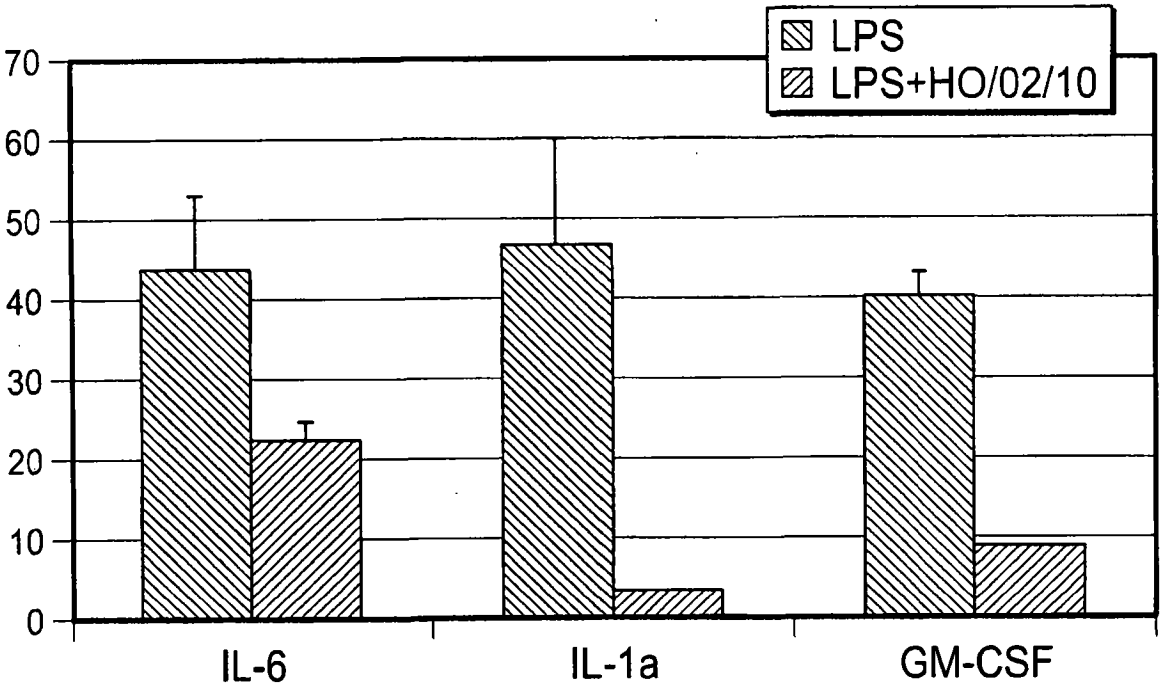

LPS
LPS+HO/02/10
70
60
50
40
30
20
10
0
IL-6
IL-1a
GM-CSF

图 17A

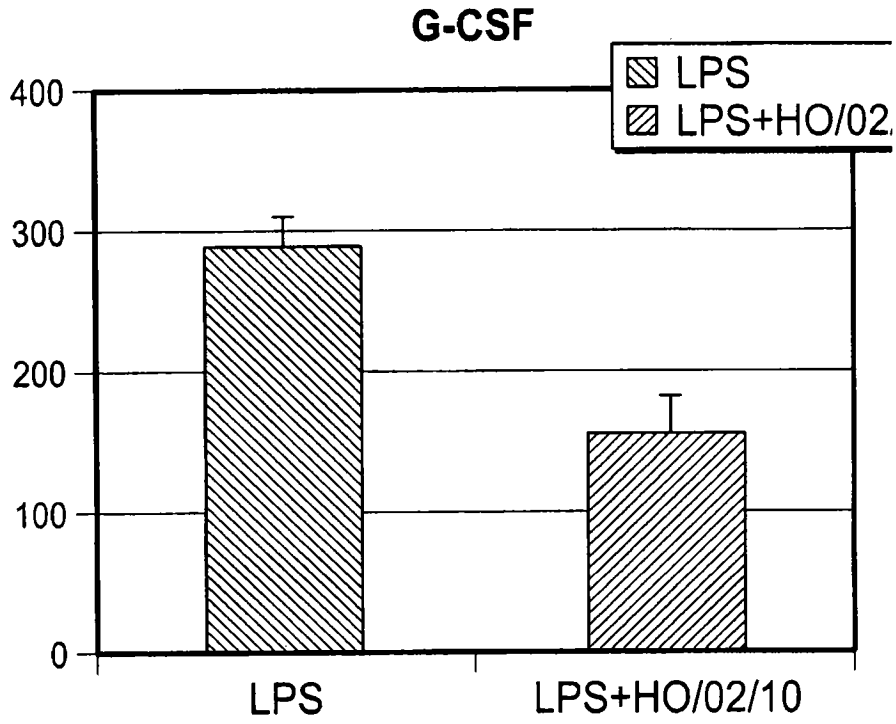

G-CSF
LPS
LPS+HO/02
400
300
200
100
0
LPS
LPS+HO/02/10

图 17B

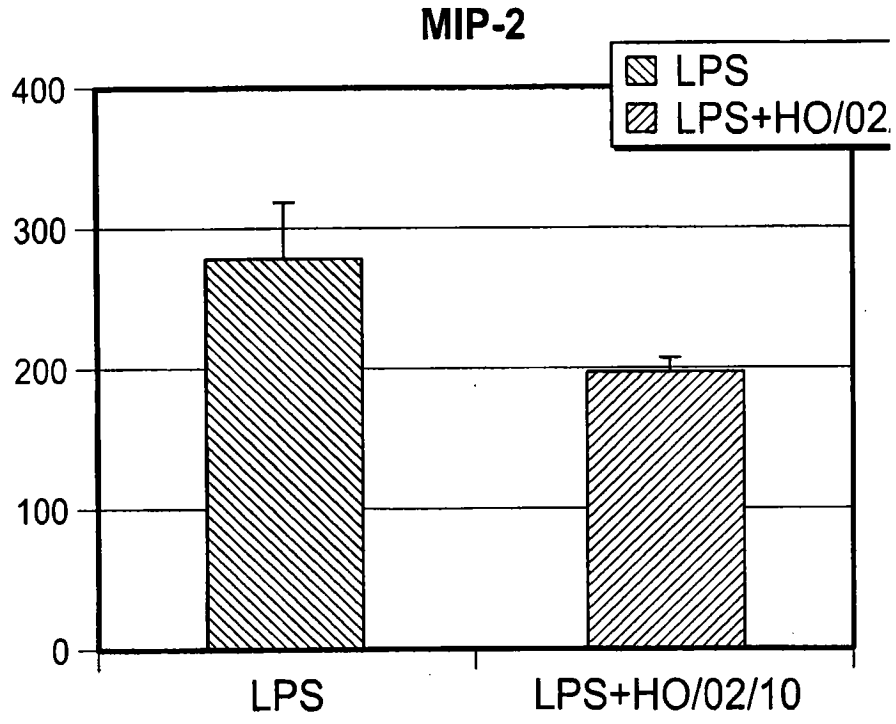

MIP-2
LPS
LPS+HO/02
400
300
200
100
0
LPS
LPS+HO/02/10

图 17C

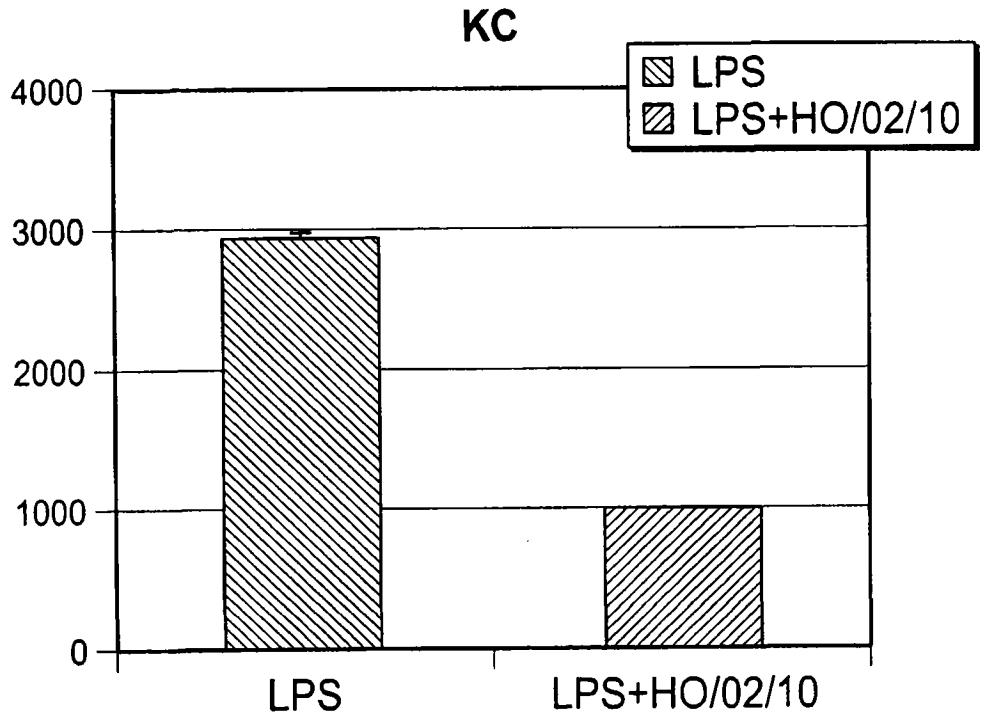

KC
LPS
LPS+HO/02/10
4000
3000
2000
1000
0
LPS
LPS+HO/02/10

图 17D

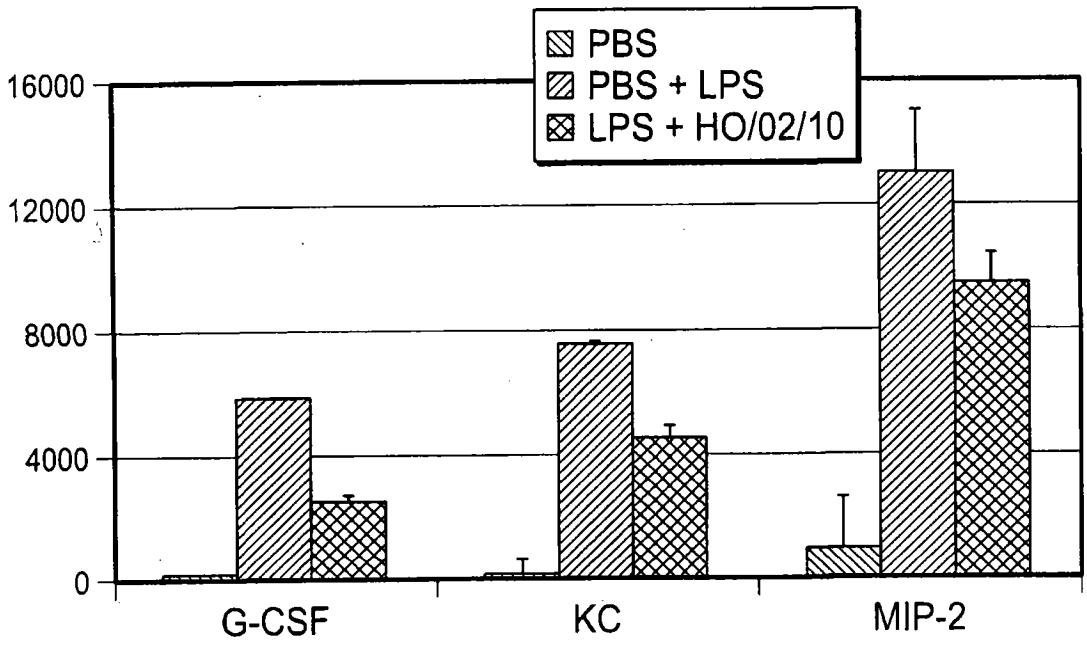

PBS
PBS + LPS
LPS + HO/02/10
16000
12000
8000
4000
0
G-CSF
KC
MIP-2

图 18A

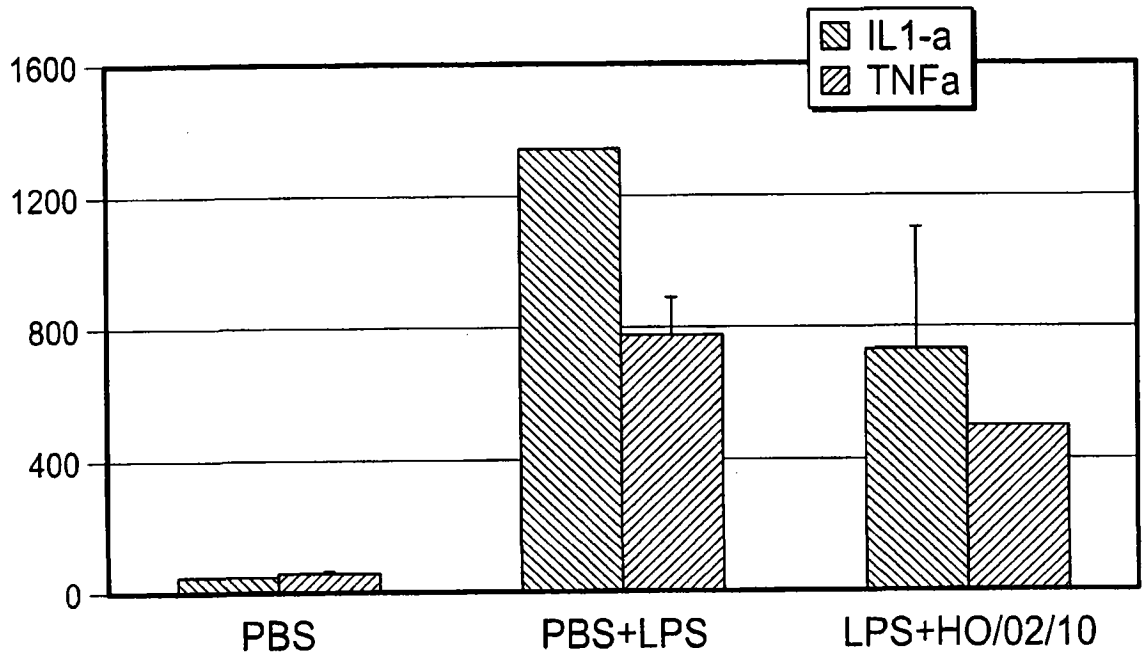

IL1-a
TNFa
1600
1200
800
400
0
PBS
PBS+LPS
LPS+HO/02/10

图 18B

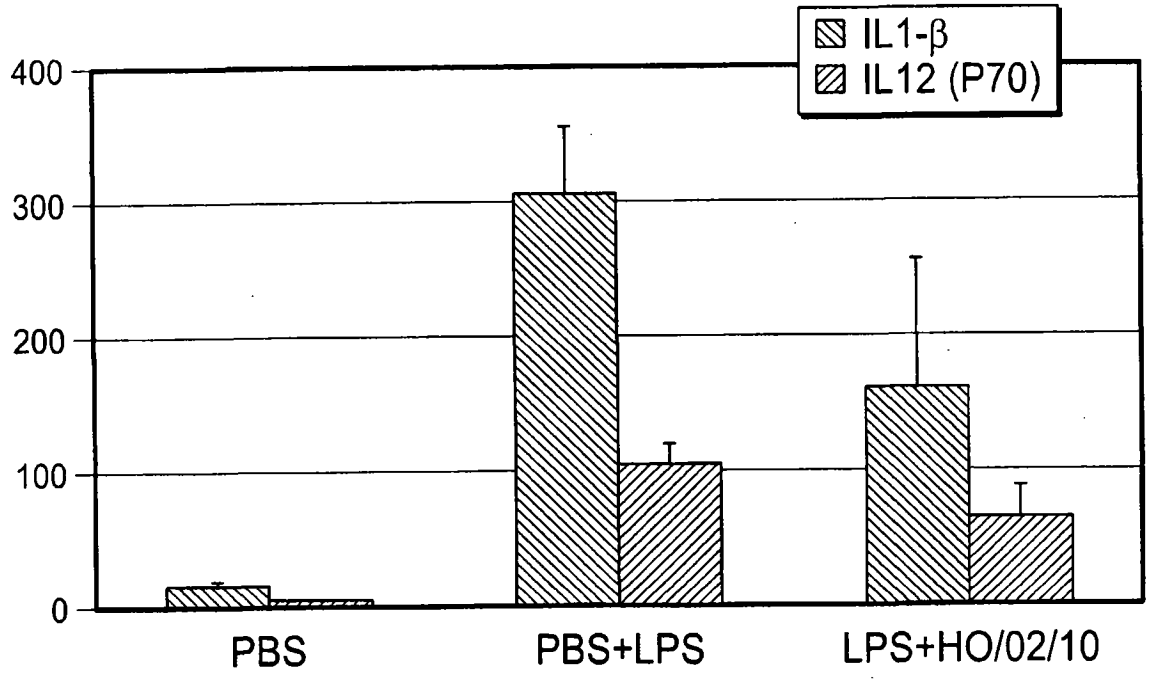

IL1-β
IL12 (P70)
400
300
200
100
0
PBS
PBS+LPS
LPS+HO/02/10

图 18C

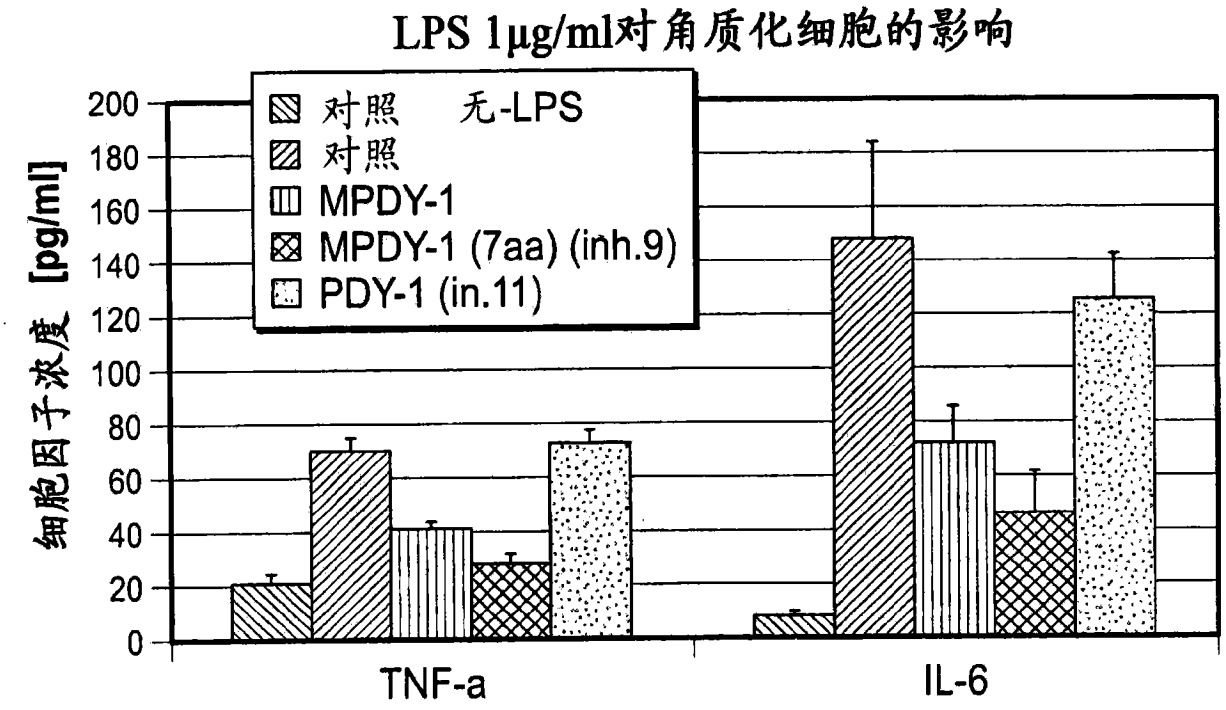

LPS 1μg/ml对角质化细胞的影响
对照 无-LPS
对照
MPDY-1
MPDY-1 (7aa) (inh.9)
PDY-1 (in.11)
细胞因子浓度 [pg/ml]
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
TNF-a
IL-6

图 19

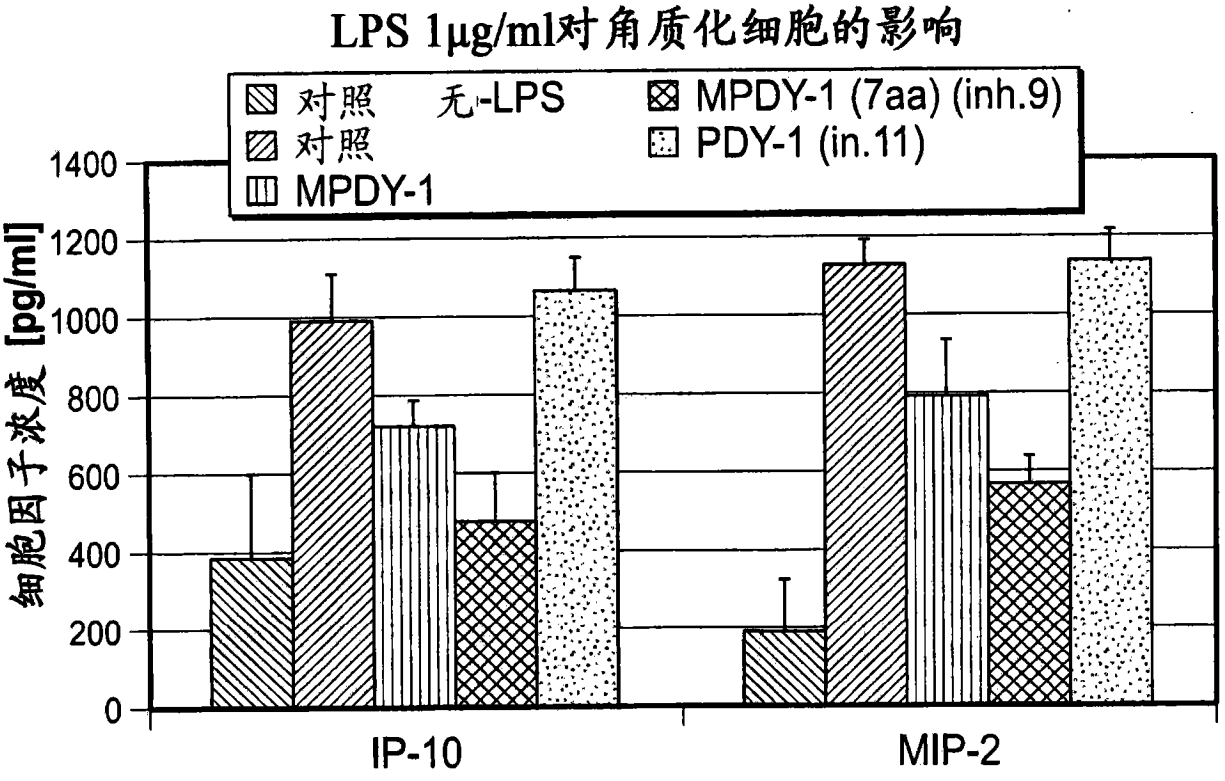

LPS 1μg/ml对角质化细胞的影响
对照 无-LPS
对照
MPDY-1
MPDY-1 (7aa) (inh.9)
PDY-1 (in.11)
细胞因子浓度 [pg/ml]
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
IP-10
MIP-2

图 20

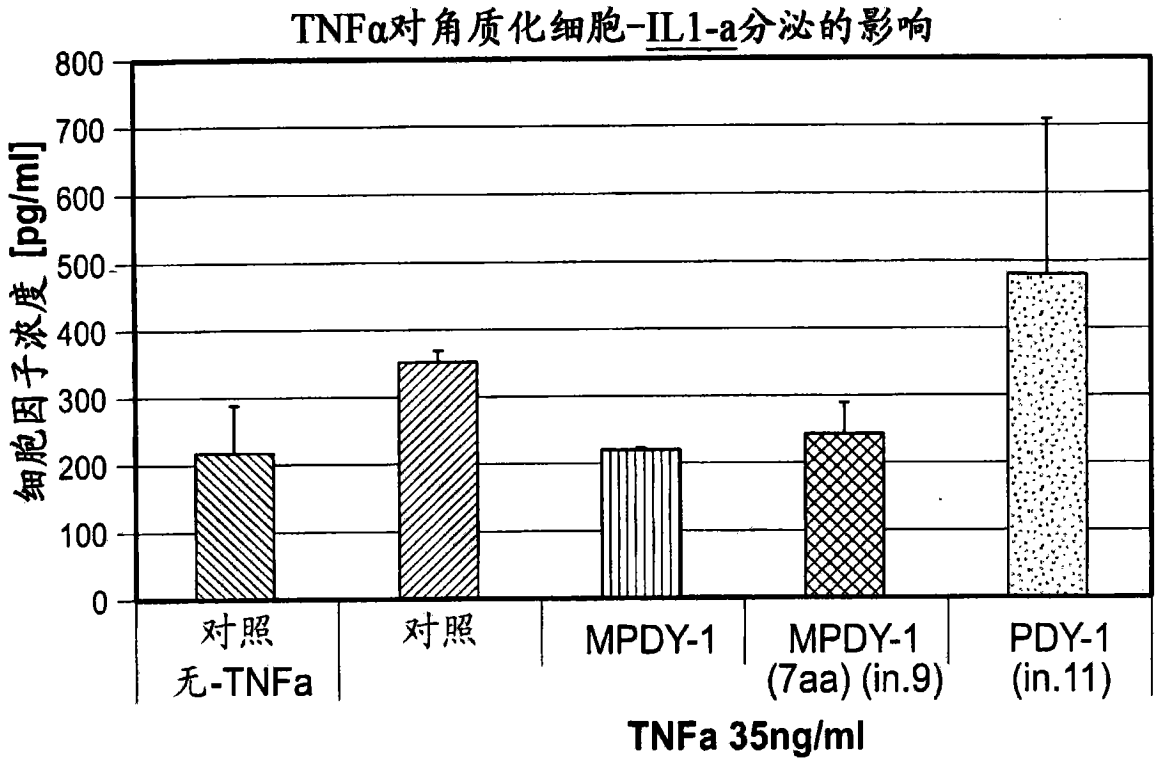

TNFα对角质化细胞-IL1-a分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
800
700
600
500
400
300
200
100
0
对照
无-TNFa
对照
MPDY-1
MPDY-1
(7aa) (in.9)
PDY-1
(in.11)
TNFa 35ng/ml

图 21A

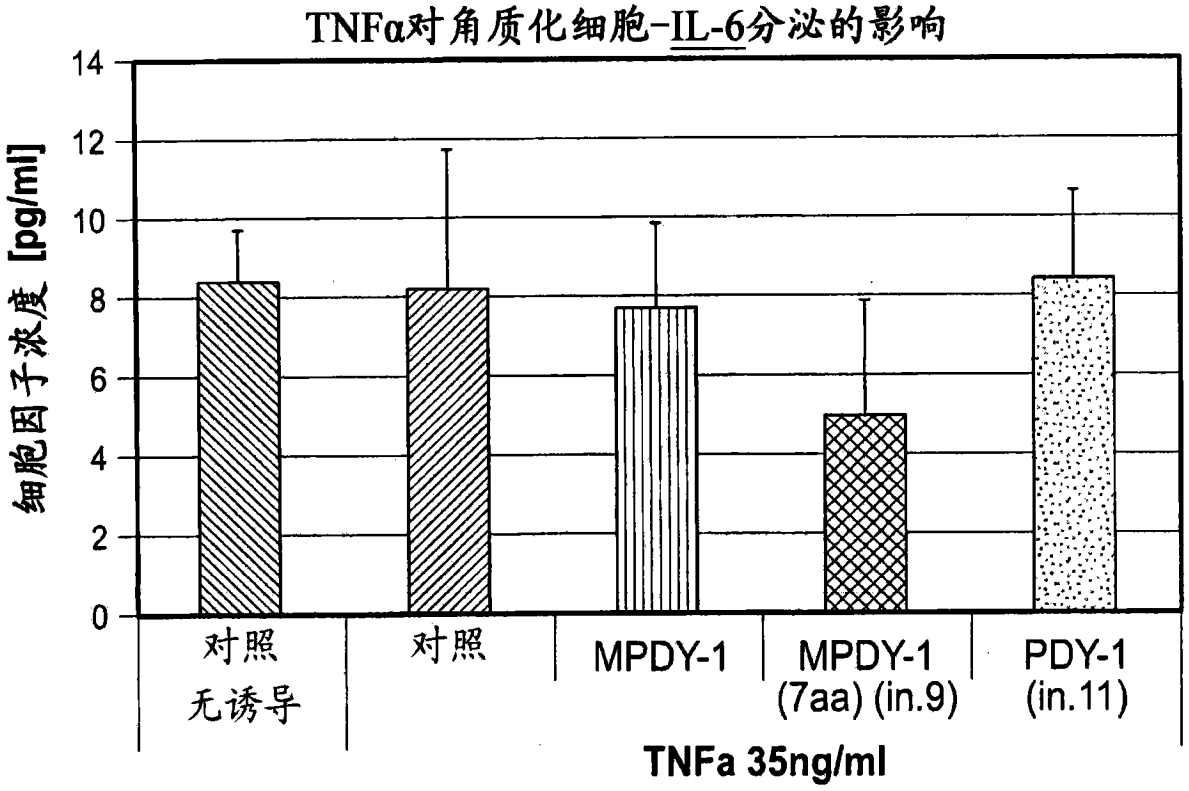

TNFα对角质化细胞-IL-6分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
14
12
10
8
6
4
2
0
对照
无诱导
对照
MPDY-1
MPDY-1
(7aa) (in.9)
PDY-1
(in.11)
TNFa 35ng/ml

图 21B

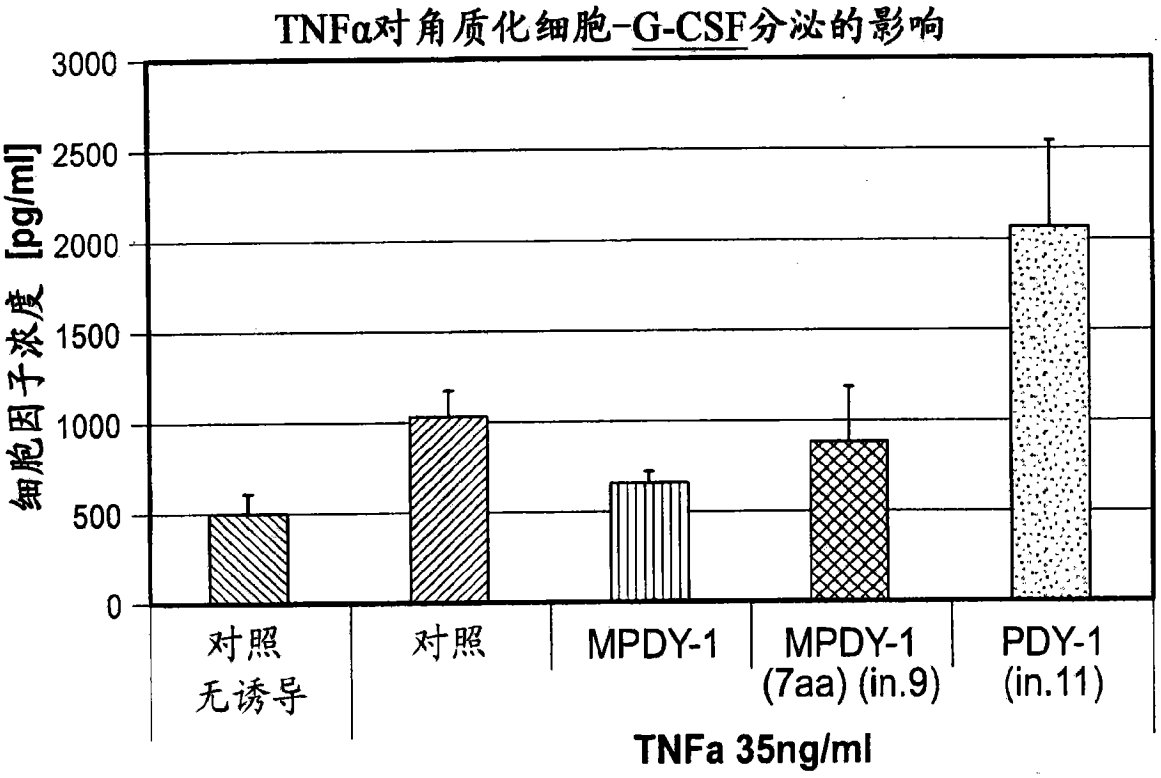

TNFα对角质化细胞-G-CSF分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
对照
无诱导
对照
MPDY-1
MPDY-1
(7aa) (in.9)
PDY-1
(in.11)
TNFa 35ng/ml

图 22A

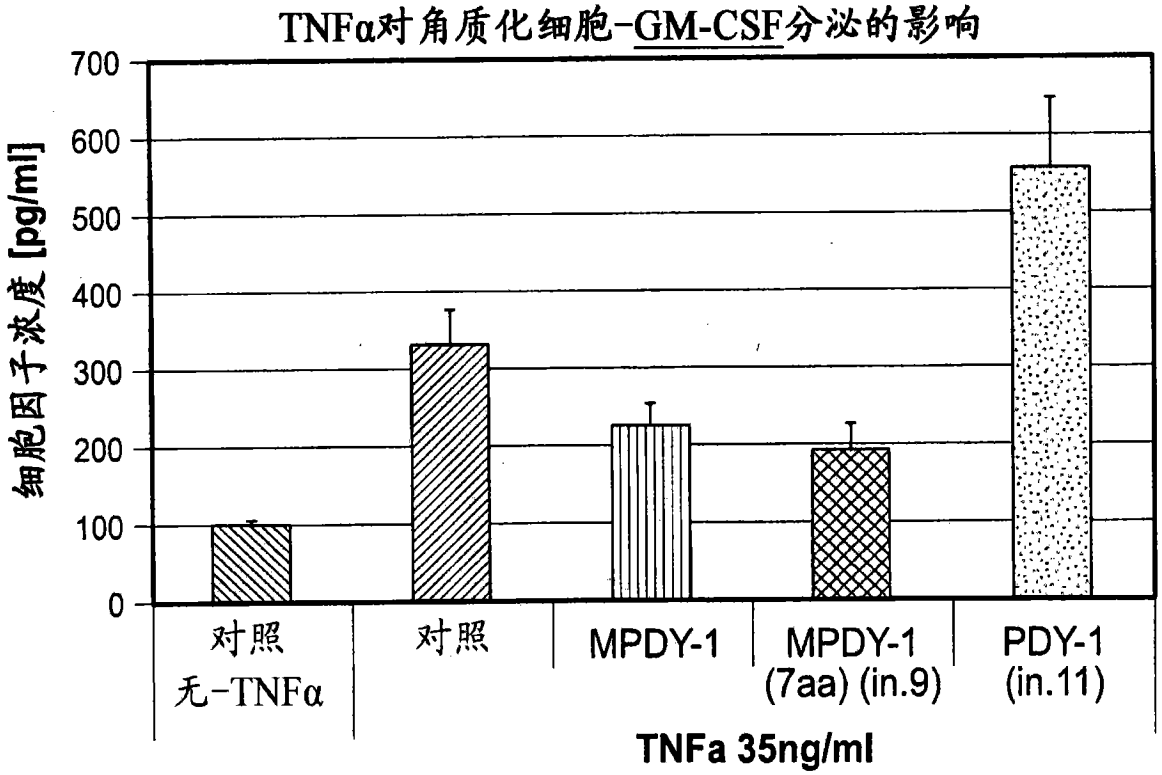

TNFα对角质化细胞-GM-CSF分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
700
600
500
400
300
200
100
0
对照
无-TNFα
对照
MPDY-1
MPDY-1
(7aa) (in.9)
PDY-1
(in.11)
TNFa 35ng/ml

图 22B

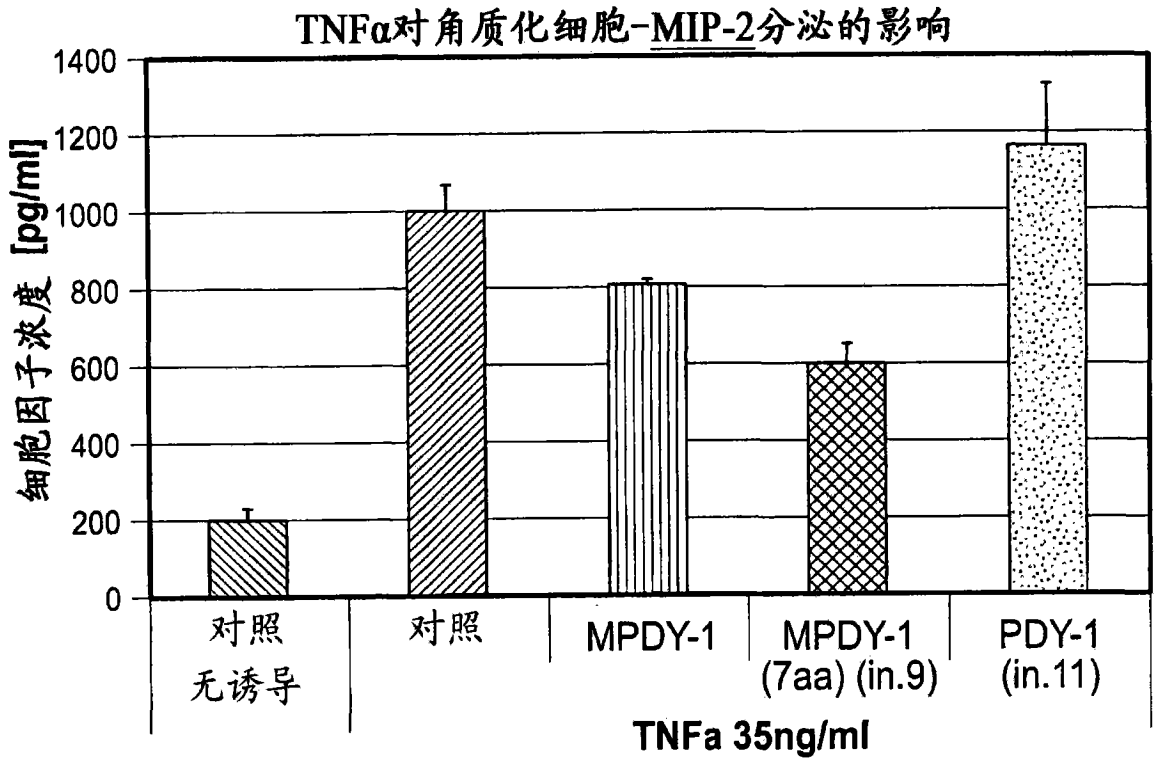

TNFα对角质化细胞-MIP-2分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
对照
无诱导
对照
MPDY-1
MPDY-1
(7aa) (in.9)
PDY-1
(in.11)
TNFa 35ng/ml

图 23A

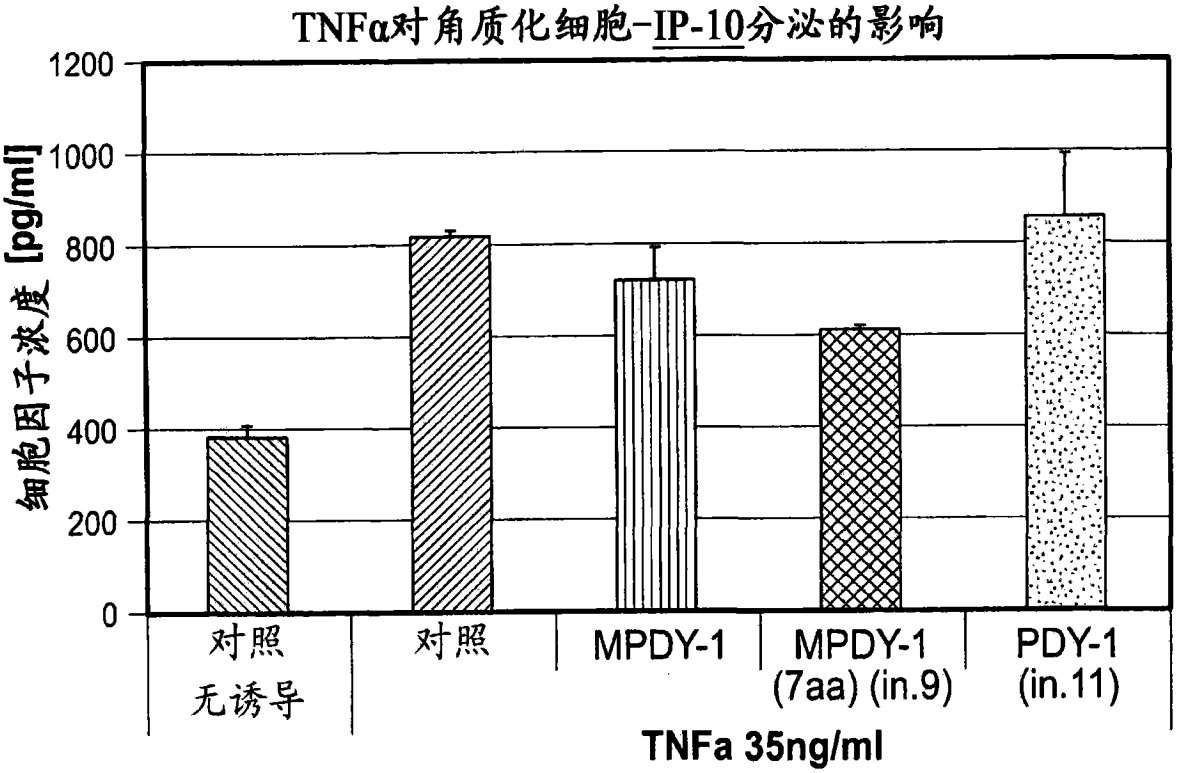

TNFα对角质化细胞-IP-10分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
1200
1000
800
600
400
200
0
对照
无诱导
对照
MPDY-1
MPDY-1
(7aa) (in.9)
PDY-1
(in.11)
TNFa 35ng/ml

图 23B

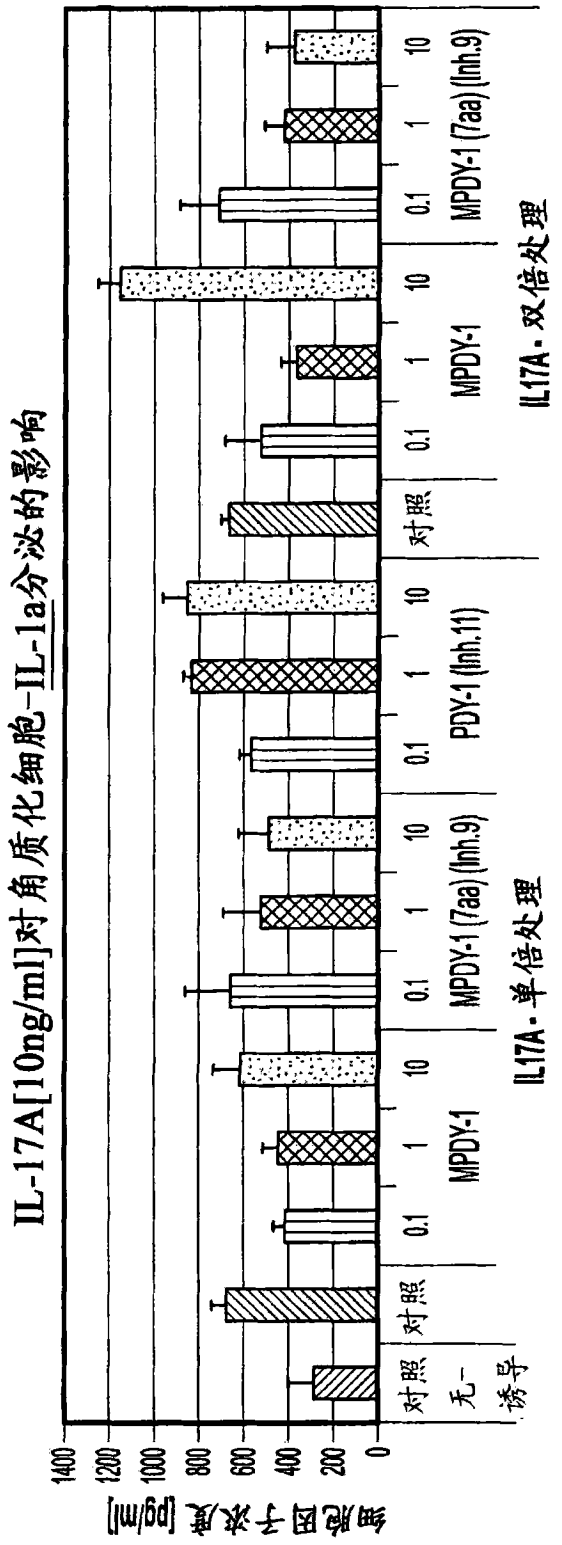

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-IL-1a分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
对照 无-诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A·单倍处理
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
0.1
1
10
PDY-1 (Inh.11)
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A·双倍处理
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)

图 24A

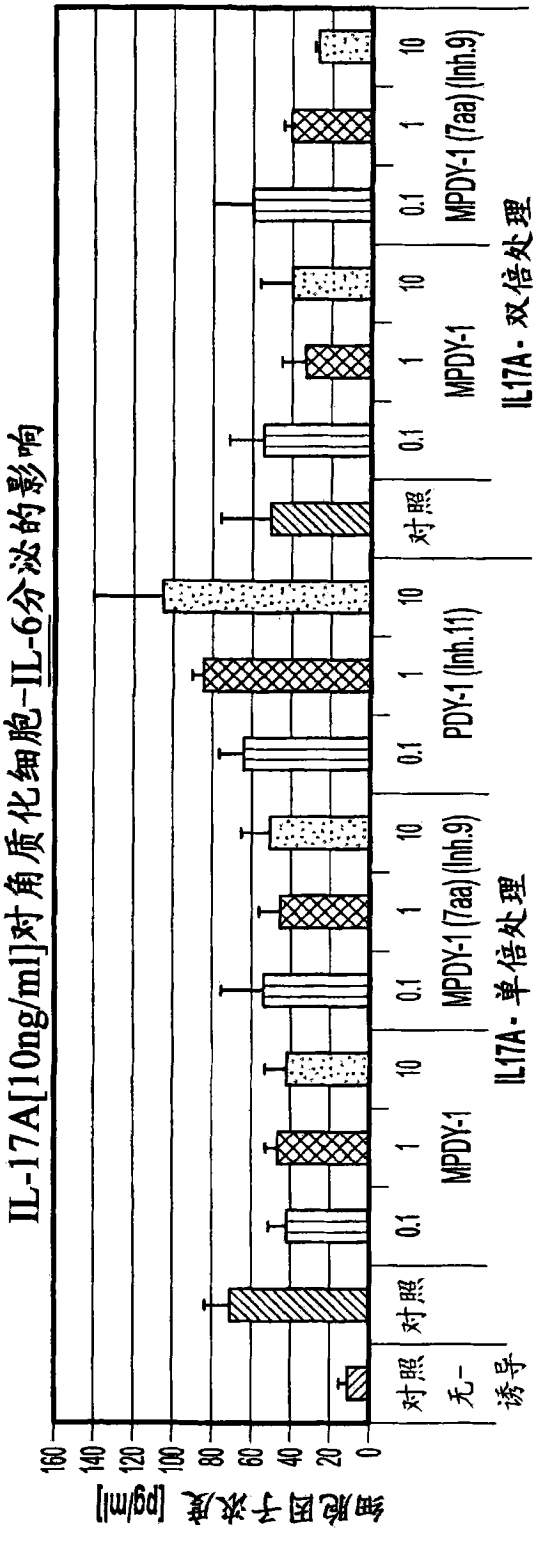

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-IL-6分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
0
20
40
60
80
100
120
140
160
对照 无-诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A·单倍处理
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
0.1
1
10
PDY-1 (Inh.11)
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A·双倍处理
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)

图 24B

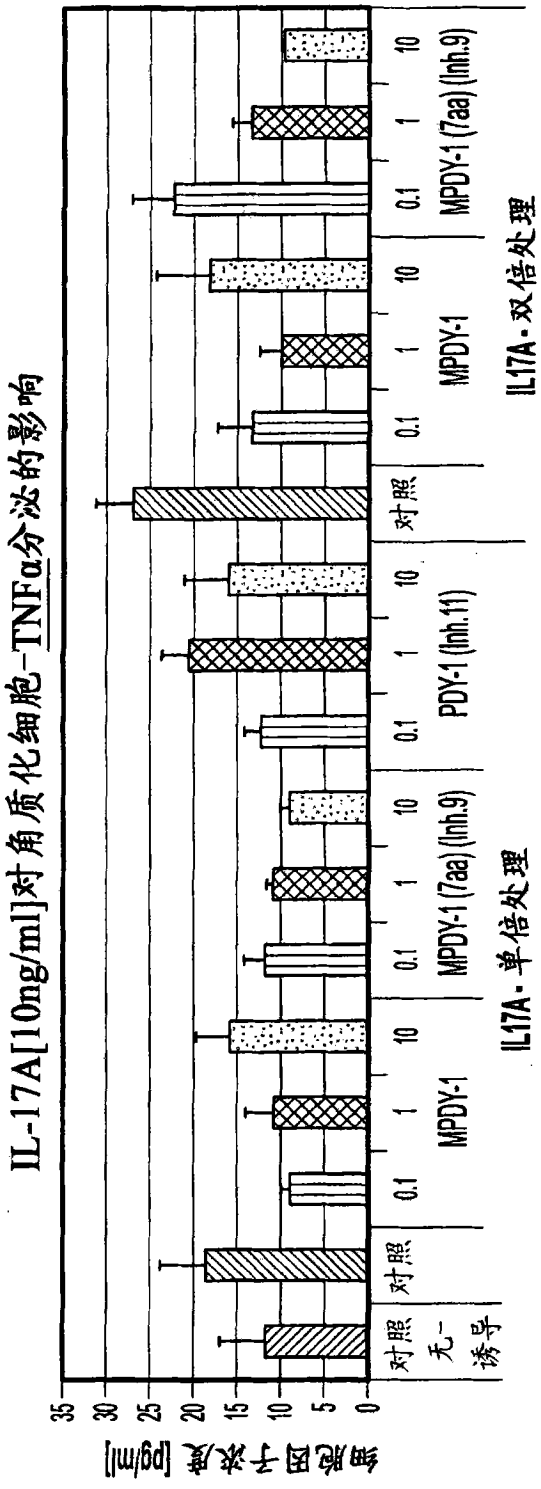

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-TNFα分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
0
5
10
15
20
25
30
35
对照
无-
诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
0.1
1
10
PDY-1 (Inh.11)
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
IL17A·单倍处理
IL17A·双倍处理

图 25A

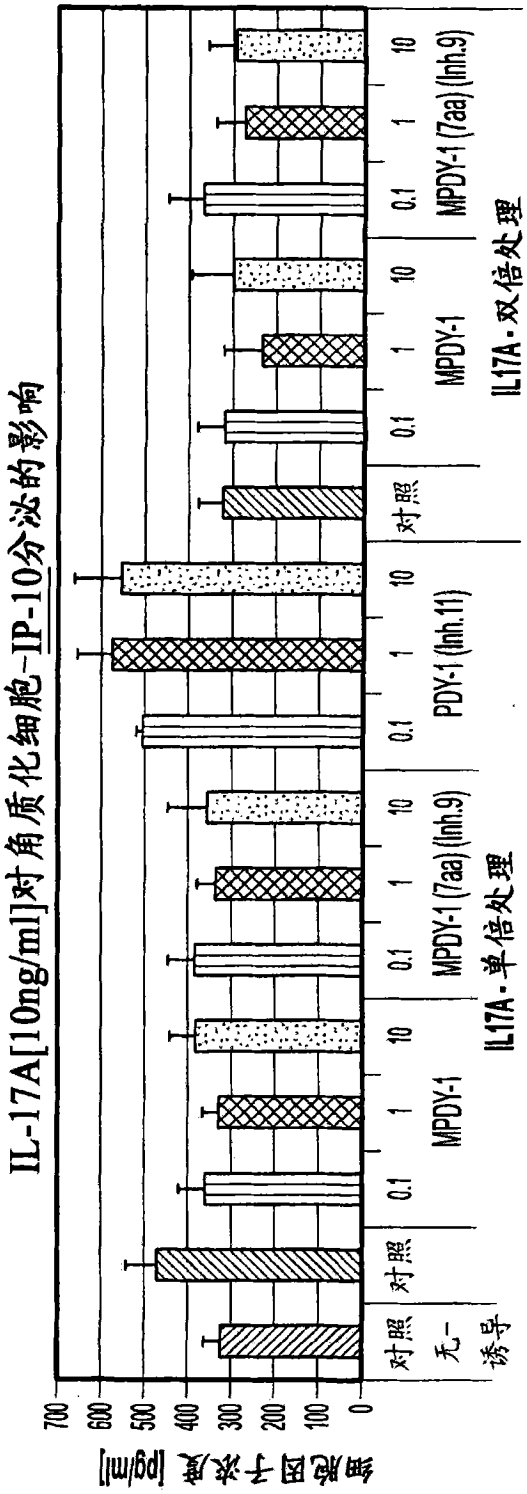

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-IP-10分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
0
100
200
300
400
500
600
700
对照
无-
诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
0.1
1
10
PDY-1 (Inh.11)
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
IL17A·单倍处理
IL17A·双倍处理

图 25B

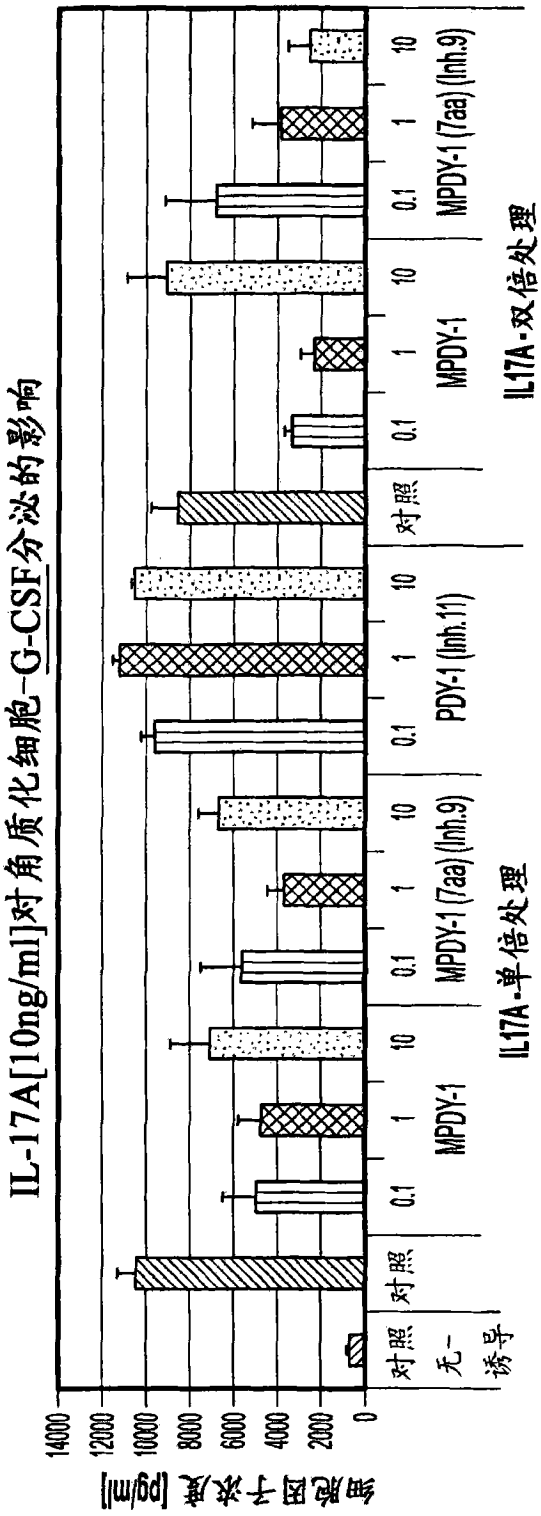

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-G-CSF分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
对照
无-诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A-单倍处理
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
0.1
1
10
PDY-1 (Inh.11)
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A-双倍处理
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)

图 26A

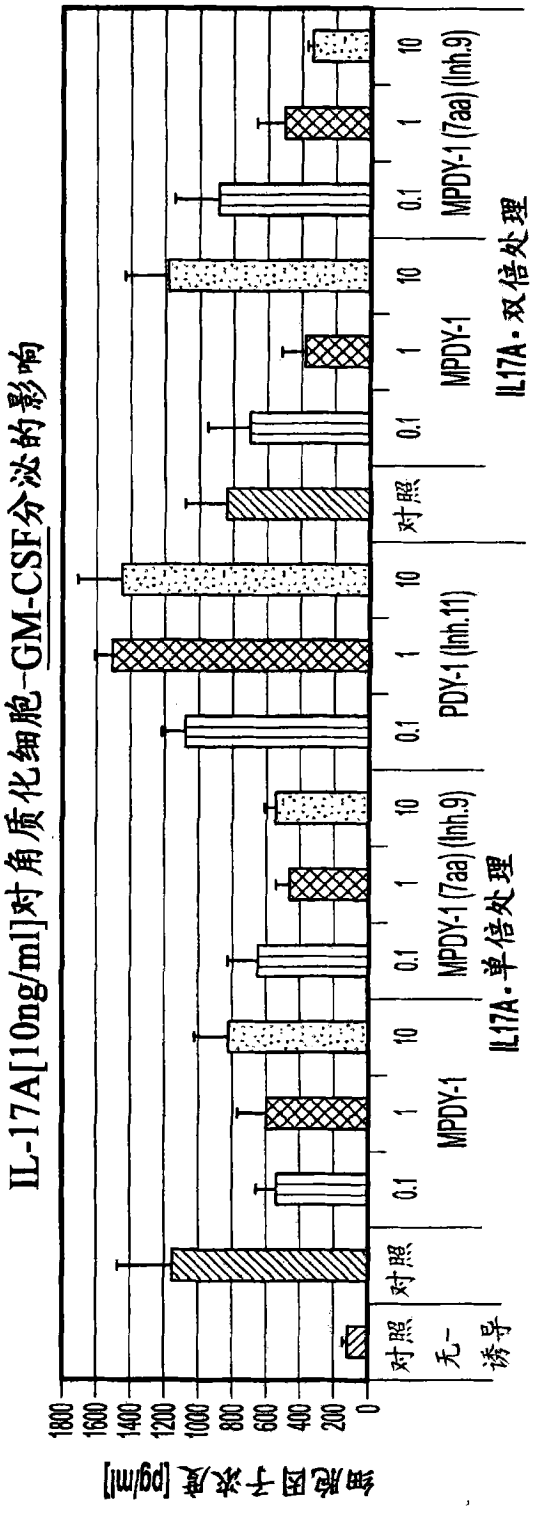

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-GM-CSF分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
对照
无-诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A-单倍处理
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
0.1
1
10
PDY-1 (Inh.11)
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A-双倍处理
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)

图 26B

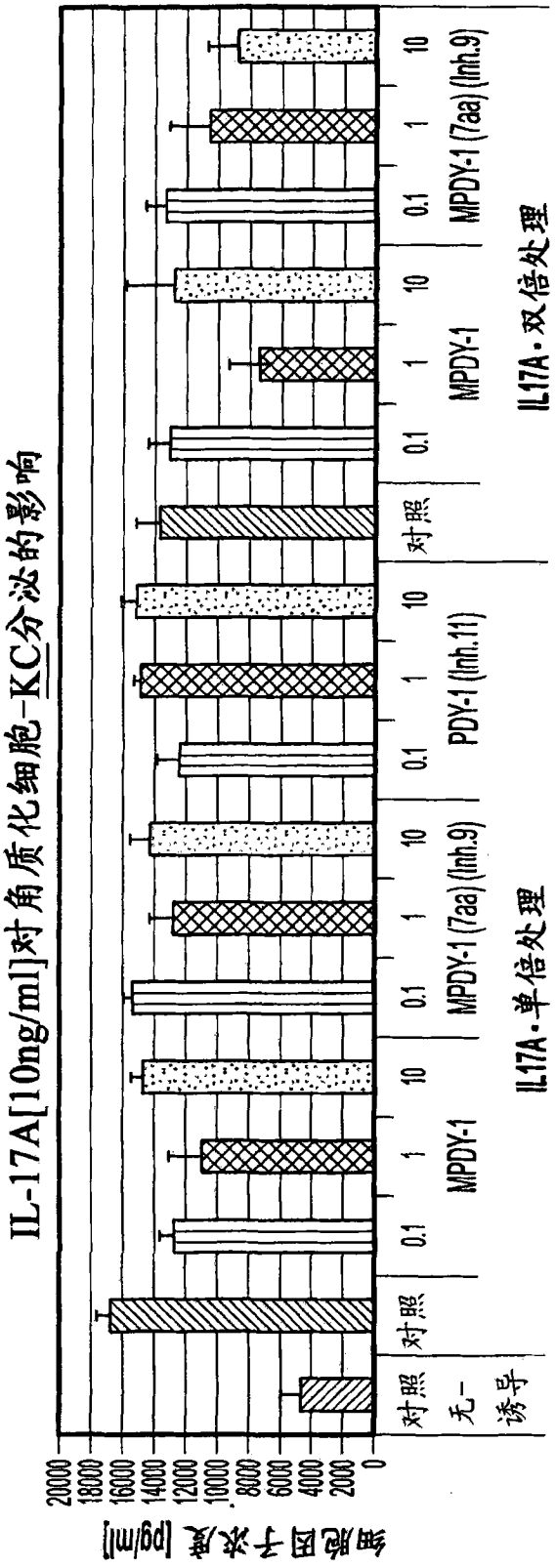

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-KC分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
20000
18000
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
对照
无-
诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
IL17A·单倍处理
对照
0.1
1
10
PDY-1 (Inh.11)
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
IL17A·双倍处理

图 27A

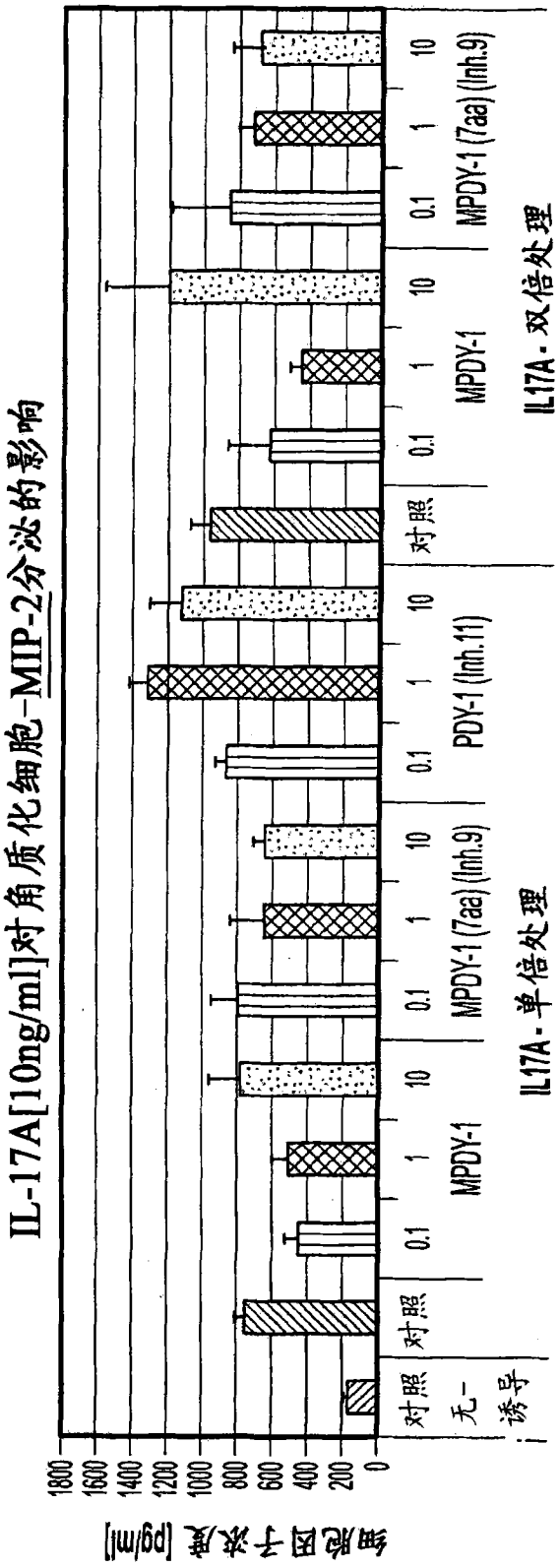

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-MIP-2分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
对照
无-
诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
IL17A·单倍处理
对照
0.1
1
10
PDY-1 (Inh.11)
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
MPDY-1 (7aa) (Inh.9)
IL17A·双倍处理

图 27B

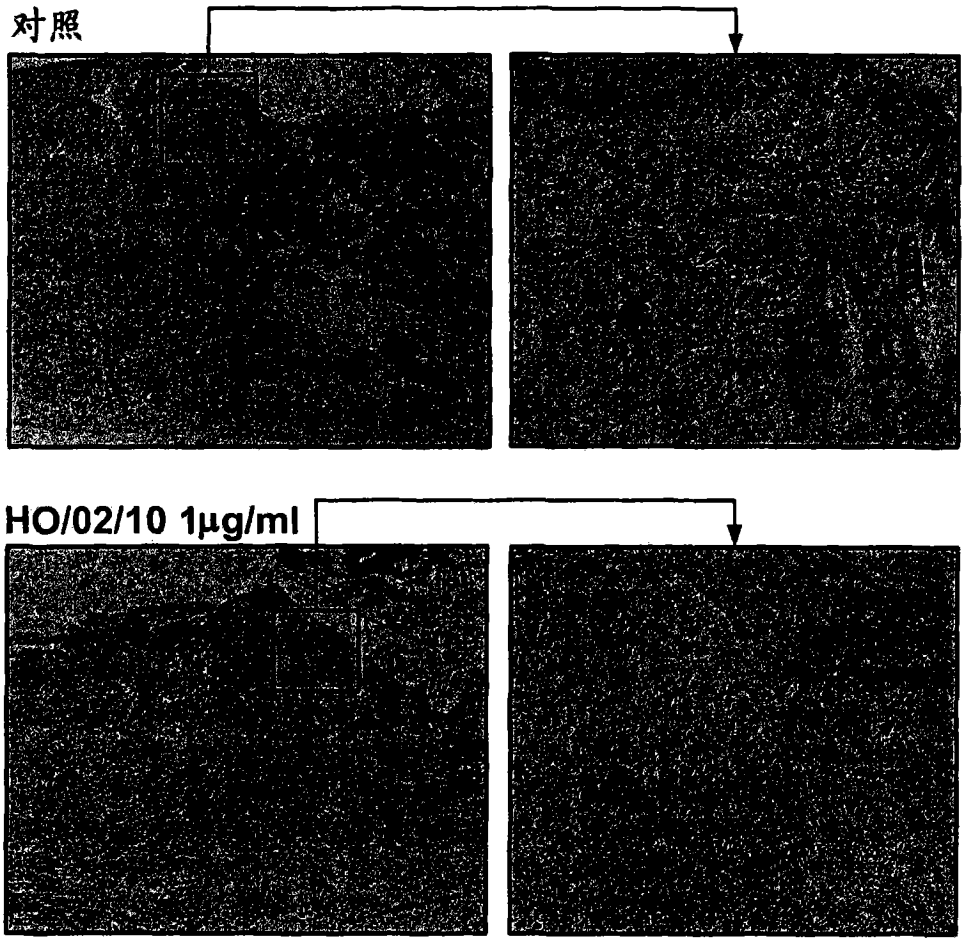

对照
HO/02/10 1μg/ml

图 28A

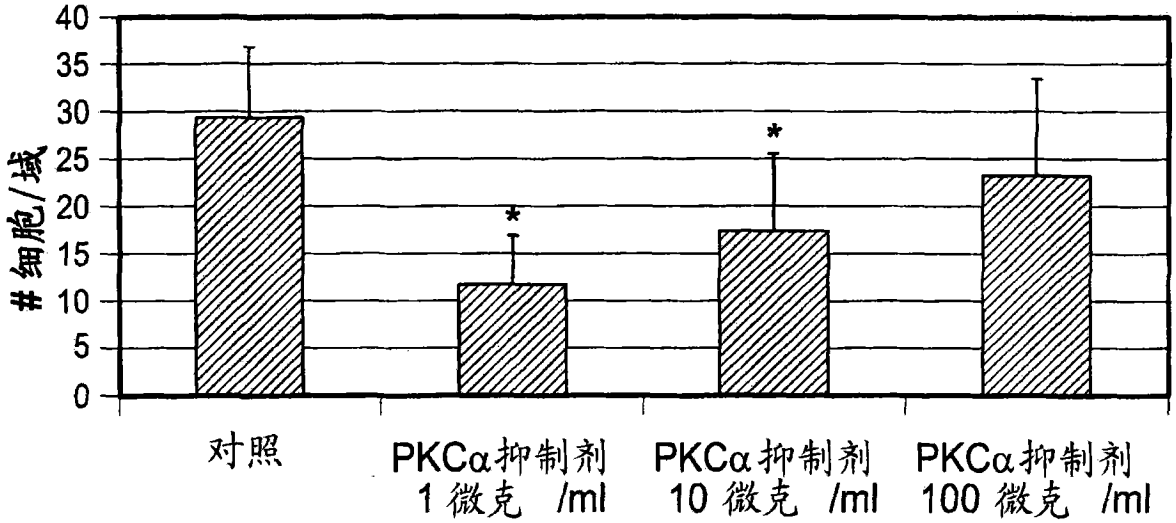

40
35
30
25
20
15
10
5
0
#细胞/域
*
*
对照
PKCα抑制剂 1 微克 /ml
PKCα抑制剂 10 微克 /ml
PKCα抑制剂 100 微克 /ml

图 28B

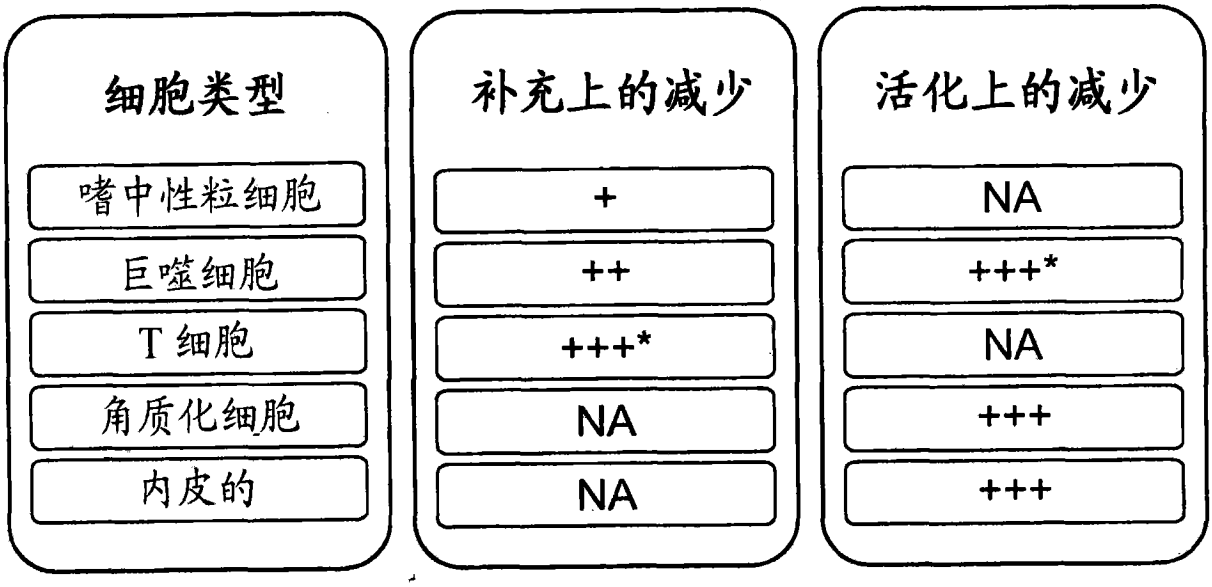


图 29

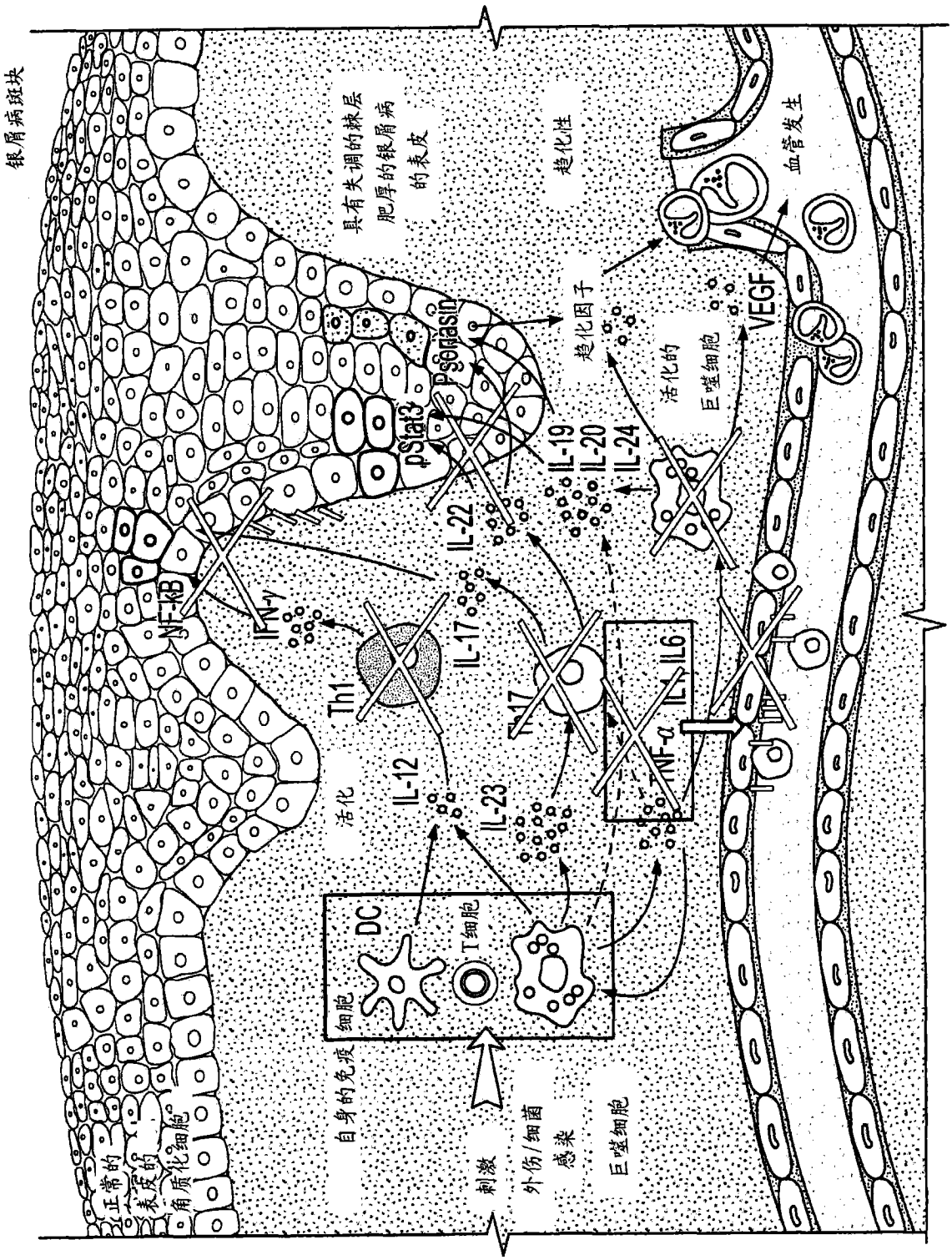

银屑病斑块
具有失调的棘层
肥厚的银屑病
的表皮
血管发生
趋化性
趋化因子
活化的
巨噬细胞
VEGF
IL-19
IL-20
IL-24
pStat3
Psoriasin
IL-22
IL-17
IFN-γ
NF-κB
Th1
活化
IL-12
IL-23
Th17
IL-1
IL6
TNF-α
DC
细胞
T细胞
自身的免疫
刺激
外伤/细菌
感染
巨噬细胞
正常的
表皮的
角质化细胞

图 30



图 31A

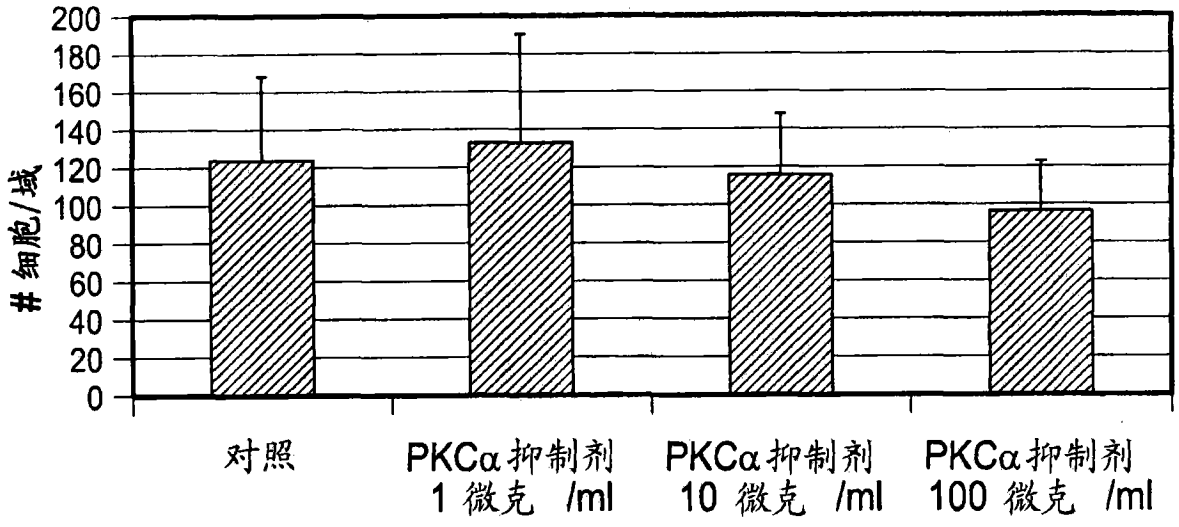

200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
细胞/域
对照
PKCα 抑制剂 1 微克 /ml
PKCα 抑制剂 10 微克 /ml
PKCα 抑制剂 100 微克 /ml

图 31B

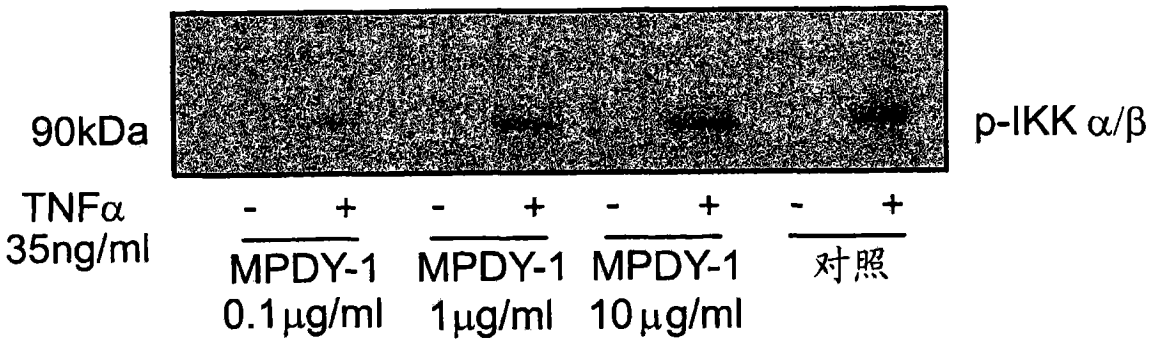

90kDa
p-IKK α/β
TNFα
35ng/ml
- + - + - + - +
MPDY-1 0.1μg/ml
MPDY-1 1μg/ml
MPDY-1 10μg/ml
对照

图 32

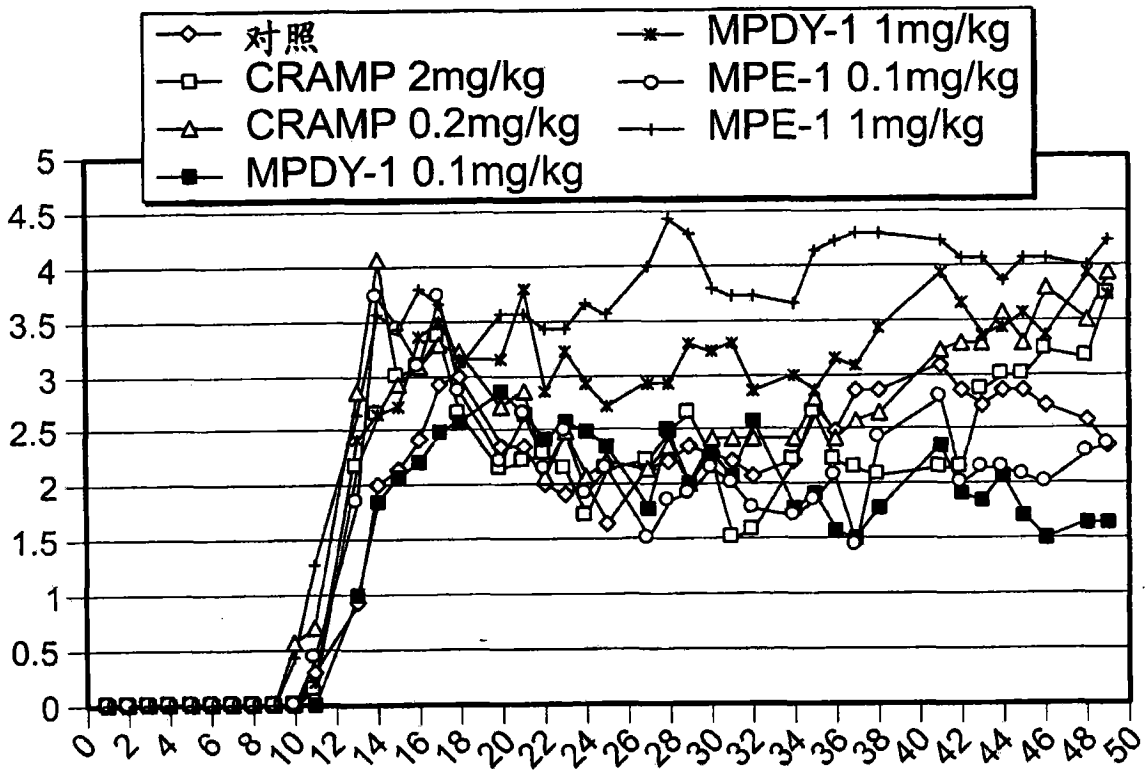

对照
CRAMP 2mg/kg
CRAMP 0.2mg/kg
MPDY-1 0.1mg/kg
MPDY-1 1mg/kg
MPE-1 0.1mg/kg
MPE-1 1mg/kg
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48 50

图 33

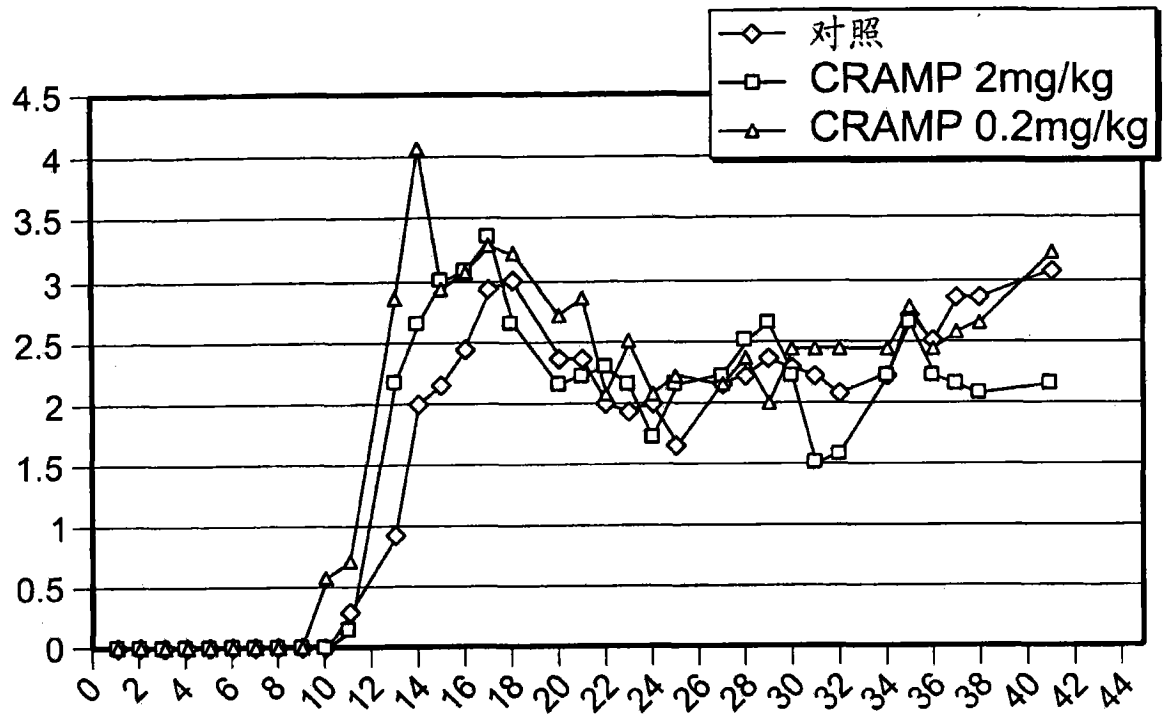

对照
CRAMP 2mg/kg
CRAMP 0.2mg/kg
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44

图 34

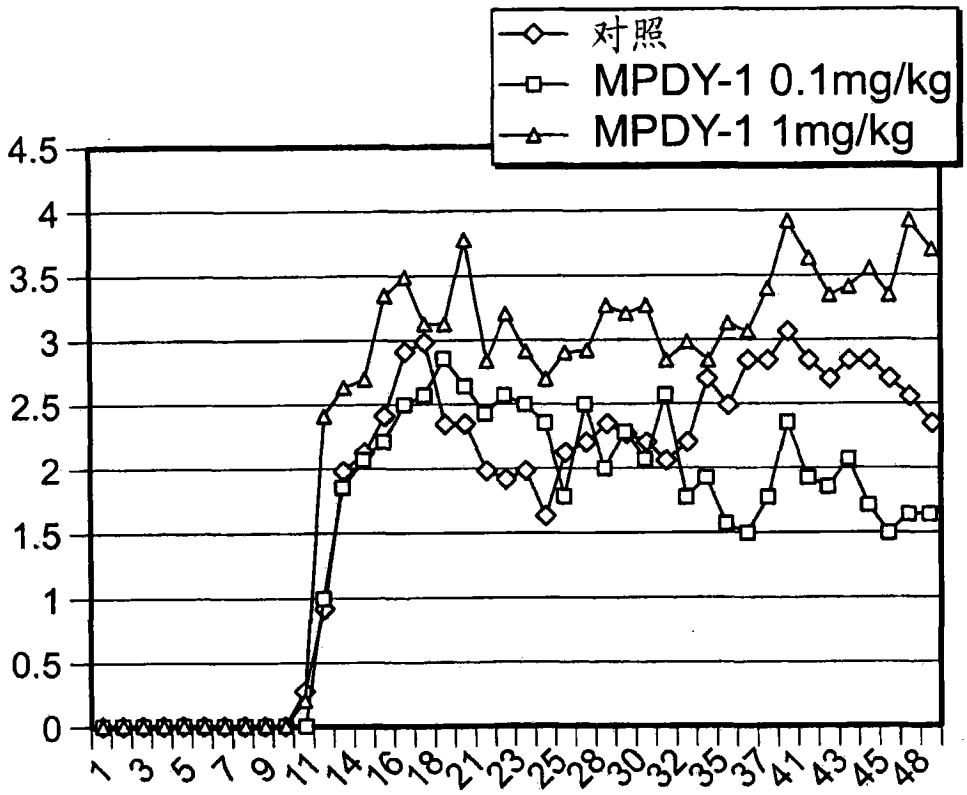

对照
MPDY-1 0.1mg/kg
MPDY-1 1mg/kg
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
1 3 5 7 9 11 14 16 18 21 23 25 28 30 32 35 37 41 43 45 48

图 35

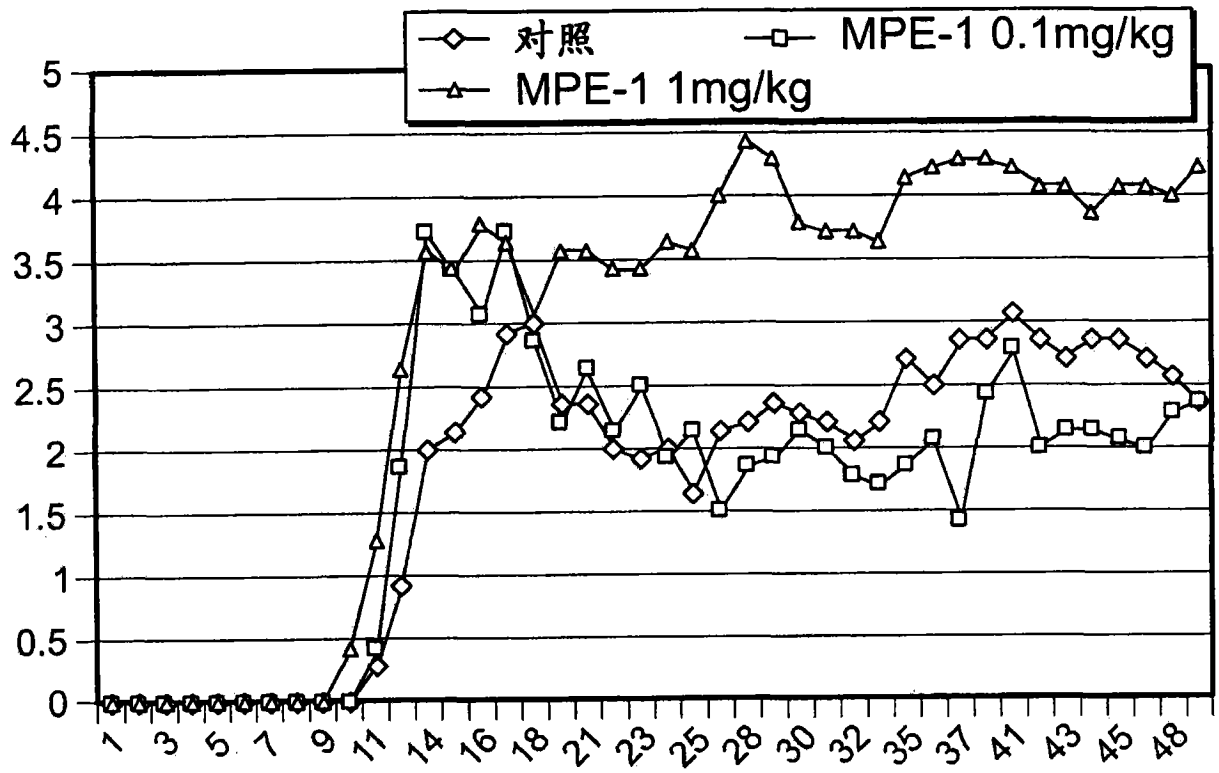

对照
MPE-1 0.1mg/kg
MPE-1 1mg/kg
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
1 3 5 7 9 11 14 16 18 21 23 25 28 30 32 35 37 41 43 45 48

图 36

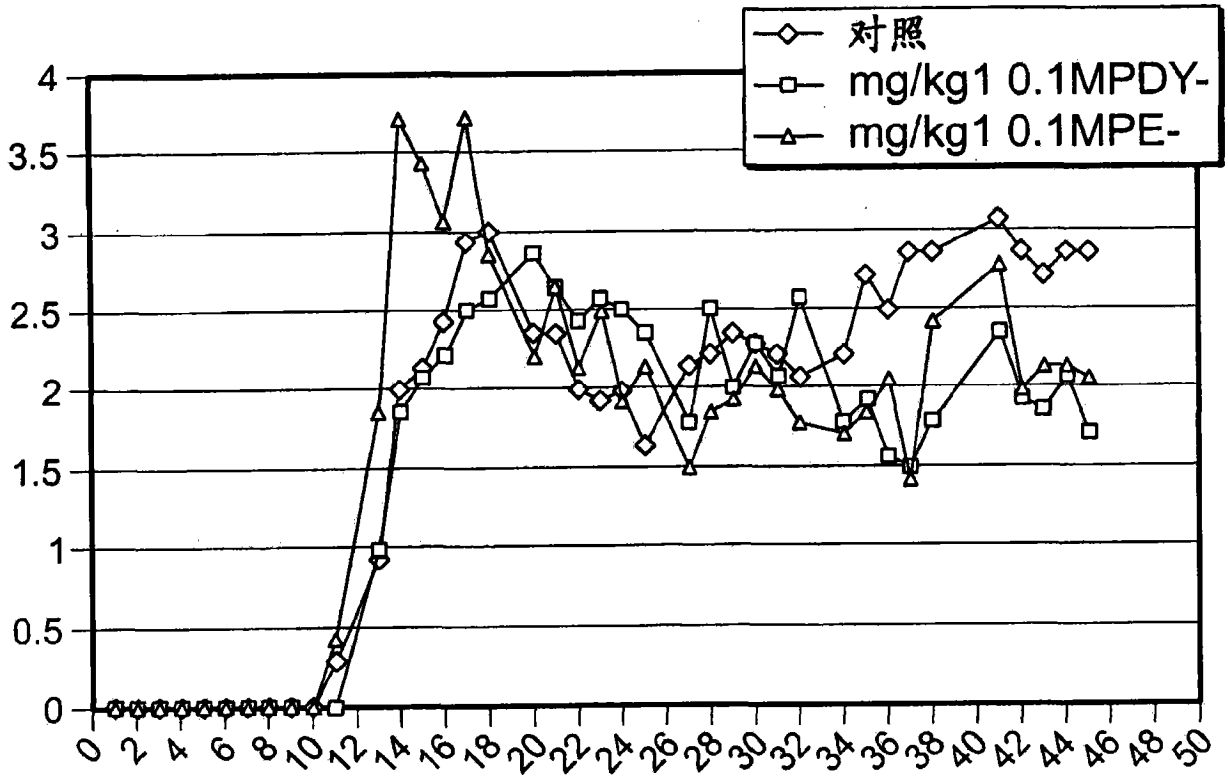

对照
mg/kg1 0.1MPDY-
mg/kg1 0.1MPE-
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48 50

图 37

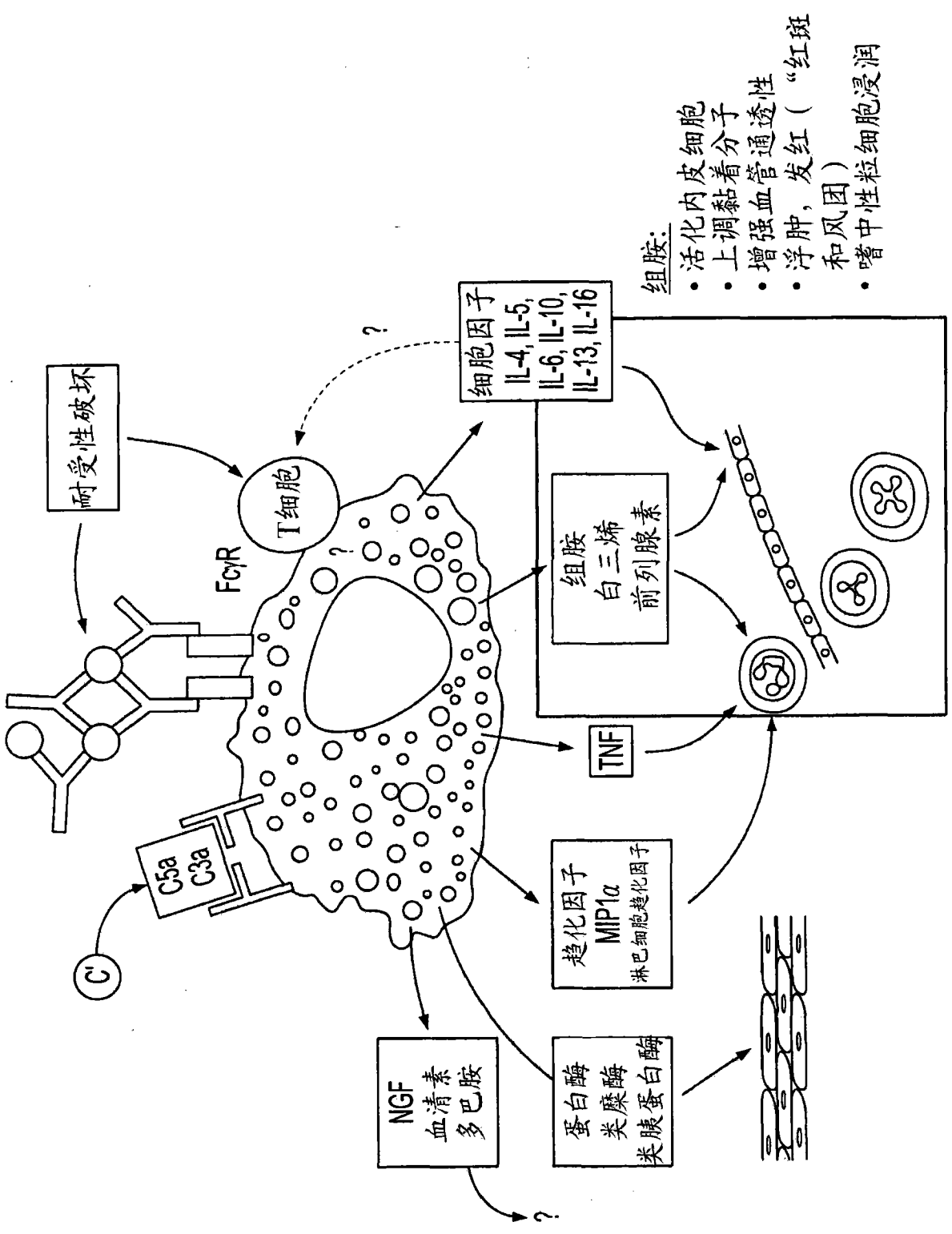

耐受性破坏
T细胞
FcγR
?
细胞因子
IL-4, IL-5,
IL-6, IL-13, IL-16
组胺:
• 活化内皮细胞
• 上调黏着分子
• 增强血管通透性
• 浮肿，发红（“红斑和风团”）
• 嗜中性粒细胞浸润
组胺
白三烯
前列腺素
TNF
C5a
C3a
C'
趋化因子
MIP1α
淋巴细胞趋化因子
NGF
血清素
多巴胺
蛋白酶
类糜酶
类胰蛋白酶
?

图 38

溶液10PPM

雌性

点刺试验

预处理：组胺溶液

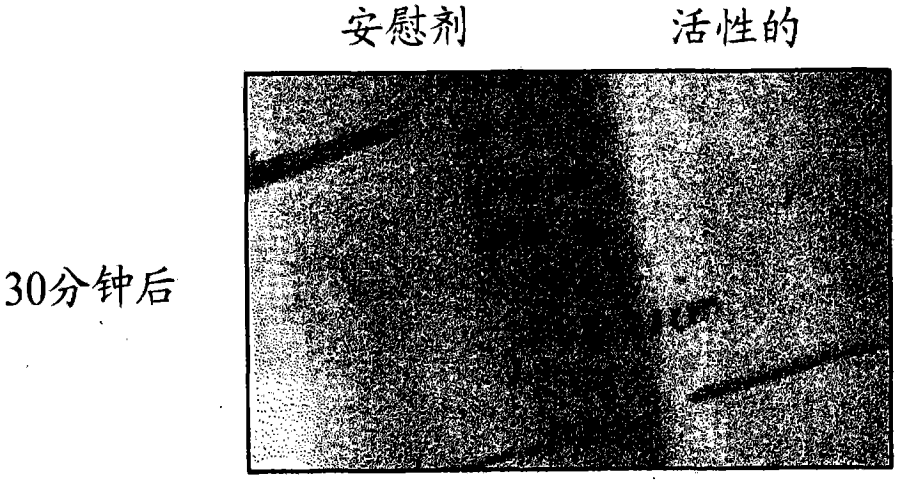


图 39

凝胶10PPM

雄性

点刺试验

预处理：组胺溶液

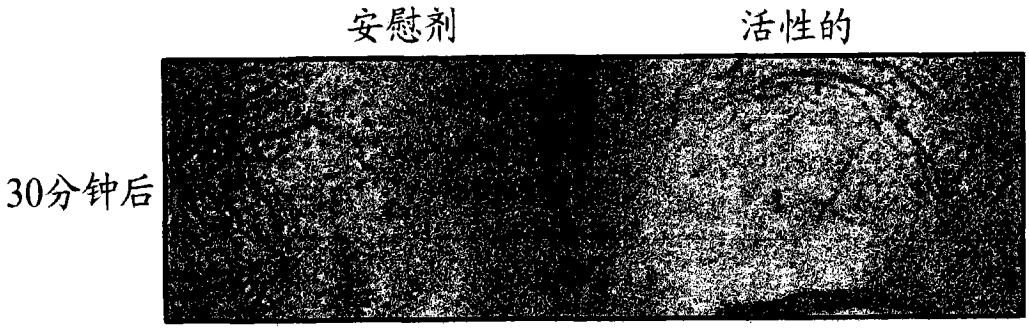


图 40

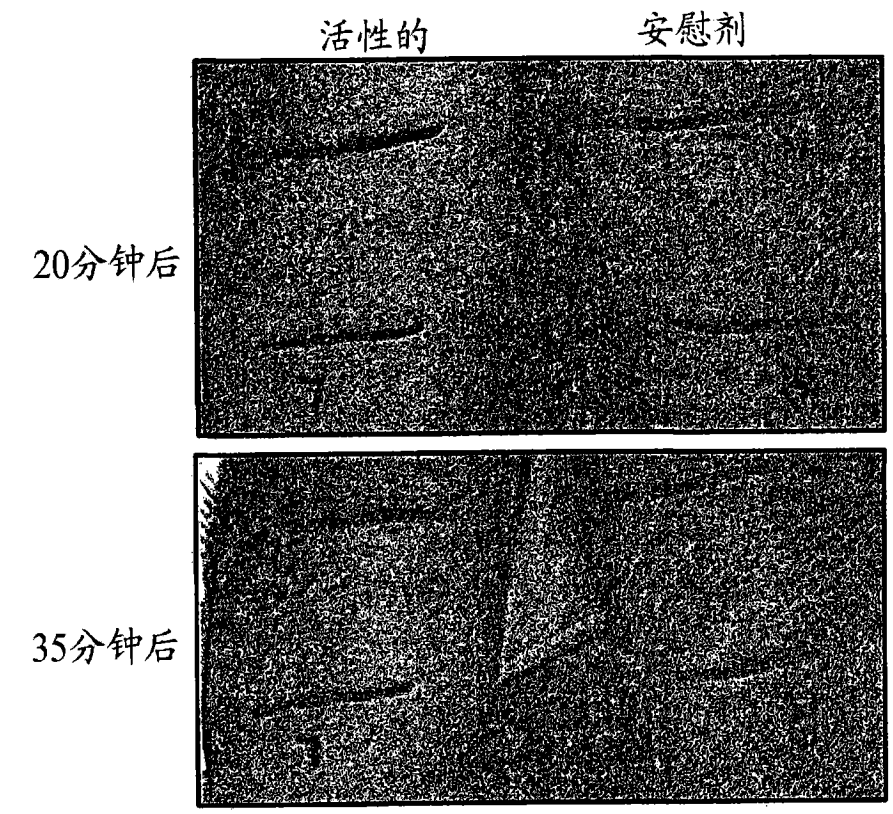


图 41

霜剂10PPM

雌性

点刺试验

预处理：组胺溶液

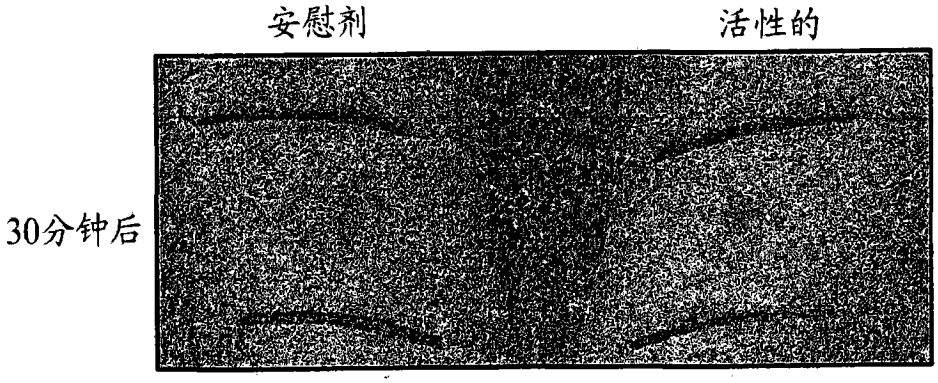


图 42

VT序号	细胞类型	刺激	治疗	结果
98	脾细胞	LPS[0.2ng/ml]	MPDY-1 [1μg/ml]	↓ IL-6 (50%),
		LPS[1μg/ml]	MPDY-1 [1μg/ml]	↓ IL-1 (45%), ↓TNFα (35%),
			HO/03/03	↓ IL-1 (30%), ↓TNFα (25%),
103	脾细胞	LPS[1μg/ml]	MPDY-1 [1μg/ml]	↓ KC (30%),
107	脾细胞	LPS[1μg/ml]	DAP-1 活化剂 [1,10μg/ml]	DAP-1 ↓ TNFα (25%), ↓ MIP-2 (40%), ↓ IL-6 (30%), ↓ G-CSF (40%), ↓ KC (50%),
106	树突状细胞	TNFα[5ng/ml]	MPDY-1 [1μg/ml]	↓ IP-10 (20%), ↓ KC (17%),
	Mϕ			
		LPS[1ng,10ng, 100ng,1μg,10μg/ml] LPS[100ng/ml]	MPDY-1 [1μg/ml]	↓ IL-1α (45%), ↓ IL-1β (50%), ↓ TNFα (37%), ↓ IL-12(70) (40%), ↓ MIP-2 (25%), ↓ KC (40%), ↓ G-CSF (30%),
			HO/03/03	↓ IL-1α (20%), ↓IL-1β (30%), ↓ IL-12(70) (30%), ↓ G-CSF (30%),

图 43

刺激	治疗	结果
TNFα [35ng/ml]	DAP-1 [10μg/ml]	IL-1α (-95%), G-CSF (-70%), MIP-2 (-20%), KC(-30%)

图 44

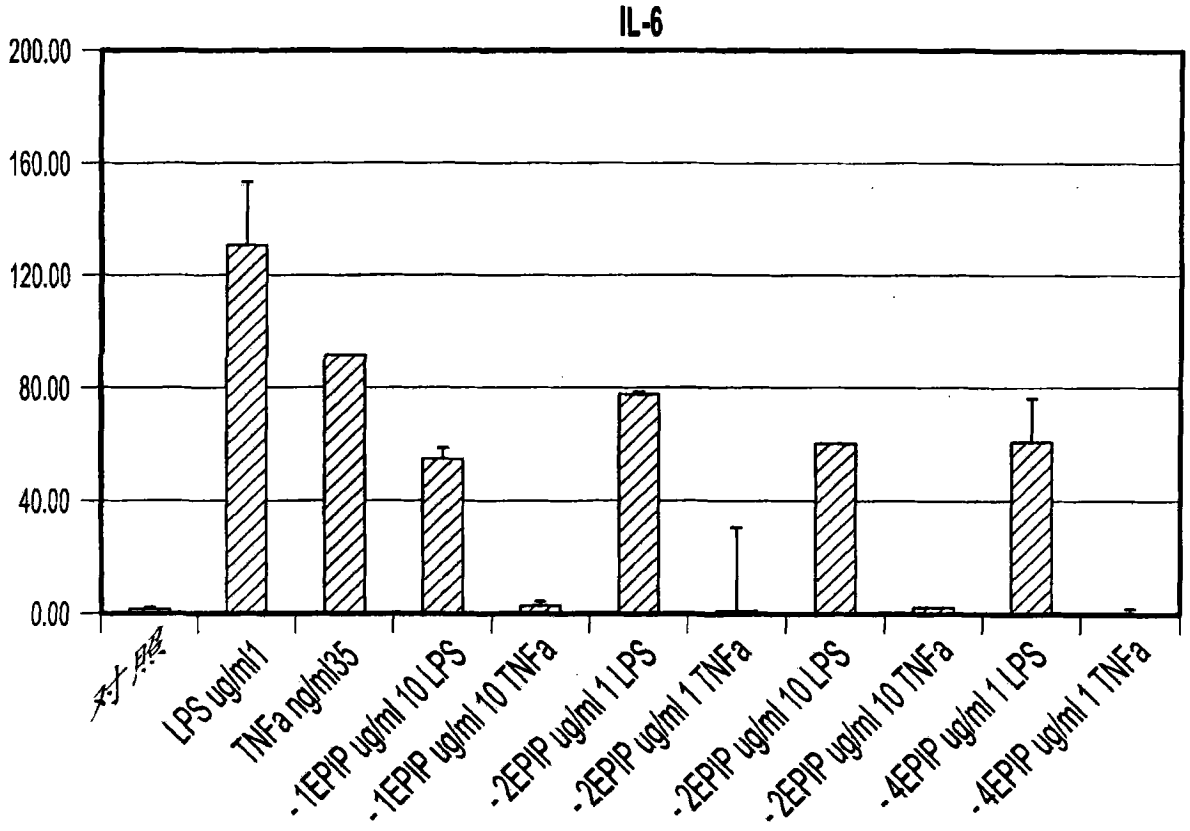

IL-6
200.00
160.00
120.00
80.00
40.00
0.00
对照
LPS ug/ml1
TNFa ng/ml35
-1EPIP ug/ml 10 LPS
-1EPIP ug/ml 10 TNFa
-2EPIP ug/ml 1 LPS
-2EPIP ug/ml 1 TNFa
-2EPIP ug/ml 10 LPS
-2EPIP ug/ml 10 TNFa
-4EPIP ug/ml 1 LPS
-4EPIP ug/ml 1 TNFa

图 45

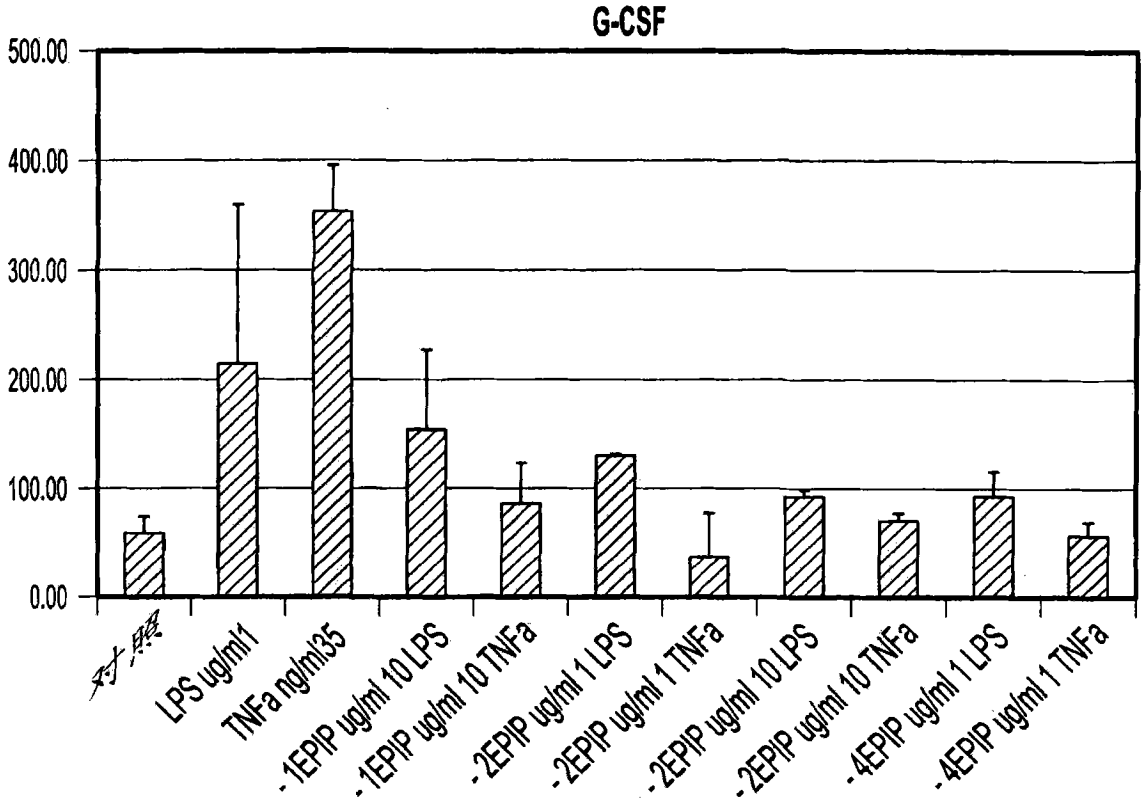

G-CSF
500.00
400.00
300.00
200.00
100.00
0.00
对照
LPS ug/ml1
TNFa ng/ml35
-1EPIP ug/ml 10 LPS
-1EPIP ug/ml 10 TNFa
-2EPIP ug/ml 1 LPS
-2EPIP ug/ml 1 TNFa
-2EPIP ug/ml 10 LPS
-2EPIP ug/ml 10 TNFa
-4EPIP ug/ml 1 LPS
-4EPIP ug/ml 1 TNFa

图 46

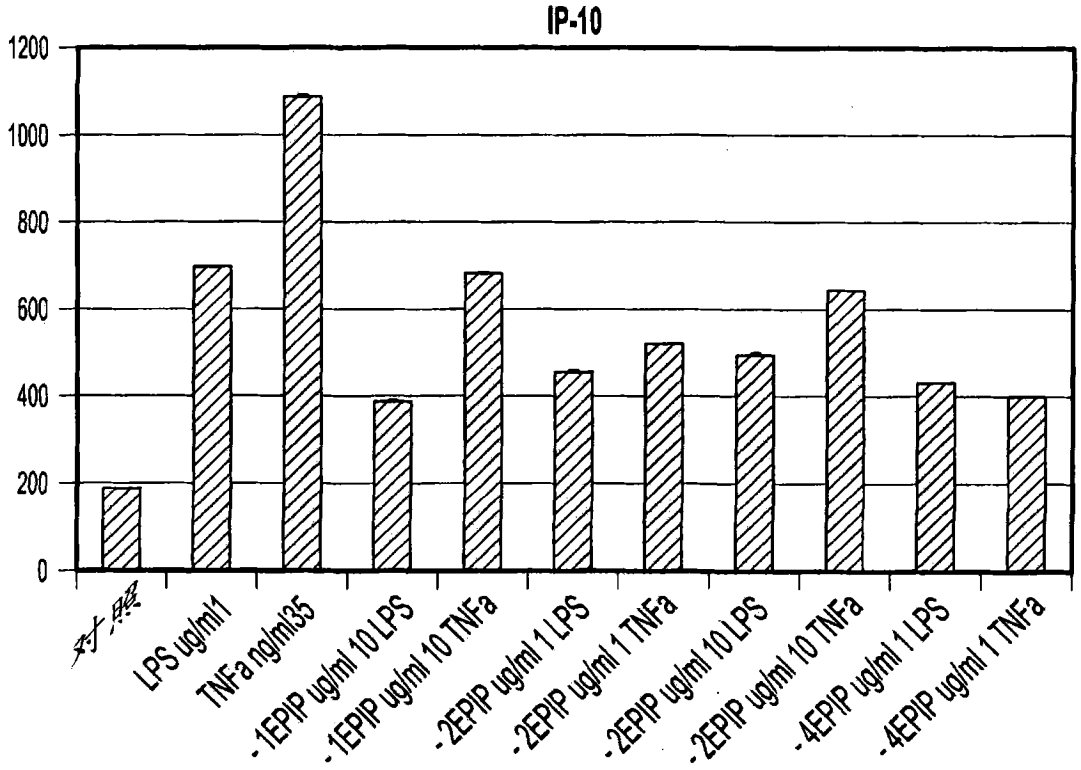

IP-10
1200
1000
800
600
400
200
0
对照
LPS ug/ml 1
TNFa ng/ml 35
-1EPIP ug/ml 10 LPS
-1EPIP ug/ml 10 TNFa
-2EPIP ug/ml 1 LPS
-2EPIP ug/ml 1 TNFa
-2EPIP ug/ml 10 LPS
-2EPIP ug/ml 10 TNFa
-4EPIP ug/ml 1 LPS
-4EPIP ug/ml 1 TNFa

图 47

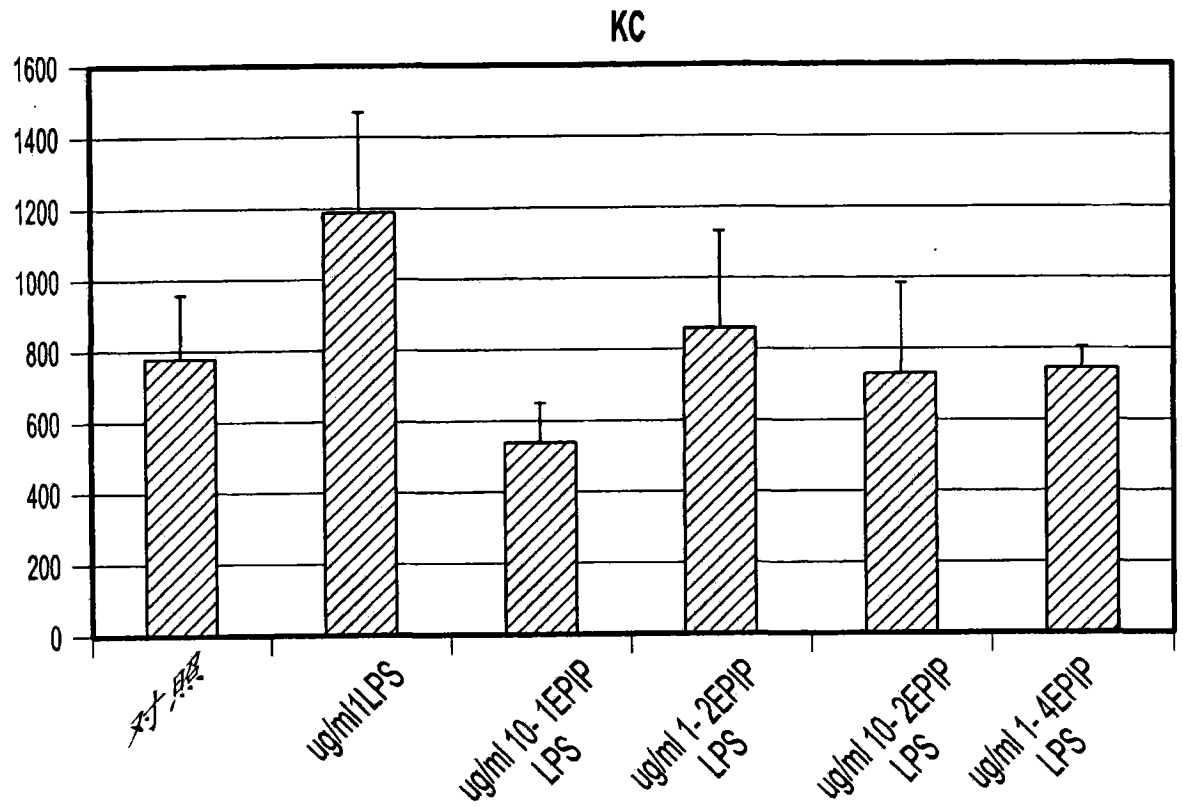


图 48

刺激	治疗	结果
TNFα [35ng/ml]	EPIP-1 [10μg/ml]	IL-6 (-95%), G-CSF (-85%), IP-10 (-45%)
	EPIP-2 [1μg/ml]	IL-6 (-95%), G-CSF (-100%), IP-10 (-65%)
	EPIP-2 [10μg/ml]	IL-6 (-95%), G-CSF (-100%), IP-10 (-40%)
	EPIP-4 [1μg/ml]	IL-6 (-100%), G-CSF (-100%), IP-10 (-80%)
LPS 1 [μg/ml]	EPIP-1 [10μg/ml]	IL-6 (-55%), G-CSF (-70%), IP-10 (-60%), KC (-100%)
	EPIP-2 [1μg/ml]	IL-6 (-40%), G-CSF (-50%), IP-10 (-50%), KC (-90%)
	EPIP-2 [10μg/ml]	IL-6 (-55%), G-CSF (-75%), IP-10 (-40%), KC (-90%)
	EPIP-4 [1μg/ml]	IL-6 (-55%), G-CSF (-75%), IP-10 (-60%), KC (-100%)

图 49

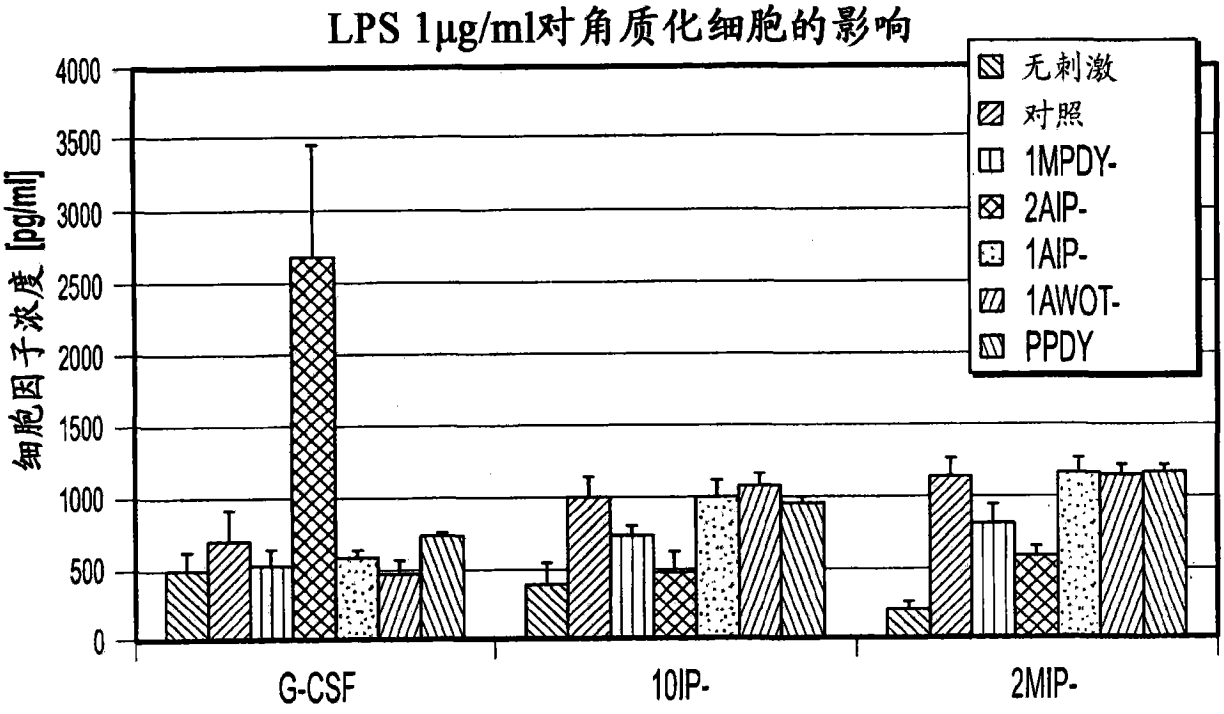

LPS 1μg/ml对角质化细胞的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
无刺激
对照
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY
G-CSF
10IP-
2MIP-

图 50

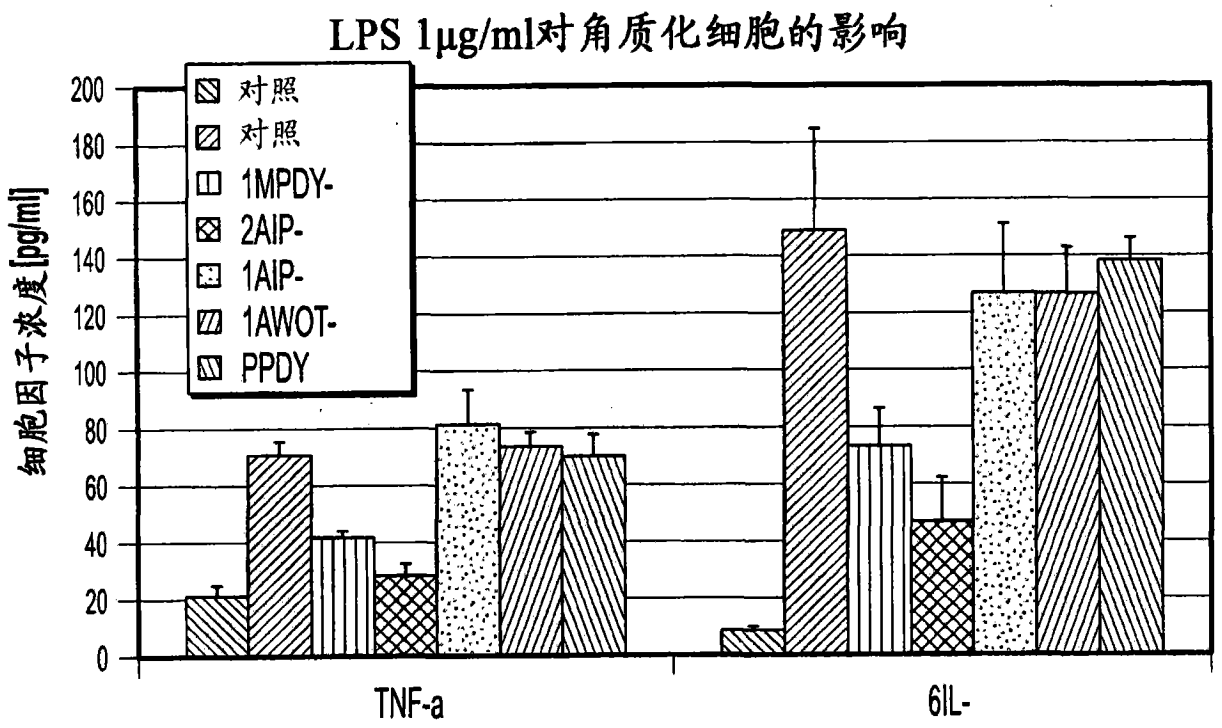

LPS 1μg/ml对角质化细胞的影响
细胞因子浓度[pg/ml]
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
对照
对照
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY
TNF-a
6IL-

图 51

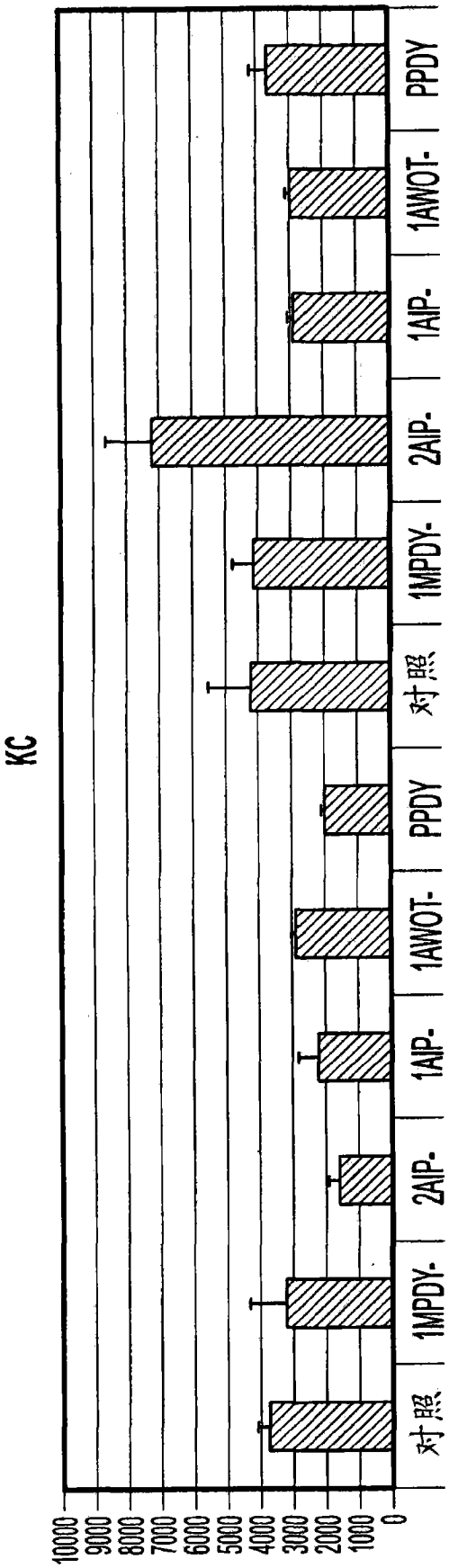

KC
10000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
对照
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY
对照
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY

图 52

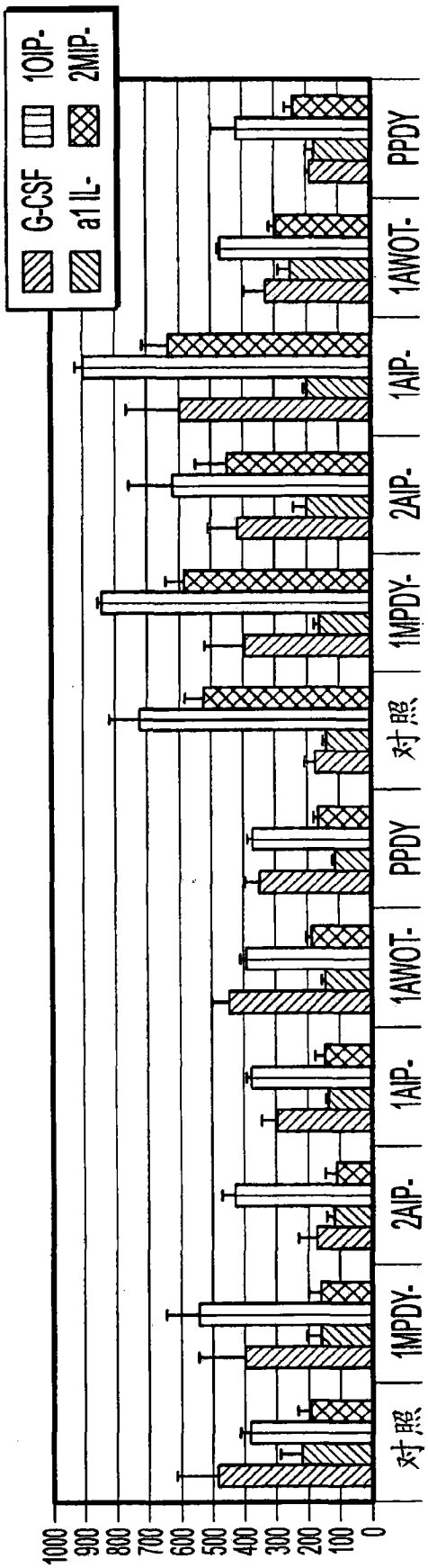

G-CSF
1OIP-
a1IL-
2MIP-
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
对照
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY
对照
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY

图 53

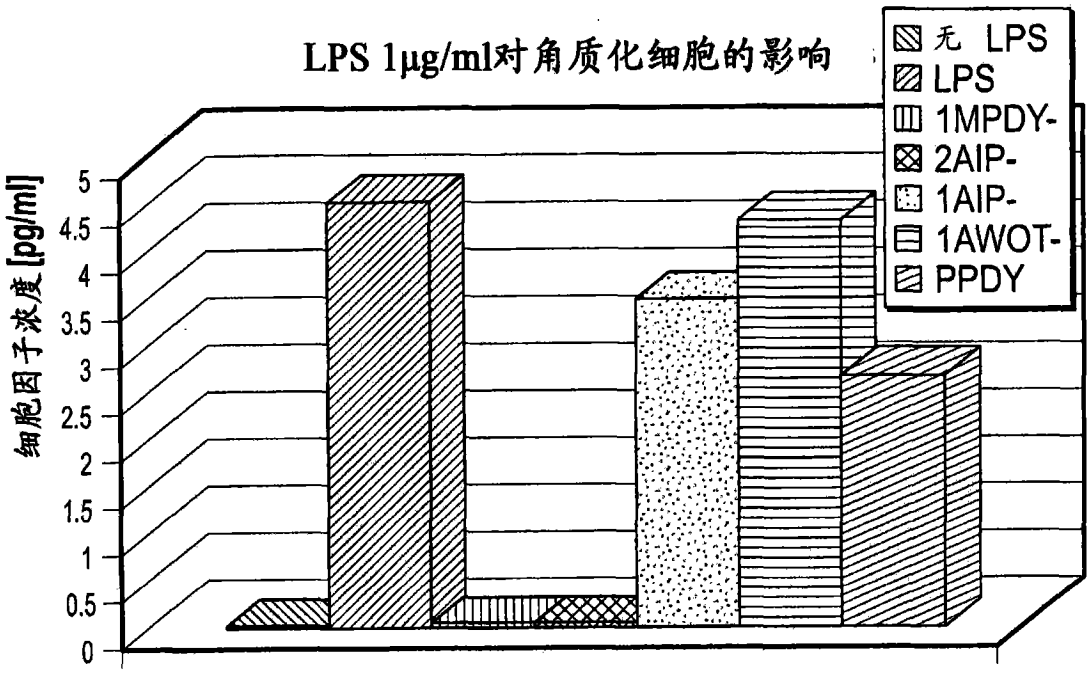

LPS 1μg/ml对角质化细胞的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
3.5
4
4.5
5
无 LPS
LPS
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY

图 54

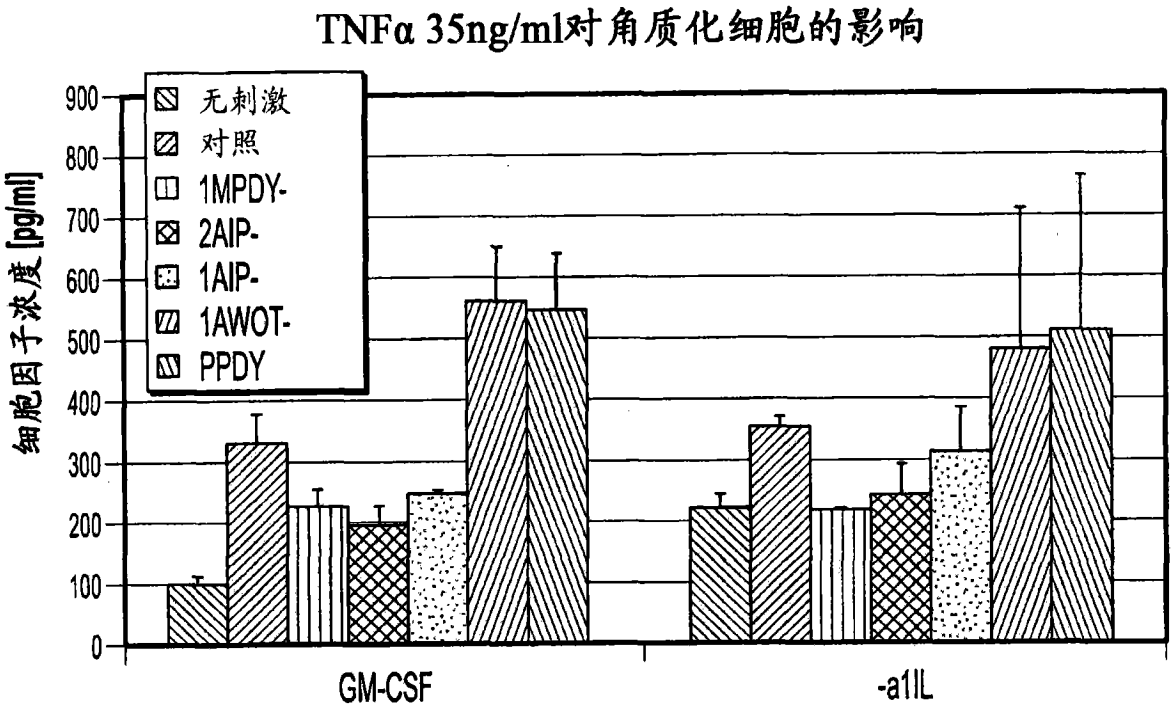

TNFα 35ng/ml对角质化细胞的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
无刺激
对照
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY
GM-CSF
-a1IL

图 55

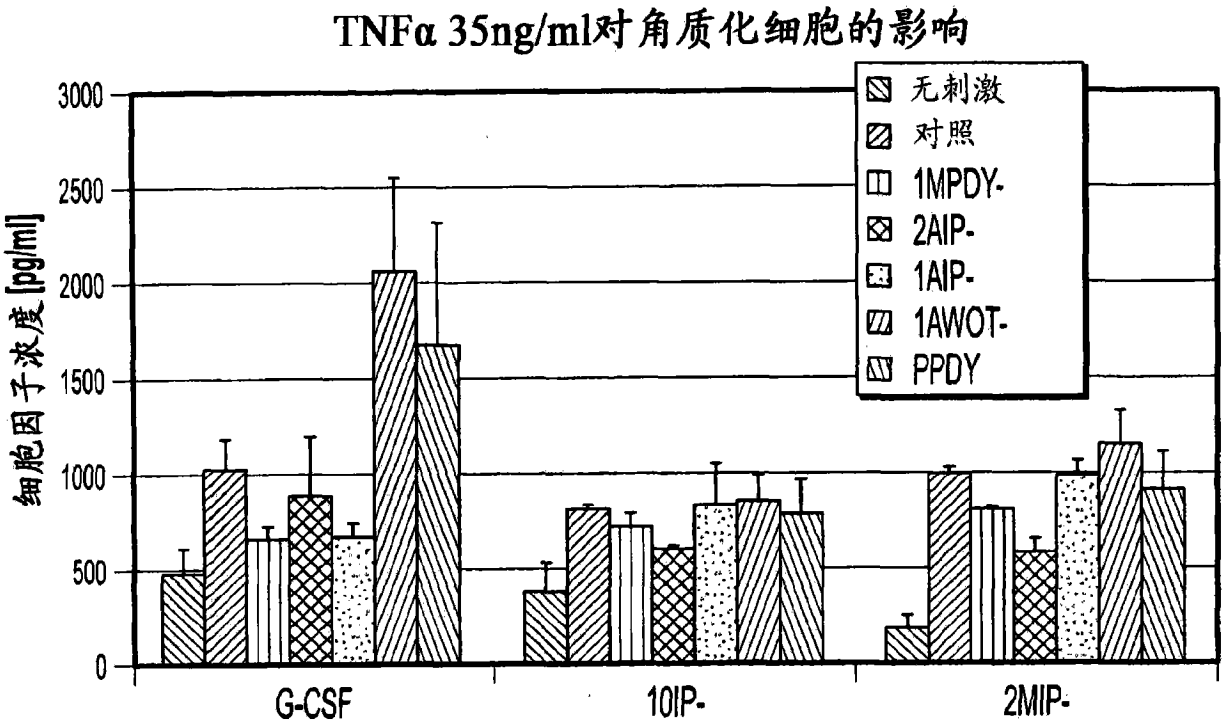

TNFα 35ng/ml对角质化细胞的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
无刺激
对照
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY
G-CSF
10IP-
2MIP-

图 56

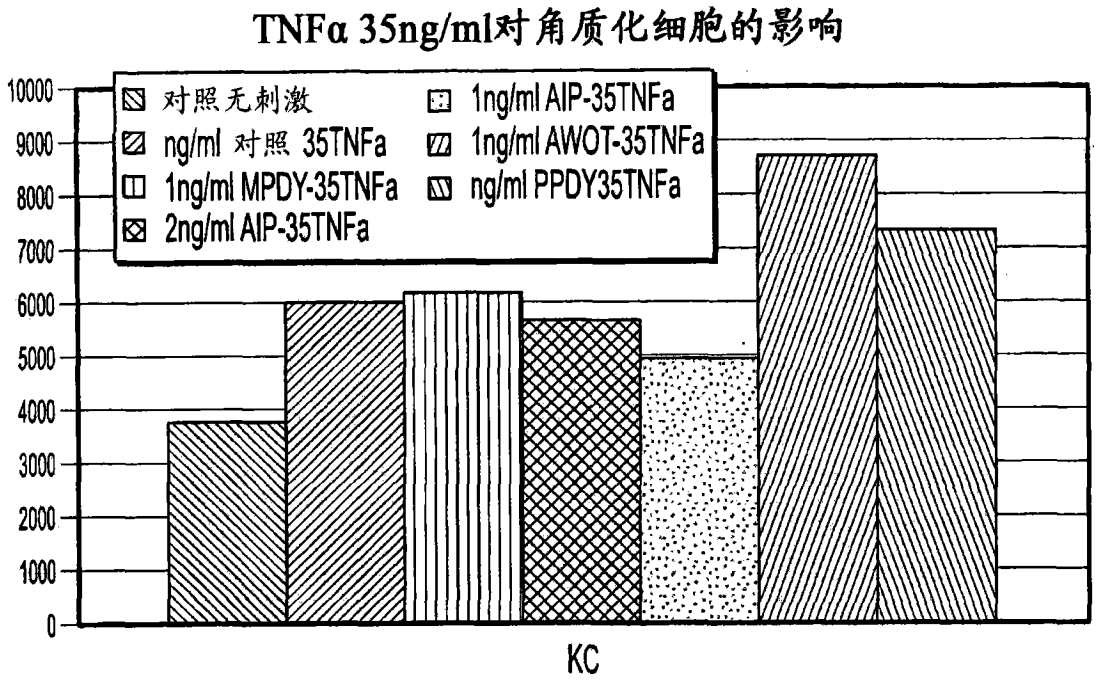

TNFα 35ng/ml对角质化细胞的影响
10000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
对照无刺激
ng/ml 对照 35TNFa
1ng/ml MPDY-35TNFa
2ng/ml AIP-35TNFa
1ng/ml AIP-35TNFa
1ng/ml AWOT-35TNFa
ng/ml PPDY35TNFa
KC

图 57

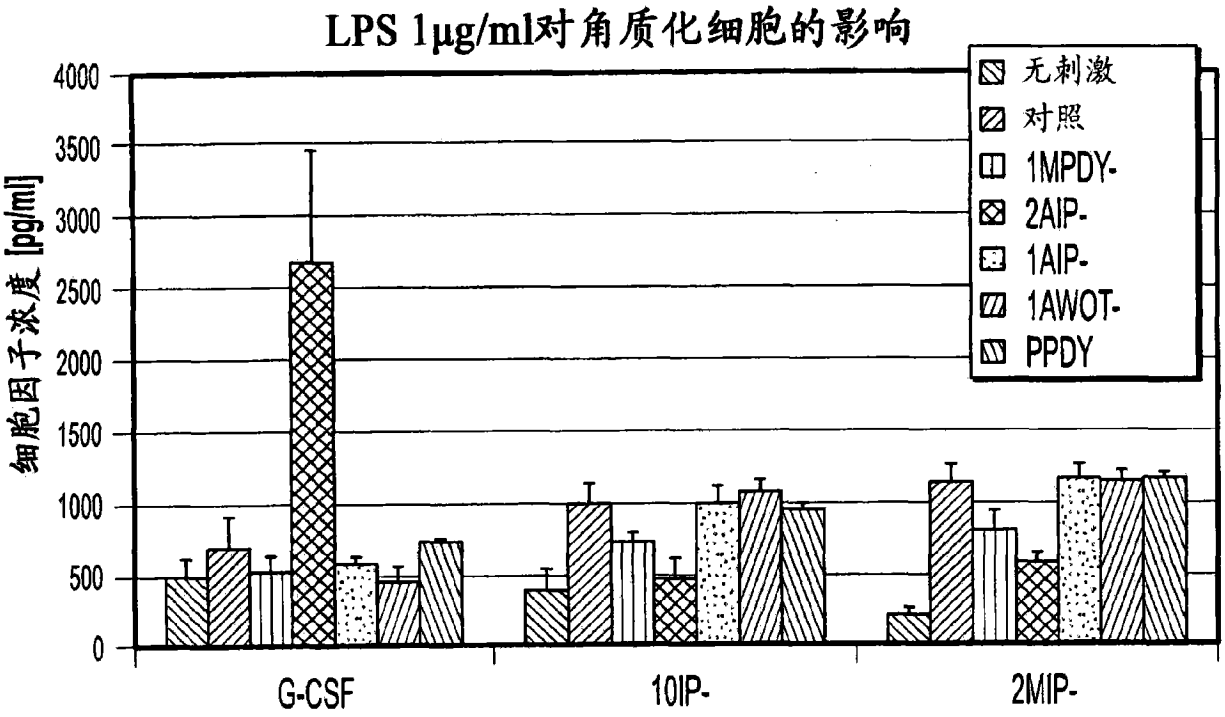

LPS 1μg/ml对角质化细胞的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
无刺激
对照
1MPDY-
2AIP-
1AIP-
1AWOT-
PPDY
G-CSF
10IP-
2MIP-

图 58

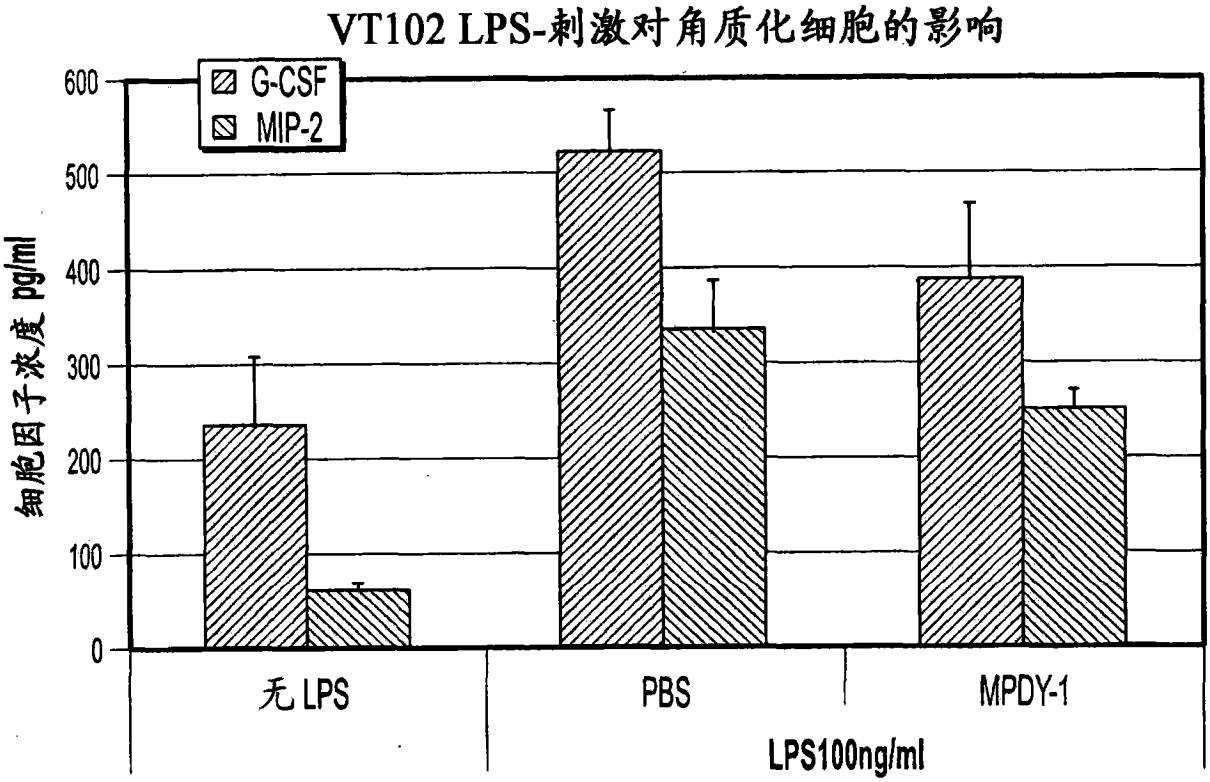

VT102 LPS-刺激对角质化细胞的影响
细胞因子浓度 pg/ml
600
500
400
300
200
100
0
G-CSF
MIP-2
无 LPS
PBS
MPDY-1
LPS100ng/ml

图 59

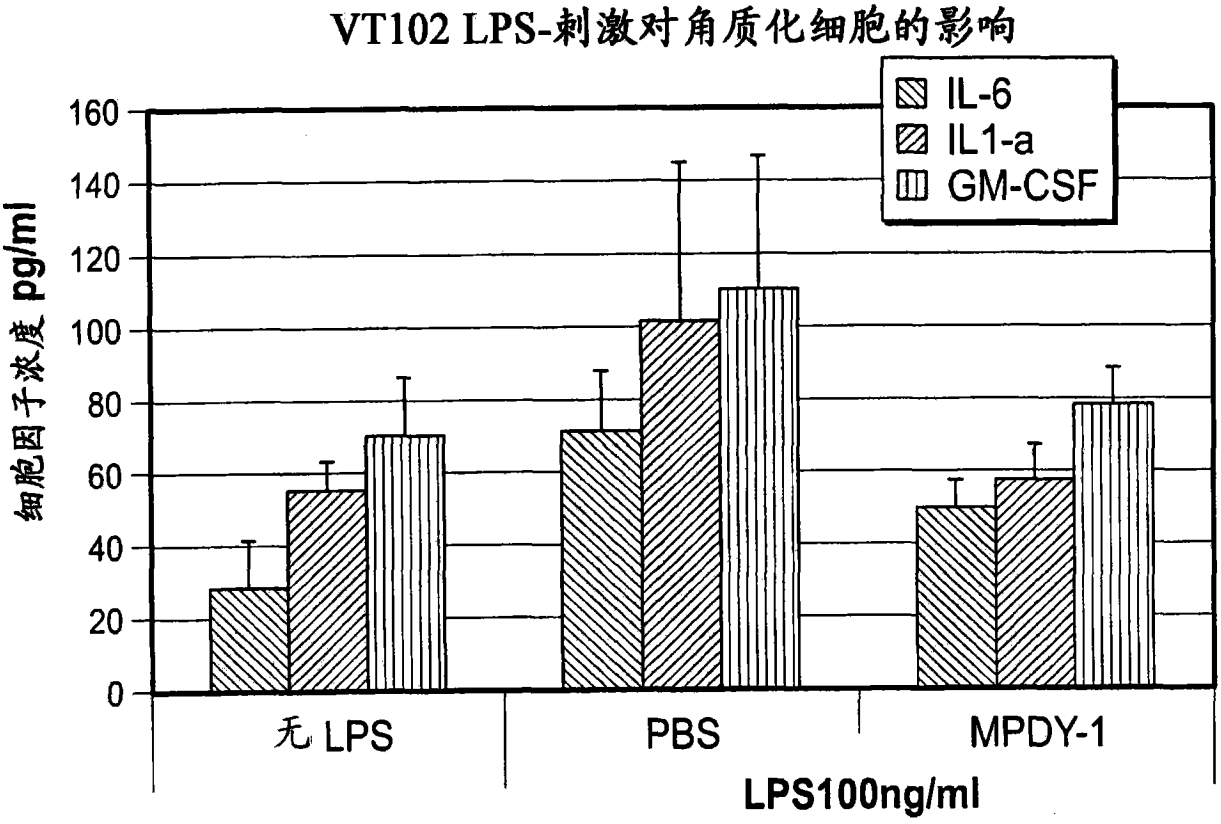

VT102 LPS-刺激对角质化细胞的影响
IL-6
IL1-a
GM-CSF
细胞因子浓度 pg/ml
160
140
120
100
80
60
40
20
0
无 LPS
PBS
MPDY-1
LPS100ng/ml

图 60

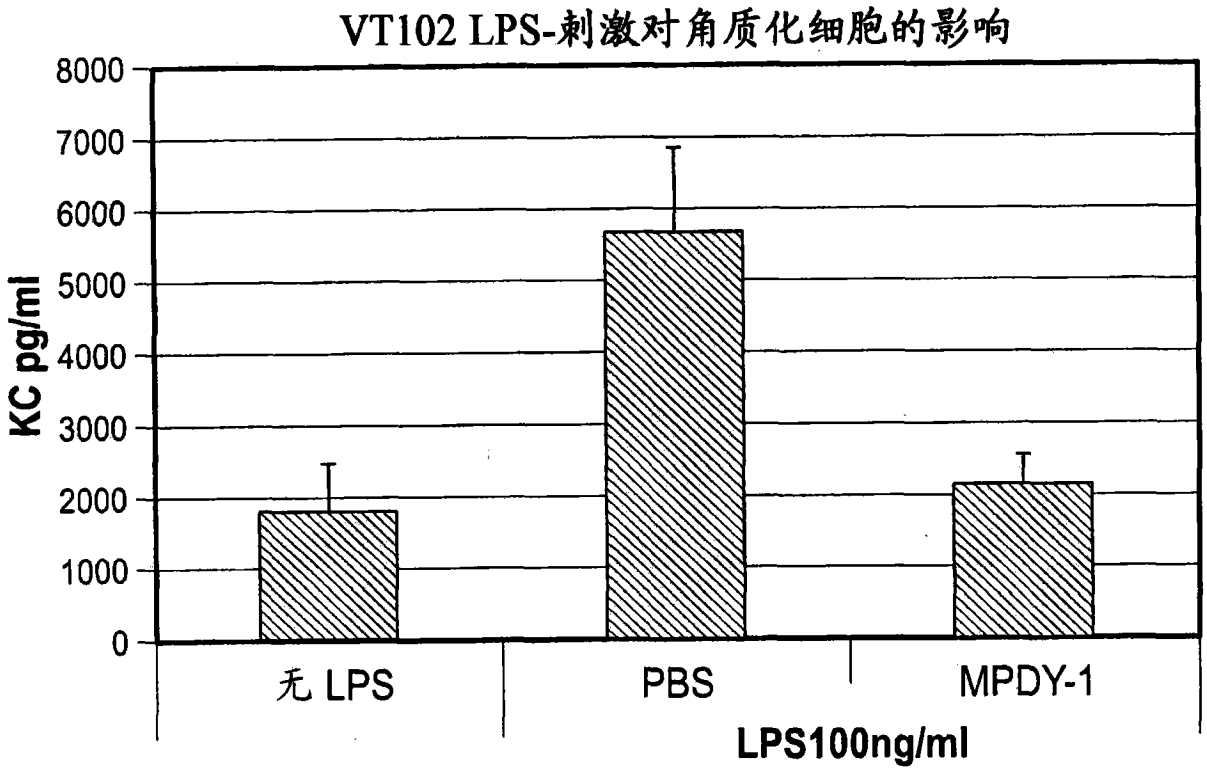

VT102 LPS-刺激对角质化细胞的影响
KC pg/ml
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
无 LPS
PBS
MPDY-1
LPS100ng/ml

图 61

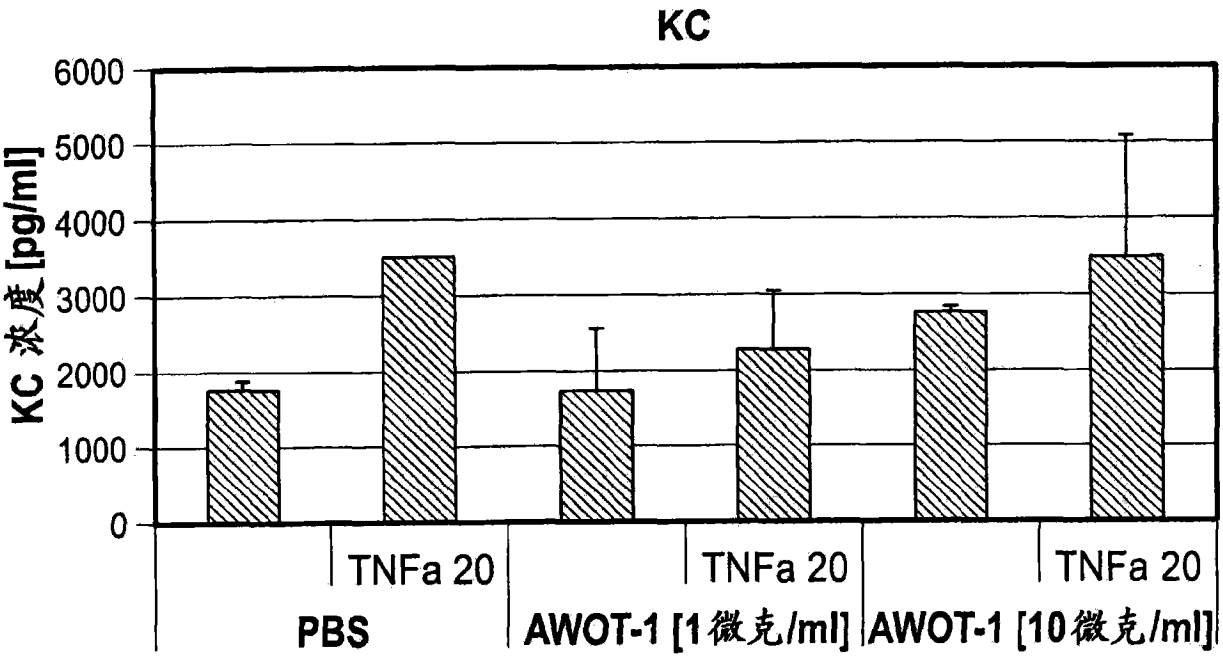

KC
KC 浓度 [pg/ml]
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
TNFa 20
TNFa 20
TNFa 20
PBS
AWOT-1 [1微克/ml]
AWOT-1 [10微克/ml]

图 62

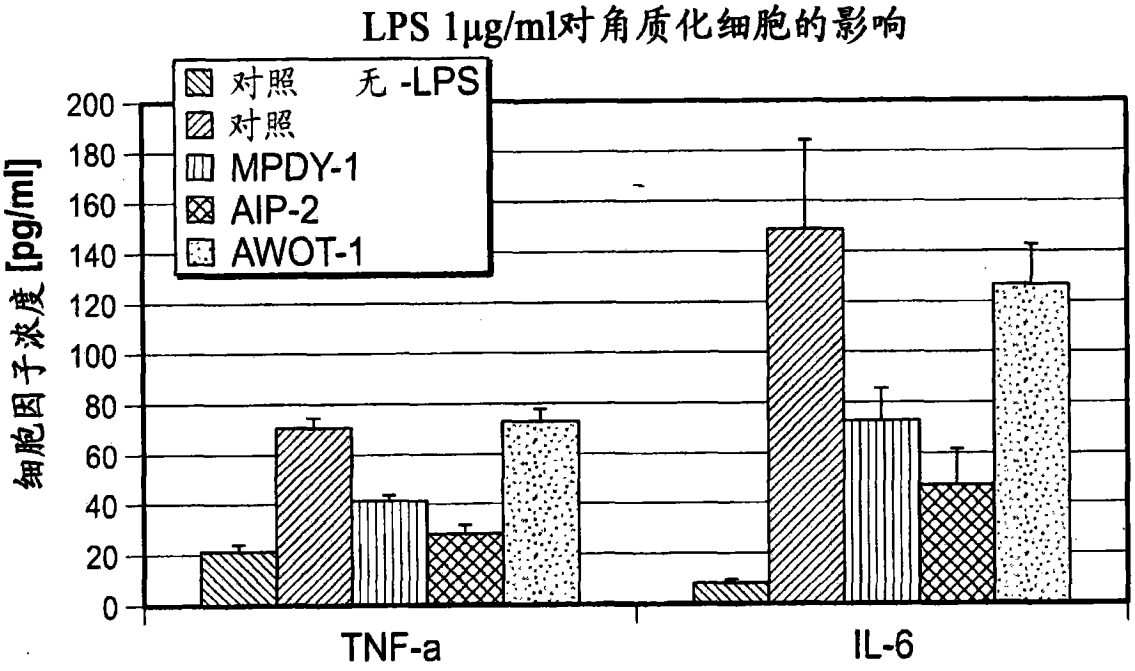

LPS 1μg/ml对角质化细胞的影响
对照 无 -LPS
对照
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
细胞因子浓度 [pg/ml]
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
TNF-a
IL-6

图 63

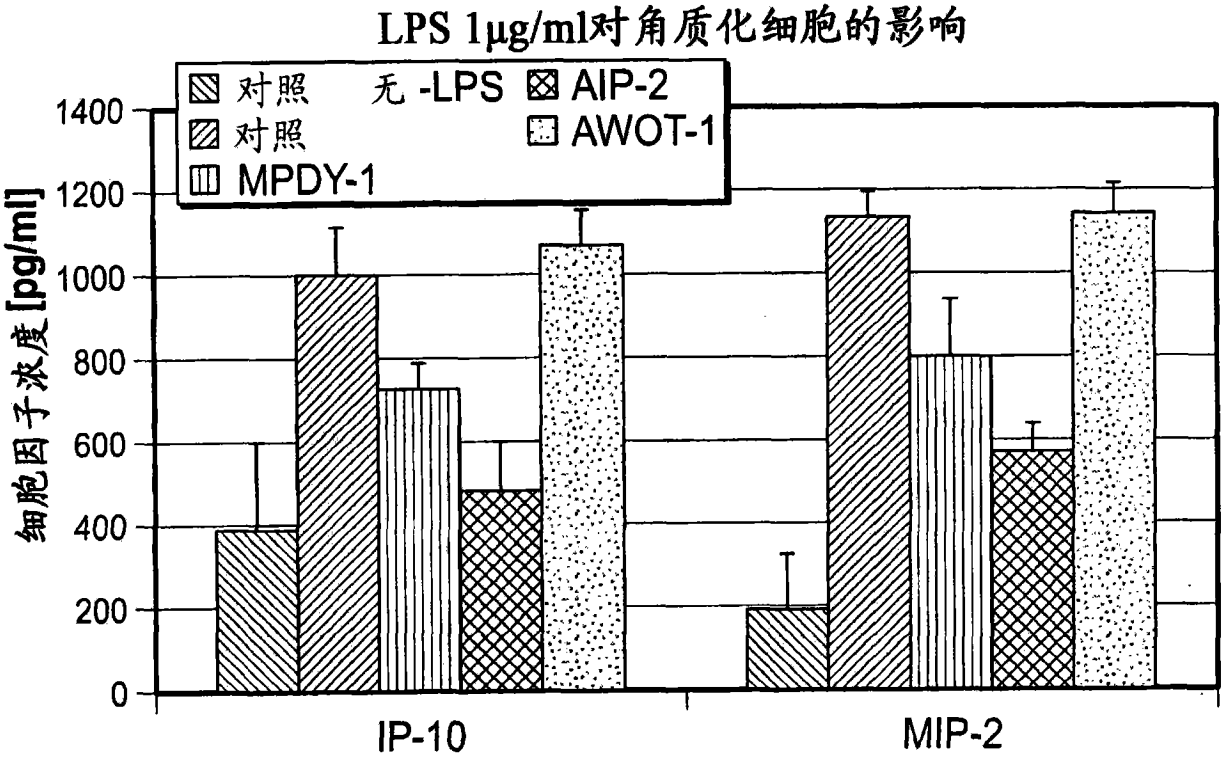

LPS 1μg/ml对角质化细胞的影响
对照 无 -LPS
对照
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
细胞因子浓度 [pg/ml]
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
IP-10
MIP-2

图 64

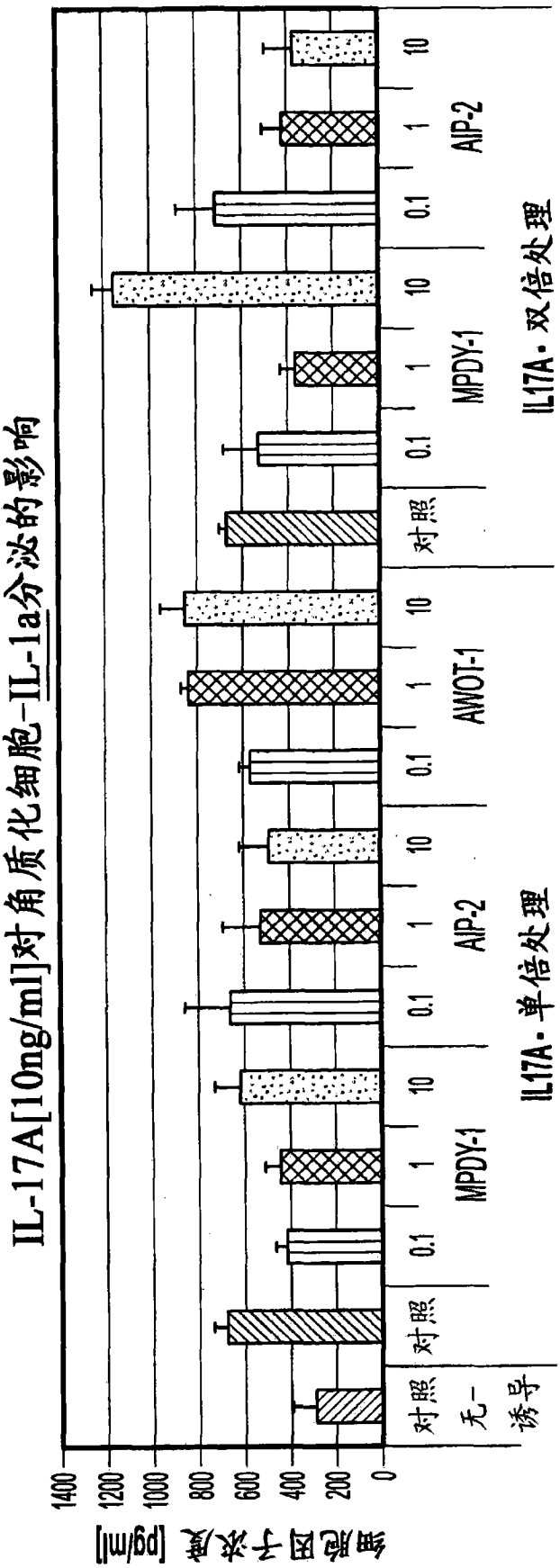

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-IL-1a分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
无-诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
IL17A·单倍处理
IL17A·双倍处理

图 65

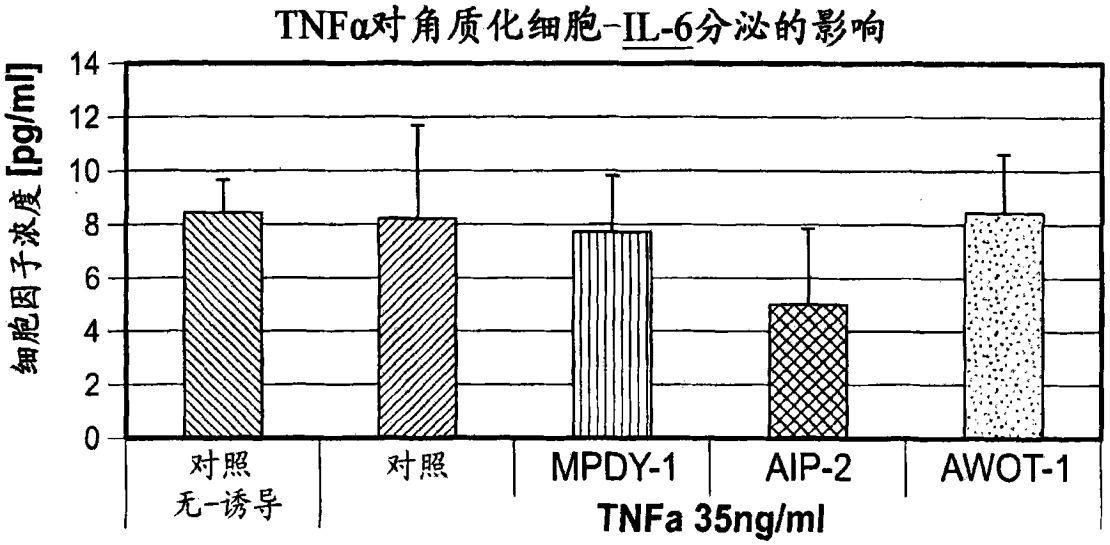

TNFα对角质化细胞-IL-6分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
14
12
10
8
6
4
2
0
对照
无-诱导
对照
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
TNFa 35ng/ml

图 66

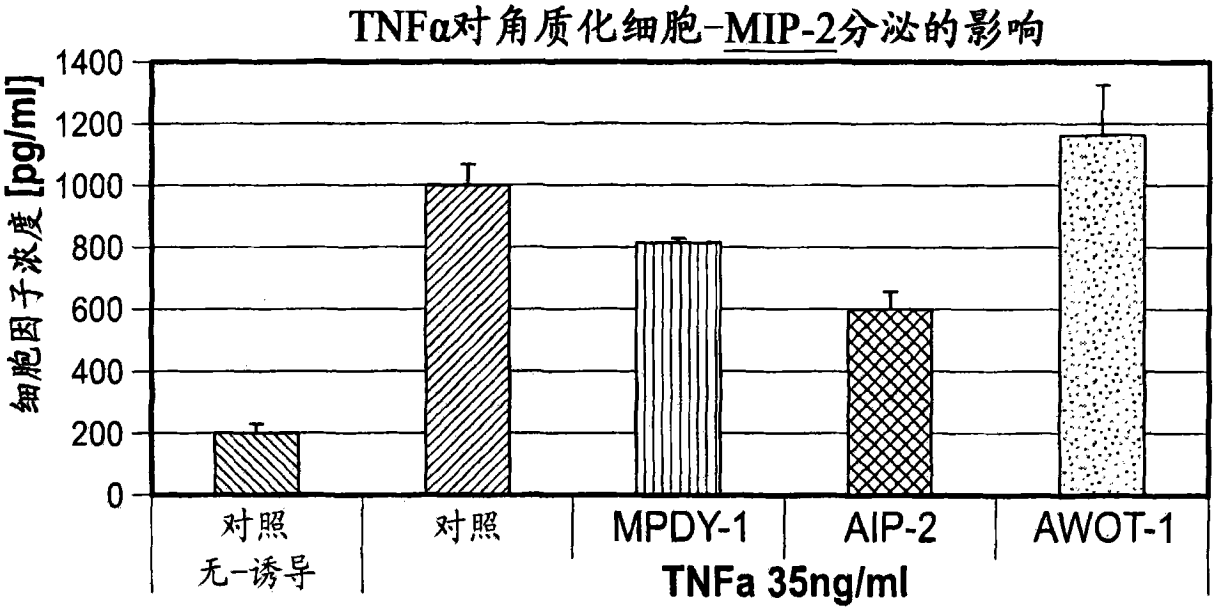

TNFα对角质化细胞-MIP-2分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
对照
无-诱导
对照
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
TNFa 35ng/ml

图 67

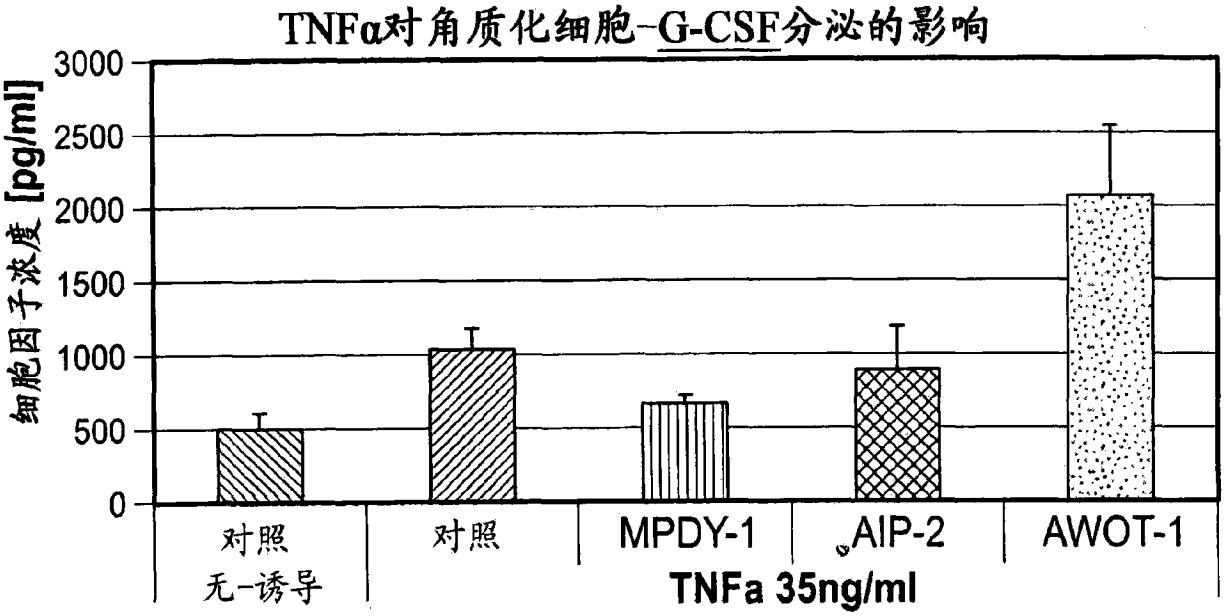

TNFα对角质化细胞-G-CSF分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
对照
无-诱导
对照
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
TNFa 35ng/ml

图 68

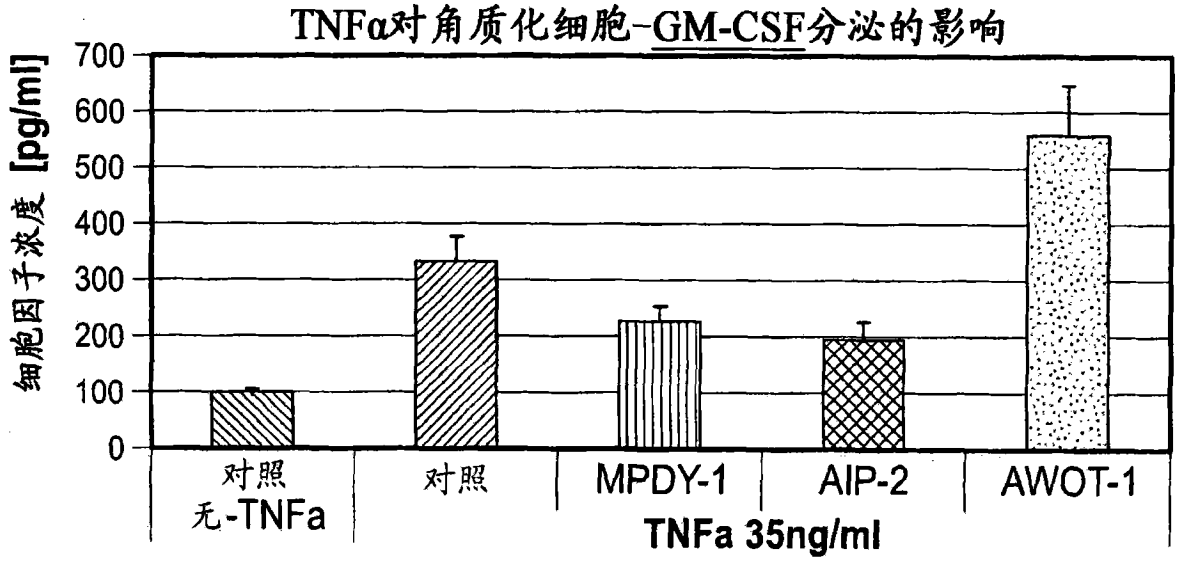

TNFα对角质化细胞-GM-CSF分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
700
600
500
400
300
200
100
0
对照
无-TNFa
对照
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
TNFa 35ng/ml

图 69

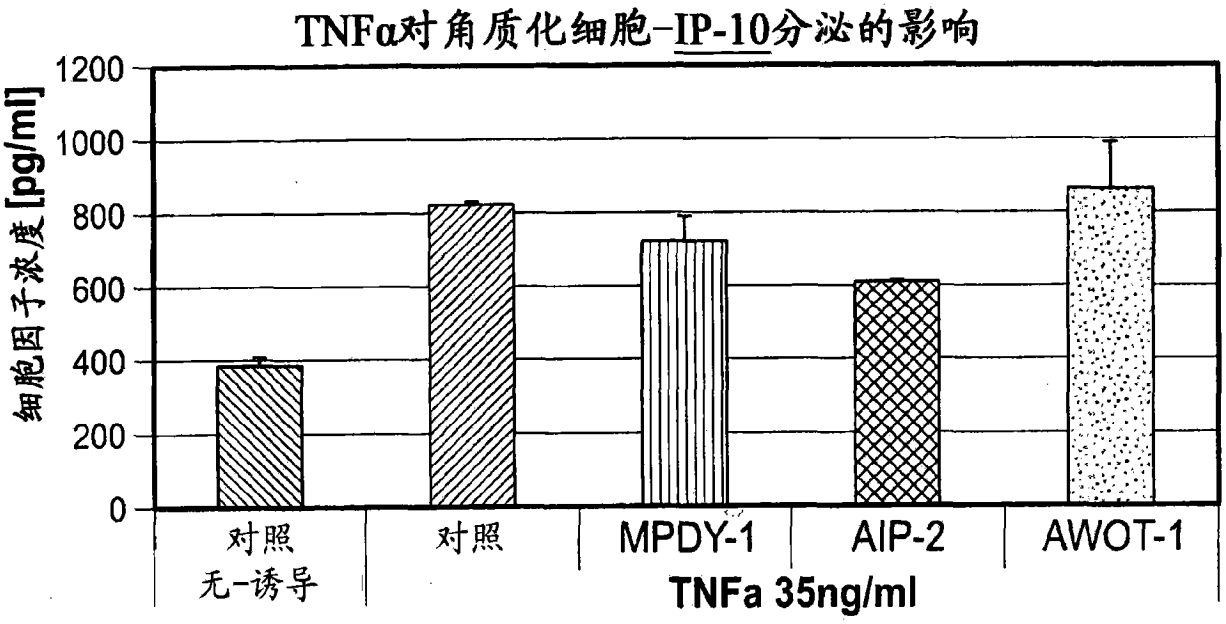

TNFα对角质化细胞-IP-10分泌的影响
细胞因子浓度[pg/ml]
1200
1000
800
600
400
200
0
对照
无-诱导
对照
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
TNFa 35ng/ml

图 70

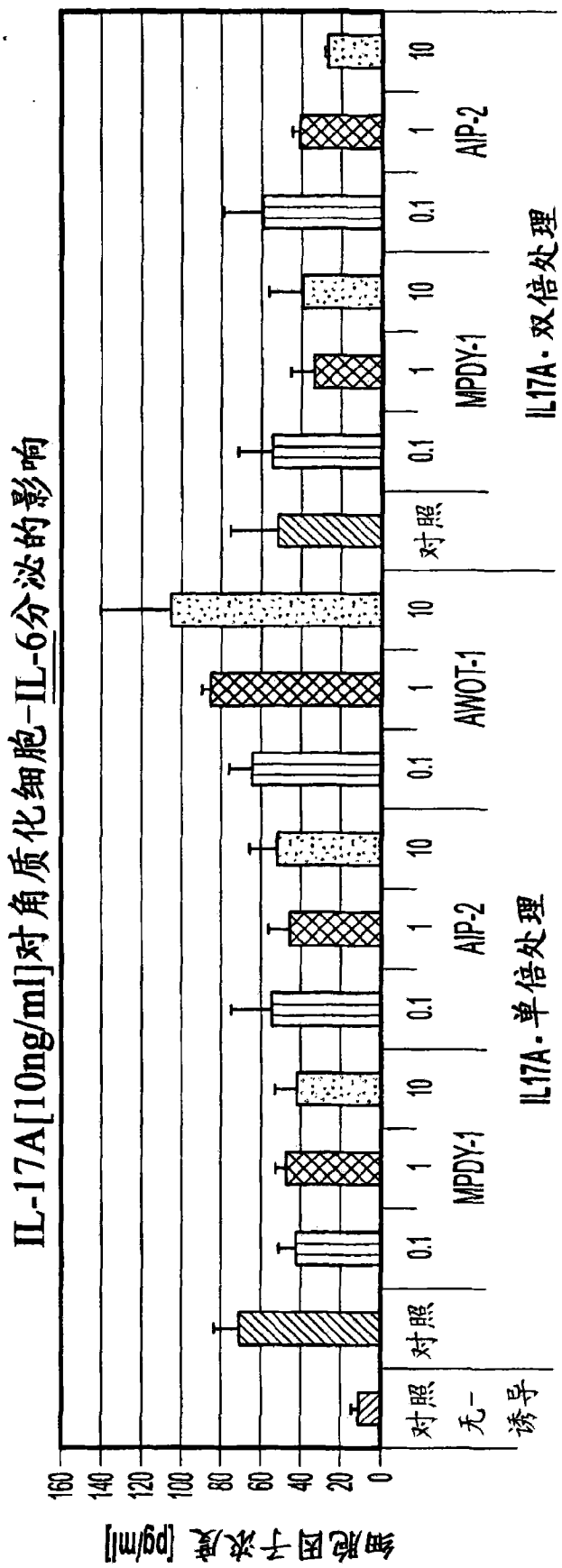

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-IL-6分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
160
140
120
100
80
60
40
20
0
对照
无-
诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A·单倍处理
0.1
1
10
AIP-2
0.1
1
10
AWOT-1
IL17A·双倍处理
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
AIP-2

图 71

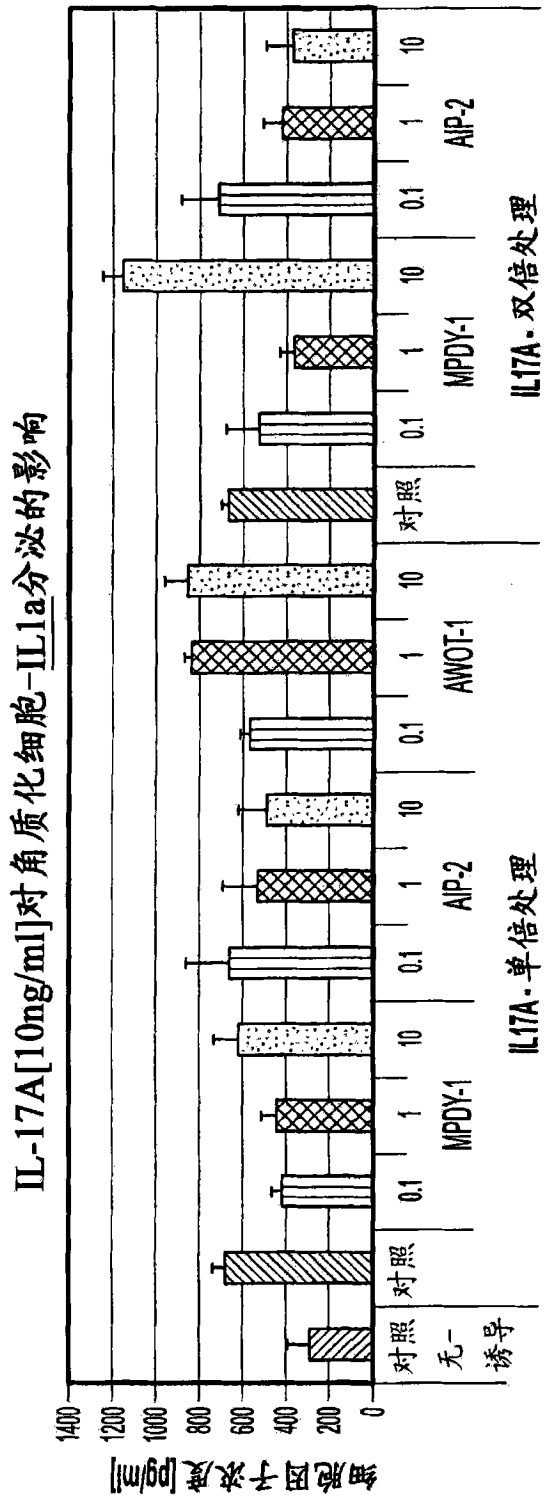

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-IL1a分泌的影响
细胞因子浓度[pg/ml]
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
对照
无-
诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A·单倍处理
0.1
1
10
AIP-2
0.1
1
10
AWOT-1
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A·双倍处理
0.1
1
10
AIP-2

图 72

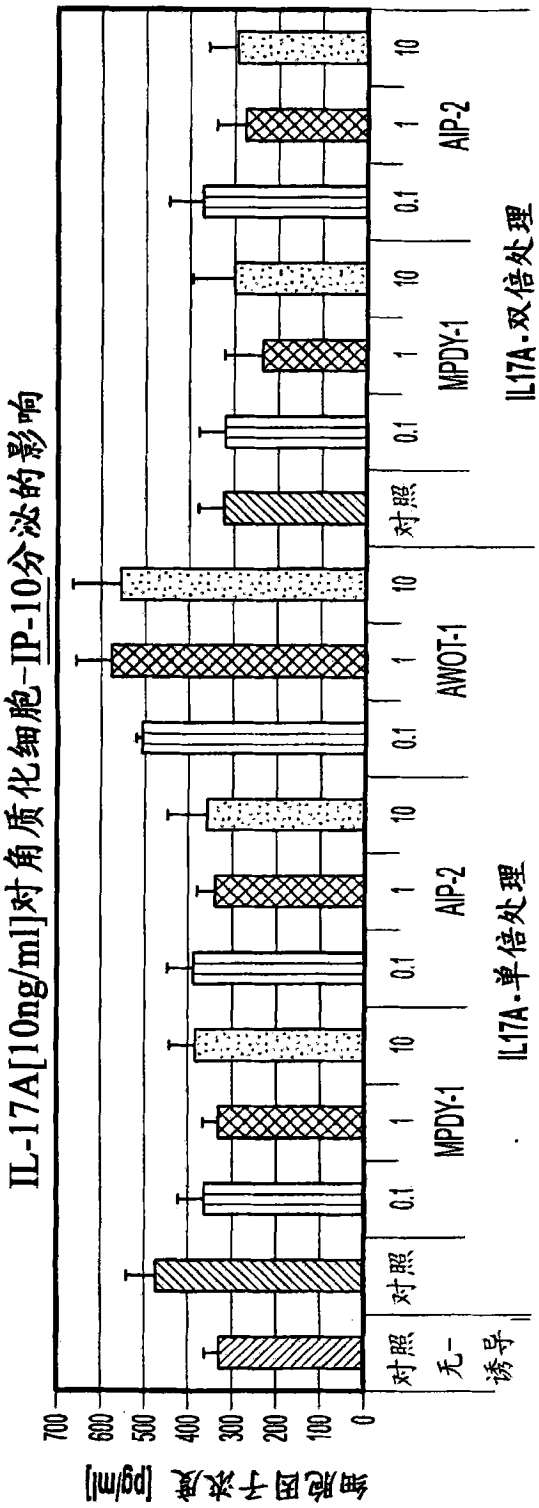

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-IP-10分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
700
600
500
400
300
200
100
0
对照
无-
诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A·单倍处理
0.1
1
10
AIP-2
0.1
1
10
AWOT-1
IL17A·双倍处理
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
AIP-2

图 73

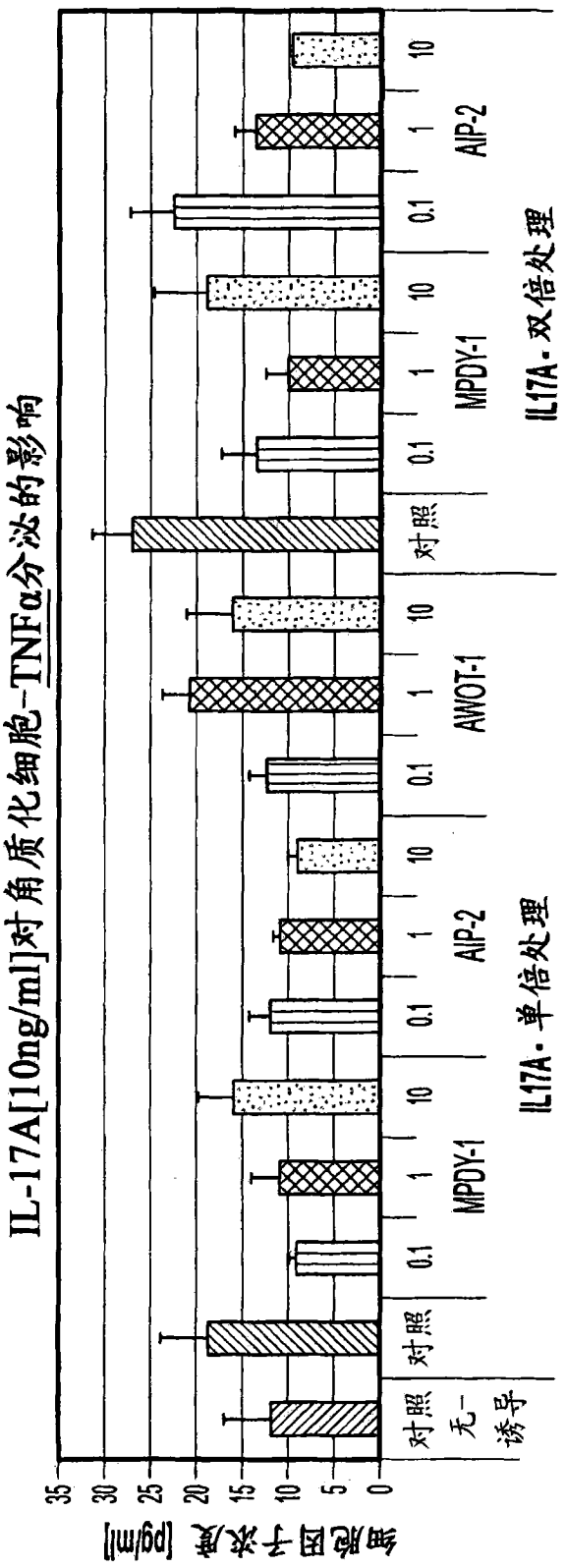

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-TNFα分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
35
30
25
20
15
10
5
0
对照
无-
诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
IL17A·单倍处理
0.1
1
10
AIP-2
0.1
1
10
AWOT-1
IL17A·双倍处理
对照
0.1
1
10
MPDY-1
0.1
1
10
AIP-2

图 74

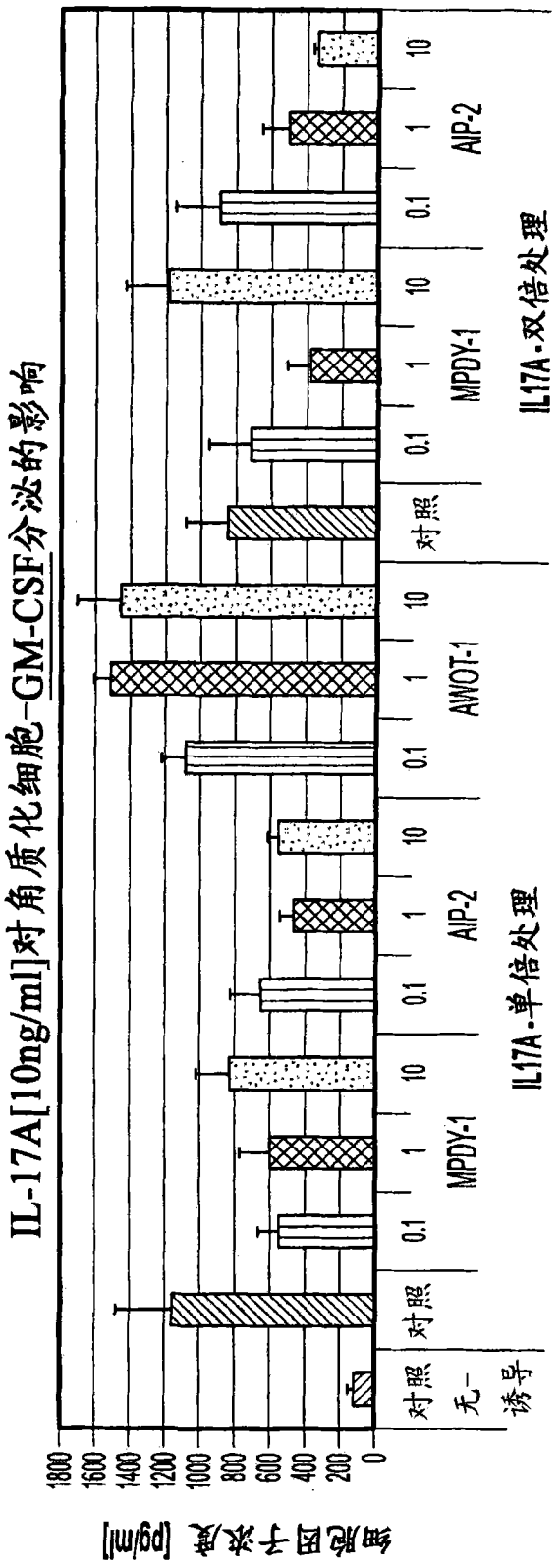

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-GM-CSF分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
对照无-诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
IL17A·单倍处理
IL17A·双倍处理

图 75

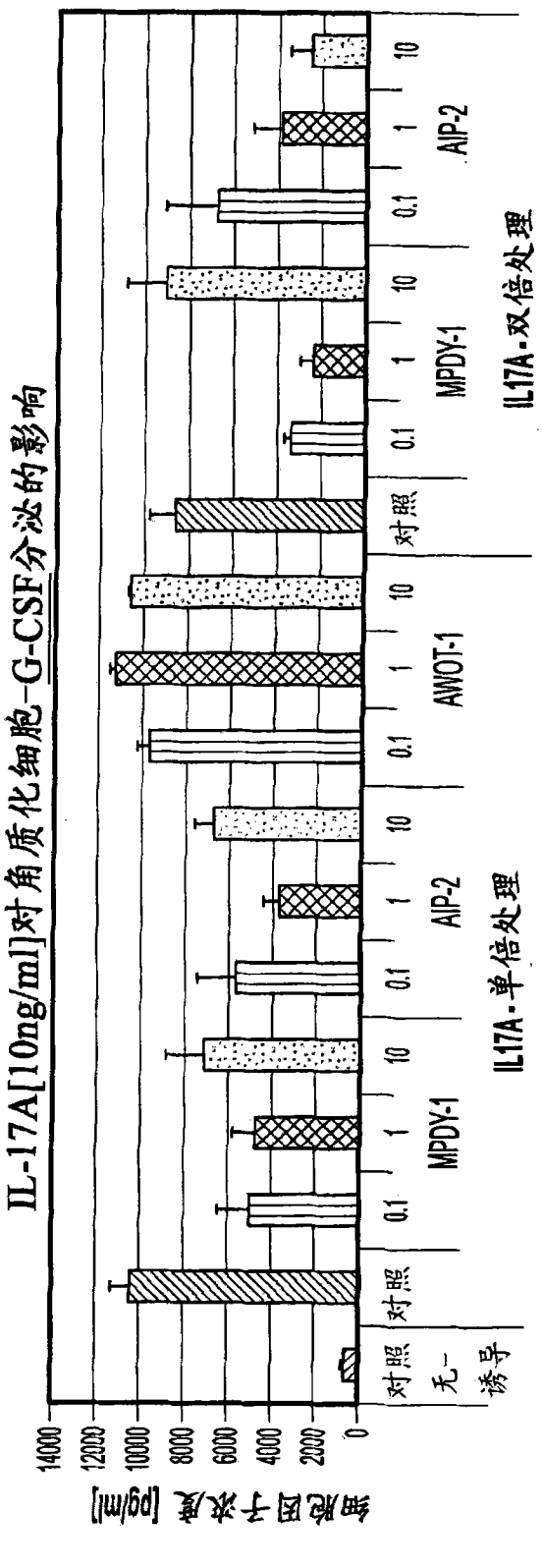

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-G-CSF分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
14000
对照无-诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
IL17A·单倍处理
IL17A·双倍处理

图 76

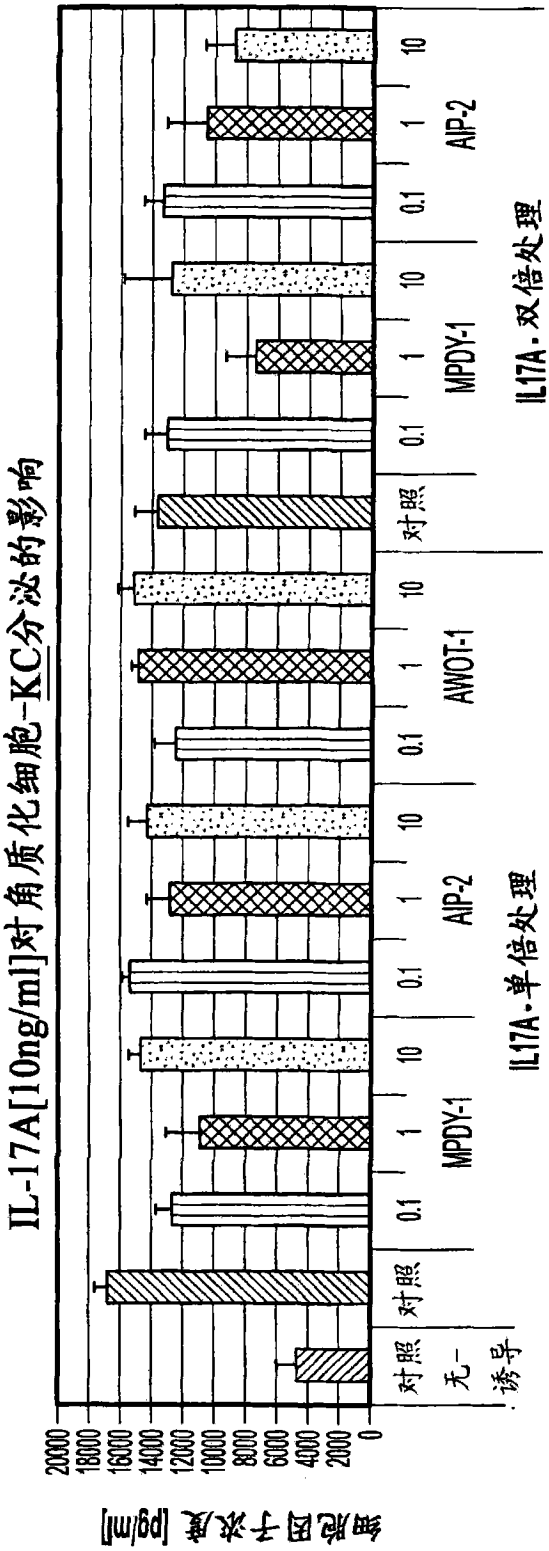

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-KC分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
20000
18000
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
无-诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
AIP-2
IL17A·单倍处理
AWOT-1
IL17A·双倍处理

图 77

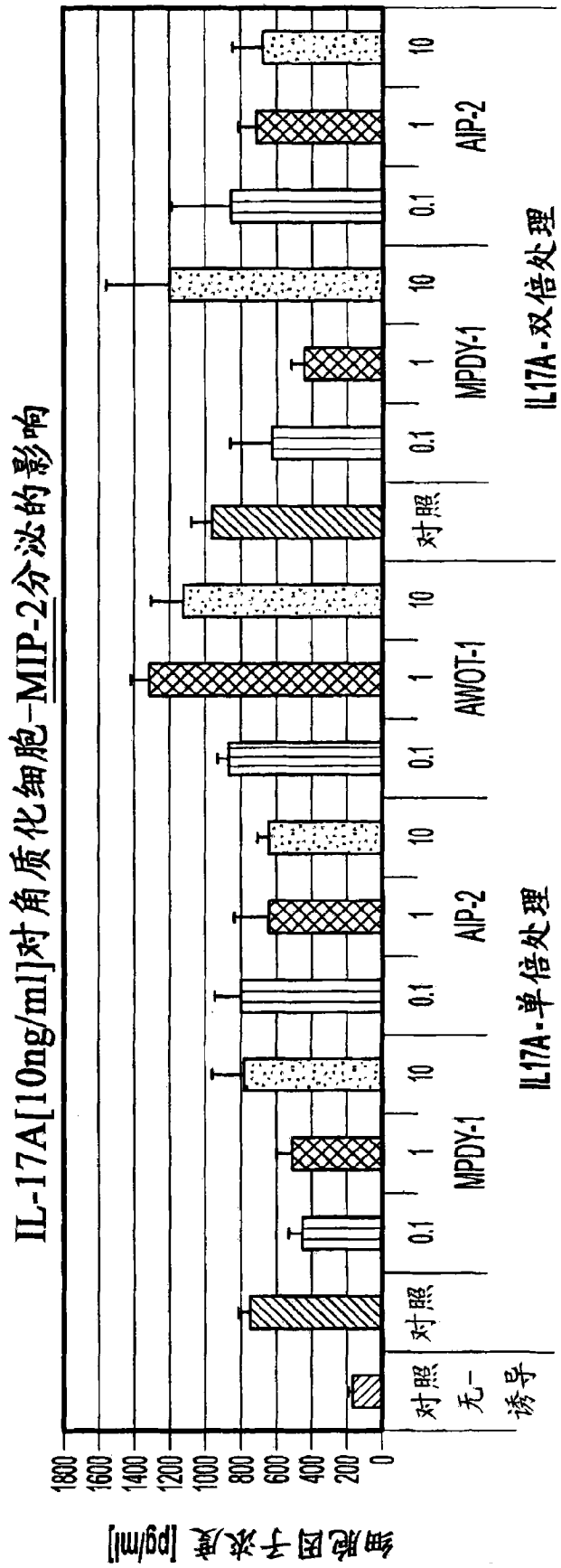

IL-17A[10ng/ml]对角质化细胞-MIP-2分泌的影响
细胞因子浓度 [pg/ml]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
对照无-诱导
对照
0.1
1
10
MPDY-1
AIP-2
AWOT-1
IL17A-单倍处理
IL17A-双倍处理

图 78

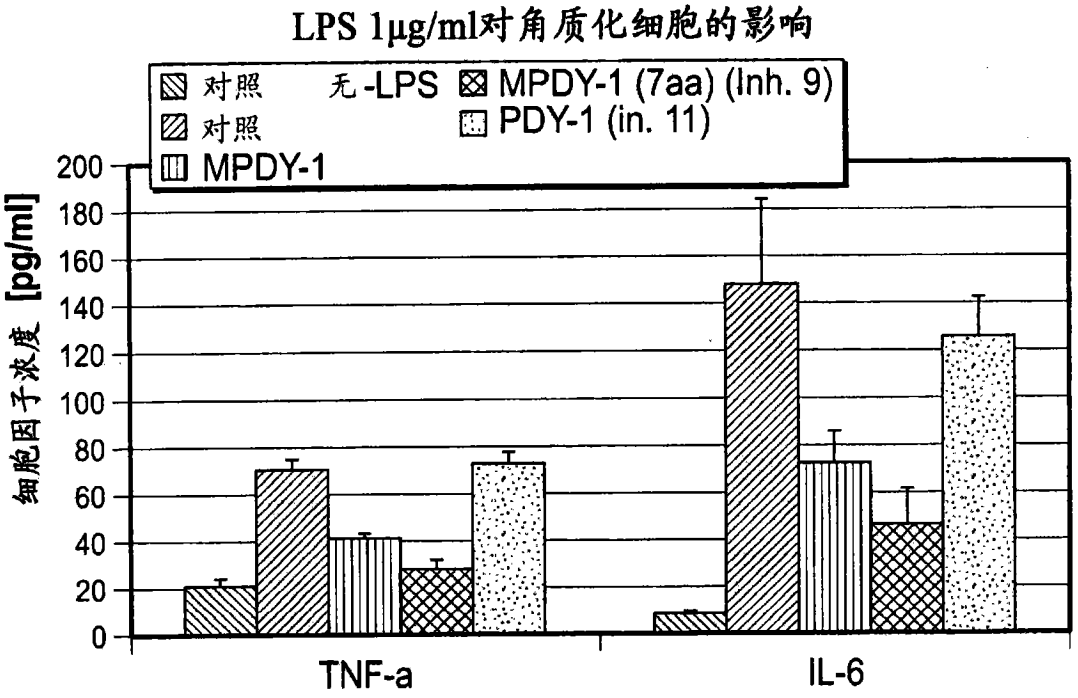

LPS 1μg/ml对角质化细胞的影响
对照
无-LPS
MPDY-1 (7aa) (Inh. 9)
对照
PDY-1 (in. 11)
MPDY-1
细胞因子浓度 [pg/ml]
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
TNF-a
IL-6

图 79

刺激	治疗	结果
LPS [1μg/ml]	MPDY-1 [1μg/ml]	TNFα (-60%), IL-6 (-60%), IP-10 (-100%), MIP-2 (-45%), G-CSF (-100%), IL-1α (-10%), GM-CSF (-10%), KC (-25%)
	AIP-2 [1μg/ml]	TNFα (-80%), IL-6 (-70%), IP-10 (-100%), MIP-2 (-60%)
	AIP-1 [1μg/ml]	G-CSF (-60%), IL-6 (-30%), KC (-30%), IL-10 (-25%), G-CSF (-50%)
	AWOT [1μg/ml]	IL-6 (-20%), G-CSF (-160%), IL-6 (-30%), KC (-30%)
	PPDY-1 [1μg/ml]	KC (-10%), IL-10 (-40%
LPS [100ng/ml]	MPDY-1 [1μg/ml]	G-CSF (-50%), MIP-2 (-30%), KC (-90%), IL-1α (-80%), IL-6 (-50%), GM-CSF (-90%), IL-6 (-15%), MIP-2 (-15%), TNFα (-100%)
	AIP-2 [1μg/ml]	IP-10 (-10%), MIP-2 (-20%)
	AWOT [1μg/ml]	IP-10 (-70%), MIP-2 (-70%)
	PPDY-1 [1μg/ml]	IP-10 (-85%), MIP-2 (-85%)
TNFα [35ng/ml]	MPDY-1 [1μg/ml]	IL-1α (-95%), G-CSF (-75%), GM-CSF (-45%), MIP-2 (-25%), IP-10 (-25%)
	AIP-2 [1μg/ml]	IL-1α (-80%), G-CSF (-50%), GM-CSF (-60%), MIP-2 (-50%), IP-10 (-50%), KC (-15%)
	AIP-1 [1μg/ml]	GM-CSF (-35%), IL-1a (-85%), G-CSF (-70%), KC (-50%)
	PPDY-1 [1μg/ml]	IL-1α (-30%
IL-17α [10ng/ml]	MPDY-1 [0.1μg/ml]	IL-1α (-70%), IL-6 (-40%), TNFα (-160%), IP-10 (-85%), G-CSF (50%), GM-CSF (-60%), KC (-65%), MIP-2 (-50%)
	MPDY-1 [1μg/ml]	IL-1a (-65%), IL-6 (-30%), TNFα (-130%), IP-10 (-100%), G-CSF (50%), GM-CSF (-50%), KC (-50%), MIP-2 (-45%)
	MPDY-1 [10μg/ml]	IL-1α (-25%), IL-6 (-50%), TNFα (-30%), IP-10 (-75%), G-CSF (30%), GM-CSF (-30%), KC (-15%)
	AIP-2 [0.1μg/ml]	IL-6 (-25%), TNFα (-100%), IP-10 (-75%), G-CSF (50%), GM-CSF (-50%), KC (-10%)
	AIP-2 [1μg/ml]	IL-1α (-50%), IL-6 (-40%), TNFα (-130%), IP-10 (-95%), G-CSF (70%), GM-CSF (-65%), KC (-65%), MIP-2 (-15%)
	AIP-2 [10μg/ml]	IL-1α (-50%), IL-6 (-30%), TNFα (-180%), IP-10 (-90%), G-CSF (30%), GM-CSF (-55%), KC (-20%), MIP-2 (-15%)
	AWOT [0.1μg/ml]	IL-1α (-35%), IL-6 (-10%), TNFα (-85%), KC (-65%)
	AWOT [1μg/ml]	KC (-15%
	AWOT [10μg/ml]	TNFα (-30%), KC (-15%

图 80