

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6818676号
(P6818676)

(45) 発行日 令和3年1月20日(2021.1.20)

(24) 登録日 令和3年1月5日(2021.1.5)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 31/277	(2006.01)
A 61 K 31/44	(2006.01)
A 61 K 31/397	(2006.01)
A 61 P 31/04	(2006.01)
A 61 P 31/12	(2006.01)
A 61 K	31/277
A 61 K	31/44
A 61 K	31/397
A 61 P	31/04
A 61 P	31/12

請求項の数 7 (全 58 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-512462 (P2017-512462)
(86) (22) 出願日	平成27年5月18日 (2015.5.18)
(65) 公表番号	特表2017-515910 (P2017-515910A)
(43) 公表日	平成29年6月15日 (2017.6.15)
(86) 國際出願番号	PCT/IB2015/053644
(87) 國際公開番号	W02015/173788
(87) 國際公開日	平成27年11月19日 (2015.11.19)
審査請求日	平成30年5月14日 (2018.5.14)
(31) 優先権主張番号	92455
(32) 優先日	平成26年5月16日 (2014.5.16)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	ルクセンブルク (LU)

(73) 特許権者	516343022 アトリバ セラピューティクス ゲーム ペーハー ドイツ連邦共和国 72076 テュービ ンゲン クリストフシュトラーゼ 32
(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(74) 代理人	100102118 弁理士 春名 雅夫
(74) 代理人	100160923 弁理士 山口 裕幸
(74) 代理人	100119507 弁理士 刑部 俊
(74) 代理人	100142929 弁理士 井上 隆一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】インフルエンザウイルスおよび黄色ブドウ球菌の重感染に対する新規の抗感染戦略

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

CI-1040およびGDC-0973からなる群より選択されるMEK阻害剤を含む、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を治療するための医薬。

【請求項 2】

細菌感染が、スタフィロコッカス科(Staphylococcaceae)、連鎖球菌科(Streptococcaceae)、レジオネラ科(Legionellaceae)、シュードモナス科(Pseudomonadaceae)、クラミジア科(Chlamydiaceae)、マイコプラズマ科(Mycoplasmataceae)、腸内細菌科(Enterobacteriaceae)、シュードモナス目(Pseudomonadales)、および/またはパストレラ科(Pasteurellaceae)からなる群より選択される細菌によって媒介される、請求項1記載の医薬。 10

【請求項 3】

インフルエンザウイルス感染がインフルエンザA型ウイルスまたはインフルエンザB型ウイルスによって媒介される、請求項1または2記載の医薬。

【請求項 4】

MEK阻害剤が別のMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤と組み合わされる、請求項1~3のいずれか一項記載の医薬。

【請求項 5】

p38阻害剤が、SB202190、LY2228820、CAY10571、SB 203580、Tie2キナーゼ阻害剤、2-(4-クロロフェニル)-4-(フルオロフェニル)-5-ピリジン-4-イル-1,2-ジヒドロピラゾール-3-オン、CGH 2466、SB220025、抗生物質LL Z1640-2、TAK 715、SB202190塩酸塩、SKF 860 20

02、AMG548、CMPD-1、EO 1428、JX 401、ML 3403、RWJ 67657、SB 202190、SB 203580、SB 203580塩酸塩、SB 239063、SC10 469、SX 011、TAK 715、パマピモド、ロスマピモド(G W856553)、ディルマピモド(SB681323)、VX 702、VX 745、ドラマピモド(BIRB 796)、BMS-582949、ARRY-797およびPH797804からなる群より選択される、請求項4記載の医薬。

【請求項 6】

NF-B阻害剤が、LASAG、SC75741、MG 132、TPCA-1、PCTC、IMD 0354、ルテオリン、カフェイン酸フェネチルエステル、カルダモニン、PF 184、IKK 16、SC 514、ウィザフェリンA、アルクチゲニン、Bay 11-7085、PSI、PR 39、Ro 106-9920、Bay 11-7821、ML-130、セラストロール、タンシノンIIA、HU 211、グリオトキシン、CID 2858522、ホノキオール、アンドログラフオライド、10Z-ヒメニアルジシン、ACHP、プリスチメリン、スルファラジン、ML 120B二塩酸塩、アンレキサノクス、9-メチルストレプトイミドン、N-ステアロイルフィトスフィンゴシン、2-(1,8-ナフチリジン-2-イル)-フェノール、5-アミノサリチル酸、BAY 11-7085、3,4-ジヒドロキシ桂皮酸エチル、ヘナリン(Helanalin)、NF-B活性化阻害剤II、JSH-23、グルココルチコイド受容体調節因子、CpdA、PPM-18、ASA、ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム塩、(R)-MG132、SC75741、ロカグラミド、サリチル酸ナトリウム、QNZ、PS-1145、CAY10512、ボルテゾミブ、サルサレート、レスベラトロール、デオキシスペルグアリン、スリンダク、サリドマイド、AGRO-100、CHS 828、および/またはクルクミンからなる群より選択される、請求項4または5記載の医薬。
10

【請求項 7】

MEK阻害剤が、インフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と組み合わされる、請求項1~6のいずれか一項記載の医薬。
20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を、または細菌感染のみを予防および/または治療するための方法における使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤に関する。また、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染の、または細菌感染のみの予防および/または治療における使用のためのそのような阻害剤を含む組成物も提供される。加えて、インフルエンザウイルスおよび細菌に感染した培養細胞または細菌のみに感染した培養細胞を含む、インビトロの試験システムが提供される。
30

【背景技術】

【0002】

発明の背景

インフルエンザA型ウイルスは、かなりの罹患率および死亡率をもたらす重症呼吸器疾患の原因病原体である。インフルエンザウイルス(IV)感染の経過中の致死的症例の大部分は、実際には、黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*))、肺炎連鎖球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、およびインフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*)のような異なる細菌によって引き起こされる二次性肺炎の結果である(Morens et al., 2008, Chertow et al., 2013)。細菌重感染の最も顕著な問題は、病原性の突然増加であり(Iwao et al., 2012, Paddock et al., 2012, Parker et al., 2012)、異なる病原菌に対する強力な抗感染薬の蓄えが限られていることである。インフルエンザウイルスの高い変動性および新しい菌株の継続的な出現(Neumann et al., 2009, Taubenberger et al., 2010, Parrish, 2013)、細菌株に固有の特徴(Grundmann et al., 2006, Moran et al., 2006, Gillett et al., 2007, Shilo et al., 2011)、ならびに利用可能な薬物/抗生物質に対しての、インフルエンザウイルス(Hayden et al., 1992, Bright et al., 2006, Pinto et al., 2006, De Clercq et al., 2007, Pinto et al., 2007)および細菌(Grundmann et al., 2006, Moran et al., 2006, Shilo et al., 2011)の両方の急速な耐性発現が、不十分な治療選択肢の主因である。さらに、これまで、インフルエンザウイルスおよび細菌の重感染の治
40
50

療が単一の化合物で可能ではないことは付帯的な事柄である。本発明は、単一薬物を用いることによるIVおよび黄色ブドウ球菌の重感染に対する新規の抗感染戦略を提案するという点でこの問題を解決する。さらに、本発明は、細菌自体よりもむしろ細胞因子を標的とする薬物を提供することによって、細菌の急速な耐性発現の問題を解決する。

【発明の概要】

【0003】

技術的な問題は、添付の特許請求の範囲に反映された態様、説明に記述された態様、ならびに実施例および図面において例示された態様により解決される。

【0004】

上記の通り、本発明は、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤に関する。 10

【0005】

加えて、本発明は、細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤に関する。

【0006】

前世紀における徹底した研究にもかかわらず、IVは依然として人類にとって重大な脅威となっている。高齢者および免疫不全の者にとって特に危険な季節的流行は、インフルエンザA型またはB型ウイルスの感染によるものである。

【0007】

過去数十年以内に、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌株の発生率が増加しており、IVに同時に感染した幼児および小児においてとりわけ問題を引き起こしている(Iverson et al., 2011, Thorburn et al., 2012)。細菌重感染時に起こる1つの大きな問題は、急激かつ高度に病原性が高まるることであり、これはおそらく、組織損傷にもつながる急速なサイトカイン発現によって引き起こされる。特に、パントン-バレンタインロイコシジン(PVL)発現性の黄色ブドウ球菌の重感染時には、PVL媒介性の好中球死滅後にプロテアーゼが無制御に放出されるため、重度の肺上皮損傷が観察される(Gillet et al., 2007, Niemann et al., 2012)。細菌重感染は、通常、IV感染の最初の6日以内に発生し、さらに劇症性の疾病、肺炎およびより高い死亡率をもたらす(Iverson et al., 2011, Chertow et al., 2013)。しかし、症例によっては、ウイルス感染が既に治っていると思われる時点で、細菌の重感染が現れる。ウイルス/細菌重感染の治療については、限られた可能性しか存在しない。 30

【0008】

インフルエンザと戦うための有望な抗ウイルス戦略の1つは、細胞内病原体としてのIVが細胞シグナル伝達機構に強く依存しているという事実に基づいている(Gong et al., 2009, Ludwig, 2009)。IVは、それ自身のために細胞因子をハイジャックする能力を獲得した(Ludwig et al., 2003)。さらに、IVは、その宿主の先天性免疫応答を抑制することができる。これらの依存性を考慮すると、細胞のウイルス支持機能は、新規な抗ウイルス介入の最も有望な候補である(Ludwig et al., 2003, Ludwig, 2011, Planz, 2013)。過去数年の間に、本発明者らおよび他者らは、抗ウイルスアプローチのための適当な標的として、Raf/MEK/ERK分裂促進因子キナーゼカスケード(Pleschka et al., 2001, Ludwig et al., 2004, Olschlager et al., 2004, Marjuki et al., 2006, Ludwig, 2009, Droebner et al., 2011)、IKK/NF-Bモジュール(Pleschka et al., 2001, Wurzer et al., 2004, Marjuki et al., 2006, Mazur et al., 2007, Ludwig et al., 2008, Dudek et al., 2010, Droebner et al., 2011, Ehrhardt et al., 2013, Haasbach et al., 2013)、p38シグナル伝達(Borgeling et al., 2014)および同様にPI3Kシグナル伝達(Ehrhardt et al., 2006, Ehrhardt et al., 2007a, Ehrhardt et al., 2007b, Ehrhardt et al., 2009, Eierhoff et al., 2010)経路を同定した。 40

【0009】

ウイルス因子ではなく細胞因子を標的とすることは、病原体が、欠損した細胞機能を差

10

20

30

40

50

し替えることができないので、耐性の問題を防ぐ。いくつかの細胞因子に関しては、化合物が入手可能であり、初期段階ではあるが、それらのうちのいくつかは臨床試験に入っているか、または既に認可さえされている。

【0010】

IVの複製とは対照的に、黄色ブドウ球菌の分裂は宿主細胞非依存性である。新規の抗菌代替手段では、病原体によって產生された必須遺伝子産物を標的にしないが、細菌を死滅させたりまたは宿主免疫を増強したりせずに黄色ブドウ球菌の感染中に毒性因子を阻害する(Park et al., 2012)。他の戦略は、ヒト宿主における黄色ブドウ球菌のコロニー形成を妨げる(Park et al., 2012)。これらの化合物はまた、耐性を誘導する可能性がより低い。最近、黄色ブドウ球菌もまた、感染の間にそれ自身の利益のために細胞シグナル伝達を用いるという証拠が蓄積されている(Oviedo-Boysen et al., 2011)が、このような細菌支持性の細胞因子は、抗菌治療の標的として詳細にはまだ特徴付けられていない。10

【0011】

本発明者らは、驚くべきことに、抗インフルエンザ活性を有することが以前に示されたNF B、MEK、またはp38 MAPキナーゼのような、細胞内シグナル伝達因子に対する薬物も、抗黄色ブドウ球菌活性を示し、重感染のシナリオにおいてウイルス力価および細菌力価の両方を低減することを見出した。したがって、これらのシグナル伝達阻害剤は、IVまたは黄色ブドウ球菌感染のみの治療のための最も有望な候補であるばかりか、最も重要なことには、細菌の重感染を伴う重度インフルエンザに対してもそうである。20

【0012】

1つの態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、細菌感染が、スタフィロコッカス科(Staphylococcaceae)、連鎖球菌科(Streptococcaceae)、レジオネラ科(Legionellaceae)、シュードモナス科(Pseudomonadaceae)、クラミジア科(Chlamydiaceae)、マイコプラズマ科(Mycoplasmataceae)、腸内細菌科(Enterobacteriaceae)、シュードモナス目(Pseudomonadales)、および/またはパステツレラ科(Pasteurellaceae)からなる群より選択される細菌によって媒介される、本発明の重感染または細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。20

【0013】

別の態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、インフルエンザウイルス感染がインフルエンザA型ウイルスまたはインフルエンザB型ウイルスによって媒介され、好ましくはインフルエンザA型ウイルスが、H1N1、H2N2、H3N2、H6N1、H7N7、H7N9、H9N2 H10N7、H10N8、またはH5N1である、本発明の重感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。1つの態様において、インフルエンザA型ウイルスはH1N1である。他の態様において、インフルエンザA型ウイルスはH3N2、H5N1、およびH7N9である。さらなる態様において、インフルエンザA型ウイルスはH3N2、H5N1、H1N1、およびH7N9である。30

【0014】

さらなる態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、MEK阻害剤が、U0126、PLX-4032、AZD6244、AZD8330、AS-703026、GSK-1120212、RDEA-119、RO-5126766、RO-4987655、CI-1040、PD-0325901、GDC-0973、TAK-733、PD98059、ARRY-438162、PF-3644022、およびPD184352、好ましくはAZD8330、GSK-1120212、U0126、GDC-0973、CI-1040、PD0325901、ARRY-438162、PF-3644022、およびAZD6244、最も好ましくはU0126、GDC-0973、CI-1040、AZD8330、およびGSK-1120212からなる群より選択される、本発明の重感染または細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。40

【0015】

別の態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、p38阻害剤が、SB202190、LY2228820、CAY10571、SB 203580、Tie2キナーゼ阻害剤、2-(4-クロロフェニル)-4-(フルオロフェニル)-5-ピリジン-4-イル-1,2-ジヒドロピラゾール-3-オン、CGH 2466、SB220025、抗生物質LL Z1640-2、TAK 715、SB202190塩酸塩、SKF 86002、AMG54850

、 CMPD-1、 EO 1428、 JX 401、 ML 3403、 RWJ 67657、 SB 202190、 SB 203580、 SB 203580塩酸塩、 SB 239063、 SC10 469、 SX 011、 TAK 715、 パマピモド、 ロスマピモド(GW856553)、 ディルマピモド(SB681323)、 VX 702、 VX 745、 ドラマピモド(BIRB 796)、 BMS-582949、 AR RY-797、 PH797804、 好ましくはVX-702、 SB202190、 パマピモド、 ロスマピモド(GW856553)、 ディルマピモド(SB681323)、 ドラマピモド(BIRB 796)、 BMS-582949、 ARRY-797、 PH797804、 およびSC10-469からなる群より選択される、 本発明の重感染または細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。

【 0 0 1 6 】

別の態様において、 MEK阻害剤、 p38阻害剤、 および/またはNF B阻害剤は、 NF B阻害剤が、 LASAG (LG-ASAとも呼ばれる)、 SC75741、 MG 132、 TPCA-1、 PCTC、 IMD 0354、 ルテオリン、 カフェイン酸フェネチルエステル、 カルダモニン、 PF 184、 IKK 16、 SC 514、 ウイザフェリンA、 アルクチゲニン、 Bay 11-7085、 PSI、 PR 39、 Ro 106-9920、 Bay 11-7821、 ML-130、 セラストロール、 タンシノンIIA、 HU 211、 グリオトキシン、 CID 2858522、 ホノキオール、 アンドログラフオライド、 10Z-ヒメニアルジシン、 ACHP、 ブリスチメリン、 スルファサラジン、 ML 120B二塩酸塩、 アンレキサノクス、 9-メチルストレプトイミドン、 N-ステアロイルフィトスフィンゴシン、 2-(1,8-ナフチリジン-2-イル)-フェノール、 5-アミノサリチル酸、 BAY 11-7085、 3,4-ジヒドロキシ桂皮酸エチル、 ヘレナリン(Helanalin)、 NF-B活性化阻害剤II、 JSH-23、 グルココルチコイド受容体調節因子、 CpdA、 PPM-18、 アスピリン(ASA)、 ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム塩、 (R)-MG132、 SC75741、 口カグラミド、 サリチル酸ナトリウム、 QNZ、 PS-1145、 CAY10512、 ボルテゾミブ、 サルサレート、 レスベラトロール、 デオキシスペルグアリン、 スリンダク、 サリドマイド、 AGRO-100、 CHS 828、 および/またはクルクミン、 好ましくはボルテゾミブ、 クルクミン、 アスピリン(ASA)、 サルサレート、 レスベラトロール、 サリチル酸ナトリウム、 LASAG (LG-ASAとも呼ばれる)、 デオキシスペルグアリン、 スリンダク、 サリドマイド、 AGRO-100、 CHS 828、 さらにより好ましくはSC75741、 ASA、 およびLASAG (LG-ASAとも呼ばれる)、 最も好ましくはLASAG (LG-ASAとも呼ばれる)からなる群より選択される、 本発明の重感染または細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。

【 0 0 1 7 】

別の態様において、 MEK阻害剤、 p38阻害剤、 および/またはNF B阻害剤は、 MEK阻害剤が別のMEK阻害剤、 p38阻害剤、 および/もしくはNF B阻害剤と組み合わされ； p38阻害剤が別のp38阻害剤、 MEK阻害剤、 および/もしくはNF B阻害剤と組み合わされ、 またはNF B阻害剤が別のNF B阻害剤、 p38阻害剤、 および/もしくはMEK阻害剤と組み合わされる、 本発明の重感染または細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。

【 0 0 1 8 】

さらなる態様において、 MEK阻害剤、 p38阻害剤、 および/またはNF B阻害剤は、 MEK阻害剤、 p38阻害剤、 および/またはNF B阻害剤が、 インフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と組み合わされる、 本発明の重感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。 1つの態様において、 MEK阻害剤、 p38阻害剤、 および/またはNF B阻害剤は、 インフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と同時に、 その前にまたはその後に投与される。 したがって、 MEK阻害剤、 p38阻害剤、 および/またはNF B阻害剤は、 インフルエンザウイルスを標的とする1、 2、 3、 4、 5、 6、 7、 または8つの阻害剤と組み合わせることができる。 同様に、 MEK阻害剤、 p38阻害剤、 および/またはNF B阻害剤は、 細菌を標的とする1、 2、 3、 4、 5、 6、 7、 または8つの阻害剤と組み合わせることができる。 1つの態様において、 インフルエンザウイルスを標的とする1つまたは複数の阻害剤は、 ノイラミニダーゼ阻害剤、 好ましくはリン酸オセルタミビル、 ザナミビル、 オセルタミビル、 またはペラミビルである。 別の態様において、 インフルエンザウイルスを標的とする1つまたは複数の阻害剤は、 イオンチャネルタンパク質(M2)を標的とする化合物、 好ましくはアマンタジンおよび/またはリマンタジンである。 さらなる態様において、 インフルエンザウイル

スを標的とする1つまたは複数の阻害剤は、ウイルスポリメラーゼ複合体の成分PB1、PB2、PA、またはNPと干渉することによってポリメラーゼ活性またはエンドヌクレアーゼ活性を標的とする化合物、好ましくはNP遮断薬ヌクレオジンまたはポリメラーゼ阻害剤T-705である。

【0019】

さらなる態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤が、細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と組み合わされる、本発明の細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。

【0020】

別の態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、本発明の重感染または細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものであり、細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤は、抗生物質、好ましくはゲンタマイシン、リファンピシン、リゾスタフィン、エリスロマイシン、レボフロキサシン、バンコマイシン、テイコプラニン、ペニシリン、およびオキサシリソルである。

【0021】

さらなる態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、対象、好ましくは脊椎動物における本発明の重感染または細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。

【0022】

また、本発明により、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を含む、組成物が提供される。好ましくは、組成物は担体をさらに含む。

【0023】

本発明はまた、細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を含む、組成物に関する。好ましくは、組成物は担体をさらに含む。

【0024】

また、本発明により、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤、ならびにインフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤を含む、組成物が提供される。好ましくは、組成物は担体をさらに含む。

【0025】

本発明はまた、細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤、ならびに細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤を含む、組成物に関する。好ましくは、組成物は担体をさらに含む。

【0026】

さらなる態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、本発明の重感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものであり、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を、

- a) インフルエンザウイルスおよび
- b) 細菌

に感染した培養細胞を含むインビトロの試験システムに接触させた場合に、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、接触前のインビトロの試験システムと比較してウイルス感染および細菌感染の両方を低減する。

【0027】

1つの態様において、ウイルス感染の低減はpla-que形成単位(pfu)/mlの低減であり、かつ細菌感染の低減はコロニー形成単位(CFU)/mlの低減である。

10

20

30

40

50

【0028】

別の態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、本発明の細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものであり、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を、細菌に感染した培養細胞を含むインピトロの試験システムに接触させた場合に、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤が、接触前のインピトロの試験システムと比較して細菌感染を低減する。

【0029】

本発明はまた、
a) インフルエンザウイルスおよび
b) 細菌
に感染した培養細胞を含む、インピトロの試験システムに関する。
10

【0030】

本発明はまた、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を低減するのに有効な阻害剤の判定のための本発明のインピトロの試験システムの使用を提供する。1つの態様において、ウイルス感染の低減はpla-que形成単位(pfu)/mlの低減であり、かつ細菌感染の低減はコロニー形成単位(CFU)/mlの低減である。

【0031】

加えて、本発明は、接触前のインピトロの試験システムと比較してウイルス感染および細菌感染の両方を低減する関心対象の化合物を、本発明のインピトロの試験システムに接触させる段階を含む、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するのに有効な分子を検出するための方法に関する。
20

【0032】

本発明はまた、細菌に感染した培養細胞を含む、インピトロの試験システムを提供する。
。

【0033】

本発明は、加えて、細菌感染を低減するのに有効な阻害剤の判定のための本発明のインピトロの試験システムの使用に関する。

【0034】

さらに、本発明は、シグナル伝達のレベル、結果的に起こるサイトカインおよびケモカイン発現、アポトーシスおよびネクローシスの誘導、ならびに/または健康状態および疾患を調節する酸化還元ホメオスタシスの検査を任意で含む、先天性宿主細胞応答の検査のための本発明のインピトロの試験システムの使用に関する。
30

【0035】

また、本発明により、接触前のインピトロの試験システムと比較して細菌感染を低減する関心対象の化合物を、本発明のインピトロの試験システムに接触させる段階を含む、細菌感染の予防および/または治療において有効な分子を検出するための方法も提供される。
。

【0036】

本発明はさらに、インフルエンザウイルスおよび細菌に感染した培養細胞に関する。
40

【0037】

また、細菌に感染した培養細胞も提供される。

[本発明1001]

細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤

[本発明1002]

細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1003]

細菌感染が、スタフィロコッカス科(Staphylococcaceae)、連鎖球菌科(Streptococcace

50

ae)、レジオネラ科(Legionellaceae)、シュードモナス科(Pseudomonadaceae)、クラミジア科(Chlamydiaceae)、マイコプラズマ科(Mycoplasmataceae)、腸内細菌科(Enterobacteriaceae)、シュードモナス目(Pseudomonadales)、および/またはパストレラ科(Pasteurellaceae)からなる群より選択される細菌によって媒介される、本発明1001または1002の使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1004]

インフルエンザウイルス感染がインフルエンザA型ウイルスまたはインフルエンザB型ウイルスによって媒介される、本発明1001または1003のいずれかの使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤および/またはNF B阻害剤。

[本発明1005]

インフルエンザA型ウイルスが、H1N1、H2N2、H3N2、H6N1、H7N7、H7N9、H9N2 H10N7、H10N8、またはH5N1、好ましくはH3N2、H5N1、H1N1、およびH7N9である、本発明1004の使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1006]

MEK阻害剤が、U0126、PLX-4032、AZD6244、AZD8330、AS-703026、GSK-1120212、RDEA-119、R0-5126766、R0-4987655、CI-1040、PD-0325901、GDC-0973、TAK-733、PD98059、ARRY-438162、PF-3644022、およびPD184352、好ましくはAZD8330、GSK-1120212、U0126、GDC-0973、CI-1040、PD0325901、ARRY-438162、PF-3644022、およびAZD6244からなる群より選択される、本発明1001～1005のいずれかの使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1007]

p38阻害剤が、SB202190、LY2228820、CAY10571、SB 203580、Tie2キナーゼ阻害剤、2-(4-クロロフェニル)-4-(フルオロフェニル)-5-ピリジン-4-イル-1,2-ジヒドロピラゾール-3-オン、CGH 2466、SB220025、抗生物質LL Z1640-2、TAK 715、SB202190塩酸塩、SKF 86002、AMG548、CMPD-1、E0 1428、JX 401、ML 3403、RWJ 67657、SB 202190、SB 203580、SB 203580塩酸塩、SB 239063、SC10 469、SX 011、TAK 715、パマピモド、ロスマピモド(GW856553)、ディルマピモド(SB681323)、VX 702、VX 745、ドラマピモド(BIRB 796)、BMS-582949、ARRY-797、PH797804、好ましくはVX-702、SB202190、パマピモド、ロスマピモド(GW856553)、ディルマピモド(SB681323)、ドラマピモド(BIRB 796)、BMS-582949、ARRY-797、PH797804、およびSC10-469からなる群より選択される、本発明1001～1006のいずれかの使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1008]

NF B阻害剤が、LASAG、SC75741、MG 132、TPCA-1、PCTC、IMD 0354、ルテオリン、カフェイン酸フェネチルエステル、カルダモニン、PF 184、IKK 16、SC 514、ウィザフェリンA、アルクチゲニン、Bay 11-7085、PSI、PR 39、Ro 106-9920、Bay 11-7821、ML-130、セラストロール、タンシノンIIA、HU 211、グリオトキシン、CID 2858522、ホノキオール、アンドログラフォライド、10Z-ヒメニアルジシン、ACHP、プリスチメリン、スルファサラジン、ML 120B二塩酸塩、アンレキサノクス、9-メチルストレプトイミドン、N-ステアロイルフィトスフィンゴシン、2-(1,8-ナフチリジン-2-イル)-フェノール、5-アミノサリチル酸、BAY 11-7085、3,4-ジヒドロキシ桂皮酸エチル、ヘレナリン(Helanolin)、NF-B活性化阻害剤II、JSH-23、グルココルチコイド受容体調節因子、CpdA、PPM-18、ASA、ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム塩、(R)-MG132、SC75741、ロカグラミド、サリチル酸ナトリウム、QNZ、PS-1145、CAY10512、ボルテゾミブ、サルサレート、レスベラトロール、デオキシスペルグアリン、スリンダク、サリドマイド、AGRO-100、CHS 828、および/またはクルクミン、好ましくはボルテゾミブ、クルクミン、ASA、サルサレート、レスベラトロール、サリチル酸ナトリウム、LASAG、SC75741、デオキシスペルグアリン、スリンダク、サリドマイド、AGRO-100、および/またはCHS 828からなる群より選択される、本発明1001～1007のいずれかの使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1009]

10

20

30

40

50

MEK阻害剤が別のMEK阻害剤、p38阻害剤、および/もしくはNF B阻害剤と組み合わされ、p38阻害剤が別のp38阻害剤、MEK阻害剤、および/もしくはNF B阻害剤と組み合わされ、またはNF B阻害剤が別のNF B阻害剤、p38阻害剤、および/もしくはMEK阻害剤と組み合わされる、本発明1001～1008のいずれかの使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1010]

インフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と組み合わされる、本発明1001、1003～1009のいずれかの使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1011]

細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と組み合わされる、本発明1001～1010のいずれかの使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

10

[本発明1012]

インフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と同時に、その前にまたはその後に投与される、本発明1010の使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1013]

インフルエンザウイルスを標的とする1つまたは複数の阻害剤が、ノイラミニダーゼ阻害剤、好ましくはリン酸オセルタミビル、ザナミビル、オセルタミビル、またはペラミビルである、本発明1010または1012の使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

20

[本発明1014]

インフルエンザウイルスを標的とする1つまたは複数の阻害剤が、イオンチャネルタンパク質(M2)を標的とする化合物、好ましくはアマンタジン、および/またはリマンタジンである、本発明1010または1012の使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1015]

インフルエンザウイルスを標的とする1つまたは複数の阻害剤が、ウイルスピリメラーゼ複合体の成分PB1、PB2、PA、またはNPと干渉することによってポリメラーゼ活性またはエンドヌクレアーゼ活性を標的とする化合物、好ましくはNP遮断薬ヌクレオジンまたはポリメラーゼ阻害剤T-705である、本発明1010または1012の使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

30

[本発明1016]

細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤が、抗生物質、好ましくはゲンタマイシン、リファンピシン、リゾスタフィン、エリスロマイシン、レボフロキサシン、バンコマイシン、ティコプラニン、ペニシリン、およびオキサシリソルである、本発明1010～1015の使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1017]

対象、好ましくは脊椎動物における本発明1001～1016のいずれかの使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

40

[本発明1018]

MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を、

a) インフルエンザウイルスおよび

b) 細菌

に感染した培養細胞を含むインビトロの試験システムに接触させた場合に、接触前のインビトロの試験システムと比較してウイルス感染および細菌感染の両方を低減する、本発明1001、1003～1017のいずれかの使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1019]

ウイルス感染の低減がplaques形成単位(pfu)/mlの低減であり、かつ細菌感染の低減が

50

コロニー形成単位(CFU)/mlの低減である、本発明1018の使用のためのMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤。

[本発明1020]

細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を含む、組成物。

[本発明1021]

細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を含む、組成物。

[本発明1022]

細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤、ならびにインフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤を含む、組成物。

[本発明1023]

細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤、ならびに細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤を含む、組成物。

[本発明1024]

- a) インフルエンザウイルスおよび
b) 細菌

に感染した培養細胞を含む、インピトロの試験システム。

[本発明1025]

細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を低減するのに有効な阻害剤の判定のための本発明1024のインピトロの試験システムの使用。

[本発明1026]

接触前のインピトロの試験システムと比較してウイルス感染および細菌感染の両方を低減する関心対象の化合物を、本発明1024のインピトロの試験システムに接触させる段階を含む、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するのに有効な分子を検出するための方法。

[本発明1027]

ウイルス感染の低減がplaques形成単位(pfu)/mlの低減であり、かつ細菌感染の低減がコロニー形成単位(CFU)/mlの低減である、本発明1025の使用または本発明1026の方法。

[本発明1028]

細菌に感染した培養細胞を含む、インピトロの試験システム。

[本発明1029]

シグナル伝達のレベル、結果として生じるサイトカインおよびケモカイン発現、アポトーシスおよびネクローシスの誘導、ならびに/または健康状態および疾患を調節する酸化還元ホメオスタシスの検査を任意で含む、先天性宿主細胞応答の検査のための本発明1024のおよび本発明1028のインピトロの試験システムの使用。

[本発明1030]

細菌感染を低減するのに有効な阻害剤の判定のための本発明1029のインピトロの試験システムの使用。

[本発明1031]

接触前のインピトロの試験システムと比較して細菌感染を低減する関心対象の化合物を、本発明1029のインピトロの試験システムに接触させる段階を含む、細菌感染を予防および/または治療するのに有効な分子を検出するための方法。

[本発明1032]

インフルエンザウイルスおよび細菌に感染した培養細胞。

[本発明1033]

10

20

30

40

50

細菌に感染した培養細胞。

【図面の簡単な説明】

【0038】

図面は以下を示す。

【0039】

【図1】重感染手順の時間尺度。細胞に30分間IVを感染させた。黄色ブドウ球菌6850による重感染を行うか、または細胞をモック処理した。細菌感染から3時間後に抗生物質処理によって細胞外細菌を溶解し、除去した。PBS洗浄後、細胞に新鮮培地(DMEM/INV)を補充し、ウイルス感染から最大18時間インキュベートした。

【図2】MEK阻害剤U0126は重感染状況においてさえ、IV力価(A/Puerto Rico/8/34)および黄色ブドウ球菌負荷を低減する。ヒト肺上皮細胞をDMEM [10% FCS] 2 ml中で、6ウェルプレートに播種した(細胞 8×10^5 個/ウェル)。播種から16~20時間後に、細胞をすすぎ、PBS/BA [0.2%ウシ血清アルブミン(BSA)、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン] (500 μl/6ウェル)またはインフルエンザウイルスA/Puerto Rico/8/34を感染多重度(MOI=0.1)で含有するPBS/BAとともに37°でインキュベートした。30分のインキュベーション後に、ウイルス希釈液を吸引し、細胞をPBSですすぎ、50 μM U0126またはDMSO(溶媒対照)の存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=0.5)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES] (2 ml/6ウェル)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を抗生物質で処理して、細胞外細菌を除去した。そこで、細胞をPBSですすぎ、その後、37°で20分間DMEM/INV抗生物質[2 μg/mlのリゾスタフィン(Sigma)] (1 ml/6ウェル)とともにインキュベートした。PBSによるさらなる洗浄後、50 μM U0126またはDMSO、および0.333 μg/mlのトリプシン(Invitrogen)を含有するDMEM/INVを、細胞に補充した。37°でさらに14時間のインキュベーション時間の後、IV力価および細胞内細菌を(Hrincius et al., 2010, Tuchscherer et al., 2011)に記述されているように判定した。IV力価はplaques形成単位(pfu)/mlとして示されており(A, C)、黄色ブドウ球菌力価はコロニー形成単位(CFU)/mlとして示されている(B, D)。データは、2つの生体サンプルを用いた3回の独立した実験の平均±SDを表す。統計的有意性を両側2標本t検定により評価した(* p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)。(E) 50 μM U0126の存在下の黄色ブドウ球菌は、DMSO処理細菌と比較して18時間のインキュベーション後に細菌力価の低減を引き起す。規定量の黄色ブドウ球菌6850懸濁培養物を、50 μM U0126またはDMSOを補充したDMEM/INV中に希釈し、18時間37°でインキュベートした。細菌を希釈し、寒天プレート上での連続希釈により判定した。データは、2つの生体サンプルを用いた3回の独立した実験の平均±SDを表す。統計的有意性を両側2標本t検定により評価した(* p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)。

【図3】MEK阻害剤U0126は重感染状況においても、IV力価(A/FPV/Bratislava/79)および黄色ブドウ球菌負荷を低減する。ヒト肺上皮細胞をDMEM [10% FCS] 2 ml中で、6ウェルプレート(細胞 8×10^5 個/ウェル)に播種した。播種から16~20時間後に、細胞をすすぎ、PBS/BA [0.2%ウシ血清アルブミン(BSA)、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン] (500 μl/6ウェル)またはインフルエンザウイルスA/FPV/Bratislava/79を感染多重度(MOI=0.001)で含有するPBS/BAとともに37°でインキュベートした。30分のインキュベーション後に、ウイルス希釈液を吸引し、細胞をPBSですすぎ、50 μM U0126またはDMSO(溶媒対照)の存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=0.5)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES] (2 ml/6ウェル)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を抗生物質で処理して、細胞外細菌を除去した。そこで、細胞をPBSですすぎ、その後、37°で20分間DMEM/INV抗生物質[2 μg/mlのリゾスタフィン(Sigma)] (1 ml/6ウェル)とともにインキュベートした。PBSによるさらなる洗浄後、50 μM U0126またはDMSOを含有するDMEM/INVを、細胞に補充した。37°でさらに14時間のインキュベーション時間の後、IV力価および細胞内細菌を(Hrincius et al., 2010; Tuchscherer et al., 2011)に記述されているように判定した。IV力価はplaques形成単位(pfu)/mlとして示されており(A, C)、黄色ブドウ球菌力価はコロニー形成単位(CFU)/mlとして示されており(B, D)。

)/mlとして示されている(B、D)。データは、2つの生体サンプルを用いた2回の独立した実験の平均±SDを表す。統計的有意性を両側2標本t検定により評価した(* p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)。

【図4】p38阻害剤SB202190は重感染状況においても、IV力価および黄色ブドウ球菌負荷を低減する。ヒト肺上皮細胞をDMEM [10% FCS] 2 ml中で、6ウェルプレート(細胞 8×10^5 個/ウェル)に播種した。播種から16~20時間後に、細胞をすぎ、PBS/BA [0.2%ウシ血清アルブミン(BSA)、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン] (500 μl/6ウェル)またはインフルエンザウイルスA/Puerto Rico/8/34を感染多重度(MOI=0.1)で含有するPBS/BAとともに37℃でインキュベートした。30分のインキュベーション後に、ウイルス希釈液を吸引し、細胞をPBSですすぎ、10 μM SB202190またはDMSO(溶媒対照)の存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=0.5)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES] (2 ml/6ウェル)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を抗生物質で処理して、細胞外細菌を除去した。そこで、細胞をPBSですすぎ、その後、37℃で20分間DMEM/INV抗生物質[2 μg/mlのリゾスタフィン(Sigma)] (1 ml/6ウェル)とともにインキュベートした。PBSによるさらなる洗浄後、10 μM SB202190またはDMSO、および0.333 μg/mlのトリプシン(Invitrogen)を含有するDMEM/INVを、細胞に補充した。37℃でさらに14時間のインキュベーション時間の後、IV力価および細胞内細菌を(Hrincius et al., 2010; Tuchscherer et al., 2011)に記述されているように判定した。IV力価はplaques形成単位(pfu)/mlとして示されており(A、C)、黄色ブドウ球菌力価はコロニー形成単位(CFU)/mlとして示されている(B、D)。データは、2つの生体サンプルを用いた3回の独立した実験の平均±SDを表す。統計的有意性を両側2標本t検定により評価した(* p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)。

【図5】NF-カッパB (NF-B)阻害剤LG-ASAは重感染状況においても、IV力価および黄色ブドウ球菌負荷を低減する。ヒト肺上皮細胞をDMEM [10% FCS] 2 ml中で、6ウェルプレート(細胞 8×10^5 個/ウェル)に播種した。播種から16~20時間後に、細胞をすぎ、PBS/BA [0.2%ウシ血清アルブミン(BSA)、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン] (500 μl/6ウェル)またはインフルエンザウイルスA/Puerto Rico/8/34を感染多重度(MOI=0.1)で含有するPBS/BAとともに37℃でインキュベートした。30分のインキュベーション後に、ウイルス希釈液を吸引し、細胞をPBSですすぎ、5 mM LG-ASAの存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=0.5)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES] (2 ml/6ウェル)を補充した。水を溶媒対照として用いた。細菌感染から3時間後に、細胞を抗生物質で処理して、細胞外細菌を除去した。そこで、細胞をPBSですすぎ、その後、37℃で20分間DMEM/INV抗生物質[10% FBS、2 μg/mlのリゾスタフィン(Sigma)] (1 ml/6ウェル)とともにインキュベートした。PBSによるさらなる洗浄後、5 mM LG-ASAまたは水、および0.333 μg/mlのトリプシン(Invitrogen)を含有するDMEM/INVを、細胞に補充した。37℃でさらに14時間のインキュベーション時間の後、IV力価および細胞内細菌を(Hrincius et al., 2010; Tuchscherer et al., 2011)に記述されているように判定した。IV力価はplaques形成単位(pfu)/mlとして示されており(A、C)、黄色ブドウ球菌力価はコロニー形成単位(CFU)/mlとして示されている(B、D)。データは、2つの生体サンプルを用いた2回の独立した実験(ウイルス力価)および3回の独立した実験(細菌力価)の平均±SDを表す。統計的有意性を両側2標本t検定により評価した(* p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)。

【図6】ウイルスノイラミニダーゼ阻害剤タミフルは、IV複製を低減するが、しかし黄色ブドウ球菌負荷を増強する。ヒト肺上皮細胞をDMEM [10% FCS] 2 ml中で、6ウェルプレート(細胞 8×10^5 個/ウェル)に播種した。播種から16~20時間後に、細胞をすぎ、PBS/BA [0.2%ウシ血清アルブミン(BSA)、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン] (500 μl/6ウェル)またはインフルエンザウイルスA/FPV/Bratislava/79を感染多重度(MOI=0.001)で含有するPBS/BAとともに37℃でインキュベートした。30分のインキュベーション後に、ウイルス希釈液を吸引し、細胞をPBSですすぎ、2 μM タミフルまたはHepes(溶媒対照)の存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=0.5)を含むまたは

10

20

30

40

50

含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES] (2 ml/6ウェル)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を抗生物質で処理して、細胞外細菌を除去した。そこで、細胞をPBSですすぎ、その後、37 °Cで20分間DMEM/INV抗生物質[2 μg/mlのリゾスタフィン(Sigma)] (1 ml/6ウェル)とともにインキュベートした。PBSによるさらなる洗浄後、2 μMタミフルまたはHepesを含有するDMEM/INVを、細胞に補充した。37 °Cでさらに14時間のインキュベーション時間の後、IV力価および細胞内細菌を(Hrincius et al., 2010; Tuchscherer et al., 2011)に記述されているように判定した。

【図7】細胞内黄色ブドウ球菌6850の力価は、LG-ASA処理によって低減される。ヒト肺上皮細胞(A549)に表示した量のLG-ASAの存在下(A、C)および非存在下(B、D)で3時間0.5 MOIの黄色ブドウ球菌6850 DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES]を感染させた。感染から3時間後、DMEM/INV抗生物質[2 μg/mlのリゾスタフィン(Sigma)]を用いた抗生物質洗浄を含めて、内部移行していない細菌を除去し、その後、表示した量のLG-ASAを含有するDMEM/INVを細胞に補充した。細胞形態を光学顕微鏡検査によってモニターし(A、B)、内部移行した細菌の量を感染から18時間後の寒天プレート上での連続希釈によって判定した(C、D)。

【図8】表2: p38阻害剤。

【図9】表3: NF-B阻害剤。

【図10】表4: NF-B阻害剤。

【図11】表5: 抗生物質。

【図12】インビトロでの重感染手順の時間尺度。ヒト肺上皮細胞(A549)に37 °Cで、PBS/BA [0.2%ウシ血清アルブミン、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン]に溶解された、インフルエンザA型ウイルス(IAV)を30分間、表示した感染多重度(MOI)にて感染させた。30分のインキュベーション後に、ウイルス希釈液を吸引し、細胞をPBSですすぎだ。その後、黄色ブドウ球菌6850 (*S. aureus*)による細菌感染を行うか、または細胞をモック処理した。そこで、細胞に、表示した量の阻害剤(U0126もしくはCI-1040)または溶媒対照に加えて黄色ブドウ球菌を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES]を補充した。細菌感染から3時間後に、抗生物質洗浄[DMEM、10%FBS、2 μg/mlリゾスタフィンまたは100 μg/mlゲンタマイシン、20分]を導入して、内部移行していない細菌を除去した。さらなるPBS洗浄の後、細胞に阻害剤の存在下または非存在下で、感染用培地DMEM (0.2% BA、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン)を補充し、ウイルス感染後最大18時間、37 °Cでインキュベートした。

【図13】MEK/ERKシグナル伝達の阻害により、単独感染および重感染後の細胞生存の増強が引き起こされる。ヒト肺上皮細胞(A549)に37 °Cで鳥類インフルエンザウイルス菌株A/FPV/Bratislava/79 (H7N7) (FPV)またはヒトイソラウイルス菌株A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)を感染多重度(MOI=0.01) (H7N7)または(MOI=0.5) (H3N2)にて感染させた。30分後、ウイルス希釈液を除去し、細胞をPBSですすぎ、50 μM U0126または溶媒対照の存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=0.1)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV (1%ヒト血清アルブミン、25 nM HEPESを含有)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を20分間、10% FBS、2 μg/mlリゾスタフィンを含有するDMEM/FBSで処理して、内部移行していない細菌を除去した。PBSによるさらなる洗浄の後、細胞に、50 μM U0126または溶媒を含有する感染用培地DMEM/BA (0.2% BA、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン)を補充した。37 °Cにおける18時間のインキュベーション時間の後、細胞形態を光学顕微鏡検査によってモニターした。

【図14】MEK/ERKシグナル伝達の阻害により、単独ウイルス感染および重感染中のウイルス力価の低減が引き起こされる。ヒト肺上皮細胞(A549)に37 °Cで鳥類インフルエンザウイルス菌株A/FPV/Bratislava/79 (H7N7) (A、C)またはヒトイソラウイルス菌株A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) (B、D)を感染多重度(MOI=0.01) (A、C)、(MOI=0.5) (B、D)にて感染させた。30分後、ウイルス希釈液を除去し、細胞をPBSですすぎ、50 μM U0126または溶媒対照の存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=0.1)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES]を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を20分間、10% FBS、2 μg/mlリゾスタフィンを含有するDMEM/FBSで処理して、内部移行していない細菌を除去した。PBSによるさらなる洗浄の後、細胞に、50 μM U0126または溶媒を含有する感染用培地DMEM/BA (0.2% BA、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン)を補充した。37 °Cにおける18時間のインキュベーション時間の後、細胞形態を光学顕微鏡検査によってモニターした。

地DMEM/INV (1%ヒト血清アルブミン、25 nM HEPESを含有)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を20分間、10% FBS、2 μg/mlリゾスタフィンを含有するDMEM/FBSで処理して、細胞外細菌を除去した。PBSによるさらなる洗浄の後、細胞に、50 μM U0126または溶媒を含有する感染用培地DMEM/BA (0.2% BA、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン)を補充した。37 における18時間のインキュベーション時間の後、標準的なplaque assay法によりウイルス力価を判定した。ウイルス力価はplaques形成単位/ml (PFU/ml)として均等目盛り(A, B)または対数目盛り(C, D)で示されている。データは、2つの生体サンプルを用いた4回の独立した実験の平均 ± SDを表す。統計的有意性を両側1標本t検定により評価した(* p < 0.05; ** p < 0.01)。

【図15】U0126の投与によるMEK阻害は、細菌増殖の低減をもたらす。ヒト肺上皮細胞(A 549)に37 で鳥類インフルエンザウイルス菌株A/FPV/Bratislava/79 (H7N7)またはヒトイソフルエンザウイルス菌株A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) (A, C)を感染多度(MOI=0.01) (H7N7)または(MOI=0.5) (H3N2)にて感染させた。30分後、ウイルス希釈液を除去し、細胞をPBSですすぎ、50 μM U0126または溶媒対照の存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=0.1) 有りまたは無し(A)の浸潤用培地DMEM/INV (1%ヒト血清アルブミン、25 nM HEPESを含有)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を20分間(A, C)、10% FBS、2 μg/mlリゾスタフィンを含有するDMEM/FBSで処理して、内部移行していない細菌を除去した。PBSによるさらなる洗浄の後、細胞に、50 μM U0126または溶媒を含有する感染用培地DMEM/BA (0.2% BA、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン)を補充した。感染から18時間後、内部移行した細菌の量を寒天プレート上での細胞溶解物の連続希釈によって判定した(A, C)。細菌増殖に及ぼすU0126の影響を、黄色ブドウ球菌6850 (100 CFU/ml)の終夜培養物に対してU0126を表示される通り投与することによって分析した。16時間後、連続希釈液をBHI寒天上にプレーティングした(B, D)。細菌力価はコロニー形成単位/ml (CFU/ml)として均等目盛り(A, B)または対数目盛り(C, D)で示されている。データは、2つの生体サンプルを用いた4回(A, C)または3回(B, D)の独立した実験の平均 ± SDを表す。統計的有意性を両側2標本t検定により評価した(** * p < 0.001)。

【図16】MEK/ERKシグナル伝達の阻害は、ウイルスタンパク質および炎症促進性ケモカインの低減につながる。ヒト肺上皮細胞(A549)に37 でヒトイソフルエンザウイルス菌株A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)を感染多度(MOI=5)にて感染させた。30分後、ウイルス希釈液を除去し、細胞をPBSですすぎ、50 μM U0126または溶媒対照の存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=50)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV (1%ヒト血清アルブミン、25 nM HEPESを含有)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を30分間、10% FBS、100 μg/mlゲンタマイシンを含有するDMEM/FBSで処理して、細胞外細菌を除去した。PBSによるさらなる洗浄の後、細胞に、50 μM U0126または溶媒を含有する感染用培地DMEM/BA (0.2% BA、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン)を補充した。37 における8時間のインキュベーション時間の後、CCL3およびCCL5のmRNAレベルを、特異的プライマーを用いたqRT-PCRにより分析した(A, B)。ウイルスタンパク質発現(PB-1)およびERK-1/2リン酸化のレベル、ならびに細菌細胞壁成分(PGN)をウエスタンプロット分析(C)によって判定した。データは、1つの実験内での3つの生体サンプルおよび2つの技術的複製の予備結果を表す。

【図17】U0126の投与はウイルス力価と無関係にインビオでの細菌力価の低減につながる。12週齢のBalb/Cマウスに0日目(イソフルレンで麻酔された(anesthetized))に50 PFU のインフルエンザウイルス菌株A/Puerto Rico/8/34 (PR8、H1N1)を感染させた。1日目から始めて、マウスを30 mg/kg/日のU0126または溶媒対照(10% DMSO、30% Cremophor EL、60% PBS)のi.p.注射で毎日処置した。3日目に、マウスにイソフルレンによる麻酔下で5 * 10⁷ CFUの黄色ブドウ球菌6850を感染させ、U0126または溶媒対照で直接処置した。4日目に、肺を切除し、PBS中(PBS 1000 μlあたり0.1 g)でホモジナイズした。細菌力価の計算のため、ホモジネートの連続希釈液をBHI寒天上にプレーティングした。ウイルス力価の判定のため、標準的なplaques assay法を行った。統計分析をマンホイットニーU検定により行った(* p < 0.05)。

【図18】特異的MEK阻害剤CI-1040は、単独感染および重感染においてウイルス力価を低減する。ヒト肺上皮細胞(A549)に、37℃で鳥類インフルエンザウイルス菌株A/FPV/Bratislava/79 (H7N7) (A, C)またはヒトイソフルエンザウイルス菌株A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) (B, D)を感染多重度(MOI=0.01)にて感染させた。30分後、ウイルス希釈液を除去し、細胞をPBSですすぎ、10 μM CI-1040または溶媒対照の存在下、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=0.1)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV (1%ヒト血清アルブミン、25 nM HEPESを含有)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を20分間、10% FBS、2 μg/mlリゾスタフィンを含有するDMEM/FBSで処理して、細胞外細菌を除去した。PBSによるさらなる洗浄の後、細胞に、10 μM CI-1040または溶媒を含有する感染用培地DMEM/BA (0.2% BA、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン)を補充した。
37℃で18時間のインキュベーション時間の後、標準的なブラークアッセイ法によりウイルス力価を判定した。ウイルス力価はブラーク形成単位/ml (PFU/ml)として均等目盛り(A、B)または対数目盛り(C、D)で示されている。データは、2つの生体サンプルを用いた2回の独立した実験の平均を表す。

【図19】CI-1040の投与はインビトロで細菌増殖に阻害効果を及ぼす。細菌増殖に及ぼすCI-1040の影響を、黄色ブドウ球菌6850 (100 CFU/ml)の終夜培養物に対する異なる濃度(表示の通り)のCI-1040を投与することによって分析した。16時間後、連続希釈液をBHI寒天上にブレーディングした(A、B)。細菌力価はコロニー形成単位/ml (CFU/ml)として均等目盛り(A)または対数目盛り(B)で示されている。データは、2つの生体サンプルを用いた予備データを表す。

【図20】特異的MEK阻害剤コビメチニブ(GDC-0973)による処置は、インビオで病原体負荷を低減する。8週齢のBalb/Cマウス(1群あたり5匹)に0日目(イソフルレンで麻酔された)に50 PFUのインフルエンザウイルス菌株A/Puerto Rico/8/34 (PR8, H1N1)を感染させた。ウイルス感染から6時間後に、マウスを10 mg/kg/日のコビメチニブまたは溶媒対照(10% DMSO、5% Tween 20、85% PBS)の経口投与で処置した。その後、処置を毎日行った。3日目に、マウスにイソフルレンによる麻酔下で 5×10^7 CFUの黄色ブドウ球菌6850を感染させ、これを6時間後にコビメチニブまたは溶媒対照で処置した。4日目に、肺を切除し、PBS中(PBS 1000 μlあたり0.1 g)でホモジナイズした。細菌力価の計算のため、ホモジネートの連続希釈液をBHI寒天上にブレーディングした。ウイルス力価の判定のため、標準的なブラークアッセイ法を行った。統計分析をマンホイットニーU検定により行った。

【図21】LG-ASAはインフルエンザA型ウイルス(IAV)および/または黄色ブドウ球菌(S. aureus)の感染時の細胞形態を改善する。ヒト肺上皮細胞(A549)に37℃で、PBS/BA [0.2%ウシ血清アルブミン、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン]に溶解された、感染多重度(MOI=0.1)のインフルエンザウイルス菌株A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)を感染させた。30分のインキュベーション後、ウイルス希釈液を吸引し、細胞をPBSですすぎ、5 mM LG-ASAまたは溶媒対照の存在下、黄色ブドウ球菌SH1000 (MOI=0.1)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES]を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を抗生物質[DMEM、10% FBS、2 μg/mlリゾスタフィン、20分]で処理して、細胞外細菌を除去した。PBSによるさらなる洗浄の後、細胞に、5 mM LG-ASAまたは溶媒を含有するDMEM/INVを補充した。37℃における18時間のインキュベーション時間の後、細胞形態を光学顕微鏡検査によってモニターした。

【図22】NF-B阻害剤LG-ASAは、インフルエンザウイルス力価および黄色ブドウ球菌負荷を低減する。ヒト肺上皮細胞(A549)に37℃で、PBS/BA [0.2%ウシ血清アルブミン、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン]に溶解された、感染多重度(MOI=0.1)のインフルエンザウイルス菌株A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)を感染させた(A~H)。30分のインキュベーション後、ウイルス希釈液を吸引し、細胞をPBSですすぎ、5 mM LG-ASAまたは溶媒対照の存在下、黄色ブドウ球菌SH1000 (MOI=50) (A, B)、(MOI=0.01) (C-D)、黄色ブドウ球菌6850 (MOI=50) (E, F)、(MOI=0.1) (G, H)を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES]を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を抗生物質[DMEM、10% FBS、2 μg/mlリゾスタフィン、2

10

20

30

40

50

0分]で処理して、細胞外細菌を除去した。PBSによるさらなる洗浄の後、細胞に、5 mM LG-ASAまたは溶媒を含有するDMEM/INVを補充した。37℃で8時間(A、B、E、F)または18時間(C、D、G、H)のインキュベーション時間の後、標準的なブラークアッセイ法によりIAV力価(A、C、E、G)を判定した。細胞を低浸透圧ショックにより溶解させ、内部移行した細菌の量(B、D、F、H)を寒天プレート上での連続希釈によって判定した。データは、2つの生体サンプルを用いた3回の平均±SD(A~H)を表す。統計的有意性を両側1標本t検定により評価した(*p < 0.05; **p < 0.01)。

【図23】NF-B阻害剤LG-ASAはインフルエンザウイルス力価および黄色ブドウ球菌負荷を低減する。この図は、図22にあるように得られたデータを違った方法で提示する。具体的には、各実験の未処置対照を任意に100%として設定し、その後、平均を算出した。統計的有意性を両側1標本t検定により評価した(*p < 0.05; **p < 0.01)。
10

【図24】NF-Bシグナル伝達の阻害は細菌内部移行の低減をもたらす。ヒト肺上皮細胞(A549)を、4時間5 mM (A~D)および10 mM (C、D)のLG-ASAとともにプレインキュベートし、その後、これにDMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES]に溶解した表示された量のLG-ASAの存在下および非存在下で30~120分間黄色ブドウ球菌6850 (MOI=50) (A、B)および120分間USA 300 (MOI=5) (C、D)を感染させた。感染から30~120分後に、抗生物質洗浄液[DMEM、10%FBS、2 μg/mlリゾスタフィン、20分]を含めて、内部移行していない細菌を除去した。細胞を3回PBSで洗浄し、低浸透圧ショックにより溶解させた。内部移行した細菌の量を寒天プレート上での連続希釈によって判定した(A~D)。データ(A、C)は、2つの生体サンプルを用いた3回の独立した実験の平均±SDを表す。図24B、Dにおいて、各実験の未処置対照を任意に100%として設定し、その後、平均を算出した。統計的有意性を両側1標本t検定により評価した(*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001)。
20

【図25】NF-Bシグナル伝達の刺激は細菌内部移行の増強をもたらす。ヒト肺上皮細胞(A549)を、4時間5 mM LG-ASAおよび2.5 ng/ml TNF-アルファとともにプレインキュベートし、その後、DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES]に溶解した表示された量のLG-ASAおよびTNF-アルファの存在下および非存在下で120分間、(A) 黄色ブドウ球菌6850または(B) 黄色ブドウ球菌USA300 (MOI=5)を感染させた(A)。感染から120分後に、抗生物質洗浄[DMEM、10%FBS、2 μg/mlリゾスタフィン、20分]を含めて、内部移行していない細菌を除去した。細胞を3回PBSで洗浄し、低浸透圧ショックにより溶解した。内部移行した細菌の量を感染から120分後に寒天プレート上での連続希釈によって判定した(A)。(A) データは、2つの生体サンプルを用いた4回の独立した実験の平均±SDを表す。統計的有意性を一元配置ANOVA、引き続いて多重比較検定により評価した(*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001)。(B) データは、3つの生体サンプルを用いた3回の独立した実験の平均±SDを表し、それによって各実験の未処置対照を任意に100%として設定し、その後、平均を算出した。
30

【図26】IAV/黄色ブドウ球菌に重感染したマウスをLG-ASAで処置することで、生存の増強および体重減少の低減が引き起こされる。(A) BALB/cマウス(1群あたりマウス4匹)に0日目に50 PFUのインフルエンザウイルスA/Puerto Rico/8/34を感染させた。インフルエンザウイルス感染後6日目に、マウスに10⁸ CFUの黄色ブドウ球菌6850をさらに感染させた。インフルエンザウイルス感染後7日目に、重感染マウスを吸入によりLG-ASA (1 M、10分)で1日1回処置した。生存を14日間モニターした。(4/4) (黒線)未処置の重感染マウスは重感染から1日後に死んだが、(2/4) LG-ASAで処置した重感染マウスは生存した(灰色線)。(B) 2回の独立した実験が示されている。9週齢のBalb/cマウス(1群あたりマウス4匹)に0日目(イソフルレンで麻酔された)午前中に50 PFUのインフルエンザウイルスA/Puerto Rico/8/34を感染させた。ウイルス感染から6時間後に、マウスを秤量し、エアロゾルH₂Oまたは1 M LG-ASAにより吸入チャンバ内で10分間処置した。この処置を0日目に加えて1、2および3日目にも行った。3日目午前中にマウスにイソフルレンによる麻酔下で5 * 10⁷ CFUの黄色ブドウ球菌6850を感染させた。4日目に、マウスを最後に秤量した。統計分析をマンホイットニーU検定により行った(*p < 0.05)。
40

【発明を実施するための形態】
50

【 0 0 4 0 】

発明の詳細な説明 / 優先的な態様の詳細な説明

下記は、本発明を理解する際に有用でありうる情報を含む。本明細書において提供される情報のいずれも、本明細書で主張する発明に対する先行技術であること、もしくはそれらに関連することを自認するものではなく、または具体的もしくは非明示的に参照されるいずれの刊行物も先行技術であると自認するものではない。

【 0 0 4 1 】

上記の通り、本発明は、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤に関する。 10

【 0 0 4 2 】

加えて、本発明は、細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤に関する。

【 0 0 4 3 】

本明細書において用いられる場合、「MEK阻害剤」は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ(MAPK)キナーゼ阻害剤とも表されうる。MAPK経路において、MAPKキナーゼキナーゼ(MAPKKK)はMAPKキナーゼ(MAPKK)を活性化し、これが今度はMAPKを活性化し、これがシグナルを、例えば、転写因子もしくは他のキナーゼまたはエフェクタ/シグナル伝達タンパク質に伝達することが知られている；例えば、Fremin and Meloche (Fremin and Meloche (2010), J. Hematol. Oncol. 11;3:8)の図1を参照されたい。本発明のMEK阻害剤は、好ましくは、本明細書において記述されるように哺乳類または鳥類等の対象のMEK1/2を阻害する。しかしながら、本発明のMEK阻害剤はMEK、好ましくはMEK1/2だけでなく、その上流のキナーゼ(すなわちMAPKKK)も阻害し、それによって二重阻害を及ぼす可能性がある。理論に拘束されるわけではないが、PLX-4032はそのような二重阻害剤でありうる。ゆえに、本発明のMEK阻害剤は、好ましい局面において、二重阻害剤によるものであり、それによってMEK、好ましくはMEK1/2および対応する上流のMAPKKKを阻害しうる。MEK1/2はRas/Raf経路においてMAPKKであり、それによってRas/RafはMAPKKKとして作用し、ERK1/2はMAPKとして作用する。 20

【 0 0 4 4 】

MEK阻害剤は、小分子、大分子、ペプチド、オリゴヌクレオチドなどでありうる。MEK阻害剤は、タンパク質もしくはその断片または核酸分子であってもよい。また、MEK阻害剤という用語には、MEK阻害剤の薬学的に許容される塩も含まれる。 30

【 0 0 4 5 】

化合物がMEK阻害剤であるかどうかの判定は、当業者の技術の範囲内である。1つの態様において、MEK阻害剤は、表1に挙げられた化合物/阻害剤からなる群より選択される。

【 0 0 4 6 】

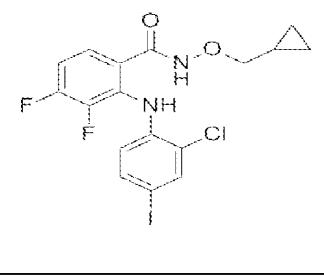
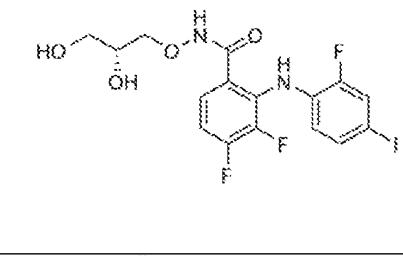
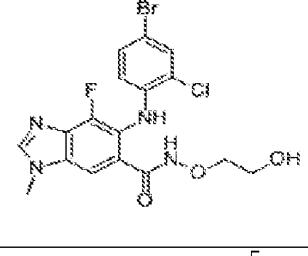
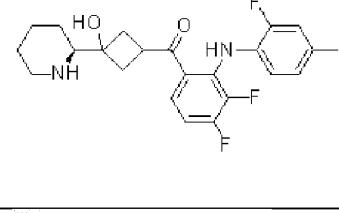
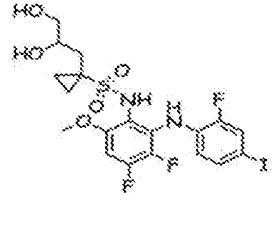
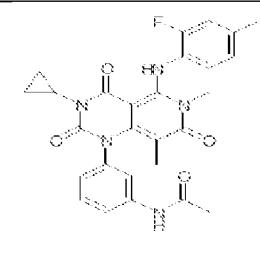
本発明のMEK阻害剤は、U0126、PLX-4032、AZD6244、AZD8330、AS-703026、GSK-1120212、RDEA-119、RO-5126766、RO-4987655、CI-1040、PD-0325901、GDC-0973、TAK-733、PD98059、PD184352 ARRY-438162、およびPF-3644022、好ましくはAZD8330、GSK-1120212、U0126、GDC-0973、CI-1040、PD0325901、ARRY-438162、PF-3644022、およびAZD6244ならびに最も好ましくはU0126、CI-1040、GDC-0973 (コビメチニブ)、AZD8330、GSK-1120212、最も好ましくはU0126、GDC-0973、CI-1040、AZD8330、およびGSK-1120212から好ましくは選択される。 40

【 0 0 4 7 】

これらの阻害剤のいくつかは、下記表1にさらに記載されている。

【 0 0 4 8 】

(表1) MEK阻害剤

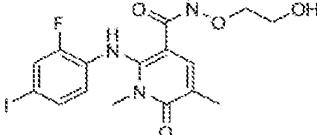
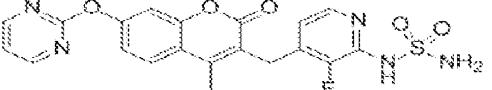
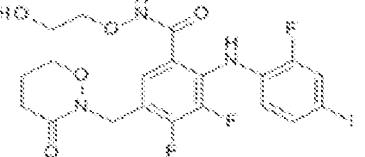
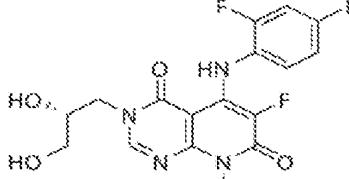
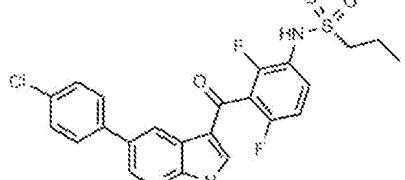
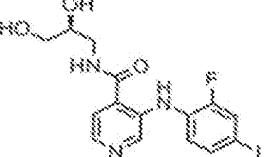
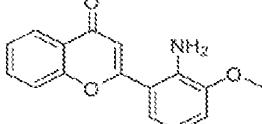
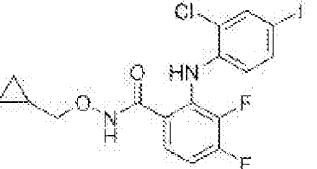
	構造式 I CI-1040 2-(2-クロロ-4-ヨードフェニルアミノ)-N-(シクロプロピルメトキシ)-3,4-ジフルオロベンズアミド
	構造式 II PD0325901 (R)-N-(2,3-ジヒドロキシプロポキシ)-3,4-ジフルオロ-2-(2-フルオロ-4-ヨードフェニルアミノ)ベンズアミド
	構造式 III AZD6244 6-(4-ブロモ-2-クロロフェニルアミノ)-7-フルオロ-N-(2-ヒドロキシエトキシ)-3-メチル-3H-ベンゾ[d]イミダゾール-5-カルボキサミド
	構造式 IV GDC-0973 [3,4-ジフルオロ-2-[2-(フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ]フェニル] [3-ヒドロキシ-3-[(2S)-2-ピペリジニル]-1-アゼチジニル]メタノン
	構造式 V RDEA-119 (S)-N-(3,4-ジフルオロ-2-(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ)-6-メトキシフェニル)-1-(2,3-ジヒドロキシプロピル)シクロプロパン-1-スルホンアミド
	構造式 VI GSK-1120212 N-(3-(3-シクロプロピル-5-(2-フルオロ-4-ヨードフェニル)アミノ)-6,8-ジメチル-2,4,7-トリオキソ-3,4,6,7-テトラヒドロピリド[4,3-d]ピリミジン-1(2H)-イル)フェニル)アセトアミド

10

20

30

40

	構造式 VII AZD8330 2-(2-フルオロ-4-ヨードフェニルアミノ)-N-(2-ヒドロキシエトキシ)-1,5-ジメチル-6-オキソ-1,6-ジヒドロピリジン-3-カルボキサミド
	構造式 VIII RO5126766 C20H16FN5O5S
	構造式 IX RO4987655 C20H19F3IN3O5
	構造式 X TAK-733 (R)-3-(2,3-ジヒドロキシプロピル)-6-フルオロ-5-(2-フルオロ-4-ヨードフェニルアミノ)-8-メチルピリド[2,3-d]ピリミジン-4,7(3H,8H)-ジオン
 ゼルボラフ(ペムラフェニブ)	構造式 XI PLX-4032 N-[3-[[5-(4-クロロフェニル)-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル]カルボニル]-2,4-ジフルオロフェニル]-1-プロパンスルホンアミド
	構造式 XII AS703026 (S)-N-(2,3-ジヒドロキシプロピル)-3-(2-フルオロ-4-ヨードフェニルアミノ)イソニコチンアミド
	構造式 XIII PD98059 2-(2-アミノ-3-メトキシフェニル)-4H-クロメン-4-オン
	構造式 XIV PD184352 2-(2-クロロ-4-ヨードフェニルアミノ)-N-(シクロプロピルメトキシ)-3,4-ジフルオロベンズアミド

また、PLX-4032、AZD6244、AZD8330、GDC-0973、RDEA119、GSK1120212、R051267766、R04987655、TAK-733、およびAS703026からの選択が好ましい。さらにより好ましくは、それらはAZD6244、AZD8330、GSK1120212、およびPLX-4032からまたはPD-0325901、AZD-6244、AZD-8330、およびRDEA-119から選択される。これらのMEK阻害剤は、当技術分野において公知であり、例えば、Fremin and Meloche (2010), J. Hematol. Oncol. 11;3:8の表1に記載されている。

【0050】

これらの阻害剤のいくつかに関するさらなる情報はArthur and Ley (2013) Mitogen-activated protein kinases in innate immunity; Nature Reviews Immunology 13,679-692 (2013)から得ることもできる。

10

【0051】

実際、添付の実施例において実証されるように、本明細書において開示されるMEK阻害剤U0126およびCI-1040は、重感染シナリオにおいておよび単独の細菌感染に対して効果を示す。

【0052】

また、p38阻害剤が、本発明の重感染または細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のために提供される。「p38 MAPキナーゼ阻害剤」は当技術分野において周知である。「p38阻害剤」、「p38キナーゼ阻害剤」および「p38 MAPキナーゼ阻害剤」という用語は、本明細書において互換的に用いられる。本発明の文脈において、p38 MAPキナーゼ阻害剤はp38 MAPキナーゼを阻害する。好ましくは、p38 MAPキナーゼ阻害剤はp38 MAPキナーゼのアイソフォームの1つ、好ましくは - アイソフォームが好ましいp38 MAPキナーゼの4つのアイソフォーム(、 、 、または)の1つを阻害し、より好ましくは、p38 MAPキナーゼ阻害剤はp38 MAPキナーゼの2つのアイソフォームの任意の組み合わせを阻害し、さらにより好ましくは、p38 MAPキナーゼ阻害剤はp38 MAPキナーゼの3つのアイソフォームの任意の組み合わせを阻害し、最も好ましくは、p38 MAPキナーゼ阻害剤はp38 MAPキナーゼの全てのアイソフォームまたは 、 、 、および アイソフォームを阻害する。いくつかの態様において、p38 MAPキナーゼ阻害剤は、炎症性疾患、自己免疫疾患、破壊性骨障害、増殖性障害、感染性疾患、ウイルス性疾患、または神経変性疾患に関するp38のアイソフォームを阻害する。p38 MAPキナーゼの - アイソフォームは炎症、増殖、分化、およびアポトーシスに関与しているが、p38 、 p38 、およびp38 の生物学的機能はまだ完全には理解されていないことが報告されている。したがって、p38 MAPキナーゼ阻害剤は - アイソフォームを阻害することが本明細書において好ましい。

20

【0053】

p38 MAPキナーゼ阻害剤は、小分子、大分子、ペプチド、オリゴヌクレオチドなどであり得る。p38 MAPキナーゼ阻害剤は、タンパク質もしくはその断片または核酸分子であってもよい。また、p38阻害剤という用語には、p38阻害剤の薬学的に許容される塩も含まれる。

30

【0054】

化合物がp38キナーゼ阻害剤であるかどうかの判定は、当業者の技術の範囲内である。

40

【0055】

当技術分野においてp38阻害剤の多くの例がある。米国特許第5,965,583号、同第6,040,320号、同第6,147,096号、同第6,214,830号、同第6,469,174号、同第6,521,655号には、p38阻害剤である化合物が開示されている。また、米国特許第6,410,540号、同第6,476,031号および同第6,448,257号には、p38阻害剤である化合物が開示されている。同様に、米国特許第6,410,540号、同第6,479,507号および同第6,509,361号には、p38阻害剤であると主張されている化合物が開示されている。米国特許出願公開第20020198214号および同第20020132843号には、p38阻害剤であるといわれている化合物が開示されている。別のp38 MAPキナーゼ阻害剤は、BIRB 796 BS (1-(5-tert-ブチル-2-p-トリル-2H-ピラゾール-3-イル)-3-[4-(2-モルホリン-4-イル-エトキシ)-ナフタレン-1-イル]-尿素)である；さらなるp38 MAPキナーゼ阻害剤についてはBranger (2002), J. Immunol. 168:4070-4077または米国

50

特許第6,319,921号を参照されたい。

【0056】

他のp38 MAPキナーゼ阻害剤は、AMG 548 (Amgen)、BIRB 796 (Boehringer Ingelheim)、VX 702 (Vertex/Kissei)、SC10 469、SC10 323 (Scios Inc.)、SB 681323 (GlaxoSmith Kline)、PH-797804 (Pfizer)、およびOrg-48762-0 (Organon NV)である；例えば、Lee and Dominguez in Curr Med Chem. 2005;12(25):2979-2994およびDominguez in Curr Opin Drug Discov Devel. 2005 Jul;8(4):421-430を参照されたい。

【0057】

本発明によれば、阻害剤はp38 MAPキナーゼの上流もしくは下流に、またはp38 MAPキナーゼに対して直接的に、その調節効果を示しうるが、後者の作用様式が好ましい。阻害剤により調節されるp38 MAPキナーゼ活性の例としては、阻害剤がp38 MAPキナーゼの転写および/もしくは翻訳を低減し、p38 MAPキナーゼの翻訳後修飾および/もしくは細胞輸送を低減しもしくは阻害し、またはp38 MAPキナーゼの半減期を短縮しうるものが挙げられる。阻害剤はまた、p38 MAPキナーゼに可逆的もしくは不可逆的に結合し、p38 MAPキナーゼの活性化を阻害し、その酵素活性を不活性化し、またはその他の方法で下流の基質とのその相互作用を妨害しうる。

【0058】

p38 MAPキナーゼの4つのアイソフォームは、高レベルの配列相同性を共有する。p38 MAPキナーゼの および アイソフォームは密接に関連しているが、 および アイソフォームはより多様である。高度の構造類似性を考慮すると、1つのp38 MAPキナーゼアイソフォームを阻害する能力を有する特定の化合物がMAPキナーゼの他のアイソフォームを多くの場合、阻害しうることは驚くべきことではない。したがって、いくつかの態様において、キナーゼの - アイソフォームに特異的なp38 MAPキナーゼの阻害剤は、アイソフォーム特異的な阻害を可能とするために理論化された構造的特徴の少なくとも3つの部類を有する。

【0059】

候補p38 MAPキナーゼ阻害剤の選択的結合は、種々の方法によって判定することができる。p38 MAPキナーゼのさまざまなアイソフォームの遺伝子は、当技術分野において公知である。当業者は、キナーゼのさまざまなアイソフォームを容易にクローニングして発現させ、それらを精製し、次いでアイソフォーム結合特性を判定するために候補化合物との結合研究を行うことができる。この一連の実験は、p38 MAPキナーゼの - アイソフォームについて行われており、米国特許第6,617,324 B1号に提供されている。

【0060】

別のキナーゼ選択性アッセイ法は、Mihara (2008), Br. J. Pharmacol. 154(1):153-164に記述されている。本明細書のいくつかの態様において、p38 MAPキナーゼ阻害剤はp38 MAPキナーゼの4つのアイソフォームの1つを阻害し、より好ましくは、p38 MAPキナーゼ阻害剤はp38 MAPキナーゼの2つのアイソフォームの任意の組み合わせを阻害し、さらにより好ましくは、p38 MAPキナーゼ阻害剤はp38 MAPキナーゼの3つのアイソフォームの任意の組み合わせ、例えば、p38- (MAPK14)、- (MAPK11)、- (MAPK12またはERK6)を阻害する。あるいは、でも好ましくは、p38 MAPキナーゼ阻害剤はp38 MAPキナーゼの4つのアイソフォームの全てを阻害する。

【0061】

1つの態様において、p38阻害剤は、表2に挙げられた阻害剤からなる群より選択される(図8)。別の態様において、p38阻害剤は、SB202190、LY2228820、CAY10571、SB 203580、Tie2キナーゼ阻害剤、2-(4-クロロフェニル)-4-(フルオロフェニル)-5-ピリジン-4-イル-1,2-ジヒドロピラゾール-3-オン、CGH 2466、SB220025、抗生物質LL Z1640-2、TAK 715、SB 202190塩酸塩、SKF 86002、AMG548、CMPD-1、EO 1428、JX 401、ML 3403、RWJ 67657、SB 202190、SB 203580、SB 203580塩酸塩、SB 239063、SC10 469、SX 011、TAK 715、パマピモド、ロスマピモド(GW856553)、ディルマピモド(SB681323)、VX 702、VX 745、ドラマピモド(BIRB 796)、BMS-582949、ARRY-797、PH797804、SC10-469、好ましくはVX-702、SB

10

20

30

40

50

202190、パマピモド、ロスマピモド(GW856553)、ディルマピモド(SB681323)、ドラマピモド(BIRB 796)、BMS-582949、ARRY-797、PH797804、およびSC10-469からなる群より選択される。

【 0 0 6 2 】

これらの阻害剤のいくつかに関するさらなる情報はArthur and Ley (2013) Mitogen-activated protein kinases in innate immunity; Nature Reviews Immunology 13,679-692 (2013)から得ることもできる。

【 0 0 6 3 】

MEK阻害剤およびp38阻害剤に加えて、本発明はまた、本発明の重感染または細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのNF B (NF B/NFカッパB)阻害剤を対象とする。化合物がNF B阻害剤であるかどうかの判定は、当業者の技術の範囲内である。10

【 0 0 6 4 】

NF- B(活性化B細胞の核因子 軽鎖エンハンサー)は、DNAの転写を制御するタンパク質複合体である。NF- Bは、ほぼ全ての動物細胞型において見出され、ストレス、サイトカイン、遊離基、紫外線照射、酸化LDL、および細菌またはウイルス抗原のような刺激に対する細胞応答に関与する。脊椎動物NF B転写複合体は、サブユニットp50 (NF B1)、p52 (NF B2)、c-Rel、RelA (p65)およびRelBによって形成される種々のホモおよびヘテロ二量体のいずれかであり得る(Gilmore TD. (2006) Oncogene 25: 6680-6684)。これらの複合体は、一般に特異的標的遺伝子発現を活性化するために、 B部位と呼ばれるDNA調節部位に結合する。ほとんどの細胞型において、NF- B二量体は、いくつかのI B阻害タンパク質(I B 、 、 、 、 p105、およびp100)のいずれかとの会合を通じて不活性形態で細胞質内に位置している。幅広い刺激に応答して、I Bは急速にリン酸化され、ユビキチン化され、プロテアソームによって分解される。次いで、遊離したNF- B二量体は核に移動し、そこで特定の遺伝子発現を調節することができる。20

【 0 0 6 5 】

I Bのリン酸化および分解は、2つのキナーゼサブユニットIKK およびIKK 、ならびにNEMO (別名IKK)と呼ばれる関連する足場様調節タンパク質を含むI Bキナーゼ(IKK)複合体によって媒介されるNF B複合体の調節に重要である(Gilmore and Herscovich (2006) Inhibitors of NF- B signaling: 785 and counting Oncogene. 25, 6887-6899)。注目すべきことに、例えば本発明の実施例3に示されるように、NF- Bシグナル伝達はまた、細菌(黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)等)の細胞への内部移行にとって重要である。30

【 0 0 6 6 】

本発明によれば、阻害剤はNF Bの上流もしくは下流に、またはNF Bに対して直接的に、その調節効果を示しうるが、後者の作用様式が好ましい。NF B活性を調節する阻害剤の例としては、阻害剤がNF Bの転写および/もしくは翻訳を減らし、またはNF Bの半減期を短縮しうるものが挙げられる。阻害剤はまた、NF Bに可逆的もしくは不可逆的に結合し、その活性化を阻害し、その活性を不活性化し、またはその他の方法で、遺伝子上の標的のような下流の標的とNF Bとの相互作用を妨害しうる。また、例えばIKK阻害によりIkBaリン酸化を阻害する分子のようなNF B阻害剤はタンパク質キナーゼを阻害することができます。そのような活性を有する化合物は、参照化合物として役立ちうるSC-893、BMS-345541である。また、NF B阻害剤は、タンパク質ホスファターゼを阻害し、またはプロテアソームもしくはユビキチン化を阻害しうる。参照化合物としても役立ちうる、そのようなNF B阻害剤の例としては、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、ボロネート、ボルテゾミブ、NPI-0052が挙げられる。あるいは、NF B阻害剤は、NF Bの核移行、またはDNAへのその結合を遮断しうる。そのような阻害剤の例としては、SN50、デヒドロキシメチルエポキシノマイシンおよびNF BデコイODNが挙げられ、これらは参照化合物としても役立ちうる。NF Bの阻害剤に関するさらなる情報は、Guptaら(2010) (Gupta et al. (2010) Inhibiting NF B activation by small molecules as a therapeutic strategy. Biochim Biophys Acta. 1799(10-12): 775-787)から得ることができる。4050

【0067】

NF B阻害剤は、小分子、大分子、ペプチド、オリゴヌクレオチドなどであり得る。NF B阻害剤は、タンパク質もしくはその断片または核酸分子であってもよい。また、NF B阻害剤という用語には、NF B阻害剤の薬学的に許容される塩も含まれる。1つの態様において、NF B阻害剤は、図9および10における表3および4に挙げられている阻害剤/分子からなる群より選択される。別の態様において、NF B阻害剤は、図9における表3に挙げられている阻害剤/分子からなる群より選択される。別の態様において、NF B阻害剤は、図10における表4に挙げられている阻害剤/分子からなる群より選択される。

【0068】

別の態様において、NF B阻害剤は、LASAG、SC75741（および誘導体）、MG 132、TPCA-1、PCTC、IMD 0354、ルテオリン、カフェイン酸フェネチルエステル、カルダモニン、PF 184、IKK 16、SC 514、ウィザフェリンA、アルクチゲニン、Bay 11-7085、PSI、PR 39、Ro 106-9920、Bay 11-7821、ML-130、セラストロール、タンシノンIIA、HU 211、グリオトキシン、CID 2858522、ホノキオール、アンドログラフオライド、10Z-ヒメニアルジシン、ACHP、プリスチメリン、スルファサラジン、ML 120B二塩酸塩、アンレキサノクス、9-メチルストレプトイミドン、N-ステアロイルフィトスフィンゴシン、2-(1,8-ナフチリジン-2-イル)-フェノール、5-アミノサリチル酸、BAY 11-7085、3,4-ジヒドロキシ桂皮酸エチル、ヘレナリン(Helanalin)、NF-B活性化阻害剤II、JSH-23、グルココルチコイド受容体調節因子、CpdA、PPM-18、アスピリン(ASA)、ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム塩、(R)-MG132、SC75741（および誘導体）、ロカグラミド、サリチル酸ナトリウム、QNZ、PS-1145、CAY10512、ボルテゾミブ、サルサレート、レスベラトロール、LASAG、デオキシスペルグアリン、スリンダク、サリドマイド、AGRO-100、CHS 828、および/またはクルクミン、好ましくはボルテゾミブ、クルクミン、サルサレート、レスベラトロール、サリチル酸ナトリウム、LASAG、ASA、デオキシスペルグアリン、スリンダク、サリドマイド、AGRO-100、CHS 828、さらにより好ましくはSC75741（および誘導体）ASAおよびLASAG、最も好ましくはLASAGからなる群より選択される。

【0069】

SC75741に加えて「SC75741」または「SC75741（および誘導体）」という用語により、SC75741の誘導体も本発明により想定される。

【0070】

一般に、当業者は、化合物がMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤であるかどうかを明らかにする方法を知っている。化合物がMEK阻害剤および/またはp38阻害剤であるかどうかを判定できうる方法のさらなる例は、MEKおよび/またはp38 NF Bタンパク質を単離することであろう。タンパク質は、MEKおよび/もしくはp38タンパク質が天然に発現される細胞から、またはMEKおよび/もしくはp38タンパク質の発現を指令するウイルスによる感染もしくはオリゴヌクレオチドのトランスフェクションによって過剰発現された細胞から単離することができる。あるいは、MEKおよび/またはp38タンパク質はまた、組み換えにより発現されてもよい。タンパク質を単離すれば、当業者は、潜在的なMEKおよび/またはp38阻害剤の存在下または非存在下でキナーゼの活性を測定することができる。キナーゼ活性が、阻害剤とされるものの存在下で、その非存在下でよりも低いなら、その阻害剤は、それぞれMEKおよび/またはp38阻害剤である。

【0071】

MEKおよび/またはp38に直接作用するなら、阻害剤は約5 μMまたはそれ以下、好ましくは500 nmまたはそれ以下、より好ましくは100 nmまたはそれ以下のIC50値を示すはずである。関連する態様において、阻害剤はp38- アイソフォームに対して、同一の阻害剤が同一のまたは同等のアッセイ法において他のp38 MAPキナーゼアイソフォームに対して試験される場合に観察されるものよりも、好ましくは少なくとも10倍低いIC50値を示すはずである。IC50値はアッセイに左右され、判定ごとに変化しうることに留意すべきである。厳密な値そのものではなく、化合物のIC50値の相対的な関係を調べることがいっそう重要である。

10

20

20

30

40

50

【 0 0 7 2 】

IC50は、阻害剤の非存在下で測定された活性の50%まで酵素を阻害する化合物の濃度である。

【 0 0 7 3 】

IC50値は、対照と比較して50%の減少を引き起こす阻害剤の濃度を用いて計算される。IC50値はアッセイに左右され、判定ごとに異なるであろう。したがって、IC50値は相対値である。特定の阻害剤に割り当てられた値は、絶対的な基準ではなく一般的に比較されるべきである。

【 0 0 7 4 】

潜在的な活性化因子、阻害剤、または調節因子で処理されたMAPおよび/またはMAPKキナーゼを含むサンプルまたはアッセイ物を、阻害剤、活性化因子、または調節因子なしの対照サンプルと比較して、阻害の程度を調べる。対照サンプル(阻害剤で未処理)には、100%のMAPおよび/またはMAPKキナーゼ相対活性値を割り当てることができる。MAPおよび/またはMAPKキナーゼの阻害は、対照に対するMAPおよび/またはMAPKキナーゼ活性値が約80%、任意で50%または25~0%である場合に達成される。MAPおよび/またはMAPKキナーゼの活性化は、対照に対するMAPキナーゼ活性値が110%、任意で150%、任意で200~500%、または1000~3000%高い場合に達成される。本発明の例示的なMAPキナーゼ結合活性アッセイ法は、MAPおよび/またはMAPKキナーゼリガンドプロットアッセイ法(Aymerich et al., Invest Ophthalmol Vis Sci. 42:3287-93, 2001); MAPおよび/またはMAPKキナーゼ親和性カラムクロマトグラフィーアッセイ法(Alberdi et al., J Biol Chem. 274:31605-12, 1999)、ならびにMAPおよび/またはMAPKキナーゼリガンド結合アッセイ法(Alberdi et al., J Biol Chem. 274:31605-12, 1999)である。それぞれ参照によりその全体が組み入れられる。

10

20

30

【 0 0 7 5 】

また、阻害剤の選択性は、Mihara (2008), Br. J. Pharmacol. 154(1):153-164に記述されているキナーゼ選択性アッセイ法によって測定されうる。

【 0 0 7 6 】

NF-B阻害剤の場合、例えば、未処理対照細胞におけるNF-Bの標的遺伝子の遺伝子産物(タンパク質)を測定し、これらの標的遺伝子産物の発現を、NF-B阻害剤で処理された細胞と比較することができる。いくつかの標的遺伝子は、Oeckinghaus and Ghosh (2009) The NF-B Family of Transcription Factors and Its Regulation. Cold Spring Harb Perspect Biol. Oct 2009; 1(4): a000034に記述されている。

30

【 0 0 7 7 】

細胞を阻害剤で処理した場合、発現レベルは低減する。他の戦略は、p-p65蓄積およびNF-Bの核移行とともにIkBa分解をウエスタンプロットにより検出することであってもよい。また、阻害剤で処理された細胞と比較して、阻害剤で処理されていない細胞のDNAとのNF-Bの相互作用は、電気泳動移動度シフトアッセイ法(EMSA)を用いることによって分析されうる。

【 0 0 7 8 】

分子の阻害特性はまた、その作用を参照化合物と比較することによって分析することができる。本明細書において言及される「参照化合物」は、分子がMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤特性を有するかどうかを判定するための陽性対照として用いられうる化合物を意味する。したがってまた、本明細書において列挙される阻害剤のいずれも、そのような参照化合物として用いられうる。可能性のある試験は、例えば、MEK、p38、および/またはNF-B経路を活性化するように刺激されている細胞を、参照化合物により、および並行して例えば異なるウェルにおいて関心対象の化合物により、処理するものでありうる。

40

【 0 0 7 9 】

本発明の阻害剤は治療および/または予防のための方法において用いることができる。したがって、「治療する」または「治療」という用語は、症状を寛解または改善させる目的で、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染に罹患している対象にME

50

K阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤を、好ましくは医薬の形態で、投与することを含む。症状を寛解または改善させる目的で、細菌感染に罹患している対象にMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤を、好ましくは医薬の形態で、投与することが同様に含まれる。

【0080】

さらに、本明細書において用いられる「予防」という用語は、疾患を予防することを目的とする任意の医療手順または公衆衛生手順をいう。本明細書において用いられる場合、「予防する」、「予防」および「予防すること」という用語は、所与の状態、すなわちインフルエンザウイルス感染および細菌感染を含む重感染または細菌感染のみを獲得または発症する危険性の低減をいう。また「予防」とは、対象におけるインフルエンザウイルス感染および細菌感染を含む重感染または細菌感染のみの再発の低減または阻害も意味する。
10

【0081】

本発明の阻害剤は、重感染の治療に有効である。本明細書において用いられる「重感染」は、インフルエンザウイルス感染および細菌感染を含む。そのような重感染は、細菌およびインフルエンザウイルスが、宿主、例えば対象および/または単一細胞に同時感染することによって起こりうる。それはまた、宿主、例えば対象および/または細胞が1つまたは複数のウイルス粒子および1つまたは複数の細菌に同時に感染していることでもありうる。しかしながら、そのような重感染は連続的に起こりうることもある。そのような場合には、最初に1つまたは複数のウイルス粒子に感染し、時間的にその後で、同じ宿主および/または細胞が1つまたは複数の細菌に感染するか、またはその逆になる。2つの感染の間の期間は、長くとも14日、13日、12日、11日、10日、9日、8日、7日、6日、5日、4日、3日、2日、1日、12時間、6時間、3時間、1.5時間または最短でも30分の期間でありうる。
20

【0082】

そのような状況はまた、特に、第1の感染に対して用いられた処置に耐性である外因性または内因性由来の異なる微生物因子による第2の感染が、前の感染に重なって起こる重複感染でありうる。

【0083】

重感染のなかで、インフルエンザウイルス感染はインフルエンザA型ウイルスまたはインフルエンザB型ウイルスによって媒介され得、好ましくはインフルエンザA型ウイルスは、H1N1、H2N2、H3N2、H6N1、H7N7、H7N9、H9N2 H10N7、H10N8、またはH5N1である。1つの態様において、インフルエンザA型ウイルスはH1N1である。他の態様において、インフルエンザA型ウイルスはH3N2、H5N1、およびH7N9である。さらなる態様において、インフルエンザA型ウイルスはH3N2、H5N1、H1N1、およびH7N9である。
30

【0084】

本発明はまた、上記の重感染の状況で起こりうるか、または宿主、例えば対象および/もしくは細胞に存在する唯一の感染として起こりうる「細菌感染」に関する。細菌感染は、任意の細菌によって媒介され得、好ましくはスタフィロコッカス科、連鎖球菌科、レジオネラ科、シュードモナス科、クラミジア科、マイコプラズマ科、腸内細菌科、シュードモナス目および/またはパストレラ科からなる群より選択される細菌によって媒介される。
40

【0085】

他の態様において、細菌感染は、ブドウ球菌(*Staphylococcus*)、好ましくは黄色ブドウ球菌、メチシリン感受性およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌、パントン-バレンタインロイコシジン(PVL)発現性の黄色ブドウ球菌および/または連鎖球菌科、好ましくはストレプトコッカス・ミティス(*Streptococcus mitis*)、化膿連鎖球菌(*Streptococcus pyogenes*)もしくは肺炎連鎖球菌、レジオネラ菌(*Legionella*)、好ましくはレジオネラ・ニューモフィラ(*Legionella pneumophila*)、シュードモナス菌(*Pseudomonas*)、好ましくは緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、クラミドフィラ(*Chlamydophila*)、好ましくは肺炎クラミジア(*Chlamydophila pneumoniae*)、マイコプラズマ(*Mycoplasma*)、好ましくはマイコプラズマ
50

肺炎(*Mycoplasma pneumonia*)、クレブシエラ菌(*Klebsiella*)、好ましくは肺炎桿菌(*Klebsiella pneumonia*)、モラクセラ(*Moraxella*)、好ましくはカタラリス菌(*Moraxella catarrhalis*)および/またはヘモフィルス(*Haemophilus*)、好ましくはインフルエンザ菌からなる群より選択される細菌によって媒介される。好ましくは、細菌は、黄色ブドウ球菌、肺炎連鎖球菌またはインフルエンザ菌からなる群より選択される。最も好ましくは、細菌は黄色ブドウ球菌である。

【0086】

本発明により、阻害剤は互いに組み合わされ得ることも想定される。したがって、1つの態様において、MEK阻害剤は、別のMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤と組み合わされる。さらなる態様において、p38阻害剤は別のp38阻害剤、MEK阻害剤、および/またはNF B阻害剤と組み合わされる。別の態様において、NF B阻害剤は別のNF B阻害剤、p38阻害剤、および/またはMEK阻害剤と組み合わされる。上記に関して、「別の阻害剤」という用語は、例えば、1つのMEK阻害剤を別のMEK阻害剤と組み合わせることもできるが、これらの2つのMEK阻害剤は同じものではないことを明確にするために用いられる。例えば、MEK阻害剤CI-1040をMEK阻害剤GDC-0973と組み合わせることができる。このことは、p38およびNF B阻害剤に等しく関連する。

【0087】

1つの態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、インフルエンザウイルスおよび細菌を標的とする1つまたは複数のさらなる阻害剤と同時に、その前にまたはその後に投与される。

【0088】

さらなる態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤が、インフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と組み合わされる、本発明の重感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものである。1つの態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、インフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と同時に、その前にまたはその後に投与される。

【0089】

一般に、インフルエンザウイルスを標的とする阻害剤は、インフルエンザ治療に有効な任意の阻害剤または医薬である。様々な物質が、インフルエンザ感染を低減するのに有効であることが知られている。それらの中には、例えば、ノイラミニダーゼ阻害剤、イオンチャネルタンパク質(M2)を標的とする化合物、およびウイルスポリメラーゼ複合体の成分PB1、PB2、PAまたはNPと干渉することによってポリメラーゼ活性またはエンドヌクレアーゼ活性を標的とする化合物がある。本発明により、これらの阻害剤の薬学的に許容される塩も想定される。

【0090】

「ノイラミニダーゼ阻害剤」は、インフルエンザウイルスを標的とする抗ウイルス薬であり、これは、ウイルスノイラミニダーゼタンパク質の機能を遮断し、それによりウイルスが、感染しようと狙っている細胞に結合するのを防ぐことにより、および/または新たに生成されたウイルスが複製した細胞から出芽できないために、宿主細胞からの出芽によってウイルスが増殖するのを防ぐことにより機能する。また、ノイラミニダーゼ阻害剤の薬学的に許容される塩も含まれる。好ましいノイラミニダーゼ阻害剤は、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、またはこれらの物質のいずれかの薬学的に許容される塩、例えばリン酸オセルタミビル、カルボン酸オセルタミビルなどである。最も好ましいノイラミニダーゼ阻害剤は、リン酸オセルタミビル、ザナミビル、オセルタミビル、またはペラミビルである。

【0091】

イオンチャネルタンパク質(M2)を標的とする化合物は、例えば、アマンタジンおよび/またはリマンタジンであるが、ウイルスポリメラーゼ複合体の成分PB1、PB2、PA、または

10

20

30

40

50

NPと干渉することによってポリメラーゼ活性またはエンドヌクレアーゼ活性を標的とする化合物は、例えば、NP遮断薬ヌクレオジンまたはポリメラーゼ阻害剤T-705である。

【0092】

あるいはまたはさらに、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤と組み合わせることができる。細菌を標的とする阻害剤は、細菌感染を低減するのに有効な任意の阻害剤であり得る。当業者に周知の好ましい阻害剤は、抗生物質である。好ましい抗生物質は、表5(図11)から得ることができる。したがって、1つの態様において、抗生物質は、表5(図11)に挙げられている抗生物質からなる群より選択される。さらなる態様において、抗生物質は、表5(図11)に挙げられている抗生物質のクラスからなる群より選択される。別の態様において、抗生物質は、表5(図11)に挙げられている抗生物質の一般名からなる群より選択される。より好ましいのは、ゲンタマイシン、リファンピシン、リゾスタフィン、エリスロマイシン、レボフロキサシン、パンコマイシン、ティコプラニン、ペニシリン、およびオキサシリンから選択される抗生物質である。10

【0093】

本発明の阻害剤または阻害剤の組み合わせによって治療されうる「対象」は、好ましくは、脊椎動物である。本発明の文脈において、「対象」という用語は、重感染または細菌感染のみの治療を必要とする個体を意味する。好ましくは、対象は、重感染もしくは細菌感染のみに罹患している患者またはその危険性のある患者である。好ましくは、患者は脊椎動物、より好ましくは哺乳動物である。哺乳動物には、家畜、スポーツ動物、ペット、靈長類、マウス、およびラットが含まれるが、これらに限定されることはない。好ましくは、哺乳動物は、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ブタ、マウス、ラットなどであり、特に好ましくは、ヒトである。いくつかの態様において、対象はヒト対象であり、これは任意で1歳超かつ14歳未満；50歳から65歳の間、または年齢65歳超であってもよい。他の態様において、対象はヒト対象であり、これは、少なくとも50歳である対象、長期療養施設に居住する対象、肺または心血管系の慢性障害を有する対象、慢性代謝性疾患、腎機能障害、異常ヘモグロビン症または免疫抑制のために、前年中に定期的な医学的経過観察または入院を必要とした対象、年齢14歳未満の対象、長期アスピリン療法を受けている年齢6ヶ月～18歳の対象、およびインフルエンザ流行期の間に妊娠第2期または第3期にあろう女性からなる群より選択される。20

【0094】

本発明の方法において、MEK阻害剤、p38阻害剤、またはNF B阻害剤ならびにインフルエンザウイルスを標的とする阻害剤および細菌を標的とする阻害剤は、経口的に、静脈内に、胸腔内に、筋肉内に、局所に、または吸入によって投与されうる。好ましくは、MEK阻害剤は、経鼻吸入によってまたは経口的に投与される。30

【0095】

本発明はまた、様々な組成物を想定する。本発明は、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤および/またはNF B阻害剤を含む組成物に関する。本発明は同様に、細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を含む組成物に関する。また、本発明により細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤、ならびにインフルエンザウイルスおよび/または細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤を含む組成物も提供される。加えて、本発明は、細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のための、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤、ならびに細菌を標的とする1つまたは複数の阻害剤を含む組成物に関する。40

【0096】

MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤、ならびに細菌を標的とする1つもしくは複数の阻害剤および/またはインフルエンザウイルスを標的とする1つもしくは複数50

の阻害剤を最終的にさらに含む組成物は、薬学的組成物でありうる。好ましくは、そのような組成物は、担体、好ましくは薬学的に許容される担体をさらに含む。組成物は、経口投与可能な懸濁液もしくは錠剤；鼻腔用スプレイ、滅菌注射用調製物(静脈内、胸膜内、筋肉内)、例えば滅菌注射用水性もしくは油性懸濁液または坐剤の形態であり得る。懸濁液として経口投与される場合、これらの組成物は、薬学的処方の分野において利用可能な技法により調製され、增量剤としての微結晶性セルロース、懸濁化剤としてのアルギン酸またはアルギン酸ナトリウム、増粘剤としてのメチルセルロース、および当技術分野において公知の甘味料/着香剤を含有しうる。これらの組成物は、即放性錠剤として、微結晶性セルロース、第二リン酸カルシウム、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、およびラクトース、ならびに/または当技術分野において公知の他の賦形剤、結合剤、增量剤、崩壊剤、希釈剤、および滑沢剤を含有しうる。注射可能な溶液または懸濁液は、マンニトール、1,3-ブタンジオール、水、リングル液もしくは等張塩化ナトリウム溶液などの、適当な無毒性の非経口的に許容される希釈剤もしくは溶媒、または合成モノグリセリドもしくはジグリセリドを含む滅菌無刺激の固定油、およびオレイン酸を含む脂肪酸などの、適当な分散剤もしくは湿潤剤および懸濁化剤を用いて、既知の技術により処方されうる。

【0097】

阻害剤は、好ましくは、治療的有効量で投与される。本発明の使用に向けた、かつMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤、ならびに任意でインフルエンザウイルスを標的とする1つもしくは複数の阻害剤および/または細菌を標的とする1つもしくは複数の阻害剤を含む薬学的組成物は、哺乳類または鳥類である患者に投与される。適当な哺乳類の例としては、マウス、ラット、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、イヌ、ネコ、ウマ、モルモット、イヌ科動物、ハムスター、ミンク、アザラシ、クジラ、ラクダ、チンパンジー、アカゲザル、およびヒトが挙げられるが、これらに限定されることはなく、ヒトが好ましい。適当な鳥類の例としては、例を挙げれば、七面鳥、ニワトリ、ガチョウ、カモ、コガモ、マガモ、ムクドリ、オナガガモ、カモメ、ハクチョウ、ホロホロチョウまたは水鳥が挙げられるが、これらに限定されることはない。ヒト患者は、本発明の特定の態様である。

【0098】

当業者には明らかであるように、各活性化合物/阻害剤の「治療的有効量」は、使用される化合物の活性、患者の体内での活性化合物の安定性、軽減させたい状態の重篤度、処置される患者の総体重、投与経路、身体による活性化合物の吸収、分配および排出の容易性、処置される患者の年齢および感受性、有害事象などを含むが、これらに限定されない、要因によって変化しうる。投与量は、さまざまな要因が経時変化するのに合わせて調整することができる。

【0099】

本明細書において記述される阻害剤、方法、および使用は、ヒトの治療および獣医用途の両方に適用可能である。所望の治療活性を有する、本明細書において記述される化合物、特にMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤、ならびに任意でインフルエンザウイルスを標的とする1つもしくは複数の阻害剤および/または細菌を標的とする1つもしくは複数の阻害剤は、本明細書において記述されるように、対象に生理学的に許容される担体中で投与されうる。導入の様式に依って、化合物は、以下に議論されるように種々の方法で処方されうる。処方物中の治療的に活性な化合物の濃度は、約0.1~100重量%まで変化しうる。薬剤は、単独でまたは他の処置との組み合わせで投与されうる。

【0100】

本発明の方法における薬学的化合物は、任意の適当な単位投与剤形で投与することができる。適当な経口処方物は、錠剤、カプセル剤、懸濁液、シロップ剤、チューインガム、オブラート、エリキシル剤などの形態であり得る。結合剤、賦形剤、滑沢剤、および甘味剤または着香剤のような薬学的に許容される担体を、経口薬学的組成物に含めることができる。望ましいなら、特別な剤形の味、色、および形状を改変するために従来の薬剤を含めることもできる。

10

20

30

40

50

【0101】

注射用処方物の場合、薬学的組成物は、適當なバイアルまたはチューブ中で適當な賦形剤と混合される凍結乾燥された粉末であり得る。診療所で使用する前に、凍結乾燥された粉末を適當な溶媒系に溶解することにより薬物を再構成して、静脈内または筋肉内注射に適した組成物を形成させてもよい。

【0102】

本発明の別の態様によれば、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤の治療的有効量、ならびにオセルタミビル、リン酸オセルタミビル、ザナミビル、およびペラミビルの群より選択されるノイラミニダーゼ阻害剤の治療的有効量を含む、薬学的組成物が提供される。

10

【0103】

1つの態様において、組成物は、上記のように、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤の治療的有効量(例えば、0.1 mgから2000 mg、0.1 mgから1000 mg、0.1から500 mg、0.1から200 mg、30から300 mg、0.1から75 mg、0.1から30 mg)、ならびにノイラミニダーゼ阻害剤の治療的有効量(例えば、0.1 mgから2000 mg、0.1 mgから1000 mg、0.1から500 mg、0.1から200 mg、30から300 mg、0.1から75 mg、0.1から30 mg)を有する経口投与可能な剤形(例えば、錠剤またはカプセル剤またはシロップ剤など)であり得る。

【0104】

さらなる態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、本発明の重感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものであり、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を、

20

- a) インフルエンザウイルスおよび
- b) 細菌

に感染した培養細胞を含むインビトロの試験システムに接触させた場合に、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、接触前のインビトロの試験システムと比較してウイルス感染および細菌感染の両方を低減する。別の態様において、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、本発明の細菌感染を予防および/または治療するための方法における使用のためのものであり、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤を、細菌に感染した培養細胞を含むインビトロの試験システムに接触させた場合に、MEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF B阻害剤は、接触前のインビトロの試験システムと比較して細菌感染を低減する。

30

【0105】

したがって、本発明はまた、

- a) インフルエンザウイルスおよび
- b) 細菌

に感染した培養細胞を含む、インビトロの試験システムに関する。

【0106】

この考え方沿って、本発明はまた、細菌に感染した培養細胞を含む、インビトロの試験システムを提供する。

【0107】

40

インビトロの試験システムがウイルス感染および細菌感染を含む場合には、先と同様、これらの感染は連続的にまたは同時に行われ得る。

【0108】

「培養細胞」は、その自然環境に、例えば植物または動物内に存在しない、細胞である。むしろ、培養細胞は、その自然環境から単離された細胞を含む初代細胞培養物、または細胞株でありうる。好ましくは、培養細胞はヒト肺上皮細胞である。好ましくは、培養細胞は、DMEMのような培地0.5 ml、1 ml、1.5 ml、2 ml、2.5 ml、3 ml、3.5 ml、4 ml中に約 1×10^5 、 2×10^5 、 3×10^5 、 4×10^5 、 5×10^5 、 6×10^5 、 7×10^5 、 8×10^5 、 9×10^5 、 10×10^5 、 11×10^5 、最も好ましくは 8×10^5 個の細胞の密度で播種される。最も好ましいのは、DMEM 2 ml中に 8×10^5 個の細胞の密度である。

50

【0109】

そのような培養細胞は、ウイルスおよび細菌に感染し、または他の態様において細菌のみに感染する。既に上述したように、重感染は、連続的または同時的な形で起こりうる。例えば、培養細胞は、最初にインフルエンザウイルスに感染し、30分後に細菌に感染しうる。3時間後に抗生物質を培養液に追加して細胞外細菌を除去することも可能である。そのようなシナリオでは、その後、抗生物質(antibioticum)は再び洗い流されよう。他の態様において、細胞は細菌に感染するのみである。

【0110】

本明細書において用いられる「接触させる」という用語は、インフルエンザウイルスおよび細菌を含む細胞を空間的にMEK阻害剤、p38阻害剤、および/またはNF-B阻害剤に近接させることをいう。10

【0111】

これは、例えば、培養細胞が注射器を介して配置されている培地に阻害剤を適用することを意味し得る。

【0112】

接触によりその後、阻害剤が活性であれば、ウイルス感染および細菌感染が低減される。いくつかの態様において、かさねて、本発明の阻害剤は、ウイルス感染の影響がない場合は細菌感染のみを低減するために用いられる。

【0113】

1つの態様において、ウイルス感染の低減はplaques形成単位(pfu)/mlの低減であり、20
細菌感染の低減はコロニー形成単位(CFU)/mlの低減である。「plaques形成単位(pfu)/ml」は、ウイルス粒子のような、単位体積当たりのplaquesを形成できる粒子の数の尺度である。これは、粒子の絶対量の測定ではなく、機能的な測定である：欠陥のあるウイルス粒子またはその標的細胞に感染しないウイルス粒子は、plaquesを生成せず、したがって計数されない。例えば、1,000 PFU/ μ lの濃度を有するインフルエンザウイルスの溶液は、溶液1 μ lが細胞単層中に1000個の感染性plaquesを生成するのに十分なウイルス粒子を含有することを示す。本発明の場合、阻害剤で処理した細胞培養物は、本発明の阻害剤で処理する前の培養物と比較して、処理後の培養物中のplaques形成単位の数の低減を示す。

【0114】

生じうる「plaques形成単位(pfu)/mlの低減」は、以下の方法で分析される。最初に、インフルエンザウイルスおよび細菌に重感染している培養細胞を、plaques形成単位(pfu)/mlを生成するその能力について、例えばペトリ皿からいくつかの細胞を吸い取り、形成される細菌plaquesの計数のためにプレーティングすることにより分析する。次いで、この結果を、阻害剤が適用された後の同じ培養物の細胞によって生成されたplaques形成単位(pfu)/mlの数と比較する。阻害剤での処理後にplaques形成単位(pfu)/mlの数が、阻害剤の適用前に生成された数と比較して低減するなら、plaques形成単位の低減が認められる。

【0115】

「コロニー形成単位(CFU)/ml」は、サンプル中の生存細菌の数を推定する。異なる方法が存在する。例えば、コロニー形成単位を生成するために、サンプル(例えば、少量の培養細胞)を栄養寒天プレートの表面に広げ、計数のためのインキュベーションの前に乾燥させる。生存可能な細菌は、制御された条件下で二分裂を介して増殖する能力として定義される。細胞培養物中のコロニーが視認できるためには、著しい増殖が必要とされる - コロニーを計数する場合、コロニーが1つの細胞または1,000個の細胞から生じたかどうかは不明である。それゆえ、結果は、この不明であることを反映するように(細胞/mlまたは細胞/gではなく)液体についてはCFU/ml(コロニー形成単位/ミリリットル)、および固体についてはCFU/g(コロニー形成単位/グラム)として報告される。40

【0116】

「コロニー形成単位(CFU)/ml」は、以下の方法で分析することができる。最初に、イン

50

フルエンザウイルスおよび細菌に重感染している、または細菌のみに感染している培養細胞を、コロニー形成単位(CFU)/mlを生成するその能力について、例えばペトリ皿からいくつかの細胞を吸い取り、計数のためにプレーティングすることにより分析する。次いで、この結果を、阻害剤が適用された後の同じ培養物の細胞によって生成されたコロニー形成単位(CFU)/mlの数と比較する。コロニー形成単位(CFU)/mlの数が、阻害剤の適用前に生成された数まで低減するなら、低減が認められる。

【0117】

一般に、当業者は、細菌感染およびウイルス感染を分析するこれらの周知の技法を知っている。ブラーク形成単位(pfu)/mlおよびコロニー形成単位(CFU)/mlを測定できる方法は、文献(Tuchscherer, L. et al. (2011). *Staphylococcus aureus phenotype switching: an effective bacterial strategy to escape host immune response and establish a chronic infection* (EMBO molecular medicine 3, 129-141)およびHrincius, E.R et al. (2010) CRK adaptor protein expression is required for efficient replication of avian influenza A viruses and controls JNK mediated apoptotic responses. *Cellular microbiology* 12, 831-843)にさらに記述されている。10

【0118】

加えて、本発明は、以下の項目に関する。

【0119】

項目1.

本発明はまた、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を低減するのに有効な阻害剤の判定のための本発明のインビトロの試験システムの使用を提供する。20 1つの態様において、ウイルス感染の低減はブラーク形成単位(pfu)/mlの低減であり、細菌感染の低減はコロニー形成単位(CFU)/mlの低減である。

【0120】

項目2.

加えて、本発明は、接触前のインビトロの試験システムと比較してウイルス感染および細菌感染の両方を低減する関心対象の化合物を、本発明のインビトロの試験システムに接触させる段階を含む、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するのに有効な分子を検出するための方法に関する。30 1つの態様において、ウイルス感染の低減はブラーク形成単位(pfu)/mlの低減であり、細菌感染の低減はコロニー形成単位(CFU)/mlの低減である。

【0121】

項目3.

本発明は、加えて、細菌感染を低減するのに有効な阻害剤の判定のための本発明のインビトロの試験システムの使用に関する。

【0122】

項目4.

さらに、本発明は、シグナル伝達のレベル、結果的に起こるサイトカインおよびケモカイン発現、アポトーシスおよびネクローシスの誘導、ならびに/または健康状態および疾患を調節する酸化還元ホメオスタシスの検査を任意で含んでもよい、先天性宿主細胞応答の検査のための本発明のインビトロの試験システムの使用に関する。40

【0123】

項目5.

また、本発明により、接触前のインビトロの試験システムと比較して細菌感染を低減する関心対象の化合物を、本発明のインビトロの試験システムに接触させる段階を含む、細菌感染を予防および/または治療するのに有効な分子を検出するための方法も提供される。

【0124】

項目6.

本発明はさらに、インフルエンザウイルスおよび細菌に感染した培養細胞に関する。

50

【 0 1 2 5 】

項目7.

また、細菌に感染した培養細胞も提供される。

【 0 1 2 6 】

項目8.

本発明はまた、本発明のMEK阻害剤、p38阻害剤、および/もしくはNF B阻害剤または本発明の薬学的組成物の治療的有効量を対象に投与する段階を含む、対象における細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための方法に関する。

【 0 1 2 7 】

10

項目9.

また、本発明は、医薬の調製のための本発明のMEK阻害剤、p38阻害剤、および/もしくはNF B阻害剤または本発明の組成物の使用を提供する。

【 0 1 2 8 】

項目10.

加えて、本発明は、細菌感染およびインフルエンザウイルス感染を含む重感染を予防および/または治療するための、本発明のMEK阻害剤、p38阻害剤、および/もしくはNF B阻害剤、または本発明の組成物の使用に関する。

【 0 1 2 9 】

項目11.

20

同様に、本発明はまた、本発明のMEK阻害剤、p38阻害剤、および/もしくはNF B阻害剤、または本発明の薬学的組成物の治療的有効量を対象に投与する段階を含む、対象における細菌感染を予防および/または治療するための方法を提供する。

【 0 1 3 0 】

項目12.

加えて、本発明は、細菌感染を予防および/または治療するための、本発明のMEK阻害剤、p38阻害剤、および/もしくはNF B阻害剤、または本発明の組成物の使用に関する。

【 0 1 3 1 】

本明細書において用いられる場合、「1つの」、「ある」および「その」という単数形は、文脈上明らかにそうでないことが示されない限り、複数の指示対象を含むことに注意しなければならない。したがって、例えば、「試薬」に対する言及は、そのような異なる試薬の1つまたは複数を含み、「方法」に対する言及は、変更できる、または本明細書において記述される方法の代わりに用いることができる当業者に公知の同等の段階および方法に対する言及を含む。

30

【 0 1 3 2 】

本開示において引用されている全ての刊行物および特許は、参照によりその全体が組み入れられる。参照により組み入れられる資料が本明細書と矛盾するか、または合致しない限りにおいて、本明細書がそのようないずれの資料にも優先する。

【 0 1 3 3 】

特に示されていない限り、一連の要素に先行する「少なくとも」という用語は、その一連のものにおける各要素を指すものと理解されるべきである。当業者は、本明細書において記述される本発明の具体的な態様に対する多くの等価物を認識するか、または単なる通常の実験を用いてその等価物を確認できるであろう。そのような等価物は本発明によって包含されるものと意図される。

40

【 0 1 3 4 】

本明細書およびそれに続く特許請求の範囲の全体において、特に文脈上必要ない限り、「含む(comprise)」という語、ならびに「含む(comprises)」および「含んでいる(comprising)」のような変化形は、記載される整数もしくは段階または整数もしくは段階の群の包含を示唆するが、しかし他のいずれの整数もしくは段階または整数もしくは段階の群の除外を示唆するものではないと理解されるであろう。本明細書において用いられる場合、

50

「含む」という用語は、「含有する」という用語で置き換えることができ、または本明細書において用いられる場合には「有する」という用語で置き換えることもできる。

【0135】

本明細書において用いられる場合、「からなる」は、特許請求の範囲の要素において特定されていない任意の要素、段階または成分を除外する。本明細書において用いられる場合、「から本質的になる」は、特許請求の範囲の基本的かつ新規な特徴に著しく影響を及ぼさない材料または段階を排除するものではない。本明細書における各事例において、「含む」、「から本質的になる」および「からなる」という用語のいずれも、他の2つの用語のいずれかと置き換えられうる。

【0136】

10

本明細書の本文全体を通じていくつかの文書が引用される。本明細書において引用される文書(全ての特許、特許出願、科学刊行物、製造元の仕様書、説明書などを含む)の各々は、上記または下記にかかわらず、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。先行発明を理由として本発明がそのような開示に先行する資格がないことの自認であると解釈すべきものは、本明細書にはない。

【実施例】

【0137】

以下の実施例は本発明を例示する。これらの実施例は本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。実施例は例示の目的で含まれており、本発明は特許請求の範囲によってのみ限定される。

20

【0138】

実施例1

ここ数年以内に、ワクチン接種またはIVに対する従来の抗ウイルス薬(ノイラミニダーゼおよびM2遮断薬)ならびに黄色ブドウ球菌に対する従来の抗生物質による治療とは別の追加的および代替的な治療戦略の必要性が着実に増した。その一方で、抗ウイルス治療介入のために、いくつかの細胞因子が潜在的な標的として同定されている。全く対照的に、細菌感染中の、特に細菌量および/または急速なサイトカイン発現の発生を低減することによる抗細菌治療の標的としての、お決まりの(rote)細胞因子に関する知識は、IV重感染の存在下ではさらにいっそう、あまり理解されていない。

【0139】

30

本発明者らは、IVおよび黄色ブドウ球菌重感染時に潜在的な抗感染薬の存在下または非存在下において(1) 子孫ウイルス力価および(2) 細胞内細菌の力価ならびに(3) 宿主防御機構の変化の判定を可能にする感染プロトコルを確立した。最初のアプローチにおいて、本発明者らは、単独感染または重感染の状況においてIVおよび黄色ブドウ球菌感染に対する、MEK阻害剤(U0126 = 50 μM)、p38阻害剤(SB202190 = 10 μM)およびNF-B阻害剤(LAS AG = 5 mM)の効果を溶媒対照と比較して調べた。対照として、ウイルスノイラミニダーゼ阻害剤オセルタミビル(タミフル) (2 μM)をHepesと比較して用いた。ウイルス感染のため、本発明者らはヒトインフルエンザウイルスA/Puerto Rico/8134 (H1N1)または鳥類インフルエンザウイルスA/FPV/Bratislava/79 (H7N7)を用い、細菌感染のため、本発明者らは黄色ブドウ球菌株6850を用いた。

40

【0140】

感染の手順(図1):

ヒト肺上皮細胞をDMEM [10% FCS] 2 ml中で、6ウェルプレート(細胞 8×10^5 個/ウェル)に播種した。播種から16~20時間後に、細胞をすすぎ、PBS/BA [0.2%ウシ血清アルブミン(BSA)、1 mM MgCl₂、0.9 mM CaCl₂、100 U/mlペニシリン、0.1 mg/mlストレプトマイシン] (500 μl/6ウェル)または表示した感染多重量(MOI)のウイルスを含有するPBS/BAとともに37°Cでインキュベートした。30分のインキュベーション後に、ウイルス希釈液を吸引し、細胞をPBSですすぎ、試験化合物の存在下または非存在下、表示したMOIの細菌を含むまたは含まない浸潤用培地DMEM/INV [1%ヒト血清アルブミン、25 nmol/l HEPES] (2 ml/6ウェル)を補充した。細菌感染から3時間後に、細胞を抗生物質で処理して、細胞外細菌を除

50

去した。そこで、細胞をPBSですすぎ、その後、37℃で20分間DMEM/INV抗生物質[2 μg/mlのリゾスタフィン(Sigma)](1 ml/6ウェル)とともにインキュベートした。PBSによるさらなる洗浄後、試験物質を含有するDMEM/INVを、細胞に補充し、これを、表示した時間37℃でインキュベートした。A/Puerto Rico/8/34に関して、DMEM/INVに0.333 μg/mlのトリプシン(Invitrogen)をさらに補充した。IV力価および細胞内細菌の判定を(Hrincius et al., 2010, Tuchscherer et al., 2011)に記述されているように行った。

【0141】

IV力価はブラーク形成単位(pfu)/mlとして示されており、黄色ブドウ球菌力価はコロニー形成単位(CFU)/mlとして示されている。データは、2つの生体サンプルを用いた2~3回の独立した実験の平均±SDを表す。統計的有意性を両側2標本t検定により評価した(*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001)。

【0142】

重感染の状況では、先天性免疫応答の変化ならびに自食作用およびアポトーシスの機構の変化のために、それぞれ、黄色ブドウ球菌の存在がIV複製に影響を与え、IVの存在が細胞内の黄色ブドウ球菌量レベルに影響を与えた。それにもかかわらず、予想通り、本発明者らはIV複製に及ぼすU0126(図2、3)、SB202190(図4)およびLG-ASA(図5)の阻害効果を観察した。興味深いことに、黄色ブドウ球菌の存在下においてこれらの阻害剤で処理するとウイルス力価も低減された。さらに、細胞内の黄色ブドウ球菌量がIVの有無とは無関係にU0126、SB202190またはLG-ASAの存在下で低減された際に、本発明者らは快い驚きを味わった。別の、驚くほどの所見は、U0126(50 μM)の存在下での細菌複製に關係していた。黄色ブドウ球菌を、生細胞のないDMEM/INV中37℃で終夜培養した場合に、細菌力価は既に低減していたが、しかし細胞の感染時と同程度に低減していたことから、細胞因子からの細菌の依存性を示唆していた(図2E)。

【0143】

対照として、本発明者らは、ウイルスノイラミニダーゼ阻害剤オセルタミビル(タミフル)の適用時にウイルス力価および細胞内細菌量を調べた(図6)。黄色ブドウ球菌の非存在下または存在下でIV力価は有意に低減したが、細胞内細菌量はむしろ増加した。この結果は、病原体そのものに対する物質ではなく、細胞因子を標的化する物質が、IVおよび黄色ブドウ球菌の重感染に対する抗感染薬として大きな可能性を有することを示している。

【0144】

実施例2

さらなる実験において、単独感染または重感染の状況におけるインフルエンザA型ウイルス(IAV)および黄色ブドウ球菌6850感染に対する溶媒対照と比較したMEK阻害剤U0126、C1-1040およびコビメチニブ(GDC-0973)の効果を調べた。

【0145】

重感染手順を図12に示す。本発明者らの実験的設定におけるヒト肺上皮細胞の生存性を調べるために、細胞形態を光学顕微鏡検査により感染18時間でモニターし(図13)、その時点で病原体負荷を判定した(図14)。

【0146】

図13に見られるように、黄色ブドウ球菌6850(6850)、インフルエンザウイルス株A/FPV/Bratislava/79(H7N7)(FPV)またはA/Wisconsin/67/2005(H3N2)による単独感染、および重感染はわずかな、しかし明瞭に検出可能な細胞損傷を引き起こした。U0126(50 μM)の存在下で、細胞層は損傷がはるかに少ないように見えた。

【0147】

溶媒対照と比較してインフルエンザウイルス複製A/FPV/Bratislava/79(H7N7)(FPV)またはA/Wisconsin/67/2005(H3N2)に対するMEK阻害剤U0126(50 μM)の効果を、単独感染または重感染の状況でヒト肺上皮細胞において判定した(図14)。

【0148】

MEK/ERKシグナル伝達の阻害は、単独感染の状況においてIAVサブタイプH7N7およびH3N2による感染時にウイルス力価の有意な低減を引き起こした(図14)。ウイルス力価は、U012

10

20

30

40

50

6の存在下における重感染の状況においても、H7N7/黄色ブドウ球菌重感染細胞において有意なレベルまで低減された(図14)。

【0149】

さらに、内部移行した黄色ブドウ球菌6850に対するMEK阻害剤U0126 (50 μ M)の効果を分析した(図15A、C)。この実験的設定において、細菌力価は、阻害剤の存在下でわずかにしか減少しなかった。

【0150】

一般に細菌増殖に及ぼすU0126の効果をさらに調べるため、黄色ブドウ球菌6850の無細胞終夜培養物に、異なる量のU0126 (10 μ Mおよび50 μ M)または溶媒を補充した(図15B、D)。細菌増殖は、溶媒対照と比較して、濃度依存的にU0126の存在下で阻害された(図15B、D)。

10

【0151】

炎症促進性サイトカインおよびケモカイン発現は重度の炎症および組織損傷に寄与するため、マクロファージ炎症性タンパク質1 (MIP1 α)としても知られているCCL3、およびANTESとしても知られているCCL5のような、各ケモカインのmRNA合成をU0126 (50 μ M)の存在下または非存在下、感染実験においてqRT-PCRにより分析した(図16A、B)。黄色ブドウ球菌6850の存在下で増加したIAV誘導性のCCL3 mRNA合成は、U0126の存在下で低減した。同様に、黄色ブドウ球菌の存在下で低減された、IAV誘導性のCCL5 mRNA合成は、U0126 (50 μ M)の存在下でさらに低減された。

【0152】

20

ウエスタンプロット分析において、MEK/ERKシグナル伝達に及ぼすU0126の阻害効果をリン酸化特異的ERK1/2抗体の使用によって検証した(図16C)。さらに、MEK/ERKシグナル伝達の阻害の存在下でウイルスタンパク質合成(PB1)の低減が観察された。

【0153】

インビボマウスモデルにおけるU0126の抗病原体潜在性を検証するために、インフルエンザウイルス感染マウスを未処置のままにしておくか、または毎日U0126で処置して、黄色ブドウ球菌6850に重複感染させた(図17)。U0126の投与は、ウイルス力価とは無関係にインビボでの細菌力価の低減を引き起こした。ウイルス力価の低減の失敗は、感染経過においてウイルス力価が既に減少している時点でのU0126の遅発投与によって説明される可能性がある。以前の実験から、インフルエンザウイルス感染前に与えられた場合、阻害剤がより高い阻害効果を有することが示唆されている。それにもかかわらず、細菌力価は、U0126の適用によって有意に低減された。

30

【0154】

他のアプローチのなかで、溶媒対照と比較してインフルエンザウイルス複製A/FPV/Bratislava/79 (H7N7) (FPV)またはA/Puerto Rico/8/34 (H1N1)に対するMEK阻害剤CI-1040 (10 μ M)の効果を、単独感染または重感染の状況でヒト肺上皮細胞において判定した(図18)。

。

【0155】

CI-1040によるMEK/ERKシグナル伝達の阻害は、単独感染および重感染の状況でIAVサブタイプH7N7およびH1N1による感染の際にウイルス力価の低減を引き起こした(図18)。

40

【0156】

一般に細菌増殖に及ぼすCI-1040の効果をさらに調べるため、黄色ブドウ球菌6850の無細胞終夜培養物に、異なる量のCI-1040 (1 μ Mおよび10 μ M)または溶媒を補充した(図19A、B)。細菌増殖は溶媒対照と比較して、濃度依存的にCI-1040の存在下でわずかに阻害された(図19A、B)。

【0157】

別のMEK阻害剤の抗病原体潜在性を検証するために、コビメチニブをインビボマウスモデルにおいて試験し、インフルエンザウイルス感染マウスを未処置のままにしておくか、または毎日コビメチニブで処置して、黄色ブドウ球菌6850に重複感染させた(図20)。コビメチニブの投与は、インビボでウイルス力価および細菌力価のわずかな、しかし明瞭に検

50

出可能な低減につながった。最近になって、コビメチニブの最大耐量は30 mg/kg/日であることが示されているため、阻害効果は、最大耐量よりもずっと低かった、本実験において用いられた(10 mg/kg/日)よりも高い投与量によっては改善された可能性がある。

【0158】

結論として、この結果から、潜在的な抗IAV/黄色ブドウ球菌物質としての、さまざまなMEK阻害剤が明らかである。

【0159】

実施例3

さらなる実験において、単独感染または重感染の状況におけるインフルエンザA型ウイルス(IAV)および黄色ブドウ球菌6850感染に対するNF-B阻害剤LG-ASA (LASAG)の効果を調べた。10

【0160】

重感染手順を図21に示す(上部)。LG-ASA (5 mM)の非存在下および存在下における感染時のヒト肺上皮細胞の生存性を調べるために、細胞形態を光学顕微鏡検査により感染後18時間でモニターした(図21)。LG-ASAの非存在下(左パネル)におけるIAVおよび/または黄色ブドウ球菌の感染は細胞破壊を引き起こすが、細胞形態はLG-ASAの存在下(右パネル)においては改善された。

【0161】

インフルエンザウイルス複製A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)に対するNF-B阻害剤LG-ASA (5 mM)の効果を、感染から8時間(図22/23A、B、E、F)および18時間(図22/23 C、D、G、H)20後に単独感染または重感染の状況(図22/23)でヒト肺上皮細胞において判定した。異なる2つの黄色ブドウ球菌株(a) 黄色ブドウ球菌SH1000 (図22/23 A～D)および(b) 黄色ブドウ球菌6850 (図22/23 E～H)を感染に用いた。

【0162】

IAV複製は感染後8時間および18時間にLG-ASAの存在下で低減されたが、細菌力価の低減は感染18時間後に目に見えただけであった。図22において、結果は均等目盛りで示されている。LG-ASAの病原体阻害効果をよりよく視覚化するために、3つの独立した実験の未処置対照を任意に100%として設定し、平均を提示した(図23)。

【0163】

LG-ASAは細菌感染の間に直接添加されたので、これらの結果から、進行中の放出および新しい細菌内部移行の間に増強する、細菌内部移行に対する非常に早期の効果が示唆される。30

【0164】

ごく最近、単球による黄色ブドウ球菌の食作用にNF-Bが必要であることが示されている(Zhu et al., 2014; Exp. Cell Res. 1;327(2):256-63)。これらの知見および本発明者らの所見に基づき、本発明者らは、LG-ASAが細菌の取込みを防ぐかどうか知ることを欲した。本発明者らは、細菌感染の4時間前にヒト肺上皮細胞を前処理し、感染後2時間までに内部移行した細菌を判定した。内部移行した細菌だけが検出されることを確実とするため、細胞溶解前に抗生物質洗浄によって内部移行していない細菌を除去した。データから、LG-ASAの存在下において遮断される、黄色ブドウ球菌6850の時間依存的な取込みが示唆される(図24A、B)。40 LG-ASAの濃度依存的な阻害効果を、細菌株の黄色ブドウ球菌USA300に対してさらに実証することができた(図24C、D)。図24A、Cにおいて見て取れる、LG-ASAの病原体阻害効果をよりよく視覚化するために、3つの独立した実験の未処置対照を任意に100%として設定し、平均を示した(図24B、D)。

【0165】

黄色ブドウ球菌の内部移行に対するNF-B媒介性シグナル伝達の重要性を検証するために、細菌感染の4時間前にTNF- α 刺激によってNF-Bを誘導した。NF-Bの活性化は、黄色ブドウ球菌6850および黄色ブドウ球菌USA300の取込みの増強を引き起こした。対照として、TNF- α 誘発性の活性化はLG-ASAにより同時に遮断され、これは、予想通り、TNF- α によって促進される細菌取込みの阻害を引き起こした(図25)。50

【 0 1 6 6 】

インビボマウスモデルにおけるLG-ASAの抗病原体潜在性を検証するために、LG-ASAの存在下および非存在下での異なる重感染の設定について試験した。

【 0 1 6 7 】

図26に見られるように、LG-ASAによるIAV/黄色ブドウ球菌重感染マウスの処置は、生存の増強(図26A)および体重減少の低減(図26B)を引き起こす。

【 0 1 6 8 】

結論として、本発明者らの結果は、LG-ASAのようなNF-B阻害剤がインビトロおよびインビボで抗IAV/黄色ブドウ球菌物質として作用することを示している。

【 0 1 6 9 】

参考文献

Borgeling, Y., Schmolke, M., Viemann, D., Nordhoff, C., Roth, J. and Ludwig, S. (2014). Inhibition of 38 mitogen-activated protein kinase impairs influenza virus-induced primary and secondary host gene responses and protects mice from lethal H5N1 infection. *The Journal of biological chemistry* 289, 13-27.

Chertow, D.S. and Memoli, M.J. (2013). Bacterial coinfection in influenza: a • rand rounds review. *JAMA : the 'ournal of the American Medical Association* 309, 275-282.

Droebner, K., Pleschka, S., Ludwig, S. and Planz, O. (2011). Antiviral activity of the MEK-inhibitor U0126 against pandemic H1N1v and highly pathogenic avian influenza virus in vitro and in vivo. *Antiviral research* 92, 195-203.

Dudek, S.E., Luig, C., Pauli, E.K., Schubert, U. and Ludwig, S. (2010). The clinically approved proteasome inhibitor PS-341 efficiently blocks influenza A virus and vesicular stomatitis virus propagation by establishing an antiviral state. *Journal of virology* 84, 9439-9451,

Ehrhardt, C. and Ludwig, S. (2009). A new player in a deadly game: influenza viruses and the PI3K/Akt signalling pathway. *Cellular microbiology* 11, 863-871.

Ehrhardt, C., Marjuki, H., Wolff, T., Nurnberg, B., Planz, O., Pleschka, S. and Ludwig, S. (2006). Bivalent role of the phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) during influenza virus infection and host cell defence. *Cellular microbiology* 8, 1336-1348.

Ehrhardt, C., Ruckle, A., Hrincius, E.R., Haasbach, E., Anhlan, D., Ahmann, K., et al. (2013). The NF-kappaB inhibitor SC75741 efficiently blocks influenza virus propagation and confers a high barrier for development of viral resistance. *Cellular microbiology* 15, 1198-1211.

Ehrhardt, C., Wolff, T. and Ludwig, S. (2007a). Activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling by the nonstructural NS1 protein is not conserved among type A and B influenza viruses. *Journal of virology* 81, 12097-12100.

Ehrhardt, C., Wolff, T., Pleschka, S., Planz, O., Beermann, W., Bode, J.G., et al. (2007b). Influenza A virus NS1 protein activates the PI3K/Akt pathway to mediate antiapoptotic signaling responses. *Journal of virology* 81, 3058-3067.

Eierhoff, T., Hrincius, ER., Rescher, U., Ludwig, S. and Ehrhardt, C. (2010). The epidermal growth factor receptor (EGFR) promotes uptake of influenza A viruses (IAV) into host cells. *PLoS pathogens* 6, e1001099.

Gillet, Y., Vanhems, P., Lina, G., Bes, M., Vandenesch, F., Floret, D. and Etienne, J. (2007). Factors predicting mortality in necrotizing communityacquired pneumonia caused by *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 45, 315-321.

10

20

30

40

Gong, J., Fang, H., Li, M., Liu, Y., Yang, K., Liu, Y. and Xu, W. (2009). Potential targets and their relevant inhibitors in anti-influenza fields. *Current medicinal chemistry* 16, 3716-3739.

Grundmann, H., Aires-de-Sousa, M., Boyce, J. and Tiemersma, E. (2006). Emergence and resurgence of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet* 368, 874-885.

Haasbach, E., Reiling, S.J., Ehrhardt, C., Droeber, K., Ruckle, A., Hrincius, E.R., et al. (2013). The NF-kappaB inhibitor SC75741 protects mice against highly pathogenic avian influenza A virus. *Antiviral research* 99, 336-344.

Hayden, F. (2009). Developing new antiviral agents for influenza treatment: what does the future hold? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 48 Suppl 1, S3-13.

Hayden, F.G. and Hay, A.J. (1992). Emergence and transmission of influenza A viruses resistant to amantadine and rimantadine. *Current topics in microbiology and immunology* 176, 119-130.

Iverson, A.R., Boyd, K.L., McAuley, J.L., Piano, L.R., Hart, M.E. and McCullers, J.A. (2011). Influenza virus primes mice for pneumonia from *Staphylococcus aureus*. *The Journal of infectious diseases* 203, 880- 888.

Iwao, Y., Ishii, R., Tomita, Y., Shibuya, Y., Takano, T., Hung, W.C., et al. (2012). The emerging ST8 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in the community in Japan: associated infections, genetic diversity, and comparative genomics. *J Infect Chemother* 18, 228-240.

Lee, LT., Lee, C.W., Tung, W.1-1., Wang, S.W., Lin, C.C., Shu, J.C. and Yang, C.M. (2010). Cooperation of TLR2 with MyD88, PI3K, and Rad in lipoteichoic acid-Induced cPLA2/COX-2-dependent airway inflammatory responses. *The American journal of pathology* 176, 1671-1684.

Ludwig, S. (2009). Targeting cell signalling pathways to fight the flu: towards a paradigm change in anti-influenza therapy. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 64, 1-4.

Ludwig, S. (2011). Disruption of virus-host cell interactions and cell signaling pathways as an anti-viral approach against influenza virus infections. *Biological chemistry* 392, 837-847.

Ludwig, S. and Planz, O. (2008). Influenza viruses and the NF-kappaB signaling pathway - towards a novel concept of antiviral therapy. *Biological chemistry* 389, 1307-1312.

Ludwig, S., Planz, O., Pleschka, S. and Wolff, T. (2003). Influenza-virus induced signaling cascades: targets for antiviral therapy? *Trends in molecular medicine* 9, 46-52.

Ludwig, S., Wolff, T., Ehrhardt, C., Wurzer, W.J., Reinhardt, J., Planz, O. and Pleschka, S. (2004). MEK inhibition impairs influenza B virus propagation without emergence of resistant variants. *FEBS letters* 561,37-43.

- Marjuki, H., Alam, M.I., Ehrhardt, C., Wagner, R., Planz, O., Klenk, H.D., et al. (2006). Membrane accumulation of influenza A virus hemagglutinin triggers nuclear export of the viral genome via protein kinase Calphamediated activation of ERK signaling. *The Journal of biological chemistry* 281, 16707-16715.
- Mazur, I., Wurzer, W.J., Ehrhardt, C., Pleschka, S., Puthavathana, P., Silberzahn, T., et al. (2007). Acetylsalicylic acid (ASA) blocks influenza virus propagation via its NF-kappaB-inhibiting activity. *Cellular microbiology* 9, 1683-1694.
- Moran, G.J., Krishnadasan, A., Gorwitz, R.J., Fosheim, G.E., McDougal, L.K., Carey, R.B., et al. (2006). Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *The New England Journal of medicine* 355, 666-674.
- Morens, D.M., Taubenberger, J.K. and Fauci, A.S. (2008). Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *The Journal of infectious diseases* 198, 962-970.
- Neumann, G., Noda, T. and Kawaoka, Y. (2009). Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* 459, 931-939.
- Niemann, S., Ehrhardt, C., Medina, E., Warnking, K., Tuchscherer, L., Heitmann, V., et al. (2012). Combined action of influenza virus and *Staphylococcus aureus* panton-valentine leukocidin provokes severe lung epithelium damage. *The Journal of infectious diseases* 206, 1138-1148.
- Olschlager, V., Pleschka, S., Fischer, T., Rziha, H.J., Wurzer, W., Stitz, L., et al. (2004). Lung-specific expression of active Raf kinase results in increased mortality of influenza A virus-infected mice. *Oncogene* 23, 6639-6646.
- Oviedo-Boysen, J., Cortes-Vieyra, R., Huante-Mendoza, A., Yu, H.B., Valdez-Alarcon, J.J., Bravo-Patino, A., et al. (2011). The phosphoinositide-3-kinase-Akt signaling pathway is important for *Staphylococcus aureus* internalization by endothelial cells. *Infection and immunity* 79, 4569-4577.
- Paddock, C.D., Liu, L., Denison, A.M., Bartlett, J.H., Holman, R.C., Deleon-Carnes, M., et al. (2012). Myocardial injury and bacterial pneumonia contribute to the pathogenesis of fatal Influenza B Virus infection. *The Journal of infectious diseases* 205, 895-905.
- Park, B. and Liu, G.Y. (2012). Targeting the host-pathogen interface for treatment of *Staphylococcus aureus* infection. *Seminars in immunopathology* 34, 299-315.
- Parker, D. and Prince, A. (2012). Immunopathogenesis of *Staphylococcus aureus* pulmonary infection. *Seminars in immunopathology* 34, 281-297.
- Parry, J. (2013). H7N9 avian flu infects humans for the first time. *Bmj* 346, f2151.
- Pinto, L.H. and Lamb, R.A. (2006). The M2 proton channels of influenza A and B viruses. *The Journal of biological chemistry* 281, 8997-9000.

Pinto, L.H. and Lamb, R.A. (2007). Controlling influenza virus replication by inhibiting its proton channel. *Molecular bioSystems* 3, 18-23.

Planz, O. (2013). Development of cellular signaling pathway inhibitors as new antivirals against influenza. *Antiviral research* 98, 457-468.

Pleschka, S., Wolff, T., Ehrhardt, C., Hobom, G., Planz, O., Rapp, U.R. and Ludwig, S. (2001). Influenza virus propagation is impaired by inhibition of the Raf/MEK/ERK signalling cascade. *Nature cell biology* 3, 301-305.

Shilo, N. and Quach, C. (2011). Pulmonary infections and community associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a dangerous mix? *Paediatric respiratory reviews* 12, 182-189.

Taubenberger, J.K. and Kash, J.C. (2010). Influenza virus evolution, host adaptation, and pandemic formation. *Cell host & microbe* 7, 440-451.

Thorburn, K. and Riordan, A. (2012). Pulmonary bacterial coinfection in infants and children with viral respiratory infection. *Expert review of antiinfective therapy* 10, 909-916.

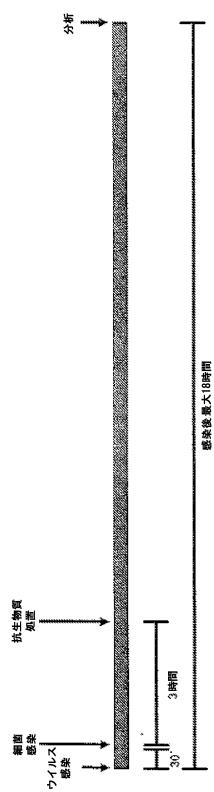
Wurzer, W.J., Ehrhardt, C., Pleschka, S., Berberich-Siebelt, F., Wolff, T., Walczak, H., et al. (2004). NF-kappaB-dependent induction of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and Fas/FasL is crucial for efficient influenza virus propagation. *The Journal of biological chemistry* 279, 30931-30937.

Zhu F, Yue W, Wang Y. The nuclear factor kappa B (NF- κ B) activation is required for phagocytosis of *staphylococcus aureus* by RAW 264.7 cells. *Exp Cell Res.* 2014 Oct 1;327(2):256-63.

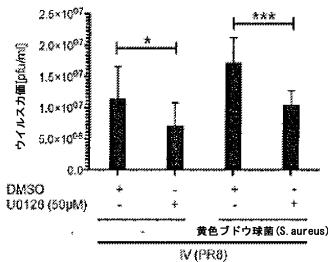
10

20

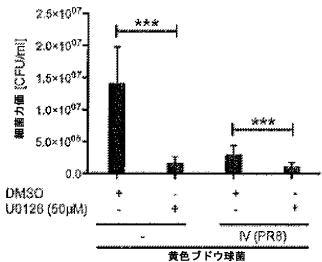
【図1】



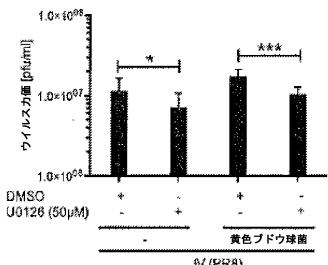
【図2 A】



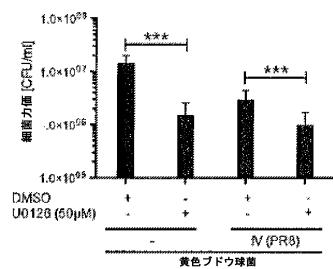
【図2 B】



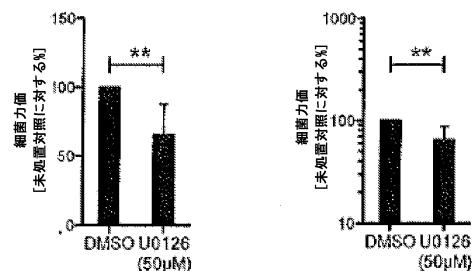
【図2 C】



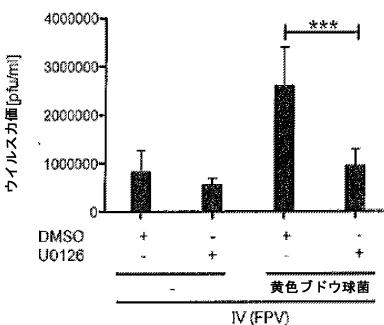
【図2 D】



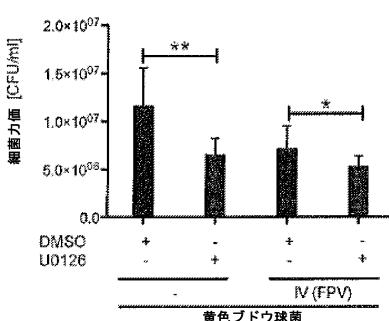
【図2 E】

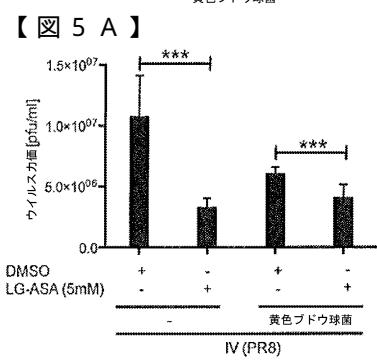
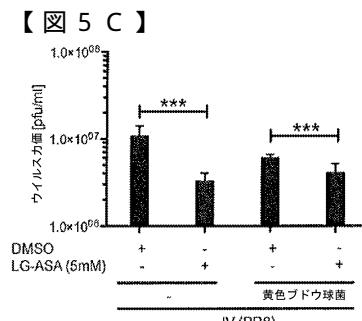
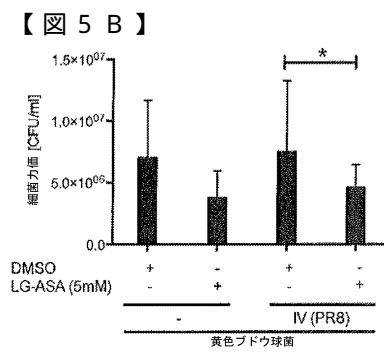
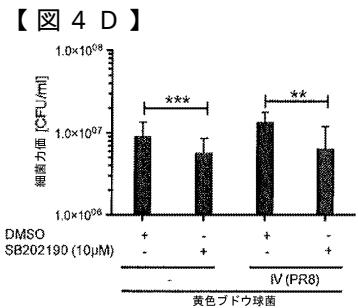
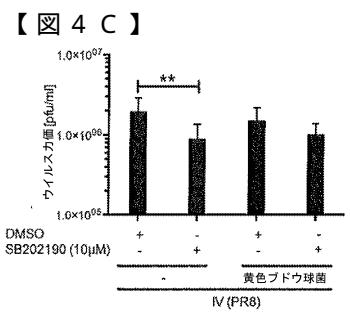
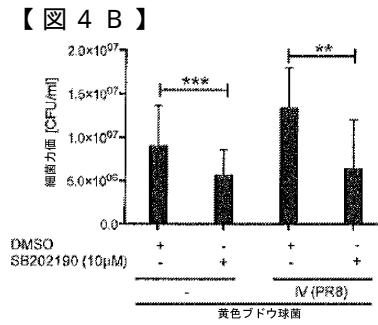
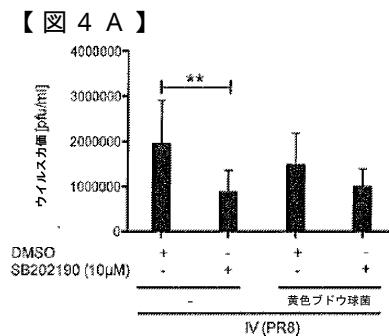
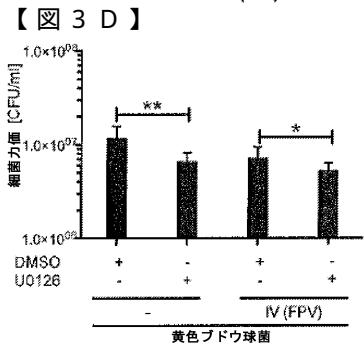
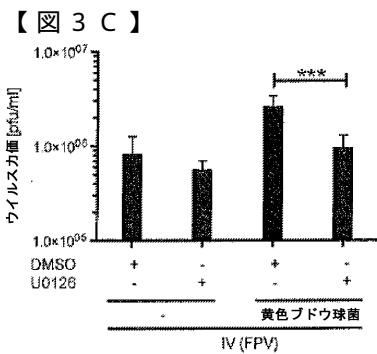


【図3 A】

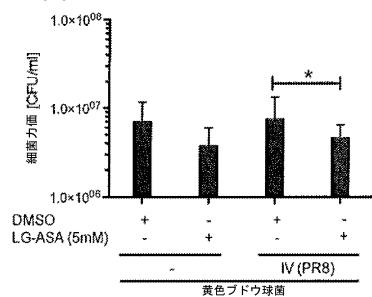


【図3 B】

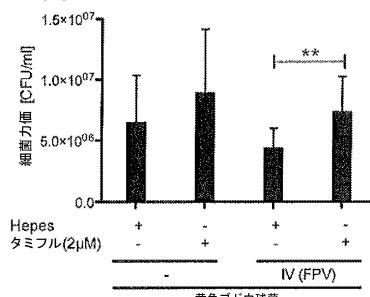




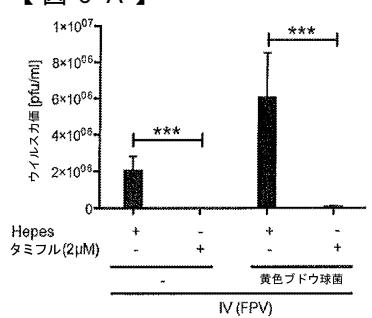
【図 5 D】



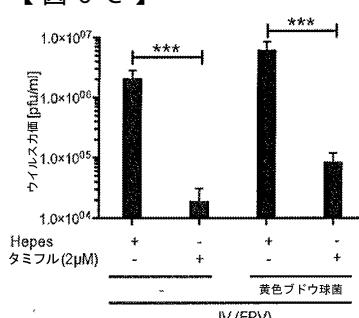
【図 6 B】



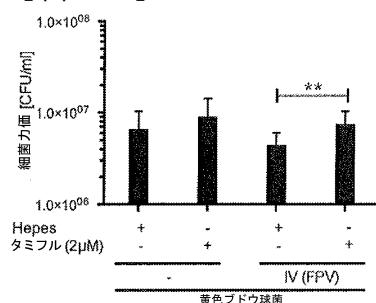
【図 6 A】



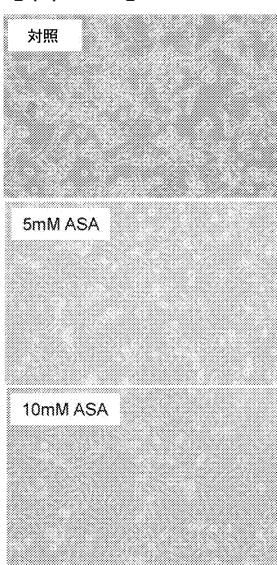
【図 6 C】



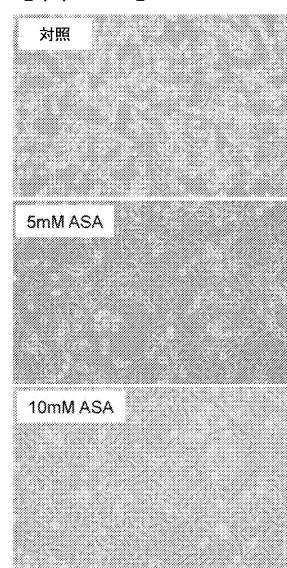
【図 6 D】



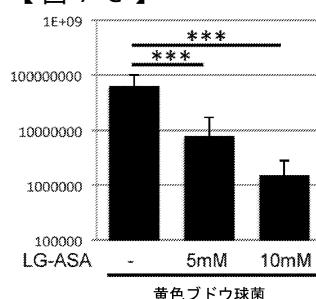
【図 7 B】



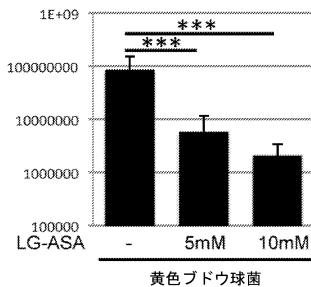
【図 7 A】



【図 7 C】



【図 7 D】



【図 8 - 1】

(表 2)

p38 阻害剤	名称またはCAS番号
LY2228820	CAS # 862507-23-1
CAY10571	CAS # 152121-46-5
CGH 2466	CAS # 252198-68-8
SB220025	CAS # 165806-53-1
抗生素質 LL Z1640-2	CAS # 66018-38-0
TAK 715	CAS # 303162-79-0
SB202190 塩酸塩	CAS # 152121-30-7
SKF 86002	CAS # 72873-74-6
AMG548	2-[[(2S)-2-アミノ-3-フェニルプロピル]アミノ]-3-メチル-5-(2-ナフタレンイル)-6-(4-ビリジニル)-4(3H)-ピリミジノン

CMPD-1	2'-フルオロ-N-(4-ヒドロキシフェニル)-[1,1'-ビフェニル]-4-ブタンアミド
EO 1428	2-メチルフェニル-4-[(2-アミノ-4-プロモフェニル)アミノ]-2-クロロフェニルメタノン
JX 401	1-[2-メトキシン-4-(メチルチオ)ベンゾイル]-4-(フェニルメチル)ビペリジン
ML 3403	[5-[4-(4-フルオロフェニル)-2-メチルチオ-1H-イミダゾール-4-イル]-N-(1-フェニルエチル)-2-ビリジンアミン
RWJ 67657	4-[4-(4-フルオロフェニル)-1-(3-フェニルプロピル)-5-(4-ビリジニル)-1H-イミダゾール-2-イル]-3-ブチントオール
SB 202190	4-[4-(4-フルオロフェニル)-5-(4-ビリジニル)-1H-イミダゾール-2-イル]フェノール
SB 203580	4-[5-(4-フルオロフェニル)-2-[4-(メチルスルホニル)フェニル]-1H-イミダゾール-4-イル]ビリジン
SB 203580 塩酸塩	4-[5-(4-フルオロフェニル)-2-[4-(メチルスルホニル)フェニル]-1H-イミダゾール-4-イル]ビリジン塩酸塩
SB 239063	トランス-4-[4-(4-フルオロフェニル)-5-(2-メトキシ-4-ビリミジル)-1H-イミダゾール-1-イル]シクロヘキサノール

【図 8 - 2】

(つづき/表 2)

SCIO 469 塩酸塩	6-クロロ-5-[[2(R,S)-4[(4-フルオロフェニル)メチル]-2,5-ジメチル-1-ビペラジニル]カルボニル]NN-トリメチル-α-オキソ-β-インドール-3-アセトアミド 塩酸塩
SX 011	6-クロロ-5-[[4-[4-(フルオロフェニル)メチル]-1-ビペリジン]カルボニル-NN-トリメチル-α-オキソ-β-インドール-3-アセトアミド
TAK 715	N-[4-[2-エチル-4-(3-メチルフェニル)-5-チアゾリル]-2-ビリジニル]ベンズアミド
VX 702	6-[アミノカルボニル](2,6-ジフルオロフェニル)アミノ]-2-[2,4-ジフルオロフェニル]-3-ビリジンカルボキサミド
SB 203580	
Tie2 キナーゼ阻害剤	CAS # 948557-43-5
2-(4-クロロフェニル)-4-(フルオロフェニル)-5-ビリジン-4-イル-1,2-ジヒドロピラゾール-3-オノン	2-(4-クロロフェニル)-4-(フルオロフェニル)-5-ビリジン-4-イル-1,2-ジヒドロピラゾール-3-オノン
VX 745	CAS # 209410-46-8

バマビモド	
ロスマビモド (GW856553)	
アリムビモド (S8681323)	

【図 8 - 3】

(つづき/表 2)

	8-(2,6-ジフルオロフェニル)-2-((1,3-ジヒドロキシプロパン-2-イル)アミノ)-4-(4-フルオロ-2-メチルフェニル)ビリジン-[2,3-d]ビリミジン-7(8H)-オン CAS# 44606-18-2
ドラマビモド (BIRB 796)	
BMS-582949	
PH797804	
ARRY-797	
SCIO-469	

【図9-1】

(表3) NF-κB阻害剤

A. 上流 NF-κB	カーウェオール	AIDCA誘導体	カタルボシド	E-73	RelAペプチド(p1 & p6)
天然産物	カバ(Kava) 誘導体	TDZD	シクロリン テイノン	エカベトナトリウム	ウイルスタンパク質
15d-PGJ(2)	甘草(Licorice) 抽出物	TPCA-1	ジヒドロアル テアンスイン	メシリ酸 ガベキサート	30プロテアーゼ (EMCウイルス)
カラグラリン	マニユマイシン	ビリジン 誘導体	ドコサヘキサ エン酸	グリメリビド	大ジステンバー ウイルス
コノフィリン	モノクロラミン	ACHP	モジン	ヒポクリット	MNF(粘液腫 ウイルス)
エボジアミン	N-アセチル システィン	アクロレイン	麻黄 (Ephedrae hebra) (マオウ(Mao)) 抽出物	ロサルタン	タンパク質
ゲルダナマイシン	-酸化茎素	AGRO100	エカーチュ	LY294002	C5a
ベリコル アルコール	ニトロシロコバラ ミン		エルブスタチン	ベルバナードテ	DQ 65-79
PfSK	オレアンドリン	AS602868	エストロゲン	フェニルアルシン オキシド	Fox1j
ロカグラミド	オメガ3脂肪酸	アスピリン	エタクリン酸	フェニトイント	GILZ
ウイルス タンパク質	ox-LDL	アジドミジン	ホスホマイシン	Ro106-9920	HSCO
アデノウイルスE1A	パンデュラチン (Panduratin) A	BAY-11-7082	真菌	サバエクサン	HSP-72
NSSA(Hep-C ウイルス)	PETC	BAY-11-7083	ガサンギュルコニウムエクウェム (Gansanhyul yunbueum)	U0126 (MEK 阻害剤)	インターロイキン-10
タンパク質	ペトロサボニジオール (Petrosa saponigena) M	ベンゾイミダゾール 誘導体	ゲニビン	その他	インターロイキン-11
エルビン(Erbin) 過剰発現	フィチン酸	ベンジル イソチオシアネット	ゲニステイン	迷走神経刺激 療法	インターロイキン-13
Goli: BG21	ビセアタノール	BMS-345541	グラブリジン	低出力カーレーザー [†] 療法	MTS-SR-IkBx
KSR	ビノシルビン	カルボプラチン	グルコサミン硫酸塩	垂船	オンコナーゼ
MAST205	プラギクス・フロス クロース・Plagius flosculosus) 抽出物	CDDO-Me	グルタミン	D-1 x B 上方制御因子	RASSF1A遺伝子
NPM-ALK オニコンバク質	ブルンバジン	CHS 828	ゲミガングワルタン (Gumi ganghwatang)	NF-κB 移行	ROR-アルファ
C型肝炎ウイルス プロテアーゼ	サクロボ(Pomgranate) 抽出物	化合物5	イソマルトロマノール	天然産物	サーファクタント タンパク質A
PELF	プロスタグラジン AI	化合物A	イソマルトロクメン	PGG	TAT-SR-IkB

【図9-2】

(つづき/表3)

リツキシマブ	ケルセチン	シクロペтенノン	ホウキギ (Kochia scoparia) 果実抽出物	I5- オキシスペル グアリン	ZAS3 タンパク質
TNAP	レンギオロン	CYL-19e	L-アスコルビン酸	3,8'-ビアビゲニン	ZUD タンパク質
合成	ロスマリン酸	CYL-26e	レフルノミド	9-(ブリゼミン)ナタ β-アミロイド 代謝産物	9-(Pterisemipinata)由来 タンパク質

ペタイン	ロットレリン	ジアリルビリジン (Diaryl pyridine) 誘導体	メトラニン	カワミドリ (Agastache rugosa) 葉抽出物	合成
デスロラジン LV29およびLY30	サイコサボニン-d DPE	ミダゾラム	アルギ-酸	BMD	
	エボキシノン 抽出物	モモルジン:	ベニクススキタケ (Antrodia camphorata) 抽出物	カルバパル	
MOL 294 **	サンギナリン	メシリ酸 ガベキサート	ハゲキチン (Morinda officinalis) 抽出物	アビゲニン	CGS 25462
ベファブロック	SAm抽出物	ゲリベック	ヒメジソ(Mosla dianthera) 抽出物	アストラガロシドIV	DHMEQ
レイン(Rhein)	スタウロスボリン	ヒドロキノン	オブチアフィクス インゴク(Ornithogalum folios indicum)抽出物	AT514 {セタモリド}	ジルチアゼム
SMI およびFP	セスキテルペン ラクトン	イブプロフェン	プラチゼン サボニン	アトルバスタチン	ダイオキシン
B. IKK活性 およびIkB	スコバロン	IQCAD	ボリミキシンB	ハスカップ(Blue honey suckle)抽出物	ジビリダモール
リン酸化	シリビニン	インドール カルボキサミド	カラタ(Parinirus trifoliae) 果実抽出物	サソリ (Butthus martensi) 抽出物	ジスルフィラム
天然産物	シリマリン	亜硝酸イソチル	プロバイオティクス	カタナジン mEEI	エナラブリル
[6]-ギングロール	スルフォラファン	レスチカンニ量体	プロスタグランジン	キイナゾンド	
1'- アセトキシカビコール アセタート	スリンダク	15- デオキシキスヘルグラン 類似体	レシニコラ トキシン	クラリスロマイシン フルバスタチン	
20(S)- プロトヒナカサトリ オール	テトランジン	メトレキサート	イラクサ (Stinging nettle) 抽出物	サンシュユ (Cornus officinalis) 抽出物	インドール-3- カルビノール
4-	テアラブリン	MLB120	チオベンタール	エリオカリキシンB	ISH-23
ヒドロキシ ノネオール					
アセチル ポスカルヌ	チエノビリジン	モノクロラミン	チビフルニップ	ガングリオンド	KL-1156
アナンダミド	チリアニン	MXR83 (レチノイド)	チタニウム	グルコルチコイド	レフルノミド
アセチル ポスカルヌ	ウルソール酸	抗抜茎葉			
アセチル チリオニン	4-HPR	TNP-470	HP抽出物	レバミゾール	MEB
アピゲニン	ベヌスリノン	ナファモストタッ シメル酸根	經トリコモナス	ヒルスズノン	
毛蓮蒿(Artemisia vestita) 1	NSAIDs	TG-リッチ リボタンパク質	ヒト母乳	モキシフロキサシン	
バオガニング	ウィタノリド	PG-1145 (MLN1145)	ウルゾテオキ ニール酸	JM34	オマバトリラート
ベツリソニン	PQD	キサント アンゲロールD	オナモリ(Xanthium strumarium) 抽出物	KIOM-79	R-エトドラク

【図9-3】

(つづき/表3)

ブラックラズベリー 抽出物	ゼルンボン	ビリドオキサジノン 誘導体	β-PETC	レブトマイシンB	ロリラム
フッドレア サボンIV	β-カルボリン	SC-514	S-MSO	ネオマイシン	SC236 (COX-2 阻害剤)
カコスボンギオ ノリドB	γ-マンゴスチン	スキトネミン	β-ラバコン	ヌクリング	トリフルサル
カラグラリン	γ-トコトリエノール	サリル酸ナトリウム	ペプチド	オレゴニン	揮発性麻酔薬
カルダモニン	ペプチド	スタチン(いくつかの)	ベネトラン	OXPAPC	E-NF-κB DNA 結合

カルダモニン	IKB-ペプチド	スルファラジン	VIP	ペオニフロリン	無機結体
カスバロール NEMO CC2-LX ペプチド	スルファラジン 類似体	タンパク質	ファラジン	金属 (クロム、 カドミウム、金、 銅、水銀、 亜鉛、ヒ素)	
コブロトキシン	タンパク質	スルバータ	活性化 タンパク質C	ビペリン	天然産物
シクロ エボシドン デカシシン	アンチトロンビン II	サリドマイド	HSP-70	ビタバスタチン	
デヒドロ ゴナドロビン	TH152	インターロイキン-13	キキヨウ(Platycodi radix)抽出物	アクチノダフィン	
デヒドロ エヌクルビン	FHT	YC-1	静注免疫グロブリン (Intravenous Ig)	アントシアニン	
デキサバニノール NB-EGF	その他	Murri遺伝子	ラバマイシン (Aronica montana)抽出物	アルニカ(Arnica montana)抽出物	
ジギキシン	細胞 増殖因子	鈴	神経線維腫症- 2-タンパク質	ダイオウ (Rhubarb)	
ジオスゲニン	インターフェローネー [†]	絶度 低体温療法	PACAP	水性抽出物	
ジテルベニン	インターロイキン-10	生理食塞性水(低Na ⁺)	SAfF	SH 抽出物	パンパラマメ
ドコサヘキサ エニ	PAN1	C. IKB分解	ST2(IL-1様 受容体)	セレノメチオニン	β-ラバコン
フルカルリンドール PTEN	天然産物	α-MSH	シェンフ(Shenfu)	ビリベルジン	
フルカルリンドール PTEN	SOCS1	5'- メチルオ アデノシン	ソラクルタミル スティン	ソラクル	(Brazilian)
フロナフトキノン	ウイルス タンパク質	イワモギ (Artemisia iwayamogi)	細菌/ウイルス タンパク質	ソボングサン	カルシトオリール
ガルシノンB	アデノウイルス	アラクロール	K1L(フクシニア ウイルス タンパク質)	ナカマド	カンプトテシ
セレバノンダンダングサ (Glossyne tenuifolia)抽出物	コタクンバク質 (0型肝炎ウイルス)	アメントラボン	Nef(HIV-1)	スルボンジア (Sutherlandia frutescens)	
グリジン クロミン	サイトメガロ ウイルス	ベニクスノキタケ (Antrodia camphorata) #	Vpuタンパク質 [HIV-1]	トリクロサンプラス CPC	
グリジンテロノ	E7 (ハイドローマ ウイルス)	カワヨモギ (Artemisia capillaries)	YopJ	カブシケ	
ハービマイシンA	MC159	アウクビン	合成	α-ビネン	キャッソクローバー

【図9-4】

(つづき/表3)

ホノキオール	MC160	バイカレイン	I- プロモプロバン	ペプチド	チエオジエオル サセウタング (Cheongyeol-saseutang)
ヒポエストキンド	NSS8 (Hep-C ウイルス)	ブラックベリー 抽出物	アセト アミノフェン	NCP	キツサン
インジルビン-3- オキシム	vIRF3 (KSHV)	ブチシタング (BuChang-tang)	ジアミド	PN50	チコリーの根
イソラキシチゲニン 合成分	合成分	カブサイシン	ドブタミン		CSPD
クラリスロマシン	AIM2	ラキフェラスト	E- プロテアソーム/ プロテアーゼ	マンゴー樹皮 (Mangifera indica bark)	
クロリクロメン	アンジオボテンチ-1	リバビリン	天然	抽出物	
C-K および Rh(2)	抗トロンビン	リファミド	シクロスボリン A	マンギフェリン	
ケイヒ (Cortex cinnamomi)	Avra1 タンパク質	リトナビル	ラクタシチン	メトラニン	
抽出物	(サルモナラ)	ロシグリタゾン	β-ラクton	Mn-SOD	
クリブリタンシノ ン	β-カテニン	ロキシスロマイシン	ペプチド	マルベリー アントシアニン	
サイトカラシンド	プロメライン	DAAS	AlInI	ミリセチン	
黒米抽出物	CaMKK	セロトニン 誘導体	LLM	N-アセチル-L- システイン	
ダンセンス	CD43	シエンバスタチン	ユビキチン リガーゼ	ナシセリン	
ジテルベノイド	FLN29	SM-7368**	Z-LLL	ナリンギン	
Ent-カウレン ジテルベノイド	FLIP	T-614	Z-LlnV	N-エチル- マレイミド	
エビナステチン	G-120	スルファラジン	合成	ニトロソ グルタチオン	
エボキシキノールA	Gax	SUN C8079	APNE	NDGA	
エリスロマイシン	HIV-1 抵抗性 因子	トリクロサンプラス CPC	ボロン酸 ペプチド	オクナフラボン	
エボジアミン	インターロイキン4	タバコの煙	BTEE	オルトフェナン トロリソ	
フィッシュオイル	SspH1 および IpaH9.8	ペラバミル	3,4- ジクロロイソク マリン	フェニルアルシン オキシド	

【図9-5】

(つづき/表3)

ツリガネタケ (Fomes fomentarius)	NDPP1 (CARD タンパク質)	その他	デオキシ スペルグアリン	PnIP	
抽出物	過剰発現 (Overexpressed ZIP)	熱(熱様)	DFP	コミカンソウ (Phylanthus urinaria)	
フコイダン	pS	高二酸化炭素性アシドーシス (Hypercapnic acidosis)	ジスルフィラム (Thiopental sodium)	PNC	
没食子酸	p202a	高浸透圧	FK506 (タクロリムス)	PTX	
靈芝 (Ganoderma lucidum)	p21 (Rec)	低体温	ボルテゾミブ	ビリチオン	
ガルシノール	PIAS1	アルコール	サリノス ボラミドA	ビロリンジチ オカルバメート	
ゲラニル ゲラニオール	プロ オピオメラノ コルチチン	E.NF-κB トランスクレッセンス活性化	TLCK	ケルセチン	
ギンコライドB	PYPAF1 タンパク質	天然産物	TPCK	キノゾリン	
グリチルリチン	Refキナーゼ 阻害剤	4'-DM-6-Mptox	G 抗酸化物質	レバミビド	
ハロフジノン	タンパク質ウルシ (Rhus verniciflua)	4-	フェニルクマリン ヒドロキシ ウルソール酸	23- 赤ワイン	
ヘマテイン	果実	AHJp	熟成ニンニク 抽出物	酸化還元因子I	

【図9-6】

(つづき/表3)

ハーブ 化合物 861	SLP(アデノシン	アнетール ジオールチオン	レスベラトロール	
ヒドロキシエチル デンプン	Siah2	c-AMP	アボシニン	朝鮮人参 (Ginseng) 誘導体	
ヒドロキシエチル ブエラリン	SIRT1	モリヨモギ デアセチラーゼ	リングジュース/ 抽出物	ロチノン	
ヒペリシン	過剰発現	ビードバクテリア (Bifidobacter ia)	アルクチゲニン	ロキシスロマイシン	
カメバカウリン	Siva-1	ブルーベリーおよび ベリー混合物 (Blueberry & berry mix)	アレテミサ (Artemisia) pIf	S-アリル- システィン	
リノール酸	イヌホオズキ (Solanum nigrum L.)	BSASM	アスタキサンチン	サリキノン	
紫根 (Lithospermum radix)	サーファクタント タンパク質A	BF	ベニジビン	スピロノラクトン	
マクロライド系 抗生素質	Tom1	cPrG.HC 過剰発現	ビス-オイゲノール	イチゴ抽出物	
地中海植物 (Mediterranean plant)	トランジンドミナント 根 (50)	海藻抽出物	B6化合物	タキシフォリン	
抽出物	ウテログロビン	トウガシ (Fructus benincaseae) 抽出物	BHA	テンポール	
2- メトキシエストラ ジオール	VEGF	グルコルチコイド	CAPE	テボキサリン	
6-MITC	合成	ギベニシド XLIX	カルノソール	tert-ブチル- ヒドロキノン	

ニコチン	ADP リボシル化 阻害剤	カメの甲羅 リジームゼリー (Kwei Ling Ko) 3	カルベジロール	テトラサイクリックA	
オクナマクロカリクス 樹皮 (Ochna macrocarpa bark)	7-アミノ-4- メチルクマリン	LD根 (LC root)	カテコール 誘導体	ビタミンB6	
抽出物 (ext.)	アミノン	ルテオリン	セラステロール	ビタミン C	
オリドニン	アーロバスタット (Atrobastat)	マナナンチン A, B	セファランチン	ビタミン D	
PC-SPEs (8種類の ハーブの混合物)	ベンゾフォアミン ベンゾフタミン	M1樹皮 (M1 bark)	クロロゲン酸 抽出物	ビタミンE 誘導体	
PGG	ベンズアミド	メストール	クロロフィリン	オウゴニン	
ペブルアノン	ビスフェノールA	ノビレチン	カカオ ポリフェノール	キサントフモール	
キダチコミカンソウ (Phyllanthus amarus)	カプロフェン	ホモール	クルクミン	ヤクチノンB	
抽出物	カルボシピチン	サイシン	DHEA	α-リボ酸	
植物 化合物A	セレコシップ 清開露 (Qingkailing)	DHEAフルフォート		α-トコフェロール	
ポリオゼリン	ゲムシタピン	サウザンネオルB およびUE	デヒドロ エボジアミン	α-トルフル酢酸エステル (α-tropolyl acetate)	
ブレニル	シンナムアルデヒド (Shuanghuanglian) #	デメル		α-トルフル酢酸エステル (α-tropolyl acetate)	

【図9-7】

(つづき/表3)

プロスタークリン E2	2-メトキシ CNA	スマラクス・ボキー (Smilax bractii) 抽出物	ジエチルジオ ゲノール	β-カロテン	
PSK	2-ヒドロキシ CNA	トリリノレイン	デフェロキサミン (Diferoxamine)		
キナ酸	CDS	キヤツツクロー (Uvaria tomentosum) 抽出物	ジヒドロイソオイ ゲノール		
サンゲノンC	CP 化合物	WS抽出物 (WS extracts)	ジヒドロリボ酸		
セサミン	シアノグアニジン	ウォルトマンニン	ジラゼブ		
Shen-Fu	HMP	α-ゼアラレノール	フェノフィブリン 酸		
シリビニン	α- ジフルオロ メチオルニチン	ウイルスタンバク質	DMDTC		
シメニン	DTD	BZLF1 (EBV タンパク質)	ジメチル スルホキシド		
フリソイノモトソウ (Sword brake fern)	エバンスブルー	SH850子 産物 (MV)	ジスルフィラム		
抽出物	フェノルドバム	抗トロンビン	エダラボン		
タンシーノ	FEX	NF-κB- 抑制因子	EGTA		
タウリジン ナイシン	フィラート PfAS3	EPC-K1			
T2D MCC-555	FK778	PTX-B	エビガロカテキン- 3-ガレート		
トリコスタチンA	フルニキシン メグルミン	合成	エルゴチオネイン		
トリブトリド	フルル	17-AAG	ビルビン酸 エチル		
チルホスチン AG-126	ヒドロキノン	TMFC	雪芝		
ウルソール酸	IMD-0354	AQC 誘導体	多糖		
ヴィザフェリンA	iSH-21	9- アミノアクリジン	ガルシノール		
キサンフトモール	KT-90	誘導体	γ-グルタミル システィン 合成酵素		
キシリトール	ロバスタチン	クロメン 誘導体	イチョウ (Ginkgo biloba) 抽出物		

【図9-8】

(つづき/表3)

Yan-gan-wan#	メルカブト ビラジン	D509	グルタチオン		
Yin-Chen- Hao#	メビリノン; ジメチル	フル酸 ジメチル	ヘマテイン		
ユッカシジゲラ (Yucca schidigera)	フル酸 モノエチル	EMDPC	ヒドロキノン		
抽出物	モキシ フロキサン	ヒスチジン	ヒドロキノン		
ペブチド					
グレリン	ニコラジン	HIV-1 PI	IRF1 042		
ペブチドYY	ニルババシン	メラミン	鉄チカラキス		
ラバマイシン	NO-ASA	PEITC	イソビテキシン		
ウイルス	バネボクシドン	ブルンカスト	冠元颗粒 (Kangen- karyu) 抽出物		
タンパク質	アフリカフタ コレラライスル	ペブチド核酸	R031-8220 (PKC)	ケタミン	
センダイウイルス C、Vタンパク質	ペリンドブリル 阻害剤			ラシジビン	
E1B (アデノウイルス)	PAD	SB203580 (MAPK 阻害剤)	ラザロイド		
ICP27 (HSV-1)	α-PBN	テトラオキ モリブデート	L-시스ティン		
H4/N5	ビオグリタゾン	トランニスト	リゴンベリー		
NS3/4A (Hep- C)	ビルフェニドン	トクダグリタゾン	ルベオール		
タンパク質	PNO	その他	マグノロール		
アディボネキチン	キナブリル (Quinadri)	低重力	マルトール		

【図 10 - 1】

(表4)

NF _x B 阻害剤	名称またはCAS番号
MG 132	N-[{(フェニルメトキシ)カルボニル]-L-ロイシル-N-[(S)-L-ホルミル-3-メチルブチル]-L-ロイシンアミド
TPCA-1	2-[(アミノカルボニル)アミノ]-5-(4-フルオロフェニル)-3-チオフェンカルボキサミド
PCTC	ピロリジンジオカルバミン酸アンモニウム
JMD Q354	N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル]-5-クロロ-2-ヒドロキシベンズアミド
ルテオリン	2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-5,7-ジヒドロキシ-4H-1-ベンゾピラン-4-オン
カフェ酸フェニルエチル / CAPE	3-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-2-プロベン酸-2-フェニルエチルエチル
カルダモン	(2E)-1-(2,4-ジヒドロキシ-6-メトキシフェニル)-3-フェニル-2-プロベン-1-オン
PP 184	8-[[[5-クロロ-2-[3,4-ジメチル-3,4-ビス(ヒドロキシメチル)-1-ヒドロキシ]ジメチルエチル]-4-ビリジニル]カルボニルアミノ]-1-(4-フルオロフェニル)-4,5-ジヒドロ-3H-ベンズ[e]インダゾール-3-カルボキサミド
IKK 16	N-(4-ピロリジン-3-イル-ビペリジン-1-イル)-[4-(4-ベンゾ[b]チオフェン-2-イル-ビリジン-2-イルアミノ)フェニル]カルボキサミド塩酸塩
SC S14	4-アミノ-[2' 3'-ビチオフェン]-5-カルボキサミド
ウイザフェリンA	(4β, 5β, 6β, 22R)-5, 6-エボキシ-4, 22, 27-トリヒドロキシ-1-オキシエルゴスト-2, 24-ジエン-26-酰-6-ラクトン
アルクチゲニン	(3R, 4R)-4-[(3, 4-ジメチルキシフェニル)メチル]ヒドロ-3-[(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)メチル]-2(3H)-フラン
Bay 13-7085	(2E)-3-[[4-(1, 1-ジメチルエチル)フェニル]スルホニル]-2-プロベンニトリル
PSI	N-[{(フェニルメトキシ)カルボニル]-L-イソロイシル-L-α-グルタミル-tert-ブチルエチル-N-[(S)-L-ホルミル-3-メチルブチル]-L-アラニンアミド
PR 39 {ブタ}	Arg-Arg-Arg-Pro-Arg-Pro-Pro-Tyr-Leu-Pro-Arg-Pro-Pro-Pro-Pro-Phe-Pro-Pro-Pro-Arg-Phe-Pro-Pro-Arg-Phe-Pro-NH ₂
Ro 106-9920	6-(フェニルスルフィニル)テトラゾロ(1, 5-b)ビリジン
Bay 13-7821	(2E)-3-[(4-メチルフェニル)スルホニル]-2-プロベンニトリル

【図 10 - 3】

(つづき/表4)

Bay 13-7085	CAS # 196309-76-9
3,4-ジヒドロキシケイ皮酸エチル	CAS # 66648-50-8
ヘレナリン(Helalain)	CAS # 6754-13-8
NF-κB活性化阻害剤II、JSH-23	CAS # 749885-67-1
グルココルチコイド受容体 モジュレーター、CpdA	CAS # 14593-25-0
PPM-18	CAS # 65240-85-0
アスピリン	CAS # 50-78-2
LASAG	Lys-Gly-アセチルサリチル酸塩(LG-アセチルサリチル酸塩とも呼ばれる)、D,L-リジンジアセチルサリチル酸塩グリシン、LG-ASAも参照されたい
ピロリジンジオカルバミン酸 アンモニウム塩	CAS # 5108-96-3
(R)-MG132	CAS # 1211877-36-9
ロカグラミド	CAS # 84573-18-0
サリチル酸ナトリウム	CAS # 54-21-7
QNZ	CAS # 545380-34-5
PS-1145	CAS # 431898-65-6
CAY10512	CAS # 139141-12-1
クルクミン(合成)	CAS # 456-37-7
LG-ASA	Lys-Gly-アセチルサリチル酸塩(LG-アセチルサリチル酸塩とも呼ばれる)、D,L-リジンジアセチルサリチル酸塩グリシン、LASAGも参照されたい
ボルテゾミブ	<p>(1R)-3-メチル-1-[(2S)-3-フェニル-2-[2-(2-ビラジニルカルボニル)-アミノ]プロパノイル]アミノ]プロパノイル(borsaure)</p>

【図 10 - 2】

(つづき/表4)

ML-130	1-[(4-メチルフェニル)スルホニル]-IH-ベンズイミダゾール-2-アミン
セラストロール	(9β, 13α, 14β, 20α)-3-ヒドロキシ-9, 13-ジメチル-2-オキソ-24, 25, 26-トリノルオレアナ-1(10), 3, 5, 7-テトラエン-29酸
タンシノンIIA	6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-1, 6, 6-トリメチルフェナントロ[1, 2-h]フラン-10, 11-ジオン
HU 211	(8aS, 10aS)-3-(1, 1-ジメチルエチル)-6a, 7, 10, 10a-テトラヒドロ-1-ヒドロキシ-5, 6-ジメチル-6H-ジベンゾ[b, d]ピラン-9-メタノール
グリオトキシン	(3R, 5S, 6S, 10aR)-2, 3, 5a, 6-テトラヒドロ-5-ヒドロキシ-3-(ヒドロキシメチル)-2-メチル-10H-10a-エジチオピリジン(epithiopyrezo) [1, 2, a] インドール-1, 4-ジオン
CID 2858S22	I-[5-ビス(1, 1-ジメチルエチル)-4-ヒドロキシフェニル]-2-[2-[3-ヒドロキシプロピル]アミノ]-5, 6-ジメチル-IH-ベンズイミダゾール-1-イル]-エタノン
ホノキオール	5, 3'-ジアリル-2, 4'-ジヒドロキシピフェニル
アンドログラホリド	(3E, 4S)-3-[2-[(R, 4aS, 5R, 8aS)-デカヒドロ-6-ヒドロキシ-5-(ヒドロキシメチル)-5, 8a-ジメチル-2-メチレン-1-ナフタリニル]エチデン]ジヒドロ-4-ヒドロキシ-2(3H)-フラノン
10Z-ヒメニアルジシン	(4Z)-4-(2-アミノ-1, 5-ジヒドロ-5-オキソ-4H-イミダゾール-4-イリジン)-2-ブロモ-4, 5, 6, 7-テトラヒドロピロロ[2, 3-c]アゼビン-8(IH)-オノン
ACHP	2-アミノ-6-[2-(シクロプロピルメトキシ)-6-ヒドロキシフェニル]-4-(4-ビペリジル)-3-ビリジンカルボニトリル
プリステメリン	(9β, 13α, 14β, 20α)-3-ヒドロキシ-9, 13-ジメチル-2-オキソ-24, 25, 26-トリノルオレアナ-1(10), 3, 5, 7-テトラエン-29-酸メチルエチル
スルフサラジン	5-[4-(2-ビリジンスルファモイル)フェニル]アゾ(ezo)サリチル酸
ML 1208 ジヒドロクロリド	N-6-クロロ-2-メトキシ-9H-ビリド[3, 4-b]インドール-8-イル]-2-メチル-3-ビリジンカルボキサミドジヒドロクロリド
アンレキサノクス	2-アミノ-7-(1-メチルエチル)-5-オキソ-5H-[1]ベンゾピラノ[2, 3-b]ピリジン-3-カルボン酸
9-メチルスルトレチミド	CAS # 51867-94-8
N-ステアロイルフットスフィンゴシン	CAS # 34354-88-6
2-(1, 8-ナフチリジン-2-イル)-フェノール	CAS # 85182-56-1
5-アミノサリチル酸	CAS # 89-57-6

【図 10 - 4】

(つづき/表4)

クルクミン	<p>IE, 6D-1, 7-ビス(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-ヘpta-1, 6-ジエン-3, 5-ジオン</p>
アスピリン	<p>アセチルサリチル酸</p>
サルサレート	<p>2-(2-ヒドロキシベンゾイル)オキシ安息香酸</p>
レスベラトロール	<p>3, 5, 4'-トリヒドロキシ-4'-trans-stilbene</p>
デオキシベルグアリン	<p>C₂₂H₂₆N₆O₁₂</p>
スリンダク	<p>[1Z]-5-フルオロ-2-メチル-1-[4-(メチルスルフィニル)ベンジリデン]-1H-インデン-3-イル酢酸</p>

【図10-5】

(つづき/表4)

サリドマイド	
AGRO-100	AS1411としても知られている
CHS 828	

【図11-1】

(表5)

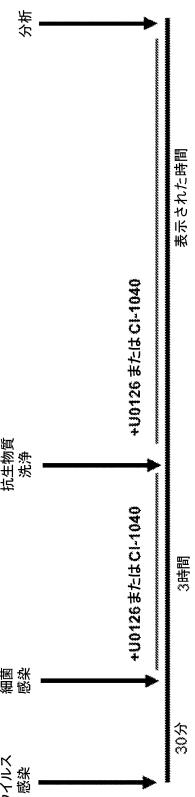
抗生物質クラス	一般名
アミノグリコシド	アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、トブライマイシン、パロモマイシン、スペクチノマイシン
アンサマイシン	ゲルダナマイシン、ハーピマイシン、リファキシミン、ストレプトマイシン
カルバペネム	ロラカルペフ
カルバペネム	エルタベネム、ドリベネム、イミベネム/シラスタチン、メロベネム
セファロスボリン (第一世代)	セファドロキシル、セファゾリン、セファロチン (Cefalothin) またはセファロチン (Cefazolin)、セファレキシン
セファロスボリン (第二世代)	セファクロル、セファマンドール、セフォキシム、セフロジル、セフロキシム
セファロスボリン (第三世代)	セフィキシム、セフジニル、セフジレン、セフォベラゾン、セフォタキシム、セフボドキシム、セフタジム、セフチフテン、セフチソキシム、セフトリアキソン
セファロスボリン (第四世代)	セフェビム
セファロスボリン (第五世代)	セフタリオリンオサミル、セフトビプロール
糖ペプチド	テイコブランニン、パンコマイシン、テラバンシン
リンコサミド	クリンダマイシン、リンコマイシン
リポペプチド	ダブトマイシン
マクロライド	アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、トロレアンドマイシン、テリスロマイシン、スピラマイシン
モノバクタム	アズトロナム
ニトロフラン	フラゾリドン、ニトロフラントイソ
オキサゾリジン(Oxazolidinone)	リネブリド、ボシリド、ラデソリド、トレブリド
ベニシリン	アモキシリン、アンピシリン、アズロシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フルクロキサシリン、メスロシリン、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、ベニシリング、ベニシリングV、ビペラシリン、ベニシリング6、テモシリン、チカルシリン

【図11-2】

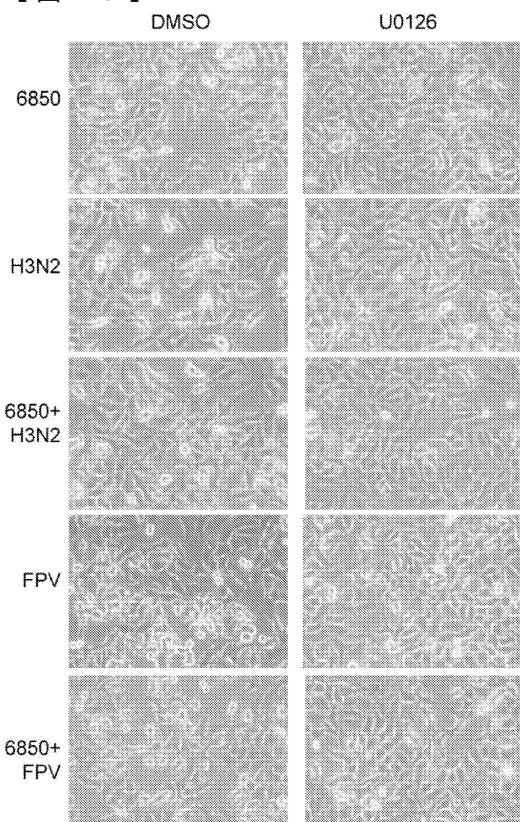
(つづき/表5)

ベニシリン 組み合わせ	アモキシリン/クラブラン酸、アンピシリン/スルバクタム、ビペラシリン/ タゾバクタム、チカルシリン/クラブラン酸
ポリペプチド	バシトラシン、コリスチン、ポリミキシൻB
キノロン/ フルオロキノロン	シプロフロキサシン、エノキサシン、ガチフロキサシン、ゲミフロキサシン、レボフロキサシン、 ロメフロキサシン、モキシフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、 トロバフロキサシン、グレバフロキサシン、スバルフロキサシン、テマフロキサシン
スルホンアミド	マフェニド、スルファセキド、スルファジアジン、スルファジアジン銀、スルファジメトキシン、 スルファメチゾール、スルファメトキサゾール、スルファンイルイミド(初期)、スルファサラジン、 スルファイソキサゾール、トリメトブリム-スルファメトキサゾール(コトリモキサゾール) (TMP-SMX)、スルホンアミドクリリソジン(初期)
テトラサイクリン	デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン
リソスタフィン	スタフィロコッカス・シミュラヌス (Staphylococcus simulans) メタロエンドペチダーゼである。 これは黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) に対する抗生物質として機能することができる。

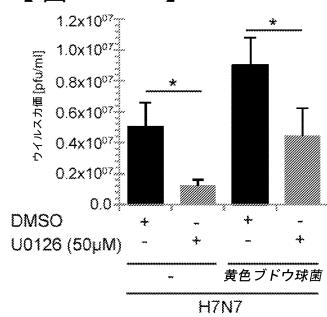
【図12】



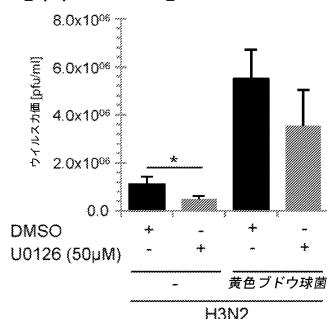
【図13】



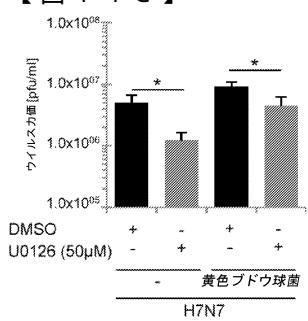
【図14 A】



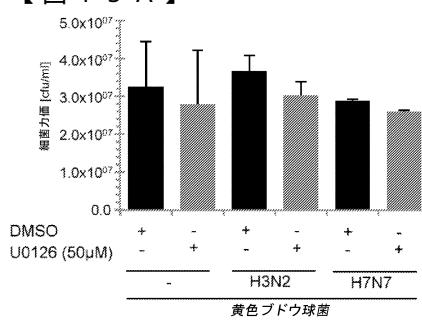
【図14 B】



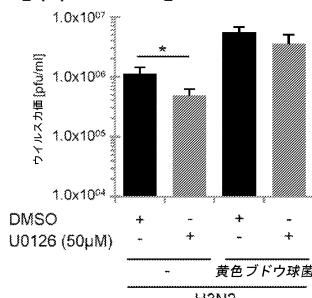
【図14 C】



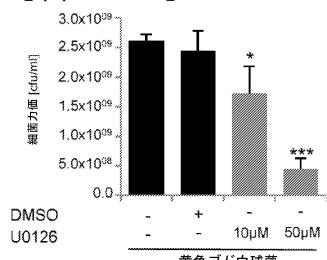
【図15 A】



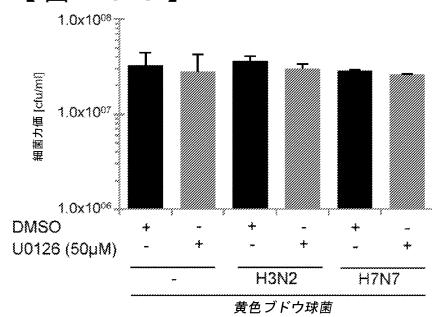
【図14 D】



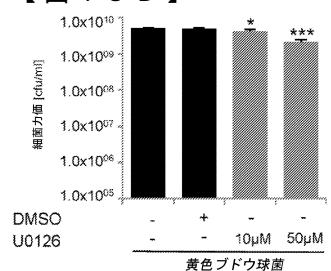
【図15 B】



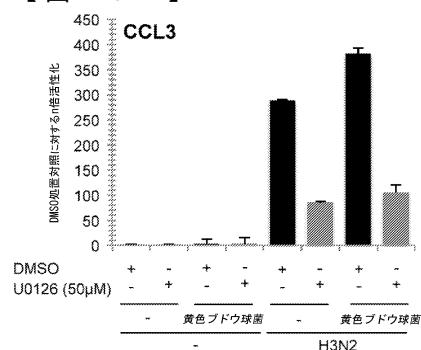
【図15C】



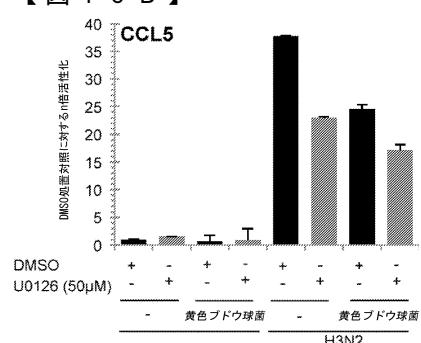
【図15D】



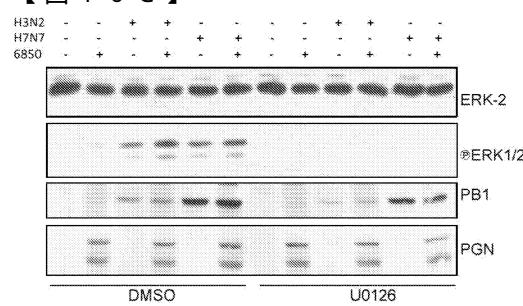
【図16A】



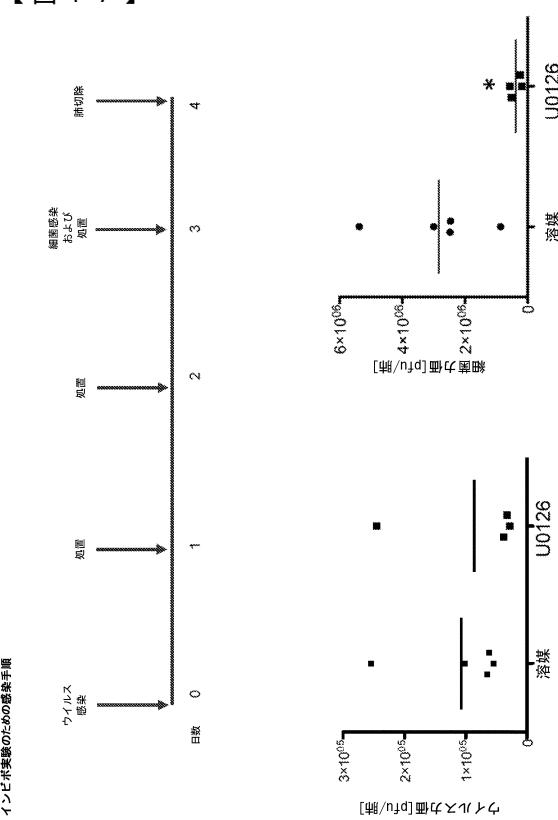
【図16B】



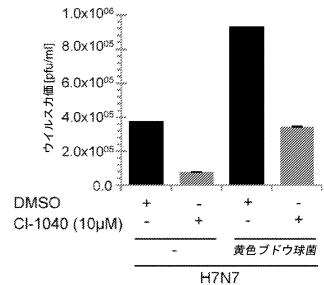
【 四 1 6 C 】



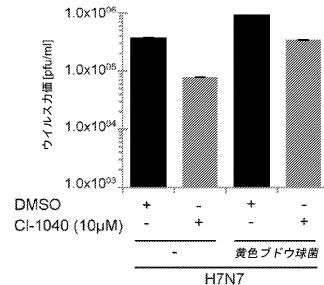
【 図 1 7 】



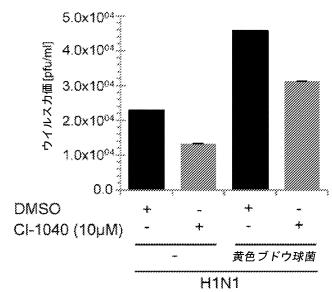
【図 18 A】



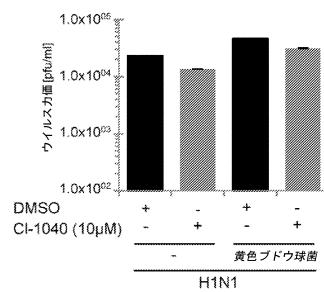
【図 18 C】



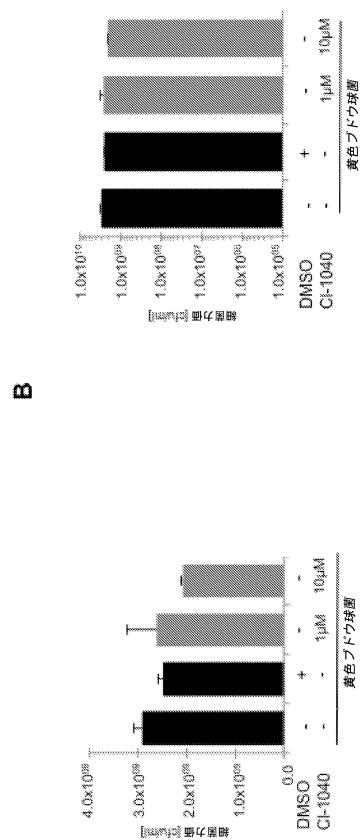
【図 18 B】



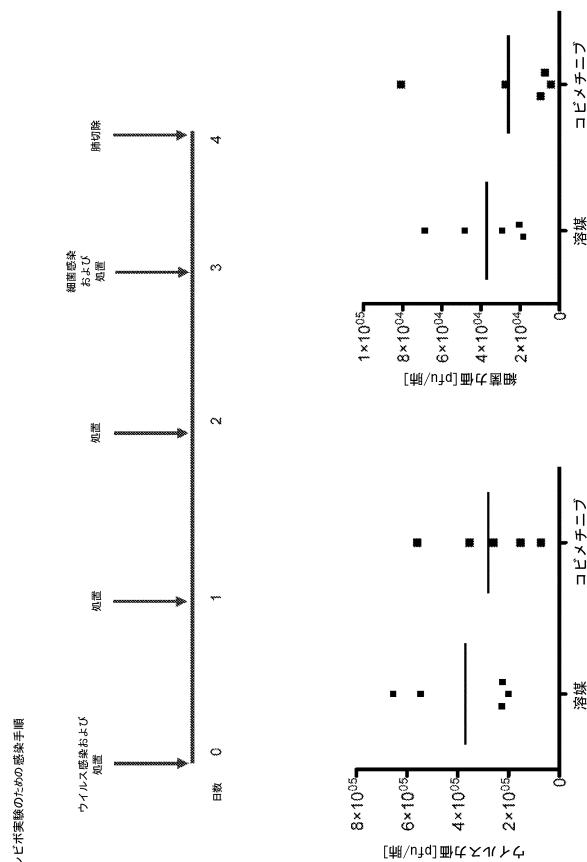
【図 18 D】



【図 19】



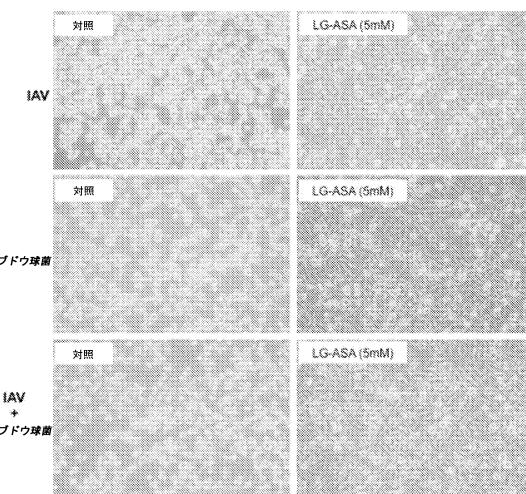
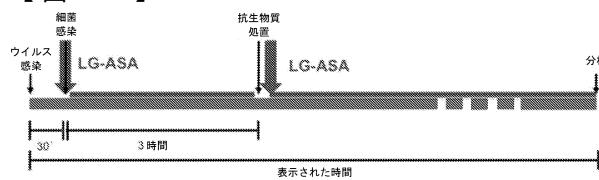
【図 20】



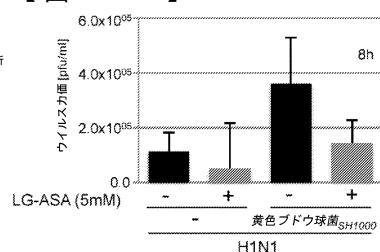
A

インビタモリウスマウスの感染手順

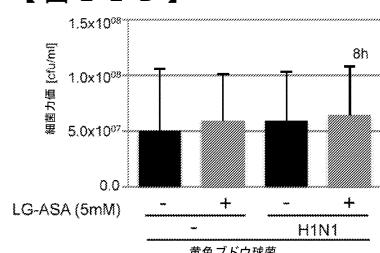
【図21】



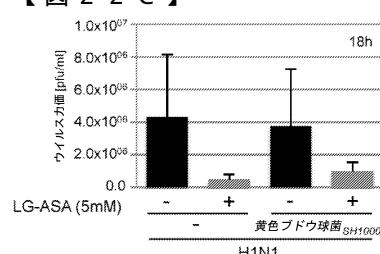
【図22 A】



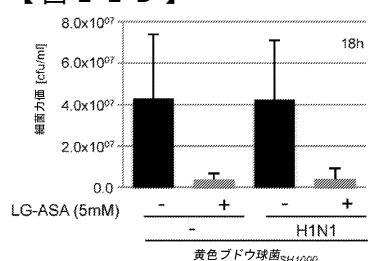
【図22 B】



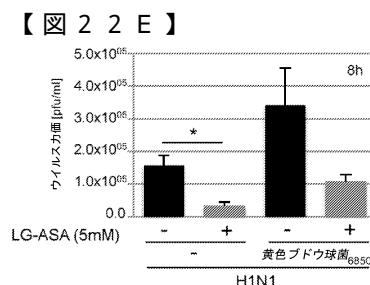
【図22 C】



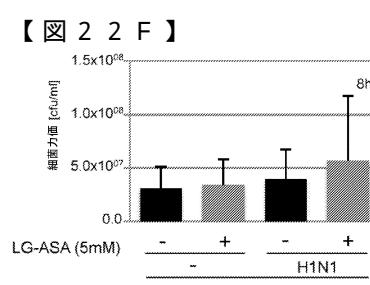
【図22 D】



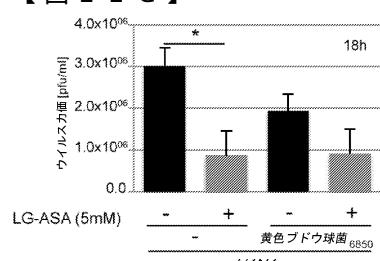
【図22 E】



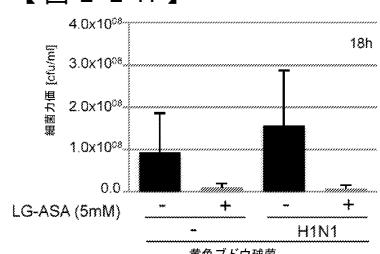
【図22 F】



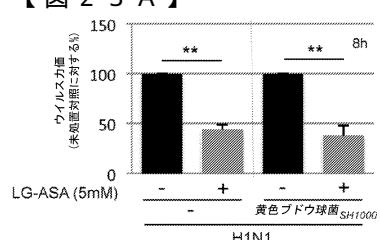
【図22 G】



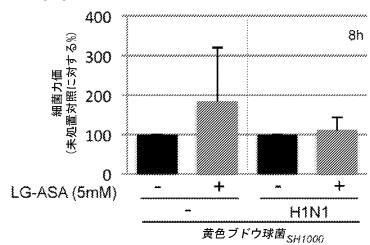
【図22 H】



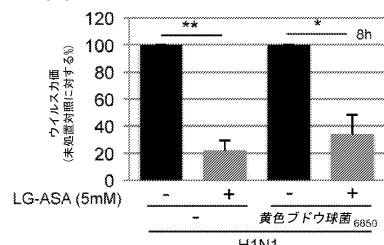
【図23 A】



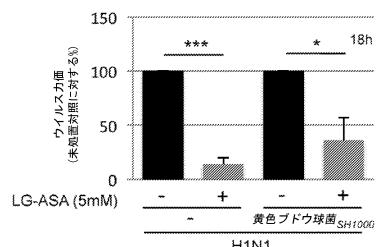
【図 2 3 B】



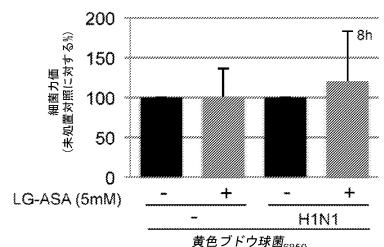
【図 2 3 E】



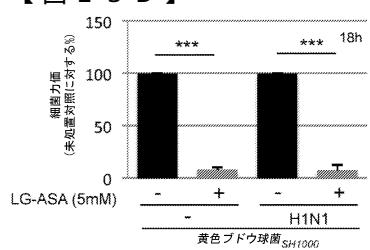
【図 2 3 C】



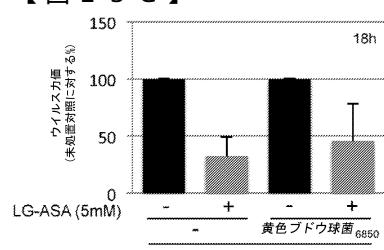
【図 2 3 F】



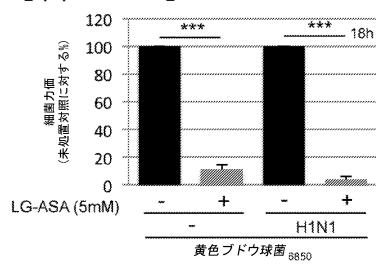
【図 2 3 D】



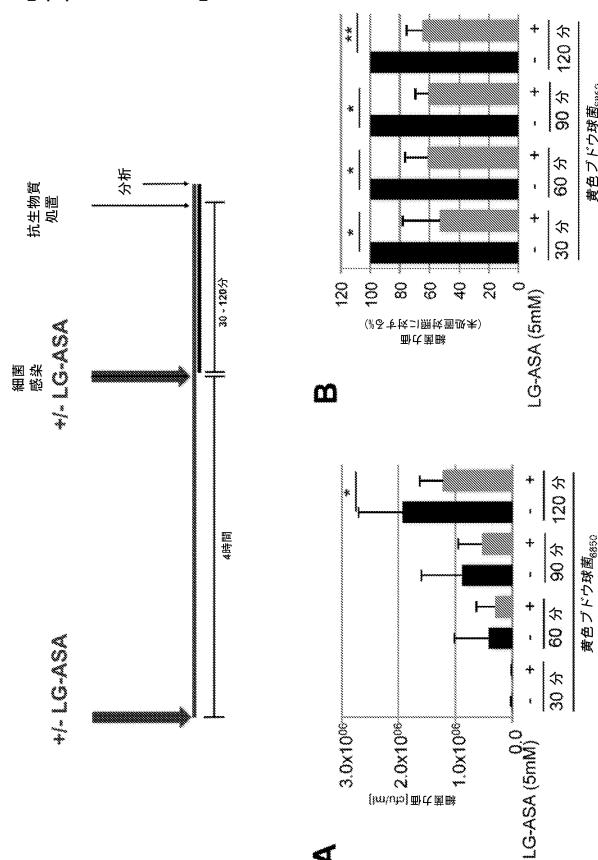
【図 2 3 G】



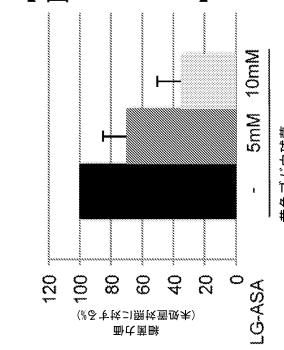
【図 2 3 H】



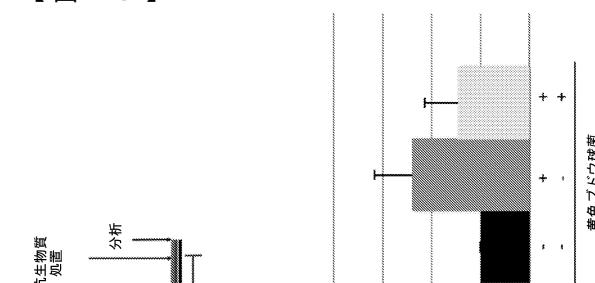
【図 2 4 - 1】



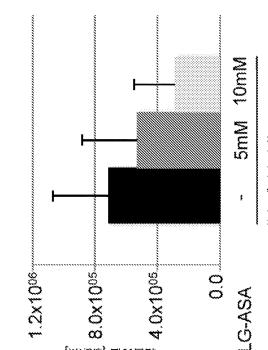
【図 2-4-2】



【図 2-5】

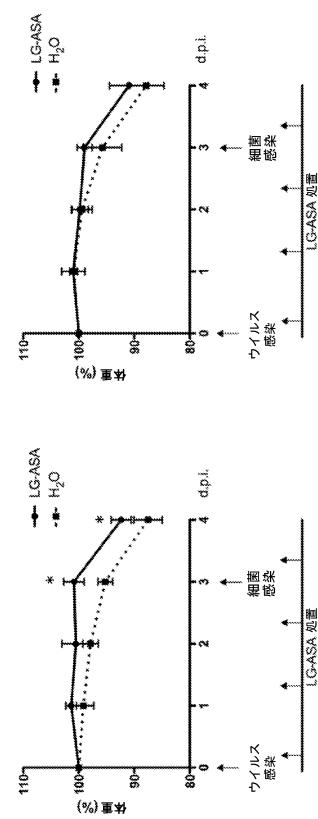


D



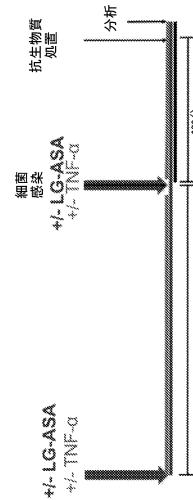
C

【図 2-6】

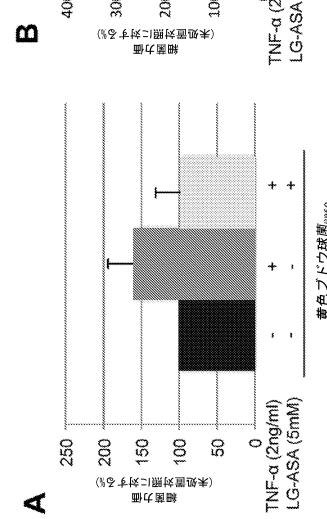


A

B



A



黄色ブドウ球菌 USA300

【配列表】

0006818676000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1

(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
 (74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
 (74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
 (74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
 (74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
 (74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
 (74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
 (72)発明者 エアハルト クリストイーナ
ドイツ連邦共和国 4 8 1 5 9 ミュンスター ガッセルシュティーゲ 4 4
 (72)発明者 ルートヴィヒ シュテファン
ドイツ連邦共和国 4 8 1 6 1 ミュンスター フォン エスマルヒ シュトラーセ 5 6

審査官 横田 優子

(56)参考文献 特表2 0 1 1 - 5 0 9 9 2 8 (J P , A)
 特開2 0 0 7 - 0 5 5 9 8 3 (J P , A)
 特表2 0 0 6 - 5 1 4 0 8 0 (J P , A)
 LUDWIG S , MEK INHIBITION IMPAIRS INFLUENZA B VIRUS PROPAGATION WITHOUT EMERGENCE OF RESISTANT VARIANTS , FEBS LETTERS , NL , ELSEVIER , 2 0 0 4 年 3 月 1 2 日 , VOL:561, NR:1-3, , PAGE(S):37 - 43 , U R L , [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793\(04\)00108-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793(04)00108-5)
 BORGELING Y , INHIBITION OF P38 MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE IMPAIRS INFLUENZA VIRUS-INDUCED PRIMARY 以下備考 , JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY , AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS , 2 0 1 3 年 1 1 月 4 日 , VOL:289, NR:1, , PAGE(S):13 - 27 , AND SECONDARY HOST GENE RESPONSES AND PROTECTS MICE FROM LETHAL H5N1 INFECTION / MOLECULAR BIOLOGY , U R L , <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M113.469239>
 J Infect Chemother. , 2014 Jan. , Vol.20, p71-73
 J Infect Dis. , 2011, Vol.203, p.880-888
 呼吸器内科 , 2012, Vol.22 No.6, p.561-566
 KYROS IPAKTCHI , TOPICAL P38 MAPK INHIBITION REDUCES BACTERIAL GROWTH ON BURN WOUNDS IN AN IN VIVO BURN MODEL , NIH-PA AUTHER MANUSCRIPT , NIH PUBLIC ACCESS INTRODUCTION , 2 0 0 8 年 7 月 1 日 , P1-14 , U R L , <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2000830/pdf/nihms27502.pdf>

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

A 6 1 K 4 5 / 0 0
 A 6 1 P
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

(58)

JP 6818676 B2 2021.1.20

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)