

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 96134875

A61k 31/575 (2006.01)

※ 申請日期： 96.9.19

※IPC 分類： C07J 9/00 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

使用LXR拮抗劑於治療骨關節炎

USE OF LXR AGONISTS FOR THE TREATMENT OF OSTEOARTHRITIS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

惠氏公司 / WYETH

代表人：(中文/英文)

卡南 威廉 H. / CALNAN, WILLIAM H.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國紐澤西州麥迪遜市·吉拉達農場 5 號

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

美國 / U.S.A.

三、發明人：(共 5 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 納格帕 桑尼爾 / NAGPAL, SUNIL
2. 楊志永 / YANG, ZHIYONG
3. 莫里斯 伊莉莎白 / MORRIS, ELISABETH
4. 拉瓦里 艾德華 R. / LAVALLIE, EDWARD R.
5. 柯林斯-拉賽 莉莎 A. / COLLINS-RACIE, LISA A.

國 籍：(中文/英文)

- 1.-5. 美國 / U.S.A.

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為：。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國、 2006/09/19、 60/845,576

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

發明領域

本發明係關於用LXR激動劑來治療或預防骨關節炎的方法。

【先前技術】

發明背景

骨關節炎，也被知道為退化性關節疾病，係特徵在於關節軟骨的退化以及軟骨下方硬骨的增殖和重塑。通常的症狀是僵硬、動作的限制，以及疼痛。骨關節炎是關節炎最常見的形式，以及盛行的速率隨著年齡而顯著地增加。

現行的骨關節炎治療方法包括運動、藥物、休息以及關節照顧、手術疼痛的緩解技術、任擇的療法，和體重控制。普遍地被使用於治療骨關節炎的藥物包括非類固醇抗炎藥物(NSAIDs)，舉例而言：阿斯匹靈，依普芬(ibuprofen)，那普洛辛鈉(naproxen sodium)，可多普洛非(ketoprofen)；直接地塗於皮膚之局部的緩解疼痛的乳膏，按摩，和噴霧(舉例而言，辣椒素(capsaicin)乳膏)；皮質類固醇，典型地被注射至受侵襲的關節內以暫時地緩解疼痛；以及透明質酸。手術可以被執行以替骨骼鋪設新表面(smooth out)，使骨骼復位，以及取代關節。縱然各種各樣的藥物已經被使用於治療此疾病，其等對於長期的控制和預防不是有效的。

肝X受體(LXRs)，原來自肝被鑑定為孤兒受體，是核

激素受體超級家族的成員以及已經被發現是巨噬細胞發炎基因的表現之負向的調節子(見公開的美國專利申請案案號 2004/0259948 ; Joseph SB 等人 , Nat. Med. 9:213-19 (2003))。LXR是配體-活化的轉錄因子以及結合至 DNA作為維生素A酸類(retinoid) X受體之義務的異種二聚體。雖然LXR α 被侷限於某些組織, 如: 肝、腎、脂肪、小腸, 和巨噬細胞, LXR β 顯現出一種普遍存在的組織分佈形態。巨噬細胞內藉由氧化類固醇(內生的配體)之LXR的活化導致數種涉及脂質代謝和反向膽固醇運輸之基因的表現, 包括 ABCA1, ABCG1, 和缺輔基脂蛋白E。

【發明內容】

發明概要

一種態樣是關於一種用於一種罹患骨關節炎的哺乳動物之治療的方法, 其包含投藥一種LXR-反應性基因表現-誘導量的一種LXR激動劑至需要其之哺乳動物。

另一種態樣是關於一種誘導一種具有骨關節炎的軟骨之哺乳動物體內的缺輔基脂蛋白D的表現的方法, 其包含投藥一有效量的一種LXR激動劑至需要其之哺乳動物。

一種另外的態樣係關於一種預防骨關節炎的方法, 其包含: (a)決定一個個體的正常的軟骨內之一基線缺輔基脂蛋白D的表現位準; 以及(b)經由以LXR激動劑的治療維持該個體的軟骨內之基線缺輔基脂蛋白D的表現位準。

一種額外的態樣是關於一種用於一種罹患骨關節炎的哺乳動物之治療的方法, 其包含投藥一種聚蛋白多醣酶

(aggrecanase)活性-抑制量的一種LXR激動劑至需要其之哺乳動物。

一種另外的態樣是關於一種抑制一種具有骨關節炎的軟骨之哺乳動物體內的聚蛋白多醣酶的活性之方法，其包含投藥一有效量的一種LXR激動劑至需要其之哺乳動物。

另一種態樣係關於一種用於一種罹患骨關節炎的哺乳動物之治療的方法，其包含投藥一有效量的一種LXR激動劑至需要其之哺乳動物以抑制骨關節炎的損害內的前發炎細胞激素的精緻化(elaboration)。

一種額外的態樣係關於一種偵測一個個體內的一種骨關節炎表現型的方法，其包含：(a)決定一個正常的軟骨內之一基線缺輔基脂蛋白D的表現位準；(b)獲得來自一個被懷疑具有骨關節炎的個體之一種軟骨樣本；以及(c)偵測該樣本中之缺輔基脂蛋白D的表現位準；其中相較於基線缺輔基脂蛋白D的表現，該樣本中一較低量的缺輔基脂蛋白D的表現係表明骨關節炎。

一種另外的態樣是關於一種鑑定一種能夠降低軟骨內的骨關節炎的作用之LXR配體的方法，其包含：(a)提供一種包含LXR的樣本；(b)接觸該樣本與一種測試化合物；以及(c)決定是否該測試化合物誘導缺輔基脂蛋白D的表現，抑制聚蛋白多醣酶的活性，抑制前發炎細胞激素的精緻化，或是其等之一種組合。

本發明之其他的態樣和優點當參照於下文中接著的詳細說明對於本技藝中具有技術的那些人將變成為明顯的。

圖式簡單說明

第1A圖是一個長條圖，其顯示於具有嚴重的骨關節炎(OA)之軟骨內的核受體(NR)的表現之相對表現位準。第1B圖是一個長條圖，其顯示於具有嚴重的OA的軟骨內之維生素A酸類(retinoid)受體的表現之相對表現位準。

第2A圖是一個長條圖，其顯示於正常的軟骨內，以及具有輕微的OA和嚴重的OA的軟骨內之Apo D的表現。疾病嚴重性係巨觀地藉由檢查軟骨檢體內的損害之大小與深度予以評估。第2B圖是一個長條圖，其顯示於正常的軟骨內，以及具有輕微的OA和嚴重的OA的軟骨內之TNF α 的表現。

第3圖是一個長條圖，其顯示細胞激素誘導的自人類OA軟骨培植體之蛋白多糖降解/釋放係藉由LXR激動劑予以抑制，以及此等培植體內之細胞激素誘導的總蛋白多糖含量的降低係藉由LXR激動劑予以預防。

第4A圖是一種使用BC-3抗體之西方墨點，其顯示聚蛋白多醣酶-產生的聚蛋白多醣新抗原決定位，其辨認聚蛋白多醣酶產生的聚蛋白多醣異化產物上之N-端。來自具有末階段的OA(在關節置換手術之後)之2個人類供者的軟骨培植體係被使用。供者#259是一位57歲的男性病人，以及供者#261是一位55歲的女性病人。徑1,5：載劑。徑2,6：TO901317(2 μ M)。徑3,7：IL-1 β +抑瘤素M(oncostatin M)(OSM)(各10 ng/ml)。徑4,8：IL-1 β +OSM+TO901317。第4B圖是一種使用AGEG抗體之西方墨點，其顯示聚蛋白多醣酶產生的聚蛋白多醣新抗原決定位，其辨認聚蛋白多

醣酶產生的聚蛋白多醣異化產物之不同的抗原決定位。徑1, 5: 載劑。徑2, 6: TO901317(2 μ M)。徑3, 7: IL-1 β + OSM(各10 ng/ml)。徑4, 8: IL-1 β + OSM + TO901317。

第5A圖是一個長條圖，其顯示藉由LXR激動劑之來自
5 細胞激素-處理的人類軟骨培植體的總前列腺素E2(PGE2)
的生產之抑制。第5B圖比較於以載劑對照或LXR激動劑
GW3965(2 μ M)予以處理歷時21天的培植體之內的、以膜磷
脂PC和PE的形式存在之花生四烯酸的量。來自2個人類OA
供者的軟骨樣本係被使用於此研究中。

10 【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

申請人特別地併入本揭示中全部引用的參考資料之全
部內容。而且，當一個量、濃度，或是其他的值或參數被
提供為一範圍，較佳的範圍，或是較高的較佳值和較低的
15 較佳值的一個表時，要瞭解到如同特別地揭示全部的範圍
係由較高的範圍界限或較佳的值以及任何較低的範圍界限
或較佳的值之任何一對予以形成的，不管是否範圍被分別
地揭示。當數值的一範圍被列舉於本文中，除非以其他方
式陳述，該範圍係意欲包括其等之端點，以及於範圍之內
20 的全部的整數和分數。不希望本發明的範疇被限制至被列
舉的特定的值，當定義一個範圍時。

本發明的實施將使用，除非另外指出，細胞生物學、
細胞培養、分子生物學、基因轉殖生物學、微生物學、重
組型DNA，以及免疫學之慣用的技術，其等係落在本技藝

的技術之內。此等技術係於文獻中被完整地解釋。見，舉例而言：Sambrook, Fritsch和Maniatis的Molecular Cloning : A Laboratory Manual, 2nd Ed., ed.(Cold Spring Harbor Laboratory Press : 1989) ; DNA Cloning, 第I和II冊(D. N. Glover ed., 1985) ; Oligonucleotide Synthesis(M. J. Gait ed., 1984) ; 美國專利案案號 4,683,195 ; Nucleic Acid Hybridization(B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984) ; Transcription and Translation(B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984) ; Culture of Animal Cells(R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987) ; Immobilized Cells and Enzymes(IRL Press, 1986) ; B. Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning(1984) ; Methods in Enzymology(Academic Press, Inc., N.Y.) ; Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells(J. H. Miller 和 M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory) ; Methods in Enzymology, 第154和155冊(Wu等人 eds.), Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology(Mayer 和 Walker, eds., Academic Press, London, 1987) ; Handbook of Experimental Immunology, 第I-IV冊(D. M. Weir和C. C. Blackwell, eds., 1986) ; Manipulating the Mouse Embryo,(Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986)。

於此，申請人證明LXR α 和LXR β (肝X受體 α 和 β)係被表現於正常的、中度的骨關節炎，以及嚴重的骨關節炎軟骨內。申請人亦首次展示骨關節炎內一種似乎有理的脂質缺

陷，因為缺輔基脂蛋白D(Apo D)的表現，其係以一種非常高的位準於正常的軟骨內表現，係於中度和嚴重的骨關節炎軟骨內被引人注目地向下調控。LXR配體係經由一種出現於Apo D 啟動子區域中的LXR反應要件而誘導Apo D的表現。依照表現資料，當相較於正常的軟骨時，於骨關節炎之軟骨樣本內的前缺輔基脂蛋白D的蛋白位準也被降低。因為Apo D是一種脂質(花生四烯酸和膽固醇)結合蛋白，其於骨關節炎軟骨內之降低之可以對於骨關節炎軟骨內觀察到的增加的脂質位準負有責任。軟骨內增加的花生四烯酸係被預期要導致不健全的組織內之增加位準的發炎脂質媒介(PGE2，白三烯素，和類似物)。骨關節炎軟骨也顯示軟骨-降解酵素(聚蛋白多醣酶和金屬蛋白酶)之增加的活性。

申請人亦首次證明LXR配體抑制人類骨關節炎關節軟骨組織培植體中的聚蛋白多醣酶的活性。LXR配體也抑制TNF α ，以及一些其他的前發炎細胞激素的表現。因而，一種LXR配體係被預期在骨關節炎上是治療上有效的，以及比起現行的以及即將來臨的骨關節炎療法是更有效的，其係藉由正常化脂質缺陷，抑制聚蛋白多醣酶/金屬蛋白酶的表現及/或活性，以及抑制骨關節炎內的損害之前發炎細胞激素的精緻化。而且，LXR配體誘導 c-jun/c-fos蛋白家族以及，結果，提高AP1的活性，其係為軟骨的形成需要的。因而，用LXR配體，首次，一種骨關節炎治療可以不止抑制軟骨降解而且也可以誘導軟骨再生。

I. 定義

於本揭示的上下文中，一些術語應該被使用。

如於本文中所使用的，術語“大約”或是“大概”意指於一個給予的值或範圍之20%之內，較佳地於10%之內，以及
5 更佳地於5%之內。

術語“聚蛋白多醣酶的活性”係提及為藉由一種聚蛋白多醣酶酵素結合至聚蛋白多醣而予以中斷或起始之至少一種細胞過程。一般而言，活性係提及為聚蛋白多醣藉由聚蛋白多醣酶之蛋白水解的分裂。其他的聚蛋白多醣酶活性
10 包括，但是不被限制至，聚蛋白多醣酶的結合至聚蛋白多醣以及一種起因於聚蛋白多醣藉由聚蛋白多醣酶之結合或分裂的生物反應。

術語“細胞激素精緻化”係提及為藉由軟骨的組織或軟骨細胞之細胞激素的生產。

15 本文中所使用的術語“有效量”，“治療有效量”，“一種LXR-反應性基因表現誘導量”，“聚蛋白多醣酶活性抑制量”，和“有效劑量”係提及為一種效應分子的量，當被投藥至的一種需要的哺乳動物時，其對於與骨關節炎有關的病況之至少部分地改善或是至少部分地預防是有效的。

20 如於本文中所使用的，術語“表現”包括DNA被轉錄成為mRNA以及被轉譯成為肽、多肽，或蛋白的過程。

術語缺輔基脂蛋白D(Apo D)的表現之“誘導(induce)”或“誘導(induction)”係提及為缺輔基脂蛋白D mRNA及/或蛋白的表現之一種增加、誘導，或是在其他方面的擴大。

增加、誘導，或擴大能以本文中所提供的分析法的其中之一予以測量。缺輔基脂蛋白D的表現之誘導不必然地表明缺輔基脂蛋白D之最大的表現。Apo D的表現之增加可以是，舉例而言：至少大約10%，20%，30%，40%，50%，60%，70%，
5 80%，90%或更多。於一個實施例中，誘導係藉由以下方式測量：比較來自正常的軟骨之Apo D mRNA的表現位準與來自骨關節炎軟骨之Apo D mRNA的表現位準。

術語聚蛋白多醣酶或聚蛋白多醣酶活性的“抑制 (inhibit)”或“抑制作用 (inhibition)”係提及為至少一種聚蛋白多醣酶的活性之降低、抑制作用，或在其他方面減少。
10 結合的降低、抑制作用，或是減少能以本文中所提供的分析法的其中之一予以測量。聚蛋白多醣酶活性的抑制作用不必然地表明聚蛋白多醣酶活性之完全的不存在。活性上的降低可以是，舉例而言：至少大約10%，20%，30%，40%，
15 50%，60%，70%，80%，90%或更多。於一個實施例中，抑制作用係被測量為聚蛋白多醣的分裂產物之偵測的一種降低。

術語前發炎細胞激素的精緻化之“抑制”或“抑制作用”提及為一種細胞激素的活性之降低、抑制作用，或是在其
20 他方面減少，如，舉例而言：iNOS, MCP-3, COX-2, MIP1 β , MMP-9, IP-10, IL-1 β , IL-1 α , G-CSF, TNF α , MCP-1, IL-6。細胞激素精緻化之降低、抑制作用，或是減少能以本文中所提供的分析法的其中之一予以測量。前發炎細胞激素精緻化的抑制作用不必然地表明前發炎細胞激素精緻化之完全

的不存在。精緻化上的降低可以是，舉例而言：至少大約10%，20%，30%，40%，50%，60%，70%，80%，90%或更多。於一個實施例中，抑制作用係藉由比較來自正常的軟骨之TNF α mRNA的表現位準與來自骨關節炎軟骨之TNF α mRNA的表現位準而測量。

“肝X受體”或“LXR”提及為LXR α 和LXR β 二者，以及其等之變異體、同質體，和活性片段。LXR β 是無所不在地表現的，然而LXR α 的表現係被限制至肝、腎、小腸、脾、脂肪組織、巨噬細胞、骨骼肌，以及，如本文中所展示的，軟骨。LXR α 序列之代表性的GenBank®寄存編號包括以下：人類(智人(Homo sapiens)，Q13133)，小鼠(家鼯鼠(Mus musculus)，Q9Z0Y9)，大鼠(溝鼠(Rattus norvegicus)，Q62685)，乳牛(特羅斯牛(Bos Taurus)，Q5E9B6)，豬(野豬(Sus scrofa)，AAY43056)，雞(紅原雞(Gallus gallus)，AAM90897)。LXR β 之代表性的GenBank®寄存編號包括以下：人類(智人，P55055)，小鼠(家鼯鼠，Q60644)，大鼠(溝鼠，Q62755)，乳牛(特羅斯牛，Q5BIS6)。

術語“哺乳動物”提及為一種人類、一種非人類靈長類動物、犬科動物、貓科動物、牛科動物、綿羊、豬、鼠科動物，或是其他的獸醫或實驗室哺乳動物。本技藝中具有技術的那些人認可一種降低哺乳動物的一種之一種病變的嚴重性之療法預測該療法對於哺乳動物的其他種之作用。

術語“調節”包含於活性或表現上的一種降低或一種增加，端視標的分子而定。舉例而言，一種Apo D調節劑係被

認為是調節 Apo D 的表現，設若此 Apo D 調節劑的出現導致 Apo D 的表現之一增加或降低。

II. LXR 激動劑

於本發明中有用的 LXR 調節劑包括天然的氧化類固醇 (oxysterols)、合成的氧化類固醇、合成的非氧化類固醇，以及天然的非氧化類固醇。例示的天然氧化類固醇包括：20(S) 羥基膽固醇 (20(S) hydroxycholesterol)，22(R) 羥基膽固醇，24(S) 羥基膽固醇，25-羥基膽固醇，24(S), 25 環氧膽固醇 (epoxycholesterol)，以及 27-羥基膽固醇。例示的合成的氧化類固醇包括 N,N-二甲基-3 β -羥基膽固醯胺 (N,N-dimethyl-3 β -hydroxycholamide) (DMHCA)。例示的合成的非氧化類固醇包括：N-(2,2,2-三氟乙基)-N-{4-[2,2,2-三氟-1-羥基-1-(三氟甲基)乙基]苯基}苯磺醯胺 (TO901317；Tularik 0901317)，[3-(3-(2-氯-三氟甲基苯基)-2,2-二苯乙基胺基)丙氧基]苯乙酸 (GW3965)，N-甲基-N-[4-(2,2,2-三氟-1-羥基-1-三氟甲基-1-乙基)-苯基]-苯磺醯胺 (TO314407)，4,5-二氫-1-(3-(3-三氟甲基-7-丙基-苯并異噁唑-6-基氧)丙基)-2,6-嘓啶二酮，3-氯-4-(3-(7-丙基-3-三氟甲基-6-(4,5)-異噁唑基)丙基硫)-苯乙酸 (F₃ 甲基 AA)，以及乙醯-羅漢松二聚物 (acetyl-podocarpic dimer)。例示的天然的非氧化類固醇包括樁菇菌素 (paxilline)、德斯莫固醇 (desmosterol)，以及豆固醇 (stigmasterol)。

其他有用的 LXR 調節劑係被揭露於，舉例而言：公開的美國專利申請案案號 2006/0030612，2005/0131014，

- 2005/0036992, 2005/0080111, 2003/0181420, 2003/0086923, 2003/0207898, 2004/0110947, 2004/0087632, 2005/0009837, 2004/0048920, 和 2005/0123580 ; 美國專利案案號 6,316,503, 6,828,446, 6,822,120, 和 6,900,244 ; WO01/41704 ;
- 5 Menke JG 等人, *Endocrinology* 143 : 2548-58(2002) ; Joseph SB 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 : 7604-09(2002) ; Fu X 等人, *J. Biol. Chem.* 276 : 38378-87(2001) ; Schultz JR 等人, *Genes Dev.* 14 : 2831-38(2000) ; Sparrow CP 等人, *J. Biol. Chem.* 277 : 10021-27 (2002) ; Yang C 等人, *J. Biol. Chem.*,
- 10 Manuscript M603781200 (July 20, 2006) ; Bramlett KS 等人, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 307 : 291-96 (2003) ; Ondeyka JG 等人, *J. Antibiot (Tokyo)* 58 : 559-65 (2005) 。

III. 治療/預防的方法

- 依據一種調節方法, 於一種細胞內的LXR的活性係藉
- 15 由接觸該細胞與一種LXR激動劑予以刺激。此等LXR激動劑的實例係如以上於第II節所說明的。其他的可以被使用以刺激LXR的活性之LXR激動劑可以使用選擇此等化合物的篩選分析予以鑑定, 如本文中(第V節)詳盡地說明的。

- 調節方法可以於活體外(例如, 藉由以一種LXR激動劑
- 20 培養該細胞或是藉由引進一種LXR激動劑進入培養物中的細胞內)或是, 任擇地, 於活體內(例如, 藉由投藥一種LXR激動劑至一個個體或是藉由引進一種LXR激動劑進入一個個體的細胞內)予以執行。關於實施一種活體外調節方法, 細胞可以藉由標準的方法自一個個體獲得以及於活體外以

一種LXR激動劑予以培育(亦即,培養)以調節細胞中的LXR的活性。

1. 預防疾病的方法

於一種態樣中,本發明提供一種用於預防一個個體內
5 的骨關節炎的方法,其係藉由投藥一種LXR激動劑至該個
體,其誘導於Apo D的表現及/或抑制聚蛋白多醣酶的活性
及/或抑制骨關節炎的損害內之前發炎細胞激素的精緻
化。一種預防疾病的 LXR激動劑的投藥能在骨關節炎的症
狀顯示之前發生,藉此骨關節炎被預防或是,任擇地,於
10 其之進程中被延遲。

2. 治療的方法

本發明的另一種態樣有關調節LXR的活性的方法用於
骨關節炎治療的目的。於是,於一個例示實施例中,一種
本發明的調節方法涉及接觸一種細胞與一種LXR激動劑,
15 其調節Apo D的表現及/或聚蛋白多醣酶的活性及/或抑制
於骨關節炎之損害內之前發炎細胞激素的精緻化。此等調
節方法可以於活體外(例如,藉由以一種LXR激動劑予以培
養該細胞)或是,任擇地,於活體內(例如,藉由投藥一種
LXR激動劑至一個個體)被執行。就此,本發明提供治療一
20 個受骨關節炎侵襲的個體的方法,其係受惠於Apo D的表現
及/或聚蛋白多醣酶的活性及/或骨關節炎之損害內的前發
炎細胞激素精緻化的調節。

IV. LXR激動劑的投藥

LXR激動劑係以一種合適於活體內藥物的投藥之生物

學上相容的形式予以投藥至個體，以提升Apo D的表現及/或抑制聚蛋白多醣酶的活性及/或抑制前發炎細胞激素的精緻化。“合適於活體內的投藥之生物學上相容的形式”係意指要被投藥的LXR激動劑之一種形式，其中任何有毒的作用比激動劑的治療效力更重要。術語“個體”係打算包括一種免疫反應可以被引出的活的有機體，舉例而言：哺乳動物。如於本文中所說明的LXR激動劑的投藥可以以任何藥學形式存在，其包括單獨或是與一種藥學上可接受的載體組合的一治療有效量的一種LXR激動劑。

一治療有效量的一種LXR激動劑可以依據因子而變化，如：個體的皮膚老化狀態、年齡、性別，和重量，以及LXR激動劑於該個體體內引出一種所欲的反應的能力。劑量攝生法可以被調整以提供最佳的治療反應。舉例而言，數種被分割的劑量可以每日地被投藥，或是該劑量可以按照治療情況的迫切需要所指出的情況而被成比例地降低。

本發明的治療或藥學組成物可以藉由任何其他本技藝中已知的合適的途徑予以投藥，包括，舉例而言：口的、靜脈內的、皮下的、肌肉內的、經皮的、椎管內的，或大腦內的，或是於活體外(ex vivo)的處理程序中投藥至細胞。投藥可以如藉由注射而快速的或如藉由緩慢的浸出(infusion)或緩慢釋放的配方的投藥而持續一段時間期間。關於治療或預防骨關節炎，本發明的治療或藥學組成物的投藥可以，舉例而言，藉由口的投藥或藉由關節內注射予

以執行。

而且，LXR激動劑可以被安定地結合至一種聚合物，如：聚乙二醇，以獲得所欲的溶解度、安定性、半生期之性質，以及其他的藥學上有利的性質(見，例如，Davis等人，5 Enzyme Eng. 4：169-73(1978)；Burnham NL, Am. J. Hosp. Pharm. 51：210-18(1994))。

LXR激動劑可以是於一種組成物之內，該組成物協助遞送至一種細胞的胞液中。舉例而言，一種LXR激動劑可以與一種能夠遞送激動劑至一種細胞的胞液中之載體部分10 予以耦合，如：一種脂質體。此等方法是本技藝熟知的(見，例如，Amselem S等人，Chem. Phys. Lipids 64：219-37 (1993))。另外，一種LXR激動劑可以藉由顯微注射術而被直接地遞送至一個細胞內。

LXR激動劑可以以藥學製備物的形式予以使用。此等15 製備物係以藥學技藝中熟知的方式製造。一種較佳的製備物係使用一種生理食鹽溶液的載劑，但是可以預期到其他的藥學上可接受的載體也可以被使用，如：生理濃度之其他的非有毒的鹽，5個百分比的水性葡萄糖溶液，無菌的水或類似物。如於本文中所使用的，“藥學上可接受的載體”20 包括任何以及全部的溶劑、分散媒介、塗層、抗菌和抗真菌劑、等張的和吸收延遲劑，以及類似物。此等媒介和製劑的使用於藥學上活性物質是本技藝熟知的。除了在任何慣用的媒介或是製劑的範圍內是與LXR激動劑不相容的之外，其等於治療的組合物中之用途是被預期的。補充性活

性化合物也能被併入至該等組成物中。一種合適的緩衝液出現於該組成物內也是所欲的。此等溶液能，設若所欲的話，被凍乾且儲存於一種無菌的安瓿內，其係預先準備好藉由無菌的水之添加而復原，用於預先準備好的注射。主要的溶劑可以是水性的或任擇地非水性的。LXR激動劑也能被併入至一種固體或半固體生物學上相容的基質內，其能被移植至需要治療的組織內。

載體也能包含其他藥學上可接受的賦形劑用於修飾或維持配方的pH、滲透壓、黏性、清澈、顏色、無菌、安定性、溶解速率，或氣味。

劑量投藥可以被重複，端視劑量配方的藥物動力學參數以及使用的投藥的途徑而定。

也提供某些包含LXR激動劑的配方要被口服地投藥。此等配方較佳地以固體劑量形式被裝入膠囊且與合適的載體一起被配方。合適的載體、賦形劑，和稀釋劑之一些實例包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、澱粉、阿拉伯膠、磷酸鈣、藻酸鹽、矽酸鈣、微晶纖維素 (microcrystalline cellulose)、聚乙炔吡咯烷酮 (polyvinylpyrrolidone)、纖維素、明膠、糖漿劑、甲基纖維素、甲基-和丙基羥基苯甲酸酯、滑石粉、鎂、硬脂酸、水、礦油，和類似物。該等配方能額外地包括潤滑劑、潤濕劑、乳化和懸浮劑、保存劑、增甜劑，或是調味劑。該等組成物可以被配方以便於在藉由使用本技藝熟知的程序予以投藥至病人之後提供活性成分之快速、持續的，或是延遲的

釋放。該等配方也能包含縮減蛋白水解的降解之物質及/或促進如，舉例而言：表面活性劑的吸收之物質。

配方組成物於劑量單位形式內對於投藥的容易以及劑量的一致是特別有利的。本文中所使用的劑量單位形式係提及適合作為要被處理的哺乳動物主體之單一的劑量之實際上分離的單位；包含一預定量的活性化合物之各單位係聯合需要的藥學載劑打算要產生所欲的治療效力。本發明的劑量單位形式之詳細計劃係由以下所支配以及直接地取決於(a)LXR激動劑之獨特的特性和要被達到的特定的治療效力，以及(b)本技藝中化合此一活性化合物用於個體體內的感受性的處理之固有的限制。特定的劑量可以由本技藝中具有通常技術的一個人，例如，依據病人大概的體重或體表面積或是要被佔據的身體空間的體積而容易地計算出。劑量也會視被選擇的特定的投藥途徑而計算出。必須用來決定處理之適當的劑量之計算的進一步地精確化是本技藝中具有通常技術的那些人例行作的。此等計算可以由本技藝中具有技術的一個人、按照本文中揭示的LXR激動劑的活性、不需過度實驗而於標的細胞的分析製備物中進行。確實的劑量係結合標準的劑量-反應研究而決定。可以瞭解到實際上投藥的組成物的量會由一個從事者，按照有關的情況而決定，包括要被治療的病況(condition)或病況(conditions)，要被投藥的組成物之選擇，個別的病人的年齡、重量，和反應、病人的症狀之嚴重性，以及所選擇的投藥途徑。

此等LXR激動劑的毒性與功效標準可以藉由標準的藥學程序於細胞培養或實驗動物中決定，舉例而言：用於決定LD₅₀(對50%的族群致命的劑量)和ED₅₀(於50%的族群治療上有效的劑量)。介於有毒和治療效力之間的劑量比率是治療指數以及其可以被表現為比率LD₅₀/ED₅₀。顯示出大的治療指數之LXR激動劑是較佳的。縱然顯示出有毒的副作用之LXR激動劑可以被使用，應該小心要設計一種對準此等調節劑至受侵襲的組織之位置的遞送系統，俾以最小化對於未感染的細胞之潛在的損害以及，從而，降低副作用。

由細胞培養分析和動物研究獲得的資料可以被使用於配方供使用於人類中的一範圍的劑量。此等LXR激動劑的劑量較佳地處於包括ED₅₀且很少或沒有毒性之循環濃度的一範圍之內。劑量可以於此範圍之內變化，端視使用的劑量的形式以及使用的投藥途徑而定。關於任何被使用於本發明的一種方法中之LXR激動劑，治療上有效的劑量最初可以自細胞培養分析被估計。一劑量可以於動物模式中被配方以達到包括IC₅₀(亦即，達到最大的一半的症狀抑制之LXR激動劑的濃度)的一循環血漿濃度範圍，如於細胞培養中被決定的一般。此資訊可以被利用以更準確地決定於人類中有用的劑量。血漿內的位準可以，舉例而言：藉由高性能液相層析法予以測量。

監控LXR激動劑對於Apo D的表現及/或聚蛋白多醣酶的活性及/或前發炎細胞激素的精緻化的影響不止可以被應用至基礎的藥物篩選中，而且也可以被應用至臨床試驗

中。舉例而言，一種LXR激動劑的有效性可以於顯示出軟骨細胞內降低的Apo D基因表現及/或增加的聚蛋白多醣酶活性及/或骨關節炎的損害內之增加的前發炎細胞激素的精緻化之個體的臨床試驗中予以監控。於此等臨床試驗

5 中，Apo D的表現及/或聚蛋白多醣酶的活性及/或前發炎細胞激素的精緻化可以被使用作為一種“讀出(read out)”或是不同的皮膚老化表現型之標誌。

因此，要研究LXR激動劑對於骨關節炎的作用，舉例而言：於一種臨床試驗中，細胞能被單離以及RNA係被製

10 備且分析Apo D以及骨關節炎牽涉的其他的基因(舉例而言，TNF α)之表現位準。基因表現的位準(亦即，一種基因表現模式)能，舉例而言：藉由北方墨點分析或RT-PCR予以定量，其係藉由測量被產生的蛋白量，或是藉由測量Apo D或其他的基因之活性的位準，全部係藉著本技藝中具有通

15 常技術的那些人所熟知的方法。以此方式，基因表現模式能作為一種標誌，表明細胞對於LXR激動劑的生理反應。於是，此反應狀態可以在個體以LXR激動劑的處理之前被決定，以及在個體以LXR激動劑的處理之期間的各種各樣的時間點被決定。

20 本發明亦提供一種用於監控一個個體以一種LXR激動劑的治療之有效性的方法，其包含以下步驟：(i)在LXR激動劑的投藥之前獲得來自一個個體之一種投藥前的樣本；(ii)偵測該投藥前的樣本中之Apo D的表現位準及/或聚蛋白多醣酶活性的位準及/或前發炎細胞激素的精緻化的位

準；(iii)獲得來自該個體之 1 或多個投藥後的樣本；(iv)偵測該等投藥後的樣本中之Apo D的表現或活性的位準及/或聚蛋白多醣酶活性的位準及/或前發炎細胞激素的精緻化的位準；(v)比較該投藥前的樣本中之Apo D的表現位準及/或聚蛋白多醣酶活性的位準及/或前發炎細胞激素的精緻化的位準與該或該等投藥後的樣本中之 Apo D的表現及/或聚蛋白多醣酶活性及/或前發炎細胞激素的精緻化的位準；以及(vi)相應地改變該LXR激動劑的投藥至該個體。舉例而言，該LXR激動劑之增加的投藥可以是所欲的以增加Apo D的表現至比偵測到的更高的位準，以及/或降低聚蛋白多醣酶活性至比偵測到的較低的位準，以及/或降低前發炎細胞激素的精緻化至比偵測到的較低的位準，那就是，要增加該LXR激動劑的有效性。任擇地，該LXR激動劑之降低的投藥可能是所欲的以降低Apo D的表現至比偵測到的較低的位準，以及/或以增加聚蛋白多醣酶活性至比偵測到的更高的位準，以及/或以增加前發炎細胞激素的精緻化至比偵測到的更高的位準，那就是，要降低該LXR激動劑的有效性。根據此一個實施例，Apo D的表現及/或聚蛋白多醣酶的活性及/或前發炎細胞激素的精緻化可以被使用作為一種LXR激動劑的有效性之一種表明，即使在缺少一種看得見的表現型反應的情況下。

而且，於骨關節炎的治療中，包含LXR激動劑之組成物可以外源地被投藥，以及要於血清中、於任何所欲的組織劃分中，及/或於受侵襲的組織中達到LXR激動劑的某種

標的位準很可能是所欲的。因而，以下會是有利的：能夠
監控一個病人體內或包括一種自一個病人獲得的組織活體
切片的樣本之一種生物樣本中之LXR激動劑的位準，以
及，於一些事例中，也監控Apo D的表現及/或聚蛋白多醣
5 酶的活性及/或前發炎細胞激素的精緻化之位準。於是，本
發明亦提供偵測一種來自一個病人的樣本中之LXR激動劑
的出現之方法。

V. 篩選分析

於一個實施例中，LXR-反應性基因的表現位準或從該
10 處來的蛋白之活性位準可以被使用來協助經由一種LXR為
基礎的機制而治療骨關節炎的化合物的設計及/或鑑定。於
是，本發明提供用於鑑定調節劑，亦即，LXR激動劑的方
法(本文中也被提及為“篩選分析”)，該等調節劑對於，舉例
而言：Apo D的表現及/或聚蛋白多醣酶的活性及/或細胞激
15 素的精緻化具有一種刺激或抑制效力。由此被鑑定的化合
物能被使用作為如於本文中的別處所說明的骨關節炎的治
療中。

測試化合物可以，舉例而言：使用本技藝知道的組合
庫的方法中之許多方法的任何一種予以獲得，包括：空間
20 可定位平行固定相(spatially addressable parallel solid phase)
或是溶液相庫；需要解迴旋(deconvolution)的合成庫的方
法；‘單一顆粒-單一化合物(one-bead one-compound)’庫的
方法；以及使用親和層析篩選之合成庫的方法。

分子庫的合成方法的實例可以於以下尋得，舉例而

言：DeWitt SH等人，Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90：6909-13 (1993)；Erb E等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91：11422-26 (1994)；Zuckermann RN等人，J. Med. Chem. 37：2678-85 (1994)；Cho CY等人，Science 261：1303-05 (1993)；Carrell等人，Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 33：2059 (1994)；Carrell等人，Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 33：2061(1994)；Gallop MA等人，J. Med. Chem. 37：1233-51 (1994)。

化合物的庫能以以下方式被呈現：於溶液(例如，
10 Houghten RA等人，Biotechniques 13：412-21(1992))，或是於顆粒上(Houghten RA等人，Nature 354：82-84(1991))，晶片(Fodor SA等人，Nature 364：555-56(1993))，細菌(美國專利案案號5,223,409)，孢子(美國專利案案號5,223,409)，質體(Cull MG等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89：1865-69(1992))
15 或是於噬菌體上(Scott JK & Smith GP, Science 249：386-90(1990)；Devlin JJ等人，Science 249：404-06(1990)；Cwirla SE等人，Proc. Natl. Acad. Sci. 87：6378-82(1990)；Felici F等人，J. Mol. Biol. 222：301-10(1991)；美國專利案案號5,223,409)。

20 一種例示的篩選分析是一種細胞為基礎的分析，其中一種表現 LXR的細胞係與一種測試化合物接觸，以及測試化合物的能力係經由一種LXR為基礎的機制來調節Apo D的表現及/或聚蛋白多醣酶的活性及/或細胞激素的精緻化。決定測試化合物調節Apo D的表現及/或聚蛋白多醣酶

的活性及/或細胞激素的精緻化的能力能藉由以下方式完成，藉由監控，舉例而言：DNA、mRNA，或蛋白的位準，或是係藉由測量Apo D、聚蛋白多醣酶，及/或TNF α 的活性位準，全部藉由本技藝中具有通常技術的那些人熟知的方法。

5 細胞，舉例而言：可以是哺乳動物來源的，例如，人類。

藉由以上說明的篩選分析鑑定的新穎的調節劑能被使用於本文中所說明的治療。

實施例

本發明係進一步於以下的實施例中予以定義。應該瞭
10 解此等實施例，雖然指出本發明的較佳實施例，係僅僅經由說明被提供。由以上的討論和此等實施例，本技藝中具有技術的一個人能確定本發明之較佳的特徵，以及不背離其之精神和範疇，能做出本發明的各種各樣的變化和修飾以使其適合各種各樣的用途和狀況。

15 實施例1

為了鑑定表現於關節炎的或正常的關節軟骨之轉錄品，組織樣本係自具有末階段的膝蓋置換之關節炎病人以及非關節炎的截肢個體獲得。關節炎的出現或缺少係藉由組織學予以確認。

20 人類基因體 U95Av2(HG-U95Av2)基因晶片[®]陣列(Affymetrix, 聖克拉拉, CA)係被使用於表現的剖繪。HG-U95Av2晶片包含代表衍生自人類基因體的~12,000 基本上全長的序列(~16 探針對/序列)之25-mer 寡核苷酸探針。對於各個被設計成要完美地互補於一標的序列的探

針，一種同一的，除了其中心的單一鹽基錯配之外，拍檔探針係被產生。此等探針對允許訊號定量以及非專一的雜訊之扣除。

RNA係自個別的關節軟骨組織予以萃取，轉化成生物素化的cRNA，以及依據Affymetrix規則予以片段化。片段化的cRNAs係以包含100 μ g/ml 鮭魚精子DNA和500 μ g/ml 乙醯化的BSA之1 \times MES緩衝液予以稀釋以及在99 $^{\circ}$ C下被變性歷時5 min，接著立刻在45 $^{\circ}$ C下5 min。不溶的材料係藉由短暫的離心而自雜交混合物移除，以及雜交混合物係被添加至各陣列以及在45 $^{\circ}$ C下予以培育歷時16 hr，伴隨60 rpm之持續的旋轉。在培育之後，雜交混合物係被移除以及晶片被廣泛地以6 \times SSPET予以清洗且以SAPE溶液予以染色，如於Affymetrix 規則中所說明的。

各轉錄品的粗略螢光強度值係用一種Hewlett-Packard 基因陣列掃描儀、在6 mm的解析度下予以測量。基因晶片[®]軟體3.2(Affymetrix)，其使用一種演算法以決定是否一基因是“出現”或“缺乏”，以及陣列上的各基因之專一的雜交強度值或“平均差(average differences)”，係被使用以評估螢光數據。各基因的平均差係藉由參考已知的大量之11種控制轉錄品的平均差而被正常化成為頻率值，其等係依據Hill AA等人，Science 290：809-12(2000)，的程序而被攙入至各個雜交混合物。各基因的頻率係被計算以及代表一個等於每10⁶個總轉錄品中個別的基因轉錄品的總數之數值。

第1A圖描繪於嚴重的骨關節炎軟骨內之核激素受體超

級家族的 19 個不同的成員 (LXR α , LXR β , Rev-erb α , Rev-erb β , GR, EAR2, COUP TF-I, COUP TF-II, CAR, PXR, MR, SF-1, TR-2, TR-4, NOR-1, Nurr1, Nur77, SHP, FXR) 的 mRNA 的位準 (被表現為百萬分之一 (ppm))。此等基因晶片研究之偵測的較低的定量界限被決定是大概 5 ppm。顯示於第 1 圖中的數據提供以下證據, LXR β , Rev-erb α , 和 GR 似乎係由關節軟骨以基因晶片的感受性之位準予以表現。於第 1B 圖中, 6 種維生素 A 酸類受體家族成員 (維生素 A 酸受體 (RARs) 和維生素 A 酸類 X 受體 (RXRs)) 的表現位準係被顯示。此等資料證明 RXR α 係以可容易地偵測的位準被表現於關節軟骨組織內。RXR α 是 LXR 的一種異種二聚體拍檔以及 LXR 配體作用的生物學上活化的單元是 LXR-RXR 異種二聚體。此等數據係提供一種推動力去查明關節軟骨內之 LXR 的表現之功能性作用。

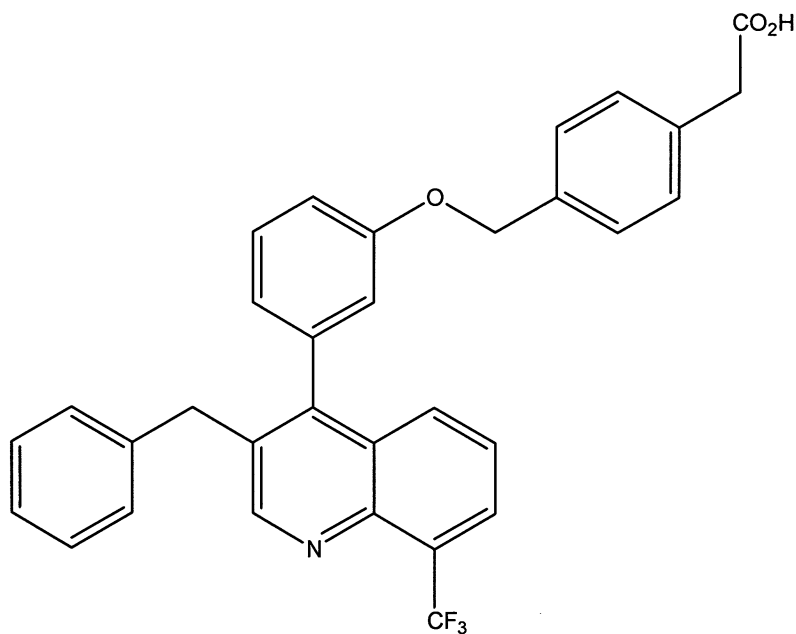
15 實施例 2

第 2A 圖顯示於正常的軟骨以及獲得自中度和嚴重的骨關節炎病人的軟骨內之 Apo D mRNA 的位準的比較 (被表現為百萬分之一 (ppm))。此等基因晶片研究之偵測的較低的定量界限被決定是大概 5 ppm。顯示於第 2A 圖中的數據提供以下證據, 於輕微的和嚴重的骨關節炎軟骨內之 Apo D 信息的表現係被引人注目地降低, 當相較於正常的軟骨時。第 2B 圖顯示於正常的軟骨以及獲得自中度和嚴重的骨關節炎病人的軟骨內之 TNF α mRNA 的位準的比較 (被表現為百萬分之一 (ppm))。此等基因晶片研究之偵測的較低的定量

界限被決定是大概5 ppm。顯示於第2B圖中的數據提供以下證據，於輕微的和嚴重的骨關節炎軟骨內之TNF α 的表現係被顯著地誘導，當相較於正常的軟骨時。

實施例3

- 5 來自一個人類OA供者(#154，來自國家疾病研究交流(National Disease Research Interchange))的新鮮的軟骨培植體(~20片，總共~200 mg/井)係於包含1% Nutridoma®(Roche Applied Science, 印第安納波里, IN)的1 ml的DMEM/F12內予以培養歷時10天。在10天的期間中，培植體係被暴露至
- 10 具有或不具有LXR激動劑(2 μ M GW3965，一種報導過的LXR激動劑，或是2 μ M的以下的式I，一種LXR激動劑)之細胞激素(1 ng/ml IL1 β 加5 ng/ml抑瘤素M)內。



(I)

- 15 每2天培養基係以新鮮的細胞激素和LXR激動劑予以取代。此等培養物內的蛋白多糖之堆積的釋放係在使用

DMMB(二甲基亞甲基藍)分析之後予以測量。在10天的處理最後，培植體係以蛋白酶K予以消化以及被分析總共的蛋白多糖含量。LXR激動劑顯著地降低細胞激素誘導的蛋白多糖之釋放至該培養基內；結果，OA軟骨培植體以LXR激動劑之10天的處理顯著地增加培植體之內的總共的蛋白多糖含量(第3圖)。因IL1 β 和抑瘤素M2者均出現於具有OA的關節內以及據信於OA疾病進程中扮演角色，我們的資料建議LXR激動劑可能於OA軟骨中具有一種修飾結構作用。

實施例4

10 來自人類OA供者的新鮮的軟骨培植體被切成碎片(~10 mg/片，~2 \times 2 \times 2 mm)。軟骨培植體被隨機地分至24 井平盤中(~250 mg 濕重/井)。培植體的3個井係被包括於各處理組。培植體係於具有10% FBS的1 ml DMEM/F-12中予以培養歷時3天，接而完全培養基係以無血清的培養基予以取
15 代。12個小時之後，培養基係被移除以及新鮮的無血清的培養基(1 ml)係被添加，接著藉由LXR激動劑T0901317 的處理(2 μ M)。IL1 β /抑瘤素M(各10 ng/ml)係於8小時之後被添加。培植體接而係於LXR激動劑T0901317和IL1 β /抑瘤素M 存在或缺少的情況下予以培養歷時額外的20小時。來自
20 各處理組之180 μ l的集中的培養基係在50mM EDTA的存在下、以軟骨素酶ABC、硫酸角質素酶(keratanase)、硫酸角質素酶II於37 $^{\circ}$ C下予以去糖基化歷時3 hrs。樣本接而被濃縮且於一種4-12% SDS-PAGE凝膠予以分離。西方分析係用以下方式執行，使用小鼠BC3新抗原決定位抗體(1:1500)，

或是兔抗AGEG抗體(1:1000)作為初級抗體，以及被耦合以鹼性過氧化酶(1:5000)的抗小鼠或抗兔IgG抗體作為二級抗體。第4A圖顯示使用BC3抗體的結果，以及第4B圖顯示使用AGEG抗體的結果。於使用來自供者#259的軟骨之實驗中，細胞激素處理誘導包含聚蛋白多醣片段的BC3和AGEG二者的釋放至培養基內。以T0901317的處理封阻BC3和AGEG藉由細胞激素之釋放的誘導。於使用來自供者#261的軟骨之實驗中，來自未處理的軟骨培植體之含聚蛋白多醣片段的BC3和AGEG係被釋放至培養基內。T090131處理係降低此等片段於培養基內的量。來自培植體之含AGEG片段的釋放也被細胞激素處理誘導，以及其被T0901317處理所封阻。

實施例5

來自一個人類OA供者(由國家疾病研究交流提供)的新鮮的軟骨培植體(~20片，總共~200mg/井)係於包含1% Nutridoma®(Roche Applied Science, 印第安納波里, IN)的1 ml的DMEM/F12內予以培養歷時21天。在21天的期間中，培植體係被暴露至具有或不具有LXR激動劑(2 μ M GW3965或是式I)之細胞激素(10ng/ml IL1 β 加10ng/ml抑瘤素M)內。每2-3天培養基係以新鮮的細胞激素和LXR激動劑予以取代。於第7、14、21天收集的培養基樣本內的前列腺素E2(PGE2)的總量係利用一種EIA分析法(Cayman)予以測量。

第5圖顯示出二種LXR激動劑在全部的3個時間點均強

烈地抑制細胞激素(IL1 β /抑瘤素M)誘導的PGE2的合成。脂質剖繪分析(Lipomics Inc.)結果顯示最多的花生四烯酸(AA)從其而來之2種形式的膜磷脂的量係藉由LXR的活化而降低,暗示總PGE2的降低係至少部分地藉由OA軟骨內之降低的總AA含量所中介。涉及PGE2的合成的酵素之表現也可以被LXR活性所抑制。

PGE2是存在於具有風濕性關節炎(RA)或OA的關節內之主要的前發炎性類前列腺素。軟骨內增加的PGE2也可能於描繪關節炎的疾病之發炎媒介的結構性損傷扮演一角色。更重要地,PGE2促成發炎的重要特徵之一種,疼痛過敏症(pain hypersensitivity)。因而,LXR激動劑具有很大的潛力成為OA療法,其會藉由封阻OA關節內之PGE2的生產而緩解疼痛,以及藉由封阻軟骨基質降解而預防疾病進程。

【圖式簡單說明】

第1A圖是一個長條圖,其顯示於具有嚴重的骨關節炎(OA)之軟骨內的核受體(NR)的表現之相對表現位準。第1B圖是一個長條圖,其顯示於具有嚴重的OA的軟骨內之維生素A酸類(retinoid)受體的表現之相對表現位準。

第2A圖是一個長條圖,其顯示於正常的軟骨內,以及具有輕微的OA和嚴重的OA的軟骨內之Apo D的表現。疾病嚴重性係巨觀地藉由檢查軟骨檢體內的損害之大小與深度予以評估。第2B圖是一個長條圖,其顯示於正常的軟骨內,以及具有輕微的OA和嚴重的OA的軟骨內之TNF α 的表現。

第3圖是一個長條圖,其顯示細胞激素誘導的自人類

OA軟骨培植體之蛋白多糖降解/釋放係藉由LXR激動劑予以抑制，以及此等培植體內之細胞激素誘導的總蛋白多糖含量的降低係藉由LXR激動劑予以預防。

第4A圖是一種使用BC-3抗體之西方墨點，其顯示聚蛋白多醣酶-產生的聚蛋白多醣新抗原決定位，其辨認聚蛋白多醣酶產生的聚蛋白多醣異化產物上之N-端。來自具有末階段的OA(在關節置換手術之後)之2個人類供者的軟骨培植體係被使用。供者#259是一位57歲的男性病人，以及供者#261是一位55歲的女性病人。徑1,5：載劑。徑2,6：TO901317(2 μ M)。徑3,7：IL-1 β +抑瘤素M(oncostatin M)(OSM)(各10 ng/ml)。徑4,8：IL-1 β +OSM+TO901317。

第4B圖是一種使用AGEG抗體之西方墨點，其顯示聚蛋白多醣酶產生的聚蛋白多醣新抗原決定位，其辨認聚蛋白多醣酶產生的聚蛋白多醣異化產物之不同的抗原決定位。徑1,5：載劑。徑2,6：TO901317(2 μ M)。徑3,7：IL-1 β +OSM(各10 ng/ml)。徑4,8：IL-1 β +OSM+TO901317。

第5A圖是一個長條圖，其顯示藉由LXR激動劑之來自細胞激素-處理的人類軟骨培植體的總前列腺素E2(PGE2)的生產之抑制。第5B圖比較於以載劑對照或LXR激動劑GW3965(2 μ M)予以處理歷時21天的培植體之內的、以膜磷脂PC和PE的形式存在之花生四烯酸的量。來自2個人類OA供者的軟骨樣本係被使用於此研究中。

【主要元件符號說明】

(無)

五、中文發明摘要：

本文中揭示的是經由LXR激動劑的使用而預防和治療骨關節炎的方法。

六、英文發明摘要：

Disclosed herein are methods of preventing and treating osteoarthritis through the use of LXR agonists.

十、申請專利範圍：

1. 一種LXR-反應性基因表現-調整量之LXR激動劑的用途，其係用於製造一藥物以治療罹患骨關節炎的哺乳動物。
- 5 2. 如申請專利範圍第1項之用途，其中該LXR激動劑是一天然的氧化類固醇，一合成的氧化類固醇，一合成的非氧化類固醇，或是一天然的非氧化類固醇。
3. 如申請專利範圍第1項或第2項之用途，其中該LXR激動劑是20(S)羥基膽固醇(20(S)hydroxycholesterol)，22(R)

10 羥基膽固醇，24(S)羥基膽固醇，25-羥基膽固醇，24(S),25環氧膽固醇(epoxycholesterol)，27-羥基膽固醇，N,N-二甲基-3 β -羥基膽固醯胺(N,N-dimethyl-3 β -hydroxycholamide) (DMHCA)，N-(2,2,2-三氟乙基)-N- {4-[2,2,2-三氟-1-羥基-1-(三氟甲基)乙基]苯基}

15 苯磺醯胺，[3-(3-(2-氯-三氟甲基苯基-2,2-二苯乙基胺基)丙氧基)苯乙酸]，N-甲基-N-[4-(2,2,2-三氟-1-羥基-1-三氟甲基-1-乙基)-苯基]-苯磺醯胺，4,5-二氫-1-(3-(3-三氟

20 甲基-7-丙基-苯并異喹啉-6-基氧)丙基)-2,6-嘓啶二酮，3-氯-4-(3-(7-丙基-3-三氟甲基-6-(4,5)-異喹啉基)丙基硫)-苯乙酸，乙醯-羅漢松二聚物(acetyl-podocarpic dimer)，樁菇菌素(paxilline)、德斯莫固醇(desmosterol)，或豆固醇(stigmasterol)。
4. 如申請專利範圍第3項之用途，其中該LXR激動劑是N-(2,2,2-三氟乙基)-N-[4-(2,2,2-三氟-1-羥基-1-三氟甲

基-1-乙基)-苯基]-苯磺醯胺。

5. 如申請專利範圍第1或2項中任一項之用途，其中以該LXR激動劑之治療係抑制軟骨降解以及誘導軟骨再生。
6. 如申請專利範圍第1或2項中任一項之用途，其中該LXR激動劑抑制聚蛋白多醣酶的活性。
7. 如申請專利範圍第1或2項中任一項之用途，其中該LXR激動劑抑制骨關節炎的關節內之前發炎細胞激素及/或發炎媒介的精緻化(elaboration)。
8. 如申請專利範圍第7項之用途，其中該發炎媒介是前列腺素E2。
9. 如申請專利範圍第1或2項中任一項之用途，其中以該LXR激動劑之治療係提供骨關節炎的關節內之疼痛的緩解。
10. 如申請專利範圍第1或2項中任一項之用途，其中該LXR-反應性基因是缺輔基脂蛋白D。
11. 一種有效量之LXR激動劑的用途，其係用以製造一藥物以誘導具有骨關節炎之軟骨之哺乳動物的缺輔基脂蛋白D的表現。
12. 一種LXR激動劑的用途，其係用以製造一藥物以維持一個體之軟骨內之缺輔基脂蛋白D的基本表現位準來預防骨關節炎，該個體之軟骨內之缺輔基脂蛋白D的基本表現位準為該個體之正常軟骨內之缺輔基脂蛋白D的基本表現位準。

13. 一種聚蛋白多醣酶(aggrecanase)活性-抑制量的LXR激動劑的用途，其係用於製造一藥物以治療罹患骨關節炎的哺乳動物。
14. 一種有效量之LXR激動劑的用途，其係用於製造一藥物以抑制具有骨關節炎之軟骨之哺乳動物的聚蛋白多醣酶的活性。
15. 一種有效量之LXR激動劑的用途，其係用於製造一藥物以抑制骨關節炎之關節內的前發炎細胞激素與脂質的精緻化來治療罹患骨關節炎的哺乳動物。
16. 一種有效量之LXR激動劑的用途，其係用於製造一藥物以緩解骨關節炎之關節內的疼痛來治療罹患骨關節炎的哺乳動物。
17. 如申請專利範圍第16項之用途，其中該LXR激動劑抑制TNF α 的表現。
18. 一種偵測一個個體內的一骨關節炎表現型的方法，其包含：
- (a) 決定正常的軟骨內之一基線缺輔基脂蛋白D的表現位準；
 - (b) 獲得來自一個被懷疑具有骨關節炎的個體之一軟骨樣本；以及
 - (c) 偵測該樣本中之缺輔基脂蛋白D的表現位準；
- 其中相較於基線缺輔基脂蛋白D的表現，該樣本中較低量的缺輔基脂蛋白D的表現係表明骨關節炎。
19. 一種鑑定一能夠降低軟骨內的骨關節炎的作用之LXR

配體的方法，其包含：

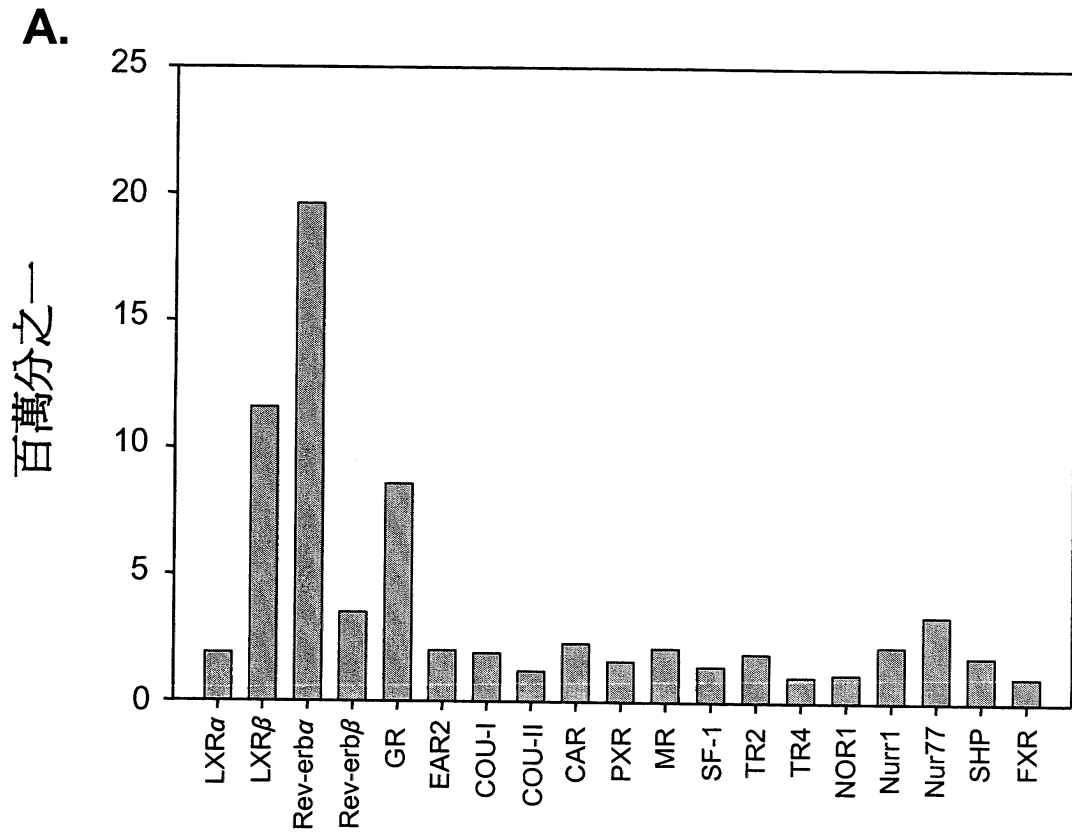
(a)提供一包含一LXR的樣本；

(b)接觸該樣本與一測試化合物；以及

5 (c)決定是否該測試化合物誘導缺輔基脂蛋白D的表現，抑制聚蛋白多醣酶的活性，抑制前發炎細胞激素的精緻化，或是其等之一組合。

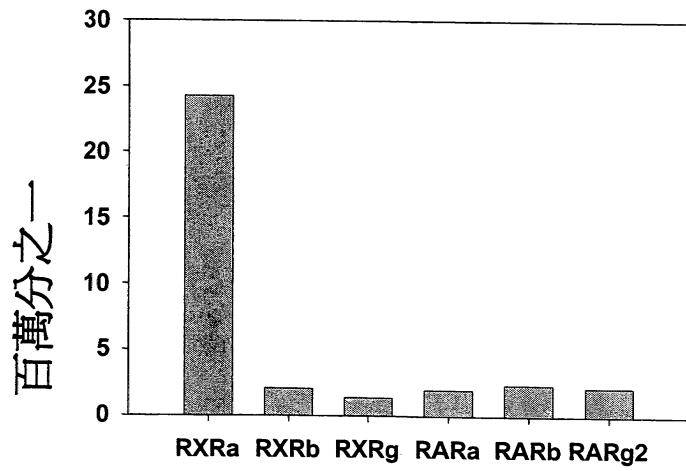
20. 一種LXR激動劑之用途，其係用於製造骨關節炎的治療或預防藥物。

第 1 圖



B.

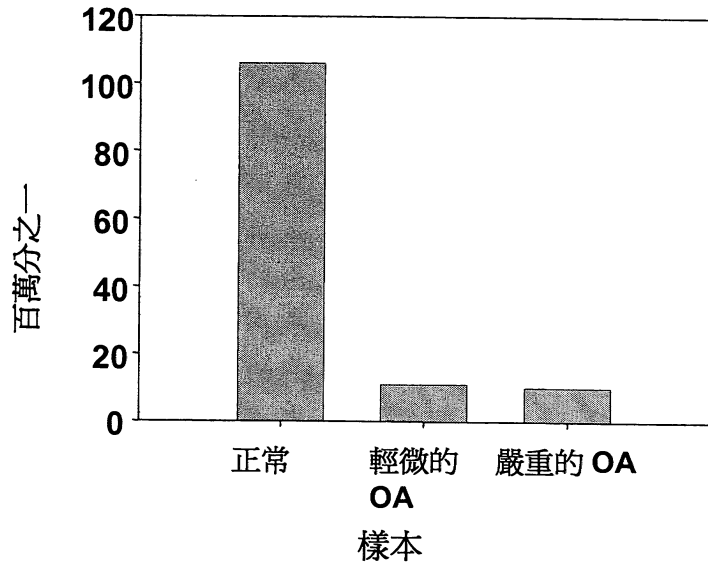
維生素 A 酸類受體



第 2 圖

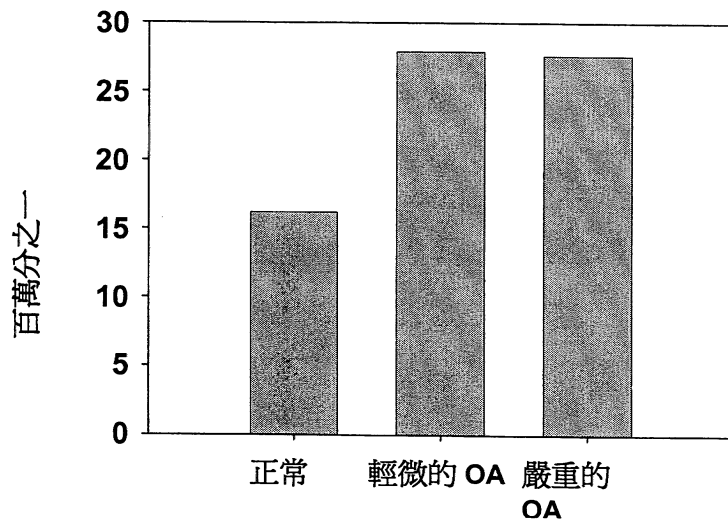
A.

正常與 OA 樣本中的 ApoD 表現

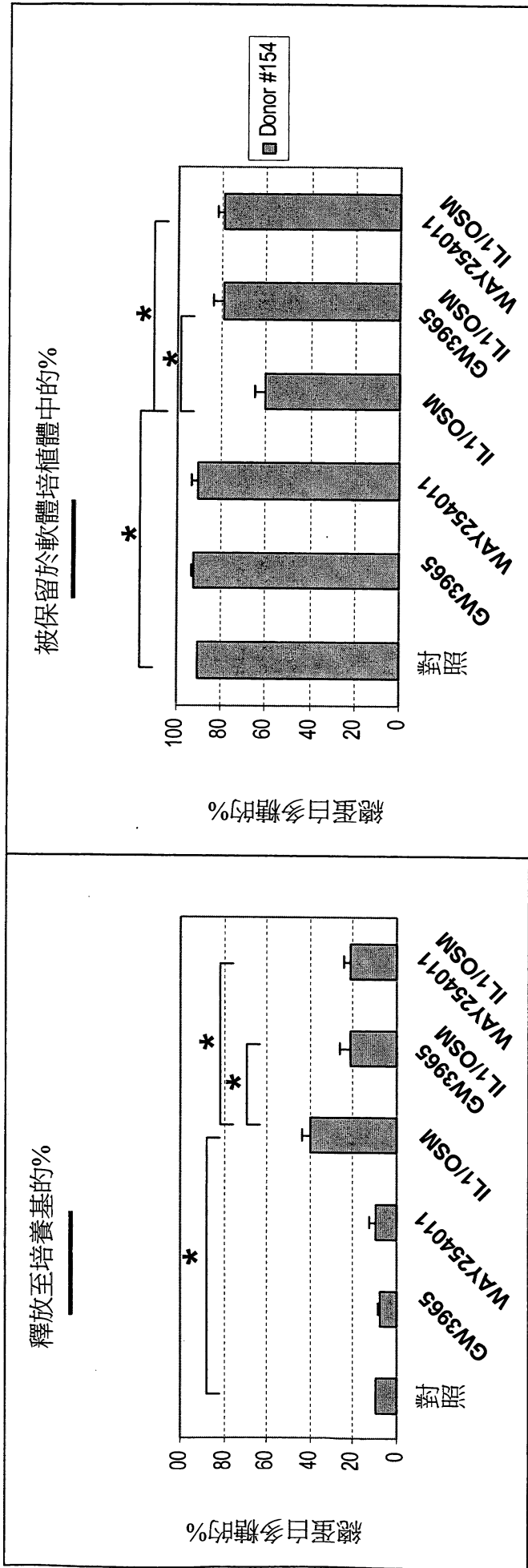


B.

正常與 OA 樣本中的 TNF α 表現



第3圖



七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (3) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：