

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710001670.5

[51] Int. Cl.

A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/07 (2006.01)
A61K 31/165 (2006.01)
A61K 31/17 (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01)
A61K 38/09 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 8 月 1 日

[11] 公开号 CN 101007172A

[51] Int. Cl. (续)

A61K 38/17 (2006.01)
A61K 38/24 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07K 14/00 (2006.01)
C07K 14/59 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)

[22] 申请日 2002.12.19

[21] 申请号 200710001670.5

分案原申请号 02826983.7

[30] 优先权

[32] 2001.12.19 [33] US [31] 60/340,502
[32] 2002. 4. 5 [33] US [31] 60/369,857
[32] 2002. 5.29 [33] US [31] 60/383,624
[32] 2002. 6. 5 [33] US [31] 60/385,559

[32] 2002. 6. 5 [33] US [31] 60/385,560
[32] 2002. 6. 5 [33] US [31] 60/385,561
[32] 2002. 6. 5 [33] US [31] 60/385,575
[32] 2002. 6. 5 [33] US [31] 60/385,576
[32] 2002. 6. 5 [33] US [31] 60/385,577

[71] 申请人 航行者药物公司

地址 美国北卡罗来纳州

[72] 发明人 R·L·博文

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商
标事务所

代理人 陈轶兰

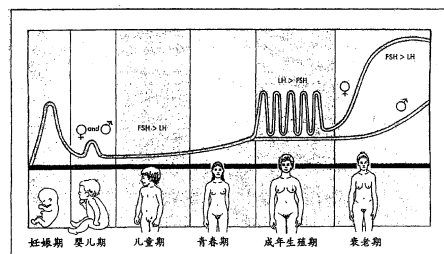
权利要求书 11 页 说明书 41 页 附图 4 页

[54] 发明名称

延缓衰老以及治疗和预防衰老相关疾病的方法

[57] 摘要

本发明涉及通过应用至少一种治疗有效量的生理性药剂而减缓、预防或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病的方法，此药剂可降低或调节 LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性，或者降低或调节活化素的产生或活性，或者提高或调节抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性。



出处: Boyer et al. (1972) N. Engl. J. Med. 287: 582

1、一种调节或降低 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于减缓、预防或延迟个体衰老的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种下列物质，或者其生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑素产生的化合物；GnRH 拮抗剂；GnRH 受体阻滞剂；citrorelix；abarelix；刺激可抑制 LH、FSH 或 GnRH 任一者活性的抗体产生的疫苗或抗体；刺激可阻断 LH 受体、FSH 受体或 GnRH 受体的抗体产生的疫苗或抗体；调节 LH 或 FSH 受体表达的化合物；或者调节 LH 或 FSH 受体的受体后信号作用的化合物；

其中该药物用于调节或降低此个体的有丝分裂指数。

2、一种调节或降低 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于减缓、预防或延迟个体衰老的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种下列物质，或者其生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑素产生的化合物；GnRH 拮抗剂；GnRH 受体阻滞剂；citrorelix；abarelix；刺激可抑制 LH、FSH 或 GnRH 任一者活性的抗体产生的疫苗或抗体；刺激可阻断 LH 受体、FSH 受体或 GnRH 受体的抗体产生的疫苗或抗体；调节 LH 或 FSH 受体表达的化合物；或者调节 LH 或 FSH 受体的受体后信号作用的化合物；

其中该药物用于将此个体的有丝分裂指数调节或降低达到或接近该个体接近其最大生殖功能期时的有丝分裂指数。

3、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于减缓、预防或延迟个体衰老的药物中的应用；其中所说的药剂包括活化素拮抗剂或者此活化素拮抗剂生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

4、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于减缓、预防或延迟个体衰老的药物中的应用；其中所说的药剂包括卵泡抑素或者卵泡抑素生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

5、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于减缓、预防或延迟个体衰老的药物中的应用；其中所说的药剂包括与活化素结合的化合物或者此化合物生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

6、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于减缓、预防或延迟个体衰老的药物中的应用；其中所说的药剂包括调节活化素受体的受体后信号作用的化合物，或者此化合物生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

7、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于减缓、预防或延迟个体衰老的药物中的应用；其中该药物用于调节或降低此个体的有丝分裂指数。

8、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于减缓、预防或延迟个体衰老的药物中的应用；其中该药物用于将此个体的有丝分裂指数调节或降低达到或接近该个体接近其最大生殖功能期时的有丝分裂指数。

9、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于减缓、预防或延迟个体衰老的药物中的应用。

10、如权利要求9所述的应用，其中所说的药剂包括卵泡抑素或者卵泡抑素生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

11、如权利要求9所述的应用，其中所说的药剂包括刺激卵泡抑素产生的化合物或者此化合物生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

12、如权利要求9所述的应用，其中所说的药剂包括调节卵泡抑素受体表达的化合物，或者此化合物生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

13、如权利要求 9 所述的应用，其中所说的药剂包括调节卵泡抑素受体的受体后信号作用的化合物，或者此化合物生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

14、如权利要求 9 所述的应用，其中该药物是用于将卵泡抑素血液水平调节或提高至大约尽可能得高，而没有不可接受的不良副作用。

15、如权利要求 9 所述的应用，其中该药物是用于将卵泡抑素产量调节或提高至大约尽可能得高，而没有不可接受的不良副作用。

16、如权利要求 9 所述的应用，其中该药物是用于将卵泡抑素功能调节或提高至大约尽可能得高，而没有不可接受的不良副作用。

17、如权利要求 9 所述的应用，其中该药物是用于将卵泡抑素活性调节或提高至大约尽可能得高，而没有不可接受的不良副作用。

18、如权利要求 9 所述的应用，还包括使用一种性类固醇用于制备该药物。

19、如权利要求 18 所述的应用，其中此性类固醇包括雌激素，或者雌激素生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

20、如权利要求 18 所述的应用，其中此性类固醇包括睾酮，或者睾酮生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

21、如权利要求 18 所述的应用，其中此性类固醇包括孕酮，或者孕酮生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

22、如权利要求 9 所述的应用，其中该药物用于调节或降低此个体的有丝分裂指数。

23、如权利要求 9 所述的应用，其中该药物用于将此个体的有丝分裂指数调节或降低达到或接近该个体接近其最大生殖功能期时的有丝分裂指数。

24、一种调节或降低 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种以下物质，或者其生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑

素产生的化合物；GnRH 拮抗剂；GnRH 受体阻滞剂；citrorelix；abarelix；刺激可抑制 LH、FSH 或 GnRH 任一者活性的抗体产生的疫苗或抗体；刺激可阻断 LH 受体、FSH 受体或 GnRH 受体的抗体产生的疫苗或抗体；调节 LH 或 FSH 受体表达的化合物；或者调节 LH 或 FSH 受体的受体后信号作用的化合物；

其中该药物用于调节或降低此个体的有丝分裂指数。

25、一种调节或降低 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种以下物质，或者其生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑素产生的化合物；GnRH 拮抗剂；GnRH 受体阻滞剂；citrorelix；abarelix；刺激可抑制 LH、FSH 或 GnRH 任一者活性的抗体产生的疫苗或抗体；刺激可阻断 LH 受体、FSH 受体或 GnRH 受体的抗体产生的疫苗或抗体；调节 LH 或 FSH 受体表达的化合物；或者调节 LH 或 FSH 受体的受体后信号作用的化合物；

其中该药物用于将此个体的有丝分裂指数调节或降低达到或接近该个体接近其最大生殖功能期时的有丝分裂指数。

26、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；其中所说的药剂包括活化素拮抗剂或者此活化素拮抗剂生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

27、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；其中所说的药剂包括卵泡抑素或者卵泡抑素生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

28、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；其中所说的药剂包括与活化素结合的化合物或者此化合物生理上可接受的类

似物、代谢物、前体或盐。

29、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；其中所说的药剂包括调节活化素受体的受体后信号作用的化合物，或者此化合物生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

30、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；其中该药物用于调节或降低此个体的有丝分裂指数。

31、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；其中该药物用于将此个体的有丝分裂指数调节或降低达到或接近该个体接近其最大生殖功能期时的有丝分裂指数。

32、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用。

33、如权利要求 32 所述的应用，其中所说的药剂包括卵泡抑素或者卵泡抑素生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

34、如权利要求 32 所述的应用，其中所说的药剂包括刺激卵泡抑素产生的化合物或者此化合物生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

35、如权利要求 32 所述的应用，其中所说的药剂包括调节卵泡抑素受体表达的化合物，或者此化合物生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

36、如权利要求 32 所述的应用，其中所说的药剂包括调节卵泡抑素受体的受体后信号作用的化合物，或者此化合物生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

37、如权利要求 32 所述的应用，其中该药物是用于将卵泡抑素血液水平调节或提高至大约尽可能得高，而没有不可接受的不良副作用。

38、如权利要求 32 所述的应用，其中该药物是用于将卵泡抑素产量调节或提高至大约尽可能得高，而没有不可接受的不良副作用。

39、如权利要求 32 所述的应用，其中该药物是用于将卵泡抑素功能调节或提高至大约尽可能得高，而没有不可接受的不良反应。

40、如权利要求 32 所述的应用，其中该药物是用于将卵泡抑素活性调节或提高至大约尽可能得高，而没有不可接受的不良反应。

41、如权利要求 32 所述的应用，还包括一种性类固醇在此药物制备中的应用。

42、如权利要求 41 所述的应用，其中此性类固醇包括雌激素，或者雌激素生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

43、如权利要求 41 所述的应用，其中此性类固醇包括睾酮，或者睾酮生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

44、如权利要求 41 所述的应用，其中此性类固醇包括孕酮，或者孕酮生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐。

45、如权利要求 32 所述的应用，其中该药物用于调节或降低此个体的有丝分裂指数。

46、如权利要求 32 所述的应用，其中该药物用于将此个体的有丝分裂指数调节或降低达到或接近该个体接近其最大生殖功能期时的有丝分裂指数。

47、一种调节或降低 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种以下物质，或者其生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑素产生的化合物；GnRH 拮抗剂；GnRH 受体阻滞剂；citrorelix；abarelix；刺激可抑制 LH、FSH 或 GnRH 任一者活性的抗体产生的疫苗或抗体；刺激可阻断 LH 受体、FSH 受体或 GnRH 受体的抗体产生的疫苗或抗体；调节 LH 或 FSH 受体表达的化合物；或者调节 LH 或 FSH 受体的受体后信号作用的化合物；

其中此衰老相关疾病包括动脉粥样硬化。

48、一种调节或降低 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的

药剂在制备用于治疗或预防个体与衰老相关疾病的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种以下物质，或者其生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑素产生的化合物；GnRH拮抗剂；GnRH受体阻滞剂；citorelix；abarelix；刺激可抑制LH、FSH或GnRH任一者活性的抗体产生的疫苗或抗体；刺激可阻断LH受体、FSH受体或GnRH受体的抗体产生的疫苗或抗体；调节LH或FSH受体表达的化合物；或者调节LH或FSH受体的受体后信号作用的化合物；

其中此衰老相关疾病包括急性脑损伤相关脑损害。

49、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于阻止或减缓单核细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞或淋巴细胞增殖的药物中的应用。

50、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于阻止或减缓神经元细胞增殖的药物中的应用。

51、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于阻止或减缓软骨细胞、滑膜内膜细胞、成纤维细胞或内皮细胞增殖的药物中的应用。

52、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于阻止或减缓软骨细胞、滑膜内膜细胞、成纤维细胞或内皮细胞增殖的药物中的应用。

53、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于阻止或减缓骨髓细胞增殖的药物中的应用。

54、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于阻止或减缓破骨细胞增殖的药物中的应用。

55、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于阻止或减缓破骨细胞增殖的药物中的应用。

56、一种调节或降低LH或FSH血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于增强或促进成骨细胞增殖的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种下列物质：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑素产生的化合物；GnRH拮抗剂；GnRH受体阻滞剂；citrorelix；abarelix；刺激可抑制LH、FSH或GnRH任一者活性的抗体产生的疫苗；刺激可阻断LH受体、FSH受体或GnRH受体的抗体产生的疫苗；或者其生理上可接受的类似物、代谢物或盐。

57、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于增强或促进成骨细胞增殖的药物中的应用。

58、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于增强或促进成骨细胞增殖的药物中的应用。

59、一种调节或降低LH或FSH血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于降低或调节有丝分裂指数的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种下列物质，或者其生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑素产生的化合物；GnRH拮抗剂；GnRH受体阻滞剂；citrorelix；abarelix；刺激可抑制LH、FSH或GnRH任一者活性的抗体产生的疫苗或抗体；刺激可阻断LH受体、FSH受体或GnRH受体的抗体产生的疫苗或抗体；调节LH或FSH受体表达的化合物；或者调节LH或FSH受体的受体后信号作用的化合物。

60、一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于降低或调节有丝分裂指数的药物中的应用。

61、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于降低或调节有丝分裂指数的药物中的应用。

62、一种调节或提高卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于抑制端粒缩短的药物中的应用。

63、一种调节或降低LH或FSH血液水平、产生、功能或活性的药剂在制备用于治疗或预防急性脑损伤相关脑损害的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种下列物质，或者其生理上可接受的类

似物、代谢物、前体或盐：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑素产生的化合物；GnRH 拮抗剂；GnRH 受体阻滞剂；citrorelix；abarelix；刺激可抑制 LH、FSH 或 GnRH 任一者活性的抗体产生的疫苗或抗体；刺激可阻断 LH 受体、FSH 受体或 GnRH 受体的抗体产生的疫苗或抗体；调节 LH 或 FSH 受体表达的化合物；或者调节 LH 或 FSH 受体的受体后信号作用的化合物。

64、至少一种调节或降低 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的生理性药剂在制备用于阻止或抑制个体细胞周期上调的药物中的应用；

所说的药剂包括一种或多种下列物质，或者其生理上可接受的类似物、代谢物、前体或盐：GnRH；亮丙瑞林；曲普瑞林；布舍瑞林；那法瑞林；desorelin；组氨瑞林；格舍瑞林；卵泡抑素；刺激卵泡抑素产生的化合物；GnRH 拮抗剂；GnRH 受体阻滞剂；citrorelix；abarelix；刺激可抑制 LH、FSH 或 GnRH 任一者活性的抗体产生的疫苗或抗体；刺激可阻断 LH 受体、FSH 受体或 GnRH 受体的抗体产生的疫苗或抗体；调节 LH 或 FSH 受体表达的化合物；或者调节 LH 或 FSH 受体的受体后信号作用的化合物。

65、至少一种调节或降低活化素血液水平、产生、功能或活性的生理性药剂在一种药物制备中的应用，该药物是用于阻止或抑制个体中细胞周期的上调。

66、至少一种调节或降低卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的生理性药剂在制备用于阻止或抑制个体细胞周期上调的药物中的应用。

67、一种测定有丝分裂指数的方法；

提供一种试验样品，该试验样品包含第一种多数细胞，来自标准生长培养基中的标准化细胞系；

采集个体的组织样品；

将组织样品施加给试验样品，形成一种复合样品；

测定此复合样品的细胞增殖;

提供一种对照样品, 该对照样品包含第二种多数细胞, 来自标准生长培养基中的标准化细胞系;

测定对照样品的细胞增殖;

以及比较对照样品的细胞增殖和复合样品的细胞增殖。

68、如权利要求 67 的方法, 其中测定此复合样品的细胞增殖包括用 BrdU 标记此复合样品。

69、如权利要求 67 的方法, 其中测定此复合样品的细胞增殖包括用胸苷标记此复合样品。

70、如权利要求 67 的方法, 其中测定此复合样品的细胞增殖包括对此复合样品中的细胞进行计数。

71、如权利要求 67 的方法, 其中比较步骤包括计算此复合样品的细胞增殖与对照样品的细胞增殖的比率。

72、如权利要求 67 的方法, 其中的组织样品为血清。

73、如权利要求 67 的方法, 其中的组织样品为血浆。

74、如权利要求 67 的方法, 其中的组织样品包括混合在一起的多种组织样品。

75、如权利要求 67 的方法, 还包括将此有丝分裂指数与基线有丝分裂指数进行比较, 此基线有丝分裂指数是来自该个体最大生殖功能时期或接近此时期。

76、一种用于测定个体有丝分裂指数的系统, 包括

一种试验样品, 该试验样品包含第一种多数细胞, 来自标准生长培养基中的标准化细胞系;

采集个体的组织样品的工具;

将组织样品施加给试验样品而形成一种复合样品的工具;

测定此复合样品的细胞增殖的工具;

一种对照样品, 该对照样品包含第二种多数细胞, 来自标准生长培养基中的标准化细胞系;

测定对照样品的细胞增殖的工具;

以及比较对照样品的细胞增殖和复合样品的细胞增殖的工具。

77、如权利要求 76 的系统，其中测定此复合样品的细胞增殖的工具包括 BrdU 标记。

78、如权利要求 76 的系统，其中测定此复合样品的细胞增殖的工具包括胸苷标记。

79、如权利要求 76 的系统，其中测定此复合样品的细胞增殖的工具包括细胞计数器。

80、如权利要求 76 的系统，其中的组织样品包括血清。

81、如权利要求 76 的系统，其中的组织样品包括血浆。

延缓衰老以及治疗和预防衰老相关疾病的方法

本申请是申请日为2002年12月19日、发明名称为“延缓衰老以及治疗和预防衰老相关疾病的方法”的中国发明专利申请No.02826983.7的分案申请。

发明领域

[0001] 本发明涉及一种减缓、预防或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病的方法。更特别地是，本发明涉及通过应用治疗有效量的至少一种生理性药剂而减缓、预防或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病的方法，此药剂可降低或调节促性腺激素（促黄体生成激素（“LH”）或促卵泡激素（“FSH”））的血液水平、产生、功能或活性，或者降低或调节活化素的血液水平、产生、功能或活性，或者提高或调节抑制素或卵泡抑素(follistatin)的血液水平、产生、功能或活性。

发明概述

[0002] 本发明包括在个体中减缓、预防或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病，或者抑制或阻止细胞周期上调，或者降低有丝分裂指数，或者抑制端粒缩短的方法，它是通过应用降低或调节 LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性的药剂（“LH/FSH 抑制剂”）而实现的。

[0003] 本发明还包括在个体中减缓、预防或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病，或者抑制或阻止细胞周期上调，或者降低有丝分裂指数，或者抑制端粒缩短的方法，它是通过应用降低或调节活化素的血液水平、产生、功能或活性的药剂（“活化素抑制剂”）而实现的。

[0004] 另外，本发明还包括在个体中减缓、预防或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病，或者抑制或阻止细胞周期上调，或者降低有丝分裂指数，或者抑制端粒缩短的方法，它是通过应用提高或调节卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性的药剂（“卵泡抑素增进剂”）而实现的。

[0005] 本发明还包括在个体中减缓、预防或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病，或者抑制或阻止细胞周期上调，或者降低有丝分裂指数，或者抑制端粒缩短的方法，它是通过应用提高或调节抑制素的血液水平、产生、功能或活性的药剂（“抑制素增进剂”）而实现的。

[0006] 本发明还包括减缓、预防或延迟衰老，或者治疗或预防动脉粥样硬化、骨质疏松症、或急性脑损伤相关脑损害的方法，它是通过应用阻止或抑制细胞进入细胞周期的药剂（“细胞周期抑制剂”）而实现的。这种药剂包括但不限于，例如，低密度脂蛋白受体相关蛋白受体关联蛋白（“RAP”）；针对涉及促进细胞分裂的蛋白的疫苗或抗体（例如针对细胞周期蛋白如 CDK）；紫杉酚；维生素 A；羟基脲；秋水仙碱；降胆固醇药物，诸如洛伐他汀或普伐他汀；以及这些药剂的类似物、代谢物、前体和盐。

[0007] 本发明还包括测定个体有丝分裂指数的方法，包括：提供一种试验样品，该试验样品包含的第一种多数细胞来自标准生长培养基中的标准化细胞系；采集个体的组织样品；将组织样品加入试验样品，形成复合样品；测定此复合样品的细胞增殖；提供一种对照样品，该对照样品包含的第二种多数细胞来自标准生长培养基中的标准化细胞系；测定对照样品的细胞增殖；以及比较对照样品的细胞增殖和复合样品的细胞增殖。

[0008] 本发明也包括测定个体中有丝分裂指数的系统，它包括：一种试验样品，它包含的第一种多数细胞来自标准生长培养基中的标准化细胞系；从个体中采集组织样品的工具；将组织样品加到试验样品而形成复合样品的工具；测定复合样品细胞增殖的工具；一种对照样品，它包含的第二种多数细胞来自标准生长培养基中的标准化细胞系；测定对照样品细胞增殖的工具；以及比较对照样品的细胞增殖和复合样品的细胞增殖的工具。

附图的简要说明

[0009] 附图 1 显示正常健康人从受孕到死亡的过程期间促性腺激

素分泌的模式。

[0010] 附图 2 表明不同量的 LH 对 BrdU 标记的成神经细胞瘤细胞增殖的作用。

[0011] 附图 3 表明暴露于亮丙瑞林的成神经细胞瘤细胞的增殖，并将它与未暴露于亮丙瑞林的对照样品进行比较。

[0012] 附图 4 表明以 10mcg/kg/小时等速输注 10 小时和 24 小时的卵泡抑素的血液水平。

详细描述

[0013] 在此说明书中，“衰老”是指有机体或其任何组织的功能的任何改变，这种改变是在最大生殖功能期以后伴随生殖功能下降而发生的，而人的最大生殖功能期一般相当于约 18 至 35 岁。“衰老相关疾病”是指衰老引起的、与衰老联系的、或以其它方式与衰老相关的任何疾病、病症、退化、组织损耗、或其它不健康或异常的状况。衰老相关疾病的实例包括但不限于：动脉粥样硬化、脑癌（包括但不限于神经瘤、多形性成胶质细胞瘤、成神经细胞瘤、神经胶质瘤、多形性恶性胶质瘤、星形细胞瘤、脑膜瘤、垂体腺瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、成神经管细胞瘤、室管膜瘤、肉瘤、少突神经胶质瘤、成神经管细胞瘤、脊髓肿瘤和神经鞘瘤）、结肠息肉和结肠直肠癌、骨髓增殖性疾病（包括但不限于何杰金氏病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、短暂骨髓增生紊乱（TMD）（也称为短暂骨髓增生综合征）、先天性短暂白血病、先天性白血病样反应、短暂白血病样增生、短暂异常骨髓细胞生成、急性髓性白血病（AML）、急性巨核细胞白血病（AMKL）（也称为红细胞-巨核细胞白血病）；总 B 系急性淋巴细胞白血病（ALL）、红细胞增多症、血小板增多症、骨髓增生异常综合征、骨髓纤维化、嗜酸细胞增多综合征（HES）、慢性淋巴细胞白血病、幼淋巴细胞白血病、毛细胞白血病、慢性髓细胞白血病、其它白血病、以及其它骨髓性癌）、骨关节炎、骨质疏松症、肿瘤、白内障、黄斑变性、听力丧失、中风、牙周病、骨质减少、周围神经病、COPD、高血压、II 型糖尿病、肌肉减少症、高血压、原发性肺动脉高血压、充血性心力衰竭、左室肥

大、心脏瓣膜疾病、食管炎、食管狭窄、胃轻瘫、慢性胰腺炎、高胆固醇血症、高甘油三酯血症、肝硬化、肝炎、胆石症、胆囊炎、溃疡性结肠炎、炎性肠病、节段性回肠炎、纤维肌痛、肥胖、肾衰竭、蛋白尿、痛风、高尿酸血症、膜性肾病、结节性多动脉炎、风湿性多肌痛、类风湿性关节炎、进行性系统性硬化症、脊柱狭窄、脊髓损伤、偏头痛、男性型秃发、结节病、韦格内氏肉芽肿病、淀粉样变性、皮炎、移植物抗宿主疾病、系统性红斑狼疮、皮脂溢性皮炎、牛皮癣样湿疹性皮炎、丘疹鳞屑性湿疹性皮炎、银屑病、皮脂溢性角化病、再生期脱发、吞咽困难、Barrett食管、失弛缓症、恰加斯氏病、面神经病、三叉神经痛、腕管综合征、线粒体肌病和脑病、重症肌无力、创伤性脑损伤、星形细胞瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、神经鞘瘤、垂体腺瘤、松果体细胞瘤和成松果体细胞瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、成神经管细胞瘤、脊髓肿瘤、副肿瘤综合征、缺氧性脑病、多发性硬化症、横贯性脊髓炎、帕金森氏病、肺鳞状细胞癌、肺腺癌、肺大细胞癌、肺小细胞癌、食管癌、胃癌、胰腺癌、肝细胞癌、胆囊癌、结肠直肠癌、何杰金氏病、非何杰金淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、缘区淋巴瘤、弥漫性大细胞淋巴瘤、Burkitt淋巴瘤和Burkitt样淋巴瘤、成淋巴细胞淋巴瘤、外周T细胞淋巴瘤、大细胞（T细胞和null）退行性淋巴瘤、原发性退行性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、尤因肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤、肾细胞癌、膀胱癌、睾丸癌、精原细胞瘤、非精原细胞瘤、头和颈的鳞状细胞癌、唾液腺肿瘤、尘肺、石棉肺、硅肺、煤炭工人尘肺、铍中毒、恶性弥漫性浸润性肺病、肺癌性淋巴管炎引起的疾病、肺泡细胞癌引起的疾病、病因不明的慢性弥漫性浸润性肺病、结节病、特发性肺纤维化、脱屑性间质性肺炎/呼吸性细支气管炎、间质性肺病、急性间质性肺炎、淋巴细胞间质性肺炎、非特异性间质性肺炎/纤维化、闭塞性细支气管炎、斯耶格伦氏综合征、混合性结缔组织病、肺嗜酸性肉芽肿、变应性肉芽肿病和血管炎、嗜酸细胞增多综合征、骨关节炎、脊关节炎、关节强硬性脊椎炎、反应性关节炎（先前称为瑞特综合征）、牛皮癣关节炎、

肠病关节炎、幼年脊椎关节病、痤疮关联关节炎、SAPHO（滑膜炎、痤疮、脓疱病、骨肥厚、骨炎）综合征、惠普尔病、骨佩吉特病、骨软化、肌肉量下降、皮肤弹性下降、皮肤变薄、头发生长减少、皮下胶原丧失、免疫功能下降、肺功能下降、动脉弹性丧失、尿失禁、肾功能丧失、急性脑损伤相关的脑损害，以及射精距离缩短。

[0014] “细胞周期上调”是指进入细胞周期的细胞的频率和比率的增加。“细胞周期”是指细胞经历染色体复制和分裂而产生新的子细胞的过程。“有丝分裂刺激增强”是指有丝分裂促进因子的血液水平、产生、功能或活性的提高，或者有丝分裂抑制因子的血液水平、产生、功能或活性的下降。“有丝分裂促进因子”是指为细胞进入细胞周期而充当推动刺激的化合物，包括但不限于 LH、FSH 和活化素。“有丝分裂抑制因子”是指抑制细胞进入细胞周期的化合物，可以是直接地抑制，也可以是通过抑制有丝分裂刺激物的活性，它们包括但不限于抑制素和卵泡抑素。在整个申请中，术语“细胞周期的上调”和“有丝分裂刺激增强”可互相替换使用。

衰老和衰老相关疾病的机理

[0015] 目前衰老通行的理论是，随着机体及其组织变老，进入细胞周期的细胞比率不断下降，并且当细胞不再能进入细胞周期时，它则出现机能障碍或死亡（Mathon NF, Lloyd AC, Cell senescence and cancer, Nature Rev Cancer Dec; 1 (3): 203-13 (2001)）。与传统学说相反，按照本发明，衰老是由细胞周期的上调和/或有丝分裂刺激增强引起的，其与生殖功能的下降相关。例如，研究显示衰老大鼠的肠中细胞分裂的比率升高（E. g. , Holt PR, Yeh KY, Kotler DP, Altered controls of proliferation in proximal small intestine of the senescent rat, Proc Natl Sci USA Apr; 85 (8): 2771-5 (1988)）。类似的发现也在人类中得到证明（Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Luinetti O, Rossi M, Cifone MG, Corazza GR. Descner EE, Small bowel enterocyte apoptosis and proliferation are increased in the elderly, Gerontology 2002 Jul-Aug; 48 (4): 204-8）。因此，本发明的目的是通过应用抑制细

胞周期上调的一种或多种药剂，而减缓衰老，或阻止或延迟衰老的起始。

[0016] 另外，与传统学说相反，按照本发明，衰老相关疾病是由细胞周期的上调引起的。细胞周期的上调对不同类型的细胞可能具有不同的作用，而引起不同的疾病。例如，在某些衰老相关疾病中，诸如许多癌症中，细胞发生突变，使它们无限地分裂和增殖。发生这些突变的一种机理是 DNA 转录中错误引起的。因为随着每个细胞周期都发生 DNA 转录，所以细胞周期越频繁，DNA 转录中错误的概率越大，此错误可引起突变，而将健康细胞转变为癌细胞。因此，细胞周期的上调不仅提高突变发生的可能性，而且一旦发生突变，细胞周期的上调可促进癌细胞以增加的速率增殖。

[0017] 一些其它衰老相关疾病，诸如与许多神经元细胞相关的那些疾病，是由终末分化细胞（即不能完成细胞周期的细胞）的细胞周期上调引起的。细胞周期的上调使终末分化细胞进入细胞周期，但当这些细胞不能完成细胞周期时，它们则死亡或出现机能障碍，而导致疾病状态的出现。在又一些其它衰老相关疾病中，诸如动脉粥样硬化或骨质疏松症中，细胞周期的上调则引起健康细胞以大于正常的速率增殖，导致病理性结果的发生。因此，本发明的目的是通过应用抑制细胞周期上调的药剂，而治疗或预防衰老相关疾病。

[0018] 按照本发明，LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性的提高，或者活化素的血液水平、产生、功能或活性的提高，或者抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性的降低，引起与衰老和/或衰老相关疾病有关的细胞周期上调。

[0019] 附图 1 的示意图显示的是正常健康人从受孕直至死亡的促性腺激素的血液水平。妊娠是细胞增殖最大的时期，在此期间胎儿暴露于高血液水平的人绒毛膜促性腺激素（hCG）（一种仅在妊娠期间以显著量存在的促性腺激素，而且其与 LH 具有 83% 序列同源性，并与 LH 具有相同的受体）（Fisher DA, Endocrinology of fetal development, 在 Williams Textbook of Endocrinology, 编者 Wilson JD, Foster DW,

Kronenberg HM, Larsen PR, W. B. Saunders Co. , Philadelphia, PA (1998))。在妊娠期间, 机体还分泌高血液水平的活化素, 在几种组织中它也显示出可增加细胞的增殖 (Qu J, Thomas K, Inhibin and activin production in human placenta, *Endocrine Reviews* 16: 485-507 (1995))。活化素也刺激垂体腺分泌 FSH, 以及程度较低地刺激垂体腺分泌 LH (Robertson DM, McLachlan RI, Burger HG, Inhibin-related proteins in the male, 在 *The Testis*, 编者 Burger H, de Kretser D, Raven, New York, NY (1989))。

[0020] 如附图 1 中所示, LH 和 FSH 的血液水平在婴儿期存在另一峰值, 即约在生命的第 1 年, 这是快速细胞增殖的另一时期, 正常情况下在此期间人的体重增长 1 倍。1 岁后, LH 血液水平保持实质上检测不出, 而 FSH 的血液水平保持相当低, 因为这个时期有丝分裂相当低。然而, 约 5 年的青春期 (年龄约为 13-18 岁) 是快速细胞增殖的另一时期, 在此期间 LH 和 FSH 的血液水平逐渐升高, 体重再次几乎增长 1 倍 (Winter JSD, Faiman C, Reyes FI, Gonadotropins and steroid hormones in the blood and urine of prepubertal girls and other primates, *Clin Endocrinol Metab* 7: 513-530 (1978))。

[0021] 在成年生殖高峰期 (约为 18-35 岁) 期间或左右, FSH 和 LH 的血液水平和活性与青春期前的儿童期相比升高, 但类固醇性激素雌激素和睾酮可能抵销了它们对细胞周期的促有丝分裂作用 (Reichlin S, Neuroendocrinology, 在 *Williams Textbook of Endocrinology*, 编者 Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, W. B. Saunders Co. , Philadelphia, PA, p. 212-213 (1998))。如附图 1 所示, 女性中 LH 和 FSH 的血液水平随生殖周期而波动 (Reame N, Saunderson SE, Kelch RP, Pulsatile gonadotropin secretion during the menstrual cycle: evidence for altered frequency of gonadotropin-releasing hormone secretion, *J Clin Endocrinol Metab* 59:328-337(1984))。在成年生殖期, 活化素的血液水平、产生、功能或活性也被卵泡抑素和/或抑制素抵销了 (Halvorson, LM & Chin WW,

Gonadotropic hormones: biosynthesis, secretion, receptors, and action, 在 Reproductive Endocrinology, 4th ed., Yen, SSC, Jaffe RB & Barbieri RL, eds.: 94-97, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1999))。

[0022] 生殖功能的下降伴随衰老的开始和进展 (也就是女性的绝经和男性更年期) (Lamberts SW, van den Beld AW, van der Lely AJ, The endocrinology of aging, Science, Oct 17; 278 (5337): 419-24(1997))。如附图 1 所示, 在衰老期间, LH 和 FSH 的血液水平增高, 有时在此期间达到除妊娠期外的最高水平 (Yen SCC, The biology of menopause, J Reprod Med 18: 287-296 (1977); Harman DM, Tsitouras PD, Reproductive hormones in aging men I: Measurement of sex steroids, basal luteinizing hormone, and Leydig cell response to human chorionic gonadotropin, J Clin Endocrinol Metab 51: 35-40 (1980))。女性 LH 和 FSH 的增高比男性迅速和突然得多 (Sherman BM, West JH, Korenman SG, The menopausal tradition: analysis of LH, FSH, estradiol and progesterone concentrations during menstrual cycles of older women, J Clin Endocrinol Metab 42: 629-636 (1976))。一项研究显示老年女性的 LH 血清浓度增高 3 至 4 倍, FSH 血清浓度增高 4 至 18 倍 (Chakravarti S, Collins WP, Forecast JD, Newton JR, Oram DH, Studd JW, Hormonal profiles after the menopause, Br Med J 1976, Oct 2; 2 (6039):784-7)。同样, 老年男性的 LH 和 FSH 血清浓度也分别增高了 2 倍以上和 3 倍 (Neaves 等人, 1984)。另外, 老年女性下丘脑中促性腺激素释放激素的 mRNA 水平增高 (Rance NE, Uswandi SV. Gonadotropin-releasing hormone gene expression is increased in the medial basal hypothalamus of postmenopausal women. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 81 (10): 3540-6 (1996))。这种 LH 和 FSH 产生的增高, 至少部分是由于类固醇性激素和抑制素的产生下降所致 (Yen SCC, The biology of menopause, J Reprod Med 18: 287-296 (1977))。在老年男性中, 与睾酮浓度相比, 血清 LH 浓度与脆弱更密切相关 (van den Beld A,

Huhtaniemi IT, Pettersson KS, Pols HA, Grobbee DE, de Jong FH, Lamberts SW, Leutinizing hormone and different genetic variants as indicators of frailty in healthy elderly men, *J Clin Endocrinol Metab* 1999 Apr; 84 (4): 1334-9)。

减缓、阻止或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病的方法和药剂

[0023] 按照本发明的一个方面，衰老过程中 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的提高与细胞周期的上调相关。因此，本发明的实施方式包括，通过给予个体一种或多种 LH/FSH 抑制剂（即降低或调节 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的药剂），而减缓、阻止或延迟衰老，或者预防或治疗衰老相关疾病。

[0024] LH/FSH 抑制剂的实例包括但不限于促性腺激素释放激素（GnRH）或 GnRH 类似物。可给予 GnRH 和 GnRH 类似物以降低或调节 LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性。研究显示 GnRH 或 GnRH 类似物水平的提高将导致显著降低 LH 和 FSH 的水平（Thorner MO, et al., The anterior pituitary, 在 *Williams Textbook of Endocrinology* 9th 版，编者 Wilson JD, Foster DW, Kronenberg H, Larsen PR, 269, W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA(1998)）。例如，亮丙瑞林是一种 GnRH 类似物，已经表明在最初给药后，它可使垂体分泌 LH 和 FSH 提高几天（Mazzei T 等人, *Pharmacokinetics, endocrine and antitumor effects of leuprolide depot (TAP-144-SR) in Advanced Prostatic Cancer: A Dose Response Evaluation, Drugs in Experimental and Clinical Research*, 15: 373- 387 (1989)）。此后，垂体 GnRH 受体下调，导致 LH 和 FSH 分泌的显著下降（Mazzei T 等人, *Human pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles of leuprorelin acetate depot in prostatic cancer patients, Journal of Internal Medicine Research*, 18 (suppl): 42-56 (1990)）。用于本发明的 GnRH 类似物的实例包括但不限于亮丙瑞林、曲普瑞林、布舍瑞林、那法瑞林、desorelin、组氨瑞林和格舍瑞林。

[0025] 按照本发明,可应用的 LH/FSH 抑制剂的其它实例包括但不限于抑制素或卵泡抑素,或者刺激抑制素或卵泡抑素产生的化合物,它们将抑制 FSH 分泌,并较小程度地抑制 LH 分泌 (Lee S, Rivier C. Effect of repeated activin-A treatment on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of the adult male rat, *Biology of Reproduction*, 56 (4): 969-75 (1997)). 抑制素和卵泡抑素与活化素结合,并使其失活,而活化素可刺激垂体分泌 FSH,并较小程度地刺激 LH 的分泌 (Robertson DM 等人, *Inhibin-related proteins in the male*, 在 *The Testis*, 2nd 版,编者 Burger H 和 deKretser D, 1989: 231-254, Raven, New York (1989); Xiao S 等人, *Interaction between activin and follicle-stimulating hormone-suppressing protein/follistatin in the regulation of basal inhibin production by cultured rat granulosa cells*, *Endocrinology*, 131 (5): 2365-70 (1992)). 通过阻断活化素的作用,抑制素和卵泡抑素可降低 LH 或 FSH 分泌。

[0026] 按照本发明,可应用的 LH/FSH 抑制剂的其它实例还包括但不限于刺激抗体产生的疫苗或抗体,所产生的抗体可抑制 LH、FSH 或 GnRH 的活性。LH/FSH 抑制剂的其它实例包括但不限于刺激抗体产生的疫苗或抗体,所产生的抗体可阻断 LH 受体、FSH 受体或 GnRH 受体。这些疫苗的实例包括但不限于 Talwar 疫苗和 Apton Corporation 生产上市的商品名为 GONADIMMUNE® 的疫苗。

[0027] LH/FSH 抑制剂的实例还包括但不限于 GnRH 拮抗剂; GnRH 受体阻滞剂,诸如 citorelix 或 abarelix; 调节 LH 或 FSH 受体表达的化合物;以及调节 LH 或 FSH 受体的受体后信号作用的化合物。LH/FSH 抑制剂的其它实例包括但不限于任何上述 LH/FSH 抑制剂的生理上可接受的类似物、代谢物、前体和盐。

[0028] 按照本发明的另一方面,在衰老过程中,活化素生物利用率提高,至少部分是由于抑制素和/或卵泡抑素的水平或产生下降所致 (Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, Groome N, Guthrie JR, Green A, Dennerstein L, *Prospectively measured levels of serum*

follicle-stimulating hormone, estradiol, and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population-based cohort of women, J Clin Endocrinol Metab Nov; 84(11) : 4025-30 (1999))。活化素由 β 亚单位的二聚体组成,其标示为 A、B、C、D 和 E,产生 32 种不同类型的活化素。与活化素 A 抑制细胞增殖的传统学说相反,按照本发明,高浓度的活化素 A 对活化素受体进行下调,并提高细胞的增殖。

[0029] 按照本发明,衰老过程中活化素血液水平、产生、功能或活性的提高与细胞周期的上调相关。因此,本发明的另一实施方式包括通过给予个体一种或多种活化素抑制剂(即降低或调节活化素的血液水平、产生、功能或活性的药剂)而减缓、阻止或延迟衰老,或者预防或治疗衰老相关疾病。

[0030] 活化素抑制剂的实例包括但不限于活化素拮抗剂,诸如抑制素或卵泡抑素;刺激抑制素或卵泡抑素产生的化合物;以及与活化素或与细胞上的活化素受体结合而阻滞活化素与其受体结合的化合物。本发明中包含的活化素抑制剂的其它实例包括但不限于活化素受体阻滞剂、调节活化素受体表达的化合物、以及调节活化素受体的受体后信号作用的药剂。其它活化素抑制剂的实例包括但不限于刺激抗体产生的疫苗或抗体,所产生的抗体可识别、结合、或阻断或实质上降低活化素的活性或者一种或多种活化素受体。其它活化素抑制剂的实例包括但不限于任何上述活化素抑制剂的生理上可接受的类似物、代谢物、前体和盐。

[0031] 按照本发明,卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的降低与细胞周期的上调相关。因此,本发明另一种实施方式包括通过给予个体一种或多种卵泡抑素增进剂(即提高或调节卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性的药剂)而减缓、阻止或延迟衰老,或者预防或治疗衰老相关疾病。

[0032] 卵泡抑素增进剂的实例包括但不限于卵泡抑素和刺激卵泡抑素产生的化合物。卵泡抑素增进剂的其它实例包括但不限于调节

卵泡抑素受体表达的化合物，以及调节卵泡抑素受体的受体后信号作用的药剂。其它卵泡抑素增进剂包括但不限于任何上述卵泡抑素增进剂的生理上可接受的类似物、代谢物、前体和盐，例如卵泡抑素相关蛋白。

[0033] 另外，按照本发明，抑制素血液水平、产生、功能或活性的下降也与细胞周期的上调相关。因此，本发明另一种实施方式包括通过给予个体一种或多种抑制素增进剂（即提高或调节抑制素的血液水平、产生、功能或活性的药剂）而减缓、阻止或延迟衰老，或者预防或治疗衰老相关疾病。

[0034] 抑制素增进剂的实例包括但不限于抑制素和刺激抑制素产生的药剂。抑制素增进剂的其它实例包括但不限于调节抑制素受体表达的化合物，以及调节抑制素受体的受体后信号作用的药剂。其它抑制素增进剂的实例包括但不限于任何上述抑制素增进剂的类似物、代谢物、前体和盐。

[0035] 本发明还包括抑制端粒缩短速率的方法。在细胞周期期间，染色体通过端粒在其末端排列，端粒是完成细胞分裂所必需的（Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD, The cell nucleus, in Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing, Inc., New York, NY, p. 385-481 (1983)）。在正常健康细胞中，每次细胞分裂，其子细胞的端粒缩短（Saretzki G, Von Zglinicki T, Replicative aging, telomeres, and oxidative stress, Ann. N. Y. Acad. Sci. Apr; 959: 24-9 (2002)）。在有限数目的细胞周期后，端粒变得太短，而使细胞不能分裂，此细胞最终死亡（Tzukerman M, Selig S, Skorecki K, Telomeres and telomerase in human health and disease, J. Pediatr. Endocrinol. Metab., Mar; 15 (3): 229-40 (2002)）。端粒进行性的缩短导致端粒末端的蛋白包装发生中断，并通过 DNA 损伤识别途径而引起生长停滞反应（Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, Stansel RM, Bianchi A, Moss H, de Lange T, Mammalian telomeres end in a large duplex loop, Cell 97: 503-514 (1999)）。换句话说，组成正常健康亲本细胞的潜在后代的

细胞数目是有限的。因此，作为许多次先前细胞周期产物的“较老的”细胞，它们的端粒比“较年轻的”细胞的端粒短得多，这些“较年轻的”细胞是仅几次细胞周期的产物。

[0036] 按照本发明，端粒缩短速率增加与细胞周期的上调相关。因此，本发明也包括通过给予个体一种或多种上述 LH/FSH 抑制剂、活化素抑制剂、抑制素增进剂或卵泡抑素增进剂，包括但不限于它们的类似物、代谢物、前体或盐，而抑制或减缓端粒缩短的速率。在本发明的另一实施方式中，通过定期取组织活检样品，测定样品中细胞端粒的平均长度，可定量地测定组织中衰老的进展程度。

[0037] 在另一实施方式中，本发明包括降低或调节个体的有丝分裂指数的方法。有丝分裂指数测定个体的细胞增殖率，与对照细胞系的细胞增殖率进行比较。有丝分裂指数与个体衰老的速率或发生衰老相关疾病的倾向相关。例如本发明包括下面的方法和系统，它们用于测定个体的有丝分裂指数。首先，各自在标准生长培养基（例如琼脂）中培养试验样品和标准化细胞系的对照样品，此试验样品包含来自标准化细胞系的第一种多数细胞（例如人成纤维细胞，人成神经细胞瘤细胞）。其次，应用一种组织采集工具，诸如针，采集个体的组织样品，诸如血清、血浆或脑脊液。在一种实施方式中，采集个体的血样，离心，分离血清样品，其中可含有 LH、FSH、活化素、抑制素和/或卵泡抑素。因为 LH 和 FSH 是以脉冲的方式分泌的，所以在一种实施方式中，在数小时中采集几份血清样品，并将这些血清样品混合为平均化组织样品。应用加样工具，诸如移液管，将此组织样品加至试验样品中，产生一种复合样品。使复合样品和对照样品中的细胞循环预定的一段时间，诸如 24 小时。经过这段时间后，应用一种测定工具，例如 BrdU 标记、胸苷标记或细胞计数器，测定复合样品和对照样品中细胞的增殖。然后应用一种计算工具，诸如计算机，计算复合样品中细胞数目（或增殖率）与对照样品中细胞数目（或增殖率）的比率，以计算此个体的有丝分裂指数。

[0038] 如果此个体的 LH、FSH 和/或活化素的血液水平、产生、

功能或活性高，和/或抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性低，则预期此个体血清可引起试验样品的高增殖率，从而导致高的有丝分裂指数，因此衰老率高。因此，本发明包括给予一种或多种上述 LH/FSH 抑制剂、活化素抑制剂、抑制素增进剂和卵泡抑素增进剂，包括它们的类似物、代谢物、前体和盐，以降低或调节个体的有丝分裂指数。

[0039] 在本发明的其它实施方式中，诸如雌激素、孕酮或睾酮的性类固醇激素，或它们的类似物、代谢物、前体或盐，可与 LH/FSH 抑制剂、活化素抑制剂、抑制素增进剂或卵泡抑素增进剂联合应用，包括上面确定的那些。通过一种负反馈回路，雌激素、孕酮或睾酮的存在给下丘脑传递信号，以减少 GnRH 的分泌（Gharib SD 等人, *Molecular biology of the pituitary gonadotropins*, *Endocrine Reviews*, 11:177-199 (1990) ; Steiner RA 等人, *Regulation of leutinizing hormone pulse frequency and amplitude by testosterone in the adult male rat*, *Endocrinology*, 111: 2055-2061 (1982)）。随后 GnRH 的下降使 LH 和 FSH 的分泌减少（Thorner MO 等人, *The anterior pituitary*, 在 *Williams Textbook of Endocrinology*, 9th 版, 编者 Wilson JD, Foster DW, Kronenberg H, Larsen PR, 269, W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA(1998)）。因此，按照本发明，雌激素、孕酮或睾酮的联合应用可进一步降低 LH 或 FSH 的分泌，并因此抑制细胞周期的上调，有时起到协同作用。另外，因为上述 LH/FSH 抑制剂的应用可能存在不需要的副作用，即降低性类固醇的自然产生，所以本发明也包括性类固醇的联合应用，以补足性类固醇。

[0040] 在另一种实施方式中，本发明包括减缓、阻止或延迟衰老，或者治疗或预防动脉粥样硬化、骨质疏松症或急性脑损伤相关的脑损害，它是通过应用细胞周期抑制剂（即抑制细胞周期或细胞循环的上调的药剂）实现的。这种细胞周期抑制剂的一种实例包括低密度脂蛋白受体相关蛋白受体关联蛋白（“RAP”）。RAP 与 α -2 巨球蛋白（“A2M”）受体结合，并使其失去活性，阻止 A2M 的结合。已表明

A2M 可与活化素结合。按照本发明, A2M:活化素复合物与 A2M 受体结合, 以介导活化素的某些活性, 而且因为活化素可提高细胞增殖, 所以按照本发明可应用 RAP。

[0041] 细胞周期抑制剂的另一种实例是针对涉及促进细胞分裂的蛋白(例如, 细胞周期蛋白, 如 CDKs)的疫苗或抗体。尽管在应用疫苗或抗体后, 机体产生抗体需要约 10 天的时间, 但用针对这些细胞周期蛋白中每一种的抗体所进行的被动免疫应立刻降低它们的血清水平。

[0042] 细胞周期抑制剂的另一实例是紫杉酚, 它通过阻断微管和细胞骨架的变化而抑制细胞分裂。本发明所包括的细胞周期抑制剂的其它实例包括但不限于维生素 A(即视黄酸)、羟基脲、秋水仙碱和降胆固醇药物, 诸如洛伐他汀和普伐他汀。

治疗目标

[0043] 本发明包括减缓、阻止或延迟衰老, 或者治疗或预防衰老相关疾病, 或者抑制或阻止细胞周期上调, 或者降低有丝分裂指数, 或者抑制端粒缩短, 这是通过联合地、以一定量和服药方案应用一种或多种上述 LH/FSH 抑制剂, 以将 LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性降低或调节达到或接近下面的 LH 和 FSH 的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性的其中之一而实现的。

[0044] 在一种实施方式中, LH 或 FSH 的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性是在最佳生殖功能期或接近最佳生殖功能期出现的血液水平、产量、功能或活性, 在人类中相当于 18 至 35 岁。例如, 这个时期 LH 正常血液水平, 男性约为 0-10.0mIU/mL, 女性约为 0.4-92.9mIU/mL(它随生殖周期波动)。这个时期 FSH 正常血液水平, 男性约为 2.0-22.6mIU/mL, 女性约为 2.9-29.5mIU/mL(它也随生殖周期波动)。在另一种实施方式中, LH 或 FSH 的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性是用本领域已知的常用方法不能检测出或几乎不能检测出的血液水平、产量、功能或活性。例如, 对于 LH 和 FSH 两者, 0.7mIU/mL 的血液水平目前在临床实验室中是检测不

出的。在本发明的另一种实施方式中，LH 或 FSH 的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性尽可能得低，而没有不可接受的不良副作用。不可接受的不良副作用是本领域普通技术人员合理判断为代价超过治疗益处的不良副作用。

[0045] 按照本说明书，本领域普通技术人员可清楚地认识到可以定期监测个体 LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性，而且为了达到 LH 和 FSH 的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性，可以滴定或改变 LH/FSH 抑制剂的联合、用量和服药方案。在一种实施方式中，LH/FSH 抑制剂的剂量，例如醋酸亮丙瑞林，可在约 0.01 mcg/kg/小时至约 100 mg/kg/天之间。按照本说明书，例如可将这种 LH/FSH 抑制剂作为一种每小时给药的皮下注射剂应用，或作为一种恒速的静脉内输液应用多小时，或作为延时释放形式（诸如包在聚合物基质或微球体中的药剂）每月或每半月给药的肌肉注射剂应用，或者使用本领域普通技术人员很清楚的其它剂型或方案给药。在此实施方式中，开始时可对个体给予低剂量，例如约 0.01 mcg/kg/小时。大约 2 周后，可测定 LH 和 FSH 血液水平。如果 LH 和 FSH 血液水平还高于目标水平，则可逐渐提高剂量（例如以 0.1 mcg/kg/小时）。可重复这种滴定法，直到 LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性达到所需要的上述 LH 或 FSH 目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性。

[0046] 例如，将 30mg 延时释放剂量的醋酸亮丙瑞林应用于一名约 72 岁老年男性。将醋酸亮丙瑞林包在聚合物基质中，使其可在约 4 个月的时间内逐渐释放。2 周以后，个体的 LH 血液水平是不可检测的，而 FSH 血液水平为约 5mIU/mL。在另一种实例中，预期包在聚合物基质中的可逐渐释放约 1 个月的 1.88 mg 醋酸亮丙瑞林可将许多个体的 LH 和 FSH 血液水平降低到不可检测的水平。按照本说明书，本领域普通技术人员将清楚地认识到，为了达到这些目标之一，根据各种因素，诸如年龄、性别、体重、饮食、所治疗的疾病、疾病的进展程度和使用的其它药物等，不同个体之间 LH/FSH 抑制剂的剂量将

各不相同。

[0047] 本发明还包括减缓、阻止或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病，或者抑制或阻止细胞周期上调，或者降低有丝分裂指数，或者抑制端粒缩短，这是通过联合地以一定量和服药方案应用一种上述活化素抑制剂，以将活化素的血液水平、产生、功能或活性降低或调节达到或接近下面活化素的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性的其中之一而实现的。

[0048] 在一种实施方式中，活化素的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性是在最佳生殖功能时期或接近最佳生殖功能时期出现的血液水平、产生、功能或活性。例如，这个时期活化素-A 正常血液水平，男性女性均为约 590 pg/mL。在另一种实施方式中，活化素的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性是本领域已知的常用方法检测不出或几乎检测不出的血液水平、产生、功能或活性。在另一种实施方式中，活化素的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性大约尽可能得低而没有不可接受的不良副作用。

[0049] 按照本说明书，本领域普通技术人员可清楚地认识到可定期监测个体活化素的血液水平、产生、功能或活性，而且为了达到活化素的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性，可以滴定或改变活化素抑制剂的联合、用量和服药方案。在一种实施方式中，活化素抑制剂的剂量可在约 0.01 mcg/kg/小时至约 100 mg/kg/天之间。按照本说明书，这种活化素抑制剂的应用方式可以是，例如，每小时给药的皮下注射剂，或者可应用多小时的滴速恒定的静脉内输注剂，或者延时释放形式的（诸如包在聚合物基质或微球体中的药剂）每月或每半月给药的肌肉注射剂，或者使用本领域普通技术人员很清楚的其它剂型或方案给药。在这种实施方式中，首先可对个体应用约 0.01 mcg/kg/小时的活化素抑制剂。大约 2 周后，可测定活化素血液水平，并根据此血液水平调节剂量。例如，如果此血液水平低于目标水平，则可逐渐提高剂量（例如每 2 周增加 0.1 mcg/kg/小时），直到活化素血液水平达到上述所需要的目标血液水平。在另一种实例中，就卵泡

抑素增进剂在下文讨论卵泡抑素、活化素抑制剂和卵泡抑素增进剂的剂量。按照本说明书，本领域普通技术人员将清楚地认识到，为了达到这些目标之一，根据各种因素，诸如年龄、性别、体重、饮食、所治疗的疾病、疾病的进展程度和使用的其它药物等，个体之间活化素抑制剂的剂量将各不相同。

[0050] 本发明还包括减缓、阻止或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病，或者抑制或阻止细胞周期的上调，或者降低有丝分裂指数，或者抑制端粒缩短，这是通过联合地以一定量和服药方案应用一种或多种上述卵泡抑素增进剂，以将卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性提高或调节至大约尽可能高而没有不可接受的不良副作用而实现的。

[0051] 按照本说明书，本领域普通技术人员将清楚地认识到可定期监测个体卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性，而且为了达到卵泡抑素的该目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性，可以滴定或改变卵泡抑素增进剂的联合、用量和服药方案。卵泡抑素增进剂的剂量，诸如卵泡抑素，可例如在约 0.01 mcg/kg/小时至约 100 mg/kg/天之间。按照本说明书，这种卵泡抑素增进剂的应用方式可以是，例如，每小时给药的皮下注射剂，或者可应用多小时的滴速恒定的静脉内输注剂，或者延时释放形式的（诸如包在聚合物基质或微球体中的药剂）每月或每半月给药的肌肉注射剂，或者使用本领域普通技术人员很清楚的其它剂型或方案给药。

[0052] 例如，卵泡抑素正常稳定状态的循环血液水平在成人期保持相对恒定，女性为约 6.6 ± 0.3 ng/mL，男性为约 5.4 ± 0.2 ng/mL (Kettel M 等人, *Circulating levels of follistatin from puberty to menopause, Fertil. Steril.*, 1996 Mar; 65 (3): 472-6)。按照本发明，预期通过恒定滴速静脉内输注给药（诸如通过一种可植入的输液泵）的卵泡抑素可提高卵泡抑素的稳定状态循环血液水平如下：

卵泡抑素输注速率 (mcg/hr/kg)	70kg 个体 24 小时剂量 (mg)	稳定状态卵泡抑素 血液水平的预期增长 (ng/mL)
1.0	1.68	0.54
5.0	8.40	2.70
10.0	16.8	5.40
25.0	42.0	13.5
50.0	84.0	27.0
100.0	168.0	54.0

[0053] 在输注结束时，预期卵泡抑素血液水平下降到正常血液水平，半衰期为约 130 分钟。附图 4 举例说明应用约为 10 mcg/kg/小时的恒定滴速静脉输注卵泡抑素 10 小时和 24 小时预期的卵泡抑素血液水平。

[0054] 因此，例如，可在开始时经植入的输液泵，以 10mcg/kg/小时恒定滴速向 70kg 个体应用 24 小时的静脉输注（或经诸如皮下注射的另一途径，以约 16.8 mg/天的总量给药）。大约 2 周后，可监测卵泡抑素血液水平，或活化素血液水平，或个体有丝分裂指数。如果例如副作用极小并且卵泡抑素水平低于目标水平或者活化素水平高于目标水平或者有丝分裂指数高于目标水平，则卵泡抑素的剂量可增加。如果例如副作用太大，可减小卵泡抑素的剂量。按照本说明书，本领域普通技术人员可清楚地认识到，根据各种因素，诸如年龄、性别、体重、饮食、所治疗的疾病、疾病的进展程度、状态和使用的其它药物等，个体之间卵泡抑素增进剂的剂量将各不相同。

[0055] 本发明还包括减缓、阻止或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病，或者抑制或阻止细胞周期的上调，或者降低有丝分裂指数，或者抑制端粒缩短，这些是通过联合地以一定量和服药方案应用上述抑制素增进剂，以将抑制素的血液水平、产生、功能或活性提高或调节至或接近下面抑制素目标血液水平、目标产量、目标功能或目

标活性的其中之一而实现的。

[0056] 在本发明的一种实施方式中，抑制素的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性是在个体最佳生殖功能时期或接近最佳生殖功能时期出现的血液水平、产量、功能或活性。例如，这个时期或前后的抑制素正常血液水平，女性为约 300-1000 mIU/mL（它随着生殖周期而变化），男性为约 232-866 mIU/mL（Halvorson LM, DeCherney AH, Inhibin, activin, and follistatin in reproductive medicine, Fertility and Sterility, 65 (6), March 1996）。在本发明另一种实施方式中，抑制素的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性大约尽可能得高而没有不可接受的不良副作用。

[0057] 按照本说明书，本领域普通技术人员将清楚地认识到可定期监测个体抑制素的血液水平、产生、功能或活性，而且为了达到抑制素的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性，可以滴定或改变抑制素增进剂的联合、用量和服药方案。例如，抑制素增进剂的剂量，诸如抑制素本身，可在约 0.01 mcg/kg/小时至约 100 mg/kg/天之间。在这个实施方式中，首先将约 0.01 mcg/kg/小时的抑制素增进剂给予个体。按照本说明书，这种抑制素增进剂的应用方式可以是，例如，每小时给药的皮下注射剂，或者可应用多小时的滴速恒定的静脉内输注剂，或者延时释放形式的（诸如包在聚合物基质或微球体中的药剂）每月或每半月给药的肌肉注射剂，或者使用本领域普通技术人员很清楚的其它剂型或方案给药。在这种实施方式中，约 2 周后，将测定抑制素血液水平。如果还没有达到所需要的目标，而且没有任何不可接受的副作用，那么将逐渐提高其剂量（例如以 0.1mcg/kg/小时的增量进行），直到抑制素血液水平达到上述所需要的目标血液水平。按照本说明书，本领域普通技术人员将清楚地认识到，为了达到上述抑制素的目标，抑制素增进剂的剂量将根据各种因素，诸如年龄、性别、体重、饮食、所治疗的疾病、疾病的进展程度和使用的其它药物等而在个体间不同。

[0058] 本发明还包括应用 LH/FSH 抑制剂、活化素抑制剂、卵泡

抑素增进剂或抑制素增进剂中的两种或多种，以达到 LH、FSH、活化素、卵泡抑素和抑制素中一种或多种的目标血液水平、目标产量、目标活性和目标功能。例如，醋酸亮丙瑞林（一种 LH/FSH 抑制剂）可与卵泡抑素（一种活化素抑制剂和卵泡抑素增进剂）协同应用，既可降低 LH、FSH 和活化素的血液水平，又可提高卵泡抑素的血液水平。在本发明的另一种实施方式中还包括应用 LH/FSH 抑制剂、活化素抑制剂、卵泡抑素增进剂或抑制素增进剂中的一种或多种，以调节 LH、FSH、活化素、卵泡抑素和抑制素中的两种或多种的血液水平、产生、功能和活性的比例。

[0059] 在本发明的实施方式中，监测 LH、FSH、活化素、抑制素和/或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性，并通过一种反馈控制系统对所应用的一种药剂或多种药剂的用量或类型进行调节，可连续地降低或调节 LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性或者活化素的血液水平、产生、功能或活性，或者连续地提高或调节抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性。

[0060] 按照本发明的实施方式，上面列举的 LH/FSH 抑制剂、活化素抑制剂、抑制素增进剂、卵泡抑素增进剂、性类固醇或细胞周期抑制剂的给药，可通过口服、注射、恒速输注、吸入、贴剂、鞘内给药（即注射入脑或脊髓的蛛网膜内）、延时释放泵、延时释放注射剂（诸如包在微球体或聚合物基质中的药剂）或者其它有效方式进行。按照本发明的其它实施方式，LH/FSH 抑制剂、活化素抑制剂、抑制素增进剂、卵泡抑素增进剂或性类固醇，包括上面确定的那些，可以以单剂量、多剂量、持续释放剂型、脉冲形式或任何其它适宜的剂型或用量给药。优选早期给药，因为对细胞周期的上调抑制越早，衰老或与衰老相关疾病的进展越慢。治疗持续时间可以从几天或几周至患者的余生。

治疗或预防衰老相关疾病的实施例

[0061] 下面实施例是应用本发明治疗特定的衰老相关疾病，这些仅仅是为了举例说明，而不是要将本发明限制到这里列举疾病的治疗

或预防。本发明可用于治疗任何衰老相关疾病，包括但不限于上面列举的那些疾病。

1、动脉粥样硬化

[0062] 本发明包括治疗或预防动脉粥样硬化，它是一种衰老相关疾病。动脉粥样硬化是动脉组织进行性疾病过程，它是心肌梗塞和脑梗塞、坏疽和肢端功能丧失发病机理的主要促成因素 (Lusis AJ, Atherosclerosis, Nature, 407: 233-241 (Sept. 14, 2000))。此疾病是自发开始的，或者是由于动脉壁内部组织的损伤而引起，尤其是在动脉分支点处 (Mora R, Lupu F, Simionescu N, Prelesional events in atherogenesis, Colocalization of apolipoprotein B, unesterified cholesterol and extracellular phospholipid liposomes in the aorta of hyperlipidemic rabbit, Atherosclerosis, Oct; 67 (2-3): 143-54 (1987))。许多原因可引起动脉损伤，包括但不限于物理创伤，包括与组织正常功能相关的轻度创伤，例如动脉壁内平滑肌的收缩或正常血流的剪切力 (Ross R, The pathogenesis of atherosclerosis--an update, N Engl J Med., Feb 20; 314 (8): 488-500(1986))。动脉损伤的原因或对动脉损伤提高的易感性实际上是慢性的，因此动脉粥样硬化的进展通常是在无干涉的情况下持续地进行 (Stary HC, The sequence of cell and matrix changes in atherosclerotic lesions of coronary arteries in the first forty years of life, Eur Heart J Aug;11 Suppl E: 3-19 (1990))。尽管动脉粥样硬化改变可在儿童期就开始，并在 30 多岁恶化加重，但此疾病的病理表现是随着年龄增长到 50 和 60 岁时才变成一种主要的健康问题。动脉粥样硬化的危险因素包括但不限于遗传倾向、高胆固醇血症、高血压、吸烟、糖尿病和肥胖 (Lusis, AJ (2000))。

[0063] 最早可检测的动脉粥样硬化病损称为“脂肪条纹”，它与动脉损伤部位单核细胞前进穿过内皮细胞层进入动脉壁最内层-内膜中有关。在内膜中，单核细胞转变为巨噬细胞，它变得充满了胆固醇，也称为“泡沫细胞”。最终，泡沫细胞死亡，将它们的胆固醇贡献形成病损的坏死核心。

[0064] 某些脂肪条纹积聚血管平滑肌细胞，这些细胞从动脉壁的中间层移行到脂肪条纹的部位。病损朝向管壁向内生长，然后向外进入管腔，管腔是血液在其中流过动脉的空间。在某些情况下，病损的生长是由于淋巴细胞的积聚。病损的生长伴随单核细胞、巨噬细胞、血管平滑肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞和/或淋巴细胞的增殖。此病损也积聚脂蛋白和胆固醇，并形成一种细胞外结缔组织基质。发展良好的动脉粥样硬化病损也被称为纤维斑块，它可破裂，通过血栓形成引起动脉的突然闭塞（例如心肌梗塞）。

[0065] 与传统学说相反，按照本发明，LH 或 FSH 血液水平、产生、活性或功能的提高经常与年龄的增长一致，这种提高通过引起细胞周期的上调和刺激单核细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞或淋巴细胞增殖的增加而导致动脉粥样硬化的发生。例如，淋巴细胞中有 LH 受体的表达（E. g., Lin J 等人, *Lymphocytes from pregnant women express human chorionic gonadotropin/leutinizng hormone receptor gene*, *Mol Cell Endocrinol.* Apr 28; 111 (1):R13-7 (1995)）。研究提示，LH 和 FSH 产生或活性的增高刺激淋巴细胞的细胞增殖（Athreya BH, Pletcher J, Zulian F, Weiner DB, Williams WV, *Subset-specific effects of sex hormones and pituitary gonadotropins on human lymphocyte proliferation in vitro*, *Clin Immunol Immunopathol* Mar; 66 (3): 201-11 (1993)）。因此，本发明的一个方面包括预防或治疗动脉粥样硬化，或者阻止或减缓单核细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞或淋巴细胞的增殖，这是通过应用一种或多种 LH/FSH 抑制剂，包括上面确定的那些而实现的，这些药剂可降低或调节 LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性。

[0066] 与传统学说相反，按照本发明，活化素血液水平、产生、功能或活性的提高，或者抑制素或卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的下降，也都与刺激单核细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞或淋巴细胞的增殖增加相关。因此，本发明还包括预防或治疗动脉粥样硬化，或者阻止或减缓单核细胞、巨噬细胞、平滑

肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞或淋巴细胞的增殖，这是通过应用一种或多种活化素抑制剂，包括上面确定的那些药剂而实现的，这些药剂可降低活化素的血液水平、产生、功能或活性。本发明还包括预防或治疗动脉粥样硬化，或者阻止或减缓单核细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞或淋巴细胞的增殖，这是通过应用一种或多种抑制素增进剂或卵泡抑素增进剂，包括上面确定的那些药剂而实现的，这些药剂可提高抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性。

[0067] 本发明还包括一种预防或治疗动脉粥样硬化，或者阻止或减缓单核细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞或淋巴细胞增殖的方法，它是通过应用一种上述细胞周期抑制剂实现的，它可阻止或抑制细胞进入细胞周期。这些药剂包括但不限于低密度脂蛋白受体相关蛋白受体关联蛋白 (“RAP”); 针对涉及促进细胞分裂的蛋白的疫苗或抗体 (例如针对 CDK 等细胞周期蛋白的疫苗或抗体); 紫杉酚; 维生素 A; 羟基脲; 秋水仙碱; 降胆固醇药物, 诸如洛伐他汀或普伐他汀; 以及它们的类似物、代谢物、前体和盐。

2、脑癌

[0068] 本发明还包括预防或治疗脑癌，它是一种衰老相关疾病。“脑癌”指任何类型神经元细胞的任何异常增强的增殖。脑癌的实例包括但不限于神经瘤、多形性成胶质细胞瘤、成神经细胞瘤、神经胶质瘤、多形性恶性胶质瘤、星形细胞瘤、脑膜瘤、垂体腺瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、成神经管细胞瘤、室管膜瘤、肉瘤、少突神经胶质瘤、成神经管细胞瘤、脊髓肿瘤和神经鞘瘤 (Hill JR, Kuriyama N, Kuriyama H, Israel MA, Molecular genetics of brain tumors, Arch Neurol Apr; 56 (4): 439-41 (1999))。

[0069] 大部分神经元细胞(neuronal cell, 即构成或见于中枢神经系统的细胞, 包括例如神经元、小神经胶质细胞和星形胶质细胞)是“终末分化的”, 意思是它们不再具有完成细胞周期的能力 (Jacobsen M, Histogenesis and morphogenesis of cortical structures, 在

Developmental Neurobiology, M. Jacobsen 编, Plenum, New York, NY, 1991, pp.401-451)。尽管终末分化的神经元细胞可能可以进入细胞周期,但它们不能完成这个过程,而且通常经历细胞凋亡(即细胞死亡)(**Multani AS, Ozen M, Narayan S, Kumar V, Chandra J, McConkey DJ, Newman RA, Pathak S, Caspase-dependent apoptosis induced by telomere cleavage and TRF2 loss, Neoplasia Jul-Aug; 2 (4): 339-45 (2000)**)。当终末分化的神经元细胞丧失了发生凋亡的保护能力,并能完成细胞周期,引起细胞增殖异常增强时,则可发生脑癌(**Hahn WC, Meyerson M, Telomerase activation, cellular immortalization and cancer, Ann Med Mar; 33 (2): 123-9 (2001)**)。

[0070] 按照本发明,由增强的有丝分裂刺激引起的细胞周期的上调,通过造成丧失凋亡能力的神经元细胞增殖的异常增强,而引起脑癌的发生。就本发明这个实施方式而言,“增殖的异常增强”是指神经元细胞增殖的增强,这种增殖增强干扰了中枢神经系统的正常功能和/或危及了个体的生命或健康。

[0071] 与传统学说相反,按照本发明,LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活性的提高,至少部分地引起神经元细胞增殖的异常增强。例如,进行一项研究以证实成神经细胞瘤细胞(即神经元肿瘤细胞)中 LH 的存在可刺激细胞增殖。在这项研究中,将 0 至 160mIU 不同量的 LH 加入在无血清培养基中培养的成神经细胞瘤细胞的样品中。用 BrdU 标记此培养物,以显示细胞分裂的量。如附图 2 所示,与未接受 LH 的细胞相比,接受非零量 LH 的那些培养物的细胞分裂率显著提高,最大细胞分裂率发生在 LH 浓度是 5 至 40mIU 时。接受生理浓度 LH (5-10mIU/ml) 的细胞,其细胞增殖率比未接受 LH 的细胞高大约 50%。

[0072] 因此,本发明包括预防或治疗脑癌,或者阻止或减缓神经元细胞的增殖,这是通过应用一种或多种 LH/FSH 抑制剂,包括上面确定的那些药剂实现的,这些药剂可降低或调节 LH 或 FSH 的水平、产生、功能或活性。例如,进行一项研究,以证实将亮丙瑞林给予成

神经细胞瘤细胞降低这些细胞的增殖。亮丙瑞林是一种 GnRH 类似物，它可降低 LH 和 FSH 的水平、产生、功能或活性。附图 3 显示在体外暴露于亮丙瑞林的成神经细胞瘤细胞的结果，其中亮丙瑞林的浓度约为 10nM，按照本发明此浓度约相当于亮丙瑞林的治疗有效血液水平。如附图 3 所示，3 天后，接受亮丙瑞林的成神经细胞瘤细胞的细胞增殖比未接受亮丙瑞林的成神经细胞瘤细胞的增殖几乎小 3 倍。

[0073] 与传统学说相反，按照本发明，活化素血液水平、产生、功能或活性的提高或者抑制素或卵泡抑素水平、产生、功能或活性的下降，与刺激神经元细胞增殖异常增强相关，导致脑癌。因此，本发明也包括预防或治疗脑癌，或者阻止或减缓神经元细胞的增殖，这是通过应用一种或多种活化素抑制剂，包括上面确定的那些药剂实现的，它们可降低活化素的血液水平、产生、功能或活性；或者是通过应用一种或多种抑制素增进剂或卵泡抑素增进剂，包括上面确定的那些药剂实现的，它们可提高抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性。

3、结肠直肠癌

[0074] 本发明也包括治疗或预防结肠直肠癌，它是一种衰老相关疾病。结肠直肠癌是美国第三最常见的癌症，而且是引起癌相关死亡的第二最常见的原因，每年有 135000 个新诊断病例和 70000 个死亡病例（Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M, Cancer Statistics 2001, CA Cancer J Clin 51: 15-36 (2001)）。有证据提示大多数结肠直肠癌是通过结肠直肠组织中息肉或小瘤的形成发展而来，它们是由结肠直肠组织中细胞增殖异常增强而引起的（Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, The gastrointestinal tract, 在 Pathologic Basis of Disease, 编者 Robbins SL, Cotran RS, Kumar V. p. 797-883, 1984）（Farraye FA, Wallace M, Clinical significance of small polyps found during screening with flexible sigmoidoscopy, Gastrointest Endosc Clin N Am 12: 41-51 (2002)）。这种疾病的发病率随年龄而增长，最大发病率发生在 50 至 70 岁的年龄段（Okamoto M, Shiratori Y, Yamaji Y,

Kato J, Ikenoue T, Togo G, Yoshida H, Kawabe T, Omata M, Relationship between age and site of colorectal cancer based on colonoscopy findings, Gastrointest Endosc 55: 548-51 (2002))。

[0075] 按照本发明，细胞周期的上调通过引起结肠直肠组织细胞增殖的异常增强，而促成结肠中息肉的形成和结肠直肠癌。就本发明这个实施方式而言，“增殖的异常增强”是指细胞增殖的增强，它干扰了结肠直肠系统的正常功能和/或危及了个体的生命或健康。

[0076] 与传统学说相反，按照本发明，LH 或 FSH 水平、产生、活性或功能与年龄相关的增长，至少部分地介导了结肠直肠组织中细胞增殖的异常增强。例如，研究显示 LH 和 FSH 水平增高的衰老大鼠的肠，其细胞增殖率提高 (E. g., Holt PR, Yeh KY, Kotler DP, Altered controls of proliferation in proximal small intestine of the senescent rat, Proc Natl Sci USA Apr; 85 (8): 2771-5 (1988); Descner EE, Cell proliferation and colonic neoplasia, Scand J Gastroenterol Suppl 151: 94-7(1988))。另外，老年妇女中，激素替代治疗 (HRT) (其间接降低 LH 和 FSH 的产生) 已证明对结肠癌可起到保护作用 (Jagadeesan UB, An incentive to start hormone replacement: the effect of postmenopausal hormone replacement therapy on the risk of colorectal cancer, J Am Geriatr Soc. 50: 768-70 (2002))。在一项 815 名老年妇女参加的研究中，应用 HRT 者死于结肠直肠癌的概率比未用 HRT 者低 40%，而且应用 HRT 4 年或 4 年以上者因结肠直肠癌死亡的风险最低 (Slattery ML, Anderson K, Samowitz W, Edwards SL, Curtin K, Caan B, Potter JD, Hormone replacement therapy and improved survival among postmenopausal women diagnosed with colon cancer (USA), Cancer Causes Control 10: 467- 73 (1999))。

[0077] 因此，本发明包括治疗或预防结肠直肠癌，或阻止或减缓结肠直肠息肉形成，或者阻止或减缓结肠直肠组织细胞的增殖，这是通过应用一种或多种 LH/FSH 抑制剂，包括上面确定的那些药剂实现的，这些药剂可降低或调节 LH 或 FSH 的血液水平、产生、功能或活

性。

[0078] 与传统学说相反,按照本发明,活化素血液水平、产生、功能或活性的提高和/或抑制素或卵泡抑素水平、产生、功能或活性的降低与刺激结肠直肠组织细胞的增殖异常增强相关,这种增殖异常增强可导致息肉和/或结肠直肠癌的发生。因此,本发明也包括治疗或预防结肠直肠癌,或阻止或减缓结肠直肠息肉形成,或者阻止或减缓结肠直肠组织细胞的增殖,这是通过应用一种或多种活化素抑制剂,包括上面确定的那些药剂实现的,它们可降低活化素的血液水平、产生、功能或活性;或者是通过应用一种或多种抑制素增进剂或卵泡抑素增进剂,包括上面确定的那些药剂实现的,它们可提高抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性。

4、骨髓增殖性疾病

[0079] 本发明还包括预防或治疗骨髓增殖性疾病,此疾病与衰老相关。骨髓增殖性疾病是一种由细胞周期上调引起、与其关联或以其它方式相关的疾病,细胞周期上调可引起骨髓性细胞增殖的异常增强。骨髓细胞是来源于骨髓的任何细胞。就本发明这个实施方式而言,“增殖的异常增强”指这种骨髓细胞的增殖干扰了骨髓的正常功能和/或危及了其骨髓细胞出现这种增殖的个体的生命或健康。

[0080] 骨髓增殖性疾病的实例包括但不限于何杰金氏病、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、短暂骨髓增生紊乱(TMD)(也称为短暂骨髓增生综合征),先天性短暂白血病、先天性白血病样反应、短暂白血病样增生、短暂异常骨髓细胞生成、急性髓性白血病(AML)、急性巨核细胞白血病(AMKL)(也称为红细胞-巨核细胞白血病);总B系急性淋巴细胞白血病(ALL)、红细胞增多症、血小板增多症、骨髓增生异常综合征、骨髓纤维化、嗜酸细胞增多综合征(HES)、慢性淋巴细胞白血病、幼淋巴细胞白血病、毛细胞白血病、慢性髓细胞白血病、其它白血病、以及其它骨髓性癌。

[0081] 骨髓细胞保留有进入并完成细胞周期和增殖的能力(Li B, Yang J, Andrews C, Chen YX, Toofanfard P, Huang RW, Horvath E,

Chopra H, Raza A, Preisler HD, Telomerase activity in preleukemia and acute myelogenous leukemia, *Leuk Lymphoma* Feb; 36 (5-6): 579-87 (2000); Clarkson B, Strife A, Cytokinetic considerations relevant to development of a successful therapeutic strategy in chronic myelogenous leukemia (CML), *Leuk Lymphoma*; 11 Suppl 1: 101-7 (1993)。当出现细胞周期的上调, 导致骨髓细胞增殖异常增强时, 则发生骨髓增殖性疾病 (Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, *Diseases of white cells, lymph nodes and spleen*, 在 *Pathologic Basis of Disease*, 3rd 版, 编者 Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, pp. 653-704, W. B. Saunders, Philadelphia PA (1984))。按照本发明, 应用一种或多种阻止或抑制细胞周期上调或者骨髓细胞增殖异常增强的药剂, 可预防或延缓骨髓增殖性疾病的进展或复发。

[0082] 与传统学说相反, 按照本发明, 提高的 LH 和/或 FSH 水平、产生、活性或功能, 通过刺激骨髓细胞增殖异常增强, 而促成骨髓增殖性疾病的发生。例如, 在淋巴细胞中有 LH 受体的表达 (E. g., Lin J 等人, *Lymphocytes from pregnant women express human chorionic gonadotropin/leutinizing hormone receptor gene*, *Mol Cell Endocrinol*. 1995 Apr 28; 111(1):R13-7)。另外, 已显示出 LH 和 FSH 可刺激骨髓细胞的细胞增殖或分化 (Athreya BH, Rettig P, Williams WV, *Hypophyseal-pituitary-adrenal axis in autoimmune and rheumatic diseases*, *Immunol Res*; 18 (2): 93-102 (1998); Hotakainen PK, Serlachius EM, Lintula SI, Alfthan HV, Schroder JP, Stenman UE, *Expression of luteinizing hormone and chorionic gonadotropin beta-subunit messenger-RNA and protein in human peripheral blood leukocytes*, *Mol Cell Endocrinol* Apr 25; 162 (1-2): 79-85 (2000))。另外, 至少一项研究提示, LH 和 FSH 产生或活性的提高刺激淋巴细胞的细胞增殖, 而淋巴细胞是一种类型的骨髓细胞 (Lin J 等人, *Lymphocytes from pregnant women express human chorionic*

gonadotropin/leutinizing hormone receptor gene, Mol Cell Endocrinol. 1995 Apr 28; 111 (1):R13-7)。而且，患唐氏综合征的个体与普通人群相比，其促性腺激素的水平是升高的，他们与普通人群相比，发生骨髓性肿瘤的危险增加 10 至 20 倍 (Down syndrome and leukemia, Leukemia.; 6 Suppl 1: 5-7 (1992); Zipursky A, Poon A, Doyle J, Leukemia in Down syndrome: a review, Pediatr Hematol Oncol 9: 139-49 (1992); Avet-Loiseau H, Mechinaud F, Harousseau JL. Clonal hematologic disorders in Down syndrome: a review, J Pediatr Hematol Oncol 17: 19-24 (1995))。

[0083] 因此，本发明包括治疗或预防骨髓增殖性疾病，或者阻止或减缓骨髓细胞的增殖，这是通过应用一种或多种 LH/FSH 抑制剂，包括上面确定的那些药剂实现的，它们可降低或调节 LH 或 FSH 或者两者的血液水平、产生、功能或活性。

[0084] 与传统学说相反，按照本发明，活化素血液水平、产生、功能或活性的提高，或者抑制素或卵泡抑素水平、产生、功能或活性的降低，与刺激骨髓细胞增殖异常增强相关，这种异常增强可导致骨髓增殖性疾病。因此，本发明也包括预防或治疗骨髓增殖性疾病，或阻止或减缓骨髓细胞的增殖，这是通过应用一种或多种活化素抑制剂，包括上面确定的那些药剂实现的，它们可降低活化素的血液水平、产生、功能或活性；或者是通过应用一种或多种抑制素增进剂或卵泡抑素增进剂，包括上面确定的那些实现的，它们可提高抑制素或卵泡抑素的水平、产生、功能或活性。

5、骨关节炎

[0085] 本发明还包括治疗或预防骨关节炎，它是一种衰老相关疾病。骨关节炎是一种退化性疾病，它可影响身体的几乎任何关节，其特征是关节组织的不适当的重建，包括软骨侵蚀，大的钙化骨刺形成，以及软骨细胞、滑膜内膜细胞（导致增生和肥大）、成纤维细胞（导致胶原原纤维产生增多和纤维变性）和内皮细胞（导致血管生长和血管过多）增殖的增强 (Dijkgraaf LC 等人, Ultrastructural characteristics

of the synovial membrane in osteoarthritic temporomandibular joints. *Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*. 55 (11): 1269-79; 讨论 1279-80 (1997); Kerin A 等人, Molecular basis of osteoarthritis: biomechanical aspects. *Cell and Molecular Life Sciences* 59(1) : 27-35 (2002); Hedbom E, Hauselmann HJ, Molecular aspects of pathogenesis in osteoarthritis : the role of inflammation. *Cell and Molecular Life Sciences*. 59(1) : 45-53 (2002))。这种关节组织的重建引起疼痛, 变形和运动受限 (Silver FH 等人, Relationship among biomechanical, biochemical, and cellular changes associated with osteoarthritis. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*. 29 (4): 373-91 (2001))。

[0086] 现在研究集中在通过给予性类固醇激素, 即睾酮、孕酮和/或雌激素, 而抑制关节组织的广泛重建, 这种重建是骨关节炎的一部分表现。例如, 已知新骨形成和青春期后成人长骨末端生长板的闭合都需要性类固醇激素的存在 (Smith EP 等人, Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man, *New England Journal of Medicine*, 331: 1056-1061 (1994); Somjen D 等人, Age dependence and modulation by gonadectomy of the sex-specific response of rat diaphyseal bone to gonadal steroids, *Endocrinology* 134 (2): 809-14 (1994))。还有证据表明, 雌激素可保持关节软骨的连续性 (Turner AS 等人, Biochemical effects of estrogen on articular cartilage in ovariectomized sheep, *Osteoarthritis and Cartilage* 5: 63-69 (1997))。另外, 据信性类固醇激素在骨、软骨和关节组织生长和结构中发挥作用 (Corvol M 等人, Bone and cartilage responsiveness to sex steroid hormones, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 43 (5): 415-8 (1992))。

[0087] 最近的研究还提供了证据, 雌激素在调节骨吸收中发挥作用, 睾酮和雌激素维持骨的形成 (Sypniewska G 等人, Bone turnover markers and estradiol level in postmenopausal women, *Clinical*

Chemistry Laboratory Medicine, 38 (11): 1115-1119 (2000);D'Amore M 等人, Sex hormones and male osteoporosis: a physiologic prospective for prevention and therapy, Minerva Medicine, 91 (11-12): 283-289 (2000)。在一项研究中, 在一组 59 名老年男性中阻断睾酮和雌激素的产生, 然后给他们应用生理剂量的这些类固醇中的一种或两者都应用。结果显示男性雌激素的水平与骨矿物密度直接相关, 转而它与骨关节炎的易感性相关(Khola S, Melton LJ, Riggs BL, Estrogens and bone health in men, Calcif. Tissue Int. 69: 189-192 (2001))。其它研究显示性类固醇水平和骨关节炎之间也存在类似的相关性 (Sowers MF 等人, Association of bone mineral density and sex hormone levels with osteoarthritis of the hand and knee in premenopausal women, American Journal of Epidemiology, 143(1) :38-47 (1996);Spector TD 等人, Endogenous sex steroid levels in women with generalised osteoarthritis, Clinical Rheumatology, 10 (3): 316-9 (1991))。

[0088] 然而, 性类固醇用于治疗骨关节炎的效果充其量是混杂的。几项研究提示雌激素替代在骨关节炎的治疗中是有益的 (例如, Wluka AE 等人, Users of estrogen replacement therapy have more knee cartilage than non-users, Annals of Rheumatoid Disease, 60 (4): 332-6 (2001); Felson DT, Nevitt MC, The effects of estrogen on osteoarthritis, Current Opinions in Rheumatology, 10 (3): 269-72(1998)), 而许多其它的研究提示雌激素替代没有任何益处 (例如, Nevitt MC 等人, The effect of estrogen plus progestin on knee symptoms and related disability in postmenopausal women: The Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study, a randomized, double-blind, placebo-controlled trial, Arthritis and Rheumatology, 44 (4):811-8 (2001); Maheu E 等人, Hand osteoarthritis patients characteristics according to the existence of a hormone replacement therapy, Osteoarthritis and Cartilage, 8 Suppl A: S33-7 (2000); Erb A 等人, Hormone replacement therapy and patterns of osteoarthritis :

baseline data from the Ulm Osteoarthritis Study, *Annals of Rheumatoid Disease*, 59 (2): 105-9 (2000))。此外, 已将雌激素替代治疗与乳腺癌危险度的升高相关 (Chen CL 等人, *Hormone replacement therapy in relation to breast cancer*, *Journal of the American Medical Association*, 287 (6): 734-41 (2002))。

[0089] 与传统学说相反, 按照本发明, 增强的有丝分裂刺激引起细胞周期的上调, 通过引起关节组织不适当重建的增强和软骨细胞、滑膜内膜细胞、成纤维细胞和内皮细胞增殖的增强, 而促成骨关节炎发生。

[0090] 与传统学说相反, 按照本发明, 与骨关节炎的特征 - 关节组织广泛重建相关的细胞周期的上调, 是由 LH 和/或 FSH 血液水平、产生、活性或功能的提高引起的。例如, 一项研究显示, 老年女性中 LH 血清浓度升高了 3 至 4 倍, FSH 血清浓度升高了 4 至 18 倍 (Chakravarti S, Collins WP, Forecast JD, Newton JR, Oram DH, Studd JW, *Hormonal profiles after the menopause*, *Br Med J* 1976, Oct 2; 2 (6039): 784-7)。同样地, 老年男性 LH 和 FSH 血清浓度也分别升高了 2 倍以上和 3 倍 (Neaves 等人, 1984)。另外, 老年女性下丘脑中促黄体生成激素释放激素 (LHRH) 的 mRNA 水平也是升高的 (Rance NE, Uswandi SV, *Gonadotropin-releasing hormone gene expression is increased in the medial basal hypothalamus of postmenopausal women*, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 81 (10): 3540-6 (1996))。一项研究还显示, LH 刺激兔骨骺生长板中软骨细胞 (软骨细胞) 的生长 (Webber RJ, Sokoloff L, *In vitro culture of rabbit growth plate chondrocytes : age- dependence of response to fibroblast growth factor and "chondrocyte growth factor,"* *Growth* 45: 252-268 (1981))。按照本发明, LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的提高可提高关节组织的生长速率, 因此可使滑膜炎、关节处不适当组织形成增多, 而且可使骨关节炎的特征 - 关节组织重建的发生和严重性增加。

[0091] 因此, 本发明包括一种治疗或预防骨关节炎, 或者阻止或减缓软骨细胞、滑膜内膜细胞、成纤维细胞或内皮细胞增殖的方法, 此方法是通过应用一种或多种 LH/FSH 抑制剂, 包括上面确定的那些而实现的, 这些药剂可降低或调节 LH 或 FSH 或者两者的血液水平、产生、功能或活性。

[0092] 与传统学说相反, 按照本发明, 活化素血液水平、产生、功能或活性的提高, 或者抑制素或卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的降低, 都与细胞周期的上调相关, 而且与刺激骨关节炎的特征表现 - 骨的不适当重建增强相关。活化素与例如骨形态发生蛋白 (BMP) 受体结合, 这种受体存在于与骨重建相关的细胞上。另外, 已经表明妊娠期间高水平活化素的分泌增加了几种组织中细胞的增殖 (Qu J, Thomas K, Inhibin and activin production in human placenta, *Endocrine Reviews* 16: 485-507 (1995))。在成年生殖期中, 抑制素或卵泡抑素抵消了活化素的功能 (Halvorson, LM & Chin WW, *Gonadotropic hormones: biosynthesis, secretion, receptors, and action*, 在 *Reproductive Endocrinology*, 4th 版, Yen SSC, Jaffe RB & Barbieri LL 编: 94-97, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1999))。

[0093] 因此, 本发明也包括一种治疗或预防骨关节炎, 或者阻止或减缓软骨细胞、滑膜内膜细胞、成纤维细胞或内皮细胞增殖的方法, 此方法是通过应用一种或多种活化素抑制剂, 包括上面确定的那些药剂实现的, 这些药剂可降低活化素的血液水平、产生、功能或活性; 或者通过应用一种或多种抑制素增进剂或卵泡抑素增进剂, 包括上面确定的那些药剂实现的, 这些药剂可提高抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性。

6、骨质疏松症

[0094] 本发明还包括治疗或预防骨质疏松症的方法, 此疾病是一种衰老相关疾病。骨质疏松症是美国人一种主要的公共健康问题, 它影响约 4.4 千万人, 其中约 68% 为女性 (Brunader R, Shelton DK, *Radiologic bone assessment in the evaluation of osteoporosis*, *Am Fam*

Physician 65: 1357-64 (2002))。每年超过 150 万例的骨折是由此病引起的 (NORA study sounds alarm on risk of osteoporotic fractures, Dis Manag Advis 8: 17-21 (2002))。

[0095] 骨质疏松症 (源于拉丁语,意思是“多孔的骨”)特征是骨质丢失和骨组织的结构退化和脆弱,导致骨折的易感性升高,特别是在髋部、脊柱和腕部的骨 (Sherman S, Preventing and treating osteoporosis : strategies at the millennium, Ann N Y Acad Sci, Dec; 949: 188-97 (2001))。骨组织在一生中不断地进行重建,以保持其解剖学和结构上的完整性 (Manolagas SC, Jilka RL, Bone marrow, cytokines, and bone remodeling, New Eng J Med 332: 305-311 (1995))。通过被称为破骨细胞的细胞的作用,旧的骨组织被吸收,同时通过被称为成骨细胞的细胞的作用,新的骨组织形成。在正常情况下,骨组织重建是循环进行的,破骨细胞通过酸化作用和蛋白水解消化作用除去骨组织,而成骨细胞分泌前骨质 (胶原和其它蛋白的一种基质),它最终矿化而形成新的骨组织。

[0096] 在人的儿童期和青春期,新骨的增加快于旧骨的吸收,使骨骼变得更大、更厚重坚固并且更致密 (Saggese G, Baroncelli GI, Bertelloni S, Puberty and bone development, Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 16: 53-64 (2002))。在成年生殖期,旧骨的吸收速率和新骨的增加速率大约相等,使骨的体积、质量和密度保持相对恒定 (Raisz LG, Kream BE, Lorenzo JA, Metabolic Bone Disease, 在 Williams Textbook of Endocrinology, p. 1211-1239, 编者 Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, WB Saunders Co., Philadelphia, PA (1998))。在此期间,每年大约 25%小梁骨和大约 3% 皮质骨被吸收更换 (Manolagas SC, Jilka RL, Bone marrow, cytokines, and bone remodeling, New Eng J Med 332: 305-311 (1995))。

[0097] 约从四十或五十岁起,骨吸收的速率开始超过新骨形成的速率,致使出现骨质疏松症的特征: 骨丢失和骨组织结构退化和脆弱 (Raisz LG, Kream BE, Lorenzo JA, Metabolic bone disease, 在

Williams Textbook of Endocrinology, p.1211-1239, 1998, 编者 Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, WB Saunders Co., Philadelphia, PA)。在女性中骨丢失更快,尤其是绝经后的头几年 (Cooper C, Melton LJ, Epidemiology of osteoporosis, Trends Endocrinol Metab 3: 224-228 (1992))。但是,随着年龄增长,骨丢失在两性中均发生 (Melton LJ, Chrischilles EA, Cooper C, Lane AW, Riggs BL, Perspective: How many women have osteoporosis?, J Bone Miner Res 7: 1005-10 (1992))。骨质疏松症的危险因素包括但不限于性别、年龄、身材大小 (骨骼小而薄的女性危险性更大)、种族 (高加索人和亚洲人危险性更大)、家族史、低雌激素或睾酮水平、厌食、低钙和低维生素 D 饮食、吸烟和酗酒 (Raisz LG, Kream BE, Lorenzo JA, Metabolic bone disease, p. 1221-1222; Messinger-Rapport BJ, Thacker HL, Prevention for the older woman: A practical guide to prevention and treatment of osteoporosis, Geriatrics 57: 16-8,21-4 (2002); Zipfel S 等人, Herzog W, Osteoporosis in eating disorders: a follow-up study of patients with anorexia and bulimia nervosa, J Clin Endocrinol Metab 86: 5227-33 (2001); Brown AF 等人, Ethnic differences in hormone replacement prescribing patterns, J Gen Intern Med 14: 663-9 (1999); Moniz C, Alcohol and bone, Br Med Bull 50: 67-75 (1994); Ward KD, Klesges RC, A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density, Calcif Tissue Int 68: 259-70 (2001))。

[0098] 目前骨质疏松症的治疗包括但不限于使用雌激素或其它性类固醇替代品、二膦酸盐类药物 (诸如阿仑膦酸钠和利塞膦酸钠)、选择性雌激素受体调制剂 (诸如雷洛昔芬)、降钙素、钙和维生素 D (Lafferty FW, Fiske ME, Postmenopausal estrogen replacement: a long-term cohort study, Am J Med, 97: 66-77 (1994); Chestnut CH 3rd 等人, Alendronate treatment of the postmenopausal osteoporotic woman: effect of multiple dosages on bone mass and bone remodeling,

Am J Med 99: 144-52 (1995); Maricic M, Gluck O, Review of raloxifene and its clinical applications in osteoporosis, Expert Opin Pharmacother 3: 767-75 (2002); Civitelli R 等人, Bone turnover in postmenopausal osteoporosis: Effect of calcitonin treatment, J Clin Invest. 82 : 1268-74(1988) ; Prentice A, What are the Dietary Requirements for Calcium and Vitamin D?, Calcif Tissue Int 70:83-8 (2002))。

[0099] 与传统学说相反, 按照本发明, 细胞周期上调通过引起破骨细胞(它们吸收骨)增殖的提高和/或成骨细胞(它们形成骨)增殖的下降而促成骨质疏松症, 这可能是因为与成骨细胞相比, 破骨细胞上促性腺激素受体的表达增强而引起。与传统学说相反, 按照本发明, LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性与年龄相关的增长, 通过引起破骨细胞增殖提高和/或成骨细胞增殖下降, 导致骨吸收, 而导致骨质疏松症的发生。例如, 一项研究已经表明在老年女性中 LH 血清浓度升高 3 至 4 倍, FSH 血清浓度升高 4 至 18 倍(Chakravarti S, Collins WP, Forecast JD, Newton JR, Oram DH, Studd JW, Hormonal profiles after the menopause, Br Med J 1976, Oct 2; 2 (6039): 784-7)。同样, 老年男性 LH 和 FSH 血清浓度也分别升高了 2 倍以上和 3 倍 (Neaves 等人, 1984)。另外, 老年女性下丘脑中促黄体生成激素释放激素 (LHRH) 的 mRNA 水平也是升高的 (Rance NE, Uswandi SV, Gonadotropin-releasing hormone gene expression is increased in the medial basal hypothalamus of postmenopausal women, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 81 (10): 3540-6 (1996))。

[00100] 因此, 本发明包括一种预防或治疗骨质疏松症, 或者阻止或减缓破骨细胞增殖、或者增强或促进成骨细胞增殖的方法, 此方法是通过应用一种或多种 LH/FSH 抑制剂, 包括上面确定的那些而实现的, 这些药剂可降低或调节 LH 或 FSH 或者两者的血液水平、产生、功能或活性。

[00101] 与传统学说相反, 按照本发明, 活化素血液水平、产生、

功能或活性的增长，或者抑制素或卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的降低，都与破骨细胞增殖的增强和/或成骨细胞增殖的下降相关，而破骨细胞增殖的增强和/或成骨细胞增殖的下降可导致骨吸收。例如，活化素与骨形态发生蛋白（BMP）受体结合，这种受体存在于与骨重建相关的细胞上。另外，已经表明妊娠期间高水平活化素的分泌增加了几种组织中细胞的增殖（Qu J, Thomas K, Inhibin and activin production in human placenta, *Endocrine Reviews* 16: 485-507 (1995)）。在成年生殖期期间，抑制素或卵泡抑素抵消了活化素的功能（Halvorson, LM & Chin WW, Gonadotropic hormones: biosynthesis, secretion, receptors, and action, 在 *Reproductive Endocrinology*, 4th 版, Yen SSC, Jaffe RB & Barbieri LL 编: 94-97, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1999)）。

[00102] 因此，本发明包括一种预防或治疗骨质疏松症，或者阻止或减缓破骨细胞增殖、或者增强或促进成骨细胞增殖的方法，此方法是通过应用一种或多种活化素抑制剂，包括上面确定的那些药剂实现的，这些药剂可降低活化素的血液水平、产生、功能或活性；或者是通过应用一种或多种抑制素增进剂或卵泡抑素增进剂，包括上面确定的那些药剂实现的，这些药剂可提高抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性。

[00103] 本发明还包括一种预防或治疗骨质疏松症，或者阻止或减缓破骨细胞增殖、或者增强或促进成骨细胞增殖的方法，此方法是通过应用一种上述细胞周期抑制剂实现的，这些细胞周期抑制剂可阻止或抑制细胞进入细胞周期。这些药剂包括但不限于低密度脂蛋白受体相关蛋白受体关联蛋白（“RAP”）；针对涉及促进细胞分裂的蛋白的疫苗或抗体（例如针对 CDK 等细胞周期蛋白的疫苗或抗体）；紫杉酚；维生素 A；羟基脲；秋水仙碱；降胆固醇药物，诸如洛伐他汀或普伐他汀；以及这些药剂的类似物、代谢物、前体和盐。

7、急性脑损伤相关脑损害

[00104] 本发明还包括治疗或预防急性脑损伤相关脑损害，此处

的脑损伤既包括那些衰老相关脑损伤，也包括那些与衰老无关的脑损伤。在本说明书中，“急性脑损伤”指突然发生的或在短时间内发生的对脑的任何损害。这种损伤的实例包括但不限于中风、缺氧、窒息、头颅外伤、脑震荡或任何意识丧失引起的损害。

[00105] 急性脑损伤刺激脑修复机制，其中之一就是细胞周期的上调 (Chirumamilla S, Sun D, Bullock MR, Colello RJ, Traumatic brain injury induced cell proliferation in the adult mammalian central nervous system, *J Neurotrauma* 2002 Jun; 19 (6): 693-703; Kernie SG, Erwin TM, Parada LF, Brain remodeling due to neuronal and astrocytic proliferation after controlled cortical injury in mice, *J Neurosci Res* 2001 Nov 1; 66 (3): 317-26)。这种修复机制既随着衰老相关脑损伤（诸如中风）一起发生，也随着与衰老无关的脑损伤（诸如脑外伤）一起发生。依赖细胞周期蛋白的激酶（“CDKs”）也存在，而且公知它对细胞周期循环 (cell cycling) 进行调节 (Kaya SS, Mahmood A, Li Y, Yavuz E, Chopp M, Expression of cell cycle proteins (cyclin D1 and cdk4) after controlled cortical impact in rat brain, *J Neurotrauma* 1999 Dec; 16 (12): 1187-96; Koguchi K, Nakatsuji Y, Nakayama K, Sakoda S, Modulation of astrocyte proliferation by cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1), *Glia* 2002 Feb; 37 (2): 93-104)。在某些组织中，诸如肠粘膜中，细胞分裂是正常功能所必需的，而脑中大部分细胞是终末分化的，其细胞周期的上调则是有害的，尤其是在急性脑损伤后。尽管终末分化的神经元细胞可能可以进入细胞周期，但它们不能完成这个过程，而使此细胞处在受损害的状态，并引起细胞功能下降或细胞凋亡（即细胞死亡）（Multani AS, Ozen M, Narayan S, Kumar V, Chandra J, McConkey DJ, Newman RA, Pathak S, Caspase-dependent apoptosis induced by telomere cleavage and TRF2 loss, *Neoplasia* Jul- Aug; 2 (4): 339-45 (2000)）。

[00106] 与传统学说相反，按照本发明，神经元细胞中细胞周期

的上调至少部分地是由 LH 或 FSH 血液水平、产生、功能或活性的增长引起的。例如，如上所述，进行了一项研究以证实成神经细胞瘤细胞（即神经元肿瘤细胞）中 LH 的存在可刺激细胞增殖。在这项研究中，将 0 至 160mIU 不同量的 LH 加入在无血清培养基中培养的成神经细胞瘤细胞的样品中。用 BrdU 标记此培养物，以显示细胞分裂的量。如附图 2 所示，与未接受 LH 的细胞相比，接受非零量 LH 的那些培养物的细胞分裂率显著提高，最大分裂率发生在 LH 浓度为 5 至 40mIU 时。接受生理浓度 LH（5-10mIU/ml）的细胞，其细胞增殖率比未接受 LH 的细胞高约 50%。

[00107] 另外，如上所述，进行第二项研究，以证实将亮丙瑞林给予成神经细胞瘤细胞，将降低这些细胞的增殖。亮丙瑞林是一种 GnRH 类似物，它可降低 LH 和 FSH 的水平、产生、功能或活性。附图 3 显示在体外暴露于亮丙瑞林的成神经细胞瘤细胞的结果，其中亮丙瑞林的浓度为约 10nM，按照本发明此浓度约相当于亮丙瑞林的治疗有效血液水平。如附图 3 所示，3 天后，接受亮丙瑞林的成神经细胞瘤细胞的细胞增殖比未接受亮丙瑞林的成神经细胞瘤细胞的增殖几乎小 3 倍。

[00108] 因此，本发明包括预防或治疗急性脑损伤相关的脑损害，它是通过应用一种或多种 LH/FSH 抑制剂，包括上面确定的那些药剂实现的，这些药剂可降低或调节 LH 或 FSH 或者两者的血液水平、产生、功能或活性。

[00109] 与传统学说相反，按照本发明，活化素血液水平、产生、功能或活性的增长，或者抑制素或卵泡抑素血液水平、产生、功能或活性的降低，都与刺激神经元细胞进入细胞周期相关。例如，已显示妊娠期间高水平活化素的分泌可提高几种组织中的细胞周期循环（Qu J, Thomas K, Inhibin and activin production in human placenta, *Endocrine Reviews* 16: 485-507 (1995)）。在成年生殖期，抑制素和/或卵泡抑素抵销了活化素的功能（Halvorson, LM & Chin WW, *Gonadotropic hormones: biosynthesis, secretion, receptors, and action*,

在 *Reproductive Endocrinology*, 4th 版, Yen SSC, Jaffe RB & Barbieri RL 编: 94-97. W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1999))。

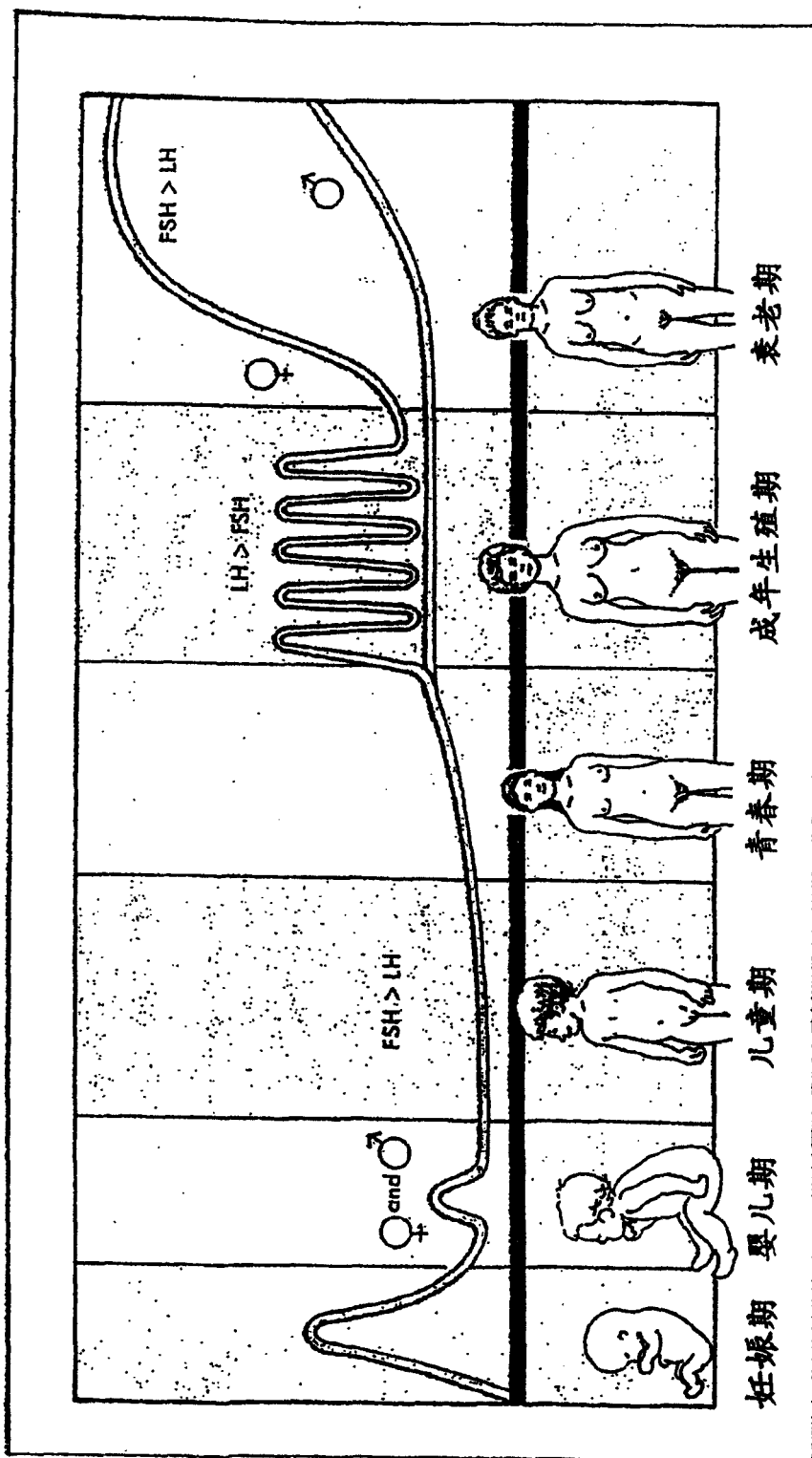
[00110] 因此, 本发明也包括预防或治疗急性脑损伤相关的脑损害, 它是通过应用一种或多种活化素抑制剂, 包括上面确定的那些药剂实现的, 这些药剂可降低活化素的血液水平、产生、功能或活性; 或者是通过应用一种或多种抑制素增进剂或卵泡抑素增进剂, 包括上面确定的那些药剂实现的, 这些药剂可提高抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性。

[00111] 因此, 本发明还包括一种治疗或预防急性脑损伤相关的脑损害的方法, 此方法是通过应用一种上述细胞周期抑制剂实现的, 这些细胞周期抑制剂可阻止或抑制细胞进入细胞周期。这些药剂包括但不限于低密度脂蛋白受体相关蛋白受体关联蛋白 (“RAP”); 针对涉及促进细胞分裂的蛋白的疫苗或抗体 (例如针对 CDK 等细胞周期蛋白的疫苗或抗体); 紫杉酚; 维生素 A; 羟基脲; 秋水仙碱; 降胆固醇药物, 诸如洛伐他汀或普伐他汀; 以及这些药剂的类似物、代谢物、前体和盐。

[00112] 在每一种上述衰老相关疾病和任何其它衰老相关疾病的治疗中, 以治疗有效的联合、量和服药方案应用 LH/FSH 抑制剂、活化素抑制剂、抑制素增进剂和卵泡抑素增进剂, 使 LH、FSH、活化素、抑制素和/或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性达到或接近上述 LH、FSH、活化素、抑制素和/或卵泡抑素的目标血液水平、目标产量、目标功能或目标活性。如上所述, 这些药剂也可与一种或多种性类固醇联合应用。

[00113] 上面已对本发明的多种实施方式进行了描述, 但应当认识到它们仅仅是以举例的方式给出的, 而不是为了进行限制。例如, 本发明并不限于所例示或描述的那些药剂或疾病。这样, 本发明的宽度和广度不应限制于任何上述例举的实施方式中, 而应当根据下面的权利要求和其等同物来进行限定。

图1



出处: Boyer et al. (1972) N. Engl. J. Med. 287: 582

图2

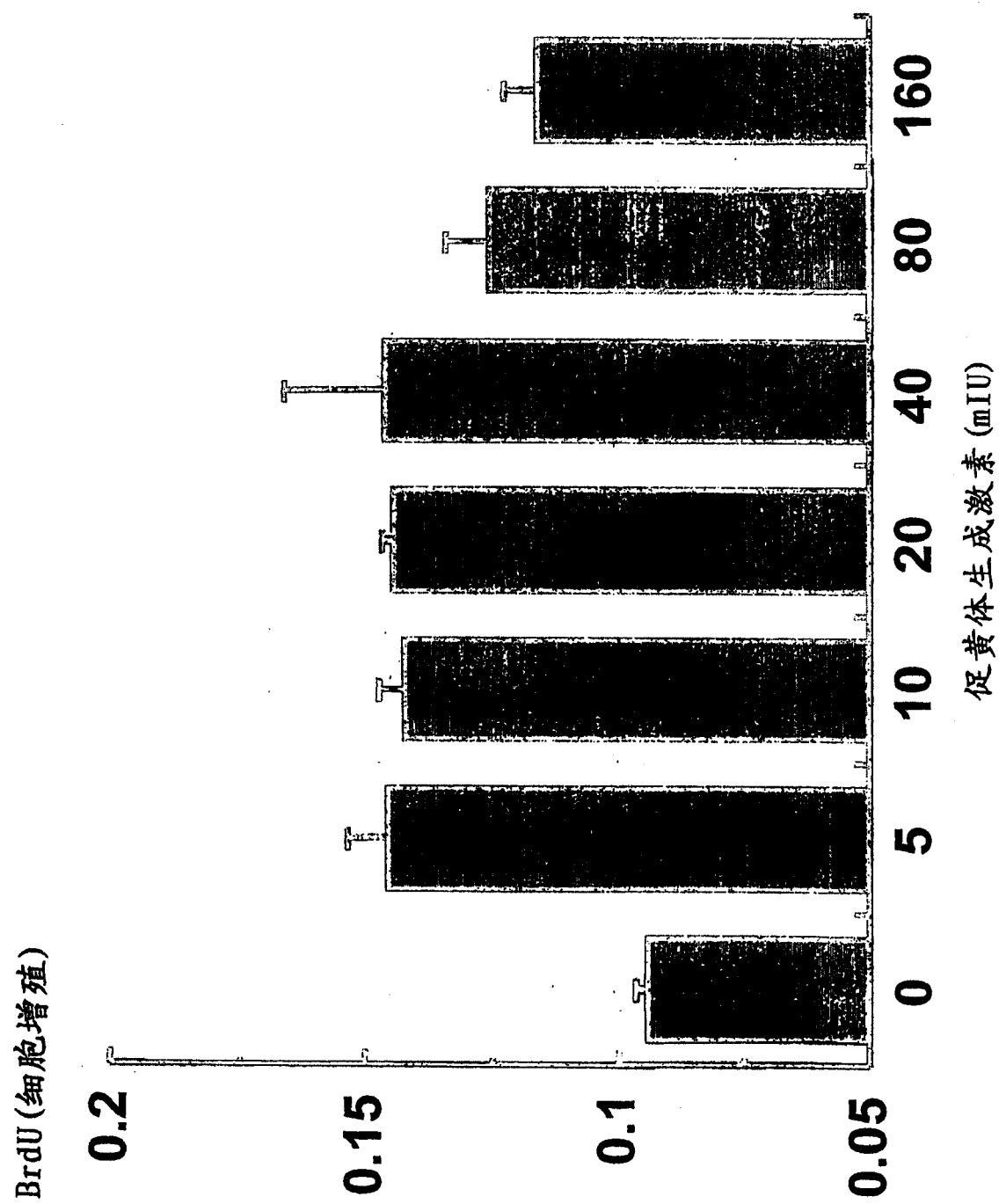
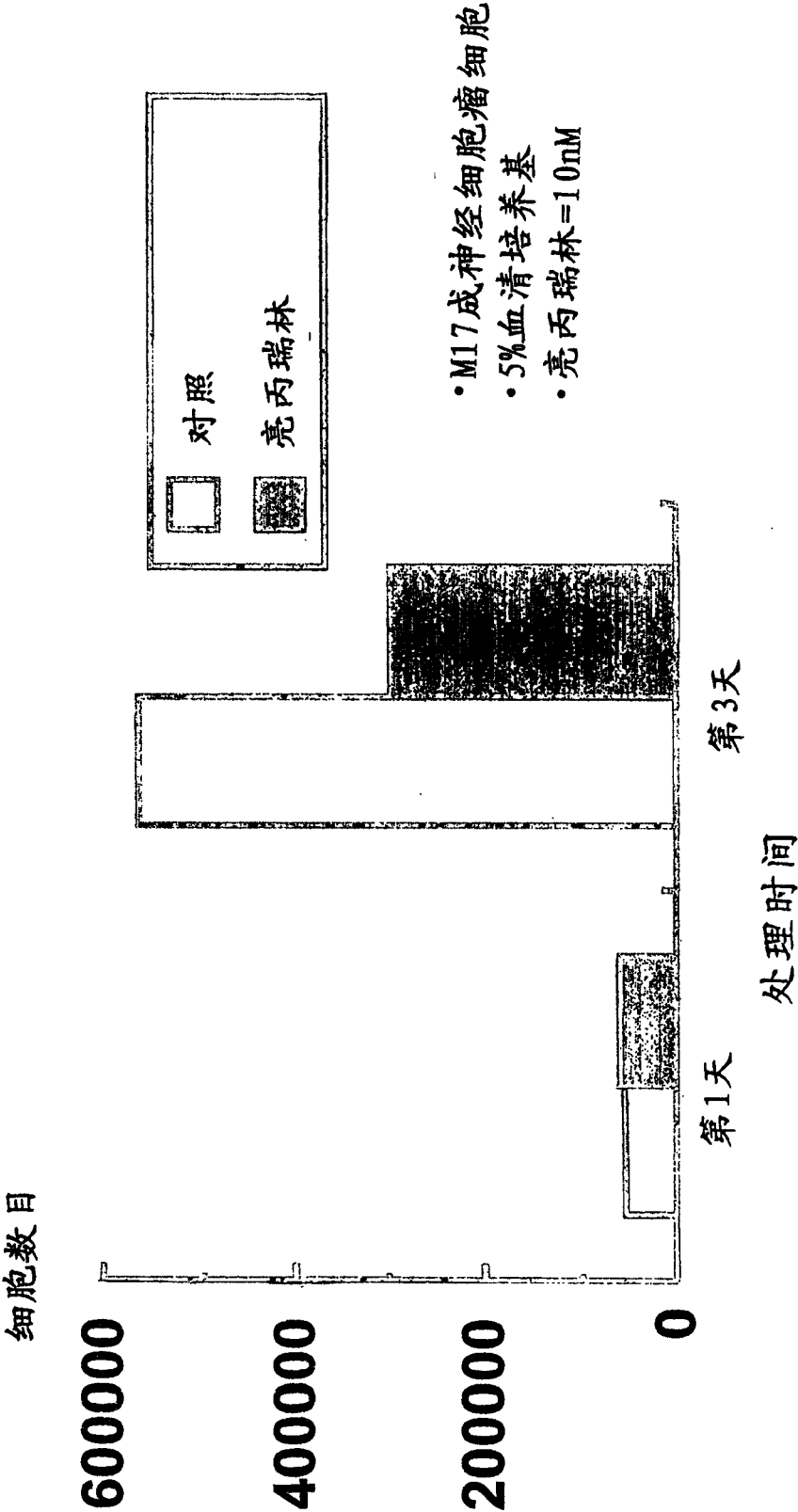
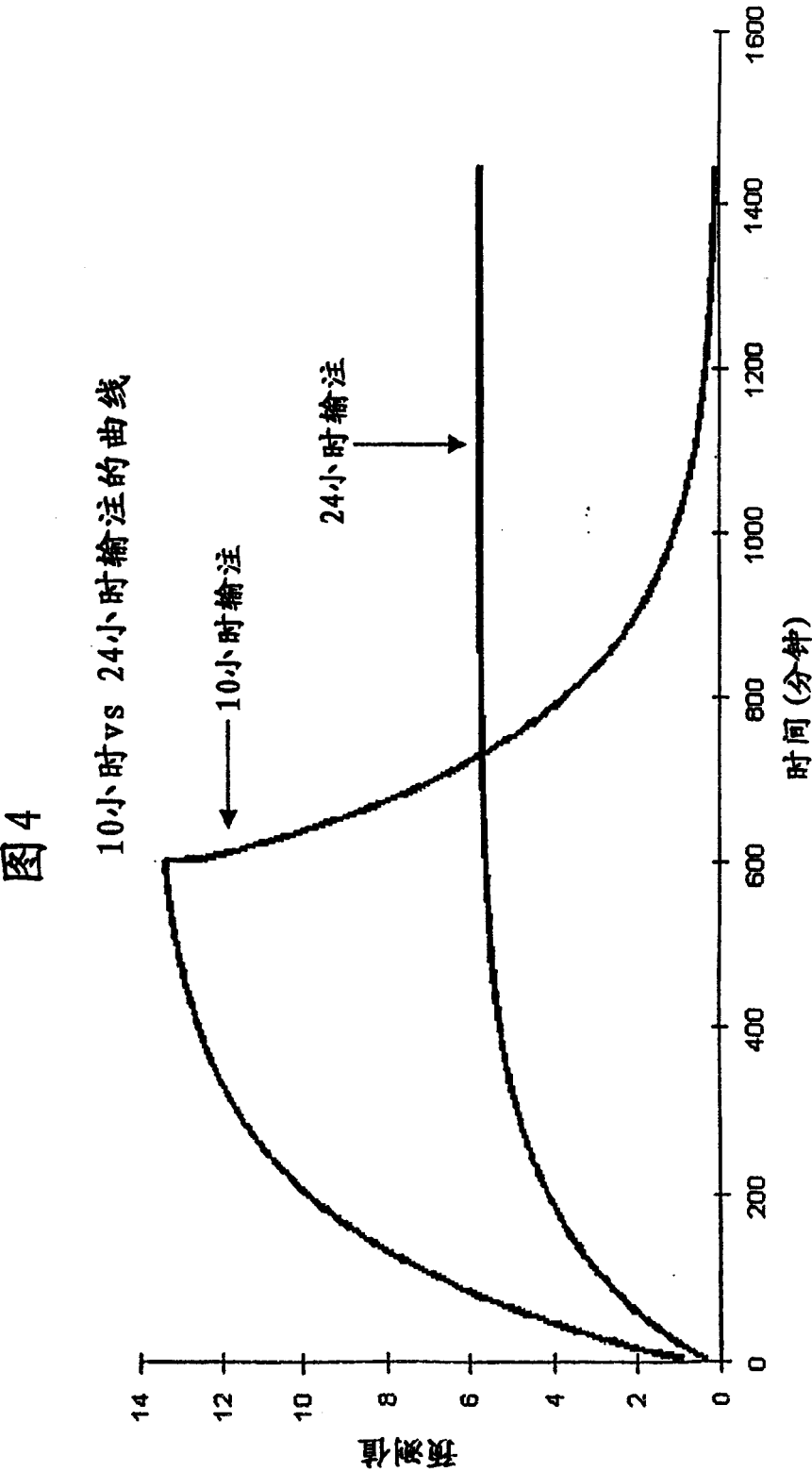


图3

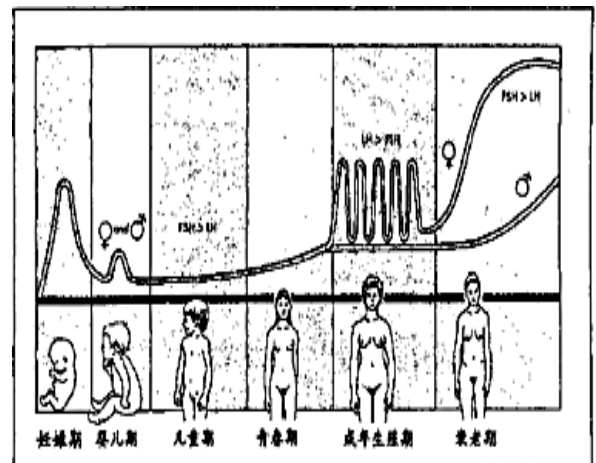




专利名称(译)	延缓衰老以及治疗和预防衰老相关疾病的方法		
公开(公告)号	CN101007172A	公开(公告)日	2007-08-01
申请号	CN200710001670.5	申请日	2002-12-19
[标]发明人	RL博文		
发明人	R·L·博文		
IPC分类号	A61K45/06 A61K31/07 A61K31/165 A61K31/17 A61K31/337 A61K38/09 A61K38/17 A61K38/24 A61P43/00 C07K14/00 C07K14/59 G01N33/53		
优先权	60/385561 2002-06-05 US 60/385560 2002-06-05 US 60/385577 2002-06-05 US 60/385576 2002-06-05 US 60/385575 2002-06-05 US 60/383624 2002-05-29 US 60/385559 2002-06-05 US 60/340502 2001-12-19 US 60/369857 2002-04-05 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及通过应用至少一种治疗有效量的生理性药剂而减缓、预防或延迟衰老，或者治疗或预防衰老相关疾病的方法，此药剂可降低或调节LH或FSH的血液水平、产生、功能或活性，或者降低或调节活化素的产生或活性，或者提高或调节抑制素或卵泡抑素的血液水平、产生、功能或活性。



出处: Bover et al. (1972) N. Engl. J. Med. 287: 983