

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) **公表特許公報** (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 508349

(P2003 - 508349A)

(43)公表日 平成15年3月4日(2003.3.4)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
A 6 1 K 31/661		A 6 1 K 31/661	4 C 0 7 6
9/06		9/06	4 C 0 8 4
9/12		9/12	4 C 0 8 6
9/127		9/127	4 C 2 0 6
9/133		9/133	

審査請求 有 予備審査請求 (全184数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 617871(P2000 - 617871)

(86)(22)出願日 平成12年5月12日(2000.5.12)

(85)翻訳文提出日 平成13年11月14日(2001.11.14)

(86)国際出願番号 PCT/US00/12962

(87)国際公開番号 W000/069412

(87)国際公開日 平成12年11月23日(2000.11.23)

(31)優先権主張番号 60/134,140

(32)優先日 平成11年5月14日(1999.5.14)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 エスペリオン エルユーバイ ディベロップメント, インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 ミシガン 48108, アン
アーバー, エス. ステイト ストリー
ト 3621, ケイエムエス プレイス 695

(72)発明者 ゴールドバーグ, デニス アイ.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0177
6, サッドバリー, ベント ロード 109

(72)発明者 ウィリアムズ, ケビン ジョン
アメリカ合衆国 ペンシルベニア 19096,
ワインウッド, ウィスター ロード 4
25

(74)代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アンギナおよび/またはアンギナ等価状態を処置する方法、ならびにそれに関連する薬学的組成物およびキット

(57)【要約】

本発明は、アンギナ（例えば、安定狭心症、不安定狭心症および異型狭心症）および/またはアンギナ等価状態を処置する方法を提供し、この方法は、治療期間、患者に治療有効量の複数のリポソーム（好ましくは、ラージリポソーム）を投与する工程を包含し、このリポソームは、実質的にステロールを含まない。この方法はまた、リポソームではなく有効量の抗アンギナ薬を投与する工程を包含する。本発明はまた、治療有効量のリポソームを投与する工程を包含する、跛行を処置する方法を提供する。なお別の変形では、本発明は、リポソームを投与する工程を包含する、被験体の術中または術後の条件付けの方法を提供する。いくつかの他の発明もまた、本明細書中に記載される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アンギナおよび/もしくはアンギナ等価状態または跛行の処置における使用のための組成物であって、該組成物は、処置期間に被験体に与えられるリン脂質を含む治療有効量のリポソームを含む、組成物。

【請求項2】 前記アンギナが、安定狭心症、不安定狭心症および異型狭心症からなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】 前記アンギナが狭心症である、請求項1に記載の組成物。

【請求項4】 前記リポソームが、肝臓における肝内層の内皮層洞様毛細血管の穿孔よりも大きなサイズおよび形状のラージリポソーム、血漿LDLの濃度を実質的に上昇しないラージリポソーム、および血漿アテローム生成リポタンパク質の濃度を実質的に上昇しないラージリポソームからなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項5】 前記治療有効量が、1用量につき、体重1kg当たり約10mg～約1600mgの範囲のリン脂質である、請求項1に記載の組成物。

【請求項6】 前記リポソームが、単層リポソーム、少層リポソームおよび多層リポソームからなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項7】 前記リポソームが、約50nmより大きい平均直径を有するリポソーム、約80nmより大きい平均直径を有するリポソーム、約100nmより大きい平均直径を有するリポソーム、約100nm～約150nmの範囲の平均直径を有するリポソーム、約150nm～約200nmの範囲の平均直径を有するリポソーム、約200nmと約300nmとの間の範囲の平均直径を有するリポソーム、約250nm～400nmの範囲の平均直径を有するリポソーム、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項8】 請求項1に記載の組成物を備えるキットであって、該キットは、前記リポソーム以外の、有効量の抗アンギナ薬をさらに含む、キット。

【請求項9】 前記抗アンギナ薬が、ニトレート、遮断薬、カルシウムチャンネルアンタゴニスト、冠動脈血管拡張薬、脂質低減薬、後負荷還元剤、強心薬、前負荷還元剤およびアヘン剤からなる群より選択される、請求項8に記載のキ

ット。

【請求項10】 前記ニトレートが、ニトログリセリン、舌下に投与されるニトログリセリン、長期作用ニトレート、舌下内のニトレート調製物、口腔内ニトレート調製物、経口ニトレート調製物、スプレーニトレート調製物、経口ニトログリセリンスプレー、イソソルビドジニトレート調製物、イソソルビド - 5 - モノニトレート調製物、非舌下ニトレート調製物、イソソルビド - 5 - モノニトレートの徐放調製物、局所的なニトログリセリン、ニトログリセリン軟膏、ニトログリセリン含有経皮パッチ、およびニトログリセリンが含浸されたシリコーンゲルまたはポリマーマトリックスからなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項11】 前記 遮断薬が、非選択的 遮断薬、プロプラノロール、ナドロール、ペンブトロール、ピンドロール、ソタロール、チモロール、カルテオロール、 β_1 レセプターおよび β_2 レセプターの両方を阻害する薬物、心選択性 遮断薬、アセプトロール、アテノロール、ベタキソロール、ビソプロロール、エスモロール、メトプロロール、および β_1 レセプターを遮断するが β_2 レセプターに対してより少ない影響を有する薬物からなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項12】 前記カルシウムチャンネルアンタゴニストが、カルシウムアンタゴニスト、電位感受性L型カルシウムチャンネルの非競合的遮断による心筋および平滑筋の膜におけるスローチャンネルを介するカルシウムイオンの移動を阻害する化合物、ジヒドロピリジン、nifedipine (登録商標)、フェニルアルキルアミン、verapamil (登録商標)、ベンゾチアゼピン、diltiazem (登録商標)、nicardipine (登録商標)、amlodipine (登録商標)、およびbepridil (登録商標)、第二世代カルシウムアンタゴニスト、nicardiopine (登録商標)、isradipine (登録商標)、amlodipine (登録商標)、felodipine (登録商標)ならびにジヒドロピリジン誘導体からなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項13】 前記アンジオテンシン変換酵素 (ACE) インヒビターが

、キナプリル、Accupril (登録商標)、ラミプリル、Altace (登録商標)、カプトプリル、ベナゼプリル、Lotensin (登録商標)、トランドラプリル、Mavik (登録商標)、ホシノプリル、Monopril (登録商標)、リジノプリル、Prinivil (登録商標)、モエキシプリル、Univasc (登録商標)、エナラプリル、Vasotec (登録商標)、エナラプリラト、リジノプリル、Zestril (登録商標)、それらの活性代謝物およびそれらの誘導体からなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項14】 前記抗不整脈薬が、キニジン、ethomozine、mexitil、ジソピラニド、プロカインアミド、quniaglute、quinidex、rythmol、tambocor、tonocard、ソタロール、エスモロール、プロプラノロール、アセプトロール、betapace、cordarone、corvert、calan、ベラパミル、ジルチアゼム、アデノシン、ジゴキシン、それらの活性代謝物、それらの誘導体およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項15】 アンギオテンシン変換酵素(ACE)インヒビターを前記被験体に投与することをさらに含む、請求項1に記載の組成物を備えるキット。

【請求項16】 請求項15に記載のキットであって、該キットは、前記被験体に対する抗不整脈薬および/またはAICDを含む不整脈の処置のためのデバイスをさらに含む、キット。

【請求項17】 請求項1に記載の組成物を備えるキットであって、抗血栓治療をさらに含む、キット。

【請求項18】 前記抗血栓治療が、治療有効量の抗血小板薬を投与すること、フィブリン血餅の形成を妨害する治療有効量の薬物を投与すること、治療有効量の血栓溶解治療を投与することからなる群より選択される、請求項17に記載のキット。

【請求項19】 アテローム生成リポタンパク質が、LDL、Lp(a)、アポ-Bを含むリポタンパク質、VLDL、 β -VLDL、およびレムナントリポタンパク質からなる群より選択される、請求項1に記載の組成物を備えるキット。

【請求項20】 請求項1に記載の組成物であって、ここで前記抗アングナ治療は共存する悪化状態の処置をさらに含み、該共存する悪化状態の処置は、高血圧症の処置、甲状腺機能亢進症の処置、肺疾患の処置、心不全の処置、異化亢進状態の処置、および貧血の処置からなる群より選択される。

【請求項21】 請求項1に記載の組成物の使用であって、ここで血漿アテローム生成リポタンパク質のレベルは、制御されるかまたはモニターされる、使用。

【請求項22】 請求項1に記載の組成物の使用であって、前記アングナが、安定狭心症、不安定狭心症および異型狭心症からなる群より選択される、使用。

【請求項23】 前記アングナが狭心症である、請求項1に記載の組成物の使用。

【請求項24】 請求項1に記載の組成物の使用であって、該使用は、アッセイされたアテローム生成リポタンパク質の血漿濃度を得るためのアッセイを用いてアテローム生成リポタンパク質の血漿濃度を定期的にアッセイする工程をさらに包含し、該アッセイは、血漿エステル化コレステロールのアッセイ、血漿アポリタンパク質-Bのアッセイ、血漿のゲル濾過アッセイ、血漿の超遠心アッセイ、および以下の成分を有する沈降アッセイ、血漿の超遠心アッセイ、沈降アッセイ、免疫比濁アッセイ、抗体を用いるアッセイ、抗体フラグメントを用いるアッセイ、ならびに治療有効量の各前記リポソームのレベルを決定するための電気泳動アッセイからなる群より選択され、ここで該成分は、ポリアニオン、二価のカチオンおよび抗体からなる群より選択される、方法。

【請求項25】 前記アングナ等価状態が、虚血性壁運動の異常性、呼吸困難、運動寛容減損、不整脈、減少した心機能、および関連痛からなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項26】 前記リポソームが手術前または手術中の被験体への投与に適切である、請求項1に記載の組成物。

【請求項27】 請求項1に記載の組成物を備えるキットであって、麻酔薬または鎮静薬をさらに備える、キット。

【請求項28】 前記リポソームが、前記処置期間の間に定期的に与えられる、請求項1に記載の組成物。

【請求項29】 投与が、静脈内ボラス投与、静脈内注入、静脈内投与、腹腔内投与、および透析に対する補助剤としての投与からなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項30】 心機能をモニターすることをさらに含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項31】 請求項30に記載の組成物であって、前記心機能が、EKG異常性、ST部分変化、不整脈、区壁運動の評価、血液粘度、運動耐性および外来EKGモニタリング、負荷心臓図検査、心臓図検査、SPECTならびに負荷SP&CTからなる群より選択される、組成物。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

関係者宛

特許出願

以下を知らしめる。本発明者ら、米国市民たる Dennis I. Goldberg (居所 109 Bent Road, Sudbury, Massachusetts 01776) および米国市民たる Kevin Jon Williams (居所 425 Wister Road, Wynnewood, Pennsylvania 19096) は新規かつ有用な以下を発明した：

「アンギナ (angina) および/またはアンギナ等価状態 (equivalent) の処置の方法、ならびにそれに関連する薬学的組成物およびキット」

以下はその明細書の発明の詳細な説明である。

【0002】

(アンギナ (angina) および/またはアンギナ等価状態の処置の方法、ならびにそれに関連する薬学的組成物およびキット)

(発明の背景)

胸の痛みは、多くの原因 (例えば、胃の不快、肺の苦痛、肺塞栓症、筋骨格痛気胸、心臓非冠状状態、および虚血冠状症候群) から生じ得る。虚血冠状症候群としては以下が挙げられる：安定狭心症、不安定狭心症、異型狭心症 (狭心症)、アンギナ等価状態、心筋梗塞、および関連する機能不全 (例えば、不整脈、低心臓出力、心不全、梗塞拡張、梗塞伸長、再還流損傷、および冠状血栓症)

安定狭心症は、規則的かつ特徴的なパターンで再発するアンギナである。ヒトは、いくつかのエピソードが生じ、そしてパターンが生じた後にのみ自分がアンギナに罹患していると認識する。アンギナを刺激する特定のレベルの活性またはストレスが存在し、そしてパターンは一般にゆっくり変化する。

【0003】

不安定なアンギナは、非常に重得なエピソードまたは頻繁に再発するアンギナ発作として現れるアンギナである。不安定狭心症において、確立されたパターンのアンギナは、鋭敏に変化し得る。すなわち、そのアンギナは、安静時に出現し

得、または過去におけるよりもはるかに少ない運動によって生じ得る。

【0004】

異型狭心症はまた、プリンツメタル型狭心症 (Prinzmetal's angina) として知られる。これは、代表的なアンギナとは、このアンギナがほとんど排外的に、人物が安静時にあるときに起こることにおいて異なる。発作は非常に痛みを生じ得、そして通常真夜中から午前8時の間に起こる。異型狭心症は、他の形態のアンギナおよびアンギナ等価状態と同様に、急性心筋梗塞、重篤心臓不整脈 (心室頻脈、心室細動および突然死さえを含む) を伴い得る。異型狭心症は、冠状動脈痙攣に起因する。この痙攣は、アテローム性動脈硬化障害付近で生じ得る。アンギナに罹患した人の多くは急性の活動期を経験する。アンギナおよび心臓の事象は、しばしば、6カ月以上起こり得る。

【0005】

狭心症とは、胸の痛みまたは心臓起源の不快と定義される。これは、通常、心筋酸素供給と心筋酸素需要との間の一過性の不均衡から生じる。この不快はしばしば、運動、感情、摂食、または寒い気候によって誘導される。疼痛は、被検体が屋外にいるとき (特に温度が極端に高いまたは低いとき)、および患者が風邪に向かって上り坂を歩いているときに頻繁に起こりやすいようである。アンギナは、一般に、被検体が重金属を食べたとき、またはその被検体が運動し、怒り、または緊張しているときに起こる。

【0006】

正常な冠状循環は、心筋の酸素要求によって支配および制御される。この要求は、心臓が冠状血管抵抗性 (およびそれゆえ血流) を相当変動させる能力によって満たされるが、他方、心筋は、酸素の高くかつ比較的一定した割合を抽出する (Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991, Chap. 16)。通常、心筋内の抵抗性細動脈は、拡張について莫大な容量を示す。運動および感情的なストレスの際に、酸素要求が変わることで、冠状血管抵抗性に影響が出、そしてこのようにして血液および酸素の供給を調節する (代謝調節)。これらの同じ血管は、心筋要求に適切なレベルで冠状血流を維持するために血圧における生

理的変動に適合する（自己調節）。大心外膜冠状動脈は、収縮および弛緩し得るが、健常人では、それらは、管として作用し、そして「伝導性血管」(conductance vessels)と呼ばれる。他方、心筋内動脈は、通常、聴力において驚くほどの変化を示し、そして従って、「抵抗性血管」(resistance vessels)と呼ばれる（同上）。

【0007】

一旦近位心外膜動脈の重篤な狭窄がおよそ70%を超えて断面積を減少させると、遠位抵抗性血管が拡張して、血管抵抗性を減少させ、そして冠状血流を維持する。圧力は、徐々に近位狭窄を横切って発生し、そして狭窄後の圧力は落ちる。抵抗性血管が最大に拡張するとき、心筋血流は、障害から遠い冠状動脈における圧力に依存するようになる。これらの状況において、心筋酸素化における変化は、生理的基底感情、病理的痙攣、または小さな血小板栓に起因して、心筋酸素要求における変化および狭窄を受けた冠状動脈の口径における変化によって生じ得る。すべてのこれらの一過性事象は、酸素供給と酸素受容との間の重要な平衡を反転させ得、そして従って心筋虚血へと至らしめる。

【0008】

虚血の効果は多い。感情動脈硬化によって誘導される不適切な酸素化は、心筋の医学的、生化学的、および電氣的な機能の一過性障害を生じ得る。虚血の突発的発生は、通常、左心室心筋の区(segment)に影響を与え、正常な筋肉弛緩および収縮のほとんど瞬間的な機能不全を伴う。心内膜下の比較的貧弱な灌流は、壁のこの部分のより強力な虚血を生じる。心室の大きな区の虚血は、一過性の左心室不全を報じる。そして、乳頭筋が関与する場合、僧帽弁反流がこの事象を複合化し得る。虚血事象が一過性である場合、それらは、アンギナに関連し得；長期化した場合、それらは、急性心筋梗塞の臨床症状を伴うかまたは伴わないで、心筋壊死および瘢痕を生じ得る。以下を参照のこと：Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991 Chap. 189。

【0009】

これらの基礎をなす機構的障害は、細胞代謝、機能および構造における広汎な

種々の異常である。酸素化される場合、正常な心筋は、脂肪酸およびグルコースを二酸化炭素および水へと代謝する。重篤な酸素欠乏では、脂肪酸は酸化され得ず、そしてグルコースは乳酸へと分解される；細胞内pHは、心筋が高エネルギーホスファターゼ、アデノシントリホスフェート(ATP)、およびクレアチニンホスフェートを蓄積するにつれて減少する。損傷した細胞膜機能は、心細胞によるカリウムの漏れおよびナトリウムの取り込みを導く。心筋酸素供給と心筋酸素需要との間の不均衡の重篤度および期間は、その損傷が反転可能かどうか、またはそれが恒常性であり、続いて心筋壊死をもたらすかどうかを決定する。Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991。

【0010】

虚血はまた、T波の反転および後のST区の変位によって立証されるように再分極異常のような特徴的な心電図変化を生じる(Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991, Chap. 176)。一過性のST区抑制は、しばしば、心内膜下の虚血を反映し、他方、一過性ST区上昇は、より重篤な経壁(transmural)虚血によって生じると考えられる。心筋虚血の別の重要な結果は、電気的不安定性である。なぜなら、これは、心室頻脈または心室細動を生じ得る(Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991, Chap. 185)。虚血心疾患から突然死するほとんどの患者は、虚血に誘導される悪性心室不整脈の結果死に至る(Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991, Chap. 40)。

【0011】

本発明の目的は、アンギナ、アンギナ等価状態および急性冠状症候群のこれらの種々の形態を処置するために使用される従来の治療に関連する課題を解決することである。

【0012】

(発明の要旨)

本発明は、被検体に治療有効量のリポソームを投与する工程を包含する、アンギナを処置する方法を提供する。安定なアンギナ、不安定なアンギナ、異型狭心症、および/またはアンギナ等価状態は、本明細書において記載される方法をりようして処置される。このリポソームは、ラージリポソーム、スモールリポソームおよびそれらの組合せからなる群より選択され、そして被検体におけるLDLレベルが実質的に上昇しないように投与される。

【0013】

ラージリポソームが使用される場合、そのラージリポソームは、そのリポソームがコレステロール恒常性を悪性に障害しないような、大きさ、機能、組成または投与方法もしくはスケジュールのリポソームの化学組成物である。リポソームを投与することは、徐々に、本発明の1つの改変において被検体へリポソームを注入することを包含する。本発明の別の改変において、少量のリポソームが時間に分けて投与されて、LDL濃度の上昇を回避する。

【0014】

この方法はまた、アッセイされたLDL濃度を入手するアッセイを用いて周期的に血漿LDL濃度をアッセイする工程を包含する。このアッセイは、そのリポソームの各々の治療有効量のレベルを判定するための、血漿エステル化コレステロールのアッセイ、血漿アポリポタンパク質Bのアッセイ、血漿のゲル濾過アッセイ、血漿の限外遠心分離アッセイ、および成分を有する沈降アッセイ(ここで、その成分は、ポリアニオン、二価のカチオン、および抗体からなる群より選択される)、血漿の限外遠心分離アッセイ、沈降アッセイ、免疫濁度測定アッセイ、および電気泳動アッセイからなる群より選択される。

【0015】

この方法は、治療有効量のリポソームを、約10mg~約1600mgの臨死室/体重kg/用量の範囲で使用する。リポソームは、1つの実施形態における処置期間の間周期的に与えられる。そして、それは、単層リポソーム、少数層(pauci-lamellar)リポソームおよび多層リポソームからなる群より選択される。

【0016】

好ましくは、そのリポソームは、約50nmより大きな直径、約80nmより大きな直径、および/または約100nmより大きな直径を有する。このリポソームはまた、約100nmから約150nmの、約150nmから約200nmの、約250nmから約300nmの、および/または約300nmから約400nmの範囲の直径を有し得る。他の好ましいリポソーム範囲は本明細書において記載される。

【0017】

本発明の別の実施形態において、そのリポソームは、静脈内ボラス投与によって、静脈注射によって、および/または腹腔内投与によって被検体に与えられる。他の経路もまた、企図される（例えば、筋肉内、皮下、鼻内、吸入、直腸およびカプセル化によって経口もしくは経腸によって吸収される形態）。

【0018】

この方法はまた、被検体の心臓機能のモニタリングが存在する改変を包含する。モニタリングされる代表的な心臓機能は、EKG異常、ST区変化、不整脈、区壁運動の評価、血液粘度、運動耐性、外来EKGモニタリング、および/または心臓壁運動異常。

【0019】

本発明のさらに別の改変において、その方法は、空のリポソーム以外の抗アンギナ薬の有効量を投与することを包含する。「空」とは、リポソーム内のカプセル化された薬物の非存在（ここで、そのカプセル化された薬物が、そのリポソームの1つ以上の機能について本質的である）を示す標準的な用語である。ニトレート、遮断薬、カルシウムチャネルアンタゴニスト、冠状血管弛緩剤、脂質減少薬、負荷後減少剤、筋肉収縮剤、負荷前減少剤、およびオピエートを包含する。

【0020】

ニトレートとしては、例示の目的で、ニトログリセリン、舌下投与されるニトログリセリン、長期作用ニトレート、舌下内（*insublingual*）ニトレート調製物、頬（口腔）ニトレート調製物、経口ニトレート調製物、スプレー

ニトレート調製物、経口ニトレートスプレー、イソソルビドジニトレート調製物、イソソルビド - 5 - モノニトレート調製物、イソソルビド - 5 - モノニトレートの徐放調製物、局所ニトログリセリン、ニトログリセリン軟膏、経皮パッチを含むニトログリセリン、およびニトログリセリンを含浸させたシリコンゲルまたはポリマーマトリクスが挙げられ得る。

【0021】

遮断薬としては、例示の目的で、非選択性 遮断薬、プロプロパノール、ナドロール、ペンタブトロール、ピンドロール、ソタロール、チモロール、カルテオロール、 β_1 および β_2 レセプターの両方を遮断する薬物、心臓選択 遮断薬、アセブトロール、アテノロール、ベタキソロール、ビソプロロール、エスモロール、メトプロロール、および β_2 レセプターにはあまり効果を有せずに β_1 レセプターを遮断する薬物が挙げられ得る。

【0022】

本発明の1つの改変において、カルシウムチャンネルアンタゴニストは、カルシウムアンタゴニスト、心臓および平滑筋の膜における遅いチャンネルを通じたカルシウムイオン移動を、電位感受性L型カルシウムチャンネルの非競合的遮断によって阻害する化合物、ジヒドロピリジン、ニフェジピンTM、フェニルアルキルアミン、ベラパミルTM、ベンゾチアゼピン、ジルチアゼムTM、ニカルジピンTM、アムロジピンTM、およびベプリジルTM、第二世代のカルシウムアンタゴニスト、ニカルジオピンTM、イスラジピンTM、アムロジピンTM、フェロジピンTM、ジヒドロピリジン誘導体からなる群より選択される。

【0023】

本発明のなお他の局面は、アンギオテンシン変換酵素(ACE)インヒビターを、リポソームと組み合わせて被検体に投与する工程、抗不整脈薬を、そのリポソームと組み合わせてその被検体に投与する工程、および/またはその被検体における陽性の生活スタイルを行う工程を包含する。代表的な陽性生活スタイルの変化は、体重喪失、喫煙の減少、喫煙の消失、運動、管理された運動、減少した塩摂取、減少した飽和脂肪酸の摂取、減少したコレステロール摂取、総脂肪摂取の減少、身体的ストレスの回避、感情的ストレスの回避、およびカロリー摂取の

減少を含む。

【0024】

本発明のなおさらなる局面は、リポソーム投与と組み合わせた抗アンギナ治療を行うことを包含する。抗アンギナ治療は、高血圧のための治療、甲状腺亢進のための処置、肺疾患のための処置、心不全のための処置、および貧血のための処置のような同時に存在する悪化状態の処置を包含する。

【0025】

本発明の別の実施形態は、空のリポソーム投与と組み合わせた抗血栓症治療剤を投与することを包含する。抗血栓症治療は、抗血小板薬の治療有効量を投与すること、フィブリン血餅の形成を阻害する薬物の治療有効量を投与すること、および血栓溶解治療からなる群より選択される。

【0026】

本発明の別の実施形態は、跛行 (c l a u d i c a t i o n) を処置する方法を包含する。この方法は、治療有効量のリポソームを投与することを包含する。上記のように、そのリポソームは、ラージリポソーム、スモールリポソーム、およびそれらの組合せからなる群より選択され、そしてその方法は、上記および下記の他の方法の工程と組み合わせられ得る。

【0027】

本発明のなお別の局面は、以下を含むアンギナを処置するための薬学的キットを包含する：リポソームを有する第一の容器1およびリポソーム以外の抗アンギナ薬を有する第二の容器。

【0028】

本発明はまた、被検体の術前状態および/または術中状態の馴化の方法に関する。この方法は、単独でまたは麻酔薬もしくは鎮静剤の投与と組み合わせてリポソームを投与すること、および/または被検体の心臓機能の術前または術中の評価を包含する。

【0029】

上記に具体的に示されるもの以外の本発明の目的および特徴は、以下の本発明の詳細な説明において明らかになる。

【0030】

(発明の詳細な説明)

図1は、正常なリポタンパク質100および単層リポソーム200の構造の模式図を例示する。リポタンパク質100およびリポソーム200は、リン脂質分子300を含む。リン脂質分子は概して、極性ヘッド500および脂肪アシル鎖400を有する。分子600は、エステル化されていないコレステロール分子を表す。リポタンパク質100は、主にトリグリセリドおよびコレステロールエステルから構成される疎水性コア102を含み、リン脂質分子300の単層によって囲まれ、その脂肪アシル側鎖400は疎水性コア102に向かっており、そしてその極性ヘッド500は、周囲の水性環境(示さず)に向かっている。エステル化されていないコレステロール600は、主に、リン脂質単層内に見出される。アポリポタンパク質700は、リン脂質分子300内に配置される。人工トリグリセリドエマルジョン粒子は、本質的に同一の構造を有し、タンパク質を含むかまたは含まないかのいずれかである。

【0031】

リポソーム200は、リン脂質分子300を含み、リン脂質二重層を形成する(例えば、1つの層(lamella)、これはタンパク質を含むかまたは含まないかのいずれかであり、脂肪アシル側鎖400は互いに向き合っており、外側リーフレットのその極性ヘッド基500は、周囲の水性環境(示さず)に向けて外側に向かっており、そして内部リーフレットのその極性ヘッド基500は、粒子200の水性コア202に向けて内側に向いている。粒子200の組成に依存して、リン脂質二重層は、エステル化されていないコレステロールおよび他の交換可能な材料ならびにそれらの成分について大きな容量を有し得る。図1において例示されるように、ステロールはない。代表的に、そのようなリポソームは、細胞膜のような他の脂質二重層から、およびリポタンパク質からエステル化されていないコレステロールを拾い上げ得る。リポソームはまた、タンパク質を拾い上げ、そしてリン脂質および他の交換可能な材料ならびにその成分へと与える。リポソームはまた、多重構造を有し得る。ここで、二重層は、外側の二重層によってカプセル化される環境内に含まれて、多重層を形成する。その多重層は、タ

マネギの層のように、同心状に配置され得、または別の改変において非同心状に配置され得る。

【0032】

上記のリポソームは、アンギナおよびアンギナ等価状態を処置する方法において使用される。その方法を用いて処置され得るアンギナの型は、安定狭心症、不安定狭心症、および/または可変アンギナを含む。特に、本発明は、狭心症を処置するにおいて有効である。

【0033】

この方法は、ステロールを実質的に含まないリン脂質を含む、複数のラージリポソームの治療有効量を、被検体に、処置期間にわたって投与する工程を包含する。本発明の1つの改変において、ラージリポソームは、肝臓における内皮層裏打ちの肝臓シヌソイド (sinusoid) の開窓術 (fenestration) より大きな大きさおよび形状のものである。好ましくは、ラージリポソームは、約50nmより大きな直径、約80nmより大きな直径、または約100nmより大きな直径を有する。特に有効なリポソームは、約100nmから約200nmの範囲の直径を有する。本発明の改変において、そのリポソームは、ラージリポソーム、スモールリポソーム、およびそれらの組合せからなる群より選択される。

【0034】

治療有効量のリポソーム投与は、約10mgから約1600mgのリン脂質/体重kg/用量の範囲内にあり、そしてそのリポソームは、その処置期間の間周期的に与えられる。治療有効量のリポソームは、種々の様式において与えられ得、これらには、例示的に、以下が含まれる：静脈内ボラス投与、静脈注入、および腹腔内投与。

【0035】

リポソームを投与する方法は、処置の効力を判定する工程と組み合わせられ得る。例えば、この方法は、リポソーム投与の前、間またはその後に、被検体の心臓機能をモニタリングする工程を包含する。予備処置心臓機能測定は、そのリポソームの投与の前に行われる。リポソームの投与後、その患者の心臓機能の改善

もまた判定して、処置の効力を示し得、そして続きの処置が必要であるかどうかを判定し得、または続きの処置の間の時間もしくは続きの処置の適切な投薬量を判定し得る。

【0036】

本発明において分析され得る心臓機能は多く存在する。これらの機能としては、EKG異常、ST区変化、不整脈、区壁運動の評価、血液粘性、運動耐性、外来EKGモニタリング、および心臓壁運動異常が挙げられる。

【0037】

リポソーム投与はまた、リポソーム以外の抗アンギナ薬の有効量の投与、または抗アンギナ手順（例えば、LDL搬送（phoresis）、血液形成、または他の血管再生と有利に組み合わせられ得る。これらの抗アンギナ薬としては、例示の目的で、ニトレート、遮断薬、カルシウムチャンネルアンタゴニスト、冠状拡張剤、脂質低下薬物、負荷後減少剤、筋肉収縮剤、負荷前減少剤、酸素、オピエート、ならびにそれらの誘導体および/または組合せが挙げられる。リポソーム投与はまた、従来の抗アンギナ治療がほとんど有効でないかまたは無効である患者（例えば、糖尿病）において特に所望されることが理解される。

【0038】

本発明において使用される例示的ニトレートとしては、以下が挙げられる：ニトログリセリン、舌下投与されるニトログリセリン、長期作用ニトレート、舌下内ニトレート調製物、頬（口腔）ニトレート調製物、経口ニトレート調製物、スプレーニトレート調製物、経口ニトレートスプレー、イソソルビドジニトレート調製物、イソソルビド-5-モノニトレート調製物、イソソルビド-5-モノニトレートの徐放調製物、局所ニトログリセリン、ニトログリセリン軟膏、経皮パッチを含むニトログリセリン、およびニトログリセリンを含浸させたシリコンゲルまたはポリマーマトリクスが挙げられる。

【0039】

本発明において使用される例示的な遮断薬としては、非選択性遮断薬、プロプロパノール、ナドロール、ペンタブトロール、ピンドロール、ソタロール、チモロール、カルテオロール、1および2レセプターの両方を遮断する薬物

、心臓選択遮断薬、アセブトロール、アテノロール、ベタキソロール、ビソプロロール、エスモロール、メトプロロール、および β_2 レセプターにはあまり効果を有せずに β_1 レセプターを遮断する薬物が挙げられる。

【0040】

例示的なカルシウムチャネルアンタゴニストとしては、心臓および平滑筋の膜における遅いチャネルを通じたカルシウムイオン移動を、電位感受性L型カルシウムチャネルの非競合的遮断によって阻害する化合物、ジヒドロピリジン、ニフェジピンTM、フェニルアルキルアミン、ベラパミルTM、ベンゾチアゼピン、ジルチアゼムTM、ニカルジピンTM、アムロジピンTM、およびペプリジルTM、第二世代のカルシウムアンタゴニスト、ニカルジオピンTM、イスラジピンTM、アムロジピンTM、フェロジピンTM、ジヒドロピリジン誘導体、それらの組合せおよびそれらの誘導体が挙げられる。

【0041】

本発明はまた、アンギオテンシン変換酵素(ACE)インヒビターを投与する工程、および/または抗不整脈薬物を、被検体に投与して、被検体について有利な結果を達成する工程を包含し得る。種々の型のACEインヒビターは以下に記載される。有利な結果を得るために、被検体における陽性生活スタイル変化を行うこともまた可能である。これらの生活スタイル変化としては、体重喪失、喫煙の減少、喫煙の消失、運動、管理された運動、減少した塩摂取、減少した飽和脂肪および飽和脂肪酸の摂取、減少したコレステロール摂取、総脂肪摂取の減少、身体的ストレスの回避、感情的ストレスの回避、およびカロリー摂取の減少が挙げられる。

【0042】

本発明のさらに別の改変は、抗アンギナ治療を行うことと組み合わせて、処置期間の間被検体にステロールを実質的に含まないリン脂質を含む、治療有効量の複数のラージリポソーム(例えば、空のリポソーム)を投与する工程を包含する。例示的な抗アンギナ治療は、同時に存在する悪化状態の処置を含む。同時に存在する悪化状態としては、例示の目的で、高血圧のための治療、甲状腺亢進のための処置、肺疾患のための処置、心不全のための処置、貧血のための処置、過剰

代謝状態のための処置、および糖尿病のための処置が挙げられる。

【0043】

本発明のなお別の局面は、抗血栓症治療剤を投与することと組み合わせ、処置期間の間被検体にステロールを実質的に含まないリン脂質を含む、治療有効量の複数のラージリポソーム（例えば、空のリポソーム）を投与する工程を包含する。種々の型の抗血栓症治療剤が本発明において使用される。これには、治療有効量の抗血小板薬物（以下に記載される）を投与すること、治療有効量の、フィブリン血餅形成を阻害する薬物を投与することおよび/または血栓溶解治療が含まれる。

【0044】

本明細書において記載されるラージリポソーム（または、改変において投与の有害な効果が実質的に除去される方法で投与される場合本明細書に記載されるスモールリポソーム）は、実質的なLDLレベル制御および/または他のアテローム発生リポタンパク質の制御を提供する。本明細書において記載される方法は、被検体のLDLレベルをモニタリングすることと組み合わせられ得る。リポソームがラージリポソーム、スモールリポソームおよび/またはその組合せからなる群より選択される改変の場合、被検体のLDLレベルをモニタリングすること、そしてより重要には、その被検体におけるLDLレベルが実質的に上昇しないような方法でスモールリポソームを投与することが所望され得る。これは、リポソームを徐々に注入すること、および/または別個の時間に分けてリポソームを少量投与してLDL濃度の上昇を回避すること、あるいはコレステロール低下剤の投与または大きなリポソームの同時投与によって達成され得る。

【0045】

LDL濃度をモニタリングするために、アッセイされるLDL濃度を入手するアッセイを用いて血漿LDL濃度が定期的にあッセイされる。このアッセイは、血漿エステル化コレステロールのアッセイ、血漿アポリポタンパク質Bのアッセイ、血漿のゲル濾過アッセイ、血漿の限外遠心分離アッセイ、および成分（例えば、この成分は、ポリアニオン、二価のカチオン、および抗体からなる群より選択される）を有する沈降アッセイを包含する。本明細書において使用される他の

アッセイとしては、リポソームの各々の治療有効量のレベルを決定するための、血漿の限外遠心分離アッセイ、沈降アッセイ、免疫濁度測定アッセイ、および/または電気泳動アッセイが挙げられる。

【0046】

上記の他の方法の工程は、異なる大きさのリポソームの組合せとともに利用され得ること、および特に有用な型のリポソームはPOPCを含むこともまた理解される。体温において液晶であるが、なお、酸化に耐性であるリン脂質を含むリポソームが所望される。リポソームは、コレステロールおよび他の交換可能な材料を移動させ、そしてリン脂質を部分的に、HDLと共同しかつ転移タンパク質（例えば、リン脂質転移タンパク質およびコレステリルエステル転移タンパク質）とともに供与することが理解される。これらは内因性または外因性であり得る。

【0047】

本発明の別の局面において、アンギナを処置するための薬学的キットもまた本明細書において記載される。このキットは、リポソームを有する第一の容器；およびリポソーム以外の抗アンギナ薬を有する第二の容器を備える。例示的な抗アンギナ薬は上記される。

【0048】

本発明のなお別の特定の有用な局面は、被検体の術前または術中の馴化の方法を包含し、この方法はリポソームを投与することを包含する。手術を受ける場合に合併症の危険にある被検体は多い。これらの危険性の多くは、手術手段の前に、ある有効な、経験的に決定される機関リポソームを投与することで減少され得る。ここで、患者の身体は、ストレスを受ける危険性を受ける。被検体の術前の馴化の方法は、他の公知の術前の工程および手術手順に関連する患者の合併症の危険性および/またはストレスが最小化され得るような処置と組み合わせられ得る。これらの他の術前工程としては、例示の目的で、麻酔剤または鎮静剤の投与、被検体心臓機能の術前評価などが挙げられる。

【0049】

本発明のリポソームは、本明細書に記載される新規方法およびシステムを用い

て有利かつ効率的に製造される。所望の実質的に均一の大きさの範囲（例えば、125nm～250nm）のリポソームを生成することは、従来の方法を用いると特に遅い。なぜなら、初期の作製の際に、リポソーム/リポソーム前駆対の第一回の通過が困難であるからであり、これは、大きな粒子が、従来の押し出しデバイスでは、氷河のように遅く通過するからである。

【0050】

従って、本発明は、所望の大きさの範囲内のリポソームを大量に製造する商業的方法を包含する。この方法は、リン脂質を水和する工程を包含する。この水和工程は、最初は所望の範囲の孔サイズを有する押し出し器を通過することが困難な大きな粒子を生成する。従って、この方法は、高処理能装置を利用してその粒子を、フィルターを有する押し出し器を容易に通過する大きさ範囲へとして所望の粒子の大きさ（約200nmから約400nm）を生成することによってその水和されたりポソームを予備条件付けすること、次いで続いてその予備条件付けされた粒子を、所望の大きさ（例えば、約100nmの大きさまたは他の消耗の大きさ）のフィルターを備えつけた押し出し器を通過させる工程を包含する。例示的な高処理能装置としては、マイクロフルイダイザー、ホモジナイザー、剪断ベースのデバイス、および/または大きな孔大きさ（500nmまたは他の適切な大きな孔大きさ）を備える押し出し器が挙げられる。上記の方法は、所望の大きさの範囲のリポソームを入手するための製造および/または処理の時間ををかなり削減することが理解される。生成速度のボトルネックとなる問題は、上記の予備条件付け工程によって除去される。

【0051】

特に有害であると考えられるLDLの集団が存在する（例えば、パターンLDLとしてもまた知られる低密度LDL）。パターンLDLは、一般に、糖尿病、過剰トリグリセリド血症、低HDL状態、高血圧、インスリン抵抗性、過剰インスリン血症および/または症候群X状態において見られる。低密度LDLは、脂質が貧弱であること、特に、表面脂質に関して貧弱であること（エステル化されていないコレステロールおよびリン脂質を含む）によって特徴づけられる。LDLは、リポソームからリン脂質を獲得し得る。被検体のリン脂質リポソーム

による処置は、低密度LDLを富化し、それを正常リン脂質含量へと快復させ、そのアテローム原性を減少させ、そして/またはその炭水化物含量および/もしくはその大きさを正規化する。本明細書において記載される組成物での処置は、低密度LDLの表面荷電密度を変化させ、そしてそれを正常な表面荷電密度へともたらず。低密度LDLを有する被検体におけるリポタンパク質は、プロテオグリカンへの結合の増強を示す(そのリポタンパク質の最も強力な結合はIDLである)。本明細書において記載される組成物および処置は、低密度LDLおよび低密度LDLを有する被検体に共通に見出される他のリポタンパク質の有害な特性を改善する。

【0052】

本明細書に開示される処置で寛解される有害な特性の例には、動脈基質への強力な結合性、容易な酸化可能性、動脈壁への浸透の容易さ、およびLDLレセプター結合障害が含まれるが、これらに限定されない。

【0053】

本発明はさらに、血管機能不全の加速性の症候群を処置する方法を提供する。血管機能不全の加速された症候群には、腎疾患、移植アテローム性動脈硬化症、無症候性虚血、および全ての身体部分(特に脳、脚、性器、および心臓)についてのその徴候、虚血、血管移植片、真性糖尿病、腎症を伴う真性糖尿病、蛋白尿を伴う真性糖尿病が含まれる。本発明はまた、過粘稠度症候群、鎌形赤血球化障害、創傷治癒障害を含む状態、および/または血液細胞または血小板の凝集を含む状態のような他の灌流異常を処置する方法を提供する。

【0054】

器官灌流は、本明細書においてPETスキャン、ドップラー評価、造影剤を使用する評価、および脈波検査のような試験によって決定され得る。

【0055】

本明細書で使用される負荷後還元剤には、抗高血圧症薬および末梢血管拡張剤(例えば、硝酸)およびカルシウムチャネルアンタゴニストが含まれる。

【0056】

本発明はまた、男性および/または女性の性機能不全、急性冠状動脈症候群、

安定性冠状動脈症候群、間欠性跛行、一過性虚血発作、発作、心臓発作、心筋梗塞、心筋虚血、任意の身体部分に対する虚血、虚血からの器官不全、および/または虚血からの器官梗塞のための処置を提供する。

【0057】

リポソームの投与により、血管形成、例えば、側枝血管の形成が促進される。側視血管形成は、高コレステロール症における障害であり、そしてLDLまたはapo-Bを含有する関連する粒子によって影響される。したがって、この方法の使用は、側枝血管形成を含む促進された血管形成から利益を得ることができる被験体にとって有益な処置である。

【0058】

図3および4は、LUV、SUV、または生理食塩水の注入に対する、経時的な、血漿LDLコレステロールエステル濃度を例示する。ウサギは、矢印302、304、および306それぞれによって示されるように、1、3、および5日に、体重1kgあたり300mgのホスファチジルコリンのポーラスまたは整合する容量の生理食塩水とともに静脈内に注射された。そのホスファチジルコリンは、約100NM（好ましくは、約120NM）の直径を有する、押出法により調製された大単層粒子（LUV）（LUVは、Nicomp™モデル370サブミクロンレーザー粒子サイズ決定機により約120NM（ 123 ± 35 NM）で測定され、そして押出膜は、約100NMの直径の孔を有していた）か、または、超音波によって調製された約30NM（好ましくは、35NM）の直径を有する小単層粒子（SUVは、 34 ± 30 NMの範囲において測定された）のいずれかの形態の薬学的グレードの卵PCであった。血液を、各注射の前に、そして6日目の屠殺にて採取した。血漿LDLコレステロールエステル濃度を、コレステロールエステルのためのインライン酵素アッセイによって血漿のゲル濾過アッセイによって決定した。平均 \pm SEMを図3に示す。SUVを注入された動物は、3、5、および6日目に、LUV注入または生理食塩水注入動物のいずれかと比較して、有意に高いLDLコレステロールエステルの血漿濃度を示した。図2～8、10～15、24、および28は、注入が第1日目、3日目、5日目に行われ、次いで肝臓が取り出された同じ実験からのデータを例示する。ゲル濾過を、血

漿において行って、個々のリポソームクラスの脂質含量を測定した。図2は、CETP、HMG-CoA R (ヒドロキシメチルグルタリル補酵素Aレダクターゼ)、LDLレセプター、およびコレステロール7- α -ヒドロキシラーゼ; ならびに図3および4について記載された実験についての、生理食塩水 (HEPES緩衝化生理食塩水) (ウサギ1~4)、LUV (ウサギ5~8)、およびSUV (ウサギ10~12) を与えられたウサギについてのLDL ChE (低密度リポタンパク質コレステロールエステル) についての肝臓mRNA含量 (pg/ μ g) の表を例示する。ウサギ13は、「Mix」ウサギである。

【0059】

図4は、Mixと標識された動物を示す。「Mix」は、第1日目、3日目、および5日目にSUVを受けたが、第3日目にLUVの1回の注射をも受けた単一の動物をいう。LUVのこの注射の前に、LDLコレステロールエステルの血漿濃度は、上昇したが、LUVの注射の後に、SUVを連続して投与したにもかかわらずLDL濃度は減少した。

【0060】

図5は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に応答しての、経時的な、肝臓におけるLDLレセプターmRNAレベルを例示する。上記のウサギは、第6日目に屠殺され、そして肝臓のサンプルが液体窒素においてスナップ保存され、mRNAが抽出され、そしてLDLレセプターに対するウサギmRNAが、内部標準/RNase保護アッセイによって定量された (Rea T. J. ら、J. Lipid Research 34:1901-1910, 1993およびPape M. E., Genet. Anal. 8:206-312, 1991)。平均 \pm SEMを図5に示す。SUVを注入された動物は、LUV注入されたかまたは生理食塩水注入された動物に比較して、肝臓LDLレセプターmRNAの有意な抑制を示した。肝臓LDLレセプターmRNAの抑制は、ステロールを過剰負荷された実質細胞を反映し、正常肝臓コレステロールホメオスタシスからの潜在的に有害な変更である。対照的に、LUV注入された動物は、最も高いレベルの肝臓LDLレセプターmRNAを示すが、その生理食塩水を注入された動物において観察されるものを超える増加は、統計学的に有意には至らなかった。上

記の「M i x」動物からの肝臓は、 $5.28 \text{ pg LDLレセプターmRNA / マイクログラム}$ の値を示した。これは、S U V群よりも生理食塩水群における平均値により近い。したがって、LDLレセプターmRNAは、S U Vの反復された注射にも係わらず、L U Vの単回の注射によって刺激された。

【0061】

図6は、L U V、S U V、または生理食塩水の注射に応答しての肝臓におけるHMG - C o AレダクターゼmRNAレベルを例示する。この実験は、上記のものである。S U Vを注入された動物は、L U V注入されたかまたは生理食塩水を注入された動物と比較して、肝臓HMG - C o AレダクターゼmRNAの有意な抑制を示した。肝臓HMG - C o AレダクターゼmRNAの抑制は、ステロールを過剰負荷された実質細胞を反映し、これは、正常肝臓コレステロールホメオスタシスからの潜在的に有害な変更であり得る。対照的に、L U Vを注入された動物は、肝臓HMG - C o AレダクターゼmRNAの最も高いレベルを示したが、生理食塩水を注入された動物において観察されたものを超える増加は、統計学的に有意には至らなかった。

【0062】

「m i x」動物は、 $0.50 \text{ pg HMG - C o Aレダクターゼ mRNA / マイクログラム}$ の値を示し、これは、生理食塩水群における平均値(0.51)に本質的に同一であり、そしてS U V群における値(0.27)よりも実質的に高い。したがって、HMG - C o AレダクターゼmRNAは、S U Vを繰り返して注射したにも係わらず、単回のL U Vの注射によってその正常値にまで刺激された。

【0063】

図7は、肝臓における、L U V、S U V、または生理食塩水の注射に応答しての、コレステロールエステルトランスファータンパク質mRNAレベルを例示する。その実験の詳細は、上記に参照するものである。L U Vを注入された動物は、S U Vを注入されたかまたは生理食塩水を注入された動物と比較して、肝臓CETP mRNAの有意な抑制を示した。CETP mRNAの抑制は、アテローム性動脈硬化症の減少した危険性と通常関連する血漿リポタンパク質プロフィ

ールにおいて変化をもたらした。「Mix」動物は、 $3.18 \text{ pg CETP mRNA} / \text{マイクログラム}$ の値を示した。これは、SUV群または生理食塩水群におけるよりも、LUV群における平均値により近い。したがって、CETP mRNAは、SUVを繰り返し投与したのにも係わらず、LUVの単回の注射によって抑制された。

【0064】

図8は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に応答しての、肝臓におけるコレステロール7 ヒドロキシラーゼmRNAレベルを例示する。実験の詳細は、上記のとおりである。SUVを注入された動物は、LUV注入されたかまたは生理食塩水を注入された動物に比較して、肝臓7 ヒドロキシラーゼmRNAの抑制を示した。7 ヒドロキシラーゼの抑制は、正常な肝臓のホメオスタシスからの潜在的に有害な変更であり得る。対照的に、LUVを注入された動物は、最も高いレベルの肝臓7 ヒドロキシラーゼmRNAを示したが、生理食塩水を注入された動物において観察されたものを超える増加は、統計学的に有意には至らなかった。「Mix」動物は、 0.51 pg の7 ヒドロキシラーゼmRNA / マイクログラムの値を示したが、これは、SUV群における平均値よりも高かった。したがって、7 ヒドロキシラーゼmRNAは、SUVを繰り返し注射したのにも係わらず、単回のLUVの注射によって刺激された。

【0065】

図10は、LUV、SUV、または生理食塩水に応答しての、経時的な、全血漿におけるエステル化されていないコレステロール濃度を示す。実験の詳細は、上記の通りである。この図に示されるように、LUV、およびSUVは、エステル化していないコレステロールの血漿濃度を有意に上昇した。これは、組織の貯蔵の固定化を示す。LUVは、SUVよりも、エステル化されていないコレステロール濃度を上昇させた。

【0066】

図11は、LUV、SUV、または生理食塩水に応答しての、経時的な、全血漿における、エステル化されたコレステロール濃度を示す。実験の詳細は、上記の通りである。SUVは、3、5、および6日目に、コレステロールエステルの

血漿濃度を上昇させた。図12は、図3に含まれる情報をコピーしたものである。

【0067】

図13は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に応答しての、血漿VLDLエステル化コレステロール濃度を示す。SUVは、生理食塩水またはLUV処置群において観察されたものを超えて、VLDLコレステロールエステルの血漿濃度を上昇させた。「Mix」動物は、第6日目に2.4mg/dlの血漿VLDLコレステロールエステル濃度を示した。これは、SUV群における平均値よりも低い。実験の詳細は、上記の通りである。

【0068】

図14および15は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に応答しての、HDLエステル化コレステロール濃度を示した。実験の詳細は、図2に示す通りである。適切なリン脂質は、Avanti Polar Lipids、Nippon Oil and Fat in Japan、およびPrinceton Lipids、ならびに他の供給業者から得ることができる。LUVは、市販されている押し出し器によって作製される。SUVは、第5日目、および第6日目に、HDLコレステロールエステル濃度の、小さいが、統計学的に有意な上昇を引き起こした。

【0069】

図16は、コントロールまたはJackson Laboratories, in Bar Harbor, Maineから市販されているapoE KO(ノックアウト)マウスへのLUV注射の後の、コレステロール固定化の時間経過を示す。コントロール(C57/BL6)およびアポリポタンパク質Eノックアウトマウスは、体重1kgあたり300mgのLUVリン脂質の単回ボラスを、ゼロ時間に注入された。LUVは、微量の標識化コレステロールヘキサデシルエステルを含有していた。これは、マウスへの注射後にリポソーム上に残存した。表示されたデータは、全血漿における総コレステロール濃度(すなわち、エステル化+非エステル化)についてである。両方のセットの動物における上昇は、重篤な遺伝的高脂血症の存在下でさえも、LUVがコレステロールを血漿中に固

定化することを示す。

【0070】

図17は、コントロールマウスおよびapoEマウスにおけるLUVクリアランスの時間経過を例示する。この実験の詳細は、図16に記載した通りである。血漿由来のLUVのクリアランスは、apoEノックアウトマウスにおいて減じておらず、これは、重篤な遺伝的高脂質血症の存在下でさえ、コレステロールの動員(mobilization)(図16)および配置(図17)を示す。これは、高脂質血症においてこの調製物の有用性を示す。

【0071】

図18は、ヒトにおける本発明の組成物および方法についての他の適用を例示する。

【0072】

図19は、本発明の改善された血液透析系および血液透析の改善された方法の透視図を例示する。利点の中でも、この改善された方法は、アンギナ、アンギナ等価状態、跛行、および関連する状態の処置を可能にし、そして透析の時間中または透析の時間の近くに手術前の状態調節を可能にする。血液は、循環アクセスのための部位(ここで腕1900として示される)から採取され、そして細胞-血漿分離器1910に輸送される。次いで、この血漿は、透析チャンバー1920に輸送され、そして半透膜1930によって分離される、少なくとも2つの成分に分けられる。膜1930の一面は、患者の血漿1940であり、そして他面は、透析物1950である。選択された分子交換は、膜の特性(電荷、孔径など)に依存して膜1930を通る。デバイス1960は、この透析物に脂質アクセプターを付加するため、そしてこの透析物をサンプリングするためのデバイスを含み、コレステロール、リン脂質、および他の成分(例えば、アクセプター、特異的リポタンパク質、特異的成分)のアッセイを可能にし、そして配置をモニターする。血漿コレステロールまたはその他の抽出可能物質の抽出は、以下のいくつかの可能性を含む: 1)アクセプターは、膜1930から血漿へ通過しない透析物中に配置される; 2)アクセプターは、膜1930を通過し、そして血漿中に存在するままで患者に戻されるか、または血漿から分離され、その後患者にも

どされるかのいずれかである。 ; および / または 3) シート (例えば、膜 1 3 0 それ自身) 上、ビーズ上、 および / またはチャンバー 1 9 2 0 の壁上に固定されたアクセプター。このように処理された血漿は、通常、血球と再混合された後に患者に戻される。示されたように、コレステロールアクセプターは、実施例のように任意の段階で付加され得、デバイス 1 9 7 0 は、アクセプターを含み、そしてアクセプターを血漿に簡単に付加する。その後、患者への血漿の返送はまた、図 1 9 において例示される。血漿中の汚染している細胞性物質 (例えば、血小板) はまた、内因性の脂質においてコレステロールが枯渇され、かつリン脂質が富化されることがさらに理解される。この適用を通して述べられた全てのアクセプターは、コレステロールに加えて分子を受容し得、そして同様に物質を付与する。

【 0 0 7 3 】

細胞 - 血漿分離器 1 9 1 0 由来の細胞濃縮物は、次いで、いくつかの方法のいずれかにおいて処理され得、その後、この患者へ戻される : 1) さらなる処理をしないで患者に戻される (これは、上記のように処理された血漿と混合することを含む) ; 2) 脂質に対するコレステロールアクセプターを含むこの透析物が、細胞の内因性の脂質 (例えば、コレステロール) を枯渇する、第 2 の透析チャンバー (示さず) に輸送され、その後、それらは患者に戻される ; 3) 脂質に対する脂質アクセプターの懸濁液または溶液を混合され、細胞の内因性の脂質を枯渇し、次いでアクセプターを有する患者に戻すか、または特定の細胞型へのさらなる分離とともに、もしくはこの分離の後に上記のオプション 1) およびオプション 2) が、全ての細胞型で実行され得るかのいずれかで戻される (例えば、精製された血小板は、内因性の脂質 (例えば、コレステロール) が枯渇され、かつリポソーム脂質を富化された脂質であり得る) 。オプション 2) および 3) は、細胞性のコレステロール、リン脂質、流動率、粘性、脆弱性、細胞組成および / または細胞機能の定期的なアッセイを実行し得る。デバイス 1 9 6 0 、 1 9 7 0 は、処置中に細胞の定期的なサンプリングを可能にする装置を含む。血漿と同様に、脂質アクセプターは、処置のいずれかの段階で付加され得る。全ての流体 (例えば、血漿および濃縮された細胞) は、比重、機械で、手動操作 (シリンジ)

で、または必要な場合ポンプを用いて動かされる。当然、血液が、身体の任意の適切な部分から処理されるために引き出され得ることが理解される。

【0074】

図20は、改善された腹膜の透析系2000および腹膜の透析方法の透視図を例証する。利点の中でも、この改善された方法は、アンギナ、アンギナ等価状態、跛行、および関連する状態の処置を可能にし、そして透析の時間中または透析の時間の近くに手術前の状態調節を可能にする。患者の腹部2010(図20~21)は、容器2030において保存された腹膜の透析物2020を、チャンネル2050を經由して切開2040を介して腹膜腔へ受容する。脂質アクセプターおよび/またはコレステロールアクセプター2060は、必要に応じて容器2070に配置される。別の改良において、脂質アクセプターは、透析物2020に添加される；注入の前に簡単に濃縮形態で容器2030に添加される；示されるように腹膜腔に入る流体の流れに添加される；または任意の効果的な経路によって患者への分離される入口によって注入される。本願の全体にわたって、全てのアクセプターは、コレステロールに加えて分子を受容し得、そしてリン脂質および抗酸化物のような物質を付与し得る。

【0075】

図21は、アッセイ手段を有する種々の改善された腹膜透析系2100および腹膜透析の方法ならびに廃液の分析の透視図を例示する。容器2110は、チャンネル2120を經由して腹部2010からの廃液を受容する。装置2110は、廃透析物の診断サンプルへのアクセスを提供し、コレステロール、リン脂質、および記載された処置の効力を示す本明細書中に記載された他のパラメーターのアッセイを可能にする。必要に応じて、アッセイ注射器2130は、アクセス入口2140を經由してチャンネルまたは管2120、あるいは容器2110に挿入される。そして任意のポンプ(示さず)を使用して、種々の流体をそのアッセイの適切な位置へ移動する。

【0076】

図22は、アンギナまたはアンギナ等価状態あるいは関連する虚血性障害からみて、改善された心臓のカテーテル化および/または血管形成系2200ならび

に心臓のカテーテル化および/または血管形成の方法の透視図を例示する。患者2210は、心臓のカテーテル化および/または血管形成を受ける。この患者は、容器2220からの処置と同時投与される効果的な用量の脂質アクセプターまたはコレステロールアクセプター2230を静脈内に受容する。冠動脈造影および/または血管形成のためのカテーテルの動脈内のアクセスは、コレステロールアクセプターの同時投与の準備および脈管機能を評価するためのコリン作用性剤のような診断剤の投与の準備を可能にする。

【0077】

図23は、アンギナ、アンギナ等価状態または他の虚血性障害のからみて、種々の改善された心臓のカテーテル化および/または血管形成系2300および心臓のカテーテル化および/または血管形成の透視図を例示する。カテーテル化および/または血管形成カテーテル2310は、そこからコレステロールアクセプターが出ていくことを可能にする装置2320を有する。改変において、カテーテル2310は、透過膜を有する。この膜は、そこからコレステロールアクセプターが出ていくこと可能にする。疑似矢印2330は、コレステロールアクセプターおよび/または診断剤の出口部位を示す。部位2340は、アクセプターまたは薬剤の入口部位を示す。デバイス2300上のバルーンは、他のデバイスで置換または補充され得るか、または外部のバルーン層内に配置された内部のバルーン層を形成し得る。このアクセプターは、内部の可撓性バルーン層と外部の可撓性バルーン層との間に配置される。内部のバルーン層の膨張の際に、力が、部位2320の外のアクセプターを強いる流体またはゲル様アクセプターに対して発揮され、そして動脈性の外傷のより局所的に直接的な処置に対して（強力的に）直接接触する。種々の本発明は、動脈の部位にアクセプターの最大の浸透を提供することが理解される。この注入は、比重、注射器の手動操作によってか、または機械的な注入ポンプ2350によって達成され得る。同様の方法および系は、標準的な脈管イメージング技術または一例として大腿脈管、頸動脈の脈管、および腸間膜脈管を含む脈管で利用され得る。

【0078】

患者2210は、心臓のカテーテル化および/または血管形成を受ける。この

患者は、容器2220からの処置と同時投与される効果的な用量のコレステロールアクセプターまたは脂質アクセプター2230を静脈内に受ける。冠動脈造影および/または血管形成のための動脈内のアクセスは、脂質アクセプターまたはコレステロールアクセプターの同時投与の準備および脈管機能の評価および/または器官灌流を評価するためのコリン作用性剤のような診断剤の投与の準備を可能にする。

【0079】

容器2110は、腹部2010からの廃液をチャンネル2120を經由して受容する。装置2110は、コレステロール、リン脂質、および記載された処置の効力を示す本明細書中に記載された他のパラメーターのアッセイを可能にする、廃透析物の診断サンプルへのアクセスを提供する。必要に応じて、アッセイ注射器2130は、アクセス入口2140を經由してチャンネルまたは管2120に挿入される。そして任意のポンプ（示さず）を使用して、種々の流体をそのアッセイの適切な位置へ移動させる。

【0080】

図24は、LUV、SUV、または生理食塩水の注入に対する肝性液体含有量のグラフを例示する。実験の詳細は、上記に概略した通りである。肝臓サンプルを、いくつかの脂質（コレステロールエステル（CE）；トリグリセリド（TG）；非エステル化コレステロール（Chol）；ホスファチジルエタノールアミン（PE）；およびホスファチジルコリン（PC））の含量についてアッセイした（これらの脂質は、 μg （マイクログラム）脂質/ mg の単位で示される）。SUV処置した動物におけるPEおよびPCの低い値を、産生した；従って、これらの動物におけるChol：リン脂質の比は、他の群においてよりも高かった。

【0081】

図25は、NZWウサギ（ニュージーランド白ウサギ）においてSUVまたはLUV（ $300\text{mg}/\text{kg}$ ）を繰り返し注射した後のコレステロールエステル濃度を例示する。矢印は、0、3および5日目のリン脂質注射の時間を示す。所定のリン脂質用量に関して、LUVは、血漿中の遊離コレステロール濃度の大きな

上昇を促進する。

【0082】

図26は、図25と同一の実験におけるNZWウサギにおいてSUVまたはLUV(300mg/kg)を繰り返し注射した後の血漿中の遊離コレステロール濃度を例示する。矢印は、リン脂質の注射の時間を示す。SUVではなくて、LUVの繰り返しの注射は、血漿中のCE濃度の劇的な上昇を誘発しなかった。

【0083】

肝臓への過剰なコレステロールの送達に起因する、血漿CE濃度の上昇は、連続的な2つのプロセスであり得る。これは、CE富化粒子の過剰産生またはCE富化リポタンパク質の損なわれたクリアランスに関与し得る。SUV注射後に生じる、CE富化粒子の過剰産生は、血漿においてか、または肝臓において生じ得る。血漿において、LCATは、小さな単一層状のリン脂質小胞(空かまたはカプセル化した薬物とともに)に対してか、またはリン脂質富化HDL生成CEに対して作用し、その後、CETPによってLDL上に輸送され得る。SUVで処置した動物由来の血漿のゲル濾過を用いる結果は、CEが、ほとんどまたは実質的にLDL上に輸送されることを示す。また、血漿において、SUVによるVLDLからのapoEの除去は、VLDLのクリアランスを緩やかにし、それによってLDLへのより効果的な変換を助ける。肝臓において、周辺組織からのコレステロールの動員中の肝細胞へのコレステロールの上昇した送達は、apoB・CE富化リポタンパク質の過剰分泌を刺激する。

【0084】

改変において、観察される血漿CE濃度の上昇は、CE富化アテローム生成リポタンパク質のクリアランス欠陥の結果である。apoEを獲得する、静脈内に投与されたりポソームは、LDL-レセプター媒介取り込みについて、LDLと競合する。肝臓内の特定の調節性プールへの過剰コレステロールの送達は、LDLレセプターをダウンレギュレートし、これは、血漿からのアテローム生成リポタンパク質の肝性取り込みを妨害する。例えば、血漿からのLDL除去が低減され；VLDL除去もまた損なわれ、IDLおよびLDLへのその変換に有利となる。血漿CE濃度の上昇を担うプロセスは、2つのリポソーム調製物間で異なる

。SUVとは異なり、LUVは、血漿CE濃度の上昇を誘発しない。LUVは、組織コレステロールおよび他の交換可能な物質を動員するが、有害な副作用は引き起こさない、優れた調製物である。

【0085】

本発明の方法および組成物はまた、SUVによるHDLコレステロールエステルの富化を与える。1つの貢献的なプロセスは、レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ(LCAT)の刺激、およびそれに関連する他のプロセスである。SUVが、HDLコレステロールエステルを増加させる能力は、LCATの刺激およびそれに関連した他のプロセスの結果である。LCATは、コレステロールエステルおよびリゾホスファチジルコリンを生成するために、リン脂質およびコレステロールを必要とし；リポソームは、過剰なリン脂質を供給し得る。本発明はまた、リポタンパク質(LDL、HDLなどの)組成物における変更、およびLUVおよび/またはSUVおよび/または他のアクセプターによる機能における変更を提供する。

【0086】

本明細書中に記載されるリポソーム組成物およびこのリポソーム組成物を利用する方法はまた、内因性apoEを取り上げ、従ってLDLの細胞性取りこみをブロックする、リポソームを含む。リポソームは、アポリポタンパク質(例えば、apoEおよびapoA-I)を取り上げ、そしてこれは、その機能を変更または増強する。例えば、内因性apoA-Iの取り込みは、リポソームに由来するリン脂質が、コレステロールを取り上げる能力を増強する。そして内因性apoEの取り込みは、リポソームが、リポタンパク質の動脈性取り込みのための特定の経路をブロックすることを可能にする。これらのすべては、LDLレベルをの制御、および肝性遺伝子発現、およびコレステロールホメオスタシスの状況下における。

【0087】

LUVおよびSUVは、肝臓内の異なる調節性プールにコレステロールを送達する。この結論は、肝性遺伝子応答における差異、およびCETP mRNAが抑制され；LDLレセプターmRNAが、LUVによって影響されないか、また

は増加するが、SUVによっては抑制され；そしてCETPが、LUVによって抑制されるが、SUVによっては影響されないことによって支持される。

【0088】

LUVに関する重要な点を、図9に例示する。アンギナ、アンギナ等価状態および他の虚血性障害の処置としてLUVを使用する実際の利点は、それらが、製造するのに単純であり、アレルゲンフリーであり、合成的であり、そして非常に高用量においてでさえ非毒性であるという点である。機械的に、LUVは、LDL濃度の上昇を誘発することなくインビボで逆コレステロール輸送を促進し、そしてLUVは最適な調製物である。これらの粒子は、しばしば、「空の」小胞と呼ばれるが、リン脂質小胞の水性内部または二重層内への薬物の取り込みはまた、小胞の少なくとも1つの本質的な作用を破壊することなく、実施され得ることが理解される。

【0089】

本明細書中で使用される組成物は、肝実質細胞から直接的にクリアランスされて排除され得る。そして本明細書中に記載される種々の方法を、記載される緩徐な組成物注入と共に利用し、そうして、実質細胞によるクリアランスが生じる場合でさえ、肝細胞は、コレステロールを過負荷されない。さらに、HDLはまた、CETP遺伝子抑制によって制御される。

【0090】

本明細書中に記載されるように、以下によって、アッセイを実施する：VLDL濃度を推定するために空腹時の血漿トリグリセリドをアッセイする工程；血漿コレステロール（遊離エステル、または合計 - 遊離エステル）をアッセイする工程；ポリアニオン - カチオンでLDL（およびVLDL）を沈殿させる工程；HDLである上清をアッセイする工程；および血漿全体中のLDLの（血漿全体の値 - VLDL - HDL）ステロール（または、ステロールエステル）を計算する工程。リポソームを、ポリアニオン - カチオンで沈殿させるか；または、必要に応じて、大半のリポソームが欠いているエステルをアッセイする。他のアッセイとしては、電気泳動、クロマトグラフィー、免疫アッセイ、電子顕微鏡アッセイ、機能的アッセイ、構造的アッセイ、および組成のアッセイが挙げられる。

【0091】

本発明の透析物において、いかなるリポソームもエマルジョンも、それらがコレステロールアクセプターである限り、そしてそれらがLDLを上昇させないか、またはそれらが患者の循環に戻されない限り、使用され得る。いずれの場合も、血漿LDL、およびアクセプターの血漿濃度、ならびに他のアテローム生成リポタンパク質の血漿濃度をアッセイすることが必要とされる。

【0092】

緩徐な速度または低用量で肝臓にコレステロールを送達することを必要とする方法に関しては、投与は、LUVなしで小さなアクセプター（例えば、SUV）を使用することを許容し得るが、ただし他のアテローム生成リポタンパク質のレベルとしてLDLレベルをモニターし、そして調節する。肝性コレステロールホメオスタシスを破壊することを回避するために、本明細書中に記載されるように捕捉された薬物が、低用量で与えられる必要はなく、カプセル化するリポソームまたはエマルジョンが低用量で与えられ；薬物は、少数のリポソームまたは少量のリポソーム脂質内に多量に存在し得る。

【0093】

HDLのサイズ、組成、および機能における変更は、ほとんどまたは全くステロールを有さない、大リポソームおよび/または小リポソームの高用量または真に低用量でさえも投与することによって達成され得る。ステロールを伴わないリポソームは、低用量で与えられる場合、容易にHDLおよびHDLアポリポタンパク質に分割され、次いで、小片が、リン脂質内にHDLを富化する血漿のHDL画分内に取り込まれる。より低いLDLレベルに対して、LUVまたは薬物を有さないSUVのものでさえ、このような低用量（例えば、10～100mg/kg/用量）は、血漿LDLレベルを上昇させる可能性は低いが、周期的なモニタリングが賢明である。

【0094】

また、LDL濃度を上昇させることなくLDL組成を変更する、本明細書中に開示される方法は、酸化に対して耐性であるPOPC（パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン）のようなリン脂質でその組成を富化し、その組成を抗酸

化剤で富化し、非エステル型コレステロールを枯渇させ、そしてリン脂質富化による酸化LDLの細胞性または動脈性取り込みを減少させる。

【0095】

約1000NM程度までのリポソームが、本発明において利用される。より大量のリポソームもまた利用されるが、組織リポタンパク質の抽出が非効率的になり得る。さらに、本発明の組成物を濃縮または乾燥させることが可能である。次いで、これらの調製物は、治療または投与の時点で、希釈または再構築される。この変形では、活性物質および希釈剤を含む2成分キットが提供される。保存の間の凝集体化を回避するために、負に荷電したリポソームまたは組成物中の他の荷電成分を作製するためのホスファチジルグリセロール(PG)の封入もまた、提供される。

【0096】

図27は、SUVの反復注射後の血漿成分における変化を例示する。渡辺遺伝性高脂血症(WHHL)ウサギに、体重1kgあたり1000mgのSUVリン脂質または等量の生理食塩水を、3週間にわたって各週の月曜日、水曜日、および金曜日(合計9用量)に、静脈内に与えた。最終投薬の3日後、血液サンプルを採り、そして血漿成分を、Superose-6ゲル濾過カラムを通過させることによって、サイズにより分画した。溶出物を、インライン分光光度計によって読み取った。右側の追跡は、生理食塩水注射ウサギ由来であり、そしてほぼ画分#17~18のVLDL、およびほぼ画分#27のLDLを示す。左側の追跡は、SUV注射ウサギ由来であり、ほぼ画分#16の永続性リポソームを有するVLDL、およびほぼ画分#25のLDLサイズ分類粒子を示す。この追跡は、LDLの増加(これは、有害な影響である)と一致して、SUVの反復注射後のLDLサイズ分類粒子の量における増加を示す。WHHLウサギは、LDLレセプターの遺伝的欠損を有するので、この結果は、SUVが、LDLレセプターを抑制することのみによってではなく(図5)、LDLレセプターとは独立した機構によっても(図27)、肝コレステロールホメオスタシスを破壊することを示す。LUVは、LDLレセプターに依存した破壊およびLDLレセプターとは独立した破壊の両方を回避する。

【0097】

図28は、LUV、SUV、または生理食塩水の反復注射後の、血漿全体のアガロースゲル電気泳動を示す。実験の詳細は、図2～8および本明細書中の他の箇所に参考として引用されている。6日目の各群における2羽のウサギに由来する4 μ Lの血漿サンプルを、1%アガロースを通して電気泳動し、次いで、スタンプラックで脂質を染色した(O:起点、 :LDL標準の移動)。LDL濃度におけるSUV媒介増加は、これらのレーンにおいて、より暗色であるが、さもなくば目立たないバンドによって示される。血漿中のSUVは、LDLに勝る移動度を示した。これは、主にHDLからの血漿タンパク質の獲得に起因する。対照的に、血漿LUVは、新しく調製されたタンパク質を含まない小胞と本質的に同じ移動度を示し(すなわち、起点(O)のちょうど上)、これは、LUVにおいて獲得されたタンパク質の実質的な不在または減少を示す。

【0098】

図28の電気泳動移動度に基づいて、SUVに対してLUVによるタンパク質の獲得の定量が得られる。LUVおよびSUVを、インビトロで4時間37 にてヒトHDLと共にインキュベートし、次いで、ゲル濾過クロマトグラフィーによってHDLから分離し、そして、タンパク質およびリン脂質についてアッセイした。LUVは、リポソームリン脂質1mgあたり1.09 μ gのタンパク質を獲得し、一方、SUVは、40.4 μ g/mg(すなわち、ほぼ40倍)を獲得した。従って、2つの型のリポソームは、タンパク質吸着において、著しい定量的差異を示す。LUVではなくSUVは、VLDLから熱心にapoEを奪い取り、それによって、血漿からのそのクリアランスを緩徐にし、そしてLDLへのその変換に有利にする。さらに、吸着されたタンパク質は、肝コレステロールホメオスタシスを破壊する肝代謝性プール内にSUVを指向させるにおいて役割を果たし、一方、LUVは、このようなプールに指向させない。組織脂質を抽出するが、多量の血漿タンパク質を獲得しない、リポソーム、エマルジョン、または任意の他の粒子もしくは化合物が、これらに関してLUVと同様に挙動する。

【0099】

細胞のコレステロール負荷によって影響を受ける特異的な脈管遺伝子としては

、プロリル - 4 - ヒドロキシラーゼ ; h n R N P - K ; オステオポンチン (動脈内カルシウム沈着を誘発する際の酸化脂質に対する役割が存在し得る) ; および M a c - 2 についての遺伝子が挙げられる。本明細書中に記載されるこれらの遺伝子を調節する方法は、正常な脈管または動脈機能の修復をもたらす。プロリル - 4 - ヒドロキシラーゼ (コラーゲンの合成における酵素、線維症斑の成分) および h n R N P - K (プレ m R N A 代謝および細胞周期進行において同定される) メッセージの発現の上昇は、コレステロール給餌後の大動脈平滑筋細胞において見出された。これらは、本明細書中に記載されるリポソーム処理後に正常化する。コレステロール負荷に伴なって異常となる他の遺伝子または酵素は、本明細書中に記載されるようリポソーム処置で正常化する (オステオポンチン、一酸化窒素シンターゼ (N O S) 、接着分子、化学誘引物質、組織因子、P A I - 1 (プラスミノゲン活性化因子インヒビター) 、 t P A (組織プラスミノゲン活性化因子) 、および M a c - 2 (R a m a l e y ら、1995) が挙げられる) 。コレステロール、コレステロール負荷、酸化脂質によって影響を受ける他の遺伝子もまた、補正される。

【0100】

小さなアクセプター (例えば、S U V、アポリタンパク質 - リン脂質ディスク (d i s k) 、および H D L) の多くの例が、市販されており、そして本発明において使用され得る。K i l s d o n k E P ら、C e l l u l a r c h o l e s t e r o l a f f l u x m e d i a t e d b y c y c l o d e x t r i n s、J . B i o l . C h e m . 270 : 17250 - 17256、1995 . さらなる例として、別の小さなアクセプターとしては、シクロデキストリンが挙げられる。小さなアクセプター (特に、H D L) は、細胞からリポソームにコレステロールをシャトルする。シクロデキストリンおよびまた他の小さなアクセプターは、培養細胞から L U V に、コレステロールまたは他の交換可能な物質をシャトルし得、これは実質的に、細胞と L U V との間の物質の除去および助成 (d o n a t i o n) を増加させる。アポリタンパク質 - リン脂質ディスクとしては、例として、野生型アポリタンパク質、アポリタンパク質変異体、アポリタンパク質改変体、アポリタンパク質誘導体、および組換えアポリタンパク質が挙げられ

る。

【0101】

抗高脂質血症薬剤の例としては、フィブリン酸 (f i b r i c a c i d) 誘導体、HmG CoAレダクターゼインヒビター、ナイアシン、プロブコール、胆汁酸結合剤、他の薬剤およびそれらの組み合わせが挙げられる。抗高脂質血症処置はまた、LDLアフェレーシス、回腸バイパス、肝臓移植および遺伝子療法が挙げられる。

【0102】

この適用において示されるデータは、LUV対SUVに対する代謝応答における差異についてのこれらの可能な検査法を支持する。3つのメカニズムは、別々にか、または組み合わされて作用する。第1に、LUVは、クップファー細胞により主に利用されるが、SUVは、肝性実質に主に配向する。これは、肝性構築学の部分的なメカニズムの結果である：肝性内皮窓は、約100×115nmの卵型の開口であり、30nmの直径のSUVがこれを通じてか、または容易に通過し得、そして実質にアクセスする。大きな粒子（例えば、十分な直径のラージリポソーム）は容易に通過せず、そして肝臓の洞様毛細血管に並ぶマクロファージクップファー細胞によって代わりに除かれる。SUVはまた、クップファー細胞に接近できるが、それらの完全数 (s h e e r n u m b e r) (リン脂質のLUV/mgと同じSUVの約10倍は、細網内皮系を飽和するようであり、そしてこの実質は、それらの隙間で優性である。実質から離れた人工的な粒子に配向する他の方法はまた、例えば、粒子構造または組成物を変化すること（荷電および細胞特異的結合のための特異的なリガンドを含む）によって利用可能である。

【0103】

実質対クップファー細胞によって媒介されるコレステロールの隙間経路は、異なる代謝結果を有する。SUVによるコレステロールの、実質への直接の送達は、ステロール応答性メッセージを抑制する（図5、6および8）。コレステロールのクップファー細胞への送達の後、例えば、クップファー細胞の伸展 (D i s s e の空間を通じて達する) を介した脂質の実質への斬進的な転移が続き、実質

と物理的に接触する。クップファー細胞からの転移によるステロールの実質への送達速度は、実質によるリポソームの直接の取り込みによるよりもより遅くなり得る；ステロールの化学形態は、転移の前にクップファー細胞によって変化され得る；他の細胞 - 細胞連絡が存在する；そして肝臓細胞の間の脂質転移のための他の経路に基づいて、クップファーから実質への転移のプロセスは、制御され得るが、SUVの間隙は、現れそうもない。

【0104】

LUV対SUVに対する代謝応答における差異の第2の寄与する説明は、肝臓へのコレステロールの送達速度論における差異に主に基づく。LUVは、SUVよりもいくらかゆっくと、血漿から除かれ、それによって、注射された時間から注射された物質の大部分が除去されるまで比較的定常なコレステロール集団の肝臓への送達を産生する。SUVは、より急速に除去され、それによって、各注射の後、数時間肝臓へのコレステロール集団の大きなポラスを送達する。その後、コレステロールエステルおよびアテローム生成リポタンパク質の血漿濃度における持続した上昇が続く。LUVによる遅い、着実な送達は、肝性コレステロールホメオスタシスの破壊を回避するが、SUVコレステロールのより急速な取り込みは、ホメオスタシスを維持する肝臓の能力を圧倒し、それによって肝性LDLレセプターの抑制を誘発する。人口的な粒子またはそれらの成分を肝臓に適切な速度で送達する他の方法はまた、例えば、粒子の構造または組成を変化すること（荷電および細胞特異的結合のための特異的リガンドを含む）によって利用可能である。

【0105】

第3の寄与する説明は、2つの型の小胞の間のタンパク質の吸着における著しい量的な差異に基づき（図28）、特定の実施形態において、それらの異なる表面屈曲の結果である。従って、LUVでなくて、SUVは、VLDLからapoEを剥ぎ取り、それによって、血漿からのその隙間を示し、そしてLDLへの転換を支持する。apoEを獲得するSUVは、肝臓による取り込みが媒介されるレセプターについてのVLDL、LDLおよび他の粒子と競合する。また、吸着されたアポタンパク質は、異なる肝性代謝プールに対するリン脂質小胞を配向す

る際に役割を果たし得る。人口的な粒子によって取り込まれるタンパク質を減少する他の方法はまた、例えば、粒子の構造または組成を変化すること（荷電および細胞特異的結合のための特定のリガンドを含む）によって利用可能である。

【0106】

該して、コレステロールエステルおよびLDL濃度は、LUVによる肝臓へのコレステロールおよび他の交換可能な物質の大部分の送達後に増加しないという、観察を仮定すると、アテローム生成リポタンパク質の血漿濃度を増加しないか、または肝性コレステロールホメオスタシス（遺伝子および他の機能の制御を含む）を有害に侵害する特異的代謝プールへの送達経路または独特の特性を有するプールへの送達経路であったことは、明らかであった。従って、これらの発明は、元来の粒子成分（例えば、リン脂質）、および粒子によって獲得された物質（例えば、コレステロール）を、特定の送達部位に、無害な処分および他のさらなる利点のためにもたらす独特な送達系として一部分がみなされる。これらの特徴を有する送達系は、任意の状況（肝性コレステロールホメオスタシスの調節、肝性リン脂質ホメオスタシスの調節、および肝性代謝）で有用であり、そして肝性代謝は、一般的に有利である。

【0107】

例えば、赤血球脂質を改変することが望まれる状況において、率直なアプローチは、寄与可能な、かつ適切な脂質から除去することが可能な人工的な粒子を投与することである。しかし、この目的でSUVが使用される場合、SUVは、コレステロールおよび他の物質を肝臓に、悪いプールに、および/または悪い速度で有害な様式で輸送し、そしてSUVは、アテローム生成リポタンパク質の血漿濃度の増加（このアプローチを防止する望ましくない副作用である）を生じる。対照的に、ラージリポソームの使用または類似の特性を有する他の粒子の使用は、元来の、かつ獲得された物質の、適切なプールへの、適切な速度での適切な送達を生じ、その結果、アテローム性リポタンパク質の血漿濃度における有害な増加なしに所望の効果（赤血球脂質の修飾）が達成され得る。

【0108】

別の例として、本明細書中に記載される組成物および方法を使用して感染性薬

剤（例えば、細菌、真菌、およびウイルス）を改変することが望ましくあり得る。類似の特性を有するラージリポソームまたは他の粒子の投与は、除去され、そして交換可能な物質を、これらの感染性薬剤に、およびこれらの感染性薬剤から寄与し、次いで投与された粒子は、適切なプールに送達され、その結果、アテローム性リポタンパク質の血漿濃度の有害な上昇なしに所望の効果が達成され得る。上記感染薬剤の上記改変は、それらの病原性、侵襲性、感染性、伝播性、繁殖性、および/または免疫系に対する耐性を減少する例の目的で理解され得る。

【0109】

別の例として、有益な治療は、望ましくない副作用としてアテローム性リポタンパク質の血漿濃度における減少を誘発し得る。類似の特性を有するラージリポソームまたは他の粒子の投与は、脂質および他の物質の、適切な肝性代謝プールへの送達を介したこの応答を改変する。「Mix」動物を用いるデータは、この効果の特定の例を提供する（図4）。

【0110】

リポタンパク質の動脈の取り込み、蓄積、および保持に影響するいくつかのメカニズムが存在する。リポソームは、アテローム生成リポタンパク質から apo Eをとらえ、それによってリポタンパク質の動脈細胞への結合を減少させ、そしてまた、動脈細胞への結合を競合する。最後に、LDLのサイズおよび/または組成における変化は、細胞外マトリックスへのその結合に影響し、そして引き続いて、動脈壁内の有害な変化（例えば、酸化または酵素学的修飾への感受性）に影響する。

【0111】

大きなアクセプター（例えば、ラージリポソーム）の操作の作用または様式は、小さなアクセプターによって補助され得、そしてその逆も成り立ち、そしてこれは、内因性（例えば、HDL）および外因性（例えば、アポタンパク質-リン脂質複合体）小アクセプターの両方を適用する。大きなアクセプターは、間質の空間に不十分に浸透し、そして特定の環境下で細胞表面に非能率的に接近するようである。これらの効果は、膜、細胞、組織、器官、および細胞外領域ならびに細胞外構造からの交換可能な物質の取り込みおよび寄与を妨害する。小さなアクセ

プターは、間質の空間によく浸透し、そして細胞表面に接近可能である。それによって交換可能な物質の効果的な取り込みが可能になる。しかし、小さなアクセプターは、主要な不利を有する。それらは、物質を獲得し、そして寄与するための非常に限定された能力を有し(たとえそれらの能力は飽和するまで、獲得および寄与のはじめの速度が急速であったとしても)、そして一旦、物質を獲得すると、それらは、物質を肝臓に、肝性コレステロールホメオスタシスを破壊させる方法で送達する。

【0112】

しかし、大きなアクセプターおよび小さなアクセプターと一緒に、少なくとも3つのメカニズムを介して互いの弱点を相乗的に克服する。第1は、大きなアクセプターは、交換可能な物質のシンク(または供給)として作用する。一方で小さなアクセプターは、別の方向で末梢の貯蔵から、大きなアクセプターへ物質を吸い上げるシャトルとして作用する。従って、例えば、小さなアクセプターは、組織に浸透し、組織から物質を獲得(および/または寄与)し、そしてそれらの能力は、少なくとも部分的に飽和になる。それらは、組織を離れ、血漿内の大きなアクセプターに遭遇し、そこで小さなアクセプターは、組織の脂質を剥ぎ取られる。小さなアクセプターの能力は、それによって回復し、その結果、それらが組織に戻った際に、それらは、さらに物質を獲得(および/または寄与)し得る。このサイクルは、多くの回数続く。第2に、大きなアクセプターは、いくつかの小さなアクセプターを再構築し得る。例えば、大きなアクセプターは、HDLにリン脂質を寄与し得、組織コレステロールおよび他の物質を獲得するHDLの能力を増加する。第3に、他で記載されるように、大きなアクセプターの存在は、小さなアクセプターによって引き起こされる肝性コレステロールホメオスタシスにおける有害な破壊をブロックし得るか、または減少し得る。

【0113】

ラージリポソームは、一般的にLDLのみだけでなく、アテローム生成リポタンパク質の血漿濃度の上昇を避ける。このリストは、アポリポタンパク質B(apoB)を含むすべてのリポタンパク質(例えば、LDL、IDL、VLDL、Lp(a)、-VLDL、および残余リポタンパク質)を含む。

【0114】

免疫細胞はまた、本明細書中で開示された操作の方法および形態を使用する欠乏の標的である。心臓移植片レシピエントに対するHMG-COAレダクターゼインヒビター、プラバスタチンの投与は、インビトロのナチュラルキラー細胞の細胞毒性を減少し、血流力学妥協を伴う拒絶の発症を減少し、冠状血管症を減少し、血漿LDLレベル（および増加したHDLレベル）を減少し、そして1年の生存を有意に増強したことが理解される。生存の効果は、劇的であった；コントロール群において、22%が、初めの年に死に、一方でプラバスタチン処理群の6%のみが、死んだ。

【0115】

HMG-COAレダクターゼインヒビターの免疫性の効果は、インビトロで報告された。これらは、免疫性効果が循環細胞におけるDNAの制御、単球による走化性の阻害、ナチュラルキラー細胞の細胞毒性の調節、および抗体依存性細胞の細胞毒性の阻害を含むことを報告した。このようなインヒビターの調節は、循環脂質における変化または他の効果および本明細書中に開示される操作の方法および様式の利用に起因する。

【0116】

HMG-COAレダクターゼは、コレステロール生合成における初期段階を触媒し、そしてコレステロールに加えて分子の合成に重要である。HMG-COAレダクターゼインヒビターで処理された免疫細胞にコレステロールを添加することは、機能を回復しないが、メバロネートの添加はする。これは、コレステロールの欠乏が、免疫効果の直接の原因でないことを示唆するが、細胞からコレステロールを除去するためのリポソームまたは他のアクセプターの使用が、細胞がより多くのコレステロールを生産しようとするにしたがってメバロネートの内因性の消費を増加することを示す。より多くのLDLまたは他にリポタンパク質を獲得することによってコレステロールの損失を埋め合わせる免疫細胞または他の細胞の能力を妨害するために、本明細書中に記載される方法および処理はまた、低血漿コレステロール濃度に対する療法（HMG-COAレダクターゼインヒビター、フィブリン酸、ナイアシン、胆汁酸結合剤、LDLフェレーシスなど）と共

になされる。

【0117】

これらのプロセスは、コレステロール除去の増強およびコレステロール流入の低下を包含する。HDLのレベル（末梢細胞からのコレステロール除去の明らかな自然のメディエーター）は、患者の処置グループで増加した、そして、LDLレベルは減少した。インビボでのHMG-CoAレダクターゼインヒビターの投与は、レダクターゼ酵素活性において通常、非常にわずかな変化しか生じない：細胞は、単により多くの酵素を阻害剤の存在に対して打ち勝たせる。それらはまた、より多くのLDLレセプター（特に肝臓の）を作るので、LDLレベルは低下する。

【0118】

本発明はさらに、腎不全で生じる加速されたアテローム性動脈硬化症を減らすPD（腹膜透析液）に添加剤を提供する。本発明はさらに、血管攣縮性の障害、例えば、レイノー現象および関連の症候群、ならびにPrintzmetalのアンギナおよび関連の症候群のための治療を提供する。本発明はまた、高凝固状態、例えば、TTP、他の血小板障害、DIC（いわゆる抗リン脂質抗体症候群、プロテインC異常状態、プロテインS異常状態、V-Leiden因子、皮斑様脈管炎、リポ皮膚硬化症（lipodermatosclerosis）および関連の症候群または関連する症候群のための治療を提供する。

【0119】

単球の走化性は、関節障害における重要な早期の現象である：単球は、異常な動脈脂質沈着に対して、そしてこれらの沈着の存在に応答して作製された細胞性産物に対して、誘引され、血管壁に入り、マクロファージに転換される。従って、単球走化性および/または他の炎症性細胞の走化性は、本明細書において開示される方法を用いて達成され得る。細胞性免疫および体液性免疫の両方は、レダクターゼ阻害により影響されるようである：血行動態の妥協により達成された心臓拒絶は、しばしば体液性の拒絶に関連している（すなわち、心臓内膜心筋の生検標品において著明なリンパ球性炎症を生じることなく生じる）。

【0120】

プラバスタチン (pravastatin) は、刺激されたTリンパ球においてインターロイキン2の合成をブロックするサイクロスポリン [重要な免疫抑制剤である] と相互作用し得る。インターロイキン2の付加は、ナチュラルキラー細胞の細胞傷害性を回復して、抗体依存性細胞傷害性 (インビトロ細胞培養物中でロバスタチン処理において阻害された) を部分的に回復した。サイクロスポリンとプラバスタチン間の相乗用により、心臓移植のレシピエントにおける免疫抑制の増加 (一方、高コレステロール血症のためのHMG - CoAレダクターゼンヒビターを投与された移植なしの患者は、臨床の免疫抑制を有さない) が説明される。

【0121】

従って、他の免疫抑制剤 (例えば、サイクロスポリンおよび/またはグルココルチコイド) (これは、IL - 2も抑制し得る) を伴う安全なコレステロールアクセプターの使用も、本発明により意図される。

【0122】

本発明は、本明細書に記載される種々の化合物の誘導体を利用することがまた理解される。

【0123】

重篤な冠状脈管障害を有する心臓移植片を有する患者からの病理標品は、高コレステロール含量を有することが報告されている。従って、プラバスタチンにより早期コレステロールの低下は、ドナー心臓の冠動脈へのコレステロールの取り込みを低下させることに一部は働き得る。大きいリポソームまたは他のコレステロールアクセプターを用いて (迅速かつ直接に、単独またはそれらと組み合わせ)、同じ効果を達成する。

【0124】

免疫調節因子は、心臓移植のみならず、多くの条件において重要である。上記のアプローチが用いられ得る領域としてはまた、他の器官の移植、自己免疫疾患 (身体の免疫系が、身体自身の組織を誤って攻撃する)、いくつかの感染 (免疫反応が有害になる)、および免疫調節が有益である任意の他の状況が挙げられる。

。

【0125】

感染に関して、身体中の外来異物（例えば、感染性因子）の脂質含量および組成物の改変（ただし、正常な肝臓コレステロール恒常性を維持しながら）もまた言及されるはずである。

【0126】

酸化脂質は、組織機能を変更し、そして損傷を生じる（これには、EDRFの減少および接着分子の増大、細胞障害、およびマクロファージ走化性を含む）。

【0127】

LUVと小さいアクセプター（例えば、HDL、アポプロテインリン脂質複合体、およびシクロデキストリン）との間に相互作用が存在する。リポソームは、余計なリン脂質を提供することにより、HDLを、より良好なアクセプターへ再構築する。そして小さいアクセプターは、シャトル（コレステロールを細胞からリポソームへ効率的に運搬する）として働く。LUVは、LDL濃度を上昇させず、そして肝臓LDLレセプター遺伝子発現を抑制しない。LUVについての医学的有用性は、内皮細胞によるEDRF分泌の回復を包含する。高いコレステロールレベルは、コレステロールによるのではなく、コレステロールの酸化誘導体によって、EDRFの内皮性放出を阻害する。HDL自体が、おそらくコレステロールの除去または酸化脂質の除去により、EDRF放出を回復するので、次いでリポソームは、同じことをできる（例えば、HDLは、コレステロールおよび/または酸化脂質をリポソームに渡す）。

【0128】

本発明は、LDL濃度の上昇を誘発することなく、または肝臓恒常性を有害に邪魔することなく、細胞性脂質（酸化脂質を含む）を改変するための操作の方法および様式を提供する。従って、おそらく、コレステロール（例えば、HDL）の内因性（または外因性）の小さいアクセプターと呼応して作用するLUVは、末梢組織の外に酸化した脂質を引き出し、そして排泄のために肝臓にその脂質を運ぶ。酸化脂質は、広範な有害な生物学的効果を有する。この効果としては、EDRF放出の抑制、細胞接着分子の導入、細胞性傷害、マクロファージの走化性、などが挙げられる。従って、炎症性サイトカイン、増殖因子、脂肪分解性酵素

、タンパク質分解性酵素，および/または核因子カッパB（NF - B）が誘導される。このいずれもが本明細書に記載のリポソームにより調節される。

【0129】

酸化された脂質およびその有害な効果としては、内皮性C型ANFの低下、内皮性PAI - 1の増大、およびtPAの低下および内皮性トロンボモジュリンの低下が挙げられる。リポソームは、この効果を増強するかまたはこの効果に参加する。これらの変化は、血餅を溶解する身体的能力を障害する。本明細書に開示された方法は、酸化脂質のこれらの有害な効果を緩和するのを補助する。HDLは、生物学的に活性な酸化脂質を不活性化する酵素を輸送することにより一部作用する。

【0130】

酸化されたLDLが、C型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）の内皮性分泌を阻害することが理解される。それは、この効果を媒介する酸化されたLDLの脂質成分である。最も重要なことには、HDLは、おそらく、酸化された脂質（例えば、酸化されたコレステロール）をとりあげることにより、酸化LDLの作用をブロックする。単独ではCNP放出に影響を有さない高密度リポタンパク質（HDL）との同時インキュベーションは、内皮細胞（EC）によるCNP分泌のOx - LDL - 誘導性阻害を有意に妨害した。薄層クロマトグラフィーによる分析により、7 - ケトコレステロールを含むオキシステロールが、Ox - LDLにおいて、これらの2つのリポタンパク質の同時インキュベーションの際、Ox - LDLからHDLに転移されることが示された。これらの結果は、Ox - LDLがOx - LDLにおいて7 - ケトコレステロールまたは他の転移可能な親水性脂質による、ECからのCNP分泌を抑制すること、そしてOx - LDLの抑制的効果がHDLによって逆転されることを示す。

【0131】

どんな分子がHDLを拾い上げても、リポソームによるHDLの再モデリングおよび組織からリポソームへのHDLによる酸化脂質のシャトリング（往復）（すなわち、リポソームはHDLを連続的にはがす）により、本明細書に記載のリポソームまたは他のアクセプターは、それがより良好な行動を行うことを可能に

する。内因性の小さいアクセプターを有するリポソームもまた働く。

【0132】

酸化された低密度リポタンパク質における転移可能な脂質が、プラスミノゲンアクチベータインヒビター - 1 を刺激し、そして内皮細胞からのヒト組織プラスミノゲン活性化因子を阻害することがさらに理解される。上記のように、これは、効果を乗じる酸化LDL（例えば、コレステロールの酸化形態）における脂質である。酸化された低密度リポタンパク質が、増殖したヒト内皮細胞におけるトロンボモジュリン転写を低下させたことが理解される。酸化された脂質がアテローム性動脈硬化症において役割を果たすこと、および酸化された脂質を不活性化するHDL上の酵素が、防御効果に寄与し得ることが理解される。本明細書において開示される方法および組成物が、例えば、これらの酵素の最終産物を除くことにより、さもなければHDLを変更することにより、そして酵素輸送および作用のためのさらなるプラットフォームを提供することにより、さらにこの提唱された機構を助けることが意図される。例えば、パラオキシナーゼおよび酸化脂質の両方が、リポソーム上に移り、ここで次に酸化された物質の不活性化が生じ得る。

【0133】

従って、末梢組織から一般に有害な脂質（ここでは、脂酸化した脂質）を除去する大きいリポソームの使用（それは、最初に脂質を抽出する）は、直接、または、HDLを介するいずれかで、おそらく、それらを不活化し、次いで循環中のリポソームに対してそれらまたはそれらの分解産物を送達することが記載されている。インビボにおける酸化および酸化傷害を評価する直接方法としては、以下が挙げられる：脂質については、8-エピPGF₂ のアッセイ；DNAについては、8-オキソ-2'デオキシグアノシンを評価する；一般に組織における抗酸化酵素を評価する；そしてビタミンE、ビタミンC、尿酸塩および還元グルタチオン/酸化グルタチオンなどの抗酸化レベルを評価する。

【0134】

細胞、器官および組織から、脂質輸送（細胞外物質および任意の通常互換可能な物質の輸送を含む）を逆にする効果をもたらすことに関連する方法および様式

が、本明細書において記載されている。これは、コレステロールのみをカバーするのではなく、スフィンゴミエリン、酸化脂質、リソホスホチジルコリン、タンパク質およびリン脂質提供もカバーする。酸化物質のいくつかの効果は、上記および下記されたように、動脈細胞における石灰化の増大を含む。

【0135】

LDLおよびアポBレベルへの異なる効果を説明するための小さいリポソームに対する大きいリポソームの中の3つの可能性のある差異としては、以下が挙げられる：開口浸透 (fenestral penetration) ($LUV < SUV$)；クリアランス速度 ($LUV < SUV$ 、これによりLUVは、肝臓に対するコレステロールの徐放性の送達 (これは破壊性が少ないかもしれない) を生じる)；タンパク質吸着 ($LUV < SUV$)。単層小胞が、複層小胞を上回る利点を提供することが理解される。なぜなら、例えば、リン脂質の内部二重層が、いくらか遮蔽され、そして裏返り (flip-flop) および粒子の外側からの互換可能な物質を獲得または提供するための内部拡散に依存するはずであるからである。

【0136】

非エステル化コレステロールは、マクロファージにより組織因子発現を増大する。これは、非常に重要である、なぜなら、それは不安定に放出される物質を作成するマクロファージ由来組織因子であるからである。これは血餅を強力に刺激してプラークを破壊し、次いで、心臓発作をもたらす血管をブロックする。本発明の操作および組成物の方法および様式は、非エステル化コレステロールおよび/または他の関連因子における変化により、組織因子の発現に作用する。

【0137】

大きいリポソームによるタンパク質のわずかな吸着は、以下の機構による、LDLレベルおよび/またはアテローム性動脈硬化に作用する：1) 小さいリポソームによるVLDLからのapoEの獲得は、循環からのVLDLの除去を損ない、それによりそれをアテローム生成LDLへより効率的に転換することを可能にする；ii) 小さいリポソームへのタンパク質の吸着は、これらの粒子を肝臓内の代謝の悪いプールに指向する。ポリアクリルアミドゲル電気泳動は、リポソ

ーム（実際は小さいリポソーム）がLDLのサイズを大きくすることを示す。リポソームを用いてLDLのサイズ、組成物および構造を変更し、そのアテローム生成性を低下させる。

【0138】

LDLの他の特性は、リポソームの投与により変化され得る。例えば、リポソームは、表面非エステル化コレステロールを減少させ；表面スフィンゴミエリンを低下させ；POPC（わずかに酸化された）で表面スフィンゴ脂質を置換して；投与の前にリポソームに添加された抗酸化剤でLDLを置換する。これらの変化は、LDLの動脈進入、滞留、改変およびアテローム生成性を実質的に変更する。

【0139】

制御される副作用としては、肝臓コレステロール代謝、コレステロール代謝に関与する遺伝子の肝臓発現およびアポリポタンパクBを含むコレステロールに富むアテローム発生のリポタンパク質（主に、LDL）の血漿濃縮に焦点が当てられる。例えば、スフィンゴミエリンの逆輸送は、肝臓コレステロール代謝を変化させる（細胞性スフィンゴミエリンは、コレステロールの細胞内分布に影響を与え、それゆえ調節性効果に影響を与える；また、スフィンゴミエリンは、細胞内シグナル伝達を媒介するセラミドに対する前駆体である）が、ラージリポソームは、この領域におけるいずれの問題も回避するようである。これは、酸化形態のコレステロールの逆輸送についても同じことが言える（抑制LDLレセプター遺伝子発現における酸化されていないコレステロールでさえ、より強力である）。シクロデキストリンは、リン脂質をとらない。

【0140】

リポソームは、任意の交換可能な脂質（実際、任意の交換可能な両親媒性または疎水性の物質であり、これらとしては、脂質またはタンパク質またはこれらの特徴を有するものが挙げられる）をとる。これには、スフィンゴミエリン、酸化または改変された脂質（例えば、酸化ステロールおよびリン脂質）が挙げられる。代表的に、そのようなリポソームは、他の脂質二重層（例えば、細胞膜）およびリポタンパク質由来の、エステル化されていないコレステロールおよびの他の

交換可能な物質を取り得る。リポソームはまた、タンパク質を取り、そしてリン脂質を提供する。例として、リポソームは、リポタンパク質中でのSM:PC率を低下し、これには、アテローム発生のリポタンパク質を含み、これによってそのアテローム生成を減少させる。細胞膜、リポタンパク質などの改変の間およびその後、リポソームは、血漿から主に肝臓によって除去される。この適用を通して、本発明者らは、この一般的なプロセスを「逆脂質輸送」というが、組織、血液、細胞外環境(milieu)またはリポソームにおける任意の交換可能な物質が関与し得ることが理解される。交換可能な物質の特異的な例としては、エステル化されていないコレステロール、酸化形態のコレステロール、スフィンゴミエリンおよび他の疎水性または両親媒性物質が挙げられる。

【0141】

これらの分子は、血管機能障害において蓄積し、そして有害な影響(例えば、コレステロール、酸化コレステロール、スフィンゴミエリンおよび他の物質(例えば、リゾリン脂質))または老化(例えば、スフィンゴミエリン)を媒介する。例えば、酸化された脂質(特に、ステロール)は、多くの抹消組織機能を変化させ、これは、アテローム性動脈硬化症における動脈細胞によるカルシウム沈着を刺激する工程、および内皮細胞によって放出される内皮プラスミノゲンアクチベーターインヒビター1刺激する工程を包含し;他の酸化脂質産物としては、マクロファージを病巣に誘引する接着分子の内皮発現を刺激するリゾリン脂質が挙げられ、そしてスフィンゴミエリンは、いくつかの老化の細胞培養モデルにおいて蓄積し、そしてコレステロールと共に、いくつかの細胞変化の原因となり得る。他の変化(例えば、酸化)はまた、老化を媒介または加速し得る。これらの分子の多くは、インビトロでリポソーム(例えば、コレステロール、スフィンゴミエリン、そしておそらく、酸化されたコレステロール)によって取り上げられ、そして多くはHDL(コレステロール、酸化コレステロール、酸化脂質)によって取り上げられるが、これらは他の分子も同様に取り上げるようであることが示された。しかし総質量の点から、必要とされる物質の大部分は、エステル化されていないコレステロールであり、第二としてタンパク質を伴なう。あるいは、エステル化されていないコレステロールを獲得することによって、リポソームは

、発達する酸化されたコレステロールの量を還元し得る。なぜなら、出発物質が少ないからである。

【0142】

本明細書に記載される効果的な期間は、例えば、非常に長い処置過程、持続年数、を排除するように解釈されるべきではない。週、月または年によって分けられる反復した処置期間もまた排除すべきではない。

【0143】

副作用には、コレステロールを有する肝臓またはリポソームによって獲得される他の物質の過負荷が挙げられ；肝臓機能における連続した変化、例えば、LDLレセプターの抑制、肝臓内コレステロールエステル化の刺激、アポリポタンパクBを含むアテローム性発生のリポタンパク質の肝臓分泌の刺激、および血漿からの肝臓によるアテローム性発生のリポタンパク質の損傷した取り込みを伴う。

【0144】

本明細書で使用される場合、用語「内因性」は、HDLが体内から生じることを示し、それが投与されることではない。しかし、HDLおよび関連するアクセプターは、投与され得る。

【0145】

データは、インビボでの大きいリポソームと小さいリポソームとの間別の差異を示す。注射前、本実験で使用されるリポソームは、基本的に電氣的に中性であり、これは、電場が提供される場合、アガロースゲルを介して迅速に移動をしないことによって示される。（これは、荷電されたりリポソームまたは他の粒子が使用され得ないことを暗示しない。）小さいリポソームは、タンパク質および他の物質を取り、そして電氣的に荷電するようになる：これらはこうなると、電場が提供される場合、アガロースゲルを介して迅速に移動する。本発明者らが3つのウサギ群から得た血漿サンプルのアガロースゲルを泳動した。小さいリポソームはこれらのゲル中でより可動性となった。ラージリポソームは、実質的にほとんど可動性でないままであり、これは、低いタンパク質含量を反映した低荷電密度を示す。

【0146】

大きいリポソームと小さいリポソームとの間の差異に関する2つの説明が存在する：1) 小さいリポソームは、肝臓内皮の開口部を介して浸透するが、大きいリポソームは、浸透しない(従って、大きいリポソームは、クッパー細胞へ行き、そして小さいリポソームは肝臓実質細胞へ行き、そして問題を引き起こす)；2) 大きいリポソームは、小さいリポソームよりもいくらかゆっくりと肝臓によって清澄されることが公知であり(理由は知られていない)、その結果、簡単には肝臓を圧倒し得ない。荷電密度に関するデータは、ある程度説明(少ないタンパク質、故にゆっくりまたは改変された肝臓取り込み)を与える。

【0147】

リン脂質のmgあたり、LUVによる肝臓へのコレステロールの送達は、SUVによるよりも実際より効果的である。1つの差異は、LUVによる送達が注射後長い期間にわたって安定であり、一方SUVによる送達はピークがありそして落ちるといふ点である。

【0148】

本明細書中に記載される組成物のいくつかとしては、以下が挙げられる：卵ホスファチジルコリン；体温で結晶化しない(例えば、これらは少なくとも1つの二重結合を含む)が酸化に耐性である、合成ホスファチジルコリン(例えば、これらは多くの二重結合を有さない(例えば、1-パルミトイル, 2-オレオイルホスファチジルコリン(POPCと省略される))；他の天然もしくは合成のリン脂質単独または混合物；リポソームもしくはミセル構造をさらに可能にする疎水性または両親媒性の物質で補充されたかまたはそれらで置換された前記のものいずれか。押し出し(extruder)は、確かに、ラージリポソームましてや特にLUVを作製するための考えられ得る唯一の方法ではない。当該分野の実施者に公知の他の方法は利用可能であるか、または一般的にラージリポソームおよび特にLUVの作製に適用され得る。リポソームを作製するための出発脂質の差異が、しばしば、所望の大きさの粒子、層状、およびこれらの適用のための他の特徴を得るために、製造の詳細に改変を必要とすることが理解される。多層状もしくはわずかな層状(pauci-lamellar)の小胞(vesicle)の内部二重層の中へまたはそこから外への、コレステロールおよび他の

交換可能な分子の移動が瞬間ではなく、その結果、単一な層状 (u n i l a m e l l a r) またはわずかな層状の小胞が好ましい形態であることもまた理解される。

【 0 1 4 9 】

本明細書中で使用されるように、用量は、ラージリポソームの形態において、k g 体重あたり 1 0 ~ 1 6 0 0 m g のリン脂質を含む。本明細書中に記載される他の受容可能な割合および用量は、血漿 L D L 濃度の応答、脂質動員、および生物学的応答 (例えば、内皮機能、器官の灌流および / もしくは機能、および冠動脈または大脳の事象) によって経験的に決定され得る。

【 0 1 5 0 】

膜の組成ならびに機能に変化がある場合、膜組成のアッセイまたは組織組成のアッセイを使用し得る。組成アッセイは、脂質、タンパク質および他の成分を含むべきである。

【 0 1 5 1 】

H D L は、酸化された物質を取り得、そして H D L 関連酵素は、酸化された物質を不活性化し得る。酸化された物質のリポソームへの移動は、リポソームが循環から清澄される場合、酸化された物質を不活性化しかつまたリポソーム上に移動する酵素によって (例えば、パラオキシナーゼ) によって廃棄を可能にする。

【 0 1 5 2 】

時間の分離は、物質の実際の用量に依存し、これは肝臓コレステロールホメオスタシスに影響を与え、これはコレステロール低下剤が同時に投与されるか否かに関わらない。従って、k g 体重あたり約 3 0 0 m g の小さいリポソームの用量に関して、わずかな崩壊が単一用量後でさえ生じ、そして高用量の単一投与は、いっそうの崩壊を生じ得る。時間の例示的な分離としては、1日 ~ 1ヶ月が挙げられるが、詳細なスケジュールは、肝臓コレステロール代謝ならびに L D L および他のアテローム発生リポタンパク質の血漿レベルをモニタリングすることによって決定される。

【 0 1 5 3 】

リポソームクリアランスに關与する主要なマクロファージは、肝臟中のクッパー細胞および骨髓または脾臟中のマクロファージである。本發明における異化作用は、いわゆる、コレステロールの胆汁酸への変換を開始するための代替経路であるか（マクロファージは、少なくともコレステロール異化酵素有することが公知である）、またはステロール（酵素学的に改変されているかまたは改変されていない）の他の細胞（例えば、次いで分子を処理する肝臟實質細胞）への移動であり、これにはコレステロールおよび/またはリン脂質の、胆汁および古典的胆汁酸合成経路への直接的な分泌を含むが、これらに限定されない。

【0154】

本方法はまた、本明細書中に細胞老化の影響の制御を記載する。

【0155】

本發明は、インビトロおよびインビボにおける酸化のアッセイ、血漿成分の酸化感受性のアッセイ、そして改変されたHLDが酸化を（酸化生成物に結合することによって、および/またはそのパラオキシナーゼもしくは他の抗酸化成分を介して）阻害する能力ならびにHDLもしくは血漿もしくは血清もしくは血液がコレステロールおよび他の交換可能な物質を動員する能力のアッセイを実施することによって、リポソーム治療の有効性を評価するための手段を含む。

【0156】

ラージリポソームは、細胞の間（これは細胞外領域である）にも補足されるいくつかの物質の動員を引き起こし得る。この細胞外物質は以下のような問題を引き起こす：a) 細胞または血小板と接触する場合、それらの機能を改変する、b) 単純に場所をとる。

【0157】

コレステロール動員の速度は、経験的に決定され得る。リポソームクリアランスの運動が異なる種において異なることが理解される（マウスにおける $LUV t_{1/2}$ は、約8時間であるが、ウサギでは約27時間であり、そしてヒトではより長い）。従って、計算される速度は、種から種で変化し得る。300mgのSUUVのウサギへの投与におけるデータに基づいて、血漿からリポソームコレステロールを除去するピークの速度は、注射後3時間と6時間との間である。その時

、リポソームは、ちょうど $2 \text{ mmol} / \text{L}$ を超えて血漿のエステル化されていないコレステロールを上昇させ； 3 kg のウサギで総血漿体積は 90 mL と推定され、その時点での総リポソームコレステロールは $180 \mu\text{mol}$ であった；これらのウサギでの SUV に対する $t_{1/2}$ は、約 20 時間であり、おおよそ 10% が 3 時間で除去される；従って、リポソームコレステロールの除去のピーク速度は約 $2 \mu\text{mol} / \text{時間} / \text{kg}$ であり、これは血漿コレステロールエステル濃度における引き続く上昇を引き起こした。注射後の他の期間において注目することは、血漿から除去されたリポソームコレステロールの速度が小さかったことである。肝臓はクリアランスに対して優性な器官であるが、クリアランスに関する唯一の器官ではないことにもまた注意する。

【0158】

$20 \sim 22 \text{ g}$ のマウスへの 300 mg の LUV / kg の単一投与は、注射後最初の 24 時間で約 2400 nmol のコレステロールを動員すると計算される。ウサギにおける SUV を用いたデータと対照的に、 LUV を用いたマウスへの注射における最初の 24 時間のコレステロール動員は、非常に安定であった。これは、この最初の 24 時間に対して約 $4.7 \mu\text{mol} / \text{時間} / \text{kg}$ と計算され、これは、実際、 $2 \mu\text{mol} / \text{時間} / \text{kg}$ の数字を超えてより大きく、これがピークの速度であった。これは、公平な比較ではない。なぜなら、マウスにおける LUV のクリアランスは、ウサギよりも 3 倍速いからである。 4.7 を 3 で割った場合、 2 より小さい $1.6 \mu\text{mol} / \text{時間} / \text{kg}$ を得るが、これらは不完全な概算である。ヒトの速度は、経験的に決定され得る。しかし、 LUV がそれらのコレステロールを安定した速度で送達し、一方、 SUV は、脂質を肝臓へ簡潔で迅速に押し出すことが明らかである。

【0159】

体温において、最も望ましいリポソームは、二分子層の制限内の流体であり、これは、液晶状態と呼ばれる。ゲル状態（これは、あまり流動性ではない）のリポソームはあまり望ましくない。

【0160】

エステル化されていないコレステロールがマクロファージを刺激し、よりたく

さんの組織因子（血餅を引き起こすことが公知の物質）を発現することが理解される。これは、破裂傾向の斑において豊富な組織因子の存在を説明する。この破裂傾向の斑は、破裂する場合、血漿に組織因子を曝露し、血管を閉塞し得る凝塊を引き起こし、心臓麻痺を引き起こす。これは、異常な細胞機能の別の例であり、これは、リポソームによるコレステロールの除去により逆転され得る。

【0161】

いくつかのヒトの状態は、組織、細胞、膜および/または細胞外領域の独特の脂質組成物によって特徴付けられる。例えば、アテローム性動脈硬化症において、コレステロール（エステル化されていない形態、エステル化された形態、および酸化された形態）ならびに他の脂質は、細胞内ならび動脈壁およびその他の細胞外領域において蓄積した。これらの脂質は、例えば、細胞機能を変えることによって、そして血管管腔を狭くし、血液の流れを妨げることによって、潜在的に有害な生物学的効果を有する。脂質の除去は、多くの実質的利点を提供する。さらに、細胞、膜、組織および細胞外構造物は、例えば、抗酸化剤の含有量およびタイプを増加させること、酸化された物質を減少させること、および酸化に対して抵抗性の物質の含有量を増加させることによって、酸化および酸化的損傷に対する抵抗性を増加させることを含む組成物および変更から利益を得る。老化において、細胞は、スフィンゴミエリンおよびコレステロールを蓄積することが示されており、これは、細胞機能を変化させる。これらの機能は、これらの脂質の除去およびリポソームからのリン脂質による置換によりインビトロで回復され得る。インビトロで同様な脂質変更を行うための主な障害は、組織、細胞、細胞外領域、および膜から代謝される脂質の性質であった。末梢組織脂質を代謝し得る天然粒子（例えば、高密度リポタンパク質）および合成粒子（例えば、小さいリポソーム）は、相当な不利益を有する：これらは、肝臓のコレステロール恒常性を妨げる様式で、それらの脂質を肝臓に送達し、有害なリポタンパク質（例えば、低密度リポタンパク質（LDL）、主要なアテローム生成リポタンパク質）の血漿濃度の上昇をもたらす。

【0162】

本明細書中に記載される本発明は、血漿LDL濃度を制御しながら、末梢組織

から肝臓にコレステロールならびに他の物質および化合物を「逆」輸送することに関する方法および組成物を提供する。

【0163】

LUV、SUV、または生理食塩水を注射された最後の1セットのウサギ由来の血漿サンプルのアガロースゲル電気泳動（これらのアガロースゲルは、それらの電荷によって分離され、これは、あるタイプの粒子と別のタイプの粒子では同じではない）を行った。新たに作製されたSUVは、非常にゆっくりとアガロースを移動し、これは、新たに作製されたリポソームが非常に小さな電荷を有することを示す。動物への注射後あるいは血漿またはリポタンパク質での同時インキュベーションの後に、SUVは、リポタンパク質からタンパク質を拾い上げる（pick up）。これらのタンパク質は、SUVに、より多くの電荷を与え、アガロースゲルを通過するそれらの移動を実質的に促進する。血漿への曝露の後にSUVは、LDLよりも速くこれらのゲルを通過して移動する。

【0164】

このゲルは、LUVとSUVとの間に実質的な差異を示した。予期したように、SUVは、これらのゲルにおいてLDLより先に移動した。しかし、LUVは、タンパク質を含まない新たに作製したリポソームが移動する場所にほとんど正確に移動した。この結果は、LUVが、SUVとは異なって、循環するリポタンパク質からタンパク質を容易に拾い上げないことを示す。

【0165】

リポソーム間のこの差異の直接的な証明が存在する。ヒトHDL（リポソームが拾い上げるタンパク質の大部分を有する）は、LUVまたはSUVのいずれかとともにインキュベートされ、次いで、リポソームが再び単離され、それらのタンパク質対リン脂質の比がアッセイされる。リポソームリン脂質の量当たり、SUVは、LUVの約40倍多くのタンパク質を拾い上げる。この差異は、表面曲率の違いが理由で起因するようである：SUVの方が小さく、その結果、それらの表面はより急激に湾曲し、従ってより大きき歪んでおり、その結果タンパク質がより容易に挿入し得る。

【0166】

2つのタイプのリポソーム間のタンパク質の取り込みにおける差異の2つの最もあり得る代謝効果が存在し、以下である：

1. VLDLが、二つの代謝運命を有する：このLDLが脂肪分解酵素によってLDLに完全に変換される前に血漿から除去され得るか、あるいはこのLDLが循環LDLに完全に変換され得る。SUVは、VLDLからapoEを取り除き、それによって血漿からのそのクリアランスを遅くし、そのLDLへの変換を助ける。対照的に、LUVは、apoEをVLDLに残し、その結果、血漿中のLDL濃度が上昇しない。

【0167】

2. 吸収されたアポタンパク質は、リポソームを異なる肝臓代謝プールおよび/または異なる速度に指向させる際に役割を演じ得る。

【0168】

ここに、インビボでの酸化に対する効果をアッセイするためのいくつかの方法がある：Catella F, Reilly MP, Delanty N, Lawson JA, Moran N, Meagher E, FitzGerald GA, Physiological formation of 8-epi-PGF₂ alpha in vivo is not affected by cyclooxygenase inhibition. Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res. 23: 233-236, 1995。これらの著者は、脂質酸化の最終生成物である、8-epi-PGF₂ を記載する。この分子は、動物における脂質酸化フラックスの尺度として使用され得ることを彼らは提案する。これは、抗酸化レベル（食餌によって影響される）、チオバルビツール酸反応性物質（いくつかの糖がこのアッセイを妨害する）、および短命の酸化中間体（これらは、酸化される物質の全フラックスを示さない）のような、他の従来使用されるインビボでの酸化の測定よりも優れる。酸化された脂質を末梢から除去することによって、LUVの投与は、インビボでより少ない総酸化フラックスであり、8-epi-PGF₂

がこのより少ない総酸化フラックスを測定するために適した方法である；Cadet J, Ravanat JL, Buchko GW, Yeo HC, Am

es BN, Singlet oxygen DNA damage: chromatographic and mass spectrometric analysis of damage products. *Methods Enzymol.* 234: 79-88, 1994。これらは、DNA酸化の最終生成物である8-オキソ-2'-デオキシグアノシンを記載する。上記のように、この分子は、動物におけるDNA酸化フラックスの尺度として使用され得る。LUVの投与は、インビボでのDNA酸化フラックスを低下させ、これは、このDNA酸化フラックスを測定するための適切な方法である；そしてXia E, Rao G, Van Remmen H, Heydari AR, Richardson A, Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fisher 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr.* 125(2): 195-201, 1995。組織中の抗酸化酵素が、脱酸素能力を示すために測定される。LUVはこれを助ける。抗酸化レベル（ビタミンE、アスコルベート、ウレート）；酸化されたおよび還元されたグルタチオン；ならびに多くの他の測定が末梢酸化および酸化損傷を評価するために使用され得る。また、これらおよび他の尺度は、治療の効力を評価するために、LUV投与と結合される。

【0169】

ラージリポソームのそれらの性質を模倣する他の粒子は同様に作用し、肝臓コレステロール恒常性における有害な破壊を避けながら、末梢脂質および他の交換可能な物質を代謝し、そして交換可能な物質を送達する。例えば、これらは、肝臓によってゆっくり取り込まれる組成物および構造ならびに/あるいは特定の内因性タンパク質を容易に獲得しない組成物および構造の肝臓内皮窓 (fenestrae) に貫入するために、二つの大きな乳濁液粒子を含む。このような乳濁液は、タンパク質を有してまたは有さずに作製され得、リン脂質および中性脂質（例えば、トリグリセリドまたは別の中性脂質）から作製され得る。

【0170】

本発明はまた、寸法決めされたリポソームおよびリポソームが肝臓によってゆ

っくり取り込まれるような組成物を含むかまたはこれらから本質的になる薬学的組成物を提供する。

【0171】

本発明はまた、血漿LDL濃度を制御しながらインビボで末梢組織から肝臓へコレステロールを逆輸送させる方法を包含し、この方法は、処置期間の間ステロールを実質的に含まないリン脂質から構成される多様なラージリポソームの治療的有効量を経皮的に投与する工程を包含し、これによってリポソームが処置期間の間コレステロールを拾い上げる。この方法は、コレステロールアクセプターの組織貫入を高め、有効量の化合物の同時投与によって、組織コレステロールおよび他の交換可能な物質の抽出を増加する任意の工程を包含する。この化合物は、コレステロールの小さなアクセプターおよびコレステロールの内因性の小さなアクセプターを増加する薬剤からなる群から選択される。変形において、この化合物の同時投与は、ラージリポソームの非経口投与と同時である。別の変形において、化合物の同時投与は、多様なラージリポソームの治療的有効量の非経口投与から、ちょうどよいときに効果的な時間だけ分離される。効果的な時間は、約1分～約2週間の範囲である。

【0172】

別の局面において、本発明は、動脈損傷の脂質含有量を減少する改良方法を包含し、この方法は、治療的有効量の薬剤を被験体に投与することによってインビボで末梢組織から肝臓へのコレステロールの逆輸送を誘導する工程を包含する。この薬剤は、ステロールおよび小さなアクセプターを実質的に含まないリン脂質から構成されるラージリポソームからなる群から選択され；LDL濃度プロフィールを得るために被験体の血漿LDL濃度を周期的にモニターし；LDL濃度プロフィールにตอบสนองして治療的有効量の薬剤を調節し；そして薬学的薬剤をこの被験体に投与する。この薬剤は、LDL濃度プロフィールにตอบสนองして、LDL濃度、小さなアクセプター、およびHDL濃度を上昇させる組成物を下げるための化合物の群から選択され、これによって、動脈損傷の脂質含有量における減少が、効果的に処置され、処置期間に渡ってモニターされる。動脈損傷は、脂質豊富な、破裂傾向のIV型およびV型動脈損傷を含む。斑破裂、血栓症、および組織梗

塞形成が非常に減少する。

【0173】

なお別の局面において、本発明は、動脈損傷（この損傷は、血漿およびその成分と接触する）の脂質含有量を減少させるための処置の効率を評価する改良方法を提供し、この方法は、治療的有効量の薬剤を被験体に投与することによってインビボで末梢組織から肝臓へのコレステロールの逆輸送を誘導する工程を包含する。薬剤は、ステロールおよび小さなアクセプターを実質的に含まないリン脂質から構成されるラージリポソームからなる群から選択され；血漿成分をアッセイによって周期的にモニターする。このアッセイは、血漿のエステル化されていないコレステロールおよびリン脂質についてのアッセイ、糞便中の胆汁酸およびコレステロールのアッセイ、胆汁中の胆汁酸およびコレステロールのアッセイ、肝臓生検における肝臓遺伝子発現のアッセイ、末梢血白血球における遺伝子発現のアッセイ（この遺伝子は、コレステロール代謝に関与する遺伝子を含む）、血漿LDL濃度のアッセイ、および脈管イメージング技術からなる群から選択される。脈管イメージング技術は、心臓カテーテル、磁気共鳴イメージング、超音波、超高速CT、放射性核種アッセイ（必要に応じて、ストレス-タリウム走査を含む）、任意の灌流アッセイ（例えば、PET走査）、およびECHOのような任意の機能性アッセイからなる群から選択される。

【0174】

本発明はまた、動脈機能、血小板機能を有利に変化させ、血漿LDL濃度および肝臓コレステロール恒常性をインビボで制御する方法を包含し、この方法は、他の薬剤の投与を伴ってまたは伴わずに、処置期間の間、ステロールを実質的に含まないリン脂質から構成される、多様なラージリポソームの治療的有効量を非経口的に投与する工程を包含する。他の薬剤は、必要に応じて、小さなアクセプターおよびLDLを減少させる薬剤を含む。必要に応じて、この方法は、動脈機能の測定を行う工程を包含する。この測定は、血流、酸素送達、内皮誘導弛緩因子の測定、動脈細胞内の細胞内カルシウム濃度の測定、動脈細胞増殖の測定、動脈酵素のアッセイ、カルシウムチャンネル遮断薬の存在下でのアッセイ、脂質タンパク質の動脈による摂取、蓄積および維持のアッセイ、リポソームの動脈蓄積の

アッセイ、リポソームの動脈維持のアッセイ、遺伝子産物のアッセイ、ならびに動脈細胞機能のアッセイからなる群から選択される。内皮誘導弛緩因子の測定は、内皮依存性動脈弛緩の機能的決定、内皮弛緩因子の産生の化学的決定、および一酸化窒素シンターゼのアッセイからなる群から選択される。

【0175】

血小板機能を有益に変更する一方で血漿LDL濃度、動脈機能、肝コレステロールホメオスタシスおよびインビボでの血小板機能を制御する方法もまた、含まれる。この方法は、処置の期間に実質的にステロールがないリン脂質で構成される治療有効量の多数の大リポソーム、すなわち他の薬剤を伴うかまたは伴わないで投与されるリポソームを非経口的に投与する工程を包含する。この方法は、動脈機能の測定を行う工程を必要に応じて包含する。この測定は、内皮誘導弛緩因子の測定、動脈細胞における細胞内カルシウム濃度の測定、動脈細胞増殖の測定、動脈酵素のアッセイ、および遺伝子産物のアッセイからなる群から選択される。内皮弛緩因子の測定は、内皮依存性動脈緩和の機能決定および内皮弛緩因子の産生の化学的決定からなる群から選択される。

【0176】

インビボでマクロファージ（例えば、肝マクロファージ）を用いてコレステロールを分解する方法および動脈の血漿成分または構造的局面に影響を及ぼす方法もまた含まれ、この方法は、被験体に治療有効量のリポソームを投与する工程を包含し、このリポソームは、実質的にコレステロールがなくかつあるサイズおよび組成物であり、その結果、このリポソームは、マクロファージにより摂取され得、かつマクロファージにより分解され得る。コレステロールは、リポソームにより動員され、マクロファージにより摂取されかつ分解されるリポソームを生じる。この方法はまた、アッセイを用いて血漿成分を周期的にモニターする工程を包含し得る。このアッセイは、血漿非エステル化コレステロールおよびリン脂質のためのアッセイ、血漿コレステロールエステル移動タンパク質活性のアッセイ、便中の胆汁酸およびコレステロールのアッセイ、肝臓ビオプシーにおける肝遺伝子発現のアッセイ、末梢結白血球における遺伝子発現のアッセイ（この遺伝子は、コレステロール代謝に含まれる遺伝子を含む）、血漿LDL濃度のアッセイ

および脈管画像化技術からなる群から選択される。

【0177】

なお別の局面において、本発明は、インビボで薬物を送達する方法、肝コレステロールホメオスタシスの有害な分裂を予防する方法（薬物を薬剤でトラップする工程を包含する）を含む。この薬剤は、コレステロールが少ないリポソーム、コレステロールがないリポソーム、エマルジョン、肝性実質性細胞によって初期にゆっくりと摂取されるリポソーム、肝性実質性細胞によって初期にゆっくりと摂取されるエマルジョンからなる群から選択される。この薬剤は、タンパク質を有する薬剤およびトラップされた薬物を得るためのタンパク質を伴わない薬剤からなる群から選択される。この方法はまた、処置期間にトラップされた薬物の治療有効量を投与する工程を包含する。この投与する工程は、トラップされた薬物をゆっくりと感染する工程を包含する。多方面で、投与する工程は、肝コレステロールホメオスタシスにおける有害な分裂を予防するために、およそ別々の回数で、薬剤の小用量を投与する工程を包含し、そしてこの薬剤の低用量を用いる工程を包含し、それによって肝コレステロールホメオスタシスを分裂することが、予防される。

【0178】

血漿LDLレベル、肝コレステロールホメオスタシス、動脈酵素、動脈機能、および血小板機能を制御する方法および血漿板ホルモン産生を変更する方法もまた、含まれる。この方法は、治療期間にステロールが実質的にないリン脂質で構成される治療有効量の多数の大リポソームを非経口的に投与する工程を包含する。有効量は、ある投薬量で投与され、そしてこの投薬量は、単回用量および繰り返し用量から選択される。この方法は、ホルモン産生の測定を行うことによる投与の効力を診断する工程およびこの測定に対する応答において有効量を調節する工程を含む。ホルモン産生の測定は、トロンボキサンについてのアッセイ、プロスタサイクリンについてのアッセイ、プロスタグランジンのアッセイ、ロイコトリエンについてのアッセイ、およびそれらの誘導体についてのアッセイからなる群から選択されるアッセイである。

【0179】

なおさなる局面において、本発明は、血漿HDL濃度を増大する一方で血漿LDLレベル、肝コレステロールホメオスタシス、および肝遺伝子発現を制御する方法を提供する。この方法は、治療有効量の第1薬剤を非経口的に投与する工程を包含する。この第1薬剤は、処置期間にHDL濃度を惹起するために多数の小リポソームを含有する。次いで、この方法は、第2薬剤を同投与する工程を含む。この第2薬剤は、処置期間にステロールが実質的にないリン脂質で構成される大リポソームを含む。この有効量は、単回用量および繰り返し用量から選択される投薬量で投与される。同時投与は、小リポソームが肝コレステロールホメオスタシスにおける有害な変化を刺激することおよび血漿LDLにおける増大を予防するように作用する。他方で、この第1薬剤は、本質的に小リポソームからなり、そしてこの第2薬剤は、本質的に大リポソームからなる。この方法はまた、処置期間の前、間および後に血漿HDLレベルおよびLDLレベルの測定を行うことによる投与の効力を診断する工程を含む。

【0180】

血漿LDLレベル、インビボでの肝コレステロールホメオスタシスを制御する一方で、細胞膜組成物および機能を変更する方法がまた、本明細書中に記載される。この方法は、処置期間にステロールが実質的にないリン脂質で構成される治療有効量の複数の大リポソームを非経口的に投与する工程を含む。この有効量は、単回用量および繰り返し用量から選択される投薬量で投与される。この方法は、コレステロールの小アクセプター、スフィンゴミエリンのアクセプター、リゾホスファチジルコリンのアクセプターおよび脂質のアクセプターからなる群から選択される小アクセプターを同時投与する工程を包含する。この方法は、膜流動性の測定、膜貫通イオンフラックスの測定（このイオンは、カルシウムイオン、ナトリウムイオン、およびカリウムイオンからなる群から選択される）、膜脆弱性のアッセイ、および膜機能のアッセイを実行することによる投与の効力を診断する工程を必要に応じて含み得る。

【0181】

さらなる実施形態において、本発明は、単層リポソーム、多層リポソーム、それらの組み合わせおよびそれらの誘導体の群から選択されるリポソームから本質

的になる、被験体の肝臓に入るアンギナを処置するための薬学的組成物を含む。これらの粒子は、コレステロールが実質的にない粒子およびコレステロールがない粒子の群から選択される。

【0182】

非リポソーム粒子は、トリグリセリドリン脂質エマルジョンからなる群から選択される。このエマルジョンとしては、肝性実質性細胞によって迅速に摂取されないエマルジョン、実質性細胞によって長期間摂取されないエマルジョンおよびトリグリセリド - リン脂質 - タンパク質エマルジョンが挙げられる。

【0183】

薬剤内にトラップされた薬物から本質的になる、被験体の肝臓に入る動脈病巣のサイズを減少するための薬学的組成物もまた、本発明に含まれる。この薬剤は、コレステロールが少ないリポソーム、コレステロールがないリポソーム、エマルジョン、肝性実質性細胞によってゆっくりと初期に摂取されるリポソーム、および肝性実質性細胞によってゆっくりと初期に摂取されるエマルジョンからなる群から選択される。この薬剤は、タンパク質を伴う薬剤およびタンパク質を伴わない薬剤からなる群から選択される。

【0184】

本発明はまた、血漿HDL濃度を増大する一方で、血漿LDLレベル、肝コレステロールホメオスタシス、および肝遺伝子発現を制御するための薬学的組成物を提供し、この組成物は、HDL濃度を惹起するための複数の小リポソームを含む第1薬剤およびステロールが実質的にないリン脂質から構成される大リポソームを含む第2薬剤を含む。

【0185】

なお別の局面において、クップファー細胞から実質性細胞までの細胞 - 細胞連絡を通してインビボで被験体における肝性実質性細胞中のコレステロール代謝を制御する方法が、含まれる。この方法は、被験体にリポソーム組成物を投与する工程を包含する。このリポソーム組成物は、大単層リポソームおよび大多層リポソームからなる群から選択される。このリポソームは、約100～180ナノメートルの平均直径を有する。被験体におけるLDLレベルは、増大しない。この

方法はまた、被験体におけるインジケータをアッセイすることによるコレステロール代謝の制御の効力を診断する工程を包含する。このインジケータは、被験体の血漿LDL濃度、被験体の肝遺伝子発現、被験体における肝性実質性細胞におけるコレステロール代謝を制御するステロール排出、および被験体の胆汁におけるステロールの排出からなる群より選択され；そしてこのアッセイに対する応答における投与を調節する。

【0186】

本発明はさらに、有益な生理学的効果が得られる、本明細書中に記載される組成物によって変更されるアテローム発生リポタンパク質、細胞構造および細胞外構造の操作の様式を提供する。

【0187】

一般的に内皮機能または機能不全に関する診断または状態は、本明細書中で開示される方法を用いて処置可能である。例として、これらの状態または疾患の幾らかとしては、高血圧、子かん、過粘稠度症候群、子かん瘤前症、および炎症が挙げられる。炎症としては、自己免疫状態および非自己免疫状態が挙げられる。

【0188】

本明細書中に開示されるアンギナを迅速にかつ実質的に処置する方法は、リポソーム処置の少なくとも3つの相乗有益効果（例えば、大「空」リン脂質ビヒクル-「LEV」-ここで、「空」とは、カプセル化薬物が、本質的でないと示す従来の用語をいう）に任意の起因する。これらの3つの有益な効果としては、（1）内皮機能不全の回復、（2）血小板反応性亢進の回復、および（3）全血液粘性の減少、が挙げられる。これらの3つすべては、比較的迅速でかつ実質的な処置の効果である。これらの効果は、脂質輸送における変更を伴って迅速にかまたは実質的に消失しそうにない、閉鎖性、繊維芽性、脂質が少ない動脈病巣がある場合に、特に重要である。心臓の場合において、インビボでの方法は、アンギナならびにそれに関連する徴候および症状（例えば、一般的に、呼吸の短縮、減少された運動耐性、心臓壁運動異常、不整脈、および心臓機能）を緩和することを助ける。脳の場合において、本明細書中で開示される処置は、一過性脳虚血発作ならびにそれらの関連徴候および症状（例えば、神経機能不全）を緩和する

ことを助ける。下肢の場合において、本明細書中で開示される処置は、跛行ならびにその関連徴候および症状を改善する。発生上の器官の灌流および機能はまた、援助される。

【0189】

投与の静脈内経路はまた、同時に同時投与される時の前に予め混合されるか、または血液産物の投与のすぐ前かもしくはすぐ後に（1週間まで）投与されるかのいずれかの赤血球および他の血液産物との同時投与を含む。それ故、本発明はまた、血液輸血産物を有するリポソームの使用を意図する。

【0190】

本明細書中に記載されるアプローチは、動脈壁に指向されるほかの治療薬（血管拡張薬、細胞接着分子と干渉する薬剤、抗炎症剤、サイトカインを改変する薬剤、抗酸化治療薬および動脈壁酵素のインヒビター（例えば、アセチルCoA：コレステロールアシルトランスフェラーゼ、リパーゼ、マイロペルオキシダーゼ、リポキシゲナーゼおよびホスホリパーゼ）を含む）と組み合わせて使用され得る。本明細書中におけるリポソームの使用は、これらの化合物、本明細書中に記載されるその他、および部分的に治療薬の各々との相乗効果を生じることが、意図される。なぜなら、リポソームは、これらの治療薬によって使用される機構と異なる機構によって作用するからである。

【0191】

種々の心血管薬はまた、本発明の方法において使用される。これらの薬剤としては、血液改変剤（blood modifier）、抗血液凝固薬、抗血小板剤、血栓崩壊剤、アドレナリン作用遮断薬（adrenergic blocker）、アドレナリン作用刺激薬、 / アドレナリン作用遮断薬、アンギオテンシン変換酵素（ACE）インヒビター（例えば、Quinapril（Accupril（登録商標）、Parke-Davis）、ラミプリル（Altace（登録商標）、Hoechst）、カプトプリル、ベナゼプリル（Lotensin（登録商標）、Novartis）、トランドラプリル（Mavik（登録商標）、Knoll）、ホシノプリル（Monopril（登録商標）、Bristol-Myers）、リジノプリル（Prinivil（登録商標）、M

erck)、モエキシプリル(Univasc(登録商標)、Schwarz)、エナラプリル(Vasotec(登録商標)錠剤、Merck)、エナプリルト(Vasotec(登録商標)、i.v.、Merck)、リジノプリル(Zestril(登録商標)、Zeneca)、その活性代謝産物、および/またはその誘導体が挙げられる。

【0192】

カルシウムチャネル遮断薬を伴ったACEインヒビターおよび利尿剤を伴ったACEインヒビターはまた、本発明と共に使用され得る。

【0193】

選択的AT-I型サブタイプアンギオテンシンIIレセプターアンタゴニストを含むアンギオテンシンIIレセプターアンタゴニストはまた、本発明と共に使用される(例えば、Candesartan cilexetil(Atacand(登録商標)、Astra)、Irbesartan(Avapro(登録商標)、Bristol-Myers SquibbまたはSanofi)、Losartan(Cozaar(登録商標)、Merck)、Valsartan(Diovan(登録商標)、Novartis)、利尿剤を伴ったアンギオテンシンIIレセプターアンタゴニスト、その活性代謝産物、および/またはその誘導体)。

【0194】

I~IV群の抗不整脈薬はまた、本発明において使用される、I群抗不整脈薬としては、例として以下が挙げられる: CardioquinTM(一般名は、キニジンである)、EthmozineTM、MexitilTM、NorpaceTM(一般名は、ジソピラミドである)、ProcambidTM(一般名は、プロカインアミドである)、QuniagluteTM、QuinidexTM、RythmolTM、TambocorTM、およびTonocardTM。II群抗不整脈薬としては、例として以下が挙げられる: BetapaceTM(一般名は、ソタロールである)、BreviblocTM(一般名は、エスモロールである)、InderalTM(一般名は、プロプラノロールである)、およびSectralTM(一般名はアセプトロールである)。III群抗不整脈薬としては、例として以

下が挙げられる：Betapace™、Cordarone™、Corvert™およびPacerone™。IV群抗不整脈薬としては、例として以下が挙げられる：Calan™（一般名は、ベラパミルである）およびCardizem™（一般名は、ジルチアゼムである）。本発明において使用される種々の抗不整脈薬としては、Adenocard（一般名は、アデノシンである）、Lanoxincaps™（一般名は、ジゴキシンである）、およびLanoxin™（一般名は、ジゴキシンである）が挙げられる。

【0195】

本発明において使用される抗脂血症剤（antilipidemic agent）は、胆汁酸分離物、Fibric Acid誘導体、HMG-CoAレダクターゼ阻害剤、およびニコチン酸を含む。

【0196】

本発明において使用される他の薬剤としては、アドレナリン作用遮断薬、利尿剤を伴うアドレナリン作用遮断薬、カルシウムチャンネル遮断薬、利尿剤、（例えば、メチロシン（炭酸脱水酵素インヒビター、組合せ（combination）利尿剤、ループ利尿薬、カリウム保持性利尿薬、ならびにサイアザイドおよび関連利尿剤）、高血圧緊急薬、筋肉収縮剤、種々の心血管薬（例えば、メチロシン（Demser™、Merck）、メカミルアミン（Inversine™、Merck）、フェントールアミン（Regitine™、Novartis）、Abciximab（Reopro™、Centocor & Lilly）ラウオルフィア誘導体および組合せ）、血管拡張薬、冠状血管拡張薬ならびに末梢血管拡張薬および組合せ、ならびに血管収縮薬が挙げられる。

【0197】

本明細書中に記載される本発明はまた、脈管機能不全の処置の方法を提供する。脈管機能不全としては、耐性血管の機能不全、心筋内小動脈の機能不全、コンダクタンス血管の機能不全、および心外膜冠状動脈の機能不全が挙げられるが、これらに限定されない。

【0198】

本明細書中で議論される種々のアンギナと等価状態（すなわち、標準的な狭心

症に加えた一過性心筋虚血の効果（例えば、胸骨下の不快；だるさ、圧迫感、しめつけ、息苦しさ（*smothering*）、または息詰まり（*choking*））としては、例として以下を含む：心筋層の機械的、生化学的、および電氣的機能の障害、正常な筋肉の弛緩および収縮の不全、一過性左心室不全（この標準的なサインは、呼吸の短さ、または運動耐性の減少である）、乳頭筋不全（僧帽弁逆流、心室収縮性の焦点障害（*focal disturbance*）を含み、例えば、分節性膨張またはジスキネジーを引き起こす）ならびに/または心筋ポンプ機能の非常に減少した効率、心筋細胞代謝、機能、および構造における広い範囲の異常性、脂肪酸を酸化できないこと、グルコースのラクテートへの変換、（細胞内pHおよび高エネルギーホスフェート（アデノシントリホスフェート（ATP）、およびクレアチンホスフェート）の心筋貯蔵の低下を生じる）、欠陥細胞膜機能、（カリウム漏出および筋細胞によるナトリウムの取込みを生じる）、特徴的な心電図変化（例えば、T波の反転により、そして後にST部分の置き換えにより証明されるような、再分極異常性）、電氣的不安定性（これは、心室性頻拍または心室細動を引き起こし得る）、虚血誘導性悪性心室不整脈の結果としての突然死、他の領域（例えば、左肩、両腕、前腕および手の尺骨表面、背部、頸部、顎、歯、および/または心窩部）に放散される疼痛。

【0199】

本発明はまた、血管解剖学的構造に影響する状態の処置における有益な効果を有する。血管解剖学的構造としては、例として以下が挙げられる：脈管の脈管、後毛細管小静脈、小静脈、小動脈、毛細管、海綿静脈洞（*cavernous sinus*）、動脈、静脈、通常内皮の内側を覆う任意の脈管構造、ならびに/または通常内皮の内側を覆うが脱栄養されている（*denuded*）任意の脈管構造。

【0200】

本明細書中に開示される本発明はまた、広い範囲のコレステロール代謝、脂質代謝、および/または老化に関する状態の処置を含むと理解される。さらなる例示的な状態としては、癌および癌に対する素因（例えば、結腸癌（これはまた、コレステロール合成阻害剤であるアスピリンまたは関連化合物で予防され得る）

、および乳癌)；脱毛症(男性型禿頭症を含む)；皮膚のしわ(しわの予防および逆転を含む)；白髪(早発白髪化(graying)を含む)；化学的毒性または放射毒性(例えば、酸化産物のような親油性毒素の除去に由来する)；ならびに、促進された老化の徴候または症状に関連する状態が挙げられる。処置を、ヒトおよび非ヒト動物(ペットを含む)に適用する。

【0201】

本明細書中に開示される処置、組成物、および方法はまた、タンジアー病および関連する状態の処置において有用である。タンジアー病(拡大し、そして黄色になった扁桃および脾臓を伴う、異常に低いレベルの血漿高密度リポタンパク質コレステロールを患者が有する、遺伝病)は、タンパク質ATP-カセット結合タンパク質1(ABC1)をコードする(encode)遺伝子における欠損に関連するということが近年発見された。ABC1は、細胞内コレステロールに結合し、そしてそのコレステロールを、コレステロールを細胞外アクセプターに輸送する原因となる細胞膜レセプターに輸送する。ABC1欠損を有する細胞は、余剰の細胞外アクセプターが存在しても、コレステロールを放出することができない。対照的に、過剰レベルのABC1を有する細胞は、多くのコレステロールを細胞外アクセプターに対して放出するので、細胞はコレステロール欠乏で死滅する。

【0202】

ABC1は、逆コレステロール輸送プロセスの第1段階において役割を果たすことが同定された最初の細胞内コレステロール輸送タンパク質である。このタンパク質の同定は、このプロセスを刺激し、そしてコレステロールの細胞膜への細胞内移動を増強する薬物の同定の機会を生み出した。この時点で、細胞が最終的にコレステロールを放出し得る速度は、十分な細胞外アクセプター分子の存在に依存する。本発明はまた、コレステロールの細胞膜への細胞内移動を増強する薬物と組合せて有用である。

【0203】

HDL、および特にHDL1は、細胞性コレステロールのアクセプターとして作用することが公知である。しかし、HDLは、コレステロールを獲得する限ら

れた容量を有し、そしてコレステロールレザバーまたはシンクとしてはたらくことができる他の分子の存在下で、コレステロールのより効率的なアクセプターとして作用する。細胞のコレステロールの流出を増強する特に効率的で共同する方法は、本明細書に記載されるHDLと空のリン脂質リポソームとの組み合わせによる。この状況において、小さなHDL分子は、細胞膜からコレステロールを往復で輸送し (shuttle)、そしてコレステロールをリポソームへ輸送する。リポソームは、かなり大きく、そしてコレステロールについてより大きな容量を有する。次いでHDLは、より多くの細胞コレステロールに自由に結合し、そしてシャトル機能を継続する。この状況において、限られた量のHDLリポタンパク質は、さらに多くの細胞コレステロールの除去を促進し得る。

【0204】

ABC1における欠損が、コレステロールを細胞膜に輸送する細胞の能力を制限する場合、細胞外アクセプターの容量は、コレステロール流出プロセスにおける速度制限段階では決してない。しかし、ABC1または他の細胞内コレステロール輸送タンパク質によるコレステロールの細胞内輸送を刺激する薬学的薬剤存在下では、全ての移動されるコレステロールを受け入れるHDLの能力は、逆コレステロール輸送プロセスにおける制限因子になり得る。

【0205】

従って、本発明は、ベシクルが肝窓 (hepatic fenestrae) (これは約100nmの開口である) を通るのを排除するために充分大きな平均直径を有する空のリン脂質ベシクルの、ABC1の機能を刺激する薬物または同様の細胞内コレステロール輸送タンパク質と組合せた、静脈内投与を要する。当然のことながら、本明細書中に記載される他のリポソーム組成物もまた使用され得る。組合せた結果、細胞外コレステロールアクセプター粒子は、細胞コレステロールについての増強された容量を有する。リン脂質リポソームアクセプター粒子のサイズは、肝実質による流出したコレステロールの取込みを防ぐ。これにより、コレステロールが肝コレステロールホメオスタシスと干渉するのを避ける。代わりにこれらの粒子は、Kupffer細胞により一掃され、ここでコレステロールは、胆汁中で最終的に除去される。

【0206】

本発明は、非常に低いレベルのHDLコレステロールを生じる任意の数の遺伝的状态を罹患する患者の処置において特に有用である。これらの状態の多くは、加速性アテローム性動脈硬化症および心臓疾患に患者をかかりやすくする。

【0207】

本発明のわずかな好ましい実施形態が本明細書中の上記で記載されたが、実施形態が本発明の中心となる精神および範囲から逸脱することなく、改変および変更され得ることを、当業者は理解する。従って、本明細書中上記の好ましい実施形態は、全ての点において例示的であり限定的でないといみなされるべきであり、発明の範囲は、上述の記載ではなく、添付の特許請求の範囲により示され、そして特許請求の範囲の等価状態の意味および範囲内に入るすべての変形は、本明細書中に包含されることを意図される。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、リポタンパク質およびリポソームの側断面である。

【図2】

図2は、CETP、HMG-CoAR、LDLレセプター、および7 α ヒドロキシラーゼ；ならびにLDL ChEについての肝臓mRNA濃度(pg/pg)の表を例示する。

【図3】

図3は、1つの改変における経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した血漿LDLコレステロールエステル濃度を例示する。

【図4】

図4は、1つの改変における経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した血漿LDLコレステロールエステル濃度を例示する。

【図5】

図5は、経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した肝臓におけるLDLレセプターmRNAレベルをを例示する。

【図6】

図6は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、肝臓におけるHMG-CoA還元酵素mRNAレベルを例示する。

【図7】

図7は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、肝臓におけるコレステロールエステル転移タンパク質mRNAレベルを例示する。

【図8】

図8は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、肝臓における7-ヒドロキシラーゼmRNAレベルを例示する。

【図9】

図9は、LUVおよび動脈硬化に関する重要な点を例示する。

【図10】

図10は、経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、血漿LDLエステル化されていないコレステロール濃度を例示する。

【図11】

図11は、経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、血漿LDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図12】

図12は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、LDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図13】

図13は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、血漿VLDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図14】

図14は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、血漿HDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図15】

図15は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、血漿HDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図16】

図16は、コントロールマウスまたはa p o E ノックアウトマウスへのL U V注射の後のコレステロール移動の時間経過を例示する。

【図17】

図17は、コントロールマウスまたはa p o E ノックアウトマウスにおけるL U Vクリアランスの時間経過を例示する。

【図18】

図18は、本発明の組成物および方法がヒトにおいて有効であることを例示する。

【図19】

図19は、本発明の改良された血液透析システムの透視図および血液透析の改良された方法を示す。

【図20】

図20は、改良された腹腔透析システム2000の透視図および腹腔透析の方法の透視図を例示する。

【図21】

図21は、アッセイ手段を伴った改良された腹腔透析システムの改変2100および使用された液体の腹腔透析および分析の方法を例示する。

【図22】

図22は、改良された心臓カテーテル化および/または血管形成システム2200の透視図ならびに心臓カテーテル化および/または血管形成の方法を例示する。

【図23】

図23は、改良された心臓カテーテル化および/または血管形成システムの改変2300の透視図ならびに心臓カテーテル化および/または血管形成の方法を例示する。

【図24】

図24は、L U V、S U Vまたは生理食塩水の注射に応答した、肝臓脂肪含量のグラフを例示する。

【図25】

図25は、NZWウサギ中へのSUVまたはLUV(300mg/kg)の反復注射後の、血漿中遊離コレステロール濃度を例示する。

【図26】

図26は、NZWウサギ中へのSUVまたはLUV(300mg/kg)の反復注射後の、血漿コレステロールエステル濃度を例示する。

【図27】

図27は、SUVの反復注射の後の血漿成分における変化を例示する。

【図28】

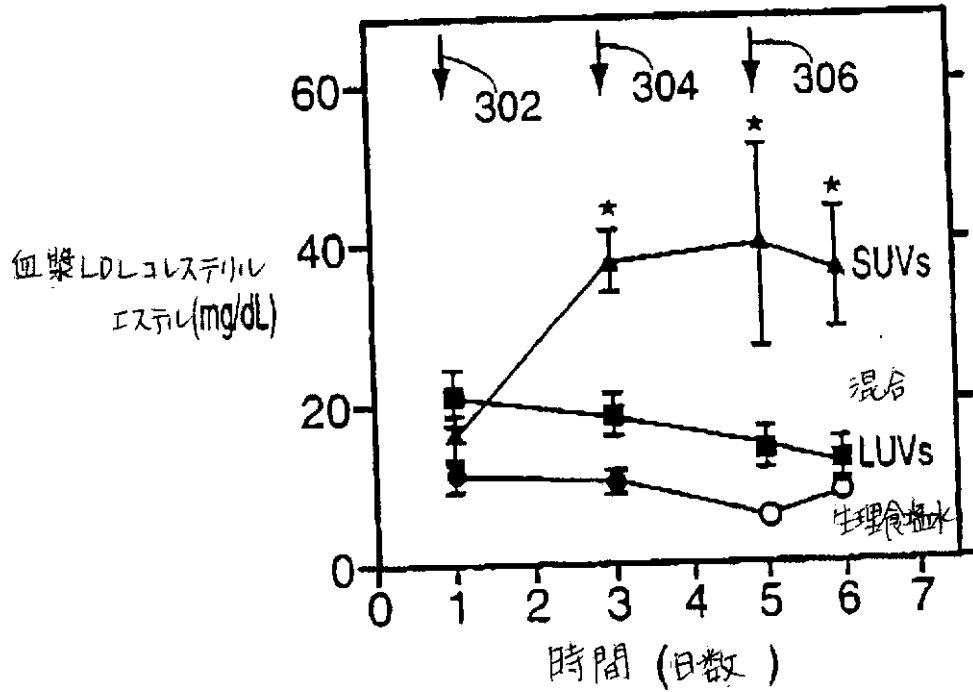
図28は、LUV、SUVまたは生理食塩水の、反復される注射の後の、全血漿のアガロースゲル電気泳動図を例示する。

【 2 】

LUV-SUV #2		肝臓の mRNA 含有量 (pg/ug)							
試料	処理	CETP	HMG-CoA R	LDL R	7 α -cholesterase	LDL ChE, 1日	LDL ChE, 3日	LDL ChE, 5日	LDL ChE, 6日
1	(A) PBS	2.87	0.54	4.27	0.56	7.4	7.1	5.2	6.5
2	(A) PBS	5.63	0.55	5.38	0.39	18.1	11.8	6.2	9.7
3	(A) PBS	5.34	0.39	8.93	0.74	8.5	8.9	4.4	8.7
4	(A) PBS	5.04	0.55	5.49	0.82	14.1	14.1	6.8	8.6
	平均	4.72	0.51	6.02	0.83	11.53	10.48	6.15	8.38
	標準誤差	0.63	0.04	1.01	0.10	2.12	1.55	0.98	0.67
5	(B) LUV	3.15	0.58	7.23	0.63	25.3	14.9	13.6	10.5
6	(B) LUV	3.02	0.47	8.15	0.58	14.0	15.9	10.8	8.2
7	(B) LUV	2.52	0.58	4.81	0.83	28.3	22.5	21.3	22.4
8	(B) LUV	2.68	0.58	7.37	0.94	17.5	21.8	13.4	9.5
	平均	2.94	0.55	8.69	0.75	21.28	16.78	14.78	12.85
	標準誤差	0.15	0.03	0.72	0.08	3.33	1.96	2.27	3.28
	1対 PBS	2.910	0.939	0.703	0.919	2.473	3.318	3.596	1.275
13	SUV + LUV	3.18	0.50	5.28	0.51	11.9	34.0	20.1	22.2
10	(C) SUV	5.64	0.38	3.98	0.30	21.1	43.3	15.3	46.3
11	(C) SUV	3.39	0.29	3.67	0.42	10.0	36.3	59.6	42.7
12	(C) SUV	3.00	0.13	3.34	0.63	17.8	31.8	45.5	22.3
	平均 w/o #13	4.01	0.27	3.66	0.45	16.30	37.80	40.13	37.10
	SEM w/o #13	0.02	0.07	0.18	0.10	3.28	3.97	13.07	7.17
	1対 PBS	0.886	2.903	2.295	1.304	1.220	6.414	2.594	3.628
	1対 LUV	1.397	3.660	4.328	2.301	1.963	4.296	1.912	2.98
	平均 w/ #13	3.80	0.33	4.07	0.47	15.20	38.86	35.13	33.38
	SEM w/ #13	0.62	0.08	0.42	0.07	2.57	2.96	10.51	8.48
	1対 PBS	1.041	2.091	1.781	1.369	1.103	7.890	2.748	3.848
	1対 LUV	1.512	2.763	3.369	2.554	1.445	8.085	1.893	2.856

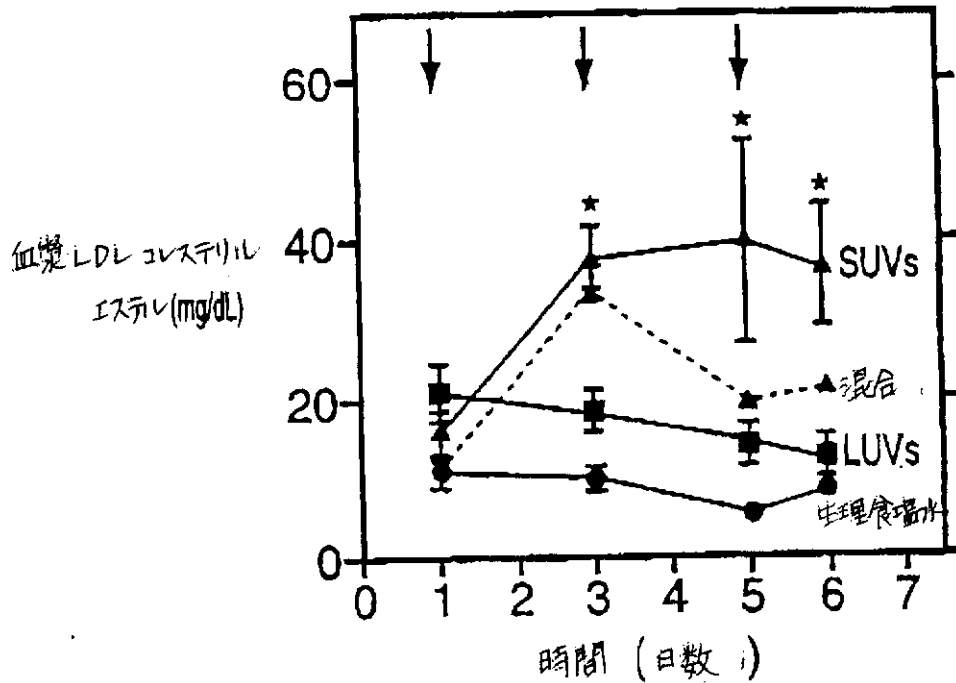
【図3】

LUV, SUV 系は生理食塩水の注入に対する応答における血漿コレステリルエステル濃度



【図4】

LUV, SUVまたは生理食塩水の注入に対する応答における血漿LDLコレステロール濃度

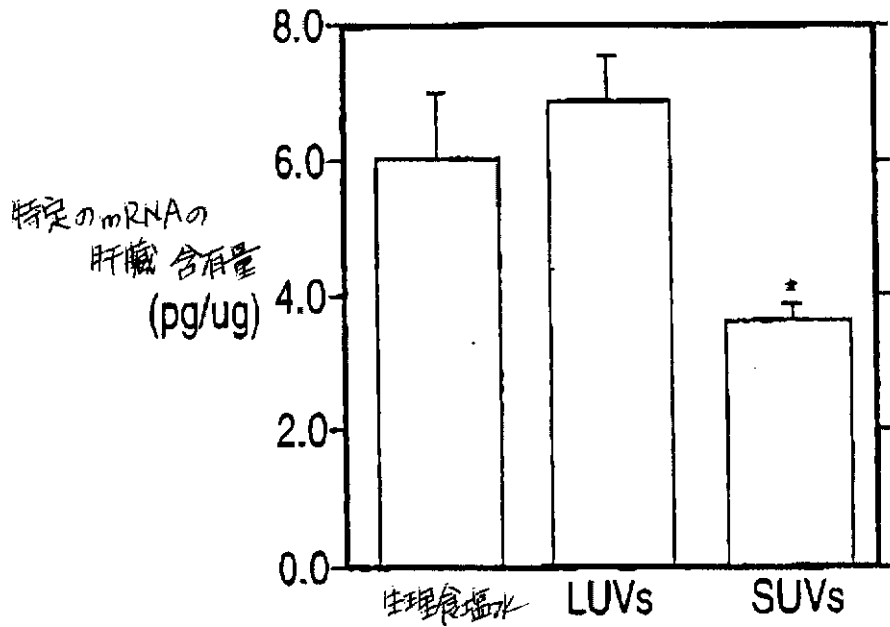


「混合」は、1,3おび5日目のSUVだけでなく、3日目にLUVの投与も受けた。

全ての動物は、1,3おび5日目(矢印で示す)に単回注入を受けた。

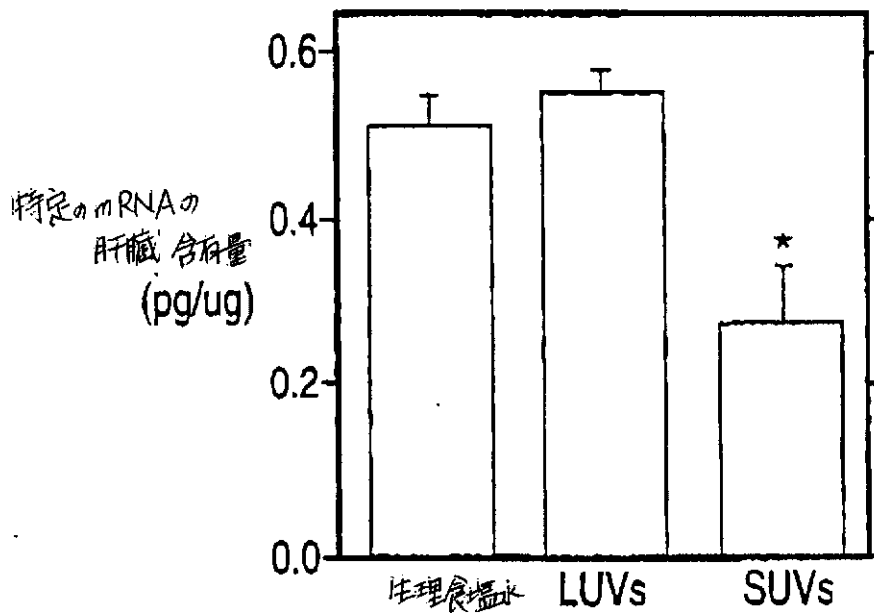
【図5】

LUV, SUV 対は生理食塩水の注入に対する応答における
肝臓中の LDLレセプター-mRNA レベル



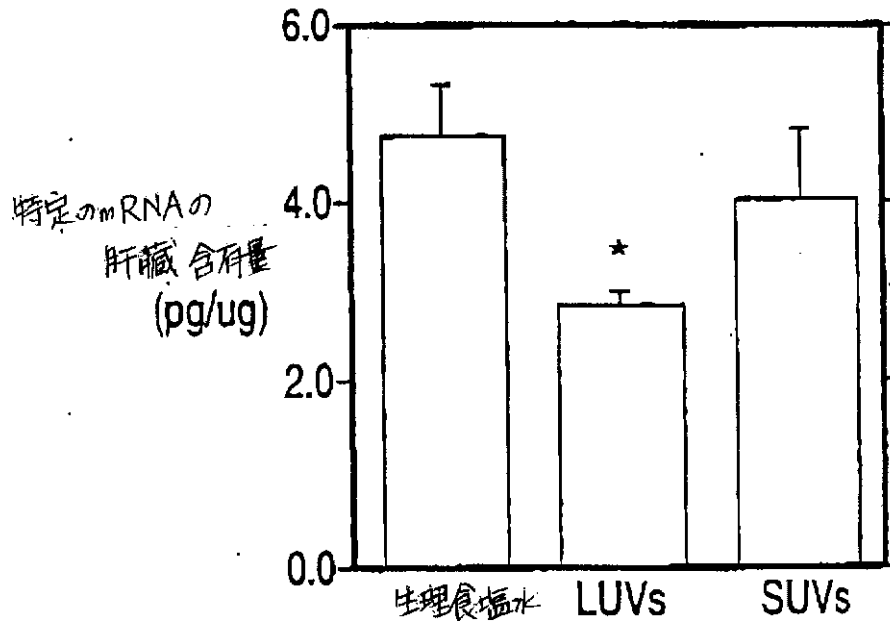
【図6】

LUV, SUV 対は生理食塩水の注入に対する応答における
肝臓中の LDLレセプター-mRNA レベル



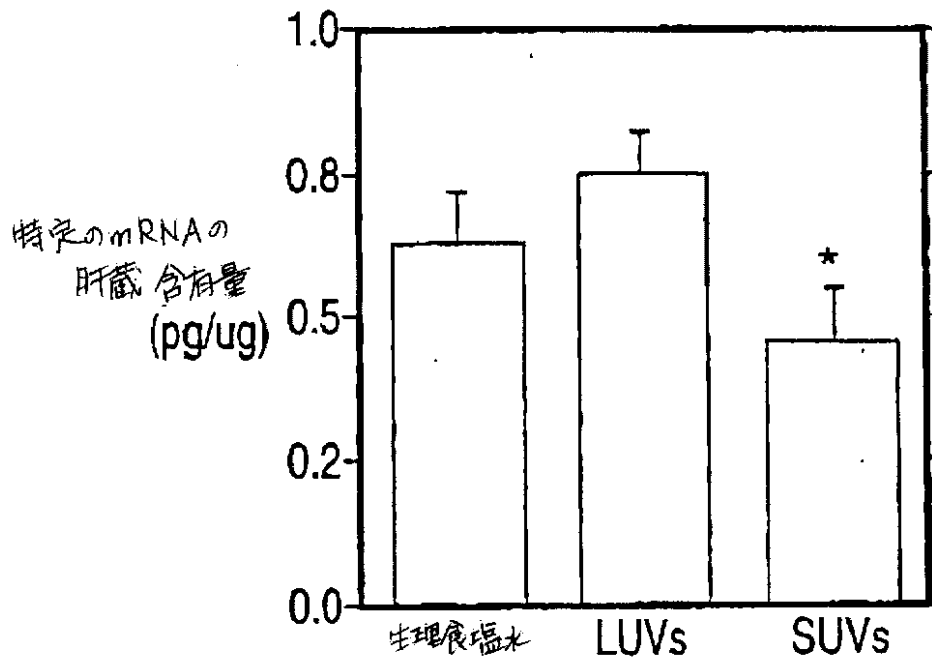
【図7】

LUV, SUV 系は生理食塩水の注入に対する応答における
肝臓中のコレステリルエステル転写物タンパク質 mRNA レベル



【図8】

LUV, SUVまたは生理食塩水の注入に対する応答における
肝臓中の η - α ヒドロキシラーゼ mRNA レベル



* 目的のヤラムを示す。

【図9】

LUVおよびアテローム性動脈硬化症
についてのキーポイント

1) 実際：製造に対して直接的である

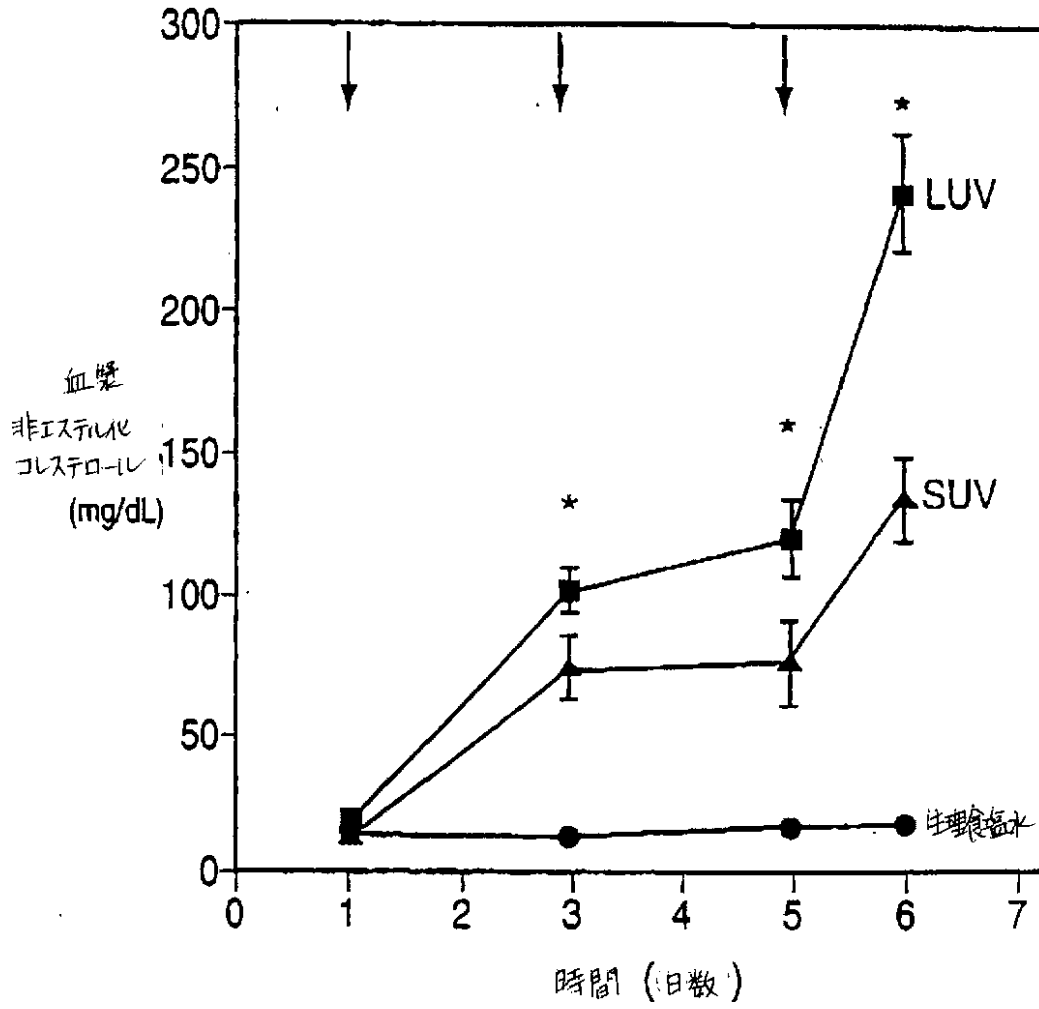
高用量で非毒性である

2) 機構：リポソームは、インピボで
コレステロイル輸送の逆転を促進する

LUVは、最適な調製物である

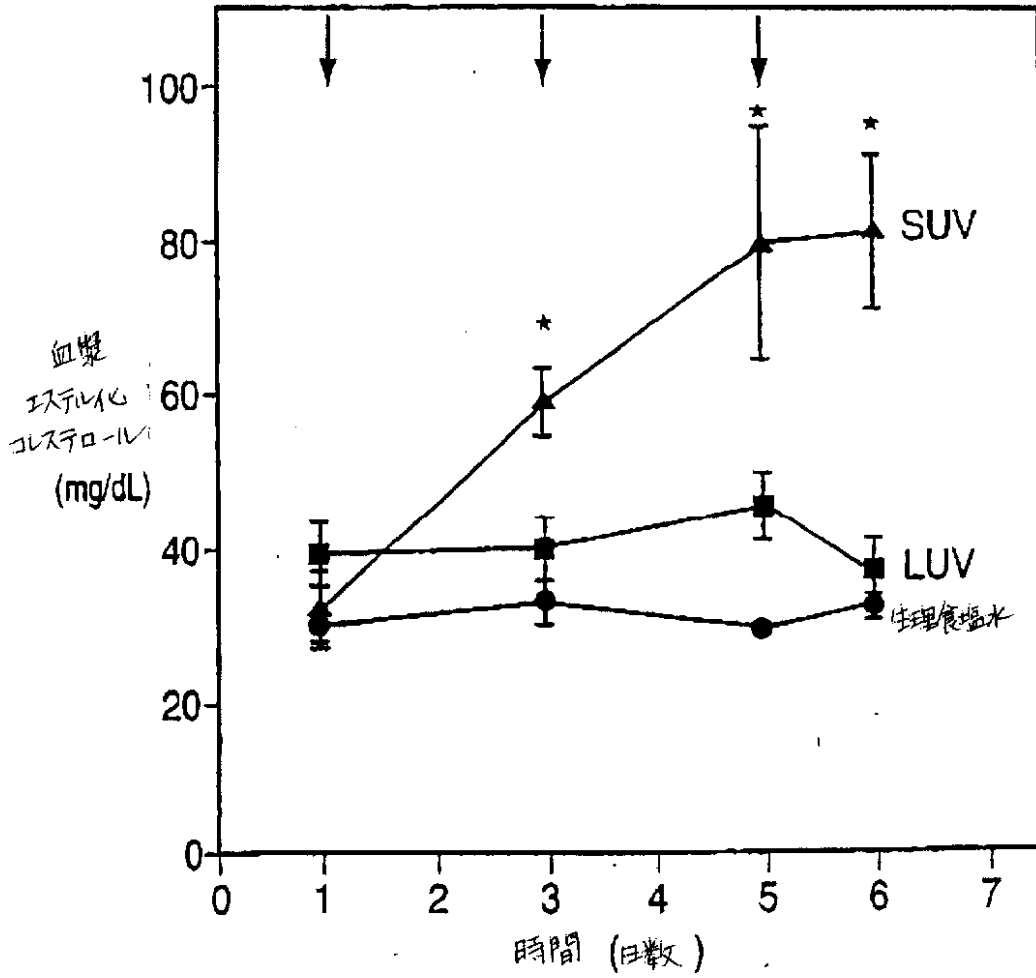
【図10】

LUV, SUV 対は生理食塩水の注入に對する応答における
血漿非エステル化コレステロール濃度



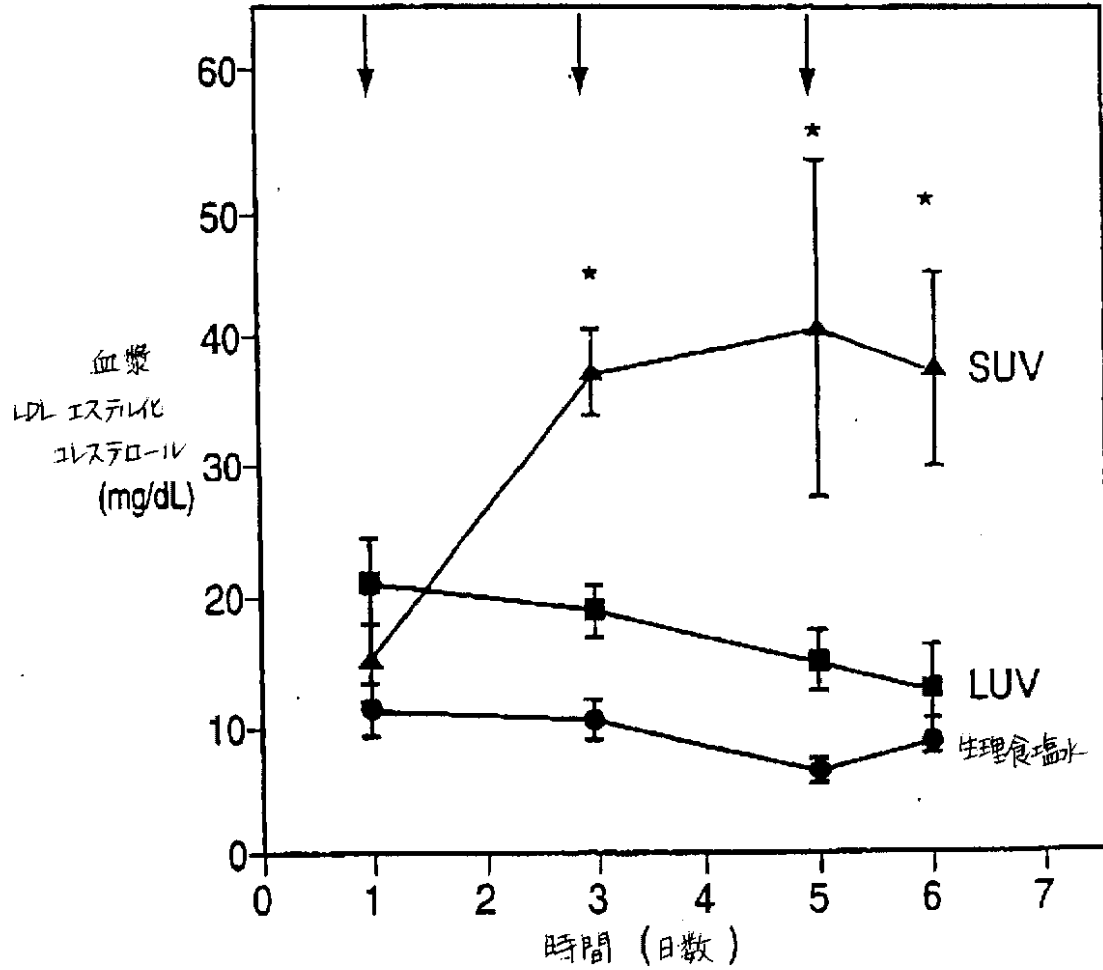
【図11】

LUV, SUV に対する生理食塩水の注入に対する応答
における血漿エステル化コレステロール濃度



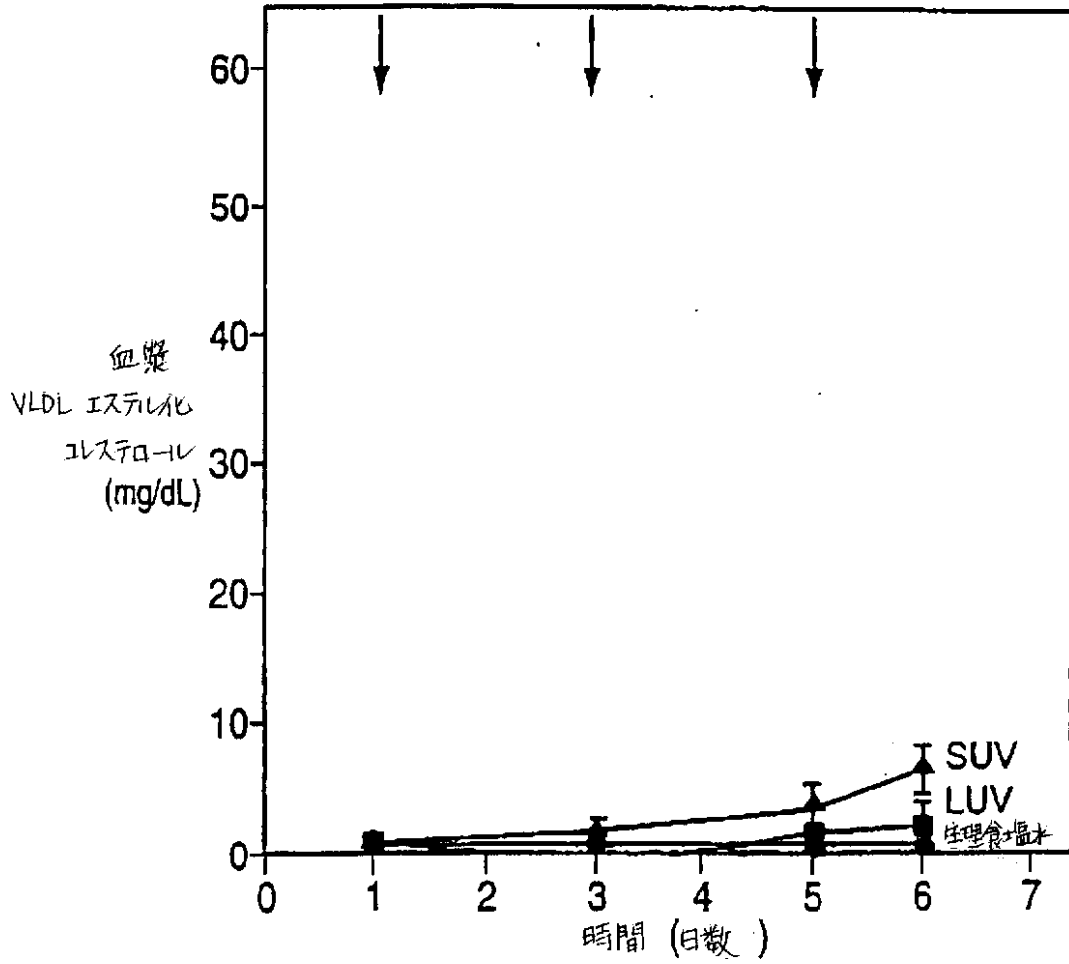
【図12】

LUV, SUV 及び生理食塩水の注入に対する
応答における LDL エステル化コレステロール濃度



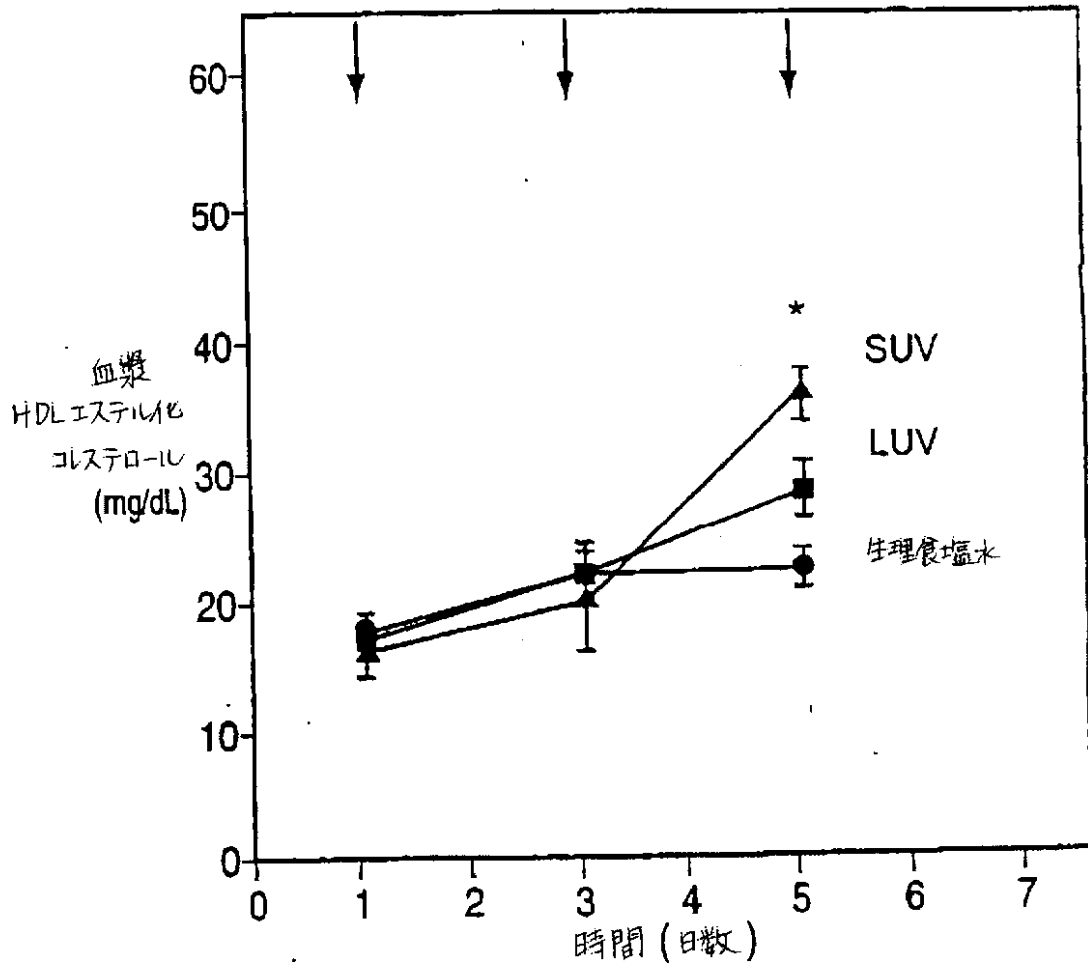
【図13】

LUV, SUV 系は生理食塩水の注入に対する応答における VLDL イステロール濃度



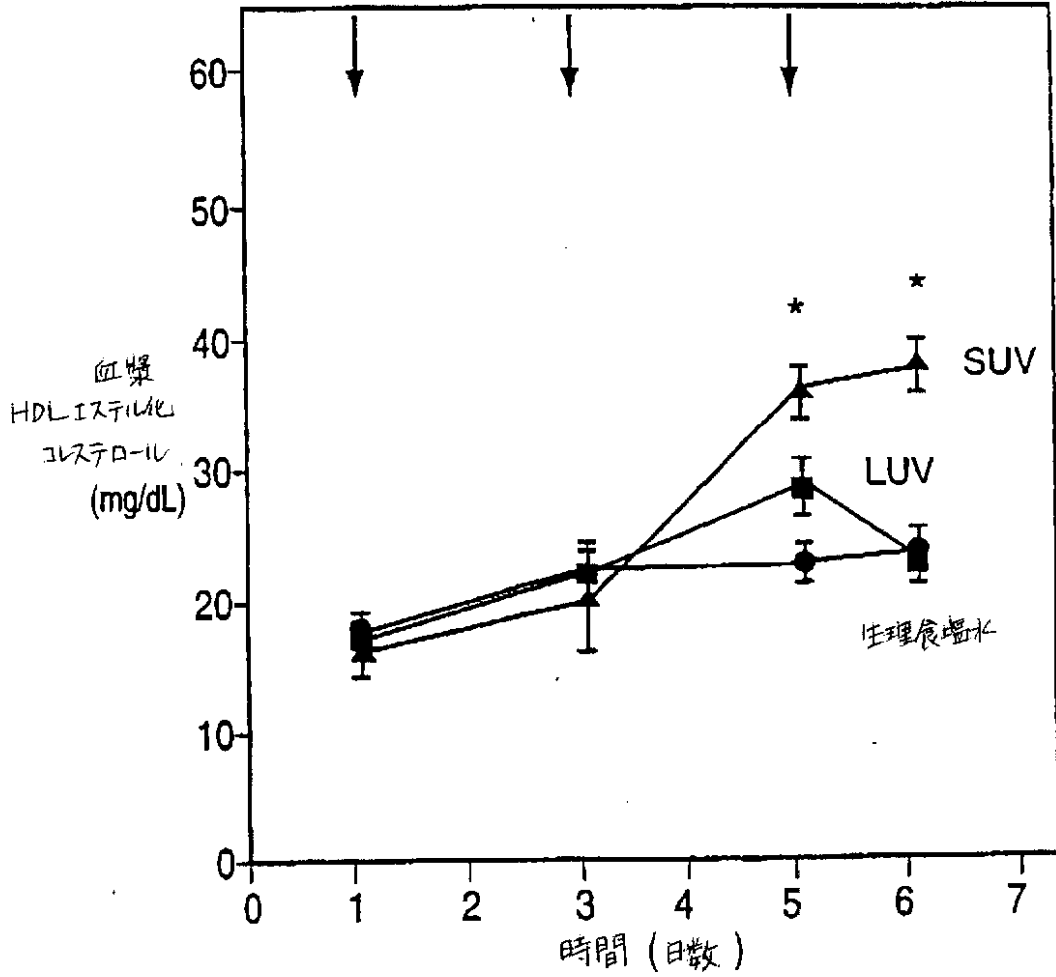
【図14】

LUV, SUV 及び生理食塩水の注入に対する応答
における HDL エステル化 コレステロール 濃度



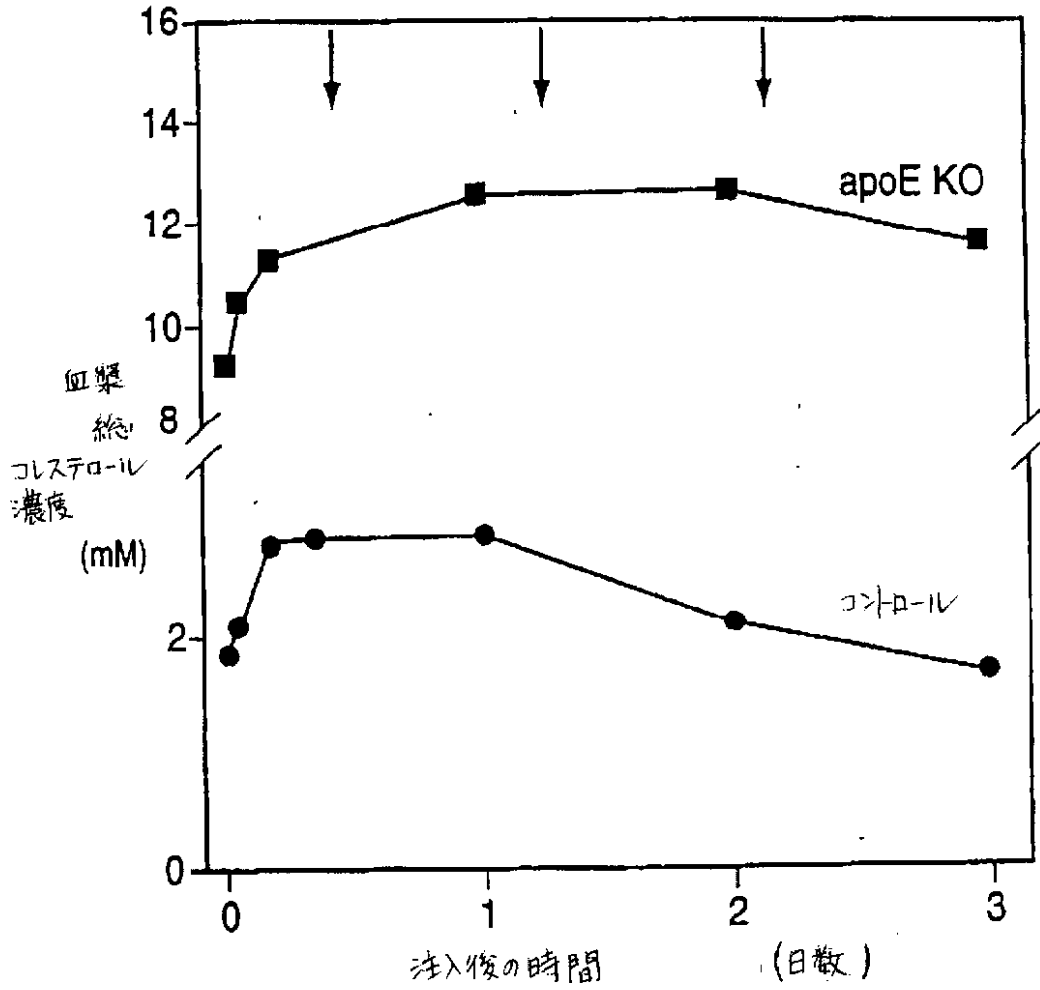
【図15】

LUV, SUV 群は生理食塩水の注入に対する応答
における HDL エステル化コレステロール濃度

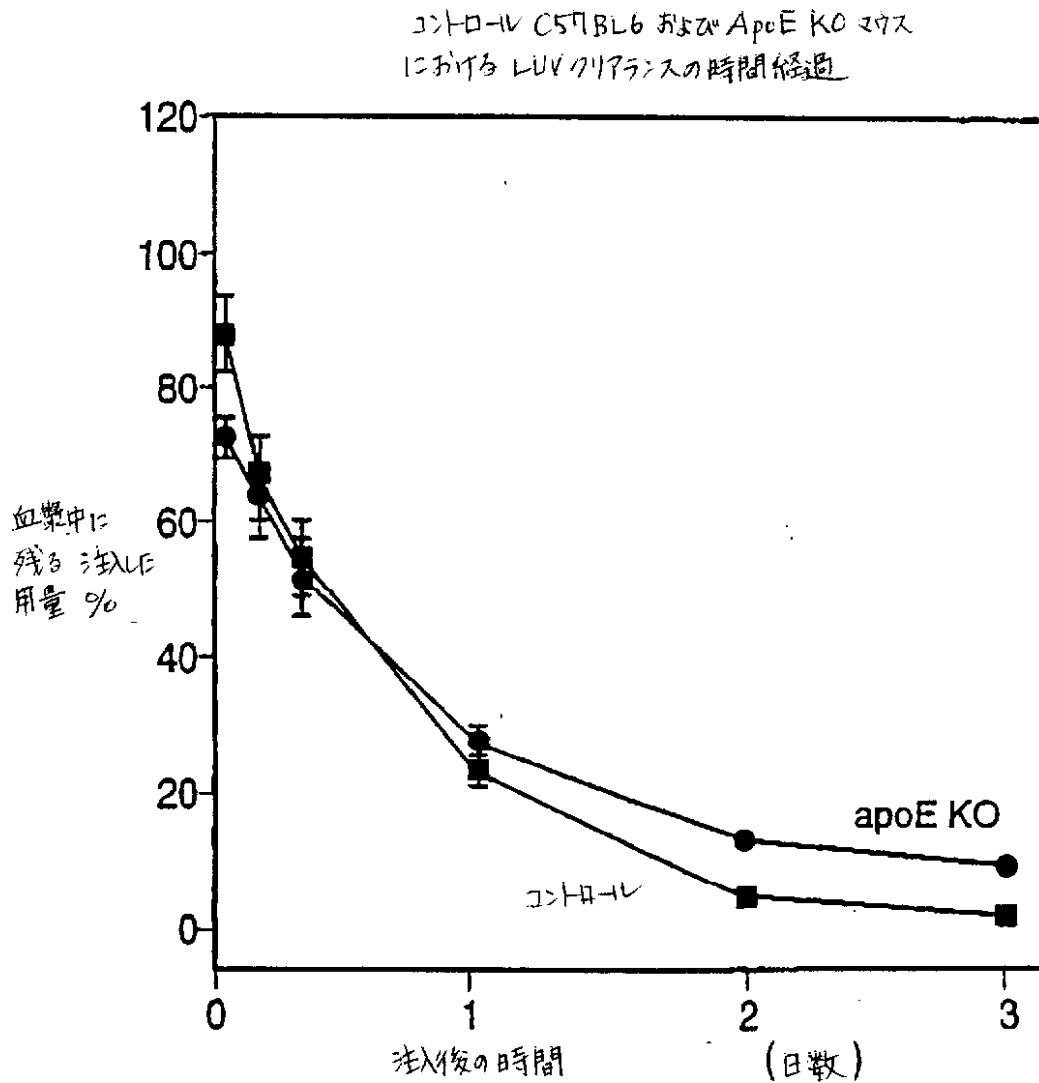


【図16】

コントロール対比 apoE KO マウスへの LUV 注入後の
コレステロールの流動化の時間経過



【図17】



【図18】

・人における有効性

・治療標的

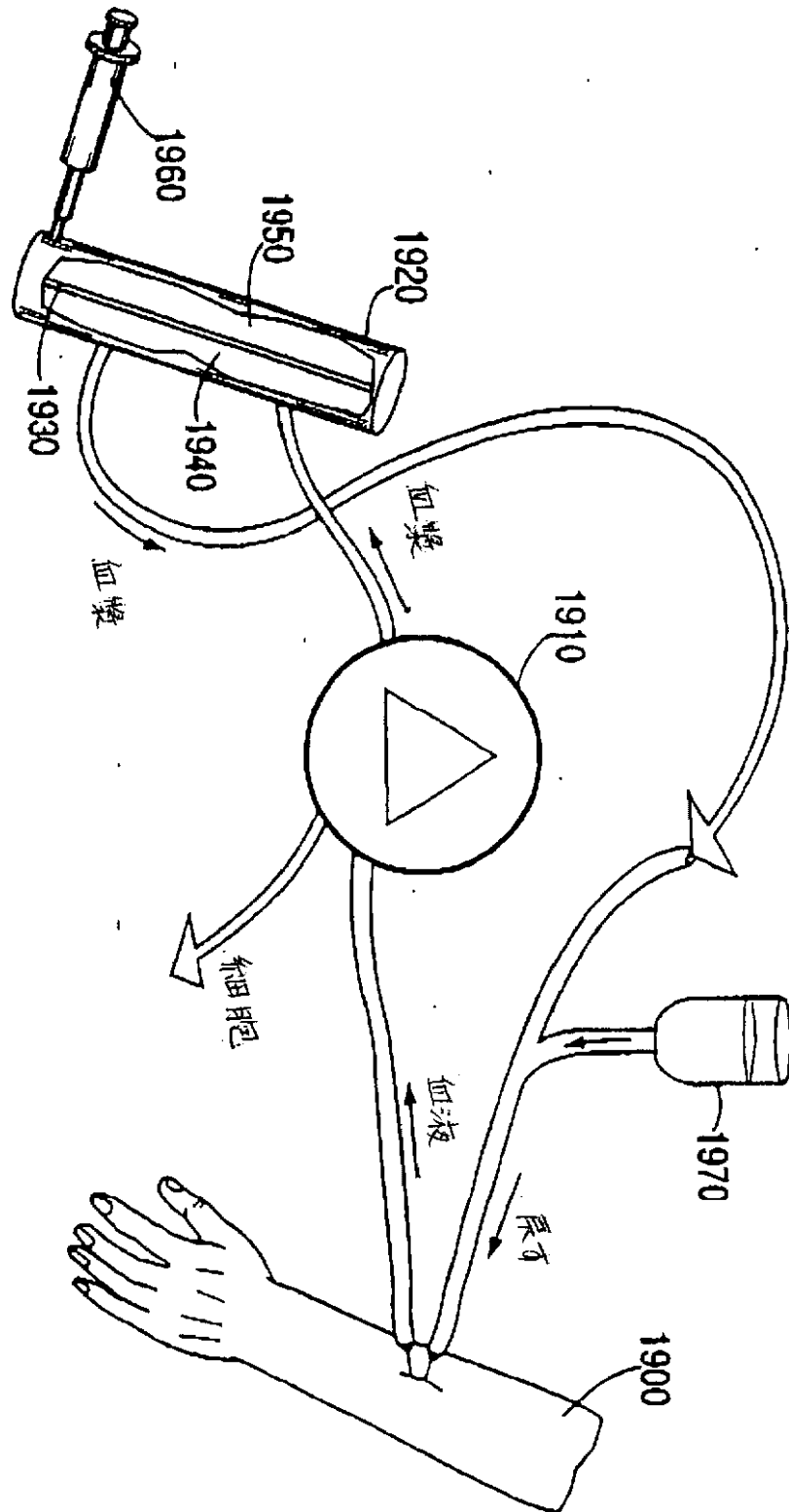
脂質豊富な、破裂しやすいプラーク

重篤な狭窄症

血管形成術後の再狭窄

一般のアテローム性動脈硬化症

【圖19】



【図20】

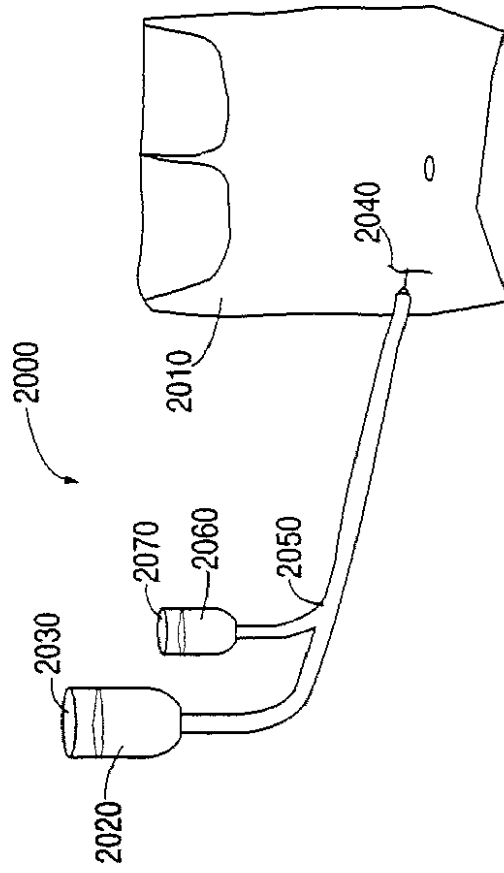


FIG. 20

【図21】

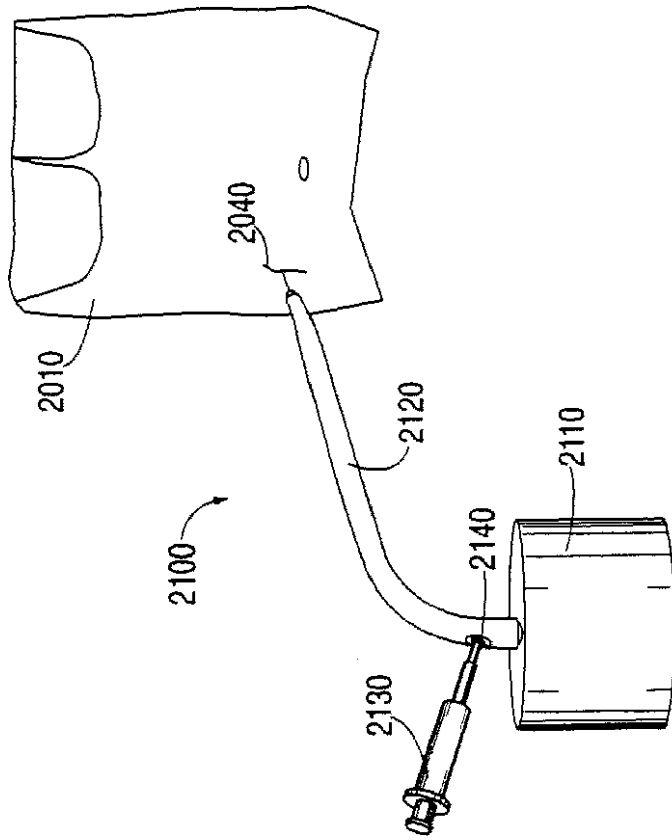


FIG. 21

【図22】

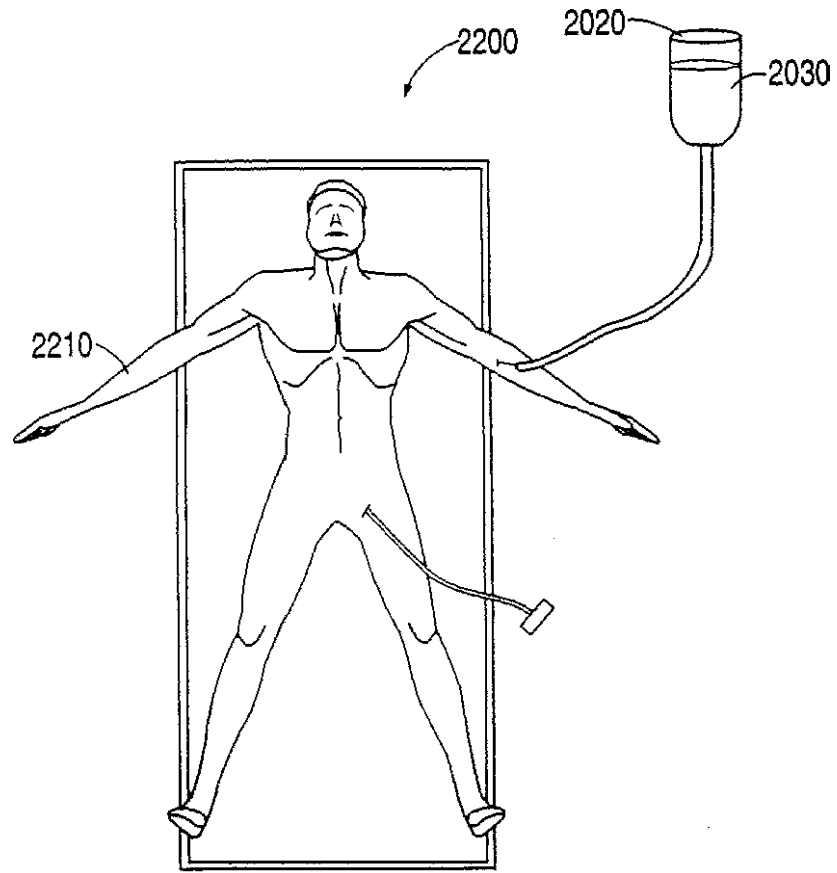
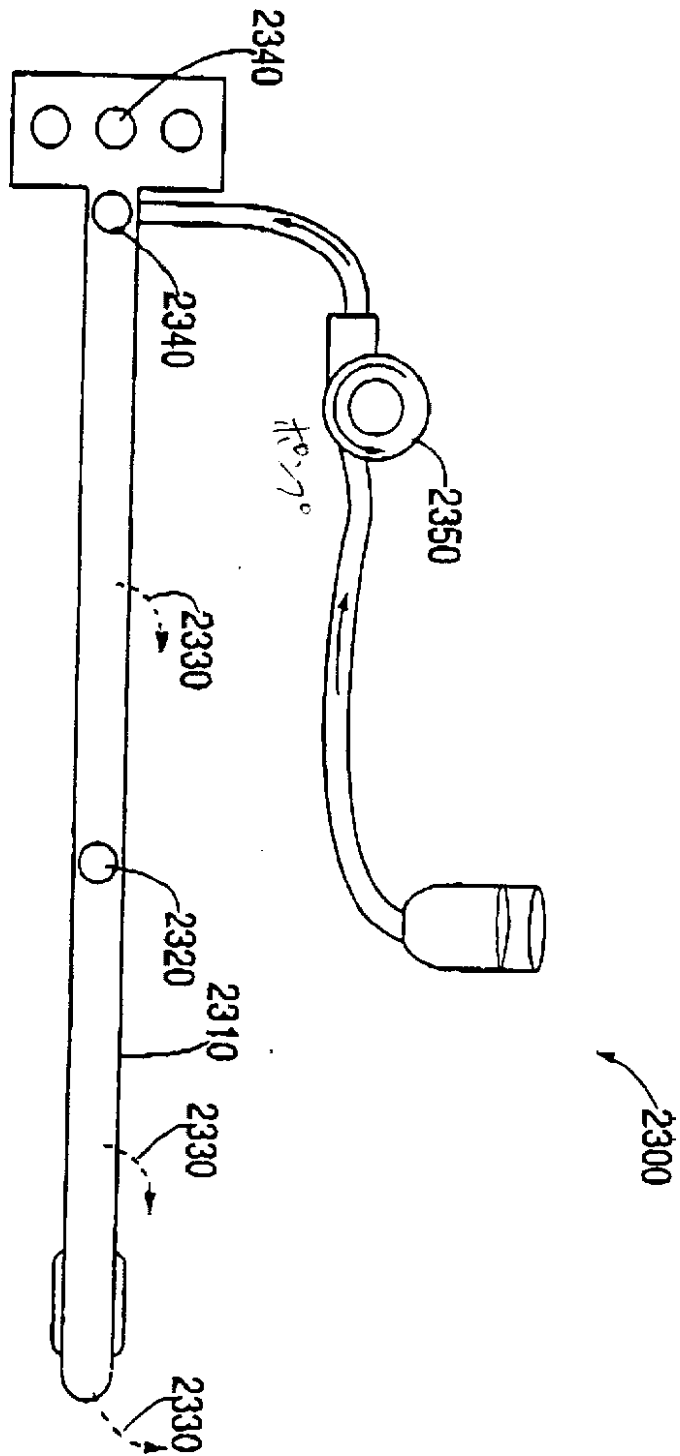
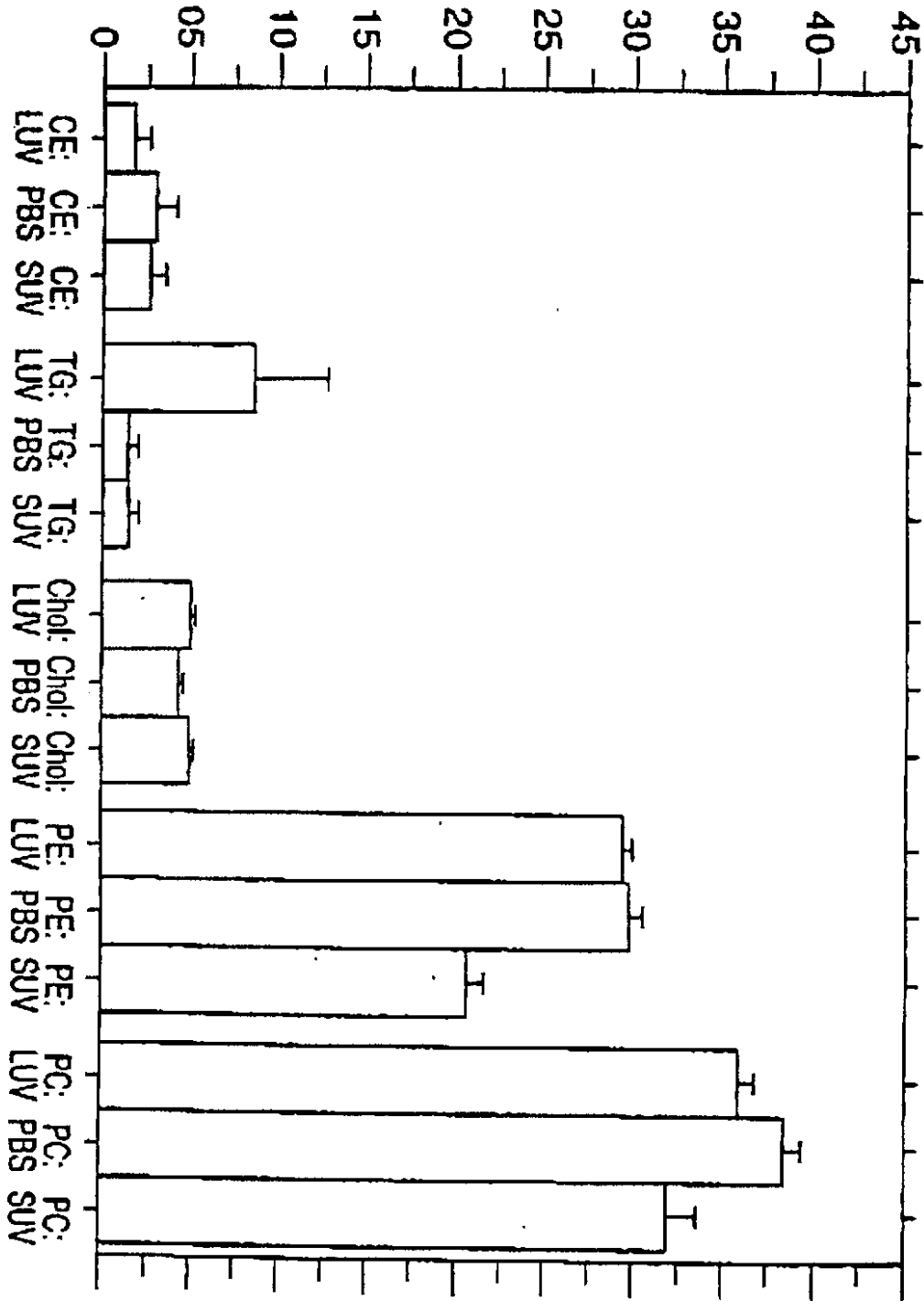


FIG. 22

【図23】

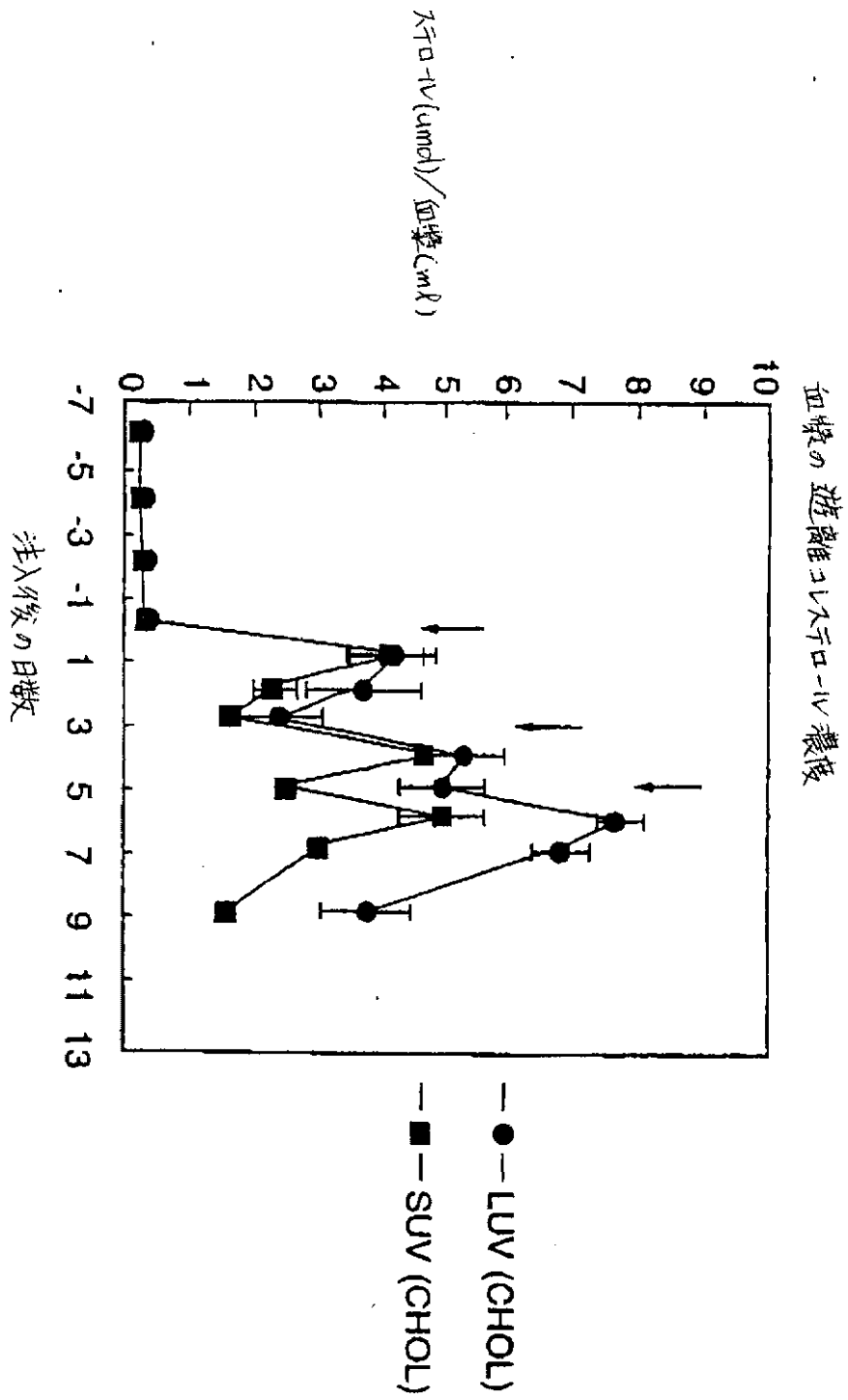


LUV, SUVまたは生理食塩水の注入に対する心臓における肝臓の脂質含有量

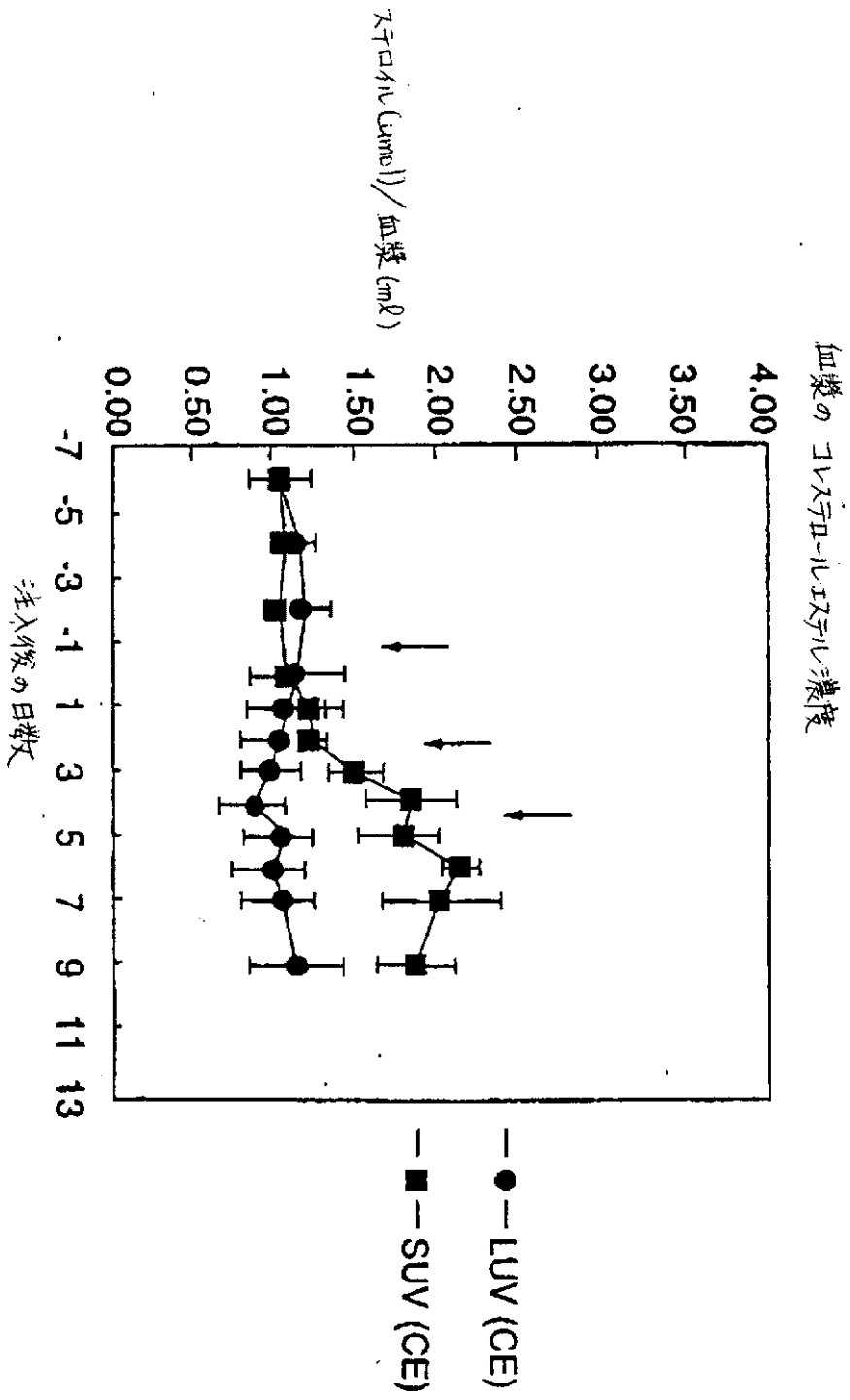


【図24】

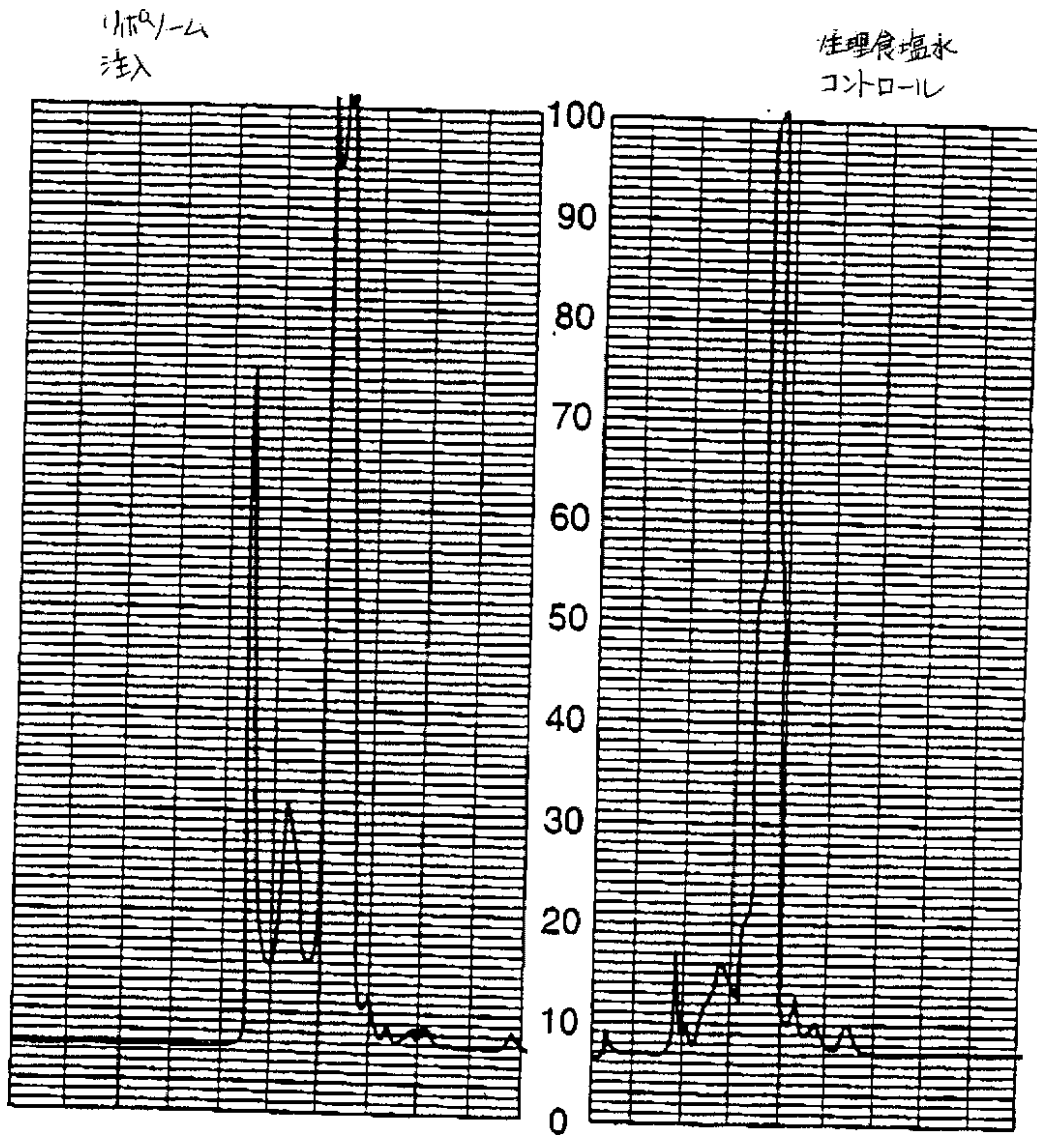
【図25】



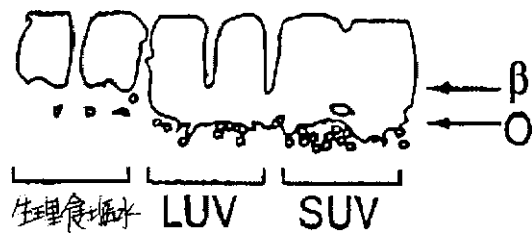
【図26】



【図27】



【図28】



【手続補正書】**【提出日】**平成14年5月20日(2002.5.20)**【手続補正1】****【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**全文**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【発明の名称】** アンギナおよび/またはアンギナ等価状態を処置する方法、ならびにそれに関連する薬学的組成物およびキット**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 アンギナおよび/もしくはアンギナ等価状態または跛行の処置における使用のための組成物であって、該組成物は、処置期間に被験体に与えられるリン脂質を含む治療有効量のリポソームを含む、組成物。

【請求項2】 前記アンギナが、安定狭心症、不安定狭心症および異型狭心症からなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】 前記アンギナが狭心症である、請求項1に記載の組成物。

【請求項4】 前記リポソームが、肝臓における肝内層の内皮層洞様毛細血管の穿孔よりも大きなサイズおよび形状のラージリポソーム、血漿LDLの濃度を実質的に上昇しないラージリポソーム、および血漿アテローム発生リポタンパク質の濃度を実質的に上昇しないラージリポソームからなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項5】 前記治療有効量が、1用量につき、体重1kg当たり約10mg～約1600mgの範囲のリン脂質である、請求項1に記載の組成物。

【請求項6】 前記リポソームが、単層リポソーム、少層リポソームおよび多層リポソームからなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項7】 前記リポソームが、約50nmより大きい平均直径を有するリポソーム、約80nmより大きい平均直径を有するリポソーム、約100nmより大きい平均直径を有するリポソーム、約100nm～約150nmの範囲の平均直径を有するリポソーム、約150nm～約200nmの範囲の平均直径を

有するリポソーム、約200nmと約300nmとの間の範囲の平均直径を有するリポソーム、約250nm~400nmの範囲の平均直径を有するリポソーム、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項8】 請求項1に記載の組成物を備えるキットであって、該キットは、前記リポソーム以外の、有効量の抗アンギナ薬をさらに含む、キット。

【請求項9】 前記抗アンギナ薬が、ニトレート、遮断薬、カルシウムチャンネルアンタゴニスト、冠動脈血管拡張薬、脂質低減薬、後負荷還元剤、強心薬、前負荷還元剤およびアヘン剤からなる群より選択される、請求項8に記載のキット。

【請求項10】 前記ニトレートが、ニトログリセリン、舌下に投与されるニトログリセリン、長期作用ニトレート、舌下内のニトレート調製物、口腔内ニトレート調製物、経口ニトレート調製物、スプレーニトレート調製物、経口ニトログリセリンスプレー、イソソルビドジニトレート調製物、イソソルビド-5-モノニトレート調製物、非舌下ニトレート調製物、イソソルビド-5-モノニトレートの徐放調製物、局所的なニトログリセリン、ニトログリセリン軟膏、ニトログリセリン含有経皮パッチ、およびニトログリセリンが含浸されたシリコーンゲルまたはポリマーマトリックスからなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項11】 前記遮断薬が、非選択的遮断薬、プロプラノロール、ナドロール、ペンブトロール、ピンドロール、ソタロール、チモロール、カルテオロール、 β_1 レセプターおよび β_2 レセプターの両方を阻害する薬物、心選択性遮断薬、アセプトロール、アテノロール、ベタキソロール、ビソプロロール、エスモロール、メトプロロール、および β_1 レセプターを遮断するが β_2 レセプターに対してより少ない影響を有する薬物からなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項12】 前記カルシウムチャンネルアンタゴニストが、カルシウムアンタゴニスト、電位感受性L型カルシウムチャンネルの非競合的遮断による心筋および平滑筋の膜におけるスローチャンネルを介するカルシウムイオンの移動を阻害

する化合物、ジヒドロピリジン、ニフェジピン（登録商標）、フェニルアルキルアミン、ベパラミル（登録商標）、ベンゾチアゼピン、ジルチアゼム（登録商標）、ニカルジピン（登録商標）、アムロジピン（登録商標）、およびペプリジル（登録商標）、第二世代カルシウムアンタゴニスト、ニカルジピン（登録商標）、イスラジピン（登録商標）、アムロジピン（登録商標）、フェロジピン（登録商標）ならびにジヒドロピリジン誘導体からなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項13】 前記アンジオテンシン変換酵素（ACE）インヒビターが、キナプリル、Accupril（登録商標）、ラミプリル、Altace（登録商標）、カプトプリル、ベナゼプリル、Lotensin（登録商標）、トランドラプリル、Mavik（登録商標）、ホシノプリル、Monopril（登録商標）、リジノプリル、Prinivil（登録商標）、モエキシプリル、Univasc（登録商標）、エナラプリル、Vasotec（登録商標）、エナラプリラト、リジノプリル、Zestril（登録商標）、それらの活性代謝物およびそれらの誘導体からなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項14】 前記抗不整脈薬が、キニジン、ethomozine、mexitil、ジソピラニド、プロカインアミド、quniaglute、quinidex、rythmol、tambocor、tonocard、ソタロール、エスモロール、プロプラノロール、アセプトロール、betapace、cordarone、corvert、calan、ベラパミル、ジルチアゼム、アデノシン、ジゴキシン、それらの活性代謝物、それらの誘導体およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項9に記載のキット。

【請求項15】 アンジオテンシン変換酵素（ACE）インヒビターを前記被験体に投与することをさらに含む、請求項1に記載の組成物を備えるキット。

【請求項16】 請求項15に記載のキットであって、該キットは、前記被験体に対する抗不整脈薬をさらに含む、キット。

【請求項17】 請求項1に記載の組成物を備えるキットであって、抗血栓治療をさらに含む、キット。

【請求項18】 前記抗血栓治療が、治療有効量の抗血小板薬を投与するこ

と、フィブリン血餅の形成を妨害する治療有効量の薬物を投与すること、血栓溶解治療からなる群より選択される、請求項17に記載のキット。

【請求項19】 アテローム発生リポタンパク質が、LDL、Lp(a)、アポ-Bを含むリポタンパク質、VLDL、 β -VLDL、およびレムナントリポタンパク質からなる群より選択される、請求項1に記載の組成物を備えるキット。

【請求項20】 請求項1に記載の組成物であって、ここで前記抗アンギナ治療は共存する悪化状態の処置をさらに含み、該共存する悪化状態の処置は、高血圧症の処置、甲状腺機能亢進症の処置、肺疾患の処置、心不全の処置、異化亢進状態の処置、および貧血の処置からなる群より選択される。

【請求項21】 請求項1に記載の組成物の使用であって、ここで血漿アテローム発生リポタンパク質のレベルは、制御されるかまたはモニターされる、使用。

【請求項22】 請求項1に記載の組成物の使用であって、該使用は、アッセイされたアテローム発生リポタンパク質の血漿濃度を得るためのアッセイを用いてアテローム発生リポタンパク質の血漿濃度を定期的にアッセイする工程をさらに包含し、該アッセイは、血漿エステル化コレステロールのアッセイ、血漿アポリポタンパク質-Bのアッセイ、血漿のゲル濾過アッセイ、血漿の超遠心アッセイ、および以下の成分を有する沈降アッセイ、血漿の超遠心アッセイ、沈降アッセイ、免疫比濁アッセイ、抗体を用いるアッセイ、抗体フラグメントを用いるアッセイ、ならびに治療有効量の各前記リポソームのレベルを決定するための電気泳動アッセイからなる群より選択され、ここで該成分は、ポリアニオン、二価のカチオンおよび抗体からなる群より選択される、方法。

【請求項23】 前記アンギナ等価状態が、虚血性壁運動の異常性、呼吸困難、運動寛容減損、不整脈、減少した心機能、および関連痛からなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項24】 前記リポソームが手術中の被験体への投与に適切である、請求項1に記載の組成物。

【請求項25】 請求項1に記載の組成物を備えるキットであって、麻酔薬

または鎮静薬をさらに備える、キット。

【請求項26】 前記リポソームが、前記処置期間の間に定期的に与えられる、請求項1に記載の組成物。

【請求項27】 投与が、静脈内ボラス投与、静脈内注入、静脈内投与、腹腔内投与、および透析に対する補助剤としての投与からなる群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項28】 心機能をモニターすることをさらに含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項29】 請求項28に記載の組成物であって、前記心機能が、EKG異常性、ST区変化、不整脈、区壁運動の評価、血液粘度、運動耐性および外来EKGモニタリングからなる群より選択される、組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

関係者宛

特許出願

以下を知らしめる。本発明者ら、米国市民たるDennis I. Goldberg (居所109 Bent Road, Sudbury, Massachusetts 01776) および米国市民たるKevin Jon Williams (居所425 Wister Road, Wynnewood, Pennsylvania 19096) は新規かつ有用な以下を発明した：

「アンギナ(angina)および/またはアンギナ等価状態(equivalent)の処置の方法、ならびにそれに関連する薬学的組成物およびキット」

以下はその明細書の発明の詳細な説明である。

【0002】

(アンギナ(angina)および/またはアンギナ等価状態の処置の方法、ならびにそれに関連する薬学的組成物およびキット)

(発明の背景)

胸の痛みは、多くの原因(例えば、胃の不快、肺の苦痛、肺塞栓症、筋骨格痛、気胸、心臓非冠状状態、および虚血冠状症候群)から生じ得る。虚血冠状症候

群としては以下が挙げられる：安定狭心症、不安定狭心症、異型狭心症（狭心症）、アンギナ等価状態、心筋梗塞、および関連する機能不全（例えば、不整脈、低心臓出力、心不全、梗塞拡張、梗塞伸長、再還流損傷、および冠状血栓症）。—

安定狭心症は、規則的かつ特徴的なパターンで再発するアンギナである。ヒトは、いくつかのエピソードが生じ、そしてパターンが生じた後にのみ自分がアンギナに罹患していると認識する。アンギナを刺激する特定のレベルの活性またはストレスが存在し、そしてパターンは一般にゆっくり変化する。

【0003】

不安定なアンギナは、非常に重得なエピソードまたは頻繁に再発するアンギナ発作として現れるアンギナである。不安定狭心症において、確立されたパターンのアンギナは、鋭敏に変化し得る。すなわち、そのアンギナは、安静時に出現し得、または過去におけるよりもはるかに少ない運動によって生じ得る。

【0004】

異型狭心症はまた、プリンツメタル型狭心症（Prinzmetal's angina）として知られる。これは、代表的なアンギナとは、このアンギナがほとんど排外的に、人物が安静時にあるときに起こることにおいて異なる。発作は非常に痛みを生じ得、そして通常真夜中から午前8時の間に起こる。異型狭心症は、他の形態のアンギナおよびアンギナ等価状態と同様に、急性心筋梗塞、重篤心臓不整脈（心室頻脈、心室細動を含み、そして突然死さえ含む）を伴い得る。異型狭心症は、冠状動脈痙攣に起因する。この痙攣は、アテローム性動脈硬化障害付近で生じ得る。アンギナに罹患した人の多くは急性の活動期を経験する。アンギナおよび心臓の事象は、しばしば、6カ月以上起こり得る。

【0005】

狭心症とは、胸の痛みまたは心臓起源の不快と定義される。これは、通常、心筋酸素供給と心筋酸素需要との間の一過性の不均衡から生じる。この不快はしばしば、運動、感情、摂食、または寒い気候によって誘導される。疼痛は、被検体が屋外にいるとき（特に温度が極端に高いまたは低いとき）、および患者が風に向かって上り坂を歩いているときに頻繁に起こりやすいようである。アンギナは、一般に、被検体が重金属を食べたとき、またはその被検体が運動し、怒り、ま

たは緊張しているときに起こる。

【0006】

正常な冠状循環は、心筋の酸素要求によって支配および制御される。この要求は、心臓が冠状血管抵抗性（およびそれゆえ血流）を相当変動させる能力によって満たされるが、他方、心筋は、酸素の高くかつ比較的一定した割合を抽出する（Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991, Chap. 16）。通常、心筋内の抵抗性細動脈は、拡張について莫大な容量を示す。運動および感情的なストレスの際に、酸素要求が変わることで、冠状血管抵抗性に影響が出、そしてこのようにして血液および酸素の供給を調節する（代謝調節）。これらの同じ血管は、心筋要求に適切なレベルで冠状血流を維持するために血圧における生理的変動に適合する（自己調節）。大心外膜冠状動脈は、収縮および弛緩し得るが、健常人では、それらは、管として作用し、そして「伝導性血管」（conductance vessels）と呼ばれる。他方、心筋内動脈は、通常、聴力において驚くほどの変化を示し、そして従って、「抵抗性血管」（resistance vessels）と呼ばれる（同上）。

【0007】

一旦近位心外膜動脈の重篤な狭窄がおよそ70%を超えて断面積を減少させると、遠位抵抗性血管が拡張して、血管抵抗性を減少させ、そして冠状血流を維持する。圧力は、徐々に近位狭窄を横切って発生し、そして狭窄後の圧力は落ちる。抵抗性血管が最大に拡張するとき、心筋血流は、障害から遠い冠状動脈における圧力に依存するようになる。これらの状況において、心筋酸素化における変化は、生理的基底感情、病理的痙攣、または小さな血小板栓に起因して、心筋酸素要求における変化および狭窄を受けた冠状動脈の口径における変化によって生じ得る。すべてのこれらの一過性事象は、酸素供給と酸素受容との間の重要な平衡を反転させ得、そして従って心筋虚血へと至らしめる。

【0008】

虚血の効果は多い。冠状動脈硬化によって誘導される不適切な酸素化は、心筋の医学的、生化学的、および電気的な機能の一過性障害を生じ得る。虚血の突発

的発生は、通常、左心室心筋の区 (segment) に影響を与え、正常な筋肉弛緩および収縮のほとんど瞬間的な機能不全を伴う。心内膜下の比較的貧弱な灌流は、壁のこの部分のより強力な虚血を生じる。心室の大きな区の虚血は、一過性の左心室不全を報じる。そして、乳頭筋が関与する場合、僧帽弁反流がこの事象を複雑化し得る。虚血事象が一過性である場合、それらは、アングイナに関連し得；長期化した場合、それらは、急性心筋梗塞の臨床症状を伴うかまたは伴わないで、心筋壊死および癒痕を生じ得る。以下を参照のこと：Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991 Chap. 189。

【0009】

これらの基礎をなす機構的障害は、細胞代謝、機能および構造における広汎な種々の異常である。酸素化される場合、正常な心筋は、脂肪酸およびグルコースを二酸化炭素および水へと代謝する。重篤な酸素欠乏では、脂肪酸は酸化され得ず、そしてグルコースは乳酸へと分解される；細胞内pHは、心筋が高エネルギーホスファターゼ、アデノシントリホスフェート (ATP)、およびクレアチンホスフェートを蓄積するにつれて減少する。損傷した細胞膜機能は、筋細胞によるカリウムの漏れおよびナトリウムの取り込みを導く。心筋酸素供給と心筋酸素需要との間の不均衡の重篤度および期間は、その損傷が反転可能かどうか、またはそれが恒常性であり、続いて心筋壊死をもたらすかどうかを決定する。Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991。

【0010】

虚血はまた、T波の反転および後のST区の変位によって立証されるように再分極異常のような特徴的な心電図変化を生じる (Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991, Chap. 176)。一過性のST区抑制は、しばしば、心内膜下の虚血を反映し、他方、一過性ST区上昇は、より重篤な経壁 (transmural) 虚血によって生じると考えられる。心筋虚血の別の重要な結果は、電気的不安定性である。なぜなら、これは、心室頻脈または心室細動を生

じ得る (Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991, Chap. 185)。虚血心疾患から突然死するほとんどの患者は、虚血に誘導される悪性心室不整脈の結果死に至る (Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th edition, 1991, Chap. 40)。

【0011】

本発明の目的は、アンギナ、アンギナ等価状態および急性冠状症候群のこれらの種々の形態を処置するために使用される従来の治療に関連する課題を解決することである。

【0012】

(発明の要旨)

本発明は、被検体に治療有効量のリポソームを投与する工程を包含する、アンギナを処置する方法を提供する。安定なアンギナ、不安定なアンギナ、異型狭心症、および/またはアンギナ等価状態は、本明細書において記載される方法を利用して処置される。このリポソームは、ラージリポソーム、スモールリポソームおよびそれらの組合せからなる群より選択され、そして被検体におけるLDLレベルが実質的に上昇しないように投与される。

【0013】

ラージリポソームが使用される場合、そのラージリポソームは、そのリポソームがコレステロール恒常性を悪性に障害しないような、サイズ、機能、組成または投与方法もしくはスケジュールのリポソームの化学組成物である。リポソームを投与することは、徐々に、本発明の1つの改変において被検体へリポソームを注入することを包含する。本発明の別の改変において、少量のリポソームが時間に分けて投与されて、LDL濃度の上昇を回避する。

【0014】

この方法はまた、アッセイされたLDL濃度を入手するアッセイを用いて周期的に血漿LDL濃度をアッセイする工程を包含する。このアッセイは、そのリポソームの各々の治療有効量のレベルを判定するための、血漿エステル化コレステ

ロールのアッセイ、血漿アポリポタンパク質Bのアッセイ、血漿のゲル濾過アッセイ、血漿の限外遠心分離アッセイ、および成分を有する沈降アッセイ（ここで、その成分は、ポリアニオン、二価のカチオン、および抗体からなる群より選択される）、血漿の限外遠心分離アッセイ、沈降アッセイ、免疫濁度測定アッセイ、および電気泳動アッセイからなる群より選択される。

【0015】

この方法は、治療有効量のリポソームを、約10mg～約1600mgのリン脂質/体重kg/用量の範囲で使用する。リポソームは、1つの実施形態における処置期間の間周期的に与えられる。そして、それは、単層リポソーム、少数層（pauci-lamellar）リポソームおよび多層リポソームからなる群より選択される。

【0016】

好ましくは、そのリポソームは、約50nmより大きな直径、約80nmより大きな直径、および/または約100nmより大きな直径を有する。このリポソームはまた、約100nmから約150nmの、約150nmから約200nmの、約250nmから約300nmの、および/または約300nmから約400nmの範囲の直径を有し得る。他の好ましいリポソーム範囲は本明細書において記載される。

【0017】

本発明の別の実施形態において、そのリポソームは、静脈内ボラス投与によって、静脈注射によって、および/または腹腔内投与によって被検体に与えられる。他の経路もまた、企図される（例えば、筋肉内、皮下、鼻内、吸入、直腸およびカプセル化によって経口もしくは経腸によって吸収される形態）。

【0018】

この方法はまた、被検体の心臓機能のモニタリングが存在する改変を包含する。モニタリングされる代表的な心臓機能は、EKG異常、ST区変化、不整脈、区壁運動の評価、血液粘度、運動耐性、外来EKGモニタリング、および/または心臓壁運動異常。

【0019】

本発明のさらに別の改変において、その方法は、空のリポソーム以外の抗アンギナ薬の有効量を投与することを包含する。「空」とは、リポソーム内のカプセル化された薬物の非存在（ここで、そのカプセル化された薬物が、そのリポソームの1つ以上の機能について本質的である）を示す標準的な用語である。この抗アンギナ薬は、ニトレート、遮断薬、カルシウムチャネルアンタゴニスト、冠状血管弛緩剤、脂質減少薬、負荷後減少剤、筋肉収縮剤、負荷前減少剤、およびオピエートを包含する。

【0020】

ニトレートとしては、例示の目的で、ニトログリセリン、舌下投与されるニトログリセリン、長期作用ニトレート、舌下内（*insublingual*）ニトレート調製物、頬（口腔）ニトレート調製物、経口ニトレート調製物、スプレーニトレート調製物、経口ニトレートスプレー、イソソルビドジニトレート調製物、イソソルビド-5-モノニトレート調製物、イソソルビド-5-モノニトレートの徐放調製物、局所ニトログリセリン、ニトログリセリン軟膏、ニトログリセリン含有経皮パッチ、およびニトログリセリンを含浸させたシリコンゲルまたはポリマーマトリクスが挙げられ得る。

【0021】

遮断薬としては、例示の目的で、非選択性遮断薬、プロプロパノール、ナドロール、ペンタブトロール、ピンドロール、ソタロール、チモロール、カルテオロール、1および2レセプターの両方を遮断する薬物、心臓選択遮断薬、アセプトロール、アテノロール、ベタキソロール、ビソプロロール、エスモロール、メトプロロール、および2レセプターにはあまり効果を有せずに1レセプターを遮断する薬物が挙げられ得る。

【0022】

本発明の1つの改変において、カルシウムチャネルアンタゴニストは、カルシウムアンタゴニスト、心臓および平滑筋の膜における遅いチャンネルを通じたカルシウムイオン移動を、電位感受性L型カルシウムチャンネルの非競合的遮断によって阻害する化合物、ジヒドロピリジン、ニフェジピンTM、フェニルアルキルアミン、ベラパミルTM、ベンゾチアゼピン、ジルチアゼムTM、ニカルジピンTM、アム

ロジピン™、およびベプリジル™、第二世代のカルシウムアンタゴニスト、ニカルジオピン™、イスラジピン™、アムロジピン™、フェロジピン™、およびジヒドロピリジン誘導体からなる群より選択される。

【0023】

本発明のなお他の局面は、アンギオテンシン変換酵素（ACE）インヒビターを、リポソームと組み合わせて被検体に投与する工程、抗不整脈薬を、そのリポソームと組み合わせてその被検体に投与する工程、および/またはその被検体における陽性の生活スタイルを行う工程を包含する。代表的な陽性生活スタイルの変化は、体重喪失、喫煙の減少、喫煙の消失、運動、管理された運動、減少した塩摂取、減少した飽和脂肪酸の摂取、減少したコレステロール摂取、総脂肪摂取の減少、身体的ストレスの回避、感情的ストレスの回避、およびカロリー摂取の減少を含む。

【0024】

本発明のなおさらなる局面は、リポソーム投与と組み合わせた抗アンギナ治療を行うことを包含する。抗アンギナ治療は、高血圧のための治療、甲状腺亢進のための処置、肺疾患のための処置、心不全のための処置、および貧血のための処置のような同時に存在する悪化状態の処置を包含する。

【0025】

本発明の別の実施形態は、空のリポソーム投与と組み合わせた抗血栓症治療剤を投与することを包含する。抗血栓症治療は、抗血小板薬の治療有効量を投与すること、フィブリン血餅の形成を阻害する薬物の治療有効量を投与すること、および血栓溶解治療からなる群より選択される。

【0026】

本発明の別の実施形態は、跛行（claudication）を処置する方法を包含する。この方法は、治療有効量のリポソームを投与することを包含する。上記のように、そのリポソームは、ラージリポソーム、スモールリポソーム、およびそれらの組合せからなる群より選択され、そしてその方法は、上記および下記の他の方法の工程と組み合わせられ得る。

【0027】

本発明のなお別の局面は、以下を含むアンギナを処置するための薬学的キットを包含する：リポソームを有する第一の容器1およびリポソーム以外の抗アンギナ薬を有する第二の容器。

【0028】

本発明はまた、被検体の術前状態および/または術中状態の馴化の方法に関する。この方法は、単独でまたは麻酔薬もしくは鎮静剤の投与と組み合わせてリポソームを投与すること、および/または被検体の心臓機能の術前または術中の評価を包含する。

【0029】

上記に具体的に示されるもの以外の本発明の目的および特徴は、以下の本発明の詳細な説明において明らかになる。

【0030】

(発明の詳細な説明)

図1は、正常なリポタンパク質100および単層リポソーム200の構造の模式図を例示する。リポタンパク質100およびリポソーム200は、リン脂質分子300を含む。リン脂質分子は概して、極性ヘッド500および脂肪アシル鎖400を有する。分子600は、エステル化されていないコレステロール分子を表す。リポタンパク質100は、主にトリグリセリドおよびコレステロールエステルから構成される疎水性コア102を含み、リン脂質分子300の単層によって囲まれ、その脂肪アシル側鎖400は疎水性コア102に面しており、そしてその極性ヘッド500は、周囲の水性環境(示さず)に面している。エステル化されていないコレステロール600は、主に、リン脂質単層内に見出される。アポリタンパク質700は、リン脂質分子300内に配置される。人工トリグリセリドエマルジョン粒子は、本質的に同一の構造を有し、タンパク質を含むかまたは含まないかのいずれかである。

【0031】

リポソーム200は、リン脂質分子300を含み、リン脂質二重層を形成する(例えば、1つの層(lamella)、これはタンパク質を含むかまたは含まないかのいずれかであり、脂肪アシル側鎖400は互いに向き合っており、外側

リーフレットのその極性ヘッド基500は、周囲の水性環境（示さず）に向けて外側に向かっており、そして内部リーフレットのその極性ヘッド基500は、粒子200の水性コア202に向けて内側に向いている。粒子200の組成に依存して、リン脂質二重層は、エステル化されていないコレステロールおよび他の交換可能な材料ならびにそれらの成分について大きな容量を有し得る。図1において例示されるように、ステロールはない。代表的に、そのようなリポソームは、細胞膜のような他の脂質二重層から、およびリポタンパク質からエステル化されていないコレステロールを拾い上げ得る。リポソームはまた、タンパク質を拾い上げ、そしてリン脂質および他の交換可能な材料ならびにその成分へと与える。リポソームはまた、多重構造を有し得る。ここで、二重層は、外側の二重層によってカプセル化される環境内に含まれて、多重層を形成する。その多重層は、タマネギの層のように、同心状に配置され得、または別の改変において非同心状に配置され得る。

【0032】

上記のリポソームは、アンギナおよびアンギナ等価状態を処置する方法において使用される。その方法を用いて処置され得るアンギナの型は、安定狭心症、不安定狭心症、および/または異型アンギナを含む。特に、本発明は、狭心症を処置するにおいて有効である。

【0033】

この方法は、ステロールを実質的に含まないリン脂質を含む、複数のラージリポソームの治療有効量を、被検体に、処置期間にわたって投与する工程を包含する。本発明の1つの改変において、ラージリポソームは、肝臓における内皮層裏打ちの肝臓シヌソイド（*sinusoid*）の開窓術（*fenestration*）より大きなサイズおよび形状のものである。好ましくは、ラージリポソームは、約50nmより大きな直径、約80nmより大きな直径、または約100nmより大きな直径を有する。特に有効なりポソームは、約100nmから約200nmの範囲の直径を有する。本発明の改変において、そのリポソームは、ラージリポソーム、スモールリポソーム、およびそれらの組合せからなる群より選択される。

【0034】

治療有効量のリポソーム投与は、約10mgから約1600mgのリン脂質/体重kg/用量の範囲内にあり、そしてそのリポソームは、その処置期間の間周期的に与えられる。治療有効量のリポソームは、種々の様式において与えられ得、これらには、例示的に、以下が含まれる：静脈内ボラス投与、静脈注入、および腹腔内投与。

【0035】

リポソームを投与する方法は、処置の効力を判定する工程と組み合わせられ得る。例えば、この方法は、リポソーム投与の前、間またはその後に、被検体の心臓機能をモニタリングする工程を包含する。予備処置心臓機能測定は、そのリポソームの投与の前に行われる。リポソームの投与後、その患者の心臓機能の改善もまた判定して、処置の効力を示し得、そして続きの処置が必要であるかどうかを判定し得、または続きの処置の間の時間もしくは続きの処置の適切な投薬量を判定し得る。

【0036】

本発明において分析され得る心臓機能は多く存在する。これらの機能としては、EKG異常、ST区変化、不整脈、区壁運動の評価、血液粘性、運動耐性、外来EKGモニタリング、および心臓壁運動異常が挙げられる。

【0037】

リポソーム投与はまた、リポソーム以外の抗アンギナ薬の有効量の投与、または抗アンギナ手順（例えば、LDL搬送（phoresis）、血液形成、または他の血管再生と有利に組み合わせられ得る。これらの抗アンギナ薬としては、例示の目的で、ニトレート、遮断薬、カルシウムチャネルアンタゴニスト、冠状拡張剤、脂質低下薬物、負荷後減少剤、筋肉収縮剤、負荷前減少剤、酸素、オピエート、ならびにそれらの誘導体および/または組合せが挙げられる。リポソーム投与はまた、従来の抗アンギナ治療がほとんど有効でないかまたは無効である患者（例えば、糖尿病）において特に所望されることが理解される。

【0038】

本発明において使用される例示的ニトレートとしては、以下が挙げられる：ニ

トログリセリン、舌下投与されるニトログリセリン、長期作用ニトレート、舌下内ニトレート調製物、頬（口腔）ニトレート調製物、経口ニトレート調製物、スプレーニトレート調製物、経口ニトレートスプレー、イソソルビドジニトレート調製物、イソソルビド - 5 - モノニトレート調製物、イソソルビド - 5 - モノニトレートの徐放調製物、局所ニトログリセリン、ニトログリセリン軟膏、ニトログリセリン含有経皮パッチ、およびニトログリセリンを含浸させたシリコンゲルまたはポリマーマトリクスが挙げられる。

【0039】

本発明において使用される例示的な遮断薬としては、非選択性遮断薬、プロプロパノール、ナドロール、ペンタブトロール、ピンドロール、ソタロール、チモロール、カルテオロール、 β_1 および β_2 レセプターの両方を遮断する薬物、心臓選択遮断薬、アセブトロール、アテノロール、ベタキソロール、ピソプロロール、エスモロール、メトプロロール、および β_2 レセプターにはあまり効果を有せずに β_1 レセプターを遮断する薬物が挙げられる。

【0040】

例示的なカルシウムチャネルアンタゴニストとしては、心臓および平滑筋の膜における遅いチャネルを通じたカルシウムイオン移動を、電位感受性L型カルシウムチャネルの非競合的遮断によって阻害する化合物、ジヒドロピリジン、ニフェジピンTM、フェニルアルキルアミン、ベラパミルTM、ベンゾチアゼピン、ジルチアゼムTM、ニカルジピンTM、アムロジピンTM、およびベプリジルTM、第二世代のカルシウムアンタゴニスト、ニカルジオピンTM、イスラジピンTM、アムロジピンTM、フェロジピンTM、ジヒドロピリジン誘導体、それらの組合せおよびそれらの誘導体が挙げられる。

【0041】

本発明はまた、アンギオテンシン変換酵素（ACE）インヒビターを被検体に投与する工程、および/または抗不整脈薬物を、被検体に投与して、被検体について有利な結果を達成する工程を包含し得る。種々の型のACEインヒビターは以下に記載される。有利な結果を得るために、被検体における陽性生活スタイル変化を行うこともまた可能である。これらの生活スタイル変化としては、体重喪

失、喫煙の減少、喫煙の消失、運動、管理された運動、減少した塩摂取、減少した飽和脂肪および飽和脂肪酸の摂取、減少したコレステロール摂取、総脂肪摂取の減少、身体的ストレスの回避、感情的ストレスの回避、およびカロリー摂取の減少が挙げられる。

【0042】

本発明のさらに別の改変は、抗アンギナ治療を行うことと組み合わせて、処置期間の間、被検体にステロールを実質的に含まないリン脂質を含む、治療有効量の複数のラージリポソーム（例えば、空のリポソーム）を投与する工程を包含する。例示的な抗アンギナ治療は、同時に存在する悪化状態の処置を含む。同時に存在する悪化状態としては、例示の目的で、高血圧のための治療、甲状腺亢進のための処置、肺疾患のための処置、心不全のための処置、貧血のための処置、過剰代謝状態のための処置、および糖尿病のための処置が挙げられる。

【0043】

本発明のなお別の局面は、抗血栓症治療剤を投与することと組み合わせて、処置期間の間被検体にステロールを実質的に含まないリン脂質を含む、治療有効量の複数のラージリポソーム（例えば、空のリポソーム）を投与する工程を包含する。種々の型の抗血栓症治療剤が本発明において使用される。これには、治療有効量の抗血小板薬物（以下に記載される）を投与すること、治療有効量の、フィブリン血餅形成を阻害する薬物を投与することおよび/または血栓溶解治療が含まれる。

【0044】

本明細書において記載されるラージリポソーム（または、改変において投与の有害な効果が実質的に除去される方法で投与される場合は、本明細書に記載されるスモールリポソーム）の使用は、実質的なLDLレベル制御および/または他のアテローム発生リポタンパク質の制御を提供することが理解される。本明細書において記載される方法は、被検体のLDLレベルをモニタリングすることと組み合わせられ得る。リポソームがラージリポソーム、スモールリポソームおよび/またはその組合せからなる群より選択される改変の場合、被検体のLDLレベルをモニタリングすること、そしてより重要には、その被検体におけるLDLレ

ベルが実質的に上昇しないような方法でスモールリポソームを投与することが所望され得る。これは、リポソームを徐々に注入すること、および/または別個の時間に分けてリポソームを少量投与してLDL濃度の上昇を回避すること、あるいはコレステロール低下剤の投与またはラージリポソームの同時投与によって達成され得る。

【0045】

LDL濃度をモニタリングするために、アッセイされるLDL濃度を入手するアッセイを用いて血漿LDL濃度が定期的にあッセイされる。このアッセイは、血漿エステル化コレステロールのアッセイ、血漿アポリポタンパク質Bのアッセイ、血漿のゲル濾過アッセイ、血漿の限外遠心分離アッセイ、および成分（例えば、この成分は、ポリアニオン、二価のカチオン、および抗体からなる群より選択される）を有する沈降アッセイを包含し得る。本明細書において使用される他のアッセイとしては、リポソームの各々の治療有効量のレベルを決定するための、血漿の限外遠心分離アッセイ、沈降アッセイ、免疫濁度測定アッセイ、および/または電気泳動アッセイが挙げられる。

【0046】

上記の他の方法の工程は、異なるサイズのリポソームの組合せとともに利用され得ること、および特に有用な型のリポソームはPOPCを含むこともまた理解される。体温において液晶であるが、なお、酸化に耐性であるリン脂質を含むリポソームが所望される。リポソームは、コレステロールおよび他の交換可能な材料を移動させ、そしてリン脂質を部分的に、HDLと共同しかつ転移タンパク質（例えば、リン脂質転移タンパク質およびコレステリルエステル転移タンパク質）とともに供与することが理解される。これらは内因性または外因性であり得る。

【0047】

本発明の別の局面において、アンギナを処置するための薬学的キットもまた本明細書において記載される。このキットは、リポソームを有する第一の容器；およびリポソーム以外の抗アンギナ薬を有する第二の容器を備える。例示的な抗アンギナ薬は上記される。

【0048】

本発明のなお別の特定の有用な局面は、被検体の術前または術中の馴化の方法を包含し、この方法はリポソームを投与することを包含する。手術を受ける場合に合併症の危険にある被検体は多い。これらの危険性の多くは、手術手段の前に、ある有効な、経験的に決定される時点で、リポソームを投与することで減少され得る。ここで、患者の身体は、ストレスを受ける危険性を受ける。被検体の術前の馴化の方法は、他の公知の術前の工程および手術手順に関連する患者の合併症の危険性および/またはストレスが最小化され得るような処置と組み合わせられ得る。これらの他の術前工程としては、例示の目的で、麻酔剤または鎮静剤の投与、被検体心臓機能の術前評価などが挙げられる。

【0049】

本発明のリポソームは、本明細書に記載される新規方法およびシステムを用いて有利かつ効率的に製造される。所望の実質的に均一のサイズの範囲（例えば、125nm～250nm）のリポソームを生成することは、従来の方法を用いると特に遅い。なぜなら、初期の作製の際に、リポソーム/リポソーム前駆体の第一回の通過が困難であるからであり、これは、大きな粒子が、従来の押し出しデバイスでは、氷河のように遅く通過するからである。

【0050】

従って、本発明は、所望のサイズの範囲内のリポソームを大量に製造する商業的方法を包含する。この方法は、リン脂質を水和する工程を包含する。この水和工程は、最初は所望の範囲の孔サイズを有する押し出し器を通過することが困難な大きな粒子を生成する。従って、この方法は、高処理能装置を利用してその粒子を、フィルターを有する押し出し器を容易に通過するサイズ範囲にして所望の粒子のサイズ（約200nmから約400nm）を生成することによってその水和されたりポソームを予備条件付けすること、次いで続いてその予備条件付けされた粒子を、所望のサイズ（例えば、約100nmのサイズまたは他の所望のサイズ）のフィルターを備えつけた押し出し器を通過させる工程を包含する。例示的な高処理能装置としては、マイクロフルイダイザー、ホモジナイザー、剪断ベースのデバイス、および/または大きな孔サイズ（500nmまたは他の適切な

大きな孔サイズ)を備える押し出し器が挙げられる。上記の方法は、所望のサイズの範囲のリポソームを入手するための製造および/または処理の時間をかなり削減することが理解される。生成速度のボトルネックとなる問題は、上記の予備条件付け工程によって除去される。

【0051】

特に有害であると考えられるLDLの集団が存在する(例えば、パターンLDLとしてもまた知られる低密度LDL)。パターンLDLは、一般に、糖尿病、過剰トリグリセリド血症、低HDL状態、高血圧、インスリン抵抗性、過剰インスリン血症および/または症候群X状態において見られる。低密度LDLは、脂質が貧弱であること、特に、表面脂質に関して貧弱であること(エステル化されていないコレステロールおよびリン脂質を含む)によって特徴づけられる。LDLは、リポソームからリン脂質を獲得し得る。被検体のリン脂質リポソームによる処置は、低密度LDLを富化し、それを正常リン脂質含量へと快復させ、そのアテローム原性を減少させ、そして/またはその炭水化物含量および/もしくはそのサイズを正規化する。本明細書において記載される組成物での処置は、低密度LDLの表面荷電密度を変化させ、そしてそれを正常な表面荷電密度へもたす。低密度LDLを有する被検体におけるリポタンパク質は、プロテオグリカンへの結合の増強を示す(そのリポタンパク質の最も強力な結合はIDLである)。本明細書において記載される組成物および処置は、低密度LDLおよび低密度LDLを有する被検体に共通に見出される他のリポタンパク質の有害な特性を改善する。

【0052】

本明細書に開示される処置で寛解される有害な特性の例には、動脈基質への強力な結合性、容易な酸化可能性、動脈壁への浸透の容易さ、およびLDLレセプター結合障害が含まれるが、これらに限定されない。

【0053】

本発明はさらに、血管機能不全の加速性の症候群を処置する方法を提供する。血管機能不全の加速された症候群には、腎疾患、移植アテローム性動脈硬化症、無症候性虚血、および全ての身体部分(特に脳、脚、性器、および心臓)につい

てのその徴候、虚血、血管移植片、真性糖尿病、腎症を伴う真性糖尿病、蛋白尿を伴う真性糖尿病が含まれる。本発明はまた、過粘稠度症候群、鎌形赤血球化障害、創傷治癒障害を含む状態、および/または血液細胞または血小板の凝集を含む状態のような他の灌流異常を処置する方法を提供する。

【0054】

器官灌流は、本明細書においてPETスキャン、ドップラー評価、造影剤を使用する評価、および脈波検査のような試験によって決定され得る。

【0055】

本明細書で使用される負荷後還元剤には、抗高血圧症薬および末梢血管拡張剤（例えば、硝酸）およびカルシウムチャンネルアンタゴニストが含まれる。

【0056】

本発明はまた、男性および/または女性の性機能不全、急性冠状動脈症候群、安定性冠状動脈症候群、間欠性跛行、一過性虚血発作、発作、心臓発作、心筋梗塞、心筋虚血、任意の身体部分に対する虚血、虚血からの器官不全、および/または虚血からの器官梗塞のための処置を提供する。

【0057】

リポソームの投与により、血管形成、例えば、側枝血管の形成が促進される。側視血管形成は、高コレステロール症における障害であり、そしてLDLまたはapo-Bを含有する関連する粒子によって影響される。したがって、この方法の使用は、側枝血管形成を含む促進された血管形成から利益を得ることができる被験体にとって有益な処置である。

【0058】

図3および4は、LUV、SUV、または生理食塩水の注入に対する、経時的な、血漿LDLコレステロールエステル濃度を例示する。ウサギは、矢印302、304、および306それぞれによって示されるように、1、3、および5日に、体重1kgあたり300mgのホスファチジルコリンのポーラスまたは整合する容量の生理食塩水とともに静脈内に注射された。そのホスファチジルコリンは、約100NM（好ましくは、約120NM）の直径を有する、押出法により調製された大単層粒子（LUV）（LUVは、Nicomp™モデル370サブ

マイクロレーザー粒子サイズ決定機により約120NM(123±35NM)で測定され、そして押出膜は、約100NMの直径の孔を有していた)か、または、超音波によって調製された約30NM(好ましくは、35NM)の直径を有す小単層粒子(SUVは、34±30NMの範囲において測定された)のいずれかの形態の薬学的グレードの卵PCであった。血液を、各注射の前に、そして6日目の屠殺にて採取した。血漿LDLコレステロールエステル濃度を、コレステロールエステルのためのインライン酵素アッセイによって血漿のゲル濾過アッセイによって決定した。平均±SEMを図3に示す。SUVを注入された動物は、3、5、および6日目に、LUV注入または生理食塩水注入動物のいずれかと比較して、有意に高いLDLコレステロールエステルの血漿濃度を示した。図2~8、10~15、24、および28は、注入が第1日目、3日目、5日目に行われ、次いで肝臓が取り出された同じ実験からのデータを例示する。ゲル濾過を、血漿において行って、個々のリポソームクラスの脂質含量を測定した。図2は、CETP、HMG-CoAR(ヒドロキシメチルグルタリル補酵素Aレダクターゼ)、LDLレセプター、およびコレステロール7-β-ヒドロキシラーゼ;ならびに図3および4について記載された実験についての、生理食塩水(HEPES緩衝化生理食塩水)(ウサギ1~4)、LUV(ウサギ5~8)、およびSUV(ウサギ10~12)を与えられたウサギについてのLDL ChE(低密度リポタンパク質コレステロールエステル)についての肝臓mRNA含量(pg/μg)の表を例示する。ウサギ13は、「Mix」ウサギである。

【0059】

図4は、Mixと標識された動物を示す。「Mix」は、第1日目、3日目、および5日目にSUVを受けたが、第3日目にLUVの1回の注射をも受けた単一の動物をいう。LUVのこの注射の前に、LDLコレステロールエステルの血漿濃度は、上昇したが、LUVの注射の後に、SUVを連続して投与したにもかかわらずLDL濃度は減少した。

【0060】

図5は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に応答しての、経時的な、肝臓におけるLDLレセプターmRNAレベルを例示する。上記のウサギは、第

6日目に屠殺され、そして肝臓のサンプルが液体窒素においてスナップ保存され、mRNAが抽出され、そしてLDLレセプターに対するウサギmRNAが、内部標準/RNase保護アッセイによって定量された(Rea T. J.ら、J. Lipid Research 34:1901-1910, 1993およびPape M. E., Genet. Anal. 8:206-312, 1991)。平均±SEMを図5に示す。SUVを注入された動物は、LUV注入されたかまたは生理食塩水注入された動物に比較して、肝臓LDLレセプターmRNAの有意な抑制を示した。肝臓LDLレセプターmRNAの抑制は、ステロールを過剰負荷された実質を反映し、正常肝臓コレステロールホメオスタシスからの潜在的に有害な変更である。対照的に、LUV注入された動物は、最も高いレベルの肝臓LDLレセプターmRNAを示すが、その生理食塩水を注入された動物において観察されるものを超える増加は、統計学的に有意には至らなかった。上記の「Mix」動物からの肝臓は、5.28 pg LDLレセプターmRNA/マイクログラムの値を示した。これは、SUV群よりも生理食塩水群における平均値により近い。したがって、LDLレセプターmRNAは、SUVの反復された注射にも係わらず、LUVの単回の注射によって刺激された。

【0061】

図6は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に応答しての肝臓におけるHMG-CoAレダクターゼmRNAレベルを例示する。この実験の詳細は、上記に参照するものである。SUVを注入された動物は、LUV注入されたかまたは生理食塩水を注入された動物に比較して、肝臓HMG-CoAレダクターゼmRNAの有意な抑制を示した。肝臓HMG-CoAレダクターゼmRNAの抑制は、ステロールを過剰負荷された実質を反映し、これは、正常肝臓コレステロールホメオスタシスからの潜在的に有害な変更であり得る。対照的に、LUVを注入された動物は、肝臓HMG-CoAレダクターゼmRNAの最も高いレベルを示したが、生理食塩水を注入された動物において観察されたものを超える増加は、統計学的に有意には至らなかった。

【0062】

「mix」動物は、0.50 pg HMG-CoAレダクターゼ mRNA /

マイクログラムの値を示し、これは、生理食塩水群における平均値(0.51)に本質的に同一であり、そしてSUV群における値(0.27)よりも実質的に高い。したがって、HMG-CoAレダクターゼmRNAは、SUVを繰り返して注射したにも係わらず、単回のLUVの注射によってその正常値にまで刺激された。

【0063】

図7は、肝臓における、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に応答しての、コレステロールエステルトランスファータンパク質mRNAレベルを例示する。その実験の詳細は、上記に参照するものである。LUVを注入された動物は、SUVを注入されたかまたは生理食塩水を注入された動物と比較して、肝臓CETP mRNAの有意な抑制を示した。CETP mRNAの抑制は、アテローム性動脈硬化症の減少した危険性と通常関連する血漿リポタンパク質プロフィールにおいて変化をもたらした。「Mix」動物は、3.18 pg CETP mRNA / マイクログラムの値を示した。これは、SUV群または生理食塩水群におけるよりも、LUV群における平均値により近い。したがって、CETP mRNAは、SUVを繰り返し投与したのにも係わらず、LUVの単回の注射によって抑制された。

【0064】

図8は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に応答しての、肝臓におけるコレステロール7-ヒドロキシラーゼmRNAレベルを例示する。実験の詳細は、上記のとおりである。SUVを注入された動物は、LUV注入されたかまたは生理食塩水を注入された動物と比較して、肝臓7-ヒドロキシラーゼmRNAの抑制を示した。7-ヒドロキシラーゼの抑制は、正常な肝臓のホメオスタシスからの潜在的に有害な変更であり得る。対照的に、LUVを注入された動物は、最も高いレベルの肝臓7-ヒドロキシラーゼmRNAを示したが、生理食塩水を注入された動物において観察されたものを超える増加は、統計学的に有意には至らなかった。「Mix」動物は、0.51 pgの7-ヒドロキシラーゼmRNA / マイクログラムの値を示したが、これは、SUV群における平均値よりも高かった。したがって、7-ヒドロキシラーゼmRNAは、SUVを繰り返して注射し

たのにも係わらず、単回のLUVの注射によって刺激された。

【0065】

図10は、LUV、SUV、または生理食塩水に应答しての、経時的な、全血漿におけるエステル化されていないコレステロール濃度を示す。実験の詳細は、上記の通りである。この図に示されるように、LUV、およびSUVは、エステル化していないコレステロールの血漿濃度を有意に上昇した。これは、組織の貯蔵の固定化を示す。LUVは、SUVよりも、エステル化されていないコレステロール濃度を上昇させた。

【0066】

図11は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に应答しての、経時的な、全血漿における、エステル化されたコレステロール濃度を示す。実験の詳細は、上記の通りである。SUVは、3、5、および6日目に、コレステロールエステルの血漿濃度を上昇させた。図12は、図3に含まれる情報をコピーしたものである。

【0067】

図13は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に应答しての、血漿VLDLエステル化コレステロール濃度を示す。SUVは、生理食塩水またはLUV処置群において観察されたものを超えて、VLDLコレステロールエステルの血漿濃度を上昇させた。「Mix」動物は、第6日目に2.4mg/dlの血漿VLDLコレステロールエステル濃度を示した。これは、SUV群における平均値よりも低い。実験の詳細は、上記の通りである。

【0068】

図14および15は、LUV、SUV、または生理食塩水の注射に应答しての、HDLエステル化コレステロール濃度を示す。実験の詳細は、図2に示す通りである。適切なリン脂質は、Avanti Polar Lipids、Nippon Oil and Fat in Japan、およびPrinceton Lipids、ならびに他の供給業者から得ることができる。LUVは、市販されている押し出し器によって作製される。SUVは、第5日目、および第6日目に、HDLコレステロールエステル濃度の、小さいが、統計学的に有意な上

昇を引き起こした。

【0069】

図16は、コントロールまたはJackson Laboratories, in Bar Harbor, Maineから市販されているapoE KO(ノックアウト)マウスへのLUV注射の後の、コレステロール固定化の時間経過を示す。コントロール(C57/BL6)およびアポリポタンパク質Eノックアウトマウスは、体重1kgあたり300mgのLUVリン脂質の単回ボラスを、ゼロ時間に注入された。LUVは、微量の標識化コレステロールヘキサデシルエーテルを含有していた。これは、マウスへの注射後にリポソーム上に残存する。表示されたデータは、全血漿における総コレステロール濃度(すなわち、エステル化+非エステル化)についてである。両方のセットの動物における上昇は、重篤な遺伝的高脂血症の存在下でさえも、LUVがコレステロールを血漿中に固定化することを示す。

【0070】

図17は、コントロールマウスおよびapoEマウスにおけるLUVクリアランスの時間経過を例示する。この実験の詳細は、図16に記載した通りである。血漿由来のLUVのクリアランスは、apoEノックアウトマウスにおいて減じておらず、これは、重篤な遺伝的高脂血症の存在下でさえ、コレステロールの動員(mobilization)(図16)および配置(図17)を示す。これは、高脂血症においてこの調製物の有用性を示す。

【0071】

図18は、ヒトにおける本発明の組成物および方法についての他の適用を例示する。

【0072】

図19は、本発明の改善された血液透析系および血液透析の改善された方法の透視図を例示する。利点の中でも、この改善された方法は、アンギナ、アンギナ等価状態、跛行、および関連する状態の処置を可能にし、そして透析の時間中または透析の時間の近くに手術前の状態調節を可能にする。血液は、循環アクセスのための部位(ここで腕1900として示される)から採取され、そして細胞-

血漿分離器1910に輸送される。次いで、この血漿は、透析チャンバー1920に輸送され、そして半透膜1930によって分離される、少なくとも2つの成分に分けられる。膜1930の一面は、患者の血漿1940であり、そして他面は、透析物1950である。選択された分子交換は、膜の特性（電荷、孔径など）に依存して膜1930を通る。デバイス1960は、この透析物に脂質アクセプターを付加するため、そしてこの透析物をサンプリングするためのデバイスを含み、コレステロール、リン脂質、および他の成分（例えば、アクセプター、特異的リポタンパク質、特異的成分）のアッセイを可能にし、そして配置をモニターする。血漿コレステロールまたはその他の抽出可能物質の抽出は、以下のいくつかの可能性を含む：1）アクセプターは、膜1930から血漿へ通過しない透析物中に配置される；2）アクセプターは、膜1930を通過し、そして血漿中に存在するままで患者に戻されるか、または血漿から分離され、その後患者にもどされるかのいずれかである；および/または3）シート（例えば、膜130それ自身）上、ビーズ上、および/またはチャンバー1920の壁上に固定されたアクセプター。このように処理された血漿は、通常、血球と再混合された後に患者に戻される。示されたように、コレステロールアクセプターは、実施例のように任意の段階で付加され得、デバイス1970は、アクセプターを含み、そしてアクセプターを血漿に簡単に付加する。その後、患者への血漿の返送はまた、図19において例示される。血漿中の汚染している細胞性物質（例えば、血小板）はまた、内因性の脂質においてコレステロールが枯渇され、かつリン脂質が富化されることがさらに理解される。この適用を通して述べられた全てのアクセプターは、コレステロールに加えて分子を受容し得、そして同様に物質を付与する。

【0073】

細胞 - 血漿分離器1910由来の細胞濃縮物は、次いで、いくつかの方法のいずれかにおいて処理され得、その後、この患者へ戻される：1）さらなる処理をしないで患者に戻される（これは、上記のように処理された血漿と混合することを含む）；2）脂質に対するコレステロールアクセプターを含むこの透析物が、細胞の内因性の脂質（例えば、コレステロール）を枯渇する、第2の透析チャンバー（示さず）に輸送され、その後、それらは患者に戻される；3）脂質に対す

る脂質アクセプターの懸濁液または溶液を混合され、細胞の内因性の脂質を枯渇し、次いでアクセプターを有する患者に戻すか、または特定の細胞型へのさらなる分離とともに、もしくはこの分離の後に上記のオプション1)およびオプション2)が、全ての細胞型で実行され得るかのいずれかで戻される(例えば、精製された血小板は、内因性の脂質(例えば、コレステロール)が枯渇され、かつリポソーム脂質を富化された脂質であり得る)。オプション2)および3)は、細胞性のコレステロール、リン脂質、流動率、粘性、脆弱性、細胞組成および/または細胞機能の定期的なアッセイを実行し得る。デバイス1960、1970は、処置中に細胞の定期的なサンプリングを可能にする装置を含む。血漿と同様に、脂質アクセプターは、処置のいずれかの段階で付加され得る。全ての流体(例えば、血漿および濃縮された細胞)は、比重、機械で、手動操作(シリンジ)で、または必要な場合ポンプを用いて動かされる。当然、血液が、身体の任意の適切な部分から処理されるために引き出され得ることが理解される。

【0074】

図20は、改善された腹膜の透析系2000および腹膜の透析方法の透視図を例証する。利点の中でも、この改善された方法は、アンギナ、アンギナ等価状態、跛行、および関連する状態の処置を可能にし、そして透析の時間中または透析の時間の近くに手術前の状態調節を可能にする。患者の腹部2010(図20~21)は、容器2030において保存された腹膜の透析物2020を、チャンネル2050を經由して切開2040を介して腹膜腔へ受容する。脂質アクセプターおよび/またはコレステロールアクセプター2060は、必要に応じて容器2070に配置される。別の改良において、脂質アクセプターは、透析物2020に添加される;注入の前に簡単に濃縮形態で容器2030に添加される;示されるように腹膜腔に入る流体の流れに添加される;または任意の効果的な経路によって患者への分離される入口によって注入される。本願の全体にわたって、全てのアクセプターは、コレステロールに加えて分子を受容し得、そしてリン脂質および抗酸化物のような物質を付与し得ることが理解される。

【0075】

図21は、アッセイ手段を有する種々の改善された腹膜透析系2100および

腹膜透析の方法ならびに廃液の分析の透視図を例示する。容器2110は、チャンネル2120を経由して腹部2010からの廃液を受容する。装置2110は、廃透析物の診断サンプルへのアクセスを提供し、コレステロール、リン脂質、および記載された処置の効力を示す本明細書中に記載された他のパラメーターのアッセイを可能にする。必要に応じて、アッセイ注射器2130は、アクセス入口2140を経由してチャンネルまたは管2120、あるいは容器2110に挿入される。そして任意のポンプ（示さず）を使用して、種々の流体をそのアッセイの適切な位置へ移動する。

【0076】

図22は、アンギナまたはアンギナ等価状態あるいは関連する虚血性障害からみて、改善された心臓のカテーテル化および/または血管形成系2200ならびに心臓のカテーテル化および/または血管形成の方法の透視図を例示する。患者2210は、心臓のカテーテル化および/または血管形成を受ける。この患者は、容器2220からの処置と同時投与される効果的な用量の脂質アクセプターまたはコレステロールアクセプター2230を静脈内に受容する。冠動脈造影および/または血管形成のためのカテーテルの動脈内のアクセスは、コレステロールアクセプターの同時投与の準備および脈管機能を評価するためのコリン作用性剤のような診断剤の投与の準備を可能にする。

【0077】

図23は、アンギナ、アンギナ等価状態または他の虚血性障害のからみて、種々の改善された心臓のカテーテル化および/または血管形成系2300および心臓のカテーテル化および/または血管形成の透視図を例示する。カテーテル化および/または血管形成カテーテル2310は、そこからコレステロールアクセプターが出ていくことを可能にする装置2320を有する。変更において、カテーテル2310は、透過膜を有する。この膜は、そこからコレステロールアクセプターが出ていくこと可能にする。疑似矢印2330は、コレステロールアクセプターおよび/または診断剤の出口部位を示す。部位2340は、アクセプターまたは薬剤の入口部位を示す。デバイス2300上のバルーンは、他のデバイスで置換または補充され得るか、または外部のバルーン層内に配置された内部のバル

ーン層を形成し得る。このアクセプターは、内部の可撓性バルーン層と外部の可撓性バルーン層との間に配置される。内部のバルーン層の膨張の際に、力が、部位2320の外のアクセプターを強いる流体またはゲル様アクセプターに対して発揮され、そして動脈性の外傷のより局所的に直接的な処置に対して（強力に）直接接触する。種々の本発明は、動脈の部位にアクセプターの最大の浸透を提供することが理解される。この注入は、比重、注射器の手動操作によってか、または機械的な注入ポンプ2350によって達成され得る。同様の方法および系は、標準的な脈管イメージング技術または一例として大腿脈管、頸動脈の脈管、および腸間膜脈管を含む脈管で利用され得る。

【0078】

患者2210は、心臓のカテーテル化および/または血管形成を受ける。この患者は、容器2220からの処置と同時投与される効果的な用量のコレステロールアクセプターまたは脂質アクセプター2230を静脈内に受ける。冠動脈造影および/または血管形成のためのカテーテルの動脈内のアクセスは、脂質アクセプターまたはコレステロールアクセプターの同時投与の準備および脈管機能の評価および/または器官灌流を評価するためのコリン作用性剤のような診断剤の投与の準備を可能にする。

【0079】

容器2110は、腹部2010からの廃液をチャンネル2120を經由して受容する。装置2110は、コレステロール、リン脂質、および記載された処置の効力を示す本明細書中に記載された他のパラメーターのアッセイを可能にする、廃透析物の診断サンプルへのアクセスを提供する。必要に応じて、アッセイシリンジ2130は、アクセス入口2140を經由してチャンネルまたは管2120に挿入される。そして任意のポンプ（示さず）を使用して、種々の流体をそのアッセイの適切な位置へ移動させる。

【0080】

図24は、LUV、SUV、または生理食塩水の注入に対する対応における肝臓液体含有量のグラフを例示する。実験の詳細は、上記に概略した通りである。肝臓サンプルを、いくつかの脂質（コレステロールエステル（CE）；トリグリ

セリド (T G) ; 非エステル化コレステロール (C h o l) ; ホスファチジルエタノールアミン (P E) ; およびホスファチジルコリン (P C)) の含量についてアッセイした (これらの脂質は、 μg (マイクログラム) 脂質 / mg の単位で示される) 。 S U V 処置した動物における P E および P C の低い値を、生成した ; 従って、これらの動物における C h o l : リン脂質の比は、他の群においてよりも高かった。

【 0 0 8 1 】

図 2 5 は、N Z W ウサギ (ニュージーランド白ウサギ) において S U V または L U V ($300\text{mg} / \text{kg}$) を繰り返し注射した後のコレステロールエステル濃度を例示する。矢印は、0、3 および 5 日目のリン脂質注射の時間を示す。所定のリン脂質用量に関して、L U V は、血漿中の遊離コレステロール濃度の大きな上昇を促進する。

【 0 0 8 2 】

図 2 6 は、図 2 5 と同一の実験における N Z W ウサギにおいて S U V または L U V ($300\text{mg} / \text{kg}$) を繰り返し注射した後の血漿中の遊離コレステロール濃度を例示する。矢印は、リン脂質の注射の時間を示す。S U V とは異なり、L U V の繰り返しの注射は、血漿中の C E 濃度の劇的な上昇を誘発しなかった。

【 0 0 8 3 】

肝臓への過剰なコレステロールの送達に起因する、血漿 C E 濃度の上昇は、連続的な 2 つのプロセスであり得る。これは、C E 富化粒子の過剰産生または C E 富化リポタンパク質の損なわれたクリアランスに関与し得る。 S U V 注射後に生じる、C E 富化粒子の過剰産生は、血漿においてか、または肝臓において生じ得る。 血漿において、L C A T は、小さな単一層状のリン脂質小胞 (空かまたはカプセル化した薬物を有する) に対してか、またはリン脂質富化 H D L 生成 C E に対して作用し、その後、C E T P によって L D L 上に輸送され得る。 S U V で処置した動物由来の血漿のゲル濾過を用いる結果は、C E が、ほとんどまたは実質的に L D L 上に輸送されることを示す。また、血漿において、S U V による V L D L からの a p o E の除去は、V L D L のクリアランスを緩やかにし、それによって L D L へのより効果的な変換を助ける。肝臓において、周辺組織からのコレ

ステロールの動員中の肝細胞へのコレステロールの上昇した送達は、apoB、CE 富化リポタンパク質の過剰分泌を刺激する。

【0084】

改変において、観察される血漿CE濃度の上昇は、CE 富化アテローム発生リポタンパク質の損なわれたクリアランスの結果である。apoEを獲得する、静脈内に投与されたリポソームは、LDL-レセプター媒介取り込みについて、LDLと競合する。肝臓内の特定の調節性プールへの過剰コレステロールの送達は、LDLレセプターをダウンレギュレートし、これは、血漿からのアテローム発生リポタンパク質の肝臓取り込みを妨害する。例えば、血漿からのLDL除去が低減され；VLDL除去もまた損なわれ、IDLおよびLDLへのその変換を支持する。血漿CE濃度の上昇を担うプロセスは、2つのリポソーム調製物間で異なる。SUVとは異なり、LUVは、血漿CE濃度の上昇を誘発しない。LUVは、組織コレステロールおよび他の交換可能な物質を動員するが、有害な副作用は引き起こさない、優れた調製物である。

【0085】

本発明の方法および組成物はまた、SUVによるHDLコレステロールエステルの富化を与える。1つの貢献的なプロセスは、レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ(LCAT)の刺激、およびそれに関連する他のプロセスである。SUVが、HDLコレステロールエステルを増加させる能力は、LCATの刺激およびそれに関連した他のプロセスの結果である。LCATは、コレステロールエステルおよびリゾホスファチジルコリンを生成するために、リン脂質およびコレステロールを必要とし；リポソームは、過剰なリン脂質を供給し得る。本発明はまた、リポタンパク質(LDL、HDLなどの)組成物における変更、およびLUVおよび/またはSUVおよび/または他のアクセプターによる機能における変更を提供する。

【0086】

本明細書中に記載されるリポソーム組成物およびこのリポソーム組成物を利用する方法はまた、内因性apoEを取り込み、従ってLDLの細胞性取り込みをブロックする、リポソームを含む。リポソームは、アポリポタンパク質(例えば

、apoEおよびapoA-I)を取り込み、そしてこれは、その機能を変更または増強する。例えば、内因性apoA-Iの取り込みは、リポソームに由来するリン脂質が、コレステロールを取り込む能力を増強する。そして内因性apoEの取り込みは、リポソームが、リポタンパク質の動脈性取り込みのための特定の経路をブロックすることを可能にする。これらのすべては、LDLレベルの制御、および肝臓遺伝子発現、およびコレステロールホメオスタシスに関係する。

【0087】

LUVおよびSUVは、肝臓内の異なる調節性プールにコレステロールを送達する。この結論は、肝臓遺伝子応答における差異、およびCETP mRNAが抑制され；LDLレセプターmRNAが、LUVによって影響されないか、または増加するが、SUVによっては抑制され；そしてCETPが、LUVによって抑制されるが、SUVによっては影響されないことによって支持される。

【0088】

LUVに関する重要な点を、図9に例示する。アンギナ、アンギナ等価状態および他の虚血性障害の処置としてLUVを使用する実際の利点は、それらが、製造するのに単純であり、アレルゲンフリーであり、合成的であり、そして非常に高用量においてでさえ非毒性であるという点である。機械的に、LUVは、LDL濃度の上昇を誘発することなくインビボで逆コレステロール輸送を促進し、そしてLUVは最適な調製物である。これらの粒子は、しばしば、「空の」小胞と呼ばれるが、リン脂質小胞の水性内部または二重層内への薬物の取り込みはまた、小胞の少なくとも1つの本質的な作用を破壊することなく、実施され得ることが理解される。

【0089】

本明細書中で使用される組成物は、肝臓実質から直接的にクリアランスされて排除され得る。そして本明細書中に記載される種々の方法を、記載される緩徐な組成物注入と共に利用し、そうして、実質によるクリアランスが生じる場合でさえ、肝細胞は、コレステロールを過負荷されない。さらに、HDLはまた、CETP遺伝子抑制によって制御される。

【0090】

本明細書中に記載されるように、以下によって、アッセイを実施する：VLDL濃度を推定するために空腹時の血漿トリグリセリドをアッセイする工程；血漿コレステロール（遊離エステル、または合計 - 遊離エステル）をアッセイする工程；ポリアニオン - カチオンでLDL（およびVLDL）を沈殿させる工程；HDLである上清をアッセイする工程；および血漿全体中のLDLの（血漿全体の値 - VLDL - HDL）ステロール（または、ステロールエステル）を計算する工程。リポソームを、ポリアニオン - カチオンで沈殿させるか；または、必要に応じて、大半のリポソームが欠いているエステルをアッセイする。他のアッセイとしては、電気泳動、クロマトグラフィー、免疫アッセイ、電子顕微鏡アッセイ、機能的アッセイ、構造的アッセイ、および組成のアッセイが挙げられる。

【0091】

本発明の透析物において、いかなるリポソームもエマルジョンも、それらがコレステロールアクセプターである限り、そしてそれらがLDLを上昇させないか、またはそれらが患者の循環に戻されない限り、使用され得る。いずれの場合も、血漿LDL、およびアクセプターの血漿濃度、ならびに他のアテローム発生リポタンパク質の血漿濃度をアッセイすることが必要とされる。

【0092】

緩徐な速度または低用量で肝臓にコレステロールを送達することを必要とする方法に関しては、投与は、LUVなしで小さなアクセプター（例えば、SUV）を使用することを許容し得るが、ただし他のアテローム発生リポタンパク質のレベルとしてLDLレベルをモニターし、そして調節する。肝臓コレステロールホメオスタシスを破壊することを回避するために、本明細書中に記載されるように捕捉された薬物が、低用量で与えられる必要はなく、カプセル化するリポソームまたはエマルジョンが低用量で与えられ；薬物は、少数のリポソームまたは少量のリポソーム脂質内に多量に存在し得る。

【0093】

HDLのサイズ、組成、および機能における変更は、ほとんどまたは全くステロールを有さない、ラージリポソームおよび/またはスモールリポソームの高用量または真に低用量でさえも投与することによって達成され得る。ステロールを

伴なわないリポソームは、低用量で与えられる場合、容易にHDLおよびHDLアポリタンパク質に分割され、次いで、小片が、リン脂質内にHDLを富化する血漿のHDL画分内に取り込まれる。より低いLDLレベルに対して、LUVまたは薬物を有さないSUVのものでさえ、このような低用量（例えば、10～100mg/kg/用量）は、血漿LDLレベルを上昇させる可能性は低いが、周期的なモニタリングが賢明である。

【0094】

また、LDL濃度を上昇させることなくLDL組成を変更する、本明細書中に開示される方法は、酸化に対して耐性であるPOPC（パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン）のようなリン脂質でその組成を富化し、その組成物を抗酸化剤で富化し、非エステル型コレステロールを枯渇させ、そしてリン脂質富化による酸化LDLの細胞性または動脈性取り込みを減少させる。

【0095】

約1000NM程度までのリポソームが、本発明において利用される。より大きなリポソームもまた利用されるが、組織リポタンパク質の抽出が非効率的になり得る。さらに、本発明の組成物を濃縮または乾燥させることが可能である。次いで、これらの調製物は、治療または投与の時点で、希釈または再構築される。この変形では、活性物質および希釈剤を含む2成分キットが提供される。保存の間の凝集体化を回避するために、負に荷電したリポソームまたは組成物中の他の荷電成分を作製するためのホスファチジルグリセロール（PG）の封入もまた、提供される。

【0096】

図27は、SUVの反復注射後の血漿成分における変化を例示する。渡辺遺伝性高脂血症（WHHL）ウサギに、体重1kgあたり1000mgのSUVリン脂質または等量の生理食塩水を、3週間にわたって各週の月曜日、水曜日、および金曜日（合計9用量）に、静脈内に与えた。最終投薬の3日後、血液サンプルを採り、そして血漿成分を、Superose-6ゲル濾過カラムを通過させることによって、サイズにより分画した。溶出物を、インライン分光光度計によって読み取った。右側の追跡は、生理食塩水注射ウサギ由来であり、そしてほぼ画

分#17~18のVLDL、およびほぼ画分#27のLDLを示す。左側の追跡は、SUV注射ウサギ由来であり、ほぼ画分#16の永続性リポソームを有するVLDL、およびほぼ画分#25のLDLサイズ分類粒子を示す。この追跡は、LDLの増加（これは、有害な影響である）と一致して、SUVの反復注射後のLDLサイズ分類粒子の量における増加を示す。WHHLウサギは、LDLレセプターの遺伝的欠損を有するので、この結果は、SUVが、LDLレセプターを抑制することのみによってではなく（図5）、LDLレセプターとは独立したメカニズムによっても（図27）、肝蔵コレステロールホメオスタシスを破壊することを示す。LUVは、LDLレセプターに依存した破壊およびLDLレセプターとは独立した破壊の両方を回避する。

【0097】

図28は、LUV、SUV、または生理食塩水の反復注射後の、血漿全体のアガロースゲル電気泳動を示す。実験の詳細は、図2~8および本明細書中の他の箇所に参考として引用されている。6日目の各群における2羽のウサギに由来する4 μ Lの血漿サンプルを、1%アガロースを通して電気泳動し、次いで、スタンプラックで脂質を染色した（O：起点、 \quad ：LDL標準の移動）。LDL濃度におけるSUV媒介増加は、これらのレーンにおいて、より暗色であるが、さもなくば目立たないバンドによって示される。血漿中のSUVは、LDLに勝る移動度を示した。これは、主にHDLからの血漿タンパク質の獲得に起因する。対照的に、血漿LUVは、新しく調製されたタンパク質を含まない小胞と本質的に同じ移動度を示し（すなわち、起点（O）のちょうど上）、これは、LUVにおいて獲得されたタンパク質の実質的な不在または減少を示す。

【0098】

図28の電気泳動移動度に基づいて、SUVに対してLUVによるタンパク質の獲得の定量が得られる。LUVおよびSUVを、インビトロで4時間37 $^{\circ}$ CにてヒトHDLと共にインキュベートし、次いで、ゲル濾過クロマトグラフィーによってHDLから分離し、そして、タンパク質およびリン脂質についてアッセイした。LUVは、リポソームリン脂質1mgあたり1.09 μ gのタンパク質を獲得し、一方、SUVは、40.4 μ g/mg（すなわち、ほぼ40倍）を獲得

した。従って、2つの型のリポソームは、タンパク質吸着において、著しい定量的差異を示す。LUVではなくSUVは、VLDLから熱心にapoEを奪い取り、それによって、血漿からのそのクリアランスを緩徐にし、そしてLDLへのその変換に有利にする。さらに、吸着されたタンパク質は、肝蔵コレステロールホメオスタシスを破壊する肝蔵代謝性プール内にSUVを指向させるにおいて役割を果たし、一方、LUVは、このようなプールに指向されない。組織脂質を抽出するが、多量の血漿タンパク質を獲得しない、リポソーム、エマルジョン、または任意の他の粒子もしくは化合物が、これらに関してLUVと同様に挙動する。

【0099】

細胞のコレステロール負荷によって影響を受ける特異的な脈管遺伝子としては、プロリル-4-ヒドロキシラーゼ；hnRNP-K；オステオポンチン（動脈内カルシウム沈着を誘発する際の酸化脂質に対する役割が存在し得る）；およびMac-2についての遺伝子が挙げられる。本明細書中に記載されるこれらの遺伝子を調節する方法は、正常な脈管または動脈機能の修復をもたらす。プロリル-4-ヒドロキシラーゼ（コラーゲンの合成における酵素、線維症斑の成分）およびhnRNP-K（プレmRNA代謝および細胞周期進行において同定される）メッセージの発現の上昇は、コレステロール給餌後の大動脈平滑筋細胞において見出された。これらは、本明細書中に記載されるリポソーム処理後に正常化する。コレステロール負荷に伴なって異常となる他の遺伝子または酵素は、本明細書中に記載されるようリポソーム処置で正常化する（オステオポンチン、一酸化窒素シンターゼ（NOS）、接着分子、化学誘引物質、組織因子、PAI-1（プラスミノゲン活性化因子インヒビター）、tPA（組織プラスミノゲン活性化因子）、およびMac-2（Ramaleyら、1995）が挙げられる）。コレステロール、コレステロール負荷、酸化脂質によって影響を受ける他の遺伝子もまた、補正される。

【0100】

小さなアクセプター（例えば、SUV、アポリポタンパク質-リン脂質ディスク（disk）、およびHDL）の多くの例が、市販されており、そして本発明

において使用され得る。Kilsdonk EPら、Cellular cholesterol afflux mediated by cyclodextrins、J. Biol. Chem. 270:17250-17256、1995。さらなる例として、別の小さなアクセプターとしては、シクロデキストリンが挙げられる。小さなアクセプター（特に、HDL）は、細胞からリポソームにコレステロールをシャトルする。シクロデキストリンおよびまた他の小さなアクセプターは、培養細胞からLUVに、コレステロールまたは他の交換可能な物質をシャトルし得、これは実質的に、細胞とLUVとの間の物質の除去および寄与（donation）を増加させる。アポリタンパク質-リン脂質ディスクとしては、例として、野生型アポリタンパク質、アポリタンパク質変異体、アポリタンパク質改変体、アポリタンパク質誘導体、および組換えアポリタンパク質が挙げられる。

【0101】

抗高脂質血症薬の例としては、フィブリン酸（fibrin acid）誘導体、HmG CoAレダクターゼインヒビター、ナイアシン、プロブコール、胆汁酸結合剤、他の薬剤およびそれらの組み合わせが挙げられる。抗高脂質血症処置はまた、LDLアフェレーシス、回腸バイパス、肝臓移植および遺伝子療法が挙げられる。

【0102】

この適用において示されるデータは、LUV対SUVに対する代謝応答における差異についての3つの可能な検査法を支持する。3つのメカニズムは、別々に、または組み合わされて作用する。第1に、LUVは、クップファー細胞により主に取り込まれるが、SUVは、肝臓実質に主に指向する。これは、肝臓構築学の部分的なメカニズムの結果である：肝臓内皮窓は、約100×115nmの卵型の開口であり、30nmの直径のSUVがこれを通じてか、または容易に通過し得、そして実質にアクセスする。大きな粒子（例えば、十分な直径のラージリポソーム）は容易に通過せず、そして肝臓の洞様毛細血管に並ぶマクロファージクップファー細胞によって代わりに除かれる。SUVはまた、クップファー細胞にアクセスできるが、それらの完全数（sheer number）（リン脂

質のLUV/mgと同じSUVの約10倍)は、細網内皮系を飽和するようであり、そしてこの実質は、それらのクリアランスで優性である。実質から離れた人工的な粒子に配向する他の方法はまた、例えば、粒子構造または組成物(荷電および細胞特異的結合のための特異的なリガンドを含む)を変更することによって利用可能である。

【0103】

クップファー細胞によって媒介されるコレステロールのクリアランス経路に対して、実質によって媒介されるコレステロールのクリアランス経路は、異なる代謝結果を有する。SUVによるコレステロールの、実質への直接の送達は、ステロール応答性メッセージを抑制する(図5、6および8)。コレステロールのクップファー細胞への送達の後、例えば、クップファー細胞の伸展(Disseの空間を通じて達する)を介した脂質の実質への斬進的な転移が続き、実質と物理的に接触する。クップファー細胞からの転移によるステロールの実質への送達速度は、実質によるリポソームの直接の取り込みによるよりもより遅くなり得る；ステロールの化学形態は、転移の前にクップファー細胞によって変更され得る；他の細胞-細胞連絡が存在する；そして肝臓細胞の間の脂質転移のための他の経路に基づいて、クップファーから実質への転移のプロセスは、制御され得るが、SUVのクリアランスは、現れそうもない。

【0104】

LUVに対する代謝応答 対 SUVに対する代謝応答における差異の第2の寄与する説明は、肝臓へのコレステロールの送達速度論における差異に主に基づく。LUVは、SUVよりもいくらかゆっくりと、血漿から除かれ、それによって、注射された時間から注射された物質の大部分が除去されるまで比較的定常なコレステロール集団の肝臓への送達を産生する。SUVは、より急速に除去され、それによって、各注射の後、数時間肝臓へのコレステロール集団の大きなボーナスを送達する。その後、コレステロールエステルおよびアテローム発生リポタンパク質の血漿濃度における持続した上昇が続く。LUVによる遅い、着実な送達は、肝臓コレステロールホメオスタシスの破壊を回避するが、SUVコレステロールのより急速な取り込みは、ホメオスタシスを維持する肝臓の能力を圧倒

し、それによって肝臓LDLレセプターの抑制を誘発する。人口的な粒子またはそれらの成分を肝臓に適切な速度で送達する他の方法はまた、例えば、粒子の構造または組成を変化すること（荷電および細胞特異的結合のための特異的リガンドを含む）によって利用可能である。

【0105】

第3の寄与する説明は、2つの型の小胞の間のタンパク質の吸着における著しい量的な差異に基づき（図28）、特定の実施形態において、それらの異なる表面屈曲の結果である。従って、LUVでなくて、SUVは、VLDLからapoEを熱心に奪い、それによって、血漿からのそのクリアランスを示し、そしてLDLへの転換を支持する。apoEを獲得するSUVは、肝臓による取り込みが媒介されるレセプターについてのVLDL、LDLおよび他の粒子と競合する。また、吸着されたアポタンパク質は、異なる肝代謝プールに対するリン脂質小胞を指向させる際に役割を果たし得る。人口的な粒子によって取り込まれるタンパク質を減少する他の方法はまた、例えば、粒子の構造または組成を変化すること（荷電および細胞特異的結合のための特定のリガンドを含む）によって利用可能である。

【0106】

該して、コレステロールエステルおよびLDL濃度は、LUVによる肝臓へのコレステロールおよび他の交換可能な物質の大部分の送達後に増加しないという、観察を仮定すると、この送達は、アテローム発生リポタンパク質の血漿濃度を増加しないか、または肝臓コレステロールホメオスタシス（遺伝子および他の機能の制御を含む）を有害に侵害する独特の特性を有する特異的代謝プールへの送達経路であったことは、明らかであった。従って、これらの発明は、元来の粒子成分（例えば、リン脂質）、および粒子によって獲得された物質（例えば、コレステロール）を、特定の送達部位に、無害な処分および他のさらなる利点のためにもたらす独特な送達系として一部分がみなされる。これらの特徴を有する送達系は、任意の状況（肝臓コレステロールホメオスタシスの調節、肝臓リン脂質ホメオスタシスの調節、および肝代謝においてでさえ）で有用であり、そして肝代謝は、一般的に有利である。

【0107】

例えば、赤血球脂質を改変することが望まれる状況において、率直なアプローチは、寄与可能な、かつ適切な脂質から除去することが可能な人工的な粒子を投与することである。しかし、この目的でSUVが使用される場合、SUVは、コレステロールおよび他の物質を肝臓に、有害な様式で、悪いプールに、および/または悪い速度で輸送し、そしてSUVは、アテローム発生リポタンパク質の血漿濃度の増加（このアプローチを防止する望ましくない副作用である）を生じる。対照的に、ラージリポソームの使用または類似の特性を有する他の粒子の使用は、元来の、かつ獲得された物質の、適切なプールへの、適切な速度での適切な送達を生じ、その結果、アテローム発生リポタンパク質の血漿濃度における有害な増加なしに所望の効果（赤血球脂質の修飾）が達成され得る。

【0108】

別の例として、本明細書中に記載される組成物および方法を使用して感染性因子（例えば、細菌、真菌、およびウイルス）を改変することが望ましくあり得る。類似の特性を有するラージリポソームまたは他の粒子の投与は、除去され、そして交換可能な物質を、これらの感染性因子に、およびこれらの感染性因子から寄与し、次いで投与された粒子は、適切なプールに送達され、その結果、アテローム発生リポタンパク質の血漿濃度の有害な上昇なしに所望の効果が達成され得る。上記感染因子の上記改変は、それらの病原性、侵襲性、感染性、伝播性、繁殖性、および/または免疫系に対する耐性を減少する例の目的で理解され得る。

【0109】

別の例として、有益な治療は、望ましくない副作用としてアテローム発生リポタンパク質の血漿濃度における減少を誘発し得る。類似の特性を有するラージリポソームまたは他の粒子の投与は、脂質および他の物質の、適切な肝代謝プールへの送達を介したこの応答を変更する。「Mix」動物を用いるデータは、この効果の特定の例を提供する（図4）。

【0110】

リポタンパク質の動脈の取り込み、蓄積、および保持に影響するいくつかのメカニズムが存在する。リポソームは、アテローム発生リポタンパク質からapo

Eをとらえ、それによってリポタンパク質の動脈細胞への結合を減少させ、そしてまた、動脈細胞への結合について競合する。最後に、LDLのサイズおよび/または組成における変化は、細胞外マトリックスへのその結合に影響し、そして引き続いて、動脈壁内の有害な変化（例えば、酸化または酵素学的修飾への感受性）に影響する。

【0111】

大きなアクセプター（例えば、ラージリポソーム）の操作の作用または様式は、小さなアクセプターによって補助され得、そしてその逆も成り立ち、そしてこれは、内因性（例えば、HDL）および外因性（例えば、アポタンパク質-リン脂質複合体）小アクセプターの両方を適用する。大きなアクセプターは、間質の空間に不十分に浸透し、そして特定の環境下で細胞表面に非能率的に接近するようである。これらの効果は、膜、細胞、組織、器官、および細胞外領域ならびに細胞外構造からの交換可能な物質の取り込みおよび寄与を妨害する。小さなアクセプターは、間質の空間によく浸透し、そして細胞表面に接近可能である。それによって交換可能な物質の効果的な取り込みが可能になる。しかし、小さなアクセプターは、主要な不利を有する。それらは、物質を獲得するため、または寄与するための非常に限定された能力を有し（たとえそれらの能力は、飽和するまで、獲得および寄与のはじめの速度が急速であったとしても）、そして一旦、物質を獲得すると、それらは、物質を肝臓に、肝臓コレステロールホメオスタシスを破壊させる方法で送達する。

【0112】

しかし、大きなアクセプターおよび小さなアクセプターは一緒に、少なくとも3つのメカニズムを介して互いの弱点を相乗的に克服する。第1は、大きなアクセプターは、交換可能な物質のシンク（または供給）として作用する。一方で小さなアクセプターは、別の方向で末梢の貯蔵から、大きなアクセプターへ物質を吸い上げるシャトルとして作用する。従って、例えば、小さなアクセプターは、組織に浸透し、組織から物質を獲得（および/または寄与）し、そしてそれらの能力は、少なくとも部分的に飽和になる。それらは、組織を離れ、血漿内の大きなアクセプターに遭遇し、そこで小さなアクセプターは、組織の脂質を剥ぎ取ら

れる。小さなアクセプターの能力は、それによって回復し、その結果、それらが組織に戻った際に、それらは、さらに物質を獲得（および/または寄与）し得る。このサイクルは、多くの回数続く。第2に、大きなアクセプターは、いくつかの小さなアクセプターを再構築し得る。例えば、大きなアクセプターは、HDLにリン脂質を寄与し得、組織コレステロールおよび他の物質を獲得するHDLの能力を増加する。第3に、他で記載されるように、大きなアクセプターの存在は、小さなアクセプターによって引き起こされる肝臓コレステロールホメオスタシスにおける有害な破壊をブロックし得るか、または減少し得る。

【0113】

ラージリポソームは、一般的にLDLのみだけでなく、アテローム発生リポタンパク質の血漿濃度の上昇を避ける。このリストは、アポリポタンパク質B（apoB）を含むすべてのリポタンパク質（例えば、LDL、IDL、VLDL、Lp(a)、 β -VLDL、および残余リポタンパク質）を含む。

【0114】

免疫細胞はまた、本明細書中で開示された操作の方法および形態を使用する欠乏の標的である。心臓移植片レシピエントに対するHMG-CoAレダクターゼインヒビター（プラバスタチン）の投与は、インビトロのナチュラルキラー細胞の細胞障害性を減少し、血流力学妥協を伴う拒絶の発症を減少し、冠状血管症を減少し、血漿LDLレベルを減少し（およびHDLレベルを増加させ）、そして1年の生存を有意に増強したことが理解される。生存の効果は、劇的であった；コントロール群において、22%が、初めの年に死に、一方でプラバスタチン処理群の6%のみが、死んだ。

【0115】

HMG-CoAレダクターゼインヒビターの免疫性の効果は、インビトロで報告された。これらは、循環細胞における免疫性効果が誘導するDNAの制御、単球による走化性の阻害、ナチュラルキラー細胞の細胞毒性の調節、および抗体依存性細胞の細胞毒性の阻害を含むことを報告した。このようなインヒビターの調節は、循環脂質における変化または他の効果および本明細書中に開示される操作の方法および様式の利用に起因する。

【0116】

HMG-C o Aレダクターゼは、コレステロール生合成における初期段階を触媒し、そしてコレステロールに加えて分子の合成に重要である。HMG-C o Aレダクターゼインヒビターで処理された免疫細胞にコレステロールを添加することは、機能を回復しないが、メバロネートの添加は回復する。これは、コレステロールの欠乏が、免疫効果の直接の原因でないことを示唆するが、細胞からコレステロールを除去するためのリポソームまたは他のアクセプターの使用が、細胞がより多くのコレステロールを生産しようとするのでメバロネートの内因性の消費を増加する。より多くのLDLまたは他のリポタンパク質を獲得することによってコレステロールの損失を埋め合わせる免疫細胞または他の細胞の能力を妨害するために、本明細書中に記載される方法および処理はまた、低血漿コレステロール濃度に対する療法（HMG-C o Aレダクターゼインヒビター、フィブリン酸、ナイアシン、胆汁酸結合剤、LDLフェレーシスなど）と共になされる。

【0117】

これらのプロセスは、コレステロール除去の増強およびコレステロール流入の低下を包含する。HDLのレベル（末梢細胞からのコレステロール除去の明らかな自然のメディエーター）は、患者の処置グループで増加し、そして、LDLレベルは減少した。インビボでのHMG-C o Aレダクターゼインヒビターの投与は、レダクターゼ酵素活性において通常、非常にわずかな変化しか生じない：細胞によって、単により多くの酵素が阻害剤の存在に対して打ち勝つ。それらはまた、より多くのLDLレセプター（特に肝臓の）を作るので、LDLレベルは低下する。

【0118】

本発明はさらに、腎不全で生じる加速されたアテローム性動脈硬化症を減らすPD（腹膜透析液）に添加剤を提供する。本発明はさらに、血管攣縮性の障害、例えば、レイノー現象および関連の症候群、ならびにPrintzmetalのアンギナおよび関連の症候群のための治療を提供する。本発明はまた、高凝固状態、例えば、TTP、他の血小板障害、DIC（いわゆる抗リン脂質抗体症候群）、プロテインC異常状態、プロテインS異常状態、V-Leiden因子、皮斑

様脈管炎、リポ皮膚硬化症 (lipodermatosclerosis) および関連の症候群または関連する症候群のための治療を提供する。

【0119】

単球の走化性は、関節障害における重要な早期の現象である：単球は、異常な動脈脂質沈着に対して、そしてこれらの沈着の存在に応答して作製された細胞性産物に対して、誘引され、血管壁に入り、マクロファージに転換される。従って、単球走化性および/または他の炎症性細胞の走化性の阻害は、本明細書において開示される方法を用いて達成され得る。細胞性免疫および体液性免疫の両方は、レダクターゼ阻害により影響されるようである：血行動態の妥協により達成された心臓拒絶は、しばしば体液性の拒絶に関連している（すなわち、心臓内膜心筋の生検標品において著明なリンパ球性炎症を生じることなく生じる）。

【0120】

プラバスタチン (pravastatin) は、刺激されたTリンパ球においてインターロイキン2の合成をブロックするサイクロスポリン [重要な免疫抑制薬である] と相互作用し得る。インターロイキン2の添加は、ナチュラルキラー細胞の細胞傷害性を回復して、抗体依存性細胞傷害性 (インビトロ細胞培養物中でロバスタチン処理において阻害された) を部分的に回復した。サイクロスポリンとプラバスタチン間の相乗作用により、心臓移植のレシピエントにおける免疫抑制の増加 (一方、高コレステロール血症のためのHMG-CoAレダクターゼンヒビターを投与された移植なしの患者は、臨床の免疫抑制を有さない) が説明される。

【0121】

従って、他の免疫抑制剤 (例えば、サイクロスポリンおよび/またはグルココルチコイド) (これは、IL-2も抑制し得る) を伴う安全なコレステロールアクセプターの使用も、本発明により意図される。

【0122】

本発明は、本明細書に記載される種々の化合物の誘導体を利用することがまた理解される。

【0123】

重篤な冠状脈管障害を有する心臓移植片を有する患者からの病理標品は、高コレステロール含量を有することが報告されている。従って、プラバスタチンにより早期コレステロールの低下は、ドナー心臓の冠動脈へのコレステロールの取り込みを低下させることに一部は働き得る。ラージリポソームまたは他のコレステロールアクセプターを用いて（迅速かつ直接に、単独またはそれらと組み合わせ）、同じ効果を達成する。

【0124】

免疫調節因子は、心臓移植のみならず、多くの条件において重要である。上記のアプローチが用いられ得る領域としてはまた、他の器官の移植、自己免疫疾患（身体の免疫系が、身体自身の組織を誤って攻撃する）、いくつかの感染（免疫反応が有害になる）、および免疫調節が有益である任意の他の状況が挙げられる。

【0125】

感染に関して、身体中の外来異物（例えば、感染性因子）の脂質含量および組成物の改変（ただし、正常な肝臓コレステロール恒常性を維持しながら）もまた言及されるはずである。

【0126】

酸化脂質は、組織機能を変更し、そして損傷を生じる（これには、EDRFの減少および接着分子の増大、細胞障害、およびマクロファージ走化性を含む）。

【0127】

LUVと小さいアクセプター（例えば、HDL、アポタンパク質リン脂質複合体、およびシクロデキストリン）との間に相互作用が存在する。リポソームは、余計なリン脂質を提供することにより、HDLを、より良好なアクセプターへ再構築する。そして小さいアクセプターは、シャトル（コレステロールを細胞からリポソームへ効率的に運搬する）として働く。LUVは、LDL濃度を上昇させず、そして肝臓LDLレセプター遺伝子発現を抑制しない。LUVについての医学的有用性は、内皮細胞によるEDRF分泌の回復を包含する。高いコレステロールレベルは、コレステロールによるのではなく、コレステロールの酸化誘導体によって、EDRFの内皮性放出を阻害する。HDL自体が、おそらくコレステ

ロールの除去または酸化脂質の除去により、E D R F 放出を回復するので、次いでリポソームは、同じことをできる（例えば、H D L は、コレステロールおよび/または酸化脂質をリポソームに渡す）。

【0128】

本発明は、L D L 濃度の上昇を誘発することなく、または肝臓恒常性を有害に邪魔することなく、細胞性脂質（酸化脂質を含む）を改変するための操作の方法および様式を提供する。従って、おそらく、コレステロール（例えば、H D L ）の内因性（または外因性）の小さいアクセプターと呼応して作用するL U V は、末梢組織の外に酸化した脂質を引き出し、そして排泄のために肝臓にその脂質を運ぶ。酸化脂質は、広範な有害な生物学的効果を有する。この効果としては、E D R F 放出の抑制、細胞接着分子の導入、細胞性傷害、マクロファージの走化性、などが挙げられる。従って、炎症性サイトカイン、増殖因子、脂肪分解性酵素、タンパク質分解性酵素、および/または核因子カッパB（N F - B）が誘導される。このいずれもが本明細書に記載のリポソームにより調節される。

【0129】

酸化された脂質およびその有害な効果としては、内皮性C型A N F の低下、内皮性P A I - 1 の増大、およびt P A の低下および内皮性トロンボモジュリンの低下が挙げられる。リポソームは、この効果を増強するかまたはこの効果に参加する。これらの変化は、血餅を溶解する身体的能力を障害する。本明細書に開示された方法は、酸化脂質のこれらの有害な効果を緩和するのを補助する。H D L は、生物学的に活性な酸化脂質を不活性化する酵素を輸送することにより一部作用する。

【0130】

酸化されたL D L が、C型ナトリウム利尿ペプチド（C N P）の内皮性分泌を阻害することが理解される。それは、この効果を媒介する酸化されたL D L の脂質成分である。最も重要なことには、H D L は、おそらく、酸化された脂質（例えば、酸化されたコレステロール）をとりあげることにより、酸化L D L の作用をブロックする。単独ではC N P 放出に影響を有さない高密度リポタンパク質（H D L）との同時インキュベーションは、内皮細胞（E C）によるC N P 分泌の

Ox-LDL - 誘導性障害を有意に妨害した。薄層クロマトグラフィーによる分析により、7-ケトコレステロールを含むオキシステロールが、Ox-LDLにおいて、これらの2つのリポタンパク質の同時インキュベーションの間、Ox-LDLからHDLに転移されることが示された。これらの結果は、Ox-LDLが、Ox-LDLにおいて7-ケトコレステロールまたは他の転移可能な親水性脂質により、ECからのCNP分泌を抑制すること、そしてOx-LDLの抑制的効果がHDLによって逆転されることを示す。

【0131】

どんな分子がHDLを拾い上げても、リポソームによるHDLの再モデリングおよび組織からリポソームへのHDLによる酸化脂質のシャトリング（往復）（すなわち、リポソームはHDLを連続的にはがす）により、本明細書に記載のリポソームまたは他のアクセプターは、それがより良好な行動を行うことを可能にする。内因性の小さいアクセプターを有するリポソームもまた働く。

【0132】

酸化された低密度リポタンパク質における転移可能な脂質が、プラスミノゲンアクチベーター-1を刺激し、そして内皮細胞からのヒト組織プラスミノゲン活性化因子を阻害することがさらに理解される。上記のように、これは、効果を乗じる酸化LDL（例えば、コレステロールの酸化形態）における脂質である。酸化された低密度リポタンパク質が、培養したヒト内皮細胞におけるトロンボモジュリン転写を低下させたことが理解される。酸化された脂質がアテローム性動脈硬化症において役割を果たすこと、および酸化された脂質を不活性化するHDL上の酵素が、防御効果に寄与し得ることが理解される。本明細書において開示される方法および組成物が、例えば、これらの酵素の最終産物を除くことにより、さもなければHDLを変更することにより、そして酵素輸送および作用のためのさらなるプラットフォームを提供することにより、同様にこの提唱されたメカニズムを助けることが意図される。例えば、パラオキシナーゼおよび酸化脂質の両方が、リポソーム上に移り、ここで次に酸化された物質の不活性化が生じ得る。

【0133】

このように、末梢組織から一般に有害な脂質（ここでは、脂酸化した脂質）を除去するラージリポソームの使用（それは、最初に脂質を抽出する）は、直接、または、HDLを介するいずれかで、おそらく、それらを不活化し、次いで循環中のリポソームに対してそれらまたはそれらの分解産物を送達することが記載されている。インビボにおける酸化および酸化傷害を評価する直接方法としては、以下が挙げられる：脂質については、8-エピPGF₂のアッセイ；DNAについては、8-オキソ-2'デオキシグアノシンを評価する；一般に組織における抗酸化酵素を評価する；そしてビタミンE、ビタミンC、尿酸塩および還元グルタチオン/酸化グルタチオンなどの抗酸化レベルを評価する。

【0134】

細胞、器官および組織から、脂質輸送（細胞外物質および任意の通常互換可能な物質の輸送を含む）を逆にする効果をもたらすことに関連する方法および様式が、本明細書において記載されている。これは、コレステロールのみを包含するのではなく、スフィンゴミエリン、酸化脂質、リゾホスホチジルコリン、タンパク質およびリン脂質提供もカバーする。酸化物質のいくつかの効果は、上記および下記されたように、動脈細胞における石灰化の増大を含む。

【0135】

LDLおよびアポBレベルへの異なる効果を説明するためのスモールリポソームに対するラージリポソームの中の3つの可能性のある差異としては、以下が挙げられる：開口浸透（fenestral penetration）（LUV << SUV）；クリアランス速度（LUV < SUV、これによりLUVは、肝臓に対するコレステロールの徐放性の送達（これは破壊性が少ないかもしれない）を生じる）；タンパク質吸着（LUV << SUV）。単層小胞が、複層小胞を上回る利点を提供することが理解される。なぜなら、例えば、リン脂質の内部二重層が、いくらか遮蔽され、そしてフリップフロップ（flip-flop）および粒子の外側からの互換可能な物質を獲得または提供するための内部拡散に依存するはずであるからである。

【0136】

非エステル化コレステロールは、マクロファージによる組織因子発現を増大す

る。これは、非常に重要である。なぜなら、それは不安定に放出される物質を作成するマクロファージ由来組織因子であるからである。これは血餅を強力に刺激してプラークを破壊し、次いで、心臓発作をもたらす血管をブロックする。本発明の操作および組成物の方法および様式は、非エステル化コレステロールおよび/または他の関連因子における変化により、組織因子の発現に作用する。

【0137】

ラージリポソームによるタンパク質のわずかな吸着は、以下のメカニズムによる、LDLレベルおよび/またはアテローム性動脈硬化に作用する：1) スモールリポソームによるVLDLからのapoEの獲得は、循環からのVLDLの除去を損ない、それによりそれをアテローム発生LDLへより効率的に転換することを可能にする；ii) スモールリポソームへのタンパク質の吸着は、これらの粒子を肝臓内の代謝の悪いプールに指向する。ポリアクリルアミドゲル電気泳動は、リポソーム（実際はスモールリポソーム）がLDLのサイズを大きくすることを示す。リポソームを用いてLDLのサイズ、組成物および構造を変更し、そのアテローム原性を低下させる。

【0138】

LDLの他の特性は、リポソームの投与により変化され得た。例えば、リポソームは、表面非エステル化コレステロールを減少させ；表面スフィンゴミエリンを低下させ；POPC（わずかに酸化された）で表面スフィンゴ脂質を置換して；投与の前にリポソームに添加された抗酸化剤でLDLを置換する。これらの変化は、LDLの動脈進入、滞留、改変およびアテローム原性を実質的に変更する。

【0139】

制御される副作用としては、肝臓コレステロール代謝、コレステロール代謝に関与する遺伝子の肝臓発現およびアポリポタンパクBを含むコレステロールに富むアテローム発生リポタンパク質（主に、LDL）の血漿濃縮に焦点が当てられる。例えば、スフィンゴミエリンの逆輸送は、肝臓コレステロール代謝を変化させる（細胞性スフィンゴミエリンは、コレステロールの細胞内分布に影響を与え、それゆえ調節性効果に影響を与える；また、スフィンゴミエリンは、細胞内シ

グナル伝達を媒介するセラミドに対する前駆体である)が、ラージリポソームは、この領域におけるいずれの問題も回避するようである。これは、酸化形態のコレステロールの逆輸送についても同じことが言える(抑制LDLレセプター遺伝子発現における酸化されていないコレステロールでさえ、より強力である)。シクロデキストリンは、リン脂質を取り込まない。

【0140】

リポソームは、任意の交換可能な脂質(実際、任意の交換可能な両親媒性または疎水性の物質であり、これらとしては、脂質またはタンパク質またはこれらの特徴を有するものが挙げられる)を取り込む。これには、スフィンゴミエリン、酸化または改変された脂質(例えば、酸化ステロールおよびリン脂質)が挙げられる。代表的に、そのようなリポソームは、他の脂質二重層(例えば、細胞膜)およびリポタンパク質由来の、エステル化されていないコレステロールおよび他の交換可能な物質を取り込み得る。リポソームはまた、タンパク質を取り込み、そしてリン脂質を提供する。例として、リポソームは、リポタンパク質中でのSM:PC率を低下し、これには、アテローム発生リポタンパク質を含み、これによってそのアテローム原性を減少させる。細胞膜、リポタンパク質などの改変の間およびその後、リポソームは、血漿から主に肝臓によって除去される。この適用を通して、本発明者らは、この一般的なプロセスを「逆脂質輸送」というが、組織、血液、細胞外環境(milieu)またはリポソームにおける任意の交換可能な物質が関与し得ることが理解される。交換可能な物質の特異的な例としては、エステル化されていないコレステロール、酸化形態のコレステロール、スフィンゴミエリンおよび他の疎水性または両親媒性物質が挙げられる。

【0141】

これらの分子は、血管機能障害において蓄積し、そして有害な影響(例えば、コレステロール、酸化コレステロール、スフィンゴミエリンおよび他の物質(例えば、リゾリン脂質))または老化(例えば、スフィンゴミエリン)を媒介する。例えば、酸化された脂質(特に、ステロール)は、多くの抹消組織機能を変化させ、これは、アテローム性動脈硬化症における動脈細胞によるカルシウム沈着を刺激する工程、および内皮細胞によって放出される内皮プラスミノゲンアク

チベーターインヒビター 1 刺激する工程を包含し；他の酸化脂質産物としては、マクロファージを病巣に誘引する接着分子の内皮発現を刺激するリゾリン脂質が挙げられ、そしてスフィンゴミエリンは、いくつかの老化の細胞培養モデルにおいて蓄積し、そしてコレステロールと共に、いくつかの細胞変化の原因となり得る。他の変化（例えば、酸化）はまた、老化を媒介または加速し得る。これらの分子の多くは、インビトロでリポソーム（例えば、コレステロール、スフィンゴミエリン、そしておそらく、酸化されたコレステロール）によって取り込まれ、そして多くはHDL（コレステロール、酸化コレステロール、酸化脂質）によって取り込まれるが、これらは他の分子も同様に取り込むようであることが示された。しかし総質量の点から、必要とされる物質の大部分は、エステル化されていないコレステロールであり、第二としてタンパク質を伴なう。あるいは、エステル化されていないコレステロールを獲得することによって、リポソームは、発生する酸化されたコレステロールの量を還元し得る。なぜなら、出発物質が少ないからである。

【0142】

本明細書に記載される効果的な期間は、例えば、非常に長い処置過程、持続年数、を排除するように解釈されるべきではない。週、月または年によって分けられる反復した処置期間もまた排除すべきではない。

【0143】

副作用には、コレステロールを有する肝臓またはリポソームによって獲得される他の物質の過負荷が挙げられ；肝臓機能における引き続く変化、例えば、LDLレセプターの抑制、肝臓内コレステロールエステル化の刺激、アポリポタンパク質Bを含むアテローム発生リポタンパク質の肝臓分泌の刺激、および血漿からの肝臓によるアテローム発生リポタンパク質の損傷した取り込みを伴う。

【0144】

本明細書で使用される場合、用語「内因性」は、HDLが体内から生じることを示し、それが投与されることではない。しかし、HDLおよび関連するアクセプターは、投与され得る。

【0145】

データは、インビボでのラージリポソームとスモールリポソームとの間別の差異を示す。注射前、本実験で使用されるリポソームは、基本的に電氣的に中性であり、これは、電場が提供される場合、アガロースゲルを介して迅速に移動をしないことによって示される。(これは、荷電されたリポソームまたは他の粒子が使用され得ないことを暗示しない。) スモールリポソームは、タンパク質および他の物質を取り込み、そして電氣的に荷電するようになる：これらはこうなると、電場が提供される場合、アガロースゲルを介して迅速に移動する。本発明者らが3つのウサギ群から得た血漿サンプルのアガロースゲルを泳動した。スモールリポソームはこれらのゲル中でより可動性となった。ラージリポソームは、実質的にほとんど可動性でないままであり、これは、低いタンパク質含量を反映した低荷電密度を示す。

【0146】

ラージリポソームとスモールリポソームとの間の差異に関する2つの説明が存在する：1) スモールリポソームは、肝臓内皮の開口部を介して浸透するが、ラージリポソームは、浸透しない(従って、ラージリポソームは、クッパー細胞へ行き、そしてスモールリポソームは肝臓実質へ行き、そして問題を引き起こす)；2) ラージリポソームは、スモールリポソームよりもいくらかゆっくりと肝臓によって清澄されることが公知であり(理由は知られていない)、その結果、簡単には肝臓を圧倒し得ない。荷電密度に関するデータは、部分的な説明(少ないタンパク質、故にゆっくりまたは改変された肝臓取り込み)を与える。

【0147】

リン脂質のmgあたり、LUVによる肝臓へのコレステロールの送達は、SUVによるよりも実際より効果的である。1つの差異は、LUVによる送達が注射後長い期間にわたって安定であり、一方SUVによる送達はピークがありそして落ちるといふ点である。

【0148】

本明細書中に記載される組成物のいくつかとしては、以下が挙げられる：卵ホスファチジルコリン；体温で結晶化しない(例えば、これらは少なくとも1つの二重結合を含む)が酸化に耐性である、合成ホスファチジルコリン(例えば、こ

れらは多くの二重結合を有さない(例えば、1-パルミトイル, 2-オレオイルホスファシジルコリン(POPCと省略される));他の天然もしくは合成のリン脂質単独または混合物;リポソームもしくはミセル構造をさらに可能にする疎水性または両親媒性の物質で補充されたかまたはそれらで置換された前記のものいずれか。押し出し(extruder)は、確かに、ラージリポソームましてや特にLUVを作製するための考えられ得る唯一の方法ではない。当該分野の実施者に公知の他の方法は利用可能であるか、または一般的にラージリポソームおよび特にLUVの作製に適用され得る。リポソームを作製するための出発脂質の差異が、しばしば、所望のサイズの粒子、層状、およびこれらの適用のための他の特徴を得るために、製造の詳細に改変を必要とすることが理解される。多層状もしくは少数層状(paucilamellar)の小胞(vesicle)の内部二重層の中へまたは小胞から外への、コレステロールおよび他の交換可能な分子の移動が瞬間ではなく、その結果、単一層状(unilamellar)または少数層状の小胞が好ましい形態であることもまた理解される。

【0149】

本明細書中で使用されるように、用量は、ラージリポソームの形態において、kg体重あたり10~1600mgのリン脂質を含む。本明細書中に記載される他の受容可能な割合および用量は、血漿LDL濃度の応答、脂質動員、および生物学的応答(例えば、内皮機能、器官の灌流および/もしくは機能、および冠状動脈または脳の事象)によって経験的に決定され得る。

【0150】

膜の組成ならびに機能に変化がある場合、膜組成のアッセイまたは組織組成のアッセイを使用し得る。組成アッセイは、脂質、タンパク質および他の成分を含むべきである。

【0151】

HDLは、酸化された物質を取り込み得、そしてHDL関連酵素は、酸化された物質を不活性化し得る。酸化された物質のリポソームへの移動は、リポソームが循環から清澄される場合、酸化された物質を不活性化しかつまたリポソーム上に移動する酵素によって(例えば、パラオキシナーゼ)によって廃棄を可能

にする。

【0152】

時間の分離は、物質の実際の用量に依存し、これは肝臓コレステロールホメオスタシスに影響を与え、これはコレステロール低下剤が同時に投与されるか否かに関わらない。従って、kg体重あたり約300mgのスモールリポソームの用量に関して、わずかな崩壊が単回用量後でさえ生じ、そして高用量の単回投与は、いっそうの崩壊を生じ得る。時間の例示的な分離としては、1日~1ヶ月が挙げられるが、詳細なスケジュールは、肝臓コレステロール代謝ならびにLDLおよび他のアテローム発生リポタンパク質の血漿レベルをモニタリングすることによって決定される。

【0153】

リポソームクリアランスに関与する主要なマクロファージは、肝臓中のクッパー細胞および骨髄または脾臓中のマクロファージである。本発明における異化作用は、いわゆる、コレステロールの胆汁酸への変換を開始するための代替経路であるか（マクロファージは、少なくともコレステロール異化酵素有することが公知である）、またはステロール（酵素学的に改変されているかまたは改変されていない）の他の細胞（例えば、次いで分子を処理する肝臓実質）への移動であり、これにはコレステロールおよび/またはリン脂質の、胆汁および古典的胆汁酸合成経路への直接的な分泌を含むが、これらに限定されない。

【0154】

本方法はまた、本明細書中に細胞老化の影響の制御を記載する。

【0155】

本発明は、インビトロおよびインビボにおける酸化のアッセイ、血漿成分の酸化感受性のアッセイ、そして改変されたHDLが酸化を（酸化性生成物に結合することによって、および/またはそのパラオキシナーゼもしくは他の抗酸化成分を介して）阻害する能力ならびにHDLもしくは血漿もしくは血清もしくは血液がコレステロールおよび他の交換可能な物質を動員する能力のアッセイを実施することによって、リポソーム治療の有効性を評価するための手段を含む。

【0156】

ラージリポソームは、細胞の間（これは細胞外領域である）にも補足されるいくつかの物質の動員を引き起こし得る。この細胞外物質は以下のような問題を引き起こす：a) 細胞または血小板と接触する場合、それらの機能を改変する、b) 単純に場所をとる。

【0157】

コレステロール動員の速度は、経験的に決定され得る。リポソームクリアランスの運動が異なる種において異なることが理解される（マウスにおけるLUV $t_{1/2}$ は、約8時間であるが、ウサギでは約27時間であり、そしてヒトではより長い）。従って、計算される速度は、種ごとに変化し得る。300mgのSUVのウサギへの投与におけるデータに基づいて、血漿からリポソームコレステロールを除去するピークの速度は、注射後3時間と6時間との間である。その時、リポソームは、ちょうど2mmol/Lを超えて血漿のエステル化されていないコレステロールを上昇させ；3kgのウサギで総血漿体積は90mLと推定され、その時点での総リポソームコレステロールは180μmolであった；これらのウサギでのSUVに対する $t_{1/2}$ は、約20時間であり、そしておおよそ10%が3時間で除去される；従って、リポソームコレステロールの除去のピーク速度は約2μmol/時間/kgであり、これは血漿コレステロールエステル濃度における引き続く上昇を引き起こした。注射後の他の期間において注目することは、血漿から除去されたりポソームコレステロールの速度が小さかったことである。肝臓はクリアランスに対して優性な器官であるが、クリアランスに関する唯一の器官ではないことにもまた注意する。

【0158】

20~22gのマウスへの300mgのLUV/kgの単一注射は、注射後最初の24時間で約2400nmolのコレステロールを動員すると計算される。ウサギにおけるSUVを用いたデータと対照的に、LUVを用いたマウスへの注射における最初の24時間のコレステロール動員は、非常に安定であった。これは、この最初の24時間にわたり約4.7μmol/時間/kgと計算され、これは、実際、2μmol/時間/kgの数字を超えてより大きく、これがピークの速度であった。これは、公平な比較ではない。なぜなら、マウスにおけるLUVのク

リアランスは、ウサギよりも3倍速いからである。4.7を3で割った場合、2より小さい1.6 μ モル/時間/kgを得るが、これらは不完全な概算である。ヒトの速度は、経験的に決定され得る。しかし、LUVがそれらのコレステロールを安定した速度で送達し、一方、SUVは、脂質を肝臓へ簡潔で迅速に押し出すことが明らかである。

【0159】

体温において、最も望ましいリポソームは、二重層の制限内の流体であり、これは、液晶状態と呼ばれる。ゲル状態（これは、あまり流動性ではない）のリポソームはあまり望ましくない。

【0160】

エステル化されていないコレステロールがマクロファージを刺激し、よりたくさん組織因子（血餅を引き起こすことが公知の物質）を発現することが理解される。これは、破裂傾向の斑において豊富な組織因子の存在を説明する。この破裂傾向の斑は、破裂する場合、血漿に組織因子を曝露し、血管を閉塞し得る凝塊を引き起こし、心臓麻痺を引き起こす。これは、異常な細胞機能の別の例であり、これは、リポソームによるコレステロールの除去により逆転され得る。

【0161】

いくつかのヒトの状態は、組織、細胞、膜および/または細胞外領域の示差的な脂質組成物によって特徴付けられる。例えば、アテローム性動脈硬化症において、コレステロール（エステル化されていない形態、エステル化された形態、および酸化された形態）ならびに他の脂質は、細胞内ならび動脈壁およびその他の細胞外領域において蓄積した。これらの脂質は、例えば、細胞機能を変えることによって、そして血管管腔を狭くし、血液の流れを妨げることによって、潜在的に有害な生物学的効果を有する。脂質の除去は、多くの実質的利点を提供する。さらに、細胞、膜、組織および細胞外構造物は、例えば、抗酸化剤の含有量およびタイプを増加させること、酸化された物質を減少させること、および酸化に対して抵抗性の物質の含有量を増加させることによって、酸化および酸化的損傷に対する抵抗性を増加させることを含む組成物および変更から利益を得る。老化において、細胞は、スフィンゴミエリンおよびコレステロールを蓄積することが示

されており、これは、細胞機能を変化させる。これらの機能は、これらの脂質の除去およびリポソームからのリン脂質による置換によりインビトロで回復され得る。インビトロで同様な脂質変更を行うための主な障害は、組織、細胞、細胞外領域、および膜から代謝される脂質の性質であった。末梢組織脂質を代謝し得る天然粒子（例えば、高密度リポタンパク質）および合成粒子（例えば、スモールリポソーム）は、相当な不利益を有する：これらは、肝臓のコレステロール恒常性を妨げる様式で、それらの脂質を肝臓に送達し、有害リポタンパク質（例えば、低密度リポタンパク質（LDL）、主要なアテローム発生リポタンパク質）の血漿濃度の上昇をもたらす。

【0162】

本明細書中に記載される本発明は、血漿LDL濃度を制御しながら、末梢組織から肝臓にコレステロールならびに他の物質および化合物をインビボで「逆」輸送することに関する方法および組成物を提供する。

【0163】

LUV、SUV、または生理食塩水を注射された最後の1セットのウサギ由来の血漿サンプルのアガロースゲル電気泳動（これらのアガロースゲルは、それらの電荷によって分離され、これは、あるタイプの粒子と別のタイプの粒子では同じではない）を行った。新たに作製されたSUVは、非常にゆっくりとアガロースを移動し、これは、新たに作製されたリポソームが非常に小さな電荷を有することを示す。動物への注射後あるいは血漿またはリポタンパク質での同時インキュベーションの後に、SUVは、リポタンパク質からタンパク質を取り込む（pick up）。これらのタンパク質は、SUVに、より多くの電荷を与え、アガロースゲルを通過するそれらの移動を実質的に促進する。血漿への曝露の後にSUVは、LDLよりも速くこれらのゲルを通過して移動する。

【0164】

このゲルは、LUVとSUVとの間に実質的な差異を示した。予期したように、SUVは、これらのゲルにおいてLDLより先に移動した。しかし、LUVは、タンパク質を含まない新たに作製したリポソームが移動する場所にほとんど正確に移動した。この結果は、LUVが、SUVとは異なって、循環するリポタン

パク質からタンパク質を容易に取り込まないことを示す。

【0165】

リポソーム間のこの差異の直接的な証明が存在する。ヒトHDL（リポソームが取り込むタンパク質の大部分を有する）は、LUVまたはSUVのいずれかとともにインキュベートされ、次いで、リポソームが再び単離され、それらのタンパク質対リン脂質の比がアッセイされる。リポソームリン脂質の量当たり、SUVは、LUVの約40倍多くのタンパク質を拾い上げる。この差異は、表面曲率の違いが理由で生じるようである：SUVの方が小さく、その結果、それらの表面はより急激に湾曲し、従ってより大きき歪んでおり、その結果タンパク質がより容易に挿入し得る。

【0166】

2つのタイプのリポソーム間のタンパク質の取り込みにおける差異の2つの最もあり得る代謝効果が存在し、以下である：

1. VLDLが、二つの代謝運命を有する：このLDLが脂肪分解酵素によってLDLに完全に変換される前に血漿から除去され得るか、あるいはこのLDLが循環LDLに完全に変換され得る。SUVは、VLDLからapoEを取り除き、それによって血漿からのそのクリアランスを遅くし、そのLDLへの変換を助ける。対照的に、LUVは、apoEをVLDLに残し、その結果、血漿中のLDL濃度が上昇しない。

【0167】

2. 吸収されたアポタンパク質は、リポソームを異なる肝代謝プールおよび/または異なる速度に指向させる際に役割を演じ得る。

【0168】

ここに、インビボでの酸化に対する効果をアッセイするためのいくつかの方法がある：Catella F, Reilly MP, Delanty N, Lawson JA, Moran N, Meagher E, FitzGerald GA, Physiological formation of 8-epi-PGF2 alpha in vivo is not affected by cyclooxygenase inhibition. Adv Pro

staglandin Thromboxane Leukot Res. 23 : 233 - 236 , 1995。これらの著者は、脂質酸化の最終生成物である、8 - epi - PGF₂ を記載する。この分子は、動物における脂質酸化フラックスの尺度として使用され得ることを彼らは提案する。これは、抗酸化レベル（食餌によって影響される）、チオバルビツール酸反応性物質（いくつかの糖がこのアッセイを妨害する）、および短命の酸化中間体（これらは、酸化される物質の全フラックスを示さない）のような、他の通常使用されるインビボでの酸化の測定よりも優れる。酸化された脂質を末梢から除去することによって、LUVの投与は、インビボでより少ない総酸化フラックスであり、8 - epi - PGF₂

がこのより少ない総酸化フラックスを測定するために適した方法である；Cadet J , Ravanat JL , Buchko GW , Yeo HC , Ames BN , Singlet oxygen DNA damage : chromatographic and mass spectrometric analysis of damage products . Methods Enzymol . 234 : 79 - 88 , 1994。これらは、DNA酸化の最終生成物である8 - オキソ - 2' - デオキシグアノシンを記載する。上記のように、この分子は、動物におけるDNA酸化フラックスの尺度として使用され得る。LUVの投与は、インビボでのDNA酸化フラックスを低下させ、これは、このDNA酸化フラックスを測定するための適切な方法である；そしてXia E , Rao G , Van Remmen H , Heydari AR , Richardson A , Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fisher 344 rats are altered by food restriction . J Nutr . 125 (2) : 195 - 201 , 1995。組織中の抗酸化酵素が、脱酸素能力を示すために測定される。LUVはこれを助ける。抗酸化レベル（ビタミンE、アスコルベート、ウレート）；酸化されたおよび還元されたグルタチオン；ならびに多くの他の測定が末梢酸化および酸化損傷を評価するために使用され得る。また、これらおよび他の尺度は、治療の効力を評価するために、LUV投与と結合される。

【0169】

ラージリポソームのそれらの性質を模倣する他の粒子は同様に作用し、肝臓コレステロール恒常性における有害な破壊を避けながら、末梢脂質および他の交換可能な物質を代謝し、そして交換可能な物質を送達する。例えば、これらは、肝臓によってゆっくり取り込まれる組成物および構造ならびに / あるいは特定の内因性タンパク質を容易に獲得しない組成物および構造の肝臓内皮窓 (f e n e s t r a e) に貫入するために、二つの大きなエマルジョン粒子を含む。このようなエマルジョンは、タンパク質を有してまたは有さずに作製され得、リン脂質および中性脂質 (例えば、トリグリセリドまたは別の中性脂質) から作製され得る。

【0170】

本発明はまた、サイズ決めされたリポソームおよびリポソームが肝臓によってゆっくり取り込まれるような組成物を含むかまたはこれらから本質的になる薬学的組成物を提供する。

【0171】

本発明はまた、血漿LDL濃度を制御しながらインビボで末梢組織から肝臓へコレステロールを逆輸送させる方法を包含し、この方法は、処置期間の間ステロールを実質的に含まないリン脂質から構成される多様なラージリポソームの治療的有効量を経皮的に投与する工程を包含し、これによってリポソームが処置期間の間コレステロールを取り込む。この方法は、コレステロールアクセプターの組織貫入を高め、有効量の化合物の同時投与によって、組織コレステロールおよび他の交換可能な物質の抽出を増加する任意の工程を包含する。この化合物は、コレステロールの小さなアクセプターおよびコレステロールの内因性の小さなアクセプターを増加する薬剤からなる群から選択される。変形において、この化合物の同時投与は、ラージリポソームの非経口投与と同時である。別の改変において、化合物の同時投与は、多様なラージリポソームの治療的有効量の非経口投与から、ちょうどよいときに効果的な時間だけ分離される。効果的な時間は、約1分～約2週間の範囲である。

【0172】

別の局面において、本発明は、動脈損傷の脂質含有量を減少する改良方法を包含し、この方法は、治療的有効量の薬剤を被験体に投与することによってインビボで末梢組織から肝臓へのコレステロールの逆輸送を誘導する工程を包含する。この薬剤は、ステロールおよび小さなアクセプターを実質的に含まないリン脂質から構成されるラージリポソームからなる群から選択され；LDL濃度プロフィールを得るために被験体の血漿LDL濃度を周期的にモニターし；LDL濃度プロフィールにตอบสนองして治療的有効量の薬剤を調節し；そして薬学的薬剤をこの被験体に投与する。この薬剤は、LDL濃度プロフィールにตอบสนองして、LDL濃度、小さなアクセプター、およびHDL濃度を上昇させる組成物を下げるための化合物の群から選択され、これによって、動脈損傷の脂質含有量における減少が、効果的に処置され、処置期間に渡ってモニターされる。動脈損傷は、脂質豊富な、破裂傾向のIV型およびV型動脈損傷を含む。斑破裂、血栓症、および組織梗塞形成が非常に減少する。

【0173】

なお別の局面において、本発明は、動脈損傷（この損傷は、血漿およびその成分と接触する）の脂質含有量を減少させるための処置の効率を評価する改良方法を提供し、この方法は、治療的有効量の薬剤を被験体に投与することによってインビボで末梢組織から肝臓へのコレステロールの逆輸送を誘導する工程を包含する。薬剤は、ステロールおよび小さなアクセプターを実質的に含まないリン脂質から構成されるラージリポソームからなる群から選択され；そして血漿成分をアッセイによって周期的にモニターする。このアッセイは、血漿のエステル化されていないコレステロールおよびリン脂質についてのアッセイ、糞便中の胆汁酸およびコレステロールのアッセイ、胆汁中の胆汁酸およびコレステロールのアッセイ、肝臓生検における肝臓遺伝子発現のアッセイ、末梢血白血球における遺伝子発現のアッセイ（この遺伝子は、コレステロール代謝に關与する遺伝子を含む）、血漿LDL濃度のアッセイ、および脈管イメージング技術からなる群から選択される。脈管イメージング技術は、心臓カテーテル、磁気共鳴イメージング、超音波、超高速CT、放射性核種アッセイ（必要に応じて、ストレス-タリウム走査を含む）、任意の灌流アッセイ（例えば、PET走査）、およびECHOのよ

うな任意の機能性アッセイからなる群から選択される。

【0174】

本発明はまた、動脈機能、血小板機能を有利に変化させ、血漿LDL濃度および肝臓コレステロール恒常性をインビボで制御する方法を包含し、この方法は、他の薬剤の投与を伴ってまたは伴わずに、処置期間の間、ステロールを実質的に含まないリン脂質から構成される、多様なラージリポソームの治療的有効量を非経口的に投与する工程を包含する。他の薬剤は、必要に応じて、小さなアクセプターおよびLDLを減少させる薬剤を含む。必要に応じて、この方法は、動脈機能の測定を行う工程を包含する。この測定は、血流、酸素送達、内皮誘導弛緩因子の測定、動脈細胞内の細胞内カルシウム濃度の測定、動脈細胞増殖の測定、動脈酵素のアッセイ、カルシウムチャネル遮断薬の存在下でのアッセイ、脂質タンパク質の動脈による摂取、蓄積および維持のアッセイ、リポソームの動脈蓄積のアッセイ、リポソームの動脈維持のアッセイ、遺伝子産物のアッセイ、ならびに動脈細胞機能のアッセイからなる群から選択される。内皮誘導弛緩因子の測定は、内皮依存性動脈弛緩の機能的決定、内皮弛緩因子の産生の化学的決定、および一酸化窒素シンターゼのアッセイからなる群から選択される。

【0175】

血小板機能を有益に変更する一方で血漿LDL濃度、動脈機能、肝臓コレステロールホメオスタシスおよびインビボでの血小板機能を制御する方法もまた、含まれる。この方法は、処置の期間に実質的にステロールがないリン脂質で構成される治療有効量の多数のラージリポソーム、すなわち他の薬剤を伴うかまたは伴わないで投与されるリポソームを非経口的に投与する工程を包含する。この方法は、動脈機能の測定を行う工程を必要に応じて包含する。この測定は、内皮誘導弛緩因子の測定、動脈細胞における細胞内カルシウム濃度の測定、動脈細胞増殖の測定、動脈酵素のアッセイ、および遺伝子産物のアッセイからなる群から選択される。内皮弛緩因子の測定は、内皮依存性動脈緩和の機能決定および内皮弛緩因子の産生の化学的決定からなる群から選択される。

【0176】

インビボでマクロファージ（例えば、肝臓マクロファージ）を用いてコレステ

ロールを分解する方法および動脈の血漿成分または構造的局面に影響を及ぼす方法もまた含まれ、この方法は、被験体に治療有効量のリポソームを投与する工程を包含し、このリポソームは、実質的にコレステロールがなくかつあるサイズおよび組成物であり、その結果、このリポソームは、マクロファージにより摂取され得、かつマクロファージにより分解され得る。コレステロールは、リポソームにより動員され、マクロファージにより取り込まれかつ分解されるリポソームを生じる。この方法はまた、アッセイを用いて血漿成分を周期的にモニターする工程を包含し得る。このアッセイは、血漿非エステル化コレステロールおよびリン脂質のためのアッセイ、血漿コレステロールエステル移動タンパク質活性のアッセイ、便中の胆汁酸およびコレステロールのアッセイ、肝臓ビオブシーにおける肝臓遺伝子発現のアッセイ、末梢結白血球における遺伝子発現のアッセイ（この遺伝子は、コレステロール代謝に関与する遺伝子を含む）、血漿LDL濃度のアッセイおよび脈管画像化技術からなる群から選択される。

【0177】

なお別の局面において、本発明は、インビボで薬物を送達する方法、肝臓コレステロールホメオスタシスの有害な分裂を予防する方法（薬物を薬剤でトラップする工程を包含する）を含む。この薬剤は、コレステロールが少ないリポソーム、コレステロールがないリポソーム、エマルジョン、肝臓実質によって初期にゆっくりと摂取されるリポソーム、肝臓実質によって初期にゆっくりと摂取されるエマルジョンからなる群から選択される。この薬剤は、タンパク質を有する薬剤およびトラップされた薬物を得るためのタンパク質を伴わない薬剤からなる群から選択される。この方法はまた、処置期間にトラップされた薬物の治療有効量を投与する工程を包含する。この投与する工程は、トラップされた薬物をゆっくりと感染する工程を包含する。多方面で、投与する工程は、肝臓コレステロールホメオスタシスにおける有害な分裂を予防するために、およそ別々の回数で、薬剤の小用量を投与する工程を包含し、そしてこの薬剤の低用量を用いる工程を包含し、それによって肝臓コレステロールホメオスタシスを分裂することが、予防される。

【0178】

血漿LDLレベル、肝蔵コレステロールホメオスタシス、動脈酵素、動脈機能、および血小板機能を制御する方法および血漿板ホルモン産生を変更する方法もまた、含まれる。この方法は、治療期間にステロールが実質的にないリン脂質で構成される治療有効量の多数のラージリポソームを非経口的に投与する工程を包含する。有効量は、ある投薬量で投与され、そしてこの投薬量は、単回用量および繰り返し用量から選択される。この方法は、必要に応じてホルモン産生の測定を行うことによる投与の効力を診断する工程およびこの測定に対する応答において有効量を調節する工程を含む。ホルモン産生の測定は、トロンボキサンについてのアッセイ、プロスタサイクリンについてのアッセイ、プロスタグランジンのアッセイ、ロイコトリエンについてのアッセイ、およびそれらの誘導体についてのアッセイからなる群から選択されるアッセイである。

【0179】

なおさなる局面において、本発明は、血漿HDL濃度を増大する一方で血漿LDLレベル、肝蔵コレステロールホメオスタシス、および肝蔵遺伝子発現を制御する方法を提供する。この方法は、治療有効量の第1薬剤を非経口的に投与する工程を包含する。この第1薬剤は、処置期間にHDL濃度を惹起するために多数のスモールリポソームを含有する。次いで、この方法は、第2薬剤を同投与する工程を含む。この第2薬剤は、処置期間にステロールが実質的にないリン脂質で構成されるラージリポソームを含む。この有効量は、単回用量および繰り返し用量から選択される投薬量で投与される。同時投与は、スモールリポソームが肝蔵コレステロールホメオスタシスにおける有害な変化を刺激することおよび血漿LDLにおける増大を予防するように作用する。改変において、この第1薬剤は、本質的にスモールリポソームからなり、そしてこの第2薬剤は、本質的にラージリポソームからなる。この方法はまた、処置期間の前、間および後に血漿HDLレベルおよびLDLレベルの測定を行うことによる投与の効力を診断する工程を含む。

【0180】

血漿LDLレベル、インビボでの肝蔵コレステロールホメオスタシスを制御する一方で、細胞膜組成物および機能を変更する方法がまた、本明細書中に記載さ

れる。この方法は、処置期間にステロールが実質的にないリン脂質で構成される治療有効量の複数のラージリポソームを非経口的に投与する工程を含む。この有効量は、単回用量および繰り返し用量から選択される投薬量で投与される。この方法は、コレステロールの小アクセプター、スフィンゴミエリンのアクセプター、リゾホスファチジルコリンのアクセプターおよび脂質のアクセプターからなる群から選択される小さいアクセプターを同時投与する工程を包含する。この方法は、膜流動性の測定、膜貫通イオンフラックスの測定（このイオンは、カルシウムイオン、ナトリウムイオン、およびカリウムイオンからなる群から選択される）、膜脆弱性のアッセイ、および膜機能のアッセイからなる群より選択される測定を実行することによる投与の効力を診断する工程を必要に応じて含み得る。

【0181】

さらなる実施形態において、本発明は、単層リポソーム、多層リポソーム、それらの組み合わせおよびそれらの誘導体の群から選択されるリポソームから本質的になる、被験体の肝臓に入るアンギナを処置するための薬学的組成物を含む。これらの粒子は、コレステロールが実質的にない粒子およびコレステロールがない粒子の群から選択される。

【0182】

非リポソーム粒子は、トリグリセリドリン脂質エマルジョンからなる群から選択される。このエマルジョンとしては、肝臓実質によって迅速に取り込まれないエマルジョン、実質によって長期間取り込まれないエマルジョンおよびトリグリセリド-リン脂質-タンパク質エマルジョンが挙げられる。

【0183】

薬剤内にトラップされた薬物から本質的になる、被験体の肝臓に入る動脈病巣のサイズを減少するための薬学的組成物もまた、本発明に含まれる。この薬剤は、コレステロールが少ないリポソーム、コレステロールがないリポソーム、エマルジョン、肝臓実質によってゆっくりと初期に摂取されるリポソーム、および肝臓実質によってゆっくりと初期に摂取されるエマルジョンからなる群から選択される。この薬剤は、タンパク質を伴う薬剤およびタンパク質を伴わない薬剤からなる群から選択される。

【0184】

本発明はまた、血漿HDL濃度を増大する一方で、血漿LDLレベル、肝臓コレステロールホメオスタシス、および肝臓遺伝子発現を制御するための薬学的組成物を提供し、この組成物は、HDL濃度を上昇させるための複数のスモールリポソームを含む第1薬剤およびステロールが実質的にないリン脂質から構成されるラージリポソームを含む第2薬剤を含む。

【0185】

なお別の局面において、クップファー細胞から実質までの細胞 - 細胞連絡を通してインビボで被験体における肝臓実質中のコレステロール代謝を制御する方法が、含まれる。この方法は、被験体にリポソーム組成物を投与する工程を包含する。このリポソーム組成物は、大単層リポソームおよび大多層リポソームからなる群から選択される。このリポソームは、約100～180ナノメートルの平均直径を有する。被験体におけるLDLレベルは、増大しない。この方法はまた、被験体におけるインジケータをアッセイすることによるコレステロール代謝の制御の効力を診断する工程を包含する。このインジケータは、被験体の血漿LDL濃度、被験体の肝臓遺伝子発現、被験体における肝臓実質におけるコレステロール代謝を制御するステロール排出、および被験体の胆汁におけるステロールの排出からなる群より選択され；そしてこのアッセイに対する応答における投与を調節する。

【0186】

本発明はさらに、有益な生理学的効果が得られる、本明細書中に記載される組成物によって変更されるアテローム発生リポタンパク質、細胞構造および細胞外構造の操作の様式を提供する。

【0187】

一般的に内皮機能または機能不全に関する診断または状態は、本明細書中で開示される方法を用いて処置可能である。例として、これらの状態または疾患の幾らかとしては、高血圧、子かん、過粘稠度症候群、子かん癩前症、および炎症が挙げられる。炎症としては、自己免疫状態および非自己免疫状態が挙げられる。

【0188】

本明細書中に開示されるアンギナを迅速にかつ実質的に処置する方法は、リポソーム処置の少なくとも3つの相乗有益効果（例えば、大「空」リン脂質ビヒクル - 「LEV」 - ここで、「空」とは、カプセル化薬物が、本質的でないことを示す従来の用語をいう）に任意の起因する。これらの3つの有益な効果としては、（1）内皮機能不全の回復、（2）血小板反応性亢進の回復、および（3）全血液粘性の減少、が挙げられる。これらの3つすべては、比較的迅速でかつ実質的な処置の効果である。これらの効果は、脂質輸送における変更を伴って迅速にかまたは実質的に消失しそうにない、閉鎖性、繊維芽性、脂質が少ない動脈病巣がある場合に、特に重要である。心臓の場合において、インビボでの方法は、アンギナならびにそれに関連する徴候および症状（例えば、一般的に、呼吸の短縮、減少された運動耐性、心臓壁運動異常、不整脈、および心臓機能）を緩和することを助ける。脳の場合において、本明細書中に開示される処置は、一過性脳虚血発作ならびにそれらの関連徴候および症状（例えば、神経機能不全）を緩和することを助ける。下肢の場合において、本明細書中に開示される処置は、跛行ならびにその関連徴候および症状を改善する。発生上の器官の灌流および機能はまた、援助される。

【0189】

投与の静脈内経路はまた、同時に同時投与される時の前に予め混合されるか、または血液産物の投与のすぐ前かもしくはすぐ後に（1週間まで）投与されるかのいずれかの赤血球および他の血液産物との同時投与を含む。それ故、本発明はまた、血液輸血産物を有するリポソームの使用を意図する。

【0190】

本明細書中に記載されるアプローチは、動脈壁に指向されるほかの治療薬（血管拡張薬、細胞接着分子と干渉する薬剤、抗炎症剤、サイトカインを改変する薬剤、抗酸化治療薬および動脈壁酵素のインヒビター（例えば、アセチルCoA：コレステロールアシルトランスフェラーゼ、リパーゼ、マイロペルオキシダーゼ、リポキシゲナーゼおよびホスホリパーゼ）を含む）と組み合わせて使用され得る。本明細書中におけるリポソームの使用は、これらの化合物、本明細書中に記載されるその他、および部分的に治療薬の各々との相乗効果を生じることが、意

図される。なぜなら、リポソームは、これらの治療薬によって使用されるメカニズムと異なるメカニズムによって作用するからである。

【0191】

種々の心血管薬はまた、本発明の方法において使用される。これらの薬剤としては、血液改変剤 (blood modifier)、抗血液凝固薬、抗血小板剤、血栓崩壊剤、アドレナリン作用遮断薬 (adrenergic blocker)、アドレナリン作用刺激薬、 / アドレナリン作用遮断薬、アンギオテンシン変換酵素 (ACE) インヒビター (例えば、Quinapril (Accupril (登録商標)、Parke-Davis)、ラミプリル (Altace (登録商標)、Hoechst)、カプトプリル、ベナゼプリル (Lotensin (登録商標)、Novartis)、トランドラプリル (Mavik (登録商標)、Knoll)、ホシノプリル (Monopril (登録商標)、Bristol-Myers)、リジノプリル (Prinivil (登録商標)、Merck)、モエキシプリル (Univasc (登録商標)、Schwarz)、エナラプリル (Vasotec (登録商標) 錠剤、Merck)、エナプリラト (Vasotec (登録商標)、i.v.、Merck)、リジノプリル (Zestril (登録商標)、Zeneca)、その活性代謝産物、および / またはその誘導体が挙げられる。

【0192】

カルシウムチャネル遮断薬を伴ったACEインヒビターおよび利尿剤を伴ったACEインヒビターはまた、本発明と共に使用され得る。

【0193】

選択的AT-I型サブタイプアンギオテンシンIIレセプターアンタゴニストを含むアンギオテンシンIIレセプターアンタゴニストはまた、本発明と共に使用される (例えば、Candesartan cilexetil (Atacand (登録商標)、Astra)、Irbesartan (Avapro (登録商標)、Bristol-Myers SquibbまたはSanofi)、Losartan (Cozaar (登録商標)、Merck)、Valsartan (Diovan (登録商標)、Novartis)、利尿剤を伴ったアンギオ

テンシンIIレセプターアンタゴニスト、その活性代謝産物、および/またはその誘導体)。

【0194】

I～IV群の抗不整脈薬はまた、本発明において使用される、I群抗不整脈薬としては、例として以下が挙げられる：CardioquinTM (一般名は、キニジンである)、EthmozineTM、MexitilTM、NorpaceTM (一般名は、ジソピラミドである)、ProcambidTM (一般名は、プロカインアミドである)、QuniagluteTM、QuinidexTM、RythmolTM、TambocorTM、およびTonocardTM。II群抗不整脈薬としては、例として以下が挙げられる：BetapaceTM (一般名は、ソタロールである)、BreviblocTM (一般名は、エスモロールである)、InderalTM (一般名は、プロプラノロールである)、およびSectralTM (一般名はアセプトロールである)。III群抗不整脈薬としては、例として以下が挙げられる：BetapaceTM、CordaroneTM、CorvertTMおよびPaceroneTM。IV群抗不整脈薬としては、例として以下が挙げられる：CalanTM (一般名は、ベラパミルである)およびCardizemTM (一般名は、ジルチアゼムである)。本発明において使用される種々の抗不整脈薬としては、Adenocard (一般名は、アデノシンである)、LanoxicapsTM (一般名は、ジゴキシンである)、およびLanoxinTM (一般名は、ジゴキシンである)が挙げられる。

【0195】

本発明において使用される抗脂血症剤 (antilipidemic agent) は、胆汁酸分離物、Fibric Acid誘導体、HMG-CoAレダクターゼ阻害剤、およびニコチン酸を含む。

【0196】

本発明において使用される他の薬剤としては、アドレナリン作用遮断薬、利尿剤を伴うアドレナリン作用遮断薬、カルシウムチャンネル遮断薬、利尿剤、(例えば、メチロシン (炭酸脱水素酵素インヒビター、組合せ (combination) 利尿剤、ループ利尿薬、カリウム保持性利尿薬、ならびにサイアザイド

および関連利尿剤)、高血圧緊急薬、筋肉収縮剤、種々の心血管薬(例えば、メチロシン(DemserTM、Merck)、メカミルアミン(InversineTM、Merck)、フェントールアミン(RegitineTM、Novartis)、Abciximab(ReoproTM、Centocor & Lilly)ラウオルフィア誘導体および組合せ)、血管拡張薬、冠状血管拡張薬ならびに末梢血管拡張薬および組合せ、ならびに血管収縮薬が挙げられる。

【0197】

本明細書中に記載される本発明はまた、脈管機能不全の処置の方法を提供する。脈管機能不全としては、耐性血管の機能不全、心筋内小動脈の機能不全、伝導性血管の機能不全、および心外膜冠状動脈の機能不全が挙げられるが、これらに限定されない。

【0198】

本明細書中で議論される種々のアンギナと等価状態(すなわち、標準的な狭心症に伴う一過性心筋虚血の効果(例えば、胸骨下の不快; だるさ、圧迫感、しめつけ、息苦しさ(smothering)、または息詰まり(choking))としては、例として以下を含む: 心筋層の機械的、生化学的、および電氣的機能の障害、正常な筋肉の弛緩および収縮の不全、一過性左心室不全(この典型的な徴候は、呼吸の短さ、または運動耐性の減少である)、乳頭筋不全(僧帽弁逆流、心室収縮性の焦点障害(focal disturbance)を含み、例えば、分節性膨張またはジスキネジーを引き起こす)ならびに/または心筋ポンプ機能の非常に減少した効率、心筋細胞代謝、機能、および構造における広い範囲の異常性、脂肪酸を酸化できないこと、グルコースのラクテートへの変換、(細胞内pHおよび高エネルギーホスフェート(アデノシントリホスフェート(ATP)、およびクレアチンホスフェート)の心筋貯蔵の低下を生じる)、欠陥細胞膜機能、(カリウム漏出および筋細胞によるナトリウムの取込みを生じる)、特徴的な心電図変化(例えば、T波の反転により、そして後にST区の置き換えにより証明されるような、再分極異常性)、電氣的不安定性(これは、心室性頻拍または心室細動を引き起こし得る)、虚血誘導性悪性心室不整脈の結果としての突然死、他の領域(例えば、左肩、両腕、前腕および手の尺骨表面、背部、頸

部、顎、歯、および/または心窩部)に放散される疼痛。

【0199】

本発明はまた、血管解剖学的構造に影響する状態の処置における有益な効果を有する。血管解剖学的構造としては、例として以下が挙げられる：脈管の脈管、後毛細管小静脈、小静脈、小動脈、毛細管、海綿静脈洞(cavernous sinus)、動脈、静脈、通常内皮の内側を覆う任意の脈管構造、ならびに/または通常内皮の内側を覆うが脱栄養されている(denuded)任意の脈管構造。

【0200】

本明細書中に開示される本発明はまた、広い範囲のコレステロール代謝、脂質代謝、および/または老化に関する状態の処置を含むと理解される。さらなる例示的な状態としては、癌および癌に対する素因(例えば、結腸癌(これはまた、コレステロール合成阻害剤であるアスピリンまたは関連化合物で予防され得る)、および乳癌);脱毛症(男性型禿頭症を含む);皮膚のしわ(しわの予防および逆転を含む);白髪(早発白髪化(graying)を含む);化学的毒性または放射毒性(例えば、酸化的産物のような親油性毒素の除去に由来する);ならびに、促進された老化の徴候または症状に関連する状態が挙げられる。処置を、ヒトおよび非ヒト動物(ペットを含む)に適用する。

【0201】

本明細書中に開示される処置、組成物、および方法はまた、タンジアー病および関連する状態の処置において有用である。タンジアー病(拡大し、そして黄色になった扁桃および脾臓を伴う、異常に低いレベルの血漿高密度リポタンパク質コレステロールを患者が有する、遺伝病)は、タンパク質ATP-カセット結合タンパク質1(ABC1)をコードする(enclose)遺伝子における欠損に関連するということが近年発見された。ABC1は、細胞内コレステロールに結合し、そしてそのコレステロールを、コレステロールを細胞外アクセプターに輸送する原因となる細胞膜レセプターに輸送することが示された。ABC1欠損を有する細胞は、余剰の細胞外アクセプターが存在しても、コレステロールを放出することができない。対照的に、過剰レベルのABC1を有する細胞は、多く

のコレステロールを細胞外アクセプターに対して放出するので、細胞はコレステロール欠乏で死滅する。

【0202】

A B C 1 は、逆コレステロール輸送プロセスの第1段階において役割を果たすことが同定された最初の細胞内コレステロール輸送タンパク質である。このタンパク質の同定は、このプロセスを刺激し、そしてコレステロールの細胞膜への細胞内移動を増強する薬物の同定の機会を生み出した。この時点で、細胞が最終的にコレステロールを放出し得る速度は、十分な細胞外アクセプター分子の存在に依存する。本発明はまた、コレステロールの細胞膜への細胞内移動を増強する薬物と組合せて有用である。

【0203】

H D L、および特にH D L 1 は、細胞性コレステロールのアクセプターとして作用することが公知である。しかし、H D L は、コレステロールを獲得する限られた容量を有し、そしてコレステロールレザバーまたはシンクとしてはたらくことができる他の分子の存在下で、コレステロールのより効率的なアクセプターとして作用する。細胞のコレステロールの流出を増強する特に効率的で共同する方法は、本明細書に記載されるH D L と空のリン脂質リポソームとの組み合わせによる。この状況において、小さなH D L 分子は、細胞膜からコレステロールをシャトルし、そしてコレステロールをリポソームへ輸送する。リポソームは、かなり大きく、そしてコレステロールに関してより大きな容量を有する。次いでH D L は、より多くの細胞コレステロールに自由に結合し、そしてシャトル機能を継続する。この状況において、限られた量のH D L リポタンパク質は、さらに多くの細胞コレステロールの除去を促進し得る。

【0204】

A B C 1 における欠損が、コレステロールを細胞膜に輸送する細胞の能力を制限する場合、細胞外アクセプターの容量は、コレステロール流出プロセスにおける速度制限段階では決してない。しかし、A b C 1 または他の細胞内コレステロール輸送タンパク質によるコレステロールの細胞内輸送を刺激する薬学的薬剤存在下では、全ての移動されるコレステロールを受け入れるH D L の能力は、逆コ

レステロール輸送プロセスにおける制限因子になり得る。

【0205】

従って、本発明は、ベシクルが肝窓 (hepatic fenestrae) (これは約100nmの開口である) を通るのを排除するために充分大きな平均直径を有する空のリン脂質ベシクルの、ABC1の機能を刺激する薬物または同様の細胞内コレステロール輸送タンパク質と組合せた、静脈内投与を要する。当然のことながら、本明細書中に記載される他のリポソーム組成物もまた使用され得る。組合せた結果、細胞外コレステロールアクセプター粒子は、細胞コレステロールについての増強された容量を有する。リン脂質リポソームアクセプター粒子のサイズは、肝臓実質による流出したコレステロールの取込みを防ぐ。これにより、コレステロールが肝臓コレステロールホメオスタシスと干渉するのを避ける。代わりにこれらの粒子は、クップファー細胞により一掃され、ここでコレステロールは、胆汁中で最終的に除去される。

【0206】

本発明は、非常に低いレベルのHDLコレステロールを生じる任意の数の遺伝的状态を罹患する患者の処置において特に有用である。これらの状態の多くは、加速性アテローム性動脈硬化症および心臓疾患に患者をかかりやすくする。

【0207】

本発明のわずかな好ましい実施形態が本明細書中の上記に記載されたが、実施形態が本発明の中心となる精神および範囲から逸脱することなく、改変および変更され得ることを、当業者は理解する。従って、本明細書中上記の好ましい実施形態は、全ての点において例示的であり限定的でないといみなされるべきであり、発明の範囲は、上述の記載ではなく、添付の特許請求の範囲により示され、そして特許請求の範囲の等価状態の意味および範囲内に入るすべての変形は、本明細書中に包含されることを意図される。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、リポタンパク質およびリポソームの側断面である。

【図2】

図2は、CETP、HMG-CoAR、LDLレセプター、および7 α ヒドロキシラーゼ；ならびにLDL ChEについての肝臓mRNA濃度（pg/pg）の表を例示する。

【図3】

図3は、1つの改変における経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した血漿LDLコレステロールエステル濃度を例示する。

【図4】

図4は、1つの改変における経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した血漿LDLコレステロールエステル濃度を例示する。

【図5】

図5は、経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した肝臓におけるLDLレセプターmRNAレベルをを例示する。

【図6】

図6は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、肝臓におけるHMG-CoAレダクターゼmRNAレベルを例示する。

【図7】

図7は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、肝臓におけるコレステロールエステル転移タンパク質mRNAレベルを例示する。

【図8】

図8は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、肝臓における7 α -ヒドロキシラーゼmRNAレベルを例示する。

【図9】

図9は、LUVおよび動脈硬化に関する重要な点を例示する。

【図10】

図10は、経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、血漿LDLエステル化されていないコレステロール濃度を例示する。

【図11】

図11は、経時的な、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、血漿LDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図12】

図12は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、LDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図13】

図13は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、血漿VLDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図14】

図14は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、HDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図15】

図15は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、HDLエステル化コレステロール濃度を例示する。

【図16】

図16は、コントロールマウスまたはapoEノックアウトマウスへのLUV注射の後のコレステロール移動の時間経過を例示する。

【図17】

図17は、コントロールマウスおよびapoEマウスにおけるLUVクリアランスの時間経過を例示する。

【図18】

図18は、本発明の組成物および方法がヒトにおいて有効であることを例示する。

【図19】

図19は、本発明の改良された血液透析システムの透視図および血液透析の改良された方法を示す。

【図20】

図20は、改良された腹腔透析システム2000の透視図および腹腔透析の方法の透視図を例示する。

【図21】

図21は、アッセイ手段を伴った改良された腹腔透析システムの改変2100

の透視図および使用された液体の腹腔透析および分析の方法を例示する。

【図22】

図22は、改良された心臓カテーテル化および/または血管形成システム2200の透視図ならびに心臓カテーテル化および/または血管形成の方法を例示する。

【図23】

図23は、改良された心臓カテーテル化および/または血管形成システムの改良2300の透視図ならびに心臓カテーテル化および/または血管形成の方法を例示する。

【図24】

図24は、LUV、SUVまたは生理食塩水の注射に応答した、肝臓脂肪含量のグラフを例示する。

【図25】

図25は、NZWウサギ中へのSUVまたはLUV(300mg/kg)の反復注射後の、血漿中遊離コレステロール濃度を例示する。

【図26】

図26は、NZWウサギ中へのSUVまたはLUV(300mg/kg)の反復注射後の、血漿コレステロールエステル濃度を例示する。

【図27】

図27は、SUVの反復注射の後の血漿成分における変化を例示する。

【図28】

図28は、LUV、SUVまたは生理食塩水の、反復される注射の後の、全血漿のアガロースゲル電気泳動図を例示する。

(訂正の理由1：特許請求の範囲について)

平成13年11月14日に提出致しました翻訳文中の特許請求の範囲を補正致します。これは、一般補正でも対応可能な補正です。

(訂正の理由2：発明の詳細な説明および図面の簡単な説明について)

平成13年11月14日に提出致しました翻訳文中の発明の詳細な説明および図面の簡単な説明について、全体にわたって誤訳がありましたので、適正な訳文

に変更する誤訳訂正を行います。

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US00/12962
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 9/127, 133 US CL : 424/450 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 424/450 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) WEST: angina, liposomes, claudication.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 95/23592 A (THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA) 08 September 1995, abstract, examples and claims.	1-154
Y	US 5,843,474 A (WILLIAMS) 01 December 1998, abstract, col. 1, line 21 through col. 2, line 31, Examples and claims.	1-154
Y	US 5,674,488 A (REICH) 07 October 1997, abstract, col. 1, lines 57-59.	1-154
Y	US 4,895,719 A (RADHAKRISHNAN et al) 23 January 1990, abstract, col. 16, 31-43 and claims.	1-154
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claims) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention "X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "a" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 02 AUGUST 2000		Date of mailing of the international search report 05 SEP 2000
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer GOLLAMUDI S. KISHORE Telephone No. (703) 308-1235

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ト' (参考)
A 6 1 K 9/70	4 0 1	A 6 1 K 9/70	4 0 1
31/138		31/138	
31/165		31/165	
31/166		31/166	
31/167		31/167	
31/18		31/18	
31/21		31/21	
31/216		31/216	
31/277		31/277	
31/40		31/40	
31/401		31/401	
31/404		31/404	
31/4402		31/4402	
31/4422		31/4422	
31/4439		31/4439	
31/4458		31/4458	
31/4704		31/4704	
31/49		31/49	
31/5377		31/5377	
31/55		31/55	
31/675		31/675	
31/7048		31/7048	
31/7076		31/7076	
38/55		45/00	
45/00		47/30	
47/30		47/34	
47/34		A 6 1 P 3/00	
A 6 1 P 3/00		5/16	
5/16		7/02	
7/02		7/06	
7/06		9/04	
9/04		9/06	
9/06		9/10	
9/10		9/12	
9/12		11/00	
11/00		23/00	
23/00		25/20	
25/20		G 0 1 N 33/53	W
G 0 1 N 33/53		33/543	5 8 5
33/543	5 8 5		5 8 7
	5 8 7	A 6 1 K 37/64	

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72)発明者 ウィリアムズ, ケビン ジョン
 アメリカ合衆国 ペンシルベニア 19096,
 ワインウッド, ウィスター ロード
 425

Fターム(参考) 4C076 AA06 AA19 AA20 AA21 AA72
 AA93 BB01 BB02 BB22 BB27
 BB31 CC11 CC13 CC14 EE01
 EE27
 4C084 AA19 BA01 BA14 BA23 DC40
 MA02 MA24 ZA36 ZA42 ZA45
 ZA54 ZC20
 4C086 AA01 AA02 BC07 BC13 BC16
 BC17 BC21 BC28 BC32 BC71
 BC85 CB17 DA38 DA41 DA42
 EA10 EA18 GA10 GA12 MA01
 MA02 MA03 MA04 MA05 MA13
 MA24 MA32 MA52 MA57 MA63
 NA14 ZA36 ZA42 ZA45 ZA54
 ZA89 ZC20
 4C206 AA01 AA02 DB17 DB20 DB43
 EA06 EA07 FA17 FA18 FA19
 FA21 GA09 GA11 GA22 GA31
 JA11 MA01 MA02 MA03 MA04
 MA05 MA33 MA44 MA52 MA72
 MA77 MA83 NA14 ZA36 ZA42
 ZA54 ZA89 ZC20

专利名称(译)	治疗心绞痛和/或心绞痛等效病症的方法，以及与其相关的药物组合物和试剂盒		
公开(公告)号	JP2003508349A	公开(公告)日	2003-03-04
申请号	JP2000617871	申请日	2000-05-12
[标]申请(专利权)人(译)	Esuperio 下来萨尔瓦多宇浮标发展股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	Esperion公司Eruyubui发展有限公司		
[标]发明人	ゴールドバーグデニスアイ ウィリアムズケビンジョン		
发明人	ゴールドバーグ, デニス アイ. ウィリアムズ, ケビン ジョン		
IPC分类号	G01N33/53 A61K9/06 A61K9/12 A61K9/127 A61K9/133 A61K9/70 A61K31/138 A61K31/165 A61K31/166 A61K31/167 A61K31/18 A61K31/21 A61K31/216 A61K31/277 A61K31/40 A61K31/401 A61K31/404 A61K31/4402 A61K31/4422 A61K31/4439 A61K31/4458 A61K31/4704 A61K31/49 A61K31/5377 A61K31/55 A61K31/66 A61K31/661 A61K31/675 A61K31/7048 A61K31/7076 A61K38/55 A61K45/00 A61K45/06 A61K47/30 A61K47/34 A61P3/00 A61P5/16 A61P7/02 A61P7/06 A61P9/04 A61P9/06 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P23/00 A61P25/20 G01N33/543		
CPC分类号	A61K9/127 A61K31/66 A61K31/685 A61K45/06 A61P3/00 A61P5/16 A61P7/02 A61P7/06 A61P9/04 A61P9/06 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P23/00 A61P25/20 A61K31/00 A61K2300/00		
FI分类号	A61K31/661 A61K9/06 A61K9/12 A61K9/127 A61K9/133 A61K9/70.401 A61K31/138 A61K31/165 A61K31/166 A61K31/167 A61K31/18 A61K31/21 A61K31/216 A61K31/277 A61K31/40 A61K31/401 A61K31/404 A61K31/4402 A61K31/4422 A61K31/4439 A61K31/4458 A61K31/4704 A61K31/49 A61K31/5377 A61K31/55 A61K31/675 A61K31/7048 A61K31/7076 A61K45/00 A61K47/30 A61K47/34 A61P3/00 A61P5/16 A61P7/02 A61P7/06 A61P9/04 A61P9/06 A61P9/10 A61P9/12 A61P11/00 A61P23/00 A61P25/20 G01N33/53.W G01N33/543.585 G01N33/543.587 A61K37/64		
F-TERM分类号	4C076/AA06 4C076/AA19 4C076/AA20 4C076/AA21 4C076/AA72 4C076/AA93 4C076/BB01 4C076/BB02 4C076/BB22 4C076/BB27 4C076/BB31 4C076/CC11 4C076/CC13 4C076/CC14 4C076/EE01 4C076/EE27 4C084/AA19 4C084/BA01 4C084/BA14 4C084/BA23 4C084/DC40 4C084/MA02 4C084/MA24 4C084/ZA36 4C084/ZA42 4C084/ZA45 4C084/ZA54 4C084/ZC20 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC07 4C086/BC13 4C086/BC16 4C086/BC17 4C086/BC21 4C086/BC28 4C086/BC32 4C086/BC71 4C086/BC85 4C086/CB17 4C086/DA38 4C086/DA41 4C086/DA42 4C086/EA10 4C086/EA18 4C086/GA10 4C086/GA12 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA03 4C086/MA04 4C086/MA05 4C086/MA13 4C086/MA24 4C086/MA32 4C086/MA52 4C086/MA57 4C086/MA63 4C086/NA14 4C086/ZA36 4C086/ZA42 4C086/ZA45 4C086/ZA54 4C086/ZA89 4C086/ZC20 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/DB17 4C206/DB20 4C206/DB43 4C206/EA06 4C206/EA07 4C206/FA17 4C206/FA18 4C206/FA19 4C206/FA21 4C206/GA09 4C206/GA11 4C206/GA22 4C206/GA31 4C206/JA11 4C206/MA01 4C206/MA02 4C206/MA03 4C206/MA04 4C206/MA05 4C206/MA33 4C206/MA44 4C206/MA52 4C206/MA72 4C206/MA77 4C206/MA83 4C206/NA14 4C206/ZA36 4C206/ZA42 4C206/ZA54 4C206/ZA89 4C206/ZC20		
优先权	60/134140 1999-05-14 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了一种治疗心绞痛（例如，稳定型心绞痛，不稳定型心绞痛和变异型心绞痛）和/或心绞痛等效物的方法，其中该方法包括在治疗期间对患者的治疗有效量。在基本上不含固醇的多种脂质体中，优选大脂质体中。该方法还包括施用有效量的抗心绞痛药物而不是脂质体的步骤。本发明还提供了一种治疗Ia行的方法，其包括给予治疗有效量的脂质体的步骤。在又一个变体中，本发明提供了一种对受试者进行术中或术后调节的方法，该方法包括施用脂质体。本文还描述了一些其他发明。

