



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580018958.2

[43] 公开日 2008年1月9日

[11] 公开号 CN 101102786A

[22] 申请日 2005.6.10

[21] 申请号 200580018958.2

[30] 优先权

[32] 2004.6.10 [33] US [31] 60/578,499

[86] 国际申请 PCT/US2005/020762 2005.6.10

[87] 国际公布 WO2005/123104 英 2005.12.29

[85] 进入国家阶段日期 2006.12.8

[71] 申请人 瑞泽恩制药公司

地址 美国纽约

[72] 发明人 J·M·塞德鲍姆

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商  
标事务所  
代理人 程 泳

权利要求书 3 页 说明书 13 页 序列表 3 页

[54] 发明名称

施用并利用 VEGF 抑制剂治疗人类癌症的方法

[57] 摘要

一种治疗患有癌症的人类患者的方法，包括对该人类患者施用有效量的血管内皮生长因子 (VEGF) 捕获拮抗剂，该方法包括：(a) 对该患者施用初始剂量至少为大约 0.3mg/kg 的 VEGF 拮抗剂；以及 (b) 以大约等于或少于初始剂量的量对该患者施用多个后续剂量的 VEGF 拮抗剂，其中所述后续剂量在时间上互相相隔至少 1 天。本发明方法对于治疗人类癌症有用，所述癌症选自肾细胞癌、胰腺癌、乳癌、前列腺癌、结肠直肠癌、恶性间皮瘤、多发性骨髓瘤、卵巢癌和黑素瘤。本发明进一步对于治疗从 VEGFA 和胎盘生长因子 (PLGF) 减少中受益的病状有用。

1. 包括两种融合多肽的二聚体的血管内皮生长因子 (VEGF) 拮抗剂在制备用于通过下述方法治疗患有癌症的人类患者的药物中的用途, 所述每种融合多肽包括 (a) Flt-1 的免疫球蛋白 (Ig) 样结构域 2 和 Flk-1 或 Flt-4 的 Ig 结构域 3, 以及 (b) 多聚化组分, 所述方法包括:

(a) 对所述患者施用初始剂量至少为大约 0.3mg/kg 的所述 VEGF 拮抗剂; 以及

(b) 对所述患者施用多个后续剂量的所述 VEGF 拮抗剂, 其中所述后续剂量大约等于或少于初始剂量并在时间上互相相隔至少 1 天。

2. 根据权利要求 1 的用途, 其中所述初始剂量为大约 0.3 mg/kg - 大约 30 mg/kg; 优选大约 0.5 mg/kg - 大约 10 mg/kg。

3. 根据权利要求 2 的用途, 其中所述初始剂量为大约 1 mg/kg - 大约 6 mg/kg。

4. 根据前述权利要求中任何一项的用途, 其中所述初始剂量为大约 1 mg/kg、2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg、5 mg/kg 和 6 mg/kg。

5. 根据前述权利要求中任何一项的用途, 其中所述后续剂量是相同的或不同的, 并且为大约 0.3 mg/kg - 大约 30 mg/kg; 优选大约 0.5 mg/kg - 大约 10 mg/kg。

6. 根据权利要求 5 的用途, 其中所述后续剂量为大约 1 mg/kg、大约 2 mg/kg、大约 3 mg/kg、大约 4 mg/kg、大约 5 mg/kg 和大约 6 mg/kg。

7. 根据前述权利要求中任何一项的用途, 其中所述后续剂量在时间上互相相隔至少 1 周。

8. 根据权利要求 7 的用途，其中所述后续剂量在时间上互相相隔至少 1 月。

9. 根据前述权利要求中任何一项的用途，其中所述癌症选自肾细胞癌、胰腺癌、乳癌、前列腺癌、结肠直肠癌、恶性间皮瘤、多发性骨髓瘤、卵巢癌和黑素瘤。

10. 根据前述权利要求中任何一项的用途，其中所述癌是被血管内皮生长因子 (VEGF) 拮抗剂和胎盘生长因子 (PLGF) 拮抗剂抑制的癌。

11. 根据前述权利要求中任何一项的用途，其中所述 VEGF 拮抗剂选自乙酰化的 F1t-1(1-3)-Fc、F1t-1(1-3<sub>R→N</sub>)-Fc、F1t-1(1-3<sub>ΔB</sub>)-Fc、F1t-1(2-3<sub>ΔB</sub>)-Fc、F1t-1(2-3)-Fc、F1t-1D2-VEGFR3D3-Fc Δ C1(a)、F1t-1D2-F1k-1D3-Fc Δ C1(a) 和 VEGFR1R2-Fc Δ C1(a)。

12. 根据权利要求 11 的用途，其中所述 VEGF 拮抗剂是包括 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列的 VEGFR1R2-Fc Δ C1。

13. 根据前述权利要求中任何一项的用途，其中配制所述药物以用于通过皮下注射或静脉内注射施用所述初始剂量和后续剂量。

14. 一种治疗诊断有癌症的人类患者的方法，包括对所述人类患者施用有效量的如权利要求 1、11 或 12 中所定义的 VEGF 拮抗剂，所述方法包括：

(a) 对所述患者施用初始剂量至少为大约 0.3mg/kg 的所述 VEGF 拮抗剂；以及

(b) 对所述患者施用多个后续剂量的所述 VEGF 拮抗剂，其中所述后续剂量大约等于或少于初始剂量并在时间上互相相隔至少 1 周。

15. 根据权利要求 14 的方法，其中所述初始剂量和/或所述后续剂量如权利要求 2 - 6 中任何一项所定义。

16. 根据权利要求 14 或 15 的方法，其中所述癌症如权利要求 9 或 10 中所定义。

17. 根据权利要求 14 - 16 中任何一项的方法，其中所述后续剂量在时间上互相相隔至少 3 周。

18. 根据权利要求 14 - 17 中任何一项的方法，其中所述初始剂量和/或所述后续剂量通过皮下注射或静脉内注射施用。

## 施用并利用 VEGF 抑制剂治疗人类癌症的方法

### 发明领域

本发明涉及通过抑制血管内皮生长因子 (VEGF) 活性来促进肿瘤和转移灶退化的方法。

### 相关领域的描述

在人类癌症中血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达几乎是普遍的，这与它作为肿瘤新血管生成的关键媒介物的作用相一致。在多个不同的异种移植物模型中，通过结合该分子或其 VEGFR-2 受体以阻断 VEGF 的功能抑制了植入的肿瘤细胞的生长(参见,例如, Gerber 等人(2000) *Cancer Res.* 60: 6253-6258)。被称为“VEGF<sub>R1R2</sub> 捕获”或“VEGF 捕获”拮抗剂的可溶性 VEGF 融合蛋白拮抗剂已被描述 (Kim 等人(2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 11399-404; Holash 等人(2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:11393-8)。

### 发明概述

在第一个方面,本发明以治疗患有癌症的人类患者的方法为特征,包括对人类患者施用有效量的血管内皮生长因子 (VEGF) 融合蛋白捕获拮抗剂 (trap antagonist), 该方法包括: (a) 对患者施用初始剂量至少为大约 0.3 mg/kg 的 VEGF 捕获拮抗剂; 以及 (b) 以大约等于或少于初始剂量的量对患者施用多个后续剂量的 VEGF 捕获拮抗剂, 其中该后续剂量在时间上互相相隔至少一天。通过提供初始剂量的 VEGF 捕获拮抗剂, 并随后提供等量或较少量的后续剂量的捕获剂 (trap) (前负荷较大), 本发明的给药方案允许及早达到有效靶谷血清浓度。有效靶谷血清浓度在 4 周或更短时间内达到, 优选 3 周或更短时间, 更优选 2 周或更短时间, 并且最优选 1 周或更短时间, 包括 1 天或更

短时间。此后对于治疗方案的余下部分或直至达到抑制疾病症状，通过施用等量或较少量的维持剂量来维持靶血清浓度。

在具体实施方案中，VEGF 融合蛋白拮抗剂的初始剂量范围为大约每 kg 体重 0.3mg (mg/kg) 至 30 mg/kg。在一个更具体的实施方案中，初始剂量范围为大约 0.5 mg/kg - 10 mg/kg。在一个再更具体的实施方案中，初始剂量范围为大约 1 mg/kg - 6 mg/kg。优选地，累积周剂量范围为 0.3 mg/kg - 30 mg/kg。

在具体实施方案中，VEGF 融合蛋白拮抗剂的至少一个后续剂量范围为大约 0.3 mg/kg 体重 - 30 mg/kg。在一个更具体的实施方案中，至少一个后续剂量范围为大约 0.5 mg/kg - 10 mg/kg。在一个再更具体的实施方案中，至少一个后续剂量范围为大约 1 mg/kg - 6 mg/kg。

在一个实施方案中，后续剂量在时间上互相相隔至少 1 天、至少 1 周、至少 2 周、至少 3 周、至少 1 月、至少 2 月或至少 3 月。根据本发明，需要达到抑制疾病症状时，优选重复按剂量给药的周期。

本发明方法可以用于治疗出现在脑和脑膜、口咽、肺和支气管树、胃肠道、男性和女性生殖道、肌肉、骨骼、皮肤及附属物、结缔组织、脾脏、免疫系统、造血细胞和骨髓、肝脏和泌尿道以及特殊的感觉器官例如眼中的原发性和/或转移性肿瘤。更具体而言，通过本发明方法治疗的人类患者是诊断有下列癌症之一的患者：肾细胞癌、胰腺癌、乳癌、前列腺癌、结肠直肠癌、恶性间皮瘤、多发性骨髓瘤、卵巢癌或黑素瘤。在一个具体实施方案中，被治疗的癌是肾细胞癌。在另一实施方案中，被治疗的癌是胰腺癌。在另一实施方案中，被治疗的癌是乳癌。在另一实施方案中，被治疗的癌是结肠直肠癌。在另一实施方案中，被治疗的癌是恶性间皮瘤。在另一实施方案中，被治疗的癌是多发性骨髓瘤。在另一实施方案中，被治疗的癌是卵巢癌。在另一实施方案中，被治疗的癌是黑素瘤。在另一实施方案中，被治疗的癌是非小细胞肺癌。在另一实施方案中，被治疗的癌是前列腺癌。

VEGF 融合蛋白捕获拮抗剂是包括两种融合蛋白的二聚体，每种融合蛋白由来自两种不同 VEGF 受体的免疫球蛋白 (Ig) 样结构域融合多

聚化组分组成，其中每种融合蛋白通过不同融合蛋白上的多聚化组分的相互作用能够形成高级复合体。在本发明方法中有用的 VEGF 捕获拮抗剂是能够结合血管内皮生长因子 A (VEGFA) 和胎盘生长因子 (PLGF) 的二聚体，并选自乙酰化的 F1t-1(1-3)-Fc、F1t-1(1-3<sub>R-N</sub>)-Fc、F1t-1(1-3<sub>Δ B</sub>)-Fc、F1t-1(2-3<sub>Δ B</sub>)-Fc、F1t-1(2-3)-Fc、F1t-1D2-VEGFR3D3-Fc<sub>Δ C1(a)</sub>、F1t-1D2-F1k-1D3-Fc<sub>Δ C1(a)</sub> 和 VEGFR1R2-Fc<sub>Δ C1(a)</sub>。在一个具体且优选的实施方案中，VEGF 捕获拮抗剂是具有 SEQ ID NO: 1 中所述核苷酸序列和 SEQ ID NO: 2 中所述氨基酸序列的 VEGFR1R2-Fc<sub>Δ C1(a)</sub> (也称为 VEGF 捕获剂<sub>R1R2</sub>)。本发明包括 VEGF 捕获剂的用途，所述 VEGF 捕获剂与 SEQ ID NO: 1 中所述核苷酸序列和/或 SEQ ID NO: 2 中所述氨基酸序列有至少 90%、95%、98% 或至少 99% 的同源性。

可以通过本领域已知的任何方法施用该试剂，包括皮下、肌内、皮内、腹膜内、静脉内、鼻内或口服给药。在一个优选实施方案中，初始剂量通过皮下注射或静脉内注射施用。在进一步的实施方案中，后续剂量通过皮下注射施用。在一个优选实施方案中，初始剂量和至少一个后续剂量通过皮下注射施用。

在第二个方面，本发明以治疗易感或诊断有病症的人类患者的方法为特征，所述病症被能够阻断或抑制血管内皮生长因子 A (VEGF A) 的试剂抑制，其中能够阻断或抑制 VEGFA 的试剂是 VEGF 捕获拮抗剂，该方法包括：(a) 对患者施用初始剂量至少为大约 0.3 mg/kg 的 VEGF 捕获剂；以及 (b) 以大约等于或少于初始剂量的量对患者施用多个后续剂量的 VEGF 捕获剂，其中所述后续剂量在时间上互相相隔至少一天。在一个具体且优选的实施方案中，VEGF 捕获拮抗剂是具有 SEQ ID NO: 1 中所述核苷酸序列和 SEQ ID NO: 2 中所述氨基酸序列的 VEGFR1R2-Fc<sub>Δ C1(a)</sub> (也称为 VEGF 捕获剂<sub>R1R2</sub>)。

在第三个实施方案中，本发明以任选组合第二种化学治疗剂的本发明治疗方法为特征。可与 VEGF 捕获剂组合施用的化学治疗剂包括，例如，抗 VEGF 抗体，蒽环霉素衍生物例如阿霉素或表柔比星，紫杉酚

(taxol), 和紫杉类 (taxoid) 衍生物例如紫杉醇 (Taxol®) 及相关衍生物。

其他目的和优点经参阅随后的详细描述将是显而易见的。

### 发明详述

在描述本方法之前, 应当理解本发明不限于所描述的具体方法和实验条件, 因为此类方法和条件可以改变。还应当理解本文所使用的术语仅用于描述具体实施方案, 并不希望用于限制, 因为本发明的范围将仅由所附的权利要求来限定。

如本说明书和所附权利要求中所使用的, 除非上下文明确说明否则单数形式的“a”、“an”和“the”包括复数。因此例如提及“一种方法”包括本文所描述的和/或阅读本公开内容等后对于本领域技术人员将是显而易见的类型的一种或多种方法和/或步骤。

除非另外定义, 本文所使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域普通技术人员通常理解相同的含义。尽管与本文所述那些类似或等同的任何方法和材料均可用于本发明的实践或测试中, 现在还是描述优选的方法和材料。

### 一般描述

血管内皮生长因子/血管通透因子 (VEGF) 最初被鉴别为能够增加血管通透性的肿瘤来源因子。后来发现它是内皮细胞的增殖因子。在胚胎中, VEGF 绝对是脉管系统发育所必需的。在成人中, VEGF 在与血管通透性增加和血管发生相关的各种正常和病理过程中是上调的。

VEGF 相关的血管发生生长因子家族包括 VEGF 本身 (VEGF-A) 及相关蛋白 VEGF-B、-C、-D 和 E, 以及胎盘生长因子 (PLGF)。此外, 至少存在 4 种不同的 VEGF-A 同种型。然而, 由于某些家族成员仅在最近才被鉴别, 它们的生物学重要性还知之甚少。VEGF 及其相关因子的作用由一组 3 个受体酪氨酸激酶即 VEGFR1、VEGFR2 和 VEGFR3 介导。

VEGF 在肿瘤血管发生中的重要性已在许多动物模型中得到证实,



其中通过各种策略阻断 VEGF 信号传导已被证实在减少血管发生和抑制肿瘤生长方面有效 (Gourley 和 Williamson (2000) *Curr. Pharm. Des.* 6: 417-39)。VEGF 的通透性诱导特性还有病理学重要性, 例如在与癌相关的水肿形成、腹水和胸膜腔积液中。血管化作用和 VEGF 产生的程度已被提议作为许多类型的实体和血液恶性肿瘤的预示因子 (由 Poon 等人, (2001) *J. Clin. Oncol.* 19: 1207-1225 综述)。

与来自动物研究的预测一致, 基于来自早期临床试验的初步报告, 利用人源化单克隆抗体阻断 VEGF 已在癌症患者中显现出有希望的结果报告 (Bergsland 等人 (2000) *ASCO Abstract #939*)。由于其对于 VEGF 较大的亲和力及其结合 VEGF 家族其他成员例如 P1GFs 的能力, VEGF 融合蛋白捕获拮抗剂是有效且有用的抗癌治疗剂。

## 定义

术语“治疗上有效的剂量”是指产生施用预期效应的剂量。确切的剂量将取决于治疗目的, 并且将由本领域技术人员利用已知技术来确定 (参见, 例如 Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*)。取决于被治疗的病状, 有效性可以用常规方法来测量。对于癌症治疗, 有效性例如可以通过评估疾病进展时间 (TTP) 或测定应答率 (RR) 来测量。治疗上有效量也指当维持一定时间时显示对抑制疾病症状有效的靶血清浓度, 例如谷血清浓度。

术语“癌症”和“癌性的”是指或描述哺乳动物中一般以无调节的细胞生长为特征的生理状况。癌症的实例包括, 但不限于, 癌、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤和白血病。更具体而言, 这样的癌症的实例包括鳞状上皮细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、胃肠癌、胰腺癌、成胶质细胞瘤、子宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝瘤、乳癌、前列腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝部癌症以及各种类型的头和颈癌。更具体地, 本发明方法对于治疗由 VEGF 抑制剂改善或抑制的任何病状或疾

病有用。相应地，当该疾病或病状为癌症时，由本发明方法治疗的癌症是通过施用 VEGF 抑制剂而得到改善或抑制的癌症。

术语“阻滞剂”、“抑制剂”或“拮抗剂”是指延缓或阻止化学或生理反应或应答的物质。通常的阻滞剂或抑制剂包括但不限于反义分子、抗体、拮抗剂及其衍生物。更具体地，VEGF 阻滞剂或抑制剂的实例是基于 VEGF 受体的拮抗剂，包括，例如，抗 VEGF 抗体或 VEGF 捕获拮抗剂例如 VEGFR1R2-Fc $\Delta$ C1(a) (SEQ ID NO: 1-2)。关于基于 VEGF 受体的拮抗剂（包括 VEGFR1R2-Fc $\Delta$ C1(a)）的完整描述参见 PCT 公开 WO/00/75319。

术语“药品说明书 (package insert)”用于指通常包括在治疗产品商品包装中的用法说明书，它包含关于此类治疗产品使用的适应症、用途、用量、用法、禁忌症和/或警告的信息。

术语“血清浓度”、“血清药物浓度”或“血清 VEGF 捕获剂浓度”指药物例如 VEGF 融合蛋白捕获拮抗剂在用该药物治疗的动物或人类患者血清或血浆中的浓度。优选通过免疫测定法测定血清浓度。优选地，根据本文所公开步骤该免疫测定法是酶联免疫吸附测定法 (ELISA)。

术语“峰血清浓度”指药物输送到动物或人类患者后不久，在药物已被分布遍及血液系统后，但在药物经身体发生显著的组织分布、代谢或排泄之前的最高血清药物浓度。

术语“谷血清浓度”指在一系列剂量中在前一剂量药物输送后并紧在下一后续剂量药物输送前之时的血清药物浓度。一般地，谷血清浓度是在一系列药物施用中最低的持续有效的药物浓度。同样地，谷血清浓度经常作为最低有效血清浓度而成为目标，因为它代表另一剂量药物将被作为治疗方案的一部分进行施用时的血清浓度。如果通过静脉内给药输送药物，最优选在前负荷初始药物输送的 1 天内达到谷血清浓度。如果通过皮下给药输送药物，优选在 3 天或更短时间内达到峰血清浓度。根据本发明，利用本文所公开的任何一种药物输送方法优选在 4 周或更短时间内，优选在 3 周或更短时间内，更优选在 2

周或更短时间内，最优选在1周或更短时间内，包括在1天或更短时间内达到谷血清浓度。

术语“静脉内输注”指经过一段时间将药物导入动物或人类患者静脉内，所述时间大于约5分钟，优选大约30-90分钟，尽管根据本发明，可替代地实施静脉内输注10小时或更短时间。

术语“皮下给药”指从药物容器中通过相对缓慢、持续的输送将药物导入动物或人类患者的皮肤下，优选在皮肤和下层组织之间的袋（pocket）内。该袋可以通过将皮肤向上挤或拉离下层组织产生。

术语“前负荷（front loading）”，当指药物施用，意欲描述初始较高的剂量，随后为间隔的相等或较少的剂量。初始较高的剂量意指动物或人类患者的血清药物浓度更迅速增长至有效靶血清浓度。根据本发明，通过在3周或更短时间内输送初始剂量以使动物或患者血清浓度达到靶谷血清浓度来达到前负荷。优选地，初始前负荷剂量或系列剂量在2周或更短时间内施用，更优选在1周或更短时间内，包括1天或更短时间。最优选地，初始剂量为单次剂量并且随后至少1周没有后续维持剂量时，该初始剂量在1天或更短时间内施用。初始剂量为系列剂量时，每个剂量相隔至少3小时，但不超过3周或更短时间，优选2周或更短时间，更优选1周或更短时间，最优选1天或更短时间。

#### VEGF融合蛋白捕获拮抗剂

在一个优选实施方案中，VEGF捕获剂是受体-Fc融合蛋白，它由人VEGFR1和VEGFR2受体胞外域的主要配体结合部分融合人IgG1的Fc部分而组成。具体地，该VEGF捕获拮抗剂基本上由来自VEGFR1的Ig结构域2组成，所述VEGFR1的Ig结构域2与来自VEGFR2的Ig结构域3融合，所述VEGFR2的Ig结构域3又与IgG1的Fc结构域融合（SEQ ID

在一个优选实施方案中，将编码VEGF捕获剂的表达质粒转染到CHO细胞内，所述CHO细胞将VEGF捕获剂分泌到培养基中。所产生的

VEGF 捕获剂是蛋白质分子量为 97 kDa 的二聚糖蛋白，并包含 ~15% 的糖基化从而产生 115 kDa 的总分子量。

因为 VEGF 捕获剂利用高亲和力受体的结合结构域来结合其配体，所以其对于 VEGF 的亲和力大于单克隆抗体。VEGF 捕获剂结合 VEGF-A ( $K_D = 0.5 \text{ pM}$ )、PLGF1 ( $K_D = 1.3 \text{ nM}$ ) 以及 PLGF2 ( $K_D = 50 \text{ pM}$ )；与 VEGF 家族其他成员的结合还未被完全表征。

### 治疗群体

本发明方法可以用于治疗出现在脑和脑膜、口咽、肺和支气管树、胃肠道、男性和女性生殖道、肌肉、骨骼、皮肤、结缔组织、免疫系统、造血细胞和骨髓、肝脏和泌尿道以及特殊的感觉器官例如眼中的肿瘤。更具体地，患有肾细胞癌、胰腺癌、乳癌、前列腺癌、结肠直肠癌、恶性间皮瘤、多发性骨髓瘤、卵巢癌或黑素瘤的人类患者可以如下所述用 VEGF 捕获剂进行治疗。

### 组合治疗

在众多实施方案中，VEGF 融合蛋白捕获拮抗剂可以与一种或多种另外的化合物或疗法组合施用，包括第二种 VEGF 捕获分子。组合治疗包括施用包含 VEGF 捕获剂和一种或多种另外的试剂的单一药物剂量制剂；以及施用其自身分开的药物剂量制剂形式的 VEGF 捕获剂和一种或多种另外的试剂。例如，VEGF 捕获剂与细胞毒性试剂、化学治疗剂或生长抑制剂可以以单一剂量组合物例如组合制剂的形式一起给患者施用，或每种试剂可以以分开的剂量制剂形式施用。使用分开的剂量制剂时，本发明的 VEGF 特异性融合蛋白以及一种或多种另外的试剂可以同时施用，或在分别错开的时间即顺次地施用。

如本文所使用的，术语“细胞毒性试剂”指抑制或阻止细胞功能和/或导致细胞破坏的物质。该术语希望包括放射性同位素（例如， $I^{131}$ 、 $I^{125}$ 、 $Y^{90}$  和  $Re^{186}$ ），化学治疗剂，和毒素，例如细菌、真菌、植物或动物来源的酶活性毒素或其片段。

“化学治疗剂”是在癌症治疗中有用的化学化合物。化学治疗剂的实例包括烷化剂例如三胺硫磷和环磷酰胺 (Cytosan®)；烷基磺酸盐类例如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡；氮丙啶类例如苯佐替哌 (benzodopa)、卡波醌、美妥替哌 (meturedopa) 和乌瑞替哌 (uredopa)；乙撑亚胺类和甲基蜜胺类 (methylamelamines)，包括六甲蜜胺、三乙撑蜜胺、三乙撑磷酰胺、三乙撑硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺 (trimethylolomelamine)；氮芥类例如苯丁酸氮芥、萘氮芥、cholophosphamide、磷雌氮芥、异环磷酰胺、氮芥、盐酸氧氮芥、苯丙氨酸氮芥、新氮芥、苯芥胆甾醇、松龙苯芥、氯乙环磷酰胺、尿嘧啶氮芥；硝基脲类 (nitrosureas) 例如双氯乙基亚硝脲、氯脲菌素、福莫司汀、环己亚硝脲、嘧啶亚硝脲、雷莫司汀；抗生素例如阿克拉霉素 (aclacinomysins)、放射菌素、authramycin、重氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素 C、刺孢霉素、carabycin、洋红霉素、嗜癌霉素、色霉素、放线菌素 D、柔红霉素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、阿霉素、表柔比星、依索比星、去甲氧基柔红霉素、麻西罗霉素、丝裂霉素、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、派来霉素、potfiromycin、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑霉素、链唑霉素、杀结核菌素、乌苯美司、新制癌菌素、佐柔比星；抗代谢物例如甲氧蝶呤和 5-氟尿嘧啶 (5-FU)；叶酸类似物例如二甲叶酸、甲氧蝶呤、蝶酰三谷氨酸、三甲曲沙；嘌呤类似物例如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫唑鸟嘌呤、硫鸟嘌呤；嘧啶类似物例如环胞苷、氮杂胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他宾、氟尿嘧啶脱氧核苷；雄激素类例如卡鲁睾酮、屈他雄酮丙酸酯、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯；抗肾上腺药 (anti-adrenals) 例如氨苯吡酮、米托坦、曲洛司坦；叶酸补充剂例如 frolinic acid；醋葡醛内酯；醛磷酰胺糖苷 (aldophosphamide glycoside)；氨基乙酰丙酸；安吡啶；bestrabucil；比山群；依达曲沙；磷胺氮芥 (defofamine)；秋水仙胺；地吡醌；elfornithine；依利醋铵；依托格鲁；硝酸镓；羟基脲；香菇多糖；氮尼达明；米托胍脞；米托蒽醌；莫哌达醇；二

胺硝吡啶; 喷司他丁; 蛋氨酸芥; 吡柔比星; 鬼臼酸; 2-乙基胍; 甲基胍; PSK®; 丙亚胺; 西佐喃; 锗螺胺; 细交链孢菌酮酸; 三亚胺醌; 2, 2', 2"-三氯三乙胺; 乌拉坦; 长春酰胺; 氮烯咪胺; 甘露醇氮芥; 二溴甘露醇; 二溴卫矛醇; 哌泊溴烷; gacytosine; 阿糖胞嘧啶 (“Ara-C”); 环磷酰胺; 三胺硫磷; 紫杉烷类, 例如紫杉醇 (Taxol®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N. J.) 和多西他赛 (Taxotere®, Aventis Antony, France); 苯丁酸氮芥; 吉西他滨; 6-硫鸟嘌呤; 巯基嘌呤; 甲氧蝶呤; 铂类似物例如顺铂和卡铂; 长春碱; 铂; 依托泊苷 (VP-16); 异环磷酰胺; 丝裂霉素 C; 米托蒽醌; 长春新碱; 长春瑞滨; 诺维本; 诺消灵; 替尼泊苷; 道诺霉素; 氮蝶呤; 希罗达; 伊班膦酸盐; CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂 RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸 (DMFO); 视黄酸; esperamicins; 卡培他滨; 以及上述任何一种的药物学上可接受的盐、酸或衍生物。这个定义中还包括抗激素剂, 所述抗激素剂产生调节或抑制激素对肿瘤的作用的效果, 例如抗雌激素剂包括例如他莫昔芬、雷洛昔芬、抑制芳香酶 (aromatase) 的 4(5)-咪唑、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、那洛昔芬 (keoxifene)、LY 117018、奥那司酮和托瑞米芬 (Fareston); 以及抗雄激素剂例如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、醋酸亮丙瑞林和戈舍瑞林; 以及上述任何一种的药物学上可接受的盐、酸或衍生物。

“生长抑制剂”用于本文时指在体外或体内抑制细胞特别是癌细胞生长的化合物或组合物。生长抑制剂的实例包括阻断细胞周期进程 (在除 S 期以外的阶段) 的试剂, 例如诱导 G1 停止和 M 期停止的试剂。典型的 M 期阻滞剂包括长春花 (长春新碱和长春碱), Taxol®, 以及拓扑异构酶 II 抑制剂例如阿霉素、表柔比星、柔红霉素、依托泊苷和博来霉素。那些阻止 G1 的试剂也可以造成 S 期停止, 例如, DNA 烷化剂例如他莫昔芬、泼尼松、氮烯咪胺、氮芥、顺铂、甲氧蝶呤、5-氟尿嘧啶和 ara-C。

## 药物组合物

在本发明方法实践中有用的药物组合物包括治疗上有效量的活性剂以及药物学上可接受的载体。术语“药物学上可接受的”指经联邦或州政府管理机构批准的或在美国药典或其他普遍公认的药典中列出的用于动物并且更具体而言用于人的。术语“载体(carrier)”指稀释剂、佐剂、赋形剂或用于施用治疗剂的媒介物。此类药物载体可以是无菌的液体,例如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的那些,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。适当的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙稀、甘醇、水、乙醇等。需要时,该组合物还可包含少量湿润剂或乳化剂或pH缓冲剂。这些组合物可采取的形式有溶液、悬浮液、乳状液、片剂、丸剂、胶囊、粉剂、持续释放制剂等。该组合物可以被配制为含常规粘合剂和载体例如甘油三酯的栓剂。口服制剂可以包括标准载体例如药物级别的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。E. W. Martin在"Remington's Pharmaceutical Sciences"中描述了适当的药物载体的实例。

在一个优选实施方案中,该组合物依照常规操作配制为适合于人类静脉内、皮下或肌肉内给药的药物组合物。必要时,该组合物还可包括增溶剂和局部麻醉剂例如利多卡因以减轻注射位置处的疼痛。该组合物通过输注施用,它可以在包含药物级别的无菌水或盐水的输注瓶中分散。该组合物通过注射施用,可以提供1安瓿的无菌注射用水或盐水,从而使得成分可以在施用前被混合。

本发明的活性剂可以被配制为中性或盐形式。药物学上可接受的盐包括由游离的氨基基团形成的盐,例如从盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等衍生的盐,以及由游离的羧基基团形成的盐,例如从钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等衍生的盐。

## 制品

在本发明的另一实施方案中，提供了包含对于治疗上述病症有用的材料的制品。该制品包括容器、标签和药品说明书。适当的容器包括，例如瓶、管形瓶、注射器等。该容器可以由各种材料例如玻璃或塑料制成。该容器包含对治疗该病状有效的组合物并可具有无菌入口（例如，该容器可以是具有塞子的静脉注射溶液袋或管形瓶，所述塞子可被皮下注射针头刺穿）。在组合物中至少一种活性剂是 VEGF 融合蛋白捕获拮抗剂。在容器上或与容器相联的标签标明该组合物对于治疗所选择的病状有用。该制品可进一步包括第二个容器，所述第二个容器包含药学上可接受的缓冲液，例如磷酸盐缓冲盐水、林格（Ringer's）溶液以及葡萄糖溶液。它可进一步包括从商业和用户立场来说需要的其他材料，包括其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针和注射器。此外，该制品可以包括含使用说明书的药品说明书，包括，例如该组合物不能与蒽环霉素类型的化学治疗剂例如阿霉素或表柔比星组合使用的警告。

本发明的其他特征在下列示例性实施例的描述过程中将是显而易见的，所述实施例是为了举例说明本发明而给出的，并不是希望限制本发明。

### 实施例

提出下列实施例是为了给本领域普通技术人员提供如何制造并使用本发明方法和组合物的完整公开内容和描述，而不是希望限制本发明人视为其发明的范围。已付出努力确保关于所使用的数字（例如量、温度等）的精确性，但某些试验误差和偏差应当被说明。除非另有说明，份是重量份，分子量是平均分子量，温度是摄氏度数，和压力为大气压或接近大气压。

实施例 1: VEGF 融合蛋白捕获拮抗剂在灵长类中的药代动力学和安全性。



在灵长类和啮齿类中进行 VEGF 捕获剂 (SEQ ID NO: 2) 的临床前毒理学研究。在猕猴中的 4 和 13 周的毒理学研究显示, 当以 1.5、5 和 15mg/kg 的剂量每周 3 次(4 周的研究), 或在 13 周的研究中以 1.5、5、15 或 30mg/kg 的剂量每周 2 次皮下给药时, 该 VEGF 捕获剂被良好耐受。该 VEGF 捕获剂在猴子中 4 周后不是高免疫原性的; 仅有一只中等剂量的动物产生了低效价的抗体。

#### 实施例 2: 实体瘤或非何杰金淋巴瘤的治疗。

如下所述用 VEGF 捕获剂治疗没有接受癌症同步治疗的难治性实体瘤或非何杰金淋巴瘤患者。皮下给予范围为 0.3mg/kg - 30mg/kg 的剂量水平。每名患者接受单一初始剂量的 VEGF 捕获剂, 随后为 4 周的观察和药代动力学血液采样。在第 5 周研究的开始, 患者接受一系列 6 次的每周 1 次指定剂量水平的注射。监视 VEGF 捕获剂以及游离的和共同结合为复合体的 VEGF 的血浆水平。在每周 1 次的按剂量用药时期的开始和结束时以及在治疗期间定期地评估肿瘤负荷; 在继续的研究中具有稳定的疾病、部分或完全应答的患者可以继续按剂量给药直至另外 6 个月。在可以预期有效性的较高剂量水平, 患者经历动态对比增强 MRI 扫描以评估 VEGF 捕获剂施用对肿瘤灌注的影响。

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> 施用并利用 VEGF 抑制剂治疗人类癌症的方法

<130> 717A-WO

<140> PCT/US2005/020762

<141> 2005-06-10

<150> 60/578,499

<151> 2004-06-10

<160> 2

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 1377

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

```

atggtcagct actgggacac cggggtcctg ctgtgcgcgc tgctcagctg tctgcttctc 60
acaggatcta gttccggaag tgataccggt agaccttctg tagagatgta cagtgaaatc 120
cccgaaatta tacacatgac tgaaggaagg gagctcgtca ttccctgccg ggttacgtca 180
cctaacaatca ctgttacttt aaaaaagttt ccacttgaca ctttgatccc tgatggaaaa 240
cgcataatct gggacagtag aaagggttc atcatatcaa atgcaacgta caaagaaata 300
gggttctga cctgtgaagc aacagtcaat gggcatttgt ataagacaaa ctatctcaca 360
catcgacaaa ccaatacaat catagatgtg gttctgagtc cgtctcatgg aattgaaacta 420
tctgttggag aaaagcttgt cttaaattgt acagcaagaa ctgaactaaa tgtggggatt 480
gacttcaact gggaataccc ttcttgaag catcagcata agaaacttgt aaaccgagac 540
ctaaaaccc agtctgggag tgagatgaag aaatthttga gcaccttaac tatagatggt 600
gtaaccgga gtgaccaagg attgtacacc tgtgcagcat ccagtgggct gatgaccaag 660
aagaacagca catttgtcag ggtccatgaa aaggacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 720
ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttctct tcccccaaa acccaaggac 780
accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa 840
gaccctgagg tcaagttcaa ctggacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 900
aagccgctggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 960
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcagg tctccaacaa agccctccca 1020
gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 1080

```

accctgcccc catcccggga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 1140  
 aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 1200  
 aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctacagcaag 1260  
 ctccaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgeat 1320  
 gaggctctgc acaaccacta cagcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatga 1377

<210> 2

<211> 458

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser  
 1                    5                    10                    15  
 Cys Leu Leu Leu Thr Gly Ser Ser Ser Gly Ser Asp Thr Gly Arg Pro  
                   20                    25                    30  
 Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu  
                   35                    40                    45  
 Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr  
                   50                    55                    60  
 Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys  
 65                    70                    75                    80  
 Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr  
                   85                    90                    95  
 Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His  
                   100                    105                    110  
 Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Thr Asn Thr Ile Ile  
                   115                    120                    125  
 Asp Val Val Leu Ser Pro Ser His Gly Ile Glu Leu Ser Val Gly Glu  
                   130                    135                    140  
 Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val Gly Ile  
 145                    150                    155                    160  
 Asp Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu  
                   165                    170                    175  
 Val Asn Arg Asp Leu Lys Thr Gln Ser Gly Ser Glu Met Lys Lys Phe  
                   180                    185                    190  
 Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu  
                   195                    200                    205  
 Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr  
                   210                    215                    220  
 Phe Val Arg Val His Glu Lys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 225                    230                    235                    240  
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
                   245                    250                    255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 260 265 270  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 275 280 285  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 290 295 300  
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 305 310 315 320  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 325 330 335  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 340 345 350  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 355 360 365  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 370 375 380  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 385 390 395 400  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 405 410 415  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 420 425 430  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 435 440 445  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455