



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102369016 A

(43) 申请公布日 2012. 03. 07

(21) 申请号 201080014765. 0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 02. 12

A61K 38/18 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 9/00 (2006. 01)

61/151, 909 2009. 02. 12 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 09. 29

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/024106 2010. 02. 12

(87) PCT申请的公布数据

W02010/093925 EN 2010. 08. 19

(71) 申请人 史赛克公司

地址 美国密歇根州

(72) 发明人 M·E·P·勾德 M·M·哈斯凯尔

D·施瑞尔 S·A·伍德

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

代理人 赵蓉民 陆惠中

权利要求书 3 页 说明书 19 页

(54) 发明名称

用于治疗系统性病症和疾病的包含 TGF- β 超家族成员的蛋白质的外周施用

(57) 摘要

本发明涉及用于通过外周施用方式实现系统递送微溶生物活性剂, 如——但不限于——TGF- β 超家族的蛋白质的方法和组合物。根据本发明, 示例性的生物活性剂是 BMP-7。本发明还提供微创系统性治疗骨骼病症, 如骨质疏松症, 以及微创系统性治疗损伤或患病非矿化组织和器官, 如肾。本发明的实施消除生物活性剂的静脉内施用的周边部位处的不良副作用。

1. 通过向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白来治疗患者中的疾病的方法,所述方法包括以下步骤:

通过血管通路结构在施用部位向所述患者施用所述骨形态发生蛋白,其中所述施用部位是周边的,并且所述骨形态发生蛋白在位于离所述施用部位至少 1cm 的周边的递送部位被递送给所述患者。

2. 权利要求 1 所述的方法,还包括在所述患者的所述周边施用部位处植入血管通路结构的步骤。

3. 权利要求 2 所述的方法,其中所述周边施用部位是所述患者的手、腿、足、臂或头中的静脉。

4. 权利要求 1 所述的方法,其中所述骨形态发生蛋白是 BMP-7。

5. 权利要求 1 所述的方法,其中所述位于周边的递送部位基本上无水肿并且基本上不受干扰。

6. 权利要求 1 所述的方法,其中所述骨形态发生蛋白通过所述施用部位到所述递送部位被多次施用给所述患者。

7. 权利要求 6 所述的方法,其中所述骨形态发生蛋白以三次单独的施用被施用至少三次。

8. 权利要求 1 所述的方法,其中所述位于周边的递送部位离所述施用部位至少 2cm、至少 4cm 或至少 5cm。

9. 权利要求 1 所述的方法,其中所述位于周边的递送部位无小静脉瓣。

10. 系统性治疗损伤或患病组织的方法,所述方法包括以下步骤:

向周边施用部位提供含有生物剂的组合物,于是,所述生物剂以有效治疗所述损伤或患病组织的量被递送。

11. 权利要求 10 所述的方法,其中所述施用部位远离所述生物剂的递送部位。

12. 权利要求 10 所述的方法,其中所述递送部位是周边部位。

13. 权利要求 10 所述的方法,其中所述递送部位基本上无水肿。

14. 权利要求 10 所述的方法,其中所述递送部位基本上不受干扰。

15. 权利要求 10 所述的方法,其中在所述递送部位处、在所述递送部位附近或邻近的非血管组织在递送后基本上无生物剂。

16. 权利要求 10 所述的方法,其中所述生物剂是 BMP-7。

17. 权利要求 10 所述的方法,其中所述损伤或患病组织是非矿化组织。

18. 权利要求 17 所述的方法,其中所述损伤或患病组织是器官。

19. 权利要求 10 所述的方法,其中所述生物剂可生物利用至少约 2 小时。

20. 权利要求 10 所述的方法,其中所述有效的量为约 100 至约 300 微克的生物剂。

21. 权利要求 11 所述的方法,其中所述递送部位在所述施用部位下游约 1cm 处。

22. 治疗损伤或患病组织的方法,所述方法包括以下步骤:

向周边施用部位施用包含生物剂的组合物,和

向周边静脉内递送部位递送所述组合物,以便在所述递送部位处的内膜组织完整性基本上不受损害,

据此,所述生物剂的量为有效治疗所述损伤或患病组织。

23. 权利要求 22 所述的方法,其中所述施用部位和所述递送部位是同一个。

24. 权利要求 22 所述的方法,据此,利用具有非破坏性构造远端的静脉内装置实现所述递送步骤。

25. 权利要求 22 所述的方法,其中所述递送部位在所述施用部位下游约 1cm 处。

26. 通过向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白来治疗患者中的疾病的方法,所述方法包括以下步骤:

通过愈合到所述患者中的血管通路结构在施用部位向所述患者施用所述骨形态发生蛋白,其中所述施用部位是周边的,并且,所述骨形态发生蛋白在位于离所述施用部位至少 1cm 的周边递送部位被递送给所述患者。

27. 权利要求 26 所述的方法,其中所述骨形态发生蛋白是 BMP-7。

28. 权利要求 26 所述的方法,其中所述骨形态发生蛋白在所述施用部位被多次施用给所述患者。

29. 权利要求 26 所述的方法,其中所述周边施用部位是所述患者的足、手、臂、腿或头中的静脉。

30. 适于改善损伤或疾病的组合物,所述组合物包含:

有效改善损伤或疾病的量的生物剂;和,

用于向血管施用所述剂的静脉穿刺装置,其中所述装置适于将所述剂递送到所述血管没有创伤的区域。

31. 权利要求 30 所述的组合物,其中所述生物剂是蛋白质性的。

32. 权利要求 31 所述的组合物,其中所述生物剂是微溶蛋白。

33. 权利要求 32 所述的组合物,其中所述生物剂在生理 pH 基本上不溶。

34. 权利要求 33 所述的组合物,其中所述生物剂是蛋白质 TGF- β 超家族的成员。

35. 权利要求 34 所述的组合物,其中所述生物剂选自: BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6、GDF-7、MP-52 以及前述任意之一的序列变体。

36. 权利要求 34 所述的组合物,其中所述生物剂选自: BMP-2、BMP-7、GDF-5、GDF-6、GDF-7 和 MP-52。

37. 权利要求 34 所述的组合物,其中所述生物剂选自: GDF-5、GDF-6 和 GDF-7。

38. 权利要求 34 所述的组合物,其中所述生物剂是 BMP-7。

39. 权利要求 34 所述的组合物,其中所述生物剂是蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的成员。

40. 权利要求 39 所述的组合物,其中所述生物剂是与 BMP 亚家族的成员在保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域中具有至少约 50% 的氨基酸序列同一性的蛋白质。

41. 权利要求 33 所述的组合物,其中所述生物剂是非蛋白质 TGF- β 超家族的成员的蛋白质。

42. 权利要求 30 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善骨骼组织损伤或疾病,其选自: 代谢性骨病、骨性关节炎、骨软骨疾病、类风湿性关节炎、骨质疏松、佩吉特氏病、牙周炎和牙本质发生。

43. 权利要求 30 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善非矿化的骨骼组织损伤或疾病,其选自: 骨性关节炎、骨软骨疾病、软骨疾病、类风湿性关节炎、创伤诱发和炎症

诱发的软骨退化、年龄相关性软骨退化、关节软骨损伤和疾病、全厚软骨缺损、表面软骨缺损、系统性红斑狼疮后遗症、硬皮病后遗症、牙周组织再生、椎间盘突出和破裂、椎间盘变性疾病、骨软骨病以及韧带、腱、滑液囊、滑膜和半月板组织的损伤和疾病。

44. 权利要求 30 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善组织损伤,其选自:创伤诱发和炎症诱发的软骨退化、节软骨损伤、全厚软骨缺损、表面软骨缺损、椎间盘突出和破裂、由于损伤(一个或多个)而椎间盘退化以及韧带、腱、滑液囊、滑膜和半月板组织的损伤。

45. 权利要求 30 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善组织损伤或疾病,其选自:肝疾病、肝切除术、肝切除、肾疾病、慢性肾衰竭、中枢神经系统局部缺血或创伤、神经病、运动神经元损伤、脊髓损伤、树突细胞缺乏和异常、帕金森氏病、眼疾病、眼瘢痕化、视网膜瘢痕化和胃肠道溃疡性疾病。

46. 权利要求 30 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善组织损伤或疾病,其选自:慢性和急性肾疾病、动脉粥样坏死、肺纤维化、心肌纤维化、肾纤维化、肥胖、糖尿病、癌、眼瘢痕化、肝纤维化、炎症病症和神经系统病症。

47. 权利要求 30 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效抑制肿瘤细胞增殖或促进肿瘤消退。

48. 适于改善损伤或疾病的组合物,包含:

选自下列的生物剂:蛋白质 TGF- β 超家族的成员、蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的成员和与 BMP 亚家族的成员在保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域内具有至少约 50% 的氨基酸序列同一性的蛋白质,其中所述生物剂的量为有效改善损伤或疾病;和,

用于向血管施用所述剂的静脉穿刺装置,所述装置选自:导管、针、导管针、导管引入器、PICC 路线和前述装置任意之一的结构等同物;其中所述装置适于将所述剂递送到血管没有创伤的区域。

49. 生物剂制剂,适于以权利要求 10 所述的方法使用。

50. 生物剂制剂,适于以权利要求 22 所述的方法使用。

51. 用于向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白的试剂盒,包含:

骨形态发生蛋白;和

用于周边植入所述患者中的周边血管通路结构。

52. 权利要求 51 所述的试剂盒,还包括用于通过周围给药向所述患者系统性施用所述骨形态发生蛋白的说明书。

53. 权利要求 52 所述的试剂盒,其中所述说明书规定,对于在人类中施用,所述骨形态发生蛋白的施用点和递送点应该相隔大于 1cm。

54. 权利要求 51 所述的试剂盒,其中所述骨形态发生蛋白是 BMP-7。

55. 权利要求 51 所述的试剂盒,其中所述骨形态发生蛋白被提供在含有合适的药物载体的组合物中。

56. 用于向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白的试剂盒,包含:

骨形态发生蛋白;和

用于通过周围给药向所述患者系统性施用所述骨形态发生蛋白的说明书。

57. 权利要求 56 所述的试剂盒,还包含用于外周植入所述患者中的周边血管通路结构。

用于治疗系统性病症和疾病的包含 TGF- β 超家族成员的蛋白质的外周施用

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求 2009 年 2 月 12 日提交的美国临时专利申请号 61/151,909 的优先权和权益,其内容通过引用被并入本文。

背景技术

[0003] 骨形态发生蛋白 (BMPs) 属于转化生长因子 β (TGF- β) 超家族,它控制多组细胞过程和发育过程,如图式形成和组织特化以及促进成体组织中的创伤愈合和修复过程。BMPs 最初根据其能力被分离,以诱发骨和软骨形成;然而,它们对其它组织和器官修复的效用现在被广泛认识。

[0004] 目前为止,用于非局部递送临床上有效剂量的 BMP——尤其是在延长的时间段,而不重复施用 BMP——的可靠手段已经使熟练的从业者感到困惑。事实上,大多数蛋白质性生物剂的有效递送通常仍然是一个未解决的挑战。尽管在蛋白质技术和药物化学中的进步,但至少有两个问题继续折磨着需要为患者提供治疗剂量的 BMP(一种或多种)的临床医生。

[0005] 首先,大多数治疗剂的优选施用方式是口服或通过注射。然而,口服给药常常不适用于大分子药物如蛋白质,因为它们当中的大多数不能被胃肠道完整吸收,这会损害特定给药方案的功效。而且,当通过常规注射方法施用特定的治疗蛋白或蛋白质性质的剂时,需要频繁、多次注射,因为这些剂可能具有短的药代动力学半衰期。因此,施用药物的最受欢迎和常规的手段会给患者造成大的身体负担并产生与患者管理有关的相当大的给药成本。

[0006] 因此,需要提供生物学上的活性剂,尤其是大分子,如 BMPs 和其它蛋白质性大分子生物或药物的替代模式。

发明内容

[0007] 本发明是基于这样一个发现:可以将示例性的 BMP——BMP-7 非外科手术地和非局部地提供给哺乳动物而不损害血管系统。本发明的实施允许多次和反复血管内外周施用 BMP-7,用于系统性治疗目的,而迄今没有观察到不良作用。通常,利用常规注射方法外周静脉内施用 BMPs(例如,在大鼠、狗和猴中)伴随着在针和/或导管引入部位处的血管组织和血管周围组织内和周围明显的局部效应——包括、但不限于水肿、纤维化和骨和/或软骨形成。这些不期望的局部效应阻止将蛋白质不止一次或两次地注射到相同的血管中,从而迫使使用许多不同的周边血管,导致不期望的效应在用于注射的每一血管中积累。在临床实践中,这样的不良作用的发展阻止每周施用超过一次,并且,在注射 4 到 5 次之后,最终导致不能将蛋白质经静脉内注射到任何周边血管中。

[0008] 本发明利用了这样的发现:当经血管内施用 BMP-7 至周边部位时,在实际递送部位的内膜组织完整性应该基本上不受损害。也就是说,在实际递送部位,如果任何蛋白质从血管周围渗漏到血管壁中、或渗漏到周围组织中,那么在血管组织和/或血管周围组织内和周围就会发生不期望的水肿、纤维化和骨和/或软骨形成的效应。施用部位或静脉穿

刺点与递送部位之间的距离最好是这样的距离,该距离允许在任何创伤部位或损伤部位之外将治疗剂,例如 BMP-7 递送到血管及相关组织——包括血管腔、血管周围组织和皮下组织——中,从而防止治疗剂渗漏到周围组织中。施用部位或静脉穿刺部位与递送部位之间的距离取决于多种因子——包括血管类型(例如,动脉或静脉)、血管大小(大的或小的)以及血管解剖(例如,瓣、分支等的存在)。为了防止另外与 BMP-7 有关的施用部位处的特定副作用,也即,软骨或骨生长或小瘤,在 BMPs,如 BMP-7 的施用中预防渗漏尤其重要。因此,本发明的实施涉及指引蛋白质递送到血管的任何创伤或损伤(例如,身体注射点或血管穿刺点;施用部位)点下游的血管中,或者递送到超过(例如,至少约 1 至约 3cm)血管的任何创伤或损伤(例如,身体注射点或血管穿刺点;施用部位)点的血管中,因为这样的创伤或损伤允许蛋白质渗漏到血管组织或周围组织中。当按照本文所描述的实施时,本发明能将蛋白质递送到不含由身体插入血管引起的洞、裂口和 / 或创伤的一段血管中。

[0009] 如本文所考虑的,本发明涉及通过常规的针或导管引入器将导管置于超过静脉穿刺点约 1cm、至少约 1cm、约 2cm 或至少约 2cm 以及上至约 5cm 的部位,但在任何情况下,至少在任何引发的血管创伤之外。例如,单独的导管(没有针或引入器)首先被超过即时引入部位布置在血管腔中,然后,超过静脉穿刺点和 / 或超过任何有关的创伤优选地约 1cm、至少约 1 至约 2cm、至少 2cm、2cm 以上,更优选为约 2 至约 4cm 以及尽可能远至约 40cm 穿线(thread)。只有在那时,蛋白质实际上才被递送。针和导管的直径(规格)以及所用导管的长度取决于患者的种类、年龄、性别、重量和 / 或大小。可以使用任何周边血管(例如,手、臂、腿、足中的静脉或动脉和 / 或颈静脉),但通常优选的血管是末端皮下组织中的静脉。

[0010] 如在本文其它地方所说明的,本发明的方面还包括适于微创系统递送的蛋白质制剂,包括制剂参数如 pH、赋形剂和 / 或浓度等等,以及这种制剂的给予速度及通过控制制剂参数和 / 或给予速度而实现的其有效剂量。

[0011] 考虑到确认一些系统性疾病状态可以受益于 BMP 治疗的临床前证据的可利用性,上述系统性疗法的微创方法的重要性不可低估。尤其地,代谢性骨病——包括因而被影响的矿化组织以及非矿化组织——具有重大意义。此外,临床前研究确认了 BMP 治疗可能有益的一些系统性疾病状态——包括受疾病或病症如慢性和急性肾疾病、动脉粥样坏死、肺纤维化、肥胖、糖尿病、癌、眼瘢痕化、肝纤维化、炎性病症和神经系统病症影响的组织和 / 或器官。

[0012] 在第一方面,本发明涉及组合物,其含有生物剂和静脉穿刺装置,用于将剂施用到血管。静脉穿刺装置适于将剂递送到没有创伤的血管区域。在某些优选实施方式中,生物剂是微溶蛋白。在一个实施方式中,蛋白质性生物剂是在生理 pH 基本不溶的蛋白质。在一个实施方式中,蛋白质性生物剂是蛋白质 TGF- β 超家族的成员。本发明的另一个实施方式提供蛋白质性生物剂,其是蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的成员。在本发明的一个实施方式中,蛋白质性生物剂是 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7。在本发明的另一个方面,蛋白质性生物剂是 BMP-7。本发明也提供蛋白质性生物剂,其是 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7 中任意一个的序列变体。在本发明的另一个方面,蛋白质性生物剂是这样的蛋白质:其与 BMP 亚家族的成员在保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域内具有至少约 50% 的氨基酸序列同一性。

[0013] 根据本发明,静脉穿刺装置是提供到达对象血管系统的装置;血管系统优选为周

边血管。在本发明的情况中,静脉穿刺装置适于将剂递送到对象的没有创伤的周边血管区域。如本发明所考虑的,优选的血管通路结构 (vascular access structure) 在对象周围的外部或内部是可植入的。在某些实施方式中,这样的结构可以操作,以将生物剂递送到在与实际植入点遥远的部位,例如静脉穿刺点或插入点的对象血流中。在再一个优选的实施方式中,静脉穿刺装置装配有非破坏性远端。

[0014] 在一个实施方式中,本发明提供这样的方法:其通过给需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白来治疗患者中的疾病。该方法包括在施用部位通过血管通路结构向患者施用骨形态发生蛋白的步骤。该施用部位是周边施用部位,而骨形态发生蛋白在离施用部位至少 1cm 的位于周边的递送部位被递送给患者。在进一步的实施方式中,递送部位离递送部位至少 2cm、或至少 4cm、或至少 5cm。在另一个实施方式中,该方法还包括在患者中的周边施用部位植入血管通路结构的步骤。例如,周边施用部位是患者的手、腿、足、臂或头中的静脉。在进一步的实施方式中,位于周边的递送部位基本上没有水肿并且基本上不受干扰;而在另一个实施方式中,递送部位不含小静脉瓣。根据进一步的实施方式,施用的骨形态发生蛋白是 BMP-7。根据进一步的实施方式,施用的骨形态发生蛋白在施用部位处以三次单独的施用被至少施用三次。

[0015] 在另一个实施方式中,本发明提供这样的方法:其通过给需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白来治疗患者中的疾病。该方法包括在施用部位通过愈合到患者中的血管通路结构向患者施用骨形态发生蛋白的步骤。根据该实施方式,施用部位是周边的施用部位,而骨形态发生蛋白在离施用部位约 2cm 的位于周边的递送部位被递送给患者。例如,根据一些实施方式,周边施用部位是患者的足、手、头、臂或腿中的静脉或动脉。在其它实施方式中,骨形态发生蛋白是 BMP-7。根据一些实施方式,骨形态发生蛋白在施用部位被多次施用给患者。在进一步的实施方式中,在多次施用之后,患者并不显示伴随 BMP 施用发生的副作用,即,在施用部位周围的小瘤形成、骨形成或类似副作用。

[0016] 在当前的优选实施方式中,适于改善损伤或疾病的本发明组合物包含选自下列的生物剂:蛋白质 TGF- β 超家族的成员、蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的成员和与 BMP 亚家族的成员在保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域中具有至少约 50% 的氨基酸序列同一性的蛋白质;和,选自下列的静脉穿刺装置:导管、针、导管针、适于将所述剂递送到血管没有创伤的区域的装置和具有与其功能上或结构上相似的构造的结构。如本文所考虑的,生物剂的量为有效改善损伤或疾病的量,并且,其中静脉穿刺装置适于将生物剂递送到所选血管的没有创伤的区域。

[0017] 在另一个方面中,本发明也提供制剂,其包含有效改善组织损伤或疾病的量的生物剂,其适于包含上述组合物。在一个实施方式中,待改善的损伤是矿化的或非矿化的骨骼组织损伤。在另一个实施方式中,待改善的损伤或疾病是代谢性骨病、骨性关节炎、骨软骨疾病、类风湿性关节炎、骨质疏松、佩吉特氏病、牙周炎、牙本质发生、软骨疾病、创伤诱发和炎症诱发的软骨退化、年龄相关性软骨退化、关节软骨损伤和疾病,全厚软骨疾病、表面软骨缺损、系统性红斑狼疮后遗症、硬皮病后遗症、牙周组织再生、椎间盘突出和破裂、椎间盘变性疾病、骨软骨病 (osteochondrosis) 或韧带、腱、滑液囊、滑膜和半月板组织的损伤以及疾病。在另一个实施方式中,待改善的损伤或疾病是肝疾病、肝切除术、肝切除、肾疾病、慢性肾衰竭、中枢神经系统局部缺血或创伤、神经病、运动神经元损伤、树突细胞缺乏和异常、

帕金森氏病、眼疾病、眼瘢痕化、视网膜瘢痕化或胃肠道溃疡性疾病。在再一个实施方式中，组合物包含有效抑制肿瘤细胞增殖或促进肿瘤消退的量的生物剂。

[0018] 在再一个方面，本发明考虑利用蛋白质如——但不限于——TGF- β 超家族的那些成员的系统性治疗方法，所述方法是微创的。如本文所使用的，“系统的”意为非局部的。熟练的从业者应该理解，非局部可以包括这样的方法：通过该方法，将蛋白质或其它生物活性剂在单个局部部位如——但不限于——周边经皮部位引入对象，以便实现治疗对象的全身而不仅仅是单个局部部位。“系统的”也可以意为施用的治疗剂的治疗血液水平及时地以某一点存在于血液中。通过提供施用的治疗剂的治疗血液水平，“系统”用药也可以实现治疗患者身体中的与施用部位距离远的部位。如本文所使用的，“微创”意为非创伤的或非体外(non-open-field) 手术方法。熟练的从业者应该理解，这样的方法可以包括涉及切口（一个或多个）或植入医疗装置（一个或多个）的程序。

[0019] 在某些当前的优选实施方式中，治疗损伤或患病组织的方法包括向施用部位提供含有生物剂和用于将剂施用到血管的静脉穿刺装置的组合物的步骤，于是，生物剂以有效治疗损伤或患病组织的量被递送，而所述装置适于将剂递送到血管的没有创伤的区域。优选地，身体施用部位与生物剂的实际递送部位距离遥远。在优选的实施方式中，施用部位是周边部位。

[0020] 在当前优选的实施方式中，在递送后，生物剂以足以在距离递送部位遥远的部位提供生物学上有效剂量的速度分散。在尤其优选的实施方式中，生物剂以至少 1ml/min 的速度分散。根据本发明，递送部位基本上无水肿和 / 或基本上不受干扰和损害。在再一个实施方式中，在递送部位处、在递送部位附近或邻近的非血管组织在递送后基本上无生物剂。

[0021] 在本发明的另一个当前优选的实施方式中，治疗损伤或患病组织的方法包括向施用部位施用包含生物剂的组合物，并将组合物递送到静脉内的递送部位，使得在递送部位的内膜组织完整性基本上不受损害。在该实施方式中，生物剂以有效治疗损伤或患病组织的速度和量从递送部位分散。在某些实施方式中，施用部位和递送部位是同一个。在其它实施方式中，递送部位与施用部位距离遥远。在一个当前优选的实施方式中，递送部位在施用部位下游约 1cm 处。在尤其优选的实施方式中，递送部位无小静脉瓣。在另外的实施方式中，在递送部位的血流速度足以在距离递送部位遥远的部位提供生物学上有效的剂量。在尤其优选的实施方式中，生物剂以至少约 1ml/min 的速度分散。在再一个实施方式中，利用具有非破坏性构造的远端的静脉内装置完成递送步骤。

[0022] 与本发明的教导一致，当前优选的生物剂是 BMP-7，而损伤或患病非矿化组织是当前优选的治疗目标。这样的损伤或患病组织可以是器官。在尤其优选的治疗方法中，生物剂可生物利用至少约 0.5 小时，更优选为至少约 2 小时、至少约 8 小时；约 1 天，优选为多于 1 天。而且，有效量为约 10 微克至约 1000 微克的生物剂，更优选为约 50 微克至约 500 微克，最优选为 100 微克至约 300 微克。

[0023] 在另一个方面中，本发明也提供制剂，其含有有效改善组织损伤或疾病的量的生物剂，适于通过上述方法使用。

[0024] 在另一个方面中，本发明提供试剂盒，用于向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白。在一个实施方式中，该试剂盒包括骨形态发生蛋白和用于在患者中周边植入的周边血管通路结构。在可选的实施方式中，该试剂盒还包括通过周围给药向患者系统性施用骨

形态发生蛋白的说明书。在进一步的实施方式中,说明书规定,对于在人类中施用,骨形态发生蛋白的施用点和递送点应该相隔大于1cm。在进一步的实施方式中,骨形态发生蛋白是BMP-7。在再一个实施方式中,骨形态发生蛋白被提供在含有合适的药物载体的组合物中。

[0025] 在另一个实施方式中,试剂盒包括骨形态发生蛋白和用于通过周围给药向患者系统性施用骨形态发生蛋白的说明书。在另一个实施方式中,试剂盒还包括用于在患者中周边植入的周边血管通路结构。在再一个实施方式中,骨形态发生蛋白是BMP-7。

[0026] 从以下的附图、说明书和权利要求书,本发明前述的和其它特征及优势以及本发明本身将被更充分地理解。

[0027] 发明详述

[0028] 本发明基于这样的发现:示例性的骨形态发生蛋白(BMP)——BMP-7可以被非外科手术地和非局部地提供给哺乳动物而没有不良作用。本发明的实施允许多次和反复血管内外周施用这样的示例性蛋白,用于系统性治疗目的,而迄今没有观察到不良作用。通常,利用常规注射方法外周静脉内施用BMPs,如BMP-7(例如,在大鼠、狗和猴中)伴随着在针和/或导管引入部位的血管组织和血管周围组织内和周围显著的局部效应——包括、但不限于水肿、纤维化和骨和/或软骨形成。这些不期望的局部效应阻止将蛋白质不止一次或两次地注射到相同的血管中,从而迫使使用许多不同的周边血管,导致不期望的效应在用于注射的每一血管中的积累。在临床实践中,这样的不良作用的发展阻止每周施用超过一次,并且,在注射4到5次之后,最终导致不能将蛋白质经静脉内注射到任何周边血管中。

[0029] 本发明利用这样的发现:当经血管内向周边部位施用示例性蛋白质,如BMP-7时,在实际递送部位的内膜组织完整性应该基本上不受损害。也就是说,在实际递送部位,如果任何蛋白质从血管周围渗漏到血管壁中、或渗漏到周围组织中,那么在血管组织和/或血管周围组织内和周围就会发生不期望的水肿、纤维化和骨和/或软骨形成效应。因此,本发明的实施涉及指引蛋白质递送到血管的任何创伤或损伤(例如,身体注射点或血管穿刺点;施用部位)点下游的血液中,或者递送到超过(例如,至少约1至约3cm)血管的任何创伤或损伤(例如,身体注射点或血管穿刺点;施用部位)点的血液中,因为这样的创伤或损伤允许蛋白质渗漏到血管组织或周围组织中。当按照本文所描述的实施时,本发明能将蛋白质递送到不含由身体插入血管引起的洞、裂口和/或创伤的一段血管中。如本文所考虑的,本发明涉及通过常规的针或导管引入器将导管置于超过静脉穿刺点至少约1cm和上至约5cm的部位,但在任何情况下,至少在任何引发的血管创伤之外。例如,单独的导管(没有针或引入器)首先被超过即时引入部位布置在血管腔中,然后,超过静脉穿刺点和/或超过任何有关的创伤优选地至少约1至约2cm、更优选为约2至约4cm以及尽可能远至约40cm穿线。只有在那时,蛋白质实际上才被递送。针和导管的直径(规格)以及所用导管的长度取决于患者的种类、年龄、性别、重量和/或大小。可以使用任何周边血管(例如,手、臂、腿、足和/或颈静脉),但通常优选的血管是末端皮下组织中的静脉。

[0030] 如在本文其它地方所说明的,本发明的方面还包括适于微创系统递送的蛋白质制剂,包括制剂参数如pH、赋形剂和/或浓度等等,以及这种制剂的给予速度及通过控制制剂参数和/或给予速度而实现的其有效剂量。

[0031] 考虑到确认一些系统性疾病状态可以受益于BMP治疗的临床前证据的可利用性,上述系统性疗法的微创方法的重要性不可低估。尤其地,代谢性骨病——包括因而被影响

的矿化组织以及非矿化组织——具有重大意义。此外,临床前研究确认了 BMP 治疗可能有益的一些系统性疾病状态——包括受疾病或病症如慢性和急性肾疾病、动脉粥样坏死、肺纤维化、肥胖、糖尿病、癌、眼瘢痕化、肝纤维化、炎性病症和神经系统病症影响的组织和 / 或器官。

[0032] 如之前所说明的,当通过针和注射器或利用标准静脉内临时导管(导管和针递送装置)将剂,如 TGF β 家族成员直接注射到周边血管中时,这伴随着针和 / 或导管引入部位(例如,静脉穿刺点)的血管组织和血管周围组织内和周围显著的局部效应——包括、但不限于水肿、纤维化和骨和 / 或软骨形成。相比之下,通过延伸到血管腔内约 2cm 或 2cm 以上,例如超过血管穿刺点的外周导管指引递送相同的蛋白质,血管组织和 / 或血管周围组织内和周围典型的不期望的水肿、纤维化和骨和 / 或软骨形成效应在针和 / 或导管即时引入部位不存在了或显著减少了。如本领域技术人员应该理解的,穿越的距离取决于经血管内接收蛋白质的种类的大小(例如,整只大鼠从头到尾可能长约 8cm,然而,狗的上前肢本身可能测量为 8cm)。成年人类中典型的臂或手血管具有伸直的长度,以便在递送之前,导管末端可以从施用部位的针创伤点被插入超过施用点至少 2cm。在进一步的实施方式中,在递送物质之前,导管可以被引入超过充分插入的引入针的远端末梢至少 2cm。

[0033] 而且,如在本文其它地方所说明的,本发明的方面还包括适于微创系统递送的蛋白质制剂,包括制剂参数如 pH、赋形剂和 / 或浓度等等,以及这种制剂的给予速度及通过控制制剂参数和 / 或给予速度而实现的有效剂量。

[0034] 虽然当前临床应用蛋白质,如 BMPs,以及组织形态发生素的 TGF- β 超家族的其它成员限于局部的、手术创伤植入,以诱发局部骨生长和修复,但临床前研究确认了 BMP 治疗可能有益的一些系统性疾病状态。这些包括、但不限于在代谢性骨病——包括因而被影响的矿化组织以及非矿化组织——中的应用。此外,临床前研究确认了 BMP 治疗可能有益的一些系统性疾病状态——包括受疾病或病症如慢性和急性肾疾病、动脉粥样坏死、肺纤维化、肥胖、糖尿病、癌、眼瘢痕化、肝纤维化、炎性病症和神经系统病症影响的组织和 / 或器官。根据利用本发明治疗这样的疾病,非局部施用 BMP-7 现在被认为是最佳的途径。然而,本发明还确认:系统性用药(systemic administration)的常规的、当前应用的方法,如直接外周给药(例如,通过皮下、肌肉或腹膜内施用;还包括利用装有传统注射器针头的注射器进行静脉内施用)可产生不期望的效应——包括在注射部位的异位骨组织和 / 或纤维组织的形成,和 / 或定域组织创伤,如例如周边水肿的诱发。如在本文其它地方所说明的,本发明涉及迄今未被描述过的用于避免这样的不期望的效应并有助于生物剂、尤其是蛋白质性大分子如——但不限于——BMP 的微创系统递送的方法。还应该理解,如本文所考虑的微创系统递送并不包括口服、肠胃外或局部递送。

[0035] 包括骨形态发生蛋白的生物剂

[0036] 简而言之,本发明考虑合适的生物剂为蛋白质性的。一种合适的蛋白质性剂为微溶蛋白。也就是说,优选的生物剂是在生理 pH 基本上不溶的蛋白质。例如,一种示例性的蛋白质性生物剂是蛋白质 TGF- β 超家族的成员。本发明还提供蛋白质性生物剂,其是蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的成员。在本发明的某些实施方式中,蛋白质性生物剂是 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7。在本发明的优选实施方式中,蛋白质性生物剂是 BMP-7。本发明也提供蛋白质性生物剂,其是 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、

BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7 中任意一个的序列变体。在本发明的另一个实施方式中，蛋白质性生物剂是与 BMP 亚家族的成员在保守的 C- 末端富含半胱氨酸的结构域中具有至少约 50% 的氨基酸序列同一性的蛋白质。

[0037] 如上所述，BMPs 是用于本发明目的的优选示例性生物剂，并且属于 TGF- β 超家族。TGF- β 超家族蛋白是细胞因子，其以 6 个保守的半胱氨酸残基为表征。人类基因组含有约 42 个编码 TGF- β 超家族蛋白的开放阅读框架。根据序列相似性和它们激活的特定信号传导通路，TGF- β 超家族蛋白可以至少被分为 BMP 亚家族和 TGF- β 亚家族生物剂。BMP 亚家族包括但不限于 BMP-2、BMP-3 (骨生成蛋白)、BMP-3b (GDF-10)、BMP-4 (BMP-2b)、BMP-5、BMP-6、BMP-7 (成骨蛋白 -1 或 OP-1)、BMP-8 (OP-2)、BMP-8B (OP-3)、BMP-9 (GDF-2)、BMP-10、BMP-11 (GDF-11)、BMP-12 (GDF-7)、BMP-13 (GDF-6、CDMP-2)、BMP-15 (GDF-9)、BMP-16、GDF-1、GDF-3、GDF-5 (CDMP-1、MP-52) 和 GDF-8 (肌肉抑制素 (myostatin))。为了本发明的目的，优选的超家族蛋白包括 BMP-2、-4、-5、-6 和 -7 以及 GDF-5、-6 和 -7 以及 MP-52。尤其优选的蛋白质包括 BMP-2、BMP-7 和 GDF-5、-6 和 -7。最优选的示例性 BMP 是 BMP-7。BMPs 也存在于其它动物种类中。此外，在人类群体不同成员之间的 BMP 序列存在等位基因变异，并且目前发现和表征的 BMPs 之间存在物种变异。

[0038] TGF- β 亚家族包括、但不限于 TGFs (例如，TGF- β 1、TGF- β 2 和 TGF- β 3)、激活蛋白 (例如，激活蛋白 A) 和抑制素、巨噬细胞抑制性细胞因子 -1 (MIC-1)、苗勒氏抑制物质、抗苗勒氏激素和胶质细胞系衍生神经营养因子 (GDNF)。除非另有明确指示，如本文所使用的，“TGF- β 亚家族”、“TGF- β s”、“TGF- β 配体”及其语法等同物是指 TGF- β 亚家族成员。

[0039] TGF- β 超家族反过来又是半胱氨酸打结细胞因子超家族的亚群。半胱氨酸打结细胞因子超家族的另外成员包括但不限于血小板衍生的生长因子 (PDGF)、血管内皮生长因子 (VEGF)、胎盘生长因子 (PIGF)、头蛋白、神经营养蛋白 (BDNF、NT3、NT4 和 β NGF)、促性腺激素、促滤泡素、促黄体激素、白细胞介素 -17 和抗脂多糖因子 (coagulogen)。

[0040] 公开这些序列及其化学和物理性能的出版物包括：BMP-7 和 OP-2 (美国专利号 5,011,691；美国专利号 5,266,683；Ozkaynak 等，EMBO J., 9, pp. 2085-2093 (1990)；OP-3 (W094/10203 (PCT US93/10520))、BMP-2、BMP-4 (W088/00205；Wozney 等，Science, 242, pp. 1528-1534 (1988))、BMP-5 和 BMP-6 (Celeste 等，PNAS, 87, 9843-9847 (1991))、Vgr-1 (Lyons 等，PNAS, 86, pp. 4554-4558 (1989))；DPP (Padgett 等，Nature, 325, pp. 81-84 (1987))；Vg-I (Weeks, Cell, 51, pp. 861-867 (1987))；BMP-9 (W095/33830 (PCT/US95/07084)；BMP-10 (W094/26893 (PCT/US94/05290)；BMP-11 (W094/26892 (PCT/US94/05288)；BMP-12 (W095/16035 (PCT/US94/14030)；BMP-13 (W095/16035 (PCT/US94/14030)；GDF-1 (W092/00382 (PCT/US91/04096) 和 Lee 等，PNAS, 88, pp. 4250-4254 (1991)；GDF-8 (W094/21681 (PCT/US94/03019)；GDF-9 (W094/15966 (PCT/US94/00685)；GDF-10 (W095/10539 (PCT/US94/11440)；GDF-11 (W096/01845 (PCT/US95/08543)；BMP-15 (W096/36710 (PCT/US96/06540)；MP-121 (W096/01316 (PCT/EP95/02552)；GDF-5 (CDMP-I, MP52) (W094/15949 (PCT/US94/00657) 和 W096/14335 (PCT/US94/12814) 和 W093/16099 (PCT/EP93/00350))；GDF-6 (CDMP-2, BMP13) (W095/01801 (PCT/US94/07762) 和 W096/14335 和 W095/10635 (PCT/US94/14030))；GDF-7 (CDMP-3, BMP12) (W095/10802 (PCT/US94/07799) 和 W095/10635 (PCT/US94/14030))。以上出版物通过引用

被并入本文。

[0041] 如本文所使用的,“TGF- β 超家族成员”或“TGF- β 超家族蛋白”意为本领域普通技术人员所知的作为转化生长因子- β (TGF- β) 超家族成员的蛋白质。在结构上,这样的蛋白质是被表达为大的前体多肽链的同型二聚体或异二聚体,该前体多肽链含有疏水信号序列、具有几百个氨基酸的 N-末端前区域和含有可变的 N-末端区域的成熟结构域和包含大约 100 个氨基酸的具有独特半胱氨酸基序的高度保守的 C-末端区域,所述半胱氨酸基序含有保守的 6 或 7 半胱氨酸骨架。这些结构上相关的蛋白质已经被鉴定为与一些发育事件有关。

[0042] 术语“形态发生蛋白”指属于蛋白质的 TGF- β 超家族的蛋白质,其具有真正的形态发生活性。例如,这样的蛋白质能够诱发祖细胞根据局部环境线索增殖和 / 或在分化途径中发动级联事件,所述分化途径导致软骨、骨、腱、韧带、神经元或其它类型的分化组织形成。因此,在本发明中有用的形态发生蛋白在不同的环境中可以表现不同。在某些实施方式中,本发明的形态发生蛋白可以是同型二聚体种类或异二聚体种类。

[0043] 术语“成骨蛋白(OP)”指也能够诱发祖细胞形成软骨和 / 或骨的形态发生蛋白。骨可以是膜内的骨或软骨内成骨。大多数成骨蛋白是 BMP 亚家族的成员,并且也因此是 BMPs。然而,反之则不然。根据本发明,通过 DNA 序列同源性或氨基酸序列同一性鉴定的 BMP 要成为成骨蛋白也必需在功能生物测定中具有明显的成骨活性或软骨形成活性。适当的生物测定在本领域中是熟知的;特别有用的生物测定是异位骨形成检测(例如参考美国专利号 5,011,691;美国专利号 5,266,683)。

[0044] 在结构上,BMPs 是二聚半胱氨酸打结蛋白(knot protein)。每个 BMP 单体均包含多个分子内二硫键。额外的分子间二硫键介导大多数 BMPs 中的二聚体形成。BMPs 可以形成同型二聚体。一些 BMPs 可以形成异二聚体。BMPs 被表达为前蛋白,其包含长的前结构域、一个或多个切割位点和成熟结构域。前结构域被认为有助于 BMPs 的正确折叠和加工。此外,在一些但不是所有的 BMPs 中,前结构域可以非共价地结合成熟结构域,并且可以充当抑制剂(例如,Thies 等,(2001)Growth Factors 18:251-259)。

[0045] BMPs 被自然地表达为前蛋白,其包含长的前结构域、一个或多个切割位点和成熟结构域。然后,该前蛋白经细胞器(cellular machinery)加工,产生二聚的成熟 BMP 分子。前结构域被认为有助于 BMPs 的正确折叠和加工。此外,在一些但不是所有的 BMPs 中,前结构域可以非共价地结合成熟结构域,并且可以充当蛋白伴侣以及抑制剂(例如,Thies 等,(2001)Growth Factors 18:251-259)。

[0046] 如本文所考虑的,术语“BMP”指属于根据 DNA 同源性和氨基酸序列同一性定义的蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的蛋白质。根据本发明,当蛋白质在表征 BMP 亚家族的保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域内与已知 BMP 亚家族成员具有至少 50% 的氨基酸序列同一性时,其属于 BMP 亚家族。BMP 亚家族成员总体可以具有 50% 以下的 DNA 或氨基酸序列同一性。如本文所使用的,术语“BMP”还指这样的蛋白质,其是氨基酸序列变体、结构域交换的变体和天然存在的骨形态发生蛋白的平截和活性片段,以及由两个不同的单体 BMP 肽形成的异二聚体蛋白,如 BMP-2/7;BMP-4/7;BMP-2/6;BMP-2/5;BMP-4/7;BMP-4/5;和 BMP-4/6 异二聚体。合适的 BMP 变体和异二聚体包括那些在美国 2006/0235204;W007/087053;W0 05/097825;W0 00/020607;W0 00/020591;W0 00/020449;W005/113585;

WO 95/016034 和 W093/009229 中所列出的。

[0047] 如本文所使用的,术语“药(drug)”、“药物(medicament)”或“生物剂”/“生物剂”(即,生物活性剂)包括但不限于可以在身体中局部或系统作用的生物学上、生理学上或药理学上的活性物质。生物剂是用于治疗、预防、诊断、治愈或减缓疾病或病的物质,是影响身体的结构或功能的物质,或者是在存在于或接触优选的生理环境之后变得有生物学活性或更有活性的前体药物。同样,各种形式的生物剂可以被使用。这些不限制地包括,如不带电分子、分子复合物、盐、醚、酯、酰胺等形式,其在注入身体时被在生物学上激活。优选的生物剂包括、但不限于具有治疗或预防活性的蛋白质——包括酶、生长因子、激素、分化因子、细胞因子、趋化因子和抗体。

[0048] 对于本领域的技术人员而言,可在水环境中释放的任何生物剂可被用于本公开的发明。在优选的实施方式中,生物剂是蛋白质性的。在另一优选的实施方式中,生物剂是可溶的。在更优选的实施方式中,生物剂基本上在生理学上不溶。在更进一步的优选实施方式中,生物剂在生理 pH 基本上不溶。在另一优选的实施方式中,生物剂是这样的物质,其在给予后在体内能坚持 1 个小时的效力,更优选为 24 小时,更优选为 48 小时,仍然更优选为 1 周,仍然更优选为 1 个月,还仍然更优选为几个月。在更加尤其优选的实施方式中,生物剂是 TGF- β 超家族的成员。在仍然更加尤其优选的实施方式中,生物剂选自 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6、GDF-7 及其任何的和所有的变体和同系物。例如,有用的 BMPs 包括那些含有序列——其是同系物或变体——的 BMPs,所述序列与 BMP-2、BMP4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7 的 C-末端半胱氨酸结构域具有至少 50%,优选为至少 60%,更优选为至少 70%和最优选为至少 85%的氨基酸序列同一性。如本文所考虑的,优选的 BMPs 包括任意这样的 BMPs 的生物学活性变体——包括含有保守氨基酸置换的变体。本发明所要求的是:这些变体保持与天然形式相当的生物学活性。如本文所使用的,术语“BMP 相关蛋白”或“BMP 相关的多种蛋白”意为任意一种或所有前述蛋白。

[0049] 在本文中有用的形态发生蛋白包括任意已知的天然存在的天然蛋白质——包括其等位负体、系统发育负体及其其它变体。这些变体包括具有变化的糖基化模式、变化的 N-末端的形式和天然蛋白质的活性截断或突变形式。有用的形态发生蛋白也包括那些生物合成产生的蛋白质(例如,“突变蛋白质”或“突变的蛋白质”)和那些蛋白质,其是普通蛋白质形态发生家族的新的有形态发生活性的成员。

[0050] 施用方式和递送方式;包括血管通路结构

[0051] 尤其重要的是,本发明考虑利用蛋白质,如——但不限于——那些 TGF- β 超家族的蛋白质的系统性治疗方法,其是微创的。如本文所使用的,“系统的”意为非局部的。熟练的从业者应该理解,非局部的可以包括这样的方法:借助于该方法,蛋白质或其它生物活性剂在单个局部部位,如——但不限于——周边经皮部位被引入对象,以便实现治疗对象的全身而不仅仅是单个局部部位。如本文所使用的,“微创”意为非创伤性的或非体外手术方法。熟练的从业者应该理解,微创方法可以包括涉及切口(一个或多个)或植入医疗装置(一个或多个)的程序。

[0052] 如已经陈述的,本发明是基于这样的发现:微溶生物活性剂可以经常规途径如口服给药、腹膜注射或反复周围注射以外的途径提供给对象。也就是说,微溶生物活性剂如蛋白质现在可以通过全身途径被有效地提供而没有不良作用并且不需要手术介入。

[0053] 为了本发明的目的,“递送部位”意为生物活性剂在该处实际上直接接触血液的解剖部位;然而,“施用部位”意为生物活性剂在该处首先经身体引入接受者的解剖部位。由于在该部位引入针和/或导管,施用部位可能经历创伤。

[0054] 本发明利用了这样的发现:某些特殊的生理指标在成功施用和递送微溶生物活性剂如蛋白质——包括示例性蛋白如 BMP-7 中是决定性的。在第一个例子中,实施本发明要求实际递送的静脉内部位基本上不受损害。例如,最优选的部位是没有创伤的;例如,无水肿。血管周围组织、血管组织和/或血管内膜组织的完整性在最优选的部位是完整的。内膜完整性的指示为蛋白质在递送部位进入或渗漏到血管组织、血管周围组织和/或非血管组织的程度;优选为没有组织渗漏或渗透。也就是说,根据本发明的教导,在递送部位处、在递送部位附近或邻近的血管组织、血管周围组织和/或非血管组织应该在递送后基本上无生物剂。前述指示中的每一种均易于被本领域的普通技术人员利用常规材料和方法测量。

[0055] 本发明最佳实施的另一个标准是优选的递送部位应该没有小静脉瓣;优选地,最优选的递送部位不应该接近于小静脉瓣。前述参数易于被本领域的普通技术人员利用常规材料和方法辨别。

[0056] 实施本发明的再一个标准涉及递送部位相对于施用部位的实际位置。根据本发明,实际递送部位与实际施用部位和/或静脉穿刺点的接近度必须被监测。本发明是这样的方法:为了治疗目的,其将允许将蛋白质(如 TGF β 家族成员——包括 BMP-7 作为特定实例)多次(反复)血管内注射到患者中。该方法的主要成就是将药物引入(注射)到血管中超过(例如,至少约 1 至约 3cm)血管的任何创伤或损伤点(血管穿刺点),所述创伤或损伤点会允许药物渗漏到该血管组织或渗漏到周围组织中。因此,该方法是能注射到没有允许注射药物的血管周围渗漏或血管旁渗漏的洞、裂口、创伤的血管的方法。在某些实施方式中,该方法允许通过常规的针或导管引入器超过针和导管对血管的创伤点(还取决于动物/患者的大小)约 1 至约 5cm 放置导管。也就是说,单独的导管(没有针或引入器)被超过临时的血管穿刺部位或引入部位放置在血管腔内,并在某些实施方式中超过穿刺部位约 1cm,至少约 2 至约 4cm 和上至约 40cm 穿线。例如,在优选的实施方式中,导管被插入超过施用部位——即,血管的创伤点以外最小 2cm 的距离处,而蛋白质的递送发生在离施用点最小 2cm 的距离处。在另一个实施方式中,递送部位超过充分插入的引入针的远端末梢至少 2cm。针和导管的直径(规格)以及所用导管的长度取决于患者的种类、年龄、性别和重量以及大小。可以使用任何周边血管(手、臂、腿或足上的血管以及颈静脉),但典型的血管是末端皮下组织中的静脉。

[0057] 如前所提及的,本发明的方法允许在相同的施用部位多次,即,重复注射示例性蛋白质而不需要定位新的部位。允许多次注射,因为本文所描述的根据本发明方法的施用基本上降低或消除本文前述的副作用。根据本发明的方法,可以在相同的施用部位向患者施用蛋白质至少两次、至少三次、至少四次、至少五次、至少六次、至少七次、至少八次、至少九次或至少十次。例如,可以在相同的施用部位向患者施用蛋白质一天一次或一天两次,例如施用一周、两周、三周或四周。在进一步的实施方式中,可以在相同的施用部位向患者施用蛋白质一周一次,例如施用一周、两周、三周或四周。在进一步的实施方式中,可以在相同的施用部位每隔一天向患者施用蛋白质,例如施用两周、三周或四周。在进一步的实施方式中,可以在相同的施用部位向患者施用蛋白质一周两次,例如施用两周、三周或四周。

[0058] 当实施本发明时,优选的是:实际递送部位位于实际施用部位和/或静脉穿刺部位下游至少约 2cm 或至少约 6cm;至少约 4 至约 10cm;至少约 10cm;或至少约 15cm。例如,这易于利用超过针或导管引入器末端引入的导管;或者根据本发明方法在本文别处识别的任意优选的静脉穿刺装置来完成。当然,熟练的从业者应该理解,距离实际施用部位下游的最佳距离会根据患者的大小而变化。

[0059] 在一些实施方式中,通过在计划的递送部位注射良性液体 (benign fluid),如 0.9% 无菌盐溶液而确定实际递送部位的位置以确保没有渗漏发生。然而,根据一些实施方式,递送部位在施用部位以外至少 2cm,以便可以常规地避免渗漏而不必首先用良性液体检测渗漏,这是本发明的优势。例如,在人类中,递送部位在施用部位以外至少 2cm,以便可以常规地避免渗漏。在进一步的实施方式中,在人类中,递送部位在施用部位以外大约 3 至 5cm,以便可以常规地避免渗漏。

[0060] 因此,在本发明当前优选的实施方式中,治疗损伤或患病组织的方法包括向施用部位施用包含生物剂的组合物和向静脉内递送部位递送该组合物,以便递送部位处的内膜组织完整性基本上不受损害。在该实施方式中,生物剂以有效治疗损伤或患病组织的速度和量从递送部位分散。在尤其优选的实施方式中,递送部位不含小静脉瓣。在另一个优选实施方式中,递送部位处的血流速度足以在离递送部位距离远的部位提供生物学上有效的剂量。在再一个优选实施方式中,利用具有非破坏性构造的远端的静脉内装置完成递送步骤。

[0061] 在相关方面,本发明涉及包含生物剂和静脉穿刺装置或相关装置的组合物。如本文所考虑的,静脉穿刺装置是可被用于提供有效量的根据本发明的生物剂的任意装置或装置。优选的装置是并不破坏或微破坏递送部位处的内膜组织的装置。根据本发明,静脉穿刺装置是提供进入对象周边血管系统的装置。如本发明所考虑的,静脉穿刺结构可植入在对象的外部或内部上。在某些实施方式中,这样的装置可以操作,以将生物剂递送到离植入部位距离远的部位处的对象的周边血流中。

[0062] 熟练的从业者一般应该熟悉这样的合适的静脉穿刺装置。本文所考虑的装置包括,例如 PICC 导管,其没有被全长引入,而是仅仅被引入足以延伸超过血管的创伤部位同时仍在周边血管中提供递送部位的长度。

[0063] 在某些当前的优选实施方式中,治疗损伤或患病组织的方法包括向施用部位提供包含生物剂和静脉穿刺装置的组合物的步骤,于是,生物剂以有效系统性治疗损伤或患病组织的量被经周边递送。如本文其它地方所说明的,身体施用部位是周边施用部位,并离生物剂的实际周边递送部位距离远。

[0064] 与本发明的教导一致,当前优选的生物剂是 BMP-7,而损伤或患病非矿化组织是当前优选的治疗目标。这样的损伤或患病组织可以是器官。在尤其优选的治疗方法中,生物剂可生物利用至少约 0.5 小时,更优选为至少约 2 小时,至少约 8 小时;约 1 天,优选为多于 1 天。而且,有效量约为 10 微克至约 1000 微克的生物剂,更优选为约 50 微克至约 500 微克,最优选为约 100 微克至约 300 微克。

[0065] 根据另一个方面,基于本文所述的见识本发明还包括这样的施用方法:对于待被成功施用而不引起本文所述的副作用的 BMP,如 BMP-7 或者本文公开的任何其它蛋白质,递送部位处的内膜组织完整性必须基本上不受损害。例如,根据本发明,该方法包括通过愈合

导管 (healed-in catheter) 将 BMP 施用给患者。由于愈合的导管, 静脉穿刺部位或施用部位处的组织并不易于水肿和渗漏任何施用的剂到周围组织中。例如, 愈合导管在患者中保持几天, 以便静脉穿刺部位处的创伤有机会愈合。例如, 根据本发明的一个实施方式, 愈合导管是永久性的导管或端口。根据本发明, 术语“愈合”或“愈合的”表明组织完整性基本上不受损害和 / 或静脉穿刺部位基本上没有组织损伤。换言之, 术语“愈合”并不要求损伤或遭损部位的完全修复, 尽管“愈合的”组织可以完全修复或不受损害。在一个实施方式中, 术语“愈合”或“愈合的”表明损伤的组织或患病组织已经基本上被新的组织生长所取代, 所述新的组织生长可以包括瘢痕组织。

[0066] 根据一个实施方式, BMP, 如 BMP-7 通过周边血管中的愈合导管被施用给患者, 并且, 递送部位离施用部位少于 1cm、约 1cm、约 2cm 或多于 2cm。根据另一个实施方式, 本发明包括向患者施用 BMP 的方法。该方法包括将导管引入患者施用部位处的周边静脉, 允许施用部位与导管在适合的地方愈合, 以便施用部位基本上不受损害, 并且通过所述导管向患者施用 BMP 的步骤, 其中, 递送部位离施用部位的施用部位少于 1cm、或约 1cm、或约 2cm 或多于 2cm。

[0067] 技术人员应该理解, 本发明的治疗和施用方法可以被修饰或改变, 以鉴于各种因素——包括但不限于适应症、疾病病理学和个体的体格特征——优化个体治疗。

[0068] 治疗性干预

[0069] 如上所说明的, 本发明也提供治疗方法, 其以有效改善和 / 或预防任意已知或潜在病状的量利用含有任意生物剂的本发明组合物或其制剂, 生物剂对于所述病状是有效的。如本文所使用的, “有效的量”意为有效治疗施用生物剂的活有机体内病状的生物剂的量。例如, 本发明的 BMP 制剂可以被用于治疗遭受结缔组织——如骨和软骨——疾病或损伤的患者。此外, 如下所述的, 本发明的 BMP 制剂可以被用于治疗其它组织疾病或损伤。

[0070] 在本发明的一个实施方式中, 待改善的损伤是矿化或非矿化骨骼组织损伤。在另一个实施方式中, 待改善的损伤或疾病是代谢性骨病、骨性关节炎、骨软骨疾病、类风湿性关节炎、骨质疏松、佩吉特氏病、牙周炎、牙本质发生、软骨疾病、创伤诱发和炎症诱发的软骨退化、年龄相关性软骨退化、关节软骨损伤和疾病、全厚软骨疾病、表面软骨缺损、系统性红斑狼疮后遗症、硬皮病后遗症、牙周组织再生、椎间盘突出和破裂、椎间盘变性疾病、骨软骨病或韧带、腱、滑液囊、滑膜和半月板组织的损伤以及疾病。在另一个实施方式中, 待改善的损伤或疾病是肝疾病、肝切除术、肝切除、肾疾病、慢性肾衰竭、中枢神经系统局部缺血或创伤、神经病、运动神经元损伤、树突细胞缺乏和异常、帕金森氏病、眼疾病、眼瘢痕化、视网膜瘢痕化或胃肠道溃疡性疾病。

[0071] BMP 能够诱发哺乳动物中不同于骨或软骨的多种组织的骨形态发生和组织形态发生的发育级联作用 (developmental cascade)。该形态发生活性包括诱发祖细胞增殖和分化的能力以及通过事件的进行来支持和维持分化的表型的能力, 这导致骨、软骨、非矿化骨骼或结缔组织以及其它成体组织的形成。

[0072] 例如, BMP 可以被用于治疗以预防代谢性骨病中的骨量损失和 / 或增加。利用成骨蛋白预防代谢性骨病中的骨量损失和 / 或增加的一般治疗方法公开在美国专利号 5, 674, 844 中, 其公开内容通过引用被并入本文。本发明的 BMP 可被用于牙周组织再生。用于利用成骨蛋白的牙周组织再生的一般方法公开在美国专利号 5, 733, 878 中, 其公开内容

通过引用被并入本文。BMP 可被用于肝再生。用于利用成骨蛋白的肝再生的一般方法公开在美国专利号 5,849,686 中,其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于治疗慢性肾衰竭。利用成骨蛋白治疗慢性肾衰竭的一般方法公开在美国专利号 6,861,404 中,其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于在中枢神经系统局部缺血或创伤之后增强功能恢复。利用成骨蛋白在中枢神经系统局部缺血或创伤之后增强功能恢复的一般方法公开在美国专利号 6,407,060 中,其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于诱发树突生长。利用成骨蛋白诱发树突生长的一般方法公开在美国专利号 6,949,505 中,其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于诱发神经细胞粘附。利用成骨蛋白诱发神经细胞粘附的一般方法公开在美国专利号 6,800,603 中,其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于治疗 and 预防帕金森氏病。利用成骨蛋白治疗和预防帕金森氏病的一般方法公开在美国专利号 6,506,729 中,其公开内容通过引用被并入本文。

[0073] 此外, BMP 可被用于修复患病或损伤的哺乳动物组织。无论是患病还是损伤位置处的现有组织提供适当的基质,以允许祖细胞的增殖和组织特异性分化。此外,损伤或患病组织位置——尤其是已经进一步被手术方法侵袭的位置——提供形态发生上允许的环境。

[0074] BMP 也可被用于在损伤后预防或本质上抑制瘢痕组织形成。它可以在该位置诱发组织形态发生,预防迁移性成纤维细胞集结进入未分化的结缔组织。例如,BMP 可在部分肝切除后被用于蛋白质诱发的基本上损伤的肝组织的形态发生。

[0075] 作为另一个例子,BMP 也可以被用于诱发牙本质发生。目前为止,牙髓组织对损伤的不可预测的反应是牙科中一个基本的临床问题。作为再一个例子,BMP 可以诱发对中枢神经系统 (CNS) 修复的再生效应,这可以利用大鼠脑穿刺模型评估。

[0076] 在骨骼病症的情况中,一些因素会引起或促进哺乳动物中的软骨退化——包括创伤和炎性疾病。由炎性应答效应引起的对细胞的损伤已经被暗示为关节疾病(例如,类风湿性关节炎 (RA) 和骨性关节炎 (OA)) 中的软骨功能减少或软骨功能丧失的原因。此外,自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮 (SLE) 和硬皮病也可以被表征为结缔组织退化。在一些软骨变性疾病如骨性关节炎 (OA) 的情况中,目前还不知道将关节软骨的正常老化转变成病理 OA 过程的机制。前述疾病中的每一种均可以用本发明的材料和方法有效地治疗。

[0077] 制剂

[0078] 本发明的生物剂以及尤其是 BMP 可以被配制用于作为药物组合物的一部分施用给需要其的哺乳动物,优选为人类。在尤其优选的实施方式中,生物剂是 BMP-7。本发明当前优选的实施方式包含 BMP 制剂,其含有海藻糖,优选为乳酸盐缓冲液中的海藻糖,最优选为含有 9% 海藻糖的 10mM 乳酸盐缓冲液中的 BMP-7。实施上述本发明的实施方式在本领域的技术内,以及技术人员会认识到的本发明的任意和所有的改变和修饰提供生物剂在体内的有效给予也在本领域的技术内。

[0079] 再进一步地,本发明的生物剂可以被单独或者与已知对组织形态发生具有有益作用的另一物质组合施用给需要其的哺乳动物。这样的物质(本文称为辅因子)的例子包括但不限于促进组织修复和再生和/或抑制炎症的物质。对刺激骨质疏松个体中骨组织生长有用的辅因子的例子,例如,包括但不限于维生素 D3、降钙素、前列腺素、甲状旁腺激素、地塞米松、雌激素和 IGF-I 或 IGF-II。对神经组织修复和再生有用的辅因子可以包括但不限于神经生长因子。其它有用的辅因子包括症状减轻辅因子——包括但不限于消毒剂、抗生

素、抗病毒剂和抗真菌剂、止痛药和麻醉剂。

[0080] 如本领域技术人员将理解的,治疗组合物中描述的化合物的浓度将取决于一些因素——包括但不限于待施用的药物剂量、应用的化合物的化学特性(例如,疏水性)以及施用途径而变化。待施用药物的优选剂量也可能取决于变量——包括但不限于疾病的类型和程度、组织损失或缺陷、特定患者的总体健康状况、选择的化合物的相关生物学功效、化合物的配制、制剂中赋形剂的存在和类型以及施用途径。本发明的治疗分子可以被提供给个体,其中典型的剂量范围为每日约 10ng/kg 至约 1g/kg 体重;优选的剂量范围为约 0.1mg/kg 至 100mg/kg 体重,而更加尤其优选的剂量范围为 10-1000 μ g/ 的剂量。有技能的临床医生应该理解,本发明的有效剂量可以根据各种因素——包括但不限于适应症、疾病病理学和个体的体格特征——被修改。鉴于任意或所有的前述因素而改变、修改或最优化剂量显然也属于本领域的技术内。

[0081] 根据本发明的某些实施方式的参数和病状,可以控制生物剂的可用性。尤其地,通过改变特性如——但不限于——聚合物类型和分子量、速率调节剂的使用、增塑剂和沥滤剂(leachable agent)的使用、以及热塑性聚合物和生物剂的浓度和种类,可以控制来自制剂的生物剂的速率和可用性的程度。

[0082] 可以包括速率调节剂、增塑剂和沥滤剂以操纵生物剂的释放速率和基质的揉曲性,在所述基质中,其是可选地被包含的。根据掺入到基质中的速率调节剂的特性,速率调节剂可以提高或减缓释放速率。已知的增塑剂以及适于聚合物系统中的次级假结合(secondary pseudobonding)的有机化合物可被接受作为速率调节剂,也可以被接受作为揉曲性改性剂和渗出剂。通常,这些试剂是一元羧酸、二元羧酸和三羧酸的酯、二元醇和多元醇、聚醚、非离子表面活性剂、脂肪酸、脂肪酸酯、油如植物油以及类似物。基质中这样的试剂的浓度范围可以为相对于基质总重量达 60wt% 的量,优选为达 30wt%,而更优选为达 15wt%。一般地,这些速率调节剂、沥滤剂、增塑剂和揉曲性改性剂及其应用在美国专利号 5,702,716 和 5,447,725 中有描述,其公开内容通过引用被并入本文,条件是即将被使用的聚合物是生物相容的和/或生物可降解的。技术人员会理解,本发明包含本领域中能提高生物剂的溶解速率或生物剂的任意载体的降解速率或侵蚀速率的任意的和所有的试剂。因此,适合实施本发明的其它试剂包括但不限于共定位(co-localized)pH 改性剂和张力改性物。在尤其优选的实施方式中,本发明的组合物包含以一定的浓度或数量提供的共定位 pH 改性剂或张力改性物,其实质上提高了生物剂的溶解速率。在另一优选的实施方式中,本发明的组合物包含以一定的浓度或数量提供的共定位 pH 改性剂或张力改性物,其实质上提高载体的降解速率或侵蚀速率。技术人员会理解,本发明的速率调节剂、沥滤剂、增塑剂、揉曲性改性剂、pH 改性剂和张力改性物可以鉴于各种因素——包括但不限于期望的释放速率、载体特性(如果有的话)、适应症、疾病病理学和个体的体格特征而被替代、修饰、改变特性或浓度以及最优化。

[0083] 本发明的生物剂的制剂可以进一步包括一种或多种赋形剂。赋形剂的例子在美国制药协会(American Pharmaceutical Association)和英国药学会(Pharmaceutical Society of Great Britain)联合出版的药物赋形剂手册(Handbook of Pharmaceutical Excipients)中有描述。可被用于制造和使用本发明的制剂和药物组合物的赋形剂包括但不限于:酸化剂,如乙酸、冰乙酸、柠檬酸、富马酸、盐酸、稀盐酸、苹果酸、硝酸、磷酸、稀

磷酸、硫酸、酒石酸；醇变性剂，如地那铵苯甲酸盐、甲基异丁基酮、蔗糖八乙酸酯 (sucrose octacetate)；碱化剂，如浓氨溶液、碳酸铵、二乙醇胺、二异丙醇胺、氢氧化钾、碳酸氢钠、硼酸钠、碳酸钠、氢氧化钠、三乙醇胺；防泡剂，如聚二甲基硅氧烷、二甲硅油；抗微生物防腐剂，如苯扎氯铵、苯扎氯铵溶液、苄索氯铵 (benzethonium chloride)、苯甲酸、苯甲醇、羟苯丁酯、西氯吡铵、三氯叔丁醇、氯甲酚、甲酚、脱氢醋酸、羟苯乙酯、羟苯甲酯、对羟基苯甲酸甲酯钠、苯酚、苯乙醇、乙酸苯基汞、硝酸苯汞、苯甲酸钾、山梨酸钾、尼泊金丙酯、尼泊金丙酯钠、苯甲酸钠、脱氢醋酸钠、丙酸钠、山梨酸、硫柳汞、麝香草脑；抗氧化剂，如抗坏血酸、棕榈酸抗坏血酸酯 (ascorbyl palmitate)、叔丁对甲氧酚、丁羟甲苯、次磷酸、一硫代甘油、棕榈酸丙酯、甲醛次硫酸钠、焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠、二氧化硫、生育酚、生育酚赋形剂；缓冲剂，如乙酸、碳酸铵、磷酸铵、硼酸、柠檬酸、乳酸、磷酸、柠檬酸钾、偏磷酸钾、磷酸氢钾、醋酸钠、柠檬酸钠、乳酸钠溶液、磷酸氢二钠、磷酸氢钠；螯合剂，如依地酸二钠、乙二胺四乙酸和盐、依地酸；涂层剂，如羧甲基纤维素钠、乙酸纤维素、邻苯二甲酸乙酸纤维素、乙基纤维素、明胶、药用釉料、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、甲基丙烯酸共聚物、甲基纤维素、聚乙烯二醇、聚乙烯醋酸邻苯二甲酸酯、虫胶、蔗糖、二氧化钛、巴西棕榈蜡、微晶蜡、玉米蛋白；颜料，如焦糖、红色颜料、黄色颜料、黑色颜料或混合物、氧化铁；络合剂，如乙二胺四乙酸和盐 (EDTA)、依地酸、龙胆酸乙醇酰胺、羟基喹啉硫酸盐；干燥剂，如氯化钙、硫酸钙、二氧化硅；乳化剂和 / 或增溶剂，如阿拉伯胶、胆甾醇、二乙醇胺（添加剂）、单硬脂酸甘油酯、羊毛脂醇、卵磷脂、甘油单酯和甘油二酯、单乙醇胺（添加剂）、油酸（添加剂）、油醇（稳定剂）、波洛沙姆、聚氧乙烯 50 硬脂酸酯、聚氧乙烯 35 蓖麻油 (castor oil)、聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油、聚氧乙烯 10 油醚、聚氧乙烯 20 鲸蜡硬脂醚、聚氧乙烯 40 硬脂酸酯、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 40、聚山梨醇酯 60、聚山梨醇酯 80、丙二醇二乙酸酯、丙二醇单硬脂酸酯、硫酸月桂酯钠、硬脂酸钠、失水山梨糖醇单月桂酸酯、失水山梨糖醇单油酸酯 (sorbitan monooleate)、失水山梨糖醇单棕榈酸酯、失水山梨糖醇单硬脂酸酯、硬脂酸、三乙醇胺、乳化蜡；助滤剂，如粉状纤维素、纯化硅藻土；助流剂和 / 或抗结块剂，如硅酸钙、硅酸镁、胶体二氧化硅、滑石；湿润剂，如甘油、己二醇、丙二醇、山梨醇；增塑剂，如蓖麻油、二乙酰化单甘油酯、邻苯二甲酸二乙酯、甘油、单乙酰化和二乙酰化单甘油酯、聚乙烯二醇、丙二醇、三醋汀、柠檬酸三乙酯；聚合物膜，如乙酸纤维素；溶剂，如丙酮、乙酸、乙醇、稀乙醇、水合戊烯、苯甲酸苄酯、丁醇、四氯化碳、氯仿、玉米油、棉籽油、乙酸乙酯、甘油、己二醇、异丙醇、甲醇、二氯甲烷、甲基异丁基酮、矿物油、花生油、聚乙二醇、碳酸异丙酯、丙二醇、麻油、注射用水、注射用灭菌水、冲洗用灭菌水、纯化水；吸收剂，如粉状纤维素、碳、纯化硅藻土、和二氧化碳吸收剂；硬化剂，如氢化蓖麻油、鲸蜡硬脂醇、鲸蜡醇、十六烷基酯蜡、硬脂、石蜡、聚乙烯赋形剂、硬脂醇、乳化蜡、白蜡、黄蜡；悬浮剂和 / 或增粘剂，如阿拉伯胶、琼脂、褐藻酸、单硬脂酸铝、皂土、纯化皂土、皂粘土乳、卡波姆 934p、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钠 12、角叉藻聚糖、微晶和羧甲基纤维素钠纤维素、糊精、明胶、瓜尔胶、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、硅酸镁铝、甲基纤维素、果胶、聚乙烯氧化物、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯酮、藻酸丙二醇酯、二氧化硅、胶体二氧化硅、藻酸钠、西黄蓍胶、黄单胞菌胶；和润湿剂和 / 或增溶剂，如苯扎氯铵、苄索氯铵、西氯吡铵、多库酯钠、壬苯聚醇 9、壬苯聚醇 10、辛苯昔醇 9、波洛沙姆、聚氧乙烯 35 蓖麻油、聚氧乙烯 40、氢化蓖麻油、聚氧乙烯 50 硬脂酸酯、聚氧乙烯 10 油醚、聚氧乙烯 20 鲸蜡硬脂醚

醚、聚氧乙烯 40 硬脂酸酯、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 40、聚山梨醇酯 60、聚山梨醇酯 80、硫酸月桂酯钠、失水山梨糖醇单月桂酸酯 (sorbitan monolaurate)、失水山梨糖醇单油酸酯、失水山梨糖醇单棕榈酸酯、失水山梨糖醇单硬脂酸酯、泰洛沙泊。

[0084] 生物活性助剂 (Bioactive Co-agent)

[0085] 本发明也考虑“生物活性助剂”，其可以与本发明的生物剂组合物被共同施用，包括但不限于促蛋白合成剂 (anabolic agent)、抗酸剂、止喘剂、抗胆固醇血症剂和抗脂质剂、抗凝剂、抗惊厥剂、止泻剂、止吐剂、抗感染剂——包括例如，抗菌剂和抗微生物剂、抗炎剂、抗躁狂剂、抗代谢剂、止恶心药、抗肿瘤剂、抗骨吸收剂、减肥药、解热药和止痛剂、解痉药剂、抗凝血剂、镇咳剂、抗尿酸血症药、抗心绞痛剂、抗组胺药、食欲抑制剂、生物剂、大脑扩张药 (cerebral dilator)、冠状动脉扩张药 (coronary dilator)、支气管扩张药、细胞毒性剂、减充血剂、利尿剂、诊断剂、红细胞生成剂、祛痰药、胃肠镇静剂、高血糖剂、安眠药、降血糖药、免疫调节剂、离子交换树脂、缓泻药、矿物质补充剂、溶粘蛋白剂、神经肌肉药、外周血管舒张药、向精神药物、镇静剂、刺激剂、甲状腺和抗甲状腺剂、组织生长剂、子宫弛缓剂、维生素或抗原物质。

[0086] 更具体而言，优选用于与本发明共同施用的生物活性助剂包括但不限于雄激素抑制剂、多糖、生长因子、激素、二磷酸盐、抗血管生成因子、右美沙芬、氢溴酸右美沙芬、诺斯卡品、咳必清、盐酸氯苯达诺、马来酸氯苯那敏、酒石酸苯茚达明、马来酸新安特甘、琥珀酸多西拉敏、柠檬酸苄苯醇胺、盐酸去氧肾上腺素、盐酸苯丙醇胺、盐酸假麻黄碱、麻黄碱、磷酸可待因、硫酸可待因吗啡、矿物质补充剂、考来烯胺、N-乙酰基普鲁卡因胺、醋氨沙洛、阿司匹林、异丁苯丙酸、盐酸去甲麻黄碱、咖啡因、愈创甘油醚、氢氧化铝、氢氧化镁、肽、多肽、蛋白质、氨基酸、激素、干扰素、细胞因子和疫苗。可以与本发明共同施用的其它代表性的生物活性助剂包括但不限于肽药物、蛋白质药物、脱敏物质、抗原、抗感染剂，如抗生素、抗微生物剂、抗病毒物质、抗菌物质、抗寄生物物质、抗真菌物质及其组合、抗变应原物质 (antiallergenic)、雄激素类固醇、减充血剂、安眠药、甾体抗炎剂、抗胆碱药、拟交感神经剂、镇静剂、缩瞳药、心理兴奋剂、安定剂、疫苗、雌激素、促孕剂、体液剂、前列腺素、止痛药、解痉药、抗疟药、抗组胺药、心脏活性剂、非甾体抗炎剂、抗震颤麻痹剂、抗高血压剂、 β -肾上腺素能阻滞剂、营养剂和苯菲啉生物碱。生物活性助剂还可以是能够充当刺激剂、镇静剂、安眠药、止痛药、抗惊厥剂以及类似物的物质。

[0087] 生物活性助剂也可以是物质或其代谢前体，其能够促进细胞和组织生长及存活，或者能够增加功能细胞，例如，血细胞、神经元、肌肉、骨髓、骨细胞和组织及类似物的活性。例如，可以被共同施用的生物活性助剂包括但不限于神经生长促进物质，例如，神经节苷酯、磷脂酰丝氨酸、神经生长因子、脑源性神经营养因子。生物活性助剂也可以是软组织或纤维结缔组织的生长因子，例如，成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、内皮细胞生长因子、血小板衍生的生长因子、胰岛素样生长因子、牙周韧带细胞生长因子等等。

实施例

[0088] 1. 通过周边静脉递送来微创递送示例性的 BMP：

[0089] (a) 狗中 BMP-7 的周边静脉递送

[0090] 该研究的目的是确定一种方法，以向小猎犬 (beagle dog) 的周边静脉安全地静脉

内 (IV) 递送 BMP-7。该研究有试验段 (pilot segment) (2 只成年雌性小猎犬) 以及阶段 I 和 II (2 只成年雌性小猎犬)。该研究的试验部分的目标是确定最佳导管系统和规格, 以允许在周边血管中反复施用。在研究的阶段 I, 在周边静脉中向狗静脉内给药, 一周一次, 注射 4 次; 每次注射施用 $100 \mu\text{g/kg}$ BMP-7。在对侧周边血管中, 仅给予狗等体积的载体 (vehicle)。在研究的阶段 II, $100 \mu\text{g/kg}$ BMP-7 的给药频率为每周三次, 进行四周。

[0091] 在试验段中, 在注射后大约 9 天, 一只狗在左前肢上施用部位 (针和导管引入部位) 处具有两个小的、坚硬的皮下小瘤。这可能是由于在不成功的导管插入尝试后血管周围注射 BMP-7。经过大约 8 周, 小瘤消除。在注射后大约 9 天, 第二只试验狗在左前肢背侧上施用部位处具有小区域的皮下增厚, 这也可能是由于在不成功的导管插入尝试后血管周围注射 BMP-7。

[0092] 在阶段 I 和阶段 II 中, 利用外周插入的中心导管 (PICC) 给狗注射。导管规格范围为 26 至 20, 并且, 在离插入部位 4cm 和上至 40cm 插入的血管中被成功推进。在阶段 I 中, 两只狗均被成功给药, 一周一次, 进行四周, 没有异常临床体征。在阶段 II 中, BMP-7 的给药频率为每周三次, 进行四周, PICC 系统规格范围为 28 至 20, 并且, 根据使用的导管, 在超过插入部位 12 至 30cm 处被推进。两只狗均被成功给药, 一周三次, 进行四周, 没有异常临床体征。在阶段 I 和 II 中, 狗没有被认为与 IV 施用 BMP-7 有关的临床体征。

[0093] (b) 与经静脉内施用给成年雌性小猎犬的 BMP-7 有关的周边静脉刺激的评估

[0094] 该研究的目的是确定一种方法, 以向小猎犬的周边静脉安全地静脉内 (IV) 递送 BMP-7。该研究的目标是确定最佳导管系统和规格, 以允许在周边血管中反复施用, 以及从组织学上检查注射部位。在周边静脉中向狗静脉内给药, 一周三次, 进行两周, 总共注射 6 次; 每次注射施用 $100 \mu\text{g/kg}$ BMP-7。充分插入的导管针远端末梢与穿入血管腔的导管末端的距离至少为 2cm。在对侧周边血管中, 仅给予狗等体积的载体。给狗注射 BMP-7, 其中, 适当使用并放置 PICC 路线, 该狗没有炎症、纤维化或任何其它反应的迹象。在尸体剖检和临床上具有解剖变化 (分枝的小的头静脉), 同时具有明显总发现的狗 (#7) 在注射部位具有局灶性纤维化 (大体上, 小的 1cm 直径的小瘤), 这是由于利用 PICC 路线的静脉穿刺和经血管外施用 BMP-7。

[0095] (c) 小猎犬中静脉内毒性和局部耐受性的评估

[0096] 该研究的目的是在向雌性小猎犬的周边静脉反复静脉内 (IV) 注射, 每周两次, 共计 8 次注射之后, 评估 BMP-7 的毒性和局部耐受性。充分插入的导管针的远端末梢与穿入血管腔的导管末端的距离至少为 2cm。向周边静脉给每组三只狗共计 12 只狗静脉内注射载体对照 (第 1 组, 5mM 乳糖和 9% 海藻糖)、或 BMP-7 (第 2 组 -0.1mg/kg BMP-7、第 3 组 -0.3mg/kg BMP-7 和第 4 组 -1.0mg/kg BMP-7), 每周两次。

[0097] 分析剂量前 (静脉内注射之前) 和终止 (在安乐术时, 最后一次静脉内注射后 ± 1 天) 血液学、临床化学和凝血状况与基线、对照动物以及参考范围和历史范围相比的差异。通过比较被处理的动物与对照动物, 分析尸体剖检发现、器官重量和注射部位的显微发现 (以及总发现)。在所有时间点, 所有动物的所有评价的参数——除了显微发现以外——均在正常范围之内。

[0098] 显微镜下, 除了在一只动物中外, 用于通过 PICC 路线施药的所有血管没有发现。在具有临床上观察到的血管被导管末端穿过的第 4 组 (1mg/kg BMP-7) 的一只雌性狗中, 仅

在这只狗中看到作为骨单灶的这些发现。

[0099] 在该研究的条件下,仅在具有创伤和血管被导管穿过的单只动物中,通过向周边静脉给成年雌性小猎犬静脉内注射 8 次(每周两次,达 4 周)的治疗与不良作用(局部骨形成)有关。

[0100] 因此,这些研究表明,本发明的实施实现了外周施用 BMP-7 和相似的生物剂而没有局部的不期望的效应,并且,本发明将允许临床使用 BMP-7 和相似的生物剂作为系统性治疗剂。不期望的局部注射部位效应的诱导会阻止使用 BMP-7 和相似的生物剂作为经静脉内施用的药物。

[0101] (d) 灵长类中 BMP-7 的周边静脉递送

[0102] 将利用如本文所考虑的优选的静脉穿刺装置给灵长类对象施用 BMP-7 制备物;合适的对照对象将接受不含蛋白质的制备物。将利用引入的超过针引发的和/或导管引发的血管创伤部位不到约 2cm 的导管对比 2cm 以上的导管,施用上至 10mg/ml BMP-7。每周将施用 BMP-7 多至三次,多达四周。将研究至少 4 个对象。在具有超过针引发的或导管引发的创伤 2cm 以上的递送部位的患者中的施用部位,患者将不会发现不良副作用,如小瘤形成或成骨作用,而在不到约 2cm 的递送部位接受给药的患者有望在施用部位处或周围显示副作用,如小瘤形成或成骨作用。

[0103] 2. 骨形态发生蛋白 -7 作为肾功能不全的成年雌性猫的疗法

[0104] 通过 28 规格 PICC 导管向头静脉给具有肾功能不全病史的约 14 龄大的 2.5kg 的雌性阉割猫经静脉内施用 100 μ g/kg BMP-7,大约每月一次,进行四个月。PICC 路线超过用于递送的针引入部位向静脉推进至少 2 和上至 8cm。

[0105] 在每次给药前收集血液,用于血清化学分析。在第一次给药前和第二次给药后收集尿,用于尿比重和尿蛋白质/肌酸酐比例。由所有者监控临床体征——包括食欲、姿势、排尿量和皮毛质量以及注射部位处的任何观测结果。肌酸酐(Cr)由 13.6%下降到较正常的水平。在整个研究中,血液尿素氮(BUN)没有显示明显的变化。在整个研究中,尿比重和尿蛋白质/肌酸酐比例是正常的。

[0106] 在 BMP-7 施用前,临床体征包括尿量升高、昏睡、蓬乱的(多脂的)毛皮(haircoat)、食欲差和肌肉萎缩。给予 4 次 BMP-7 之后,尿量降到正常水平,毛皮显著改善。注意到猫更精力充沛和有活力。动物的食欲增加,而肌肉萎缩下降,猫已经增重约 1kg。注射部位(右和左头静脉)没有发现结果,并且大体上正常。根据该研究结果,BMP-7,尤其在通过周边血管根据本发明的方法系统性施用时,可能具有改善轻度肾功能不全的猫的临床体征的潜力

[0107] 3. 人类中微创外周递送示例性 BMP 的系统应用:

[0108] (a) 骨质疏松

[0109] 具有证实的骨质疏松症临床诊断的一群人类患者将通过周边血管根据本发明的方法被施用 BMP-7。尤其地,在周边放置的导管被用于施用静脉内 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7,一周一次,并且,BMP-7 在离施用点和由导管或针插入血管引起的任何创伤以外至少 2cm 的点被递送。期望这样的治疗将在治疗的患者群中将疾病调节至统计学上有意义的程度,并且,随着 BMP-7 的施用在施用部位周围将不会有副作用事件。

[0110] (b) 代谢性骨病

[0111] 具有证实的代谢性骨病临床诊断的一群人类患者将根据本发明的方法被施用 BMP-7。尤其地,在周边放置的导管被用于施用静脉内 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7,一周一次,并且,BMP-7 在离施用点和由导管或针插入血管引起的任何创伤以外至少 2cm 的点被递送。期望这样的治疗将在治疗的患者群中将疾病调节至统计学上有意义的程度,并且,随着 BMP-7 的施用在施用部位周围将不会有副作用事件。

[0112] (c) 纤维化——包括肝、肺、心脏和肾表现

[0113] 具有证实的纤维化——包括肝、肺、心脏和肾纤维化的每一个——临床诊断的人类患者群将根据本发明的方法被施用 BMP-7。尤其地,在周边放置的导管被用于施用静脉内 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7,一周一次,并且,BMP-7 在离施用点和由导管或针插入血管引起的任何创伤以外至少 2cm 的点被递送。期望这样的治疗将在每个治疗的患者群中将疾病调节至统计学上有意义的程度,并且,随着 BMP-7 的施用在施用部位周围将不会有副作用事件。

[0114] (d) 神经和脊髓损伤

[0115] 具有证实的神经和脊髓损伤中每一种的临床诊断的人类患者群将根据本发明的方法被施用 BMP-7。尤其地,在周边放置的导管被用于施用静脉内 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7,一周一次,并且,BMP-7 在离施用点和由导管或针插入血管引起的任何创伤以外至少 2cm 的点被递送。期望这样的治疗将在每个治疗的患者群中将疾病调节至统计学上有意义的程度,并且,随着 BMP-7 的施用在施用部位周围将不会有副作用事件。

[0116] (e) 瘤转移

[0117] 具有证实的瘤转移临床诊断的一群人类患者将根据本发明的方法被施用 BMP-7。尤其地,在周边放置的导管被用于施用静脉内 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7,一周一次,并且,BMP-7 在离施用点和由导管或针插入血管引起的任何创伤以外至少 2cm 的点被递送。期望这样的治疗将在治疗的患者群中将疾病调节至统计学上有意义的程度,并且,随着 BMP-7 的施用在施用部位周围将不会有副作用事件。

[0118] 等同物

[0119] 本发明可以被体现为其它具体形式而不偏离其精神或本质特征。本发明的实施方式因此应该被认为是说明性的而非限制性的,由所附权利要求书而非前述说明书所表明的本发明的范围,以及落入权利要求书的等同物的含义和范围内的所有变化因此拟被包含其中。