



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201125584 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：100112502

(22)申請日：中華民國 92 (2003) 年 02 月 25 日

(51)Int. Cl. :

A61K39/395 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

(30)優先權：2002/02/25 美國 60/360,134

2002/04/23 美國 60/374,501

(71)申請人：伊蘭製藥公司(美國) ELAN PHARMACEUTICALS, INC. (US)

美國

(72)發明人：泰勒 茱莉 TAYLOR, JULIE (US)；耶德諾克 泰德 A YEDNOCK, TED A. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：4 項 圖式數：11 共 102 頁

(54)名稱

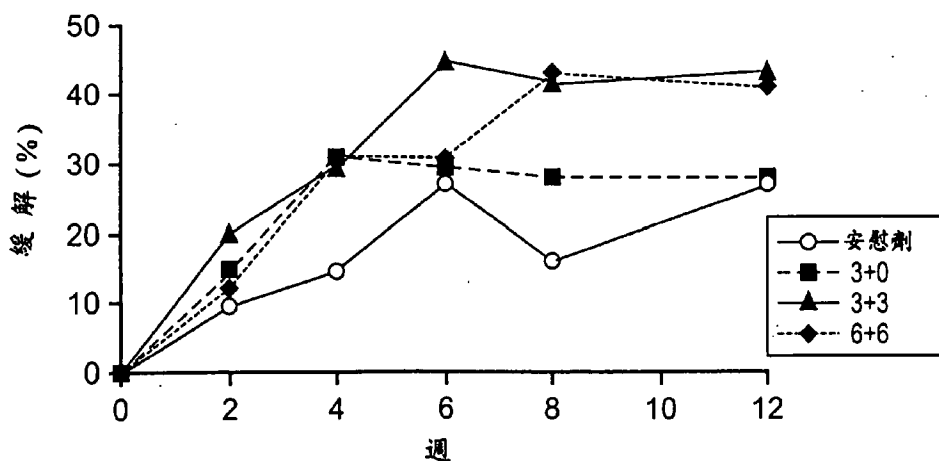
用於測定長期慢性治療發炎功效之醫藥組合物

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR DETERMINING EFFICACY OF CHRONIC
TREATMENT OF INFLAMMATION

(57)摘要

本發明揭示一種透過投予一種藥劑而長期慢性減少病人的病理性發炎之方法，該藥劑可特異性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之二元體。提供之藥劑必須具有結合親和力，因此該投藥足夠抑制病理性發炎，且該藥劑係長期慢性投藥來提供長期抑制病理性發炎。

克隆氏病研究之緩解





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201125584 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：100112502

(22)申請日：中華民國 92 (2003) 年 02 月 25 日

(51)Int. Cl. :

A61K39/395 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

(30)優先權：2002/02/25 美國 60/360,134

2002/04/23 美國 60/374,501

(71)申請人：伊蘭製藥公司(美國) ELAN PHARMACEUTICALS, INC. (US)

美國

(72)發明人：泰勒 茱莉 TAYLOR, JULIE (US)；耶德諾克 泰德 A YEDNOCK, TED A. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：4 項 圖式數：11 共 102 頁

(54)名稱

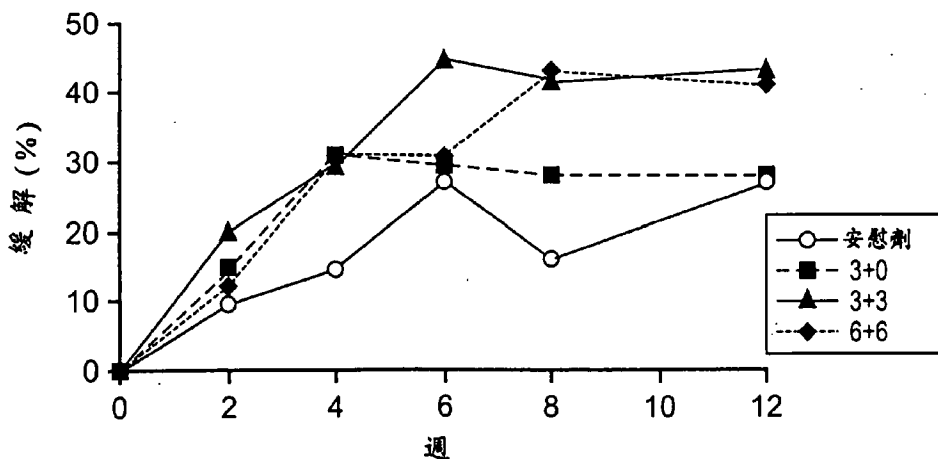
用於測定長期慢性治療發炎功效之醫藥組合物

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR DETERMINING EFFICACY OF CHRONIC
TREATMENT OF INFLAMMATION

(57)摘要

本發明揭示一種透過投予一種藥劑而長期慢性減少病人的病理性發炎之方法，該藥劑可特異性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之二元體。提供之藥劑必須具有結合親和力，因此該投藥足夠抑制病理性發炎，且該藥劑係長期慢性投藥來提供長期抑制病理性發炎。

克隆氏病研究之緩解



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

概略言之本發明係有關特異性結合至且抑制包含 $\alpha 4$ 亞單位之組合蛋白質受體之藥劑及該藥劑之治療性用途。

【先前技術】

發炎是一種血管化組織對感染或受傷的反應，受到白血球黏附至血管內皮細胞影響，以及受到白血球浸潤至周圍組織的影響。通常發炎時，浸潤白血球釋放出有毒媒介物質，殺死入侵的有機體、吞噬其殘骸及死細胞，以及於組織修復及免疫反應扮演某種角色。但於病理性發炎，浸潤白血球過度反應，可能造成嚴重或甚至致命性傷害。例如參考Hickey，精神神經免疫學II (學術出版社1990年)。

組合蛋白質屬於涉及細胞黏附、免疫細胞遷移與活化之細胞表面糖蛋白家族。 $\alpha 4$ 組合蛋白質係由全部循環白血球(嗜中性血球除外)表現，且結合 $\beta 1$ 或 $\beta 7$ 組合蛋白質亞單位而形成非同質二元體受體； $\alpha 4\beta 1$ ($\alpha 4\beta 1$)以及 $\alpha 4\beta 7$ ($\alpha 4\beta 7$)二元體於白血球跨越血管內皮遷移扮演某種角色(Springer等人，1994細胞76：301-14；及Butcher等人，1996科學272：60-6)，且促成細胞的活化以及於實質內部的存活(Damle等人，1993免疫學期刊，151：2368-79；Koopman等人，1994免疫學期刊，152：3760-7；以及Leussink等人，2002 Acta Neuropathol. 103：131-136)。

特別 $\alpha 4\beta 1$ (也稱做為極晚期抗原-4 [VLA-4]結合至血管細胞黏附分子-1 (VCAM-1)(Lobb等人，1994臨床研究期刊

94：1722-8)，VCAM-1係於許多慢性發炎部位由血管內皮產生(Bevilacqua等人，1993免疫學綜論年報11：767-804；及Postigo等人，1993免疫學研究144：723-35)。 $\alpha 4\beta 7$ 二元體與黏膜定址細胞黏附分子(MAdCAM-1)交互作用，且媒介淋巴細胞導向腸方向(Farstad等人，1997美國病理期刊150：187-99；及Issekutz等人，1991免疫學期刊147：4178-84)。MAdCAM-1於血管內皮的表現於患有發炎性腸病(IBD)病人的腸道發炎部位該項表現增高(Briskin等人，1997美國病理期刊151：97-110)。

黏附分子如 $\alpha 4$ 組合蛋白質為治療劑可能的目標。例如VLA-4受體(其中 $\alpha 4$ 組合蛋白質屬於一個亞單位)由於可與駐在腦內皮細胞的配位子交互作用，因此為主要目標。由腦部發炎導致的疾病及病情後果特別嚴重。另一例中， $\alpha 4\beta 7$ 組合蛋白質二元體由於涉及淋巴細胞的導向腸以及胃腸道的病理性發炎，故也構成主要目標。

$\alpha 4\beta 1$ 組合蛋白質係於活化淋巴細胞及單核細胞外表面表現，活化淋巴細胞及單核細胞係與多發性硬化(MS)關聯的急性發炎性腦病變以及血腦障(BBB)崩潰的病因有關(Coles等人，1999神經學年報，46(3)：296-304)。對抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質之藥劑已經於動物研究模式於試管試驗以及活體試驗測試其抗發炎能力。參考Yednock等人，1992自然356：63-66；1998年11月24日核發給Bendig等人之美國專利第5,840,299號以及1999年12月14日核發給Thorsett等人之美國專利第6,001,809號。試管內實驗，證實 $\alpha 4$ 組

合蛋白質抗體阻斷淋巴細胞之附著於腦內皮細胞。實驗試驗 $\alpha 4$ 組合蛋白質抗體用於患有人工誘發模擬多發性硬化病情、亦即實驗性自體免疫性腦脊髓炎(EAE)動物的效果，證實投予抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質抗體可防止腦部發炎以及隨後導致動物的癱瘓。集合言之，實驗將抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質抗體識別為治療多發性硬化以及其它發炎病及病症可能有用的治療劑。

另一項涉及 $\alpha 4$ 組合蛋白質之病理性發炎特例，克隆氏病(CD)是腸道的慢性、無法痊癒性、復發型穿黏膜發炎。克隆氏病之特徵為腸黏膜涉及T細胞、巨噬細胞及嗜中性細胞的不當免疫細胞遷移與活化(Schreiber等人，1991胃腸學101：1020-30)。克隆氏病之第一線醫藥治療包括5-胺基水楊酸(5-ASAs)其功效低以及皮質類固醇其具有各項短期及長期副作用(Munkholm等人，1994腸35：360-2)。接受第一線治療而復發的病人係使用免疫抑制劑處理，免疫抑制劑例如為阿哲席歐平(azathioprine)、6-巰基嘌呤及美受崔賽(methotrexate)，但免疫抑制劑的作用開始緩慢且可能出現嚴重副作用(Stein等人，2001北美手術臨床81：71-101，viii)。更為晚近，作用更快速的生物製劑已經引進用於治療克隆氏病，但此等生物製劑同樣有例如長期功效以及副作用的問題。

【發明內容】

本發明提供於病人透過長期慢性投予可選擇性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質之藥劑而長期慢性減低病理性發炎之方法

。α4藥劑之長期慢性用法用量係設計成(1)藥劑特異性結合至α4組合蛋白質或組合蛋白質、包含α4組合蛋白質之二元體以及(2)重複投予藥劑俾維持α4組合蛋白質受體之飽和程度足夠抑制病理性發炎。本發明藥劑可用於透過結合以及抑制全部包含α4亞單位及組合蛋白質二元體而抑制發炎，或設計成可結合至特定二元體如α4β1。

一具體實施例中，長期慢性投藥計畫之功效可經由量測特定組合蛋白質二元體之飽和程度測定。特例中，相信α4β1組合蛋白質二元體涉及多發性硬化，如此有效長期慢性投藥計畫之飽和程度可透過量測α4β1二元體受體的飽和程度決定。

另一具體實施例中，相信複數個組合蛋白質二元體涉及病理性發炎，二元體受體組合的飽和可經量測俾決定長期慢性投藥計畫功效。於一特例，相信α4β1及α4β7二元體二者皆涉及與發炎性腸病關聯的病理性發炎。如此量測α4β1以及α4β7二者之飽和濃度可有利於測定特定長期慢性投藥計畫的功效。

一具體實施例中，長期慢性投藥計畫是否成功可經由評比病理性發炎的生理標記測定。例如於用於多發性硬化的長期慢性投藥計畫，投藥計畫之成功度可經由使用造影技術如磁振造影(MRI)偵測腦病變程度獲得證實。另一例中，長期慢性投藥用於克隆氏病，用藥計畫的成功度可經由檢測病人的血清C反應性蛋白濃度獲得證實。又另一例中，投藥計畫之是否成功可使用一組關聯健康狀況的標準測

定，例如克隆氏病病人的CDAI下降。

本發明之另一具體實施例包含治療個體胃腸道發炎疾病(例如克隆氏病潰瘍性結腸炎及發炎性腸病)，包含投予治療有效量之一種包含納妥足穆(natalizumab)之組成物，及用量足夠治療及改善該個體胃腸道之發炎疾病。

一特定具體實施例中，本發明係有關一種用藥計畫，其中藥劑投予係對病人提供 $\alpha 4$ 組合蛋白質受體飽和程度為65-100%，藉此提供長期慢性壓抑病人的病理性發炎。另一特定具體實施例中，藥劑重複投予而提供病人至少約75-100%之飽和程度。又另一特定具體實施例中，藥劑重複投予而提供病人至少約80-100%之飽和程度。

本發明之特點為可長期例如長達6個月、一年、兩年或更長時間，壓抑病人病理性發炎之非期望影響。

本發明方法之一方面為長時間維持足夠濃度之抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質藥劑，俾抑制病理性發炎經歷該段時間。

本發明之特色為該劑型可提供比較單劑更低程度之病理性發炎經歷更長時間。

本發明之優點為用於本發明方法之藥劑之耐受性良好且毒性低。

此等及其它本發明之目的、優點及特色對熟諳技藝人士研讀後文詳細說明之方法及調配物細節將顯然自明。

【實施方式】

於說明本方法及治療劑前須了解本發明非僅限於所述特定方法及治療劑，當然可有變化。也須了解此處使用之術

語僅供舉例說明特殊具體實施例之用，而非意圖做為限制性。

當提供某個數值範圍時須了解除非內文有明白另行指示，否則介於該範圍之上限與下限間之任何中間值至下限的十分之一單位以及任何其它於該陳述範圍之陳述值或中間值係涵蓋於本發明之範圍。若於所述範圍內有任何特別排它限制，則較小範圍之上限及下限也分別涵括於本發明。若陳述範圍包括上限或下限之一或二者，則排除該等涵括極限二者之範圍也涵蓋於本發明。

除非另行定義，否則此處所述全部技術及科學術語皆具有本發明所屬業界人士一般了解之相同定義。雖然類似於或相當於此處所述之任一種方法及材料也可用於實施或測試本發明，但現在說明較佳方法及產量。此處所述全部公開文獻合併於此處俾揭示及說明該公開文獻相關之方法及/或材料。

須注意除非內文明白另行指示，否則「一」、「及」以及「該」包括複數形。如此例如述及「一種抗體」包括複數抗體，以及述及「該劑量」表示熟諳技藝人士已知之一或多種劑量及其相當劑量等。

此處討論之公開文獻僅提供其揭示係在本發明之申請日之前。而不可解譯為承認該公開文獻為先前發明因而本發明不具有該公開文獻之前的任何權利。此外，公開日期可能與實際公開日期不同而需要個別證實。

定義

此處使用「抗 $\alpha 4$ 藥劑」一詞表示任何可特異性結合至包含 $\alpha 4$ 亞單位之組合蛋白質且抑制組合蛋白質活性之藥劑。包括可特異性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質藥劑，以及結合至包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之組合蛋白質二元體[例如 $\alpha 4\beta 1$ ($\alpha 4\beta 1$)或 $\alpha 4\beta 7$ ($\alpha 4\beta 7$)]之藥劑。「藥劑」一詞包括合成分子及重組分子(例如抗體、小分子、胜肽、或其它合成製造的分子或化合物及重組製造之基因產物)及天然化合物(例如多肽、抗體等)。

「功效」用於此處長期慢性投藥計畫內文表示特定治療計畫的效果。功效可基於病程回應於本發明藥劑做量測。例如用於治療多發性硬化，功效可藉復發-復原多發性硬化之復發頻次量測，以及功效可經由使用MRI等方法檢測中樞神經系統是否存在有或不存在有新病變量測。

「成功」一詞用於此處於長期慢性治療計畫之內文，表示特定治療計畫效果。包括功效、毒性(一種調配物或單位劑量之副作用以及病人耐受性)、病人順從性等平衡對長期慢性投藥計畫視為「成功」，必須平衡病人照護以及功效之各方面來產生最有力的結果。

「特異性結合」一詞用於此處表示一種情況，其中特定成對結合二者之一成員必須顯示除了對它特定結合的伴侶以外之分子未顯示任何顯著結合(例如結合親和力約為其結合伴侶之1,000倍或以上)。本發明中，抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質藥劑對 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之受體以外的任何多肽未顯示任何顯著結合。例如本發明方法使用之抗體

以結合親和力 10^7 莫耳/升或以上且較佳為 10^8 莫耳/升或以上結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質，被稱做特異性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質。

「實質均質」一詞用於此處意圖表示任何多肽具有序列變化，功能相當胺基酸取代多肽的一或多個胺基酸，因而產生一種變化其對多肽結合性質無影響或影響極小。例如序列內部之一或多個胺基酸殘基可以具有類似極性的另一個胺基酸取代。

「提引出免疫反應」以及「提引出宿主免疫反應」等詞用於此處表示當本發明藥劑導入個體體內時，於個體產生對包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質受體之免疫反應。個體的免疫反應可如下特徵化，使用血清稀釋倍數約為1：100測定血清免疫反應性時，與 $\alpha 4$ 組合蛋白質受體之血清反應性至少為未經處理個體之兩倍，更佳為三倍以及又更佳至少為四倍。

「賦形劑材料」一詞意圖涵蓋任何可形成調配物之一部分，本身意圖僅做為載劑，換言之，非意圖及本身具有生物活性之任一種化合物。

「輔劑」一詞用於此處意圖表示一種可擴大對本發明藥劑之免疫反應之組成物添加劑，但輔劑的本身不會提引出任何免疫反應。輔劑係使用多項生物機轉包括(但非限制性)淋巴細胞召募、T細胞刺激、B細胞刺激以及巨噬細胞刺激而擴大免疫反應。

「處理」以及「治療」等詞用於此處通常表示獲得期望

之藥理及生理效果。該效果就預防或部分防止疾病、症狀或病情而言可為預防性，及/或就疾病、病情、症狀或促成該疾病之不良影響部分痊癒或完全痊癒而言為治療性。

「治療」一詞用於此處表示涵蓋對哺乳類特別人類任何的疾病處理，包括：(a)於好發該病，但尚未被診斷出患有該病之個體，預防疾病的發生；(b)抑制疾病亦即停止疾病的進展；或(c)緩解疾病亦即造成疾病及/或其症狀或病情的退行。本發明係針對處理患有病理性發炎相關疾病病人。本發明涉及預防、抑制或緩解歸因於長期病理性發炎造成的不良影響，及/或長時間對存在於生物系統之不當發炎之生理反應所造成的不良影響。

「病理性發炎」一詞用於此處表示關聯疾病之不當慢性發炎，該等疾病包括(但非限制性)氣喘、動脈粥狀硬化、愛滋病性痴呆、糖尿病、發炎性腸病、類風濕性關節炎、移植排斥、植體對宿主病、多發性硬化(特別抑制進一步脫髓鞘)、腫瘤轉移、腎炎、異位性皮膚炎、乾癬、心肌缺血慢性攝護腺炎、鐮刀性血球貧血症併發症、紅斑性狼瘡及急性白血球媒介之肺部傷害。此等發炎之特徵為發炎細胞包括浸潤白血球反應提高。隨著時間的經過，此種病理性發炎經常導致不當發炎區的組織受損。

「安堤格林」一詞表示包括抗體，該抗體也稱做AN100226(抗體代碼)或納妥足穆(USAN名稱)。安堤格林是重組人化抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質抗體。較佳哺乳類接受治療及疾病的病情為投予治療有效劑量安堤格林時可調節的疾

病或病情。

發明之概略方面

本發明係基於出乎意外地發現長期慢性投予一類新穎稱做選擇性黏附因子抑制劑(SAMIs)之化合物，足夠於涉及之組合蛋白質二元體病症維持長期慢性抑制發炎。當重複投藥計畫停止時，發炎的抑制被逆轉(例如參考圖2)。先前治療發炎抑制劑的趨向相當不同的投藥計畫，簡言之，投予發炎抑制劑來引發身體本身的反應系統的反應，結果又導致辨識發炎是病理性發炎，以及導致長期慢性病理性發炎的緩解。此處所示本發明為長期慢性投藥計畫不止比短期投藥計畫更有效，同時事實上也需維持抑制病理性發炎。如此為了實現本發明之若干重要優勢，抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質劑濃度必須維持長達數月或甚至數年時間。

本發明係基於於患有復發型多發性硬化或患有中度至重度活性克隆氏病病人進行抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質抗體納妥足穆之大型、隨機分配、且有安慰劑組做對照之實驗結果。納妥足穆是抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質之重組人化單株抗體。二試驗結果顯示使用納妥足穆治療可改良患有MS及CD病人的徵象及症狀。本發明也意圖包括其它嵌合體蛋白質包括靈長類化抗體。

一般而言，本發明方法並未涉及任何特殊投藥模式，投藥模式係與活性劑形式以及發展用來投予活性劑的調配物形式有關。但此處所述特例須使用腸道外投予納妥足穆獲得。雖然本發明係使用特異性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質之抗

體做說明，但本發明也意圖包括長期慢性投予例如二價或多價抗體，其若二元體包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質，則可辨識組合蛋白質二元體之兩個伴侶。

本發明之概略構想係有關導入相對恆定量之活性劑至病人循環系統經歷一段數月或數年時間。此種長期慢性導入藥劑，其選擇性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之二元體，結果導致病理性發炎的抑制可維持於恆定程度經歷一段時間。經由維持活性劑治療濃度經歷一段時間，可長期慢性壓抑病人的病理性發炎。

就特定方面而言，本發明涉及於病人獲得且維持包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質二元體之受體飽和濃度於約65%至約100%，更佳約75%至約100%及又更佳約80%至約100%之範圍。此等受體飽和程度可長期慢性(例如長達6個月左右)維持於此等濃度，俾允許連續抑制病理性發炎。

選擇性結合 $\alpha 4$ 組合蛋白質之藥劑

各類型可結合且抑制 $\alpha 4$ 組合蛋白質活性之藥劑可用於實施本發明。已經識別出多種藥劑且特徵化，特定藥劑說明如後。此處所述教示，熟諳技藝人士可識別其它可抑制含 $\alpha 4$ 組合蛋白質二元體之藥劑，因此其就生物方面而言模擬或類似此處特別說明之藥劑，本發明意圖包括慢性投予此等藥劑及藥劑的組合。

抗體

特定具體實施例中，本發明藥劑為可選擇性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 之二元體(例如 $\alpha 4\beta 1$ 或 $\alpha 4\beta 7$)之抗體

或其免疫活性片段。

當本發明藥劑為抗體時，以單株抗體為佳。與多株抗體製劑相反，多株抗體典型包括針對不同抗原決定部位之不同抗體，各單株抗體係針對抗原的單一抗原決定部位。單株抗體之第二項優勢為其合成手段未受其它免疫球蛋白污染，例如藉噬菌體顯示合成或由融合瘤分離。雖然本發主意圖涵蓋多株抗體及單株抗體做為本發明之藥劑，但因單株抗體有高度特異性故以單株抗體為佳，如此本發明主要係就單株抗體做討論。

此外，其它抗體可使用業界已知技術識別。例如本發明之單株抗體可使用噬菌體顯示技術製造。然後分離選擇性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之二元體之抗體片段。此種透過噬菌體顯示之較佳製法例如揭示於美國專利第 6,225,447；6,180,336；6,172,197；6,140,471；5,969,108；5,885,793；5,872,215；5,871,907；5,858,657；5,837,242；5,733,743；及 5,565,332 號。

單株抗體也可使用習知融合瘤方法製造。此等方法寬廣應用於對多種特定抗原可分泌高度單株抗體濃度之雜交細胞系的製造，也可應用於製造本發明之單株抗體。例如小鼠(如 Balb/c 小鼠)藉腹內注射而使用抗原性 $\alpha 4$ 組合蛋白質抗原決定部位免疫接種。經過一段足夠時間讓免疫反應後，將小鼠犧牲，取得脾細胞且與骨髓瘤細胞使用眾所周知之技術融合。結果所得的融合細胞亦即融合瘤隨後生長於選擇培養基，俾存細胞於此種培養基使用限制稀釋條件生

長。經過轉殖以及再度轉殖後，融合瘤經選擇，選擇融合瘤可分泌抗體(例如IgG或IgM類別抗體或IgG1亞類抗體)其選擇性結合至目標 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之二元體。為了製造特別供人體使用的藥劑，分離之單株抗體隨後可用來製造嵌合體抗體及人化抗體。

本發明抗體包括(但非限制性)多株、單株、多重特異性、人、人化或嵌合體抗體、單鏈抗體(例如scFv)、Fab片段、F(ab')片段、Fab表現存庫製造的片段、抗特應型(anti-Id)抗體(包括例如對本發明抗體之anti-Id抗體)、以及前述任一者之抗原決定部位結合片段。最佳抗體為本發明之人抗原結合抗體片段包括(但非限制性) Fab、Fab'及F(ab')₂、Fd、單鏈Fvs (scFv)、單鏈抗體、雙硫鍵聯Fvs (sdFv)以及包含VL或VH領域之片段。抗原結合抗體片段包括單鏈抗體可單獨包含可變區或包含下列實體或部分的組合：鉸接區、CH1、CH2及CH3領域。本發明也包括抗原結合片段，其包含可變區與鉸接區、CH1、CH2及CH3領域之任一種組合。本發明抗體可來自任一種動物來源，包括鳥類及人類。較佳抗體為人、鼠(例如小鼠及大鼠)、驢、綿羊、猴、兔、山羊、天竺鼠、豬、駱駝、馬或雞(或其它禽類)抗體。用於此處「人」抗體一詞包括具有人免疫球蛋白胺基酸序列之抗體以及包括由人免疫球蛋白存庫分離之抗體，或該抗體係得自動物體，該動物已經對一或多種人免疫球蛋白轉移基因且不會表現內因性免疫球蛋白，參見後文，以及述於例如Kucherlapati等人之美國專

利第5,939,598號。

嵌合體抗體及人化抗體可由非人抗體製造，且具有與其製造來源抗體之相同或類似的結合親和力。製造嵌合體抗體技術(Morrison等人，1984美國國家科學院議事錄81：6851；Neuberger等人，1984自然312：604；Takeda等人，1985自然314：452)包括剪接例如得自具有適當抗原特异性之小鼠抗體分子基因連同得自具有適當生物活性之人抗體分子基因；此種嵌合體抗體係屬本發明之範圍。例如編碼小鼠單株抗體可變(V)區之核酸皆可編碼人恆定(C)區之核酸如IgG1或IgG4。結果所得抗體為種屬雜交體，通常帶有得自非人抗體之抗原結合領域以及帶有得自人或靈長類抗體之C領域或效應物領域。

人化抗體為帶有主要來自人抗體(亦即接受者抗體)之可變區之抗體，但該抗體具有與非人抗體(施體抗體)具有實質互補決定區。例如參考Queen等人，美國國家科學院議事錄86：10029-10033 (1989)；WO 90/07861，美國專利第6,054,297；5,693,761；5,585,089；5,530,101；以及5,224,539號。抗體之恆定區通常也來自於人抗體。人可變領域典型係選自人抗體，該抗體序列顯示與期望非人可變區結合領域有高度同源性。重鏈及輕鏈可變殘基可衍生自相同抗體或不同人抗體。此外，該序列可選用做為若干人抗體之同位序列，例如述於WO 92/22653。

「靈長類化抗體」為含有靈長類可變序列或抗原結合部分以及人恆定區序列之重組抗體。參考Newman生物技術

， 1992， 10： 1455-60。 抗體之靈長類化結果導致產生含有猴可變領域及人恆定序列之抗體。 有關進一步細節可參考美國專利第 6,113,898 號。 本技術修改抗體， 因此當具有抗原性的抗體投予人體時不會被排斥。 此項技術仰賴使用人抗原或受體免疫接種彌猴。 發展此項抗體形成針對人細胞表面抗原之高度親和力單株抗體。

於本發明可變區以內之特定胺基酸係基於預測組態及抗原結合性質選用供取代。 可使用下列技術決定， 該等技術例如電腦模式化、 預測胺基酸於可變區內部某個位置的行為及結合性質以及觀察取代的影響。 例如當非人可變區與人可變區間之胺基酸不同時， 人可變區可變高而反映出非人可變區之胺基酸組成。

特定具體實施例中， 用於本發明長期慢性投藥計畫之抗體為揭示於美國專利第 5,840,299 號之人化抗體， 該案以引用方式併入此處。

另一具體實施例中， 含有人抗體基因之轉移基因小鼠可使用抗原性 $\alpha 4$ 組合蛋白質結構免疫化， 且使用融合瘤技術來產生選擇性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質之人抗體。

嵌合體抗體、 人抗體及 / 或人化抗體可使用重組表現製造， 例如於人融合瘤表現 (Cole 等人， 單株抗體與癌症治療， Alan R. Liss, p. 77 (1985))、 於骨髓瘤細胞表現、 或於中國倉鼠卵巢 (CHO) 細胞表現。 另外， 抗體編碼序列可結合至轉移基因， 供導入轉移基因動物的基因體， 隨後於轉移基因動物的乳汁表現。 例如參考美國專利第

6,197,946 ; 5,849,992 ; 5,565,362 ; 5,336,894 ; 及 5,304,489 號。適當轉移基因包括具有得自乳腺特異性基因之啟動基因及/或促進基因之轉移基因，例如酪蛋白或 β -乳球蛋白。

小分子

本發明使用之小型分子涵蓋無數化學類別，但典型地其為有機分子，較佳為分子量大於50道耳吞而小於約4,000道耳吞之小型有機化合物。候選作用劑包含與蛋白質做結構交互作用特別為氫鍵需要的官能基，以及典型包括胺基、羰基、羥基或羧基且較佳含有至少兩個化學官能基。候選作用劑經常包含環狀碳或雜環結構及/或取代有一或多個前述官能基之芳香族或多芳香族結構。候選作用劑也出現於生物分子包括(但非限制性)：胜肽類、醣類、脂肪酸類、類固醇類、嘌呤類、嘧啶類、其衍生物、結構類似物或其組合。

小型分子可得自包括合成化合物或天然化合物存庫之多個來源。例如無數手段可用於隨機以及導向性合成寬廣多種有機化合物及生物分子，包括表現隨機寡核苷酸及寡肽。另外，可取得或方便製造呈細菌、真菌、植物以及動物萃取物形式之天然化合物存庫。此外，天然或合成製造的存庫及化合物方便透過習知化學物理及生物化學手段修改，也可用於製造組合存庫。已知藥理作用劑可接受導向性或隨機化學修改(例如醃化、烷化、酯化、醃胺化等)俾製造其結構類似物。

抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質胜肽

本發明方法可使用任一種可結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質或含 $\alpha 4$ 亞單位之二元體之胜肽實施。本發明方法包括胜肽，該胜肽實質係與胞外基體之一區同源，或與鎖定目標之特定 $\alpha 4$ 組合蛋白質受體之天然配位子同源。例如為了長期慢性抑制 $\alpha 4\beta 1$ 受體，可使用之胜肽包含至少一種纖維蛋白膠IIICS區之一部分(例如胜肽包含CS-1胜肽序列或CS-1序列實質同源序列之至少一部份)，該胜肽可用以結合受體，以及抑制含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之受體活性。例如參考USSN 08/452,098，該案以引用方式併入此處。

提引出免疫反應之藥劑

特定具體實施例中，本發明藥劑為包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質免疫原性片段之胜肽或胜肽模擬物。免疫原性片段為包含 $\alpha 4$ 抗原決定部位之任何片段，通常具有得自天然哺乳類 $\alpha 4$ 蛋白質至少3、5、7、10、15、17或20個接續胺基酸。人及鼠 $\alpha 4$ 之胜肽序列可得自基因庫(GenBank)(存取編號AA59613及NP_034706)。熟諳技藝人士方便基於 $\alpha 4$ 之胺基酸序列或使用編碼野生型核苷酸(例如基因庫存取編號L12002及NM_01056)設計本發明之胜肽製劑。一旦設計出適當胜肽，可初步對已知具有所需免疫原活性之抗體篩檢，例如選擇性結合至 $\alpha 4$ 結構式之抗體篩檢，且利用其抑制包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之活性加以特徵化。

免疫原性片段也可設計成有胺基酸類似物或其它可促進免疫原性反應的結構元體。特別胜肽片段可有經過變更之

C端或N端，其可增強分子之整體免疫原性同時不會妨礙其提引出免疫反應的能力。此種類似物例如包括(但非限制性)： α,α -胺取代胺基酸、N-烷基胺基酸、乳酸、4-羥基脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸酯、 γ -N,N,N-三甲基離胺酸、 γ -N-乙醯基離胺酸、O-磷酸絲胺酸、N-乙醯基絲胺酸、N-甲醯基蛋胺酸、3-甲基組胺酸、以及5-羥基離胺酸。其它有用的類似物可參考希格瑪(Sigma)，生物化學及反應劑，希格瑪亞歷須(Sigma-Aldrich)(2001)。片段也可加可檢測之標記來允許於投予個體後追蹤個體體內分子。

胜肽、類似結構式、胜肽模擬物等可由天然來源分離，然後選擇性地接受加工處理(例如透過胜肽裂解處理)，或另外藉業界習知技術合成，例如固相合成或重組表現等技術。例如參考Sambrook等人，分子轉殖：實驗室手冊(冷泉港出版社，紐約，第2版1989年)。自動胜肽合成可使用得自製造商例如應用生物系統公司(加州弗斯特城)之商用裝置進行，合成技術已經明確確立。蛋白質之重組製造可於原核細胞如噬菌體或細菌細胞或於真核系統如酵母、昆蟲或哺乳類細胞進行。另外，蛋白質可使用業界已知之無細胞試管試驗系統製造。

另一例中，噬菌體胜肽表現存庫可用以表現大量胜肽，該胜肽可於試管內經過篩檢來識別可特異性結合 $\alpha 4$ 或含 $\alpha 4$ 組合蛋白質二元體之胜肽。噬菌體顯示技術提供一種表現多樣化隨機或選擇性隨機胜肽之手段。多種噬菌體顯示方法以及多樣化胜肽族群之製造方法為業界眾所周知例如

Ladner等人(美國專利第5,223,409號),說明於噬菌體表面製備結合領域多樣化族群方法。Ladner等人說明可用於製造噬菌體顯示存庫之噬菌體載體,以及選擇可能結合領域並製造隨機突變或選擇性突變結合領域之方法。噬菌體顯示存庫之篩檢通常涉及使用經純化之目標分子於試管內進行存庫培養。回收可結合目標分子之噬菌體;個別噬菌體經過轉殖,測定由轉殖後噬菌體表現的胜肽。

同理,Smith及Scott(酶學方法217:228-257(1993)及科學249:386-390(1990))說明噬菌體胜肽顯示存庫包括載體之製法以及表現多樣化胜肽族群之方法(也參考Huse,WO 91/07141及WO 91/07149)。噬菌體之顯示技術當用於以密碼子為主的突變發生方法時特別有用,該方法可用於製造隨機胜肽或具有所需偏離之胜肽(例如參考美國專利第5,264,563號)。此等及其它眾所周知之方法可用於製造噬菌體顯示存庫,可接受本發明之活體內培養方法例識別可導向一或數個選定器官之胜肽。

胜肽噬菌體顯示存庫分子也可呈軛合物存在,有助於回收或識別感興趣的胜肽。用於此處,「軛合物」一詞表示結合至物理、化學或生物部分之胜肽或胜肽模擬物,該等部分例如(但非限制性)固體酶基質、塑膠微珠、寡核苷酸或噬菌體等。該部分提供識別或回收藥劑手段。

若干用以提引出免疫反應之藥劑模擬適當抗原決定部位用以誘生對 $\alpha 4$ 組合蛋白質之免疫反應,但該藥劑太小而本身不具有免疫原性。此種情況下,胜肽藥劑可鍵聯至

適當載劑來輔助免疫反應。適當載劑包括血清白蛋白、鎖孔蟻或血藍質(KLH)、免疫球蛋白分子、甲狀腺球蛋白、卵白蛋白、破傷風、類毒素或得自其它病原菌的類毒素例如白喉、大腸桿菌、霍亂、或幽門螺旋桿菌之類毒素、或減毒毒素衍生物。其它載劑包括結合至多數MHC對偶基因例如至少75%全部人類MHC對偶基因之T細胞抗原決定部位。此等載劑偶爾於業界稱做為「通用T細胞抗原決定部位」。通用T細胞抗原決定部位例如包括：

流行性感冒血液凝集素：
HA₃₀₇₋₃₁₉ PADRE

PKYVKQNTLKLAT (SEQ ID NO:2)
AKXVAAWTLKAAA (SEQ ID NO:3)

此處X較佳為環己基丙胺酸、酪胺酸或苯基丙胺酸

瘧疾CS：T3抗原決定部位
B型肝炎表面抗原：HBsAg₁₉₋₂₈
熱震蛋白質65：hsp65₁₅₃₋₁₇₁
BCG(bacille Calmette-Guerin)
破傷風類毒素：TT₈₃₀₋₈₄₄
破傷風類毒素：TT₉₄₇₋₉₆₇

EKKIAKMEKASSVFNV (SEQ ID NO:4)
FFLLTRILTI (SEQ ID NO:5)
DQSIGDLIAEAMDKVGNeg (SEQ ID NO:6)
QVHFQPLPPAVVKL (SEQ ID NO:7)
QYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO:8)
FNNFTVSFWLRVPKVSASHLE (SEQ ID NO:9)
KQIINMWQEVGKAMYA.(SEQ ID NO:10)

HIV gp120 T1

其它刺激或增強免疫反應之載劑包括細胞分泌素如IL-1、IL-1 α 及 β 胜肽、IL-2、 γ -INF、IL-10、GM-CSF以及化學激素如巨噬細胞發炎蛋白質(MIP) 1 α 及 β 及RANTES (亦即對表現及分泌之活化正常T細胞之條件)。免疫原性劑也可鍵聯至胜肽其可增強跨組織之運送，述於WO 97/17613及WO 97/17614。

免疫原性劑可藉化學交聯鍵聯至載劑。鍵聯藥劑之載劑之技術包括(但非限制性)使用N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基-硫基)丙酸酯(SPDP)以及丁二醯亞胺基4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)形成雙硫鍵(若胜

肽缺乏巰基，則巰基可藉添加半胱胺酸殘基提供。此等反應劑形成其本身與位在一個蛋白質上之胜肽半胱胺酸間之雙硫鍵、以及透過離胺酸的 ϵ -胺基或其它胺基酸的其它自由胺基形成醯胺鍵聯。多種雙硫鍵/醯胺鍵形成劑述於免疫學綜論62：185 (1982)。其它雙官能偶合劑係形成硫醚而非雙硫鍵。多種硫醚形成劑為市面上可得，包括6-順丁烯二醯亞胺基己酸、2-溴乙酸、2-碘乙酸及4-(N-順丁烯二醯亞胺基-甲基)環己烷-1-羧酸之反應性酯類。羧基可經由羧基組合丁二醯亞胺或1-羥基-2-硝基-4-磺酸鈉鹽而被活化。

胜肽藥劑也可表現為與載劑(亦即非同源胜肽)之融合蛋白質。胜肽藥劑可鏈結於其胺基端、其羧基端或二端至載劑。選擇性地，免疫原性胜肽之多次重複可存在於融合蛋白質。選擇性地免疫原性胜肽可鏈結至非同源胜肽之多個副本，例如鏈結於胜肽N-端及C-端。部分載劑胜肽用來誘生對載劑胜肽之助手T-細胞反應。誘生之助手T-細胞又誘發對抗鏈結至載劑胜肽之免疫原性胜肽的B-細胞反應。

無論欲投予個體的根據本發明藥劑為抗體、多肽、胜肽、小分子或其它醫藥有用化合物，投藥方式採用長期慢性投藥計畫。實際投藥量以及投藥速率及時程將依據接受治療之疾病本質及嚴重程度決定。治療的處方亦即劑量等決定屬於執業醫師以及其它內科醫師之責任範圍，治療的處方典型係考慮欲治療的病症、個別病人情況、藥物輸送部位、投藥方法以及其它執業醫師已知之因素。前述技術及

方案例如可參考雷明頓製藥科學第18版 Osol, A. (編輯), 1990年。

醫藥組成物

本發明也提供對敏感及/或患有病理性發炎相關病症個體減少慢性病理性發炎之醫藥組成物。

本發明之醫藥組成物較佳含有藥劑濃度係占調配物之約0.1至約10%。也可結合其它醫藥活性化合物使用。下列方法及賦形劑僅供舉例說明之用而非視為限制性。

用於口服製劑，本劑可單獨或組合適當添加劑來製造錠劑、散劑、粒劑或膠囊劑，例如結合習知添加劑如乳糖、甘露糖醇、玉米澱粉、或馬鈴薯澱粉；黏結劑如結晶纖維素、纖維素衍生物、阿拉伯膠、玉米澱粉或明膠；崩散劑如玉米澱粉、馬鈴薯澱粉或羧甲基纖維素鈉；潤滑劑如滑石或硬脂酸鎂；以及若有所需，結合稀釋劑、緩衝劑、濕潤劑、保藏劑及矯味劑。

當本劑為抗體時，調配物較佳係以腸道外劑型投藥。較佳劑型係依據期望投藥模式以及治療性施用決定。依據期望調配物而定，組成物也包括醫藥可接受之無毒載劑或稀釋劑，定義為常用於調配供動物或人類投藥用之醫藥組成物之媒劑。稀釋劑之選用係不會影響組合之生物活性。此等稀釋劑例如為蒸餾水、生理磷酸鹽-緩衝鹽水、林格氏溶液、葡萄糖溶液及漢克氏溶液。此外，醫藥組成物或調配物也包括其它載劑、輔劑或無毒非治療性且非免疫原性安定劑等。也包括載劑分子例如蛋白質聚糖。此種載劑分

子之特例包括(但非限制性)糖胺基聚糖如硫酸肝素、玻尿酸、硫酸角質聚糖、4-硫酸軟骨素、6-硫酸軟骨素、硫酸肝素聚糖及硫酸皮素、波雷肯(perlecan)以及多硫酸戊糖。

本發明抗體可呈溶液或懸浮液注射劑型投藥，該劑型包含物質於生理可接受之稀釋劑帶有醫藥載劑，其可為無菌液體之水及油添加或未添加界面活性劑。其它醫藥製劑為石油、動物、植物或合成來源之油類如花生油、大豆油及礦油。通常以二醇類如丙二醇或聚乙二醇為較佳液體載劑特別為注射溶液之液體載劑。本發明之藥劑可呈持續釋放形式投藥，例如長效注射劑、植入製劑或滲透壓幫浦，可調配成允許持續釋放活性成分。

此外，本發明藥劑為抗體時可經由編碼全部或部分抗體之多核苷酸(例如單鏈Fv)給個體而提供。多核苷酸係於適當媒劑投予個體，俾允許抗體以治療有效量於個體表現。

本發明藥劑可調配成注射製劑，經由溶解、懸浮或乳化本發明藥劑於水性或非水性溶劑如植物等油類、合成脂肪族酸甘油酯、高碳脂肪酸或丙二醇之酯類。調配物也含有習知添加劑如增溶劑、等張劑、懸浮劑、乳化劑、安定劑及保藏劑。

藥劑可透過吸入或肺臟輸送呈噴霧劑調配物投藥。本發明藥劑可調配於加壓可接受之推進劑如二氯二氟甲烷、丙烷、氮氣等。

此外本發明藥劑可經由混合多種基劑例如乳化基劑或水

溶性基劑而製備成為栓劑。本發明藥劑方便透過栓劑投藥。栓劑包括可可脂、巴西棕櫚蠟及聚乙二醇等媒劑，該等媒劑於體溫熔化但於室溫固化。

本發明藥劑之投藥可藉任一種方便手段完成，包括腸道外注射，輸送上可為系統性或局部輸送。本發明藥劑可攙混於多種治療投藥用調配劑。特別本發明藥劑可經由組合適當醫藥可接受性載劑或稀釋劑而調配成醫藥組成物；或可調配成固體、半固體、液體或氣體形式之製劑，例如錠劑、膠囊劑、散劑、粒劑、軟膏劑、溶液劑、栓劑、注射劑、吸入劑、凝膠劑、微球劑及噴霧劑。如此藥劑的投予可以多種方式達成包括經口、經頰、經直腸、經腸道外、腹內、皮內、經皮、氣管內、鼻內、胃、肌肉、顱內、皮下等途徑投藥。活性劑於投藥後可系統性作用，或採用區域投藥、壁內投藥或使用植體，植體作用於將活性劑維持於植入位置而進行局部投藥。

可提供經口或經直腸投藥之單位劑型例如糖漿劑、酏劑、及懸浮液劑，其中各劑量單位例如每一茶匙、每一湯匙、每一錠或每一栓劑含有預定量之含一或多種本發明藥劑之組成物。同理，注射或靜脈投藥用之單位劑型包含本發明藥劑於組成物，呈於無菌水、生理食鹽水或其它醫藥上可接受之載劑之溶液。

持續釋放調配用之植體為業界眾所周知。植體使用可生物分解或非可生物分解聚合物調配成微球、厚片等。例如乳酸及/或乙醇酸聚合物形成宿主之耐受性良好之可溶蝕

聚合物。植體置於蛋白質沉積物附近(例如神經退化病症相關的澱粉狀蛋白沉積物形成位置)，故活性劑於該位置之局部濃度比身體其它部位更高。

投予個體之典型劑量單位包括(但非限制性)：適合靜脈輸注之溶液劑；每日投藥2至6次之錠劑；或一次釋放之膠囊劑或每日服用一次且含有成比例地較高活性成分含量之錠劑等。時間釋放效果可經由於不同pH值溶解之膠囊劑、藉滲透壓而緩慢釋放之膠囊劑、或藉其它已知控制釋放手段來釋放之膠囊劑達成。

某些本發明藥劑包括抗體及胜肽偶爾係組合輔劑投藥。多種輔劑可組合抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質藥劑投予來提引出免疫反應。較佳輔劑可擴大對藥劑的特有反應，不會造成藥劑之組態變化而影響反應之定性形式。較佳輔劑包括氫氧化鋁及磷酸鋁、3去-O-醯化一磷醯基脂質A (MPLTM)(參考GB 2220211 (RIBI免疫化學研究公司，蒙大拿州，漢明頓，今日屬於柯里薩(Corixa))之一部分。史堤慕隆(Stimulon) QS-21為分離自南美石鹼樹(Quillaja Saponaria Molina)樹皮的三萜糖苷或皂苷[參考Kensil等人，疫苗設計：亞單位及輔劑辦法(編者Powell & Newman，普雷能(Plenum)出版社，紐約，1995年)；美國專利第5,057,540號(亞夸拉(Aquila)生藥公司，麻省福明漢)。其它輔劑為水包油乳液(如角鯊烯或花生油)，選擇性地組合免疫刺激劑如一磷醯基脂質A (參考Stoute等人，1997新英格蘭醫藥期刊336：86-91)。其它輔劑為CpG (WO 98/40100)。另外

，本劑可偶合至輔劑。但此種偶合實質不會改變所需 $\alpha 4$ 抗原決定部位之組態，因而不致於影響宿主免疫反應本質。輔劑可呈帶有活性劑之治療組成物之成分或可分開、於治療劑之投藥前、同時或投藥後投予。

較佳投予輔劑類別為鋁鹽(礬土)，如氫氧化鋁、磷酸鋁及硫酸鋁。此等輔劑可有或無其它特定免疫刺激劑使用，該等免疫刺激劑例如為MPL或3-DMP、QS-21、聚合物胺基酸或單體胺基酸例如聚麩胺酸或聚離胺酸。另一類輔劑為水包油乳液調配物。此等輔劑可有或無其它特定免疫調節劑使用，例如胞壁基胜肽(如N-乙醯基胞壁基-L-蘇胺醯基-D-異麩胺(thr-MDP)、N-乙醯基-新胞壁基-L-丙胺醯基-D-異麩胺(nor-MDP)、N-乙醯基胞壁基-L-丙胺醯基-D-異麩胺基-L-丙胺酸-2-(1'-2'二棕櫚醯基-sn-甘油-3-羥基磷醯氧基)-乙基胺(MTP-PE)、N-乙醯基葡萄糖胺基-N-乙醯基胞壁基-L-Ala-D-異葡萄糖-L-Ala-二棕櫚醯氧基丙醯胺(DTP-DPP)賽拉麥(theramide)或其它細菌細胞壁成分。水包油乳液包括(a) MF59 (WO 90/14837)，含有5%角鯊烯、0.5%吞恩80 (Tween 80)以及0.5%史邦85 (Span 85)(選擇性含有不等量的MTP-PE)使用微流化器例如型號110Y為流化器(微流體公司，麻省牛頓)調配成為次微米粒子，(b) SAF含有10%角鯊烯，0.4%吞恩80，5%普羅尼克(pluronic)-遮斷之聚合物L121以及thr-MDP，經過微流化成為次微米乳液，或經渦旋而產生較大粒徑乳液，以及(c) Ribic (瑞比)佐劑系統(RAS)，(瑞比免疫化學公司，蒙大拿州漢彌頓)

含有2%角鯊烯，0.2%吞恩80，以及一或多種細菌細胞壁成分得自一磷醯基脂質A、海藻糖胺黴酸(TDM)以及細胞壁骨架(CWS)的組合，較佳為MPL+CWS (迪托士(Detox))。另一較佳輔劑為皂苷輔劑例如史堤慕隆(QS-21；亞夸拉，麻省福明漢)或由其製造之粒子例如ISCOMs (免疫刺激複合物)以及ISCOMATRIX。其它輔劑包括完全及不完全弗隆氏(Freund's)輔劑(IFA)細胞分泌素例如介白質(IL-1、IL-2及IL-12)、巨噬細胞群落刺激因子(M-CSF)以及腫瘤壞死因子(TNF)。此等輔劑通常可由商業來源取得。

輔劑可與本劑呈單一組成物投予，或可於投予本劑之前、同時或之後投予。本劑及輔劑可包裝或供應於同一小瓶，或可包裝於分開小瓶而於使用前混合。本劑及輔劑典型包裝帶有標籤指示期望之治療用途。若本劑及輔劑係分開包裝，則包裝典型包括使用前混合指示。輔劑及/或載劑的選擇係依據含輔劑之調配物安定性、投藥途徑、投藥計畫以及輔劑對接受疫苗接種種屬之功效決定。用於人類，較佳醫藥上可接受之輔劑為已經由相關主管單位核准供人類投藥用的輔劑。此種較佳人用輔劑例如包括鞞土、MPL及QS-21。選擇性地可同時使用兩種或多種不同輔劑。較佳組合包括鞞土與MPL、鞞土與QS-21、MPL與QS-21以及鞞土、QS-21以及MPL的組合。此外可使用不完全弗隆氏佐劑(Chang等人，1998先進藥物輸送綜論32：173-186)，選擇性地組合鞞土、QS-21以及MPL中之任一者或全部組合。

長期慢性投藥計畫

本發明之長期慢性投藥計畫提供抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質劑之濃度可於有需要的病人維持足夠讓受體飽和而抑制病理性發炎的程​​度。本發明方法包含每兩週一次或每月一次至每兩個月投藥一次，重複投藥至少進行6個月時間，更佳進行一年或更長時間。本發明方法涉及於病人獲得且維持包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質二元體(例如VLA-4)之受體飽和程度於約65%至100%，更佳約75%至約100%，及又更佳約80%至約100%之範圍。此等受體飽和程度係長期(例如經歷一段6個月左右時間)維持於此等濃度俾允許連續抑制病理性發炎。

特定具體實施例中，抗 $\alpha 4$ 活性劑為抗體且較佳為人化抗體或人抗體(例如納妥足穆)，以及投藥間隔係以每月一次為基準。可監視受體飽和程度決定投藥計畫功效，以及測量生理標記來證實給藥計畫是否成功。做為驗證，可監控抗體血清濃度來識別抗體的廓清率，以及決定半生期對治療效果可能的影響。

以單位劑量投予之藥劑用量係依據是否也投予輔劑決定，較高劑量通常需要有輔劑的存在。使用本發明藥劑免疫接種時，劑量係於0.0001至約100毫克/千克，且更常見約0.01至5毫克/千克宿主體重之範圍。例如劑量可為約1毫克/千克體重或約10毫克/千克體重。劑量及頻率可依據藥劑於病人體內之半生期決定。投藥劑量及頻次係依據處理為預防性或治療性改變。供抗體投藥，每次注射通常為約

2.0至約8.0毫克/千克。根據此處教示，有效劑量可經由取得病人的體液樣本監控，體液樣本通常為血清或腦脊髓液樣本，使用業界眾所周知之方法測定組合蛋白質受體飽和程度。理想上樣本係於初步投藥前採樣；隨後於各次免疫接種前或後採用及測量。特佳用量為每月每千克病人3毫克納妥足穆或其免疫活性片段相當物。

當投予輔劑時，劑量係根據特定輔劑亦即抗 $\alpha 4$ 藥劑之免疫原性提升。根據本發明選用之個別藥劑劑量係根據標準投藥方法結合此處教示決定。

至於重複各次投藥組成之長期慢性投藥之替代之道，抗 $\alpha 4$ 劑也可呈持續釋放調配物投予，但該劑量係可讓受體飽和度維持足夠抑制發炎的程度。例如可使用控制釋放系統來長期投予本發明之抗 $\alpha 4$ 劑。適當控制釋放劑型之討論可參考Lesczek Krowczynski，長期釋放劑型，1987年(CRC出版公司)。

多種控制釋放技術涵蓋極為寬廣之藥物劑型。控制釋放技術包括(但非限制性)物理系統及化學系統。物理系統包括(但非限制性)帶有速率控制膜的貯器系統例如微包囊、巨包囊及膜系統；無速率控制膜之貯器系統例如中空纖維、超微孔三乙酸纖維素以及多孔聚合物基質及泡沫體；單晶系統包括可以物理方式溶解於無孔、聚合物或彈性體基質(例如非可溶蝕、可溶蝕、環境劑入侵且可分解)之系統；以及以物理方式分散於無孔、聚合物或彈性體基質之材料(例如非可溶蝕、可溶蝕、環境劑入侵且可分解)；積層

結構包括化學性質類似或非類似外側控制層之貯器層；以及其它物理方法例如滲透壓幫浦或吸附於離子交換樹脂。

化學系統包括(但非限制性)聚合物基質的化學溶蝕(例如非同質溶蝕或同質溶蝕)，或聚合物基體之生物溶蝕(例如非同質溶蝕或同質溶蝕)。有關控制釋放系統類別之其它討論可參考 Agis F. Kydonieus, 控制釋放技術：方法、理論及應用，1980年(CRC出版公司)。

本發明方法可用於治療患有涉及或來自於病理性發炎病症之病人，或預防性治療有特定病症風險病人。用藥計畫為預防相對於治療性處理所需可改變且必須設計用於特定用途及接受治療的病症。

某些方法中，兩種或兩種以上的藥劑(例如帶有不同結合特异性之單株抗體)係同時投予，該種情況下，各藥劑之投藥劑量係落入指示範圍。經由測量受體飽和程度、或經由追蹤疾病病程的其它指標，投藥間隔可能不規則。

熟諳技藝人士了解劑量水平可因特定藥劑、症狀嚴重程度以及個體對副作用之敏感程度而異。某些特定藥劑比其它藥劑更強。較佳指定藥劑之劑量方便由熟諳技藝人士利用多種手段測定。較佳手段係測量指定藥劑之生理強度。

治療適應症

本發明之控制釋放調配物可用於獲得寬廣範圍之期望效果。特別本發明調配物可用於治療任一種疾病狀態或症狀，其可藉長期投予鎖定病理性發炎為目標的抗發炎劑予以治療。

本發明也提供治療方法，其探勘抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質劑封阻 $\alpha 4$ 依賴性交互作用的能力。與內皮細胞的VCAM-1配位子進行 $\alpha 4$ 依賴性交互作用是多項發炎反應的早期事件，包括中樞神經系統的發炎反應。由於發炎導致且帶有急性及/或慢性臨床惡化的非期望疾病及病情包括多發性硬化(Yednock等人，1992自然356：63；Baron等人，1993實驗醫藥期刊，177：57)、腦膜炎、腦炎、中風、其它腦部外傷、發炎性腸病(IBD)包括潰瘍性結腸炎及克隆氏病(CD)(Hamann等人，1994免疫期刊152：3238)、(Podolsky等人，1993臨床研究期刊92：372)、類風濕性關節炎(van Dinther-Janssen等人，1991免疫期刊147：4207；van Dinther-Janssen等人，1993風濕病年報52：672；Elices等人，1994臨床研究期刊93：405；Postigo等人，1992臨床研究期刊89：1445)、氣喘(Mulligan等人，1993免疫期刊150：2407)以及急性幼年型糖尿病(第1型糖尿病)(Yang等人，1993 PNAS 90：10494；Burkly等人，1994糖尿病43：529)；Baron等人，1994臨床研究期刊93：1700)、愛滋病性痴呆(Sasseville等人，1994美國病理期刊144：27)；動脈粥狀硬化(Cybulsky等人，1991科學251：788-91，Li等人，1993動脈硬化栓塞13：197)、腎炎(Rabb等人，1995 Springer免疫病理研討會16：417-25)、視網膜炎、異位性皮膚炎、乾癬、心肌缺血、慢性攝護腺炎、鐮刀形血球貧血症併發症、紅斑性狼瘡、及急性白血球媒介之肺部傷害，例如出現於成人呼吸窘迫症候群。

發炎性腸病是稱做克隆氏病(CD)與潰瘍性結腸炎兩種類似疾病的總稱。克隆氏病是一種特應型慢性潰瘍縮窄之發炎病，特徵為有鮮明畫界，典型由粒狀發炎反應穿壁涉及腸壁的全部各層。由口腔至肛門的胃腸道各段皆牽涉在內，但疾病最常見係影響末端迴腸及/或結腸。潰瘍性結腸炎是大半限於結腸黏膜及黏膜下方之發炎反應。淋巴細胞及巨嗜細胞大量出現於發炎性腸病病變，且可能促成發炎傷害。

氣喘疾病特徵為氣管支氣管樹對各種刺激的反應增高，增強支氣管呼吸道的陣發性收縮。刺激造成多種發炎媒介物質有IgE所塗覆之肥大細胞釋放出，該等發炎媒介物質包括組織胺、嗜伊紅性以及嗜中性趨化因子、白三烯、前列腺素及血小板活化因子。此等因子釋放出，召募嗜鹼性血球、嗜伊紅血球及嗜中性血球，結果造成發炎性傷害。

動脈粥狀硬化是一種動脈病(例如冠狀動脈、頸動脈、主動脈及髂骨動脈)。基本病變動脈粥瘤係由血管內膜內部升高的局部斑塊組成，有個脂質中心以及覆蓋纖維蓋。動脈粥瘤包含動脈血流以及變虛弱的動脈。心肌梗塞及腦梗塞是動脈粥狀硬化的主要後果。巨噬細胞及白血球被召募至動脈粥瘤，促成發炎傷害。

類風濕性關節炎是一種慢性復發型關節病，主要係造成關節的受損與破壞。類風濕性關節炎通常影響手腳的小關節然後才侵犯腕關節、肘關節、踝關節及膝關節。關節炎係來自於滑膜細胞與由血循環中浸潤於關節滑膜內襯的白

血球交互作用引發關節炎。例如參考Paul，免疫學(第3版，雷文(Raven)出版社，1993年)。

長期慢性投予抗 $\alpha 4$ 劑之另一項適應症係治療器官或移植片排斥。近年來有關移植組織及器官(如皮膚、腎、肝、心、肺、胰及骨髓)的手術技術效率有重大進展。最主要的問題可能係缺乏滿意的藥劑來誘生移植接受者的免疫耐受被移植的同種異體移植片或器官。當同種異體移植細胞或器官移植入宿主(亦即捐贈者及被捐贈者係同一種屬的不同個體)時，宿主免疫系統可能對植體的外來抗原建立其免疫反應(宿主對移植片病)，結果導致被移植組織的摧毀。CD8⁺細胞、CD4⁺細胞以及單核細胞皆涉及移植組織排斥。抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質抗體可用於阻斷被捐贈者因同種異體抗原所誘生的免疫反應，因而防止免疫細胞參與被移植組織或器官的摧毀。例如參考Paul等人，1996移植國際9：420-425；Gcorczynski等人，1996免疫學87：573-580；Georczynski等人，1995移植免疫學3：55-61；Yang等人，1995移植60：71-76；Anderson等人，1994 APMIS 102：23-27。

抗 $\alpha 4$ 劑之相關用途係用於調節涉及「移植片對宿主」病(GVHD)之免疫反應。例如參考Schlegel等人，免疫期刊155，3856-3865 (1995)。GVHD當於免疫勝任細胞移轉至同種異體基因接受者時出現的可能為致命性疾病。此種情況下，捐贈者的免疫勝任細胞可能攻擊接受者的組織。皮膚、腸上皮及肝組織經常為攻擊的目標，可能於GVHD發

病過程受到摧毀。此種疾病於移植免疫組織時例如於骨髓移植時特別構成嚴重問題；但其它病例包括心臟移植及肝臟移植也曾報告較不嚴重的GVHD。本發明之治療既可用於封阻給予者T細胞的活化，因而干擾給予者T細胞溶解宿主目標細胞的能力。

本發明抗 $\alpha 4$ 劑之另一項用途係抑制腫瘤轉移。若干腫瘤細胞報告會表現 $\alpha 4$ 組合蛋白質，曾經報告抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質抗體可封阻腫瘤細胞黏附於內皮細胞(Steinback等人，1995泌尿研究23：175-83；Orosz等人，1995國際癌症期刊60：867-71；Freedman等人，1994白血球淋巴瘤13：47-52；Okahara等人，1994癌症研究54：3233-6)。

抗 $\alpha 4$ 劑之另一項用途係用於治療多發性硬化。多發性硬化(MS)是一種進行性神經自體免疫病，全美患者估計有250,000至350,000人。多發性硬化係由於特定自體免疫反應的結果，其中某些白血球攻擊且引發覆蓋神經纖維的絕緣鞘套，亦即髓鞘質的摧毀。於多發性硬化之動物研究模式中，抗 $\alpha 4\beta 1$ 組合蛋白質之鼠單株抗體顯示可封阻白血球黏附至血管內皮，因而防止中樞神經系統的發炎，以及隨後導致動物的癱瘓。

多發性硬化之起點可能劇烈，或可能輕微因此病人不知道去尋求醫療。最常見的症狀包括四肢中之一或多肢體虛弱、由於視神經炎導致視覺模糊、感覺神經障礙、複視以及共濟失調。病程可分成三大類：(1)復發型多發性硬化，(2)慢性進行性多發性硬化，以及(3)不活動性多發性硬

化。復發型MS之特徵為神經功能障礙反覆發作。MS的發作通常經歷數日至數週，接著完全、部分或絲毫也無復原。由MS的發作復原通常係出現在症狀尖峰的數週至數月以內，但有罕見病例復原可能連續兩年或兩年以上。

慢性進行性MS結果導致疾病的進行性惡化，而無穩定或緩解期。此種形式係出現於有早期復發型MS病史病人，但有20%病人絲毫也未復發。急性復發也可能出現於進行性過程。

第三種形式係不活動性MS。不活動性MS之特徵為有可變程度之固定神經缺陷。大部分不活動性MS病人皆早期有復發型MS病史。

MS過程也與病人年齡有關。例如有利的預後因素包括早期發作(兒童期除外)、復發病程以及發作後5年極少殘留病廢失能。相反地，預後不良係與晚年發作(換言之，40歲或40歲以上)以及進行性病程有關。此等變數有交互關聯，原因在於慢性進行性MS也可能於晚年時開始復發MS。由於慢性進行性MS導致的病廢失能，通常係由於個別病人的進行性下半身癱瘓或四肢癱瘓所致。於本發明之一方面，當病人係處於疾病的緩解階段而非復發階段時較佳接受治療。

短期使用促腎上腺皮質激素(ACTH)或口服皮質類固醇例如口服普尼松(prednisone)或靜脈注射甲基普尼梭隆(methylprednisolone)是治療多發性硬化症急性發作病人的唯一特殊治療之道。

較新的MS治療包括使用干擾素 β -1b、干擾素 β -1a以及科帕松(copaxone)(前稱為共聚物1)治療病人。此三種藥物皆可顯著降低疾病的復發率。此等藥物典型係採用肌肉或皮下自行投藥。

目前並無任何治療可抑制脫去髓鞘或抑制多發性硬化。本發明之一方面預期涵蓋單獨使用此處揭示藥劑或組合其它標準治療模式治療MS。標準治療模式包括(但非限制性)下列。其它此處未討論可用於組合此處揭示之方法及組成物用於治療MS之治療模式依據病人疾病狀態決定對熟諳技藝人士顯然自明。此等MS以及其它病理性發炎之治療模式包括其它免疫調節劑或免疫抑制劑。

前文討論之藥劑及醫藥組成物可長期慢性投予預防及/或治療性處理先前列舉的發炎病症，包括多發性硬化、發炎性腸病、氣喘、動脈粥狀硬化、類風濕性關節炎、器官或移植片排斥以及移植片對宿主病。於治療用途，組成物係以足夠治療、或至少部分停止疾病及疾病併發症症狀之用量投予懷疑患有或已經患有此種疾病的病人。足夠達成此項目的之用量定義為治療有效劑量或醫藥有效劑量。

於預防性用途，醫藥組成物係以足夠消除或減少疾病發作風險或延遲疾病發作之用量，長期慢性投予懷疑患有特定疾病或可能患有特定疾病風險的病人。此種用量定義為預防有效量。於緩解期之多發性硬化病人，可藉NMR造影來評估風險，或某些病例係藉病人觀察得之症狀前期指標來評估風險。

本發明組成物用於治療前述疾病之有效投藥計畫將依據多項不同因素決定，此等因素包括投藥手段、目標位置、病人生理狀態以及其它投予之藥物。如此需滴定決定獲得最理想安全及功效之治療劑量。通常投藥計畫之投予為約0.0001至100毫克/千克及更常見0.01至5毫克/千克宿主体重之範圍。較佳投藥計畫為每月一次投予300毫克經歷至少6個月時間，更佳為12個月且或許經歷數秒。另一種較佳投藥計畫為每月每千克病人體重使用3毫克。此種用藥計畫對於需要治療之小兒或青春期病人為較佳。

組合治療

本發明之抗 α_4 劑可組合有效量之其它對抗急性及慢性發炎之治療劑。此等治療劑包括其它黏附因子拮抗劑(例如其它組合蛋白質、選擇素(selectins)以及免疫球蛋白(Ig)超族成員(參考Springer, 1990自然346: 425-433; Osborn, 1990細胞62: 3; Hynes, 1992細胞9: 11)。組合蛋白質為非同質二元體穿膜糖蛋白，由 α 鏈(120-180 kDa)以及 β 鏈(90-110 kDa)組成通常帶有短胞質領域。例如三種重要的組合蛋白質(亦即LFA-1、Mac-1及P150,95)有不同的 α 亞單位定名為CD11a、CD11b及CD11c，以及定名為CD18之共通 β 亞單位。LFA-1 ($\alpha_L\beta_2$)表現於淋巴細胞、粒狀細胞以及單核細胞，主要係結合定名為ICAM-1之Ig族成員對偶受體以及相關配位子。ICAM-1表現於多種細胞，包括白血球以及內皮細胞，ICAM-1於血管內皮係由細胞分泌素如TNF及IL-1而向上調節。Mac-1 ($\alpha_M\beta_2$)分布於嗜中性

細胞及單核細胞，也結合至ICAM-1。第三種 β_2 組合蛋白質，P150,95 ($\alpha_x\beta_2$)也出現於嗜中性細胞及單核細胞。選擇素係由L-選擇素、E-選擇素及P-選擇素組成。

其它可組合抗 α_4 劑使用之抗炎劑包括抗體以及其它細胞分泌素拮抗劑例如介白質IL-1至IL-13、腫瘤壞死因子 α 及 β 、干擾素 α 、 β 及 γ 、腫瘤生長因子 β (TGF- β)、群落刺激因子(CSF)以及粒狀細胞單核細胞群落刺激因子(GM-CSF)。其它抗炎劑包括化學激素之抗體以及其它拮抗劑例如 MCP-1、MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、外趨素(exotoxin)及IL-8。其它抗炎劑包括NSAIDS、類固醇類以及其它小分子發炎抑制劑。組合治療之藥劑調配物、投藥途徑以及有效濃度係如前文對抗 α_4 組合蛋白質人化抗體所述。

其它組合本劑使用之藥劑其可媒介 α_4 組合蛋白質或包含 α_4 組合蛋白質之二元體，以及用於治療發炎性腸病(IBD)、克隆氏病(CD)及潰瘍性結腸炎(UC)，此等額外藥劑包括(但非限制性) 5-胺基水楊酸酯、糖皮質固醇、硫鳥嘌呤衍生物、美受崔賽(MTX)、環孢靈(cyclosporine)、抗生素及音菲希美(infliximab)。

5-胺基水楊酸酯包括沙伐沙拉金(sulfasalazine)(亦名亞足菲定(Azulfidine))其為美沙拉明(mesalamine)藉重氮鍵而鍵結至磺吡啉(sulfapyridine)之軛合物，通常以500毫克/日至約6克/日投藥。5-胺基水楊酸酯也可與糖皮質固醇組合投藥。較佳5-胺基水楊酸酯係用於與此處討論其它藥劑

之一組合治療，用於治療潰瘍性結腸炎，但也可用於治療克隆氏病。美沙拉明之不含磺醯胺調配物包括(但非限制性)亞沙科(ASACOL)、克雷維沙(CLAVERSA)、沙洛法克(SALOFALK)、潘塔沙(PENTASA)、迪番騰(DIPENTUM)、科拉載(COLAZIDE)及羅瓦沙(ROWASA)。

糖皮質固醇自1955年以來首次顯示用於潰瘍性結腸炎有效，已經成為發炎性腸病急性嚴重發作時的治療主軸。口服普尼松可結合此處揭示之任一種藥劑投予。典型地每日一次口服20至40毫克普尼松。糖皮質固醇類也可經靜脈或透過浣腸而於投予抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質劑組合、或同時、或在投藥前/後投予。例如氫可體松(hydrocortisone)可做為滯留性浣腸劑(100毫克/60毫升)供應，尋常劑量為每夜1克60毫升浣腸劑經2至3週時間。如熟諳技藝人士已知當組合此處討論之治療及藥劑使用時此種用法用量可改變。其它使用之類固醇包括(但非限制性)普尼梭隆甲基磺基苯甲酸酯、堤梭科托(tixocortol)異戊酸酯、弗提卡松(fluticasone)丙酸酯、貝克美沙松(beclomethasone)二丙酸酯以及布迪梭奈(budesonide)。

硫鳥嘌呤衍生物也可用於治療IBD、CD及UC。硫鳥嘌呤衍生物包括(但非限制性)6-巰基嘌呤(6-MP)以及阿哲席歐平(伊穆蘭(IMURAN))。兩種藥物可組合此處討論之任一種 $\alpha 4$ 組合蛋白質調節劑互換使用。

美受崔賽(MTX)也預期組合此處討論之 $\alpha 4$ 組合蛋白質調節劑使用。較佳MTX係組合抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質劑透過肌肉

注射投藥。MTX用於類固醇依賴型克隆氏病有效，但用於潰瘍性結腸炎較非有效。MTX可以每個體每週約15至約25毫克之劑量投予，或由熟諳技藝人士依據需求決定。

環孢靈(例如杉帝穆恩(SANDIMMUNE)、尼歐洛(NEORAL))也可組合此處討論之 $\alpha 4$ 組合蛋白質調節劑用來治療腸道的病理性發炎。可用於治療對糖皮質固醇無反應的急性嚴重潰瘍性結腸炎。

音菲希美(亦即瑞米凱德(REMICADE))也可組成此處討論之 $\alpha 4$ 組合蛋白質調節劑用於治療克隆氏病。音菲希美是一種結合TNF而中和TNF活性的免疫球蛋白。其它抗TNF抗體如CDP571也可組合此處揭示的 $\alpha 4$ 組合蛋白質調節劑使用。

抗生素也預期可組合此處指示之 $\alpha 4$ 組合蛋白質調節劑用來調節UC、IBD及CD。例如病人可接受米車尼佐(metronidazole)或希波佛辛(ciprofloxacin)(或其藥理相當物組合 $\alpha 4$ 組合蛋白質媒介劑或呈混合物形式治療。

也預期包含乳房的媒介 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之二元體之藥劑用於IBD、CD及UC之支持療法，用於治療發炎性腸病、克隆氏病及潰瘍性結腸炎。支持性療法包括(但非限制性)止痛劑、抗膽鹼激性劑以及抗腹瀉劑。組合支持性療法可用於治療計畫之開始來減輕病人的症狀以及改善生活品質。支持性療法包括投予口服鐵劑、葉酸鹽類以及維生素B₁₂。抗腹瀉劑包括但非限於待菲諾賴(diphenoxylate)、可待因、洛佩拉麥(loperamide)以及抗膽

鹼激性劑(或其藥理相當物)，其可投予輕度病症減低腸活動頻次以及解除肛門的緊迫感。消膽胺(Cholestyramine)可用於防止使用此處所述長期慢性投藥計畫治療前，已經接受有限的迴腸結腸切除術病人出現膽汁誘生結腸分泌。抗膽鹼激性劑包括但非限於溴化克迪謬(clidinium bromide)、鹽酸待可明(dicyclomine)、顛茄鹼酞劑等，可用於減少腹部絞痛、疼痛以及直腸緊迫感。

用於治療多發性硬化，抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質劑(例如抗 $\alpha 4$ 組合蛋白質抗體、小型化合物 $\alpha 4$ 組合蛋白質拮抗劑等)可組合其它化合物或組成物用於治療、改善或緩和多發性硬化的相關症狀。

其它可用於治療、改善或減輕多發性硬化相關症狀之藥劑包括(但非限制性)：肌肉鬆弛劑(例如待吉潘(Diazepam)、塞克班澤平(cyclobenzaprine)、克納澤潘(Clonazepam)、克奈定(clonidine)、皮米冬(primidone)等)、抗膽鹼激性劑(例如波潘席蘭(propanteline)、待可明等)、中樞神經系統興奮劑(例如皮摩林(pemoline))、非類固醇消炎藥(NS例如伊布波芬(ibuprofen)、拿波森(naproxen)及凱托波芬(ketoprofen))、干擾素、免疫球蛋白、葛堤拉莫(glatiramer)(科帕森)、米托杉崇(mitoxantrone)(諾凡崇(Novantrone))、米梭波托(misoprostol)、腫瘤壞死因子 α -抑制劑(例如皮菲尼冬(Pirfenidone)、音菲希美等)及皮質類固醇(例如糖皮質固醇及礦物皮質固醇)。

常見多發性硬化治療劑包括干擾素 β -1b (貝塔希榮

(Betaseron))、干擾素 β -1a (亞佛尼士(Avonex))、高劑量干擾素 β -1a (瑞比夫(Rebif))、葛堤拉莫(科帕松)、免疫球蛋白、米托杉崇(諾凡崇)、皮質類固醇(例如普尼松、甲基普尼梭隆、德沙美沙松(dexamethasone)等)。其它皮質類固醇也可使用包括(但非限制性)可體醇(cortisol)、可體松(cortisone)、福可體松(fludrocortisone)、普尼梭隆、6 α -甲基普尼梭隆、徹安希隆(triamcinolone)及貝塔美沙松(betamethasone)。

組合此處揭示化合物及組成物使用之藥劑劑型可依據個體以及使用的藥物組合改變。例如干擾素典型投藥如後：干擾素 β -1a (亞佛尼士)每週一次投予30微克；干擾素 β -1a 每週三次投予約22微克或44微克以及干擾素 β -1b (貝塔希榮)每隔一日投予250微克(Durelli等人，刺絡針359：1453-60，2002)。典型對復發中或緩解中的多發性硬化投予干擾素。如此當組合此處揭示之抗- α -4組合蛋白質劑時，干擾素之較佳劑量範圍包括約0.1微克至約250微克及更佳約0.5微克至約50微克，依據藥劑組合此處揭示之其它抗- α -4組合蛋白質化合物及組成物決定。

預期用於本發明之NS或NSAID包括但非限於非選擇性COX抑制劑或選擇性COX-2抑制劑。非選擇性COX抑制劑包括(但非限制性)水楊酸衍生物(如阿斯匹靈(aspirin)、水楊酸鈉、膽鹼三水楊酸鎂、沙沙雷(salsalate)、迪夫尼沙(diflunisal)、沙伐沙拉金、及歐沙拉金(olsalazine)、對胺基酚衍生物(例如乙醯胺酚(acetaminophen)、吲哚及節乙酸

(如托美亭 (tolmetin)、帝克菲納 (diclofenac) 及凱托洛賴 (ketorolac)、雜芳基乙酸 (如阿布波芬 (abuprofen)、拿波森、夫比波芬 (flurbiprofen)、凱托波芬、芬波芬 (fenprofen) 及歐塞波金 (oxaprozin)、胺茴酸或菲納媚 (fenamates) (如美菲納米酸 (mefenamic acid) 及美克菲納米酸 (meclofenamic acid))、乙烯酸 (如歐希康類 (oxicams) 如皮洛希康 (piroxicam) 及美洛希康 (meloxicam) 以及烷酮類 (如納布米同 (nabumetone))。選擇性 COX-2 抑制劑包括經二芳基取代之吡喃酮類 (如羅飛科希 (rofecoxib))、經二芳基取代之吡唑類 (如希樂葆 (celecoxib))、吡唑乙酸類 (如伊托多賴 (etodolac)) 及磺醯苯胺化物 (如尼美蘇賴 (nimesulide))。非類固醇抗炎藥經常組合干擾素使用來減輕例如接受亞佛尼士病人出現的流感般症狀。常見非類固醇抗炎藥包括拿波森、伊布波芬及凱托波芬。帕拉希特摩 (Paracetamol) 也常投予病人。例如參考 Reess 等人，2002 多發性硬化 8：15-8。

葛堤拉莫乙酸鹽 (GA，科帕松) 是合成分子，可抑制髓鞘質基底蛋白質反應性 T 細胞的活化，且誘生具有抗炎效果之 T 細胞表現。此處葛堤拉莫可接近中樞神經系統 (CNS)，而干擾素 β 則否 (Dhib-JaIbut, 2002 神經學 58: S3-9；Weinstock-Guttman 等人，2000 藥物 59: 401-10)。

米托杉崇為蔥二酮合成劑，其顯示可有效治療續發性進行性多發性硬化 (SP-MS)。但此種藥物的使用再度受到其心毒性累積的限制 (Weinstock-Guttman 等人，2000)。

腫瘤壞死因子- α (TNF- α)是脫去髓鞘的關鍵性細胞分泌素(Walker等人, 2001多發性硬化, 7: 305-12)。如此使用可拮抗TNF- α 功能或抑制TNF- α 合成的藥劑可能可組合此處揭示之藥劑及化合物使用。包括抗TNF- α 抗體(例如音菲希美)以及藥劑如皮菲尼冬。皮菲尼冬是一種非肽藥物, 皮菲尼冬可減少TNF- α 的合成以及封阻TNF- α 受體(同文)。

大部分脫髓鞘病情及疾病之長期治療主軸仰賴使用ACTH、糖皮質固醇及皮質類固醇。此等藥劑係利用其抗水腫以及抗炎效果。ACTH常係以80單位於500毫升5%葡萄糖及水以6-8小時靜脈投予個體連續三日。也可每12小時以40單位劑量以40單位/毫升靜脈投予連續7日, 每三日減低劑量。參考S. Hauser, 「多發性硬化以及其它脫髓鞘病」, Harrison's內科用藥原理 2287-95 (第13版, Isselbacher等人, 編輯1994年)。甲基普尼梭隆典型係以6小時時間較佳於早晨於500毫升5%葡萄糖水緩慢投予。常用劑量包括每日1000毫克連續三日, 每日500毫克連續三日以及每日250毫克連續三日(同文)。也常投予甲基普尼梭隆-普尼松組合。典型為靜脈投予約1,000毫克甲基普尼梭隆經三日, 接著以每日1毫克/千克口服普尼松連續14日。如此用於與此處揭示之化合物及組成物組合使用, 類固醇可依照情況需要以約1至約1,000毫克/千克劑量範圍投予約1至14日。

脫髓鞘疾病如多發性硬化之副反應為倦怠以及認知功能

減低。如鹽酸阿曼它定(amantadine)以及皮摩林等藥劑常用於治療多發性硬化引起的倦怠(Geisler等人，1996神經學檔案，53：185-8)。

此種組合治療之效果為可減輕目前使用此等藥物之類別特異性以及藥劑特異性副作用。干擾素 α 之類別特異性副作用包括發燒、胃寒、肌肉酸痛、關節痛以及其它流感症狀，始於注射後2-6小時，典型於注射後24小時緩解。偶爾干擾素 β 也可能又使既存的多發性硬化症狀惡化。藥劑特異性副作用包括干擾素 β -1b之注射部位反應。此等副作用之處置之道可調整投藥劑量及時間、處方乙醯胺酚、非類固醇抗發炎藥(NS或NSAIDS)以及類固醇的適當組合。參考Munschauer等人，1997臨床治療學19：883-93。

如此可減少特定藥物投藥量之藥物組合可減輕病人遭遇的不良副作用。

當組合投藥時，小型化合物 α 4組合蛋白質拮抗劑可與其它化合物或組成物於同一調配物或分開調配物投予。當組合投藥時，抗 α 4抗體通常係於與其它化合物或組成物之分開調配物投予。當組合投藥時，抗 α 4劑可於其它用以治療、改善或減輕症狀之化合物及組成物之前、之後或同時投藥。

實施例

下列實施例係供熟諳技藝人士完整了解如何製造以及使用本發明明具體實施例之代表例，絕非意圖圍限本發明之範圍，也非意圖表示後文實驗為全部或唯一實施的實驗。對

使用的數目(例如數量、溫度等)儘量努力確保準確，但仍可能有某些使用誤差及偏差。除非另行指示，否則份數為份數重量比，分子量為重量平均分子量，溫度為攝氏溫度以及壓力為於大氣壓或接近大氣壓。

實施例1

納妥足穆用於復發型多發性硬化之對照實驗

病人族群

由1999年9月至2000年5月於美、加及英國的26個臨床中心共召募213位病人。制度審議委員會或中央與地方倫理委員會核准本方案。全部病人皆遞交書面知情同意書。研究監督係由獨立安全資料監督委員會為之。

適任個體要求18歲至65歲，患有Poser標準定義且經過臨床或實驗室證實的確切多發性硬化，包括復發-緩解型或續發進行性MS(Poser等人，1983神經學年報13：227-31；Lublin等人，1996神經學46：907-11)，前兩年至少有兩次復發病史，基準線庫茲克(Kurtzke)擴大失能狀態分數(EDSS) (Kurtzke，1983神經學33：1444-52)為2至6.5分，T₂加權腦MRI至少有三處病變。若過去三個月曾經接受免疫抑制劑或免疫調節劑治療，過去30日內復發或接受系統性皮質類固醇之病人則被排除。

研究設計以及隨機分配

根據電腦產生的方塊隨機分配計畫，將病人隨機分成三個處理組之一：3毫克/千克納妥足穆，6毫克/千克納妥足穆、或安慰劑。病人以28日間隔接受6次靜脈輸注，接著

為6個月的安全追蹤期。研究者、所有其它參與研究的人員及病人對研究的分配皆未告知。

研究程序及終點

於篩選期(第-1月)、各次處理後即刻(第0-5月)以及末次處理後一個月(第6月)獲得未經加強的質子密度 T_2 -加權以及Gd-加強 T_1 -MRI腦斷層掃描。於第9個月及第12個月獲得追蹤MRI掃描。獲得貫穿腦波的接續46個厚3毫米軸向切片。MRI分析係由對病人的處理以及病史為盲目之單一中心進行。由兩位有經驗的臨床醫師識別拷貝影像上的病變。

前瞻性一次結果測量為6個月治療期定義為初次輸注至末次輸注後一個月期間出現的新的Gd加強型病灶數目。其它評估的MRI參數包括：持續Gd加強病灶數目(加強病灶，對先前的每月掃描也加強)；Gd加強病灶容積(藉半自動化局部低限法測量；Grimaud等人，1996磁振照影14：495-505)；活性病灶數目(亦即新的Gd加強病灶加上新的或放大而未加強的 T_2 病灶)；以及活性掃描數目(亦即含有一或多個新Gd加強病灶)。

臨床終點包括復發頻次以及EDSS的變化，使用目測-類比尺(VAS)自行報告綜合評估。記錄全部副作用。病人由治療神經科醫師以及評估神經科醫師(其未知病人的治療分配)接受每季排程的檢查以及非排程的訪視有關可疑的疾病復發。治療神經科醫師記錄醫療病例並做檢查且記錄副作用。評估神經科醫師評估神經狀態並做EDSS平分，

而未了解病人的病史或先前的EDSS分數。

客觀復發定義為至少穩定30日後出現急性新的或惡化多發性硬化症狀至少持續48小時。也伴隨有EDSS分數至少增加一分，兩種功能系統分數(FSS)至少增加一分，或FSS比基準線分數至少增加兩分，由評估神經科醫師決定。未符合前述復發標準但由治療神經科醫師評估為復發之神經症狀也經記錄(總復發)。

於目測類比尺(VAS)，病人在一條長10厘米長線上畫出基準線以及治療3個月及6個月後其整體狀況的評估位置，較高分數表示情況較佳。

病人於臨床上追蹤12個月。未到達終點而停止治療的病人鼓勵其回來接受追蹤評估。

統計分析

樣本大小係基於先前納妥足穆臨床試驗於初次注射後前12週觀察得的新Gd加強型病灶數目估計(Tubridy等人，1999神經學53：466-72)。基於先前實驗結果，以及基於威曼惠(Wilcoxon-Mann-Whitney，WMW)統計學，使用適合於5%顯著程度之雙邊二組比較之樣本大小(Noether，1987美國統計學會期刊82：645-7)，算出為了獲得80%強度每組需要73位病人。

6毫克/千克納妥足穆與安慰劑組間之Gd加強病灶數目以及Gd加強容積之初步比較使用WMW排名加總試驗評估。由於未做MRI掃描而喪失之數值則以該病人平均掃描之病灶平均數替代。前30日曾經接受系統性皮質類固醇病人所

得MRI掃描被拋棄當作喪失值處理。對各組使用間隔相等的分數以及對主要結果變數使用排名分數，科曼漢(Cochran-Mantel-Haenszel)交互關係統計學用來使用得自全部三組的資料試驗劑量-反應關係。

使用皮爾森氏(Pearson's) χ 平方試驗比較復發病人比例。EDSS及VAS於基準線之變化係使用雙向阿諾瓦(ANOVA)分析，以研究中心組及處理組為個別變數。

全部分析包括全部隨機分組病人並遵照處理意圖原則分析。全部報告P值皆為雙尾P值。於基準線，三組之人口統計特徵、MS病史、載入EDSS及MRI參數間並無顯著變化(表1)。

表1：隨機分組病人之人口統計特徵及基準線特徵

特徵		納妥足穆		
		安慰劑 (N=71)	3毫克/千克 (N=68)	6毫克/千克 (N=74)
年齡，歲	平均	42.9	42.8	44.9
	範圍	22-66	22-65	30-63
性別N(%)	男性	25(35.2)	21(30.9)	15(20.3)
	女性	46(64.8)	47(69.1)	59(79.7)
MS類別N(%)	R-R	45(63.4)	47(69.1)	52(70.3)
	S-P	26(36.6)	21(30.9)	22(29.7)
EDSS	平均	4.40	4.21	4.32
	範圍	2.0-6.5	1.0-6.5	0.0-6.5
發病時間 年數	平均	10.2	11.6	13.1
	範圍	1-32	0-40	2-39
過去兩年 復發次數	平均	3	2.9	3.1
	範圍	2-12	2-10	2-8
末次復發時間 月數	平均	6.5	7.2	6
	範圍	2-17	2-24	2-22

篩選T ₁ -加權MRI (第1個月) 帶有一或多個Gd加強病灶之掃描數 (%) Gd加強腦病灶數 平均 範圍	28(40) 1.6 0-42	29(43) 1.5 0-18	29(40) 1.7 0-23
基準線T ₁ -加權MRI (第0個月) 帶有一或多個新Gd加強病灶之掃描數 (%) 新Gd加強腦病灶數 平均 範圍	22(31) 1.3 0-28	29(43) 1.3 0-32	32(43) 1.4 0-12

初步結果

安慰劑如病人於6個月治療期間平均有9.6個新Gd加強病灶。接受納妥足穆組織對應值，3毫克/千克組為0.7 (P<0.0001)以及6毫克/千克組為1.1 (P<0.0001)(參考表2)。此項差異分別構成3毫克/千克組及6毫克/千克組之新Gd加強病灶減少93%及88%。處理組比較安慰劑組之差異於初次輸注後顯著(圖1)。

表 2：處理(第 1-6 個月)以及追蹤(第 9 至 12 個月)期間 MRI
 活性摘要

	安慰劑	3毫克 /千克	6毫克 /千克	P值*
新加強病灶M1				
平均	9.6	0.7	1.1	(i)<0.0001
中間值	2.0	0	0	(ii)<0.0001
標準差	27.4	2.1	2.7	
持續加強病灶M1-6				
平均	3.6	0.8	1.3	<0.0001
中間值	1	0	0	
標準差	6.5	1.9	2.6	
新活性病灶M1-6				
平均	9.7	0.8	1.1	<0.0001
中間值	2.0	0	0	
標準差	27.4	2.2	3	
活性掃描M1-6(%)	39%	9%	11%	(i)<0.0001 (ii)<0.0001
加強病灶容積M1-6 (立方毫米)				
平均	1169.0	156	279.0	(i)0.005
中間值	266	0	0	(ii)0.01
標準差	2666	359.0	632.0	
新加強病灶M9及12				
平均	2.5	2.6	2.1	(i)0.90
中間值	1.0	0.5	0	(ii)0.59
標準差	4.37	4.58	4.96	
持續加強病灶M9及12				
平均	0.2	0.1	0.1	0.029
中間值	0	0	0	
標準差	0.64	0.32	0.3	

新活性病灶M9及12				
平均	2.7	2.8	2.3	0.424
中間值	1.0	0.5	1.0	
標準差	4.49	5.69	5.11	
活性掃描M9及12(%)	42%	40%	35%	
加強病灶容積M9-12 (立方毫米)				
平均	427.0	323	233	0.260
中間值	88.0	31.0	0	
標準差	797.0	591.0	686	

* (i) 安慰劑與3毫克/千克納妥足穆之比較； (ii) 安慰劑與6毫克/千克納妥足穆之比較

二次MRI結果

比第1-6個月持續加強病灶、新活性病灶、總加強病灶容積以及活性掃描百分比之累進值皆有有意義且顯著的降低(表2；圖2)。

臨床功效結果

6個月處理期間，71位安慰劑組病人中之26位共報告35例復發；68位接受3毫克/千克納妥足穆病人中13位報告18例復發，以及74位接受6毫克/千克病人中的14位報告15例復發($P=0.05$ ，安慰劑相對於全部納妥足穆處理組辨認)。應用更嚴格的客觀復發標準，效果也同樣強：15位安慰劑組病人18例復發；3位接受3毫克/千克納妥足穆病人3例復發；8位接受6毫克/千克納妥足穆病人8例復發($P=0.05$)。安慰劑組的復發比處理組更需要類固醇治療(安慰劑組22例，3毫克/千克納妥足穆組5例，以及6毫克/千克納妥足穆組7例， $P=0.007$ ，安慰劑相對於全部納妥足穆處理組病人)。

有關VAS，安慰劑組病人未報告任何變化，納妥足穆病人報告至6個月為止健康情況改良，此時二組間之差異顯著($P=0.033$ ，安慰劑相對於全部納妥足穆處理組病人)。任一組於治療期間皆未見EDSS有顯著變化。

抗體濃度以及受體飽和度

於各次訪視病人時採集血清樣本，且使用酶連結免疫吸附檢定分析(ELISA)定量分析特別針對納妥足穆的抗體。納妥足穆血清濃度以及被納妥足穆佔據的受體也對每個處理組之12至14位病人小組做測量，分別係於各次輸注前以及初次輸注後及末次輸注後的2小時、24小時、1、2及3週測定。

血清抗體濃度係使用ELISA檢定分析測定。簡言之特異性結合至納妥足穆之捕捉抗體2.0微克/毫升溶液製備成含碳酸氫鈉至pH 8.3之溶液。100微升抗體溶液加至柯斯塔(Costar)96孔微力價孔板之各孔。孔板覆蓋孔板密封膠帶且於周圍溫度培養12-26小時。將孔板抽吸，200微升封阻緩衝液(0.25%酪蛋白於PBS，pH 7.4)添加至各孔且又於周圍溫度培養1小時。然後將孔板乾燥儲存供稍後處理，或孔板以300微升洗滌緩衝液(TBS，pH 7.5含0.05%吞恩-20)洗一次。若孔板經乾燥，則恰在使用前加入300微升洗滌緩衝液至各孔再度水合且培養1-2分鐘。孔板經抽乾且倒至於面紙上來吸掉過量水分。

試驗樣本於ELISA之前於酪蛋白之稀釋劑內稀釋(0.25%酪蛋白於PBS，含0.05%吞恩20，pH 7.4)。典型地，對各

樣本試驗2至3種稀釋液來確保納妥足穆值準確。也使用已知量納妥足穆準備稀釋對照樣本來監視其餘步驟的準確度。

100微升參考標準品、試驗試樣、或稀釋對照試樣添加至各孔，孔板於周圍溫度培育60-75分鐘時間。孔板以洗滌緩衝液洗三次，去除其餘水分。100微升新鮮經過稀釋之小鼠抗人IgG4-鹼性磷酸酶軛合物添加至各孔，孔板又於周圍溫度培育60分鐘。培育後，孔板以洗滌緩衝液洗4次，去除殘餘水分。使用經過校準之多通道吸量管加入100微升螢光酶基質A，孔板於周圍溫度培養45-60分鐘。各孔濃度係使用fmax螢光微孔板讀取器使用SOFTmax Pro 1.3.1版本方案檔案濃度102.ppr測定。

結果顯示於圖3及4。如圖所示，各次投藥皆納妥足穆濃度降低，至第7或8個月(亦即末次投藥後2至3個月間)大部分病人之抗體已經無法檢測。

除了測定血清抗體濃度，於給藥研究期間使用FACS分析測定受體飽和程度及特別VLA-4飽和程度。VLA-4飽和程度係藉間接免疫檢定分析使用流動細胞計量術測定。

約1毫升得自病人的血樣吸量分配兩根15毫升聚丙烯試管，添加冷洗滌緩衝液(人血清[史康巴帝(Scantibodies)實驗室公司編號3SH341]於PBS稀釋至3%)加至試管的14毫升記號。試管於10-15°C以2,200 rpm離心5分鐘，吸量出液體部分拋棄。細胞丸粒再度懸浮於冷洗滌緩衝液至總量1毫升。

於洗滌緩衝液製備500微克/毫升納妥足穆備用參考標準品。20微升稀釋後之納妥足穆備用參考品添加至第一根試管，20微升洗液添加至第二根試管，二試管於冰上於暗處培養30分鐘。培養後，試管內裝填洗滌緩衝液至14毫升記號，及於冷處以2,200 rpm離心5分鐘。上清液經吸取去除，第二次重複洗滌步驟。於第二次洗滌後，細胞再懸浮於洗滌緩衝液至1毫升記號。

10微升R-藻紅蛋白(PE)軛合抗人CDw49d抗體(法明貞(Pharmingen)公司，型號31475X)添加至各管且將試管溫和渦旋。試管於2-8°C於暗處培養10-15分鐘。培養後加入2毫升1X溶解溶液，pH 7.4，將各試管溫和渦旋。試管於冰上於2-8°C培養10-15分鐘，於冷處離心5分鐘，上清液由細胞丸粒吸取去除。細胞丸粒再懸浮於4毫升冷染色緩衝液，試管再度於冷處於2,200 rpm離心。然後極為小心去除上清液，加入0.5毫升固定溶液(歐索(Ortho's)固定液pH 7.6)，即刻渦旋試管，確保細胞懸浮於固定液內。至FACS檢定分析前試管覆蓋鋁箔。

然後各樣本用於分析VLA-4受體飽和程度，使用FACS卡利伯(Calibur)流動細胞計以及CellQuest軟體。於含及未含納妥足穆之樣本進行分析。CellQuest由流動細胞劑取得資料並分析資料。

受體飽和度顯示於圖5。第1-4月之受體飽和度係於該月份給藥之前測定。一個月給藥時間間隔產生的受體飽和度一致維持相當高，此種長期飽和度可維持抑制病理性發炎

以及疾病相關的生理標誌。平均飽和程度一個月之平均值維持於至少67%以及中間值至少75%。此種飽和度足夠抑制接受治療病人之腦部病變(參考圖1)。第2個月至第5個月以及第5個月投藥後之21週(於輸注前期研究測得飽和程度最低值)，比較平均值及中間值為特低，原因在於只有單一病人對納妥足穆有抗體反應。

隨著病人的受體飽和程度下降，治療效果也下降。受體飽和度平均值42%以及受體飽和度中間值41%時處理組未見病人腦病變的抑制(參考圖2及5)，因此需要長期受體飽和度高於此種程度才能使用如 $\alpha 4$ 抑制劑等劑有效壓抑病理性發炎。

安全性及耐受性

於3或6毫克/千克劑量重複使用納妥足穆處理，經歷6個月治療期，多發性硬化病人之耐受性顯然良好。各組因處理出現不良影響的病人數目類似。某些不良影響於納妥足穆組比安慰劑組更常見，但不顯著(表3)。經6個月治療時間納妥足穆組持續出現輕度淋巴細胞增多。

表3：納妥足穆處理組病人相對於對照組較常報告之不良影響*

	安慰劑	3毫克/千克(68)	6毫克/千克(74)
出現不良影響病人總數	68 (96%)	62 (91%)	70 (95%)
身體整體			
感染	10 (14%)	14 (21%)	14 (19%)
消化系統			
脹氣	0	4 (6%)	0 (0%)

神經系統			
口腔周圍異樣感覺	1 (1.0%)	5 (7%)	2 (3%)
呼吸系統			
竇炎	3 (4%)	7 (10%)	3 (4%)
咽炎	8 (11%)	10 (15%)	15 (20%)
皮膚及附屬器官			
發疹	4 (6%)	6 (9%)	8 (11%)
泌尿生殖系統			
感染	10 (14%)	14 (21%)	11 (15%)

*涵括於表中之數據要求安慰劑組與納妥足穆組之一間之不良影響發生率差異至少為5%。

安慰劑組及治療組之嚴重副作用(SAEs)數目報告並無顯著差異(亦即7位安慰劑組病人報告11例SAEs, 5位接受3毫克/千克納妥足穆病人報告5例SAEs, 以及3位接受6毫克/千克納妥足穆病人報告4例SAEs)。其中, 四例被視為是免疫媒介且與研究藥物有關。3毫克/千克組出現過敏休克反應伴有蕁麻疹以及支氣管痙攣, 快速使用抗組織胺以及類固醇治療加以逆轉。有三例血清病報告, 各組皆有一例包括安慰劑組。只有一例伴隨有補體濃度改變, 全部皆出現於相同的研究部位。整體而言此等合併症發生率低於250(輸注)分之一。

各組間因副作用而中斷治療的病人人數並無差異(亦即安慰劑組3人, 3毫克/千克組4人以及6毫克/千克組3人)。安慰劑組病人於研究中有一例死亡, 此一為胸膜癌合併血胸。

也評比抗體形成速率。整體言之, 15位納妥足穆處理組病人(11%)發展出抗納妥足穆抗體, 13位係於處理期間, 2

位係於處理後的追蹤期。目前未知出現抗納妥足穆抗體之臨床關聯(若有)。

納妥足穆之最高血清濃度與劑量相關，重複給藥未見顯著積聚。接受3毫克/千克納妥足穆病人於處理期顯示VLA-4受體飽和程度高於80%；接受6毫克/千克納妥足穆病人之受體占有率較高(約90%)且較長時間。

處理後追蹤：第6-12個月

新增強病灶及活性掃描(組合第9及12個月)之累進值全部三組且類似(表2)。第9個月時6毫克/千克組之活性傾向於較低。三組間報告臨床復發總數並無顯著差異：安慰劑組24例，3毫克/千克組24例，以及6毫克/千克組26例，或藉預定客觀標準測定之復發病例數於三組間也無顯著差異。

本研究首度於人體提供強烈MRI及臨床證據顯示選擇性抑制 $\alpha 4$ 組合蛋白質媒介的白血球黏附及交通是一種長期慢性治療多發性硬化的有效辦法。兩種劑量之 $\alpha 4$ 組合蛋白質特異性人化單株抗體(納妥足穆)用於患有多發性硬化病人抑制新Gd加強性發炎性腦病灶經歷6個月處理時間，證實比較安慰劑組由高度統計上顯著效果。納妥足穆處理組病人之病灶減少可於初次注射後1個月觀察得，且持續經歷整個治療期。對兩種劑量而言，減低程度約90%，效果大於 β 干擾素報告減低50至70%(MS/MRI分析組，1995神經學4：1277-1285；Jacobs等人，1996神經學年報39：285-294；以及PRISMS(藉皮下注射干擾素 β -1a用於多發

性硬化預防復發以及病廢失能)研究組，1998刺絡針352：1498-1504)。

此外，本試驗中納妥足穆對MRI結果的影響可由臨床觀察獲得證實。本研究不夠前瞻性來顯示對臨床結果的影響。雖言如此，使用納妥足穆處理可獲得復發率顯著減低以及病人感覺健康情況變佳。考慮全部報告的臨床復發病例時，二納妥足穆組於6個月處理期間復發數目皆比安慰劑組顯著更少。使用預定復發標準，此乃更嚴格的測量方式，預定復發標準要求客觀病徵的變化，也觀察得復發顯著降低。納妥足穆對復發的影響係超過目前核准用於多發性硬化之治療法，該等治療之顯示約30%效果(MS/MRI分析組，參見上文；Jacobs等人，參見上文；PRISMS研究組，參見上文；Johnson等人，1995神經學45：1268-76)。

重要地，納妥足穆組於結束治療後對新MRI病灶或復發會出現反彈效應。此外，每月輸注納妥足穆經歷6個月之耐受性良好，安全度類似安慰劑，因此可接受用於長期慢性治療多發性硬化。

本研究結果進一步證實 $\alpha 4$ 組合蛋白質以及表現該蛋白質之免疫細胞於MS病人急性發炎症腦病變病因上扮演的角色。經1個月治療期後，新Gd增強病灶減少。此項觀察提示納妥足穆經由防止新病灶出現可作用於病灶發展的早期。

要言之，於本復發型MS病人之安慰劑對照試驗中，納妥足穆顯示對臨床有意義參數之強力影響。於6個月試驗

期間，治療耐受性良好。本研究中納妥足穆對新發炎CNS病灶的出現、臨床復發的發生以及病人福祉的有利效果，指示納妥足穆用於正在進行之較為長期研究可能對病廢失能的效果。

實施例2

克隆氏病之納妥足穆對照試驗

方法

雙盲式安慰劑對照試驗中，248位患有中度至重度活動性克隆氏病(CD)病人隨機分組接受兩次輸注安慰劑或一次輸注3毫克/千克納妥足穆接著輸注安慰劑；或兩次輸注3毫克/千克或6毫克/千克納妥足穆，兩次輸注間隔時間4週。測量結果包括克隆氏病活動性指數(CDAI)、健康相關生活品質(QOL)以及血清C反應性蛋白質濃度。

納妥足穆可提升臨床緩解率及臨床反應率，改良患有活動性CD病人之QOL，同時顯示可接受用於治療此種疾病之安全性側繪。

病人族群

接到當地倫理委員會之核准後，各中心篩選18歲以上之男性及女性病人，其具有中度至重度活動性CD臨床證據，定義為CDAI至少220但小於或等於450。311位篩選之病人中，248位隨機分組於35個研究中心，研究中心分散於比利時、捷克共和國、丹麥、德國、以色列、荷蘭、瑞典及英國，研究時間由1999年9月至2000年8月。全部病人皆知情且取得書面同意。於3個月以內曾經接受美受崔賽、

環孢靈或任何研究藥劑的病人被排除；接受阿哲席歐平或6-巰基嘌呤之病人則要求已經穩定用藥至少4個月。其它排除於研究之外包括先前接受抗體治療；目前使用口服普尼梭隆劑量大於25毫克/日；目前使用元素膳食或靜脈營養；腸道傳染病或腫瘤；三個月內曾經接受腸道手術；存在有結腸造口、迴腸造口或帶有結腸直腸吻合之結腸直腸造口；症狀主要係由於纖維硬化狹窄所致；以及臨床印象病人可能在近期內需要接受緊急腹部手術。

研究設計以及隨機分配

合格病人根據電腦產生之方塊隨機分配計畫分配至四個處理組織液。各組接受兩次靜脈輸注，間隔4週時間。四處理組中包括兩次輸注安慰劑；一次輸注3毫克/千克納妥足穆接著為輸注安慰劑；以及兩次輸注3或6毫克/千克納妥足穆。調查者、所有其它研究人員以及病人皆未知處理分配情況。

研究程序及終點

主要功效終點為第6週病人緩解(CDAI小於150)之比例。CDAI供合併8種相關變數：每日水瀉或極軟便次數、腹痛或腹絞痛嚴重程度、全面性健康狀況、是否存在有腸外疾病表徵、腹部是否硬塊存在、止瀉藥的使用、血容及體重(Best等人，1976胃腸道學70：439-441；以及Summers等人，1979胃腸道學77：847-69)。分數低於150表示緩解；分數介於150至219表示輕度活動性疾病，220至450表示中度活動性疾病，分數高於450分表示嚴重活動性疾病。

其它前瞻性終點為顯示臨床反應之病人比例(亦即CDAI至少降低70分)、藉發炎性腸病特殊問卷量測之健康相關生活品質、IBDQ (Irvine等人, 1994胃腸道學106: 287-96)以及C反應性蛋白質血中濃度。

安全性評估包括記錄不良副作用以及臨床實驗室的監控於整個研究皆持續進行。獨立的安全性資料監督委員會提供額外監督水平。每次訪視時採集血清樣本, 藉酶連結免疫吸附檢定分析(ELISA)分析抗納妥足穆抗體。

統計分析

全部功效分析皆利用自願治療(ITT)最末觀察攜帶前向(LOCF)族群, 全部病人皆為隨機分配組成(n=248)。使用拯救性藥物的病人規類為治療失敗。安全族群(n=244)係由隨機分配及給藥族群組成。四位病人由於不適任故未給藥。

全部統計試驗皆為雙邊, 皆為5%統計顯著程度。進行活性處理相對於安慰劑之三對試驗。緩解率及反應率係藉科曼漢 χ 平方試驗分析(概略關聯)(Landis等人, 1978國際統計綜論46: 237-54), 使用國家為階層。共同隨機變量對緩解及反應的影響(是或否)係於第6週使用邏輯迴歸分析。

共計算每組60人之樣本大小, 獲得80%倍率(5%顯著程度), 來偵測反應率的差異, 假設納妥足穆組為40%反應率, 以及安慰劑組為15%反應率。

使用對國家以及處理組有固定影響的雙向變因分析模式

來比較平均CDAI比基準線的降低情況。試驗比較各活性處理組對安慰劑組的對比。

C反應性蛋白質及IBDQ資料係使用WMW試驗分析來比較三組活性處理組與安慰劑組間相對於基準線的變化。於前瞻性規劃分析中，對C反應性蛋白質濃度於基準線時(第0週)高於正常範圍上限8毫克/升之病人比較C反應性蛋白質濃度。

結果

各組於基準線之人口統計學特性、CDAI分數、疾病部位以及用藥可做比較(表4)。第0週評比時，大部分病人皆接受其它CD用藥，包括5-ASA化合物(48至64%)、口服類固醇(46至63%)或阿哲席歐平/6-巰基嘌呤(18至37%)附帶或未附帶使用其它藥劑。27位病人於完成12週試驗期之前由試驗中退出：安慰劑組10人，3+0、3+3及6+6毫克/千克納妥足穆組分別為6人、5人及6人。

表4：基準線之人口統計特色及用藥

特色	安慰劑	3+0 毫克/千克	3+3 毫克/千克	6+6 毫克/千克
隨機分組病人	63	68	66	51
平均年齡及範圍(歲)	34 (18-68)	36 (18-66)	36 (19-64)	35 (19-62)
平均發病期間及範圍(年)	8.9 (0.3-64.3)	8.4 (0.5-27.5)	8.1 (0.5-22)	7.8 (0.6-29)
平均基準線CDAI及範圍*	300 (186-447)	288 (211-427)	298 (219-442)	296 (210-429)
發病部位：				
迴腸	15 (24%)	9 (13%)	17 (26%)	12 (24%)
結腸	11 (17%)	16 (24%)	16 (24%)	16 (31%)
迴腸結腸	37 (59%)	43 (63%)	33 (50%)	23 (45%)
性別：女性	33 (52%)	41 (60%)	36 (55%)	26 (51%)
平均體重及範圍(千克)	68 (42-100)	66 (41-95)	64 (44-97)	69 (44-98)
伴隨用藥				
未使用克隆氏病之伴隨用藥	12 (19%)	11 (16%)	9 (14%)	5 (10%)

疾病				
5ASA化合物	30 (48%)	40 (59%)	42 (64%)	30 (59%)
口服類固醇	31 (49%)	31 (46%)	37 (56%)	32 (63%)
阿哲席歐平或6-MP (±類固醇)	2 (35%)	25 (37%)	17 (26%)	9 (18%)

248位病人中8位有基準線CDAI分數小於220。基於其篩選之血容，8位病人中有5人適任(CDAI \geq 220)，血容為隨機取得值，但隨後使用基準線血容再度計算時分數小於220。另外3位病人的CDAI分數於隨機分配時未能正確計算。

[†]5 ASAs、類固醇或免疫抑制劑。

臨床反應、緩解及平均CDAI分數

全部三組納妥足穆組於第4、6及8週時，達成臨床反應(換言之，CDAI比基準線至少降低70分)的病人比例於統計上顯著大於安慰劑組(表5及圖6)，於接受兩次輸注納妥足穆組病人，此種效果可持續12週。早在初次處理後的兩週，臨床反應率及觀察得改良區時，3+3毫克/千克納妥足穆組證實於此時間點，與安慰劑組於統計上有顯著差異。平均CDAI分數比基準線分數降低結果(表6)吻合反應率之所見。

表5：ITT族群之緩解及臨床反應率

時間點	安慰劑	3+0毫克/千克	3+3毫克/千克	6+6毫克/千克
	(N=63)	納妥足穆 (N=68)	納妥足穆 (N=66)	納妥足穆 (N=51)
緩解(CDAI<150)				
病人數(%)				
第2週	6 (10)	10 (15)	13 (20)	6 (12)
P值		0.328	0.127	0.745

第4週	9 (14)	21 (31)	19 (29)	15 (29)
P值		0.02	0.027	0.028
第6週(初步終點)	17 (27)	20 (29)	29 (44)	16 (31)
P值		0.757	0.030	0.533
第8週	10 (16)	19 (28)	27 (41)	22 (43)
P值		0.107	<0.001	<0.001
第12週	17 (27)	19 (28)	28 (42)	21 (41)
P值		0.992	0.042	0.091
反應(下降分數≥70)				
病人數(%)				
第2週	19 (30)	31 (46)	36 (55)	22 (43)
P值		0.081	0.004	0.136
第4週	18 (29)	32 (47)	41 (62)	27 (53)
P值		0.029	<0.001	0.006
第6週	24 (38)	40 (59)	47 (71)	29 (57)
P值		0.022	<0.001	0.039
第7週	22 (35)	38 (56)	44 (67)	28 (55)
P值		0.018	<0.001	0.028
第12週	27 (43)	34 (50)	40 (61)	33 (65)
P值		0.503	0.033	0.018

粗體字強調與安慰劑組比較時於統計上為顯著的結果。

表 6. 平均 CDAI 分數比基準線降低

時間點	安慰劑	3+0毫克/千克	3+3毫克/千克	6+6毫克/千克
	(N=63)	納妥足穆 (N=68)	納妥足穆 (N=66)	納妥足穆 (N=51)
CDAI分數比基準線平均降低(標準差)				
第2週	39.3 (73.5)	63.5 (74.8)	80.0 (68.9)	60.5 (68.3)
相對於安慰劑組之P值		0.061	0.001	0.103
第4週	37.3 (88.8)	79.9 (89.5)	100.7 (76.4)	84.2 (90.5)
相對於安慰劑組之P值		0.004	<0.001	0.003
第6週	49.3 (97.8)	81.5 (86.1)	119.4 (79.1)	97.2 (94)
相對於安慰劑組之P值		0.042	<0.001	0.004

第8週	49.7 (99.5)	82.4 (87.2)	117.8 (90.7)	106.9 (102.9)
相對於安慰劑組之P值		0.053	<0.001	0.001
第12週	63.1 (103.9)	70.1 (91.7)	119.2 (111)	112.5 (96.4)
相對於安慰劑組之P值		0.729	0.001	0.008

比基準線降低定義為(第0週-第n週)

SD = 標準差

粗體字強調與安慰劑組比較時於統計上顯著的結果。

初次處理後4週，病人接受第二次處理前，全部三組納妥足穆組比較安慰劑組病人之緩解率皆為統計上顯著較高緩解率(表5及圖7)。但於第6週，前瞻性定義初步終點，臨床緩解病人比例只有3+3毫克/千克納妥足穆組比安慰劑組於統計上顯著較高。第8週時，兩組接受兩次輸注納妥足穆(3或6毫克/千克)比較安慰劑組顯示統計上顯著較高的緩解率。第12週時，3+3毫克/千克納妥足穆組持續驗證臨床緩解之效果於統計上顯著優於安慰劑組，6+6毫克/千克組驗證此項結果強力傾向於優於安慰劑組。

緩解或反應之預測因子

使用第6週結果，進行分析，來識別可預測緩解或臨床反應之基準線變數。檢驗之變數包括疾病部位、病程時間、基準線CDAI分數、伴隨使用口服類固醇、伴隨使用阿哲席歐平或6-巰基嘌呤以及腸道外症狀。基準線CDAI分數是顯著緩解預測因子($P < 0.001$)；有較高基準線CDAI之病人較不可能緩解。但基準線CDAI無法預測反應機率。所有其它分析變數皆為緩解或反應之非顯著預測因子。

生活品質

第6週時全部納妥足穆處理組比安慰劑組之平均IBDQ分數皆觀察得統計上顯著改良。第12週時，只有接受兩次輸注納妥足穆處理組持續呈現IBDQ分數顯著高於安慰劑組(表7)。

表7. 平均IBDQ分數

時間點	安慰劑	3+0毫克/千克納妥足穆	3+3毫克/千克納妥足穆	6+6毫克/千克納妥足穆
	(N=63)	(N=68)	(N=66)	(N=51)
平均IBDQ分數，平均(範圍)				
第0週	130 (66-192)	130 (52-188)	136 (79-194)	122 (55-194)
第6週	142 (61-129)	157 (81-221)	163 (99-211)	155 (67-224)
P值		0.008	<0.001	<0.001
第12週	145 (61-217)	151 (81-221)	163 (86-221)	153 (64-215)
P值		0.486	0.021	0.014

粗體字強調對各處理之基準線做比較時，IBDQ分數改良。

C反應性蛋白質

基準線時血清C反應性蛋白質濃度升高病人於試驗期間定期接受血清C反應性蛋白質濃度評比。兩次輸注納妥足穆病人平均血清C反應性蛋白質濃度比安慰劑組病人由基準線值顯著降低(圖8)。接受兩次3毫克/千克納妥足穆輸注病人可維持改良經歷12週時間。

安全性及耐受性

全部劑量水平之納妥足穆處理經歷12週的研究期間耐受性良好。各組中由於副作用而從研究中退出的病人數類似(安慰劑組2人、3毫克/千克納妥足穆組1人、3+3毫克/千

克納妥足穆組2人以及6+6毫克/千克納妥足穆組3人)。總而言之，主研究期間共有31位病人報告重度不良影響(亦即安慰劑組9人、3毫克/千克納妥足穆組8人、3+3毫克/千克納妥足穆組8人以及6+6毫克/千克納妥足穆組6人)。有關研究藥物評估未觀察得嚴重副作用，且無任何副作用為致命；大部分係因CD引起之併發症或症狀而住院。緊急處理副作用之病人數於各處理組皆類似：安慰劑組52人(83%)、3毫克/千克納妥足穆組51人(78%)、3+3毫克/千克納妥足穆組57人(88%)以及6+6毫克/千克納妥足穆組41人(80%)。表8顯示副作用非關係地之發生率於納妥足穆組比安慰劑組至少高5%。各類型副作用中並無任一類型副作用與安慰劑組有顯著差異，且無任一者對患有中度至重度CD病人使用納妥足穆造成無法接受的安全性情況。

表8：比安慰劑組發生率高5%之非關克隆氏病之不良影響以及其它副作用

好發副作用	安慰劑 N=63%	3+0 N=65	3+3 N=65	6+6 N=51
胸痛	0 (0)	2 (3)	2 (3)	4 (8)
結膜炎	0 (0)	2 (3)	5 (8)	0 (0)
頭昏	0 (0)	6 (9)	3 (5)	0 (0)
發燒	1 (2)	4 (6)	3 (5)	4 (8)
流感症候群	6 (10)	9 (14)	7 (11)	10 (20)
頭痛	20 (32)	19 (29)	27 (42)	14 (27)
疼痛	4 (6)	4 (6)	4 (6)	11 (22)
竇炎	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (6)
其它副作用：				
輸注反應*	0 (0)	0 (0)	1 (2)	1 (2)

帶有抗納妥足穆抗體 病人	0 (0)	8 (13)	4 (6)	1 (2)
-----------------	-------	--------	-------	-------

*結果導致輸注中斷或中止。

第12週時13位納妥足穆處理組病人(7%)檢測出抗納妥足穆抗體。總而言之，帶有可檢測之抗納妥足穆抗體病人比不帶有可檢測之抗納妥足穆抗體病人更不可能出現不良事件或重度不良事件。

兩位病人出現輸注反應；兩位皆發生在第二次輸注時。3+3毫克/千克納妥足穆組病人出現輕度搔癢及紅疹症狀，隨後發現抗納妥足穆抗體為陽性。6+6毫克/千克納妥足穆組病人出現輕度搔癢及咳嗽症狀。此等症狀無需處理可自動緩解，隨後發現病人之抗納妥足穆抗體檢測呈陰性反應。

雖然前瞻性定義一次功效終點(臨床緩解定義為第6週時CDAI小於150)唯有3+3毫克/千克納妥足穆組顯著優於安慰劑組，3+3毫克/千克組的四個分開時間點(第4、6、8及12週)以及6+6毫克/千克組之兩個時間點(第4及8週，第12週時趨勢為有利)觀察得結果顯著優於安慰劑組。病人出現臨床反應(定義為CDAI比基準線至少降低70分)之病人比例對全部三組納妥足穆組於第4、6及8週時間點皆顯著優於安慰劑組，於第12週時間點兩組皆受兩次輸注納妥足穆組顯著優於安慰劑組，組合此等觀察結果，強力證實納妥足穆用於治療中度至重度活動性CD的效果。此外，基於CDAI的改進，納妥足穆對臨床反應率及緩解率的有利

效果可由健康相關QOL、IBDQ測量值以及血清C反應性蛋白質的改良、定量全面性資訊使用的急性期反應物獲得確證。

克隆氏病試驗之受體飽和劑量程度可媲美多發性硬化試驗的劑量，受體飽和程度可媲美克隆氏病試驗。克隆氏病試驗之受體飽和程度與發炎程度的降低有關，如CDAI驗證，由C反應性蛋白質濃度以及整體病人福祉的改良。

對納妥足穆處理組之任一組皆未見嚴重安全性顧慮。出現可偵測之抗納妥足穆抗體病人百分比低，未見關聯可偵測之抗納妥足穆抗體之嚴重不良事件。

本研究提供 $\alpha 4$ 組合蛋白質被納妥足穆拮抗用於治療活動性中度至重度克隆氏病的臨床徵象及症狀之功效及耐受性等必要證據。此外，此等資料提供 $\alpha 4$ 組合蛋白質拮抗是治療克隆氏病有效機轉的證據提示此種研究模式可更廣義應用於治療慢性自體免疫病以及發炎病。

實施例3

於活動性發炎性腸病納妥足穆對循環活化白血球的影響

白血球子集的行徑路徑涉及發炎性腸病(IBD)的病因。由於 $\alpha 4$ 組合蛋白質為白血球遷移跨越血管內皮的關鍵性媒介物質， $\alpha 4$ 組合蛋白質表現於全部白血球(嗜中性血球除外)，單劑3毫克/千克納妥足穆(安堤格林(Antegren®))輸注對活動性發炎性腸病病人(IBD)的基本循環白血球子集、天然殺手細胞(NK)以及活化T細胞有影響。先前顯示單劑3毫克/千克輸注納妥足穆可產生動物以及健康人類自

願者循環周邊血液白血球持續升高(「使用安堤格林於復原6週彌猴之6個月每週靜脈輸注毒性研究」, Athena報告1998年, 第723-013-098號)。但未見納妥足穆是否對白血球子集產生差異影響, 全部白血球(嗜中性血球除外)皆表現 $\alpha 4$ 組合蛋白質。

方法

由30位克隆氏病(CD; 18位納妥足穆, 12位安慰劑)以及10位潰瘍性結腸炎(UC; 全部皆接受納妥足穆, 無安慰劑組)病人於輸注前、輸注後1、2、4、8及12週由周邊血液萃取白血球藉螢光活化細胞分選器(FACS)作分析。測定於各時間點的血清納妥足穆濃度以及疾病活動性分數。

比較基準線之變化顯著($p < 0.05$)以及交互關係分別係藉威可森及史爾曼試驗(Wilcoxon and Spearman tests)試驗。威可森之病症排序試驗分析白血球子集變化且於各處理組對基準線做比較($p < 0.05$ 表示顯著)。史爾曼排序交互關係試驗用來評估該等接受納妥足穆病人之疾病活動性參數、納妥足穆濃度及白血球子集間之交互關聯。

恰在納妥足穆/安慰劑輸注前以及再度於輸注後的1、2、4、8及12週採集靜脈血。淋巴製備方法(LymphoprepTM method) (尼康(Nycomed), 丹麥)用來於分析前分離周邊血液淋巴球(PBLs), 該分析係利用多彩螢光活化細胞分選器(FACS; 貝騰迪金森(Becton Dickenson), 英國牛津)結合Consort 30軟體進行(Amlot等人, 1996臨床實驗免疫學105: 176-82)。表現下列標記之PBL百分比係使用FACS分析

測量：CD19 (B細胞)、TCR $\alpha\beta$ (T細胞)、CD3 (pan-T細胞)、TCR $\gamma\delta$ (T細胞)、CD4 (助手/TH-1 T細胞)、CD8 (胞毒性/阻遏T細胞)以及CD16 (NK細胞)。

除了天然(CD45RA)以及記憶(CD45RO) T細胞子集以及「NK-T細胞」(CD57⁺/CD3⁺)外，測量可表現活化抗原CD38、CD25 (介白質-2受體 α 鏈)、CD26、CD69及HLA-DR之TCR $\alpha\beta$ 細胞百分比。也測量可表現活化抗原CD28及HLA-DR之胞毒性細胞/阻遏T細胞(CD8⁺)百分比。

結果。於納妥足穆後 ≥ 1 週，嗜伊紅細胞、單核細胞、B細胞及T細胞數目皆顯著提高。淋巴細胞總數包括B細胞及T細胞比基準線濃度皆顯著提高。嗜中性細胞數目與嗜鹼性細胞數目不變。表現活化標記CD25、CD26、HLA-DR、CD8DR、CD8、CD28、CD45RO及CD45RA之T細胞於UC及CD病人分別於 ≥ 4 週以及1週比基準線顯著升高。CD38⁺及CD69⁺ T細胞只有於潰瘍性結腸炎病人 ≥ 1 週後提高。全部病人輸注後的NK細胞不變；只有CD病人於1週時NK型T細胞(CD57⁺)升高。CD/UC病人的($\gamma\delta$)T細胞無顯著變化。T細胞子集的變化與疾病的活動性或血清納妥足穆濃度無交互關聯。安慰劑之後未偵測得納妥足穆後之白血球變化。

克隆氏病病人($p=0.002$)以及潰瘍性結腸炎病人($p=0.02$)輸注後4週淋巴球數目維持升高，第8週返回治療前數值(Gordon等人，2002疾病藥理與治療 16：699-706；以及Gordon等人，2001胃腸學 121：268-74)。

納妥足穆對循環嗜伊紅細胞以及單核細胞的影響顯示於圖9A及圖9B。全部研究病人組觀察得嗜伊紅細胞及嗜鹼性細胞數目保持不變。圖10及11證實於克隆氏病病人以及潰瘍性結腸炎病人，投予納妥足穆對特定循環T細胞以及天然殺手細胞的影響。

輸注安慰劑後，基本白血球子集未見顯著變化。11位安慰劑組病人投予安慰劑顯示於表9。唯有克隆氏病病人的個別時間點才偵測得表現活化抗原的淋巴細胞變化(表10)。

表9：接受安慰劑處理克隆氏病病人的淋巴細胞結果

子集細胞 x10 ⁶ /毫升	第0週		第1週		第2週		第4週		第8週	
	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差
白血球	.60	.33	.55	.36	.82	.67	.48	.29	.51	.31
嗜中性細胞	.21	.75	.18	.48	.86	.36	.61	.26	.91	.15
嗜伊紅細胞	.19	.16	.17	.13	.15	.13	.20	.12	.14	.10
嗜鹼性細胞	.19	.30	.14	.09	.09	.07	.09	.03	.08	.05
單核細胞	.60	.33	.55	.36	.82	.67	.48	.29	.51	.31

表9投予安慰劑後平均(標準差)白血球子集值；任一組比較基準線(第0週)值未見顯著差異。

表10：接受安慰劑處理克隆氏病病人之T細胞及NK細胞標記

子集細胞 x10 ⁶ /毫升	第0週		第1週		第2週		第4週		第8週		第12週	
	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差
淋巴細胞	.36	.57	.12	.57	.83	.08	.34	.98	.28	.74	.62	.84
TCRαβ+	.99	.53	.81	.56	.28	.88	.98	.84	.95	.79	.17	.81
CD25+	.18	.11	.12	.07	.27	.22	.17	.17	.18	.15	.22	.17
CD26+	.49	.32	.38	.27	.80	.61	.54	.49	.54	.55	.58	.43
CD45RA+	.74	.41	.57	.39	.95	.69	.68	.59	.68	.57	.84	.56
CD45RO+	.42	.20	.31	.18	.50	.27	.39	.24	.42	.35	.50	.33
CD38+	.42	.29	.31	.23	.46	.38	.35	.27	.33	.25	.40	.25
CD69+	.14	.20	.67	.71	.13	.12	.05	.04	.12	.22	.10	.08

HLA-DR+	.19	.10	.15	.08	.25	.20	.16	.11	.17	.10	.22	.16
CD8+	.11	.09	.09	.06	.16	.15	.09	.07	.08	.05	.12	.11
CD8+CD28+	.21	.11	.16	.11	.30	.20	.22	.21	.20	.18	.23	.14
CD8+DR+	.11	.09	.09	.06	.16	.15	.09	.07	.08	.05	.12	.11
CD57+CD3+	.08	.06	.06	.05	.10	.10	.07	.04	.07	.05	.10	.15
CD16+CD3-	.11	.09	.12	.09	.16	.18	.09	.04	.12	.12	.17	.19
TCR $\gamma\delta$ +	.11	.16	.08	.09	.18	.28	.10	.13	.09	.09	.11	.10
κ MAb+	.02	.02	.03	.05	.05	.08	.07	.09	.03	.04	.10	.01

表10各欄顯示克隆氏病研究安慰劑組病人比較基準線值之T細胞子集及NK型細胞平均數(標準差)(威可森病徵排序試驗； $p < 0.05$)。比較基準線之顯著差異係以粗體字顯示。各項平均之標準差係以斜體字母顯示。

克隆氏病或潰瘍性結腸炎病人之總淋巴細胞數目與疾病活動性分數間並無顯著交互關聯(表11及12)，個別淋巴細胞子集與活動性間也未見顯著交互關聯。輸注後1、2或4週之血清納妥足穆濃度以及白血球子集變化間未偵測得顯著交互關聯。第8週時幾乎全部病人皆無法偵測得納妥足穆。因此該時間點未計算交互關聯。

表11：比較淋巴細胞子集與細胞活動性之史爾曼R值

子集	克隆氏病			潰瘍性結腸炎		
	第1週	第2週	第4週	第1週	第2週	第4週
淋巴細胞	0.16	-0.37	-0.01	-0.63	-0.19	0.03
TCR $\alpha\beta$	0.26	-0.29	0.05	-0.59	-0.39	0
CD25	0.44	0.07	0.13	-0.39	-0.46	0.17
CD26	0.31	-0.22	-0.11	-0.39	-0.29	0.10
CD45RA	0.29	-0.25	0.19	-0.54	-0.39	0.51
CD45RO	0.32	-0.27	0.34	0.18	-0.17	-0.05
CD38	0.31	-0.08	0.01	-0.57	0.03	-0.05
CD69	-0.32	0.12	0.12	-0.15	0.28	0.12
HLA-DR	0.19	-0.05	-0.01	0.12	-0.13	0.15
CD8CD28	0.01	-0.17	-0.13	-0.18	-0.04	-0.17
CD8DR	0.11	-0.19	-0.18	-0.1	0.07	0.24

CD57	0.19	-0.08	-0.04	0.21	-0.15	0.15
CD16	-0.08	-0.3	-0.15	-0.19	0.1	-0.32
TCR $\gamma\delta$	0.34	0.14	-0.31	-0.63	-0.47	-0.66
κ Mab	-0.11	-0.02	-0.2	0.05	-0.27	0.19

表11 淋巴細胞子集數目與CDAI (克隆氏病病人)或鮑威塔克分數(Powell-Tuck score)(潰瘍性結腸炎)間未見顯著交互關聯。

表12：比較淋巴細胞子集與血清納妥足穆之史爾曼R值

子集	克隆氏病			潰瘍性結腸炎		
	第1週	第2週	第4週	第1週	第2週	第4週
淋巴細胞	0.03	0.49	0.64	0.1	-0.02	0.18
TCR $\alpha\beta$	-0.11	0.35	0.51	-0.04	0.28	-0.11
CD25	-0.09	0.03	0.26	0.25	-0.07	-0.25
CD26	-0.07	0.28	0.61	0.20	0.22	-0.14
CD45RA	0.19	0.29	0.62	-0.12	-0.25	-0.32
CD45RO	-0.16	0.32	0.34	0.37	0.08	0.39
CD38	0.06	0.18	-0.34	-0.01	-0.45	-0.43
CD69	0.02	0.26	0.57	0.2	-0.22	0.14
HLA-DR	0.05	0.13	-0.25	0.08	0.27	-0.07
CD8CD28	-0.18	0.16	0.41	0.25	0.07	0.32
CD8DR	0.4	0.16	0.004	0.08	0.3	-0.18
CD57	0.1	-0.06	-0.31	-0.08	0.03	0
CD16	0.22	0.19	-0.5	0.13	0.37	0.25
TCR $\gamma\delta$	0.002	-0.16	-0.2	0.21	0.61	0.6
κ Mab	-0.07	-0.27	0.29	0.41	0.45	-0.41

表12 疾病活動性與淋巴細胞子集間未見顯著交互關聯，第4週的淋巴細胞總數除外($p=0.04$)。

基於前述資料，單次輸注3毫克/千克納妥足穆可於患有活動性IBD病人提高大部分(但非全部)白血球子集的循環濃度。大部分病人之循環嗜伊紅細胞、單核細胞以及淋巴

細胞數目皆顯著高於基準線值經歷至少輸注後4週時間。寬廣範圍之循環T細胞子集顯著提高高於預定值，特別表現活化抗原的循環T細胞子集。但NK細胞數目(CD16⁺/CD3⁻)不受納妥足穆影響，CD57⁺T細胞受納妥足穆影響程度原比T細胞子集低。表現 $\gamma\delta$ T細胞受體淋巴細胞也不受納妥足穆影響，提示 $\alpha 4$ 組合蛋白質未表現，或該等細胞的表現程度較低。

如此於活動性IBD病人納妥足穆可限制白血球的行進交通，維持多種白血球以及活化淋巴細胞子集於循環中。NK細胞、 $\gamma\delta$ 細胞、嗜中性細胞及嗜鹼性細胞顯然不受投予納妥足穆影響，提示為此等細胞類型通過血管內皮的較非重要媒介物質。

雖然已經參照特定具體實施例說明本發明，但熟諳技藝人士了解可未悖離本發明之精髓及範圍做出多項變化以及以相當例做取代。此外可做多項修改來讓特殊情況、材料、物質組成物、方法、方法步驟、適合本發明之目的、精髓及範圍。全部此等修改意圖皆涵蓋於本發明之範圍。

此處引述之全部參考文獻皆以引用方式併入此處以供參考。

【圖式簡單說明】

圖1為線圖顯示多發性硬化病人投予納妥足穆後新Gd加強病灶的累進平均數；

圖2顯示納妥足穆多發性硬化研究期間於各個時間點之活動性掃描百分比。活動性掃描為含有一或多個新Gd加

強病灶病人；

圖 3A-C 及 4A-C 顯示 MS 研究之給藥時間點後納妥足穆血清濃度。圖 3A-C 顯示 3 毫克/千克研究之濃度。圖 4A-C 顯示 6 毫克/千克研究之濃度；

圖 5A-F 顯示 MS 研究病人維持受體飽和度。顯示程度為百分比值；

圖 6 及 7 顯示於 CD 研究投藥後達成臨床反應(圖 6)或緩解(圖 7)預定標準的病人百分比；

圖 8 顯示 CD 研究於基準線之 C 反應性蛋白質升高病人子集中血清 C 反應性蛋白質平均變化。基準線值為(以毫克/升表示)：安慰劑組，38.44 (N=26)；3+0 毫克/千克組，32.35 (N=38)；3+3 毫克/千克組，41.16 (N=33)；及 6+6 毫克/千克組，333 (N=26)；

圖 9A-B 分別顯示患有活動性克隆氏病(CD)以及潰瘍性結腸炎(UC)病人之納妥足穆對循環嗜伊紅細胞的影響。圖 9A 顯示輸注 3 毫克/千克納妥足穆後，克隆氏病(n=18)以及潰瘍性結腸炎病人(n=12)納妥足穆顯著提高循環嗜伊紅血球數目。圖 9B 顯示活動性克隆氏病以及潰瘍性結腸炎病人輸注 3 毫克/千克納妥足穆後，投予納妥足穆顯著提高單核細胞數目；

圖 10A-D 顯示投予納妥足穆對可表現活化抗原之 $TCR\alpha\beta^+$ 細胞之影響。A 圖顯示納妥足穆用於患有活動性克隆氏病病人的影響，亦即可表現 CD26、HLA-DR、CD8DR 以及 CD8 CD28 之 $TCR\alpha\beta^+$ 細胞數目顯著增加至輸注

3毫克/千克納妥足穆後至少4週。B圖顯示納妥足穆用於患有活動性潰瘍性結腸炎病人的影響，亦即可表現CD26、HLA-DR、CD8DR以及CD8CD28之 $TCR\alpha\beta^+$ 細胞數目顯著增加至輸注3毫克/千克納妥足穆後至少4週。C圖顯示投予納妥足穆於患有活動性克隆氏病病人，對可表現活化抗原之 $TCR\alpha\beta^+$ 細胞以及記憶標記及天然標記的影響，換言之，記憶細胞(CD45RO)以及天然細胞(CD45RA) $TCR\alpha\beta^+$ 細胞顯著增高至納妥足穆輸注後至少4週。D圖顯示於患有活動性潰瘍性結腸炎病人，納妥足穆對可表現活動性抗原之 $TCR\alpha\beta^+$ 細胞、記憶及天然標記的影響，亦即記憶(CD45RO)、天然(CD45RA)、CD69及CD38 $TCR\alpha\beta^+$ 細胞於納妥足穆投藥後一週顯著升高；及

圖 11A-B 分別顯示納妥足穆對患有活動性克隆氏病以及潰瘍性結腸炎病人之循環 $TCR\alpha\beta^+$ 以及 NK 型細胞的影響。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：1001125584

※申請日：92.2.25

原申請案號：092103902

※IPC 分類：

A61K39/395 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

用於測定長期慢性治療發炎功效之醫藥組合物

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR DETERMINING
EFFICACY OF CHRONIC TREATMENT OF INFLAMMATION

二、中文發明摘要：

本發明揭示一種透過投予一種藥劑而長期慢性減少病人的病理性發炎之方法，該藥劑可特異性結合至 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之二元體。提供之藥劑必須具有結合親和力，因此該投藥足夠抑制病理性發炎，且該藥劑係長期慢性投藥來提供長期抑制病理性發炎。

三、英文發明摘要：

A method of chronically reducing a patient's pathological inflammation via the administration of an agent that specifically binds to an alpha-4 integrin or a dimer comprising an alpha-4 integrin is disclosed. The agent provided must have a binding affinity such that administration is sufficient to suppress pathological inflammation, and the agent is administered chronically to provide long-term suppression of pathological inflammation.

七、申請專利範圍：

1. 一種測定長期慢性投予病理性發炎治療計畫用於個體之功效之醫藥組合物，其中該病理性發炎係由 $\alpha 4$ 組合蛋白質所調節，該方法包含測量 $\alpha 4$ 組合蛋白質或包含 $\alpha 4$ 組合蛋白質之二元體之飽和度。
2. 如請求項1之醫藥組合物，其中該 $\alpha 4$ 組合蛋白質二元體為 $\alpha-4\beta-1$ 或 $\alpha-4\beta-7$ 。
3. 如請求項1之醫藥組合物，其中該病理性發炎係由克隆氏病所引起，以及病人之C反應性蛋白質及CDAI測量值用來量測 $\alpha 4$ 組合蛋白質之飽和度。
4. 如請求項1之醫藥組合物，其中該病理性發炎係由多發性硬化所引起。

八、圖式：

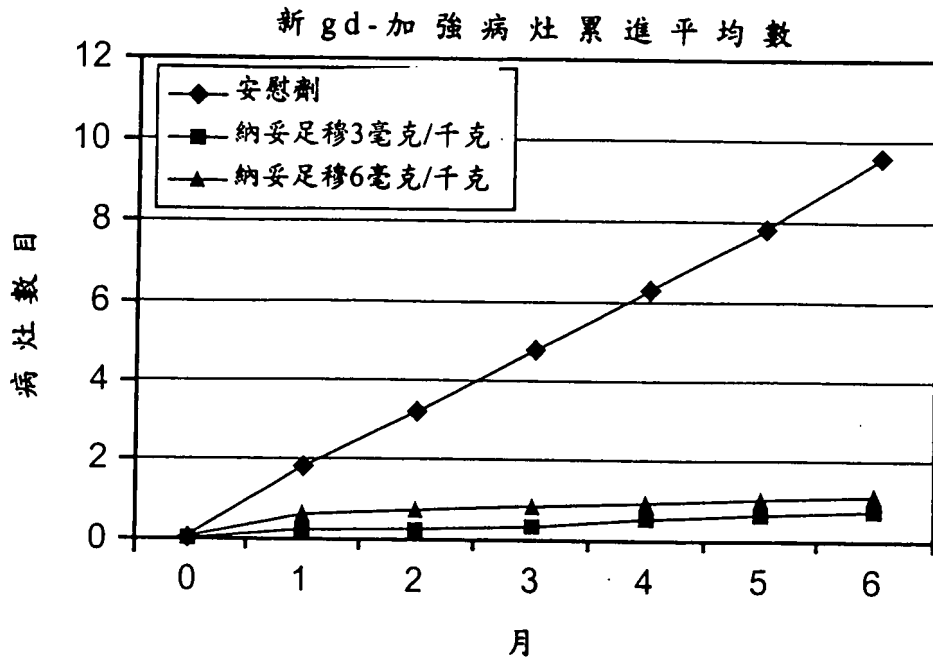


圖 1

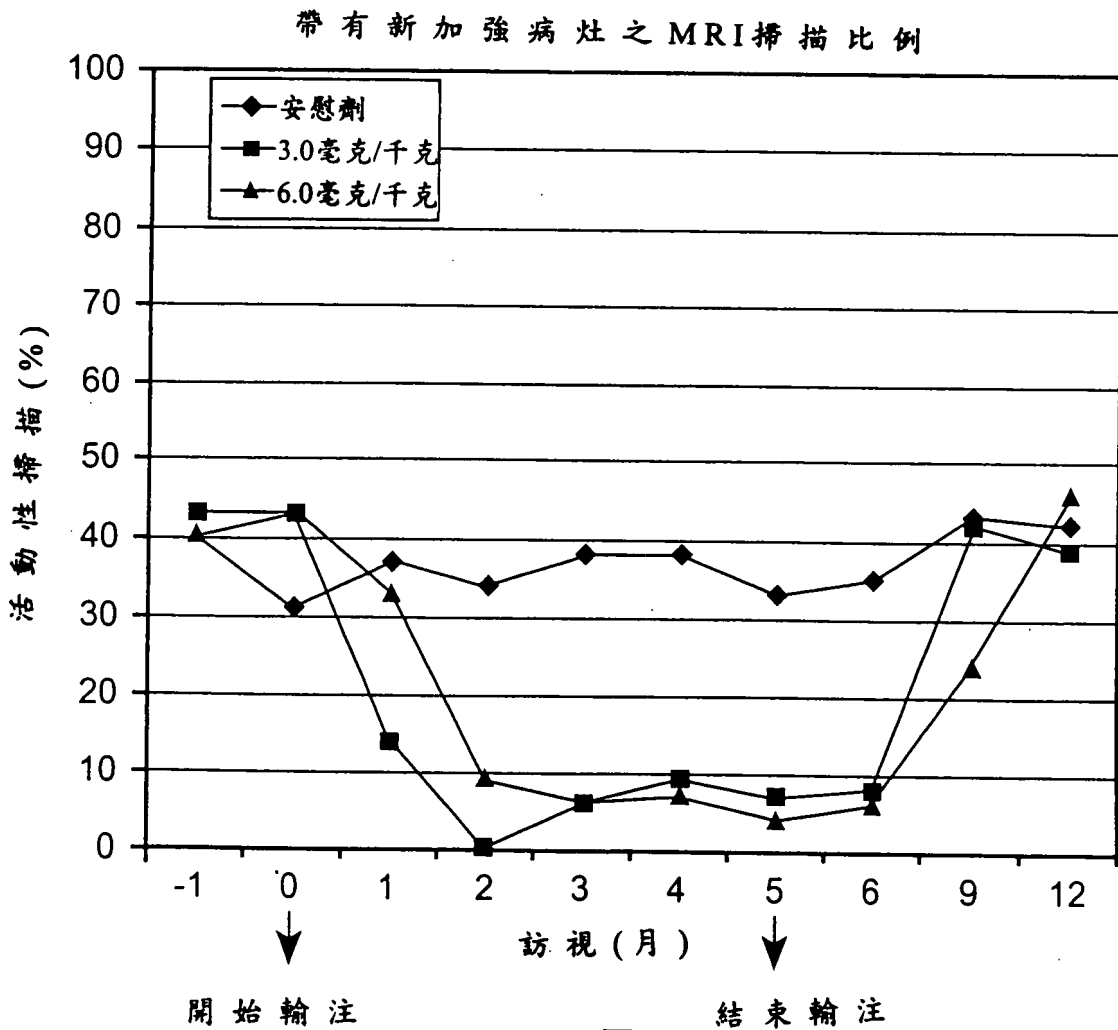


圖 2

3.0毫克/千克納妥足穆組之血清納妥足穆濃度摘要

病人	第0月						第1週	第2週	第3週	第1月
	輸注前	60分鐘	2小時	24小時	43.4微克/毫升	11.6微克/毫升				
01	<0.13	65.0	74.7	39.2	43.4	17.7	4.6	ND	2.3	
02	<0.13	56.1	72.2	34.4	34.4	10.6	5.8	3.6	1.3	
03	<0.13	58.5	60.0	54.1	54.1	16.2	7.2	2.3	0.2	
04	<0.13	77.9	97.3	42.0	42.0	17.3	10.7	8.0	5.4	
05	<0.13	75.6	67.5	ND	ND	10.7	4.0	1.5	1.6	
06	<0.13	72.0	73.7	23.7	23.7	13.0	ND	ND	3.5	
07	<0.13	16.9	30.7	49.0	49.0	15.7	9.9	6.7	4.0	
08	<0.13	54.3	58.4	62.6	62.6	18.6	ND	3.5	2.2	
09	<0.13	82.7	74.2	64.2	64.2	22.7	10.7	7.3	3.9	
10	<0.13	84.3	84.1	42.0	42.0	14.3	6.8	4.1	2.2	
11	<0.25	62.5	72.6	82.1	82.1	25.5	13.7	5.8	3.5	
12	<0.25	102.7	80.6	44.3	44.3	13.7	8.6	5.3	2.7	
13	<0.13	76.0	67.8	36.5	36.5	11.0	6.3	3.9	2.0	
14	<0.13	66.4	70.2							
第0月										
	輸注前	60分鐘	2小時	24小時	第1週	第2週	第3週	第1月		
N	14	14	14	13	14	12	12	14		
平均	0.0	67.9	70.3	47.5	15.6	8.3	4.7	2.7		
標準差	0.00	19.60	14.96	15.18	4.50	2.98	1.97	1.33		

圖 3A

3.0毫克/千克納妥足穆組之血清組之血清納妥足穆濃度摘要

第5月

病人	第2月		第3月		第4月		輸注前		第5月	
	2.4 微克/毫升	1.4 微克/毫升	1.4 微克/毫升	1.9 微克/毫升	1.9 微克/毫升	1.9 微克/毫升	輸注前	60分鐘	2小時	24小時
01	7.1	8.0	11.1	7.8	ND	ND	ND	65.1	ND	ND
02	2.3	2.9	2.7	1.2	7.8	82.3	82.3	53.9	54.7	50.5
03	<0.13	<0.13	<0.13	<0.13	<0.13	21.4	21.4	24.6	21.4	40.6
04	8.1	11.4	1.8	0.2	0.2	ND	ND	ND	ND	2.5
05	1.4	1.8	1.9	2.0	2.0	90.3	90.3	81.9	90.3	ND
06	1.7	2.5	2.2	2.6	2.6	62.7	62.7	36.0	62.7	51.9
07	4.5	5.7	2.0	4.7	4.7	65.0	65.0	76.0	65.0	22.2
08	3.4	3.9	3.3	3.3	3.3	64.8	64.8	59.7	64.8	ND
09	2.9	3.3	6.1	4.5	4.5	79.6	79.6	82.0	79.6	48.5
10	2.7	4.6	5.5	3.0	3.0	79.3	79.3	82.6	79.3	59.9
11	2.0	1.9	1.9	3.6	3.6	ND	ND	68.8	ND	55.6
12	4.3	4.3	3.6	5.0	5.0	55.4	55.4	74.9	55.4	65.2
13	2.1	1.6	1.9	3.0	3.0	63.0	63.0	70.3	63.0	47.0
14										35.5
第5月										
SRN	第2月		第3月		第4月		輸注前		第5月	
N	14	14	14	13	14	14	13	12	11	11
平均	3.2	3.8	3.3	3.1	3.3	3.1	3.1	64.7	65.3	43.6
標準差	2.19	2.98	2.74	2.11	2.74	2.11	2.11	18.51	18.61	18.03

圖 3B

3.0 毫克 / 千 克 納 妥 足 穆 組 之 血 清 納 妥 足 穆 濃 度 摘 要

病人	第21週	第22週	第23週	第6月	第7月	第8月	第9月	第10月	第12月
01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
02	33.8	21.4	10.3	8.1	0.4	<0.13	<0.13	ND	ND
03	21.3	9.4	4.7	5.1	<0.25	<0.13	<0.13	ND	ND
04	<0.13	<0.13	<0.13	<0.13	<0.25	<0.13	<0.13	ND	ND
05	ND	ND	ND	0.2	<0.25	<0.13	<0.13	ND	ND
06	21.5	7.6	3.9	2.4	<0.13	<0.13	<0.13	ND	ND
07	ND	11.0	6.2	3.7	0.3	<0.13	ND	ND	ND
08	19.1	13.2	9.6	5.3	0.4	<0.13	<0.13	<0.13	ND
09	33.7	13.1	6.1	3.8	<0.13	ND	ND	ND	ND
10	29.9	16.8	ND	7.4	0.5	ND	ND	ND	ND
11	ND	18.4	10.5	6.6	0.7	<0.13	ND	ND	ND
12	ND	9.9	6.3	3.5	<0.13	<0.13	ND	ND	ND
13	22.1	13.3	9.1	4.6	<0.13	<0.13	ND	ND	ND
14	14.1	8.2	9.4	4.7	<0.13	ND	ND	ND	ND
SRN	第21週	第22週	第23週	第6月	第7月	第8月	第9月	第10月	第12月
N	9	12	11	13	13	10	6	1	0
平均	21.7	11.9	6.9	4.3	0.2	0.0	0.0	0.0	
標準差	10.57	5.61	3.25	2.44	0.25	0.00	0.00		

圖 3C

6.0毫克/千克納妥足穆組之血清納妥足穆濃度摘要

第0月

病人	輸注前	第0月				第1週	第2週	第3週	第1月
		60分鐘	2小時	24小時	微克/毫升				
01	<0.25	104.8	155.3	110.0	36.3	16.8	11.4	11.0	
02	<0.13	102.8	135.0	81.8	37.5	18.7	11.0	3.9	
03	<0.13	121.1	96.3	68.4	22.9	19.9	11.4	6.6	
04	<0.13	136.0	141.2	86.6	26.0	20.9	13.7	9.8	
05	<0.13	163.8	138.6	84.4	29.4	17.5	14.0	9.6	
06	<0.13	145.7	173.7	94.8	29.3	16.5	14.0	9.7	
07	<0.25	173.5	164.0	110.0	33.9	ND	ND	ND	
08	<0.13	135.8	143.0	105.8	20.9	17.6	15.0	10.9	
09	<0.13	97.3	127.9	66.8	27.0	8.3	7.8	4.8	
10	<0.13	149.2	111.2	103.2	37.0	21.4	11.9	4.8	
11	<0.25	111.6	142.5	88.9	20.8	20.7	9.7	8.6	
12	<0.13	147.6	135.0	95.5	43.9	28.0	19.4	9.9	
13	<0.25	183.9	168.6	113.2	52.0	31.7	20.9	12.1	
14	<0.13	140.2	129.2	109.9	36.9	21.0	12.2	7.9	

	第0月				第1週	第2週	第3週	第1月
	輸注前	60分鐘	2小時	24小時				
N	14	14	14	14	14	13	13	13
平均	0.0	136.7	140.1	94.2	32.4	19.9	13.3	8.4
標準差	0.00	26.72	21.18	15.38	8.97	5.61	3.63	2.64

圖 4A

6.0毫克/千克納妥足穆組之血清納妥足穆濃度摘要

第5月

病人	第2月		第3月		第4月		輸注前	第5月		
	第2月	第3月	第4月	第5月	60分鐘	2小時		24小時		
01	10.7	ND	9.6	ND	10.3	ND	ND	ND	ND	
02	6.8	8.2	10.5	10.3	7.8	ND	ND	ND	ND	
03	8.6	9.9	17.1	7.8	15.8	92.6	97.5	85.9	85.9	
04	11.8	16.4	16.9	17.1	19.5	200.1	161.1	135.6	135.6	
05	9.3	11.6	16.8	16.9	18.2	190.4	168.3	104.4	104.4	
06	11.7	14.5	ND	16.8	18.2	171.3	153.0	112.7	112.7	
07	ND	ND	14.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
08	14.6	12.9	14.2	14.2	18.4	145.2	172.5	99.2	99.2	
09	8.5	8.4	12.0	12.0	ND	103.0	107.5	44.9	44.9	
10	9.0	16.3	18.1	18.1	10.9	114.3	141.4	103.0	103.0	
11	11.8	14.2	13.3	13.3	14.5	135.7	109.4	93.8	93.8	
12	11.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
13	1.6	<0.13	1.9	1.9	7.5	187.0	141.8	124.6	124.6	
14	11.2	12.6	12.8	12.8	11.8	152.4	124.0	114.6	114.6	
第5月										
SRN	第2月		第3月		第4月		輸注前	第5月		
N	13	11	12	12	10	10		10	10	10
平均	9.8	11.4	12.1	12.1	13.5	149.2	137.7	101.9	101.9	
標準差	3.18	4.71	5.39	5.39	4.43	37.96	26.82	24.75	24.75	

圖 4B

6.0毫克/千克妥足穆組之血清納妥足穆濃度摘要

病人	第21週	第22週	第23週	第6月	第7月	第8月	第9月	第10月	第12月
01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
03	43.2	17.2	15.5	10.1	1.3	<0.13	<0.13	ND	ND
04	59.1	38.6	25.1	19.3	3.4	0.2	<0.13	ND	ND
05	46.0	29.3	21.3	24.8	6.5	0.3	0.2	ND	ND
06	78.9	42.9	25.1	17.4	2.9	<0.13	<0.13	ND	ND
07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
08	50.1	26.0	24.7	21.2	ND	0.7	<0.13	<0.13	ND
09	32.2	30.2	16.6	9.3	1.1	<0.13	<0.13	ND	ND
10	50.7	34.3	17.0	13.1	2.1	<0.13	<0.13	<0.13	ND
11	34.0	30.0	23.7	22.5	4.6	ND	ND	ND	ND
12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	48.1	31.9	19.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	44.8	32.3	15.5	13.6	2.6	ND	ND	ND	ND
N	10	10	10	9	8	7	7	2	0
平均	48.7	31.3	20.4	16.8	3.1	0.2	0.0	0.0	
標準差	13.20	6.93	4.08	5.56	1.79	0.26	0.08	0.00	

圖 4C

多發性硬化化研究中維持之受體飽和程度

訪視	採樣時間	統計	安慰劑 (n=71)	3.0毫克/千克安妥格林 (n=68)	6.0毫克/千克安妥格林 (n=74)
第0月	輸注前	N	14	13	14
		平均	9.82	8.06	7.56
		標準差	5.331	2.192	3.135
		中間值	8.3	7.7	6.7
		最小值 最大值	4.7 24.9	5.9 14.4	3.1 13.3
第0月	輸注後2小時	N	14	14	14
		平均	8.21	99.11	100.97
		標準差	3.567	10.557	4.884
		中間值	7.5	102.4	102.1
		最小值 最大值	5.2 18.6	74.9 110.8	93.2 110.7
第0月	輸注後24小時	N	12	12	13
		平均	9.30	99.09	98.93
		標準差	7.328	9.052	12.079
		中間值	6.7	99.9	97.4
		最小值 最大值	5.6 31.9	81.5 109.4	81.2 117.5
第1週	輸注後24小時	N	14	14	14
		平均	7.92	93.41	99.61
		標準差	2.579	5.656	12.011
		中間值	8.3	94.3	94.9
		最小值 最大值	3.5 13.3	82.8 100.9	83.5 120.8

圖 5A

多發性硬化化研究中維持之受體飽和程度

訪視	採樣時間	安慰劑 (n=71)	3.0毫克/千克安堤格林 (n=68)	6.0毫克/千克安堤格林 (n=74)
第2週	結計	12	14	13
	N	8.98	88.28	97.37
	平均	2.991	7.494	14.377
	標準差	8.4	88.0	97.9
	中間值	4.1	75.9	78.3
第3週	結計	13.4	101.4	131.7
	N	13	13	12
	平均	8.17	80.99	92.79
	標準差	2.242	19.150	9.767
	中間值	8.8	85.5	92.3
第1月	結計	4.9	24.5	74.7
	N	12.0	99.3	110.9
	平均	8.87	82.48	85.58
	標準差	3.808	11.272	8.491
	中間值	8.4	84.1	84.6
第2週	結計	3.1	56.1	68.6
	N	17.3	100.2	96.1
	平均	12	14	13
	標準差	9.41	79.15	93.21
	中間值	3.846	22.779	9.194
第1月	結計	9.4	87.1	94.0
	N	4.7	7.3	75.8
	平均	19.5	96.6	104.2
	標準差			
	中間值			

圖 5B

多發性硬化化研究中維持之受體飽和程度

訪視	採樣時間	安慰劑 (n=71)					3.0毫克/千克安堤格林 (n=68)					6.0毫克/千克安堤格林 (n=74)													
		N	平均	標準差	中間值	最小值	最大值	N	平均	標準差	中間值	最小值	最大值	N	平均	標準差	中間值	最小值	最大值						
第3月	結計	12	6.97	2.720	6.5	3.3	11.4	10	8.38	3.400	7.1	4.9	16.9	14	79.47	23.459	81.6	8.9	104.5	11	95.51	15.794	93.6	78.3	139.0
		12	6.97	2.720	6.5	3.3	11.4	10	8.38	3.400	7.1	4.9	16.9	14	79.47	23.459	81.6	8.9	104.5	11	95.51	15.794	93.6	78.3	139.0
		12	6.97	2.720	6.5	3.3	11.4	10	8.38	3.400	7.1	4.9	16.9	14	79.47	23.459	81.6	8.9	104.5	11	95.51	15.794	93.6	78.3	139.0
		12	6.97	2.720	6.5	3.3	11.4	10	8.38	3.400	7.1	4.9	16.9	14	79.47	23.459	81.6	8.9	104.5	11	95.51	15.794	93.6	78.3	139.0
		12	6.97	2.720	6.5	3.3	11.4	10	8.38	3.400	7.1	4.9	16.9	14	79.47	23.459	81.6	8.9	104.5	11	95.51	15.794	93.6	78.3	139.0
第4月	結計	9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
第5月	結計	9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
第5月	結計	9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4
		9	9.48	2.606	9.1	6.1	15.6	9	11.03	6.203	7.6	4.9	21.7	13	70.88	26.535	75.1	9.0	115.0	11	92.09	8.267	95.0	79.7	103.4

圖 5C

多發性硬化研究中維持之受體飽和程度

訪視	採樣時間	統計	安慰劑 (n=71)	3.0毫克/千克安堤格林 (n=68)	6.0毫克/千克安堤格林 (n=74)	
第5月	輸注後24小時	N	8	12	10	
		平均	7.50	92.04	89.08	
		標準差	2.660	15.256	32.364	
		中間值	6.4	94.6	95.9	
		最小值	4.7	49.5	4.8	
	第21週		最大值	12.8	106.4	123.2
			N	8	12	11
			平均	8.06	80.25	92.27
			標準差	2.217	24.078	11.557
			中間值	8.2	86.2	88.9
第22週	輸注後24小時	最小值	4.3	5.1	77.3	
		最大值	11.7	94.6	112.9	
		N	7	12	10	
		平均	8.67	84.98	90.44	
		標準差	2.471	25.744	18.174	
	第23週		中間值	8.7	90.5	81.6
			最小值	5.1	6.2	73.5
			最大值	12.0	101.7	127.8
			N	7	10	10
			平均	9.16	82.89	97.24
第23週	輸注後24小時	標準差	2.950	27.649	23.374	
		中間值	8.7	90.2	90.9	
		最小值	4.6	6.1	78.8	
		最大值	14.0	100.5	154.8	
		N	7	10	10	
	第23週		平均	8.67	84.98	90.44
			標準差	2.471	25.744	18.174
			中間值	8.7	90.5	81.6
			最小值	5.1	6.2	73.5
			最大值	12.0	101.7	127.8

圖 5D

多發性硬化化研究中維持之受體飽和程度

訪視	採樣時間	統計	安慰劑 (n=71)	3.0毫克/千克安提格林 (n=68)	6.0毫克/千克安提格林 (n=74)
第6月	第6月	N	10	13	9
		平均	8.65	67.32	80.59
		標準差	3.574	29.838	27.738
		中間值	8.2	80.2	85.4
		最小值	4.4	6.4	10.0
		最大值	16.7	102.5	106.2
第7月	第7月	N	10	12	8
		平均	7.69	42.10	80.46
		標準差	1.281	24.011	27.664
		中間值	7.7	41.1	67.2
		最小值	5.1	4.7	62.5
		最大值	10.4	88.0	145.2
第8月	第8月	N	10	13	8
		平均	7.60	14.09	34.16
		標準差	1.726	10.214	21.619
		中間值	6.9	12.1	29.6
		最小值	6.0	6.2	11.8
		最大值	10.7	45.0	59.6
第9月	第9月	N	5	7	7
		平均	9.52	5.88	9.45
		標準差	2.701	2.246	4.644
		中間值	9.0	5.6	7.7
		最小值	6.3	3.7	5.5
		最大值	13.5	10.4	18.0

圖 5 E

多發性硬化化研究中維持之受體飽和程度

訪視	採樣時間	安慰劑 (n=71)	3.0毫克/千克安堤格林 (n=68)	6.0毫克/千克安堤格林 (n=74)	
第10月	結計	N	2	3	4
		平均	7.78	8.65	9.17
		標準差	2.029	0.635	1.655
		中間值	7.8	8.6	9.3
		最小值	6.3	8.0	7.1
	最大值	9.2	9.3	11.0	
	第12月	N	1	1	1
		平均	8.80	6.04	6.61
		標準差			
		中間值	8.8	6.0	6.6
最小值		8.8	6.0	6.6	
最大值	8.8	6.0	6.6		
訪視 早期結束	結計	N	0	1	1
		平均		94.51	32.29
		標準差			
		中間值		94.5	32.3
		最小值		94.5	32.3
	最大值		94.5	32.3	

圖 5F

克隆氏病研究之臨床反應

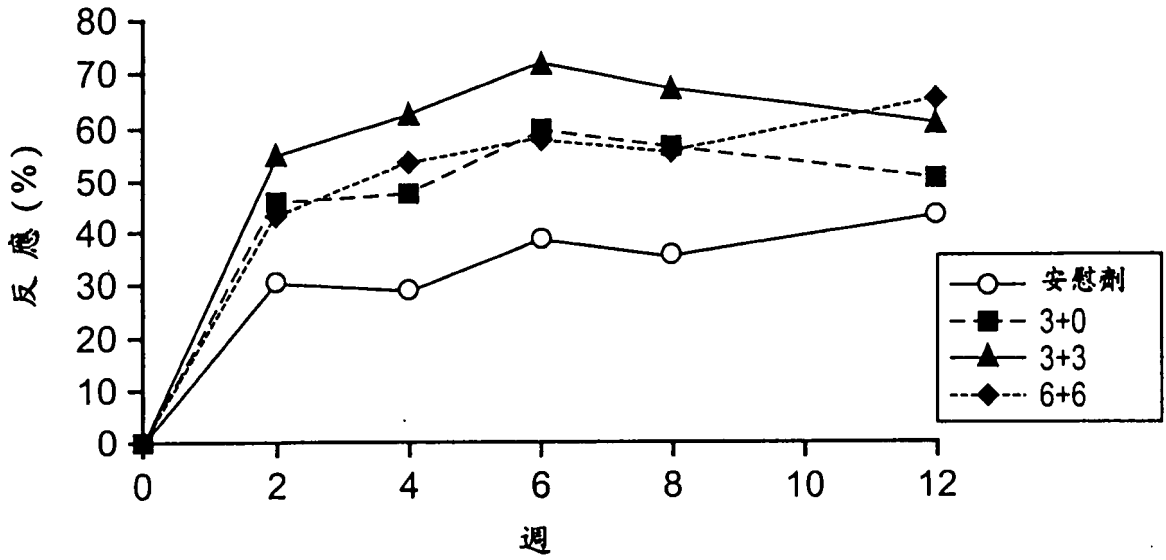


圖 6

克隆氏病研究之緩解

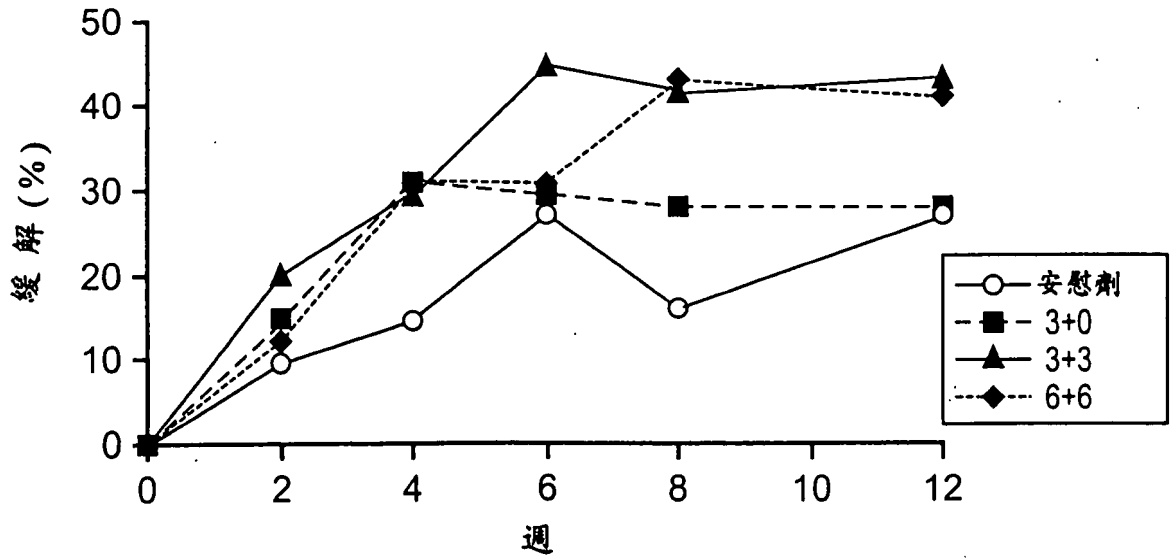


圖 7

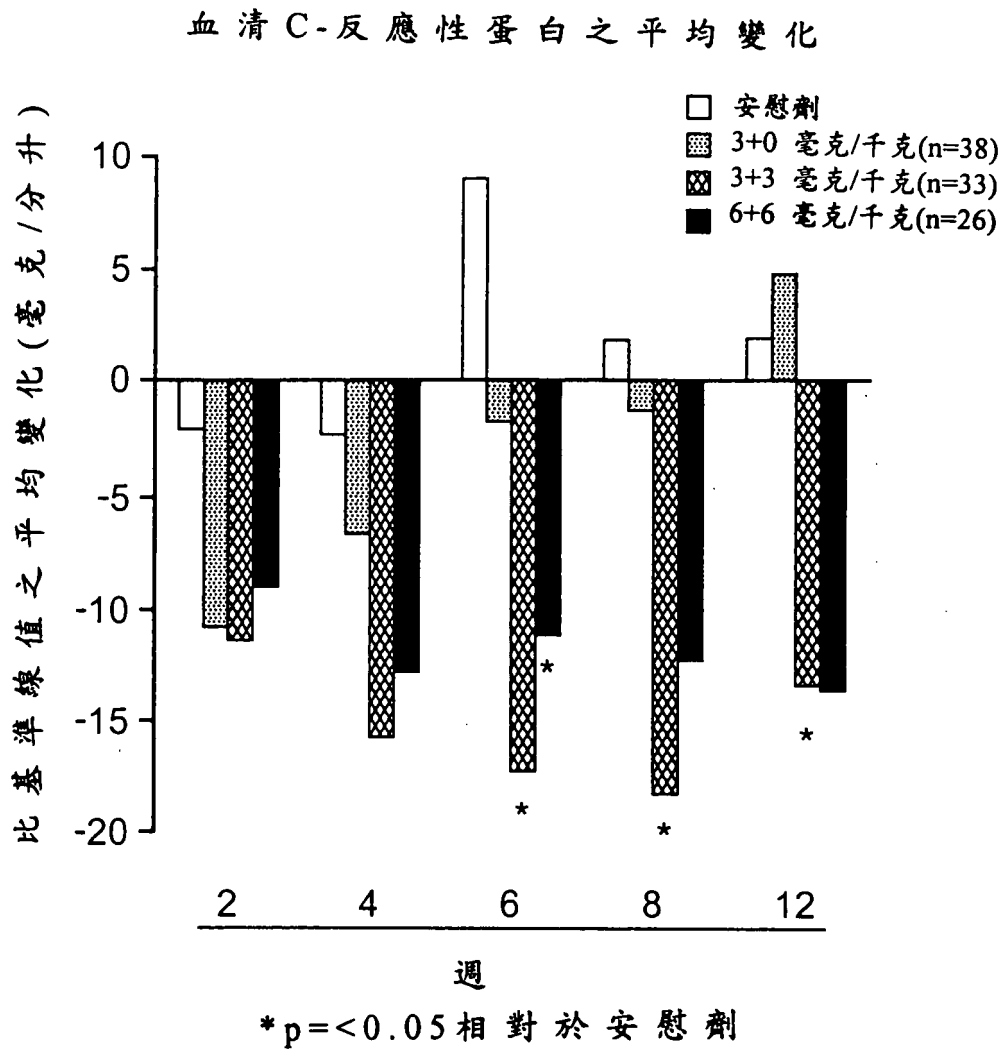


圖 8

納妥足穆對患有活動性克隆氏病及潰瘍性結腸炎病人之循環嗜伊紅細胞之影響。

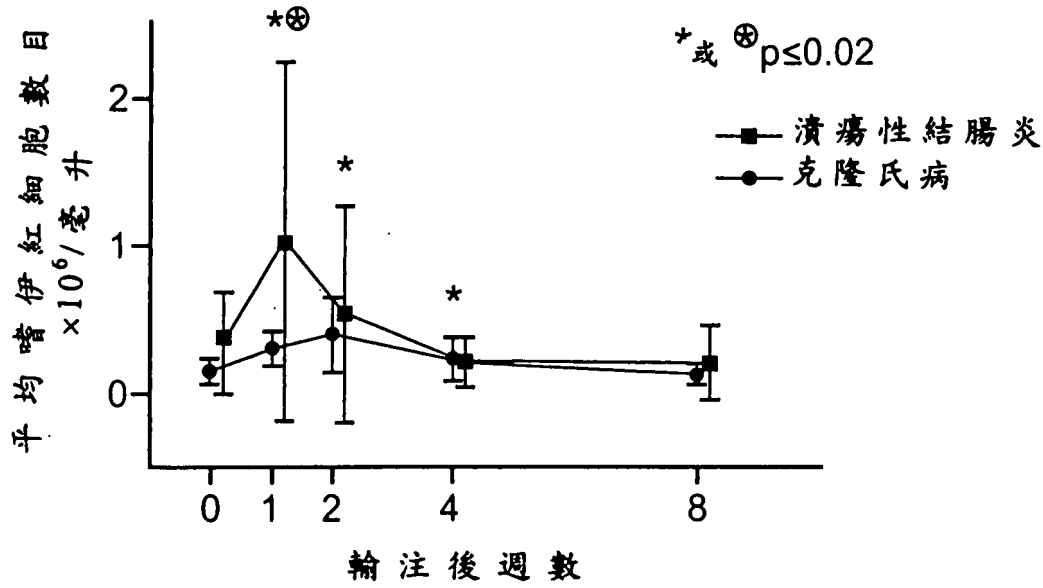


圖 9

納妥足穆對患有活動性克隆氏病及潰瘍性結腸炎病人之循環單核細胞之影響。

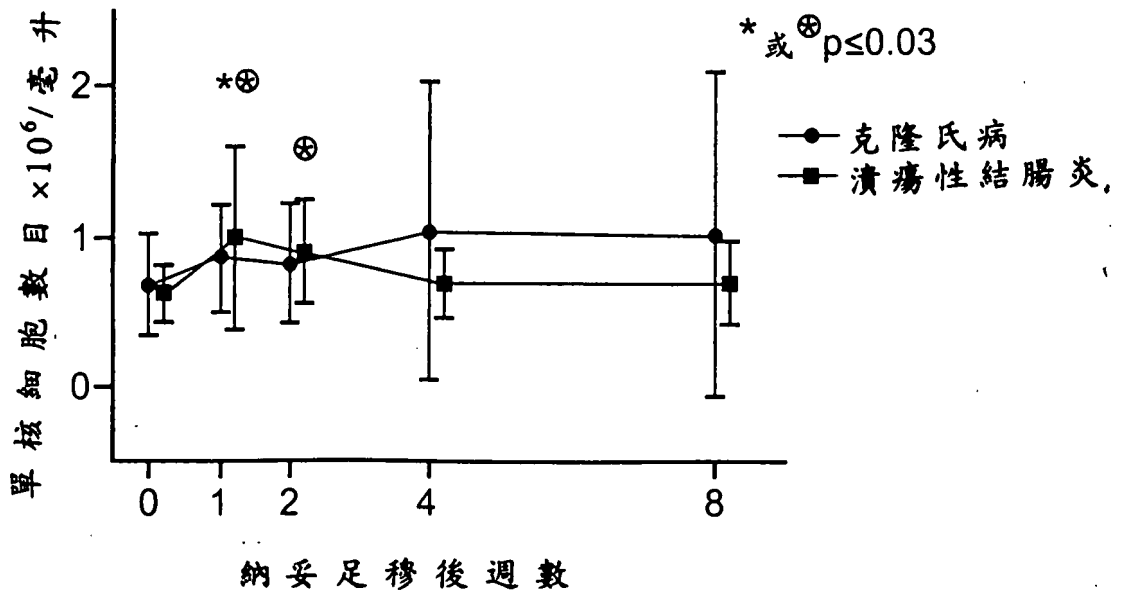


圖 9B

納妥足穆對患有活動性克隆氏病病人之
可表現活性抗原之 $\text{TCR}\alpha\beta^+$ 細胞之影響。

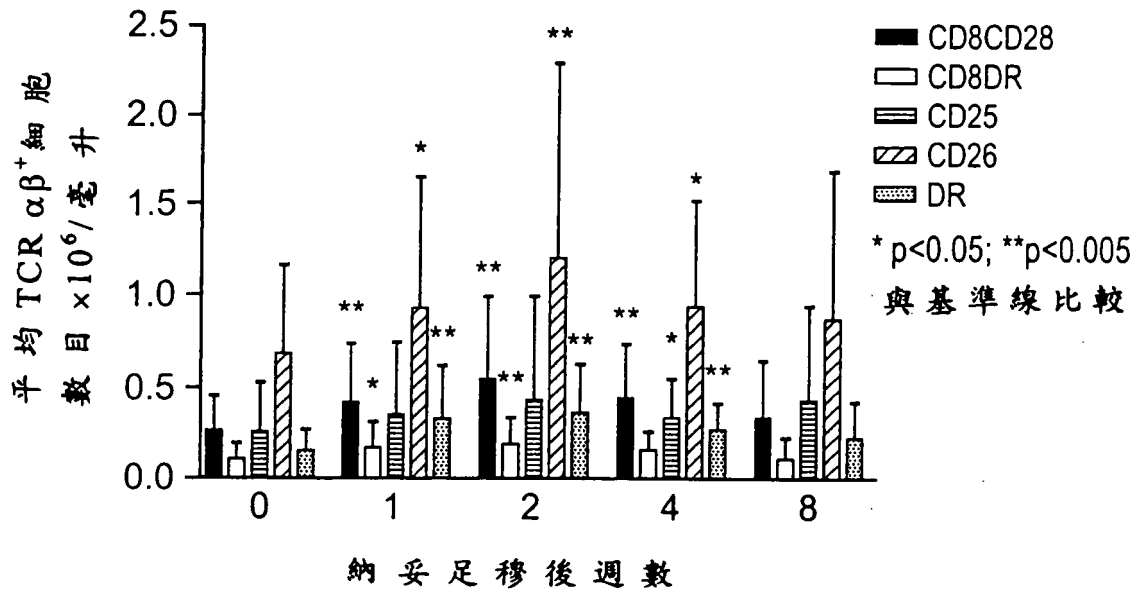


圖 10A

納妥足穆對患有活動性潰瘍性結腸炎病人
之可表現活性抗原之 $\text{TCR}\alpha\beta^+$ 細胞之影響。

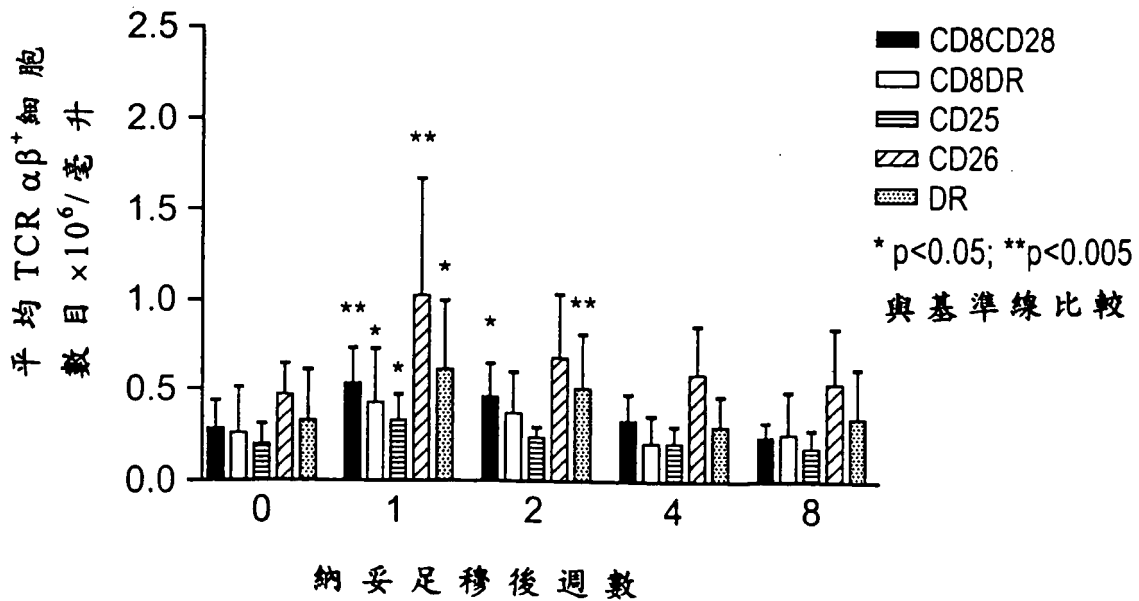


圖 10B

納妥足穆對患有活動性克隆氏病病人之可表現活性抗原及記憶與天然標記之 $\text{TCR}\alpha\beta^+$ 細胞之影響。

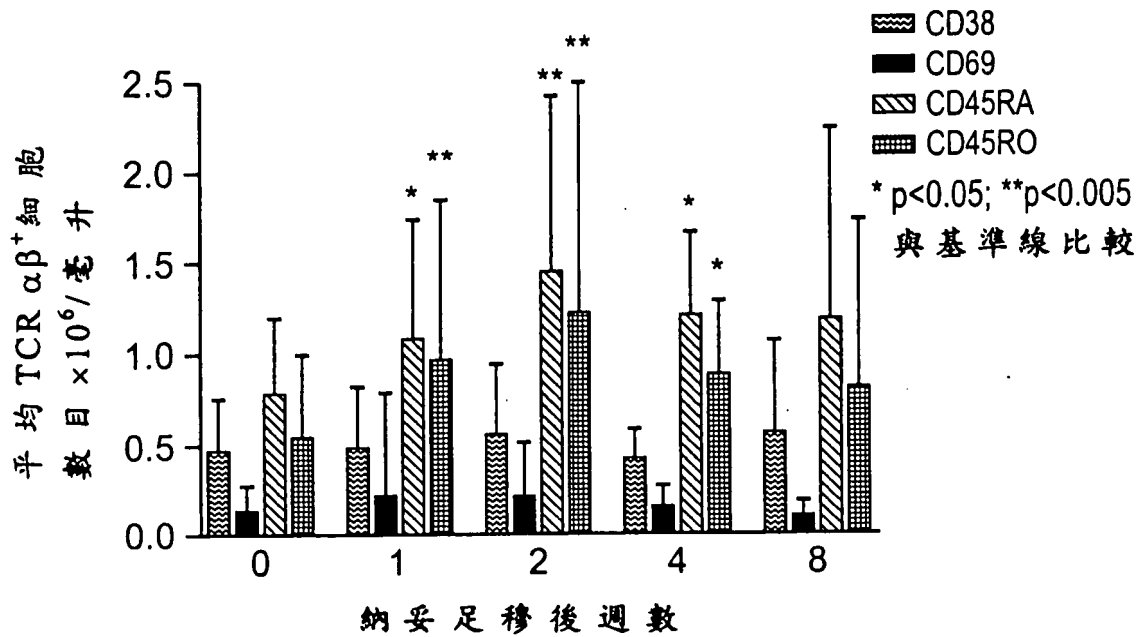


圖 10C

納妥足穆對患有活動性潰瘍性結腸炎病人之可表現活性抗原及記憶與天然標記之 $\text{TCR}\alpha\beta^+$ 細胞之影響。

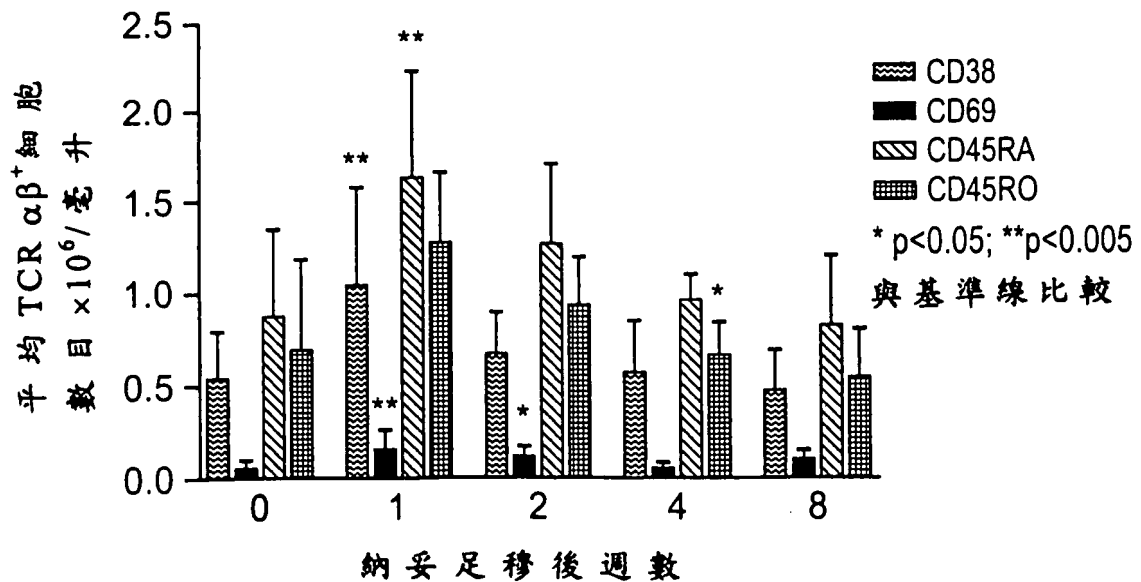


圖 10D

納妥足移對患有活動性克隆氏病病人
之循環 TCR $\gamma\delta^+$ 及NK-型細胞之影響。

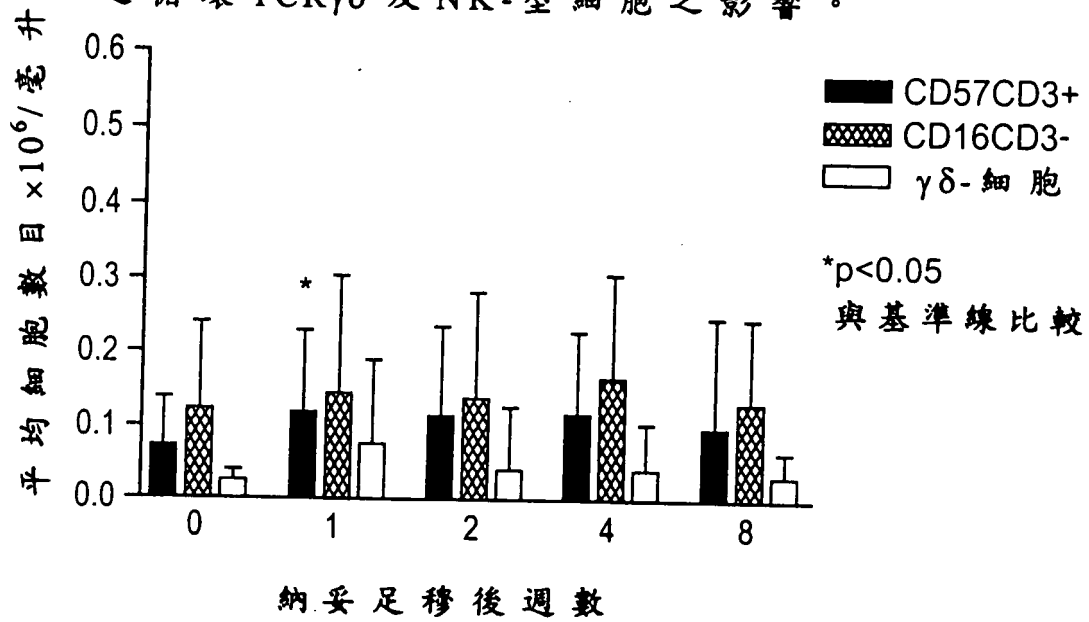


圖 11A

納妥足移對患有潰瘍性結腸炎病人
之循環 TCR $\gamma\delta^+$ 及NK-型細胞之影響。

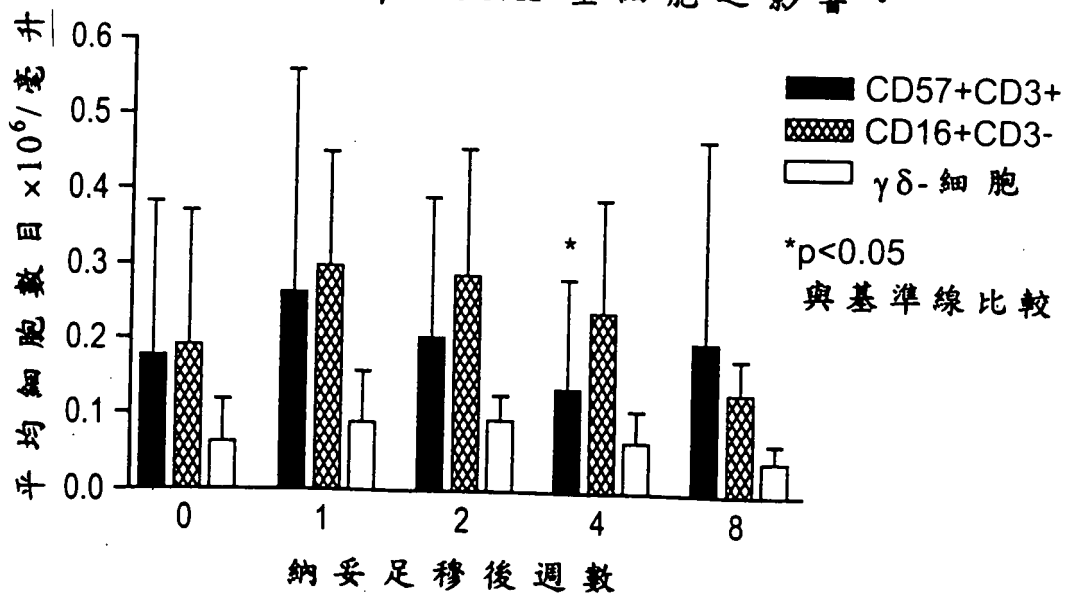


圖 11B

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(7)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)