(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 102573853 A
(43)申请公布日 2012.07.11

(21)申请号 201080039680.8

(22)申请日 2010.07.07

(30)优先权数据
61/223,583 2009.07.07 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2012.03.07

(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2010/041250 2010.07.07

(87)PCT申请的公布数据
WO2011/005886 EN 2011.01.13

(71)申请人 诺尔姆奥克西斯公司
地址 美国马萨诸塞州
申请人 斯特拉斯堡大学

(72)发明人 Y.C. 尼科劳 J-M. 莱恩 C. 基达

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
A61K 31/6615(2006.01)
A61K 33/24(2006.01)
A61K 31/337(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

权利要求书 3 页 说明书 15 页 附图 10 页

(54)发明名称

使用肌醇三焦磷酸减少多药抗性的方法

(57)摘要

肌醇三磷酸(ITPP)导致肿瘤血管系统的正常化，并当在部分血管形成之后施用第二化疗剂时为特别有效的癌症疗法。ITPP亦可单独或组合地治疗多药抗性癌症。ITPP亦可用于减少抗癌活性所需的第二化疗药物的量。此外，ITPP增强免疫应答并治疗过度增殖性病症。

CN 102573853 A

1. 一种治疗癌症的方法，包括对有此需要的受试者施用治疗有效量的 ITPP ；并在肿瘤中部分血管正常化之后对受试者施用治疗有效量的化疗剂。

2. 权利要求 1 的方法，进一步包括检测肿瘤中部分血管正常化的发生。

3. 权利要求 3 的方法，其中部分血管正常化的发生是通过测量肿瘤的氧分压 (pO_2) 水平来检测的。

4. 权利要求 1 的方法，其中所述化疗剂以亚治疗剂量施用。

5. 权利要求 4 的方法，其中所述化疗剂的亚治疗剂量低于批准的标签剂量的 70％。

6. 一种药物组合物，包含肌醇三焦磷酸 (ITPP) 和选自紫杉醇和顺铂的化疗剂。

7. 权利要求 6 的药物组合物，其中所述化疗剂是紫杉醇。

8. 权利要求 6 的药物组合物，其中所述化疗剂是顺铂。

9. 一种用于治疗受试者中癌症的治疗方案，包括同时或顺次施用治疗有效量的 ITPP 和选自紫杉醇和顺铂的化疗剂。

10. 权利要求 9 的治疗方案，其中所述 ITPP 和化疗剂同时施用。

11. 权利要求 9 的治疗方案，其中所述 ITPP 和化疗剂顺次施用。

12. 权利要求 11 的治疗方案，其中所述 ITPP 在化疗剂施用之前施用。

13. 权利要求 9-12 任一项所述的治疗方案，其中所述化疗剂是紫杉醇。

14. 权利要求 9-12 任一项所述的治疗方案，其中所述化疗剂是顺铂。

15. 一种药物组合物，包含肌醇三焦磷酸 (ITPP) 和亚治疗量的化疗剂。

16. 权利要求 15 的药物组合物，其中所述化疗剂选自：氨鲁米特 (aminoglutethimide)、安吖啶 (amsacrine)、阿那曲唑 (anastrozole)、天冬酰胺酶 (asparaginase)、bcg、比卡鲁胺 (bicalutamide)、博莱霉素 (bleomycin)、布舍瑞林 (buserelin)、白消安 (busulfan)、喜树碱 (camptothecin)、卡培他滨 (capecitabine)、卡铂 (carboplatin)、卡莫司汀 (carmustine)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、顺铂 (cisplatin)、克拉屈滨 (cladribine)、氯屈膦酸 (clodronate)、秋水仙碱 (colchicines)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、环丙孕酮 (cyproterone)、阿糖胞苷 (cytarabine)、达卡巴嗪 (dacarbazine)、放线菌素 D(dactinomycin)、柔红霉素 (daunorubicin)、己二烯雌酚 (dienestrol)、己烯雌酚 (diethylstilbestrol)、多西他赛 (docetaxel)、多柔比星 (doxorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、雌二醇 (estradiol)、雌莫司汀 (estramustine)、依托泊苷 (etoposide)、依西美坦 (exemestane)、非格司亭 (filgrastim)、氟达拉滨 (fludarabine)、氟氢可的松 (fludrocortisone)、氟尿嘧啶 (fluorouracil)、氟甲睾酮 (fluoxymesterone)、氟他胺 (flutamide)、染料木黄酮 (genistein)、戈舍瑞林 (goserelin)、羟脲 (hydroxyurea)、伊达比星 (idarubicin)、异环磷酰胺 (ifosfamide)、伊马替尼 (imatinib)、干扰素 (interferon)、伊立替康 (irinotecan)、ironotecan、来曲唑 (letrozole)、亚叶酸钙 (leucovorin)、亮丙瑞林 (leuprolide)、左旋咪唑 (levamisole)、洛莫司汀 (lomustine)、氮芥 (mechlorethamine)、甲羟孕酮 (medroxyprogesterone)、甲地孕酮 (megestrol)、美法仑 (melphalan)、巯嘌呤 (mercaptopurine)、美司钠 (mesna)、甲氨蝶呤 (methotrexate)、丝裂霉素 (mitomycin)、米托坦 (mitotane)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、尼鲁米特 (nilutamide)、诺考达唑 (nocodazole)、奥曲肽 (octreotide)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、紫杉醇 (paclitaxel)、帕米膦酸 (pamidronate)、喷司他丁

(pentostatin)、普卡霉素 (plicamycin)、卟吩姆 (porfimer)、丙卡巴肼 (procarbazine)、雷替曲塞 (raltitrexed)、利妥昔单抗 (rituximab)、链佐星 (streptozocin)、舒拉明 (suramin)、他莫昔芬 (tamoxifen)、替莫唑胺 (temozolomide)、替尼泊苷 (teniposide)、睾酮 (testosterone)、硫鸟嘌呤 (thioguanine)、塞替派 (thiotepa)、二氯环戊二烯钛 (titanocene dichloride)、托泊替康 (topotecan)、曲妥单抗 (trastuzumab)、维 A 酸 (tretinoin)、长春碱 (vinblastine)、长春新碱 (vincristine)、长春地辛 (vindesine) 和长春瑞滨 (vinorelbine)。

17. 权利要求 16 的药物组合物，其中所述化疗剂选自紫杉醇和顺铂。

18. 权利要求 17 的药物组合物，其中所述化疗剂是紫杉醇。

19. 权利要求 17 的药物组合物，其中所述化疗剂是顺铂。

20. 权利要求 15 的药物组合物，其中所述化疗剂的亚治疗剂量低于批准的标签剂量的 70％。

21. 一种用于治疗受试者中癌症的治疗方案，包括同时或顺次施用治疗有效量的 ITPP 和亚治疗量的化疗剂。

22. 权利要求 21 的治疗方案，其中所述化疗剂选自：氨鲁米特 (aminoglutethimide)、安吖啶 (amsacrine)、阿那曲唑 (anastrozole)、天冬酰胺酶 (asparaginase)、bcg、比卡鲁胺 (bicalutamide)、博莱霉素 (bleomycin)、布舍瑞林 (buserelin)、白消安 (busulfan)、喜树碱 (camptothecin)、卡培他滨 (capecitabine)、卡铂 (carboplatin)、卡莫司汀 (carmustine)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、顺铂 (cisplatin)、克拉屈滨 (cladribine)、氯屈膦酸 (clodronate)、秋水仙碱 (colchicines)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、环丙孕酮 (cyproterone)、阿糖胞苷 (cytarabine)、达卡巴嗪 (dacarbazine)、放线菌素 D(dactinomycin)、柔红霉素 (daunorubicin)、己二烯雌酚 (dienestrol)、己烯雌酚 (diethylstilbestrol)、多西他赛 (docetaxel)、多柔比星 (doxorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、雌二醇 (estradiol)、雌莫司汀 (estramustine)、依托泊苷 (etoposide)、依西美坦 (exemestane)、非格司亭 (filgrastim)、氟达拉滨 (fludarabine)、氟氢可的松 (fludrocortisone)、氟尿嘧啶 (fluorouracil)、氟甲睾酮 (fluoxymesterone)、氟他胺 (flutamide)、染料木黄酮 (genistein)、戈舍瑞林 (goserelin)、羟脲 (hydroxyurea)、伊达比星 (idarubicin)、异环磷酰胺 (ifosfamide)、伊马替尼 (imatinib)、干扰素 (interferon)、伊立替康 (irinotecan)、ironotecan、来曲唑 (letrozole)、亚叶酸钙 (leucovorin)、亮丙瑞林 (leuprolide)、左旋咪唑 (levamisole)、洛莫司汀 (lomustine)、氮芥 (mechlorethamine)、甲羟孕酮 (medroxyprogesterone)、甲地孕酮 (megestrol)、美法仑 (melphalan)、巯嘌呤 (mercaptopurine)、美司钠 (mesna)、甲氨蝶呤 (methotrexate)、丝裂霉素 (mitomycin)、米托坦 (mitotane)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、尼鲁米特 (nilutamide)、诺考达唑 (nocodazole)、奥曲肽 (octreotide)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、紫杉醇 (paclitaxel)、帕米膦酸 (pamidronate)、喷司他丁 (pentostatin)、普卡霉素 (plicamycin)、卟吩姆 (porfimer)、丙卡巴肼 (procarbazine)、雷替曲塞 (raltitrexed)、利妥昔单抗 (rituximab)、链佐星 (streptozocin)、舒拉明 (suramin)、他莫昔芬 (tamoxifen)、替莫唑胺 (temozolomide)、替尼泊苷 (teniposide)、睾酮 (testosterone)、硫鸟嘌呤 (thioguanine)、塞替派 (thiotepa)、二氯环戊二烯钛 (titanocene

dichloride)、托泊替康(topotecan)、曲妥单抗(trastuzumab)、维A酸(tretinoin)、长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、长春地辛(vindesine)和长春瑞滨(vinorelbine)。

23. 权利要求22的治疗方案,其中所述化疗剂选自紫杉醇和顺铂。

24. 权利要求23的治疗方案,其中所述化疗剂是紫杉醇。

25. 权利要求23的治疗方案,其中所述化疗剂是顺铂。

26. 权利要求21的治疗方案,其中所述化疗剂的亚治疗剂量低于批准的标签剂量的70%。

27. 一种用于治疗受试者中癌症的方法,包括同时或顺次施用治疗有效量的ITPP和亚治疗量的化疗剂。

28. 一种用于治疗受试者中多药抗性癌症的方法,包括施用治疗有效量的ITPP。

29. 权利要求28的方法,其中所述癌症对紫杉醇和顺铂之一或多种具抗性。

30. 一种用于治疗过度增殖性病状的方法,包括对有此需要的受试者施用治疗有效量的ITPP,其中所述过度增殖性病状并非癌症或由不期望的血管发生所表征。

31. 权利要求30的方法,其中所述过度增殖性病状选自糖尿病性肾病、肾小球硬化症,IgA肾病,肝硬化,胆道闭锁,充血性心力衰竭,硬皮病,辐射诱导的纤维化,肺纤维化,银屑病,生殖器疣,以及过度增殖性细胞生长疾病。

32. 权利要求30的方法,其中呈现过度增殖性病状的组织或器官是含氧量低的。

33. 权利要求30的方法,进一步包括施用另外的抗过度增殖剂。

34. 一种用于增强受试者中免疫应答的方法,包括对有此需要的受试者施用治疗有效量的ITPP,其中所述受试者并不罹患癌症或另一肿瘤。

35. 权利要求34的方法,其中所述受试者并不罹患不期望的血管发生。

使用肌醇三焦磷酸减少多药抗性的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2009 年 7 月 7 日提交的美国临时申请号 61/223,583 的权益，其通过全文提述并入本文。

背景技术

[0003] 癌症是发达世界中死亡的主要原因，在美国一国即导致每年超过 500,000 人死亡。在美国，每年超过一百万人诊断罹患癌症，且总体而言，预计 3 人中即有超过 1 人会在其一生中遭受某种形式的癌症。实体瘤导致了超过 85％的癌症死亡率。

[0004] 已发现血管发生与多种不同类型的癌症相关。血管发生是通过受到高度调节的血管发生刺激剂和抑制剂的系统控制的。血管发生的控制在某些疾病状态中被改变，且在许多情况下，与疾病相关的病理伤害涉及不受控的血管发生。认为无论是受控的还是不受控的血管发生以类似方式进行。由基底膜围绕的内皮细胞和周细胞形成毛细血管。血管发生以由内皮细胞和白细胞释放的酶对基底膜的侵蚀起始。然后，衬在血管内腔的内皮细胞穿过所述基底膜凸出。血管发生刺激剂诱导内皮细胞穿过经侵蚀的基底膜迁移。迁移细胞形成母体血管上分出的“芽 (sprout)”，在此内皮细胞发生有丝分裂并增殖。内皮芽彼此融合以形成毛细管环，构成新的血管。

[0005] 持续的、不受调节的血管发生出现于多种疾病状态、肿瘤转移和内皮细胞的异常生长。不受调节的血管发生出现的多样的病理疾病状态已归组为血管发生依存性疾病或血管发生相关疾病。

[0006] 肿瘤生长具血管发生依存性的假说首先于 1971 年提出。在其最简形式中，该假说认为“一旦发生肿瘤‘获得 (take)’，在肿瘤细胞群体的任何增加之前，必须发生汇集于该肿瘤的新毛细管的增加”。肿瘤‘获得’目前理解为指前血管期的肿瘤生长，其中肿瘤细胞的群体占据几个立方毫米的体积，并不超过几百万个细胞，可依赖于现存的宿主微血管生存。超出该期的肿瘤体积扩展需要新毛细血管的诱导。举例而言，除非对组织切片使用高倍显微镜，小鼠中早期前血管期的肺部微转移会是无法检测的。

[0007] 血管发生已与多种不同类型的癌症相关，包括实体瘤和血液瘤 (blood-borne tumor)。血管发生相关的实体瘤包括但不限于横纹肌肉瘤、视网膜母细胞瘤、尤因肉瘤、神经母细胞瘤和骨肉瘤。血管发生亦与血液瘤相关，如白血病，其中发生不受限制的白细胞增殖的多种急性或慢性的骨髓的肿瘤性疾病中的任一种，通常伴随贫血，受损的凝血，和淋巴结、肝脏和脾脏肿大。认为血管发生在骨髓异常中起作用，导致白血病肿瘤和多种骨髓瘤疾病。

[0008] 如上所述，多方面的证据表明血管发生对于实体瘤的生长和持续以及其转移是必需的。一旦刺激了血管发生，肿瘤上调多种血管发生因子包括成纤维细胞生长因子 (aFGF 和 bFGF) 和血管内皮生长因子 / 血管通透性因子 (VEGF/VPF) 的产生。

[0009] VEGF 在血管发生的调节中的作用已经成为深入调查的主题。尽管 VEGF 在生理性血管发生中代表至关重要的限速步骤，其在病理性血管发生如与肿瘤生长相关的血管发生

中亦显示重要性。基于其诱导血管渗漏的能力，VEGF 亦称作血管通透性因子。数种实体瘤产生大量的 VEGF，其刺激内皮细胞的增殖和迁移，由此诱导新生血管形成。据显示，VEGF 表达显著地影响不同类型的人类癌症的预后。肿瘤中的氧张力在 VEGF 基因表达的调节中起关键作用。VEGF mRNA 表达是由在多种病理生理情况下暴露于低氧张力诱导的。

[0010] 生长中的肿瘤表征为缺氧 (hypoxia)，其诱导 VEGF 的表达，并亦可为转移性疾病发生的预测因素 (predictive factor)。亦公认，不似正常血管，肿瘤血管系统具有异常的组织、结构和功能。亦发现肿瘤血管是渗漏的，且血流是异质的，常常是改变的 (compromised)。

[0011] 因为癌细胞需要接近 (access) 血管以供生长和转移，认为抑制血管发生为治疗癌症和肿瘤提供了希望。然而，迄今为止已探索了抗血管发生策略，但未提供持久的治疗利益，因为导致选择了具抗性和高度攻击性转移性的癌细胞。发现此类破坏肿瘤血管形成的抗血管发生治疗在一些情况下，增强了转移性侵袭。

[0012] 因此，需要可调节肿瘤血管系统的基本上无毒的组合物和方法。同样，需要改善的癌症疗法。

发明内容

[0013] 实施例中提供的数据表明血管正常化与化疗的组合对于癌症治疗是潜在的有益方法。肌醇三磷酸 (ITPP)，一种血红蛋白的别构效应物 (allosteric effector)，增强氧释放，抵消缺氧作用，并在体外抑制血管发生。在小鼠模型中，红细胞中的 ITPP(ITPP-RBC) 减少静脉内注射小鼠黑素瘤细胞诱导的肺转移。ITPP，与化疗剂顺铂和紫杉醇 (paclitaxel) 联用，抑制原发的黑素瘤生长和肺转移。在胰腺癌的大鼠模型中，与吉西他滨 (gemcitabine) 一同使用的 ITPP 导致测试动物存活率的显著升高，显示强烈的加合效应。ITPP 亦显著地增强巨噬细胞和天然杀伤细胞对肿瘤的浸润 (infiltration)。

[0014] 本发明提供了用于治疗肿瘤的方法，包括对有此需要的受试者施用治疗有效量的 ITPP ；并在肿瘤中部分血管正常化之后，对所述受试者施用治疗有效量的化疗剂。

[0015] 在一个方面，本发明提供了药物组合物，其包含肌醇三焦磷酸 (ITPP) 和化疗剂，如选自紫杉醇、顺铂和吉西他滨的化疗剂。

[0016] 在另一个方面，本发明提供了用于治疗受试者中的癌症的治疗方案，包括同时或顺次施用治疗有效量的 ITPP 和化疗剂，如选自紫杉醇、顺铂和吉西他滨的化疗剂。

[0017] 在另一个方面，本发明提供了治疗组合物，其包含 ITPP 和亚治疗量的化疗剂。

[0018] 仍在另一个方面，本发明提供了用于治疗受试者中的癌症的方法或治疗方案，包括同时或顺次施用治疗有效量的 ITPP 和亚治疗量的化疗剂。

[0019] 在进一步的方面，本发明提供了治疗对一种或多种化疗剂具抗性的癌症的方法，其通过施用治疗有效量的 ITPP。在某些实施方案中，所述癌症对紫杉醇和 / 或顺铂具抗性。

[0020] 本发明还提供了用于治疗过度增殖性病状的方法，包括对有此需要的受试者施用治疗有效量的 ITPP，其中所述过度增殖性病状并非癌症或由不期望的血管发生所表征。

[0021] 本发明还提供了增强受试者中免疫应答的方法，包括对有此需要的受试者施用治疗有效量的 ITPP，其中所述受试者并不罹患癌症或另一肿瘤。

[0022] 此外，本发明包括本文中所述的组合物在医药中的用途，以及本文中所述组合物

在制造用于治疗本文中所述的病状的药物中的用途。

附图说明

[0023] 图 1 显示了 ITPP- 红细胞 (RBC) 诱导的在发展的皮下黑素瘤肿瘤中氧分压的选择性增加。(A) 在 14 日之前植入的未经处理的肿瘤与在第 12 和第 13 日用 ITPP 处理的相同肿瘤的比较。注意 ITPP 注射之后 24 小时的 pO_2 水平。(B) 在腹膜内注射 ITPP 之前和之后在皮下植入的肿瘤中 pO_2 的慢速拍摄记录 (lapse time recording)。注意在处理之后 30 分钟氧分压增加。(C) ITPP 并不影响肌肉 pO_2。腹膜内注射的 ITPP 增加缺氧的皮下肿瘤 (较低曲线) 中的 pO_2，但并不影响健康肌肉 (较高曲线) 中的 pO_2。数据来自用每组十只小鼠进行的十次实验中的一次代表性实验。

[0024] 图 2 显示了 ITPP-PBC 供应的氧在实验黑素瘤模型中抑制肺转移并逆转了缺氧诱导的基因级联。在黑素瘤接种之后第 27 日，在来自携带未经处理的 (灰色) 和 ITPP 处理的 (黑色) 的小鼠的肺裂解物中蛋白和酶活性的测量，与健康对照 (白色) 相比较 :(A) 通过萤光素酶测定定量的肺转移。(B)HIF-1α 表达 ;(C)VEGF 表达。(D)Tie-2 和 (E)HO-1 表达，其在黑素瘤细胞注射之后第 19 日通过 ELISA 估计。(F)mRNALOX 含量，估计。数据为从来自 5 次实验中的一次代表性实验的每组 8 至 10 只不同小鼠计算的平均值。

[0025] 图 3 显示了 ITPP 处理日程可在罹患皮下黑素瘤的小鼠中影响抗转移活性，血管正常化和多药抗性细胞水平的减少。(A) 在第 20、21 日施用药物之前 ITPP 处理的起始时间和期限的作用。若起始于第 7 日，ITPP 减少转移，而在此之后效力降低，在慢性处理之后转移增加。萤光素酶分析在第 25 日进行。数据为从来自 10 次实验中的一次代表性实验的每组十只不同小鼠计算的平均值。(B) 在第 20 日通过下述方法评价 ITPP 处理对肿瘤血管正常化的作用 :(a) 在皮下的、未处理的肿瘤中对血管架构 (vessel architecture) 进行的磁共振成像，与经 ITPP 处理的小鼠相比较。注意在 ITPP 处理 (第 9、14、18 和 19 日) 之后的良好组织的血管系统 (箭头)，与未经处理的肿瘤中的无组织的、不连续的脉管 (箭头) 相比较。(b) 通过正常化的血管周围的周细胞的抗 SMA 抗体进行的免疫染色，与对照相比较。

[0026] 图 4 显示了在缺氧和重新加氧之后小鼠黑素瘤细胞的体外化学敏感性，和小鼠肺内皮。黑素瘤细胞对化疗药物 (A) 紫杉醇 ;(B) 顺铂的敏感性在缺氧之后丧失。这在对细胞重新加氧之后恢复。(C) 对顺铂的内皮细胞敏感性评价。

[0027] 图 5 显示了肿瘤加氧和血管正常化促进黑素瘤中的化疗。(A)ITPP、紫杉醇和顺铂的组合减少由于处理时序 (chronology) 导致的转移。肺转移的根除在药物重新注射 (第 20 和第 21 日) 之前重新注射 ITPP(第 18 和 19 日) 时获得。(a) = 非经处理的 ;(b) = 第 7、12、16 日用 ITPP ;(c) = “b”+ 第 7、12、16 日用药 ;(d) = “c”+ 第 18、19 日用 ITPP+ 第 20、21 日用药 ;(e) = 第 9、14 日用 ITPP ;(f) = “e”+ 第 9、14 日用药 ;(g) = “f”+ 第 18、19 日用 ITPP+ 第 20、21 日用药 ;(h) = 第 11、16 日用 ITPP ;(i) = “h”+ 第 11、16 日用药 ;(j) = “i”+ 第 18、19 日用 ITPP+ 第 20、21 日用药。在第 25 日分析萤光素酶活性。数据为从来自 10 次实验的一次代表性实验的每组十只不同小鼠计算的平均值。(B)ITPP 诱导的正常化对药物化疗活性的节拍器组合作用 (metronomic combination effect)。将两组小鼠在第 9、14 日，或第 9、14、18、19 日通过 ITPP 处理。两组经 ITPP 处理的小鼠在第 20、21 日接受紫杉醇和顺铂。将肿瘤在第 25 日染色。(a) 在对应于坏死区的 a2 和 a3CD31+ 染色中，

通过 CD31(a1) 在未经处理的肿瘤中对血管进行的免疫染色，与经 ITPP 和药物处理的小鼠相比较。(b) 如 (a) 中处理的小鼠的肿瘤的苏木精 - 伊红染色。注意在处理之后 (a3，b3) 有效的对肿瘤的坏死性破坏。数据为对每组 10 只小鼠进行的实验的代表。

[0028] 图 6 显示了 ITPP 处理对罹患胰腺肿瘤的大鼠存活的作用，与吉西他滨单用和安慰剂的作用相比较。在 ITPP 处理组中，对罹患胰腺肿瘤的大鼠在第 14 日至第 49 日的期间内每周用 ITPP(1.5mg/Kg) 处理。在吉西他滨处理组，对罹患胰腺肿瘤的大鼠用吉西他滨 (100mg/Kg) 在第 16、18 和 20 日处理。对照组中的动物未经处理。

[0029] 图 7 显示了使用肌醇三焦磷酸六钠 (hexasodium myo-inositol tripyrophosphate，OXY111A) 与吉西他滨组合对罹患胰腺肿瘤的大鼠的存活的作用，与单用吉西他滨处理和安慰剂的作用相比较。在组合处理组中，对罹患胰腺肿瘤的大鼠在第 14 日至第 49 日的期间内每周用 ITPP(1.5mg/Kg) 与吉西他滨 (25mg/Kg 或 50mg/Kg) 组合处理。在吉西他滨处理组中，对罹患胰腺肿瘤的大鼠用吉西他滨 (100mg/Kg) 在第 16、18 和 20 日处理。对照组中的动物未经处理。

[0030] 图 8 显示了 ITPP 处理对罹患人 Panc-1 胰腺肿瘤异种移植物的裸鼠的存活的作用，与单用吉西他滨处理和安慰剂的作用相比较。在 ITPP 处理组中，对具有肿瘤异种移植物的小鼠在第 14 日至第 49 日的期间内每周用 ITPP(2mg/Kg) 处理。在吉西他滨处理组中，对具有肿瘤异种移植物的小鼠用吉西他滨 (100mg/Kg) 在第 16、18 和 20 日处理。对照组中的动物未经处理。

[0031] 图 9 显示了使用 ITPP 与吉西他滨组合对具有人 Panc-1 胰腺肿瘤异种移植物的裸鼠的存活的作用，与单用吉西他滨处理和安慰剂的作用相比较。在组合处理组中，对具有肿瘤异种移植物的小鼠在第 14 日至第 49 日的期间内每周用 ITPP(2mg/Kg) 与吉西他滨 (25mg/Kg 或 50mg/Kg) 处理。在吉西他滨处理组中，对具有肿瘤异种移植物的小鼠用吉西他滨 (100mg/Kg) 在第 16、18 和 20 日处理。对照组中的动物未经处理。

[0032] 图 10 显示了 ITPP 处理对罹患胰腺肿瘤的大鼠中的 HIF-1α、VEGF、胱天蛋白酶 -3 和 β - 肌动蛋白的作用，与单用吉西他滨处理和安慰剂的作用相比较。

[0033] 图 11 显示了 ITPP 处理对 CD68(M2 型) 的巨噬细胞对 B16 肿瘤的浸润的作用。用 OXY111A 在第 7、8、14、15、21、22、29 和 30 进行腹膜内注射。对 B16 肿瘤的分析在第 31 日进行。(a) 未经处理的 B16 肿瘤 ;(b) 和 (c) 经 IPTT 处理的肿瘤的 CD68 染色显示 CD68(M2 型) 巨噬细胞浸润 B16 肿瘤。

[0034] 图 12 显示了 ITPP 处理对 CD49b 天然杀伤 (NK) 细胞浸润 B16 肿瘤的作用和对 CD13 内皮 (EC) 细胞在 B16 肿瘤中的存在的作用。(a) 至 (c) 未经处理的 B16 肿瘤 ;(d) 至 (f) 经 ITPP 处理的 B16 肿瘤。绿箭头指示浸润的 NK 细胞 ;红箭头指示血管壁。

[0035] 图 13 显示了 ITPP 处理对 NK 细胞侵入黑素瘤 B16 肿瘤的作用。B16 肿瘤用 B16F10 DAPI 标记 ;NK 细胞通过抗 CD49bFITC1 标记 ;而血管内皮细胞通过抗 CD31TRITC 标记。(a) 未经处理的 B16 肿瘤 ;(b) 和 (c) 用 ITPP 处理的 B16 肿瘤。

具体实施方式

[0036] (1) 本发明的组合物

[0037] 可依照本发明使用的组合物包括肌醇三焦磷酸 (ITPP) 的酸和盐 ;本文中，认为

ITPP 是阴离子。术语肌醇三焦磷酸，也称作肌醇六磷酸三焦磷酸，指具有三个内部焦磷酸环的肌醇六磷酸。在本文中，ITPP 的相应物种 (counterpart species) 称作反离子，而 ITPP 与反离子的组合在本文中称作酸或盐。本发明并不限于纯粹离子型的配对；事实上，本领域公知配对的离子常常在配对的两个组分之间显露一定程度的共价或配位键特征。本发明组合物的 ITPP 酸和盐可包含单一类型的反离子，或可含有混合的反离子，且可任选地含有阴离子的混合物，阴离子之一为 ITPP。所述组合物可任选地包括冠醚、穴状配体和其他能够螯合或以其他方式络合反离子的物种。所述组合物可类似地任选地包括酸性大环 (acidic macrocycle) 或其他能够通过氢键或其他分子吸引络合 ITPP 的物种。制备 ITPP 的酸和盐的方法描述于授予 Nicolau 等的美国专利号 7084115，其内容通过全文提述并入本文。

[0038] 考虑用于本发明的反离子包括但不限于下述：阳离子氢物种，包括质子以及氘和氚的相应离子；一价无机阳离子包括锂、钠、钾、铷、铯和铜 (I)；二价无机阳离子包括铍、镁、钙、锶、钡、锰 (II)、锌 (II)、铜 (II) 和铁 (II)；多价无机阳离子包括铁 (III)；季氮物种包括铵、环庚基铵、环辛基铵、N, N- 二甲基环己基铵和其他有机铵阳离子；锍物种包括三乙基锍和其他有机锍化合物；有机阳离子包括吡啶、哌啶、哌嗪 (piperazinium)、喹核 (quinuclidinium)、吡咯、三哌嗪和其他有机阳离子；聚合阳离子包括寡聚物、聚合物、肽、蛋白、荷正电的离子交联聚合物和其他在聚合物侧基、链端和 / 或骨架中具有锍、季氮和 / 或带电荷的有机金属物种的高分子物种。示例性的 ITPP 盐为 ITPP 的单钙四钠盐或 ITPP 钠和 ITPP 钙含有 15-25 摩尔％钙和 75-85％摩尔％钠的混合物。

[0039] 本发明中采用的 ITPP 的优选的异构体为肌 - 肌醇 (myo-inositol)，其为顺 -1, 2,3,5- 反 -4,6- 环己烷己醇 (cis-1,2,3,5-trans-4,6-cyclohexanehexyl)；然而，本发明并不限于此。因此，本发明涵盖了在 ITPP 中使用任何肌醇异构体，包括天然出现的鲨 -(scyllo-)、手 (chiro-)、粘 -(muco-) 和新 -(neo-) 肌醇异构体，以及别 -(allo-)、表 -(epi-) 和顺 -(cis-) 肌醇异构体的相应的三焦磷酸化合物。

[0040] 涵盖了 ITPP 可在体内由前药产生，如通过酯的酶切割，或通过消去离去基团如甲苯基磺酰基团。

[0041] ITPP 显示抗血管发生和抗肿瘤特性，并可用于控制血管发生相关或增殖相关事件、病状或物质。如用于本文，对血管发生相关或增殖相关事件、病状或物质的控制指对任何类型的因素、状况、活性、指标、化学物或化学物的组合、mRNA、受体、标志物、介体 (mediator)、蛋白、转录活性等的任何可涉及或认为可涉及血管发生或增殖，且由施用本发明的组合物而导致的定性或定量的改变。

[0042] ITPP 亦增加肿瘤微环境中的 pO_2，抑制转移和肿瘤性新血管发生。缺氧肿瘤细胞，常常更具侵袭性，并对细胞凋亡更具抗性，倾向于对常规化疗具有抗性。因此，在某些实施方案中，通过用与 ITPP 的组合处理增加通过化疗剂的处理的效力。此外，在一些方面，ITPP 处理诱导肿瘤微血管“正常化”。

[0043] ITPP 还减少肿瘤中的药物流出泵的数量，因此，在某些实施方案中，治疗对一种或多种化疗剂具抗性的肿瘤，和 / 或增加化疗剂针对肿瘤细胞的效力。

[0044] 本发明提供了新型药物组合物，其包含 ITPP 和化疗剂。适用于本发明的化疗剂包括：氨鲁米特 (aminoglutethimide)、安吖啶 (amsacrine)、阿那曲唑 (anastrozole)、天冬酰胺酶 (asparaginase)、bcg、比卡鲁胺 (bicalutamide)、博莱霉素 (bleomycin)、布舍瑞

林 (buserelin)、白消安 (busulfan)、喜树碱 (camptothecin)、卡培他滨 (capecitabine)、卡铂 (carboplatin)、卡莫司汀 (carmustine)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、顺铂 (cisplatin)、克拉屈滨 (cladribine)、氯屈膦酸 (clodronate)、秋水仙碱 (colchicines)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、环丙孕酮 (cyproterone)、阿糖胞苷 (cytarabine)、达卡巴嗪 (dacarbazine)、放线菌素 D(dactinomycin)、柔红霉素 (daunorubicin)、己二烯雌酚 (dienestrol)、己烯雌酚 (diethylstilbestrol)、多西他赛 (docetaxel)、多柔比星 (doxorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、雌二醇 (estradiol)、雌莫司汀 (estramustine)、依托泊苷 (etoposide)、依西美坦 (exemestane)、非格司亭 (filgrastim)、氟达拉滨 (fludarabine)、氟氢可的松 (fludrocortisone)、氟尿嘧啶 (fluorouracil)、氟甲睾酮 (fluoxymesterone)、氟他胺 (flutamide)、吉西他滨 (gemcitabine)、染料木黄酮 (genistein)、戈舍瑞林 (goserelin)、羟脲 (hydroxyurea)、伊达比星 (idarubicin)、异环磷酰胺 (ifosfamide)、伊马替尼 (imatinib)、干扰素 (interferon)、伊立替康 (irinotecan)、ironotecan、来曲唑 (letrozole)、亚叶酸钙 (leucovorin)、亮丙瑞林 (leuprolide)、左旋咪唑 (levamisole)、洛莫司汀 (lomustine)、氮芥 (mechlorethamine)、甲羟孕酮 (medroxyprogesterone)、甲地孕酮 (megestrol)、美法仑 (melphalan)、巯嘌呤 (mercaptopurine)、美司钠 (mesna)、甲氨蝶呤 (methotrexate)、丝裂霉素 (mitomycin)、米托坦 (mitotane)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、尼鲁米特 (nilutamide)、诺考达唑 (nocodazole)、奥曲肽 (octreotide)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、紫杉醇 (paclitaxel)、帕米膦酸 (pamidronate)、喷司他丁 (pentostatin)、普卡霉素 (plicamycin)、卟吩姆 (porfimer)、丙卡巴肼 (procarbazine)、雷替曲塞 (raltitrexed)、利妥昔单抗 (rituximab)、链佐星 (streptozocin)、舒拉明 (suramin)、他莫昔芬 (tamoxifen)、替莫唑胺 (temozolomide)、替尼泊苷 (teniposide)、睾酮 (testosterone)、硫鸟嘌呤 (thioguanine)、塞替派 (thiotepa)、二氯环戊二烯钛 (titanocene dichloride)、托泊替康 (topotecan)、曲妥单抗 (trastuzumab)、维 A 酸 (tretinoin)、长春碱 (vinblastine)、长春新碱 (vincristine)、长春地辛 (vindesine) 和长春瑞滨 (vinorelbine)。

[0045] 在一个实施方案中,所述化疗剂为微管靶向剂如紫杉醇。在另一个实施方案中,所述化疗剂是 DNA 嵌入剂如基于铂的药剂 (例如顺铂) 或多柔比星。在一个进一步的实施方案中,所述化疗剂是核苷代谢抑制剂如吉西他滨或卡培他滨。

[0046] 在某些实施方案中,组合物的化疗剂可为亚治疗剂量或量。术语“亚治疗剂量或量”意味着药学活性物质的剂量或量低于需要将该物质作为单一物质施用以取得治疗作用的剂量或量。此种物质的亚治疗剂量会取决于受试者和待治疗的疾病状况、受试者的体重和年龄、疾病状况的严重程度,给药方式等而变动,这可由本领域一般技术人员方便地确定。在一个实施方案中,所述化疗剂的亚治疗剂量或量为低于所述化疗剂批准的完整剂量 (如提供于针对该化疗剂的美国食品和药物管理局批准的标签信息) 的 90%。在其他实施方案中,所述化疗剂的亚治疗剂量或量少于批准的完整剂量的 80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%或甚至 10%,如 20%至 90%,30%至 80%,40%至 70%或另一种本文中提供的值内的范围。

[0047] 本发明还提供了用于治疗癌症的试剂盒,包含 ITPP 和化疗剂。该试剂盒可提供依照下文所讨论的本发明的方法或治疗方案使用 ITPP 或化疗剂的说明。适用于试剂盒的化

疗剂可包括那些上文中体积的。所述化疗剂的亚治疗剂量或量可用于本发明的试剂盒。

[0048] 本发明还涵盖了植入物或其他装置，其包含 ITPP 的化合物或药物，或其前药，此处所述药物或前药配置为生物可降解的或非生物可降解的聚合物以供持续释放。非生物可降解的聚合物通过物理或机械方法以受控方式释放药物，而聚合物自身不受降解。生物可降解的聚合物设计为通过身体中的天然过程逐渐水解或溶解，允许混合的药物或前药的逐渐释放。所述药物或前药可化学连接于所述聚合物，或可通过混合掺入所述聚合物。生物可降解的和非生物可降解的聚合物和将药物掺入所述聚合物以供受控释放的方法对于本领域技术人员是公知的。此类聚合物的实例可见于多种文献，如 Brem 等，J. Neurosurg 74 : pp. 441-446(1991)，其通过全文提述并入本文。这些植入物或装置可植于需要进行递送之处例如肿瘤部位附近。

[0049] 本发明的药物组合物亦可含有，或共同施用（同时或顺次）一种或多种在治疗上文中提及的一种或多种疾病状况中具有价值的药剂。

[0050] 制剂一般可依照标准文献，如 Remington's Pharmaceutical Sciences 17thedition 来制备和施用。举例而言，本文中所述的组合物可以以常规方式使用一种或多种生理上或药学上可接受的载体或赋形剂配制。可配制本发明的组合物及其药学上可接受的盐和溶剂用于通过例如注射（例如皮下、肌肉内、腹膜内）、吸入或吹入（通过口或鼻）或经口、含服、舌下、经皮、经鼻、肠胃外或直肠给药来施用。在一个实施方案中，组合物可局部施用于靶细胞存在的部位，即，特定组织、器官或体液（例如血液、脑脊液等）。应理解的是除了这些成分，特别是上述提及的那些之外，考虑到所讨论的制剂的类型，本发明的制剂可包含其他本领域中的常规药剂，例如，那些适于经口给药的药剂可包括矫味剂或其他使得制剂更加适口并更加容易吞咽的药剂。

[0051] 适用于经口给药的本发明的制剂可表现为分立的单元如胶囊剂、扁囊剂或片剂，每种含有预定量的活性成分；表现为散剂或颗粒剂；表现为溶液或者水性液体或非水性液体中的悬液；或表现为水包油液体乳剂或油包水乳剂等。片剂可通过压制或模制制成，任选地具有一种或多种辅助成分。片剂可任选地经涂覆或刻痕，且可配制为提供其中活性成分的缓慢或受控释放。

[0052] 适于在口腔中局部给药的制剂包括锭剂，其包含处于具味基底 (flavored basis) 中的成分，所述基底通常为蔗糖和阿拉伯胶或西黄蓍胶；软锭剂，其包含处于惰性基底中的活性成分，所述基底如明胶和甘油，或蔗糖和阿拉伯胶；和漱口剂，其包含处于合适的液体载体的待施用成分。

[0053] 适于对皮肤局部给药的制剂可表现为软膏剂、乳霜、凝胶剂和糊剂，其包含处于药学上可接受的载体中的待施用成分。另一种局部递送系统为含有待施用成分的经皮贴片。

[0054] 用于直肠给药的制剂可表现为栓剂，其具有合适的基底，包括例如可可脂和 / 或水杨酸盐 / 酯。

[0055] 其中所述载体是固体的适用于经鼻给药的制剂，包括粗散剂，其具有例如范围为 20 至 500 微米的粒度，其以鼻吸方式给药，即，通过经由鼻道从置于向上靠近鼻部的散剂容器进行迅速吸入来给药。其中载体是液体的适用于给药的制剂，如例如，鼻喷剂或鼻滴剂，包括活性成分的水性或油性溶液。

[0056] 适于阴道给药的制剂可表现为阴道栓剂、卫生栓 (tampon)、乳霜、凝胶剂、糊剂、泡

沫剂、或喷剂制剂，其除了活性成分之外，还含有本领域已知为合适的成分如载体。

[0057] 适于吸入的制剂可表现为雾剂、尘剂、散剂或喷剂制剂，其除了活性成分之外，还含有本领域已知为合适的成分如载体。

[0058] 适于肠胃外给药的制剂包括水性和非水性的灭菌的注射溶液，所述溶液可含有抗氧化剂、缓冲液、抑菌剂和溶剂，所述溶剂使得该制剂与意图的接受者的血液等渗；和水性和非水性的灭菌的悬液，其可包括助悬剂和增稠剂。所述制剂可表现为单位剂量或多剂量容器，例如，密封的安瓿和西林瓶，且可储藏于冷冻干燥的（冻干）的条件，仅需要在即将使用之前添加灭菌的液体载体，例如注射用水。即用型注射溶液和悬液可以由前述各类的灭菌散剂、颗粒剂和片剂制备。

[0059] 本发明的一部分涵盖的制剂包括美国公开号 2004/0033267 中公开的方法制成的纳米颗粒制剂，其通过全文提述并入本文。在某些实施方案中，本发明的化合物的颗粒如通过光散射方法、显微术或其他本领域一般技术人员公知的适当方法测量具有小于约 2 微米，小于约 1500nm，小于约 1000nm，小于约 500nm，小于约 250nm，小于约 100nm，或小于约 50nm 的有效平均粒度。

[0060] (2) 本发明的治疗方案和方法

[0061] ITPP 诱导肿瘤内的血管正常化。ITPP 诱导的血管正常化抵消了肿瘤缺氧，肿瘤缺氧是肿瘤细胞对辐射和细胞毒性药物的抗性以及肿瘤转移的关键原因。

[0062] 在一个方面，本发明提供了用于在受试者中治疗癌症或肿瘤的方法或治疗方案，其包括同时或顺次施用治疗有效量的 ITPP 和化疗剂。短语“治疗有效量”意指此种物质、组合物、试剂盒或治疗方案作为整体产生一些期望的局部或全身作用，通常在治疗方案或方法的上下文中具有合理的收益 / 风险比的量。此种物质的治疗有效量会取决于受治疗的疾病状况和受试者，受试者的体重和年龄，疾病状况的严重程度，给药方式等而变动，这可由本领域一般技术人员方便地确定。举例而言，本文中所述的某些组合物可以以适用于此种治疗的合理收益 / 风险比以足以产生所需的作用的量施用。

[0063] 适用于本发明的方法中的合适的化疗剂可包括那些上文中提及的。在某些实施方案中，所述化疗剂为紫杉醇、顺铂或吉西他滨。

[0064] 示例性的癌症包括但不限于血液新生物 (haematologic neoplasm)，包括白血病、骨髓瘤和淋巴瘤；癌瘤，包括腺癌瘤和扁平细胞癌瘤；黑素瘤和肉瘤。癌瘤和肉瘤亦经常称作“实体瘤”。可通过本发明的方法治疗的肿瘤的类型优选为实体瘤，包括但不限于：肉瘤、癌瘤和其他实体肿瘤癌症，包括但不限于种系肿瘤、中枢神经系统的肿瘤、乳腺癌、前列腺癌、子宫颈癌、子宫癌、肺癌、卵巢癌、睾丸癌、甲状腺癌、星型细胞瘤、神经胶质瘤、胰腺癌、胃癌、肝癌、结肠癌、黑素瘤、肾癌、膀胱癌、食道癌、喉癌、腮腺癌、胆管癌、直肠癌、子宫内膜癌、鳞状上皮细胞癌瘤、腺癌瘤、小细胞癌瘤、神经母细胞瘤、间皮瘤、肾上腺皮质癌瘤、上皮细胞癌瘤、纤维瘤 (desmoid tumor)、结缔组织增生性小圆细胞肿瘤、内分泌肿瘤、尤因肉瘤家族肿瘤、种系肿瘤、肝母细胞瘤、肝细胞癌瘤、淋巴瘤、黑素瘤、非横纹肌肉瘤软组织肉瘤、骨肉瘤、外周原发性神经外胚层肿瘤、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤和肾母细胞瘤。

[0065] 在一个实施方案中，ITPP 和化疗剂同时施用。在一个具体实施方案中，ITPP 和核苷代谢抑制剂如化疗剂吉西他滨，同时施用。在另一个具体实施方案中，所述癌症是胰腺癌。在某些实施方案中，所述癌症是黑素瘤。

[0066] 在另一个实施方案中，ITPP 和化疗剂顺次施用。举例而言，在施用化疗剂之前施用 ITPP。在一个优选实施方案中，所述化疗剂是在肿瘤中发生部分血管正常化之后施用的。如用于本文，“部分血管正常化”指其中现存的肿瘤血管系统呈现血管内皮和基质膜的结构改善并因此减少了渗漏、膨胀和 / 或缺氧的生理状态。此种部分血管正常化可通过检测和 / 或监视 pO_2、缺氧诱导因子 1α (HIF-1α)、VEGF、酪氨酸激酶 Tie-2 和血加氧酶 1(HO-1) 中一种或多种的水平的变化，或通过使用包括磁共振成像 (MRI) 和核共振血管造影术 (Magnetic Resonace Angiography ;MRA) 的技术监视肿瘤血管的生理状态来测定。

[0067] 在一个优选实施方案中，在施用化疗剂之前约 2 小时至 5 日施用 ITPP。在另一个优选实施方案中，在施用化疗剂之前 1 至 4 日施用 ITPP，如在施用化疗剂（例如，微管靶向剂如紫杉醇，或 DNA 嵌入剂如顺铂）之前 2 至 3 日。

[0068] 可施用多个轮次的 ITPP 和化疗剂。在某些实施方案中，仅施用一个轮次。在其他实施方案中，施用两个或更多个（例如两个、三个、四个或更多个轮次）轮次的 ITPP 和化疗剂。所述轮次可分隔 1 日至 6 个月，如 1 日至 3 个月，1 周至 2 周，2 周至 3 周，3 周至 1 个月，1 个月至 2 个月，或 2 个月至 3 个月。

[0069] 所述化疗剂可以以基于用该剂作为单独的活性剂的剂量的亚治疗剂量或量施用。在一个实施方案中，施用的化疗剂的亚治疗剂量或量为低于如上所述的另一个剂量或所述化疗剂的批准的完整剂量的 90％。

[0070] 本发明还提供了治疗药物抗性癌症的方法。在某些实施方案中，药物抗性癌症是无法用一种或多种化疗剂治疗的癌症。举例而言，药物抗性癌症可能在用药剂治疗之后不具有可察觉的肿瘤大小减少，和 / 或并不显著抑制肿瘤的进行（例如，从 II 期至 III 期或从 III 期至 IV 期）。某些癌症，特别是黑素瘤对其具有抗性的化疗剂的实例包括微管靶向剂（例如紫杉醇）和 DNA 嵌入剂（例如基于铂的药剂，如顺铂）。药物抗性测定法描述于例如 Lowe 等 (1993)Cell74 :957-697，其通过提述并入本文。在其他实施方案中，药物抗性癌症是与非抗性癌细胞相比具有显著增加水平的小管多特异性有机阴离子转运蛋白 1(canalicular multispecific organic anion transporter 1) 和 / 或 P- 糖蛋白药物流出泵的癌症。

[0071] 治疗药物抗性癌症的方法可涉及单独施用 ITPP 或施用 ITPP 与另一种化疗剂的组合，如本文中所述的那些。

[0072] 本发明还提供了用于治疗过度增殖性病状的方法，包括对有此需要的受试者施用治疗有效量的 ITPP，其中所述过度增殖性病状并非癌症或由不期望的血管发生所表征。可通过本发明的方法治疗的过度增殖性病状包括但不限于 :糖尿病性肾病、肾小球硬化症，IgA 肾病，肝硬化，胆道闭锁，充血性心力衰竭，硬皮病，辐射诱导的纤维化，肺纤维化（特发性肺纤维化、胶原血管病，结节病，间质性肺病和外因性肺病 (extrinsic lung disorder))，银屑病，生殖器疣，以及过度增殖性细胞生长疾病，包括过度增殖性角质形成细胞疾病 (hyperproliferative keratinocyte disease) 如过度角化症，鱼鳞病，角皮病 (keratoderma) 或扁平苔藓。在一些实施方案中，显示过度增殖性病状的组织或器官是缺氧的。在一个进一步的实施方案中，用于治疗过度增殖性病状的方法进一步包括施用其他抗过度增殖剂。抗过度增殖剂包括多柔比星，柔红霉素，丝裂霉素，放线菌素 D，博莱霉素，顺铂，VP16，an enedyine，紫杉酚 (taxol)，长春新碱，长春碱，卡莫司汀，美法仑，环磷酰胺，苯

丁酸氮芥，白消安，洛莫司汀，5- 氟尿嘧啶，吉西他滨，BCNU 或喜树碱。

[0073] 本发明进一步提供了用于增强受试者中免疫应答的方法，包括对有此需要的受试者施用治疗有效量的 ITPP，其中所述受试者并不罹患癌症或另一肿瘤。在一个实施方案中，所述受试者并不罹患不期望的血管发生。

[0074] (3) 定义

[0075] 如用于本文，下述术语和短语应具有下文中列举的含意。除非另行定义，所有本文中使用的技术和科学术语具有与本领域一般技术人员通常的理解的相同含意。

[0076] 术语“剂 / 药剂”用于本文指化学化合物、化学化合物的混合物、生物大分子（如核酸、抗体、蛋白或其部分例如肽）或从生物材料如细菌、植物真菌或动物（特别是比如类）细胞或组织制备的提取物。此类药剂的活性可使其适于作为“治疗剂”，其为在受试者中起局部或全身作用的生物学、生理学或药学活性物质。

[0077] 术语“肠胃外给药”和“肠胃外施用”在本领域是公认的，且指除了肠内和外用 (topical administration) 之外的给药模式，通常通过注射，且包括但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、椎内和胸骨内注射和灌注。

[0078] “患者”、“受试者”、“个体”或“宿主”指人或非人动物。

[0079] “细胞毒性药物或药剂”为任何能够破坏细胞，优选癌细胞的药剂。

[0080] 术语“药学上可接受的载体”是本领域公认的，并指药学上可接受的材料、组合物或媒介，如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或胶囊化材料，其涉及携带或转运任何主题的组合物或其组分。每种载体必须是可接受的，其意义为与主题组合物及其组分相容，且对患者无害。可充当药学上可接受的载体的材料的一些实例包括：(1) 糖，如乳糖、葡萄糖和蔗糖；(2) 淀粉，如玉米淀粉和马铃薯淀粉；(3) 纤维素及其衍生物，如羧甲基纤维素钠，乙基纤维素和醋酸纤维素；(4) 粉末状的西黄蓍胶；(5) 麦芽；(6) 明胶；(7) 滑石粉；(8) 赋形剂，如可可脂和栓剂蜡；(9) 油，如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；(10) 二醇，如丙二醇；(11) 多元醇，如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；(12) 酯，如油酸乙酯和月桂酸乙酯；(13) 琼脂；(14) 缓冲剂如氢氧化镁和氢氧化铝；(15) 藻酸；(16) 不含致热原的水；(17) 等张盐水；(18) 林格液；(19) 乙醇；(20) 磷酸盐缓冲溶液；和 (21) 其他药物制剂中采用的无毒相容物质。

[0081] 术语“治疗剂”是本领域公认的，且指任何为在受试者中起局部或全身作用的生物学、生理学或药学活性物质的化学模块 (moiety)。该术语还意指任何旨在用于在动物或人中诊断、治愈、缓解、治疗或预防疾病或增强期望的生理或心理发展和 / 或状况的物质。

[0082] “治疗”病状或疾病指治愈以及缓解病状或疾病的至少一种症状。治疗包括施用组合物，所述组合物在受试者中相对于未接受该组合物的受试者，其医疗状况的症状的频率得到减少，发作得到延迟。因此，治疗癌症包括，例如相对于未经治疗的对照群体，在接受治疗的患者的群体中减少可检测的癌生长的数量和 / 或大小，和 / 或与未经治疗的对照群体相比，在受治疗的群体中延迟可检测的癌症生长的出现，例如减少和 / 或延长了统计学上和 / 或临床上显著的量。

[0083] 实施例

[0084] 既然已经一般性地描述了本发明，通过参照下述实施例，会更方便地理解本发明，

这些实施例的纳入仅为了说明本发明某些方面和实施方案的目的，并不意图以任何方式限制本发明。

[0085] 实施例 1 :B16F10LucGFP 细胞系的产生

[0086] 用逆转录病毒载体（由 5'LTR 启动子驱动的萤火虫萤光素酶 cDNA，接着为 IRES 序列和 EGFP cDNA）转导 B16F10 鼠类黑素瘤。所述载体是使用 pBMN-Luc-I-GFP 质粒（作为礼物由 Dr. Magnus Essand，Uppsala，Sweden 慷慨地提供）和稳定表达 gag、pol 和 env 基因的 PT67 包装细胞系 (Clontech) 产生的。此外，使用提供 gag 和 pol 基因的 pM13 质粒（作为礼物由 Dr. Christine Brostjan，Vienna，Austria 慷慨地提供）以增加产生效率。在补充 10％ FCS，青霉素 (100U/mL) 和链霉素 (100μg/mL) 的 DMEM HG 培养基 (PAA Laboratories) 中培养包装细胞，并使用 SuperFect 试剂 (Qiagen) 依照生产商的指示与 pBMN-Luc-I-EGFP 和 PM13 质粒共转染。在转染之后，将细胞在 32℃培养 48 小时。然后收集含有逆转录病毒载体的培养基，将其与完全 RPMI 培养基以 1 ： 1 的 v/v 比混合，并用于转导 B16F10 细胞。在三日之后，使用荧光显微镜根据 EGFP 的存在估计转导效率（约 5％）。在将 EGFP 阳性集落传代数次和三组使用 MoFlo Flow Cytometer(Dako Cytomation) 的分选之后，获得了超过 99％纯的 B16F10LucGFP 细胞系。

[0087] 实施例 2 :根据 O_2 压力的细胞对化学疗法的易感性

[0088] 在数种 pO2％下构建对顺铂（顺 - 二氯二胺合铂）(Sigma-Aldrich) 或紫杉醇 (Calbiochem) 的剂量应答曲线 48 小时。细胞存活通过 Almar 蓝测试 (Biosource) 如生产商的指示进行衡量。

[0089] 实施例 3 :实验性转移测定

[0090] 在尾静脉中静脉内注射 B16F10LucGFP 鼠类黑素瘤细胞 (0.1ml 盐水中 10^5 个细胞）之后，通过每 5 日 IP 注射 1.5g/kg 的 ITPP（每处理组 10 只小鼠）来处理小鼠（来自 Janvier 的八周龄的 C57BL/6)。处理在肿瘤细胞接种之后第 5 日起始。在 19 或 27 日之后，将小鼠处死，并分别收集肺部。为了对组织中黑素瘤细胞的量进行定量，对肉眼可见的肺部病灶 (lung focus) 进行计数，并通过化学发光测定 (Promega) 确定萤光素酶。所有动物研究步骤和动物的使用均经 Comitéd'Ethique pour l'expérimentation animale，Campus CNRS d'Orléans，France 批准。

[0091] 实施例 4 :皮下黑素瘤模型

[0092] 在注射 100μl 由 25％ MatrigelTM(OptiMEM 中 50％）中的 10^5 个细胞构成的栓 (plug) 之后，将 B16F10LucGFP 细胞作为皮下肿瘤生长。Matrigel 来自 BD Biosciences，而 OptiMEM 来自 Invitrogen。在接种之后 25 日，将小鼠处死，并切出肿瘤和肺脏。根据 ITPP（盐水中 100μg/kg 至 2.0g/kg，腹膜内）与顺铂（盐水中 10mg/kg，腹膜内）和紫杉醇 (50％乙醇，50％ Cremophor EL 中 2mg/kg ;Sigma-Aldrich，经口）组合的时间和剂量，施用数种治疗方案。处理在黑素瘤细胞接种之后 7、9 或 11 日起始。

[0093] 实施例 5 :对缺氧 -、血管生成 - 和黑素瘤 - 相关标志物的生化定量

[0094] 将肺脏在裂解缓冲液 (Active motif) 中匀浆。在离心之后，收集清澈的上清。总蛋白量通过 BCA 蛋白测定试剂盒 (Thermo Scientific) 确定。肺裂解物中的 HIF-1α、VEGF、Tie-2 和 HO-1 使用色度法夹心 ELISA 依照生产商的指示进行定量。HIF-1α、VEGF 和 Tie-2ELISA 试剂盒来自 R&D。HO-1 ELISA 试剂盒来自 Takara。

[0095] 实施例 6 :半定量逆转录酶聚合酶链式反应分析

[0096] 对于 LOX 的 Taqman 聚合酶链式反应引物序列为 5’-ATCGCCACAGCCTCCGCAGCTCA-3’(SEQ ID NO :1) 和 5’-AGTAACCGGTGCCGTATCCAGGTCG-3’(SEQ ID NO :2)。对于 β - 肌动蛋白 (内部对照),引物序列为 5’-CCAGAGCAAGAGAGGCATCC-3’(SEQ ID NO :3) 和 5’-CTGTGGTGGTGAAGCTGAAG-3’(SEQ ID NO :4)。将扩增的 cDNA 条带用 ImageQuant 软件 (Becton 和 Dickinson) 定量。将 LOX mRNA 水平相对于 β - 肌动蛋白 mRNA 标准化。

[0097] 实施例 7 :免疫组织学染色

[0098] 将肿瘤组织包埋于 Tissue-Tek(Sakura),组织冻结培养基,并迅速在液氮中冻结。固定冷冻切片,并使用在 PBS 中的 FCS 5% 中 1 ： 200 稀释的来自 eBiosciences 的针对小鼠 CD31(PECAM-1,血小板 / 内皮细胞粘附分子) 的大鼠单克隆 IgG2a 抗体,兔 IgG 抗 SMA(平滑肌肌动蛋白) 抗体 (AbCAM) 或小鼠 IgG2a 抗 P- 糖蛋白 (C219)(Calbiochem) 对其染色。使用山羊 IgG-FITC 标记的抗大鼠免疫球蛋白,山羊 IgG-FITC 标记的抗兔免疫球蛋白或山羊 IgG-FITC 标记的抗小鼠免疫球蛋白 (在 PBS 中 1 ： 200 稀释) 分别用作二抗。为了检测细胞核,用 PBS 中 1 ： 1000 的二苯酰亚胺 H 33258(Sigma-Aldrich) 温育切片。将样本加载于 Vectashield(Vector),并在 Zeiss 200M 反转的荧光显微镜上进行了荧光显微术检测。在用苏木精曙红对肿瘤切片进行染色之后分析肿瘤坏死。

[0099] 实施例 8 :磁共振成像 (MRI)

[0100] MRI 测定是用针对小动物的 9.4T 水平磁体 (94/21 USR Bruker Biospec) 进行的,其配置有 950mT/m 梯度设置。将小鼠置于线性均匀线圈中 (linearhomogeneous coil)(内径 :35mm)。将动物维持在气体 (50% N_2O :0.7l/min-50% O_2 :0.7l/min- 异氟烷 1.5%) 麻醉下,温度维持恒定在 36℃,并使用置于小鼠胸上的气球在获取过程中监视呼吸频率,以调整麻醉输出。肿瘤血管形成的测量是通过在轴和冠状平面二者中使用 Fast Low Angle Shot(FLASH) 序列的 MR 血管造影术来进行的。将 FLASH 脉冲序列应用于对肿瘤血管发生的演化的研究。该技术允许经时追踪相同动物上肿瘤的血管树的 3D 结构。

[0101] 实施例 9 :Oxylite pO_2 测量

[0102] Oxylite 2000E Po_2 系统 (Oxford Optronics) 通过确定固定于 230μm 直径的光纤探针尖端的氯化钌的 O_2 依存性荧光寿命来测量 pO_2。该荧光脉冲的寿命与尖端中的氧张力成反比。在将 oxylite 探针尖端安装于肿瘤内之前,通过腹膜内注射赛拉嗪 / 氯胺酮 (xylazine/ketamin) 麻醉小鼠,并如本文所述记录氧分压。

[0103] 实施例 10 :ITPP-RBC 在肿瘤微环境中选择性地抵消缺氧

[0104] 为了确证 ITPP-RBC 在体内抵消缺氧,进行了在经 ITPP 处理和未处理的小鼠中,在左腿上皮下植入的黑素瘤肿瘤内的氧张力的值的比较。氧分压 (pO_2) 通过确定光纤探针尖端上的氯化钌的 O_2 依存性荧光寿命来计算。荧光脉冲的寿命与探针尖端的氧张力成反比。尽管在未经处理的动物中肿瘤强烈缺氧,其氧分压值低于 2mmHg(图 1),在经 ITPP 处理的小鼠中,pO_2 达到 40mmHg 的范围 (图 1A)。该 pO_2 增加的发生可早至 ITPP 腹膜内注射之后 30 分钟 (图 1B, C),并维持在较高水平,高至 40mmHg,如注射之后 24 小时所显示 (图 1A),至至少 48 小时。而且,ITPP-RBC 特异地靶向缺氧的肿瘤,因为,如肌肉中所示,对于其对应的相同动物的非肿瘤 (右) 腿,在平行和同时测量 (图 1C) 中未检测任何变化或对 pO_2 的作用,而在肿瘤中,在 ITPP 注射之后 30 分钟 pO_2 水平增加。

[0105] 实施例 11 :ITPP-RBC 预防 B16 黑素瘤细胞导致的肺转移形成

[0106] 为了验证 ITPP 为抗转移剂,使用肺转移的“人工”模型,即将黑素瘤细胞静脉内注射于小鼠。使用 B16F10LucGFP 细胞系,其为由 GFP 和萤光素酶报道基因(允许通过分析组织中的萤光素酶活性来追踪和量化黑素瘤细胞)转导的黑素瘤 B16F10 系。将 B16F10 黑素瘤细胞系在增殖、血管发生的促进和转移发展方面的生物学行为与 B16F10LucGFP 细胞相比较的实验,未显示任何显著差异,且未发现萤光素酶对缺氧敏感,从而证明其可使用。

[0107] 进行体内实验直至黑素瘤细胞接种之后 27 日。在 B16 细胞注射之后 5 日开始 ITPP 处理时,转移结非常显著地减少。该作用可通过测量肺中的萤光素酶活性来测量(图 2A)。这允许无法通过肉眼检查的微转移的生物化学定量。为了调查 ITPP 作用是否与结中的氧分压的变化相关,分析了缺氧诱导因子 -α 亚基的 HIF-1α 同工型的表达,其对于哺乳动物细胞对氧水平的应答是至关重要的,并视作细胞的 O_2 传感器。一旦结合于缺氧应答元件(hypoxia response element,HRE),其开启缺氧相关的基因级联。图 2B 显示 HIF-1α 水平,在未经处理的携带黑素瘤的小鼠肺中明显上调,在经 ITPP 处理的小鼠的肺中急剧减少。

[0108] 血管内皮生长因子 (VEGF) 水平依存于 HIF-1α,并为抗血管发生治疗的主要靶标,在 ITPP-RBC 的影响下,如通过 ELISA 测定,减少至对照水平(图 2C)。这些结果通过对 Tie-2 表达的研究得到确证。Tie-2 是特异性内皮酪氨酸激酶受体,对于正常血管的成熟是必需的,并在缺氧时减少。该标志物在缺氧的肺中显著减少,通过 ITPP 处理重新诱导(图 2D),表明转移结中的血管遭受无组织的血管发生,并当通过 ITPP-RBC 调节血管发生时,更成熟的血管重新表达 Tie-2 标志物。在 ITPP 处理之后,血红蛋白加氧酶 -1(HO-1),一种由 HIF-1α 诱导的细胞保护酶,亦与未经处理的小鼠相比显著减少(图 2E)。HO-1 的过表达增加了细胞的存活、增殖,以及黑素瘤细胞的血管发生潜力,提高了转移,并减少了对照的、罹患肿瘤的小鼠的存活。对于赖氨酰氧化酶,一种涉及癌细胞的侵袭过程,并受缺氧调节的酶的半定量 PCR mRNA 分析进行的进一步研究(图 2F),亦说明了 ITPP 处理的有益作用,导致“低 O_2- 亲和力 RBC”。

[0109] 实施例 12 :ITPP-RBC 根除原位黑素瘤的肺转移

[0110] 在皮下原发肿瘤植入之后评价了 ITPP-RBC 对转移的作用。在肿瘤接种之后 7 日起始的短期治疗 (3 次 ITPP 注射,5 日间隔)中,ITPP 显著地减少了肺转移(图 3A)。在第 7 日 ITPP 处理的起始在短期和慢性给药方案(第 7、12、16、18、19 日)中均为最优的。在第 9 或 11 日起始效力较低,慢性给药甚至导致肺转移的增强(图 3A)。尽管并不清楚该观察结果的原因,但是慢性给药导致血管发生的完全抑制可进一步改变肿瘤的表型,增加其侵袭性和转移。

[0111] 实施例 13 :ITPP-RBC 诱导肿瘤内血管正常化

[0112] 通过将磁共振成像 (MRI) 用于追踪肿瘤血管树的 3D 结构的 MRA(磁共振血管造影术)的应用来评价肿瘤中微循环的结构变化。

[0113] 在黑素瘤发生之后 21 日,肿瘤呈现典型的混乱血管架构(图 3Ba)。在用 ITPP 在第 9 和 14 日处理的小鼠中,血管系统变得较不密集,并在第 18 和 19 日进行的进一步重复处理之后变得显著正常化。肿瘤内检查揭示了许多血管位于边缘 ;正常化显示为周细胞募集至血管周围,并由抗平滑肌抗原抗体所标记(图 3Bb),而在未经处理的肿瘤中没有此种秩序 (ordering)(图 3Ba,b)。该趋于“正常化”的倾向伴随着肿瘤大小的显著减少(图 3Ba)。

[0114] 在相同的植入的原发肿瘤中，检查了 ITPP 处理对涉及药物抗性的多药流出泵的作用。ITPP 下调了 P- 糖蛋白药物流出泵。该作用可抵消化学抗性，和药物 - 靶相互作用的失败，后者是由于药物的有效胞内浓度的减少。因此，ITPP 诱导的血管正常化与肿瘤中药物流出泵的减少相关，并因此可增加药物针对肿瘤细胞的效力。

[0115] 实施例 14 :ITPP-RBC 根除原位黑素瘤肺转移并节拍器式地与化学疗法协同

[0116] 因为 ITPP 改善 RBC 将氧递送至缺氧组织的能力，研究了其对通过药物如紫杉醇和顺铂进行的黑素瘤治疗效力的作用。首先在体外测试了药物对正常氧、缺氧和重新加氧之后的 B16 黑素瘤细胞的作用。图 4 显示药物针对 B16 细胞的细胞毒性随着氧张力的减少而减少 (1％或 11％)。然而，在对细胞重新加氧 (从 1％至 11％和 20％) 之后，药物的细胞毒性得以重新确立至依存于 pO_2 水平的程度 (图 4A，B)。这些数据，与肿瘤细胞中 p- 糖蛋白的体内调制 (modulation) 相比，表明对药物的敏感性 (由缺氧诱导的 MDR 增强所控制) 可通过 ITPP 诱导的肿瘤重新加氧而逆转。

[0117] 在体内将 ITPP 处理与紫杉醇和顺铂相组合。在用 ITPP、紫杉醇和顺铂的同时处理之后肺转移急剧增加 (图 5A)，其概貌 (profile) 类似单用 ITPP 的慢性处理所观察到的概貌 (见上)。紫杉醇和顺铂自身抑制内皮细胞的生长 (图 4C)，支持这些化合物在体内的抗血管发生作用。已发现此类破坏肿瘤血管形成的抗血管发生处理通过选择缺氧抗性肿瘤细胞而增强转移侵袭，从而支持图 3 中所示的数据，并表明血管正常化，而非肿瘤新血管发生的破坏或消灭，被视为对于癌症治疗更加相关和潜在更加有益的方法。

[0118] 测试了 ITPP 和药物注射日程对进行的实体瘤 (图 5B) 和肺转移 (图 5A) 的作用。将用直至第 14 日单用 ITPP 处理的小鼠在第 18 和 19 日再次暴露于单用的 ITPP，以尝试正常化血管，接着在第 20 和 21 日进行顺铂加上紫杉醇处理，然后在第 25 日进行分析。结果令人瞩目 :根除了肺转移，这与同时处理正相反 (图 5A)，但确证了对于某些癌症治疗，方案设计中节拍器式参数的重要性。事实上，通过 CD31(PECAM-1)(内皮的特异性标志物) 染色对肿瘤微血管的分析，显示在用化疗药物处理之后，在经 ITPP 处理的动物中肿瘤内微血管的密度减少，而与之相对在对照中存在大量结构不良的微血管，其具有不规则的形状，和显著的内皮细胞的 CD31 染色 (图 5Ba)。而且，在图 5B 中显示通过在第 18 和 19 日延长常规的 ITPP 处理，从而旨在在第 20 和 21 日的药物处理之前正常化血管和氧张力，使得细胞毒性强烈增加，如第 25 日的坏死所表明，所述坏死显示对应于弥散 CD31 阳性的坏死区 (图 5Ba3) 并通过 H&E 染色 (图 5Ba3 和图 5Bb3) 凸显，并由肿瘤大小的减少和坏死诱导所确证。这表明 ITPP 处理与化学疗法组合的有力作用。

[0119] 实施例 15 :ITPP 与吉西他滨处理的组合在动物模型中显示有力的加合效应

[0120] 在大鼠胰腺肿瘤模型和人 Panc-1 胰腺肿瘤异种移植物小鼠模型中，ITPP 与吉西他滨处理的组合均显示有力的加合效应。首先在两个模型中检查了单用 ITPP 处理的作用，并与吉西他滨和安慰剂的作用相比较 (图 6 和 8)。然后调查了 ITPP 与吉西他滨处理组合对两个模型的作用，并与单用吉西他滨处理和安慰剂的作用相比较。

[0121] 在大鼠胰腺肿瘤模型中，组合处理组中的大鼠在第 14 日至第 49 日的期间每周接受与吉西他滨 (25mg/Kg 或 50mg/Kg) 组合的 ITPP(1.5mg/Kg)。在吉西他滨处理组中的大鼠在第 16、18 和 20 日接受单用吉西他滨 (100mg/Kg) 的给药。对照组中的大鼠未经处理。在组合处理组中测试的动物的存活率显著增加。动物存活概貌亦表明对吉西他滨的剂量依存

性（图 7）。

[0122] 在异种移植物肿瘤模型中，组合处理组中的小鼠在第 14 日至第 49 日的期间每周接受与吉西他滨（25mg/Kg 或 50mg/Kg）组合的 ITPP（2mg/Kg）。在吉西他滨处理组中的小鼠在第 16、18 和 20 日接受吉西他滨（100mg/Kg）的给药。对照组中的小鼠未经处理。显示组合处理与吉西他滨单用处理相比，增加了动物存活指数，尽管没有任何对吉西他滨的剂量依存性（图 9）。

[0123] 用 OXY111A 和 / 或吉西他滨处理的罹患导管胰腺癌瘤的动物的中位存活时间如下所示，并总结于下表 1 ：

[0124]

模型	单用 OXY111A	单用吉西他滨	OXY111A+吉西他滨	未经处理的对照
大鼠中的同源大鼠肿瘤	102 d (1.5 mg/kg)	58 d (100 mg/kg)	> 300 d	45 d
裸鼠中的大鼠肿瘤	107 d (2 mg/kg)	89 d (100 mg/kg)	76 d (50 mg/kg) 102 d (25 mg/kg)	69 d
裸鼠中的人类 Panc-1	155 d (2 mg/kg)	141 d (100 mg/kg)	150 d (50 mg/kg) 154 d (25 mg/kg)	127 d
裸鼠中的人类 Miapaca	155 d (2 mg/kg)	140 d (100 mg/kg)	n/a	75 d

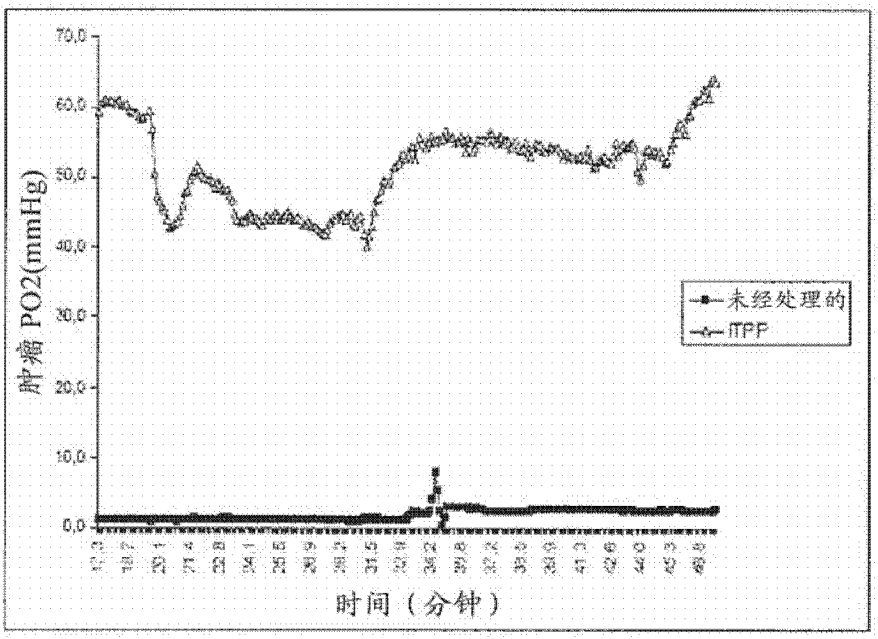
[0125] 在大鼠胰腺肿瘤模型中，在用 ITPP、吉西他滨或安慰剂处理之后，进一步检查 HIF-1α、VEGF、胱天蛋白酶 -3 和 β- 肌动蛋白的表达（图 10）。

[0126] 实施例 16 ：ITPP 处理增强免疫细胞浸润和侵袭肿瘤

[0127] 在 B16 肿瘤模型中，说明了在第 7、8、14、15、21、22、29 和 30 日腹膜内注射 OXY111A 之后，OXY111A 处理显著增强了 CD68（M2 型）巨噬细胞浸润入 B16 肿瘤（图 11）。

[0128] 在同一模型中，ITPP 处理亦显著增强了 CD49b NK 细胞浸润 B16 肿瘤，以及 CD31EC 细胞在 B16 肿瘤中的存在，和 NK 细胞侵袭黑素瘤 B16 肿瘤（图 12 和 13）。

(A)


肿瘤 PO2(mmHg)
70,0
60,0
50,0
40,0
30,0
20,0
10,0
0,0
未经处理的
ITPP
时间（分钟）

(B)

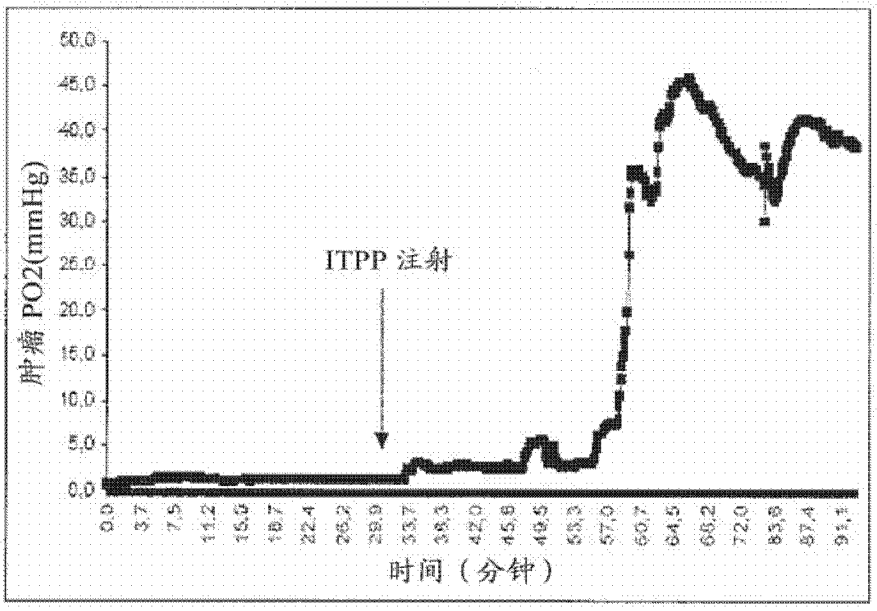

肿瘤 PO2(mmHg)
50,0
45,0
40,0
35,0
30,0
25,0
20,0
15,0
10,0
5,0
0,0
ITPP 注射
0,0
3,7
7,5
11,2
15,0
18,7
22,4
26,2
29,9
33,7
38,3
42,0
45,8
49,5
53,3
57,0
60,7
64,5
68,2
72,0
83,8
87,4
91,1
时间（分钟）

图 1

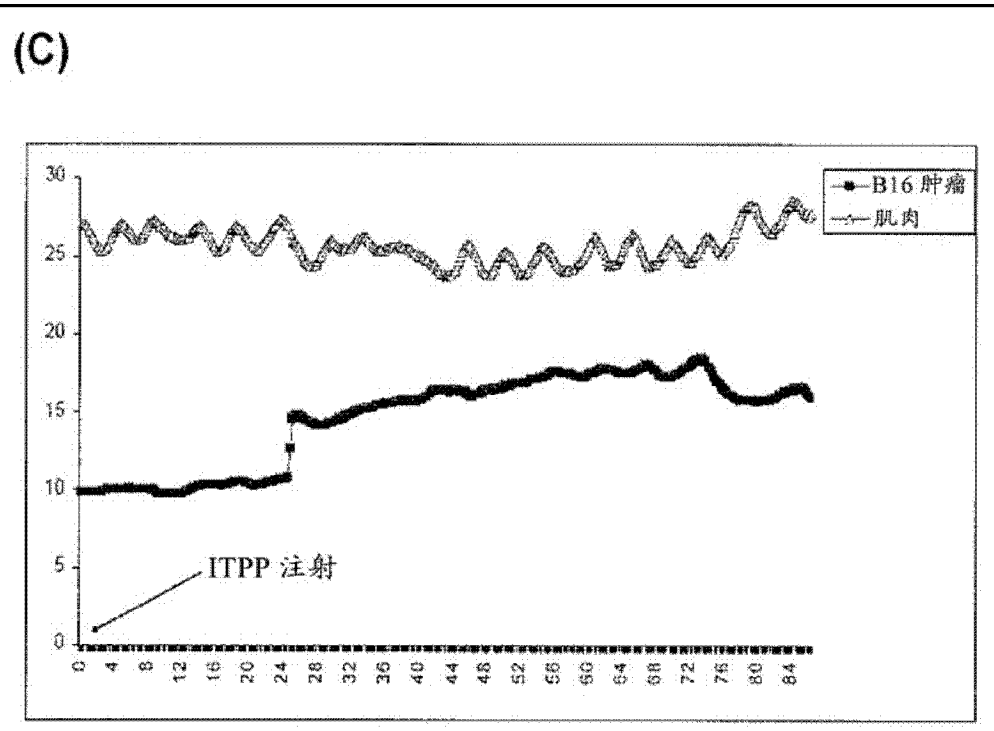

(C)
B16 肿瘤
肌肉
ITPP 注射
30
25
20
15
10
5
0
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40 44 48 52 56 60 64 68 72 76 80 84

图 1（续）

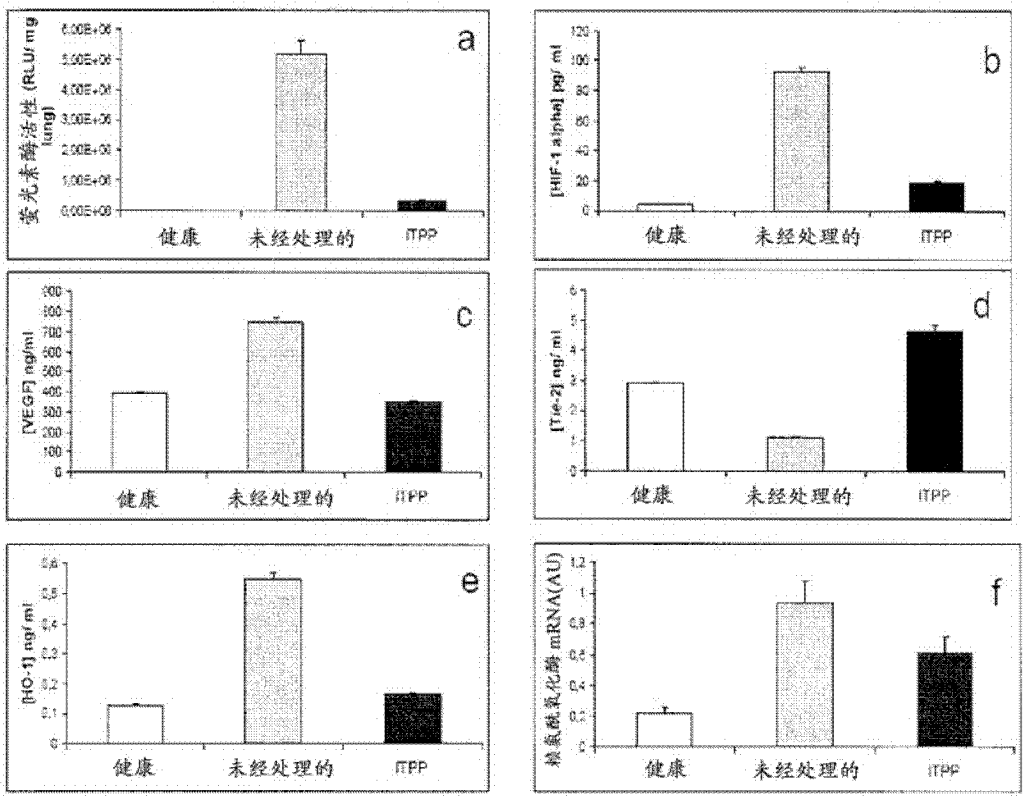
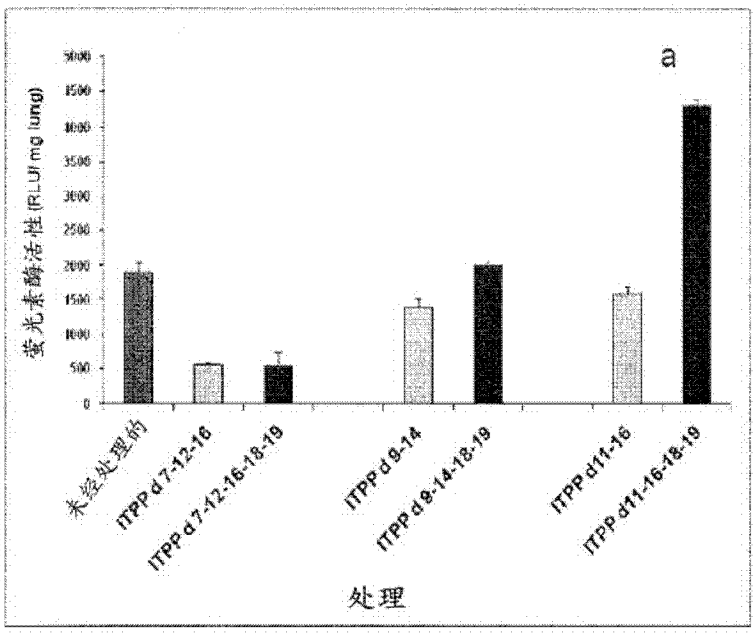

a
b
c
d
e
f
健康
未经处理的
ITPP

图 2

(A)


a
萤光素酶活性 (RLU/ mg lung)
5000
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
未经处理的
ITPP d 7-12-16
ITPP d 7-12-16-18-19
ITPP d 9-14
ITPP d 9-14-18-19
ITPP d11-16
ITPP d11-16-18-19
处理

(B)

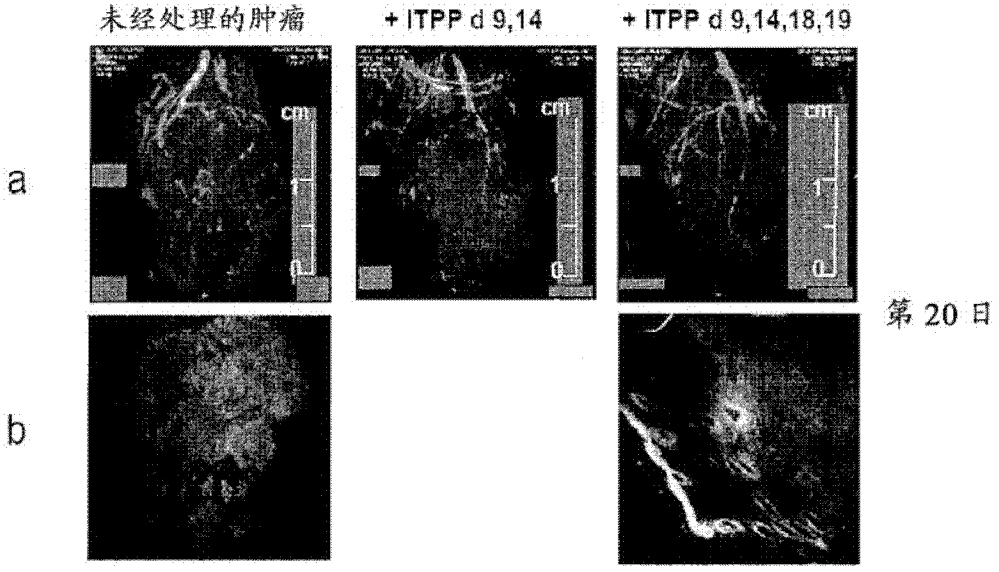
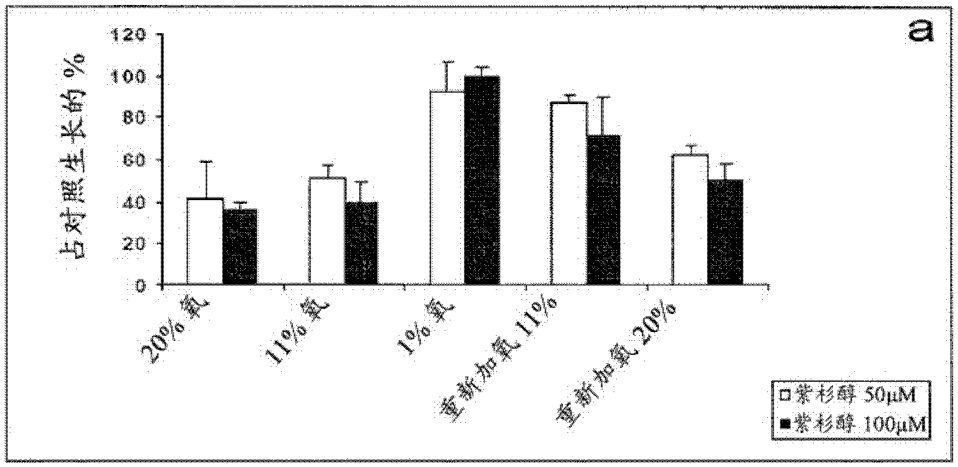
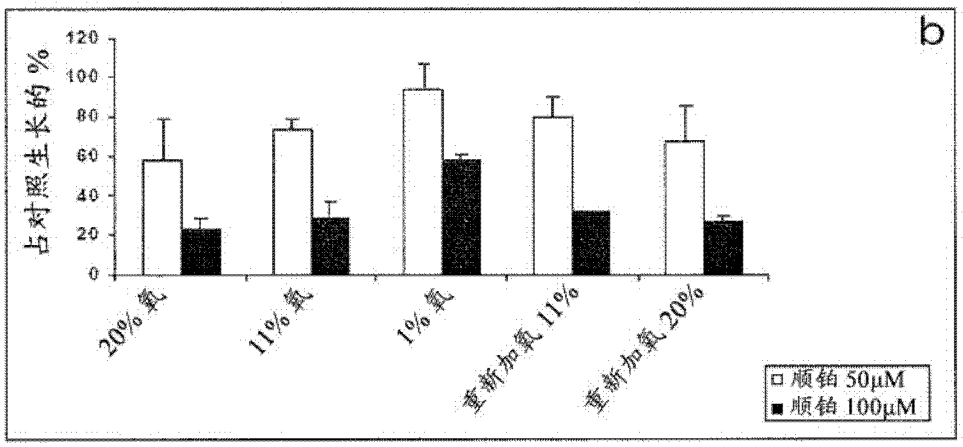

未经处理的肿瘤
+ ITPP d 9,14
+ ITPP d 9,14,18,19
a
b
cm
1
0
第 20 日

图 3

(A)


a
占对照生长的 %
120
100
80
60
40
20
0
20% 氧
11% 氧
1% 氧
重新加氧 11%
重新加氧 20%
紫杉醇 50μM
紫杉醇 100μM

(B)


b
占对照生长的 %
120
100
80
60
40
20
0
20% 氧
11% 氧
1% 氧
重新加氧 11%
重新加氧 20%
顺铂 50μM
顺铂 100μM

(C)

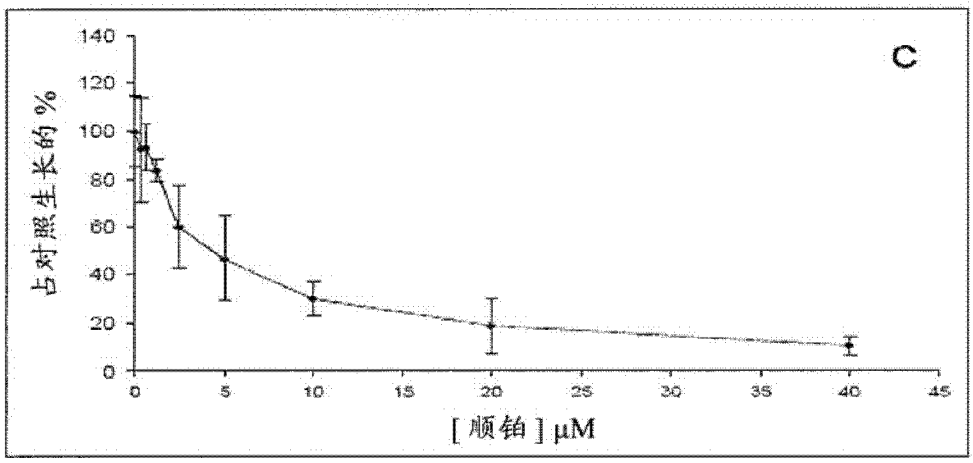
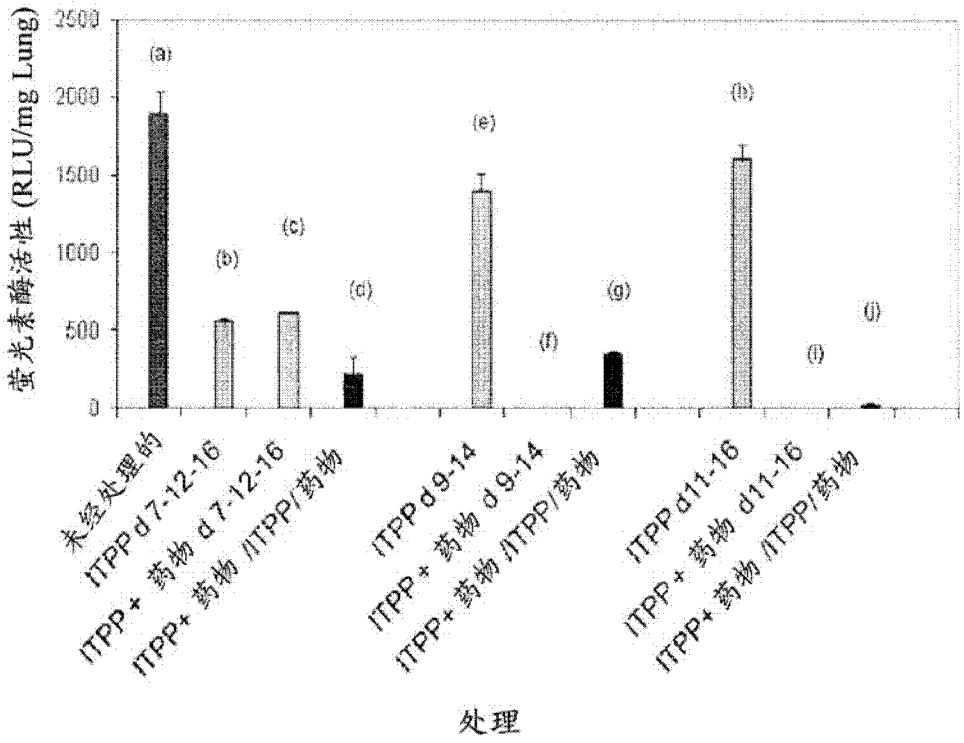

c
占对照生长的 %
140
120
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
[顺铂] μM

图 4

(A)


萤光素酶活性 (RLU/mg Lung)
2500
2000
1500
1000
500
0
(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
(f)
(g)
(h)
(i)
(j)
未经处理的
ITPP d 7-12-16
ITPP + 药物 d 7-12-16
ITPP+ 药物 /ITPP/药物
ITPP d 9-14
ITPP + 药物 d 9-14
ITPP+ 药物 /ITPP/药物
ITPP d11-16
ITPP + 药物 d11-16
ITPP+ 药物 /ITPP/药物
处理

(B)

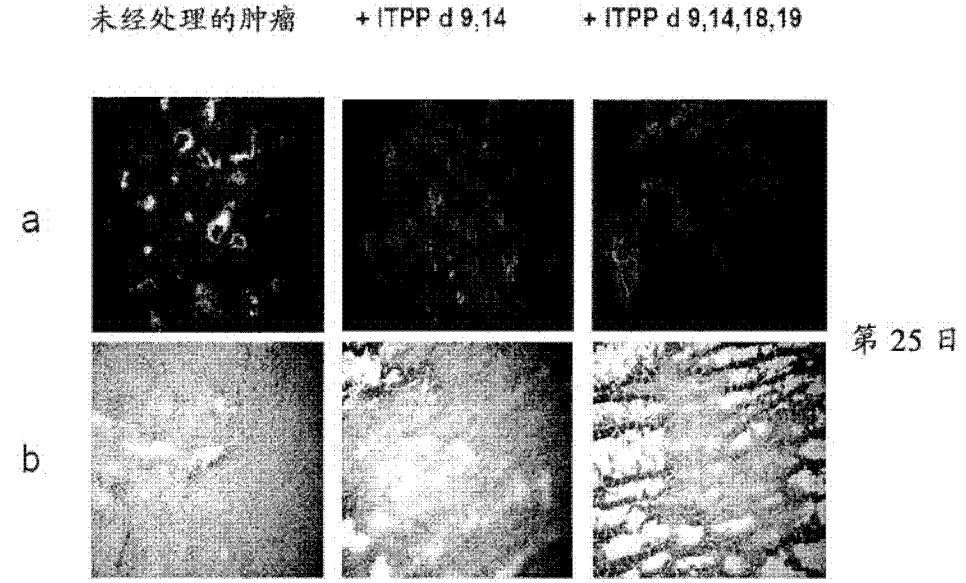

未经处理的肿瘤
+ ITPP d 9,14
+ ITPP d 9,14,18,19
a
b
第 25 日

图 5

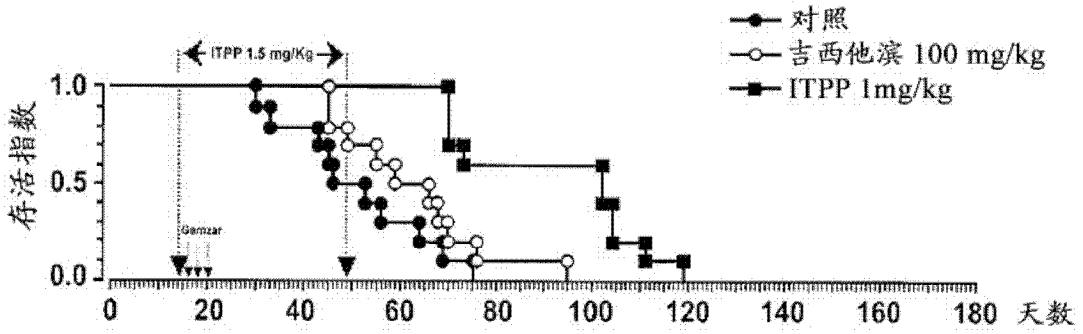

对照
吉西他滨 100 mg/kg
ITPP 1mg/kg
ITPP 1.5 mg/Kg
存活指数
1.0
0.5
0.0
Gemzar
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
天数

图 6

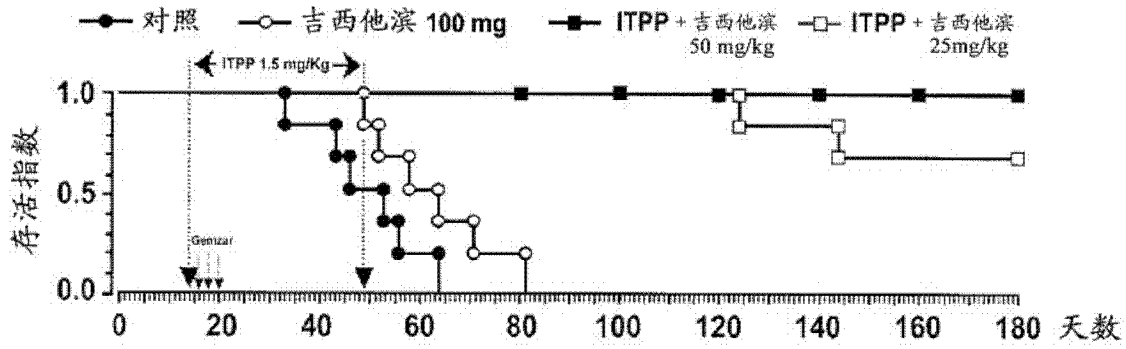

对照
吉西他滨 100 mg
ITPP + 吉西他滨 50 mg/kg
ITPP + 吉西他滨 25mg/kg
ITPP 1.5 mg/Kg
存活指数
1.0
0.5
0.0
Gemzar
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
天数

图 7

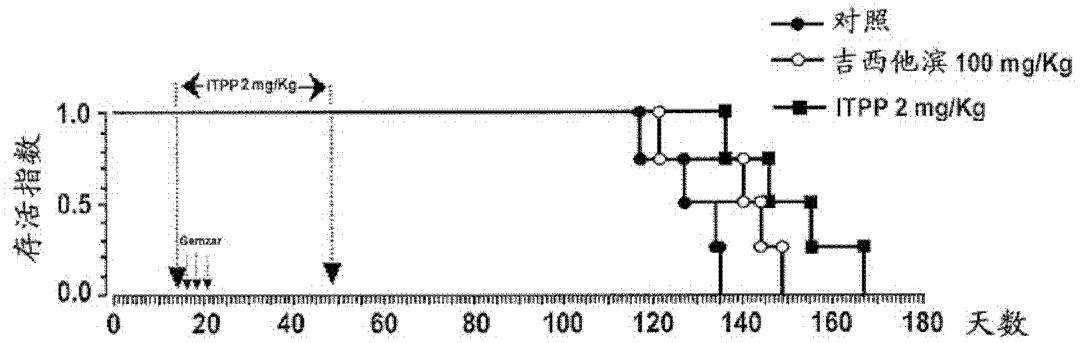

对照
吉西他滨 100 mg/Kg
ITPP 2 mg/Kg
ITPP 2 mg/Kg
存活指数
1.0
0.5
0.0
Gemzar
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
天数

图 8

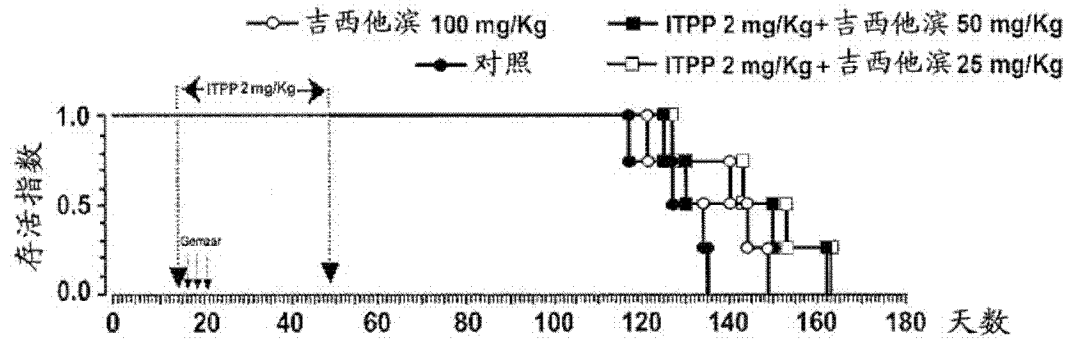

吉西他滨 100 mg/Kg
ITPP 2 mg/Kg+吉西他滨 50 mg/Kg
对照
ITPP 2 mg/Kg+吉西他滨 25 mg/Kg
ITPP 2 mg/Kg
Gemzar
存活指数
1.0
0.5
0.0
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
天数

图 9

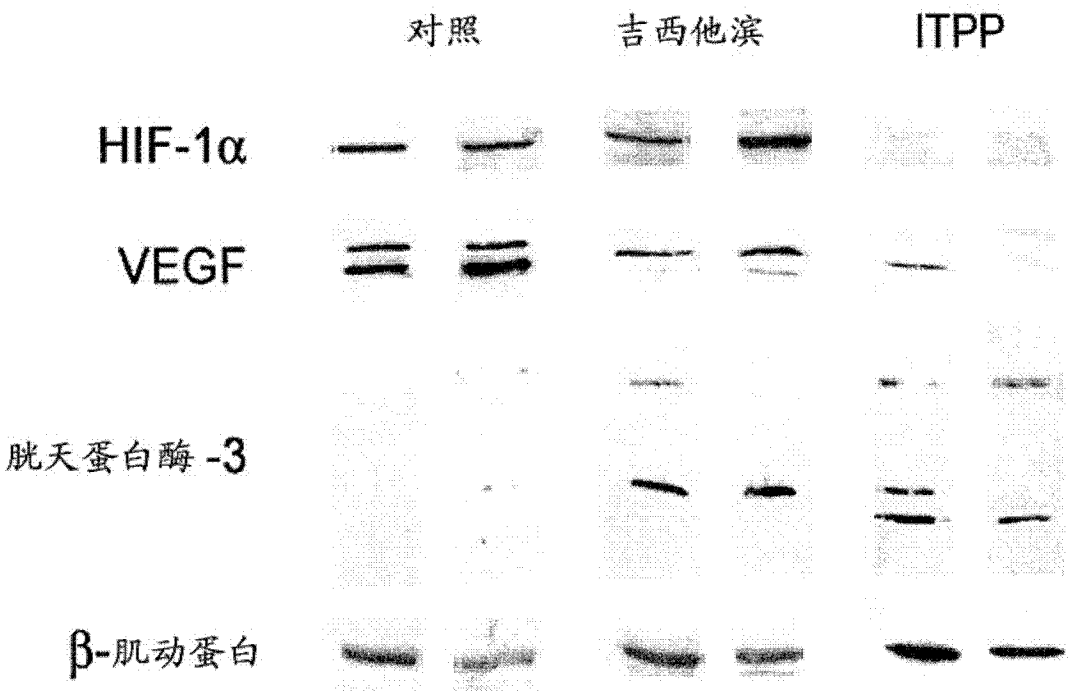

对照
吉西他滨
ITPP
HIF-1α
VEGF
胱天蛋白酶 -3
β-肌动蛋白

图 10

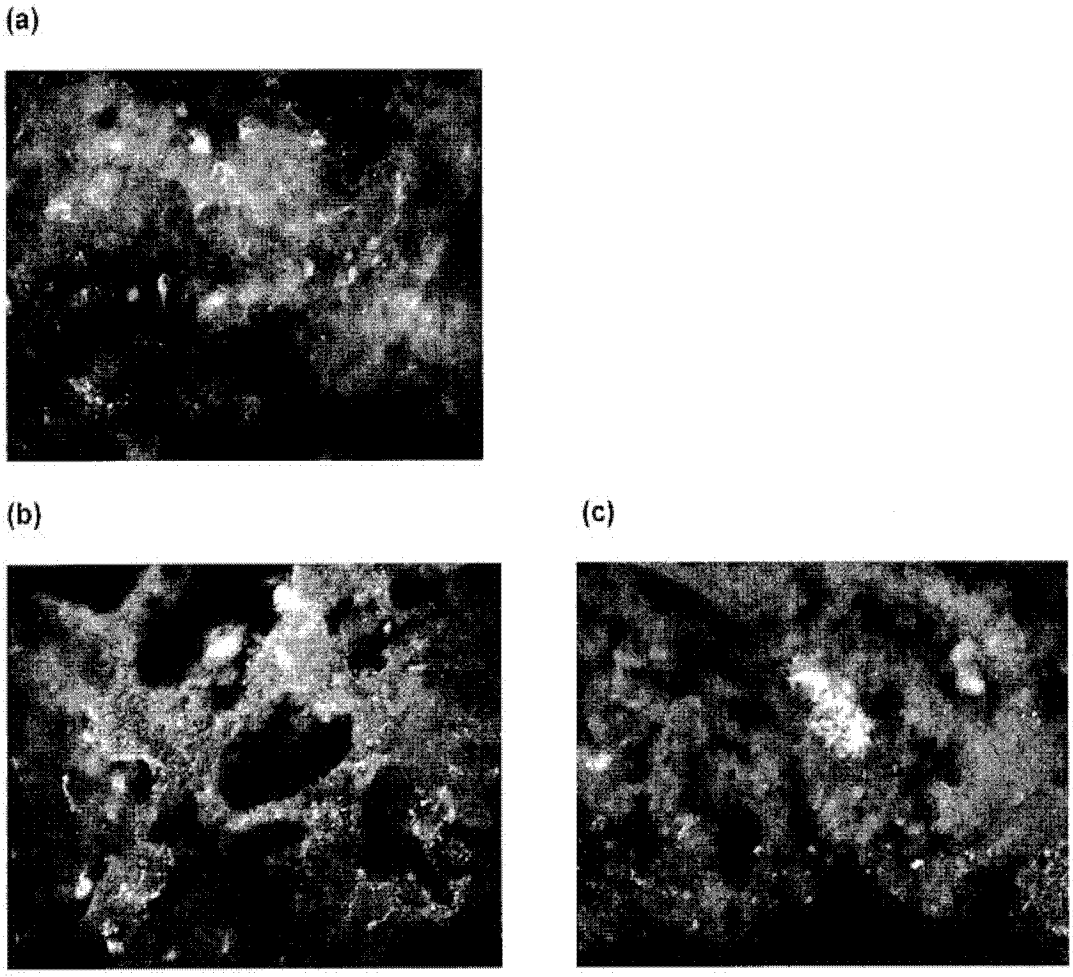


图 11

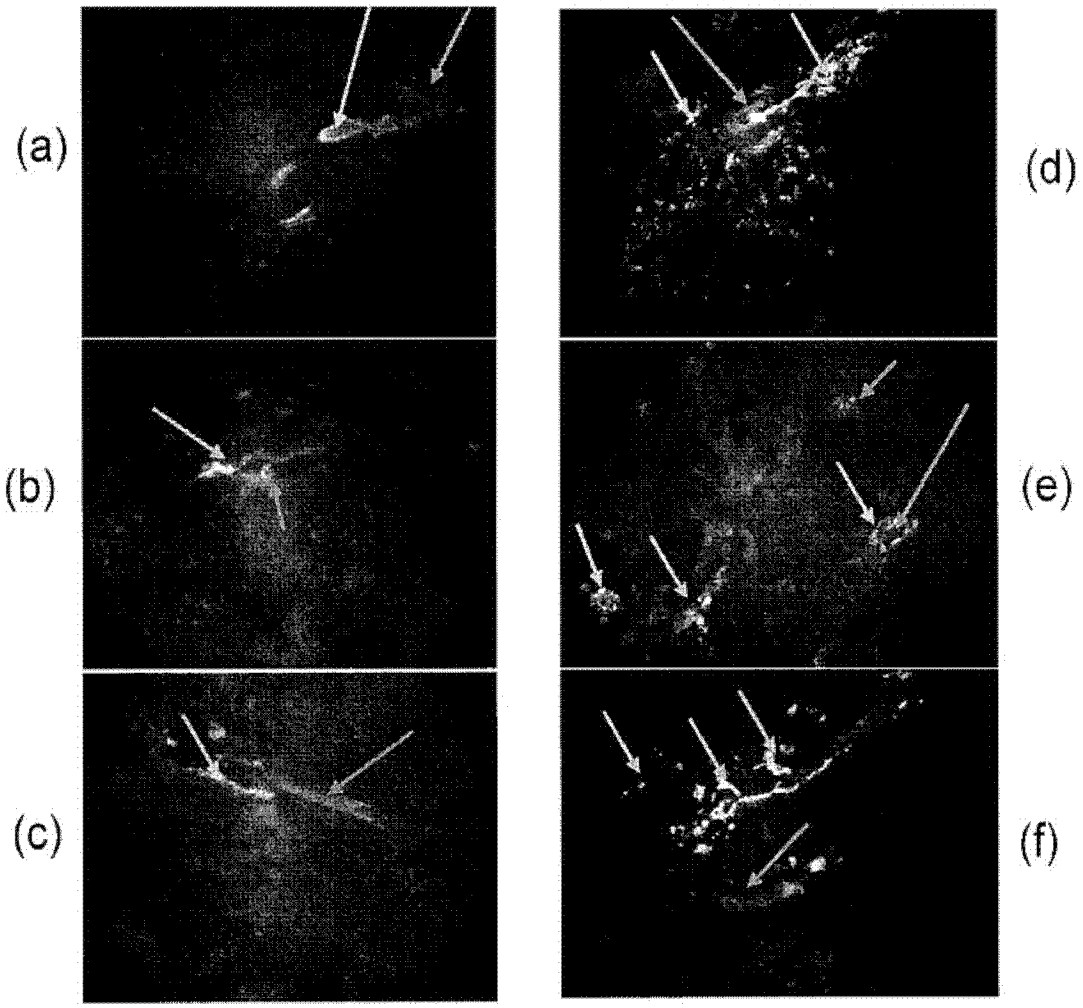


图 12

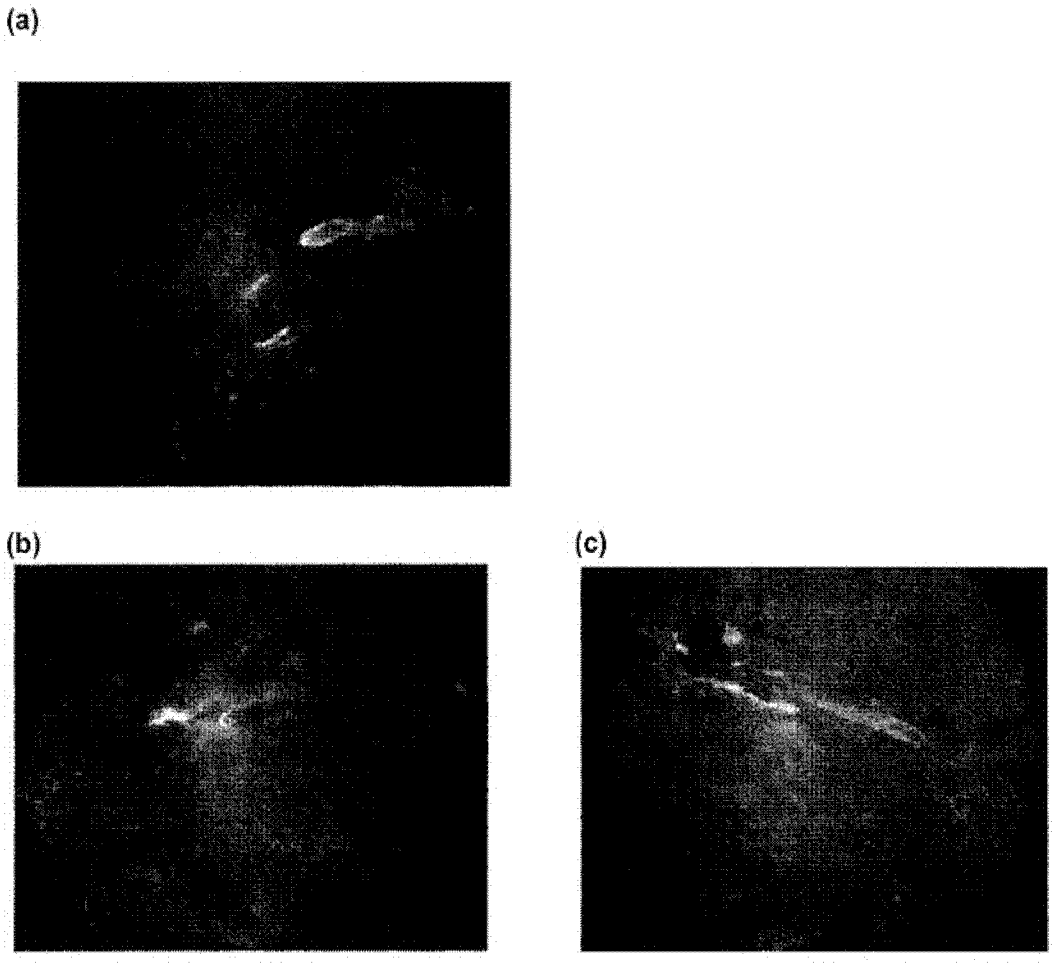


图 13