



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101400368 B

(45) 授权公告日 2012. 10. 03

(21) 申请号 200680019874. 5

(22) 申请日 2006. 07. 12

(30) 优先权数据

60/699, 195 2005. 07. 14 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007. 12. 05

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/027018 2006. 07. 12

(87) PCT申请的公布数据

W02007/011601 EN 2007. 01. 25

(73) 专利权人 威尔斯达特生物制剂公司

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 罗伯特·M·劳伦斯

迈克尔·S·罗伯茨

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

代理人 丁香兰 赵晓梅

(51) Int. Cl.

A61K 48/00 (2006. 01)

C07K 5/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 20050147591 A1, 2005. 07. 07, 说明书第 [0015]-[0016], [0054] 段.

W0 9425627 A1, 1994. 11. 10, 全文.

W0 0062735 A2, 2000. 10. 26, 说明书第 18 页第 16-26 行, 第 34 页第 26 行至第 35 页第 7 行, 第 36 页第 20 行至第 37 页第 6 行, 表 1.

W0 2004039406 A1, 2004. 05. 12, 全文.

Udo Vanhoefer et al. Irinotecan in the Treatment of Colorectal Cancer: Clinical Overview. 《Journal of Clinical Oncology》. 2001, 第 19 卷 (第 5 期), 1501-1518.

J Nemunaitis et al. Pilot trial of intravenous infusion of a replication-selective adenovirus (ONYX-015) in combination with chemotherapy or IL-2 treatment in refractory cancer patients. 《Cancer Gene Therapy》. 2003, 第 10 卷 341-352.

Dani&euuml

Ile A. M. Heideman. Gene Therapy and Virotherapy of Gastric Cancer: Preclinical Results and Clinical Developments. 《Digestive Diseases》. 2004, 第 22 卷 374-379.

审查员 唐莉

权利要求书 1 页 说明书 10 页 附图 4 页

(54) 发明名称

使用病毒、氟嘧啶和喜树碱进行的癌症治疗

(57) 摘要

本发明提供使用病毒、氟嘧啶和喜树碱进行的癌症治疗。患有肿瘤的哺乳动物受试对象用病毒、氟嘧啶 (例如 5-氟尿嘧啶) 和喜树碱化合物进行治疗。所述病毒选自由新城疫病毒、麻疹病毒、水泡性口炎病毒、流感病毒、辛德比斯病毒、小核糖核酸病毒和粘液瘤病毒组成的组。

1. 一种病毒、氟嘧啶和喜树碱化合物的联用药物,所述药物用于治疗患有肿瘤的哺乳动物受试对象;其中所述病毒是新城疫病毒,并且所述病毒具有复制能力。
2. 如权利要求1所述的药物,其中所述病毒是新城疫病毒的中等毒力株。
3. 如权利要求1所述的药物,其中所述病毒通过静脉内施用。
4. 如权利要求1所述的药物,其中所述氟嘧啶化合物是5-氟尿嘧啶。
5. 如权利要求4所述的药物,所述药物还包含亚叶酸。
6. 如权利要求1的药物,其中所述喜树碱化合物选自由伊立替康、托泊替康、9-氨基喜树碱、依沙替康、卡仑尼替星、卢比替康、勒托替康和高喜树碱组成的组。
7. 如权利要求6所述的药物,其中所述喜树碱化合物是伊立替康。
8. 如权利要求1所述的药物,其中所述病毒是新城疫病毒的中等毒力株,所述氟嘧啶是5-氟尿嘧啶,所述喜树碱化合物是伊立替康。
9. 病毒、氟嘧啶和喜树碱化合物联合在制备用于治疗患有肿瘤的受试对象的药物中的应用;其中所述病毒是新城疫病毒,并且所述病毒具有复制能力。
10. 如权利要求9所述的应用,其中所述病毒是新城疫病毒的中等毒力株。
11. 如权利要求9所述的应用,其中所述病毒通过静脉内施用。
12. 如权利要求9所述的应用,其中所述氟嘧啶化合物是5-氟尿嘧啶。
13. 如权利要求9所述的应用,其中所述喜树碱化合物选自由伊立替康、托泊替康、9-氨基喜树碱、依沙替康、卡仑尼替星、卢比替康、勒托替康和高喜树碱组成的组。
14. 如权利要求13所述的应用,其中所述喜树碱化合物是伊立替康。
15. 如权利要求9所述的应用,其中所述病毒是新城疫病毒的中等毒力株,所述氟嘧啶是5-氟尿嘧啶,所述喜树碱化合物是伊立替康。

## 使用病毒、氟嘧啶和喜树碱进行的癌症治疗

### 背景技术

[0001] 在 WO 94/25627(第 12 页) 中公开了特定病毒与 5- 氟尿嘧啶的共施用以治疗癌症。

[0002] 在 WO 2005/113018(Wellstat Biologics Corp.) 中公开了溶癌病毒和喜树碱的共施用。在美国专利公开号 2002/0071832(Fong 等) 第 7 段和第 40 段中公开了联合使用特定突变疱疹病毒和抗癌剂所进行的癌症治疗, 所述抗癌剂为包括伊立替康和托泊替康在内的众多抗癌剂中的任意抗癌剂。在美国专利公开号 2003/0068307(Yu 等) 第 13 页中公开了联合使用靶细胞特异性腺病毒载体和抗肿瘤剂(包括伊立替康或托泊替康) 来治疗瘤形成的方法。另外参见 Nemunaitis 等, Cancer Gene Ther. (2003) 10(5) :341-352 ;和 Meck 等, Cancer Res. (2001) 61(13) :5083-5089。

[0003] 在 Teufel 等, 2004(BMC Cancer 4:38) ;Tournigand 等, 2004(J Clin Oncol 22:229-237) ;Andre 等, 1999(Eur J Cancer 35:1343-7) ;Colucci 等, 2005(J Clin Oncol 22) ;Bouche 等, 2004(J Clin Oncol 22:4319-4328) ;Ducreux 等, 1999(J Clin Oncol 17:2901-8) ;Kohne 等, 2005(J Clin Oncol 23) ;Saltz 等, 1996(J Clin Oncol 14:2959-67) ;Goto 等, 2004(Int J Clin Oncol 9:354-8) 中公开了伊立替康、5- 氟尿嘧啶(5-FU) 和亚叶酸(LV) 的共施用。在 Vanhoefer 等, 2001(J Clin Oncol 19:1501-18) 的表 3 中和 Sastre 等, 2005(Cancer Chemother Pharmacol 55:453-60) 中公开了伊立替康和 5-FU 的其他联合。

### 发明内容

[0004] 本发明提供一种治疗患有肿瘤(neoplasm) 的哺乳动物受试对象的方法, 该方法包括对所述受试对象施用有效治疗该受试对象的联合量的病毒、氟嘧啶化合物和喜树碱化合物; 其中所述病毒选自由新城疫病毒、麻疹病毒、水泡性口炎病毒、流感病毒、辛德比斯病毒、小核糖核酸病毒和粘液瘤病毒组成的组。

[0005] 本发明提供病毒和 / 或氟嘧啶和 / 或喜树碱化合物在制备用于与所提及的其它成分联合治疗患有肿瘤的受试对象的药物中的应用; 其中所述病毒选自由新城疫病毒、麻疹病毒、水泡性口炎病毒、流感病毒、辛德比斯病毒、小核糖核酸病毒和粘液瘤病毒组成的组。所述药物可包含一种、两种或全部三种所列举的成分。

### 附图说明

[0006] 图 1 :SW620 结肠癌异种移植物的平均肿瘤体积与治疗开始后的时间的函数关系图, 该图包括 NDV( $1 \times 10^9$  PFU) + 伊立替康(25mg/kg) + 5-FU(25mg/kg) 三者的联合相对任何一种单独的物质或相对单独的载体的活性比较。

[0007] 图 2 :SW620 结肠癌异种移植物的平均肿瘤体积与治疗开始后的时间的函数关系图, 该图包括 NDV( $1 \times 10^9$  PFU) + 伊立替康(25mg/kg) + 5-FU(25mg/kg) 三者的联合相对各二者(NDV+ 伊立替康; 伊立替康 + 5-FU; NDV+5-FU) 或相对单独的载体的活性比较。

[0008] 图 3:SW620 结肠癌异种移植物的平均肿瘤体积与治疗开始后的时间的函数关系图,该图包括 NDV( $1 \times 10^9$  PFU)+伊立替康(15mg/kg)+5-FU(100mg/kg) 三者的联合相对任一种单独的物质或相对单独的载体的活性比较。

[0009] 图 4:SW620 结肠癌异种移植物的平均肿瘤体积与治疗开始后的时间的函数关系图,该图包括 NDV( $1 \times 10^9$ PFU)+伊立替康(15mg/kg)+5-FU(100mg/kg) 三者的联合相对各二者(NDV+伊立替康;伊立替康+5-FU;NDV+5-FU)或相对单独的载体的活性比较。

### 具体实施方式

[0010] 本文使用的过渡性术语“包括”是开放式的术语。使用该术语的权利要求除了在该权利要求中所列举的要素外还可以包含更多的要素。因此,例如,权利要求只要存在所列举的要素或与该要素相当的要素,则该权利要求可以理解为其中未具体列举的其他治疗剂或治疗性病毒剂量也包含在内的治疗方案。

[0011] 本文使用的“NDV”是新城疫病毒的缩写。本文使用的“DLT”是剂量限制性毒性的缩写。本文使用的术语“噬斑形成单位”(PFU)意指一个感染性病毒颗粒。本文使用的“BPFU”意指十亿 PFU。本文使用的“PP”意指“噬斑纯化的”。因此,例如 PPMK107 意指噬斑纯化的新城疫病毒株 MK107。本文使用的“PFU/m<sup>2</sup>”是表示剂量的标准单位,意指每平方米患者表面积 PFU。本文使用的术语“具有复制能力的”病毒是指在癌细胞中能产生感染性子代的病毒。

[0012] 在本发明的一个实施方式中,病毒具有复制能力。

[0013] 根据本发明,当病毒是新城疫病毒时,它可以具有低毒性(弱毒力)、中等毒性(中等毒力)或高毒性(强毒力)。毒性水平依照鸡胚平均死亡时间(MDT)试验来测定(Alexander,“第 27 章:Newcastle Disease”,Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens,第 3 版,Purchase 等编(Kendall/Hunt,Iowa),第 117 页)。病毒根据 MDT 试验分为弱毒力(MDT > 90 小时);中等毒力(MDT 为 60 ~ 90 小时);和强毒力(MDT < 60 小时)。目前优选中等毒力的 NDV。

[0014] 根据本发明,可以采用对受试对象施用病毒的任意常规途径或技术。例如,WO 00/62735 中所提及的施途径。在本发明的一个实施方式中,病毒通过全身性施用,例如通过静脉内施用。根据本发明,在通过静脉内施用治疗性病毒时,所述病毒优选为新城疫病毒的中等毒力株。在本发明的一个优选实施方式中,通过静脉内对人类受试对象施用  $12 \times 10^9$ PFU/m<sup>2</sup> ~  $120 \times 10^9$ PFU/m<sup>2</sup> 每剂量,更优选  $12 \times 10^9$ PFU/m<sup>2</sup> ~  $48 \times 10^9$ PFU 每剂量的新城疫病毒的中等毒力株。本文使用的“mg/m<sup>2</sup>”意指每平方米患者表面积的毫克数。

[0015] 在本发明的实施方式中,小核糖核酸病毒是脊髓灰质炎病毒、艾可病毒或柯萨奇病毒。根据本发明,适宜的柯萨奇病毒的例子包括如下类型:A21、A13、A15 和 A18。适宜的艾可病毒包括 1 型艾可病毒。

[0016] 在 Petty&Cassidy(2004)Curr. Cancer Drug Targets,4:191-204;和 Lamont 和 Schilsky(1999)Clin. Cancer Res.5:2289-2296 中对氟嘧啶作为抗癌剂的应用进行了评述。这些物质是通过数种机制具有抗肿瘤活性的氟化嘧啶,所述机制包括抑制 RNA 的合成和作用、抑制胸苷酸合酶的活性以及并入 DNA 中。

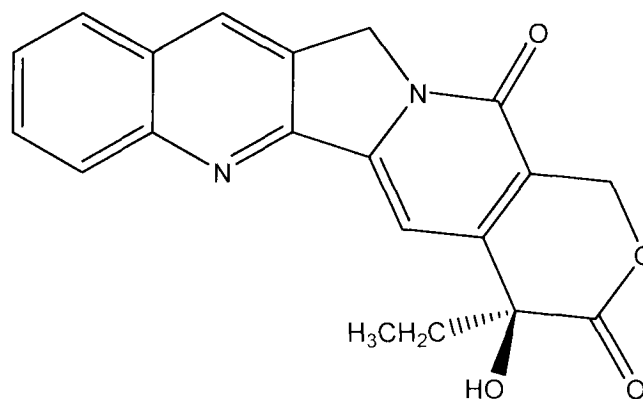
[0017] 本文使用的术语“氟嘧啶”或“氟嘧啶化合物”意指一种或一种以上的下列物质:

5-氟尿嘧啶 (5-FU) ;卡培他滨 ;5-氟-2'-脱氧尿苷 (FudR) ;替加氟 ;乙嘧替氟 ;恩尿嘧啶 /5-FU ;S-1 (5-FU 药物前体替加氟与称为 5-氯-2,4-二羟基吡啶以及 1,4,5,6-四氢-4,6-二氧-1,3,5-三嗪-2-羧酸的两个 5-FU 调节剂按照 1 : 0.4 : 1 的摩尔比的联合) ;和 UFT (替加氟与尿嘧啶以 1 : 4 的摩尔比的联合) (Lamont 和 Schilsky,1999)。5-FU 经常与药物亚叶酸一起给药以增强 5-FU 的细胞毒效应 (例如参见 Jolivet,1995, Eur J Cancer 31A :1311-1315 和 Rustum 等,1998 ;Cancer J Sci Am 4 :12-18)。用于氟嘧啶和亚叶酸的剂量给药和施用技术及方案在本领域中是公知的 (例如参见 Vincent 等,1999 (Anticancer Drugs 10 :337-54) ;Jolivet,1995), 并且对特定患者的优化处于有经验的临床医师的能力范围内。含有 5-FU 的大丸剂剂量给药 (bolus dosing) 通常施用于人类患者的剂量为每天  $370\text{mg}/\text{m}^2 \sim 500\text{mg}/\text{m}^2$ , 每 4 ~ 5 周施用 5 天, 或更优选每周  $500\text{mg}/\text{m}^2$ 。在本发明的一个实施方式中, 一个以上剂量的 5-氟尿嘧啶通过在每剂量至少 22 小时的时段的连续输注给药。5-FU 的连续剂量给药包括在 22 小时时段内依次为  $400\text{mg}/\text{m}^2$  和  $600\text{mg}/\text{m}^2$  的静脉内大丸剂剂量。在另一个实施方式中, 在 46 小时时段内施用  $400\text{mg}/\text{m}^2$  的大丸剂剂量, 随后施用  $2400\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量。通常, 亚叶酸以  $200\text{mg}/\text{m}^2 \sim 500\text{mg}/\text{m}^2$  的剂量施用于人类患者后即刻施用 5-FU 剂量, 或者在 5-FU 剂量的过程中施用该亚叶酸。

[0018] 在 Garcia-Carbonero 等 (Clin. Cancer Res., 2002 年 3 月, 8 :641-661) ; 和 Pizzolato JF 与 Saltz LB (The camptothecins, Lancet 2003 361 :2235-2242) 中有喜树碱作为抗癌剂的应用的综述。喜树碱具有抗肿瘤活性, 这是根据喜树碱能结合并抑制拓扑异构酶 I, 所述拓扑异构酶 I 是在 DNA 复制时减小扭转应力并在 DNA 复制中起重要作用的核酸酶。托泊替康和伊立替康已被美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于临床应用。其他用于癌症治疗的喜树碱仍在开发中 (Ulukan 和 Swaan, (Camptothecins : a review of their chemotherapeutic potential. Drugs, 2002, 62 :2039-2057) ; 以及 Garcia-Carbonero 和 Supko, 2002)。

[0019] 本文使用的术语“喜树碱化合物”意指被认为是喜树碱、喜树碱类似物、喜树碱衍生物或喜树碱偶联物的一类化合物。这些化合物基于喜树碱的特征性五环骨架 :

[0020]



[0021] 根据本发明, 可以使用任意的喜树碱化合物。喜树碱化合物的例子包括伊立替康 (CAMPTOSAR, 7-乙基-10-[4-(1-哌啶子基)-1-哌啶子基]-羧基氧喜树碱)、托泊替康 (HYCAMPIN, (S)-9-N, N-二甲基氨基乙基-10-羟基喜树碱)、9-氨基喜树碱 (9-氨基-20(s)-喜树碱)、9-硝基喜树碱 (又称为卢比替康)、勒托替康 (7-(4-甲基哌嗪基亚甲基)-10,11-亚乙二氧基-20(S)-喜树碱)、依沙替康、卡仑尼替星 (karenitecin) 和高喜树

碱。一些喜树碱化合物的结构和临床信息可在 Garcia-Carbonero 等 (Clin. Cancer Res., 2002 年 3 月, 8:641-661) 中找到。喜树碱化合物的例子也可在美国专利 4,604,463、6,403,569 和 5,004,758, 以及 WO 2004/012661、WO2003/101998、WO 2003/101996、WO 2003/101406、WO 2003/093274、WO 2003/086471、WO 01/76597、WO 01/64194、WO 00/70275、W000/53607、WO 99/17805、WO 99/17804、WO 99/05103、WO 98/35969、WO 97/28164、WO 97/25332、WO 97/16454 中找到,其所有内容均在此处以参考的方式引入。

[0022] 根据本发明的联合疗法,喜树碱化合物可在施用所述病毒前一个月直至施用所述病毒后一个月施用。在更为具体的实施方式中,所述喜树碱化合物和病毒可在单个 24 小时的时段施用于所述受试对象;或者所述喜树碱化合物在施用所述病毒前 24 小时至一个月,优选 24 小时至一周施用;或者所述喜树碱化合物在施用所述病毒后 24 小时至一个月,优选 24 小时至一周施用于所述受试对象。

[0023] “化学疗法通常定期(称为周期)提供。周期可以包括施用一个剂量,然后数天或数周没有治疗。这允许体内的正常细胞由药物的副作用中恢复。作为选择,也可以连续数天提供剂量,或者在数天内以每隔一天的方式提供剂量,随后休息一段时间。周期的数目。可以在治疗开始前确定或者灵活决定从而考虑治疗是如何影响癌症的”(选自“Planning Drug Doses and Schedules”,位于 American Cancer Society 网站,2005 年 5 月 23 日访问)。在本发明的一个实施方式中,所述病毒、氟嘧啶和喜树碱化合物在一个以上的周期,更优选两个以上的周期中施用。单个周期可持续例如 8 周、6 周、30 天或 3 周。

[0024] 下面的表 3~表 6 显示了代表性剂量方案,除了所列举的方案之外病毒、氟嘧啶与喜树碱联合施用与实施例中所示的量相同或不同的方案也是适宜的。因此,在本发明的其他实施方式中,所述病毒、氟嘧啶和喜树碱化合物在根据表 3~6 的任一个表中所示方案的周期内施用。

[0025] 喜树碱和抗癌病毒的剂量、施用技术和方案在本领域内是已知的(例如参见 Garcia-Carbonero 等;WO 00/62735;WO 2004/000209;和 Pecora 等, J. Clin. Oncol. (2002) 20(9):2251-2266),并且喜树碱和抗癌病毒对特定患者的优化处于有经验的临床医师的能力范围内。通常,伊立替康施用于人类患者的剂量为  $62.5\text{mg}/\text{m}^2 \sim 125\text{mg}/\text{m}^2$ ,每周 4 次;更优选为  $80\text{mg}/\text{m}^2 \sim 125\text{mg}/\text{m}^2$ ,每周 4 次;或  $300\text{mg}/\text{m}^2 \sim 350\text{mg}/\text{m}^2$ ,每 3 周一次;或更优选为  $300\text{mg}/\text{m}^2 \sim 350\text{mg}/\text{m}^2$ ,每 3 周一次。

[0026] 根据本发明进行治疗的受试对象可以是人类受试对象或非人类的哺乳动物受试对象。根据本发明,任何肿瘤均可治疗,所述肿瘤包括但不限于如下肿瘤:直肠癌、骨盆癌、结肠癌、肺癌、乳癌、前列腺癌、恶性胶质瘤、肾癌、胰腺癌、头颈癌、子宫内膜癌、成神经细胞瘤、类癌、黑素瘤、卵巢癌、肉瘤、胃-食管连接部癌、胃癌、食管癌、肝癌和子宫颈癌。

[0027] 虽然对所述治疗的监测不是本发明的必需方面,但有测定治疗的疗效的技术。这些技术包括:测量施用病毒后肿瘤的尺寸,并将肿瘤尺寸的减小作为阳性结果。

[0028] 参考如下实施例将可以更好地理解本发明,所述实施例说明但不限制本文所描述的发明。在如下实施例中,NDV 是经三重噬斑纯化的 MK107,该 MK107 是一种减毒(中等毒力)型的新城疫病毒,该病毒在 2000 年 10 月 26 日公开的国际专利公开号 WO 00/62735 (Pro-Virus, Inc.) 中有更详细的描述。此处以参考的方式引入 WO 00/62735 和 2004 年 4 月 27 日提交的美国临时申请号 60/565,631 的全部内容。

[0029] 实施例

[0030] 实施例 1. NDV 和 5- 氟尿嘧啶 (5-FU) 的联合

[0031] 对无胸腺小鼠皮下注射一千万个人类 HT1080 纤维肉瘤细胞。7 天后,当肿瘤的大小约为  $120\text{mm}^3 \sim 150\text{mm}^3$  时,随机选择小鼠并以 10 种不同疗法(细节见表 1)中的一种治疗所选小鼠,所述疗法包括次佳剂量的静脉内 NDV ( $2 \times 10^7$  或  $1 \times 10^8$  PFU)、腹膜内施用的  $100\text{mg}/\text{kg}$  的 5- 氟尿嘧啶 (5-FU) 大丸剂和皮下植入的包含  $5\text{mg}$  5-FU 的颗粒 (pellet) (Catalog#Z-190, Innovative Research of America; Sarasota, Florida) 或者安慰剂颗粒 (Catalog#C-111, Innovative Research of America; Sarasota, Florida) 和其他载体对照剂。如果植入颗粒,则在皮下瘤的远端进行植入。第一次治疗的日期表示为下面表 1 中的 0 天。使用 5-FU 颗粒以提供比大丸剂剂量给药更为缓慢的 5-FU 释放。这些 5-FU 颗粒用于模拟在数天内连续输注 5-FU 或施用诸如卡培他滨等 5-FU 的口服类似物的效果。

[0032] 表 1. 在荷肿瘤无胸腺小鼠中测试的疗法。

[0033]

组	小鼠数目	治疗, 0 天	治疗, 第 2 天	治疗, 第 4 天
1	11	M/L <sup>a</sup>	5FU 颗粒	M/L <sup>a</sup>
2	11	M/L <sup>a</sup>	颗粒对照	M/L <sup>a</sup>
3	11	M/L <sup>a</sup>	5FU 颗粒	NDV, $1 \times 10^8$
4	11	M/L <sup>a</sup>	颗粒对照	NDV, $1 \times 10^8$
5	11	M/L <sup>a</sup>	5FU 大丸剂	NDV, $1 \times 10^8$
6	11	M/L <sup>a</sup>	5FU 大丸剂	M/L <sup>a</sup>
7	11	M/L <sup>a</sup>	大丸剂对照 <sup>b</sup>	NDV, $1 \times 10^8$
8	11	M/L <sup>a</sup>	大丸剂对照 <sup>b</sup>	M/L <sup>a</sup>
9	11	NDV, $2 \times 10^7$	5FU 大丸剂	M/L <sup>a</sup>
10	11	NDV, $2 \times 10^7$	大丸剂对照 <sup>b</sup>	M/L <sup>a</sup>

[0034] <sup>a</sup>M/L:甘露醇 (5%) / 赖氨酸 (1%) 载体对照

[0035] <sup>b</sup>大丸剂对照:注射用水

[0036] 接受 NDV 和 5-FU 二者的组(无论是通过大丸剂剂量给药还是通过颗粒)的肿瘤完全消退 (CR, 100% 肿瘤减小) 的发生率远比单独施用 5-FU 或单独施用 NDV 的高,参见表 2a ~ c。

[0037]

[0038] 该页的剩余部分特意留空白。

[0039] 表 2a. 在 NDV 治疗后两天使用大丸剂 5-FU 治疗荷肿瘤小鼠较单独使用任一种物质产生更高的肿瘤反应。

[0040]

组	治疗	完全肿瘤反应 (CR), %
6	大丸剂 5-FU	0%
8	对照大丸剂	0%
9	NDV 和大丸剂 5-FU	63%
10	NDV 和对照大丸剂	18%

[0041] 表 2b. 在 NDV 治疗前两天使用大丸剂 5-FU 治疗荷肿瘤小鼠较单独使用任一种物质产生更高的肿瘤反应。

组	治疗	完全肿瘤反应 (CR), %
[0042] 5	NDV 和大丸剂 5-FU	36%
6	大丸剂 5-FU	0%
7	NDV 和对照大丸剂	0%
8	对照大丸剂	0%

[0043] 表 2c. 在 NDV 治疗前两天使用 5-FU 颗粒治疗荷肿瘤小鼠较单独使用任一种物质产生更高的肿瘤反应。

组	治疗	完全肿瘤反应 (CR), %
[0044] 1	颗粒 5-FU	0%
2	对照颗粒	0%
3	NDV 和颗粒 5-FU	27%
4	NDV 和对照颗粒	0%

[0045] 实施例 2. NDV 与伊立替康、5- 氟尿嘧啶 (5-FU) 和亚叶酸的联合

[0046] 用 NDV 治疗癌症患者, 随后用伊立替康、亚叶酸和 5- 氟尿嘧啶进行治疗。在各 6 周的周期中, NDV 治疗包括 5 周内总共 9 ~ 12 次的静脉内治疗, 随后为一周的休息期 (参见下表 3)。每个周期的第一剂量包括 120 亿 PFU/m<sup>2</sup> ~ 240 亿 PFU/m<sup>2</sup> (对于第一过程, 施用了 3 小时, 对于所有其他过程, 施用了 1 小时), 随后是 240 亿 PFU/m<sup>2</sup> ~ 480 亿 PFU/m<sup>2</sup> 的另外剂量 (每剂量施用了 1 小时)。在第 1 周期的第 2 周开始每隔一周施用伊立替康 (在 90 分钟期间内静脉内施用 180mg/m<sup>2</sup>) (作为例子, 参见下表 8)。亚叶酸 (在 120 分钟期间内静脉内施用 400mg/m<sup>2</sup>) 与各剂量的伊立替康同时施用, 随后立即通过静脉内施用大丸剂剂量的 5-FU (400mg/m<sup>2</sup>), 然后使用静脉泵在 46 小时期间内进行 5-FU 的连续静脉内输注 (2400mg/m<sup>2</sup>)。对患者施用另外 6 周过程 (也称为周期) 的 NDV、伊立替康、5-FU 和亚叶酸。

[0047] 表 3. NDV 和采用伊立替康 (80mg/m<sup>2</sup> ~ 125mg/m<sup>2</sup>)、亚叶酸和 5-FU 的联合治疗。治疗周期按每 6 周进行重复。

[0048]

周期	周	NDV?	伊立替康/亚叶酸/5FU?
1	1	是, 2 剂量	否
	2	是, 2~3 剂量	否
	3	是, 2~3 剂量	是
	4	是, 1~2 剂量	否
	5	是, 2~3 剂量	是
	6	否	否
2	1	是, 2 剂量	是
	2	是, 2~3 剂量	否
	3	是, 2~3 剂量	是
	4	是, 1~2 剂量	否
	5	是, 2~3 剂量	是
	6	否	否

[0049] 实施例 3. NDV 与伊立替康、5- 氟尿嘧啶 (5-FU) 和亚叶酸的联合

[0050] 结直肠癌患者用 NDV、伊立替康、亚叶酸和 5- 氟尿嘧啶以下表 4~6 中所给方案如实施例 2 中进行治疗。在各 6 周的周期中, NDV 治疗包括 5 周内总共 10 次的静脉内治疗, 随后为一周的休息期 (参见下表 4~6)。每个周期的第一剂量包括 120 亿 PFU/m<sup>2</sup> ~ 240 亿 PFU/m<sup>2</sup> (对于第一过程, 施用了 3 小时, 对于所有其他过程, 施用了 1 小时), 随后是 240 亿 PFU/m<sup>2</sup> ~ 480 亿 PFU/m<sup>2</sup> 的另外剂量 (每剂量施用了 1 小时)。在第 1 周期的第 2 周开始每隔一周施用伊立替康 (在 90 分钟期间内静脉内施用 180mg/m<sup>2</sup>)。亚叶酸 (在 120 分钟期间内静脉内施用 400mg/m<sup>2</sup>) 与各剂量的伊立替康同时施用, 随后立即通过静脉内施用大丸剂剂量的 5-FU (400mg/m<sup>2</sup>), 然后使用静脉泵在 46 小时内进行 5-FU 的连续静脉输注 (2400mg/m<sup>2</sup>)。对患者施用另外 6 周过程 (也称为周期) 的 NDV、伊立替康、5-FU 和亚叶酸。

[0051] 表 4. 用 NDV、伊立替康 (80mg/m<sup>2</sup> ~ 125mg/m<sup>2</sup>)、亚叶酸和 5-FU 联合治疗结直肠癌患者。治疗周期按每 6 周进行重复。

[0052]

周期	周	NDV?	伊立替康/亚叶酸/5FU?
1	1	是, 施用 2 剂量, 之间隔 3 天	否
	2	是, 施用 3 剂量, 之间隔 2 天	否
	3	是, 施用 2 剂量, 之间隔 4 天	是
	4	是, 1 剂量	否
	5	是, 施用 2 剂量, 之间隔 4 天	是
	6	否	否
2 及 2 以上	1	是, 施用 2 剂量, 之间隔 4 天	是
	2	是, 施用 2 剂量, 之间隔 4 天	否
	3	是, 施用 2 剂量, 之间隔 4 天	是
	4	是, 施用 2 剂量, 之间隔 4 天	否
	5	是, 施用 2 剂量, 之间隔 4 天	是
	6	否	否

[0053]

[0054] 该页的剩余部分特意留空白。

[0055] 表 5. 典型剂量给药方案 - 周期 1

[0056]

星期一	星期二	星期三	星期四	星期五	星期六	星期日
1 NDV 剂量 1	2	3	4 NDV 剂量 2	5	6	7
8 NDV 剂量 3	9	10 NDV 剂量 4	11	12 NDV 剂量 5	13	14
15 NDV 剂量 6	16	17 伊立替康/ LV/5FU	18	19 NDV 剂量 7	20	21
22 NDV 剂量 8	23	24	25	26	27	28
29 NDV 剂量 9	30	31 伊立替康/ LV/5FU	32	33 NDV 剂量 10	34	35
36	37	38	39	40	41	42

[0057]

[0058] 该页的剩余部分特意留空白。

[0059] 表 6. 典型剂量给药方案 - 周期 2 及 2 以上：

[0060]

星期一	星期二	星期三	星期四	星期五	星期六	星期日
1 NDV 剂量 1	2	3 伊立替康/ LV/5FU	4	5 NDV 剂量 2	6	7
8 NDV 剂量 3	9	10	11	12 NDV 剂量 4	13	14
15 NDV 剂量 5	16	17 伊立替康/ LV/5FU	18	19 NDV 剂量 6	20	21
22 NDV 剂量 7	23	24	25	26 NDV 剂量 8	27	28
29 NDV 剂量 9	30	31 伊立替康/ LV/5FU	32	33 NDV 剂量 10	34	35
36	37	38	39	40	41	42

[0061]

[0062] 该页的剩余部分特意留空白。

[0063] 实施例 4

[0064] 无胸腺小鼠皮下注射一千万个人类 SW620 结肠癌细胞（从 American Type Culture Collection, Manassas, VA 获得）。5 天后（以下称为 0 天），当皮下肿瘤的大小约为  $85\text{mm}^3$  时，每组 11 ~ 12 只动物的组随机分为 8 个治疗组：

[0065] • NDV+ 伊立替康

[0066] • NDV+5-FU

[0067] • NDV+ 伊立替康 +5-FU

[0068] • 伊立替康

[0069] • 5-FU

[0070] • 伊立替康 +5-FU

[0071] • 仅有载体

[0072] 0 天时，根据上述提供的治疗要点全部小鼠通过静脉途径或者接受 NDV ( $1 \times 10^9$  PFU) 或者接受载体。两天后（在第 2 天），根据上述提供的治疗要点全部小鼠接受伊立替康 (25mg/kg) 或载体的第一次腹膜内注射，然后在 1 小时后接受 5-FU (25mg/kg) 或载体的第二次腹膜内注射。用于 NDV 的载体是 5% 甘露醇 / 1% 赖氨酸的水溶液。用于伊立替康的载体是盐水。用于 5-FU 的载体是注射用水。使用测径计定期测定所有小鼠的肿瘤大小。

[0073] 如图 1 中所示，就抗肿瘤活性而言，NDV+ 伊立替康 +5-FU 的联合明显优于单独任何一种物质或对照载体。如图 2 中所示，就抗肿瘤活性而言，NDV+ 伊立替康 +5-FU 的联合优

于任一种治疗对 (NDV+ 伊立替康 ;伊立替康 +5-FU ;NDV+5-FU)。

[0074] 实施例 5

[0075] 除了下述五点之外,如实施例 4 中进行该实验:(1) 在皮下接种 SW620 肿瘤细胞 7 天后开始治疗;(2) 皮下肿瘤的大小约为  $100\text{mm}^3$ ;(3) 每个治疗组有 13 只小鼠;(4) 伊立替康的剂量由  $25\text{mg}/\text{kg}$  变为  $15\text{mg}/\text{kg}$ ;和 (5) 5-FU 的剂量由  $25\text{mg}/\text{kg}$  变为  $100\text{mg}/\text{kg}$ 。如前所述,动物随机分入 8 个治疗组:

[0076] • NDV

[0077] • NDV+ 伊立替康

[0078] • NDV+5-FU

[0079] • NDV+ 伊立替康 +5-FU

[0080] • 伊立替康

[0081] • 5-FU

[0082] • 伊立替康 +5-FU

[0083] • 仅有载体

[0084] 如前所述,0 天时根据上述提供的治疗要点全部小鼠通过静脉途径或者接受 NDV ( $1 \times 10^9$ PFU) 或者接受载体。两天后(在第 2 天),根据上述提供的治疗要点全部小鼠接受伊立替康 ( $15\text{mg}/\text{kg}$ ) 或载体的第一次腹膜内注射,然后在 1 小时后接受 5-FU ( $100\text{mg}/\text{kg}$ ) 或载体的第二次腹膜内注射。使用测径计定期测定所有小鼠的肿瘤大小。

[0085] 如图 3 中所示,就抗肿瘤活性而言,NDV+伊立替康+5-FU 的联合再一次显著优于单独任一种物质或对照载体。如图 4 中所示,就抗肿瘤活性而言,NDV+伊立替康+5-FU 的联合再一次优于任一种治疗对 (NDV+伊立替康 ;伊立替康 +5-FU ;NDV+5-FU)。此外,有证据表明使用全部三种物质有导致持久的肿瘤消退的协同抗肿瘤效果。如表 7 中所示,使用 NDV+伊立替康+5-FU 的三重联合可得到比包括任一种治疗对 (NDV+伊立替康 ;伊立替康 +5-FU ;NDV+5-FU) 及各单独物质的任一种其他治疗组持久(即,持续 90 天)的更完全肿瘤消退 (CR)。

[0086] 表 7. 用 NDV+伊立替康+5-FU 的三重联合治疗荷肿瘤小鼠较单独使用任一种物质或任何治疗对产生更持久的完全肿瘤反应。

[0087]

治疗	小鼠数目	持久的 CR*, %
NDV	13	0%
NDV +伊立替康	13	23%
NDV + 5-FU	13	0%
NDV +伊立替康+ 5-FU	13	46%
伊立替康	13	0%
5-FU	13	0%
伊立替康+ 5-FU	13	0%
仅有载体	13	0%

[0088] \* 持续 90 天的 CR。

[0089]

[0090] 该页的剩余部分特意留空白。

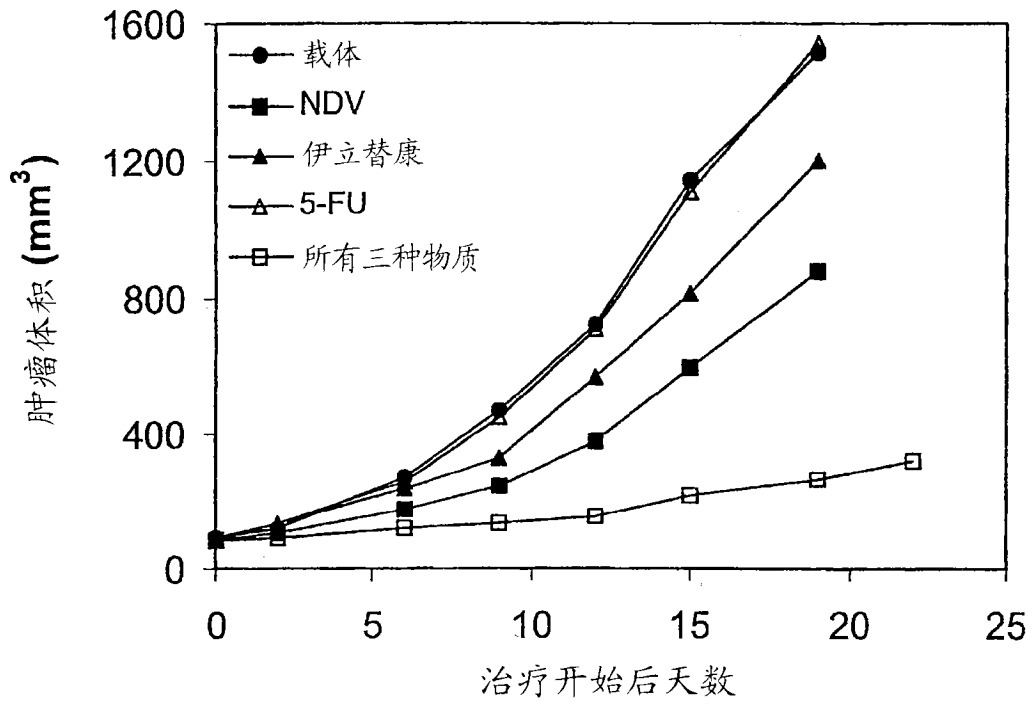


图 1

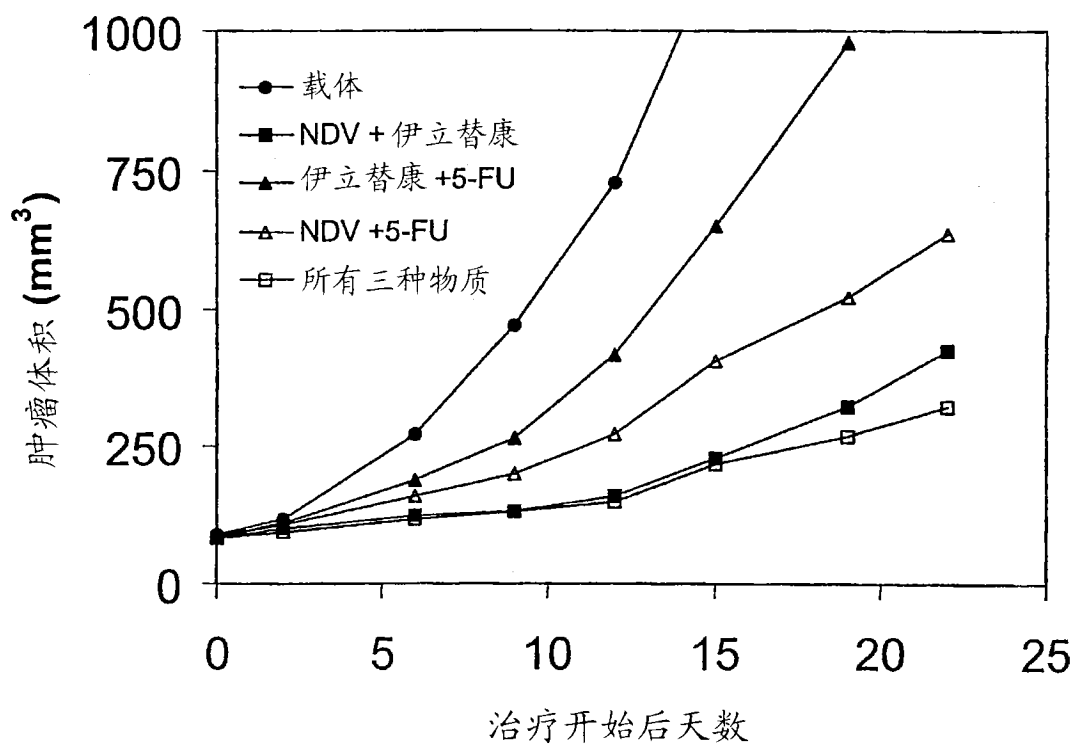


图 2

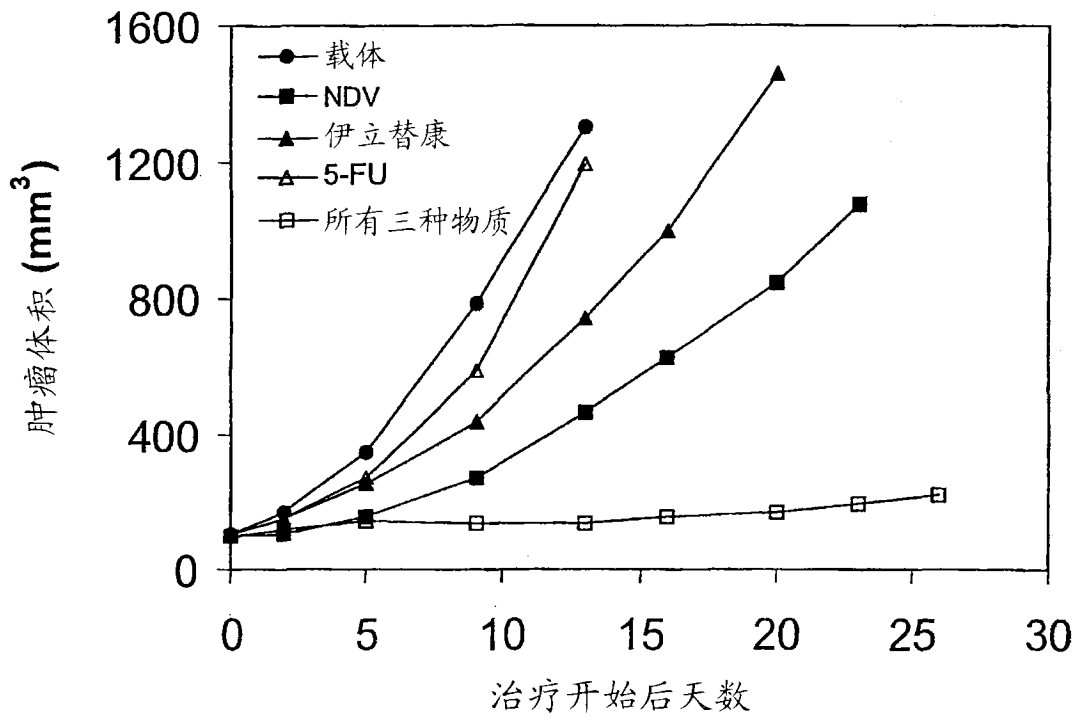


图 3

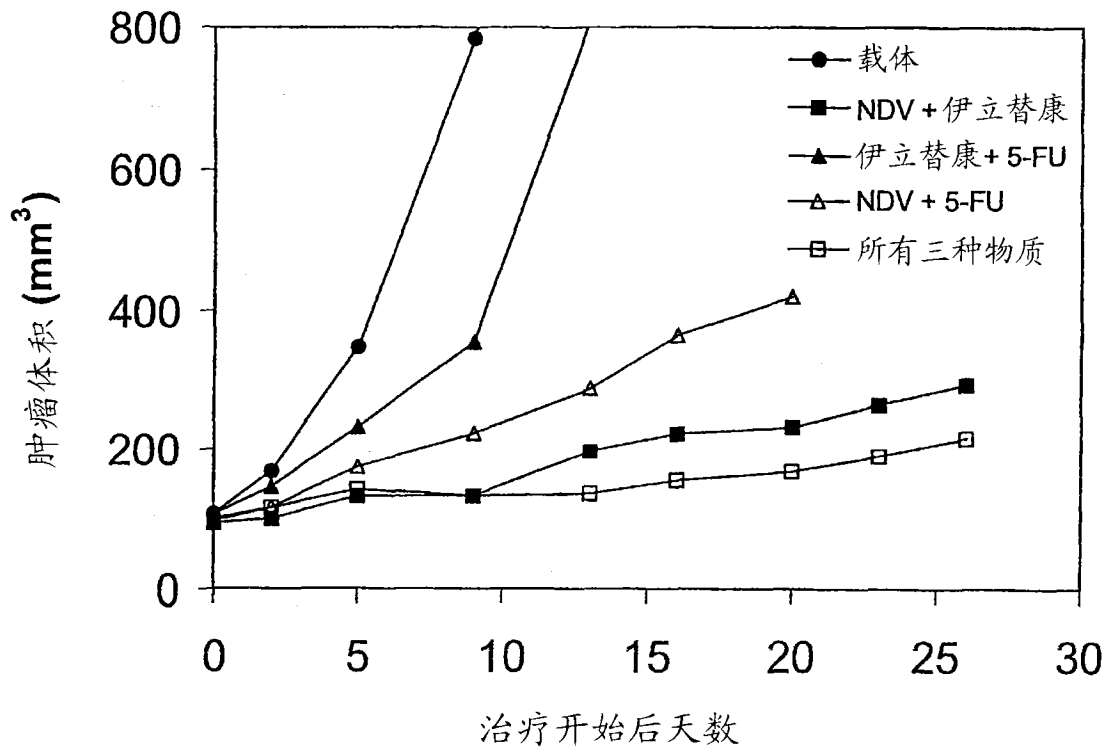


图 4