



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102215859 B

(45) 授权公告日 2016. 04. 20

(21) 申请号 200980145368. 4

(22) 申请日 2009. 09. 25

(30) 优先权数据

61/194, 166 2008. 09. 25 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 05. 13

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2009/058445 2009. 09. 25

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/036936 EN 2010. 04. 01

(73) 专利权人 图兰恩教育基金管理人

地址 美国路易斯安那州

(72) 发明人 李敏 杰罗姆·L·马德德勒特

戴维·H·科伊 韦基·巴图曼

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司 11240

代理人 李丙林 张英

(51) Int. Cl.

A61K 38/16(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1993137 A, 2007. 07. 04,

审查员 封明艳

权利要求书3页 说明书34页

序列表26页 附图16页

(54) 发明名称

垂体腺苷酸环化酶激活多肽(PACAP) 以及 PACAP 类似物作为与抗癌剂一起的辅助治疗的用途

(57) 摘要

本发明涉及用于治疗、处理、或防止由一种或多种抗癌剂所引起的对身体的一个或多个器官的损伤的方法和组合物,这些器官例如是人类或其他哺乳动物的脑、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、以及胃肠道。本发明的这些方法包括给予一个有效量的一种或多种垂体腺苷酸环化酶激活多肽(PACAP) 样化合物,它包括对于一种或多种 PACAP/VIP 受体(包括所有它们的不同的同种型)具有活性的天然的人类 PACAP38、天然的人类 PACAP27、天然的人类血管活性肠肽(VIP)、它们的激动剂、类似物、片段、以及衍生物。本发明还提供了本发明的一种或多种 PACAP 样化合物的药用组合物,或者单独使用或者与一种或多种其他对于治疗、处理、或预防对经受癌症化学疗法的人类或其他哺乳动物的身体器官损伤有用的预防/治疗药剂的联合使用。用一种或多种 PACAP 样化合物加上一种或多种抗癌剂的联合治疗可以用于治疗血液癌。

1. 具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的垂体腺苷酸环化酶激活多肽38(PACAP38)或具有SEQ ID NOs:4-10和12中任一个的氨基酸序列的所述PACAP38的类似物在制备用于治疗、减少、或抑制在用抗癌剂对受试者进行治疗时对器官的损伤的药物中的应用,所述抗癌剂在所述器官中具有剂量限制性毒性,其中所述器官是心脏、肺脏、肝脏、胰脏、胆囊、胃肠道、肾上腺、胸腺、脾脏、淋巴结、乳房、卵巢、睾丸、或前列腺,其中所述受试者患有一种造血癌,并且其中所述受试者用用于所述造血癌的所述抗癌剂治疗。

2. 如权利要求1所述的应用,其中所述受试者是人、马、猫、或狗。

3. 如权利要求1所述的应用,其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物能够作为激动剂结合到PACAP/VIP受体上。

4. 如权利要求1所述的应用,其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物和所述抗癌剂是共同给予的。

5. 如权利要求1所述的应用,其中所述PACAP38类似物包含至少一种非天然氨基酸。

6. 如权利要求1所述的应用,其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物包括一个N-乙酰基基团。

7. 如权利要求1所述的应用,其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物是非酰胺化的。

8. 如权利要求1所述的应用,其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物包括一种聚乙二醇聚合物,该聚合物具有从4千道尔顿到40千道尔顿的分子量。

9. 如权利要求7所述的应用,其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物侧面有用于一种或多种蛋白水解酶的氨基酸共有序列。

10. 如权利要求1所述的应用,其中配制所述药物以在所述受试者的血液中的浓度达到 10^{-14} M至 10^{-6} M的所述PACAP38或所述PACAP38类似物的浓度。

11. 如权利要求10所述的应用,其中配制所述药物以在所述受试者的血液中的浓度达到 10^{-9} M的所述PACAP38或所述PACAP38类似物的浓度。

12. 如权利要求1所述的应用,其中所述药物包括1 μ g至1克的剂量的所述PACAP38或所述PACAP38类似物。

13. 如权利要求12所述的应用,其中所述药物包括100 μ g至5000 μ g的剂量的所述PACAP38或所述PACAP38类似物。

14. 如权利要求12所述的应用,其中所述药物包括5mg至200mg的剂量的所述PACAP38或所述PACAP38类似物。

15. 如权利要求13所述的应用,其中所述药物包括500 μ g的剂量的所述PACAP38或所述PACAP38类似物。

16. 如权利要求14所述的应用,其中所述药物包括20mg的剂量的所述PACAP38或所述PACAP38类似物。

17. 如权利要求1所述的应用,其中所述药物被配制成用于以1pmol/kg体重/小时至1200pmol/kg体重/小时的速率静脉输注。

18. 如权利要求1所述的应用,其中所述药物被配制成用于静脉输注达1至24小时。

19. 如权利要求1所述的应用,其中对所述器官的所述损伤是由于用所述抗癌剂对所述受试者的治疗,其中所述抗癌剂选自以下组成的组:顺铂、卡铂、奥沙利铂、博来霉素、丝裂霉素C、刺孢霉素、美登素、阿霉素、伊达比星、柔红霉素、表柔比星、白消安、卡莫司汀、洛

莫司汀、司莫司汀、沙利度胺、来那度胺、甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、氟达拉滨、5-氮杂胞嘧啶核苷、喷司他丁、阿糖胞苷、吉西他滨、5-氟尿嘧啶、羟基脲、依托泊苷、替尼泊苷、托泊替康、伊立替康、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑、硼替佐米、长春新碱、长春碱、长春瑞宾、紫杉醇、以及多西他赛。

20. 如权利要求19所述的应用，

(a) 其中所述器官是心脏，并且所述抗癌剂是阿霉素、伊达比星、柔红霉素、表柔比星、环磷酰胺、丝裂霉素C、或长春新碱；或者

(b) 其中所述器官是肺脏，并且所述抗癌剂是博来霉素、环磷酰胺、沙利度胺、甲氨蝶呤、白消安、丝裂霉素C、伊立替康、或氟达拉滨；或者

(c) 其中所述器官是肝脏，并且所述抗癌剂是卡莫司汀、洛莫司汀、司莫司汀、甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、阿糖胞苷、吉西他滨、5-氮杂胞嘧啶核苷、羟基脲、来那度胺、刺孢霉素、或苯丁酸氮芥；或者

(d) 其中所述器官是胃肠道，并且所述抗癌剂是甲氨蝶呤、卡莫司汀、美法仑、依托泊苷、替尼泊苷、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、阿糖胞苷、5-氮杂胞嘧啶核苷、羟基脲、阿霉素、柔红霉素、环磷酰胺、托泊替康、伊立替康、苯丁酸氮芥、美登素、紫杉醇、或顺铂；或者

(e) 其中所述器官是卵巢，并且所述抗癌剂是白消安、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、依托泊苷、替尼泊苷、顺铂、卡铂、奥沙利铂、美登素、长春新碱、长春碱、长春瑞宾、阿霉素、伊达比星、柔红霉素、表柔比星、紫杉醇、或多西他赛；或者

(f) 其中所述器官是睾丸，并且所述抗癌剂是苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、顺铂、卡铂、奥沙利铂、白消安、美法仑、长春新碱、长春碱、长春瑞宾、美登素、阿霉素、伊达比星、柔红霉素、表柔比星、甲氨蝶呤、紫杉醇、或多西他赛。

21. 如权利要求1所述的应用，其中所述药物被配制用于静脉内输注、腹膜内输注、皮下输注、肌肉输注、气溶胶给药、鼻内给药、或口服给药。

22. 如权利要求1所述的应用，其中所述药物包括编码所述PACAP38或所述PACAP38类似物的病毒载体。

23. 如权利要求1所述的应用，其中所述药物被配制用于控制释放或持续释放。

24. 如权利要求1所述的应用，其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物被

(a) 封装入脂质体或微颗粒；或者

(b) 封装入树枝状化合物并且经皮肤给药。

25. 如权利要求1所述的应用，其中所述药物被配制用于与一种或多种细胞保护辅助剂联合给药。

26. 如权利要求25所述的应用，其中所述一种或多种细胞保护性辅助剂是氨磷汀、右雷佐生、美司钠、帕利夫明、或N-乙酰半胱氨酸。

27. 如权利要求1所述的应用，

(a) 其中所述抗癌剂是通过可逆结合到一种单克隆抗体上或到一种或多种生物活性肽上而优先靶向癌细胞；或者

(b) 其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物降低了由所述抗癌剂引起的迟发性继发癌的发病率；或者

(c) 其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物在与所述抗癌剂联合给药时具有一种相加

的抗癌效应;或者

(d)其中所述器官对于所述抗癌剂具有一种剂量限制性毒性,并且所述PACAP38或所述PACAP38类似物被配制用于递送至所述受试者的所述器官。

28.如权利要求1所述的应用,其中所述造血癌是一种淋巴癌、一种髓性癌、一种淋巴性白血病或髓细胞性白血病、一种B细胞或T细胞淋巴瘤、或一种浆细胞恶液质。

29.如权利要求27所述的应用,其中所述迟发性继发癌是一种迟发性继发白血病。

30.如权利要求1所述的应用,其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物被配制用于递送到所述受试者的肺脏或胃肠道。

31.如权利要求28所述的应用,其中所述浆细胞恶液质是多发性骨髓瘤。

32.如权利要求1所述的应用,

(a)其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物被配制用于在给予所述抗癌剂之前给予所述受试者;或者

(b)其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物和所述抗癌剂被配制用于基本上同时给予;或者

(c)其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物被配制用于在给予所述抗癌剂之后给予所述受试者;或者

(d)其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物被配制用于在所述损伤之前给予所述受试者;或者

(e)其中所述PACAP38或所述PACAP38类似物被配制用于在所述损伤之后给予所述受试者。

垂体腺苷酸环化酶激活多肽(PACAP)以及PACAP类似物作为与抗癌剂一起的辅助治疗的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗、处理、或防止由一种或多种抗癌剂所引起的对身体的一个或多个器官的损伤的方法和组合物,这些器官例如是人类或其他哺乳动物的脑、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、以及胃肠道。本发明的这些方法包括给予一个有效量的一种或多种垂体腺苷酸环化酶激活多肽(PACAP)样化合物,它包括对于一种或多种PACAP/VIP受体(包括所有它们的不同的同种型)具有活性的天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、天然的人类血管活性肠肽(VIP)、它们的激动剂、类似物、片段、以及衍生物。本发明还提供本发明的一种或多种PACAP样化合物的药用组合物,或者单独使用或者与一种或多种其他对治疗、处理、或预防对经受癌症化学疗法的人类或其他哺乳动物的身体器官损伤有用的预防性/治疗性药剂的联合使用。用一种或多种PACAP样化合物加上一种或多种抗癌剂的联合治疗可以用于治疗特别是血液癌。

背景技术

[0002] 癌症在工业化国家中是死亡的主要原因。化学疗法对于播散性癌和转移性肿瘤是优选的治疗。在外科手术或放射治疗没有完全根除局部肿瘤时、或作为用外科手术或放射治疗一起的辅助治疗时,还经常使用化学疗法。大多数通常使用的癌症治疗剂的最大容许剂量受到它们对人类或其他哺乳动物的身体的一个或多个主要器官的毒性作用的限制。例如,对于用顺铂的癌症化学疗法的剂量限制性毒性是肾毒性(Kintzel, Drug Saf. 24:19-38, 2001),对于用博来霉素的癌症化学疗法的剂量限制性毒性是肺毒性(Chandler, Clin. Chest Med. 11:21-30, 1990),并且对于用阿霉素的癌症化学疗法的剂量限制性毒性是心脏毒性(Takemura et al., Prog. Cardiovasc. Dis. 49:330-352, 2007)。已经将若干策略用于增加癌症治疗剂的最大 耐受剂量并且因此增加它们的疗效。

[0003] 例如,已经将癌症治疗剂结合到直接针对肿瘤相关联抗原的单克隆抗体上(Wu et al., Nat. Biotechnol. 23:1137-1146, 2005)或结合到多种生物活性肽上(它们的受体在所选类型的肿瘤中高度地表达)(Reubi, Endocr. Rev. 24:389-427, 2003)以便优选地将该抗癌剂递送到肿瘤细胞的内部。增加癌症治疗剂效能的一种可替代的策略是优选地保护正常组织免于这些抗癌剂的细胞毒性作用(Hogle, Semin. Oncol. Nurs. 23:213-224, 2007)。

[0004] 基于垂体腺苷酸环化酶激活多肽(PACAP)在大鼠垂体前叶细胞培养物中刺激腺苷酸环化酶活性的能力,将其从羊(绵羊)的下丘脑分离(Miyata et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 164:567-574, 1989)。PACAP作为两个具有38(PACAP38; SEQ ID NO:1)或27(PACAP27; SEQ ID NO:2)个氨基酸的 α -酰胺化肽而存在。两种肽都具有相同的氨基端27个氨基酸并且是从同一激素原合成的。PACAP38的序列与所有哺乳动物一致并且与鸟类和两栖动物直向同源物仅有一个氨基酸不同(Vaudry et al., Pharmacol. Rev. 52:269-324, 2000)。PACAP是胰泌素/血管活性肠肽(VIP)/生长激素释放因子(GHRH)家族的一员,并且PACAP27具有与VIP(SEQ ID NO:3)68%的序列一致性。PACAP在

脑和睾丸中是最丰富的,但是在其他的器官(包括胰脏、肾上腺、胸腺、脾脏、淋巴结、以及十二指肠粘膜)中存在着显著性水平(Vaudry et al., *Pharmacol. Rev.* 52:269-324, 2000)。PACAP是作为一种前激素原而合成的并且是主要通过激素原转化酶1、激素原转化酶2、以及激素原转化酶4进行处理的(Li et al., *Neuroendocrinology* 69:217-226, 1999 and Li et al., *Endocrinology* 141:3723-3730, 2000)。静脉注射之后, PACAP38在大鼠血流中的半寿期是5至6分钟(Banks et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 267:690-696, 1993)。胰泌素/VIP/GHRH家族的成员主要是在血浆中通过氨基二肽酶尤其是二肽基肽酶IV降解的(Zhu et al., *J. Biol. Chem.* 278:22418-2223, 2003)。

[0005] 从若干脊椎动物物种已经克隆出一种被指定为PAC₁受体的PACAP特异性受体(Arimura, *Jpn. J. Physiol.* 48:301-331, 1998 and Vaudry et al., 2000)。它是一种G蛋白偶联受体,具有七个被公认的跨膜结构域并且属于一个糖蛋白受体家族,这些糖蛋白受体偶联到多重信号转导途径(Segre et al., *Trends Endocrinol. Metab.* 4:309-314, 1993)。PACAP不仅以高亲和力结合到该PAC₁受体上,而且它还以比得上或大于VIP的亲和力结合到VIP1(VPAC₁)和VIP2(VPAC₂)上。另一方面,VIP以小于PACAP 1,000倍的亲和力结合到该PAC₁受体上(Arimura, 1998)。已经克隆了大鼠PAC₁受体的至少10个剪接变体并且各变体被偶联到信号转导途径的不同组合中(Vaudry等人, 2000)。这些第二信使包含腺苷酸环化酶、磷脂酶C、丝裂原活化蛋白(MAP)激酶、以及钙。PACAP/VIP受体可以被偶联到不同类型的细胞中的Gas和/或Gai。PACAP/VIP受体被表达在许多不同类型的正常细胞和癌细胞中,包括在肾上腺髓质中的包含儿茶酚胺的细胞和在中枢神经系统中的交感神经节、小神经胶质细胞、星形胶质细胞、以及一些类型的神经元、以及在免疫系统中的T和B淋巴细胞、巨噬细胞、以及树突细胞(Vaudry et al., *Pharmacol. Rev.* 52:269-324, 2000)。PACAP是从肾上腺髓质分泌的儿茶酚胺的一种有力的刺激剂(Watanabe et al., *Am. J. Physiol.* 269:E903-E909, 1995),并且是从活化巨噬细胞分泌肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6以及IL-12的一种有力的抑制剂(Ganea et al., *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 13:229-237, 2002)。PACAP还刺激以下细胞的增殖:C6胶质母细胞瘤细胞(Dufes et al., *J. Mol. Neurosci.* 21:91-102, 2003)、AR4-2J胰腺癌细胞(Buscail et al., *Gastroenterology* 103:1002-1008, 1992)、以及MCF-7乳腺癌细胞(Leyton et al., *Breast Cancer Res. Treat.* 56:177-186, 1999),但是抑制以下细胞的增殖:HEL髓细胞性白血病细胞(Hayez et al., *J. Neuroimmunol.* 149:167-181, 2004)、SW403结肠腺癌细胞(Lelievre et al., *Cell Signal* 10:13-26, 1998)以及多发性骨髓瘤细胞(Li et al., *Regul. Pept.* 145:24-32, 2008; 见图2)。

[0006] PACAP虽然是在筛选新颖的促垂体因子(hypophysiotropic factor)过程中分离的,很快变得清楚的是它是一种多效肽(Arimura, *Jpn. J. Physiol.* 48:301-331, 1998; Vaudry et al., *Pharmacol. Rev.* 52:269-324, 2000)。在其分离之后不久,若干实验室研究了PACAP的特别有效的神经保护/神经营养性质。相比于在机体的任何其他的主要器官中,已经更加广泛地在神经系统中研究了PACAP和VIP的细胞保护作用。在不同的体外模型中由PACAP保护的这些细胞类型包括小脑颗粒细胞、背根神经节细胞、交感神经节细胞、中脑多巴胺能神经元、以及基底前脑胆碱能神经元(Arimura, 见上; Vaudry等人, 见上)。PACAP还在大鼠海马神经元/神经胶质共培养物中阻止了由gp120(人类免疫缺陷病毒(HIV)的包膜

糖蛋白)诱导的神经元死亡。剂量-反应曲线是双峰的,在 10^{-13}M 和 10^{-10}M 处具有峰值(Arimura et al., Ann.N.Y.Acad.Sci. 739:228-243, 1994)。在这项研究中的关键发现已经由Kong等人证实(Neuroscience 91:493-500, 1999),他在原代鼠皮层神经元/神经胶质共培养物中使用脂多糖(LPS)作为神经毒素。在 10^{-12}M 下的神经保护作用与在该培养介质中亚硝酸盐的积聚的显著减少相关。在神经元/神经胶质共培养物中低(飞摩尔)剂量的PACAP的神经保护作用被PD98059(一种MAP激酶抑制剂)消除,但是高(纳摩尔)剂量的PACAP的神经保护作用不受PD98059的影响(Li et al., J.Mol.Neurosci. 27:91-106, 2005)。然而,纳摩尔剂量的PACAP的神经保护作用被Rp-cAMP(一种蛋白激酶A抑制剂)消除。

[0007] 在脑中使用用于神经保护的肽的缺点包括它们难以转运穿过血脑屏障以及它们在全身给药之后在循环中的短半寿期。然而,已经显示PACAP38经由一种可饱和机制从血液转运到脑(Banks et al., J.Pharmacol.Exp.Ther. 267:690-696, 1993)。因此,将PACAP38作为一种共同的神经保护剂在心脏病发作和中风的体内临床前模型中进行了测试。使用了在大鼠中的四血管阻塞来模拟心脏病发作对于脑的后果(短暂性全前脑缺血)。到前脑的血流被中断15分钟(Uchida et al., Brain Res. 736:280-286, 1996)。,在四血管阻塞开始之后的最初24小时使用一台植入式Alzet微量渗透泵以 16pmol/小时 或 160pmol/小时 的剂量将PACAP38静脉内给药持续6天。将这些PACAP治疗的以及载体治疗的大鼠在阻塞7天后处死,并且计数在海马CA1区域中锥体细胞的数目。随着15分钟的阻塞,在7天之后载体输注大鼠中CA1中锥体细胞的数目存在显著降低。在阻塞后7天在连续用PACAP38以两种剂量二者静脉内输注的这些大鼠中的锥体细胞数目的下降被显著逆转(Uchida等人,见上)。在这6天期间在连续输注的大鼠中在这些低剂量没有明显的副作用。用在大鼠中的大脑中动脉阻塞(MCAO)来模拟中风(短暂性局灶性脑缺血)。使用管腔内细丝技术(intraluminal filament technique)将大脑中动脉阻塞2小时(Reglodi et al., Stroke 31:1411-1417, 2000)。使用一种植入式Alzet微量渗透泵,在短暂的MCAO开始之后的最初4、8、或12小时以 160pmol/小时 的剂量将PACAP38静脉内给药直到阻塞后48小时。在MCAO开始之后48小时,在短暂的MCAO开始之后的最初4、8、或12小时,PACAP38的连续静脉内输注对应地导致梗塞体积减少大约51%、22%、或12%。当在MCAO开始之后4小时开始治疗时该梗塞体积减少是高度显著的($P < 0.01$)。连续静脉输注看来没有改变血浆葡萄糖水平、血液气体或血压(Reglodi等人,上文)。这些观察结果提示在脑中PACAP的浓度的微小变化可以改变神经细胞对损伤的易损性。通过其他的实验室还已经显示出PACAP在其他常见的用于神经变性疾病(包括脊髓损伤(Chen et al., Neurosci.Lett. 384:117-121, 2005;)以及帕金森病(Reglodi et al., Behav.BrainRes. 151:303-312, 2004))的体内临床前模型中是有效的。

[0008] 在神经系统中低浓度的PACAP的神经保护作用是间接的并且可能是由至少四种清楚的机制介导的。(1)PACAP是一种有力的抗炎肽。已经显示它抑制在活化巨噬细胞中的诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)的诱导,从而抑制活化巨噬细胞中的促炎细胞因子 $\text{TNF-}\alpha$ 、IL-6、以及IL-12的产生,并且刺激在活化巨噬细胞中的抗炎细胞因子IL-10的产生(Ganea& Delgado, 2002)。由于PACAP是一种炎症过程的内源性反调节剂,它可能在炎症级联的多个步骤中抑制炎症(Martinez et al., Proc.Natl.Acad.Sci. USA 99:1053-1058, 2002)。PACAP还是一种特别有力的活化小神经胶质细胞的减活化剂(Kong et al., 1999; Delgado et al., 2002),它们是在神经系统中的定居巨噬细胞样细胞。(2)飞摩尔(10^{-15}M)浓度的PACAP

在鼠神经元/神经胶质共培养物中增加了用于活性依赖性神经营养因子的mRNA的水平(David et al., Society for Neuroscience(33届年会), New Orleans, Louisiana, #38.1, 2003)(摘要)。此外,在反应性胶质细胞上的PAC₁受体的数目随着损伤而增加(Uchida et al., 1996)。Brenneman等人的(Neuropeptides 36:271-280, 2002)以前已经显示飞摩尔浓度的PACAP在星形胶质细胞培养物中刺激了RANTES的释放,并且RANTES的免疫中和减少了PACAP在神经元/神经胶质共培养物中的神经保护作用。(3)Yang等人的(J. Pharmacol Exp. Ther. 319:595-603, 2006)已经显示飞摩尔浓度的PACAP抑制了小神经胶质的NADPH氧化酶活性以及在中脑神经元/神经胶质共培养物中的细胞外超氧化物的水平。(4)Figiel & Engele(J. Neurosci. 20:3596-3605, 2000)已经报告在星形胶质细胞中PACAP增加了谷氨酸转运体GLT-I和GLAST的表达,并且增加了谷氨酸代谢酶谷氨酰胺合成酶的活性。预期PACAP的这些作用会减少谷氨酸能的神经传递。Wu等人(Neurobiol. Aging 27:377-386, 2006)报告在三个不同的阿尔茨海默病的鼠模型的皮层中的PACAP信使mRNA的水平降低了。

[0009] Aubert等人(2008)报告了PACAP38对抗抗癌剂顺铂的毒性副作用保护了在细胞培养物中以及在小脑切片中的小脑颗粒细胞。在该文章中没有报告体内实验,推测上是因为不能用标准途径的肠胃外给药获得高达10⁻⁷M的浓度,因为PACAP38转运进入脑是可饱和的(Banks等人, 1993)。另外,顺铂诱导的小脑毒性不是一个有临床意义的肿瘤学问题。然而,对小脑的损害是用阿糖胞苷或5-氟尿嘧啶的癌症化学疗法的一个有临床意义的副作用。这些作者还主张PACAP38不保护中国仓鼠卵巢(CHO)细胞(一种肿瘤细胞系)免于顺铂的细胞毒效应。这后者的结论是基于使用一种非人类的非典型卵巢癌细胞系(在一个未知位置具有一个异位转基因)的阴性结果。此外,Gupta(Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:598-605, 1988)已经显示CHO细胞相比于可比较的人类细胞具有高于10倍以上的多药耐药转运体活性。CHO细胞通常用于哺乳动物蛋白的重组生产,但是罕见(若有过的话)用作一种细胞系来研究卵巢癌。大多数人类卵巢癌活检标本表达一种或多种PACAP/VIP受体,但是该亲本的CHO细胞系不表达PAC₁、VPAC₁、或VPAC₂受体。由Aubert等人(2008)所提出的PACAP不会保护实体瘤免于顺铂的提议与有关发表的文献和我们的新的实验是不一致的(图13和14)。据Oka等人(Amer. J. Pathol. 155:1893-1900, 1999)报告,PACAP保护了HP75人类垂体腺瘤细胞免于由用转化生长因子-β1治疗所引起的凋亡细胞死亡,并且近年来已经越来越多地显示出PACAP保护了PC-3雄激素非依赖性人类前列腺癌细胞(Gutierrez-Canas, I. et al. Br. J. Pharmacol. 139:1050-1058, 2003)以及CRL-2768大鼠神经鞘瘤细胞(Castorina, A. et al. Brain Res. 1241:29-35, 2008)免于由血清撤退(serum withdrawal)所引起的凋亡细胞死亡。更相关的是,Onoue等人(FEBS J. 275:5542-5551, 2008)已经显示PACAP保护RIN-m5F胰岛瘤细胞免于由抗癌剂链脲菌素所引起的凋亡细胞死亡。此外,PACAP(6-38),一种PACAP/VIP受体拮抗剂,在裸小鼠中抑制了PC-3人前列腺癌细胞(Leyton et al., Cancer Lett 125:131-139, 1998)、NCI-H838人非小细胞肺癌细胞(Zia et al., Cancer Res 55:4886-4891, 1995)、以及MCF-7人乳癌细胞(Leyton et al., 1999)的异种移植物的生长。

[0010] PACAP和VIP的细胞保护作用在肾脏、心脏、胃肠道、以及肺脏中的研究远不如其在神经系统中广泛。已经显示PACAP保护肾脏免于由缺血/再灌注(Riera et al., Transplantation 72:1217-1223, 2001; Szakaly et al., J. Mol. Neurosci. 36:89-96, 2008)、通常使用的抗生素庆大霉素(Li et al., 2008)以及免疫球蛋白轻链过载所引起的

损伤(Li et al.,2008)。肾毒性对于许多抗癌剂包括(但不限于)顺铂和卡铂是剂量限制性的。

[0011] 还已经显示PACAP保护心脏(Sano et al.,Regul.Pept.109:107-113,2002;Gasz et al.,Peptides 27:87-94,2006)以及胃肠道的小肠(Ferencz et al.,J.Mol.Neurosci.37:168-176,2008)免于缺血/氧化应激。已经显示VIP保护肺脏免于由缺血/冷藏所引起的损伤(Alessandrini,Acta Biomed.Ateneo.Parmense.65:59-73,1994)。关于阿霉素的癌症化学疗法的剂量限制性毒性是心脏毒素(Takemura&Fujiwara,2007),而关于博来霉素的癌症化学疗法的剂量限制性毒性是肺毒性(Chandler,1990)。关于大多数抗癌剂的胃肠道副作用是非常常见的。

[0012] 以前没有系统地研究PACAP的肝脏保护特性。关于卡莫司汀的癌症化学疗法的剂量限制性毒性通常是骨髓抑制,但是肝毒性或肾毒性有时可能限制可以用来治疗一些病人的剂量。

[0013] 在至少四个不同的实验室中研究者已经将天然PACAP给予正常人志愿者(Chiodera et al.,Neuroendocrinology 64:242-246,1996;Filipsson et al.,J.Clin.Endocrinol.Metab.82:3093-3098,1997;Doberer et al.,Eur.J.Clin.Invest.37:665-672,2007;Murck et al.,Am.J.Physiol.292:E853-E857,2007),并且在美国食品药物管理局批准的科学试验计划下给予患有多发性骨髓瘤的病人(Li et al.,Peptides28:1891-1895,2007)。所报道的唯一不良反应是一种短暂的潮红。

[0014] 所公布的文献表明PACAP样肽可以保护神经元(神经上皮细胞)免于非常宽范围的损伤,包括缺血/再灌注损伤。所公布的文献还表明PACAP样肽可以保护肾脏的、肺脏的、以及胃肠的上皮细胞免于由于缺血/再灌注引起的损伤。以前还没有研究过PACAP样肽是否可以保护肾脏的、肺脏的、以及胃肠的上皮细胞免于任何通常使用的癌症化学治疗剂。所公布的文献提示PACAP样肽促进大多数上皮癌细胞的增殖和存活。因此,所公布的文献提示对于大多数实体上皮肿瘤,PACAP样肽的肠胃外给药不能用作与癌症化学治疗剂一起的辅助治疗。

[0015] 已经显示出PACAP样肽抑制大多数正常造血细胞的增殖(例如,Ottaway et al.,J.Immunol.132:417-423,1984;Boudard et al.,J.Neurosci.Res.29:29-41,1991;Tatsuno et al.,Endocrinology 128:728-734,1991;Trejter et al.,Histol Histopathol.16:155-158,2001)。还已经显示PACAP样肽抑制HEL髓细胞性白血病细胞的增殖(Hayez et al.,2004)。PACAP样肽还抑制多发性骨髓瘤细胞的增殖(Li et al.,2008)。

[0016] 在此对参考文献的引用或讨论不应被理解为这样的参考文献是对于本发明的现有技术。

发明内容

[0017] 诸位发明人已经发现天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、天然的人类血管活性肠肽(VIP)、以及它们的类似物、片段、以及衍生物类、以及包含PACAP/VIP受体的一种或多种的激动剂在保护机体的主要器官免于由通常使用的癌症化学治疗剂所引起的损伤中是非常有效的。因此,诸位本发明人已经确定在对一位用癌症化学治疗剂治疗的受试者给药时,PACAP样肽和化合物可以被用作细胞保护辅助剂。因此,本发明涉及用于治疗、处

理、防止并且抑制由一种或多种抗癌剂引起的对人类或其他哺乳动物的身体的多个器官损伤的方法,这些器官例如是脑、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、胰脏、胆囊、胃肠道(例如咽、食道、胃、小肠、大肠、阑尾、以及结肠)、肾上腺、胸腺、脾脏、以及淋巴结。该方法包括给予有效量的PACAP样化合物,它包括天然的人类PACAP38、天然的人类 PACAP27、VIP、它们的激动剂、类似物、片段、或衍生物,并且它们可以具有一种或多种对于PACAP/VIP受体的活性,用于在用一种或多种抗癌剂治疗的受试者(例如人类或其他哺乳动物)体内抑制引起病理的细胞表型(例如导致对身体的一个或多个器官损伤的病理状况,这些器官例如是脑、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、胰脏、胆囊、胃肠道(例如咽、食道、胃、小肠、大肠、阑尾、以及结肠)、肾上腺、胸腺、脾脏、以及淋巴结)。该抗癌剂可以直接或间接引起身体的一个或多个器官损伤。

[0018] 可以将一种PACAP样化合物在用一种或多种抗癌剂治疗之前、治疗之后或基本上与治疗同时给予受试者。在一个实施方案中,该受试者患有一种癌症(例如上皮细胞癌或血液癌如多发性骨髓瘤)。在本发明的另一个实施方案中,将PACAP样化合物直接或间接递送到一个对抗癌剂具有剂量限制性毒性的器官。在优选的实施方案中,该器官是脑、心脏、肺脏、肝脏、肾脏、胰脏、胆囊、胃肠道(例如咽、食道、胃、小肠(例如十二指肠粘膜)、大肠、阑尾以及结肠)、乳房、卵巢、睾丸、肾上腺、胸腺、脾脏、或淋巴结。

[0019] 在另一个实施方案中,在用一种或多种抗癌剂治疗之前或之后至少1、2、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、或55分钟,将该PACAP样化合物给予该受试者一次或多次。在另一个实施方案中,在用一种或多种抗癌剂治疗之前或之后至少1、2、5、10、15、20、24、36、48、或60小时,将该PACAP样化合物给予该受试者一次或多次。在又一个实施方案中,在用一种或多种抗癌剂治疗之前或之后至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、32、36、40、44、48、或52周,将该PACAP样化合物给予该受试者一次或多次。

[0020] 例如,肺毒性通常在治疗睾丸癌的受试者中限制了博来霉素的肠胃外剂量。因此,在一位用博来霉素治疗睾丸癌的受试者中该方法包括将该PACAP样化合物(例如一种PACAP样肽)作为一种气溶胶给予到肺脏。在另一个实例中,在使用具有中枢神经系统或胃肠剂量限制性毒性的癌症化学治疗剂时,该PACAP样细胞保护辅助剂优选地可以对应地用鼻内或口服给药而递送至脑或胃肠道。本领域的普通技术人员将认识到,可以使用许多其他的策略将PACAP样肽递送到身体的一个器官。

[0021] 诸位发明人还已经显示PACAP样化合物与某些抗癌剂(特别是针对造血癌或血液癌细胞)可以具有一种相加的抗癌作用。因此,在本发明的另一个实施方案中,可以将该PACAP样化合物给予一位用一种或多种抗癌剂治疗的造血癌或血液癌(包括淋巴瘤和髓细胞性癌)的受试者。在优选的实施方案中,该造血癌或血液癌是一种白血病(例如淋巴性白血病或髓细胞性白血病、慢性骨髓性白血病、或红白血病)、一种淋巴瘤(例如伯基特淋巴瘤或套细胞淋巴瘤)、或一种浆细胞恶液质(例如多发性骨髓瘤或沃尔丹斯特伦巨球蛋白血症)。

[0022] 在某些实施方案中,该PACAP样化合物可以是天然发生的PACAP肽的衍生物。在一个实施方案中,该衍生物可以是一种N-乙酰基衍生物。在另一个实施方案中,该衍生物可以是一种丙基酰胺衍生物(例如一种Lys³⁸-丙胺衍生物)。在又一个实施方案中,将该PACAP样化合物连接到一种具有从大约4千道尔顿到大约40千道尔顿分子量的聚乙二醇聚合物

上。在又一个实施方案中,其中该PACAP样化合物的侧面有用一种或多种蛋白水解酶的氨基酸共有序列。

[0023] 在某些实施方案中,该PACAP样化合物可以是一种天然发生的PACAP肽的类似物。Maxadilan,一种61个氨基酸的肽,具有两个在吸血沙蝇长须罗蛉的唾液腺中天然合成的二硫键,是一个根据本发明的PACAP的构像类似物的实例。它与PACAP没有明显的线性氨基酸序列一致性,但是优选地以高亲和力结合到PAC₁受体(Tatsuno, I. et al. Brain Res. 889: 138-148, 2001; Lerner, E. A. et al. Peptides 28: 1651-1654, 2007)。通过来自美洲中部和南部的不同区域的沙蝇制成的maxadilan的氨基酸序列可以相差超过20%。然而,在这些生物活性直向同源物中这些半胱氨酸残基的相对位置是无变化的并且所有这些生物活性直向同源物具有一种相似的预测的二级结构。由Lanzaro等人描述了一些天然发生的maxadilan的氨基酸序列(Lanzaro, G. C. et al. Insect. Mol. Biol. 8: 267-275, 1999)。天然发生的maxadilan的这些氨基酸序列示为SEQ ID NO: 70。因此, PACAP的构像类似物的线性类似物,如maxadilan的线性类似物(Reddy, V. B. et al. J. Biol. Chem. 281: 16197-16201, 2006),预期会结合并且刺激PACAP/VIP受体。那些在本领域中的普通技术人员将会认识到另外的PACAP的构像类似物可以通过合成组合化学或噬菌体展示技术而产生。

[0024] 本发明的这些PACAP样化合物可以从正常细胞或细胞外液纯化,通过重组分子生物学的方法合成,或(在大多数的常见实施方案中)通过肽化学的方法合成。

[0025] PACAP样化合物的效能,特别是在保护和/或挽救神经元、心肌细胞、肝细胞、以及肺脏、肾脏、以及胃肠道的上皮细胞的效能,可能取决于该化合物的给药的浓度。诸位本发明人已经发现总体上在本发明的组合物的有效浓度范围内存在一种峰效应,在其以下该组合物的效应在相当大的程度上下降。在一个优选的实施方案中,本发明的PACAP样化合物的浓度是在大约 10^{-13} M与大约 10^{-6} M之间(或者在一种细胞培养基中或者在一位受试者的间隙空间或血液中),它允许该受试者的治疗具有来自治疗的副作用的最小危险(Reglodi et al., 2000; Li et al., 2007)。在一个优选的实施方案中,该PACAP样化合物的浓度是大约 10^{-9} M。本发现使得以低浓度使用本发明的组合物对神经元、心肌细胞、肝细胞、以及肺脏、肾脏和胃肠道的上皮细胞提供实质性的保护和挽救成为可能。在一个具体的实施方案中,本发明的组合物保护这些细胞免于损伤或死亡。

[0026] 在本发明的这些方法中,对一种器官的损伤可能是由于用一种或多种通常使用的抗癌剂的治疗引起的,这些抗癌剂包括(但不限于)例如:顺铂、卡铂、奥沙利铂、博来霉素、丝裂霉素C、刺孢霉素、美登素衍生物、阿霉素、伊达比星、柔红霉素、表柔比星、白消安、卡莫司汀、洛莫司汀、司莫司汀、沙利度胺、来那度胺、甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、氟达拉滨、5-氮杂胞嘧啶核苷、喷司他丁(2'-脱氧考福霉素)、阿糖胞苷(阿糖胞苷)、吉西他滨、5-氟尿嘧啶、羟基脲、依托泊苷、替尼泊苷、托泊替康、伊立替康、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑、硼替佐米、长春新碱、长春碱、长春瑞宾、紫杉醇、以及多西他赛。

[0027] 在本发明的这些方法中,可以在给予抗癌剂之前或之后将该PACAP样化合物给予该受试者。可替代地,可以将该PACAP样化合物和抗癌剂基本上同时给予该受试者(例如彼此相距在以下时间之内:1分钟、2分钟、5分钟、20分钟、1小时、2小时、5小时、1天、1周、1月、1年、或更久)。在一个实施方案中,该PACAP样化合物是在该抗癌剂已经导致对一个器官的损伤之后给予的。在另一个实施方案中,该PACAP样化合物是在该抗癌剂导致对一个器官的损

伤之前给予的。

[0028] 可以将本发明的这些PACAP样化合物静脉内地、腹膜内地、皮下地、肌内地、或另外的方式给药进入血流以便达到用于治疗、处理、减少、抑制、或防止由用一种或多种抗癌剂治疗所引起的受试者的一个或多个器官的损伤的最佳浓度。可以将这些PACAP样化合物以一个在1 μ g至1克之间(例如在1 μ g至2500 μ g之间)的剂量给予所述受试者。在一个优选的实施方案中,可以将这些PACAP样化合物以一个在100 μ g至1000 μ g之间的剂量给予该受试者。在一个更优选的实施方案中,可以将这些PACAP样化合物以一个大约500 μ g的剂量给予该受试者。

[0029] 可以将本发明的这些PACAP样化合物通过静脉输注以1pmol/kg体重/小时至1200pmol/kg体重/小时的速率给予该受试者。在一个优选的实施方案中,静脉输注的速率是在1至100pmol/kg体重/小时之间。在另一个优选的实施方案中,静脉输注的速率是在100至200pmol/kg体重/小时之间。在又一个优选的实施方案中,静脉输注的速率是在200至600pmol/kg体重/小时之间。该PACAP样化合物的静脉输注可以是在1至12小时或更久之间(例如在24、36、或48小时、或更久)。可以将该PACAP样化合物的给药在经过一小时、一天、一周、一月、或一年(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12、或更长时间)的时程重复一次或多次。本发明的该组合物的静脉内给药可以作为一种弹丸注射(bolus injection)、作为一种持续输注、或作为一种紧接持续输注之后的弹丸注射。在一个优选的实施方案中,用一种或多种用于恶性血液病的化学治疗剂治疗该受试者,并且将该PACAP样辅助剂作为紧接持续输注之后的弹丸注射给药(以便使任何血清结合蛋白饱和)。可以将本发明的这些PACAP样化合物通过吸入或鼻内给药以便能对应地优先进入肺(Doberer et al., 2007)或脑(Nonaka, N. et al. J. Pharmacol. Exp. Ther. 325:513-519, 2008)。

[0030] 可以将本发明的这些PACAP样化合物以一种时间依赖性(Gazzaniga, A. et al. Expert Opin. Drug Deliv. 3:583-597, 2006)、或一种pH依赖性(Gallardo, D. et al. Pharm. Dev. Technol. 13:413-423, 2008)配制品口服给药以便能对应地优选进入胃肠道的不同水平或胃肠道的损伤区域。

[0031] 可以使用编码一种或多种PACAP样化合物的病毒载体来给予本发明的PACAP样化合物,这些PACAP样化合物仅仅包含一些或所有天然发生于哺乳动物肽中的二十种氨基酸。

[0032] 可以使用已经用编码一种或多种PACAP样化合物的病毒载体的一个或多个多核苷酸序列转染过的细胞给予本发明的PACAP样化合物,这些PACAP样化合物仅仅包含一些或所有天然发生于哺乳动物肽中的二十种氨基酸。

[0033] 本发明的这些PACAP样化合物可以是以控制释放(Kost, J. et al. Adv. Drug Deliv. Rev. 46:125-148, 2001)或持续释放(Hutchinson, F. G. et al. J. Control Release 13:279-294, 1990)配制品给予的。在一个实施方案中,将一种或多种化学治疗剂或抗癌剂给予这些受试者作为对于一种恶性血液病的治疗。

[0034] 可以将本发明的这些PACAP样化合物在封装入脂质体(Sethi, V. et al. Methods Enzymol. 391:377-395, 2005)或微颗粒(Almeida, A. J. et al. Adv. Drug Deliv. Rev. 59:478-490, 2007)之后给予。可以将本发明的这些PACAP样化合物在封装入树枝状化合物之后给予(Grayson, S. M. et al. Chem. Rev. 101:3819-3868, 2001)。在一个实施方案中,用一种或多种化学治疗剂或抗癌剂治疗这些受试者作为对于一种恶性血液病的治疗。

[0035] 可以将本发明的这些PACAP样化合物与其他的具有不同作用机制的细胞保护辅助剂例如氨磷汀、右雷佐生、美司钠、帕利夫明(人角质细胞生长因子)、以及N-乙酰半胱氨酸联合给药以便具有一种相加或协同效应。

[0036] 本发明的这些PACAP样化合物可以与一种药学上可接受的载体或赋形剂组合而配制,或可以将它们以一种盐的形式配制,用于对一位受试者给药(例如,一位人类病人)。

[0037] 本发明的这些PACAP样化合物可以被用来治疗、处理、减少、抑制、或防止由未结合抗癌剂和可逆地结合到一种单克隆抗体或一种或多种生物活性肽的抗癌剂二者所引起的对于人类或其他哺乳动物的身体的一个或多个器官的损伤。

[0038] 可以将本发明的这些PACAP样化合物用于减少由一种或多种抗癌剂引起的迟发性继发癌的发病率,尤其是迟发性继发白血病的发病率。

[0039] 可以将本发明的组合物用于直接增强抗癌剂在某些癌细胞(例如造血或血液癌细胞)的治疗中的疗效。可以将本发明的组合物或者作为除用于一种癌(尤其是造血癌)的标准治疗方案之外的另一个、或者作为在一个包含糖皮质激素的标准方案中的糖皮质激素的一种替代而使用,这些包含糖皮质激素的标准方案包括(但不限于)用于一种癌尤其是一种造血癌的CHOP(环磷酰胺、羟基柔红霉素、长春新碱、以及泼尼松)、COP(环磷酰胺、长春新碱、和泼尼松)、COPP(环磷酰胺、长春新碱、丙卡巴肼、以及泼尼松)、MOPP(氮芥、长春新碱、丙卡巴肼、以及泼尼松)、以及VAD(长春新碱、阿霉素和地塞米松)。

附图说明

[0040] 图1显示PACAP38(SEQ ID NO:1)、PACAP27(SEQ ID NO:2)、VIP(SEQ ID NO:3)、[D-Ser²]PACAP38(SEQ ID NO:4)、PACAP38(SEQ ID NO:5)、[D-Ser²,Lys³⁸-棕榈酰]PACAP38(SEQ ID NO:6)、[Aib²,Lys³⁸-棕榈酰]PACAP38(SEQ ID NO:7)、[Ala²²]PACAP38(SEQ ID NO:8)、[Ala¹⁶,Ala¹⁷,D-Lys³⁸]PACAP38(SEQ ID NO:9)、以及[Lys³⁴]PACAP38(SEQ ID NO:10)的初级氨基酸序列。在下列图的一个或多个中描述了已经在这些实验中使用的所有这些化合物。

[0041] 图2显示PACAP38以及PACAP38类似物对分泌免疫球蛋白轻链的骨髓瘤细胞增殖的抑制作用。在补充有10%非灭活胎牛血清和0.05mM 2-巯基乙醇的RPMI 1640培养基中培养这些分泌免疫球蛋白轻链的人骨髓瘤细胞。通过确定在细胞分裂期间掺入DNA的溴脱氧尿苷(bromodeoxyuridine)而评估PACAP38和PACAP38类似物对骨髓瘤细胞增殖的作用。在没有用PACAP样肽处理的情况下,在24小时孵育期间的骨髓瘤细胞的数目近乎加倍。各值代表四至八次测定的平均数加/减标准差。

[0042] 图3显示通过改变PACAP38的浓度引起的顺铂诱导的人肾近端小管上皮细胞的凋亡细胞死亡的减少。在补充有重组表皮生长因子和牛垂体提取物的角质细胞无血清培养基中培养HK-2人肾细胞。通过暴露于顺铂24小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38对凋亡细胞死亡的剂量依赖性抑制作用。各值代表在三次重复实验中的四次测定的平均数加/减标准差。与顺铂处理(对照)细胞相比,**p<0.01。

[0043] 图4显示由可比较的浓度的PACAP38和PACAP38所引起的顺铂诱导的人近端肾小管上皮细胞的凋亡细胞死亡的减少。在补充有重组表皮生长因子和牛垂体提取物的角质细胞无血清培养基中培养HK-2人肾细胞。通过暴露于顺铂24小时后定量测定细胞质的细胞质组

蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38对凋亡细胞死亡的剂量依赖性抑制作用。各值代表在三次不同实验中四次测定的平均数加/减标准差。与顺铂处理(对照)细胞相比, $^{**}p<0.01$ 和 $^{*}p<0.05$ 。

[0044] 图5显示在用顺铂治疗的小鼠中PACAP38对人近端肾小管上皮细胞粘附到细胞外基质组分的影响。将96孔板的孔用针对纤连蛋白、胶原I或胶原IV的抗体包被。用50 μ M顺铂处理HK-2肾细胞显著地降低了整联蛋白-细胞外基质相互作用并且减少了到纤连蛋白、胶原I、以及胶原IV的细胞表面相关结合,如通过基于细胞的粘附测定所示。在暴露于顺铂的这些细胞中,PACAP38部分地逆转了在结合到纤连蛋白和胶原IV方面的下降。各值代表四次测定的平均数加/减标准差。与相应的顺铂处理(对照)细胞相比, $^{**}p<0.01$ 。

[0045] 图6显示在用顺铂治疗的小鼠中PACAP38对血清肌酸酐水平的影响。对雄性C57BL/6小鼠给予20mg/kg的顺铂的单次腹膜内注射。在注射顺铂之前1小时腹膜内给予二十纳摩尔的PACAP38,并且在首次剂量之后24以及48小时给予额外的剂量。在以相同的时间表注射顺铂和PACAP38时,对于对照组的小鼠用相同体积的盐水注入腹膜内。在PACAP38的最后一次注射24小时之后使小鼠安乐死。各值代表四次测定的平均数加/减标准差。与仅用顺铂治疗的组相比, $^{***}p<0.001$ 和 $^{**}p<0.01$ 。

[0046] 图7显示在用顺铂治疗的小鼠中PACAP38对血尿素氮水平的影响。对雄性 C57BL/6小鼠给予20mg/kg的顺铂的单次腹膜内注射。在注射顺铂之前1小时腹膜内给予二十纳摩尔的PACAP38,并且在首次剂量之后24以及48小时给予额外的剂量。在以相同的时间表注射顺铂和PACAP38时,对于对照组的小鼠用相同体积的盐水注入腹膜内。在PACAP38的最后一次注射24小时之后使小鼠安乐死。各值代表四次测定的平均数加/减标准差。与仅用顺铂治疗的组相比, $^{***}p<0.001$ 和 $^{**}p<0.01$ 。

[0047] 图8显示在用顺铂治疗的小鼠肾中PACAP38对TNF- α 产生的影响。对雄性C57BL/6小鼠给予20mg/kg的顺铂的单次腹膜内注射。在注射顺铂之前1小时腹膜内给予二十纳摩尔的PACAP38,并且在首次剂量之后24以及48小时给予额外的剂量。在以相同的时间表注射顺铂和PACAP38时,对于对照组的小鼠用相同体积的盐水注入腹膜内。在PACAP38的最后一次注射24小时之后使小鼠安乐死。从各小鼠的一个肾提取TNF- α 并且用酶联免疫吸附测定进行定量。各值代表四次测定的平均数加/减标准差。与仅用顺铂治疗的组相比, $^{***}p<0.001$ 和 $^{**}p<0.01$ 。

[0048] 图9显示在用顺铂治疗的小鼠中PACAP38对肾脏的形态学的影响。对雄性C57BL/6小鼠给予20mg/kg的顺铂的单次腹膜内注射。在注射顺铂之前1小时腹膜内给予二十纳摩尔的PACAP38,并且在首次剂量之后24以及48小时给予额外的剂量。在以相同的时间表注射顺铂和PACAP38时,对于对照组的小鼠用相同体积的盐水注入腹膜内。在PACAP38的最后一次注射24小时之后使小鼠安乐死,并且移出肾脏然后在10%福尔马林中固定。将这些固定的切片用苏木精和曙红染色。来自对照小鼠的肾脏的切片显示完整的肾小管上皮细胞和保存良好的刷状缘膜。来自用顺铂治疗的小鼠的肾脏具有广泛的肾小管损害、肾小管扩张、小管内碎片、以及小叶内管型。与顺铂治疗的小鼠相比,来自用顺铂和PACAP38二者治疗的小鼠具有相对保存良好的肾小管形态学,具有较少的肾小管损害以及在肾小管腔中的碎片。在顺铂治疗的小鼠的外皮质区中有更显著的肾小管损害。所作出的在左侧的这些显微照片的放大率($\times 160$)比在右侧的这些显微照片的放大率($\times 320$)低。在图5、6、7和8中所描述的这些

结果来自同一个实验。

[0049] 图10显示在用顺铂治疗的小鼠中PACAP38、[D-Ser²]PACAP38、[D-Ser², Lys³⁸-棕榈酰]PACAP38、以及VIP对血清肌酸酐水平的影响。对雄性C57BL/6小鼠给予20mg/kg的顺铂的单次腹膜内注射。在注射顺铂之前1小时腹膜内给予二十纳摩尔的PACAP38,并且在首次剂量之后24以及48小时给予额外的剂量。在以相同的时间表注射顺铂和PACAP38时,对于对照组的小鼠用相同体积的盐水注入腹膜内。在PACAP38的最后一次注射24小时之后使小鼠安乐死。各值代表六次测定的平均数加/减标准差。与仅用顺铂治疗的组相比,*** $p < 0.001$ 和** $p < 0.01$ 。

[0050] 图11显示由可比较的浓度的PACAP38、[D-Ser²]PACAP38和[Lys³⁴]PACAP38所引起的阿霉素诱导的人近端肾小管上皮细胞的凋亡细胞死亡的减少。在补充有重组表皮生长因子和牛垂体提取物的角质细胞无血清培养基中培养HK-2人肾细胞。通过暴露于顺铂24小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38、[D-Ser²]PACAP38和[Lys³⁴]PACAP38对凋亡细胞死亡的剂量依赖性抑制作用。各值代表在三次重复实验中四次测定的平均数加/减标准差。与阿霉素处理(对照)细胞相比,*** $p < 0.01$ 和* $p < 0.05$ 。

[0051] 图12显示由可比较的浓度的PACAP38、[D-Ser²]PACAP38和[Lys³⁴]PACAP38所引起的博来霉素诱导的人肺上皮细胞的凋亡细胞死亡的减少。在补充有10%胎牛血清的依格儿必需培养基(Eagle's Minimum Essential Medium)中培养L-132人肺细胞。通过暴露于顺铂24小时后定量测定细胞质的细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38、[D-Ser²]PACAP38和[Lys³⁴]PACAP38对凋亡细胞死亡的剂量依赖性抑制作用。各值代表在三次重复实验中四次测定的平均数加/减标准差。与博来霉素处理(对照)细胞相比,*** $p < 0.01$ 和* $p < 0.05$ 。

[0052] 图13显示由可比较的浓度的PACAP38、[D-Ser²]PACAP38和[Lys³⁴]PACAP38所引起的顺铂诱导的嗜铬细胞瘤细胞的凋亡细胞死亡的减少。在补充有15%马血清和2.5%胎牛血清的F-12K培养基中培养PC-12大鼠嗜铬细胞瘤细胞。通过暴露于顺铂24小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38和PACAP38类似物对凋亡细胞死亡的剂量依赖性抑制作用。各值代表四次测定的平均数加/减标准差。与顺铂处理(对照)细胞相比,*** $p < 0.01$ 和* $p < 0.05$ 。

[0053] 图14显示由可比较的浓度的PACAP38、N-乙酰基[Ala^{16,17}, D-Lys³⁸]PACAP38所引起的阿霉素诱导的乳癌细胞的凋亡细胞死亡的减少。在补充有10%非灭活胎牛血清和0.05mM 2-巯基乙醇的依格儿最低必需培养基(Eagle's Minimum Essential Medium)中培养MCF-7人乳癌细胞。通过暴露于阿霉素48小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38和N-乙酰基[Ala^{16,17}, D-Lys³⁸]PACAP38对凋亡细胞死亡的作用。各值代表三次测定的平均值加/减标准差。与阿霉素处理(对照)细胞相比,*** $p < 0.01$ 。

[0054] 图15显示由可比较的浓度的PACAP27和PACAP38所引起的依托泊苷诱导的白血病细胞的凋亡细胞死亡的减少。在补充有10%非灭活胎牛血清的RPMI 1640培养基中培养Jurkat人T淋巴细胞白血病细胞。通过暴露于依托泊苷48小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP27和PACAP38对凋亡细胞死亡的作用。各值代表三次测定的平均值加/减标准差。与依托泊苷处理(对照)细胞相比,*** $p < 0.01$ 和* $p < 0.05$ 。

[0055] 图16显示由可比较的浓度的PACAP38和[Ala¹⁶,Ala¹⁷,D-Lys³⁸]PACAP38所引起的阿霉素诱导的分泌免疫球蛋白轻链的多发性骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡的减少。在补充有10%非灭活胎牛血清和0.05mM 2-巯基乙醇的RPMI 1640培养基中培养这些分泌免疫球蛋白轻链的人骨髓瘤细胞。通过暴露于阿霉素48小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38和[Ala^{16,17},D-Lys³⁸]PACAP38对凋亡细胞死亡的作用。各值代表三次测定的平均值加/减标准差。 $**p<0.01$ 和 $*p<0.05$,与阿霉素处理的(对照)细胞相比。

[0056] 图17显示由可比较的浓度的PACAP38和[Ala²²]PACAP38所引起的卡莫司汀诱导的分泌免疫球蛋白轻链的多发性骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡的增加。在补充有10%非灭活胎牛血清和0.05mM 2-巯基乙醇的RPMI 1640培养基中培养这些分泌免疫球蛋白轻链的人类骨髓瘤细胞。通过暴露于卡莫司汀48小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38和[Ala²²]PACAP38对凋亡细胞死亡的作用。各值代表三次测定的平均值加/减标准差。与卡莫司汀处理(对照)细胞相比, $**p<0.01$ 和 $*p<0.05$ 。

[0057] 图18显示由不同浓度的PACAP38所引起的长春新碱诱导的分泌免疫球蛋白轻链的多发性骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡的增加。在补充有10%非灭活胎牛血清和0.05mM 2-巯基乙醇的RPMI 1640培养基中培养这些分泌免疫球蛋白轻链的人骨髓瘤细胞。通过暴露于长春新碱48小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38对凋亡细胞死亡的作用。各值代表四次测定的平均数加/减标准差。与长春新碱处理(对照)细胞相比, $**p<0.01$ 和 $*p<0.05$ 。

[0058] 图19显示由不同浓度的PACAP38所引起的沙利度胺诱导的分泌免疫球蛋白轻链的多发性骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡的增加。在补充有10%非灭活胎牛血清和0.05mM 2-巯基乙醇的RPMI 1640培养基中培养这些分泌免疫球蛋白轻链的人骨髓瘤细胞。通过暴露于沙利度胺48小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38对凋亡细胞死亡的作用。各值代表四次测定的平均数加/减标准差。与沙利度胺处理(对照)细胞相比, $**p<0.01$ 和 $*p<0.05$ 。

[0059] 图20显示由可比较的浓度的PACAP38、[D-Ser²]PACAP38和VIP所引起的沙利度胺诱导的人红白血病细胞的凋亡细胞死亡的增加。在补充有10%非灭活胎牛血清的RPMI 1640培养基中培养这些人髓细胞性白血病细胞。通过暴露于沙利度胺48小时后定量测定细胞质组蛋白相关DNA碎片(单和寡聚核小体)而评估PACAP38、[D-Ser²]PACAP38、以及VIP对凋亡细胞死亡的作用。各值代表四次测定的平均数加/减标准差。与沙利度胺处理(对照)细胞相比, $**p<0.01$ 和 $*p<0.05$ 。

[0060] 序列

[0061] SEQ ID NO:1至3是人类序列。SEQ ID NO:4至66是修饰的相应的人类序列。以下是附随的序列表中提出的这些序列的简短概述,通过引用以其整体结合在此:

[0062] SEQ ID NO:1是PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。

[0063] SEQ ID NO:2是PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。

[0064] SEQ ID NO:3是VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。

[0065] SEQ ID NO:4是[D-Ser²]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。

[0066] SEQ ID NO:5是PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。

- [0067] SEQ ID NO:6是[D-Ser²,Lys³⁸-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0068] SEQ ID NO:7是[Aib²,Lys³⁸-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0069] SEQ ID NO:8是[Ala²²]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0070] SEQ ID NO:9是[Ala¹⁶,Ala¹⁷,D-Lys³⁸]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0071] SEQ ID NO:10是[Lys³⁴]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0072] SEQ ID NO:11是[Lys³⁸-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0073] SEQ ID NO:12是[D-Ser²,Ala¹⁶,Ala¹⁷,D-Lys³⁸]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0074] SEQ ID NO:13是[Aib²,Ala¹⁶,Ala¹⁷,D-Lys³⁸]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0075] SEQ ID NO:14是[D-Ala²]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0076] SEQ ID NO:15是[D-Ser²,Nle¹⁷]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0077] SEQ ID NO:16是[Aib²,Nle¹⁷]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0078] SEQ ID NO:17是[D-Ala²,Nle¹⁷]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0079] SEQ ID NO:18是[D-Ser²,Ala¹⁷]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0080] SEQ ID NO:19是[Aib²,Ala¹⁷]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0081] SEQ ID NO:20是[D-Ala²,Ala¹⁷]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0082] SEQ ID NO:21是[Lys³⁶-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0083] SEQ ID NO:22是[Lys³²-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。SEQ ID NO:23是[Lys²⁹-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0084] SEQ ID NO:24是[D-Ser²Lys³⁶-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0085] SEQ ID NO:25是[D-Ser²,Lys³²-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0086] SEQ ID NO:26是[D-Ser²,Lys²⁹-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0087] SEQ ID NO:27是[Aib²,Lys³⁶-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0088] SEQ ID NO:28是[Aib²,Lys³²-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。

- [0089] SEQ ID NO:29是[Aib²,Lys²⁹-棕榈酰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0090] SEQ ID NO:30是[Ala¹⁴]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0091] SEQ ID NO:31是[Ala²⁰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0092] SEQ ID NO:32是[Ala²¹]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0093] SEQ ID NO:33是[D-Ser²,Ala¹⁴]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。SEQ ID NO:34是[D-Ser²,Ala²⁰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0094] SEQ ID NO:35是[D-Ser²,Ala²¹]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0095] SEQ ID NO:36是[Ala¹⁴,Ala²⁰]PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0096] SEQ ID NO:37是[D-Ser²]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0097] SEQ ID NO:38是PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0098] SEQ ID NO:39是[Ala²²]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0099] SEQ ID NO:40是[D-Ala²]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0100] SEQ ID NO:41是[D-Ser²,Nle¹⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0101] SEQ ID NO:42是[Aib²,Nle¹⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。SEQ ID NO:43是[D-Ala²,Nle¹⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0102] SEQ ID NO:44是[D-Ser²,Ala¹⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。SEQ ID NO:45是[Aib²,Ala¹⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0103] SEQ ID NO:46是[D-Ala²,Ala¹⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0104] SEQ ID NO:47是[D-Ser²,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0105] SEQ ID NO:48是[Aib²,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0106] SEQ ID NO:49是[Ala²²,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。SEQ ID NO:50是[D-Ala²,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0107] SEQ ID NO:51是[D-Ser²,Nle¹⁷,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0108] SEQ ID NO:52是[Aib²,Nle¹⁷,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0109] SEQ ID NO:53是[D-Ala²,Nle¹⁷,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0110] SEQ ID NO:54是[D-Ser²,Ala¹⁷,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0111] SEQ ID NO:55是[Aib²,Ala¹⁷,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0112] SEQ ID NO:56是[D-Ala²,Ala¹⁷,D-Leu²⁷]PACAP27的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。

- [0113] SEQ ID NO:57是[D-Ser²]VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0114] SEQ ID NO:58是VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0115] SEQ ID NO:59是[Ala²²]VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0116] SEQ ID NO:60是[D-Ala²]VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0117] SEQ ID NO:61是[D-Ser²,Nle¹⁷]VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0118] SEQ ID NO:62是[Aib²,Nle¹⁷]VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0119] SEQ ID NO:63是[D-Ala²,Nle¹⁷]VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0120] SEQ ID NO:64是[D-Ser²,Ala¹⁷]VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0121] SEQ ID NO:65是[Aib²,Ala¹⁷]VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0122] SEQ ID NO:66是[D-Ala²,Ala¹⁷]VIP的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0123] SEQ ID NO:67是鸡(家鸡,Galus domesticus)PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0124] SEQ ID NO:68是青蛙(湖蛙)PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0125] SEQ ID NO:69是鲑鱼(红大马哈鱼)PACAP38的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。
- [0126] SEQ ID NO:70是沙蝇(长须罗蛉)maxadilan的一种天然发生的变体的氨基酸序列,可以根据本发明进行使用。

[0127] 定义

[0128] 在此使用了以下标准的三字母缩写来识别氨基酸残基:Aib, α -氨基异丁酸;Ala,丙氨酸;Arg,精氨酸;Asn,天冬酰胺;Asp,天冬氨酸;Cys,半胱氨酸;Gln,谷氨酰胺;Glu,谷氨酸;Gly,甘氨酸;His,组氨酸;Ile,异亮氨酸;Leu,亮氨酸;Lys,赖氨酸;Met,甲硫氨酸;Nle,正亮氨酸;Phe,苯丙氨酸;Pro,脯氨酸;Ser,丝氨酸;Thr,苏氨酸;Trp,色氨酸;Tyr,酪氨酸;Val,缬氨酸。

[0129] 如在此所使用的,短语“天然发生的PACAP”肽是指在自然界天然发生的并且显示出促进腺苷酸环化酶活性以及结合到一种PAC/VIP受体上的能力的垂体腺苷酸环化酶激活多肽(PACAP)。天然发生的PACAP肽的实例包括但不限于人类PACAP27(SEQ ID NO:2)、人类PACAP38(SEQ ID NO:1)、人类VIP(SEQ ID NO:3)、鸡PACAP38(SEQ ID NO:67)、青蛙PACAP38(SEQ ID NO:68)、鲑鱼PACAP38(SEQ ID NO:69)、以及沙蝇maxadilan(SEQ ID NO:70)。

[0130] 如在此所使用的,短语“PACAP样化合物”是指天然发生的PACAP肽和任何肽或模拟肽化合物(是其直向同源物、种内同源物、类似物、片段、或衍生物)、或是PACAP/VIP受体激动剂的任何化合物。PACAP样化合物的非限制性实例是在SEQ ID NO:1至70中所列出的这些多肽。在本发明的范围之内的PACAP样化合物展示出基本上的序列一致性,如以下所定义的术语具有在SEQ ID NO:1至70列出的一种或多种多肽。PACAP样化合物还可以通过以下能力而得以鉴定:作为一种激动剂(以下讨论)结合到一种或多种PACAP/VIP受体的能力、促进例如顺铂处理的肾上皮细胞(例如相对于没有用PACAP样化合物处理的肾上皮细胞,有至少2%、5%、10%、20%、25%、30%、或更多)的生活力增加的能力、或促进例如多发性骨髓瘤细胞(例如相对于没有用PACAP样化合物处理的多发性骨髓瘤细胞,有至少2%、5%、10%、20%、25%、30%、或更多)的增殖速率降低的能力。

[0131] 如在此所使用的,短语“PACAP/VIP受体激动剂”是指任何分子,包括一种蛋白、天然或合成的翻译后修饰蛋白、多肽、天然或合成的修饰多肽、肽、天然或合成的修饰肽、以及结合到并且刺激一种或多种PACAP/VIP受体的大或小的非肽分子。

[0132] 如在此所使用,术语“大约”是指该引用值 $\pm 10\%$ 的值。

[0133] 通过术语“给药”或“给予”是表示向一个哺乳动物(例如一个人)提供一个剂量的本发明的药剂或组合物,其中该途径例如是将与适宜于这类用途的药理学上可接受的载体的混合物经局部、口服、肠胃外(例如静脉内、腹膜内、动脉内、真皮内、肌内、或皮下注射、吸入、眼睛滴入、或植入)、鼻、阴道、直肠、或舌下施用。给药的优选方法可以变化,这取决于不同的因素,例如药用组合物的组分、潜在的位点或实际的疾病(例如损伤器官的位置)、以及疾病的严重性。

[0134] 如在此所使用的,短语“抗癌剂”是指任何化合物,将该化合物给予一位受试者(优选一位人类受试者)以杀灭癌细胞(例如通过诱导凋亡)、减慢其分裂(例如通过损害有丝分裂)、或者另外地减轻癌细胞在该受试者中的有害影响。如在此使用的,“抗癌剂”具有与“化学疗法的”、“化学治疗剂”、以及“癌症治疗剂”相同的意义。特别有效的类别的抗癌剂包括烷化剂、抗代谢药、激素激动剂与拮抗剂、亚硝基脲、以及植物生物碱。抗癌剂的非限制性实例包括:顺铂、卡铂、奥沙利铂、博来霉素、丝裂霉素C、刺孢霉素、美登素衍生物、阿霉素、伊达比星、柔红霉素、表柔比星、白消安、卡莫司汀、洛莫司汀、司莫司汀、沙利度胺、来那度胺、甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、氟达拉滨、5-氮杂胞嘧啶核苷、喷司他丁、阿糖胞苷、吉西他滨、5-氟尿嘧啶、羟基脲、依托泊苷、替尼泊苷、托泊替康、伊立替康、苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑、硼替佐米、长春新碱、长春碱、长春瑞宾、紫杉醇、以及多西他赛、以及它们的衍生物和类似物。

[0135] 如在此使用的,短语“类似物”是指构像和线性序列类似物二者。一种肽类似物可以包含天然发生于哺乳动物细胞中但不是天然发生于哺乳动物肽中的一种或多种氨基酸。例如(但不是以限制的方式)一种肽类似物可以包含 γ -氨基-N-丁酸(GABA)、 β -丙氨酸、鸟氨酸、或瓜氨酸。一种肽类似物还可以包含并非天然发生于哺乳动物细胞中的一种或多种非天然氨基酸。例如(但不是以限制的方式)一种肽类似物还可以包含D-丙氨酸、萘基丙氨酸、吡啶基丙氨酸、或正亮氨酸。一种类似物可以在其氨基端和/或其羧基端具有一种或多种天然发生和/或非天然氨基酸的延伸部分。在氨基端和/或羧基端的该延伸部分可以包括相同肽和/或其他的生物活性肽的一个或多个额外的复本。在氨基端和/或羧基端的该延伸部分可以包括一个或多个用于蛋白质分解加工的位点以便使得该延伸肽作为一种对于该生物活性肽的前体(药物前体)而起作用。例如,这些PACAP样化合物可以包括用于以下一种或多种的蛋白质分解酶的氨基端和/或羧基端的切割位点:胰蛋白酶、糜蛋白酶、激素原转化酶(例如激素原转化酶1、2、4、或7)、弗林蛋白酶、糜酶、凝血酶、钙蛋白酶、组织蛋白酶(例如组织蛋白酶A、B、D、G、H、或L)、木瓜蛋白酶、因子Xa、因子IXa、因子XIa、肾素、凝乳酶、嗜热菌蛋白酶、激肽释放酶、弹性酶、以及金属蛋白酶。

[0136] 如在此所使用的,短语“模拟肽”是指具有关键官能团的杂交肽/有机分子和非肽有机分子二者,在三维取向方面这些关键官能团在功能上等效于相应的肽(Marshall, G.R. Tetrahedron 49:3547-3558, 1993)。功能上等效于本发明的这些PACAP样化合物的模拟肽的化合物物理性上可以由本领域的普通技术人员基于公布的结构活性研究来设计(例

如,Igarashi,H.et al.J.Pharmacol.Exp.Ther.301:37-50,2002;Igarashi,H.et al.J.Pharmacol.Exp.Ther.303:445-460,2002;Bourgault,S.et al.Peptides 29:919-932,2008)。

[0137] 短语“百分比同一性”和“百分比相似性”可以用来比较两个肽的氨基酸序列。为了确定两种氨基酸序列的百分比一致性,将这些序列进行比对用于最优比较的目的(例如,为了与一个第二氨基酸序列进行最优比对可以将多个空位引入一个第一氨基酸序列的序列中)。然后在相应的氨基酸位置比较这些氨基酸残基。当该第一序列中的一个位置被在该第二序列中的相应位置的同样的氨基酸残基占据时,那么这些分子在那个位置是相同的。这两个序列之间的百分比一致性是由这些序列所共有的相同位置的数目的一个函数(即%一致性=相同的重叠位置的数目/位置的总数目 $\times 100\%$)。在大多数普通的实施方案中,这两个氨基酸序列具有相同的长度。为了确定两个氨基酸序列的百分比相似性,还将这些序列进行比对用于最优比较的目的。当在该第一序列中的一个位置被在该第二序列中的相应位置的或者同样的氨基酸残基亦或保守的氨基酸占据时,那么这些分子在那个位置是相似的。这两个序列之间的百分比相似性是在这些氨基酸序列中相应位置(在这些位置上的氨基酸或者是完全相同的亦或是保守取代基的不同的氨基酸)的数目的函数(即%相似性=相同或保守重叠位置的数目/位置的总数目 $\times 100\%$)。保守性置换是一种氨基酸被另外一种具有相似侧链的氨基酸所取代。一种保守性置换经常导致具有相似物理和生物学特性的类似物。以下是一个通常定义的在哺乳动物肽中天然发生的相似氨基酸的类别的清单:

[0138] 芳香族侧链:苯丙氨酸 $\equiv$ 酪氨酸 $\equiv$ 色氨酸 $\equiv$ 组氨酸;

[0139] 酸性侧链:天冬氨酸 $\equiv$ 谷氨酸;

[0140] 碱性侧链:精氨酸 $\equiv$ 赖氨酸 $\equiv$ 组氨酸;

[0141] β -支链侧链:苏氨酸 $\equiv$ 缬氨酸 $\equiv$ 异亮氨酸;

[0142] 非极性侧链:甘氨酸 $\equiv$ 丙氨酸 $\equiv$ 缬氨酸 $\equiv$ 亮氨酸 $\equiv$ 脯氨酸 $\equiv$ 甲硫氨酸 $\equiv$ 苯丙氨酸 $\equiv$ 色氨酸

[0143] 不带电荷的极性侧链:甘氨酸 $\equiv$ 天冬酰胺 $\equiv$ 谷氨酰胺 $\equiv$ 丝氨酸 $\equiv$ 苏氨酸 $\equiv$ 半胱氨酸 $\equiv$ 酪氨酸。

[0144] 本领域的普通技术人员将会认识到许多天然发生于哺乳动物细胞中的氨基酸并不是天然发生于哺乳动物肽中,并且许多并不是天然发生于哺乳动物细胞中的非天然氨基酸可以保守地取代为天然发生于哺乳动物肽中的一种或多种氨基酸。例如(但不是以限制的方式)羟基脯氨酸、脱氢脯氨酸以及哌啶酸可以被保守的取代为脯氨酸;肌氨酸、二烷基甘氨酸以及 α -氨基环烷族羧酸可以被保守地取代为甘氨酸;并且 α -氨基异丁酸、萘基丙氨酸、以及吡啶基丙氨酸可以被保守地取代为丙氨酸。在这两个序列的最优比对(没有或没有在氨基酸序列的一个或两者中引进一个或多个空位)之后来确定百分比一致性和百分比相似性。有许多本领域的普通技术人员所熟知的算法可以用来确定最优比对。在大多数普通的实施方案中,这两个氨基酸序列具有相同的长度。

[0145] 通过术语“基本上序列一致性”或“基本上相同”是表示相对于一个参比氨基酸序列(例如SEQ ID NO:1至70的这些多肽的一个或多个),一种肽或多肽展示出至少50%、优选60%、70%、75%、或80%、更优选85%、90%、95%、97%、并且最优选99%的一致性。该比较序列的长度大致是至少5个连续氨基酸、优选至少10个连续氨基酸、更优选至少15、20、25、

30、35、40、45、50、55、或60个或更多个连续氨基酸,并且最优选全长氨基酸序列。优选地,本发明的肽的序列是至少40、50、60、70、80、90、95、97、99%、或100%与参比序列(例如SEQ ID NO:1至70列出的这些多肽的一个或多个)相同的。序列一致性典型地是使用 BLAST®(基本局部比对搜索工具,Basic Local Alignment Search Tool)或其中具有指定的缺省参数的 BLAST®2来测量的(例如Altschul et al.,J Mol Biol 215:403-410(1990);以及 Tatiana et al,FEMS Microbiol Lett 174:247-250(1999))。这种软件程序通过对不同的取代、缺失、及其他修饰的同源性的程度进行赋值而将相似的序列进行匹配。保守置换典型地包括在以下基团内的取代:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、门冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、赖氨酸、精氨酸;以及苯丙氨酸、酪氨酸。

[0146] 如在此使用的短语“片段”在PACAP样或VIP样肽的背景下是指具有比PACAP样或VIP样肽少几个氨基酸的肽,并且该肽对应地与PACAP样或VIP样肽(例如SEQ ID NO:1至70的一种或多种多肽)具有至少五个连续氨基酸(例如至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个连续氨基酸)的序列相似性或一致性(例如超过至少5-20个或更多个连续氨基酸的至少90%、95%、97%、99%、或100%的序列一致性)。

[0147] 如在此所使用的短语“衍生物”是指一种肽,该肽已经通过将另外的分子和/或官能团共价附接到肽链上而进行了修饰。例如(但不是以限制的方式),可以通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、酰化、烷化、氧化、磷酸化、硫酸化、甲酰化、甲基化、脱甲基化、酰胺化、 γ -羧化、环化、内酰胺化、异戊烯化、十四酰化、碘化、硒酰化(selenoylation)、核糖基化、泛素化、或羟基化产生一种肽的衍生物。该衍生化的肽可以是一种肽类似物。一种肽的衍生物可以使用本领域技术人员已知的标准技术容易地制造。一种肽的一种衍生物可以具有与该母体肽相同的一种或多种功能。一种肽的一种衍生物还可以具有除该母体肽的该一种或多种功能之外的一种或多种其他功能。例如(但不是以限制的方式),一种肽的一种衍生物可以具有一个比该母体肽更长的半寿期和/或具有该母体肽不具有的细胞保护或细胞毒特性。

[0148] 如在此使用的,短语“受试者”是指一种哺乳动物,例如一种非灵长类动物(例如牛、猪、马、猫、狗、大鼠、等等)或一种灵长类动物(例如猴子或人类),最优选人类。在某些实施方案中,该受试者是一种家畜(例如马、猪、小羊、或牛)或一种宠物(例如狗、猫、兔、或猴子)。在其他实施方案中,该受试者是一种除家畜或宠物之外的动物(例如小鼠、大鼠或豚鼠)。在一个优选的实施方案中,该受试者是人。在另一个优选的实施方案中,该受试者是患有一种未治疗的(但是例如已被诊断了)或治疗过的癌症的人类病人。

[0149] 如在此使用的短语“与...组合”是指在本发明的方法中使用一种以上的治疗剂或细胞保护剂。短语“与...组合”的使用并不限制其中治疗剂或细胞保护剂给予受试者的次序。可以在一种或多种第二或另外的治疗剂或细胞保护剂之前、附随地、或之后给予一种治疗剂或细胞保护剂。以一种顺序并且在一个时间间隔之内将这些治疗给予一个受试者,这样使得本发明的这种或这些PACAP样化合物可以与其他药剂一同起作用,从而提供来自该受试者的不同响应,优选一种更高的治疗或细胞保护益处(相比于如果它们以别的方式给予)。

[0150] 如在此使用的短语“神经系统”是指“中枢神经系统”(大脑与脊髓)、交感神经系统、副交感神经系统、以及肠神经系统。

[0151] 如在此使用的,短语“造血细胞”是指衍生自造血干细胞的细胞(包括癌细胞)。衍

生自造血干细胞的正常的体细胞包括(但不限于)血细胞、例如、红细胞、粒细胞(嗜碱性粒细胞、嗜曙红粒细胞、以及嗜中性粒细胞)、淋巴细胞、单核细胞(巨噬细胞、小胶质细胞、脾细胞、以及树突状细胞)、以及血小板。

[0152] 如在此使用的,短语“恶性血液病”和“血液癌”是指造血细胞的任何癌或恶性病,包括(但不限于)血液细胞的癌、非基质骨髓细胞的癌、以及淋巴结细胞的癌。这些癌包括白血病、淋巴瘤、以及浆细胞恶液质。

[0153] 如在此所使用的,短语“浆细胞恶液质”是指B淋巴细胞谱系的单克隆瘤,包括(但不限于)多发性骨髓瘤、沃尔丹斯特伦巨球蛋白血症、POEMS综合征、 α 重链病(Seligmann's disease)、以及 γ 重链病(Franklin's disease)。

[0154] 通过与一种用抗癌剂一起产生治疗哺乳动物的效果的对哺乳动物(例如人)的身体器官的损伤的“治疗”、“处理”、“减少”、“抑制”、或“防止”表示将本发明的PACAP样化合物给予该哺乳动物以改善、减轻、或阻碍来自或可能来自用抗癌剂治疗相关联的对哺乳动物的身体的一个或多个器官的损伤,这些器官例如是神经系统、脑、心脏、肺脏、肾脏、肝脏、肾脏、胰脏、胆囊、胃肠道(例如咽、食道、胃、小肠(例如十二指肠粘膜)、大肠、阑尾、以及结肠)、乳房、卵巢、睾丸、前列腺、肾上腺、胸腺、脾脏、或淋巴结)。仅仅作为举例,给予PACAP样化合物通过允许增加一种抗癌剂的量(可以以超过正常给予该哺乳动物的最大耐受剂量的至少大约1%、2%、5%、8%、10%、15%、或20%或更多给予该哺乳动物)而提供了对哺乳动物的治疗,而没有增加器官损伤或具有器官损伤的减少(例如由此提供了对该哺乳动物的器官损伤的减少或抑制或防止)。在另一个治疗实例中,相对于在没有给予PACAP样化合物的情况下的癌细胞的增殖,PACAP样化合物与一种抗癌剂的联合给药以至少大约1%、2%、5%、8%、10%、15%、20%、25%、30%或更多减少了癌细胞的增殖。在另一个治疗实例中,相对于在没有接受PACAP样化合物的哺乳动物,PACAP样化合物与一种抗癌剂的联合给药以至少1%、2%、5%、10%、15%、20%、40%、60%、80%、或100%或更多提高了该哺乳动物的癌症生存率(例如五年生存率)。如所希望地,本发明的这些方法导致在肿瘤大小或癌性细胞数目(如使用标准方法所测定)方面降低了20%、40%、60%、80%、或100%。如所希望地,至少20%、40%、60%、80%、90%、95%的经治疗的哺乳动物展示出没有身体器官的损伤、对抗癌剂的更大耐受性、或肿瘤大小或癌细胞数目的降低。

[0155] 发明详细说明

[0156] 本专利申请的诸位发明人已经发现1)PACAP样化合物保护细胞免于由抗癌剂所引起的细胞损伤,以及2)PACAP样化合物在某些癌细胞(特别是造血或血液癌细胞,例如衍生自红细胞、粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、以及血小板的癌细胞)中展示出抗癌作用(例如促进凋亡)。因此,本发明的特征在于通过将PACAP样化合物给予受试者用于治疗、处理、减少、抑制、或防止由于给予抗癌剂引起的对该受试者的器官的损伤的方法,这些器官例如是脑、心脏、肺脏、肝脏、肾脏、胰脏、胆囊、胃肠道(例如咽、食道、胃、小肠(例如十二指肠粘膜)、大肠、阑尾以及结肠)、乳房、卵巢、睾丸、前列腺、肾上腺、胸腺、脾脏、或淋巴结

[0157] 给予该PACAP样化合物通过靶向一个或多个具有对该抗癌剂的剂量限制性毒性的器官以及治疗、减少、或抑制对于一个或多个器官的损伤而增加了可以由受试者耐受的抗癌剂的最大剂量。还可以给予该PACAP样化合物以增加一种抗癌剂对抗一种癌(例如造血或血液癌)的疗效。

[0158] 可以通过静脉内或动脉内或通过在此描述的其他的途径将该PACAP样化合物给予该受试者。对于那些患有上皮细胞癌(例如乳房、卵巢、睾丸、或前列腺的癌、或非小细胞肺癌)的受试者,可以将该PACAP样化合物直接给予到身体的由于给予一种抗癌剂引起的损伤而展示出剂量限制性毒性的一个或多个器官,这些器官例如是脑、心脏、肺脏、肝脏、肾脏、胰脏、胆囊、胃肠道(例如咽、食道、胃、小肠(例如十二指肠粘膜)、大肠、阑尾以及结肠)、肾上腺、胸腺、脾脏、或淋巴结)。对于患有造血或血液癌(包括但不限于白血病、淋巴瘤、以及浆细胞恶液质(例如多发性骨髓瘤))的那些受试者,可以将该PACAP样化合物间接给予(例如静脉给药或在此所描述的任何其他非直接途径)到身体的一个或多个器官,这些器官由于给予一种抗癌剂引起的损伤而展示出剂量限制性毒性。

[0159] 具体而言,本专利申请的诸位发明人已经发现由顺铂所引起的对于培养的人肾小管上皮细胞的损害可以被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物(包括但不限于一个或多个在SEQ ID NO:1至70中列出的这些多肽)显著地减少。本专利申请的诸位发明人还已经发现由顺铂在小鼠体内所引起的肾毒性可以由天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物(包括但不限于一个或多个在SEQ ID NO:1至70中列出的这些多肽)显著地减少。在一个实施方案中,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接(例如递送到肾脏)或间接(例如静脉内递送)给予一位已经用或有待用顺铂进行治疗的受试者。

[0160] 本专利申请的诸位发明人还已经发现在培养的人肾小管上皮细胞中由阿霉素所引起的肾毒性可以被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物(包括但不限于一个或多个在SEQ ID NO:1至70中列出的这些多肽)显著地减少。在一个实施方案中,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接(例如递送进入肾脏)或间接(例如静脉内递送)给予一位已经用或有待用阿霉素进行治疗的受试者。

[0161] 本专利申请的诸位发明人还已经发现在培养的人类肺细胞中由博来霉素所引起的肺毒性可以被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物(包括但不限于一个或多个在SEQ ID NO:1至70中列出的这些多肽)显著地减少。在一个实施方案中,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接(例如吸入肺脏)或间接(例如静脉内递送)给予一位已经用或有待用博来霉素进行治疗的受试者。

[0162] 本专利申请的诸位发明人已经发现在培养的大鼠嗜铬细胞瘤细胞中由顺铂所引起的毒性可以被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物减少。在一个实施方案中,当使用一种抗癌剂对受试者的非造血或非血液癌(例如神经内分泌起源的癌)进行治疗时,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接给予到该受试者的对该抗癌剂是剂量限制性的身体器官。

[0163] 本专利申请的诸位发明人已经发现在培养的人类乳癌细胞中由阿霉素所引起的毒性可以被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物减少。在一个实施方案中,当使用一种抗癌剂治疗受试者的乳癌时,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接给予到该受试者的对该抗癌剂是剂量限制性的身体器官。

[0164] 本专利申请的诸位发明人已经发现在培养的人T淋巴细胞白血病细胞中由依托泊苷所引起的毒性仅仅可以被非常高浓度的天然的人类PACAP38、以及可能甚至更高浓度的天然的人类PACAP27或天然的人类VIP轻度地减少。因此,相比于作为一种T淋巴细胞白血病细胞针对由依托泊苷所引起的毒性的保护剂,PACAP38作为针对由于用顺铂(图3)或阿霉素(图11)治疗的毒性的肾上皮细胞的细胞保护剂以及作为针对由博来霉素(图12)所引起的毒性的肺上皮细胞的细胞保护剂是大约100倍更有效的。在一个实施方案中,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接给予(例如直接给予到中枢神经系统或肺脏)到用依托泊苷对白血病进行治疗的受试者,虽然在白血病病人中间接给予(例如静脉内递送)不是必须禁忌的。

[0165] 本专利申请的诸位发明人还已经发现在培养的分泌人类免疫球蛋白轻链的骨髓瘤细胞中由阿霉素所引起的毒性可以直接地被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物(包括但不限于一个或多个在SEQ ID NO:1至70中列出的这些多肽)增强。在一个实施方案中,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接或间接给予已经用或有待用阿霉素进行治疗的受试者。

[0166] 本专利申请的诸位发明人还已经发现在培养的分泌人类免疫球蛋白轻链的骨髓瘤细胞中由卡莫司汀所引起的毒性可以直接地被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物(包括但不限于一个或多个在SEQ ID NO:1至70中列出的这些多肽)增强。在一个实施方案中,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接或间接给予已经用或有待用卡莫司汀进行治疗的受试者。

[0167] 本专利申请的诸位发明人还已经发现在培养的分泌人类免疫球蛋白轻链的骨髓瘤细胞中由长春新碱所引起的毒性可以直接地被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物(包括但不限于一个或多个在SEQ ID NO:1至70中列出的这些多肽)增强。在一个实施方案中,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接或间接给予已经用或有待用长春新碱进行治疗的受试者。

[0168] 本专利申请的诸位发明人还已经发现在培养的分泌人免疫球蛋白轻链的骨髓瘤细胞中由沙利度胺所引起的毒性可以直接地被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物(包括但不限于一个或多个在SEQ ID NO:1至70中列出的这些多肽)增强。本专利申请的诸位发明人还已经发现在培养的人红白血病细胞中由沙利度胺所引起的毒性可以直接地被天然的人类PACAP38、天然的人类PACAP27、以及PACAP38或PACAP27的类似物、片段以及衍生物(包括但不限于一个或多个在SEQ ID NO:1至70中列出的这些多肽)增强。在一个实施方案中,本发明的这些方法的特征在于将PACAP样化合物直接或间接给予已经用或有待用沙利度胺进行治疗的受试者。

[0169] 本专利申请的诸位发明人已经发现,在PACAP样化合物是否刺激或抑制一些癌细胞的增殖率与这些PACAP样化合物是否降低或增强一些化学治疗剂对一些癌细胞的抗癌活性之间存在一种相关性。具体而言,诸位发明人已经发现PACAP样化合物抑制了大多数非上皮起源(例如造血或血液癌)的癌的增殖率或者并没有促进其增殖。

[0170] PACAP样化合物的鉴定

[0171] 本发明提供了用于测定和筛选PACAP样化合物(如适合用于本发明的方法中的PACAP38、PACAP27、VIP、它们的激动剂、类似物、片段、或衍生物)的多种方法,这些方法通过

使这些化合物与包含一种或多种PACAP/VIP受体的上皮细胞(例如肾脏、肝脏、或肺脏上皮细胞)孵育,并且然后例如在一种化学治疗剂的存在下测定在引起病理的细胞表型方面的减少。可替代地,或者除了上述测定以外,通过使这些化合物与血液起源的癌细胞(例如多发性骨髓瘤细胞)一起孵育并且然后测定癌细胞增殖的减少或抑制来鉴定用于在本发明中使用的PACAP样化合物(Li et al.,2008)。

[0172] 例如,对于本发明的方法有用的PACAP样化合物将展示促进顺铂处理的肾上皮细胞的生存力增加的能力(例如相对于没有用PACAP样化合物处理的肾上皮细胞,以至少2%、5%、10%、20%、25%、30%、或更多),并且还将促进多发性骨髓瘤细胞的增殖率的减少(例如相对于没有用PACAP样化合物处理的多发性骨髓瘤细胞,以至少2%、5%、10%、20%、25%、30%、或更多)。此外,可以通过测量在例如稳定转染的细胞系(仅表达这些受体中的一种)中环AMP的细胞内积聚来确定任何PACAP样化合物对于三种PACAP/VIP受体的每一种的固有活性(Tatsuno等人的,2001)。可以使用放射性配体受体结合测定来确定一种化合物对于一种或多种PACAP/VIP受体的亲和性。这样一种化合物可以展示出以小于 10^{-6}M 、更优选地小于 10^{-7}M 、 10^{-8}M 、 10^{-9}M 、 10^{-10}M 、 10^{-11}M 、或 10^{-12}M 、并且最优选地小于 10^{-13}M 、 10^{-14}M 、或 10^{-15}M 的解离常数与PACAP/VIP受体结合。然而,放射性配体受体结合测定在受体激动剂与受体拮抗剂之间并没有区别;在本领域已知的其他的测定可以将PACAP/VIP受体激动剂从PACAP/VIP受体拮抗剂区别出来。

[0173] 肾、肺和肝上皮细胞的生存力可以通过在本领域中的普通技术人员所熟知的多种技术来确定,包括(但不限于)核DNA的碎裂、细胞内的半胱天冬酶3活性或细胞外的乳酸脱氢酶活性的量化、以及凋亡(固缩)细胞或台盼蓝阳性细胞的计数。在优选的实施方案中,测定了核DNA的碎裂或半胱天冬酶3的活性。

[0174] 多发性骨髓瘤细胞的细胞增殖可以通过在本领域中的普通技术人员所熟知的多种技术来确定,包括(但不限于)溴脱氧尿苷或 $[^3\text{H}]$ 胸苷参入核DNA的定量、表达增殖细胞核抗原的细胞的数目的计数、以及有丝分裂像的计数。在优选的实施方案中,测定了参入核DNA的溴脱氧尿苷或 $[^3\text{H}]$ 胸苷。

[0175] 在用PACAP样化合物刺激之后,可以通过在本领域中的普通技术人员所熟知的多种技术,包括(但不限于)放射免疫测定法或酶联免疫吸附测定法,来确定在仅仅表达这些受体之一的稳定转染的细胞系中的环AMP的细胞内积聚。通过加入冰冷的20%三氟乙酸而终止刺激。从这些细胞提取cAMP,将这些提取物离心,将上清液放置进入小的塑料小瓶并且冻干这些上清液用于cAMP水平的测定。在优选的实施方案中,用酶联免疫吸附测定法对cAMP的细胞内水平进行量化。

[0176] 病人群体

[0177] 本发明提供了用于治疗、防止、减少、抑制、以及处理用一种或多种抗癌剂治疗的受试者(例如人类或其他哺乳动物)的身体的一个或多个器官的损害或损伤的方法,这些器官尤其是神经系统(例如脑)、心脏、肺脏、肾脏、胰脏、胆囊、胃肠道(例如咽、食道、胃、小肠(例如十二指肠粘膜)、大肠、阑尾、以及结肠)、肝脏、肾上腺、胸腺、脾脏、以及淋巴结。这些方法包括治疗性地或预防性地给予有效量的一种或多种本发明的组合物。

[0178] 本发明的这些方法包括将本发明的一种或多种组合物(例如包括PACAP样化合物如一种或多种在SEQ ID NO:1至70中列出的PACAP样多肽的组合物)给予患有的一种或多种癌

的病人,这些病人已经遭受、正在遭受、或预期将遭受一种或多种抗癌剂的副作用。在优选的实施方案中,该病人已经、正在、或预期将被给予一种或多种癌症化学治疗剂用于治疗恶性血液病,包括(但不限于)白血病(例如慢性骨髓性白血病或红白血病)、一种淋巴瘤(例如伯基特淋巴瘤或套细胞淋巴瘤)、或一种浆细胞恶液质(例如多发性骨髓瘤或沃尔丹斯特伦巨球蛋白血症)。这些受试者可以通过多种给药途径的任意一种接受该组合物。

[0179] 可替代地,该病人群体包括那些患有、已经遭受、正在遭受、或预计将遭受上皮细胞起源的实体瘤的病人。可以通过将本发明的这些组合物直接靶向由给予该病人(例如其器官对于用一种抗癌剂治疗有剂量限制性的那些病人)的一种或多种抗癌剂所损伤的(或预期将损伤的)病人的器官或组织而对这些病人进行治疗。在一个实施方案中,本发明的这些组合物是通过除肠胃外给药之外的途径给予这些病人的。

[0180] 这些受试者以前可能已经或可能还没有对一种或多种癌进行了一次或多次的治疗。这些受试者以前可能已经或可能还没有对一种或多种癌症化学治疗剂是难治性的。可以将本发明的这些方法和组合物用作与用于一种或多种癌(尤其是造血癌或血液癌)的第一线、第二线、或非标准治疗方案一起的辅助治疗。还可以将本发明的这些方法和组合物作用于一种或多种癌(尤其是造血癌或血液癌)的包含糖皮质激素的标准方案中的糖皮质激素的替代,这些包含糖皮质激素的标准方案包括(但不限于)CHOP、COP、COPP、MOPP、以及VAD。可以在观察到一种或多种癌症化学治疗剂的任何副作用之前、或在观察到一种或多种癌化学治疗剂的第一或随后的副作用之后使用本发明的这些方法和组合物。

[0181] 联合治疗

[0182] 本发明还提供了通过将本发明的一种或多种组合物与一种或多种其他细胞保护剂联合给药用于治疗、处理、减少、抑制、或防止对人类或其他哺乳动物的身体的一个或多个器官的损伤(例如,由例如给予一种或多种抗癌剂所引起的或可能由其所引起的损伤)的方法。这些其他的细胞保护剂包括(但不限于)氨磷汀、右雷佐生、美司钠、帕利夫明、以及N-乙酰半胱氨酸。

[0183] 氨磷汀是一种已经得到美国食物和药物管理局(FDA)批准的有机硫代磷酸盐药物前体,用于减少在患有晚期卵巢癌的病人中由顺铂重复给药所引起的肾毒性并且用于减少在患有头颈部癌的病人中由放射疗法所引起的口干干燥症。氨磷汀通过在内皮中的碱性磷酸酶进行脱磷酸以产生不具生物活性的硫醇化合物,它可以清除自由基。给予氨磷汀导致在顺铂治疗的病人中肾脏功能的一种有意义而小的保护作用,但是引起严重的副作用。五个随机化临床试验的荟萃分析发现没有充分的资料来确定氨磷汀是否可以减少由有机铂(organoplatinum)抗癌剂所引起的神经病变(Albers等人,2007)。已经报道氨磷汀加重博来霉素诱导的肺损伤(Ortiz等人,1999)。

[0184] 右雷佐生是一种EDTA样化合物,已经得到美国食物和药物管理局批准用于在患有晚期乳癌的女性中降低由用阿霉素治疗所引起的心脏毒性的发病率和严重程度。在心脏中游离铁的螯合作用被认为是对其心脏保护特性的原因。九个随机化临床试验的荟萃分析证实用右雷佐生治疗的显著心脏保护作用,但没有发现任何或者对蒽环类抗生素抗癌剂的反应率亦或在存活期长度方面的差异的证据(van Dalen et al.,Cochrane Database Syst.Rev.(1):CD003917,2005)。

[0185] 美司钠是一种包含硫醇的化合物,已经得到美国食物和药物管理局批准用于防止

由用环磷酰胺治疗所引起的出血性膀胱炎。

[0186] 所列举的细胞保护剂没有一个刺激G蛋白偶联受体,并且所有这些细胞保护剂具有的作用机制不同于假定的PACAP样肽的作用的细胞保护机制。因此,当这些细胞保护剂的一种或多种与PACAP样肽组合给予时可以展示出相加或甚至协同效应。

[0187] PACAP38、PACAP27、VIP、以及相关类似物的合成

[0188] 除了在其中遇到不相容化学(incompatible chemistry)的少数不常用的实例以外,所有类似物是使用Boc化学以及氟化氢(HF)树脂裂解通过修饰的Merrifield固相步骤来制备的。简言之,在HF裂解以后将Me-二苯甲基胺树脂(Me-benzhydrylamine resin)直接用来产生酰胺。将百分之四十的三氟乙酸(TFA)/二氯甲烷用于去除Boc,并且通过二异丙基碳二亚胺(DIC)或TBTU/DIPEA活化或DIC/HOBt预活化以及活性酯偶联而实现偶联。我们估计这些偶联的大约20%(在各阶段下通过Kaiser水合茚三酮试验进行监测)未能在1小时内达到完成。可以通过在二甲基甲酰胺中对应的HOBt活化酯的重复偶联来驱动几乎所有的这些抵抗性偶联在15至30分钟内完成,可以向其中加入催化剂量的二甲基氨基吡啶用于额外的偶联动力。CS Bio自动化肽合成仪允许所有这些预活化、双偶联等等随着伴随的合成速度的增加而被完全自动化。通常使用的侧链保护基团是:Asp和Glu, cHex; Ser和苏氨酸, Bzl; Arg和His, 甲苯磺酰基(或用于His的Bom); Lys, 2-Cl-Z; 以及Tyr, 2-Br-Z。

[0189] 同时将肽脱保护并且通过在0°C下用包含15%茴香醚的无水HF处理45分钟而从树脂支架上裂解。将过量HF在干燥氮气的急流下快速(大约10分钟)去除。对于线性肽,将该树脂用2M乙酸萃取并且直接施加到包含多孔层实心球粒C-18或苯基硅胶(phenyl-silica)的300埃孔径大小(粒径10 μ m)的制备色谱系统(或者1.5或2.5 $\times$ 25cm柱子)。对于所有这些肽,已经成功使用了两个完全挥发性溶剂洗脱系统:在大约8至20ml/分钟的流速的在0.1%三氟乙酸中的乙腈和在20%乙酸中的乙腈的线性梯度(对于不溶性肽是优异的)。用Rainin可编程高效液相色谱(Rainin programmable high-performance liquid chromatography, HPLC)泵产生梯度,并且将在1小时之内正常地完成一种典型的分离运行。

[0190] 将一种长链饱和脂肪酸共价连接到PACAP38或PACAP38类似物(例如SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6)之一的C端附近的四个Lys残基之一的游离的 ϵ -氨基上。PACAP27和PACAP38对于PAC₁、VPAC₁、和VPAC₂受体具有相似的亲和力,这提示附加的11个氨基酸对于高亲和力受体结合并不是重要的。脂肪酸附接将促进到血清白蛋白(到目前为止在血清中最丰富的蛋白)的高亲和力结合(Kurtzhals P. et al. J. Pharm. Sci 85:304-308, 1996)。这个策略已经被用来制造 GLP-1的长效类似物(Knudsen, L. B. et al. J. Med. Chem. 43:1664-1669, 2000),它是胰泌素/VIP/PACAP家族的一个成员。

[0191] 通过分析HPLC确认了各纯化的化合物的纯度,并且通过氨基酸分析(后水解、用荧光胺标记预HPLC柱子)以及基质辅助激光解析/电离(MALDI)质谱确认其结构。

[0192] 治疗有效性的证明

[0193] 对于所希望的治疗或预防活性,使用于人类之前,可以首先在体外并且然后在在临床前模型中在体内进行测试本发明的这些科学试验计划和组合物。例如,可以使用体外测定(包括体外细胞培养测定)来确定是否指示给予一种具体的治疗方案,其中一种适当的细胞系或病人组织样品在培养物中生长、并且暴露于或者另外给予一种治疗方案,然后观察这样的治疗方案对组织样品的作用。例如(但不是以限制的方式),挽救感觉神经元、肾或

肺上皮细胞、肝细胞、或心肌细胞；降低NFkB活化；降低存活率或B或T淋巴细胞的增殖；或减少TNF- α 和IL-6的产生。这些暴露的细胞的一种或多种上述特性的证明表明该治疗剂对于治疗病人的病症是有效的。可以使用在本领域中的许多测定标准来评定这样的神经元、上皮细胞、肝细胞、和/或B或T淋巴细胞的存活率和/或生长。此外，可以使用本领域的普通技术人员已知的任何测定来评定在此所披露的联合治疗用于治疗、处理、或预防由抗癌剂所引起的对身体的一个或多个器官的损伤的预防和/或治疗效用。

[0194] 可以在该受试者中用通常使用的生物标志物监测由一种或多种抗癌剂所引起的对受试者的身体的一个或多个器官的损伤。例如(但不是以限制的方式)，可以通过确定在尿中的蛋白的浓度、或在血流中的肌酸酐或尿素氮的浓度来监测对肾脏的损伤。可以通过确定在血流中的丙氨酸转氨酶的酶活性或浓度、或在尿中的结合胆红素的浓度来监测对肝脏的损伤。可以通过确定在血流中肌钙蛋白I或肌酸激酶的MB同工酶的浓度来监测对心脏的损伤。可以通过确定在血流中谷氨酸脱羧酶的活性或浓度来监测对胰脏 β -细胞的损伤，并且可以通过确定在血流中神经元特异性烯醇酶的活性或浓度来监测对神经系统的损伤。

[0195] 可以在该受试者中用通常使用的成像技术来监测由一种或多种抗癌剂所引起的对受试者的身体的一个或多个器官的损伤。例如(但不是以限制的方式)，可以通过心电图描记术或串联超声波心动描记法来监测对心脏的损伤。

[0196] 可以在该受试者中用通常使用的功能试验来监测由一种或多种抗癌剂所引起的对受试者的身体的一个或多个器官的损伤。例如(但不是以限制的方式)，可以通过用半胱氨酸蛋白酶抑制剂C或用 ^{125}I -碘他拉酸钠清除率确定肾小球滤过率来监测对肾脏的损伤。可以通过确定神经传导速度或躯体感觉知觉来监测对周围神经的损伤。可以通过多种练习测试来监测对心脏的损伤。

[0197] 基于目前可获得的资料，在由PACAP样化合物引起的一些癌细胞的增殖率的下降与由PACAP样化合物引起的抗癌剂的治疗效果的增强之间存在着一种相关性。可以从活组织检查样品或优选地从来自人类及其他哺乳动物循环血液单核细胞获得癌细胞，将它们多孔板中培养，并且可以量化PACAP样肽对它们的增殖率的作用以便确定这些PACAP样化合物是否将保护该癌细胞免受癌症化学治疗剂或增强癌症化学治疗剂的效果。可替代地，可以使用通常使用的微阵列技术就其由PACAP样化合物引起的促凋亡和抗凋亡基因的诱导来筛选这些癌细胞。对于具有增强的减少肿瘤负荷的抗癌方案，这些筛选步骤的目标将是鉴定会响应于PACAP样化合物的加入的癌。然而，即使这些PACAP样化合物没有减少肿瘤负荷，由于将PACAP样化合物加入到该抗癌剂减少了由这些抗癌剂所引起的对身体的一个或多个主要器官的损伤仍然可能导致存活期间长度的增加和/或生活质量的增加而仍然会有益于人类或其他的哺乳动物。可替代地，即使这些PACAP样化合物在这些抗癌剂的起始剂量下没有减少肿瘤负荷，将PACAP样化合物加入抗癌方案中还是仍然会有益于人类或其他的哺乳动物。由这些抗癌剂所引起的身体的一个或多个器官的损伤的减少应当允许更高剂量的这些抗癌剂的使用，它将导致增强的肿瘤负荷减少而没有增加初始副作用的严重程度。

[0198] 在骨髓抽吸或骨髓活组织检查之后在大约95%的病人中可以作出多发性骨髓瘤的确定诊断。在其他的病人中，骨髓受累可能是局灶性的而非弥漫性的。可以通过病人报告在症状(如骨痛、疲劳、以及总体健康)方面的改进而主观地确定用PACAP样肽的辅助治疗

的效果。可以通过体格检查(显示出在总体外观和肌力方面的改进)、通过实验室测试(显示出在贫血(在血红蛋白和血细胞比容方面的升高)方面的减轻、单克隆副蛋白(Bence-Jones 蛋白)以及血清和尿 β -2微球蛋白的血清和尿水平的降低)、以及通过实验室测试(显示在肾脏功能(血肌酸酐、尿素氮、以及半胱氨酸蛋白酶抑制剂C)方面的改进)而客观地确定用 PACAP 样肽的辅助治疗的效果。在一个优选的实施方案中,在用 PACAP 样细胞保护辅助剂的疗程期间用高度敏感的浊度测定法监测了单克隆自由免疫球蛋白轻链(Bence-Jones 蛋白)的血清和尿水平。可以借助于生物化学遗传技术(如聚合酶链反应(PCR))、或细胞遗传学技术(如荧光原位杂交(FISH))做出许多白血病的确定诊断。例如,在循环单核细胞中可以借助于 PCR 就 bcr-abl 融合基因的存在或借助于 FISH 就费城染色体的定位而做出慢性骨髓性白血病的诊断。

[0199] 药用组合物

[0200] 本发明的这些组合物包括在药用组合物的制造中有用的散装药物组合物(例如不纯的或非无菌的组合物)以及可用于单位剂型的制备的肠胃外药用组合物(即适合于给予受试者或病人的多种组合物)。这样的组合物包括在此披露的预防或治疗有效量的预防和/或治疗剂或那些药剂与药学上可接受的载体或赋形剂的组合。优选地,本发明的多种组合物包括在本发明的方法中有用的预防或治疗有效量的一种或多种 PACAP 样化合物以及一种药学上可接受的载体或赋形剂。在一个另外的实施方案中,本发明的组合物进一步包括一种如以上所讨论的另外的治疗剂。

[0201] 在一个具体的实施方案中,术语“药学上可接受的”表示由联邦政府调节机构批准或列于美国药典或其他用于动物(尤其是用于人)的公认的药典中。术语“载体”是指一种与该治疗剂一起给予的稀释剂、佐剂(例如,弗氏佐剂或更优选 MF59C. I 佐剂)、赋形剂、或载体。该药用载体可以是无菌的液体,如水和油,包括那些石油、动物、植物或合成起源者,如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油。当该药用组合物是静脉内给药时,水是一种优选的载体。还可以采用盐溶液和 水性右旋糖以及甘油溶液作为液体载体,特别是对于可注射的溶液。适当的药用赋形剂包括(但不限于)淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、稻米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、干燥的脱脂乳、甘油、丙烯、乙二醇、水、以及乙醇。如果希望的话,该组合物还可以包含较小量的润湿剂或乳化剂、或 pH 缓冲剂。这些组合物可以采用许多形式,包括(但不限于)悬浮液、乳液、片剂、丸剂、胶囊剂、粉末、以及持续释放的配制品。

[0202] 通常,本发明的这些组合物的这些成分或者被分开地或者处于单位剂型中混合在一起而提供,例如作为一种干燥的冻干粉末或在一种密闭容器(如一种安瓿或指示活性剂的量的小药囊)中的无水浓缩物。当该组合物通过输注给药时,可以将它用一种包含无菌药用级水或盐水的输液瓶进行配制。当该组合物通过输注给药时,可以提供具有无菌注射水或盐水的安瓿这样使得可以在给药之前将这些成分进行混合。

[0203] 可以将本发明的这些组合物配制成为中性或盐的形式。药学上可接受的盐类包括(但不限于)与多种阴离子形成的那些盐,如衍生自盐酸、磷酸、乙酸、草酸、以及酒石酸的那些盐;以及与多种阳离子形成的那些盐,如衍生自氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙氨基乙醇、组氨酸、以及普鲁卡因的那些盐。

[0204] 如所希望的,可以加入添加剂如一种溶解助剂(例如水杨酸钠或乙酸钠)、一种缓

冲剂(例如枸橼酸钠或甘油)、一种等渗剂(例如葡萄糖或转化糖)、一种稳定剂(例如人血清白蛋白或聚乙二醇)、一种防腐剂(例如苯甲醇或苯酚)、或一种止痛剂(例如苯扎氯铵或盐酸普鲁卡因)。

[0205] 可以使用许多本领域的普通技术人员已知的递送方法来给予一种或多种PACAP样化合物、或与其他细胞保护剂相组合的该一种或多种PACAP样化合物,以便治疗、处理、减少、抑制、或防止由一种或多种抗癌剂所引起的或可能由其引起的对人类或其他哺乳动物的身体的一个或多个器官的损伤。例如(但不是以限制的方式),密封在脂质体、微颗粒或微型胶囊中、从遗传工程化的以合成一种或多种PACAP样肽的哺乳动物细胞分泌、或通过不同的重组病毒载体合成。本发明的这些PACAP样化合物的给药途径包括(但不限于)肠胃外(例如真皮内、肌内、腹膜内、静脉内、以及皮下)、阴道、直肠、硬膜外、以及粘膜(例如鼻内、吸入、以及口服途径)。在一个具体的实施方案中,本发明的预防或治疗剂是经肌内、静脉内、骨内、或皮下给药的。可以通过任何方便的途径或方案给予这些预防或治疗剂,例如通过输注或一种弹丸注射、通过经由上皮或粘膜内层吸收(例如口腔粘膜、直肠、局部,包括口腔和舌下、以及肠粘膜,等等),并且可以与其他生物活性剂联合给药。可以全身或局部给药。

[0206] 在一个具体的实施方案中,可希望的是将本发明的这些预防或治疗剂局部地给予到需要治疗的区域;这也许通过例如(但不是以限制的方式)局部输注、通过注射、或借助于一种植入物(所述植入物是一种多孔、非多孔、或凝胶材料(包括膜,如硅橡胶膜、或纤维))来实现。

[0207] 在另一个实施方案中,可以以一种控制释放或持续释放的方式递送本发明的这些组合物。在一个实施方案中,可以使用一种泵来实现控制释放或持续释放。在另一个实施方案中,可以使用高分子材料来实现控制释放或持续释放。用于控制释放或持续释放配制品的适当的聚合物包括(但不限于)聚(2-甲基丙烯酸羟乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、乙烯-乙酸乙烯共聚物、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酐、聚(N-乙基吡咯烷酮)、聚(乙醇醇)、聚丙烯酰胺、聚(乙二醇)、聚丙交酯(PLA)、聚丙交酯乙交酯共聚物(PLGA)、以及聚原酸酯。在一个优选的实施方案中,在一种控制释放或一种持续释放的配制品中所使用的聚合物是惰性的、不含可滤去的杂质的、储存稳定的、无菌的、以及可生物降解的。在一个具体的实施方案中,可以将一种控制释放或一种持续释放装置或配制品安置在预防或治疗靶标的附近,因此将所要求的PACAP样化合物的量减少到仅仅是全身剂量的一小部分。可以使用本领域的普通技术人员已知的许多其他技术来生产包括本发明的一种或多种治疗剂的控制释放或持续释放配制品。

[0208] 用于这些PACAP样化合物的给药的组合物包括(但不限于)适合于口服、直肠、鼻、局部(包括口腔和舌下)、阴道、或肠胃外(包括皮下、经皮肤、肌内、静脉内、以及真皮内)给药的那些。这些配制品可以方便的以单位剂量形式存在并且可以通过配药学领域熟知的任何方法进行制备。因此,本发明的这些PACAP样化合物和它们的生理学上可接受的盐类和溶剂化物可以被配制为用于通过吸入或吹入(或者经由口或者经由鼻)、或通过口服、肠胃外或粘膜(如口腔、阴道、直肠、以及舌下)多个途径给药。在一个优选的实施方案中,使用了肠胃外给药。

[0209] 对于口服给药,这些药用组合物可以采取以下形式:例如通过常规手段用药学上

可接受的赋形剂如粘合剂(例如预胶凝玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、或羟丙基甲基纤维素);填充剂(例如乳糖、微晶纤维素或磷酸氢钙);润滑剂(例如硬脂酸镁、滑石或二氧化硅);崩解剂(例如马铃薯淀粉或淀粉羟基乙酸钠);或润湿剂(例如十二烷基硫酸钠)制备的片剂或胶囊。可以用在本领域熟知的方法包被这些片剂。用于口服给药的液体制剂可以采取以下形式:例如溶液、糖浆或混悬液,或它们可以作为一种在使用前用水或其他适合的载体进行复原的干燥产品而存在。这样的液体配制品可以通过常规手段用药学上可接受的添加剂比如助悬剂(例如山梨醇糖浆、纤维素衍生物或氢化食用脂肪);乳化剂(例如卵磷脂或阿拉伯胶);非水性载体(例如杏仁油、油酯类、乙醇、或分馏植物油);以及防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸)来制备。这些制剂还可以包含适当的缓冲盐类、调味剂、着色剂、以及甜味剂。可以适当地配制用于口服给药的制剂从而给出该活性化合物的控制释放或持续释放。

[0210] 用于根据本发明的用途的预防或治疗剂的量可以取决于癌的类型、抗癌剂的类型、给药的方法、对该病人的一个或多个器官损伤的严重程度、以及病人的总体状态,但是通常的范围是每剂量从大约1 μ g到大约1克的PACAP样化合物(例如每剂量1 μ g、2 μ g、5 μ g、7 μ g、10 μ g、20 μ g、50 μ g、70 μ g、100 μ g、200 μ g、500 μ g、700 μ g、1mg、2mg、5mg、7mg、10mg、20mg、50mg、70mg、100mg、200mg、500mg、700mg、或1克)。PACAP样化合物的剂量可以被治疗性地给予一个病人,每小时、每天、每周、每月、或每年一次或多次(例如每小时、每天、每周、每月、或每年2、4、5、6、7、8、9、10、11、或12次)。

[0211] 对于通过吸入给药,将用于根据本发明的用途的预防或治疗剂使用一种适合的推进剂(例如,二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他 适合的气体)从加压包装或喷雾器提呈的喷雾剂的形式方便地进行递送。在一种加压气溶胶的情况下,可以通过提供一个阀门来递送一个计量的量而确定剂量单位。可以配制例如用于在吸入器或吹入器中使用的明胶胶囊或药筒,这些胶囊或药筒包含该化合物和一种适宜的粉末基质(如乳糖或淀粉)的粉末混合物。

[0212] 可以将这些预防或治疗剂配制为用于通过注射(例如,通过弹丸注射或连续输注)进行肠胃外给药。用于注射的配制品可以以单位剂型而存在,例如在添加有防腐剂的安瓿中或在多剂量容器中。这些组合物可以采用这样一些形式,如在油性或水性载体中的混悬液、溶液、或乳剂,并且可以包含多种配制剂,如助悬剂、稳定剂、和/或分散剂。可替代地,该活性组分可以处于粉末的形式,用于在使用之前与一种适合的载体(例如,无菌无热原水)进行复原。可以将本发明的这些PACAP样化合物通过静脉输注以1pmol/kg体重/小时至1200pmol/kg体重/小时之间的速率给予受试者。静脉输注的速率还可以在1至200pmol/kg体重/小时之间或在100至200pmol/kg体重/小时之间。静脉输注的速率还可以在200至600pmol/kg体重/小时之间。该PACAP样化合物的静脉输注可以是在1至12小时或更长时间(例如24、36、或48小时或更长)之间。可以将该PACAP样化合物的给药在一小时、一天、一周、一个月、或一年(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12、或更长时间)的时程重复一次或多次。

[0213] 除了前述的配制品以外,这些预防或治疗剂还可以被配制成为一种长效制剂。这样的长效配制品可以通过植入(例如经皮下或肌肉)或通过肌肉注射进行给药。因此,例如,这些预防或治疗剂可与适合的高分子材料或疏水材料(例如,作为在一种可接受的油中的乳剂)或离子交换树脂一起进行配制、或被配制成为略微可溶的衍生物,例如被配制成为一种略微

可溶的盐。

[0214] 适合于局部给药到皮肤的组合物可以作为包含该化合物以及一种药学上可接受的载体的软膏、霜剂、凝胶、以及糊剂而存在。例如(但不是以限制的方式)一种适合的局部递药系统是包括有待给予的该PACAP样化合物的透皮贴剂。

[0215] 可以通过使用粘合剂(例如羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、或聚乙二醇)、崩解剂(例如淀粉或羧甲基纤维素钙)和/或润滑剂(例如硬脂酸镁或滑石)制备舌下片剂。

[0216] 其中载体是一种固体的用于鼻内给药的适合的配制品包括一种具有例如范围在20至500微米(μm)的粒径的粗粉末。其中载体是一种液体的用于鼻内给药的适合的配制品(例如一种鼻喷雾剂或滴鼻剂)包括该活性成分的水性或油性溶液。

[0217] 适合于肠胃外给药的组合物包括水性和非水性无菌注射溶液,它们可以包含抗氧化剂、缓冲剂、制菌剂、以及使得该配制品与预期的接受者的血液等渗的溶质;以及水性和非水性无菌混悬液,该混悬液可以包括助悬剂和增稠剂。这些配制品可以存在于单位剂量或多剂量容器(例如密封的安瓿和小瓶)中,并且可以被储存在一种仅需要在使用之前立即添加无菌液体载体(例如注射用水)的冻结干燥(冻干)条件下。可以从前述种类的无菌粉末、颗粒以及片剂制备临时的注射溶液和混悬液。应当理解的是除了以上确切地提及的成分以外,本发明的这些配制品可以包括其他的本领域中通常使用的用于所讨论的配制品类型的药剂。例如(但不是以限制的方式)适合用于口服给药的那些配制品可以包括调味剂。

[0218] 基因治疗

[0219] 在一个具体的实施方案中,将对于本发明的方法有用的一系列编码一种或多种PACAP样肽的核酸单独地或作为一种适合的载体的部分进行给药,以便治疗、处理、或防止由一种或多种抗癌剂所引起的人类或其他哺乳动物的身体的一个或多个器官的损伤。然后在受试者的身体内该系列核酸被翻译以产生一种或多种具有一种预防或治疗效果的PACAP样肽。可以使用许多不同的基因治疗方法来给予一种或多种PACAP样肽。可以使用一些基因治疗方法来给予本发明的PACAP样肽以便治疗、处理、或防止由以下描述的一种或多种抗癌剂所引起的对人类或其他哺乳动物的身体的一个或多个器官的损伤。这些实例只是用于说明性的目的。在DNA重组技术领域的那些普通技术人员将会认识到为了相同的目的可以使用许多其他的变体。

[0220] 可以将用于编码这种或这些PACAP样肽的这些核酸聚合物作为裸DNA(作为一种表达载体)、或优选地封装在脂质体或微颗粒中进行给药。这些核酸聚合物可以包含一种启动子序列,优选一种异源启动子序列,它在编码这种或这些PACAP样肽的序列之前。该异源启动子序列可以提供或者这种或这些PACAP样肽的组成型表达亦或诱导型表达。此外,该启动子序列可以提供细胞类型特异性表达。这些脂质体或微颗粒还可以包含一种或多种打靶载体,如一种生物活性肽或一种单克隆抗体,以便优选地将该整个复合体导向到一种或多种类型的细胞上。

[0221] 可以将编码这种或这些PACAP样肽的这些核酸聚合物在参入进入一种病毒载体之后给药。可用于给予本发明的这些PACAP样肽的这些病毒载体包括(但不限于)腺病毒载体、腺病毒伴随病毒载体、慢病毒载体、疱疹病毒载体、以及痘病毒载体。在该病毒载体中的这些参入的核酸聚合物可以包含一种启动子序列,优选一种异源启动子序列,它在编码这种或这些PACAP样肽的序列之前。该异源启动子序列可以提供这种或这些PACAP样肽的或者组

成型表达亦或诱导型表达(例如van de Loo,F.A.et al.Curr.Opin.Mol.Ther.6:537-545,2004)。此外,该启动子序列可以提供细胞类型特异性表达(例如Wang,B.et al.Gene Ther 15:1489-1499,2008)。该病毒载体可以是假型的或交叉包装的(例如Rabinowitz,J.E.et al.J.Virol.76:791-801,2002)以便优选地将该病毒载体导向到一种或多种类型的细胞上。

[0222] 可以将编码这种或这些PACAP样肽的这些核酸聚合物在体外转染进入哺乳动物细胞之后给药。可以用于给予本发明的这些PACAP样肽的这些哺乳动物细胞(优选受试者自身的细胞)包括(但不限于)间充质干细胞、造血干细胞、神经干细胞、肝干细胞、以及不同分化的哺乳动物细胞。重组DNA技术领域的普通技术人员将会熟悉众多的用于用核酸聚合物转染哺乳动物细胞的技术。这些转染的核酸聚合物可以或者整合进入宿主细胞DNA亦或在该宿主细胞细胞核中形成一种有翻译能力的游离基因复合体。在该病毒载体中的这些参与的核酸聚合物可以包含一种启动子序列,优选一种异源启动子序列,它在编码这种或这些PACAP样肽的序列之前。该异源启动子序列可以提供这种或这些PACAP样肽的或者组成型表达亦或诱导型表达。此外,该启动子序列可以提供细胞类型特异性表达。

[0223] 实例

[0224] 为了使本发明的用途更加清楚,提出以下实例。这些实例只是用于说明性的目的并且不应该被解释为在本发明的用途中以任何方式的限制。

[0225] 实例1.由PACAP和PACAP类似物降低顺铂诱导的细胞毒性

[0226] 顺铂(顺-二氯二氨合铂(II)、顺氯氨铂)是新型的基于铂的DNA交联抗癌治疗剂。它在1978年被美国FDA批准用于临床。这类基于烷基化样铂(alkylating-likeplatinum)的抗癌剂的其他成员现在包括(但不限于)卡铂、奥沙利铂以及沙铂。顺铂是最广泛使用的癌症化学治疗剂之一并且是许多多药物抗癌方案的基础。肾毒性通常是顺铂在癌症化学疗法的使用中的剂量限制性毒性,但是感觉神经病变有时可能限制可以用来治疗一些病人的剂量。

[0227] 用顺铂对人近端肾小管上皮细胞进行处理导致了凋亡细胞死亡的大的显著的增加(图3)。将PACAP38加入该培养基导致了顺铂诱导的人近端肾小管上皮细胞的凋亡细胞死亡的显著的剂量依赖性减少。在所测试的最高剂量下,PACAP38几乎完全阻止了由顺铂所引起的凋亡细胞死亡。PACAP38和更多抗蛋白水解类似物PACAP38作为对抗顺铂诱导的人近端肾小管上皮细胞的凋亡细胞死亡的保护剂是同样有效的(图4)。用顺铂处理人近端肾小管上皮细胞还导致了这些细胞在附着到基质(或者基于纤连蛋白或者基于胶原IV)方面的大大的显著的减少(图5)。将PACAP38加入到该培养基显著逆转了顺铂对人近端肾小管上皮细胞结合到基质(或者基于纤连蛋白或者基于胶原IV)的抑制作用。

[0228] PACAP38针对顺铂诱导的肾毒性的细胞保护作用还见于普通的体内模型中。对雄性C57BL/6小鼠给予20mg/kg的顺铂的单次腹膜内注射。在注射顺铂之前1小时腹膜内给予二十纳摩尔的PACAP38,并且在首次剂量之后24以及48小时给予额外的剂量。在以相同的时间表注射顺铂和PACAP38时,对于对照组的小鼠用相同体积的盐水注入腹膜内。在PACAP38的最后一次注射24小时之后使小鼠安乐死。与注射盐水的对照组相比,用顺铂治疗这些小鼠已经显著地增加了血清肌酐、血尿素氮、以及在肾脏中的TNF- α 的水平。(图6、7和8)。来自用注射顺铂的小鼠的肾脏显示了广泛的肾小管损害、肾小管扩张、小管内碎片、以及小叶

内管型(图9)。用PACAP38治疗注射顺铂的小鼠显著地降低了在血清肌酐、血尿素氮、以及在肾中的TNF- α 方面的增加(图7和8)。用PACAP治疗还减少了由顺铂引起的广泛的组织学损害(图9)。PACAP38和[D-Ser²]PACAP38作为对抗顺铂诱导的肾功能损伤的细胞保护剂几乎是等效的,而[D-Ser², Lys³⁸-棕榈酰]PACAP38和VIP作为肾脏保护剂是具有较小的效力的(图10)。

[0229] 这些实验显示,PACAP38是一种对抗顺铂诱导的肾损害(对于用顺铂的癌症化学疗法是剂量限制性毒性)的有效力的细胞保护剂。因此,在受试者经历基于顺铂的癌症化学疗法的治疗前和/或治疗后用治疗剂量的PACAP38和/或PACAP类似物将导致对顺铂的更高的最大可耐受剂量,并且导致部分临床反应的频率的增加和/或完全缓解数目的增加。

[0230] 实例2.由PACAP和PACAP类似物降低阿霉素诱导的肾毒性

[0231] 由放线菌波赛链霉菌(*Streptomyces peucetius*)产生的柔红霉素是第一个被发现的蒽环类抗生素抗癌治疗剂。随后不久研发了阿霉素(14-羟基柔红霉素,阿霉素)。现在临床上使用的其他蒽环类抗生素抗癌剂包括(但不限于)表柔比星、伊达比星、以及戊柔比星。阿霉素是DNA和RNA合成二者的有力抑制剂并且是最广泛使用的癌症化学治疗剂之一。它通常被用于治疗白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、以及乳房癌、膀胱癌、子宫癌、卵巢癌、和肺癌。心脏毒性对于阿霉素在癌症化学疗法中的使用通常是剂量限制性毒性,但是肾毒性可能有时限制可以用来治疗一些病人的剂量。

[0232] 用阿霉素对人近端肾小管上皮细胞进行处理导致了凋亡细胞死亡的大的显著的增加(图11)。将PACAP38、[D-Ser²]PACAP38或[Lys³⁴]PACAP38加入该培养基导致了在阿霉素诱导的人近端肾小管上皮细胞的凋亡细胞死亡的显著的剂量依赖性下降。在所测试的最高剂量下(10^{-6} M),所有三种肽以60%以上减少了这些上皮细胞的凋亡细胞死亡。这些实验显示,PACAP38和PACAP类似物可以保护肾脏免于多种抗癌剂的毒性副作用(图3至11)。

[0233] 实例3.由PACAP和PACAP类似物降低博来霉素诱导的肺毒性

[0234] 在1962年发现了博来霉素,它是由放线菌轮枝链霉菌产生的一个糖肽家族。1973年由美国FDA批准博来霉素(博莱霉素)用于临床使用。它引起DNA链断裂并且被用来治疗霍奇金淋巴瘤、鳞状细胞癌以及睾丸癌。肺毒性通常是博来霉素在癌症化学疗法的使用中的剂量限制性毒性。

[0235] 用博来霉素对人肺上皮细胞进行处理导致了凋亡细胞死亡的大的显著的增加(图12)。将PACAP38、[D-Ser²]PACAP38或[Lys³⁴]PACAP38加入该培养基导致了在博来霉素诱导的肺上皮细胞的凋亡细胞死亡方面的显著的剂量依赖性下降。在所测试的最高剂量下(10^{-6} M),所有三种肽以60%以上减少了这些上皮细胞的凋亡细胞死亡。这些实验显示,PACAP38和PACAP类似物是一种对抗博来霉素诱导的肺损害(对于用博来霉素的癌症化学疗法是剂量限制性毒性)的有效力的细胞保护剂。因此,在受试者经历基于博来霉素的癌化学疗法的治疗前和/或治疗后用治疗剂量的PACAP38和/或PACAP类似物将导致对博来霉素的更高的最大可耐受剂量,并且导致部分临床反应的频率的增加和/或完全缓解数目的增加。

[0236] 实例4.由PACAP和PACAP类似物降低顺铂诱导的嗜铬细胞瘤细胞的凋亡细胞死亡

[0237] 嗜铬细胞瘤是分泌儿茶酚胺的肿瘤,它们衍生自肾上腺髓质和交感神经节。大约10%的这些肿瘤具有一种髓外起源。最主要的症状是高血压,它可以是致命性的。在患有嗜铬细胞瘤的病人中,儿茶酚胺、嗜铬粒蛋白A和多巴胺- β -羟化酶的血浆水平通常是升高的。

[0238] 用顺铂对大鼠嗜铬细胞瘤细胞进行处理导致了在凋亡细胞死亡方面的大的显著的增加(图13)。将PACAP38、[D-Ser²]PACAP38或[Lys³⁴]PACAP38加入该培养基导致了在顺铂诱导的神经内分泌肿瘤细胞的凋亡细胞死亡方面的剂量依赖性下降。在所测试的最高剂量下(10^{-6} M),所有三种肽显著减少了这些嗜铬细胞瘤细胞的凋亡细胞死亡。这些实验显示,PACAP38和PACAP类似物可以保护神经内分泌肿瘤细胞免于顺铂诱导的损害。

[0239] 实例5.由PACAP和PACAP类似物降低阿霉素诱导的乳癌细胞的凋亡细胞死亡

[0240] 乳癌是世界上第二位的普遍类型的癌。乳癌在女性中更为普遍,超过在男性中的100倍。在世界上,美国的女性具有最高的乳癌发病率。阿霉素经常被用作继局部手术或放射治疗之后的多药辅助方案的一种组分,或作为用于治疗转移乳癌的多药方案的一种组分。

[0241] 用阿霉素对人乳癌细胞进行处理导致了凋亡细胞死亡的大大的显著的增加(图14)。将PACAP38、或N-acetyl[Ala^{16,17},D-Lys³⁸]PACAP38加入该培养基导致了在阿霉素诱导的雌激素依赖性乳癌细胞的凋亡细胞死亡方面的剂量依赖性下降。在所测试的最高剂量下(10^{-6} M),这两种肽都以50%以上减少了这些乳癌细胞的凋亡细胞死亡。N-acetyl[Ala^{16,17},D-Lys³⁸]PACAP38似乎比PACAP38略微更有效力。这些实验显示,PACAP38和PACAP类似物可以保护乳癌细胞免于阿霉素诱导的损害。

[0242] 实例6.由PACAP27和PACAP38降低依托泊苷诱导的白血病细胞的凋亡细胞死亡

[0243] 依托泊苷是一种拓扑异构酶II(是一种对于DNA复制和细胞增殖重要的酶)抑制剂。依托泊苷来自于植物毒素鬼臼毒素,并且用来治疗睾丸癌、肺癌、淋巴瘤、非淋巴细胞性白血病、和多形性胶质母细胞瘤。在临床上它常被用作多药方案的一部分。这种类别的鬼臼毒素衍生的抗癌剂的其他成员包括(但不限于)替尼泊苷。骨髓抑制通常是依托泊苷在癌化学疗法的使用中的剂量限制性毒性,但是肾毒性或膀胱毒性可能有时限制可以用来治疗一些病人的剂量。

[0244] 白血病是白细胞(白血球)的癌,这些白细胞包括粒细胞、单核细胞、以及淋巴细胞。在美国诊断出的癌大约2%是白血病。

[0245] 用依托泊苷对人T淋巴细胞白血病细胞进行处理导致了凋亡细胞死亡的大大的显著的增加(图15)。将PACAP27或PACAP38加入该培养基导致了在依托泊苷诱导的人白血病细胞的凋亡细胞死亡方面的小的下降。这些血液癌细胞的凋亡细胞死亡的减少仅仅在所测试的PACAP38的最高剂量(10^{-6} M)下是显著的,而PACAP27在所测试的任何剂量下都没有显著作用。这些实验显示,PACAP27和PACAP38充其量针对依托泊苷诱导的这些人T淋巴细胞白血病细胞的凋亡仅仅具有最小的保护作用。

[0246] 实例7.由PACAP和PACAP类似物增加阿霉素诱导的骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡

[0247] 多发性骨髓瘤(一种浆细胞的恶性癌)在美国是第六最常见的癌。在美国它占诊断出的恶性血液病的大约10%。多发性骨髓瘤在男性中比在女性中稍微更普遍。该疾病可以引起严重的医学并发症,包括骨吸收(骨质溶解)、血钙过多、贫血、血小板减少、以及肾衰竭。肾脏的炎症是第二频繁的并发症并且在患有多发性骨髓瘤的大约一半病人中发生。这种炎症的病因是由浆细胞过度产生的免疫球蛋白轻链(Bence-Jones蛋白),它在肾脏的远曲小管和集合导管中聚集中形成管型。浆细胞来自于通过克隆扩增的活化B淋巴细胞。在患有多发性骨髓瘤的病人中丢失了对单个的浆细胞克隆扩增的正常约束,这导致了一种单一

类型的免疫球蛋白轻链的过度产生。

[0248] 通过确定在细胞分裂期间掺入DNA的溴脱氧尿苷而评定了PACAP38和PACAP38类似物对骨髓瘤细胞增殖的影响。在没有用PACAP样肽处理的情况下,在24小时孵育期间骨髓瘤细胞的数目几乎加倍。在低于100皮摩尔的浓度下将PACAP38、[D-Ser²]PACAP38或PACAP38加入该培养基导致了这些分泌免疫球蛋白轻链的人骨髓瘤细胞的增殖率的50%的抑制(图2)。PACAP38还可以直接保护肾脏免于免疫球蛋白轻链过载并且预期会在患有多发性骨髓瘤的病人中抑制骨吸收(Li et al., 2008)。因此,PACAP和PACAP类似物对于患有多发性骨髓瘤的病人可能是有用的单一治疗剂。

[0249] 用阿霉素对人骨髓瘤细胞进行处理导致了凋亡细胞死亡的大的显著的增加(图16)。将PACAP38、或[Ala^{16,17}, D-Lys³⁸]PACAP38加入该培养基导致了阿霉素诱导的人类骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡的双相剂量反应作用。在所测试的最低剂量下(10^{-8} M),这两种肽都减少了阿霉素诱导的这些恶性浆细胞的凋亡细胞死亡。然而,在所测试的最高剂量(10^{-6} M)下,PACAP38显著增加了阿霉素诱导的这些恶性浆细胞的凋亡细胞死亡,而[Ala^{16,17}, D-Lys³⁸]PACAP38产生了小的但不显著的阿霉素诱导的凋亡的增加。

[0250] 实例8. 由PACAP和PACAP类似物增加卡莫司汀诱导的骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡

[0251] 卡莫司汀(α -氯代-亚硝基脲)是一种芥子气相关的烷基化抗癌治疗剂,它被用来治疗神经胶质瘤、成神经管细胞瘤、星形胶质细胞瘤、多发性骨髓瘤、以及霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。这种类别的亚硝基脲抗癌剂的其他成员包括(但不限于)洛莫司汀、司莫司汀、以及链脲菌素。骨髓抑制通常是卡莫司汀在癌化学疗法的使用中的剂量限制性毒性,但是肝毒性或肺毒性可能有时限制可以用来治疗一些病人的剂量。

[0252] 用卡莫司汀对人骨髓瘤细胞进行处理导致了凋亡细胞死亡的大的显著的增加(图17)。将PACAP38或[Ala²²]PACAP38加入该培养基导致了卡莫司汀诱导的人骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡的增加。在所测试的最高剂量下(10^{-6} M),这两种肽都显著增加了卡莫司汀诱导的这些恶性浆细胞的凋亡细胞死亡。PACAP38作为一种卡莫司汀诱导的人骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡的增强剂似乎比[Ala²²]PACAP38更有效力。

[0253] 实例9. 由PACAP38增加长春新碱诱导的和沙利度胺诱导的骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡

[0254] 长春新碱(Oncovin)是一种长春花生物碱抗癌治疗剂,它被用来治疗许多不同的癌,包括(但不限于)霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤、白血病、乳癌、成神经细胞瘤、以及多发性骨髓瘤。在1963年它被美国FDA批准作为一种抗癌剂使用。这种类别的长春花生物碱抗癌剂的其他成员包括(但不限于)长春碱和长春瑞宾。周围神经病变通常是长春新碱在癌症化学疗法的使用中的剂量限制性毒性,但是骨髓抑制或恶心可能有时限制可以用来治疗一些病人的剂量。沙利度胺最初于20世纪50年代后期被推向市场,并且在20世纪60年代早期作为一种镇静/催眠剂,并且因为它引起严重的先天缺陷而取消使用。随后沙利度胺被研制为用于治疗麻风病并且在1998年由美国FDA批准用于治疗麻风结节性红斑。在2006年,美国FDA批准沙利度胺(Thalomid)与地塞米松联合用于治疗多发性骨髓瘤。这种类别的抗癌剂的其他成员包括(但不限于)来那度胺(CC-5013, Revlimid),在2005年它由美国FDA批准用于治疗多发性骨髓瘤,以及处于临床试验中的CC-4047(Actimid)。周围神经病变通常是沙利度胺在癌化学疗法的使用中的剂量限制性毒性,但是深静脉血栓形成、肾毒性或低血

压可能有时限制可以用来治疗一些病人的剂量。

[0255] 或者用长春新碱亦或用沙利度胺对人骨髓瘤细胞进行处理导致了凋亡细胞死亡的大的显著的增加(图18和19)。将PACAP38加入该培养基导致了长春新碱和用沙利度胺诱导的人骨髓瘤细胞的凋亡细胞死亡二者的剂量依赖性增加。对应地,在低到 10^{-9} M和 10^{-8} M的剂量下,PACAP38显著地增加了长春新碱诱导的以及沙利度胺诱导的这些恶性浆细胞的凋亡细胞死亡。

[0256] 实例10.由PACAP38和PACAP类似物增加沙利度胺诱导的红白血病细胞的凋亡细胞死亡

[0257] 骨髓增生障碍是不同群的髓性癌,它们包括(但不限于)骨髓纤维化、骨髓增生异常综合征、慢性骨髓性白血病、急性骨髓性白血病、真性红细胞增多症、以及特发性血小板增多症。红白血病是髓细胞性白血病的一种罕见的形式。通常用于治疗骨髓增生障碍的药物包括(但不限于)白消安、羟基脲、阿霉素、伊达比星、阿糖胞苷、沙利度胺、来那度胺、长春新碱、以及甲磺酸伊马替尼(ST1571,Gleevec)。用沙利度胺对人红白血病细胞进行处理导致了凋亡细胞死亡的大的显著的增加(图20)。将PACAP38、[D-Ser²]PACAP38或VIP加入该培养基导致了沙利度胺诱导的人红白血病细胞的凋亡细胞死亡的剂量依赖性增加。在低到 10^{-8} M的剂量下,PACAP38显著增加了沙利度胺诱导的这些恶性浆细胞的凋亡细胞死亡。

[0258] 以上实例显示,PACAP38和PACAP类似物有效保护了身体的许多类型的细胞和器官免于若干不同类别的通常使用的癌症化学治疗剂的毒性作用(图3至12)。然而,以上实例还显示,PACAP和PACAP类似物在体外保护非造血癌细胞(如嗜铬细胞瘤和乳癌细胞)免受这些同样的抗癌剂(图13和14)。后者的观察与这些由其他人公布的报告的PACAP(6至38)一致,PACAP(6至38)是一种PACAP/VIP受体拮抗剂,它抑制了非造血癌细胞(如作为实体瘤的人前列腺、人乳房和人非小细胞肺癌细胞)的异种移植物的体内生长。另一方面,以上实例显示,PACAP和PACAP类似物增强了若干抗癌剂对造血癌细胞(包括淋巴(图16至19)和髓细胞性(图20)癌细胞二者)的体外治疗作用,并且将会是与许多通常使用的用于治疗恶性血液病的癌症化学治疗剂进行组合的有用的辅助治疗剂。以上实例显示,在PACAP样化合物是否刺激或抑制(图2)一些癌细胞的增殖率与这些PACAP样化合物是否降低或增强(图16至20)一些化学治疗剂对一些癌细胞的抗癌活性之间存在着一种相关性。

[0259] 等效物

[0260] 本领域的普通技术人员将会认识到、或使用不超出常规实验能够确定在此描述的相对于本发明的特定的实施方案的很多等效物。这样的等效物也旨在涵盖于以下的权利要求书中。

[0261] 在本说明书中提及的所有的出版物、专利和专利申请都通过引用以结合在此,其程度如同每个单独的出版物、专利或专利申请被逐一地指明通过引用结合在此。

[0262] 其他的实施方案是在以下权利要求中。

[0263] 所提出的权利要求是。

<110> 图兰恩教育基金管理人
<120> 垂体腺苷酸环化酶激活多肽（PACAP）以及PACAP类似物作为与抗癌剂一起的辅助治疗的用途
<130> P42203CAE
<140> PCT/US2009/058445
<141> 2009-09-25
<160> 70
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 38
<212> PRT
<213> 人类
<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端
<400> 1

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

[0001]

<210> 2
<211> 27
<212> PRT
<213> 人类

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端
<400> 2

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 3
<211> 28
<212> PRT
<213> 人类

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端
<400> 3

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 4
<211> 38

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 4

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 5
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

[0002]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<400> 5

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Glu
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 6
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 6

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Thr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 7
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 7

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

[0003]

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Leu
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 8
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<400> 8

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Ala Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 9
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> D-赖氨酸

<400> 9

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Ala
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Xaa
35

<210> 10
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<400> 10

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

[0004]

Gln Lys Val Lys Asn Lys
35

<210> 11
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 11

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 12
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> D-赖氨酸

<400> 12

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Ala
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Xaa
35

<210> 13
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

[0005]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> D-赖氨酸

<400> 13

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Ala
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Xaa
35

<210> 14
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丙氨酸

<400> 14

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 15

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2).. (2)

<223> D-丝氨酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17).. (17)

<223> 正亮氨酸

<400> 15

[0006]

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 16

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2).. (2)

<223> 2-氨基异丁酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17).. (17)

<223> 正亮氨酸

<400> 16

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 17
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丙氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 正亮氨酸

<400> 17

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

[0007]

<210> 18
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 18

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 19
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<400> 19

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 20
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丙氨酸

<400> 20

[0008]

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 21
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (36)..(36)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 21

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 22
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (32)..(32)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 22

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 23
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

[0009]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 23

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 24
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (36)..(36)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 24

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 25

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> D-丝氨酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32)..(32)

<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 25

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 26

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> D-丝氨酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 26

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

[0010]

Glu Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 27
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (36)..(36)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 27

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

[0011]

<210> 28
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (32)..(32)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 28

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gly Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 29
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> N-ε-棕榈酰-赖氨酸

<400> 29

His Xaa Ser Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 30
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

[0012] <400> 30

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Ala Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 31
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<400> 31

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Ala Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 32
<211> 38

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<400> 32

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Ala Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 33
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 33

[0013] His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Ala Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 34
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 34

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Ala Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 35
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 35

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Ala Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 36
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

[0014]

<400> 36

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Ala Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Ala Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 37
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 37

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 38
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<400> 38

His Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln Met
1 5 10 15

Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 39
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<400> 39

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

[0015]

Met Ala Val Lys Lys Ala Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 40
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丙氨酸

<400> 40

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Ala Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 41
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2).. (2)
<223> D-丝氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17).. (17)
<223> 正亮氨酸

<400> 41

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 42
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2).. (2)
<223> 2-氨基异丁酸

[0016]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17).. (17)
<223> 正亮氨酸

<400> 42

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Val Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 43
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2).. (2)
<223> D-丙氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17).. (17)
<223> 正亮氨酸

<400> 43

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu

20

25

<210> 44
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 44

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 45
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

[0017]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<400> 45

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 46
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丙氨酸

<400> 46

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 47
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (27)..(27)
<223> D-亮氨酸

<400> 47

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Xaa
20 25

<210> 48
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

[0018]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<400> 48

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 49
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<400> 49

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Ala Leu Ala Ala Val Leu
20 25

<210> 50
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (27).. (27)
<223> D-亮氨酸

<400> 50

His Ala Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Xaa
20 25

<210> 51
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2).. (2)
<223> D-丝氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17).. (17)
<223> 正亮氨酸

[0019]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (27).. (27)
<223> D-亮氨酸

<400> 51

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Xaa
20 25

<210> 52
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2).. (2)
<223> 2-氨基异丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17).. (17)
<223> 正亮氨酸

<220>
<221> MOD_RES

<222> (27).. (27)

<223> D-亮氨酸

<400> 52

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Xaa
20 25

<210> 53

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2).. (2)

<223> D-丙氨酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17).. (17)

<223> 正亮氨酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (27).. (27)

<223> D-亮氨酸

[0020]

<400> 53

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Xaa
20 25

<210> 54

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2).. (2)

<223> D-丝氨酸

<220>

<221> MOD_RES

<222> (27).. (27)

<223> D-亮氨酸

<400> 54

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Xaa
20 25

<210> 55
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (27)..(27)
<223> D-亮氨酸

<400> 55

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Xaa
20 25

<210> 56
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丙氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (27)..(27)
<223> D-亮氨酸

<400> 56

His Xaa Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Xaa
20 25

<210> 57
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 57

[0021]

His Xaa Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 58
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<400> 58

His Xaa Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 59
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

[0022] <220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<400> 59

His Ser Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Ala Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 60
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丙氨酸

<400> 60

His Xaa Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 61

<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 61

His Xaa Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 62
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

[0023]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 正亮氨酸

<400> 62

His Xaa Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 63
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丙氨酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 正亮氨酸

<400> 63

His Xaa Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Xaa Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 64
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丝氨酸

<400> 64

His Xaa Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 65
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

[0024]

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> 2-氨基异丁酸

<400> 65

His Xaa Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Gln
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn
20 25

<210> 66
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-丙氨酸

<400> 66

His Xaa Asp Ala Val Phe Thr Asp Asn Tyr Thr Arg Leu Arg Lys Asn
1 5 10 15

Ala Ala Val Lys Lys Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Asn

20

25

<210> 67
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 序列具有酰胺化的C端

<400> 67

His Ile Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gly
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Asn Arg Val Lys Asn Lys
35

<210> 68
<211> 38
<212> PRT
<213> 湖蛙

<400> 68

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

[0025]

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys
20 25 30

Gln Arg Ile Lys Asn Lys
35

<210> 69
<211> 38
<212> PRT
<213> 红大马哈鱼

<400> 69

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln
1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr Arg Asn Lys
35

<210> 70
<211> 61
<212> PRT
<213> 长须罗岭

<220>
<221> DISULFID
<222> (1).. (5)

<220>
<221> DISULFID

<222> (14).. (51)

<400> 70

Cys Asp Ala Thr Cys Gln Phe Arg Lys Ala Ile Glu Asp Cys Arg Lys
1 5 10 15

[0026]

Lys Ala His His Ser Asp Val Leu Gln Thr Ser Val Gln Thr Thr Ala
20 25 30

Thr Phe Thr Ser Met Asp Thr Ser Gln Leu Pro Gly Ser Gly Val Phe
35 40 45

Lys Glu Cys Met Lys Gln Lys Ala Lys Glu Phe Lys Ala
50 55 60

His-Ser-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-Gly-Lys-Arg-Tyr-Lys-Gln-Arg-Val-Lys-Asn-Lys-NH₂
(SEQ ID NO:1)

His-Ser-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-NH₂ (SEQ ID NO:2)

His-Ser-Asp-Ala-Val-Phe-Thr-Asp-Asn-Tyr-Thr-Arg-Leu-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Asn-Ser-Ile-Leu-Asn-NH₂ (SEQ ID NO:3)

His-D-Ser-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-Gly-Lys-Arg-Tyr-Lys-Gln-Arg-Val-Lys-Asn-Lys-NH₂ (SEQ ID NO:4)

His-Aib-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-Gly-Lys-Arg-Tyr-Lys-Gln-Arg-Val-Lys-Asn-Lys-NH₂
(SEQ ID NO:5)

His-D-Ser-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-Gly-Lys-Arg-Tyr-Lys-Gln-Arg-Val-Lys-Asn-Lys-NH₂ (SEQ ID NO:6)

|
CO(CH₂)₁₄CH₃

His-Aib-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-Gly-Lys-Arg-Tyr-Lys-Gln-Arg-Val-Lys-Asn-Lys-NH₂ (SEQ ID NO:7)

|
CO(CH₂)₁₄CH₃

His-Ser-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Ala-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-Gly-Lys-Arg-Tyr-Lys-Gln-Arg-Val-Lys-Asn-Lys-NH₂
(SEQ ID NO:8)

His-Ser-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Ala-Ala-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-Gly-Lys-Arg-Tyr-Lys-Gln-Arg-Val-Lys-Asn-D-Lys-NH₂
(SEQ ID NO:9)

His-Ser-Asp-Gly-Ile-Phe-Thr-Asp-Ser-Tyr-Ser-Arg-Tyr-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Ala-Ala-Val-Leu-Gly-Lys-Arg-Tyr-Lys-Gln-Lys-Val-Lys-Asn-Lys-NH₂
(SEQ ID NO:10)

图1

骨髓瘤细胞增殖的抑制

肽	EC ₅₀ (nM)
PACAP38	0.106 ± 0.001674
PACAP38	0.052 ± 0.001641
[D-Ser ²]PACAP38	0.057 ± 0.001808
[Aib ²]PACAP38	0.071 ± 0.001809
[D-Ser ² ,Lys ³⁸ - 棕榈酰]PACAP38	564 ± 40.18
[Aib ² ,Lys ³⁸ - 棕榈酰]PACAP38	33.6 ± 2.72

图2

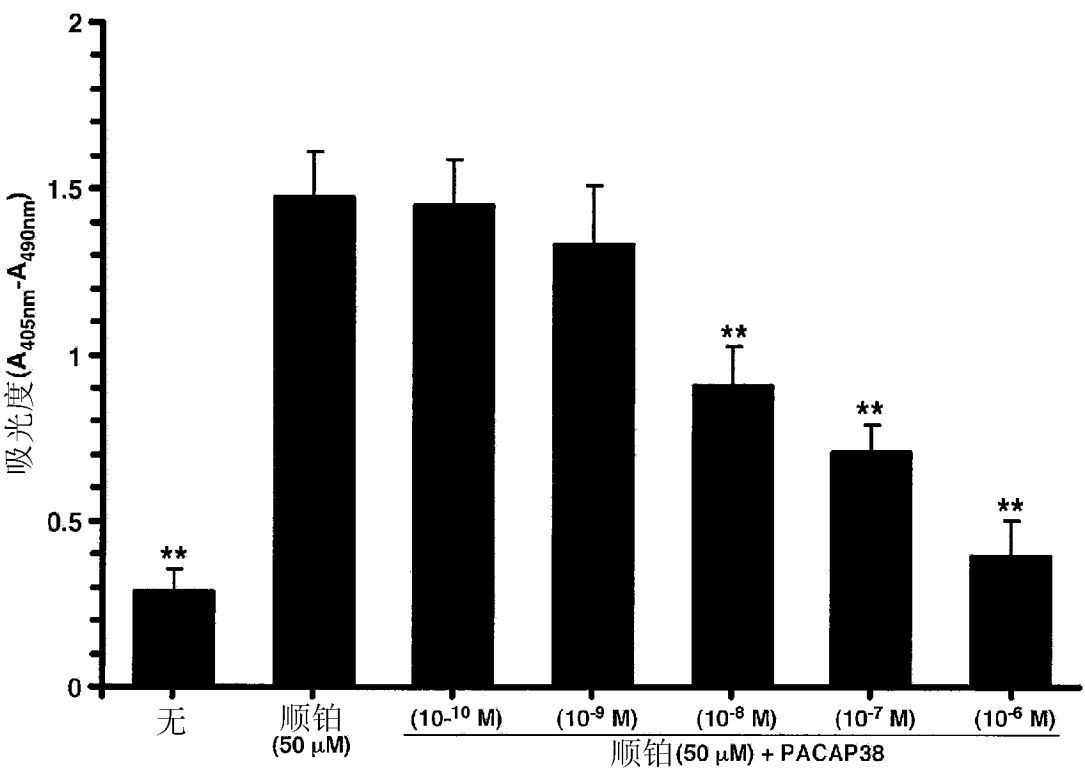


图3

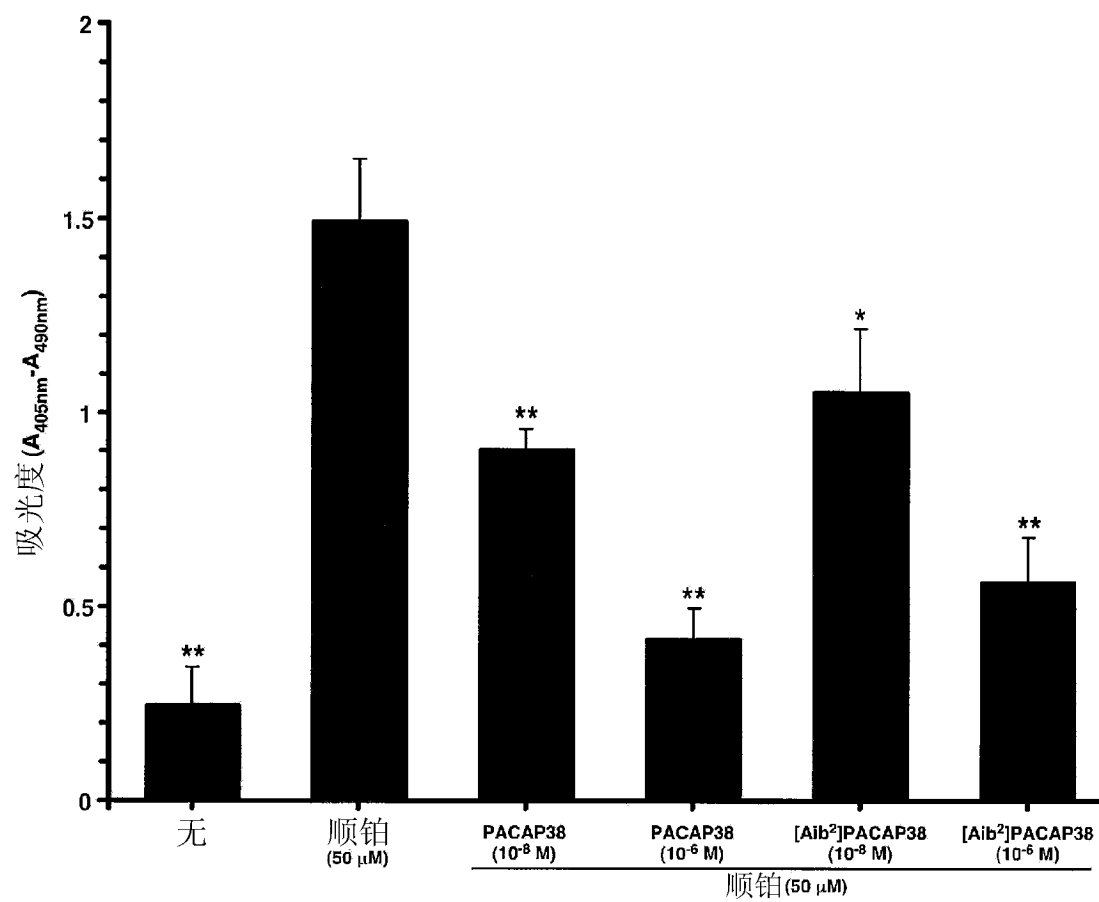


图4

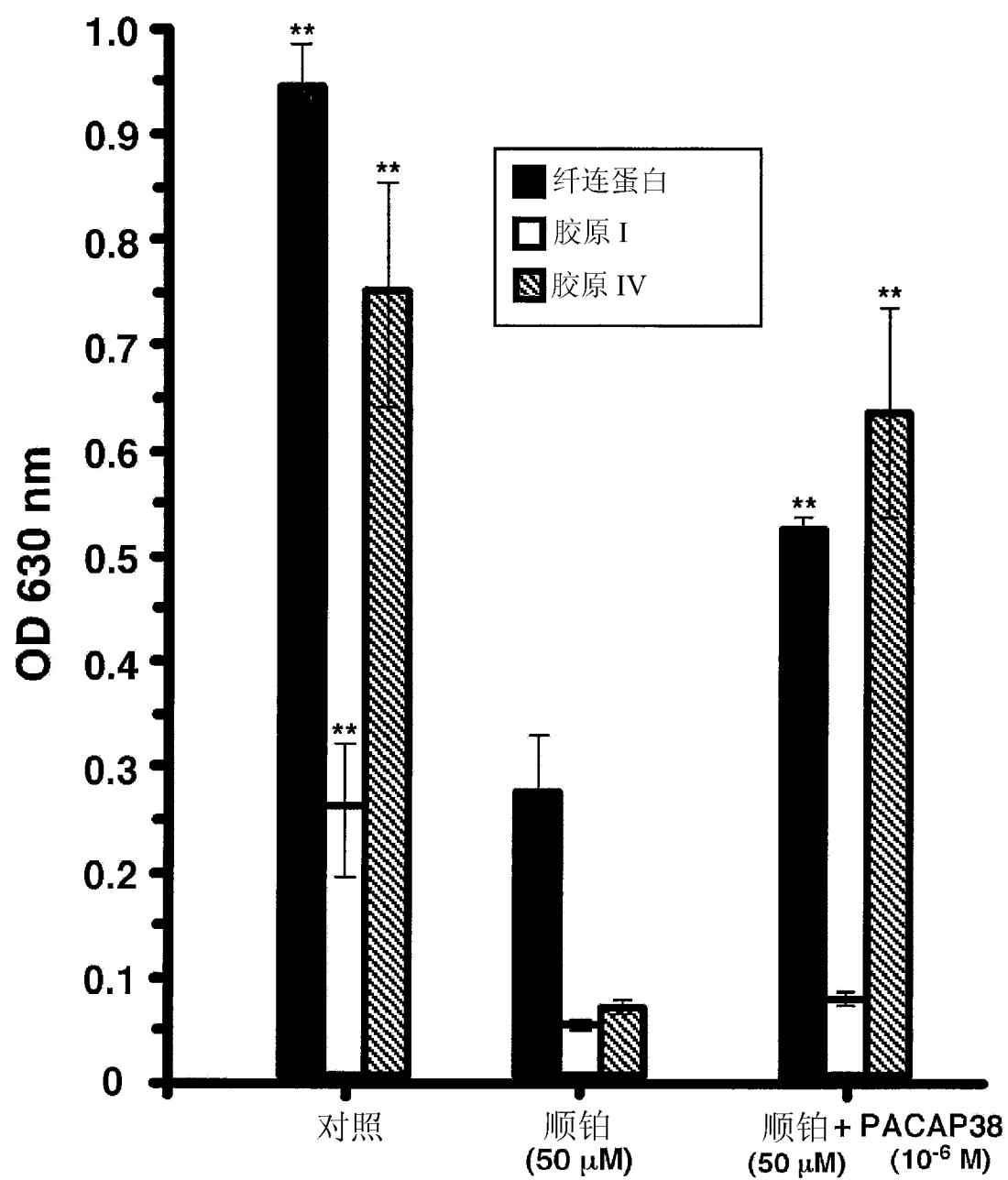


图5

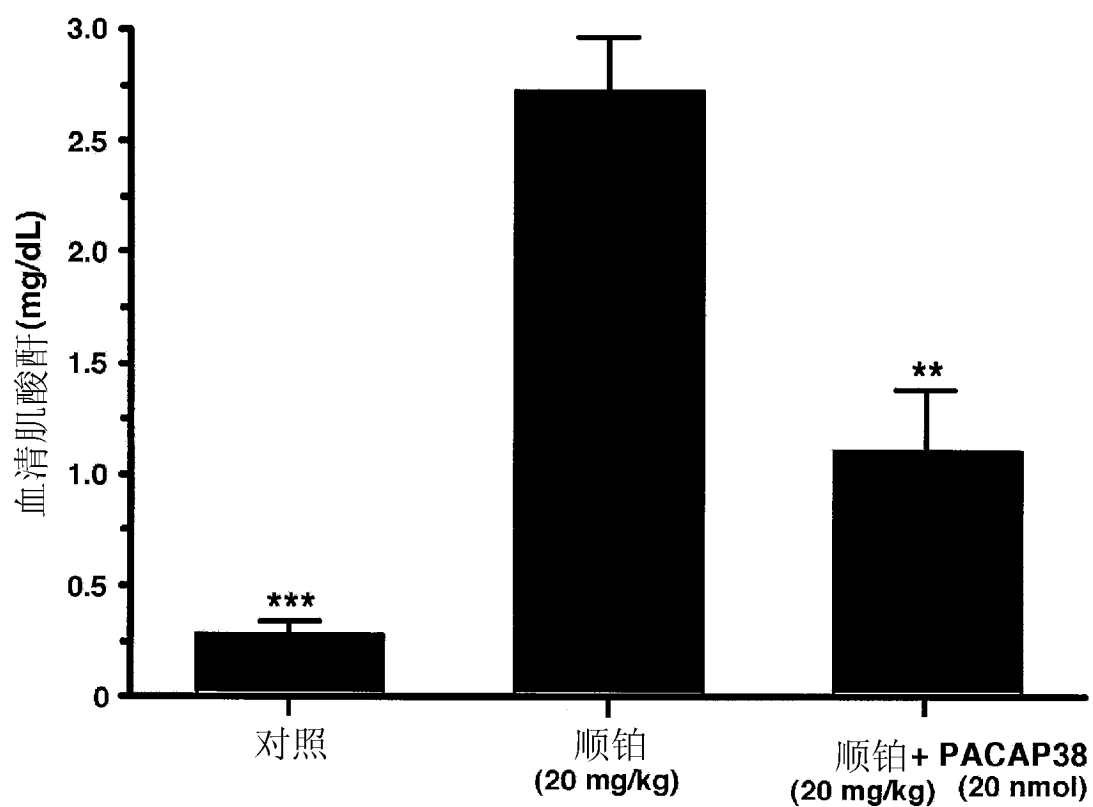


图6

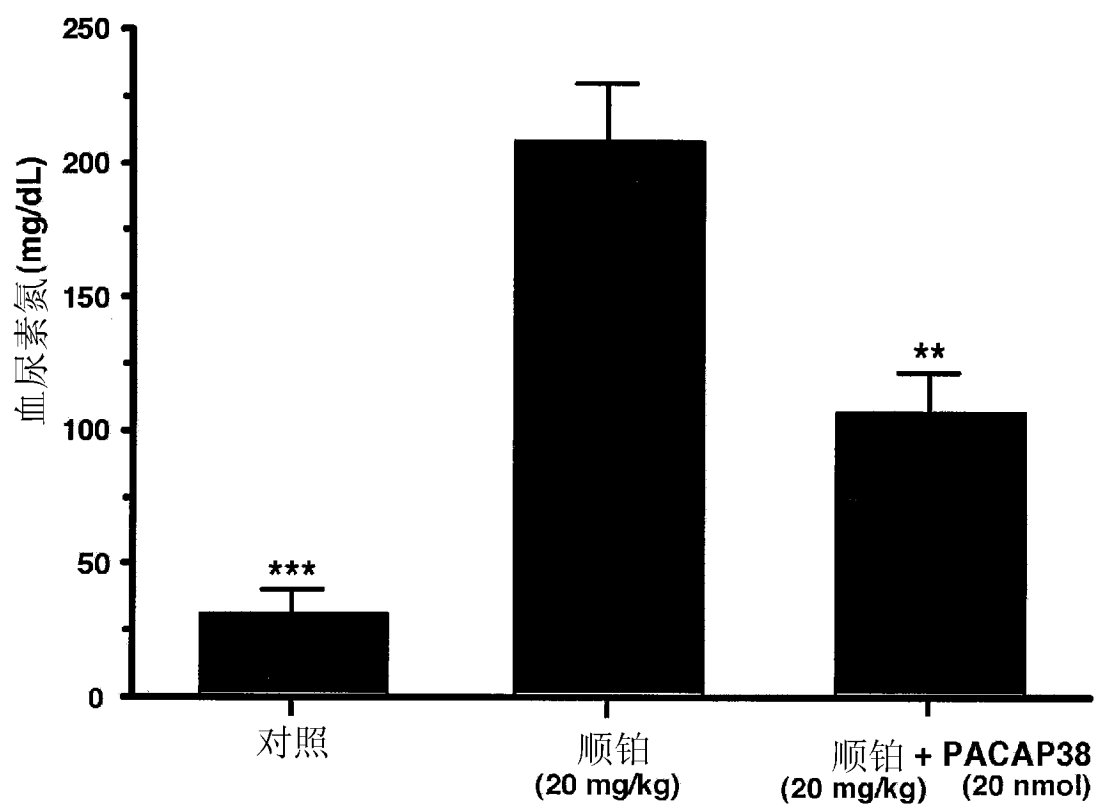


图7

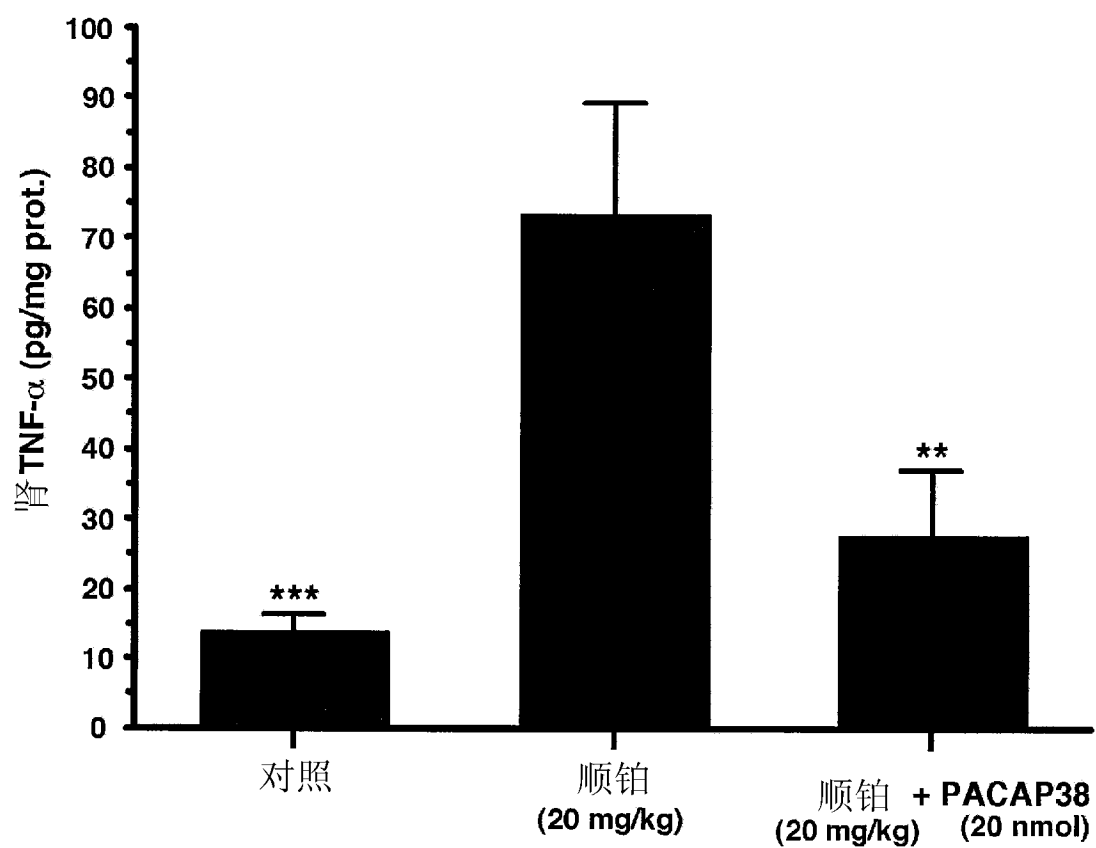


图8

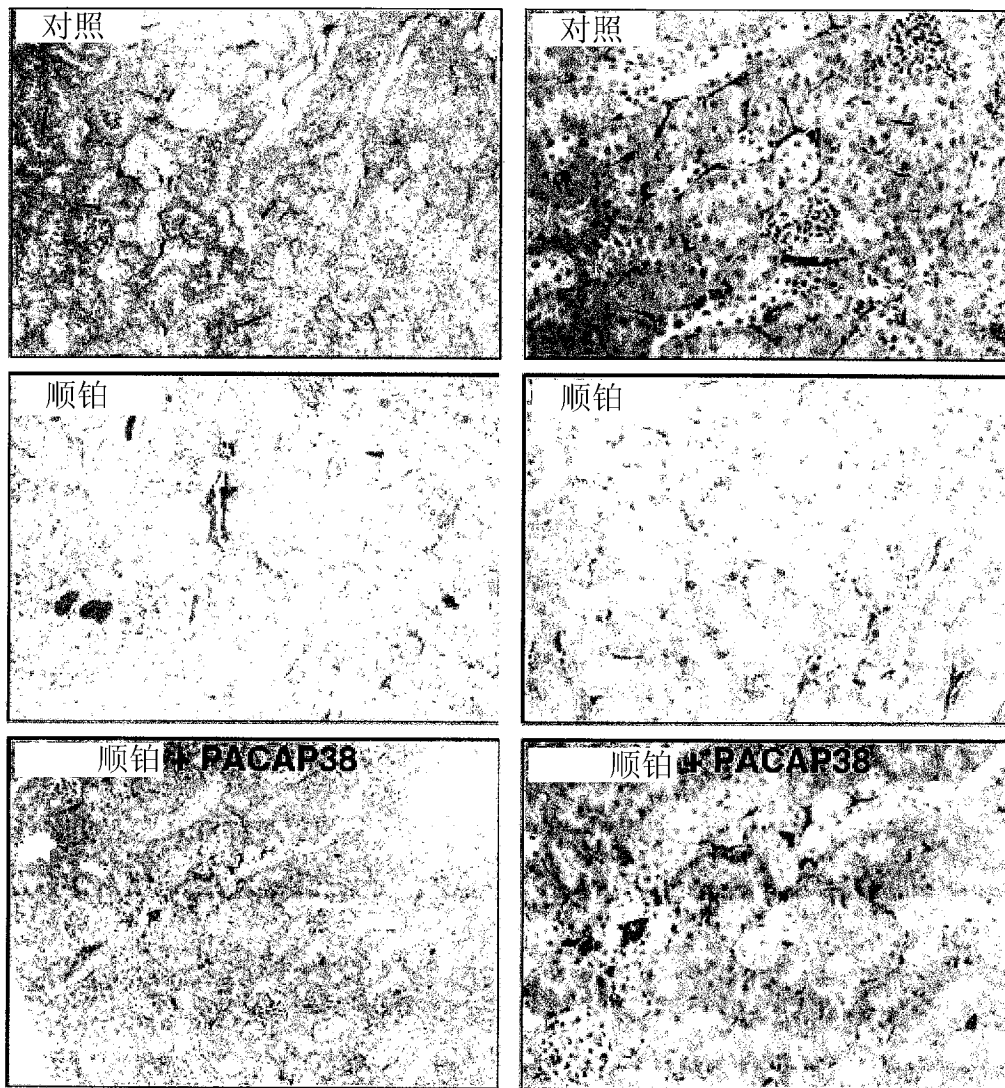


图9

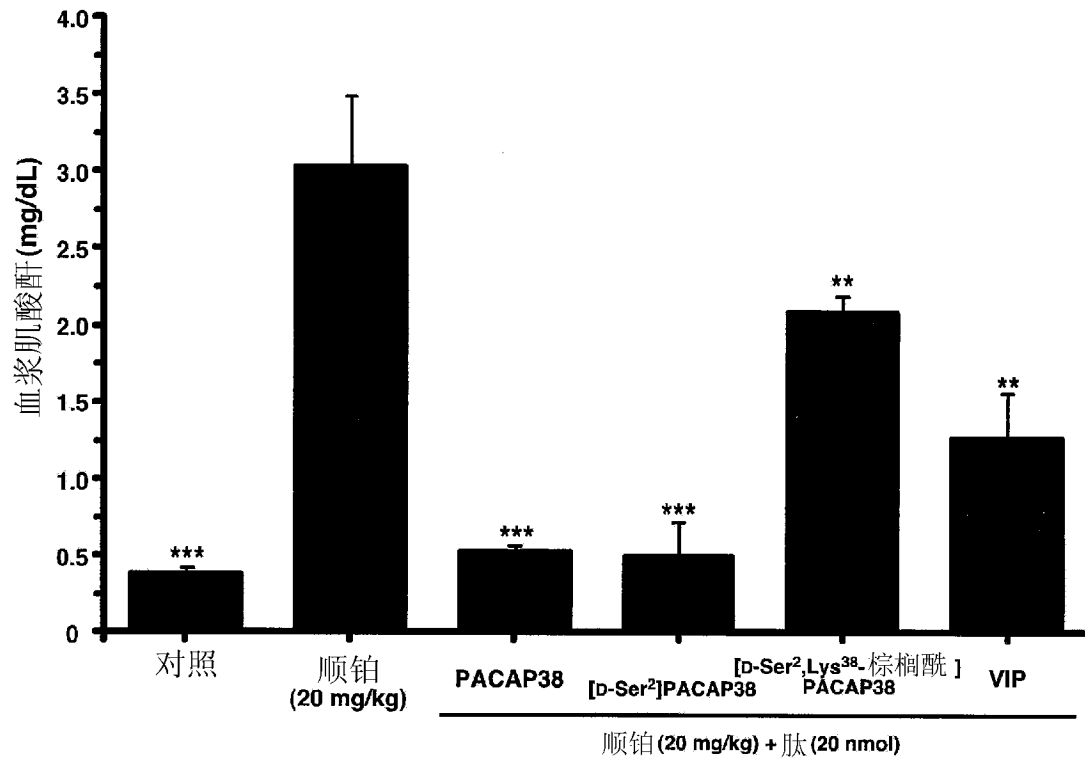


图10

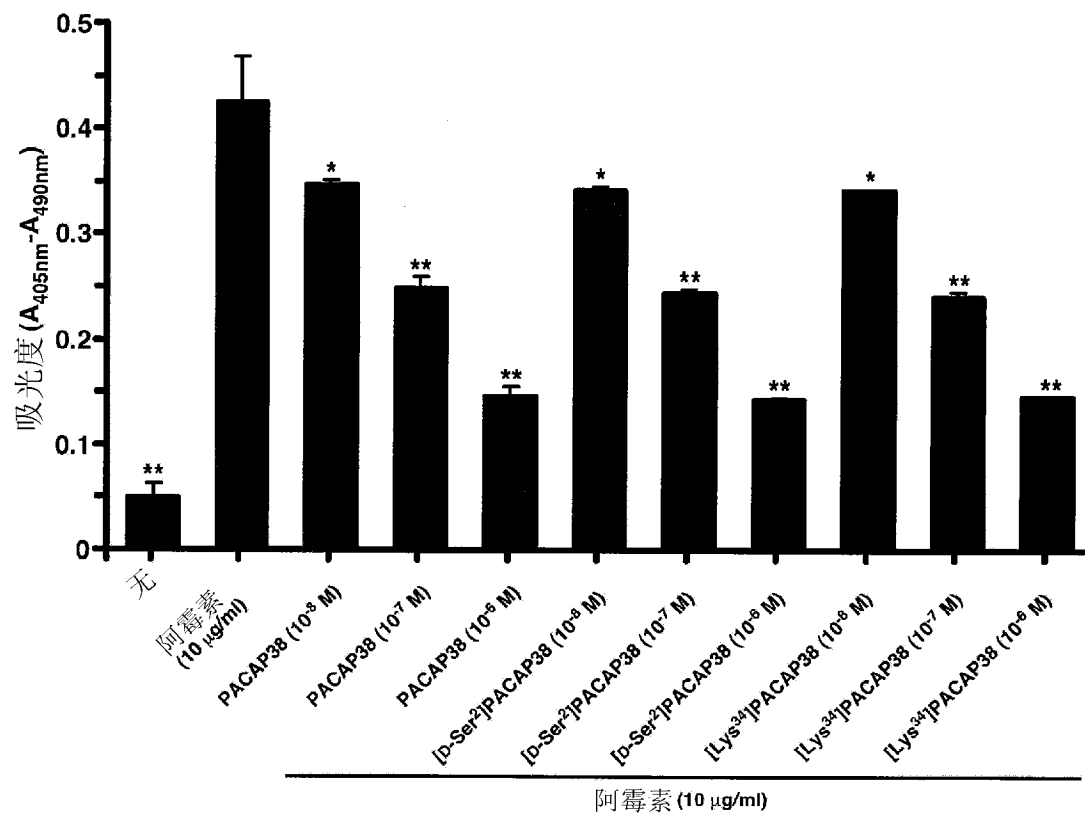


图11

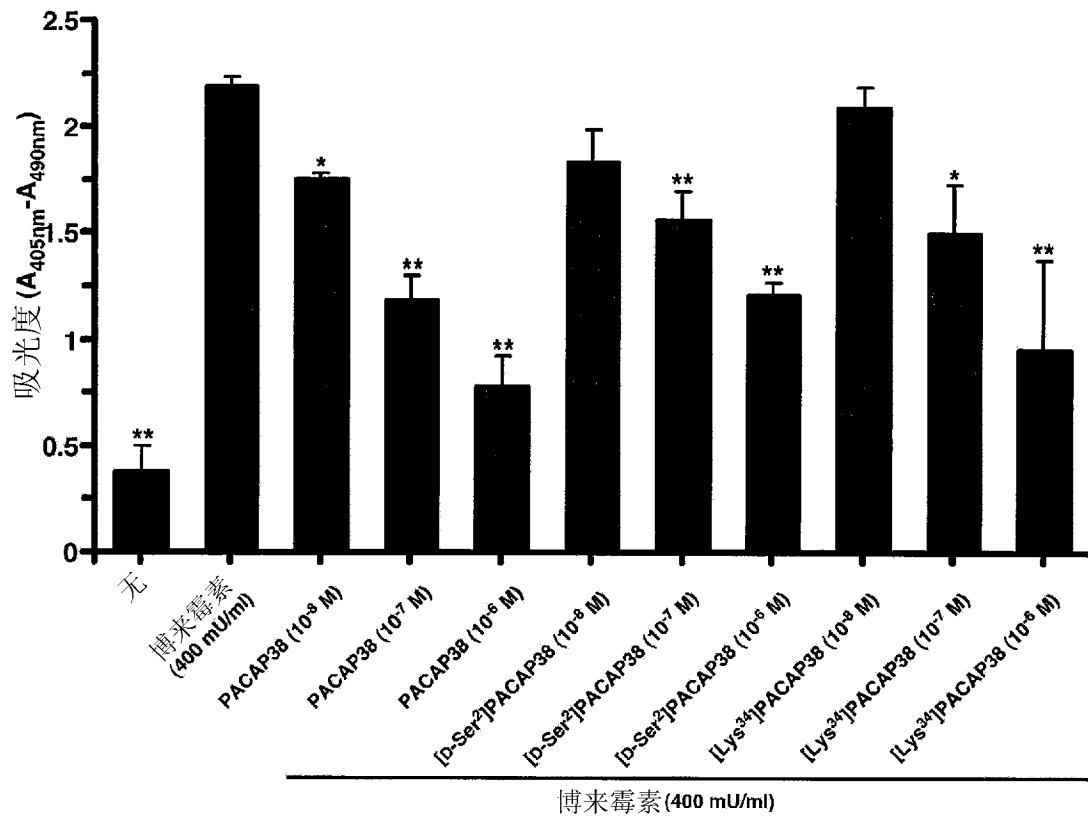


图12

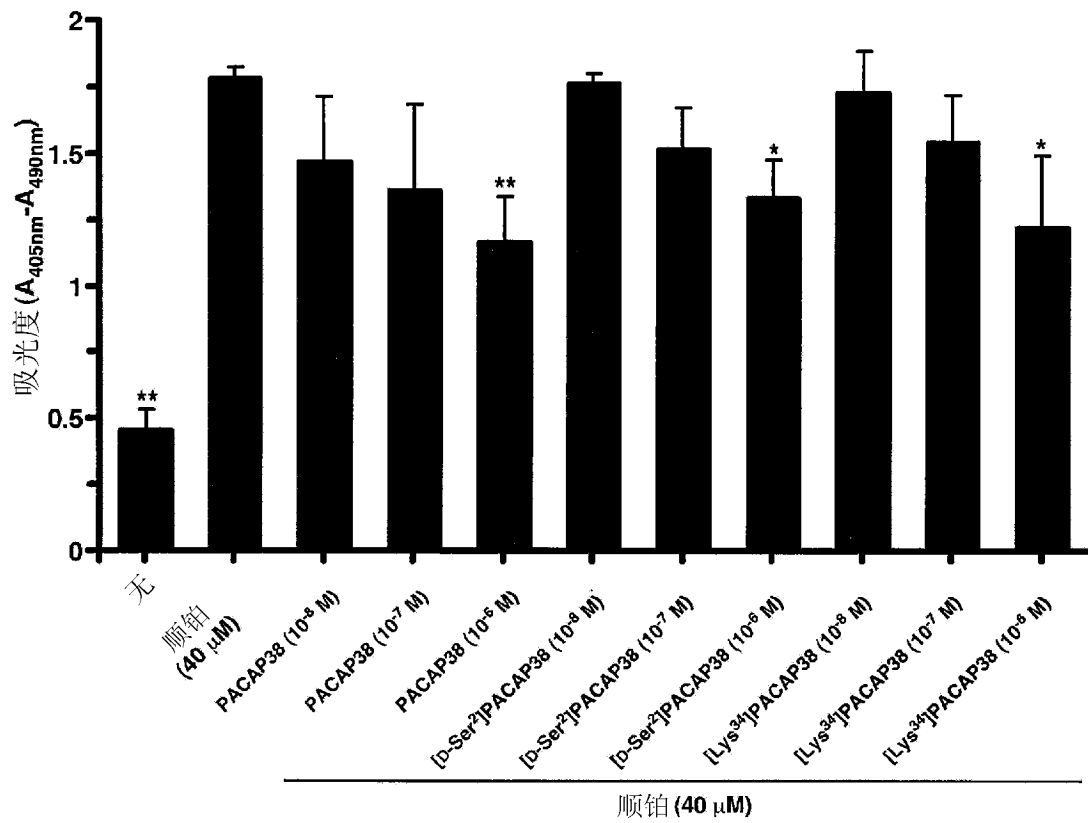


图13

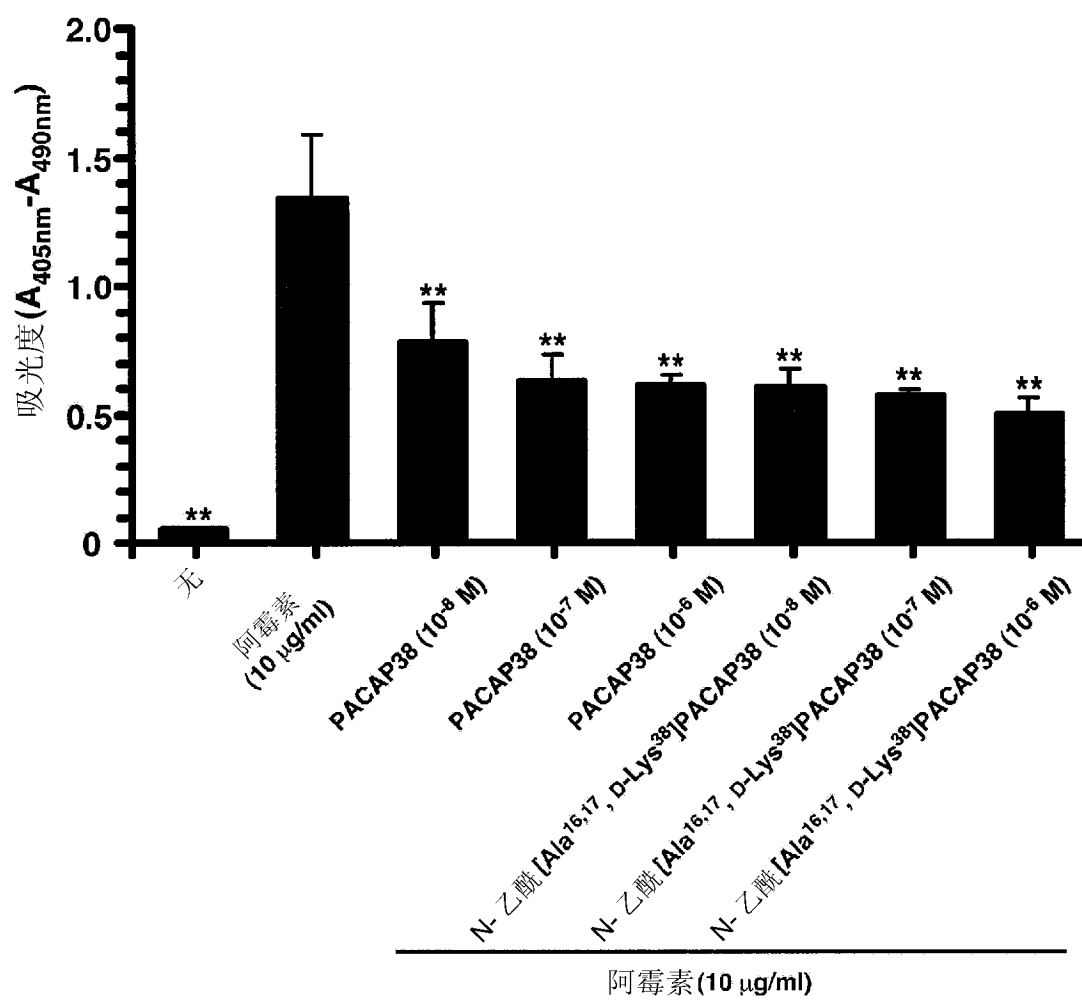


图14

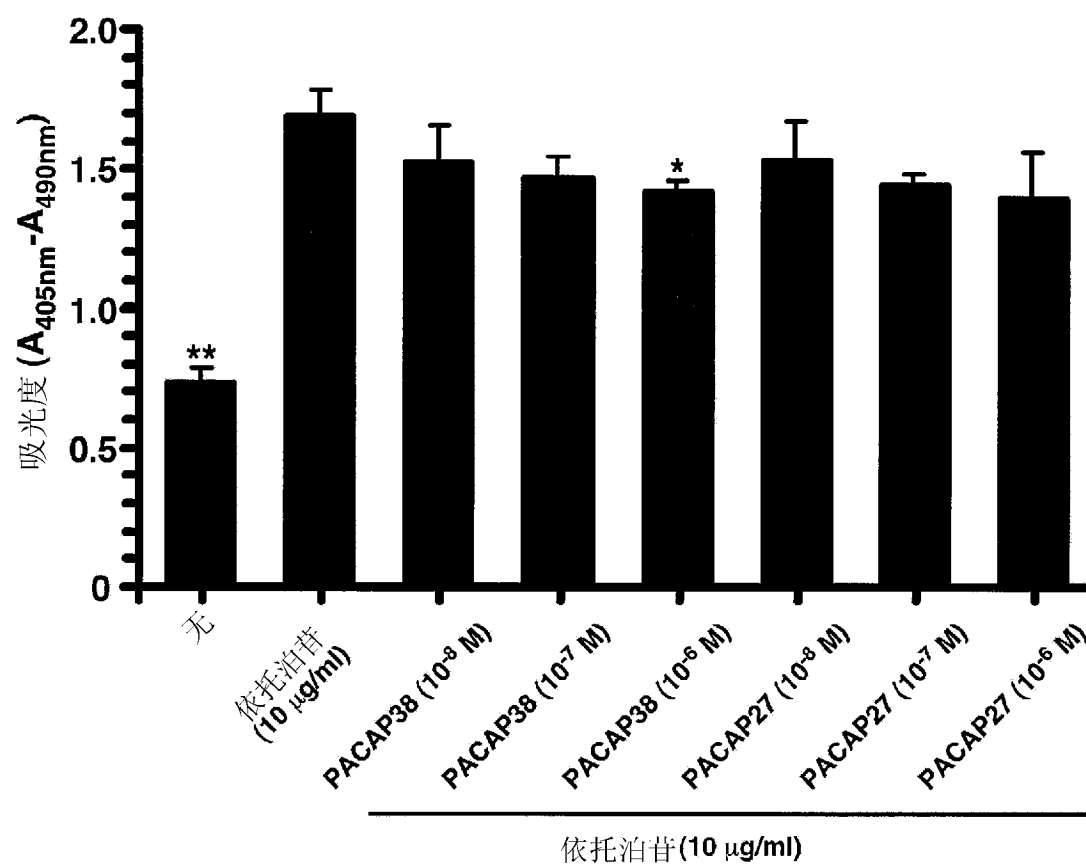


图15

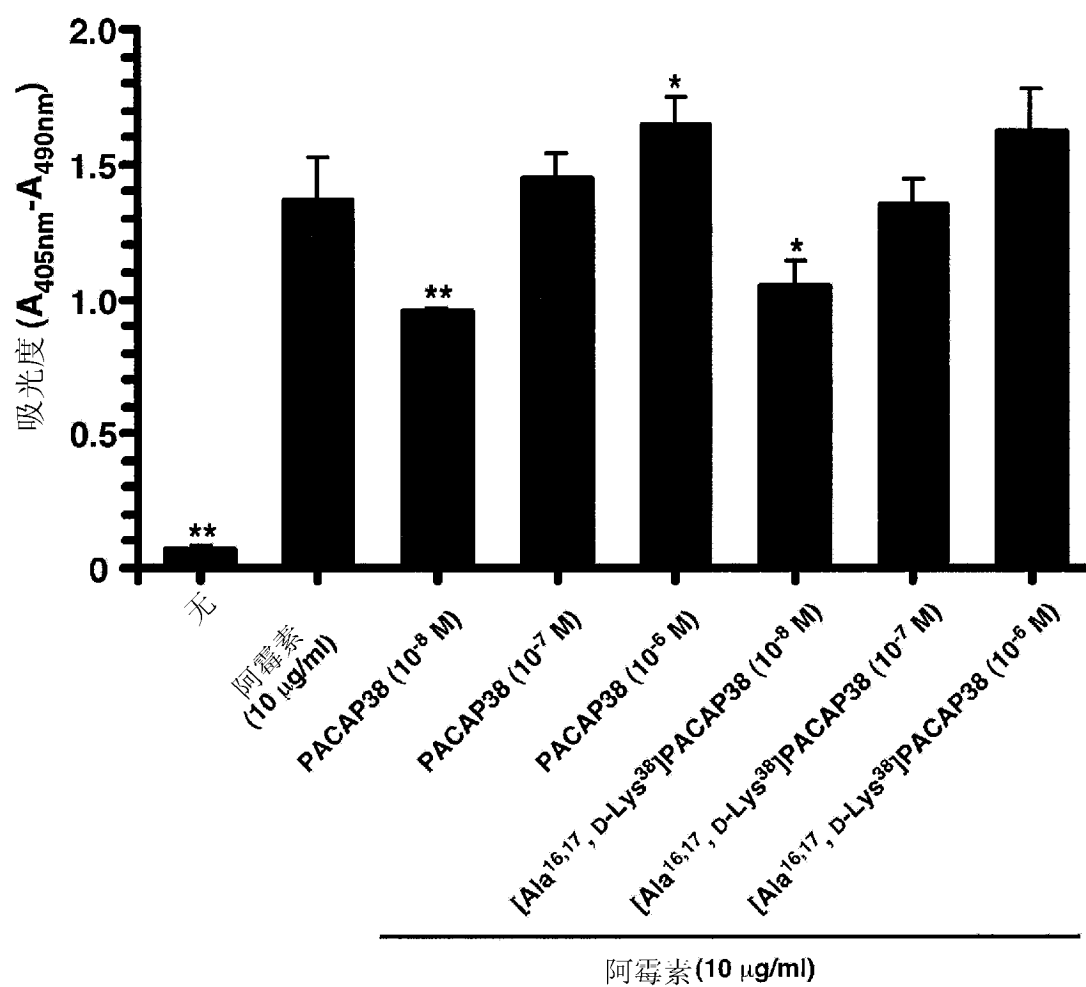


图16

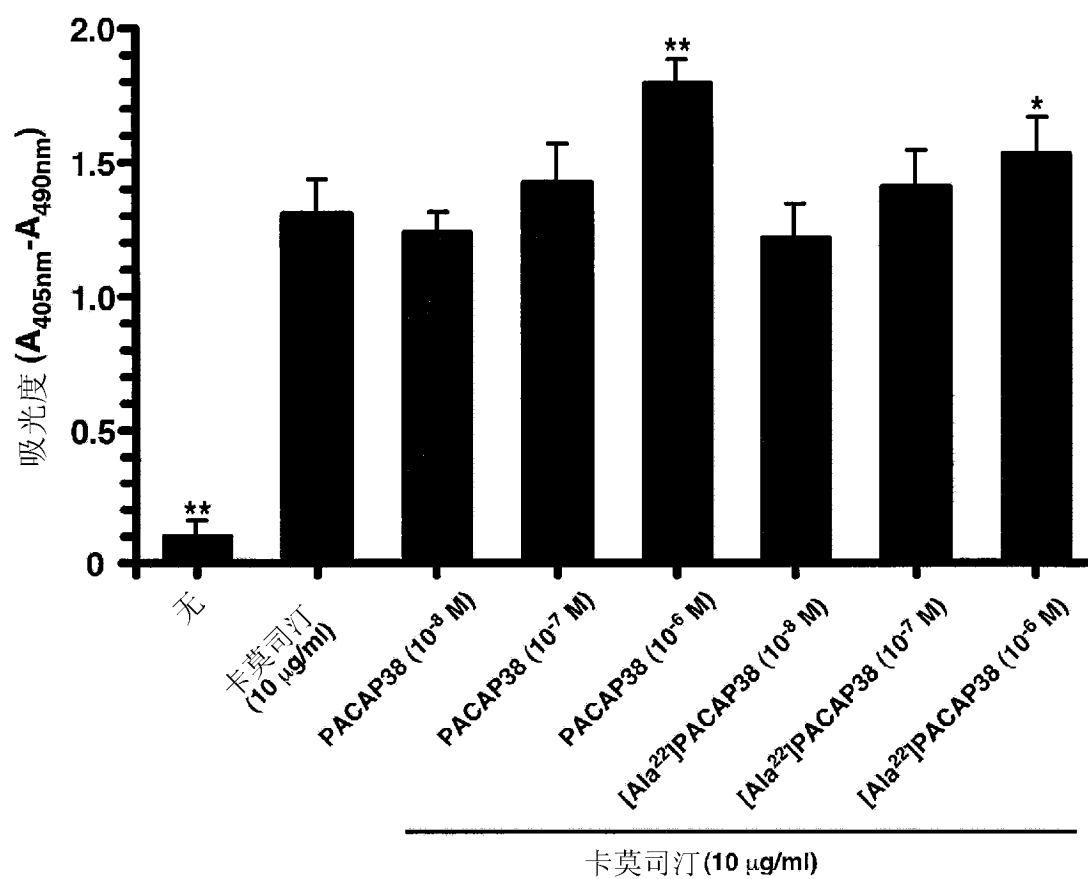


图17

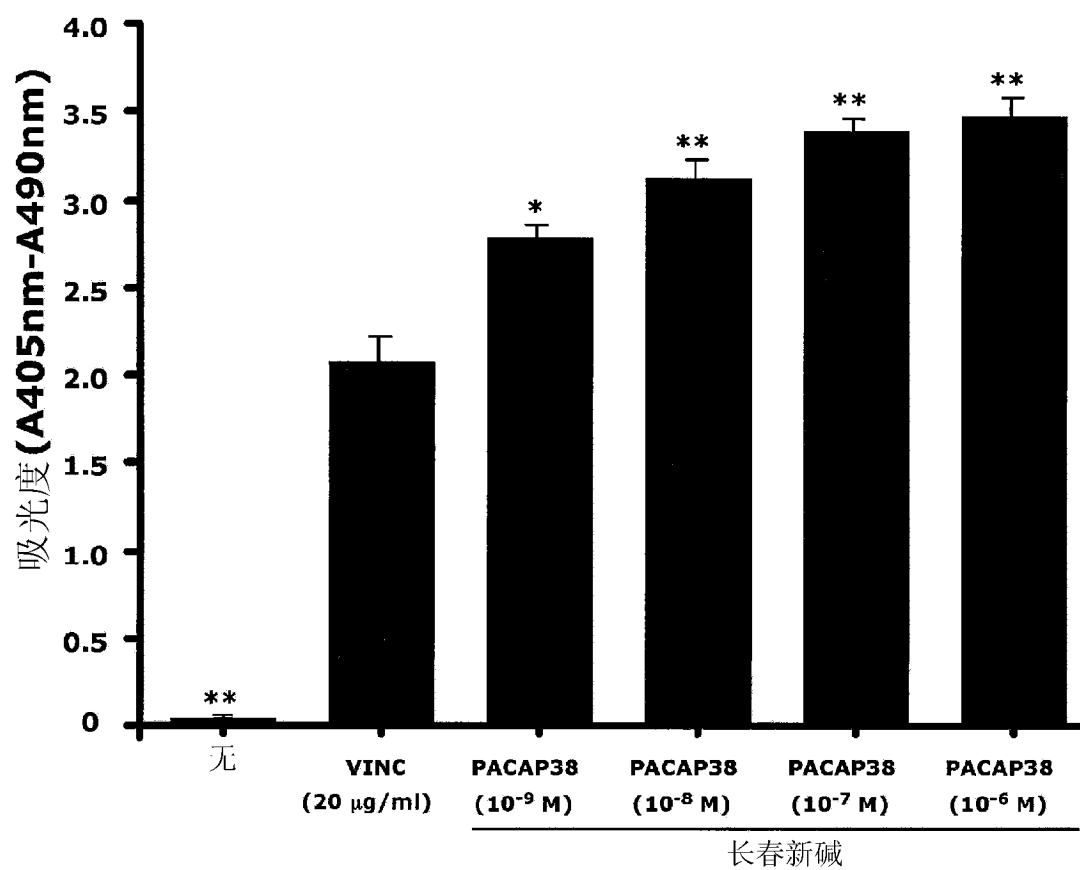


图18

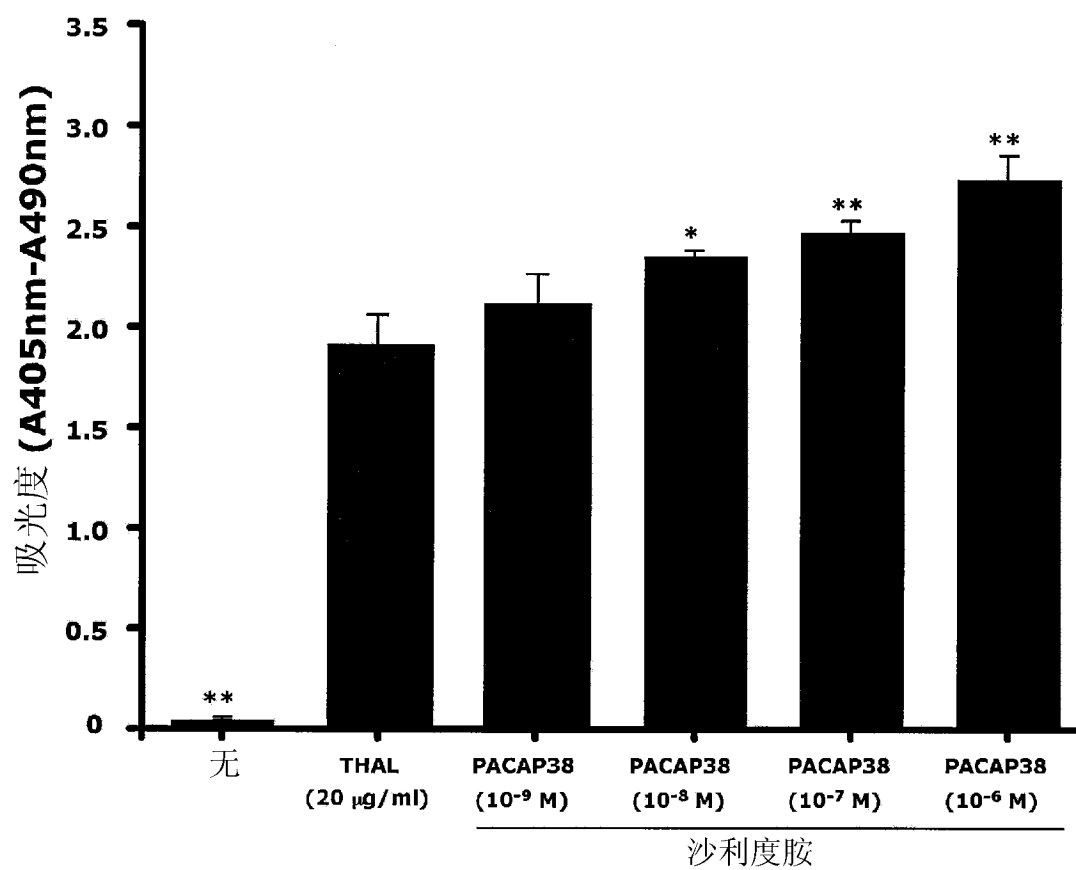


图19

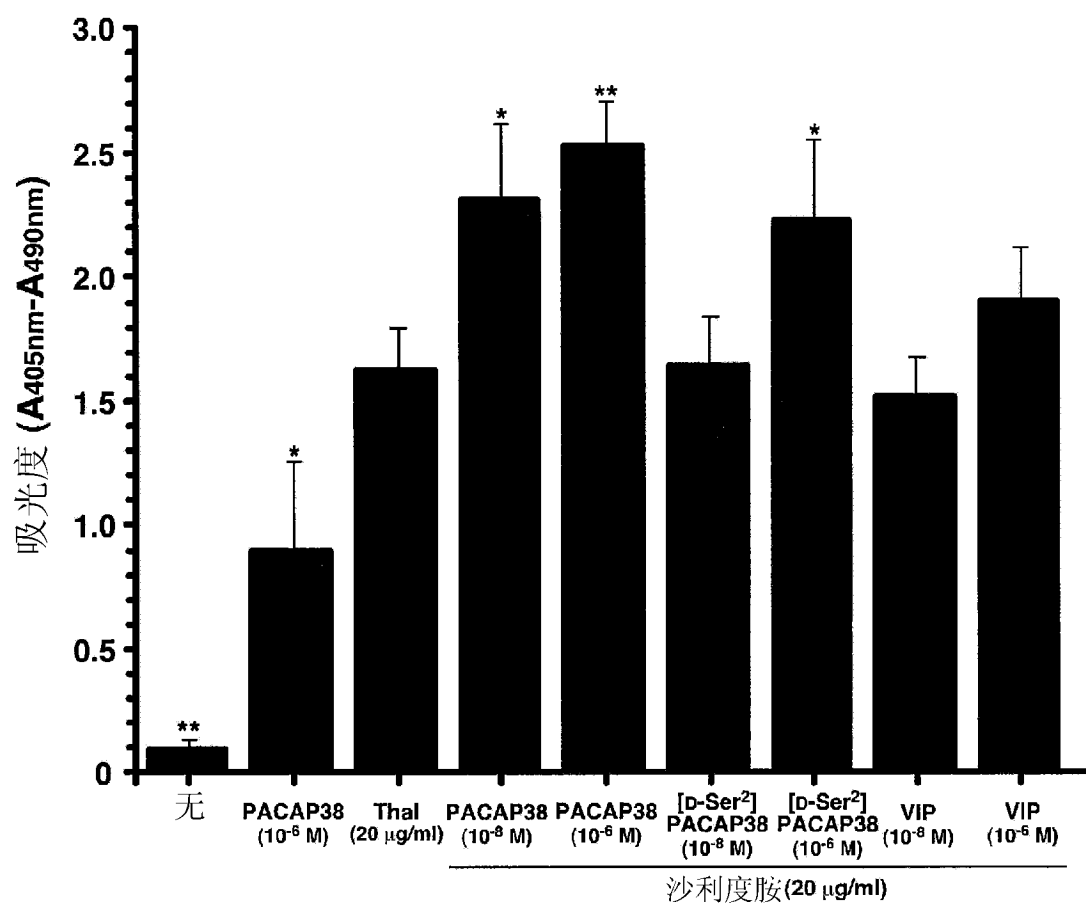


图20