(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119584986 A
(43)申请公布日 2025.03.07

(21)申请号 202380026567.3

(22)申请日 2023.03.10

(30)优先权数据
63/318,465 2022.03.10 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.09.10

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/064088 2023.03.10

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/173055 EN 2023.09.14

(71)申请人 格莱赛克斯摩尔公司
地址 美国

(72)发明人 洛林·约翰逊 乔纳森·莫斯 大卫·塔戈特

(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司 11219
专利代理师 金海霞 刘慧

(51)Int.Cl.
A61K 45/00(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61K 31/485(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 27/02(2006.01)
A61P 17/06(2006.01)

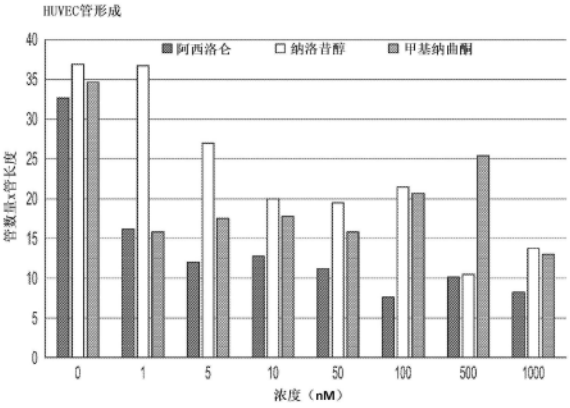
权利要求书4页 说明书24页 附图21页

(54)发明名称

使用Mu阿片类药物受体拮抗剂治疗癌症和其他病症的方法

(57)摘要

本文提供了单独或与检查点抑制剂(例如PD-1/PD-L1途径抑制剂(例如抗体如派姆单抗))和/或VEGF抑制剂(例如贝伐单抗)组合使用Mu阿片类药物受体(MOR)拮抗剂(例如阿西洛仑(axelopran))来减少血管生成或治疗癌症的组合物和方法。本文还提供了含有单独的或与检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂组合的MOR拮抗剂(例如阿西洛仑)的用于减少血管生成或治疗癌症的试剂盒。



CN 119584986 A

1.一种减少或抑制内皮细胞生长的方法,所述方法包括将内皮细胞与Mu阿片类药物受体(MOR)拮抗剂接触。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述方法抑制内皮细胞生长。

3.一种在有需要的患者中减少血管生成的方法,所述方法包括向所述患者施用MOR拮抗剂。

4.根据权利要求3所述的方法,其中所述方法抑制血管生成。

5.根据权利要求3或4所述的方法,其中所述方法减少或抑制眼部血管生成。

6.根据权利要求3或4所述的方法,其中所述患者患有银屑病。

7.一种在癌症患者中减少血管生成的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。

8.根据权利要求7所述的方法,其中所述方法抑制血管生成。

9.一种在癌症患者中减少肿瘤生长的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。

10.根据权利要求9所述的方法,其中所述方法抑制肿瘤生长。

11.一种在癌症患者中减少转移的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。

12.根据权利要求11所述的方法,其中所述方法抑制转移。

13.一种改善对肿瘤的免疫应答的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂。

14.根据权利要求13所述的方法,其中所述方法增加免疫细胞在所述肿瘤中的浸润。

15.根据权利要求13所述的方法,其中所述方法增加NK细胞、淋巴细胞和/或单核细胞/巨噬细胞的浸润。

16.根据权利要求13所述的方法,其中所述方法增加$CD3^+$、$CD244^+$和MMD^+免疫细胞的浸润。

17.根据权利要求1-16中任一项所述的方法,其中所述癌症是黑色素瘤、结肠癌、胰腺癌或乳腺癌。

18.根据权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述患者未在接受阿片类药物治疗。

19.根据权利要求1-18中任一项所述的方法,其中所述方法不包括施用阿片类药物。

20.根据权利要求1-19中任一项所述的方法,其中所述MOR拮抗剂不包括甲基纳曲酮。

21.根据权利要求1-20中任一项所述的方法,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑、纳洛昔醇、纳地美定、爱维莫潘或其组合。

22.根据权利要求21所述的方法,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

23.根据权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括口服施用所述MOR拮抗剂。

24.根据权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括皮下施用所述MOR拮抗剂。

25.根据权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括玻璃体内施用所述MOR拮抗剂。

26.根据权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括局部施用所述MOR拮抗剂。

27.根据权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。

28.根据权利要求19所述的方法,其中所述药物组合物被配制用于改良释放。

29.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向癌症患者施用阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合。

30.根据权利要求29所述的方法,其中所述方法包括施用阿西洛仑。

31.根据权利要求29或30所述的方法,其中所述方法减少血管生成、肿瘤生长和/或转移。

32.根据权利要求32所述的方法,其中所述方法抑制血管生成、肿瘤生长和/或转移。

33.根据权利要求29-32中任一项所述的方法,其中所述方法不包括施用外源阿片类药物。

34.根据权利要求29-32中任一项所述的方法,其中所述患者未在接受阿片类药物治疗。

35.根据权利要求29-32中任一项所述的方法,其中所述癌症是黑色素瘤、结肠癌、胰腺癌或乳腺癌。

36.根据权利要求29-35中任一项所述的方法,其中所述方法包括口服施用所述MOR拮抗剂。

37.根据权利要求29-35中任一项所述的方法,其中所述方法包括皮下施用所述MOR拮抗剂。

38.根据权利要求29-35中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。

39.根据权利要求38所述的方法,其中所述药物组合物被配制用于改良释放、局部施用或玻璃体内注射。

40.根据权利要求7-39中任一项所述的方法,其中所述癌症用检查点抑制剂难治。

41.一种减小肿瘤尺寸的方法,所述方法包括将肿瘤与阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合接触。

42.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂。

43.根据权利要求42所述的方法,其中所述MOR拮抗剂和所述检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂协同治疗所述癌症。

44.一种改善对肿瘤的免疫应答的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂。

45.根据权利要求44所述的方法,其中所述方法增加免疫细胞在所述肿瘤中的浸润。

46.根据权利要求45所述的方法,其中所述方法增加NK细胞、淋巴细胞和/或单核细胞/巨噬细胞的浸润。

47.根据权利要求45所述的方法,其中所述方法增加$CD3^+$、$CD244^+$和MMD^+免疫细胞的浸润。

48.根据权利要求45所述的方法,其中所述MOR拮抗剂和所述检查点抑制剂协同改善对所述肿瘤的免疫应答。

49.根据权利要求42-49中任一项所述的方法,其中所述MOR拮抗剂包括阿西洛仑、纳洛昔醇、甲基纳曲酮或其组合。

50.根据权利要求49所述的方法,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

51.根据权利要求42-50中任一项所述的方法,其中所述检查点抑制剂是PD-1/PD-L1途径抑制剂。

52.根据权利要求51所述的方法,其中所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是抗体。

53.根据权利要求52所述的方法,其中所述抗体是与PD-1结合的抗体。

54.根据权利要求53所述的方法,其中所述抗体是人源化抗体。

55.根据权利要求53所述的方法,其中所述人类抗体是派姆单抗。

56.根据权利要求42-55中任一项所述的方法,其中所述方法包括口服或皮下施用所述MOR拮抗剂。

57.根据权利要求42-56中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。

58.根据权利要求57所述的方法,其中所述药物组合物被配制用于改良释放。

59.根据权利要求42-58中任一项所述的方法,其中所述检查点抑制剂与所述MOR拮抗剂同时、在所述MOR拮抗剂之前或之后施用。

60.根据权利要求42-59中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用检查点抑制剂。

61.根据权利要求42-60中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用VEGF抑制剂。

62.根据权利要求42-60中任一项所述的方法,其中所述VEGF抑制剂是抗VEGF抗体。

63.根据权利要求62所述的方法,其中所述抗体是人源化的。

64.根据权利要求62或63所述的方法,其中所述抗体是抗VEGF-A抗体。

65.根据权利要求61-64中任一项所述的方法,其中所述VEGF抑制剂是贝伐单抗。

66.根据权利要求61-65中任一项所述的方法,所述方法包括静脉内注射所述VEGF抑制剂。

67.根据权利要求61-66中任一项所述的方法,其中所述VEGF抑制剂与所述MOR拮抗剂同时、在所述MOR拮抗剂之前或之后施用。

68.根据权利要求61-67中任一项所述的方法,其中所述VEGF抑制剂与所述检查点抑制剂同时、在所述检查点抑制剂之前或之后施用。

69.一种试剂盒,其包含MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂。

70.根据权利要求69所述的试剂盒,其中所述检查点抑制剂是PD-1/PD-L1途径抑制剂。

71.根据权利要求69所述的试剂盒,其中所述试剂盒含有包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。

72.根据权利要求71所述的试剂盒,其中所述药物组合物还包含VEGF抑制剂。

73.根据权利要求71或72所述的试剂盒,其中所述药物组合物被配制用于改良释放、局部施用或玻璃体内注射。

74.一种组合物,其包含协同量的MOR拮抗剂和PD-1/PD-L1途径抑制剂。

75.根据权利要求74所述的组合物,其中所述MOR拮抗剂包含阿西洛仑、纳洛昔醇、甲基纳曲酮或其组合。

76.根据权利要求74所述的组合物,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

77.根据权利要求74-76中任一项所述的组合物,其中所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是抗体。

78.根据权利要求74-77中任一项所述的组合物,其中所述抗体是与PD-1结合的抗体。

79.根据权利要求78所述的组合物,其中所述抗体是人源化抗体。

80.根据权利要求79所述的方法,其中所述人类抗体是派姆单抗。

81.阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

82.阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合用于治疗癌症的用途。

83.MOR拮抗剂和PD-1/PD-L1途径抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

84.MOR拮抗剂和PD-1/PD-L1途径抑制剂用于治疗癌症的用途。

85.MOR拮抗剂和VEGF抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

86.MOR拮抗剂和VEGF抑制剂用于治疗癌症的用途。

87.MOR拮抗剂、PD-1/PD-L1途径抑制剂和VEGF抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

88.MOR拮抗剂、PD-1/PD-L1途径抑制剂和VEGF抑制剂用于治疗癌症的用途。

89.根据权利要求85-88中任一项所述的用途,其中所述VEGF抑制剂是抗VEGF-A抗体。

90.根据权利要求89所述的用途,其中所述VEGF抑制剂是贝伐单抗。

91.根据权利要求83-90中任一项所述的用途,其中所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是抗体。

92.根据权利要求83-91中任一项所述的用途,其中所述抗体是与PD-1结合的抗体。

93.根据权利要求92所述的用途,其中所述抗体是人源化抗体。

94.根据权利要求93所述的用途,其中所述人类抗体是派姆单抗。

95.MOR拮抗剂用于在正经历抑制PD-1/PD-L1途径的疗法的患者中治疗癌症的用途。

96.根据权利要求83-95中任一项所述的用途,其中所述MOR拮抗剂包括阿西洛仑、纳洛昔醇、甲基纳曲酮或其组合。

97.根据权利要求96所述的用途,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

98.一种组合,其包含MOR拮抗剂和PD-1/PD-L1途径抑制剂,用于治疗癌症的方法中,所述方法包括向有需要的受试者施用所述组合。

99.根据权利要求98所述的组合,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

100.根据权利要求98或99所述的组合,其中所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是派姆单抗。

101.根据权利要求98或99所述的组合,其中所述组合还包含VEGF抑制剂。

102.根据权利要求98-101中任一项所述的组合,其中所述VEGF抑制剂是贝伐单抗。

使用Mu阿片类药物受体拮抗剂治疗癌症和其他病症的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2022年3月10日提交的美国临时申请第63/318,465号的利益,所述临时申请的内容整体通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本公开涉及单独地或与PD-1/PD-L1途径抑制剂和/或VEGF抑制剂组合使用Mu阿片类药物受体(MOR)拮抗剂、特别是阿西洛仑(axelopran)来治疗血管生成和癌症。

背景技术

[0004] Mu阿片类药物受体(MOR)拮抗剂通常用于治疗阿片类药物依赖和酒精依赖。它们还用于治疗与Mu阿片类药物激动剂(例如吗啡)治疗相关的副作用。其中一些副作用包括诱发的肠道功能障碍,例如在癌症患者和术后肠梗阻中。

[0005] 此外,MOR拮抗剂显示出其他有前景的用途。例如,根据摘要,WO 2016061531公开了“用于在受试者中预防或治疗肿瘤生长、肿瘤转移和/或肿瘤细胞异常增殖的方法,其中所述方法涉及施用包含甲基纳曲酮的药物组合物”。根据WO 2016061531,由于MOR拮抗剂的广泛应用和在患者中相对高的耐受性(特别是在与传统化疗相比时),MOR拮抗剂为治疗癌症提供了一个有吸引力的靶点。

[0006] 需要的是用于血管生成和癌症的额外治疗。

发明内容

[0007] 本公开涉及单独地或与PD-1/PD-L1途径抑制剂和/或VEGF抑制剂组合使用Mu阿片类药物受体(MOR)拮抗剂、特别是阿西洛仑来治疗血管生成和癌症。

[0008] 本公开的一个方面涉及使用MOR拮抗剂(例如阿西洛仑)来减少或抑制血管生成。一个实施方式涉及一种减少或抑制内皮细胞生长的方法,所述方法包括将内皮细胞与MOR拮抗剂接触。另一个实施方式涉及一种在有需要的患者中减少血管生成的方法,所述方法包括向所述患者施用MOR拮抗剂。又一个实施方式涉及一种在癌症患者中减少血管生成的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。

[0009] 本公开的另一方面涉及使用MOR拮抗剂来治疗癌症或治疗癌症的特定方面。因此,一个实施方式涉及一种通过向癌症患者施用MOR拮抗剂,在所述癌症患者中减少肿瘤生长的方法。另一个实施方式涉及一种通过向癌症患者施用MOR拮抗剂,在所述癌症患者中减少转移的方法。

[0010] 又一个实施方式涉及一种改善对肿瘤的免疫应答的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂。在某些实施方式中,所述方法增加免疫细胞例如NK细胞、淋巴细胞和/或单核细胞/巨噬细胞在所述肿瘤中的浸润。例如,所述方法增加$CD3^+$、$CD244^+$和MMD^+免疫细胞的浸润。

[0011] 在特定实施方式中,本公开涉及一种通过向癌症患者施用阿西洛仑、纳洛昔醇或

其组合来治疗癌症的方法。在一个实施方式中,所述方法减少血管生成、肿瘤生长和/或转移。或者,所述方法抑制血管生成、肿瘤生长和/或转移。在一些实施方式中,所述癌症是黑色素瘤、结肠癌、胰腺癌或乳腺癌。

[0012] 本公开还提供了使用MOR拮抗剂与检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂的组合的组合疗法。

[0013] 本公开的又一个实施方式涉及一种治疗癌症的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂。在这个实施方式中,所述MOR拮抗剂和所述检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂协同治疗所述癌症。

[0014] 本公开的又一个实施方式涉及一种改善对肿瘤的免疫应答的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂。在某些实施方式中,所述方法增加免疫细胞(例如NK细胞、淋巴细胞和/或单核细胞/巨噬细胞)在所述肿瘤中的浸润。在特定实施方式中,所述方法增加CD3+、CD244+和MMD+免疫细胞的浸润。在所述方法的实施方式中,所述MOR拮抗剂和检查点抑制剂协同改善对所述肿瘤的免疫应答。

[0015] 在一些实施方式中,本公开的方法和组合疗法对于治疗未在接受阿片类药物治疗的患者特别有用。在其他实施方式中,本公开的方法和组合疗法对于治疗正在接受阿片类药物治疗的患者特别有用。

[0016] 在所述方法和组合疗法的某些实施方式中,所述MOR拮抗剂包括阿西洛仑、纳洛昔醇、甲基纳曲酮或其组合。在特定优选实施方式中,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。在一些实施方式中,所述MOR拮抗剂不包括(即排除)甲基纳曲酮、纳曲酮和/或纳洛酮。

[0017] 在所述组合疗法的一些实施方式中,所述检查点抑制剂是PD-1/PD-L1途径抑制剂。例如,所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是抗体,例如与PD-1结合的抗体。在一些实施方式中,所述抗体是人源化抗体,例如派姆单抗。

[0018] 在组合疗法的其他实施方式中,所述VEGF抑制剂是抗VEGF抗体,例如抗VEGF-A抗体。在一个实施方式中,抗VEGF抗体是人源化的。在某些实施方式中,所述VEGF抑制剂是贝伐单抗。在所述组合疗法的特定实施方式中,所述VEGF抑制剂被静脉内注射。

[0019] 在所述方法或组合疗法中,使用了各种施用途径。在一个实施方式中,所述方法或组合疗法包括口服或皮下施用所述MOR拮抗剂。

[0020] 本公开的方法和组合疗法包括施用含有所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。在一个实施方式中,这种组合物被配制用于改良释放。

[0021] 当在组合疗法中使用时,所述检查点抑制剂与所述MOR拮抗剂同时、在所述MOR拮抗剂之前或之后施用。类似地,所述VEGF拮抗剂与所述MOR拮抗剂同时、在所述MOR拮抗剂之前或之后施用。此外,所述VEGF抑制剂与所述PD-1/PD-L1途径抑制剂同时、在所述PD-1/PD-L1途径抑制剂之前或之后施用。

[0022] 本公开的又一个实施方式涉及一种减小肿瘤尺寸的方法,所述方法包括将肿瘤与阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合接触。本公开还涉及含有MOR拮抗剂(例如阿西洛仑)和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂的试剂盒。

[0023] 从下面的详细描述和实施例,本发明的其他特征和优点将是显而易见的。

附图说明

[0024] 出于说明本发明的目的,在附图中描绘了本发明的某些实施方式。然而,本发明不限于所述附图中描绘的实施方式的精确布置和工具。

[0025] 图1A和图1B示出了在逐渐增加的MOR拮抗剂浓度(0-1000nM)存在下的HUVEC细胞管形成。将阿西洛仑与纳洛昔醇和甲基纳曲酮(MNTX)进行了比较。

[0026] 图2A和2B示出了与多西他赛相比,在鸡CAM测定法中,在逐渐增加的MOR拮抗剂(阿西洛仑)浓度(0、0.1、0.5、1.0mg/kg)存在下的血管形成。图2A示出了CAM血管生成的照片。图2B的图A)至D)示出了测试阿西洛仑、贝伐单抗和阿西洛仑+贝伐单抗对CAM血管生成的影响的图。

[0027] 图3A至3C示出了用于评估内源性MOR活性对肿瘤进展的贡献的三个模型系统的示意性概述。图3A示出了黑色素瘤模型系统的示意性概述。图3B示出了乳腺癌模型系统的示意性概述。图3C示出了结肠癌模型系统的示意性概述。

[0028] 图4A至图4C示出了在温育水中存在逐渐增加的阿西洛仑浓度的情况下,斑马鱼幼鱼存活长达72小时。图4A和图4B示出了测量存活百分率随时间的变化的图。图4C示出了暴露于溶媒、100μM阿西洛仑和500μM阿西洛仑24小时、48小时和72小时的斑马鱼幼鱼的照片。高达100μM的剂量允许存活率和病理损伤的发生水平与溶媒对照没有差异。

[0029] 图5示出了斑马鱼幼鱼发育的时间过程的示意图。

[0030] 图6A和图6B示出了在用10μM阿西洛仑(n=18)(图6A)或溶媒对照(n=32)(图6B)治疗的斑马鱼中黑色素瘤肿瘤生长尺寸(y轴)(归一化为溶媒对照的%)相比于转移数量(x轴)的代表性显示。

[0031] 图7示出了在逐渐增加的阿西洛仑浓度或检查点抑制剂派姆单抗存在下黑色素瘤肿瘤进展的概述(肿瘤尺寸x转移数量)。对于使用派姆单抗的实验而言,还注射了外源性肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。额外的对照包括单独的和与阿西洛仑(500nM)联用的TIL以及单独的和与阿西洛仑(500nM)联用的派姆单抗和TIL的效果。*=<0.05,**=<0.005,***=<0.0005。

[0032] 图8示出了在受精后48小时进行测试品暴露后72小时内斑马鱼幼鱼的死亡率。

[0033] 图9示出了在CAM测定法中肿瘤进展的示意性概述。

[0034] 图10A示出了在用下述物质治疗的CAM测定法中乳腺癌肿瘤生长尺寸(归一化为溶媒对照的%)相比于转移数量(归一化为溶媒对照的%)的代表性二维显示:阴性对照=溶媒(n=15),A=1.0mg/kg阿西洛仑(n=13),P=派姆单抗(2.5mg/kg),B=贝伐单抗(4mg/kg),或相关组合。圆圈表示两个维度的平均值+/-标准偏差。

[0035] 图10B示出了派姆单抗、阿西洛仑、贝伐单抗、阿西洛仑+贝伐单抗、派姆单抗+贝伐单抗和阿西洛仑+派姆单抗+贝伐单抗的肿瘤重量x转移。

[0036] 图11示出了在阿西洛仑、派姆单抗、贝伐单抗及其组合存在下,鸡$CD3^+$、$CD244^+$和MMD^+免疫细胞在生长在上方CAM上的乳腺癌肿瘤中的浸润。

[0037] 图12A和图12B示出了在用溶媒(对照)、阿西洛仑(1mg/kg,p.o.,每天)、小鼠抗PD-1抗体(12.5mg/kg i.p.)或阿西洛仑加抗PD-1抗体治疗的同基因小鼠中MC38结肠癌的肿瘤生长。图12A示出了肿瘤尺寸(mm^3)随治疗天数的变化。图12B示出了第13天的个体肿瘤尺寸分布。

[0038] 图13示出了注射有人结肠癌MC-38细胞并用阿西洛仑(1mg/kg)、抗PD-1抗体(2.5mg/kg)或两种药剂一起治疗的小鼠的Kaplan-Meier存活曲线。

[0039] 图14A和图14B示出了肿瘤进展的抑制。

[0040] 图14C示出了肿瘤体积的分布。

具体实施方式

[0041] 一般性描述和下面的详细描述仅仅是示例性和解释性的,并不限制如权利要求书中所定义的本发明。根据本文提供的本发明的详细描述,本发明的其他方面对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0042] 本公开是基于MOR拮抗剂(特别是阿西洛仑)可以治疗血管生成和癌症这一发现。本公开还基于下述令人惊讶的发现,即,某些MOR拮抗剂(例如阿西洛仑)当与PD-1/PD-L1途径抑制剂和/或VEGF抑制剂组合使用时,协同治疗血管生成或癌症。

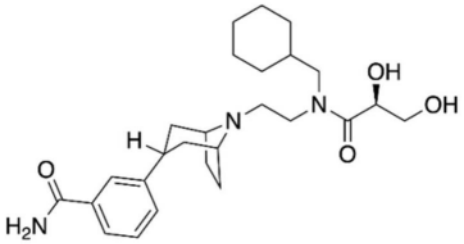
[0043] 定义

[0044] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语均具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。尽管与本文所述类似或等效的任何方法和材料可以在实践中用于本发明的测试,但本文描述了优选的材料和方法。在描述本发明和提出权利要求中,将使用下述术语。

[0045] 还应理解,本文使用的术语仅用于描述特定实施方式的目的,并不意图进行限制。

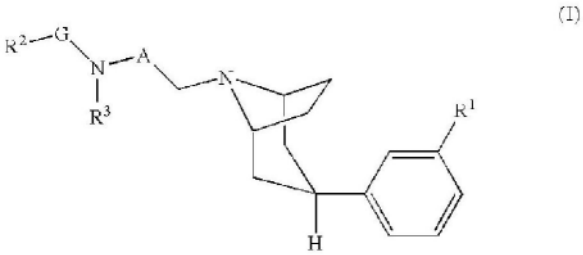
[0046] 本文所使用的术语“MOR拮抗剂”是指Mu阿片类药物受体拮抗剂。

[0047] 本文所使用的术语“阿西洛仑”包括具有下述结构的阿西洛仑:

[0048] 

[0049] 其也被称为3-[(1R,3r,5S)-8-(2-{(环己基甲基)[(2S)-2,3-二羟基丙酰基]氨基}乙基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]苯甲酰胺或3-[(3-内)-8-(2-{(环己基甲基)[(2S)-2,3-二羟基丙酰基]氨基}乙基)-8-氮杂二环[3.2.1]辛-3-基]苯甲酰胺。术语阿西洛仑还包括阿西洛仑的药学上可接受的盐和阿西洛仑的立体异构体。

[0050] 此外,术语“阿西洛仑”还包括阿西洛仑的衍生物。适合的阿西洛仑衍生物的实例公开在美国专利第7,622,508号中,其公开内容在涉及阿西洛仑衍生物时并入本文。美国专利第7,622,508号公开了具有式(I)的核心结构的化合物:

[0051] 

(I)

[0052] 术语“其盐”是指当酸的质子被阳离子(例如金属阳离子或有机阳离子等)代替时

形成的化合物。优选地,所述盐是药学上可接受的盐。例如,本发明化合物的盐包括其中所述化合物被无机或有机酸质子化以形成阳离子,而所述无机或有机酸的共轭碱作为盐的阴离子组分的盐。感兴趣的盐包括但不限于铝、铵、精氨酸、钡、苄星、钙、铯、胆酸盐、乙二胺、锂、镁、葡甲胺、普鲁卡因、N-甲基葡萄糖胺、哌嗪、钾、钠、氨丁三醇、锌、N,N′-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、乙醇胺、哌嗪、二异丙胺、二异丙基乙胺、三乙胺和三乙醇胺盐。

[0053] “立体异构体”是指具有相同原子连接性但在空间中原子排列不同的化合物。立体异构体包括例如顺反异构体、E和Z异构体、对映异构体和非对映异构体。对于本文公开的含有一个或多个取代基的任何基团,当然可以理解的是,此类基团不含任何在空间上不切实际和/或在合成上不可行的取代或取代模式。所有立体异构体均打算包含在本公开的范围之内。

[0054] 本文所使用的没有具体数目的指称用于指代一个或超过一个(即至少一个)指称物。例如,“要素”意味着一个要素或超过一个要素。

[0055] 本文所使用的术语“约”当指称可测量的值例如量、持续时间等时,意在涵盖与指定值相差±20%或±10%、更优选地±5%、甚至更优选地±1%、还更优选地±0.1%的变化,因为此类变化适合于执行所公开的方法。本领域普通技术人员可以基于所述值的上下文选择适当的变化。

[0056] 术语“生物”或“生物样品”是指从生物体或生物体的组分(例如细胞)获得的样品。生物样品可以从肿瘤细胞或肿瘤组织获得。所述样品可以是任何生物组织或流体。通常,所述样品是“临床样品”,即源自患者的样品。此类样品包括但不限于骨髓、心脏组织、痰液、血液、淋巴液、血细胞(例如白细胞)、组织或细针活检样品、尿液、腹膜液和胸膜液或其中的细胞。生物样品还可以包括组织切片,例如出于组织学目的而获取的冷冻切片。

[0057] 本文所使用的术语“包含”、“包括”、“含有”、“具有”和“特征在于”是可交换的、包容性、开放式的,并且不排除额外的未叙述的要素或方法步骤。本文中对术语“包含”的任何叙述,特别是在组合物组分的描述中或在装置元件的描述中,都应被理解为涵盖那些基本上由所叙述的组分或元件组成或由所叙述的组分或元件组成的组合物和方法。

[0058] 本文所使用的术语“由……组成”排除了在权利要求要素中未指定的任何要素、步骤或成分。

[0059] 当在本文中使用时,“组合疗法”意指第一种药剂与另一种药剂相结合施用。“组合”或“结合”是指除了一种治疗方式之外,还施用另一种治疗方式。因此,“组合”是指在向个体递送一种治疗方式之前、期间或之后施用另一种治疗方式。这种组合被认为是单一治疗方案或方案的一部分。出于本文的目的,组合疗法可以包括一种治疗方案,其包括施用各自用于治疗相同疾病或病症、例如相同肿瘤或癌症的MOR拮抗剂和检查点抑制剂。组合疗法可以包括一种治疗方案,其包括施用各自用于治疗相同疾病或病症、例如相同肿瘤或癌症的MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂。

[0060] 在本发明上下文中使用的术语“治疗”意在包括疾病或障碍的治疗性治疗以及预防或抑制措施。本文所使用的术语“治疗”和相关术语意指减少疾病状况或其至少一种症状的进展、严重程度和/或持续时间。因此,术语“治疗”是指任何可以使受试者获益的方案。所述治疗可以针对现有的病症,也可以是预防性的(预防性治疗)。治疗可以包括治愈、缓解或预防作用。本文中提及的“治疗性”和“预防性”治疗应在其最广泛的背景下考虑。术语“治疗

性”并不一定暗示受试者被治疗直至完全康复。同样,“预防性”并不一定意味着受试者最终不会患上疾病。因此,例如,术语治疗包括在疾病或病症发作之前或之后施用药剂,从而预防或消除所述疾病或病症的所有体征。作为另一个实例,在疾病的临床表现出现后施用药剂以对抗所述疾病的症状构成所述疾病的“治疗”。

[0061] 本文所使用的术语“药物组合物”是指至少一种在本发明中有用的化合物与其他化学组分例如载体、稳定剂、稀释剂、佐剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂和/或赋形剂的混合物。所述药物组合物有助于将所述化合物施用到生物体。本领域中存在多种施用化合物的技术,包括但不限于肿瘤内、静脉内、胸膜内、口服、气雾剂、胃肠外、眼部、肺部和局部施用。

[0062] “药学上可接受的载体”用语包括药学上可接受的盐、药学上可接受的材料、组合物或载体,如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料,其参与在受试者体内或向受试者运载或转运本发明的化合物(例如MOR拮抗剂和/或检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂),使得它可以发挥预期功能。通常,此类化合物从一个器官或身体的一部分运载或转运到另一个器官或身体的另一部分。每种盐或载体在与制剂的其他成分相容且对受试者无害的意义上都必须是“可接受的”。可用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:糖,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,例如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和纤维素乙酸酯;黄蓍粉;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,例如可可脂和栓剂用蜡;油,例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;二醇,例如丙二醇;多元醇,例如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇;酯,例如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,例如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原水;等渗盐水;林格氏溶液;乙醇;磷酸盐缓冲溶液;稀释剂;成粒剂;润滑剂;黏合剂;崩解剂;润湿剂;乳化剂;着色剂;脱模剂;包衣剂;甜味剂;调味剂;香料;防腐剂;抗氧化剂;增塑剂;胶凝剂;增稠剂;硬化剂;定型剂;悬浮剂;表面活性剂;保湿剂;载体;稳定剂;以及在药物制剂中使用的其他无毒性相容物质,或其任何组合。本文所使用的“药学上可接受的载体”还包括与化合物的活性相容并且对受试者而言生理上可以接受的任何和所有涂层、抗细菌剂和抗真菌剂以及吸收延迟剂等。补充活性化合物也可以掺入到所述组合物中。

[0063] 本文所使用的术语“有效量”或“治疗有效量”是指预防特定疾病状况需的或者降低疾病状况或其至少一种症状或与其相关的病症的严重程度和/或改善疾病状况或其至少一种症状或与其相关的病症的MOR拮抗剂的量。

[0064] 本文中使用的“受试者”或“患者”可以是人类或非人类哺乳动物。非人类哺乳动物包括例如牲畜和宠物,例如绵羊、牛、猪、犬、猫和海洋哺乳动物。优选地,所述受试者是人。

[0065] 范围:在整个本公开中,本发明的各个方面可以以范围格式呈现。应当理解,采取范围格式的描述仅仅是为了方便和简洁,不应被解释为对本发明范围的硬性限制。因此,范围的描述应当被认为已具体公开了该范围内所有可能的子范围以及各个数值。例如,对诸如1至6的范围的描述应当被认为已具体公开了该范围内的子范围例如1至3、1至4、1至5、2至4、2至6、3至6等,以及各个数字例如1、2、2.7、3、4、5、5.3和6。无论范围的广度如何,这都适用。

[0066] MOR拮抗剂的治疗用途

[0067] 本公开提供了Mu阿片类药物受体(MOR)拮抗剂的新治疗用途。正如下面的实施例证实的,MOR拮抗剂能够在用作例如下文列出的各种病症的模型的血管生成模型中抑制血

管生成。此外,基于所述测试,单独的或与其他治疗剂组合的MOR拮抗剂能够治疗癌症或与其相关的症状。

[0068] 因此,本公开的一个实施方式涉及一种减少或抑制内皮细胞生长的方法,所述方法包括将内皮细胞与MOR拮抗剂接触。在一个实施方式中,所述方法抑制内皮细胞生长。在另一个实施方式中,所述方法减少内皮细胞生长。

[0069] 本公开的另一个实施方式涉及在有需要的患者中减少血管生成的方法,所述方法包括向所述患者施用MOR拮抗剂。在一个实施方式中,所述方法减少血管生成。在另一个实施方式中,所述方法抑制血管生成。在一个实施方式中,所述方法减少或抑制眼部血管生成。在另一个实施方式中,所述患者患有银屑病。

[0070] 本公开的另一个实施方式涉及在有需要的患者中减少血管生成的方法,所述方法包括向患有血管生成相关疾病的患者施用MOR拮抗剂。本文所使用的“血管生成相关疾病”是与异常血管生成相关的疾病。适合的血管生成相关疾病的实例包括但不限于皮肤银屑病、类风湿性关节炎、神经变性疾病、神经性疼痛、血管瘤、胶原合成疾病例如Ehlers-Danlos综合征和门静脉高压。血管生成相关疾病的其他实例包括视网膜病变(多种病理,包括糖尿病、湿性AMD、镰状细胞视网膜病变)、银屑病、类风湿性关节炎、血管瘤、遗传性出血性毛细血管扩张症、Von Hippel-Lindau病、缺血性疾病(包括MI等)中不受控制的血管重塑、慢性肾病和动静脉瘘。

[0071] 本公开的其他实施方式涉及治疗血管生成相关疾病的方法,所述方法包括向患有血管生成相关疾病的患者施用MOR拮抗剂。此类疾病的实例是上述血管生成相关疾病。

[0072] 本公开的又一个实施方式涉及在癌症患者中减少血管生成的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。在一个实施方式中,所述方法减少血管生成。在另一个实施方式中,所述方法抑制血管生成。

[0073] 本公开的另一个实施方式涉及在癌症患者中减少肿瘤生长的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。所述方法减少或抑制肿瘤生长。

[0074] 本公开的又一个实施方式涉及在癌症患者中减少转移的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。在一个实施方式中,所述方法抑制转移。在另一个实施方式中,所述方法减少转移。

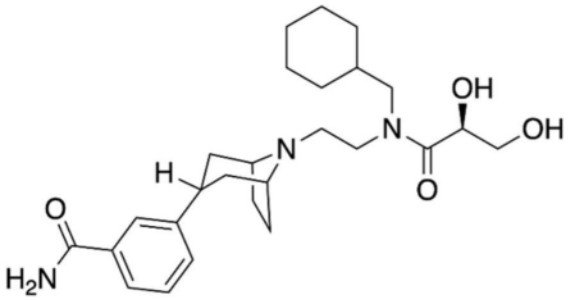
[0075] 本公开的可选实施方式涉及改善对肿瘤的免疫应答的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂。在一个实施方式中,所述方法增加免疫细胞在所述肿瘤中的浸润。在另一个实施方式中,所述方法增加NK细胞、淋巴细胞和/或单核细胞/巨噬细胞的浸润。例如,所述方法增加$CD3^+$、$CD244^+$和MMD^+免疫细胞例如$CD3^+$淋巴细胞、$CD244^+$自然杀伤细胞和MMD^+巨噬细胞的浸润。

[0076] 本公开的方法可用于各种癌症和肿瘤。在某些实施方式中,所述癌症是黑色素瘤、结肠癌或乳腺癌。在其他实施方式中,所述肿瘤是来自患有黑色素瘤、胰腺癌、结肠癌或乳腺癌的患者的肿瘤。

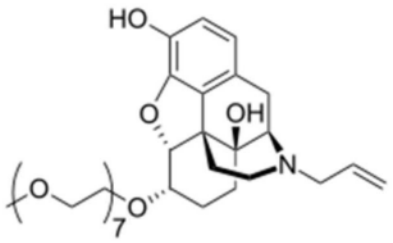
[0077] 在所述方法的优选实施方式中,所述患者未在接受阿片类药物治疗。因此,在优选实施方式中,所述方法不包括(包含)施用阿片类药物。在其他实施方式中,所述患者正在接受阿片类药物治疗。

[0078] 各种MOR拮抗剂可用于本公开的方法。例如,在一个实施方式中,Mu受体阿片类药

物(MOR)拮抗剂是阿西洛仑、纳洛昔醇、纳地美定、爱维莫潘或其组合。

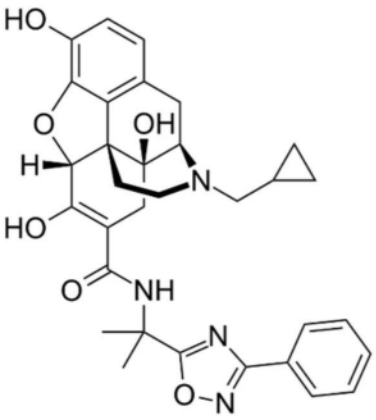


阿西洛仑

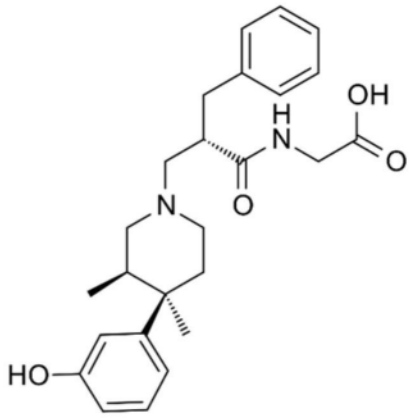


纳洛昔醇

[0079]



纳地美定



爱维莫潘

[0080] 在另一个实施方式中,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合。在优选实施方式中,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。在某些实施方式中,所述MOR拮抗剂是外周MOR拮抗剂。在一个实施方式中,所述MOR拮抗剂不包括甲基纳曲酮。在另一个实施方式中,所述MOR拮抗剂是不包括甲基纳曲酮的外周MOR拮抗剂。在另一个实施方式中,所述MOR拮抗剂不包括甲基纳曲酮、纳曲酮和/或纳洛酮。

[0081] 本公开的又一个方面涉及治疗癌症的方法,所述方法包括向癌症患者施用阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合。在一个实施方式中,所述方法包括施用阿西洛仑。在某些实施方式中,所述方法减少血管生成、肿瘤生长和/或转移。在其他实施方式中,所述方法抑制血管生成、肿瘤生长和/或转移。在其他实施方式中,所述方法改善对所述癌症的免疫应答。在可选实施方式中,所述方法排除,即不包括施用外源性阿片类药物。因此,在一些实施方式中,所述患者未在接受阿片类药物治疗。这些方法可用于治疗各种癌症。在一些实施方式中,所述癌症是黑色素瘤、结肠癌、胰腺癌或乳腺癌。

[0082] 在某些实施方式中,所述方法要求施用含有所述MOR拮抗剂(例如阿西洛仑)的药物组合物。适合的药物组合物的实例在下文描述。在一个实施方式中,所述药物组合物被配制用于改良释放。或者,所述药物组合物被配制用于改良释放、局部施用或玻璃体内注射。例如,当所述药物组合物被配制用于快速/加速释放、定点释放、受控/脉冲释放、延迟释放到下肠道或持续释放时,它被配制用于“改良释放”。

[0083] 所述方法包括通过各种途径(包括下文描述的任何施用途径)施用所述MOR拮抗剂(例如阿西洛仑)。在一个实施方式中,所述方法包括口服施用所述MOR拮抗剂。在另一个实施方式中,所述方法包括皮下施用所述MOR拮抗剂。在又一个实施方式中,所述方法包括玻

璃体内施用所述MOR拮抗剂。在可选实施方式中,所述方法包括局部施用所述MOR拮抗剂。

[0084] 在其他实施方式中,所述方法包括筛查所述患者是否存在癌症。这些实施方式包括从所述患者获取生物样品,然后测试所述样品中癌细胞的存在。

[0085] 本公开的又一个实施方式涉及减小肿瘤尺寸的方法,所述方法包括将肿瘤与阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合接触。在一个实施方式中,所述方法包括将所述肿瘤与阿西洛仑接触。

[0086] 本公开的其他实施方式涉及在制备用于治疗癌症的药物中使用MOR拮抗剂(例如阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合)。其他实施方式涉及MOR拮抗剂(例如阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合)用于治疗癌症的用途。

[0087] 组合疗法

[0088] 此外,本公开提供了组合疗法,其包括使用MOR拮抗剂与检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂的组合。在一些实施方式中,所述组合疗法用于治疗血管生成或癌症。

[0089] 当两种或三种药物作为同一疗法过程的一部分施用时,所述药物被“组合”施用到受试者。疗法过程是指被医学专业人员认为可以累加、互补、协同或以其他方式一起发挥作用的药物组合的施用,从而产生与单一药物的施用所预期的结果相比更有利的结果。疗法过程可以持续一天或几天,但更通常持续几周。

[0090] 当两种药物组合施用时,可以使用各种时间表。例如但不限于,在一种情况下,在施用药物2(例如检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂)之前首先施用药物1(例如MOR拮抗剂),并在施用药物2的整个过程中继续用药物1治疗;或者,在药物2疗法开始或完成后施用药物1;或者,首先施用药物1,同时开始另一种癌症疗法。当在这种背景下使用时,“同时”意味着所述两种药物在同一天或连续天中施用。

[0091] 尽管在原则上某些药物可以共同配制,但一般来说,它们在单独的组合物中施用。类似地,尽管某些药物可以同时施用,但更通常地(特别是对于通过输注施用的药物而言)药物在同一天的不同时间、连续天或根据另一个时间表施用。

[0092] 因此,本公开的一个实施方式涉及治疗癌症的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂(例如MOR拮抗剂与检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂(例如贝伐单抗)的组合)。在这些方法的优选实施方式中,所述MOR拮抗剂和所述检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂协同治疗所述癌症。在一个实施方式中,所述MOR拮抗剂和所述检查点抑制剂(抗PD1抗体)协同治疗癌症。一个特定实施方式是一种使用阿西洛仑和派姆单抗(一种抗PD1抗体)的协同组合来治疗癌症的方法。另一个特定实施方式是一种使用阿西洛仑、贝伐单抗(一种抗VEGF抗体)和派姆单抗(一种抗PD1抗体)的协同组合来治疗癌症的方法。在其他实施方式中,所述方法包括施用与所述检查点抑制剂组合的所述MOR拮抗剂。在可选实施方式中,所述方法包括施用与所述VEGF拮抗剂组合的所述MOR拮抗剂。

[0093] 本公开的另一个实施方式涉及改善对肿瘤的免疫应答的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂。在一些实施方式中,所述方法包括施用与检查点抑制剂组合的MOR拮抗剂。在其他实施方式中,所述方法包括施用与VEGF拮抗剂组合的MOR拮抗剂。在某些实施方式中,所述方法增加免疫细胞在所述肿瘤中的浸润。在特定实施方式中,所述方法增加NK细胞、淋巴细胞和/或单核细胞/巨噬细胞的浸润。或者,所述方法增加$CD3^+$、$CD244^+$和MMD^+免疫细胞的浸润。在某些实施方式中,所述MOR拮抗剂

和所述检查点抑制剂协同改善对所述肿瘤的免疫应答。

[0094] 可以使用各种MOR拮抗剂。在一些实施方式中,所述MOR拮抗剂包括阿西洛仑、纳洛昔醇、甲基纳曲酮或其组合。在其他实施方式中,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

[0095] 在所述组合疗法的某些特定实施方式中,所述MOR拮抗剂不包括甲基纳曲酮和/或纳洛酮。

[0096] 各种检查点抑制剂可以与所述MOR拮抗剂例如阿西洛仑组合使用。在某些实施方式中,所述检查点抑制剂是PD-1/PD-L1途径抑制剂例如抗体。在其他实施方式中,所述检查点抑制剂是CTLA-4、LAG-3、TIM-3、B7-H3、B7-H4、A2aR、NKG21、PVRIG、PVRL2、CEACAM 1、CEACAM 5、CEACAM 6、FAK、CCL2/CCR2、LIF、CD45、CSF-1、SEMA4D、CLEVER-1、OX-40、IL-1、IL-6或IL-8的抑制剂。在某些实施方式中,所述检查点抑制剂是抗体。适合的检查点抑制剂的其他实例公开在Marin-Acevedo等,J Hematol Oncol(2021)14:45中,其公开内容在涉及检查点抑制剂时并入本文。在一些实施方式中,所述检查点抑制剂是与PD-1结合的抗体,例如人源化抗体。在一个实施方式中,所述检查点抑制剂是派姆单抗。

[0097] 在所述组合疗法的某些实施方式中,所述方法包括口服或皮下施用所述MOR拮抗剂。在其他实施方式中,所述方法包括施用如上所述的包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。例如,所述方法包括施用被配制用于改良释放的药物组合物。例如,当所述药物组合物被配制用于快速/加速释放、定点释放、受控/脉冲释放、延迟释放到下肠道或持续释放时,它被配制用于“改良释放”。在使用检查点抑制剂时,所述检查点抑制剂与所述MOR拮抗剂(例如阿西洛仑)同时、在所述MOR拮抗剂之前或之后施用。

[0098] 在某些实施方式中,所述方法包括施用血管生成抑制剂。所述血管生成抑制剂可以单独地或与检查点抑制剂组合使用。在一些实施方式中,所述血管生成抑制剂是VEGF抑制剂。所述VEGF抑制剂可以单独地或与所述检查点抑制剂(例如与PD-1结合的抗体例如派姆单抗)组合使用。在一些实施方式中,所述VEGF抑制剂是抗VEGF抗体,例如抗VEGF-A抗体。在一些实施方式中,所述VEGF抑制剂是人源化抗体。所述抗体是抗VEGF-A抗体。在其他实施方式中,所述VEGF抑制剂是贝伐单抗。其他适合的VEGF抑制剂包括但不限于Ziv-阿柏西普、阿柏西普、雷珠单抗、哌加他尼或faricimab。在所述方法(组合疗法)的某些实施方式中,所述VEGF抑制剂被静脉内注射。在使用VEGF抑制剂时,所述VEGF抑制剂与所述MOR拮抗剂同时、在所述MOR拮抗剂之前或之后施用。在其他实施方式中,当与检查点抑制剂组合使用时,所述VEGF抑制剂与所述检查点抑制剂例如PD-1/PD-L1途径抑制剂同时、在所述检查点抑制剂之前或之后施用。

[0099] 在一些实施方式中,本公开涉及如上所述的MOR拮抗剂和如上所述的PD-1/PD-L1途径抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。本公开还涉及如上所述的MOR拮抗剂和如上所述的PD-1/PD-L1途径抑制剂在制备用于治疗癌症的试剂盒中的用途。此外,本公开涉及如上所述的MOR拮抗剂和如上所述的PD-1/PD-L1途径抑制剂用于治疗癌症的用途。

[0100] 在其他实施方式中,本公开涉及如上所述的MOR拮抗剂和如上所述的VEGF抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。或者,本公开涉及如上所述的MOR拮抗剂和如上所述的VEGF抑制剂用于治疗癌症的用途。此外,本公开涉及如上所述的MOR拮抗剂和如上所述的VEGF抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。此外,本公开涉及如上所述的MOR拮抗剂和如上所述的VEGF抑制剂在制备用于治疗癌症的试剂盒中的用途。

[0101] 此外,本公开涉及如上所述的MOR拮抗剂、如上所述的PD-1/PD-L1途径抑制剂和如上所述的VEGF抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。此外,本公开涉及如上所述的MOR拮抗剂、如上所述的PD-1/PD-L1途径抑制剂和如上所述的VEGF抑制剂用于治疗癌症的用途。

[0102] 此外,在一个实施方式中,本公开涉及一种组合,其包含如上所述的MOR拮抗剂(例如阿西洛仑)和如上所述的PD-1/PD-L1途径抑制剂(例如派姆单抗),用于治疗癌症的方法中,所述方法包括向有需要的受试者施用所述组合。在某些实施方式中,所述组合还包括如上所述的VEGF抑制剂(例如贝伐单抗)。

[0103] 在上述方法和用途的特定实施方式中,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑,并且所述检查点抑制剂是抗PD1抗体例如派姆单抗。在上述方法和用途的可选实施方式中,阿西洛仑和派姆单抗协同作用。在上述方法和用途的其他实施方式中,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑,所述检查点抑制剂是抗PD1抗体例如派姆单抗,并且所述VEGF抑制剂是贝伐单抗。在上述方法和用途的其他实施方式中,阿西洛仑、派姆单抗和贝伐单抗协同作用。

[0104] 组合物和药物组合物

[0105] 一个实施方式是一种组合物,其包含协同量的MOR拮抗剂和PD-1/PD-L1途径抑制剂。在所述组合物的某些实施方式中,所述MOR拮抗剂包括阿西洛仑、纳洛昔醇、甲基纳曲酮或其组合。在一个实施方式中,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是抗体,例如与PD-1结合的抗体(例如派姆单抗)。所述抗体可以是人源化的。

[0106] 在一些实施方式中,本发明涉及含有MOR拮抗剂的药物组合物,其被配置用于本文描述的方法。在一个优选实施方式中,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

[0107] 在某些实施方式中,本发明涉及包含MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂的药物组合物。在另一个实施方式中,本发明涉及包含MOR拮抗剂的药物组合物和包含检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂的独立药物组合物。

[0108] 本文提供了一种用于在有需要的受试者中治疗癌症的药物组合物。所述药物组合物包含MOR拮抗剂和药学上可接受的载体。在某些实施方式中,所述药物组合物包含检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂。

[0109] 在一个实施方式中,所述药物组合物包含阿西洛仑、派姆单抗和/或贝伐单抗。在另一个实施方式中,所述药物组合物包含阿西洛仑和派姆单抗。

[0110] 此类药物组合物采取适合于施用到受试者的形式,或者所述药物组合物可以进一步包含一种或多种药学上可接受的载体、一种或多种其他成分或这些物质的某种组合。所述药物组合物的各种组分可以以生理上可接受的盐的形式存在,例如与生理上可接受的阳离子或阴离子组合,正如在本领域中公知的。

[0111] 在本发明的方法中有用的药物组合物可以被适合地开发,用于吸入、口服、直肠、阴道、肠胃外、局部、透皮、肺部、鼻内、颊、眼部、鞘内、静脉内或其他施用途径。其他设想的制剂包括投射的纳米粒子、脂质体制剂、含有活性成分的重新密封的红细胞和基于免疫的制剂。施用途径对专业技术人员来说很容易是显而易见的,并取决于许多因素,包括所治疗的疾病的类型和严重程度、所治疗的兽类或人类患者的类型和年龄等。

[0112] 本文描述的药物组合物的制剂可以通过药理学领域中任何已知的或以后开发的方法来制备。一般来说,此类制备方法包括使所述活性成分与载体或一种或多种其他辅助

成分结合的步骤,然后,如果必要或需要,将产品成型或包装成所需的单剂量或多剂量单位。

[0113] 所述活性成分的量通常等于所述活性成分将向受试者施用的剂量或该剂量的方便的分数,例如该剂量的一半或三分之一。所述单位剂型可用于每日单次剂量或每日多次剂量中的一次(例如每天约1至4次或更多次)。当使用每日多次剂量时,每次剂量的单位剂型可以相同或不同。

[0114] 尽管本文提供的药物组合物的描述主要针对适用于人类伦理施用的药物组合物,但专业技术人员应当理解,此类组合物通常适合于施用到所有种类的动物。为了使组合物适合于施用到各种动物,对适合于施用到人类的药物组合物进行修改是众所周知的,并且通常熟练的兽医药理学家可以仅通过普通的(如果有的话)实验来设计和进行这种修改。所设想的施用本发明的药物组合物的受试者包括但不限于人和其他灵长类动物、哺乳动物,包括商业上相关的哺乳动物例如牛、猪、马、绵羊、猫和狗。在一个实施方式中,所述受试者是人或非人类哺乳动物,例如但不限于马、绵羊、牛、猪、犬、猫和鼠。在一个实施方式中,所述受试者是人。

[0115] 在一个实施方式中,所述组合物使用一种或多种药学上可接受的赋形剂或载体来配制。在一个方面,公开了一种用于在受试者中治疗癌症的药物组合物。所述药物组合物包含MOR拮抗剂。在另一个实施方式中,所述药物组合物还含有检查点抑制剂、VEGF拮抗剂或其组合。有用的药学上可接受的载体包括但不限于甘油、水、盐水、乙醇和其他药学上可接受的盐溶液,例如磷酸盐和有机酸盐。所述载体可以是溶剂或分散介质,其含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)、其适合的混合物和植物油。可以例如通过使用包衣例如卵磷脂,通过在分散系的情况下维持所需的粒径以及通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。可以通过各种抗细菌和抗真菌剂来预防微生物的作用,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等。在许多情况下,优选在所述组合物中包括等渗剂,例如糖、氯化钠或多元醇,如甘露糖醇和山梨糖醇。通过在可注射组合物中包含延迟吸收的试剂例如单硬脂酸铝或明胶,可以产生所述组合物的延长吸收。

[0116] 制剂可以与常规赋形剂,即适合于口服、肠胃外、鼻内、静脉内、皮下、肠内或本领域中已知的任何其他适合的施用方式的药学上可接受的有机或无机载体物质混合使用。所述药物制剂可以被灭菌,并且如果需要,可以与助剂例如润滑剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、用于影响渗透压的盐、缓冲剂、着色剂、调味剂和/或芳香物质等混合。在需要的情况下,它们也可以与其他活性剂例如其他镇痛剂组合。

[0117] 所述组合物可以包含以组合物的总重量计约0.005%至2.0%的防腐剂。所述防腐剂用于在暴露于环境中的污染物的情况下防止变质。根据本发明有用的防腐剂的实例包括但不限于选自苯甲醇、山梨酸、对羟基苯甲酸酯、咪唑烷脲及其组合的防腐剂。特别优选的防腐剂是约0.5%至2.0%的苯甲醇和0.05%至0.5%的山梨酸的组合。

[0118] 所述组合物可以包括抑制化合物降解的抗氧化剂和螯合剂。一些化合物的优选抗氧化剂是BHT、BHA、α-生育酚和抗坏血酸,其优选范围为所述组合物总重量的约0.01重量%至0.3重量%,更优选为在所述组合物总重量的0.03重量%至0.1重量%的范围内的BHT。优选地,所述螯合剂以所述组合物总重量的0.01重量%至0.5重量%的量存在。特别优选的螯合剂包括依地酸盐(例如依地酸二钠)和柠檬酸,其重量范围为所述组合物总重量的约

0.01％至0.20％,更优选为0.02％至0.10％。所述螯合剂可用于螯合所述组合物中可能对制剂的保质期有害的金属离子。尽管BHT和依地酸二钠分别是某些化合物的特别优选的抗氧化剂和螯合剂,但正如本领域技术人员已知的,其他适合和等效的抗氧化剂和螯合剂可以替代它们。

[0119] 本文公开的药物组合物可以与额外的治疗剂例如抗肿瘤剂(包括但不限于化学治疗剂、抗细胞增殖剂或其任何组合)组合使用。例如,在本发明中包括下述非限制性示例类别的任何常规化学治疗剂:烷化剂;亚硝基脲类;抗代谢物;抗肿瘤抗生素;植物生物碱类;紫杉烷类;激素类药物;以及各种药剂。在另一个方面,本文公开的药物组合物可以与放射疗法组合使用。

[0120] 施用/给药

[0121] 在本发明的某些实施方式中,所述MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂被同时施用。在其他实施方式中,所述检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂在施用所述MOR拮抗剂之前施用。在另一个实施方式中,所述检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂在施用MOR拮抗剂后施用。

[0122] 施用方案可能影响有效量的构成。例如,治疗性制剂可以在与癌症相关的外科干预之前或之后,或在患者被诊断患有癌症之后不久施用到所述患者。此外,可以每天或顺序施用几个分割剂量以及交错剂量,或者所述剂量可以连续输注,也可以快速浓注。此外,治疗性制剂的剂量可以根据治疗或预防形势的紧急性所示按比例增加或减少。

[0123] 所述组合物的体积可以是任何体积,并且可用于单剂量或多剂量施用,包括但不限于约0.01mL至100mL、0.1mL至100mL、1mL至100mL、10mL至100mL、0.01mL至10mL、0.1mL至10mL,1mL至10mL、0.02mL至20mL、0.05mL至5mL、0.5mL至50mL或0.5mL至5mL,均包含端点。

[0124] 本发明的组合物向患者受试者(优选为哺乳动物、更优选为人)的施用,可以使用已知的程序,以在所述受试者中有效治疗癌症的剂量和时间段进行。达到治疗效果所需的治疗性化合物的有效量可以根据各种因素而变,例如所使用的特定化合物的活性,施用时间,所述化合物的排泄速率,治疗的持续时间,与所述化合物组合使用的其他药物、化合物或材料,疾病或障碍的状态,所治疗的患者的年龄、性别、体重、状况、总体健康和既往病史等医学领域中公知的因素。可以调整给药方案以提供最佳的治疗响应。例如,可以每天施用几次分割剂量,或者可以根据治疗形势的紧急性所示按比例减少剂量。治疗性化合物的有效剂量范围的非限制性实例为约0.01至约50mg/kg体重/天。

[0125] 所述MOR拮抗剂和所述检查点抑制剂和/或VEGF受体拮抗剂可以以每天几次的频率施用到受试者,也可以不那么频繁地施用,例如每天一次、每周一次、每两周一次、每月一次或甚至以更低的频率,例如每几个月一次或甚至每年一次或更少。应当理解,在非限制性实例中,每天给药的化合物的量可以每天、每隔一天、每2天、每3天、每4天或每5天施用。例如,在每隔一天施用的情况下,可以在周一开始5mg/天的剂量,并在周三施用第一次后续的5mg/天的剂量,在周五施用第二次后续的5mg/天的剂量,依此类推。给药频率对专业技术人员来说很容易是显而易见的,并取决于许多因素,例如但不限于所治疗的疾病的类型和严重程度以及动物的类型和年龄。本发明的药物组合物中活性成分的实际剂量水平可以变化,以便获得有效实现特定患者、组合物和给药方式的所需治疗响应,而不对所述患者有毒的活性成分的量。具有本领域普通技术的医生例如医师或兽医,可以容易地确定并开出所

述药物组合物的所需有效量。例如,所述医师或兽医可以以低于实现所需治疗效果所需的水平开始给药在所述药物组合物中使用的本发明的化合物,并逐渐增加剂量,直至达到所需效果。

[0126] 在特定实施方式中,特别有利的是将所述化合物配制成单位剂型,以便于施用和剂量的均匀性。本文所使用的单位剂型是指适合作为待治疗患者的单位剂量的物理上离散的单位;每个单位含有预定量的治疗性化合物,所述量与所需的药物溶媒结合经计算可以产生所需的治疗效果。本发明的单位剂型由下述因素决定并直接取决于它们:(a)所述治疗性化合物的独特特征和待实现的特定治疗效果,和(b)混合/配制这种用于在患者中治疗癌症或其他病症的治疗性化合物在本领域中固有的局限性。

[0127] 施用途径

[0128] 本领域技术人员将认识到,尽管可以使用超过一种的途径进行施用,但特定途径可以比另一种途径提供更即时、更有效的反应。在本发明的某些实施方式中,所述MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂通过相同的施用途径施用。在其他实施方式中,所述MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂通过不同的施用途径施用。

[0129] 所公开的组合物(含有MOR拮抗剂或MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂)的施用途径包括吸入、口服、鼻、直肠、肠胃外、舌下、透皮、透黏膜(例如舌下、舌、(透)颊、(透)尿道、阴道(例如透阴道和阴道周)、(鼻内)鼻和(透)直肠)、膀胱内、肺内、十二指肠内、胃内、鞘内、皮下、肌肉内、真皮内、动脉内、静脉内、支气管内、吸入和局部施用。适合的组合物和剂型包括例如片剂、胶囊、囊片、丸剂、凝胶帽、锭剂、分散系、悬液、溶液、糖浆、颗粒剂、珠粒、透皮贴片、凝胶、粉剂、球丸、乳浆剂、含片、霜剂、糊剂、膏药、洗剂、圆盘、栓剂、用于鼻或经口施用的液体喷剂、用于吸入的干粉或气雾剂,以及用于膀胱内施用的组合物和制剂等。应当理解,在本发明中有用的制剂和组合物不限于本文描述的特定制剂和组合物。在一个实施方式中,所述MOR拮抗剂治疗和/或使用所述检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂的治疗包括选自以下的施用途径:吸入、口服、直肠、阴道、肠胃外、局部、透皮、肺部、鼻内、颊、眼部、肝内动脉、胸膜内、鞘内、肿瘤内、静脉内及其任何组合。

[0130] 试剂盒

[0131] 本发明还包括含有所述MOR拮抗剂、检查点抑制剂和/或VEGF拮抗剂的试剂盒,其中所述试剂盒用于治疗癌症。在一个实施方式中,所述试剂盒包括包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。在一个实施方式中,所述试剂盒包括包含Mu受体拮抗剂(例如阿西洛仑)和检查点抑制剂(例如派姆单抗)的药物组合物。在某些实施方式中,所述药物组合物还含有VEGF抑制剂。所述药物组合物可以被配制用于改良释放、局部施用或玻璃体内注射。

[0132] 在一个实施方式中,所述试剂盒包括包含Mu受体拮抗剂(例如阿西洛仑)和检查点抑制剂(例如派姆单抗)的药物组合物。所述试剂盒还包括包含所述VEGF抑制剂(例如派姆单抗)的独立药物组合物。

[0133] 实施例

[0134] 现在参考下述实施例描述本发明。提供这些实施例仅用于说明的目的,并且本发明绝不应被解释为限于这些实施例,而应被解释为涵盖因为本文提供的教导而变得明显的任何和所有变化。

[0135] 无需进一步描述,相信本领域普通技术人员可以使用前面的描述和下面的说明性实施例来制造和利用本发明的化合物,并实践所要求保护的方法。因此,下述工作例具体指出了本发明的优选实施方式,并且不应被解释为以任何方式限制本公开的其余部分。

[0136] 实施例1-MOR拮抗剂对血管生成的影响

[0137] 使用了两个独立的模型系统来探索MOR和内源性阿片类药物对血管生成的作用。培养物中的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)当在适合的细胞外基质上培养时,通过管形成而引发血管生成。在活体系统中,鸡蛋绒毛尿囊膜测定法(CAM)允许直接观察新血管形成。

[0138] 具体而言,在不同剂量(0-1000nM)的三种不同的Mu阿片类药物受体拮抗剂(阿西洛仑、纳洛昔醇和甲基纳曲酮(MNTX))存在下评估了HUVEC细胞的管形成。对于该测试而言,将HUVEC细胞暴露于各种MOR拮抗剂浓度,并在下述条件下温育:简而言之,将50μL基质胶装载到96孔板中,以制备一层细胞外基质。将板在37℃下保持1小时。将HUVEC细胞接种在基质胶顶上(0.02x 10^6个细胞/孔),并等待4小时以形成管形成。四小时后,观察板的管形成。一旦管形成,将细胞用逐渐增加的量的测试化合物(阿西洛仑、纳洛昔醇和MNTX)处理,并温育18小时。用钙黄绿素AM对细胞进行染色并获取图像。使用NIH imageJ软件进行数据分析。测量管长度并使用prism软件将数据作图。测试结果示出在图1A和图1B中。

[0139] 此外,进行了鸡蛋绒毛尿囊膜测定,以在存在逐渐增加的MOR拮抗剂(阿西洛仑)浓度(0、0.1、0.5、1.0mg/kg)下确定血管形成。多西他赛被用作对照。为了进行所述测试,将CAM膜在MOR拮抗剂或多西他赛存在下在下述条件下温育:将受精的白来航鸡蛋在37.5℃和50%相对湿度下温育9天。此时(E9),通过在蛋壳上钻一个小孔进入气囊将CAM放下,并在CAM上方的蛋壳中切出1cm的窗口。每组移植至少20个蛋(取决于发育9天后的胚胎存活率,每组可能存在超过20个蛋)。将MDA-MB-231肿瘤细胞系在补充有10% FBS和1%青霉素/链霉素的D-MEM培养基中培养。在E9天,用胰蛋白酶拆分细胞,用完全培养基洗涤并悬浮在移植物培养基中。将1x 10^6个细胞的接种物添加到每个蛋的CAM上(E9),然后将蛋随机分组。在E16天,拍摄上方CAM(具有肿瘤)的照片(每组n=8)。对到达肿瘤并滋养肿瘤增殖的血管数量进行一式三份计数,以评估肿瘤血管生成。对每组8个蛋进行肿瘤血管计数。该测试的结果示出在图2A和图2B中。

[0140] 使用这两种测定法,本实施例中的测试表明,在没有外源阿片类药物的情况下,阿西洛仑、纳洛昔醇和甲基纳曲酮抑制血管生成。相比之下,Feng等人观察到“在暴露于吗啡和纳洛酮的人微血管内皮细胞中也观察到我们的发现,即[MOR拮抗剂]纳洛酮既不拮抗阿片类药物诱导的血管生成,本身也不诱导血管生成。”Feng等,BMC Anesthesiol(2021),21:257,第9-10页。

[0141] 根据Goel等人,“鉴于细胞外基质的缺氧、炎症和失调都会导致血管形态和功能异常,因此血管系统的扭曲和‘异常’在许多其他非恶性疾病中也被报道就不足为奇了。这些疾病包括皮肤银屑病、类风湿性关节炎、神经变性疾病和神经性疼痛模型、血管瘤、胶原合成疾病例如Ehlers-Danlos综合征和门静脉高压。”Goel等,Physiol Rev.2011July;91(3):1071-1121。因此,本实施例中的测试证实了MOR拮抗剂能够治疗涉及血管生成的各种疾病。

[0142] 实施例2-MOR拮抗剂对肿瘤进展的影响

[0143] 选择了三个独特的模型系统来研究内源性MOR活性与肿瘤进展的相关性。每个系统允许研究宿主-肿瘤相互作用的不同方面(图3A-3C)。

[0144] 斑马鱼幼鱼(图3A)允许使用荧光标记的肿瘤细胞直接观察注射的肿瘤细胞的生长和转移(统称为肿瘤进展)。在这个发育阶段,斑马鱼的免疫系统和肠道微生物组都不成熟或缺乏。外源性肿瘤浸润淋巴细胞(ex-TIL)的共注射允许在没有微生物组的情况下单独研究免疫监视。

[0145] 鸡蛋绒毛尿囊膜测定法(图3B)允许在存在活性内源性免疫监视的情况下,但同样在没有活跃的肠道微生物组的情况下研究注射的肿瘤细胞的肿瘤进展。

[0146] 同基因小鼠模型测定法(图3B)允许一种完整的系统,其中在内源性免疫监视和活性肠道微生物组的存在下对肿瘤进展进行量化。

[0147] 斑马鱼幼鱼

[0148] 首先测试了MOR拮抗剂阿西洛仑对斑马鱼发育的毒性,以确保在不干扰正常鱼类个体发育的范围内研究剂量。将转基因Tg(fli1:EGFP)y1斑马鱼胚胎用于这些研究。该测试的结果示出在图4A和图4B中,其显示了在温育水中存在逐渐增加的阿西洛仑浓度的情况下,斑马鱼幼鱼存活长达72小时。图4A和图4B示出了测量存活百分率随时间的变化的图。图4C示出了暴露于溶媒、100μM阿西洛仑和500μM阿西洛仑24小时、48小时和72小时的斑马鱼幼鱼的照片。高达100μM的剂量允许存活率和病理损伤的发生水平与溶媒对照没有差异。

[0149] 因此,所述毒性筛查测试表明,在幼鱼的温育水中高达100μM阿西洛仑的剂量不导致幼鱼死亡,并显示出有限的异常病理。根据所述毒性筛查,为进行肿瘤进展分析,使用了高达10μM的剂量。

[0150] 在确立了研究阿西洛仑的适合剂量后,进行了肿瘤进展分析。肿瘤进展分析的总体方案示出在图5中。具体而言,图5示出了斑马鱼幼鱼发育的时间过程的示意图。

[0151] 所述毒性筛查期覆盖了发育的前72小时。使用M-001黑色素瘤细胞和匹配的TIL进行阿西洛仑的疗效评估。将两日龄斑马鱼胚胎皮下注射到具有约700个用Dil红荧光染料标记的M-001细胞的卵周隙中,并静脉内注射含有或不含派姆单抗抗体的TIL。同时,将MOR拮抗剂试验剂量加入到水中。在进一步发育另外72小时后,测定所述鱼的肿瘤生长(原始肿瘤植入物的尺寸)和植入后三天扩散到远端尾静脉丛(CVP)的转移。

[0152] 该测试的结果示出在图6A、图6B、图7和图8以及表2-1中。图6A和图6B示出了在用10μM阿西洛仑(n=18)(图6A)或溶媒对照(n=32)(图6B)治疗的斑马鱼中黑色素瘤肿瘤生长尺寸(y轴)(归一化为溶媒对照的%)相比于转移数量(x轴)的代表性显示。正如从图6A和图6B明显看出的,暴露于10μM阿西洛仑显著减少了转移,表明在该模型中阿西洛仑有效治疗癌症。

[0153] 重复上述测试,研究了单独的各种剂量的阿西洛仑(0、50nM、100nM、500nM和1000nM)、单独的派姆单抗或派姆单抗与阿西洛仑的组合的效果。该测试的结果示出在图7中,其描绘了在逐渐增加的阿西洛仑浓度或检查点抑制剂派姆单抗存在下黑色素瘤肿瘤进展的概述(肿瘤尺寸x转移数量)。对于使用派姆单抗的实验而言,还注射了外源性肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。额外的对照包括单独的和与阿西洛仑(500nM)联用的TIL以及单独的和与阿西洛仑(500nM)联用的派姆单抗和TIL的效果。*=<0.05,**=<0.005,***=<0.0005。所述测试也被概述在下面的表2-1中。

[0154]

表 2-1：在生长 72 小时后斑马鱼幼鱼中的黑色素瘤肿瘤进展指数（肿瘤尺寸 x 转移）。阿西洛仑剂量响应和与派姆单抗（Pembro）的组合。

		阿西洛仑（nM）				Pembro +TILS	Pembro +TILS	+TILS	+TILS
	溶媒	100	500	1000	10000	-	500 nM	-	500 nM
平均值	6.34	5.71	3.62	1.85	2.41	3.89	2.73	4.83	3.52
StDev	4.36	6.63	5.00	1.77	1.09	3.58	2.14	7.66	2.71
N	35	15	36	17	18	7	14	9	16
P 值		n.s.	0.033	0.0004	0.0011	n.s.	0.0098	n.s.	0.0394

[0155] 对于调查组合疗法的研究而言,还调查了斑马鱼幼鱼的死亡率。尽管单独使用阿西洛仑时没有观察到显著的死亡率,但在外源性TIL和TIL加派姆单抗存在下死亡率显著提高(至63％),而阿西洛仑在与与TIL和TIL加派姆单抗一起添加时,显著降低了这一死亡率(图8)。鸡蛋-绒毛尿囊膜(CAM)测定法

[0156] 在鸡蛋绒毛尿囊膜测定法中评估乳腺癌细胞肿瘤进展。实验时序示出在下面的图9中。将受精鸡蛋温育9天。将MDA-MB-231肿瘤细胞系在补充有10％ FBS和1％青霉素/链霉素的D-MEM培养基中培养。在E9天,用胰蛋白酶拆分细胞,用完全培养基洗涤并悬浮在移植物培养基中。将1x 10^6个细胞的接种物添加到每个蛋的CAM上(E9),然后将蛋随机分组。然后将肿瘤细胞(乳腺癌MDA-MB231细胞(10^6))接种在上方CAM上,并进一步温育3天。然后将测试药剂以选定的浓度添加到同一部位。在进一步温育五天后,切下生长的肿瘤,除去CAM组织并称重。收获下方CAM的可比区域,并通过定量PCR筛查人类Alu序列,以测量从上方CAM迁移到下方CAM的人类细胞的相对转移值。

[0157] 对于该测试而言,将鸡蛋用下述药剂治疗:阿西洛仑;派姆单抗(Pembro);阿西洛仑+派姆单抗;贝伐单抗(Beva);阿西洛仑+贝伐单抗;派姆单抗+贝伐单抗;以及阿西洛仑+派姆单抗+贝伐单抗。阿西洛仑以1.0mg/kg的剂量使用;派姆单抗以2.5mg/kg的剂量使用;贝伐单抗以4mg/kg的剂量使用。该测试的结果示出在图10A、10B、11和表2-2中。

[0158] 图10A中示出了在用下述药剂治疗的CAM测定法中乳腺癌肿瘤生长尺寸(归一化为溶媒对照的％)相比于转移数量(归一化为溶媒对照的％)的代表性二维显示:阴性对照＝溶媒(n＝15),A＝1.0mg/kg阿西洛仑(n＝13),P＝派姆单抗(2.5mg/kg),B＝贝伐单抗(4mg/kg),或相关组合。圆圈表示两个维度的平均值±标准偏差。

[0159] 图10B中示出了派姆单抗、阿西洛仑、贝伐单抗、阿西洛仑+贝伐单抗、派姆单抗+贝伐单抗和阿西洛仑+派姆单抗+贝伐单抗的肿瘤重量x转移。

[0160]

表 2-2：在上方 CAM 中生长 5 天后 CAM 模型中的乳腺癌肿瘤进展指数（肿瘤尺寸 x 转移）。对于肿瘤尺寸和转移这两者，数据被归一化阴性对照的分数。

组描述	阴性对照	Pembro	阿西洛仑 1mg/kg	阿西洛仑 +Pembro	Beva	阿西洛仑 +Beva	Pembro + Beva	阿西洛仑 + Pembro + Beva
平均值	1.08	0.54	0.63	0.54	0.28	0.40	0.13	0.06
SD	0.76	0.31	0.32	0.34	0.09	0.16	0.08	0.09
N	16	8	16	7	7	6	8	8
P 值	相比于阴性对照	0.071	0.039	0.090	0.012	0.046	0.002	0.001

[0161] 宿主免疫细胞浸润到肿瘤环境中是宿主肿瘤进展减少所必需的。在E18收集的肿瘤中，在肿瘤称重后，将每组10个肿瘤(n＝10)用于RNA提取，分为6组(组1、2、3、4、7和8)。之后，使用鸡CD3、MMD和CD244序列的特异性引物，通过RT-qPCR分析提取的RNA。对于在qPCR中进行的所有点，还分析了人GAPDH的表达作为参比基因表达，并用于归一化样品之间的免疫生物标志物表达。每个样品的Cq、每组的平均Cq和免疫细胞的相对量的计算由Bio-Rad CFX Maestro软件直接管理(参见图11)。

[0162] 图11中示出了在阿西洛仑、派姆单抗、贝伐单抗及其组合存在下，鸡$CD3^+$、$CD244^+$和MMD^+免疫细胞在生长在上方CAM上的乳腺癌肿瘤中的浸润。在所有情况下，当在贝伐单抗和派姆单抗存在下使用时，阿西洛仑协同增强$CD3^+$淋巴细胞、$CD244^+$自然杀伤细胞和MMD^+巨噬细胞在肿瘤组织中的浸润。

[0163] 同基因小鼠加结肠癌

[0164] 在没有肠道微生物组的模型中研究了单独的或与抗PD1拮抗剂(Pembro)组合的阿西洛仑的效果后，在具有微生物组的模型中对单独的或与抗PD1拮抗剂组合的阿西洛仑的影响进行了进一步研究。

[0165] 在植入前将小鼠结肠癌(MC38)细胞在体外扩增。在注射当天收获细胞，计数包含台盼蓝活性染料的细胞(截止80％)，并以适当浓度重新悬浮在PBS中。在收获后30分钟内，将细胞以5.10^6个细胞/小鼠的量在200μL PBS中皮下注射到5周龄(18-22gm体重)雌性小鼠(C57BL6)的右胁中。在肿瘤生长15-18天后，将小鼠随机分为治疗组，每组10只动物。每周对动物称重三次，并使用卡尺测量肿瘤生长。通过计算两次测量的平均半径，使用下面示出的公式将肿瘤体积(TV)外推到球体：

[0166] $$TV = \frac{4}{3}\pi r^3$$

[0167] 这些研究的结果示出在图12A、12B、13以及表2-3中。图12A和12B中示出了用MOR拮抗剂阿西洛仑、小鼠抗PD-1抗体或两种治疗的组合治疗的动物中的肿瘤生长曲线。图12A和图12B示出了在用溶媒(对照)、阿西洛仑(1mg/kg，p.o.，每天)、小鼠抗PD-1抗体(12.5mg/kg，i.p.，每周三次)或阿西洛仑加抗PD-1抗体治疗的同基因小鼠中MC38结肠癌的肿瘤生长。图12A示出了肿瘤尺寸(mm^3)随治疗天数的变化。图12B示出了第13天的个体肿瘤尺寸分

布。

[0168] 图13中示出了注射有人结肠癌MC-38细胞并用阿西洛仑(1mg/kg)、抗PD-1抗体(2.5mg/kg)或两种药剂一起治疗的小鼠的Kaplan-Meier存活曲线。

[0169] 在治疗的第13天,阿西洛仑和抗PD-1抗体两者都单独地导致肿瘤进展在数字上减慢(10-16%)(尽管不是统计显著的),而两种药剂的组合使肿瘤尺寸显著减小53%。这些效果反映在治疗最初8天的平均生长率中(表2-3)。与肿瘤进展减小相关的是,存活期从溶媒治疗的对照动物中的12.5天增加到用阿西洛仑+抗PD-1抗体治疗的动物中的20.5天,增加了64%。

[0170]

表 2-3:在右胁中注射有结肠癌 MC-38 细胞并用阿西洛仑、抗 PD-1 抗体或阿西洛仑+抗 PD-1 抗体治疗的小鼠的肿瘤进展和存活指标的概述。

		溶媒对照	阿西洛仑	抗 PD-1 抗体	阿西洛仑+抗 PD-1 抗体
第 13 天的肿瘤尺寸(mm^3)	平均值	1,626	1,479	1,376	766
	St Dev	494	561	529	507
	相比于对照的 P 值		n.s	n.s	0.001
生长速率(mm^3/天)	平均值	92.5	84.5	77.7	46.3
	St Dev	46.5	47.7	34.7	44.4
	相比于对照的 P 值		n.s.	n.s.	0.035
存活期(天)	中值	12.5	13.0	15.0	20.5
	相比于对照的 P 值		n.s.	n.s.	0.0018

[0171] 本实施例中的测试证实,在不存在外源性阿片类药物的情况下,MOR拮抗剂阿西洛仑在至少黑色素瘤或乳腺癌中抑制肿瘤生长。所述测试进一步确定,在不存在外源性阿片类药物的情况下,阿西洛仑在至少黑色素瘤或乳腺癌中抑制转移。此外,所述测试确定,在不存在微生物组的情况下,阿西洛仑的MOR拮抗剂活性与抗PD-1抗体治疗是累加的。此外,所述测试确定,在存在微生物组的情况下,在至少结肠癌中阿西洛仑的MOR拮抗剂活性与抗PD-1抗体治疗是协同的。

[0172] 同基因小鼠加胰腺癌

[0173] 在植入前,将维持在补充有10% FBS和2mmol/L L-谷氨酰胺的RPMI 1640培养基中的小鼠胰腺肿瘤细胞(PANO2细胞)在体外扩增。在注射当天收获细胞,计数包含台盼蓝活性染料的细胞(截止80%),并以适当浓度重新悬浮在PBS中。在收获后30分钟内,将细胞($5x10^6$个,在200μL PBS中)皮下注射到5周龄(18-22gm体重)雌性小鼠(C57BL6)的右胁中。在肿瘤生长9天后,将小鼠随机分为治疗组,每组10只动物。治疗包括溶媒(PBS)、每天p.o.

给药的1mg/kg阿西洛仑、每周3次i.p.给药的12.5mg/kg小鼠抗PD-1抗体以及阿西洛仑+小鼠抗PD-1抗体。如前对结肠癌实验所述,每周对动物称重三次,并使用卡尺测量肿瘤生长。结果示出在图14A-14C中。正如在第23天测量的,肿瘤进展的抑制在阿西洛仑治疗的小鼠中最为明显(图14A、B),并且当在抗PD-1抗体存在下使用阿西洛仑时也如此显著。如图14C中所示,与未用阿西洛仑治疗的动物相比,在用阿西洛仑治疗的动物中肿瘤体积分布更低且更均匀。

[0174] 说明性实施方式

[0175] 本文提供了所公开的技术的说明性实施方式。这些实施方式仅仅是说明性的,并不限制本公开或权利要求的范围。

[0176] 实施方式1.一种减少或抑制内皮细胞生长的方法,所述方法包括将内皮细胞与Mu阿片类药物受体(MOR)拮抗剂接触。

[0177] 实施方式2.根据实施方式1所述的方法,其中所述方法抑制内皮细胞生长。

[0178] 实施方式3.一种在有需要的患者中减少血管生成的方法,所述方法包括向所述患者施用MOR拮抗剂。

[0179] 实施方式4.根据实施方式3所述的方法,其中所述方法抑制血管生成。

[0180] 实施方式5.根据实施方式3或4所述的方法,其中所述方法减少或抑制眼部血管生成。

[0181] 实施方式6.根据实施方式3或4所述的方法,其中所述患者患有银屑病。

[0182] 实施方式7.一种在癌症患者中减少血管生成的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。

[0183] 实施方式8.根据实施方式7所述的方法,其中所述方法抑制血管生成。

[0184] 实施方式9.一种在癌症患者中减少肿瘤生长的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。

[0185] 实施方式10.根据实施方式9所述的方法,其中所述方法抑制肿瘤生长。

[0186] 实施方式11.一种在癌症患者中减少转移的方法,所述方法包括向所述癌症患者施用MOR拮抗剂。

[0187] 实施方式12.根据实施方式11所述的方法,其中所述方法抑制转移。

[0188] 实施方式13.一种改善对肿瘤的免疫应答的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂。

[0189] 实施方式14.根据实施方式13所述的方法,其中所述方法增加免疫细胞在所述肿瘤中的浸润。

[0190] 实施方式15.根据实施方式13所述的方法,其中所述方法增加NK细胞、淋巴细胞和/或单核细胞/巨噬细胞的浸润。

[0191] 实施方式16.根据实施方式13所述的方法,其中所述方法增加$CD3^+$、$CD244^+$和MMD^+免疫细胞的浸润。

[0192] 实施方式17.根据实施方式1-16中任一项所述的方法,其中所述癌症是黑色素瘤、结肠癌、胰腺癌或乳腺癌。

[0193] 实施方式18.根据实施方式1-17中任一项所述的方法,其中所述患者未在接受阿片类药物治疗。

[0194] 实施方式19.根据实施方式1-18中任一项所述的方法,其中所述方法不包括施用阿片类药物。

[0195] 实施方式20.根据实施方式1-19中任一项所述的方法,其中所述MOR拮抗剂不包括甲基纳曲酮。

[0196] 实施方式21.根据实施方式1-20中任一项所述的方法,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑、纳洛昔醇、纳地美定、爱维莫潘或其组合。

[0197] 实施方式22.根据实施方式21所述的方法,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

[0198] 实施方式23.根据实施方式1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括口服施用所述MOR拮抗剂。

[0199] 实施方式24.根据实施方式1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括皮下施用所述MOR拮抗剂。

[0200] 实施方式25.根据实施方式1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括玻璃体内施用所述MOR拮抗剂。

[0201] 实施方式26.根据实施方式1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括局部施用所述MOR拮抗剂。

[0202] 实施方式27.根据实施方式1-23中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0203] 实施方式28.根据实施方式19所述的方法,其中所述药物组合物被配制用于改良释放。

[0204] 实施方式29.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向癌症患者施用阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合。

[0205] 实施方式30.根据实施方式29所述的方法,其中所述方法包括施用阿西洛仑。

[0206] 实施方式31.根据实施方式29或30所述的方法,其中所述方法减少血管生成、肿瘤生长和/或转移。

[0207] 实施方式32.根据实施方式32所述的方法,其中所述方法抑制血管生成、肿瘤生长和/或转移。

[0208] 实施方式33.根据实施方式29-32中任一项所述的方法,其中所述方法不包括施用外源阿片类药物。

[0209] 实施方式34.根据实施方式29-32中任一项所述的方法,其中所述患者未在接受阿片类药物治疗。

[0210] 实施方式35.根据实施方式29-32中任一项所述的方法,其中所述癌症是黑色素瘤、结肠癌、胰腺癌或乳腺癌。

[0211] 实施方式36.根据实施方式29-35中任一项所述的方法,其中所述方法包括口服施用所述MOR拮抗剂。

[0212] 实施方式37.根据实施方式29-35中任一项所述的方法,其中所述方法包括皮下施用所述MOR拮抗剂。

[0213] 实施方式38.根据实施方式29-35中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0214] 实施方式39.根据实施方式38所述的方法,其中所述药物组合物被配制用于改良

释放、局部施用或玻璃体内注射。

[0215] 实施方式40.根据实施方式7-39中任一项所述的方法,其中所述癌症用检查点抑制剂难治。

[0216] 根据实施方式1-40中任一项所述的方法还可以包括施用检查点抑制剂和/或血管生成抑制剂例如VEGF抑制剂。

[0217] 实施方式41.一种减小肿瘤尺寸的方法,所述方法包括将肿瘤与阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合接触。

[0218] 实施方式42.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂。

[0219] 实施方式43.根据实施方式42所述的方法,其中所述MOR拮抗剂和所述检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂协同治疗所述癌症。

[0220] 实施方式44.一种改善对肿瘤的免疫应答的方法,所述方法包括向癌症患者施用MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂。

[0221] 实施方式45.根据实施方式44所述的方法,其中所述方法增加免疫细胞在所述肿瘤中的浸润。

[0222] 实施方式46.根据实施方式45所述的方法,其中所述方法增加NK细胞、淋巴细胞和/或单核细胞/巨噬细胞的浸润。

[0223] 实施方式47.根据实施方式45所述的方法,其中所述方法增加$CD3^+$、$CD244^+$和MMD^+免疫细胞的浸润。

[0224] 实施方式48.根据实施方式45所述的方法,其中所述MOR拮抗剂和所述检查点抑制剂协同改善对所述肿瘤的免疫应答。

[0225] 实施方式49.根据实施方式42-49中任一项所述的方法,其中所述MOR拮抗剂包括阿西洛仑、纳洛昔醇、甲基纳曲酮或其组合。

[0226] 实施方式50.根据实施方式49所述的方法,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

[0227] 实施方式51.根据实施方式42-50中任一项所述的方法,其中所述检查点抑制剂是PD-1/PD-L1途径抑制剂。

[0228] 实施方式52.根据实施方式51所述的方法,其中所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是抗体。

[0229] 实施方式53.根据实施方式52所述的方法,其中所述抗体是与PD-1结合的抗体。

[0230] 实施方式54.根据实施方式53所述的方法,其中所述抗体是人源化抗体。

[0231] 实施方式55.根据实施方式53所述的方法,其中所述人类抗体是派姆单抗。

[0232] 实施方式56.根据实施方式42-55中任一项所述的方法,其中所述方法包括口服或皮下施用所述MOR拮抗剂。

[0233] 实施方式57.根据实施方式42-56中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0234] 实施方式58.根据实施方式57所述的方法,其中所述药物组合物被配制用于改良释放。

[0235] 实施方式59.根据实施方式42-58中任一项所述的方法,其中所述检查点抑制剂与所述MOR拮抗剂同时、在所述MOR拮抗剂之前或之后施用。

[0236] 实施方式60.根据实施方式42-59中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用检查点抑制剂。

[0237] 实施方式61.根据实施方式42-60中任一项所述的方法,其中所述方法包括施用VEGF抑制剂。

[0238] 实施方式62.根据实施方式42-60中任一项所述的方法,其中所述VEGF抑制剂是抗VEGF抗体。

[0239] 实施方式63.根据实施方式62所述的方法,其中所述抗体是人源化的。

[0240] 实施方式64.根据实施方式62或63所述的方法,其中所述抗体是抗VEGF-A抗体。

[0241] 实施方式65.根据实施方式61-64中任一项所述的方法,其中所述VEGF抑制剂是贝伐单抗。

[0242] 实施方式66.根据实施方式61-65中任一项所述的方法,所述方法包括静脉内注射所述VEGF抑制剂。

[0243] 实施方式67.根据实施方式61-66中任一项所述的方法,其中所述VEGF抑制剂与所述MOR拮抗剂同时、在所述MOR拮抗剂之前或之后施用。

[0244] 实施方式68.根据实施方式61-67中任一项所述的方法,其中所述VEGF抑制剂与所述检查点抑制剂同时、在所述检查点抑制剂之前或之后施用。

[0245] 实施方式69.一种试剂盒,其包含MOR拮抗剂和检查点抑制剂和/或VEGF抑制剂。

[0246] 实施方式70.根据实施方式69所述的试剂盒,其中所述检查点抑制剂是PD-1/PD-L1途径抑制剂。

[0247] 实施方式71.根据实施方式69所述的试剂盒,其中所述试剂盒含有包含所述MOR拮抗剂和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0248] 实施方式72.根据实施方式71所述的试剂盒,其中所述药物组合物还包含VEGF抑制剂。

[0249] 实施方式73.根据实施方式71或72所述的试剂盒,其中所述药物组合物被配制用于改良释放、局部施用或玻璃体内注射。

[0250] 实施方式74.一种组合物,其包含协同量的MOR拮抗剂和PD-1/PD-L1途径抑制剂。

[0251] 实施方式75.根据实施方式74所述的组合物,其中所述MOR拮抗剂包含阿西洛仑、纳洛昔醇、甲基纳曲酮或其组合。

[0252] 实施方式76.根据实施方式74所述的组合物,所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

[0253] 实施方式77.根据实施方式74-76中任一项所述的组合物,其中所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是抗体。

[0254] 实施方式78.根据实施方式74-77中任一项所述的组合物,其中所述抗体是与PD-1结合的抗体。

[0255] 实施方式79.根据实施方式78所述的组合物,其中所述抗体是人源化抗体。

[0256] 实施方式80.根据实施方式79所述的方法,其中所述人类抗体是派姆单抗。

[0257] 实施方式81.阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0258] 实施方式82.阿西洛仑、纳洛昔醇或其组合用于治疗癌症的用途。

[0259] 实施方式83.MOR拮抗剂和PD-1/PD-L1途径抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0260] 实施方式84.MOR拮抗剂和PD-1/PD-L1途径抑制剂用于治疗癌症的用途。

[0261] 实施方式85.MOR拮抗剂和VEGF抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0262] 实施方式86.MOR拮抗剂和VEGF抑制剂用于治疗癌症的用途。

[0263] 实施方式87.MOR拮抗剂、PD-1/PD-L1途径抑制剂和VEGF抑制剂在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0264] 实施方式88.MOR拮抗剂、PD-1/PD-L1途径抑制剂和VEGF抑制剂用于治疗癌症的用途。

[0265] 实施方式89.根据实施方式85-88中任一项所述的用途,其中所述VEGF抑制剂是抗VEGF-A抗体。

[0266] 实施方式90.根据实施方式89所述的用途,其中所述VEGF抑制剂是贝伐单抗。

[0267] 实施方式91.根据实施方式83-90中任一项所述的用途,其中所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是抗体。

[0268] 实施方式92.根据实施方式83-91中任一项所述的用途,其中所述抗体是与PD-1结合的抗体。

[0269] 实施方式93.根据实施方式92所述的用途,其中所述抗体是人源化抗体。

[0270] 实施方式94.根据实施方式93所述的用途,其中所述人类抗体是派姆单抗。

[0271] 实施方式95.MOR拮抗剂用于在正经历抑制PD-1/PD-L1途径的疗法的患者中治疗癌症的用途。

[0272] 实施方式96.根据实施方式83-95中任一项所述的用途,其中所述MOR拮抗剂包括阿西洛仑、纳洛昔醇、甲基纳曲酮或其组合。

[0273] 实施方式97.根据实施方式96所述的用途,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

[0274] 实施方式98.一种组合,其包含MOR拮抗剂和PD-1/PD-L1途径抑制剂,用于治疗癌症的方法中,所述方法包括向有需要的受试者施用所述组合。

[0275] 实施方式99.根据实施方式98所述的组合,其中所述MOR拮抗剂是阿西洛仑。

[0276] 实施方式100.根据实施方式98或99所述的组合,其中所述PD-1/PD-L1途径抑制剂是派姆单抗。

[0277] 实施方式101.根据实施方式98或99所述的组合,其中所述组合还包含VEGF抑制剂。

[0278] 根据实施方式98-101中任一项所述的组合,其中所述VEGF抑制剂是贝伐单抗。本文中引用或描述的每项专利、专利申请和出版物的公开内容均为所有目的各自整体通过引用并入本文。

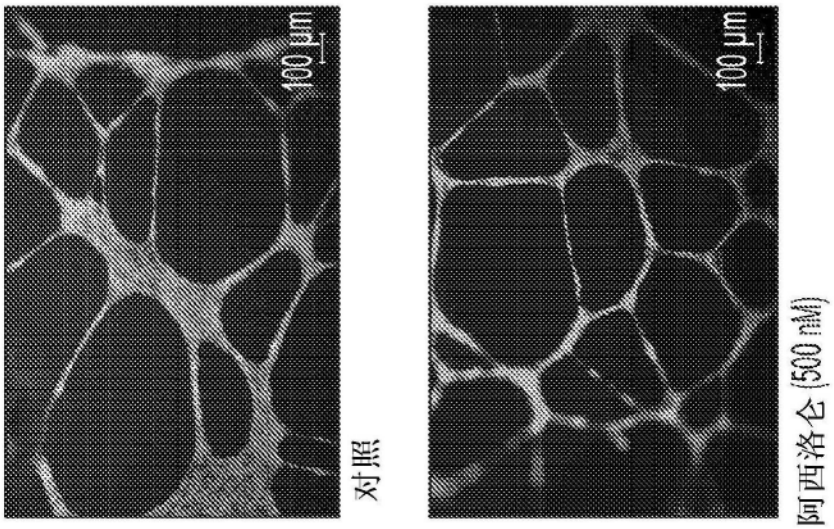


图1A

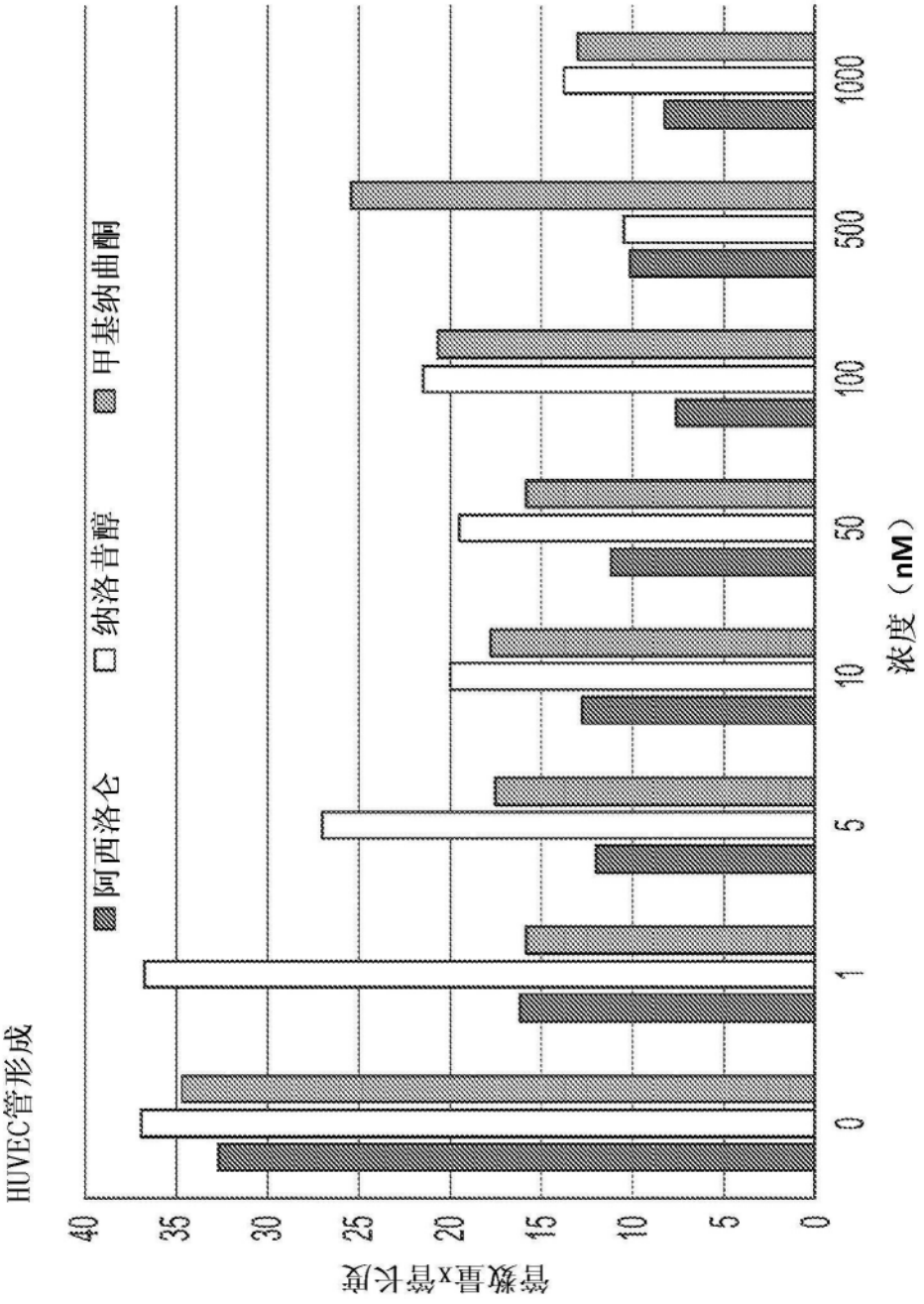

HUVEC管形成
阿西洛仑
纳洛昔醇
甲基纳曲酮
管数量x管长度
浓度（nM）
0
5
10
15
20
25
30
35
40
0
1
5
10
50
100
500
1000

图1B

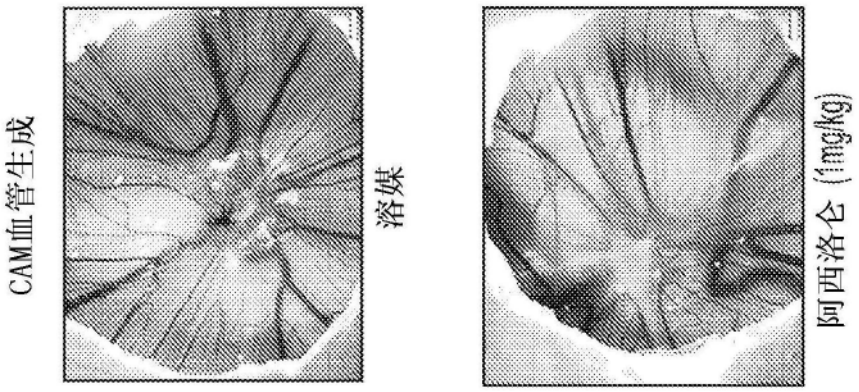


图2A

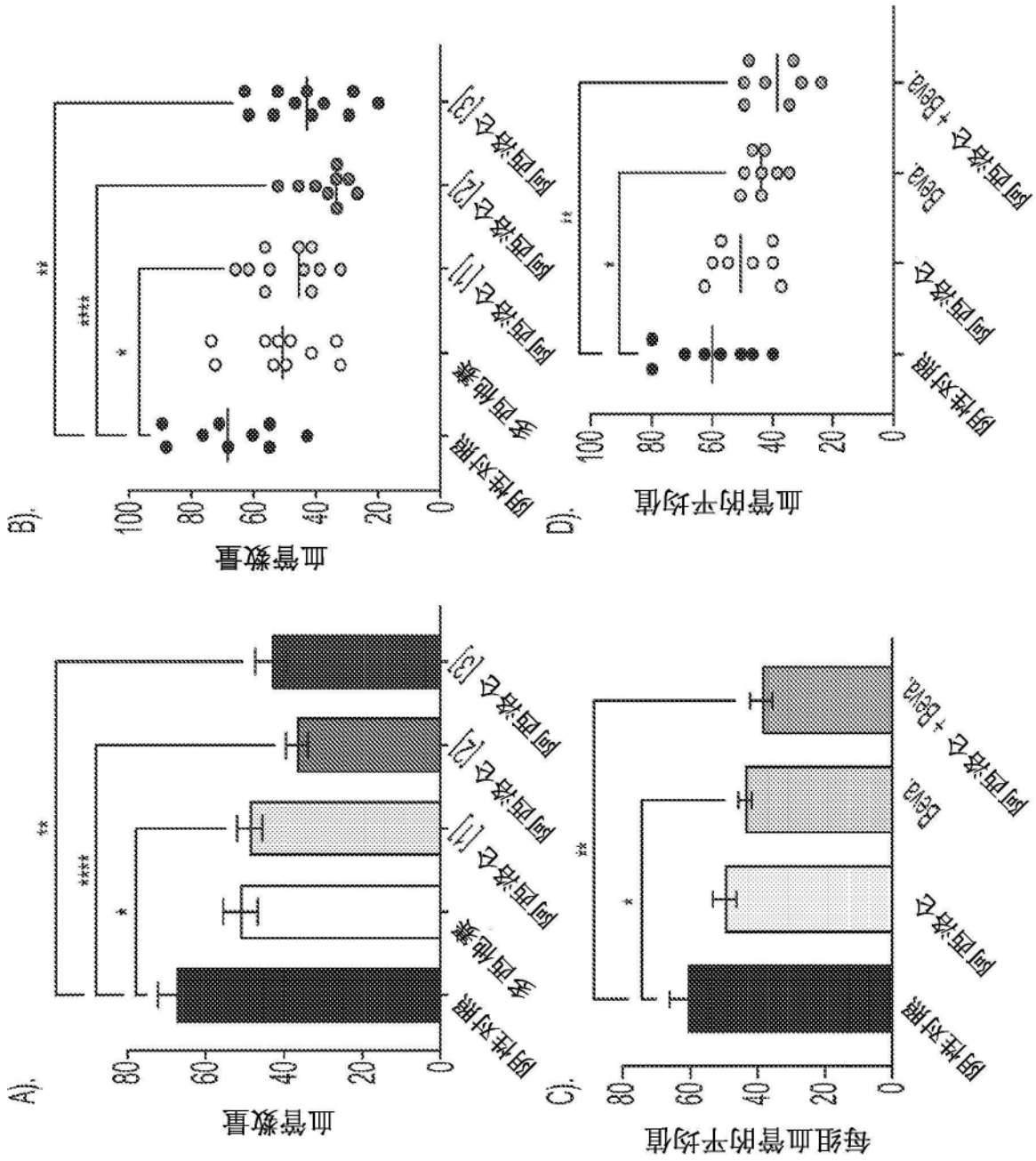

A).
血管数量
阴性对照
多西他赛
阿西洛石[1]
阿西洛石[2]
阿西洛石[3]
B).
血管数量
阴性对照
多西他赛
阿西洛石[1]
阿西洛石[2]
阿西洛石[3]
C).
每组血管的平均值
阴性对照
阿西洛石
Dev2i
阿西洛石+Dev2i
D).
血管的平均值
阴性对照
阿西洛石
Dev2i
阿西洛石+Dev2i

图2B

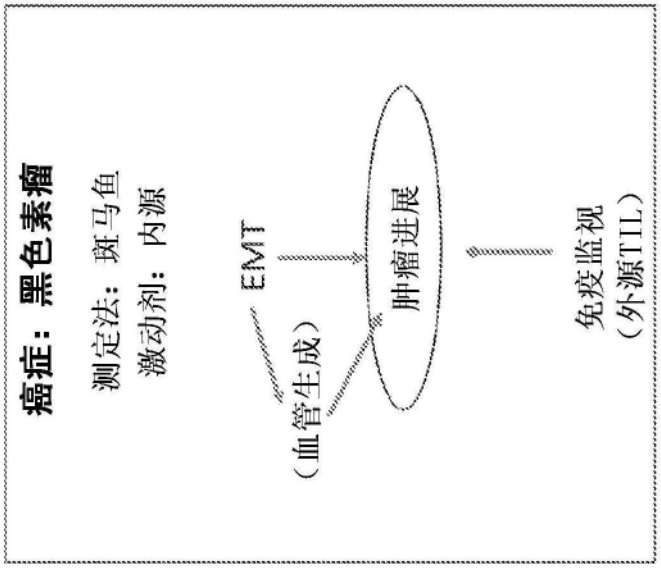

癌症：黑色素瘤
测定法：斑马鱼
激动剂：内源
EMT
（血管生成）
肿瘤进展
免疫监视
（外源TIL）

图3A

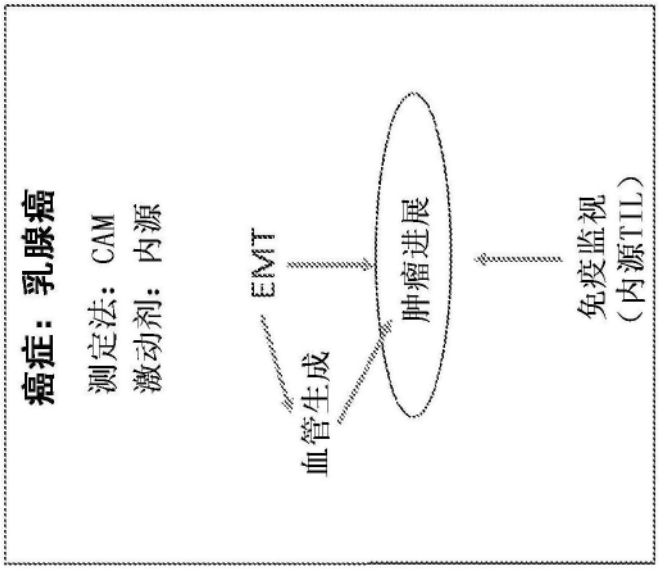

癌症：乳腺癌
测定法：CAM
激动剂：内源
EMT
血管生成
肿瘤进展
免疫监视
（内源TIL）

图3B

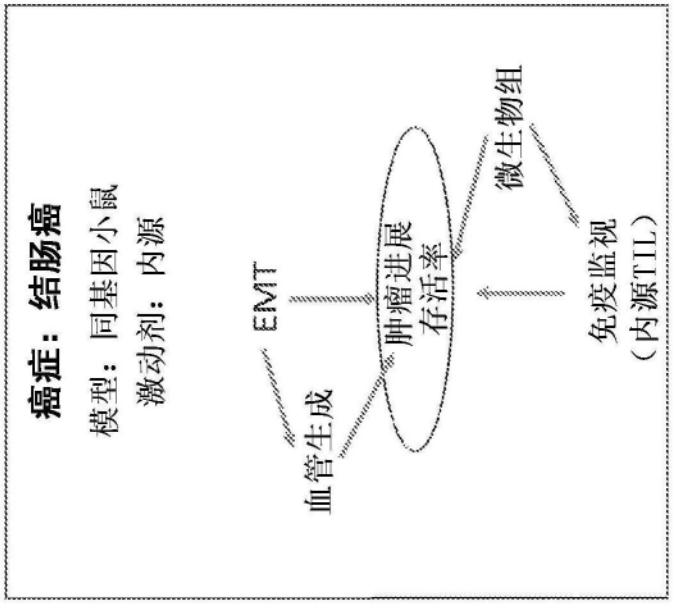

癌症：结肠癌
模型：同基因小鼠
激动剂：内源
EMT
血管生成
肿瘤进展
存活率
微生物组
免疫监视
（内源TIL）

图3C

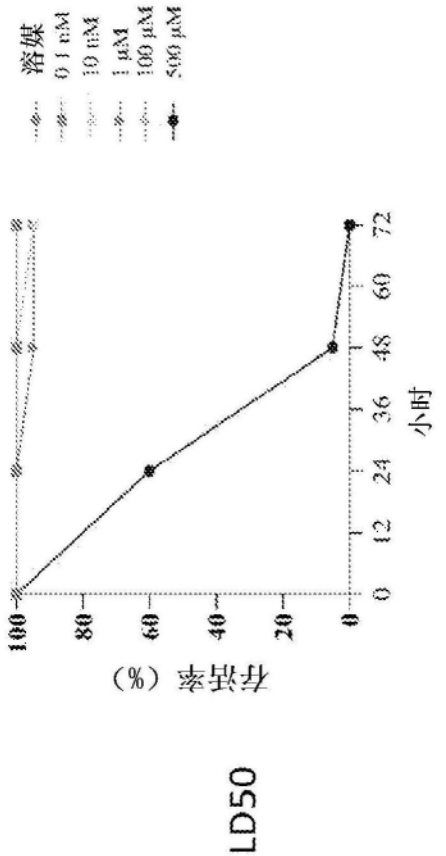

溶媒
0.1 nM
10 nM
1 μM
100 μM
500 μM
存活率（%）
100
80
60
40
20
0
0
12
24
36
48
60
72
小时
LD50

图4A

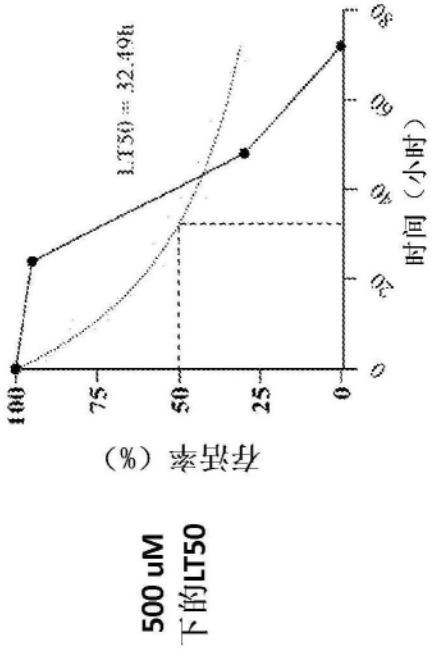


图4B

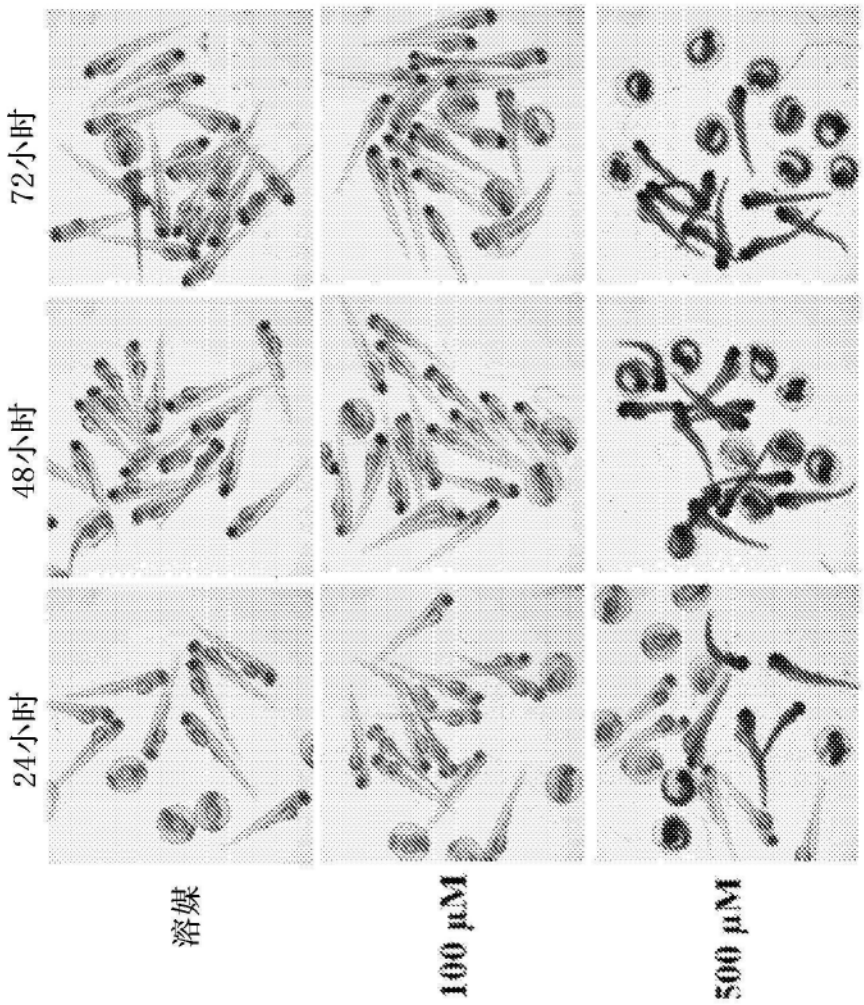


图4C

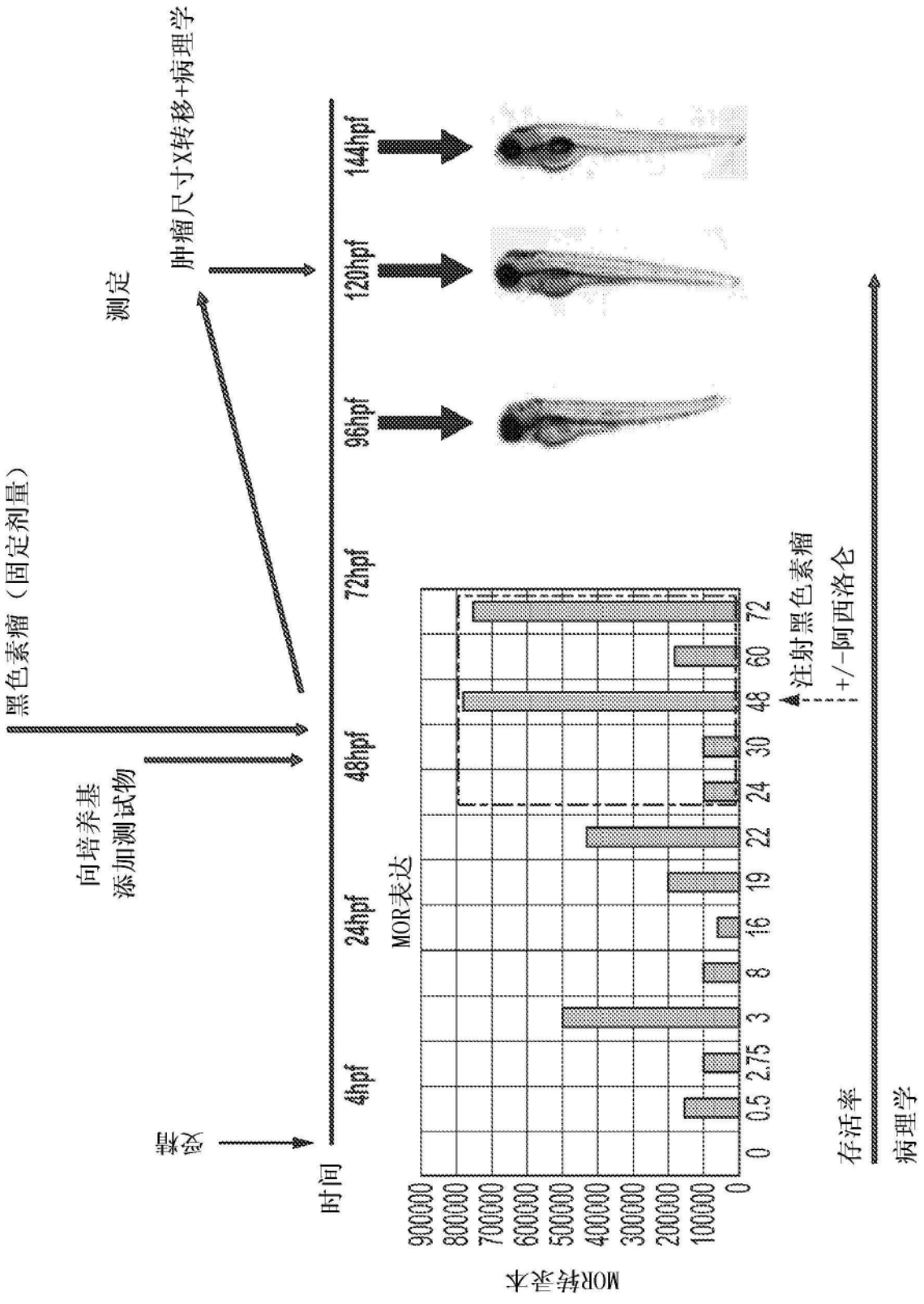

交精
时间
4hpf
24hpf
48hpf
72hpf
96hpf
120hpf
144hpf
黑色素瘤（固定剂量）
向培养基
添加测试物
测定
肿瘤尺寸X转移+病理学
MOR表达
MOR转录本
0
100000
200000
300000
400000
500000
600000
700000
800000
900000
0 0.5 2.75 3 8 16 19 22 24 30 48 60 72
注射黑色素瘤
+/-阿西洛仑
存活率
病理学

图5

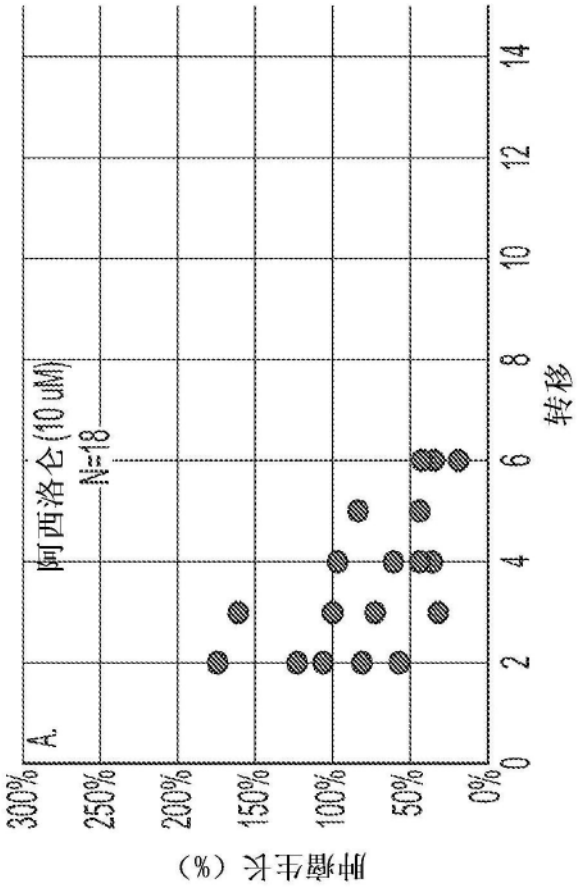


图6A

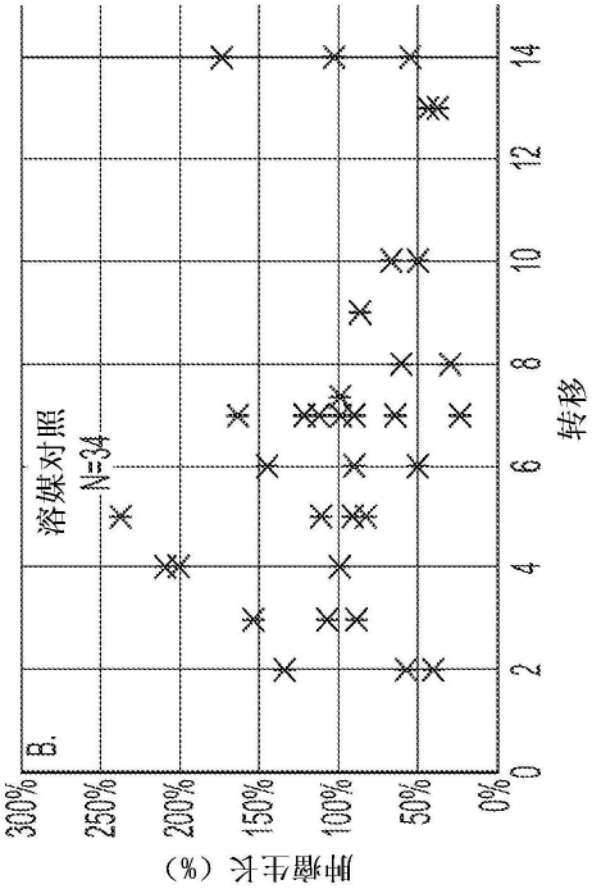


图6B

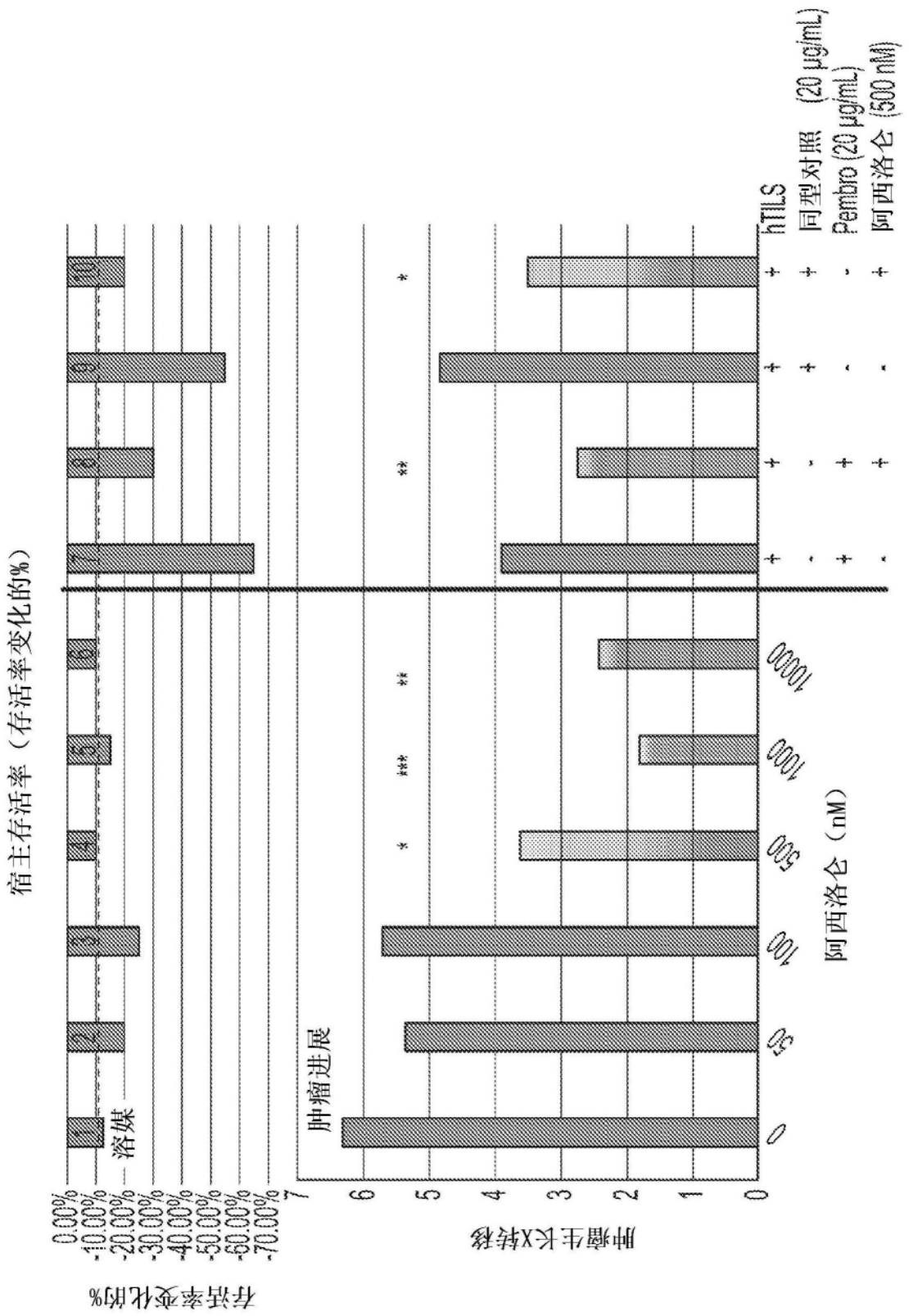

宿主存活率（存活率变化的%）
溶媒
肿瘤进展
肿瘤生长X转移
阿西洛仑（nM）
hTILS
同型对照 (20 μg/mL)
Pembro (20 μg/mL)
阿西洛仑 (500 nM)
存活率变化的%
0.00%
-10.00%
-20.00%
-30.00%
-40.00%
-50.00%
-60.00%
-70.00%
0
50
100
500
1000
10000

图7

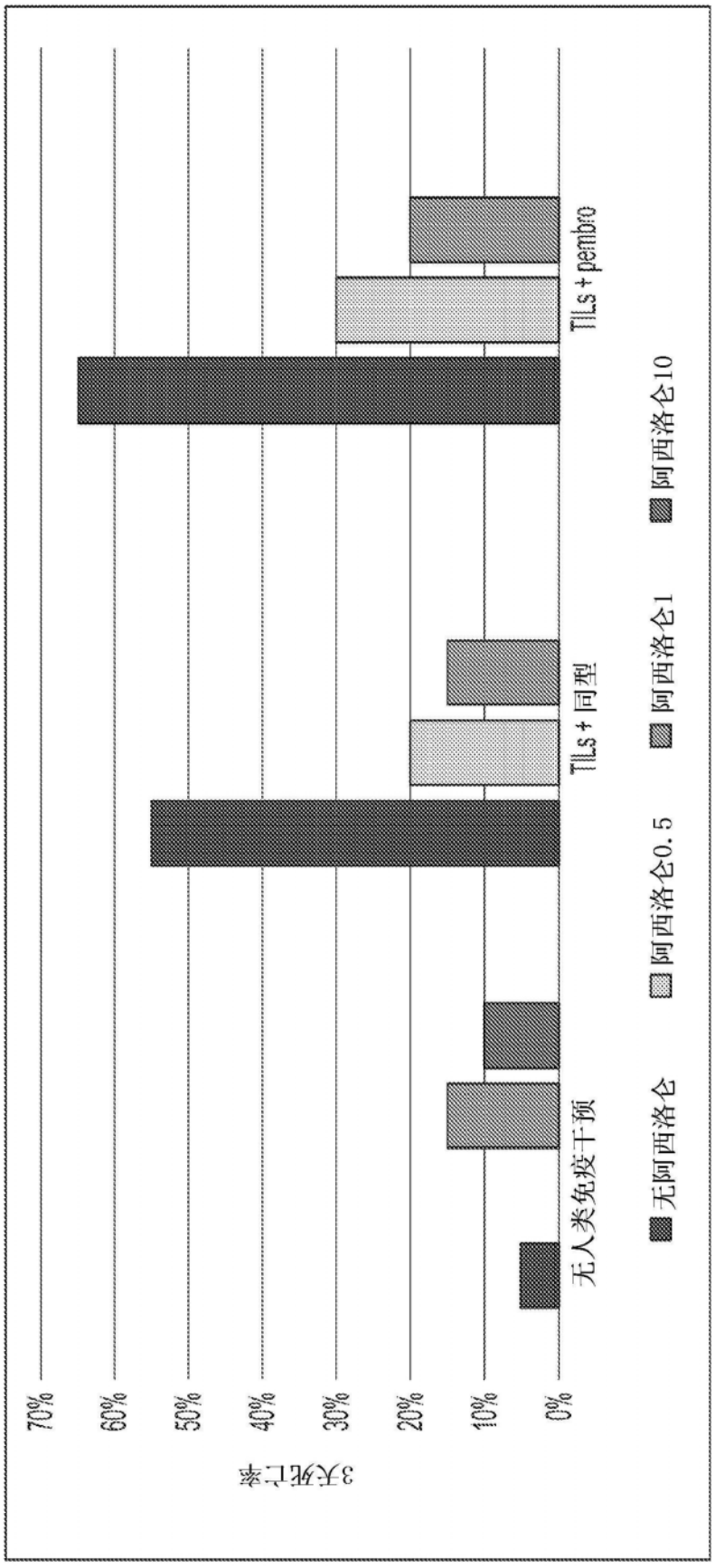

3天死亡率
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
无人类免疫干预
TILs + 同型
TILs + pembro
无阿西洛仓
阿西洛仓0.5
阿西洛仓1
阿西洛仓10

图8

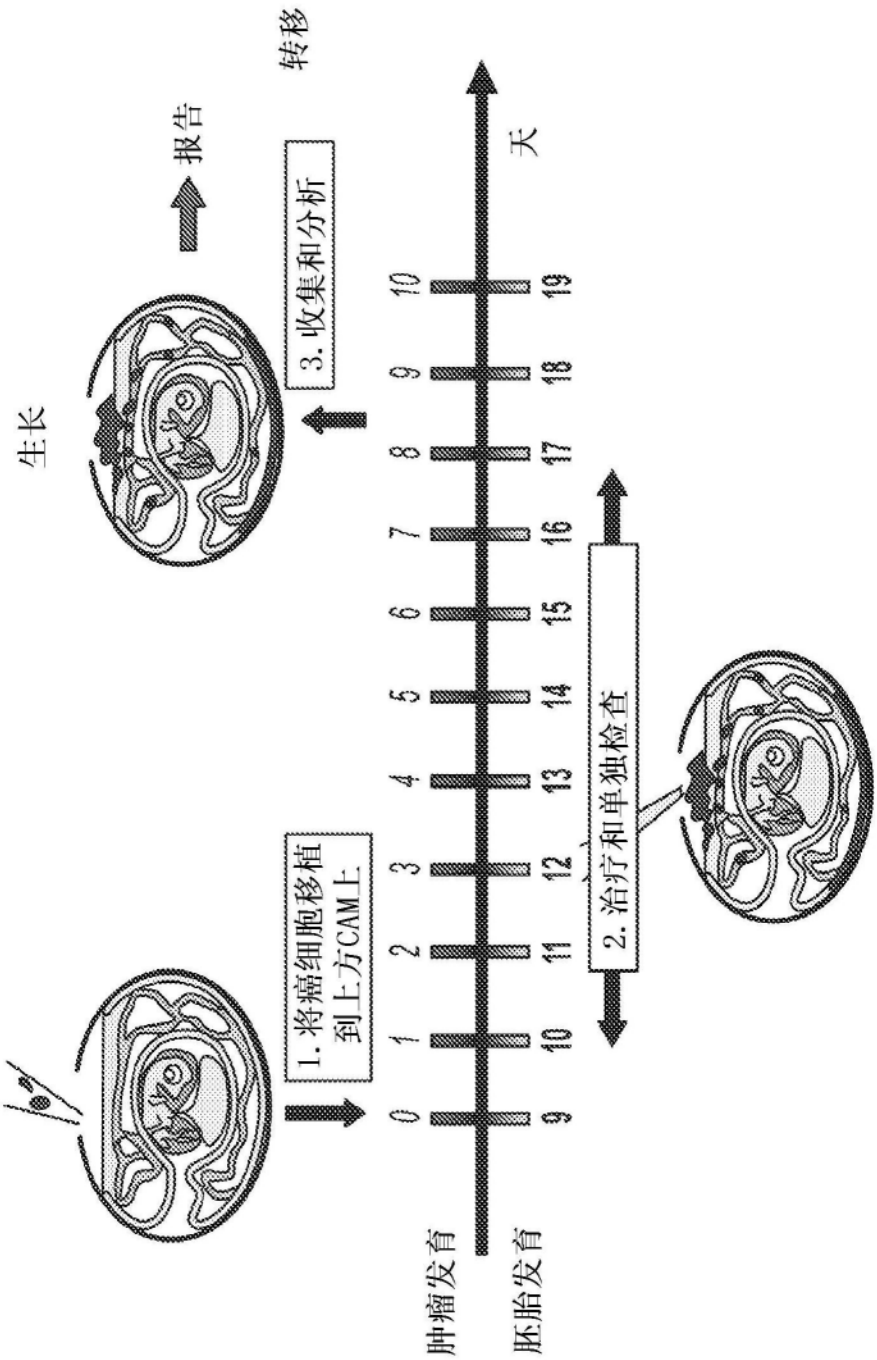

转移
报告
生长
3. 收集和分析
1. 将癌细胞移植
到上方CAM上
2. 治疗和单独检查
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19
天
肿瘤发育
胚胎发育

图9

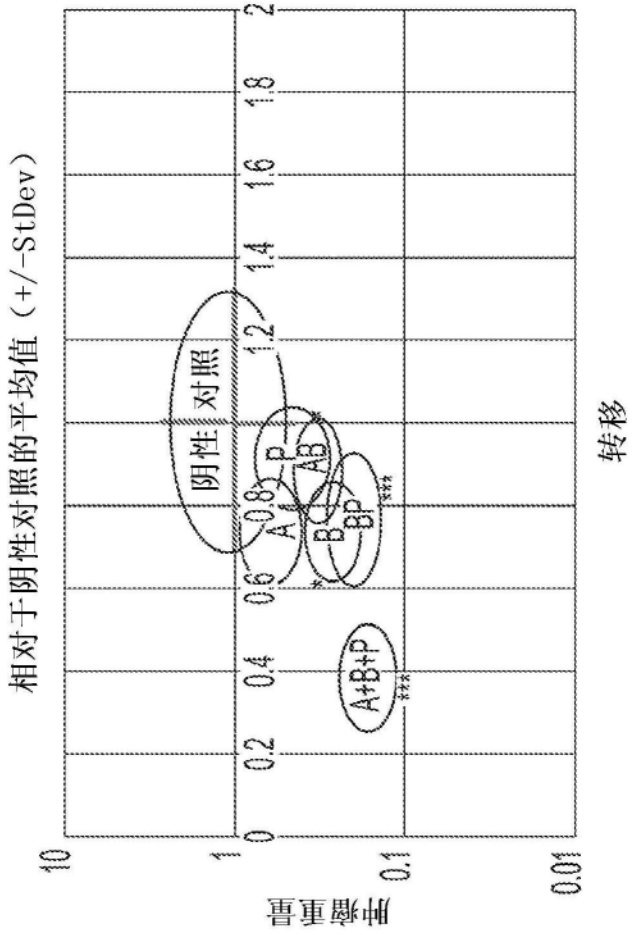

相对于阴性对照的平均值（+/-StDev）
肿瘤重量
转移
阴性对照
A
P
AB
B
BP
A+B+P
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.2
1.4
1.6
1.8
2
10
1
0.1
0.01

图10A

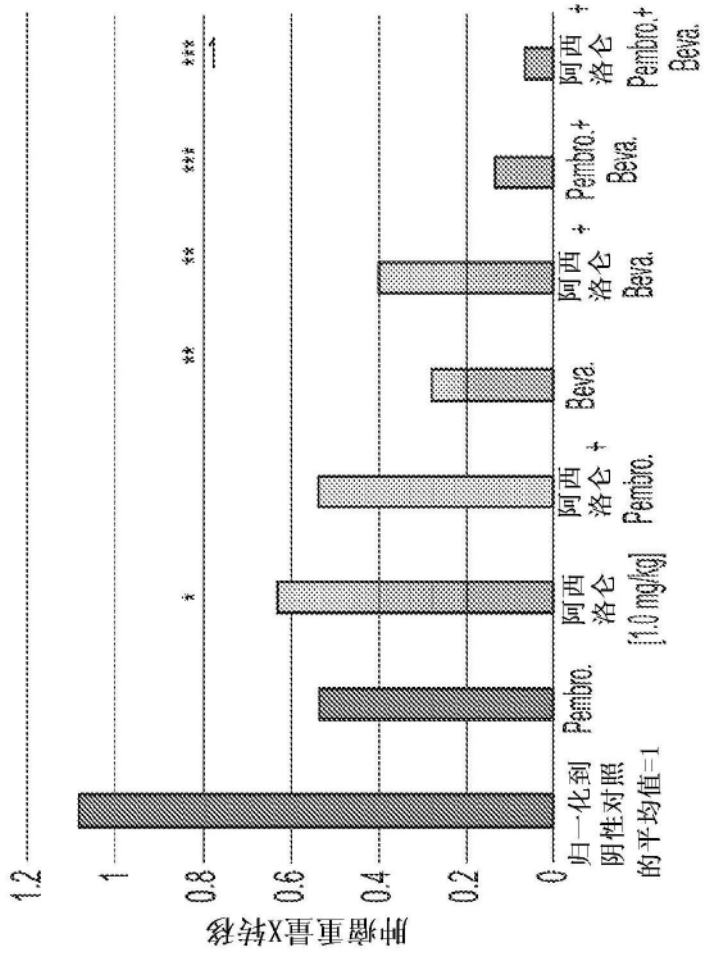

肿瘤重量X转移
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
归一化到阴性对照的平均值=1
Pembro.
阿西洛仑 [1.0 mg/kg]
阿西洛仑 + Pembro.
Beva.
阿西洛仑 + Beva.
Pembro.+ Beva.
阿西洛仑 + Pembro.+ Beva.
*
**
**
***
***

图10B

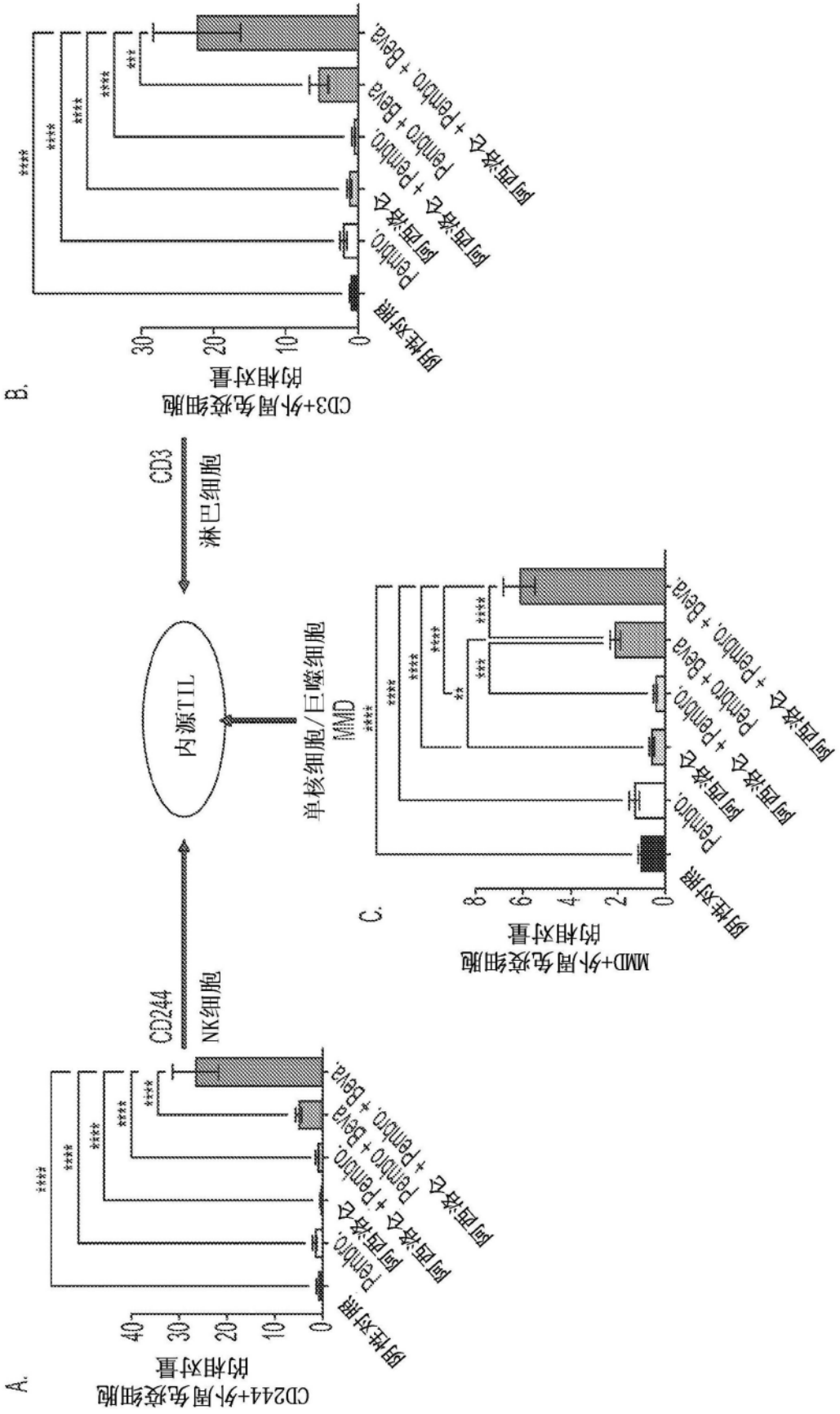

A.
CD244+外周免疫细胞
的相对量
40
30
20
10
0
阴性对照
Pembro.
阿昔洛韦
Pembro. + Pembro.
阿昔洛韦 + Pembro.
Pembro. + BeVa
阿昔洛韦 + Pembro. + BeVa
****
CD244
NK细胞
B.
CD3+外周免疫细胞
的相对量
30
20
10
0
阴性对照
Pembro.
阿昔洛韦
Pembro. + Pembro.
阿昔洛韦 + Pembro.
Pembro. + BeVa
阿昔洛韦 + Pembro. + BeVa
***
****
CD3
淋巴细胞
内源TIL
单核细胞/巨噬细胞
MMD
C.
MMD+外周免疫细胞
的相对量
8
6
4
2
0
阴性对照
Pembro.
阿昔洛韦
Pembro. + Pembro.
阿昔洛韦 + Pembro.
Pembro. + BeVa
阿昔洛韦 + Pembro. + BeVa
**
***
****

图11

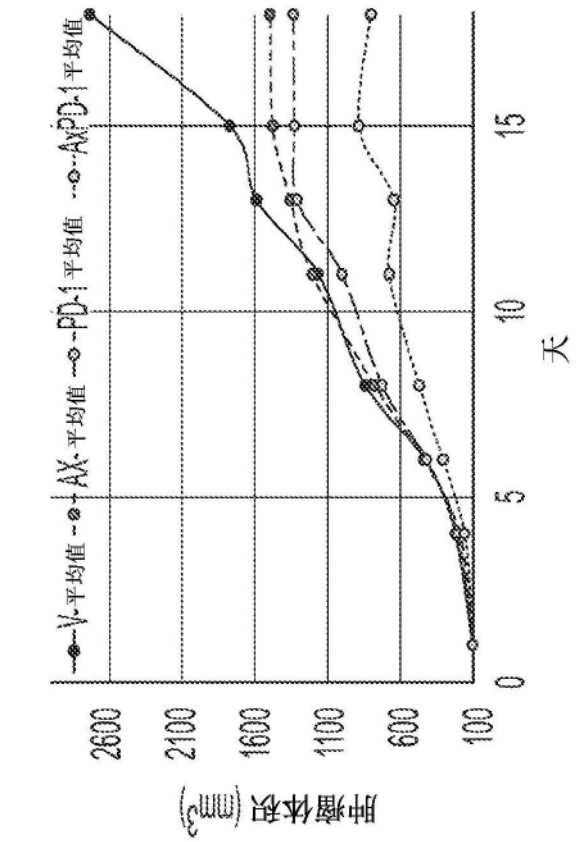

肿瘤体积 (mm³)
2600
2100
1600
1100
600
100
0
5
10
15
天
V-平均值
AX-平均值
PD-1平均值
AX+PD-1平均值

图12A

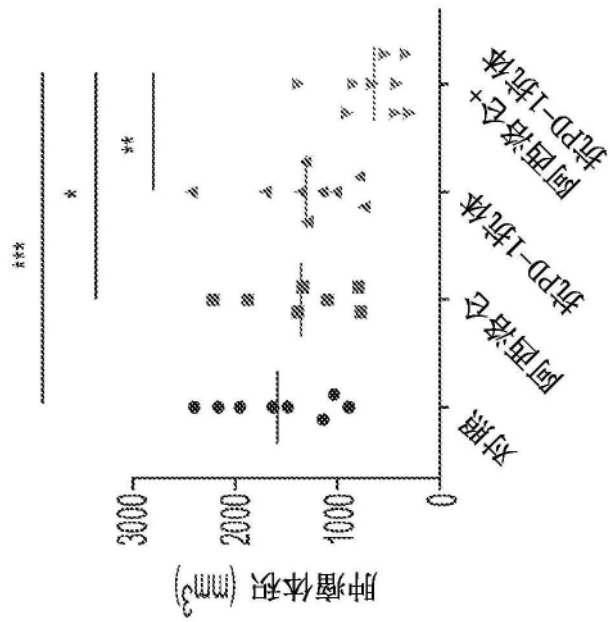

肿瘤体积 (mm³)
3000
2000
1000
0
对照
阿西洛石
抗PD-1抗体
阿西洛石+抗PD-1抗体
***
*
**

图12B

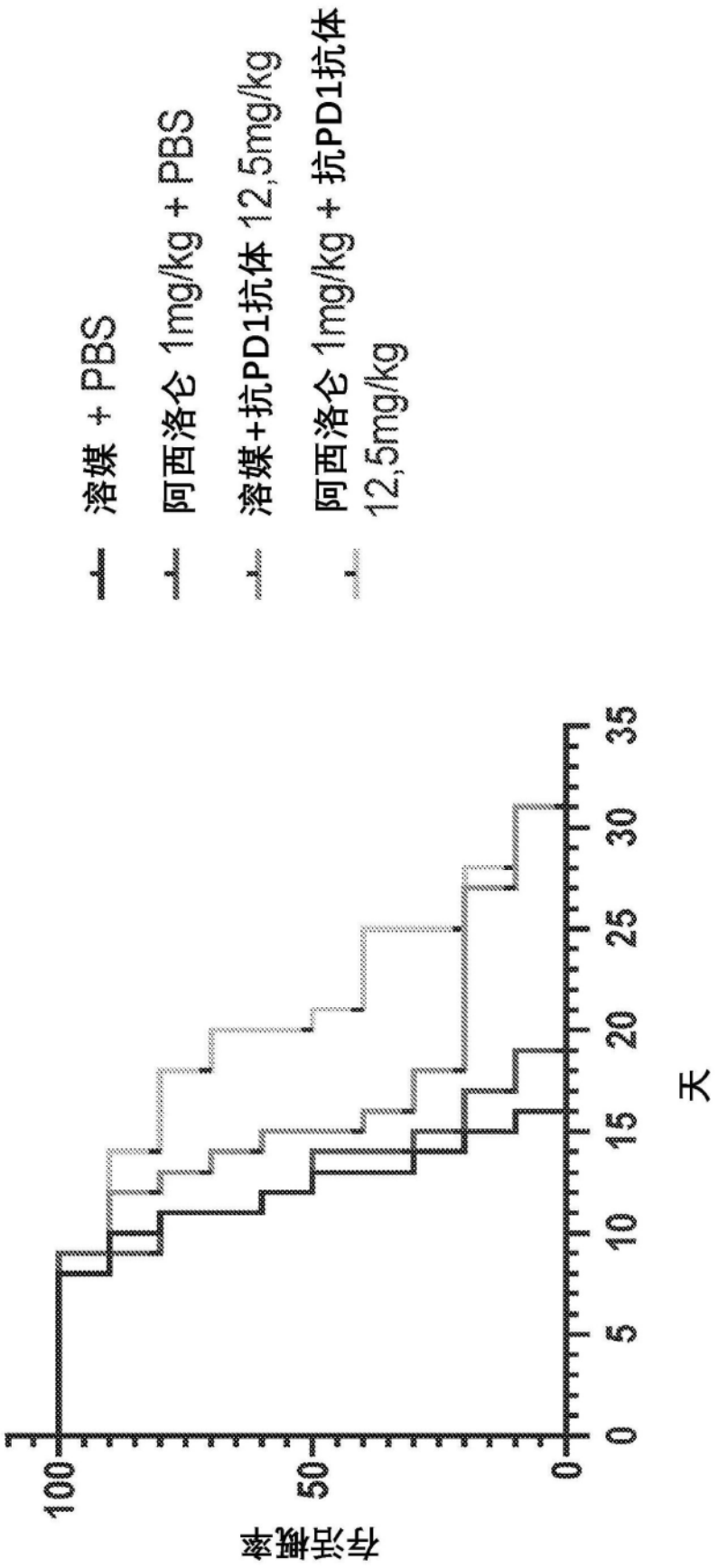

溶媒 + PBS
阿西洛仑 1mg/kg + PBS
溶媒+抗PD1抗体 12,5mg/kg
阿西洛仑 1mg/kg + 抗PD1抗体 12,5mg/kg
存活概率
100
50
0
0
5
10
15
20
25
30
35
天

图13

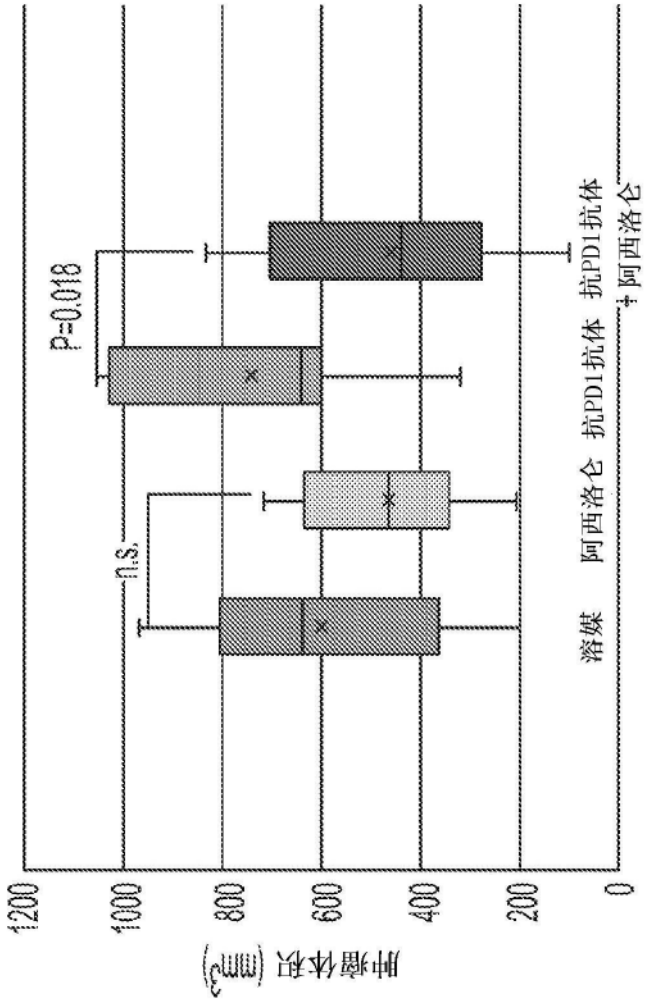

肿瘤体积 (mm³)
1200
1000
800
600
400
200
0
P=0.018
n.s.
溶媒
阿西洛仑
抗PD1抗体
抗PD1抗体 + 阿西洛仑

图14A

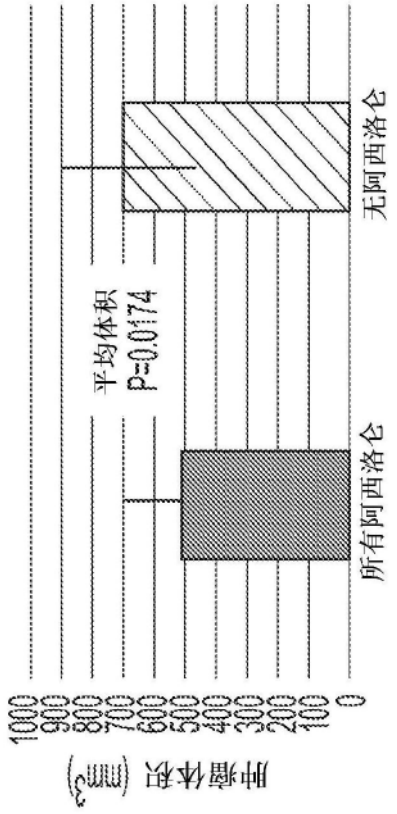

肿瘤体积 (mm³)
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
平均体积
P=0.0174
所有阿西洛仑
无阿西洛仑

图14B

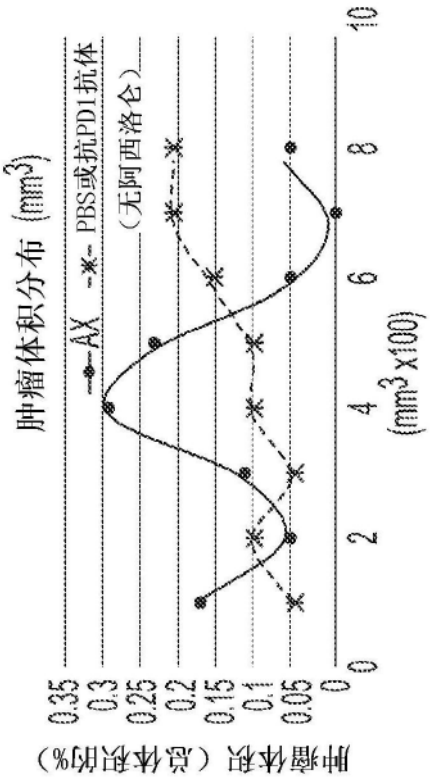

肿瘤体积分布 (mm³)
AX
PBS或抗PD1抗体
（无阿西洛仑）
肿瘤体积（总体积的%）
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
2
4
6
8
10
(mm³ x100)

图14C