



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102369017 A

(43) 申请公布日 2012. 03. 07

(21) 申请号 201080014772. 0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 02. 12

A61K 38/18 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 9/00 (2006. 01)

61/151, 902 2009. 02. 12 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 09. 29

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/024124 2010. 02. 12

(87) PCT申请的公布数据

W02010/093941 EN 2010. 08. 19

(71) 申请人 史赛克公司

地址 美国密歇根州

(72) 发明人 M·E·皮库特勾德 D·施瑞尔

A·R·皮尔斯

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司

公司 11245

代理人 赵蓉民 陆惠中

权利要求书 3 页 说明书 19 页

(54) 发明名称

用于微创系统性递送包含 TGF- β 超家族成员的蛋白质的组合物和方法

(57) 摘要

本发明涉及用于系统递送微溶生物活性剂，如——但不限于——TGF- β 超家族的蛋白质的方法和组合物。根据本发明，示例性的生物活性剂是 BMP-7。本发明还提供微创系统性治疗骨骼病症，如骨质疏松症，以及微创系统性治疗损伤或患病非矿化组织和器官，如肾。本发明的实施消除生物活性剂的血管内递送部位处的不良副作用。

1. 通过向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白来治疗患者中的疾病的方法,所述方法包括以下步骤:

通过血管通路结构在施用部位向所述患者施用所述骨形态发生蛋白,其中所述骨形态发生蛋白在所述患者中位于中央的递送部位被递送给所述患者。

2. 权利要求 1 所述的方法,还可以包括在所述患者中植入具有中央静脉入口的血管通路结构的步骤。

3. 权利要求 2 所述的方法,其中所述中央静脉入口通过颈静脉、锁骨下静脉、上腔静脉或股静脉。

4. 权利要求 1 所述的方法,其中所述血管通路结构是中央静脉导管或中央静脉端口。

5. 权利要求 1 所述的方法,其中所述施用部位在周边。

6. 权利要求 5 所述的方法,其中所述血管通路结构是 PICC 路线。

7. 权利要求 1 所述的方法,其中所述施用部位位于中央。

8. 权利要求 1 所述的方法,其中所述骨形态发生蛋白是 BMP-7。

9. 权利要求 1 所述的方法,其中所述递送部位基本上无水肿并且基本上不受干扰。

10. 权利要求 1 所述的方法,其中所述血管通路结构在施用所述骨形态发生蛋白之前基本上原位愈合。

11. 治疗损伤或患病组织的方法,所述方法包括以下步骤:

向施用部位提供含有生物剂和血管通路结构的组合物,

于是,所述生物剂在递送部位以有效治疗所述损伤或患病组织的量被递送。

12. 权利要求 11 所述的方法,其中所述生物剂是 BMP-7。

13. 权利要求 11 所述的方法,其中所述施用部位远离所述生物剂的递送部位。

14. 权利要求 11 所述的方法,其中所述递送部位是非外周部位。

15. 权利要求 14 所述的方法,其中所述非外周部位是中央部位。

16. 权利要求 11 所述的方法,其中所述施用部位是外周部位。

17. 权利要求 11 所述的方法,其中所述施用部位是中央部位。

18. 权利要求 11 所述的方法,其中所述生物剂在递送后以约 1ml/min 的速度分散。

19. 权利要求 11 所述的方法,其中所述血管通路结构是中央静脉导管。

20. 权利要求 11 所述的方法,其中所述递送部位基本上无水肿。

21. 权利要求 11 所述的方法,其中所述递送部位基本上不受干扰。

22. 权利要求 11 所述的方法,其中,在所述递送部位处、在所述递送部位附近或邻近的非血管组织在递送后基本上无生物剂。

23. 权利要求 11 所述的方法,其中所述损伤或患病组织是非矿化组织。

24. 权利要求 11 所述的方法,其中所述损伤或患病组织是器官。

25. 权利要求 11 所述的方法,其中所述生物剂可生物利用至少约 2 小时。

26. 权利要求 11 所述的方法,其中所述有效的量为约 100 至约 300 微克的生物剂。

27. 组合物,其适于改善损伤或疾病,所述组合物含有:

生物剂;和

血管通路结构,

其中所述生物剂的量为有效改善损伤或疾病。

28. 权利要求 27 所述的组合物,其中所述生物剂是蛋白质性的。
29. 权利要求 28 所述的组合物,其中所述生物剂是微溶蛋白。
30. 权利要求 29 所述的组合物,其中所述生物剂在生理 pH 基本上不溶。
31. 权利要求 30 所述的组合物,其中所述生物剂是蛋白质 TGF- β 超家族的成员。
32. 权利要求 31 所述的组合物,其中所述生物剂选自 :BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6、GDF-7、MP-52 和前述任意之一的序列变体。
33. 权利要求 31 所述的组合物,其中所述生物剂选自 :BMP-2、BMP-7、GDF-5、GDF-6、GDF-7 和 MP-52。
34. 权利要求 31 所述的组合物,其中所述生物剂选自 :GDF-5、GDF-6 和 GDF-7。
35. 权利要求 31 所述的组合物,其中所述生物剂是 BMP-7。
36. 权利要求 31 所述的组合物,其中所述生物剂是蛋白质 TGF- β 超家族 BMP 亚家族的成员。
37. 权利要求 36 所述的组合物,其中所述生物剂是在保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域内与 BMP 亚家族的成员具有至少约 50%的氨基酸序列同一性的蛋白质。
38. 权利要求 30 所述的组合物,其中所述生物剂是非蛋白质 TGF- β 超家族成员的蛋白质。
39. 权利要求 27 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善选自 :代谢性骨病、骨性关节炎、骨软骨疾病、类风湿性关节炎、骨质疏松、佩吉特氏病、牙周炎和牙本质发生的骨骼组织损伤或疾病。
40. 权利要求 27 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善非矿化的骨骼组织损伤或疾病,其选自 :骨性关节炎、骨软骨疾病、软骨疾病、类风湿性关节炎、创伤诱发和炎症诱发的软骨退化、年龄相关性软骨退化、关节软骨损伤和疾病、全厚软骨缺损、表面软骨缺损、系统性红斑狼疮后遗症、硬皮病后遗症、牙周组织再生、椎间盘突出和破裂、椎间盘变性疾病、骨软骨病以及韧带、腱、滑液囊、滑膜和半月板组织的损伤和疾病。
41. 权利要求 27 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善组织损伤,其选自 :创伤诱发和炎症诱发的软骨退化、节软骨损伤、全厚软骨缺损、表面软骨缺损、椎间盘突出和破裂、由于损伤(一个或多个)而椎间盘退化以及韧带、腱、滑液囊、滑膜和半月板组织的损伤。
42. 权利要求 27 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善组织损伤或疾病,其选自 :肝疾病、肝切除术、肝切除、肾疾病、慢性肾衰竭、中枢神经系统局部缺血或创伤、神经病、运动神经元损伤、脊髓损伤、树突细胞缺乏和异常、帕金森氏病、眼疾病、眼瘢痕化、视网膜瘢痕化和胃肠道溃疡性疾病。
43. 权利要求 27 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善组织损伤或疾病,其选自 :慢性和急性肾疾病、动脉粥样坏死、肺纤维化、心肌纤维化、肾纤维化、肥胖、糖尿病、癌、眼瘢痕化、肝纤维化、炎性病症和神经系统病症。
44. 权利要求 27 所述的组合物,其中所述生物剂的量为有效改善矿化或非矿化组织的损伤或疾病。
45. 权利要求 27 所述的组合物,其中所述血管通路结构选自 :中央静脉导管、中央静脉路线、皮下端口、开放端口、动静脉瘘、具有功能上或结构上与前述任意之一的构造相似的

结构以及前述任意之一的组合。

46. 生物剂制剂,其适于包含于权利要求 27 所述的组合物中。

47. 生物剂制剂,其适于用权利要求 11 所述的方法应用。

48. 组合物,其适于改善损伤或疾病,包含:

选自下列的生物剂:蛋白质 TGF- β 超家族的成员、蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的成员和在保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域内与 BMP 亚家族的成员具有至少约 50% 的氨基酸序列同一性的蛋白质;和,

选自下列的血管通路结构:中央静脉导管、中央静脉路线、皮下端口和具有与其功能上或结构上相似的构造的结构;

其中所述生物剂的量为有效改善损伤或疾病。

49. 治疗损伤或患病组织的方法,所述方法包括以下步骤:

向施用部位施用含有生物剂的组合物,以及

向血管内递送部位递送所述组合物,使得内膜组织完整性在所述递送部位基本上不受损害,

于是,所述生物剂以有效治疗所述损伤或患病组织的速度和量从所述递送部位分散。

50. 权利要求 49 所述的方法,其中所述施用部位和所述递送部位是同一个。

51. 权利要求 49 所述的方法,其中所述递送部位不含小静脉瓣。

52. 权利要求 49 所述的方法,其中所述分散速度约为 1ml/min。

53. 权利要求 49 所述的方法,于是,利用含有具有非破坏性构造的远端的血管内设备完成所述递送步骤。

54. 试剂盒,用于向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白,其包含:

骨形态发生蛋白;和

血管通路结构。

55. 权利要求 54 所述的试剂盒,还包含针对向所述患者系统性施用所述骨形态发生蛋白的说明书。

56. 权利要求 55 所述的试剂盒,其中所述说明书还指示将所述血管通路结构植入所述患者,以便允许向所述患者中央递送所述骨形态发生蛋白。

57. 权利要求 54 所述的试剂盒,其中所述骨形态发生蛋白是 BMP-7。

58. 权利要求 54 所述的试剂盒,其中所述血管通路结构是中央静脉导管。

59. 权利要求 54 所述的试剂盒,其中所述骨形态发生蛋白被提供在含有合适的药物载体的组合物中。

60. 试剂盒,用于向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白,含有:

骨形态发生蛋白;和

针对通过位于中央的血管通路结构向所述患者系统性施用所述骨形态发生蛋白的说明书。

用于微创系统性递送包含 TGF- β 超家族成员的蛋白质的 组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求 2009 年 2 月 12 日提交的美国临时专利申请号 61/151,902 的优先权和权益,其内容通过引用被并入本文。

背景技术

[0003] 骨形态发生蛋白 (BMPs) 属于转化生长因子 β (TGF- β) 超家族,它控制多组细胞过程和发育过程,如图式形成和组织特化以及促进成体组织中的创伤愈合和修复过程。BMPs 最初根据其能力被分离,以诱发骨和软骨形成;然而,它们对其它组织和器官修复的效用现在被广泛认识。

[0004] 目前为止,用于非局部递送临床上有效剂量的 BMP——尤其是在延长的时间段,而不重复施用 BMP——的可靠手段已经使熟练的从业者感到困惑。事实上,大多数蛋白质性生物剂的有效递送通常仍然是一个未解决的挑战。尽管在蛋白质技术和药物化学中的进步,但至少有两个问题继续折磨着需要为患者提供关键生理因子的临床医生。

[0005] 首先,大多数治疗剂的优选施用方式是口服或通过注射。然而,口服给药常常不适于大分子药物如蛋白质,因为它们当中的许多在胃肠道中不稳定,这会损害特定给药方案的功效。而且,当通过常规注射方法施用特定的治疗蛋白或蛋白质性质的剂时,需要频繁、多次注射,因为这些剂可能具有可以忽略的生物利用度。因此,施用药物的最受欢迎和常规的手段会给患者造成大的身体负担并产生与患者管理有关的相当大的给药成本。

[0006] 因此,需要提供生物学上的活性剂,尤其是大分子,如 BMPs 和其它蛋白质性大分子生物或药物的替代模式。

发明内容

[0007] 本发明是基于这样一个发现:通过提供蛋白质溶液,例如,通过血管通路结构(血管进入结构,vascular access structure),如——但不限于——中央静脉导管,可以将示例性的骨形态发生蛋白(BMP)——BMP-7 非外科手术地和非局部地提供给哺乳动物而没有不良作用。事实上,本发明利用了这样的发现:某些特殊的生理指标在成功施用和递送中是决定性的。如本文所阐明的,通过经血管通路结构如中央静脉路线(central venous line)、中央静脉导管或动静脉瘘等等提供 BMP 溶液,可以将示例性蛋白——BMP-7 安全地提供给遭受可用 BMP 治疗的病状的人类对象。例如,中央静脉路线可以包括中枢静脉入口导管,其被插入到颈、胸或腹股沟中到达例如,外部或内部颈静脉(颈)、锁骨下静脉(胸)、股静脉(腹股沟)或上腔静脉。优选地,放置血管线路,使其易于到达并且导管入口已充分原位愈合;例如,在其中引入治疗剂的导管注射端布置血管通路端口(血管进入端口,vascular access port)。血管线路可以通过手术或不通过手术放置,然后,其使其愈合,以最小化或避免进入血管的穿刺点处的任何渗漏。如在本文其它地方所说明的,本发明的方面还包括适于微创系统性递送,例如,中央递送的蛋白质制剂,包括制剂参数如 pH、赋形剂

和 / 或浓度等等,以及这种制剂的给予速度及通过控制制剂参数和 / 或给予速度而实现的其有效剂量。

[0008] 虽然目前蛋白质,如 BMPs 以及组织形态发生素的 TGF- β 超家族的其它成员的临床应用限于局部的、手术创伤性植入,以诱发局部骨生长和修复,但临床前研究确认了 BMP 治疗可能有益的一些系统性疾病状态。这些包括但不限于应用于慢性和急性肾疾病、动脉粥样坏死、肺纤维化、肥胖、糖尿病、癌、眼瘢痕化、肝纤维化、炎症病症和神经系统病症。根据利用本发明治疗这样的疾病,非局部施用 BMP-7 现在被认为是最佳的方法。而且,本发明还确认:系统性用药(systemic administration)的常规方法,如直接周围注射(例如,通过血管内、皮下或腹膜内施用;还包括利用装有传统注射器针头的注射器进行血管内施用)可能产生不期望的作用——包括在注射部位的异位骨组织和 / 或纤维组织的形成,和 / 或定域组织外伤,如例如周边水肿的诱发。如在本文其它地方所说明的,本发明涉及迄今未被描述过的用于生物剂、尤其是蛋白质性大分子,如——但不限于——BMP 的微创系统性递送的材料和方法。还应该理解,如本文所考虑的微创系统性递送并不包括口服、肠胃外或局部递送。

[0009] 在第一方面,本发明涉及组合物,其含有生物剂和血管通路结构(vascular access structure)。在某些优选实施方式中,生物剂是微溶蛋白。在一个实施方式中,蛋白质性生物剂是在生理 pH 基本不溶的蛋白质。在一个实施方式中,蛋白质性生物剂是蛋白质 TGF- β 超家族的成员。本发明的另一个实施方式提供蛋白质性生物剂,其是蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的成员。在本发明的一个实施方式中,蛋白质性生物剂是 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7。在本发明的另一个方面,蛋白质性生物剂是 BMP-7。本发明也提供蛋白质性生物剂,其是 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7 中任意一个的序列变体。在本发明的另一个方面,蛋白质性生物剂是这样的蛋白质:其与 BMP 亚家族的成员在保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域内具有至少约 50% 的氨基酸序列同一性。

[0010] 根据本发明,血管通路结构是装置或设备,其提供到达对象血管系统的通路。如本发明所考虑的,血管通路结构在对象外部或内部是可植入的。根据本发明,在一个实施方式中,可以从周边进入血管系统,或者,在另一个实施方式中,可以从中央进入血管系统。根据本发明的一个实施方式,生物剂进入对象血流的递送部位出现在中央,例如,通过外或内颈静脉、锁骨下静脉、股静脉或上腔静脉。在某些实施方式中,这样的血管通路结构可以操作,以将生物剂递送到在与实际穿刺点遥远的部位的对象血流中。中央递送部位是优选的。正如典型地放置具有血管通路端口的导管,允许进入血管的实际穿刺点本身在引入生物剂如 BMP 之前愈合同样是优选的。这最小化或避免剂在血管系统的直接穿刺点渗漏。

[0011] 在当前的优选实施方式中,适于改善损伤或疾病的本发明组合物包含选自下列的生物剂:蛋白质 TGF- β 超家族的成员、蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的成员和与 BMP 亚家族的成员在保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域中具有至少约 50% 的氨基酸序列同一性的蛋白质;和,选自下列的血管通路结构:中央静脉导管、中央静脉路线、皮下端口和具有与其功能上或结构上相似的构造的结构,其中所述生物剂的量为有效改善损伤或疾病的量。

[0012] 在另一个方面中,本发明也提供制剂,其包含有效改善组织损伤或疾病的量的生

物剂,其适于包含上述组合物。在一个实施方式中,待改善的损伤是矿化的或非矿化的骨骼组织损伤。在另一个实施方式中,待改善的损伤或疾病是代谢性骨病、骨性关节炎、骨软骨疾病、类风湿性关节炎、骨质疏松、佩吉特氏病、牙周炎、牙本质发生、软骨疾病、创伤诱发和炎症诱发的软骨退化、年龄相关性软骨退化、关节软骨损伤和疾病、全厚软骨疾病、表面软骨缺损、系统性红斑狼疮后遗症、硬皮病后遗症、牙周组织再生、椎间盘突出和破裂、椎间盘变性疾病、骨软骨病 (osteochondrosis) 或韧带、腱、滑液囊、滑膜和半月板组织的损伤以及疾病。在另一个实施方式中,待改善的损伤或疾病是肝疾病、肝切除术、肝切除、肾疾病、慢性肾衰竭、中枢神经系统局部缺血或创伤、神经病、运动神经元损伤、树突细胞缺乏和异常、帕金森氏病、眼疾病、眼瘢痕化、视网膜瘢痕化或胃肠道溃疡性疾病。在再一个实施方式中,组合物包含有效抑制肿瘤细胞增殖或促进肿瘤消退的量的生物剂。

[0013] 在再一个方面,本发明考虑利用蛋白质如——但不限于——TGF- β 超家族的那些成员的系统性治疗方法,所述方法是微创的。如本文所使用的,“系统的”意为非局部的。熟练的从业者应该理解,非局部可以包括这样的方法:通过该方法,将蛋白质或其它生物活性剂在单个局部部位如——但不限于——周边经皮部位引入对象,以便实现治疗对象的全身而不仅仅是单个局部部位。在进一步的实施方式中,“系统的”也可以意为施用的治疗剂的治疗血液水平及时地以某一点存在于血液中。通过提供施用的治疗剂的治疗血液水平,“系统”用药也可以实现治疗患者身体中的与施用部位距离远的部位。如本文所使用的,“微创”意为非创伤的或非体外 (non-open-field) 手术方法。熟练的从业者应该理解,这样的方法可以包括涉及切口 (一个或多个) 或植入医疗装置 (一个或多个) 的程序。

[0014] 在某些当前的优选实施方式中,治疗损伤或患病组织的方法包括向施用部位提供含有生物剂和血管通路结构的组合物的步骤,于是,生物剂以有效治疗损伤或患病组织的量被递送。优选地,身体施用部位与生物剂的实际递送部位距离遥远。在某些实施方式中,递送部位是非外周部位。例如,递送部位是中央部位。在某些实施方式中,施用部位是外周部位。

[0015] 在当前优选的实施方式中,在递送后,生物剂以足以在距离递送部位遥远的部位提供生物学上有效剂量的速度分散。例如,在一个实施方式中,施用部位在周边,而递送部位在中央。在尤其优选的实施方式中,生物剂以至少 1ml/min 的速度分散。在另一个尤其优选的实施方式中,递送部位基本上无水肿和 / 或基本上不受干扰和损害。在再一个尤其优选的实施方式中,在递送部位处、在递送部位附近或邻近的非血管组织在递送后基本上无生物剂。

[0016] 在本发明的另一个当前优选的实施方式中,治疗损伤或患病组织的方法包括向施用部位施用包含生物剂的组合物,并将组合物递送到血管内的递送部位,使得在递送部位的内膜组织完整性基本上不受损害。如果允许血管的最初穿刺点在生物剂例如 BMP 被施用到血管腔中之前愈合,会是这种情况。在优选的实施方式中,生物剂以有效治疗损伤或患病组织的速度和量从递送部位分散。在某些实施方式中,施用部位和递送部位是同一个。在其它实施方式中,递送部位与施用部位距离遥远。在尤其优选的实施方式中,递送部位无小静脉瓣。在另外的实施方式中,在递送部位的血流速度足以在距离递送部位遥远的部位提供生物学上有效的剂量。在尤其优选的实施方式中,生物剂以至少 1ml/min 的速度分散。在再一个实施方式中,利用具有非破坏性构造的远端的血管内设备完成递送步骤。在一个这

样的实施方式中,设备装配有非破坏性远端,其从结构上模拟Foley型导管或其功能等同物的非破坏性特征。

[0017] 与本发明的教导一致,当前优选的生物剂是BMP-7,而损伤或患病非矿化组织是当前优选的治疗目标。这样的损伤或患病组织可以是器官。在尤其优选的治疗方法中,生物剂可生物利用至少约0.5小时,更优选为至少约2小时、至少约8小时;约1天,优选为多于1天。而且,有效量为每千克的患者体重约10微克至约1000微克的生物剂,更优选为约50微克至约500微克,最优选为约100微克至300微克。

[0018] 在另一个实施方式中,本发明提供通过向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白来治疗患者中的疾病的方法。该方法包括通过血管通路结构在施用部位向患者施用骨形态发生蛋白的步骤,其中所述骨形态发生蛋白在患者中位于中央的递送部位被递送给患者。根据另一个实施方式,该方法还可以包括在患者中植入具有中枢神经入口的血管通路结构的步骤。例如,根据本发明的某些实施方式,中枢神经入口可以通过颈静脉、锁骨下静脉、上腔静脉或股静脉。在一个实施方式中,血管通路结构是中央静脉导管或中央静脉端口。根据本发明的另一个实施方式,施用部位在周边,并且血管通路结构是PICC路线。在可选实施方式中,施用部位位于中央。根据本发明的一个实施方式,骨形态发生蛋白是BMP-7。根据本发明的一个实施方式,递送部位基本上无水肿并且基本上不受干扰。在另一个实施方式中,血管通路结构在施用所述骨形态发生蛋白之前基本上原位愈合。

[0019] 在另一个方面中,本发明也提供制剂,其含有有效改善组织损伤或疾病的量的生物剂,适于通过上述方法使用。

[0020] 在另一个方面中,本发明也提供试剂盒,用于向需要的患者系统性施用骨形态发生蛋白。在一个实施方式中,该试剂盒包括骨形态发生蛋白和血管通路结构。该试剂盒还可以包括向患者系统性施用骨形态发生蛋白的说明书。例如,说明书还可以指示将血管通路结构植入患者中,以便允许向所述患者中央递送所述骨形态发生蛋白。根据本发明的一个实施方式,骨形态发生蛋白是BMP-7。可以通过合适的药物载体将骨形态发生蛋白提供在组合物中。根据本发明的另一个实施方式,血管通路结构是中央静脉导管。在另一个实施方式中,用于向需要的患者系统施用骨形态发生蛋白的试剂盒包括骨形态发生蛋白和说明书,所述说明书用于通过位于中央的血管通路结构向患者系统性施用所述骨形态发生蛋白。在进一步的实施方式中,试剂盒包括血管通路结构。例如,血管通路结构提供骨形态发生蛋白的中央施用和递送。

[0021] 从以下的附图、说明书和权利要求书,本发明前述的和其它特征及优势以及本发明本身将被更充分地理解。

[0022] 发明详述

[0023] 本发明基于这样的发现:通过经血管通路结构如——但不限于——中央静脉导管提供蛋白质溶液,可以将示例性的骨形态发生蛋白(BMP)——BMP-7非外科手术地和非局部地提供给哺乳动物而没有不良作用。事实上,本发明利用了这样的发现:某些特殊的生理指标在成功施用和给药中是决定性的。如本文所提出的,通过经血管通路结构如中央静脉路线、中央静脉导管或动静脉瘘等等提供BMP溶液,可以将示例性蛋白——BMP-7安全地提供给遭受可用BMP治疗的病状的人类对象。例如,中央静脉路线可以包括中枢静脉入口导管,其被插入到颈、胸或腹股沟中到达颈静脉(颈)、锁骨下静脉(胸)、股静脉(腹股沟)。优

选地,放置血管线路,使其易于到达并且导管入口已充分原位愈合;例如,在其中引入治疗剂的导管注射端放置血管通路端口。血管线路可以通过手术或不通过手术放置,然后,其可以愈合,以最小化或避免进入血管的穿刺点处的任何渗漏。如在本文其它地方所说明的,本发明的方面还包括蛋白质制剂——包括 pH、赋形剂和 / 或浓度,以及施用速度和通过对其调节而实现的剂量。

[0024] 虽然蛋白质如 BMPs 以及组织形态发生素的 TGF- β 超家族的其它成员的目前临床应用限于局部的、手术创伤性植入,以诱发局部骨生长和修复,但临床前研究确认了 BMP 治疗可能有益的许多系统性疾病状态。这些包括但不限于在代谢性骨病——包括因此受影响的矿化组织以及非矿化组织中的应用。此外,临床前研究确认了 BMP 治疗可能有益的许多系统性疾病状态——包括受疾病或病症如慢性和急性肾疾病、动脉粥样坏死、肺纤维化、肥胖、糖尿病、癌、眼瘢痕化、肝纤维化、炎性病症和神经系统病症影响的组织和 / 或器官。根据利用本发明对这样的疾病的治疗,非局部施用 BMP-7 现在被认为是最佳的方法。而且,本发明还确认:系统给药的常规方法,如直接周围注射(例如,通过血管内、皮下或腹膜内给药)可能产生不期望的作用——包括在进入部位如血管穿刺点的异位骨组织和 / 或纤维组织的形成,以及定域(局部)组织反应,如例如,水肿的诱发。

[0025] 包括骨形态发生蛋白的生物剂

[0026] 简而言之,本发明考虑合适的生物剂优选为微溶蛋白。也就是说,优选的生物剂是在生理 pH 基本上不溶的蛋白质。例如,示例性蛋白质性生物剂是蛋白质 TGF- β 超家族的成员。本发明还提供蛋白质性生物剂,其是蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的成员。在本发明的某些实施方式中,蛋白质性生物剂是 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7。在本发明的优选实施方式中,蛋白质性生物剂是 BMP-7。本发明也提供蛋白质性生物剂,其是 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7 中任意一个的序列变体。在本发明的另一个实施方式中,蛋白质性生物剂是在保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域内与 BMP 亚家族的成员具有至少约 50% 的氨基酸序列同一性的蛋白质。

[0027] 如上所述, BMPs 是用于本发明目的的优选示例性生物剂,并且属于 TGF- β 超家族。TGF- β 超家族蛋白是细胞因子,其以 6 个保守的半胱氨酸残基为表征。人类基因组含有约 42 个编码 TGF- β 超家族蛋白的开放阅读框架。根据序列相似性和它们激活的特定信号传导通路,TGF- β 超家族蛋白可以至少被分为 BMP 亚家族和 TGF- β 亚家族生物剂。BMP 亚家族包括但不限于 BMP-2、BMP-3(骨生成蛋白)、BMP-3b(GDF-10)、BMP-4(BMP-2b)、BMP-5、BMP-6、BMP-7(成骨蛋白-1 或 OP-1)、BMP-8(OP-2)、BMP-8B(OP-3)、BMP-9(GDF-2)、BMP-10、BMP-11(GDF-11)、BMP-12(GDF-7)、BMP-13(GDF-6、CDMP-2)、BMP-15(GDF-9)、BMP-16、GDF-1、GDF-3、GDF-5(CDMP-1、MP-52) 和 GDF-8(肌肉抑制素(myostatin))。为了本发明的目的,优选的超家族蛋白包括 BMP-2、-4、-5、-6 和 -7 以及 GDF-5、-6 和 -7 以及 MP-52。尤其优选的蛋白质包括 BMP-2、BMP-7 和 GDF-5、-6 和 -7。最优选的示例性 BMP 是 BMP-7。BMPs 也存在于其它动物种类中。此外,在人类群体不同成员之间的 BMP 序列存在等位基因变异,并且目前发现和表征的 BMPs 之间存在物种变异。

[0028] TGF- β 亚家族包括但不限于 TGFs(例如, TGF- β 1、TGF- β 2 和 TGF- β 3)、激活蛋白(例如,激活蛋白 A)和抑制素、巨噬细胞抑制性细胞因子-1(MIC-1)、苗勒氏抑制物质、抗苗勒氏激素和胶质细胞系衍生神经营养因子(GDNF)。除非另有明确指示,如本文所使用

的,“TGF- β 亚家族”、“TGF- β s”、“TGF- β 配体”及其语法等同物是指 TGF- β 亚家族成员。

[0029] TGF- β 超家族反过来又是半胱氨酸打结细胞因子超家族的亚群。半胱氨酸打结细胞因子超家族的另外成员包括但不限于血小板衍生的生长因子 (PDGF)、血管内皮生长因子 (VEGF)、胎盘生长因子 (PIGF)、头蛋白、神经营养蛋白 (BDNF、NT3、NT4 和 β NGF)、促性腺激素、促滤泡素、促黄体激素、白细胞介素 -17 和抗脂多糖因子 (coagulogen)。

[0030] 公开这些序列及其化学和物理性能的出版物包括 :BMP-7 和 OP-2(美国专利号 5,011,691 ;美国专利号 5,266,683 ;Ozkaynak 等,EMBO J.,9, pp. 2085-2093(1990) ;OP-3(W094/10203(PCT US93/10520))、BMP-2、BMP-4(W088/00205 ;Wozney 等,Science, 242, pp. 1528-1534(1988))、BMP-5 和 BMP-6(Celeste 等,PNAS,87,9843-9847(1991))、Vgr-1(Lyons 等,PNAS,86, pp. 4554-4558(1989)) ;DPP(Padgett 等,Nature,325, pp. 81-84(1987)) ;Vg-I(Weeks, Cell,51, pp. 861-867(1987)) ;BMP-9(W095/33830(PCT/US95/07084) ;BMP-10(W094/26893(PCT/US94/05290) ;BMP-11(W094/26892(PCT/US94/05288) ;BMP-12(W095/16035(PCT/US94/14030) ;BMP-13(W095/16035(PCT/US94/14030) ;GDF-1(W092/00382(PCT/US91/04096) 和 Lee 等,PNAS,88, pp. 4250-4254(1991) ;GDF-8(W094/21681(PCT/US94/03019) ;GDF-9(W094/15966(PCT/US94/00685) ;GDF-10(W095/10539(PCT/US94/11440) ;GDF-11(W096/01845(PCT/US95/08543) ;BMP-15(W096/36710(PCT/US96/06540) ;MP-121(W096/01316(PCT/EP95/02552) ;GDF-5(CDMP-I, MP52)(W094/15949(PCT/US94/00657) 和 W096/14335(PCT/US94/12814) 和 W093/16099(PCT/EP93/00350)) ;GDF-6(CDMP-2, BMP13)(W095/01801(PCT/US94/07762) 和 W096/14335 和 W095/10635(PCT/US94/14030)) ;GDF-7(CDMP-3, BMP12)(W095/10802(PCT/US94/07799) 和 W095/10635(PCT/US94/14030))。以上出版物通过引用被并入本文。

[0031] 如本文所使用的,“TGF- β 超家族成员”或“TGF- β 超家族蛋白”意为本领域普通技术人员所知的作为转化生长因子 - β (TGF- β) 超家族成员的蛋白质。在结构上,这样的蛋白质是同型二聚体或异二聚体,其被表达为含有疏水信号序列、具有几百个氨基酸的 N-末端前区域和成熟结构域的前体多肽链,所述成熟结构域含有可变的 N-末端区域和包含大约 100 个氨基酸的具有独特半胱氨酸基序的高度保守的 C-末端区域,所述半胱氨酸基序含有保守的 6 或 7 半胱氨酸骨架。这些结构上相关的蛋白质已经被鉴定为与一些发育事件有关。

[0032] 术语“形态发生蛋白”指属于具有真正的形态发生活性的蛋白质 TGF- β 超家族的蛋白质。例如,这样的蛋白质能够诱发祖细胞根据局部环境线索增殖和 / 或在分化途径中发动级联事件,所述分化途径导致软骨、骨、腱、韧带、神经元或其它类型的分化组织形成。因此,在本发明中有用的形态发生蛋白在不同的环境中可以表现不同。在某些实施方式中,本发明的形态发生蛋白可以是同型二聚体种类或异二聚体种类。

[0033] 术语“成骨蛋白(OP)”指也能够诱发祖细胞形成软骨和 / 或骨的形态发生蛋白。骨可以是膜内的骨或软骨内成骨。大多数成骨蛋白是 BMP 亚家族的成员,并且也因此是 BMPs。然而,反之则不然。根据本发明,通过 DNA 序列同源性或氨基酸序列同一性鉴定的 BMP 要成为成骨蛋白也必需在功能生物测定中具有明显的成骨活性或软骨形成活性。适当的生物测定在本领域中是熟知的 ;特别有用的生物测定是异位骨形成检测 (例如参考美国专利号

5, 011, 691 ;美国专利号 5, 266, 683)。

[0034] 在结构上,BMPs 是二聚半胱氨酸打结蛋白 (knot protein)。每个 BMP 单体均包含多个分子内二硫键。额外的分子间二硫键介导大多数 BMPs 中的二聚体形成。BMPs 可以形成同型二聚体。一些 BMPs 可以形成异二聚体。BMPs 被表达为前蛋白,其包含长的前结构域、一个或多个切割位点和成熟结构域。前结构域被认为有助于 BMPs 的正确折叠和加工。此外,在一些但不是所有的 BMPs 中,前结构域可以非共价地结合成熟结构域,并且可以充当抑制剂 (例如, Thies 等, (2001)Growth Factors 18 :251-259)。

[0035] BMPs 被自然地表达为前蛋白,其包含长的前结构域、一个或多个切割位点和成熟结构域。然后,该前蛋白经细胞器 (cellular machinery) 加工,产生二聚的成熟 BMP 分子。前结构域被认为有助于 BMPs 的正确折叠和加工。此外,在一些但不是所有的 BMPs 中,前结构域可以非共价地结合成熟结构域,并且可以充当蛋白伴侣以及抑制剂 (例如, Thies 等, (2001)Growth Factors 18 :251-259)。

[0036] 如本文所考虑的,术语“BMP”指属于根据 DNA 同源性和氨基酸序列同一性定义的蛋白质 TGF- β 超家族的 BMP 亚家族的蛋白质。根据本发明,当蛋白质在表征 BMP 亚家族的保守的 C-末端富含半胱氨酸的结构域内与已知 BMP 亚家族成员具有至少 50% 的氨基酸序列同一性时,其属于 BMP 亚家族。BMP 亚家族成员总体可以具有 50% 以下的 DNA 或氨基酸序列同一性。如本文所使用的,术语“BMP”还指这样的蛋白质,其是氨基酸序列变体、结构域交换的变体和天然存在的骨形态发生蛋白的平截和活性片段,以及由两个不同的单体 BMP 肽形成的异二聚体蛋白,如 BMP-2/7 ;BMP-4/7 ;BMP-2/6 ;BMP-2/5 ;BMP-4/7 ;BMP-4/5 ;和 BMP-4/6 异二聚体。合适的 BMP 变体和异二聚体包括那些在美国 2006/0235204 ;W007/087053 ;WO 05/097825 ;WO 00/020607 ;WO 00/020591 ;WO 00/020449 ;W005/113585 ;WO 95/016034 和 W093/009229 中所列出的。

[0037] 如本文所使用的,术语“药 (drug)”、“药物 (medicament)”或“生物剂”/“生物剂”(即,生物活性剂)包括但不限于可以在身体中局部或系统作用的生物学上、生理学上或药理学上的活性物质。生物剂是用于治疗、预防、诊断、治愈或减缓疾病或病的物质,是影响身体的结构或功能的物质,或者是在存在于或接触优选的生理环境之后变得有生物学活性或更有活性的前体药物。同样,各种形式的生物剂可以被使用。这些不限制地包括,如不带电分子、分子复合物、盐、醚、酯、酰胺等,其在注入身体时被在生物学上激活。优选的生物剂包括但不限于具有治疗或预防活性的蛋白质——包括酶、生长因子、激素、分化因子、细胞因子、趋化因子和抗体。

[0038] 对于本领域的技术人员而言,可在水环境中释放的任何生物剂可被用于本公开的发明。在优选的实施方式中,生物剂是蛋白质性的。在另一优选的实施方式中,生物剂是微溶的。在更优选的实施方式中,生物剂基本上生理学上不溶。在更进一步的优选实施方式中,生物剂在生理 pH 基本上不溶。在另一优选的实施方式中,生物剂是这样的物质,其在给予后在体内能坚持 1 个小时的效力,更优选为 24 小时,更优选为 48 小时,仍然更优选为 1 周,仍然更优选为 1 个月,还仍然更优选为几个月。在更加尤其优选的实施方式中,生物剂是 TGF- β 超家族的成员。在仍然更加尤其优选的实施方式中,生物剂选自 BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6、GDF-7 及其任何的和所有的变体和同系物。例如,有用的 BMPs 包括那些含有序列——其是同系物或变体——的 BMPs,所述序列与 BMP-2、BMP4、

BMP-5、BMP-6、BMP-7、GDF-5、GDF-6 或 GDF-7 的 C- 末端半胱氨酸结构域具有至少 50%，优选为至少 60%，更优选为至少 70% 和最优选为至少 85% 的氨基酸序列同一性。如本文所考虑的，优选的 BMPs 包括任意这样的 BMPs 的生物学活性变体——包括含有保守氨基酸置换的变体。本发明所要求的是：这些变体保持与天然形式相当的生物学活性。如本文所使用的，术语“BMP 相关蛋白”或“BMP 相关的多种蛋白”意为任意一种或所有前述蛋白。

[0039] 在本文中有用的形态发生蛋白包括任意已知的天然存在的天然蛋白质——包括其等位负体、系统发育负体及其它变体。这些变体包括具有变化的糖基化模式、变化的 N- 末端的形式和天然蛋白质的活性截断或突变形式。有用的形态发生蛋白也包括那些生物合成产生的蛋白质（例如，“突变蛋白质”或“突变的蛋白质”）和那些蛋白质，其是普通蛋白质形态发生家族的新的有形态发生活性的成员。

[0040] 施用方式和递送方式；包括血管通路结构

[0041] 尤其重要的是，本发明考虑利用蛋白质，如——但不限于——那些 TGF- β 超家族的蛋白质的系统治疗方法，其是微创的。如本文所使用的，“系统的”意为非局部的。熟练的从业者应该理解，非局部的可以包括这样的方法：借助于该方法，蛋白质或其它生物活性剂在单个局部部位，如——但不限于——周边经皮部位或中央部位被引入对象，以便实现治疗对象的全身而不仅仅是单个局部部位。如本文所使用的，“微创”意为非创伤性的或非体外手术方法。熟练的从业者应该理解，微创方法可以包括涉及切口（一个或多个）或植入医疗装置（一个或多个）的程序。

[0042] 如已经陈述的，本发明是基于这样的发现：微溶生物活性剂可以经常规途径如口服给药、腹膜注射或反复周围注射以外的途径提供给对象。也就是说，微溶生物活性剂如蛋白质现在可以通过全身途径被有效地提供而没有不良作用并且不需要手术介入。

[0043] 为了本发明的目的，“递送部位”意为生物活性剂在该处实际上直接接触血液的解剖部位；然而，“施用部位”意为生物活性剂在该处首先经身体引入接受者的解剖部位。例如，根据一个实施方式，施用部位可以是导管被引入接受者的身体的部位，生物活性剂通过所述导管被施用。

[0044] 本发明利用了这样的发现：某些特殊的生理指标在成功施用和递送微溶生物活性剂，如蛋白质——包括示例性蛋白如 BMP-7 中是决定性的。在第一个例子中，实施本发明要求实际递送的血管内部位基本上不受损害。例如，最优选的部位是没有创伤的；例如，无水肿。血管周围组织、血管组织和 / 或血管内膜组织的完整性在最优选的部位是完整的。内膜完整性的指示物包括蛋白质在递送部位进入或渗漏到血管组织、血管周围组织和 / 或非血管组织的程度；优选为没有组织渗漏或渗透。也就是说，根据本发明的教导，在递送部位处、在递送部位附近或邻近的血管组织、血管周围组织和 / 或非血管组织应该在递送后基本上无生物剂。前述中的每一种均易于被本领域的普通技术人员利用常规材料和方法测量。

[0045] 关于再一个标准，在递送后，生物剂应该以至少 1ml/min 的速度分散。此外，熟练的从业者会认识到，分散速度可以被操纵；优选的分散速度与在中央静脉部位发生的分散速度相当。简而言之，任何施用方式和给药方式——其再生和 / 或模拟与通常由中央静脉路线或导管进入的中央静脉部位或深静脉部位有关的生理病状和解剖病状——在本发明的范围内。

[0046] 实施本发明的另一个标准涉及蛋白质溶液在血管内的递送部位被引入血液或与

血液混合的速度。熟练的从业者会理解,操纵引入或混合速度允许从业者操纵正被引入的溶液中的蛋白质浓度。有效降低递送部位蛋白质浓度的较慢引入速度允许较高浓度的起始材料,所述较高浓度的起始材料导致减少的施用体积以及减少的施用试剂引起的沉淀和非血管组织的无意渗漏。前述征象中的任意一种均易于被本领域的普通技术人员利用常规材料和方法测量。

[0047] 因此,在本发明当前优选的实施方式中,治疗损伤或患病组织的方法包括将包含生物剂的组合物施用到施用部位和将该组合物递送到血管内的递送部位,使得递送部位的内膜组织完整性基本上不受损害。在该实施方式中,生物剂以有效治疗损伤或患病组织的速度和量从递送部位分散。在某些实施方式中,施用部位和递送部位是同一个。在尤其优选的实施方式中,递送部位无小静脉瓣。在另外的实施方式中,递送部位的血流速度足以在距离递送部位遥远的部位提供生物学上有效的剂量。在再一个实施方式中,利用血管内设备——具有非破坏性构造的远端——完成递送步骤。在一个这样的实施方式中,该设备是具有非破坏性构造的留置血管内导管。

[0048] 在相关方面,本发明涉及组合物,其含有生物剂和血管通路结构。如本文所考虑的,血管通路结构是任意装置或设备,其可以被用于提供有效量的根据本发明的生物剂。最优选的血管通路结构是在递送部位并不破坏内膜组织的血管通路结构。根据本发明,血管通路结构是装置或设备,其提供进入对象血管系统的通路;血管系统可以是中央的或外周的。如本发明所考虑的,血管通路结构可以在对象的外部或内部植入。在某些实施方式中,这样的结构可以操作,以在距离植入部位遥远的部位将生物剂递送到对象血流中。中央递送部位是优选的。

[0049] 熟练的从业者通常应该熟悉血管通路结构,本文简要描述了最常见的血管通路结构;它们对本发明的效用将是显而易见的。本文考虑的结构包括,例如,希克曼 (Hickman) 路线、外周插入的中心静脉导管 (PICC)——这是示例性的中央静脉导管、和附孔导管 (portacath)。有几种类型的中央静脉导管。如以下更详细地描述的,PICC 路线通常被插入到臂中的静脉而不是颈 (内颈静脉) 或胸 (锁骨下静脉) 或腹股沟 (股静脉) 中的静脉。隧道式导管是另一种类型,其经手术被插入到颈或胸中的静脉,并在皮肤下面穿过。只有导管的末端经过皮肤被引进。此外,存在作为植入的端口或血管通路端口而已知的类型。这也是隧道式的,但整个装置——包括接受液体药物的端口——通常经皮下植入。

[0050] PICC 通常从臂静脉延伸进入心脏附近的上腔静脉,并且通常提供中央 IV 通路几个周多达几个月,其中,它们以导管顶端保留在相对大的静脉中的方式被放置,但并不延伸进入最大的中央静脉,它们被称为中间路线导管。非隧道式中央导管的口径比外周插入的中心静脉导管大,并被设计为通过更中心的静脉如颈中的颈静脉或腹股沟中的股静脉被放置。隧道式导管具有套 (cuff),其刺激组织生长,这将有助于将其保持在身体中的适当位置。隧道式导管的例子包括 HICKMAN® 导管、BROVIAC® 导管和 GROSHONG® 导管。HICKMAN®、BROVIAC® 和 / 或 GROSHONG® 被注册为 C. R. Bard, Inc. 及其相关公司——BCR, Inc. 的商标。当需要长时间地进入静脉时,隧道式导管是优选的。端口导管或皮下可植入端口是永久的装置,其由与小的贮器连接的导管组成,与隧道导管相似,两者都被放置在皮肤下面。开放端口导管是相似的,但保持在皮肤上面。

[0051] 在某些当前的优选实施方式中,治疗损伤或患病组织的方法包括向施用部位提供

含有生物剂和血管通路结构的组合物的步骤,于是,生物剂以有效治疗损伤或患病组织的量被递送。优选地,身体施用部位与生物剂的实际递送部位距离遥远。在某些实施方式中,递送部位是非外周部位。例如,在一个实施方式中,递送部位是中央部位。在某些实施方式中,施用部位是外周部位。

[0052] 与本发明的教导一致,当前优选的生物剂是 BMP-7,而损伤或患病非矿化组织是当前优选的治疗目标。这样的损伤或患病组织可以是器官。在尤其优选的治疗方法中,生物剂可生物利用至少约 0.5 小时,更优选为至少约 2 小时;至少约 8 小时;约 1 天,优选为多于 1 天。而且,有效量为每千克的患者体重约 10 微克至约 1000 微克的生物剂,更优选为约 50 微克至约 500 微克,最优选为约 100 微克至 300 微克生物剂。

[0053] 优选地,在本发明的一个实施方式中,放置血管线路,使其易于到达并且导管通道已充分原位愈合;例如,导管注射端的血管通路端口是引入治疗剂的。血管线路可以通过手术或不通过手术放置,然后,其可以愈合,以最小化或避免进入血管的穿刺点处的任何渗漏。根据本发明,术语“愈合”或“愈合的”表明组织完整性基本上不受损害和/或静脉穿刺点基本上没有组织损伤。换言之,术语“愈合”并不要求损伤或遭损部位的完全修复,尽管“愈合的”组织可以完全修复或不受损害。在一个实施方式中,术语“愈合”或“愈合的”表明损伤的组织或患病组织已经基本上被新的组织生长所取代,所述新的组织生长可以包括瘢痕组织。

[0054] 技术人员应该理解,本发明的治疗和施用方法可以被修饰或改变,以鉴于各种因素——包括但不限于适应症、疾病病理学和个体的体格特征——优化个体治疗。

[0055] 治疗性干预

[0056] 如上所说明的,本发明也提供治疗方法,其以有效改善和/或预防任意已知或潜在病状的量利用含有任意生物剂的本发明组合物或其制剂,对于所述病状生物剂是有效的。如本文所使用的,“有效的量”意为有效治疗施用生物剂的活有机体内病状的生物剂的量。例如,本发明的 BMP 制剂可以被用于治疗遭受结缔组织——如骨和软骨——疾病或损伤的患者。此外,如下所述的,本发明的 BMP 制剂可以被用于治疗其它组织疾病或损伤。

[0057] 在本发明的一个实施方式中,待改善的损伤是矿化或非矿化骨骼组织损伤。在另一个实施方式中,待改善的损伤或疾病是代谢性骨病、骨性关节炎、骨软骨疾病、类风湿性关节炎、骨质疏松、佩吉特氏病、牙周炎、牙本质发生、软骨疾病、创伤诱发和炎症诱发的软骨退化、年龄相关性软骨退化、关节软骨损伤和疾病、全厚软骨疾病、表面软骨缺损、系统性红斑狼疮后遗症、硬皮病后遗症、牙周组织再生、椎间盘突出和破裂、椎间盘变性疾病、骨软骨病或韧带、腱、滑液囊、滑膜和半月板组织的损伤以及疾病。在另一个实施方式中,待改善的损伤或疾病是肝疾病、肝切除术、肝切除、肾疾病、慢性肾衰竭、中枢神经系统局部缺血或创伤、神经病、运动神经元损伤、树突细胞缺乏和异常、帕金森氏病、眼疾病、眼瘢痕化、视网膜瘢痕化或胃肠道溃疡性疾病。

[0058] BMP 能够诱发哺乳动物中不同于骨或软骨的各种组织的骨形态发生和组织形态发生的发育级联作用 (developmental cascade)。该形态发生活性包括诱发祖细胞增殖和分化的能力以及通过事件的进行来支持和维持分化的表型的能力,这导致骨、软骨、非矿化骨骼或结缔组织以及成体组织的形成。

[0059] 例如, BMP 可以被用于治疗以预防代谢性骨病中的骨量损失和/或增加。利用

成骨蛋白预防代谢性骨病中的骨量损失和 / 或增加的一般治疗方法公开在美国专利号 5, 674, 844 中, 其公开内容通过引用被并入本文。本发明的 BMP 可被用于牙周组织再生。用于利用成骨蛋白的牙周组织再生的一般方法公开在美国专利号 5, 733, 878 中, 其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于肝再生。用于利用成骨蛋白的肝再生的一般方法公开在美国专利号 5, 849, 686 中, 其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于治疗慢性肾衰竭。用于利用成骨蛋白治疗慢性肾衰竭的一般方法公开在美国专利号 6, 861, 404 中, 其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于在中枢神经系统局部缺血或创伤之后增强功能恢复。用于利用成骨蛋白在中枢神经系统局部缺血或创伤之后增强功能恢复的一般方法公开在美国专利号 6, 407, 060 中, 其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于诱发树突生长。用于利用成骨蛋白诱发树突生长的一般方法公开在美国专利号 6, 949, 505 中, 其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于诱发神经细胞粘附。用于利用成骨蛋白诱发神经细胞粘附的一般方法公开在美国专利号 6, 800, 603 中, 其公开内容通过引用被并入本文。BMP 可被用于治疗和预防帕金森氏病。用于利用成骨蛋白治疗和预防帕金森氏病的一般方法公开在美国专利号 6, 506, 729 中, 其公开内容通过引用被并入本文。

[0060] 此外, BMP 可被用于修复患病或损伤的哺乳动物组织。无论是患病还是损伤位置处的现有组织提供适当的基质, 以允许祖细胞的增殖和组织特异性分化。此外, 损伤或患病组织位置——尤其是已经进一步被手术方法侵袭的位置——提供形态发生上允许的环境。

[0061] BMP 也可被用于在损伤后预防或本质上抑制瘢痕组织形成。它可以在该位置诱发组织形态发生, 预防迁移性成纤维细胞集结进入未分化的结缔组织。例如, BMP 可在部分肝切除后被用于蛋白质诱发的基本上损伤的肝组织的形态发生。

[0062] 作为另一个例子, BMP 也可以被用于诱发牙本质发生。目前为止, 牙髓组织对损伤的不可预测的反应是牙科中一个基本的临床问题。作为再一个例子, BMP 可以诱发对中枢静脉系统 (CNS) 修复的再生效应, 这可以利用大鼠脑穿刺模型评估。

[0063] 在骨骼病症的情况中, 一些因素会引起或促进哺乳动物中的软骨退化——包括创伤和炎症疾病。由炎症应答效应引起的对细胞的损伤已经被暗示为关节疾病 (例如, 类风湿性关节炎 (RA) 和骨性关节炎 (OA)) 中的软骨功能减少或软骨功能丧失的原因。此外, 自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮 (SLE) 和硬皮病也可以被表征为结缔组织退化。在一些软骨变性疾病如骨性关节炎 (OA) 的情况中, 目前还不知道将关节软骨的正常老化转变成病理 OA 过程的机制。前述疾病中的每一种均可以用本发明的材料和方法有效地治疗。

[0064] 如前所述, 本发明的 BMP 制剂可以被有效地用于治疗骨骼疾病或损伤。例如, 本发明的 BMP 制剂可被用于治疗导致软骨退化或软骨缺损, 如变性椎间盘或其它纤维软骨组织——包括腱、韧带或半月板的疾病或损伤。如公开的 PCT 申请 W005/115438 中所提出的, 本发明的制剂也可以被用于治疗关节软骨缺损或退化, 如关节如滑膜关节——包括膝、肘、髋或肩的软骨被覆 (lining)。在另一个实施方式中, 本发明的制剂被用于治疗关节中的关节软骨缺损部位, 如软骨缺损或骨软骨缺损。这样的关节软骨缺损可以是疾病过程, 如骨性关节炎或类风湿性关节炎的结果, 或者是由于关节损伤。

[0065] 制剂

[0066] 本发明的生物剂以及尤其是 BMP 可以被配制用于作为药物组合物的一部分施用给需要的哺乳动物, 优选为人类。在某些实施方式中, 生物剂可以在适当的载体或填充剂中

被施用,或者与适当的载体或填充剂一起施用,适当的载体或填充剂包括但不限于生物相容性油如麻油、透明质酸、环糊精、乳糖、棉子糖、甘露醇、羧甲基纤维素、热或化学反应性凝胶、蔗糖醋酸异丁酸酯。技术人员会理解,填充剂或载体能有助于本文所公开的生物剂的浓缩剂型的递送,其中,剂量体积包括但不限于,例如 20 μ l 或更少的体积。在本发明尤其优选的实施方式中,填充剂可以与在生理 pH 基本上不溶的本发明的生物剂联合使用,以增加生物剂的溶解,使得填充剂典型地充当载体,以释放生物剂。在仍然更加尤其优选的实施方式中,生物剂是 BMP-7。本发明当前优选的实施方式包含 BMP 制剂,其含有海藻糖,优选为乳酸盐缓冲液中的海藻糖,最优选为含有 9%海藻糖的 10mM 乳酸盐缓冲液中的 BMP-7。实施上述本发明的实施方式在本领域的技术内,以及技术人员会认识到的本发明的任意和所有的改变和修饰提供生物剂在体内的有效给予也在本领域的技术内。

[0067] 再进一步地,本发明的生物剂可以被单独或者与已知对组织形态发生具有有益作用的另一物质组合施用给需要其的哺乳动物。这样的物质(本文称为辅因子)的例子包括但不限于促进组织修复和再生和/或抑制炎症的物质。对刺激骨质疏松个体中骨组织生长有用的辅因子的例子,例如,包括但不限于维生素 D3、降钙素、前列腺素、甲状旁腺激素、地塞米松、雌激素和 IGF-I 或 IGF-II。对神经组织修复和再生有用的辅因子可以包括但不限于神经生长因子。其它有用的辅因子包括症状减轻辅因子——包括但不限于消毒剂、抗生素、抗病毒剂和抗真菌剂、止痛药和麻醉剂。

[0068] 如本领域技术人员将理解的,治疗组合中描述的化合物的浓度将取决于一些因素——包括但不限于待施用的药物剂量和应用的化合物的化学特性(例如,疏水性)而变化。优选剂量可能取决于变量——包括但不限于疾病的类型和程度、组织损失或缺陷、特定患者的总体健康状况、选择的化合物的相关生物学功效、化合物的配制、以及制剂中赋形剂的存在和类型。本发明的治疗分子可以被提供给个体,其中典型的剂量范围为每日约 10ng/kg 至约 1g/kg 的体重;优选的剂量范围为约 0.1mg/kg 至 100mg/kg 的体重,而更加尤其优选的剂量范围为 10-1000 μ g/ 的剂量。有技能的临床医生应该理解,本发明的有效剂量可以根据各种因素——包括但不限于适应症、疾病病理学和个体的体格特征——被修改。鉴于任意或所有的前述因素而改变、修改或最优化剂量显然也属于本领域的技术内。

[0069] 根据本发明的某些实施方式的参数和病状,可以控制生物剂的可用性。尤其地,通过改变特性如——但不限于——聚合物类型和分子量、速率调节剂的使用、增塑剂和沥滤剂(leachable agent)的使用、以及热塑性聚合物和生物剂的浓度和种类,可以控制来自制剂的生物剂的速率和可用性的程度。

[0070] 可以被包括速率调节剂、增塑剂和沥滤剂以操纵生物剂的释放速率和基质的揉曲性,在所述基质中,其是可选地被包含的。根据掺入到基质中的速率调节剂的特性,速率调节剂可以提高或减缓释放速率。已知的增塑剂以及适于聚合物系统中的次级假结合(secondary pseudobonding)的有机化合物可被接受作为速率调节剂,也可以被接受作为揉曲性改性剂和渗出剂。通常,这些试剂是一元羧酸、二元羧酸和三羧酸酯、二元醇和多元醇、聚醚、非离子表面活性剂、脂肪酸、脂肪酸酯、油如植物油以及类似物。基质中这样的试剂的浓度范围可以为相对于基质总重量达 60wt% 的量,优选为达 30wt%,而更优选为达 15wt%。一般地,这些速率调节剂、渗出剂、增塑剂和揉曲性改性剂及其应用在美国专利号 5,702,716 和 5,447,725 中有描述,其公开内容通过引用被并入本文,条件是即将被使用的

聚合物是生物相容的和 / 或生物可降解的。技术人员会理解,本发明包含本领域中能提高生物剂的溶解速率或生物剂的任意载体的降解速率或侵蚀速率的任意的和所有的试剂。因此,适合实施本发明的其它试剂包括但不限于共定位 (co-localized) pH 改性剂和张力改性物。在尤其优选的实施方式中,本发明的组合物包含以一定的浓度或数量提供的共定位 pH 改性剂或张力改性物,其实质上提高了生物剂的溶解速率。在另一优选的实施方式中,本发明的组合物包含以一定的浓度或数量提供的共定位 pH 改性剂或张力改性物,其实质上提高载体的降解速率或侵蚀速率。技术人员会理解,本发明的速率调节剂、渗出剂、增塑剂、揉曲性改性剂、pH 改性剂和张力改性物可以鉴于各种因素——包括但不限于期望的释放速率、载体特性 (如果有的话)、适应症、疾病病理学和个体的体格特征而被替代、修饰、改变特性或浓度以及最优化。

[0071] 本发明的生物剂的制剂可以进一步包括一种或多种赋形剂。赋形剂的例子在美国制药协会 (American Pharmaceutical Association) 和英国药学会 (Pharmaceutical Society of Great Britain) 联合出版的药物赋形剂手册 (Handbook of Pharmaceutical Excipients) 中有描述。可被用于制造和使用本发明的制剂和药物组合物的赋形剂包括但不限于:酸化剂,如乙酸、冰乙酸、柠檬酸、富马酸、盐酸、稀盐酸、苹果酸、硝酸、磷酸、稀磷酸、硫酸、酒石酸;醇变性剂,如地那铵苯甲酸盐、甲基异丁基酮、蔗糖八乙酸酯 (sucrose octacetate);碱化剂,如浓氨溶液、碳酸铵、二乙醇胺、二异丙醇胺、氢氧化钾、碳酸氢钠、硼酸钠、碳酸钠、氢氧化钠、三乙醇胺;防泡剂,如聚二甲基硅氧烷、二甲硅油;抗微生物防腐剂,如苯扎氯铵、苯扎氯铵溶液、苄索氯铵 (benzethonium chloride)、苯甲酸、苯甲醇、羟苯丁酯、西氯吡铵、三氯叔丁醇、氯甲酚、甲酚、脱氢醋酸、羟苯乙酯、羟苯甲酯、对羟基苯甲酸甲酯钠、苯酚、苯乙醇、乙酸苯基汞、硝酸苯汞、苯甲酸钾、山梨酸钾、尼泊金丙酯、尼泊金丙酯钠、苯甲酸钠、脱氢醋酸钠、丙酸钠、山梨酸、硫柳汞、麝香草脑;抗氧化剂,如抗坏血酸、棕榈酸抗坏血酸酯 (ascorbyl palmitate)、叔丁对甲氧酚、丁羟甲苯、次磷酸、一硫代甘油、棓酸丙酯、甲醛次硫酸钠、焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠、二氧化硫、生育酚、生育酚赋形剂;缓冲剂,如乙酸、碳酸铵、磷酸铵、硼酸、柠檬酸、乳酸、磷酸、柠檬酸钾、偏磷酸钾、磷酸氢钾、醋酸钠、柠檬酸钠、乳酸钠溶液、磷酸氢二钠、磷酸氢钠;螯合剂,如依地酸二钠、乙二胺四乙酸和盐、依地酸;涂层剂,如羧甲基纤维素钠、乙酸纤维素、邻苯二甲酸乙酸纤维素、乙基纤维素、明胶、药用釉料、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、甲基丙烯酸共聚物、甲基纤维素、聚乙烯二醇、聚乙烯醋酸邻苯二甲酸酯、虫胶、蔗糖、二氧化钛、巴西棕榈蜡、微晶蜡、玉米蛋白;颜料,如焦糖、红色颜料、黄色颜料、黑色颜料或搀合物、氧化铁;络合剂,如乙二胺四乙酸和盐 (EDTA)、依地酸、龙胆酸乙醇酰胺、羟基喹啉硫酸盐;干燥剂,如氯化钙、硫酸钙、二氧化硅;乳化剂和 / 或增溶剂,如阿拉伯胶、胆甾醇、二乙醇胺 (添加剂)、单硬脂酸甘油酯、羊毛脂醇、卵磷脂、甘油单酯和甘油二酯、单乙醇胺 (添加剂)、油酸 (添加剂)、油醇 (稳定剂)、波洛沙姆、聚氧乙烯 50 硬脂酸酯、聚氧乙烯 35 蓖麻油 (caster oil)、聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油、聚氧乙烯 10 油醚、聚氧乙烯 20 鲸蜡硬脂醚、聚氧乙烯 40 硬脂酸酯、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 40、聚山梨醇酯 60、聚山梨醇酯 80、丙二醇二乙酸酯、丙二醇单硬脂酸酯、硫酸月桂酯钠、硬脂酸钠、失水山梨糖醇单月桂酸酯、失水山梨糖醇单油酸酯 (sorbitan monooleate)、失水山梨糖醇单棕榈酸酯、失水山梨糖醇单硬脂酸酯、硬脂酸、三乙醇胺、乳化蜡;助滤剂,如粉状纤维素、纯化硅藻土;助流剂和 / 或

抗结块剂,如硅酸钙、硅酸镁、胶体二氧化硅、滑石;湿润剂,如甘油、己二醇、丙二醇、山梨醇;增塑剂,如蓖麻油、二乙酰化单甘油酯、邻苯二甲酸二乙酯、甘油、单乙酰化和二乙酰化单甘油酯、聚乙烯二醇、丙二醇、三醋汀、柠檬酸三乙酯;聚合物膜,如乙酸纤维素;溶剂,如丙酮、乙酸、乙醇、稀乙醇、水合戊烯、苯甲酸苄酯、丁醇、四氯化碳、氯仿、玉米油、棉籽油、乙酸乙酯、甘油、己二醇、异丙醇、甲醇、二氯甲烷、甲基异丁基酮、矿物油、花生油、聚乙二醇、碳酸异丙烯酯、丙二醇、麻油、注射用水、注射用灭菌水、冲洗用灭菌水、纯化水;吸收剂,如粉状纤维素、碳、纯化硅藻土、和二氧化碳吸收剂;硬化剂,如氢化蓖麻油、鲸蜡硬脂醇、鲸蜡醇、十六烷基酯蜡、硬脂、石蜡、聚乙烯赋形剂、硬脂醇、乳化蜡、白蜡、黄蜡;悬浮剂和/或增粘剂,如阿拉伯胶、琼脂、褐藻酸、单硬脂酸铝、皂土、纯化皂土、皂粘土乳、卡波姆 934p、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钠 12、角叉藻聚糖、微晶和羧甲基纤维素钠纤维素、糊精、明胶、瓜尔胶、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、硅酸镁铝、甲基纤维素、果胶、聚乙烯氧化物、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯酮、藻酸丙二醇酯、二氧化硅、胶体二氧化硅、藻酸钠、西黄蓍胶、黄单胞菌胶;和润湿剂和/或增溶剂,如苯扎氯铵、苄索氯铵、西氯吡铵、多库酯钠、壬苯聚醇 9、壬苯聚醇 10、辛苯昔醇 9、波洛沙姆、聚氧乙烯 35 蓖麻油、聚氧乙烯 40、氢化蓖麻油、聚氧乙烯 50 硬脂酸酯、聚氧乙烯 10 油醚、聚氧乙烯 20 鲸蜡硬脂酰醚、聚氧乙烯 40 硬脂酸酯、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 40、聚山梨醇酯 60、聚山梨醇酯 80、硫酸月桂酯钠、失水山梨糖醇单月桂酸酯 (sorbitan monolaureate)、失水山梨糖醇单油酸酯、失水山梨糖醇单棕榈酸酯、失水山梨糖醇单硬脂酸酯、泰洛沙泊。

[0072] 生物活性助剂 (Bioactive Co-agent)

[0073] 本发明也考虑“生物活性助剂”,其可以与本发明的生物剂组合物被共同施用,包括但不限于促蛋白合成剂 (anabolic agent)、抗酸剂、止喘剂、抗胆固醇血症剂和抗脂质剂、抗凝剂、抗惊厥剂、止泻剂、止吐剂、抗感染剂——包括例如,抗菌剂和抗微生物剂、抗炎剂、抗躁狂剂、抗代谢剂、止恶心药、抗肿瘤剂、抗骨吸收剂、减肥药、解热药和止痛剂、解痉药剂、抗凝血剂、镇咳剂、抗尿酸血症药、抗心绞痛剂、抗组胺药、食欲抑制剂、生物剂、大脑扩张药 (cerebral dilator)、冠状动脉扩张药 (coronary dilator)、支气管扩张药、细胞毒性剂、减充血剂、利尿剂、诊断剂、红细胞生成剂、祛痰药、胃肠镇静剂、高血糖剂、安眠药、降血糖药、免疫调节剂、离子交换树脂、缓泻药、矿物质补充剂、溶粘蛋白剂、神经肌肉药、外周血管舒张药、向精神药物、镇静剂、刺激剂、甲状腺和抗甲状腺剂、组织生长剂、子宫弛缓剂、维生素或抗原物质。

[0074] 更具体而言,优选用于与本发明共同施用的生物活性助剂包括但不限于雄激素抑制剂、多糖、生长因子、激素、二膦酸盐、抗血管生成因子、右美沙芬、氢溴酸右美沙芬、诺斯卡品、咳必清、盐酸氯苯达诺、马来酸氯苯那敏、酒石酸苯茚达明、马来酸新安特甘、琥珀酸多西拉敏、柠檬酸苄苯醇胺、盐酸去氧肾上腺素、盐酸苯丙醇胺、盐酸假麻黄碱、麻黄碱、磷酸可待因、硫酸可待因吗啡、矿物质补充剂、考来烯胺、N-乙酰基普鲁卡因胺、醋氨沙洛、阿司匹林、异丁苯丙酸、盐酸去甲麻黄碱、咖啡因、愈创甘油醚、氢氧化铝、氢氧化镁、肽、多肽、蛋白质、氨基酸、激素、干扰素、细胞因子和疫苗。可以与本发明共同施用的其它代表性的生物活性助剂包括但不限于肽药物、蛋白质药物、脱敏物质、抗原、抗感染剂,如抗生素、抗微生物剂、抗病毒物质、抗菌物质、抗寄生物物质、抗真菌物质及其组合、抗变应原物质 (antiallergenic)、雄激素类固醇、减充血剂、安眠药、甾体抗炎剂、抗胆碱药、拟交感神经

剂、镇静剂、缩瞳药、心理兴奋剂、安定剂、疫苗、雌激素、促孕剂、体液剂、前列腺素、止痛药、解痉药、抗疟药、抗组胺药、心脏活性剂、非甾体抗炎剂、抗震颤麻痹剂、抗高血压剂、 β -肾上腺素能阻滞剂、营养剂和苯菲啶生物碱。生物活性助剂还可以是能够充当刺激剂、镇静剂、安眠药、止痛药、抗惊厥剂以及类似物的物质。

[0075] 生物活性助剂也可以是物质或其代谢前体,其能够促进细胞和组织生长及存活,或者能够增加功能细胞,例如,血细胞、神经元、肌肉、骨髓、骨细胞和组织及类似物的活性。例如,可以被共同施用的生物活性助剂包括但不限于神经生长促进物质,例如,神经节苷酯、磷脂酰丝氨酸、神经生长因子、脑源性神经营养因子。生物活性助剂也可以是软组织或纤维结缔组织的生长因子,例如,成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、内皮细胞生长因子、血小板衍生的生长因子、胰岛素样生长因子、牙周韧带细胞生长因子等等。

实施例

[0076] 1. 示例性的 BMP 的微创系统性递送

[0077] 在啮齿类动物中 BMP-7 的中央静脉递送

[0078] (a) 大鼠研究 1 号:确定通过静脉内导管经静脉内施用给雌性 Sprague-Dawley 大鼠的 BMP-7 的最大耐受剂量和 28 天可行性毒性研究

[0079] 该研究的目的是确定示例性 BMP——BMP-7 的最大耐受剂量 (MTD)。通过颈静脉血管通路端口 (VAPs),给四只雌性 Sprague-Dawley 大鼠服用作为 1mg/mL 溶液的 10mg/kg 的 BMP-7 ($n = 2$) 或等体积 (1mL) 的 10mM 乳酸盐 /9% 海藻糖缓冲液 ($n = 2$),一周 5 天,达 4 周,共计在 28 天内给予 20 剂量。收集血液用于在暴露前以及在剂量给予之后第 28 天分析血清抗 BMP-7 抗体。通过评估临床体征、体重、CBC、血清化学、尸体剖检以及器官重量,评价动物。分析血清样品,以确定抗 BMP-7 抗体的量。

[0080] 没有临床体征、改变的体重、CBC、血清化学、尸体剖检、器官重量、宏观或微观发现则被认为与 IV 施用 BMP-7 有关。在尸体剖检时,所有器官表现出都在正常范围之内。一个处理动物的导管被阻塞,而该动物具有高数量的 WBCs,表明导管可能遭受细菌污染。

[0081] 在该研究条件下,没有达到 MTD;动物对 10mg/kg 的 BMP-7 耐受性良好。这是基于测试的 BMP-7 溶液的 MFD (最大可行性剂量)。

[0082] (b) 大鼠研究 2 号:在 Sprague-Dawley 大鼠中经静脉内施用 BMP-7 的 28 天安全评价

[0083] 该研究的目的是评估通过颈导管经静脉内 (IV) 施用给雌性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠的 1mg/kg BMP-7 的作用。在 10 天的过程中,通过颈静脉导管给五只雌性 SD 大鼠 IV 注射 6 次 1mg/kg BMP-7。在 10 天内,仅给五只对照雌性 SD 大鼠 IV 注射载体 (vehicle) 6 次。针对在注射前后临床体征的变化评估动物。没有临床体征被记录为与 IV 施用 BMP-7 或载体有关。IV 施用 BMP-7 与大鼠中没有毒性征兆有关,并且耐受性良好。

[0084] 因此,这些观察确认实施本发明的方法减少或消除通常与利用 BMP 的系统性治疗有关的不良作用。

[0085] 在猫中 BMP-7 的中央静脉递送

[0086] (a) 经静脉内施用给猫的 BMP-7 的药代动力学曲线

[0087] 该研究的目的是评价通过中央静脉导管 (在静脉中植入的血管通路端口) IV 施用

的 BMP-7 对猫的任何作用。给 10 只成年雄性短毛家猫 (domestic short hair cat) 施用 0.3mg/kg BMP-7, 每周一次, 达四周, 然后施用 1mg/kg BMP-7, 每周一次, 达两周, 接下来施用 2mg/kg BMP-7, 每周一次, 达两周。通过临床观察、体格检查、临床病理学和体重评价猫。在整个研究中, 所有的猫临床上保持正常, 并且没有任何不良作用的征兆或迹象; 在整个研究过程中, 在任何一只猫中没有观察到任何血管刺激或炎症的征兆 (包括没有任何或软骨形成的征兆)。在该研究条件下, 通过中央静脉导管在雄性猫中 IV 施用多达 2mg/kg BMP-7 没有不良发现。

[0088] 在猴子中 BMP-7 的中央静脉递送

[0089] (a) 在食蟹猴 (Cynomolgus Monkey) 中的 BMP-7 静脉内毒性研究

[0090] 该研究的目的是确定在 4 周内 14 次的每隔一天静脉内 (IV) 注射之后 BMP-7 在雄性和雌性食蟹猴中的潜在毒性, 以及评估在两周的恢复时期之后潜在作用的恢复。该研究由 5 组组成, 每组有 3 只雄性和 3 只雌性食蟹猴 (主要研究) 以及在第一组和第四组有另外的 2 只雄性和 2 只雌性食蟹猴, 以评估恢复。通过具有血管通路端口的中央静脉导管给所有动物注射。给第一组注射对照项目 (载体、5mM 乳糖 /9% 海藻糖), 第二组注射 0.1mg/kg SF BMP-7, 第三组注射 0.3mg/kg SF BMP-7, 第四组注射 1mg/kg SF BMP-7, 以及第五组 5 计划接受 0.3mg/kg 37C BMP-7。通过监测临床观察、体重、食物消耗、体格检查和眼科检查、体温、呼吸速率、间接血压、心电图记录术 (ECGs) 和临床病理学参数 (CBCs、血凝、血清化学和尿分析法), 以及尸体剖检和器官重量以及组织的微观评价, 评价毒性。

[0091] 在第一天, 第五组中的动物以约 1mg/kg 的剂量接受 BMP-7, 而不是以 0.3mg/kg 的剂量接受 BMP-7。在第五天之后, 对第五组的动物暂停剂量给予, 并且将动物从研究中去除。

[0092] 没有观察到与 BMP-7 有关的临床观察或体重、食物消耗、眼科检查、体温、呼吸速率、血压、ECGs 或临床病理学参数的改变。用于通过植入的中央静脉路线施用药物的静脉没有观察到的与施用 BMP-7 有关的总的或微观发现。

[0093] 在 28 天内每隔一天 (达 14 剂量) 用 0.1 (第二组)、0.3 (第三组) 或 1 (第四组) mg/kg/day 的 SF BMP-7 IV 处理的动物与对照动物 (第一组) 相比, 没有被认为毒理学上有意义的或临床上相关的观察或发现。在该研究条件下, 没有观察到的不良作用水平 (NOAEL) 和没有观察到的作用水平 (NOEL) 被确定为超过针对雄性和雌性食蟹猴的测试的最高剂量 (1mg/kg BMP-7)。

[0094] 2. 示例性 BMP 的微创系统性递送

[0095] 灵长类中 BMP-7 的中央静脉递送

[0096] (a) 灵长类研究 1 号

[0097] 三只雌性和雄性食蟹猴 (食蟹猴 (Macaca fascicularis)) 中的每一只均经手术装备有血管通路端口, 通过该端口, BMP-7 根据以下方案被施用和递送:

[0098] 灵长类研究 1

[0099]

组号	N	剂量水平 (mg/kg/天)	剂量浓度 (mg/mL)	剂量体积 (mL/kg)	给药方案 ^{a,b}	尸体剖检 天
1	6	0	0	1.0	从第 1 天到第 27 天 每隔一天一次	第 28 天
2		0.1	1.0	0.1		
3		0.3		0.3		
4		1.0		1.0		

[0100] ^a 通过约 30 分钟的输注施用第一组和第四组的剂量。

[0101] ^b 通过约 15 分钟的输注施用第二组和第三组的剂量。

[0102] 收集血清,以测量对照对象和处理对象中的 BMP-7 抗体水平。在第 28 天,给对象实施安乐死,并收集组织,用于同时进行宏观的和微观的病理学评价。

[0103] 在对照对象和处理对象中施用部位(即,大静脉的腔)处的宏观和微观发现结果仅显示长期留置血管内导管植入的预期征兆。也就是说,无论是对照对象还是处理对象都不显示任何其它作用,如纤维化或骨形成。同样,当与对照对象相比时,BMP-7 处理的对象不显示局部导管刺激的征兆。因此,这些数据证实:根据本发明系统性施用 BMP 规避了与系统性递送 BMP 的常规方法有关的任何不良作用。

[0104] (b) 灵长类研究 2 号

[0105] 八只年轻成年雄性食蟹猴(*Macaca fascicularis*)将经手术装备基于髂的血管通路端口和导管,通过该端口和导管,BMP-7 将根据以下方案被施用和递送:

[0106] 灵长类研究 2

[0107]

阶段号	组号	N	生物剂	剂量水平 (mg/kg/天)	剂量浓度 (mg/ml)	剂量体积 (ml/kg)	给药方案	测试的 最后一天
I	1	2	BMP-7	1.0	1.0	1.0	1-14 天, 每天一次	15
I	2	2	BMP-7	1.0	1.0	1.0	1-27 天, 每隔一天一次	28
II	3	2	BMP-7	0.5	1.0	0.5	1-14 天, 每天一次	15
II	4	2	BMP-7	0.5	1.0	0.5	1-27 天, 每隔一天一次	28

[0108] 如研究方案中所述的,BMP-7 将通过血管通路端口被施用 14 天(每天一次)或 27 天(每隔一天一次)。在通过导管施用 BMP-7 之前将先施用 3ml 足够的 10mM 乳酸盐,接下来施用 9%海藻糖溶液。BMP-7 每天将在大约相同的时间被施用。血样将被从外周血管收集,并被测试各种血液的、化学的、抗体和毒代动力学参数。在完成研究之后,动物将被处死,并且进行完整的大体尸体剖检——包括各种外部和内部组织和器官的检查,进一步包括施用部位和递送部位的检查。

[0109] 简而言之,血样分析将证实生物学上有意义的 BMP-7 水平是存在的,并足以引起

BMP-7 循环抗体。简而言之，死后分析将证实没有根据本发明系统性施用 BMP-7 的不良作用。因此，该研究将证明利用血管通路结构可以完成示例性 BMP 的微创系统性递送，从而允许持续的系统性治疗而没有不良副作用。

[0110] (c) 灵长类研究 3 号

[0111] 四只年轻成年雄性食蟹猴 (*Macaca fascicularis*) 经手术装备基于髂的血管通路端口和导管，通过该端口和导管，BMP-7 根据以下方案被施用和递送：

[0112] 灵长类研究 3

[0113]

组号	N	生物剂	剂量	剂量浓度	剂量体积	给药方案	测试的
			(mg/kg/天)	(mg/ml)	(ml/kg)		最后一天
1	2	BMP-7	0.5	1.6	0.31	1-28 天， 每天一次	29
2	2	BMP-7	1.5	1.6	0.94	1-28 天， 每天一次	29

[0114]

[0115] 在约 30 分钟的剂量给予时期内，BMP-7 将通过将规定的体积引入端口开口而被施用。如研究方案中所述的，BMP-7 将通过血管通路端口被施用 28 天（每天一次）。在通过导管施用 BMP-7 之前将先施用 3ml 足够的 10mM 乳酸盐，接下来施用 9% 海藻糖溶液。BMP-7 每天将在大约相同的时间被施用。血样将从外周血管收集，并被测试各种血液的、化学的、抗体和毒代动力学参数。在完成研究之后，动物将被处死，并且进行完整的大体尸体剖检——包括各种外部和内部组织和器官的检查，进一步包括施用部位和递送部位的检查。

[0116] 简而言之，血样分析将证实生物学上有意义的 BMP-7 水平是存在的，并足以引起 BMP-7 循环抗体。简而言之，死后分析将证实没有根据本发明系统性施用 BMP-7 的不良作用。因此，该研究将证明利用血管通路结构可以完成微创系统性递送示例性 BMP，从而允许持续的系统性治疗而没有不良副作用。

[0117] 3. 在人类中微创系统性递送示例性 BMP 的治疗用途：

[0118] (a) 骨质疏松症

[0119] 具有证实的骨质疏松症临床诊断的一群人类患者将通过位于中央的导管根据本发明的方法被施用 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7，一周一次。期望这样的治疗将在治疗的患者群中将疾病调节至统计学上有意义的程度。

[0120] (b) 代谢性骨病

[0121] 具有证实的代谢性骨病临床诊断的一群人类患者将通过位于中央的导管根据本发明的方法被施用 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7，一周一次。期望这样的治疗将在治疗的患者群中将疾病调节至统计学上有意义的程度。

[0122] (c) 纤维化——包括肝、肺、心脏和肾表现

[0123] 具有证实的纤维化——包括肝、肺、心脏和肾纤维化的每一个——临床诊断的人类患者群将通过位于中央的导管根据本发明的方法被施用 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7，一周一次。期望这样的治疗将在每一个治疗群中将疾病调节至统计学上有意义的程度。

[0124] (d) 神经和脊髓损伤

[0125] 具有证实的神经和脊髓损伤中每一种的临床诊断的人类患者群将通过位于中央的导管根据本发明的方法被施用 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7, 一周一次。期望这样的治疗将在每一个治疗群中将疾病调节至统计学上有意义的范围。

[0126] (e) 瘤转移

[0127] 具有证实的瘤转移病临床诊断的一群人类患者将通过位于中央的导管根据本发明的方法被施用 0.01-3.0 μ g/kg 剂量的 BMP-7, 一周一次。期望这样的治疗将在治疗的患者群中将疾病调节至统计学上有意义的程度。

[0128] 等同物

[0129] 本发明可以被体现为其它具体形式而不偏离其精神或本质特征。本发明的实施方式因此应该被认为是说明性的而非限制性的, 由所附权利要求书而非前述说明书所表明的本发明的范围, 以及落入权利要求书的等同物的含义和范围内的所有变化因此拟被包含其中。