

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680044730.5

[51] Int. Cl.

A61P 9/12 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/22 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 12 月 3 日

[11] 公开号 CN 101316626A

[22] 申请日 2006.5.5

[21] 申请号 200680044730.5

[30] 优先权

[32] 2005.9.29 [33] US [31] 60/722,302

[86] 国际申请 PCT/US2006/017507 2006.5.5

[87] 国际公布 WO2007/040636 英 2007.4.12

[85] 进入国家阶段日期 2008.5.29

[71] 申请人 菲布罗根公司

地址 美国加利福尼亚

[72] 发明人 I·朗塞特默帕罗伯克

T·W·西利 R·C·斯蒂芬森

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 张晓威

权利要求书 2 页 说明书 19 页 附图 4 页

[54] 发明名称

用于降低血压的方法

[57] 摘要

本发明涉及用于降低血压的方法和药剂。本发明还提供用于降低舒张压、用于降低收缩压和用于降低平均动脉压的方法和药剂。

1. 用于降低个体中的血压的方法，所述方法包括向所述个体给药有效量的抑制结缔组织生长因子(CTGF)的药剂，从而降低所述个体中的血压。
2. 权利要求1的方法，其中所述个体是人个体。
3. 权利要求2的方法，其中所述个体患有高血压或具有患高血压的危险。
4. 权利要求2的方法，其中所述个体患有糖尿病或具有患糖尿病的危险。
5. 权利要求2的方法，其中所述个体是以前曾用一种或多种血压药治疗过或正在使用一种或多种血压药的个体。
6. 前述任一项权利要求的方法，其中所述方法用于治疗或预防所述个体中的与血压升高或高血压相关的病症。
7. 前述任一项权利要求的方法，其中所述个体患有肾脏疾病或肾病。
8. 权利要求7的方法，其中所述个体患有糖尿病肾病。
9. 前述任一项权利要求的方法，其中所述抑制CTGF的药剂是多肽、多核苷酸或小分子。
10. 权利要求9的方法，其中所述抑制CTGF的药剂是与CTGF结合的抗体、反义分子、siRNA或小分子化合物。
11. 权利要求9的方法，其中所述抑制CTGF的药剂是针对CTGF的人单克隆抗体。
12. 权利要求11的方法，其中所述抗体是WO 2004/108764中描述的CLN-1。
13. 前述任一项权利要求的方法，其与另一治疗方法结合以治疗血压升高、高血压或相关的病症和并发症。
14. 权利要求13的方法，其中所述治疗方法为给药选自如下一组的治疗性药剂：血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂、 β 阻滞

剂、 α 阻滞剂、钙通道阻滞剂、利尿剂和血管扩张剂。

15. 前述任一项权利要求的方法,其中所述方法用于减少个体中的与血压升高相关的基因的表达。

16. 权利要求 15 的方法,其中所述基因是血管紧张素 II 的 I 型受体。

用于降低血压的方法

本申请要求 2005 年 9 月 29 日提交的系列号为 60/722,302 的美国临时申请的优先权，该申请全文引入本文作为参考。

发明领域

本发明涉及用于降低血压的方法和药剂(agent)。本发明还提供用于降低舒张压、用于降低收缩压和用于降低平均动脉压的方法和药剂。

发明背景

血压升高(例如任何比正常水平高的血压水平)和高血压是严重的公共健康问题。很多危险因素与血压升高或发生高血压相关，包括年龄、种族、家族史、肥胖、少动、吸烟、饮酒、饮食、糖尿病和应激。

血压升高或高血压的个体具有极高的发生多种病症和并发症的危险。这些病症和并发症的程度和严重性表明急需降低血压以及治疗高血压或预防/逆转高血压进程的早期和有效的治疗方案。相对较小的血压降低可显著降低与高血压相关的共发病率(co-morbidities)和共死亡率(co-mortalities)。例如，在 40-69 岁的成人中，收缩压降低 20 mm Hg (大约相当于舒张压降低 10 mm Hg)与因中风和其它血管病导致的死亡减少两倍多相关(Lewington 等人(2002) Lancet 360:1903-1913.)。

因此，在本领域中对用于降低血压、治疗高血压的方法和用于治疗与血压升高或高血压相关的病症和并发症或用于预防这些病症和并发症发生的方法有需求。

本发明通过提供用于降低血压的新的方法和药剂满足了这个需求。本发明的发明人证明，例如通过给药抗结缔组织生长因子(CTGF)药剂实现的对个体中 CTGF 的特异性抑制降低所述个体中的血压。还提供了用于降低血压和用于治疗高血压的方法和药剂，以及用于治疗与血压升高或高血压相关的病症和并发症或用于预防这些病症和并发症发生的方法。

发明概述

本发明部分涉及以下发现，即结缔组织生长因子(CTGF)在收缩压和舒张压方面发挥关键作用。

本发明涉及用于降低血压的方法和药剂。特别地，本发明证明，给药抗 CTGF 药剂有效地降低人和其它哺乳动物个体中的收缩压和舒张压。

还提供了用于降低血压和用于治疗高血压的方法和药剂，以及用于治疗与血压升高或高血压相关的病症和并发症或用于预防这些病症和并发症发生的方法。

在一个实施方案中，本发明提供了用于降低个体中的血压的方法，所述方法包括向所述个体给药有效量的抗 CTGF 药剂，从而降低所述个体中的血压。在本发明的优选实施方案中，所述个体是哺乳动物个体。更优选地，所述个体是人个体。

在所述个体是人个体的一些实施方案中，所述个体选自如下一组：具有较高正常血压的个体、具有较高血压的个体和患高血压的个体。在本发明的特定实施方案中，所述高血压进一步选自如下一组：轻度高血压、中度高血压、重度高血压和极重度高血压。

在所述个体是人个体的另一些实施方案中，所述个体是患有糖尿病或具有患糖尿病危险的个体。所述糖尿病在各实施方案中可选自如下一组：1 型糖尿病和 2 型糖尿病。

在本发明的一些方面考虑所述个体是具有发生血压升高或高血压危险的人个体。这些个体可以包括具有一个或多个各种已知与发生血压升高或较高血压或高血压的危险升高相关的危险因素的个体。这些危险因素包括，例如，较高血压的家族史、糖尿病、肥胖、一些种族或人种的遗传、久坐的生活方式、年龄、饮酒、吸烟、摄入咖啡因、饮食、钠敏感和盐摄入、肾脏疾病和肾功能不全、睡眠呼吸暂停、妊娠、肝硬化、库兴氏病、一些药物、情绪因素、应激等等。在一些方面，具有危险的个体是以前曾用一种血压药或者一种或多种血压药治疗过或正在使用一种血压药或者一种或多种血压药的个体，所述血压药包括血管紧张素转换酶抑制剂(例如，贝那普利、福辛普利、赖诺普利、喹那普利)、血管紧张素 II 受体阻滞剂(例如氯沙坦)、 β 阻滞剂(例如，酒石酸美托洛尔、盐酸倍他洛尔、丙戊沙坦)、

利尿剂(例如氢氯噻嗪)、血管扩张剂(例如硝酸异山梨酯)、 α 阻滞剂、钙通道阻滞剂和他汀类药物。本文特别考虑, 在特别的方面, 具有危险的个体是血压没有升高的个体或具有正常血压或者甚至低于正常血压的个体, 例如, 收缩压等于或低于 120 mm Hg 或者舒张压等于或低于 80 mm Hg。

本文还提供了用于治疗或预防个体中的高血压的方法, 所述方法包括向所述个体给药有效量的抗 CTGF 药剂, 从而治疗或预防所述个体中的高血压。

本发明进一步包括用于治疗或预防个体中的与血压升高或高血压相关的病症的方法, 所述方法包括向所述个体给药有效量的抗 CTGF 药剂, 从而治疗所述个体中的所述病症。在各个方面, 所述病症选自如下一组: 心血管疾病、心肌梗死、充血性心力衰竭、心脏肥大、冠心病、心律失常、动脉粥样硬化、动脉硬化、肾病、视网膜病、神经病、中风、肥胖、糖尿病、骨病、性功能障碍和代谢综合征。

在本发明的各实施方案中, 有需要的个体是患有肾脏疾病或肾病, 特别是糖尿病肾病的个体。

特别地考虑, 本文描述的各个方法的各实施方案中, 优选的个体是人个体。

本文所用的术语抗 CTGF 药剂是任何抑制 CTGF 的表达或活性的药剂。优选的抗 CTGF 药剂在下文有描述, 并包括抗体、小分子、反义分子、其它多核苷酸等等。在本文所描述的任何方法中, 特别地考虑抗 CTGF 药剂可以是多肽、多核苷酸或小分子; 例如, 结合 CTGF 的抗体、反义分子、siRNA、小分子化合物等等。特别地考虑使用针对 CTGF 的人单克隆抗体。在特定的实施方案中, 所述抗体是国际公布 WO 2004/108764 中描述的 CLN-1。

本发明考虑本发明的方法与其它治疗结合的应用。参见如下讨论。在一个实施方案中, 所述方法与另一治疗方法结合来治疗血压升高或较高血压、高血压或相关的病症和并发症, 例如, 血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂、 β 阻滞剂、 α 阻滞剂、钙通道阻滞剂、利尿剂、血管扩张剂等等。

本发明进一步包括用于调节个体中的与血压升高相关的基因的表达的

方法,所述方法包括向所述个体给药有效量的抗 CTGF 药剂,从而调节所述个体中的所述基因的表达。在一些实施方案中,本发明的方法减少与血压升高相关的基因的表达。在一个实施方案中,所述基因编码血管紧张素 II 的 I 型受体,并提供了用于减少这种基因的表达的方法。

本发明的这些和其它实施方案是本发明所属领域普通技术人员考虑本申请披露内容之后会容易地想到的,所有这些实施方案为特别考虑的。

附图说明

图 1 显示证明本发明的方法和药剂有效地降低哺乳动物个体中的收缩压的数据。

图 2 显示证明本发明的方法和药剂有效地降低哺乳动物个体中的舒张压的数据。

图 3 显示证明本发明的方法和药剂有效地降低哺乳动物个体中的平均动脉压的数据。

图 4 显示证明本发明的方法和药剂有效地降低哺乳动物个体中的血管紧张素 II 的 I 型受体基因表达的数据。

详细描述

在描述本发明的组合物和方法之前,要理解,本发明不限于所描述的特定的方法、方案、细胞系、测定法和试剂,因为它们可以发生改变。也要理解,本文所用的术语意在描述本发明的特定实施方案,而决不是意在限制如所附权利要求书所示的本发明的范围。

必须注意,除非上下文有清楚指示,否则本文和权利要求书中所用的单数形式“一个”和“所述”包括复数形式。因此,例如“一个片段”包括众多这类片段,“抗体”指一个或多个抗体及本领域技术人员已知的该抗体的等价物,等等。

除非另有说明,本文所用的所有科技术语具有本发明所属领域普通技术人员所通常理解的相同含义。尽管与本文描述的方法和材料类似或等价的任何方法和材料均可在实施和测试本发明中使用,但是现在描述的是优选的方法、装置和材料。本文引用的所有出版物均以其全文引入作为参考,

其目的是描述和公开所述出版物中报导的可用于本发明的方法、试剂和手段。本文的任何内容均不应被视为承认本发明不先于根据在先发明的这种公开。

除非特别指明，本发明的实施将采用化学、生物化学、分子生物学、细胞生物学、遗传学、免疫学和药理学的常规方法。这些技术在文献中有充分解释。参见例如 Gennaro, A.R.等人(1990) Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 18 版, Mack Publishing Co.; Colowick, S. 等人编著, Methods In Enzymology, Academic Press, Inc.; Handbook of Experimental Immunology, 第 I-IV 卷(D.M. Weir 和 C.C. Blackwell 编著, 1986, Blackwell Scientific Publications); Maniatis, T.等人编著(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition, 第 I-III 卷, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F.M.等人编著(1999) Short Protocols in Molecular Biology, 第 4 版, John Wiley & Sons; Ream 等人编著(1998) Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, Academic Press); PCR (Introduction to Biotechniques Series), 第 2 版(Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)。

本发明部分涉及以下发现，即结缔组织生长因子(CTGF)在收缩压和舒张压方面发挥关键作用。

本发明涉及用于降低血压的方法和药剂。特别地，本发明证明，给药抗 CTGF 药剂有效地降低人个体中的收缩压和舒张压。

还提供了用于降低血压、治疗高血压的方法和药剂，以及用于治疗与血压升高或高血压相关的病症和并发症或用于预防这些病症和并发症发生的方法。

由于本发明提供了用于降低血压、治疗高血压等的方法和药剂，在本发明的优选实施方案中考虑，所述方法和药剂用于降低血压升高或具有较高血压或高血压或者具有发生血压升高或较高血压或高血压的危险的个体中的血压。可以通过本领域技术人员接受和使用的任何量度来确定个体是否是这样的个体。例如，具有低于 120 mm Hg 的收缩压和低于 80 mm Hg 的舒张压的人个体可以被认为是具有最佳血压的个体。具有 120-130 mm Hg 的收缩压或 80-85 mm Hg 之间的舒张压的人个体可以被认为是具有正常血

压的个体。具有 130-139 mm Hg 的收缩压或 85-89 mm Hg 的舒张压的人个体可以被认为是具有较高正常血压的个体。

具有大于约 140 mm Hg 的收缩压或大于 90 mm Hg 的舒张压的人个体可以被认为是具有较高血压或高血压的个体。另外，人个体可以被认为是具有轻度高血压(1 期，收缩压介于 140-159 mm Hg 之间；舒张压介于 90-99 mm Hg 之间)、中度高血压(2 期，收缩压介于 160-179 mm Hg 之间；舒张压介于 100-109 mm Hg 之间)、重度高血压(3 期，收缩压介于 180-209 mm Hg 之间；舒张压介于 110-119 mm Hg 之间)或极重度高血压(4 期，收缩压大于 210 mm Hg；舒张压大于 120 mm Hg)。

因此，在一些实施方案中，适合应用本发明的方法和药剂治疗的优选的人个体是具有较高正常血压、轻度高血压、中度高血压、重度高血压或极重度高血压的个体。

在其它实施方案中，优选的人个体是具有发生较高正常血压、轻度高血压、中度高血压、重度高血压或极重度高血压的危险的个体。具有危险的个体可通过例如评估一个或多个各种已知与发生血压升高或较高血压或高血压的危险升高相关的危险因素来确定。这些危险因素包括，例如，较高血压的家族史、糖尿病、肥胖、一些种族或人种的遗传、久坐的生活方式、年龄、饮酒、吸烟、摄入咖啡因、饮食、钠敏感和盐摄入、肾脏疾病和肾功能不全、睡眠呼吸暂停、妊娠、肝硬化、库兴氏病、一些药物、情绪因素、应激等等。在一些方面，具有危险的个体是以前曾用一种血压药或者一种或多种血压药治疗过或正在使用一种血压药或者一种或多种血压药的个体，所述血压药包括血管紧张素转换酶抑制剂(例如贝那普利、福辛普利、赖诺普利、喹那普利)、血管紧张素 II 受体阻滞剂(例如氯沙坦)、 β 阻滞剂(例如酒石酸美托洛尔、盐酸倍他洛尔、丙戊沙坦)、利尿剂(例如氢氯噻嗪)、血管扩张剂(例如硝酸异山梨酯)、 α 阻滞剂、钙通道阻滞剂和他汀类药物。本文特别考虑，在特别的方面，具有危险的个体可以是血压没有升高的个体，例如，具有正常血压或者甚至低于正常血压的个体，例如，收缩压等于或低于 120 mm Hg 或者舒张压等于或低于 80 mm Hg 的个体。

血压升高和高血压是糖尿病的常见并发症。因此，在本发明的一些实施方案中，特别地考虑有需要的个体是患有或具有患糖尿病危险或者患有

或具有患糖尿病并发症危险的个体。在特定的实施方案中，所述糖尿病是1型糖尿病或2型糖尿病。血压升高和高血压经常与肾脏疾病和各种肾病，包括糖尿病肾病相关。因此，在本发明的各实施方案中，有需要的个体是患有肾脏疾病或肾病，特别是糖尿病肾病的个体。

本发明提供了用于降低有需要的个体中的血压或者治疗或预防有需要的个体中的高血压的方法，所述方法包括向所述个体给药有效量的抗CTGF药剂，从而降低所述个体中的血压或者预防或治疗所述个体中的高血压。在一些实施方案中，本发明的方法和药剂降低收缩压。在其它实施方案中，本发明的方法和药剂降低舒张压。在优选的实施方案中，本发明的方法和药剂既降低舒张压又降低收缩压。

本发明还包括用于降低平均动脉压(MAP)和脉压的方法。平均动脉压可根据下式确定： $MAP = [2/3 (\text{收缩压} - \text{舒张压}) + \text{舒张压}]$ 。脉压可根据下式确定：脉压 = (收缩压 - 舒张压)。在一个方面，本发明提供了用于降低有需要的个体中的平均动脉压的方法，所述方法包括向所述个体给药有效量的抗CTGF药剂，从而降低所述个体中的平均动脉压。在另一个方面，还提供了用于降低有需要的个体中的脉压的方法，所述方法包括向所述个体给药有效量的抗CTGF药剂，从而降低所述个体中的脉压。

自发性高血压，也称为原发性高血压或特发性高血压，大约占有高血压病例的90%。自发性高血压的原因尚未知，但可能与主要器官和机体系统的各种并发症和异常相关，所述主要器官和机体系统包括心脏、肾脏、血管、神经和激素。在大约占有高血压病例5%的继发性高血压中，高血压源自另一基础病症，例如，肾脏疾病(肾性高血压)、肾上腺疾病(内分泌性或肾上腺性高血压)、甲状腺疾病、血管异常、先兆子痫、睡眠呼吸暂停、肢端肥大症、高钙血症、口服避孕药等等。与动脉硬化相关的单纯收缩期高血压发生于收缩压大于160 mm Hg但舒张压正常时。妊娠引起的高血压发生于妊娠期，如果血压升高超过正常水平大于15 mm Hg。本发明包括用于治疗或降低自发性高血压、继发性高血压、单纯高血压和妊娠性高血压的方法和药剂。

在各个方面，本发明提供了用于治疗或预防患有血压升高或高血压或者具有发生血压升高或高血压的危险的个体中的与血压升高或高血压相关

的病症的方法，所述方法包括向所述个体给药抗 CTGF 药剂，从而治疗所述病症。抗 CTGF 药剂可以是任何抑制 CTGF 的活性和/或表达的药剂。还提供了用于减少患有血压升高或高血压或者具有发生血压升高或高血压的危险的个体中的与血压升高或高血压相关的病症的发展或严重性的方法，所述方法包括向所述个体给药有效量的抗 CTGF 药剂，从而减少所述病症的发展或严重性。

在一些实施方案中，与血压升高或高血压相关的病症是中风或具有患中风的危险。在其它实施方案中，所述病症可以是心血管疾病，包括心脏病，例如，心肌梗死、充血性心力衰竭、心脏肥大、冠心病、心律失常、动脉粥样硬化、动脉硬化等等。在其它实施方案中，所述病症是肾脏疾病，包括糖尿病肾病、视网膜病、骨矿物质密度流失、性功能障碍、代谢综合征等等。

在一个方面，本发明考虑用于减少或预防血压升高或具有较高血压或高血压或者具有发生血压升高或较高血压或高血压的危险的个体中的血管损伤或血管功能障碍的方法，所述方法包括向所述个体给药有效量的抗 CTGF 药剂，从而减少或预防所述个体中的血管损伤或血管功能障碍。在各个方面，所述血管可以是主脉管系统的血管，例如，主要血管例如主动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管动脉、肾动脉、髂动脉、股动脉、腘动脉，或者可以是微脉管系统的血管，例如，小血管例如视网膜微动脉、肾小球微动脉、神经滋养血管、心脏微动脉和相关的肾、肾脏、心脏和中枢及外周神经系统的毛细血管床。

在另一个方面，本发明考虑用于减少或预防血压升高或具有较高血压或高血压或者具有发生血压升高或较高血压或高血压的危险的个体中的组织和器官损伤或功能障碍的方法，所述方法包括向所述个体给药有效量的抗 CTGF 药剂，从而减少或预防所述个体中的组织和器官损伤或功能障碍。在各个方面，所述组织和器官可以包括心脏、肾脏、眼、血管、脑、中枢神经系统、外周神经系统、骨等等。

在本文描述的方法的优选实施方案中，所述个体是人个体。

血管紧张素 II 调节心血管系统的很多方面，且血管紧张素 II 的 I 型受体与血管紧张素 II 的各种心血管效应的调节相关(Murphy 等人(1991) Nature

351:233-236.)。血管紧张素 II 的 I 型受体主要在脉管系统的平滑肌细胞中表达, 并与血管阻力和血压的调节相关; 因此, 血管紧张素 II 的 I 型受体是现在正在使用中的很多现有抗高血压治疗的靶点。阻断血管紧张素 II 的 I 型受体因减少患者中的死亡率和发病率终点而提供临床益处, 所述患者患有心肌梗死和充血性心力衰竭后的左心室功能障碍, 特别是患有肾功能障碍的 2 型糖尿病个体和高血压高危患者(参见例如 de la Sierra (2006) *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 4:67-73.)。因此, 减少血管紧张素 II 的 I 型受体的表达可能降低患有糖尿病的心血管并发症的患者中的发病率和死亡率。

本发明进一步包括用于调节与个体中的血压升高相关的基因的表达的方法, 所述方法包括向所述个体给药有效量的抗 CTGF 药剂, 从而调节所述个体中的所述基因的表达。在一些实施方案中, 本发明的方法减少与血压升高相关的基因的表达。在一个实施方案中, 所述基因编码血管紧张素 II 的 I 型受体, 并且提供了用于减少这种基因的表达的方法。

抗 CTGF 剂

在本文所描述的任何一种方法中, 特别地考虑所述抗 CTGF 药剂可以是多肽、多核苷酸或小分子; 例如与 CTGF 结合的抗体、反义分子、siRNA 及小分子化合物等。特别地, 本发明考虑抑制 CTGF 可以通过本领域中任何众所周知的用于调节(例如抑制或减少) CTGF 的表达和活性的方法来实现。特别地考虑使用抗 CTGF 药剂, 例如针对 CTGF 的人单克隆抗体, 然而本发明考虑任何抑制编码 CTGF 的基因的表达、抑制 CTGF 的产生或抑制 CTGF 的活性的方法。

本发明的方法中使用的示例性抗体在例如美国专利 5,408,040、国际公布 WO 99/07407、国际公布 WO 99/33878 及国际公布 WO 00/35936 中有描述。本发明的方法中使用的示例性抗体在国际公布 WO 2004/108764 中有描述, 该申请全文引入本文作为参考。这些抗体或其片段可通过本领域技术人员已知的各种手段给药。例如, 经常静脉内、腹膜内或皮下注射抗体。

CTGF 表达和/或活性的小分子抑制剂也已得到描述; 例如国际公布 WO 96/38172 确认例如霍乱毒素和 8Br-cAMP 之类的 cAMP 调节剂为 CTGF 表达的抑制剂。因此, 被确定为例如前列腺素和/或前列环素类似物如伊洛

前列素(Iloprost)的化合物(参见例如国际公布 WO 00/02450; Ricupero 等人(1999) *Am J Physiol* 277:L1165-1171; 参见 Ertl 等人(1992) *Am Rev Respir Dis* 145:A19)和潜在的磷酸二酯酶 IV 抑制剂(参见例如 Kohyama 等人(2002) *Am J Respir Cell Mol Biol* 26:694-701)可用于调节 CTGF 表达。此外, 丝氨酸/苏氨酸促分裂原激活的蛋白激酶(尤其是 p38)、细胞周期蛋白依赖激酶(例如 CDK2)和糖原合酶激酶(GSK)-3 的抑制剂也与 CTGF 表达的降低有关(参见例如 Matsuoka 等人(2002) *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 283:L103-L112; Yosimichi 等人(2001) *Eur J Biochem* 268:6058-6065; 国际公布 WO 01/38532 和国际公布 WO 03/092584)。这些化合物可按本领域中既定程序进行配制和给药。

此外, 包括小干扰核糖核酸(siRNA)、微核糖核酸(miRNA)、核酶及反义序列在内的多核苷酸可用于本发明的方法中以抑制 CTGF 的表达和/或产生(参见例如 Kondo 等人(2000) *Biochem Biophys Res Commun* 278:119-124.)。这些技术在相关领域技术人员中是众所周知的。靶向于 CTGF 表达的反义构建体已被描述并被用以降低各种类型细胞中的 CTGF 表达(参见例如国际公布 WO 96/38172; 国际公布 WO 00/27868; 国际公布 WO 00/35936; 国际公布 WO 03/053340; Kothapalli 等人(1997) *Cell Growth Differ* 8(1):61-68; Shimo 等人(1998) *J Biochem (Tokyo)* 124(1):130-140; 及 Uchio 等人(2004) *Wound Repair Regen* 12:60-66.)。这些反义构建体可以用来降低 CTGF 的表达, 从而减轻或预防与 CTGF 相关的病理过程, 例如血压升高或高血压。这些构建体可以用适当的载体和表达调节剂设计用于细胞特异性或组织特异性表达以及组成型或诱导型表达。这种遗传构建体可按本领域中的既定程序进行配制和给药。

因此, 在本发明的一些实施方案中, 所述抗 CTGF 药剂是 CTGF 的抗体。在特定的实施方案中, 所述抗体是 CTGF 的单克隆抗体。在特定的实施方案中, 所述抗体是人或人源化的 CTGF 抗体。在特定的实施方案中, 所述抗体是在国际公布 WO 2004/108764 中描述的 CLN-1。在另一实施方案中, 所述药剂是小分子。在另一实施方案中, 所述药剂是核酸。在进一步的实施方案中, 所述核酸选自环状核苷酸、寡核苷酸或多核苷酸。在特定的实施方案中, 所述药剂是反义寡核苷酸或 siRNA。

本发明考虑本发明的方法结合其它治疗的应用。在一个实施方案中，所述方法与另一治疗结合使用，例如用以进一步增强对某些病理事件的疗效等等。两种治疗可同时实施或相继实施，例如在治疗时程期间，或是在疾病发展和缓解之后。在另一实施方案中，所述方法与另一具有相似或不同作用模式的治疗方法(例如血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂、他汀类药物等等)结合使用。本领域技术人员已知治疗血压升高或较高血压或高血压以及相关病症和并发症的现有治疗方法，包括例如血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂、 β 阻滞剂、 α 阻滞剂、钙通道阻滞剂、利尿剂、血管扩张剂等。特别考虑任何这些治疗剂与本发明的方法和化合物结合使用。

药物制剂及给药途径

如本领域所熟知，本发明的组合物可直接递送或于含赋形剂的药物组合物中递送。本发明的治疗方法可包括向患有较高血压或高血压或者具有患较高血压或高血压危险的个体给药有效量的本发明的化合物。在优选的实施方案中，所述个体是哺乳动物个体，且在最优选的实施方案中，所述个体是人个体。

可通过常规试验容易地确定化合物或药物的有效量(例如剂量)，有效而方便的给药途径和适当的制剂也是如此。现有技术中已有各种制剂和递药系统(参见例如上述 Gennaro 等人(2000) Remington's Pharmaceutical Sciences; 及上述 Hardman, Limbird 和 Gilman 编著(2001) The Pharmacological Basis of Therapeutics.)。

合适的给药途径可以包括例如口服、直肠、局部、鼻、肺、眼、肠内及肠胃外给药。主要的肠胃外给药途径包括静脉内、肌肉及皮下给药。次要的给药途径包括腹膜内、动脉内、关节内、心内、脑池内、皮内、病灶内、眼内、胸膜内、鞘内、子宫内及心室内给药。要使用的制剂类型和给药途径以及是优选局部给药还是优选全身给药，根据要治疗的适应症与药物的物理、化学和生物学特性而定。

本发明的化合物的药物剂型可以以速释、控释、缓释或靶向递药系统提供。常用的剂型包括例如溶液剂和混悬剂、(微)乳剂、软膏剂、凝胶剂和贴剂、脂质体、片剂、糖衣片、软或硬壳胶囊剂、栓剂、胚珠(ovule)、埋

植剂、无定形或结晶散剂、气雾剂和冻干制剂。根据所用的给药途径，可能需要特定装置来施用或给药所述药物，例如注射器和针、吸入器、泵、注射笔、涂药器或专用烧瓶。药物剂型通常由药物、一种或多种赋形剂和容器/封闭系统组成。可将一种或多种赋形剂(也称作惰性成分)添加到本发明的化合物中以改善或促进所述药物的生产、稳定性、给药和安全性，并提供实现所需的药物释放曲线的手段。因此，要添加到所述药物中的赋形剂的类型可取决于多种因素，例如所述药物的物理和化学特性、给药途径以及制造过程。在本领域中已知药学可接受的赋形剂，它们包括在各药典中所列的赋形剂(参见例如 USP、JP、EP 及 BP，FDA 网页(www.fda.gov), Inactive Ingredient Guide 1996 及 Handbook of Pharmaceutical Additives, ed. Ash; Synapse Information Resources, Inc. 2002.)。

本发明的化合物的药物剂型可以通过本领域中任何熟知的方法生产，例如传统的混合、筛分、溶解、熔化、制粒、制糖衣片、压片、悬浮、挤出、喷雾干燥、研磨、乳化、(纳/微)胶囊化、包埋或冷冻干燥方法。如上所述，本发明的组合物可包含一种或多种生理学可接受的惰性成分，所述惰性成分促进将活性分子结构成药用制剂。

适当的制剂取决于所需的给药途经。例如对于静脉注射，所述组合物可配制在水溶液中，如有必要则使用生理学相容的缓冲剂(包括例如磷酸盐、组氨酸或柠檬酸盐)以调整制剂 pH，及张力剂(例如氯化钠或葡萄糖)。对于经粘膜或鼻内给药，可能优选半固体制剂、液体制剂或贴剂，并可能含有渗透促进剂。这样的渗透剂在本领域中是广为人知的。对于口服给药，所述化合物可以配制成液体或固体剂型，并且为速释剂型或控释/缓释剂型。合适的供个体口服摄入的剂型包括片剂、丸剂、糖衣片、软和硬壳胶囊剂、液体、凝胶剂、糖浆剂、膏剂、混悬剂和乳剂。所述化合物也可配制为直肠组合物，例如含有诸如可可脂或其它甘油酯类的常规栓剂基质的栓剂或保留灌肠剂。

固体口服剂型可用赋形剂获得，所述赋形剂可包括填充剂、崩解剂、(干、湿)粘合剂、溶解阻延剂、润滑剂、助流剂、抗粘着剂、阳离子交换树脂、湿润剂、抗氧化剂、防腐剂、着色剂及调味剂。这些赋形剂可以是合成的或是天然来源的。这些赋形剂的实例包括纤维素衍生物、柠檬酸、磷

酸二钙、明胶、碳酸镁、十二烷基硫酸镁/钠、甘露醇、聚乙二醇、聚乙烯基吡咯烷酮、硅酸盐、二氧化硅、苯甲酸钠、山梨醇、淀粉、硬脂酸或其盐、糖(即葡萄糖、蔗糖、乳糖等)、滑石、西黄蓍胶浆、(氢化)植物油以及蜡。乙醇和水可作为制粒助剂。在一些情况下,需要用例如掩味膜、抗胃酸膜或延释膜对片剂进行包衣。天然及合成的聚合物结合色素、糖和有机溶剂或水,经常用于对片剂进行包衣,制成糖衣片。当胶囊剂比片剂优选时,药物粉末、悬浮液或其溶液可以于相容的硬或软壳胶囊中递送。

在一个实施方案中,本发明的化合物可局部给药,如通过皮肤贴剂、半固体或液体制剂例如凝胶剂、(微)乳剂、软膏剂、溶液剂、(纳/微)混悬剂或泡沫剂给药。药物渗透入皮肤及下层组织中可通过以下方法调节:例如使用渗透促进剂;适当选择与组合亲脂性、亲水性或两亲性的赋形剂(包括水、有机溶剂、蜡、油类、合成和天然的聚合物、表面活性剂、乳化剂);调节 pH; 以及使用络合剂。其它技术例如离子电渗疗法,可用于调节本发明的化合物的皮肤渗透。在例如希望全身暴露最小的局部递送的情况中,优选经皮或局部给药。

对于吸入给药或向鼻内给药,方便地以溶液剂、混悬剂、乳剂或来自加压包装或喷雾器的半固体气雾剂(通常使用推进剂(例如由甲烷和乙烷衍生的卤化碳、二氧化碳或任何其它合适的气体)的形式递送根据本发明使用的化合物。对于局部气雾剂,烃例如丁烷、异丁烯和戊烷是有用的。在加压喷雾剂的情况下,可通过提供阀门以递送经测量的量来确定适当的剂量单位。可以配制用于吸入器或吹入器中的例如明胶的胶囊和药筒。它们通常含有所述化合物和合适的粉末基质(如乳糖或淀粉)的粉末混合物。

配制供通过注射进行肠胃外给药的组合物通常是无菌的并可以单位剂型提供,例如于安瓿、注射器、注射笔中或于多剂量容器中,后者通常含有防腐剂。所述组合物可以是在油性或水性载体中的悬浮液、溶液或乳液的形式,并可以含有配方助剂(formulatory agents)如缓冲剂、张力剂、增粘剂、表面活性剂、助悬剂及分散剂、抗氧化剂、生物相容性聚合物、螯合剂和防腐剂。根据注射部位,所述载体可能含有水、合成油或植物油和/或有机共溶剂。在一些情况下,例如在是冻干制品或浓缩物的情况下,该肠胃外制剂在给药前需还原或稀释。提供本发明的化合物的控释或缓释的长

效制剂可包括纳/微颗粒或者纳/微或未微粉化晶体的可注射悬浮液。除了本领域中众所周知的控释/缓释基质外，亦可使用聚合物例如聚乳酸、聚乙醇酸或它们的共聚物作为控释/缓释基质。其它长效递送系统可以需要切口的埋植剂和泵的形式提供。

用于静脉注射本发明的分子的合适的载体在本领域中是众所周知的，且包括水系溶液，该水系溶液含有碱(例如氢氧化钠)以形成离子化的化合物，含有用作张力剂的蔗糖或氯化钠，例如，缓冲液含有磷酸盐或组氨酸。可加入共溶剂，例如聚乙二醇。这些水系系统有效地溶解本发明的化合物，并在全身给药后产生低的毒性。可以相当大地改变溶液系统中各组分比例，而不对溶解度和毒性特征造成破坏。此外，组分的特性也可改变。例如，可以用低毒性的表面活性剂，如聚山梨醇酯或泊洛沙姆，也可以用聚乙二醇或其它共溶剂，可加入生物相容性聚合物如聚乙烯基吡咯烷酮，且其它糖和多元醇可代替葡萄糖。

对用于本发明的治疗方法的组合物，可用本领域中众所周知的多种技术来初步估计治疗有效剂量。动物研究中使用的初始剂量可依据细胞培养物测定法中确立的有效浓度而定。可以例如使用从动物研究和细胞培养物测定法获得的数据来确定适合人个体的剂量范围。

本发明的化合物、药剂或药物的治疗有效剂量或量是指导致个体中的症状改善或生存期延长的所述化合物、药剂或药物的剂量或量。这些分子的毒性和治疗功效可通过标准制药程序在细胞培养物或实验动物中确定，例如测定 LD₅₀ (半数致死剂量)和 ED₅₀ (半数有效剂量)。毒性与疗效的剂量比是治疗指数，该指数可以用 LD₅₀/ED₅₀ 的比率来表示。具有高治疗指数的药剂为优选的。

有效量或治疗有效量是会引起研究员、兽医、医生或其它临床医师寻求的组织、系统、动物或人的生物学或医学反应(例如血管功能改善、心脏功能改善等)的药剂或药物组合物的量。

剂量优选落入包括 ED₅₀ 在内而几乎没有或没有毒性的循环浓度范围内。剂量可以在这一范围内根据所用剂型和/或给药途径而有所不同。考虑个体状况的具体细节，应根据本领域中已知的方法来选择确切的制剂、给药途径、剂量和剂量间隔。

剂量和剂量间隔可以个别调整, 以提供足以实现期望效果(例如血管功能改善、心脏功能改善等)的活性成分血浆水平, 即最小有效浓度(MEC)。MEC 会视每个化合物而有所不同, 但可从例如体外数据和动物实验估计。达到 MEC 所必需的剂量会取决于个体特征和给药途经。在局部给药或选择性摄入的情况下, 所述药物的有效局部浓度可能与血浆浓度无关。

所给药的药剂或组合物的量可取决于多种因素, 包括所治疗个体的性别、年龄和体重、疾病的严重性、给药方式及处方医师的判断。

如果需要, 本发明的组合物可在含有一个或多个含活性成分的单位剂型的包装或配药装置中提供。这种包装或装置可以例如包含金属箔片或塑料箔片(例如水泡眼包装)或者玻璃塞和橡胶塞(例如于小瓶中)。所述包装或配药装置可附带给药说明书。也可以将包含配制在相容性药物载体中的本发明的化合物的组合物制备、放置在适当的容器中, 并贴上治疗适应症的标签。

本发明的这些和其他实施方案是本领域普通技术人员考虑本文的披露内容之后会容易想到的。

实施例

参照下述实施例会进一步理解本发明, 这些实施例意在仅仅是本发明的示例。这些实施例仅仅是为了说明本发明而提供的。本发明的范围不限于仅意在说明本发明的某一方面的示例性实施方案。任何功能等价的方法均在本发明的范围内。参照上述描述和附图, 除本文描述之外的针对本发明的各种修改对于本领域技术人员会是显然的。这些修改也意在落入所附权利要求书的范围内。

实施例 1: 抗 CTGF 治疗降低人类中的血压

血浆 CTGF 水平已被与收缩压相关(Jaffa 等人(2005) American Society of Nephrology Annual Meeting Abstract, Journal of the American Society of Nephrology, 2005 年 11 月)。如下所述检测抗 CTGF 抗体治疗对血压的影响。患有 1 型糖尿病和初发性肾病或者患有 2 型糖尿病和初发性肾病的人患者参与开放式 1 期研究以检测抗 CTGF 抗体治疗对治疗糖尿病肾病的影响。

患者在接受本研究所给药的抗 CTGF 抗体治疗之前曾经使用各种医生处方的血压药的组合至少持续 1 个月。这些血压药包括血管紧张素转换酶抑制剂(例如贝那普利、福辛普利、赖诺普利、喹那普利)、血管紧张素 II 受体阻滞剂(例如氯沙坦)、 β 阻滞剂(例如酒石酸美托洛尔、盐酸倍他洛尔、丙戊沙坦)、利尿剂(例如氢氯噻嗪)和血管扩张剂(例如硝酸异山梨酯)。患者在本研究进行过程中保持这些以前给药的血压药。

通过静脉输注向患者给药抗 CTGF 抗体(3 mg/kg), 每两周一次(即, 在第 0、14、28、42 天), 共 4 次输注。在第一次抗 CTGF 抗体输注给药之前的本研究开始时(第 0 天)测量每个患者的血压, 并在最后一次抗 CTGF 抗体给药之后的两周(第 56 天)再次测量。在本研究进行过程中没有在任何个体中观察到与抗 CTGF 抗体给药相关的严重不良事件。

如以下表 1、2 和 3 中所示, 在第 56 天, 接受抗 CTGF 抗体给药的个体显示出血压的降低。特别地, 在患有 1 型糖尿病和初发性肾病或者患有 2 型糖尿病和初发性肾病的个体中, 抗 CTGF 抗体给药降低了收缩压(表 1)、舒张压(表 2)和平均动脉压(表 3)。

在第 0 天的平均收缩压和舒张压分别是 133 mm Hg 和 71 mm Hg。最后一次抗 CTGF 抗体给药后两周, 平均收缩压为 120 mm Hg, 而平均舒张压为 67 mm Hg。这些结果表明, 接受抗 CTGF 抗体给药的人个体的收缩压平均降低了 13 mm Hg (收缩压降低 9.7%), 而舒张压平均降低了 4 mm Hg (舒张压降低 5.5%)。

接受抗 CTGF 抗体给药的人个体的平均动脉压(MAP)也有降低。特别地, 在本文描述的 56 天抗 CTGF 抗体给药方案后, 观察到 MAP 由 113 mm Hg 降到 101 mm Hg (相当于 10.6%的降低)。

还观察到用抗 CTGF 抗体治疗的人个体中的脉压(收缩压减舒张压)的降低(数据未显示)。

表 1

患者编号	收缩压, 第 0 天 (mm Hg)	收缩压, 第 56 天 (mm Hg)	收缩压改变
1	138	128	-10
2	136	110	-26
3	128	126	-2
4	128	120	-8
5	134	118	-16
6	137	117	-20
7	145	125	-20
8	120	114	-6

表 2

患者编号	舒张压, 第 0 天 (mm Hg)	舒张压, 第 56 天 (mm Hg)	舒张压改变
1	80	78	-2
2	70	62	-8
3	78	74	-4
4	78	68	-10
5	72	72	0
6	63	58	-5
7	66	58	-8
8	63	62	-1

表 3

患者编号	MAP, 第 0 天	MAP, 第 56 天	MAP 改变
1	119	111	-8
2	114	94	-20
3	111	109	-2
4	111	103	-8
5	113	103	-10
6	112	97	-15
7	119	103	-16
8	101	97	-4

这些结果表明, 抗 CTGF 治疗在降低人个体中的血压方面是有效的。特别地, 这些结果证明, 给药抗 CTGF 抗体降低人个体中的收缩压和舒张压。而且, 本研究的结果表明, 本发明的方法和化合物可用于降低血压和治疗与 1 型糖尿病或 2 型糖尿病相关的高血压, 以及用于降低血压或与肾

脏疾病相关的高血压。

实施例 2: 抗 CTGF 治疗降低糖尿病动物模型中的血压

如下所述, 本发明的方法和药剂降低糖尿病动物模型中的血压。第零天, 在斯-道鼠(Sprague Dawley rat)中以静脉内注射单一剂量的 0.1 M 柠檬酸缓冲的(pH 4.1)链脲霉素(STZ) (65 mg/kg)诱导糖尿病。第二天, 通过禁食血糖水平的升高(>250 mg/dl)来确定以 STZ 处理的动物中糖尿病的成功诱导。

在 STZ 注射后允许糖尿病及与糖尿病相关的病症在动物中发展 6 周。6 周后, 糖尿病动物被分成如下的各种治疗组: 对照人类 IgG (10 mg/kg, 腹膜内(IP)注射, 每周 3 次, 持续 6 周); 抗 CTGF 抗体(CLN-1, 10 mg/kg, IP 注射, 每周 3 次, 持续 6 周); 卡托普利(75 mg/kg/天, 口服(PO, 口服给药), 在饮用水中); 氯沙坦(20 mg/kg/天, PO)。

治疗开始后 6 周, 用 CODA 系统(CODA System, Kent Scientific)测量未麻醉动物的血压, CODA 系统自动进行 6 个血液动力学参数(包括收缩压、舒张压、平均压、心脏脉率、血量和血流量)的快速多次测量。动物被置于限制器中, 并适应 10 分钟。每个动物进行单独 10 次测量, 最后 5 次的平均值用于随后的分析。

如图 1、2 和 3 分别所示, 在糖尿病动物中, 收缩压、舒张压和平均动脉压相对于非糖尿病对照动物在第 6 和 12 周糖尿病时升高。相反, 观察到用抗 CTGF 抗体治疗的动物中血压测量值与在健康对照动物中观察到的相当。

这些结果表明, 以抗 CTGF 抗体治疗糖尿病动物预防并逆转病理性血压升高。而且, 以抗 CTGF 抗体治疗在逆转与糖尿病相关的高血压方面是有效的。因此, 抑制 CTGF 提供了用于降低血压和用于治疗高血压的有效治疗方法。

实施例 3: 抗 CTGF 抗体治疗减少血管紧张素 II 的 I 型受体基因表达 mRNA 分析

抗 CTGF 治疗对与血压调节相关的基因的表达式的影响如下进行。使用

如上所述实施例 2 中的糖尿病动物模型。从每只动物中取出部分心脏和颈动脉并置于 RNAlater 中用于随后的 mRNA 分离和分析。使用以下方案进行 RNA 分离和 cDNA 合成。将颈动脉组织加至 TRIzol (Invitrogen) 并以 5 mm 不锈钢珠在 Mixer Mill 300 (Qiagen) 中以 25 Htz 匀浆 8 分钟。匀浆按生产商说明书以氯仿提取, 并分离含水上清液。将含水上清液与等体积的 70% 乙醇混合, 然后装载于 RNeasy Mini spin 柱(Qiagen)上。按生产商说明书分离 RNA。对于心脏组织, 依照类似的方案进行, 只是仅使用心脏的左心室自由壁区域的切片用于 RNA 分离。按照生产商说明书, 用 Omniscript 逆转录酶(Qiagen)和随机引物由全长 RNA 合成 cDNA。

按照生产商说明书, 用 TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) 和 TaqMan Assay-on-Demand assays (Applied Biosystems) 在 Prism 7000 system instrument (Applied Biosystems) 中通过定量 PCR 进行与血压调节相关的各种基因的基因表达水平的分析。

进行了以下基因的基因表达的检测: 血管紧张素 II 的 I 型受体 (Rn02132799_s1) 和 18S 核糖体 RNA (Hs99999901_s1)。

每次 PCR 运行包括标准曲线和水空白。血管紧张素 II 的 I 型受体的基因表达数据相对于该样品的 18S 核糖体 RNA 的表达水平进行标准化。

如图 4 所示, 在诱导糖尿病后的第 6 和 12 周, 未经治疗的糖尿病动物具有升高的颈动脉中血管紧张素 II 的 I 型受体 mRNA 水平。接受抗 CTGF 抗体给药的动物与未经治疗的对照动物相比, 从第 6 周至第 12 周表现出降低的颈动脉中血管紧张素 II 的 I 型受体 mRNA 水平。该数据证明, 抗 CTGF 治疗在降低动脉中血管紧张素 II 的 I 型受体的基因表达方面是有效的。该数据表明, 抗 CTGF 治疗在降低与血压升高相关的基因的表达方面是有效的。

参照上述描述, 除本文形式和描述之外的针对本发明的各种修改对于本领域技术人员会是显然的。这些修改意在落入所附权利要求书的范围内。

本文引用的所有参考文献均以其全文引入本申请作为参考。

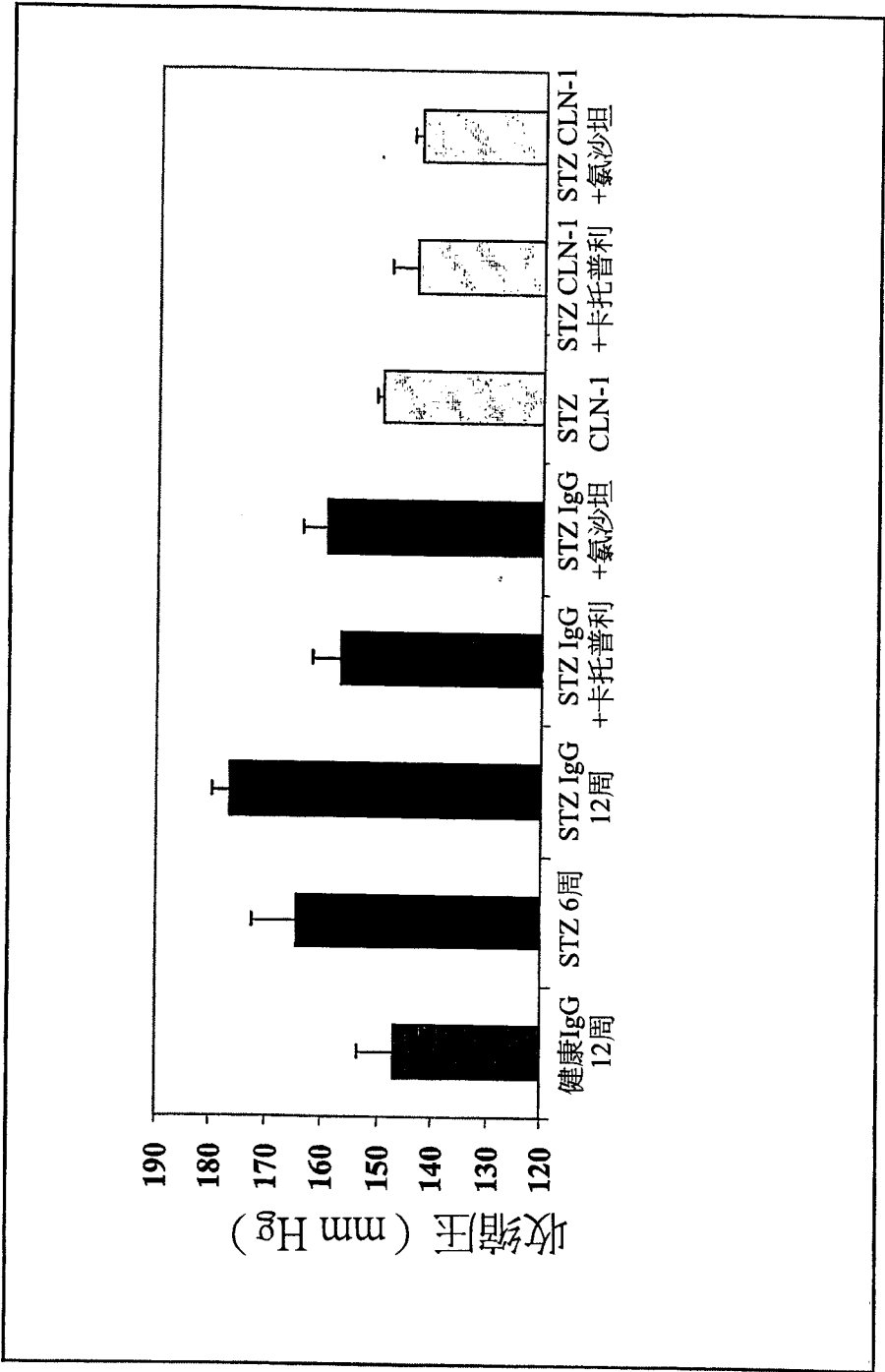


图1

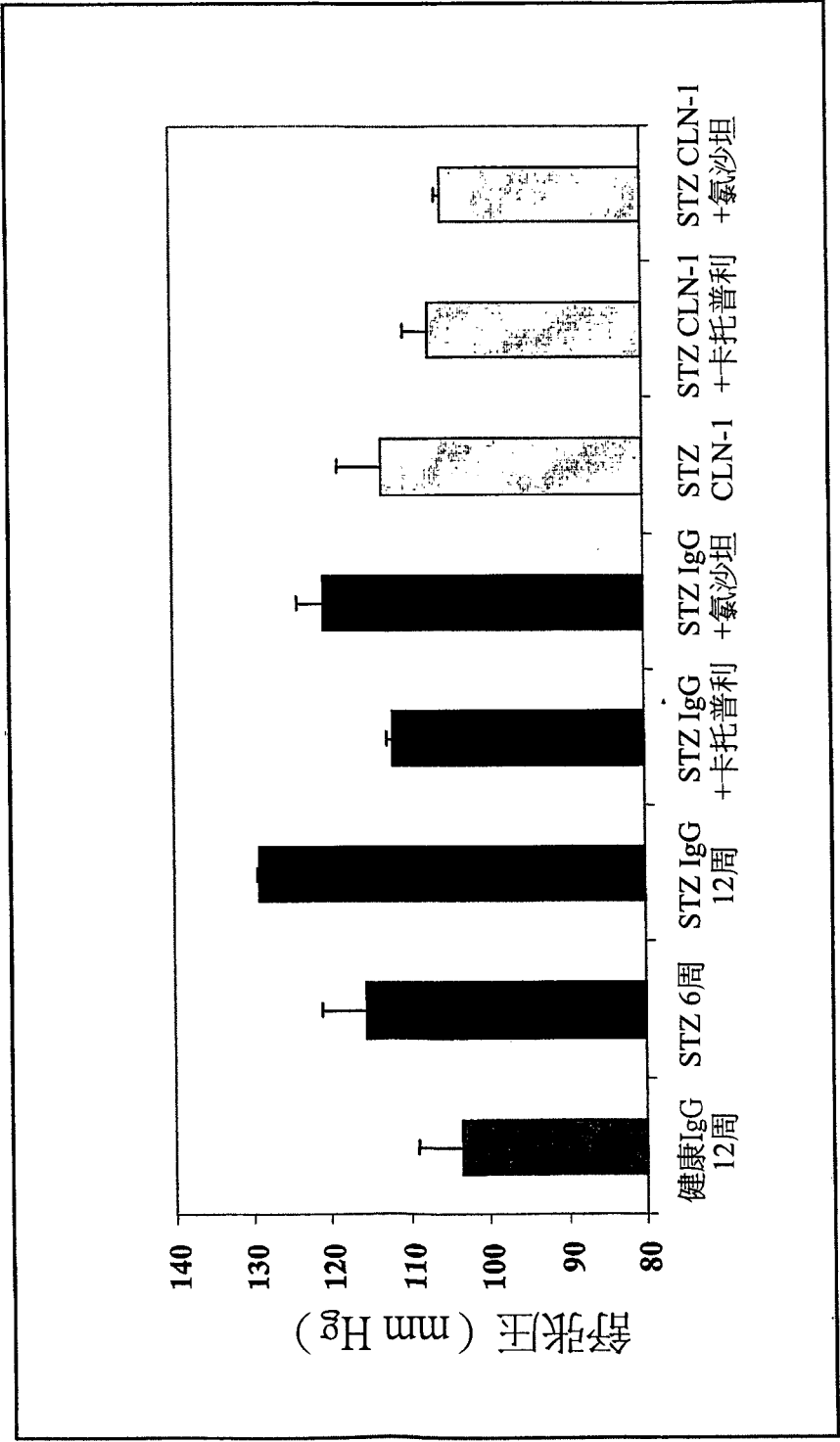


图2

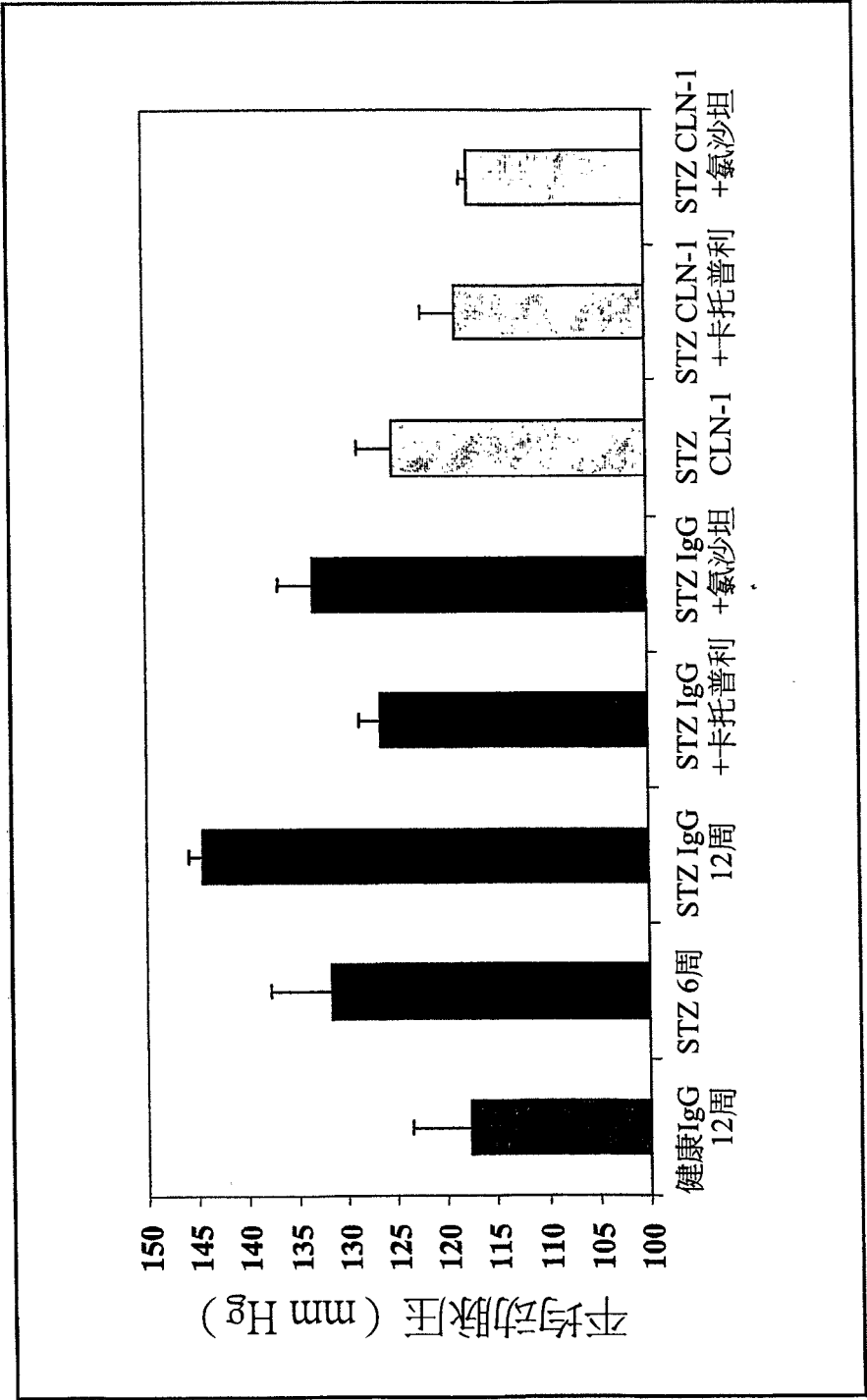


图3

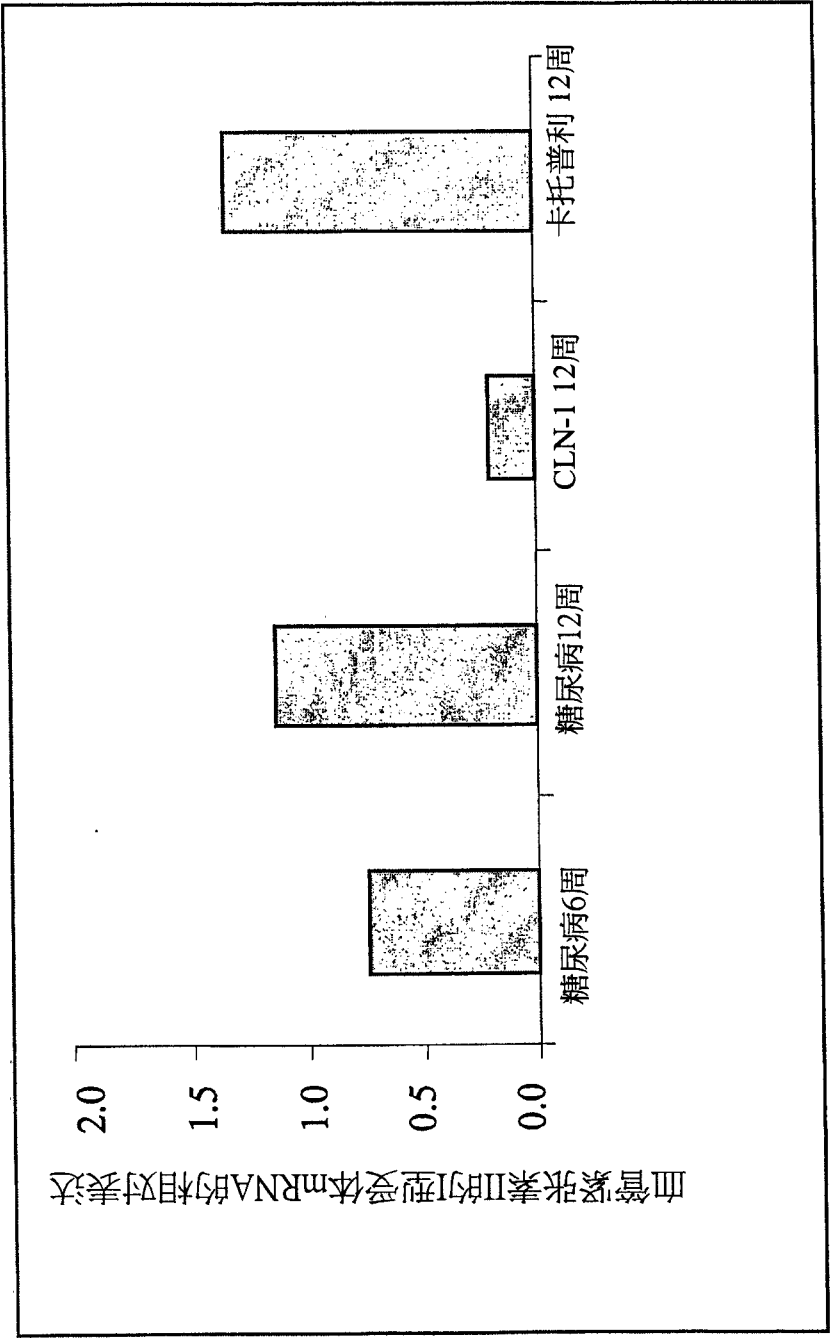


图4