

發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：97139397

A61K 31/137 (2006.01)

※ 申請日期：97.10.14

※IPC 分類：

A61K 31/138 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K 31/5377 (2006.01)

用以製備血管瘤治療藥劑之 β 阻斷劑的使用 / A61K 31/4704 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

USE OF A BETA BLOCKER FOR THE MANUFACTURE OF A MEDICAMENT

A61P 35/00 (2006.01)

FOR THE TREATMENT OF HEMANGIOMAS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文) 法國波爾多第二大學-維克多謝閣蘭 /

UNIVERSITE VICTOR SEGALEN-BORDEAUX 2

代表人：(中文/英文)

馬瑞兒 杜龍 德 拉啦/MANUEL TUNON DE LARA

住居所或營業所地址：(中文/英文)

法國西德士波爾多 F-33076 李歐莎葛那街 146 號

國 籍：(中文/英文)

法國/FRANCE

三、發明人：(共 4 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 克理斯汀 李澳 拉博斯/LEAUTE-LABREZE CHRISTINE

2. 艾瑞克 杜瑪 德 拉 羅克/DUMAS DE LA ROQUE ERIC

3. 艾倫 特伯/TAIEB ALAIN

4. 金 博那特 丹伯/THAMBO JEAN-BENOIT

國 籍：(中文/英文)

1.~4. 法國/FRANCE

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 歐洲、2007/10/19、07291273.6

2. 美國、2007/11/21、60/989,507

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

本發明係有關於用以製備血管瘤（例如：嬰幼兒血管瘤）治療藥劑之 β 阻斷劑的使用。該 β 阻斷劑可為一種非選擇性 β 阻斷劑，例如：心得安（propranolol）。本發明提供有別於一般治療血管瘤之化合物（例如：皮質類固醇、干擾素或長春新鹼（vincristine））的一種替代藥劑。

六、英文發明摘要：

The present invention relates the use of a beta blocker for the manufacture of a medicament for the treatment of hemangiomas, for example of infantile hemangiomas. The beta blocker may be a non-selective beta-blocker, for example propranolol. The present invention provides an alternative to the known compounds, e.g. corticosteroids, interferon or vincristine, generally used for the treatment of hemangiomas.

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於 β 阻斷劑在製備治療血管瘤（例如：嬰幼兒血管瘤）藥劑的使用。

本發明更揭示一種利用本發明治療血管瘤的方法。

在下文中，粗體方括弧內標示的參考文獻係本文引用的文件與出版品，其列於本說明書之【實施例】之後。

【先前技術】

兒童的嬰幼兒毛細血管瘤 (Infantile capillary hemangiomas; IH) 大部分於皮膚與肝臟被檢測出來。嬰幼兒毛細血管瘤為嬰兒最常見的軟組織腫瘤，在一歲以下幼兒的發生率為 4%-10% (參考 Frieden IJ 等人在 *Pediatr Dermatol* 2005; 22:383-406 發表之 “Infantile hemangiomas: current knowledge, future directions, Proceedings of a research workshop on infantile hemangiomas” [1])。

嬰幼兒毛細血管瘤係由複合的細胞型態組成，大多數為內皮細胞，再結合外皮細胞 (pericytes)、樹狀細胞與肥胖細胞。衍生自增生血管瘤的內皮細胞係以參考文獻 [1] 與 Bielenberg D.R. 等人所述 (“Progressive growth of infantile cutaneous hemangiomas is directly correlated with hyperplasia and angiogenesis of adjacent epidermis and inversely correlated with

expression of the endogenous angiogenesis inhibitor” , INF-beta. Int. J. Oncol.; 14:401-408 [10]) 的方法進行無性繁殖,Boye E 等人 (Clonality and altered behaviour of endothelial cells from hemangiomas. J Clin Invest 2001;107:745-52 [9])建議經由大量增生內皮前驅細胞來產生血管瘤,血管瘤可如參考文獻[1]所述之方法,從一造血幹細胞衍生出來。

嬰幼兒毛細血管瘤內皮細胞表現特殊的分子表現型,其特點係參考文獻[1]所述的免疫組織化學陽性反應:在嬰幼兒毛細血管瘤發展的早期吲哚胺 2,3-雙加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO))與 LYVE-1IH 皆呈陽性反應,而在後期形成血管表現型、葡萄糖運送蛋白 1 (Glucose transporter 1 (Glut-1))、Lewis Y Ag (Le Y)、FcR γ II、層粘蛋白 α 2 (merosin)、CCR6 與 CD 15 時,吲哚胺 2,3-雙加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO))與 LYVE-1IH 便消失。

到目前為止世人還不甚了解嬰幼兒毛細血管瘤之生長與退化的調節因子,但已證實在嬰幼兒毛細血管瘤生長期間,有兩個主要的促血管生成因子參與血管瘤的生長:鹼性成纖維細胞生長因子(basic fibroblast growth factor (bFGF))與血管內皮生長因子(vascular endothelial growth factor (VEGF)),它們存在於原位(in situ),但也如參考文獻[1]與 Mancini A.J. 等人(“Proliferation and apoptosis within juvenile

capillary hemangiomas” , A.m. J. Dermatopathol. 1996; 18:505-514 [11]) 所揭示的存在於血液與尿液中。

另外，在增生的嬰幼兒毛細血管瘤中對血管內皮生長因子受體的原位雜交顯示血管內皮生長因子受體平均地分佈在血管瘤當中，並且未集結至血管中。

組織學研究顯示在嬰幼兒毛細血管瘤生長期間，內皮與間質細胞 (interstitial cells) 皆處於增生狀態 (MIB1 染色顯現極強的陽性反應) (參考 Mancini 等人的 “Proliferation and apoptosis within juvenile capillary hemangiomas.” Am J Dermatopathol 1996;18:505-14 [10])，而另一方面，在退化期時，該等細胞顯現參考文獻 [10] 與 Razon M.J. 等人 (“Increased apoptosis coincides with onset of involution in infantile hemangioma” , Microcirculation 1998; 5:189-195 [11]) 所揭示的細胞凋亡標誌。有一假說解釋毛細血管瘤中內皮細胞的凋亡係因 ICAM-1 在細胞表面上表現，但另一可能性係因刺激因子 (例如：血管內皮生長因子) 的喪失 [1]。

腎上腺素系統係心血管功能的主要調節因子。毛細內皮細胞表現 D' Angelo G. 等人 (“cAMP-dependant protein kinase inhibits the mitogenic action of vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor in capillary endothelial cells by blocking Raf activation” , J. Cell Biochem. 1997;

67:353-366 [13]) 所揭示的 $\beta 2$ -腎上腺素受體，該受體調控一氧化氮的釋放，造成內皮依賴性血管舒張。另外， β 腎上腺素受體屬於 G 蛋白耦合性受體，當它們被腎上腺素兒茶酚胺活化時，可促進一連串如 Iaccarino G 等人 (Ischemic neoangiogenesis enhanced by beta2-adrenergic receptors overexpression: a novel role for the endothelial adrenergic system. *Circ Res* 2005; 97:1182-1189 [12] and [13]) 所揭示的細胞內訊息轉導途徑。如參考文獻 [13] 所述， β 受體刺激作用可誘發血管生成因子 (例如：血管內皮生長因子或鹼性成纖維細胞生長因子) 之訊息轉導途徑的修飾作用。已證實環腺苷酸 (cAMP) 的增加會抑制血管內皮生長因子與鹼性成纖維細胞生長因子誘發的內皮細胞增生。由藥理上或 β 腎上腺素受體所引發之環腺苷酸提升會阻斷有絲分裂促進劑活化之蛋白激酶 (MAPK) 訊息傳遞途徑的有絲分裂促進劑誘發的活化作用，使得 Raf-1 之活性藉由增加的 PKA 活性而被阻斷 [13]。

另外，Sommers Smith S.K. 等人 (“Beta blockade induces apoptosis in cultured capillary endothelial cells”, *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* 2002; 38:298-304 [14]) 已證實 β 阻斷可誘發培養之毛細內皮細胞的凋亡。

儘管增生的嬰幼兒毛細血管瘤為良性的自限性過程 (benign self-limited course)，一般的嬰幼兒毛細血管

瘤在其增生期極少造成局部的併發症—例如：潰瘍或出血。所謂告急的嬰幼兒毛細血管瘤 (alarming HI) (如 Enjolras O. 等人在 “Management of alarming hemangiomas in infancy: a review of 25 cases”, *Pediatrics* 1990;85:491-8 [4] 所述)可損害生命或知覺的功能，特別是當血管瘤分別發生在上呼吸道與眼眶區域時。

另外，如參考文獻 [1] 與 Tanner J.L. 等人 (“Growing up with a facial hemangioma: parent and child coping and adaptation, *Pediatrics*”, 1998; 101:446-452 [2]) 所述，嬰幼兒毛細血管瘤所造成的短暫顏面缺陷首先會引起父母心理上的問題，後來便會影響到兒童本身。

如 Bennett ML 等人 (Oral corticosteroid use is effective for cutaneous hemangiomas, An evidence-based evaluation, *Arch. Dermatol.* 2001; 137 :1208-13 [3])所述，全身性的或疾病部位內注射的皮質類固醇係增生期間用來治療疑難之器官損害的第一線治療法。

然而，即使在高劑量之下，治療的反應速率如參考文獻 [1]、[3]與[4]所述的只有 30-60%。通常會產生短暫與限定的副作用，例如：庫欣氏樣面容 (cushingoid facies)、應激性 (irritability)、生長抑制，但較需要注意肥厚性心肌病 (hypertrophic cardiomyopathy)。

其他的治療選擇包括干擾素 α -2a 與 2b (投予劑量 1-3 百萬單位/平方公尺/天 ($\text{mU}/\text{m}^2/\text{day}$) 時達到完全反應的 40-50%)，但有報告指出此治療對於一歲以下幼兒有產生神經毒性的風險(見參考文獻[1]與[5])；如參考文獻[1]所述，長春新鹼因為具有抗有絲分裂特性，所以也被用來治療嬰幼兒毛細血管瘤，但其廣為人知的副作用為周圍神經病、便秘與血液毒性。

再者，由於新的抗血管生成因子(例如：avastatin)會產生副作用，所以不使用在兒童身上。

此外，因為大部分接受治療的病患是嬰兒或年紀較小的兒童，病患對於已知化合物的耐受性就變得很重要了。

因此需要其他更有效與毒性較低的化合物來治療嬰幼兒血管瘤(特別是嬰幼兒毛細血管瘤)。本發明可達到這些以及其他的需求。

【發明內容】

如 Villain E 等人(Low incidence of cardiac events with beta-blocking therapy in children with long QT syndrome, Eur. Heart J. 2004; 25:1405-11 [6])、Fritz K.I. 等人(Effect of beta-blockade on symptomatic dexamethasone-induced hypertrophic obstructive cardiomyopathy in premature infants: three case reports and literature review. J Perinatol 1998;18:38-44 [7]) 與 Kilian K. (Hypertension in

neonates causes and treatments, J. Perinat Neonatal Nurs. 2003; 17:65-74 [8]) 所述，心得安係一種可被接受的非選擇性 β 阻斷劑，通常用於兒童的心臟病適應症。但是無任何研究報導此 β 阻斷劑與一般的 β 阻斷劑在治療血管瘤上的使用。

本發明首先進行試驗並發現 β 阻斷劑可非常有效地控制嬰幼兒血管瘤的生長，甚至可治療嬰幼兒血管瘤。本申請書提供此發現與試驗結果。

因此，本發明首先提供以 β 阻斷劑製備治療血管瘤之藥劑。

本文之“ β 阻斷劑 (Beta blocker)”也稱為 β 受體阻斷劑、 β 腎上腺素受體阻斷劑、 β 阻斷劑 (beta blocking agent)、 β 阻斷劑或 β 腎上腺素受體阻斷劑或任何表示一抑制天然或人工致效劑結合至任何形式 (β -1、 β -2、 β -3 或其他) 之 β 腎上腺素受體之化學藥品的其他名稱。

本發明之 β 阻斷劑可為一非選擇性 β 阻斷劑、 β 1 選擇性 β 阻斷劑、 α 1/ β 腎上腺素拮抗劑的混合物、 β 2 選擇性 β 阻斷劑。該 β 阻斷劑也可為兩個或以上之 β 阻斷劑的混合物。

可用於本發明之 β 阻斷劑的例子描述於 Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, eleventh edition, chapter 10, pp 271-295, 2006 [19]。

當根據本發明使用一非選擇性 β 阻斷劑時，該非選

擇性 β 阻斷劑最好選自：烯丙洛爾 (alprenolol)、布新洛爾 (bucindolol)、卡替洛爾 (carteolol)、卡維地洛 (carvedilol)、拉貝洛爾 (labetalol)、左布諾洛爾 (levobunolol)、美沙洛爾 (medroxalol)、甲吲洛爾 (mepindolol)、美替洛爾 (metipranolol)、納多洛爾 (nadolol)、氧烯洛爾 (oxprenolol)、噴佈洛爾 (penbutolol)、吲哚洛爾 (pindolol)、普羅帕酮 (propafenone) (普羅帕酮係一種鈉通道阻斷劑，也是一種 β -腎上腺素受體拮抗劑)、心得安、索他洛爾 (sotalol)、添慕寧 (timolol) 或其藥學上可接受的鹽類，其混合物也可使用。

當根據本發明使用一 β_1 選擇性 β 阻斷劑時，該 β_1 選擇性 β 阻斷劑可選自醋丁洛爾 (acebutolol)、阿替洛爾 (atenolol)、倍他洛爾 (betaxolol)、比索洛爾 (bisoprolol)、噻利洛爾 (celiprolol)、艾司洛爾 (esmolol)、美托洛爾 (metoprolol)、奈必洛爾 (nebivolol)。

β 阻斷劑也可如醋丁洛爾、倍他洛爾、卡替洛爾、卡維地洛、拉貝洛爾、氧烯洛爾、噴佈洛爾、吲哚洛爾、心得安般具有內生型交感活性 (intrinsic sympathomimetic activity)。

β 阻斷劑最好為心得安或其藥學上可接受的鹽類，例如：左旋或右旋心得安或其混合物。該混合物中之左旋與右旋心得安的比例為 0:1 至 1:0，例如：1:1。心得安之藥

學上可接受的鹽類可為心得安鹽酸鹽或心得安的任何製備品——不管是製備方法改變或改變心得安的藥物動力學特性或代謝(metabolisation)。

本發明之藥劑可為治療嬰幼兒毛細血管瘤的藥劑。

本發明之藥劑也可用來治療其他的血管腫瘤，例如：血管瘤（即上皮樣血管瘤（epithelioid hemangioma）、竇性血管瘤（sinusoidal hemangioma）、梭形細胞血管瘤（spindle cell hemangioma）、叢狀血管瘤（tufted angioma）、肝血管內皮瘤（hemangioendotheliomas）（即卡波西樣肝血管內皮瘤（kaposiform hemangioendothelioma））、von Hippel-Lindau 綜合症的血管瘤、結節性硬化症（Bourneville disease）的血管纖維瘤（angiofibroma）與血管脂肪瘤（angiolipoma）、化膿性肉芽腫（pyogenic granuloma）、血管肉瘤（angiosarcomas），例如：卡波西肉瘤（Kaposi's sarcoma）、擴展性動靜脈畸形（expanding arteriovenous malformations）、與腫瘤相關的血管增生。M. Wassef and coll. Vascular tumours and malformations, classification, pathology and imaging. Ann Chir Plast Esth 2006; 51:263-281 [20] 揭示這些活性之增生腫瘤的解剖病理學分類。

此藥劑可為任何可投予至人體或動物的劑型。可直接投予該藥劑，即投予純藥劑或大致上純度高的藥劑，或將該 β 阻斷劑與一藥學上可接受的載體和/或介質混合後投

予。

本發明之藥劑可為糖漿或注射溶液。

本發明之藥劑可為口服投予的藥劑，包括：液體劑型、口服發泡劑型、口服的粉末、多元系統(multiparticule system)、口內崩散劑型(orodispersible dosage form)等。

舉例來說，當該藥劑為口服投予劑型時，該劑型可為液體劑型，包括：溶液、糖漿、懸浮液、乳劑以及口服滴劑等。當該劑型為口服發泡劑型時，該劑型可為錠劑、顆粒、粉末等。當該藥劑為口服粉末或多元系統時，該劑型可為珠球(beads)、顆粒、小錠劑與微顆粒。當該藥劑為口內崩散劑型時，該劑型可為口內崩散錠劑、凍晶乾燥的薄片、薄膜、口嚼錠、錠劑與膠囊、藥用口香糖等。

本發明之藥劑可為經由頰內或舌下投予的藥劑，例如：口含片或舌下錠、黏膜黏附劑型、喉片、口腔黏膜滴劑與噴霧劑等。

本發明之藥劑可為經由皮膚局部滲透的藥劑，例如：軟膏、乳霜、凝膠、乳液、貼片與泡沫等。

本發明之藥劑可為經由鼻子投予的藥劑，例如：鼻滴劑、鼻噴霧劑、鼻粉末等。

本發明之藥劑可為經由直腸投予的藥劑，例如：栓劑或硬凝膠膠囊。

本發明之藥劑可為非口服投予的藥劑，例如：經由皮下、肌肉內、靜脈內投予。

熟悉此技術的人員清楚地了解本文所用的“劑型”一詞係指該藥劑在實際使用時的藥物劑型。例如，該藥劑可為注射劑型（例如：Avlocardyl®5 毫克/毫升）、糖漿（例如：Efferalgan®3%）、口服懸浮液（例如：Efferalgan®3%）、藥丸（例如：Dafalgan®1 公克）、粉末（例如：Doliprane®100 毫克）、顆粒（例如：Zoltum®10 毫克）、噴霧劑、穿皮貼片（例如：Cordipatch®5 毫克/24 小時）或局部劑型（乳雙、乳液、眼藥水）（例如：Dermoval creme®、Betneval®lotion 與 Chibroxine®collyre）。

在這些實施例中，上述之 β 阻斷劑等 β 阻斷劑（例如：心得安）可添加至該等藥劑或取代該等藥劑中的活性成分。

該藥學上可接受的載體可為任何已知用於投予 β 阻斷劑至人體或動物（視個體而定）之藥學上可接受的載體。例如，此載體可為聚乙二醇單甲醚（monométhoxy-polyéthylèneglycol）（例如：Viraferonpeg®所用的載體）或脂質體（例如：Ambizome®所用的載體）。

該介質可為任何已知用於投予 β 阻斷劑至人體或動物的介質。例如，此介質可為聚氧乙烯醚（cremophor）（例如：Sandimmun®所用的介質）或 cellulosis（Avlocardyl® LP160mg 所用的介質）。

該藥物的劑型選擇要視接受治療的人或動物而定。例

如，若接受治療者為兒童或嬰兒，最好選擇糖漿或注射劑型。可利用重量刻度吸管進行藥物投予。

為了治療血管瘤，本發明之藥劑可包括任何藥學上可接受與有效劑量的 β 阻斷劑。例如，該藥劑可包含允許每天投予 1 至 5 毫克/公斤體重的劑量，例如 2 至 4 毫克/公斤體重/天。

另一方面，本發明也提供一種治療患有血管瘤之病患的方法。此方法包括投予該病患一 β 阻斷劑的步驟。

以上已定義血管瘤、 β 阻斷劑以及有用的劑型。

技術人員可利用所知的任何藥學方法進行 β 阻斷劑的投予。前文已提供藥物投予劑型的例子，例如，可直接注射 β 阻斷劑。此方法與糖漿對嬰兒來說是較佳的投予劑型。

為了治療血管瘤，可限定投予方式以便於傳送藥學上可接受與有效的劑量。舉例來說，該投予可包含每天投予 1 至 5 毫克/公斤體重的劑量，例如：2 至 4 毫克/公斤體重/天。投予的次數可每天投予一次或多次。

本申請書的發明者明確地由實驗證實 β 阻斷劑對於嬰幼兒毛細血管瘤(IH)具有強大的抗血管生成作用。

本發明對血管瘤所做的進一步研究顯示腎上腺素 β_2 受體存在於血管瘤的內皮細胞表面（見以下的實施例）。這確定了本發明所得到的結果，提供生理病理學解釋以及確定在本發明之架構下之 β 阻斷劑的作用機制。這也確定心得安之效力與其 β 阻斷劑活性之間的關聯。

先前技術的新抗血管生成因子（例如：avastatin）由於其副作用而禁止讓兒童使用，本發明之心得安為全身性皮質類固醇以及甚至是干擾素或長春新鹼的另一種安全的替代藥物。

心得安係一種非選擇性 β 阻斷劑，略具內生型交感活性，其對於嬰幼兒毛細血管瘤的劇烈治療效果可由三個機制來解釋：

1. 引發細胞缺氧的周邊血管收縮作用：心得安會造成周邊血管收縮，而此作用在治療嬰幼兒毛細血管瘤時立即可見。

2. 藉由 Raf/MAPK 途徑或 HIF 途徑之下調作用降低血管內皮生長因子與鹼性成纖維細胞生長因子基因的表現 (Giatromanolaki A, Arvanitidou V, Hatzimichael A, Simopoulos C, Sivridis E [17]. The HIF-2 α /VEGF pathway activation in cutaneous capillary haemangiomas; Shyu KG, Liou JY, Wang BW, Fang WJ, Chang H. Cardiovedilol prevents cardiac hypertrophy and overexpression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor in pressure-overloaded rat heart. J Biomed Sci. 2005 ; 12: 409-420[18]))。

3. 啟動微血管內皮細胞上的細胞凋亡。

在下文所揭示的實驗結果中，可觀察到患有嬰幼兒毛細血管瘤之嬰兒身上的病狀明顯減弱，由鮮紅色轉變成紫

色。此作用可引發血管瘤的慢性缺氧，抑制內皮細胞的增生。

然而，在本發明之發明者的實驗中，在心得安之治療下，嬰幼兒毛細血管瘤漸進之改善強烈地暗示心得安對於增生性生長因子的持續性作用。

由這方面來看吾人尚不清楚治療的目標為內皮細胞本身或其他的細胞，例如：間質細胞或肥胖細胞。第三個機制可能可用以解釋嬰幼兒毛細血管瘤係 β 阻斷所造成之早期的內皮細胞凋亡。

然而，有兩個案例無法支持此假說，在此兩案例中，當治療中止於嬰幼兒毛細血管瘤之增生期時，血管瘤便再度生長。另外，在第二個案例中，發明者經由使用對醣切半胱氨酸天冬氨酸酶（cleaved caspases）3 與 8 之抗體的免疫組織化學並未發現凋亡細胞標誌。

此外，現在 β 阻斷劑普遍用於初生嬰兒或兒童，其對於如 QT 節段延長症候群（long QT syndrome）的心臟疾病（如 Villain E. et al, “Low incidence of cardiac events with beta-blocking therapy in children with long QT syndrome”, Eur. Heart J. 2004; 25:1405-1411 [6] 所述）、肥厚性心肌症（hypertrophic cardiomyopathie）（如 Fritz K.I. et al, “Effect of beta-blockade on symptomatic dexamethasone-induced hypertrophic obstructive cardiomyopathy in premature infants: three case reports and literature

review” , J. Perinatal 1998; 18:38-44 [7] 所述) 或高血壓 (如 Kilian K. et al, “Hypertension in neonates causes and treatments” , J. Perinat. Neonatal Nurs 2003; 17: 65-74 [8] 所述) 具有良好的耐受性。

以下將以實施例與圖式詳細地說明本發明，然而並不因此限定本發明的範圍。

【實施方式】

實施例

實施例 1：本發明的第一個實驗

實驗個體為一名在鼻錐體部位患有嬰幼兒毛細血管瘤的男嬰。在兩個月大時因為鼻分隔與鼻柱壞死引發呼吸困難，因此以全身性類固醇進行治療。以 3 毫克/公斤體重/天之潑尼松龍 (prednisolone) 治療一個月之後，血管瘤症狀穩定下來，但鼻壞死症狀持續發展。由於此嬰兒漸漸拒絕服用潑尼松龍錠劑，吾人投予其相等劑量的 bethamethasone 滴劑 (0.5 mg/kg/day)。在此嬰兒 4 個月大時，血管瘤已停止生長，並且鼻潰瘍已治癒。

然而，當此嬰兒回來做複診時卻發生與收縮期心臟雜音 (systolic cardiac murmur) 有關的心跳過速，每分鐘脈搏 180 至 200 次。心臟超音波顯示其為肥厚性阻塞性心肌症 (obstructive hypertrophic cardiomyopathy)，於是將 betamethasone 劑量由 3 毫克/公斤體重/天降低至

2 毫克/公斤體重/天。

吾人因此開始以一 β 阻斷劑心得安 (IUPAC 化學名: (2RS)-1-[1-甲基乙基)胺基]-3(萘-基氧)丙-2-醇) 治療，治療劑量為 3 毫克/公斤/天。投予之心得安係含有市售之心得安粉末的膠囊。以心得安開始治療一天後，血管瘤由鮮紅色轉變成紫色並且軟化。取代潑尼松龍之 betamethasone 的治療量逐漸減少，並且在以心得安治療後 6 週停止給予 betamethasone。

儘管減少全身性類固醇的投予，嬰幼兒毛細血管瘤仍持續改善。在該嬰兒五個半月大時，已停止投予類固醇，然而並未發現嬰幼兒毛細血管瘤增大或恢復原色。在該幼兒 14 個月大時，仍持續以心得安治療該幼兒，發現由皮質類固醇引發的肥厚性心肌症 (hypertrophic cardiomyopathy) 復原。嬰幼兒毛細血管瘤變得完全平坦，只在黃橘色褪色的皮膚上留有皮膚毛細血管擴張症 (telangiectasias) 以及鼻內與鼻柱的壞死。

實施例 2：本發明的第二個實驗

第二名男嬰為三胞胎之一，自出生至 30 週大時，在其整個右上臂與右額頂以及上眼皮的區域存在斑片狀的嬰幼兒毛細血管瘤。

在一個月大時，包括上眼皮、腮腺區域與腋窩的三個部位發展皮下組成。由於有視力缺損的風險，便開始以 3 毫克/公斤/天劑量的潑尼松龍治療。

然而，經過兩週的治療之後，症狀並未獲得控制，吾

人決定將潑尼松龍劑量增加至 5 毫克/公斤/天，持續治療兩週。

雖然以此方式治療，嬰幼兒毛細血管瘤仍持續擴大，在 2 個月大時眼皮已無法張開，右臉因巨大的腫瘤而變形，如第 1 圖所示。另外，腋窩被直徑 5 公分的嬰幼兒毛細血管瘤所佔據。

核磁共振攝影 (MRI) 顯示大腦內並無異常，但顯示嬰幼兒毛細血管瘤影響外部及肌椎內眼窩 (intraconal orbital) 區域而造成眼球突出。此外，核磁共振攝影顯示嬰幼兒毛細血管瘤在頸內具有持續性壓縮的組成，造成氣管與食道的位移；腋窩的腫瘤大小為 26 毫米 x 45 毫米 x 40 毫米並且擴大至右肺尖 (right pulmonary apex)。

心臟超音波顯示心輸出量增加。

將潑尼松龍的劑量降低至 3 毫克/公斤/天，同時開始給予 2 毫克/公斤/天之本發明的心得安。

如同之前的嬰兒 (見實施例 1)，開始給予心得安 12 小時之後，其損傷便緩和下來。

7 天之後，由於血管瘤的皮下組成顯著地減小 (如第 2 圖所示)，眼睛已能自發性地睜開。腮腺與腋窩的團塊顯著地減小。

這些本發明所得之未預期的結果必須與那些先以全身性類固醇治療 4 週 (3 毫克/公斤/天治療兩週以及 5 毫克/公斤/天治療兩週) 而尚未以心得安治療的結果 (第 1 圖所示) 作比較。

當嬰幼兒毛細血管瘤持續改善時，潑尼松龍的治療量便逐漸減低。在 3 個月大時，該嬰兒的手臂組織切片顯現為典型的嬰幼兒毛細血管瘤。內皮細胞顯示僅有少數的單株抗體被染色，這暗示嬰兒體內之嬰幼兒毛細血管瘤的增生活性薄弱。

為了評估心得安的促凋亡 (proapoptotic) 作用，吾人利用單株抗醣切半胱氨酸天冬氨酸酶-3 與-8 抗體 (monoclonal anti-cleaved caspase-3 and 8 antibodies) 進行免疫組織化學分析 (Ozyme, Saint Quentin en Yvelines, France)，但是未顯現陽性的免疫染色 [15]。

在嬰兒 4 個月大時停止以潑尼松龍治療並未使病症回復，但是中止心得安治療三天卻使上眼皮與腮腺部位的血管瘤稍微增大。

再度給予 2 毫克/公斤/天之心得安之後，僅僅 24 小時便緩和症狀。

在 6 個月大時，該嬰兒眼睛張開的情況令人滿意且未發現到重大的視力損傷，同時未觸摸到腮腺與腋窩的皮下血管瘤組成，而臉部與手臂上的嬰幼兒毛細血管瘤大多已經褪色。

第 3 圖顯示該幼兒在 6 個月大時的實驗結果，此時該幼兒仍持續服用 2 毫克/公斤/天劑量的心得安，但自 2 個月大起便停止以全身性類固醇治療。實驗結果未發現血管瘤的皮下組成，而皮膚組成明顯地褪色。此外，該幼兒未發生任何視力損傷。

在其 9 個月大時便停止治療，如第 4 圖所示，停止治療後的血管瘤未再度生長。

實施例 3：本發明的第三個實驗

一名女嬰在其 3 週大時被發現右眼周圍發生嬰幼兒毛細血管瘤，而血管瘤位在內眦（internal canthus）部位。在兩個月大時，嬰幼兒毛細血管瘤的皮下組成延伸至眼睛而限制上眼皮張開。

都卜勒超音波顯示其嬰幼兒毛細血管瘤的直徑為 32 毫米，厚度為 12 毫米。

在獲得其父母的同意之後，吾人以 2 毫克/公斤/天劑量的心得安進行治療。在 12 小時之內血管瘤變得平坦，繼之逐漸地改善。

以心得安治療 7 天之後，控制超音波（control ultrasonography）檢測結果顯示嬰幼兒毛細血管瘤變小：直徑由 32 毫米變成 21 毫米，厚度由 12 毫米變成 6 毫米，並且無任何血液動力學的改變。

一個月後停止給予心得安，但因嬰幼兒毛細血管瘤又再度增大，迫使治療繼續進行。

在該幼兒 7 個月大時，其嬰幼兒毛細血管瘤平坦並且已褪色，而超音波無法辨識任何皮下的組成。

在 8 個月大時停止心得安的治療，停止治療之後血管瘤未再回復。

以心得安治療另外 7 個患有血管瘤之幼兒的結果與上述結果相似。以本發明治療的案例中未發現失敗的結果。

98年3月11日 修正
補充

在先前技術中（例如：以皮質治療法(corticotherapy)或干擾素治療）未曾達到這種結果。

大體而言，這些實施例明確地顯示心得安對於嬰幼兒毛細血管瘤具有強大的抗血管生成效應。由於新的抗血管生成因子（例如：avastatin）會產生副作用而禁止用於年幼的兒童，因此心得安是全身性皮質類固醇或甚至是干擾素或長春新鹼之外的另一種安全的替代治療藥劑。

實施例 4：意見與其他的實驗結果

本發明之發明者意外地發現心得安這種一般被接受用於年幼兒童之心臟病適應症的非選擇性 β 阻斷劑可控制嬰幼兒毛細血管瘤的生長期，其報告可見 Léauté-Labrèze C, Dumas de la Roque E, Hubiche T, Boralevi F, Thambo JB. Propranolol for severe hemangiomas of infancy. New Engl J Med 2008, 358; 24:2650-51 [16]。一種可能的解釋是傾斜的性別比例與 HIF-2 α 途徑的活化以及隨後發生之內皮細胞的血管內皮生長因子過度表現皆與皮膚的毛細血管瘤發作有關 (Giatromanolaki et al, The HIF-2 α /VEGF pathway activation in cutaneous capillary haemangiomas. Pathology 2005:149-51 [17])。令人驚訝的是 Shyu 等人研究 β 阻斷劑對於心肥大 (cardiac hypertrophia) 的治療結果揭示 cardivedilol 使 HIF-1 α 與血管內皮生長因子之蛋白質與訊息核糖核酸皆退回至基值 (Shyu et al., Cardiovedilol prevents cardiac hypertrophy and

overexpression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor in pressure-overloaded rat heart. J Biomed Sci. 2005 ; 12 :409-420 [18])。進一步的研究有助於了解在體內與體外之嬰幼兒毛細血管瘤之血管生成級聯反應下游的 (angiogenic cascade downstream) β 腎上腺素受體，以及了解影響嬰幼兒毛細血管瘤表現型之可能的遺傳決定因素。

組織學與免疫組織化學

將皮膚組織切片嵌至石臘中，切片成 5 微米厚度，並以蘇木素-伊紅 (hematoxylin-eosin) 染色以評估其一般型態。為了顯現 $\alpha 2$ -腎上腺素受體與 HIF1- α 的表現量，在 4°C 下分別以單株兔抗人 $\alpha 2$ -腎上腺素受體 1:100 (PA1-20659, ABR, Golden, USA) 或單株鼠抗人 HIF1- α 1:1000 (ab8366, abcam, Cambridge, UK) 培養該等切片整夜。吾人使用 Envision 辣根過氧化物酶系統 (K4002, K4000 Dako, Trappes, France) 作為第二系統，其增加兔對 $\alpha 2$ -腎上腺素受體與鼠對 HIF1- α 的染色敏感度。以胺基乙基尿素 (aminoethylcarbamide) (K3461, Dako, Trappes, France) 顯現該等切片，並以蘇木素作複染色 (counterstained)。

初步的免疫組織化學顯示 $\beta 2$ 受體 (見第 5 圖) 在嬰幼兒毛細血管瘤的內皮細胞上表現。吾人最近觀察到 HIF1 α (見第 6 圖) 也在嬰幼兒毛細血管瘤的內皮細胞上表現。

【圖式簡單說明】

第 1 圖係顯示在開始進行心得安治療之前先以全身性類固醇治療 4 週之後的血管瘤外觀。

第 2 圖係顯示只使用本發明之心得安治療 7 天之後的血管瘤外觀。

第 3 圖係顯示 6 個月大幼兒在 2 個月大停止全身性類固醇治療之後持續依循本發明而治療的實驗結果。

第 4 圖係顯示以本發明之心得安治療後在幼兒 9 個月大時的實驗結果。

第 5 圖係以免疫組織化學方法得到的圖片，其顯示 $\beta 2$ 受體表現在嬰幼兒毛細血管瘤的內皮細胞上。

第 6 圖係以免疫組織化學方法得到的圖片，其顯示 HIF1 α （染成紅色）表現在嬰幼兒毛細血管瘤的內皮細胞上。

【主要元件符號說明】

無

参考文献

- [1] Frieden IJ, Haggstrom A, Drolet BA, Mancini AJ, Friedlander SF, Boon L, and coll. Infantile hemangiomas: current knowledge, future directions. Proceedings of a research workshop on infantile hemangiomas. *Pediatr Dermatol* 2005; 22:383-406.
- [2] Tanner JL, Dechert MP, BA; Frieden IJ. Growing up with a facial hemangioma: parent and child coping and adaptation. *Pediatrics*. 1998; 101:446-452.
- [3] Bennett ML, Fleischer AB, Chamlin SL, Frieden IJ. Oral corticosteroid use is effective for cutaneous hemangiomas. An evidence-based evaluation. *Arch Dermatol* 2001 ; 137 :1208-13.
- [4] Enjolras O, Riche MC, Merland JJ, Escande JP. Management of alarming hemangiomas in infancy: a review of 25 cases. *Pediatrics* 1990;85:491-8.
- [5] Ezekowitz RAB, Phil CBD, Mulliken JB, Folkman J. Interferon alfa-2a therapy for life-threatening hemangiomas of infancy. *New Engl J Med* 1992; 326:1456-63.
- [6] Villain E, Denjoy I, Lupoglazoff JM, Guicheney P, Hainque B, Lucet V, Bonnet D. Low incidence of cardiac events with beta-blocking therapy in

children with long QT syndrome. Eur Heart J 2004; 25:1405-11.

- [7] Fritz KI, Bhat AM. Effect of beta-blockade on symptomatic dexamethasone-induced hypertrophic obstructive cardiomyopathy in premature infants: three case reports and literature review. J Perinatol 1998; 18:38-44.
- [8] Kilian K. Hypertension in neonates causes and treatments. J Perinat Neonatal Nurs 2003; 17:65-74.
- [9] Boye E, Yu Y, Paranya G, Paranya G, Mulliken JB, Olsen BR, Bischoff J. Clonality and altered behaviour of endothelial cells from hemangiomas. J Clin Invest 2001;107:745-52.
- [10] Mancini AJ, Smoller BR. Proliferation and apoptosis within juvenile capillary hemangiomas. Am J Dermatopathol 1996;18:505-14.
- [11] Razon MJ, Kraling BM, Mulliken JB, Bischoff J. Increased apoptosis coincides with onset of involution in infantile hemangioma. Microcirculation 1998; 5:189-95.
- [12] Iaccarino G, Ciccarelli M, Soriento D, Galasso G, Campanile A, Santulli G, Cipolletta E, Cerullo V, Cimini V, Altobelli GG, Piscione F, Priante O,

Pastore L, Chiarello M, Salvatore F, Koch WJ, Trimarco B. Ischemic neoangiogenesis enhanced by beta2-adrenergic receptors overexpression: a novel role for the endothelial adrenergic system. *Circ Res* 2005; 97:1182-1189.

[13] D' Angelo G, Lee H, Weiner RI. cAMP-dependant protein kinase inhibits the mitogenic action of vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor in capillary endothelial cells by blocking Raf activation. *J Cell Biochem* 1997; 67:353-366.

[14] Sommers Smith SK, Smith DM. Beta blockade induces apoptosis in cultured capillary endothelial cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2002;38:298-304.

[15] Chaturvedi V, Sitailo LA, Bodner B, Denning MF, Nickoloff BJ. Defining the caspase-containing apoptotic machinery contributing to cornification in human epidermal equivalents. *Exp Dermatol*. 2006 Jan;15(1):14-22.

[16] Léauté-Labrèze C, Dumas de la Roque E, Hubiche T, Boralevi F, Thambo JB. Propranolol for severe hemangiomas of infancy. *New Engl J Med* 2008, 358; 24:2650-51.

[17] Giatromanoloki A, Arvanitidou V, Hatzimichael A, Simopoulos C, Sivridis E. The HIF-2alpha/VEGF pathway activation in cutaneous capillary haemangiomas. Pathology 2005:149-51.

[18] Shyu KG, Liou JY, Wang BW, Fang WJ, Chang H. Cardiovedilol prevents cardiac hypertrophy and overexpression of hypoxia-inducible factor-1alpha and vascular endothelial growth factor in pressure-overloaded rat heart. J Biomed Sci. 2005 ; 12 :409-420.

[19] Goodman and Gilman' s the pharmacological basis of therapeutics, eleventh edition, chapter 10, pp 271-295, 2006.

M. Wassef and coll. Vascular tumours and malformations, classification, pathology and imaging. Ann Chir Plast Esth 2006; 51:263-281.

十、申請專利範圍：

1. 一種 β 阻斷劑的用途，其係用於製備治療血管瘤之藥劑。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述的用途，其中該 β 阻斷劑係擇自於下列所組成之族群：非選擇性 β 阻斷劑、 $\beta 1$ 選擇性 β 阻斷劑、 $\alpha -1/\beta$ -腎上腺素拮抗劑混合物、 $\beta 2$ 選擇性 β 阻斷劑、及兩個或以上之 β 阻斷劑混合物。

3. 如申請專利範圍第 1 項所述的用途，其中該 β 阻斷劑為一非選擇性 β 阻斷劑。

4. 如申請專利範圍第 3 項所述的用途，其中該非選擇性 β 阻斷劑係選自烯丙洛爾、布新洛爾、卡替洛爾、卡維地洛、拉貝洛爾、左布諾洛爾、美沙洛爾、甲吲洛爾、美替洛爾、納多洛爾、氧烯洛爾、噴佈洛爾、吲哚洛爾、普羅帕酮、心得安、索他洛爾、添慕寧、其藥學上可接受的鹽類以及其混合物。

5. 如申請專利範圍第 1 項所述的用途，其中該 β 阻斷劑為一 $\beta 1$ 選擇性 β 阻斷劑。

6. 如申請專利範圍第 5 項所述的用途，其中該 $\beta 1$ 選擇性 β 阻斷劑係選自於醋丁洛爾、阿替洛爾、倍他洛爾、比索洛爾、噻利洛爾、艾司洛爾、美托洛爾、奈必洛爾。

7. 如申請專利範圍第 1 項所述的用途，其中該 β 阻斷劑具有一內生型交感活性。

8. 如申請專利範圍第 7 項所述的用途，其中該 β 阻斷劑係擇自下列所組成之族群：醋丁洛爾、倍他洛爾、卡

替洛爾、卡維地洛、拉貝洛爾、氧烯洛爾、噴佈洛爾、吲哚洛爾、心得安。

9. 如申請專利範圍第 1 項所述的用途，其中該 β 阻斷劑為心得安或其藥學上可接受的鹽類。

10. 如申請專利範圍第 1 項所述的用途，其中該藥劑為一治療毛細血管瘤及/或嬰幼兒毛細血管瘤的藥劑。

11. 如申請專利範圍第 1 至第 10 項中任一項所述的用途，其中該藥劑為一糖漿或一注射溶液。

12. 如申請專利範圍第 1 至第 10 項中任一項所述的用途，其中該藥劑為一口服投予的藥劑，該劑型包括液體劑型、口服發泡劑型、口服粉末、多元系統及口內崩散劑型。

13. 如申請專利範圍第 12 項所述的用途，其中該口服藥劑為一液體劑型，包括：溶液、糖漿、懸浮液、乳化劑與口服滴劑。

14. 如申請專利範圍第 1 至第 10 項中任一項所述的用途，其中該藥劑為一經由頰內或舌下投予的藥劑。

15. 如申請專利範圍第 1 至第 10 項中任一項所述的用途，其中該藥劑為一局部經皮投予的藥劑。

16. 如申請專利範圍第 15 項所述的用途，其中該局部投予藥劑擇自於軟膏、乳霜、凝膠、乳液、貼片、泡沫。

17. 如申請專利範圍第 1 至第 10 項中任一項所述的用途，其中該藥劑為一經鼻投予的藥劑。

18. 如申請專利範圍第 1 至第 10 項中任一項所述的用途，其中該藥劑為一經直腸投予的藥劑。

19. 如申請專利範圍第1至第10項中任一項所述的用途，其中之藥劑為一非口服投予的藥劑。

十一、圖式



第 1 圖



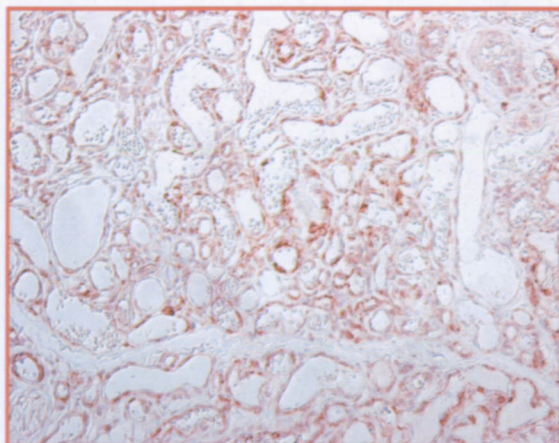
第 2 圖



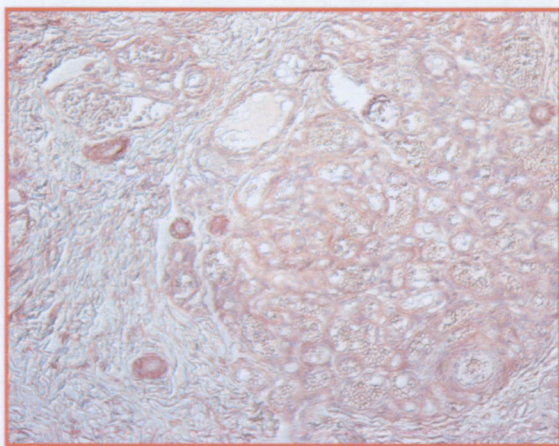
第 3 圖



第 4 圖



第 5 圖



第 6 圖