

[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 200680028362.5

[51] Int. Cl.

A61K 38/28 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

[43] 公开日 2008年7月30日

[11] 公开号 CN 101232899A

[22] 申请日 2006.8.1

[21] 申请号 200680028362.5

[30] 优先权

[32] 2005.8.1 [33] US [31] 60/704,295

[86] 国际申请 PCT/US2006/030014 2006.8.1

[87] 国际公布 WO2007/016600 英 2007.2.8

[85] 进入国家阶段日期 2008.2.1

[71] 申请人 曼金德公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 安德斯·哈萨格尔·博斯

韦曼·温蒂尔·师特汉姆

戴维·C·戴尔蒙德

[74] 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理有限
责任公司

代理人 肖善强

权利要求书3页 说明书29页 附图3页

[54] 发明名称

维持产胰岛素细胞功能的方法

[57] 摘要

本发明提供了方法和组合物，用于维持产胰岛素细胞的功能，并在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中延长产胰岛素细胞的寿命。

1. 胰岛素组合物在制造下述药物中的用途，所述药物用于在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中维持产胰岛素细胞，其中至少一剂所述药物被施用给所述患者，其中所述药物模拟生理学的进餐相关早期胰岛素应答并维持所述产胰岛素细胞的功能。

2. 根据权利要求 1 的用途，其中所述患者选自蜜月期的 1 型糖尿病患者、前驱糖尿病患者和产胰岛素细胞移植物的受体。

3. 根据权利要求 1 的用途，其中所述药物被口服施用。

4. 根据权利要求 1 的用途，其中所述药物被吸入。

5. 根据权利要求 4 的用途，其中所述药物包括干粉配方。

6. 根据权利要求 1 的用途，其中所述药物在含有多于 15 g 碳水化合物的任何进餐中施用。

7. 根据权利要求 1 的用途，其中所述药物包含足够降低胰岛素原的血清水平的胰岛素剂量。

8. 根据权利要求 1 的用途，其中所述药物包含足够调控葡萄糖偏移的胰岛素剂量。

9. 根据权利要求 7 或 8 的用途，其中所述剂量足够调控血糖水平。

10. 根据权利要求 7 或 8 的用途，其中所述剂量足够降低来自肝的葡萄糖释放。

11. 根据权利要求 1 的用途，其中所述药物在施用约 15 分钟之内诱导血清胰岛素水平峰。

12. 根据权利要求 11 的用途，其中所述峰血清胰岛素水平为至少 60 mU/L。

13. 根据权利要求 1 的用途，其中所述胰岛素组合物包含与胰岛素结合的延胡索酰派嗪二酮(FDKP)。

14. 根据权利要求 12 的用途，其中所述剂量在等于约 15 IU 到约 90 IU FDKP 胰岛素的范围内。

15. 根据权利要求 1 的用途，其中所述患者还被用胰岛素增敏剂或胰

胰岛素促分泌剂治疗。

16. 胰岛素组合物在制造下述药物中的用途，所述药物用于在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中减轻餐后胰腺胁迫，其中至少一剂所述药物被施用给所述患者，所述药物模拟生理学的进餐相关早期胰岛素应答，所述剂量足够调控血糖水平并降低胰岛素原的血清水平，从而减轻胰腺的胁迫。

17. 胰岛素组合物在制造下述药物中的用途，所述药物用于在移植物受体中提高产胰岛素细胞移植物的寿命，其中至少一剂所述药物被施用给所述移植物受体，所述药物模拟生理学的进餐相关早期胰岛素应答，所述剂量足够调控血糖水平并降低胰岛素原的血清水平，从而减轻胰腺的胁迫并达成产胰岛素细胞的长寿。

18. 胰岛素组合物在制造下述药物中的用途，所述药物用于在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中维持产胰岛素细胞的功能，其中对所述患者施用至少一剂所述药物和免疫抑制药物，所述药物模拟生理学的进餐相关早期胰岛素应答，其中所述药物和所述免疫抑制药物减缓自身免疫应答。

19. 可用于在患者中维持产胰岛素细胞的组合物，其包含受控释放的胰岛素配方。

20. 可用于在患者中维持产胰岛素细胞的组合物，其包含延迟起效制剂，所述制剂包括胰岛素配方。

21. 胰岛素组合物在制造下述药物中的用途，所述药物用于在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中维持产胰岛素细胞的功能，其中对所述患者施用至少一剂所述药物，所述药物模拟生理学的进餐相关早期胰岛素应答并维持所述产胰岛素细胞的功能，所述胰岛素相关疾病选自蜜月期的1型糖尿病、前驱糖尿病和产胰岛素细胞移植物的受体。

22. 胰岛素组合物在制造下述药物中的用途，所述药物用于在患有胰岛素相关疾病的患者中维持产胰岛素细胞的功能，所述患者未用含胰岛素剂量的基底胰岛素以外的胰岛素组合物治疗过；其中在进餐时向所述患者施用至少一剂的所述药物，所述药物在所述患者中模拟生理学的进餐相关

早期胰岛素应答并维持所述产胰岛素细胞的功能。

23. 胰岛素组合物在制造下述药物中的用途，所述药物用于在患有胰岛素相关疾病的患者中维持产胰岛素细胞的功能，所述患者已经丧失早期胰岛素释放，并在施用胰岛素剂量后具有低于 8% 的血清糖化血红蛋白 (HbA1c) 水平；其中在进餐时向所述患者施用至少一剂的所述药物，所述药物在所述患者中模拟生理学的进餐相关早期胰岛素应答并维持所述产胰岛素细胞的功能。

24. 根据权利要求 22 的用途，其中所述药物与含有多于 15 g 碳水化合物的任何进餐一起施用。

25. 根据权利要求 22 的用途，其中所述患者不处于膳食胰岛素用药中。

26. 根据权利要求 22 的用途，其中所述患者具有提高的血清胰岛素原水平。

27. 根据权利要求 22 的用途，其中所述患者具有提高的平均葡萄糖偏移幅度。

28. 根据权利要求 22 的用途，其中所述患者具有提高的氧化胁迫的迹象。

29. 根据权利要求 22 的用途，其中所述血清 HbA1c 水平少于 7%。

30. 根据权利要求 28 的用途，其中所述血清 HbA1c 水平少于 6.5%。

维持产胰岛素细胞功能的方法

发明领域

本发明涉及在患有胰岛素相关疾病的患者中减轻胰腺胁迫和延长产胰岛素细胞寿命的方法，所述患者尽管能够产生胰岛素，但是早期胰岛素释放不足。

背景技术

糖尿病目前困扰着全世界至少 2 亿人。糖尿病的两个主要亚型包括 1 型和 2 型。1 型糖尿病占 2 亿受糖尿病困扰的人中的约 10%。1 型糖尿病是由朗格汉斯岛中分泌胰岛素的 β -细胞自身免疫破坏导致的。2 型糖尿病占据剩余 90% 受困扰的个体，该患病率仍在增长。2 型糖尿病通常（但不总是）伴随着肥胖症，尽管之前其被称作迟发性或成人发作性糖尿病，但是现在其在年轻个体中日益盛行。2 型糖尿病由胰岛素抵抗和胰岛素分泌不足的组合引起。

胰岛素的生理学作用

在非胁迫的正常个体中，由于内在的反馈回路，基础葡萄糖水平将趋向于天天保持相同。血浆葡萄糖浓度上升的任何趋势被胰岛素分泌的提高和胰高血糖素分泌的抑制抗衡，所述胰岛素分泌的提高和胰高血糖素分泌的抑制调节肝葡萄糖生成（糖异生和从糖原储存中释放）和组织葡萄糖吸收以维持血浆葡萄糖浓度不变。如果个体增重或由于任何其它原因成为胰岛素抵抗，则血糖水平会上升，引起提高的胰岛素分泌以补偿胰岛素抵抗。因此，葡萄糖和胰岛素水平被调节以使得这些浓度的改变最小化，同时维持相对正常的葡萄糖产生和利用。

已鉴定出了五个不同的胰岛素分泌期：（1）基础胰岛素分泌，其中胰岛素在吸收后（postabsorptive）状态中释放；（2）头期，其中胰岛素分泌在肠吸收任何营养之前由看见、闻到和尝到食品引发，由胰腺神经支配

介导；（3）第一期胰岛素分泌，其中胰岛素的最初猝发在 β -细胞暴露于快速提高的葡萄糖或其它促分泌物之后的第一个 5-10 分钟之内释放；

（4）第二期胰岛素分泌，其中胰岛素水平更渐进地上升，并与刺激的程度和持续时间相关，和（5）仅在体外描述的第三期胰岛素分泌。在这些过程中胰岛素像许多其它激素一样，以脉冲形式分泌，导致血中浓度振荡。振荡包括与较慢振荡（每 80-120 分钟发生）重叠的快速脉冲（每 8-15 分钟发生），所述较慢振荡与血糖浓度中的波动相关。

胰岛素分泌可由除葡萄糖外的其它有活力的物质（特别是氨基酸）以及激素和药物诱导。众所周知食物摄取后所观察到的胰岛素应答不能仅通过血糖水平的升高解释，其还取决于其它因素，如膳食中游离脂肪酸和其它促分泌物的存在、神经激活的头期和胃肠道激素。

当个体被给予静脉内葡萄糖激发时，观察到双阶段胰岛素应答，其包括快速上升到峰、峰间最低值和随后的较慢增长阶段。该双阶段应答仅在葡萄糖浓度快速上升时（例如在葡萄糖推注或葡萄糖输注之后）被观察到。在生理条件下观察到的葡萄糖施用的较慢提高诱导更逐渐增长的胰岛素分泌，而不是应答于葡萄糖剂团输注而观察到的明确的双阶段应答。

在正常生理条件下模拟第一期胰岛素应答表明：比起静脉剂团注射葡萄糖（在约 3-10 分钟内达到 C_{max} ）来说，餐后葡萄糖浓度上升地更加渐进（在约 20 分钟内达到 C_{max} ）。

健康的胰腺 β -细胞产生对膳食样葡萄糖接触的早期应答，其在门脉循环和外周中快速提高血清胰岛素。相反，具有受损的第一期胰岛素应答的缺陷型 β -细胞对膳食样葡萄糖接触产生缓慢的应答。

越来越多的证据表明葡萄糖摄取之后的早期相对快速的胰岛素应答在餐后葡萄糖稳态维持中起关键性作用。胰岛素浓度的早期波动能够限制初始葡萄糖偏移，这主要通过抑制内源葡萄糖产生。因此，糖尿病患者中快速胰岛素应答的诱导预期能产生经改善的血糖稳态。

在正常个体中膳食诱导胰岛素突发分泌，在血清胰岛素浓度中产生相对陡的尖峰，所述尖峰随后相对快速地衰退（见图 1）。该早期胰岛素应答负责葡萄糖从肝释放的关闭或减少。然后稳态机制使胰岛素分泌（和血

清胰岛素水平)与葡萄糖负荷匹配。这观察为适度提高的血清胰岛素水平缓慢衰减至基线,并且是第二期动力学。

糖尿病

糖尿病的主要特征在于受损的 β -细胞功能。在1型和2型两种糖尿病的疾病进展早期发生的一种异常是进食诱导的快速胰岛素应答的缺失。从而肝持续生成葡萄糖,所述葡萄糖增加了从膳食基础成分中摄取和吸收的葡萄糖。

2型糖尿病通常呈现对血糖水平上升的延迟应答。虽然正常个体通常在摄食后2-3分钟内开始释放胰岛素,但是2型糖尿病可不分泌内源胰岛素直到血糖开始上升,然后为第二期动力学,即浓度缓慢上升至经扩展的平台。因此,内源葡萄糖产生不关闭并在耗尽后持续,且患者经历高血糖(提高的血糖水平)。2型糖尿病的另一特征在于受损的胰岛素作用,称作胰岛素抵抗。胰岛素抵抗自身表现为降低的最大葡萄糖消除速率(GERmax)和维持GERmax所需要的提高的胰岛素浓度。因此,为了处理给定的葡萄糖符合,需要更多的胰岛素,并且所述提高的胰岛素浓度必须维持一段更长的时间。因此,糖尿病患者也在延长的时间段中暴露于提高的葡萄糖浓度中,这进一步加剧了胰岛素抵抗。另外,延长的提高的血糖水平自身对 β 细胞也是有毒的。

身体的自身免疫系统破坏胰腺的产胰岛素细胞(β 细胞),导致发生1型糖尿病。这最终导致完全的胰岛素激素缺乏。然而,在发作后紧随的一段时间内,大部分患者经过一个“蜜月”期。早期胰岛素释放已经丧失时,剩余的 β 细胞仍然作用并产生一些胰岛素,所述胰岛素以第二期动力学释放。由于甚至部分的 β 细胞功能在避免糖尿病的许多长期并发症时是关键性的,所以目前糖尿病研究的一个焦点是维持这些残余的 β 细胞的功能。

2型糖尿病是由不同并且还并未充分理解的事件导致的。早期胰岛素释放的早期丧失和导致的连续葡萄糖释放造成提高的葡萄糖浓度。高葡萄糖水平促进胰岛素抵抗,胰岛素抵抗产生延长的血清葡萄糖浓度提高。该

状态能够导致自我放大循环，其中不断提高的胰岛素浓度对调控血糖水平更不有效。另外，如上文所述，提高的葡萄糖水平对 β 细胞是有毒的，降低功能性 β 细胞的数量。损伤滋养胰岛的微血管生长或维持的遗传缺陷也能够使它们在它们的衰退中起作用(Glee, S. M., et al. *Nature Genetics* 38:688-693, 2006)。最后，胰腺被完全压制，个体进而发展出与患有1型糖尿病的人相似的胰岛素缺乏。

治疗

胰岛素治疗是1型糖尿病的标准疗法，因为几乎没有患者被鉴定为处于蜜月期。尽管初期2型糖尿病可以用控制饮食和锻炼来治疗，但是大部分早期2型糖尿病患者目前用口服抗糖尿病剂治疗，但是成功率有限。人们通常随着疾病的发展转为胰岛素治疗。然而这些疗法不代表治愈。

目前的胰岛素治疗方式可补充或代替内源制造的胰岛素以提供基础和第二期样的图，但是不能模仿第一期动力学（见图2）。另外，传统的胰岛素疗法通常涉及每天仅注射一次或两次胰岛素。然而更强烈的疗法（如每天施用三次或更多，提供更好的血糖水平控制）是明确有益的（参阅例如 Nathan, D. M., et al., *N Engl J Med* 353:2643-53, 2005），但是许多患者不愿接受额外的注射。

直至最近，皮下（SC）注射已成为将胰岛素递送给1型和2型糖尿病患者的唯一途径。然而，SC胰岛素施用不能引起所施用的胰岛素的最佳药效。进入血的吸收（即便与速效胰岛素类似物一起）不模拟血清胰岛素浓度中陡峰的膳食生理学胰岛素分泌模式。皮下注射对向2型糖尿病患者提供胰岛素也很少理想，这实际上可因为延迟的、可变的和浅的作用发生而使得胰岛素作用更为恶化。然而已显示：如果随膳食静脉内施用胰岛素，早期2型糖尿病患者会经历肝葡萄糖释放停止，并显示出提高的生理学葡萄糖控制。另外，他们的游离脂肪酸水平比起无胰岛素治疗更快的速率下降。尽管在治疗2型糖尿病中可能有效，但是静脉内施用胰岛素不是合理的解决方法，因为对患者而言每餐静脉施用胰岛素不是安全或可行的。

尽管糖尿病管理进展在改善，但是糖尿病仍然是使人丧失能力

的慢性疾病，如果不被治疗，其可能伴随末期器官并发症和过早死亡。因此，许多研究人员已经注意到移植途径，期望这能减轻对慢性胰岛素注射、频繁的血糖检测和严格注意饮食和锻炼的需要。最近在基于基因和细胞的治疗中的进步已经提供了治愈糖尿病的希望。这些包括下述努力：通过复制或新生来再生存在的 β 细胞、操作胚胎干细胞以分化为 β 细胞，和使用胰腺或肝前体细胞作为胰岛素的来源。最近的工作得到了从移植的经遗传操作的肝细胞成功生产胰岛素的证据，所述肝细胞来自糖尿病患者自身的肝。细胞治疗糖尿病的最先进的方法（其已经达到临床应用阶段）是 β 细胞的移植。在移植患者中，存在在一些受治疗的个体中胰岛素不依赖的证据。 β 细胞移植比起全器官移植具有较少的侵略性，因为只有胰腺的内分泌部分（胰岛）通过经皮导管被移植。该研究领域的结果是令人沮丧的，直到 Dr. James Shapiro of Edmonton, Canada (Shapiro et al., Diabetes July 2002, 5:2148)得出的进展。Dr. Shapiro 开发了 Edmonton 方案。Edmonton 方案使用无皮质类固醇的抗排斥给药法并移植足够数量的胰岛（每个移植物需要约 2-4 个供体器官）。该小组报导了患有 1 型糖尿病的 7 个连续患者在胰岛移植后 1 年被赋予了胰岛素不依赖(Hirschberg B et al., Diabetes/Metabolism Research and Reviews 2003; 19: 175-178)。然而，3 年之后返回到胰岛素治疗表明被移植的胰岛失效了。

胰岛素移植的前提是处理器官供体的胰腺，从而将负责其外分泌功能（分泌消化酶）的剩余 95%腺体与负责内分泌激素分泌（朗格汉斯岛，或其 β 细胞）的 5%腺体分离。分离后通过置于肝门静脉中的细管输入产胰岛素的胰岛，所述肝门静脉是将血液从肠运输至肝的主要血管。输入后血管将胰岛运输进入肝，它们留在那里并开始制造胰岛素以调节血糖。目前的方法利用约 2-4 个供体胰腺（来自尸体）和无皮质类固醇的免疫移植治疗给药法来预防移植排斥。

胰岛移植方法的一个问题在于胰岛细胞的寿命。患者在 2 年中对胰岛素不依赖。之后他们一般返回胰岛素治疗，尽管使用低于移植前的剂量。胰岛失效的原因并不清楚，但是已经提出胰岛细胞被胁迫，且全部功能受到损坏。

在胰岛移植物受体中达到的血糖调控通常优于用胰岛素治疗、节食和锻炼所达到的。只要胰岛素功能存在，几乎没有（如果有的话）关于严重低血糖发作的报导。然而，患者没有重新得到对低血糖的“正常”反调节激素应答。只有少量的患者达到根据美国糖尿病协会（American Diabetes Association）标准的正常血糖水平。当通过静脉葡萄糖输注引发急性第一期胰岛素应答时，经成功转移的患者的胰岛显示出与正常个体相比显著减小的胰岛素峰。

因此，尽管病理学不同，但是处于疾病“蜜月”期的1型糖尿病、2型糖尿病（具有残余的 β 细胞功能）和 β -细胞移植物受体均具有以下相似的胰腺功能缺乏：不足的早期胰岛素释放和第二期释放的降低的功效。本发明的一个目的是补偿生理学早期释放的缺乏，从而延长或维持 β 细胞的功能。

发明内容

本发明提供了适用于在蜜月期1型糖尿病、早期2型糖尿病和胰岛移植患者中降低胰腺胁迫并延长产胰岛素细胞寿命的方法。该方法的实施方案包括以下述方式施用胰岛素：所述方式模拟进餐相关的早期胰岛素应答，使用足以降低胰岛素原和/或调控葡萄糖偏移的剂量。通过模拟早期动力学，可在施用约12分钟到约30分钟之内达到峰血清胰岛素水平。血清胰岛素水平也可在施用约两或三小时之内恢复至基线。在一个实施方案中，在进餐时向需要胰岛素治疗的患者施用胰岛素，所述进餐时间即开始进餐之前约10分钟内、优选5分钟，或开始进餐之后30、25、15或10分钟。（之后较短的时间优选用于胃排空正常的患者，之后较长的时间适合胃排空延迟的患者）。在一种优选的实施方案中，通过吸入与胰岛素络合的哌嗪二酮的干粉配方达到肺递送，通过使用单位剂量吸入器促进所述吸入。本文使用术语“延胡索酰哌嗪二酮(FDKP)”也包括其盐。优选的剂量在约15到90 IU范围内，或24 IU的与延胡索酰哌嗪二酮络合的胰岛素，或其等价物。

延长产胰岛素细胞寿命的方法的实施方案包括：其中胰腺胁迫被测量

为生理学（或内源）第一期或早期胰岛素应答的丧失；其中胰腺胁迫被测量为无辅助胰岛素治疗时血清胰岛素原水平的提高；其中急性葡萄糖偏移引起的氧化胁迫被测量（例如游离的 8-异前列腺素 F2 α (8-isoPGF2 α)的 24 小时分泌率）为胰腺胁迫的代替品；和其中胰腺胁迫通过无其它治疗时调控血糖水平的能力衰退、分泌（例如兴奋的 C-肽）能力降低、胰岛素敏感度降低（例如 HOMA-S:胰岛素敏感度的体内稳态模型评估）。还可以通过测量 β 细胞质量或对细胞凋亡的敏感度来评估产胰岛素细胞的寿命。

本发明另一方面包括适用于维持产胰岛素细胞的组合物。该组合物包括受控释放的胰岛素配方。

本发明还一方面包括适用于维持产胰岛素细胞的组合物。该组合物包含延迟起效制剂，其包括胰岛素配方。

在本发明的一个实施方案中，提供了在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中维持产胰岛素细胞功能的方法，包括：向患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者提供胰岛素剂量；将所述胰岛素剂量施用给所述患者；其中所述胰岛素剂量在所述患者中模拟生理学的进食相关早期胰岛素应答，以及维持所述产胰岛素细胞的功能。

在另一实施方案中，患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者是蜜月期的 1 型糖尿病患者。在另一实施方案中，患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者是产胰岛素细胞的移植受体。在另一实施方案中，患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者是 2 型糖尿病患者。

在本发明的另一实施方案中，口服施用所述胰岛素剂量。在另一实施方案中，吸入胰岛素剂量。还在另一实施方案中，胰岛素剂量包括干粉配方。

在本发明的一个实施方案中，胰岛素剂量包含足够降低胰岛素原血清水平的剂量。在另一实施方案中，胰岛素剂量包含足够调控葡萄糖偏移的剂量。在另一实施方案中，胰岛素在施用约 15 分钟之内达到峰血清水平。在另一实施方案中，峰血清胰岛素水平为至少 60 mU/L。在另一实施方案中，胰岛素剂量足够调控血糖水平。在还一实施方案中，胰岛素剂量足够降低来自肝的葡萄糖释放。

在本发明的另一实施方案中，所述胰岛素剂量包含与胰岛素结合的延胡索酰哌嗪二酮(FDKP)。在另一实施方案中，胰岛素剂量在大约 15 IU 到约 90 IU 的 FDKP 胰岛素的范围内。

在本发明的一个实施方案中，提供了在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中降低餐后胰腺胁迫的方法，包括：向患有胰岛素相关疾病的、等待治疗的非胰岛素依赖性患者提供胰岛素剂量，向所述患者施用足以调控血糖水平和降低胰岛素原血清水平的胰岛素剂量；以及，其中所述胰岛素剂量模拟生理学进餐相关的早期胰岛素应答，且胰腺胁迫被减轻。

在本发明的另一实施方案中，提供了在患者中延长产胰岛素细胞移植寿命的方法，包括：向待治疗的产胰岛素细胞移植受体提供胰岛素剂量，向患者施用足够调控血糖水平和降低胰岛素原血清水平的胰岛素剂量；其中所述胰岛素剂量能模拟生理学进餐相关的早期胰岛素应答，且胰腺胁迫被减轻，达成产胰岛素细胞的长寿。

在本发明的一个实施方案中，提供了在患者中维持产胰岛素细胞功能的方法，包括：向患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者提供胰岛素剂量和免疫抑制药物；将所述胰岛素剂量施用给患者，其中所述胰岛素剂量能模拟生理学进餐相关的早期胰岛素应答；以及将免疫抑制药物与胰岛素剂量一起施用给患者以减缓自身免疫应答。

在本发明的一个实施方案中，提供了适用于在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中维持产胰岛素细胞的组合物，所述组合物包含受控释放的胰岛素配方。

在本发明的另一实施方案中，提供了适用于在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中维持产胰岛素细胞的组合物，所述组合物包含延迟起效的制剂，所述制剂包括胰岛素配方。

在本发明的一个实施方案中，提供了在患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者中维持产胰岛素细胞功能的方法，包括：向患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者提供胰岛素剂量，其中所述患者是蜜月期的 1 型糖尿病患者或产胰岛素细胞移植受体；向所述患者施用所述胰岛素剂量；其中所述胰岛素剂量在所述患者中模拟生理学进餐相关的早期胰岛素

应答并维持所述产胰岛素细胞的活性。

在本发明的另一实施方案中，提供了在患有胰岛素相关疾病的患者中维持产胰岛素细胞功能的方法，包括：向患有胰岛素相关疾病的患者提供胰岛素剂量，其中所述患者未用除基础胰岛素之外的胰岛素组合物治疗过；向所述患者施用所述胰岛素剂量；其中所述胰岛素剂量能在所述患者中模拟生理学进餐相关的早期胰岛素应答及维持产胰岛素细胞的功能。

在本发明的另一实施方案中，提供了在患有胰岛素相关疾病的患者中维持产胰岛素细胞功能的方法，包括：向患有胰岛素相关疾病的患者提供胰岛素剂量，其中所述患者已经丧失了早期胰岛素释放并具有少于 8% 的血清糖化的血红蛋白(HbA1c)水平，向所述患者施用所述胰岛素剂量，其中所述胰岛素剂量在所述患者中模拟生理学进餐相关的早期胰岛素应答并维持产胰岛素细胞的功能。在另一实施方案中，将胰岛素剂量与含有多于 15 g 碳水化合物的膳食一起施用。在另一实施方案中，患者不处于膳食胰岛素用药中。在另一实施方案中，患者具有正常范围内的血清胰岛素原水平。在另一实施方案中，患者具有提高的平均葡萄糖偏移幅度。还在另一实施方案中，患者具有提高的氧化胁迫的迹象，所述氧化胁迫通过 8-异 PGF(2a)水平来测量。在另一实施方案中，血清 HbA1c 水平低于 7%。还在另一实施方案中，血清 HbA1c 水平低于 6.5%，或低于 6%。

附图概述

图 1 描绘了对通过输注葡萄糖剂团进行人工刺激后第一期胰岛素释放动力学的测量。

图 2 描绘了皮下 (SC) 施用常规人胰岛素或 SC 施用快速作用胰岛素 (Novolog™) 后的血清胰岛素浓度。Novolog™ 为 Novo Nordisk Pharmaceuticals, Bagsvaerd, Denmark 的注册商标。

图 3 描绘了根据本发明的教导在人中施用 TECHNOSPHERE®/胰岛素后的葡萄糖清除速率。

图 4 描绘了根据本发明的教导在人中施用 TECHNOSPHERE®/胰岛素后胰岛素原水平的改变。

术语定义

在展示本发明之前，提供下文中将使用的某些术语的理解可能是有帮助的：

干粉：本文使用的“干粉”指未悬浮于或溶解于推进剂、载体或其它液体中的精细微粒组合物。其并非旨在表示完全不含任何水分子。

早期：本文使用的“早期”指应答于进餐而被诱导的血胰岛素浓度上升。应答于进餐的该早期胰岛素上升有时被称为第一期。

偏移：本文使用的“偏移”指变成高于或低于餐前基线或其它起点的血葡萄糖浓度。偏移通常被表示为血葡萄糖随时间进展图曲线下的面积（AUC）。AUC 可以以多种方式表示。在一些情况下，会存在高于或低于基线的改变，产生正的或负的面积。一些计算会从正的 AUC 中减去负的 AUC，而另一些计算会将它们的绝对值相加。正的 AUC 和负的 AUC 还可单独考虑。也可使用更高级的统计学评估。在一些情况下，其还可以指上升或下降至正常范围外的血葡萄糖浓度。正常的血葡萄糖浓度通常为禁食个体在 70 和 110 mg/dL 之间，进餐后两小时少于 120 mg/dL 和进餐后小于 180 mg/dL。

第一期：本文使用的“第一期”指由团剂静脉内注射葡萄糖诱导的胰岛素水平的尖峰。第一期胰岛素释放在血胰岛素浓度中产生尖峰，即随后衰减得相对迅速的陡峰。第一期胰岛素释放也被称作早期。

葡萄糖消除速率：本文使用的“葡萄糖消除速率”是葡萄糖从血中消失的速率，并由维持稳定血葡萄糖（研究周期中通常在 120 mg/dL 左右）所需的葡萄糖输注数量确定。该葡萄糖消除速率等于缩写为 GIR 的葡萄糖输注速率。

蜜月期：本文使用的 1 型糖尿病的“蜜月期”指疾病的早期阶段，其中早期胰岛素释放已经丧失，剩余的 β 细胞仍然具有功能并产生一些胰岛素，所述胰岛素以第二期动力学被释放。

高血糖：本文使用的“高血糖”是高于正常禁食的血葡萄糖浓度，通常为 126 mg/dL 或更高。在一些研究中，高血糖发作定义为超过 280

mg/dL (15.6mM)的血葡萄糖浓度。

低血糖：本文使用的“低血糖”是低于正常血葡萄糖的浓度，通常低于 63 mg/dL (3.5 mM)。临床相关的低血糖定义为低于 63 mg/dL 或引起患者例如张力过低、潮红或虚弱的症状（其被识别为低血糖的症状并在适当的能量摄入后消失）的血液葡萄糖浓度。严重的低血糖被定义为需要胰高血糖素注射、葡萄糖输注或他人帮助的低血糖发作。

接近：本文与进餐相关时使用的“接近”指接近开始进餐时间的时间段。

胰岛素组合物：本文使用的“胰岛素组合物”指适用于施用给哺乳动物的任何形式的胰岛素，其包括从哺乳动物分离的胰岛素、重组的胰岛素、与其它分子结合的胰岛素，还包括通过任何途径施用的胰岛素，所述途径包括肺的、皮下的、经鼻的、经口的、经颊的和舌下的。胰岛素组合物可以被配制为用于吸入的干粉或水性溶液、用于皮下、舌下、经颊、经鼻或经口施用的水性溶液和用于经口和舌下施用的固体剂型。

胰岛素相关疾病：本文使用的“胰岛素相关疾病”指哺乳动物中涉及胰岛素制造、调节、代谢和作用的疾病。胰岛素相关疾病包括但不限于前驱糖尿病、1 型糖尿病、2 型糖尿病、低血糖、高血糖、胰岛素抵抗、分泌功能障碍、胰腺 β -细胞功能缺失和胰腺 β -细胞缺失。

患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者：本文使用的“患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者”指患有下述疾病的患者，对所述疾病而言用，外源提供的胰岛素治疗不是目前流行的诊断后标准疗法。未用外源施用的胰岛素治疗的患有胰岛素相关疾病的非胰岛素依赖性患者包括早期 2 型糖尿病患者、蜜月期 1 型糖尿病患者、前驱糖尿病患者和产胰岛素细胞移植物受体。

胰岛素抵抗：本文使用的术语“胰岛素抵抗”指患者细胞不能适当地使用胰岛素。胰腺通过生产更多胰岛素来在细胞水平上应答该问题。最后，胰腺不能跟上身体对胰岛素的需要，并且血流中增加了过多的葡萄糖。患有胰岛素抵抗的患者血液中通常同时循环着高水平的血糖和高水平的胰岛素。

微粒：本文使用的术语“微粒”包括具有下述外壳的微胶囊，所述外壳由哌嗪二酮单独组成或由哌嗪二酮和一种或多种药物的组合组成。其还包括含有分散在球体各处的药物的微球、不规则性状的颗粒和其中药物被包被在颗粒表面或填充其中孔隙的颗粒。

近餐的（periprandial）：本文使用“近餐的”是指摄入膳食或点心之前不久开始和之后不久结束的时间段。

餐后的：本文使用“餐后的”是指摄入膳食或点心之后的时间段。本文使用的晚期餐后指摄入膳食或点心后 3、4 或更多小时的时间段。

增强（potentiation）：通常，增强是将一些药剂的效力或活性提高至其所能到达的水平上的条件或作用。相似地，其可直接指经提高的状态或活性。本文使用“增强”尤其是指经提高的血胰岛素浓度扩大随后的胰岛素水平例如提高葡萄糖消除速率的效率的能力。

餐食的（prandial）：本文使用的“餐食的”是指膳食或点心。

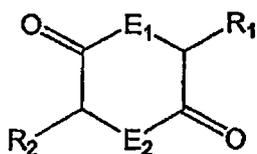
前驱糖尿病：本文使用术语“前驱糖尿病比国内”是指空腹葡萄糖降低或葡萄糖耐量降低的患者，即具有 100 mg/dL (5.5 mmol/L)和 126 mg/dL (7.0 mmol/L)之间的空腹血糖水平，或 146 mg/dL (7.9 mmol/L)和 200 mg/dL (11.1 mmol/L)之间的餐后 2 小时血糖水平。

第二期：本文使用的“第二期”指经过第一期后，适度上升的血胰岛素水平缓慢衰减至基线。第二期还可指应答于经提高的血葡萄糖水平的非尖峰胰岛素释放。

Technosphere[®]/胰岛素：本文使用的“Technosphere[®]/胰岛素”或“TI”是指包含常规人胰岛素和 Technosphere[®]/胰岛素微粒、药物递送体系的胰岛素组合物。Technosphere[®]微粒包含哌嗪二酮，特别是 3,6-二(延胡索酰-4-氨基丁基)-2,5-哌嗪二酮（延胡索酰哌嗪二酮，FDKP）。特别地，Technosphere[®]/胰岛素包含 FDKP/人胰岛素组合物。

本文使用的“哌嗪二酮”或“DKP”包括落入通式 1 中的哌嗪二酮及其盐、衍生物、类似物和修饰，其中在位置 1 和 4 上的环原子 E₁ 和 E₂ 为 O 或 N，并且分别位于位置 3 和 6 的侧链 R₁ 和 R₂ 中至少一个包含羧酸（羧化物）基团。根据式 1 的组合物包括，但不仅限于哌嗪二酮、吗啉二

酮和二氧六环二酮 (diketodioxane) 及其取代类似物。



式 1

除了可用于制造空气动力学合适的微粒外，哌嗪二酮还便于跨细胞层转运，进一步加速进入循环的吸收。哌嗪二酮可形成整合药物的颗粒，或药物在其上面可被吸收的颗粒。药物和哌嗪二酮的组合可赋予经改善的药物稳定性。这些颗粒可通过多种施用途径施用。作为干粉，这些颗粒可根据颗粒大小通过吸入呼吸系统的特定区域递送。另外，所述颗粒可做得足够小，以用于并入静脉的悬浮液剂型中。也可用并入悬浮液、药片或胶囊的颗粒口服递送。哌嗪二酮也可有助于所结合的药物吸收。

在本发明的另一实施方案中，DKP 是 3,6-二(4-氨基丁基)-2,5-哌嗪二酮的衍生物，其可通过（热）缩合氨基酸赖氨酸形成。示例性的衍生物包括 3,6-二(琥珀酰-4-氨基丁基)-、3,6-二(马来酰-4-氨基丁基)-、3,6-二(戊二酰-4-氨基丁基)-、3,6-二(丙二酰-4-氨基丁基)-、3,6-二(乙二酰-4-氨基丁基)-和 3,6-二(延胡索酰-4-氨基丁基)-2,5-哌嗪二酮。DKP 用于药物递送的用途为本领域已知（参阅例如 U.S.专利 Nos. 5, 352,461、5,503,852、6,071,497 和 6,331,318”，其中每份资料的有关哌嗪二酮和哌嗪二酮介导的药物递送所教导的全部内容，通过引用并入本文）。DKP 盐的用途描述于 2005 年八月 23 日提交的共同未决的 U.S.专利申请 No. 11/210,710 中，其关于哌嗪二酮盐所教导的全部内容通过引用并入本文。使用 DKP 微粒的肺药物递送公开于 U.S.专利 No. 6,428,771，其通过引用整体并入本文。

Technosphere[®]/安慰剂：本文使用的“Technosphere[®]/安慰剂”是指未与胰岛素结合的 Technosphere[®]颗粒。

测量单位：皮下和静脉内胰岛素剂量表达为 IU，其由标准化的生物学测量定义。与延胡索酰哌嗪二酮配制的胰岛素数量也像血中胰岛素测量一样以 IU 来报告。Technosphere[®]/胰岛素剂量以任意单位 (U) 表达，其在数字上等于所述剂量中配制的胰岛素数量。

发明详述

本发明的一个方面是维持 β 细胞功能，从而中止或减缓糖尿病的发展。通过降低胰岛素需求过度而引起的胁迫来维持 β 细胞的功能，所述胰岛素需求过度是在1型和2型糖尿病中和 β 细胞移植操作后通过多种机制发生的。也可以通过降低葡萄糖毒性来维持功能，所述降低通过减少暴露于本文所述的提高的葡萄糖浓度来实现。过度的胰岛素需求、血糖水平调控弱及其对 β 细胞造成的胁迫伴随着功能丧失和 β 细胞死亡。氧化胁迫引起的胰腺中的微血管损伤也可起到作用，所述氧化胁迫由血糖浓度急性波动引起。如本文所述，非静脉内施用胰岛素制剂（其模拟生理学进餐时间早期胰岛素释放）降低了生物合成的需要并减轻了胁迫。

本文使用的产胰岛素细胞指：朗格汉斯岛的 β 细胞，经遗传操作以生产胰岛素的肝细胞或胰腺前体细胞，分化为 β 细胞的胚胎肝细胞或成人肝细胞，用胰岛素基因治疗处理的细胞，或能够生产和分泌胰岛素的任何细胞类型。最近综述了用于在胰腺中移植或再生的 β 细胞可能的来源(Bonner-Weir, S. & Weir, G. C, Nature Biotech. 23:857-861, 2005)。尽管本文公开的本发明的方面将被主要描述为适用于 β 细胞，但是应当理解：本发明的方法和组合物能够类似地适用于维持任何产胰岛素细胞的功能，所述产胰岛素细胞经受着过度需求胰岛素生物合成或葡萄糖毒性等的胁迫。因此，在1型糖尿病蜜月期、早期2型糖尿病和胰岛移植或其它产胰岛素细胞的受体中模拟早期胰岛素应答的方法被设计为通过降低胰腺胁迫来提高产胰岛素细胞的寿命。

本文使用的模拟生理学进餐时间早期胰岛素释放（或类似术语）并非指一定要精确复制生理应答的所有特征。其可以指在血液中产生胰岛素浓度尖峰或峰的方法，所述尖峰或峰包括相对快的浓度上升（从施用起或第一次偏离基线起少于30分钟，优选少于20分钟或15分钟）和下降（在峰后80分钟，优选50分钟，更优选30分钟下降通过最大值的一半）。这与下述方法相反，所述方法产生到达所得的最大胰岛素浓度的更渐进的上升（从大于20分钟到数小时）和最大浓度附近延长的平台。其也可以指其

中胰岛素浓度尖峰可以容易地与开始进餐协调的方法。其也可以指在施用后约 30-90 分钟内，优选 45-60 分钟内达到最大葡萄糖消除速率(GERmax)的方法。模拟早期释放的方法通常是可由未接受过特定医学训练（如静脉注射训练）的糖尿病患者对自身进行的方法。特定的医学训练不包括使用医学设备如干粉吸入器的训练，所述医学设备通常由非（训练过的）医学专业人员所使用。本文使用术语“膳食”、“进餐”和/或“进餐时间”等包括传统的进餐和进餐次数；然而，这些不包括摄入与多少和/或时间无关的任何食物。但是优选仅在进餐中施用胰岛素从而避免低血糖的风险，所述进餐根据胰岛素的剂量至少提供阈值的血糖负荷。

有助于快速达到 GERmax 的 GER 增强被理解为不仅取决于胰岛素浓度上升的迅速程度，还取决于达到足够的峰高。对 1 型糖尿病患者而言，存在至少约 60 mU/L，优选至少约 80 mU/L 的峰胰岛素浓度。对 2 型糖尿病患者而言，作为病症一部分的胰岛素抵抗需要更高的胰岛素浓度；典型地为至少约 100 mU/L、优选至少约 120 mU/L、至少约 140 mU/L 或更多，取决于抵抗程度。这些峰胰岛素浓度显著地高于使用典型剂量的非尖峰胰岛素制品所获得的峰胰岛素浓度，所述制品例如用于皮下施用的标准制剂（包括称作速效的那些）和用于非注射施用的制剂（其具有与现已开发的相似的动力学）。

申请人还理解到，胰岛素浓度的高涨和快速改变速率会抑制高血糖素（其降低肝糖异生）的产生。这将导致减小的血糖负荷和随之减少的胰岛素需求与降低的葡萄糖偏移。

根据本文公开的方法治疗的患者群体与最普遍接受胰岛素治疗的群体并不完全一致。事实上，该方法可在这些病症的最早阶段（此时功能性 β 细胞群体最大）非常有利地进行，尽管目前的胰岛素治疗通常不提供给这些患者。因此，本文使用“需要胰岛素治疗的患者”包括这类群体。这些患者也被称作非胰岛素依赖性患者。一般而言，具有一些胰岛素生产能力但是早期释放不足的患者构成了被选择用于本发明实施方案中疗法的优选靶群体。这类群体包括但不限于胰岛、 β 细胞或经操作为生产胰岛素的细胞的移植物受体，和胰岛素基因治疗的受体；蜜月期的 1 型糖尿病患者或

疾病初始的患者；和 2 型糖尿病患者，所述 2 型糖尿病患者传统上用节食和锻炼、口服药物、仅用长效（基础）胰岛素或短效胰岛素（单独或与长效胰岛素混合）伴随每天两次或更少的进餐一起治疗。这类群体包括具有其它可接受的 HbA1c（糖化的血红蛋白）水平（慢性高血糖的度量）的患者，他们通常不用任何特别的用药方法治疗，或完全不被治疗。正常的 HbA1c 水平是 4.5% 到 5.7%（或精密度更低地报导为 4-6%）。糖尿病疗法通常目标为将 HbA1c 水平降低至低于 7%。高于 8% 的 HbA1c 水平指出患者目前的治疗应当重新评估。达到正常的 HbA1c 水平会是所期望的，但是使用目前上市的胰岛素制品，只有冒着不可接受的严重低血糖的风险才能实现。在本发明胰岛素制剂的实施方案中，低血糖的风险被显著降低，并且可能治疗 HbA1c 低于 7% 的患者。因此，具有低于 8% 的 HbA1c 水平的患者不应被认为是更强烈疗法（即用胰岛素治疗）的候选人；或如果已经接受基础或混合的胰岛素时，不应被认为是用膳食胰岛素给药法治疗的候选人。另外，即便在正常范围的高端仍期望从降低血糖获得益处，从而在本发明的一些实施方案中，具有 <6% 的 HbA1c 水平的患者被选择用于治疗。尽管一般而言本发明涉及对人患者的讨论，但是针对非人哺乳动物的改变适应并不被排除在本发明的范围或相关领域技术人员的能力之外。

患有早期胰岛素疾病的患者可以被分为多种亚群，并可根据本发明的多种实施方案治疗。一些人制造足够的胰岛素来维持非高血糖的空腹血糖水平，但是不能避免进餐后血糖的急性波动。具有空腹葡萄糖降低或葡萄糖耐性降低的患者可以被治疗，以延迟或预防发展为糖尿病，所述患者为具有 100 mg/dL (5.5 mmol/L) 和 126 mg/dL (7.0 mmol/L) 之间的空腹血糖水平或 146 mg/dL (7.9 mmol/L) 和 200 mg/dL (11.1 mmol/L) 之间的餐后 2 小时血糖水平的患者，他们通常被称作前驱糖尿病患者。早期 2 型糖尿病患者通常可使用节食和锻炼来调控甚至显著的高血糖，但是会已经丧失他们的早期胰岛素释放。因此在本发明的另一实施方案中，选择这些患者用于治疗。在目前的实践中，节食和锻炼失败的患者最经常随后用胰岛素增敏剂（如二甲双胍）来治疗，目的在于克服胰岛素抵抗并促进所产生的胰岛素的效力。在本发明的一些实施方案中，向这些患者施用膳食的、模拟早期

的胰岛素制剂来代替胰岛素增敏剂，或除胰岛素增敏剂之外还施用所述制剂。较不常（先前）提供给糖尿病患者的第一口服药物是促进胰岛素分泌的胰岛素促分泌剂（如磺酰脲类）。然而，提高的胰岛素分泌可提高对胰岛的代谢胁迫，从而在优选的实施方案中，使用膳食的、模拟早期的胰岛素制剂来代替胰岛素促分泌剂。

用于皮下注射的现存胰岛素配方的一个不足之处在于无法预测的吸收变异性和与生理学进餐相关的早期胰岛素应答（其中血清胰岛素水平可以在约 6 分钟内达到峰）相比相对低的血清胰岛素水平上升。进餐相关的早期胰岛素来源于胰腺朗格汉斯岛 β 细胞中的储存囊泡，在那里胰岛素原被酶切割成胰岛素和 C-肽。缺乏足够的早期应答是较早期 1 型和 2 型糖尿病和胰岛移植受体中常见的元素。大量胰岛素快速释放产生血胰岛素浓度的特征性尖峰对胰腺造成了显著的生物合成负担。丧失足够的早期释放指示着受胁迫或受损的胰腺，但是也有助于进一步胁迫 β 细胞。糖尿病还表征为提高的血清胰岛素原水平。这类循环中的完整胰岛素原(iPi)表示胰岛素需求超出了 β 细胞的能力，引起过早的释放并反映出胰腺胁迫。

胰岛素浓度比较缓慢和低浅的上升和延长的作用周期伴随着不模拟早期释放的胰岛素制剂，这限制了它们调控葡萄糖偏移的能力。能够给予的剂量通常不足以调控餐后血糖的上升，在来自进餐的血糖负荷后避免诱导低血糖的需要被减轻。这些论点进一步讨论于题为 "Superior Control of Blood Glucose in Diabetes Treatment" 的共同未决的美国专利申请号 No. 11/278,381，其整体通过引用并入本文。显示血糖浓度的急性波动（例如测量为 MAGE：血糖偏移的平均幅度）对糖尿病相关的氧化胁迫下的慢性高血糖（典型地测量为 Hb1Ac 水平）具有更大的影响，因此是避免由这类胁迫引起的糖尿病合并症的要调控的重要参数（参阅 Monnier, L., et al. JAMA 295:1681-1687, 2006 和 Brownlee, M. & Hirsch, I. JAMA 295:1707-1708，以其整体通过参考并入本文）。

传统上，胰岛素治疗着重于调控由 Hb1Ac 水平所反映的平均血糖浓度。因此相对而言，几乎没有能够生产大量胰岛素的患者接受基础膳食治疗（涉及施用基础胰岛素加上每餐使用胰岛素）。更常见的方法涉及单独

使用长效（基础）胰岛素、速效和中效的混合物和多种其它注射剂的组合。选用一种或其它的这类用药方案的临床标准尚未明确。通常使用基础胰岛素开始治疗，如果未成功达到目标 Hb1Ac 水平或未成功达到靶 Hb1Ac 水平时，使用额外的注射和多种混合物（预混合的或自身已混合的）增强治疗。如果仍未达到目标，治疗发展为基础膳食治疗。在未接受基础胰岛素的患者中进行膳食治疗是不常见的，并且使用目前上市的（非尖峰的）胰岛素制剂不使得本发明的胰腺胁迫减轻。另外，目前可以获得的胰岛素制剂提供了与本发明所优选的相比沿更长期限的活性，这使得它们较不适用于调控葡萄糖偏移。

本发明被设计为通过提供模拟早期应答的外源胰岛素来既最小化 Hb1Ac 水平（平均血糖浓度）和减轻葡萄糖毒性；又降低胰岛素生物合成的需求，并且调控葡萄糖浓度的急性波动（葡萄糖偏移）进一步减少胰岛素需求。葡萄糖偏移的减小也释放了一般炎性负担和由氧化胁迫造成的对微血管（通常在胰岛内）的氧化损伤。这通过与每天至少三餐、优选与每餐或点心一起常规地施用模拟早期释放的胰岛素制剂完成。这类治疗可以（以递增的优选程度和递增的效力）维持任何天数、周、月和年，多至患者生命的剩余部分或直到根本的胰岛素相关疾病被治愈时。申请人不受束缚地假设：在本文所述的这类支持性疗法下，胰腺功能会随时间提高（例如由于提高的 β 细胞量），导致恢复的内源早期释放能力。在这类条件下，可能降低每日施用的次数。常规地是指所提倡的施用时间表是理想的常用的用法，但是在真实情况下，来自该方案的实践偏差（如偶然错过的剂量）不偏离本发明的范围。在多种实施方案中，如下所述施用胰岛素：与无胰岛素时会引起血糖超过 140 mg/dL 的任何膳食或点心一起；与含有 1、2、3 或更多面包交换(bread exchange)的膳食或点心一起；与含有多于约 15、20、30 或 45 g 碳水化合物的任何膳食或点心一起。

本发明方法的实施方案包括多种给药方案，包括但不限于：在每份膳食或点心中给药，在具有多于 15 g 碳水化合物含量的每份膳食或点心中给药，在具有多于 30 g 碳水化合物含量的每份膳食或点心中给药，在具有多于 45 g 碳水化合物含量的每份膳食或点心中给药。剂量和所需的胰岛素组

合物浓度可根据所设想的具体用途而变化。确定合适的剂量或施用途径完全属于常规技术人员的技能。另外，根据本发明的治疗长度可根据具体的用途变化，治疗长度的确定属于常规技术人员的技能。

在 1 型糖尿病的情况下，最初的验证和自身免疫攻击减少了功能性 β 细胞的数量，从而限制了胰岛的生物合成能力。类似地，移植患者中胰岛失效的一个解释是他们接受的太少的胰岛，即使他们从多个供体获得细胞。正常的胰腺大约具有 100 万个胰岛，但是目前的技术仅允许从供体胰腺中提取最多 400,000 个细胞，其中许多在移植后立刻死去。事实上，由边缘胰岛细胞群过度刺激（overstimulation）导致的慢性胰岛衰竭被理解为晚期移植功能障碍的主要原因（Shapiro, A.M.J., *The Scientist* 20:43-48, 2006）。在任一情况下，剩余的胰岛细胞被迫异常辛苦地工作，并能够随着时间丧失功能。这可被胰岛素浓度尖峰对后来的胰岛素水平的增强效应缺失而进一步加剧，因为所述增强效应会提高第二期释放所需的胰岛素量（其用于处理得自膳食的葡萄糖负荷）。该增强效应在 1/10/06 提交的题为“Potentiation of Glucose Elimination”的共同未决的美国专利申请 No. 11/329,686 中更完全地描述，其整体通过引用并入本文。在 2 型糖尿病中，至少初始时不存在胰岛细胞的明显短缺，但是胰岛素抵抗降低了不是由于增强效应丧失而产生的胰岛素的效力，所述增强效应的丧失是由早期释放缺失引起的。这使得需要更多胰岛素来清除葡萄糖负荷，再次给予胰腺生产胰岛素的胁迫。该葡萄糖消除的无效也导致葡萄糖浓度延长的上升和结果对 β 细胞的葡萄糖毒性。通过这些不同的途径，胰岛的生物合成能力被压倒。在该情况下，存在逐渐减少的胰岛素分泌、第二期胰岛素释放随后的缺失和最后完全的胰岛素缺乏。

因为胰腺胁迫被认为是 1 型和 2 型糖尿病发展和胰岛移植物功能丧失的一个原因，因此下文描述了降低胰腺胁迫的一种方法会在这些患者群体中促进产胰岛素细胞的功能并提高其寿命。通过使用模拟早期释放的一种胰岛素递送方法，可以减轻由该应答缺失引起的许多不足，从而降低伴随的胁迫。通过在进餐开始时建立胰岛素浓度尖峰， β 细胞的该需求被减轻，允许他们更容易地供应其它胰岛素需求（即第二期和基础胰岛素）。

另外，对任何具体的葡萄糖负荷而言，甚至在胰岛素抵抗的背景中，早期样尖峰导致的增强作用降低了第二期释放中需要的胰岛素量。胰岛素更有效的用途也有助于降低来自血中正常葡萄糖水平的任何偏移的强度和持续时间，减轻葡萄糖毒性和氧化胁迫的效应。因此，提高的生物合成需求和降低的能力的螺旋(spiral)可以被阻断，胰岛素生产的需要可以与剩余的能力更加接近。

在胰岛移植的情况下，一些抗排斥药物（如西罗莫司）会抑制胰岛的血运重建，并被认为会干扰胰岛移植再生的能力（Shapiro, A.M.J., *The Scientist* 20:43-48, 2006）。因此，使脉管损伤的其它原因（例如由血糖浓度急性波动引起的氧化胁迫）最小化的辅助胰岛素治疗在本文上下文中可以是尤其有利的。

静脉注射胰岛素可有效地复制早期应答，但是不是用于需要每日多次施用的终生病症的实用疗法。通过比较，传统的皮下注射被缓慢吸收进血流中，即使实用速效配方仍然耗费多至 1 小时来达到血中最打浓度，并具有延续若干小时的平台。许多已被评估的肺配方在效力上与皮下胰岛素等价，并类似地未能达到如上所述模拟早期释放所需的快速动力学。但是，存在使用不基于注射的递送（如肺和口服施用）相当快吸收的可能。例如，使用基于哌嗪二酮的干粉配方的肺递送已被使用。

糖尿病患者中早期胰岛素应答的丧失、提高的胰岛素原水平和降低的葡萄糖调控每个都是产胰岛素细胞功能丧失的度量。该功能丧失可以归因于细胞死亡和/或胰岛细胞胁迫。事实上，糖尿病患者中产胰岛素细胞的最大负担是释放胰岛素用于早期应答。施用外源的胰岛素来模仿该应答可以消除该负担（胁迫）并维持基础和第二期（进餐相关的、葡萄糖依赖性的）胰岛素释放。

因此，本发明的一种优选的实施方案提供了通过肺施用干粉胰岛素配方（达到所期望的早期动力学的方法，所述胰岛素配方含有与哌嗪二酮微粒络合的胰岛素。该配方被快速吸收，在约 10 到 15 分钟达到峰血清水平。这是足够快的，足以模拟生理学进餐相关的早期胰岛素应答的动力学。与较慢作用的配方相比，朝向峰血清胰岛素浓度的短小、尖锐的上升

对于减轻以其它方式加在 β 细胞上的生物合成需求而言是关键性的，并且具有将大部分胰岛素作用压缩在进餐时间间隔中的额外效应。这降低了任何进餐相关的、相对于正常葡萄糖浓度水平的偏移的强度和持续时间和伴随着的葡萄糖毒性，以及餐后低血糖的风险。用该干粉胰岛素可获得的这类经改进的血糖水平调控被更彻底地描述于 3/31/06 提交的题为“Superior Control of Blood Glucose Levels in Diabetes Treatment”的共同未决的美国专利申请 No. 11/278,381，其整体通过引用并入本文。如美国申请号 No. 11/329,686 中所公开和上文所述的，先前的高胰岛素水平增强了葡萄糖消除速率，意味着如果存在先前的高胰岛素浓度尖峰，则葡萄糖可以被更迅速地消除。这类治疗也可以导致降低的血清胰岛素原水平，指示着生物合成胰腺胁迫的降低。

哌嗪二酮微粒药物递送体系和相关方法被描述于分别题为“Self Assembling Diketopiperazine Drug Delivery System”和“Method for Making Self Assembling Diketopiperazine Drug Delivery System”的美国专利 5,352,461 和 5,503,852 中。哌嗪二酮和生物可降解多聚体微粒在肺递送中的用途被描述于分别题为“Method for Drug Delivery to the Pulmonary System”和“Microparticles for Lung Delivery Comprising Diketopiperazine”的美国专利 6,428,771 和 6,071,497 中。涉及可能的配方和制造方法的多个方面的细节可见均题为“Purification and Stabilization of Peptide and Protein Pharmaceutical Agents”的美国专利 6,444,226 和 6,652,885 中；题为“Methods for Fine Powder Formation”的美国专利 6,440,463 中；9/14/05 提交的题为“Method of Drug Formulation Based on Increasing the Affinity of Active Agents for Crystalline Microparticle Surfaces”的共同未决美国临时专利申请 Nos. 60/717,524 中；和 4/14/06 提交的题为“A Method for Improving the Pharmaceutic Properties of Microparticles Comprising Diketopiperazine and an Active Agent”的 60/776,605 中。优选的呼吸粉末干粉吸入器体系的特征和设计在题为“Unit Dose Cartridge and Dry Powder Inhaler”的美国专利申请 10/655,153 中公开。使用与哌嗪二酮微粒络合的胰岛素的疗法的方面在美国专利

6,652,885 以及题为 “A Method of Reducing Serum Proinsulin Levels in Type 2 Diabetes.” 的共同未决美国专利 11/032,278 中公开。题为 “Diketopiperazine Salts for Drug Delivery and Related Methods” 的其它美国专利申请 No.11/210,710 公开了哌嗪二酮盐配制用于肺和口服递送的胰岛素的用途。本段提到的每个专利和专利申请都以其整体通过引用并入本文。

本发明还考虑到可以与本文公开的胰岛素组合施用的任何药物。这些药物可包括，但不限于口服的抗糖尿病药物、肠降血糖素模拟物 (mimetics)、维持 β 细胞功能的药物、共刺激阻断剂（如抗 CD28 抗体或 belatacept）、抗 CD3 抗体和/或任何免疫抑制药物（典型地使用于胰岛移植病例中），然而，优选维持 β 细胞功能的药物。示范性的免疫抑制药物包括，但不限于达珠单抗 (daclizumab)、西罗莫司 (sirolimus)、他克莫司 (tacrolimus)、霉酚酸 (mycophenolic acid)、雷帕霉素、糖皮质激素、泼尼松、硫唑嘌呤和环孢菌素，然而，其中糖皮质激素、泼尼松、硫唑嘌呤和环孢菌素是较不优选的。

更特别地，本发明地一个实施方案包括将 TECHNOSPHERE®/胰岛素 (TI) 与免疫抑制药物（如抗 CD3）一起施用，以延长 1 型糖尿病患者的蜜月期。这些抗 CD3 抗体封闭免疫 T 细胞的功能，所述免疫 T 细胞是负责破坏胰腺中 β 胰岛细胞的细胞。术语“与……一起”是指 TI 和免疫抑制药物作为二元疗法用于根本地降低胰腺胁迫。

无论 TI 或模拟早期释放的另一胰岛素是被单独施用或与免疫抑制药物一起施用，所述胰岛素可以与膳食结合施用，根据需要优选每天一到四次。为了达到该疗法的最大益处，应当耗费一段长期的时间，优选至多约一个月、更优选从约两个月到约六个月、最优选在患者剩余的生命中或直到根本的糖尿病被治愈。效力和/或监测参数的一个指示物包括患者胰岛素原水平的周期性评估。当然，可根据该周期性胰岛素原的测定来调节施用频率和给药量。

本发明涉及用下述用量的肺施用干粉 TI 剂量治疗糖尿病患者的方法，所述用量足够模拟早期胰岛素应答、降低血清胰岛素原水平和/或调控血糖

水平，从而在早期 1 型和 2 型糖尿病患者和胰岛抑制患者中提高产胰岛素细胞的寿命，如下文实施例中所述。

实施例

实施例 1

在患有 2 型糖尿病的患者中对经吸入的 Technosphere®/胰岛素的效力和安全性进行随机的、双盲的、安慰剂做为对照的研究

通过小型 MannKind™ 吸入器递送的 Technosphere®干粉肺胰岛素具有模仿正常的、进餐相关的、第一期或早期胰岛素释放的生物活性。该多中心的、随机的、双盲的、安慰剂作为对照的研究在 2 型糖尿病患者中进行，所述 2 型糖尿病患者受食谱或口服药治疗的不足控制（HbA1c >6.5% 到 10.5%）。总共招收了 123 名患者，并将 119 名打算被治疗的群体（intention-to-treat, ITT）以 1: 1 的比例随机化以接受从单位剂量药筒中用餐时吸入的 Technosphere®/胰岛素 (TI)或吸入的 Technosphere®/安慰剂 (PBO)，其中所述单位剂量药筒含有 6 到 48 单位之间的人胰岛素（rDNA 来源）。

通过预先确定的统计学分析计划对糖基化血红蛋白 A1c（HbA1c）结果进行分析，分析其初级效力群体（Primary Efficacy Population, PEP，由坚持研究要求的人定义为 un-blinding 之前，所述研究要求包括最小剂量和不调整伴随的糖尿病药物）、PEP 亚组 A（具有 6.6%到 7.9%基线 HbA1c 的那些）、PEP 亚组 B（具有 8.0%到 10.5%基线 HbA1c 的那些）以及 ITT。这些结果概括于表 1 中。在该“个体化剂量”研究中，活性治疗组中，每次进餐前食用的 TI 的平均剂量约为 30 单位，其中在 PEP 亚组 A 中使用 28 个单位，PEP 亚组 B 中使用 33.5 个单位。

表 1.

	Technosphere®/安慰剂	Technosphere®/胰岛素
PEP n=90	n=42	n=48
平均 HbA1c 基线 (%)	7.75	7.74

与基线相比的平均 Δ	-0.32	-0.76 (p<0.0001)
与安慰剂比较		p=0.0019
PEP 亚组 B n=35	n=18	n=17
平均 HbA1c 基线 (%)	8.52	8.72
与基线相比的平均 Δ	-0.51 (p=0.0094)	-1.37 (p<0.0001)
与安慰剂比较		p=0.0007
PEP 亚组 A n=35	n=24	n=31
平均 HbA1c 基线 (%)	7.16	7.19
与基线相比的平均 Δ	-0.18 (p=0.1292)	-0.43 (p=0.0001)
与安慰剂比较		P<0.05
IIT(LOCF) n=119	n=61	n=58
平均 HbA1c 基线 (%)	7.78	7.87
与基线相比的平均 Δ	-0.31 (p=0.0020)	-0.72 (p<0.0001)
与安慰剂比较		p=0.0016

在 TI 组中没有发生严重的低血糖发作。肺功能测试（包括 Dlco、FEV1 和总肺泡体积）显示 TI 患者与他们的基线值或与接受 PBO 的患者的结果之间相比没有显著差异。在 12 周的暴露周期中，没有用 TI 诱导胰岛素抗体的证据。

实施例 2

与具有更慢生物利用率的胰岛素相比，可快速生物利用的、经吸入的胰岛素在人中对早期胰岛素应答的模拟加速了餐后葡萄糖处理

在同等血糖钳 (isoglycemic clamp) 中, 在患有 2 型糖尿病的 12 个患者的组中研究时间、胰岛素浓度和葡萄糖消除速率之间的关系。每个患者在交叉设计的独立研究日接受 24 IU (国际单位) 皮下胰岛素 (Actrapid[®], Novo Nordisk) 或 48 U 的 Technosphere[®]/胰岛素 (TI, MannKind Corporation)。由在 540 分钟研究周期中维持稳定的 120 mg/dL 血葡萄糖所需的葡萄糖输注量来确定葡萄糖消除速率 (GIR) (图 3)。

四十八个单位的 TI 提供了 114.8 ± 44.1 (均值 \pm SD) mIU/L 的平均最大胰岛素浓度 (C_{\max}), 并具有 15 分钟的到达最大浓度的中位时间 (T_{\max}), 而 24 IU 的皮下胰岛素 (SC) 具有 63 ± 10.1 mIU/L 的 C_{\max} 和 150 分钟的 T_{\max} 。Technosphere[®]/胰岛素在 45 分钟时达到最大 GIR 值 3.33 ± 1.35 mg/min/kg, 而在该时间点 SC 仅为 1.58 ± 1.03 , 并在 255 分钟之前都未到达最大值 3.38 ± 1.45 , 尽管胰岛素浓度几乎不变。一旦达到最大胰岛素效应, 则对 TI 和 SC 而言浓度-效应的关系是相同的。在 180 分钟时, 对于 TI 葡萄糖处理是 326 ± 119 mg/kg 或 61 %, 对于 SC 是 330 ± 153 mg/kg (总量的 27%)。

与早期胰岛素应答相似的胰岛素浓度的迅速的、尖锐的上升提供了最大的葡萄糖消除速率。四十八单位 TI 在 45 分钟内达到最大值, 而 34 IU 的 SC 达到相似效应花费 270 分钟。该现象不是由两种胰岛素类型的剂量-效应关系的差异造成的, 而是反映了应答中的区别: 当胰岛素浓度增加随时间进展更加温和时, 相反地, Technosphere[®]/胰岛素所提供的胰岛素可更快地被生物利用。这可具有餐后葡萄糖控制的效果。

另外, 给药后三小时, 48 U 的 TI 和 24 IU 的 SC 显示出了相同的葡萄糖减少效应。然而仅获得了 SC 剂量获得的总葡萄糖减少效应的不到三分之一。如果在餐后三小时向着血糖量正常的目标滴定膳食胰岛素剂量, 则与 TI 相比, SC 胰岛素大量残留的葡萄糖减少效应可提高晚期餐后低血糖的风险。

用于皮下注射的现存胰岛素配方的一个问题在于: 与生理学进餐相关的第一期胰岛素应答 (其中血清胰岛素水平可在约六分钟内达到峰) 相比, 不可预测的吸收变异性和血清胰岛素水平相对慢的上升。因此, 用于

膳食代替的胰岛素配方的优选的动力学包括快速和早期的作用开始，和足够长而覆盖进餐相关葡萄糖吸收的作用持续时间。肺 TECHNOSPHERE®/胰岛素通过在丧失该功能的糖尿病患者中模拟早期胰岛素应答来满足该需要。胰岛素移植患者代表了仍然不显示第一期胰岛素应答的受治疗的糖尿病患者群体。向胰岛移植患者施用 TECHNOSPHERE®/胰岛素重建了第一期样胰岛素应答，从而降低了胰腺胁迫并改进了被移植细胞的寿命。

实施例 3

用肺胰岛素治疗人降低血清胰岛素原水平

吸入 TECHNOSPHERE®/胰岛素 (TI)提供可血清胰岛素上升，与第一期应答相当。该研究调查了 TI 的药效动力学及其对完整的胰岛素原(iPi)释放的影响。患有 2 型糖尿病的二十四个患者在独立的研究日中开始标准进餐后无分钟接受了基于四种不同胰岛素负荷 (0、12 IU、24 IU 或 48 IU 的重组的常规人胰岛素) 的 TECHNOSPHERE®剂量。在每餐开始前 (0 分钟)、开始后 60 和 120 分钟测量血糖(BG)、血清胰岛素和血清 iPi。

以剂量依赖形式被 TI 降低的餐后 BG 水平。午餐后六十分钟，使用安慰剂的 BG(mg/dL) (+ SD)为 183.2 (+ 44.4)；使用 12 IU (p=0.266)的 BG(mg/dL) (+ SD)为 170.8 (+ 30.5)；使用 24 IU(p=0.020)的 BG(mg/dL) (+ SD)为 156.3 (+ 31.9)；使用 48 IU(p<0.001)的 BG(mg/dL) (+ SD)为 156.3 (+ 31.9)。所有的剂量在 60 分钟(p<0.05)时引起血清胰岛素提高，但是在吸入后 120 分钟则没有。施用含 24 IU 和 48 IU 胰岛素负荷剂量的 TI 在整天的所有时间点均抑制 iPi 水平(p<0.05)。吸入的 TI 用于模拟第一期胰岛素应答的快速起效和短持续时间，从而应该降低对产胰岛素细胞的 I 胁迫。这可以促进一般的 β 细胞功能、内源葡萄糖内稳态和残余的与被移植的 β 细胞的寿命。

图 3 描绘了肺施用哌嗪二酮/胰岛素颗粒后胰岛素原随时间的改变。

实施例 4

用肺胰岛素治疗过的糖尿病肥胖大鼠中 β 细胞的评估

糖尿病肥胖大鼠是 2 型糖尿病的一种模型。可以获得两种株系 ZDF 和 WDF。可通过用高蔗糖膳食喂养约一周在 WDF 株系中诱导糖尿病。或者 ZDF 大鼠在约 13 周龄时会自发发生糖尿病。

用皮下注射胰岛素、肺吹入 TI 或肺吹入空气的每日剂量处理三组 20 只大鼠。在预期发作糖尿病之前一周开始给药。剂量选择为大约等于人用剂量，但是少于会在尚无糖尿病的动物中引起严重的或危及生命的低血糖的剂量。进行血液测量之前使动物禁食过夜，但其它时间随意取食。

每周测量体重。每周进行两侧血清血糖测量。每周进行三次糖尿测试。尿中葡萄糖水平高于 250 mg/dL 后进行两天的血糖测量仪测试以确定糖尿病发作。确定糖尿病发作后，在 24-48 小时内处死动物。测量前剂量的血样、给药中的生活血样（每周）和最终血样中的胰岛素、完整的胰岛素原和 C-肽。在用大量葡萄糖临激发前和激发后 3-5 分钟取出前剂量样品和生活样品作为一对，从而能够评估第一期胰岛素释放。处死时收集来自所有动物的胰腺并在 10%福尔马林中混合。将胰腺组织加工用于苏木精和伊红(H & E)染色并评价 β 细胞量。还通过免疫组织化学(IHC)在胰腺组织中评价增殖和细胞凋亡指数。

更多的 β 细胞量、更多的增殖标记表达、更低的细胞凋亡指数、延迟的糖尿病发展和发作表明了 TI 组中降低的胁迫和延长的 β 细胞寿命。从血糖、胰岛素和 C-肽水平随时间的上升；完整血清胰岛素原的缺失或更低的水平；和延迟的第一期胰岛素释放的丧失来评价朝向糖尿病的发展。

实施例 5

用肺胰岛素处理的 NOD 小鼠中评价 β 细胞

NOD（非肥胖糖尿病的）小鼠是 1 型糖尿病模型。糖尿病在约 12-14 周龄时自发发生，在雌性中偏差小于雄性。

用皮下注射胰岛素、吸入 TI 或吸入空气的每日剂量处理三组 40 只小鼠。在预期发作糖尿病之前十周龄时开始给药。剂量选择为大约等于人用剂量，但是少于会在尚无糖尿病的动物中引起严重的或危及生命的低血糖的剂量。进行血液测量之前使动物禁食过夜，但其它时间随意取食。

每周测量体重。每周进行两次血清血糖测量。每周进行三次糖尿测试。尿中葡萄糖水平高于 250 mg/dL 后进行两天的血糖测量仪测试以确定糖尿病发作。确定糖尿病发作后，在 24-48 小时内处死动物。测量前剂量的血样、两份间隔相等的给药中的生活血样和最终血样中的胰岛素和 C-肽。在用大量葡萄糖临激发前和激发后 3-5 分钟取出前剂量样品和生活样品作为一对，从而能够评估第一期胰岛素释放。处死时收集来自所有动物的胰腺并在 10%福尔马林中混合。将胰腺组织加工用于 H & E 染色并评价 β 细胞量。还通过 IHC 在胰腺组织中评价增殖和细胞凋亡指数。

更多的 β 细胞量、更多的增殖标记表达、更低的细胞凋亡指数、延迟的糖尿病发展和发作表明了 TI 组中降低的胁迫和延长的 β 细胞寿命。从血糖随时间的上升；和胰岛素和 C-肽的降低；和延迟的第一期胰岛素释放的丧失来评价朝向糖尿病的发展。

除非另有说明，用于说明书和权利要求书中的表达成分数量、如分子量的性质、反应条件的所有数字等应理解为在所有情况下由术语“约”修饰。因此，除非指出反例，以下说明书和附加的权利要求书中公开的数量参数是近似值，其可根据本发明想要获得的所需性质而变化。至少，并不企图限制将等同原则应用于权利要求书的范围，每个数量参数至少应按照经报导的有效数字的位数并通过应用常规约数技术解释。不反对公开本发明广大范围的数量范围和参数为约数，而特定实施例中公开的数量值则是尽可能精确地报导的。然而，任何数量值固有地包含误差，这是从它们各自检测测量中发现的标准差必然地产生的。

除非在本文另有说明或同上下文明显抵触，描述本发明的上下文中（特别是在以下的权利要求书上下文中）使用的术语“一个”（"a", "an"）和“这个”（"the"）和类似的指代被解释为包括单数和复数。对本文数值范围的叙述仅意图用作为引用落入该范围的每个单独的值的速记方法（shorthand method）。除非本文另有说明，每个单独的值都被并入说明书，就像其被单独地并入本文一样。除非在本文另有说明或与上下文明显抵触，本文所述的所有方法可以以任何合适的顺序进行。本文所提供的任何和所有实例或举例文字（例如“例如”）的使用仅意欲用来更好地阐述本

发明，而非对本发明所要求保护的范围设定限制。说明书中没有提及的文字应被解释为指代实施本发明必需的任何不要求保护的元素。

本文公开的备选元素或实施方案的分组不应解释为限制。各组成员可被单独提到或要求保护，或与本文发现的组的其它成员或其它元素任意组合。应当理解，由于便利和/或专利的原因，一组的一个或多个成员可以被包括进一组中或从该组删除。当任何这类包括或删除发生时，本申请文件被认为含有经改写的组，以满足对附加的权利要求书中所用的任何和所有马库什组的书面描述。

本文描述了根据本发明的某些实施方案，包括本发明的发明人已知是实现本发明的最佳模式。当然，本领域常规技术人员阅读上述描述后会明白这些实施方案的变更。本发明人预期熟练的技术人员能适当地采用这类变更，且本发明者意欲使得本发明以与本文特定描述不同的方式应用。因此，至少可适用的法律允许，本发明包括附加的权利要求书中所述的主体内容的所有修饰和等价物。另外，除非本文另有说明或与上下文明显抵触，在其所有可能变化中，上述元件的任何组合由本发明所包括。

另外，在本申请文件中，引用了专利和印刷出版物作为参考文献。上述各参考文献和印刷出版物通过引用其整体并入本文。

最后，应理解本文公开的本发明的实施方案仅用于阐述本发明的原则。其它可使用的修饰也在本发明的范围内。因此，通过示例而非限制的方式，可根据本文的教导利用本发明的备选形式。因此，本发明并非被限制为如精确地所示和所述的。

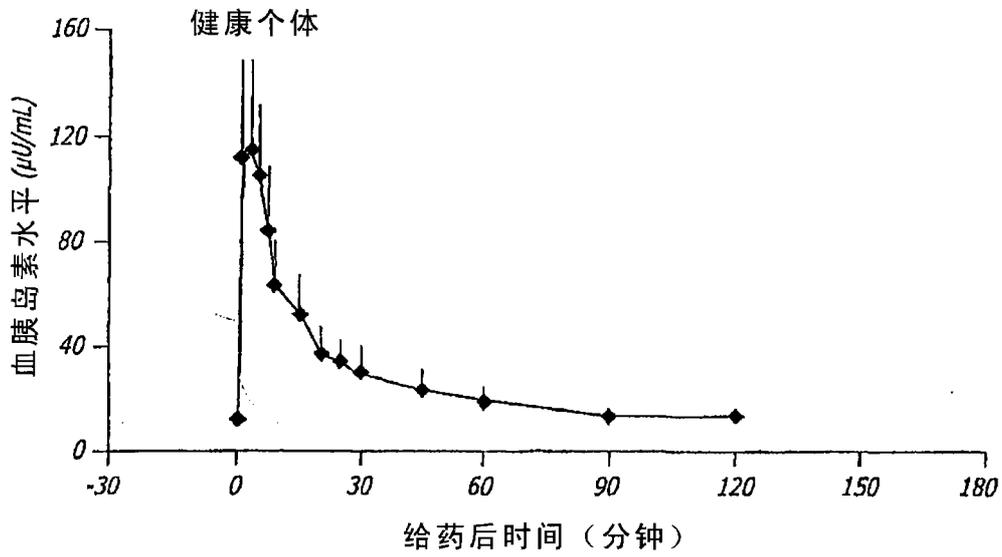


图1

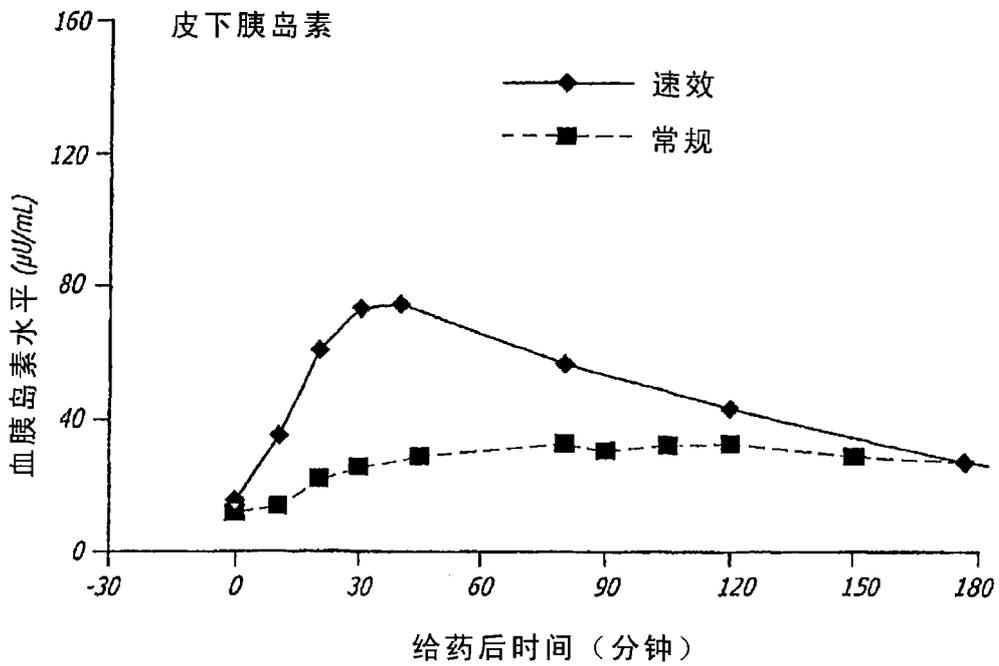


图2

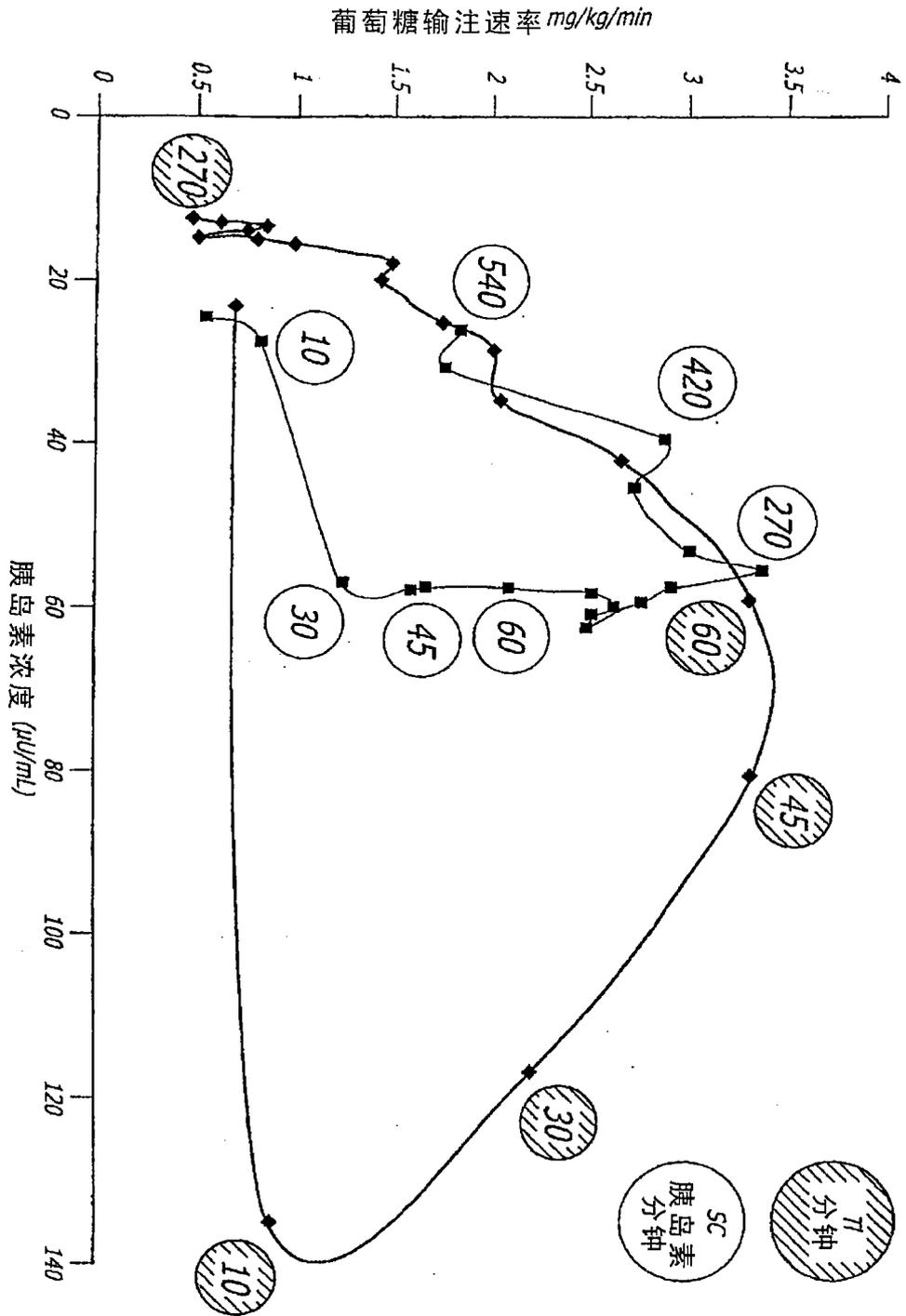


图 3

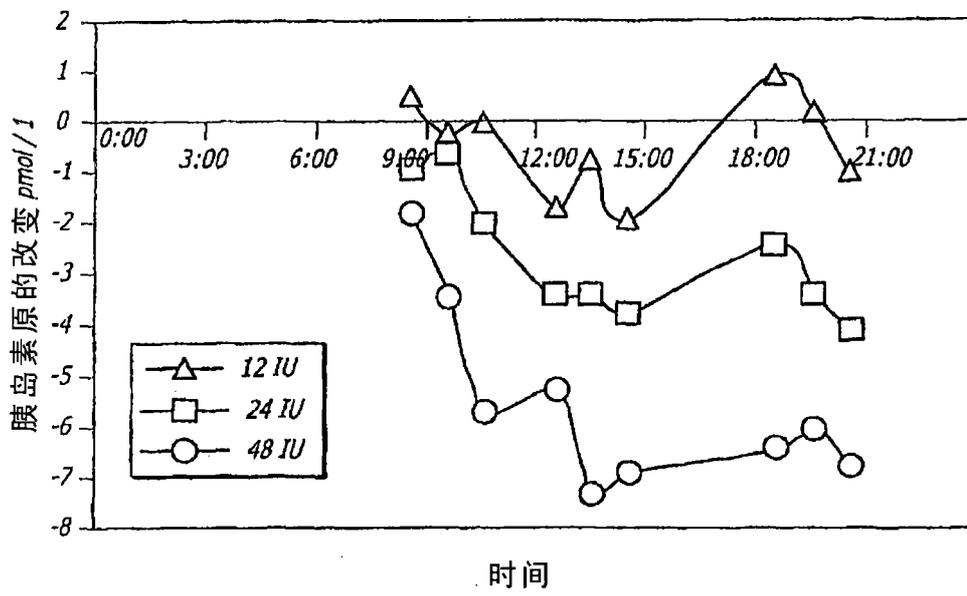


图4