

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 39/00

A61K 38/03

A61K 38/16



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02827590.X

[43] 公开日 2005 年 5 月 18 日

[11] 公开号 CN 1617739A

[22] 申请日 2002.11.27 [21] 申请号 02827590.X

[30] 优先权

[32] 2001.11.28 [33] US [31] 60/333,836

[86] 国际申请 PCT/US2002/038258 2002.11.27

[87] 国际公布 WO2003/045332 英 2003.6.5

[85] 进入国家阶段日期 2004.7.27

[71] 申请人 综合医院公司

地址 美国马萨诸塞州

[72] 发明人 D·K·波多尔斯基

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 李 波 徐雁漪

权利要求书 4 页 说明书 20 页 序列表 8 页
附图 12 页

[54] 发明名称 用于治疗呼吸道上皮病变的方法和组合物

[57] 摘要

本发明涉及通过局部或全身性施用肠三叶肽治疗呼吸道上皮病变的方法。所述肠三叶肽可以单独施用或者与一种或多种治疗剂组合施用。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种用于治疗哺乳动物的呼吸道上皮病变的方法，包括给所述哺乳动物施用含有治疗有效量的三叶肽，或它的生物学活性片段的组合物。
- 5 2. 如权利要求1的方法，其中，所述三叶肽是肠三叶因子(ITF)，解痉多肽，或 pS2。
3. 如权利要求1的方法，其中，所述生物学活性片段是 ITF₁₅₋₇₃ ITF₂₁₋₇₃，ITF₁₋₇₂，ITF₁₅₋₇₂ 或 ITF₂₁₋₇₂。
4. 如权利要求1的方法，其中，所述哺乳动物是人。
- 10 5. 如权利要求1的方法，其中，所述病变是由过敏反应导致的。
6. 如权利要求1的方法，其中，所述病变是哮喘导致的。
7. 如权利要求1的方法，其中，所述病变是由细菌、病毒、或真菌感染导致的。
8. 如权利要求1的方法，其中，所述病变是由吸入化学接触物、
- 15 颗粒状物质，或烟雾导致的。
9. 如权利要求1的方法，其中，所述病变是由热烧伤导致的。
10. 如权利要求1的方法，其中，所述病变是药物诱导的肺损伤或抗肿瘤治疗导致的。
11. 如权利要求1的方法，其中，所述病变是由创伤导致的。
- 20 12. 如权利要求11的方法1，其中，所述创伤是由手术过程或插管导致的。
13. 如权利要求1的方法，其中，所述病变是由慢性阻塞性肺病 或哮喘导致的。
14. 如权利要求1的方法，其中，所述病变是由高压氧治疗导致
- 25 的。
15. 如权利要求1的方法，其中，所述施用是通过吸入进行的。
16. 如权利要求15的方法，其中，所述组合物是用计量剂量吸入器，或干粉吸入器施用的。
17. 如权利要求1的方法，其中，所述组合物是气溶胶或干粉。
- 30 18. 如权利要求17的方法，其中，所述组合物是用喷射喷雾器，超声波喷雾器，或电子喷雾器雾化的。
19. 如权利要求1的方法，其中，所述组合物还包括第二种治疗

剂。

20. 如权利要求 19 的方法，其中，所述三叶肽和所述第二种治疗剂是在相同的制剂中施用的。

21. 如权利要求 19 的方法，其中，所述三叶肽和所述第二种治疗剂是通过不同的施用途径施用的。

22. 如权利要求 19 的方法，其中，所述三叶肽和所述第二种治疗剂的施用时间彼此之间相差 24 小时内。

23. 如权利要求 19 的方法，其中，所述第二种治疗剂是妥布拉霉素。

24. 如权利要求 19 的方法，其中，所述第二种治疗剂是抗炎剂，抗微生物剂，抗组胺剂，神经激肽受体拮抗剂，白三烯受体拮抗剂，解充血剂，胆碱能受体拮抗剂，磷酸二酯酶抑制剂，或 β -肾上腺素能支气管扩张剂。

25. 如权利要求 24 的方法，其中，所述抗炎剂是糖皮质激素。

26. 如权利要求 25 的方法，其中，所述糖皮质激素是丙酸氯地米松，氟尼缩松，budesonide，去炎松，强的松龙，地塞米松，或氟替卡松。

27. 如权利要求 24 的方法，其中，所述抗炎剂是非甾族抗炎剂。

28. 如权利要求 27 的方法，其中，所述非甾族抗炎剂是异丁苯丙酸，他克莫司，色甘酸，奈多罗米，refecoxib，或 celecoxib。

29. 如权利要求 24 的方法，其中，所述 β -肾上腺素能受体激动剂是舒喘宁，比托特罗，肾上腺素，非诺特罗，福莫特罗，新异丙肾上腺素，异丙肾上腺素，间羟异丙肾上腺素，吡布特罗，丙卡特罗，消旋肾上腺素，沙美特罗，或特布他林。

30. 如权利要求 24 的方法，其中，所述抗微生物剂是氨基丁卡那霉素 A，庆大霉素，卡那霉素，新霉素，乙基西梭霉素，巴龙霉素，链霉素，或妥布拉霉素。

31. 如权利要求 24 的方法，其中，所述抗组胺剂是苯海拉明，甲美芳铵、西替利嗪或氯雷他定。

32. 如权利要求 22 的方法，其中，所述胆碱能受体拮抗剂是异丙托溴铵或托溴铵。

33. 如权利要求 1 的方法，其中，所述三叶肽的生物学活性片段

是由分离的核酸分子编码的,所述分子能够在高严格条件下与具有 SEQ ID NO.: 4, SEQ ID NO.: 5, SEQ ID NO.: 6, SEQ ID NO.: 7, SEQ ID NO.: 8, 或 SEQ ID NO.: 9 的序列的多核苷酸杂交。

34. 一种适合吸入施用的药物组合物, 其中, 所述组合物包括三
5 叶肽, 它的生物学活性片段, 以及可以药用的载体。

35. 如权利要求 34 的组合物, 其中, 所述三叶肽是肠三叶肽因子 (ITF), 解痘多肽, 或 pS2。

36. 如权利要求 34 的组合物, 其中, 所述生物学活性片段是
ITF₁₅₋₇₃, ITF₂₁₋₇₃, ITF₁₋₇₂, ITF₁₅₋₇₂, 或 ITF₂₁₋₇₂。

10 37. 如权利要求 34 的组合物, 其中, 所述组合物是气溶胶或干粉。

38. 如权利要求 34 的组合物, 其中, 所述组合物还包括第二种治疗剂。

39. 如权利要求 38 的组合物, 其中, 所述第二种治疗剂是妥布拉霉素。

15 40. 如权利要求 38 的组合物, 其中, 所述第二种治疗剂是抗炎剂, 抗微生物剂, 抗组胺剂, 胆碱能受体拮抗剂, 神经激肽受体拮抗剂, 白三烯受体拮抗剂, 解充血剂, 磷酸二酯酶抑制剂, 或 β -肾上腺素能受体激动剂。

41. 如权利要求 40 的组合物, 其中, 所述抗炎剂是糖皮质激素。

20 42. 如权利要求 41 的组合物, 其中, 所述糖皮质激素是丙酸氯地米松, 氟尼缩松, budesonide, 去炎松, 强的松龙, 地塞米松, 或氟替卡松。

43. 如权利要求 40 的组合物, 其中, 所述抗炎剂是非甾族抗炎剂。

25 44. 如权利要求 43 的组合物, 所述非甾族抗炎剂是异丁苯丙酸, 他克莫司, 色甘酸, 奈多罗米, refecoxib, 或 celecoxib。

45. 如权利要求 40 的组合物, 其中, 所述 β -肾上腺素能受体激动剂是舒喘宁, 比托特罗, 肾上腺素, 非诺特罗, 福莫特罗, 新异丙肾上腺素, 异丙肾上腺素, 间羟异丙肾上腺素, 吡布特罗, 丙卡特罗, 消旋肾上腺素, 沙美特罗, 或特布他林。

30 46. 如权利要求 40 的组合物, 其中, 所述抗微生物剂是氨基丁卡那霉素 A, 庆大霉素, 卡那霉素, 新霉素, 乙基西梭霉素, 巴龙霉素, 链霉素, 或妥布拉霉素。

47. 如权利要求 40 的方法，其中，所述抗组胺剂是苯海拉明，甲美芳铵、西替利嗪或氯雷他定。

48. 如权利要求 4 的方法，其中，所述胆碱能受体拮抗剂是异丙托溴铵，或托溴铵。

- 5 49. 一种适合吸入施用的组合物，包括由分离的核酸序列编码的三叶肽或它的生物学活性片段，所述核酸序列能在高严格性条件下与 SEQ ID NO.: 4, SEQ ID NO.: 5, SEQ ID NO.: 6, SEQ ID NO.: 7, SEQ ID NO.: 8, 或 SEQ ID NO.: 9 的序列杂交。

用于治疗呼吸道上皮病变的方法和组合物

发明领域

- 5 本发明涉及用于治疗呼吸道上皮病变的方法和组合物，例如，所述病变可能是由病毒，细菌，和真菌感染，炎症，过敏原，吸入的有机溶剂，颗粒物或刺激性气体导致的。

发明背景

- 10 包括从外鼻孔到咽喉的上呼吸道病变，是由多种局部激动剂，过敏原，和传染性制剂引起的。通常，所述激动剂会产生鼻炎或‘流鼻涕’的症状。不过，在严重损伤的情形中，呼吸道上皮粘膜的紧密连接受到破坏，以便有利于过敏原或传染剂的进入。

- 15 气管支气管病变（气管和达到呼吸道细支气管的水平的传导性支气管），通常也是由呼吸道感染，激动剂或过敏原引起的。一旦破坏了气管支气管上皮和紧密连接，传染性、刺激性或过敏性材料可能使肺过敏，引起介体的释放，并随后引起呼吸道狭窄和哮喘。

- 20 远离呼吸道细支气管的肺泡上皮，通常能很好地受到保护避免发生传染性、刺激性和过敏性接触。不过，穿透深层肺结构的传染性，免疫性或化学制剂可能导致肺炎。进入下呼吸道的体循环的非传染性制剂，可能进一步导致脓毒性肺炎或呼吸窘迫综合征。另外，在某些炎症状态下，如哮喘，粘膜破坏会导致增加水平的过敏原和激动剂，以便进一步加剧炎症和粘膜分解。

- 25 因此，为了减轻由持续的致病性或过敏性机制在呼吸组织中导致的病变和缓解相关的症状，正常呼吸道上皮屏障的快速恢复是重要的。

发明概述

- 30 本发明涉及通过给哺乳动物施用治疗有效量的三叶肽（trefoil peptide）或它的生物学活性片段，治疗哺乳动物呼吸道上皮病变的方法和组合物。按照本发明方法治疗病变，可以加速病变的愈合，减轻痛苦，延缓或预防病变的发生，并且抑制病变的扩大，二次感染或其

他并发症。呼吸道上皮病变可能由任何原因造成，例如，包括过敏反应，哮喘，感染，吸入的化学制剂或接触颗粒，热病变，吸入烟雾，药物诱导的肺损伤，创伤（例如，通过手术或插管引起的病变），微生物感染（细菌，病毒或真菌），慢性阻塞性肺病，抗肿瘤治疗，囊性纤维化，心血管损伤，如充血性心脏衰竭或高压氧治疗。

在另一方面，本发明提供了一种组合物，它包括存在于适合吸入治疗的可以药用的载体中的三叶肽。在按这种方法制备组合物时，该组合物可以通过计量剂量吸入器施用的气溶胶（例如，鼻腔喷雾，吸入喷雾，吸入溶液，吸入悬浮液）。如果需要的话，可以将含有所述三叶肽的制剂雾化（例如，通过喷头，超声波喷雾器或电子喷雾器）。另外，所述三叶肽制剂能够以干粉形式施用，例如，使用计量剂量吸入器或干粉吸入器。

在本发明的上述所有方面，所述哺乳动物优选是人，并且所述三叶肽是人肠三叶因子（ITF），解痉肽（SP），pS2，或它的生物学活性片段。例如，所述片段包括 ITF₁₅₋₇₃，ITF₂₁₋₇₃，ITF₁₋₇₂，ITF₁₅₋₇₂，或 ITF₂₁₋₇₂ 或 SEQ ID NO.: 1。

在本发明的方法和组合物中，可以包括第二种治疗剂。所述治疗剂包括抗炎剂，如糖皮质激素（丙酸氯地米松，氟尼缩松，budenoside，去炎松，强的松龙，地塞米松，或氟替卡松）或非甾族抗炎剂（例如，异丁苯丙酸，他克莫司，色甘酸，奈多罗米，refecoxib，或 celecoxib）；抗微生物剂（例如，氨羟丁卡那霉素 A，庆大霉素，卡那霉素，新霉素，乙基西梭霉素，巴龙霉素，链霉素，或妥布拉霉素）；抗组胺制剂（例如，苯海拉明，甲美芳铵，西替利嗪，或氯雷他定）；或胆碱能受体拮抗剂（例如，异丙托溴铵或 tiotropium）；神经激肽受体拮抗剂；白三烯受体拮抗剂；解充血药；磷酸二酯酶抑制剂，或 β -肾上腺素能受体拮抗剂（舒喘宁，比托特罗，肾上腺素，非诺特罗，福莫特罗，新异丙肾上腺素，异丙肾上腺素，间羟异丙肾上腺素，吡布特罗，丙卡特罗，消旋肾上腺素，沙美特罗，或特布他林）。第二种治疗剂可以在施用所述三叶肽（之前或之后）14 天，7 天，1 天，12 小时，1 小时之内施用，或同时施用。

所述第二种治疗剂可以存在于与三叶肽相同或不同的药物组合物中。当所述第二种治疗剂存在于不同的药物组合物中时，可以使用不

同的施用途径。例如，所述第二种治疗剂可以口服，通过静脉内，肌肉或皮下注射施用。因此，第二种治疗剂不一定是通过吸入施用的。

当然，药物组合物可以包括两种，三种或三种以上三叶肽或生物学活性三叶肽片段。另外，所述三叶肽的吸入，可以通过全身性（例如，口服或可注射）施用相同或不同的三叶肽进行补充。

在预期的刺激（例如，手术，抗肿瘤治疗）之前，通过施用含有所述肠三叶肽的组合物，可以预防或改善呼吸道上皮病变。所述预防性治疗优选在所述刺激开始之前至少 1 天，3 天，5 天，7 天，或 10 天开始。非预期的呼吸道病变的治疗优选在刺激之后马上或在 24 小时之内开始。

在一种优选实施方案中，所述三叶肽或生物学活性片段是由分离的核酸序列编码的，该序列能在高严格条件下与具有 SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 或 SEQ ID NO: 9 的序列的多核苷酸序列杂交。

另一方面，本发明涉及适合吸入施用的药物组合物，它含有分离的核酸序列编码的三叶肽或生物学活性片段，所述核酸序列能够在高严格条件下与具有 SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, 或 SEQ ID NO: 9 的序列的多核苷酸序列杂交。

哺乳动物三叶肽是在 1982 年发现的。哺乳动物三叶肽之一——人肠三叶因子 (ITF) 业已进行过充分的表征，并且描述于美国专利号 6, 063, 755 和 6, 221, 840 中，以上专利文献被收作本文参考。另外两种已知的人三叶肽是解痉多肽 (SP) 和 pS2。正如在文献中充分描述的（例如，Sands 等，Annu. Rev. Physiol. 58: 253-273 (1996)，被收作本文参考），三叶肽是在胃肠道中表达的，并且具有通过保守性半胱氨酸残基之间的链内二硫键形成的三环结构。所述肽能保护肠道免受病变，并且可用于治疗肠道疾病，如消化性溃疡和炎性肠病。业已在多种非人动物物种中发现了所述人类肽的同系物。人和非人的该蛋白家族的所有成员，在本文都被称为三叶肽。在本申请中，人 ITF 将被最广泛地提到；不过，人 ITF 的活性，是每一种哺乳动物三叶肽所共有的。

术语“三叶肽”表示包括人解痉多肽，人 pS2 和人 ITF 多肽的所

有哺乳动物同系物，以及它们的生物学活性片段。三叶肽的同系物与
所述人的序列优选具有 70% 的氨基酸相同性，更优选 85% 的相同性，最
优选 95%，或甚至 99% 的序列相同性。对比序列的长度，通常为至少 8
个氨基酸残基，通常至少 20 个氨基酸残基，更常见的是至少 24 个氨
5 基酸残基，一般的是至少 28 个氨基酸残基，并且优选超过 35 个氨基酸残基。

术语“片段”表示包括是 SP，pS2 和 ITF 的截短物或缺失物的多
肽。所述片段与所述人多肽序列的相应的区域，优选具有 70% 的氨基酸
相同性。所述片段与相应的人类多肽更优选具有 85% 的相同性，最优选
10 95%，或甚至 99% 的相同性。对比序列的长度，通常为至少 8 个氨基酸
残基，通常至少 20 个氨基酸残基，更常见的是至少 24 个氨基酸残基，
一般的是至少 28 个氨基酸残基，并且优选超过 35 个氨基酸残基。

优选的片段包括相当于人 ITF 的 25，35，45，50，51，62，或 71
号位置上（图 1）或相应于人 pS2 的 31，41，51，56，57，68，和 82
15 号位置上（图 2）的半胱氨酸的任何位置中四个半胱氨酸残基。所述片
段更优选在上述位置上包括 5 个半胱氨酸残基。最优选存在 6 个，或
者甚至所有 7 个半胱氨酸。

SP 的片段表示包括截短或缺失形式，并且优选与相应的人 SP 多肽
序列具有 70% 的序列相同性（图 3）。更优选，所述片段与所述人多肽
20 序列的相同性为 85%，最优选为 95%，甚至 99%。活性片段优选包括相
当于所述人 SP 多肽的 6，8，19，29，34，35，46，58，68，78，83，
84，95，和 104 号位置的至少 4 个半胱氨酸残基。更优选的是，所述
片段含有相当于所述位置的 6 个半胱氨酸。更优选的是含有 8 个半胱
氨酸的片段，最优选的是含有在 10 个，12 个，或者甚至所有 14 个位
25 置上的半胱氨酸的片段。

在本领域中得到认可的是，所鉴定的半胱氨酸残基的一种功能，
是产生所述特有的三环（就是三叶）结构。因此，ITF 和 pS2 的优选片
段具有至少一个环状结构，更优选所述片段具有两个环状结构，最优
选它们具有三个环状结构。同样得到充分认可的是，天然 SP 多肽具有
30 六个环状构象。优选的片段包括所述环状结构中的至少两个，更优选
的是，四个环状结构是保守的，最优选的是，存在五个或甚至所有六
个环状结构。

“气溶胶”表示以气溶胶化的制剂形式施用的本发明三叶肽的任何组合物，例如，包括吸入喷雾剂，吸入溶液，吸入悬浮液，雾化溶液，或鼻腔喷雾剂。

“抗微生物剂”表示能够改变细菌或真菌细胞或病毒的生长，以便阻止、稳定或抑制生长，或其中，杀死所述微生物的任何化合物。换句话说，抗微生物剂可以是杀微生物的或抑微生物的。

“抗肿瘤治疗”表示用于治疗癌症的任何治疗方案。一般的抗肿瘤治疗包括化疗和放疗。

“生物学活性”在用于表示三叶肽、片段或同系物时，表示具有它相关的，天然存在的家族成员所共有的活性的任何多肽，并且，所述活性是天然存在的三叶肽家族所共有的。所述三叶肽家族所共有的生物学活性的一种例子是，恢复胃肠道粘膜 (Taupin 等, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 97 (2): 799- 804)。

术语“分离的 DNA”表示在产生所述特定 DNA 的天然存在的生物体的基因组上不含位于所述 DNA 旁侧的基因的 DNA。因此，举例来说，术语“分离的 DNA”包括 cDNA，克隆的基因组 DNA，和合成的 DNA。

术语“药物组合物”表示含有至少一种治疗性或生物学活性制剂，并且适合给患者施用的任何组合物。适合向所述呼吸道中输送治疗剂的药物组合物包括，但不局限于气溶胶和干粉。上述任何制剂都可以通过众所周知的和本领域接受的方法制备。例如，参见 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th edition, (ed. AR Gennaro), Mack Publishing Co., Easton, PA, 2000。

“高严格性条件”表示以高温和低离子强度为特征的任何类型的条件，并且可以进行与在以下条件下进行的杂交相当的杂交：使用长度为至少 40 个核苷酸的 DNA 探针，在含有 0.5 M NaHPO₄, pH 7.2, 7% SDS, 1mM EDTA, 和 1% BSA (Fraction V) 的缓冲液中，在 65℃ 下，或在含有 48% 甲酰胺, 4.8×SSC, 0.2 M Tris-Cl, pH 7.6, 1×Denhardt's 溶液, 10% 硫酸葡聚糖, 和 0.1 % SDS 的缓冲液中，在 42℃ 下。用于诸如 PCR, Northern, Southern, 或原位杂交的高严格杂交, DNA 测序等的其他条件，为分子生物学领域的技术人员所熟知。例如，参见 F. Ausubel 等, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, NY, 1998, 被收作本文参考。通过以下详

细说明, 以及通过权利要求书可以理解本发明的其他特征和优点。

“基本相同”表示一种多肽或核酸与参考氨基酸或核酸序列具有至少 75%, 但优选 85%, 更优选 90%, 最优选 95%或 99%的相同性。对于多肽来说, 比对序列的长度通常为至少 20 个氨基酸, 优选至少 30 个氨基酸, 更优选至少 40 个氨基酸, 最优选 50 个氨基酸。对于核酸来说, 比对序列的长度通常为至少 60 个核苷酸, 优选至少 90 个核苷酸, 更优选至少 120 个核苷酸。

“治疗有效量”表示足以提供医学效果的用量。当按照此处描述的方法给人类患者施用三叶肽时, 有效用量通常根据要治疗的病变面积的大小而改变; 不过, 治疗有效量通常为每个剂量大约 1-2500 mg 三叶肽。用药通常是每天进行 1-4 次。还可以在一定时间内给所述患者连续施用三叶肽。

附图简述

图 1 是人肠三叶因子的氨基酸序列 (ITF; 登记号 BAA95531) (SEQ ID NO. : 1)。

图 2 是人 pS2 蛋白的氨基酸序列 (登记号 NP-003216) (SEQ ID NO. : 2)。

图 3 是人解痉多肽的氨基酸序列 (SP; 登记号 1909187A) (SEQ ID NO. : 3)。

图 4 是编码人肠三叶因子的 cDNA 序列 (SEQ ID NO. : 4)。

图 5 是编码人 pS2 蛋白的 cDNA 序列 (SEQ ID NO. : 5)。

图 6 是编码人解痉多肽的 cDNA 序列 (SEQ ID NO. : 6)。

图 7 是编码人肠三叶因子的基因的核苷酸序列 (基因座 10280533: 52117-55412) (SEQ ID NO. : 7)。

图 8 是编码人 pS2 蛋白的基因的核苷酸序列 (基因座 10280533: 16511-21132) (SEQ ID NO. : 8)。

图 9 是编码人解痉多肽的基因的核苷酸序列 (基因座 10280533: 957-5208) (SEQ ID NO. : 9)。

详述

本发明提供了用于治疗, 改善, 和预防对呼吸道上皮的多种病变

的方法和组合物。按照本发明治疗的呼吸道上皮的病变，可能是由物理（例如，手术介入或插管），化学（例如，吸烟或接触挥发性溶剂），或热创伤；血管病变（例如，由充血性心脏衰竭或慢性阻塞性肺病所导致的）；传染性或炎性过程；抗肿瘤治疗（例如，放疗或化疗）；
5 或其他疾病过程，如囊性纤维化或哮喘所引起的。另外，对呼吸道上皮的另一种常见的化学刺激，包括长时间地接触高浓度的氧气（例如，高压氧治疗）。

按照本发明方法治疗所述病变，能够加速上皮愈合，减轻与呼吸道上皮病变相关的症状，并且减轻，延缓或阻止加重鼻炎，哮喘，肺炎的继发性并发症，或所述呼吸道上皮损病变的其他并发症。另外，
10 由于本发明能加速正常的上皮愈合并且减轻感染，所以它能够降低获得性二次感染以及呼吸道的持续过敏的晚期继发作用（例如，枯草热和哮喘）的机会。

呼吸道上皮的病变，如由过敏反应或物理创伤导致的病变可以用以气溶胶或干粉形式输送的三叶肽进行治疗。按照已知的和常规的用于制备所述制剂的方法，将所述组合物制备（微粉化）成干粉吸入剂或气溶胶。在用于治疗气管支气管呼吸道上皮时，本发明组合物的施用优选在症状出现时马上进行，并且持续 3-10 天时间，或者直到呼吸道上皮的病变消失。不过，对于轻度病变来说，三叶肽治疗可以在较短时间内治愈所述病变，特别是在与另一种活性成分组合时更是如此。
20

本发明的组合物还可以在有可能病变呼吸道上皮的治疗之前预防性地使用。例如，所述组合物可以在抗肿瘤治疗之前或在手术介入之前施用，以便减轻上皮完整性的损失。由于鼻咽呼吸道上皮破坏所产生的症状的预防或改善还可以通过在预期的刺激之前施用所述三叶肽而实现。例如，患者可以在“枯草热”季节在接触树木或草的花粉之前进行三叶肽治疗，或在所述患者在有发生鼻咽感染危险的期间，以较小的间隔进行预防性治疗。
25

通常，计量剂量的吸入剂或干粉吸入剂是患者自己施用的。通常在医生的监督下进行的连续喷雾剂的波动大的呼吸，还可以对三叶肽和辅助药用剂量进行独立的调控。
30

药用制剂

气溶胶

气溶胶化的制剂，能够以低的全身吸收形式直接将高浓度三叶肽输送到呼吸道中，并且包括，例如，鼻腔喷雾，吸入溶液，吸入悬浮液，和吸入喷雾剂。鼻腔喷雾剂通常包括溶解或悬浮在溶液或赋形剂（例如，防腐剂，粘度改性剂，乳化剂或缓冲剂）的混合物中的具有治疗活性的三叶肽，它装在能够输送计量剂量的喷雾剂的常压分液器中。吸入溶液和悬浮液是水基制剂，它含有三叶肽，并且如果必要的话还含有其他赋形剂。所述制剂预计是通过吸气输送到呼吸道中的。通常，计量剂量的气溶胶吸入器，能产生直径为 20-30 微米的液滴。

肺输送的主要限制是难于到达肺的底部。为了能够在上呼吸道和下呼吸道获得高浓度的三叶肽溶液，优选在喷头喷雾器，超声波喷雾器，或电子喷雾器中对所述三叶肽进行雾化，特别是使用通过添加单向流动阀改进过的喷雾器，例如，Pari LC Plus™喷雾器可以从 Pari Respiratory Equipment, Inc. , Richmond, Va. 购买，该装置能输送比未改进的喷雾器多出 20% 的药物。

所述制剂的 pH 对于气溶胶的输送来说也是重要的。当所述气溶胶是酸性的或碱性的时，它可能导致支气管痉挛和咳嗽。pH 的安全范围是相对的，并且取决于患者的耐受力。某些患者能耐受弱酸性气溶胶，而这种气溶胶在其他患者体内可能导致支气管痉挛。通常，pH 低于 4.5 的气溶胶溶液诱导支气管痉挛。pH 在 4.5-5.5 之间的的气溶胶，偶尔会导致这种问题。pH 为 5.5-7.0 的气溶胶溶液通常被认为是安全的。pH 超过 7.0 的任何气溶胶都应当避免，因为身体组织不能够缓冲碱性气溶胶，并且导致刺激和支气管痉挛。因此，所述制剂的 pH 优选保持在 5.5-7.0 之间，最优选 5.5-6.5，以便能够产生患者能够很好耐受的三叶肽气溶胶，而又没有任何继发性的不希望的副作用，如支气管痉挛和咳嗽。还可以根据患者的耐受力将所述制剂的渗透摩尔浓度调整到大约 250-350mosm/L。施用高渗或低渗溶液，在某些场合下可能具有较差的耐受力，特别是当给裸露的粘膜使用时更是如此。还可将 HFA 134a, HFA227 的推进剂和它们的组合用于所述制剂中。如果需要的话，还可将能够促进药物分散或增强阀的润滑度的赋形剂与所述三叶肽配制在一起。

干粉制剂

作为气溶胶输送的替代治疗方法，所述三叶肽还能够以干粉制剂形式施用，以便有效输送到内部支气管空间。所述制剂具有若干优点，包括产品和制剂稳定性，每次吹气输送较大体积的药物，以及微生物生长的低易感性。因此，当需要输送大量三叶肽时，干粉吸入和计量剂量的吸入是最可行的，例如，包括较大部分的呼吸道上皮细胞受到影响的状况。根据干粉输送装置的效力，有效的干粉剂量水平，通常在大约 20-大约 60 毫克范围内。因此，本发明提供了药物颗粒的干粉或计量剂量形式的足够有效的制剂。这种制剂是方便的，因为它不需要任何进一步的处理，如稀释所述干粉。另外，它采用了足够小的，完全便携的，并且倾向于具有长的货架寿命的装置。

对于本发明的干粉制剂来说，通过培养基研磨，喷射研磨，喷雾干燥，超临界流体能力，或颗粒沉淀技术将三叶肽组合物研磨成物质平均空气动力学直径为 1-10 微米的粉末。

粒度测定可以用多级 Anderson 级联冲击器或其他合适的方法进行。另外，所述干粉制剂可以通过喷雾干燥或溶液沉淀技术制备。喷雾干燥的优点是，最不容易降解所述三叶肽。溶液沉淀是通过将能降低药物溶解度的助溶剂添加到均匀的药物溶液中进行的。当添加了足够的助溶剂时，所述药物的溶解度降低到形成固体药物颗粒的程度，所述颗粒可以通过过滤或离心收集。沉淀具有高度可再现性的优点，并且可以在能减弱降解的低温条件下进行。超临界流体技术可以产生具有适合粉末制剂的受控制的粒度、密度和结晶度的药用化合物的颗粒。

本发明的干粉制剂可以直接用于计量剂量或干粉吸入器中。目前，对计量剂量吸入器技术进行了优化，以便输送质量为 1 微克-5 毫克的治疗剂。诸如空气腔室的间隔区技术也可用于增强肺接触，并且协助患者协调。

干粉输送的另一种途径是通过干粉吸入器。有两种主要的干粉吸入器设计，装置-计量设计，其中，将药物容器储存在所述装置中，并且，患者将所述装置的一定计量‘加载’到所述吸入腔室中，并且所述患者的吸入气流加速了所述粉末离开所述装置，并且进入口腔。另

外，干粉吸入器还可以采用空气源，气体源，或静电，以便输送所述三叶肽。用于干粉吸入器的现有技术是这样的，有效负载限制为大约10毫克粉末。所述干粉制剂是温度稳定性的，并且具有4.0-7.5的生理学可接受的pH，优选6.5-7.0。

5

治疗剂

除了所述三叶肽之外，本发明的治疗性制剂还可以包括第二种治疗剂，或治疗方案。所述第二种治疗剂可以在（在施用所述三叶肽之前或之后）14天，7天，1天，12小时，1小时内施用或与所述三叶肽同时施用。所述第二种治疗剂还可以存在于与所述三叶肽相同或不同的药物组合物中。因此，除了三叶肽之外，用于局部治疗呼吸道上皮的药物组合物可以包括，例如，抗炎化合物，抗生素， β -肾上腺素能支气管扩张剂，胆碱能受体拮抗剂，神经激肽受体拮抗剂，甾族化合物，解充血药，磷酸二酯酶抑制剂，止痛剂，或麻醉剂。

当所述第二种治疗剂存在于不同的药物组合物中时，可以使用不同的施途径。例如，所述第二种治疗剂可以口服，或通过静脉内、肌内、或皮下注射。因此，第二种治疗剂不一定通过吸入施用。如果需要的话，一种以上的治疗剂可以与三叶肽一起施用。当然，药物组合物还可以包括两种，三种，或三种以上三叶肽，或生物学活性片段。

20

三叶肽

治疗性三叶肽通常是哺乳动物三叶肽或它们的片段，尽管也可以使用大体上与所述哺乳动物三叶肽相同的非天然存在的同系物。优选使用人类三叶肽或片段；不过，可以使用来自包括大鼠、小鼠、和非人灵长类的其他物种的三叶肽。通常，三叶肽是肠三叶肽因子(ITF)；不过，还可以使用解痉多肽(SP)，或pS2。

特定的三叶肽片段保留了生物学活性，并且可以在使用三叶肽的任何方法或组合物中作为替代物使用。例如，含有三叶肽的可以用所述三叶肽片段替代的方法和组合物描述于以下文献中：美国专利号6,063,755和6,221,840，以及申请日为2002年4月24日的美国专利申请号10/131,363，申请日为2001年9月6日的60/317,657，申请日为2002年10月5日的60/327,673，申请日为2001年11月

28 日的 60/333, 836, 以及申请日为 2002 年 3 月 26 日的 60/367, 574 (被收作本文参考)。

保留了生物学活性的特别有用的 ITF 片段包括相当于 SEQ ID NO: 1 的 15-73 号氨基酸残基的多肽 (ITF₁₅₋₇₃) 和相当于 SEQ ID NO: 1 的 21-73 号氨基酸残基的多肽 (ITF₂₁₋₇₃)。其他有用的 ITF 片段是通过裂解 C-末端苯丙氨酸残基形成的 (即 ITF₁₋₇₂, ITF₁₅₋₇₂ 和 ITF₂₁₋₇₂)。

本发明的生物学活性三叶肽片段可以用任何合适的方法生产。例如, 可以将编码需要的 ITF 片段的 cDNA 用于本领域已知的任何方法, 用来生产重组蛋白。本文提供了示例性的方法。ITF 片段, 特别是 ITF₂₁₋₇₃, 可以用毕赤酵母表达系统生产 (例如, 参见美国专利号 4, 882, 279 和 5, 122, 465), 该表达系统是用编码长的 ITF 类型, 如完整长度的 ITF (例如 SEQ ID NO: 4) 或 ITF₁₅₋₇₃ 的 cDNA 转化过的, 在发酵时, 培养物保持在 pH 大约 5.0。

包括 ITF 在内的三叶肽是可溶性的, 因此, 可以溶解在可以药用的载体液体中, 例如, 用于气溶胶化或雾化。对含有三叶肽的气溶胶进行空气动力学粒度的优化, 以便靶定感兴趣的呼吸道部位。通常, 大小为 1-3 微米的气溶胶靶定深层肺 (肺泡) 结构, 而 5-10 微米的粒度会导致气管支气管沉积。另外, 可以用某些赋形剂延长输送到肺或鼻腔部位的三叶肽的局部释放, 或通过改变粘膜纤毛清除速度, 将所述三叶肽制剂保持在肺的需要的局部。

三叶肽剂量

通常, 根据要治疗的病变的类型和严重程度, 对治疗的剂量、次数和持续时间进行调整。例如, 间歇性用药就足以治疗小的呼吸道病变。由诸如严重的烟雾吸入或热病变导致的更严重的呼吸道病变可能需要连续使用三叶肽。另外, 治疗还可以是预防性的, 预防对呼吸道上皮的病变。所述预防性治疗可以在刺激之前至少 1 天, 3 天, 5 天, 7 天, 或 10 天开始。对非预料的呼吸道病变的治疗, 优选在刺激之后马上或 24 小时之内开始。三叶肽治疗优选每天进行 1 次, 2 次, 3 次, 4 次, 或 4 次以上, 持续至少 1 天, 5 天, 14 天, 或甚至持续到接受治疗的患者的一生。另外, 所述三叶肽可以在一定时间内给所述患者连续施用, 例如, 持续 1 小时, 2 小时, 6 小时, 1 天, 或 1 天以上。为

此, 举例来说, 所述三叶肽可以用喷雾器系统的口罩接头施用。

优选将含有浓度为 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 毫克/毫升或更高浓度的三叶肽气溶胶制剂, 配制成分理学上可接受的溶液, 优选为正常盐溶液的 1/4 浓度。患者优选施用至少 10, 50, 100, 200, 500, 700, 1000, 或 1000 微克以上的气溶胶形式的三叶肽。干粉吸入的使用优选导致将至少大约 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 或 60 毫克以上的三叶肽输送到接受治疗的患者的呼吸道中。在所述制剂中, 所述三叶肽是以非结晶或晶体状态的粉末形式输送的, 将三叶肽有效输送到支气管内部间隙中所必须的物质平均空气动力学直径为 1-10 微米的粒度, 以便治疗、改善、和预防呼吸道上皮的病变。还可以采用 2-4 微米的组分以便靶定外周肺。患者吸入技术, 如呼吸保持技术, 还可以优化三叶肽的沉积。

如果必要的话, 所述三叶肽还可以口服, 或通过静脉注射施用, 特别是在以受控制的或连续性的三叶肽释放为目的时。

包括所述三叶肽成分在内的在本发明的组合物中所使用的所有治疗剂, 能够以目前已知的用于所述制剂的剂量范围使用。根据患者的临床状况, 治疗目标 (治疗或预防), 预期的持续, 病变部位, 以及使用所述三叶肽的病变的严重程度, 使用不同浓度的三叶肽或其他制剂。剂量选择的其他因素包括: 疾病病因, 患者年龄 (少儿, 成人, 老年人), 一般健康和共发病率。

抗炎剂

合适的抗炎剂可以与三叶肽一起配制, 并且用本发明的方法使用。合适的抗炎剂可以全身地施用, 或者可以通过吸入施用。示例性的制剂包括, 但不局限于非甾族抗炎药物 (例如, 异丁苯丙酸, 他克莫司, 色甘酸, 奈多罗米), 环加氧酶-2-特异性抑制剂, 如 rofecoxib (Vioxx®) 和 celecoxib (Celebrex®), 和糖皮质激素。

可以通过气溶胶化使用的特别有效的糖皮质激素制剂包括, 例如丙酸氯地米松, 氟尼缩松, budesonide 和去炎松。其他有用的糖皮质激素制剂包括强的松龙, 地塞米松和氟替卡松。尽管哮喘是使用皮质甾类的主要肺状况, 当呼吸道上皮受到吸烟的病变时也可以使用所述制剂, 例如, 慢性支气管炎和肺气肿。还可将皮质甾类用于治疗其他

肺部疾病，如肉样瘤病，肺泡炎和慢性发炎状况。所述药物可以通过口服，静脉内（例如，在严重情况下）或通过吸入使用。优选给所述患者施用吸入的皮质甾类，因为需要的剂量少的多，并且是直接输送到肺中的小的空气通道中，因此具有很少的相关的副作用。

- 5 可以使用已知在吸入施用之后有效的抗炎浓度。例如，异丁苯丙酸能够以足以每天向呼吸道病变输送 25-800 毫克的浓度存在于所述组合物中。

支气管扩张剂

- 10 任何活性支气管扩张剂都可以常用剂量与所述三叶肽共同配制，以便呼吸道应用于鼻咽或气管支气管解剖学。有用的支气管扩张剂包括，但不局限于甲基黄嘌呤（例如，茶碱，可可碱，和咖啡因），拟交感神经药（例如，肾上腺素(adrenaline)，肾上腺素(epinephrine)，异丙肾上腺素，和 β -肾上腺素能激动剂），胆碱能受体拮抗剂，如异丙托溴铵和 tiotropium 和神经激肽受体拮抗剂。

- 15 肾上腺素能支气管扩张剂通常是通过吸入施用的，以便打开肺的支气管（空气通道），并且，通常被用于治疗，改善，或预防哮喘，慢性支气管炎，肺气肿，和其他肺病的症状。所述示例性的支气管扩张剂包括舒喘宁，比托特罗，肾上腺素，非诺特罗，福莫特罗，新异丙肾上腺素，异丙肾上腺素，间羟异丙肾上腺素，吡布特罗，丙卡特罗，消旋肾上腺素，沙美特罗，和特布他林。

- 20 另外，本发明的三叶肽可以与白三烯受体拮抗剂（例如，孟鲁司特，或扎鲁司特），神经激肽受体拮抗剂，抗组胺剂（例如，苯海拉明，甲美芳铵，西替利嗪，或氯雷他定）或胆碱能受体拮抗剂一起施用。

25

抗微生物剂

- 30 可以将任何合适的抗微生物剂以这些制剂的常用浓度用于本发明的组合物中。合适的抗微生物剂包括抗细菌，抗真菌，抗寄生物和抗病毒制剂。典型的抗细菌制剂（抗生素）包括青霉素（例如，青霉素 G，氨苄青霉素，甲氧苄青霉素，苯甲异噁唑青霉素，和阿莫西林），头孢菌素（例如，羟氨苄头孢菌素，头孢雷特，头孢噻肟，和头孢三嗪），四环素（例如，强力霉素，二甲胺四环素，和四环素），氨基糖苷（例

如，氨基丁卡那霉素 A，庆大霉素，卡那霉素，新霉素，链霉素，和妥布霉素），大环内酯（例如，azithromycin，克拉霉素，和红霉素），氟喹诺酮（例如，环丙沙星，洛美沙星，和诺氟沙星），以及其他抗生素，包括氟康唑，氟林肯霉素，环丝氨酸，异烟肼，利福平，和万古霉素。特别有用的制剂包括氨基糖苷，例如，包括氨基丁卡那霉素 A，庆大霉素，卡那霉素，新霉素，乙基西梭霉素，巴龙霉素，链霉素，和妥布霉素。

抗病毒制剂是能够破坏或抑制病毒复制的物质。抗病毒制剂的例子包括 1，-D-核糖呋喃糖基-1，2，4-三唑-3 氨甲酰，9- $\rightarrow$ 2-羟基-乙氧基-甲基鸟嘌呤，金刚烷胺，5-碘- 2'-脱氧尿苷，三氟胸苷，干扰素，阿糖腺苷，蛋白酶抑制剂，胸苷激酶抑制剂，糖或糖蛋白合成抑制剂，结构蛋白合成抑制剂，附着和吸附抑制剂，以及核苷类似物，如阿昔洛韦，喷昔洛维，伐昔洛韦，和更昔洛韦。

抗真菌制剂包括杀真菌剂和抑真菌剂，例如，苯甲酸，十一碳烯链烷醇酰胺，环吡酮胺，多烯，咪唑，烯丙胺，硫代氨甲酸酯，两性霉素 B，对羟基苯甲酸丁酯，氟林肯霉素，econazole，氟康唑，氟胞嘧啶，灰黄霉素，制霉菌素，和酮康唑。

已知诸如喷他脒的抗寄生物剂的其他抗微生物剂，具有呼吸道副作用。因此，同时施用三叶肽和这种类型的抗微生物剂，有可能减弱或预防副作用。

可以使用已知能有效治疗呼吸道感染的抗微生物剂浓度。

抗癌制剂

肺癌包括小细胞和非小细胞癌，可损伤肺上皮。抗癌治疗常会加重这种病变，因为很多抗癌制剂对上皮细胞具有负面影响。因此，优选在抗肿瘤之前，同时，或之后施用三叶肽，以便预防，改善，或治疗对呼吸道上皮的病变。化疗剂通常是通过静脉内注射全身性施用的。三叶肽可以作为对化疗制剂的添加剂，通过吸入同时使用，或者单独使用。对接受放射疗法的患者来说，优选通过吸入施用三叶肽，始于每一个治疗期的 1-3 天，持续整个的疗程，并且在最后一次放射疗法之后继续 1-3 天。

三叶肽的生产

三叶肽和片段可以通过本领域已知的用于表达重组蛋白的任何方法生产。可以将编码三叶肽(例如,人肠三叶因子(图4和7)),人pS2(图5和8),和人解痉多肽(图6和9)或它们的片段)的核酸导入用于表达的各
5 种类型的细胞或无细胞系统,以便能够大规模生产,纯化,和进行患者治疗。

可以制备真核和原核三叶肽表达系统,其中,将三叶肽基因序列导入质粒或其他载体,然后用于转化活细胞。可以将其中的三叶肽cDNA包括沿正确方向插入表达质粒的完整可读框的构建体用于蛋白表达。
10 原核和真核表达系统可以表达和回收三叶肽融合蛋白,其中,所述三叶肽与标记分子共价连接,这种标记有利于鉴定和/或纯化。可以在三叶肽和所述标记分子之间产生酶促或化学裂解位点,以便在纯化之后可以将所述标记除去。

典型的表达载体包括指导相当于具有质粒的细胞中插入的三叶肽核酸的大量mRNA的合成的启动子。它们还可以包括真核生物和原核生物的复制起点序列,使它们能够在宿主生物体内自主复制,包括编码遗传学性状的序列,以便能够在存在其他有毒药物的情况下选择含有载体的细胞,以及包括能提高合成的mRNA翻译的效率的序列。通过使用如病毒的调控元件(例如,来自EB病毒基因组的OriP序列),稳定的长期载体可以作为自由复制的实体保持。还可以生产业已将所述载体整合到基因组DNA中的细胞系,并且以这种方式连续地生产所述基因产物。
15 20

外源序列在诸如大肠杆菌(*Escherichia coli*)的细菌中的表达,需要将三叶肽核酸序列插入细菌表达载体。所述质粒载体包括在细菌中繁殖质粒及插入到质粒中的DNA表达所需要的若干元件。仅有携带质粒的细菌的繁殖,是通过以下方法实现的:将编码使得携带质粒的细菌能够在存在其他有毒药物的条件下生长的选择标记的序列导入所述质粒。所述质粒还包括能够由克隆的基因产生大量mRNA的转录启动子。所述启动子可以是(但不一定是)诱导型启动子,它能在诱导时启动转录。所述质粒优选还包括多接头,以便简化将所述基因沿正确方向插入所述载体的过程。还可以用哺乳动物细胞表达三叶肽。可以用三叶肽表达载体制备稳定的或瞬时的细胞系克隆,以便生产可溶(截
25 30

短的和标记过的)形式的三叶肽。例如,合适的细胞系包括 COS, HEK293T, CHO, 或 NIH 细胞系。

一旦构建了合适的表达载体,就通过转化技术将它们导入合适的宿主细胞,例如,但不局限于磷酸钙转染,DEAE-葡聚糖转染,电穿孔,显微注射,原生质体融合,或脂质体介导的转染。用本发明的载体转染过的宿主细胞,可以包括(但不局限于)大肠杆菌或其他细菌,酵母,真菌,昆虫细胞(例如,使用杆状病毒载体,以便在 SF9 昆虫细胞中表达),或源于小鼠,人,或其他动物的细胞。在三叶肽的体外表达中,还可以使用由克隆的 DNA 编码的融合体或多肽片段。分子生物学领域的技术人员可以理解的是,可以用多种表达系统和纯化系统,生产重组三叶肽和它们的片段。例如,某些上述系统描述于 Ausubel 等的文献中(*Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, NY 2000, 被收作本文参考)。

转基因植物,植物细胞,和藻类也特别适用于制备用于本发明方法和组合物中的重组三叶肽。例如,可以用本领域公知的技术制备能表达三叶肽的转基因烟草植物或培养的转基因烟草植物细胞(例如,参见美国专利号 5,202,422 和 6,140,075)。还可以利用转基因藻类表达系统生产重组三叶肽(例如,参见 Chen 等, *Curr. Genet.* 39: 365-370, 2001)。

一旦表达了重组蛋白,就可以利用诸如亲和层析的蛋白纯化技术,从细胞裂解液中分离它们。一旦分离了所述重组蛋白,如果需要的话,可以通过诸如高效液相层析的方法进行进一步纯化(HPLC;例如,参见 Fisher, *Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology*, Work and Burdon, Eds., Elsevier, 1980)。

还可以通过化学合成,生产本发明的多肽,特别是三叶肽片段,例如,采用 Merrifield 固相合成方法,液相合成方法,或这两种方法的组合(例如,参见描述于以下文献中的方法: *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2nd ed., 1984, The Pierce Chemical Co., Rockford, IL)。然后通过标准肽组装机化学任选地缩合肽片段。

下面的实施例要说明本发明的原理以及需要三叶肽治疗的场合。以下实施例并不是限定性的。

实施例 1: 由鼻病毒 (Rhinovirus) 导致的鼻炎的治疗

- 在头伤风发作之后, 马上开始给患者施用含有三叶肽的制剂。该制剂含有治疗剂量的 ITF₁₅₋₇₃。所述三叶肽可以使用标准制备方法以鼻腔喷雾剂的形式施用, 以便输送 100 微升的 50 mg/ml 三叶肽喷雾剂。
- 5 在接下来的连续 5 天, 患者通过每隔 12 小时自己施用所述鼻腔喷雾剂进行治疗。另外, 所述三叶肽活性材料可以以鼻腔解充血喷雾剂的标准剂量使用 (例如, 0.05% 盐酸氧甲唑啉)。

实施例 2: 治疗由草木花粉诱导的过敏性鼻炎

- 10 在枯草热季节中, 患有过敏性鼻炎的患者施用抗组胺剂, 如苯海拉明, 甲美芳铵, 西替利嗪, 或氯雷他定。另外, 患者同时施用含有治疗剂量的 ITF₁₅₋₇₃ 的鼻腔喷雾制剂。在一种例子中, 这种成分是使用标准制备方法的鼻腔喷雾剂, 以便输送 5 mg/ml ITF 喷雾剂。在随后的 5 天时间, 患者通过每隔 12 小时或根据需要自己施用鼻腔喷雾剂接受
- 15 治疗。在严重情况下, 所述 ITF 活性材料还可以与标准剂量的鼻腔糖皮质激素喷雾剂一起使用 (例如, 丙酸氯地米松, 氟替卡松, 莫美达松, 或去炎松)。

实施例 3: 病毒延长的支气管痉挛后的治疗

- 20 在病毒气管支气管上皮病变后治疗中, 含有三叶肽的材料可以与标准剂量的吸入的沙美特罗制剂共同配制到干粉吸入器, 气溶胶计量剂量吸入器中, 或作为存在于超声波或空气喷射喷雾器中的溶液或悬浮液。患者通过每隔 12 小时自己施用药物, 继续治疗至少 72 小时。

25 实施例 4: 成人呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的治疗。

- 急性呼吸窘迫综合征 (ARDS), 是肺对多种病变反应的特有的响应。ARDS 的治疗应当尽可能早的进行, 以便减轻所导致的对肺的病变。治疗的目的是对受损的呼吸系统 (和其他系统) 提供足够的支持, 直到所述系统有时间愈合。ARDS 的受损的呼吸系统的主要支持性治疗,
- 30 是机械通气 (呼吸机), 以便向受损的肺输送大剂量的氧气, 并且提供连续的高压水平, 被称为 PEEP (正末端呼气压力)。为了加速愈合, 通过吸入给患有确立的 ARDS 或前期 ARDS 综合征的患者施用三叶肽。

ITF₂₁₋₇₃ 的用量，在每隔 24 小时 1000 毫克的水平上。根据病例的严重程度，以及患者的临床反应，所述治疗持续至少 72 小时。重复所述治疗方案，直到愈合或进行 10 天治疗。可能更方便的是，以较少的次数（每隔 12 或 24 小时），并且以更高的浓度给所述患者施用有或没有
5 制剂的三叶草蛋白，以便增强肺毛细管上皮与所述肽的接触。可以与三叶肽治疗同时使用的其他形式的治疗包括，例如，抗生素，免疫抑制剂，血压支持治疗，插管喂饲，和利尿剂，用它减少肺中的液体。由于 ARDS 的病理学还与过量产生的氧化氮相关，如果需要的话，可以施用 NO 阻断剂。

10

实施例 5: 人呼吸道合胞病毒 (Human Respiratory Syncytial Virus) 的治疗

人呼吸道合胞病毒是在世界范围内幼儿因病毒性呼吸道疾病而住院的最重要的原因。初步感染通常会导致上呼吸道症状。尽管所述感
15 染从上呼吸道开始，它可能通过吸入分泌物或通过呼吸道上皮扩散到下呼吸道，导致支气管炎和肺炎。在所述感染期间，RSV 能导致对上皮和支气管纤毛装置的严重病变。患有 RSV 的儿童，可以进行 ITF 治疗，以便加速呼吸道上皮的恢复。患者通过吸入施用三叶肽，例如使用干粉吸入器，吸入的气溶胶计量剂量，装在超声波或空气喷射喷雾器中的
20 溶液或悬浮液。每天 3 次施用所述三叶肽，剂量为 1mg/吹气。优选还施用能减轻疾病严重程度和持续时间的气溶胶化药物利巴韦林。

实施例 6: 流感感染的治疗

流感病毒感染气管和支气管的上皮细胞。由于感染造成的对上皮的广泛病变，有可能导致严重的咳嗽以及胸部疼痛，并且，从受损的
25 细胞中释放出的细胞因子，有可能进一步导致发热，发冷，不舒服和肌肉疼痛。另外，粘膜上皮的严重病变，有可能导致二次细菌感染和支气管炎。为了缓解所述症状并且加快恢复速度，患者在出现感染症状之后，应当尽快进行三叶肽治疗。ITF 或它的生物学活性片段是用干粉吸入器施用的，气溶胶计量剂量吸入的，或以装在超声波或空气喷射
30 喷雾器中的溶液或悬浮液形式施用的。另外，患者还可以通过鼻腔喷雾进行所述三叶肽治疗。所述治疗每天进行 3-4 次，并且可以在所

述症状消失之后持续 1 周时间。

实施例 7: 慢性支气管炎的治疗

慢性支气管炎通常是由呼吸道的慢性刺激或由微生物感染导致的。同样，它是一种通常与吸烟相关的症状，并且它的发病率通常与肺气肿相关。患者通常患有带痰的慢性咳嗽。由慢性支气管炎对所述上皮造成的病变，倾向于使个体受到肺炎球菌细菌入侵，这种入侵有可能导致进一步的并发症，如肺炎。因此，呼吸道上皮的恢复或改善，有可能减轻与慢性支气管炎相关的症状。被诊断患有慢性支气管炎的患者或吸烟者，马上施用装在干粉喷雾器中的三叶肽，气溶胶计量剂量吸入，或以装在超声波或空气喷射喷雾器中的溶液或悬浮液形式施用。患者可以每天自己施用这种药物至少 3 次，持续至少 7 天时间，或者直到停止咳嗽。如果必要的话，所述三叶肽治疗还可以包括施用

15

实施例 8: 治疗由吸入烟雾导致的病变

由诸如烟雾的快速作用毒素导致的直接毒性作用，可能马上使患者致残。因此，所产生的包括支气管痉挛和肺泡病变的作用，可能导致患者的快速恶化和高死亡率。吸入烟雾有可能启动患者的炎症反应，导致组胺和其他血管活性物质释放，所述物质有可能造成对呼吸道上皮的病变。治疗根据由吸入烟雾导致的病变的严重程度而改变。治疗的主要目的是保持通畅的呼吸道，并且提供适当水平的氧气。如果呼吸道开放并且稳定的话，可以通过呼吸面罩给患者提供高流量的潮湿的 100% 的氧气。如果呼吸道组织的肿胀封闭了呼吸道，患者可能需要插入气管内插管，以便人工保持开放的呼吸道。

25

还可以通过喷射喷雾器给患者马上、并且连续地施用 ITF₁₅₋₇₃ 至少 5 天时间，以便减轻由烟雾诱导的对呼吸道上皮的病变，以及高压氧治疗的有害作用。

实施例 9: 哮喘的治疗

哮喘的控制主要涉及通过治疗潜在的炎症过程，减轻和预防症状，所述过程能诱导对呼吸道上皮的病变。另外，如果不治疗的话，

慢性发炎使得呼吸道对诸如冷空气，运动，粉尘螨，空气中的污染物过敏，因此加重对上皮的病变。因此，给哮喘患者施用茶碱，抗炎剂和治疗有效量的 ITP₁₅₋₇₃，以便改善与哮喘相关的症状，并且减轻对呼吸道的病变。

5

<110> The General Hospital Corporation

<120> 用于治疗呼吸道上皮病变的方法和组合物

<130> 50206/007W02

<140> PCT/US02/38258

<141> 2002-11-27

<150> US 60/333,836

<151> 2001-11-28

<160> 9

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 73

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapien)

<400> 1

Met	Leu	Gly	Leu	Val	Leu	Ala	Leu	Leu	Ser	Ser	Ser	Ser	Ala	Glu	Glu
1				5					10					15	
Tyr	Val	Gly	Leu	Ser	Ala	Asn	Gln	Cys	Ala	Val	Pro	Ala	Lys	Asp	Arg
			20					25					30		
Val	Asp	Cys	Gly	Tyr	Pro	His	Val	Thr	Pro	Lys	Glu	Cys	Asn	Asn	Arg
		35					40					45			
Gly	Cys	Cys	Phe	Asp	Ser	Arg	Ile	Pro	Gly	Val	Pro	Trp	Cys	Phe	Lys
	50					55				60					
Pro	Leu	Gln	Glu	Ala	Glu	Cys	Thr	Phe							
65						70									

<210> 2

<211> 84

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Met	Ala	Thr	Met	Glu	Asn	Lys	Val	Ile	Cys	Ala	Leu	Val	Leu	Val	Ser
1				5					10				15		
Met	Leu	Ala	Leu	Gly	Thr	Leu	Ala	Glu	Ala	Gln	Thr	Glu	Thr	Cys	Thr
			20					25				30			

Val Ala Pro Arg Glu Arg Gln Asn Cys Gly Phe Pro Gly Val Thr Pro
 35 40 45
 Ser Gln Cys Ala Asn Lys Gly Cys Cys Phe Asp Asp Thr Val Arg Gly
 50 55 60
 Val Pro Trp Cys Phe Tyr Pro Asn Thr Ile Asp Val Pro Pro Glu Glu
 65 70 75 80
 Glu Cys Glu Phe

<210> 3
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 3
 Glu Lys Pro Ser Pro Cys Gln Cys Ser Arg Leu Ser Pro His Asn Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Cys Gly Phe Pro Gly Ile Thr Ser Asp Gln Cys Phe Asp Asn
 20 25 30
 Gly Cys Cys Phe Asp Ser Ser Val Thr Gly Val Pro Trp Cys Phe His
 35 40 45
 Pro Leu Pro Lys Gln Glu Ser Asp Gln Cys Val Met Glu Val Ser Asp
 50 55 60
 Arg Arg Asn Cys Gly Tyr Pro Gly Ile Ser Pro Glu Glu Cys Ala Ser
 65 70 75 80
 Arg Lys Cys Cys Phe Ser Asn Phe Ile Phe Glu Val Pro Trp Cys Phe
 85 90 95
 Phe Pro Asn Ser Val Glu Asp Cys His Tyr
 100 105

<210> 4
 <211> 222
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 4
 atgtctggggc tggctctggc cttgctgtcc tccagctctg ctgaggagta cgtgggcctg 60
 tctgcaaac agtgtgcgt gccagccaag gacagggtgg actgcggcta ccccatgct 120
 accccaagg agtgcaacaa ccggggetgc tgetttgact ccaggatccc tggagtgcct 180
 tgggtgttca agccctgca ggaagcagaa tgcacctct ga 222

<210> 5
 <211> 255
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 5

atggccacca tggagaacaa ggtgatctgc gccctgggcc tgggtgtccat gctggccctc 60
 ggccacctgg ccgaggccca gacagagacg tgtacagtgg cccccctga aagacagaat 120
 tgtgggtttt ctggtgtcac gccctcccag tgtgcaata agggctgtg ttctgacgac 180
 accgttcgtg gggteccctg gtgcttctat cctaatacca tcgacgtccc tccagaagag 240
 gagtgtgaat tttag 255

<210> 6

<211> 390

<212> DNA

<213> 智人

<400> 6

atgggacggc gagacgcca gctcctggca ggcctcctcg tctggggct atgtgccctg 60
 ggggggagtg agaaacctc cccctgccag tgctccagc tgagcccca taacaggacg 120
 aactgggct tccctggaat caccagtgc cagtgtttg acaatggatg ctgtttcgac 180
 tccagtgtca ctgggggtccc ctggtgtttc cccccctcc caaagcaaga gtccgacag 240
 tgcgtcatgg aggtctcaga ccgaagaaac tgtggtacc cgggcacag ccccgaggaa 300
 tgcgcctctc ggaagtgtg ctctccaac ttcattcttg aagtgcctg gtgcttcttc 360
 ccgaagtctg tggaagactg ccattactaa 390

<210> 7

<211> 3280

<212> DNA

<213> 智人

<400> 7

atgctggggc tggctcctgc cttgctgtcc tccagctctg ctgaggagta cgtgggcctg 60
 tgtgagtact gccctgactg ccccggtggc aggggtggcg tgaagggaag ggatccagga 120
 taagggggga ttctgcattc atttaataat ggccacctgt cacatataca ctttttcctg 180
 cgtagccct ttgaagtggg tctttattgt cccatttca cagacaagga aaccgaggt 240
 cagagaaagt taacaactta tccaaggcag cctgcccag tetgtgttga aatcagggtt 300
 tgagcctgag cccatccctc atgaccccat agccatcttt gctggagatt tctaaattac 360
 aatataggtc tttatgcatt gtccacatt tacaaagaaa aaggaaagat gcaggagaaa 420
 aacctgaat tcagaacct gtcaatacag gcaggcaca ggttcattta gccattgcat 480
 agcaacctg ccattgggtg tggtgtctcc attaacccaa gtttgaagga atgaggcat 540
 ggtttttatc tgggtgtctt ctgagcaggg tcaaaggcag tggttccga acttgacgac 600
 cattagaate acctggagag ctttaaaaat cctaattgctt ggggcacacc agttacatca 660
 gggcatctcc aggcaagatc caggcctcag ctgttttggt ttgagatagc cttgctttgt 720
 cactcactgc tggagtgcag tggcacaate tcagctcaet gcaacctccg cctcctgggt 780
 tcaagcaatt cttgtgcctc ggcttcaagt agctgggatt acaggcatgc accaccatgc 840
 ccagctaatt ttttgattt ttagtagaga tggagtctcg ctatgttggc caagctgggtc 900
 tcaaactcct ggctcaagt gatcctcctg ccttggcctc ccaaagtgt ggaattacag 960
 gtgtaagcca ccattgccag ccaacgtcag tcatttttaa agctotgcag ctgattccag 1020
 tgtgagcgaa gtttggatgc caggaggata agcaattacg gactgggagc aagagaaggg 1080
 aatgtaagac actgcacgtg attgccattt tctaaggaa atactcagtt cgttaatgaa 1140
 acgcagtga cttctgtctg acatacagac atagaggctt gcctgaaaca tgaaaatatt 1200
 ggggactgaa ggatgtccc ggagggtggg acatgtcaa caattcagga aggggagatg 1260

cagaaaaaag tgaaaagcag gcagcatgog ttgcaatgat ctctatggcg tgtgcctctc 1320
 ctgtcacggg tttcatttaa aacaaagggg caagggtttg ttgggtcaaac aatgaagggg 1380
 aactttgttt ctgggttcaa gggaccccag attccccagg ggttccctgc agctggaagg 1440
 taccaggtc cgtatgtgac ttcccgagaa ggtgataaga gcgtgccaag gaaaaagaca 1500
 cttaggcaaa tggccagagt ccccgagctg agcatttaac agactgcctc tctttaaata 1560
 ttcacaggga aagtgcctc tccaaagggc gaggggttca gcagtgggtg aactcggcgg 1620
 ggtggggcgg agcgggagga tgcaaacctg caaagtgaag caaacacact caccgcagcc 1680
 cagcaagggc tctggcagct gacagggtt tgtctgggac agctgcaaac cagtgtgccg 1740
 tgccagccaa ggacagggtg gactgcggct acccccatgt ccccccaag gagtgaaca 1800
 accggggctg ctgctttgac tccaggatcc ctggagtgc ttgggtgttc aagccctgc 1860
 aggaagcagg taaggcccca gtggcatcgt ggtctgggac cagcccata aggcaggggg 1920
 tctcagggcc tccctgtcct ttctgggtg gagatggagg cacaaggacc ccagggaagg 1980
 acacacacac acctgttcca aggcctcaga gcagaggctt cacacttagg gcagccatgg 2040
 ccaggggctg tctcttctg tccctttat gtaaacata aaagcaatg tttcaaaaag 2100
 gtgttcaaaa tgatggcatc gcataaggg aactgattta gtaactatc ttgagagaag 2160
 tggaaacgca taggtgtgga aagccgggcc gacttttggg ctgtttttgc aaatcgccc 2220
 cccagagtct tgcatttgt ggcatccct acacagacgg caggcggtcc cagccctaga 2280
 cgtcaggcct cgggtgccca cccacctcc cccactctgc ccccacaag ggtcatctcc 2340
 tctccctctc tctgcctgg tggagggcag gtgcagggca accacctgg gggttccctc 2400
 cccagggcgg gagagcctgc gtgtctgtgog ggtaacagat ggccctgcac acgggtttgc 2460
 caccctggct ccaccaggct tagctgccc acatcgtggg tggggcgatt ggctataagc 2520
 catctgccat gtccaagtgc cagctcagcc cccacgaagg ccgcacctgc gtgaggtagc 2580
 ttcttggaac cagcatccag aggggcctct ctgcccctt gtctagggt gaaatggggg 2640
 aggtgagtc ctgtggccc cggctccctg atcaatgatg ggcccctgc cagggcctcc 2700
 cttcaccctc cccagcaagt ccagggtagg ggtgggggtg ggggtccaga gaaggccagg 2760
 agagagagg gtctggctac tgtccactgc cggctcgtt ccttcagct cactggaact 2820
 acactctcct ctgagtcca gccatggccc tgccaaggcc catctcgtt gttatctgcc 2880
 tgatccctgg gtccactat cttgcttagc aaccgaggt gggaatctt gctattccc 2940
 catgtgtgtg ggactcaaca ctcccgggt actctgggga ggaggcagca ctaggtgctg 3000
 gccttggagc ctgcccagc cttgggaagc tgggcagcgt ggggtggagag agactgtca 3060
 cacaagcctt tctctgttt gcagaatgca cctctgagg cactccagc tgcctccggc 3120
 cgggggatgc gaggtcggga gcaccctgc cgggtgtga ttgtgccag gcactgttca 3180
 tctcagcttt tctgtccct tctcccggc aagcgttct gotgaaagt catatctgga 3240
 gcctgatgtc ttaacgaata aaggtccat gctccaccg 3280

<210> 8

<211> 4623

<212> DNA

<213> 智人

<400> 8

dccctggggg gcagctgagc tagacatggg acggcgagac gccagctcc tggcagcgt 60
 cctcgtcctg gggctatgtg cctggcggg gagtgagaaa cctgtaagt gaaggagagg 120
 gtctttttat gtgtttctt tatttctctt aaagaaaaaa aaaaagcaca accataaatt 180
 aacttgagag ggggaatggc tataaaggca tctggcaatg tgtgtgttc acatgggatt 240
 tgccactgct caggagggtg gctccaagaa gggcctccct cctagggaaa ggctgagtga 300
 cggcagggtg cagcgggccc cgtgtcgggc caggagggca tcccaccaa gggctccttg 360
 agtcccagag cactcactc tgcctggat cttggccttg ggctcatctg ttaccctcc 420

tctaggaggg ttttgtttt gtttttttc gagacaggat ctggctttgc cgeccaggea 480
 ggagtgcagt ggtgtgatct tggtcactg caacctctgc ctcccaggct caagtgatcc 540
 tcccacctca gcgcctgag tagctgaaac cacagttgtg gaccatcatg ccgggccaat 600
 tttttttttt gtattgtttg tagagatggg gtttcgacat gttgccagg atggtcttga 660
 actcctgagc tcaagcaatc tgcgcgcctc ggcttccaa agtctctgga ttataggtat 720
 gagccaccat gcctggcttt tttttttttt tccttttaaa ctaatataac aatttcagca 780
 aagccctatc ggcttctcag gaggaaccg cattgcttaa atatgggcaa gataagactt 840
 tgtgtttctc tatgtggcaa caagacagta gaggcctccc ctagaacctc tgagagaagg 900
 agcagtgtgg tctgggttac cagggtaggg cogactgagg gtctttccac agccccctgc 960
 cagtctcca ggctgagccc ccataacagg acgaactgog gcttccctgg aatcaccagt 1020
 gaccagtgtt ttgacaatgg atgtctttc gactccagtg tccctgggtt cccctgggtg 1080
 ttccaccccc tcccaaagca aggtaatctt ccagggaatc ttctggggcc agcagctggc 1140
 aaccaggac ccagcttcac aggcggagcc cagagcaggg gccggaggag gccagttgc 1200
 tagtctaggg ttagcctggg tgggttagtc tcgagctagc cccggttgg tagtctgggg 1260
 ctageccagg ttggttagtc tagagctagc ccaggttgg tagtctgggg ctageccagg 1320
 ttggttagtc tggggctagc ccaggttgg tagtctaggg ctagttagg ctagttagtc 1380
 taaggctagc ccaggttgg tagtttgag ctagcgcagg ttggttagtc tggggctagt 1440
 agcccaggtt ggtagcctg gactagccc aggttggtta gtctagggc agcgtaggct 1500
 ggtagtctg ggctagccc aggttggtta gtctggagc agcccaggtt ggtagtctg 1560
 ggctagtag cccaggttgg ttagtctgg gctagcccag gttggttagt ctagggctag 1620
 ttaggctag ttagtctagg gctagcccag gtagttagt ttggagctag cacaggttga 1680
 ttagtctgg gctagtagc taggttgggt agtctggagc tagcccaagt tggtagtct 1740
 agggctagca taggttgggt agtctggggc tagtagccta ggtttgttag tctggagcta 1800
 gccaggttg gtagtctag gctagccta ggctggttag tctagggcta gccaggttg 1860
 gttaatcgga gctagcccag gttggttagt ctggagctag cccaggttgg ttagtctgag 1920
 gctagtagc caggttgggt agtctggggc tagcccaggt ttgttagtct ggagctagc 1980
 caggttgttt agtctggagc tagcccaggt tggtagtct gggactagc tggactgcta 2040
 gtctagaggt agcctagagg actgctagtc tagaggtagt ctagggotag cccaggttgg 2100
 ttagtctgg gctagcccag gttggttagt cttagactag cctggactgc tagtctagag 2160
 gtagcccagg ttgttttagc tggtagtagc ctggactgtt agtctagagg tagcccaggt 2220
 tggtaggtt ggtagtctg ggactagtct ggactgttag tctagaggta gccaggttg 2280
 gtagtctgg gactagcctg gactgttagt ctagaggtag ccagattgg ttagtctggg 2340
 actagtctgg actgctagtc tagaggtagc ccaggttgg tagcctgggg ccagcctgga 2400
 ctgttagtct agaggtaacc caggtcagcc aacagtgaga tgaaaattc ccacctacc 2460
 tgtttctaca ctgttagtct tttcaacaga catgtgtgtg tggagccatc agttttactt 2520
 tagttgagaa aaaaatatat atatatatag taggtctctc ctagtttttg aagtgtgact 2580
 tctgaagaag cttccatggg gaaatgaagg tatttaatag gacagcagta acataagggc 2640
 tgacagccct caaatgttag ggaaggaagt gaagcctct agggttcttt gggagttagt 2700
 tttatgttag tgacgggat caggacccaa gttgtaacgc cgacgagtgc tcaaaggaag 2760
 gttgtgtgtg tgcgtgcac ctgtgtgctt ggaaccaggc acgtctctg gagaaggagg 2820
 attcatcccc aagattgttg ctgggaggt tctggggccc cgcagggaag ccaggcagat 2880
 ggtggattgt tcacgagcgc cactgaatg gcagtgtctt tgggaatcaa taccatgtcc 2940
 aaacgtttc catctacca aggtgccac aaacctttc tcatcttggc cggggggacc 3000
 acccattta ctgagaacac tgagtccga gagcgaat gatttccca aggcggggga 3060
 ctccagagct tctgactgtg accaccccac atggggccca ccttcggga ggacaggcca 3120
 gccaaagctc gctggggccg acactccac agtccccggg ggaggcggc ccaggggccg 3180
 acactccac agtccccggg ggaggcggc ccgggggatg ctgcccagg cagcacctca 3240
 tgateccagg aggtgcaaa tcagcgtgc tctcagagga ggaagggtg gagctttcca 3300

```

gggcacagca ggccctgactg ggtctcgggtg ctgtgcctgt cccatggcag agtcggatca 3360
gtgcgtcatg gaggtctcag accgaagaaa ctgtggctac ccgggcatca gccccagga 3420
atgcgcctct cggaagtgtc gcttctccaa cticattctt gaagtgcctt ggtgcttctt 3480
cccgaaagtct gtggaaggta acgtcgtctg gggactctct gtctggttcc cggacaccat 3540
gattcctcct ccgtccgtag aggtgggggtg caggaggggg agctgcctcg cagcctcagt 3600
gccatcgagg ccagggtccc tgcctctat gggattctga aggcaattcc agaattgtct 3660
tggaagac agcgtctttt caataagttt atagcctcca gcattgccac tgcgtcatct 3720
gtgatggctc tagaaacagc ggctcctccc tgttgcctcc ccaggtgttg caacgttcag 3780
aggcgttgc tgttttattg caagccctat tgcatttga ggtactgag tgtcttgcac 3840
tgtgctgggt accagagagg gcccaactca agcagacctg gccctctct ccgtggcttc 3900
ccgttctcc cccacatgac ccgaatgac aaacctcct cacaacgtcc tgcctcgggc 3960
agtcctggga gggtcccgcc ggcagagggtg aacgggtcca ctctctccac ccgttagtg 4020
atagtgtgtt cctgactcgg agtgtggcga ggtaaaaaaa gaccaagcag atccaggaaa 4080
atggggaaag agctactggc ccttgaagga tgcctttct tttccttttg ttaggatct 4140
aaagcctcc aaagagcgaa atatttctat ttcaggattt tccagtgat ttttttatg 4200
tgacctaaag gtccacctag aaaatgttca ctgtctggg gagaatgcgc cccacagagg 4260
aaactctggc ctgggggtggg aagatttgg ccttttacac cccctcccg ggaaaggagc 4320
tccttcttca gtaggaagct cctgggcaaa gtgatgcacg cccacccag ctctgcagcc 4380
taggcactcc ctttctggg gtctccttac caacctctt gcatttaaac ttctagactg 4440
ccattactaa gagaggtcgt ttccagagga tgcctctggt taccgggtg ttccgaaacc 4500
aaagaagaaa ctctgcctta tcagcttcat acttcatgaa atcctgggtt ttcttaacca 4560
tctttctct attttcaatg gtttaacata taatttctt aaataaaacc cttaaaatct 4620
get 4623

```

<210> 9

<211> 4252

<212> DNA

<213> 智人

<400> 9

```

atccctgact cgggggtccc tttggagcag agaggaggca atggccacca tggagaacaa 60
ggtgatctgc gccctggtec tgggttccat gctggccctc ggcaacctgg ccgaggccca 120
gacaggtaag gcgtgcttct tctgtctctg tggggccaca gccagctctg gcagcctccg 180
ccaggagcca ctgttttaca tacatatttt tgagcacctg ttttgtgcca ggtgctgttc 240
taggccttta aaagtatct caatttacag gatcgcaaaa agcaggtgga gagtaactca 300
gggtggcagg gccccgggag accttgcaga agtgcgacga ggaggggggt gccttcagtc 360
gggctgtttt tctgtgttga ggaagactat acaatctccc caagtgtcat gtttcaaga 420
ggaagtgttg gcgtggggtc tcagaatagt gcttttgaat gtctatgcca acatctcccc 480
caggggcaga cctctccaag gcccatccag ataggcccaa atgcgggtcc cagtgtatggc 540
caactgggag acctctccc acaggcccca atgcctgtcc cagtgggtgc caactgggag 600
acctctctct acaggttctt gggtctccct gggatccatg ctctgggagt caaagccacc 660
tctctcatga gtgcgtggct ggcaacctat attccttgt gttgtcaagt ggatcggttg 720
ccctgggtcc ttctagggag tggaggagga ggccattctt gcttcttgg gaagtgttg 780
catctcaact cctttacctg cagaatggat caacggtctg ccctagggct gtcaggaaat 840
gctgtgtggc agcatctgcg acttgcactt tgcagctgt ggggagctga ataactatt 900
tgccttatt aggtacagtt tcaagggtgg ggcaggagaa agggctttct acgtttccaa 960
agcaaggggt tccagagagg cctgaagagg gagcgcacag tgggtgtgtc cgtgccccca 1020
ctgcctcca gccacctctt gatctctgt gtggggtaac ggccctgagg ggtgggcttg 1080

```

```

ggcagcgtag aagagcagcc agcattgggc tgcagtggga agacccccaa gcccatggca 1140
gggagcgggg gagctttgga acccgagaga ggaagtggcc tcggtgtaca gaacgaactg 1200
ggtgggtccc cgtgctggcc acccccaggc ccatctgcct gcgcccttgc cccaccccc 1260
gccccagct ctgccccctg tgctgtggga tcacagagge cgtggcaaac tccccctccc 1320
acccccacaca cctcttggt caaggtcag agcgtctttg cgggtcactc aggtccatga 1380
tctgtttaca actgaaatct agaaaattgt gattacagtt tagtgcatte gtgtgtggaa 1440
accatttcca ttattttcca tcatcgaca aagacaaagc ggggtgggca gacagagtct 1500
gccggaggca gagcacggg gctggaaatc ttctccctg aggaggaaac cccccgacc 1560
cccaggatga tgatctccc tcaccaggg gcctctcttg acccccacag tgccccggg 1620
gtggcgatg atcaccttca cgtcgcatg gatccagacc ccaggagggc aaggttcccc 1680
tggaagctgc tgggcagcgg gagctgaaca cggatccctc ccagcaagcc aggaacactt 1740
tctccaaaga catctcgagg cagtccctga tagcaagca gacaagagaa cagccccctc 1800
cggtccccc tggggcgccc tcacctgagc cagtgtggcc agactgagtt cctccccctc 1860
tatgccccaa ggcagggaca gggaccggag ggtgctctgg gctcctcttt cccccctgc 1920
tgcaggctgt caaccaccag atcctaata gttgctttct gagaccttg attccggga 1980
gctcagagcc tgaagctctg gtgttagaac ctcttgata agatcctgcg gcagccccca 2040
gccagcccc tatgtccacg tgtcttctc ctctagatcc ctttctcac tgccctgctt 2100
caagctgttt cacagcttgt acctctgtc ggtcctcct agaccacccc acccggtcct 2160
ctcaccttac ctgcaatggg ttccacctc ctgaacacac ctgggtctct ggaatggcct 2220
ttgccatgc ggtccatct tcacctggtg aacctctcc tgcaggagc cccctgctt 2280
tgttaacct gcttgctatt ggcctctcc gggagtccc taccocctg gttacctgg 2340
gcacctggg acgatggcct tgcgtgtct cgcacatgtt cttgccttc tcctccatca 2400
gactcctaga ctctttttt tttttttt agatggagtc ttgtctgtc actcaggtg 2460
gagtgcattg tgcgatctt ggtcactac aacctctgc tctgggttc aagtattct 2520
cctgcctcag cctcccaagt agctgggatt acagacgtgt gccacaatgc ccgctaatt 2580
ttttgtatt ttagtagaga tggggttca ccattttgt caggctggtc ttgaactcct 2640
gacctcaagt gattcacctc cttcagctc ccaaagtgt gggattacag gcatgacct 2700
gggcccagat atttagactc ttattaatga cttctctggt tttaattct ggtctctct 2760
cacctggcac agtgctggtc ttttgcatg ctagctccca cttctcatgc acacaaatgg 2820
tgctcagtaa atatttatgt attgagtaa atttaataat catttgttga aattaaaaag 2880
tgaataaata agttacctag aaagatgcaa agtcacaaa cctggggcac cttgcatttt 2940
cctgagcgt aatgtttgca cateaggatg tgaggaccac gtctccctct catgtcctga 3000
gggttttata tccgctcac tggacagttg ctgatgtcat tggagaagga agctggatgg 3060
gtgtgtgcat gataacatca aggaatcag cccacaactc actttgctc ttacctgtgc 3120
actttcagag acgtgtacag tggtccccc tgaaagacag aattgtggtt ttctggtgt 3180
cacgcctcc cagtgtgcaa ataagggtg ctgtttcgac gacacgttc gtgggtccc 3240
ctggtgctc tatcctaata ccctcagct ccctccagaa ggtatggcct ttttatacga 3300
tgggttctga agatttagaa ttagttagaa aagtcattta agactacaga ggtctgctc 3360
agcateacca gctatgcctt tacacagagt cacggccgcc agtggtggtg caatggggta 3420
gcctgagtc ggtgcattc aggtccagga atagaaagc agggctaagg gacttgggaa 3480
gaaacctgat tccccccg cttctctca catctctaac caaaagcctg ggaagagcca 3540
ctgttggtaa cgttttctag cttgcctagg atagagggg aaggcatgac gaaatctgaa 3600
gacatttcat gtattcttt tttttttt tttttgaaat ggagtctgc tccgttccc 3660
ctgagctgga gtgcaatggt gcgatcttg ctcactgcaa tctctgcctc ctgagttcaa 3720
cctcagctc ctagtagctg agattacagg tgtgtgccac tacgccagc taaatTTTT 3780
ttgtatttt agtatagac gggtttccc atgttgcca gaccgtctt gaactcttga 3840
cctcaggtga tctgcccgc tcagcctccc agagagctgg gattacaggc gtgagccacc 3900
gtgccggct gacagttcat gttttctaaa gaatgtgct atggatactt taaagtaaaa 3960

```

```
actctgtaat tgtttaaatg tgaagaaaa tgtttatcct cactaaagca tctctttctc 4020
cctccccctc acccctgtag aggagtgtga attttagaca cttctgcagg gatctgcctg 4080
catcctgacg cgggtgcgctc ccagcacgg tgattagtcc cagagctcgg ctgccacctc 4140
caccggacac ctcagacacg cttctgcagc tgtgcctcgg ctcacaacac agattgactg 4200
ctctgacttt gactactcaa aattggccta aaaattaaaa gagatcgata tt          4252
```

1 MLGLVLALLS SSSAEEYVGL SANQCAVPAK DRVDCGYPHV
41 TPKECNRGC CFDSRIPGVP WCFKPLQEAE CTF (SEQ ID NO.:1)

图 1

```
1  MATMENKVIC ALVLVSMLAL GTLAEAQTET CTVAPRERQN
41 CGFPGVTPSQ CANKGCCFDD TVRGVPWCFY PNTIDVPPEE
81 ECEF      (SEQ ID NO.:2)
```

图 2

```
1  EKSPQCQCSR LSPHNRTNCG FPGITSDQCF DNGCCFDSSV
41 TGVPWCFHPL PKQESDQCVM EVSDRRNCGY PGISPEECAS
81 RKCCFSNFIF EVPWCFFPNS VEDCHY      (SEQ ID NO.:3)
```

图 3

```
1   atgctggggc tggtcctggc cttgctgtcc tccagctctg ctgaggagta cgtgggcctg .  
61  tetgcaaacc agtgtgcogt gccagccaag gacagggctg actgcggcta ccccatgtc  
121 accoccaaagg agtgcaacaa ccggggctgc tgctttgact ccaggatccc tggagtgcct  
181 tgggtgtttca agccoctgca ggaagcagaa tgcaccttct ga (SEQ ID NO.:4)
```

图 4

```
1   atggccacca tggagaacaa ggtgatctgc gccctggtcc tgggtgtccat gctggccctc
61  ggcaccctgg ccgaggccca gacagagacg tgtacagtgg ccccccgtga aagacagaat
121 tgtgggttttc ctggtgtcac gccctcccag tgtgcaaata agggctgctg ttctgacgac
181 accgttcgtg gggccccctg gtgcttctat cctaatacca tcgacgtccc tccagaagag
241 gagtgtgaat tttag (SEQ ID NO.:5)
```

图 5

```
1   atggggacggc gagacgcca gctcctggca gcgctcctcg tcctggggct atgtgccctg
61  gcgggggagtg agaaaccctc cccctgccag tgctccaggc tgagccccc taacaggagc
121 aactgcggct tccctggaat caccagtgc cagtgttttg acaatggatg ctgtttcgac
181 tccagtgtca ctgggggtccc ctgggtgttc caccctctcc caaagcaaga gtcggatcag
241 tgcgtcatgg aggtctcaga ccgaagaaac tgtggctacc cgggcatcag ccccgaggaa
301 tgcgcctctc ggaagtgcctg cttctccaac ttcattcttg aagtgcctg gtgcttcttc
361 ccgaagtctg tggaagactg ccattactaa (SEQ ID NO.:6)
```

图 6

```

1   atgctggggc tggctcctggc cttgetgtcc tccagctctg ctgaggagta cgtgggcctg
61  tgtgagtact gccctgactg ccccggtggc aggttgggcg tgaagggaag ggatccagga
121 taagggggga ttctgcattc atttaataat ggccacctgt cacatataca ctttttctg
181 cgctagccct ttgaagtggg tctttattgt ccccatttca cagacaagga aaocgaggct
241 cagagaaagt taacaactta tccaaggcag ccctgccag tctgtgttga aatcagggtt
301 tgagcctgag cccatccctc atgaccccat agccatcttt gctggagatt tctaaattac
361 aatataggctc tttatgcatt gtccacatt tacaagaaa aaggaaagat gcaggagaaa
421 aaccctgact tcagaacact gtcaataccg goaggcacia ggttcattta gccattgcat
481 agcaaccctg ccatgggggtg tggctgctcc attaacccaa gtttgaagga atgagggcac
541 ggcttttctc tgggtgtctt ctgagcaggg tcaaaggcag tggttcccca acttgcagcc
601 cattagaatc acctggagag ctttaaaaat cctaagtctt ggggcacacc agttacatca
661 gggcatctcc aggaagatc caggcctcag ctgttttgtt ttgagatagc cttgctttgt
721 cactcactgc tggagtgcag tggcacaatc tcagctcact gcaacctccg cctcctgggt
781 tcaagcaatt cttgtgcttc ggcttcaagt agctgggatt acaggcatgc accaccatgc
841 ccagctaatt ttttggtatt ttagtagaga tggagtttcg ctatgttggc caagctggtc
901 tcaaaactct ggctcaagt gatcctcctg ccttggcttc ccaaagtgtt ggaattacag
961 gtgtaagcca ccatgccag ccaacgtcag tcatttttaa agctctgcag ctgattccag
1021 tgtgagcgaa gtttggtatgc caggaggata agcaattacg gactgggagc aagagaaggg
1081 aatgtaagac actgcacgtg attgccattt tccaaaggaa atactcagtt cgttaatgaa
1141 acgcagtga cttctgctgc acatacagac atagaggctt gctgaaaca tgaaaatatt
1201 ggggactgaa ggatgtcccg ggagggtggg acatgctcaa caattcagga aggggagatg
1261 cagaaaaaag tgaaaagcag gcagcatgcg ttgcaatgat ctctatggcg tgtgctctc
1321 ctgtcacggc tttcatttaa acaaaagggg caagggtttg ttggtcaaac aatgaagggt
1381 aactttgttt ctgggttcaa gggaccccag attcccaggg ggttcctgcc agctggaagg
1441 taccaggtc cgtatgtgac ttcccagaaa ggtgataaga gcgtgccaag gagaaagaca
1501 cttaggcaaa tggccagagt ccccgagctg agcatttaac agactgcctc tctttaata
1561 ttcacaggga aagtgcattc tctaaggggc gagggtttca gcagtgggtg aactcggcgg
1621 ggtggggcgg agcgggagga tgcaaaactg caaagtgaag caaacacact caccgcagcc
1681 cagcaagggc tctggcagct gacagggctt tgtctgggac agctgcaaac agctgtgccg
1741 tgccagccaa ggacagggtg gactgcggtt acccccatgt caccoccaaag gagtgcaca
1801 accggggctg ctgctttgac tccaggatoc ctggagtgc tgggtgtttc aagccctgc
1861 aggaagcagg taaggcccca gtggcatcgt ggtctgggoc cagccocata aggcaggggg
1921 tctcaggggc tccctgtcct ttctgggctg gagatggagg cacaaggacc ccaggaagcc
1981 acacacacac acctgttcca aggcctcaga gcagaggctt cacacttagg gcagccatgg
2041 ccaggggctg tctctttctg tcccctttat gtaaaacata aaagcaattg tttcaaaaag
2101 gtgttcaaaa tgatggcatc gcatagaggg aactgattta gtaactattc ttgagagaag
2161 tggaaacgca taggtgtgga aagccggggc gacttttggg ctgtttttgc aaatcggcc
2221 cccagagtct tgtcatttgt ggcatccctc acacagacgg caggcggtcc cagccctaga
2281 cgtcaggcct cgggtgcaca cccacctcc cccactctgc ccccccacag ggtcatctcc
2341 tctccctctc tctgcccgtg tggagggcag gtgcagggca accacccctg gggttccctc
2401 cccagggggc gagagccctg gtgctgtgct ggtaacagat ggcctgcac acgggtttgc
2461 caccctggct ccaccaggct tagctgcctc acatcgtggg tggggcgatt ggctataagc
2521 catctgcat gtccaagtgc cagctcagcc cccacgaagg ccgcacctgc gtgaggtacc
2581 ttcttggaac cagcatccag aggggcctct cttgccctt gtcttagggg gaaatgcggg
2641 aggctgagtc ctgctggccc cggctccctg atcaatgat gggccctgcc cagggcctcc

```

图 7

```
2701 cttcacccctc cccagcaagt ccagggtagg ggtgggggtg ggggtccaga gaaggccagg
2761 agagagaggg gtctggctac tgtccactgc cggtcctggt ccttcagctc cactggaact
2821 acactctcct ctgagtgccg gccatggccc tgccaaggcc catctcgctt gttatctgcc
2881 tgatccctgg gtcccactat cttgcttagc aacccgaggt gggaatcttg gctattcccc
2941 catgtggtgg ggactcaaca ctccccggtg actctgggga ggaggcagca ctaggtgctg
3001 gccttggagc ctgccctgac cttgggaagc tgggcagcgt ggggtggagag agactgctca
3061 cacaagcctt tgctctgttt gcagaatgca ccttctgagg cacctccagc tgcccccggc
3121 cgggggatgc gaggctcgga gcacccttgc ccggtgtga ttgctgccag gcactgttca
3181 tctcagcttt tctgtccctt tgcctccggc aagcgcttct gctgaaagtt catatctgga
3241 gcctgatgtc ttaacgaata aaggteccat gctccaccg (SEQ ID NO.:7)
```

图 7

```

1  ccctggggtg cagctgagct agacatggga cggcgagacg cccagctcct ggcagcgctc
61  ctctgcctgg ggctatgtgc cctggcgggg agtgagaaac cctgtaagtg aaggagaggg
121 tctttttatg tgctttcttt atttctctta aagaaaaaaa aaaagcacaa ccataaatta
181 acttgagagg gggaaatggct ataaaggcat ctggcaatgt gtgttggtca catgggattt
241 gccactgctc agggagggtgg ctccaagaag ggcctccctc ctagggaag gctgagtac
301 ggcagggtgc agcgggcccc gtgtcgggcc aggagggcac tcccaccaag ggtccttgga
361 gtcccagagc actcacctct cgccctggatc ttggccttgg gtccatctgt toaccctcct
421 ctaggagggt tttgtttttg tttttttcgg agacaggatc tggctttgce gccaggcgag
481 gagtgacagt gtgtgatctt ggctcactgc aacctctgcc tcccaggctc aagtgatcct
541 cccacctcag ccgcctgagt agctgaaacc acagtgtgtg accatcatgc ccggccaatt
601 tttttttttg tattgtttgt agagatgggg ttctgacatg ttgccaggga tggctctgaa
661 ctcttgagct caagcaatct gcccgcctcg gcttcctaaa gtgctgggat tataggtatg
721 agccaccatg cctggctttt tttttttttt ccttttaaac taatataaca atttcagcaa
781 agccctatcg gcttctcagg aggaaccgcg attgcttaaa tatgggcaag ataagacttt
841 gtgtttctct atgtggcaac aagacagtag aggcacccc tagaacctct gagagaagga
901 gcagtgtggt ctggggtacc aggggtggggc cgactgaggg tctttccaca gccccctgcc
961 agtgctccag gctgagcccc cataacagga cgaactgcgg ctccctgga atcaccagtg
1021 accagtgttt tgacaatgga tgctgtttcg actccagtg cactggggtc cctgggtgtt
1081 tccacccctt cccaaagcaa ggtaatcttc cagggaatct tccctggcca gcagctggca
1141 accaggacc cagcttcaca ggcggagccc agagcagggg ccggaggagg cccagttgct
1201 agtctagggg tagcctgggt gggttagtct cgagctagcc ccggttggtt agtctggggc
1261 tagccagggt tggttagtct agagctagcc caggttggtt agtctggggc tagccagggt
1321 tggttagtct ggggctagcc caggttggtt agtctagggc tagtgtaggc tagttagtct
1381 aaggctagcc caggttggtt agtttgagc tagcgcaggt tggttagtct ggggctagta
1441 gccagggttg gttagcctgg agctagccca ggttggttag tctggagcta gccaggttg
1501 gttagtctgg ggctagccca ggttggttag tctggagcta gccaggttg gttagtctgg
1561 ggctagtagc ccaggttggt tagtctgggg ctagcccagg ttagttagtt tggagctagc acaggttgat
1621 gtaggctagt tagtctaggg ctagcccagg ttagttagtt tggagctagc acaggttgat
1681 tagtctgggg ctagtgcct aggttggtta gtctggagct agcccaagtt ggttagtcta
1741 gggctagcat aggctgggtta gtctggggct agtagcctag gtttgttagt ctggagctag
1801 cccagggttg ttagtctagg gctagcgtag gctgggttag ctagggctag cccagggttg
1861 ttaatcgga ctagcccagg ttggttagtc tggagctagc ccaggttggt tagtctgagg
1921 ctagttagccc aggttggtta gtctggggct agcccaggtt tgtagtctg ggactagcct
1981 aggttggtta gtctggagct agcccaggtt ggtagtctg ggactagcct ggactgctag
2041 tctagaggta gcctagagga ctgctagtct agaggtagtc tagggctagc ccaggttggt
2101 tagtctgggg ctagcccatg ttggttagtc ttagactagc ctggactgct agtctagagg
2161 tagccagggt tgtttagtct ggtactagcc tggactgtta gtctagaggt agcccagggt
2221 ggtaggttg gttagtctgg gactagtctg gactgttagt ctagaggtag cccaggttgg
2281 ttagtctggg actagcctgg actgttagtc tagaggtagc ccagattggt tagtctggga
2341 ctagtctgga ctgctagtct agaggtagcc caggttggtt agcctggggc cagcctggac
2401 tgtagtcta gaggttaacc aggtcagcca acagtgagat gaaaatttcc cacctaccct
2461 gtttctacac tgtagttct ttcaacagac atgtgtgtgt ggagccatca gttttacttt
2521 agttgagaaa aaaatatata tatatatagt aggtctcctc tagtttttga agtgtagctt
2581 ctgaagaagc ttccatgggg aaatgaaggt atttaatagg acagcagtaa cataagggct
2641 gacagccctc aaatgttagg gaaggagtg aagccttcta gggttctttg ggagttagtt

```

图 8

```

2701 ttatgttagt gcaogggatc aggaaccaag ttgtaacgcc gacgagtgct caaaggaagg
2761 ttgtgtgtgt gtogtgcacc tgtgtgcgtg gaaccaggca cgtcctctgg agaaggagga
2821 ttcaccccca agattgttgc tgggaggctt gctgggcccc gcagggaac caggcagatg
2881 gtggattgtt cacgagcgcc cactgaatgg cagtgtcttt gggaaatcaat accatgtcca
2941 aacgctttcc atcttaccac ggtgccaca aaccttttct catcttggcc cgggggacca
3001 ccccatTTac tgagaacact gagtcccgag aggcAAAatg atttcccaa ggcgggggac
3061 tccagagctt ctgactgtga ccacccaca tgggccccac cttcgcgag gacaggccag
3121 ccaagcgctc ctggggccga cactccaca gtccccggg gaggcggtcc caggggccga
3181 cacttccaca gtccccggg gaggcggtcc tgccccaggc agcacctcat
3241 gatccacgga ggctgcaaat cagcgctgct ctgagaggag gaaggggtgg agctttccag
3301 ggcacagcag gcctgactgg gtctcggtgc tgtgcctgtc ccatggcaga gtcggatcag
3361 tgcgtcatgg aggtctcaga ccgaagaaac tgtggctacc cgggcatcag ccccgaggaa
3421 tgcgcctctc ggaagtgtct cttctccaac ttcacttttg aagtgccttg gtgcttcttc
3481 ccgaagtctg tggaaggtaa cgtcgctgtg ggactctctg tctggttccc ggacaccatg
3541 attcctctct cgtccgtaga ggtggggtgc agggagggga gctgcctcgc agcctcagtg
3601 ccatcgaggc cagggccctt gcctcctatg ggattctgaa ggcaattcca gaatgttctt
3661 ggcaaagaca gcgtcttttc aataagttta tagcctccag cattgccact gcgtcatctg
3721 tgatggtctt agaaacagcg gctcatccct gttgcctccc caggtgttgc aacgttcaga
3781 ggcgttgctt gttttattgc aagcccatct gcatttggag gctactgagt gtcttgcact
3841 gtgctgggta ccagagaggg cccaactcaa gcagacctgg ccccttctcc cgtggcttcc
3901 cgttctctcc ccacatgacc ccgaatgaca aacctcatcc acaacgtcct gctccgggca
3961 gtccccgggag ggtcccgccg gcagaggtga acgggtccac ttctcccacc cgcttagtga
4021 tagtgtgttc ctgactcgga gtgtggcgag gtaaaaaaag accaagcaga tccaggaaaa
4081 tggggaaaga gctactggcc cttgaaggat gccttttctt ttcttttgt taggatatca
4141 aagcactcca aagagcgaaa tatttcatgt tcaggatttt ccgagtgatt ttttttatgt
4201 gacctaaagg tccacctaga aaatgttcac ttgtctgggg agaatgcgcc ccacagagga
4261 aactctggcc tggggtggga agatttgggt cctttacacc cctccccgg gaaaggagct
4321 ccttcttcag taggaagctc ctgggcaaa gtagtcacgc ccacccagc ttcgagcct
4381 aggcactccc atttctgggg ttcccttaac aacctcttg catttaaac tctagactgc
4441 cattactaag agaggctggt tccagaggat gcatctggct caccgggtgt tccgaaacca
4501 aagaagaaac ttcgccttat cagcttcata cttcatgaaa tctgggttt tcttaaccat
4561 ctttctctca ttttcaatgg ttttaacatat aatttcttta aataaaaccc ttaaatctg
4621 ct (SEQ ID NO. 18)

```

图 8

```

1 atccctgact cgggggtcgcc tttggagcag agaggaggca atggccacca tggagaacaa
61 ggtgatctgc gccctgggcc tgggtgtccat gctggccctc ggcaccctgg ccgaggccca
121 gacaggtaag gcgtgcttct tctgtctctg tggggccaca gccagctctg gcagcctccg
181 ccaggagcca ctgttttaca tacatatatt tgagcacctg ttttgtgcca ggtgctgttc
241 taggccctta aaagtatatc caatttacag gatcggaaca agcaggtgga gagtactca
301 ggggtggcagg gcccccggag accttcgaga agtgcgacga ggagggggct gccttcagtc
361 ggggctgttt tcctgtgtta ggaagactat acaatcctcc caagtgtcat gtttcaanga
421 ggaagtgttg gcgtgggggc tcagaatagt gcttttgact gttcatgcca acatctcccc
481 caggggcaga ccctcccaag gccatccag ataggcccaa atgcccgtcc cagtgatggc
541 cacctgggag accctctccc acaggcccca atgcccgtcc cagtgggtggc caactgggag
601 accctctcct acaggttcct gggtccctcc gggatccatg ctctgggagt caaagccacc
661 tctctcatga gtgcgtggct ggcaacccat attccttggg gttgtcaagt ggatcggttg
721 ccttgggtcc ttctaggagg tggaggagga ggccattctt gcttccttgg gaagtgtttg
781 catctcaact cctttacctg cagaatggat caacggctct ccctaggggc gtcaggaaat
841 gctgtgtggt agcatctgcg acttgcaact tgccagctgt ggggagctga ataacttatt
901 tgccgttatt aggtacagtt tcaagggtgg ggcaggagaa agggctttct acgtttccaa
961 agcaagggtt tccagagagg cctgaagagg gagcgcaccg tgggtgctgtc cgtgccccca
1021 ctgccctcca gccacctctt gatctctgct gtgggggtacc gggcctgagg ggtgggcttg
1081 ggcagcgtag aagagcagcc agcattgggc tgagtgaggg agaccccaaa gcccatggca
1141 gggagcgggg gagctttgga acccgagaga ggaagtggcc tcggtgtaca gaacgaactg
1201 ggtgggtccc cgtgctggcc acccccaggc ccatctgect gcgccttgc ccccaccca
1261 gccccagct ctgcccctg tgctgtggga tcacagaggc cgtggcaaac tcccctccc
1321 accccacaca ccctctggct caaggctcag agcgtctttg cgggtcactc aggtccatga
1381 tctgtttaca actgaaatct agaaaattgt gattacagtt tagtgcatte gtgtgtggaa
1441 accatttcca tttatttcca tcatgcgaca aagacaaagc ggggtgggcaa gacagagtct
1501 gccggaggga gagcacggg gctggaaatc ttctccctg agggagaaac cccccgacc
1561 ccaggatga tgatcctccc tcaccacggg gcctctcttg acccccacag tgtcccggg
1621 gtgggcatg atcaccttca cgtcgcgatg gatccagacc ccaggaggggc aaggttccca
1681 tggaagctgc tgggcagcgg gagctgaaca cggatccttc ccagcaagcc aggaacactt
1741 tctccaaaga catctcgagg cagtccttga tagcaaaagc gacaagagaa cagccctct
1801 pggcctcccc tggggcgccc tcacctgagc cagtgtggcc agactgagtt cctccctcc
1861 tatgcccaca ggcagggaca gggaccggag ggtgctcttg gctcctcttt caccctctgc
1921 tgcaggtgt caaccaccag atcctaatag gttgctttct gagacctttg attccgcgga
1981 gctcagagcc tgaagctctg gtgttagaac ctcttgcata agatcctgag gcagcccca
2041 gccagcccca tctgtccacg tgtcttcctc ctctagatcc ctttctctac tgccctgctt
2101 caagctgttt cacagcttgt accctctgtc ggctcctcct agaccacccc acccggtcct
2161 ctacacctac ctgcaatggg tttccacctc ctgaacacac ctgggtctct ggaatggcct
2221 ttgcccctgc ggtcccatct tcacctgggt aacctcctcc tgcagggagc cccctgctt
2281 tgttcaacct gcttgtcatt ggctctctcc gggagtggcc taccctcggt gttacctgg
2341 gcacctggg acgatggcct tgcgttgtct cgcacatgtt cttgcttctc tctccatca
2401 gatccttaga ctcttttttt tttttttttg agatggagtc ttgctctgtc actcaggctg
2461 gagtgaatg gtgcgacttt ggctcactac aacctctgcc tccagggttc aagtgattct
2521 cctgcctcag cctcccaagt agctgggatt acagacgtgt gccacaatgc ccgcctaatt
2581 ttttgtattt ttagtagaga tggggcttca ccattttggg caggctgggtc ttgaactcct
2641 gacctcaagt gattcacctc cttcagctcc ccaaagtgtt gggattacag gcatgagcct
2701 gggcccagat atttagactc ttattaatga cttctctggt ttaatttctt gggctctctt

```

图 9

```

2761 cacctggcac agtgcctggc ttttgccatg ctagctccca cttctcatgc acacaaatgg
2821 tgctcagtaa atatttatgt attgagtaaa atttaataat catttggtga aattaaaaag
2881 tgaataaata agttacctag aaagatgcaa agtccacaaa cctggggcac cttgcatttt
2941 ccctgagcgt aatgtttgca catcaggatg tgaggaccac gtctccctct catgtcctga
3001 ggggtttata tccgcctcac tggacagttg ctgatgtcat tggagaagga agctggatgg
3061 gtgtgtgcat gataacatca aggaattcag cccacaactt actttgcttc ttacctgtgc
3121 actttcagag acgtgtacag tggccccccg tgaaagacag aatttggtgt ttcttggtgt
3181 cagccctcc cagtgtgcaa ataagggtg ctgtttcgac gacaccgttc gtggggtccc
3241 ctggtgcttc tatcctaata ccatcgacgt ccctccagaa ggtatggcct ttttatacga
3301 tgggttctga agatttagaa ttagttagaa aagtcattta agactacaga ggctctgac
3361 agcatcacca gctatgcctt tacacagagt cacggccgcc agtggtggtg caatggggta
3421 gcctgagtca ggctgcattc aggtccagga atagaaaggc agggctaagg gacttgggaa
3481 gaaacctgat ttccccccgg cttctcttca catctctaac caaaagcctg ggaagagcca
3541 ctgttggtaa cgctttctag cttgcctagg atagagggg aaggcatgac gaaatctgaa
3601 gacatttcat gtattctttt tttttttttt tttttgaaat ggagtctcgc tcogttgccc
3661 ctgagctgga gtgcaatggt gcgatcttgg ctactgcaa tctctgcctc ctgagttcaa
3721 cctcagcttc ctagtagctg agattacagg tgtgtgccac tacgcccagc taaatttttt
3781 ttgtattttt agtatagacg gggtttcacc atgttgcca gaccggtctt gaactcttga
3841 cctcagggtga totgcccgc tcagcctccc agagagctgg gattacaggc gtgagccacc
3901 gtgcccggct gacagttcat gttttctaaa gaatgtgcct atggatactt taaagtaaaa
3961 actctgtaat tgtttaaatg tgaaagaaaa tgtttatcct cactaaagca tctctttctc
4021 cctccccctc acccctgtag aggagtgtga attttagaca cttctgcagg gatctgcctg
4081 catcctgacg cgggtgccgc cccagcacgg tgattagtcc cagagctcgg ctgccacctc
4141 caccggacac ctcagacacg cttctgcagc tgtgcctcgg ctcacaacac agattgactg
4201 ctctgacttt gactactcaa aattggccta aaaattaaaa gagatcgata tt

```

(SEQ ID NO.:9)

图 9