(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115151273 A
(43)申请公布日 2022.10.04

(21)申请号 202080084253.5
(22)申请日 2020.11.25
(30)优先权数据
62/944,503 2019.12.06 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.06.02
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/062159 2020.11.25
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/113136 EN 2021.06.10
(71)申请人 美商玛丽莫里斯博士联合有限责任公司
地址 美国威斯康辛州
(72)发明人 M·S·莫里斯
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
A61K 38/28(2006.01)

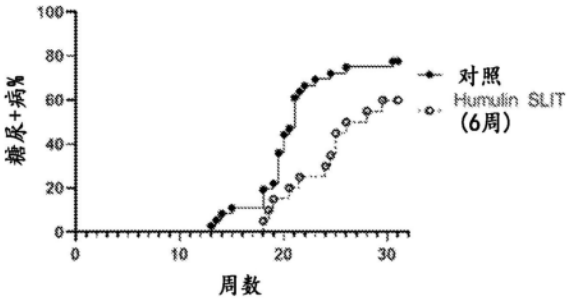
权利要求书6页 说明书13页
序列表10页 附图1页

(54)发明名称

用于治疗和预防1型糖尿病的方法和组合物

(57)摘要

本公开文本提供了预防或治疗哺乳动物受试者的1型糖尿病、降低与1型糖尿病相关的风险因素和/或降低1型糖尿病的可能性或严重性的方法。还提供了一种减弱哺乳动物对至少一种1型糖尿病相关抗原的抗原性应答的方法。所述方法包括向受试者舌下施用有效量的胰岛素相关肽。



CN 115151273 A

1.一种在有需要的受试者中延迟高血糖症的发作、延迟1型糖尿病的发作或降低1型糖尿病的可能性的方法,所述方法包括:

向所述受试者舌下施用治疗有效量的胰岛素相关肽。

2.一种在有需要的受试者中延迟高血糖症的发作的方法,所述方法包括:

向所述受试者舌下施用治疗有效量的胰岛素相关肽。

3.一种在有需要的受试者中延迟I型糖尿病的发作的方法,所述方法包括:

向所述受试者舌下施用治疗有效量的胰岛素相关肽。

4.一种在有需要的受试者中降低I型糖尿病的可能性的方法,所述方法包括:

向所述受试者舌下施用治疗有效量的胰岛素相关肽。

5.一种减弱哺乳动物对至少一种1型糖尿病相关抗原的抗原性应答的方法,所述方法包括:

向所述哺乳动物舌下施用有效量的胰岛素相关肽。

6.根据权利要求5所述的方法,其中所述至少一种1型糖尿病相关抗原包括胰岛素、胰岛素原、前胰岛素原和胰岛素β链9-23肽中的一种或多种。

7.根据权利要求5所述的方法,其中所述至少一种1型糖尿病相关抗原包括人胰岛素、人胰岛素原、人前胰岛素原和人胰岛素β链9-23肽中的一种或多种。

8.根据权利要求5至7中任一项所述的方法,其中所述受试者表现出降低的自身抗体水平,所述自身抗体选自胰岛细胞抗体(ICA)、谷氨酸脱羧酶-65(GAD-65)抗体、胰岛素自身抗体(IAA)、胰岛素瘤相关蛋白2A(IA-2A)自身抗体、胰岛素瘤相关蛋白2β(IA-2β)自身抗体或锌转运蛋白8(ZnT8)自身抗体。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的方法,其中将所述胰岛素相关肽每天施用一次,每周施用至少五天,持续至少7周。

10.根据权利要求1至8中任一项所述的方法,其中将所述胰岛素相关肽至少每天施用一次,持续至少7周。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体,所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。

12.根据权利要求11所述的方法,其中所述第一氨基酸序列对应于胰岛素β链氨基酸序列;和/或所述第二氨基酸序列对应于胰岛素α链氨基酸序列。

13.根据权利要求1至12中任一项所述的方法,其中所述胰岛素相关肽包括胰岛素、胰岛素原和前胰岛素原中的一种或多种。

14.根据权利要求1至12中任一项所述的方法,其中所述胰岛素相关肽包括人胰岛素。

15.根据权利要求1至12中任一项所述的方法,其中所述胰岛素相关肽包括人胰岛素原和/或人前胰岛素原。

16.根据权利要求11所述的方法,其中所述第一氨基酸序列包含人胰岛素β链6-26肽序列(SEQ ID NO:3)。

17.根据权利要求11所述的方法,其中所述第一氨基酸序列对应于人胰岛素β链氨基酸序列(SEQ ID NO:1)。

18.根据权利要求11所述的方法,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)。

19.根据权利要求11所述的方法,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)。

20.根据权利要求11所述的方法,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)的变体,所述变体包含被Ser、Val、Ala或Gly取代的α链8-Thr。

21.根据权利要求11所述的方法,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的变体,所述变体包含被Ser、Val、Ala或Gly取代的α链8-Thr。

22.根据权利要求11所述的方法,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)的变体,所述变体包含被Thr、Ala或Gly取代的α链9-Ser。

23.根据权利要求11所述的方法,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的变体,所述变体包含被Thr、Ala或Gly取代的α链9-Ser。

24.根据权利要求11所述的方法,其中所述第一氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)的变体,所述变体包含被Val、Ala或Gly取代的α链10-Ile。

25.根据权利要求1所述的方法,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的变体,所述变体包含被Val、Ala或Gly取代的α链10-Ile。

26.根据权利要求11所述的方法,其中所述第一氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的变体,所述变体包含被Ala或Gly取代的α链21-Asn。

27.根据权利要求11所述的方法,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:3)的变体,其中所述变体包含一个或多个选自以下的氨基酸取代:

α链8-Thr被Ser、Val、Ala或Gly取代;

α链9-Ser被Thr、Ala或Gly取代;和

α链10-Ile被Leu、Val、Ala或Gly取代。

28.根据权利要求11所述的方法,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链1-20肽序列(SEQ ID NO:5)的变体。

29.根据权利要求11所述的方法,其中所述第一氨基酸序列对应于人胰岛素β链氨基酸序列(SEQ ID NO:1);并且所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)。

30.根据权利要求11所述的方法,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链4-20肽序列(SEQ ID NO:6)的变体,所述变体包含被Asp取代的α链4-Glu。

31.根据权利要求11所述的方法,其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含人胰岛素β链3-26肽序列(SEQ ID NO:7)或其变体,所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其变体;

其中所述人胰岛素β链3-26肽序列(SEQ ID NO:7)的变体具有被Lys取代的β链3-Asn;和/或被Pro取代的β链9-Ser。

32.根据权利要求11所述的方法,其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和/或第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含人胰岛素β链4-27肽序列(SEQ ID NO:8)或其变体,所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链1-20肽序列或其变体;

其中所述人胰岛素β链4-27肽序列(SEQ ID NO:8)的变体具有被Pro取代的β链9-Ser;

并且所述人胰岛素α链1-20肽序列的变体具有一个或多个选自以下的氨基酸取代：

α链4-Glu被Asp取代；

α链8-Thr被Ser、Val、Ala或Gly取代；

α链9-Ser被Thr、Ala或Gly取代；

α链10-Ile被Leu、Val、Ala或Gly取代;和

α链18-Asn被His取代。

33.根据权利要求11所述的方法,其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和/或第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列对应于人胰岛素β链氨基酸序列(SEQ ID NO:1)或其变体,所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)或其变体;

其中所述人胰岛素β链氨基酸序列(SEQ ID NO:1)的变体具有一个或多个选自以下的氨基酸取代：

β链3-Asn被Lys取代；

β链9-Ser被Pro取代；

β链29-Lys被Met取代;和

β链30-Thr被Ser或Ala取代;以及

所述人胰岛素α链氨基酸序列的变体具有一个或多个选自以下的氨基酸取代：

α链4-Glu被Asp取代；

α链8-Thr被Ala取代；

α链9-Ser被Gly取代；

α链10-Ile被Val取代；

α链18-Asn被His取代;和

α链21-Asn被Gly取代。

34.根据权利要求1至33中任一项所述的方法,其中所述胰岛素相关肽是重组人胰岛素相关肽。

35.一种用于减弱对至少一种1型糖尿病相关抗原的抗原性应答的组合物,所述组合物包含：

有效量的胰岛素相关肽;和

含有至少约30vol.%甘油的药学上可接受的水性载体。

36.根据权利要求35所述的组合物,其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列或其具有一个或多个氨基酸取代的变体,所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。

37.一种组合物,所述组合物包含：

胰岛素相关肽;和

含有至少约30vol.%甘油的药学上可接受的水性载体。

38.根据权利要求37所述的组合物,其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列或其具有一个或多个氨基酸取代的变体,所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。

39.根据权利要求35至38中任一项所述的组合物,其中所述药学上可接受的水性载体还包含缓冲液。

40.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第一氨基酸序列对应于胰岛素β链氨基酸序列;和/或所述第二氨基酸序列对应于胰岛素α链氨基酸序列。

41.根据权利要求35至39中任一项所述的组合物,其中所述胰岛素相关肽是重组人胰岛素相关肽。

42.根据权利要求35至39中任一项所述的组合物,其中所述胰岛素相关肽包括胰岛素、胰岛素原和前胰岛素原中的一种或多种。

43.根据权利要求35至39中任一项所述的组合物,其中所述胰岛素相关肽包括人胰岛素。

44.根据权利要求35至39中任一项所述的组合物,其中所述胰岛素相关肽包括人胰岛素原和/或人前胰岛素原。

45.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第一氨基酸序列包含人胰岛素β链6-26肽序列(SEQ ID NO:3)。

46.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第一氨基酸序列对应于人胰岛素β链氨基酸序列(SEQ ID NO:1)。

47.根据权利要求34至36中任一项所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)。

48.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)。

49.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)的变体,所述变体包含被Ser、Val、Ala或Gly取代的α链8-Thr。

50.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的变体,所述变体包含被Ser、Val、Ala或Gly取代的α链8-Thr。

51.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)的变体,所述变体包含被Thr、Ala或Gly取代的α链9-Ser。

52.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的变体,所述变体包含被Thr、Ala或Gly取代的α链9-Ser。

53.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第一氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)的变体,所述变体包含被Val、Ala或Gly取代的α链10-Ile。

54.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的变体,所述变体包含被Val、Ala或Gly取代的α链10-Ile。

55.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第一氨基酸序列对应于人

胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的变体,所述变体包含被Ala或Gly取代的α链21-Asn。

56.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)的变体,其中所述变体包含一个或多个选自以下的氨基酸取代:

α链8-Thr被Ser、Val、Ala或Gly取代;

α链9-Ser被Thr、Ala或Gly取代;和

α链10-Ile被Leu、Val、Ala或Gly取代。

57.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链1-20肽序列(SEQ ID NO:5)的变体。

58.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第一氨基酸序列对应于人胰岛素β链氨基酸序列(SEQ ID NO:1);并且所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)。

59.根据权利要求36或权利要求38所述的组合物,其中所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列的变体,所述变体包含被Asp取代的α链4-Glu。

60.根据权利要求35至39中任一项所述的组合物,其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含人胰岛素β链3-26肽序列(SEQ ID NO:7)或其变体,所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其变体;

其中所述人胰岛素β链3-26肽序列(SEQ ID NO:7)的变体具有被Lys取代的β链3-Asn;和/或被Pro取代的β链9-Ser。

61.根据权利要求35至39中任一项所述的组合物,其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和/或第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含人胰岛素β链4-27肽序列(SEQ ID NO:8)或其变体,所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链1-20肽序列(SEQ ID NO:5)或其变体;

其中所述人胰岛素β链4-27肽序列(SEQ ID NO:8)的变体具有被Pro取代的β链9-Ser;

并且所述人胰岛素α链1-20肽序列(SEQ ID NO:5)的变体具有一个或多个选自以下的氨基酸取代:

α链4-Glu被Asp取代;

α链8-Thr被Ser、Val、Ala或Gly取代;

α链9-Ser被Thr、Ala或Gly取代;

α链10-Ile被Leu、Val、Ala或Gly取代;和

α链18-Asn被His取代。

62.根据权利要求35至39中任一项所述的组合物,其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和/或第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列对应于人胰岛素β链氨基酸序列(SEQ ID NO:1)或其变体,所述第二氨基酸序列对应于人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)或其变体;

其中所述人胰岛素β链氨基酸序列(SEQ ID NO:1)的变体具有一个或多个选自以下的氨基酸取代:

β链3-Asn被Lys取代;

β链9-Ser被Pro取代；

β链29-Lys被Met取代；和

β链30-Thr被Ser或Ala取代；以及

所述人胰岛素α链氨基酸序列(SEQ ID NO:2)的变体具有一个或多个选自以下的氨基酸取代：

α链4-Glu被Asp取代；

α链8-Thr被Ala取代；

α链9-Ser被Gly取代；

α链10-Ile被Val取代；

α链18-Asn被His取代；和

α链21-Asn被Gly取代。

63.根据权利要求1至10中任一项所述的方法，所述方法包括舌下施用有效量的根据权利要求35至62中任一项所述的组合物。

64.根据权利要求5所述的方法，其中减弱所述抗原性应答包括降低所述受试者的一种或多种1型糖尿病相关自身抗体的水平。

65.根据权利要求64所述的方法，其中所述一种或多种1型糖尿病相关自身抗体包括胰岛素自身抗体(IAA)。

66.根据权利要求5所述的方法，其中所述受试者表现出减少的胰岛素自身抗体(IAA)发生。

67.根据权利要求5所述的方法，其中减弱所述对至少一种1型糖尿病相关抗原的抗原性应答包括在舌下施用所述胰岛素相关肽后减少胰岛素自身抗体(IAA)的发生。

68.根据权利要求5所述的方法，其中所述至少一种1型糖尿病相关抗原包括胰岛素。

69.根据权利要求64至68中任一项所述的方法，其中所述胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列，所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体，所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。

70.根据权利要求69所述的方法，其中所述胰岛素相关肽包括胰岛素。

71.根据权利要求69所述的方法，其中所述胰岛素相关肽包括如下一种肽，所述肽包括胰岛素肽序列的包含一个或多个以下取代的变体：

Asn被Lys、His或Gly取代；

Glu被Asp取代；

Ile被Ala、Gly、Leu或Val取代；

Lys被Met取代；

Ser被Thr、Gly、Ala或Pro取代；和

Thr被Ala、Ser、Gly或Val取代。

用于治疗和预防1型糖尿病的方法和组合物

序列表

[0001] 本申请含有已以ASCII格式电子提交并通过引用以其整体特此并入的序列表。所述ASCII副本创建于2020年11月23日，名为120177-0106_PCT_Sequence_Listing.txt，并且大小为14,714字节。

背景技术

[0002] 1型糖尿病(T1D;也称为“自身免疫性糖尿病”，并且先前称为“胰岛素依赖型糖尿病”或“幼年型糖尿病”)是一种由自身免疫介导的胰腺β细胞破坏引起、由此引起胰岛素产生丧失的慢性疾病，其临床表现为高血糖症并占所有糖尿病病例的5%-10%。症状发作的年龄通常在儿童期或青春期期间;但是，症状可能会在很久以后的生活中出现。虽然T1D的病因尚不完全清楚，但其发病机制被认为与T细胞介导的胰腺β细胞破坏有关。T1D没有已知的治愈方法，患者必须依靠每日胰岛素疗法来补偿受损的β细胞功能。胰岛素治疗通常涉及每日多次胰岛素注射疗法或连续皮下胰岛素输注。如果不用胰岛素，这些患者会发生严重的并发症，如酮症酸中毒、视网膜病变、肾病、血管病和神经病。因为胰岛素的皮下递送需要严格的自我管理，依从性通常是一个严重的问题。并且，肠胃外胰岛素施用的行为可能对青少年造成创伤。目前，没有已知的有效口服或舌下胰岛素疗法。依从性问题加上严重的发病率和全球范围渐增的T1D发生率，凸显出开发有效的T1D预防和/或治疗疗法的需求。

发明内容

[0003] 本发明技术总体上涉及用于预防、改善或治疗1型糖尿病和/或降低与1型糖尿病相关的一种或多种风险因素、病征或症状的严重性的组合物和方法。另外，本发明技术涉及向患有或有风险患上1型糖尿病的受试者施用有效量的胰岛素相关肽，如Humulin®或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体。

[0004] 本发明技术涉及胰岛素相关肽的舌下配制品，所述舌下配制品能够在本领域公认的疾病小鼠模型(非肥胖糖尿病(NOD)小鼠)中显著降低T1D的发生率并延迟其发作。T1D的有效舌下胰岛素治疗是远远未满足的需求。因此，本发明技术的公开文本提供了被配制用于理想施用途径的组合物，所述理想施用途径在预防和/或治疗T1D的一种或多种病征或症状(包括在受试者中延迟高血糖症的发作、延迟T1D的发作、和/或降低T1D的可能性)的方法中是有效的并且可提高患者的依从性。

[0005] 一个实施方案涉及一种在有需要的受试者中延迟高血糖症的发作的方法。所述方法包括向所述受试者舌下施用治疗有效量的胰岛素相关肽。合适的胰岛素相关肽的例子是如下肽，所述肽包括第一氨基酸序列和第二氨基酸序列，所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体，所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。

[0006] 另一个实施方案涉及一种在有需要的受试者中延迟I型糖尿病的发作的方法。

所述方法包括向所述受试者舌下施用治疗有效量的胰岛素相关肽。合适的胰岛素

相关肽的例子是如下肽,所述肽包括第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体,所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。

[0007] 另一个实施方案涉及一种在有需要的受试者中降低I型糖尿病的可能性的方法。所述方法包括向所述受试者舌下施用治疗有效量的胰岛素相关肽。合适的胰岛素相关肽的例子是如下肽,所述肽包括第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体,所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。

[0008] 另一个实施方案涉及一种减弱哺乳动物对至少一种1型糖尿病相关抗原的抗原性应答的方法。所述方法包括向所述哺乳动物舌下施用有效量的胰岛素相关肽。合适的胰岛素相关肽的例子是如下肽,所述肽包括第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体,所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。舌下施用所述胰岛素相关肽后,所述受试者可表现出降低的自身抗体水平,所述自身抗体诸如胰岛细胞抗体(ICA)、谷氨酸脱羧酶-65(GAD-65)抗体、胰岛素自身抗体(IAA)、胰岛素瘤相关蛋白2A(IA-2A)自身抗体、胰岛素瘤相关蛋白2β(IA-2β)自身抗体和/或锌转运蛋白8(ZnT8)自身抗体。

[0009] 在另一个实施方案中,提供了一种组合物,所述组合物包含胰岛素相关肽;和含有至少约30vol.%甘油的药学上可接受的水性载体。所述组合物可以是用于减弱对至少一种1型糖尿病相关抗原的抗原性应答的药物组合物。所述胰岛素相关肽可以是如下肽,所述肽包括第一氨基酸序列和第二氨基酸序列,所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体,所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。

附图说明

[0010] 图1A和图1B是示出对照NOD小鼠和从6周龄(图1A)和10周龄(图1B)开始用Humulin®治疗的NOD小鼠中1型糖尿病的发生率和发作时间的图表。

具体实施方式

I.定义

[0011] 应理解,下文以不同详细程度描述了本发明技术的某些方面、模式、实施方案、变型和特征,以提供对本发明技术的实质理解。下文提供了如在本说明书中使用的某些术语的定义。除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语一般均具有与本发明技术所属领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。

[0012] 如在本说明书和所附权利要求中所用的,单数形式的“一个”、“一种”和“所述”包括单数和复数指示物,除非上下文另有明确指示。例如,对“一种/一个细胞”的提及包括两种/个或更多种/个细胞的组合,等等。

[0013] 如本文所用，将药剂、药物或肽“施用”于受试者是指将本发明技术的组合物舌下施用于受试者。

[0014] 如本文所用，“保守氨基酸取代”是如下的取代，其不应实质上改变亲本序列的结构和功能特征(例如，替代氨基酸不应倾向于中断亲本序列中出现的螺旋，或破坏亲本序列所特有的或者为其功能所必要的其他类型的二级结构)。

[0015] 如本文所用，术语“有效量”是指足以实现所需治疗和/或预防效果的量，例如使得部分或完全改善1型糖尿病的一种或多种症状的量。在治疗或预防应用的背景下，在一些实施方案中，向受试者施用的组合物的量将取决于疾病的类型、程度和严重性以及个体的特征，如一般健康状况、年龄、性别、体重以及药物耐受性。熟练技术人员将能够根据这些和其他因素确定适当的剂量。也可以将所述组合物与一种或多种另外的治疗化合物组合施用。例如，在本文描述的方法中，可以将本发明技术的胰岛素相关肽，如Humulin®或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体，施用于具有1型糖尿病的一种或多种病征、症状或风险因素的受试者，所述病征、症状或风险因素包括但不限于高血糖症、低胰岛素血症、血清C肽水平降低、A1C水平升高、存在T1D相关自身抗体、尿排泄过量(多尿症)、口渴(烦渴)、持续饥饿(多食)、体重减轻、视力变化、疲劳、意识模糊、恶心、呕吐、酮症酸中毒、视网膜病变、肾病、血管病和神经病。还可以将胰岛素相关肽施用于无疾病的但在遗传上易于发生T1D的受试者(例如，1型糖尿病患者的一级亲属，其中亲属已经被确定为在遗传上易于发生1型糖尿病)。例如，胰岛素相关肽的“治疗有效量”包括1型糖尿病的一种或多种病征、症状或风险因素的存在、频率或严重性在最低限度改善的水平。治疗有效量可以降低或改善1型糖尿病的生理效应和/或1型糖尿病的风险因素和/或发生1型糖尿病的可能性。可以将治疗有效量以一次或多次施用来给予。

[0016] 如本文所用，术语“胰岛素相关肽”是指如下肽，所述肽包含第一氨基酸序列和/或第二氨基酸序列，所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链(B链)、或其生物活性片段、或前二者中任一者的具有一个或多个氨基酸取代的变体，所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链(A链)、或其生物活性片段、或前二者中任一者的具有一个或多个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中，胰岛素相关肽包含如下氨基酸序列，所述氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一种或多个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中，胰岛素相关肽包含如下氨基酸序列，所述氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一种或多个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中，胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列，所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体，所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中，胰岛素相关肽包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列，所述第一氨基酸序列包含人胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体，所述第二氨基酸序列包含人胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中，“胰岛素相关肽”包括胰岛素β和胰岛素α链的较大片段。例如，在一些实施方案中，胰岛素相关肽可以包括胰岛素β链6-26肽序列(SEQ ID NO:3)、胰岛素β链3-26肽序列(SEQ ID NO:7)、胰岛素β链4-27肽序列(SEQ ID NO:8)、胰岛素β链序列(SEQ ID NO:1)、胰岛素α链1-20肽序列(SEQ ID NO:5)、胰岛素α链4-20肽序列(SEQ ID NO:6)、或胰岛素α链序列(SEQ ID NO:2)，

或它们的变体。胰岛素相关肽可以是人来源的或任何哺乳动物物种的。在一些实施方案中，胰岛素相关肽是重组人胰岛素相关肽，如Humulin ®或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体。在一些实施方案中，胰岛素相关肽包括胰岛素、胰岛素原和前胰岛素原中的一种或多种。

[0017] 如本文所用，术语“1型糖尿病”或“T1D”是指特征在于由于胰腺β细胞缺失引起胰岛素缺乏而导致高血糖症的障碍。可以使用如下所述的各种诊断测试来诊断T1D。这些包括但不限于(1)糖化血红蛋白A1C(HbA1C)测试(HbA1C水平≥6.5％)，(2)口服葡萄糖耐量测试(OGTT;负荷后血浆葡萄糖水平≥200mg/dL)，(3)随机血液葡萄糖测试(一天中任何时间血糖水平≥200mg/dL并合并有糖尿病症状)，(4)空腹血浆葡萄糖(FPG)测试(空腹血糖≥126mg/dL)，(5)C肽水平，低于0.2nmol/L。

[0018] 如本文所用，“治疗”(“treating”或“treatment”)涵盖治疗受试者如人的1型糖尿病和/或其病征或症状，并且包括：(i)抑制1型糖尿病，即阻止其发生;(ii)缓解1型糖尿病，即导致障碍消退;(iii)减缓1型糖尿病的进展;和/或(iv)抑制、缓解或减缓1型糖尿病的一种或多种病征或症状的进展，所述病征或症状包括但不限于高血糖症、低胰岛素血症、血清C肽水平降低、A1C水平升高、存在T1D相关自身抗体、多尿症、烦渴、多食、体重减轻、视力改变、疲劳、意识模糊、恶心、呕吐和酮症酸中毒。

[0019] 如本文所用，“预防”(“preventing”或“prevention”)障碍或病症是指相对于未处理的对照样品，化合物减少在处理的样品中障碍或病症的发生或可能性，或相对于未处理的对照样品，延迟障碍或病症的一种或多种病征或症状的发作，所述病征或症状包括但不限于高血糖症、低胰岛素血症、血清C肽水平降低、A1C水平升高、存在T1D相关自身抗体、多尿症、烦渴、多食、体重减轻、视力改变、疲劳、意识模糊、恶心、呕吐和酮症酸中毒。如本文所用，预防1型糖尿病是指预防或延迟1型糖尿病的发作。如本文所用，预防1型糖尿病还包括预防1型糖尿病的一种或多种病征或症状的复发。

[0020] 还应理解，如本文所述的医学病症的各种治疗或预防方式旨在意指“基本上的”，其包括完全治疗或预防但也不到完全治疗或预防，并且其中实现了一些生物学或医学有关的结果。治疗可以是针对慢性疾病的连续长期治疗，或者是治疗急性病症的单次或几次施用。

[0021] 如本文所用，术语“受试者”和“患者”可互换使用。

II.概述

[0022] 本发明技术涉及胰岛素相关肽的舌下配制品的出人意料的发现，所述舌下配制品能够在本领域公认的疾病小鼠模型(非肥胖糖尿病(NOD)小鼠)中显著降低T1D的发生率并延迟其发作。T1D的有效舌下胰岛素治疗是远远未满足的需求。因此，本发明技术的方法和组合物提供了作为T1D治疗剂有效的并且可以提高患者依从性的理想施用途径。

III.胰岛素相关肽

[0023] 胰岛素激素是51个氨基酸的蛋白质，由朗格汉斯胰岛中的胰腺β细胞分泌。胰岛素首先在胰腺β细胞的糙面内质网中合成为前胰岛素原。前激素原中的信号肽通过蛋白水解切割去除后，产生由具有21个氨基酸的α链(或A链)肽、具有30个氨基酸的β链(或B链)肽和间插C链肽(C肽)构成的胰岛素原分子。在高尔基复合体中胰岛素原的后续加工通过去除C肽并通过半胱氨酸残基处的两个二硫键连接α和β链来产生具有生物活性的胰岛素。第三个

二硫键连接α链内的两个半胱氨酸残基。胰岛素和C肽在响应于各种刺激(如葡萄糖)时以等摩尔量同时分泌。

[0024] 如表1所展示,胰岛素的A链和B链氨基酸序列在脊椎动物中是高度保守的。此外,大多数物种的三个二硫键的位置也相同。这些高度保守的特征导致胰岛素的三维构象在物种间非常相似。出于这个原因,来自一个物种的胰岛素通常具有生物活性,而在其他物种中具有相似的生理作用。表1按出现顺序分别公开了SEQ ID NO:10-24。

表1.来自某些物种的胰岛素序列。

脊椎动物	胰岛素B链	SEQ ID NO:	C肽		胰岛素A链
人	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT	10	RR	EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ	KR
类人猿	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT	11	RR	EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ	KR
猕猴(食蟹猴)	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT	12	RR	EAEDPQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ	KR
兔	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKS	13	RR	EVEELQVGQAELGGGPGAGGLQPSALELALQ	KR
犬类	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA	14	RR	EVEDLQVRDVELAGAPGEGGLQPLALEGALQ	KR
马类	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA	15	xx	EAEDPQVGEVELGGGPGLGGLQPLALAGPQQ	xx
猪类	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA	16	RR	EAENPQAGAVELGGGLGG--LQALALEGPPQ	KR
仓鼠	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA	17	RR	GVEDPQVAQLELGGGPGADDLQTLALEVAQQ	KR
大鼠II	FVKQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPMS	18	RR	EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVARQ	KR
小鼠II	FVKQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPMS	19	RR	EVFDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALFVAQQ	KR
猫类	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA	20	RR	EAEDLQGKDAELGEAPGAGGLQPSALEAPLQ	KR
大鼠I	FVKQHLCGPHLVEALYLVCGERGFFYTPKS	21	RR	EVEDPQVPQLELGGGPEAGDLQTLALEVARQ	KR
小鼠I	FVKQHLCGPHLVEALYLVCGERGFFYTPKS	22	RR	EVEDPQVEQLELGGSP--GDLQTLALEVARQ	KR
牛类	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA	23	RR	EVEGPQVGALELAGGPG-----AGGLEGPPQ	KR
羊类	FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA	24	RR	EVEGPQVGALELAGGPG-----AGGLEGPPQ	KR
脊椎动物	胰岛素B链	SEQ ID NO:	C肽		胰岛素A链
人	GIVEQCCTSICSLYQLENYCN	10			
类人猿	GIVEQCCTSICSLYQLENYCN	11			
猕猴(食蟹猴)	GIVEQCCTSICSLYQLENYCN	12			
兔	GIVEQCCTSICSLYQLENYCN	13			
犬类	GIVEQCCTSICSLYQLENYCN	14			
马类	GIVEQCCTGICSLYQLENYCN	15			
猪类	GIVEQCCTSICSLYQLENYCN	16			
仓鼠	GIVDQCCTSICSLYQLENYCN	17			
大鼠II	GIVDQCCTSICSLYQLENYCN	18			
小鼠II	GIVDQCCTSICSLYQLENYCN	19			
猫类	GIVEQCCASVCSLYQLEHYCN	20			
大鼠I	GIVDQCCTSICSLYQLENYCN	21			
小鼠I	GIVDQCCTSICSLYQLENYCN	22			
牛类	GIVEQCCASVCSLYQLENYCN	23			
羊类	GIVEQCCAGVCSLYQLENYCN	24			

[0025] 被配制用于舌下施用的本发明技术的胰岛素相关肽包括如下肽,所述肽包含含有

胰岛素β链(B链)、或其生物活性片段、或前二者中任一者的具有一个或多个氨基酸取代的变体的氨基酸序列;并且可以包括如表1所示的B链序列中的任何一个或多个。在一些实施方案中,被配制用于舌下施用的本发明技术的胰岛素相关肽包括如下肽,所述肽包含含有胰岛素α链(A链)、或其生物活性片段、或前二者中任一者的具有一个或多个氨基酸取代的变体的氨基酸序列;并且可以包括如表1所示的A链序列中的任何一个或多个。在一些实施方案中,被配制用于舌下施用的本发明技术的胰岛素相关肽包括包含第一氨基酸序列和第二氨基酸序列的肽,所述第一氨基酸序列包含胰岛素β链(B链)、或其生物活性片段、或前二者中任一者的具有一个或多个氨基酸取代的变体,所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链(A链)、或其生物活性片段、或前二者中任一者的具有一个或多个氨基酸取代的变体;并且可以包括如表1所示的B链和A链序列中的任何一个或多个。在一些实施方案中,本发明技术的胰岛素相关肽包括胰岛素β链7-26肽序列(SEQ ID NO:9)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体以及第二氨基酸序列,所述第二氨基酸序列包含胰岛素α链6-20肽序列(SEQ ID NO:4)或其具有一个或多个氨基酸取代的变体。在一些实施方案中,本发明技术的胰岛素相关肽包括胰岛素β链和胰岛素α链的较大片段。例如,在一些实施方案中,胰岛素相关肽可以包括胰岛素β链6-26肽序列(SEQ ID NO:3)、胰岛素β链3-26肽序列(SEQ ID NO:7)、胰岛素β链4-27肽序列(SEQ ID NO:8)、胰岛素β链序列(SEQ ID NO:1)、胰岛素α链1-20肽序列(SEQ ID NO:5)、胰岛素α链4-20肽序列(SEQ ID NO:6)、或胰岛素α链序列(SEQ ID NO:2)。胰岛素相关肽可以是人来源的或任何哺乳动物物种的。例如,本发明技术的胰岛素相关肽可以包括表1中所示的胰岛素A链或B链中的任何一种或多种。在一些实施方案中,胰岛素相关肽是重组人胰岛素相关肽,如Humulin®或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体。在一些实施方案中,胰岛素相关肽包括胰岛素、胰岛素原和前胰岛素原中的一种或多种。在一些实施方案中,胰岛素相关肽是速效、中效或长效胰岛素类似物。

[0026] 除了在表1中提供的胰岛素相关肽序列之外,在表2中还提供了本发明技术的示例性非限制性胰岛素相关肽。

表2.示例性的胰岛素相关肽。

胰岛素相关肽α链肽和片段	
GlyIleValGluGlnCysCysThrSerIleCysSerLeuTyrGlnLeuGluAsnTyrCysAsn	SEQ ID NO: 2
CysCysThrSerIleCysSerLeuTyrGlnLeuGluAsnTyrCys	SEQ ID NO: 4
GlyIleValGluGlnCysCysThrSerIleCysSerLeuTyrGlnLeuGluAsnTyrCys	SEQ ID NO: 5
GluGlnCysCysThrSerIleCysSerLeuTyrGlnLeuGluAsnTyrCys	SEQ ID NO: 6
胰岛素相关肽β链肽和片段	
PheValAsnGlnHisLeuCysGlySerHisLeuValGluAlaLeuTyrLeuValCysGly GluArgGlyPhePheTyrThrProLysThr	SEQ ID NO: 1
LeuCysGlySerHisLeuValGluAlaLeuTyrLeuValCysGlyGluArgGlyPhePheTyr	SEQ ID NO: 3
AsnGlnHisLeuCysGlySerHisLeuValGluAlaLeuTyrLeuValCysGlyGluArg GlyPhePheTyr	SEQ ID NO: 7
GlnHisLeuCysGlySerHisLeuValGluAlaLeuTyrLeuValCysGlyGluArgGly PhePheTyrThr	SEQ ID NO: 8
CysGlySerHisLeuValGluAlaLeuTyrLeuValCysGlyGluArgGlyPhePheTyr	SEQ ID NO: 9

[0027] 本文所列的肽的合适取代变体包括保守氨基酸取代。氨基酸可根据其物理化学特征分组如下:

(a)非极性氨基酸:Ala(A)Ser(S)Thr(T)Pro(P)Gly(G)Cys(C);

(b)酸性氨基酸:Asn(N)Asp(D)Glu(E)Gln(Q);

(c)碱性氨基酸:His(H)Arg(R)Lys(K);

(d)疏水氨基酸:Met(M)Leu(L)Ile(I)Val(V);和

(e)芳香族氨基酸:Phe(F)Tyr(Y)Trp(W)。

[0028] 肽中的一个氨基酸被同一组中的另一个氨基酸取代称为保守取代,并且可以保留原始肽的物理化学特征。在其他实施方案中,本文所述的肽的变体可以包括以下取代中的一个或多个:

Asn被Lys、His或Gly取代

Glu被Asp取代

Ile被Ala、Gly、Leu或Val取代

Lys被Met取代

Ser被Thr、Gly、Ala或Pro取代

Thr被Ala、Ser、Gly或Val取代。

[0029] 可以通过本领域熟知的任何方法合成肽。用于化学合成蛋白质的合适方法包括例如以下描述的那些:Stuart和Young,Solid Phase Peptide Synthesis,第二版,Pierce Chemical Company(1984,以及Methods Enzymol.,289,Academic Press,Inc.,纽约(1997)。

IV.1型糖尿病

[0030] 1型糖尿病(T1D),也称为“自身免疫性糖尿病”(先前称为“胰岛素依赖型糖尿病”或“幼年型糖尿病”)是特征在于由于胰腺β细胞缺失引起胰岛素缺乏而导致高血糖症的慢性疾病。症状发作的年龄通常在儿童期或青春期期间;然而,症状有时会在很久以后才出现。虽然T1D的病因尚不完全清楚,但该疾病的发病机制被认为与T细胞介导的β细胞破坏有关。该病无法治愈,且患者终生依赖于胰岛素注射。尽管强化血糖控制降低了微血管和大血管并发症的发生率,但大多数T1D患者仍在发生这些并发症。

A.临床表现

[0031] T1D的临床病征和症状包括高血糖症、低胰岛素血症、血清C肽水平降低、A1C水平升高、存在T1D相关自身抗体、尿排泄过量(多尿症)、口渴(烦渴)、持续饥饿(多食)、体重减轻、视力变化、疲劳、意识模糊、恶心、呕吐和酮症酸中毒。T1D的慢性症状包括视网膜病变、肾病、血管病和神经病。

B.诊断

[0032] 人的T1D是通过症状和某些血液测试结果的组合来诊断的。在空腹血浆葡萄糖(FPG)测试中,如果空腹血糖水平为126mg/dL或更高,则诊断为糖尿病。在口服葡萄糖耐量测试(OGTT)中,如果2小时负荷后血浆葡萄糖水平为200mg/dL或更高,则诊断为糖尿病。在随机血液葡萄糖测试中,一天中任何时间的血液葡萄糖水平为200mg/dL或更高,并合并有糖尿病症状,就足以做出诊断。在度量前两到三个月的平均血糖水平的血红蛋白A1C(HbA1C;糖化血红蛋白)测试中,如果HbA1C水平为6.5%或更高,则诊断为糖尿病。如果在无症状人群中检测到升高的值,建议在随后一天在可行的情况下尽快重复测试,优选使用相同的测试进行,以确认诊断。可以通过测量空腹状态或刺激(最常见的是静脉内施用胰高血糖素)后的血清C肽来评估内源性胰岛素的产生。也可以测量尿液中的C肽。人的空腹血清C肽水平的正常范围为0.26至127nmol/L。低于0.2nmol/L的C肽水平与人T1D的诊断相关。

[0033] 进展为T1D之前通常会出现抗胰岛自身抗体表达的前驱症状。可能在症状发作前数月至数年发现的T1D相关自身免疫性的生物标记物包括许多T1D相关自身抗体，如胰岛素自身抗体(IAA)、胰岛细胞抗体(ICA)、65kDa谷氨酸脱羧酶(GAD-65)、胰岛素瘤相关蛋白2A或2β(IA-2A，IA-2β)和锌转运蛋白8(ZnT8)(是与β细胞中的分泌颗粒相关的蛋白质)。在易感但无疾病的个体中，检测到多种胰岛细胞自身抗体是T1D后续发生的强预测指标。

C.预后指标

[0034] 用于评估T1D的病征、症状或并发症的方法是本领域已知的。一旦诊断出糖尿病，治疗的一个重要目标是尽可能将平均血糖维持在正常范围附近，而不会引起不可接受程度的低血糖症。大多数T1D患者的目标是将HbA1c水平维持在<7.0％(估计的平均血糖<154mg/dL)。除了HbA1c测试外，用于测定T1D的病征、症状或并发症的其他示例性方法还包括但不限于空腹血浆葡萄糖(FPG)测试、口服葡萄糖耐量测试(OGTT)、随机血液葡萄糖测试、C肽测试和监测T1D相关自身抗体水平的测试。

D.预防和治疗方法

[0035] 以下讨论仅以示例的方式呈现，并非旨在限制。

[0036] 本发明技术的一个方面提供了一种用于在易于发生T1D或有风险患上T1D的受试者(例如T1D患者的一级亲属，其中亲属已经被确定为在遗传上易于发生T1D)中预防或延迟T1D的发作或T1D症状的方法。

[0037] 可以通过例如本领域已知的任何一种诊断或预后测定或其组合来鉴定有T1D风险的受试者。在预防性应用中，将本发明技术的胰岛素相关肽以足以消除或降低疾病风险或延迟疾病发作的量施用于易患T1D或否则有T1D风险的受试者，所述疾病包括疾病的生化和/或行为症状、疾病的并发症和在疾病发展过程中呈现的中间病理表型。预防性胰岛素相关肽的施用可以在疾病所特有的症状表现之前进行，从而预防疾病或者替代性地延迟其进展。

[0038] 有T1D或高血糖症风险的受试者包括但不限于与糖尿病个体相关(通常是一级亲属)或被鉴定为具有高危HLA基因型(例如，DR3/4-DQ2/8基因型)的受试者。筛查包括以下的血清学标记物也可以鉴定有高风险发生T1D的个体：胰岛素自身抗体(IAA)和与胰岛β细胞相关的血清自身抗体(ICA)：IA-2A、IA-2β、IAA、GAD-65和ZnT8。评估C肽水平是广泛使用的对胰腺β细胞功能的量度，并且也可用于评估个体发生T1D的风险。

[0039] 本发明技术的另一方面包括治疗被诊断为患有、怀疑患有或有风险患上T1D的受试者的T1D的方法。在治疗性应用中，将包含本发明技术的胰岛素相关肽的组合物以足以治愈或至少部分阻止疾病症状(包括其并发症)的量施用于怀疑患有或已经患有疾病的受试者(例如，展现出高血糖症、与T1D相关的血清自身抗体升高、C肽水平降低的受试者)。

[0040] 在某些实施方案中，与未治疗的T1D受试者相比，用本发明技术的胰岛素相关肽的舌下配制品治疗的T1D受试者将示出血液葡萄糖水平、T1D相关自身抗体和/或C肽水平正常化至少5％、至少10％、至少50％、至少75％或至少90％。在某些实施方案中，用本发明技术的胰岛素相关肽的舌下配制品治疗的T1D受试者将示出与在正常对照受试者中观察到的相似的血液葡萄糖水平、T1D相关自身抗体和/或C肽水平。

E.施用方式、药物组合物和有效剂量

[0041] 体内方法通常包括向哺乳动物如人施用药剂，如本文所述的那些药剂。当在体内

用于治疗时，将本发明技术的药剂以有效获得所需结果或治疗哺乳动物的量施用于哺乳动物。剂量和给药方案将取决于受试者的疾病程度、使用的特定胰岛素相关肽的特征(例如，其治疗指数、作用持续时间等)、受试者、和受试者的病史。

[0042] 本发明技术的胰岛素相关肽的有效量可以在临床前试验和临床试验期间通过医师和临床医师熟悉的方法确定。可以通过许多熟知的施用药物化合物的方法，将有效量的可用于方法中的胰岛素相关肽施用于有需要的哺乳动物。在特定实施方案中，将本发明技术的胰岛素相关肽配制用于舌下施用。

[0043] 可以将本文所述的胰岛素相关肽掺入药物组合物中，以单一地或组合地施用于受试者以治疗或预防T1D。此类组合物可以包括胰岛素相关肽和药学上可接受的载体。如本文所用，术语“药学上可接受的载体”包括与药物施用相容的缓冲液、甘油、盐水、溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。也可以将补充性活性化合物掺入到组合物中。

[0044] 为方便患者或治疗医师，给药配制品可以提供于含有所有用于治疗历程的必要设备(例如，药物小瓶、稀释剂小瓶等)的试剂盒中。

[0045] 舌下组合物通常包括惰性稀释剂或可食用载体。出于舌下治疗性施用的目的，可以将胰岛素相关肽与药学上可接受的水性载体或赋形剂(例如甘油)合并，并以片剂、锭剂或胶囊剂的形式使用。在一些实施方案中，药学上可接受的水性载体包含至少约30vol.％甘油、至少约31vol％甘油、至少约32vol.％甘油、至少约33vol.％甘油、至少约34vol％甘油、至少约35vol.％甘油、至少约36vol％甘油、至少约37vol.％甘油、至少约38vol.％甘油、至少约39vol％甘油、至少约40vol.％甘油、至少约41vol.％甘油、至少约42vol％甘油、至少约43vol.％甘油、至少约44vol％甘油、至少约45vol.％甘油、至少约46vol.％甘油、至少约47vol％甘油、至少约48vol.％甘油、至少约49vol.％甘油、至少约50vol％甘油、至少约51vol.％甘油、至少约52vol％甘油、至少约53vol.％甘油、至少约54vol.％甘油、至少约55vol％甘油或至少约60vol.％甘油。在一些实施方案中，药学上可接受的水性载体包含至少约30-70vol.％甘油、至少约35-65vol.％甘油、至少约40-60vol.％甘油、至少约45-60vol.％甘油、至少约50-60vol.％甘油或至少约50-55vol.％甘油。在一些实施方案中，药学上可接受的水性载体还包含缓冲液。可以用酸或碱(如盐酸或氢氧化钠)调节pH。可以包含药学上相容的结合剂和/或佐剂材料作为组合物的一部分。

[0046] 剂量、毒性和治疗功效可以通过在细胞培养物或实验动物中的标准药学程序来确定，例如用于确定LD50(50％群体的致死剂量)的标准药学程序。在毒性与治疗效果之间的剂量比率是治疗指数，并且其可以表示为比率LD50/ED50。展现出高治疗指数的化合物是有利的。

[0047] 从细胞培养测定和动物研究获得的数据可用于制定用于人的剂量范围。此类化合物的剂量可以处于包括ED50在内的有很小毒性或没有毒性的循环浓度范围内。剂量可以根据所采用的剂型和所利用的施用途径而在这个范围内变化。对于在本发明技术的方法中使用的任何化合物，治疗有效剂量可以最初从细胞培养测定和/或动物研究中估计。此类信息可以用于准确确定人的有用剂量。可以例如通过高效液相色谱测量血浆中的水平。剂量和给药方案将取决于受试者的疾病程度、使用的特定胰岛素相关肽的特征(例如，其治疗指数、作用持续时间等)、受试者、和受试者的病史。

[0048] 通常，足以实现治疗或预防效果的胰岛素相关肽的有效量在每天每公斤体重约0.000001mg至每天每公斤体重约10,000mg的范围内。合适地，剂量范围为每天每公斤体重约0.0001mg至每天每公斤体重约100mg。例如，剂量可以是每天、每两天或每三天1mg/kg体重或10mg/kg体重，或者在每周、每两周或每三周1-10mg/kg的范围内。在一个实施方案中，肽的单次剂量范围为每公斤体重0.001-10,000微克。在一个实施方案中，胰岛素相关肽在载体中的浓度范围为0.2至2000微克/递送毫升。在一些实施方案中，足以实现治疗或预防效果的胰岛素相关肽的有效量是以胰岛素单位测量的。例如，剂量范围可以为0.5至1个胰岛素单位/kg体重/天。示例性治疗方案需要每天一次舌下施用胰岛素相关肽，每周施用至少五天，持续至少7周。在一些实施方案中，治疗需要至少每天舌下施用一次，持续至少7周。在治疗性应用中，有时需要间隔相对短的相对高的剂量，直到疾病的进展减少或终止，或直到受试者示出疾病症状的部分或完全改善。此后，可以向患者施用预防性方案。

[0049] 本领域技术人员将理解，某些因素可影响有效治疗受试者所需的剂量和时程，这些因素包括但不限于，疾病的严重性、先前的治疗、受试者的一般健康状况和/或年龄、以及存在的其他疾病。

实施例

[0050] 通过以下实施例进一步说明本发明技术，不应将所述实施例视为以任何方式加以限制。

材料和方法

[0051] 舌下配制品。将含有500个胰岛素单位/mL的商业高剂量Humulin®溶液(Humulin®R U-500)与另外的等体积(1:1(vol:vol))的100％甘油混合。每个剂量含有10μL的Humulin®-甘油溶液，所述溶液中含有2.5个胰岛素单位(大约87微克)，溶液的最终浓度为52vol.％甘油。

[0052] NOD小鼠。如Makino(Adv.Immunol.51:285-322(1992))所述的非肥胖糖尿病(NOD)小鼠用于本文所述的研究。NOD小鼠为1型糖尿病的自发发生提供了动物模型。NOD小鼠由于白细胞浸润到胰岛而发生胰岛炎，这进而导致胰岛的破坏和1型糖尿病表型。

[0053] 血清C肽测定。使用小鼠C肽ELISA(ALPCO)，其量化小鼠I和小鼠II胰岛素原基因的C肽蛋白产物。简而言之，通过将针头插入下颌下静脉并收集约0.2mL的血液来收集血清。将血液在冷冻离心机中以17,000rpm离心30分钟，并收集血清并在-80℃下储存。

[0054] 自身抗体滴度测定。采用市售的ELISA测定来检测从受试者收集的血清样品中抗胰岛素抗体的存在。

实施例1:胰岛素相关肽延迟1型糖尿病小鼠模型中的高血糖症发作的用途

[0055] 该实施例展现了本发明技术的胰岛素相关肽的舌下配制品在延迟1型糖尿病小鼠模型中的高血糖症的发作的方法中的用途。

方法

[0056] 将五周龄雌性NOD小鼠随机分配为三组：(1)对照组(1:1甘油/磷酸盐缓冲盐水(PBS))；(2)在六周龄时开始的胰岛素相关肽治疗(Humulin®)；或(3)在十周龄时开始的胰岛素相关肽治疗(Humulin®)。向治疗组(2)和(3)中的小鼠每天一次舌下施用87μg Humulin®(10μL溶液)，直至30周龄。每周进行一次血液葡萄糖测量，直至20周龄，然后此后每周进行两次。在连续三次血液葡萄糖读数高于300mg/dL(高血糖症)后，小鼠被归类为糖

尿病。

结果

[0057] 如图1A所示，与对照组相比，在治疗组2(即从六(6)周龄开始用Humulin® 治疗的小鼠)中，舌下Humulin®的治疗显著减少了1型糖尿病的发生率(T1D发作%)和1型糖尿病的发作时间(周)。图1B示出了治疗组3(即从十(10)周龄开始用Humulin® 治疗的小鼠)与对照组相比的结果。表3提供了与图1A和图1B中所示的存活曲线相关的统计数据。

表3.存活曲线比较

对数秩(Mantel-Cox)检验		
	图1A	**图1B**
卡方	3.98	0.812
Df	1	1
P值	0.0460	0.367
P值总结	*	ns
存活曲线是否显著不同?	是	否
Gehan-Breslow-Wilcoxon检验		
卡方	5.45	0.725
Df	1	1
P值	0.020	0.389
P值总结	*	ns
存活曲线是否显著不同?	是	否
中值存活期(即到1型糖尿病发作的时间)		
对照	21周	21周
6/10周Humulin启动	27周	24周
比率（及其倒数）	0.778 (1.29)	0.8750 (1.14)
比率的95% CI	0.396至1.53 (0.654至2.53)	0.453至1 69 (0.592至2.21)

[0058] 这些结果证明，本发明技术的胰岛素相关肽(如Humulin®)的舌下配制品可用于治疗1型糖尿病的方法中，其中治疗包括在有需要的受试者中延迟高血糖症的发作或降低发生1型糖尿病的可能性。

实施例2:胰岛素相关肽在维持血清C肽水平中的用途

[0059] 该实施例展现了本发明技术的胰岛素相关肽的舌下配制品在维持1型糖尿病小鼠模型中的血清C肽水平的方法中的用途。C肽是胰岛素原中连接α和β胰岛素链的部分，在与来自胰腺β细胞的胰岛素共同分泌之前被切割掉。以与内源性胰岛素等摩尔量产生的31-氨基酸C肽不是治疗性施用的外源性胰岛素的产物，并且已广泛用作胰岛素分泌(或胰腺β细胞功能)的量度。

方法

[0060] 如实施例1所述，将五周龄雌性NOD小鼠随机分配为三组：(1)对照组(仅油)；(2)在六周龄时开始的胰岛素相关肽治疗(Humulin®)；或(3)在十周龄时开始的胰岛素相关肽治疗(Humulin®)。向治疗组(2)和(3)中的小鼠每天一次舌下施用87μg Humulin®，直至30周龄。从第6周抽取的血清中进行基线C肽测量。此后，从第20周开始直至30周龄，每2周抽取1次血清进行C肽测量。

结果

[0061] 据预测，与未治疗的发生1型糖尿病临床症状的对照NOD小鼠相比，接受胰岛素相关肽治疗(如Humulin®或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体)的NOD小鼠将显示出维持或提高的血清C肽水平。这些结果将示出本发明技术的胰岛素相关肽的舌下配制品可用于治疗受试者(特别是具有指示1型糖尿病发生倾向的生物标记物或病史的那些受试者)的1型糖尿病。

实施例3:胰岛素相关肽在减弱抗原性应答中的用途

[0062] 该实施例展现了本发明技术的胰岛素相关肽的舌下配制品在用于减弱有风险患上或已被诊断为患有1型糖尿病的受试者中的抗原性应答的方法中的用途。1型糖尿病发作之前出现许多针对各种胰岛细胞抗原的自身抗体，并且所述发作伴随着这些自身抗体的出现。在遗传上易感但无疾病的个体(例如，1型糖尿病患者的一级亲属)中，检测到多种胰岛细胞自身抗体是关于随后发生I型糖尿病的强预测指标。这些自身抗体包括但不限于胰岛细胞抗体(ICA，针对β细胞中的胞质蛋白)、针对谷氨酸脱羧酶(GAD-65)的抗体、胰岛素自身抗体(IAA)以及针对酪氨酸磷酸酶(IA-2A和IA-2β)和ZnT8的自身抗体。

方法

[0063] 如实施例1所述，将五周龄雌性NOD小鼠随机分配为三组：(1)对照组(仅油)；(2)在六周龄时开始的胰岛素相关肽治疗(Humulin®)；或(3)在十周龄时开始的胰岛素相关肽治疗(Humulin®)。向治疗组(2)和(3)中的小鼠每天一次舌下施用87μghumulin，直至30周龄。在第6周评估受试者的自身抗体的基线水平。此后，从第15周开始直至30周龄，每隔一周进行一次自身抗体滴度测量。

结果

[0064] 据预测，与未治疗的对照相比，接受胰岛素相关肽治疗(如Humulin®或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体)的NOD小鼠将显示出减弱的抗原性应答(例如胰岛细胞自身抗体水平)。这些结果将证明，本发明技术的胰岛素相关肽(如Humulin®或其具有一个或多个保守氨基酸取代的变体)的舌下配制品可用于治疗有需要的受试者的1型糖尿病。

实施例4:胰岛素相关肽在延迟人的高血糖症发作中的用途

[0065] 该实施例展现了本发明技术的胰岛素相关肽的舌下配制品在用于治疗无疾病的但易于发生1型糖尿病的个体(例如1型糖尿病患者的一级亲属，其中亲属已经被确定为在遗传上易于发生1型糖尿病)的1型糖尿病的方法中的用途。

方法

[0066] 确定为易于发生1型糖尿病的受试者每天接受本发明技术的胰岛素相关肽的舌下施用。剂量范围在0.1mg/kg至50mg/kg之间。每周将评价受试者中与1型糖尿病相关的病征和症状的存在和/或严重性，所述病征和症状包括但不限于例如高血糖症、低胰岛素血症、血清C肽水平、A1C水平或存在自身抗体。治疗可以无限期地维持，或者直到发生1型糖尿病的一种或多种病征或症状之时为止。

结果

[0067] 据预测，接受舌下施用的治疗有效量的本发明技术的胰岛素相关肽的易于发生1型糖尿病的受试者将显示出与1型糖尿病发生相关的病征或症状的延迟和/或降低的严重性或消除。这些结果将示出，本发明技术的胰岛素相关肽(如Humulin®、或其生物活性片

段、或前二者中任一者的具有一个或多个氨基酸取代的变体)的舌下配制品可用于治疗有需要的受试者的1型糖尿病,并且特别可用于延迟受试者高血糖症的发作和/或降低发生1型糖尿病的可能性。

等效内容

[0068] 本发明技术并不受限于本申请中描述的特定实施方案,所述实施方案旨在作为本发明技术的单独方面的单一说明。如本领域技术人员应清楚的是,可以在不背离本发明技术的精神和范围的情况下,对本发明技术进行许多修改和改变。本领域技术人员根据前述描述应清楚,除了本文列举的方法和设备外,在本发明技术范围内的功能上等效的方法和设备。这样的修改和变化旨在落入所附权利要求的范围内。本发明技术仅由所附权利要求的权项以及这样的权利要求有权要求的等同物的全部范围来限制。应理解,本发明技术并不限于特定方法、试剂、化合物、组合物或生物系统,它们当然可以改变。还应理解,本文所用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,并且不旨在具有限制性。

[0069] 另外,在本公开文本的特征或方面按马库什群组(Markush group)来描述的情况下,本领域技术人员将认识到,本公开文本因此也按马库什群组的任何单独成员或成员亚组来描述。

[0070] 如由本领域技术人员将理解,出于任何和所有目的,特别是就提供书面描述而言,本文公开的所有范围还涵盖其任何和所有可能的子范围和子范围的组合。任何列出的范围都可以被容易地识别为充分描述相同的范围并使相同的范围能够分解成至少相等的两等份、三等份、四等份、五等份、十等份等。作为非限制性例子,本文讨论的每个范围都可以容易地分解成下三分之一、中三分之一和上三分之一等。如本领域技术人员还将理解的,诸如“至多”、“至少”、“大于”、“小于”等所有语言包括所列举的数字,并且是指可以随后分解成如上讨论的子范围的范围。最后,如本领域技术人员可理解,范围包括每一个别成员。因此,例如,具有1-3个单元的组是指具有1、2或3个单元的组。类似地,具有1-5个单元的组是指具有1、2、3、4或5个单元的组,等等。

[0071] 提供前面的描述以帮助读者理解。所提供的信息或所引用的参考文献均不被承认是关于本文公开的组合物和方法的现有技术。

[0072] 本文所提及或引用的所有专利、专利申请、临时申请和出版物都通过引用以其整体而并入,包括所有图形和表格,并入程度使其不会与本说明书的明确传授内容不一致。

[0073] 其他实施方案在所附权利要求中阐述。

序列表

<110> 美商玛丽莫里斯博士联合有限责任公司

<120> 用于治疗和预防1型糖尿病的方法和组合物

<130> 120177-0106

<140>

<141>

<150> 62/944,503

<151> 2019-12-06

<160> 24

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr
20 25 30

<210> 2

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 2

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu
1 5 10 15

Glu Asn Tyr Cys Asn
20

<210> 3

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 3

Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu
1 5 10 15

Arg Gly Phe Phe Tyr
20

<210> 4

<211> 15
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 4
Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys
1 5 10 15
<210> 5
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 5
Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu
1 5 10 15
Glu Asn Tyr Cys
20
<210> 6
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 6
Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr
1 5 10 15
Cys
<210> 7
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 7
Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val
1 5 10 15
Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr
20
<210> 8
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 8
Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys
1 5 10 15

Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr
20

<210> 9
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 9
Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg
1 5 10 15
Gly Phe Phe Tyr
20

<210> 10
<211> 86
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 10
Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg
20 25 30
Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45
Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys
50 55 60
Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80
Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 11
<211> 86
<212> PRT
<213> 未知
<220>
<223> 对未知的描述:
类人猿(Great ape)胰岛素序列
<400> 11
Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg

20 25 30

Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys
50 55 60

Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80

Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 12
<211> 86
<212> PRT
<213> 食蟹猴(Macaca fascicularis)
<400> 12

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr Arg Arg
20 25 30

Glu Ala Glu Asp Pro Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys
50 55 60

Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80

Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 13
<211> 86
<212> PRT
<213> 未知
<220>
<223> 对未知的描述:
兔胰岛素序列
<400> 13

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ser Arg Arg
20 25 30

Glu Val Glu Glu Leu Gln Val Gly Gln Ala Glu Leu Gly Gly Gly Pro

35 40 45

Gly Ala Gly Gly Leu Gln Pro Ser Ala Leu Glu Leu Ala Leu Gln Lys
50 55 60
Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80
Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 14
<211> 86
<212> PRT
<213> 犬属物种(Canis sp.)
<400> 14
Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ala Arg Arg
20 25 30
Glu Val Glu Asp Leu Gln Val Arg Asp Val Glu Leu Ala Gly Ala Pro
35 40 45
Gly Glu Gly Gly Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ala Leu Gln Lys
50 55 60
Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80
Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 15
<211> 86
<212> PRT
<213> 马属物种(Equus sp.)
<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(32)
<223> 任何氨基酸
<220>
<221> MOD_RES
<222> (64)..(65)
<223> 任何氨基酸
<400> 15
Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ala Xaa Xaa
20 25 30
Glu Ala Glu Asp Pro Gln Val Gly Glu Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45
Gly Leu Gly Gly Leu Gln Pro Leu Ala Leu Ala Gly Pro Gln Gln Xaa
50 55 60
Xaa Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Gly Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80
Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 16
<211> 84
<212> PRT
<213> 野猪(Sus scrofa)
<400> 16
Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ala Arg Arg
20 25 30
Glu Ala Glu Asn Pro Gln Ala Gly Ala Val Glu Leu Gly Gly Gly Leu
35 40 45
Gly Gly Leu Gln Ala Leu Ala Leu Glu Gly Pro Pro Gln Lys Arg Gly
50 55 60
Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu
65 70 75 80
Asn Tyr Cys Asn
<210> 17
<211> 86
<212> PRT
<213> 未知
<220>
<223> 对未知的描述:
仓鼠胰岛素序列
<400> 17
Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ser Arg Arg
20 25 30
Gly Val Glu Asp Pro Gln Val Ala Gln Leu Glu Leu Gly Gly Gly Pro

35 40 45

Gly Ala Asp Asp Leu Gln Thr Leu Ala Leu Glu Val Ala Gln Gln Lys
50 55 60

Arg Gly Ile Val Asp Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80

Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 18
<211> 86
<212> PRT
<213> 大鼠属物种(Rattus sp.)
<400> 18

Phe Val Lys Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Met Ser Arg Arg
20 25 30

Glu Val Glu Asp Pro Gln Val Ala Gln Leu Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Gly Ala Gly Asp Leu Gln Thr Leu Ala Leu Glu Val Ala Arg Gln Lys
50 55 60

Arg Gly Ile Val Asp Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80

Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 19
<211> 86
<212> PRT
<213> 小鼠属物种(Mus sp.)
<400> 19

Phe Val Lys Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Met Ser Arg Arg
20 25 30

Glu Val Glu Asp Pro Gln Val Ala Gln Leu Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Gly Ala Gly Asp Leu Gln Thr Leu Ala Leu Glu Val Ala Gln Gln Lys
50 55 60

Arg Gly Ile Val Asp Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80

Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 20
<211> 86
<212> PRT
<213> 猫属物种(Felis sp.)
<400> 20

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ala Arg Arg
20 25 30
Glu Ala Glu Asp Leu Gln Gly Lys Asp Ala Glu Leu Gly Glu Ala Pro
35 40 45
Gly Ala Gly Gly Leu Gln Pro Ser Ala Leu Glu Ala Pro Leu Gln Lys
50 55 60
Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Ala Ser Val Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80
Leu Glu His Tyr Cys Asn
85

<210> 21
<211> 86
<212> PRT
<213> 大鼠属物种(Rattus sp.)
<400> 21

Phe Val Lys Gln His Leu Cys Gly Pro His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ser Arg Arg
20 25 30
Glu Val Glu Asp Pro Gln Val Pro Gln Leu Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45
Glu Ala Gly Asp Leu Gln Thr Leu Ala Leu Glu Val Ala Arg Gln Lys
50 55 60
Arg Gly Ile Val Asp Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80
Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 22
<211> 84
<212> PRT

<213> 小鼠属物种(Mus sp.)
<400> 22
Phe Val Lys Gln His Leu Cys Gly Pro His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ser Arg Arg
20 25 30
Glu Val Glu Asp Pro Gln Val Glu Gln Leu Glu Leu Gly Gly Ser Pro
35 40 45
Gly Asp Leu Gln Thr Leu Ala Leu Glu Val Ala Arg Gln Lys Arg Gly
50 55 60
Ile Val Asp Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu
65 70 75 80
Asn Tyr Cys Asn
<210> 23
<211> 81
<212> PRT
<213> 牛属物种(Bos sp.)
<400> 23
Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ala Arg Arg
20 25 30
Glu Val Glu Gly Pro Gln Val Gly Ala Leu Glu Leu Ala Gly Gly Pro
35 40 45
Gly Ala Gly Gly Leu Glu Gly Pro Pro Gln Lys Arg Gly Ile Val Glu
50 55 60
Gln Cys Cys Ala Ser Val Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys
65 70 75 80
Asn
<210> 24
<211> 81
<212> PRT
<213> 绵羊(Ovis aries)
<400> 24
Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Ala Arg Arg
20 25 30
Glu Val Glu Gly Pro Gln Val Gly Ala Leu Glu Leu Ala Gly Gly Pro

35 40 45

Gly Ala Gly Gly Leu Glu Gly Pro Pro Gln Lys Arg Gly Ile Val Glu

50 55 60

Gln Cys Cys Ala Gly Val Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys

65 70 75 80

Asn

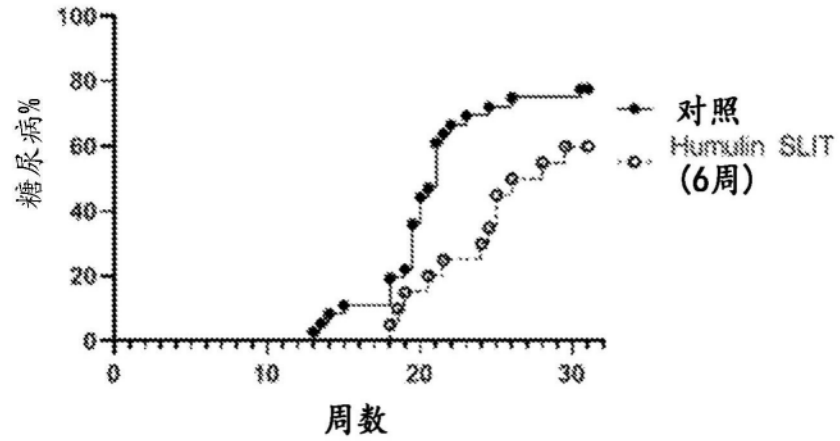

100
80
60
40
20
0
糖尿病%
0
10
20
30
周数
对照
Humulin SLIT
(6周)

图1A

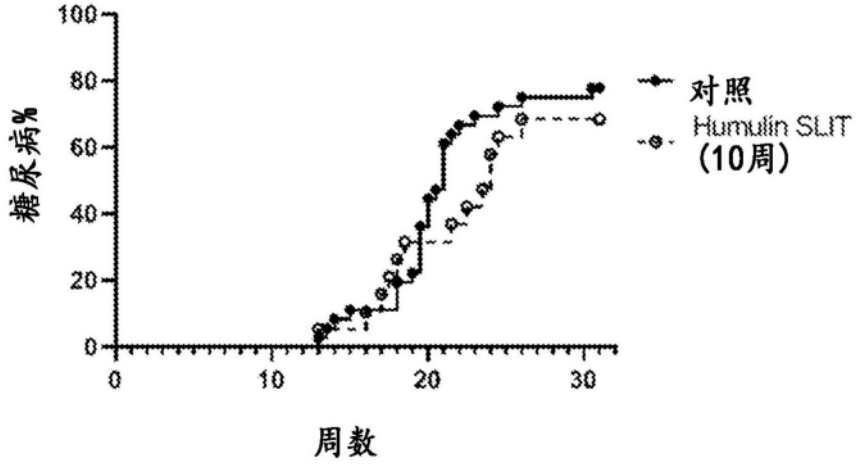

100
80
60
40
20
0
糖尿病%
0
10
20
30
周数
对照
Humulin SLIT
(10周)

图1B