



# (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102462837 B

(45)授权公告日 2016.08.03

(21)申请号 201010551433.8  
 (22)申请日 2010.11.19  
 (73)专利权人 生物林格斯IP有限公司  
 地址 瑞士黑吉斯维尔  
 (72)发明人 高世英  
 (74)专利代理机构 北京康信知识产权代理有限  
 责任公司 11240  
 代理人 李丙林 张英

A61P 13/08(2006.01)  
 A61P 15/00(2006.01)  
 A61P 17/06(2006.01)  
 A61P 17/10(2006.01)  
 A61P 19/02(2006.01)  
 A61P 19/04(2006.01)  
 A61P 19/06(2006.01)  
 A61P 37/02(2006.01)  
 A61P 43/00(2006.01)

(51) Int. Cl.

A61K 38/20(2006.01)  
 A61P 29/00(2006.01)  
 A61P 1/00(2006.01)  
 A61P 1/18(2006.01)  
 A61P 3/10(2006.01)  
 A61P 9/00(2006.01)  
 A61P 11/02(2006.01)  
 A61P 13/02(2006.01)

(56)对比文件

CN 1281368 A, 2001.01.24, 说明书书第6页  
 第4段, 第7页第5-7段, 第9页第4段, 第14页第3  
 段.

CN 102174111 A, 2011.09.07, 全文.

肖啸等. 白介素-2对临床意义的研究.《山东  
 畜牧兽医》. 2008, 第29卷(第5期), 第45-46页.

审查员 蔡放

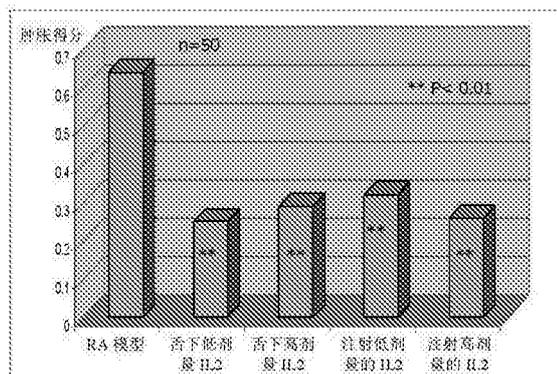
权利要求书1页 说明书14页 附图4页

(54)发明名称

抗炎组合物

(57)摘要

本发明提供了一种抗炎组合物, 所述组合物  
 包括白介素或其片段或衍生物, 可选地以及一种  
 或多种药用载体、赋形剂和/或稀释剂。并且, 本  
 发明还提供了白介素或其片段或衍生物在制备  
 用于治疗异常炎症或炎症病症的药物中的应用,  
 其中, 所述药物是粘膜给予的。



1.有效量的白介素-2IL-2在制备粘膜给予以用于治疗受试者中异常炎症或炎性病症的药物中的应用,其中所述粘膜给予为舌下给予,以及其中,所述炎性病症选自关节炎、鼻窦炎、牛皮癣、过敏性肠综合症和全身性红斑狼疮。

2.根据权利要求1所述的应用,其中,所述IL-2是重组人IL-2。

3.根据权利要求1或2所述的应用,其中,所述炎性病症为慢性炎性疾病。

4.根据权利要求1所述的应用,其中,所述关节炎为类风湿性关节炎。

5.根据权利要求1或2所述的应用,其中,将所述IL-2配制到包括一种或多种药用载体、赋形剂或稀释剂的药物组合物中。

6.根据权利要求5所述的应用,其中,所述药物组合物为固体单位剂型。

7.根据权利要求6所述的应用,其中,所述固体单位剂型包括片剂或胶囊。

8.根据权利要求5所述的应用,其中,所述药物组合物为凝胶形式。

9.根据权利要求1或2所述的应用,进一步包括给予一种或多种另外的抗炎剂。

## 抗炎组合物

### 技术领域

[0001] 本发明总体上涉及用于治疗炎性病症的方法和组合物。具体地,本发明涉及包括粘膜递送白介素,特别是白介素-2(IL-2)的这样的治疗。更具体地,本发明涉及舌下给予包含IL-2的组合物。

### 背景技术

[0002] 炎症是辅助保护身体免受感染和损伤的正常和重要的反应机制。然而,异常或不受控制的炎性反应可以导致急性或慢性炎症障碍或病症的发展。慢性炎症病症可以使患者衰弱并导致患者严重的不适和疼痛。此外,随着全球人口的老龄化,如类风湿性关节炎的炎性病症的发病率不断增加。

[0003] 基于传统化学的用于炎性病症治疗的一个基本缺点是这些药剂仅针对缓解与所述病症有关的疼痛而不致力于所述病症潜在的病理生理学。并且,与持续的类固醇使用有关的是包括胃溃疡和出血的显著副作用。例如,非类固醇抗炎药物(NSAID)已经在抗炎疗法中使用多年,然而,取决于治疗的时间长短和药物的类型,熟知NSAID会在胃肠道中产生损伤。在疗法必须拖延较长时间的情况下,例如在治疗包括类风湿性关节炎的慢性炎症障碍过程中,其中需要长期治疗以保持炎症状态和相关疼痛受到控制,该问题具有特别的重要性。

[0004] 因此,在努力降低这样的副作用并减慢或逆转疾病进程中,对开发基于生物药剂的疗法存在增加的兴趣。

[0005] 而且,由于大部分炎性和自身免疫疾病是需要长期治疗的慢性疾病,因此,需要由医生或其他健康护理专业人员施加的基于注射的疗法和治疗并不是理想的。因此,开发替代疗法和替代给药途径是许多研究的焦点。

[0006] 认为对一些癌症的治疗有前景的一种生物药剂是细胞因子白介素-2(IL-2)。白介素-2的重组形式,阿地白介素(Proleukin®)已通过FDA批准从而通过注射用于治疗转移性黑色素瘤和肾细胞癌。然而,到目前为止,与其给予相关的显著副作用已严重妨碍了用于治疗目的的IL-2的广泛和有效使用,这很大程度上是由于需要的静脉内或皮下递送方法以及通过注射实现任何治疗益处所需的相关高剂量所造成的。接受全身IL-2疗法的患者通常会经历流感样症状。低血压、贫血和减少的血小板数也与静脉内给予所需的高积累剂量有关。与最近可获得的静脉内或皮下IL-2给予有关的最严重的毒性由分子增加毛细血管渗透性的能力造成,它可能导致低血压、腹水、广泛化水肿和肺水肿。毛细血管渗漏综合症最终可能导致极低的血压和降低的血液流动、心肺异常、停饮、心理变化、肾异常和/或胃肠异常。这些影响可能是严重的并且可以导致死亡。

[0007] 对于静脉内或皮下注射IL-2的需要还妨碍了个体自我药物治疗和管理他们自身治疗方案的能力。因此,对开发简单、低成本的治疗选择存在需要,该治疗选择使得炎性病症的患者能够方便并且无痛或无副作用地给予他们自身药物。

[0008] 最近,根据IL-2的显著毒性和相对适度的临床反应率仔细地评价了它的持续治疗

应用。然而,现在本发明的发明人意外地发现,与预期相反,IL-2的粘膜递送相对于当前可用的注射递送提供了实质性治疗益处,其包括与最近可用的全身递送所需的剂量相比,以更少的剂量实现有效治疗的能力。从而本发明提供了成本有效、有效治疗性治疗炎症病症的可行的新选择,该选择具有降低的副作用并使患者给予其自身药物。

### 发明内容

[0009] 根据第一方面,本发明提供了一种用于治疗受试者中异常炎症或炎症病症的方法,所述方法包括粘膜给予所述受试者有效量的白介素或其片段或衍生物。

[0010] 所述白介素可以是重组人白介素。通常,所述白介素是白介素-2(IL-2)。

[0011] 通常,所述粘膜给予为口腔给予(给药),更通常地,所述给予为颊部或舌下的。

[0012] 所述炎症病症可以是慢性炎症疾病并且可以选自,例如,如类风湿性关节炎的关节炎、鼻窦炎、如哮喘的过敏性障碍、牛皮癣、痤疮、炎性肠病、慢性疲劳综合症、如全身性红斑狼疮的自体免疫障碍、干燥综合症(Sjögren's syndrome)、前列腺炎症、尿道炎症、胰腺炎、血管炎、糖尿病、包括痛风的足部炎症、和痛经。

[0013] 可以以适合于口腔递送,通常适合于舌下或颊部递送的任何形式,如,例如,以固体或液体单位剂型来给予所述白介素。

[0014] 所述方法可以进一步包括给予一种或多种抗炎剂。可以通过与白介素相同的途径或通过不同的途径来给予这样的药剂。多个药剂的给予可以是顺序的或同时的。

[0015] 根据第二方面,本发明提供了一种用于粘膜给予以用于治疗异常炎症或炎症病症的药物组合物,所述组合物包括白介素或其片段或衍生物,可选地连同一种或多种药用载体、赋形剂和/或稀释剂。

[0016] 根据第三方面,本发明提供了一种用于治疗受试者中异常炎症或炎症病症的方法,所述方法包括粘膜给予所述受试者有效量的第二方面的组合物。

[0017] 根据第四方面,本发明提供了白介素或其片段或衍生物在制备用于治疗异常炎症或炎症病症的药物中的应用,其中所述药物通过粘膜给予。

[0018] 并且,提供了白介素或其片段或衍生物在用于治疗异常炎症或炎症病症的方法中的应用。

[0019] 此外,本发明提供了有效量的白介素或其片段或衍生物在制备粘膜给予以用于治疗受试者中异常炎症或炎症病症的药物中的应用。

[0020] 根据本发明所述的应用,其中,所述白介素是重组人白介素。

[0021] 根据本发明所述的应用,其中,所述白介素是白介素-2(IL-2)。

[0022] 根据本发明所述的应用,其中,所述药物为口服给予的。

[0023] 根据本发明所述的应用,其中,所述药物为颊部或舌下给予的。

[0024] 根据本发明所述的应用,其中,所述炎症病症为慢性炎症性疾病。

[0025] 根据本发明所述的应用,其中,所述炎症病症选自关节炎、鼻窦炎、变应性障碍、牛皮癣、痤疮、炎性肠病、慢性疲劳综合症、自体免疫障碍、干燥综合症、前列腺炎症、尿道炎症、胰腺炎、血管炎、糖尿病、足部炎症、和痛经。

[0026] 根据本发明所述的应用,其中,所述关节炎为类风湿性关节炎。

[0027] 根据本发明所述的应用,其中,所述变应性障碍为哮喘。

- [0028] 根据本发明所述的应用,其中,所述自体免疫障碍为全身性红斑狼疮。
- [0029] 根据本发明所述的应用,其中,所述足部炎症为痛风或相关病症。
- [0030] 根据本发明所述的应用,其中,将所述白介素配制到包括一种或多种药用载体、赋形剂或稀释剂的药物组合物中。
- [0031] 根据本发明所述的应用,其中,所述药物组合物以固体单位剂型。
- [0032] 根据本发明所述的应用,其中,所述固体单位剂型包括片剂或胶囊。
- [0033] 根据本发明所述的应用,其中,所述药物组合物为凝胶形式。
- [0034] 根据本发明所述的应用,进一步包括给予一种或多种另外的抗炎剂。根据上述方面,可以以编码白介素的多核苷酸的形式给予白介素。所述多核苷酸可以位于可操作性地连接至启动子的遗传构建物中。

### 附图说明

- [0035] 在本文中仅通过举例的方式,参考附图来描述本发明的实施方式。
- [0036] 图1. 肿胀(肿胀分数),在肠胃外(Inj)或舌下(Sub)给予重组人IL-2后,如在具有诱导的类风湿性关节炎的大鼠的右后足上测量的。舌下低剂量=4000 IU/kg体重,每天两次,给予7天;舌下高剂量=12000 IU/kg体重,每天两次,给予7天;注射低剂量=4000 IU/kg体重,每天两次,给予7天;注射高剂量=16000 IU/kg体重,每天两次,给予7天。
- [0037] 图2. 肿胀(RA指数),在肠胃外(Inj)或舌下(Sub)给予3天(A)或7天(B)重组人IL-2后,如在右后足具有诱发的类风湿性关节炎的大鼠的未激发的三个足上测量的。舌下低剂量=4000 IU/kg体重,每天两次,给予7天;舌下高剂量=12000 IU/kg体重,每天两次,给予7天;注射低剂量=4000 IU/kg体重,每天两次,给予7天;注射高剂量=16000 IU/kg体重,每天两次,给予7天。
- [0038] 图3. 舌下(Sub)给予14天重组人IL-2后,测量具有诱发的肺炎的大鼠中的肺炎。舌下低剂量=1000 IU/kg体重,每天两次,给予7天,然后每隔一天给予;舌下高剂量=4000 IU/kg体重,每天两次,给予7天,然后每隔一天给予。(A)胸腺指数-胸腺重量(g)/100 g体重。(B)脾指数-脾重量(g)/100 g体重。
- [0039] 图4. 舌下(Sub)给予14天重组人IL-2后,具有诱发的肺炎大鼠的行为,如通过擤鼻、喷嚏的频率和鼻涕的程度测量的。舌下低剂量=1000 IU/kg,每天两次,给予7天,然后每隔一天给予;舌下高剂量=4000 IU/kg,每天两次,给予7天,然后每隔一天给予。
- [0040] 图5. 示出了舌下给予IL-2(每天5000 IU)两个月后,影响人受试者的肘部和手部的牛皮癣变化的图像。
- [0041] 核苷酸序列由序列标识号(SEQ ID NO)表示。SEQ ID NO数字上对应于序列标识符<400>1(SEQ ID NO:1)、<400>2(SEQ ID NO:2)等。具体地,SEQ ID NO:1中示出的氨基酸序列表示人IL-2的前体形式、SEQ ID NO:2中示出的氨基酸序列表示人IL-2的成熟形式。编码人IL-2的核苷酸序列示出在SEQ ID NO:3中。

### 具体实施方式

- [0042] 在整个本说明书及其所附的权利要求中,除非上下文中以其它方式要求,否则单词“包括”及其变型诸如“包含”均将理解成暗示包括所说明的要素(元素)、整数或步骤,或

要素、整数或步骤的组,但是并不排除任何其它要素、整数或步骤,或要素、整数或步骤的组。

[0043] 本文中使用的冠词“一个”和“一种”是指一个或多个(即,至少一个)该冠词的语法对象。举例来说,“一个要素”表示一个要素或多个要素。

[0044] 如本文中所使用的,术语“有效量”包括在其表示无毒性但提供所期望治疗效果的药剂或化合物的足够量的含义内。取决于诸如待治疗的物种、受试者的年龄和一般状况、待治疗病症的严重程度、待给予的特定药剂以及给予的模式等因素,所需的确切量在受试者之间将不同。因此,不可能指定确切的“有效量”。然而,对于任何给定情况,本领域的普通技术人员仅使用常规实验就可以确定适当的“有效量”。

[0045] 如本文中所使用的,术语“治疗”和“处理”是指无论以任何方式治疗疾病状态或症状,预防疾病的建立,或以其它方式预防、阻止、延缓或逆转疾病或其它不期望症状进展的任何和所有用途。因此,“治疗”不仅指设计成治愈或消除个体中症状的治疗,而且还指设计成控制和抑制症状发生的正在进行的(ongoing)疗法。取决于任何给定个体的特定情况,治疗可以在限定的时间内进行,或基于正在进行的而提供。

[0046] 如本文中所使用的,术语“多肽”表示由通过肽键连接在一起的氨基酸构成的聚合物。在本文中,术语“多肽”和“蛋白质”可互换使用,虽然对于本发明来说,“多肽”可以构成全长蛋白的一部分。如本文中所使用的,术语“多核苷酸”指脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸碱基或已知的类似物或天然核苷酸,或它们的混合物的单链或双链聚合物。

[0047] 本发明是在本发明人的意外发现上预测的,即,在不同炎症病症的体内模型中,重组IL-2的舌下给予导致基本和统计学显著的治疗益处,而没有明显的毒性。另外,如本文中所列举的,这种粘膜给予基本上是剂量非依赖性(独立)的。这与现有技术通过注射的给予相反,在现有技术的给予中,通常需要更高的剂量以实现类似的治疗效果,其中待给予的剂量受副作用和毒性产生的限制。

[0048] 因此,本发明为各种炎症病症提供了低剂量的新型治疗选择,使得消除或降低了利用目前可用的全身治疗常见的副作用。迄今为止,仅静脉内或皮下尝试了用于治疗炎症病症的IL-2疗法。这样的给予需要高剂量的白介素,相对于通过其如IL-2的细胞因子天然地起到介导细胞应答作用的水平,认为其以异常高的水平。这些高剂量对患者产生显著的副作用。

[0049] 本发明人的治疗有效的粘膜白介素给予的新发现为开发目前可用的注射疗法的成本有效、无毒的治疗性备选方案开辟了道路。

[0050] 因此,在一个方面,本发明提供了一种用于治疗受试者体内炎症病症的方法,所述方法包括粘膜给予所述受试者有效量的白介素或其片段或衍生物。

[0051] 对于根据本发明的应用,所述白介素可以选自,例如,IL-2、IL-12、IL-15或者IL-18。在具体实施方式中,所述白介素是IL-2,通常为人IL-2,并且更通常为重组人IL-2。

[0052] 本发明的方法和组合物中使用的白介素可以是天然的、重组的或合成的,并且可以通过从合适的来源纯化获得或者可以通过标准重组DNA技术来生产,如本领域技术人员熟知的并且描述在例如,Sambrook et al., *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press中的那些技术(将其披露内容以引用方式并入本文)。本领域技术人员将理解,根据本发明的待采用的白介素的精确序列可以根据多个因素

而改变,例如,待治疗的物种和/或炎症病症。“白介素”的参考应理解为对该分子所有形式的参考以及对其功能性衍生物、变体和同系物的参考。这包括,例如,由主题白介素mRNA的备选剪接所引起的任何同工型(isoforms)或这些蛋白的功能性突变体或多态性变体。具有与全长成熟白介素相同的定性生物活性的同系物或模拟物也涵盖在本发明的范围内。另外,本发明不仅考虑使用白介素多肽,而且还考虑使用编码其的多核苷酸。

[0053] 白介素的“衍生物”包括来自天然或非天然来源的类似物、功能性片段、组分(parts)、部分或变体。非天然来源包括,例如,重组或合成来源。“重组来源”是指已经对从其收获主题分子的细胞来源进行了基因改变。“类似物”表示作为白介素衍生物的多肽,其中所述衍生物包括一个或多个氨基酸的添加、缺失、取代,使得所述多肽保持了基本上与其从中衍生的天然白介素相同的功能。可以进行修饰(改性),使得提高白介素的生物活性或表达水平,或者以其它方式提高所述多肽的有效性以实现期望的结果。术语“保守氨基酸取代”是指在多肽链(蛋白质的一级序列)内用一个氨基酸取代或置换具有类似性质的另一个氨基酸。例如,用带电氨基酸谷氨酸(Glu)取代类似带电的氨基酸天门冬氨酸(Asp)将是保守氨基酸取代。氨基酸插入衍生物还包括单个或多个氨基酸的氨基和/或羧基末端融合以及序列内插入。插入氨基酸序列变体是其中在蛋白质中的预定位点中引入了一个或多个氨基酸残基的那些变体,尽管通过所得产物的合适筛选,随机插入也是可能的。缺失变体的特征在于从序列中去除一个或多个氨基酸。取代氨基酸变体是除去序列中的至少一个残基并在其位置上插入不同的残基的那些变体。

[0054] 术语“片段”是指作为全长白介素的成分的多肽。片段通常具有与全长白介素相同的定性生物活性。片段可以来源于全长白介素多肽,或者可替换地可以通过一些其它方式,例如化学合成来合成。如本文中所使用的,白介素的“变体”表示与其作为变体的白介素基本类似序列的分子,并且它表现出与其所作为变体的白介素的至少一些功能活性。变体可以采取任何形式并且可以是天然或非天然存在的。通常,变体多肽可以具有至少25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性。

[0055] 如本文中所使用的,“同系物”表示白介素来源于除了根据本发明正在治疗的物种外的物种。这在以下情况下可能发生,例如,确定除正在治疗的物种外的物种产生了白介素形式,其表现出与正在治疗的受试者所天然产生的白介素类似且合适的功能特征。

[0056] 根据本发明的特定实施方式,待给予的白介素为人IL-2,如重组人IL-2。全长人IL-2具有如在SEQ ID NO:1(前体形式)或SEQ ID NO:2(成熟形式)中示出的氨基酸序列并且其天然形式为大约15,500 Da的糖基化蛋白。

[0057] 本发明的实施方式还提供了如上所述的以编码白介素多肽的多核苷酸形式给予白介素。通常,多核苷酸编码人IL-2。例如,本发明的IL-2多核苷酸可以具有如在SEQ ID NO:3中所示出的核苷酸序列。除了编码全长人多肽的多核苷酸外,本发明还期待使用编码其同系物、片段和变体的多核苷酸。

[0058] 在本发明的特定实施方式中,可以在载体中给予多核苷酸。所述载体可以是质粒载体、病毒载体或适于插入外源序列并引入到真核细胞中的任何其它合适的载体。通常,载体是能够引导将编码期望多肽的多核苷酸的DNA序列转录成mRNA的表达载体。载体可以包括表达控制和处理序列,如启动子、增强子、核糖体结合位点、多腺苷酸化信号和转录终止

序列。合适的病毒表达载体的实例包括,例如,基于爱波斯坦-巴尔病毒的载体、基于牛乳头瘤病毒的载体、基于腺病毒和腺相关病毒的载体。所述载体可以是游离体。

[0059] 本发明的方法和组合物在治疗包括慢性炎症疾病的一系列炎性病征中存在应用。仅通过举例说明,所述炎性病征可以选自诸如类风湿性关节炎的关节炎,窦炎,诸如哮喘的变应性障碍,牛皮癣、痤疮、炎性肠病、慢性疲劳综合症、如全身性红斑狼疮的自体免疫障碍、干燥综合症(Sjögren's syndrome)、前列腺炎、尿道炎症、足部炎症、胰腺炎、血管炎、糖尿病、包括痛风的足部炎症、和痛经。然而,本领域的技术人员将容易理解,本发明并不限于本文中明确说明的那些病症,而是可适用于对通过粘膜给予活性剂的治疗敏感的任何炎性病征的治疗。

[0060] 本发明提供了用于粘膜递送白介素的方法和组合物。虽然还期待其它鼻内给予(例如,吸入),但是优选地,白介素的粘膜给予是口服给予。通常,口服给予包括舌下或颊部给予,由此将所述组合物置于舌下或颊囊中以与颊部粘膜接触,从而使所述活性剂通过吸收直接进入血流。用于口服给予的合适形式包括固体、液体、乳剂、凝胶和悬浮液。在特定的实施方式中,以固体单位剂型来给予本发明的组合物,例如,以片剂、胶囊、囊片或锭剂的形式。在一种实施方式中,给药可以包括给予至鼻、颊部或舌下区域的凝胶。在白介素在给定的液体中不稳定的情况下,这可以通过将冻干的白介素粉末溶解在稀释剂中来克服,所述稀释剂为例如,水加蜂蜜或羧甲基纤维素、葡聚糖、麦芽糖糊精、树胶、白蛋白、糖类如葡萄糖、麦芽糖、甘露醇等。由于包含可以辅助白介素免疫反应的多种抗原,因此蜂蜜是特别有用的。

[0061] 通常,可以根据本领域普通技术人员已知的方法来制备合适的组合物,并且所述组合物可以包括药用稀释剂、佐剂和/或赋形剂。稀释剂、佐剂和赋形剂必须在与组合物的其它成分相容并且对其受体无害方面是“可接受的”。

[0062] 药用稀释剂的实例是软化水或蒸馏水;盐溶液;基于植物的油,如花生油、红花油、橄榄油、棉籽油、玉米油、芝麻油,如花生油、红花油、橄榄油、棉籽油、玉米油、芝麻油、花生油(arachis oil)或椰子油;硅酮油,包括聚硅氧烷,如甲基聚硅氧烷、苯基聚硅氧烷和甲基苯基聚硅氧烷;挥发性硅酮;矿物油,如液体石蜡、软石蜡或角鲨烷;纤维素衍生物,如甲基纤维素、乙基纤维素、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠或羟丙基甲基纤维素;低级链烷醇,例如,乙醇或异丙醇;低级芳烷醇;低级聚烷撑二醇或低级烷撑二醇,例如聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇或甘油;脂肪酸酯,如棕榈酸异丙酯、豆蔻酸异丙酯或油酸乙酯;聚乙烯吡咯烷酮;琼脂;角叉菜胶;黄蓍胶或阿拉伯树胶,和石油膏。稀释剂可以是葡聚糖、糊精、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、甘露醇、明胶、预凝胶淀粉、淀粉、氨基酸类、海藻糖、羧甲基纤维素、纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、白蛋白和丙二醇。通常,所述一种载体或多种载体将构成按所述组合物重量计的0.1%至99.9%。

[0063] 在本发明的特定实施方式中,以固体单位剂型给予白介素,例如,IL-2,所述固体单位剂型为诸如适合于口服(最通常地,舌下)给药的片剂、胶囊或锭剂。合适的固体组合物可以包括快速或缓慢崩解的组合物,其包含处于药用水溶性或水分散性载体材料中的白介素。一旦置于舌下或插入到颊囊中,则这样的组合物可以在口腔中崩解或溶解。可以配制组合物以用于白介素的快速或立即释放,或者可替换地用于延迟或控制释放。用于实现活性剂的延迟或控制释放的技术和方法对于本领域技术人员来说是熟知的。

[0064] 用于制备这样的剂型的大量方法对于本领域技术人员来说是熟知的,并且是本发明所期待的。例如,可以通过包括真空冷冻干燥、超临界流体干燥、使用加热的喷雾干燥和流化床喷雾干燥来制备合适的制剂。在本发明特定实施方式的背景下,应用包括微囊化的方法,其中通常使用溶剂将活性成分涂敷到颗粒、片剂或微粒上。一种特别合适的方法包括使用流化床喷雾法辅助在室温下将包含多肽的活性物以水溶性涂层涂覆到颗粒上,如在国际专利申请公开号W0 02/058735(将其全部披露内容以引用方式并入本文)中公开的。因此,可以涂覆如水溶性糖或凝胶形成颗粒的微粒,或者可替换地可以喷雾涂覆空白片剂、锭剂或胶囊芯。并且,本领域中已知的是用于制备掺入泡腾剂作为提高活性剂透过颊部和舌下粘膜的渗透性的渗透增强剂的口腔组合物的方法(参见,例如,美国专利第6,974,590号,将其全部披露内容以引用方式并入本文)。本发明所考虑的其它递送模式包括使用生物粘合剂、粘膜粘合剂和脂质体。

[0065] 本发明的组合物也可以以脂质体的形式给予。脂质体可以来源于磷脂或其它脂质物质,并且通过分散在含水介质中的单层或多层水合液态晶体来形成。在将组合物给予或递送至靶细胞中使用的脂质体的具体实例为DODMA、合成胆固醇、DSPC、PEG-cDMA、DLinDMA或能够形成脂质体的任何其它无毒、生理学上可接受的且可代谢的脂质。脂质体形式的组合物可以包含稳定剂、防腐剂和/或赋形剂。用于制备脂质体的方法是本领域中是熟知的,例如,参见在Cell Biology, Volume XIV, Academic Press, New York, N.Y. (1976), p. 33 ff中的方法,将其内容以引用方式并入本文。

[0066] 还可以以微粒的形式给予本发明的组合物。可以使用由聚交酯(PLA)、聚交酯-共-乙交酯(PLGA)和 $\epsilon$ -己内酯( $\epsilon$ -己内酯)形成的生物可降解微粒。

[0067] 本发明的组合物可以掺入由乙酸异丁酸蔗糖酯(SAIB)和有机溶剂或有机溶剂的混合物构成的控制释放基质。可以加入聚合物添加剂以进一步增加粘度从而降低释放速率。

[0068] 本领域技术人员将容易理解,对于根据本发明的合适的口服组合物的制备存在许多合适的方法和技术,并且本发明不受所参考的任何一种特定方法或技术限制。

[0069] 用于口服给药的固体形式可以包含在人用药物和兽用药物实践中可接受的粘结剂、甜味剂、崩解剂、稀释剂、调味剂、涂层剂、防腐剂、润滑剂和/或延时剂。合适的粘结剂包括阿拉伯树胶、明胶、玉米淀粉、预凝胶淀粉、黄蓍胶、海藻酸钠、羧甲基纤维素或聚乙二醇。合适的甜味剂包括蔗糖、乳糖、葡萄糖、天门冬酰苯丙氨酸甲酯(阿斯巴甜)或糖精。合适的崩解剂包括玉米淀粉、甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、瓜尔豆胶、黄原胶、膨润土、海藻酸(褐藻酸)或琼脂。合适的稀释剂包括乳糖、山梨糖醇、甘露醇、葡萄糖、高岭土、纤维素、碳酸钙、硅酸钙或磷酸二钙。合适的调味剂包括薄荷油、冬青油、樱桃、橙或树莓调味剂。合适的涂层剂包括丙烯酸和/或甲基丙烯酸和/或它们的酯的聚合物或共聚物、蜡、脂肪醇、玉米蛋白、虫胶或谷朊。合适的防腐剂包括苯甲酸钠、维生素E、 $\alpha$ -生育酚、抗坏血酸、羟苯甲酸甲酯、羟苯甲酸丙酯或亚硫酸氢钠。合适的润滑剂包括硬脂酸镁、硬脂酸、油酸钠、氯化钠或滑石。合适的延时剂包括单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0070] 除上述药剂之外,用于口服给药的液体形式还可以包含液体载体。合适的液体载体包括水,油,如橄榄油、花生油、芝麻油、向日葵油、红花油、花生油、椰子油,液体石蜡,乙二醇,丙二醇,聚乙二醇,乙醇,丙醇,异丙醇,甘油,脂肪醇,甘油三酯或它们的混合物。

[0071] 用于口服给药的悬浮液可以进一步包括分散剂和/或悬浮剂。合适的悬浮剂包括羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸钠或乙酰基醇。合适的分散剂包括卵磷脂, 脂肪酸(如硬脂酸)的聚氧化乙烯酯, 聚氧化乙烯山梨醇单或二油酸酯、-硬脂酸酯或-月桂酸酯, 聚氧化乙烯山梨聚糖单或二油酸酯、-硬脂酸酯或-月桂酸酯等。

[0072] 用于口服给药的乳剂可以进一步包括一种或多种乳化剂。合适的乳化剂包括如上例举的分散剂或天然树胶, 如瓜尔豆胶、阿拉伯树胶或黄蓍胶。

[0073] 对于任何特定患者来说, 本发明组合物的治疗有效剂量水平将取决于多个因素, 包括下列中的任一种或多种: 待治疗炎症病症的类型和炎症病症的阶段; 所使用的活性剂的活性; 所使用的组合物; 患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食; 给药时间; 化合物的螯合作用速率; 治疗的持续时间; 与治疗组合使用或同时使用的药物, 以及医学中熟知的其它相关因素。

[0074] 通过常规实验, 本领域的技术人员将能够确定治疗适当肿瘤所需的有效、无毒剂量。这些最通常将基于病例逐一确定。

[0075] 在本发明的特定实施方式中, 白介素(例如, IL-2)的优选剂量为每天约1 IU至约三百万IU, 尽管还期待高于和低于该范围的剂量。本发明的特征在于粘膜给予白介素能够将待使用的白介素剂量显著降低至现有技术方法的可能剂量以下, 同时保持治疗益处。因此, 本领域的技术人员可以确定根据本发明可以使用的白介素的最小剂量, 只要该剂量足以实现治疗益处。对于最大剂量, 考虑到如本文所讨论的那些因素, 也可以由本领域的技术人员来确定。例如, 在一些情况下, 每天高达几百万IU的剂量可以是适当的。通常, 根据本发明使用的白介素的剂量在每天约1 IU到约100,000 IU之间, 在每天约10 IU到约50,000 IU之间, 在每天约100 IU到约20,000 IU之间, 或在每天约500 IU到约10,000 IU之间。取决于包括待治疗的炎症病症的性质和严重性的如本文所述的多个因素, 给予需要其的患者的日剂量可以大致为约100 IU、200 IU、300 IU、400 IU、500 IU、600 IU、700 IU、800 IU、900 IU、1,000 IU、2,000 IU、3,000 IU、4,000 IU、5,000 IU、6,000 IU、7,000 IU、8,000 IU、9,000 IU、10,000 IU、11,000 IU、12,000 IU、13,000 IU、14,000 IU、15,000 IU、18,000 IU、20,000 IU、25,000 IU、30,000 IU、35,000 IU、40,000 IU、45,000 IU和约50,000 IU。

[0076] 本领域的技术人员还将显然的是, 通过待治疗炎症病症的性质和程度, 给予的形式、途径和部位以及待治疗特定个体的性质来确定各个剂量的最佳量和间隔。另外, 可以通过本领域技术人员已知的常规技术来确定这样的最佳条件。例如, 可以将期望的日剂量以单一单位剂型, 每天一次给予受试者, 或者以两个单位剂型, 每天两次给予受试者。

[0077] 本领域的技术人员还将显然的是, 可以使用治疗确定测试的常规过程由本领域技术人员来确定最佳疗程, 如限定天数内每天给予的组合物的剂量数。

[0078] 可以结合用于治疗炎症病症的其它疗法来使用本发明的方法和组合物。例如, IL-2可以与一种或多种其它治疗剂结合, 包括, 例如, 如皮质类固醇的其它免疫调节剂或其它细胞因子或趋化因子, 例如白介素或干扰素。可以结合本发明的组合物使用的合适药剂将是本领域技术人员已知的。

[0079] 对于这样的组合疗法, 可以同时给予, 或以任何次序顺序给予, 或在不同时间给予所述组合中的每个组分, 从而提供期望的治疗效果。当单独给予时, 尽管对于此不是必须

的,但通过相同的给予途径给予所述组分可能是优选的。可替换地,可以将所述组分以单一剂量单位作为组合产物配制在一起。

[0080] 本说明书中提及的所有出版物均以引用方式并入本文。本说明书中对任何现有出版物(或来源于该出版物的信息)或对任何已知内容的参考不是并且也不应认为是对该现有出版物(或来源于该出版物的信息)或已知内容构成本说明书试图所涉及的领域中公知常识的一部分的承认或许可或任何形式的启示。

[0081] 本领域的技术人员将理解,在不背离如广泛描述的本发明的精神或范围的情况下,可以对本发明进行许多变化和/或更改。因此,本发明的实施方式在所有方面均被认为是说明性的而不是限制性的。

[0082] 现在,将通过参照下列具体实施例来进一步更详细地描述本发明,以下实施例不应以任何方式解释成限制本发明的范围。

## 实施例

[0083] 实施例1-粘膜给予的重组人IL-2和类风湿性关节炎

[0084] 为了确定粘膜给予IL-2在治疗类风湿性关节炎中的效力,使用了大鼠模型,其中通过给予雄性大鼠(210-240 g体重)的右后足弗氏完全佐剂来诱导类风湿性关节炎。由于大鼠对使用佐剂诱导关节炎特别敏感,因此大鼠模型可用于研究类风湿性关节炎(RA)的发病机理。

[0085] 重组人IL-2购自北京四环生物制药有限公司(Beijing Four Rings Bio Pharmaceutical Co., Ltd.)(北京,中华人民共和国)。将其制成片剂形式,每片包含120万IU的IL-2并存放在25℃。通过加入水,使IL-2片剂溶解以形成糊剂。然后,在使用前通过加入不同量的水来制备如实验所需的不同浓度的IL-2。如下面的表1和表2所示,将大鼠随机分成5组,每组10只动物。如表1和2中所详细说明的,从第16天开始,通过尾部静脉内注射给予或以片剂糊的形式舌下给予两种剂量(高剂量和低剂量)的IL-2。在给予弗氏佐剂以诱导关节炎后的第19天和23天确定了大鼠足部中的肿胀。根据测量了肿胀的足,区分肿胀得分。表1和图1示出了大鼠右后足(其中诱导关节炎的足)中的肿胀得分,而表2和图2示出了大鼠其余三只足中的肿胀得分(“RA指数”)。

[0086] 从表以及图1和图2中可以看出,舌下给予和注射的IL-2显著降低由于类风湿性关节炎引起的肿胀( $p < 0.01$ )。从RA指数(表2和图2A)可以看出,舌下提供了比通过注射给予更早地缓解肿胀(第19天)。在任何处理组中均未观察到毒性。

[0087] 表1:类风湿性关节炎的大鼠模型中的肿胀<sup>1</sup>得分

[0088]

组	治疗剂量	第16天 <sup>2</sup>	第19天	第23天 <sup>3</sup>
RA模型(对照)	-	0.22±0.07	0.37±0.16	0.64±0.16
舌下IL-2(低)	4000 IU/kg BW,每天两次(7天)	0.22±0.13	0.31±0.22	0.25±0.12**
舌下IL-2(高)	12000 IU/kg BW,每天两次(7天)	0.39±0.21	0.33±0.17	0.29±0.16**
IL-2注射(低)	4000 IU/kg BW,每天(7天)	0.36±0.18	0.41±0.24	0.26±0.10**
IL-2注射(高)	16000 IU/kg BW,每天(7天)	0.35±0.10	0.38±0.17	0.32±0.14**

[0089] 1=右后足上的肿胀;2=剂量开始;3=剂量结束;\*\*= $p < 0.01$

[0090] 表2:类风湿性关节炎的大鼠模型中的肿胀<sup>1</sup>得分

[0091]

组	治疗剂量	第16天 <sup>2</sup>	第19天	第23天 <sup>3</sup>
RA模型(对照)	-	6.10±0.32	5.90±0.73	5.60±0.70
舌下IL-2(低)	4000 IU/kg BW,每天两次(7天)	6.30±0.48	4.50±0.85**	4.56±1.13*
舌下IL-2(高)	12000 IU/kg BW,每天两次(7天)	7.00±0.50	4.33±0.87**	4.22±0.67**
IL-2注射(低)	4000 IU/kg BW,每天(7天)	6.30±0.48	5.60±0.70	4.30±0.67**
IL-2注射(高)	16000 IU/kg BW,每天(7天)	6.30±0.67	5.60±0.97	3.40±0.52**

[0092] 1=三只未激发足上的总肿胀得分;2=剂量开始;3=剂量结束;\*=p&lt;0.05;\*\*=p&lt;0.01

[0093] 实施例2-重组人IL-2的舌下给予和鼻炎

[0094] 此外,使用大鼠模型,本发明人还研究了舌下给予重组人IL-2来减少鼻炎症状和逆转鼻炎所引起的特征性生理变化的能力。在该情况下,通过每天鼻内给予在10 μl橄榄油中的10%的甲苯-2,4-二异氰酸酯(TDI),给予7天,然后每隔一天给予,在130-150 g体重的大鼠中诱导鼻炎。对照动物在相同的时间内仅通过鼻内接受10 μl的橄榄油。

[0095] 如下面的表3所示,将大鼠随机分成4组,每组5只动物。如表3中详细说明的,从第8天开始,以片剂糊的形式舌下给予两种剂量(高剂量和低剂量)的IL-2,每天两次,给予14天。在实验的最后一天(给药后的第15天)处死大鼠,并取出胸腺和脾用于称重。

[0096] 如表3和图3所示,1000 IU IL-2显著(p<0.05)降低了胸腺指数(以克为单位的胸腺重量/100 g体重),而4000 IU IL-2显著(p<0.05)降低了脾指数(以克为单位的脾重量/100 g体重)。在任何处理组中均未观察到毒性。

[0097] 表3:鼻炎大鼠模型中的胸腺和脾指数

[0098]

组	实验结束时的体重	胸腺指数(g/100g)	脾指数(g/100g)
正常 <sup>1</sup>	292.5±56.2	0.21±0.02	0.25±0.036
鼻炎模型(对照) <sup>2</sup>	267.0±53.2	0.22±0.05	0.31±0.06
舌下IL-2(高) <sup>3</sup>	247.5±52.8	0.18±0.05	0.25±0.04*
舌下IL-2(低) <sup>4</sup>	275.0±54.5	0.16±0.021*	0.28±0.03

[0099] 1=每天鼻内给予10 μl橄榄油,给予7天,然后每隔一天给予;2=每天鼻内给予在10 μl橄榄油中的10% TDI,给予7天,然后每隔一天给予;3=从第8天起,每天鼻内给予4000 IU/kg BD+在10 μl橄榄油中的10% TDI,给予7天,然后每隔一天给予;4=从第8天起,每天鼻内给予1000 IU/kg BD+在10 μl橄榄油中的10% TDI,给予7天,然后每隔一天给予;\*=p<0.05 cf对照

[0100] 使用相同的处理组,在大鼠中观察到与鼻炎相关的各种行为的发生率,具体地,擤鼻、喷嚏的频率和鼻涕的程度。给予TDI后,立即对大鼠在30分钟内的行为变量进行观察并评分。在第7、9和15天确定了基于上述行为组合的行为得分并示于下面的表4中。如从该表和图4所示的第15天的图示结果可以看出,4000 IU IL-2显著(p<0.01)降低了观察到的TDI引起的鼻炎症状。

[0101] 表4:鼻炎大鼠模型中的行为得分<sup>1</sup>

[0102]

组 <sup>2</sup>	治疗剂量	第7天	第9天	第15天
正常	-	1	1	1

鼻窦炎模型(对照)	-	6.43	6.8	6.8
舌下IL-2(高)	4000 IU/kg BW,每天两次	6.45	4.6	3.95
舌下IL-2(低)	1000 IU/kg BW,每天两次	6.35	5.4	5.4

[0103] 1=基于擤鼻、喷嚏的频率和鼻涕的程度的总得分;2=按照表3的组

[0104] 实施例3-在人类中舌下给予重组人IL-2的病例研究

[0105] (i)P1:牛皮癣

[0106] 将肘部和手背患有严重牛皮癣的人受试者(P1)置于每天5000 IU重组人IL-2的方案中,以片剂形式舌下给予2个月。图5所示的图像清楚地示出了P1肘部和手上牛皮癣的严重程度和范围的降低。

[0107] (ii)P2:类风湿性关节炎

[0108] 用多种抗炎药物(包括甲氨蝶呤)对诊断有类风湿性关节炎的人受试者(P2)进行了多年治疗。在经历炎症加剧后,将P2置于“来氟米特”(爱若华)以及“甲氨蝶呤”和“莫比可”的方案。炎症水平显著降低,但是,白细胞血球计数降低到正常水平以下,从而需要将甲氨蝶呤从每周20 mg降低至每周10 mg,并且最终将来氟米特从每周100 mg降低至每周80 mg。P2开始于每天5000 IU重组人IL-2的方案,以片剂形式舌下给予。P2注意到手部肿胀的减轻,尤其是肿大的指关节和指关节骨更加被限制。另外,P2在右足的拇趾球处患有较大的茧(“风湿性足”),并且在此处骨下垂。多年来,这已经是大量不适和疼痛的来源。在许多情况下,所述茧下方的炎症会成为感染并且需要开刀,随后使用抗生素。2008年,对P2的足部进行X射线,并且咨询了两位外科医生,由于导致茧的形成的跖骨-趾骨关节中软骨的破坏,因此这两位外科医生推荐进行称为德怀尔插入式(Dwyer interpositional, MTP)关节成形术的外科手术。由于采取舌下IL-2片剂,因此所述茧减小,并且炎症引起的疼痛减轻。对每只足上临近大拇趾的拇囊肿注意到了相同情况。现在,它们的反应性和肿大都非常小。另外,在长期经历牙齿松动和多个牙根垂直断裂的问题后,对P2进行手术以除去10颗牙齿。牙科医生对手术后极好的愈合进展表示惊讶,这归因于IL-2疗法。在没有明显的副作用迹象的情况下,观察到利用IL-2所观察到的改善。

[0109] (iii)P3:关节炎和过敏性肠综合症

[0110] 人受试者(P3)患有包括关节炎疼痛、湿疹和过敏性肠综合症的多种疾病,并在大约10年中针对这些病症接受了具有不同结果的多种治疗。然后,对P3开始以下疗程,其包括每天5000 IU重组人IL-2的方案,以片剂形式舌下给予。在开始IL-2疗法的当天,P3立即注意到所有类型的关节炎疼痛的减轻。左手拇指中最显著。在IL-2治疗前,拇指根疼痛,并且由于拇指脆弱,所以P3在左手不能握住。在开始IL-2疗法的几天内,疼痛消失并且恢复了拇指的正常功能和使用。随着几个月的治疗,持续得到改善,并且大部分形式的关节炎疼痛消失或显著减轻,其中没有明显的副作用迹象。在约5个月的时间内,运动能力的改善和关节炎症状的减轻比P3先前经历的任何情况都更加显著,并且恢复到P3至少17年来未有的运动能力水平。还忽视了P3先前所接受的饮食预防,并且在IL-2舌下疗法期间和之后,没有损害。

[0111] 基于腹腔病症,P3服用过一段时间氨苯砞。虽然后面揭示这是错误的诊断(相反,该病症为过敏性肠综合症),但是氨苯砞有效地治疗了腹泻。主治医师将其归因于氨苯砞的抗炎性质。舌下IL-2疗法能够显著延长氨苯砞所提供的保护期。在IL-2疗法前,所需的氨苯

砒剂量为(约)每七天一片。使用IL-2后,有益效果延长至大约十天。由于停止了IL-2疗法,P3需要恢复每七天或更短时间服用氨苯砒。

[0112] (iv)P4:类风湿性关节炎

[0113] P4患有超过20年的类风湿性关节炎并且使用包括甲氨蝶呤的各种治疗来控制炎症。然而,P4持续经受极端的疼痛和疲劳。在开始以片剂形式每天给予5000 IU IL-2的舌下疗法的几个月内,P4报告显著降低的疼痛水平并且没有由于类风湿性关节炎所引起的问题。

[0114] (v)P5:全身性红斑狼疮(SLE)

[0115] P5患有SLE,其引起手、足和一些关节的肿胀。在开始以片剂形式每天给予5000 IU IL-2的舌下疗法的10天内,P5报告手和足的肿胀显著降低。

[0116] 实施例4-用于治疗示例性组合物

[0117] 根据如本文所公开的本发明的实施方式,通常以适合于口服给予(最通常地,舌下给予)的药物组合物的形式给予IL-2。以下概述了根据本发明的组合物的实施例。以下实施例仅视为说明性实施例而不应视为以任何形式限制本发明的范围。

[0118] 实施例4A-片剂形式的用于口服给予的组合物

[0119] 通过以下步骤可以制备包含片剂形式的IL-2的组合物:将IL-2掺入到包含明胶、麦芽糖糊精、羧甲基纤维素、葡萄糖、卡波姆中的一种或多种的膜中,并将所述膜涂敷到由已知药用成分构成的空白片剂芯上,所述药用成分选自淀粉、磷酸钙、羧甲基乙基纤维素、甘露醇、麦芽糖、滑石和硬脂酸镁。

[0120] 实施例4B-胶囊形式的用于口服给予的组合物

[0121] 可以通过将用粉末形式的IL-2、100 mg的乳糖、35 mg的滑石和10 mg的硬脂酸镁填充标准的两段式硬质明胶胶囊来制备包含胶囊形式的IL-2的组合物。

[0122] <110> 高世英

[0123] <120> 抗炎组合物

[0124] <130> P38305DACC

[0125] <160> 3

[0126] <170> PatentIn version 3.1

[0127] <210> 1

[0128] <211> 153

[0129] <212> PRT

[0130] <213> 人类

[0131] <400> 1

[0132] Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

[0133] 1 5 10 15

[0134] Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

[0135] 20 25 30

[0136] Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

[0137] 35 40 45

[0138] Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

[0139] 50 55 60  
 [0140] Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu  
 [0141] 65 70 75 80  
 [0142] Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys  
 [0143] 85 90 95  
 [0144] Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile  
 [0145] 100 105 110  
 [0146] Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala  
 [0147] 115 120 125  
 [0148] Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe  
 [0149] 130 135 140  
 [0150] Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
 [0151] 145 150  
 [0152] <210> 2  
 [0153] <211> 133  
 [0154] <212> PRT  
 [0155] <213> 人类  
 [0156] <400> 2  
 [0157] Met Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His  
 [0158] 1 5 10 15  
 [0159] Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys  
 [0160] 20 25 30  
 [0161] Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys  
 [0162] 35 40 45  
 [0163] Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys  
 [0164] 50 55 60  
 [0165] Pro Leu Lys Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu  
 [0166] 65 70 75 80  
 [0167] Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu  
 [0168] 85 90 95  
 [0169] Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala  
 [0170] 100 105 110  
 [0171] Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile  
 [0172] 115 120 125  
 [0173] Ile Ser Thr Leu Thr  
 [0174] 130  
 [0175] <210> 3  
 [0176] <211> 405  
 [0177] <212> DNA

[0178] <213> 人类

[0179] <400> 3

[0180] atgcctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

[0181] ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaate ccaaactcac caggatgctc 120

[0182] acatttaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

[0183] gaagaactca aacctctgaa ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcaactta 240

[0184] agaccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagtte tggactaaa gggatctgaa 300

[0185] acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

[0186] tggattacct tttctcaaag catcatctca aactgactt gataa 405

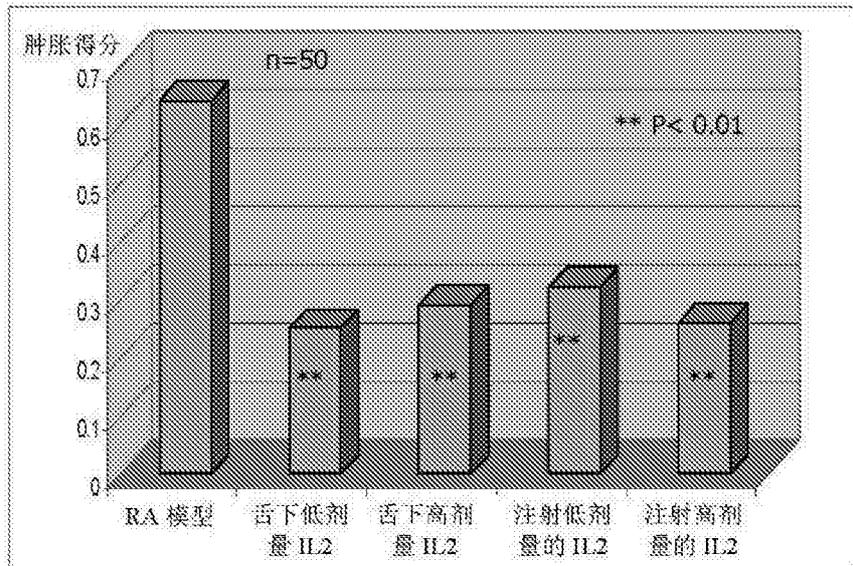


图1

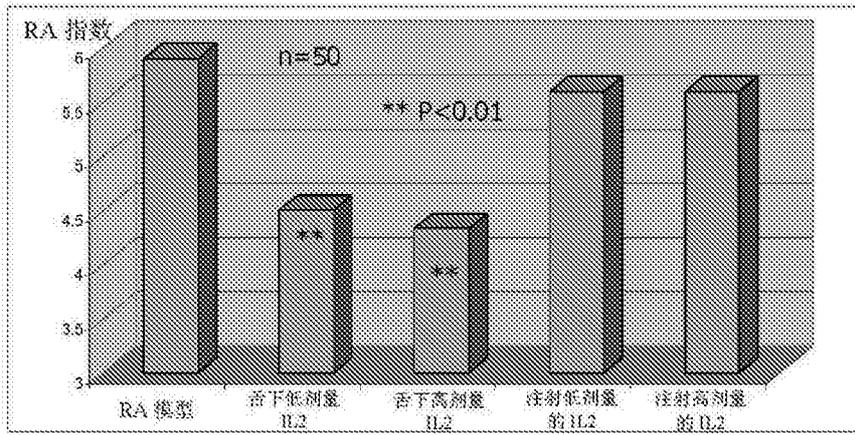


图 2A

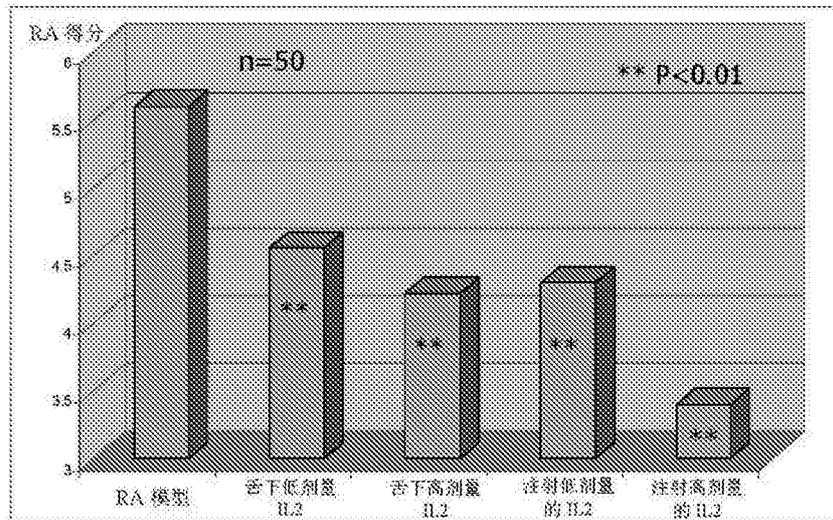


图 2B

图2

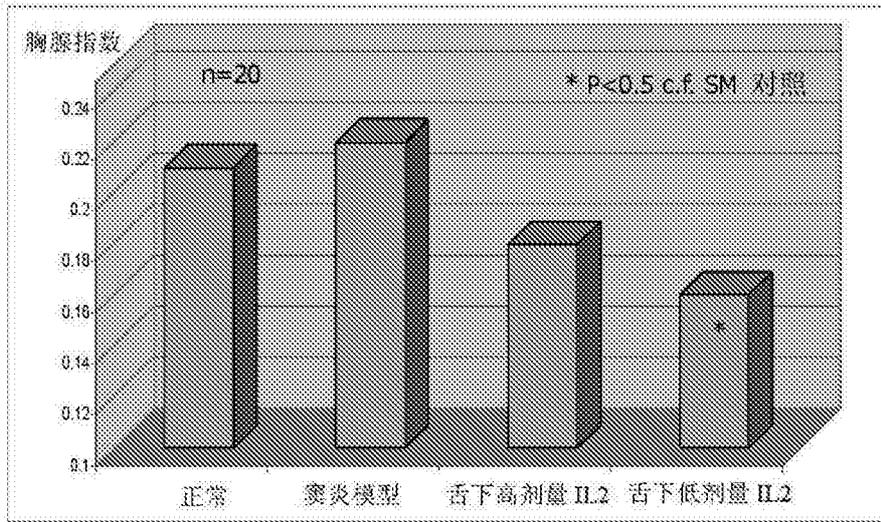


图 3A

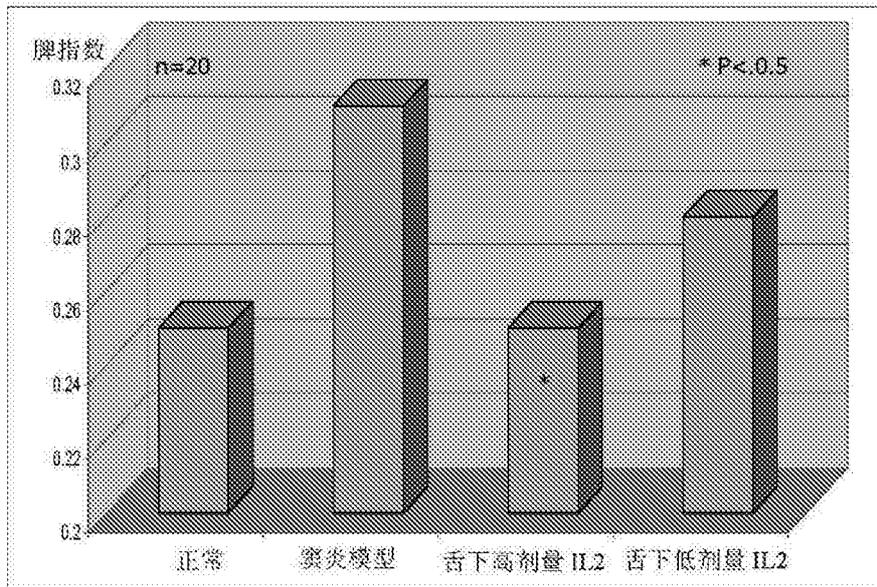


图 3B

图3

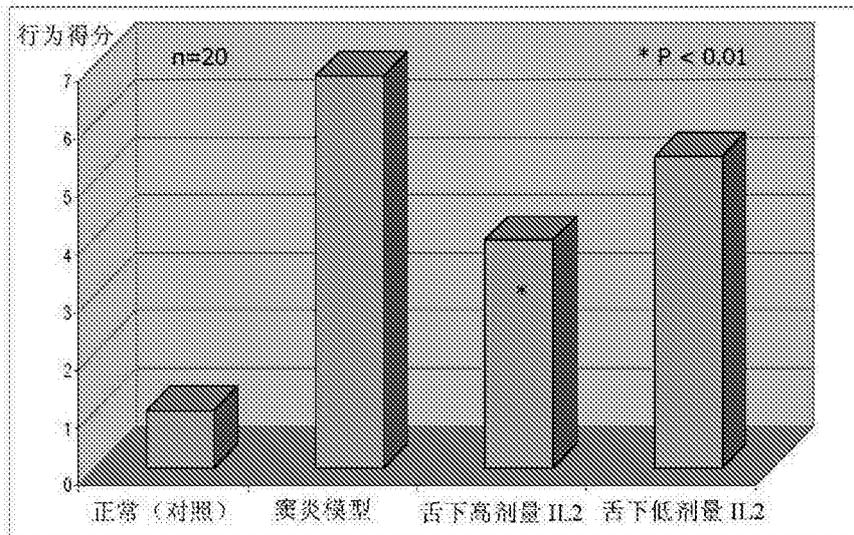


图4

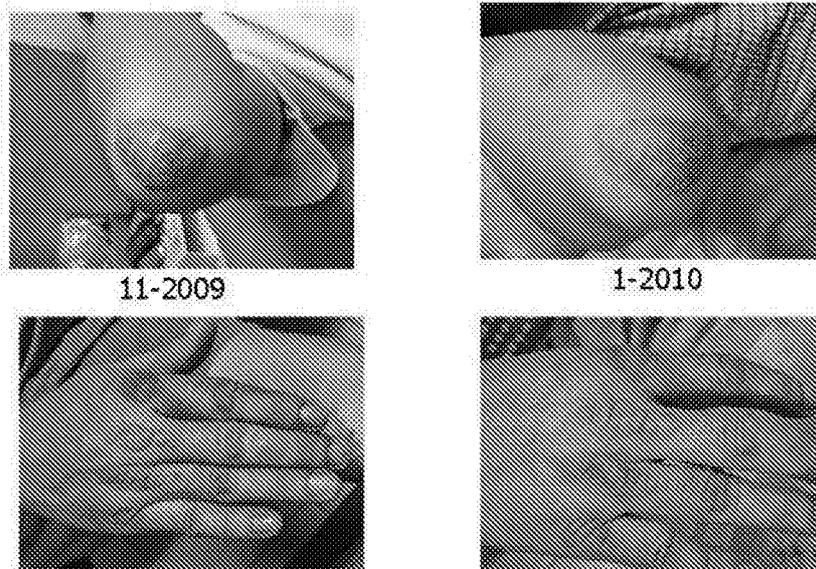


图5