



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102549439 B

(45) 授权公告日 2016.01.20

(21) 申请号 201080032425.0

(22) 申请日 2010.07.15

(30) 优先权数据

102009034150.1 2009.07.20 DE

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012.01.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2010/004303 2010.07.15

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/009555 DE 2011.01.27

(73) 专利权人 弗雷森纽斯医疗护理德国有限责
任公司

地址 德国贝德霍姆堡

(72) 发明人 J. 帕斯里克-蒂特詹 W. 霍夫曼

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公
司 72001

代理人 石克虎 林森

(51) Int. Cl.

A61K 39/44(2006.01)

(56) 对比文件

W0 2009/044284 A1, 2009.04.09, 权利要求
1-14 以及实施例 1-3.

W0 2009/058797 A1, 2009.07.07, 权利要求

1-44.

W0 2009/058797 A1, 2009.07.07, 权利要求
1-44.

CN 1572332 A, 2005.02.02,

US 5476715 A, 1995.12.19,

CN 1346280 A, 2002.04.24,

CN 1408442 A, 2003.04.09,

CN 1612746 A, 2005.05.04,

W0 2006042507 A1, 2006.04.27,

W0 2009/044284 A1, 2009.04.09, 权利要求
1-14 以及实施例 1-3.

Gabriela Peslova et al..Hepcidin,
the hormone of iron metabolism, is bound
specifically to α -2-macroglobulin in
blood.《Blood》.2009, 第113卷(第24期), 第
6225-6236 页.

审查员 周洋

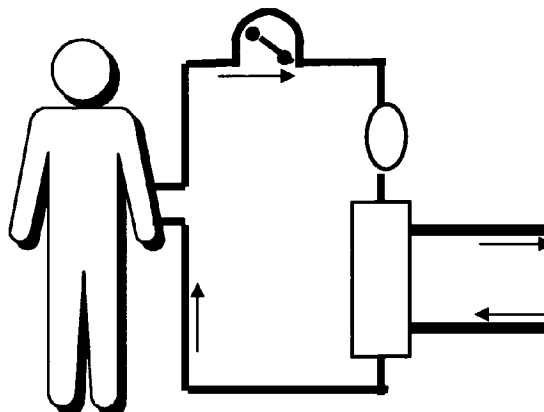
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

用于吸附铁调素的吸附剂

(57) 摘要

本发明涉及一种装置和方法,用于贫化血液
中的铁调素,来治疗铁缺乏,特别是患慢性肾病的
贫血患者,其目标是增加生物体中的铁的可利用
性,和因此改进已经发生的贫血的治疗。该铁调素
吸附剂包含基质和共价键合到该基质上的配体,
该配体以解离常数KD小于200nM的亲合力结合铁
调素。



1. 用于贫化血液或者血浆中不合意的物质的医学装置,其包含能与患者连接的第一管线装置(10)和第二管线装置(12),位于第一管线装置(10)和第二管线装置(12)之间并与它们不透液连接的贫化单元(14),该贫化单元(14)含有用于降低血液或者血浆中铁调素浓度的吸附剂,和位于第一管线装置(10)和/或第二管线装置(12)中的至少一个可控的体液输送装置(16),所述吸附剂包含基质和共价键合到该基质的配体,该配体以解离常数KD小于200nM的亲合力与铁调素结合,该基质具有平均孔径小于1.5 μm且大于0.1 μm的孔,其中依靠该至少一个体液输送装置(16)能使得体液受控地流过管线装置(10,12)和贫化单元(14),其中第一管线装置(10)被设计来连续地将患者取出的体液供给到贫化单元(14),和第二管线装置(12)被设计来连续地将经贫化的体液供给到患者,所述医学装置还包含血液透析仪。

2. 根据权利要求1的装置,其另外地包含具有未过滤侧和过滤侧的过滤器(20),其中该未过滤侧是通过至少一种过滤器材料来与该过滤侧隔开的,其中

- 该未过滤侧的液体供给入口(22)与第三管线装置(24)相连接,该第三管线装置(24)能与患者连接,
- 该未过滤侧的液体除去出口(26)与第四管线装置(27)相连接,该第四管线装置(27)能与患者连接,
- 该过滤侧的液体除去出口(28)与第一管线装置(10)相连接,和
- 该过滤侧的液体供给入口(29)与第二管线装置(12)相连接。

3. 根据权利要求1的医学装置,特征在于所述配体是单克隆抗体或者单克隆抗体片段。

4. 根据权利要求3的医学装置,特征在于所述抗体或者该抗体片段是人化的。

5. 根据权利要求1的医学装置,特征在于所述配体来源于α-2-巨球蛋白的铁调素结合性肽序列。

6. 根据权利要求1-5中任一项的医学装置,特征在于所述基质由基本上球形的、未聚集的多孔颗粒组成。

7. 根据权利要求1-5中任一项的医学装置,特征在于所述基质由有机聚合物构造。

用于吸附铁调素的吸附剂

[0001] 本发明涉及一种装置和方法,用于贫化血液中的铁调素 (Hepcidin),来治疗铁缺乏,特别是患慢性肾病的贫血患者,其目标是增加生物体中的铁的可利用性,和因此改进已经发生的贫血的治疗。

[0002] 人类铁调素编码为具有 84 个氨基酸的前多肽原。在它们中,24 个 N- 末端的氨基酸编码用于指向内质网的信号序列,35 个氨基酸形成了前区,25 个 C- 末端的氨基酸形成了实际的生物活性序列。

[0003] 该 C- 末端的区域 (也称作铁调素 -25) 激素调节了身体的铁平衡。也经常在身体中发现铁调素 -25 的 N- 末端的降解产物,特别是铁调素 -20 (其具有 20 个氨基酸) 和铁调素 -22 (其具有 22 个氨基酸)。铁调素基因的突变与严重的青少年血色沉着病,细胞铁过量有关。与此相反,铁调素可能在发炎性刺激存在下过表达。该刺激是通过发炎性内白细胞介素 IL-6 的分泌来触发的。所以,可以观察到慢性炎症例如特别是慢性肾病 (CKD)、铁调素表达和铁缺乏引发的贫血之间的密切关系。

[0004] 铁调素通过降解铁输出蛋白膜铁转运蛋白 (Ferroportin) 而抑制了细胞的铁释放。铁是通过膜铁转运蛋白而从细胞中排出到血浆中的。因此,在健康的生物体中,铁调素的缺乏会导致从细胞中排出的铁增加和血浆中铁含量过高。在铁调素水平高的慢性炎症患者中,铁会在细胞中累积,这导致了血浆中铁传递蛋白键合的铁的缺乏。在慢性肾衰竭患者中,这种作用由于通过肾没有充分地从血液中消除铁调素而进一步加剧。如果铁在血浆中含量过低,这会与贫血的病征紧密相关,因为必须确保足够的铁供给来进行有效的红血球生成,即,红血球的形成。血浆中合适的铁供给的不足因此不仅可能引起本身贫血,而且还阻止了通过药物治疗例如用 EPO 成功地治疗贫血。

[0005] 患有慢性肾衰竭的患者因此经常患有由铁缺乏引起的贫血,这是因为由于持久的炎症状态引起的铁调素高的分泌,但是由于肾衰竭而另外削弱了铁调素的有效除去。

[0006] W02009/058797, W008/097461 和 W02009/044284 描述了铁调素结合性抗体和通过该抗体的全身医学给药来治疗贫血患者。全身的抗体治疗,除了典型的副作用例如发烧,寒战,发痒,发汗,血压降低,易于感染,全身水肿之外,经常受到对于抗体本身的次级免疫响应的触发,另外地将身体置于炎症状态,如上所述,这促进了铁调素的产生。

[0007] 本专利的目标是提供一种装置和方法,用于贫化血浆中的铁调素,同时避免医学抗体治疗的缺点。

[0008] 这个目标是通过本发明的独立权利要求来实现的。子目标有利的是通过从属权利要求来实现的。

[0009] 在本发明的范围内,铁调素是通过在体外循环中吸附铁调素来贫化的。为此,将血液连续的从患者体内抽出,将抽出的血液送过吸附剂,其与铁调素结合,并且将该贫铁调素的血液返回患者体内。为此目的,根据本发明提供了一种装置,其允许体外循环,并且含有用于贫化铁调素的贫化单元。该贫化单元由外壳和包含在其中来特异性结合铁调素的吸附剂组成。本发明的吸附剂由固相基质组成,特异性铁调素 - 结合配体共价键合到其上。

[0010] 本发明在下面参考附图来示例性描述,在其中 :

[0011] 图 1 表示了本发明装置的一种优选的实施方案的示意性框图,该装置具有第一管线装置 10,第二管线装置 12,贫化单元 14 和体液输送装置 16 加上任选的血液透析仪 30。

[0012] 图 2 表示了本发明装置的另外一种优选的实施方案的示意性框图,该装置具有第一管线装置 10,第二管线装置 12,贫化单元 14,液体传递装置 16,血浆过滤器 20,第三管线装置 24,第四管线装置 27,在未过滤侧上的液体供给入口 22,在未过滤侧上的液体除去出口 26,过滤侧的液体除去出口 28,过滤侧的液体供给入口 29 和任选的血液透析仪 30。

[0013] 根据本发明,一种用于建立体外循环来从全血中贫化铁调素的可能的医学装置因此包括第一管线装置 (10) 和第二管线装置 (12),所述第一和第二管线装置能够与患者连接,位于第一管线装置 (10) 和第二管线装置 (12) 之间并与它们不漏液连接的贫化单元 (14),这个贫化单元 (14) 含有根据权利要求 1 的吸附剂,和位于第一管线装置 (10) 和 / 或第二管线装置 (12) 之中的至少一个可控的体液输送装置 (16),其中依靠该至少一个体液输送装置 (16) 能使得体液受控地流过管线装置 (10,12) 和体液辐照装置 (14),其中第一管线装置 (10) 被设计来连续地将从患者抽出的体液供给到贫化单元 (14),和第二管线装置 (12) 被设计来连续地将经辐照的体液供给到患者。

[0014] 铁缺乏特别频繁地发生在慢性肾衰竭患者中。这些患者经常通过替代肾活性的血液透析来治疗。在血液透析中同样建立了体外循环,其中血液被连续的从患者抽出,并且将血液送过半透膜来以这种方式通过在该隔膜上的透析而从血液中除去有毒物质和流体,并将该净化过的血液返回到患者。因此,在本发明的范围内,有利的是通过让用于建立体外循环的医学装置包含血液透析仪和铁调素贫化单元二者来将两种治疗进行结合。以此方式,通过吸附来贫化铁调素可以与血液透析同时完成。

[0015] 已知的是物质从血浆中的吸附通常比从全血中吸附更有效。因此,一种备选的本发明的装置经由第二循环来将血液分离成无细胞的血浆和细胞悬浮液。然后通过第二循环中的贫化单元来从血浆中吸附铁调素。该贫化的血浆立即从该第二循环返回到第一循环。

[0016] 相应的医学装置除了包含上述的医学装置之外,还包括具有未过滤侧和过滤侧的血浆过滤器 (20),其中该未过滤侧是通过至少一种过滤器材料来与过滤侧隔开的,其中

[0017] - 该未过滤侧的液体供给入口 (22) 与第三管线装置 (24) 相连接,后者能与患者连接,

[0018] - 该未过滤侧的液体除去出口 (26) 与第四管线装置 (27) 相连接,后者能与患者连接,

[0019] - 该过滤侧的液体除去出口 (28) 与第一管线装置 (10) 相连接,和

[0020] - 该过滤侧的液体供给入口 (29) 与第二管线装置 (12) 相连接。

[0021] 该血浆过滤器的过滤器材料有利地设计成这样,即,使得血细胞保留在第一循环中,而大分子能够通过该血浆过滤器。该血浆过滤器的截留值因此优选是 1000-5000kDa。

[0022] 铁调素主要是以键合的形式存在于血液或者血浆中的。铁调素以高的亲合力结合到 α -2-巨球蛋白上,解离常数是 177 nM。生理学活性的铁调素-25 和它的片段的分子量小于 3 kDa。尽管如此,通过在血液透析中与显著更大的 α -2-巨球蛋白 (750kDa) 结合仅仅不充分地消除了铁调素,该蛋白不能透过所述的透析膜。为了确保从血液或者血浆中有效地吸附铁调素,在贫化单元中所用的吸附剂的亲合力必须至少处于与铁调素对于 α -2-巨球蛋白的亲合力相同的数量级。这是通过这样的吸附剂来实现的,其具有键合到固相上的配

体,该配体具有对于铁调素-25 解离常数小于 200nM 的亲合力。该解离常数优选小于 50nM,更优选小于 5 nM 和特别优选小于 1 nM。

[0023] 在本发明的范围内,铁调素结合性配体可以是单克隆抗体和它们的片段。在本发明范围内,备选地,配体可以是铁调素结合性肽。这样的肽可以来源于 α -2- 巨球蛋白的铁调素结合性肽序列。本发明范围内的合适的配体是例如在专利申请 W02009/058797, W008/097461 和 W02009/044284 中公开的抗体。

[0024] 该吸附剂包括共价键合到固相上的配体。该固相可以基于有机或者无机材料,但是该固相优选由有机材料制成。该固相理想的是与全血相容的。全血相容性吸附剂使得能够在体外循环中进行吸附,而不用分离成血浆和细胞悬浮液。以此方式,与同样公开的更复杂的备选方案(即,除了第一循环之外还具有第二循环的医学装置)不同,可以使用仅仅具有第一循环的医学装置。

[0025] 全血吸附剂由颗粒组成,该颗粒是这样大小:使得它们形成了血细胞能够在其中移动的间隙。此外,该颗粒具有孔,这产生了内表面。这些孔的尺寸大到足以能让甚至大分子也渗透到它们中。但是,将该孔选择到这样小的程度:即,防止血细胞渗透。血细胞因此只能仅仅与该颗粒的外表面接触。此外,根据 EP0424698,这些颗粒必须是尽可能作为球形的和未聚集的,来具有“光滑”以及惰性外侧,这样血小板能够在它们上面滑过。

[0026] 该贫化单元有利地由优选填充有颗粒状吸附剂的刚性外壳组成。所述颗粒通过位于血液或者血浆入口和出口处的细网孔筛而保留在外壳内部,由此防止这些颗粒转移到患者的血液中。

[0027] 本发明吸附剂的多孔有机载体材料的平均孔尺寸和/或平均孔径值是 $\leq 1.5 \mu\text{m}$,优选 $\leq 1.0 \mu\text{m}$ 的值,最大 50% 的孔体积存在于孔径 $>1.5 \mu\text{m}$ 的孔中。最大平均孔径 $1.5 \mu\text{m}$ 是通过直径大约 $2 \mu\text{m}$ 的最小的血细胞来决定的。在本发明所定义的最小的平均孔径时,它确保了基本上没有血细胞能够渗透到所述孔中。另一方面,该孔应当足够大,以便能够容纳有待进行贫化的物质。在铁调素的情况中,该孔应当能够不仅容纳小的铁调素,而且还能够容纳大得多的铁调素结合性 α -2- 巨球蛋白。该孔因此必须适于容纳分子量为 750kDa 的大分子。为此原因,所述孔优选的平均尺寸至少 $0.05 \mu\text{m}$,优选的尺寸是至少 $0.1 \mu\text{m}$ 和特别优选的尺寸是至少 $0.3 \mu\text{m}$ 。

[0028] 根据本发明,该平均孔径可以通过压汞法(水银孔率法),根据 DIN66133 来测量。这种方法基于作为所施加的压力的函数,压入多孔固体中的汞体积的测量。非润湿性液体例如汞仅仅在压力下渗透到多孔体系中。所施加的压力是与开孔的净宽(Lichten Weite)成反比例的。汞能够在所施加的压力下渗入其中的孔是通过这种方法来测量的。对于圆柱形孔,孔半径 r_p 和压力 p 之间的关系是通过 Washburn 等式来表达的,这里 s 是汞的表面张力[N/m], J 是汞在样品上的接触角,通过液相来测量。不同于 DIN 标准 66133,将固定值 141.3° 用于接触角,并且颗粒间体积不包括在平均孔径的测量中。

[0029] 此外,该吸附剂颗粒粒度优选是 $50\mu\text{m}$ - $500\mu\text{m}$,更优选 $100\mu\text{m}$ - $300\mu\text{m}$ 。对于用全血进行的体外循环来说,该吸附剂颗粒的粒度应当是至少 $50\mu\text{m}$,因为全血中最大的血球或血细胞的直径是 $20\mu\text{m}$ 。因此,截留吸附剂的筛网必须具有至少 $25 \mu\text{m}$,优选至少 $40\mu\text{m}$ 的网孔,来使得全部血细胞通过。此外,在 $50\mu\text{m}$ 或者更高尺寸的吸附剂颗粒填充的柱子中,颗粒之间的间隙要足以使得血细胞通过。在所述筛网材料的选择中,还必须注意的是筛网尺寸总是

小于最小的吸附器颗粒的直径。

[0030] 本发明的吸附剂优选包括多孔颗粒状载体材料。根据这种实施方案,合适的载体材料包括例如碳水化合物,琼脂糖或者有机载体材料例如丙烯酸酯或者甲基丙烯酸酯的共聚物和聚酰胺。该载体材料优选由源自(甲基)丙烯酸酯和/或(甲基)丙烯酰胺的共聚物组成。其优选具有环氧基团。术语“(甲基)丙烯酰”被理解为包括相应的丙烯酰化合物以及甲基丙烯酰化合物。

[0031] 该配体可以通过现有技术已知的任何常规方法来共价键合到载体材料上。常规方法包括例如通过环氧反应,Ni 基反应,与碳二亚胺的缩合反应,具有酯活化的反应和与戊二醛的交联反应的键合。除了上述的用于将配体固定到固相上的常规方法之外,这里还存在着固相体系的不同供应商(例如Eupergit,Toyopearl),他规定了到固相上的特定键合,其是通过固相的性能来预先确定的和/或是特别有利的。

[0032] 实施例 1:

[0033] 将 IgG 类型的一种净化的单克隆铁调素-25 结合性抗体级分在 pH7.5 以 3mg/ml 浓度溶解到 PBS 中。向 5ml 的这种溶液中加入 1g 的环氧乙烷-丙烯酸珠(Eupergit C,Röhm GmbH & Co. KG)。将该悬浮液在黑暗中室温保存 48 小时,然后用另外的 3ml PBS 稀释。在从上清液中分离了所述珠子之后,发现上清液中浓度小于 50 μ g/ml。将所形成的吸附剂用 PBS 在 pH 7.5 清洗。将该吸附剂与 10ml 的 10% 的乙醇胺水溶液在 pH 9 和温度 4 $^{\circ}$ C 搅拌 12 小时,来完全反应剩余的环氧乙烷基团。该吸附剂然后用 PBS 在 pH 7.5 再次清洗。

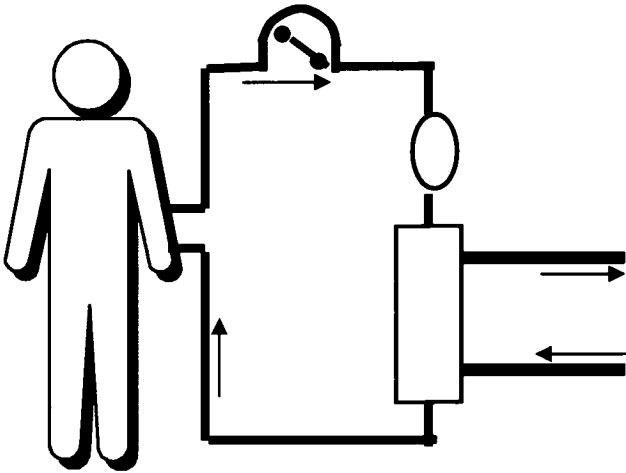


图 1

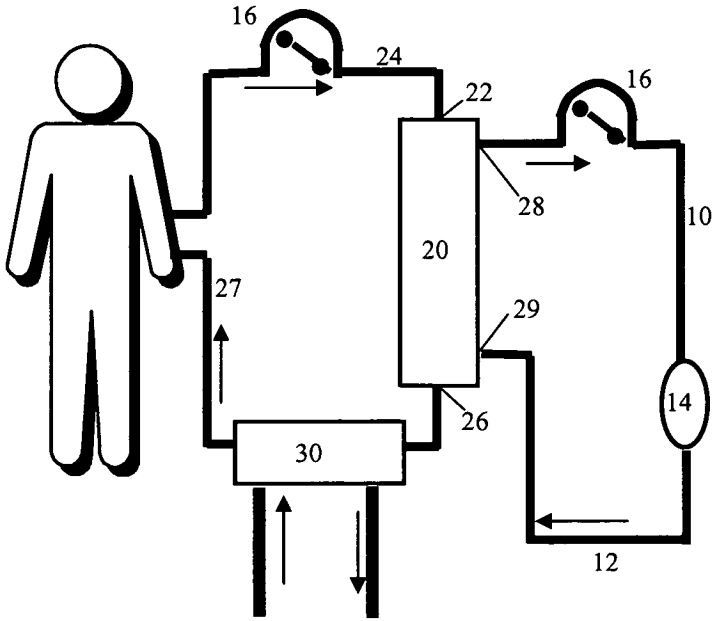


图 2