



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201829448 A

(43)公開日：中華民國 107 (2018) 年 08 月 16 日

(21)申請案號：106144259

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 12 月 15 日

(51)Int. Cl. : C07K14/435 (2006.01)

A61K38/43 (2006.01)

A61P3/06 (2006.01)

(30)優先權：2016/12/15 世界智慧財產權組織 PCT/CN2016/110172

(71)申請人：大陸商深圳瑞健生命科學研究院有限公司 (中國大陸) TALENGEN INSTITUTE OF LIFE SCIENCES, CO. LTD. (CN)

中國大陸

(72)發明人：李季男 LI, JINAN (CN)

(74)代理人：李貞儀；童啓哲

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：19 共 99 頁

(54)名稱

纖溶酶原在製備預防或治療肥胖症及疾病併發的肥胖的藥物中的用途

(57)摘要

本發明涉及一種預防和/或治療超重/肥胖及其相關病症的方法，包括給藥易患或患有肥胖及其相關病症的受試者有效量的纖溶酶原，以消減脂肪在身體各部位的異常/過量沉積。本發明還涉及預防和/或治療肥胖的藥物，以及其在製備藥物中的用途。

指定代表圖：

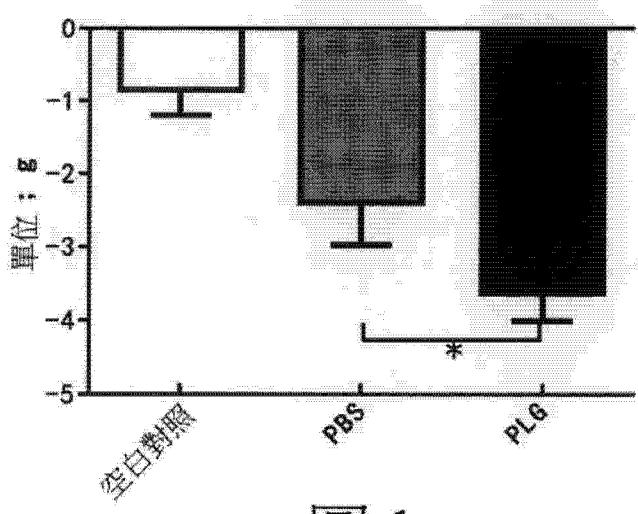


圖 1

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

纖溶酶原在製備預防或治療肥胖症及疾病併發的肥胖的藥物中的用途

【技術領域】

【0001】 本發明涉及一種預防和/或治療肥胖症及其相關病症的方法和藥物。

【先前技術】

【0002】 肥胖症 (obesity) 是指體內脂肪堆積過多和/或分佈異常。根據世界衛生組織的定義，超重和肥胖是指可能損害健康的體內脂肪過多和/或異常積累。早在1948 年，WHO將肥胖定義為一種疾病，並增加到國際疾病分類(International classification of disease, ICD) 中。2013 年6月，美國醫學會協會(American Medical Association, AMA) 在其歷史上第一次正式宣稱肥胖為一種疾病，需要醫學干預措施來預防和治療^[1]。超重和肥胖同時是多種疾病的危險因素，包括心腦血管疾病(心臟病、高血壓、血脂異常、腦卒中)、2 型糖尿病、肌肉骨骼疾病(骨關節炎等)、消化系統疾病(膽囊疾病)、睡眠呼吸暫停或呼吸障礙及某些癌症(子宮內膜癌、乳腺癌、結腸癌) 等^[2]。WHO 的資料顯示，2014 年，全球共有超過19億成人超重，其中超過6 億人為肥胖^[2]。中國成人超重率為31.5%，肥胖率為12.2%^[3]。超重和肥胖已成為影響居民健康的重要疾患。

【0003】 臨牀上，主要通過測量身體外部特徵間接反映體內脂肪。常用的測量指標有體質指數(body mass index , BMI) 和腰圍(waist circumference , WC) 。BMI 是診斷肥胖症最重要的指標，腰圍可以反映腹部脂肪的積累程度。目前世界衛生組織的分類標準以 $BMI \geq 25 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 為超重， $BMI \geq 30 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 為肥胖。這個分級主要根據歐洲白種人的資料制定的，而在BMI 相同的情況下，亞洲人體內脂肪的比例要高於西方人，腹部肥胖較嚴重^[4] 。

【0004】 通過對中國肥胖相關資料進行研究，2003 年《中國成人超重和肥胖症預防控制指南(試用)》提出以 $BMI \geq 24 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 為中國成人超重的界限， $BMI \geq 28 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 為肥胖的界限；2011年《中國成人肥胖症防治專家共識》提出男性腰圍 $\geq 90 \text{ cm}$ ，女性腰圍 $\geq 85 \text{ cm}$ 為腹部肥胖的判斷標準。

【0005】 肥胖症的治療主要分為生活方式干預、藥物治療及外科手術治療。目前循證醫學證據推薦生活方式干預為一線治療方案。《中國成人超重和肥胖症預防控制指南(試用)》指出，當生活方式干預無效，即不能使體重減輕5%，BMI 指數仍大於28 時，推薦其進行藥物治療。超重且伴有一種併發症(心血管疾病、高血壓、2 型糖尿病等) 的患者，經生活干預無效，也推薦其進行藥物治療。

【0006】 減肥藥物可分為：中樞抑制食欲藥物、抑制食欲的胃腸激素類、作用在外周干擾營養物質吸收和增加營養物質代謝藥物。中樞抑制食欲藥物三大長效減肥藥已有兩個被停用：利莫那班(rimonabant)和西布曲明(sibutramine)分別因會增加精神和心血管疾病風險而於2008 年10 月年和2010 年1 月被EMEA 要求停用^[5-6]，其一度的廣泛應用使得其叫停後減肥

藥市場出現空白。近年胃腸激素在調節食欲、控制血糖方面的作用已成為研究熱門，這些藥物部分的動物實驗都有較明顯的抑制食欲、減低體重的作用，但其安全性和使用有效劑量還需要很多的進一步臨床試驗的研究。作用在外周的藥物針對兩方面靶點：1.作用在胃腸道減少脂肪吸收脂肪酶抑制劑和鈉-葡萄糖共轉運體2(SGLT2)抑制劑；2.作用在脂肪組織減少脂肪合成、促進脂肪水解：主要有脂代謝通路上的酶類。脂肪酶抑制劑通過抑制胃腸道和胰腺的脂肪酶，減少飲食中脂肪的吸收。奧利司他(Orlistat)用於減肥的效果明顯，副作用較小，但美國報導有13位服用者發生了重度肝損傷，最近FDA決定敦促其生產廠家更新產品說明書^[7]。

【0007】 開展藥物治療的前3個月應該至少每月對藥物的有效性和安全性進行評估，之後也應該每3個月評估1次^[8]。減肥藥物的安全性是限制其廣泛應用的主要原因，同時藥物的減肥療效也有限。因此，藥物治療目前仍是肥胖症治療的輔助手段，在醫療專業人士的幫助下改善生活方式才是治療超重和肥胖的首選方法。肥胖是一種慢性病，沒有藥物可以產生永久的減肥療效，只有長期服藥才能保持體重。面對數量持續上升的超重和肥胖患者，尋找更加安全、有效的減肥藥物是人們迫切的願望。

【發明內容】

【0008】 發明概述

【0009】 本發明涉及如下各項：

【0010】 1. 一種預防或治療受試者肥胖症的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。

【0011】 2. 項1的方法，其中所述纖溶酶原通過減少脂質在組織器官、組織器官周圍和/或腹腔的異常或過度沉積治療肥胖症。

【0012】 3. 項2的方法，其中所述纖溶酶原減少脂質在皮下、心臟、肝臟、肺臟、腎臟、血管、腸系膜、腹膜、體腔、器官周圍的異常或過度沉積。

【0013】 4. 項1的方法，其中所述纖溶酶原降低受試者血脂，尤其是甘油三酯和低密度脂蛋白的水準治療肥胖症。

【0014】 5. 項1-4任一項的方法，其中所述肥胖症為單純性肥胖或繼發於其它疾病導致的肥胖。

【0015】 6. 一種預防或治療受試者肥胖症的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原，其中所述肥胖症繼發於內分泌紊亂疾病、糖代謝疾病、肝臟疾病、腎臟疾病、心血管疾病、腸道疾病、甲狀腺疾病、膽囊或膽道疾病、過量飲酒、藥物作用。

【0016】 7. 一種預防和/或治療受試者疾病併發的肥胖的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原，其中所述疾病併發的肥胖包括內分泌疾病併發的肥胖、代謝性疾病併發的肥胖、心血管疾病併發的肥胖、消化系統疾病併發的肥胖、退行性疾病併發的肥胖。

【0017】 8. 項7的方法，其中所述肥胖包括糖尿病併發的肥胖、高血壓併發的肥胖、動脈粥樣硬化併發的肥胖、肝臟疾病併發的肥胖、骨質疏鬆併發的肥胖。

【0018】 9. 一種預防或治療肥胖導致的併發症的方法，包括給藥受試者治療有效量的纖溶酶原，其中所述肥胖的併發症包括心腦血管疾病、

代謝性疾病、肌肉骨骼疾病、消化系統疾病、睡眠呼吸暫停、呼吸障礙。

【0019】 10. 項9的方法，其中所述併發症為高血壓、糖尿病、冠心病、心絞痛、心肌梗死、心律失常、動脈粥樣硬化、腦血栓、腦出血、骨關節炎、骨質增生、膽囊炎、脂肪肝、肝硬化。

【0020】 11. 一種降低受試者動脈粥樣硬化發病風險的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。

【0021】 12. 項11的方法，其中所述纖溶酶原通過治療肥胖症降低受試者動脈粥樣硬化發病風險。

【0022】 13. 一種降低受試者肥胖症發病風險的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原來減少脂肪在組織器官或其周圍、皮下或腹腔中的異常或過度沉積。

【0023】 16. 纖溶酶原在製備預防或治療受試者肥胖症的藥物中的用途。

【0024】 17. 項16的用途，其中所述纖溶酶原通過選自如下的一項或多項消減受試者體內異常或過度沉積的脂肪：

【0025】 1) 減少脂質在選自如下一處或多處部位的沉積：皮下、心臟、肝臟、肺臟、腎臟、血管、腸系膜、腹膜、體腔、器官周圍的異常或過度沉積，

【0026】 2) 促進肝臟脂肪的清除，和

【0027】 3) 促進血中脂質的清除以降低受試者心臟病發病風險。

【0028】 18. 一種降低受試者血脂的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。

【0029】 19. 項18的方法，其中所述纖溶酶原降低血清甘油三酯水準、低密度脂蛋白水準。

【0030】 20. 一種降低受試者動脈粥樣硬化或心臟病發病風險的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原減輕脂質在血管壁的異常或過度沉積。

【0031】 21. 一種治療受試者肥胖症的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原促進肝臟對沉積脂肪的清除。

【0032】 22. 一種治療受試者肥胖症的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原，其中所述纖溶酶原通過選自如下的一項或多項消減受試者體內脂肪：

【0033】 1) 減少脂質在選自如下一處或多處部位的沉積：皮下、心臟、肝臟、肺臟、腎臟、血管、腸系膜、腹膜、體腔、器官周圍的異常或過度沉積，

【0034】 2) 促進肝臟脂肪的清除，和

【0035】 3) 促進血中脂質的清除。

【0036】 23. 項22的方法，其中所述肥胖症為單純性肥胖症或繼發於其它疾病導致的肥胖症。

【0037】 24. 項23的方法，其中所述肥胖症繼發於內分泌紊亂疾病、糖代謝疾病、肝臟疾病、腎臟疾病、心血管疾病、腸道疾病、甲狀腺疾病、膽囊或膽道疾病、過量飲酒、藥物作用。

【0038】 25. 根據項1-24任一項的方法，其中所述纖溶酶原可與一種或多種其它藥物或治療手段聯合施用。

【0039】 26. 項25的方法，其中所述一種或多種其它藥物包括高血壓治療藥物、糖尿病治療用藥物、動脈粥樣硬化治療用藥物、慢性腎小球腎炎治療藥物、慢性腎盂腎炎治療藥物、腎病症候群治療用藥物、腎功能不全治療用藥物、尿毒癥治療用藥物、腎移植治療用藥物、脂肪肝治療用藥物、肝硬化治療用藥物、肥胖症治療用藥物。

【0040】 27. 根據項26的方法，其中所述其它藥物包括：降血脂藥物、抗血小板藥物、降血壓藥物、擴張血管藥物、降血糖藥物、抗凝血藥物、溶血栓藥物，保肝藥物，抗心律失常藥物，強心藥物，利尿藥物，抗感染藥物、抗病毒藥物、免疫調節藥物、炎症調節類藥物、抗腫瘤藥物、激素類藥物、甲狀腺素。

【0041】 28. 項27的方法，其中所述藥物包括降血脂藥物：他汀類；貝特類；煙酸；消膽胺；安妥明；不飽和脂肪酸如益壽甯、血脂平及心脈樂；藻酸雙酯鈉；抗血小板藥物：阿司匹林；潘生丁；氯吡格雷；西洛他；擴張血管藥物：肼苯噠嗪；硝酸甘油和消心痛；硝普鈉； α 硝受體阻斷劑如呱唑嗪； α 受體阻斷劑如酚妥拉明； β 受體興奮劑如舒喘靈；卡托普利、依那普利；心痛定、硫氮卓酮；柳丁氨酸、長壓定、前列腺素、心鈉素；溶血栓藥物：尿激酶和鏈激酶；組織型纖溶酶原啟動劑；單鏈尿激酶型纖溶酶原啟動劑；TNK-組織型纖溶酶原啟動劑；抗凝血藥物：肝素；依諾肝素；那曲肝素；比伐盧定。

【0042】 29. 項1-28任一項的方法，其中所述纖溶酶原與序列2、6、8、10或12具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性，並且仍然具有纖溶酶原活性。

【0043】 30. 項1-29任一項的方法，所述纖溶酶原是在序列2、6、8、10或12的基礎上，添加、刪除和/或取代1-100、1-90、1-80、1-70、1-60、1-50、1-45、1-40、1-35、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5、1-4、1-3、1-2、1個氨基酸，並且仍然具有纖溶酶原活性的蛋白質。

【0044】 31. 項1-30任一項的方法，所述纖溶酶原是包含纖溶酶原活性片段、並且仍然具有纖溶酶原活性的蛋白質。

【0045】 32. 項1-31任一項的方法，所述纖溶酶原選自Glu-纖溶酶原、Lys-纖溶酶原、小纖溶酶原、微纖溶酶原、delta-纖溶酶原或它們的保留纖溶酶原活性的變體。

【0046】 33. 項1-32任一項的方法，所述纖溶酶原為天然或合成的人纖溶酶原、或其仍然保留纖溶酶原活性的變體或片段。

【0047】 34. 項1-33任一項的方法，所述纖溶酶原為來自靈長類動物或齧齒類動物的人纖溶酶原直向同系物或其仍然保留纖溶酶原活性的變體或片段。

【0048】 35. 項1-34任一項的方法，所述纖溶酶原的氨基酸如序列2、6、8、10或12所示。

【0049】 36. 項1-35任一項的方法，其中所述纖溶酶原是人天然纖溶酶原。

【0050】 37. 項1-36任一項的方法，其中所述受試者是人。

【0051】 38. 項1-37任一項的方法，其中所述受試者缺乏或缺失纖溶酶原。

【0052】 39. 項38的方法，其中所述缺乏或缺失是先天的、繼發的和

/或局部的。

【0053】 40. 一種用於項1-39任一項的方法的纖溶酶原。

【0054】 41. 一種藥物組合物，其包含藥學上可接受的載劑和用於項1-39中任一項所述方法的纖溶酶原。

【0055】 42. 一種預防性或治療性試劑盒，其包含：(i)用於項1-39中任一項所述方法的纖溶酶原和(ii)用於遞送所述纖溶酶原至所述受試者的構件(means)。

【0056】 43. 根據項42所述的試劑盒，其中所述構件為注射器或小瓶。

【0057】 44. 項42或43的試劑盒，其還包含標籤或使用說明書，該標籤或使用說明書指示將所述纖溶酶原投予所述受試者以實施項1-39中任一項所述方法。

【0058】 45. 一種製品，其包含：

【0059】 含有標籤的容器；和

【0060】 包含(i)用於項1-39中任一項所述方法的纖溶酶原或包含纖溶酶原的藥物組合物，其中所述標籤指示將所述纖溶酶原或組合物投予所述受試者以實施項1-39中任一項所述方法。

【0061】 46. 項42-44中任一項的試劑盒或項45的製品，還包含另外的一個或多個構件或容器，該構件或容器中含有其他藥物。

【0062】 47. 項46的試劑盒或製品，其中所述其他藥物選自下組：降血脂藥物、抗血小板藥物、降血壓藥物、擴張血管藥物、降血糖藥物、抗凝血藥物、溶血栓藥物，保肝藥物，抗心律失常藥物，強心藥物，利尿藥

物，抗感染藥物、抗病毒藥物、免疫調節藥物、炎症調節類藥物、抗腫瘤藥物、激素類藥物、甲狀腺素。

【0063】 48. 包含纖溶酶原的減肥藥。

【0064】 49. 包含纖溶酶原的減肥產品。

【0065】 50. 纖溶酶原用於減低體重的用途。

【0066】 本發明還涉及纖溶酶原在製備上述方法中使用的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。

【0067】 一方面，本發明涉及預防和/或治療受試者肥胖症及其相關病症的方法，包括給藥受試者預防和/或治療有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於預防和/或治療受試者肥胖症及其相關病症的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於預防和/或治療受試者肥胖症及其相關病症的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於預防和/或治療受試者肥胖症及其相關病症的纖溶酶原。本發明還涉及用於預防和/或治療受試者肥胖症及其相關病症的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。

【0068】 在一些實施方案中，所述肥胖症為過多飲食導致的肥胖症。在一些實施方案中，所述肥胖症為繼發性肥胖症，例如繼發於脂肪代謝紊亂疾病，例如內分泌紊亂疾病、糖代謝疾病、肝臟疾病、腎臟疾病、心血管疾病、腸道疾病、甲狀腺疾病、膽囊或膽道疾病、飲酒、藥物治療引發或伴隨的脂肪代謝紊亂。在一些實施方案中，所述脂肪代謝紊亂為高血壓、糖尿病、慢性肝炎、肝硬化、腎損傷、慢性腎小球腎炎、慢性腎盂腎炎、腎病症候群、腎功能不全、腎移植、尿毒癥、甲狀腺功能低下、阻塞性膽

囊炎、阻塞性膽管炎、藥物或激素治療引發或伴隨的脂肪代謝紊亂。在一些實施方案中，所述脂肪代謝紊亂為高脂血症、高脂蛋白血症、脂肪肝、動脈粥樣硬化、肥胖症、臟器脂肪沉積。

【0069】 在又一個方面，本發明涉及預防和/或消減受試者脂肪在身體組織器官異常或過度沉積的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於預防和/或消減受試者脂肪在身體組織器官異常或過度沉積的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於預防和/或消減受試者脂肪在身體組織器官異常或過度沉積的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於預防和/或消減受試者脂肪在身體組織器官異常或過度沉積的纖溶酶原。本發明還涉及用於預防和/或消減受試者脂肪在身體組織器官異常或過度沉積的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。

【0070】 在又一個方面，本發明涉及預防和/或治療受試者脂肪在身體組織器官異常或過度沉積導致的病症的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於預防和/或治療受試者脂肪在身體組織器官異常或過度沉積導致的病症的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於預防和/或治療受試者脂肪在身體組織器官異常或過度沉積導致的病症的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於預防和/或治療受試者脂肪在身體組織器官異常或過度沉積導致的病症的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。

【0071】 在一些實施方案中，所述脂肪在身體組織器官異常或過度沉積是指脂肪在血液，皮下組織、血管壁、內臟器官的異常或過度沉積。在

一些實施方案中，所述脂肪在身體組織器官異常或過度沉積導致的病症包括肥胖症，高脂血症、高脂蛋白血症、脂肪肝、動脈粥樣硬化、脂質性心臟損害、脂質性腎損害，脂質性胰島損害。

【0072】 在又一個方面，本發明涉及預防和/或治療受試者脂肪代謝紊亂所致肥胖症的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於預防和/或治療受試者脂肪代謝紊亂所致肥胖症的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於預防和/或治療受試者脂肪代謝紊亂所致肥胖症的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於預防和/或治療受試者脂肪代謝紊亂所致肥胖症的纖溶酶原。本發明還涉及用於預防和/或治療受試者脂肪代謝紊亂所致肥胖症的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。在一些實施方案中，所述病症包括肥胖症，高脂血症、高脂蛋白血症、脂肪肝、動脈粥樣硬化、脂質性心臟組織損傷，脂質性腎損傷。

【0073】 在又一個方面，本發明涉及通過減少脂肪異常或過度沉積治療受試者疾病的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於通過減少脂肪異常或過度沉積治療受試者疾病的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於通過減少脂肪異常或過度沉積治療受試者疾病的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於通過減少脂肪異常或過度沉積治療受試者疾病的纖溶酶原。本發明還涉及通過減少脂肪異常或過度沉積治療受試者疾病的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。

【0074】 在一些實施方案中，所述疾病包括動脈粥樣硬化、冠心病、

心絞痛、心肌梗死、心律失常、脂肪肝、肝硬化，腦缺血、腦梗死、腎功能不全、腎病症候群、腎功能不全、肥胖症。

【0075】 在又一個方面，本發明涉及預防和/或治療受試者組織器官脂質性損傷的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於預防和/或治療受試者組織器官脂質性損傷的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於預防和/或治療受試者組織器官脂質性損傷的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於預防和/或治療受試者組織器官脂質性損傷的纖溶酶原。本發明還涉及用於預防和/或治療受試者組織器官脂質性損傷的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。

【0076】 在一些實施方案中，所述組織器官包括動脈管壁、心臟、肝臟、腎臟、胰腺。

【0077】 在又一個方面，本發明涉及改善受試者高脂血症的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於改善受試者高脂血症的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於改善受試者高脂血症的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於改善受試者高脂血症的纖溶酶原。本發明還涉及用於改善受試者高脂血症的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。

【0078】 在一些實施方案中，所述高脂血症選自如下的一項或多項：高膽固醇血症、高甘油三酯血症、混合型高脂血症和低高密度脂蛋白血症。

【0079】 在又一個方面，本發明涉及降低受試者動脈粥樣硬化風險的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於降

低受試者動脈粥樣硬化風險的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於降低受試者動脈粥樣硬化風險的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於降低受試者動脈粥樣硬化風險的纖溶酶原。本發明還涉及用於降低受試者動脈粥樣硬化風險的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。

【0080】 在一些實施方案中，所述受試者患有高血壓、肥胖症、糖尿病、慢性肝炎、肝硬化、腎損傷、慢性腎小球腎炎、慢性腎盂腎炎、腎病症候群、腎功能不全、腎移植、尿毒癥、甲狀腺功能低下、阻塞性膽囊炎或阻塞性膽管炎，或所述受試者服用影響脂肪代謝的藥物或激素。在一些實施方案中，所述纖溶酶原通過選自如下的一項或多項降低受試者動脈粥樣硬化風險：降低血中總膽固醇水準、甘油三酯水準、低密度脂蛋白水準、提高血中高密度脂蛋白水準。

【0081】 在又一個方面，本發明涉及通過改善受試者高脂血症治療疾病的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於通過改善受試者高脂血症治療疾病的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於通過改善受試者高脂血症治療疾病的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於通過改善受試者高脂血症治療疾病的纖溶酶原。本發明還涉及用於通過改善受試者高脂血症治療疾病的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。

【0082】 在一些實施方案中，所述病症包括糖尿病、高血壓、動脈粥樣硬化、冠心病、心絞痛、心肌梗死、心律失常、慢性肝炎、脂肪肝、肝硬化，腦供血不足、腦缺血、腦梗死、慢性腎炎、慢性腎盂腎炎、腎功能

不全、腎病症候群、尿毒癥、肥胖症。

【0083】 在又一個方面，本發明涉及預防和/或治療受試者高血脂相關病症的方法，包括給藥受試者有效量的纖溶酶原。本發明還涉及纖溶酶原用於預防和/或治療受試者高血脂相關病症的用途。本發明還涉及纖溶酶原在製備用於預防和/或治療受試者高血脂相關病症的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒中的用途。進一步地，本發明還涉及用於預防和/或治療受試者高血脂相關病症的纖溶酶原。本發明還涉及用於預防和/或治療受試者高血脂相關病症的包含纖溶酶原的藥物、藥物組合物、製品、試劑盒。在一些實施方案中，所述病症包括糖尿病、高血壓、動脈粥樣硬化、冠心病、心絞痛、心肌梗死、心律失常、慢性肝炎、脂肪肝、肝硬化，腦供血不足、腦缺血、腦梗死、慢性腎炎、慢性腎盂腎炎、腎功能不全、腎病症候群、尿毒癥、肥胖症。

【0084】 在本發明的上述任一實施方案中，所述纖溶酶原可與一種或多種其它藥物或治療方法聯合施用。在一些實施方案中，所述一種或多種其它藥物包括高血壓治療藥物、糖尿病治療用藥物、動脈粥樣硬化治療用藥物、慢性腎小球腎炎治療藥物、慢性腎盂腎炎治療藥物、腎病症候群治療用藥物、腎功能不全治療用藥物、尿毒癥治療用藥物、腎移植治療用藥物、脂肪肝治療用藥物、肝硬化治療用藥物、肥胖症治療用藥物。在一些實施方案中，所述其它藥物包括：降血脂藥物、抗血小板藥物、降血壓藥物、擴張血管藥物、降血糖藥物、抗凝血藥物、溶血栓藥物，保肝藥物，抗心律失常藥物，強心藥物，利尿藥物，抗感染藥物、抗病毒藥物、免疫調節藥物、炎症調節類藥物、抗腫瘤藥物、激素類藥物、甲狀腺素。在一

些進一步的實施方案中，所述藥物包括降血脂藥物：他汀類；貝特類；煙酸；消膽胺；安妥明；不飽和脂肪酸如益壽甯、血脂平及心脈樂；藻酸雙酯鈉；抗血小板藥物：阿司匹林；潘生丁；氯吡格雷；西洛他；擴張血管藥物：肼苯噁嗪；硝酸甘油和消心痛；硝普鈉； α 受體阻斷劑如呱哩嗪； α 受體阻斷劑如酚妥拉明； β 受體興奮劑如舒喘靈；卡托普利、依那普利；心痛定、硫氮卓酮；柳丁氨酸、長壓定、前列腺素、心鈉素；溶血栓藥物：尿激酶和鏈激酶；組織型纖溶酶原啟動劑；單鏈尿激酶型纖溶酶原啟動劑；TNK-組織型纖溶酶原啟動劑；抗凝血藥物：肝素；依諾肝素；那曲肝素；比伐盧定。

【0085】 在本發明的上述任一實施方案中，所述纖溶酶原可與序列2、6、8、10或12具有至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性，並且仍然具有纖溶酶原活性。在一些實施方案中，所述纖溶酶原是在序列2、6、8、10或12的基礎上，添加、刪除和/或取代1-100、1-90、1-80、1-70、1-60、1-50、1-45、1-40、1-35、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5、1-4、1-3、1-2、1個氨基酸，並且仍然具有纖溶酶原活性的蛋白質。

【0086】 在一些實施方案中，所述纖溶酶原是包含纖溶酶原活性片段、並且仍然具有纖溶酶原活性的蛋白質。在一些實施方案中，所述纖溶酶原選自Glu-纖溶酶原、Lys-纖溶酶原、小纖溶酶原、微纖溶酶原、delta-纖溶酶原或它們的保留纖溶酶原活性的變體。在一些實施方案中，所述纖溶酶原為天然或合成的人纖溶酶原、或其仍然保留纖溶酶原活性的變體或片段。在一些實施方案中，所述纖溶酶原為來自靈長類動物或齧齒類動物

的人纖溶酶原直向同系物或其仍然保留纖溶酶原活性的變體或片段。在一些實施方案中，所述纖溶酶原的氨基酸如序列2、6、8、10或12所示。在一些實施方案中，所述纖溶酶原是人天然纖溶酶原。

【0087】 在一些實施方案中，所述受試者是人。在一些實施方案中，所述受試者缺乏或缺失纖溶酶原。在一些實施方案中，所述缺乏或缺失是先天的、繼發的和/或局部的。

【0088】 在一些實施方案中，所述藥物組合物包含藥學上可接受的載劑和用於前述方法的纖溶酶原。在一些實施方案中，所述試劑盒可以是預防性或治療性試劑盒，其包含：(i)用於前述方法的纖溶酶原和(ii)用於遞送所述纖溶酶原至所述受試者的構件(means)。在一些實施方案中，所述構件為注射器或小瓶。在一些實施方案中，所述試劑盒還包含標籤或使用說明書，該標籤或使用說明書指示將所述纖溶酶原投予所述受試者以實施前述任一方法。

【0089】 在一些實施方案中，所述製品包含：含有標籤的容器；和包含(i)用於前述方法的纖溶酶原或包含纖溶酶原的藥物組合物，其中所述標籤指示將所述纖溶酶原或組合物投予所述受試者以實施前述任一方法。

【0090】 在一些實施方案中，所述試劑盒或製品還包含另外的一個或多個構件或容器，該構件或容器中含有其他藥物。在一些實施方案中，所述其他藥物選自下組：降血脂藥物、抗血小板藥物、降血壓藥物、擴張血管藥物、降血糖藥物、抗凝血藥物、溶血栓藥物，保肝藥物，抗心律失常藥物，強心藥物，利尿藥物，抗感染藥物、抗病毒藥物、免疫調節藥物、炎症調節類藥物、抗腫瘤藥物、激素類藥物、甲狀腺素。

【0091】 在前述方法的一些實施方案中，所述纖溶酶原通過全身或局部給藥，較佳通過以下途徑施用：靜脈內、肌內、皮下給予纖溶酶原來進行治療。在前述方法的一些實施方案中，所述纖溶酶原與適當的多肽載體或穩定劑組合施用。在前述方法的一些實施方案中，所述纖溶酶原以每天 0.0001-2000 mg/kg、0.001-800 mg/kg、0.01-600 mg/kg、0.1-400mg/kg、1-200mg/kg、1-100mg/kg、10-100mg/kg（以每公斤體重計算）或 0.0001-2000mg/cm²、0.001-800 mg/cm²、0.01-600 mg/cm²、0.1-400 mg/cm²、1-200 mg/cm²、1-100 mg/cm²、10-100 mg/cm²（以每平方釐米體表面積計算）的劑量施用，較佳至少重複一次，較佳至少每天施用。

【0092】 本發明明確涵蓋了屬於本發明實施方案之間的技術特徵的所有組合，並且這些組合後的技術方案在本申請中已經明確公開，就像上述技術方案 已經單獨且明確公開一樣。另外，本發明還明確涵蓋各個實施方案及其要素的之間的組合，該組合後的技術方案在本文中明確公開。

【0093】 發明詳述

【0094】 定義

【0095】 本發明所述的“脂肪代謝紊亂”又稱“脂肪代謝異常”、“脂肪代謝障礙”，為脂肪代謝發生異常、紊亂或障礙所引發的臨床或病理表現的總稱。在本文中，“脂肪代謝紊亂”、“脂肪代謝異常”、“脂肪代謝障礙”可互換使用。本發明中“脂肪代謝”、“脂代謝”、“脂質代謝”可互換使用。

【0096】 “脂肪代謝紊亂相關病症”是與脂肪代謝紊亂相關的病症的總稱。所述的相關，可以是病因相關、發病機理相關、病理表現相關、臨

床症狀相關和/或治療原則相關。

【0097】 “血脂”是甘油三酯、膽固醇和磷脂等的總稱，脂蛋白是由載脂蛋白和血脂組成的球型大分子複合體，由於脂蛋白包含膽固醇、甘油三酯的成分不同及密度大小不同被分為5大類：乳糜微粒（CM）極低密度脂蛋白（VLDL）中密度脂蛋白（IDL）低密度脂蛋白（LDL）高密度脂蛋白（HDL）。依據血脂危險水準，臨床最常見的異常脂蛋白血症類型：高膽固醇血症、高甘油三酯血症、混合型高脂血症和低高密度脂蛋白血症。繼發性血脂異常見於糖尿病、甲狀腺功能低下、腎病症候群、腎移植、嚴重肝病、阻塞性膽道疾病、肥胖症、飲酒、藥物治療，例如雌激素治療等，如能排除繼發性血脂異常可考慮原發性血脂異常。

【0098】 “高血脂”是指血漿中的膽固醇、甘油三脂、磷脂和未脂化的脂酸等血脂成分增高的病理狀況。

【0099】 “高血脂相關病症”是指病因、發病機理、病理表現、臨床症狀和/或治療原則與高血脂相關的病症。較佳所述病症包括但不限於糖尿病、高血壓、動脈粥樣硬化、冠心病、心絞痛、心肌梗死、心律失常、慢性肝炎、脂肪肝、肝硬化，腦供血不足、腦缺血、腦梗死、慢性腎炎、慢性腎盂腎炎、腎功能不全、腎病症候群、尿毒癥、肥胖症。

【0100】 由於脂肪代謝或運轉異常使血漿中一種或幾種脂質異常稱為“高脂血症”、“高血脂症”或“血脂異常”（dyslipidemia）。

【0101】 由於脂質不溶或微溶於水，必須與蛋白質結合成脂蛋白才能在血液迴圈中運轉，因此高脂血症常為“高脂蛋白血症”的反映。

【0102】 本發明的“高血脂相關病症”也可稱為“高脂血症相關病

症”、“高脂蛋白血症相關病症”。

【0103】 “肥胖症”或稱“肥胖”是指體內脂肪堆積過多和/或分佈異常。肥胖或肥胖症常用的判斷指標有體質指數(BMI)和腰圍(WC)。目前世界衛生組織的分類標準以 $BMI \geq 25 \text{ kg}\cdot\text{m}^2$ 為超重， $BMI \geq 30 \text{ kg}\cdot\text{m}^2$ 為肥胖，但這個指標根據國家、地區、人種的不同，上下略有差異。比如2003年《中國成人超重和肥胖症預防控制指南(試用)》提出以 $BMI \geq 24 \text{ kg}\cdot\text{m}^2$ 為中國成人超重的界限， $BMI \geq 28 \text{ kg}\cdot\text{m}^2$ 為肥胖的界限。從以上“肥胖”和“超重”的分級來看，超重和肥胖體現的是程度的不同。本發明權利要求和說明書中所指的肥胖或肥胖症涵蓋了“超重”的含義。本發明所述“肥胖”、“肥胖症”和“超重”可以是各種原因，例如單純通過進食造成的體重過度增加。

【0104】 本發明實驗證明纖溶酶原能夠改善脂肪在體內器官、器官周圍、腹腔等部位的異常或過度沉積，因此，可以用作減肥藥，治療肥胖或超重的狀況，消減脂肪。減低體重。

【0105】 本發明涉及用作減肥藥的纖溶酶原或包含纖溶酶原的藥物組合物、試劑盒或製品。本發明的纖溶酶原除可以用作藥物外，還可以用作食品添加劑，用在食品或飲品中。本發明的纖溶酶原也可以用在美容減肥產品中，用以減肥。因此，本發明的纖溶酶原可以以各種方便的形式給予有需要減肥或降低體重的受試者。

【0106】 細溶酶是纖溶酶原啟動系統(PA系統)的關鍵組分。它是一種廣譜的蛋白酶，能夠水解細胞外基質(ECM)的幾個組分，包括纖維蛋白、明膠、纖連蛋白、層粘連蛋白和蛋白聚糖^[9]。此外，纖溶酶能將一些

金屬蛋白酶前體(pro-MMPs)啟動形成具有活性的金屬蛋白酶 (MMPs)。因此纖溶酶被認為是胞外蛋白水解作用的一個重要的上游調節物^[10,11]。纖溶酶是由纖溶酶原通過兩種生理性的PAs：組織型纖溶酶原啟動劑 (tPA) 或尿激酶型纖溶酶原啟動劑 (uPA) 蛋白水解形成的。由於纖溶酶原在血漿和其他體液中相對水準較高，傳統上認為PA系統的調節主要通過PAs的合成和活性水準實現。PA系統組分的合成受不同因素嚴格調節，如激素、生長因數和細胞因數。此外，還存在纖溶酶和PAs的特定生理抑制劑。纖溶酶的主要抑制劑是 α 2-抗纖溶酶 (α 2-antiplasmin)。PAs的活性同時被uPA 和tPA 的纖溶酶原啟動劑抑制劑-1 (PAI-1) 抑制以及主要抑制uPA的溶酶原啟動劑抑制劑-2 (PAI-2) 調節。某些細胞表面具有直接水解活性的uPA特異性細胞表面受體(uPAR)^[12,13]。

【0107】 纖溶酶原 (plasminogen, plg) 是一個單鏈糖蛋白，由791個氨基酸組成，分子量約為92 kDa^[14,15]。纖溶酶原主要在肝臟合成，大量存在於胞外液中。血漿中纖溶酶原含量約為2 μ M。因此纖溶酶原是組織和體液中蛋白質水解活性的一個巨大的潛在來源^[16,17]。纖溶酶原存在兩種分子形式：谷氨酸-纖溶酶原 (Glu-plasminogen) 和賴氨酸-纖溶酶原 (Lys-plasminogen)。天然分泌和未裂解形式的纖溶酶原具有一個氨基末端 (N-末端) 谷氨酸，因此被稱為谷氨酸-纖溶酶原。然而，在纖溶酶存在時，谷氨酸-纖溶酶原在Lys76-Lys77處水解成為賴氨酸-纖溶酶原。與谷氨酸-纖溶酶原相比，賴氨酸-纖溶酶原與纖維蛋白具有更高的親和力，並可以更高的速率被PAs啟動。這兩種形式的纖溶酶原的Arg560-Val561肽鍵可被uPA或tPA切割，導致二硫鍵連接的雙鏈蛋白酶纖溶酶的形成^[18]。纖溶酶原的氨基

末端部分包含五個同源三環，即所謂的kringles，羧基末端部分包含蛋白酶結構域。一些kringles含有介導纖溶酶原與纖維蛋白及其抑制劑 α 2-AP特異性相互作用的賴氨酸結合位點。最新發現一個纖溶酶原為38 kDa的片段，其中包括kringles1-4，是血管生成的有效抑制劑。這個片段被命名為血管抑素，可通過幾個蛋白酶水解纖溶酶原產生。

【0108】 纖溶酶的主要底物是纖維蛋白，纖維蛋白的溶解是預防病理性血栓形成的關鍵^[19]。纖溶酶還具有對ECM幾個組分的底物特異性，包括層粘連蛋白、纖連蛋白、蛋白聚糖和明膠，表明纖溶酶在ECM重建中也起著重要作用^[15,20,21]。間接地，纖溶酶還可以通過轉化某些蛋白酶前體為活性蛋白酶來降解ECM的其他組分，包括MMP-1，MMP-2，MMP-3和MMP-9。因此，有人提出，纖溶酶可能是細胞外蛋白水解的一個重要的上游調節器^[22]。此外，纖溶酶具有啟動某些潛在形式的生長因數的能力^[23-25]。在體外，纖溶酶還能水解補體系統的組分並釋放趨化補體片段。

【0109】 “纖溶酶”是存在於血液中的一種非常重要的酶，能將纖維蛋白凝塊水解為纖維蛋白降解產物和D-二聚體。

【0110】 “纖溶酶原”是纖溶酶的酶原形式，根據swiss prot中的序列，按含有信號肽的天然人源纖溶酶原氨基酸序列（序列4）計算由810個氨基酸組成，分子量約為90kD，主要在肝臟中合成並能夠在血液中迴圈的糖蛋白，編碼該氨基酸序列的cDNA序列如序列3所示。全長的纖溶酶原包含七個結構域：位於C末端的絲氨酸蛋白酶結構域、N末端的Pan Apple(PAp)結構域以及5個Kringle結構域(Kringle1-5)。參照swiss prot中的序列，其信號肽包括殘基 Met1-Gly19，PAp包括殘基 Glu20-Val98，Kringle1包括殘基

Cys103-Cys181，Kringle2包括殘基Glu184-Cys262，Kringle3包括殘基Cys275-Cys352，Kringle4包括殘基Cys377-Cys454，Kringle5包括殘基Cys481-Cys560。根據NCBI資料，絲氨酸蛋白酶域包括殘基Val581-Arg804。

【0111】 Glu-纖溶酶原是天然全長的纖溶酶原，由791個氨基酸組成（不含有19個氨基酸的信號肽），編碼該序列的cDNA序列如序列1所示，其氨基酸序列如序列2所示。在體內，還存在一種是從Glu-纖溶酶原的第76-77位氨基酸處水解從而形成的Lys-纖溶酶原，如序列6所示，編碼該氨基酸序列的cDNA序列如序列5所示。Delta-纖溶酶原 (δ -plasminogen)是全長纖溶酶原缺失了Kringle2-Kringle5結構的片段，僅含有Kringle1和絲氨酸蛋白酶域^[26,27]，有文獻報導了delta-纖溶酶原的氨基酸序列（序列8）^[27]，編碼該氨基酸序列的cDNA序列如序列7。小纖溶酶原（Mini-plasminogen）由Kringle5和絲氨酸蛋白酶域組成，有文獻報導其包括殘基Val443-Asn791（以不含有信號肽的Glu-纖溶酶原序列的Glu殘基為起始氨基酸）^[28]，其氨基酸序列如序列10所示，編碼該氨基酸序列的cDNA序列如序列9所示。而微纖溶酶原（Micro-plasminogen）僅含有絲氨酸蛋白酶結構域，有文獻報導其氨基酸序列包括殘基Ala543-Asn791（以不含有信號肽的Glu-纖溶酶原序列的Glu殘基為起始氨基酸）^[29]，也有專利文獻CN102154253A報導其序列包括殘基Lys531-Asn791（以不含有信號肽的Glu-纖溶酶原序列的Glu殘基為起始氨基酸），本專利序列參考專利文獻CN102154253A，其氨基酸序列如序列12所示，編碼該氨基酸序列的cDNA序列如序列11所示。

【0112】 本發明的“纖溶酶”與“纖維蛋白溶酶”、“纖維蛋白溶解酶”可互換使用，含義相同；“纖溶酶原”與“纖溶酶原”、“纖維蛋白溶解酶原”可互

換使用，含義相同。

【0113】 在本申請中，所述纖溶酶原“缺乏”的含義或活性為受試者體內纖溶酶原的含量比正常人低，低至足以影響所述受試者的正常生理功能；所述纖溶酶原“缺失”的含義或活性為受試者體內纖溶酶原的含量顯著低於正常人，甚至活性或表達極微，只有通過外源提供才能維持正常生理功能。

【0114】 本領域技術人員可以理解，本發明纖溶酶原的所有技術方案適用於纖溶酶，因此，本發明描述的技術方案涵蓋了纖溶酶原和纖溶酶。

【0115】 在迴圈過程中，纖溶酶原採用封閉的非活性構象，但當結合至血栓或細胞表面時，在纖溶酶原啟動劑(plasminogen activator，PA)的介導下，其轉變為呈開放性構象的活性纖溶酶。具有活性的纖溶酶可進一步將纖維蛋白凝塊水解為纖維蛋白降解產物和D-二聚體，進而溶解血栓。其中纖溶酶原的PAp結構域包含維持纖溶酶原處於非活性封閉構象的重要決定簇，而KR結構域則能夠與存在於受體和底物上的賴氨酸殘基結合。已知多種能夠作為纖溶酶原啟動劑的酶，包括：組織纖溶酶原啟動劑(tPA)、尿激酶纖溶酶原啟動劑(uPA)、激肽釋放酶和凝血因數XII(哈格曼因數)等。

【0116】 “纖溶酶原活性片段”是指在纖溶酶原蛋白中，能夠與底物中的靶序列結合並發揮蛋白水解功能的活性片段。本發明涉及纖溶酶原的技術方案涵蓋了用纖溶酶原活性片段代替纖溶酶原的技術方案。本發明所述的纖溶酶原活性片段為包含纖溶酶原的絲氨酸蛋白酶域的蛋白質，較佳，本發明所述的纖溶酶原活性片段包含序列14、與序列14具有至少80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%同源性的氨基酸序列的蛋白質。因此，

本發明所述的纖溶酶原包括含有該纖溶酶原活性片段、並且仍然保持該纖溶酶原活性的蛋白。

【0117】 目前，對於血液中纖溶酶原及其活性測定方法包括：對組織纖溶酶原啟動劑活性的檢測(t-PAA)、血漿組織纖溶酶原啟動劑抗原的檢測(t-PAAg)、對血漿組織纖溶酶原活性的檢測(plgA)、血漿組織纖溶酶原抗原的檢測(plgAg)、血漿組織纖溶酶原啟動劑抑制物活性的檢測、血漿組織纖溶酶原啟動劑抑制物抗原的檢測、血漿纖維蛋白溶酶-抗纖維蛋白溶酶複合物檢測(PAP)。其中最常用的檢測方法為發色底物法：向受檢血漿中加鏈激酶(SK)和發色底物，受檢血漿中的PLG在SK的作用下，轉變成PLM，後者作用於發色底物，隨後用分光光度計測定，吸光度增加與纖溶酶原活性成正比。此外也可採用免疫化學法、凝膠電泳、免疫比濁法、放射免疫擴散法等對血液中的纖溶酶原活性進行測定。

【0118】 “直系同源物或直系同系物 (ortholog)”指不同物種之間的同源物，既包括蛋白同源物也包括DNA同源物，也稱為直向同源物、垂直同源物。其具體指不同物種中由同一祖先基因進化而來的蛋白或基因。本發明的纖溶酶原包括人的天然纖溶酶原，還包括來源於不同物種的、具有纖溶酶原活性的纖溶酶原直系同源物或直系同系物。

【0119】 “保守取代變體”是指其中一個給定的氨基酸殘基改變但不改變蛋白質或酶的整體構象和功能，這包括但不限於以相似特性（如酸性，鹼性，疏水性，等）的氨基酸取代親本蛋白質中氨基酸序列中的氨基酸。具有類似性質的氨基酸是眾所周知的。例如，精氨酸、組氨酸和賴氨酸是親水性的鹼性氨基酸並可以互換。同樣，異亮氨酸是疏水氨基酸，則可被

亮氨酸，蛋氨酸或纈氨酸替換。因此，相似功能的兩個蛋白或氨基酸序列的相似性可能會不同。例如，基於MEGALIGN演算法的70%至99%的相似度（同一性）。“保守取代變體”還包括通過BLAST或FASTA演算法確定具有60%以上的氨基酸同一性的多肽或酶，若能達75%以上更好，最好能達85%以上，甚至達90%以上為最佳，並且與天然或親本蛋白質或酶相比具有相同或基本相似的性質或功能。

【0120】 “分離的”纖溶酶原是指從其天然環境分離和/或回收的纖溶酶原蛋白。在一些實施方案中，所述纖溶酶原會純化(1)至大於90%、大於95%、或大於98%的純度(按重量計)，如通過Lowry法所確定的，例如超過99% (按重量計)，(2)至足以通過使用旋轉杯序列分析儀獲得N端或內部氨基酸序列的至少15個殘基的程度，或(3)至同質性，該同質性是通過使用考馬斯藍或銀染在還原性或非還原性條件下的十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)確定的。分離的纖溶酶原也包括通過生物工程技術從重組細胞製備，並通過至少一個純化步驟分離的纖溶酶原。

【0121】 術語“多肽”、“肽”和“蛋白質”在本文中可互換使用，指任何長度的氨基酸的聚合形式，其可以包括遺傳編碼的和非遺傳編碼的氨基酸，化學或生物化學修飾的或衍生化的氨基酸，和具有經修飾的肽主鏈的多肽。該術語包括融合蛋白，包括但不限於具有異源氨基酸序列的融合蛋白，具有異源和同源前導序列(具有或沒有N端甲硫氨酸殘基)的融合物；等等。

【0122】 關於參照多肽序列的“氨基酸序列同一性百分數(%)”定義為在必要時引入缺口以實現最大百分比序列同一性後，且不將任何保守替

代視為序列同一性的一部分時，候選序列中與參照多肽序列中的氨基酸殘基相同的氨基酸殘基的百分率。為測定百分比氨基酸序列同一性目的的對比可以以本領域技術範圍內的多種方式實現，例如使用公眾可得到的電腦軟體，諸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign（DNASTAR）軟體。本領域技術人員能決定用於比對序列的適宜參數，包括對所比較序列全長實現最大對比需要的任何演算法。然而，為了本發明的目的，氨基酸序列同一性百分數值是使用序列比較電腦程式ALIGN-2產生的。

【0123】 在採用ALIGN-2來比較氨基酸序列的情況中，給定氨基酸序列A相對於給定氨基酸序列B的%氨基酸序列同一性（或者可表述為具有或包含相對於、與、或針對給定氨基酸序列B的某一%氨基酸序列同一性的給定氨基酸序列A）如下計算：

【0124】 分數 X/Y 乘 100

【0125】 其中X是由序列比對程式ALIGN-2在該程式的A和B比對中評分為相同匹配的氨基酸殘基的數目，且其中Y是B中的氨基酸殘基的總數。應當領會，在氨基酸序列A的長度與氨基酸序列B的長度不相等的情況下，A相對於B的%氨基酸序列同一性會不等於B相對於A的%氨基酸序列同一性。除非另有明確說明，本文中使用的所有%氨基酸序列同一性值都是依照上一段所述，使用ALIGN-2電腦程式獲得的。

【0126】 如本文中使用的，術語“治療”和“處理”指獲得期望的藥理和/或生理效果。所述效果可以是完全或部分預防疾病或其症狀，和/或部分或完全治癒疾病和/或其症狀，並且包括：(a)預防疾病在受試者體內發生，所述受試者可以具有疾病的素因，但是尚未診斷為具有疾病；(b)抑制疾病，

即阻滯其形成；和(c)減輕疾病和/或其症狀，即引起疾病和/或其症狀消退。

【0127】 術語“個體”、“受試者”和“患者”在本文中可互換使用，指哺乳動物，包括但不限於鼠(大鼠、小鼠)、非人靈長類、人、犬、貓、有蹄動物(例如馬、牛、綿羊、豬、山羊)等。

【0128】 “治療有效量”或“有效量”指在對哺乳動物或其它受試者施用以治療疾病時足以實現對疾病的所述預防和/或治療的纖溶酶原的量。“治療有效量”會根據所使用的纖溶酶原、要治療的受試者的疾病和/或其症狀的嚴重程度以及年齡、體重等而變化。

【0129】 本發明纖溶酶原的製備

【0130】 纖溶酶原可以從自然界分離並純化用於進一步的治療用途，也可以通過標準的化學肽合成技術來合成。當通過化學合成多肽時，可以經液相或固相進行合成。固相多肽合成(SPPS) (其中將序列的C末端氨基酸附接於不溶性支援物，接著序貫添加序列中剩餘的氨基酸)是適合纖溶酶原化學合成的方法。各種形式的SPPS，諸如Fmoc和Boc可用於合成纖溶酶原。用於固相合成的技術描述於Barany和Solid-Phase Peptide Synthesis; 第3-284頁於The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology.第2卷：Special Methods in Peptide Synthesis, Part A., Merrifield,等 J. Am. Chem. Soc., 85: 2149-2156 (1963); Stewart等, Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed. Pierce Chem. Co., Rockford, Ill. (1984);和Ganesan A. 2006 Mini Rev. Med Chem. 6:3-10和Camarero JA等 2005 Protein Pept Lett. 12:723-8中。簡言之，用其上構建有肽鏈的功能性單元處理小的不溶性多孔珠。在偶聯/去保護的重複迴圈後，

將附接的固相游離N末端胺與單個受N保護的氨基酸單元偶聯。然後，將此單元去保護，露出可以與別的氨基酸附接的新的N末端胺。肽保持固定在固相上，之後將其切掉。

【0131】 可以使用標準重組方法來生產本發明的纖溶酶原。例如，將編碼纖溶酶原的核酸插入表達載體中，使其與表達載體中的調控序列可操作連接。表達調控序列包括但不限於啟動子(例如天然關聯的或異源的啟動子)、信號序列、增強子元件、和轉錄終止序列。表達調控可以是載體中的真核啟動子系統，所述載體能夠轉化或轉染真核宿主細胞(例如COS或CHO細胞)。一旦將載體摻入合適的宿主中，在適合於核苷酸序列的高水準表達及纖溶酶原的收集和純化的條件下維持宿主。

【0132】 合適的表達載體通常在宿主生物體中作為附加體或作為宿主染色體DNA的整合部分複製。通常，表達載體含有選擇標誌物(例如氨基青黴素抗性、潮黴素抗性、四環素抗性、卡那黴素抗性或新黴素抗性)以有助於對外源用期望的DNA序列轉化的那些細胞進行檢測。

【0133】 大腸桿菌(*Escherichia coli*)是可以用於複製主題抗體編碼多核苷酸的原核宿主細胞的例子。適合於使用的其它微生物宿主包括桿菌，諸如枯草芽孢桿菌(*Bacillus subtilis*)和其他腸桿菌科(*enterobacteriaceae*)，諸如沙門氏菌屬(*Salmonella*)、沙雷氏菌屬(*Serratia*)、和各種假單胞菌屬(*Pseudomonas*)物種。在這些原核宿主中，也可以生成表達載體，其通常會含有與宿主細胞相容的表達控制序列(例如複製起點)。另外，會存在許多公知的啟動子，諸如乳糖啟動子系統，色氨酸(*trp*)啟動子系統，beta-內醯胺酶啟動子系統，或來自噬菌體λ的啟動子系統。啟動子通常會控制表達，任選

在操縱基因序列的情況中，並且具有核糖體結合位點序列等，以啟動並完成轉錄和翻譯。

【0134】 其他微生物，諸如酵母也可用於表達。酵母(例如釀酒酵母(*S. cerevisiae*))和畢赤酵母(*Pichia*)是合適的酵母宿主細胞的例子，其中合適的載體根據需要具有表達控制序列(例如啟動子)、複製起點、終止序列等。典型的啟動子包含3-磷酸甘油酸激酶和其它糖分解酶。誘導型酵母啟動於特別包括來自醇脫氫酶、異細胞色素C、和負責麥芽糖和半乳糖利用的酶的啟動子。

【0135】 在微生物外，哺乳動物細胞(例如在體外細胞培養物中培養的哺乳動物細胞)也可以用於表達並生成本發明的抗-Tau抗體(例如編碼主題抗-Tau抗體的多核苷酸)。參見 Winnacker, From Genes to Clones, VCH Publishers, N.Y., N.Y. (1987)。合適的哺乳動物宿主細胞包括CHO細胞系、各種Cos細胞系、HeLa細胞、骨髓瘤細胞系、和經轉化的B細胞或雜交瘤。用於這些細胞的表達載體可以包含表達控制序列，如複製起點，啟動子和增強子(Queen等, *Immunol. Rev.* 89:49 (1986))，以及必需的加工資訊位元點，諸如核糖體結合位點，RNA剪接位點，多聚腺苷酸化位點，和轉錄終止子序列。合適的表達控制序列的例子是白免疫球蛋白基因、SV40、腺病毒、牛乳頭瘤病毒、巨細胞病毒等衍生的啟動子。參見 Co等, *J. Immunol.* 148:1149 (1992)。

【0136】 一旦合成(化學或重組方式)，可以依照本領域的標準規程，包括硫酸銨沉澱，親和柱，柱層析，高效液相層析(HPLC)，凝膠電泳等來純化本發明所述的纖溶酶原。該纖溶酶原是基本上純的，例如至少約80%

至85%純的，至少約85%至90%純的，至少約90%至95%純的，或98%至99%純的或更純的，例如不含污染物，所述污染物如細胞碎片，除主題抗體以外的大分子，等等。

【0137】 藥物配製劑

【0138】 可以通過將具有所需純度的纖溶酶原與可選的藥用載體，賦形劑，或穩定劑(Remington's Pharmaceutical Sciences, 16版，Osol, A. ed.(1980))混合形成凍乾製劑或水溶液製備治療配製劑。可接受的載體、賦形劑、穩定劑在所用劑量及濃度下對受者無毒性，並包括緩衝劑例如磷酸鹽，檸檬酸鹽及其它有機酸；抗氧化劑包括抗壞血酸和蛋氨酸；防腐劑(例如十八烷基二甲基苄基氯化銨；氯化己烷雙胺；氯化苄烷銨(benzalkonium chloride)，苯索氯銨；酚、丁醇或苯甲醇；烷基對羥基苯甲酸酯如甲基或丙基對羥基苯甲酸酯；鄰苯二酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；間甲酚)；低分子量多肽(少於約10個殘基)；蛋白質如血清白蛋白，明膠或免疫球蛋白；親水聚合物如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸如甘氨酸，穀氨醯胺、天冬醯胺、組氨酸、精氨酸或賴氨酸；單糖，二糖及其它碳水化合物包括葡萄糖、甘露糖、或糊精；螯合劑如EDTA；糖類如蔗糖、甘露醇、岩藻糖或山梨醇；成鹽反離子如鈉；金屬複合物(例如鋅-蛋白複合物)；和/或非離子表面活性劑，例如 TWEEN™，PLURONIC™或聚乙二醇(PEG)。較佳凍乾的抗-VEGF抗體配製劑在WO 97/04801中描述，其包含在本文中作為參考。

【0139】 本發明的配製劑也可含有需治療的具體病症所需的一種以上的活性化合物，較佳活性互補並且相互之間沒有副作用的那些。例如，

抗高血壓的藥物，抗心律失常的藥物，治療糖尿病的藥物等。

【0140】 本發明的纖溶酶原可包裹在通過諸如凝聚技術或介面聚合而製備的微膠囊中，例如，可置入在膠質藥物傳送系統(例如，脂質體，白蛋白微球，微乳劑，納米顆粒和納米膠囊)中或置入粗滴乳狀液中的羥甲基纖維素或凝膠-微膠囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊中。這些技術公開於 Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.(1980)。

【0141】 用於體內給藥的本發明的纖溶酶原必需是無菌的。這可以通過在冷凍乾燥和重新配製之前或之後通過除菌濾膜過濾而輕易實現。

【0142】 本發明的纖溶酶原可製備緩釋製劑。緩釋製劑的適當實例包括具有一定形狀且含有糖蛋白的固體疏水聚合物半通透基質，例如膜或微膠囊。緩釋基質實例包括聚酯、水凝膠(如聚(2-羥基乙基-異丁烯酸酯)(Langer 等，J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277(1981)；Langer, Chem. Tech., 12:98-105(1982))或聚(乙稀醇)，聚交酯(美國專利3773919, EP 58,481)，L-谷氨酸與γ乙基-L-谷氨酸的共聚物(Sidman，等，Biopolymers 22:547(1983))，不可降解的乙稀-乙稀乙酸酯(ethylene-vinyl acetate)(Langer，等，出處同上)，或可降解的乳酸-羥基乙酸共聚物如Lupron DepotTM(由乳酸-羥基乙酸共聚物和亮氨醯脯氨酸(leuprolide)乙酸酯組成的可注射的微球體)，以及聚D-(-)-3-羥丁酸。聚合物如乙稀-乙酸乙稀酯和乳酸-羥基乙酸能持續釋放分子100天以上，而一些水凝膠釋放蛋白的時間卻較短。可以根據相關機理來設計使蛋白穩定的合理策略。例如，如果發現凝聚的機理是通過硫代二硫鍵互換而形成分子間S-S鍵，則可通過修飾巯基殘基、從酸性溶液中凍乾、控制濕度、採用合適的添加劑、和開發特定的聚合物基質組合物來實現穩定。

【0143】 紿藥和劑量

【0144】 可以通過不同方式，例如通過靜脈內，腹膜內，皮下，顱內，鞘內，動脈內(例如經由頸動脈)，肌內來實現本發明藥物組合物的施用。

【0145】 用於胃腸外施用的製備物包括無菌水性或非水性溶液、懸浮液和乳劑。非水性溶劑的例子是丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄欖油，和可注射有機酯，如油酸乙酯。水性載體包括水、醇性/水性溶液、乳劑或懸浮液，包括鹽水和緩衝介質。胃腸外媒介物包含氯化鈉溶液、林格氏右旋糖、右旋糖和氯化鈉、或固定油。靜脈內媒介物包含液體和營養補充物、電解質補充物，等等。也可以存在防腐劑和其他添加劑，諸如例如，抗微生物劑、抗氧化劑、螯合劑、和惰性氣體，等等。

【0146】 醫務人員會基於各種臨床因素確定劑量方案。如醫學領域中公知的，任一患者的劑量取決於多種因素，包括患者的體型、體表面積、年齡、要施用的具體化合物、性別、施用次數和路徑、總體健康、和同時施用的其它藥物。本發明包含纖溶酶原的藥物組合物的劑量範圍可以例如為例如每天約0.0001至2000 mg/kg，或約0.001至500 mg/kg (例如0.02 mg/kg，0.25 mg/kg，0.5 mg/kg，0.75 mg/kg，10 mg/kg，50 mg/kg等等)受試者體重。例如，劑量可以是1 mg/kg體重或50 mg/kg體重或在1-50 mg/kg的範圍，或至少1 mg/kg。高於或低於此例示性範圍的劑量也涵蓋在內，特別是考慮到上述的因素。上述範圍中的中間劑量也包含在本發明的範圍內。受試者可以每天、隔天、每週或根據通過經驗分析確定的任何其它日程表施用此類劑量。例示性的劑量日程表包括連續幾天1-10 mg/kg。在本發明的藥

物施用過程中需要即時評估治療效果和安全性。

【0147】 製品或藥盒

【0148】 本發明的一個實施方案涉及一種製品或藥盒，其包含可用於治療由肥胖及其相關病症的本發明纖溶酶原或纖溶酶。所述製品較佳包括一個容器，標籤或包裝插頁。適當的容器有瓶子，小瓶，注射器等。容器可由各種材料如玻璃或塑膠製成。所述容器含有組合物，所述組合物可有效治療本發明的疾病或病症並具有無菌入口(例如所述容器可為靜脈內溶液包或小瓶，其含有可被皮下注射針穿透的塞子的)。所述組合物中至少一種活性劑為纖溶酶原/纖溶酶。所述容器上或所附的標籤說明所述組合物用於治療本發明所述由糖尿病引起的肥胖及其相關病症。所述製品可進一步包含含有可藥用緩衝液的第二容器，諸如磷酸鹽緩衝的鹽水，林格氏溶液以及葡萄糖溶液。其可進一步包含從商業和使用者角度來看所需的其它物質，包括其它緩衝液，稀釋劑，過濾物，針和注射器。此外，所述製品包含帶有使用說明的包裝插頁，包括例如指示所述組合物的使用者將纖溶酶原組合物以及治療伴隨的疾病的其它藥物給藥患者。

【圖式簡單說明】

【0149】 圖1 純予纖溶酶原28天高熱量飼料誘導的肥胖模型小鼠體重變化計算結果。結果展示為第29天體重減去第1天體重的數值。結果顯示，空白對照組體重改變並不明顯，給溶媒PBS對照組減輕的體重明顯低於給纖溶酶原組，且統計差異顯著 (*為 $P<0.05$)。說明纖溶酶原能夠促進肥胖

模型小鼠體重的降低。

【0150】 圖2 紿予纖溶酶原28天高熱量飼料誘導的肥胖模型小鼠體重指數統計結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠體重指數明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著（*為 $P<0.05$ ，**為 $P<0.01$ ），且與給溶媒PBS對照組相比給纖溶酶原組小鼠的體重指數更加接近空白對照組。說明纖溶酶原能夠顯著降低肥胖模型小鼠的體重指數，減輕肥胖。

【0151】 圖3 紿予纖溶酶原28天高熱量飼料誘導的肥胖模型小鼠Lee's指數統計結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠Lee's指數明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著（*為 $P<0.05$ ），且與給溶媒PBS對照組相比給纖溶酶原組小鼠的Lee's指數更加接近空白對照組。說明纖溶酶原能夠顯著降低肥胖模型小鼠的Lee's指數，減輕肥胖。

【0152】 圖4A至圖4C是高熱量飼料誘導的肥胖模型小鼠血脂檢測結果。圖4A為總膽固醇、圖4B為低密度脂蛋白、圖4C為高密度脂蛋白。結果顯示，給纖溶酶原組、給溶媒PBS對照組和空白對照組的總膽固醇、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白濃度均無顯著差異。說明本實驗中高能量飼料誘導的肥胖模型小鼠血脂並無顯著改變。

【0153】 圖5高熱量飼料誘導的肥胖模型小鼠血清瘦素檢測結果。結果顯示，給纖溶酶原組、給溶媒PBS對照組和空白對照組三組瘦素濃度均無顯著差異。說明本實驗中高能量飼料誘導的肥胖模型小鼠瘦素並無顯著改變。

【0154】 圖6 高熱量飼料誘導的肥胖模型小鼠血清胰島素檢測結果。結果顯示，給纖溶酶原組、給溶媒PBS對照組和空白對照組三組胰島素

濃度均無顯著差異。說明本實驗中高能量飼料誘導的肥胖模型小鼠胰島素並無顯著改變。

【0155】 圖7給予纖溶酶原28天高熱量飼料誘導的肥胖模型小鼠腹腔脂肪係數統計結果。結果顯示，給纖溶酶原組腹腔脂肪係數明顯低於給溶媒PBS對照組，統計差異顯著 (*為 $P<0.05$)，且與給溶媒PBS對照組相比給纖溶酶原組小鼠腹腔脂肪含量更加接近空白對照組。說明纖溶酶原能夠顯著降低肥胖模型小鼠腹腔脂肪的沉積。

【0156】 圖8 純予纖溶酶原28天高熱量飼料誘導的肥胖模型小鼠腹腔脂肪HE染色脂肪空泡面積統計結果。A為空白對照組，B為給溶媒PBS對照組，C為給纖溶酶原組，D為定量分析結果。結果顯示，給纖溶酶原組平均脂肪空泡的面積明顯小於給溶媒PBS對照組，統計差異極為顯著 (**表示 $P<0.01$)，且與給溶媒PBS對照組相比給纖溶酶原組脂肪空泡面積更加接近空白對照小鼠。說明纖溶酶原能夠顯著地降低肥胖模型小鼠脂肪細胞的大小，減少腹腔脂肪沉積。

【0157】 圖9 純予纖溶酶原28天14-15周齡糖尿病小鼠血清瘦素檢測結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠血清瘦素濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，統計差異極為顯著 (**為 $P<0.01$)，且與給溶媒PBS對照組相比給纖溶酶原組血清瘦素水準更加接近正常小鼠。說明纖溶酶原能夠降低2型糖尿病早期小鼠血清瘦素水準。

【0158】 圖10純予纖溶酶原28天23-25周齡糖尿病小鼠血清瘦素檢測結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠血清瘦素濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，統計差異極為顯著 (**為 $P<0.01$)。說明纖溶酶原能夠降低2型糖尿病晚

期小鼠血清瘦素水準。

【0159】 圖11 16周高脂血症模型小鼠給予纖溶酶原30天後肝臟油紅O染色觀察結果。A為給溶媒PBS對照組，B為給纖溶酶原組，C為定量分析結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠肝臟脂肪沉積明顯少於給溶媒PBS對照組，且定量分析統計差異顯著 (*表示 $P<0.05$)。說明纖溶酶原能改善脂肪在高脂血症模型小鼠肝臟中的沉積。

【0160】 圖12 16周高脂血症模型小鼠給予纖溶酶原30天後主動脈竇油紅O染色觀察結果。A、C為給溶媒PBS對照組，B、D為給纖溶酶原組，E為定量分析結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠主動脈竇脂肪沉積明顯少於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著 (*表示 $P<0.05$)。說明纖溶酶原能改善脂肪在高脂血症模型小鼠主動脈竇中的沉積。

【0161】 圖13 純予纖溶酶原30天後3%膽固醇飼料誘導高脂血症模型小鼠腎臟油紅O觀察結果。A為空白對照組，B為給溶媒PBS對照組，C為給纖溶酶原組，D為定量分析結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠腎臟脂肪沉積（箭頭標識）明顯少於給溶媒PBS對照組，且定量分析統計差異顯著；此外，給纖溶酶原組脂質沉積水準與空白對照組小鼠相似。說明纖溶酶原能消減脂肪在高脂血症模型小鼠腎臟中的沉積，從而減少脂肪沉積所致的腎臟損傷。

【0162】 圖14 3%膽固醇飼料誘導高脂血症模型小鼠給予纖溶酶原20天後血清低密度脂蛋白膽固醇檢測結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠血清低密度脂蛋白膽固醇濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著 (*表示 $P<0.05$)。說明纖溶酶原能降低高脂血症模型小鼠血清中低密度脂蛋

白膽固醇的含量，具有改善高血脂的功能。

【0163】 圖15 3%膽固醇飼料誘導高脂血症模型小鼠給予纖溶酶原20天後血清動脈粥樣硬化指數檢測結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠動脈粥樣硬化指數明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異極顯著 (**表示 $P<0.01$)。說明纖溶酶原能有效降低高脂血症模型小鼠發生動脈粥樣硬化的風險。

【0164】 圖16 ApoE動脈粥樣硬化模型小鼠給予纖溶酶原30天後血清總膽固醇檢測結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠總膽固醇濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著 (*表示 $P<0.05$)。說明纖溶酶原能降低ApoE動脈粥樣硬化模型小鼠血清中總膽固醇的含量，改善動脈粥樣硬化模型小鼠血脂紊亂。

【0165】 圖17 ApoE動脈粥樣硬化模型小鼠給予纖溶酶原30天後血清甘油三酯檢測結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠甘油三酯濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著 (*表示 $P<0.05$)。說明纖溶酶原能夠降低ApoE動脈粥樣硬化模型小鼠血清中甘油三酯的含量，改善動脈粥樣硬化模型小鼠血脂紊亂。

【0166】 圖18 ApoE動脈粥樣硬化模型小鼠給予纖溶酶原30天後血清低密度脂蛋白膽固醇檢測結果。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠血清低密度脂蛋白膽固醇濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著 (*表示 $P<0.05$)。說明纖溶酶原能降低ApoE動脈粥樣硬化模型小鼠血清中低密度脂蛋白膽固醇的含量，改善動脈粥樣硬化模型小鼠血脂紊亂。

【0167】 圖19 純粹纖溶酶原後肥胖模型小鼠下丘腦瘦素受體免疫組

纖化學染色結果。A、D為空白對照組，B、E為給溶媒PBS對照組，C、F為給纖溶酶原組，G為定量分析結果。結果顯示，給溶媒PBS對照組小鼠下丘腦瘦素受體的表達明顯多於空白對照組；而給纖溶酶原組小鼠下丘腦瘦素受體的表達明顯少於給溶媒PBS對照組，接近空白對照組水準，且統計差異顯著 ($P=0.01$)。說明給纖溶酶原能夠顯著降低肥胖小鼠下丘腦瘦素受體的表達。

【實施方式】

【0168】 實施例

【0169】 實施例 1 纖溶酶原對高熱量飼料誘導的肥胖小鼠模型的影響

【0170】 小鼠模型和分組

【0171】 取8周齡的C57雄性小鼠14隻，根據體重隨機分為兩組，空白對照組4隻和模型組10隻。空白對照組小鼠飼餵正常的維持飼料；模型組小鼠飼餵脂肪熱量45%高脂飼料造模（TP23000，南通特洛菲飼料科技有限公司）12周，建立肥胖模型^[30]。此文中脂肪熱量45%高脂飼料簡稱為高熱量飼料。12周後，模型組小鼠稱重，根據體重再次隨機分為兩組，給纖溶酶原組和給溶媒PBS對照組，每組各5隻。人源纖溶酶原溶於PBS中。給纖溶酶原組尾靜脈注射人源纖溶酶原 1mg/0.1mL/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS，空白對照組不進行任何處理。上述實驗動物連續給藥28天（開始給藥定為第1天），第29天進行如下處理和檢測。

【0172】 檢測和結果

【0173】 體重檢測

【0174】 上述實驗動物在第1和29天稱量體重，計算體重的改變。結果展示為第29天體重減去第1天體重的數值。

【0175】 結果顯示，空白對照組體重改變並不明顯，給溶媒PBS對照組體重減輕明顯少於給纖溶酶原組，且統計差異顯著 (*為P<0.05) (圖1)。說明纖溶酶原能夠顯著降低肥胖模型小鼠體重。

【0176】 體重指數測定

【0177】 在第29天對上述小鼠稱量體重後，測量小鼠體長，計算體重指數。體重指數=體重 (kg) /體長² (m)。

【0178】 體重指數是目前國際上常用的衡量人體胖瘦程度以及是否健康的一個標準。體重指數同樣可作為肥胖模型動物胖瘦程度的指標^[43,44]。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠體重指數明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著 (*為P<0.05)，且與給溶媒PBS對照組相比給纖溶酶原組小鼠的體重指數更加接近空白對照組 (圖2)。說明纖溶酶原能夠顯著降低肥胖模型小鼠的體重指數，減輕肥胖。

【0179】 Lee's指數測定

【0180】 上述小鼠在第29天稱量體重後，測量小鼠體長，計算Lee's指數。Lee's指數= $\sqrt[3]{\text{體重(g)}/\text{體長(cm)}}$ 。

【0181】 Lee's指數是反應肥胖程度的有效指數^[31-32]。結果顯示，給纖溶酶原組小鼠Lee's指數明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著 (*為P<0.05)，且與給溶媒PBS對照組相比給纖溶酶原組小鼠的Lee's指數更加

接近空白對照組（圖3）。說明纖溶酶原能夠顯著降低肥胖模型小鼠的Lee's指數，減輕肥胖。

【0182】 血脂水準檢測

【0183】 上述模型小鼠第29天摘眼球取血，離心取上清，採用血清總膽固醇、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所，貨號A111-1,A113-1,A112-1），按照相應試劑盒所述方法，檢測血清總膽固醇、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白濃度。

【0184】 結果顯示，給纖溶酶原組、給溶媒PBS對照組和空白對照組的總膽固醇（圖4A）、低密度脂蛋白（圖4B）和高密度脂蛋白（圖4C）濃度均無顯著差異。說明本實驗中高能量飼料誘導的肥胖模型小鼠血脂並無顯著改變。

【0185】 血清瘦素水準檢測

【0186】 採用血清瘦素檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所，貨號H174），並按照試劑盒所述方法檢測上述血清中的瘦素水準。

【0187】 結果顯示，給纖溶酶原組、給溶媒PBS對照組和空白對照組三組瘦素濃度均無顯著差異(圖5)。說明本實驗中高能量飼料誘導的肥胖模型小鼠瘦素並無顯著改變。

【0188】 瘦素(Leptin，LP)是一種由脂肪組織分泌的激素。人們之前普遍認為它進入血液迴圈後會參與糖、脂肪及能量代謝的調節，促使機體減少攝食，增加能量釋放，抑制脂肪細胞的合成，進而使體重減輕。但有些肥胖個體中存在瘦素抵抗現象，血中瘦素水準升高^[34]。相關研究顯示db/db小鼠存在瘦素抵抗，血清瘦素水準顯著升高^[35-36]。

【0189】 血清胰島素水準檢測

【0190】 採用血清胰島素檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所,貨號H174），並按照試劑盒所述方法檢測上述血清中的胰島素水準。

【0191】 結果顯示，給纖溶酶原組、給溶媒PBS對照組和空白對照組三組胰島素濃度均無顯著差異（圖6）。說明本實驗中高熱量飼料誘導的肥胖模型小鼠胰島素並無顯著改變。

【0192】 腹腔脂肪量檢測

【0193】 上述小鼠在第29天稱量體重後，犧牲取材腹腔脂肪稱重。腹腔脂肪係數(%)=（腹腔脂肪重量/體重）*100。

【0194】 結果顯示，給纖溶酶原組小鼠腹腔脂肪係數明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著（*為 $P<0.05$ ），並且接近空白對照組小鼠脂肪係數（圖7）。說明纖溶酶原能夠顯著降低肥胖模型小鼠腹腔脂肪的沉積。

【0195】 腹腔皮下脂肪空泡的面積檢測

【0196】 在第29天犧牲上述小鼠，取材其腹腔脂肪於4%多聚甲醛固定24-48小時。固定後的組織樣本經酒精梯度脫水和二甲苯透明後進行石蠟包埋。組織切片厚度為 $4\mu\text{m}$ ，切片脫蠟複水並用蘇木素和伊紅染色(HE染色)，1%鹽酸酒精分化後氨水返藍並酒精梯度脫水封片，切片在200倍光學顯微鏡下觀察。運用Image-pro plus影像處理軟體，分析脂肪空泡的面積。

【0197】 肥胖機體能量攝入超過能量消耗時，大量的脂質蓄積在脂肪細胞中，導致脂肪脂肪組織擴張即脂肪細胞增大，脂肪空泡面積增大^[33]。

【0198】 結果顯示，給纖溶酶原組（圖8C）脂肪空泡的面積明顯小於給溶媒PBS對照組(圖8B)，統計差異極為顯著（**表示 $P<0.01$ ）(圖8D)，

且與給溶媒PBS對照組相比給纖溶酶原組脂肪空泡面積更加接近空白對照小鼠(圖8A)。說明纖溶酶原能夠顯著減少肥胖模型小鼠脂肪細胞的大小，減少腹腔脂肪沉積。

【0199】 實施例2 細溶酶原降低糖尿病早期小鼠血清瘦素的濃度

【0200】 14-15周齡db/db雄性小鼠12隻和db/m小鼠3隻，稱重後db/db小鼠根據體重隨機分為兩組，給纖溶酶原組和給溶媒PBS對照組，每組各6隻。開始給藥定為第1天，第1天開始給纖溶酶原或PBS，給纖溶酶原組尾靜脈注射人源纖溶酶原 2mg/0.2ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS，連續給藥28天。db/m小鼠作為正常對照小鼠，不做給藥處理。在第28天小鼠禁食16小時，第29天摘眼球取血，離心取上清，用以檢測血清瘦素的濃度。採用血清瘦素檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所,貨號H174），並按照試劑盒所述方法檢測上述血清中的瘦素水準。

【0201】 結果顯示，給纖溶酶原組小鼠血清瘦素濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著 (**為 $P<0.01$)，且與給溶媒PBS對照組相比給纖溶酶原組血清瘦素水準更加接近正常小鼠（圖9）。說明纖溶酶原能夠顯著降低2型糖尿病早期小鼠血清瘦素水準。

【0202】 實施例3 細溶酶原降低糖尿病晚期小鼠血清瘦素的濃度

【0203】 23-25周齡db/db雄性小鼠13隻，稱重後小鼠根據體重隨機分為兩組，給纖溶酶原組7隻和給溶媒PBS對照組6隻。第1天開始給纖溶酶原或PBS，給纖溶酶原組尾靜脈注射人源纖溶酶原 2mg/0.2ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS，連續給藥28天。在第28天小鼠禁食16小時，第29天摘眼球取血，離心取上清，用以檢測血清瘦素的濃度。採用

血清瘦素檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所,貨號H174），並按照試劑盒所述方法檢測上述血清中的瘦素水準。

【0204】 結果顯示，給纖溶酶原組小鼠血清瘦素濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，統計差異極為顯著（**為 $P<0.01$ ）（圖10）。說明纖溶酶原能夠降低2型糖尿病晚期小鼠血清瘦素水準。

【0205】 實施例4 纖溶酶原消減脂肪在16周高脂血症模型小鼠肝臟中的沉積

【0206】 6周齡雄性C57小鼠11隻飼餵高脂高膽固醇飼料（南通特洛菲，貨號TP2031）16周以誘導高脂血症模型^[37-38]，此模型定為16周高脂血症模型。成模後的小鼠繼續飼餵高膽固醇飼料。在給藥前三天每隻取血50 μ l以檢測總膽固醇（T-CHO）含量，並根據T-CHO含量隨機分為兩組，給溶媒PBS對照組6隻，給纖溶酶原組5隻。開始給藥記為第1天，給纖溶酶原組尾靜脈注射人源纖溶酶原 1mg/0.1ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS。給藥30天，並於第31天犧牲小鼠，取肝臟於4%多聚甲醛固定24-48小時，分別於15%、30%蔗糖中4°C過夜沉底，OCT包埋，冰凍切片厚度8 μ m，油紅O染色15min，75%酒精分化5秒，蘇木素染核30秒，甘油明膠封片。切片在400倍光學顯微鏡下觀察。

【0207】 油紅O染色可顯示脂質沉積，反映脂質沉積的程度^[39]。結果顯示，給纖溶酶原組（圖11B）小鼠肝臟脂肪沉積明顯少於給溶媒PBS對照組（圖11A），且定量分析統計差異顯著（圖11C）。說明纖溶酶原能消減脂肪在高脂血症模型小鼠肝臟中的沉積。

【0208】 實施例5 纖溶酶原減少脂質16周高脂血症模型小鼠主動脈竇中的沉積

【0209】 6周齡雄性C57小鼠11隻飼餵高脂高膽固醇飼料（南通特洛菲，貨號TP2031）16周以誘導高脂血症模型^[37-38]，此模型定為16周高脂血症模型。成模後的小鼠繼續飼餵高膽固醇飼料。在給藥前三天每隻取血50μl以檢測總膽固醇（T-CHO）含量，並根據T-CHO含量隨機分為兩組，給溶媒PBS對照組6隻，給纖溶酶原組5隻。開始給藥記為第1天，給纖溶酶原組尾靜脈注射人源纖溶酶原 1mg/0.1ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS。給藥30天，並於第31天犧牲小鼠，取心臟組織於4%多聚甲醛固定24-48小時，分別於15%、30%蔗糖中4°C過夜沉底，OCT包埋，主動脈竇冰凍切片厚度8 μm，油紅O染色15min，75%酒精分化5秒，蘇木素染核30秒，甘油明膠封片。切片在40倍（圖11A、11B）、200倍（圖11C、11D）倍光學顯微鏡下觀察。

【0210】 結果顯示，給纖溶酶原組（圖12B、12D）小鼠主動脈竇脂肪沉積明顯少於給溶媒PBS對照組（圖12A、12C），且統計差異顯著（圖12E）。說明纖溶酶原能減少脂質在高脂血症模型小鼠主動脈竇中的沉積。

【0211】 實施例6纖溶酶原降低3%膽固醇飼料誘導的高脂血症模型小鼠腎臟脂肪沉積

【0212】 9周齡雄性C57小鼠16隻飼餵3%膽固醇高脂飼料(南通特洛菲)4周，誘導高脂血症^[37-38]，此模型定為3%膽固醇高脂血症模型，成模後的小鼠繼續飼餵3%膽固醇高脂飼料。另取相同周齡的雄性C57小鼠5隻作為空白對照組，實驗期間飼餵普通維持飼料。在給藥前三天每隻小鼠取血

50 μ L，檢測總膽固醇，模型小鼠根據總膽固醇濃度和體重隨機分為兩組，給纖溶酶原組和給溶媒PBS對照組，每組各8隻。開始給藥記為第1天，給纖溶酶原組小鼠尾靜脈注射人源纖溶酶原 1mg/0.1ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS，給藥30天。第31天犧牲小鼠，取腎臟於4%多聚甲醛固定24-48小時，分別於15%、30%蔗糖中4°C過夜沉底，OCT包埋，冰凍切片厚度8 μ m，油紅O染色15min，75%酒精分化5秒，蘇木素染核30秒，甘油明膠封片。切片在400倍光學顯微鏡下觀察。

【0213】 結果顯示，給纖溶酶原組（圖13 C）小鼠腎臟脂肪沉積（箭頭標識）明顯少於給溶媒PBS對照組（圖13 B），且定量分析統計差異顯著（圖13 D）；此外，給纖溶酶原組脂質沉積水準與空白對照組小鼠（圖13 A）相似。說明纖溶酶原能消減脂肪在3%膽固醇高脂血症模型小鼠腎臟中的沉積，從而減少脂肪沉積所致腎的髒損傷。

【0214】 實施例7 纖溶酶原降低3%膽固醇飼料誘導的高脂血症模型小鼠血清低密度脂蛋白膽固醇水準

【0215】 9周齡雄性C57小鼠16隻飼餵3%膽固醇高脂飼料(南通特洛菲)4周，誘導高脂血症^[37-38]，此模型定為3%膽固醇高脂血症模型。成模後的小鼠繼續飼餵3%膽固醇高脂飼料。在給藥前三天每隻小鼠取血50 μ l，檢測總膽固醇，並根據總膽固醇濃度和體重隨機分為兩組，每組各8隻。開始給藥記為第1天，給纖溶酶原組小鼠尾靜脈注射人源纖溶酶原 1mg/0.1ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS，給藥20天。在第20天小鼠禁食16小時，第21天紮眼眶靜脈叢取血50 μ L，離心獲得上清，採用低密度脂蛋白膽固醇檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所，貨號A113-1）進

行低密度脂蛋白膽固醇 (LDL-C) 檢測。

【0216】 結果顯示，給纖溶酶原組小鼠 (LDL-C) 濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著 (圖14)。說明纖溶酶原能降低高脂血症模型小鼠血清中低密度脂蛋白膽固醇的含量。

【0217】 實施例8 細溶酶原降低3%膽固醇飼料誘導的高脂血症模型小鼠動脈粥樣硬化形成的風險

【0218】 9周齡雄性C57小鼠16隻飼餵3%膽固醇高脂飼料(南通特洛菲)4周，誘導高脂血症^[37-38]，此模型定為3%膽固醇高脂血症模型。成模後的小鼠繼續飼餵3%膽固醇高脂飼料。在給藥前三天每隻小鼠取血50μl，檢測總膽固醇 (T-CHO)，並根據總膽固醇濃度和體重隨機分為兩組，每組各8隻。開始給藥記為第1天，給纖溶酶原組小鼠尾靜脈注射人源纖溶酶原1mg/0.1ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS。在第20天給藥後小鼠開始禁食，禁食16小時，第21天紮眼眶靜脈叢取血50μL，離心獲得上清，總膽固醇含量採用總膽固醇檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所，貨號A111-1）進行檢測；高密度脂蛋白膽固醇 (HDL-C) 含量採用高密度脂蛋白膽固醇檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所，貨號A112-1）進行檢測。

【0219】 動脈粥樣硬化指數，是臨牀上預測動脈粥樣硬化的綜合指標，認為它在用作對冠心病風險程度的估計方面臨床意義比單項的總膽固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白和低密度脂蛋白更大^[40]。動脈粥樣硬化指數= $(T\text{-}CHO\text{-}HDL\text{-}C) / HDL\text{-}C$ 。

【0220】 計算結果顯示，給纖溶酶原組小鼠動脈粥樣硬化指數明顯低

於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著（圖15）。說明纖溶酶原能降低高脂血症模型小鼠發生動脈粥樣硬化的風險。

【0221】 實施例9纖溶酶原降低ApoE動脈粥樣硬化小鼠血清總膽固醇的含量

【0222】 6周齡雄性ApoE小鼠13隻飼餵高脂高膽固醇飼料（南通特洛菲，TP2031）16周以誘導動脈粥樣硬化模型^[41-42]。成模後的小鼠繼續飼餵高脂高膽固醇飼料。在給藥前三天每隻取血50μl以檢測總膽固醇（T-CHO）含量，並根據T-CHO含量隨機分為兩組，給溶媒PBS對照組7隻，給纖溶酶原組6隻。開始給藥定為第1天，給纖溶酶原組小鼠尾靜脈注射人源纖溶酶原 1mg/0.1ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS，給藥30天。在第30天小鼠禁食16小時，第31天摘除眼球取血，離心獲得上清採用總膽固醇檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所，貨號A111-1）進行總膽固醇檢測。

【0223】 檢測結果顯示，給纖溶酶原組小鼠總膽固醇濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著（P=0.014）（圖16）。說明纖溶酶原能降低ApoE動脈粥樣硬化模型小鼠血清中總膽固醇的含量，改善動脈粥樣硬化血脂紊亂。

【0224】 實施例10纖溶酶原降低ApoE動脈粥樣硬化小鼠血清甘油三酯的含量

【0225】 6周齡雄性ApoE小鼠13隻飼餵高脂高膽固醇飼料（南通特洛菲，TP2031）16周以誘導動脈粥樣硬化模型^[41-42]。成模後的小鼠繼續飼餵高脂高膽固醇飼料。在給藥前三天每隻取血50μl以檢測總膽固醇（T-CHO）

含量，並根據T-CHO含量隨機分為兩組，給溶媒PBS對照組7隻，給纖溶酶原組6隻。開始給藥記為第1天，給纖溶酶原組小鼠尾靜脈注射人源纖溶酶原 1mg/0.1ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS，給藥30天。在第30天小鼠禁食16小時，第31天摘眼球取血，離心獲得上清採用甘油三酯檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所，貨號A110-1）進行甘油三酯檢測。

【0226】 檢測結果顯示，給纖溶酶原組小鼠甘油三酯濃度明顯低於給溶媒PBS對照組，且統計差異顯著（ $P=0.013$ ）（圖17）。說明纖溶酶原能降低ApoE動脈粥樣硬化模型小鼠血清中甘油三酯的含量，改善動脈粥樣硬化血脂紊亂。

【0227】 實施例11纖溶酶原降低ApoE動脈粥樣硬化小鼠血清低密度脂蛋白膽固醇的含量

【0228】 6周齡雄性ApoE小鼠13隻飼餵高脂高膽固醇飼料（南通特洛菲，TP2031）16周以誘導動脈粥樣硬化模型^[41-42]。成模後的小鼠繼續飼餵高脂高膽固醇飼料。在給藥前三天每隻取血50μl以檢測總膽固醇（T-CHO）含量，並根據T-CHO含量隨機分為兩組，給溶媒PBS對照組7隻，給纖溶酶原組6隻。開始給藥記為第1天，給纖溶酶原組小鼠尾靜脈注射人源纖溶酶原 1mg/0.1ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS，給藥30天。第30天小鼠禁食16小時，第31天摘眼球取血，離心獲得上清採用低密度脂蛋白膽固醇（LDL-C）檢測試劑盒（南京建成生物工程研究所，貨號A113-1）進行LDL-C檢測。

【0229】 結果顯示，給纖溶酶原組小鼠LDL-C濃度明顯低於給溶媒

PBS對照組，且統計差異顯著($P=0.017$)(圖18)。說明纖溶酶原能降低ApoE動脈粥樣硬化模型小鼠血清中低密度脂蛋白膽固醇含量，改善動脈粥樣硬化模型小鼠血脂紊亂。

【0230】 實施例 12 細溶酶原改善肥胖模型小鼠下丘腦瘦素受體的表達

【0231】 取8周齡的C57雄性小鼠14隻，根據體重隨機分為兩組，空白對照組4隻和模型組10隻。空白對照組小鼠飼餵正常的維持飼料；模型組小鼠飼餵脂肪熱量45%高脂飼料(TP23000，南通特洛菲飼料科技有限公司)造模12周，建立肥胖模型^[1]。12周後，模型組小鼠稱重，根據體重再次隨機分為兩組，給細溶酶原組和給溶媒PBS對照組，每組各5隻。給細溶酶原組尾靜脈注射人源細溶酶原 1mg/0.1ml/隻/天，給溶媒PBS對照組尾靜脈注射同體積的PBS，空白對照組不注射任何液體，連續給藥28天，給藥期間小鼠繼續飼餵造模飼料。第29天犧牲小鼠取材下丘腦於4%多聚甲醛固定24-48小時。固定後的組織經酒精梯度脫水和二甲苯透明後進行石蠟包埋。組織切片厚度為4μm，切片脫蠟複水後水洗1次。檸檬酸修復30分鐘，室溫冷卻10分鐘後水輕柔沖洗。以3%雙氧水孵育15分鐘，用PAP筆圈出組織。10%的羊血清(Vector laboratories, Inc., USA)封閉1小時；時間到後，棄除羊血清液。抗瘦素受體抗體(Abcam)4°C孵育過夜，PBS洗2次，每次5分鐘。山羊抗兔 IgG(HRP)抗體(Abcam)二抗室溫孵育1小時，PBS洗2次，每次5分鐘。按DAB試劑盒(Vector laboratories, Inc., USA)顯色，水洗3次後蘇木素複染30秒，流水返藍5分鐘，然後PBS洗1次。梯度脫水透明並封片，切片在40倍(圖A-C)、200倍(圖E-F)光學顯微鏡下觀察。

【0232】 瘦素受體的主要生理功能是與瘦素結合，是瘦素發揮調節體內的能量平衡、脂肪貯存、生殖活動等生理作用，並參與瘦素的自分泌調節。不同類型的瘦素受體在中樞及外周組織選擇性地表達^[45-47]。

【0233】 結果顯示，給溶媒PBS對照組（圖19B、E）小鼠下丘腦瘦素受體的表達明顯多於空白對照組(圖19A、D)；而給纖溶酶原組(圖19C、F)小鼠下丘腦瘦素受體的表達明顯少於給溶媒PBS對照組，接近空白對照組水準，且統計差異顯著 ((P=0.01)) (圖19G)。說明給纖溶酶原能夠顯著降低肥胖小鼠下丘腦瘦素受體的表達。

【0234】 參考文獻

- [1] [http://www.ama-assn.org/ama/pub/news/news/2013/2013-06-18-new-ama-policies-annual-meeting\[EB/OL\]](http://www.ama-assn.org/ama/pub/news/news/2013/2013-06-18-new-ama-policies-annual-meeting[EB/OL])(2013—06—18) · page ·
- [2] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> [EB/OL] (2015—01—26) ·
- [3] HOU X, LU J, WENG J, et al. Impact of waist circumference and body mass index on risk of cardiometabolic disorder and cardiovascular disease in Chinese adults: a national diabetes and metabolic disorders survey [J]. PLoS One, 2013, 8(3):e57319 ·
- [4] LI S, XIAO J, JI L, et al. BMI and waist circumference are associated with impaired glucose metabolism and type 2 diabetes in normal weight Chinese adults [J] · J Diabet Complicat, 2014, 28(4):470 — 476 ·
- [5] Christensen R, Kristensen PK, et al. Efficacy and safety of the weightloss drug rimonabant:a meta-analysis of randomised trials [J]. Lancet, 2007, 370(9600):1706-1713.
- [6] James WP, Caterson ID, et al. Effect of sibutramine on cardiovascular outcomes in overweight and obese subjects [J]. N Engl J Med, 2010, 363(10):905-917.

- [7] Kopelman P, Groot Gde H, et al. Weight Loss, HbA1c Reduction, and Tolerability of Cetilistat in a Randomized, Placebo-controlled Phase 2 Trial in Obese Diabetics: Comparison With Orlistat (Xenical) [J]. *Obesity*, 2010, 18(1):108-115.
- [8] APOVIAN CM, ARONNE LJ, BESSESEN DH, et al. Pharmacological management of obesity: an endocrine Society clinical practice guideline [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(2):342 — 362.
- [9] Alexander CM and Werb, Z. (1991). Extracellular matrix degradation. In *Cell Biology of Extracellular Matrix*, Hay ED, ed. (New York: Plenum Press), pp. 255-302.
- [10] Werb, Z., Mainardi, C.L., Vater, C.A., and Harris, E.D., Jr. (1977). Endogenous activation of latent collagenase by rheumatoid synovial cells. Evidence for a role of plasminogen activator. *N. Engl. J. Med.* 296, 1017-1023.
- [11] He, C.S., Wilhelm, S.M., Pentland, A.P., Marmer, B.L., Grant, G.A., Eisen, A.Z., and Goldberg, G.I. (1989). Tissue cooperation in a proteolytic cascade activating human interstitial collagenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 86, 2632-2636.
- [12] Stoppelli, M.P., Corti, A., Soffientini, A., Cassani, G., Blasi, F., and Assoian, R.K. (1985). Differentiation-enhanced binding of the amino-terminal fragment of human urokinase plasminogen activator to a specific receptor on U937 monocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 82, 4939-4943.
- [13] Vassalli, J.D., Baccino, D., and Belin, D. (1985). A cellular binding site for the Mr 55,000 form of the human plasminogen activator, urokinase. *J. Cell Biol.* 100, 86-92.
- [14] Wiman, B. and Wallen, P. (1975). Structural relationship between "glutamic acid" and "lysine" forms of human plasminogen and their interaction with the NH₂-terminal activation peptide as studied by affinity chromatography. *Eur. J. Biochem.* 50, 489-494.
- [15] Saksela, O. and Rifkin, D.B. (1988). Cell-associated plasminogen activation: regulation and physiological functions. *Annu. Rev. Cell Biol.* 4, 93-126.

- [16] Raum, D., Marcus, D., Alper, C.A., Levey, R., Taylor, P.D., and Starzl, T.E. (1980). Synthesis of human plasminogen by the liver. *Science* 208, 1036-1037.
- [17] Wallén P (1980). Biochemistry of plasminogen. In *Fibrinolysis*, Kline DL and Reddy KKN, eds. (Florida: CRC)
- [18] Sottrup-Jensen, L., Zajdel, M., Claeys, H., Petersen, T.E., and Magnusson, S. (1975). Amino-acid sequence of activation cleavage site in plasminogen: homology with "pro" part of prothrombin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 72, 2577-2581.
- [19] Collen, D. and Lijnen, H.R. (1991). Basic and clinical aspects of fibrinolysis and thrombolysis. *Blood* 78, 3114-3124.
- [20] Alexander, C.M. and Werb, Z. (1989). Proteinases and extracellular matrix remodeling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1, 974-982.
- [21] Mignatti, P. and Rifkin, D.B. (1993). Biology and biochemistry of proteinases in tumor invasion. *Physiol Rev.* 73, 161-195.
- [22] Collen, D. (2001). Ham-Wasserman lecture: role of the plasminogen system in fibrin-homeostasis and tissue remodeling. *Hematology. (Am. Soc. Hematol. Educ. Program.)* 1-9.
- [23] Rifkin, D.B., Moscatelli, D., Bzik, J., Quarto, N., Blei, F., Dennis, P., Flaumenhaft, R., and Mignatti, P. (1990). Growth factor control of extracellular proteolysis. *Cell Differ. Dev.* 32, 313-318.
- [24] Andreasen, P.A., Kjoller, L., Christensen, L., and Duffy, M.J. (1997). The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. *Int. J. Cancer* 72, 1-22.
- [25] Rifkin, D.B., Mazzieri, R., Munger, J.S., Noguera, I., and Sung, J. (1999). Proteolytic control of growth factor availability. *APMIS* 107, 80-85.
- [26] Marder V J, Novokhatny V. Direct fibrinolytic agents: biochemical attributes, preclinical foundation and clinical potential [J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2010, 8(3): 433-444.
- [27] Hunt J A, Petteway Jr S R, Scuderi P, et al. Simplified recombinant plasmin: production and functional comparison of a novel thrombolytic molecule with plasma-derived plasmin [J]. *Thromb Haemost*, 2008, 100(3): 413-419.

- [28] Sottrup-Jensen L, Claeys H, Zajdel M, et al. The primary structure of human plasminogen: Isolation of two lysine-binding fragments and one “mini”-plasminogen (MW, 38, 000) by elastase-catalyzed-specific limited proteolysis [J]. *Progress in chemical fibrinolysis and thrombolysis*, 1978, 3: 191-209.
- [29] Nagai N, Demarsin E, Van Hoef B, et al. Recombinant human microplasmin: production and potential therapeutic properties [J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2003, 1(2): 307-313.
- [30] Eun Young Lee ,Yeon Wook Kim,Anti-obesity effects of KR-66195, a synthetic DPP-IVinhibitor, in diet-induced obese mice and obese-diabetic ob/ob mice, *Metabolism chlincial and experimental* 63(2014)793-799
- [31] Yang Z, Li W, He C. Potential effect of chronic *Helicobacter pylori* infection on glucose metabolism of Mongolian gerbils. *World J Gastroenterol*. 2015 Nov 28;21(44):12593-604.
- [32] Hu Y, Rosa GJ, Gianola D. A GWAS assessment of the contribution of genomic imprinting to the variation of body mass index in mice. *BMC Genomics*. 2015 Aug 5;16:576.
- [33] Goossens GH. The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiol Behav*. 2008 May 23;94(2):206-18.
- [34] Sahu A. Leptin signaling in the hypothalamus: emphasis on energy homeostasis and leptin resistance. *Front Neuroendocrinol*. 2003 Dec;24(4):225-53.
- [35] Harris RB, Mitchell TD, Yan X et al. Metabolic responses to leptin in obese db/db mice are strain dependent. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001 Jul;281(1):R115-32.
- [36] Ennequin G1, Boisseau N1, Caillaud K et al. Neuregulin 1 affects leptin levels, food intake and weight gain in normal-weight, but not obese, db/db mice. *Diabetes Metab*. 2015 Apr;41(2):168-72.
- [37] Dominika Nackiewicz, Paromita Dey, Barbara Szczerba et al. Inhibitor of differentiation 3, a transcription factor regulates hyperlipidemia associated kidney disease. *Nephron Exp Nephrol*. 2014 ; 126(3): 141–147.

- [38] Ming Gu1, Yu Zhang., Shengjie Fan et al. Extracts of Rhizoma Polygonati Odorati Prevent High-Fat Diet-Induced Metabolic Disorders in C57BL/6 Mice. PLoS ONE 8(11): e81724.
- [39] Siobhan M. Craige, PhD, Shashi Kant et al. Endothelial NADPH oxidase 4 protects ApoE^{-/-} mice from atherosclerotic lesions. Free Radic Biol Med. 2015 December ; 89: 1–7.
- [40] Sungwon Lee, Youngjoo Lee, Jiyeon Kim et al. Atorvastatin and rosuvastatin improve physiological parameters and alleviate immune dysfunction in metabolic disorders. Biochem Biophys Res Commun. 2016 Sep 23;478(3):1242-7.
- [41] Yutaka Nakashima, Andrew S. Plump, Elaine W. Raines et al. Arterioscler Thromb. 1994 Jan;14(1):133-40.
- [42] Yvonne Nitschke , Gabriele Weissen-Plenz , Robert Terkeltaub et al. Npp1 promotes atherosclerosis in ApoE knockout mice. J. Cell. Mol. Med. Vol 15, No 11, 2011 pp. 2273-2283.
- [43] Duan DM, Wu S, Hsu LA et al. Associations between TRPV4 genotypes and body mass index in Taiwanese subjects. Mol Genet Genomics. 2015 Aug;290(4):1357-65.
- [44] Goossens GH. The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. Physiol Behav. 2008 May 23;94(2):206-18.
- [45] Shimizu H1, Shimomura K, Negishi M et al. Circulating concentrations of soluble leptin receptor: influence of menstrual cycle and diet therapy. Nutrition. 2002 Apr;18(4):309-12.
- [46] Kastin AJ1, Pan W, Maness LM et al. Decreased transport of leptin across the blood-brain barrier in rats lacking the short form of the leptin receptor. Peptides. 1999 Dec;20(12):1449-53.
- [47] Münzberg H1, Flier JS, Bjørbaek C. Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced obese mice. Endocrinology. 2004 Nov;145(11):4880-9. Epub 2004 Jul 22.

【符號說明】

【0235】

無

序列表

<110> 深圳瑞健生命科學研究院有限公司

<120> 纖溶酶原在製備預防或治療肥胖症及疾病併發的肥胖的藥物中的用途

<130> PDK03572

<160> 14

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 2376

<212> DNA

<213> 不含有信號肽的天然纖溶酶原(Glu-PLG, Glu-纖維蛋白溶酶原)核酸序列

<400> 1

gagcctctgg atgactatgt gaatacccgag ggggcttcac tgttcagtgt cactaagaag 60

cagctggag caggaagtat agaagaatgt gcagcaaaat gtgaggagga cgaagaattc 120

acctgcaggg cattccaata tcacagtaaa gagcaacaat gtgtgataat ggctgaaaac 180

aggaagtccct ccataatcat taggatgaga gatgtagttt tatttggaaa gaaagtgtat 240

ctctcagagt gcaagactgg gaatggaaag aactacagag ggacgatgtc caaaacaaaa 300

aatggcatca cctgtcaaaa atggagttcc acttctcccc acagacctag attctcacct 360

gctacacacc cctcagaggg actggaggag aactactgca ggaatccaga caacgatccg 420

caggggcctt ggtgtatac tactgatcca gaaaagagat atgactactg cgacattctt 480

gagtgtgaag aggaatgtat gcattgcagt ggagaaaaact atgacggcaa aatttccaag 540

accatgtctg gactggaatg ccaggcctgg gactctcaga gcccacacgc tcatggatac 600

attccttcca aatttccaaa caagaacctg aagaagaatt actgtcgtaa ccccgatagg 660

gagctgcggc cttgggtttt caccaccgac cccaaacaagc gctggaaact ttgtgacatc 720

ccccgctgca caacacctcc accatcttct ggtcccacct accagtgtct gaagggaaaca 780

ggtgaaaact atcgccggaa tggctgtt accgtgtccg ggcacacctg teagcactgg	840
agtgcacaga cccctcacac acataacagg acaccagaaa acttcccctg caaaaatttg	900
gatgaaaact actgcccga tcctgacgga aaaagggccc catggtgcca tacaaccaac	960
agccaagtgc ggtgggagta ctgtaagata ccgtcctgtg actcctcccc agtatccacg	1020
gaacaattgg ctccccacagc accacctgag ctaacccctg tggtccagga ctgctaccat	1080
ggtgatggac agagctaccg aggcacatcc tccaccacca ccacagggaaa gaagtgtcag	1140
tcttggtcat ctatgacacc acaccggcac cagaagaccc cagaaaacta cccaaatgt	1200
ggcctgacaa tgaactactg caggaatcca gatgccgata aaggcccctg gtgtttacc	1260
acagacccca gcgtcaggtg ggagtaactgc aacctgaaaa aatgctcagg aacagaagcg	1320
agtgtttag caccccgcc tggctgtt cttccagatg tagagactcc ttccgaagaa	1380
gactgtatgt ttggaaatgg gaaaggatac cgaggcaaga gggcgaccac tgtaactggg	1440
acgccccatgcc aggactgggc tgcccaggag ccccatagac acagcattt cactccagag	1500
acaaatccac ggggggtct ggaaaaaaat tactgccgt accctgtatgg tgatgttagt	1560
ggtccctggc gctacacgac aaatccaaga aaactttacg actactgtga tgtccctcag	1620
tgtgcggccc cttcatttga ttgtggaaag cctcaagtgg agccgaagaa atgtcctgga	1680
agggtttag ggggtgtgt ggcccaccca cattcctggc cctggcaagt cagtctttaga	1740
acaaggtttgc gaatgcactt ctgtggaggc accitgatata ccccagagtg ggtgttagt	1800
gctgcccaact gcttggagaa gtcggcaagg cttcatcct acaaggtcat cctgggtgca	1860
caccaagaag tgaatctcga accgcatgtt cagggaaatag aagtgtctag gctgttcttgc	1920
gagccccacac gaaaagatata tgccttgcta aagctaagca gtcctgcccgt catcaactgac	1980
aaagtaatcc cagttgtct gccatccccaa attatgtgg tcgctgaccg gaccgaatgt	2040
ttcatcaactg gctggggaga aacccaaggt actttggag ctggccttct caaggaagcc	2100

cagctccctg tgattgagaa taaagtgtgc aatcgctatg agtttctgaa tggaagagtc	2160
caatccaccc aactctgtgc tggcatttg gccggaggca ctgacagttg ccagggtgac	2220
agtggaggtc ctctgggtttc cttcgagaag gacaaataca ttttacaagg agtcacttct	2280
tgggtcttg gctgtgcacg ccccaataag cctgggtgtct atgttcgtgt ttcaagggttt	2340
gttacttgga ttgagggagt gatgagaaat aattaa	2376

<210> 2

<211> 791

<212> PRT

<213> 不含有信號肽的天然纖溶酶原 (Glu-PLG, Glu-纖維蛋白溶酶原) 氨基酸序列

<400> 2

Glu	Pro	Leu	Asp	Asp	Tyr	Val	Asn	Thr	Gln	Gly	Ala	Ser	Leu	Phe	Ser
1															

Val	Thr	Lys	Lys	Gln	Leu	Gly	Ala	Gly	Ser	Ile	Glu	Glu	Cys	Ala	Ala

Lys	Cys	Glu	Glu	Asp	Glu	Glu	Phe	Thr	Cys	Arg	Ala	Phe	Gln	Tyr	His

Ser	Lys	Glu	Gln	Gln	Cys	Val	Ile	Met	Ala	Glu	Asn	Arg	Lys	Ser	Ser

Ile	Ile	Ile	Arg	Met	Arg	Asp	Val	Val	Leu	Phe	Glu	Lys	Lys	Val	Tyr

Leu	Ser	Glu	Cys	Lys	Thr	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Arg	Gly	Thr	Met

Ser	Lys	Thr	Lys	Asn	Gly	Ile	Thr	Cys	Gln	Lys	Trp	Ser	Ser	Thr	Ser

Pro His Arg Pro Arg Phe Ser Pro Ala Thr His Pro Ser Glu Gly Leu
115 120 125

Glu Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Asp Pro Gln Gly Pro Trp
130 135 140

Cys Tyr Thr Thr Asp Pro Glu Lys Arg Tyr Asp Tyr Cys Asp Ile Leu
145 150 155 160

Glu Cys Glu Glu Glu Cys Met His Cys Ser Gly Glu Asn Tyr Asp Gly
165 170 175

Lys Ile Ser Lys Thr Met Ser Gly Leu Glu Cys Gln Ala Trp Asp Ser
180 185 190

Gln Ser Pro His Ala His Gly Tyr Ile Pro Ser Lys Phe Pro Asn Lys
195 200 205

Asn Leu Lys Lys Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Arg Glu Leu Arg Pro
210 215 220

Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Asn Lys Arg Trp Glu Leu Cys Asp Ile
225 230 235 240

Pro Arg Cys Thr Thr Pro Pro Pro Ser Ser Gly Pro Thr Tyr Gln Cys
245 250 255

Leu Lys Gly Thr Gly Glu Asn Tyr Arg Gly Asn Val Ala Val Thr Val
260 265 270

Ser Gly His Thr Cys Gln His Trp Ser Ala Gln Thr Pro His Thr His
275 280 285

Asn Arg Thr Pro Glu Asn Phe Pro Cys Lys Asn Leu Asp Glu Asn Tyr
290 295 300

Cys Arg Asn Pro Asp Gly Lys Arg Ala Pro Trp Cys His Thr Thr Asn
305 310 315 320

Ser Gln Val Arg Trp Glu Tyr Cys Lys Ile Pro Ser Cys Asp Ser Ser
325 330 335

Pro Val Ser Thr Glu Gln Leu Ala Pro Thr Ala Pro Pro Glu Leu Thr
340 345 350

Pro Val Val Gln Asp Cys Tyr His Gly Asp Gly Gln Ser Tyr Arg Gly
355 360 365

Thr Ser Ser Thr Thr Thr Gly Lys Lys Cys Gln Ser Trp Ser Ser
370 375 380

Met Thr Pro His Arg His Gln Lys Thr Pro Glu Asn Tyr Pro Asn Ala
385 390 395 400

Gly Leu Thr Met Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Ala Asp Lys Gly Pro
405 410 415

Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Ser Val Arg Trp Glu Tyr Cys Asn Leu
420 425 430

Lys Lys Cys Ser Gly Thr Glu Ala Ser Val Val Ala Pro Pro Pro Val
435 440 445

Val Leu Leu Pro Asp Val Glu Thr Pro Ser Glu Glu Asp Cys Met Phe
450 455 460

Gly Asn Gly Lys Gly Tyr Arg Gly Lys Arg Ala Thr Thr Val Thr Gly
465 470 475 480

Thr Pro Cys Gln Asp Trp Ala Ala Gln Glu Pro His Arg His Ser Ile
485 490 495

Phe Thr Pro Glu Thr Asn Pro Arg Ala Gly Leu Glu Lys Asn Tyr Cys
500 505 510

Arg Asn Pro Asp Gly Asp Val Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Thr Asn
515 520 525

Pro Arg Lys Leu Tyr Asp Tyr Cys Asp Val Pro Gln Cys Ala Ala Pro
530 535 540

Ser Phe Asp Cys Gly Lys Pro Gln Val Glu Pro Lys Lys Cys Pro Gly
545 550 555 560

Arg Val Val Gly Gly Cys Val Ala His Pro His Ser Trp Pro Trp Gln
565 570 575

Val Ser Leu Arg Thr Arg Phe Gly Met His Phe Cys Gly Gly Thr Leu
580 585 590

Ile Ser Pro Glu Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Glu Lys Ser
595 600 605

Pro Arg Pro Ser Ser Tyr Lys Val Ile Leu Gly Ala His Gln Glu Val
610 615 620

Asn Leu Glu Pro His Val Gln Glu Ile Glu Val Ser Arg Leu Phe Leu
625 630 635 640

Glu Pro Thr Arg Lys Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Ser Ser Pro Ala
645 650 655

Val Ile Thr Asp Lys Val Ile Pro Ala Cys Leu Pro Ser Pro Asn Tyr
660 665 670

Val Val Ala Asp Arg Thr Glu Cys Phe Ile Thr Gly Trp Gly Glu Thr
675 680 685

Gln Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu Leu Lys Glu Ala Gln Leu Pro Val
690 695 700

Ile Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg Tyr Glu Phe Leu Asn Gly Arg Val
705 710 715 720

Gln Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly His Leu Ala Gly Gly Thr Asp Ser
725 730 735

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Phe Glu Lys Asp Lys
740 745 750

Tyr Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser Trp Gly Leu Gly Cys Ala Arg Pro
755 760 765

Asn Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg Val Ser Arg Phe Val Thr Trp Ile
770 775 780

Glu Gly Val Met Arg Asn Asn
785 790

<210> 3
<211> 2433

<212> DNA

<213> 含有信號肽的天然纖溶酶原（來源於 swiss prot）的核酸序列

<400> 3

atggaacata aggaagtgg tcttctactt cttttatttc tgaaatcagg tcaaggagag	60
cctctggatg actatgtgaa tacccagggg gcttcactgt tcagtgtcac taagaagcag	120
ctgggagcag gaagtataga agaatgtgca gcaaaatgtg aggaggacga agaattcacc	180
tgcagggcat tccaatatca cagtaaagag caacaatgtg tgataatggc tgaaaacagg	240
aagtccctca taatcattag gatgagagat gtagtttat ttgaaaagaa agtgttatctc	300
tcagagtgca agactggaa tggaaagaac tacagaggga cgatgtccaa aacaaaaat	360
ggcatcacct gtcaaaaatg gagttccact tctccccaca gacctagatt ctcacctgct	420
acacacccct cagagggact ggaggagaac tactgcagga atccagacaa cgatccgcag	480
ggcccttgtt gctatactac tgatccagaa aagagatatg actactgcga catttttag	540
tgtgaagagg aatgtatgca ttgcagtgg aaaaactatg acggaaaaat ttccaagacc	600
atgtctggac tggaatgcca ggcctggac tctcagagcc cacacgctca tggatacatt	660
ccttccaaat ttccaaacaa gaacctgaag aagaattact gtcgtAACcc cgataggag	720
ctgcggccctt ggtttcac caccgacccc aacaaggcgtt gggactttt tgacatcccc	780
cgctgcacaa cacccaccat atttcttgtt cccacccacc agtgtctgaa gggacaggt	840
aaaaactatc gcgaaatgt ggctgttacc gtgtccggc acacctgtca gcactggagt	900
gcacagaccc ctcacacaca taacaggaca ccagaaaaact tcccctgcaa aaatttggat	960
aaaaactact gcccgtatcc tgacggaaaa agggccccat ggtccatac aaccaacagc	1020
caagtgcgtt gggagttactg taagataccg tcctgtgact cctccctgtt atccacggaa	1080
caattggctc ccacagcacc acctgagcta accccctgtgg tccaggactg ctaccatgg	1140
gatggacaga gctaccgagg cacatcctcc accaccacca caggaaagaa gtgtcagtct	1200

tggtcatcta tgacaccaca ccggcaccag aagaccccag aaaactaccc aaatgctgge	1260
ctgacaatga actactgcag gaatccagat gccgataaag gcccctggc ttttaccaca	1320
gaccccagcg tcaggtggga gtactgcaac ctgaaaaat gctcaggaac agaagcggat	1380
gtttagcac ctccgcctgt tgcctgctt ccagatgttag agactccttc cgaagaagac	1440
tgtatgtttg ggaatggaa aggataccga ggcaagaggg cgaccactgt tactggacg	1500
ccatgccagg actgggctgc ccaggagccc catagacaca gcatttcac tccagagaca	1560
aatccacggg cgggtctgga aaaaaattac tgccgtaacc ctgatggta ttaggtgg	1620
ccctggcgtt acacgacaaa tccaagaaaa ctttacgact actgtgtatgt ccctcagtgt	1680
gcggccctt catttggattt tggaagcct caagtggagc cgaagaaatg tcctggaaagg	1740
gtttagggg ggtgtgtggc ccacccacat tcctggccct ggcaagtcag tcttagaaca	1800
aggtttggaa tgcacttctg tggaggcacc ttgatatccc cagagtgggt gttgactgt	1860
gccccactgct tggagaagtc cccaaaggcct tcattcatac aggtcatcct ggggtgcacac	1920
caagaagtga atctcgaacc gcatgttcag gaaatagaag tgtctaggct gttcttggag	1980
cccacacgaa aagatattgc cttgtctaaag ctaagcgttc ctgtccat cactgacaaa	2040
gtaatccag cttgtctgcc atccccaaat tatgtggcgt ctgaccggac cgaatgttc	2100
atcactggct ggggagaaac ccaaggtaact ttggagctg gccttctcaa ggaagcccag	2160
ctccctgtga ttgagaataa agtgtcaat cgctatgagt ttctgaatgg aagagtccaa	2220
tccaccgaac tctgtgtgg gcatttggcc ggaggcactg acagttgccaa gggtgacagt	2280
ggaggtcctc tgggttgctt cgagaaggac aaatacattt tacaaggagt cacttctgg	2340
ggtcttgct gtgcacgccc caataaggcct ggtgtctatg ttctgtttc aaggtttgg	2400
acttggattt agggagtgtat gagaataat taa	2433

<211> 810

<212> PRT

<213> 含有信號肽的天然纖溶酶原（來源於 swiss prot）的胺基酸序列

<400> 4

Met	Glu	His	Lys	Glu	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Leu	Lys	Ser
1														
					5						10			15

Gly	Gln	Gly	Glu	Pro	Leu	Asp	Asp	Tyr	Val	Asn	Thr	Gln	Gly	Ala	Ser
					20				25						30

Leu	Phe	Ser	Val	Thr	Lys	Lys	Gln	Leu	Gly	Ala	Gly	Ser	Ile	Glu	Glu
					35			40							45

Cys	Ala	Ala	Lys	Cys	Glu	Glu	Asp	Glu	Glu	Phe	Thr	Cys	Arg	Ala	Phe
					50			55							60

Gln	Tyr	His	Ser	Lys	Glu	Gln	Gln	Cys	Val	Ile	Met	Ala	Glu	Asn	Arg
					65			70							80

Lys	Ser	Ser	Ile	Ile	Arg	Met	Arg	Asp	Val	Val	Leu	Phe	Glu	Lys
					85			90						95

Lys	Val	Tyr	Leu	Ser	Glu	Cys	Lys	Thr	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Arg
					100			105							110

Gly	Thr	Met	Ser	Lys	Thr	Lys	Asn	Gly	Ile	Thr	Cys	Gln	Lys	Trp	Ser
					115			120							125

Ser	Thr	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Arg	Phe	Ser	Pro	Ala	Thr	His	Pro	Ser
					130			135							140

Glu	Gly	Leu	Glu	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asn	Asp	Pro	Gln
					145			150							160

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Thr Asp Pro Glu Lys Arg Tyr Asp Tyr Cys
165 170 175

Asp Ile Leu Glu Cys Glu Glu Cys Met His Cys Ser Gly Glu Asn
180 185 190

Tyr Asp Gly Lys Ile Ser Lys Thr Met Ser Gly Leu Glu Cys Gln Ala
195 200 205

Trp Asp Ser Gln Ser Pro His Ala His Gly Tyr Ile Pro Ser Lys Phe
210 215 220

Pro Asn Lys Asn Leu Lys Lys Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Arg Glu
225 230 235 240

Leu Arg Pro Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Asn Lys Arg Trp Glu Leu
245 250 255

Cys Asp Ile Pro Arg Cys Thr Thr Pro Pro Pro Ser Ser Gly Pro Thr
260 265 270

Tyr Gln Cys Leu Lys Gly Thr Gly Glu Asn Tyr Arg Gly Asn Val Ala
275 280 285

Val Thr Val Ser Gly His Thr Cys Gln His Trp Ser Ala Gln Thr Pro
290 295 300

His Thr His Asn Arg Thr Pro Glu Asn Phe Pro Cys Lys Asn Leu Asp
305 310 315 320

Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Lys Arg Ala Pro Trp Cys His
325 330 335

Thr Thr Asn Ser Gln Val Arg Trp Glu Tyr Cys Lys Ile Pro Ser Cys
340 345 350

Asp Ser Ser Pro Val Ser Thr Glu Gln Leu Ala Pro Thr Ala Pro Pro
355 360 365

Glu Leu Thr Pro Val Val Gln Asp Cys Tyr His Gly Asp Gly Gln Ser
370 375 380

Tyr Arg Gly Thr Ser Ser Thr Thr Thr Gly Lys Lys Cys Gln Ser
385 390 395 400

Trp Ser Ser Met Thr Pro His Arg His Gln Lys Thr Pro Glu Asn Tyr
405 410 415

Pro Asn Ala Gly Leu Thr Met Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Ala Asp
420 425 430

Lys Gly Pro Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Ser Val Arg Trp Glu Tyr
435 440 445

Cys Asn Leu Lys Lys Cys Ser Gly Thr Glu Ala Ser Val Val Ala Pro
450 455 460

Pro Pro Val Val Leu Leu Pro Asp Val Glu Thr Pro Ser Glu Glu Asp
465 470 475 480

Cys Met Phe Gly Asn Gly Lys Gly Tyr Arg Gly Lys Arg Ala Thr Thr
485 490 495

Val Thr Gly Thr Pro Cys Gln Asp Trp Ala Ala Gln Glu Pro His Arg
500 505 510

His Ser Ile Phe Thr Pro Glu Thr Asn Pro Arg Ala Gly Leu Glu Lys
515 520 525

Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Asp Val Gly Gly Pro Trp Cys Tyr
530 535 540

Thr Thr Asn Pro Arg Lys Leu Tyr Asp Tyr Cys Asp Val Pro Gln Cys
545 550 555 560

Ala Ala Pro Ser Phe Asp Cys Gly Lys Pro Gln Val Glu Pro Lys Lys
565 570 575

Cys Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Cys Val Ala His Pro His Ser Trp
580 585 590

Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Thr Arg Phe Gly Met His Phe Cys Gly
595 600 605

Gly Thr Leu Ile Ser Pro Glu Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu
610 615 620

Glu Lys Ser Pro Arg Pro Ser Ser Tyr Lys Val Ile Leu Gly Ala His
625 630 635 640

Gln Glu Val Asn Leu Glu Pro His Val Gln Glu Ile Glu Val Ser Arg
645 650 655

Leu Phe Leu Glu Pro Thr Arg Lys Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Ser
660 665 670

Ser Pro Ala Val Ile Thr Asp Lys Val Ile Pro Ala Cys Leu Pro Ser
675 680 685

Pro Asn Tyr Val Val Ala Asp Arg Thr Glu Cys Phe Ile Thr Gly Trp
 690 695 700

Gly Glu Thr Gln Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu Leu Lys Glu Ala Gln
 705 710 715 720

Leu Pro Val Ile Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg Tyr Glu Phe Leu Asn
 725 730 735

Gly Arg Val Gln Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly His Leu Ala Gly Gly
 740 745 750

Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Phe Glu
 755 760 765

Lys Asp Lys Tyr Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser Trp Gly Leu Gly Cys
 770 775 780

Ala Arg Pro Asn Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg Val Ser Arg Phe Val
 785 790 795 800

Thr Trp Ile Glu Gly Val Met Arg Asn Asn
 805 810

<210> 5
 <211> 2145
 <212> DNA
 <213> LYS77-PLG (Lys-纤溶酶原) 核酸序列

<400> 5
 aaaagtgtate tctcagagtg caagactggg aatggaaaga actacagagg gacgatgtcc 60

aaaacaaaaaa atggcatac ctgtcaaaaa tggagttcca cttctccca cagacctaga 120

ttctcacctg ctacacaccc ctcagaggga ctggaggaga actactgcag gaatccagac	180
aacgatccgc agggccctg gtgtatact actgatccag aaaagagata tgactactgc	240
gacattctt ggtgtgaaga ggaatgtatg cattgcagt gagaaaacta tgacggcaaa	300
atttccaaga ccatgtctgg actggaatgc caggcctggg actctcagag cccacacgct	360
catggataaca ttccttccaa atttccaaac aagaacctga agaagaatta ctgtcgtaac	420
cccgataggg agctgcggcc ttgggtttc accaccgacc ccaacaagcg ctgggaactt	480
tgtgacatcc cccgctgcac aacacctcca ccatcttctg gtcccaccta ccagtgtctg	540
aagggaacag gtgaaaacta tcgcggaat gtggctgtta ccgtgtccgg gcacacctgt	600
cagcactgga gtgcacagac ccctcacaca cataacagga caccagaaaa cttccctgc	660
aaaaatttgg atgaaaacta ctgcccgaat cctgacggaa aaaggcccccc atggtgcatt	720
acaaccaaca gccaagtgcg gtgggagtac tgtaagatac cgtcctgtga ctcccccac	780
gtatccacgg aacaattggc tcccacagca ccacctgagc taaccctgt ggtccaggac	840
tgctaccatg gtgatggaca gagctaccga ggcacacatcct ccaccaccac cacagggaaag	900
aagtgtcagt ctgggtcatc tatgacacca caccggcacc agaagacccc agaaaactac	960
ccaaatgctg gcctgacaat gaactactgc aggaatccag atgcccataa aggccccctgg	1020
tgttttacca cagacccag cgtcaggtgg gagtactgca acctgaaaaa atgctcagga	1080
acagaagcga gtgtttagc acctccgcct gttgtctgc ttccagatgt agagactcct	1140
tccgaagaag actgtatgtt tggaatggg aaaggatacc gaggcaagag ggcgaccact	1200
gttactggga cgccatgcca ggactggct gcccaggagc cccatagaca cagcatttc	1260
actccagaga caaatccacg ggccgggtctg gaaaaaaatt actgccgtaa ccctgtatgtt	1320
gatgttaggtg gtccctgggt ctacacgaca aatccaagaa aactttacga ctactgtgat	1380
gtccctcagt gtgcggcccc ttcatgtatgtt ggtggaaagc ctcaagtggaa ggcgaagaaa	1440

tgtcctgaa gggtttagg ggggtgtgtg gcccacccac attcctggcc ctggcaagtc	1500
agtcttagaa caaggttgg aatgcacttc tgtggaggca cttgatatac cccagagtgg	1560
gtgttgactg ctgcccactg cttggagaag tccccaggc cttcatccta caaggtcatc	1620
ctgggtgcac accaagaagt gaatctcgaa ccgcatgttc aggaaataga agtgtctagg	1680
ctgttcttgg agcccacacg aaaagatatt gccttgctaa agctaaggcag tcctgccgtc	1740
atcaactgaca aagtaatccc agcttgtctg ccatccccaa attatgtggt cgctgaccgg	1800
accgaatgtt tcatcactgg ctggggagaa acccaaggta cttttggagc tggccttctc	1860
aaggaagccc agtcctgtt gattgagaat aaagtgtgca atcgctatga gtttctgaat	1920
ggaagagtcc aatccaccga actctgtgct gggcatttgg ccggaggcac tgacagttgc	1980
cagggtgaca gtggaggtcc tctgggttgc ttcgagaagg acaaatacat tttacaagga	2040
gtcacttctt ggggtttgg ctgtgcacgc ccaataagc ctgggtctta tgttcggtt	2100
tcaaggtttg ttacttggat tgagggagtg atgagaaata attaa	2145

<210> 6

<211> 714

<212> PRT

<213> LYS77-PLG (Lys-纖溶酶原) 氨基酸序列

<400> 6

Lys	Val	Tyr	Leu	Ser	Glu	Cys	Lys	Thr	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Arg
1															

Gly	Thr	Met	Ser	Lys	Thr	Lys	Asn	Gly	Ile	Thr	Cys	Gln	Lys	Trp	Ser
20															

Ser	Thr	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Arg	Phe	Ser	Pro	Ala	Thr	His	Pro	Ser
35															

Glu Gly Leu Glu Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Asp Pro Gln
50 55 60

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Thr Asp Pro Glu Lys Arg Tyr Asp Tyr Cys
65 70 75 80

Asp Ile Leu Glu Cys Glu Glu Cys Met His Cys Ser Gly Glu Asn
85 90 95

Tyr Asp Gly Lys Ile Ser Lys Thr Met Ser Gly Leu Glu Cys Gln Ala
100 105 110

Trp Asp Ser Gln Ser Pro His Ala His Gly Tyr Ile Pro Ser Lys Phe
115 120 125

Pro Asn Lys Asn Leu Lys Lys Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Arg Glu
130 135 140

Leu Arg Pro Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Asn Lys Arg Trp Glu Leu
145 150 155 160

Cys Asp Ile Pro Arg Cys Thr Thr Pro Pro Pro Ser Ser Gly Pro Thr
165 170 175

Tyr Gln Cys Leu Lys Gly Thr Gly Glu Asn Tyr Arg Gly Asn Val Ala
180 185 190

Val Thr Val Ser Gly His Thr Cys Gln His Trp Ser Ala Gln Thr Pro
195 200 205

His Thr His Asn Arg Thr Pro Glu Asn Phe Pro Cys Lys Asn Leu Asp
210 215 220

Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Lys Arg Ala Pro Trp Cys His
225 230 235 240

Thr Thr Asn Ser Gln Val Arg Trp Glu Tyr Cys Lys Ile Pro Ser Cys
245 250 255

Asp Ser Ser Pro Val Ser Thr Glu Gln Leu Ala Pro Thr Ala Pro Pro
260 265 270

Glu Leu Thr Pro Val Val Gln Asp Cys Tyr His Gly Asp Gly Gln Ser
275 280 285

Tyr Arg Gly Thr Ser Ser Thr Thr Thr Thr Gly Lys Cys Gln Ser
290 295 300

Trp Ser Ser Met Thr Pro His Arg His Gln Lys Thr Pro Glu Asn Tyr
305 310 315 320

Pro Asn Ala Gly Leu Thr Met Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Ala Asp
325 330 335

Lys Gly Pro Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Ser Val Arg Trp Glu Tyr
340 345 350

Cys Asn Leu Lys Lys Cys Ser Gly Thr Glu Ala Ser Val Val Ala Pro
355 360 365

Pro Pro Val Val Leu Leu Pro Asp Val Glu Thr Pro Ser Glu Glu Asp
370 375 380

Cys Met Phe Gly Asn Gly Lys Gly Tyr Arg Gly Lys Arg Ala Thr Thr
385 390 395 400

Val Thr Gly Thr Pro Cys Gln Asp Trp Ala Ala Gln Glu Pro His Arg
405 410 415

His Ser Ile Phe Thr Pro Glu Thr Asn Pro Arg Ala Gly Leu Glu Lys
420 425 430

Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Asp Val Gly Gly Pro Trp Cys Tyr
435 440 445

Thr Thr Asn Pro Arg Lys Leu Tyr Asp Tyr Cys Asp Val Pro Gln Cys
450 455 460

Ala Ala Pro Ser Phe Asp Cys Gly Lys Pro Gln Val Glu Pro Lys Lys
465 470 475 480

Cys Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Cys Val Ala His Pro His Ser Trp
485 490 495

Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Thr Arg Phe Gly Met His Phe Cys Gly
500 505 510

Gly Thr Leu Ile Ser Pro Glu Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu
515 520 525

Glu Lys Ser Pro Arg Pro Ser Ser Tyr Lys Val Ile Leu Gly Ala His
530 535 540

Gln Glu Val Asn Leu Glu Pro His Val Gln Glu Ile Glu Val Ser Arg
545 550 555 560

Leu Phe Leu Glu Pro Thr Arg Lys Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Ser
565 570 575

Ser Pro Ala Val Ile Thr Asp Lys Val Ile Pro Ala Cys Leu Pro Ser
 580 585 590

Pro Asn Tyr Val Val Ala Asp Arg Thr Glu Cys Phe Ile Thr Gly Trp
 595 600 605

Gly Glu Thr Gln Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu Leu Lys Glu Ala Gln
 610 615 620

Leu Pro Val Ile Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg Tyr Glu Phe Leu Asn
 625 630 635 640

Gly Arg Val Gln Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly His Leu Ala Gly Gly
 645 650 655

Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Phe Glu
 660 665 670

Lys Asp Lys Tyr Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser Trp Gly Leu Gly Cys
 675 680 685

Ala Arg Pro Asn Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg Val Ser Arg Phe Val
 690 695 700

Thr Trp Ile Glu Gly Val Met Arg Asn Asn
 705 710

<210> 7
 <211> 1245
 <212> DNA
 <213> delta-plg (delta-纤溶酶原) 核酸序列

<400> 7
 gagcctctgg atgactatgt gaatacccag ggggcttcac tggcgttgtt cactaagaag 60

cagctgggag caggaagtat agaagaatgt gcagcaaaat gtgaggagga cgaagaattc	120
acctgcaggg cattccaata tcacagtaaa gagcaacaat gtgtgataat ggctgaaaac	180
aggaagtccct ccataatcat taggatgaga gatgttagttt tatttgaaaa gaaagtgtat	240
ctctcagagt gcaagactgg gaatggaaag aactacagag ggacgatgtc caaaacaaaa	300
aatggcatca cctgtcaaaa atggagttcc acttctcccc acagacctag attctcacct	360
gctacacacc cctcagaggg actggaggag aactactgca ggaatccaga caacgatccg	420
cagggccct ggtgtatac tactgatcca gaaaagagat atgactactg cgacatttt	480
gagttgtgaag aggccgcccc ttcatggat tggggaaagc ctcaagtggc gccgaagaaa	540
tgtcctggaa ggggtgttagg ggggtgtgtg gcccacccac attcctggcc ctggcaagtc	600
agtcttagaa caaggtttg aatgcacttc tgtggaggca cttgatatac cccagagtgg	660
gtgttgactg ctgcccactg cttggagaag tccccaggc cttcatccta caaggtcatc	720
ctgggtgcac accaagaagt gaatctcgaa ccgcattgtc agggaaataga agtgtctagg	780
ctgttcttgg agcccacacg aaaagatatt gccttgctaa agctaaggcag tcctgcccgc	840
atcaactgaca aagtaatccc agttgtctg ccatccccaa attatgtggt cgctgaccgg	900
accgaatgtt tcatcaactgg ctggggagaa acccaaggta ctttggagc tggcctctc	960
aaggaagccc agtccttgtt gattgagaat aaagtgtgca atcgctatga gtttctgaat	1020
ggaagagtc aatccaccga actctgtgct gggcattttgg ccggaggcac tgacagttgc	1080
cagggtgaca gtggagggtcc tctgggtttgc ttcgagaagg acaaatacat tttacaagga	1140
gtcactttttt ggggtcttgg ctgtgcacgc cccaataagc ctgggtgtcta tgttcggtt	1200
tcaaggtttgg ttacttggat tgagggagtg atgagaaata attaa	1245

<210> 8

<211> 414

<212> PRT

<213> delta-plg (delta-纤溶酶原) 氨基酸序列

<400> 8

Glu	Pro	Leu	Asp	Asp	Tyr	Val	Asn	Thr	Gln	Gly	Ala	Ser	Leu	Phe	Ser
1								10						15	

Val	Thr	Lys	Lys	Gln	Leu	Gly	Ala	Gly	Ser	Ile	Glu	Glu	Cys	Ala	Ala
									25					30	

Lys	Cys	Glu	Glu	Asp	Glu	Glu	Phe	Thr	Cys	Arg	Ala	Phe	Gln	Tyr	His
									40					45	

Ser	Lys	Glu	Gln	Gln	Cys	Val	Ile	Met	Ala	Glu	Asn	Arg	Lys	Ser	Ser
								50					60		

Ile	Ile	Ile	Arg	Met	Arg	Asp	Val	Val	Leu	Phe	Glu	Lys	Lys	Val	Tyr
								65					80		

Leu	Ser	Glu	Cys	Lys	Thr	Gly	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Arg	Gly	Thr	Met
								85					95		

Ser	Lys	Thr	Lys	Asn	Gly	Ile	Thr	Cys	Gln	Lys	Trp	Ser	Ser	Thr	Ser
								100					110		

Pro	His	Arg	Pro	Arg	Phe	Ser	Pro	Ala	Thr	His	Pro	Ser	Glu	Gly	Leu
								115					125		

Glu	Glu	Asn	Tyr	Cys	Arg	Asn	Pro	Asp	Asn	Asp	Pro	Gln	Gly	Pro	Trp
								130					140		

Cys	Tyr	Thr	Thr	Asp	Pro	Glu	Lys	Arg	Tyr	Asp	Tyr	Cys	Asp	Ile	Leu
								145					155		160

Glu Cys Glu Glu Ala Ala Pro Ser Phe Asp Cys Gly Lys Pro Gln Val
165 170 175

Glu Pro Lys Lys Cys Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Cys Val Ala His
180 185 190

Pro His Ser Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Thr Arg Phe Gly Met
195 200 205

His Phe Cys Gly Gly Thr Leu Ile Ser Pro Glu Trp Val Leu Thr Ala
210 215 220

Ala His Cys Leu Glu Lys Ser Pro Arg Pro Ser Ser Tyr Lys Val Ile
225 230 235 240

Leu Gly Ala His Gln Glu Val Asn Leu Glu Pro His Val Gln Glu Ile
245 250 255

Glu Val Ser Arg Leu Phe Leu Glu Pro Thr Arg Lys Asp Ile Ala Leu
260 265 270

Leu Lys Leu Ser Ser Pro Ala Val Ile Thr Asp Lys Val Ile Pro Ala
275 280 285

Cys Leu Pro Ser Pro Asn Tyr Val Val Ala Asp Arg Thr Glu Cys Phe
290 295 300

Ile Thr Gly Trp Gly Glu Thr Gln Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu Leu
305 310 315 320

Lys Glu Ala Gln Leu Pro Val Ile Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg Tyr
325 330 335

Glu Phe Leu Asn Gly Arg Val Gln Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly His
 340 345 350

Leu Ala Gly Gly Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu
 355 360 365

Val Cys Phe Glu Lys Asp Lys Tyr Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser Trp
 370 375 380

Gly Leu Gly Cys Ala Arg Pro Asn Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg Val
 385 390 395 400

Ser Arg Phe Val Thr Trp Ile Glu Gly Val Met Arg Asn Asn
 405 410

<210> 9

<211> 1104

<212> DNA

<213> Mini-plg (小纖維蛋白溶酶原) 核酸序列

<400> 9

gtcaggtggg agtactgcaa cctgaaaaaaaa tgctcaggaa cagaagcggag tggtagca 60

cctccgcctg ttgtccctgct tccagatgtt gagactccctt ccgaagaaga ctgtatgttt 120

gggaatggga aaggataccg aggcaagagg gcgaccactg ttactgggac gccatgccag 180

gactgggctg cccaggagcc ccatagacac agcatttca ctccagagac aaatccacgg 240

gcgggtctgg aaaaaaatta ctgccgtaac cctgatggtg atgttaggtgg tccctggtgc 300

tacacgacaa atccaaagaaa actttacgac tactgtgtatg tccctcagtg tgccggccct 360

tcatttgatt gtggaaagcc tcaagtggag ccgaagaaat gtcctggaaag ggtttaggg 420

gggtgtgtgg cccacccaca ttcctggccc tggcaagtca gtcttagaac aaggtttggaa 480

atgcacttct gtggaggcac ctgtatcc ccagagtggg tggactgc tgccactgc 540

ttggagaagt ccccaaggcc ttcatcctac aaggcatcc tgggtgcaca ccaagaagt	600
aatctcgAAC cgcatttca ggaaatagaa gtgtctaggc ttttcttggc gcccacacga	660
aaagatattt cttgtctaaa gcttaaggcgt cttgggtca tcactgacaa agtaatccca	720
gcttgcgtgc cttcccaaa ttatgtggtc gctgaccggc ccgaatgttt catcaactggc	780
tggggagaaa ccaaggtaac ttttggagct ggcattctca aggaagccca gtcctgtg	840
attgagaata aagtgtgcaa tcgctatgag tttctgaatg gaagagtccca atccaccgaa	900
ctctgtgctg ggcatttggc cggaggcact gacagttgcc agggtgacag tggaggtcct	960
ctggtttgct tcgagaagga caaatacatt ttacaaggag tcacttcttggc	1020
tgtgcacgcc ccaataagcc tgggtctat gtcgtgttt caaggttgt tacttggatt	1080
gagggagtgta tgagaaataa ttAA	1104

<210> 10

<211> 367

<212> PRT

<213> Mini-plg (小纖維蛋白溶酶原) 氨基酸序列

<400> 10

Val Arg Trp Glu Tyr Cys Asn Leu Lys Lys Cys Ser Gly Thr Glu Ala			
1	5	10	15

Ser Val Val Ala Pro Pro Val Val Leu Leu Pro Asp Val Glu Thr		
20	25	30

Pro Ser Glu Glu Asp Cys Met Phe Gly Asn Gly Lys Gly Tyr Arg Gly		
35	40	45

Lys Arg Ala Thr Thr Val Thr Gly Thr Pro Cys Gln Asp Trp Ala Ala		
50	55	60

Gln Glu Pro His Arg His Ser Ile Phe Thr Pro Glu Thr Asn Pro Arg
65 70 75 80

Ala Gly Leu Glu Lys Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Asp Val Gly
85 90 95

Gly Pro Trp Cys Tyr Thr Thr Asn Pro Arg Lys Leu Tyr Asp Tyr Cys
100 105 110

Asp Val Pro Gln Cys Ala Ala Pro Ser Phe Asp Cys Gly Lys Pro Gln
115 120 125

Val Glu Pro Lys Lys Cys Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Cys Val Ala
130 135 140

His Pro His Ser Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Thr Arg Phe Gly
145 150 155 160

Met His Phe Cys Gly Gly Thr Leu Ile Ser Pro Glu Trp Val Leu Thr
165 170 175

Ala Ala His Cys Leu Glu Lys Ser Pro Arg Pro Ser Ser Tyr Lys Val
180 185 190

Ile Leu Gly Ala His Gln Glu Val Asn Leu Glu Pro His Val Gln Glu
195 200 205

Ile Glu Val Ser Arg Leu Phe Leu Glu Pro Thr Arg Lys Asp Ile Ala
210 215 220

Leu Leu Lys Leu Ser Ser Pro Ala Val Ile Thr Asp Lys Val Ile Pro
225 230 235 240

Ala Cys Leu Pro Ser Pro Asn Tyr Val Val Ala Asp Arg Thr Glu Cys
 245 250 255

Phe Ile Thr Gly Trp Gly Glu Thr Gln Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu
 260 265 270

Leu Lys Glu Ala Gln Leu Pro Val Ile Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg
 275 280 285

Tyr Glu Phe Leu Asn Gly Arg Val Gln Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly
 290 295 300

His Leu Ala Gly Gly Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro
 305 310 315 320

Leu Val Cys Phe Glu Lys Asp Lys Tyr Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser
 325 330 335

Trp Gly Leu Gly Cys Ala Arg Pro Asn Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg
 340 345 350

Val Ser Arg Phe Val Thr Trp Ile Glu Gly Val Met Arg Asn Asn
 355 360 365

<210> 11

<211> 750

<212> DNA

<213> Micro-plg (微纖維蛋白溶酶原) 核酸序列

<400> 11

gccccttcat ttgattgtgg gaagcctcaa gtggagccga agaaatgtcc tggaagggtt 60

gtaggggggt gtgtggccca cccacattcc tggccctggc aagtcagtct tagaacaagg 120

tttggaatgc acttctgtgg aggcacccgt atatccccag agtgggtgtt gactgctgcc 180

cactgcttgg agaaagtcccc aaggccttca tcctacaagg tcatcctggg tgcacaccaa	240
gaagtgaatc tcgaaccgca tgttcaggaa atagaagtgt ctaggctgtt cttggagccc	300
acacgaaaag atattgcctt gctaaagcta agcagtcctg ccgtcatcac tgacaaagta	360
atcccagtt gtctgccatc cccaaattat gtggtcgctg accggaccga atgtttcatc	420
actggctggg gagaaaaccca aggtactttt ggagctggcc ttctcaagga agcccagctc	480
cctgtgattg agaataaaagt gtgcaatcgc tatgagtttc tgaatggaag agtccaatcc	540
accgaactct gtgctggca tttggccgga ggcactgaca gttgccaggg tgacagtgga	600
ggtcctctgg tttgcttcga gaaggacaaa tacatttac aaggagtcac ttcttgggt	660
cttggctgtg cacgccccaa taaggctggt gtctatgttc gtgttcaag gtttgttact	720
tggattgagg gagtgatgag aaataattaa	750

<210> 12

<211> 249

<212> PRT

<213> Micro-plg (微纖維蛋白溶酶原) 氨基酸序列

<400> 12

Ala Pro Ser Phe Asp Cys Gly Lys Pro Gln Val Glu Pro Lys Cys			
1	5	10	15

Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Cys Val Ala His Pro His Ser Trp Pro		
20	25	30

Trp Gln Val Ser Leu Arg Thr Arg Phe Gly Met His Phe Cys Gly Gly		
35	40	45

Thr Leu Ile Ser Pro Glu Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Glu		
50	55	60

Lys Ser Pro Arg Pro Ser Ser Tyr Lys Val Ile Leu Gly Ala His Gln
65 70 75 80

Glu Val Asn Leu Glu Pro His Val Gln Glu Ile Glu Val Ser Arg Leu
85 90 95

Phe Leu Glu Pro Thr Arg Lys Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Ser Ser
100 105 110

Pro Ala Val Ile Thr Asp Lys Val Ile Pro Ala Cys Leu Pro Ser Pro
115 120 125

Asn Tyr Val Val Ala Asp Arg Thr Glu Cys Phe Ile Thr Gly Trp Gly
130 135 140

Glu Thr Gln Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu Leu Lys Glu Ala Gln Leu
145 150 155 160

Pro Val Ile Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg Tyr Glu Phe Leu Asn Gly
165 170 175

Arg Val Gln Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly His Leu Ala Gly Thr
180 185 190

Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Phe Glu Lys
195 200 205

Asp Lys Tyr Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser Trp Gly Leu Gly Cys Ala
210 215 220

Arg Pro Asn Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg Val Ser Arg Phe Val Thr
225 230 235 240

Trp Ile Glu Gly Val Met Arg Asn Asn

245

<210> 13

<211> 684

<212> DNA

<213> 絲氨酸蛋白酶（結構）域的核酸序列

<400> 13

gtttagggg ggtgtgtggc ccacccacat tcctggccct ggcaagtcag tcttagaaca 60

aggtttgaa tgcacttctg tggaggcacc ttgatatccc cagagtgggt gttgactgct 120

gccccactgct tggagaagtc cccaaaggcct tcatacctaca aggtcatcct ggggtgcacac 180

caagaagtga atctcgaacc gcatgttcag gaaatagaag tgtctaggct gttttggag 240

cccacacgaa aagatattgc cttgctaaag ctaaggcagtc ctggcgcat cactgacaaa 300

gtaatccag cttgtctgcc atccccaaat tatgtggtcg ctgaccggac cgaatgttc 360

atcactggct ggggagaaac ccaaggtaact tttggagctg gccttctcaa ggaagccag 420

ctccctgtga ttgagaataa agtgtgcaat cgctatgagt ttctgaatgg aagagtccaa 480

tccaccgaac tctgtgtgg gcatttggcc ggaggcactg acagttgccca gggtgacagt 540

ggaggtcctc tggttgctt cgagaaggac aaatacattt tacaaggagt cacttctgg 600

ggtcttggct gtgcacgccc caataaggct ggtgtctatg ttctgtttc aaggttgtt 660

acttggattg agggagtgtat gaga 684

<210> 14

<211> 228

<212> PRT

<213> 絲氨酸蛋白酶（結構）域的氨基酸序列

<400> 14

Val Val Gly Gly Cys Val Ala His Pro His Ser Trp Pro Trp Gln Val

1

5

10

15

J

Ser Leu Arg Thr Arg Phe Gly Met His Phe Cys Gly Gly Thr Leu Ile
20 25 30

Ser Pro Glu Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Glu Lys Ser Pro
35 40 45

Arg Pro Ser Ser Tyr Lys Val Ile Leu Gly Ala His Gln Glu Val Asn
50 55 60

Leu Glu Pro His Val Gln Glu Ile Glu Val Ser Arg Leu Phe Leu Glu
65 70 75 80

Pro Thr Arg Lys Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Ser Ser Pro Ala Val
85 90 95

Ile Thr Asp Lys Val Ile Pro Ala Cys Leu Pro Ser Pro Asn Tyr Val
100 105 110

Val Ala Asp Arg Thr Glu Cys Phe Ile Thr Gly Trp Gly Glu Thr Gln
115 120 125

Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu Leu Lys Glu Ala Gln Leu Pro Val Ile
130 135 140

Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg Tyr Glu Phe Leu Asn Gly Arg Val Gln
145 150 155 160

Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly His Leu Ala Gly Gly Thr Asp Ser Cys
165 170 175

Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Phe Glu Lys Asp Lys Tyr
180 185 190

Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser Trp Gly Leu Gly Cys Ala Arg Pro Asn
195 200 205

Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg Val Ser Arg Phe Val Thr Trp Ile Glu
210 215 220

Gly Val Met Arg
225

201829448

201829448

發明摘要

【發明名稱】

纖溶酶原在製備預防或治療肥胖症及疾病併發的肥胖的藥物中的用途

【中文】

本發明涉及一種預防和/或治療超重/肥胖及其相關病症的方法，包括給藥易患或患有肥胖及其相關病症的受試者有效量的纖溶酶原，以消減脂肪在身體各部位的異常/過量沉積。本發明還涉及預防和/或治療肥胖的藥物，以及其在製備藥物中的用途。

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種纖溶酶原在製備預防或治療受試者肥胖症的藥物中的用途。
2. 如請求項 1 所述之用途，其中該纖溶酶原通過減少脂質在組織器官、組織器官周圍和/或腹腔的異常或過度沉積治療肥胖症。
3. 如請求項 2 所述之用途，其中該纖溶酶原減少脂質在皮下、心臟、肝臟、肺臟、腎臟、血管、腸系膜、腹膜、體腔、器官周圍的異常或過度沉積。
4. 如請求項 1 所述之用途，其中該纖溶酶原降低受試者血脂，尤其是甘油三酯和低密度脂蛋白的水準治療肥胖症。
5. 如請求項 1 至 4 中任一項所述之用途，其中該肥胖症為單純性肥胖或繼發於其它疾病導致的肥胖。
6. 一種纖溶酶原在製備預防或治療受試者肥胖症的藥物中的用途，其中該肥胖症繼發於內分泌紊亂疾病、神經系統疾病、糖代謝疾病、肝臟疾病、腎臟疾病、心血管疾病、腸道疾病、甲狀腺疾病、膽囊或膽道疾病、過量飲酒、藥物作用。
7. 一種纖溶酶原在製備預防或治療受試者疾病併發的肥胖的藥物中的用途，其中該疾病併發的肥胖包括內分泌疾病併發的肥胖、代謝性疾病併發的肥胖、心血管疾病併發的肥胖、消化系統疾病併發的肥胖、退行性疾病併發的肥胖。
8. 如請求項 7 所述之用途，其中該肥胖包括糖尿病併發的肥胖、高血壓併發的肥胖、動脈粥樣硬化併發的肥胖、肝臟疾病併發的肥胖、骨質疏鬆併發的肥胖。
9. 一種纖溶酶原在製備預防或治療肥胖導致的併發症的藥物中的用

途，包括給藥受試者治療有效量的纖溶酶原，其中該肥胖的併發症包括心腦血管疾病、代謝性疾病、肌肉骨骼疾病、消化系統疾病、睡眠呼吸暫停、呼吸障礙。

10. 如請求項 9 所述之用途，其中該併發症為高血壓、糖尿病、冠心病、心絞痛、心肌梗死、心律失常、動脈粥樣硬化、腦血栓、腦出血、骨關節炎、骨質增生、膽囊炎、脂肪肝、肝硬化、骨質疏鬆。

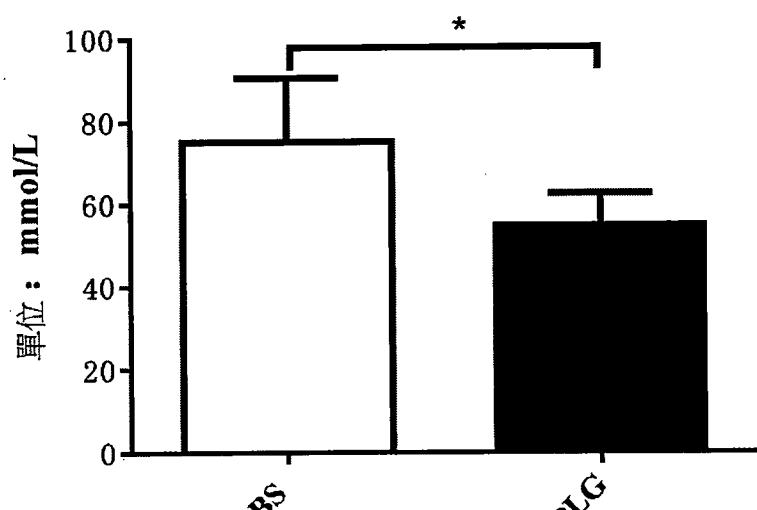


圖 16

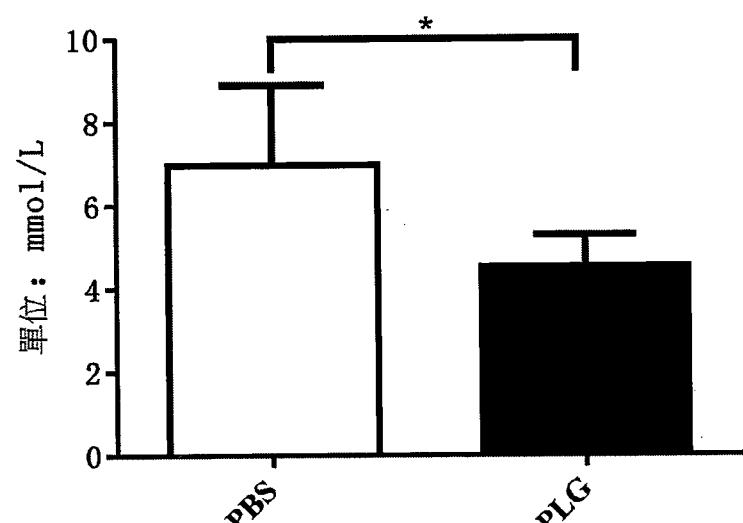


圖 17

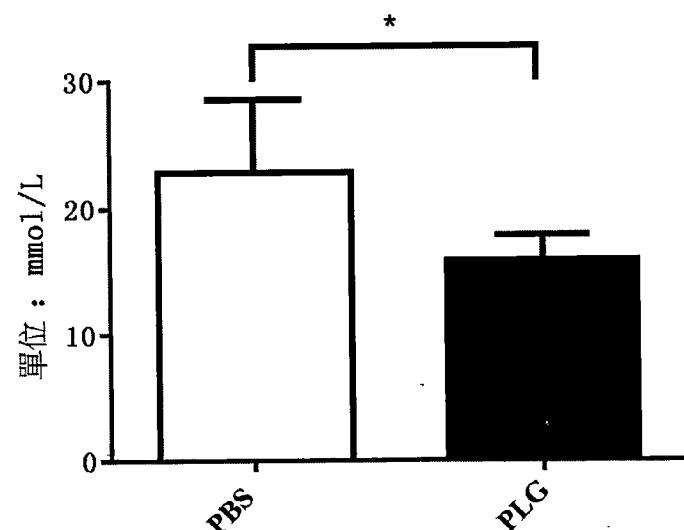


圖 18

