



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 112368014 B

(45) 授权公告日 2024. 11. 19

(21) 申请号 201980043507.6

(22) 申请日 2019.06.26

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112368014 A

(43) 申请公布日 2021.02.12

(30) 优先权数据
1850803-6 2018.06.28 SE

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.12.25

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2019/067067 2019.06.26

(87) PCT国际申请的公布数据
W02020/002464 EN 2020.01.02

(73) 专利权人 兰特门内医疗公司
地址 瑞典斯德哥尔摩

(72) 发明人 安德斯·拉尔森

(74) 专利代理机构 北京同达信恒知识产权代理有限公司 11291
专利代理师 黄志华 石磊

(51) Int.Cl.
A61K 38/17 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 105025916 A, 2015.11.04
WO 2007126363 A2, 2007.11.08
审查员 鲁众阳

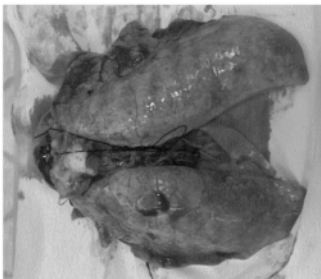
权利要求书1页 说明书17页
序列表5页 附图4页

(54) 发明名称

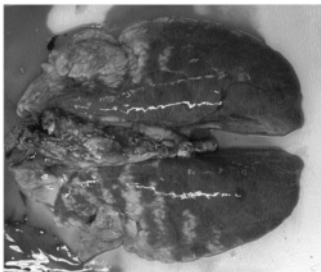
抗分泌因子在治疗和/或预防急性呼吸衰竭中的用途

(57) 摘要

本发明涉及抗分泌因子 (AF) 蛋白、具有等效功能活性的共同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐用于恢复和/或正常化上皮屏障功能,以用于治疗 and/或预防急性呼吸衰竭的用途。特别地,本文公开了抗分泌因子 (AF) 蛋白、具有等效功能活性的共同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐用于消解和/或正常化液体跨上皮细胞屏障转移的用途,这对大部分患有创伤性肺损伤的患者具有重大影响,所述患者例如但不限于患有肺泡和/或细支气管中液体异常积聚的患者,选自患有BPD、ARDS、IRDS、脓毒症、SIRS、急性肺水肿、肺炎、间质性肺水肿和心血管肺部疾病的患者。



2A



2B

1. 由氨基酸VCHSKTRSNPENNVGL构成的抗分泌因子肽AF-16和/或其药学活性盐用于制备用于治疗 and/或预防急性呼吸衰竭ARF的药物组合物的用途。

2. 根据权利要求1所述的用途,用于制备用于治疗 and/或预防具有肺泡和/或细支气管中液体异常积聚的患者的急性呼吸衰竭的药物组合物,所述患者选自患有支气管肺发育不良BPD、急性呼吸窘迫综合征ARDS、婴儿呼吸窘迫综合征IRDS、脓毒症、全身炎症反应综合征SIRS、急性肺水肿、肺炎、间质性肺水肿和心血管肺疾病的患者。

3. 根据权利要求1或2所述的用途,用于制备用于治疗 and/或预防BPD、IRDS或ARDS的药物组合物,其中,ARDS选自自由急性ARDS和严重ARDS组成的组。

4. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述抗分泌因子肽和/或其药学活性盐被配制在包含所述抗分泌因子肽和/或其药学活性盐和药学上可接受的赋形剂的药物组合物中。

5. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物组合物被配制用于眼内、鼻内、口服和/或皮下施用。

6. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物组合物被配制用于局部和/或全身施用。

7. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物组合物被配制用于作为喷雾剂、气雾剂、吸入剂施用。

8. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物组合物被配制用于通过雾化器施用。

9. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物组合物被配制用于以每次施用且每kg体重0.1 μg 至100 mg的剂量全身给药至血液,并且其中,所述给药以单剂量或以每日多次施用来进行。

10. 根据权利要求9所述的用途,其中,所述药物组合物被配制用于以每次施用且每kg体重1 μg 至10000 μg 的剂量全身给药至血液。

11. 一种药物组合物,所述药物组合物包含由氨基酸VCHSKTRSNPENNVGL构成的抗分泌因子肽AF-16和/或其药学活性盐,所述药物组合物用于治疗 and/或预防急性呼吸衰竭。

12. 根据权利要求11所述的药物组合物,用于治疗 and/或预防具有肺泡和/或细支气管中液体异常积聚的患者的急性呼吸衰竭,所述患者选自患有BPD、ARDS、IRDS、脓毒症、SIRS、急性肺水肿、肺炎、间质性肺水肿和心血管肺疾病的患者。

抗分泌因子在治疗和/或预防急性呼吸衰竭中的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及抗分泌因子 (AF) 蛋白、具有等效功能活性的其同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐用于恢复和/或正常化急性呼吸衰竭 (ARF) 发病机制中的上皮屏障功能的用途。

[0002] 特别地,本文公开了抗分泌因子 (AF) 蛋白、具有等效功能活性的其同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐在消解和/或正常化液体跨上皮屏障转移中的用途,这对大部分患有急性呼吸衰竭的患者 (例如由于急性呼吸衰竭 (ARF) 而在肺泡和细支气管中液体异常积聚的患者) 具有重大影响,所述急性呼吸衰竭包括但不限于:ARDS (急性呼吸窘迫综合征) 和IRDS (婴儿呼吸窘迫综合征)。

背景技术

[0003] 上皮屏障

[0004] 身体内和身体上的表面的内衬 (例如皮肤、以及呼吸道、肺、和胃肠道和泌尿道的粘膜) 是防止例如微生物及其产物的入侵以及液体和溶质的异常流动和/或分布的重要防线。

[0005] 上皮细胞在通常敌对的外部环境和内环境之间建立屏障。然而,细胞内衬还负责液体、溶质和养分的吸收和多种产物 (包括废物) 的分泌以及需要选择性渗透屏障的活动。这些功能将上皮置于例如粘膜免疫系统和内腔内容物 (包括食物性抗原和微生物产物,以及封闭细胞及其间质液) 之间的相互作用的中心。

[0006] 免疫活性细胞 (特别是淋巴细胞) 参与维持这些上皮屏障的完整性。它们有助于耐受占据这些相同位点的共生生物体以及耐受对有害生物体及其产物的免疫反应。

[0007] 概念“上皮屏障”是各种群体的上皮细胞的统称,这些上皮细胞覆盖或内衬所有的体表、腔和管。这可以通过外衬血管和淋巴管的上皮细胞 (被称为内皮细胞) 来说明。上皮细胞通过基膜牢固地附着在下面的组织和器官上。上皮细胞介导广泛的活动,例如选择性扩散、摄取、吸收、分泌、物理保护和遏制。上皮屏障的非常重要的功能是选择性的、精确的分离管腔、以及控制例如液体和溶质的成分与空气分离。

[0008] 上皮屏障功能需要连续的细胞层以及密封上皮细胞之间的细胞间空间的连接。与质膜一起,细胞间紧密连接是上皮屏障功能的主要细胞决定因素。由于特定的蛋白质突变或异常的调节信号而导致的紧密连接结构的破坏既可以是疾病的原因,也可以是疾病的结果。

[0009] 在肺中,气道上皮细胞形成对外界的空气/气体的屏障,并且处于粘膜免疫的前线。上皮顶部连接复合物由一系列促进细胞-细胞粘附和屏障完整性的蛋白质亚基形成。患有例如哮喘或支气管炎的患者的气道上皮的完整性经常被破坏,上皮细胞-细胞的接触有不定的损失。修复事件可导致未分化的、被干扰的和功能障碍的细胞的形成。此外,对气道上皮的屏障功能的损害增强异物通过气道上皮的粘膜渗透性。因此,提出气道上皮屏障功能障碍可对例如哮喘有重要影响,因为结构上皮屏障功能与上皮调节免疫系统并受其调节

的能力交织在一起。

[0010] 因此,受损的上皮细胞屏障功能已经与许多疾病状态(例如肠的、肺的、心血管的和全身的)相关联。可惜的是,当前大多数临床数据是相关的,因此在解释屏障丧失的重要性时很难将原因与结果区分开。目前尚无针对上皮屏障以修复、恢复和调节其为目标FDA批准的药物。为了开发这种疗法,必须对疾病发病机理和屏障调节机制均有更深入的理解。

[0011] 急性呼吸衰竭(ARF)

[0012] 术语“急性呼吸衰竭(ARF)”在本文中“急性肺损伤”、“创伤性肺损伤”和“创伤相关性肺损伤”可互换使用,并且涵盖急性呼吸窘迫综合征(ARDS)(其根据病况的严重程度分为轻度、中度和重度)。ARDS是全身疾病和/或肺细胞损伤(例如但不限于创伤)导致的。肺细胞损伤可能是由于肺炎、吸入有毒物质、意外(例如摔倒、交通事故或穿透性创伤)、机械通气、免疫反应、心血管功能障碍或脓毒症造成的。出血、中风和创伤造成的脑损伤是另外的原因。ARDS与肺泡液体清除(ALC)能力降低、肺泡上皮屏障破坏以及毛细血管内皮通透性增加有关,导致肺泡和细支气管液体积聚增加。

[0013] 根据先前的研究,据称与急性肺损伤相关的创伤所致的病理生理可能与非创伤诱导的肺损伤引起的病理生理是不同的。创伤患者的肺上皮和内皮损伤的生物标志物的血浆水平显著降低,以前发现这在急性肺损伤中是预后性的。结论是,创伤患者相比具有肺损伤的其他临床风险的患者倾向于具有平均较不严重的肺上皮和内皮损伤(参见Calfee等,2007)。因此,在遭受肺部损伤的创伤性肺损伤患者中,增加恢复和/或正常化上皮屏障功能的可能性将是有益的,而与损伤机制无关。

[0014] 此外,ARF也可以是由于脓毒症、其他严重的全身性炎症性疾病和/或心血管肺和/或脑病症引起的。因此,本发明还涉及抗分泌因子(AF)蛋白、具有等效功能活性的其共同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐用于在患有脓毒症、全身性炎症性疾病和/或心血管性肺和/或脑病症的患者中恢复和/或正常化在急性呼吸衰竭(ARF)的发病机理中的上皮屏障功能的用途。

[0015] 此外,停留在高海拔也可导致急性肺损害,如淹溺一样。

[0016] 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)

[0017] ARDS的特征是非心源性呼吸困难、呼吸急促、肺泡中液体积聚、双侧胸片不透明以及氧气疗法难治的低氧血症。应该强调的是,尽管肺泡细胞内衬被破坏,但大约三分之一的处于疾病早期的ARDS患者的肺泡中没有任何明显的多余液体(Sakka 2013;Claesson等,2016;Huppert和Matthay,2017)。

[0018] 由于血氧过低的呼吸衰竭(严重的疾病,通常需要机械通气),ARDS是医院进入ICU(重症监护病房)的常见原因。少数例外情况除外,ARDS患者不被建议使用类固醇。抢救疗法减轻无法维持合理氧合的患者的低氧血症:肺复张法、俯卧位通气、吸入一氧化氮、高频振荡通气和体外膜氧合改善氧合,但除俯卧位通气外,其对死亡率的影响尚未得到证实。限制性液体管理以避免肺部液体的有害超负荷似乎是有利的策略,但60天死亡率没有明显降低。

[0019] 血液和液体引起的肺的心源性超负荷可导致模拟ARDS的有害的、危及生命的状况。

[0020] 婴儿呼吸窘迫综合征

[0021] IRDS (婴儿呼吸窘迫综合征) 是早产婴儿中的由于肺表面活性物质产生不足和未成熟肺结构的未完全发育而引起的综合征。

[0022] 支气管肺发育不良 (BPD)

[0023] 支气管肺发育不良 (BPD) 是一种慢性肺部疾病的形式,影响新生儿,特别是早产婴儿和婴儿。它是由于机械通气 (例如但不限于呼吸器) 和长期使用氧气对肺造成的损害而导致的。大多数婴儿都能从BPD恢复,但有些婴儿会具有长期呼吸困难。

[0024] ARF包括BPD、IRDS和ARDS,其特征是毛细血管上皮和肺泡上皮的损害,与从肺泡腔液体排出受损以及肺泡内部富含蛋白质的液体的积聚相关联。伴随地,肺泡细胞形成并释放促炎物质,加重急性肺病症。因此,受伤的患者上皮屏障受损,造成毛细血管通透性增加,阻碍肺功能、氧合,并损害身体器官和心血管系统的全身功能。

[0025] 急性肺损伤 (特别是ARDS和类似病症) 造成巨大的疾病负担,尽管进行先进的现代医学技术治疗,约40%的患者在医院死亡 (Claesson等,2016;Huppert和Matthay,2017)。各种因素 (包括与患者相关的因素,例如年龄和疾病的严重程度、国家水平、社会经济状况、呼吸机管理和ICU组织因素) 均促成这些肺损伤的结果。已显示只有少数治疗策略改善生存结果。

[0026] 抗分泌因子 (AF) 蛋白

[0027] 抗分泌因子 (AF) 是41kDa的蛋白质,最初被描述为提供针对腹泻疾病和肠道炎症的保护 (综述参见Lange和Lönnroth,2001)。抗分泌因子 (AF) 蛋白很久以前已被测序并克隆了其cDNA。抗分泌活性似乎主要是由位于抗分泌因子 (AF) 蛋白序列上氨基酸位置35和50之间的肽发挥的,该肽至少包含4个至16个 (例如4个、5个、6个、7个、8个或16个) 共有序列的氨基酸。免疫化学和免疫组织化学研究表明,存在抗分泌因子 (AF) 蛋白,并且体内大多数组织和器官也可合成该蛋白。合成肽 (包含止泻序列、即至少SEQ.ID.NO:2所示的氨基酸序列,其位于共有序列中) 已经先前被表征 (WO 97/08202;WO 05/030246;WO 2007/126364;WO 2018/015379)。

[0028] 先前已经公开了抗分泌因子 (AF) 蛋白和肽在霍乱毒素攻击后使病理性液体输送和/或炎症反应正常化,例如在肠道和中枢神经系统中 (WO 97/08202)。因此,在WO 97/08202中,已经提出具有诱导内源性AF合成或摄取增加的AF的能力的食物和饲料可用于治疗水肿、腹泻、脱水和炎症。WO 98/21978公开了具有酶活性的产品在生产诱导抗分泌因子 (AF) 蛋白的内源性形成的食品中的用途。WO 00/038535进一步公开了像这样的被富含含有和/或天然富含天然抗分泌因子 (AF) 蛋白 (NASP) 的食品。

[0029] 抗分泌因子 (AF) 蛋白及其片段还显示出在与细胞损失和/或增加相关的疾患的治疗中改善神经组织的修复及干细胞和祖细胞及其衍生的细胞的增殖、凋亡、分化和/或迁移 (WO 05/030246),并且还显示出在治疗和/或预防眼内高血压 (WO 07/126364) 与治疗 and/或预防间室综合征 (WO 07/126363) 中同样有效。

[0030] 本发明人还表明,AF能够监测和/或有利地影响膜中的脂筏、受体和/或胞膜窖的结构、分布和多种功能,并因此可用于治疗和/或预防细胞膜中的脂筏和/或胞膜窖的结构混乱和功能障碍 (WO 07/126365)。

[0031] 本发明人还能够证明相同的抗分泌因子 (AF) 蛋白、其肽及其片段可以干预跨膜蛋白离子通道 (例如NKCC1通过FAK和CAP) 的生物活化,并且它们因此可直接调控病理细胞和/

或扰动细胞中的离子通道的病理活性,从而有效地使所述细胞中的胞内压和跨膜蛋白功能正常化,并因此使得例如癌症疗法所用的药物摄取改善(WO 2010/093324)。

[0032] 此外,在WO 2014/096384中,抗分泌因子(AF)蛋白、其肽、同系物和/或片段显示出可用于胶质母细胞瘤的对症疗法、治愈疗法和姑息疗法。

[0033] 本发明涉及令人惊讶的见解:在急性呼吸衰竭(ARF)的发病机理中,抗分泌因子(AF)还恢复上皮屏障功能和/或使上皮屏障功能正常化,从而例如显著消解呼吸系统内的液体积聚,同时对心血管系统产生有益的作用。

发明内容

[0034] 本发明首次公开了如SEQ ID NO:1 (AF)所示的抗分泌因子(AF)蛋白和/或具有等效活性并包含如SEQ ID NO:2 (AF-6)所示的氨基酸序列的其同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐、和/或食品和/或食品补充剂(其被富含有和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段)用于恢复上皮屏障功能和/或内皮屏障功能和/或使上皮屏障功能和/或内皮屏障功能正常化,以用于治疗、改善和/或预防急性呼吸衰竭(ARF)的用途。

[0035] 在本文中,待治疗、改善和/或预防的ARF选自IRDS、BPD、ARDS、急性肺水肿和间质性肺水肿组成的组。

[0036] 因此,本发明涉及如SEQ ID NO:1 (AF)所示的抗分泌因子(AF)蛋白和/或包含如SEQ ID NO:2 (AF-6)所示的氨基酸序列的其同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐、和/或食品和/或食品补充剂(被富含有和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段)用于制备用于恢复上皮屏障功能和/或使上皮屏障功能正常化以用于治疗、和/或预防急性呼吸衰竭的药物组合物的用途。

[0037] 本发明涉及抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段和/或食品和/或食品补充剂(被富含有和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段)用于恢复上皮屏障功能和/或使上皮屏障功能正常化的用途,其中,上皮细胞屏障功能在患有急性呼吸衰竭的患者中被恢复和/或正常化。

[0038] 根据本发明使用的抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段和/或以上物质的药学活性盐可以配制在包含一种或包含至少两种或更多种抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段和/或以上物质的药学活性盐的药物组合物中。通常,所述药物组合物还包含药学上可接受的赋形剂。

[0039] 本发明还涉及包含至少一种如SEQ ID NO:1 (AF)所示的抗分泌因子(AF)蛋白和/或包含如SEQ ID NO:2 (AF-6)所示的氨基酸序列的其同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐的所述药物组合物在急性呼吸衰竭发病机制中恢复上皮屏障功能和/或使上皮屏障功能正常化的用途。

[0040] 此外,可以根据本发明使用的抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段和/或以上物质的药学活性盐配制为食品和/或食品补充剂,该食品和/或食品补充剂被富含有和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段。

[0041] 根据本发明使用的抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐、和/或食品和/或食品补充剂(富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同

系物和/或其片段)可以配制用于血管内输注或注射,用于眼内、鼻内、口服、局部、皮肤、皮下和/或全身施用,用于作为喷雾剂、气雾剂、吸入剂和/或通过雾化器施用。它可以配制成为每次施用且每kg体重0.1 μ g至100mg的剂量、优选以每次施用且每kg体重1 μ g至10000 μ g的剂量全身施用于血液。所述施用可以以单剂量、多剂量和/或每日多次施用来进行。

[0042] 根据本发明使用的抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐、和/或食品和/或食品补充剂(富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段)可以以被富含和/或天然富含抗分泌因子的蛋黄提供、例如以被富含和/或具有高天然含量的天然存在的抗分泌因子(NASP)的蛋黄提供、或以具有至少0.05ng/ml抗分泌因子(AF)蛋白片段(其具有如SEQ ID NO:3(AF-16)和/或SEQ ID NO:4(AF-8)所公开的氨基酸序列)的蛋黄提供。所述蛋黄可以是喷雾干燥的。

[0043] 在一个实施方式中,公开了用于恢复上皮屏障功能和/或使上皮屏障功能正常化以用于治疗 and/或预防ARF的方法,其中,向有需要的哺乳动物施用如SEQ ID NO:1(AF)所示的抗分泌因子(AF)蛋白和/或包含如SEQ ID NO:2(AF-6)所示的氨基酸序列的其同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐、包含如SEQ ID NO:1(AF)所示的所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或包含如SEQ ID NO:2(AF-6)所示的氨基酸序列的其同系物和/或其片段和/或以上物质的药学活性盐的药物组合物、和/或食品和/或食品补充剂(被富含和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段)。所述哺乳动物可以是人。

[0044] 因此,本发明涉及用于治疗、改善、预防和/或预防性治疗急性呼吸衰竭的方法,例如用于治疗 and/或预防选自IRDS、BPD、ARDS、急性ARDS、严重的ARDS、急性肺水肿和间质性肺水肿组成的组的ARF的方法,其中,向有需要的哺乳动物施用足够量的如SEQ ID NO:1(AF)所示的抗分泌因子(AF)蛋白和/或包含如SEQ ID NO:2(AF-6)所示的氨基酸序列的其同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐、包含如SEQ ID NO:1(AF)所示的所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或包含如SEQ ID NO:2(AF-6)所示的氨基酸序列的其同系物和/或其片段和/或以上物质的药学活性盐的药物组合物、和/或食品和/或食品补充剂(被富含和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段)。所述哺乳动物可以是人。

附图说明

[0045] 图1:实验期间实验室的设置。两只深度麻醉的猪均进行气管造口术,并连接至呼吸器。还可以看到两组相同的重症监护监视设备。这两只动物的处理对参加研究的人员设盲,并且直到完成所有实验后编码才可用。检查核心体温并保持在38°C至39°C。

[0046] 图2:受伤后5小时和任一处理后4小时的肺部照片。左边照片(图2B)显示用媒介物处理的损伤的肺,而相反右边的肺(图2A)来自每千克体重得到2mg AF-16的猪。左边照片(图2B)公开了媒介物输注1小时后的ALI导致形成广泛的肺不张和出血,使肺组织变色,看起来是深色的。经媒介物处理的肺的上部的仅有限区域外观正常,表示媒介物肺的功能能力受限。相反,右边照片(图2A)表明左肺叶和右肺叶均看起来接近正常,有少量散布性出血,说明AF-16输注的保护作用。AF-16处理的效能通过媒介物处理的(左)猪的肺上的变色痕迹显著地示出,这与EVLW含量的增加而迫使猪肺抵靠胸肋骨有关。

[0047] 图3:关键结果是证明了在不同时间(A-F)暴露于肺损伤的猪中的血管外肺水

(EVLW)的积聚增加的动态。如图所示,将记录的值以一小时(每小时)间隔的处理来作图。时间线与处理相关:

[0048] A:为实验准备的动物在肺损伤之前的基线;

[0049] B:肺损伤后1小时且就在AF-16/媒介物输注之前;

[0050] C:AF-16/媒介物输注后1小时;

[0051] D:AF-16/媒介物输注后2小时;

[0052] E:AF-16/媒介物输注后3小时;

[0053] F:AF-16/媒介物输注后4小时;

[0054] 两组的EVLW部分从肺损伤后1小时内的基线时的约320mL增加到约500mL。如果用媒介物(盐水)处理猪,则EVLW在该水平上再保持4个小时。相反,暴露于反复的肺灌洗和有害通气后,通过AF-16处理,EVLW显著降低,在4小时内从约500mL降至400mL,具有高度显著效果($p < 0.001$)和有益效果,公开了减少约20%。这种100mL的变化在功能上非常有益,并且对于减少充液肺区的量和改善血液氧合至关重要。在患有ARDS且输注2mg/kg bw(体重)AF-16的6只猪中用PiCCO法测定EVLW,而6只ARDS猪仅输注媒介物。处理对研究人员是编码的。

[0055] 图4:心脏在结构和功能上与肺密切相关。受损的肺功能与降低的心血管功能有关,如降低的心输出量(CO)(对心脏功能水平的灵敏且精确的测量)所公开的那样。图4中的图表显示,诱导的ALI在媒介物处理的6只猪中从基线4.2L/min/m²以约1L/min/m²阻碍CO,对应于接下来的4小时持续减少约25%。相反,在ALI后1小时向6只猪输注2mg/kg AF-16,使CO保持在接近正常的水平,这对于严重疾病(如ARDS)至关重要,在临床上被认为是高度相关的。与媒介物处理的动物所记录的相比,AF-16输注显著($p < 0.05$)增加CO,并且有益效果至少持续4小时。处理对研究人员是编码的。

具体实施方式

[0056] 定义和缩写

[0057] 缩写

[0058] IFP:间质液压力;

[0059] PBS:磷酸盐缓冲盐水;

[0060] AF:抗分泌因子;

[0061] 全长AF蛋白(如SEQ ID NO:1所示);

[0062] AF-6:由氨基酸CHSKTR构成的六肽(如SEQ ID NO:2所示);

[0063] AF-16:由氨基酸VCHSKTRSNPENNVGL构成的肽(如SEQ ID NO:3所示);

[0064] AF-8:由氨基酸VCHSKTR构成的七肽(如SEQ ID NO:4所示);

[0065] 八肽IVCHSKTR(如SEQ ID NO:5所示);

[0066] 五肽HSKTR(如SEQ ID NO:6所示);

[0067] SPC:特殊加工的谷物;

[0068] RTT:测量大鼠小肠中的标准化的分泌响应的方法,如SE 9000028-2(公开号466331)中所公开的用于测量AF(ASP)的含量;

[0069] ARF:急性呼吸衰竭;

[0070] ARDS:急性呼吸窘迫综合征;

[0071] IRDS: 婴儿呼吸窘迫综合征;

[0072] BPD: 支气管肺发育不良;

[0073] SIRS: 全身炎症反应综合征;

[0074] 脓毒症: 具有全身感染表现的感染。

[0075] 定义

[0076] 蛋白质是由通过肽键连接在一起的氨基酸残基构成的生物大分子。作为氨基酸的线性聚合物的蛋白质也称为多肽。典型地, 蛋白质具有50个至800个氨基酸残基, 因此分子量为约6000至约几十万道尔顿或更大。小蛋白质称为肽、多肽或寡肽。在本文中, 术语“蛋白质”、“多肽”、“寡肽”和“肽”可互换使用。肽可以具有很少的氨基酸残基, 例如2个至50个氨基酸残基(aa)。

[0077] 在本文中, “药物组合物”是指包含可选地与药学活性赋形剂(例如载体或媒介物)组合的治疗有效量的抗分泌因子(AF)蛋白的组合物。所述药物组合物被配制用于适当的施用途径, 所述施用途径可根据患者的情况以及其它因素(例如年龄或偏好选择)而变化。药物组合物在施用后向人或动物的身体呈递活性物质。所述药物组合物可呈例如片剂、丸剂、锭剂、胶囊、粪便丸剂(stool pills)、凝胶剂、溶液等的形式, 但不限于此。

[0078] 术语“药学活性盐”是指抗分泌因子(AF)蛋白、肽或多肽的盐、或其同系物和/或其片段的盐, 所述盐基于所谓的霍夫迈斯特系列(Hofmeister series)可以为任何源自于其的盐。药学活性盐的其它实例包括三氟乙酸盐、乙酸盐和赖氨酸氯化物, 本发明不限于此。

[0079] 术语“抗分泌的”在本文的上下文中是指抑制或减少分泌和/或液体转移。因此, 术语“抗分泌因子(AF)蛋白”是指一类能够抑制或减少或以其他方式调控体内液体转移以及分泌的蛋白质。

[0080] 在本文中, “等效活性”与术语“等效功能活性”可互换使用, 并且涉及抗分泌因子(AF)蛋白、肽或多肽、或其同系物、衍生物和/或片段的生物效应, 即其用于改善ARF的疗法和/或治疗的能力、用于恢复和/或正常化肺和/或全身性疾病中的上皮细胞屏障功能的能力。用于测试和/或测量此类能力的标准化实例是本技术领域所熟知的。在本申请的实验章节(例如实施例1)中给出实例。此外, 根据本发明的抗分泌因子(AF)蛋白、肽或多肽、或其同系物和/或其片段的生物活性可以例如在标准化的体外肺损伤模型中测试, 例如但不限于在Caco-2细胞ATCC中; [参见例如V Nicolas和V Lievin-Le moal: Infection & Immunity 2015; 83: 907-922]), 其中, 测量跨细胞液交换和/或运动。

[0081] 在本文中, 术语“等效活性”与“类似生物活性”可互换使用。

[0082] 在本文的上下文中, 术语“抗分泌因子蛋白”、“抗分泌因子(AF)蛋白”、“AF-蛋白”、AF、或其同系物、或其片段可与如W0 97/08202中所定义的术语“抗分泌因子”或“抗分泌因子蛋白”互换使用, 并且是指抗分泌因子(AF)蛋白或肽、或具有抗分泌的和/或等效功能的和/或类似的活性的其同系物、和/或其片段、或者是指不改变多肽功能的其修饰。因此, 应该理解“抗分泌因子”、“抗分泌因子蛋白”、“抗分泌肽”、“抗分泌片段”或“抗分泌因子(AF)蛋白”在本文的上下文中也可指其同系物或片段。这些术语都可在本发明的上下文中互换使用。此外, 在本文的上下文中, 术语“抗分泌因子”可缩写为“AF”。在本文的上下文中, 抗分泌因子(AF)蛋白是指如之前在本W097/08202和W0 00/38535中所定义的具有抗分泌性的蛋白质。抗分泌因子还在例如W0 05/030246中公开。术语抗分泌因子还意指例如在SE 900028-2

和WO 00/38535中和在WO 2017/009004中所公开的被富含和/或天然富含抗分泌因子的蛋黄中的天然抗分泌因子(NASP),如下文进一步描述。另外,在文献中AF蛋白已经使用了替代名称。

[0083] “医疗食品”在本文的上下文中是指食品、食品补充剂或用于特殊膳食用途的食品,其用抗分泌因子(AF)蛋白制备、或可替代地具有诱导内源性AF的合成和/或活化的能力。所述食品可为呈流体或固体形式(诸如液体或粉末)的任何适合的食品,棒、谷物或任何其它适当的食物。此类物质的实例可见于WO 2017/009004、WO 0038535和/或WO 91/09536。

[0084] “雾化器”在本文的上下文中是指以雾的形式递送液体药物至呼吸道的医疗装置。

[0085] 术语“气雾剂”在本文的上下文中是指微细固体或液体颗粒的气态悬浮体。

[0086] 在本文的上下文中,术语“佐剂”用于描述改变其它药剂作用的药理学试剂和/或免疫试剂。本发明中的佐剂增强或优化接受者对施用的活性物质的使用,因此使所述物质的必需量最小化。

[0087] 本发明涉及消解和/或预防被干扰的和/或被阻碍的上皮屏障功能,以用于治疗、改善和/或预防急性呼吸衰竭的新方法。

[0088] 特别地,本发明涉及如SEQ ID NO:1 (AF)所示的抗分泌因子(AF)蛋白和/或具有等效活性并包含如SEQ ID NO:2 (AF-6)所示的氨基酸序列的共同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐、和/或食品和/或食品补充剂(富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其共同系物和/或其片段)用于恢复上皮屏障功能和/或使上皮屏障功能正常化以用于治疗、改善和/或预防急性呼吸衰竭的用途。

[0089] 上皮屏障功能

[0090] 血液与肺泡气之间的扩散屏障是由肺细胞的减毒细胞质、毛细血管内皮细胞的基底膜和薄细胞质构成的。

[0091] 肺泡上皮由I型肺细胞和II型肺细胞构成,两者均位于基底膜上,II型肺细胞有助于间质组织并包含一部分间质液。II型肺细胞的主要功能是形成和分泌表面活性物质。

[0092] 上皮细胞的紧密连接可被破坏,导致间质液、蛋白质甚至细胞泄漏到肺泡,从而损害呼吸。

[0093] 在急性呼吸衰竭中,肺的上皮屏障功能受损,因此产生增加的毛细血管通透性,导致肺泡内液体积聚。BPD、ARDS和IRDS的特征是毛细血管内皮和肺泡上皮受损,这与从肺泡腔中去除液体的能力受损以及肺泡内部富含蛋白质的液体积聚相关联。

[0094] 本发明首次描述了AF用于恢复上皮细胞屏障和/或使上皮细胞屏障正常化的用途,从而有效地恢复和/或正常化患有急性呼吸衰竭(例如但不限于BPD、IRDS和/或ARDS、急性ARDS、严重ARDS、急性肺水肿和间质性肺水肿)的患者的上皮屏障功能。

[0095] 如实施例1所示,用静脉内输注(iv)肽AF-16处理的具有实验诱导的ARDS的成年猪显示出显著减少的肺泡和间质组织中的液体的有害积聚(图3)。此外,有益效果在1小时内即可证实,并且显著持续至少4小时。

[0096] 实施例1进一步证明,与用媒介物处理的参考动物所记录的相比,AF-16处理减少了由诱导的创伤性肺损伤引起的结构异常,并且证明就心血管参数(包括血压和心率)而言,未显示出不良副作用。

[0097] 可得到的结果有力地表明,AF-16处理对急性呼吸衰竭的心输出量具有统计学上

显著的有益效果(图4)。

[0098] 因此,本发明主要涉及呼吸系统和心血管系统的治疗。

[0099] 在呼吸系统中,最重要的是通过厚度在十分之几微米的范围内的组织将呼吸的空气与血液和间质液分开,以能够足够地摄取和交换氧气和二氧化碳。对于包括肺泡的呼吸道的适当的正常(即健康)功能,仅允许最少量的液体。因此,大量的不利医学病况与肺泡中液体量的有害增加有关,该肺泡中液体量的有害增加损害呼吸并最终导致窒息和/或淹溺,这是心源性的(例如由于心梗和其他心肌病、严重的张力亢进、急性失代偿性心力衰竭)或非心源性的(例如ARF、肺部创伤、ARDS、IRDS、BPD、吸入性损伤、脓毒症、肺炎、体液超量、淹溺、肾脏疾病、肝病、神经源性疾病(例如脑出血、中风、脑外伤))。

[0100] 液体泄漏到肺泡和液体的积聚阻碍了呼吸和氧合,并由于肺部血液的循环和积聚受到扰乱而进一步增加心脏的负担,这与严重的发病率和死亡率高相关。长期缺氧和高碳酸血症经常导致存活的患者持续神经精神病学不良症状和神经功能缺损。因此,长期的结果可严重损害生活质量并缩短寿命。目前可用的治疗建议主要是对症的,这些治疗仅在有限程度上减少了肺泡和呼吸道中液体、碎屑和炎性细胞的危险积聚。

[0101] 已经研究了抗分泌因子(AF)蛋白、肽、具有等效功能活性的其衍生物、共同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐在上述条件下对肺和呼吸系统肺外部分中的液体的病理性积聚的有益作用。

[0102] 总的来说,本发明涉及令人惊讶的见解,即抗分泌因子(AF)显著消解呼吸系统中液体的积聚(图3),并对心血管系统发挥有益作用(图4)。当前没有已知的其他药物减少呼吸系统(包括关键的肺泡)中的液体积聚。

[0103] 因此,本发明涉及令人惊讶的发现,即AF可以有效地调节和/或正常化扰动的和/或病理性的细胞中的所述跨细胞液体转移的异常活性,从而有效地使受影响的组织和/或器官的生命至关重要的上皮屏障功能正常化。

[0104] 因此,本发明涉及如SEQ ID NO:1(AF)所示的抗分泌因子(AF)蛋白和/或具有等效活性并包含如SEQ ID NO:2(AF-6)所示的氨基酸序列的共同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐、和/或食品和/或食品补充剂(被富含和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其共同系物和/或其片段)的用途,其中,通过恢复上皮细胞屏障功能和/或内皮细胞屏障功能和/或使上皮细胞屏障功能和/或内皮细胞屏障功能正常化,上皮屏障功能和/或内皮屏障功能被恢复和/或正常化,从而用于治疗 and/或预防急性呼吸衰竭。

[0105] 抗分泌因子

[0106] 抗分泌因子是一类体内天然存在的蛋白质。人抗分泌因子AF蛋白是当从脑垂体分离时包含382个至288个氨基酸的41kDa蛋白。关于对根据本发明的恢复和/或正常化上皮细胞屏障功能的有益作用的活性位点可以定位于接近蛋白的N末端部分的区域中的蛋白,特别地它可以定位于SEQ ID NO:1的氨基酸1-163,更具体地定位于抗分泌因子(AF)蛋白序列上的氨基酸位置35-50。已经显示AF的生物效应由包含所述共有序列的至少6个氨基酸(对应于SEQ ID NO:2(AF-6))或其不改变多肽和/或肽的功能的修饰的任何肽或多肽来发挥。

[0107] 本发明人已经表明抗分泌因子在一定程度上与蛋白质S5a和Rpn10是同系的,所述蛋白质S5a和Rpn10构成所有细胞、更具体在19S/PA 700帽中的主要成分26S蛋白酶体的亚基。在本发明中,抗分泌因子(AF)蛋白被定义为一类具有相同功能性质的同系物蛋白。抗分

泌因子还与安吉西丁 (angiocidin) 相似,安吉西丁是已知结合至血小板反应蛋白-1并与癌症进展相关的另一种蛋白同工型。

[0108] 根据本发明的抗分泌因子 (AF) 蛋白和/或肽的同系物和片段都具有类似的生物活性。在本文的上下文中,同系物和片段包含对应于天然存在的抗分泌因子 (AF) 蛋白的那些氨基酸的至少6个氨基酸 (如SEQ ID NO:2所示),其可通过改变一个或多个氨基酸进一步地被修饰以优化抗分泌因子的生物活性而不改变多肽和/或肽的基本功能。

[0109] 根据本发明的抗分泌因子片段和/或衍生物可包含N末端保护基团和/或C末端保护基团。N末端保护基团的一个实例包括乙酰基。C末端保护基团的一个实例包括酰胺。

[0110] 此外,与根据本发明的抗分泌因子 (AF) 蛋白、肽、同系物、衍生物和/或片段的氨基酸序列具有至少70%的同一性 (例如具有至少72%、75%、77%、80%、82%、85%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性) 的任何氨基酸序列也被认为在本发明的范围内。

[0111] 具有与参考氨基酸序列至少例如95%的同一性的氨基酸序列的蛋白、其同系物、其肽和/或其片段意指例如肽的氨基酸序列与参考序列相同,除了所述氨基酸序列可包括参考氨基酸序列的每100个氨基酸至多5个点突变之外。也就是说,为了获得具有与参考氨基酸序列至少95%的同一性的氨基酸序列的多肽,参考序列中至多5%的氨基酸可缺失或用另一种氨基酸取代,或者多个氨基酸、至多5%的参考序列中的全部氨基酸可插入到参考序列中。参考序列的这些突变可在参考氨基酸序列的氨基或羧基末端位置发生,或在这些末端位置之间的任何位置 (在参考序列的任何单独散布的氨基酸之间) 发生,或者在参考序列内的一个或多个连续基团中发生。

[0112] 在本发明中,局部算法程序最适合测定同一性 (identity)。局部算法程序 (例如 Smith Waterman) 将一条序列中的亚序列与第二序列中的亚序列进行比较,并且找到亚序列的组合以及这些亚序列的比对,这产生最高整体相似性得分。如果允许,则对内部空位罚分。局部算法在比较两个具有共有的单个结构域或仅仅结合位点的多结构域蛋白方面运作良好。

[0113] 测定同一性和相似性的方法被编码在公开可用的程序中。优选的测定两条序列之间的同一性和相似性的计算机程序方法包括但不限于GCG程序包 (Devereux, J等 (1994)) BLASTP、BLASTN和FASTA (Altschul, S.F. 等 (1990))。BLASTX程序是从NCBI和其它来源公开可用的 (BLAST手册, Altschul, S.F. 等, Altschul, S.F. 等 (1990))。每个序列分析程序具有默认的得分矩阵和默认的空位罚分。通常,分子生物学家将预期使用由使用的软件程序确立的默认设置。

[0114] 如本文所定义的抗分泌因子 (AF) 蛋白或肽或具有等效活性的其同系物和/或其片段可以包含6个氨基酸或更多个氨基酸,例如6个至16个氨基酸,例如6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个或20个氨基酸或更多个氨基酸。在其它优选的实施方式中,抗分泌因子由42个、43个、45个、46个、51个、80个、128个、129个或163个氨基酸构成。在优选的实施方式中,根据本发明的抗分泌因子 (AF) 蛋白、其同系物、其肽和/或其片段由6个、7个、8个或16个氨基酸构成。

[0115] 根据本发明的抗分泌因子 (AF) 蛋白、其同系物、其肽和/或其片段可以在体内或体外产生,例如重组地、合成地和/或以化学方法合成,和/或从抗分泌因子的天然存在的来源

(例如从猪脑垂体或鸟蛋)分离。在产生后,根据本发明的抗分泌因子(AF)蛋白、其同系物、其肽和/或其片段可例如通过化学裂解或酶促裂解至较小的抗分泌活性片段或者通过氨基酸的修饰进一步处理。当前不可能通过纯化获得纯形式的抗分泌因子(AF)-蛋白。然而如WO 97/08202和WO 05/030246先前所公开的那样,可以重组地或合成地产生生物活性的抗分泌因子蛋白。WO 97/08202还公开了该蛋白的具有7个至80个氨基酸的生物活性片段的产生。

[0116] 根据本发明的抗分泌因子(AF)蛋白、其同系物、其肽和/或其片段还可包含N末端保护基团和/或C末端保护基团。N末端保护基团的一个实例包括乙酰基。C末端保护基团的一个实例包括酰胺。

[0117] 在本发明的优选实施方式中,根据本发明的抗分泌因子(AF)蛋白、其同系物、其肽和/或其片段选自SEQ ID NO 1-6,即VCHSKTRSNPENNVGL(SEQ ID NO 3,在该上下文中也称为AF-16)、IVCHSKTR(SEQ ID NO 5)、VCHSKTR(SEQ ID NO 4)、CHSKTR(SEQ ID NO 2)、HSKTR(SEQ ID NO 6)或根据SEQ ID NO 1的抗分泌因子(AF)蛋白的氨基酸序列,使用常见的一个字母缩写表示氨基酸。它们之前已被公开在例如WO 05/030246中。如所列出的随附的序列表中所指出,上文指出的序列中的一些氨基酸可被其它氨基酸替代。在该段落的下文中,特定氨基酸序列中的特定氨基酸的位置从左计算,表示大部分N-末端氨基酸是在此特定序列中的位置1中。如下文所指出的任何氨基酸取代可独立于此序列中的任何其它氨基酸取代而进行。在SEQ ID NO 3中,位置2中的C可被S所替代,位置3中的H可被R或K所替代,位置4中的S可被L所替代,和/或位置6中的T可被A所替代。在SEQ ID NO 5中,位置3中的C可被S所替代,位置4中的H可被R或K所替代,位置5中的S可被L所替代,和/或位置7中的T可被A所替代。在SEQ ID NO 4中,位置2中的C可被S所替代,位置3中的H可被R或K所替代,位置4中的S可被L所替代,和/或位置6中的T可被A所替代。在SEQ ID NO 2中,位置1中的C可被S所替代,位置2中的H可被R或K所替代,位置3中的S可被L所替代,和/或位置5中的T可被A所替代。在SEQ ID NO 6中,位置1中的H可被R或K所替代,位置2中的S可被L所替代,和/或位置4中的T可被A所替代。

[0118] 本发明还意在根据SEQ ID NO:1-6的任何片段/肽中的两者或更多者的组合。

[0119] 根据本发明待被使用的和/或由本发明所包括的特定的抗分泌因子(AF)蛋白或肽选自由包含如SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的抗分泌因子(AF)蛋白、包含如SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的抗分泌因子(AF)蛋白、包含如SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的抗分泌因子(AF)蛋白、包含如SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列的抗分泌因子(AF)蛋白、和包含如SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列的抗分泌因子(AF)蛋白组成的组。

[0120] 此外,在另一个实施方式中,本发明涉及抗分泌因子(AF)蛋白(所述抗分泌因子(AF)蛋白是具有如SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的蛋白质)或者包含SEQ ID NO:1的氨基酸37-42的其同系物、其衍生物和/或其片段的用途。

[0121] 在另一个实施方式中,本发明涉及如本文所公开的药物组合物的用途,所述药物组合物包含选自如SEQ ID NO:1-6所公开的蛋白质、和SEQ ID NO:1所公开的蛋白质、或包含SEQ ID NO:1的氨基酸37-42的其同系物、其衍生物和/或其片段、或如本文所述的通式公开的序列中的两种或更多种抗分泌因子(AF)蛋白。所述序列全部同样优选用于本发明中。

[0122] WO 00/038535公开了被富含和/或天然富含抗分泌因子(AF)蛋白的食物产品,其是本文的上下文所用的适合的食品、食料和/或食品补充剂的实例。在本上下文中使用的

另一个实例是蛋黄,其包含至少0.05ng/ml的具有如SEQ ID NO:3和/或SEQ ID NO:4中公开的氨基酸序列的抗分泌因子(AF)蛋白片段(例如WO 2017/009004中公开的)。

[0123] 药物组合物

[0124] 在本发明的一个实施方式中,根据本发明的药物组合物还包含药学上可接受的赋形剂。根据本发明使用的药学上可接受的赋形剂及其最佳浓度的选择可以由技术人员通过实验容易地确定。根据本发明使用的药学上可接受的赋形剂包括溶剂、缓冲剂、防腐剂、螯合剂、抗氧化剂和稳定剂、乳化剂、助悬剂和/或稀释剂。本发明的药物组合物可根据常规的制药实践来配制,例如根据“Remington:The science and practice of pharmacy”,第21版,ISBN 0-7817-4673-6或“Encyclopedia of pharmaceutical technology”,第2版,Swarbrick J.编辑,ISBN:0-8247-2152-7。

[0125] 药学上可接受的赋形剂是基本上对于待施用所述组合物的个体无害的物质。此类赋形剂通常满足国家卫生当局规定的要求。官方药典例如英国药典(the British Pharmacopoeia)、美国药典(the United States of America Pharmacopoeia)及欧洲药典(The European Pharmacopoeia)设定了药学上可接受的赋形剂的标准。

[0126] 以下是根据本发明的药物组合物中任选使用的相关组合物的评论。所述评论基于特定施用途径。然而,应理解在可以以不同的剂型或组合物使用药学上可接受的赋形剂的那些情况下,特定药学上可接受的赋形剂的应用不限于特定剂型或具有赋形剂的特定功能。应当强调的是本发明不限于以下提到的组合物的使用。

[0127] 胃肠外组合物:

[0128] 对于全身给药,根据本发明的组合物可含有常规的无毒性的药学上可接受的载体和赋形剂,包括微球和微脂体。

[0129] 根据本发明使用的组合物可包括所有种类的固体、半固体和流体组合物。

[0130] 药学上可接受的赋形剂可包括溶剂、缓冲剂、防腐剂、螯合剂、抗氧化剂和稳定剂、乳化剂、助悬剂和/或稀释剂。不同试剂的实例在下文给出。

[0131] 各种试剂的实例:

[0132] 溶剂的实例包括但不限于水、醇、血液、血浆、脑脊液、腹水和淋巴液。

[0133] 缓冲剂的实例包括但不限于柠檬酸、乙酸、酒石酸、乳酸、氢磷酸(hydrogen phosphoric acid)、碳酸氢盐、磷酸盐、二乙酰胺等。

[0134] 螯合剂的实例包括但不限于EDTA和柠檬酸。

[0135] 抗氧化剂的实例包括但不限于丁基化羟基茴香醚(BHA)、抗坏血酸及其衍生物、生育酚及其衍生物、半胱氨酸、及其混合物。

[0136] 稀释剂和崩解剂的实例包括但不限于乳糖、蔗糖、emdex、磷酸钙、碳酸钙、硫酸钙、甘露醇、淀粉和微晶纤维素。

[0137] 粘合剂的实例包括但不限于蔗糖、山梨糖醇、阿拉伯树胶、藻酸钠、白明胶、壳聚糖、淀粉、纤维素、羧甲基纤维素、甲基纤维素、羟丙基纤维素、聚乙烯基吡咯烷酮和聚乙二醇。

[0138] 根据本发明的药物组合物在一种情况下局部施用或者通过静脉内输注或输注到中央血管或与器官相关的血管或导管中,或通过肌肉或皮下注射到患者体内,或者经颊、经肺、经鼻、经皮或经口途径施用。此外,也可以通过外科插入的分流器将药物组合物施用到

患者的脑实质或脑室或神经系统内或周围的空间中。

[0139] 在一个实施方式中,根据本发明使用的药物组合物被配制用于眼内、局部、鼻内、经口、皮肤、皮下和/或全身给药。所选择的给药途径将根据待治疗的患者的情况和患者的年龄和性别等而变化。

[0140] 在优选的实施方式中,本发明的组合物通过施加作为混悬液或甚至更优选地作为用喷雾器、气雾器、吸入器或雾化器经鼻和/或至呼吸道的吸入所用的粉末来施用。

[0141] 包含抗分泌因子的粉末的施用就稳定性和剂量而言具有额外的优势。根据本发明的药物组合物还可以被局部施加、经眼、经鼻、经口、经皮、皮下和/或经由血管全身给药。在优选的实施方式中,药物组合物被配制用于静脉内、肌内、局部、经口或经鼻给药。通常,当用于局部施用至眼睛时,本发明的组合物的施用浓度为以每日单剂量或每日重复若干次(多剂量)的形式每次施用1 μ g至1mg,优选50 μ g至5000 μ g,但不限于此。

[0142] 全身施用至血液,剂量在每次施用且每kg体重0.1 μ g至10mg,例如每次施用且每kg体重0.1 μ g至100mg,优选1至5000 μ g/kg体重、诸如1至10000 μ g/kg体重。当根据本发明使用被富含和/或天然富含抗分泌因子的蛋黄时,该制剂优选通过管和/或喂食管口服施用。

[0143] 在本发明的一个实施方式中,所述药物组合物还包含药学上可接受的赋形剂。此类赋形剂可为经选择适于特定目的的任何优选的赋形剂。赋形剂的实例在本文中公开。

[0144] **Salovum[®]**

[0145] 本发明还涉及被富含和/或天然富含抗分泌因子(AF)蛋白的蛋黄,目前以商标**Salovum[®]**出售,并且涉及该蛋黄用于制备被富含和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段的食品和/或食品补充剂的用途,该食品和/或食品补充剂用于恢复和/或正常化急性呼吸衰竭的发病机制中的上皮屏障功能,例如但不限于治疗患有肺泡和细支气管中液体异常积聚、急性呼吸衰竭、ARDS(急性呼吸窘迫综合征)、IRDS(婴儿呼吸窘迫综合征)、SIRS(全身性炎症反应综合征)、其他严重的全身性炎症疾病和/或心血管肺疾病的患者。

[0146] 本发明还涉及被富含和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段的食品和/或食品补充剂,其中,被富含和/或天然富含所述抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段的所述食品和/或食品补充剂是作为被富含和/或天然富含抗分泌因子的蛋黄(例如如WO 00/038535中公开的富含天然存在的抗分泌因子(NASP)的蛋黄)提供的,用于恢复和/或正常化急性呼吸衰竭(ARF)的发病机制中的上皮屏障功能,例如但不限于治疗患有肺泡和细支气管中液体异常积聚、BPD、ARDS、IRDS、脓毒症、SIRS(全身性炎症反应综合征)、其他严重的全身性炎症疾病和/或心血管肺疾病的患者。

[0147] 本发明还涉及被富含和/或天然富含抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段的食品和/或食品补充剂,其以包含至少0.05ng/ml的具有如SEQ ID NO 3和/或SEQ ID NO 4所公开的氨基酸序列的抗分泌因子(AF)蛋白片段的蛋黄提供(例如在WO 2017/009004中公开),用于恢复和/或正常化急性呼吸衰竭(ARF)的发病机制中的上皮屏障功能,例如但不限于治疗患有肺泡和细支气管中液体异常积聚、BPD、ARDS、IRDS、脓毒症、SIRS(全身性炎症反应综合征)、其他严重的全身性炎症疾病和/或心血管肺疾病的患者。

[0148] 用于本文所描述的用途和通过引用并入本文的被富含和/或天然富含抗分泌因子(AF)蛋白和/或其同系物和/或其片段的蛋黄组合物(例如在WO 00/038535或WO 2017/

009004中公开的)可以作为食品、食品补充剂、药物组合物和/或作为医疗食品提供。

[0149] 治疗方法

[0150] 本发明还涉及急性呼吸衰竭 (ARF) 的治疗,例如但不限于治疗患有肺泡和细支气管中液体异常积聚、BPD、ARDS、IRDS、脓毒症、SIRS和/或心血管肺疾病的患者,所述治疗通过向有需要的患者施用抗分泌因子 (AF) 蛋白和/或其同系物和/或其片段和/或以上物质的药物活性盐和/或食品和/或食品补充剂(被富含和/或天然富含所述抗分泌因子 (AF) 蛋白和/或其同系物和/或其片段),在药物组合物和/或医疗食品中,所述药物组合物和/或医疗食品被配制为以每次施用且每kg体重0.1 μ g至100mg、优选每次施用且每kg体重1 μ g至10000 μ g的剂量向血液全身施用,并且其中,所述施用以单剂量或每日多次施用来进行。

[0151] 本发明还涉及用于治疗、预防和/或预防性治疗急性呼吸衰竭 (ARF) 的方法,例如但不限于治疗患有肺泡和细支气管中液体异常积聚、BPD、ARDS、IRDS、脓毒症、SIRS和/或心血管肺疾病的患者,其中,向有需要的哺乳动物以足够用于恢复和/或正常化上皮细胞屏障功能的量施用如SEQ ID NO:1 (AF) 所示的抗分泌因子 (AF) 蛋白和/或包含如SEQ ID NO:2 (AF-6) 所示的氨基酸序列的同系物和/或其片段、和/或以上物质的药学活性盐、和/或被富含和/或天然富含所述抗分泌因子 (AF) 蛋白和/或其同系物和/或其片段的食品和/或食品补充剂。

[0152] 本发明还涉及用于治疗、预防和/或预防性治疗急性呼吸衰竭 (ARF) 的方法,例如但不限于治疗患有肺泡和细支气管中液体异常积聚、BPD、ARDS、IRDS、脓毒症、SIRS和/或心血管肺疾病的患者。

[0153] 实验部分

[0154] 实施例1

[0155] 基于呼吸道灌洗和有害通气的ARDS模型

[0156] 背景

[0157] 该实验的目的是阐明对具有用实验诱导的ARDS的成年猪施用的肽AF-16的作用。

[0158] 实验设置

[0159] 在伦理批准后,从当地农场购买总计12只3个月大的猪(体重30kg至35kg),并于实验当天早上分6次每次将2只猪带到实验室。平行使用两只猪,一只随机分配用AF-16处理,而另一只使用媒介物无菌盐水。抵达后,将猪镇静,然后在整个实验过程中将其保持完全麻醉,直到当天晚些时候终止。进行气管造口术,并使用呼吸机机械通气。这种设置在图1中可见。管位于动脉、静脉中以及通过静脉也位于右心中。将设备植入以能够使用PiCCO仪器(脉搏指数,连续心输出量=PiCCO),以便能够准确测定肺中的总血量、血管外肺水 (EVLW) 和心脏功能参数。将血压传感器插入肺动脉和中央动脉中。每隔一定时间检查动脉血气和其他血液参数。用血氧定量法测定动脉血中的血红蛋白氧饱和度。核心体温自动保持在期望的正常水平。记录EKG。所有仪器都连接到重症监护控制面板和计算机,以能够连续记录和检索保存的数据。在严格控制下通过静脉 (iv) 输液以避免水合过度。规定的预防措施和处理保持动物情况良好。

[0160] 在稳定后,通过在支气管树中冲洗温度可控的盐水诱发肺损伤,从而引起表面活性物质消耗和有萎陷倾向的肺。随后是1小时的有害通气(即具有高吸气和低端呼气气道压力的通气),在肺泡水平造成创伤肺损害。有关机械通气的参数借助呼吸机调节。在1小时

内,肺泡中积聚的液体量增加,即使在早期,这也严重降低氧气的摄取并阻碍二氧化碳的排出。

[0161] 在诱导肺损伤后(即在有害通气后)开始使用肽AF-16或媒介物治疗。在10分钟内,将溶于盐水的AF-16静脉输注到参与每个实验和一天的两只猪中的一者。第二只猪同时输注媒介物。参与实验的实验室人员不知道是哪只动物得到待测的药物,哪只动物得到媒介物,并且直到所有实验后该编码才可用。输注测试物质后每小时测定一次PiCCO值直到4小时。最终终止实验,将动物安乐死并进行尸检。

[0162] PiCCO系统用于高精度测量血管外肺水(EVLW),这是存在于肺泡和间质组织中的水,排除肺血量。肺泡内腔中的液体的存在减少每个肺泡中的空气量,并进一步增加距离,从而阻碍甚至消除呼吸空气与肺毛细血管中血液之间的氧气/二氧化碳交换,尤其导致低氧血症。水肿本身也将加剧呼吸机诱导的肺损伤和炎症(呼吸机将通过传递至肺的正压来诱导肺损伤),并引发恶性循环,该恶性循环加剧炎症和发生脓毒症的可能性。然后,这种炎症反应将全身地扩散,并导致多个器官和组织中的细胞死亡。实际上,ARDS最常见的死亡原因是由于该原因引起的多器官衰竭。

[0163] 结果

[0164] (见图3)

[0165] 通过PiCCO系统测定,在实验开始时,EVLW体积为约330ml(用AF-16处理的6只猪和用媒介物的6只猪的平均值)。猪的平均体重约为35kg。

[0166] 通过用温和的盐水冲洗呼吸道来诱导肺损害,导致在1小时后EVLW增加到500ml至520ml,如打算用AF-16处理的6只猪和仅得到媒介物的6只猪测定的。

[0167] 输注2mg/kg体重的AF-16导致在1小时内降低的EVLW,降低至460ml,这在统计学上显著不同于媒介物处理的6只猪可证明的510mL EVLW。

[0168] 在AF-16输注后2小时,用AF-16处理的6只猪的平均EVLW降低至430ml,这与媒介物组测量的505mL是显著不同的。

[0169] 在用AF-16处理后3小时,这6只猪的EVLW量甚至更低(420ml),这与媒介物组测量的500mL是显著不同的。

[0170] 在4小时后,经AF-16处理的猪的EVLW含量为400ml,与经媒介物处理的480ml的EVLW含量仍是显著不同的。

[0171] 在诱导肺损害后5小时并在4小时内单次输注AF-16或媒介物(盐水)处理后在尸检时对猪的肺拍照。照片如图2所示。经AF-16处理的肺表现出接近正常的外观,左右肺叶均出血最少。相反,经媒介物处理的6只猪的肺表现出广泛的肺不张和出血,使组织变色,双侧看起来是深色的。经媒介物处理的肺的上部的仅有限区域具有正常外观,表明媒介物肺的功能能力受限。经媒介物处理的肺变得重和肿胀,导致胸腔的压力出血模式变得可见(图3)。

[0172] 此外,在用AF-16处理的ALI猪中,心输出量(CO)几乎保持与初始基线值在相同的水平(图4)。相反,媒介物输注使CO保持在相当低的水平。增加的CO可以解释为是因为较少的肺水肿导致的正常化的肺血管阻力。在该模型中,肺水肿导致肺泡血管受压和肺血管收缩增加,从而增加了肺血管阻力并损害了通过肺的流动,从而损害了CO。

[0173] 结论

[0174] 主要结论是,静脉内输注肽AF-16显著减少用实验方法损伤的肺中的肺泡和间质组织中液体的有害积聚,并且有益作用在1小时内即可表明并且持续至少3至4小时。

[0175] 关于心血管参数(包括血压和心率),未显示出不良副作用。

[0176] 可得到的结果表明AF-16对心输出量的有益作用,即改善了心脏功能。该观察是很重要的,因为右心衰竭在急性肺部疾病中并不罕见。

[0177] 参考文献

[0178] 1.Lange,S.,和Lönnerth,I.2001.The antisecretory factor:synthesis, anatomical and cellular distribution,and biological action in experimental and clinical studies.Int.Rev.Cytol.210,39-75.

[0179] 2.H.-A.Hansson,M.Al-Olama,E.Jennische,K.Gatzinsky和S.Lange(2012).The peptide AF-16and the AF protein counteract intracranial hypertension.Acta Neurochir.Suppl.114,377-382.

[0180] 3.Remington:The science and practice of pharmacy”,第21版,ISBN0-7817-4673-6或“Encyclopedia of pharmaceutical technology”,第2版,Swarbrick J.编辑,ISBN:0-8247-2152-7.

[0181] 4.WO 97/08202

[0182] 5.WO 05/030246

[0183] 6.WO 97/08202

[0184] 7.WO 97/08202

[0185] 8.WO 98/21978

[0186] 9.WO 00/038535

[0187] 10.WO 05/030246

[0188] 11.WO 07/126364

[0189] 12.WO 07/126363

[0190] 13.WO 07/126365

[0191] 14.WO 2010/093324

[0192] 15.Sakka S.G.Extravascular lung water in ARDS patients.Minerva Anesthesiol.2013;79:274-284.

[0193] 16.Singer M,Deutschman C S,Seymore C W等,The third international consensus definitions for sepsis and septic shock[Sepsis-3].JAMA 2016;315:801-810.

[0194] 17.Calfee等,Trauma-associated lung injury differs clinically and biologically from acute lung injury due to other clinical disorders,Crit Care Med.2009.

[0195] 18.Claesson J,Freundlich M,Gunnarsson I,Laake JH, Möller M H,等,Scandinavian clinical practice guideline on fluid and drug therapy in adults with acute respiratory distress syndrome.Acta Anaesth Scand 2016;60:697-709.

[0196] 19.Huppert LA和Matthay MA.Alveolar Fluid Clearance in Pathologically Relevant Conditions:In Vitro and In Vivo Models of Acute Respiratory Distress

Syndrome.Front.Immunol.2017;8:371.doi:10.3389/fimmu.2017.00371.

[0197] 20.Altschul,S.F.,Gish,W.,Miller,W.,Myers,E.w.,Lipman,D.J.Basic local alignment search tool.Journal of Molecular Biology 1990;215/3:403-410.

[0001]	序列表															
[0002]	<110> 兰特门内医疗公司															
[0003]	<120> 抗分泌因子在治疗和/或预防急性呼吸衰竭中的用途															
[0004]	<130> PS55201SE00															
[0005]	<160> 6															
[0006]	<170> Windows FastSEQ 版本 4.0															
[0007]	<210> 1															
[0008]	<211> 382															
[0009]	<212> PRT															
[0010]	<213> 人															
[0011]	<400> 1															
[0012]	Met	Val	Leu	Glu	Ser	Thr	Met	Val	Cys	Val	Asp	Asn	Ser	Glu	Tyr	Met
[0013]	1				5					10					15	
[0014]	Arg	Asn	Gly	Asp	Phe	Leu	Pro	Thr	Arg	Leu	Gln	Ala	Gln	Gln	Asp	Ala
[0015]				20					25					30		
[0016]	Val	Asn	Ile	Val	Cys	His	Ser	Lys	Thr	Arg	Ser	Asn	Pro	Glu	Asn	Asn
[0017]			35					40					45			
[0018]	Val	Gly	Leu	Ile	Thr	Leu	Ala	Asn	Asp	Cys	Glu	Val	Leu	Thr	Thr	Leu
[0019]		50					55					60				
[0020]	Thr	Pro	Asp	Thr	Gly	Arg	Ile	Leu	Ser	Lys	Leu	His	Thr	Val	Gln	Pro
[0021]	65					70					75				80	
[0022]	Lys	Gly	Lys	Ile	Thr	Phe	Cys	Thr	Gly	Ile	Arg	Val	Ala	His	Leu	Ala
[0023]				85						90					95	
[0024]	Leu	Lys	His	Arg	Gln	Gly	Lys	Asn	His	Lys	Met	Arg	Ile	Ile	Ala	Phe
[0025]			100						105					110		
[0026]	Val	Gly	Ser	Pro	Val	Glu	Asp	Asn	Glu	Lys	Asp	Leu	Val	Lys	Leu	Ala
[0027]			115						120				125			
[0028]	Lys	Arg	Leu	Lys	Lys	Glu	Lys	Val	Asn	Val	Asp	Ile	Ile	Asn	Phe	Gly
[0029]		130					135					140				
[0030]	Glu	Glu	Glu	Val	Asn	Thr	Glu	Lys	Leu	Thr	Ala	Phe	Val	Asn	Thr	Leu
[0031]	145					150					155				160	
[0032]	Asn	Gly	Lys	Asp	Gly	Thr	Gly	Ser	His	Leu	Val	Thr	Val	Pro	Pro	Gly
[0033]				165						170					175	
[0034]	Pro	Ser	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Ile	Ser	Ser	Pro	Ile	Leu	Ala	Gly	Glu
[0035]			180							185				190		
[0036]	Gly	Gly	Ala	Met	Leu	Gly	Leu	Gly	Ala	Ser	Asp	Phe	Glu	Phe	Gly	Val
[0037]			195					200					205			
[0038]	Asp	Pro	Ser	Ala	Asp	Pro	Glu	Leu	Ala	Leu	Ala	Leu	Arg	Val	Ser	Met

[0039]	210	215	220
[0040]	Glu Glu Gln Arg His Ala Gly Gly Gly Ala Arg Arg Ala Ala Arg Ala		
[0041]	225	230	235 240
[0042]	Ser Ala Ala Glu Ala Gly Ile Ala Thr Thr Gly Thr Glu Asp Ser Asp		
[0043]	245	250	255
[0044]	Asp Ala Leu Leu Lys Met Thr Ile Ser Gln Gln Glu Phe Gly Arg Thr		
[0045]	260	265	270
[0046]	Gly Leu Pro Asp Leu Ser Ser Met Thr Glu Glu Glu Gln Ile Ala Tyr		
[0047]	275	280	285
[0048]	Ala Met Gln Met Ser Leu Gln Gly Ala Glu Phe Gly Gln Ala Glu Ser		
[0049]	290	295	300
[0050]	Ala Asp Ile Asp Ala Ser Ser Ala Met Asp Thr Ser Glu Pro Ala Lys		
[0051]	305	310	315 320
[0052]	Glu Glu Asp Asp Tyr Asp Val Met Gln Asp Pro Glu Phe Leu Gln Ser		
[0053]	325	330	335
[0054]	Val Leu Glu Asn Leu Pro Gly Val Asp Pro Asn Asn Glu Ala Ile Arg		
[0055]	340	345	350
[0056]	Asn Ala Met Gly Ser Leu Pro Pro Arg Pro Pro Arg Thr Ala Arg Arg		
[0057]	355	360	365
[0058]	Thr Arg Arg Arg Lys Thr Arg Ser Glu Thr Gly Gly Lys Gly		
[0059]	370	375	380
[0060]	<210> 2		
[0061]	<211> 6		
[0062]	<212> PRT		
[0063]	<213> 人工序列		
[0064]	<220>		
[0065]	<221> 变体		
[0066]	<222> 5		
[0067]	<223> 可被A所替代		
[0068]	<221> 变体		
[0069]	<222> 2		
[0070]	<223> 可被R或K所替代		
[0071]	<221> 变体		
[0072]	<222> 3		
[0073]	<223> 可被L所替代		
[0074]	<221> 变体		
[0075]	<222> 1		
[0076]	<223> 可被S所替代		
[0077]	<400> 2		

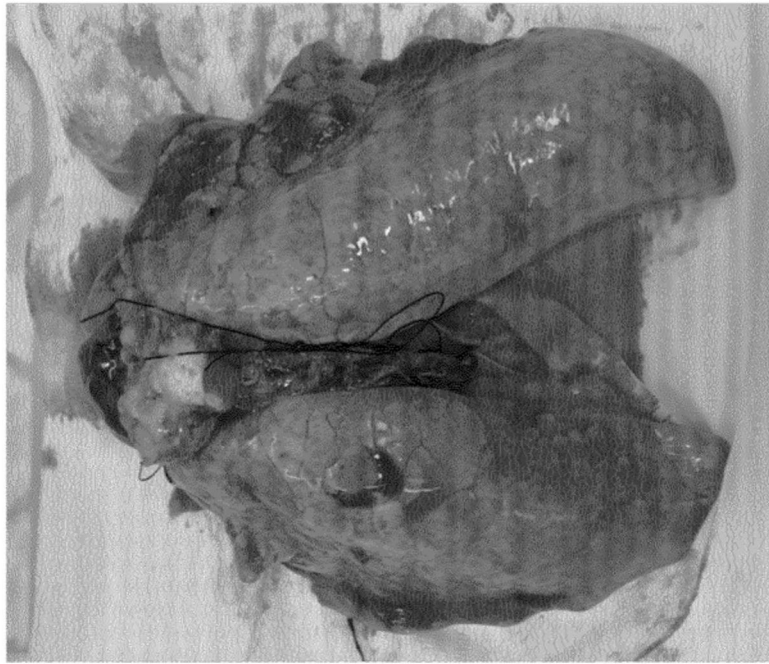
[0078]	Cys His Ser Lys Thr Arg
[0079]	1 5
[0080]	<210> 3
[0081]	<211> 16
[0082]	<212> PRT
[0083]	<213> 人工序列
[0084]	<220>
[0085]	<221> 变体
[0086]	<222> 6
[0087]	<223> 可被A所替代
[0088]	<221> 变体
[0089]	<222> 3
[0090]	<223> 可被R或K所替代
[0091]	<221> 变体
[0092]	<222> 4
[0093]	<223> 可被L所替代
[0094]	<221> 变体
[0095]	<222> 2
[0096]	<223> 可被S所替代
[0097]	<400> 3
[0098]	Val Cys His Ser Lys Thr Arg Ser Asn Pro Glu Asn Asn Val Gly Leu
[0099]	1 5 10 15
[0100]	<210> 4
[0101]	<211> 7
[0102]	<212> PRT
[0103]	<213> 人工序列
[0104]	<220>
[0105]	<221> 变体
[0106]	<222> 6
[0107]	<223> 可被A所替代
[0108]	<221> 变体
[0109]	<222> 3
[0110]	<223> 可被R或K所替代
[0111]	<221> 变体
[0112]	<222> 4
[0113]	<223> 可被L所替代
[0114]	<221> 变体
[0115]	<222> 2
[0116]	<223> 可被S所替代

[0117]	<400> 4
[0118]	Val Cys His Ser Lys Thr Arg
[0119]	1 5
[0120]	<210> 5
[0121]	<211> 8
[0122]	<212> PRT
[0123]	<213> 人工序列
[0124]	<220>
[0125]	<221> 变体
[0126]	<222> 7
[0127]	<223> 可被A所替代
[0128]	<221> 变体
[0129]	<222> 4
[0130]	<223> 可被R或K所替代
[0131]	<221> 变体
[0132]	<222> 5
[0133]	<223> 可被L所替代
[0134]	<221> 变体
[0135]	<222> 3
[0136]	<223> 可被S所替代
[0137]	<400> 5
[0138]	Ile Val Cys His Ser Lys Thr Arg
[0139]	1 5
[0140]	<210> 6
[0141]	<211> 5
[0142]	<212> PRT
[0143]	<213> 人工序列
[0144]	<220> 活性肽
[0145]	<221> 变体
[0146]	<222> 1
[0147]	<223> 可被R或K所替代
[0148]	<221> 变体
[0149]	<222> 2
[0150]	<223> 可被L所替代
[0151]	<221> 变体
[0152]	<222> 4
[0153]	<223> 可被A所替代
[0154]	<400> 6
[0155]	His Ser Lys Thr Arg

[0156]	1	5
--------	---	---



图1



2A



2B

图2

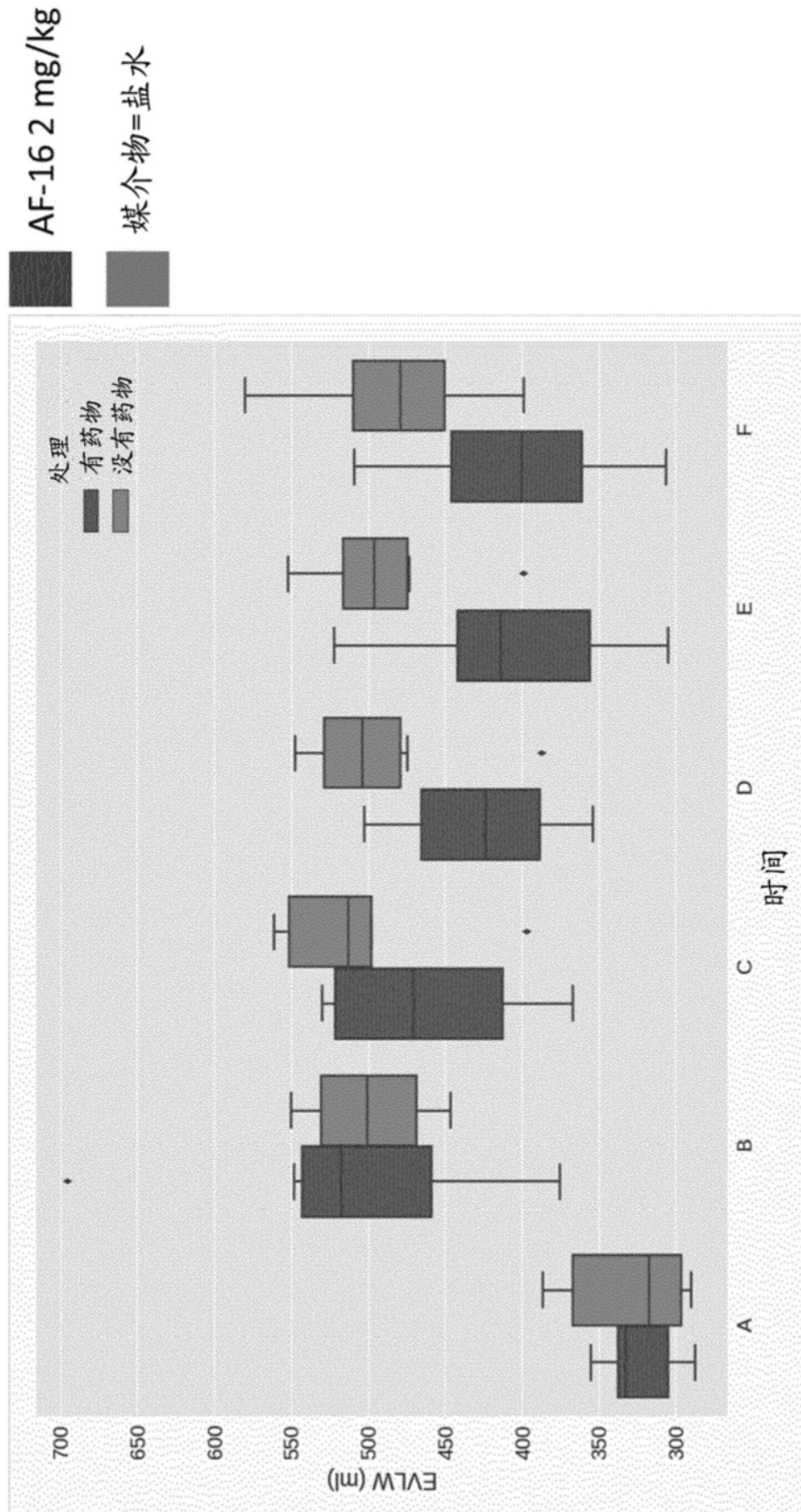


图3

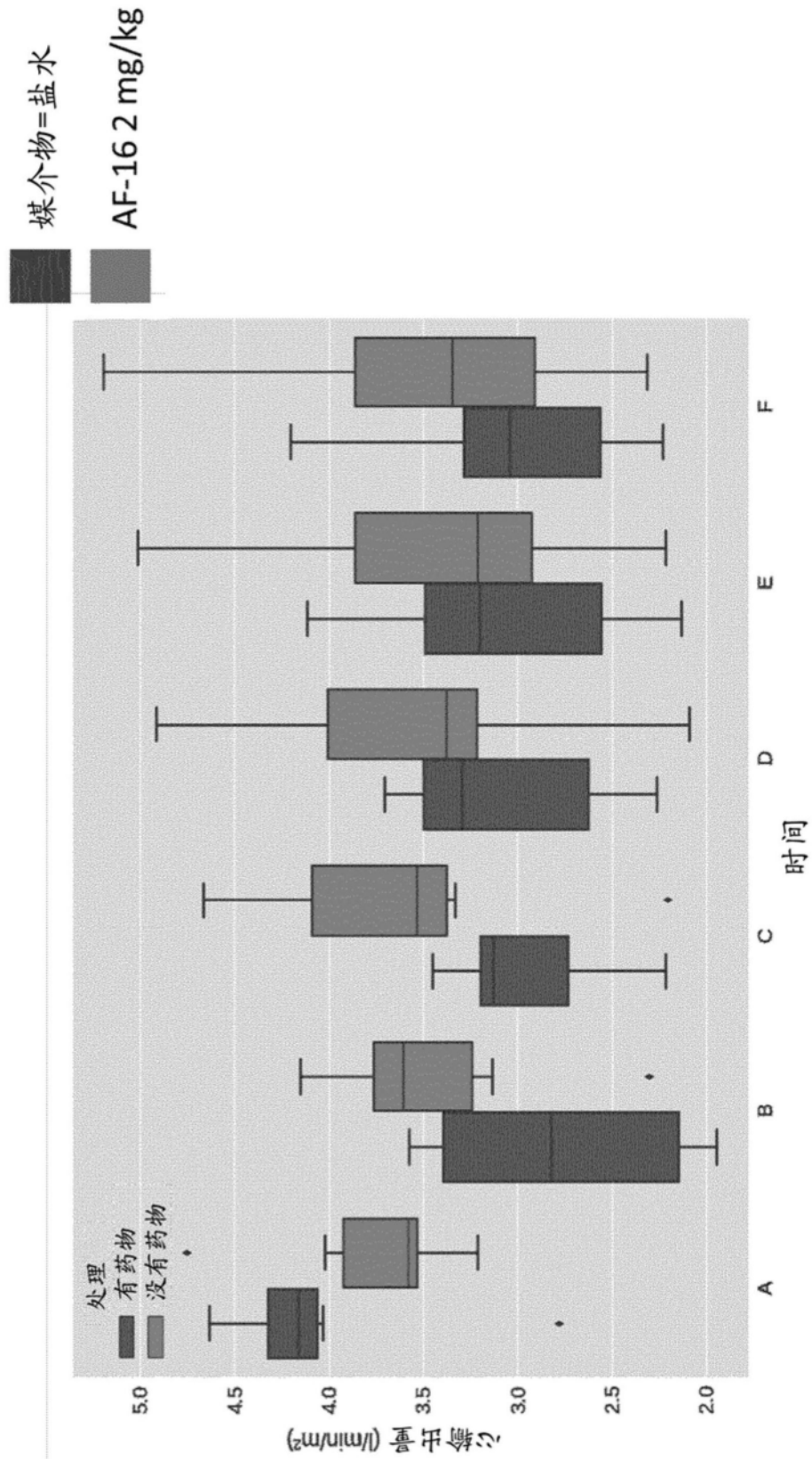


图4