[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 45/00 (2006.01)
C12P 7/20 (2006.01)
A61K 47/44 (2006.01)

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580038874.5

[43] 公开日 2007 年 10 月 17 日

[11] 公开号 CN 101056656A

[22] 申请日 2005.9.15
[21] 申请号 200580038874.5
[30] 优先权
[32] 2004. 9.15 [33] US [31] 60/610,093
[86] 国际申请 PCT/US2005/032841 2005.9.15
[87] 国际公布 WO2006/031931 英 2006.3.23
[85] 进入国家阶段日期 2007.5.14
[71] 申请人 哈佛大学校长及研究员协会
地址 美国麻萨诸塞州
[72] 发明人 G·S·霍塔米斯利吉尔
U·奥兹坎

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 刘 冬 黄可峻

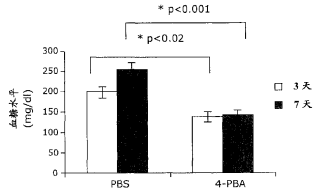
权利要求书 8 页 说明书 72 页 附图 22 页

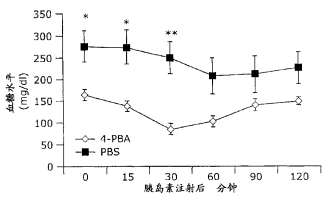
[54] 发明名称

在治疗肥胖症和糖尿病中降低 ER 应力

[57] 摘要

已发现内质网应力与肥胖症有关。 因此，降低或抑制 ER 应力的药物可用于治疗与肥胖症有关的疾病，包括外周胰岛素抗性、高血糖症和 2 型糖尿病。 已显示降低 ER 应力和降低血糖水平的两种化合物包括 4 - 苯基丁酸(PBA)、牛熊去氧胆酸(TUDCA)和三甲胺 N - 氧化物(TMAO)。 用于降低 ER 应力的其它化合物是化学陪伴分子，如三甲胺 N - 氧化物和甘油。 本发明提供使用 ER 应力减低剂(如 PBA、TUDCA 和 TMAO)治疗患有下列疾病的患者的方法：肥胖症、高血糖症、2 型糖尿病或胰岛素抗性。 本发明还提供通过在 ER 加压细胞中鉴定降低 ER 应力标记药物来筛选 ER 应力减低剂的方法。 这些药物可在治疗与肥胖症有关的疾病的方法和组合物中发现用途。





1. 一种治疗或预防选自肥胖症、胰岛素抗性、高血糖症和 2 型糖尿病的病症的方法，该方法包括给予动物已知降低 ER 应力的药物。

2. 权利要求 1 的方法，它还包括给予选自抗糖尿病剂、减肥药、抗血脂紊乱剂、抗动脉粥样硬化剂和抗高血压剂的药物。

3. 权利要求 2 的方法，其中所述抗糖尿病剂选自：双胍类、二甲双胍、磺酰脲类、胰岛素、胰岛素类似物、PPARg 激动剂、氯茴苯酸类和 DPP-IV 抑制剂。

4. 权利要求 2 的方法，其中所述减肥药选自：胰脂肪酶抑制剂、5-羟色胺再摄取抑制剂、去甲肾上腺素再摄取抑制剂、去甲肾上腺素能减食欲剂、外周作用剂、中枢作用剂以及热量生成剂。

5. 权利要求 2 的方法，其中所述抗血脂紊乱剂或抗动脉粥样硬化剂选自：HMG-CoA 还原酶抑制剂、烟酸、抗血小板剂、ACE 抑制剂、阿司匹林、阿司匹林类似物和 MCP-1 抑制剂。

6. 权利要求 2 的方法，其中抗高血压剂选自：利尿剂、β-阻滞剂、Ca^{+2} 通道阻滞剂、ACE 抑制剂和 AT-II 抑制剂。

7. 权利要求 1 的方法，其中所述病症为胰岛素抗性。

8. 权利要求 1 的方法，其中所述病症为 2 型糖尿病。

9. 权利要求 1 的方法，其中所述病症为肥胖症。

10. 权利要求 1 的方法，其中所述动物为哺乳动物。

11. 权利要求 1 的方法，其中所述动物为人。

12. 权利要求 1 的方法，其中所述给药步骤包括口服给予药物。

13. 权利要求 1 的方法，其中所述给药步骤包括经注射给予药物。

14. 权利要求 1 的方法，其中所述给药步骤包括静脉内给予药物。

15. 权利要求 1 的方法，其中所述药物为化学陪伴分子。

16. 权利要求 15 的方法，其中所述化学陪伴分子选自：甘油、D_2O、二甲亚砜(DMSO)、甘氨酸三甲铵乙内酯(甜菜碱)、甘油磷酸胆碱(GPC)、甲胺类和三甲胺 N-氧化物(TMAO)。

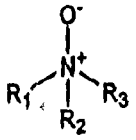
17. 权利要求 1 的方法，其中所述药物为甘油。

18. 权利要求 1 的方法，其中所述药物为甘油的衍生物。

19. 权利要求 1 的方法，其中所述药物为三甲胺 N-氧化物(TMAO)。

20. 权利要求 1 的方法，其中所述药物为三甲胺N-氧化物(TMAO)的盐的衍生物。

21. 权利要求 1 的方法，其中所述药物，或其药学上可接受的盐或其混合物具有下式:



其中

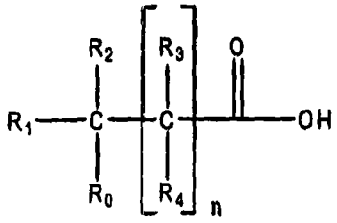
R_1、R_2和R_3独立为氢、卤素或低级 C_1-C_6烷基。

22. 权利要求 21 的方法，其中 R_1、R_2和 R_3独立为低级 C_1-C_6烷基。

23. 权利要求 1 的方法，其中所述药物为苯基丁酸(PBA)。

24. 权利要求 1 的方法，其中所述药物是 PBA 的衍生物、盐或异构体。

25. 权利要求 1 的方法，其中所述药物，或其药学上可接受的衍生物或盐具有下式:



其中 n 是 1 或 2;

R_0 是芳基、杂芳基或苯氧基，所述芳基和苯氧基为未取代的或独立地被一或多个卤素、羟基或低级烷基取代;

R_1 和 R_2 独立为 H、低级烷氧基、羟基、低级烷基或卤素; 和

R_3 和 R_4 独立为 H、低级烷基、低级烷氧基或卤素。

26. 权利要求 25 的方法，其中 R_0 是苯基、萘基或苯氧基，所述苯基、萘基和苯氧基为未取代的或独立地被一或多个卤素、羟基或低级烷基的部分取代。

27. 权利要求 25 的方法，其中:

R_0 是苯基、萘基或苯氧基，所述苯基、萘基和苯氧基为未取代的或独立被 1-4 个卤素、羟基或 1-4 个碳原子的低级烷基的部分取代;

R_1 和 R_2 独立为 H、羟基、1-2 个碳原子的低级烷氧基、1-4 个碳原子的低级直链或支链烷基或卤素; 以及

R_3 和 R_4 独立为 H、1-2 个碳原子的低级烷氧基、1-4 个碳原子的低级直链或支链烷基或卤素。

28. 权利要求 25 的方法，其中 n 是 1。

29. 权利要求 25 的方法，其中 n 是 2。

30. 权利要求 25 的方法，其中 R_0 是苯基。

31. 权利要求 25 的方法，其中 R_0 是取代的苯基。

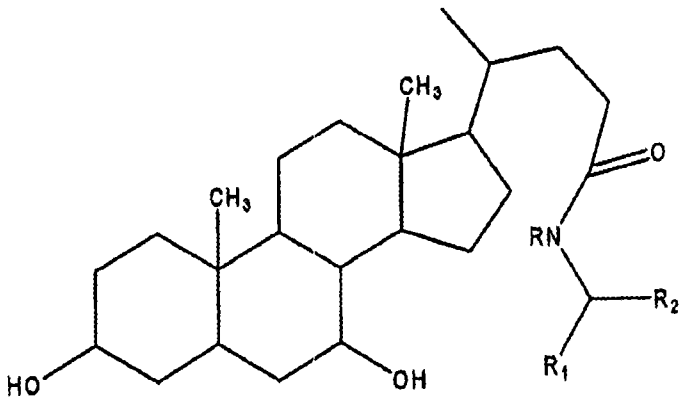
32. 权利要求 25 的方法，其中在 R_0 的苯基上的取代基是 1-4 个卤素部分。

33. 权利要求 25 的方法，其中 R_3 和 R_4 均为-H。

34. 权利要求 1 的方法，其中所述药物为牛熊去氧胆酸(TUDCA)。

35. 权利要求 1 的方法，其中所述药物为 TUDCA 的衍生物、盐或异构体。

36. 权利要求 1 的方法，其中所述药物，或其药学上可接受的盐或衍生物具有下式:



其中 R 是-H 或 C_1-C_4 烷基;

R_1 是-CH_2-SO_3R_3 以及 R_2 是-H; 或者 R_1 是-COOH 以及 R_2 是-CH_2-CH_2-$CONH_2$、-CH_2-$CONH_2$、-CH_2-CH_2-SCH_3 或 -CH_2-S-CH_2-COOH; 以及

R_3 是-H 或碱性氨基酸残基。

37. 权利要求 36 的方法，其中 R_1 是-CH_2-SO_3H 和 R_2 是-H。

38. 权利要求 37 的方法，其中 R 是-H。

39. 权利要求 1 的方法，其中所述药物的给药剂量范围为 100 mg/kg/日-5 g/kg/日。

40. 权利要求 1 的方法，其中所述药物的给药剂量范围为 500 mg/kg/日-3g/kg/日。

41. 权利要求 1 的方法，其中所述药物的给药剂量范围为 500 mg/kg/日-1 g/kg/日。

42. 一种治疗或预防肥胖症的方法，该方法包括给予人已知能减低 ER 应力的药物。

43. 一种降低血糖水平的方法，该方法包括给予动物选自 PBA、TUDCA 及其衍生物的药物。

44. 一种增加胰岛素敏感性的方法，该方法包括给予动物选自PBA、TUDCA及其衍生物的药物。

45. 一种筛选用于治疗或预防肥胖症、胰岛素抗性或糖尿病的药物的方法，该方法包括以下步骤:

提供一种被筛选的药物;

使该药物与细胞接触; 和

测定ER应力标记是否降低。

46. 一种筛选用于调节胰岛素作用或胰岛素受体信号的药物的方法，该方法包括以下步骤:

提供一种被筛选的药物;

使该药物与细胞接触; 和

测定ER应力标记是否降低。

47. 权利要求46的方法，其中ER应力标记选自：剪接形式的XBP-1、磷酸化状态的PERK、磷酸化的eIF2α、mRNA水平的GRP78/BIP、蛋白水平的GRP78/BIP和JNK活性。

48. 权利要求46的方法，其中所述细胞为哺乳动物细胞。

49. 权利要求46的方法，其中所述细胞为人体细胞。

50. 权利要求46的方法，其中所述细胞为脂肪细胞。

51. 权利要求46的方法，其中所述细胞为肝细胞。

52. 权利要求46的方法，其中所述细胞正经历ER应力。

53. 权利要求46的方法，其中所述细胞已用衣霉素或毒胡萝卜素处理以诱导ER应力。

54. 一种筛选用于降低ER应力的药物的方法，该方法包括以下步骤:

提供一种被筛选的药物;

使该药物与细胞接触; 和

测定ER应力标记是否降低。

55. 一种筛选用于阻止ER应力的药物的方法，该方法包括以下

步骤:

提供一种被筛选的药物;

使该药物与细胞接触;

接着使细胞与带有 ER 应力诱导物的药物接触; 和

测定 ER 应力标记是否降低。

56. 权利要求 55 的方法, 其中所述 ER 应力诱导物选自衣霉素或毒胡萝卜素。

57. 一种通过权利要求 45 的方法鉴定的化合物。

58. 一种包含权利要求 57 的化合物的药用组合物。

59. 一种药用组合物, 它包含(1)已知降低 ER 应力的药物, 和(2)选自抗糖尿病剂、减肥药、抗血脂紊乱剂、抗动脉粥样硬化剂和抗高血压剂。

60. 权利要求 59 的药用组合物, 其中所述已知降低 ER 应力的药物是化学陪伴分子。

61. 权利要求 59 的药用组合物, 其中所述已知降低 ER 应力的药物选自: 甘油、D_2O、二甲亚砜(DMSO)、甘氨酸三甲铵乙内酯(甜菜碱)、甘油磷酸胆碱(GPC)、甲胺类和三甲胺 N-氧化物(TMAO)。

62. 权利要求 59 的药用组合物, 其中所述已知降低 ER 应力的药物是 TUDCA 或其衍生物。

63. 权利要求 59 的药用组合物, 其中所述已知降低 ER 应力的药物是 PBA 或其衍生物。

64. 权利要求 59 的药用组合物, 它包含 PBA 和二甲双胍。

65. 一种降低 ER 应力或治疗或预防与 ER 应力有关的疾病的方法, 该方法包括以下步骤:

给予动物选自 PBA、TUDCA 及其衍生物的药物。

66. 一种诊断胰岛素抗性、高血糖症或 2 型糖尿病的方法, 该方法包括:

测定至少一种 ER 应力标记的表达水平, 其中 ER 应力标记水平

的增加表明受试者面临胰岛素抗性、高血糖症或2型糖尿病的风险。

67. 权利要求 66 的方法，其中所述 ER 应力标记选自：剪接形式的 XBP-1、磷酸化状态的 PERK、磷酸化的 eIF2α、mRNA 水平的 GRP78/BIP、蛋白水平的 GRP78/BIP 和 JNK 活性。

68. 权利要求 66 的方法，其中所述测定步骤包括测定至少两种 ER 应力标记的水平。

69. 一种调节 PERK、IRE-1α、JNK、IRS-1、IRS-2、Akt 或胰岛素受体活性的方法，该方法包括:

给予动物选自 PBA、TUDCA 及其衍生物的药物。

70. 权利要求 69 的方法，其中 PERK 活性降低。

71. 权利要求 69 的方法，其中 IRE-1α活性降低。

72. 权利要求 69 的方法，其中 JNK 激酶活性降低。

73. 权利要求 69 的方法，其中 IRS-1 活性降低。

74. 权利要求 69 的方法，其中 IRS-2 活性降低。

75. 权利要求 69 的方法，其中 Akt 活性降低。

76. 权利要求 69 的方法，其中胰岛素受体活性降低。

77. 一种增加胰岛素作用或胰岛素受体信号的方法，该方法包括:

给予动物选自 PBA、TUDCA 及其衍生物的药物。

78. 权利要求 77 的方法，它还包括给予选自下列的药物：胰岛素、降血糖药、降胆固醇药、食欲抑制剂、阿司匹林、维生素、矿物质和抗高血压药。

79. 一种调节胰岛素受体信号的方法，该方法包括:

给予动物已知降低 ER 应力的药物。

80. 权利要求 79 的方法，其中所述药物选自：甘油、D_2O、二甲亚砜(DMSO)、甘氨酸三甲铵乙内酯(甜菜碱)、甘油磷酸胆碱(GPC)、甲胺类和三甲胺 N-氧化物(TMAO)。

81. 权利要求 79 的方法，其中所述药物选自 PBA、TUDCA 及

其衍生物。

82. 权利要求 79 的方法，它还包括给予选自下列的药物：胰岛素、降血糖药、降胆固醇药、食欲抑制剂、阿司匹林、维生素、矿物质和抗高血压药。

在治疗肥胖症和糖尿病中降低ER应力

相关申请

[0001] 本申请依据35 U.S.C. § 119(e)，要求2004年9月15日提交的美国临时专利申请USSN 60/610,093的权益，其在此通过引用结合到本文中。本申请还涉及2004年9月15日提交的、题目为“用于治疗代谢性疾病的XBP-1活性的调节(Modulation of XBP-1 activity for treatment of metabolic disorders)”的美国临时专利申请U.S.S.N. 60/610,286；2005年9月15日提交的、题目为“用于治疗代谢性疾病的XBP-1活性的调节(Modulation of XBP-1 activity for treatment of metabolic disorders)”的美国临时专利申请U.S.S.N. XX/XXX,XXX；以及2003年9月2日提交的、题目为“用于调节XBP-1活性的方法和组合物(Methods and Compositions for Modulating XBP-1 Activity”的美国临时申请U.S.S.N. 10/655,620，所述各申请均在此)通过引用结合到本文中。

政府支持

[0002] 本发明所述的工作部分受到国立卫生研究所(the National Institutes of Health)资助的第32412号项目的支持。美国政府可拥有本发明的某些权利。

发明背景

[0003] 世界大部分地区肥胖症的发病率的戏剧性增加促成胰岛素抗性、2型糖尿病和心血管疾病发病率的增加。这些与肥胖症有关的疾病已对人体健康构成严重威胁。

[0004] 现已发现肥胖症与细胞应力(stress)信号途径的激活有关

(Uysal 等，Nature 389:610, 1997; Hirosumi 等，Nature 420:333, 2003; Yuan 等，Science 293:1673, 2001；均通过引用结合到本文中)。细胞应力响应中一参与成分(player)是内质网(ER)，即在分泌和膜蛋白的合成和处理过程中发挥功能的一种膜状网络。ER 负责真核细胞的大多数分泌性和膜内在蛋白质的处理和易位过程。ER 的内腔为这些蛋白质的翻译后修饰和折叠提供了一种专门的环境。适当折叠的蛋白从 ER 的出口清除并进行到分泌途径，而未折叠或错折叠蛋白被 ER-相关蛋白降解结构去除。细胞处理的蛋白质的负载依据细胞类型和细胞生理状态不同而有相当大的变化。可通过调节其 ER 处理蛋白和合成的蛋白的负载的能力来调节细胞。ER 负载和折叠能力之间的平衡失调被称为 ER 应力(Harding 等，Diabetes 51(Supp.3): S455, 2002; 通过引用结合到本文中)。已显示 ER 应力通过低氧、低血糖、暴露于扰乱 ER 功能的天然毒素以及各种影响患者蛋白折叠能力的突变所触发(Lee, Trends Biochem. Sci. 26:504-510, 2001; Lee, Curr. Opin. Cell Biol. 4:267-273, 1992; 其各自通过引用结合到本文中)。

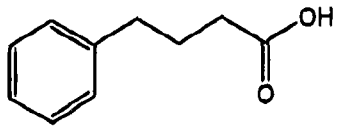
[0005] 现已显示某些病理性病症破坏ER体内平衡，从而导致ER内腔内未折叠或错折叠蛋白的聚集(Hampton Curr. Biol. 10: R518, 2000; Mori Cell 101:451, 2000; Harding et al. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 18:575, 2002; 其各自通过引用结合到本文中)。为解决 ER 应力，细胞激活将 ER 内腔与细胞质和细胞核连接的信号传导系统，称之为未折叠蛋白响应(UPR) (Hampton Curr. Biol. 10:R518, 2000; Mori Cell 101 :451, 2000; Harding et al. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 18:575, 2002; 其各自通过引用结合到本文中)。触发 ER 应力的条件包括葡萄糖和营养物丧失、病毒感染、分泌性蛋白质的合成增加以及突变体或错折叠蛋白的表达(Ma et al. Cell 107:827, 2001; Kaufman et al. Nat. Rev. MoI. Cell Biol. 3:411, 2002; 其各自通过引用结合到本文中)。

发明概述

[0006] 现已发现很多呈现出触发 ER 应力的病症都出现于肥胖症以及诸如 2 型糖尿病、高血糖症和胰岛素抗性的相关疾病中。例如，肥胖症增加很多分泌器官系统内细胞的合成结构的要求，并且也与细胞内能量流和营养可用性的异常有关。本发明认为：很多这些与肥胖症有关的疾病引起 ER 应力，尤其在外周组织中，并且 ER 应力与触发胰岛素抗性和 2 型糖尿病(肥胖症的两种后遗症)有关。因此，能降低 ER 应力的药物可用于治疗肥胖症、外周胰岛素抗性、高血糖症和 2 型糖尿病。用于治疗这些疾病的药物包括小分子、蛋白质、核酸以及已知能降低或阻止 ER 应力的任何其它化学化合物。这些药物以任何能降低或阻止 ER 应力的方式发挥作用，例如降低或产生突变体或错折叠蛋白质、增加 ER 陪伴分子的表达、增加蛋白质的稳定性、推进 ER 的处理能力等。尤其有用的药物包括化学陪伴分子，如 4-苯基丁酸(PBA)、牛熊去氧胆酸(tauroursodeoxycholic acid)(TUDCA)、三甲胺 N-氧化物(TMAO)、甘油、D_2O、二甲亚砜、甘氨酸三甲铵乙内酯(glycine betaine)、甲胺和甘油磷酸胆碱。特别是，已显示 PBA 和 TUDCA 能在动物中调节 ER 应力，其通过 PERK 磷酸化降低来测定，并显示它们能降低 JNK 的激活以及降低 IRE-Iα的磷酸化，其通过在用本发明化合物治疗动物后进行的蛋白质印迹测定。另外，PBA 和 TUDCA 能在动物中调节胰岛素受体信号，其可通过增加的胰岛素受体、胰岛素底物 1-IRS-1 和 IRS-1 酪氨酸磷酸化以及增加的 Akt 的丝氨酸磷酸化来测定。当将 TMAO 给予患有胰岛素抗性和 2 型糖尿病的动物时，TMAO 在体内已呈现出抗糖尿病药物作用，降低葡萄糖和胰岛素水平。将所述药物或该药物的药用组合物以降低 ER 应力的有效剂量给予患者(例如人、狗、猫、哺乳动物、动物)，从而降低肥胖症、胰岛素抗性和 2 型糖尿病的体征、症状和后遗症。本发明还提供通过给予降低 ER 应力的药物来治疗和/或预防肥胖症、胰岛素抗性、2 型糖尿病和高血糖症的方法。虽然优选将所述药物口服或非肠道给药，但可将以药物传递领域已知的任何方

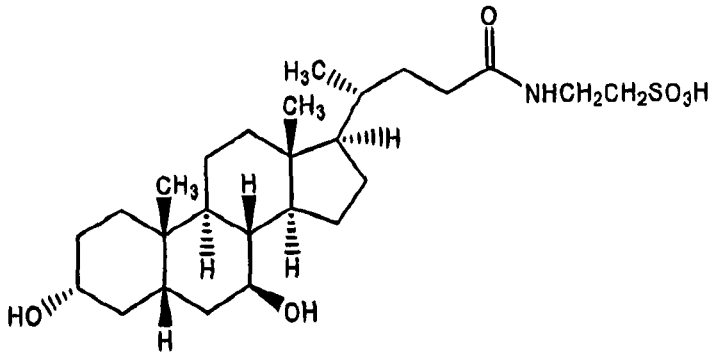
式给予所述药物。这些药物的剂量范围依据所要传递的药物以及其它因素而变化，但一般为 10 mg/kg/日-10 g/kg/日。

[0007] 在某些实施方案中，用于降低 ER 应力的药物为 4-苯基丁酸(PBA)。



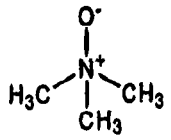
已显示 PBA 能调节 ER 应力并能调节胰岛素信号。给予患者苯基丁酸(PBA)或其衍生物或盐以用于降低 ER 应力，尤其可用于治疗肥胖症、2 型糖尿病、胰岛素抗性并用于降低血糖。PBA 能有效降低血糖并增加胰岛素敏感性(图 4 和 5)。PBA 或其药用组合物的给药剂量范围为 10mg/kg/日-2g/kg/日，优选 100 mg/kg/日-1 g/kg/日，更优选 500 mg/kg/日-1 g/kg/日。

[0008] 在另一实施方案中，牛熊去氧胆酸(TUDCA)，一种胆汁酸，是用于降低 ER 应力的药物。



已显示 TUDCA 能调节 ER 应力并能调节胰岛素信号。本发明提供给予患者牛熊去氧胆酸(TUDCA)或其盐或衍生物以降低 ER 应力。已发现 TUDCA 能降低血糖并增加胰岛素敏感性，使其可用于治疗肥胖症、2 型糖尿病和胰岛素抗性(图 6)。TUDCA 或其药用组合物的给药剂量范围为 10mg/kg/日-2g/kg/日，优选 100 mg/kg/日-1 g/kg/日，更优选 250 mg/kg/日- 750 mg /kg/日。

[0009] 在另一实施方案中，TMAO 是用于降低 ER 应力的药物。



已显示 TMAO 能在体内作为抗糖尿病药物(见图 7)。本发明提供给予患者 TMAO 或其盐或衍生物以降低 ER 应力。已发现 TUDCA 能有效降低血糖水平并增加胰岛素敏感性，使其可用于治疗肥胖症、2 型糖尿病和胰岛素抗性(图 7)。TMAO 或其药用组合物的给药剂量范围为 100mg/kg/日-0.01g/kg/日，优选 10 mg/kg/日-0.1 g/kg/日，更优选 5 mg/kg/日- 0.5 mg /kg/日。

[0010] 本发明还提供包括能降低 ER 应力的药物以及药学上可接受的赋形剂的药用组合物。可将药用组合物制成供口服、非肠道或透皮传递的制剂。还可将所述 ER 应力降低剂与其它药物联合使用，如胰岛素、抗糖尿病药、降血糖药、降胆固醇药、食欲抑制剂、阿司匹林、维生素、矿物质和抗高血压药。例如，可将 PBA 与二甲双胍组合或结合给药。可将所述各药物混合在同一药用组合物中或者可保持独立(即在两个单独制剂中)且在一个药剂盒中一起提供。所述药剂盒还可包括供医师和/或患者使用的说明书、注射器、针头、盒子、瓶子、管形瓶等。

[0011] 在另一方面，本发明提供一种筛选能降低 ER 应力的药物的方法。所鉴定的药物用于治疗疗肥胖症、2 型糖尿病、高血糖症和胰岛素抗性。将所筛选的药物与正经历 ER 应力的细胞接触。细胞经历的 ER 应力可通过遗传改造或用已知能引起 ER 应力的化学化合物(如衣霉素、毒胡萝卜素 thapsigargin)处理来引发。特别用于本发明筛选的细胞包括肝细胞和脂肪细胞。然后测定 ER 应力标记的水平以鉴定能降低 ER 应力的药物。ER 应力的标记的实例包括剪接形式的 XBP-1、磷酸化状态的 PERK(Thr980)和 eIF2α (Ser51)、mRNA 和蛋白水平的 GRP78/BIP 以及 JNK 活性。将与未处理的对照细胞比较，当与具有 ER 应力的细胞接触时能引起 ER 应力的标记降低的药物鉴

定为能降低应力的药物。ER 应力标记水平的降低表明药物可用于治疗与 ER 应力有关的疾病，如肥胖症、2 型糖尿病、胰岛素抗性、高血糖症、囊性纤维化和阿尔茨海默氏病。用本发明方法鉴定的药物是本发明的部分。可对这些药物进一步测试在药用组合物中的用途。

[0012] 在另一方面，本发明提供一种通过测定 ER 应力标记的表达水平而诊断胰岛素抗性、高血糖症或 2 型糖尿病的方法。可在本发明诊断方法中分析的标记包括剪接形式的 XBP-1、磷酸化状态的 PERK、磷酸化的 eIF2α、mRNA 水平的 GRP78/BIP、蛋白水平的 GRP78/BIP 和 JNK 活性。也可使用已知能指示 ER 应力的任何其它细胞标记。这些标记的水平可通过本领域已知的任何方法测定，包括蛋白质印迹法、RNA 印迹法、免疫测定法或酶测定法。ER 应力标记水平的增加表明受试者面临胰岛素抗性、高血糖症或 2 型糖尿病的风险。

定义

[0013] “动物”：此处所用的术语动物指人或非人动物，包括例如哺乳动物、鸟类、爬行类动物、两栖类动物和鱼类。非人动物优选为哺乳动物(例如啮齿类动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、灵长类动物或猪)。在某些实施方案中，所述动物为人。

[0014] “化学陪伴分子”：“化学陪伴分子”是一种已知能抵抗蛋白质变性(如化学变性、热变性)而稳定蛋白质构象的化合物，因此保护蛋白质结构和功能的化合物(Welch et al. Cell Stress Chaperones 1:109-115, 1996; 通过引用结合到本文中)。在某些实施方案中，“化学陪伴分子”是一种小分子或低分子量化合物。“化学陪伴分子”优选不是蛋白质。“化学陪伴分子”的实例包括如甘油、重水(D_2O)、二甲亚砜(DMSO)、三甲胺 N-氧化物(TMAO)、甘氨酸三甲铵乙内酯(甜菜碱)、甘油磷酸胆碱(GPC)(Burg 等，Am. J. Physiol. (Renal Physiol.43): F762- F765, 1998; 通过引用结合到本文中)、4-苯基丁酸

盐或 4-苯基丁酸(PBA)、甲胺和牛熊去氧胆酸(TUDCA)。化学陪伴分子可用于影响细胞中蛋白质的折叠。已显示化学陪伴分子在某些情况下能改正诸如囊性纤维化(Fischer 等, Am. J. Physiol. Lung Cell MoI. Physiol. 281:L52-L57, 2001; 通过引用结合到本文中)、蛋白感染素相关的疾病、肾性尿崩症和癌症等此类疾病中观察到的折叠/运输缺陷(Bai et al. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 40(l):39-45, July 1998; 通过引用结合到本文中)。化学陪伴分子还发现在降低 ER 应力中的用途, 以及可用于治疗肥胖症、2 型糖尿病、胰岛素抗性和高血糖症。

[0015] “有效量”: 通常活性药物(如 ER 应力降低剂或其药用组合物)的“有效量”指引发所要求的生物学响应所必需的量。本领域普通技术人员清楚, 能降低或阻止 ER 应力的药物的有效量可依据诸如所要求的生物学结果、正在传递的药物、正在治疗的疾病、所治疗的患者等这些因素而变化。例如, 用于治疗高血糖症或 2 型糖尿病的药物的有效量是能导致血糖水平降低至少约 10%、20%、30%、40%或 50%的量。在其它实施方案中, ER 应力调节剂的有效量降低至少一种 ER 应力标记(例如剪接形式的 XBP-1、磷酸化状态的 PERK、磷酸化的 eIF2α、mRNA 水平的 GRP78/BIP、蛋白水平的 GRP78/BIP 和 JNK 活性)的水平。在某些实施方案中, 可降低至少 2、3、4 或更多种 ER 应力标记的水平。可将 ER 应力标记降低大约 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%或 100%。

[0016] “肽”或“蛋白质”: 根据本发明, “肽”或“蛋白质”包括一股由肽键连接在一起的至少三个氨基酸。可将“肽”或“蛋白质”互换使用。虽然作为选择可使用非天然氨基酸(即不存在于自然界, 但可加入多肽链中的化合物)和/或本领域已知的氨基酸类似物, 但本发明的肽优选仅包含天然氨基酸。还可将发明肽中的一或多个氨基酸进行修饰, 例如通过加入化学实体, 如碳水化合物基团、磷酸根、法呢基、异法呢基、脂肪酸基、结合连接物(linker)、官能

化或其它修饰等。在一优选的实施方案中，肽的修饰使得形成一种更稳定的肽(例如，体内更长的半衰期)。这些修饰可包括肽的环合、D-氨基酸的结合等。所述各修饰基本上不应干扰所述肽的所要求的生物学活性。

[0017] “多核苷酸”或“寡核苷酸”指核苷酸聚合物。聚合物可包括天然核苷酸(即腺苷、胸苷、鸟苷、胞苷、尿苷、去氧腺苷、脱氧胸苷、脱氧鸟苷和脱氧胞苷)、核苷类似物(如2-硫代胸苷、肌苷、吡咯并-嘧啶、3-甲基腺苷、5-甲基胞苷、2-氨基腺苷、C5-溴尿苷、C5-氟尿苷、C5-碘尿苷、C5-丙炔基尿苷、C5-丙炔基-胞苷、 C5-甲基胞苷、7-去氮杂腺苷、7-去氮杂鸟苷、8-氧代腺苷、8-氧代鸟苷、O(6)-甲基鸟嘌呤、4-乙酰基胞苷、5-(羧基羟基甲基)尿苷、二氢尿苷、甲基假尿苷、1-甲基腺苷、1-甲基鸟苷、N6-甲基腺苷和2-硫代胞苷)、化学修修饰碱、生物修饰碱(例如甲基化碱基)、插入的碱、修饰的糖(如 2’-氟核糖、核糖、2’-去氧核糖、 2’-O-甲基胞苷、阿拉伯糖和己糖)或者修饰的磷酸根基(如硫代磷酸根(phosphorothioates)和 5’-N-亚磷酰胺(phosphoramidite)键)。

[0018] “小分子”：本文所用术语“小分子”指不论是天然存在或人工生成(例如通过化学合成)的有机化合物，其具有相对低的分子量并且不是蛋白质、多肽或核酸。小分子具有的分子量通常小于约 1500 g/mol。小分子一般具有多个碳-碳键。已知天然存在的小分子包括，但不限于青霉素、红霉素、紫杉醇、环孢菌素和雷帕霉素。已知的合成小分子包括，但不限于氨苄西林、甲氧苯青霉素、新诺明和磺胺类药物。

附图简述

[0019] 图 1 证实在肥胖症中观察到的增加的内质网应力。使用饮食性(高脂肪饮食诱发的)和遗传性(ob/ob)小鼠肥胖模型来检查肝组织中 ER 应力标记，并与年龄和性别匹配的瘦的对照组小鼠比较。对

由保持在标准或高脂肪食谱下 16 周的雄性小鼠(C57BL/6)的肝值得的样本进行以上 ER 应力标记检查，ER 应力标记包括剪接形式的 XBP-1(XBP-1s)、磷酸化的 eIF2α (ser51, p-eIF2a)、磷酸化的 PERK(p-PERK)、mRNA 表达水平的 GRP78 和 JNK 活性。用 100 μg 蛋白质进行各免疫印迹(图 1a)。对 12-14 周龄的雄性、ob/ob 和野生型小鼠的肝中相同 ER 应力标记进行检查(图 1b)。肝中 GRP78 mRNA 的表达水平通过根据 RNA 印迹分析法，在与图 1a 和 1b 中所述的类似组别的瘦的和肥胖动物中进行检测(图 1c)。

[0020] 图 2 显示 ER 应力的诱导作用如何通过 JNK-介导的 IRS-1 的磷酸化作用损害肝细胞中胰岛素的作用。用毒胡萝卜素(thap, 300 nM，4 小时)或衣霉素(tun, 10 μg/ml，2 小时)在 Fao 细胞中诱导 ER 应力，接着将细胞用胰岛素(ins)刺激。在 IRS-1 免疫沉淀(IP)后，检测在毒胡萝卜素-或衣霉素处理的细胞中所刺激的胰岛素、IRS-1 酪氨酸磷酸化和总蛋白水平，接着用对抗磷酸-酪氨酸(pY)的抗体进行免疫印迹(IB) (a)。在毒胡萝卜素-或衣霉素处理的细胞中胰岛素刺激的胰岛素受体(IR)酪氨酸磷酸化和总蛋白水平(b)。用毒胡萝卜素刺激 2 小时后，在 Fao 细胞中 IRS-1 的 ser307 残基的磷酸化(c)。用毒胡萝卜素刺激后，JNK-I 抑制剂 SP600125 (JNKi)对 ser307 磷酸化的抑制作用(d)。通过用肽抑制剂(JNKi)阻断 JNK 活性，对 IRS-1 的胰岛素刺激的酪氨酸磷酸化(pY)的衣霉素诱导的抑制作用的逆转。在这些实验中，免疫沉淀和免疫印迹均采用抗磷酸酪氨酸抗体进行(e)。

[0021] 图 3 显示 IRE-I 如何在 ER 应力介导的 JNK 激活作用、IRS-1 的 ser307 磷酸化作用以及胰岛素受体信号的抑制作用中发挥关键作用。使用体外激酶试验并利重组 c-jun 作为底物，在 IREIα$^{+/+}$和 IRE-Iα$^{-/-}$成纤维细胞中用衣霉素处理后，在指定时间点测定 JNK 活性。JNK 活性和总 JNK 水平(a)。在用衣霉素处理，接着用 IRS-1 磷酸丝氨酸 307 特异性抗体 IRS-1 免疫沉淀(IP)和免疫印迹(IB)后，IREIα$^{+/+}$和 IRE-Iα$^{-/-}$ 成纤维细胞中 ser307 残基上 IRS-1 的磷酸化(b)。

在 IREIα$^{+/+}$和 IRE-Iα$^{-/-}$ 成纤维细胞中用衣霉素处理后，胰岛素(ins)-刺激的 IRS-1 酪氨酸磷酸化和总 IRS-1 水平。各涂点下的图显示在各处理时间点上相对于总 IRS-1 水平的 IRS-1 酪氨酸磷酸化的校正密度(c)。

[0022] 图 4 显示经非肠道途径给予的 4-苯基丁酸盐(4-PBA)如何在体内增加胰岛素敏感性并降低糖尿病小鼠的血糖水平。使用遗传性(ob/ob)小鼠肥胖模型分析 4-苯基丁酸盐(4-PBA)对胰岛素敏感性和高血糖症的作用。10-12 周龄的瘦素(leptin)缺乏雄性小鼠来源于 Jackson Labs，注射 PBS 三次(每日 3 次)共 4 日使之适应，然后用腹腔内注射 4-PBA (1 g/kg/日，以三个分剂量)或磷酸盐缓冲液(PBS) (3 剂量的 100 μl)处理 7 日。在试验的第三日和第七日测进食血糖水平(mg/dl) (a)。在第一次注射之后第七日进行胰岛素抗性试验(ITT) (b)。

[0023] 图 5 显示经口服途径给予的 4-苯基丁酸盐(4-PBA)如何在体内增加胰岛素敏感性并降低糖尿病小鼠的血糖水平。使用遗传性小鼠肥胖模型(ob/ob)分析 4-苯基丁酸盐(4-PBA)对胰岛素敏感性和高血糖症的作用。8-10 周龄的瘦素缺乏雄性小鼠来源于 Jackson Labs，注射 PBS (每日 2 次)共 4 日使之适应，然后用 4-PBA (500mg/kg/日，以二个分剂量)或磷酸盐缓冲液(PBS) (2 剂量的 200 μl)处理 20 日。治疗之间的体重(a)。在试验的第 0 日和第 20 日禁食后 6 小时的血糖水平(mg/dl) (b)。在试验的第 0 日和第 20 日的胰岛素水平(ng/ml)(c)。在治疗的第 15 日进行胰岛素抗性试验(d)。

[0024] 图 6 显示用牛熊去氧胆酸(TUDCA)治疗 ob/ob 小鼠能增强胰岛素敏感性病并能逆转糖尿病。使用 9-10 周龄 ob/ob 以及与其年龄和性别匹配的瘦对照组小鼠来分析 TUDCA 对葡萄糖代谢和糖尿病的影响。用 PBS 注射(每日一次，200 μl 腹腔注射)适应 4 日后，给小鼠腹膜内注射 TUDCA (一日一次，500 mg/kg 在 200 μl PBS 中) (瘦组 n=6，ob/ob 组 n=7)和 PBS (200 μl) (瘦组 n=6，ob/ob 组 n=7)。第一次注射后第 4、7 和 10 日的血糖水平(a)。第一次注射后第 10 日的

ITT (b)。

[0025] 图 7 显示三甲胺 N-氧化物(TMAO)的抗糖尿病作用。实验采用肥胖症和胰岛素抗性的 ob/ob 遗传模型(C57BL/6J-Lep-ob 小鼠，购自 Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)进行。在七周龄时，给予 PBS 适应 5 日后开始治疗。该期间过后，将 TMAO (Sigma, T0514)溶解于 PBS 中，以每日 1 g/kg 的剂量每 24 小时腹膜内(IP)注射给予。在指定日内，在 8:00 AM，使用自动血糖测量仪(glucometer)系统测定餐时血糖水平。为进行胰岛素测定，可在禁食 6 小时后收集血液样本，使用特异性 ELISA (Crystal Chem, 90060)确定血清胰岛素水平。每次试验时每组实验动物包含至少 6 只动物。

[0026] 图 8 显示 4-苯基丁酸盐和二甲双胍在治疗糖尿病中的有效组合。实验采用肥胖症和胰岛素抗性的 ob/ob 遗传模型(C57B6.V-Lepob/OlaHsd 小鼠，购自 Harlan Teklad, Madison, WI)进行。在七周龄时，给予 PBS 适应 5 日后开始治疗。该期间过后，每日通过管饲法，分别给予四个独立实验组小鼠(每组至少 6 只小鼠) PBS、4-苯基丁酸钠(200 mg/kg/日)、二甲双胍(200 mg/kg/日)和 4-苯基丁酸钠+二甲双胍(各 200 mg/kg/日)。在这些剂量中，仅有 4-苯基丁酸钠和二甲双胍组合显示能作为一种有效的降低血糖用药方案，而单一药物对血糖不具任何作用。在 8:00 AM，在喂食时测定血糖水平。

[0027] 图 9 显示体外葡萄糖和体内高血糖对 GRP78 表达的调节作用。(A) 将 Fao 细胞用各种剂量的葡萄糖(0、5、10、25 和 75 mM)处理 24 小时。通过 RNA 印迹法，采用从这些细胞中分离的总 RNAs，测定 GRP78 的 mRNA 水平。所显示的溴化乙锭染色法为一种装填和整合RNA的对照。(B) 向雄性小鼠腹膜内注射链唑霉素(streptozotocin)(STZ, 200mg/kg)。注射 3 日后，测定血糖水平以确定 STZ-诱发高血糖症。注射 10 日后，收集肝，通过 RNA 印迹分析，采用肝总 RNA 测定 GRP78 表达。

[0028] 图 10 显示肥胖小鼠的脂肪组织中的 ER 应力指示器。使

用饮食性(高脂肪饮食-诱导)和遗传性(ob/ob)小鼠肥胖模型来检测脂肪组织中 ER 应力的标记，并与年龄和性别匹配的瘦型小鼠对照组比较。**(A)** 对保持在标准饮食(RD)或高脂肪饮食(HFD)下 16 周的雄性小鼠(C57BL/6)的脂肪样本测定 PERK 磷酸化作用(p-PERK)和 JNK 活性。**(B)** 12-14 周龄的雄性 ob/ob 和 WT 瘦小鼠的脂肪组织中 PERK 磷酸化作用和 JNK 活性。**(C)** 通过 RNA 印迹分析，在 WT 瘦型和 ob/ob 动物的脂肪组织中，检测 GRP78 的 mRNA 水平。所显示的溴化乙锭染色法为一种装填和整合 RNA 的对照。

[0029] 图 11 显示 ER 应力的诱导作用通过 JNK 介导的 IRS-1 磷酸化损害胰岛素作用。**(A)** Fao 肝细胞中 ER 应力通过用 5 μg/ml 衣霉素(Tun)处理 3 小时诱导。接着用胰岛素(Ins)刺激细胞。使用免疫沉淀(IP)，接着通过免疫印迹(IB)法或者直接免疫印迹法，测定 IRS-1 酪氨酸和丝氨酸(Ser307)磷酸化、Akt 磷酸化(Ser473)、胰岛素受体(IR)酪氨酸磷酸化和它们的总蛋白水平。**(B)** 在(A)中所述的实验条件下，用对各分子蛋白水平的归一化，对 IRS-1 (酪氨酸和 Ser307)、Akt (Ser473)和 IR (酪氨酸)磷酸化进行定量。**(C)** JNK-I 抑制剂，SP600125 (JNKi, 25 μM)对 ER 应力诱导的(300 nM 毒胡萝卜素，4 小时) IRS-1 的 Ser307 磷酸化的抑制作用。**(D)** 在(C)中所述的条件下，对 IRS-1 Ser307 磷酸化的定量。**(E)** JNK 抑制剂对 IRS-1 的胰岛素刺激的酪氨酸磷酸化(pY)的 ER 诱导的抑制作用的逆转。**(F)** 按(E)中所述，对胰岛素诱导的 IRS-1 酪氨酸磷酸化水平定量。**(G)** 在 IRE-1α+/+和 IRE-Iα-/-成纤维细胞中，在用衣霉素处理(Tun, 10 μg/ml, 1 小时)后各指定时间点处的 JNK 活性、IRS-1 的 Ser307 磷酸化和总 IRS-1 水平。**(H)** 在 IRE-$1\alpha^{+/+}$和 IRE-$I\alpha^{-/-}$成纤维细胞中，在用衣霉素处理(Tun, 10 μg/ml, 1 小时)后胰岛素刺激的 IRS-1 酪氨酸磷酸化和总 IRS-1 水平。在小图(panel)的底部显示 IRE-$1\alpha^{+/+}$和 IRE-$I\alpha^{-/-}$细胞中定量的胰岛素诱导的 IRS-1 酪氨酸磷酸化水平。所有图表显示的平均值±SEM 至少来源于两个独立实验，用*表示与对照组比较的具有 $p < 0.005$ 的统

计学意义。

[0030] 图 12 显示毒胡萝卜素诱导的 ER 应力对胰岛素受体信号的抑制作用以及 Ca 水平对 IRS-1 丝氨酸磷酸化的作用。**(A)** 在 Fao 细胞中通过用 300nM 毒胡萝卜素(Thap)处理 1 小时诱导 ER 应力，接着将细胞用胰岛素(Ins)刺激。利用免疫沉淀法(IP)，接着通过免疫印迹法(IB)或者直接用免疫印迹法，检测 IRS-1 酪氨酸磷酸化(pY)和丝氨酸磷酸化(pSer307)、胰岛素受体(IR)酪氨酸磷酸化以及总蛋白水平。**(B)** 在暴露或不暴露于 300 nM 毒胡萝卜素(Thap)另外 1 小时下，将 Fao 细胞用舒林酸硫化物(SS: 0、7.5、30 和 60 μM)处理 45 分钟。如上所述测定 IRS-1 丝氨酸磷酸化和总 IRS-1 蛋白水平。

[0031] 图 13 表示通过控制 XBP-1 水平而使得 ER 应力响应的改变导致胰岛素受体信号的改变。ER 应力在 XBP-1s 过度表达细胞(即 XBP-1$^{-/-}$细胞)和其对照细胞中响应。**(A)** 小鼠胚胎成纤维细胞(MEF)中在除去脱氧土霉素下 XBP-1s 表达的诱导。**(B)**对 XBP-1$^{-/-}$ MEF 细胞及其 WT 对照细胞的野型(9.4 kb)和定向(6.5 kb)等位基因的蛋白质印迹分析。**(C)** 衣霉素处理(Tun, 2μg/ml)后，XBP-1s 过度表达细胞及其对照细胞(分别为-Dox 和+Dox)中 PERK 磷酸化(p-PERK)和 JNK 活性。**(D)** 低剂量衣霉素处理(Tun, 0.5μg/ml)后，XBP-1s 过度表达细胞及其 WT 对照细胞中 PERK 磷酸化和 JNK 活性。**(E)** 衣霉素处理(Tun, 2μg/ml)后，XBP-1s 过度表达细胞及其对照细胞(分别为-Dox 和+Dox)中 IRS-1 Ser307 磷酸化，通过使用 IRS-1 的免疫沉淀法，接着用 IRS-1 磷酸丝氨酸 307-特异性抗体的免疫印迹法检测。紧靠印迹图的图显示在小图 E 中所述的条件下，IRS-1 Ser307 磷酸化的定量。**(F)** 在有或无衣霉素处理(Tun, 2 μg/ml)下，XBP-1s 过度表达细胞和对照细胞中 IRS-1 的胰岛素刺激的酪氨酸磷酸化。概括各独立试验的 IRS-1 酪氨酸磷酸化与总 IRS-1 水平的比率，并在表中给出。**(G)** 按小图 C 中所述检测用衣霉素(Tun, 0.5 μg/ml)处理后，XBP-1$^{-/-}$细胞及其 WT 对照细胞中 IRS-1 Ser307 的磷酸化。紧靠印迹图的图显示在

图 12G 中所述的条件下，IRS-1 Ser307 磷酸化的定量。**(H)** 在有或无衣霉素处理(Tun, 0.5μg/ml)下，XBP-$1^{-/-}$细胞及其 WT 对照细胞中 IRS-1 的胰岛素刺激的酪氨酸磷酸化。概括各独立试验的 IRS-1 酪氨酸磷酸化与总 IRS-1 水平的比率，并在表中给出。所有图表显示的平均值±SEM 至少来源于两个独立实验，用*表示与对照组比较的具有 $p < 0.005$ 的统计学意义。

[0032] 图 14 显示在 XBP-1 过度表达和 XBP-1-缺陷细胞中的胰岛素诱导的胰岛素受体的自磷酸化作用。**(A)** 将 XBP-1 过度表达细胞及其对照 MEF 细胞(分别为-Dox 和+Dox)用 2μg/ml 衣霉素(Tun)处理不同时间(0、0.5、1、2、3 和 4 小时)。通过用抗 IR 抗体的免疫沉淀法(IP)，接着用抗 IR 或磷酸酪氨酸(pY)的抗体进行免疫印迹(IB)，在那些细胞中测定胰岛素诱导的胰岛素受体(IR)酪氨酸磷酸化(pY)和总 IR 水平。**(B)** 将 XBP-$1^{-/-}$ MEF 细胞及其 WT 对照细胞用 0.5 μg/ml 衣霉素处理不同时间(0、0.5、1、2、3 和 4 小时)。按小图 A 的方法测定胰岛素诱导的胰岛素受体(IR)酪氨酸磷酸化(pY)和总 IR 水平。

[0033] 图 15 显示高脂肪饮食中 XBP-$1^{+/-}$小鼠的葡萄糖的体内平衡。断奶后，立即将 XBP-$1^{+/-}$ (◊)和 XBP-$1^{+/+}$ (■)小鼠置于高脂肪饮食(HFD)下。在 HFD 过程中，在 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠中测定总体重**(A)**、禁食血胰岛素**(B)**、C-肽**(C)**和葡萄糖**(D)**水平。在 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠中，在 HFD 间，在第 7 **(E)**和 16 **(F)**周后进行葡萄糖耐量试验。在 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠中，n = 11 XBP-$1^{+/-}$小鼠；n = 8 XBP-$1^{+/+}$小鼠；在 HFD 间，在第 8 **(G)**和 17**(H)**周后进行胰岛素耐量试验。数据以平均值±SEM 表示。*表示双尾 student t 检验的统计学意义 $p \leq 0.05$，**表示 $p \leq 0.005$，而***表示 $p \leq 0.0005$。将 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$组别通过 ANOVA (小图 A-H)比较。

[0034] 图 16 显示 XBP-$1^{+/-}$小鼠中 ER 应力和胰岛素受体信号。在高脂肪饮食 16 周后，检测 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠的肝中 PERK 磷酸化(p-PERK) **(A)**、JNK 活性(p-c-Jun) **(B)**和 IRS-1 Ser307 (IRS-

lpSer307) **(C)**。门静脉输注胰岛素(1U/kg)后，在高脂肪饮食 16 周的 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠的肝中，检测胰岛素受体(IR)酪氨酸磷酸化(pY) **(D)**、IRS-1 酪氨酸磷酸化**(E)**、IRS-2 酪氨酸磷酸化**(F)**和 Akt Ser473 磷酸化**(G)**。

[0035] 图 17 是 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠中胰岛的特征。从正常饮食**(A-D)**或 HFD **(E-H)**的 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠获得的胰脏部分中的胰岛形态学、体积以及对胰岛素和高血糖素的免疫组织化学染色。高脂肪饮食的 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠中的葡萄糖刺激的胰岛素分泌。在置于高脂肪饮食下 16 周的 XBP-$1^{+/-}$和 WT 小鼠中，检测葡萄糖刺激的胰岛素分泌**(I)**。给各基因型小鼠腹膜内给予葡萄糖，在指定时间点收集血液样本以测定胰岛素。在这些试验中，在 XBP-$1^{+/-}$岛中未检测到异常，并且在标准条件下基因型之间没有显著差异。在 HFD 下，XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠都呈现小岛超常增生。这种对 HFD 的预期响应在基因型之间类似，增生性组分(岛体积>150 μM)在 XBP-$1^{+/-}$中占所有岛的 40%，而在 HFD 下的 WT 小鼠中占所有岛的 43%。在测定 HFD 下的 XBP-$1^{+/-}$和 WT 小鼠中葡萄糖刺激的胰岛素分泌的各试验中，XBP-$1^{+/-}$小鼠对葡萄糖的响应比胰岛素分泌响应更强，其有效地消除它们显型下分离的岛的缺陷。因此，这些数据表明 XBP-$1^{+/-}$小鼠的显型不能通过缺陷性岛及甚至 HFD16 周后来解释，所述各岛在各显型之间未呈现差别。

[0036] 图 18 显示 XBP-$1^{+/-}$小鼠中 ER 应力和胰岛素受体信号。在高脂肪饮食 16 周的 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠的肝中，检测 PERK 磷酸化(p-PERK) **(A)**、JNK 活性(p-c-Jun) **(B)**和 IRS-1 Ser307 (IRS-$1^{pSer307}$) **(C)**。门静脉输注胰岛素(1U/kg)后，在高脂肪饮食 16 周的 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠的肝中，检测胰岛素受体(IR)酪氨酸磷酸化(pY) **(D)**、IRS-1 酪氨酸磷酸化**(E)**、IRS-2 酪氨酸磷酸化**(F)**和 Akt Ser473 磷酸化**(G)**。

[0037]图 19 显示在正常饮食的 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠的肝和脂

肪组织中完整的胰岛素受体信号。门静脉输注胰岛素(1U/kg)后，在正常饮食的 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠的肝**(A)**和脂肪组织**(B)**中，检测胰岛素受体(IR)酪氨酸磷酸化(pY)、IRS-1 酪氨酸磷酸化、IRS-2 酪氨酸磷酸化、Akt Ser473 磷酸化和它们的总蛋白水平。

[0038] 图 20 显示了高脂肪饮食的 XBP-$1^{+/-}$和 XBP-$1^{+/+}$小鼠的脂肪组织中胰岛素受体信号的降低。**(A)** 门静脉输注胰岛素(1U/kg)后，在给予高脂肪饮食 16 周的 XBP-$1^{+/-}$和 $XBP^{+/+}$小鼠的脂肪组织中，检测胰岛素受体(IR)酪氨酸磷酸化(pY)、IRS-1 酪氨酸磷酸化、IRS-2 酪氨酸磷酸化、Akt Ser473 磷酸化和它们的总蛋白水平。**(B)** 在高脂肪饮食 16 周的 XBP-$1^{+/-}$和 $XBP^{+/+}$小鼠的脂肪组织中，进行 JNK 激酶测试。

[0039] 图 21 显示肥胖小鼠肝组织中 JNK 活性的增加，以及随后的用 PBA 处理后 JNK 活性的归一化(normalization)。

本发明某些优选实施例的详细描述

[0040] 已发现内质网(ER)应力对多种疾病的发病机理很重要，所述疾病包括α1-抗-胰蛋白酶缺陷、尿循环障碍、1 型糖尿病和囊性纤维化。本发明认为 ER 应力涉及诸如肥胖症、外周胰岛素抗性、高血糖症和 2 型糖尿病等疾病的发病机制(Ozcan 等，"Endoplasmic Reticulum Stress Link Obesity, Insulin Action, and Type 2 Diabetes" Science 306:457-461, 2004; 通过引用结合到本文中)。基于这种发现，已显示能降低或阻止 ER 应力的药物可用于治疗肥胖症、胰岛素抗性、高血糖症和 2 型糖尿病。

[0041] 已知能降低或调节 ER 应力的任何药物都可用于治疗这些代谢性疾病。这些药物可以任何方式发挥减少或防止 ER 应力的作用。在某些实施方案中，所述药物可增加 ER 处理蛋白质的能力(例如增加 ER 陪伴分子的表达、增加后翻译机构的水平)。在其它实施方案中，所述药物能降低 ER 处理的蛋白质的量(例如降低细胞中产

生的蛋白质的总水平，降低 ER 处理的蛋白质的水平、降低突变蛋白质的水平、降低错折叠蛋白的水平)。然而，其它药物可能引起错折叠/突变蛋白从 ER 中的释放。所述药物可在细胞中作用，或者所述作用可限定于某些细胞类型(例如分泌细胞、上皮细胞、肝细胞、脂肪细胞、内分泌细胞等)。在某些实施方案中，所述药物尤其可用于降低脂肪细胞中 ER 应力。在其它实施方案中，所述药物尤其可用于降低肝细胞中 ER 应力。所述药物可作用在转录、翻译、翻译后或蛋白水平上，以降低或阻止 ER 应力。

[0042] 给予患者有效治疗或预防肥胖症、胰岛素抗性、2 型糖尿病、高血糖症或其它相关疾病的量的 ER 应力调节剂或包括 ER 应力调节剂的联合药物可以治愈正在治疗的疾病、缓解或降低至少一种正在治疗的疾病的体征和症状、降低疾病的短期后遗症、降低疾病的长期后遗症，或者提供对患者的某些其它的暂时的有益作用。在某些实施方案中，本发明疗法增加胰岛素敏感性。在其它实施方案中，本发明疗法降低血糖水平。在其它实施方案中，本发明疗法预防糖尿病的长期后遗症，包括动脉粥样硬化、糖尿病性视网膜病、外周性神经病等。在某些实施方案中，本发明疗法降低细胞(例如脂肪细胞、肝细胞)中 ER 应力标记的水平(例如剪接形式的 XBP-1、磷酸化状态的 PERK、磷酸化的 eIF2α、mRNA 水平的 GRP78/BIP、蛋白水平的 GRP78/BIP 和 JNK 活性)。在某些实施方案中，本发明疗法增加胰岛素作用。在其它实施方案中，本发明疗法增加胰岛素受体信号(例如胰岛素受体、IRS-1、IRS-2、akt 的磷酸化)。在某些实施方案中，本发明疗法抑制食欲。在其它实施方案中，本发明疗法抑制体重增加或促进体重降低。在某些实施方案中，本发明疗法预防 2 型糖尿病的发展。在某些实施方案中，本发明的疗法预防肥胖症的发展。在某些实施方案中，本发明治疗方法预防高血糖症的发展。

[0043] 所述药物可以是任何类型的化学化合物。所述药物可以是小分子、有机金属复合物、无机化合物、蛋白质、糖蛋白、肽、

碳水化合物、脂质或核酸。在某些实施方案中，所述药物为小分子。特别有用的药物为化学陪伴分子，已知其能稳定蛋白质以防止变性，由此保护蛋白质的结构和功能。化学陪伴分子包括甘油、D_2O、二甲亚砜(DMSO)、4-苯基丁酸盐(PBA)、牛熊去氧胆酸(TUDCA)、甘氨酸三甲铵乙内酯(甜菜碱)、甘油磷酸胆碱(GPC)、甲胺类和三甲胺 N-氧化物(TMAO)。在某些实施方案中，可使用一或多种化学陪伴分子。可将这些化学陪伴分子以剂量范围为 10 mg/kg/日-10 g/kg/日的剂量给药，优选 100 mg/kg/日-5 g/kg/日，更优选 500 mg/kg/日-3 g/kg/日。在某些实施方案中，可将药物以分剂量给予(例如每日 2 次，每日 3 次，每日 4 次，每日 5 次)。在其它实施方案中，将药物以单日单次剂量给药。

[0044] 可将所述药物与一或多种其它药物，尤其是治疗糖尿病、肥胖症或胰岛素抗性中传统使用的药物联合给药。与 ER 应力调节剂(例如 PBA、TUDCA、TMAO 或其衍生物)联合使用的药物名单包括在附录 A 中。该名单包括通用名称、商品名称和制造商。与 ER 应力降低剂联合使用的示例性药物包括，但不限于抗糖尿病药(例如胰岛素、降血糖药(例如口服降血糖药，如磺酰脲类、甲苯磺丁脲、二甲双胍、氯磺丙脲、醋磺环己脲、妥拉磺脲(tolazamide)、格列本脲等))、抗肥胖症药、抗血脂紊乱药或抗动脉粥样硬化药(例如降胆固醇药(例如 HMg-CoA 还原酶抑制剂，如洛伐他丁、阿托伐他丁、辛伐他丁、普伐他丁、氟伐他丁等、阿司匹林)、抗肥胖症药(例如食欲抑制药)、维生素、矿物质和抗高血压药。

[0045] 在某些实施方案中，可将化学陪伴分子或 ER 应力调节剂(例如 PBA、TUDCA、TMAO 或其衍生物)与抗糖尿病药联合使用。抗糖尿病药的实例包括双胍类(例如二甲双胍)、磺酰脲类(例如格列美脲、优降糖、格列本脲、格列吡嗪、格列齐特)、胰岛素和胰岛素类似物(例如赖脯胰岛素(insulin lispro)、甘精胰岛素(insulin glargine)、exubera、AERx 胰岛素糖尿病管理系统、AIR 吸入胰岛素、oralin、

地特胰岛素(insulin detemir)、insulin glulisine)、过氧化物酶体增殖子激活的受体-γ激动剂(例如罗格列酮、匹格列酮、isaglitazone、rivoglitazone、T-131、MBX-102、R-483 CLX-0921)、双重 PPAR 激动剂和 PPAR pan 激动剂(例如 BMS-398585、tesaglitazar、muraglitazar、naveglitazar、TAK-559、netoglitazone、GW-677594、AVE- 0847、LY-929、ONO-5129)、联合疗法(例如二甲双胍/格列苯脲、二甲双胍/罗格列酮、二甲双胍/格列吡嗪)、氯茴苯酸类(例如瑞格列奈、那格列奈)、α-葡糖苷酶抑制剂(例如阿卡玻糖、米格列醇、伏格列波糖)、高血糖素样肽-1 (GLP-I)类似物和激动剂(例如 Exenatide、Exenatide LAR、Liraglutide、CJC-1131、AVE-0010、BIM-51077、NN-2501、SUN-E7001)、二肽基肽酶 IV(DPP-IV)抑制剂(例如 LAF-237、MK-431 (Merck and Co)、PSN-9301 (Probiodrug Prosidion)、815541 (GlaxoSmithKline-Tanabe)、823093(GlaxoSmithKline)、825964 (GlaxoSmithKline)、BMS-477118)、胰脂肪酶抑制剂(例如奥利斯特)、Na^+-葡糖共转运蛋白(SGLT)抑制剂(例如 T-1095 (Tanabe-J&J)、AVE-2268、869682 (GlaxoSmithKline-Kissei))和糊精类似物(例如普兰林肽)。

[0046] 在其它实施方案中，可将化学陪伴分子或 ER 应力调节剂(例如 PBA、TUDCA、TMAO 或其衍生物)与抗肥胖症药联合使用。抗肥胖症药的实例包括胰脂肪酶抑制剂(例如奥利斯特)、5-羟色胺和去甲肾上腺素再摄取抑制剂(例如西布曲明)、去甲肾上腺素能减食欲剂(例如苯丁胺、氯苯咪吲哚)、外周作用药(例如 ATL-962 (Alizyme)、HMR-1426 (Aventis)、GI-181771 (GlaxoSmithKline))、中枢作用药(例如重组人睫状节神经细胞营养因子、利莫那班(SR-141716) (Sanofi-Synthélabo)、BVT-933 (GlaxoSmithKline/Biovitrum)、安非他酮(Bupropion) SR (GlaxoSmithKline)、P-57 (Phytopharm))、热量生成剂(例如 TAK- 677 (AJ-9677) (Dainippon/Takeda))、大麻素 CB1 拮抗剂(例如 acomplia、SLV319)、缩胆囊素(CCK)激动剂(例如 GI 181771

(GSK))、脂质代谢调节剂(例如 AOD9604 (Monash University/Metabolic Pharmaceuti- cals)、高血糖素样肽 1 激动剂(例如 AC137 (Amylin))、瘦素激动剂(例如第二代瘦素(Amgen)、β-3 肾上腺素能激动剂(例如 SR 58611 (Sanofi- Aventis)、CP 331684 (Pfizer)、LY 377604 (Eli Lilly)、n5984 (Nisshin Kyorin Pharmaceutical))、肽激素(例如肽 YY [3-36] (Nastech))、CNS 调节剂(例如 S2367 (Shionogi & Co. Ltd.))、神经细胞营养因子(例如 peg axokine)和 5HT2C 5-羟色胺受体激动剂(例如 APD356)。其它抗肥胖症药包括盐酸脱氧麻黄碱、1426 (Sanofi- Aventis)、1954 (Sanofi-Aventis)、c-2624 (Merck & Co)、c-5093 (Merck & Co)和 T71 (Tularik)。

[0047] 在另外的其它实施方案中，可将化学陪伴分子或 ER 应力调节剂(例如 PBA、TUDCA、TMAO 或其衍生物)与抗血脂紊乱药或抗动脉粥样硬化药联合使用。抗血脂紊乱药或抗动脉粥样硬化药的实例包括 HMG-CoA 还原酶抑制剂(例如阿伐他汀、普伐他丁、辛伐他汀、洛伐他丁、氟伐他丁、西立伐他汀、罗苏伐他汀、匹伐他汀)、贝特类(fibrates)(例如环丙贝特、苯扎贝特、氯贝特、非诺贝特、吉非贝齐(gemfibrozil)、胆汁酸多价螯合剂(例如考来烯胺、考来替泊、考来维仑)、烟酸(速释和控释)、抗血小板剂(例如阿司匹林、氯吡格雷(clopidogrel)、噻氯匹定)、血管紧张素转换酶(ACE)抑制剂(例如雷米普利、伊拉普利)、血管紧缩素 II 受体拮抗剂(例如氯沙坦钾)、脂酰辅酶 A 胆固醇乙酰转移酶(ACAT)抑制剂(例如阿伐麦布(avasimibe)、eflucimibe、CS-505 (Sankyo and Kyoto)、SMP-797 (Sumito))、胆固醇吸收抑制剂(例如依泽替米贝(ezetimibe)、帕马苷(pamaqueside))、烟酸衍生物(例如烟酸)、胆固醇酯转移蛋白(CETP)抑制剂(例如 CP-529414(Pfizer)、JTT-705(Japan Tobacco)、CETi-I、torcetrapib)、微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)抑制剂(例如英普他派(implitapide)、R-103757、CP-346086 (Pfizer))、其它胆固醇调节剂(例如 NO-1886 (Otsuka/TAP Pharmaceutical)、CI-1027 (Pfizer)、WAY-

135433 (Wyeth-Ayerst))、胆汁酸调节剂(例如 GTl 02-279 (GelTex/Sankyo)、HBS-107 (Hisamitsu/ Banyu)、BTG-511 (British Technology Group)、BARI-1453 (Aventis)、S-8921(Shionogi)、SD-5613 (Pfizer), AZD-7806 (AstraZeneca))、过氧化物酶体增殖活化受体(PPAR)激动剂(例如 Tesaglitazar (AZ-242) (AstraZeneca)、Netoglitazone (MCC-555) (Mitsubishi/Johnson & Johnson)、GW-409544 (Ligand Pharmaceuticals/GlaxoSmithKline), GW-501516 (Ligand Pharmaceuticals/GlaxoSmithKline)、LY-929 (Ligand Pharmaceuticals and Eli Lilly)、LY-465608 (Ligand Pharmaceuticals and Eli Lilly)、LY-518674 (Ligand Pharmaceuticals and Eli Lilly)、MK-767 (Merck and Kyorin))、基于基因的疗法(例如 AdGVVEGF 121.10 (GenVec)、ApoAl (UCB Pharma/Groupe Fournier)、EG-004 (Trinam) (Ark Therapeutics)、ATP-结合盒式转运蛋白-Al (ABCAl) (CV Therapeutics/Incyte, Aventis, Xenon))、复合血管保护剂(例如 AGI- 1067 (Atherogenics))、BO-653 (Chugai)、糖蛋白 Ilb/IIIa 抑制剂(例如罗昔非班(Roxifiban) (Bristol-Myers Squibb)、更托非班(Gantofiban) (Yamanouchi)、Cromafiban (Millennium Pharmaceuti- cals))、阿司匹林及其类似物(例如控释阿司匹林制剂(asacard)、缓释阿司匹林、帕米格雷(pamicogrel))、联合疗法(例如烟酸/洛伐他丁、阿洛地平(amlodipine)/阿托伐他丁、辛伐他丁/依泽替米贝)、IBAT 抑制剂(例如 S-89-21 (Shionogi))、角鲨烯合酶抑制剂(例如 BMS-188494 I (Bristol-Myers Squibb)、CP-210172 (Pfizer)、CP-295697 (Pfizer)、CP-294838 (Pfizer)、TAK-475 (Takeda))、单核细胞化学诱引蛋白(MCP-I)抑制剂(例如 RS-504393 (Roche Bioscie- nce)、其它 MCP-I 抑制剂(GlaxoSmithKline, Teijin 和 Bristol-Myers Squibb))、肝 X 受体激动剂(例如 GW-3965 (GlaxoSmithKline), TU-0901317 (Tularik))和其它新途径(例如 MBX-102 (Metabolex), NO-1886 (Otsuka)、Gemcabene (Pfizer))。

[0048] 在另外的其它实施方案中，可将化学陪伴分子或 ER 应

力调节剂(例如 PBA、TUDCA、TMAO 或其衍生物)与抗高血压药联合使用。抗高血压药的实例包括利尿剂(例如氯噻酮、美扎拉宗、吲达帕胺、布美他尼、依他尼酸、呋塞米、托塞米(torsemide)、盐酸阿米洛利、螺内酯、氨苯蝶啶)、α-阻滞剂(例如甲磺酸喹唑嗪(doxazosin)、盐酸哌唑嗪、盐酸特拉唑嗪(terazosin))、β-阻滞剂(例如醋丁洛尔、阿替洛尔、倍他洛尔、富马酸比索洛尔(bisoprolol)、盐酸卡替洛尔、酒石酸美托洛尔(metoprolol)、琥珀酸美托洛尔、纳多洛尔、硫酸喷布洛尔、吲哚洛尔、盐酸普萘洛尔、马来酸噻吗洛尔、卡维地洛(carvedilol))、Ca^{+2} 通道阻滞剂(例如苯磺酸氨氯地平、非洛地平、依拉地平(isradipine)、尼卡地平、硝苯地平、尼索地平(nisoldipine)、盐酸地尔硫䓬、盐酸维拉帕米、阿折地平(azelnidipine)、普拉地平(pranidipine)、分级(graded)地尔硫䓬制剂、(s)-氨氯地平(amlodipine)、氯维地平(clevidipine))、血管紧张素转换酶(ACE)抑制剂(例如盐酸贝那普利(benazepril)、卡托普利、马来酸依那普利、福辛普利(fosinopril)钠、赖诺普利(lisinopril)、莫昔普利(moexipril)、哌道普利(perindopril)、盐酸喹那普利(quinapril)、雷米普利、群多普利)、血管紧张素 II (AT-II)拮抗剂(例如氯沙坦(losartan)、缬沙坦(valsartan)、依贝沙坦(irbesartan)、坎地沙坦(candesartan)、替米沙坦(telmisartan)、依普沙坦(eprosartan)、奥美沙坦(olmesarta)、YM-358 (Yamanouchi))、血管肽酶抑制剂(例如奥马曲拉(omapatrilat)、gemopatrilat、法西多曲(fasidotril)、山帕曲拉(sampatrilat)、AVE 7688 (Aventis)、M100240 (Aventis)、Z13752A (Zambon/GSK)、796406 (Zambon/GSK))、双重中性肽链内切酶和内皮素(enotheline)转化酶(NEP/ECE)抑制剂(例如 SLV306 (Solvay)、NEP 抑制剂(例如依卡曲尔(ecadotril))、醛固酮拮抗剂(例如依普利酮(eplerenone))、肾素抑制剂(例如阿利吉仑(Aliskiren) (Novartis)、SPP 500 (Roche/Speedel)、SPP600 (Speedel)、SPP 800 (Locus/Speedel))、血管紧张素疫苗(例如 PMD-3117 (Protherics))、ACE/NEP 抑制剂(例如 AVE-7688 (Aventis)、GW-660511 (Zambon

SpA))、Na^+/K^+ ATP 酶调节剂(例如 PST-2238 (Prassis-Sigma-Tau)、内皮素拮抗剂(例如 PD- 156707 (Pfizer))、血管扩张剂(例如 NCX-4016 (NicOx)、LP-805 (Pola/Wyeth))、天然肽(例如 BDNP (Mayo Founda- tion))、血管紧张素受体阻滞剂(ARBs) (例如 pratosartan)、ACE 交联破碎剂(例如 alagebrium chloride)、内皮素受体激动剂(例如替唑生坦(tezosentan) (Genentech)、ambrisentan (Myogen)、BMS 193884 (BMS)、西他生坦(Encysive Pharmaceuticals)、SPP301 (Roche/Speedel)、达卢生坦(darusentan) (Myogen/Abbott)、J104132 (Banyu/Merck & Co.)、TBC3711 (Encysive Pharmaceuticals)、SB 234551 (GSK/Shionogi))、联合疗法(例如盐酸贝那普利/氢氯噻嗪、卡托普利/氢氯噻嗪、马来酸伊拉普利/氢氯噻嗪、赖诺普利/氢氯噻嗪、氯沙坦/氢氯噻嗪、阿替洛尔/氯噻酮、富马酸比索洛尔/氢氯噻嗪、酒石酸美多洛尔/氢氯噻嗪、氨氯地平苯磺酸盐/盐酸贝那普利、费乐地平/马来酸依那普利、盐酸维拉帕米/群多普利、乐卡地平和伊拉普利、奥美沙坦/氢氯噻嗪、依普沙坦/氢氯噻嗪、氨氯地平苯磺酸盐/阿伐他汀、尼群地平/伊拉普利)和 MC4232 (University of Manitoba/Medicure)。

[0049] 在某些实施方案中，可将化学陪伴分子或 ER 应力调节剂(例如 PBA、TUDCA、TMAO 或其衍生物)与维生素、矿物质或其它营养补充剂联合使用。

[0050] 在某些实施方案中，将 ER 应力调节剂(如 PBA、TUDCA、TMAO 或其衍生物)以亚-最适量(例如当在不存在第二种药物下给药时，不能呈现可检测的治疗益处的量)给药。在这些情况下，与另一药物联合，这种亚-最适量的 ER 应力调节剂的给药能产生协同作用。ER 应力调节剂与其它药物一起作用产生治疗益处。在其它实施方案中，将其它药物(即不是 ER 应力调节剂)以亚-最适剂量给药。在与 ER 应力调节剂联合用药时，联合用药呈现治疗效果。在另外的其它实施方案中，将 ER 应力调节剂和其它药物都以亚治疗剂量给药，且当联合产生治疗效果时。其它药物的剂量可以低于本领域

的那些标准剂量。

[0051] 抗糖尿病药、抗肥胖症药、抗血脂紊乱药或抗动脉粥样硬化药、维生素、矿物质和抗高血压药(以上所列)的给药剂量、给药途径、剂型等都是本领域已知的。治疗医生或卫生保健专家可以查阅诸如 Physician's Desk Reference (59th Ed., 2005)或 Mosby 's Drug Consult and Interacations (2005)的有关信息。应清楚治疗医生将根据其专业判断来确定针对具体患者的剂量安排。

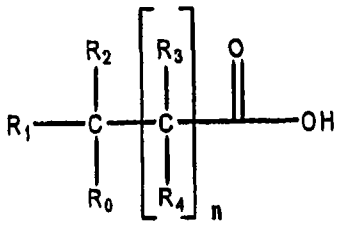
[0052] 本发明提供治疗 2 型糖尿病、胰岛素抗性、肥胖症和其它相关症状的体系和方法，它提供一种比单独给予 ER 应力形式或其它治疗形式更好的治疗方式。在某些实施方案中，治疗效果更高。在某些实施方案中，联合用药具有协同作用。在其它实施方案中，联合疗法具有累加效应。联合治疗方案的给药可降低或甚至避免某些不需要的或有害的副作用。在其它实施方案中，可将联合给药的各药物以较低的剂量给予，以较低的频率给予或者以较低频率和较低的剂量给药。因此，具有上述益处的联合疗法可增加患者的顺从性、提供治疗和/或降低不需要的或有害的副作用。

[0053] 在某些实施方案中，可将化学陪伴分子(例如 PBA、TUDCA、TMAO 或其衍生物)与降血糖药联合使用。例如，可将胰岛素、高血糖素、双胍降血糖剂(例如二甲双胍、苯乙双胍或丁二胍)、噻唑烷二酮降血糖剂(例如环格列酮(ciglitazone)、匹格列酮)、磺酰脲类降血糖剂(例如甲苯磺丁脲、氯磺丙脲、醋磺环己脲、妥拉磺脲、格列本脲、格列吡嗪或格列齐特)、α-葡糖苷酶抑制剂(例如阿卡玻糖)或者二氮嗪与甘油、D_2O、二甲亚砜(DMSO)、4-苯基丁酸盐(PBA)、牛熊去氧胆酸(TUDCA)、甘氨酸三甲铵乙内酯(甜菜碱)、甘油磷酸胆碱(GPC)、甲胺类和三甲胺 N-氧化物(TMAO)联合使用。某些具体的示例性联合疗法包括胰岛素和 PBA、胰岛素和 TUDCA、胰岛素和甜菜碱、胰岛素和 GPC、胰岛素和 TMAO、二甲双胍和 PBA、二甲双胍和 TUDCA、二甲双胍和甜菜碱、二甲双胍和 GPC、二甲双胍和

TMAO、噻唑烷二酮降血糖剂和 PBA、噻唑烷二酮降血糖剂和 TUDCA、噻唑烷二酮降血糖剂和甜菜碱、噻唑烷二酮降血糖剂和 GPC、噻唑烷二酮降血糖剂和 TMAO。在某些实施方案中，用于治疗或预防糖尿病、胰岛素抗性、高血糖症或 2 型糖尿病的联合用药是 4-苯基丁酸盐(PBA)和二甲双胍。对于联合疗法来讲，无论它们是化学陪伴分子的组合、ER 应力调节剂的组合或者是化学陪伴分子/ER 应力调节剂与其它诸如降血糖药的组合，都可将各药物同时或连续给药。在某些实施方案中，将化学陪伴分子或 ER 应力调节剂在其它药物之前给药。在其它实施方案中，将化学陪伴分子或 ER 应力调节剂在其它药物之后给药。

[0054] 在某些实施方案中，显示降低 ER 应力的小分子药物包括 4-苯基丁酸盐(PBA)、牛熊去氧胆酸(TUDCA)和三甲胺 N-氧化物(TMAO)。PBA 目前用于治疗αl-抗胰蛋白酶缺陷、尿循环障碍和囊性纤维化。PBA、TUDCA 或 TMAO 的衍生物、盐(例如钠、钾、镁、铵等)、前药、酯、异构体和立体异构体也可用于治疗肥胖症、高血糖症、2 型糖尿病和胰岛素抗性。虽然不希望受任何具体理论的束缚，但现认为这些化合物通过使 ER 更好地处理错折叠和/或 ER 处理突变蛋白而发挥作用。

[0055] 在某些实施方案中，用于本发明的 4-苯基丁酸盐的衍生物，或其药学上可接受的盐或其混合物具有下式:



其中 n 是 1 或 2;

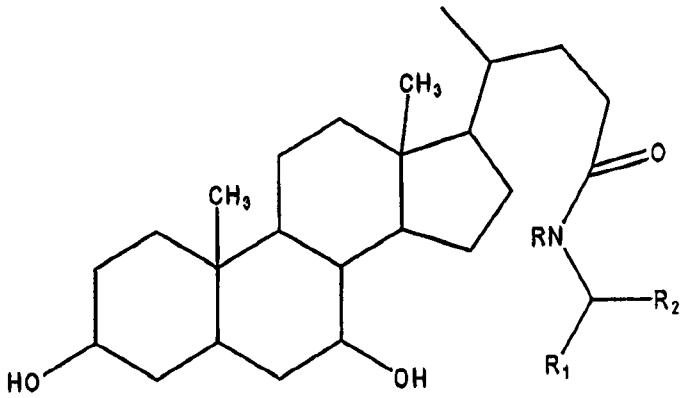
R_0 是芳基、杂芳基或苯氧基，其中所述芳基、杂芳基和苯氧基为未取代的或独立地被一或多个卤素、羟基或低级烷基(C_1-C_6)基团取代;

R_1和R_2独立为H、低级烷氧基、羟基、低级烷基或卤素;

R_3和R_4独立为H、低级烷基、低级烷氧基或卤素。

在某些实施方案中，R_0是取代的或未取代的苯基环。在某些实施方案中，R_0是未取代的苯基环。在其它实施方案中，R_0是单取代的苯环。在另一些其它实施方案中，R_0是双取代的苯环。在又一些其它实施方案中，R_0是三取代的苯环。在某些实施方案中，R_0是被1、2、3或4个卤原子取代的苯环。在某些实施方案中，R_0是取代的或未取代的杂芳基环。在某些实施方案中，R_0是萘基环。在某些实施方案中，R_0是5或6元环，优选6元环。在某些实施方案中，R_1和R_2都是H。在某些实施方案中，n是1。在其它实施方案中，n是2。在某些实施方案中，R_3和R_4都是H。在其它实施方案中，R_3或R_4至少一个是H。在某些实施方案中，所用的化合物为盐的形式(钠盐、钾盐、镁盐、铵盐等)。本发明使用的其它衍生物在通过引用结合到本文中的美国专利5,710,178中描述。4-苯基丁酸盐或其衍生物可由商业来源获得或者通过全合成或半合成制备。

[0056] 在某些实施方案中，本发明所用的TUDCA衍生物是具有下式的化合物或其药学上可接受的盐或衍生物:



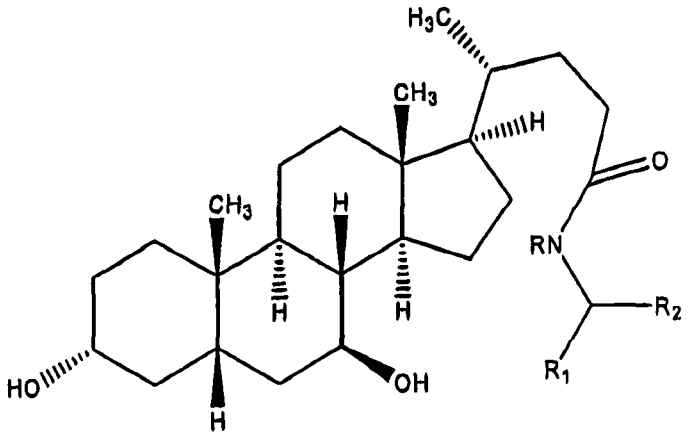
其中R是-H或C_1-C_4烷基;

R_1是-CH_2-SO_3R_3以及R_2是-H;或者R_1是-COOH以及R_2是-CH_2-CH_2-$CONH_2$、-CH_2-$CONH_2$、-CH_2-CH_2-SCH_3或-CH_2-S-

CH_2-COOH; 以及

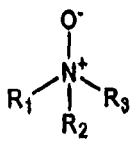
R_3是-H或碱性氨基酸残基。

在某些实施方案中，所述衍生物的立体化学根据以下结构所示定义:



在某些实施方案中，R是H。在其它实施方案中，R是甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基或叔丁基，优选为甲基。在某些实施方案中，R_1或R_2是氢。在某些实施方案中，R_1是-CH_2-SO_3R_3和R_2是-H。在其它实施方案中，R_1是-COOH和R_2是-CH_2-CH_2-$CONH_2$、-CH_2-$CONH_2$、-CH_2-CH_2-SCH_3或-CH_2-S-CH_2-COOH。在某些实施方案中，R_3是氢。在某些实施方案中，R_3是赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸或组氨酸。TUDCA和熊脱氧胆酸的衍生物可由商业来源获得、由全合成制备或者半合成获得。在某些实施方案中，所述衍生物可如美国专利5,550,421和4,865,765中所述的方法经半合成制备，所述各专利通过引用结合到本文中。

[0057] 在某些实施方案中，本发明可用的三甲胺N-氧化物的衍生物为下式化合物其药学上可接受的盐或其混合物:



其中

R_1、R_2和R_3独立地为氢、卤素或低级C_1-C_6烷基。在某些实施方案中，R_1、R_2和R_3相同。在其它实施方案中，R_1、R_2和R_3至少一

个是不同的。在另一些其它各实施方案中，R_1、R_2 和 R_3 都不相同。在某些实施方案中，R_1、R_2 和 R_3 独立为氢或低级 C_1-C_6 烷基。在另一些其它各实施方案中，R_1、R_2 和 R_3 独立为低级 C_1-C_6 烷基。在另一些其它各实施方案中，R_1、R_2 和 R_3 独立地为甲基、乙基或丙基。在某些实施方案中，R_1、R_2 和 R_3 为乙基。TMAO 的衍生物可由商业来源获得或者可通过全合成或半合成制备。

[0058] 在其它实施方案中，所述药物为核酸，例如抑制的 RNA，如 siRNA。在其它实施方案中，所述药物为蛋白质，例如抗体或抗体片段。在另一些其它实施方案中，所述药物为肽。

[0059] 在治疗患有肥胖症、外周胰岛素抗性、高血糖症或 2 型糖尿病的动物中，可通过能获得所要求的生物学结果的任何途径，给予患者治疗有效量的药物。可使用的任何途径包括口服、非肠道、静脉内、动脉内、肌内、皮下、直肠、阴道、经皮、腹膜内和鞘内途径。在某些实施方案中，经非肠道给药。在其它实施方案中，口服进行给药。

[0060] 在使用 PBA、TUDCA 或 TMAO 中，优选口服给药；但是，还可使用以上所列的任何给药途径。在某些实施方案中，可将 PBA、TUDCA 或 TMAO 非肠道给药。PBA 的给药剂量范围为 10 mg/kg/日-5 g/kg/日，优选 100 mg/kg/日-1 g/kg/日，更优选 250 mg/kg/日-750 mg/kg/日。TUDCA 的给药剂量范围为 10 mg/kg/日至 5 g/kg/日，优选 100 mg/kg/日至 1 g/kg/日，更优选 250 mg/kg/日至 750 mg/ kg/日。 TMAO 的给药剂量范围为 10 g/kg/日至 0.1 g/kg/日，优选 5 g/kg/日至 0.5 g/kg/日，更优选 2.5 g/kg/日至 500 mg/kg/日。在某些实施方案中，可将药物以分剂量给予(例如每日 2 次、每日 3 次，每日 4 次、每日 5 次)。在其它实施方案中，将药物以每日单剂量给药。

药用组合物

[0061] 本发明的药用组合物和本发明药用组合物的用途可包括药学上可接受的赋形剂或载体。本文所用的术语“药学上可接受的

载体”指无毒、惰性固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、包囊材料或任何类型的制剂辅助剂。用作药学上可接受的载体的物质的某些实例是糖，如乳糖、葡萄糖和蔗糖；淀粉，如玉米淀粉和马铃薯淀粉；纤维素及其衍生物，如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素；粉末化黄耆胶；麦芽、明胶；滑石粉；赋形剂如可可脂和栓剂蜡；油如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；二醇类，如丙二醇；酯类，如油酸乙酯和月桂酸乙酯；琼脂；除污剂，如吐温 80；缓冲剂，如氢氧化镁和氢氧化铝；藻酸；无热原水；等渗盐水；林格氏溶液；乙醇；人工脑脊髓液(CSF)和磷酸盐缓冲溶液，以及其它非毒性可配伍的润滑剂，如十二烷基硫酸钠和硬脂酸镁，以及着色剂、释放剂、包衣剂、甜味剂、矫味剂和香料，根据制剂者的判断，防腐剂和抗菌剂也可存在于组合物中。可将本发明的药用组合物经以下途径给予人和/或动物：口服、直肠、非肠道、脑池内、阴道内、鼻腔内、腹膜内、局部(如通过散剂、霜剂、软膏剂或滴剂)、经皮、皮下、颊内或者口腔或鼻内喷雾剂。

[0062] 注射制剂，如无菌注射水性或油性混悬剂，可根据已知的技术，采用适当的分散剂或湿润剂以及悬浮剂制备。无菌注射剂也可以是一种在无毒性非肠道上可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液、混悬液或乳液，如 1,3-丁二醇中的溶液。可使用的所述可接受的介质和溶剂是水、林格氏溶液(U.S.P.)和等渗氯化钠溶液。另外，一般可将无菌的不挥发性油类用作溶剂或悬浮介质。为此，可使用任何温和的不挥发性油，包括合成的单-或二-甘油酯。另外，在制备注射剂中，可使用脂肪酸如油酸。

[0063] 可通过诸如下列方法将注射剂灭菌：通过截菌滤器过滤、或者通过将灭菌剂加入到无菌固体组合物中，该组合物在使用前将其溶解或分散于无菌水和其它无菌注射介质中来应用。

[0064] 可将本发明的药用组合物与其它用于治疗糖尿病、胰岛素抗性或肥胖症的药物一起以药剂盒的形式提供。所述药剂盒可包

括供医师和/或患者使用的说明书，该说明书可包括给药剂量信息、安全信息、副作用目录、药物的化学式、作用机理等。在某些实施方案中，药剂盒可包括供给予药用组合物的物质。例如，药剂盒可包括供注射剂给药的注射器、针头、酒精交换物等。在某些实施方案中，当药剂盒中提供两种或两种以上的药物时，可将各活性组分制成各自单一制剂或配制在一起。例如，药剂盒可包括两个容器，第一个容器装有 ER 应力调节剂(例如 PBA、TUDCA、TMAO 或其衍生物)，第二个容器装有用于治疗 2 型糖尿病、胰岛素抗性、高血糖症、肥胖症或相关疾病的第二种药物(例如如上所述的抗糖尿病药、抗肥胖症药、抗血脂紊乱药或抗动脉粥样硬化药、维生素、矿物质和抗高血压药)。在某些实施方案中，可将各活性组分各自制成制剂。在其它实施方案中，可将各活性组分配制在一起。

ER 应力降低剂的筛选

[0065] 如本发明所示，已证明 ER 应力可作为治疗包括肥胖症、2 型糖尿病、胰岛素抗性和高血糖症的各种疾病的靶标。ER 应力的标记也被鉴定出来。由于对降低或预防 ER 应力的新的药物的需求，所以需要鉴定或筛选 ER 应力调节剂的方法。

[0066] 在某些实施方案中，将化合物或化合物收集物进行分析测定，以鉴定能够在体内或体外(优选体内)降低或调节 ER 应力的化合物。这些化合物可以是任何类型的化学化合物，包括小分子、蛋白质、肽、多核苷酸、碳水化合物、脂质等。在某些实施方案中，使用本发明的方法筛选化合物的组合。这些收集物可以是过去的源自制药公司的化合物的库存。所述收集物也可以是化学化合物的组合库。所述收集物可包括至少 5、10、50、100、500、1000、10000、100000 或 1000000 个化合物。

[0067] 可将所述化合物与细胞接触。细胞可以是具有内质网的任何类型的细胞。细胞可以是动物细胞、植物细胞或真菌细胞。在某些实施方案中，优选哺乳动物细胞，尤其是人体细胞。这些细胞

可源自任何器官系统。在某些实施方案中，优选源自脂肪组织和肝组织的细胞。

[0068] 在筛选降低ER应力的药物中，将实验化合物与已体验ER应力的细胞接触。细胞中的ER应力可通过本领域已知的任何技术引起。例如，ER应力可归因于细胞中遗传变更(例如XBP-1突变)或者用已知能引发ER应力的化学化合物处理(例如衣霉素、毒胡萝卜素)。在加入实验化合物之前和之后测定ER应力标记的水平，以确定化合物是否降低ER应力。本发明方法中可测定的ER应力的标记包括剪接形式的XBP-1、磷酸化状态的PERK(如Thr980)、磷酸化的eIF2α(如Ser51)、mRNA和/或蛋白水平的GRP78/BIP和JNK活性。在某些实施方案中，可测定一种ER标记。在其它实施方案中，可测定2、3、4、5、6或更多种ER应力标记的组合的水平。将能降低ER应力标记水平至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%，优选至少25%，更优选至少50%的实验化合物认定为能用于临床上评估ER应力的降低剂。本领域技术人员将清楚，可在各种浓度以及在各种条件下(例如各种细胞类型、各种原因的ER应力(遗传性对化学性)、各种制剂)测试实验化合物。

[0069] 在另一方面，本发明提供一种鉴别能预防ER应力的化合物的方法。在筛选预防ER应力的化合物中，细胞在与试验化合物接触之前未经历ER应力。使细胞与试验化合物接触之后，向细胞中加入已知能引起ER应力的药物，然后测定至少一种ER标记的水平，以确定化合物是否能预防ER应力。如本领域技术人员清楚的一样，可在各种浓度和各种条件下测定试验化合物。

[0070] 可将通过本发明方法鉴定的药物进一步进行体内毒性、药代动力学性质、用途等试验，以使得可将它们制成制剂并在临床上用于治疗肥胖症、2型糖尿病、高血糖症和胰岛素抗性。还可发现所鉴定的药物在治疗与ER应力有关的其它疾病中的用途。

诊断与ER应力有关的病症

[0071] 各种 ER 应力标记的鉴定能诊断与 ER 应力有关的病症并能筛选面临发生与 ER 应力有关的病症的患者。已显示肥胖症、高血糖症、2 型糖尿病和胰岛素抗性都与 ER 应力有关。因此，测定患者中 ER 应力标记的水平即考虑到确定是否患者面临任何这些疾病的风险。可使用测定 ER 应力标记的水平来确定发生与 ER 应力有关的任何病症(例如囊性纤维化、阿尔茨海默氏病)的风险。

[0072] 已被鉴定的 ER 应力标记包括剪接形式的 XBP-1、磷酸化状态的 PERK、磷酸化的 eIF2α、mRNA 水平的 GRP78/BIP、蛋白水平的 GRP78/BIP 和 JNK 活性。可使用本领域已知的测定 mRNA 水平、蛋白水平、蛋白活性或磷酸化状态的任何技术测定这些 ER 应力标记。测定 ER 应力标记的示例性技术包括蛋白质印迹分析、RNA 印迹分析、免疫测定法、PCR 定量分析和酶活性试验(这些技术的更详细说明请参见 Ausubel 等 Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, Inc., New York, 1999); Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., ed. by Sambrook, Fritsch, and Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press: 1989); 各自通过引用结合到本文中)。

[0073] 在测定患者是否面临与 ER 应力有关的病症的风险时，可测定 1、2、3、4、5 或 6 种 ER 应力标记的水平。在某些实施方案中，仅测定一种 ER 应力标记的水平。在其它实施方案中，测定至少两种 ER 标记的水平。在另外的其它实施方案中，测定至少三种 ER 应力标记的水平。

[0074] 一般地，如果所测定的 ER 应力标记水平比正常对照组增加，那么即认为所测定的患者面临胰岛素抗性、肥胖症、高血糖症或 2 型糖尿病的风险。然后将所鉴定的患者进行进一步的测试，可以开始治疗，或者可注意患者与胰岛素抗性、肥胖症、高血糖症或 2 型糖尿病的有关的症状和体征的进一步发展。下一行动过程一般在与患者商量后由患者的保健提供者确定。

[0075] 可测定患者体内的任何细胞的 ER 应力标记的水平。优选将细胞与所试验的病症联系起来。例如在测定诸如肥胖症、2 型糖尿病、胰岛素抗性或高血糖症的病症中，可使用肝细胞和脂肪细胞。在某些实施方案中，使用肝细胞。在其它实施方案中，所述细胞为脂肪细胞。在肝细胞情况下，细胞可通过肝脏活组织检查从患者中获得。脂肪细胞可通过患者的活组织检查获得。

[0076] 本发明还提供用于测定患者各种 ER 应力标记水平的试剂盒和系统。试剂盒包括引发剂、杂交探针、多核苷酸、抗体、抗体片段、凝胶、缓冲剂、酶底物、ATP 或其它核苷酸、用于从患者中获得细胞或活组织检查的工具、说明书、软件等。一般可将这些用于进行诊断方法的材料包装，以供医生、科学家、病理学家、护士、实验室技术人员或保健专家使用。

[0077] 本发明的这些和其它方面通过下列实施例被进一步解释说明，所述实施例用于说明本发明的某些具体的实施方案，但并不构成对本发明范围的限定，本发明范围通过权利要求书界定。

实施例

实施例 1：内质网应力与肥胖症、胰岛素作用以及 2 型糖尿病的联系

肥胖症中 ER 应力的诱导作用

[0078] 为检测 ER 应力在肥胖症中是否增加，我们在小鼠肥胖的饮食性(高脂肪饮食诱发)和遗传性(ob/ob)模型中研究了 ER 应力的几种分子指示器的表达模式。胰 ER 激酶或 PKR 样激酶(PERK)是 ER 跨膜蛋白激酶，其在响应于 ER 应力下使翻译起始因子 2 的α亚单位(eIF2α)磷酸化(Shi 等，MoI. Cell Biol. 18, 7499 (1998)；Harding 等，Nature 397, 271 (Jan 21, 1999)；其各自通过引用结合到本文中)。因此，PERK 和 eIF2α的磷酸化状态是 ER 应力存在的关键指示器。我们使用磷酸特异性抗体测定 PERK (Thr980)和 eIF2α (Ser51)的磷酸化状态。这些实验表明：与瘦的小鼠对照组比较，肥胖小鼠肝提取物中

PERK 和 eIF2α磷酸化增加(图 1A 和 1B)。ER 应力还导致 JNK 活性。与早期发现(J. Hirosumi 等，Nature 420, 333 (2002); 通过引用结合到本文中)一致的是，通过 c-Jun 磷酸化指示的总 JNK 活性也在肥胖小鼠中极大地增高(图 1A 和 1B)。

[0079] 78 kDa 葡萄糖调节/结合 Ig 蛋白(GRP78/BIP)是一种其表达随 ER 应力增加的 ER 陪伴分子。与匹配的瘦对照小鼠相比，肥胖小鼠肝组织中 GRP78/BIP mRNA 水平升高(图 1C 和 ID)。由于 GRP78 表达对葡萄糖做迅即响应，因此我们检测这种上调节是否简单地由于葡萄糖水平增加。用高水平葡萄糖处理培养的大鼠 Fao 肝细胞导致 GRP78 表达降低(图 9A)。类似的 GRP78 水平在高血糖症小鼠模型中不增加(图 9B)，其表明肥胖症中的调节不可能只与血糖有关。

[0080] 我们还对脂肪和肌肉组织，即对代谢体内平衡、肥胖症中 ER 应力的指征重要的部位进行了试验。与肝类似，与瘦的对照组比较，在肥胖动物的脂肪组织中 PERK 磷酸化、JNK 活性和 GRP78 表达都明显增加(图 10A-C)。但是，在肥胖动物的肌肉组织中没有出现明显的 ER 应力指征(数据未显示)。综上所述，这些结果表明肥胖症与主要在肝和脂肪组织中的 ER 应力的诱导有关。

ER 应力抑制肝细胞中的胰岛素作用

[0081] 为研究 ER 应力是否干扰胰岛素作用，我们用通常用于诱导 ER 应力的试剂衣霉素和毒胡萝卜素预处理 Fao 肝细胞。衣霉素明显降低 IRS-1 的胰岛素刺激的酪氨酸磷酸化(图 11A 和 11B)，并且还使 IRS-1 的分子量增加(图 11A)。IRS-1 是胰岛素受体酪氨酸激酶的底物，而 IRS-1 的丝氨酸磷酸化，尤其通过 JNK 介导，能降低胰岛素受体信号(Hirosumi 等，Nature 420:333 (2002); 通过引用结合到本文中)。用衣霉素预处理的 Fao 细胞使得 IRS-1 的丝氨酸磷酸化明显增加(图 11A 和 11B)。衣霉素预处理还抑制胰岛素诱导的 Akt 磷酸化，胰岛素受体信号途径中更为远侧的事件(图 11A 和 11B)。类似的结果也在用毒胡萝卜素处理后得到(图 12A)，其与细胞钙水平中的改

变无关(图 12B)。

[0082] 然后，我们检测了 JNK 对 IRS-1 丝氨酸磷酸化的作用以及 ER 应力对胰岛素刺激的 IRS-1 酪氨酸磷酸化的抑制作用(图 11C 和 11D)。用合成抑制剂 SP600125 抑制 JNK 活性逆转 ER 应力诱导的 IRS-1 的丝氨酸磷酸化(图 11C 和 11D)。用源于 JNK 结合蛋白 JIP (Barr 等，J. Biol. Chem. 277:10987 (2002)；通过引用结合到本文中)的高特异性抑制肽预处理 Fao 细胞也完全保护暴露于衣霉素的细胞中的胰岛素受体信号(图 11E 和 11F)。用合成 JNK 抑制剂 SP600125 也得到类似的结果(数据未显示)。这些结果表明 ER 应力促进 IRS-1 的 JNK-依赖性丝氨酸磷酸化，然后依次抑制胰岛素受体信号。

IRE-I 在胰岛素受体信号中发挥关键作用

[0083] 在 ER 应力存在下，需要激酶-lα (IRE-1α)的肌醇的磷酸化的增高导致 TNF-α受体-相关因子 2 (TRAF2)蛋白的复原并激活 JNK (Urano 等，Science 287:664 (2000)；通过引用结合到本文中)。为确定 ER 应力诱发的胰岛素抗性是否依赖完整的 IRE-1α，我们在暴露于衣霉素的 IRE-1$\alpha^{-/-}$和野型(WT)成纤维细胞中测定 JNK 活性、IRS-1 丝氨酸磷酸化以及胰岛素受体信号。在 WT 但非 IRE-1$\alpha^{-/-}$细胞中，衣霉素诱导的 ER 应力导致强烈的 JNK 激活(图 11G)。衣霉素还刺激 WT 中(图 11G)但非 IRE-1$\alpha^{-/-}$成纤维细胞(图 11E)中的 Ser307 残基上的磷酸化。重要的是，衣霉素在 WT 细胞中抑制 IRS-1 的胰岛素刺激的酪氨酸磷酸化，然而在 IRE-1$\alpha^{-/-}$细胞中未检测到这种结果(图 11H)。尽管总 IRS-1 蛋白水平较低，但 IRS-1 的胰岛素刺激的酪氨酸磷酸化的水平在 IRE-1$\alpha^{-/-}$细胞中特别高(图 11H)。这些结果表明 ER 应力-诱导的胰岛素作用的抑制作用由 IRE-1α-JNK-依赖性蛋白激酶级联所介导。

XBP-1 水平的控制改变胰岛素受体信号

[0084] 转录因子 XBP-1 是 bZIP 蛋白。剪接或处理形式的 XBP-1 (XBP-1s)是分子陪伴分子的转录调节中的关键因素，并增强代偿性

UPR (Calfon 等，Nature 415, 92 (2002)；Shen 等，Cell 107:893 (2001)；Yoshida 等，Cell 107:881 (2001)；Lee 等，Mol. Cell Biol. 23:7448 (2003)；各自通过引用结合到本文中)。因此，我们证实细胞中 XBP-1s 水平的调节应该通过其对 ER 应力反应的强度而改变胰岛素作用。为测定这种可能性，我们建立 XBP-1 功能-获得和-丧失细胞模型。首先，我们建立一种诱导基因表达系统，其中外源性 XBP-1s 仅在四环素/脱氧土霉素不存在时表达(图 13A)。平行地，我们还研究源于 XBP-$1^{-/-}$小鼠胚胎中的 MEFs (Lee 等，MoI. Cell Biol. 23, 7448 (2003)；A. M. Reimold 等，Genes Dev. 14, 152 (2000)；Reimold 等，Nature 412, 300 (2001)；各自通过引用结合到本文中) (图 13B)。在无外源性 XBP-1s 表达的成纤维细胞中，衣霉素处理(2 μg/ml)30 分钟开始导致强力的 PERK 磷酸化，在 3-4 小时达到与 PERK 磷酸化的位移迁移率(mobility shift)变动特性有关的峰值(图 13C)。在这些细胞中，对 ER 应力响应还呈现快速和有力的 JNK 活化(图 13C)。在 XBP-1s 表达的诱导下，衣霉素处理后，PERK 磷酸化和 JNK 活化都明显降低(图 13C)。因此，XBP-1s 的过度表达致使 WT 细胞抗拒 ER 应力。在 XBP-$1^{-/-}$ MEFs 中所进行的类似实验显示出相反的模式(图 13D)。甚至当用低剂量衣霉素(0.5 μg/ml)处理时，XBP-$1^{-/-}$ MEFs 也有强烈的 ER 应力反应，其在 WT 细胞中不能明显刺激 ER 应力(图 13D)。在这些条件下，XBP-$1^{-/-}$ MEFs 中 PERK 磷酸化和 JNK 活性水平比 WT 对照组中所观察到的明显更高(图 13D)，表明 XBP-$1^{-/-}$细胞倾向于 ER 应力。因此，细胞 XBP-1s 蛋白的水平的改变导致 ER 应力反应改变。

[0085] 然后，我们检测了 ER 应力反应中的这些差别是否在胰岛素作用中产生变更，这可通过 IRS-1 丝氨酸磷酸化和胰岛素刺激的 IRS-1 酪氨酸磷酸化评估。与对照细胞相比，在外源性表达 XBP-1s 的成纤维细胞中，衣霉素诱导的 IRS-1 丝氨酸磷酸化明显降低(图 13E)。在胰岛素刺激时，与对照组比较，在过度表达 XBP-1s 的细胞中，IRS-1 酪氨酸磷酸化的程度明显较高(图 13F)。相反地，与 XBP-

$1^{+/+}$对照组比较，甚至在低剂量(0.5 μg/ml)的衣霉素处理下，IRS-1 丝氨酸磷酸化都由 XBP-$1^{-/-}$ MEFs 强烈地诱导(图 13G)。胰岛素刺激后，与衣霉素处理的 WT 对照组比较，在衣霉素处理的 XBP-$1^{-/-}$细胞中，IRS-1 酪氨酸磷酸化水平明显降低(图 13H)。在这些细胞中，胰岛素受体的胰岛素刺激的酪氨酸磷酸化正常(图 14)。

XBP-$1^{+/-}$小鼠呈现受损的葡萄糖体内平衡

[0086] 完全 XBP-1 缺陷导致胚胎死亡(Reimold 等，Genes Dev. 14: 152, 2000；通过引用结合到本文中)。为研究 XBP-1 对体内 ER 应力、胰岛素敏感性和系统葡萄糖代谢的作用，我们研究在一 XBP-1 等位基因上具有无效突变的 Balb/C-XBP-$1^{+/-}$小鼠。我们在 Balb/C 遗传背景下研究小鼠，因为这种品系小鼠对系统葡萄糖代谢中肥胖诱导的改变具有强烈的抗性。基于我们对细胞系统的效果，我们假定 XBP-1 缺陷易于使小鼠产生胰岛素抗性和 2 型糖尿病。

[0087] 将 3 周龄的的 XBP-$1^{+/-}$小鼠及其 WT 同窝小鼠(littermates)用高脂肪饮食(HFD)喂饲。平行地，将两种遗传型的对照小鼠置于日常饮食下。正常饮食下，两种基因型的总体重类似，直至保持到 HFD 下的 12 周龄。这段期间后，HFD 下的 XBP-$1^{+/-}$小鼠呈现出很小但明显的体重增加(图 15A)。16 周的 HFD 后，在两种遗传型之间所测定的瘦素(leptin)、脂联素(adiponectin)和甘油三酯的血清水平不呈现任何统计学上的明显差异(图 16)。

[0088] 在 HFD 下，XBP-$1^{+/-}$小鼠早在 4 周时，即发生持续性和递增性的明显高胰岛素血症(图 15B)。实验期间，XBP-$1^{+/-}$小鼠的胰岛素水平持续增加。XBP-$1^{+/+}$小鼠中的血胰岛素水平比 XBP-$1^{+/-}$同窝小鼠中的明显低下(图 15B)。如图 15C 中所示，与 WT 对照组比较，XBP-$1^{+/-}$小鼠中 C-肽水平也明显较高。8 周开始，HFD 下 XBP-$1^{+/-}$小鼠中，血糖水平也开始升高，并一直保持高水平直至 20 周时作出实验结论(图 15D)。这种方式在禁食(图 15D)和喂食(未出现数据)状态相同。血糖在 HFD 下的小鼠中升高是发生外周胰岛素抗性的强有力的

指征。

[0089] 为研究系统性胰岛素的敏感性，我们对 XBP-1$^{+/-}$小鼠和 XBP-1$^{+/+}$对照组进行葡萄糖(GTT)和胰岛素(ITT)的耐受试验。暴露于 HFD 导致 XBP-1$^{+/-}$小鼠明显葡萄糖耐受不良。HFD 7 周后进行葡萄糖激发，XBP-1$^{+/-}$小鼠显示出比 XBP-1$^{+/+}$小鼠明显高的葡萄糖水平(图 15E)。HFD 16 周后，与 WT 小鼠比较，在 XBP-1$^{+/-}$小鼠中，这种葡萄糖耐受不良持续明显(图 15F)。在 ITT 过程中，与 HFD 8 周的 XBP-1$^{+/+}$同窝小鼠比较，在 XBP-1$^{+/-}$小鼠中，对胰岛素的低血糖反应也明显降低(图 15G)，HFD 17 周后，这种降低的反应性持续出现(图 15H)。在基因型之间进行对小岛形态学和功能的检测，未显示明显差异(图 17)。因此，XBP-1 等位基因的丧失易使小鼠产生食物诱发的胰岛素抗性和糖尿病。

XBP-1$^{+/-}$小鼠中 ER 应力增加和胰岛素信号受损

[0090] 我们的培养细胞试验证实在 XBP-1 缺陷细胞中 ER 应力增加及胰岛素信号能力降低，并且在高水平 XBP-1s 表达下这些显型逆转。如果该机理是 XBP-1$^{+/-}$小鼠中所观测到的胰岛素抗性的基础，那么这些动物呈现与受损的胰岛素受体信号偶合的高水平 ER 应力。为进行这种检测，我们首先在肥胖的 XBP-1$^{+/-}$和 WT 小鼠的肝中通过测定 PERK 磷酸化和 JNK 活性而评估 ER 应力。这些试验显示：与 HFD 下的 WT 对照组比较，肥胖的 XBP-1$^{+/-}$小鼠中 PERK 水平增加，并且肝 PERK 磷酸化也似乎增加(图 18A)。与 WT 对照组比较，XBP-1$^{+/-}$小鼠中 JNK 活性也明显增加(图 18B)。与这些结果一致的是，与 HFD 下的 WT 对照组比较，肥胖的 XBP-1$^{+/-}$小鼠中 IRS-1 的丝氨酸 307 磷酸化也增加(图 18C)。最后，我们研究这些小鼠中体内胰岛素刺激的胰岛素受体信号能力。在正常饮食的显型之间，肝和脂肪组织中任何胰岛素受体信号组分都无能检测到的差别(图 19)。但是，暴露于 HFD 后，与 WT 对照组比较，XBP-1$^{+/-}$小鼠的肝中的胰岛素受体信号的主要成分，包括胰岛素-刺激的 IR、IRS-1 和 IRS-2 酪氨酸-和 Akt 丝氨

酸-磷酸化都降低(图 18D-G)。与 HFD 下的 XBP-$1^{+/+}$小鼠相比，在 XBP-$1^{+/-}$小鼠的脂肪组织中也出现类似的胰岛素受体信号的抑制(图 20)。XBP-$1^{+/-}$小鼠中 IR 酪氨酸磷酸化的抑制与 在 XBP-$1^{-/-}$细胞中所作的观察不同，其中 ER 应力在受体后水平上抑制胰岛素作用。这很可能反映体内慢性高血糖症对胰岛素受体的作用。因此，我们的数据表明体内 ER 应力和胰岛素作用之间又关，但在确定胰岛素受体信号途径中的准确位置上(通过该机理靶向作用点)尚不明确。

讨论

[0091] 在该研究中，我们认定 ER 应力是肥胖症、胰岛素作用退化和 2 型糖尿病发展之间的一种分子连结体。

[0092] 我们的发现针对由 ER 和胰岛素作用抑制的肥胖诱发的代谢性应力的分子传感下的基本机理，其中所述代谢性应力最终导致胰岛素抗性和 2 型糖尿病。我们假定 ER 应力是肥胖症和系统性葡萄糖体内平衡的整体衰退中应力和炎症响应的出现的基础(Shi 等，Sonenberg, Endocr. Rev. 24:91 (2003); 通过引用结合到本文中)。我们的发现与本领域先前对 ER 应力与 1 型糖尿病关联的研究完全不同，表明 ER 应力是一种有关胰岛素抗性和 2 型糖尿病的整体机理。

[0093] 胰岛素作用中 ER 应力响应的关键作用可能代表一种进化性的保守机理，其将应力信号与代谢性调整途经整合在一起。通过 ER 应力的此种整合作用具有多种优点，原因是在急性应力、病原体侵入和免疫反应过程中，能量流的适当调整和主要合成代谢途径的抑制(如胰岛素作用)可能是有用的。但是，在慢性 ER 应力(如肥胖症)存在下，ER 应力和代谢性调节之间这种紧密的关联将导致产生胰岛素抗性，并最终产生 2 型糖尿病。最后，如果通过 ER 应力的应力信号和代谢体内平衡的整合对存活率具有潜在的积极作用，那么可对高响应性系统进行选择。这种选择可能是一种当今时代代谢疾病戏剧性高度流行的可能的潜在机制，原因是接触过度热量负载将产

生持续的 ER 应力。从治疗方面来看，我们的发现提出对 ER 应力响应的控制为预防和治疗 2 型糖尿病提供了新的机遇。

材料和方法

[0094] **生化试剂：** Anti-IRS-1、anti-phospho-IRS-1(Ser307)和 anti-IRS-2 抗体来源于 Upstate Biotechnology (Charlottesville, VA)。对抗磷酸酪氨酸、eIF2α、胰岛素受体β亚单位以及 XBP-1 的抗体均源自 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA)。抗-phospho-PERK、抗-Akt 和抗-phospho-Akt 抗体以及 c-Jun 蛋白来源于 Cell Signaling Technology (Beverly, MA)。抗-phospho-eIF2α抗体购自 Stressgen (Victoria, British Columbia, Canada)。抗胰岛素抗体和 C-肽 RIA 药剂盒购自 Linco Research (St. Charles, MO)。抗高血糖素抗体来源于 Zymed (San Francisco, CA)。PERK 抗血清由 Dr. David Ron (New York University School of Medicine)友好提供。德克萨斯红轭合的驴抗豚鼠 IgG 和荧光素轭合的(FITC-轭合)羊抗-兔 IgG 来源于 Jackson Immuno Research Laboratories (West Grove, PA)。毒胡萝卜素、衣霉素和 JNK 抑制剂来源于 Calbiochem (San Diego, CA)。胰岛素、葡萄糖和舒林酸硫化物来源于 Sigma (St. Louis, MO)。超敏感大鼠胰岛素 ELISA 药剂盒来源于 Crystal Chem Inc. (Downers Grove, IL)。

[0095] **细胞：** 将大鼠 Fao 肝细胞用含有 10%胎牛血清(FBS)的 RPMI 1640 (Gibco, Grand Island, NY)培养。在 70-80%融合时，将细胞在除去血清下(serum depleted)培养 12 小时，然后开始试验。将包括衣霉素、毒胡萝卜素和 JNK 抑制剂的试剂逐渐加入到培养箱中的培养皿内，以防止任何环境应力。加入 JNK 抑制剂，1 小时后进行衣霉素/毒胡萝卜素处理。 将 XBP-1$^{-/-}$小鼠胚胎成纤维细胞(MEF) (A. H. Lee, N. N. Iwakoshi, L. H. Glimcher, MoI. Cell Biol. 23:7448 (2003); 通过引用结合到本文中)、IRE-1α$^{-/-}$ MEF 细胞(由 Dr. David Ron, New York University School of Medicine 友好提供)和它们的野生型对照细胞在含有 10% FBS 的 Dulbecco's 改良 Eagle 培养基(DMEM)

(Gibco, Grand Island, NY)中培养。MEF 细胞试验按照类似方案进行，但细胞除去血清仅 6 小时。

[0096] **MEFs 中 XBP-1 的过度表达**：将 MEF-tet-off 细胞(BD Biosciences Clontech, Palo Alto, CA)在含有 100 μg/ml G418 和 1 μg/ml 脱氧土霉素的 DMEM 中培养。MEF-tet-off 细胞表达外源性 tTA (四环素控制的反式作用子)蛋白，其与 TRE (四环素响应元素)结合，并且仅在四环素和脱氧土霉素不存在下激活转录。将剪接形式的 XBP-1 的 cDNA 连接到 pTRE2hyg2 质粒(BD Biosciences Clontech, Palo Alto, CA)上。将 MEF-tet-off 细胞用 TRE2hyg2-XBP-1s 质粒转染，接着在 400 μg/ml 潮霉素 B 存在下选择。分离稳定转染子的个体克隆，然后通过免疫印迹法确认与脱氧土霉素相关的 XBP-1s 的表达。

[0097] **RNA 印迹分析**：用 Trizol 试剂(Invitrogen, Carlsbad, CA)，从小鼠肝中分离总 RNA，通过 1%琼脂糖凝胶分离，然后转移至 BrightStar Plus(增加发光痕迹)的尼龙膜上(Ambion, Austin, TX)。通过 RT-PCR，使用下列引发剂 5'-TGGAGTTCCCCAGATTGAAG-3'和 5'-CCTGACCCACCTTTTTCTCA-3'，从小鼠肝总 cDNAs 中制备 GRP78 cDNA 探针。使用随机 DNA 引物标记药剂盒(Roche, Indianapolis, IN)，用 ^{32}P-dCTP 对 DNA 探针进行标记。根据制造商(Ambion, Austin, TX)的实验方案进行杂化，并根据 Versa Doc 成像系统 3000 (BioRad, Hercules, CA)显像。

[0098] **细胞中的蛋白提取物**：在各处理结束时，将细胞立即在液氮中冷冻，并在-80℃下保持。用包含 25 mM Tris-HCl (pH7.4)、2 mM Na_3VO_4、10 mM NaF、10 mM $Na_4P_2O_7$、1 mM EGTA、1 mM EDTA、1% NP-40、5 μg/ml 亮抑酶肽、5 μg/ml 抑肽酶、10 nM 冈田酸和 1 mM 苯甲磺酰氟(PMSF)的溶胞缓冲液制备蛋白提取物。分别用 750 μg 和 75 μg 总蛋白进行免疫沉淀和免疫印迹试验。

[0099] **动物研究和肥胖症模型**：成年(10-12 周龄)雄性 ob/ob 小鼠和它们的野生型(WT)同窝出生的小鼠购自 Jackson Labs。饮食诱发

的肥胖症模型中使用的小鼠为雄性 C57BL/6。断奶后(在约 3 周)，即可使所有小鼠处于高脂肪饮食(HFD: 35.5%脂肪、20%蛋白质、32.7%碳水化合物、Bio-Serve)。XBP-$1^{+/-}$和 XBP- $1^{+/+}$小鼠处于 Balb/C 遗传背景下。如前所述，进行胰岛素和葡萄糖抗性试验(Hirosumi 等，Nature 420: 333(2002); 通过引用结合到本文中)。根据制造商说明书，使用小鼠标准物，进行胰岛素和 C-肽 ELISA (Crystal Chem Inc., Downers Grove, IL)。将从 16 周龄小鼠中分离的胰脏在布安氏液和福尔马林中固化，将石蜡切片用豚鼠抗-胰岛素和兔抗-高血糖素抗体进行双重染色。将德克萨斯红染料轭合的驴抗豚鼠IgG和FITC-轭合的羊抗-兔IgG用做第二抗体。

[00100] **胰岛素输注和组织蛋白的提取**: 如前所述，经门静脉注射胰岛素(Uysal 等，Nature 389:610 (1997); Hirosumi et al., Nature 420:333 (2002); 各自通过引用结合到本文中)。胰岛素输注 3 分钟后，移出肝，在液氮中冷冻，在-80℃下保持直至处理。为进行蛋白提取，将肝组织(~0.3g)置于包含 25 mM Tris-HCl (pH7.4)、10 mM Na_3VO_4、100 mM NaF、50 mM $Na_4P_2O_7$、10 mM EGTA、10 mM EDTA、1% NP-40、5 μg/ml 亮抑酶肽、5 μg/ml 抑肽酶、10 nM 冈田酸和 2 mM PMSF 的 10 ml 溶胞缓冲液中。在冰上匀浆化后，在 4℃下，以 4,000 rpm 速度，将组织溶胞产物离心 15 分钟，接着在 4℃下，以 55,000 rpm 速度离心 1 小时。将其中总组织蛋白的 1 毫克用于免疫沉淀作用，然后进行免疫印迹，其中 100-150 μg 总蛋白直接用于免疫印迹(Hirosumi 等，Nature 420:333 (2002); 通过引用结合到本文中)。

其它实施方案

[00101] 前述是对本发明的某些非限定优选实施方案的说明。本领域普通技术人员将清楚在不背离以下权利要求书中界定的本发明的精神和范围下，可对本说明进行各种改变和修改。

附件 A

与 ER 应力调节剂联合使用的药物

抗糖尿病药物

过氧化物酶体增殖子-激活的受体-γ 激动剂

- 罗格列酮(GlaxoSmithKline's Avandia)
- 匹格列酮(Takeda/Eli Lilly's Actos)
- Isaglitazone (Mitsubishi Pharma)
- rivoglitazone (Sankyo's CS-Ol 1)
- T-131 (Amgen)
- MBX- 102 (Metabolex)
- R-483 (Roche Chugai)
- CLX-0921 (Calyx)

双胍类

- 二甲双胍(Bristol-Myers Squibb's Glucophage, generics, Bristol-Myers Squibb's Glucophage XR)

磺酰脲类

- 格列美脲 (Aventis's Amaryl)
- 优降糖/格列本脲(Aventis's Diabeta, Pharmacia's Micronase, generics, Pharmacia's Glynase)
- 格列吡嗪(Pfizer' s Glucotrol, generics, Pfizer' s Glucotrol XL)
- 格列齐特(Servier's Diamicron, Molteni & CF. LLI Alitti's Diabrezide , Irex- Synthélabo's Glycemirex, Dainippon's Glimicron, generics)

联合药物

- 二甲双胍/格列苯脲(Bristol-Myers Squibb's Glucovance, Hoechst's Suguan M)
- 二甲双胍/罗格列酮(GlaxoSmithKline's Avandamet)
- 二甲双胍/格列吡嗪(Bristol-Myers Squibb's Metaglip)

氯茴苯酸类

•瑞格列奈(Novo Nordisk's Prandin/NovoNorm)

•那格列奈(Novartis's Starlix/Starsis)

α-葡萄糖苷酶抑制剂

•阿卡玻糖(Bayer's Precose/Glucobay, generics)

•米格列醇(Pharmacia's Glyset)

•伏格列波糖(Takeda's Basen)

胰岛素和胰岛素类似物

•赖脯胰岛素(Eli Lilly's Humalog)

•甘精胰岛素(Aventis's Lantus)

• Exubera (Nektar/Pflzer/Aventis)

• AERx 胰岛素糖尿病管理系统(Aradigm/Novo Nordisk)

• AIR 吸入胰岛素(Eli Lilly/Alkermes)

• Oralin (Generex)

• 地特胰岛素(NN-304) (Novo Nordisk)

• Insulin glulisine (Aventis)

双重 PPAR 激动剂和 PPAR pan 激动剂

• BMS-298585 (Bristol-Myers Squibb/Merck)

• Tesaglitazar (AstraZeneca's Galida)

• muraglitazar (BMS-Merck and Co)

• naveglitazar (Lilly-Ligand's LY-818)

• TAK-559 (Takeda)

• netoglitazone (Mitsubishi)

• GW-677594 (GSK)

• AVE-0847 (Aventis)

• LY-929 (Lilly-Ligand)

• ONO-5129 (ONO)

高血糖素样肽-1 (GLP-I) 类似物和激动剂

• Exenatide (AC-2993) (Eli Lilly/Amylin Pharmaceuticals)

•Exenatide LAR (AC-2993 LAR) (Amylin Pharmaceuticals/ Alkermes/Eli Lilly)

- Liraglutide (促胰岛素/NN-2211) (Scios/Novo Nordisk)
- CJC-1131 (ConjuChem)
- AVE-0010 (A ventis-Zealand)
- BIM-51077 (Roche-Teij in-Ipsen)
- NN-2501 (Novo Nordisk)
- SUN-E7001 (Daiichi Suntory -Sankyo)

二肽基肽酶 IV (DPP-IV)抑制剂

- LAF-237 (Novartis)
- MK-431 (Merck and Co)
- PSN-9301 (Probiodrug Prosidion)
- 815541 (GlaxoSmithKline-Tanabe)
- 823093 (GlaxoSmithKline)
- 825964 (GlaxoSmithKline)
- BMS-477118 (BMS)

胰脂肪酶抑制剂

- 奥利斯特(Roche Holding)

Na^+-葡糖(Sodium Glucose)共传递载体(SGLT)抑制剂

- T-1095 (Tanabe-J&J)
- AVE-2268 (Aventis)
- 869682 (GlaxoSmithKline-Kissei)

糊精类似物

- 普兰林肽(Amylin's Symlin)

PDR 的其它药物:

适应症 = 高血糖症

Actos 片(Takeda)

盐酸匹格列酮

Amaryl 片(Sanofi-Aventis)

格列美脲

Apidra 注射剂 (Sanofi-Aventis)

胰岛素 Glulisine

Avandamet 片(GlaxoSmithKline)

盐酸二甲双胍、马来酸罗格列酮

Avandia 片(GlaxoSmithKline)

马来酸罗格列酮

DiaBeta 片(Sanofi-Aventis)

格列苯脲

Fortamet 控释片(Andrx Labs)

盐酸二甲双胍

Glucotrol XL 控释片(Pfizer)

格列吡嗪

Metaglip 片(Bristol-Myers Squibb)

格列吡嗪、盐酸二甲双胍

Prandin 片(0.5, 1, and 2 mg) (Novo Nordisk)

瑞格列奈

Precose 片(Bayer)

阿卡玻糖

Starlix 片(Novartis)

那格列奈

PDR 的其它药物:

适应症 = 胰岛素依赖型糖尿病

赖脯胰岛素注射剂 (Lilly)

赖脯胰岛素，人

Humalog Mix 75/25-Pen (Lilly)

赖脯胰岛素鱼精蛋白，人、赖脯胰岛素，人

优泌林 50/50, 100 单位 (Lilly)

胰岛素，正常人和人 NPH 的混合物

优泌林 70/30 笔芯注射剂 (Lilly)

胰岛素，正常人和人 NPH 的混合物

优泌林 L, 100 单位 (Lilly)

胰岛素，人、锌混悬液

优泌林 N, 100 单位(Lilly)

胰岛素，人 NPH

常规优泌林 (U-500) (Lilly)

胰岛素，正常人

常规优泌林，100 Units (Lilly)

胰岛素，正常人

重组 U，100 单位(Lilly)

胰岛素，人、锌混悬液

优泌林 N 笔芯(Humulin N Pen)注射剂(Lilly)

胰岛素，人 NPH

Innovo (Novo Nordisk)

设备

Lantus 注射剂(Sanofi-Aventis)

甘精胰岛素

Novolin 70/30 人胰岛素 10 ml 药瓶(Novo Nordisk)

胰岛素，正常人和人 NPH 的混合物

Novolin 70/30 胰岛素笔芯注射剂(PenFill) 3 ml 药筒(Novo Nordisk)

胰岛素，正常人和人 NPH 的混合物

Novolin N 人胰岛素 10 ml 药瓶(Novo Nordisk)

胰岛素，人 NPH

Novolin N 胰岛素笔芯注射剂 3 ml 药筒(Novo Nordisk)

胰岛素，人 NPH

Novolin R 人胰岛素 10 ml 药瓶(Novo Nordisk)

胰岛素，正常人

Novolin R 胰岛素笔芯(PenFill)注射剂 1.5ml 药筒(Novo Nordisk)

胰岛素，正常人

Novolin R 胰岛素笔芯注射剂 3 ml 药筒(Novo Nordisk)

胰岛素，正常人

NovoLog 注射剂(Novo Nordisk)

速效胰岛素制剂，正常人

NovoLog Mix 70/30 (Novo Nordisk)

速效胰岛素制剂鱼精蛋白，人、速效胰岛素制剂，正常人

PDR 的其它药物:

适应症 = 非胰岛素依赖型糖尿病

Actos 片(Takeda)

盐酸匹格列酮

Amaryl 片(Sanofi-Aventis)

格列美脲

Avandamet 片(GlaxoSmithKline)

盐酸二甲双胍、马来酸罗格列酮

Avandia 片(GlaxoSmithKline)

马来酸罗格列酮

DiaBeta 片(Sanofi-Aventis)

格列苯脲

Glucotrol XL 延释片(Pfizer)

格列吡嗪

Lantus 注射剂 (Sanofi-Aventis)

甘精胰岛素

Metaglip 片(Bristol-Myers Squibb)

格列吡嗪、盐酸二甲双胍

Prandin 片(0.5, 1, and 2 mg) (Novo Nordisk)

瑞格列奈

Precose 片(Bayer)

阿卡玻糖

Starlix 片(Novartis)

那格列奈

PDR 的其它药物:

适应症 =1 型糖尿病

Lantus 注射剂(Sanofi-Aventis)

甘精胰岛素

Novolin 70/30 InnoLet (Novo Nordisk)

胰岛素，正常人和人 NPH 的混合物

Novolin N InnoLet (Novo Nordisk)

胰岛素，人 NPH

Novolin R InnoLet (Novo Nordisk)

胰岛素，人 NPH

PDR 的其它药物:

适应症 =2 型糖尿病

Fortamet 延释片(Andrx Labs)

盐酸二甲双胍

Lantus 注射剂(Sanofi-Aventis)

甘精胰岛素

Prandin 片(0.5, 1, and 2 mg) (Novo Nordisk)

瑞格列奈

抗肥胖症药物

胰脂肪酶抑制剂

•奥利斯特(Roche's Xenical, Roche Nippon's Xenical)

5-羟色胺和去甲肾上腺素再摄取抑制剂

• 西布曲明(Abbott/Knoll's Meridia, AstraZeneca's Reductil, Eisai's Reductil)

去甲肾上腺素能减食欲剂

•苯丁胺(GlaxoSmithKline's Fastin, Medeva's Ionamin)

•氯苯咪吲哚(Wyeth-Ayerst's Mazanor, Novartis's Sanorex)

外周作用药

- ATL-962 (Alizyme)
- HMR- 1426 (Aventis)
- GI- 181771 (GlaxoSmithKline)

中枢作用药

- •重组人睫状节神经细胞营养因子(Axokine) (Regeneron)
- •利莫那班 (SR-141716) (Sanofi-Synthélabo)
- BVT-933 (GlaxoSmithKline/Biovitrum)
- 安非他酮 SR (GlaxoSmithKline)
- P-57 (Phytopharm)

热量生成剂

- TAK-677 (AJ-9677) (Dainippon/Takeda)

大麻素 CB1 拮抗剂

- Acomplia (Sanofi-Aventis)
- SLV319 (Solvay)

睫状节神经细胞营养因子(CNTF)激动剂

- Axokine (Regeneron)

其它抗肥胖药物

- 1426 (Sanofi-Aventis)
- 1954 (Sanofi-Aventis)
- c-2624 (Merck & Co)
- c-5093 (Merck & Co)
- T71 (Tularik)

缩胆囊素(CCK)激动剂

- GI 181771 (GSK)

脂质代谢调节剂

- AOD9604 (Monash University/Metabolic Pharmaceuticals)

脂肪酶抑制剂

- ATL962 (Alizyme, Takeda)

高血糖素样肽 1 激动剂

• AC137 (Amylin)

瘦素激动剂

• 第二代瘦素 (Amgen)

β-3 肾上腺素激动剂

• SR58611 (Sanofi-Aventis)

• CP 331684 (Pfizer)

• LY 377604 (Eli Lilly)

• n5984 (Nisshin Kyorin Pharmaceutical)

肽激素

• 肽 YY [3-36] (Nastech)

CNS 调节剂:

• S2367 (Shionogi & Co Ltd)

神经细胞营养因子:

• Peg axokine (Regeneron)

5HT2C 5-羟色胺受体激动剂

• APD356 (Arena Pharmaceutical)

肽 YY [3-36]

• AC 162352 (Amylin)

PDR 的其它药物:

适应症= 肥胖症

Adipex-P 胶囊(Gate)

盐酸苯丁胺

Adipex-P 片(Gate)

盐酸苯丁胺

Desoxyn 片, USP (Ovation)

盐酸脱氧麻黄碱

Ionamin 胶囊(Celltech)

苯丁胺树脂

Meridia 胶囊(Abbott)

盐酸西布茶明单水合物

Xenical 胶囊(Roche Laboratories)

奥利斯特

PDR 的其它药物:

开处方 = 食欲抑制剂

Adipex-P 胶囊(Gate)

盐酸苯丁胺

Adipex-P 片(Gate)

盐酸苯丁胺

Desoxyn 片, USP (Ovation)

盐酸脱氧麻黄碱

Ionamin 胶囊(Celltech)

苯丁胺树脂

Meridia 胶囊(Abbott)

盐酸西布茶明单水合物

抗动脉粥样硬化药物

HMG-CoA 还原酶抑制剂(他汀类药物)

阿伐他汀(Warner-Lambert/Pfizer's Lipitor)

普伐他丁(Bristol-Myers Squibb' s Pravachol/Sankyo's Mevalotin)

辛伐他丁 Simvastatin (Merck & Co.'s Zocor)

洛伐他丁(Merck & Co.'s Mevacor)

氟伐他丁(Novartis's Lescol)

西立伐他汀 (Bayer's Lipobay/GlaxoSmithKline's Baycol)

• 罗苏伐他汀(AstraZeneca's Crestor)

•Pitivastatin(伊伐他汀/risivastatin)(Nissan/Kowa/Sankyo/Novartis)

氯贝特类药物

苯扎贝特(Boehringer Mannheim/Roche's Bezalip,Kissei's Bezatol)

氯贝特(Wyeth-Ayerst's Atromid-S, generics)

非诺贝特(Fournier's Lipidil, Abbott's Tricor, Takeda's Lipantil, generics)

吉非罗齐(Pfizer' s Lopid, generics)

胆汁酸多价螯合剂

考来烯胺 Bristol-Myers Squibb's Questran and Questran Light, generics

考来替泊 Pharmacia's Colestid

烟酸

烟酸—即释型(Aventis's Nicobid, Upsher-Smith's Niacor, Aventis's Nicolar, Sanwakagaku's Perycit, generics)

烟酸—缓释型(Kos Pharmaceuticals' Niaspan, Upsher-Smith's SIo-Niacin)

抗血小板剂

•阿司匹林(Bayer's Aspirin, generics)

•氯吡格雷(Sanofi-Synthélabo/Bristol-Myers Squibb's Plavix)

•噻氯匹啶(Sanofi-Synthélabo's Ticlid, Daiichi's Panaldine, generics)

血管紧张素转换酶抑制剂

•雷米普利 (Aventis's Altace)

•伊拉普利(Merck & Co.'s Vasotec)

血管紧张素 II 受体拮抗剂

•氯沙坦钾(Merck & Co.'s Cozaar)

脂酰辅酶 A 胆固醇乙酰转移酶(ACAT)抑制剂

• 阿伐麦布(Pfizer)

• Eflucimibe (BioMérieux Pierre Fabre/Eli Lilly)

• CS-505 (Sankyo and Kyoto)

• SMP-797 (Sumito)

胆固醇吸收抑制剂

• 依泽替米贝 (Schering-Plough/Merck & Co.)

• 帕马苷 (Pfizer)

胆固醇酯转移蛋白(CETP)抑制剂

- CP-529414 (Pfizer)
- JTT-705 (Japan Tobacco)
- CETi-I (Avant Immunotherapeutics)

微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)抑制剂

- 英普他派 (Bayer)
- R-103757 (Janssen)

其它胆固醇调节剂

- NO-1886 (Otsuka/TAP Pharmaceutical)
- CI-1027 (Pfizer)
- WAY-135433 (Wyeth-Ayerst)

胆汁酸调节剂

- GTl 02-279 (GelTex/Sankyo)
- HBS-107 (Hisamitsu/Banyu)

过氧化物酶体增殖活化受体(PPAR)激动剂

- Tesaglitazar (AZ-242) (AstraZeneca)
- Netoglitazone (MCC-555) (Mitsubishi/Johnson & Johnson)
- GW-409544 (Ligand Pharmaceuticals/GlaxoSmithKline)
- GW-501516 (Ligand Pharmaceuticals/GlaxoSmithKline)

基于基因的疗法

- AdGVVEGF 121.10 (GenVec)
- ApoAl (UCB Pharma/Groupe Fournier)
- EG-004 (Trinam) (Ark Therapeutics)
- ATP-结合盒式(cassette)转运蛋白-Al (ABCAl) (CV Therapeutics/Incyte, Aventis, Xenon)

组合血管保护剂

- AGI- 1067 (Atherogenics)

其它抗动脉粥样硬化药物

- BO-653 (Chugai Pharmaceuticals)

糖蛋白 IIb/IIIa 抑制剂

- 罗昔非班(Bristol-Myers Squibb)
- 更托非班 (Yamanouchi)
- Cromafiban (Millennium Pharmaceuticals)

阿司匹林和阿司匹林样化合物

- 控释阿司匹林制剂 (slow-release aspirin) (Pharmacia)
- 帕米格雷 (Kanebo/Angelini Ricerche/CEPA)

联合疗法

- Advicor (烟酸/洛伐他丁) (Kos Pharmaceuticals)
- 氨氯地平/阿伐他汀(Pfizer)
- 辛伐他丁/依泽替米贝(Merck & Co./Schering-Plough)

IBAT 抑制剂

- S-8921 (Shionogi)

角鲨烯合酶抑制剂

- BMS-188494 I(Bristol-Myers Squibb)
- CP-210172 (Pfizer)
- CP-295697 (Pfizer)
- CP-294838 (Pfizer)

单核细胞趋化蛋白(MCP)-1 抑制剂

- RS-504393 (Roche Bioscience)
- 其它 MCP-1 抑制剂(GlaxoSmithKline, Teijin, and Bristol-Myers Squibb)

PDR 的其它药物:

适应症 = 高胆固醇血症

Advicor 片(Kos)

洛伐他丁、烟酸

Altoprev 缓释片(Andrx Labs)

洛伐他丁

Caduet 片(Pfizer)

苯磺酸氨氯地平、阿托伐他汀钙

Crestor 片(AstraZeneca)

罗苏伐他汀钙

Lescol 胶囊(Novartis)

氟伐他汀钠

Lescol 胶囊(Reliant)

氟伐他汀钠

Lescol XL 片(Novartis)

氟伐他汀钠

Lescol XL 片(Reliant)

氟伐他汀钠

Lipitor 片(Parke-Davis)

阿托伐他汀钙

Lofibra 胶囊(Gate)

非诺贝特

Mevacor 片(Merck)

洛伐他汀

烟酸缓释片(Kos)

烟酸

Pravachol 片(Bristol-Myers Squibb)

普伐他汀钠

Tricor 片(Abbott)

非诺贝特

Vytorin 10/10 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝、辛伐他丁

Vytorin 10/10 片(Schering)

依泽替米贝、辛伐他丁

Vytorin 10/20 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝、辛伐他丁

Vytorin 10/20 片(Schering)

依泽替米贝、辛伐他丁

Vytorin 10/40 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝、辛伐他丁

Vytorin 10/40 片(Schering)

依泽替米贝、辛伐他丁

Vytorin 10/80 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝、辛伐他丁

Vytorin 10/80 片(Schering)

依泽替米贝、辛伐他丁

WelChol 片(Sankyo)

盐酸考来维仑

Zetia 片(Schering)

依泽替米贝

Zetia 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝

Zocor 片(Merck)

辛伐他丁

抗血脂紊乱药

HMG-CoA 还原酶抑制剂

•阿伐他汀(Pfizer's Lipitor/Tahor/Sortis/Torvast/Cardyl)

• 辛伐他汀 Simvastatin (Merck's Zocor/Sinvacor, Boehringer Ingelheim's Denan, Banyu's Lipovas)

• 普伐他丁 (Bristol-Myers Squibb's Pravachol, Sankyo's Mevalotin/Sanaprav)

• 氟伐他丁(Novartis's Lescol/Locol/Lochol, Fujisawa's Cranoc, Solvay's Digaril)

•洛伐他丁(Merck's Mevacor/Mevinacor, Bexal's Lovastatina, Cepa; Schwarz Pharma's Liposcler)

•罗苏伐他汀(AstraZeneca's Crestor)

•匹伐他汀(Nissan Chemical, Kowa Kogyo, Sankyo and Novartis)

HMG-CoA 还原酶抑制剂联合疗法

•辛伐他丁/依泽替米贝 (Merck and Schering-Plough)

氯贝特类

•非诺贝特(Abbott's Tricor, Fournier's Lipidil/Lipantil)

• 苯扎贝特 (Roche's Béfizal/Cedur/Bezalip, Kissei's Bezatol, generics)

•吉非罗齐(Pfizer's Lopid/Lipur, generics)

•冠心平(Wyeth's Atromid-S, generics)

•环丙贝特 (Sanofi-Synthélabo's Modalim)

胆汁酸多价螯合剂

•考来烯胺 (Bristol-Myers Squibb's Questran)

•考来替泊 (Pfizer's Colestid)

•考来维仑 (Genzyme/Sankyo's Welchol)

胆固醇吸收抑制剂

•依泽替米贝 (Merck and Schering-Plough' s Zetia)

•帕马苷 (Pfizer)

烟酸衍生物

• 烟酸(Kos's Niaspan, Yamanouchi's Nyclin)

脂酰辅酶 A 胆固醇乙酰转移酶抑制剂

• 阿伐麦布(Pfizer)

• Eflucimibe (Eli Lilly)

胆固醇酯转移蛋白抑制剂

• Torcetrapib (Pfizer)

• JTT-705 (Japan Tobacco)

• CETi-1 (Avant Immunotherapeutics)

微粒体甘油三酯转移蛋白抑制剂

• 英普他派 (Bayer)

• CP-346086 (Pfizer)

过氧化物酶体增殖活化受体激动剂

• GW-501516 (Ligand Pharmaceuticals and GlaxoSmithKline)

• Tesaglitazar (AstraZeneca)

• LY-929 (Ligand Pharmaceuticals and Eli Lilly)

• LY-465608 (Ligand Pharmaceuticals and Eli Lilly)

• LY-518674 (Ligand Pharmaceuticals and Eli Lilly)

• MK-767 (Merck and Kyorin)

角鲨烯合酶抑制剂

• TAK-475 (Takeda)

其它新途径

• MBX-102 (Metabolex)

• NO-1886 (Otsuka)

• Gemcabene (Pfizer)

肝 X 受体激动剂

• GW-3965 (GlaxoSmithKline)

• TU-0901317 (Tularik)

胆汁酸调节剂

• BTG-511 (British Technology Group)

• HBS-107 (Hisamitsu and Banyu)

• BARI- 1453 (Aventis)

• S-8921 (Shionogi)

• SD-5613 (Pfizer)

• AZD-7806 (AstraZeneca)

PDR 的其它药物:

适应症 = 高胆固醇血症

Advicor 片(Kos)

洛伐他丁、烟酸

Altoprev 缓释片(Andrx Labs)

洛伐他丁

Caduet 片(Pfizer)

苯磺酸氨氯地平、阿托伐他汀钙

Crestor 片(AstraZeneca)

罗苏伐他汀钙

Lescol 胶囊(Novartis)

氟伐他丁钠

Lescol 胶囊(Reliant)

氟伐他丁钠

Lescol XL 片(Novartis)

氟伐他丁钠

Lescol XL 片(Reliant)

氟伐他丁钠

Lipitor 片(Parke-Davis)

阿托伐他汀钙

Lofibra 胶囊(Gate)

非诺贝特

Mevacor 片(Merck)

洛伐他丁

烟酸缓释片(Kos)

烟酸

Pravachol 片(Bristol-Myers Squibb)

普伐他汀钠

Tricor 片(Abbott)

非诺贝特

Vytorin 10/10 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝、辛伐他汀

Vytorin 10/10 片(Schering)

依泽替米贝、辛伐他汀

Vytorin 10/20 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝、辛伐他汀

Vytorin 10/20 片(Schering)

依泽替米贝、辛伐他汀

Vytorin 10/40 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝、辛伐他汀

Vytorin 10/40 片(Schering)

依泽替米贝、辛伐他汀

Vytorin 10/80 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝、辛伐他汀

Vytorin 10/80 片(Schering)

依泽替米贝、辛伐他汀

WelChol 片(Sankyo)

盐酸考来维仑

Zetia 片(Schering)

依泽替米贝

Zetia 片(Merck/Schering Plough)

依泽替米贝

Zocor 片(Merck)

辛伐他汀

抗高血压药物

利尿剂

•氯噻酮(Alliance's Hygotron, generics)

•甲苯喹唑酮(Generics)

•吲达帕胺(Servier's Natrilix/Tertensif, Aventis's Lozol, Merck's Indapamide, generics)

•布美他尼(Leo's Burinex, Sankyo's Lunetoron, Roche's Bumex, generics)

•依他尼酸(Merck & Co.'s Edecrin)

•呋塞米(Aventis's Lasilix/Lasix/Eutensin/Seguril, generics)

•托塞米(Roche's Demadex, generics)

•盐酸阿米洛利(Merck & Co.'s Midamor, generics)

•螺内酯(Pharmacia's Spirolang/Aldactone, Mylan's Spironolactone, generics)

•氨苯蝶啶(GlaxoSmithKline's Dyrenium, Goldshield's Dytac, Isei's Triamterene/Triteren)

α阻滞剂

•甲磺酸喹唑嗪(Pfizer's Zoxan/Cardura/Cardenalin, Hexal's Doxacor, generics)

•盐酸哌唑嗪(Pfizer' s Minipress, generics)

•盐酸特拉唑嗪(Abbott's Hytrin/Flotrin/Heitrin/Itrin/Deflox , Mitsubishi Welpharma's Vasomet, generics)

β阻滞剂

•盐酸醋丁洛尔(Bayer's Prent, Wyeth's Sectral, Aventis's Acetanol, generics)

•阿替洛尔(AstraZeneca/Sumitomo's Tenormin, generics)

•倍他洛尔(Sanofi-Synthélabo's Kerlone, generics)

•富马酸比索洛尔(Merck KGaA's Cardicor, Lipha Sante's Detensiel /Cardensiel, Lederle's Monocor/Zebeta, generics)

•盐酸卡替洛尔(Lipha Sante/Otsuka's Mike Ian, Abbott's Cartrol)

•酒石酸美多洛尔(Novartis's Lopressor/Prelis, AstraZeneca's Seloken/Betaloc, generics)

•琥珀酸美托洛尔(AstraZeneca's Toprol-XL Herz-mite, generics)

•纳多洛尔(Bristol-Myers Squibb/Sanofi-Synthélabo's Corgard, generics)

•硫酸喷布洛尔(Schwarz Pharma's Levatol, Wolff/A ventis's BetaPressin)

•吲哚洛尔(Novartis's Visken, generics)

•盐酸普萘洛尔(AstraZeneca's Inderal/Dociton, Wyeth's Inderal LA, generics)

•马来酸噻吗洛尔 timolol(Merck & Co.'s Blocadren, generics)

• 卡维地洛(Roche's Coreg/Dilatrend/Coropres/Eucardic, Glaxo SmithKline's Coreg)

钙通道阻滞剂

•苯磺酸氨氯地平(Pfizer's Amlor/Istin/Norvasc)

•费乐地平(AstraZeneca's Flodil/Modip/Plendil/Splendil)

•依拉地平(Novartis's Lomir/Prescal)

•尼卡地平(Roche/Yamanouchi's Cardene, generics)

•硝苯地平(Bayer's Adalat, generics)

•尼索地平(AstraZeneca's Sular, Bayer's Syscor MR/Baymycard)

•盐酸地尔硫䓬(Sanofi-Synthélabo's Tildiem Angizem 60, Pfizer's Dinisor, Generics)

•盐酸维拉帕米(Knoll's Isoptin Press/Manidon Retard/Securon, Pharmacia's Calan/Covera, generics)

•阿折地平(Sankyo/UBE)

•普拉地平(Otsuka)

•分级(Graded)地尔硫䓬制剂(Biovail)

• (S)-氨氯地平(Sepracor/Emcure)

•氯维地平(AstraZeneca/The Medicines Company)

血管紧张素转换酶抑制剂

•盐酸贝那普利 (Novartis's Cibacen/Lotensin)

•卡托普利(Bristol-Myers Squibb's Lopril/Lopirin/Capoten/Acepress, Sanofi- Synthélabo's Alopresin, generics)

•马来酸依那普利(Merck & Co.'s Vasotec, Banyu's Renivoce, generics)

•福森普利钠(Bristol-Myers Squibb's Fosinorm/Tensogard/Fosinil/

Staril/Monopril)

•赖诺普利 (Merck & Co.'s Prinivil, AstraZeneca's Zestril)

•莫昔普利(Schwarz's Moex/Fempress/Univasc)

•哌道普利 (Servier's Conversyl)

•盐酸喹那普利(Pfizer's Accupril/Acuitel/Accuprin/Acuprel, Sanofi-Synthélabo's Korec, generics)

•雷米普利(Aventis's Altace)

•群多普利(Abbott's Gopten/Mavik)

血管紧张素 II 受体拮抗剂

•氯沙坦(Merck & Co.'s Cozaar)

•缬沙坦(Novartis's Tareg/Diovan, Aventis's Nisis)

• 依贝沙坦 (Bristol-Myers Squibb/Sanofi-Synthélabo's Aprovel/Karvea)

• 坎地沙坦 (AstraZeneca's Atacand/Ratacand/Amias , Takeda's Blopress)

•替米沙坦(Boehringer Ingelheim's Micardis)

•依普沙坦(Solvay's Teveten)

•奥美沙坦(Sankyo/Recordati/Menarini/Forest/Kowa)

• YM-358 (Yamanouchi)

联合疗法

•盐酸贝那普利/氢氯噻嗪(Novartis's Cibadrex/Lotensin HCT)

•卡托普利/氢氯噻嗪(Bristol-Myers Squibb's Capozide/Ecazide)

•马来酸伊拉普利/氢氯噻嗪(Merck & Co.'s Vasorectic/Co Renitec /Innozide, AstraZeneca's Lexxel, generics)

•赖诺普利/氢氯噻嗪(Merck & Co.'s Prinzide, AstraZeneca's Zestorectic)

•氯沙坦/氢氯噻嗪(Merck & Co.'s Hyzaar)

•阿替洛尔/氯噻酮(AstraZeneca's Tenoretic, generics)

•富马酸比索洛尔/氢氯噻嗪(Lederle's Ziac, generics)

•酒石酸美多洛尔/氢氯噻嗪(Novartis's Lopressor HCT, Pharmacia's Selopresin/Selozide)

•氨氯地平苯磺酸盐/盐酸贝那普利(Pfizer's Norvasc, Novartis's Lotrel)

•费乐地平/马来酸依那普利(AstraZeneca's Lexxel)

•盐酸维拉帕米/群多普利(Knoll/Abbott's Tarka, Aventis's Udramil)

•乐卡地平和伊拉普利(Recordati/Pierre Fabre)

•奥美沙坦/氢氯噻嗪(Sankyo)

•依普沙坦/氢氯噻嗪(Unimed)

•氨氯地平苯磺酸盐/阿伐他汀(Pfizer)

•尼群地平/伊拉普利(Vita Invest)

血管肽酶抑制剂

•奥马曲拉(Bristol-Myers Squibb)

• Gemopatrilat (Bristol-Myers Squibb)

•法西多曲(Eli Lilly)

•山帕曲拉(Pfizer/Shire)

• AVE 7688 (Aventis)

• M 100240 (Aventis)

• Z13752A (Zambon/GSK)

• 796406 (Zambon/GSK)

双重中性肽链内切酶和内皮素转化酶(NEP/ECE)抑制剂

• SLV306 (Solvay)

NEP 抑制剂

•依卡曲尔(Bioproject)

醛固酮拮抗剂

•依普利酮(Pharmacia)

肾素抑制剂

•阿利吉仑(Novartis)

• SPP 500 (Roche/Speedel)

• SPP600 (Speedel)

• SPP 800 (Locus/Speedel)

血管紧张素疫苗

• PMD-3117 (Protherics)

ACE/NEP 抑制剂

• AVE-7688 (Aventis)

• GW-660511 (Zambon SpA)

Na^+/K^+ ATP 酶调节剂

• PST-2238 (Prassis-Sigma-Tau)

内皮素拮抗剂

• PD-156707 (Pfizer)

血管扩张剂

• NCX-4016 (NicOx)

• LP-805 (Pola/Wyeth)

天然肽

• BDNP (Mayo Foundation)

血管紧张素受体阻滞剂(ARBs)

• pratosartan (Pratosartan/Boryung)

AGE 交联破碎剂

• alagebrium chloride (Alteon)

内皮素受体拮抗剂

• 替唑生坦 (Genentech)

• Ambrisentan (Myogen)

• BMS 193884 (BMS)

• 西他生坦(Encysive Pharmaceuticals)

• SPP301 (Roche/Speedel)

• 达卢生坦 (Myogen/Abbott)

• J104132 (Banyu/Merck & Co.)

•TBC3711 (Encysive Pharmaceuticals)

• SB 234551 (GSK/Shionogi)

其它抗高血压药物

• MC4232 (University of Manitoba/Medicure)

PDR 的其它药物:

适应症 = 高血压

Accupril 片(Parke-Davis)

盐酸喹那普利

Accuretic 片(Parke-Davis)

氢氯噻嗪、盐酸喹那普利

Aceon 片(2 mg、4 mg、8 mg) (Solvay)

哌林多普利特丁胺

硝苯地平 CC 片(Bayer)

硝苯地平

Aldoclor 片(Merck)

氯噻嗪、甲基多巴

Aldoril 片(Merck)

氢氯噻嗪、甲基多巴

Altace 胶囊(King)

雷米普利

Atacand 片(AstraZeneca LP)

坎地沙坦西酯

Atacand HCT 16-12.5 片(AstraZeneca LP)

坎地沙坦西酯、氢氯噻嗪

Atacand HCT 32-12.5 片(AstraZeneca LP)

坎地沙坦西酯、氢氯噻嗪

Avalide 片(Bristol-Myers Squibb)

氢氯噻嗪、依贝沙坦

Avapro 片(Bristol-Myers Squibb)

依贝沙坦

Avapro 片(Sanofi-Aventis)

依贝沙坦

Benicar 片(Sankyo)

奥美沙坦 Medoxomil 酯

Benicar HCT 片(Sankyo)

氢氯噻嗪、奥美沙坦酯

Blocadren 片(Merck)

马来酸噻吗洛尔

Caduet 片(Pfizer)

苯磺酸氨氯地平、阿托伐他汀钙

Captopril 片(Mylan)

卡托普利

Cardene IV. (ESP Pharma)

盐酸尼卡地平

Cardizem LA 缓释片(Biovail)

盐酸地尔硫䓬

Catapres 片(Boehringer Ingelheim)

盐酸可乐定

Catapres-TTS (Boehringer Ingelheim)

可乐定

Clorpres 片(Mylan Bertek)

氯噻酮、盐酸可乐定

Coreg 片(GlaxoSmithKline)

卡维地洛

Corzide 40/5 片(King)

氟克尿噻、纳多洛尔

Corzide 80/5 片(King)

氟克尿噻、纳多洛尔

Covera-HS 片(Searle)

盐酸维拉帕米

Cozaar 片(Merck)

氯沙坦钾

Demadex 片和注射液(Roche Laboratories)

托塞米

Diovan HCT 片(Novartis)

氢氯噻嗪、缬沙坦

Diovan 片(Novartis)

缬沙坦、

Diuril 口服混悬液(Merck)

氯噻嗪

Diuril 片(Merck)

氯噻嗪

Dyazide 胶囊(GlaxoSmithKline)

氢氯噻嗪、氨苯蝶啶

DynaCirc CR 片(Reliant)

依拉地平

Furosemide 片(Mylan)

呋塞米

HydroDIURIL 片(Merck)

氢氯噻嗪

Hytrin 胶囊(Abbott)

盐酸特拉唑嗪

Hyzaar 50-12.5 片(Merck)

氢氯噻嗪、氯沙坦钾

Hyzaar 100-25 片(Merck)

氢氯噻嗪、氯沙坦钾

Indapamide 片(Mylan)

吲达帕胺

Inderal LA 长效胶囊(Wyeth)

盐酸普萘洛尔

InnoPran XL 胶囊(Reliant)

盐酸普萘洛尔

Inspra 片(Pfizer)

依普利酮

Inversine 片(Targacept)

盐酸美加明

Isoptin SR 片(Abbott)

盐酸维拉帕米

Lotensin 片(Novartis)

盐酸贝那普利

Lotensin HCT 片(Novartis)

盐酸贝那普利、氢氯噻嗪

Lotrel 胶囊(Novartis)

苯磺酸氨氯地平、盐酸贝那普利

Mavik 片(Abbott)

群多普利

Maxzide 片(Mylan Bertek)

氢氯噻嗪、氨苯蝶啶

Maxzide-25 mg 片(Mylan Bertek)

氢氯噻嗪、氨苯蝶啶

Micardis 片(Boehringer Ingelheim)

替米沙坦

Micardis HCT 片(Boehringer Ingelheim)

氢氯噻嗪、替米沙坦

Midamor 片(Merck)

盐酸阿米洛利

Moduretic 片(Merck)

盐酸阿米洛利、氢氯噻嗪

Nadolol 片(Mylan)

纳多洛尔

Norvasc 片(Pfizer)

苯磺酸氨氯地平

Prinivil 片(Merck)

赖诺普利

Prinzide 片(Merck)

氢氯噻嗪、赖诺普利

Sular 片(First Horizon)

尼索地平

Tarka 片(Abbott)

群多普利、盐酸维拉帕米

Teveten 片(Biovail)

依普沙坦甲磺酸盐

Teveten HCT 片(Biovail)

依普沙坦甲磺酸盐、氢氯噻嗪

Tiazac 胶囊(Forest)

盐酸地尔硫䓬

Timolide 片(Merck)

氢氯噻嗪、马来酸噻吗洛尔

Toprol-XL 片(AstraZeneca LP)

美托洛尔琥珀酸盐

Uniretic 片(Schwarz)

氢氯噻嗪、盐酸莫西普利

Univasc 片(Schwarz)

盐酸莫西普利

Vaseretic 片(Merck)

马来酸依那普利、氢氯噻嗪

Vasotec IV. Injection (Merck)

马来酸依那普利

Verelan PM 胶囊(Schwarz)

盐酸维拉帕米

Zaroxolyn 片(Celltech)

甲苯喹唑酮

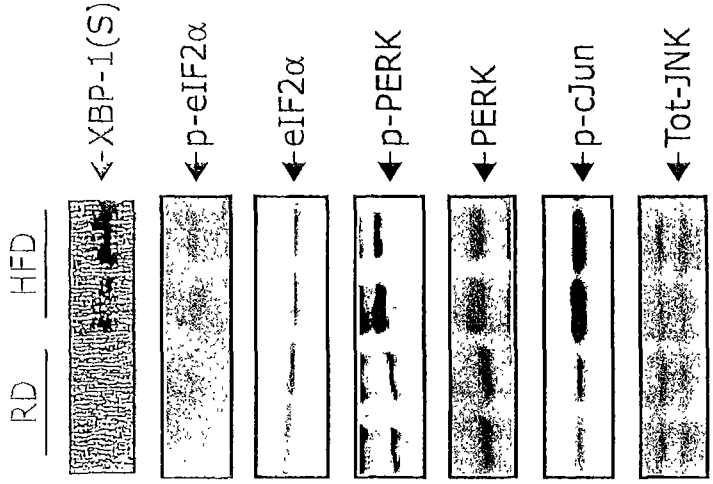

RD
HFD
XBP-1(S)
p-eIF2α
eIF2α
p-PERK
PERK
p-cJun
Tot-JNK

图 1A

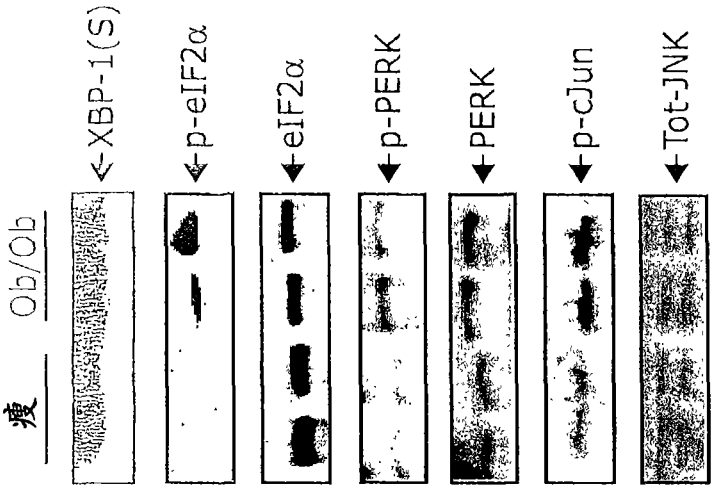
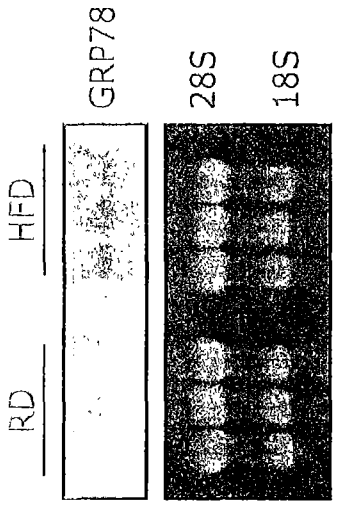

瘦
Ob/Ob
XBP-1(S)
p-eIF2α
eIF2α
p-PERK
PERK
p-cJun
Tot-JNK

图 1B


RD
HFD
GRP78
28S
18S

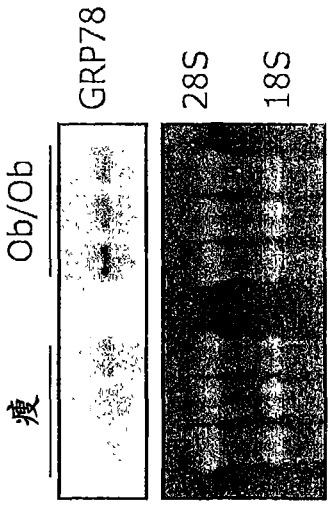

瘦
Ob/Ob
GRP78
28S
18S

图 1C

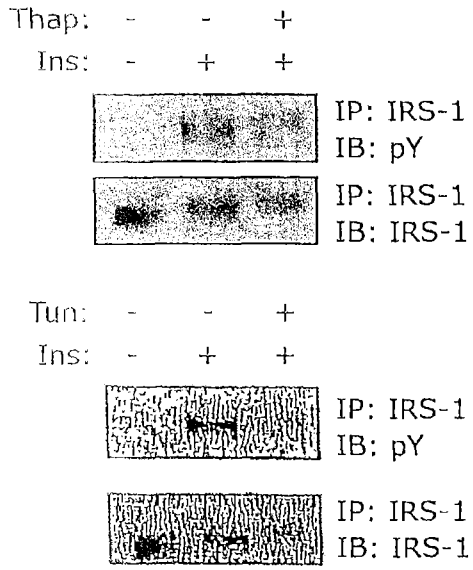


图 2A

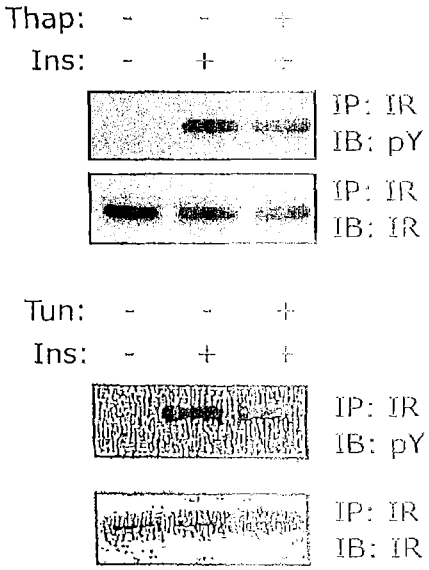


图 2B

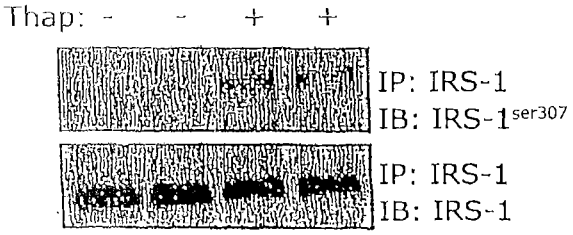


图 2C

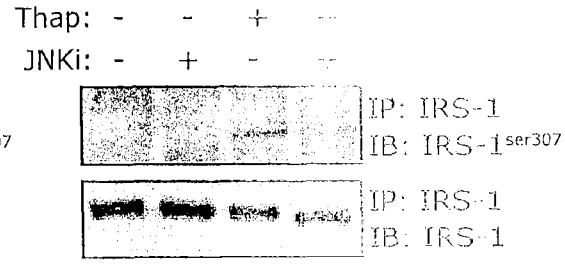


图 2D

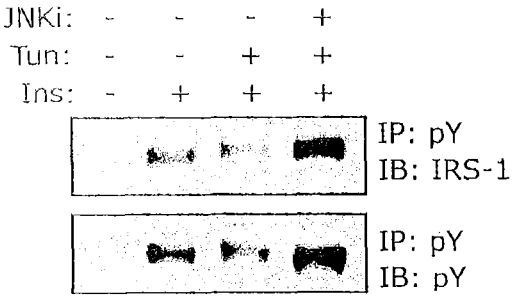


图 2E

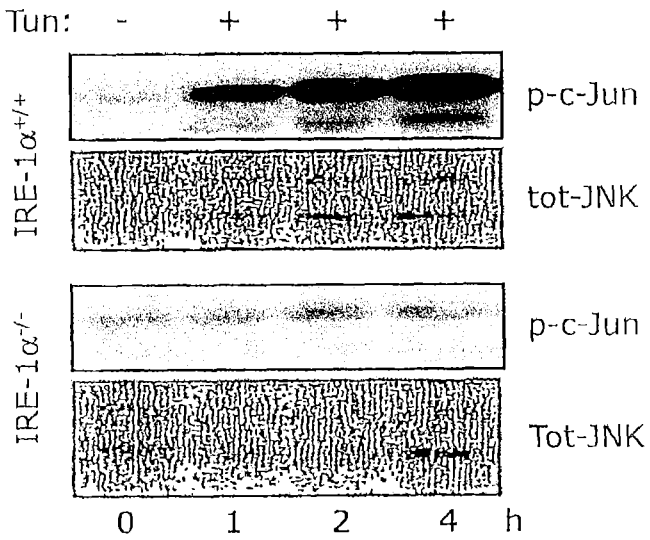

Tun: - + + +
IRE-1α+/+
p-c-Jun
tot-JNK
IRE-1α-/-
p-c-Jun
Tot-JNK
0 1 2 4 h

图 3A

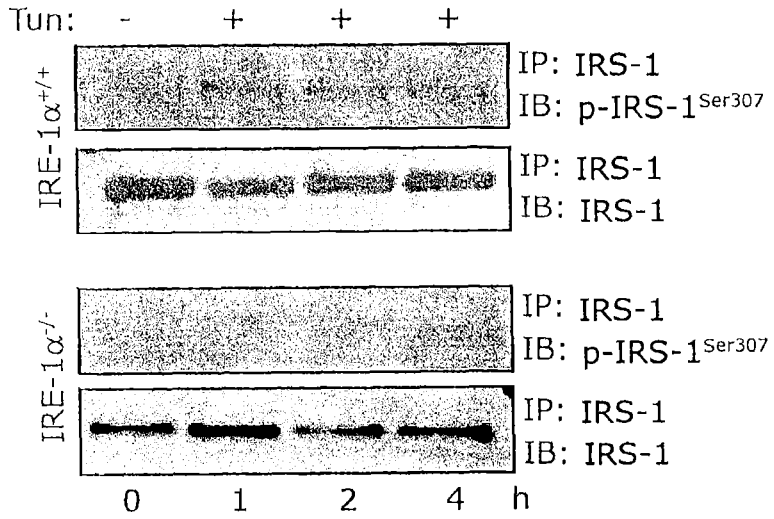

Tun: - + + +
IRE-1α+/+
IP: IRS-1
IB: p-IRS-1Ser307
IP: IRS-1
IB: IRS-1
IRE-1α-/-
IP: IRS-1
IB: p-IRS-1Ser307
IP: IRS-1
IB: IRS-1
0 1 2 4 h

图 3B

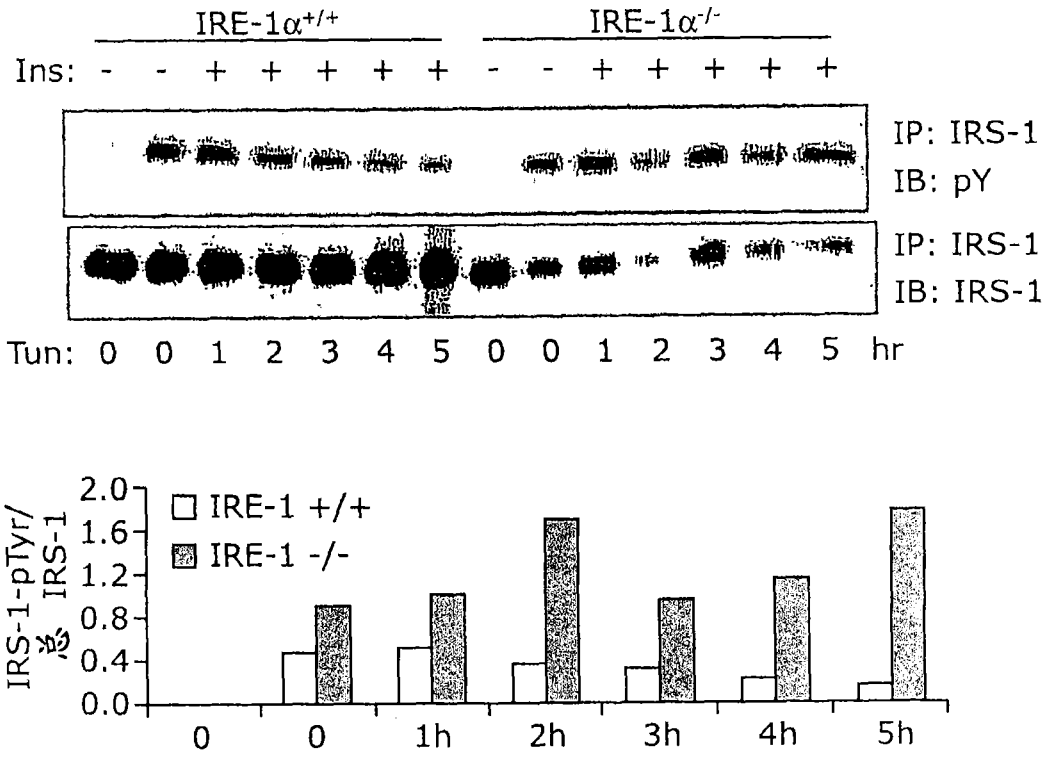

IRE-1α+/+
IRE-1α-/-
Ins: - - + + + + + - - + + + + +
IP: IRS-1
IB: pY
IP: IRS-1
IB: IRS-1
Tun: 0 0 1 2 3 4 5 0 0 1 2 3 4 5 hr
IRS-1-pTyr/总 IRS-1
IRE-1 +/+
IRE-1 -/-
2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0
0
0
1h
2h
3h
4h
5h

图 3C

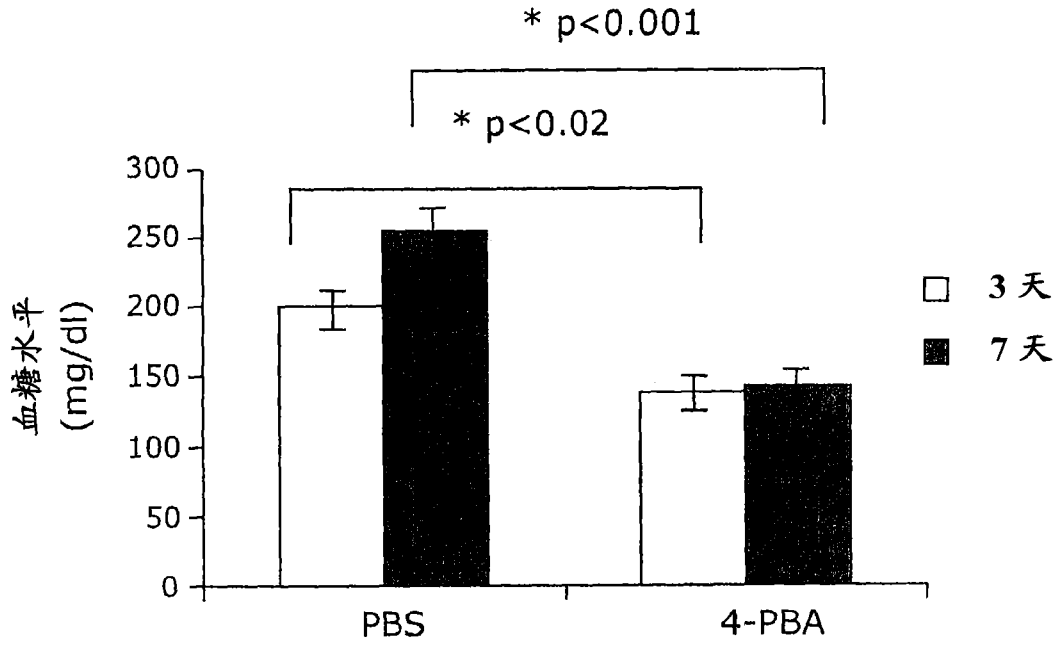

* p<0.001
* p<0.02
300
250
200
150
100
50
0
血糖水平 (mg/dl)
3天
7天
PBS
4-PBA

图 4A

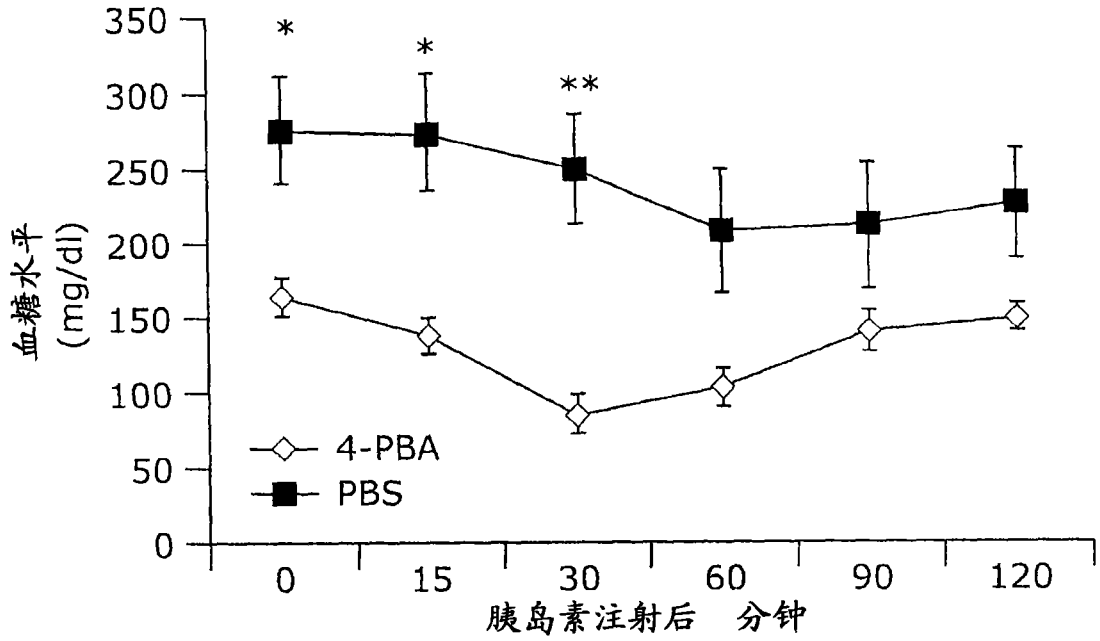

350
300
250
200
150
100
50
0
血糖水平 (mg/dl)
*
*
**
4-PBA
PBS
0
15
30
60
90
120
胰岛素注射后 分钟

图 4B

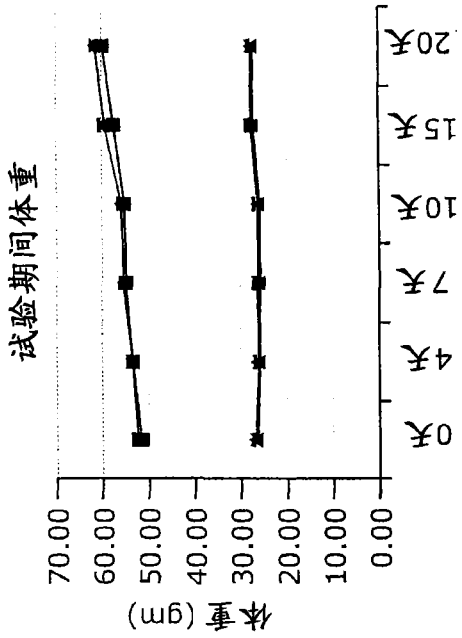


图 5A

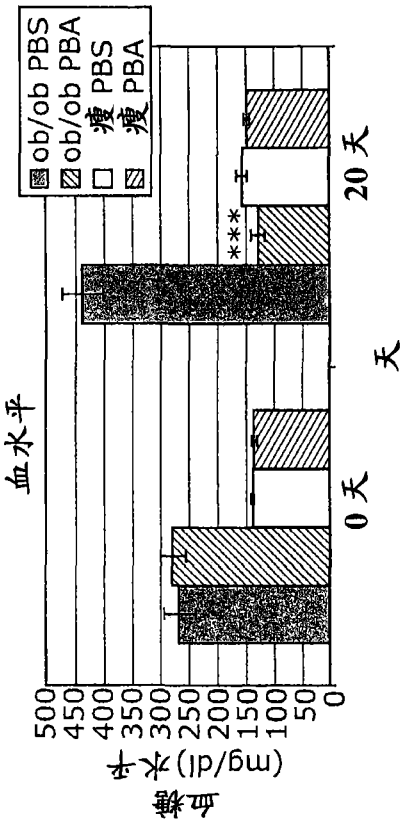


图 5B

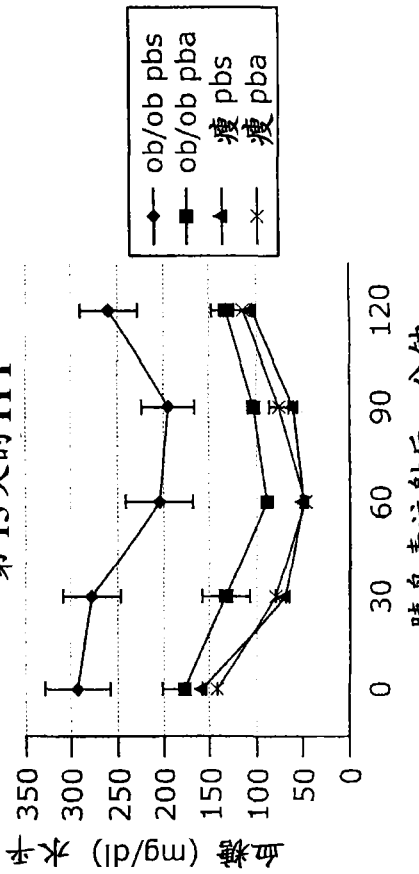


图 5D

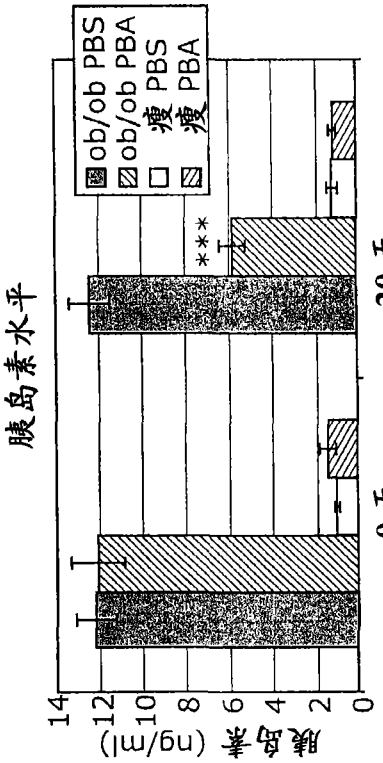


图 5C

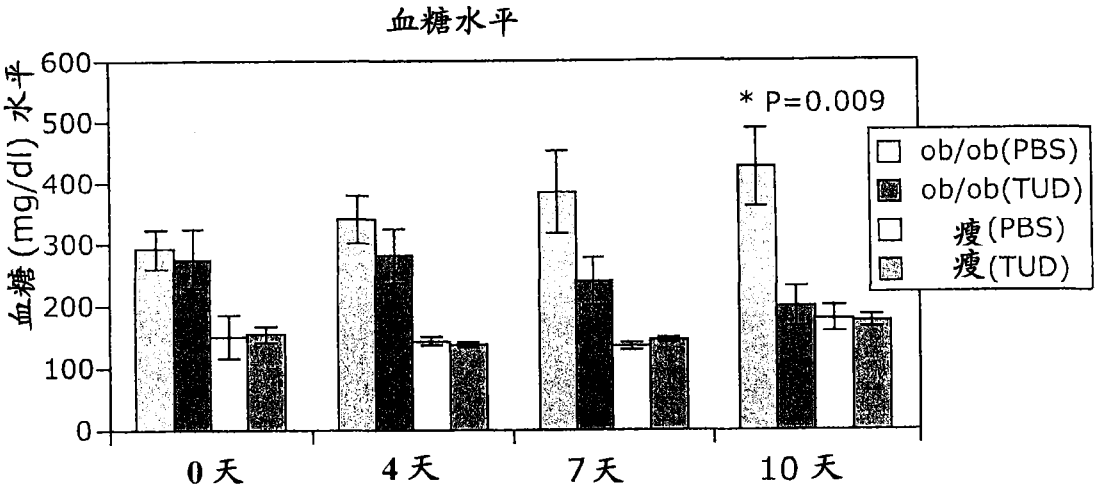

血糖水平
血糖 (mg/dl) 水平
600
500
400
300
200
100
0
* P=0.009
ob/ob(PBS)
ob/ob(TUD)
瘦(PBS)
瘦(TUD)
0 天
4 天
7 天
10 天

图 6A

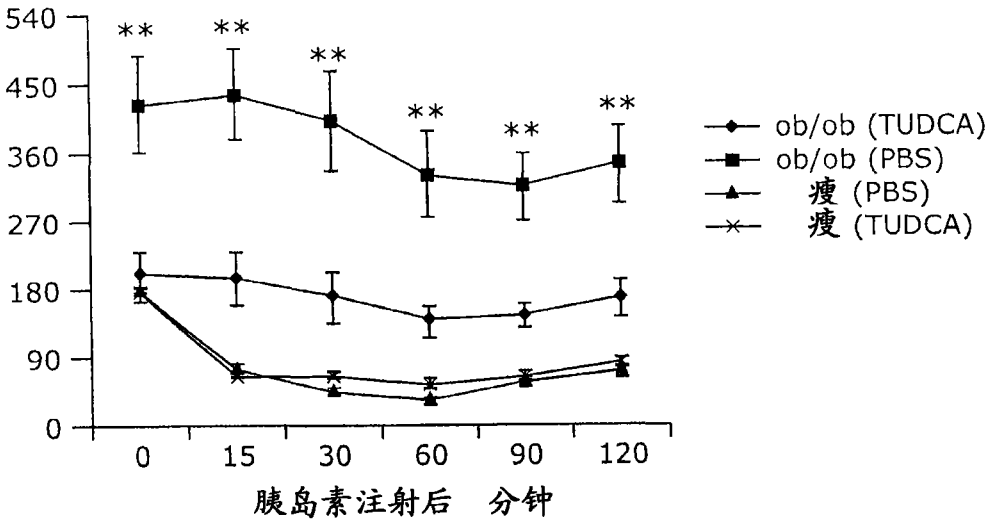

540
450
360
270
180
90
0
**
**
**
**
**
**
0
15
30
60
90
120
胰岛素注射后 分钟
ob/ob (TUDCA)
ob/ob (PBS)
瘦 (PBS)
瘦 (TUDCA)

图 6B

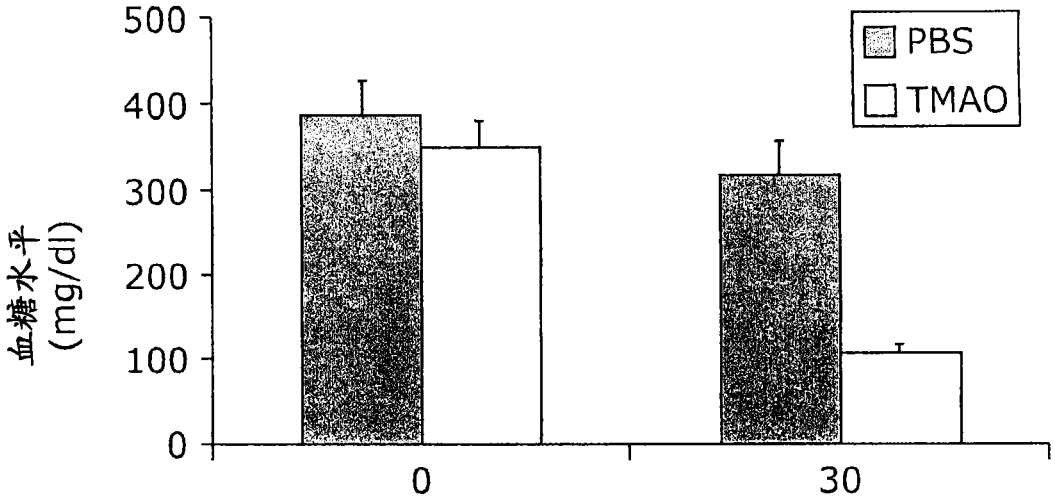

500
400
300
200
100
0
血糖水平
(mg/dl)
PBS
TMAO
0
30
用 TMAO 治疗糖尿病小鼠的天数

图 7A

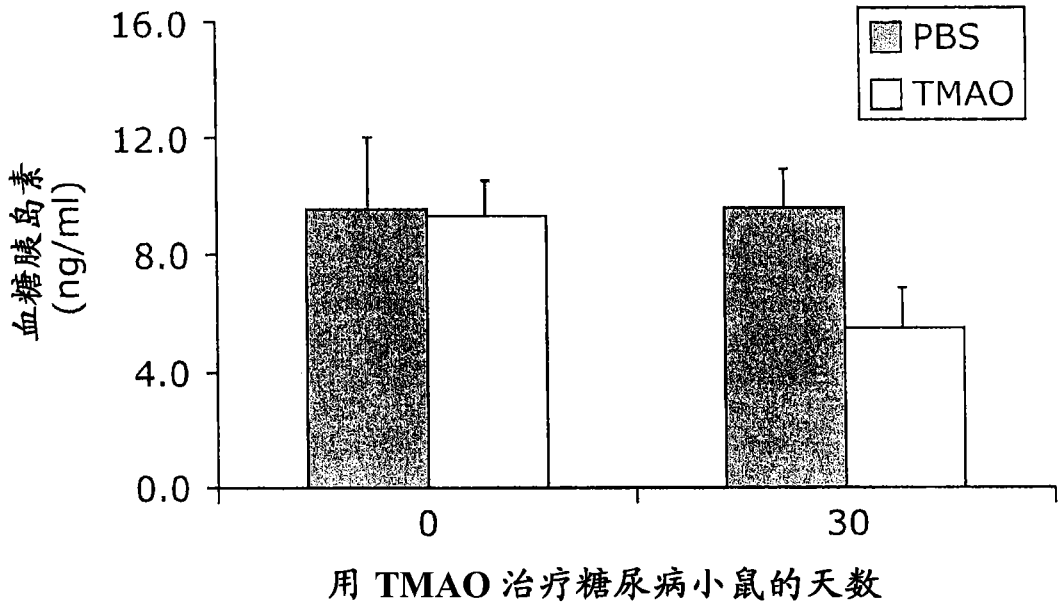
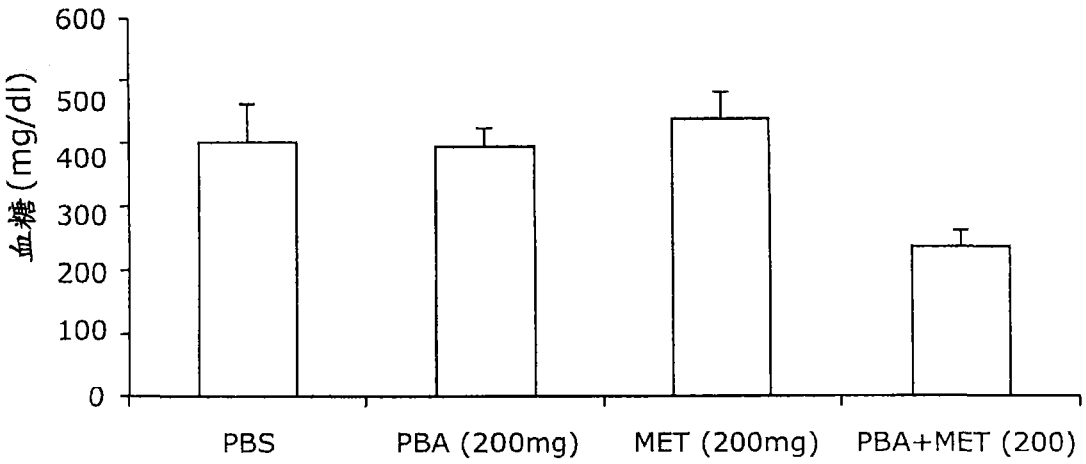

16.0
12.0
8.0
4.0
0.0
血糖胰岛素
(ng/ml)
PBS
TMAO
0
30
用 TMAO 治疗糖尿病小鼠的天数

图 7B



治疗(糖尿病小鼠，ob/ob，以 200mg/kg/天剂量治疗 11 天)

图 8

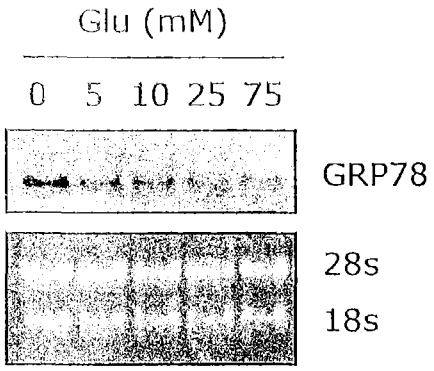


图 9A

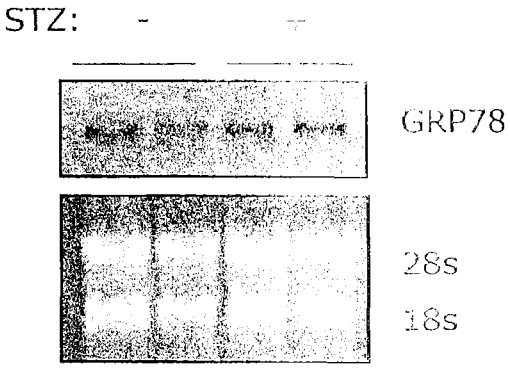


图 9B

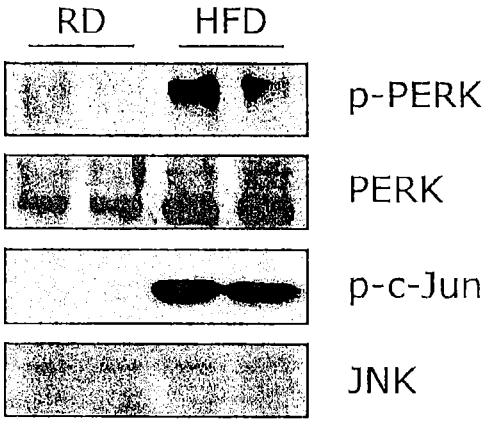


图 10A

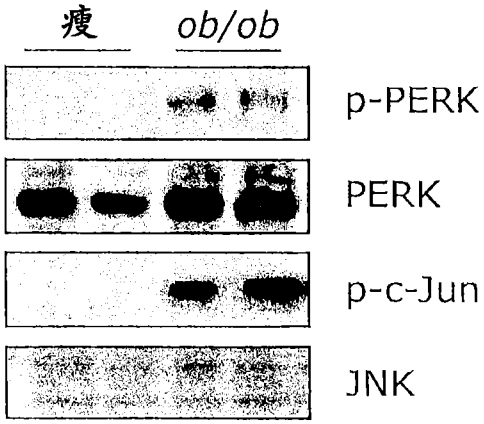


图 10B

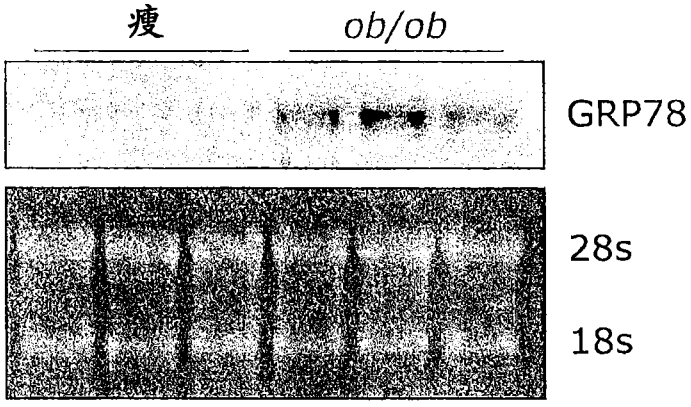


图 10C

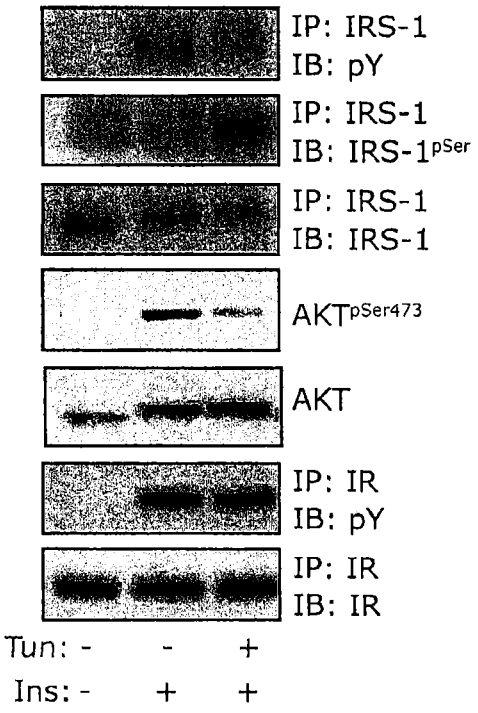


图 11A

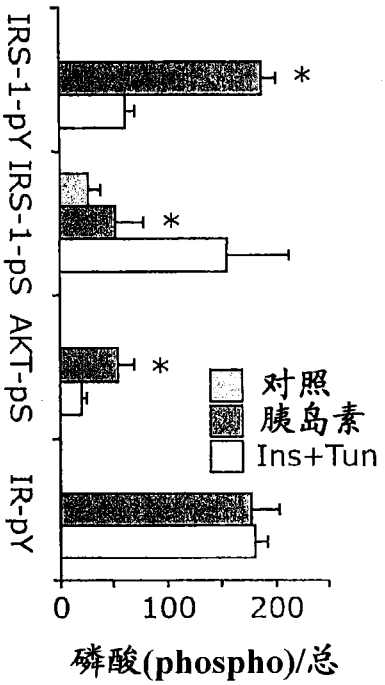


图 11B

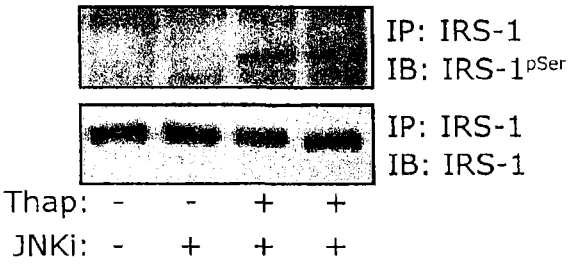


图 11C

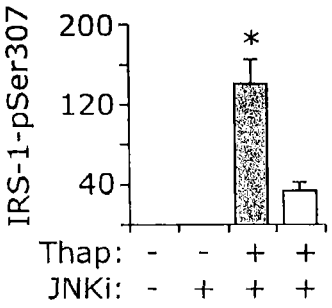


图 11D

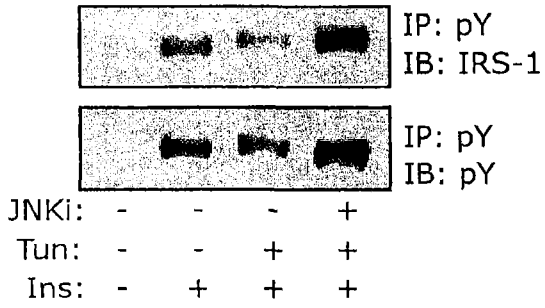


图 11E

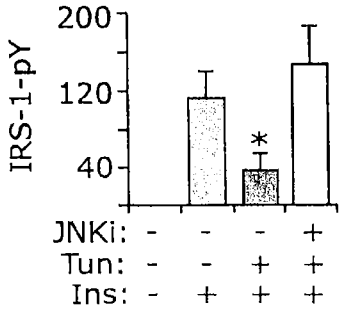


图 11F

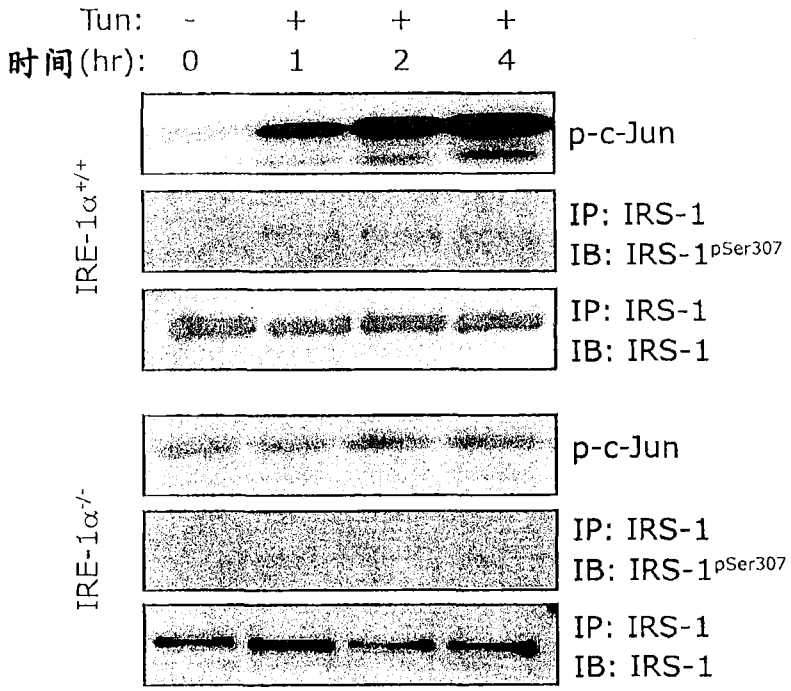

Tun: - + + +
时间(hr): 0 1 2 4
IRE-1α+/+
p-c-Jun
IP: IRS-1
IB: IRS-1pSer307
IP: IRS-1
IB: IRS-1
IRE-1α-/-
p-c-Jun
IP: IRS-1
IB: IRS-1pSer307
IP: IRS-1
IB: IRS-1

图 11G

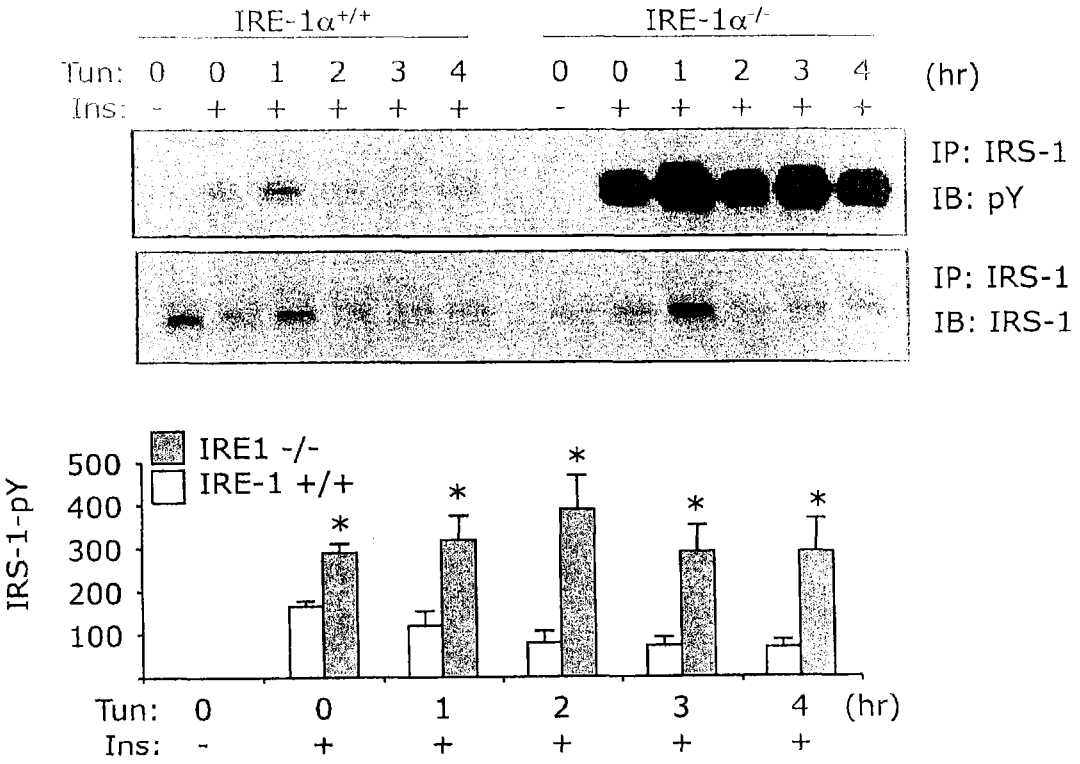

IRE-1α+/+
IRE-1α-/-
Tun: 0 0 1 2 3 4 0 0 1 2 3 4 (hr)
Ins: - + + + + + - + + + + +
IP: IRS-1
IB: pY
IP: IRS-1
IB: IRS-1
IRE1 -/-
IRE-1 +/+
IRS-1-pY
500
400
300
200
100
Tun: 0 0 1 2 3 4 (hr)
Ins: - + + + + +

图 11H

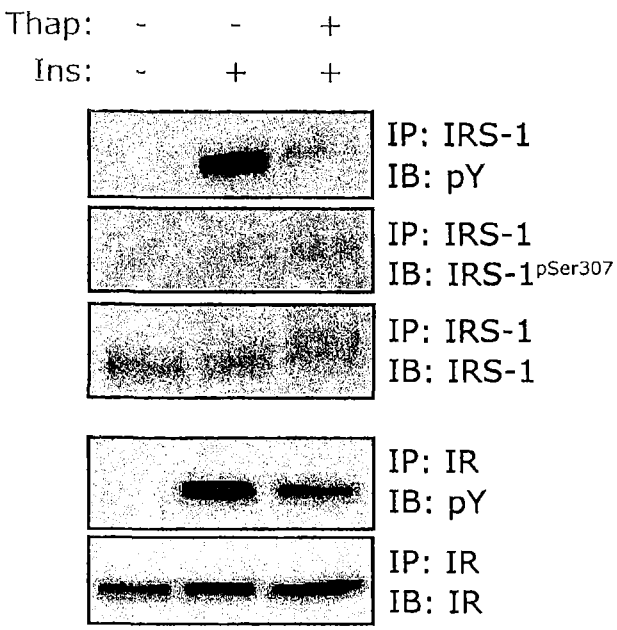

Thap: - - +
Ins: - + +
IP: IRS-1
IB: pY
IP: IRS-1
IB: IRS-1pSer307
IP: IRS-1
IB: IRS-1
IP: IR
IB: pY
IP: IR
IB: IR

图 12A

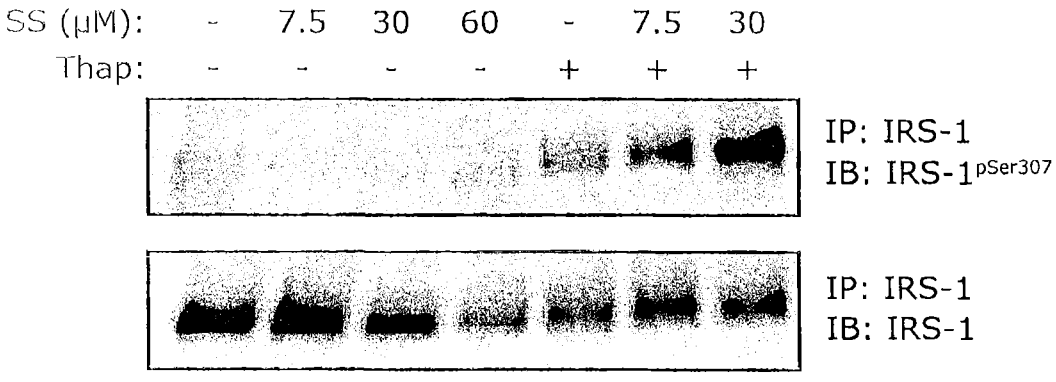

SS (μM): - 7.5 30 60 - 7.5 30
Thap: - - - - + + +
IP: IRS-1
IB: IRS-1pSer307
IP: IRS-1
IB: IRS-1

图 12B

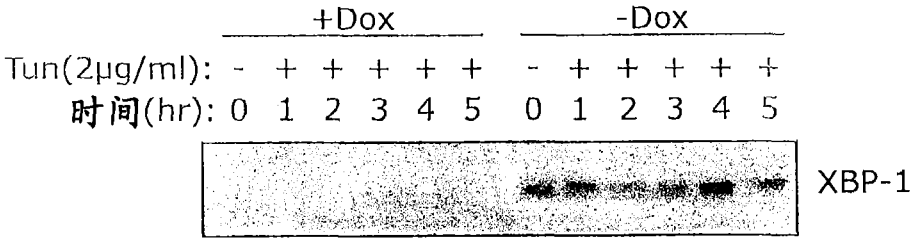


图 13A

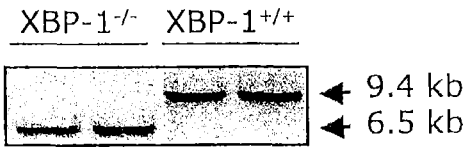


图 13B

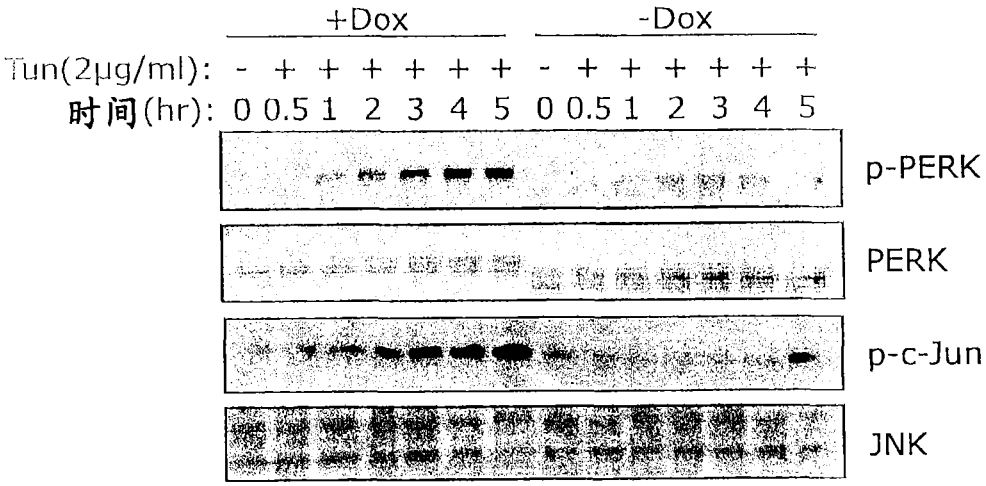


图 13C

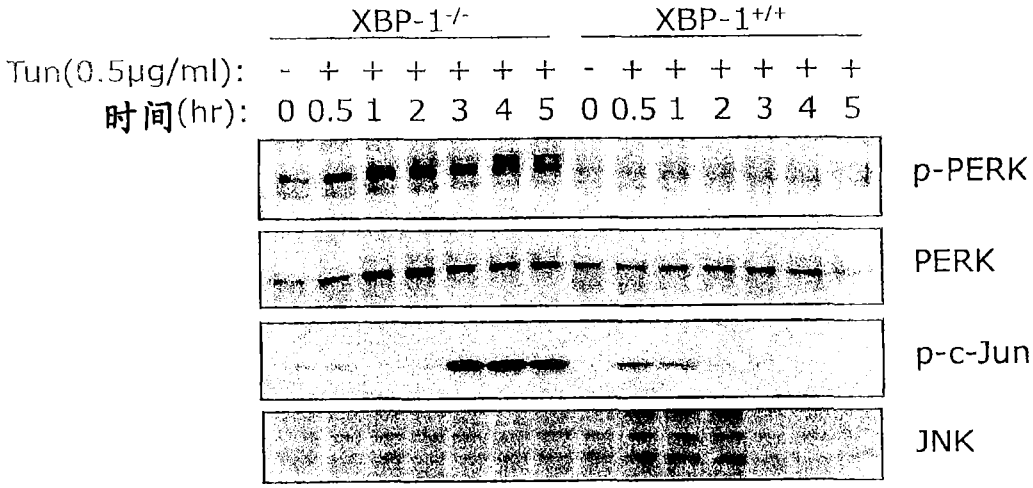


图 13D

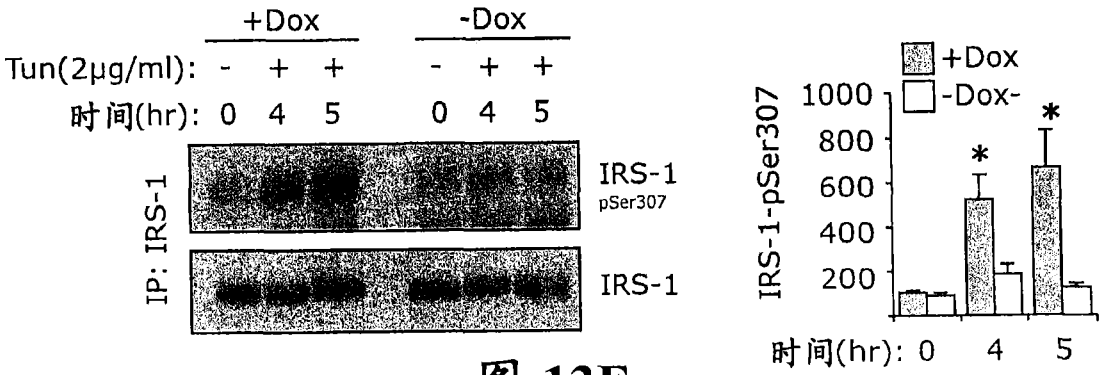


图 13E

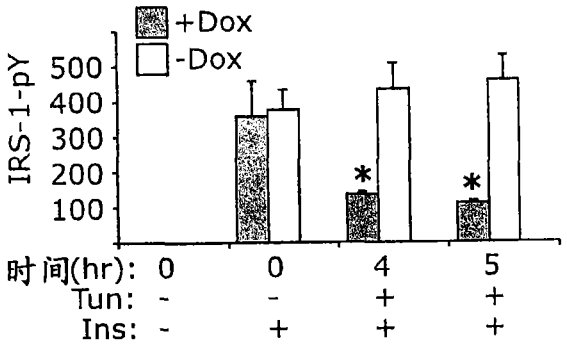


图 13F

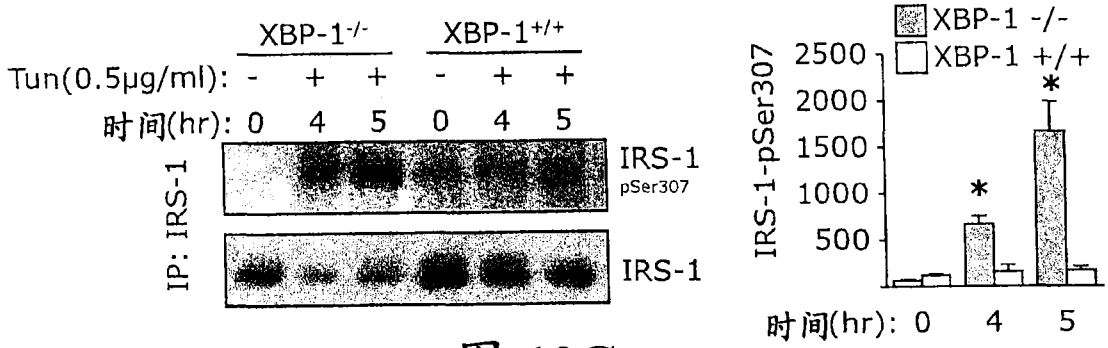


图 13G

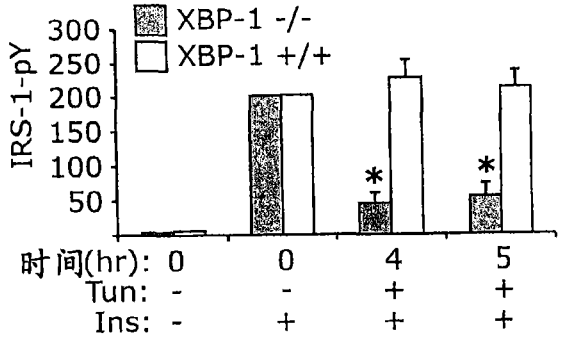


图 13H

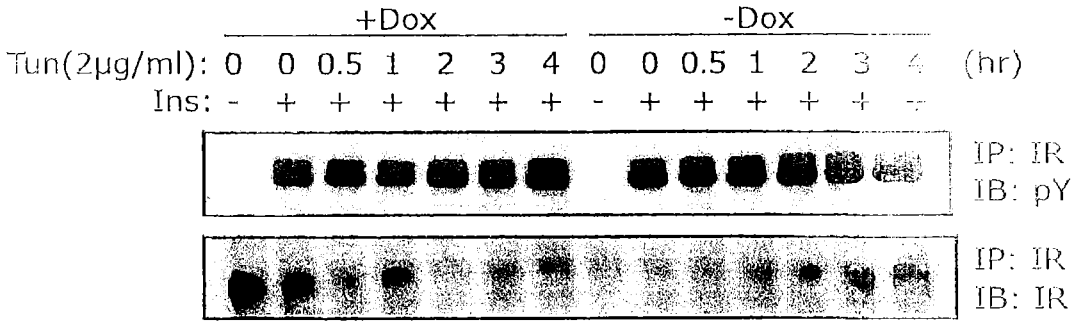

+Dox
-Dox
Tun(2μg/ml): 0 0 0.5 1 2 3 4 0 0 0.5 1 2 3 4 (hr)
Ins: - + + + + + + - + + + + + -
IP: IR
IB: pY
IP: IR
IB: IR

图 14A

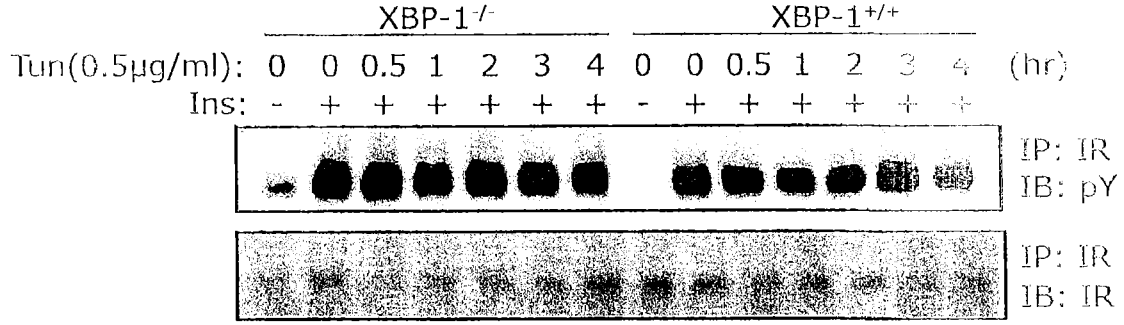
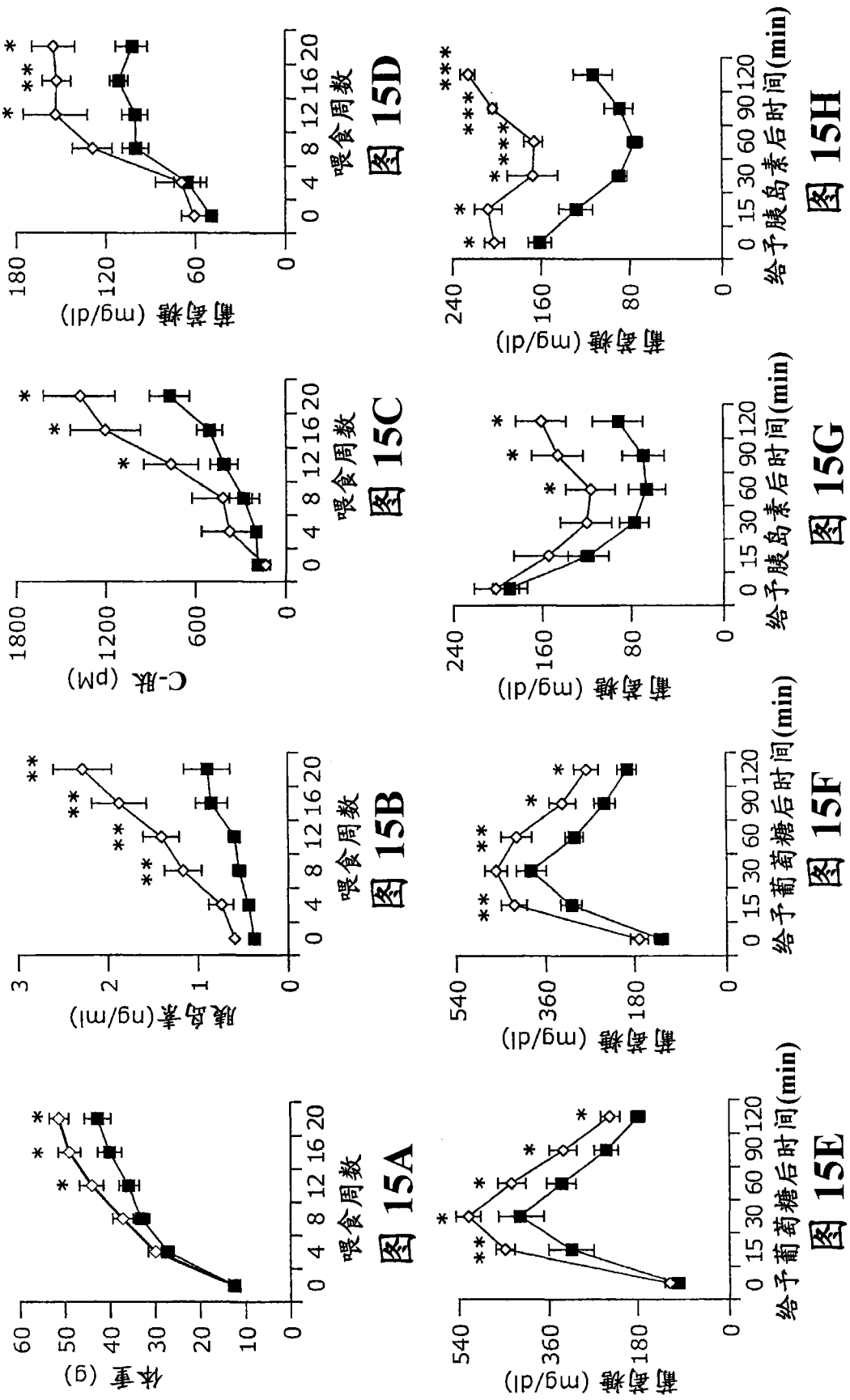

XBP-1-/-
XBP-1+/+
Tun(0.5μg/ml): 0 0 0.5 1 2 3 4 0 0 0.5 1 2 3 4 (hr)
Ins: - + + + + + + - + + + + + +
IP: IR
IB: pY
IP: IR
IB: IR

图 14B


体重 (g)
喂食周数
图 15A
胰岛素(ng/ml)
喂食周数
图 15B
C-肽 (pM)
喂食周数
图 15C
葡萄糖 (mg/dl)
喂食周数
图 15D
葡萄糖 (mg/dl)
给予葡萄糖后时间(min)
图 15E
葡萄糖 (mg/dl)
给予葡萄糖后时间(min)
图 15F
葡萄糖 (mg/dl)
给予胰岛素后时间(min)
图 15G
葡萄糖 (mg/dl)
给予胰岛素后时间(min)
图 15H

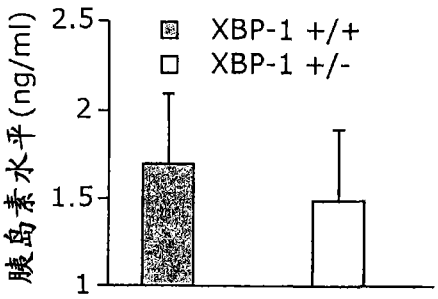


图 16A

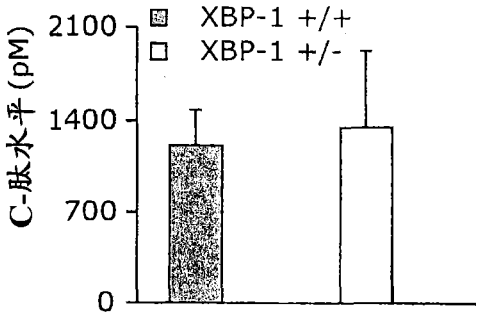


图 16B

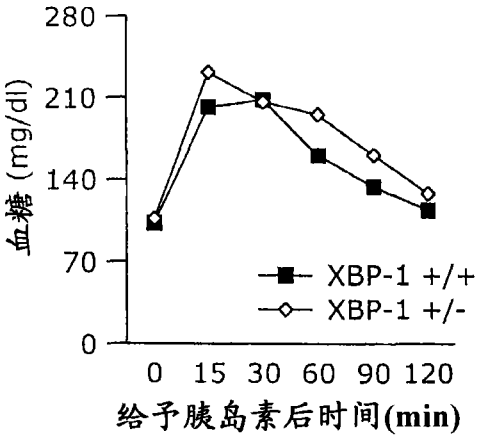


图 16C

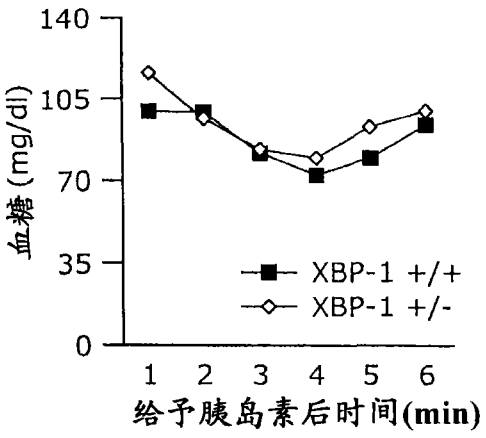


图 16D

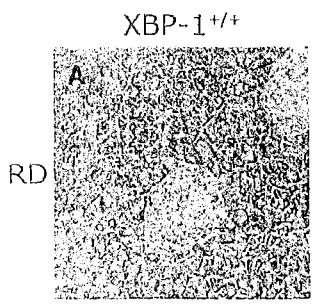


图 17A

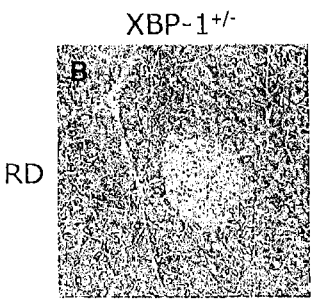


图 17B

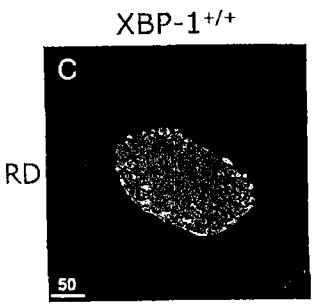


图 17C

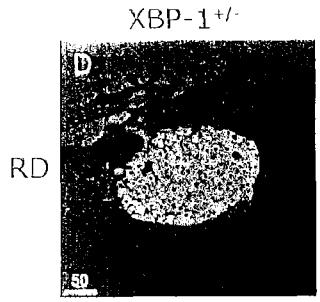


图 17D

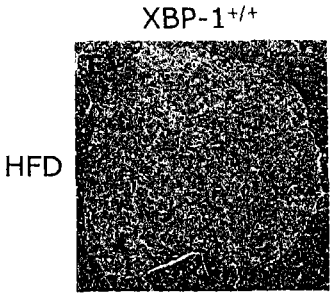


图 17E

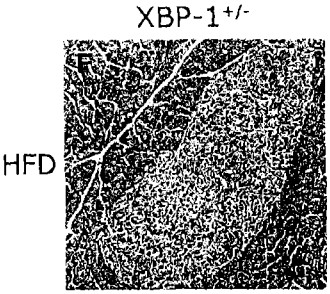


图 17F

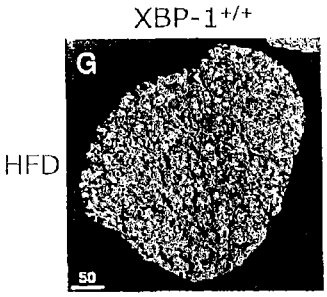


图 17G

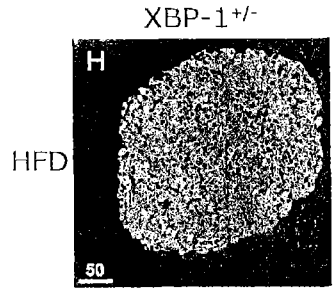


图 17H

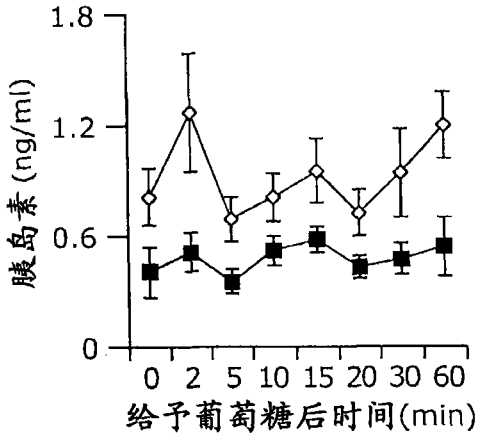


图 17I

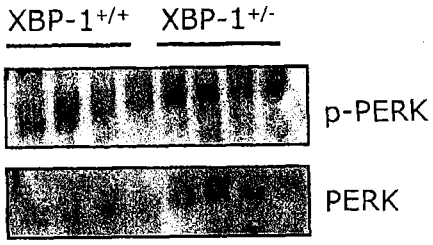


图 18A

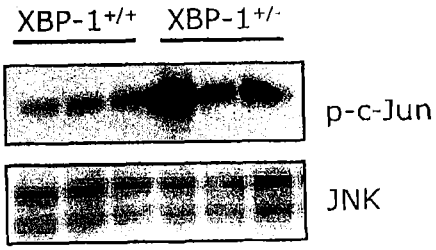


图 18B

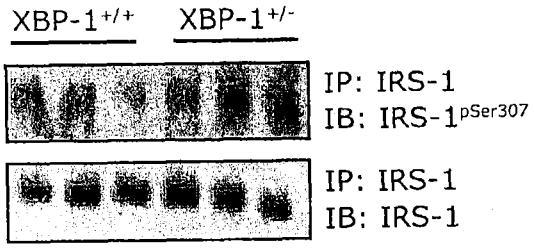


图 18C

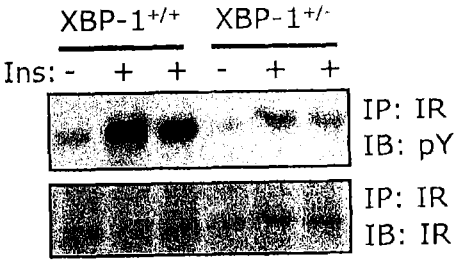


图 18D

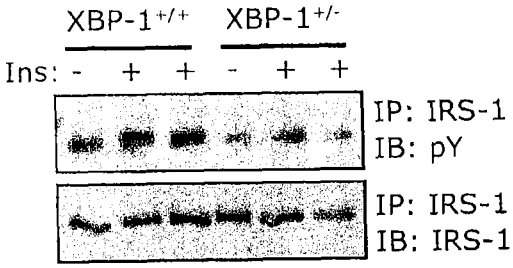


图 18E

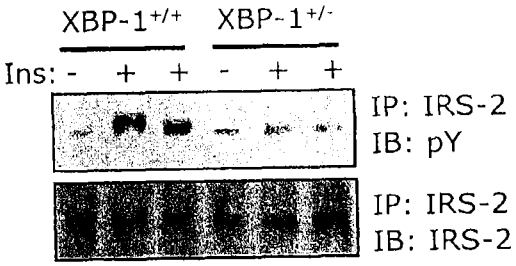


图 18F

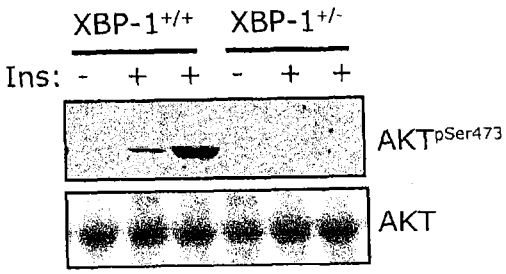


图 18G

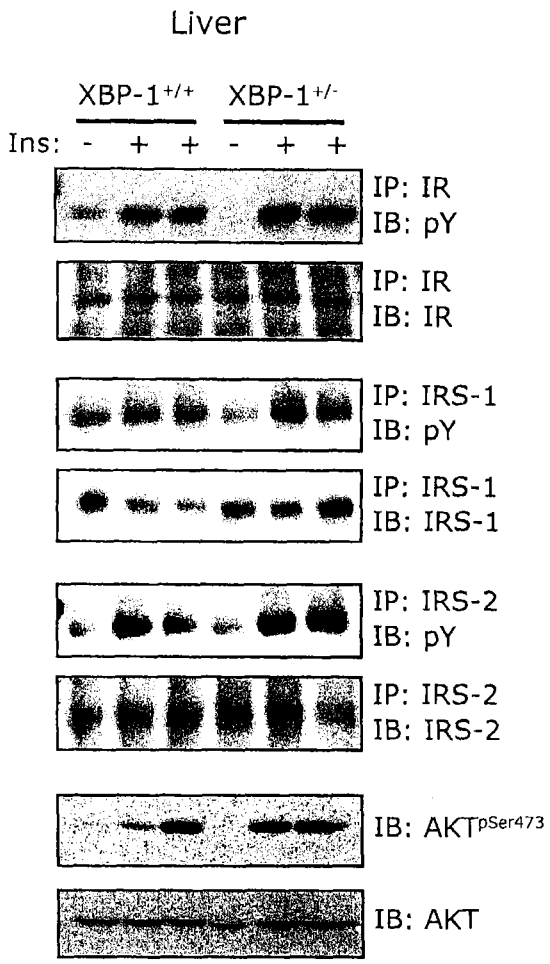

Liver
XBP-1+/+
XBP-1+/-
Ins: - + + - + +
IP: IR
IB: pY
IP: IR
IB: IR
IP: IRS-1
IB: pY
IP: IRS-1
IB: IRS-1
IP: IRS-2
IB: pY
IP: IRS-2
IB: IRS-2
IB: AKTpSer473
IB: AKT

图 19A

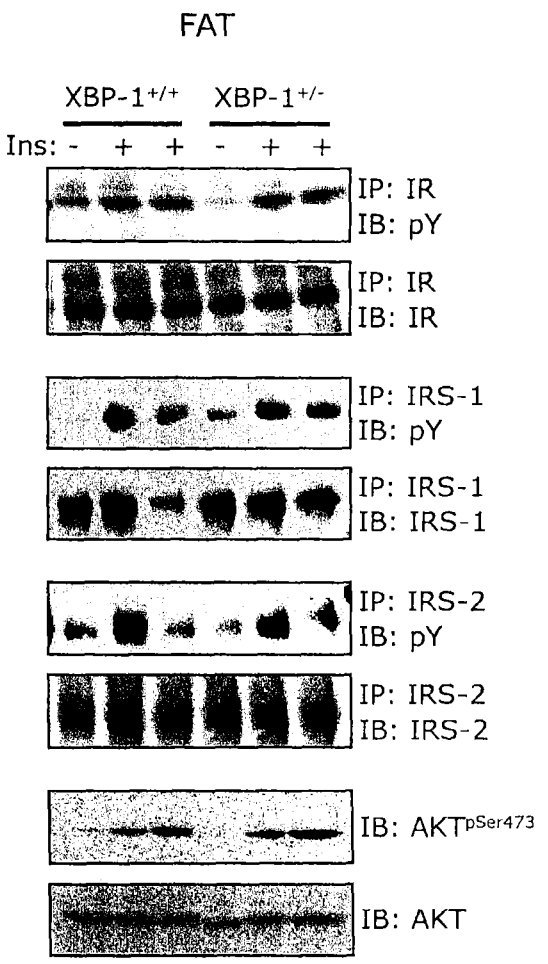

FAT
XBP-1+/+
XBP-1+/-
Ins: - + + - + +
IP: IR
IB: pY
IP: IR
IB: IR
IP: IRS-1
IB: pY
IP: IRS-1
IB: IRS-1
IP: IRS-2
IB: pY
IP: IRS-2
IB: IRS-2
IB: AKTpSer473
IB: AKT

图 19B

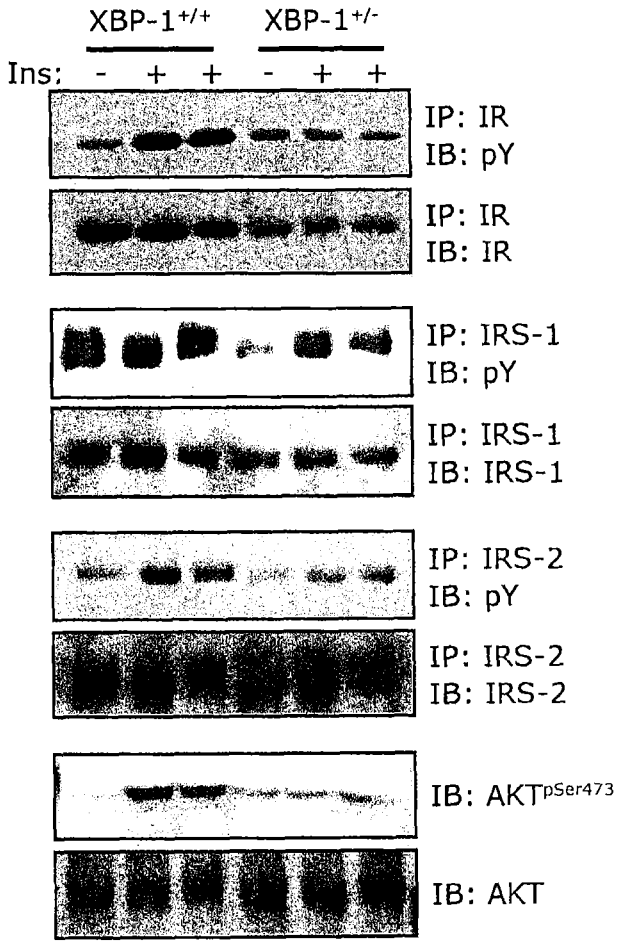


图 20A

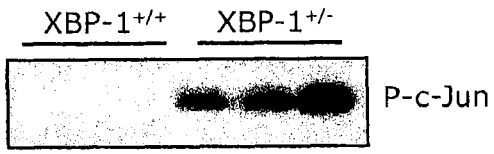


图 20B

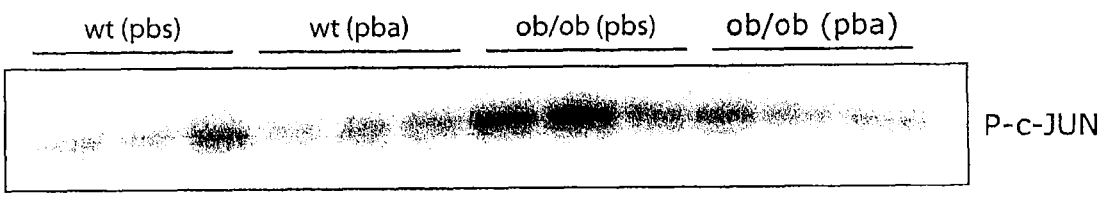


图 21