



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 105497876 B

(45) 授权公告日 2021.01.15

(21) 申请号 201410529437.4

(22) 申请日 2014.09.24

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105497876 A

(43) 申请公布日 2016.04.20

(73) 专利权人 上海泽生科技开发股份有限公司
地址 201203 上海市浦东新区居里路68号

(72) 发明人 周明东

(51) Int. Cl.
A61K 38/18 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 9/06 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 1498656 A, 2004.05.26
US 8815593 B2, 2014.08.26
CN 101310766 A, 2008.11.26
CN 1655804 A, 2005.08.17

刘宁. 随机、双盲、多中心、标准治疗基础上的安慰剂并行对照评价注射用重组人纽兰格林对慢性收缩性心力衰竭患者疗效与安全性的Ⅱ期临床观察.《中国优秀硕士学位论文全文数据库医药卫生科技辑》.2012, (第2期), E062-87.
刘超. Neuregulin-1 β 对慢性收缩性心力衰

竭的作用及机制探讨.《中国优秀硕士学位论文全文数据库医药卫生科技辑》.2010, (第6期), E062-54.

Ford BD等. Neuregulin-1 suppresses muscarinic receptor expression and acetylcholine-activated muscarinic K⁺ channels in cardiac myocytes.《Biochem Biophys Res Commun》.2003, 第308卷 (第1期), 第23-28页.

张小昊. 重组人纽兰格林治疗慢性收缩性心力衰竭的研究.《中国优秀硕士学位论文全文数据库医药卫生科技辑》.2009, (第8期), E062-17.

Wang XH等. Improvement of cardiac function and reversal of gap junction remodeling by Neuregulin-1 β in volume-overloaded rats with heart failure.《J Geriatr Cardiol》.2012, 第9卷 (第2期), 第172-179页.

Liu YQ等. Protective role of neuregulin-1 toward doxorubicin-induced myocardial toxicity.《Genet Mol Res》.2014, 第13卷 (第2期), 第4627-4634页.

审查员 白艳林

权利要求书1页 说明书10页
序列表1页 附图4页

(54) 发明名称

神经调节蛋白用于预防、治疗或延迟心脏室性心律失常的方法和组合物

(57) 摘要

本发明涉及纽兰格林蛋白在制备用于预防、治疗或延缓人类室性心律失常的药物中的应用, 以及所述用于预防、治疗或延缓人类室性心律失常的药物的使用方法。特别地, 本发明提供了预防、治疗或延缓人类室性心律失常的方法, 该方法是在患有心律失常或者具有心律失常风险的特殊人群中使用包含纽兰格林蛋白的药物。具体而言, 本发明涉及神经调节蛋白在心血管疾病治疗中的新适应症抗室性心律失常。

1. 神经调节蛋白 (Neuregulin, NRG) 用于制备治疗哺乳动物QTc间期延长室性心律失常的药物的用途, 其中所述神经调节蛋白包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。
2. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述哺乳动物是人。
3. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述室性心律失常包括室性早搏和/或室性心动过速和/或心室颤动。

神经调节蛋白用于预防、治疗或延迟心脏室性心律失常的方法和组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及纽兰格林蛋白在制备用于预防、治疗或延缓人类室性心律失常的药物中的应用,以及所述用于预防、治疗或延缓人类室性心律失常的药物的使用方法。特别地,本发明提供了预防、治疗或延缓人类室性心律失常的方法,该方法是在患有心律失常或者具有心律失常风险的特殊人群中使用包含纽兰格林蛋白的药物。具体而言,本发明涉及神经调节蛋白在心血管疾病治疗中的新适应症抗室性心律失常。

[0002] 发明背景

[0003] 神经调节蛋白(neuregulin, NRG; heregulin, HRG), 又叫神经胶质生长因子(glia1 growth factor, GGF), neu分化因子(new differentiation factor, NDF), 为分子量在44KD左右的糖蛋白,它们在细胞间传递信号,是酪氨酸激酶受体ErbB家族的配体。神经调节蛋白家族含4个成员:NRG1, NRG2, NRG3, NRG4 (Falls et al., Exp Cell Res. 284:14-30, 2003)。NRG1在神经系统、心脏和乳腺中起着重要作用,还有证据显示NRG1信号传递在其他一些器官系统的发育、功能以及人类疾病(包括精神分裂症和乳腺癌)的发病机理中起作用。NRG1有很多异构体。对基因突变小鼠(基因敲除小鼠)的研究说明在N末端区或表皮生长因子(EGF)类似区不同的异构体,其在体功能也不一样。本发明是以神经调节蛋白1 β (NRG1 β)为基础的。

[0004] 神经调节蛋白1 β 为一跨膜蛋白(Holmes et al., Science 256, 1205-1210, 1992)。膜外部分是N末端,包括免疫球蛋白类似区(Ig-like domain)和EGF类似区(EGF-like domain),膜内部分是C末端。在细胞外基质的金属蛋白酶作用下,神经调节蛋白的膜外部分可被酶切下来而呈游离状态,从而有利于和周围细胞表面的ErbB受体结合,激活相应的细胞信号传递。ErbB受体家族也分为四类,ErbB1、ErbB2、ErbB3和ErbB4,它们都是跨膜蛋白,分子量在180-185KD附近。除ErbB2外,它们在膜外的N末端都含配体结合区;除ErbB3外,它们在膜内的C末端都含蛋白酪氨酸激酶活性。其中ErbB1是表皮生长因子的受体,ErbB3和ErbB4都是神经调节蛋白的受体。在神经调节蛋白的受体中,只有ErbB2和ErbB4在心脏表达量较高(Yarden et al., Nat Rev Mol Cell Biol, 2:127-137, 2001)。

[0005] 当神经调节蛋白与ErbB3或ErbB4的膜外部分结合时,将引起ErbB3、ErbB4与其他ErbB受体(常常包括ErbB2)形成异源二聚体,或ErbB4自身形成同源二聚体,然后导致受体的膜内部分被磷酸化(Yarden et al., Nat Rev Mol Cell Biol, 2:127-137, 2001)。磷酸化的膜内部分可进一步与细胞内的多种信号传递蛋白结合,从而激活下游ERK或AKT信号通路,引起一系列细胞反应:包括刺激或抑制细胞增殖、细胞凋亡、细胞迁移、细胞分化或细胞粘连。神经调节蛋白对心脏的发育尤其重要(W00037095, CN1276381, W003099300, W09426298, US6444642, W09918976, W00064400, Zhao et al., J. Biol. Chem. 273, 10261-10269, 1998)。在胚胎发育早期,神经调节蛋白的表达主要局限于心内膜,随后通过旁分泌途径释放到周围心肌细胞并与细胞膜上的蛋白酪氨酸激酶受体ErbB4膜外部分结合,ErbB4进而与ErbB2形成异源二聚体。ErbB4/ErbB2复合物的形成及激活对早期海绵样心脏形成小

梁是必须的。神经调节蛋白、ErbB4和ErbB2三个蛋白基因中的任何一个缺失都会使胚胎没有小梁并在发育早期死于子宫。W00037095显示一定浓度的神经调节蛋白可持续激活ERK信号通路,促进心肌细胞的生长及分化,引导心肌细胞和细胞粘连处肌节和细胞骨架的重建,改善心肌细胞的结构,增强心肌细胞的收缩。W00037095及W0003099300还指出神经调节蛋白可用于检测、诊断和治疗各种心血管疾病。

[0006] 下面列举了与本发明有关的一些现有技术文献:1.Cardiac muscle function and manipulation:W00037095;2.生长因子神经调节蛋白及其类似物的新应用:CN1276381;3.Neuregulin based methods and composition for treating cardiovascular diseases:W003099300;4.Zhao YY,Sawyer DR,Baliga RR,Opel DJ,Han X,Marchionni MA and Kelly RA.Neuregulins Promote Survival and Growth of Cardiac Myocytes.J.Biol.Chem.273,10261-10269(1998);5.Methods for treating muscle diseases and disorder:W09426298;6.Methods of increasing myotube formation or survival or muscle cell mitogenesis,differentiation or survival using a neuregulin:US6444642.7.Therapeutic methods comprising use of a neuregulin:W09918976;8.Methods for treating congestive heart failure:W00064400;9.Holmes WE,Sliwkowski MX,Akita RW,Henzel WJ,Lee J,Park JW,Yansura D,Abadi N,Raab H,Lewis GD,et al.Identification of heregulin,a specific activator p185erbB2.Science 256,1205-1210(1992);10.Falls DL.Neuregulins: functions,forms and signalingstrategies.Experimental Cell Research,284,14-30 (2003).11.Yarden Y,Sliwkowski X.Untangling the ErbB signaling Network.Nature Reviews:Molecular Cell Biology,2127-137(2001).

[0007] 心律失常是由于窦房结激动异常或激动产生于窦房结以外,激动的传导缓慢、阻滞或经异常通道传导,即心脏活动的起源和(或)传导障碍导致心脏搏动的频率和(或)节律异常。按起源部位可分为窦性、房性、房室交接处性和室性四种。其中以室性心律失常最常见。室性心律失常指起源于心室的心律紊乱,包括室性早搏(室早)、室性心动过速(室速)、心室颤动(室颤)等。

[0008] 心律失常可见于各种器质性心脏病,其中以冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病),心肌病,心肌炎和风湿性心脏病(简称风心病)为多见,尤其在发生心力衰竭或急性心肌梗塞时,发生在基本健康者或植物神经功能失调患者中的心律失常也不少见,其他病因尚有电解质或内分泌失调,麻醉,低温,胸腔或心脏手术,药物作用和中枢神经系统疾病等,部分病因不明。

[0009] 目前临床应用的抗心律失常药物已近50余种,至今还没有统一的分类标准,根据药物对心脏的不同作用原理将抗心律失常药物分以下四类,以指导临床合理用药,其中I类药又分为A、B、C三个亚类。

[0010] (1) I类——钠通道阻滞药

[0011] 1) IA类适度阻滞钠通道,属此类的有奎尼丁等药。

[0012] 2) IB类轻度阻滞钠通道,属此类的有利多卡因等药。

[0013] 3) IC类明显阻滞钠通道,属此类的有氟卡尼等药。

[0014] (2) II类—— β 肾上腺素受体阻断药

- [0015] 因阻断 β 受体而有效,代表性药物为普萘洛尔。
- [0016] (3) III类——选择地延长复极过程的药
- [0017] 属此类的有胺碘酮。
- [0018] (4) IV类——钙拮抗药
- [0019] 它们阻滞钙通道而抑制Ca内流,代表性药有维拉帕米。
- [0020] 长期服用抗心律失常药均有不同程度的副作用,严重的可引起心脏传导阻滞而致命。室性心律失常发病率高、预后重,长期药物治疗风险高,而且中、重度、或伴充血性心力衰竭(CHF)的室性心律失常,治疗的难度非常大,许多抗心律失常药物不能应用。
- [0021] 现有技术文献中没有关于神经调节蛋白对于室性心律失常方面的调节作用,也没有关于神经调节蛋白对于室性早搏(室早)、室性心动过速(室速)、心室颤动(室颤)等的报道。本发明发现给予哺乳动物神经调节蛋白能大大降低或延迟心衰患者室性心律失常和/或室性早搏的发生率,并使QTc间期有明显缩短的趋势。

发明内容

[0022] A. 发明概述

[0023] 本发明是基于NRG对心脏发育至关重要,对成年心脏的功能维持也起到非常重要的作用的科学发现;基于NRG可以加强心肌细胞肌小节和细胞骨架以及细胞间连接的形成科学发现;基于NRG在各种动物模型和临床试验中可以提高心衰动物或病人的心脏功能的科学发现。NRG, NRG多肽, NRG突变体或其它具有NRG样功能的复合物都属于本发明的范畴。神经调节蛋白可与心肌细胞表面的ErbB受体结合,持续激活细胞内的ERK信号通路,改变心肌细胞的结构,从而提高心肌的收缩力,因此被用于治疗心力衰竭。而在对心衰患者给予神经调节蛋白后,对其心电图研究表明:神经调节蛋白可改变人类的心律,缩短QTc间期,特别是可大大降低室性心律失常和/或室性早搏的发生率。

[0024] 本发明的第一个方面,是提供了一种预防、治疗或延迟哺乳动物特别是人室性心律失常和/或室性早搏的方法。包括对需要或希望预防、治疗或延迟室性心律失常和/或室性早搏的哺乳动物特别是人施用有效量的NRG或其功能片段,或编码NRG或其功能片段的核酸,或提高NRG产量和/或功能的物质,从而达到预防、治疗或延迟室性心律失常和/或室性早搏的效果。

[0025] 本发明的第二个方面,是提供了一种预防、治疗或延迟哺乳动物特别是人室性心律失常和/或室性早搏的药物制剂。该药物制剂包含有效量的NRG或其功能片段,或编码NRG或其功能片段的核酸,或提高NRG产量和/或功能的物质,以及药学上可以接受的载体、赋形剂等。该药物制剂可以和其它可用于预防、治疗或延缓室性心律失常和/或室性早搏的药物一起使用。

[0026] 本发明的另一个方面,是提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物特别是人室性心律失常和/或室性早搏的组合物。该组合物包含了本发明所提供的用于预防、治疗或延迟哺乳动物心脏室性心律失常和/或室性早搏的药物制剂,以及其它预防、治疗或延缓室性心律失常和/或室性早搏的药物。

[0027] 本发明还提供了一种用于预防、治疗或延迟哺乳动物特别是人室性心律失常和/或室性早搏的药盒,其中包含了一次或多次使用剂量的上述预防、治疗或延迟心脏室性心

律失常和/或室性早搏的药物制剂或组合物,以及如何使用该药物制剂或组合物的说明书。

[0028] 本发明所提供的药物制剂或组合物,可以在室性心律失常和/或室性早搏发生前、发生时或发生后给予。

[0029] B. 定义

[0030] 除另有定义,这里使用的所有科技术语与本发明所属技术领域的普通技术人员理解含义相同。所有专利文献、专利申请文献、公开的专利文献和其它出版物均作为参考。如本节阐述的定义与上述参考文献所述的定义不一致或相反时,以本节阐述的定义为准。

[0031] 除非特别指明,在此所用“一个”的意思是“至少一个”或“一个或多于一个”。

[0032] 此处所用“神经调节蛋白”或“neuregulin”或“NRG”是指能够结合并激活ErbB2、ErbB3、ErbB4或其异源或同源二聚体的蛋白或多肽,包括神经调节蛋白的异构体、神经调节蛋白中的EGF样功能域、包含神经调节蛋白EGF样功能域的多肽、神经调节蛋白的突变体或衍生物以及其它能够激活上述受体的神经调节蛋白样的基因产物。神经调节蛋白还包括NRG-1, NRG-2, NRG-3和NRG-4蛋白、多肽、片段以及具有NRG样功能的复合物。优选的,神经调节蛋白是可以结合并激活ErbB2/ErbB4或ErbB2/ErbB3异源二聚体的蛋白或多肽。作为例子,但并非为了限制的目的,本发明的神经调节蛋白是NRG-1 β 2异构体的一个片段,即177-237位氨基酸片段,其中包含了EGF样功能域。该片段的氨基酸序列为:SHLVKCAEKEKTFVCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKPNEFTGDRCQNYVMASFYKAEELYQ (SEQ ID NO:2)。本发明所用神经调节蛋白可以激活上述受体并调节它们的生物学功能,比如刺激骨骼肌细胞合成乙酰胆碱受体;促进心肌细胞的分化、存活以及DNA合成。神经调节蛋白还包括那些具有并不实质性影响生物学功能的保守性突变的神经调节蛋白突变体。本技术领域普通技术人员熟知,非关键区域的单个氨基酸的突变一般不会引起该蛋白或多肽的生物学功能的改变(参见Watson等人, *Molecular Biology of the Gene*, 4th Edition, 1987, The Bejacmin/Cummings Pub.co., p.224)。本发明所用神经调节蛋白可以从天然的来源分离得到,或者通过重组技术、人工合成或其它手段得到。

[0033] 此处所用“EGF样功能域”或“EGF-like domain”是指由neuregulin基因所编码的可以结合并激活ErbB2、ErbB3、ErbB4或其异源或同源二聚体的多肽片段,并且与下述参考文献中描述的EGF受体结合区域具有结构相似性:WO 00/64400;Holmes等, *Science*, 256:1205-1210 (1992);美国专利5,530,109和5,716,930;Hi jazi等, *Int. J. Oncol.*, 13:1061-1067 (1998);Chang等, *Nature*, 387:509-512 (1997);Carraway等, *Nature*, 387:512-516 (1997);Higashiyama等, *J. Biochem.*, 122:675-680 (1997);以及WO 97/09425。在某些实施方案中,EGF样功能域结合并激活ErbB2/ErbB4或ErbB2/ErbB3异源二聚体。在某些实施方案中,EGF样功能域包含NRG-1的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中,EGF样功能域是指NRG-1的第177-226位、177-237位或177-240位氨基酸。在某些实施方案中,EGF样功能域包含NRG-2的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中,EGF样功能域包含NRG-3的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中,EGF样功能域包含NRG-4的受体结合区氨基酸。在某些实施方案中,EGF样功能域包含美国专利5,834,229中描述的氨基酸序列:Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro。

[0034] 此处所用“心律失常”是指由于窦房结激动异常或激动产生于窦房结以外,激动的传导缓慢、阻滞或经异常通道传导,即心脏活动的起源和(或)传导障碍导致心脏搏动的频

率和(或)节律异常。心律失常是心血管疾病中重要的一组疾病。它可单独发病亦可与心血管病伴发。可突然发作而致猝死,亦可持续累及心脏而衰竭。按起源部位可分为窦性、房性、房室交接处性和室性四种。

[0035] 此处所用“室性心律失常”是指起源于心室的心律紊乱,具体指室性早搏(室早)、室性心动过速(室速)、心室颤动(室颤)等。室性早搏包括二联律、三联律、室性并行心律;室速包括阵发性室速、加速性室自主节律、尖端扭转型室速。室早数目随年龄而增加,但复杂性室早并不相应增多,较高级别室早(Lown分级)的老年人心电图异常检出率较高。常伴心肌肥厚、梗死等异常表现。室性早搏作不同情况下具有完全不同的临床意义和预后,与有无器质性心脏病、心脏病种类和心功能状况等有关。室性心动过速简称室速,常见于AMI、室壁瘤、心衰、电解质紊乱及药物中毒等情况。尖端扭转型室速是由于心室复极离散度增大引起多环路折返或折返不规则所致。多见于低钾、奎尼丁、胺碘酮、三环类抗抑郁药中毒。心室扑动与颤动常见于缺血性心脏病。此外,抗心律失常药物,特别是引起QT间期延长与尖端扭转的药物,严重缺氧、缺血、预激综合征合并房颤与极快的心室率、电击伤等亦可引起。

[0036] 此处所用“QTc间期”是指按心率校正的QT间期,是反映心脏去极化和复极作用的指标。QTc间期延长表示心脏复极延迟,反映了心电异常,通常与心律失常敏感性增高密切相关。其正常范围,男性<430ms,女性<450ms,QTc间期延长发生率不高,但潜在危害性大,大多数表现为显著的尖端扭转型心动过速,严重时可诱发室性心律失常甚至猝死。

[0037] 此处所用“其它用于抗心律失常的药物”是指已知的可用于治疗心律失常的药物,包括钠通道阻滞药,比如适度阻滞钠通道的奎尼丁等,轻度阻滞钠通道的利多卡因等,明显阻滞钠通道的氟卡尼等;包括β肾上腺素受体阻断药,如普萘洛尔等;包括选择地延长复极过程的药,如胺碘酮等,还有钙拮抗药等。

附图说明

[0038] 图1是用药前室性心律失常(室早、室速和室颤)发生率较基线值变化的组间比较图;

[0039] 图2是用药后室性心律失常(室早、室速和室颤)发生率较基线值变化的组间比较图;

[0040] 图3是用药前/后室性心律失常(室早、室速和室颤)的发生率之和较基线值变化的组间比较图;

[0041] 图4是用药前室性早搏发生率较基线值变化的组间比较图;

[0042] 图5是用药后室性早搏发生率较基线值变化的组间比较图;

[0043] 图6是用药前/后室性早搏的发生率之和较基线值变化的组间比较图;

[0044] 图7是受试者每次用药后QTc相对基线期的变化值的频数分布图。

[0045] 下文将结合附图来阐述本发明的具体实施方式。需要明白,这些实施方式是示例性的,而非限制性的。

具体实施方式

[0046] 实施例1:随机、双盲、多中心、标准治疗基础上的安慰剂并行对照评价重组人组兰格林对慢性心力衰竭患者的生存研究

[0047] 为了评价注射用重组人组兰格林-1对慢性心力衰竭的疗效,在中国的多个临床中心进行了双盲、多中心、标准治疗基础上的安慰剂并行对照的II期临床试验。共有351位心功能为NYHA III或IV级的慢性心力衰竭入组,并被随机分为安慰组或rhNRG组(0.6μg/kg)。各组之间在统计学和背景治疗方面无显著性差异。按照计划,病人在医院连续10天施用药物,第11天允许出院。从第3周到第25周做为门诊病人每周用药一次。在该研究的第53周采集生存信息。每次用药前后均进行了12导联ECG的检查。

[0048] 受试药物:

[0049] 规格:Neucardin™,61个氨基酸构成Neuregulin-1β2异构体的EGF类似功能域,分子量为7054Da(1μg=0.14nmol)。250μg(5000EU)/支(1μg=20EU)

[0050] 安慰剂:

[0051] 规格:Neucardin™的赋形剂(250μg/支,不含重组人组兰格林-1蛋白活性成分)

[0052] 药物剂型:粉针剂

[0053] 存储:置于安全处,避光,3-8℃下保存

[0054] 给药方式:静脉滴注或输注

[0055] 给药方案:

[0056]		1-10天	3-25周
	剂量	0.6μg/kg/day rhNRG-1或安慰剂	0.8μg/kg/day rhNRG-1或安慰剂
	给药途径	静脉滴注	静脉输注
	疗程	每天10小时,连续10天	每周输注10分钟

[0057] 临床试验的入组标准包括年龄为18-65岁、左心室射血分数(LVEF)≤40%的慢性心衰患者(NYHA心功能分级III或IV级),临床症状稳定(包括临床症状、体征和接受心衰标准基础治疗已达目标剂量或最大耐受量1个月以上)。

[0058] 主要的排除标准包括急性心肌梗死,肥厚型心肌病,缩窄性心包炎,明显的瓣膜病变或先天性心脏病,重度肺动脉高压,收缩压<90mmHg或>160mmHg,严重室性心律失常,前6个月内有心脏外科治疗或脑血管意外者,幽闭恐惧症或怀孕女性。

[0059] 所用患者均需理解并签署知情同意书。

[0060] 本研究过程包括三个阶段,分别是筛选期、给药期和停药后的随访期,整个研究周期为12个月(52周)。共进行35次现场访视和2次电话访视,研究过程中需观察多个指标。(详见表1)

[0061] 表1研究过程及观察的指标

[0062]

研究周期	筛选与基线	随访期																
		1周							2周							3周		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14-20	15-19	20	21-32
访视次数	1																	
给药次数																		
入选排除标准	X																	
病史	X																	
体重	X																	
生命体征	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
伴随用药	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
二维超声心动图	X																	
NYHA 心功能分级	X																	
尿妊娠试验（育龄）	X																	
血、尿常规、血生化、CTnT	X																	
凝血功能检查（APTT、PT）	X																	
12 导联ECG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
6 分钟步行实验	X																	
NT-proBNP	X																	
抗hNRG-1p2	X																	
胸片	X																	
组织 B 超（乳腺、肝胆、脾、胰肾、肾上腺、盆腔）	X																	
24 小时尿量记录	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
给予研究药物		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
呼吸困难评估	X																	
生活质量评估	X																	
不良事件/严重不良事件	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
电话访视																		

[0063] 结果与数据分析：

[0064] 本研究对所有的ECG进行了分析，描述每次用药前后ECG的异常变化；分析每次用

药前后ECG各参数的变化,包括心率、QRS间期、PR间期、RR间期、QT、QTc间期;对QTc,分别进行集中趋势(均数、标准差、中位数)和分类分析。组内比较采用符合秩和检验,组间比较采用WILCOXON秩和检验。所有入选患者的基线期ECG诊断及参数比较请见表2。两组受试者每次用药前室性心律失常(室早、室速和室颤)发生率较基线值变化的比较见表3和图1。两组受试者每次用药后室性心律失常(室早、室速和室颤)的发生率较基线值变化的比较见表4和图2。两组受试者每次用药前和用药后室性心律失常(室早、室速和室颤)的发生率之和较基线值变化的比较见表5和图3。另外,对室性早搏做了进一步的分析。两组受试者每次用药前室性早搏发生率较基线值变化的比较见表6和图4。两组受试者每次用药后室性早搏的发生率较基线值变化的比较见表7和图5。两组受试者每次用药前和用药后室性早搏的发生率之和较基线值变化的比较见表8和图6。此外,所有入选患者每次用药后QTc变化的频数分布结果请见图7。

[0065] 表2两组受试者基线期ECG诊断及参数比较

		试验药组	安慰剂组	组间比较
诊断	正常	5 (3.01%)	3 (1.80%)	0.340
	异常无临床意义	16 (9.64%)	24 (14.37%)	
	异常有临床意义	145 (87.35%)	140 (83.83%)	
心律	窦性心律	128 (77.1)	129 (77.2)	0.976
	心律失常	38 (22.9)	38 (22.8)	
	室早	19 (11.4%)	10 (6.0%)	0.077
	室速	1 (0.6)	0 (0%)	0.498
	室颤	0 (0%)	0 (0%)	
[0066] 心率		77.2±17.0 (n=166)	79.1±16.1 (n=167)	0.2909
RR 间期 (ms)		829.16±182.21 (n=145)	782.60±168.90 (n=146)	0.0245
QT 间期 (ms)		405.05±53.14 (n=166)	392.08±45.16 (n=167)	0.0169
QTc (ms)		445.68±45.45 (n=165)	433.61±39.95 (n=164)	0.011

[0067] 表2数据显示,基线期两组受试者ECG异常的比率(87.35%vs 83.83%)和异位心律的发生率(22.9%vs 22.8%)相当,具有可比性($p>0.05$),但纽兰格林组受试者的RR(829.2±182.2vs782.6±168.9)和QTc间期(445.7±45.5vs 433.6±39.9)却明显长于安慰剂组(p 分别为0.0245和0.011)。

[0068] 表3两组受试者每次用药前室性心律失常(室早、室速和室颤)发生率较基线值变化的组间比较($p<0.0001$)。

		试验药组 (N=175)	安慰剂组 (N=176)	P值
[0069]	N	34	34	<.0001
	Mean (SD)	-0.168 (3.301)	3.417 (3.450)	
	Median	-0.333	3.175	
	Min, Max	-7.16, 6.48	-2.42, 9.76	

[0070] 表中显示数据是每次用药前室性心律失常发生率与基线期室性心律失常发生率的差值,N为ECG检查次数,Mean为均值,Median为中位数值,Min,Max为这些差值中最小和最大的值。

[0071] 表4两组受试者每次用药后室性心律失常(室早、室速和室颤)发生率较基线值变

化的组间比较

	试验药组 (N=175)	安慰剂组 (N=176)	P值
[0072] N	34	34	0.1570
Mean (SD)	1.414 (3.764)	2.700 (3.640)	
Median	1.863	2.377	
Min, Max	-5.79, 7.67	-4.56, 11.39	

[0073] 表中显示数据是每次用药后室性心律失常发生率与基线期室性心律失常发生率的差值,N为ECG检查次数,Mean为均值,Median为中位数值,Min,Max为这些差值中最小和最大的值。

[0074] 表5两组受试者每次用药前/后室性心律失常(室早、室速和室颤)的发生率之和较基线值变化的组间比较 ($p<0.001$)

	试验药组 (N=175)	安慰剂组 (N=176)	P值
[0075] N	34	34	0.0007
Mean (SD)	1.246 (5.656)	6.117 (5.614)	
Median	1.368	5.265	
Min, Max	-10.88, 13.14	-5.66, 20.27	

[0076] 表中显示数据是每次用药前/后室性心律失常发生率之和与基线期室性心律失常发生率的差值,N为ECG检查次数,Mean为均值,Median为中位数值,Min,Max为这些差值中最小和最大的值。

[0077] 表6两组受试者每次用药前室性早搏发生率较基线值变化的组间比较 ($p<0.0001$)

	试验药组 (N=175)	安慰剂组 (N=176)	P值
[0078] N	34	34	<0.0001
Mean (SD)	-1.158 (1.793)	2.303 (2.005)	
Median	-1.100	1.800	
Min, Max	-4.60, 2.60	-1.90, 6.80	

[0079] 表中显示数据是每次用药前室性早搏发生率与基线期室性早搏发生率的差值,N为ECG检查次数,Mean为均值,Median为中位数值,Min,Max为这些差值中最小和最大的值。

[0080] 表7两组受试者每次用药后室性早搏发生率较基线值变化的组间比较 ($p<0.001$)

	试验药组 (N=175)	安慰剂组 (N=176)	P值
[0081] N	34	34	<0.001
Mean (SD)	-0.145 (2.198)	1.952 (2.140)	
Median	-0.400	1.600	
Min, Max	-4.40, 4.50	-1.70, 8.10	

[0082] 表中显示数据是每次用药后室性早搏发生率与基线期室性早搏发生率的差值,N为ECG检查次数,Mean为均值,Median为中位数值,Min,Max为这些差值中最小和最大的值。

[0083] 表8两组受试者每次用药前/后室性早搏的发生率之和较基线值变化的组间比较 ($p<0.0001$)

	试验药组 (N=175)	安慰剂组 (N=176)	P 值
[0084] N	34	34	<0.0001
Mean (SD)	-1.303 (3.079)	4.255 (3.485)	
Median	-1.500	3.700	
Min, Max	-7.80, 5.30	-0.80, 14.90	

[0085] 表中显示数据是每次用药前/后室性早搏发生率之和与基线期室性早搏发生率的差值,N为ECG检查次数,Mean为均值,Median为中位数值,Min,Max为这些差值中最小和最大

的值。

[0086] 讨论：

[0087] 基线期纽兰格林和安慰剂两组受试者心律失常的发生率分别为22.9%和22.8%，其中室早发生率分别为11.4%和6.0%，室速发生率为0.6%和0，室颤发生率均为0，两组间比较均没有显著性差异。(见表2)

[0088] 表3,4和5数据显示，整个研究期间内的ECG检查(包括用药前后，共68次)，相较于安慰剂组，纽兰格林组受试者无论是用药前，还是用药前/后，其室性心律失常的发生率均有非常显著的减小趋势($p<0.0001$)。结果见图1,2和3。

[0089] 另外，对室性早搏做了进一步的分析，每次用药前/后相较于基线期室早发生率的变化，表6,7和8数据显示，纽兰格林组受试者的室早变化率均与安慰剂组相比有非常显著的减少趋势($p<0.0001$)。结果见图4,5和6。

[0090] 尽管试验药组受试者基线期ECG的RR间期、QT、QTc间期均较安慰剂组明显延长，但接受药物后，QTc与基线值相比，不但没有进行性延长，反而大多数给药后呈明显缩短趋势，如图7中所有受试者每次用药后QTc变化的频数分布结果显示，试验药组受试者的QTc较安慰剂组有总体缩短趋势

[0091] 综合分析ECG诊断和各参数数据显示：尽管试验药组基线期有87.35%的受试者ECG诊断异常且有临床意义，包括房颤、房室传导阻滞、室性早搏、ST-T改变等，但用药后，这些异常改变并未进行性加重或恶化。结果显示，试验药组受试者的QTc较安慰剂组有总体缩短趋势，且室性心律失常和/或室性早搏发生率的变化较安慰剂组明显降低。

[0092] 上述列举的实施例不会限制本发明的保护范围。在没有背离本发明的宗旨和范围的情况下，本技术领域内的技术人员可以对本发明进行调整和改变。因此，本发明的保护范围应当根据权利要求来定义，而不是通过具体的实施例来限定。

<160> NUMBER OF SEQ ID NOS: 2

<210> SEQ ID NO 1

<211> LENGTH: 183

<212> TYPE: DNA

<213> ORGANISM: (homo sapiens)

<400> 1

agccatcttg taaatgtgc ggagaaggag aaaactttct gtgtgaatgg aggggagtg 60

ttcatggtga aagaccttgc aaaccctcg agatacttgt gcaagtgcgc aaatgagttt 120

actggtgatc gctgccaaaa ctacgtaatg gcgagcttct acaaggcgga ggagctgtac 180

cag 183

[0001]

<210> SEQ ID NO 2

<211> LENGTH: 61

<212> TYPE: PROTEIN

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 2

Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn

1 5 10 15

Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr

20 25 30

Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp Arg Cys Gln Asn Tyr

35 40 45

Val Met Ala Ser Phe Tyr Lys Ala Glu Glu Leu Tyr Gln

50 55 60

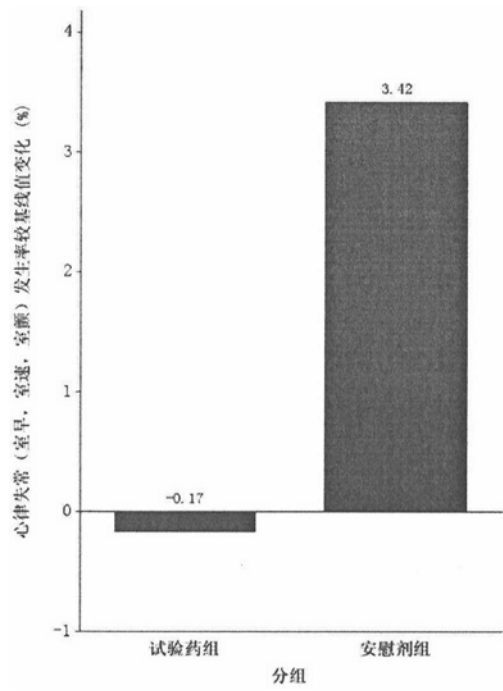


图1

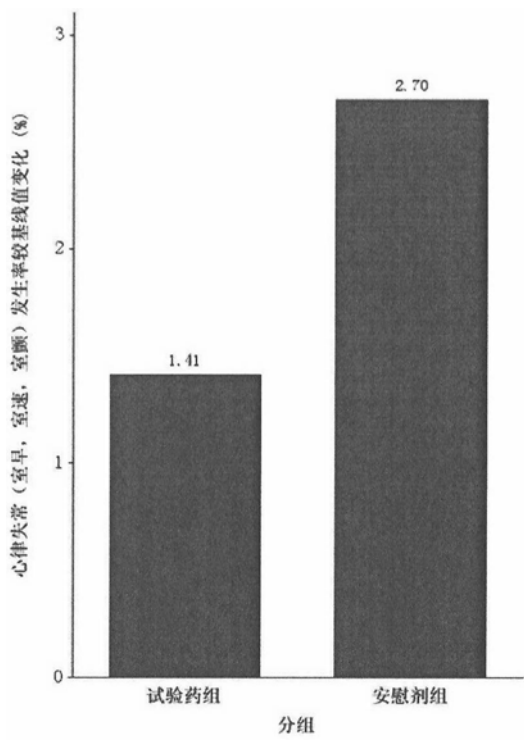


图2

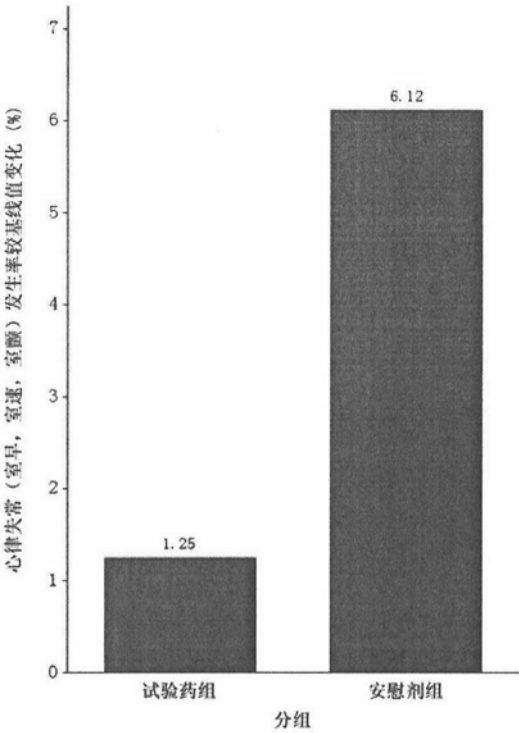


图3

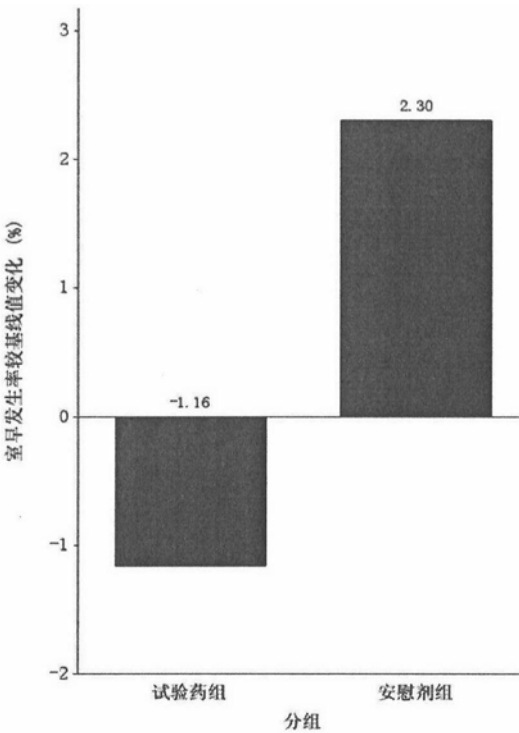


图4

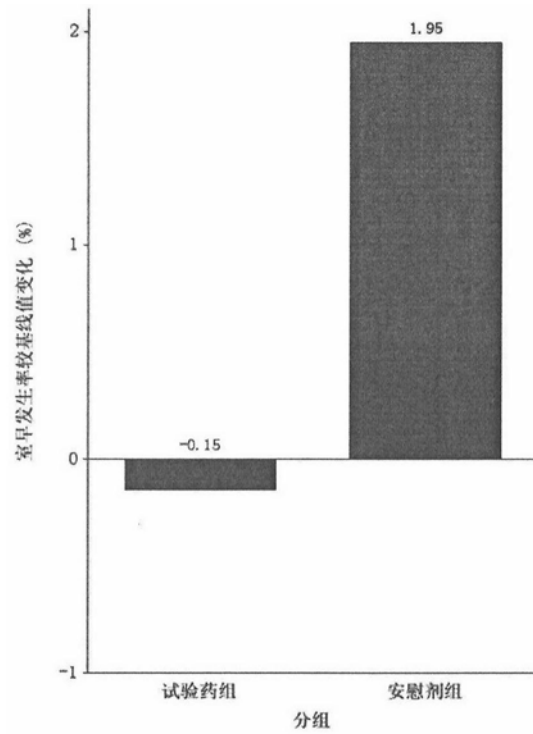


图5

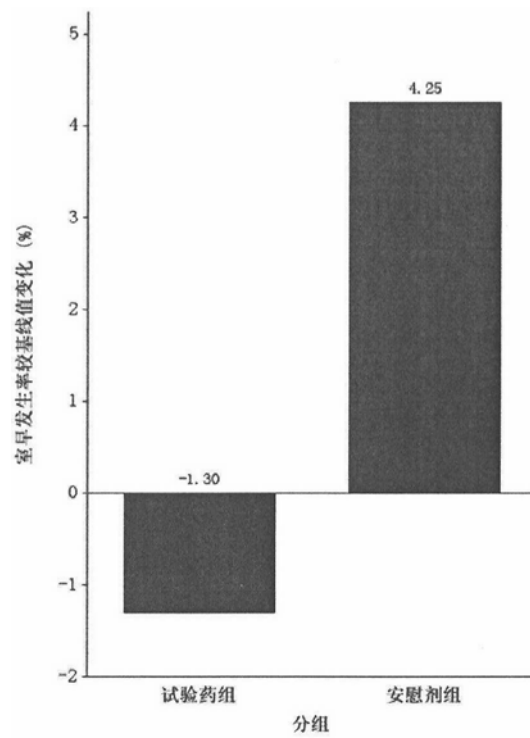


图6

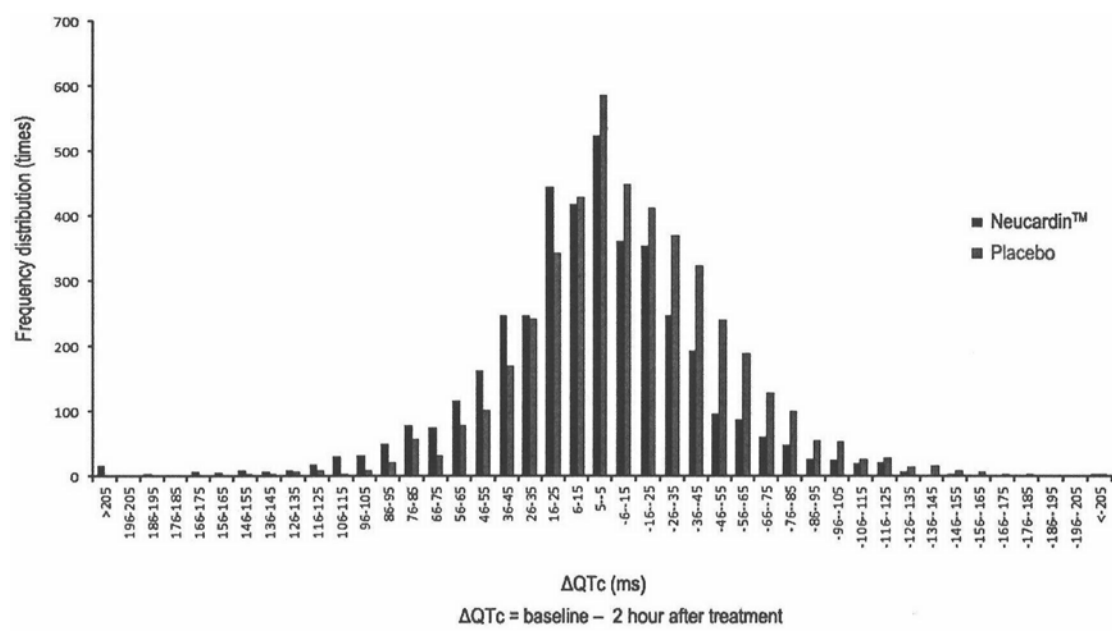


图7