



(21) 申请号 202211231741.1

(22) 申请日 2022.09.30

(71) 申请人 上海泽生科技开发股份有限公司  
地址 201203 上海市浦东新区中国(上海)  
自由贸易试验区居里路68号2幢3楼

(72) 发明人 周明东

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266  
专利代理师 崔佳佳 徐迅

(51) Int. Cl.

A61K 38/18 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

权利要求书1页 说明书12页  
序列表(电子公布) 附图5页

(54) 发明名称

神经调节蛋白及其应用

(57) 摘要

本发明提供了利用神经调节蛋白或其功能片段,或编码神经调节蛋白或其功能片段的核酸,或提高神经调节蛋白在人体内的产量和/或功能的物质来预防、治疗心衰患者或延迟心衰患者发病,所述神经调节蛋白能改善心衰患者的LVESVI和/或LVEDVI。本发明还提供了预防、治疗心衰患者或延迟心衰患者发病的方法和设备。

1. 神经调节蛋白或其功能片段,或编码神经调节蛋白或其功能片段的核酸,或提高神经调节蛋白在人体内的产量和/或功能的物质在制备预防、治疗心衰患者或延迟心衰患者发病的药物中的用途,所述药物能改善心衰患者的心功能。

2. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述心衰患者LVESVI降低等于或大于 $10\text{ml}/\text{m}^2$ ;优选等于或大于 $20\text{ml}/\text{m}^2$ 。

3. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述心衰患者LVEDVI降低等于或大于 $10\text{ml}/\text{m}^2$ ;优选等于或大于 $30\text{ml}/\text{m}^2$ 。

4. 如权利要求1所述的用途,其特征在于,所述改善心衰患者的心功能是同时改善单个心衰患者的LVESVI和LVEDVI。

5. 如权利要求4所述的用途,其特征在于,所述心衰患者LVESVI和LVEDVI同时降低等于或大于20或 $25\text{ml}/\text{m}^2$ 。

6. 一种预防、治疗心衰患者或延迟心衰患者发病的方法,包括对需要的患者施用有效量的神经调节蛋白或其功能片段,或编码神经调节蛋白或其功能片段的核酸,或提高神经调节蛋白产量和/或功能的物质,所述方法能改善心衰患者的心功能。

7. 如权利要求6所述的方法,其特征在于,所述心衰患者LVESVI降低等于或大于 $10\text{ml}/\text{m}^2$ ;优选等于或大于 $20\text{ml}/\text{m}^2$ 。

8. 如权利要求6所述的方法,其特征在于,所述心衰患者LVEDVI降低等于或大于 $10\text{ml}/\text{m}^2$ ;优选等于或大于 $30\text{ml}/\text{m}^2$ 。

9. 如权利要求6所述的方法,其特征在于,所述改善心衰患者的心功能是同时改善单个心衰患者的LVESVI和LVEDVI。

10. 如权利要求9所述的方法,其特征在于,所述心衰患者LVESVI和LVEDVI同时降低等于或大于20或 $25\text{ml}/\text{m}^2$ 。

## 神经调节蛋白及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及医学领域。具体地说,本发明涉及神经调节蛋白在制备用于预防、治疗或延缓人类心力衰竭的药物中的应用,以及利用神经调节蛋白预防、治疗或延缓人类心力衰竭的药物的方法。

### 背景技术

[0002] 心力衰竭(heart failure, HF)是各种心脏疾病导致心功能不全的一种综合征。目前治疗心衰的药物主要集中于血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂,这些血管舒张剂引起血管扩张、降低血压并减少心脏负荷。虽然使用ACE抑制剂后死亡率的百分数下降是具有统计学差异的,但实际的死亡率仅平均下降3%-4%,并且还有一些潜在的副作用。其他预防或治疗心衰的选择亦有相应的局限。比如,心脏移植显然比药物治疗更昂贵且更具侵入性,并且还进一步受有无供体心脏的限制。使用机械装置,比如双心室心脏起搏器,同样具有侵入性并且比较昂贵。因此,由于当前治疗手段的不足,人们需要有新的治疗方法。

[0003] 一种很有前途的新的治疗手段涉及给心衰患者或有心衰风险的患者施用神经调节蛋白(neuregulin, NRG, 纽兰格林; heregulin, HRG), 又称为神经胶质生长因子(glial growth factor, GGF), neu分化因子(new differentiation factor, NDF)。这是分子量在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)。NRGs涉及一系列生物学反应:刺激乳腺癌细胞分化和分泌乳汁蛋白;诱导神经嵴细胞分化成Schwann细胞;刺激骨骼肌细胞合成乙酰胆碱受体;并且促进心肌细胞成活和DNA合成。用纽兰格林基因严重缺陷的纯合子小鼠胚胎做活体研究证明纽兰格林对于心脏和神经发育是必须的。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。

[0004] 虽然目前对神经调节蛋白的功能已有各种研究,但是如何使用神经调节蛋白,以及如何在一些亚人群上取得更好的治疗效果,还需要更多的研究。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的是提供利用神经调节蛋白改善心力衰竭患者心功能的方法,该方法在患有慢性心力衰竭的特殊人群中使用包含纽兰格林蛋白的药物。

[0006] 在第一方面,本发明提供神经调节蛋白或其功能片段,或编码神经调节蛋白或其功能片段的核酸,或提高神经调节蛋白在人体内的产量和/或功能的物质在制备预防、治疗心衰患者或延迟心衰患者发病的药物中的用途,所述药物能改善心衰患者的心功能。

[0007] 在优选的实施方式中,所述神经调节蛋白是氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示的蛋白。

- [0008] 在优选的实施方式中,所述心衰患者是慢性心衰患者。
- [0009] 在优选的实施方式中,所述心衰患者通过纽约心脏协会 (NYHA) 心功能分级为NYHA II或III,或者血浆中NT-proBNP水平不超过4000pg/ml。
- [0010] 在优选的实施方式中,所述心衰患者中,男性患者的血浆中NT-proBNP水平不超过1700pg/ml;女性患者的血浆中NT-proBNP水平不超过4000pg/ml。
- [0011] 在优选的实施方式中,所述改善心衰患者的心功能是指改善LVESVI和/或LVEDVI。
- [0012] 在具体的实施方式中,所述心衰患者LVESVI降低等于或大于 $10\text{ml}/\text{m}^2$ ;优选等于或大于 $20\text{ml}/\text{m}^2$ 。
- [0013] 在具体的实施方式中,所述心衰患者LVEDVI降低等于或大于 $10\text{ml}/\text{m}^2$ ;优选等于或大于 $30\text{ml}/\text{m}^2$ 。
- [0014] 在具体的实施方式中,所述改善心衰患者的心功能是同时改善单个心衰患者的LVESVI和LVEDVI。
- [0015] 在具体的实施方式中,所述心衰患者LVESVI和LVEDVI同时降低等于或大于20或 $25\text{ml}/\text{m}^2$ 。
- [0016] 在优选的实施方式中,所述心衰患者在给药前的基线期 $\text{LVESVI} \geq 135\text{mL}/\text{m}^2$ 。
- [0017] 在优选的实施方式中,所述LVESVI和/或LVEDVI的改善是在神经调节蛋白给药10天的情况下取得的。
- [0018] 在第二方面,本发明提供一种预防、治疗心衰患者或延迟心衰患者发病的方法,包括对需要的患者施用有效量的神经调节蛋白或其功能片段,或编码神经调节蛋白或其功能片段的核酸,或提高神经调节蛋白产量和/或功能的物质,所述方法能改善心衰患者的心功能。
- [0019] 在优选的实施方式中,所述神经调节蛋白是氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示的蛋白。
- [0020] 在优选的实施方式中,所述心衰患者是慢性心衰患者。
- [0021] 在优选的实施方式中,所述心衰患者通过纽约心脏协会 (NYHA) 心功能分级为NYHA II或III,或者血浆中NT-proBNP水平不超过4000pg/ml。
- [0022] 在优选的实施方式中,所述心衰患者中,男性患者的血浆中NT-proBNP水平不超过1700pg/ml;女性患者的血浆中NT-proBNP水平不超过4000pg/ml。
- [0023] 在优选的实施方式中,所述改善心衰患者的心功能是指改善LVESVI和/或LVEDVI。
- [0024] 在具体的实施方式中,所述心衰患者LVESVI降低等于或大于 $10\text{ml}/\text{m}^2$ ;优选等于或大于 $20\text{ml}/\text{m}^2$ 。
- [0025] 在具体的实施方式中,所述心衰患者LVEDVI降低等于或大于 $10\text{ml}/\text{m}^2$ ;优选等于或大于 $30\text{ml}/\text{m}^2$ 。
- [0026] 在具体的实施方式中,所述改善心衰患者的心功能是同时改善单个心衰患者的LVESVI和LVEDVI。
- [0027] 在具体的实施方式中,所述心衰患者LVESVI和LVEDVI同时降低等于或大于20或 $25\text{ml}/\text{m}^2$ 。
- [0028] 在优选的实施方式中,所述心衰患者在给药前的基线期 $\text{LVESVI} \geq 135\text{mL}/\text{m}^2$ 。
- [0029] 在优选的实施方式中,所述LVESVI和/或LVEDVI的改善是在神经调节蛋白给药10

天的情况下取得的。

[0030] 在优选的实施方式中,所述方法包括将神经调节蛋白通过导入疗程施用于患者。

[0031] 在优选的实施方式中,所述导入疗程给药方案包括连续施用该药物组分至少3、5、7或10天。

[0032] 在优选的实施方式中,所述方法包括对病人进行至少3、6或12个月的维持疗程。

[0033] 在优选的实施方式中,所述维持疗程包括每3、5、7或10天施用该药物。

[0034] 在优选的实施方式中,所述方法还包括在对需要预防、治疗或延迟心力衰竭的患者给药前评估所述患者是否适合接受神经调节蛋白治疗的步骤。

[0035] 在优选的实施方式中,评估所述患者是否适合接受神经调节蛋白治疗的步骤包括对心衰患者作NYHA心脏功能评级。

[0036] 在优选的实施方式中,NYHA心脏功能评级为NYHA II级或NYHA III级的患者适合接受神经调节蛋白治疗。

[0037] 在优选的实施方式中,评估所述患者是否适合接受神经调节蛋白治疗的步骤还包括检测心衰患者的血浆NT-proBNP。

[0038] 在优选的实施方式中,所述血浆NT-proBNP水平不超过4000fmol/ml。

[0039] 在优选的实施方式中,所述男性心衰患者的血浆NT-proBNP水平不超过1700pg/ml;所述女性心衰患者的血浆NT-proBNP水平不超过4000pg/ml。

[0040] 在第三方面,本发明提供一种用于预防、治疗心衰患者或延迟心衰患者发病的设备,所述设备是改善心衰患者的LVESVI和/或LVEDVI的设备,所述设备包括:

[0041] 治疗模块,所述模块根据所述患者的NYHA心脏功能评级是否为NYHA II级或NYHA III级,或者所述患者的血浆NT-proBNP是否不超过4000fmol/ml,或者所述患者在给药前的基线期LVESVI是否 $\geq 135\text{mL}/\text{m}^2$ 对适合接受神经调节蛋白治疗的患者施以神经调节蛋白治疗。

[0042] 在优选的实施方式中,所述设备还包括:

[0043] 检测模块,所述模块对患者作NYHA心脏功能评级,或者检测心衰患者的血浆NT-proBNP水平,或者检测所述患者在给药前的基线期LVESVI $\geq 135\text{mL}/\text{m}^2$ ;和

[0044] 分析判断模块,所述模块分析和判断所述患者的NYHA心脏功能评级是否为NYHA II级或NYHA III级,或者所述患者的血浆NT-proBNP是否不超过4000fmol/ml,或者所述患者在给药前的基线期LVESVI是否 $\geq 135\text{mL}/\text{m}^2$ 。

[0045] 在优选的实施方式中,所述男性心衰患者的血浆NT-proBNP水平不超过1700pg/ml;所述女性心衰患者的血浆NT-proBNP水平不超过4000pg/ml。

[0046] 在优选的实施方式中,所述神经调节蛋白是氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示的蛋白。

[0047] 在优选的实施方式中,所述心衰患者是慢性心衰患者。

[0048] 在优选的实施方式中,所述改善心衰患者的LVESVI和/或LVEDVI是指降低LVESVI和/或LVEDVI。

[0049] 在优选的实施方式中,所述心衰患者LVESVI降低等于或大于 $10\text{mL}/\text{m}^2$ ;优选等于或大于 $20\text{mL}/\text{m}^2$ 。

[0050] 在优选的实施方式中,所述心衰患者LVEDVI降低等于或大于 $10\text{mL}/\text{m}^2$ ;优选等于或

大于30ml/m<sup>2</sup>。

[0051] 在优选的实施方式中,所述心衰患者在给药前的基线期LVESVI $\geq$ 135mL/m<sup>2</sup>。

[0052] 在优选的实施方式中,所述心衰患者是同时改善LVESVI和LVEDVI的心衰患者。

[0053] 在优选的实施方式中,所述心衰患者LVESVI和LVEDVI同时降低等于或大于20或25ml/m<sup>2</sup>。

[0054] 在优选的实施方式中,所述LVESVI和/或LVEDVI的改善是在神经调节蛋白给药10天的情况下取得的。

[0055] 在优选的实施方式中,所述治疗模块包括将神经调节蛋白通过导入疗程施用于患者的器件。

[0056] 在优选的实施方式中,所述治疗模块包括连续施用神经调节蛋白至少3、5、7或10天的器件。

[0057] 在优选的实施方式中,所述治疗模块包括对病人进行至少3、6或12个月的维持疗程的器件。

[0058] 在优选的实施方式中,所述维持疗程包括每3、5、7或10天施用该药物。

[0059] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

#### 附图说明

[0060] 图1显示了30天时LVESV缩小的患者在纽兰格林中占比;

[0061] 图2显示了30天时,相比于基线的LVESVI改善效果在纽兰格林和安慰剂组间的差异;

[0062] 图3显示了30天时,相比于基线的LVESVI恶化情况在纽兰格林和安慰剂组间的差异;

[0063] 图4显示了30天、90天时,心功能指标LVESVI相比于基线的改善效果;

[0064] 图5显示了30天时,相比于基线的LVESDI的改善效果在纽兰格林和安慰剂组间的差异;

[0065] 图6显示了30天时,相比于基线LVESDI的恶化情况在纽兰格林和安慰剂组间的差异;

[0066] 图7显示了30天时,受试者个体的LVESV与LVEDV同时大幅改善的结果。

[0067] 图8显示纽兰格林对富集亚组人群(基线期LVESVI $\geq$ 135mL/m<sup>2</sup>)的LVESVI大幅改善(LVESVI降低13mL/m<sup>2</sup>以上)显著高于安慰剂组;

[0068] 图9显示纽兰格林对富集人群的LVESVI及LVEDVI同时大幅改善(两项指标同时降低20mL/m<sup>2</sup>以上)显著高于安慰剂组。

#### 具体实施方式

[0069] 本发明人发现,通过纽约心脏协会(NYHA)心功能分级或检测患者血浆中NT-proBNP水平筛选出来的心衰病人经神经调节蛋白治疗后能够取得显著的疗效。

[0070] 本发明人还发现所述神经调节蛋白能改善心力衰竭患者心脏功能或防治心功能

恶化,所述心功能改善包括LVESVI和/或LVEDVI降低。在具体的实施方式中,部分受试者个体中LVESVI和LVEDVI同时大幅降低。在其它实施方式中,受试者个体LVESVI基线期水平越高,心功能改善越大。

[0071] 除非特别说明,本发明中使用的所有技术术语和科学术语都为本发明所属技术领域的普通技术人员通常所理解的。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。

[0072] 除非在上下文中明确表明,否则本说明书及其所附权利要求书中,所用的单数形式“一个”、“一种”和“该”包括相应的复数参考,并与“至少一个”或“一个或多个”可互换使用。

[0073] 本发明以神经调节蛋白1 $\beta$  (NRG1 $\beta$ ) 为基础。神经调节蛋白1 $\beta$ 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。

[0074] 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)。

[0075] 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。

[0076] 已有研究表明NRG-1的EGF样类似区,约50至64个氨基酸,足以结合并活化这些受体。以前的研究表明纽兰格林-1 $\beta$  (NRG-1 $\beta$ ) 能以高亲和力直接结合ErbB3和ErbB4。孤儿受体ErbB2能与ErbB3或ErbB4形成异源二聚体并且其亲和力比ErbB3或ErbB4同源二聚体要高。神经发育的研究结果提示交感神经系统的形成需要完整的NRG-1 $\beta$ 、ErbB2和ErbB3信号传导系统。靶向破坏NRG-1 $\beta$ 、或ErbB2或ErbB4后由于心脏发育缺陷而导致胚胎致死。最近的研究也突显了NRG-1 $\beta$ 、ErbB2和ErbB4在心血管发育以及维持成年正常心脏功能方面具有重要作用。研究表明NRG-1 $\beta$ 能增强成年心肌细胞的肌小节的组织结构。

[0077] 本文所用的“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 $\beta$ 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:SHLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRCQNYVMASFYKAEELYQ (SEQ ID NO:1)。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 Benjamin/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。

[0078] 本文所用的“表皮生长因子样功能域”或“EGF样类似区”或“EGF样功能域”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。

[0079] 本文所用的“治疗”是指可以使不适、紊乱或疾病的症状改善或向好的方向改变的任何方式。其效果可以是预防性的,完全或部分防止某一疾病或其症状发生,也可以是治疗性的,部分或完全治愈某一疾病和/或该疾病引起的不利影响。治疗还包括此处所述组合物的任何药物用途。

[0080] 本文所用的“心衰”或“心力衰竭”是指一种心脏功能的异常,在这种情况下,心脏不能按照组织代谢的需要进行供血。心力衰竭包括多种疾病状态比如充血性心力衰竭,心肌梗死,心律失常,家族性肥厚性心肌病,缺血性心脏病,特发性心肌病和心肌炎等之类的。心力衰竭可由多种因素导致,包括但不限于缺血性,先天性,风湿性,病毒性、毒性或特发性心力衰竭。慢性心脏肥大是一种显著的充血性心力衰竭前期的疾病状态,其可以引起心脏停搏。

[0081] 除上下文另有说明,此处所用“蛋白”与“多肽”、“肽段”含义一致。

[0082] 除上下文另有说明,此处所用“不超过”是指“小于等于”。

[0083] 本文所用的“LVESVI”是指左心室收缩末期容积指数。本文所用的“LVESDI”是指左心室舒张末期容积指数。

[0084] 心脏收缩功能与前负荷、后负荷、收缩性和心肌重量等因素有关。LVESV是判断收

缩功能和预后指标,在同个体上LVEDV和LVESV同时发生一定幅度降低是一个清晰和明确的证据,指示患者心肌收缩力增强,心功能提高,发生逆转心室重构,能有效降低心衰患者死亡率。

[0085] 本文所用的“N端脑利钠肽”或“NT-proBNP”是指无活性的N端脑利钠肽(BNP)前体片段,pro-BNP是BNP的前体,BNP是一种与激素有关的活性钠尿肽,主要由左心室壁的心肌细胞释放。在心肌壁的伸缩作用下,前激素proBNP经过蛋白酶切,分裂成BNP和无活性的NT-proBNP。

[0086] BNP和NT-proBNP在血浆中的水平都可以用作筛选、诊断心衰,并且对建立心衰的预后非常有用,这是由于这两种标记物在病情恶化的患者身上典型升高。并且,本发明发现BNP或NT-proBNP水平可以指示适合用纽兰格林治疗心衰的患者。

[0087] 本文所用的“纽约心脏协会”或“NYHA”心脏功能分级是一种简单的划分心力衰竭程度的方法。它根据患者身体活动能力的限制程度将患者分为4类。限制或症状是指正常呼吸和不同程度的呼吸困难和/或心绞痛:I,无症状并且普通的活动量不受限制,例如当走路,爬楼梯等时呼吸困难;II,轻度症状(轻度呼吸困难和/或心绞痛)并且普通的活动受到轻度的限制;III,体力活动显著受限制,甚至在少于正常活动量的情况下,例如,短距离行走(20-100m),休息时尚感舒适;IV,严重限制活动量,即使在休息时也有症状,大多数病人卧床不起。

[0088] 本发明的优点:

[0089] 本发明的神经调节蛋白能改善心衰患者的心功能,特别是同时改善单个心衰患者的LVESVI和LVEDVI;

[0090] 本发明的神经调节蛋白能改善心衰患者的心功能的效果可长期维持,例如维持到给药后90天;

[0091] 本发明的神经调节蛋白能逆转心室重构。

[0092] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,例如教科书中所述的条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数按重量计算。

[0093] 实施例1:多中心、随机、双盲、标准治疗基础上的安慰剂平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受试者心功能影响的III期临床试验。

[0094] 本实施例试验采用多中心、随机、双盲、在标准治疗基础上的安慰剂平行对照研究,评价注射用重组人纽兰格林对男性NT-proBNP $\leq$ 1700pg/ml以及女性NTproBNP $\leq$ 4000pg/ml,纽约心功能分级II-III级慢性收缩性心力衰竭患者的心功能的影响,确证其疗效和安全性。

[0095] 1. 试验设计:

[0096] 采用多中心、随机、双盲、在标准治疗基础上的安慰剂平行对照研究

[0097] 试验组:注射用重组人纽兰格林+标准基础治疗药物( $\beta$ 受体阻滞剂、ACEI/ARB/ARNI、醛固酮受体拮抗剂等)。

[0098] 安慰剂组:安慰剂+标准基础治疗药物( $\beta$ 受体阻滞剂、ACEI/ARB/ARNI、醛固酮受体拮抗剂等)。

[0099] 2. 主要入选标准

[0100] 2.1 年龄在18-75岁, 性别不限;

[0101] 2.2 明确诊断心力衰竭3个月及以上, 目前病情稳定, NYHA II-III级, 左心室射血分数 (LVEF)  $\leq 40\%$ ;

[0102] 2.3 男性NT-proBNP  $\leq 1700$ pg/ml, 女性NT-proBNP  $\leq 4000$ pg/ml;

[0103] 2.4 接受心衰标准基础治疗药物满3个月, 已达目标剂量或最大耐受剂量1个月以上, 或1个月内未改变剂量;

[0104] 2.5 理解并签署知情同意书。

[0105] 3. 试验药物:

[0106] 3.1 受试药物

[0107] 名称: 注射用重组人纽兰格林

[0108] 规格: Neucardin, 61个氨基酸构成Neuregulin-1 $\beta$ 2异构体的EGF类似功能域, 分子量为7054Da (1 $\mu$ g = 0.14nmol); 250 $\mu$ g/支。

[0109] 剂型: 粉针剂

[0110] 给药途径: 静脉滴注

[0111] 外观: 冻干块状物或粉末状

[0112] 3.2 安慰剂

[0113] 名称: 注射用重组人纽兰格林冻干剂的赋形剂

[0114] 规格: Neucardin的赋形剂 (250 $\mu$ g/支, 不含重组人纽兰格林蛋白活性成分)

[0115] 剂型: 粉针剂

[0116] 给药途径: 静脉滴注

[0117] 外观: 冻干块状物或粉末状

[0118] 颜色: 白色或类白色

[0119] 4. 给药途径, 用量及疗程见表1:

[0120] 表1. 给药途径, 用量及疗程

	剂量	0 $\mu$ g/kg/day (安慰剂)	0.6 $\mu$ g/kg/day
[0121]	给药途径	静脉滴注	
	给药体积	50ml	
	疗程	每天 10 小时, 连续 10 天	

[0122] 5. 数据采集: 在筛选期、给药30天、90天进行有效性安全性评估。

[0123] 6. 结果:

[0124] 本实施例在全国多家临床研究中心同期进行, 实际入组154例, 纽兰格林试验组78例, 安慰剂组76例, 试验最终共147例 (试验组73例, 安慰剂组74例) 获得主要终点指标。

[0125] 6.1 LVESVI

[0126] 根据获得的30天数据显示, LVESV缩小的患者在纽兰格林实验组中占63% (见图1), 30天较基线LVESVI减少人数比例亦高于安慰剂组。

[0127] 将给药后30天LVESVI较基线改善值分层 (大于等于5、10、15、20、25、30、35、40ml/m<sup>2</sup>), 分别计算纽兰格林组与安慰剂组在各层级水平的改善率。LVESVI较基线减少大于等于5、10、15、20、25、30、35、40ml/m<sup>2</sup>, 纽兰格林组对应改善率分别为45.2%、34.2%、23.3%、

17.8%、15.1%、8.2%、5.5%、2.7%；安慰剂组对应改善率分别为：52.7%、31.1%、16.2%、5.4%、2.7%、2.7%、2.7%、2.7%。相对安慰剂组，随着改善幅度的递增，纽兰格林组中改善人数占比与安慰剂组之间出现显著差异，提示纽兰格林对LVESVI改善效果优于安慰剂，当LVESVI改善大于等于20和25ml/m<sup>2</sup>时，两组间改善率差异有统计学意义(P<0.05，见图2)。

[0128] 此外，通过分析受试者入组前1个月内稳定期的两次CMR检测结果，在现有标准治疗条件下，未经试验药物干预，1个月内出现LVESVI减小超过25ml/m<sup>2</sup>以上的患者的自然发生比例为2.58%，与用药后1个月内安慰剂组中改善超过25ml/m<sup>2</sup>的比例接近(2.7%)，说明一个月内LVESVI改善超过25ml/m<sup>2</sup>的改善率数据稳定，而纽兰格林组在一个月内达到这一改善程度的改善率15.1%，显著高于自然发生的水平。综上，显示用药后能显著提高受试者心功能大幅改善率。

[0129] 而通过30天心功能恶化在纽兰格林试验组和安慰剂组见差异分析显示(见表2和图3)，纽兰格林试验组LVESVI增加人数比例低于安慰剂组，与上LVESVI减少改善心功能呈现一致趋势，表明纽兰格林能防止受试者心功能恶化。

[0130] 表2. 30天较基线LVESVI增加大于等于5、10、15、20、25、30ml/m<sup>2</sup> (FAS)

变量	n/N(%)	
	试验组	安慰剂组
30天较基线LVESVI增加大于等于5 ml/m <sup>2</sup>	15/73(20.5)	17/74(23.0)
30天较基线LVESVI增加大于等于10 ml/m <sup>2</sup>	10/73(13.7)	12/74(16.2)
30天较基线LVESVI增加大于等于15 ml/m <sup>2</sup>	5/73(6.8)	8/74(10.8)
30天较基线LVESVI增加大于等于20 ml/m <sup>2</sup>	3/73(4.1)	4/74(5.4)
30天较基线LVESVI增加大于等于25 ml/m <sup>2</sup>	1/73(1.4)	4/74(5.4)
30天较基线LVESVI增加大于等于30 ml/m <sup>2</sup>	1/73(1.4)	2/74(2.7)

[0132] 注：N=组内获得LVEDVI指标的受试者数量；n=特定类别数量

[0133] 纽兰格林组在用药后30天时测量心功能，相较给药前LVESVI改善5.62ml/m<sup>2</sup>，改善具有统计显著意义(P=0.0137)，并且改善效果可以一直维持到90天测量时(P=0.0128)；而安慰剂组在用药后30天和90天时心功能与给药前比较均未体现出统计显著的差异(P大于0.05)(见表3和图4)。

[0134] 表3. 30天、90天 Δ LVESVI

Δ LVESVI	NRG试验组	安慰剂组
30D	-5.62±18.99	-3.31±14.43
90D	-5.23±17.12	-1.51±17.28

[0136] 6.2LVEDVI

[0137] 根据获得的30天LVEDVI数据显示，30天较基线LVEDVI减少人数比例高于安慰剂组。给药后30天LVEDVI较基线减少大于等于5、10、15、20、25、30、35、40ml/m<sup>2</sup>，纽兰格林组对应改善率分别为43.8%、30.1%、21.9%、17.8%、16.4%、13.7%、6.8%和5.5%；安慰剂组对应改善率分别为：44.6%、29.7%、14.9%、12.2%、6.8%、4.1%、4.1%和2.7%。

[0138] 尤其是LVEDVI减少等于或大于 $30\text{ml}/\text{m}^2$ 时,纽兰格林试验组为10人,改善率13.7%,安慰剂组为3人,改善率4.1%, $p$ 值0.046(见表4和图5),纽兰格林试验组人数比例显著高于安慰剂组,差异有统计学意义。显示用药后能显著提高受试者心功能大幅改善率。

[0139] 表4. 30天较基线LVEDVI减少大于等于5、10、15、20、25、30、35、40 $\text{ml}/\text{m}^2$  (FAS)

变量	n/N(%)	
	试验组	安慰剂组
30天较基线LVEDVI减少大于等于 $5\text{ ml}/\text{m}^2$	32/73(43.8)	33/74(44.6)
30天较基线LVEDVI减少大于等于 $10\text{ ml}/\text{m}^2$	22/73(30.1)	22/74(29.7)
30天较基线LVEDVI减少大于等于 $15\text{ ml}/\text{m}^2$	16/73(21.9)	11/74(14.9)
30天较基线LVEDVI减少大于等于 $20\text{ ml}/\text{m}^2$	13/73(17.8)	9/74(12.2)
30天较基线LVEDVI减少大于等于 $25\text{ ml}/\text{m}^2$	12/73(16.4)	5/74(6.8)
30天较基线LVEDVI减少大于等于 $30\text{ ml}/\text{m}^2$	10/73(13.7)	3/74(4.1)
30天较基线LVEDVI减少大于等于 $35\text{ ml}/\text{m}^2$	5/73(6.8)	3/74(4.1)
30天较基线LVEDVI减少大于等于 $40\text{ ml}/\text{m}^2$	4/73(5.5)	2/74(2.7)

[0141] 注:N=组内获得LVEDVI指标受试者数量;n=特定类别数量

[0142] 而通过30天心功能恶化在纽兰格林试验组和安慰剂组差异分析显示(见表5和图6),纽兰格林试验组LVEDVI增加人数比例低于安慰剂组,与上述LVEDVI减少改善心功能的分析一致,表明纽兰格林能防止受试者心功能恶化。

[0143] 表5. 30天较基线LVEDVI的增加大于等于5、10、15、20、25、30 $\text{ml}/\text{m}^2$  (FAS)

变量	n/N(%)	
	试验组	安慰剂组
30天较基线LVEDVI增加大于等于 $5\text{ ml}/\text{m}^2$	19/73(26.0)	18/74(24.3)
30天较基线LVEDVI增加大于等于 $10\text{ ml}/\text{m}^2$	14/73(19.2)	13/74(17.6)
30天较基线LVEDVI增加大于等于 $15\text{ ml}/\text{m}^2$	9/73(12.3)	8/74(10.8)
30天较基线LVEDVI增加大于等于 $20\text{ ml}/\text{m}^2$	3/73(4.1)	7/74(9.5)
30天较基线LVEDVI增加大于等于 $25\text{ ml}/\text{m}^2$	3/73(4.1)	6/74(8.1)
30天较基线LVEDVI增加大于等于 $30\text{ ml}/\text{m}^2$	1/73(1.4)	4/74(5.4)

[0145] 注:N=组内获得LVEDVI指标的受试者数量;n=特定类别数量

[0146] 6.3LVESVI和LVEDVI

[0147] 根据获得的受试者个体LVESVI和LVEDVI数据显示,给药后30天LVESVI和LVEDVI较基线同时减少大于等于5、10、15、20、25、30、35、40 $\text{ml}/\text{m}^2$ ,纽兰格林组对应改善率分别为37.0%、23.3%、19.2%、16.4%、12.3%、6.8%、4.1%和1.4%;安慰剂组对应改善率分别为:39.2%、20.3%、12.2%、2.7%、2.7%、2.7%、2.7%和1.4%。受试者个体LVESV与LVEDV同时得到改善,尤其是LVESVI和LVEDV减同时减少 $20\text{ml}/\text{m}^2$ 时,纽兰格林试验组为12人,改善率16.4%,安慰剂组为2人,改善率2.7%, $p$ 值0.0048,(见表6和图7),差异有统计学意义,表明纽兰格林能改善心功能,大幅逆转心室重构。

[0148] 表6. 30天较基线LVESVI和LVEDVI同时减少大于等于5、10、15、20、25、30、35、

40ml/m<sup>2</sup> (FAS)

变量(LVESVI和LVEDVI)	n/N(%)	
	试验组	安慰剂组
[0149] 同时减少大于等于5 ml/m <sup>2</sup>	27/73(37.0)	29/74(39.2)
同时减少大于等于10 ml/m <sup>2</sup>	17/73(23.3)	15/74(20.3)
同时减少大于等于15 ml/m <sup>2</sup>	14/73(19.2)	9/74(12.2)
同时减少大于等于20 ml/m <sup>2</sup>	12/73(16.4)	2/74(2.7)
同时减少大于等于25 ml/m <sup>2</sup>	9/73(12.3)	2/74(2.7)
同时减少大于等于30 ml/m <sup>2</sup>	5/73(6.8)	2/74(2.7)
同时减少大于等于35 ml/m <sup>2</sup>	3/73(4.1)	2/74(2.7)
同时减少大于等于40 ml/m <sup>2</sup>	1/73(1.4)	1/74(1.4)

[0150] 注:N=组内获得LVEDVI指标的受试者数量;n=特定类别数量

[0151] 而通过30天心功能恶化在纽兰格林试验组和安慰剂组差异分析显示(见表7),纽兰格林试验组LVESVI和LVEDVI同时增加人数比例低于安慰剂组,与上述LVESVI和LVEDVI同时减少改善心功能的分析一致,表明纽兰格林能防止受试者心功能恶化。

[0152] 表7. 30天较基线LVESVI和LVEDVI同时增加大于等于5、10、15、20、25、30ml/m<sup>2</sup> (FAS)

变量(LVESVI和LVEDVI)	n/N(%)	
	试验组	安慰剂组
[0153] 同时增加大于等于5 ml/m <sup>2</sup>	13/73(17.8)	11/74(14.9)
同时增加大于等于10 ml/m <sup>2</sup>	9/73(12.3)	10/74(13.5)
同时增加大于等于15 ml/m <sup>2</sup>	3/73(4.1)	7/74(9.5)
同时增加大于等于20 ml/m <sup>2</sup>	2/73(2.7)	4/74(5.4)
同时增加大于等于25 ml/m <sup>2</sup>	1/73(1.4)	4/74(5.4)
同时增加大于等于30 ml/m <sup>2</sup>	1/73(1.4)	2/74(2.7)

[0154] 注:N=组内获得LVEDVI指标的受试者数量;n=特定类别数量

[0155] 实施例2. 心功能改善效果在富集亚组人群中的研究-1

[0156] 通过统计分析实施例1的试验结果,本发明人在本实施例中研究了纽兰格林在富集人群中改善LVESVI(超过13mL/m<sup>2</sup>)的应答率。

[0157] 结果发现(如图8所示):纽兰格林对富集亚组人群(基线期LVESVI $\geq$ 135mL/m<sup>2</sup>,占受试者人群比例为41%)心功能改善效果更好;

[0158] 纽兰格林用药组对富集亚组人群LVESVI大幅改善(LVESVI降低13mL/m<sup>2</sup>以上)的应答率达50%,并显著高于安慰剂组。

[0159] 以上结果表明,基线ESVI越大,表明心脏越大,对大心脏治疗效果越好。

[0160] 实施例3. 心功能改善效果在富集亚组人群中的研究-2

[0161] 通过统计分析实施例1的试验结果,本发明人在本实施例研究了纽兰格林在富集人群病人个体中LVESVI及LVEDVI同时发生改善(均超过20mL/m<sup>2</sup>)的应答率。

[0162] 结果发现(如图9所示):富集人群(基线期LVESVI $\geq$ 135mL/m<sup>2</sup>)中:纽卡定用药组病

人个体同时发生LVESVI及LVEDVI大幅改善(两项指标同时降低 $20\text{mL}/\text{m}^2$ 以上)的应答率显著高于安慰剂组。

[0163] 因此,纽兰格林对富集人群(基线期 $\text{LVESVI} \geq 135\text{mL}/\text{m}^2$ )具有更好药效:给药组LVESVI改善大于 $13\text{mL}/\text{m}^2$ (即ESV缩小约 $26\text{mL}$ )的应答率达50%,具有统计学显著性;受试者个体LVESVI及LVEDVI同时改善大于 $20\text{mL}/\text{m}^2$ 的应答率达26.5%(安慰剂为0%,具有统计学显著性)。

[0164] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

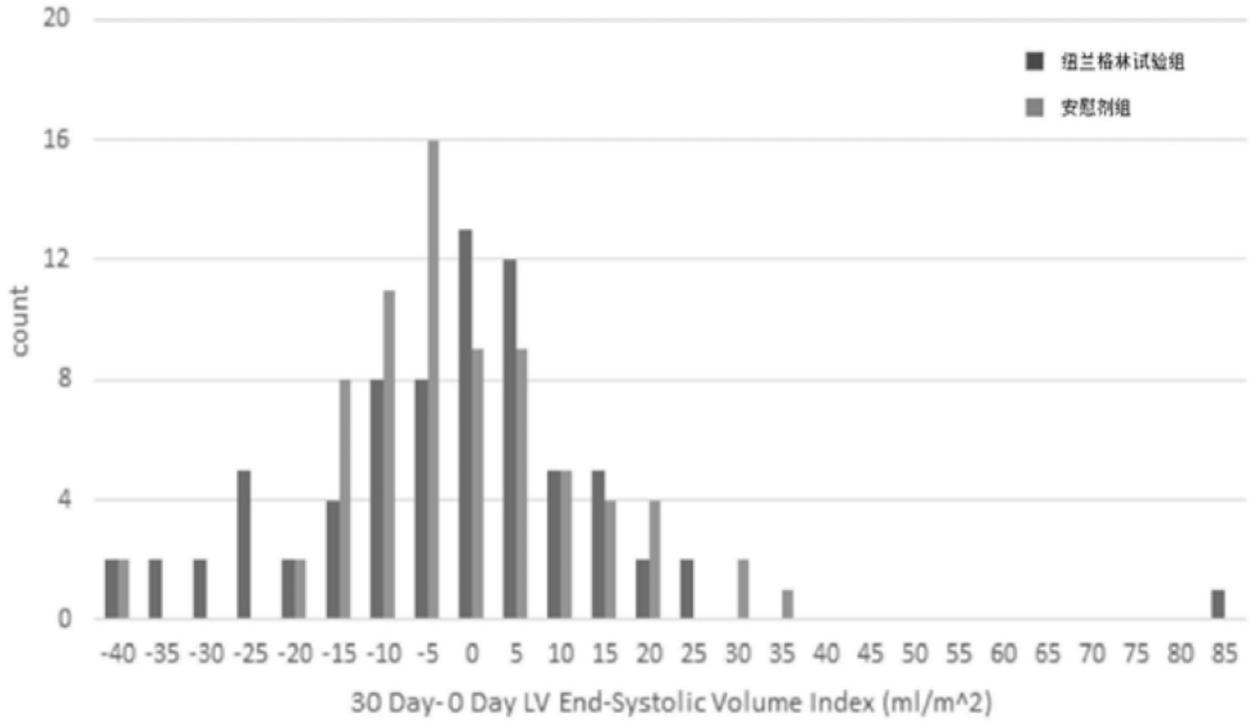


图1

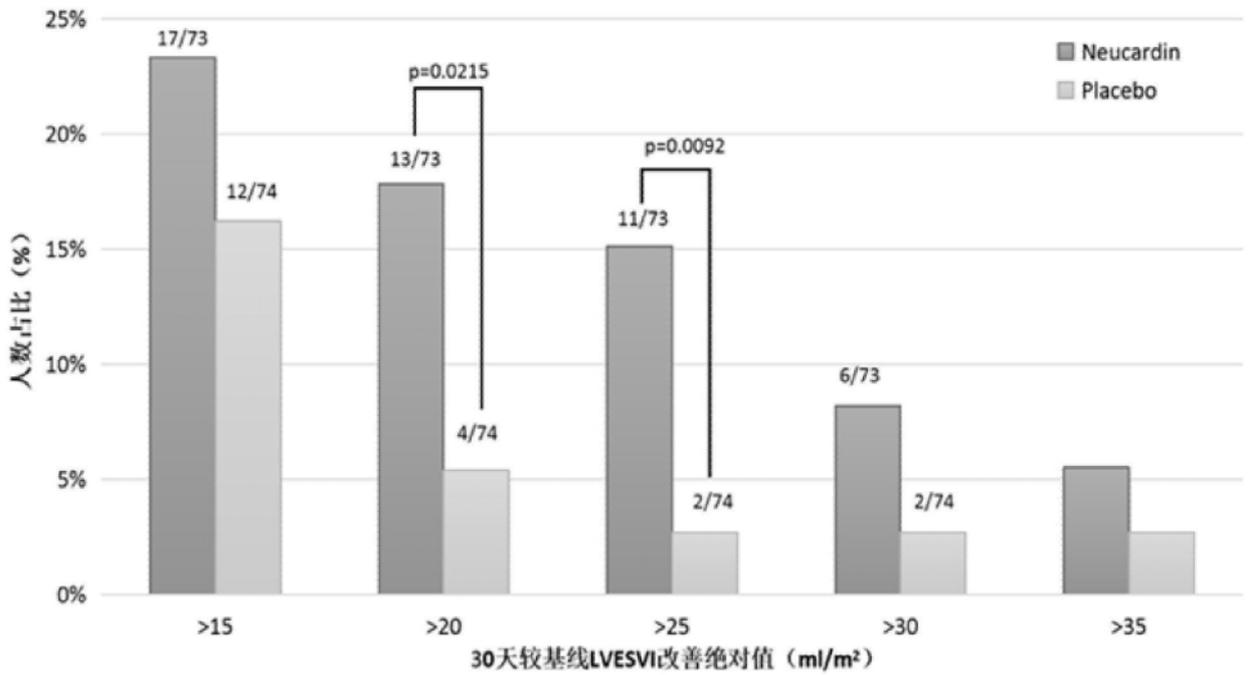


图2

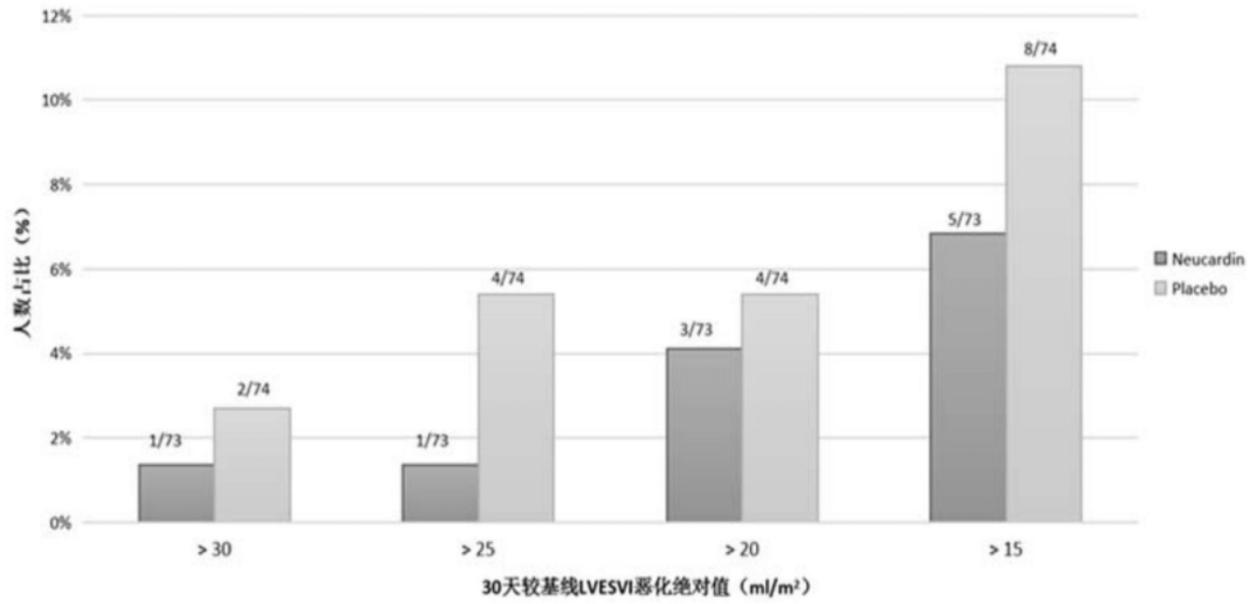


图3

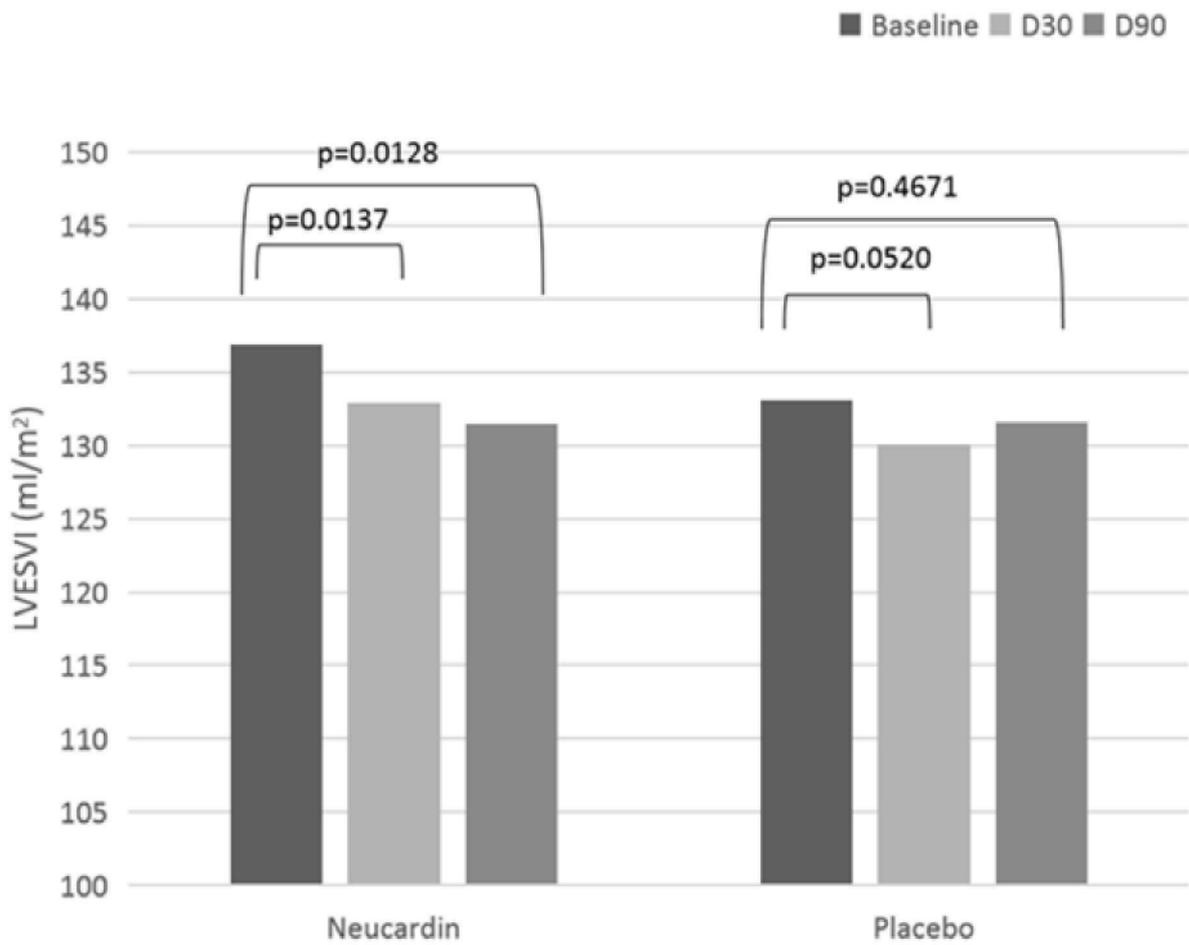


图4

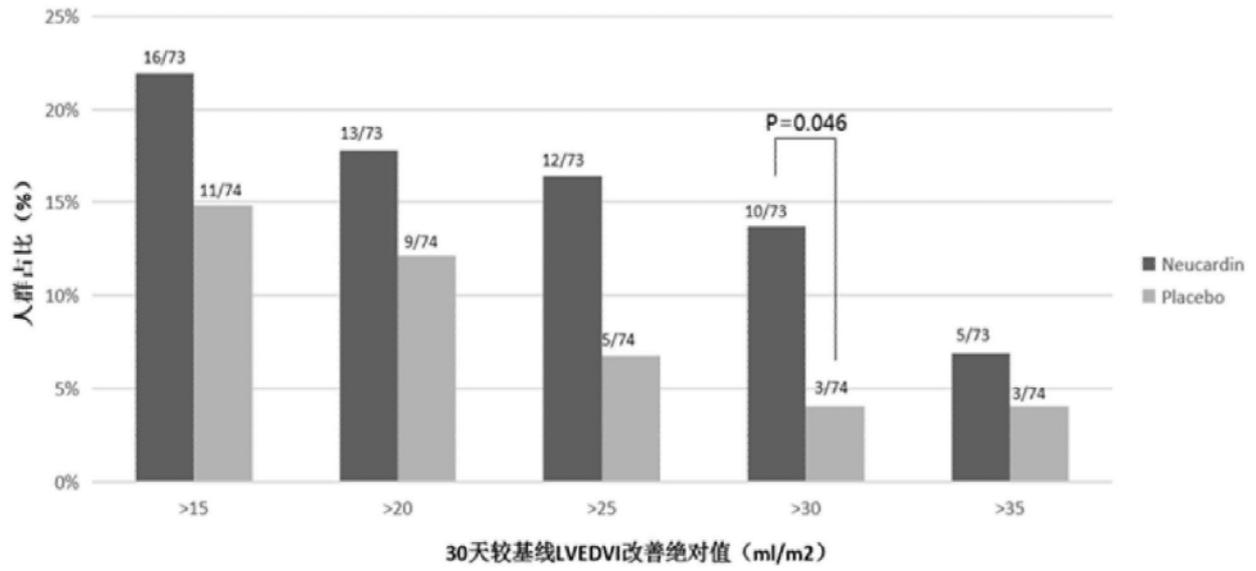


图5

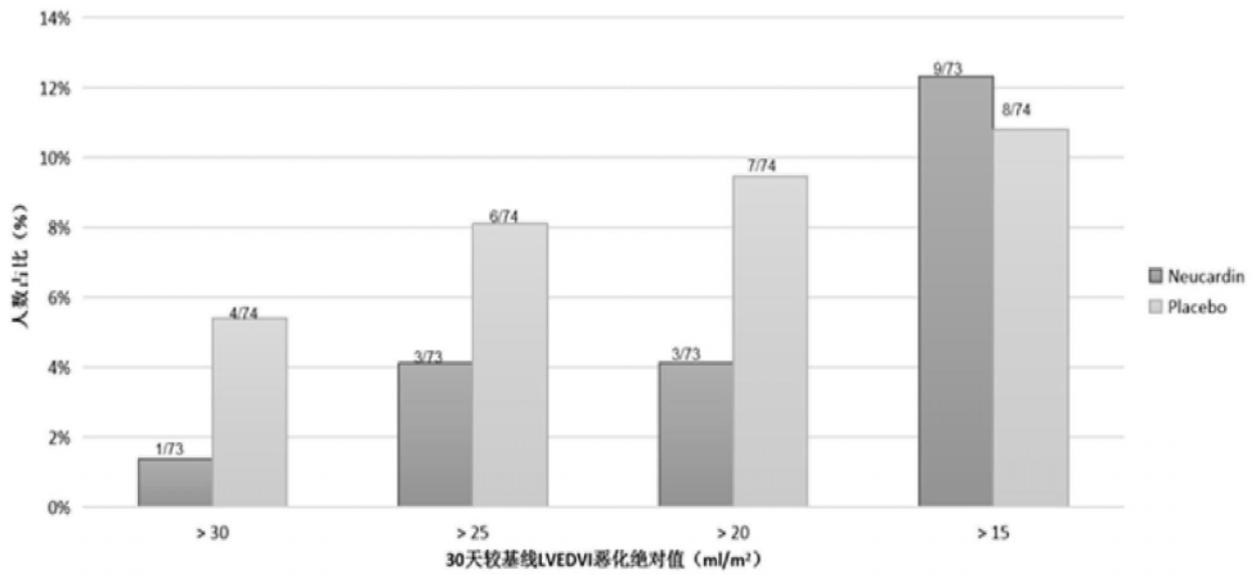


图6

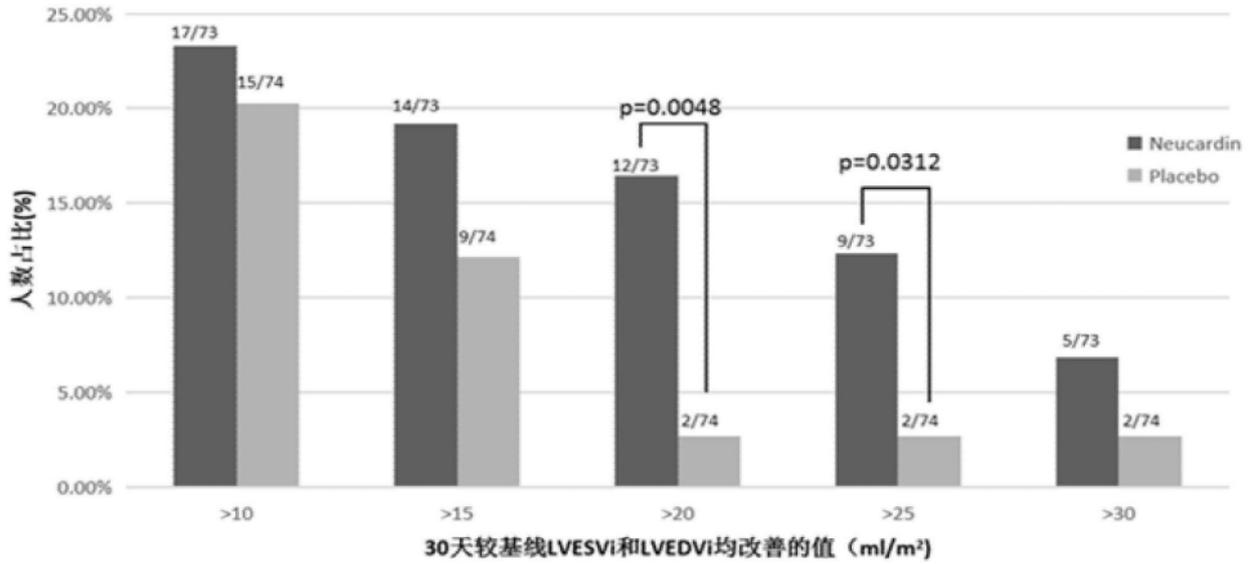


图7

富集人群LVESVI改善 (超过13mL/m<sup>2</sup>) 应答率

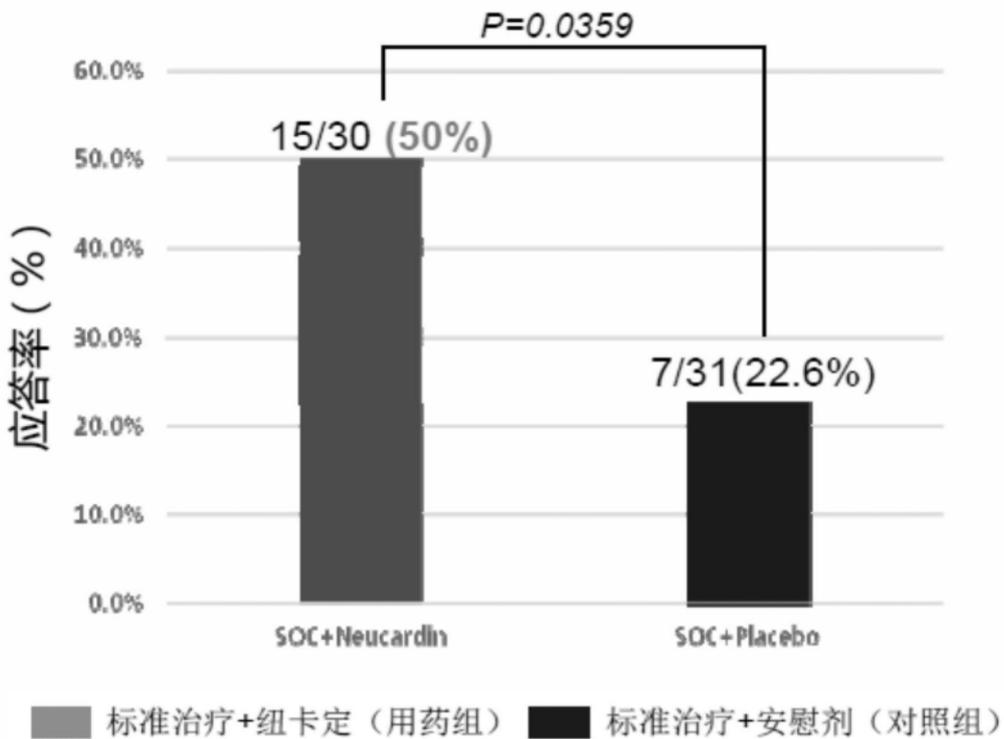


图8

