(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115645537 A
(43)申请公布日 2023.01.31

(21)申请号 202211311655.1
(22)申请日 2022.10.25

(71)申请人 成都臻拓医药科技有限公司
地址 610000 四川省成都市高新区天府国际生物城(双流区慧谷西二路17号)
(72)发明人 王凌 温成铭 胡皓洋 蒋学华
(74)专利代理机构 成都高远知识产权代理事务所(普通合伙) 51222
专利代理师 魏静 全学荣

(51)Int.Cl.
A61K 45/00(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 37/02(2006.01)
A61P 1/04(2006.01)
A61P 1/00(2006.01)
A61P 19/02(2006.01)

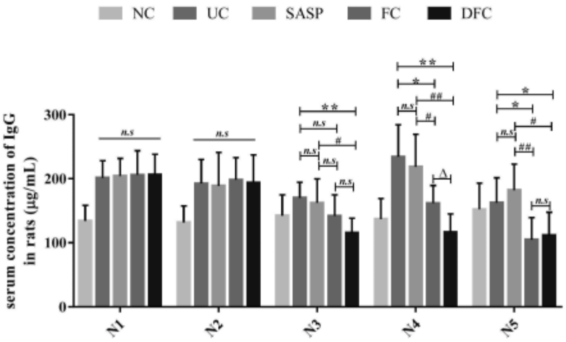
权利要求书1页 说明书5页 附图6页

(54)发明名称

FcRn抑制剂在制备抑制自身免疫性疾病复发的药物中的用途

(57)摘要

本发明提供了FcRn抑制剂在制备抑制自身免疫性疾病复发的药物中的用途,属于制药领域。本发明首次发现,FcRn靶点与溃疡性结肠炎的复发密切相关,通过给予抗FcRn抗体拮抗FcRn功能,不仅能够加速大鼠血清ANCA的清除,减少结肠NET形成,有效治疗溃疡性结肠炎,而且能够有效抑制溃疡性结肠炎复发;但是,通过给予治疗溃疡性结肠炎的临床用药SASP却无法拮抗FcRn功能,也无法抑制溃疡性结肠炎复发。因此,包括抗FcRn抗体在内的FcRn抑制剂在制备抑制溃疡性结肠炎等自身免疫性疾病复发的药物中具有广阔的应用前景。



CN 115645537 A

1.FcRn抑制剂在制备抑制自身免疫性疾病复发的药物中的用途。

2.根据权利要求1所述的用途，其特征在于：所述自身免疫性疾病包括溃疡性结肠炎、克罗恩病、系统性红斑狼疮、类风湿关节炎。

3.根据权利要求2所述的用途，其特征在于：所述自身免疫性疾病为溃疡性结肠炎。

4.根据权利要求1-3任一项所述的用途，其特征在于：所述药物是治疗自身免疫性疾病的药物。

5.根据权利要求1-3任一项所述的用途，其特征在于：所述药物是降低血清ANCA水平的药物，降低血清炎症指标的药物，和/或减少结肠NET形成的药物。

6.根据权利要求5所述的用途，其特征在于：所述炎症指标包括TNF-α、IL-1β和CRP。

7.根据权利要求1-6任一项所述的用途，其特征在于：所述FcRn抑制剂为小分子FcRn抑制剂或蛋白多肽类FcRn抑制剂。

8.根据权利要求7所述的用途，其特征在于：所述蛋白多肽类FcRn抑制剂为抗FcRn抗体。

9.根据权利要求1-8任一项所述的用途，其特征在于：所述药物是以FcRn抑制剂为活性成分，加上药学上可接受的辅料制备而成的制剂。

10.根据权利要求9所述的用途，其特征在于：所述制剂为口服制剂、注射制剂或经皮给药制剂。

FcRn抑制剂在制备抑制自身免疫性疾病复发的药物中的用途

技术领域

[0001]　本发明属于制药领域，具体涉及FcRn抑制剂在制备抑制自身免疫性疾病复发的药物中的用途。

背景技术

[0002]　自身免疫性疾病是指机体对自身抗原发生免疫反应而导致自身组织或器官损害所引起的疾病。根据其发病器官和发病机制的不同，自身免疫性疾病分为：(1)器官特异性自身免疫性疾病，其特点为组织器官的病理损害和功能障碍仅限于抗体或致敏淋巴细胞所针对的某一器官，例如溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis,UC)、克罗恩病(Crohn's disease,CD)等；(2)系统性自身免疫性疾病，其是由于抗原抗体复合物广泛沉积于血管壁等原因导致的全身多器官损害，如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎等。

[0003]　UC是一种慢性非特异性炎症性肠病，病理改变多见大肠黏膜及黏膜下层，呈连续弥漫性分布。临床表现为腹痛、持续或反复发作的腹泻、粘液脓血便和吸收障碍等。UC在临床治疗过程中表现为较长的病程，患者可能会由于各种生理病理或环境因素的刺激而导致UC复发，而UC极易复发的问题也成为其难以良好控制或治愈的关键因素。目前关于UC发病机理的认识，主要认为其是受肠道菌群紊乱、自身免疫调节失衡、遗传因素等影响，导致肠道黏膜炎症反应诱发UC。其中自身免疫紊乱是UC发生发展的关键因素之一，UC发生的早期，病变炎症结肠部位出现了大量中性粒细胞浸润，并产生中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil extracellular trap,NET)的现象。NET的形成被认为是UC炎症持续存在的关键因素。NET发生时会使中性粒细胞破裂，释放出各种致炎因子与嗜中性颗粒，如髓过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)和蛋白酶3(proteinase 3,PR3)等，这些嗜中性颗粒分别与染色质中的DNA结合形成复合物而具有抗原性，上述复合物继而被异常活化的T细胞识别，激活细胞免疫途径产生自身抗体——抗中性粒细胞胞质抗体(antineutrophil cytoplasmic antibody,ANCA)，而ANCA又可与中性粒细胞膜表面MPO或PR3结合使其激活趋化，促进NET的形成，如此反复构成NET-ANCA循环。ANCA作为维持该循环的中间环节，被临床认为与UC疾病进展及复发风险高度相关。

[0004]　ANCA属于IgG类自身抗体，其在体内的转运主要受新生儿Fc受体(neonatal Fc receptor,FcRn)的介导。FcRn生理功能的发挥通过与其配体结合来实现，其已知的配体主要是IgG和血清白蛋白，FcRn与IgG的Fc片段或白蛋白DIII结构域结合后，可以保护其不被溶酶体降解，从而显著延长其半衰期。因此，FcRn在自身免疫性或者致病性IgG的体内清除环节中扮演了至关重要的角色。目前应用FcRn对IgG半衰期的调节作用，将FcRn作为治疗自身免疫性疾病靶点的研究备受关注，部分蛋白多肽类FcRn抑制剂已进入临床实验阶段。

[0005]　申请号为2016800405166的中国专利申请公开了一种特定序列的人源化亲和力成熟的抗FcRn抗体，以及该特定序列的抗FcRn抗体在治疗包括溃疡性结肠炎、克罗恩病、全身性红斑狼疮、类风湿关节炎在内的自身免疫性疾病中的用途。但是，治疗自身免疫性疾病与抑制自身免疫性疾病复发是两种不同的作用。对于UC的治疗，患者疾病复发频率更是选择

治疗方案的重要因素(参见《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年,北京)溃疡性结肠炎部分解读》,临床荟萃,2018年11月5日第33卷第11期)。目前,能够有效抑制包括溃疡性结肠炎在内的自身免疫性疾病复发的药物还鲜有报道,无法满足临床需求。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供FcRn抑制剂在制备抑制自身免疫性疾病复发的药物中的用途。

[0007] 本发明提供了FcRn抑制剂在制备抑制自身免疫性疾病复发的药物中的用途。

[0008] 进一步地,所述自身免疫性疾病包括溃疡性结肠炎、克罗恩病、系统性红斑狼疮、类风湿关节炎。

[0009] 进一步地,所述自身免疫性疾病为溃疡性结肠炎。

[0010] 进一步地,所述药物是治疗自身免疫性疾病的药物。

[0011] 进一步地,所述药物是降低血清ANCA水平的药物,降低血清炎症指标的药物,和/或减少结肠NET形成的药物。

[0012] 进一步地,所述炎症指标包括TNF-α、IL-1β和CRP。

[0013] 进一步地,所述FcRn抑制剂为小分子FcRn抑制剂或蛋白多肽类FcRn抑制剂。

[0014] 进一步地,所述蛋白多肽类FcRn抑制剂为抗FcRn抗体。

[0015] 进一步地,所述药物是以FcRn抑制剂为活性成分,加上药学上可接受的辅料制备而成的制剂。

[0016] 进一步地,所述制剂为口服制剂、注射制剂或经皮给药制剂。

[0017] 本发明中,FcRn是新生儿Fc受体(neonatal Fc receptor)的缩写。

[0018] FcRn抑制剂指能够靶向抑制/拮抗FcRn功能或表达的药物,抗FcRn抗体是一种已知的FcRn抑制剂。

[0019] 本发明首次发现,FcRn靶点与溃疡性结肠炎的复发密切相关,通过静脉注射anti-Fc-mAb拮抗FcRn功能,不仅能够加速大鼠血清ANCA的清除,减少结肠NET形成,有效治疗溃疡性结肠炎,而且能够有效抑制溃疡性结肠炎复发;但是,通过给予治疗溃疡性结肠炎的临床用药SASP却无法拮抗FcRn功能,也无法抑制溃疡性结肠炎复发。

[0020] 包括抗FcRn抗体在内的FcRn抑制剂在制备抑制溃疡性结肠炎等自身免疫性疾病复发的药物中具有广阔的应用前景。

[0021] 显然,根据本发明的上述内容,按照本领域的普通技术知识和惯用手段,在不脱离本发明上述基本技术思想前提下,还可以做出其它多种形式的修改、替换或变更。

[0022] 以下通过实施例形式的具体实施方式,对本发明的上述内容再作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

附图说明

[0023] 图1:动物实验路线图。

[0024] 图2:NC组、UC组、SASP组、FC组和DFC组的血清IgG浓度测定结果。*/#/Δ和**/##分别表示$p<0.05$和$p<0.01$;n.s表示差异无统计学意义($p>0.05$)。

[0025] 图3:NC组、UC组、SASP组、FC组、DFC组的血清ANCA浓度测定结果。*/#/Δ,**/##和***/###分别代表$p<0.05$,$p<0.01$,$p<0.001$;n.s表示差异无统计学意义($p>0.05$)。

[0026] 图4:NC组、UC组、SASP组、FC组、DFC组结肠NET相关蛋白(NAPs,包括:PAD4、MPO与NE)表达情况。NAPs表达水平与内参蛋白GAPDH表达水平归一化获得其相对表达量。数据以平均值±标准差表示(n=6)。#,**/##和***/###分别代表$p<0.05$,$p<0.01$,$p<0.001$;n.s表示差异无统计学意义($p>0.05$)。

[0027] 图5:(a)NC组、UC组、SASP组、FC组、DFC组大鼠DAI与HS的统计分析结果,数据以平均值±标准差表示(n=6)。##和***/##分别表示$p<0.01$和$p<0.001$;n.s表示差异无统计学意义($p>0.05$)。(b)、(c)、(d)、(e)、(f)依次为NC、UC、SASP、FC、DFC组大鼠代表性组织病理学图像。

[0028] 图6:NC组、UC组、SASP组、FC组、DFC组大鼠血清TNF-α浓度。数据以平均值±标准差表示(n=6)。*/#,**/##/ΔΔ和***/###分别代表$p<0.05$,$p<0.01$,$p<0.001$;n.s表示差异无统计学意义($p>0.05$)。

[0029] 图7:NC组、UC组、SASP组、FC组、DFC组大鼠血清IL-1β浓度。数据以平均值±标准差表示(n=6)。*/#/Δ,**/##和***分别代表$p<0.05$,$p<0.01$,$p<0.001$;n.s表示差异无统计学意义($p>0.05$)。

[0030] 图8:NC组、UC组、SASP组、FC组、DFC组大鼠血清CRP浓度。数据以平均值±标准差表示(n=6)。*/#/Δ,**/##和***/###分别代表$p<0.05$,$p<0.01$,$p<0.001$;n.s表示差异无统计学意义($p>0.05$)。

[0031] 图9:UC组、SASP组、FC组、DFC组N3、N4取样点时ANCA(a)、TNF-α(b)、IL-1β(c)、CRP(d)的血清浓度。数据以平均值±标准差表示(n=6)。

[0032] ◆和◆◆分别代表$p<0.05$和$p<0.01$;n.s表示差异无统计学意义($p>0.05$)。

具体实施方式

[0033] 本发明所用原料与设备均为已知产品,通过购买市售产品所得。

[0034] 实施例1:抗大鼠FcRn抗体抑制溃疡性结肠炎复发的体内实验

[0035] 1.实验药品

[0036] 抗大鼠FcRn抗体(anti-Fc-mAb)购买于美国Bio X cell公司,商品信息如下:4.32mg/mL(1.2mL),Cat#:BE0222,Lot#:680320D1。

[0037] 柳氮磺吡啶(SASP),一种治疗溃疡性结肠炎的临床用药,购买于大连美仑生物技术有限公司公司,纯度>97%,Cas:599-79-1,Lot:D1210A。

[0038] 2.实验方法

[0039] 参照图1所示路线图进行实验。选取30只8-12周龄左右的SD大鼠,体重250-300g,随机分为5组(每组n=6)并记为NC、UC、SASP、FC、DFC组。NC组为正常对照组;其他四组给药情况为:UC组大鼠给予纯水,SASP组大鼠给予柳氮磺吡啶(SASP,400mg/kg,p.o/day),FC组大鼠给予抗大鼠FcRn抗体(anti-Fc-mAb,80μg/kg,i.v/7天),DFC组大鼠给予抗大鼠FcRn抗体(anti-Fc-mAb,160μg/kg,i.v/7天)。UC组、SASP组、FC组、DFC组大鼠,先给予3%(w/v)葡聚糖硫酸钠(DDS)7天,以纯水替代7天作为缓解期;第15天给予3%(w/v)DSS溶液3天作为第一个炎症复发期(IRP-1),再更换为纯水喂养7天。接着再以3%DSS喂养7天作为第二个炎症

复发期(IRP-2);最后换上纯水至实验结束。在开始给药前、给药后第7天、给药后第14天、给药后第21天,各组大鼠从眼眶采集血样(200μL)至微量离心管中(依次记为N1、N2、N3、N4);在给药后第28天,通过腹膜内注射50%乌拉坦(3mL/kg)对大鼠进行麻醉,将血液样本从心脏收集到微量离心管(记为N5)中,并收集结肠进行生化和组织病理学分析。

[0040] 实验过程中监测疾病症状变化,测定血清抗中性粒细胞胞质抗体(ANCA)、免疫球蛋白G(IgG)、白细胞介素-1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、C反应蛋白(CRP)浓度与结肠中性粒细胞胞外陷阱(NET)相关蛋白表达水平。

[0041] 3.实验结果

[0042] 血清IgG水平是一种反映FcRn功能拮抗作用的指标。图2为各组大鼠血清IgG水平监测结果。可以看出,在N3、N4与N5三个取样点中,DFC组大鼠血清IgG的水平均较UC组明显降低,更小给药剂量的FC组大鼠血清IgG水平则是在N4与N5两个取样点中才表现出较UC组明显降低;而SASP组大鼠血清IgG水平在所有取样点中与UC组相比,均无明显变化;此外,在N5取样点中,FC组与DFC组血清IgG水平基本相当。该实验结果表明,SASP连续给药28天并不能影响大鼠体内FcRn转运功能;但是,以160μg/kg剂量静脉注射给予大鼠anti-Fc-mAb两剂后就可表现出明显的FcRn功能拮抗作用;以80μg/kg剂量静脉注射给予给予大鼠anti-Fc-mAb三剂后也能观察到明显的FcRn功能拮抗作用。

[0043] 图3为各组大鼠血清ANCA水平监测结果。可以发现,从N3取样点开始,SASP组、FC组与DFC组大鼠血清ANCA水平较UC组均明显下降。由于血清ANCA水平与UC炎症程度相关,在炎症缓解的情况下,血清ANCA水平相应下降,因此SASP组大鼠虽然FcRn转运功能并未改变,但是由于SASP本身的抗炎作用,也表现出ANCA血清水平下降的现象。值得注意的是,DFC组大鼠血清ANCA水平在N3、N4与N5三个取样点较SASP组进一步明显降低,FC组大鼠血清ANCA水平在N4与N5两个取样点较SASP组进一步明显降低。这是因为拮抗FcRn的作用可加速血清ANCA的清除,DFC组和FC组发挥的FcRn功能拮抗作用进一步降低了大鼠血清ANCA水平,进一步缓解了大鼠炎症。

[0044] NET的形成是溃疡性结肠炎炎症持续存在的关键因素,与溃疡性结肠炎的复发密切相关。图4为各组大鼠结肠NET相关蛋白(PAD4、MPO、NE)的表达情况,可以看出,在anti-Fc-mAb四剂给药结束(SASP平行给药28天)后,与UC对照组相比,FC组与DFC组结肠NET相关蛋白(PAD4、MPO与NE)水平均明显减少;与SASP组相比,FC组与DFC组结肠NET相关蛋白(PAD4、MPO与NE)水平进一步减少,且差异具有统计学意义。说明anti-Fc-mAb可以显著减少大鼠结肠部位NET形成,有利于抑制溃疡性结肠炎复发;并且,与SASP相比,anti-Fc-mAb减少大鼠结肠部位NET形成的效果显著提高,更有利于抑制溃疡性结肠炎复发。

[0045] 疾病活动指数(disease activity index,DAI)与组织病理学评分(histopathological score,HS)为判断溃疡性结肠炎病情的常用指标。图5为各组大鼠DAI与HS的统计分析结果。结果显示,在anti-Fc-mAb四剂给药结束(SASP平行给药28天)后,与UC对照组相比,FC组与DFC组的DAI与HS明显减少;与SASP组相比,FC组与DFC组的DAI与HS进一步减少,且差异具有统计学意义。说明anti-Fc-mAb可以显著减少大鼠疾病活动指数和组织病理学评分,能够有效治疗溃疡性结肠炎;并且,与SASP相比,anti-Fc-mAb减少大鼠疾病活动指数和组织病理学评分的效果显著增强,治疗溃疡性结肠炎的效果显著增强。

[0046] 图6-图8为实验过程中对大鼠血清TNF-α、IL-1β与CRP等炎症指标(inflammation-

related indexes,IRIs)的监测结果。可以发现,从N3取样点开始,SASP组、FC组与DFC组大鼠血清TNF-α、IL-1β与CRP水平较UC组均明显下降。值得注意的是,DFC组大鼠血清TNF-α、IL-1β与CRP水平在N3、N4与N5三个取样点较SASP组进一步明显降低,FC组大鼠血清TNF-α、IL-1β与CRP水平在N4与N5两个取样点较SASP组进一步明显降低。这是因为DFC组和FC组发挥的FcRn功能拮抗作用进一步降低了大鼠血清TNF-α、IL-1β与CRP水平,进一步缓解了大鼠炎症。

[0047] 本实验中,在N3取样点前为第一个模拟炎症复发期(IRP-1),而N4取样点则是在第二个模拟炎症复发期(IRP-2)内。综合N3、N4与N5三个取样点各实验组大鼠血清TNF-α、IL-1β与CRP监测结果,可以发现在炎症复发期内,静脉注射anti-Fc-mAb发挥了比SASP给药显著提高的UC治疗效果。

[0048] 通过进一步横向比较N3与N4取样点各实验组间大鼠血清ANCA、TNF-α、IL-1β与CRP的检测结果(图9),可以发现随着外源致炎因子(本实验中为DSS溶液)的重复刺激,UC组与SASP组N4取样点大鼠血清上述各项指标均较N3取样点明显升高,而FC组与DFC组N4取样点大鼠血清上述各项指标与N3取样点相比则无明显差异。说明SASP无法对抗外源致炎因子引起的溃疡性结肠炎炎症复发,而通过静脉注射anti-Fc-mAb拮抗FcRn功能可以有效对抗外源致炎因子引起的溃疡性结肠炎炎症复发。

[0049] 通过上述实验,本发明首次发现FcRn靶点与溃疡性结肠炎的复发密切相关,通过静脉注射anti-Fc-mAb拮抗FcRn功能,不仅能够加速大鼠血清ANCA的清除,减少结肠NET形成,有效治疗溃疡性结肠炎,而且能够有效抑制溃疡性结肠炎复发;但是,通过SASP给药却无法拮抗FcRn功能,也无法抑制溃疡性结肠炎复发。

[0050] 综上,本发明提供了FcRn抑制剂在制备抑制自身免疫性疾病复发的药物中的用途。本发明首次发现FcRn靶点与溃疡性结肠炎的复发密切相关,通过给予抗FcRn抗体拮抗FcRn功能,能够有效抑制溃疡性结肠炎复发;但是,通过给予治疗溃疡性结肠炎的临床用药SASP却无法拮抗FcRn功能,也无法抑制溃疡性结肠炎复发。因此,包括抗FcRn抗体在内的FcRn抑制剂在制备抑制溃疡性结肠炎等自身免疫性疾病复发的药物中具有广阔的应用前景。

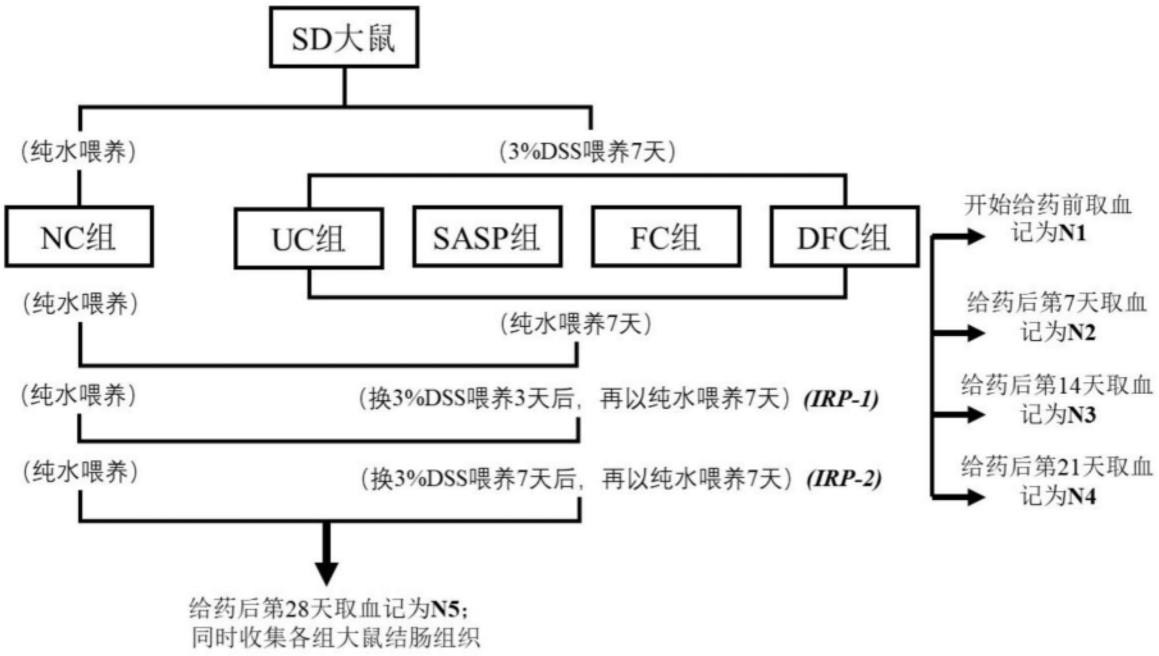

SD大鼠
(纯水喂养)
(3%DSS喂养7天)
NC组
UC组
SASP组
FC组
DFC组
开始给药前取血
记为N1
(纯水喂养)
(纯水喂养7天)
给药后第7天取血
记为N2
(纯水喂养)
(换3%DSS喂养3天后，再以纯水喂养7天) (IRP-1)
给药后第14天取血
记为N3
(纯水喂养)
(换3%DSS喂养7天后，再以纯水喂养7天) (IRP-2)
给药后第21天取血
记为N4
给药后第28天取血记为N5;
同时收集各组大鼠结肠组织

图1

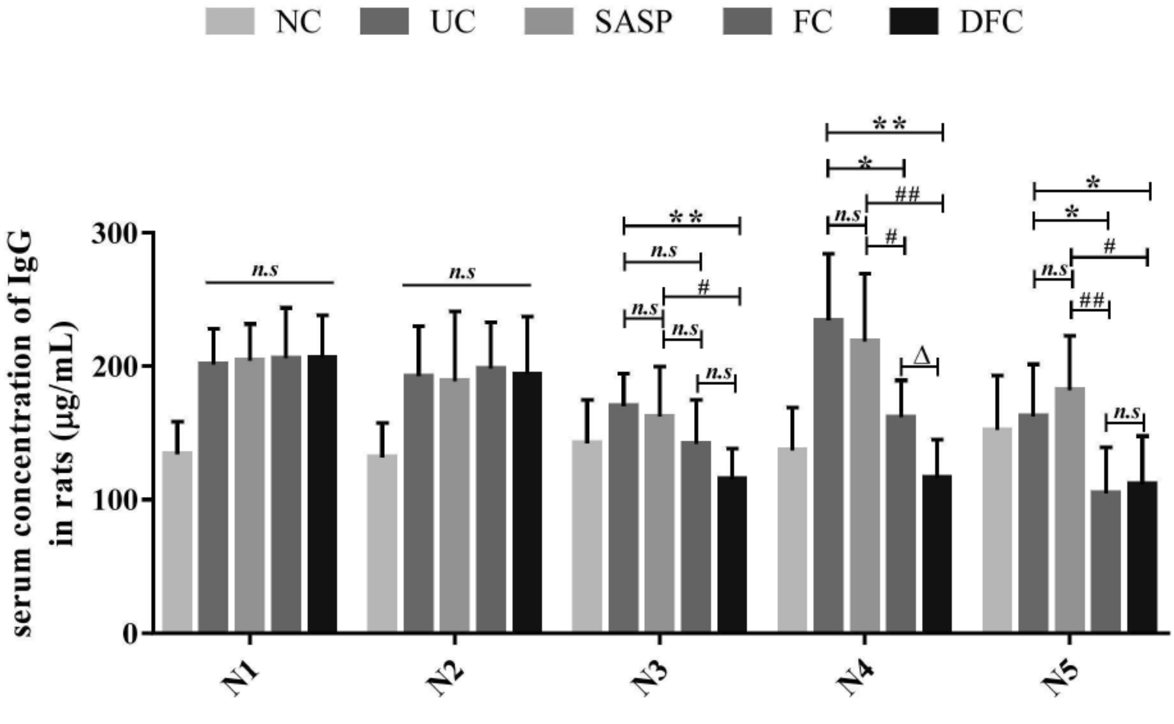

NC
UC
SASP
FC
DFC
serum concentration of IgG
in rats (μg/mL)
300
200
100
0
n.s
**
*
##
#
Δ
N1
N2
N3
N4
N5

图2

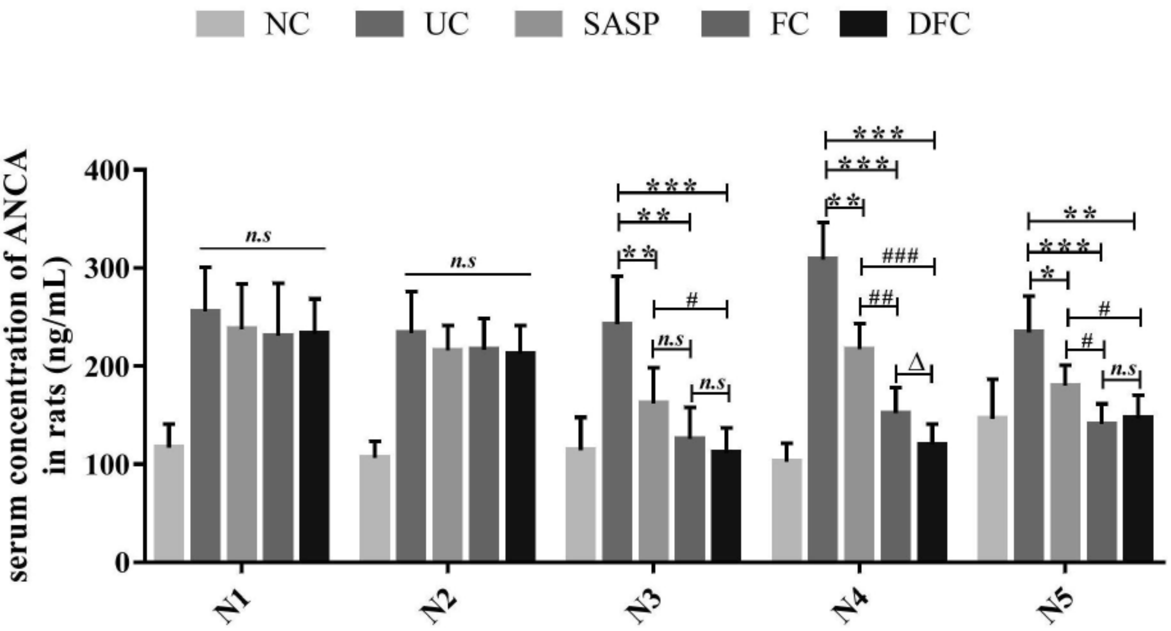

NC
UC
SASP
FC
DFC
serum concentration of ANCA in rats (ng/mL)
0
100
200
300
400
n.s
n.s
***
**
**
#
n.s
n.s
***
***
**
###
##
Δ
**
***
*
#
#
n.s
N1
N2
N3
N4
N5

图3

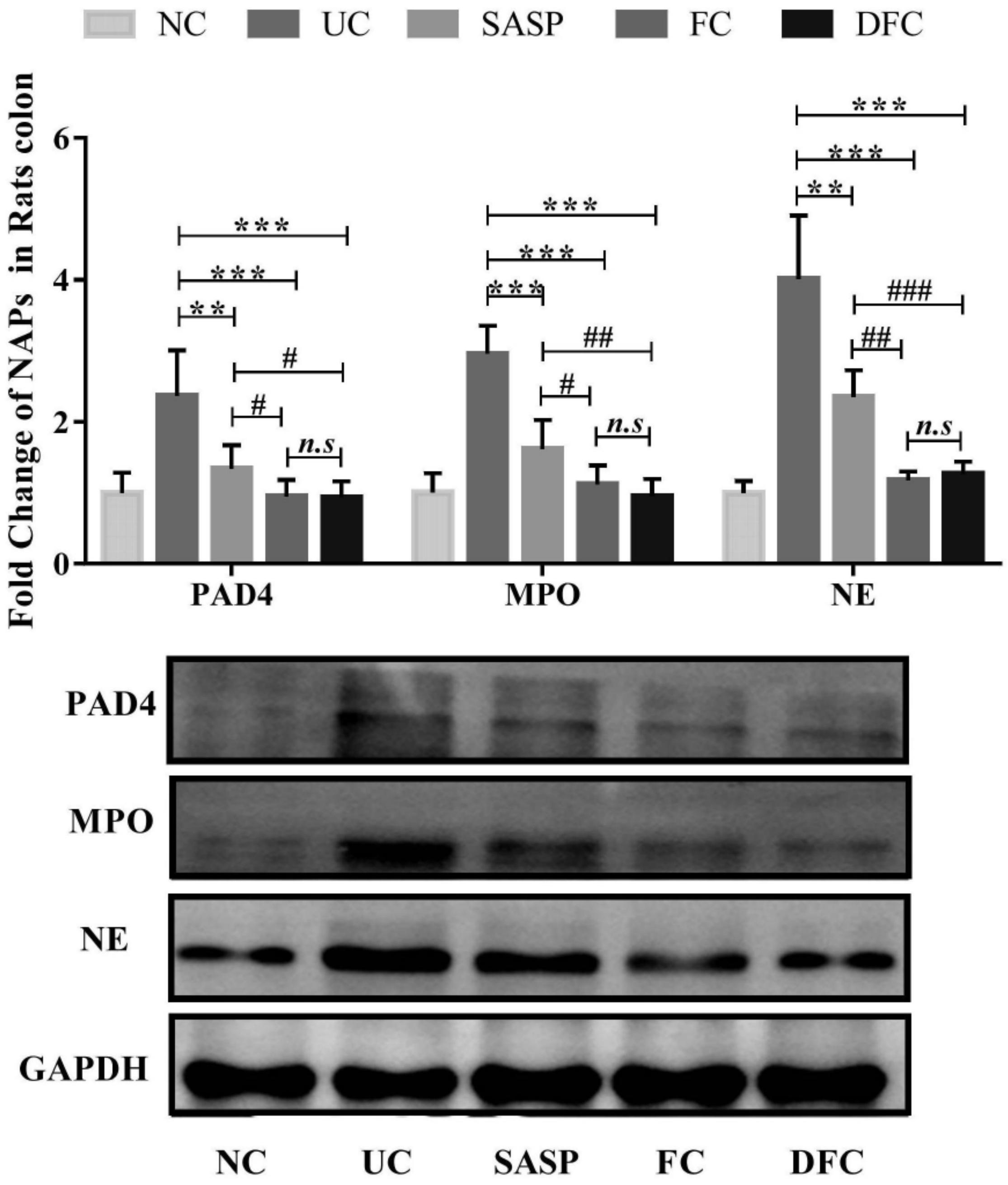

NC
UC
SASP
FC
DFC
Fold Change of NAPs in Rats colon
0
2
4
6
PAD4
MPO
NE
***
**
#
n.s
##
###
PAD4
MPO
NE
GAPDH
NC
UC
SASP
FC
DFC

图4

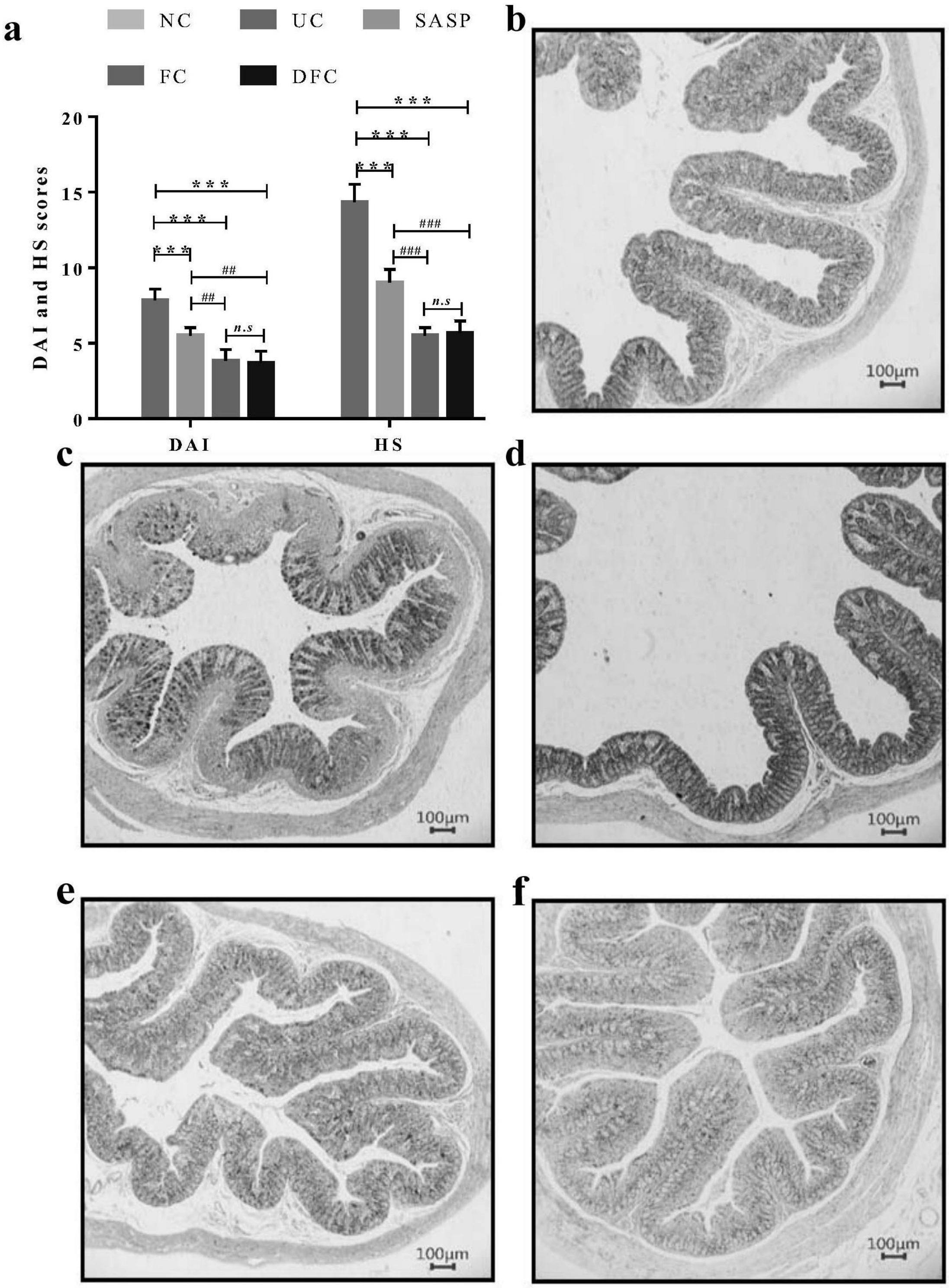

a
NC
UC
SASP
FC
DFC
DAI and HS scores
20
15
10
5
0
***
##
###
n.s
DAI
HS
b
c
d
e
f
100μm

图5

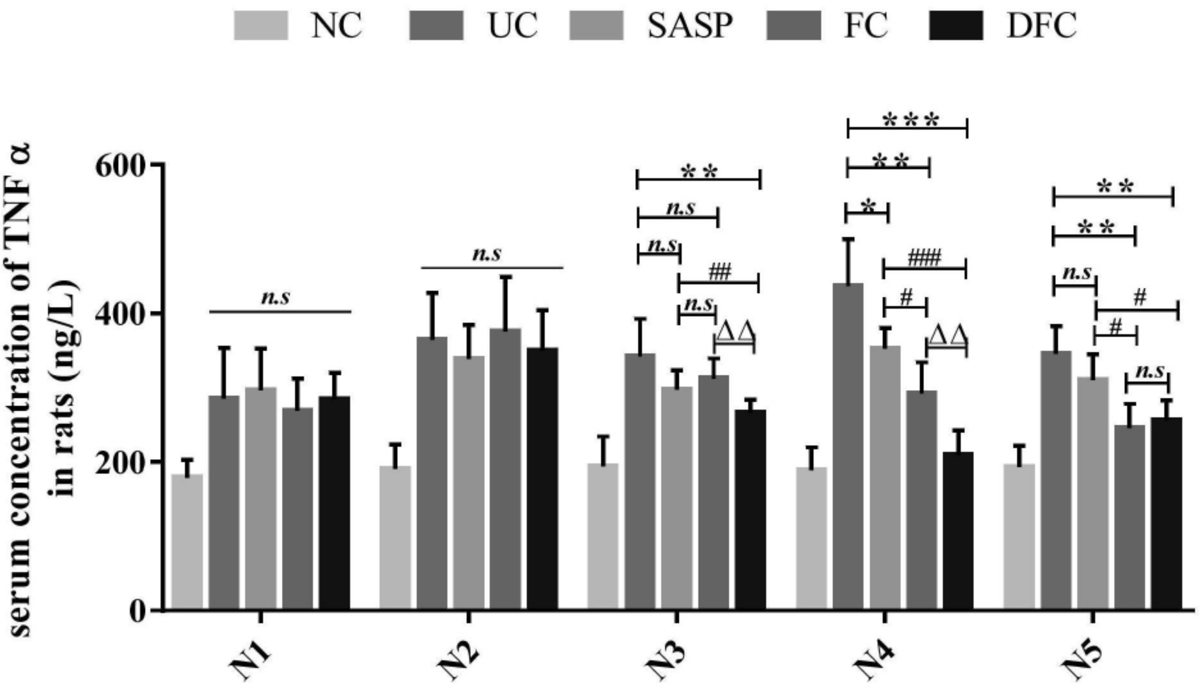

NC
UC
SASP
FC
DFC
serum concentration of TNF α in rats (ng/L)
600
400
200
0
N1
N2
N3
N4
N5
n.s
**
***
*
#
##
###
ΔΔ

图6

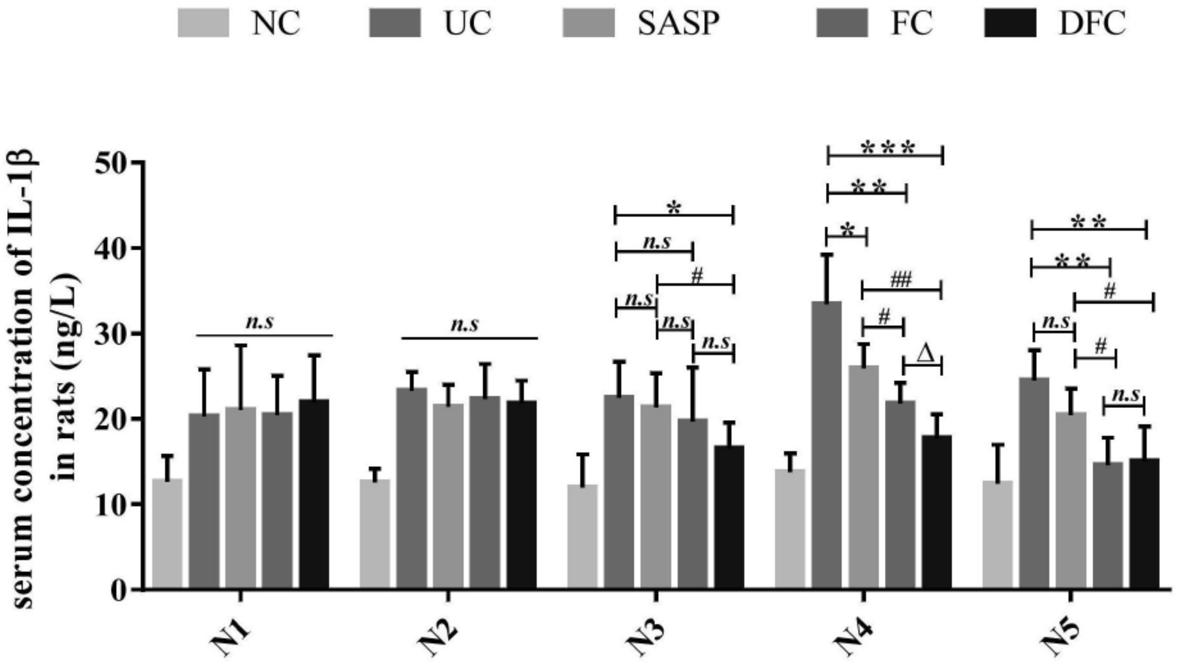

NC
UC
SASP
FC
DFC
serum concentration of IL-1β in rats (ng/L)
50
40
30
20
10
0
N1
N2
N3
N4
N5
n.s
*
**
***
#
##
Δ

图7

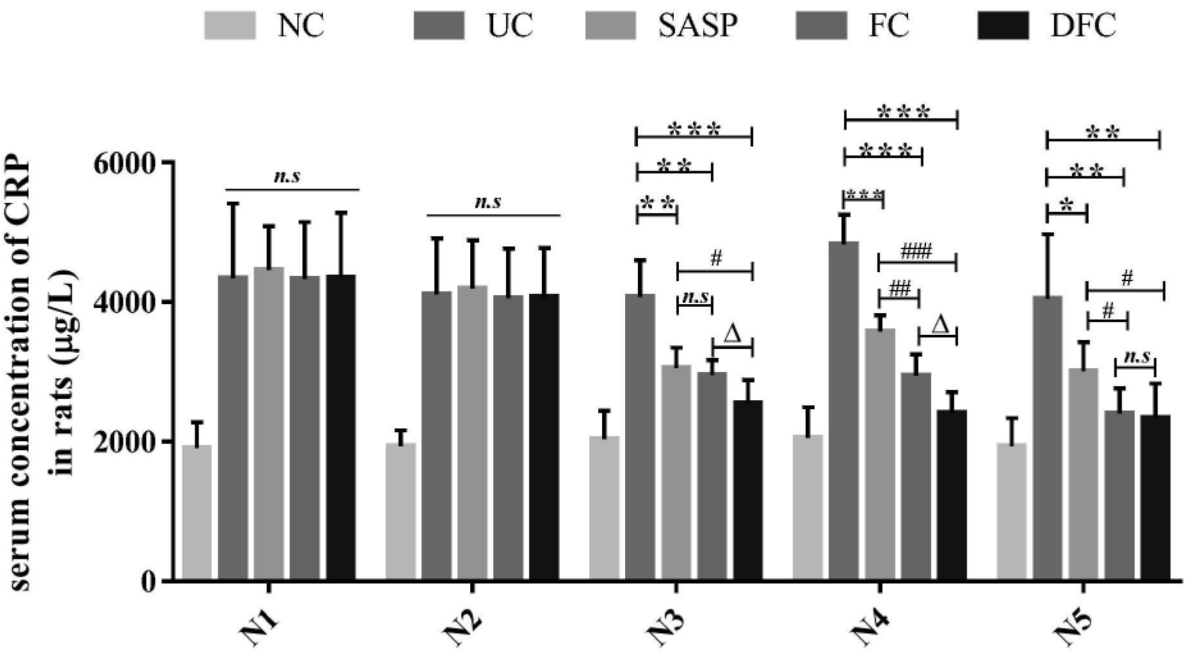

NC
UC
SASP
FC
DFC
serum concentration of CRP in rats (μg/L)
6000
4000
2000
0
n.s
n.s
N1
N2
N3
N4
N5

图8

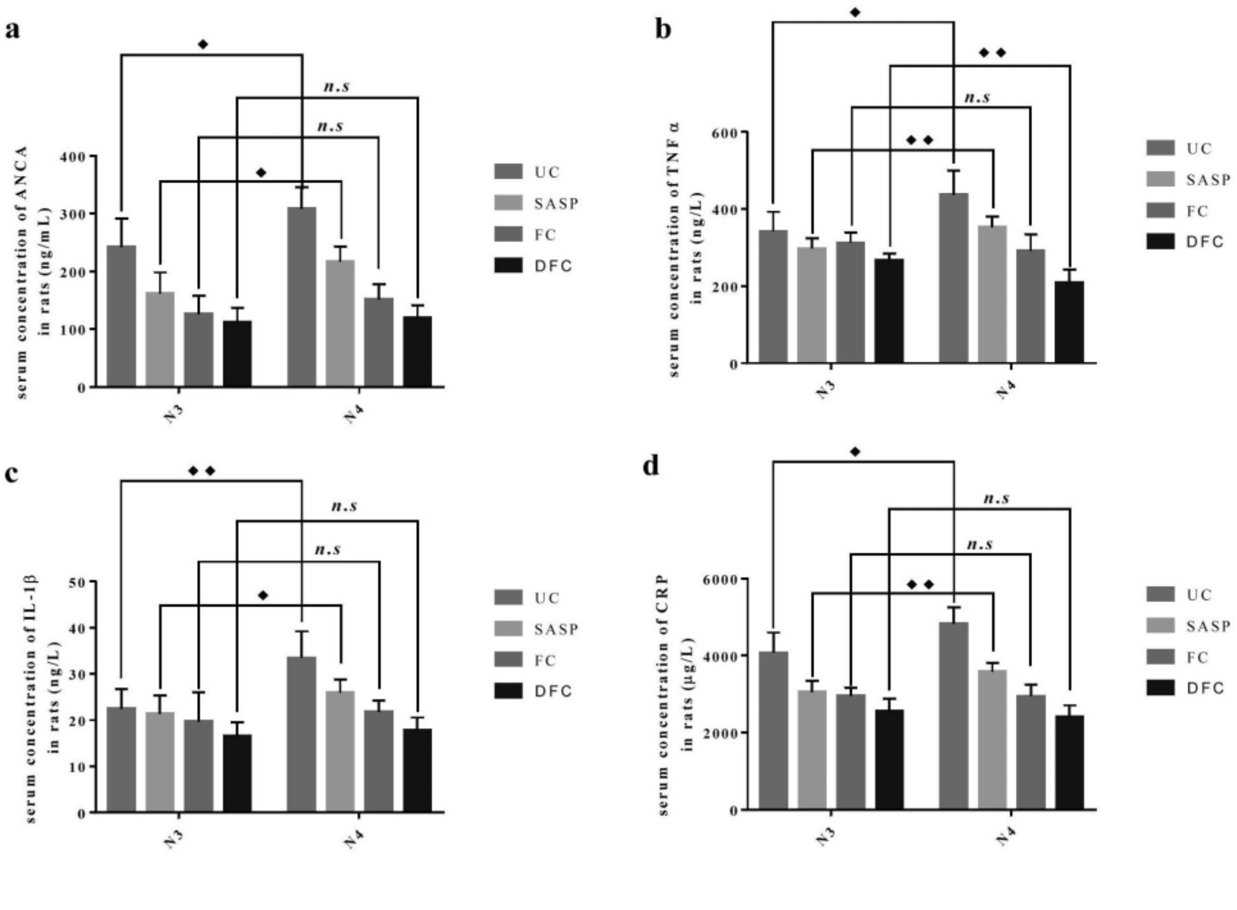

a
b
c
d
serum concentration of ANCA in rats (ng/mL)
serum concentration of TNFα in rats (ng/L)
serum concentration of IL-1β in rats (ng/L)
serum concentration of CRP in rats (μg/L)
UC
SASP
FC
DFC
n.s
N3
N4

图9