

预防和治疗动脉粥样硬化及相关疾病的方法和组合物

技术领域

本发明内容属于生物医药领域，涉及预防和治疗动脉粥样硬化及相关疾病的方法和组合物。

背景技术

动脉粥样硬化是指由于脂质在动脉血管管壁中积聚形成脂质条纹或粥样斑块导致动脉血管功能障碍。由于斑块形成导致的动脉血管舒缩功能下降、管腔狭窄甚至血栓，进而影响由该动脉所供血的组织器官的血供，导致组织器官的局部或全部的缺血。

长久以来，存在对能够更有效地预防和/或治疗动脉粥样硬化、动脉粥样相关的疾病的药物和/或治疗方法的需求。

发明内容

因此，存在对新的动脉粥样硬化或其相关疾病的治疗方法的需求。本发明满足了这种需求并且还提供了相关的优点。本发明的方法、组合物和/或应用可以显著降低疾病模型动物中的氧化低密度脂蛋白水平，减少动脉粥样斑块形成，抑制动脉粥样硬化进展。

在一个方面，本文提供一种预防或治疗有此需要的个体中动脉粥样硬化或动脉粥样相关的疾病的方法，包括向所述个体给予治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体、编码所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的核酸或者包含所述核酸的载体，向所述个体移植表达所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的细胞、或者含有所述 sDSS1 蛋白或其片段变体或所述核酸的组织或器官，和/或向所

述个体输注含有所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体或所述核酸的血清或者组织间液。

在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性。

5 在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。在一些具体实施方案中,所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。10 在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或15 变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段。

在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段以及有助于实现跨膜转运功能的片段。20 在一些具体实施方案中,所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含在 1-20 个氨基酸上的化学修饰。在一些具体实施方案中,所述化学修饰包括氨基或者糖基化修饰、脂肪酸修饰、酰基化修饰、Fc 片段融合、白蛋白融合、聚乙二醇修饰、右旋糖苷修饰、肝

素修饰、聚乙烯吡咯烷酮修饰、聚氨基酸修饰、多聚唾液酸修饰、壳聚糖及其衍生物修饰、凝集素修饰、海藻酸钠修饰、卡波姆修饰、聚乙烯吡咯烷酮修饰、羟丙基甲基纤维素修饰、羟丙基纤维素修饰、乙酰化修饰、甲酰化修饰、磷酸化修饰、甲基化修饰和/或磺酸化修饰。在一些具体实施方案中，所述载体包括真核表达质粒载体、腺病毒、腺相关病毒、慢病毒、逆转录病毒、杆状病毒、疱疹病毒、或者伪狂犬病毒。在一些具体实施方案中，所述细胞是任意一种人的干细胞、前体细胞或成体细胞。在一些具体实施方案中，所述干细胞是诱导多能干细胞、转分化得到的细胞，或者来源于原代培养的干细胞、由母细胞分化得到的多能或单能干细胞。在一些具体实施方案中，所述的组织是脑、肝、肾、脾、胰岛的完整器官或部分组织块，或血液、脂肪、肌肉、骨髓、皮肤。在一些具体实施方案中，所述的方法还包括向所述个体给药降血脂药。在一些具体实施方案中，所述的方法还包括向所述个体给药降血压药。在一些具体实施方案中，所述的方法还包括向所述个体给药抗凝血药。在一些具体实施方案中，所述个体经历选自经皮冠状动脉介入治疗、冠状动脉旁路移植术或颈动脉内膜切除术的外科手术。在一些具体实施方案中，所述方法降低了动脉血管管壁中的脂质积聚。在一些具体实施方案中，所述的脂质包括血液中的胆固醇、胆固醇酯、甘油三酯、乳糜微粒(chylomicron, CM)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)、中间密度脂蛋白(intermediate density lipoprotein, IDL)、脂蛋白(a)(lipoprotein(a), Lp(a))、氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, oxLDL)的一种或几种及其各自的代谢中间物。在一些具体实施方案中，所述动脉粥样硬化或动脉粥样相关的疾病包括血管内径狭窄、血管外径扩张、血管收缩及扩增能力下降、血管弹性下降、

血管脆性升高、血管壁钙化或钙质沉着、或者血栓导致的血管供血能力下降。
在一些具体实施方案中，所述的动脉粥样硬化或动脉粥样相关的疾病包括高血压、心绞痛、心肌梗塞、心肌供血不足、心律失常、脑供血不足、缺血性脑卒中、脑萎缩、肾功能不全、肾动脉狭窄、麻痹性肠梗阻或肢端缺血坏死。

5 在另一个方面，本文提供了一种用于降低有此需要的个体中血管内皮对脂质的吸收的方法，包括向所述个体给药治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ
10 ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。在一些具体实施方案中，所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
15 包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、
20 90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段。

在另一个方面，本文提供了一种用于降低有此需要的个体中脂质在巨噬细胞中积聚的方法，包括向所述个体给药治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段

或变体。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。在一些具体实施方案中，所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段。

在另一个方面，本文提供了一种用于提高有此需要的个体中脂质在肝细胞中的积聚的方法，包括向所述个体给药治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。在一些具体实施方案中，所述非天然氨基酸包括

羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段。

在另一个方面，本文提供了一种降低个体血管中的循环氧化 LDL 的量的方法，包括向所述个体给予包含有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体能够与游离氧化 LDL 形成复合物。在一些具体实施方案中，所述方法降低了游离的未形成复合物的氧化 LDL 的量与总氧化 LDL 的量。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。在一些具体实施方案中，所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID

NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO:14 所示的氨基酸序列。在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO:17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的
5 序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段。

在另一个方面,本文提供了一种减少个体血管中斑块形成的方法,包括向所述个体给予包含有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体,其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体能够与游离氧化 LDL 形成复合物。在一些具体实施方案中,所述血管是动脉。在一些具体实施方案中,所述血管是主动脉。在一些
10 具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性。在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非
15 天然氨基酸。在一些具体实施方案中,所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO:
20 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。在一些具体实施方案中,所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至

少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段。

在另一个方面，本文提供了一种以蛋白质-脂质复合物形式封存血管中循环的游离氧化 LDL 的方法，包括将所述氧化 LDL 暴露于所述蛋白质，以在血管中形成所述蛋白质-脂质复合物，其中所述蛋白质为 sDSS1 蛋白或其片段

5 或变体。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段

10 或变体包含非天然氨基酸。在一些具体实施方案中，所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO:

15 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。在一些具体实施方案中，所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段。

20 在另一个方面，本文提供了一种 sDSS1 蛋白或其片段或变体与脂质的复合物。

在另一个方面，本文提供了一种筛选治疗有此需要的个体中动脉粥样硬化或动脉粥样相关的疾病的治疗剂的方法，包括将所述治疗剂与 sDSS1 蛋白、

sDSS1 蛋白的基因、sDSS1 的基因的调控元件、sDSS1 的基因的转录产物接触，并评价所述治疗剂对 sDSS1 蛋白表达的作用。

例如，本文提供如下技术方案：

一种蛋白在制备预防和治疗动脉粥样硬化或动脉粥样相关的心脑血管疾病及外周血管疾病药物中的应用，其特征在于，所述的应用是将 sDSS1 蛋白用于制备预防和治疗动脉粥样硬化或动脉粥样相关的心脑血管疾病和外周血管疾病药物。

在一些具体实施方案中，所述的动脉粥样硬化是指动脉血管管壁中出现脂质积聚所致的脂质条纹或粥样斑块，导致动脉血管功能障碍。

10 在一些具体实施方案中，所述的脂质是指血液中的胆固醇、胆固醇酯、甘油三酯、乳糜微粒(chylomicron, CM)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)、中间密度脂蛋白(intermediate density lipoprotein, IDL)、脂蛋白(a)(lipoprotein(a), Lp(a))、高密度脂蛋白(HDL)、氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, oxLDL)的一种或几种及其各自的代谢中间物。

在一些具体实施方案中，所述的动脉血管功能障碍是指血管内径狭窄、血管外径扩张、血管收缩及扩增能力下降、血管弹性下降、血管脆性升高、血管壁钙化或钙质沉着、血栓导致的血管供血能力下降。

20 在一些具体实施方案中，所述的动脉粥样相关的心血管疾病是指高血压、心绞痛、心肌梗塞、心肌供血不足、心律失常及猝死。

在一些具体实施方案中，所述的动脉粥样相关的脑血管疾病是指脑供血不足、缺血性脑卒中及脑萎缩。

在一些具体实施方案中，所述的动脉粥样相关的外周血管疾病是指肾功能不全、肾动脉狭窄、麻痹性肠梗阻或肢端缺血坏死。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白包括人、黑猩猩、倭黑猩猩、大猩猩、红毛猩猩、白颊长臂猿、川金丝猴、恒河猴、滇金丝猴、东非狒狒、安哥拉疣猴、白顶白眉猴、鬼狒、豚尾猴的任一 sDSS1 蛋白序列形成的基础蛋白，其中人 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 1，黑猩猩 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 2，倭黑猩猩 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 3，大猩猩 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 4，红毛猩猩 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 5，白颊长臂猿 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 6，川
10 金丝猴 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 7，恒河猴 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 8，滇金丝猴 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 9，东非狒狒 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 10，安哥拉疣猴 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 11，白顶白眉猴 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 12，鬼狒 sDSS1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 13，豚尾猴 sDSS1 的氨基酸序列如
15 SEQ ID NO: 14。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是任一与以上方案所述的 sDSS1 蛋白相似度达到 70% 以上的第一种蛋白。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是任一以以上方案所述的 sDSS1 蛋白氮端 58 个氨基酸为基础，在氮端或碳端融合其他多肽片段，用于
20 融合的多肽片段的结构特征或氨基酸序列特征与以上方案所述的 sDSS1 蛋白碳端 31 个序列相同或相似的第二种蛋白。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是任一以以上方案所述的 sDSS1 蛋白氮端 58 个氨基酸为基础，在氮端或碳端融合其他氨基酸片段，融

合后的蛋白能实现跨膜转运功能的第三种蛋白。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是所述的基础蛋白、第一种蛋白、第二种蛋白或第三种蛋白与该蛋白自身、载体蛋白、抗体或其他任意长度氨基酸片段连接形成的融合蛋白。

5 在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是基于所述的基础蛋白、第一种蛋白、第二种蛋白、第三种蛋白或融合蛋白进行的修饰产生的多肽/蛋白修饰物。

在一些具体实施方案中，所述的多肽/蛋白修饰物是针对氨基酸侧链上的氨基、氨基酸侧链上的羧基、氮末端氨基、碳末端羧基、半胱氨酸、酪氨酸、丝氨酸、色氨酸进行的特异性或非特异性的 1-20 个位点的化学修饰。

在一些具体实施方案中，所述多肽/蛋白修饰物的修饰方法包括糖基化修饰、脂肪酸修饰、酰基化修饰、Fc 片段融合、白蛋白融合、聚乙二醇修饰、右旋糖苷修饰、肝素修饰、聚乙烯吡咯烷酮修饰、聚氨基酸修饰、多聚唾液酸修饰、壳聚糖及其衍生物修饰、凝集素修饰、海藻酸钠修饰、卡波姆修饰、
15 聚乙烯吡咯烷酮修饰、羟丙基甲基纤维素修饰、羟丙基纤维素修饰、乙酰化修饰、甲酰化修饰、磷酸化修饰、甲基化修饰、磺酸化修饰以及其他医药上可用的多肽/蛋白药物修饰方法的一种或一种以上。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是利用基础蛋白、第一种蛋白、第二种蛋白、第三种蛋白或融合蛋白的氨基酸序列为基础进行的 20 种基本氨基酸以外的氨基酸进行的 1-31 个任意氨基酸位点替换的非天然氨基酸替代蛋白。

在一些具体实施方案中，所述的非天然氨基酸替代蛋白的氨基酸替换包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸、人工合成的非天然氨基酸。

基酸及其衍生物。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是把所述的基础蛋白、第一种蛋白、第二种蛋白、第三种蛋白、融合蛋白、多肽/蛋白修饰物或非天然氨基酸替代物与医药上可应用的药物载体形成的部分或全部复合体。

5 在一些具体实施方案中，所述的复合体的药物载体包含肠溶衣制剂、胶囊、微球/囊、脂质体、微乳液、复乳液、纳米颗粒、磁颗粒、明胶和凝胶中的一种或一种以上。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是以个体自身 sDSS1 蛋白为靶点，通过外源药物影响个体自身 sDSS1 蛋白的水平。

10 在一些具体实施方案中，所述的药物是以 sDSS1 蛋白、sDSS1 蛋白的基因、sDSS1 的基因的调控元件、sDSS1 的基因的转录产物为药物作用靶点。

在一些具体实施方案中，所述的药物是通过影响血液、脑脊液或淋巴液中蛋白酶/肽酶活性从而调节 sDSS1 蛋白在血液、脑脊液或淋巴液中的含量。

15 在一些具体实施方案中，所述的药物是化学小分子药物、抗体、多肽/蛋白药物、核酸药物、纳米药物形成的第一种药物。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是以所述的基础蛋白、第一种蛋白、第二种蛋白、第三种蛋白、融合蛋白、多肽/蛋白修饰物、复合体、第一种药物中的任一种成分的两种或多种的组合形成的第二种药物。

20 在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是以所述的基础蛋白、第一种蛋白、第二种蛋白、第三种蛋白、融合蛋白、多肽/蛋白修饰物、复合体、第一种药物中的任一种成分的一种、两种或多种与医药上可用的赋形剂形成的第三种药物。

在一些具体实施方案中，所述的 sDSS1 蛋白是通过表达体系把编码所述

的基础蛋白、第一种蛋白、第二种蛋白、第三种蛋白或融合蛋白的核苷酸序列导入体内并表达获得的第四种蛋白。

在一些具体实施方案中,所述的表达体系是真核表达质粒载体、腺病毒、腺相关病毒、慢病毒、逆转录病毒、杆状病毒、疱疹病毒、伪狂犬病毒、ZFN
5 基因编辑技术、TALEN 基因编辑技术、CRISPR/Cas 基因编辑技术及其他医疗上可用的基因编辑技术或病毒载体。

在一些具体实施方案中, 所述的 sDSS1 蛋白是通过移植细胞在个体体内获得的所述的基础蛋白、第一种蛋白、第二种蛋白、第三种蛋白或融合蛋白形成的第五种蛋白。

10 在一些具体实施方案中, 所述的细胞是任意一种人的干细胞、前体细胞或成体细胞。

在一些具体实施方案中,所述的干细胞是胚胎干细胞、诱导多能干细胞、转分化得到的细胞,或者来源于原代培养的干细胞、由母细胞分化得到的多能或单能干细胞。

15 在一些具体实施方案中,所述的 sDSS1 蛋白是通过血清、脑脊液、淋巴液或组织间液输注引入个体体内的第六种蛋白。

在一些具体实施方案中,所述的 sDSS1 蛋白是通过移植组织或器官在个体体内获得的所述的基础蛋白、第一种蛋白、第二种蛋白、第三种蛋白或融合蛋白形成的第七种蛋白。

20 在一些具体实施方案中,所述的组织是脑、肝、肾、脾、胰岛的完整器官或部分组织块,或血液、脂肪、肌肉、骨髓、皮肤。

在一些具体实施方案中,所述的预防药物是包含基础蛋白、第一种至第七种任一蛋白、融合蛋白、多肽/蛋白修饰物、非天然氨基酸替代蛋白、复合

体、药物组合、表达体系、细胞、组织、器官、体液、组织液的蛋白药物、多肽药物、核酸药物、化学小分子药物、细胞产品、商业化移植组织、注射液、冻干粉、保健品、食品添加剂中的一种或多种。

在一些具体实施方案中，所述的治疗药物是包含基础蛋白、第一种至第七种任一蛋白、融合蛋白、多肽/蛋白修饰物、非天然氨基酸替代蛋白、复合体、第一种药物、第二种药物、第三种药物、表达体系、细胞、组织、器官、体液、组织液的蛋白药物、多肽药物、核酸药物、化学小分子药物、细胞产品、商业化移植组织、注射液、冻干粉、保健品、食品添加剂中的一种或多种。

10 本发明的特点和/或有益效果有：

1. 本发明提供的 sDSS1 蛋白在体外具有与 oxLDL 和 LDL 结合的能力；
2. 本发明提供的 sDSS1 蛋白可以抑制人脐静脉内皮细胞（HUVEC）对 oxLDL 的摄取；
3. 本发明提供的 sDSS1 蛋白可以抑制单核细胞 THP-1 分化的巨噬细胞对 oxLDL 的吞噬；
- 15 4. 本发明提供的 sDSS1 蛋白可以增加肝细胞 HepG2 对 oxLDL 的摄取；
5. 本发明提供的 sDSS1 蛋白可以降低模型动物中 oxLDL/LDL 比值水平；
6. 本发明提供的 sDSS1 蛋白可以降低模型动物中动脉粥样斑块的面积，抑制动脉粥样硬化进展。
- 20 7. 本发明提供的 sDSS1 蛋白是人和其他灵长类动物所具有的蛋白，分子量相对较小，免疫原性低，并且体内存在天然的蛋白降解机制，因此，临床应用不会引起明显的免疫反应或其他的毒副效应，安全可靠。

综上，本发明提供了一种用于预防和治疗动脉粥样硬化及动脉粥样硬化

相关的心脑血管疾病和外周血管病的 sDSS1 蛋白药物，通过分子水平、细胞水平和动物水平的实验验证，sDSS1 蛋白可以与 LDL 或 oxLDL 蛋白结合形成复合物，sDSS1 蛋白添加到培养基中减少血管内皮细胞及单核巨噬细胞对 oxLDL 的摄取，增加肝细胞对 oxLDL 的摄取。在动物实验中，sDSS1 蛋白可

5 有效降低动脉粥样硬化模型小鼠的氧化型低密度脂蛋白水平，减小动脉粥样斑块面积，抑制动脉粥样硬化进展。sDSS1 蛋白免疫原性较低，药效显著，具备用于临床上预防和治疗动脉粥样硬化及动脉粥样硬化相关的心脑血管疾病和外周血管疾病的潜力。

附图说明

10 下面结合附图，对本发明做进一步的阐述，以使本发明能够清楚、完整，但不是为了限制本发明的保护范围。

图 1. 分子实验显示 sDSS1 蛋白可以与 oxLDL 和 LDL 发生相互作用。

图 1A. 在醋酸钠/醋酸缓冲液 (pH4.5) 中，oxLDL 或 LDL 与 sDSS1 蛋白孵育 12 小时，孵育产物经 SDS-PAGE 分离并用考马斯亮蓝法染色。结果显示，单独 LDL 蛋白 (L1)，oxLDL 蛋白 (L2) 的条带分子量约 70KD，单

15 独 sDSS1 条带 (L3, L6) 分子量约 15KD，LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白共孵育会发生相互作用 (L4 和 L7 对应 LDL 与 sDSS1 蛋白, L5 和 L8 对应 oxLDL 与 sDSS1 蛋白)。

在 SDS-PAGE 胶上，与 sDSS1 蛋白反应后，反应体系中的 oxLDL 蛋白

20 或 LDL 蛋白的条带 (分子量约 70KD) 显著变浅；随着反应体系中 sDSS1 蛋白浓度增加，LDL 或 oxLDL 形成的复合物更多，条带更深。

图 1B. 在磷酸盐缓冲液 (pH7.2) 中，oxLDL 或 LDL 与 sDSS1 蛋白孵育 12 小时，孵育产物经 SDS-PAGE 分离并用考马斯亮蓝法染色。结果显示，单

独 LDL 蛋白 (L1), oxLDL 蛋白 (L2) 的条带分子量约 70KD, 单独 sDSS1 条带 (L3, L6) 分子量约 15KD, LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白共孵育会发生相互作用(L4 和 L7 对应 LDL 与 sDSS1 蛋白, L5 和 L8 对应 oxLDL 与 sDSS1 蛋白)。

5 在 SDS-PAGE 胶上, 与 sDSS1 蛋白反应后, 反应体系中的 oxLDL 蛋白或 LDL 蛋白的条带(分子量约 70KD) 变化不显著; 随着反应体系中 sDSS1 蛋白浓度增加, LDL 或 oxLDL 形成的复合物更多, 条带更深。

图 1C、图 1D. 在磷酸盐缓冲液 (pH7.2) 中, oxLDL 分别与 sDSS1-M1 或 sDSS1-M2 混合孵育, 产物经 SDS-PAGE 分离并用考马斯亮蓝法染色。结果
10 显示, 当 oxLDL 与 sDSS1-M1 孵育时, 在 SDS-PAGE 胶上, sDSS1-M1 蛋白与反应体系中 oxLDL 蛋白发生相互作用, 在大分子量区域 (>75KD) 和 37KD-75KD 区域形成明显的弥散条带(L3, L5, L7), 而反应体系中 sDSS1-M1 蛋白条带明显变浅 (L2 vs. L3, L4 vs. L5, L6 vs. L7) (图 1C)。当 oxLDL 与 sDSS1-M2 孵育时, sDSS1-M2 蛋白表现为二聚体形式(L2, L4, L6), 与 oxLDL
15 蛋白发生相互作用, 在大分子量区域 (>75KD) 和 37KD-75KD 区域形成明显的弥散条带 (L3, L5, L7)。在这两个反应体系中, 随着反应体系中 sDSS1-M1 或 sDSS1-M2 蛋白浓度增加, 反应体系中形成的复合物更多, 条带更深。

图 2. sDSS1 蛋白可以抑制内皮细胞摄取 oxLDL。

图 2A. 在人脐带静脉内皮细胞 (HUVEC) 的培养液中加入 10 μ g/ml
20 Dil-oxLDL, 或加入 Dil-oxLDL 同时加入浓度为 2 μ g/ml、5 μ g/ml、10 μ g/ml、20 μ g/ml 的 sDSS1 蛋白。5 小时后, Dil-oxLDL 被 HUVEC 细胞摄取, 在荧光显微镜下可以观察细胞内有数量不等的呈现红色荧光的吞噬小泡。加入 sDSS1 蛋白后, HUVEC 细胞内的荧光减弱, 且该效应呈现浓度依赖性。

图 2B. Dil-oxLDL 被 HUVEC 细胞摄取后,用流式细胞仪检测细胞内的荧光信号,发现随着加入培养液的 sDSS1 蛋白量增加,细胞的荧光信号逐渐减弱。

图 2C.流式细胞仪检测结果统计发现,与对照细胞(10 μ g/ml Dil-oxLDL)相比, sDSS1 蛋白可以显著抑制 HUVEC 细胞摄取 oxLDL。培养液中加入 2 μ g/ml sDSS1 蛋白即可把 oxLDL 摄取降低一半,该效应呈现明显的剂量依赖性。

图 3. sDSS1 蛋白可以抑制巨噬细胞吞噬 oxLDL。

图 3A. THP-1 细胞用 100nM PMA 诱导 4 天后分化为成熟的巨噬细胞。在培养液中加入 10 μ g/ml Dil-oxLDL,或加入 Dil-oxLDL 同时加入浓度为 2 μ g/ml、10 μ g/ml 的 sDSS1 蛋白。5 小时后观察,在对照细胞组, Dil-oxLDL 被巨噬细胞吞噬,可以观察到细胞内明显的红色荧光吞噬小泡。加入 sDSS1 蛋白后,细胞内基本观察不到明显的荧光信号。

图 3B. 用流式细胞仪检测巨噬细胞的荧光信号,结果发现,对照组细胞(10 μ g/ml Dil-oxLDL)可以检测到带荧光信号的细胞,而加入 sDSS1 蛋白的两个实验组细胞内基本没有带荧光信号的细胞出现。

图 4. sDSS1 蛋白可以提高人肝细胞细胞摄取 oxLDL 蛋白能力。

图 4A. Dil-oxLDL 加入 Hep G2 细胞 9 小时后,利用荧光显微镜检测细胞荧光。结果发现,在对照组和实验组细胞内可以观察到明显的荧光,这些荧光出现在数量不等的吞噬小泡中,说明 Hep G2 细胞摄取了 Dil-oxLDL。

图 4B. 用流式细胞仪检测细胞荧光值,可以看到在对照组 Hep G2 细胞内能检测到明显的 Dil 荧光信号,培养液加入 5 μ g/ml sDSS1 没有显著影响细胞内荧光水平,而 50 μ g/ml sDSS1 蛋白可以显著提高细胞内 Dil 信号强度

图 4C. 统计流式细胞仪检测结果显示, 与对照组相比, 50 μ g/ml sDSS1 蛋白加入到培养液后 Hep G2 细胞吸收 oxLDL 能力提高了约 27%, 与对照组有显著性提高(** $p < 0.01$)。

图 5. sDSS1 蛋白对人肝细胞细胞摄取 LDL 蛋白能力没有显著影响。

5 图 5A. Dil-LDL 加入 Hep G2 细胞 10 小时后, 利用荧光显微镜检测细胞荧光。结果发现, 在对照组和实验组细胞内可以观察到明显的荧光, 这些荧光出现在数量不等的吞噬小泡中, 说明 Hep G2 细胞摄取了 Dil-LDL。检查带荧光细胞数量, 没有出现明显的差异。

图 5B. 用流式细胞仪检测细胞荧光值, 可以看到在对照组 Hep G2 细胞
10 内能检测到明显的 Dil 荧光信号, 培养液加入 5 μ g/ml sDSS1 或 50 μ g/ml sDSS1 蛋白并不会导致细胞内 Dil 荧光信号强度的明显变化。

图 6. sDSS1 蛋白降低小鼠血浆 oxLDL 水平及血浆 oxLDL/LDL 比值, LDL 水平没有显著差异。

ApoE^{-/-}小鼠分为两组, 对照组及 sDSS1 蛋白给药组, 对照组给予 200 μ l
15 生理盐水每天腹腔注射一次, 给药组按照 10mg/kg 体重 (10mpk) 或 30mg/kg 体重 (30mpk) 每天腹腔注射 sDSS1 蛋白一次, 每天按照 40mg/kg 体重 (40mpk) 腹腔注射阿托伐他汀 (Atorvastatin, ATV) 用作阳性对照药, 连续给药 7 天。给药结束后检测小鼠血浆 oxLDL 及 LDL 水平。

图 6A. 检测血浆 oxLDL 水平, 结果发现 sDSS1 蛋白给药后, 低剂量注
20 射 sDSS1 蛋白没有显著影响小鼠血浆 oxLDL 水平, 而高剂量给药明显降低小鼠的 oxLDL 水平, 显示与 40mpk ATV 相同的药效。

图 6B. 检测血浆 LDL 水平发现, 与对照组小鼠相比, 10mpk 或 30mpk 注射 sDSS1 蛋白没有导致小鼠血浆 LDL 水平出现明显变化。

图 6C. 分析血浆中 oxLDL/LDL 比值, 结果显示高剂量给药 sDSS1 蛋白组小鼠的血浆 oxLDL/LDL 比值明显低于对照组, 与 ATV 显示相似的药效。(* p 值<0.05)。

图 7. sDSS1 蛋白抑制 ApoE-/-小鼠动脉粥样硬化斑块形成。16 周龄 ApoE-/-小鼠连续按照 3mpk 注射 sDSS1 或 40mpk 注射 ATV, 连续注射 13 周, 结束后解剖主动脉进行油红 O 染色并统计斑块面积。

图 7A. ApoE-/-小鼠主动脉正面 (en face) 染色显示动脉粥样斑块。动脉粥样斑块被油红 O 染色呈现橘红色, 无斑块处不着色为透明。结果显示, 阳性药物组小鼠动脉粥样斑块面积较模型组明显减少; sDSS1 蛋白组小鼠动脉粥样斑块面积较模型组同样明显减少, 某些区域效应甚至优于阳性药物。

图 7B. 测量油红 O 染色面积与全主动脉面积并计算斑块面积比值。阳性药物组及 sDSS1 蛋白组斑块面积比明显小于模型组(** $p<0.01$), 阳性药物组及 sDSS1 蛋白组斑块面积比无明显差异。

具体实施方式

在描述本发明的实施方案之前, 应当理解, 这些实施方案仅通过举例给出, 并且本文所述的本发明实施方案的各种替代方案可用于实施本发明。本领域技术人员在不脱离本发明的情况下将会想到许多变化、改变和替换。

除非另有定义, 本文所用的所有技术和科学术语所具有的含义与本发明所属领域的普通技术人员普遍理解的相同。尽管与本文所述类似或等同的方法和材料可用于实施或测试本发明, 但下文仍描述了合适的方法和材料。在冲突的情况下, 以本专利说明书 (包括定义) 为准。此外, 材料、方法和实例仅是说明性的, 并非旨在进行限制。本领域技术人员在不脱离本发明的情况下将会想到许多变化、改变和替换。

如在本说明书和权利要求书中所用，单数形式“一种”、“一个”和“该”包括复数指代，除非上下文另有明确规定。

术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用，指的是任何长度的氨基酸聚合物。该聚合物可以是线性的或分支的，它可以包括修饰的氨基酸，
5 并且它可以被非氨基酸打断。该术语还涵盖已通过例如二硫键形成、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其它操作（例如与标记组分的偶联）而修饰的氨基酸聚合物。

术语“氨基酸”是指天然的和/或非天然的或合成的氨基酸，包括但不限于 D 或 L 旋光异构体，以及氨基酸类似物和拟肽。标准的单字母或三字母代码
10 用来指称氨基酸。

术语“天然的氨基酸”意指甘氨酸（G）、脯氨酸（P）、丙氨酸（A）、缬氨酸（V）、亮氨酸（L）、异亮氨酸（I）、甲硫氨酸（M）、半胱氨酸（C）、苯丙氨酸（F）、酪氨酸（Y）、色氨酸（W）、组氨酸（H）、赖氨酸（K）、精氨酸（R）、谷氨酰胺（Q）、天冬酰胺（N）、谷氨酸（E）、天冬氨酸（D）、丝氨酸（S）和苏氨酸（T）的 L 旋光异构体形式。术语“非天然氨基酸”包括任
15 何非上述天然氨基酸的氨基酸。

“片段”当用于蛋白质时为天然生物活性蛋白质的截短形式，其可能保留或可能不保留至少一部分治疗性和/或生物活性。“变体”当用于蛋白质时为与天然生物活性蛋白质具有序列同源性的蛋白质，其保留该生物活性蛋白质的
20 至少一部分治疗性和/或生物活性。例如，与参考生物活性蛋白质相比，变体蛋白质可以享有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的氨基酸序列同一性。如本文所用，术语“生物活性蛋白质部分”包括例如通过定点诱变、编码基因的合成、插入而有意修饰的或通过突变而偶然

修饰的蛋白质。

术语“多核苷酸”、“核酸”、“核苷酸”和“寡核苷酸”可互换使用。它们是指任何长度的核苷酸(脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸)或其类似物的聚合形式。

多核苷酸可具有任何三维结构,并且可以执行任何已知或未知的功能。以下
5 为多核苷酸的非限制性实例:基因或基因片段的编码或非编码区、由连锁分析确定的基因座、外显子、内含子、信使 RNA (mRNA)、转运 RNA、核糖体 RNA、核酶、cDNA、重组多核苷酸、分支多核苷酸、质粒、载体、任意序列的分离的 DNA、任意序列的分离的 RNA、核酸探针和引物。多核苷酸可以包含修饰的核苷酸,例如甲基化核苷酸和核苷酸类似物。如果存在的话,
10 可在聚合物组装之前或之后赋予对核苷酸结构的修饰。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分打断。多核苷酸可以在聚合后进一步修饰,例如通过与标记组分偶联。

就本文所确定的多肽序列而言,“序列同一性百分比(%)”被定义为在比对序列并在必要时引入缺口以获得最大序列同一性百分比后,并且不把
15 任何保守置换视为序列同一性的一部分,查询序列中与第二、参考多肽序列或其部分的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。可以以本领域技术内的各种方式,例如使用可公开获得的计算机软件,如 BLAST、BLAST-2、ALIGN、NEEDLE 或 Megalign (DNASTAR) 软件,来实现旨在确定氨基酸序列同一性百分比的比对。本领域技术人员可以确定用于测量比对的合适的参数,包括在所比较的序列的全长上获得最大比对所需的任何算法。同一性百分比可以在整个定义的多核苷酸序列的长度上进行测量,或者可以在较短的长度上,例如,在从较大的、定义的多核苷酸序列取得的片段的长度上进行测量,该片段例如是至少 15、至少 20、至少 30、至少 40、至少 50、至少 70 或至少
20

150 个连续残基的片段。这些长度只是示例性的，并且应该理解，由本文的表格、附图或序列表中所示的序列支持的任何片段长度可以用来描述在其上可以测量同一性百分比的长度。

“载体”是优选地在适当的宿主中自我复制的核酸分子，其将插入的核酸分子转移至宿主细胞之内和/或之间。该术语包括主要起到将 DNA 或 RNA 插入至细胞内的作用的载体，主要起到 DNA 或 RNA 复制的作用的载体复制，以及起到 DNA 或 RNA 转录和/或翻译的作用的表达载体。还包括提供多于一种上述作用的载体。“表达载体”是当被引入至合适的宿主细胞中时可以被转录并翻译成多肽的多核苷酸。“表达系统”通常意指包含能够用以产生所需表达产物的表达载体的合适的宿主细胞。

术语“有效量”或“治疗有效量”是指本文所述化合物足以实现下文所定义的预期应用（包括但不限于疾病治疗）的量。治疗有效量可根据预期的应用（体外或者体内）或者所治疗的受试者和疾病状况，例如受试者的体重和年龄、疾病状况的严重程度、施用方式等而不同，其可容易地由本领域普通技术人员来确定。该术语也适用于将会诱导靶细胞中的特定响应，例如靶基因诱导和/或细胞凋亡的剂量。具体剂量将根据所选择的特定化合物、将遵循的给药方案、是否与其它化合物联合施用、施用时机、施用的组织和将其携带的物理递送系统而不同。

如本文所用，“治疗”或“进行治疗”或“减轻”或“改善”在本文中可互换使用。这些术语是指用于获得有益或期望的结果（包括但不限于治疗益处和/或预防益处）的方法。所谓治疗益处意指正在治疗的潜在病症的根除或改善。另外，如下所述也获得治疗益处：一种或多种与潜在病症相关的生理学症状根除或改善，使得在受试者中观察到改善，尽管该受试者可能仍受潜在病症的折磨。

对于预防益处，可以将组合物施用于具有发展成特定疾病的风险的受试者或报告了疾病的一个或多个生理症状的受试者，即使可能还没有作出该疾病的诊断。

在本文中使用时，术语“治疗效果”涵盖上文所述的治疗益处和/或预防益处。预防效果包括延迟或消除疾病或状况的出现，延迟或消除疾病或状况的症状发作，减缓、停止或逆转疾病或状况的进展，或它们的任意组合。

“药剂”或“治疗剂”是指生物学的、药学的或化学的化合物或其它部分。非限制性实例包括简单的或复杂的有机或无机分子、肽、蛋白质、寡核苷酸、抗体、抗体衍生物、抗体片段、维生素衍生物、碳水化合物、毒素或化学治疗化合物。可以基于各种核心结构合成各种化合物，例如，小分子和寡聚体（例如寡肽和寡核苷酸）以及合成的有机化合物。另外，各种天然来源可以提供用于筛选的化合物，例如植物或动物提取物等。

术语“体内”是指在受试者体内发生的事件。

术语“体外”是指在受试者体外发生的事件。例如，体外试验涵盖在受试者试验之外运行的任何试验。体外试验涵盖基于细胞的试验，其中采用活细胞或死细胞。体外试验还涵盖无细胞试验，其中不采用完整的细胞。

Shfm1 (split hand/split foot malformation type 1) 基因是人蟹爪病中的关键基因之一，进化上高度保守，它所编码的蛋白 DSS1 参与到稳定基因组、同源基因重组、DNA 损伤修复和细胞增殖等过程 [22-26]。本发明人的研究结果显示 DSS1 蛋白作为标签可以通过耗能的酶促反应添加到氧化蛋白上，帮助细胞清除氧化蛋白[27]。这些结果显示DSS1蛋白在生物活动中的重要作用。

人 sDSS1 蛋白的序列如 SEQ ID NO: 1 所示。在一些具体实施方案中，本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至

少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性。在一些具体实施方案中，本文所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。在一些具体实施方案中，本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含的
5 不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的替换。在一些具体实施方案中，本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的替换。在一些具体实施方案中，本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的替换，其中所述替换为半胱氨酸被替换为苯并氨酸。在一些具体实施方案中，本文所
10 述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。在一些具体实施方案中，本文所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。

在一些具体实施方案中，本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体包括与如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID
15 NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的序列。

在一些具体实施方案中，本文所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与
20 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段。

在一些具体实施方案中，本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体包括本

文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体与其他功能性多肽的融合多肽。在一些具体实施方案中，所述功能性多肽能够促进所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的跨膜转运。在一些具体实施方案中，所述功能性多肽能够促进所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的稳定性。在一些具体实施方案中，所述功能性多肽能够促进所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与目标分子结合成复合物。在一些具体实施方案中，所述功能性多肽能够促进所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 oxLDL 的结合。在一些具体实施方案中，所述功能性多肽能够抑制所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体 oxLDL 被血管内皮细胞或者巨噬细胞的吸收。在一些具体实施方案中，所述功能性多肽能够促进所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体 oxLDL 被肝脏组织或者肝细胞的吸收。

在一些具体实施方案中，本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含在 1-20 个氨基酸上的化学修饰。在一些具体实施方案中，所述化学修饰包括氨基或者糖基化修饰、脂肪酸修饰、酰基化修饰、Fc 片段融合、白蛋白融合、聚乙二醇（PEG）修饰、右旋糖苷修饰、肝素修饰、聚乙烯吡咯烷酮修饰、聚氨基酸修饰、多聚唾液酸修饰、壳聚糖及其衍生物修饰、凝集素修饰、海藻酸钠修饰、卡波姆修饰、聚乙烯吡咯烷酮修饰、羟丙基甲基纤维素修饰、羟丙基纤维素修饰、乙酰化修饰、甲酰化修饰、磷酸化修饰、甲基化修饰和/或磺酸化修饰。在一些具体实施方案中，本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体在 N 末端包含 PEG 修饰。聚乙二醇的实例包括但不限于单甲氧基 PEG 马来酰亚胺、单甲氧基 PEG 碘乙酰胺或单甲氧基 PEG 丙醛。另外，聚乙二醇可以具有约 1Kd 至 200Kd、约 5Kd 至 200Kd、约 5Kd 至 150Kd、约 8Kd 至 150Kd、约 8Kd 至 100Kd、约 10Kd 至 100Kd、约 10Kd 至 50Kd、约 12Kd 至 50Kd 或约 12Kd 至 40Kd 的分子量。

在一些具体实施方案中，所述修饰的 sDSS1 蛋白或其片段或变体与未经修饰的 sDSS1 蛋白或其片段或变体相比，具有更长的半衰期。在一些具体实施方案中，所述修饰的 sDSS1 蛋白或其片段或变体与未经修饰的 sDSS1 蛋白或其片段或变体相比，具有更高的稳定性。在一些具体实施方案中，所述修
5 饰的 sDSS1 蛋白或其片段或变体与未经修饰的 sDSS1 蛋白或其片段或变体相比，具有更强的如本文所述的生物活性。

本文还提供表达本文公开的蛋白或多肽的宿主细胞。宿主细胞包括单个细胞、细胞培养物或细胞系。宿主细胞包括单一宿主细胞的后代。宿主细胞可以用包括本文所述的载体的异源序列转染。宿主细胞可以是原核的或真核的，例如细菌细胞、真菌细胞、动物细胞、昆虫细胞、植物细胞等。细菌宿
10 主细胞的实例包括属于埃希氏菌属 (*Escherichia*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*)、杆菌属 (*Bacillus*)、短杆菌属 (*Brevibacterium*)、棒杆菌属 (*Corynebacterium*)、微杆菌属 (*Microbacterium*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 等的微生物。例如，细菌宿主细胞可以包括但不限于大肠杆菌 (*Escherichia coli*) XL1-Blue、
15 XL2-Blue、DH1、MC1000、KY3276、W1485、JM109、HB101、No. 49、i W3110、NY49、G1698、BL21 或 TB1。其它细菌宿主细胞可以包括但不限于无花果沙雷氏菌 (*Serratia ficaria*)、居泉沙雷氏菌 (*Serratia fonticola*)、液化沙雷氏菌 (*Serratia liquefaciens*)、粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、产氨短杆
20 菌 (*Brevibacterium ammoniagenes*)、*Brevibacterium immariophilum* ATCC 14068、解糖短杆菌 (*Brevibacterium saccharolyticum*) ATCC 14066、黄色短杆菌 (*Brevibacterium flavum*) ATCC 14067、乳糖发酵短杆菌 (*Brevibacterium lactofermentum*) ATCC 13869、谷氨酸棒杆菌 (*Corynebacterium glutamicum*)

ATCC 13032、谷氨酸棒杆菌 (*Corynebacterium glutamicum*) ATCC 13869、嗜乙酰乙酸棒杆菌 (*Corynebacterium acetoacidophilum*) ATCC 13870、嗜氨微杆菌 (*Microbacterium ammoniaphilum*) ATCC 15354; 恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*)、假单胞菌 (*Pseudomonas sp.*) D-0110 等。

- 5 酵母宿主细胞可以包括属于克鲁维酵母属 (*Kluyveromyces*)、丝孢酵母属 (*Trichosporon*)、酵母属 (*Saccharomyces*)、裂殖酵母属 (*Schizosaccharomyces*)、许旺酵母属 (*Schwanniomyces*)、毕赤酵母属 (*Pichia*)、假丝酵母属 (*Candida*) 等的微生物, 例如酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、乳酸克鲁维酵母 (*Kluyveromyces lactis*)、茁芽丝孢酵母 (*Trichosporon pullulans*)、河岸许旺酵母属 (*Schwanniomyces alluvius*)、产脲假丝酵母 (*Candida utilis*) 等的微生物。

真核细胞的实例包括动物细胞, 如哺乳动物细胞。例如, 宿主细胞包括但不限于中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 或猴细胞, 例如 COS 细胞、HepG2 细胞、A549 细胞, 和可通过 ATCC 或其它保藏机构获得的任何细胞。

- 15 本公开内容的宿主细胞可以在培养物中以及在可以用来使培养物生长的任何设备 (包括发酵罐) 中生长。它们可以生长为单层或贴附至表面。或者, 宿主细胞可以悬浮生长。细胞可以在不含血清的培养基中生长。该培养基可以是商业可得的培养基, 例如但不限于用谷氨酰胺如 8mM L-谷氨酰胺补充的 Opti-CHO (Invitrogen, Catalogue #12681)。

- 20 本公开内容的宿主细胞可以包含异源序列以实现本文所述的多肽或蛋白的表达。该异源序列可以包含载体, 该载体是优选地自我复制的核酸分子, 其将所插入的核酸分子转移到宿主细胞之内和/或之间。载体可以包括主要起到将 DNA 或 RNA 插入至细胞内的作用的载体, 主要起到 DNA 或 RNA 复制

的作用的载体复制,以及起到 DNA 或 RNA 转录和/或翻译的作用的表达载体。还包括提供多于一种上述作用的载体。表达载体是当被引入到合适的宿主细胞中时可以被转录并翻译成多肽的多核苷酸。

编码本文所述的蛋白或多肽的异源序列可以由单种或多种载体表达。核酸序列可以在单个操纵子中或在置于一种或多种载体中的单独的操纵子中以任何顺序布置。当需要时,可以利用 2 种或更多种表达载体,其各自包含在单个操纵子中有效连接的一个或多个异源序列。连接的是指通过包括化学偶联或重组手段在内的任何手段将两个或更多个化学元件或组分连接在一起。有效连接的是指并置,其中如此描述的组分处于允许它们以其预期方式起作用的关系中。例如,如果启动子序列促进编码序列的转录,则该启动子序列连接或有效连接至该编码序列。本文所述的载体可以是可附加型复制的,或作为宿主细胞基因组的组成部分。

本公开内容的异源序列可以处于单个调节元件的控制下。在一些情况下,异源核酸序列由单个启动子调节。在其它情况下,异源核酸序列被置于单个操纵子内。在又一些情况下,异源核酸序列被置于单个阅读框内。

本文所述的核酸的制备可以通过多种常规重组技术和合成程序进行。标准的重组 DNA 和分子克隆技术在本领域中是公知的,并由 Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, (1989) (Maniatis)和 T. J. Silhavy, M. L. Bennis, and L. W. Enquist, *Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1984)和 Ausubel, F. M.等, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience (1987)描述。简言之,本文所述的核酸可以被制备为基因组

DNA 片段、cDNA 和 RNA，其全部可以从细胞中直接提取或通过包括但不限于 PCR 和 rtPCR 的多种扩增方法重组地产生。

核酸的直接化学合成通常涉及 3'-封端的和 5'-封端的核苷酸单体向生长的核苷酸聚合物链的末端 5'-羟基上的顺序添加，其中各个添加通过生长链的末端 5'-羟基对添加的单体的 3'-位的亲核攻击而实现，该添加的单体通常是磷衍生物，例如磷酸三酯、亚磷酰胺等。此方法是本领域普通技术人员已知的并描述在相关文本和文献中（例如，Matteucci 等, Tet. Lett. 521:719 (1980); 授予 Caruthers 等的美国专利 4,500,707；和授予 Southern 等的美国专利 5,436,327 和 5,700,637）。

10 调节元件包括例如启动子和操纵基因，其还可以被工程化以增加编码糖蛋白的一个或多个异源序列的表达。启动子是启动和控制通过 RNA 聚合酶的核酸序列转录的核苷酸序列。操纵基因是与启动子相邻的起到控制所需核酸序列的转录的作用的核苷酸序列。操纵基因包含蛋白质结合域，在其中可以结合特定的阻抑蛋白。在缺少合适的阻抑蛋白的情况下，转录通过启动子启动。在存在合适的阻抑蛋白的情况下，阻抑蛋白结合至操纵基因并由此抑制自启动子的转录。

在本公开内容的一些实施方案中，表达载体中所用的启动子是诱导型的。在其它一些实施方案中，表达载体中所用的启动子是组成型的。在一些实施方案中，一个或多个核酸序列有效连接至诱导型启动子，而一个或多个其它核酸序列有效连接至组成型启动子。用于真核宿主细胞的合适启动子的非限制实例包括但不限于 CMV 立即早期启动子、HSV 胸苷激酶启动子、早期或晚期 SV40 启动子、来自逆转录病毒的 LTR 和小鼠金属硫蛋白-I 启动子。

表达载体中的基因通常也将编码核糖体结合位点以引导任何编码的

mRNA 基因产物的翻译（即，合成）。可以在表达载体中使用的其它调节元件包括转录增强子元件和转录终止子。参见，例如 Bitter 等，Methods in Enzymology, 153:516-544 (1987)。

表达载体可以适用于特定类型的宿主细胞而非其它宿主细胞。但是，本
5 领域普通技术人员可以通过常规的试验容易地确定特定的表达载体是否适用于给定的宿主细胞。例如，可以将表达载体引入到宿主生物体中，随后监测其存活性和在载体中包含的任何基因的表达。

表达载体还可包含一个或多个选择性标记基因，该选择性标记基因经表达，赋予对于选择或以其它方式鉴别携带该表达载体的宿主细胞有用的一种
10 或多种表型性状。用于真核细胞的合适的选择性标记的非限制性实例包括二氢叶酸还原酶和新霉素抗性。

可以通过多种已建立的技术将本文所述的载体稳定地或暂时地引入宿主细胞中。例如，一种方法涉及氯化钙处理，其中通过钙沉淀引入表达载体。其它盐，例如磷酸钙，也可以依循相似的程序使用。此外，可以使用电穿孔
15 （即，施加电流以提高细胞对核酸的通透性）。其它转化方法包括显微注射、DEAE 葡聚糖介导的转化和在乙酸锂存在下的热激。脂质复合物、脂质体和树状聚体也可以用于转染宿主细胞。

在异源序列引入宿主细胞中后，可以实施多种方法来鉴别已经引入本文所述的载体的宿主细胞。一种示例性选择方法涉及传代培养单个细胞以形成
20 单个群落，接着检测所需蛋白质产物的表达。另一种方法需要基于通过包含在表达载体中的选择性标记基因的表达而赋予的表型性状来选择包含异源序列的宿主细胞。普通技术人员可以使用这些或本领域中可得的其它方法鉴别遗传修饰的宿主细胞。

例如，本公开内容的多种异源序列向宿主细胞中的引入可以通过诸如 PCR、Southern 印迹或 Northern 印迹等方法来证实。例如，核酸可以由所得宿主细胞制备，且感兴趣的特定序列可以通过使用对感兴趣的序列具有特异性的引物的 PCR 来扩增。扩增的产物经历琼脂糖凝胶电泳、聚丙烯酰胺凝胶电泳或毛细管电泳，接着用溴化乙锭、SYBR Green 溶液等染色，或用 UV 检测来检测 DNA。或者，可以在杂交反应中使用对所感兴趣的序列具有特异性的核酸探针。可以通过经由逆转录耦合的 PCR、Northern 印迹杂交而检测相应的 mRNA，或者通过使用对编码的基因产物具有反应性的抗体进行免疫测定，来确定特定基因序列的表达。示例性免疫测定包括但不限于 ELISA、放射免疫测定和夹心免疫测定。

此外，本公开内容的多种异源序列向宿主细胞中的引入可以通过异源序列所编码的酶的酶活性来证实。所述酶可以通过本领域中已知的多种方法测定。通常，酶活性可以通过所研究的酶反应的产物的形成或底物的转化来确定。该反应可以在体外或在体内发生。

15

在一个方面，本文提供了一种治疗动脉粥样硬化和/或动脉粥样硬化相关的疾病的方法，包括向所述个体给予治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体、编码所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的核酸或者包含所述核酸的载体，向所述个体移植表达所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的细胞、或者含有所述 sDSS1 蛋白或其片段变体或所述核酸的组织或器官，和/或向所述个体输注含有所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体或所述核酸的血清、脑脊液、淋巴液或组织间液。

在另一个方面，本文提供了一种用于降低有此需要的个体中血管对脂质

的吸收的方法，包括向所述个体给予治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体、编码所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的核酸或者包含所述核酸的载体，向所述个体移植表达所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的细胞、或者含有所述 sDSS1 蛋白或其片段变体或所述核酸的组织或器官，和/或向所述个体输注含
5 有所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体或所述核酸的血清、脑脊液、淋巴液或组织间液。

在另一个方面，本文提供了一种用于降低有此需要的个体中脂质在巨噬细胞中积聚的方法，包括向所述个体给予治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体、编码所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的核酸或者包含所述核酸的载体，向所述个体移植表达所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的细胞、或者含有
10 有所述 sDSS1 蛋白或其片段变体或所述核酸的组织或器官，和/或向所述个体输注含有所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体或所述核酸的血清、脑脊液、淋巴液或组织间液。

在另一个方面，本文提供了一种用于提高有此需要的个体中脂质在肝细胞中的积聚的方法，包括向所述个体给予治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体、编码所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的核酸或者包含所述核酸的载体，向所述个体移植表达所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的细胞、或者含有
15 有所述 sDSS1 蛋白或其片段变体或所述核酸的组织或器官，和/或向所述个体输注含有所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体或所述核酸的血清、脑脊液、淋巴液
20 或组织间液。

在另一个方面，本文提供了一种 sDSS1 蛋白或其片段或变体与脂质的复合物。

在另一个方面，本文提供了一种筛选治疗有此需要的个体中动脉粥样硬

化或动脉粥样相关的疾病的治疗剂的方法,包括将所述治疗剂与 sDSS1 蛋白、sDSS1 蛋白的基因、sDSS1 的基因的调控元件、sDSS1 的基因的转录产物接触,并评价所述治疗剂对 sDSS1 蛋白表达的作用。

自 1955 年至今的流行病学数据、临床前研究及临床试验数据表明,以低
5 密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-c)升高为特点的
血脂异常是动脉粥样硬化性心血管疾病(atherosclerotic cardiovascular disease, ASCVD)重要的危险因素,与心血管疾病的发病率及死亡率呈正相关。ASCVD 患者中 LDL 及氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, oxLDL)有明显升高,并且与心血管事件具有相关性[1]。降低 LDL 及 oxLDL
10 水平,可显著减少 ASCVD 的发病及死亡危险[2-7]。其他类型的血脂异常,如 TG 增高或高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)降低与 ASCVD 发病危险的升高也存在一定的关联[8, 9]。

LDL 在体内的活性氧(reactive oxygen species, ROS)作用下在动脉血管壁内皮层形成 oxLDL。oxLDL 可以通过参与血管内皮细胞的异常激活、巨噬细
15 胞的吞噬及泡沫细胞的形成而促进动脉粥样硬化发生和发展[10-12]。血管内皮细胞在异常激活时,其表面所表达的整合素、粘附分子及其分泌的趋化因子等均明显增加。这些功能上的改变使循环系统中的单核细胞更容易粘附和迁移至血管内膜中,并进一步分化为巨噬细胞。巨噬细胞通过其表面的清道夫受体摄取 oxLDL。随着脂质在巨噬细胞中的积聚,巨噬细胞逐渐转变为泡
20 沫细胞并凋亡或坏死。巨噬细胞及泡沫细胞可以进一步释放更多的趋化因子招募更多的单核巨噬细胞及平滑肌细胞细胞向内膜迁移,最终形成动脉粥样斑块[13]。通过减少细胞对 oxLDL 的摄取,抑制血管内皮细胞的异常激活及巨噬细胞对 oxLDL 的摄取可以阻止或延缓动脉粥样硬化的进展[14-16]。

相应地，在一个方面，本文所述的组合物、方法和/或多肽可用于用于降低由此需要的个体中血管内皮细胞或巨噬细胞对脂质的吸收。更进一步地，在另一个方面，本文提供了一种修饰的细胞，其在与本文所述的组合物和/或多肽接触后具有降低的对血液脂质或者胆固醇的吸收。在一些具体实施方案

5 中，所述的细胞为血管内皮细胞。在一些具体实施方案中，所述的细胞为巨噬细胞。在一些具体实施方案中，所述修饰的细胞在与本文所述的组合物和/或多肽接触后对血液脂质或者胆固醇的吸收降低了至少 5%。在一些具体实施方案中，所述修饰的细胞在与本文所述的组合物和/或多肽接触后对血液脂质或者胆固醇的吸收降低了至少 10%。在一些具体实施方案中，所述修饰的细胞在与本文所述的组合物和/或多肽接触后对血液脂质或者胆固醇的吸收降

10 低了至少 20%。在一些具体实施方案中，所述修饰的细胞在与本文所述的组合物和/或多肽接触后对血液脂质或者胆固醇的吸收降低了至少 30%。在一些具体实施方案中，所述修饰的细胞在与本文所述的组合物和/或多肽接触后对血液脂质或者胆固醇的吸收降低了至少 40%。在一些具体实施方案中，所述

15 修饰的细胞在与本文所述的组合物和/或多肽接触后对血液脂质或者胆固醇的吸收降低了至少 50%。在一些具体实施方案中，所述修饰的细胞在与本文所述的组合物和/或多肽接触后对血液脂质或者胆固醇的吸收降低了至少 100%。

oxLDL 来自于动脉血管壁中 LDL 的氧化修饰，其产生与机体内的氧化压力水平呈正相关。oxLDL/LDL 比值可以作为反应患者的脂质氧化水平的评价

20 指标[17-19]。OxLDL 和 LDL 可分别通过肝细胞表面的清道夫受体 I (scavenger receptor class B type I, SR-BI) 和低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR) 进入肝细胞，进而被代谢清除[20,21]。因此，降低机体脂

质氧化水平、增加 oxLDL 由肝细胞清除可以作为预防和治疗高脂血脂导致的心脑血管疾病的途径。本文所述的组合物和/或多肽能够降低机体脂质氧化水平。因此，在一个方面，本文提供了一种降低机体脂质氧化水平的方法。在另一个方面，本文所述的组合物和/或多肽能够降低个体中 oxLDL/LDL 的比值。与治疗之前相比，在一些具体实施方案中，在给予本文所述的组合物和/或多肽之后，所述个体中的 oxLDL/LDL 的比值降低了至少 10%。在一些具体实施方案中，在给予本文所述的组合物和/或多肽之后，所述个体中的 oxLDL/LDL 的比值降低了至少 20%。在一些具体实施方案中，在给予本文所述的组合物和/或多肽之后，所述个体中的 oxLDL/LDL 的比值降低了至少 30%。在一些具体实施方案中，在给予本文所述的组合物和/或多肽之后，所述个体中的 oxLDL/LDL 的比值降低了至少 40%。在一些具体实施方案中，在给予本文所述的组合物和/或多肽之后，所述个体中的 oxLDL/LDL 的比值降低了至少 50%。在一些具体实施方案中，在给予本文所述的组合物和/或多肽之后，所述个体中的 oxLDL/LDL 的比值降低了至少 100%。

在一个发明，本文提供了一种降低个体血管中的循环氧化 LDL 的量的方法，包括向所述个体给予包含有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体能够与游离氧化 LDL 形成复合物。

就本文而言，术语“游离”是相对于与本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体形成的复合物而言。例如，以 oxLDL 为例，未与本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体结合形成复合物的 oxLDL 就本文而言被称作“游离的” oxLDL。相比之下，与本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体结合形成复合物的 oxLDL 被称作非游离的、复合的、或者结合的 oxLDL，或者被称作蛋白-oxLDL 复合物。

不受理论所限，据信本文所述的多肽能够与血液中的游离脂质分子形成复合物，从而阻断所述脂质分子在血管组织中的积聚，并从而降低了血管中斑块形成的风险以及发生动脉粥样硬化以及相关疾病的风险。因此，在一个方面，本文提供了一种以蛋白质-脂质复合物形式封存血管中循环的游离氧化

5 LDL 的方法，包括将所述氧化 LDL 暴露于所述蛋白质，以在血管中形成所述蛋白质-脂质复合物，其中所述蛋白质为本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体。在一个方面，本文还提供了一种蛋白与血液中脂质形成的复合物，所述蛋白质为本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体。

因此，在一些实施方案中，本文所述的组合物、方法和/或多肽可用于预防

10 防和/或治疗动脉粥样硬化或动脉粥样相关的疾病。

在一些实施方案中，本文所述的动脉粥样硬化是由于脂质在动脉血管管壁中积聚形成脂质条纹或粥样斑块导致的动脉血管功能障碍。在一些实施方案中，本文所述的动脉粥样硬化包括由于血管内的斑块形成导致的动脉血管舒缩功能下降、管腔狭窄甚至血栓，进而影响由该动脉所供血的组织器官的

15 血供，导致组织器官的局部或全部的缺血。

在一些实施方案中，本文所述的动脉粥样相关的疾病包括动脉粥样硬化相关的心血管疾病或者动脉粥样硬化相关的外周血管疾病。在一些实施方案中，所述的动脉粥样硬化相关的疾病包括但不限于血管内径狭窄、血管外径扩张、血管收缩及扩增能力下降、血管弹性下降、血管脆性升高、血管壁钙

20 化或钙质沉着、血栓导致的血管供血能力下降、高血压、心绞痛、心肌梗塞、心肌供血不足、心律失常、脑供血不足、缺血性脑卒中、脑萎缩、肾功能不全、肾动脉狭窄、麻痹性肠梗阻和/或肢端缺血坏死。

就血液或者血管中的循环脂质或者胆固醇含量而言，术语“脂质”或者

“胆固醇”可互换使用。胆固醇以一种或多种游离或酯化胆固醇的形式存在于血液中，例如脂蛋白颗粒或者乳糜微粒(chylomicron)、极低密度脂蛋白(VLDL)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)。因此，就本文而言，所述脂质或者胆固醇包括血液中的胆固醇、胆固醇酯、甘油三酯、乳糜微粒

5 (chylomicron, CM)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)、中间密度脂蛋白(intermediate density lipoprotein, IDL)、脂蛋白(a)(lipoprotein(a), Lp(a))、氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, oxLDL)的一种或几种及其各自的代谢中间物。在一些具体实施方案中，本文所述的脂质或者胆

10 固醇是指脂蛋白。在一些具体实施方案中，本文所述的脂质或者胆固醇是指低密度脂蛋白(LDL)。在一些具体实施方案中，本文所述的脂质或者胆固醇是指氧化的低密度脂蛋白(oxLDL)。

血液中总胆固醇的浓度受到个体从消化道中吸收胆固醇，由如碳水化合物、蛋白质、脂肪和乙醇等的膳食成分合成胆固醇，以及通过组织从血液中

15 清除胆固醇，之后胆固醇被转化成胆汁酸、类固醇激素和胆汁胆固醇。肝是从血液中清除胆固醇的重要器官。预防和/或治疗动脉粥样硬化的方法包括降低血液中循环胆固醇含量。肝细胞对于胆固醇清除能够降低血液中循环胆固醇的含量，从而降低动脉粥样硬化的风险。因此，一个有效的预防和/或治疗动脉粥样硬化的方法包括提高肝细胞对脂质的吸收或者清除。相应地，在一

20 个方面，本文所述的组合物、方法和/或多肽可用于提高有此需要的个体中脂质在肝细胞中的积聚的方法。在一些具体实施方案中，本文所述的组合物、方法和/或多肽有效提高了肝细胞对血液脂质的吸收，并从而降低了血液中循环的脂质的含量。在一些具体实施方案中，本文所述的组合物、方法和/或多

肽有效提高了肝细胞对血液中循环 oxLDL 的吸收,从而降低了血液中循环 oxLDL 的含量。

血液中循环胆固醇浓度受遗传以及环境因素的影响。遗传因素包括胆固醇生物合成限速酶的浓度、肝中低密度脂蛋白受体的浓度、转换胆固醇胆汁酸的限速酶的浓度、脂蛋白合成和分泌速度和人的性别等。影响人体内血胆固醇浓度稳态的环境因素包括饮食结构、吸烟频率、体育锻炼和多种药物的使用。饮食变量包括脂肪(饱和和多聚不饱和脂肪酸)的量和类型、胆固醇的量、纤维的量和类型、维生素如维生素 C 和 D、以及矿物质如钙的量。

本文所述的方法还包括向所述个体给予降血脂药,包括他汀类、贝特类、胆固醇吸收抑制剂、普罗考布、胆酸螯合剂、烟酸类及前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 抑制剂等。在一些具体实施方案中,本文所述的方法还包括向所述个体给予低胆固醇膳食。在一些具体实施方案中,本文所述的方法还包括向所述个体给予包含高纤维含量的膳食。在一些具体实施方案中,本文所述的方法包括使所述个体每周的运动量增加。在一些具体实施方案中,本文所述的方法包括使所述个体每周的运动量增加至少 10%。在一些具体实施方案中,本文所述的方法包括使所述个体每周的运动量增加至少 20%。在一些具体实施方案中,本文所述的方法包括使所述个体每周的运动量增加至少 30%。在一些具体实施方案中,本文所述的方法包括使所述个体每周的运动量增加至少 40%。在一些具体实施方案中,本文所述的方法包括使所述个体每周的运动量增加至少 50%。在一些具体实施方案中,本文所述的方法包括使所述个体每周的运动量增加至少 100%。

在一些具体实施方案中,本文所述的方法包括向所述个体给予治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体。在一些具体实施方案中,本文所述的方法

包括向所述个体给予有效量的编码所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的核酸或者包含所述核酸的载体。在一些具体实施方案中，本文所述的方法包括向所述个体移植表达所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的细胞、或者含有所述 sDSS1 蛋白或其片段变体或所述核酸的组织或器官。在一些具体实施方案中，
5 本文所述的方法包括向所述个体输注含有所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体或所述核酸的血清、脑脊液、淋巴液或组织间液。在一些具体实施方案中，本文所述的方法包括上述中的一种或多种。

在一些具体实施方案中，所述个体是哺乳动物。在一些具体实施方案中，所述个体是人。在一些具体实施方案中，所述个体可以是小鼠、大鼠、猫、
10 狗、兔、绵羊、马、牛、山羊、沙鼠、仓鼠、豚鼠、猴或任何其它哺乳动物。

在一些具体实施方案中，所述个体经历外科手术。在一些具体实施方案中，所述个体经历包括经皮冠状动脉介入治疗、冠状动脉旁路移植术和/或颈动脉内膜切除术的外科手术。

本文所述的组合物包含本文所述的活性成分（包括本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体、编码本文所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体的核酸、包含所述核酸的载体、包含所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体或者所述核酸的细胞、组织和/或器官，包括血清、脑脊液、淋巴液和/或组织间液等），以及一种或多种药学上可接受的赋形剂、载体，其包括但不限于惰性固体稀释剂和填充剂、稀释剂、无菌水溶液和多种有机溶剂、渗透促进剂、增溶剂和助剂。
15
20 下面描述了非限制示例性药物组合物及其制备方法。

本文所述的组合物可以例如是适于作为片剂、胶囊、丸剂、粉末、持续释放制剂、溶液、悬浮液口服，适于作为无菌溶液、悬浮液或乳液肠胃外注射，适于作为软膏或乳膏局部给药，或适于作为栓剂直肠给药的形式。该药

物组合物可以是适于单次施用精确剂量的单位剂型。

示例性的肠胃外给药形式包括本文所述的活性成分在无菌水溶液如丙二醇水溶液或右旋糖溶液中的溶液或悬浮液。如果需要的话，这样的剂型可以用盐如组氨酸和/或磷酸盐适当地缓冲。

- 5 在一些情况下，本发明提供用于注射的药物组合物，其含有本文所述的活性成分和适于注射的药物赋形剂。组合物中的组分和药剂量如本文所述。

可以掺入本发明的新型组合物以供注射给药的形式包括水性或油性悬浮液或乳液，其具有芝麻油、玉米油、棉籽油或花生油，以及酞剂、甘露醇、右旋糖或无菌水溶液以及类似的药物载体。

- 10 在盐水中的水性溶液也常规用于注射。也可以采用乙醇、甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等（及其合适的混合物）、环糊精衍生物和植物油。适当的流动性可以如下维持：例如，通过使用包衣，如卵磷脂，在分散体的情况下维持所需要的颗粒大小，以及通过使用表面活性剂。可以用各种抗菌剂和抗真菌剂，例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等来阻止微生物的作用。
- 15

- 无菌注射溶液可通过下列步骤制备：将本发明的本文所述的活性成分以所需的量掺入至根据需要具有以上列举的各种其它成分的适当溶剂中，然后过滤灭菌。一般而言，通过将各种灭菌的活性成分掺入至包含基本分散介质和来自以上列举的那些的所需其它成分的无菌载体中来制备分散体。在用于
- 20 制备无菌注射溶液的无菌粉末的情况下，某些期望的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术，该技术从其先前无菌过滤的溶液产生活性成分加任何额外所需成分的粉末。

在一些情况下，本发明提供了用于口服给药的药物组合物，其含有本文

所述的活性成分以及适于口服给药的药物赋形剂。

在一些情况下，本发明提供了用于口服给药的固体药物组合物，其含有：

- (i) 有效量的本文所述的活性成分；任选的 (ii) 有效量的第二药剂；以及
(iii) 适于口服给药的药物赋形剂。在一些实施方案中，该组合物进一步含
5 有：(iv) 有效量的第三药剂。

在一些情况下，该药物组合物可以是适合于口服的液体药物组合物。适于口服给药的本文所述的组合物可以呈现为离散的剂型，例如胶囊、扁囊剂或片剂，或各自含有预定量的活性成分的液体或气溶胶喷雾剂，作为粉末或为颗粒，溶液，或在水性或非水性液体中的悬浮液，水包油型乳液，或油包
10 水型液体乳液。这样的剂型可通过任何药学方法制备，但所有方法都包括将活性成分与构成一种或多种必需成分的载体相组合的步骤。一般而言，该组合物如下制备：均匀地和紧密地将活性成分与液体载体或细碎的固体载体或两者混合，然后，如果需要的话，将产物成形为所需的呈现形式。

本发明进一步包括包含活性成分的无水药物组合物和剂型，因为水可以促进一些多肽的降解。例如，在药学领域中可以加入水（例如，5%）作为模拟长期贮存的手段，以确定诸如制剂的贮存期限或随时间的稳定性等特性。
本发明的无水药物组合物和剂型可以使用无水或含有低水分的成分和低水分或低湿度条件来制备。如果预计在制造、包装和/或贮存期间与水分和/或湿气发生实质性接触，则含有乳糖的本文所述的组合物和剂型可制成无水的。无
20 水药物组合物可以这样制备和贮存，以使其无水性质得到保持。因此，无水组合物可以使用已知防止暴露于水的材料进行包装，使得它们可以包含于合适的制剂用药盒（formulary kit）中。合适的包装的实例包括但不限于气密封的箔、塑料等，单位剂量容器、泡罩包装和条带包装。

可以按照常规药物配混技术，将本文所述中的活性成分与药物载体紧密混合地合并。该载体可根据给药所期望的制剂形式而采取多种形式。在制备用于口服剂型的组合物时，任何常用的药物介质都可用作载体，例如在口服液体制剂（如悬浮液、溶液和酏剂）或气溶胶的情况下的水、二醇、油、醇、
5 调味剂、防腐剂、着色剂等；或者在口服固体制剂的情况下可使用诸如淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、成粒剂、润滑剂、粘合剂和崩解剂等载体，在一些实施方案中不使用乳糖。例如，在固体口服制剂中，合适的载体包括粉末、胶囊和片剂。如果需要的话，片剂可以通过标准水性或非水性技术进行包衣。

适用于药物组合物和剂型的粘合剂包括但不限于，玉米淀粉、马铃薯淀粉
10 粉或其它淀粉，明胶，天然和合成的树胶如阿拉伯胶、藻酸钠、藻酸、其它藻酸盐、粉状西黄蓍胶、瓜尔胶，纤维素及其衍生物（例如乙基纤维素、醋酸纤维素、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠），聚乙烯吡咯烷酮，甲基纤维素，预胶化淀粉，羟丙基甲基纤维素，微晶纤维素，以及它们的混合物。

用于本文公开的药物组合物和剂型中的合适的填充剂的实例包括但不限于，
15 于，滑石、碳酸钙（例如，颗粒或粉末）、微晶纤维素、粉状纤维素、葡萄糖结合剂、高岭土、甘露醇、硅酸、山梨醇、淀粉、预胶化淀粉以及它们的混合物。

崩解剂可用于本发明的组合物中，以提供当暴露于水性环境时崩解的片剂。过多的崩解剂可产生在瓶中即可崩解的片剂。过少则可能不足以发生崩
20 解并因此可以改变活性成分从剂型中的释放速率和程度。因此，可以使用既不过少也过多从而不会有害地改变活性成分的释放的足量的崩解剂来形成本文公开的化合物的剂型。使用的崩解剂的量可以根据制剂的类型和给药方式而不同，并且本领域普通技术人员可以很容易地辨别。约 0.5 至约 15 重量%

的崩解剂或约 1 至约 5 重量%的崩解剂可以在药物组合物中使用。可用于形成本文所述的组合物和剂型的崩解剂包括但不限于，琼脂、藻酸、碳酸钙、微晶纤维素、交联羧甲基纤维素钠、交聚维酮、聚克立林钾、羟乙酸淀粉钠、马铃薯或木薯淀粉、其它淀粉、预胶化淀粉、其它淀粉、粘土、其它藻胶、
5 其它纤维素、树胶或其混合物。

可用于形成本文所述的组合物和剂型的润滑剂包括但不限于，硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨醇、甘露醇、聚乙二醇、其它二醇、硬脂酸、月桂基硫酸钠、滑石、氢化植物油（例如花生油、棉籽油、葵花籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油）、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂
10 酸乙酯、琼脂或它们的混合物。其它的润滑剂包括，例如 syloid 硅胶、合成二氧化硅的凝聚型气溶胶或其混合物。可任选地以低于药物组合物的约 1 重量%的量加入润滑剂。

当需要水性悬浮液和/或酞剂供口服给药时，其内的活性成分可与各种甜味剂或调味剂、着色物质或染料以及（如果需要的话）乳化剂和/或悬浮剂，
15 连同诸如水、乙醇、丙二醇、甘油及其各种组合的稀释剂一起组合。

片剂可以是未包衣的，或通过已知技术进行包衣以延迟在胃肠道中的崩解和吸收，从而提供在较长时期内的持续作用。例如，可采用时间延迟材料，例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。口服使用的制剂还可以呈现为硬明胶胶囊，其中活性成分与惰性固体稀释剂如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合，
20 或者呈现为软明胶胶囊，其中活性成分与水或油介质如花生油、液体石蜡或橄榄油混合。

可用于形成本文所述的组合物和剂型的表面活性剂包括但不限于亲水性表面活性剂、亲脂性表面活性剂以及它们的混合物。即，可采用亲水性表面

活性剂的混合物，可采用亲脂性表面活性剂的混合物，或者可采用至少一种亲水性表面活性剂和至少一种亲脂性表面活性剂的混合物。

具有较低 HLB 值的表面活性剂是更亲脂性或疏水性的，并且在油中具有较高的溶解度，而具有较高 HLB 值的表面活性剂是更亲水性的，并且在水溶液中具有更高的溶解度。亲水性表面活性剂通常被认为是 HLB 值大于约 10 的那些化合物以及 HLB 标度通常不适用的阴离子、阳离子或两性离子化合物。类似地，亲脂性（即疏水性）表面活性剂是 HLB 值等于或小于约 10 的化合物。然而，表面活性剂的 HLB 值仅仅是粗略的指导，通常用来支持工业、药物和化妆品乳液的配制。

10 亲水性表面活性剂可以是离子型的或非离子型的。合适的离子型表面活性剂包括但不限于，烷基铵盐；夫西地酸盐；氨基酸、寡肽和多肽的脂肪酸衍生物；氨基酸、寡肽和多肽的甘油酯衍生物；卵磷脂和氢化卵磷脂；溶血卵磷脂和氢化溶血卵磷脂；磷脂及其衍生物；溶血磷脂及其衍生物；肉碱脂肪酸酯盐；烷基硫酸酯的盐；脂肪酸盐；多库酯钠；酰基乳酸酯；单甘油酯
15 和二甘油酯的单乙酰化酒石酸酯和二乙酰化酒石酸酯；琥珀酰化的单甘油酯和二甘油酯；单甘油酯和二甘油酯的柠檬酸酯；和它们的混合物。

在上述组中，离子型表面活性剂包括，例如：卵磷脂、溶血卵磷脂、磷脂、溶血磷脂及其衍生物；肉碱脂肪酸酯盐；烷基硫酸酯的盐；脂肪酸盐；多库酯钠；酰基乳酸酯；单甘油酯和二甘油酯的单乙酰化酒石酸酯和二乙酰
20 化酒石酸酯；琥珀酰化的单甘油酯和二甘油酯；单甘油酯和二甘油酯的柠檬酸酯；和它们的混合物。

离子型表面活性剂可以是卵磷脂、溶血卵磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酸、磷脂酰丝氨酸、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰

乙醇胺、溶血磷脂酰甘油、溶血磷脂酸、溶血磷脂酰丝氨酸、PEG-磷脂酰乙醇胺、PVP-磷脂酰乙醇胺、脂肪酸的乳酰酯、硬脂酰-2-乳酸酯、硬脂酰乳酸酯、琥珀酰化单甘油酯、单/二甘油酯的单/二乙酰化的酒石酸酯、单/二甘油酯的柠檬酸酯、胆酰肌氨酸 (cholylsarcosine)、己酸酯、辛酸酯、癸酸酯、月桂酸酯、肉豆蔻酸酯、棕榈酸酯、油酸酯、蓖麻油酸酯、亚油酸酯、亚麻酸酯、硬脂酸酯、月桂基硫酸酯、四鲸蜡基硫酸酯 (teracecyl sulfate)、多库酯、月桂酰肉碱、棕榈酰肉碱、肉豆蔻酰肉碱及其盐和混合物的离子化形式。

亲水性非离子型表面活性剂可以包括但不限于，烷基糖苷；烷基麦芽糖苷；烷基硫代糖苷；月桂基聚乙二醇甘油酯；聚氧化烯烷基醚如聚乙二醇烷基醚；聚氧化烯烷基酚如聚乙二醇烷基酚；聚氧化烯烷基酚脂肪酸酯如聚乙二醇脂肪酸单酯和聚乙二醇脂肪酸二酯；聚乙二醇甘油脂肪酸酯；聚甘油脂肪酸酯；聚氧化烯脱水山梨醇脂肪酸酯如聚乙二醇脱水山梨醇脂肪酸酯；多元醇与由甘油酯、植物油、氢化植物油、脂肪酸和甾醇组成的组的至少一个成员的亲水性酯交换产物；聚氧乙烯甾醇及其衍生物和类似物；聚氧乙烯化维生素及其衍生物；聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物；和它们的混合物；聚乙二醇脱水山梨醇脂肪酸酯以及多元醇与由甘油三酯、植物油和氢化植物油组成的组的至少一个成员的亲水性酯交换产物。该多元醇可以是甘油、乙二醇、聚乙二醇、山梨醇、丙二醇、季戊四醇或糖类。

其它亲水性非离子型表面活性剂包括但不限于，PEG-10 月桂酸酯、PEG-12 月桂酸酯、PEG-20 月桂酸酯、PEG-32 月桂酸酯、PEG-32 二月桂酸酯、PEG-12 油酸酯、PEG-15 油酸酯、PEG-20 油酸酯、PEG-20 二油酸酯、PEG-32 油酸酯、PEG-200 油酸酯、PEG-400 油酸酯、PEG-15 硬脂酸酯、PEG-32 二硬脂酸酯、PEG-40 硬脂酸酯、PEG-100 硬脂酸酯、PEG-20 二月桂酸酯、

PEG-25 三油酸甘油酯、PEG-32 二油酸酯、PEG-20 月桂酸甘油酯、PEG-30 月桂酸甘油酯、PEG-20 硬脂酸甘油酯、PEG-20 油酸甘油酯、PEG-30 油酸甘油酯、PEG-30 月桂酸甘油酯、PEG-40 月桂酸甘油酯、PEG-40 棕榈仁油、PEG-50 氢化蓖麻油、PEG-40 蓖麻油、PEG-35 蓖麻油、PEG-60 蓖麻油、PEG-40 氢
5 化蓖麻油、PEG-60 氢化蓖麻油、PEG-60 玉米油、PEG-6 癸酸酯/辛酸酯甘油酯、PEG-8 癸酸酯/辛酸酯甘油酯、聚甘油基-10 月桂酸酯、PEG-30 胆固醇、PEG-25 植物甾醇、PEG-30 大豆甾醇、PEG-20 三油酸酯、PEG-40 脱水山梨醇油酸酯、PEG-80 脱水山梨醇月桂酸酯、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 80、POE-9 十二烷基醚、POE-23 十二烷基醚、POE-10 油基醚、POE-20 油基醚、
10 POE-20 硬脂基醚、生育酚 PEG-100 琥珀酸酯、PEG-24 胆固醇、聚甘油基-10 油酸酯、吐温 40、吐温 60、蔗糖单硬脂酸酯、蔗糖单月桂酸酯、蔗糖单棕榈酸酯、PEG10-100 壬基酚系列、PEG15-100 辛基酚系列和泊洛沙姆 (poloxamers)。

合适的亲脂性表面活性剂包括，仅举例而言：脂肪醇；甘油脂肪酸酯；
15 乙酰化甘油脂肪酸酯；低级醇脂肪酸酯；丙二醇脂肪酸酯；脱水山梨醇脂肪酸酯；聚乙二醇脱水山梨醇脂肪酸酯；甾醇和甾醇衍生物；聚氧乙烯化甾醇和甾醇衍生物；聚乙二醇烷基醚；糖酯；糖醚；单甘油酯和二甘油酯的乳酸衍生物；多元醇与由甘油酯、植物油、氢化植物油、脂肪酸和甾醇组成的组中的至少一个成员的疏水性酯交换产物；油溶性维生素/维生素衍生物；及其
20 混合物。在这一组中，优选的亲脂性表面活性剂包括甘油脂肪酸酯、丙二醇脂肪酸酯和它们的混合物，或者是多元醇与由植物油、氢化植物油和甘油三酯组成的组中的至少一个成员的疏水性酯交换产物。

在一个实施方案中，该组合物可包含增溶剂，以确保本发明的化合物的

良好的溶解和/或溶出，并最小化本发明的化合物的沉淀。这对于非口服使用的组合物（例如，注射用组合物）可能尤其重要。也可加入增溶剂来增加亲水性药物和/或其它组分如表面活性剂的溶解度，或者维持组合物作为稳定或均一的溶液或分散体。

- 5 合适的增溶剂的实例包括但不限于以下物质：醇和多元醇，如乙醇、异丙醇、丁醇、苄醇、乙二醇、丙二醇、丁二醇及其异构体、甘油、季戊四醇、山梨醇、甘露醇、还氧二元醇（transcutol）、二甲基异山梨醇、聚乙二醇、聚丙二醇、聚乙烯醇、羟丙基甲基纤维素和其它纤维素衍生物、环糊精和环糊精衍生物；具有约 200 至约 6000 平均分子量的聚乙二醇的醚，如四氢糠醇
- 10 PEG 醚（四氢呋喃聚乙二醇醚（glycofurol））或甲氧基 PEG 醚；酰胺和其它含氮化合物，如 2-吡咯烷酮、2-哌啶酮、 ϵ -己内酰胺、N-烷基吡咯烷酮、N-羟基烷基吡咯烷酮、N-烷基哌啶酮、N-烷基己内酰胺、二甲基乙酰胺和聚乙烯吡咯烷酮；酯，如丙酸乙酯、柠檬酸三丁酯、乙酰柠檬酸三乙酯、乙酰柠檬酸三丁酯、柠檬酸三乙酯、油酸乙酯、辛酸乙酯、丁酸乙酯、三醋精、丙
- 15 二醇单乙酯、丙二醇二乙酯、 ϵ -己内酯及其异构体、 δ -戊内酯及其异构体、 β -丁内酯及其异构体；以及本领域中已知的其它增溶剂，如二甲基乙酰胺、二甲基异山梨醇、N-甲基吡咯烷酮、单辛精、二乙二醇单乙醚和水。

- 也可使用增溶剂的混合物。实例包括但不限于，三醋精、柠檬酸三乙酯、油酸乙酯、辛酸乙酯、二甲基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮、N-羟乙基吡咯烷酮、
- 20 聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基甲基纤维素、羟丙基环糊精、乙醇、聚乙二醇 200-100、四氢呋喃聚乙二醇醚（glycofurol）、还氧二元醇、丙二醇和二甲基异山梨醇。特别优选的增溶剂包括山梨醇、甘油、三醋精、乙醇、PEG-400、四氢呋喃聚乙二醇醚和丙二醇。

可包含的增溶剂的量没有特别的限制。给定的增溶剂的量可以限制为生物可接受的量，其可以由本领域技术人员很容易地确定。在一些情况下，可能有利的是：包含远远超过生物可接受量的增溶剂的量，例如，以最大化药物的浓度，在将该组合物提供给受试者之前使用常规技术如蒸馏或蒸发移除过量的增溶剂。因此，如果存在的话，增溶剂以药物和其它赋形剂的合并重量计可以是10%、25%、50%、100%或高达约200%（重量）的重量比。如果需要的话，也可以使用极少量的增溶剂，例如5%、2%、1%或甚至更少。通常，增溶剂可以以大约1%至大约100%，更典型地约5%至约25%（重量）的量存在。

10 该组合物可以进一步包含一种或多种药学上可接受的添加剂和赋形剂。这样的添加剂和赋形剂包括但不限于，防粘剂、消泡剂、缓冲剂、聚合物、抗氧化剂、防腐剂、螯合剂、粘度调节剂（viscomodulators）、张力调节剂（tonicifiers）、调味剂、着色剂、添味剂、遮光剂、悬浮剂、粘合剂、填充剂、增塑剂、润滑剂和它们的混合物。

15 此外，为了方便处理、增强稳定性或为了其它原因，可以向组合物中掺入酸或碱。药学上可接受的碱的实例包括氨基酸、氨基酸酯、氢氧化铵、氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸氢钠、氢氧化铝、碳酸钙、氢氧化镁、硅酸镁铝、合成硅酸铝、合成二水方解石（hydrocalcite）、氢氧化镁铝、二异丙基乙胺、乙醇胺、乙二胺、三乙醇胺、三乙胺、三异丙醇胺、三甲胺、三（羟甲基）
20 氨基甲烷（TRIS）等。同样合适的是作为药学上可接受酸的盐的碱，所述酸例如是乙酸、丙烯酸、己二酸、藻酸、链烷磺酸、氨基酸、抗坏血酸、苯甲酸、硼酸、丁酸、碳酸、柠檬酸、脂肪酸、甲酸、富马酸、葡糖酸、氢醌磺酸、异抗坏血酸、乳酸、马来酸、草酸、对溴苯磺酸、丙酸、对甲苯磺酸、

水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、鞣酸、酒石酸、巯基乙酸、甲苯磺酸、尿酸等。也可以使用多元酸的盐，例如磷酸钠、磷酸氢二钠和磷酸二氢钠。当所述碱为盐时，阳离子可以是任何适宜的和药学上可接受的阳离子，例如铵、碱金属、碱土金属等。实例可以包括但不限于钠、钾、锂、镁、钙和铵。

5 合适的酸为药学上可接受的有机或无机酸。合适的无机酸的实例包括盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、硝酸、硼酸、磷酸等。合适的有机酸的实例包括乙酸、丙烯酸、己二酸、藻酸、链烷磺酸、氨基酸、抗坏血酸、苯甲酸、硼酸、丁酸、碳酸、柠檬酸、脂肪酸、甲酸、富马酸、葡糖酸、氢醌磺酸、异抗坏血酸、乳酸、马来酸、甲磺酸、草酸、对溴苯磺酸、丙酸、对甲苯磺
10 酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、鞣酸、酒石酸、巯基乙酸、甲苯磺酸、尿酸等。

在一些具体实施方案中，本发明所述的组合物和/或蛋白可与另一种活性物质联合施用。术语“联合施用”是指使用一个或多个剂量和一个或多个时间
15 间隔进行施用，以使得所述施用项目以最小(de minimus)量在一定的时间间隔内一起存在于个体身体或个体身体的作用部位内。例如，时间间隔可以是任何合适的时间间隔，如适当的分钟、小时、天或周的时间间隔。例如，施用项目可以一起施用，如作为单一组合物的部分，或另外施用。施用项目可以基本上同时施用（例如，相互之间间隔小于或等于大约 5 分钟、大约 3 分钟或大约 1 分钟），或在彼此之间间隔的短时间之内（例如，彼此之间间隔小于
20 或等于大约 1 小时、30 分钟或 10 分钟，或超过大约 5 分钟至最多大约 1 小时）。如此施用的施用项目可以认为是在基本上相同的时间施用。本领域的技术人员能够确定向个体身体施用所述施用项目的适当剂量和时间间隔，使得施用项目以大于最低水平的水平存在于个体体内和/或以有效浓度存在于个体体

内。当施用项目向个体身体同时施用时，任何这样的施用项目可以低于在单独施用可能所用的有效量的有效量。本文进一步描述的术语“有效量”，包括这种较低的有效量和通常的有效量，而且事实上是任何有效地引起特定状态、效应和/或响应的量。因此，任何这种同时施用项目的剂量可以低于在单独施用可能使用的剂量。任何这样的施用项目的一种或多种的效应可能是叠加的或协同的。任何这样的施用项目可以施用多于一次。

在一些具体实施方案中，本文所述中的组合物和/或蛋白与另一种活性物质联合施用。在一些具体实施方案中，所述活性物质是降血脂药。在一些具体实施方案中，所述活性物质是降血压药。在一些具体实施方案中，所述活性物质是凝血药。

关于活性剂的术语“有效量”是指活性剂足以引起特定的生物状态、效应和/或响应的量。例如，在这种方式中有效的特定试剂的绝对量会随各种因素变化，如所需的生物端点、试剂本身、受试者或其目标部分和/或类似因素。可以以单一剂量或多个剂量施用活性剂的有效量。由活性剂的有效量产生的生物状态、效应和/或响应的例子包括：例如，降低动脉粥样硬化或其相关疾病的风险和/或严重程度、提高肝组织或者肝细胞对脂质如脂蛋白的吸收、降低血管如血管内皮细胞或者巨噬细胞对脂质如脂蛋白的吸收、降低循环游离脂质的含量、降低循环游离低密度脂蛋白如 oxLDL 的比例，等等。本文可以将成分描述为具有至少有效量或至少与特定的目标或目的相关的有效的量，如本文所描述的任何目标或目的。

实施例

以下内容将结合实施例对本发明中的优选方案进行说明和验证，不是对

本发明的范围进行限定。本发明的所有范围限定以权利要求书中的限定为准。

下述实施案例中所用的实验方法如无特殊说明，均为常规实验方法。

下述实施案例中所用的 sDSS1 蛋白为本公司自行生产并进行质量控制，
经检测蛋白纯度大于 95%，内毒素（内毒素含量小于 3EU/mg 蛋白）和其
5 他杂质残留符合标准，可用于动物实验而不引起明显的动物毒性反应。

下述实施案例中材料和试剂，除了 sDSS1 蛋白其他均可以通过商业途径
获取。

实施例 1. sDSS1 蛋白可以与 oxLDL 或 LDL 发生相互作用。

1.1 实验材料与方案

10 实验材料:sDSS1 蛋白,sDSS1 突变体蛋白 1(sDSS1-M1,SEQ ID No: 15),
sDSS1 突变体蛋白 2(sDSS1-M2,SEQ ID No: 16),氧化型低密度脂蛋白(oxLDL)
(索莱宝,货号: H7980);低密度脂蛋白 (LDL)(索莱宝,货号: H7960)。

实验方法: 分别在 20mM 醋酸钠/醋酸缓冲液 (pH4.5) 或 20mM 磷酸盐
缓冲液 (pH7.2) 条件下, 将 2 μ g 的 oxLDL 或 LDL 与 6 μ g 的 sDSS1 蛋白或
15 10 μ g 的 sDSS1 蛋白加入 1.5ml 的 EP 管中混合, 在 37 $^{\circ}$ C 孵育 12 小时。孵育产
物添加上样缓冲液混匀, 100 $^{\circ}$ C 变性处理 10 分钟, 制成上样样品。制备的样
品用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 进行电泳分离, 分离完成后将
SDS-PAGE 胶进行考马斯亮蓝染色显示蛋白条带。sDSS1-M1 或 sDSS1-M2 蛋
白分别与 oxLDL 混合孵育并采取相同的处理方式, 15 μ L 样品用于 SDS-PAGE
20 电泳分离。

1.2 实验结果

在醋酸盐缓冲液体系(pH4.5)中, 染色后的 SDS-PAGE 胶上可见 LDL 蛋
白和 oxLDL 蛋白位于约 70KD(L1, L2), sDSS1 蛋白位于约 15KD(L3、L6)。

当将 LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白混合孵育后, LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白会发生相互作用(L4 和 L7 对应 LDL 与 sDSS1 蛋白, L5 和 L8 对应 oxLDL 与 sDSS1 蛋白)。在 SDS-PAGE 胶上, LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白反应后, 反应体系中的 oxLDL 蛋白或 LDL 蛋白的条带变浅; 随着反应体系中 sDSS1 蛋白浓度增加, LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白形成的复合物更多, 弥散条带浓度更深 (L4 vs. L7; L5 vs. L8) (图 1A)。

在磷酸盐缓冲液体系(pH7.2)中, 染色后的 SDS-PAGE 胶上可见 LDL 蛋白和 oxLDL 蛋白位于约 70KD (L1, L2), sDSS1 蛋白位于约 15KD (L3、L6)。

当将 LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白混合孵育后, LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白会发生相互作用(L4 和 L7 对应 LDL 与 sDSS1 蛋白, L5 和 L8 对应 oxLDL 与 sDSS1 蛋白)。在 SDS-PAGE 胶上, LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白反应后, 反应体系中的 oxLDL 蛋白或 LDL 蛋白的条带显著变浅; 随着反应体系中 sDSS1 蛋白浓度增加, LDL 或 oxLDL 与 sDSS1 蛋白形成的复合物更多, 弥散条带浓度更深 (L4 vs. L7; L5 vs. L8) (图 1B)。

这些结果说明, sDSS1 蛋白可以与 oxLDL 或 LDL 发生相互作用并形成复合物, 这些复合物不能被 SDS-PAGE 分开。

同时, 当 sDSS1 蛋白的突变体, 即 sDSS-M1 蛋白或 sDSS-M2 蛋白与 oxLDL 孵育时, 也可以看到突变体蛋白与 oxLDL 形成的复合体, 表现为高分子量区域的弥散条带, 弥散条带的浓度随着突变体蛋白的含量增加而增加, 而突变体蛋白的条带明显变浅 (图 1C, 图 1D), 这些结果说明, sDSS-M1 和 sDSS-M2 蛋白也可以与 oxLDL 发生相互作用形成 SDS-PAGE 不能分开的复合物。

实施例 2. sDSS1 蛋白可以降低血管内皮细胞摄取 oxLDL。

2.1 实验材料与方法

实验材料：sDSS1 蛋白，Dil-oxLDL（赛默飞世尔科技，货号：L34358），人脐静脉内皮细胞（HUVEC）（PromoCell，货号：C-12200）

5 实验方法：HUVEC 细胞按照细胞数 30 万每孔接种到 6 孔板中，贴壁 24 小时后，加入 1.5ml 10μg/ml 的 Dil-oxLDL，或加入 1.5ml 10μg/ml 的 Dil-oxLDL 同时加入浓度为 2μg/ml、5μg/ml、10μg/ml、20μg/ml 的 sDSS1 蛋白。继续于培养箱中孵育 5 小时后，使用荧光显微镜观察细胞内荧光信号，用胰酶消化细胞成单细胞用于流式细胞仪检测荧光强度。

10 **2.2 实验结果**

HUVEC 细胞培养液中加入 Dil-oxLDL 并继续孵育 5 小时后，荧光显微镜下可以观察到 HUVEC 细胞内明显的荧光，荧光基中出现在吞噬小泡中。并且，加入 sDSS1s 蛋白后，可以观察到细胞内的荧光强度降低，细胞内带荧光的吞噬小泡数量下降。该现象呈现剂量依赖性，在高浓度组，细胞内荧光微弱（图 6A）。用流式细胞仪检测细胞荧光强度，结果显示添加浓度为 2μg/ml 或 10μg/ml sDSS1 蛋白后，HUVEC 细胞内的荧光明显变弱（图 6B）。统计学结果也显示，sDSS1 蛋白可以显著降低 HUVEC 细胞内荧光值，且该效应有明显的剂量依赖效应，提示 sDSS1 蛋白降低细胞摄取 oxLDL。培养液加入 2μg/ml 后，细胞摄取 oxLDL 减少一半。这些结果表明，sDSS1 蛋白可
20 以减少 HUVEC 细胞摄取 oxLDL 蛋白。

实施例 3. sDSS1 蛋白抑制巨噬细胞吞噬 oxLDL。

3.1 实验材料与方法

实验材料：sDSS1 蛋白，Dil-oxLDL，佛波酯（PMA，西格玛奥德里奇公司，货号：P1585），人单核细胞 THP-1（中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库，目录号：SCSP-567）。

实验方法：THP-1 细胞按照细胞数 25 万每孔接种到 6 孔板中，培养液
5 中包含 100ng/mL PMA。细胞被 PMA 激活 48 小时后，换成新鲜培养基培养四天，帮助细胞贴壁完成。弃去旧培养基，加入 1.5ml 10 μ g/ml 的 Dil-oxLDL，或加入 1.5ml 10 μ g/ml 的 Dil-oxLDL 同时加入浓度为 2 μ g/ml、5 μ g/ml、10 μ g/ml、20 μ g/ml 的 sDSS1 蛋白。继续于培养箱中孵育 5 小时后，用荧光显微镜观察细胞内荧光信号，胰酶消化细胞成单细胞用于流式细胞仪检测荧光强度。

10 3.2 实验结果

Dil-oxLDL 加入巨噬细胞 5 小时后，检测细胞荧光。结果发现，在对照组巨噬细胞内可以观察到明显的荧光，这些荧光出现在数量不等的吞噬小泡中，说明巨噬细胞摄取了 oxLDL。但是，培养液中加入 sDSS1 蛋白后，细胞内没有观察到明显的荧光，或者荧光十分微弱（图 3A）。用流式细胞仪检测
15 细胞荧光值，可以看到在对照组细胞内能检测到带荧光的细胞，而加入 2 μ g/ml 或 10 μ g/ml 的 sDSS1 蛋白后，没有检测到带荧光的细胞（图 3B）。这些结果说明，sDSS1 蛋白可以抑制巨噬细胞摄取 oxLDL 蛋白。

实施例 4. sDSS1 蛋白促进肝细胞吞噬 oxLDL，不影响吞噬 LDL。

20 4.1 实验材料与方法

实验材料：sDSS1 蛋白，Dil-oxLDL，Dil-LDL（ThermoFisher，L3482），人肝癌细胞 Hep G2（中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库，目录号：SCSP-510）。

实验方法：①. 检测 Hep G2 细胞吞噬 oxLDL 时，Hep G2 细胞按照细胞数 25 万每孔接种到 6 孔板中，12 小时后，所有细胞贴壁完成。弃去旧培养基，加入 1.5ml 10 μ g/ml 的 Dil-oxLDL，或加入 1.5ml 10 μ g/ml 的 Dil-oxLDL 同时加入浓度为 5 μ g/ml 和 50 μ g/ml 的 sDSS1 蛋白。继续于培养箱中孵育 9 小时后，
5 用荧光显微镜观察细胞内荧光信号，胰酶消化细胞成单细胞用于流式细胞仪检测荧光强度。②. 检测 Hep G2 细胞吞噬 LDL 时，Hep G2 细胞按照细胞数 25 万每孔接种到 6 孔板中，12 小时后，所有细胞贴壁完成。弃去旧培养基，加入 1.5ml 10 μ g/ml 的 Dil-LDL，或加入 1.5ml 10 μ g/ml 的 Dil-LDL 同时加入浓度为 5 μ g/ml 和 50 μ g/ml 的 sDSS1 蛋白。继续于培养箱中孵育 10 小时后，用
10 荧光显微镜观察细胞内荧光信号，胰酶消化细胞成单细胞用于流式细胞仪检测荧光强度。

4.2 实验结果

Dil-oxLDL 加入 Hep G2 细胞 9 小时后，利用荧光显微镜检测细胞荧光。结果发现，在对照组和实验组细胞内可以观察到明显的荧光，这些荧光出现
15 在数量不等的吞噬小泡中，说明 Hep G2 细胞摄取了 oxLDL（图 4A）。用流式细胞仪检测细胞荧光值，可以看到在对照组 Hep G2 细胞内能检测到明显的 Dil 荧光信号，培养液加入 5 μ g/ml sDSS1 没有显著影响细胞内荧光水平，而 50 μ g/ml sDSS1 蛋白可以显著提高细胞内 Dil 信号强度（图 4B）。统计流式细胞仪检测结果显示，与对照组相比，50 μ g/ml sDSS1 蛋白加入到培养液后 Hep
20 G2 细胞吸收 oxLDL 能力提高了约 27%（图 4C）。这些结果说明，sDSS1 蛋白可以提高人肝细胞细胞摄取 oxLDL 蛋白能力。

在 Hep G2 细胞培养物中加入 Dil-LDL10 小时后，可以观察到荧光染料出现在细胞内，分布在囊泡中。与单独添加 Dil-LDL 组相比，添加 5 μ g/ml 或

50 μ g/ml sDSS1 蛋白后, 摄取 Dil-LDL 的 Hep G2 细胞数量没有出现明显的变化(图 5A)。用流式细胞仪分析细胞结果显示, 添加不同浓度 sDSS1 蛋白后, 细胞内荧光强度基本一致(图 5B), 提示 sDSS1 蛋白对人肝细胞摄取 LDL 没有明显影响。

- 5 这些结果说明, sDSS1 蛋白可以提高人肝细胞摄取 oxLDL 水平, 但是没有显著影响肝细胞摄取 LDL。

实施例 5. sDSS1 蛋白给药降低 ApoE^{-/-}小鼠血浆 oxLDL 水平和 oxLDL/LDL 比率。

10 5.1 实验材料与方法

实验动物: ApoE^{-/-}小鼠, 8-10 周龄, 雄性, 购于南京大学-南京生物医药研究院, 实验前动物置于动物房适应一周。

实验材料: sDSS1 蛋白, oxLDL ELISA 试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 货号: E-EL-M0066c), LDL ELISA 试剂盒(武汉伊莱瑞特生
15 物科技股份有限公司, 货号: E-EL-M1363c)

实验方法: ApoE^{-/-}小鼠随机分为两组, 对照组和 sDSS1 蛋白组。对照组给予 200 μ l 生理盐水每天腹腔注射一次, sDSS1 蛋白组按照 10 mg/kg 每天腹腔注射 sDSS1 蛋白一次, 连续 7 天。给药 7 天后采集小鼠血液, 以 EDTA-Na 为抗凝剂, 分离血浆, 使用 oxLDL ELISA 试剂盒测定血浆 oxLDL 水平, 使
20 用 LDL ELISA 试剂盒测定血浆 LDL 水平。

在各孔中加入 oxLDL 标准品或样品各 100 μ l, 37 $^{\circ}$ C 孵育 90 分钟; 倒去孔内液体, 加入 100 μ l 生物素化 oxLDL 抗体工作液, 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 分钟; 洗涤 3 次; 加入 100 μ l 酶结合工作液, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟; 洗涤 5 次; 加入 90 μ l 底物

溶液，37℃孵育 15 分钟；加入 50μl 终止液，立即在 450nm 波长处测量 OD 值；使用标准品建立标准曲线，依照标准曲线计算各样品的 oxLDL 水平。

在各孔中加入 LDL 标准品或样品各 100μl，37℃孵育 90 分钟；倒去孔内液体，加入 100μl 生物素化 LDL 抗体工作液，37℃孵育 60 分钟；洗涤 3 次；
5 加入 100μl 酶结合工作液，37℃孵育 30 分钟；洗涤 5 次；加入 90μl 底物溶液，37℃孵育 15 分钟；加入 50μl 终止液，立即在 450nm 波长处测量 OD 值；使用标准品建立标准曲线，依照标准曲线计算各样品的 LDL 水平。

$$\text{oxLDL/LDL 比值} = \text{oxLDL 浓度 (ng/ml)} \div \text{LDL 浓度 (ng/ml)}$$

5.2 实验结果

10 ApoE^{-/-}小鼠按照 10mg/kg 体重腹腔注射 sDSS1 蛋白，连续 7 天后，分别检测血浆 LDL 和 oxLDL 水平。结果显示，sDSS1 蛋白给药后，小鼠血浆 LDL 水平保持在正常水平，与对照组小鼠没有明显的差异（图 6A）。但是，sDSS1 蛋白注射可以显著降低小鼠血浆 oxLDL 含量，抑制效果与阳性对照药 ATV 相似（图 6B）。经过进一步分析，sDSS1 蛋白注射后的小鼠血浆
15 oxLDL/LDL 比值也显著低于对照组小鼠，与对照药 ATV 的效应基本一致（图 6C）。综合这些结果，sDSS1 蛋白可以降低小鼠血浆 oxLDL 水平，但是不影响血浆 LDL 水平，最终导致血浆 oxLDL/LDL 比率下降。

实施例 6. sDSS1 蛋白抑制 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块形成。

20 6.1 实验材料与amp;方法

实验动物：ApoE^{-/-}小鼠，8 周龄，雄性，购于南京大学-南京生物医药研究院，实验前动物置于动物房适应一周。

实验材料：sDSS1 蛋白，阿托伐他汀（Atorvastatin, ATV）。

实验方法：ApoE^{-/-}小鼠自 9 周龄开始给予含 0.25%胆固醇的高脂饲料饲养，自高脂饲料饲养第 10 周开始，根据总胆固醇水平随机分为 3 组，每组 10 只。模型组给予生理盐水 200μL 腹腔注射每天 1 次，阳性药物组给予 ATV 40 mg/kg 体重经口给药每天 1 次，sDSS1 蛋白组给予 sDSS1 蛋白 3 mg/kg 腹腔注射每天 1 次。于高脂饲料饲养第 22 周，即给药第 13 周，开始处死动物，解剖并分离全主动脉。将分离的全主动脉行 en face 油红 O 染色，评价动脉粥样硬化斑块形成情况。

6.2 实验结果：

en face 染色结果显示，模型组小鼠全主动脉发展出了明显的动脉粥样斑块，被油红 O 染为红色，无斑块处不着色为透明。阳性药物组小鼠动脉粥样斑块面积较模型组明显减少，sDSS1 蛋白组小鼠动脉粥样斑块面积较模型组明显减少（图 7A）。使用 Image Pro plus 测量油红 O 染色面积与全主动脉面积并计算比值。ANOVA 分析显示，阳性药物组及 sDSS1 蛋白组斑块面积比明显小于模型组(**p<0.01),阳性药物组及 sDSS1 蛋白组斑块面积比无明显差异。这些结果说明，sDSS1 蛋白可以明显抑制 ApoE^{-/-}小鼠中动脉粥样硬化斑块的形成，减缓动脉粥样硬化的进展。

引用文献：

1. Gao S, et al. Association between circulating oxidized LDL and atherosclerotic cardiovascular disease: a meta-analysis of observational studies. *Can J Cardiol* 2017. 33(12): 1624-1632.
2. Trialists C, et al. The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27

- randomised trials. *Lancet* 2012. 380(9841): 581-90.
3. Califf R.M, et al. An update on the IMProved reduction of outcomes: Vytorin Efficacy International Trial (IMPROVE-IT) design. *Am Heart J* 2010. 159(5): 705-9.
- 5 4. National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, E. and A. Treatment of High Blood Cholesterol in, Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002. 106(25): 3143-421.
- 10 5. Law M.R, N.J Wald and S.G. Thompson. How much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ* 1994. 308(6925): 367-72.
6. Rossouw J.E, Lewis B and Rifkind B.M. The value of lowering cholesterol after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1990. 323(16): 1112-9.
- 15 7. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA* 1984. 251(3): 351-64.
8. Ren J, et al. Long-term coronary heart disease risk associated with very-low-density lipoprotein cholesterol in Chinese: the results of a 15-Year Chinese Multi-Provincial Cohort Study (CMCS). *Atherosclerosis* 2010. 211(1):
- 20 327-32.
9. Baigent C, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005. 366(9493): 1267-78.

10. Gistera A. and G.K Hansson. The immunology of atherosclerosis. *Nat Rev Nephrol* 2017. 13(6): 368-380.
11. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002. 420(6917): 868-74.
12. Libby P, Ridker P.M and Maseri A. Inflammation and atherosclerosis.
5 *Circulation* 2002. 105(9): 1135-43.
13. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999. 340(2): 115-26.
14. Xu Y, et al. oxLDL/beta2GPI/anti-beta2GPI complex induced macrophage differentiation to foam cell involving TLR4/NF-kappa B signal transduction
10 pathway. *Thromb Res* 2014. 134(2): 384-92.
15. Pirillo A, Norata G.D and Catapano A.L. LOX-1, OxLDL, and atherosclerosis. *Mediators Inflamm* 2013. 2013: 152786.
16. Singh K.K, et al. BRCA1 is a novel target to improve endothelial dysfunction and retard atherosclerosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2013. 146(4): 949-960 e4.
- 15 17. Motamed M, et al. Oxidized low-Density lipoprotein (ox-LDL) to LDL ratio (ox-LDL/LDL) and ox-LDL to high-Density lipoprotein ratio (ox-LDL/HDL). *Clin Lab* 2016. 62(9): 1609-1617.
18. Harmon M.E, et al. Associations of circulating oxidized LDL and conventional biomarkers of cardiovascular disease in a cross-sectional study of the navajo
20 population. *PLoS One* 2016. 11(3): e0143102.
19. Pawlak K, Mysliwiec M and Pawlak D. Oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) plasma levels and oxLDL to LDL ratio, are they real oxidative stress markers in dialyzed patients? *Life Sci* 2013. 92(4-5): 253-8.

20. Sun, B., et al., Distinct mechanisms for OxLDL uptake and cellular trafficking by class B scavenger receptors CD36 and SR-BI. *J Lipid Res* 2007. 48(12): 2560-70.
21. Gillotte-Taylor, K., et al., Scavenger receptor class B type I as a receptor for
5 oxidized low density lipoprotein. *J Lipid Res* 2001. 42(9): 1474-82.
22. Kragelund B.B, et al. DSS1/Sem1, a Multifunctional and Intrinsically Disordered Protein. *Trends Biochem Sci* 2016. 41(5): 446-459.
23. Li J, et al. DSS1 is required for the stability of BRCA2. *Oncogene* 2006. 25(8): 1186-94.
- 10 24. Liu J, et al. Human BRCA2 protein promotes RAD51 filament formation on RPA-covered single-stranded DNA. *Nat Struct Mol Biol* 2010. 17(10): 1260-2.
25. van Silfhout A.T, et al. Split hand/foot malformation due to chromosome 7q aberrations (SHFM1): additional support for functional haploinsufficiency as the causative mechanism. *Eur J Hum Genet* 2009. 17(11): 1432-8.
- 15 26. Zhou Q, et al. Dss1 interaction with Brh2 as a regulatory mechanism for recombinational repair. *Mol Cell Biol* 2007. 27(7): 2512-26.
27. Zhang Y, et al. DSSylation, a novel protein modification targets proteins induced by oxidative stress, and facilitates their degradation in cells. *Protein Cell* 2014. 5(2): 124-40.

20

序列表

SEQ ID NO : 1:

MSEKKQPVLDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDEDAHVWEDNWDDDNV

EDDFSNQLRATVLLMILVCETPYGCVLHQKGRMCSAFLCC

SEQ ID NO : 2:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDEDAHVVWEDNWDDDNV

EDDFSNQLRATVLLMILVCETPYGCVLHQKGRMCSAFLCC

5 SEQ ID NO : 3:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDEDAHVVWEDNWDDDNV

EDDFSNQLRATVLLMILVCETPYGCVLHQKGRMCSAFLCC

SEQ ID NO : 4:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDEDAHVVWEDNWDDDNV

10 EDDFSNQLRATVLLMVLVCETPYGCVLHQKERMCSAFLCC

SEQ ID NO : 5:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDEDAHVVWEDNWDDDNV

EDDFSNQLRVTVLLMILVCETLYGCVLHQKGRMCSAFLCC

SEQ ID NO : 6:

15 MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDEDAHVVWEDNWDDDNV

EDDFSNQLRATILLMILVCETPYGCVLHQKGRMCSAFLCC

SEQ ID NO : 7:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDEDAHVVWEDNWDDDNV

EDDFSNQLRATVLLMIKVYETPYGCYILHQKGRMCSAFLCC

20 SEQ ID NO : 8:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDEDAHVVWEDNWDDDNV

EDDFSNQLRATVLLMIKVYETPYGCYILHQKGRMCSAFLCC

SEQ ID NO : 9:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDED AHVWEDNWDDDNV

EDDFS NQLRATVLLMIKVYETPYGCYILHQKGRMCIAFLCC

SEQ ID NO : 10:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDED AHVWEDNWDDDNV

5 EDDFS NQLRATVLLMKKVYETPYGCYILHQKGRMCSAFLCC

SEQ ID NO : 11:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDED AHVWEDNWDDDNV

EDDFS NQLRATVLLMIKVYETPYGCYILHQKGRMCSAFLCC

SEQ ID NO : 12:

10 MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDED AHVWEDNWDDDNV

EDDFS NQLRATVLLMIKVYETPYGCYILHQKGRMCSAFLCC

SEQ ID NO : 13:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDED AHVWEDNWDDDNV

EDDFS NQLRATVLLMIKVYETPYGCYILHQKGRMCSAFLCC

15 SEQ ID NO : 14:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDED AHVWEDNWDDDNV

EDDFS NQLRATVLLMIKVYETPYGCYILHQKGRMCSAFLCC

SEQ ID NO : 15:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDED AHVWEDNWDDDNV

20 EDDFS NQLRATVLLMILVAETPYGAYVLHQKGRMASAFLAA

SEQ ID NO : 16:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDED AHVWEDNWDDDNV

EDDFS NQLRATVLLMILVVETPYGVYVLHQKGRMVSAFLVV

SEQ ID NO : 17:

MSEKKQPVDLGLLEEDDEFEEFPAEDWAGLDEDED AHVWEDNWDDDNV

EDDFS NQLRA

SEQ ID NO : 18:

5 TVLLMILVCETPYGCYVLHQKGRMCSAFLCC

权 利 要 求 书

1. 一种预防或治疗有此需要的个体中动脉粥样硬化或动脉粥样相关的疾病的方法，包括向所述个体给予治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体、
- 5 编码所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的核酸或者包含所述核酸的载体，向所述个体移植表达所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体的细胞、或者含有所述 sDSS1 蛋白或其片段变体或所述核酸的组织或器官，和/或向所述个体输注含有所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体或所述核酸的血清或者组织间液。
2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与
- 10 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性。
3. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。
- 15 4. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。
5. 根据权利要求 4 所述的方法，其中所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。
- 20 6. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。
- 25 7. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或

100%的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO:18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或 100%的序列同一性的片段。

8. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%或
5 100%的序列同一性的片段以及有助于实现跨膜转运功能的片段。

9. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述的 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含在 1-20 个氨基酸上的化学修饰。

10. 根据权利要求 8 所述的方法，其中所述化学修饰包括氨基或者糖基化修饰、脂肪酸修饰、酰基化修饰、Fc 片段融合、白蛋白融合、聚乙二醇修饰、
10 右旋糖苷修饰、肝素修饰、聚乙烯吡咯烷酮修饰、聚氨基酸修饰、多聚唾液酸修饰、壳聚糖及其衍生物修饰、凝集素修饰、海藻酸钠修饰、卡波姆修饰、聚乙烯吡咯烷酮修饰、羟丙基甲基纤维素修饰、羟丙基纤维素修饰、乙酰化修饰、甲酰化修饰、磷酸化修饰、甲基化修饰和/或磺酸化修饰。

11. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述载体包括真核表达质粒载体、
15 腺病毒、腺相关病毒、慢病毒、逆转录病毒、杆状病毒、疱疹病毒、或者伪狂犬病毒。

12. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述细胞是任意一种人的干细胞、前体细胞或成体细胞。

13. 根据权利要求 12 所述的方法，其中所述干细胞是诱导多能干细胞、
20 转分化得到的细胞，或者来源于原代培养的干细胞、由母细胞分化得到的多能或单能干细胞。

14. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述的组织是脑、肝、肾、脾、胰岛的完整器官或部分组织块，或血液、脂肪、肌肉、骨髓、皮肤。

15. 根据权利要求 1 所述的方法，还包括向所述个体给药降血脂药。

25 16. 根据权利要求 1 所述的方法，还包括向所述个体给药降血压药。

17. 根据权利要求 1 所述的方法，还包括向所述个体给药抗凝血药。

18. 根据权利要求1所述的方法, 其中所述个体经历选自经皮冠状动脉介入治疗、冠状动脉旁路移植术或颈动脉内膜切除术的外科手术。

19. 根据权利要求1所述的方法, 其中所述方法降低了动脉血管管壁中的脂质积聚。

5 20. 根据权利要求10所述的方法, 其中所述的脂质包括血液中的胆固醇、胆固醇酯、甘油三酯、乳糜微粒(chylomicron, CM)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)、中间密度脂蛋白(intermediate density lipoprotein, IDL)、脂蛋白(a)(lipoprotein(a), Lp(a))、氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, oxLDL)的一种或几种及其各自的代谢中间物。

21. 根据权利要求1所述的方法, 其中所述动脉粥样硬化或动脉粥样相关的疾病包括血管内径狭窄、血管外径扩张、血管收缩及扩增能力下降、血管弹性下降、血管脆性升高、血管壁钙化或钙质沉着、或者血栓导致的血管供血能力下降。

15 22. 根据权利要求1所述的方法, 其中所述的动脉粥样硬化或动脉粥样相关的疾病包括高血压、心绞痛、心肌梗塞、心肌供血不足、心律失常、脑供血不足、缺血性脑卒中、脑萎缩、肾功能不全、肾动脉狭窄、麻痹性肠梗阻或肢端缺血坏死。

23. 一种用于降低有此需要的个体中血管内皮对脂质的吸收的方法, 包括
20 向所述个体给药治疗有效量的sDSS1蛋白或其片段或变体。

24. 根据权利要求23所述的方法, 其中所述sDSS1蛋白或其片段或变体与SEQ ID NO: 1所示的序列具有至少80%、85%、90%、95%、98%或100%的序列同一性。

25 25. 根据权利要求23所述的方法, 其中所述sDSS1蛋白或其片段或变体包含与SEQ ID NO: 1所示的序列相比不多于10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸的插入、删除或替换。

26. 根据权利要求23所述的方法, 其中所述sDSS1蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。

27. 根据权利要求 26 所述的方法, 中所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。

28. 根据权利要求 23 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。

29. 根据权利要求 23 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段。

30. 一种用于降低有此需要的个体中脂质在巨噬细胞中积聚的方法, 包括向所述个体给药治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体。

31. 根据权利要求 30 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性。

32. 根据权利要求 30 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。

33. 根据权利要求 30 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。

34. 根据权利要求 33 所述的方法, 中所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。

35. 根据权利要求 30 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO:

9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、
或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。

36. 根据权利要求 30 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%
5 或 100% 的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、
85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段。

37. 一种用于提高有此需要的个体中脂质在肝细胞中的积聚的方法，包括
向所述个体给药治疗有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体。

38. 根据权利要求 37 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
10 与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100%
的序列同一性。

39. 根据权利要求 37 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2
或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。

40. 根据权利要求 37 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
15 包含非天然氨基酸。

41. 根据权利要求 40 所述的方法，中所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、
羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍
生物。

42. 根据权利要求 37 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包
20 含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ
ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO:
9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、
或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。

43. 根据权利要求 37 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
25 包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98%
或 100% 的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、
85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段。

44. 一种降低个体血管中的循环氧化 LDL 的量的方法，包括向所述个体给予包含有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体能够与游离氧化 LDL 形成复合物。
45. 根据权利要求 44 所述的方法，其中所述方法降低了游离的未形成复
5 合物的氧化 LDL 的量与总氧化 LDL 的量。
46. 根据权利要求 44 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性。
47. 根据权利要求 44 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
10 包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。
48. 根据权利要求 44 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。
49. 根据权利要求 48 所述的方法，中所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、
15 羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。
50. 根据权利要 44 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、
20 或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。
51. 根据权利要求 44 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、
25 85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段。
52. 一种减少个体血管中斑块形成的方法，包括向所述个体给予包含有效量的 sDSS1 蛋白或其片段或变体，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体能够与游离氧化 LDL 形成复合物。

53. 根据权利要求 52 所述的方法，其中所述血管是动脉。

54. 根据权利要求 52 所述的方法，其中所述血管是主动脉。

55. 根据权利要求 52 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性。

56. 根据权利要求 52 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。

57. 根据权利要求 52 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含非天然氨基酸。

58. 根据权利要求 57 所述的方法，中所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。

59. 根据权利要求 52 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。

60. 根据权利要求 52 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段。

61. 一种以蛋白质-脂质复合物形式封存血管中循环的游离氧化 LDL 的方法，包括将所述氧化 LDL 暴露于所述蛋白质，以在血管中形成所述蛋白质-脂质复合物，其中所述蛋白质为 sDSS1 蛋白或其片段或变体。

62. 根据权利要求 61 所述的方法，其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体与 SEQ ID NO: 1 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性。

63. 根据权利要求 61 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体包含与 SEQ ID NO: 1 所示的序列相比不多于 10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 个氨基酸的插入、删除或替换。

64. 根据权利要求 61 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
5 包含非天然氨基酸。

65. 根据权利要求 64 所述的方法, 中所述非天然氨基酸包括羟脯氨酸、羟赖氨酸、硒代半胱氨酸、D-型氨基酸或者人工合成的非天然氨基酸及其衍生物。

66. 根据权利要求 61 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
10 含如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、或 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列。

67. 根据权利要求 61 所述的方法, 其中所述 sDSS1 蛋白或其片段或变体
15 包含与 SEQ ID NO: 17 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段以及与 SEQ ID NO: 18 所示的序列具有至少 80%、85%、90%、95%、98% 或 100% 的序列同一性的片段。

68. 一种 sDSS1 蛋白或其片段或变体与脂质的复合物。

69. 一种筛选治疗有此需要的个体中动脉粥样硬化或动脉粥样相关的疾
20 病的治疗剂的方法, 包括将所述治疗剂与 sDSS1 蛋白、sDSS1 蛋白的基因、sDSS1 的基因的调控元件、sDSS1 的基因的转录产物接触, 并评价所述治疗剂对 sDSS1 蛋白表达的作用。