(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119452255 A
(43)申请公布日 2025.02.14

(21)申请号 202380050207.7
(22)申请日 2023.05.24
(30)优先权数据
63/365,448 2022.05.27 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.26
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/067424 2023.05.24
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/230526 EN 2023.11.30
(71)申请人 埃利登制药公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 史蒂文·N·佩兰
(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
专利代理师 凌翠 郑霞
(51)Int.Cl.
G01N 33/53(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)

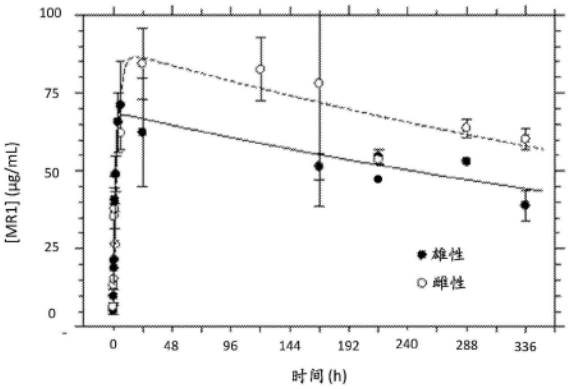
权利要求书4页 说明书33页
序列表（电子公布） 附图42页

(54)发明名称

用于治疗肾脏疾病或障碍的方法

(57)摘要

本文提供了用于治疗肾脏相关疾病障碍和并发症诸如伯格氏病和肾脏移植排斥的方法和试剂盒。还提供了通过测量样品中的生物标记物水平来预测或测量对治疗的反应的方法,以及调节生物标记物水平的方法。



CN 119452255 A

1.一种预测患有肾脏相关疾病或障碍的受试者对用针对CD40L或CD40的化合物治疗的反应的方法,所述方法包括:

收集来自所述受试者的样品;

测量所述样品中存在的至少一种生物标记物的浓度,其中所述至少一种生物标记物是CXCL9、CXCL10、IgM、C3、IgA、IgE、CD40L和CD40;

其中所述至少一种生物标记物的浓度预测所述受试者可能对用针对CD40L或CD40的化合物对所述肾脏相关疾病或障碍的治疗有反应。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述肾脏相关疾病或障碍包括炎症。

3.如权利要求1所述的方法,其中所述受试者是哺乳动物和/或人。

4.如权利要求1所述的方法,其中所述化合物阻断CD40与CD40L之间的相互作用。

5.如权利要求1所述的方法,其中所述化合物是抗CD40L抗体或抗CD40抗体。

6.如权利要求1所述的方法,其中所述化合物是AT-1501或5c8。

7.如权利要求1所述的方法,其中所述化合物是MR1。

8.如权利要求1所述的方法,其中所述肾脏相关疾病或障碍选自由以下组成的组:结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、免疫移植物应答、肾脏移植、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症和IgA肾病。

9.如权利要求1所述的方法,其中所述肾脏相关疾病或障碍是自身免疫性疾病,其中所述自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血或格雷夫斯病。

10.如权利要求1所述的方法,其中所述样品是血液、尿液、唾液或粘液。

11.如权利要求10所述的方法,其中所述样品是尿液。

12.一种治疗患有肾脏相关疾病或障碍的受试者的方法,所述方法包括:

施用治疗有效剂量的针对CD40L或CD40的化合物。

13.如权利要求12所述的方法,其中所述肾脏相关疾病或障碍包括炎症。

14.如权利要求12所述的方法,其中所述受试者是哺乳动物和/或人。

15.如权利要求12所述的方法,其中所述化合物阻断CD40与CD40L之间的相互作用。

16.如权利要求12所述的方法,其中所述化合物是抗CD40L抗体或抗CD40抗体。

17.如权利要求12所述的方法,其中所述化合物是AT-1501。

18.如权利要求12所述的方法,其中所述化合物是MR1或5c8。

19.如权利要求12所述的方法,其中将所述化合物每三周至少施用一次。

20.如权利要求12所述的方法,其中将所述化合物以在200mg/kg与100mg/kg之间的剂量、优选以在1mg/kg与20mg/kg之间的剂量施用。

21.如权利要求12所述的方法,其中所述肾脏相关疾病或障碍是结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾

感染、肾石症或IgA肾病。

22.如权利要求12所述的方法,其中所述肾脏相关疾病或障碍是自身免疫性疾病,其中所述自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血或格雷夫斯病。

23.如权利要求12所述的方法,所述方法进一步包括施用第二药学上有效的化合物。

24.如权利要求23所述的方法,其中所述第二化合物阻断CD28与CD86之间或CD28与CD80之间的相互作用。

25.如权利要求23所述的方法,其中所述第二化合物靶向选自由以下组成的组的生物标记物中的至少一种:白介素、细胞因子和促炎标记物。

26.如权利要求23所述的方法,其中所述第二化合物是CTLA4-Ig融合蛋白、阿巴西普、贝拉西普或加利昔单抗。

27.如权利要求12所述的方法,其中将所述化合物口服、肠胃外或局部施用。

28.如权利要求27所述的方法,其中将所述化合物肠胃外施用。

29.如权利要求28所述的方法,其中将所述化合物通过注射,最优选静脉内、肌内或皮下注射施用。

30.如权利要求12所述的方法,其中靶向CD40L或CD40的所述化合物是这样的抗体,所述抗体包含:

(a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含:

i)包含SEQ ID NO:9所示的序列的CDRH1结构域;

ii)包含SEQ ID NO:10、11、12、13或14所示的序列的CDRH2结构域;和

iii)包含SEQ ID NO:15所示的序列的CDRH3结构域;以及

(b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含:

i)包含SEQ ID NO:16或17所示的序列的CDRL1结构域;

ii)包含SEQ ID NO:18或19所示的序列的CDRL2结构域;和

iii)包含SEQ ID NO:20所示的序列的CDRL3结构域。

31.如权利要求12所述的方法,其中靶向CD40L或CD40的所述化合物是这样的抗体,所述抗体包含:

(a)重链可变区(VH),所述重链可变区具有如SEQ ID NO:1、2、3或4所示的氨基酸序列;以及

(b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区具有如SEQ ID NO:5、6、7或8所示的氨基酸序列。

32.一种调节受试者中至少一种生物标记物的浓度的方法,所述方法包括:

向所述受试者施用治疗有效量的针对CD40L或CD40的化合物,

其中所述生物标记物选自由以下组成的组:IgA、IgE、CD40L、CD40、C3、CXCL9、CXCL10和IgM。

33.如权利要求32所述的方法,其中至少一种生物标记物的浓度在施用所述化合物后增加。

34.如权利要求32所述的方法,其中至少一种生物标记物的浓度在施用所述化合物后降低。

35.如权利要求32所述的方法,其中在施用所述化合物后,至少一种生物标记物的浓度增加,并且至少一种其他生物标记物的浓度降低。

36.如权利要求32所述的方法,其中所述受试者患有肾脏相关疾病或障碍。

37.如权利要求36所述的方法,其中所述肾脏相关疾病或障碍包括炎症。

38.如权利要求32所述的方法,其中所述受试者是哺乳动物和/或人。

39.如权利要求32所述的方法,其中所述化合物阻断CD40与CD40L之间的相互作用。

40.如权利要求32所述的方法,其中所述化合物是抗CD40L抗体或抗CD40抗体。

41.如权利要求32所述的方法,其中所述化合物是AT-1501。

42.如权利要求32所述的方法,其中所述化合物是MR1或5c8。

43.如权利要求36所述的方法,其中所述肾脏相关疾病或障碍是结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症或IgA肾病。

44.如权利要求36所述的方法,其中所述肾脏相关疾病或障碍是自身免疫性疾病,其中所述自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血或格雷夫斯病。

45.如权利要求32所述的方法,其中将所述化合物每三周至少施用一次。

46.如权利要求32所述的方法,其中将所述化合物以在200mg/kg与100mg/kg之间的剂量、优选以在1mg/kg与20mg/kg之间的剂量施用。

47.如权利要求32所述的方法,其中将所述化合物口服、肠胃外或局部施用。

48.如权利要求47所述的方法,其中将所述化合物肠胃外施用。

49.如权利要求47所述的方法,其中将所述化合物通过注射,最优选静脉内、肌内或皮下注射施用。

50.如权利要求32所述的方法,其中靶向CD40L或CD40的所述化合物是这样的抗体,所述抗体包含:

(a)重链可变区(VH),所述重链可变区包含:

i)包含SEQ ID NO:9所示的序列的CDRH1结构域;

ii)包含SEQ ID NO:10、11、12、13或14所示的序列的CDRH2结构域;和

iii)包含SEQ ID NO:15所示的序列的CDRH3结构域;以及

(b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含:

i)包含SEQ ID NO:16或17所示的序列的CDRL1结构域;

ii)包含SEQ ID NO:18或19所示的序列的CDRL2结构域;和

iii)包含SEQ ID NO:20所示的序列的CDRL3结构域。

51.如权利要求32所述的方法,其中靶向CD40L或CD40的所述化合物是这样的抗体,所述抗体包含:

(a)重链可变区(VH),所述重链可变区具有如SEQ ID NO:1、2、3或4所示的氨基酸序列;以及

(b)轻链可变区(VL),所述轻链可变区具有如SEQ ID NO:5、6、7或8所示的氨基酸序列。

用于治疗肾脏疾病或障碍的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2022年5月27日提交的美国临时申请号63/365448的优先权,将该临时申请通过援引以其全文并入。

[0003] 序列表的引用

[0004] 本申请连同电子格式的序列表一起提交。序列表作为创建于2023年5月1日的标题为“ELDN.011WO.xml”的文件提供,该文件的大小为27,088个字节。将电子格式的序列表中的信息通过援引以其全文并入本文。

[0005] 背景

[0006] 领域

[0007] 本披露涉及用于治疗受试者的自身免疫性障碍的方法,该自身免疫性障碍包括例如肾脏相关自身免疫性障碍,诸如肾脏相关疾病、障碍或并发症,诸如伯格氏病或肾移植。还提供了预测和/或测量对治疗的反应的方法,这些方法包括测量一种或多种生物标记物的水平。实施例还涉及调节一种或多种生物标记物的水平的方法。

[0008] 相关技术说明

[0009] 肾脏是用于过滤受试者的血液并调节矿物质含量的必需器官。许多疾病和障碍与肾脏相关,包括慢性肾脏疾病(CKD)、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症和IgA肾病。

[0010] IgA肾病(也称为伯格氏病或IgAN)是一种类型的慢性肾脏疾病。在大约10-20年中,IgA在受试者的肾小球中积累并导致肾脏中的过滤系统被堵塞。这进而导致免疫系统的激活和肾脏的肾小球周围的一般炎症。侵袭性IgAN还可能影响其他主要器官,诸如肝脏、皮肤和心血管系统。

[0011] 个体的严重肾脏疾病可能导致需要肾脏器官移植。然而,个体典型地必须接受来自ABO血型并且交叉配血(人白细胞抗原-HLA)相容的供体的捐赠的肾脏。即使成功移植合适的肾脏,个体也必须在他们的余生继续服用免疫抑制剂。否则,他们的免疫排斥新器官的风险很高。肾脏移植后的另一种潜在并发症是移植物抗宿主病,其中仍然保留在新移植的肾脏内的供体的白细胞将其新宿主识别为外源的并且攻击个体的体细胞。肾脏移植后高风险的并发症仍然是医学领域的重大障碍。

[0012] 概述

[0013] 本申请披露了一种预测患有肾脏相关疾病或障碍的受试者对用针对CD40L或CD40的化合物治疗的反应的方法。在一些实施例中,该方法包括收集来自该受试者的样品;以及测量该样品中存在的至少一种生物标记物的浓度,其中该至少一种生物标记物是CXCL9、CXCL10、IgM、C3、IgA、IgE、CD40L和CD40;其中该至少一种生物标记物的浓度预测该受试者可能对用针对CD40L或CD40的化合物对该肾脏相关疾病或障碍的治疗有反应。在一些实施例中,该肾脏相关疾病或障碍包括炎症。在一些实施例中,该受试者是哺乳动物和/或人。在一些实施例中,该化合物阻断CD40与CD40L之间的相互作用。在一些实施例中,该化合物是

抗CD40L抗体或抗CD40抗体。在一些实施例中,该化合物是AT-1501。在一些实施例中,该化合物是MR1或5c8。在一些实施例中,该肾脏相关疾病或障碍选自由以下组成的组:结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、免疫移植物应答、肾脏移植、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症和IgA肾病。在一些实施例中,该肾脏相关疾病或障碍是自身免疫性疾病,其中该自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血或格雷夫斯病。在一些实施例中,该样品是血液、尿液、唾液或粘液。在一些实施例中,该样品是尿液。

[0014] 本文还披露了一种治疗患有肾脏相关疾病或障碍的受试者的方法。在一些实施例中,该方法包括施用治疗有效剂量的针对CD40L或CD40的化合物。在一些实施例中,该肾脏相关疾病或障碍包括炎症。在一些实施例中,该受试者是哺乳动物和/或人。在一些实施例中,该化合物阻断CD40与CD40L之间的相互作用。在一些实施例中,该化合物是抗CD40L抗体或抗CD40抗体。在一些实施例中,该化合物是AT-1501。在一些实施例中,该化合物是MR1或5c8。在一些实施例中,将该化合物每三周至少施用一次。在一些实施例中,将该化合物以在200mg/kg与100mg/kg之间的剂量、优选以在1mg/kg与20mg/kg之间的剂量施用。在一些实施例中,该肾脏相关疾病或障碍是结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症或IgA肾病。在一些实施例中,该肾脏相关疾病或障碍是自身免疫性疾病,其中该自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血或格雷夫斯病。在一些实施例中,该方法进一步包括施用第二药学上有效的化合物。在一些实施例中,该第二化合物阻断CD28与CD86之间或CD28与CD80之间的相互作用。在一些实施例中,该第二化合物靶向选自由以下组成的组的生物标记物中的至少一种:白介素、细胞因子和促炎标记物。在一些实施例中,该第二化合物是CTLA4-Ig融合蛋白、阿巴西普、贝拉西普或加利昔单抗。在一些实施例中,将该化合物口服、肠胃外或局部施用。在一些实施例中,将该化合物肠胃外施用。在一些实施例中,将该化合物通过注射,最优选静脉内、肌内或皮下注射施用。在一些实施例中,靶向CD40L或CD40的该化合物是这样的抗体,该抗体包含:重链可变区(V_H),该重链可变区包含:(1)包含SEQ ID NO:9所示的序列的CDRH1结构域;(2)包含SEQ ID NO:10、11、12、13或14所示的序列的CDRH2结构域;和(3)包含SEQ ID NO:15所示的序列的CDRH3结构域;并且还包含轻链可变区(V_L),该轻链可变区包含:(4)包含SEQ ID NO:16或17所示的序列的CDRL1结构域;(5)包含SEQ ID NO:18或19所示的序列的CDRL2结构域;和(6)包含SEQ ID NO:20所示的序列的CDRL3结构域。在一些实施例中,靶向CD40L或CD40的该化合物是这样的抗体,该抗体包含:重链可变区(V_H),该重链可变区具有如SEQ ID NO:1、2、3或4所示的氨基酸序列;以及轻链可变区(V_L),该轻链可变区具有如SEQ ID NO:5、6、7或8所示的氨基酸序列。

[0015] 本文还披露了一种调节受试者中至少一种生物标记物的浓度的方法。在一些实施

例中,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的针对CD40L或CD40的化合物,其中该生物标记物选自由以下组成的组:IgA、IgE、CD40L、CD40、C3、CXCL9、CXCL10和IgM。在一些实施例中,至少一种生物标记物的浓度在施用该化合物后增加。在一些实施例中,至少一种生物标记物的浓度在施用该化合物后降低。在一些实施例中,在施用该化合物后,至少一种生物标记物的浓度增加,并且至少一种其他生物标记物的浓度降低。在一些实施例中,该受试者患有肾脏相关疾病或障碍。在一些实施例中,该肾脏相关疾病或障碍包括炎症。在一些实施例中,该受试者是哺乳动物和/或人。在一些实施例中,该化合物阻断CD40与CD40L之间的相互作用。在一些实施例中,该化合物是抗CD40L抗体或抗CD40抗体。在一些实施例中,该化合物是AT-1501。在一些实施例中,该化合物是MR1或5c8。在一些实施例中,该肾脏相关疾病或障碍是结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症或IgA肾病。在一些实施例中,该肾脏相关疾病或障碍是自身免疫性疾病,其中该自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血或格雷夫斯病。在一些实施例中,将该化合物每三周至少施用一次。在一些实施例中,将该化合物以在200mg/kg与100mg/kg之间的剂量、优选以在1mg/kg与20mg/kg之间的剂量施用。在一些实施例中,将该化合物口服、肠胃外或局部施用。在一些实施例中,将该化合物肠胃外施用。在一些实施例中,将该化合物通过注射,最优选静脉内、肌内或皮下注射施用。在一些实施例中,靶向CD40L或CD40的该化合物是这样的抗体,该抗体包含重链可变区(V_H),该重链可变区包含:(1)包含SEQ ID NO:9所示的序列的CDRH1结构域;(2)包含SEQ ID NO:10、11、12、13或14所示的序列的CDRH2结构域;和(3)包含SEQ ID NO:15所示的序列的CDRH3结构域;并且包含轻链可变区(V_L),该轻链可变区包含:(4)包含SEQ ID NO:16或17所示的序列的CDRL1结构域;(5)包含SEQ ID NO:18或19所示的序列的CDRL2结构域;和(6)包含SEQ ID NO:20所示的序列的CDRL3结构域。在一些实施例中,靶向CD40L或CD40的该化合物是这样的抗体,该抗体包含:重链可变区(V_H),该重链可变区具有如SEQ ID NO:1、2、3或4所示的氨基酸序列;以及轻链可变区(V_L),该轻链可变区具有如SEQ ID NO:5、6、7或8所示的氨基酸序列。

附图说明

[0016] 图1A使用线性浓度(Y)轴示出了随时间的MR1浓度。

[0017] 图1B使用log浓度(Y)轴示出了随时间的MR1浓度。

[0018] 图2是对照组和治疗组从第40天开始至达到体重峰值的平均每日体重测量结果的图。

[0019] 图3描绘了对照组和治疗组从体重峰值至死亡的平均每日体重测量结果。

[0020] 图4示出了如通过Cox比例风险模型计算的对照组和治疗组的卡普兰-迈耶存活率图。

[0021] 图5A是对照组和MR1治疗组从第40天开始至达到体重峰值的平均每日体重测量结果的图。

[0022] 图5B是描绘了对照组和MR1治疗组从体重峰值至死亡的平均每日体重测量结果的图。

[0023] 图5C示出了在对照组和MR1治疗组中基于至神经功能得分为2的进展时间的疾病发作时间。

[0024] 图5D示出了对照组和MR1治疗组从体重峰值至死亡的平均每日体重测量结果。

[0025] 图6是示出了JB5抗体(圆形,虚线)、hu5c8抗体(正方形-实线)和对照CTLA4-IgG1(三角形)与人CD40L的相对结合的图。

[0026] 图7提供了hu5c8和JB5 VL区(SEQ ID NO:1)、hu5c8和JB5 VH区(SEQ ID NO:2)、Fc区(SEQ ID NO:3)、JB5 Fc区(SEQ ID NO:4)、JB5-R28K VL区(SEQ ID NO:5)、JB5-K74R VH区(SEQ ID NO:6)的氨基酸序列和JB5轻链氨基酸序列(SEQ ID NO:7)。

[0027] 图8提供了编码抗CD40L抗体JB5的轻链合成核苷酸序列(SEQ ID NO:8),大写字母表示合成基因的外显子并且小写字母表示合成基因的内含子序列;并且还提供了抗CD40L抗体JB5的重链氨基酸序列(SEQ ID NO:9)。

[0028] 图9提供了编码抗CD40L抗体JB5重链的合成核酸序列(SEQ ID NO:10),大写字母表示合成基因的外显子,并且小写字母表示合成基因的内含子序列。

[0029] 图10提供了抗CD40L抗体JB5-R28K的氨基酸序列(SEQ ID NO:11);编码抗CD40L抗体JB5-R28K轻链的合成核酸序列(SEQ ID NO:12),大写字母表示合成基因的外显子并且小写字母表示合成基因的内含子序列;并且还提供了抗CD40L抗体JB5-K74R的重链氨基酸序列(SEQ ID NO:13)。

[0030] 图11提供了编码抗CD40L抗体JB5-K74R重链的合成核酸序列(SEQ ID NO:14),大写字母表示合成基因的外显子,并且小写字母表示合成基因的内含子序列。

[0031] 图12提供了抗CD40L抗体JB5重链和轻链的CDR的氨基酸序列(分别为SEQ ID NO:15-20)和hu5C8重链的氨基酸序列(SEQ ID NO:21)。

[0032] 图13A是示出了相比于抗CD40L抗体5c8,16个抗体克隆的排序效力的条形图。排序效力是IC50克隆/5c8的IC50 x 100。

[0033] 图13B是示出了相比于抗CD40L抗体AT-1501,16个抗体克隆的排序效力的条形图。排序效力是IC50克隆/AT-1501的IC50 x 100。

[0034] 图14A-图14G和图14I-图14Q示出了来自每个克隆的抗体的结合曲线与5c8的结合曲线。图14H示出了AT-1501和5c8的结合曲线。

[0035] 图15A-图15G和图15I-图15Q示出了来自每个克隆的抗体的结合曲线与AT-1501的结合曲线。图15H示出了AT-1501和5c8的结合曲线。

[0036] 图16A和图16B是这样的图,其中的每一个示出了八个抗体克隆、5c8、AT-1501和阿巴西普与Fcγ RI的结合。唯一具有显著结合的抗体是5c8抗体。

[0037] 图17A和图17B是这样的图,其中的每一个示出了八个抗体克隆、5c8、AT-1501和阿巴西普与Fcγ RIIa的结合。唯一具有显著结合的抗体是5c8抗体。

[0038] 图18A和图18B是这样的图,其中的每一个示出了八个抗体克隆、5c8、AT-1501和阿巴西普与Fcγ RIIIa的结合。没有抗体显示出与Fcγ RIIIa的显著结合。

[0039] 图18C和图18D是这样的图,其中的每一个示出了八个抗体克隆、5c8、AT-1501和阿巴西普与Fcγ RIIIb的结合。没有抗体显示出与Fcγ RIIIb的显著结合。

[0040] 图19A和图19B是这样的图,每一个示出了八个抗体克隆、5c8、AT-1501和阿巴西普与C1q的结合。唯一与C1q具有显著结合的抗体是5c8抗体。

[0041] 图20A-图20D是肾脏移植后12周人类受试者中IgAN相关促炎标记物的变化的图。“*”表示p值在0.05与0.01之间的数据;“**”表示p值在0.01与0.001之间的数据;“***”表示p值小于0.001的数据。所绘制的数据是针对IgAN相关促炎标记物IgA(图20A)、IgE(图20B)、CD40L(图20C)和C3(图20D)。

[0042] 图21A-图21D是肾脏移植后12周人类受试者中一般移植促炎标记物的变化的图。“*”表示p值在0.05与0.01之间的数据;“**”表示p值在0.01与0.001之间的数据;“***”表示p值小于0.001的数据。所绘制的数据是针对一般移植相关促炎标记物CXCL9(图21A)、CXCL10(图21B)、IgM(图21C)和C3(图21D)。

[0043] 图22描绘了1b期和2期临床试验的研究设计和数据输出的非限制性示例示意图,如实例2中所讨论。

[0044] 图23描绘了在1b期临床试验中使用的前四名参与者的人口统计学,如实例2中所讨论。

[0045] 图24描绘了在肾脏移植和治疗后患者的肾功能随时间的变化(如通过eGFR水平所监测)的非限制性实例,如实例2中所讨论。

[0046] 图25描绘了人类参与者中的eGFR水平和移植物失功的cox比例风险模型的非限制性示例分布,如实例2中所讨论。

具体实施方式

[0047] 在以下具体实施方式中参考了形成其一部分的附图。除非上下文另外规定,否则在附图中,类似的符号典型地标识类似的组分。在具体实施方式、附图和权利要求中描述的说明性实施例并非意在是限制性的。在不脱离本文呈现的主题的精神或范围的情况下,可以利用其他实施例,并且可以进行其他改变。将容易理解的是,如本文总体上所述和在附图中所展示,本披露的方面可以以各种各样的不同配置来安排、替换、组合、分离和设计,所有这些在本文中都明确地考虑在内。将本文所引用的所有参考文献都通过援引以其全文明确地并入本文,并且用于本文引用的具体披露内容。

[0048] 本披露描述了通过施用治疗有效量的阻断CD40与CD40配体(CD40L)的相互作用的化合物来治疗患有自身免疫性障碍(诸如与肾脏相关的自身免疫性障碍,包括例如肾脏疾病、障碍或并发症)的患者的方法。本披露还描述了通过共同施用阻断CD40与CD40L的相互作用的化合物与阻断CD28与CD86之间或CD28与CD80之间的相互作用的化合物来治疗患者的方法。

[0049] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语都具有与本领域普通技术人员通常所理解的相同的含义。除非另外说明,否则将本文引用的所有专利、申请、公开的申请和其他出版物都通过援引以其全文并入本文。除非另外说明,否则在对于本文的术语存在多个定义的情况下,以在该章节中的那些定义为准。

[0050] 本领域普通技术人员将理解,除了具体例示的那些之外的起始材料、生物和化学材料、生物和化学试剂、合成方法、纯化方法、分析方法、测定方法和生物方法可以在不诉诸于过度实验的情况下用于实践本披露。任何此类材料和方法的所有本领域已知的功能等效

物都旨在包括在本披露中。

[0051] 如本文所用,“一个/一种(a)”或“一个/一种(an)”可以意指一个或多于一个/一种或多于一种。

[0052] 如本文所用,术语“约”或“大约”具有如本领域技术人员所理解的其通常含义,因此指示某个值包括用于确定某个值的方法的固有误差变化或在多次确定中存在的变化。

[0053] 连词“或”的使用与“其中的至少一个/至少一种”可互换地使用。例如:在组合物包含A或B的情况下,该方法必须包含A和B中的至少一个,但是还可以包含A和B两者。同样地,包含“A、B、C或D”的组合物必须包含A、B、C和D的组中的至少一个,但是还可以包含A、B、C和D的全部或任何组合。

[0054] 按照惯例表示氨基酸取代,其中标识出原始氨基酸、指定序列中氨基酸的位置和替代氨基酸,例如C11S将指示多肽序列的位置11处的半胱氨酸被丝氨酸替代。

[0055] 人源化抗体是从非人物种产生的抗体,其蛋白质序列已经被修饰以增加它们与人中天然产生的抗体变体的相似性。“人源化”过程通常应用于开发用于向人施用的单克隆抗体(例如,开发为抗癌药物的抗体)。

[0056] 目前,通常通过将来自在非人动物中产生的抗体的相关CDR插入人抗体“支架”中来使非人抗体人源化。人源化抗体的“直接”产生可以通过将适当的CDR编码区段(负责所需结合特性)插入人抗体“支架”中来完成。这可以通过使用适当载体的重组DNA方法和在哺乳动物细胞中表达来实现。也就是说,在抗体被开发为在小鼠(或其他非人)中具有所需特性后,可以分离编码该抗体的DNA,将其克隆到载体中并且进行测序。然后可以确定对应于抗体CDR的DNA序列。一旦已知所需CDR的精确序列,就可以设计用于将这些序列适当地插入含有人抗体变体的DNA的构建体中的策略。CDR也可以在插入支架中之前改变,例如以增加特异性。

[0057] 术语人抗体是指这样的抗体,其具有对应于由人产生的抗体的氨基酸序列的氨基酸序列和/或已经使用任何用于制备人抗体的技术制备。人抗体的此定义特别地排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。如本文所用的术语“变体”被定义为野生型序列的经修饰的或经改变的形式,例如其中一个或多个氨基酸可以被基本上不显著影响功能的其他一个或多个氨基酸或一个或多个非氨基酸替代。在一些实施例中,变体可以含有至少一个氨基酸残基的经改变的侧链。

[0058] 如本文所用的术语“抗原”被定义为可以刺激抗体产生并且与它们特异性结合的实体和/或引发免疫系统应答的实体。例如,细胞表面蛋白或其特定的线性或非线性部分。本文的该术语可以缩写为“Ag”。

[0059] “抗原结合抗体片段”是指并非完整抗体的分子,其包含结合完整抗体所结合的抗原的完整抗体的一部分。抗体片段的实例包括但不限于Fv、Fab、Fab’、Fd片段、dAb片段、Fab’-SH、F(ab’)2;双抗体;三抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如,scFv);以及由抗体片段形成的多特异性抗体、由模拟抗体高变区的氨基酸残基组成的最小识别单位(例如,分离的互补决定区(CDR),诸如CDR3肽)。如本申请中披露的抗原结合片段与抗原CD40L结合。

[0060] 抗体的抗原结合片段将典型地包含至少一个可变结构域。可变结构域可以具有任何大小或是任何氨基酸组成,并且将通常包含至少一个CDR,其与一个或多个框架序列相邻或与其同框。在具有与VL结构域缔和的VH结构域的抗原结合片段中,VH和VL结构域可以相

对于彼此处于任何合适的排列。例如,可变区可以是二聚体的,并且含有VH-VH、VH-VL或VL-VL二聚体。可替代地,抗体的抗原结合片段可以含有单体VH或VL结构域。

[0061] 分离的抗体包括双特异性抗体,其中抗体的每个臂或抗原结合片段与不同的靶标或表位结合。

[0062] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文中可互换地使用以指代具有与天然抗体结构基本上类似的结构或具有含有Fc区的重链的抗体。

[0063] “5c8”是指结合CD40L并由杂交瘤产生并且描述于美国专利号5,474,771中的小鼠抗人抗体,该杂交瘤可从ATCC获得,登录号为HB10916。“hu5c8”是指5c8的人源化形式,其序列披露于Karpusas等人,Structure[结构]第9卷,第321-329页,(2001)中。

[0064] 术语“特异性结合”等意指抗体或其抗原结合片段与抗原形成在生理条件下相对稳定的复合物。特异性结合的特征可以在于平衡解离常数(KD)为约3000nM或更小(即,更小的KD表示更紧密的结合);约2000nM或更小;约1000nM或更小;约500nM或更小;约300nM或更小;约200nM或更小;约100nM或更小;约50nM或更小;约1nM或更小;或约0.5nM。对特定抗原或表位的特异性结合可以例如由抗体对抗原或表位具有以下KD来展现:至少约1x 10^{-4}M、至少约1x 10^{-5}M、至少约1x10^{-6}M、至少约1x 10^{-7}M、至少约1x 10^{-8}M、至少约1x 10^{-9}M、可替代地至少约1x 10^{-10}M、至少约1x 10^{-11}M、至少约1x 10^{-12}M或更大,其中KD是指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。典型地,相对于抗原或表位,特异性结合抗原的抗体对对照分子将具有大20倍、50倍、100倍、500倍、1000倍、5,000倍、10,000倍或更多倍的KD。此外,对特定抗原或表位的特异性结合可以例如由抗体对抗原或表位具有以下Ka来展现:相对于对照,对表位大至少20倍、50倍、100倍、500倍、1000倍、5,000倍、10,000倍或更多倍,其中Ka是指特定抗体-抗原相互作用的缔合速率。

[0065] 术语“中和抗体”包括能够抑制和/或中和CD40L的生物活性的抗体,例如抑制或防止或减弱CD40L与CD40的结合并且因此抑制或减少由CD40L触发的信号传导途径和/或抑制或减少CD40L与CD40的结合的抗CD40L抗体或其抗原片段。

[0066] 术语“拮抗性抗体”或“拮抗剂抗体”在本文中等效地使用,并且包括能够抑制和/或中和CD40L的生物信号传导活性的抗体,如同上针对中和抗体所述。

[0067] 本文已经采用的术语和表达被用作说明性而非限制性的术语,并且并非旨在使用此类术语和表达而将所示出和描述的特征的任何等效物或其一部分排除在外,但是将认识到的是各种修改在本文披露的方法和组合物的范围内都是可能的。因此,应当理解的是,尽管本披露的方面已经由可以包括优选实施例、示例性实施例和任选特征的各种实施例具体披露,但是本领域技术人员可以诉诸于本文披露的概念的修改和变化。此类修改和变化被认为在如所述和如可以由所附权利要求定义的本披露的实施例的范围内。

[0068] 在本说明书中提及多肽或氨基酸序列之间的同一性百分比。两个序列之间的同一性百分比是序列共享的相同位置的数量的函数,考虑了空位数量和每个空位的长度,需要引入它们以用于两个序列的最佳比对。同一性可以作为“局部同一性”或“整体同一性”测量。局部同一性是指多肽之间的序列相关性的程度,如通过此类序列串之间的匹配所确定。整体同一性是指与参考多肽的全长相比,多肽的序列相关性的程度。除非另外说明,否则如本文所用,同一性意指整体同一性。出于本披露的目的,使用Needleman和Wunsch((1970)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]48:444-453)算法使用Blossum 62评分矩阵(空位罚分为

12,空位延伸罚分为4,并且移码空位罚分为5)来计算整体同一性的百分比。有许多公开可用的并入了Needleman和Wunsch算法的软件程序,例如GCG软件包中的GAP程序。

[0069] CD40L也被称为CD154、gp39、T-BAM、5c8抗原或TNF相关激活蛋白(TRAP)。

[0070] 贯穿本说明书,除非上下文另外要求,否则词语“包含/包括(comprise)”、“包含/包括(comprises)”和“包含/包括(comprising)”将被理解为意指包括一个所述步骤或要素或多个步骤或要素的组,但是不排除任何其他一个步骤或要素或多个步骤或要素的组。“由……组成”意指包括并且限于短语“由……组成”之后的任何内容。因此,短语“由……组成”指示所列出的要素是要求的或强制性的,并且可以不存在其他要素。“基本上由……组成”意指包括短语后所列出的任何要素,并且限于不干扰或有助于所列出的要素的在本披露中指定的活性或作用的其他要素。因此,短语“基本上由……组成”指示所列出的要素是要求的或强制性的,但是其他要素是任选的并且可以存在或可以不存在,这取决于它们是否实质上影响所列出的要素的活性或作用。

[0071] 如本文所用的术语“功能”和“功能性”具有如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义,并且是指生物功能、酶功能或治疗功能。

[0072] 如本文所用的术语任何给定物质、化合物或材料的“产率”具有如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义,并且是指相对于预期总量,物质、化合物或材料的实际总量。例如,物质、化合物或材料的产率为、为约、为至少、为至少约、不大于或不大于约预期总量的80%、81%、82%、83%、84%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,包括其间的所有小数。产率可能受反应或过程的效率,不想要的副反应,降解,输入物质、化合物或材料的量,或在生产的任何步骤期间所需物质、化合物或材料的损失的影响。

[0073] 如本文所用,术语“分离的”具有如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义,并且是指这样的物质和/或实体,其已经(1)与最初产生(无论在自然界中和/或在实验环境中)时和与其相关的至少一些组分分开,和/或(2)由人工产生、制备和/或制造。分离的物质和/或实体可以与等于、约、至少、至少约、不大于或不大于约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约98%、约99%、基本上100%或100%(或包括和/或跨越上述值的范围)的与它们最初相关的其他组分分开。在一些实施例中,分离的药剂为、为约、为至少、为至少约、不大于或不大于约80%、约85%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%、基本上100%或100%(或包括和/或跨越上述值的范围)纯的。如本文所用,“分离的”物质可以是“纯的”(例如,基本上不含其他组分)。如本文所用,术语“分离的细胞”可以指代不包含在多细胞生物体或组织中的细胞。

[0074] 术语“分离的蛋白质”或“分离的多肽”(例如,分离的抗体或分离的抗原结合片段)是这样的蛋白质或多肽,该蛋白质或多肽就其来源或衍生来源而言不与在其天然状态下伴随它的天然相关组分相关;基本上不含来自相同物种的其他蛋白质;由来自不同物种的细胞表达;或不在自然界中存在。因此,化学合成的或在与其天然来源的细胞不同的细胞系统中合成的多肽将与其天然相关组分是“分离的”。可以使用本领域熟知的蛋白质纯化技术通过分离使蛋白质基本上不含天然相关组分。

[0075] 如本文所用,“体内”以如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义给出,并且

是指方法在活生物体(通常是动物、哺乳动物(包括人)和植物)或构成这些活生物体(与组织提取物或死生物体相反)的活细胞内进行。

[0076] 如本文所用,“离体”以如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义给出,并且是指方法在活生物体外进行而几乎不改变自然条件。

[0077] 如本文所用,“体外”以如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义给出,并且是指方法在生物条件外(例如,在培养皿或试管中)进行。

[0078] 如本文所用,“核酸”、“核酸分子”或“核苷酸”是指多核苷酸或寡核苷酸,诸如脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)、寡核苷酸、由聚合酶链式反应(PCR)产生的片段以及通过连接、断裂、核酸内切酶作用、核酸外切酶作用中的任一种产生和通过合成产生而产生的片段。核酸分子可以由作为天然存在的核苷酸(诸如DNA和RNA)或天然存在的核苷酸的类似物(例如,天然存在的核苷酸的对映异构体形式)或两者的组合的单体构成。经修饰的核苷酸可以在糖部分和/或嘧啶或嘌呤碱基部分中具有改变。糖修饰包括例如用卤素、烷基、胺和叠氮基替代一个或多个羟基,或者糖可以被官能化为醚或酯。此外,整个糖部分可以被空间上和电子上类似的结构(诸如氮杂糖和碳环糖类似物)替代。碱基部分中的修饰的实例包括烷基化嘌呤和嘧啶、酰化嘌呤或嘧啶或其他熟知的杂环取代物。核酸单体可以通过磷酸二酯键或此类连接的类似物连接。磷酸二酯连接的类似物包括硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯(phosphoroselenoate)、二硒代磷酸酯(phosphorodiselenoate)、苯胺硫代磷酸酯(phosphoroanilothioate)、苯胺磷酸酯(phosphoranilidate)、氨基磷酸酯等。术语“核酸分子”还包括所谓的“肽核酸”,其包含与聚酰胺骨架附接的天然存在的或经修饰的核酸碱基。核酸可以是单链的或双链的。

[0079] 如本文所用的术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”具有如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义,并且是指由通过肽键连接的氨基酸构成的大分子。肽、多肽和蛋白质的许多功能是本领域已知的,并且包括但不限于酶、结构、转运、防御、激素或信号传导。肽、多肽和蛋白质通常但不总是通过核糖体复合物使用核酸模板生物产生,尽管化学合成也是可用的。通过操纵核酸模板,可以进行肽、多肽和蛋白质突变(诸如多于一种肽、多肽或蛋白质的取代、缺失、截短、添加、重复或融合)。多于一种肽、多肽或蛋白质的这些融合物可以相邻地连接在同一分子中,或者与其间的额外氨基酸(例如,接头、重复序列、表位或标签)或为、为约、为至少、为至少约、不多于或不多于约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、200或300个碱基长或由上述长度的任两个定义的范围内的任何长度的任何其他序列连接。如本文所用的关于多肽的术语“下游”具有如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义,并且是指在先前序列的C末端后的序列。如本文所用的关于多肽的术语“上游”具有如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义,并且是指在后续序列的N末端前的序列。

[0080] 如本文所用的术语“基因”具有如根据本说明书所理解的其简单且普通的含义,并且通常是指编码蛋白质或功能性RNA的核酸的一部分;然而,该术语可以任选地涵盖调节序列。本领域普通技术人员将理解,术语“基因”可以包括基因调节序列(例如,启动子、增强子等)和/或内含子序列。将进一步理解,基因的定义包括提及不编码蛋白质而是编码功能性RNA分子(诸如tRNA和miRNA)的核酸。在一些情况下,基因包括涉及转录或信息产生或组成的调节序列。在其他实施例中,基因包含编码蛋白质、多肽或肽的转录序列。与本文所述的

术语一致,“分离的基因”可以包含基本上与其他此类序列(诸如其他天然存在的基因、调节序列、多肽或肽编码序列等)分离的一种或多种转录核酸、调节序列、编码序列等。在此方面,术语“基因”用于简单地指代包含经转录的核苷酸序列及其互补序列的核酸。如本领域技术人员将理解的,此功能性术语“基因”包括基因组序列、RNA或cDNA序列,或更小的经工程化的核酸区段,包括基因的非转录部分的核酸区段,包括但不限于基因的非转录启动子或增强子区。更小的经工程化的基因核酸区段可以表达或可以适于使用核酸操作技术来表达蛋白质、多肽、结构域、肽、融合蛋白、突变体和/或类似物。

[0081] 如本文所用的术语“个体”、“受试者”、“宿主”或“患者”具有如本领域技术人员所理解的通常含义,因此包括人或非人哺乳动物。术语“哺乳动物”以其通常的生物学意义使用。因此,它具体包括但不限于灵长类动物(包括猿猴(黑猩猩、猿、猴)、人)、牛、马、绵羊、山羊、猪、兔、狗、猫、啮齿类动物、大鼠、小鼠或豚鼠。

[0082] 本文披露的尺寸和值不应被理解为严格限于所列举的确切数值。相反,除非另外规定,否则每个这样的尺寸都旨在意指所列举的值和围绕该值的功能等效范围两者。例如,披露为“20mm”的尺寸旨在意指“约20mm”。

[0083] 在本文中使用以下缩写:超氧化物歧化酶-1(SOD1);T细胞受体(TCR);主要组织相容性复合体(MHC);抗原呈递细胞(APC);磷酸盐缓冲盐水(PBS);互补决定区(CDR)。“IP”意指腹膜内,并且“IV”意指静脉内。

[0084] R1是与小鼠CD40配体结合的仓鼠单克隆抗体。如本文所用的“野生型”意指非转基因小鼠。如本文所用,“小分子”意指分子量小于2000道尔顿的化合物。如本文所用的“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”包括预防性治疗和治疗性治疗。短语“治疗有效量”意指化合物或其药学上可接受的盐足以抑制或允许改善特定受试者或受试者群体的用单独施用或与另一种药剂或治疗联合施用所治疗的障碍或病症的量。

[0085] 药剂(例如,药物配制品)的“有效量”是指在必要的剂量和持续必要的时间段的情况下有效实现所需治疗或预防结果的量。

[0086] “亲和力”是指分子(例如,抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如,抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另外说明,否则如本文所用,“结合亲和力”是指内在结合亲和力,其反映了结合对的成员(例如,抗体与抗原)之间的1:1相互作用。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以由抗体与其抗原之间的平衡解离常数(KD)(k_{off}/k_{on}的比率)来表示。KD和亲和力是反向相关的。KD值与抗体的浓度(特定实验所需的抗体量)相关,因此KD值越低(浓度越低),则抗体的亲和力越高。亲和力可以通过本领域已知的常规方法(包括本文所述的那些方法)测量。用于测量结合亲和力的特定的、说明性的和示例性的实施例可以通过放射免疫测定(RIA);BIAcore®仪器(通用电气医疗集团欧洲有限公司(GE Healthcare Europe GmbH),瑞士苏黎士州)上的表面等离子体共振(SPR),通过将抗体捕获在蛋白A偶联的CM5研究级传感器芯片(通用电气医疗集团欧洲有限公司,瑞士苏黎士州;BR-1000-14)上使用人CD40配体多肽作为分析物进行测量。其他方法可以包括放射免疫测定和动力学排阻测定。动力学排阻测定是通用型免疫测定平台,其能够测量抗原/抗体相互作用的平衡解离常数以及缔合速率常数和解离速率常数。

[0087] TMB是3,3′,5,5′-四甲基联苯胺的缩写。

[0088] 如本文所用的“CDR结构域”意指具有或不具有侧翼序列的抗体互补决定区。

[0089] “效应子功能”是指可归因于抗体Fc区的那些生物活性,其随抗体同种型而变化。抗体效应子功能的实例包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬;细胞表面受体(例如,B细胞受体)的下调;和B细胞激活。一种效应子功能是抗体的Fc或恒定区结合包括但不限于以下的蛋白质的能力:Fc受体(FcR)(例如,高亲和力IgG Fc区受体Ia(FCγRIa)(CD64)、低亲和力免疫球蛋白γFc区受体IIa(FCγRIIa)(CD32)、低亲和力免疫球蛋白γFc区受体IIIa(FCγRIIIA)(CD16a)、低亲和力免疫球蛋白γFc区受体IIIb(FCγRIIIb)(CD16b))。在一些实施例中,在抗体及其抗原结合片段具有Fc结构域的情况下,Fc结构域已经被工程化以减少或消除一种或多种Fc效应子功能。在优选实施例中,Fc结构域已经被工程化以减少或消除血小板激活和/或血小板聚集以及伴随的血栓栓塞风险。

[0090] 候选化合物的鉴定

[0091] 共刺激途径连同其他相互作用一起涉及B细胞上的CD40与T细胞上的CD40L(也称为CD154、gp39、T-BAM、5c8抗原、CD40CR和TRAP)的结合。人CD40在成熟B细胞以及巨噬细胞、树突细胞、成纤维细胞和经激活的内皮细胞上表达。认为CD40:CD40L结合的阻断促进I型T辅助细胞应答的形成。

[0092] 使用阻断这些相互作用并抑制共刺激信号的化合物,大量的工作已经证明了在移植和自身免疫的临床前模型中阻断CD40L、CD80或CD86中的一种或多种的免疫调节作用。用封闭抗体阻断CD40L功能或用腺病毒表达CD40L-Ig使同种异体移植物移植期提高30至90天。用CTLA4-Ig阻断APC上的CD80/CD86或用腺病毒表达CTLA4-Ig的类似研究使同种异体移植物移植存活期瞬时提高。这些模型中的移植排斥是短暂的,并且随时间接着发生移植物排斥。通过用CTLA4-Ig阻断共刺激途径和用抗CD40L抗体阻断APC的CD40L激活都可以实现移植排斥的长期抑制。

[0093] 在小鼠中针对CD40L的封闭抗体或CD40L的遗传缺失已经证明,CD40L在实验性变应性脑脊髓炎(EAE)的临床前模型(多发性硬化、胶原诱导的关节炎和系统性狼疮的模型)中改善疾病进展、存活期和疾病的替代标记物。CD40:CD40L结合的阻断显现降低了巨噬细胞产生一氧化氮(其介导巨噬细胞的许多促炎活性)的能力。

[0094] 从此类研究看出,阻断CD40:CD40L相互作用和/或阻断CD28:CD80或CD28:CD86相互作用可以调节免疫应答。

[0095] 免疫组织化学数据显示与基因表达数据良好相关,并且这些数据将巨噬细胞在G93A小鼠中鉴定为在疾病进展期间浸润骨骼肌的抗原呈递细胞。

[0096] 为了确定来自G93A和野生型动物的腓肠肌中潜在的抗原呈递细胞的存在和定位,在第110天对从G93A和野生型小鼠收获的腓肠肌组织进行免疫组织化学。收获后立即将组织包埋在OCT中。将冷冻切片进行H&E染色,并且与针对髓磷脂的抗体(抗S100b抗体)或针对造血细胞谱系(包括T细胞(抗CD3抗体)、B细胞(CD45R泛B细胞抗体)和巨噬细胞(抗CD11b抗体))的抗体杂交。在第110天,存在CD11b阳性巨噬细胞浸润,并且巨噬细胞显现定位于支配骨骼肌的神经的轴突。巨噬细胞的定位并不分散在整个肌肉中,这表明炎症不是由于肌肉萎缩或肌纤维重塑。

[0097] 为了证实在第110天骨骼肌中单核细胞谱系细胞的身份并且阐明这些细胞与非转基因动物相比的相关性,用一组对巨噬细胞谱系具有特异性的抗体进行另外的免疫组织化

学。利用抗S100b抗体标记支配骨骼肌的髓磷脂相关轴突。所有巨噬细胞特异性抗体(抗CD11b抗体、抗CD86抗体和抗MAC1抗体)都将巨噬细胞定位于支配G93A小鼠骨骼肌的神经的轴突,而野生型动物的轴突上不存在巨噬细胞。巨噬细胞的定位是支配肌肉的神经所特有的,而在肌肉的肌纤维上不存在巨噬细胞。

[0098] 基因表达数据表明,在脊髓以及骨骼肌两者中与共刺激途径相关的基因在疾病进展期间都暂时增加。为了表征巨噬细胞浸润到骨骼肌中的时间,在G93A小鼠中对来自第60天、第80天和第100天的腓肠肌切片进行免疫组织化学。在第60天没有巨噬细胞浸润和定位于轴突的证据。巨噬细胞在第80天是明显的,并且如先前在第110天针对骨骼肌所述其被定位于支配肌肉的轴突。巨噬细胞的数量在第80天与第100天之间增加,并且巨噬细胞的积累是支配骨骼肌的轴突所特有的。

[0099] 为了定量巨噬细胞浸润的增加,将来自5只G93A和5只野生型动物的代表性切片与抗CD86抗体杂交,并且对每10,000平方微米的巨噬细胞数量进行计数。在60天、80天和110天时间点野生型动物中巨噬细胞的数量是相同的。巨噬细胞在第80天与第100天之间暂时积累在骨骼肌中,并且有非常少的巨噬细胞存在于野生型骨骼肌中。

[0100] 总之,免疫组织化学数据与基因表达数据非常良好地相关,并且将巨噬细胞在G93A小鼠模型中鉴定为在疾病进展期间浸润骨骼肌的抗原呈递细胞。出乎意料的发现是巨噬细胞浸润显现特异性靶向支配骨骼肌的轴突,如通过用针对髓磷脂和巨噬细胞的抗体标记而定位。

[0101] 使用夹心形式的基质匹配的非竞争性酶联免疫吸附测定(ELISA)来确定针对鼠CD40L的MR1的组织水平。在每个板上包括七点标准曲线。使用掺入PBS稀释剂溶液中的经纯化的MR1来制备标准品。将PBS稀释剂溶液与相等稀释度的未知样品下的正常小鼠组织进行基质匹配,以校正由组织裂解物引起的任何非特异性作用。

[0102] 在雌性和雄性G93A小鼠两者中,在给药(10mg/kg,IP)后两周的时间段内采集84个血浆样品用于药代动力学分析。

[0103] 消除半衰期在雌性(23d)和雄性(22d)中是类似的,并且与典型的小鼠IgG2基抗体在小鼠中的半衰期类似。没有观察到抗仓鼠抗体应答的迹象。

[0104] 与雄性相比,雌性所显示出的MR1的分布体积略小,因此当给予相同的10mg/kg剂量时显示出更高的血浆水平。雄性显示出更快的清除和更高的分布体积。因此,为了达到类似的血浆水平,雄性将需要更高的剂量。图1A使用线性浓度(Y)轴示出了随时间的MR1浓度。图1B使用log浓度(Y)轴示出了随时间的MR1浓度。

[0105] 将36只雌性G93A小鼠进行同窝匹配,并且随机分为两个研究组。将18只G93A小鼠置于MRI治疗组中,并且将其他18只G93A小鼠置于对照组中。研究天数基于从出生起的天数。

[0106] 在第50天腹膜内(IP)施用56ug MR1的单次注射。在推注后,通过腹膜内注射施用18ug MR1的每周维持注射。在媒介物(磷酸盐缓冲盐水(PBS,pH 7.3))中制备剂量,至总体积为200μl。向对照动物施用200μlPBS。从第54天开始,在整个研究过程中每天监测动物,并且进行每日体重测量。

[0107] 突变型SOD1转基因动物在新生儿时表现出正常的体重(BW)特征,并且与非转基因动物相比体重正常增加到成年期。根据转基因中遗传突变的性质和突变型转基因的拷贝

数,体重减轻在成年动物中变得明显并且持续直到死亡。治疗组和对照组的体重减轻的分析可以提供对推定的治疗对疾病发作和进展速率的影响的见解。为了评估MR1治疗对体重的影响,检查两个汇总参数(1)从研究开始至达到体重峰值的BW变化,这可以反映对疾病发作的影响;(2)从体重峰值至死亡的BW变化,这可以反映对疾病进展的影响。

[0108] 比较性的MR1治疗组和对照组的从第40天至达到体重峰值的时间的时间-事件曲线示于图2中。对照组达到体重峰值的时间中值为50天,相比之下MR1治疗组为51天。当通过卡普兰-迈耶使用对数秩和威尔科克森统计模型、Cox比例风险模型或参数统计检验进行分析时,此差异不显著。

[0109] 比较性的MR1治疗组和对照组的从体重峰值至死亡的时间的时间-事件曲线示于图3中。在经MRI治疗的动物中,从体重峰值至死亡的时间在统计学上显著晚15天。对照动物在达到体重峰值后更快死亡的风险比经MR1治疗的动物高2.4至4.7倍。在对照组中从体重峰值至死亡的时间中值为26天,而在MR1治疗组中它为41天。以几种方式计算此实例中每种分析的显著性,以便更好地评价显著性。当使用几种方法进行分析时,延迟是统计学上显著的。(卡普兰-迈耶,对数秩,p=0.0110和威尔科克森,p=0.0069;Cox比例风险模型,p=0.05151;参数统计模型,p=0.0122)。基于体重数据,MR1显现对G93A小鼠模型的疾病发作具有较小的影响,但是在减缓从体重峰值直到死亡的体重减轻速率方面具有显著的影响。

[0110] 与对照动物相比,治疗动物的存活时间晚13天。比较性的MR1治疗组和对照组的从体重峰值至死亡的时间的时间-事件曲线示于图4中。对照组的存活时间中值为128天,并且MR1治疗组的存活期中值为141天。对照动物的更快死亡的风险比经MR1治疗的动物高2.8至3.2倍。当使用几种方法进行分析时,延迟是统计学上显著的。(卡普兰-迈耶,对数秩(p=0.0040)和威尔科克森检验(p=0.0109);Cox比例风险模型(p=0.0060);参数分析(p=0.0049))。将60只雌性和36只雄性G93A小鼠进行同窝匹配,并且随机分配到治疗组或对照组。从第50天开始用MR1治疗30只雌性小鼠和18只雄性小鼠。研究天数是基于出生的。

[0111] 在第50天,在雌性或雄性中分别腹膜内施用5.22mg/kg或6.75mg/kg MR1的单次推注。在推注后,经由腹膜内注射,雌性接受1mg/kg MR1的每周注射,并且雄性接受1.34mg/kg MR1的每周注射。在媒介物(磷酸盐缓冲盐水(PBS,pH 7.3))中制备剂量,至总体积为200μl。向对照动物施用200μl PBS。如先前所述监测动物的体重和安乐死标准。

[0112] 比较性的MR1治疗组和对照组的从第40天至达到体重峰值的时间的时间-事件曲线示于图5A中。对照组达到体重峰值的时间中值为49天,相比之下MR1治疗组为53天。当通过卡普兰-迈耶使用对数秩和威尔科克森统计模型、Cox比例风险模型或参数统计检验进行分析时,此差异不显著。

[0113] 比较性的MR1治疗组和对照组的从体重峰值至死亡的时间的时间-事件曲线示于图5B中。在经MRI治疗的动物中,从体重峰值至死亡的时间在统计学上显著晚6天。在对照组中从体重峰值至死亡的时间中值为29天,而在MR1治疗组中它为35天。以几种方式计算此实例中每种分析的显著性,以便更好地评价显著性。当使用以下几种统计模型进行分析时,延迟是统计学上显著的:卡普兰-迈耶,对数秩(p=0.0413)和威尔科克森(p=0.0732);以及Cox比例风险模型(p=0.0460)。基于体重数据,MR1显现对G93A小鼠模型的疾病发作具有较小的影响,但是在减缓从体重峰值直到死亡的体重减轻速率方面具有显著的影响。

[0114] MR1和对照组动物进展到神经功能得分为2时的年龄和神经功能得分为2的天数的

时间-事件图示于图5C中。在对照组中达到得分为2的时间为113天,并且对于MR1治疗组为121天。基于神经功能得分数据,MR1将G93A小鼠模型的疾病发作延迟大约8天,并且当使用以下几种分析模型进行分析时,延迟是统计学上显著的:卡普兰-迈耶,对数秩(p=0.0038)和威尔科克森(p=0.0017);以及Cox比例风险模型(p=0.0010)。

[0115] 与对照动物相比,治疗动物的存活时间晚9天。对照组的存活时间中值为124天,并且MR1治疗组的存活期中值为133天,如图5D所示。当使用以下几种统计模型进行分析时,延迟是统计学上显著的:卡普兰-迈耶,对数秩(p=0.0043)和威尔科克森检验(p=0.0040);以及Cox比例风险模型(p=0.0030)。

[0116] 应理解的是,本文所述的实例和实施例仅出于说明目的,并且将对本领域技术人员建议鉴于此的各种修改或变化且这些修改或变化将被包括在本申请的精神和范围内以及所附权利要求的范围内。

[0117] 编码所需抗体的重链和轻链的核酸序列被设计为适合于在哺乳动物细胞(诸如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞)中表达。然后人工合成核酸,并且使用标准分子生物学技术将其连接到抗体表达载体BPJPuro中。BPJPuro是针对免疫球蛋白在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中的具选择性且稳定的表达而优化的双基因哺乳动物表达载体。然后将载体转染到CHO细胞中,并且选择稳定的转染子。

[0118] 类似地,合成编码具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链的核酸(SEQ ID NO:10)和编码具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的轻链的核酸(SEQ ID NO:8),并且将其连接到抗体表达载体BPJPuro中。

[0119] 使用脂质体介导的转染将编码重链和轻链的所得表达载体转染到CHO系(CHO SA,塞莱克蒂斯股份有限公司(Cellectis SA),法国巴黎)中。通过嘌呤霉素选择来分离稳定的转染子并且进行亚克隆以提供克隆细胞系。使候选细胞系适应无血清悬浮培养,并且针对IgG产生和稳健生长进行筛选。选择一种细胞系并且将其命名为JB5,将该细胞系在中试规模生物反应器中培养,并且通过顺序浓缩、蛋白A/G亲和色谱法和尺寸排阻色谱法从条件培养基中纯化抗体JB5。

[0120] 使用三部分夹心ELISA测定来确定JB5抗体相对于亲本抗体hu5c8的结合动力学。使用250μl PBS的3次洗涤来进行所有洗涤。在4℃下将96孔聚苯乙烯板用100μl/孔JB5或hu5c8抗体(2μg/ml)包被16小时。洗涤板,然后在室温下将其用2%牛血清白蛋白/PBS封闭1小时。洗涤板,并且将重组人CD40L蛋白(圣克鲁斯生物科技公司(Santa Cruz Biotechnology),美国加利福尼亚州圣克鲁斯)添加到板中,以2000ng/ml开始通过2倍稀释进行滴定。在结合和洗涤后,使用100μl生物素化的山羊抗人CD40L多克隆抗体(200ng/ml)和100μl链霉亲和素-辣根过氧化物酶缀合物(100ng/ml)来检测结合的CD40L蛋白。用显色剂TMB(3,3′,5,5′-四甲基联苯胺)进行比色检测,并且对450nm处的吸收进行分光光度分析。所得结合曲线(图6)显示,相对于亲本抗体hu5c8(正方形),JB5(圆形)具有高度类似的CD40L结合。具有与JB5相同的Fc结构域的对照蛋白CTLA4-IgG1(三角形)未显示出显著结合。hu5c8和JB5的计算的EC50分别为114和137nM。JB5-R28K和JB5-K74R显示出与JB5的结合类似的结合。

[0121] 为了比较来自所有16个克隆的抗体相比于5c8或AT-1501(也称为替格鲁特(tegoprubart),抑制CD40配体的人源化单克隆抗体)的CD40L结合,使用2个克隆(在同一96

孔测定板上运行的5c8和AT-1501)运行结合测定。使用三部分夹心ELISA测定来确定与参考抗体5c8-19和AT-1501相比,本披露的抗体的结合水平。将96孔聚苯乙烯板用重组人CD40L(百进公司(BioLegend)目录号591706)(使用在PBS中的2μg/ml)进行包被,并且将50μl/孔添加到Costar 96孔1/2面积高结合测定板(康宁公司(Corning)3690)中,并且在4℃下孵育过夜。在室温下将板用(1X)PBS/1.0% BSA(140μl/孔)封闭1小时以防止背景结合。添加5C8或AT1501(从2μg/ml开始连续2倍稀释液)(50μl/孔)的结合曲线,并且在室温下孵育1小时。洗涤板,并且在室温下将其用1:10,000稀释度的HRP-(Fab2)驴抗人IgG(Fc特异性)(杰克逊免疫研究公司(Jackson Immuno.)709-036-098)(50μl/孔)孵育1小时。洗涤板,并且添加TMB底物(Surmodics BioFX公司TMBW-1000-01)(50μl/孔)。在室温下5分钟后,用25μl $2NH_2SO_4$停止显色。使用SoftMax Pro 6.2.2程序在Molecular Devices SpectraMax M5读板仪上读取板,以确定450nm处的吸光度。

[0122] 如下计算相对CD40L结合效力:[IC50(克隆)/IC50(5c8或AT-1501)X100%]。16个克隆相比于5c8的排序效力示于图13A中,并且相比于AT-1501的排序效力示于图13B中。所得结合曲线示于图14A-图14Q(16个克隆相比于5c8的比较,图14H示出了AT-1501与5c8之间的比较)和图15A-图15Q(16个克隆相比于AT-1501的比较,图15H示出了AT-1501与5c8之间的比较)中。每个克隆的IC50、LCL、UCL和相对效力示于表1(与5c8比较)和表2(与AT-1501比较)中。

[0123] 表1:

[0124]

图号	克隆	IC50	LCL	UCL	相对效力
14A	16-3	0.022	0.017	0.026	46
	5c8	0.047	0.040	0.054	
14B	8-3	0.036	0.028	0.043	51

[0125]

图号	克隆	IC50	LCL	UCL	相对效力
	5c8	0.070	0.062	0.078	
14C	12-4	0.020	0.013	0.027	47
	5c8	0.042	0.038	0.046	
14D	8-4	0.036	0.030	0.041	51
	5c8	0.070	0.062	0.078	
14E	13-2	0.020	0.013	0.027	48
	5c8	0.041	0.038	0.045	
14F	4-4	0.037	0.029	0.045	51
	5c8	0.072	0.064	0.081	
14G	17-1	0.028	0.023	0.033	63
	5c8	0.044	0.036	0.053	
14H	AT-1501	0.049	0.043	0.056	95
	5c8	0.052	0.046	0.058	
14I	5-3	0.055	0.047	0.063	76
	5c8	0.072	0.064	0.081	
14J	6-6	0.065	0.059	0.070	106
	5c8	0.061	0.054	0.068	
14K	18-2	0.041	0.036	0.046	92
	5c8	0.044	0.036	0.053	
14L	10-4	0.075	0.065	0.086	113
	5c8	0.067	0.058	0.076	
14M	10-1	0.079	0.070	0.089	119
	5c8	0.067	0.058	0.076	
14N	7-5	0.102	0.094	0.111	168
	5c8	0.061	0.054	0.068	

[0126]

图号	克隆	IC50	LCL	UCL	相对效力
14O	15.4	0.063	0.056	0.069	133
	5c8	0.047	0.040	0.054	
14P	11-5	0.092	0.071	0.112	177
	5c8	0.052	0.046	0.058	
14Q	15-1	0.081	0.073	0.089	163
	5c8	0.050	0.046	0.053	

[0127] 表2：

[0128]

图号	克隆	IC50	LCL	UCL	相对效力
15A	12-4	0.020	0.013	0.027	45
	AT-1501	0.044	0.039	0.049	
15B	8-3	0.036	0.028	0.043	59
	AT-1501	0.060	0.053	0.068	
15C	13-2	0.020	0.013	0.027	45
	AT-1501	0.044	0.038	0.049	
15D	8-4	0.036	0.030	0.041	59
	AT-1501	0.060	0.053	0.068	
15E	16-3	0.022	0.017	0.026	48
	AT-1501	0.045	0.039	0.051	
15F	4-4	0.037	0.029	0.045	60
	AT-1501	0.062	0.054	0.070	
15G	17-1	0.028	0.023	0.033	66
	AT-1501	0.042	0.035	0.050	
15H	5c8	0.052	0.046	0.058	105

[0129]

图号	克隆	IC50	LCL	UCL	相对效力
	AT-1501	0.049	0.043	0.056	
15I	5-3	0.055	0.047	0.063	89
	AT-1501	0.062	0.054	0.070	
15J	10-4	0.075	0.065	0.086	115
	AT-1501	0.066	0.056	0.076	
15K	18-2	0.041	0.036	0.046	96
	AT-1501	0.042	0.035	0.050	
15L	10-1	0.079	0.070	0.089	121
	AT-1501	0.066	0.056	0.076	
15M	6-6	0.065	0.059	0.070	132
	AT-1501	0.049	0.047	0.051	
15N	11-5	0.092	0.071	0.112	174
	AT-1501	0.053	0.050	0.056	
15O	15-4	0.063	0.056	0.069	139
	AT-1501	0.045	0.039	0.051	
15P	7-5	0.102	0.094	0.111	210
	AT-1501	0.049	0.047	0.051	
15Q	15-1	0.081	0.073	0.089	159
	AT-1501	0.051	0.046	0.055	

[0130] 用具有两个突变P238S和N297G的IgG1 Fc(SEQ ID NO:21)构建16个VH/VL抗体克隆。测定这些抗体克隆的与人Fcγ RI、Fcγ RIIa和Fcγ RIIIa结合的Fc效应子功能。

[0131] 将抗CD40L抗体(包括阿巴西普作为阴性对照)在(1X)PBS中稀释至2μg/ml,并且将50μl/孔添加到Costar 96孔1/2面积高结合测定板(康宁公司3690)中,用于在4℃下孵育过夜。在室温下将板用(1X)PBS/1.0%BSA(140μl/孔)封闭1小时以防止背景结合。添加重组人Fcγ RI、IIa、IIIa和IIIb(从5μg/ml开始连续2倍稀释液)(50μl/孔)的结合曲线,并且在室温下孵育1小时。洗涤板,并且在室温下将其用2μg/ml的小鼠抗人CD16(抗FcRIII);CD32(抗FcRIIa)或CD64(抗FcRI)(e生物科学公司(eBioSciences)/英杰公司(Invitrogen)14-0168-82;16-0329-81;14-0649-82)(50μl/孔)孵育1小时。洗涤板,并且在室温下将其用1:

10,000稀释度的HRP-(Fab_2)山羊抗小鼠IgG(Fc特异性)(杰克逊免疫研究公司116-036-071)(50μl/孔)孵育1小时。洗涤板,并且添加TMB底物(Surmodics BioFX公司TMBW-1000-01)(50μl/孔)。在室温下5min后,用(25μl/孔)$2NH_2SO_4$停止显色。使用SoftMax Pro 6.2.2程序在Molecular Devices SpectraMax M5读板仪上读取板,以确定450nm处的吸光度。

[0132] 如可以在图中观察到的,本申请披露的克隆与三种Fc受体的结合呈阴性,而5c8与FcγRI、FcγRIIa结合,但是不与FcγRIIIa或FcγRIIIb结合。图16A和图16B各自示出了与5c8、AT-1501和阿巴西普的结合曲线相比,八个抗体克隆与FcγRIa的结合。图17A和图17B各自示出了与5c8、AT-1501和阿巴西普的结合曲线相比,八个抗体克隆与FcγRIIa的结合。图18A和图18B各自示出了与5c8、AT-1501和阿巴西普的结合曲线相比,八个抗体克隆与FcγRIIIa的结合。图18C和图18D各自示出了与5c8、AT-1501和阿巴西普的结合曲线相比,八个抗体克隆与FcγRIIIb的结合。(图16A、图17A、图18A和图18B示出了来自抗体克隆4-4、5-3、6-6、7-5、8-3、8-4、10-1和10-4的结果;图16B、图17B、图18C和图18D示出了来自抗体克隆11-5、12-4、13-2、15-1、15-4、16-3、17-1和18-2的结果)。

[0133] 将抗CD40L抗体(包括阿巴西普作为阴性对照)在(1X)PBS中稀释至2μg/ml,并且将50μl/孔添加到Costar 96孔1/2面积高结合测定板(康宁公司3690)中,用于在4℃下孵育过夜。在室温下将板用(1X)PBS/1.0%BSA(140μl/孔)封闭1小时以防止背景结合。添加天然人C1q蛋白(艾博抗公司(Abcam)ab96363)(从10μg/ml开始连续2倍稀释液)(50μl/孔)并且在室温下持续1小时的结合曲线。洗涤板,并且添加1:400稀释度的HRP-绵羊抗人C1q(艾博抗公司ab46191)(50μl/孔),并且在室温下孵育1小时。洗涤板,并且添加TMB底物(Surmodics BioFX公司TMBW-1000-01)(50μl/孔)。在室温下5分钟后,用(25μl/孔)$2NH_2SO_4$停止显色。使用SoftMax Pro 6.2.2程序在Molecular Devices SpectraMax M5读板仪上读取板,以确定450nm处的吸光度。

[0134] 如可以在图中观察到的,来自本申请披露的所有十六个抗体克隆的抗体与C1q的结合都呈阴性,而5c8显示出显著结合。图19A和图19B各自示出了与5c8、AT-1501和阿巴西普的结合曲线相比,八个抗体克隆与C1q的结合。图19A示出了来自抗体克隆4-4、5-3、6-6、7-5、8-3、8-4、10-1和10-4的结果;图19B示出了来自抗体克隆11-5、12-4、13-2、15-1、15-4、16-3、17-1和18-2的结果。

[0135] 由于遗传表达数据表明涉及共刺激途径,在G93A模型中评价MRI的功效。MR1与CD40L结合,从而阻断其与CD40的相互作用,后者参与涉及免疫应答的共刺激途径。在文献中已经报道,MR1可有效治疗类风湿性关节炎和移植物抗宿主病,这两者都具有强的免疫组分。类风湿性关节炎是自身免疫性疾病,并且当宿主的机体对移植物组织产生强烈的免疫应答时,出现移植物抗宿主病。

[0136] 根据本披露的方法包括治疗患有自身免疫性障碍(包括肾脏相关自身免疫性障碍,诸如肾脏相关疾病、障碍或并发症)的患者的方法,这些方法是通过向患者施用阻断CD40L与CD40的相互作用和/或阻断CD28与CD80的相互作用和/或阻断CD28与CD86的相互作用的化合物。在一些实施例中,这些方法包括治疗患有结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、肾移植、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感

染、肾石症或IgA肾病的患者,通过向患者施用阻断CD40L与CD40的相互作用的化合物。在一些实施例中,这些方法包括通过施用抗CD40L抗体来治疗患者。在一些实施例中,这些方法包括治疗患有自身免疫性疾病的患者。自身免疫性疾病的非限制性实例包括系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血和格雷夫斯病。

[0137] 本文提供的治疗化合物包括阻断CD40与CD40L的相互作用的任何化合物。例如,许多动物研究描述了能够阻断CD40:CD40L结合的药剂(参见例如,US2005158314和US7173046,将其通过援引特此并入)。已经产生和表征了许多抗CD40L抗体(参见例如,百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb)的美国专利号5,876,950,将其通过援引特此并入)。可用于本披露的方法中的抗CD40L抗体包括但不限于MR1,一种仓鼠单克隆抗体,可从泰康利公司(Taconic)(纽约州哈德逊)和BD生物科学公司(BD Biosciences)(加利福尼亚州圣何塞)获得;5c8,一种人源化抗体,描述于美国专利号5,474,771(将其通过援引特此并入)中;仓鼠人嵌合抗体IDEC 131/E6040,其是一种包含具有鼠单克隆抗体克隆24-31的CDR的人γ-1重链和人κ轻链的人源化单克隆抗体,可从安塞尔公司(Ancell)商购获得(目录号X353-020,明尼苏达州贝波特);ABI 793;Sgn-40;ImxM90(伊姆尼斯公司);ImxM91(伊姆尼斯公司);ImxM92(伊姆尼斯公司);以及可从健赞公司(Genzyme)商购获得的抗CD40LmAb(马萨诸塞州剑桥,目录号80-3703-01)。还可商购获得的是来自法明根公司(PharMingen)的抗CD40L mAb(圣地亚哥,目录号33580D)。根据本披露的实施例包括治疗患有肾脏相关自身免疫性疾病、障碍或并发症的患者的方法,这些方法包括施用治疗有效量的能够与CD40L结合的任何化合物,例如抗CD40L抗体。在一些实施例中,这些方法包括治疗患有肾脏相关自身免疫性疾病、障碍或并发症的患者,包括施用治疗有效量的选自以下的抗CD40L抗体:MR1、5c8、IDEC 131/E6040、克隆24-31、ABI 793、ImxM90、ImxM91、ImxM92或Sgn-40。在一些实施例中,抗体是5c8。在一些实施例中,抗体是MR1。

[0138] 在一些实施例中,肾脏相关疾病、障碍或并发症是结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、肾移植、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症或IgA肾病,通过向患者施用阻断CD40L与CD40的相互作用的化合物。在一些实施例中,治疗患者的方法是通过施用抗CD40L抗体。在一些实施例中,这些方法包括治疗患有自身免疫性疾病的患者。自身免疫性疾病的非限制性实例包括系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血和格雷夫斯病。在一些实施例中,抗CD40L抗体是MR1。在一些实施例中,抗CD40L抗体是5c8。

[0139] 在一些实施例中,治疗方法包括施用治疗有效量的抗CD40抗体。在一些实施例中,抗CD40L化合物是Fab片段、$F(ab')_2$、F(ab')、单链抗体、多肽、多肽的融合构建体等。在一些实施例中,这些化合物是能够阻断CD40:CD40L相互作用的小分子化合物。在一些实施例中,这些化合物包括BIO3417或美国专利号7,173,046中披露的具有阻断CD40:CD40L相互作用的能力的任何化合物。

[0140] 可以将阻断CD40:CD40L相互作用的化合物与其他化合物组合施用。因此,在一些

实施例中,如本文所述的治疗患者的方法包括施用阻断CD40L与CD40的相互作用的化合物与阻断CD80与CD28之间的相互作用的化合物的组合。在一些实施例中,这些方法包括施用阻断CD40L与CD40的相互作用的化合物与阻断CD86与CD28之间的相互作用的化合物的组合。在一些实施例中,阻断CD80与CD28的相互作用的化合物是加利昔单抗、或H1f1和h3d1、或16C10、或7C10。在一些实施例中,阻断CD86与CD28之间的相互作用的化合物是CTLA4-Ig蛋白缀合物,诸如阿巴西普或贝拉西普。根据本披露的实施例还包括治疗患有自身免疫性障碍(诸如肾脏相关自身免疫性障碍,包括肾脏相关疾病、障碍或并发症)的患者的方法,这些方法包括施用阻断CD40L与CD40的相互作用的化合物与阻断CD80与CD28之间的相互作用的化合物的组合,或者施用治疗有效量的阻断CD40L与CD40的相互作用的化合物与阻断CD86与CD28之间的相互作用的化合物的组合,其中肾脏相关疾病、障碍或并发症是结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、肾移植、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症或IgA肾病,通过向患者施用阻断CD40L与CD40的相互作用的化合物。在一些实施例中,这些方法包括施用抗CD40L抗体。在一些实施例中,这些方法包括治疗患有自身免疫性疾病的患者。自身免疫性疾病的非限制性实例包括系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血和格雷夫斯病。在一些实施例中,阻断CD40L与CD40的相互作用的化合物是MR1,并且阻断CD28与CD86之间或CD28与CD80之间的相互作用的化合物是阿巴西普、加利昔单抗或贝拉西普。在一些实施例中,阻断CD40L与CD40的相互作用的化合物是5c8。在一些实施例中,这些方法包括施用治疗有效量的MR1与阿巴西普或贝拉西普的组合。在一些实施例中,这些方法包括施用治疗有效量的5c8与阿巴西普或贝拉西普的组合。

[0141] 肾脏相关自身免疫性疾病、障碍和病症

[0142] 本披露涉及治疗患有一种或多种自身免疫性疾病(包括肾脏相关自身免疫性疾病、障碍和/或病症)的受试者。在一些实施例中,自身免疫性疾病是肾脏相关疾病、障碍或病症。在一些实施例中,肾脏相关疾病、障碍或病症是肾脏移植后的并发症。在一些实施例中,肾脏相关疾病、障碍或病症是肾脏移植排斥。在一些实施例中,肾脏相关疾病、障碍或病症是移植物抗宿主病。在一些实施例中,肾脏相关疾病、障碍或病症是慢性肾脏疾病。在一些实施例中,肾脏相关疾病、障碍或病症是肾病。在一些实施例中,肾脏相关疾病、障碍或病症是IgA肾病。在一些实施例中,肾脏相关疾病、障碍或病症是肾脏的自身免疫性疾病。在一些实施例中,肾脏相关疾病、障碍或病症是炎症或涉及炎症。

[0143] 将理解的是,本文披露的靶向CD40或CD40L的化合物可以用于对抗肾脏受损的任何疾病、障碍或病症。肾脏相关疾病、障碍和病症的非限制性实例包括:结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、肾移植、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症、IgA肾病、系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性

硬化、溶血性贫血、格雷夫斯病、阿布德哈尔登-考夫曼-利尼亚克综合征(肾病性胱氨酸病)、腹腔间室综合征、对乙酰氨基酚诱导的肾毒性、急性肾衰竭/急性肾损伤、无氧运动后急性损伤伴腰痛(ALPE)、肾低尿酸血症、急性大叶性肾炎(Acute Lobar Nephronia)、急性磷酸盐肾病、急性肾小管坏死、腺嘌呤磷酸核糖基转移酶缺乏症、腺病毒肾炎、阿拉日耶综合征、尿黑酸尿症、奥尔波特综合征、阿尔斯特伦综合征、淀粉样变性、与心内膜炎和其他感染相关的ANCA血管炎、血管肌脂肪瘤、合成类固醇滥用、止痛药性肾病、神经性厌食症和肾脏疾病、血管紧张素抗体和局灶节段性肾小球硬化、抗凝剂相关肾病、抗磷脂综合征、抗LRP2肾病、抗刷状缘肾病、APOL1突变性抗TNF-α疗法相关肾小球肾炎、明显盐皮质激素过量综合征、马兜铃酸肾病、中草药肾病、巴尔干地方性肾病、泌尿道动静脉畸形和瘘管、非典型溶血性尿毒综合征、常染色体显性低钙血症、巴尔得-别德尔综合征、巴特综合征、浴盐和急性肾损伤、啤酒性低血钠症(Beer Potomania)、甜菜尿症、β-地中海贫血肾病、胆汁管型肾病、伯特-霍格-迪贝综合征、自体肾脏的BK多瘤病毒肾病、膀胱破裂、膀胱括约肌协同障碍、膀胱填塞、健美者肾小球病、越境者肾病、波旁病毒和急性肾损伤、BRASH综合征、急性肾功能障碍、百泌达和肾衰竭、C1q肾病、C3肾小球病、C4肾小球病、CAKUT(先天性肾脏和泌尿道畸形)、肾盏憩室、钙调磷酸酶抑制剂肾毒性、月桂美鳞菊中毒(Callilepsis Laureola Poisoning)、大麻素剧吐急性肾衰竭、毛细血管渗漏综合征、类癌综合征和肾衰竭、心肾综合征、卡非佐米诱导的肾损伤、CFHR5肾病、夏科-马里-图思病伴肾小球病、胆固醇栓子、查尔格-施特劳斯综合征、乳糜尿、纤毛类疾病、顺铂肾毒性、冷利尿、粘菌素肾毒性、胶原纤维性肾小球病、塌陷性肾小球病、与CMV相关的塌陷性肾小球病、联合抗逆转录病毒(cART)相关肾病、先天性肾上腺增生症、17-α-羟化酶/7 20-裂解酶缺乏症、先天性肾脏和泌尿道畸形(CAKUT)、先天性肾病综合征、充血性肾衰竭、锥形骨骺肾病综合征(Conorenal syndrome)(迈因策尔-萨尔迪诺综合征(Mainzer-Saldino Syndrome)或萨尔迪诺-迈因策尔病(Saldino-Mainzer Disease))、造影剂肾病、硫酸铜中毒、冠状病毒(COVID-19)相关肾衰竭和肾脏疾病、皮质坏死、克唑替尼相关急性肾损伤、哭肾(Crying Kidneys)、晶体型冷球蛋白血症(Cryocrystalglobulinemia)、冷球蛋白血症、晶体型球蛋白诱导的肾病(Crystalglobulin-Induced Nephropathy)、晶体储积性组织细胞增多症、囊性肾脏疾病、获得性囊性肾脏疾病、局限性肾衰竭、胱氨酸尿症、胱氨酸病、达沙替尼诱导的肾病范围蛋白尿、地拉罗司(Exjade)肾毒性、致密物沉积病(MPGN 2型)、登特病(X连锁隐性肾结石)、DHA晶体性肾病、透析失衡综合征、糖尿病性肾脏疾病、弥漫性系膜硬化、利尿、黎豆中毒(臭豆果毒症(Djenkolism))、重复输尿管、EAST综合征、异位肾、水肿、肿胀、终末期肾脏疾病、埃德海姆-切斯特病、法布里病、家族性低钙尿高钙血症、范科尼综合征、弗雷泽综合征(Fraser syndrome)、纤连蛋白肾小球病、纤维性肾小球肾炎和免疫触须样肾小球病(Immunotactoid Glomerulopathy)、纤维性肾小球肾炎、嗜刚果红弗雷利综合征、体液超量、血容量过多、局灶节段性肾小球硬化、局灶性硬化、局灶性肾小球硬化、局灶节段性肾小球硬化(家族性)伴完全性心脏传导阻滞、加洛韦-莫厄特综合征、巨细胞(颞)动脉炎伴肾受累、妊娠期高血压、吉特曼综合征、肾小球疾病、肾小球小管反流、肾小球肾炎、糖尿、古德帕斯丘综合征、蔬果奶昔排毒性肾病(Green Smoothie Cleanse Nephropathy)、HANAC综合征、哈瓦尼(雷迪帕韦和索非布韦)诱导的肾损伤、染发剂摄入和急性肾损伤、汉坦病毒感染足细胞病、热应激肾病、血尿(尿中带血)、溶血性尿毒综合征(HUS)、非典型溶血性尿毒综合

征(aHUS)、噬血细胞综合征、出血性膀胱炎、肾综合征出血热(HFRS,汉坦病毒肾病、朝鲜出血热、流行性出血热、流行性肾病(Nephropathis Epidemica))、含铁血黄素尿症、与阵发性睡眠性血红蛋白尿症和溶血性贫血相关的含铁血黄素沉着症、肝肾小球病、肝静脉闭塞性疾病、肝窦阻塞综合征、丙型肝炎相关肾病、肝细胞核因子1β相关肾脏疾病、肝肾综合征、草药补充剂和肾脏疾病、高海拔肾综合征、高血压和肾脏疾病、HIV相关免疫复合物肾脏疾病(HIVICK)、HIV相关肾病(HIVAN)、毁灭性肾脏疾病、HNF1B相关常染色体显性小管间质性肾脏疾病、马蹄肾(肾融合)、亨纳溃疡、亲水性聚合物栓子、羟氯喹诱导的肾磷脂质病、醛固酮增多症、高钙血症、高钾血症、高镁血症、高钠血症、高草酸尿症、高磷血症、低钙血症、低补体血症性荨麻疹性血管炎综合征、低钾血症、低钾血症诱导的肾功能障碍、低钾型周期性麻痹、低镁血症、低钠血症、低磷血症、高血压、单基因高血压、冰茶肾病、异环磷酰胺肾毒性、IgA肾病、IgG4肾病、浸泡利尿、免疫检查点疗法相关间质性肾炎、英利昔单抗相关肾病、间质性膀胱炎、膀胱疼痛综合征、间质性肾炎、巨核间质性肾炎、艾维马克综合征(Ivemark's syndrome)、JC病毒肾病、朱伯特综合征、氯胺酮相关膀胱功能障碍、基于肾脏的免疫障碍、肾石症、肾结石、由于轻链导致的肾石症、木村病、康普茶毒性、铅性肾病和铅相关肾毒性、卵磷脂胆固醇酰基转移酶缺乏症(LCAT缺乏症)、钩端螺旋体病肾病、轻链沉积病、单克隆免疫球蛋白沉积病、轻链近端肾小管病、利德尔综合征、莱特伍德-奥尔布赖特综合征(Lightwood-Albright Syndrome)、脂蛋白肾小球病、锂肾毒性、LMX1B突变引起的遗传性FSGS、腰痛血尿、狼疮、系统性红斑狼疮、狼疮性肾脏疾病、狼疮肾炎、狼疮肾炎伴抗嗜中性粒细胞胞质抗体血清阳性、狼疮性足细胞病、狼疮样肾炎、狼疮肾炎、莱姆病相关肾小球肾炎、赖氨酸尿性蛋白不耐受、溶菌酶肾病、疟疾性肾病、恶性病相关肾病、恶性高血压、软斑病、马凡综合征和肾脏疾病、麦基特里克-惠洛克综合征(McKittrick-Wheelock Syndrome)、尿道口狭窄、髓质囊性肾脏疾病、尿调节素相关肾病、青少年1型高尿酸血症肾病、髓质海绵肾、巨输尿管症、MELAS综合征、膜增生性肾小球肾炎、膜性肾病、膜性肾病伴小球体、膜样肾小球病伴隐蔽性IgGκ沉积、中美洲肾病、代谢性酸中毒、代谢性碱中毒、氨甲蝶呤相关肾衰竭、显微镜下多血管炎、乳碱综合征、微小病变肾病、肾脏意义的单克隆丙种球蛋白病、异常蛋白血症、漱口剂毒性、MUC1肾病、多囊性肾发育不良、多发性骨髓瘤、骨髓增生性肿瘤和肾小球病、指甲-髌骨综合征、NARP综合征、肾钙质沉着症、Nephrocystin-1基因缺失和ESRD、肾源性系统性纤维化、由于Nephrocystin-1基因缺失导致的肾消耗病、肾下垂(游走肾、肾下垂症)、肾病综合征、神经源性膀胱、结节性肾小球硬化、非淋球菌性尿道炎、胡桃夹综合征、肾单位稀少巨大症、口面指综合征、乳清酸尿症、直立性低血压、直立性蛋白尿、渗透性利尿、渗透性肾病、卵巢过度刺激综合征、草酸盐肾病、佩吉氏肾(Page Kidney)、乳头坏死、乳头肾综合征(Papillorenal Syndrome)(肾缺损综合征、孤立肾发育不全)、腹膜-肾综合征、POEMS综合征、后尿道瓣膜、足细胞内陷性肾小球病(Podocyte Infolding Glomerulopathy)、感染后肾小球肾炎、链球菌感染后肾小球肾炎、非典型感染后肾小球肾炎、感染后肾小球肾炎(IgA显性)、模拟IgA肾病、结节性多动脉炎、后尿道瓣膜多囊肾脏疾病、梗阻后利尿、先兆子痫、丙泊酚输注综合征、增生性肾小球肾炎伴单克隆IgG沉积(纳斯尔病(Nasr Disease))、蜂胶(蜜蜂树脂)相关肾衰竭、蛋白尿(尿中带蛋白)、假性醛固酮增多症、假性低碳酸氢盐血症(Pseudohypobicarbonatemia)、假性甲状旁腺功能减退症、假性卟啉症、银屑病和肾脏疾病、肺肾综合征、紫色尿袋综合征、肾盂肾炎(肾感染)、脓性肾病、

放射性肾病、再喂食综合征、反流性肾病、急进性肾小球肾炎、REN突变引起的常染色体显性小管间质性肾脏疾病、肾脓肿、肾周围脓肿、肾缺如、肾弓状静脉微血栓相关急性肾损伤、肾动脉瘤、自发性肾动脉夹层、肾动脉狭窄、肾细胞癌、肾囊肿、肾低尿酸血症伴运动诱导的急性肾衰竭、肾梗塞、肾性骨营养不良、肾小管性酸中毒、肾素突变和常染色体显性小管间质性肾脏疾病、肾素分泌肿瘤(肾球旁细胞瘤)、渗透调定点重设(Reset Osmostat)、腔静脉后输尿管、腹膜后纤维化、横纹肌溶解、与减重术相关的横纹肌溶解、类风湿性关节炎相关肾病、Rubraca(卢卡帕尼)相关肌酐增加、结节病肾病、周六夜晚急性肾损伤、血吸虫病和肾小球疾病、希姆克免疫骨发育不良、硬皮病肾危象、蛇纹石腓骨-多囊性肾综合征、埃克斯纳综合征(Exner Syndrome)、塞扎里综合征、镰状细胞肾病、舍格伦综合征和肾病、斯里兰卡农民肾脏疾病、杨桃肾毒性、肾移植、造血细胞移植后肾脏疾病、肝细胞移植相关的肾脏疾病、TAFRO综合征、茶和吐司低钠血症、泰诺福韦诱导的肾毒性、薄基底膜病、良性家族性血尿、与单克隆丙种球蛋白病相关的血栓性微血管病变、战壕肾炎、常染色体显性血栓性微血管病变和CKD、膀胱三角区炎、结节性硬化、结节性硬化复合症(TSC)和常染色体显性多囊肾脏疾病(ADPKD)(TSC2/PKD1邻接基因综合征)、肾小管发育不全、免疫复合体小管间质性肾炎、肿瘤溶解综合征、尿毒症、尿毒症视神经病变、囊性输尿管炎、输尿管脱垂、尿道肉阜、尿道狭窄、尿失禁、尿路感染、尿路梗阻、泌尿生殖道瘘、血管运动性肾病、膀胱肠瘘、膀胱输尿管反流、希佩尔-林道病、华氏巨球蛋白血症肾小球肾炎、韦氏肉芽肿病、肉芽肿病伴多血管炎、翁德利希综合征(Wunderlich syndrome)、泽尔韦格综合征和脑肝肾综合征。

[0144] 药物组合物和施用方法

[0145] 为了治疗任何前述障碍,可以使用一种或多种生理上可接受的载体以常规方式配制用于根据本披露的方法使用的药物组合物。药学上可接受的载体部分地通过所施用的具体组合物以及通过用于施用组合物的具体方法来确定。因此,存在可用于本披露的方法中的化合物的各种各样的合适的配制品(参见例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药学科学与实践],第20版,Gennaro等人编辑,Lippincott Williams and Wilkins[利平科特·威廉斯·威尔金斯公司],2000)。

[0146] 适合于口服施用的配制品包括例如固体、半固体和液体系统,诸如片剂;含有多或纳米微粒、液体或粉末的软或硬胶囊剂;锭剂(包括液体填充的);咀嚼剂;凝胶剂;快速分散剂型;膜剂;卵形剂(ovule);喷雾剂;以及口腔贴剂/粘膜粘附贴剂。

[0147] 适合于肠胃外施用的配制品包括水性和非水性等渗无菌注射溶液(其可以含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使配制品与预期接受者的血液等渗的溶质),以及水性和非水性无菌混悬液(其可以包括助悬剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂)。

[0148] 根据本披露,这些化合物可以通过任何合适的方式施用,这些方式可以根据所治疗的障碍的类型和化合物本身的性质而变化。例如,可以将化合物口服、肠胃外或局部施用。对于蛋白质(诸如抗体),施用途径优选地包括肠胃外,例如肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下。优选地,将肠胃外给药通过注射,最优选静脉内、肌内或皮下注射给予。待施用的量将取决于多种因素,诸如临床症状、个体的体重以及是否施用其他药物。应当理解,适当的剂型、剂量和施用途径的确定在制药领域和医学领域的普通技术人员的水平内,并且在下文进行了描述。

[0149] 在含有抗CD40L抗体或其抗原结合片段的一种示例性药物组合物中,将组合物配

制为抗CD40L抗体或其抗原结合片段的无菌无防腐剂溶液,用于静脉内或皮下施用。配制品可以作为一次性预填充笔、作为一次性(例如,含有约1mL)预填充玻璃注射筒或作为一次性机构使用小瓶提供。优选地,含有抗CD40L抗体或其抗原结合片段的药物组合物是透明且无色的,pH为约5.0至约6.9,优选地pH为约5.0至约6.5,甚至更优选地pH范围为约5.0至约6.0。在各种实施例中,当重构并施用至受试者时,包含药物组合物的配制品可以每mL溶液含有从约500mg至约1mg、或从约400mg至约10mg、或从约300mg至约30mg、或从约200mg至约50mg的抗CD40L抗体或其抗原结合片段。

[0150] 选择治疗剂的施用方案取决于几种因素,包括实体的血清或组织周转速率、症状水平、实体的免疫原性、以及生物基质中靶细胞的可及性、患者的一般健康状况、患者的先前病史等。优选地,施用方案使递送至患者的治疗剂的量最大化,与可接受的副作用水平相符。因此,递送的生物制剂的量部分地取决于具体实体和所治疗的病症的严重程度。应当理解,适当的剂型、剂量和施用途径的确定在制药领域和医学领域的普通技术人员的水平内。

[0151] 剂量和暴露水平

[0152] 本披露的药物配制品可以含有从约0.001至约200mg/kg的抗CD40L抗体或其抗原结合片段,例如可以将抗CD40L抗体或其抗原结合片段的从约0.001mg/kg至约100mg/kg、或从约0.001mg/kg至约50mg/kg、或从约0.001mg/kg至约10mg/kg静脉内注射液作为推注给予,并且可以将其余的抗体剂量通过静脉内注射施用。可以将预定剂量的抗CD40L抗体或其抗原结合片段例如经一小时至两小时至五小时的时间段施用。

[0153] 在另外的实施例中,将剂量的一部分通过皮下注射和/或输注以推注的形式施用,并且将其余的剂量通过输注抗体配制品施用。在一些示例性剂量中,可以将抗体配制品以抗CD40L抗体或其抗原结合片段的范围从约0.001至约200mg/kg(例如,从约0.001mg/kg至约100mg/kg、或从约0.001mg/kg至约50mg/kg、或从约0.001mg/kg至约10mg/kg)静脉内注射液的剂量皮下施用。在一些实施例中,可以将剂量作为推注给予,并且可以将其余的抗体剂量通过皮下或静脉内注射施用。可以将预定剂量的抗CD40L抗体或其抗原结合片段例如经一小时的时间段、或两小时的时间段、或三小时的时间段、或四小时的时间段或五小时或更长时间的时间段施用。

[0154] 组合疗法

[0155] 本文所述的抗体或其抗体片段可以单独施用(单一疗法)或组合施用(即,与其他药剂组合)。例如,在一个实施例中,组合疗法可以包括一种或多种另外的治疗剂。在另一个实施例中,组合疗法包括标准护理治疗,其可以包括或可以不包括另外的治疗剂(基本上由抗体或其抗体片段组成)。

[0156] 辅助或组合施用(共同施用)包括同时施用本文所述的任何抗体或其抗原结合片段和处于相同或不同剂型的一种或多种药剂,或单独施用多肽和一种或多种药剂(例如,顺序施用)。这种同时或顺序施用优选地导致多肽和一种或多种药剂两者同时存在于所治疗的患者中。

[0157] 试剂盒和制品

[0158] 进一步提供了含有本文所述的抗体或其抗原结合片段和使用说明书的试剂盒。试剂盒典型地包括预定量的试剂与指示试剂盒内容物的预期用途的说明书和标签的包装组合。术语标签或说明书包括在试剂盒上或与试剂盒一起提供的或以其他方式在试剂盒的制

造、运输、销售或使用期间的任何时间伴随试剂盒的任何书写或记录材料。它可以呈由管理药物或生物制品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式，该公告反映该机构对制造、使用或销售的批准以供向人施用或兽用。标签或说明书还可以涵盖广告传单和小册子、包装材料以及音频或视频说明书。

[0159] 抗CD40L抗原结合分子

[0160] 本文提供的一些实施例涉及作为抗CD40L抗体hu5c8的修饰形式的抗体，其包含具有hu5c8的可变轻链和可变重链CDR序列的人IgG1共有框架，其中Fc结构域被修饰以防止血小板激活。

[0161] 表3提供了本申请中引用(并且示于图7-图12中)的SEQ ID NO的描述。

[0162] 表3：

[0163]

SEQ ID NO:	序列描述
1	轻链可变区氨基酸序列（hu5c8 和 JB5）
2	重链可变区氨基酸序列（hu5c8 和 JB5）
3	Fc 区氨基酸序列（hu5c8）
4	JB5 Fc 区氨基酸序列
5	JB5-R28K 轻链可变区氨基酸序列
6	JB5-K74R 重链可变区氨基酸序列
7	JB5 轻链氨基酸序列
8	JB5 轻链核酸序列
9	JB5 重链氨基酸序列
10	JB5 重链核酸序列
11	JB5-R28K 轻链氨基酸序列
12	JB5-R28K 轻链合成基因核酸序列
13	JB5-K74R 重链氨基酸序列
14	JB5-K74R 重链合成基因核酸序列

[0164]

15	JB5 可变轻链氨基酸序列的 CDR-1
16	JB5 可变轻链氨基酸序列的 CDR-2
17	JB5 可变轻链氨基酸序列的 CDR-3
18	JB5 可变重链氨基酸序列的 CDR-1
19	JB5 可变重链氨基酸序列的 CDR-2
20	JB5 可变重链氨基酸序列的 CDR-3
21	hu5c8 重链氨基酸序列

[0165] 一个实施例(实施例A)是与CD40L结合并且包含轻链和重链的分离的抗体,其中轻链包含含有与SEQ ID NO:1具有至少90%、或至少91%、或至少92%、或至少93%、或至少94%、或至少95%、或至少96%或至少97%、或至少98%或至少99%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变区,并且重链包含可变重链区和Fc区,其中重链可变区包含与SEQ ID NO:2具有至少90%、或至少91%、或至少92%、或至少93%、或至少94%、或至少95%、或至少96%、或至少97%、或至少98%、或至少99%序列同一性的氨基酸序列,并且Fc区包含与SEQ ID NO:3具有至少90%、或至少91%、或至少92%、或至少93%、或至少94%、或至少95%、或至少96%、或至少97%、或至少98%、或至少99%序列同一性的氨基酸序列,其中Fc区包含选自由以下组成的组的一个取代或取代的组合:C11S、C14S和P23S。

[0166] 另一个实施例(实施例B)是根据实施例A的分离的抗体,其中Fc区进一步包含氨基酸取代C5S。

[0167] 在实施例A和B的变型中,抗体包含不含有取代T33W、S26D和Q27E中的任一个的轻链可变区。

[0168] 在实施例A和B的其他变型中,轻链可变区包含取代R28K。

[0169] 在实施例A和B的一些变型中,重链和轻链的CDR具有表4中所列出的序列。

[0170] 表4:

[0171]

CDR1轻链	ISCRASQRVSSSTYSYMH(SEQ ID NO:15)
CDR2轻链	YASNLES(SEQ ID NO:16)
CDR3轻链	QHSWEIPPT(SEQ ID NO:17)
CDR1重链	SYYMY(SEQ ID NO:18)
CDR2重链	EINPSNGDTNFNEKFKS(SEQ ID NO:19)
CDR3重链	SDGRNDMDS(SEQ ID NO:20)

[0172] 在实施例A和B的又其他变型中,轻链可变区包含氨基酸序列ICRRASQRVSSSTYSYMH(SEQ ID NO:15)。在仍其他实施例中,轻链可变区包含氨基酸序列ICRRASQRVSSSTYSYMH(SEQ ID NO:15)以及氨基酸序列YASNLES(SEQ ID NO:16)和QHSWEIPPT(SEQ ID NO:17)中的一个或两个。

[0173] 在实施例A和B的一些变型中,轻链可变区包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列。在又其

他实施例中,轻链可变区由SEQ ID NO:1的氨基酸组成。在一些实施例中,轻链基本上由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成。在其他实施例中,轻链由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成。在仍其他实施例中,轻链包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列。在又其他实施例中,轻链基本上由SEQ ID NO:11的氨基酸序列组成。在仍其他实施例中,轻链由SEQ ID NO:11的氨基酸序列组成。

[0174] 在实施例A和B的其他变型中,抗体包含不含有取代T30H、Y33W或S54N中的任一个的重链可变区。在实施例A和B的抗体的一些实施例中,轻链可变区不包含取代T33W、S26D和Q27E中的任一个。在实施例A和B的其他变型中,轻链可变区不包含取代T33W、S26D和Q27E中的任一个,并且重链可变区不包含取代T30H、Y33W或S54N中的任一个。

[0175] 在实施例A和B的又其他变型中,重链可变区包含取代K74R。在一个实施例中,重链可变区包含氨基酸序列SYYMY(SEQ ID NO:18)、EINPSNGDTNFNEKFKS(SEQ ID NO:19)和SDGRNDMDS(SEQ ID NO:20)中的一个或任何组合。

[0176] 在另一个实施例中,重链可变区包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在又另一个实施例中,重链可变区基本上由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成。在仍另一个实施例中,重链可变区由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成。在一些实施例中,重链可变区包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。在又其他实施例中,重链可变区基本上由SEQ ID NO:6的氨基酸序列组成。在仍其他实施例中,重链可变区由SEQ ID NO:6的氨基酸序列组成。

[0177] 本文提供的一些实施例涉及分离的抗体,其中轻链包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,并且重链由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成。

[0178] 本文提供的一些实施例涉及分离的抗体,其中轻链由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成,并且重链由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成。

[0179] 本文提供的一些实施例涉及分离的抗体,其中轻链可变区包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列,并且重链由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成。

[0180] 仍另一个实施例是分离的抗体,其中轻链由SEQ ID NO:11的氨基酸序列组成,并且重链由SEQ ID NO:9的氨基酸序列组成。

[0181] 又另一个实施例是分离的抗体,其中轻链由SEQ ID NO:7的氨基酸序列组成,并且重链由SEQ ID NO:13的氨基酸序列组成。

[0182] 另一个实施例是分离的抗体,其中轻链由SEQ ID NO:11的氨基酸序列组成,并且重链由SEQ ID NO:13的氨基酸序列组成。

[0183] 本申请的一些实施例涉及用靶向CD40/CD40L的化合物治疗来修饰受试者中的生物标记物。在一些实施例中,生物标记物是涉及CD40/CD40L活性的蛋白质。在一些实施例中,生物标记物是CD40。在一些实施例中,生物标记物是CD40L。在一些实施例中,生物标记物是NFL。在一些实施例中,生物标记物是促炎标记物或与炎症相关。在一些实施例中,生物标记物是细胞因子和/或白介素。在一些实施例中,生物标记物是IgA、IgE、CD40L、C3、CXCL9、CXCL10和/或IgM中的一种或多种。

[0184] 在一些实施例中,用靶向CD40/CD40L的化合物治疗使一种或多种生物标记物的浓度增加。在一些实施例中,用靶向CD40/CD40L的化合物治疗使一种或多种生物标记物的浓度降低。在一些实施例中,用靶向CD40/CD40L的化合物治疗使至少一种生物标记物浓度增加,并且使至少一种其他生物标记物浓度降低。在一些实施例中,至少一种生物标记物的基

线水平充当患有肾脏相关疾病、障碍或病症的受试者对用靶向CD40/CD40L的化合物治疗的反应的预测因子。

[0185] 本文提供的一些实施例进一步描述于以下枚举的替代方案中。

[0186] 1.一种预测患有肾脏相关疾病或障碍的受试者对用针对CD40L或CD40的化合物治疗的反应的方法,该方法包括:

[0187] 收集来自该受试者的样品;

[0188] 测量该样品中存在的至少一种生物标记物的浓度,其中该至少一种生物标记物是CXCL9、CXCL10、IgM、C3、IgA、IgE、CD40L和CD40;

[0189] 其中该至少一种生物标记物的浓度预测该受试者可能对用针对CD40L或CD40的化合物对该肾脏相关疾病或障碍的治疗有反应。

[0190] 2.如替代方案1所述的方法,其中该肾脏相关疾病或障碍包括炎症。

[0191] 3.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中该受试者是哺乳动物和/或人。

[0192] 4.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中该化合物阻断CD40与CD40L之间的相互作用。

[0193] 5.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中该化合物是抗CD40L抗体或抗CD40抗体。

[0194] 6.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中该化合物是AT-1501或5c8。

[0195] 7.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中该化合物是MR1。

[0196] 8.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中该肾脏相关疾病或障碍选自由以下组成的组:结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、免疫移植物应答、肾脏移植、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症和IgA肾病。

[0197] 9.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中该肾脏相关疾病或障碍是自身免疫性疾病,其中该自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血或格雷夫斯病。

[0198] 10.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中该样品是血液、尿液、唾液或粘液。

[0199] 11.如替代方案10所述的方法,其中该样品是尿液。

[0200] 12.一种治疗患有肾脏相关疾病或障碍的受试者的方法,该方法包括:施用治疗有效剂量的针对CD40L或CD40的化合物。

[0201] 13.如替代方案12所述的方法,其中该肾脏相关疾病或障碍包括炎症。

[0202] 14.如替代方案12-13中任一项所述的方法,其中该受试者是哺乳动物和/或人。

[0203] 15.如替代方案12-14中任一项所述的方法,其中该化合物阻断CD40与CD40L之间的相互作用。

[0204] 16.如替代方案12-15中任一项所述的方法,其中该化合物是抗CD40L抗体或抗CD40抗体。

[0205] 17.如替代方案12-16中任一项所述的方法,其中该化合物是AT-1501。

[0206] 18.如替代方案12-17中任一项所述的方法,其中该化合物是MR1或5c8。

[0207] 19.如替代方案12-18中任一项所述的方法,其中将该化合物每三周至少施用一次。

[0208] 20.如替代方案12-19中任一项所述的方法,其中将该化合物以在200mg/kg与100mg/kg之间的剂量、优选以在1mg/kg与20mg/kg之间的剂量施用。

[0209] 21.如替代方案12-20中任一项所述的方法,其中该肾脏相关疾病或障碍是结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症或IgA肾病。

[0210] 22.如替代方案12-21中任一项所述的方法,其中该肾脏相关疾病或障碍是自身免疫性疾病,其中该自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血或格雷夫斯病。

[0211] 23.如替代方案12-22中任一项所述的方法,该方法进一步包括施用第二药学上有效的化合物。

[0212] 24.如替代方案23所述的方法,其中该第二化合物阻断CD28与CD86之间或CD28与CD80之间的相互作用。

[0213] 25.如替代方案23所述的方法,其中该第二化合物靶向选自由以下组成的组的生物标记物中的至少一种:白介素、细胞因子和促炎标记物。

[0214] 26.如替代方案23所述的方法,其中该第二化合物是CTLA4-Ig融合蛋白、阿巴西普、贝拉西普或加利昔单抗。

[0215] 27.如替代方案12-26中任一项所述的方法,其中将该化合物口服、肠胃外或局部施用。

[0216] 28.如替代方案27所述的方法,其中将该化合物肠胃外施用。

[0217] 29.如替代方案28所述的方法,其中将该化合物通过注射,最优选静脉内、肌内或皮下注射施用。

[0218] 30.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中靶向CD40L或CD40的该化合物是这样的抗体,该抗体包含:

[0219] (a)重链可变区(VH),该重链可变区包含:

[0220] i)包含SEQ ID NO:9所示的序列的CDRH1结构域;

[0221] ii)包含SEQ ID NO:10、11、12、13或14所示的序列的CDRH2结构域;和

[0222] iii)包含SEQ ID NO:15所示的序列的CDRH3结构域;以及

[0223] (b)轻链可变区(VL),该轻链可变区包含:

[0224] i)包含SEQ ID NO:16或17所示的序列的CDRL1结构域;

[0225] ii)包含SEQ ID NO:18或19所示的序列的CDRL2结构域;和

[0226] iii)包含SEQ ID NO:20所示的序列的CDRL3结构域。

[0227] 31.如前述替代方案中任一项所述的方法,其中靶向CD40L或CD40的该化合物是这样的抗体,该抗体包含:

[0228] a)重链可变区(VH),该重链可变区具有如SEQ ID NO:1、2、3或4所示的氨基酸序

列;以及

[0229] b)轻链可变区(VL),该轻链可变区具有如SEQ ID NO:5、6、7或8所示的氨基酸序列。

[0230] 32.一种调节受试者中至少一种生物标记物的浓度的方法,该方法包括:

[0231] 向该受试者施用治疗有效量的针对CD40L或CD40的化合物,

[0232] 其中这些生物标记物选自由以下组成的组:IgA、IgE、CD40L、CD40、C3、CXCL9、CXCL10和IgM。

[0233] 33.如替代方案32所述的方法,其中至少一种生物标记物的浓度在施用该化合物后增加。

[0234] 34.如替代方案32所述的方法,其中至少一种生物标记物的浓度在施用该化合物后降低。

[0235] 35.如替代方案32所述的方法,其中在施用该化合物后,至少一种生物标记物的浓度增加,并且至少一种其他生物标记物的浓度降低。

[0236] 36.如替代方案32-35中任一项所述的方法,其中该受试者患有肾脏相关疾病或障碍。

[0237] 37.如替代方案36所述的方法,其中该肾脏相关疾病或障碍包括炎症。

[0238] 38.如替代方案32-37中任一项所述的方法,其中该受试者是哺乳动物和/或人。

[0239] 39.如替代方案32-38中任一项所述的方法,其中该化合物阻断CD40与CD40L之间的相互作用。

[0240] 40.如替代方案32-39中任一项所述的方法,其中该化合物是抗CD40L抗体或抗CD40抗体。

[0241] 41.如替代方案32-40中任一项所述的方法,其中该化合物是AT-1501。

[0242] 42.如替代方案32-41中任一项所述的方法,其中该化合物是MR1或5c8。

[0243] 43.如替代方案36-42中任一项所述的方法,其中该肾脏相关疾病或障碍是结肠炎、药物诱导的狼疮肾炎、狼疮肾炎、肾病、慢性肾脏疾病、移植物抗宿主病、免疫移植物应答、移植排斥、动脉粥样硬化、糖尿病性肾脏疾病、急性肾损伤、肾衰竭、多囊肾脏疾病、血尿、法布里病、狼疮性肾脏疾病、奥尔波特综合征、IgM肾病、间质性肾炎、膜增生性肾小球肾炎、单纯性肾囊肿、肾感染、肾石症或IgA肾病。

[0244] 44.如替代方案36-43中任一项所述的方法,其中该肾脏相关疾病或障碍是自身免疫性疾病,其中该自身免疫性疾病是系统性红斑狼疮、1型糖尿病、重症肌无力、炎性肠病、免疫性血小板减少性紫癜、类风湿性关节炎、银屑病、艾迪生病、克罗恩病、葡萄膜炎、多发性硬化、溶血性贫血或格雷夫斯病。

[0245] 45.如替代方案32-44中任一项所述的方法,其中将该化合物每三周至少施用一次。

[0246] 46.如替代方案32-45中任一项所述的方法,其中将该化合物以在200mg/kg与100mg/kg之间的剂量、优选以在1mg/kg与20mg/kg之间的剂量施用。

[0247] 47.如替代方案32-46中任一项所述的方法,其中将该化合物口服、肠胃外或局部施用。

[0248] 48.如替代方案47所述的方法,其中将该化合物肠胃外施用。

[0249] 49.如替代方案47所述的方法,其中将该化合物通过注射,最优选静脉内、肌内或皮下注射施用。

[0250] 50.如替代方案33-49中任一项所述的方法,其中靶向CD40L或CD40的该化合物是这样的抗体,该抗体包含:

[0251] a.重链可变区(VH),该重链可变区包含:

[0252] i)包含SEQ ID NO:9所示的序列的CDRH1结构域;

[0253] ii)包含SEQ ID NO:10、11、12、13或14所示的序列的CDRH2结构域;和

[0254] iii)包含SEQ ID NO:15所示的序列的CDRH3结构域;以及

[0255] b.轻链可变区(VL),该轻链可变区包含:

[0256] i.包含SEQ ID NO:16或17所示的序列的CDRL1结构域;

[0257] ii.包含SEQ ID NO:18或19所示的序列的CDRL2结构域;和

[0258] iii.包含SEQ ID NO:20所示的序列的CDRL3结构域。

[0259] 51.如替代方案32-50中任一项所述的方法,其中靶向CD40L或CD40的该化合物是这样的抗体,该抗体包含:

[0260] a.重链可变区(VH),该重链可变区具有如SEQ ID NO:1、2、3或4所示的氨基酸序列;以及

[0261] b.轻链可变区(VL),该轻链可变区具有如SEQ ID NO:5、6、7或8所示的氨基酸序列。

[0262] 实例

[0263] 实施例在以下实例中进一步定义。应当理解的是,这些实例仅通过说明的方式给出。根据上文的讨论和这些实例,本领域技术人员可以确定本质特征,并且在不违背其精神和范围的情况下,可以做出实施例的各种变化和修饰以使其适应各种用途和条件。因此,除了本文显示和描述的那些修改之外,实施例的各种修改将根据前述描述而对本领域的技术人员变得清楚。这样的修改也旨在落入所附权利要求的范围内。将本文所示的每个参考文献的披露内容都通过援引以其全文并入本文,并且用于本文引用的披露内容。

[0264] 实例1

[0265] 肾脏移植的临床试验

[0266] 四名患有IgAN(伯格氏病)的人类受试者进行了肾脏移植,并且进行了12周的时间段的监测。在这十二周结束时,从每名受试者收集尿液样品。然后针对促炎标记物与肾脏移植前每名受试者的尿液中的水平相比的变化对这些样品进行筛选。

[0267] 12周后,患者中的IgAN相关的促炎标记物IgA、IgE、CD40L和C3显著降低(图20A-图20D)。此外,12周后,一般移植促炎标记物CXCL9、CXCL10、IgM和C3降低(图21A-图21D)。考虑到在移植健康肾脏后受试者中CD40L和CD40L相关蛋白的强烈降低,似乎随后用CD40L靶向性化合物(诸如本文披露的那些化合物)治疗可能有助于加速受试者的恢复和炎症的减轻。

[0268] 实例2

[0269] 1b期人类临床试验

[0270] 将临床试验扩展为多达12名参与者的52周、开放标签、单剂量水平研究。研究设计的细节如图22所示。使用ATG诱导疗法加上无CNI维持疗法(包括麦考酚酯、皮质类固醇和替格鲁特,作为他克莫司的替代物),向参与者施用免疫抑制方案。如下施用药物:

[0271] rATG:1.5mg/kg/剂,静脉内,持续4个剂量(总共6mg/kg)。在血运重建前开始第一剂量,并且剩余的3个剂量(总共4.5mg/kg)在移植后5-10天内,与带标签的说明书一致。

[0272] 皮质类固醇:根据标准护理,到移植后28天逐渐减量至每天5mg强的松(或等效物)。

[0273] MMF:1000mg BID,或MPS:720mg BID。

[0274] 替格鲁特:20mg/kg,在第1天、第3天、第7天、第14天、第21天、第28天以及此后每21天经由静脉内输注。

[0275] 选择进行试验的前四名参与者是年龄为60-77岁的两名女性和两名男性(图23)。这些参与者各自进行了肾脏移植,随后如上所述给药。使用估计肾小球滤过率(eGFR)监测肾功能持续接下来的120(图24-图25)。如图25所示,在四个不同的时间施用替格鲁特。迄今为止,肾功能已经大大增强,且危险比很低。

[0276] 如本文所用,章节标题仅出于组织目的,并不应被解释为以任何方式限制所描述的主题。将本申请中所引用的所有文献和类似材料(包括但不限于专利、专利申请、文章、书籍、论文和互联网网页)都出于任何目的通过援引以其全文明确地并入,包括本文具体引用的披露内容。当并入的参考文献中术语的定义显现不同于本教导中提供的定义时,应以本教导中提供的定义为准。将理解,在本教导中所讨论的温度、浓度、时间等之前存在隐含的“约”,使得轻微的和非实质性的偏差在本文的教导的范围内。

[0277] 尽管已经在某些实施例和实例的背景下披露了本文所述的实施例,但是本领域技术人员将理解的是,本披露延伸超出具体披露的实施例,延伸到本披露的其他替代性实施例和/或用途及其明显的修改和等效物。此外,虽然已经详细显示并描述了实施例的几种变化,但是基于本披露的其他修改(其在本披露的范围内)对于本领域技术人员而言将容易变得清楚。还考虑到可以对实施例的特定特征和方面做出各种组合或子组合,并且这些组合或子组合仍落在本披露的范围内。应当理解的是,所披露的实施例的各种特征和方面可以相互组合或替换以便形成不同模式或实施例。因此,意图是本披露的范围不应当受上述具体披露的实施例的限制。

[0278] 然而,应当理解的是,此具体实施方式虽然指示优选实施例但仅以说明的方式给出,因为本披露的精神和范围内的各种变化和修改对于本领域技术人员而言将变得清楚。

[0279] 本文呈现的说明书中使用的术语不旨在以任何受限方式或限制性方式进行解释。相反,术语仅结合对系统、方法和相关组分的实施例的详细描述加以利用。此外,实施例可以包括几种新型特征,其中没有单独一个特征单独负责其所需属性或被认为是实践本文所述的实施例所必需的。

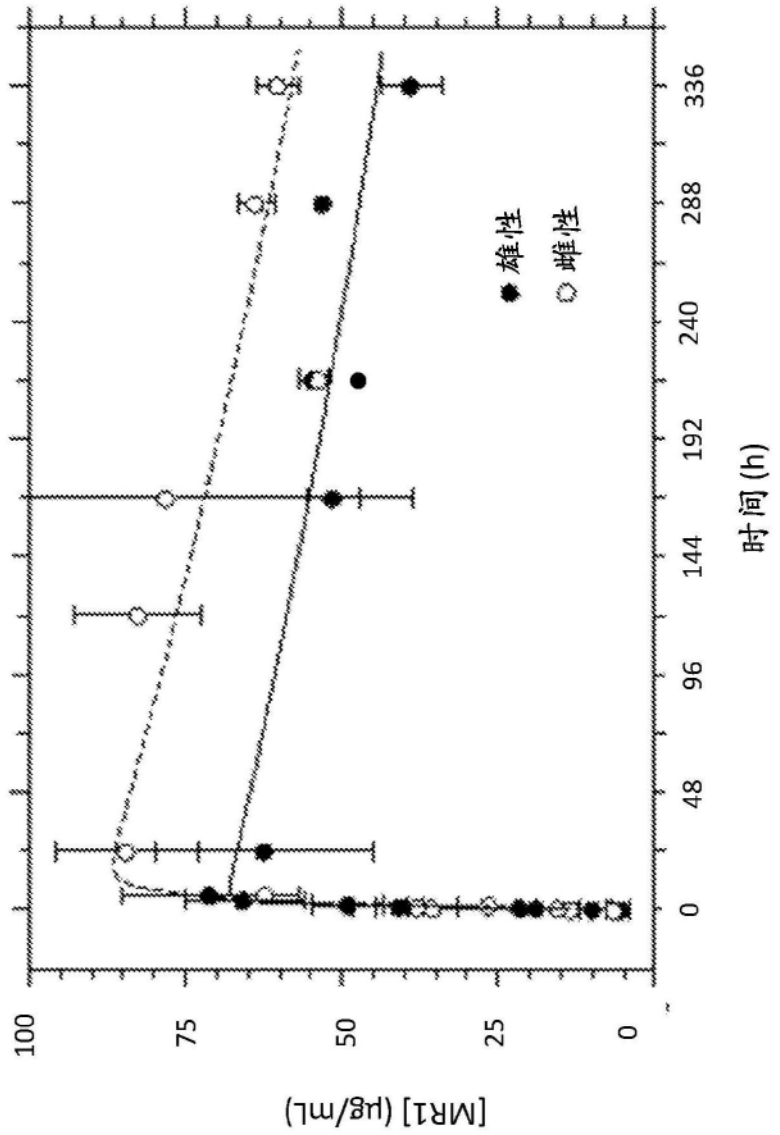


图1A

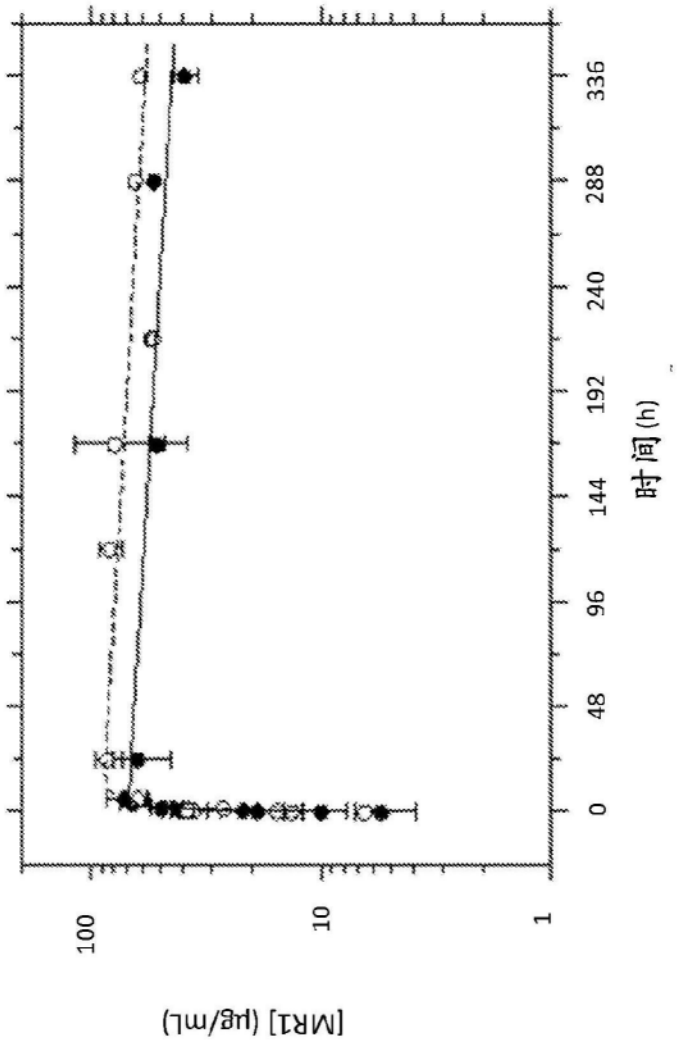


图1B

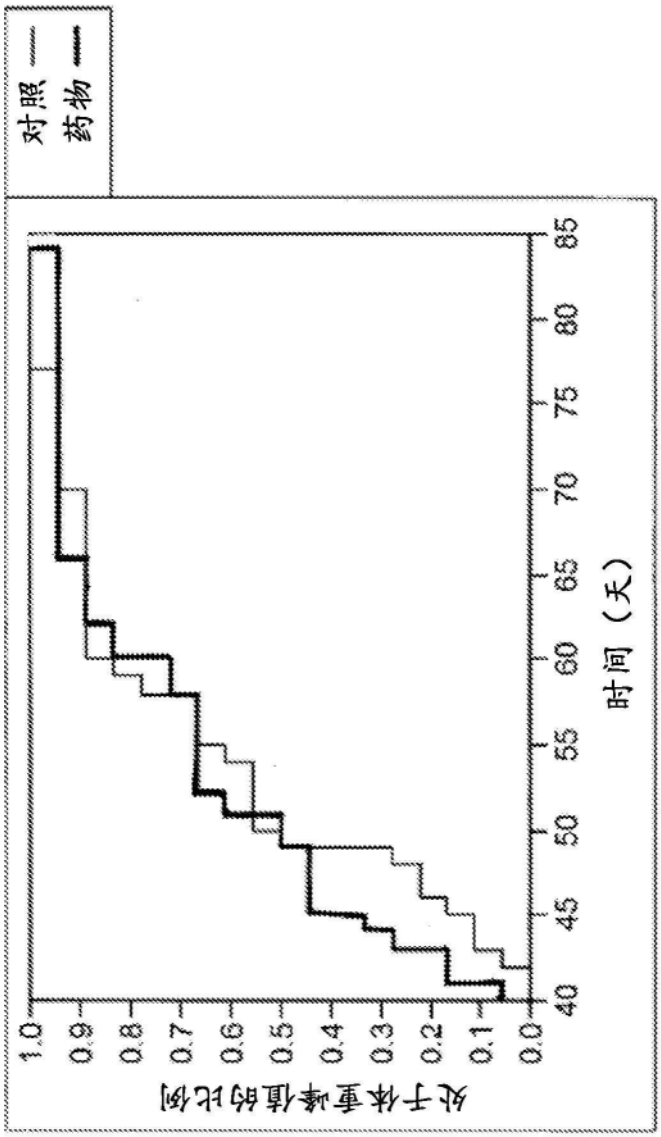

对照
药物
处于体重峰值的比例
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
40
45
50
55
60
65
70
75
80
85
时间（天）

图2

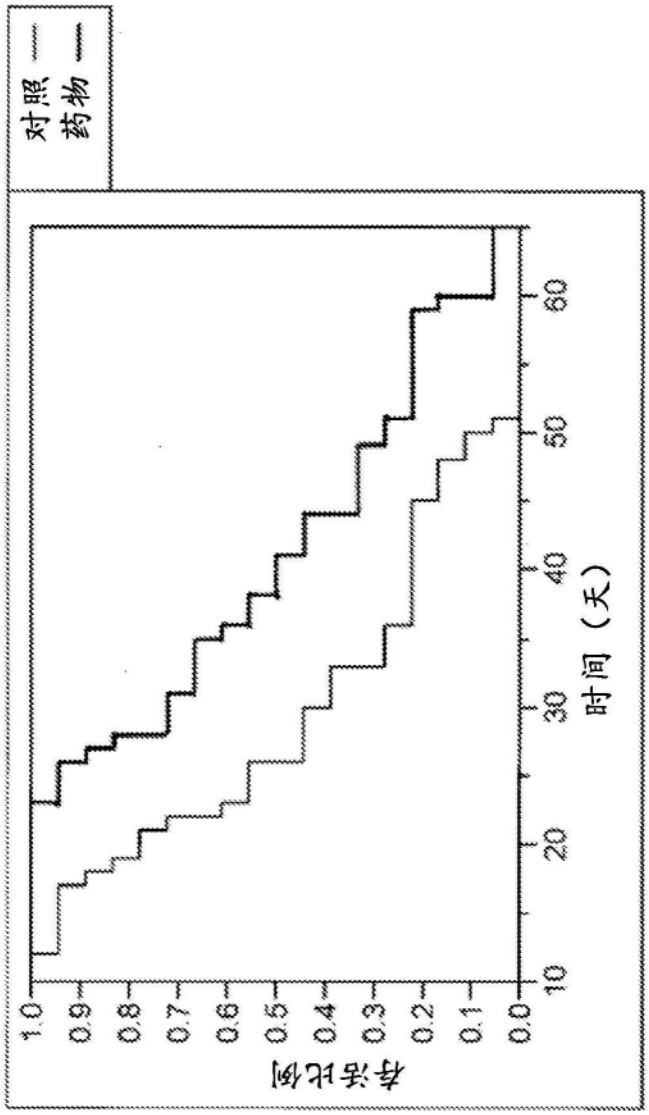


图3

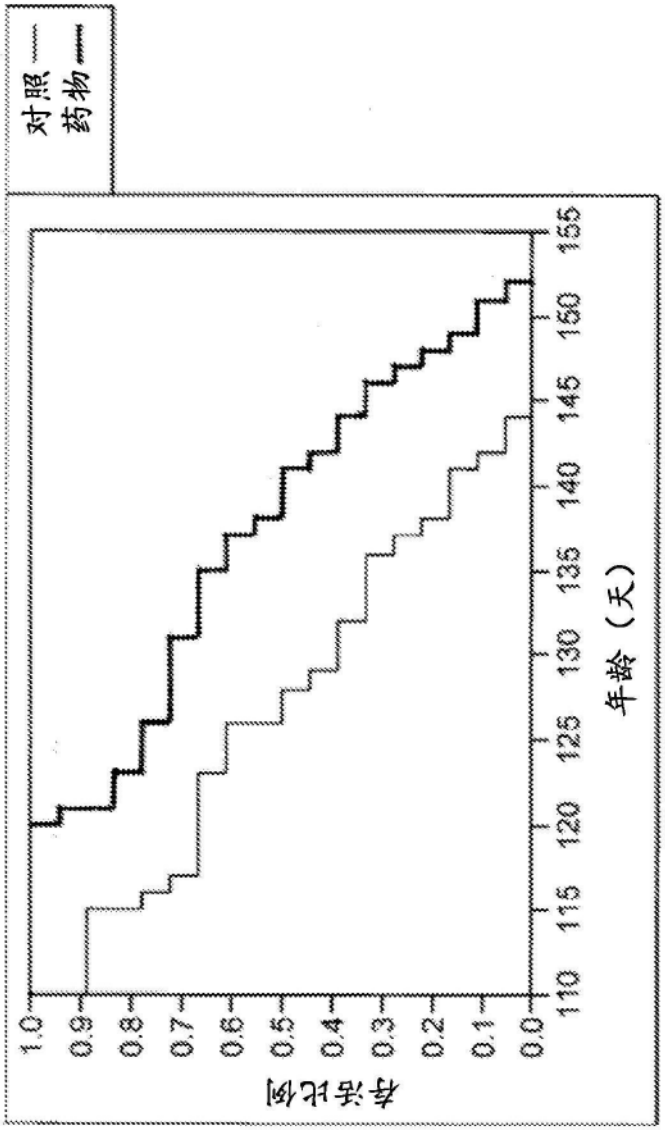

对照
药物
存活比例
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
110
115
120
125
130
135
140
145
150
155
年龄（天）

图4

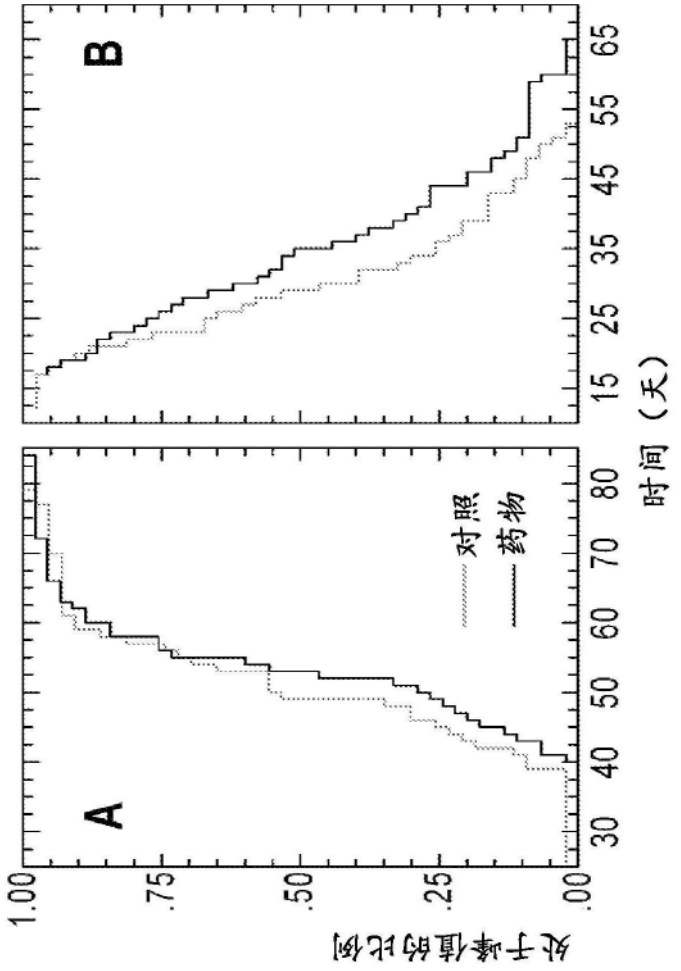

A
B
对照
药物
处于峰值的比例
1.00
.75
.50
.25
.00
30
40
50
60
70
80
15
25
35
45
55
65
时间（天）

图 5A 图 5B

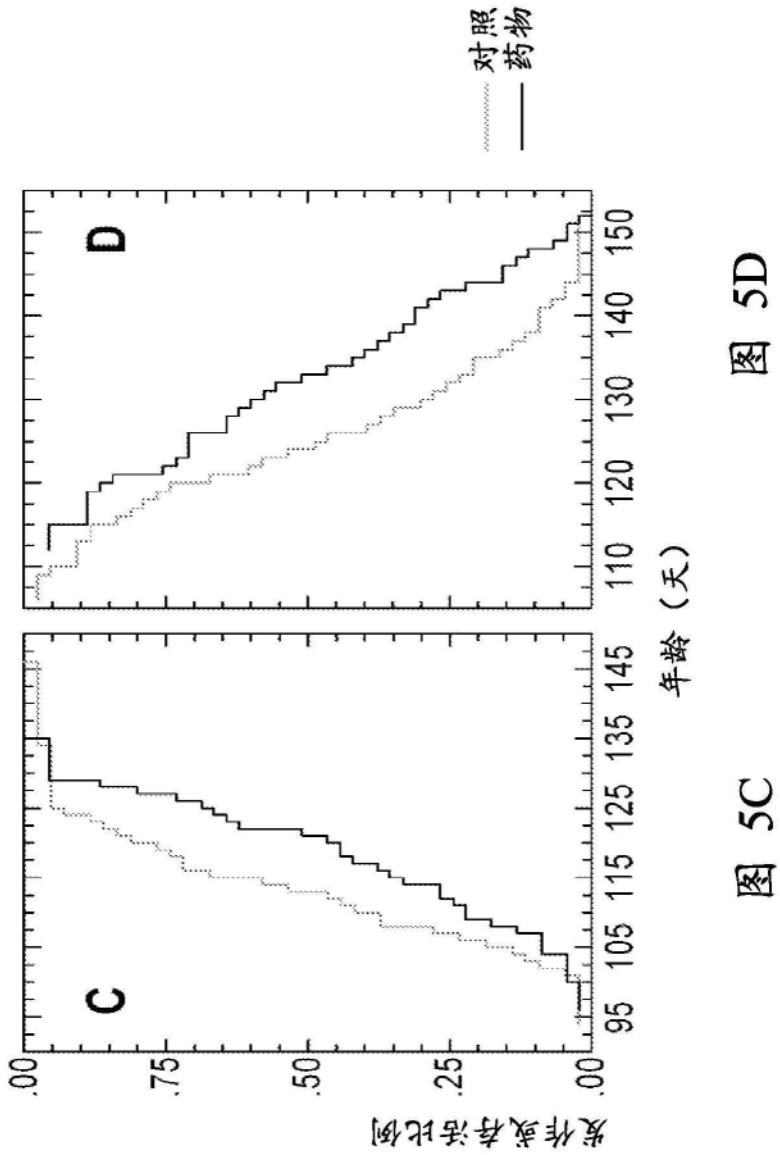

对照
药物
C
D
发作或存活比例
.00
.25
.50
.75
1.00
95
105
115
125
135
145
110
120
130
140
150
年龄（天）

图 5C

图 5D

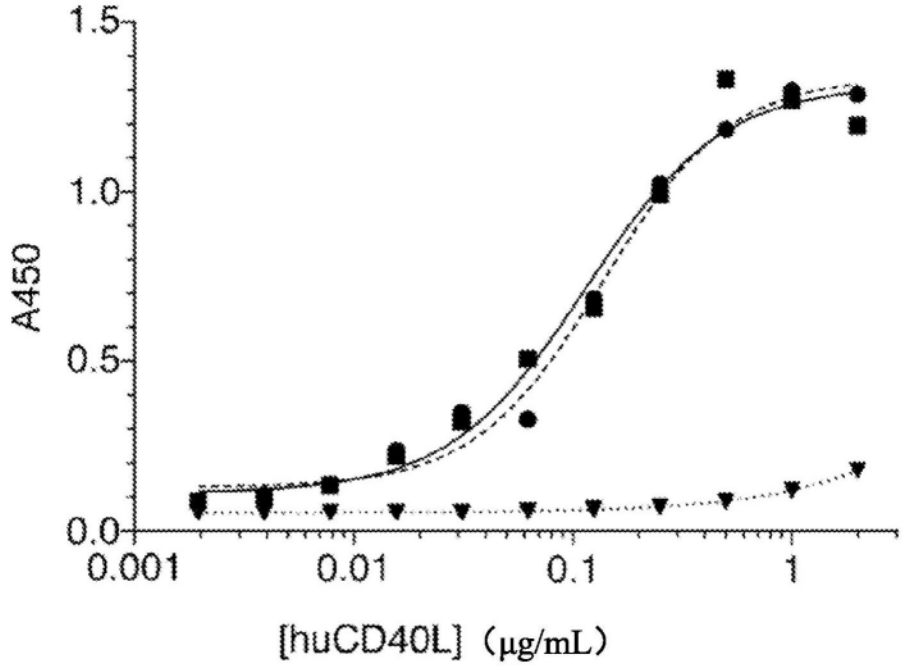


图6

SEQ ID NO:	描述	序列
1	hu5c8 和 JB5 VL 区	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIK
2	hu5c8 和 JB5 VH 区	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSS
3	Fc 区	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
4	JB5 Fc 区	EPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
5	JB5-R28K VL 区	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQKVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIK
6	JB5-K74R VH 区	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDRSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSS
7	JB5轻链氨基酸序列	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC

图7

SEQ ID NO:	描述	序列
8	JB 轻链核苷酸序列	GACATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCCCCCGGCGA GAGGGCCACCATCTCCTGCAGGGCCTCCCAGAGGGTGTCCTCCTCCACCT ACTCCTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCCAAGCTG CTGATCAAGTACGCCTCCAACCTGGAGTCCGGCGTGCCCGCCAGGTTCTC CGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCTCCGTGGAGC CCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTCCTGGGAGATCCCCCCC ACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGgaaatcaaaCGTACGGTGGCTGCACC ATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGA CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGTTAGTGA
9	JB5 重链氨基酸序列	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图8

SEQ ID NO:	描述	序列
10	JB5 重链核酸序列	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGGTGAAGCCCGGCGCCTC CGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATCTTCACCTCCTACTACA TGTACTGGGTGAAGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAG ATCAACCCCTCCAACGGCGACACCAACTTCAACGAGAAGTTCAAGTCCAA GGCCACCCTGACCGTGGACAAGTCCGCCTCCACCGCCTACATGGAGCTGT CCTCCCTGAGGTCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGGTCCGAC GGCAGGAACGACATGGACTCCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTC CTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCAGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG*g* *tgagaggccagcacagggagggagggtgtctgctggaagccaggctcagc* *gctcctgcctggacgcatcccggctatgcagccccagtccagggcagcaa* *ggcaggccccgtctgcctcttcacccggaggcctctgcccgccccactca* *tgctcagggagagggtcttctggctttttccccaggctctgggcaggcac* *aggctaggtgcccctaacccaggccctgcacacaaaggggcaggtgctgg* *gctcagacctgccaagagccatatccgggaggaccctgcccctgacctaa* *gcccacccccaaaggccaaactctccactccctcagctcggacaccttctc* *tcctcccagattccagtaactcccaatcttctctctgcag*AGCCCAAATC TAGTGACAAAACTCACACAAGCCCACCGAGCCCAG*gtaagccagcccagg* *cctcgccctccagctcaaggcgggacaggtgccctagagtagcctgcatc* *cagggacaggccccagccgggtgctgacacgtccacctccatctcttcct* *cag*CACCTGAACTCCTGGGGGGATCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG*gtgggacccgtggggtg* *cgagggccacatggacagaggccggctcggcccaccctctgccctgagag* *tgaccgctgtaccaacctctgtccctacag*GGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA *taatga*

图9

SEQ ID NO:	描述	序列
11	JB5-R28K 轻链氨基酸序列	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQKVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
12	JB5-R28K 轻链核酸序列	GACATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCCCCCGGCGA GAGGGCCACCATCTCCTGCAGGGCCTCCCAGAAGGTGTCCTCCTCCACCT ACTCCTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCCAAGCTG CTGATCAAGTACGCCTCCAACCTGGAGTCCGGCGTGCCCGCCAGGTTCTC CGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCTCCGTGGAGC CCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTCCTGGGAGATCCCCCCC ACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGgaaatcaaaCGTACGGTGGCTGCACC ATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGA CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGTTAGTGA
13	JB5-K74R 重链氨基酸	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDRSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图10

SEQ ID NO:	描述	序列
14	JB5-K74R 重链核酸序列	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGGTGAAGCCCGGCGCCTC CGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATCTTCACCTCCTACTACA TGTACTGGGTGAAGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAG ATCAACCCCTCCAACGGCGACACCAACTTCAACGAGAAGTTCAAGTCCAA GGCCACCCTGACCGTGGACAGGTCCGCCTCCACCGCCTACATGGAGCTGT CCTCCCTGAGGTCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGGTCCGAC GGCAGGAACGACATGGACTCCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTC CTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCAGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG*g* *tgagaggccagcacagggagggagggtgtctgctggaagccaggctcagc* *gctcctgcctggacgcatcccggctatgcagccccagtccagggcagcaa* *ggcaggccccgtctgcctcttcacccggaggcctctgcccgccccactca* *tgctcagggagagggtcttctggctttttccccaggctctgggcaggcac* *aggctaggtgcccctaacccaggccctgcacacaaaggggcaggtgctgg* *gctcagacctgccaagagccatatccgggaggaccctgcccctgacctaa* *gcccacccccaaaggccaaactctccactccctcagctcggacaccttctc* *tcctcccagattccagtaactcccaatcttctctctgcag*AGCCCAAATC TAGTGACAAAACTCACACAAGCCCACCGAGCCCAG*gtaagccagcccagg* *cctcgccctccagctcaaggcgggacaggtgccctagagtagcctgcatc* *cagggacaggccccagccgggtgctgacacgtccacctccatctcttcct* *cag*CACCTGAACTCCTGGGGGGATCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG*gtgggacccgtggggtg* *cgagggccacatggacagaggccggctcggcccaccctctgccctgagag* *tgaccgctgtaccaacctctgtccctacag*GGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA *taatga*

图11

SEQ ID NO:	描述	序列
15	JB5 CDR-L1	ISCRASQRVSSSTYSYMH
16	JB5 CDR-L2	YASNLES
17	JB5 CDR-L3	QHSWEIPPT
18	JB5 CDR-H1	SYYMY
19	JB5 CDR-H2	EINPSNGDTNFNEKFKS
20	JB5 CDR-H3	SDGRNDMDS
21	Hu5c8 重链	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFK SKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSDGRNDMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图12

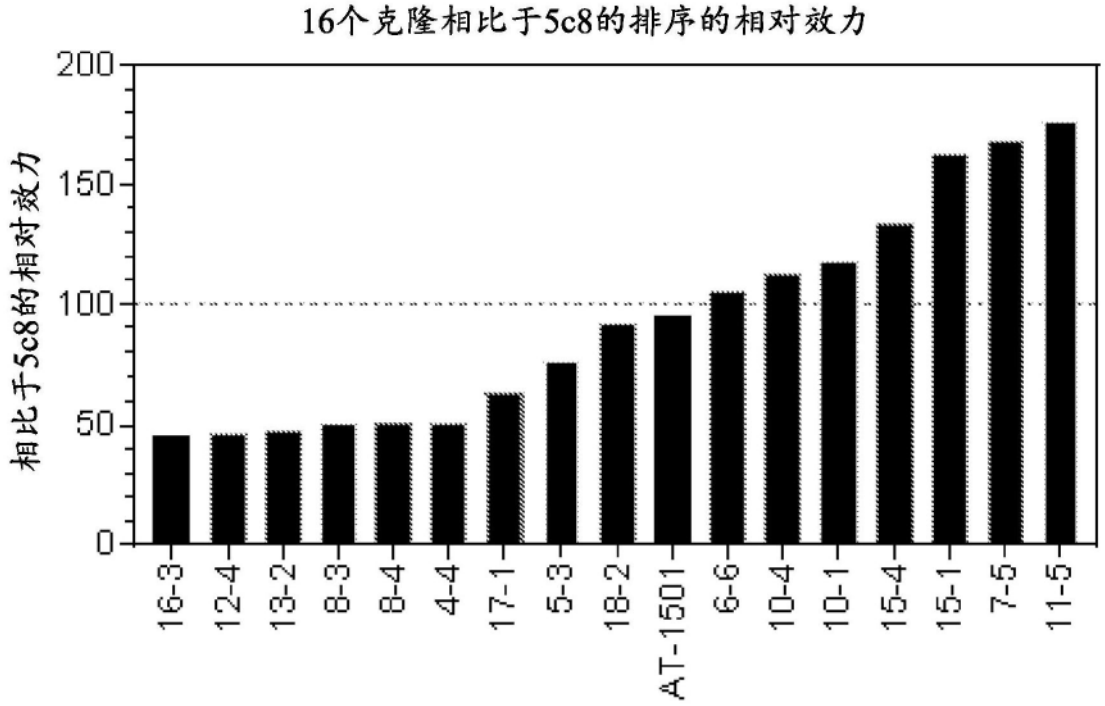


图13A

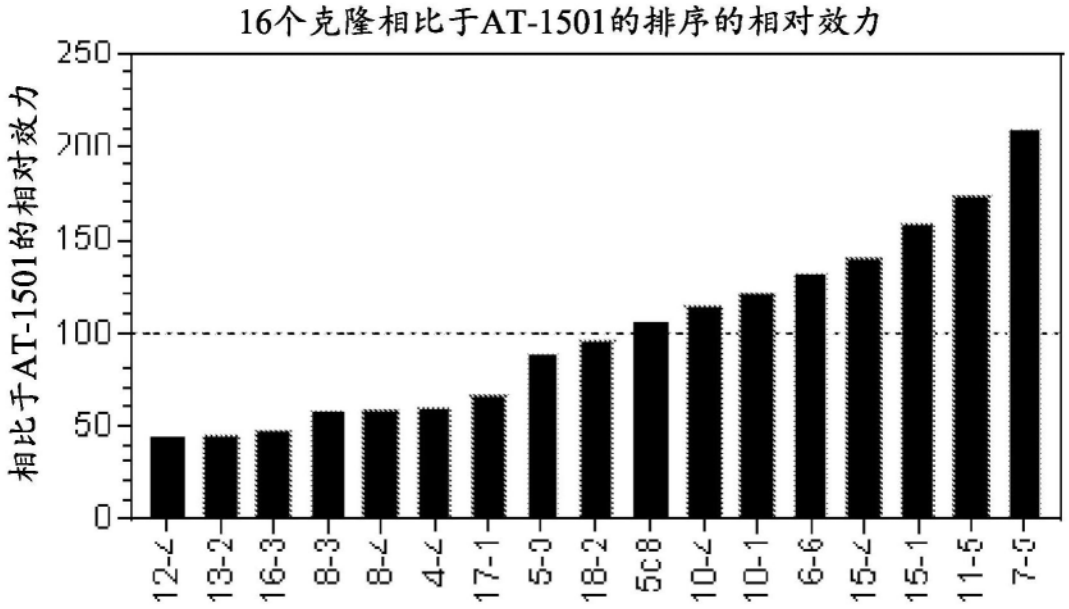

16个克隆相比于AT-1501的排序的相对效力
相比于AT-1501的相对效力
250
200
150
100
50
0
12-4
13-2
16-3
8-3
8-4
4-4
17-1
5-3
18-2
5c8
10-4
10-1
6-6
15-4
15-1
11-5
7-5

图13B

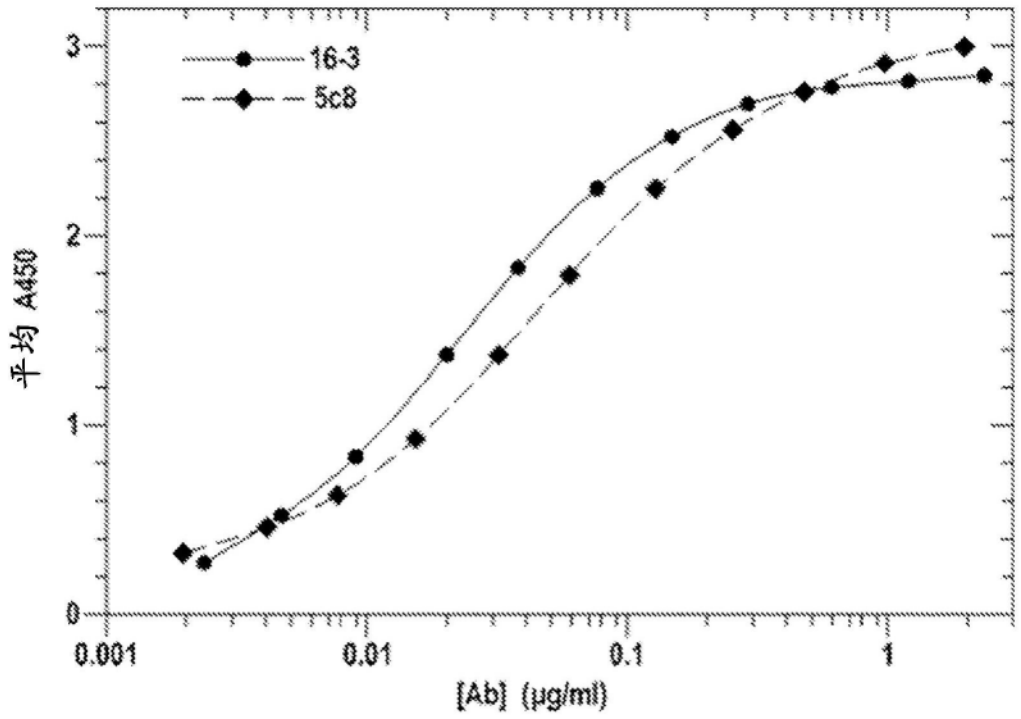

16.3
5c8
平均 A450
3
2
1
0
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

图14A

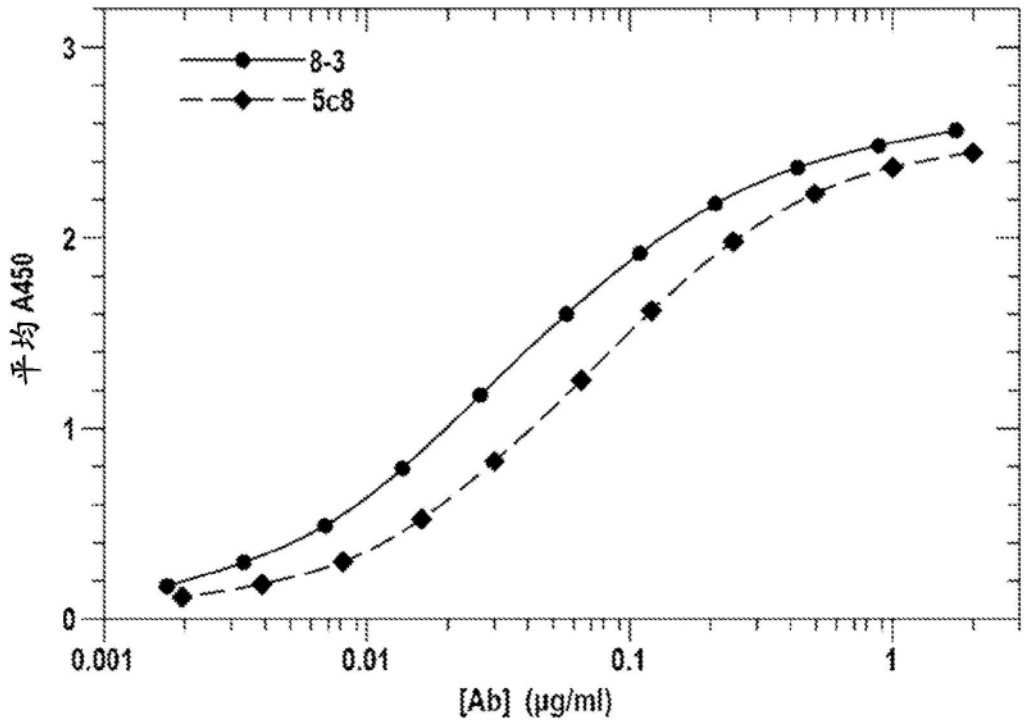

8-3
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14B

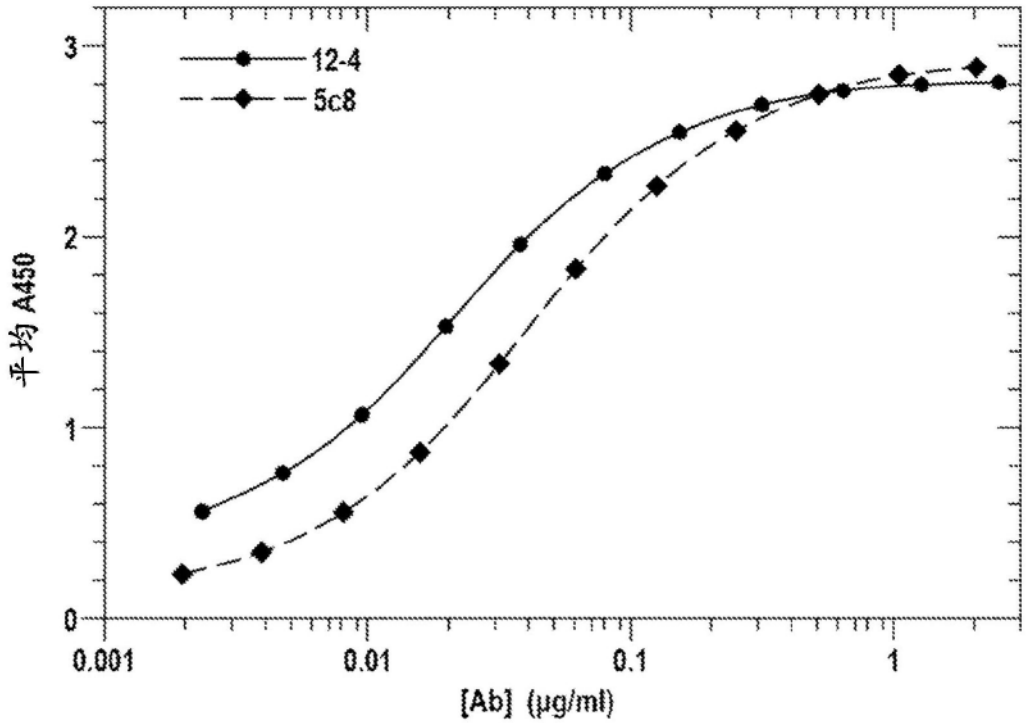

12-4
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14C

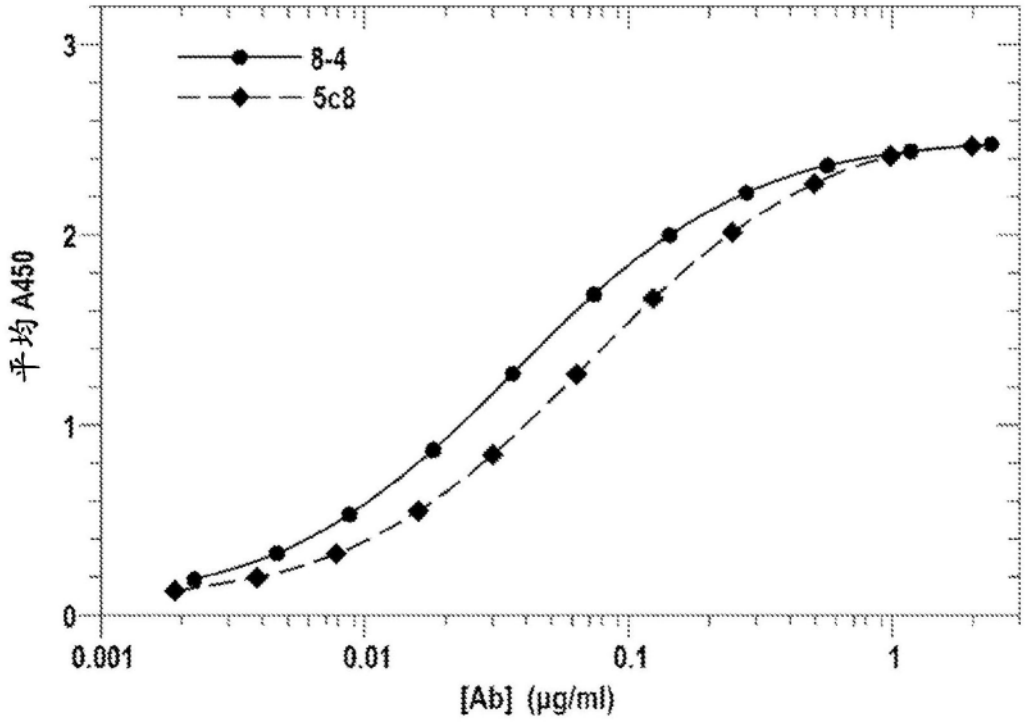

8-4
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14D

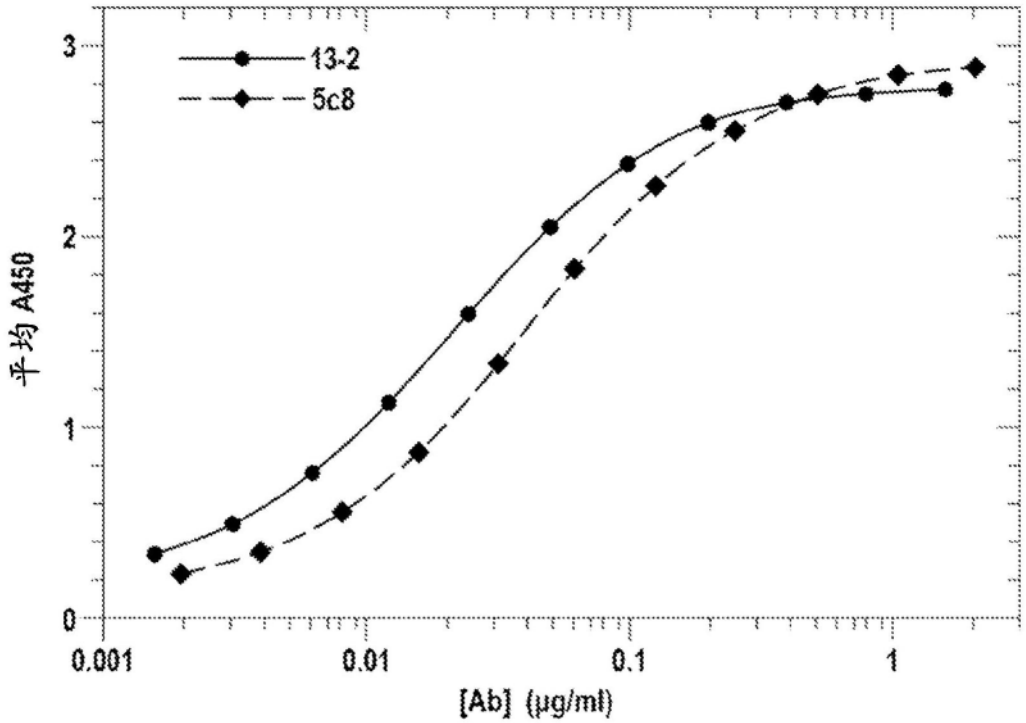

13-2
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14E

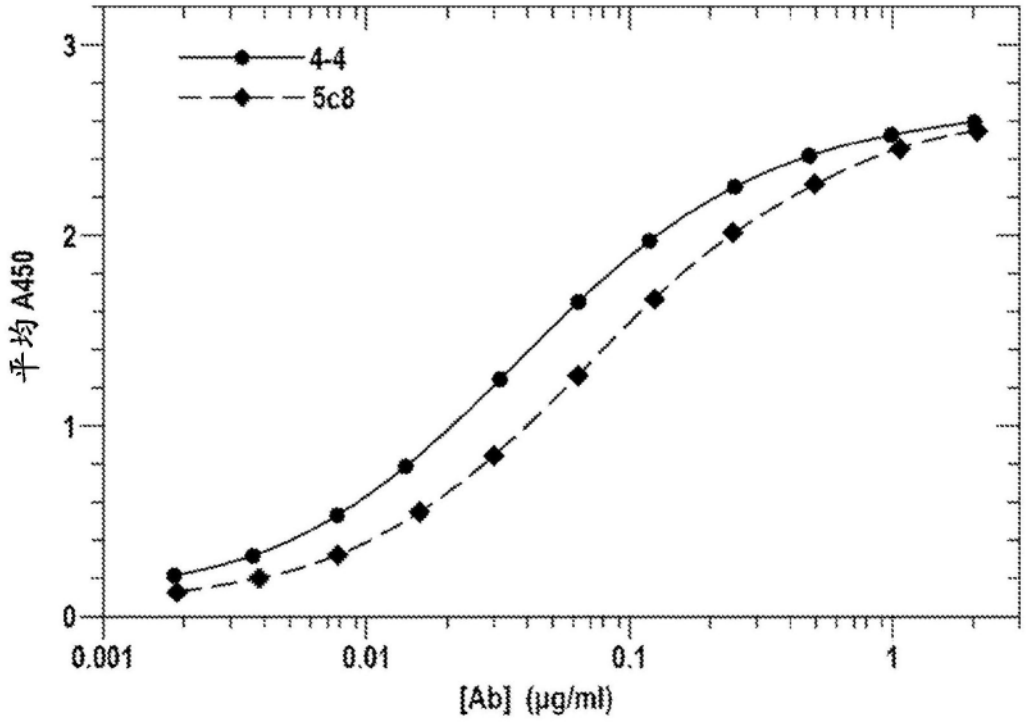

4-4
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14F

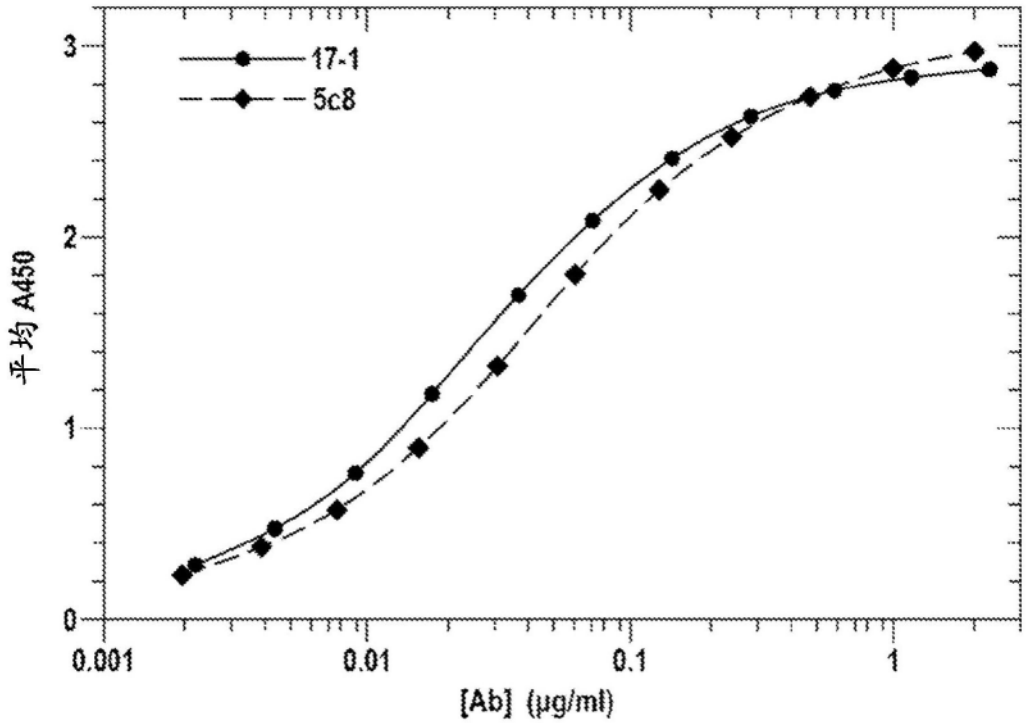

17-1
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14G

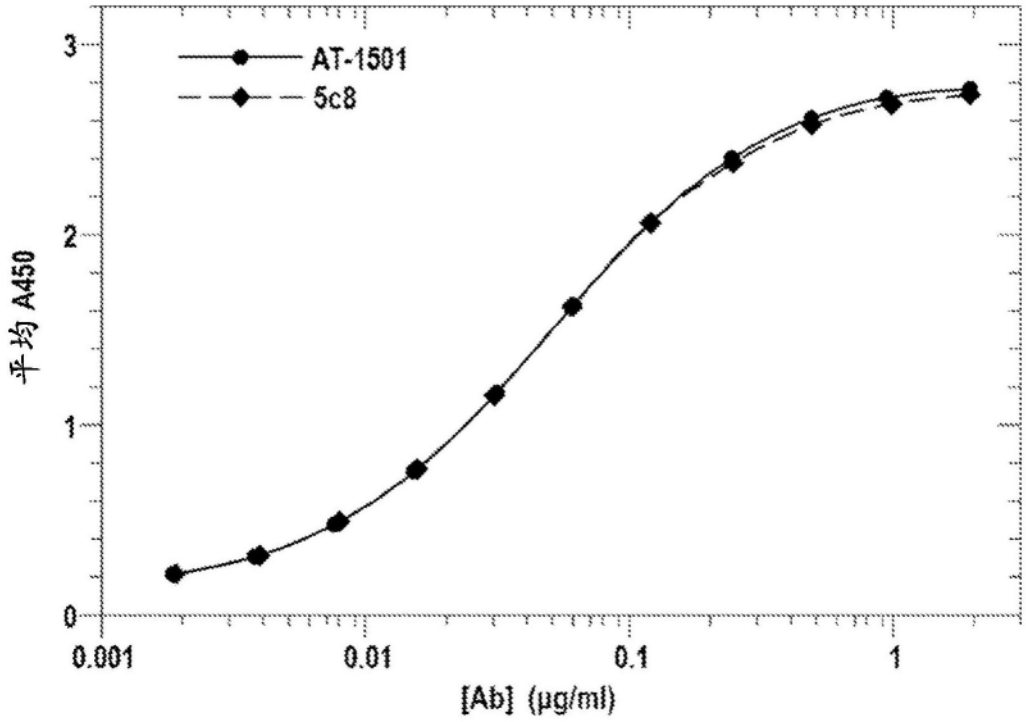

AT-1501
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14H

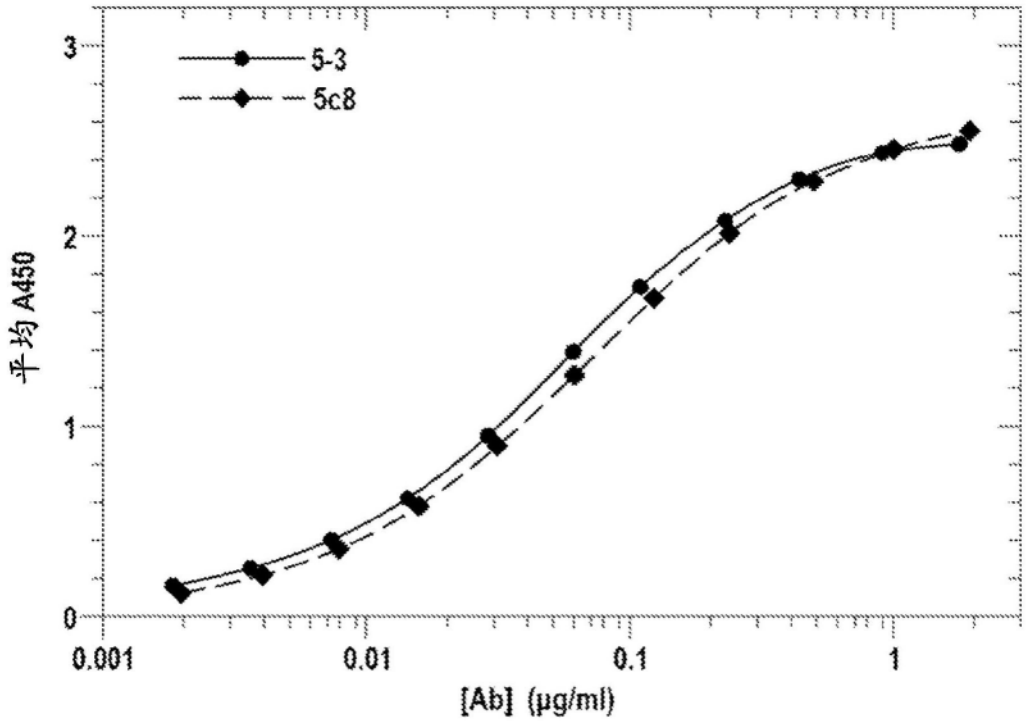

5-3
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14I

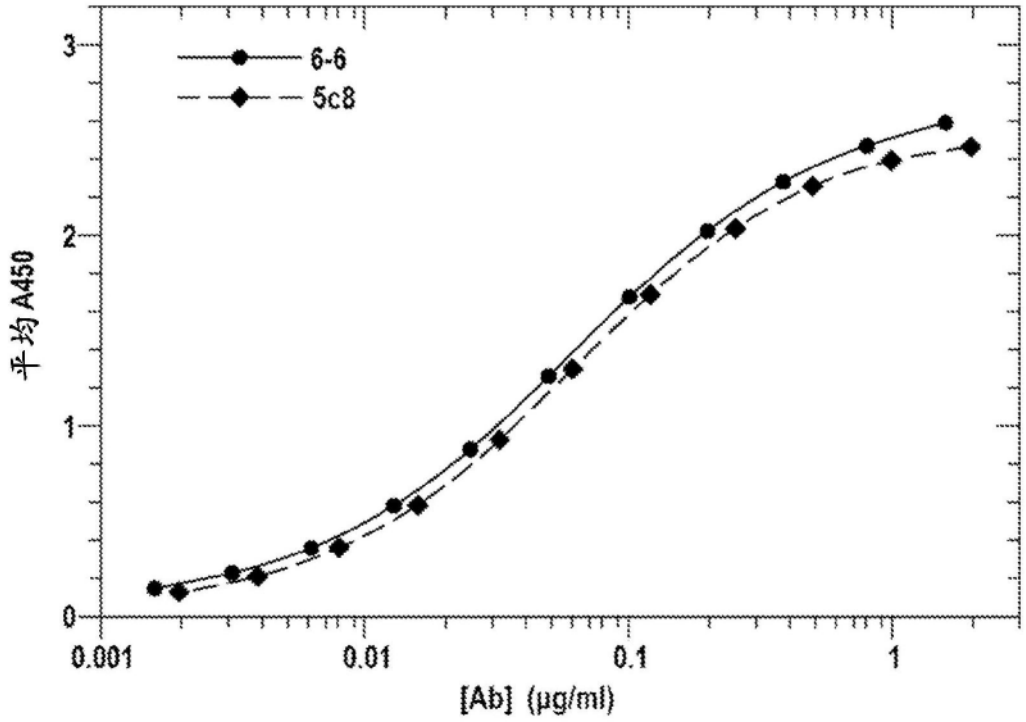

6-6
5c8
平均A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14J

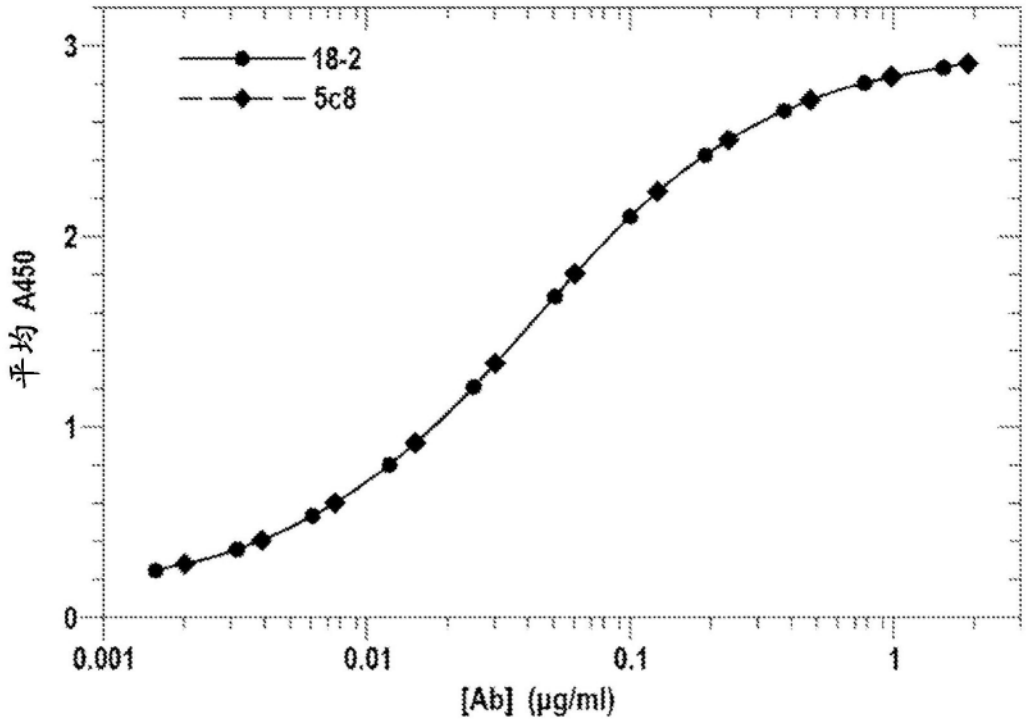

18-2
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14K

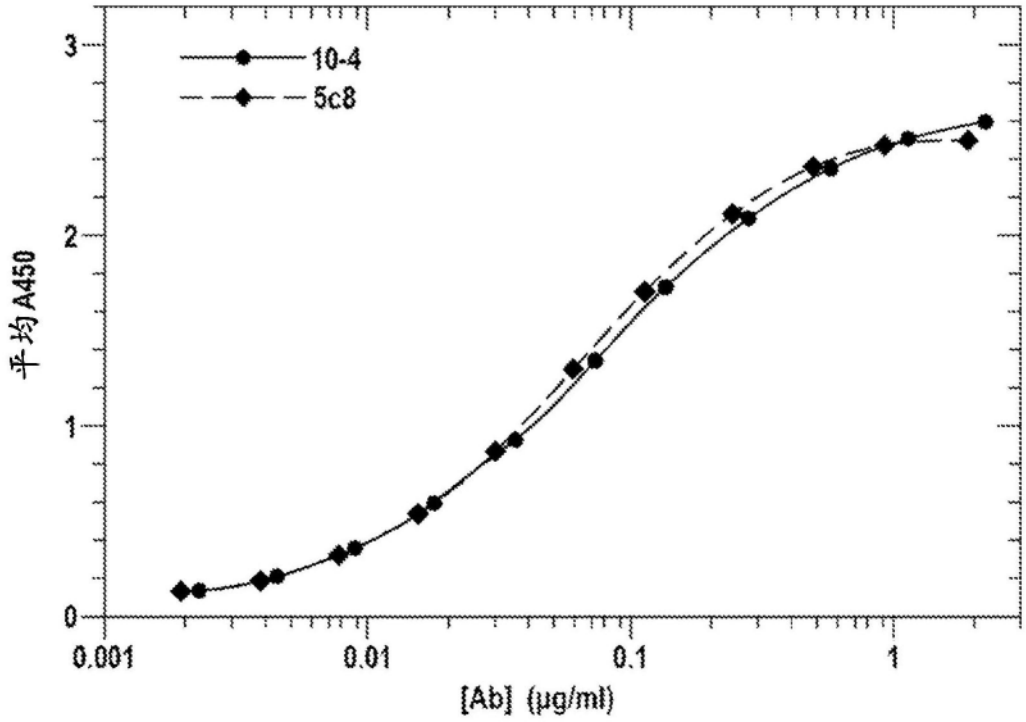

10-4
5c8
平均A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14L

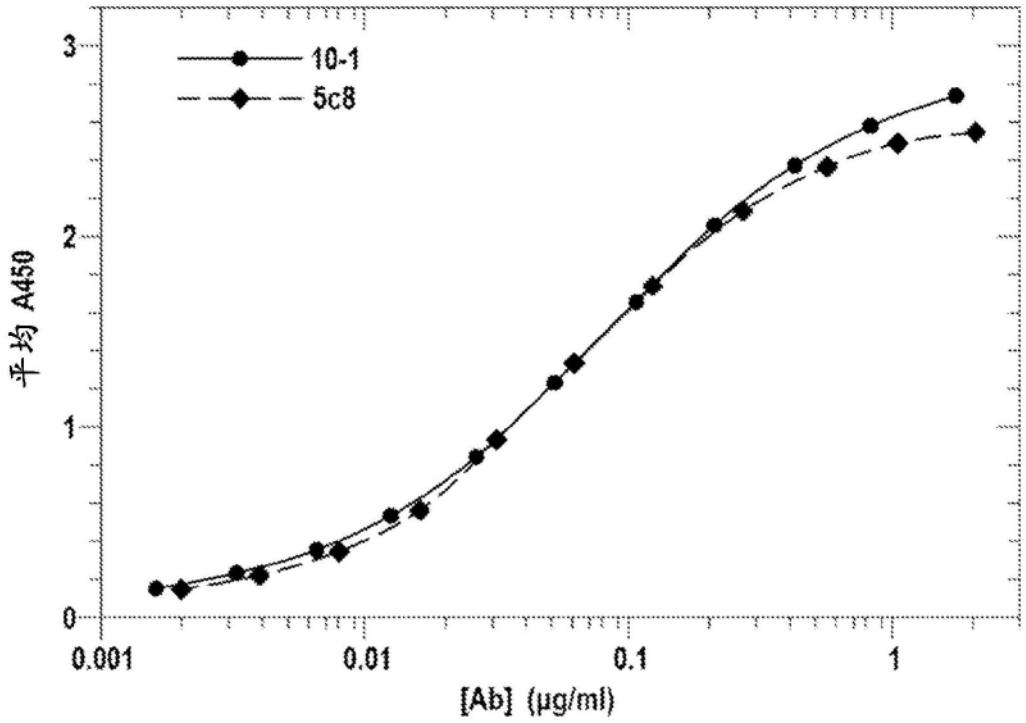

10-1
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14M

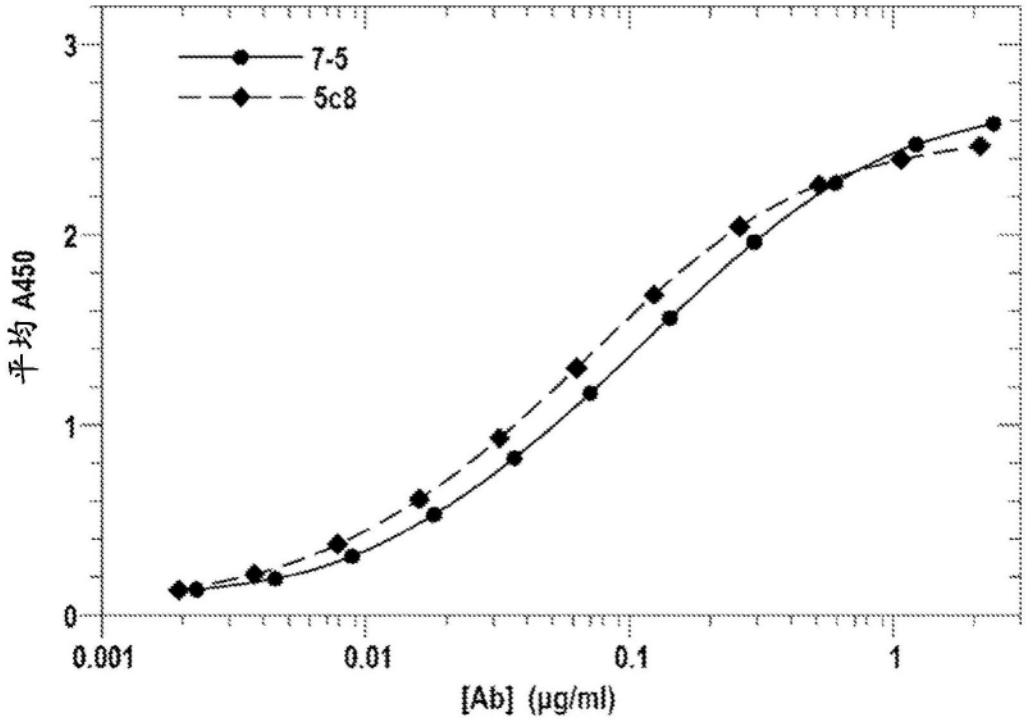

7-5
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14N

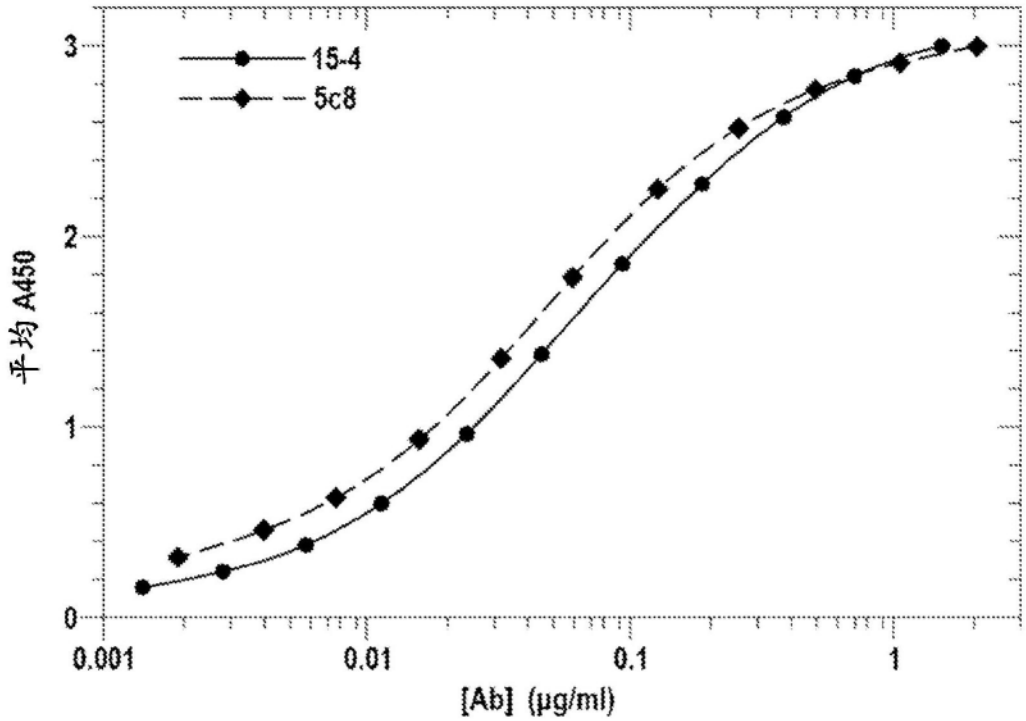

15-4
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图140

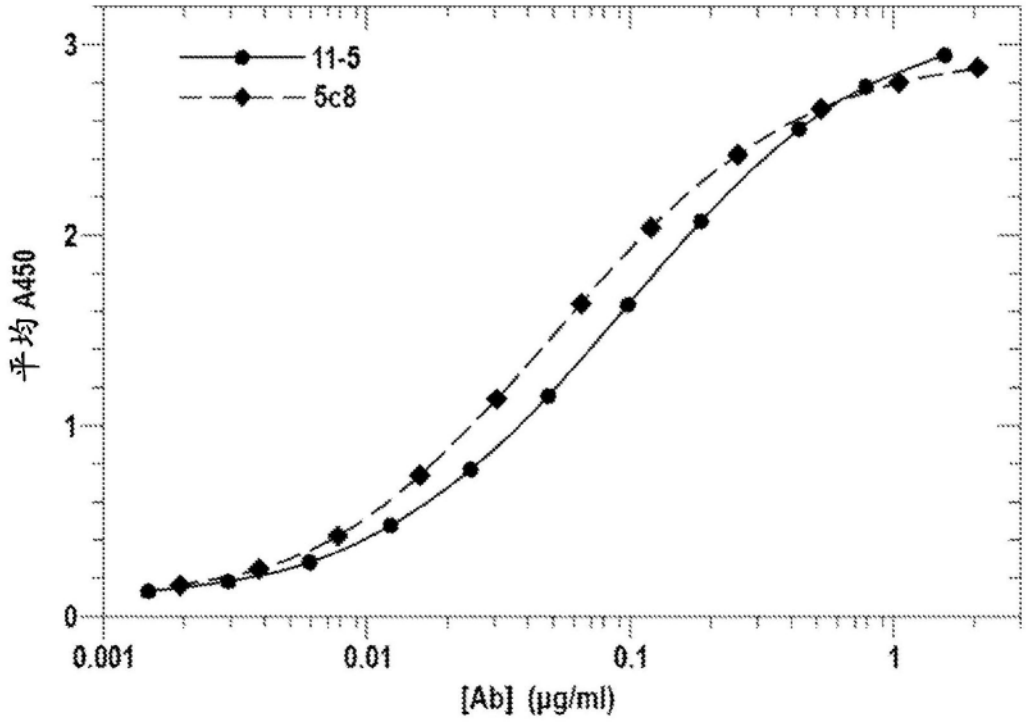

11-5
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14P

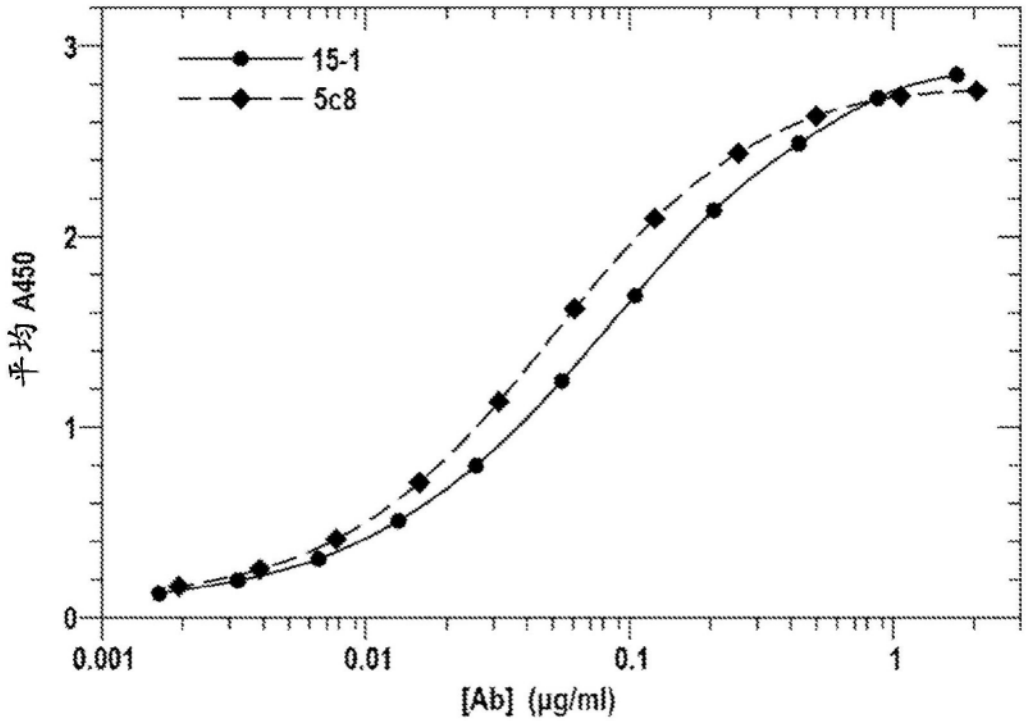

15-1
5c8
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图14Q

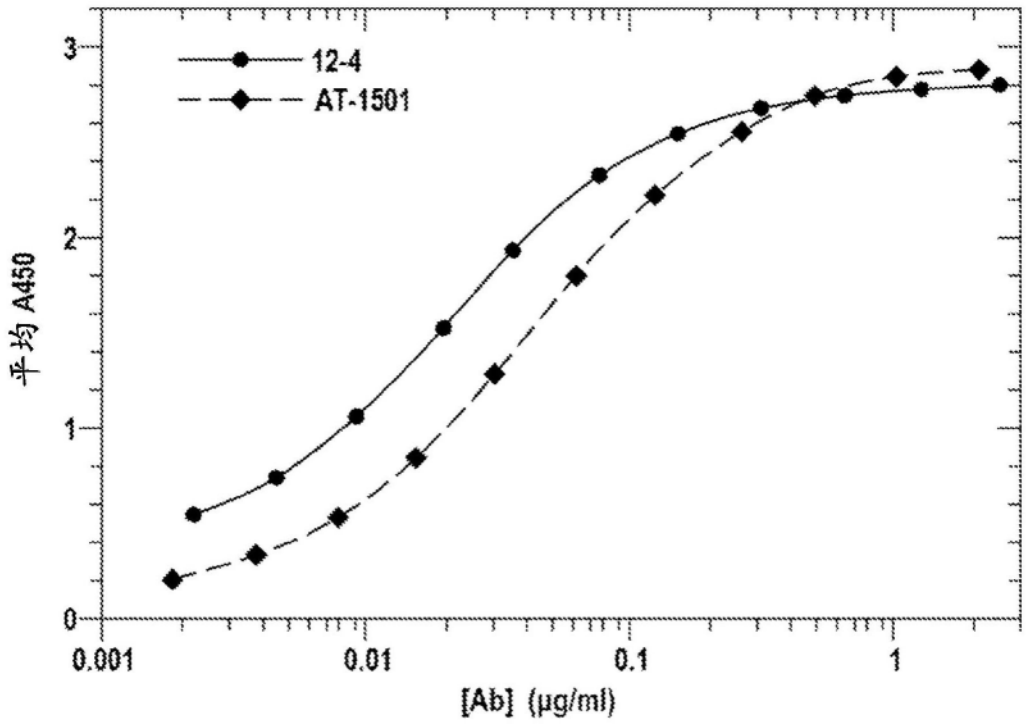

12-4
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15A

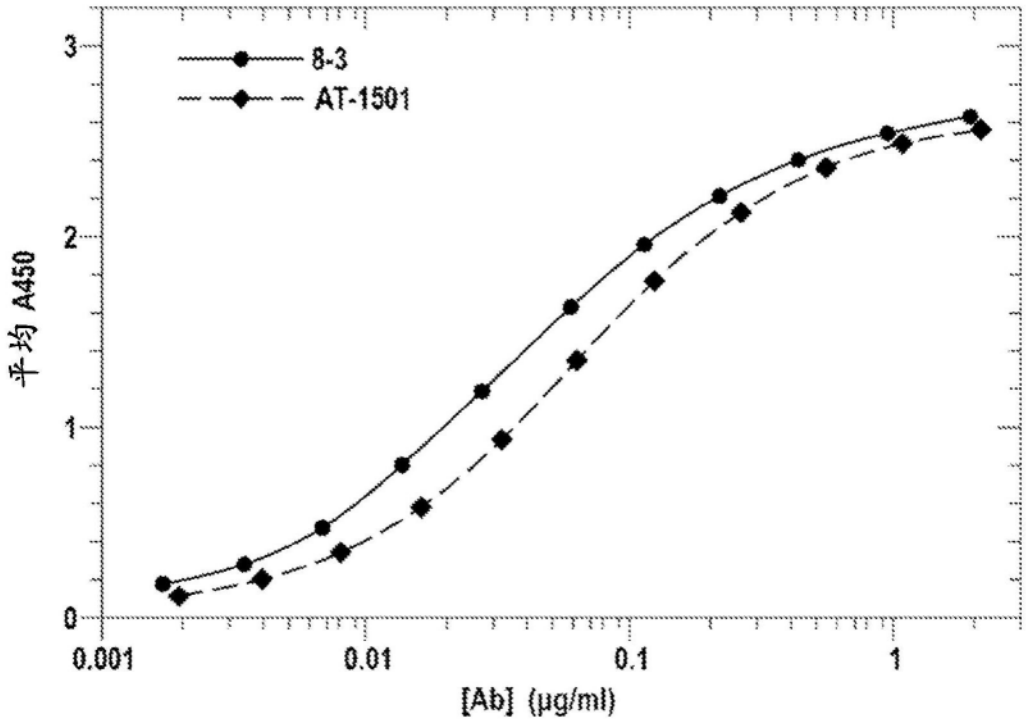

8-3
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15B

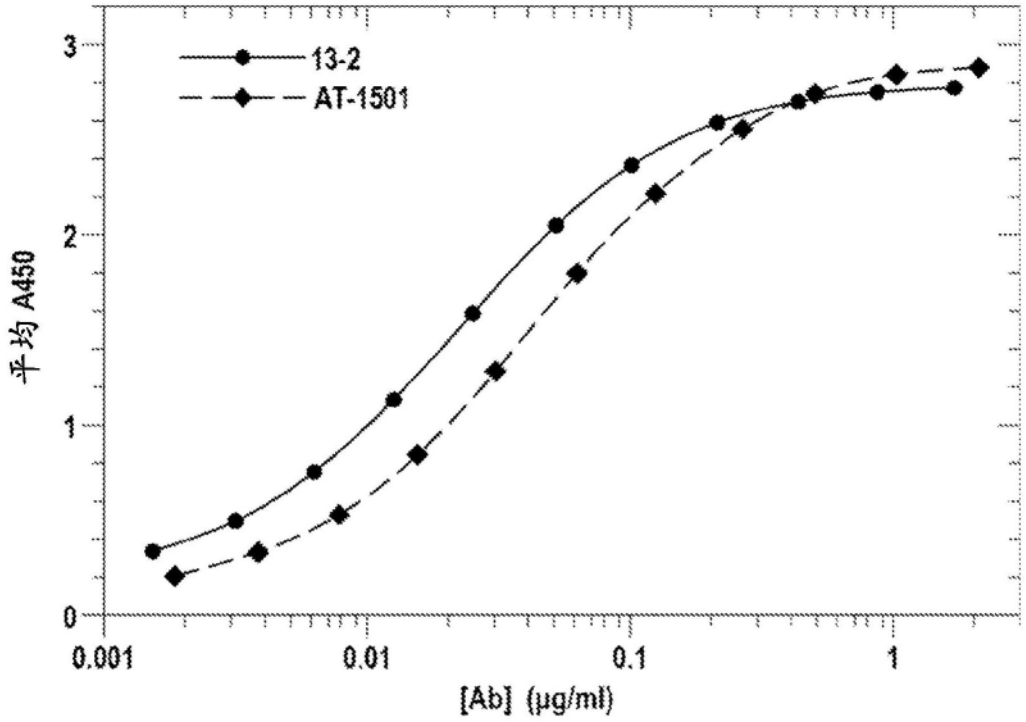

13-2
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15C

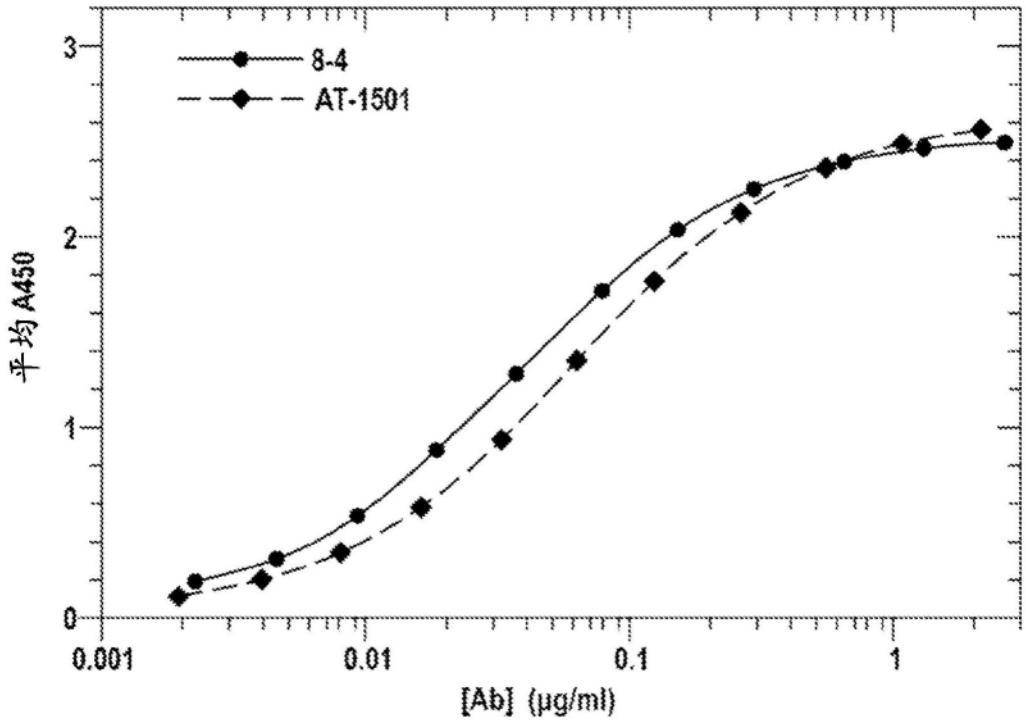

8-4
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15D

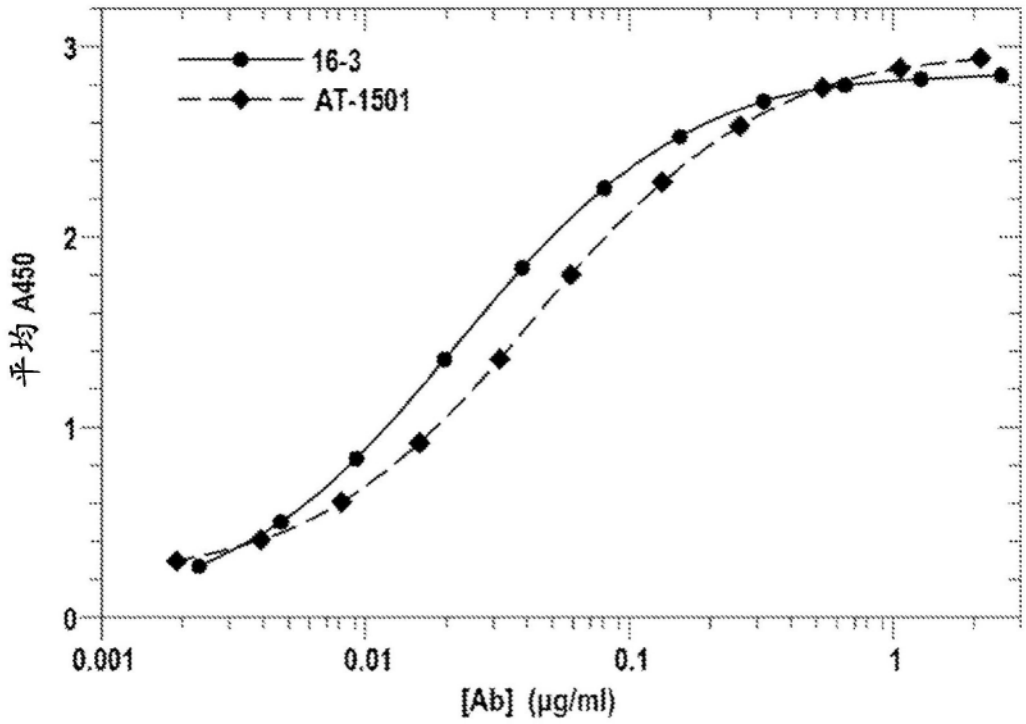

16-3
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15E

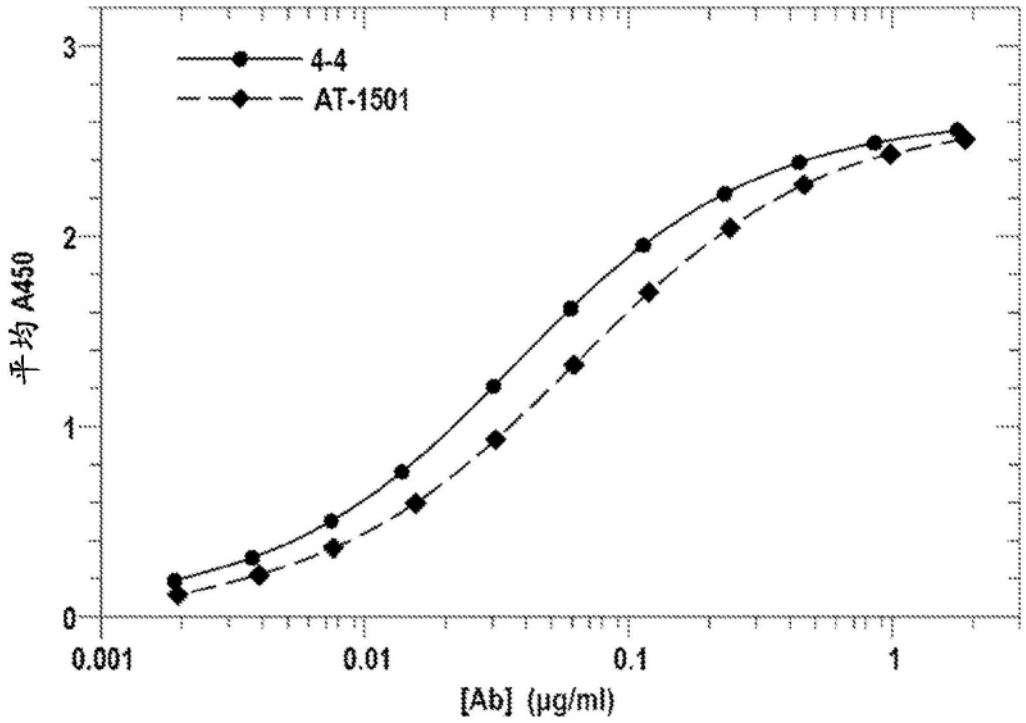

4-4
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15F

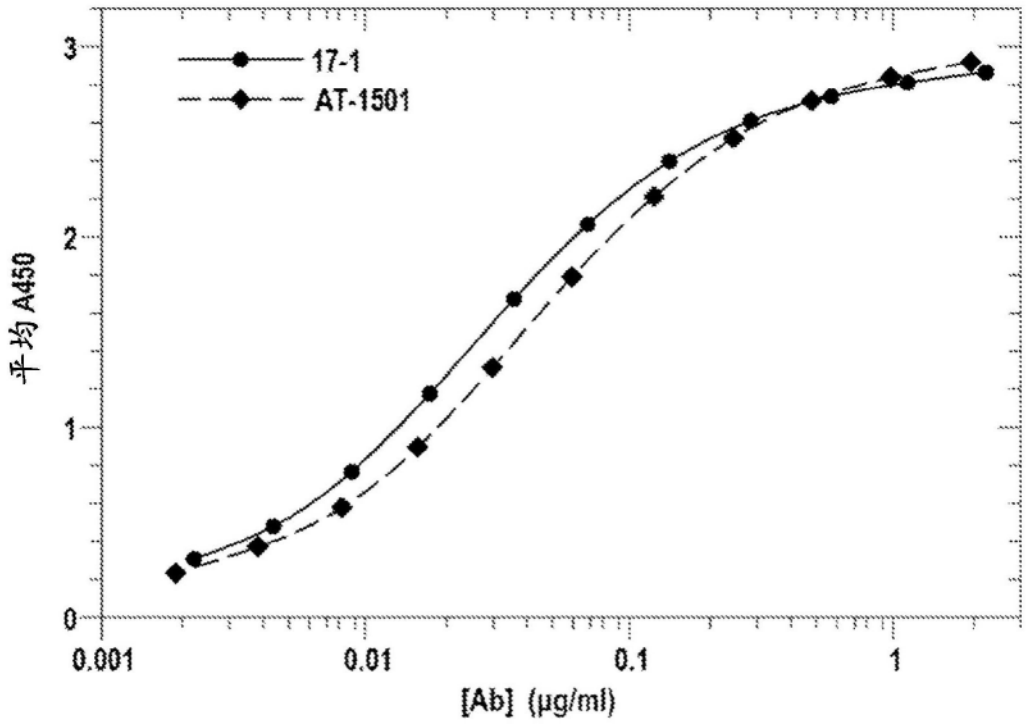

17-1
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15G

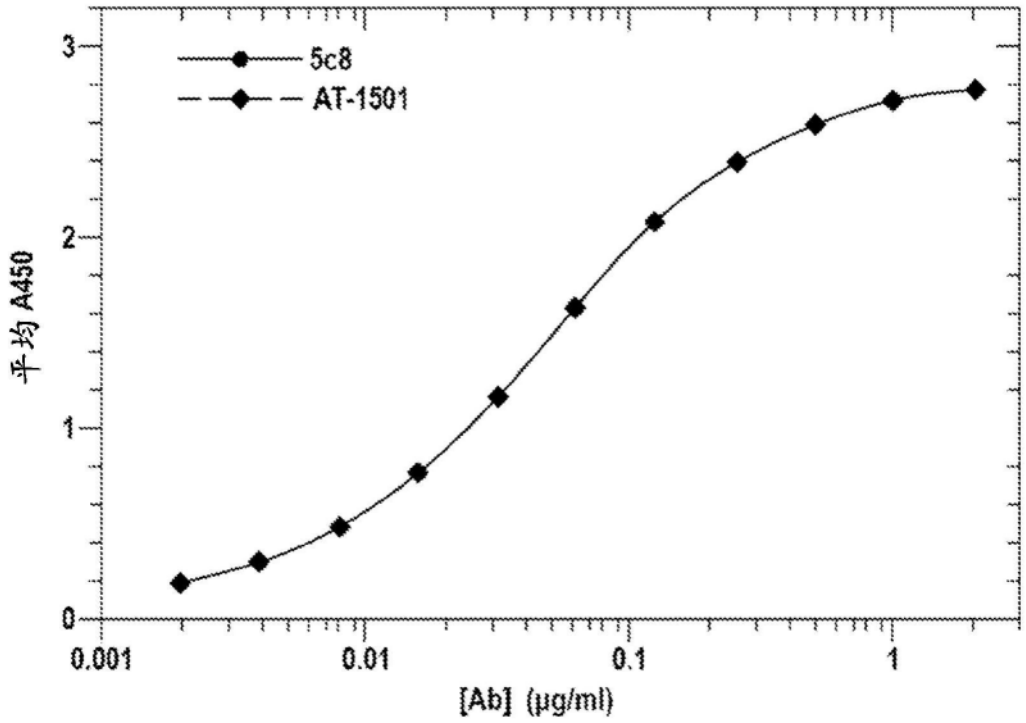

5c8
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15H

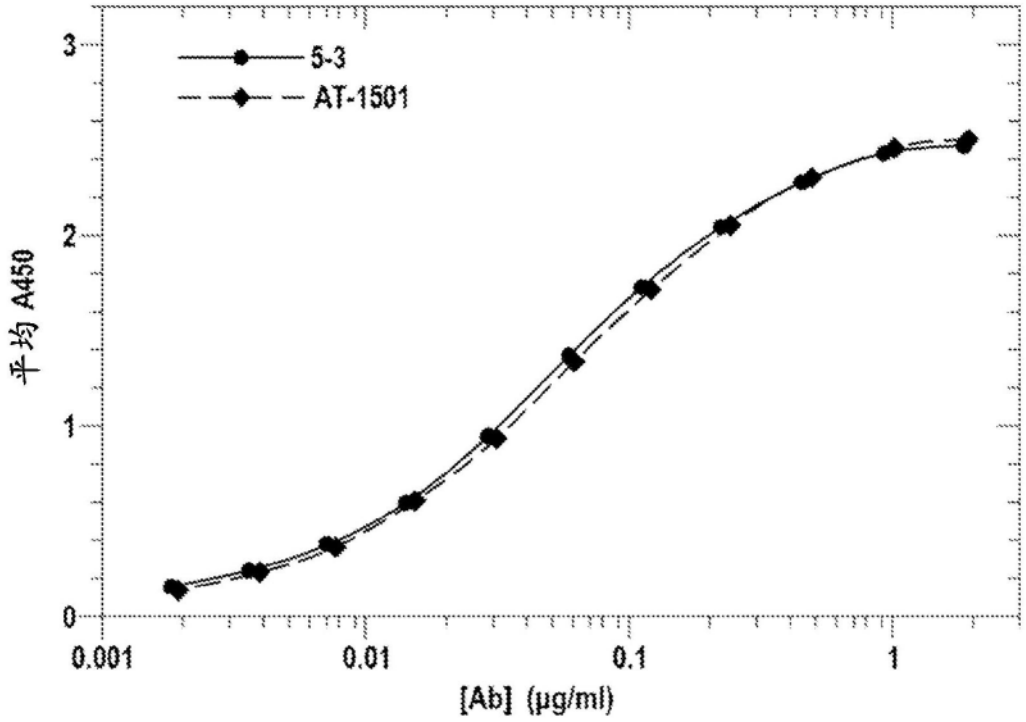

5-3
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15I

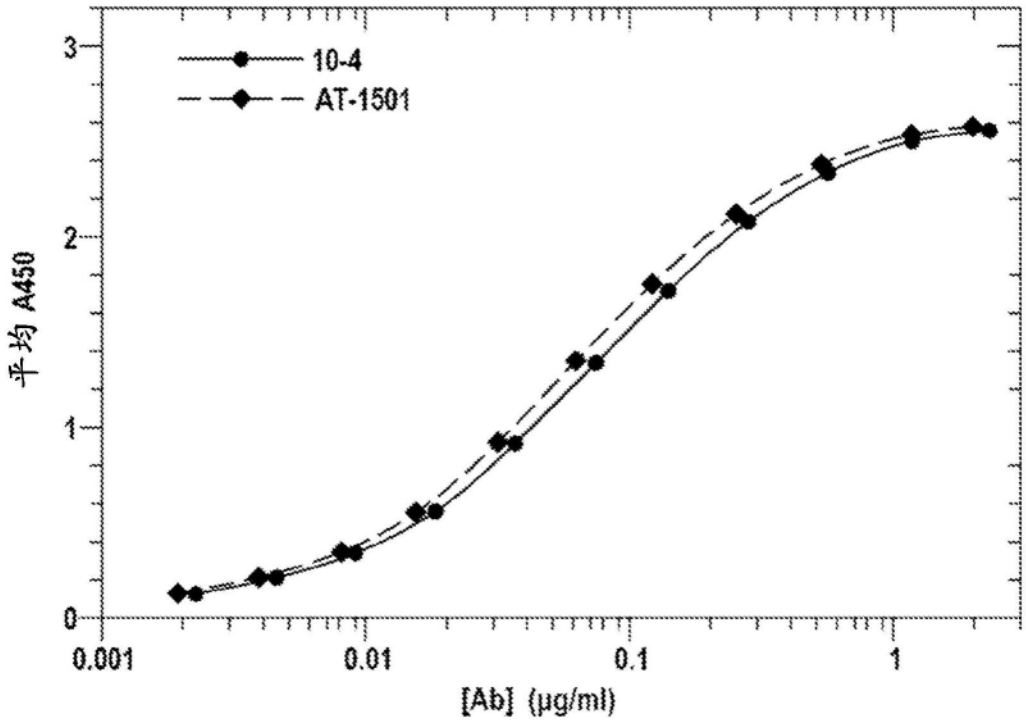

10-4
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15J

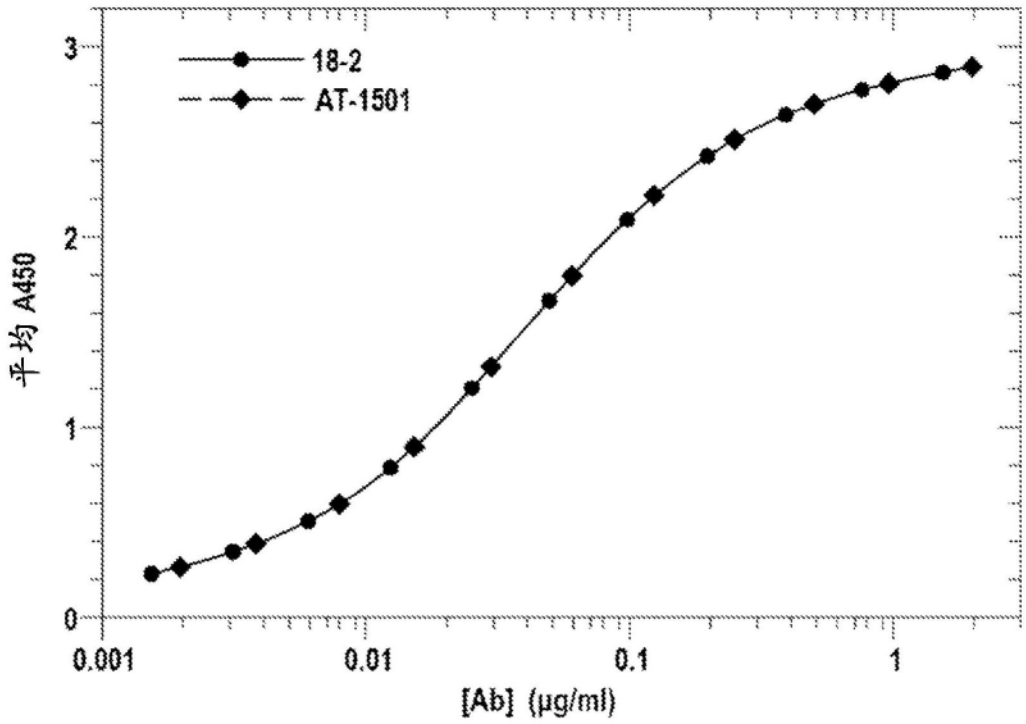

18-2
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15K

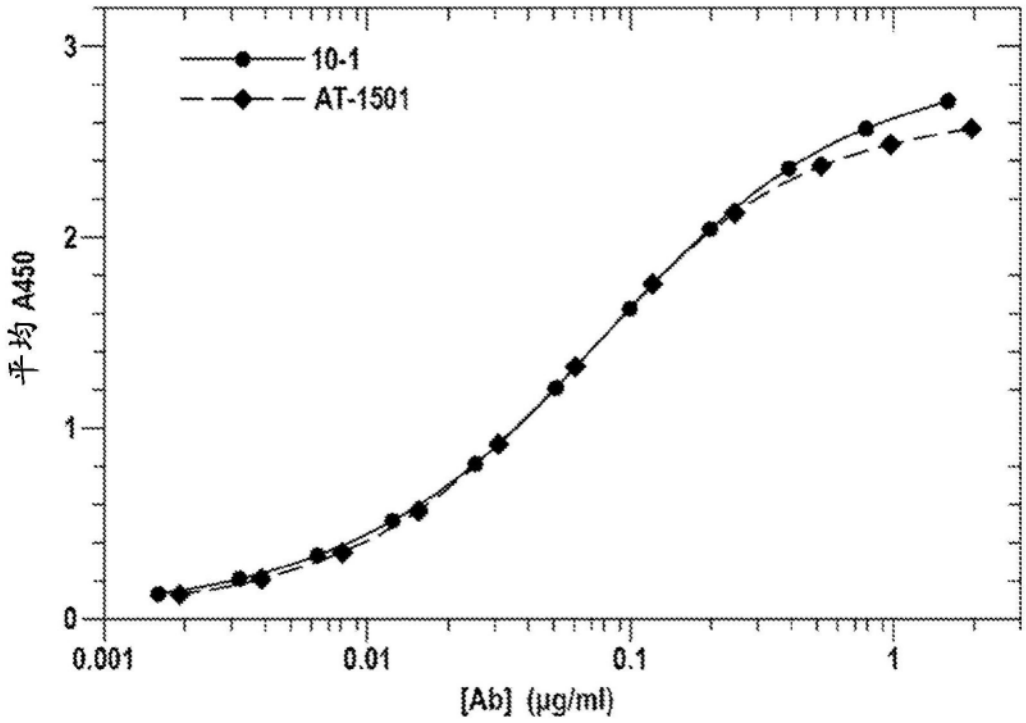

10-1
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15L

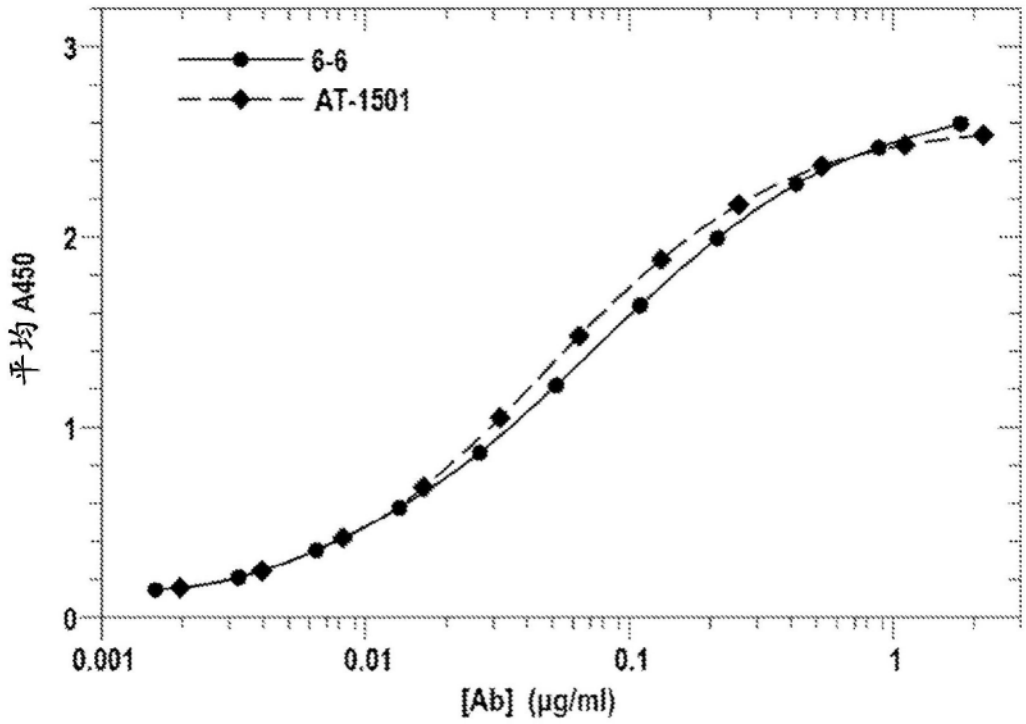

6-6
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15M

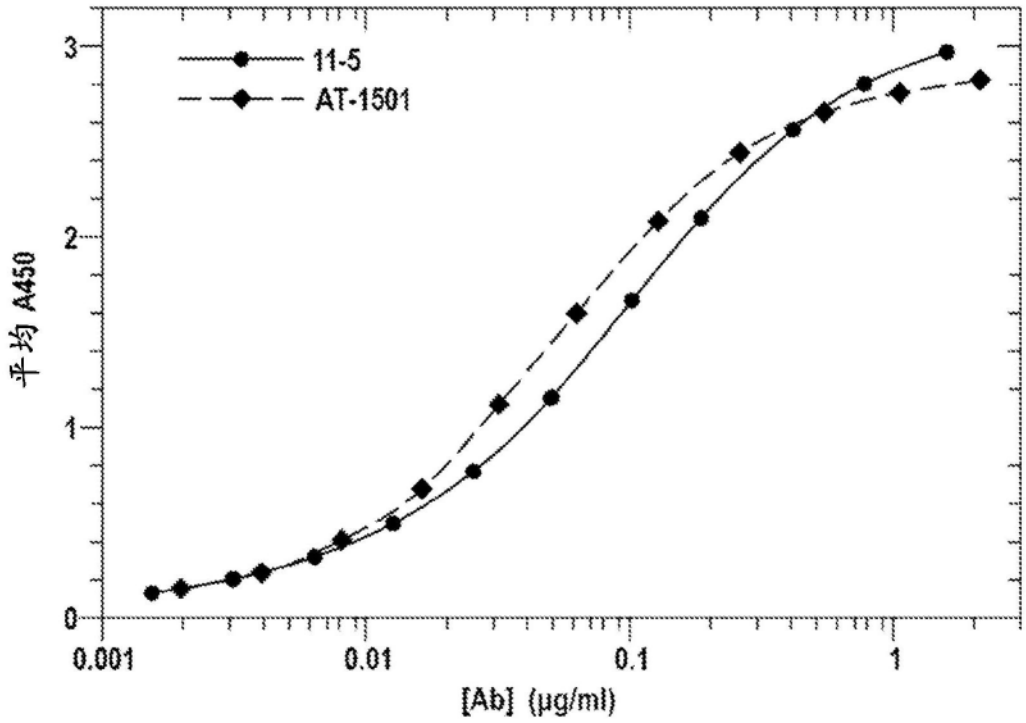

11-5
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15N

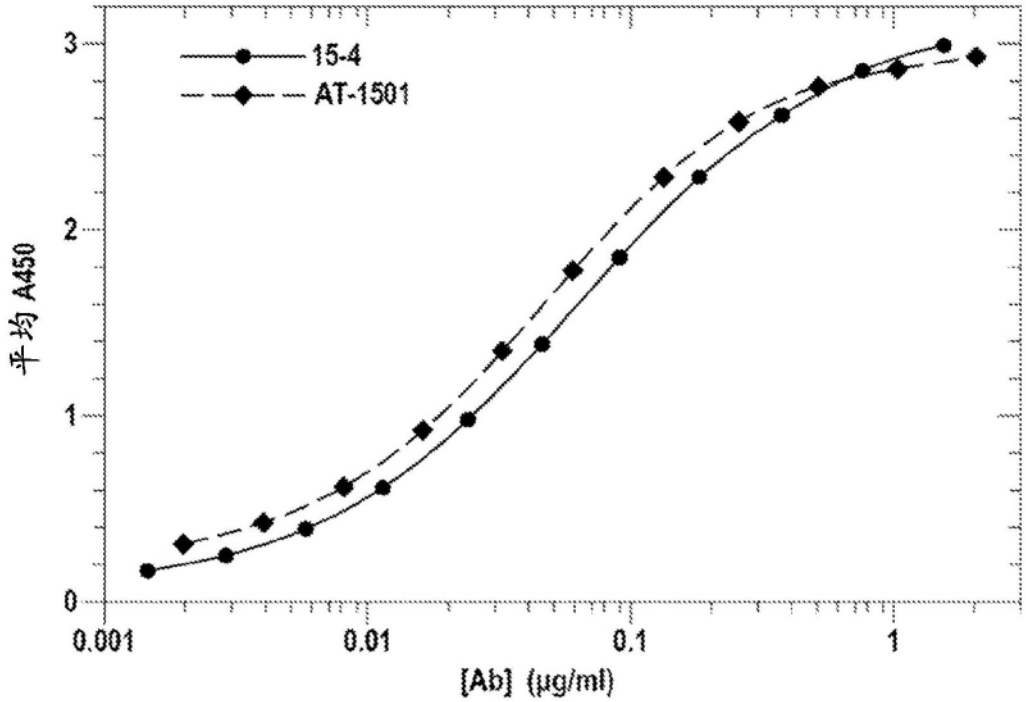

15-4
AT-1501
平均 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

图150

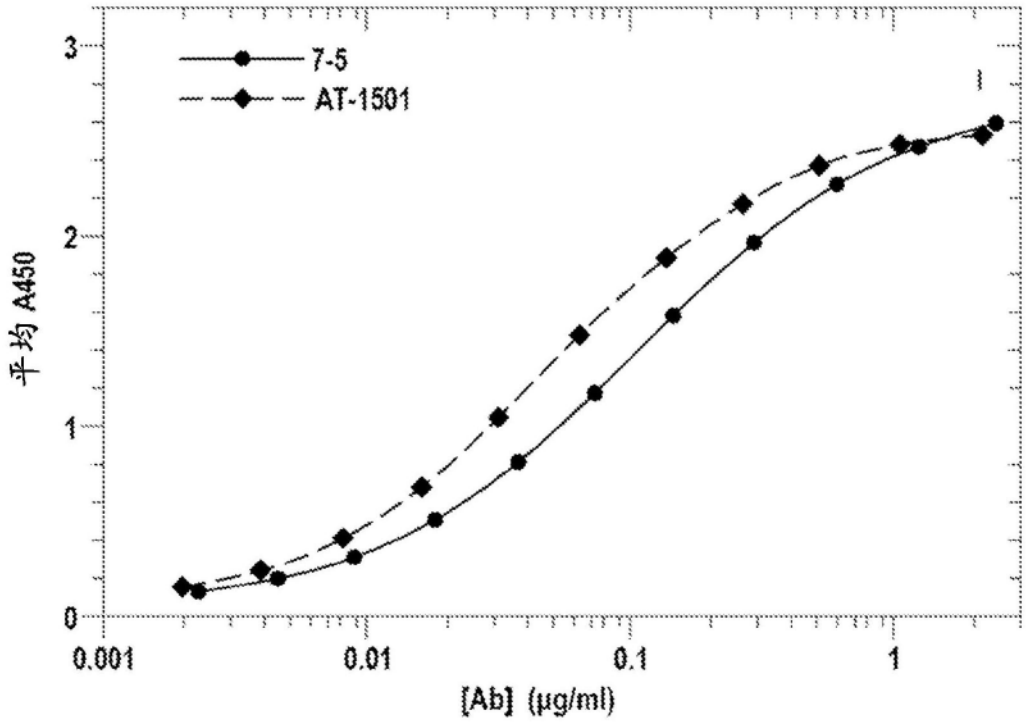

7-5
AT-1501
平均 A450
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1
[Ab] (μg/ml)

图15P

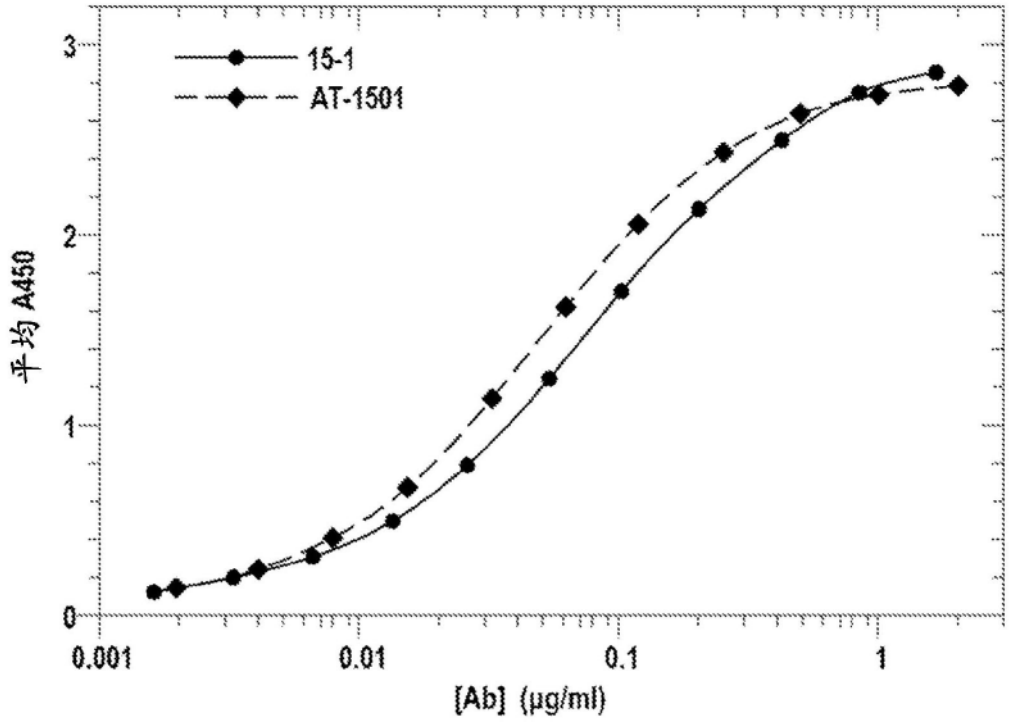

15-1
AT-1501
平均 A450
[Ab] (μg/ml)
0
1
2
3
0.001
0.01
0.1
1

图15Q

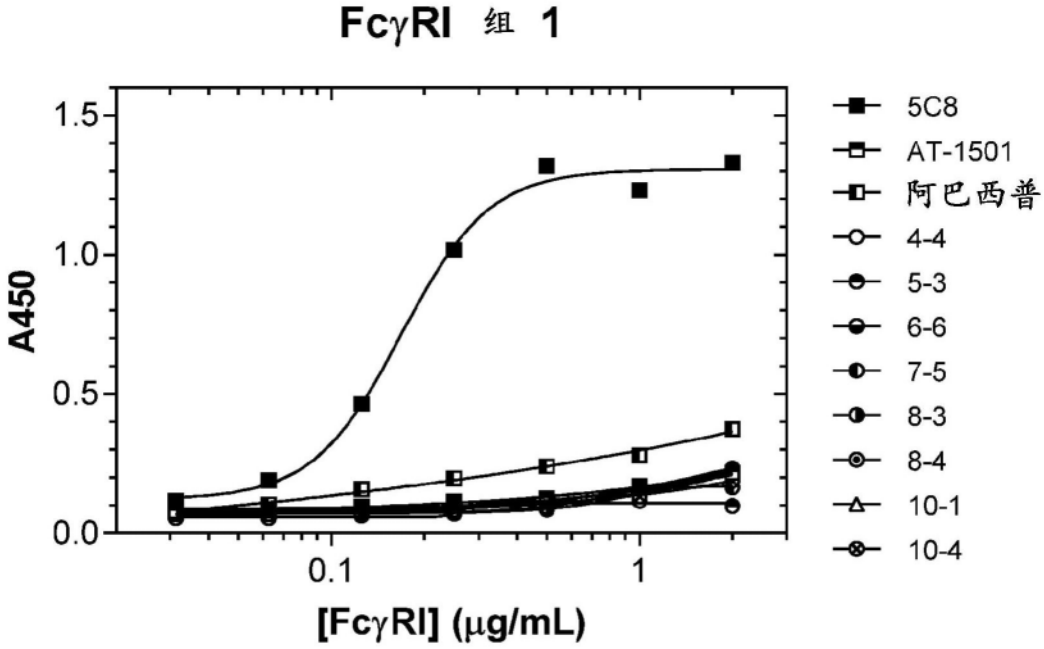

FcγRI 组 1
A450
[FcγRI] (μg/mL)
0.0
0.5
1.0
1.5
0.1
1
5C8
AT-1501
阿巴西普
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

图16A

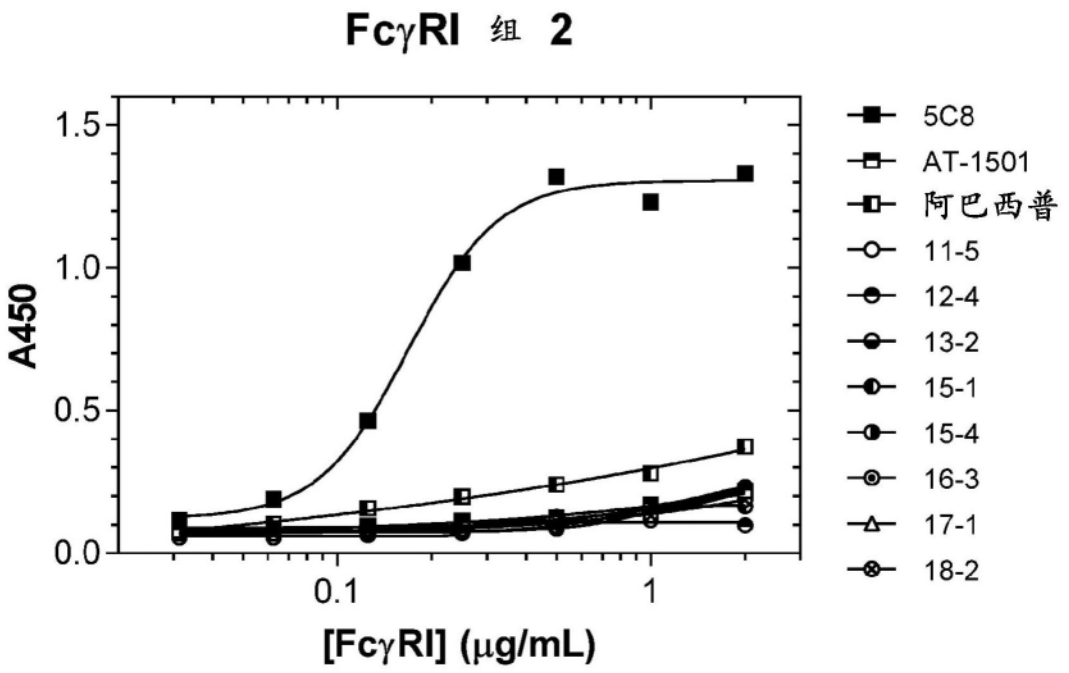

FcγRI 组 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRI] (μg/mL)
5C8
AT-1501
阿巴西普
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

图16B

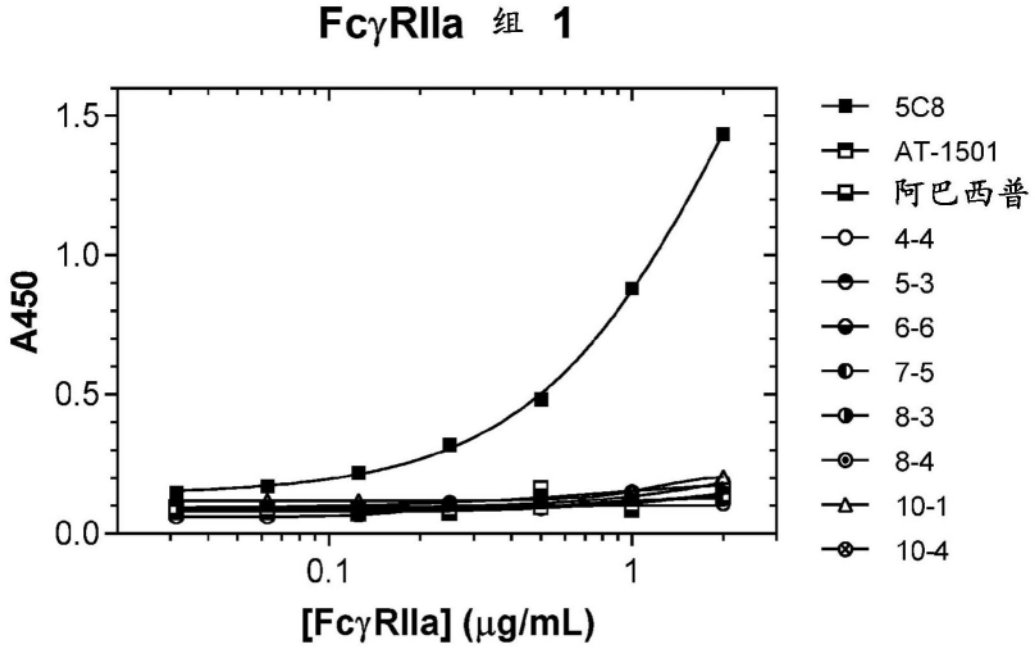

FcγRIIa 组 1
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIa] (μg/mL)
5C8
AT-1501
阿巴西普
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

图17A

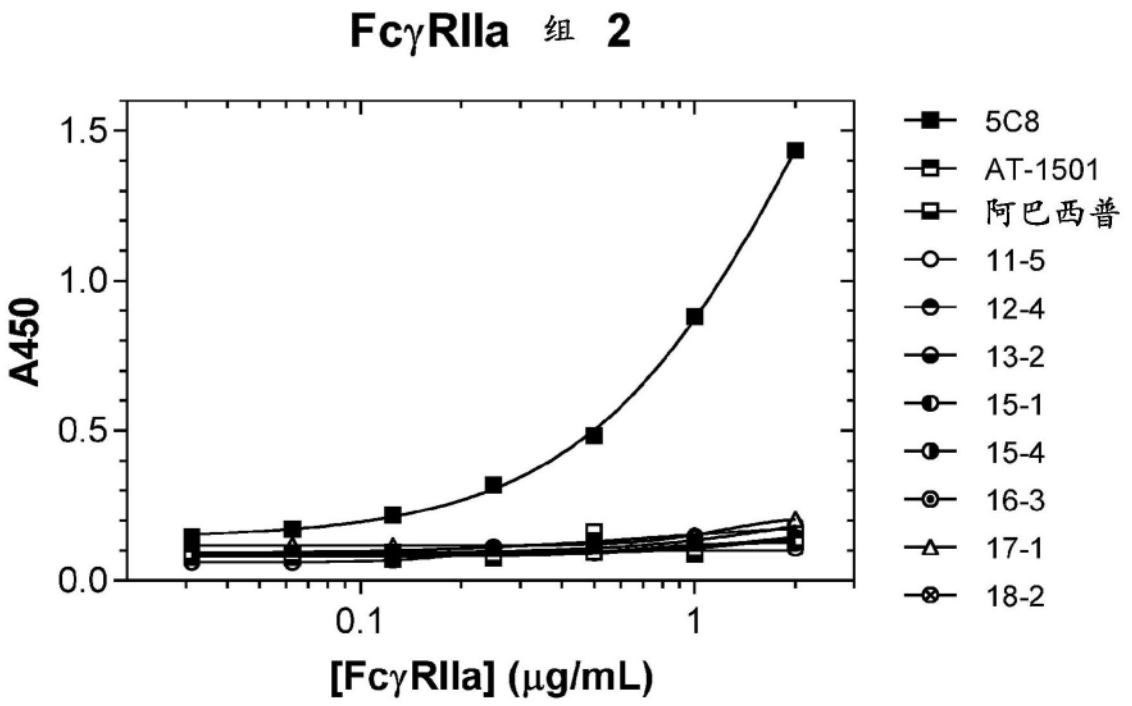

FcγRIIa 组 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIa] (μg/mL)
5C8
AT-1501
阿巴西普
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

图17B

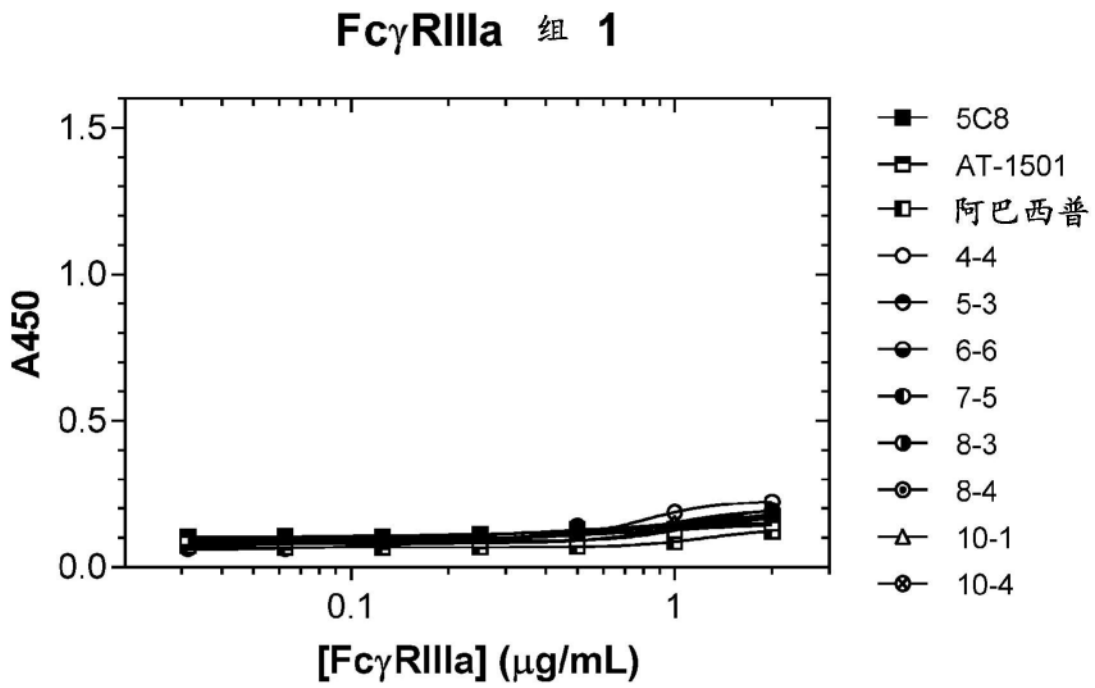

FcγRIIIa 组 1
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIIa] (μg/mL)
5C8
AT-1501
阿巴西普
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

图18A

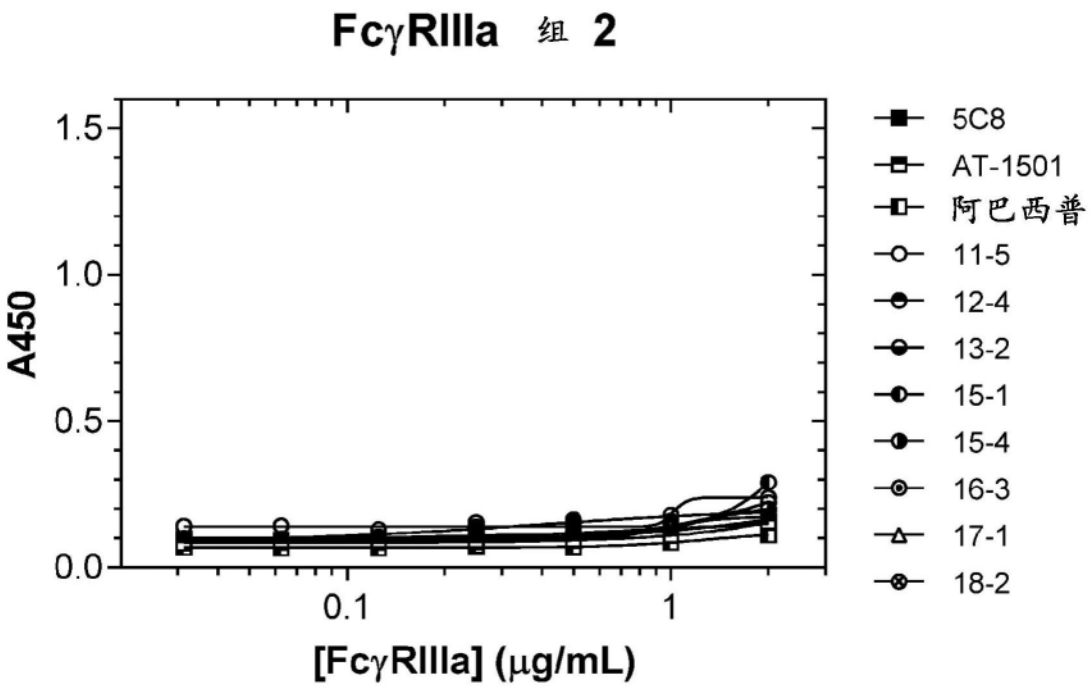

FcγRIIIa 组 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIIa] (μg/mL)
5C8
AT-1501
阿巴西普
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

图18B

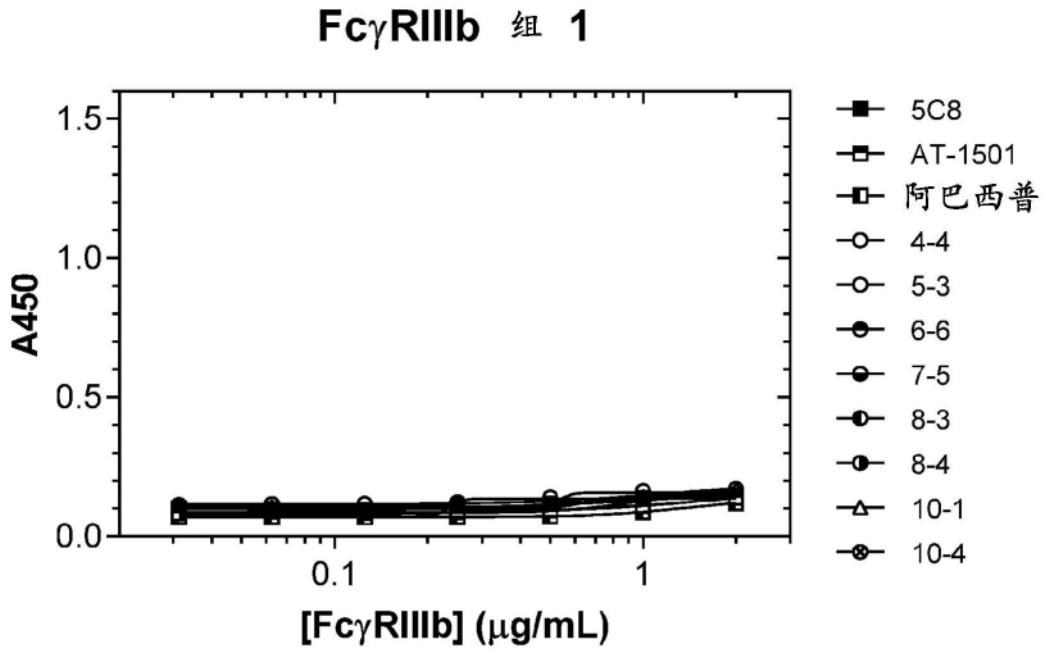

FcγRIIIb 组 1
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIIb] (μg/mL)
5C8
AT-1501
阿巴西普
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

图18C

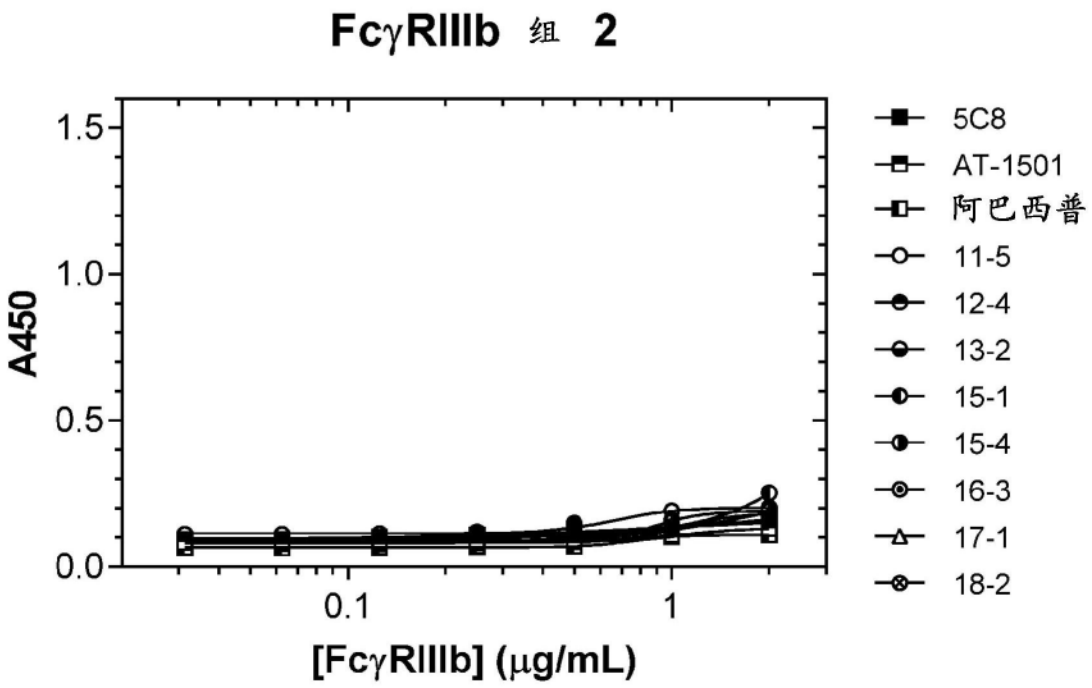

FcγRIIIb 组 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcγRIIIb] (μg/mL)
5C8
AT-1501
阿巴西普
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

图18D

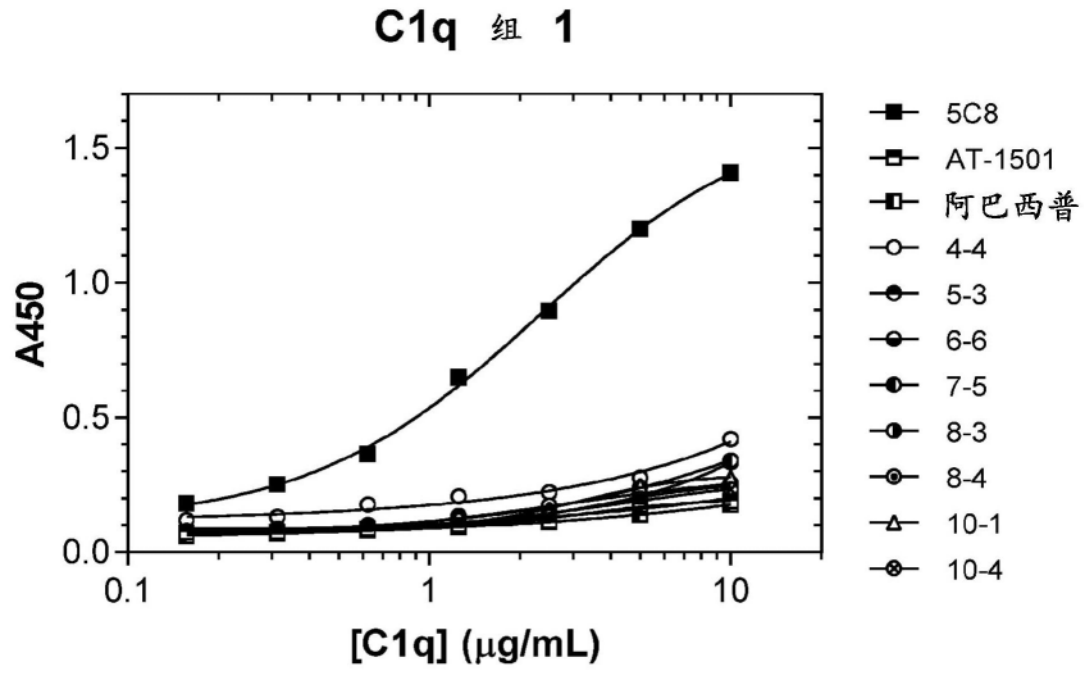

C1q 组 1
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
10
[C1q] (μg/mL)
5C8
AT-1501
阿巴西普
4-4
5-3
6-6
7-5
8-3
8-4
10-1
10-4

图19A

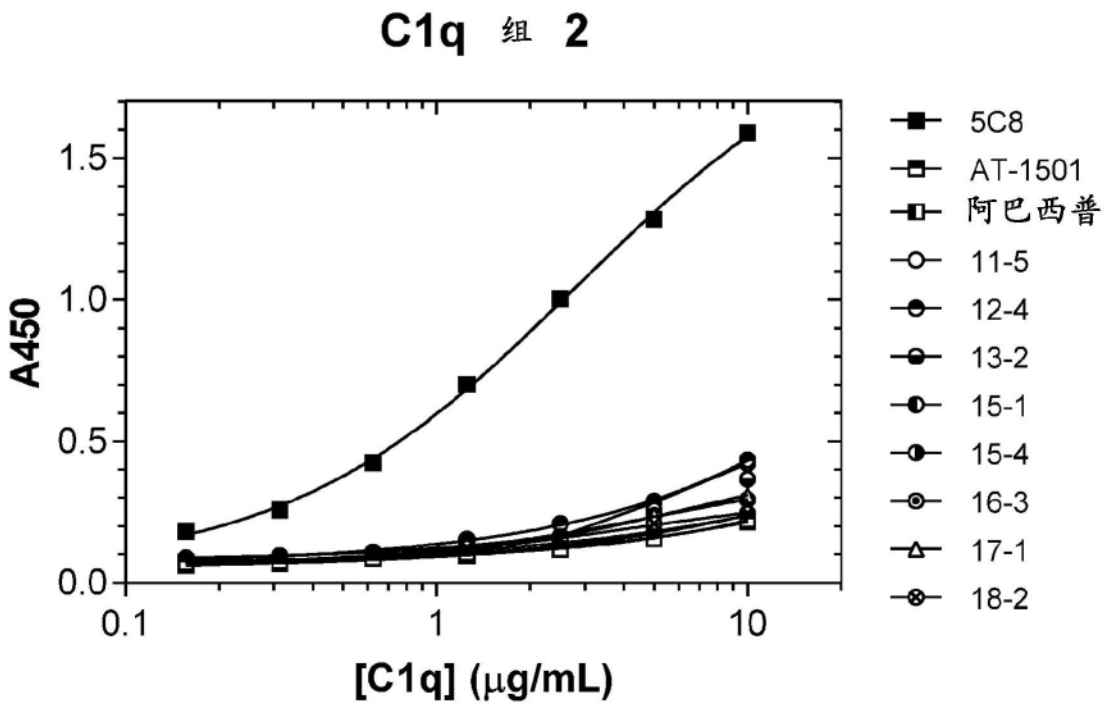

C1q 组 2
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
10
[C1q] (μg/mL)
5C8
AT-1501
阿巴西普
11-5
12-4
13-2
15-1
15-4
16-3
17-1
18-2

图19B

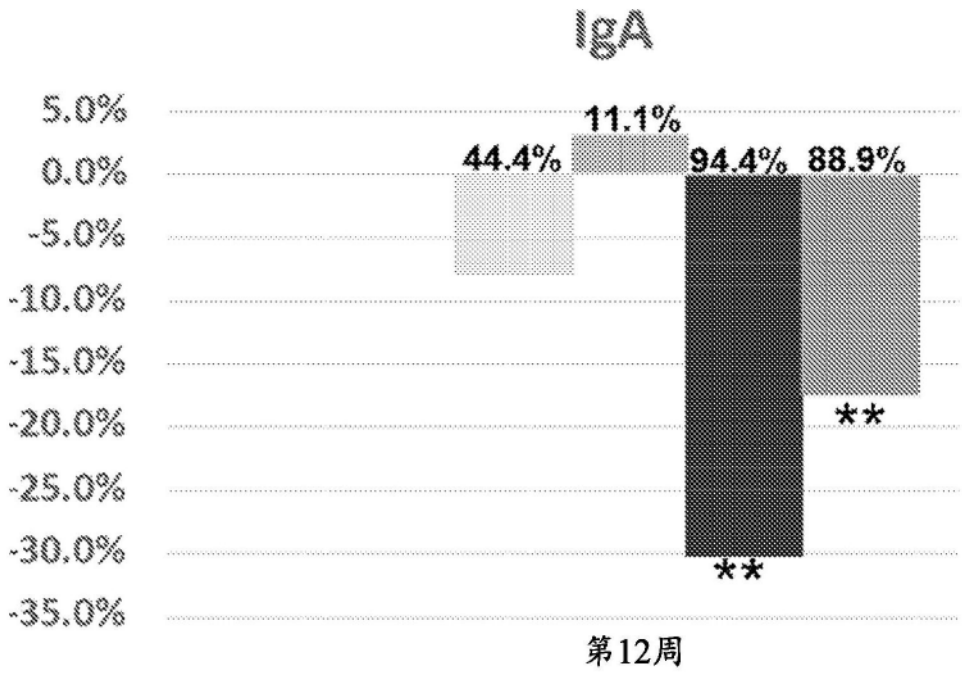

IgA
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
44.4%
11.1%
94.4%
88.9%
**
**
第12周

图20A

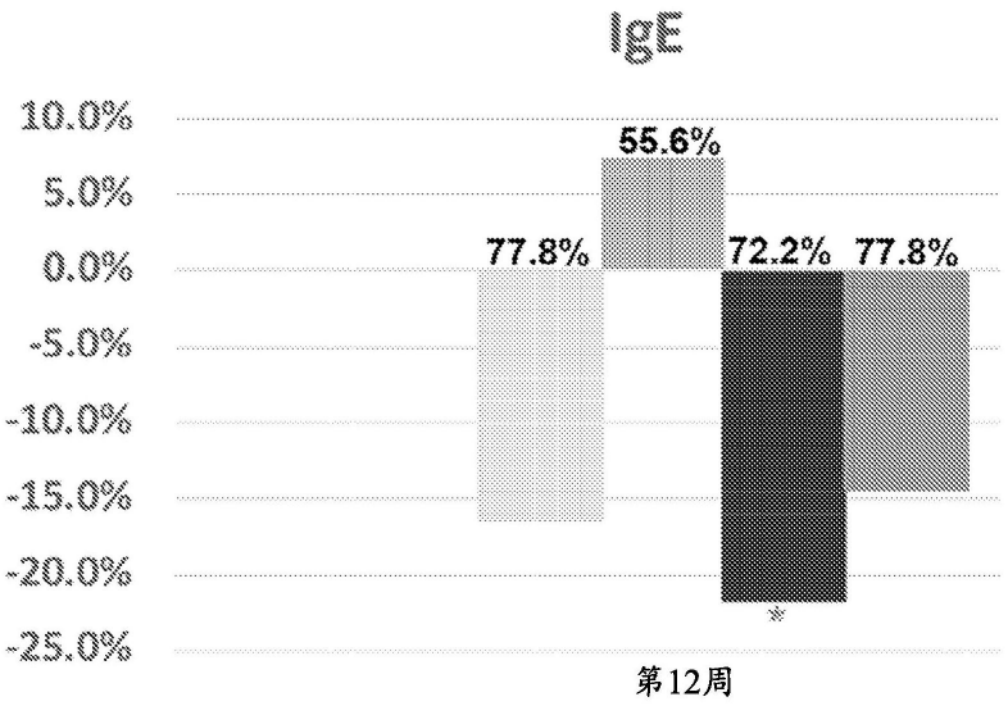

IgE
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
77.8%
55.6%
72.2%
77.8%
*
第12周

图20B

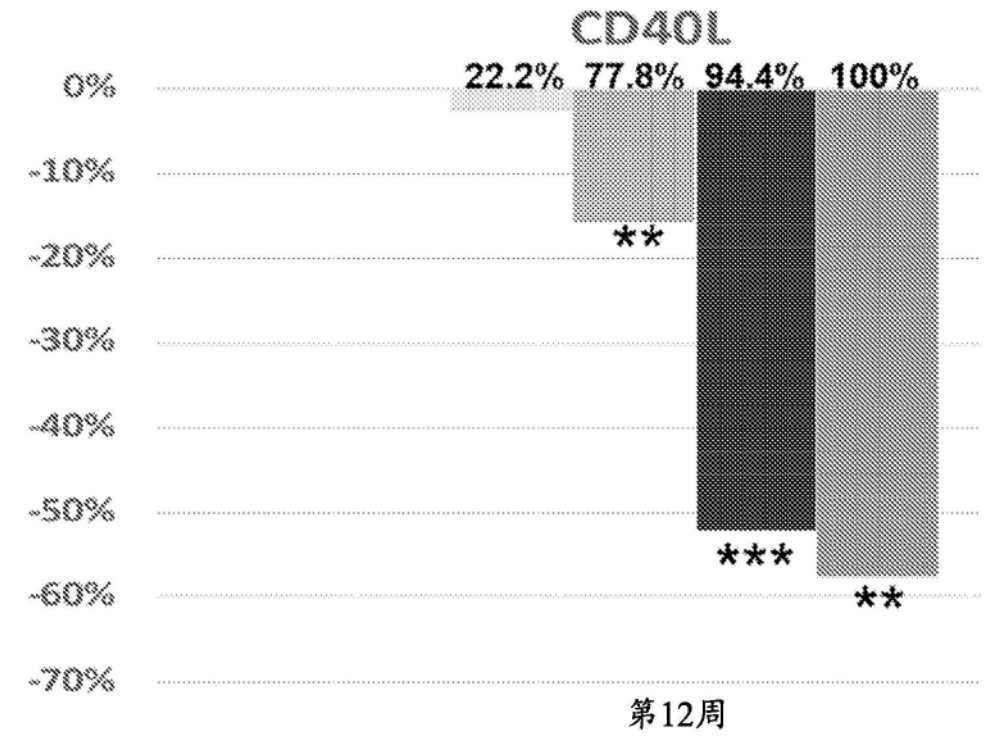

CD40L
0%
-10%
-20%
-30%
-40%
-50%
-60%
-70%
22.2%
77.8%
94.4%
100%
**
***
**
第12周

图20C

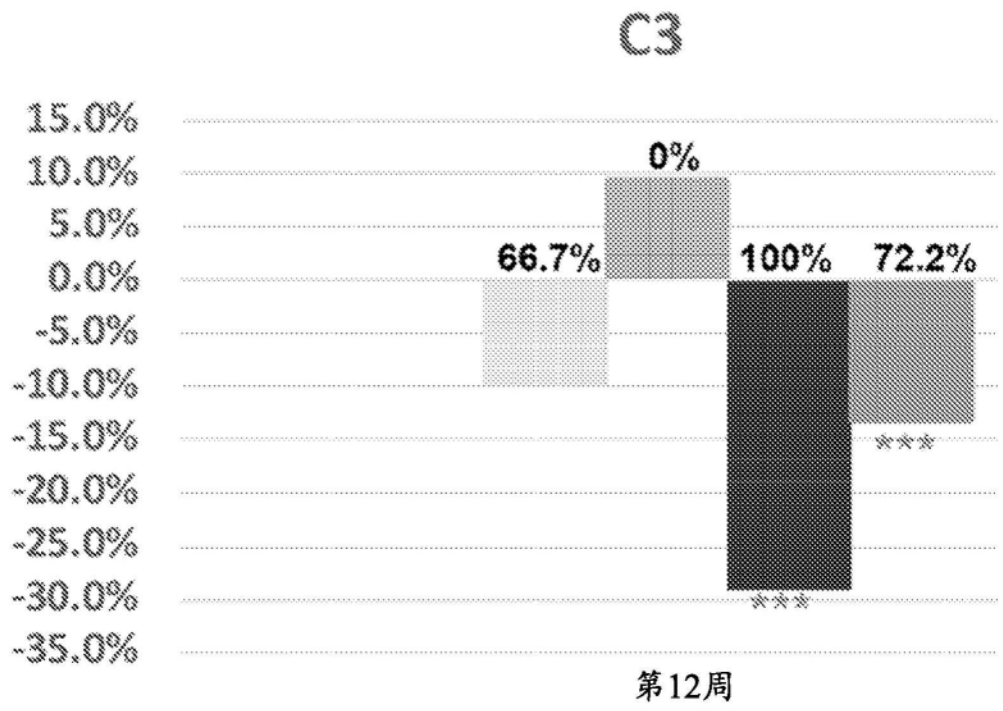

C3
15.0%
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
66.7%
0%
100%
72.2%
***
***
第12周

图20D

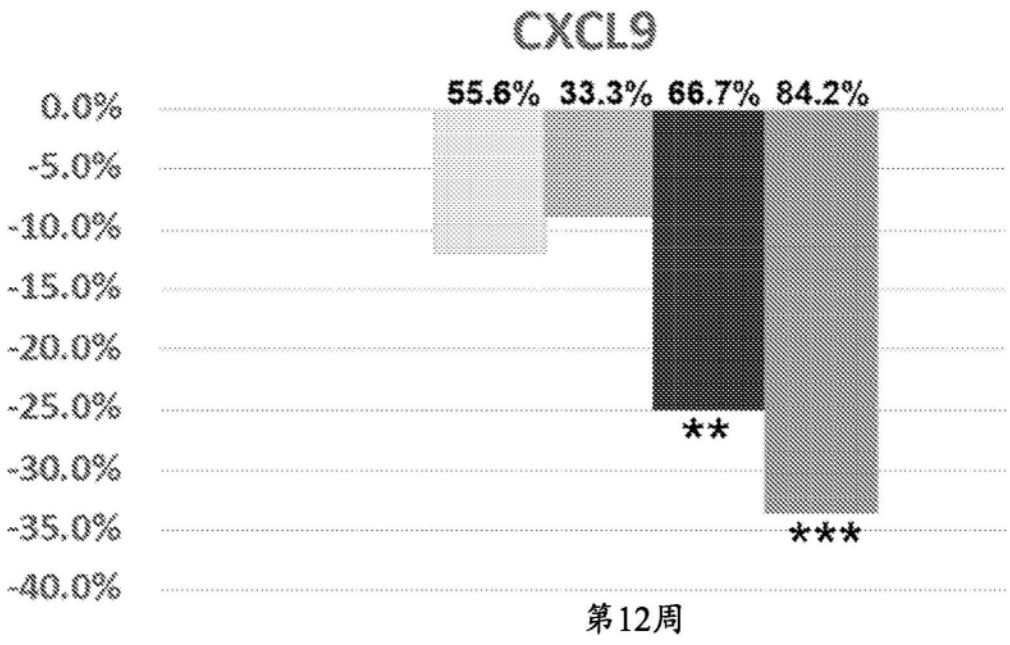

CXCL9
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
-40.0%
55.6%
33.3%
66.7%
84.2%
**
***
第12周

图21A

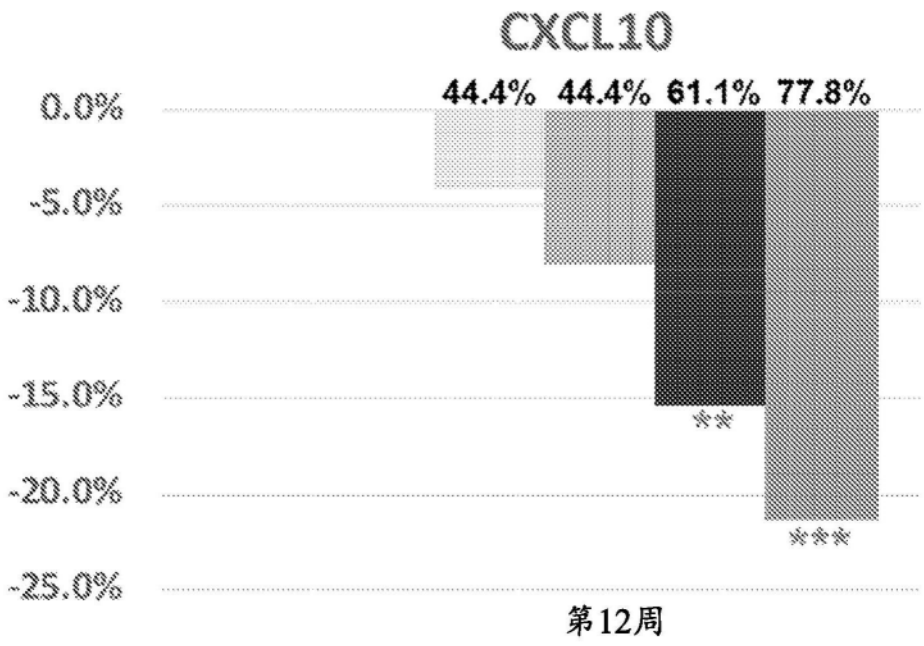

CXCL10
44.4%
44.4%
61.1%
77.8%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
**
***
第12周

图21B

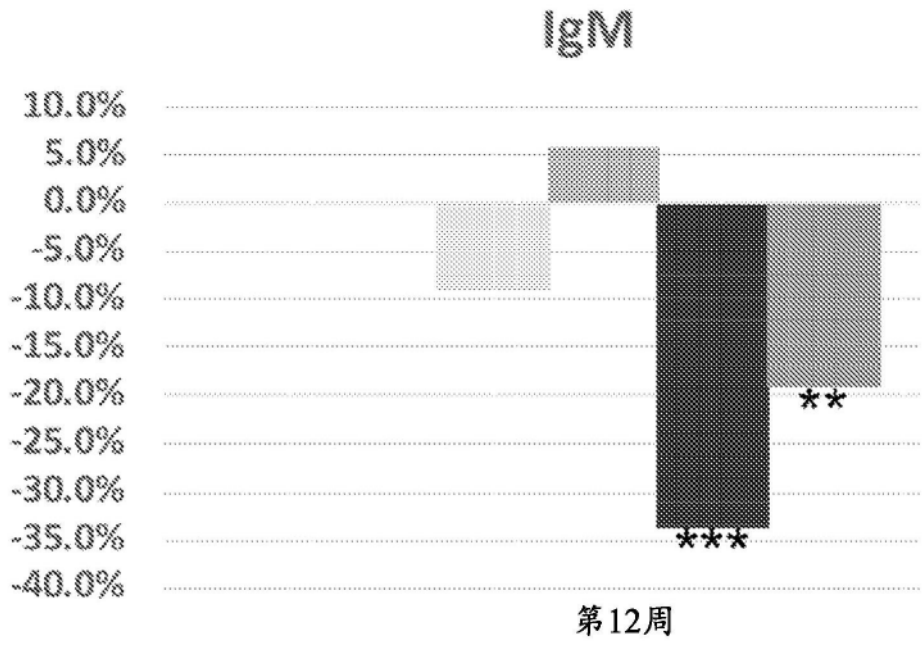

IgM
10.0%
5.0%
0.0%
-5.0%
-10.0%
-15.0%
-20.0%
-25.0%
-30.0%
-35.0%
-40.0%
**
***
第12周

图21C

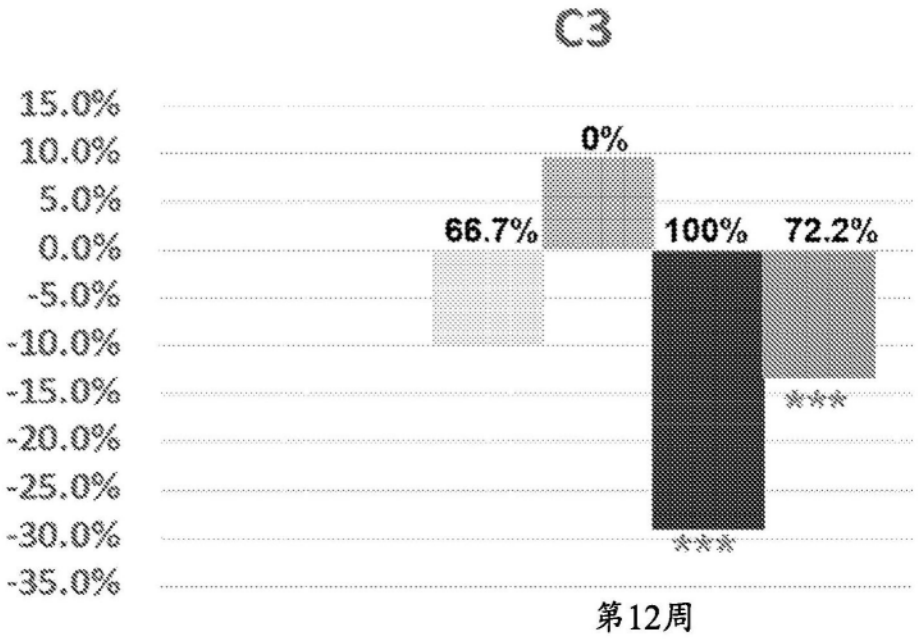


图21D

研究	设计	计划的数据生成
1b期 （正在进行）	◦ 52周、开放标签、单剂量水平研究 ◦ 加拿大、英国和澳大利亚的多达12名进行肾脏移植的参与者 ◦ 使用ATG诱导疗法加上无CNI维持疗法（包括麦考酚酯、皮质类固醇和替格鲁特，作为他克莫司的替代物）的免疫抑制方案	◦ 主要终点： » 安全性和耐受性 » PK/PD ◦ 次要终点： » 移植物功能(eGFR) » 参与者和移植物存活 » 活检证实的急性排斥（BPAR） » 移植物的免疫细胞浸润活检 » 肾损伤和排除风险的生物标记物测量
2期 "BESTOW" （预计2023年年中启动）	◦ 52周、头对头、优效性研究 ◦ 美国和其他国家的大约120名进行肾脏移植的参与者（60名/组） ◦ 参与者将接受ATG诱导疗法加上替格鲁特或活性比较剂他克莫司，作为维持免疫抑制方案（包括麦考酚酯和皮质类固醇逐渐减量）的一部分	◦ 主要终点： » 移植物功能(eGFR) » 安全性和耐受性 ◦ 次要终点： » 参与者和移植物存活 » 活检证实的急性排斥（BPAR） » 移植物的免疫细胞浸润活检 » 新发糖尿病（NODAT）比率 » 肾损伤和排除风险的生物标记物测量

图22

参与者	1	2	3	4
年龄（岁）	60	77	82	68
性别	女性	女性	男性	男性
种族				
身高 (cm)	165	161	191	
体重 (kg); BMI	62; 23	61; 24	87; 24	
潜在病症	PCKD	T1D	PCKD	T1D
透析	否	是	否	是
供体类型	活着	已故	活着	活着
供体信息				
年龄	40	42	51	57
性别	男性	女性	女性	男性
种族	白种人	白种人	白种人	白种人
身高 (cm)	182	160	160	175
体重 (kg); BMI	113; 34	68; 27	65; 25	81;26.4
死亡原因		继发于缺氧的脑死亡		
冷缺血时间（小时）		17.22		3.3

图23

	基线	第4周	第12周	第24周	第36周
受试者 1	9	96	96	80	77***
受试者 2	10	85	79	85**	
受试者 3	12	49	54*		
受试者 4	9	88			
平均值	*10*	*77*	*76*	*82*	

图24

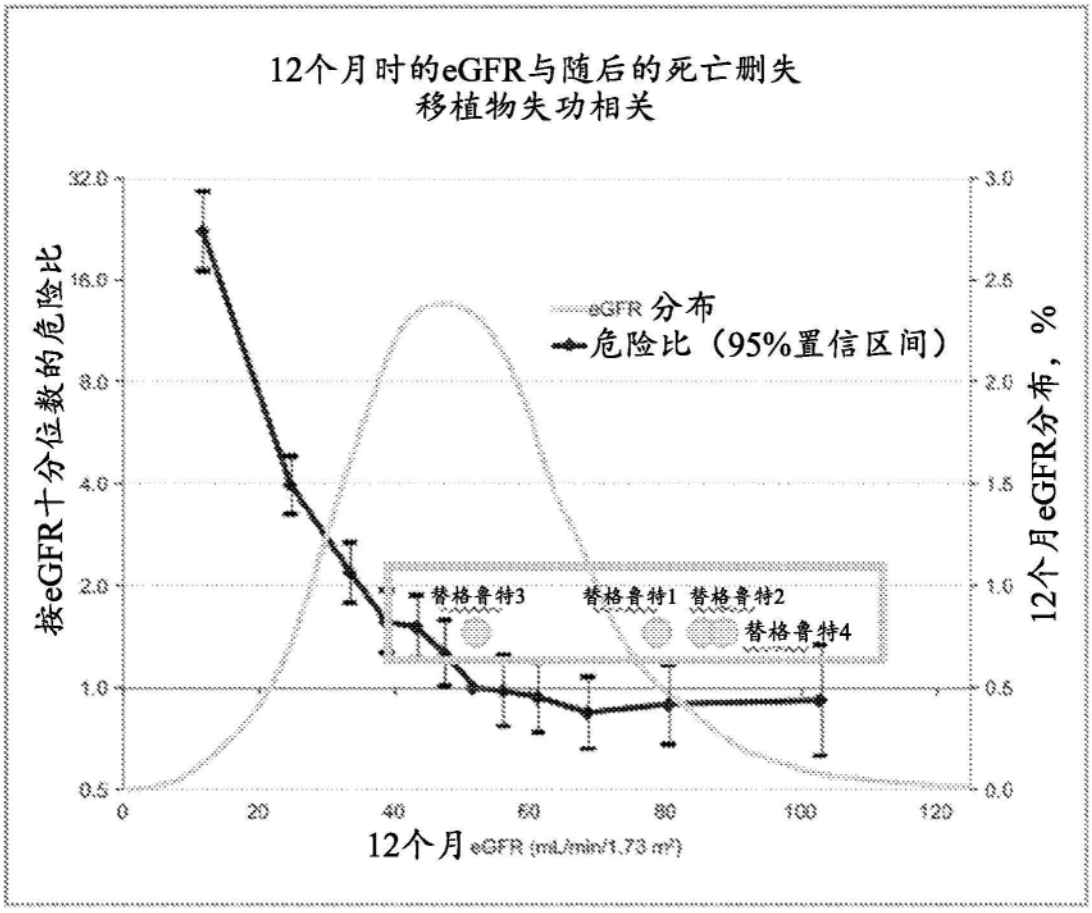

12个月时的eGFR与随后的死亡删失
移植物失功相关
按eGFR十分位数的危险比
12个月eGFR分布，%
eGFR 分布
危险比（95%置信区间）
替格鲁特3
替格鲁特1
替格鲁特2
替格鲁特4
12个月 eGFR (mL/min/1.73 m²)
32.0
16.0
8.0
4.0
2.0
1.0
0.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
20
40
60
80
100
120

图25