



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I885720 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：113103154

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 02 月 11 日

(51)Int. Cl. : C07K16/22 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P27/02 (2006.01)

(30)優先權：2018/02/06 美國

62/627,103

2018/09/10 美國

62/729,333

(71)申請人：美商建南德克公司(美國) GENENTECH, INC. (US)

美國

瑞士商赫孚孟拉羅股份公司(瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)

瑞士

(72)發明人：威克特 羅柏特 詹姆士 WEIKERT, ROBERT JAMES (US)；奧斯本 亞倫

OSBORNE, AARON (GB)；沙尼 嘉亞許瑞 SAHNI, JAYASHREE (GB)

(74)代理人：陳長文；朱淑尹

(56)參考文獻：

TW I506036B

期刊 Chakravarthy, Usha et al. Phase I Trial of Anti-Vascular Endothelial Growth Factor/Antiangiopoietin 2 Bispecific Antibody RG7716 for Neovascular Age-Related Macular Degeneration.

Ophthalmology Retina, VOL 1, NO 6, 2017/05/23, page 474-485.

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：7 項 圖式數：7 共 141 頁

(54)名稱

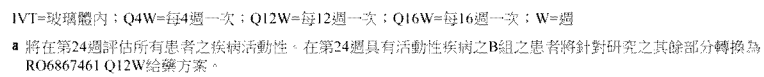
眼科疾病之治療

(57)摘要

本發明係關於結合至 VEGF 及 ANG2 之抗體用於治療眼科疾病之用途。

The current invention relates to the use of antibodies which bind to VEGF and ANG2 for the treatment of ophthalmologic diseases.

指定代表圖：



【圖5】



I885720

【發明摘要】

【中文發明名稱】

眼科疾病之治療

【英文發明名稱】

TREATMENT OF OPHTHALMOLOGIC DISEASES

【中文】

本發明係關於結合至VEGF及ANG2之抗體用於治療眼科疾病之用途。

【英文】

The current invention relates to the use of antibodies which bind to VEGF and ANG2 for the treatment of ophthalmologic diseases.

【指定代表圖】

圖5

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

眼科疾病之治療

【英文發明名稱】

TREATMENT OF OPHTHALMOLOGIC DISEASES

【技術領域】

【0001】 本發明係關於結合至VEGF及ANG2之抗體用於治療眼科疾病之用途。

【先前技術】

【0002】 血管生成涉及多種病症之發病機制，該等病症包括實體腫瘤、眼內新生血管性症候群(諸如增生性視網膜病變或年齡相關之黃斑變性(AMD))、類風濕性關節炎及牛皮癬(Folkman, J.等人, J. Biol. Chem. 267 (1992) 10931-10934；Klagsbrun, M.等人, Annu. Rev. Physiol. 53 (1991) 217-239；及Garner, A., Vascular diseases, 於：Pathobiology of ocular disease, A dynamic approach, Garner, A., 及Klintworth, G. K. (編), 第2版, Marcel Dekker, New York (1994),第1625-1710頁)。

【0003】 蘭尼單抗(Ranibizumab) (商標名Lucentis®)為衍生自與貝伐單抗(bevacizumab) (Avastin®)相同的母體鼠類抗體之單株抗體片段。然而，其已經親和力成熟以提供對VEGF-A之較強結合(WO 98/45331)。已知VEGF-A之全身性阻斷與某些不良事件之風險增加相關，因此蘭尼單抗缺失Fc部分以便減少全身性暴露及全身性毒性之風險。其為已批准用於治療「濕性」類型之年齡相關之黃斑變性(新生血管性AMD) (一種年齡相關之視覺喪失之常見形式)的抗血管生成劑。

【0004】 角膜血管生成分析已展示ANG-1及ANG-2具有類似影響，與VEGF協同作用來促進新血管生長。Asahara, T.等人, *Circ. Res.* 83 (1998) 233-40。藉由觀測到高濃度ANG-2在活體外亦可促血管生成已提高存在劑量依賴性內皮反應之可能性(Kim, I.等人, *Oncogene* 19 (2000) 4549-52)。在高濃度下，ANG-2藉由經由PI-3激酶及Akt路徑活化Tie2在血清去除細胞凋亡期間充當內皮細胞之細胞凋亡存活因子(Kim, I.等人, *Oncogene* 19 (2000) 4549-52)。

【0005】 眼部血管疾病，諸如「濕性」年齡相關之黃斑變性(AMD)及增生性糖尿病性視網膜病變(PDR)分別歸因於異常脈絡膜或視網膜新生血管。來自此等血管之出血及滲漏會導致視網膜功能異常且喪失視覺。其他視網膜血管疾病，諸如糖尿病性黃斑水腫(DME)及繼發於視網膜靜脈栓塞之黃斑水腫(RVO)歸因於導致視網膜腫脹且削弱視覺功能之異常視網膜滲漏。此等條件為工業化國家中視覺喪失之主要原因。由於視網膜由界限分明的神經元、神經膠質及血管元件之層組成，因此相對較小紊亂(諸如在血管增生或水腫中可見之紊亂)可導致視覺功能顯著喪失。遺傳性視網膜變性(諸如色素性視網膜炎(RP))亦與血管異常(諸如小動脈變窄及血管萎縮)相關聯。其影響多達1/3500的個體，且其特徵在於漸進性夜盲、視野喪失、視神經萎縮、小動脈變細及常常會發展為完全失明之中央視覺喪失。

【0006】 缺血性視網膜病變之特徵在於視網膜脈管之喪失或功能異常，其導致血流減少及缺氧。視網膜藉由產生使新血管生長之信號來回應缺氧，但此等新血管通常脆弱且雜亂。此等異常新血管之生長產生大多數視覺威脅，此係因為其可能滲漏、出血或產生疤痕，其可能最終引起視網

膜剝離。對缺血性視網膜病變之當前治療試圖中斷病理性血管之生長但不解決驅動其生長之根本性局部缺血。此外，糖尿病性視網膜病變(影響數百萬之缺血性視網膜病變)之標準治療涉及用雷射破壞視網膜之一部分以試圖破壞缺血性組織，從而終止新血管生長及保持中央視覺。已採用策略來阻斷血管內皮生長因子(VEGF) (異常血管生長及滲漏之主要啟動子)之功能。在短期內，抗VEGF療法可改善視覺，但其不解決根本性局部缺血，且實際上由於其抑制所有血管生長(包括有益側支)而可能加重此病況。亦存在此等藥物在老年及/或糖尿病患者中之全身性暴露的嚴重問題，在老年及/或糖尿病患者中的缺血性大腦、心臟或肢體中可能需要新血管生長。

【發明內容】

【0007】 根據本發明之一個態樣，提供用於治療罹患眼部血管疾病之患者的方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物，該方法包含向患者投與有效量之結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，

其中該雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率；在一個實施例中每16週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0008】 本發明之一個態樣為治療罹患眼部血管疾病之患者之該方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物(供使用)，該方

法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物(供使用)包含向該患者(在玻璃體內)投與有效量之結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)的雙特異性抗體，其中相比於在給藥雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，該患者增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)。在一個實施例中，雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率在玻璃體內投與。本發明之一個實施例為治療罹患眼部血管疾病之患者之方法，該方法包含向該患者(在玻璃體內)投與有效量之結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)的雙特異性抗體，其中相比於給予該雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，如藉由增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)所量測，在投與該雙特異性VEGF/ANG2抗體之後該患者經歷視覺改善。在一個實施例中，雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率在玻璃體內投與。

【0009】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後4週時、及/或8週時、及/或12週時、及/或16週時、及/或20週時、及/或24週時量測。

【0010】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後24週時、及/或25週時、及/或26週時、及/或27週時、及/或28週時、及/或29週時、及/或30週時、及/或31週時、及/或

32週時、及/或33週時、及/或34週時、及/或35週時、及/或36週時、及/或37週時、及/或38週時、及/或39週時、及/或40週時、及/或41週時、及/或42週時、及/或43週時、及/或44週時、及/或45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時、及/或54週時、及/或55週時、及/或56週時、及/或57週時、及/或58週時、及/或59週時、及/或60週時量測。在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病選自以下之群：濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD)、新生血管性AMD、糖尿病性黃斑水腫(DME)、囊樣黃斑水腫(CME)、非增生性糖尿病性視網膜病變(NPDR)、增生性糖尿病性視網膜病變(PDR)、繼發於中央視網膜靜脈阻塞、繼發於半側視網膜靜脈阻塞或繼發於分支靜脈阻塞之黃斑水腫、視網膜炎、結膜炎、葡萄膜炎、脈絡膜炎、繼發於眼部發炎(包括繼發於眼部組織漿菌病或假組織漿菌病或脈絡膜炎)之脈絡膜新生血管(CNV)、近視脈絡膜新生血管(mCNV)、及繼發於創傷之脈絡膜新生血管、早產兒視網膜病變及虹膜紅變/虹膜紅變性青光眼。

【0011】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為糖尿病性黃斑水腫(DME)。

【0012】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為糖尿病性黃斑水腫(DME)，且BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加在治療開始之後約9至15個月時(在一個實施例中在9至14個月時，在一個實施例中在9至12個月時)量測。

【0013】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為糖尿病性黃斑水腫(DME)，且BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之

後36週時、及/或37週時、及/或38週時、及/或39週時、及/或40週時、及/或41週時、及/或42週時、及/或43週時、及/或44週時、及/或45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時、及/或54週時、及/或55週時、及/或56週時、及/或57週時、及/或58週時、及/或59週時、及/或60週時量測。

【0014】 此等時間點相當早，通常直至nAMD中之約第6至9個月及DME中之第9至12個月才達至最大增加。

【0015】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD) (或新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD))。

【0016】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD) (或新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD))，且BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加在治療開始之後約9至15個月時(在一個實施例中在6至9個月時，在一個實施例中在6至12個月時)量測。

【0017】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD) (或新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD))，且BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後24週時、及/或25週時、及/或26週時、及/或27週時、及/或28週時、及/或29週時、及/或30週時、及/或31週時、及/或32週時、及/或33週時、及/或34週時、及/或35週時、及/或36週時、及/或37週時、及/或38週時、及/或39週時、及/或40週時、及/或41週時、及/或42週時、及/或43週時、及/或44週時、及/或45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時量測。

【0018】 在本發明之一個實施例中，結合至人類 VEGF 及人類 ANG2 之雙特異性抗體為雙特異性二價抗 VEGF/ANG2 抗體，其包含特異性結合至人類 VEGF 之第一抗原結合位點及特異性結合至人類 ANG-2 之第二抗原結合位點，其中

i) 特異性結合至 VEGF 之該第一抗原結合位點在重鏈可變域中包含 SEQ ID NO: 1 之 CDR3H 區、SEQ ID NO: 2 之 CDR2H 區及 SEQ ID NO: 3 之 CDR1H 區，且在輕鏈可變域中包含 SEQ ID NO: 4 之 CDR3L 區、SEQ ID NO: 5 之 CDR2L 區及 SEQ ID NO: 6 之 CDR1L 區；且

ii) 特異性結合至 ANG-2 之該第二抗原結合位點在該重鏈可變域中包含 SEQ ID NO: 9 之 CDR3H 區、SEQ ID NO: 10 之 CDR2H 區及 SEQ ID NO: 11 之 CDR1H 區，且在該輕鏈可變域中包含 SEQ ID NO: 12 之 CDR3L 區、SEQ ID NO: 13 之 CDR2L 區及 SEQ ID NO: 14 之 CDR1L 區，

且其中

iii) 該雙特異性抗體包含人類 IgG1 亞類之恆定重鏈區，該恆定重鏈區包含突變 I253A、H310A 及 H435A 以及突變 L234A、L235A 及 P329G (根據 Kabat 之 EU 索引編號)。

【0019】 在本發明之一個實施例中，罹患眼部血管疾病之患者先前未用抗 VEGF 治療(例如單一療法)進行治療(為未治療的)。

【0020】 在本發明之一個實施例中，罹患眼部血管疾病之患者先前已用抗 VEGF 治療(例如單一療法)進行治療。

【0021】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為 DME，且在治療開始之後，對罹患 DME 之患者的治療包括固定的每 8 週一次(Q8W)給藥時程。

【0022】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括固定的Q12W給藥時程。在本發明之一個實施例中，在治療開始之後，在該固定的Q12W給藥時程之前進行Q8W之前一個劑量週期。

【0023】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括給藥時程，該給藥時程在穩定沒有疾病之情況下延長投與間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔。在本發明之一個實施例中，該給藥時程包括該患者視其疾病狀態而接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W給藥。在本發明之一個實施例中，穩定沒有疾病確定為

- 中央子域厚度(CST)增加了 $< 50\ \mu\text{m}$ ；及/或
 - 最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 < 5 個字母
- 且該疾病活動性確定為
- 中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50\ \mu\text{m}$ ；及/或
 - 最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0024】 在本發明之一個實施例中，眼部血管疾病為AMD，且在治療開始之後，對罹患AMD之患者的治療包括給藥時程，該給藥時程在穩定沒有疾病之情況下延長投與間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔。在本發明之一個實施例中，該給藥時程包括該患者視其疾病狀態而接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W給藥。在本發明之一個實施例中，穩定沒有疾病確定為

- 中央子域厚度(CST)增加了 $< 50\ \mu\text{m}$ ；及/或
- 最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 < 5 個字母

且該疾病活動性確定為

-中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ ；及/或

-最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【圖式簡單說明】

【0025】

圖1： 相對於基線隨時間至第24週治療之DME患者(未經治療之患者)之BCVA變化。VA2係指雙特異性抗VEGF/ANG2抗體RO6867461，其包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列(以6.0 mg或1.5 mg劑量在玻璃體內投與)，RBZ係指蘭尼單抗(Lucentis®) ((以0.3 mg劑量在玻璃體內投與))。

圖2： CST，藉由SD OCT量測之中央子域厚度。相對於基線隨時間至第24週治療之DME患者(未經治療之患者)之CST變化。將包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列的雙特異性抗VEGF/ANG2抗體RO6867461 (以6.0 mg或1.5 mg劑量在玻璃體內投與)與蘭尼單抗(Lucentis®) ((以0.3 mg劑量在玻璃體內投與))進行比較。

圖3： 基於疾病活動性評估之必要再治療時間：BCVA減少了 ≥ 5 個字母且CST增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ (在給藥中斷之後(在20週或6次每月一次劑量之後=最後一次玻璃體內(IVT)投與之後的時間))。將包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列的雙特異性抗VEGF/ANG2抗體RO6867461 (以6.0 mg或1.5 mg劑量在玻璃體內投與)與蘭尼單抗(Lucentis®) ((以0.3 mg劑量在玻璃體內投與))進行比較。

圖4： 基於公佈結果之DME之其他治療選項的示意性比較(比較藥劑Lucentis® (蘭尼單抗)、Eylea® (阿柏西普(aflibercept))、布羅盧西珠單抗(brolucizumab)及VA2 (RO6867461/RG7716)。

圖5： 用於評估在患有新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD)之患者中以12週及16週間隔投與之雙特異性抗體RO6867461之研究設計的概述。

圖6： 患有新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD)之患者相對於基線的BCVA增加，比較在12週及16週間隔下之雙特異性抗體RO6867461 (包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列(以6.0 mg在玻璃體內投與))與在4週間隔下之蘭尼單抗(Lucentis®) ((以0.3 mg劑量在玻璃體內投與))。

圖7： 患有新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD)之患者相對於基線CST (藉由OCT量測)的變化，比較在12週及16週間隔下之雙特異性抗體RO6867461 (包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列(以6.0 mg在玻璃體內投與))與在4週間隔下之蘭尼單抗(Lucentis®) ((以0.3 mg劑量在玻璃體內投與))。

【實施方式】

【0026】 根據本發明之一個態樣，提供治療罹患眼部血管疾病之患者之方法，該方法包含向患者投與有效量之結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)的雙特異性抗體，

其中該雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻

率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0027】 本發明之一個實施例為治療罹患眼部血管疾病之患者之方法，該方法包含向患者投與有效量之結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)的雙特異性抗體，其中相比於在給藥雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，該患者增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)。在一個實施例中，雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0028】 本發明之一個實施例為治療罹患眼部血管疾病之患者之方法，該方法包含向患者投與有效量之結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)的雙特異性抗體，其中相比於給予該雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，如藉由增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)所

量測，在投與該雙特異性VEGF/ANG2抗體之後該患者經歷視覺改善。在一個實施例中，雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0029】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後4週時、及/或8週時、及/或12週時、及/或16週時、及/或20週時、及/或24週時量測。

【0030】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後24週時、及/或25週時、及/或26週時、及/或27週時、及/或28週時、及/或29週時、及/或30週時、及/或31週時、及/或32週時、及/或33週時、及/或34週時、及/或35週時、及/或36週時、及/或37週時、及/或38週時、及/或39週時、及/或40週時、及/或41週時、及/或42週時、及/或43週時、及/或44週時、及/或45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時、及/或54週時、及/或55週時、及/或56週時、及/或57週時、及/或58週時、及/或59週時、及/或60週時量測。在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時、及/或54週時、及/或55週時、及/或56週時、及/或57週時、及/或58週時、及/或59週時、及/或

60週時量測。

【0031】 在本發明之一個實施例中，該方法用於延長再治療時間且/或延長視力喪失時間，且其中在確定為以下之疾病活動性之情況下，投與用雙特異性抗體之再治療：

中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ (在一個實施例中使用頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT))；及/或

最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0032】 本發明之一個實施例為結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，其用於治療眼部血管疾病，

其中該雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0033】 本發明之一個實施例為結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，其用於治療罹患眼部血管疾病之患者，其中相比於給予該雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，該患者增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)。在一個實施例中，雙特異

性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0034】 本發明之一個實施例為結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，其用於治療罹患眼部血管疾病之患者，其中相比於給予該雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，如藉由增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)所量測，在投與該雙特異性VEGF/ANG2抗體之後該患者經歷視覺改善。在一個實施例中，雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0035】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後4週時、及/或8週時、及/或12週時、及/或16週時、及/或20週時、及/或24週時量測。

【0036】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字

母增加分別在治療開始之後45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時、及/或54週時、及/或55週時、及/或56週時、及/或57週時、及/或58週時、及/或59週時、及/或60週時量測。

【0037】 在本發明之一個實施例中，該雙特異性抗體(供使用)用於延長再治療時間且/或延長視力喪失時間，且其中在確定為以下之疾病活動性之情況下，投與用雙特異性抗體之再治療：

中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ (在一個實施例中使用頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT))；及/或

最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0038】 本發明之一個實施例為包含結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體之藥物或醫藥調配物，其用於治療眼部血管疾病，

其中該雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0039】 本發明之一個實施例為包含結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)的雙特異性抗體之藥物或醫藥調配物，其用於治療罹患眼部血管疾病之患者，其中相比於在給藥雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性

視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，該患者增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)。在一個實施例中，雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0040】 本發明之一個實施例為包含結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體之藥物或醫藥調配物，其用於治療罹患眼部血管疾病之患者，其中相比於給予該雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，如藉由增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)所量測，在投與該雙特異性VEGF/ANG2抗體之後該患者經歷視覺改善。在一個實施例中，雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0041】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後4週時、及/或8週時、及/或12週時、及/或16週時、及/或20週時、及/或24週時量測。

【0042】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時、及/或54週時、及/或55週時、及/或56週時、及/或57週時、及/或58週時、及/或59週時、及/或60週時量測。

【0043】 在本發明之一個實施例中，該藥物或醫藥調配物用於延長再治療時間且/或延長視力喪失時間，且其中在確定為以下之疾病活動性之情況下，投與用雙特異性抗體之再治療：

中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ (在一個實施例中使用頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT))；及/或

最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0044】 本發明之一個實施例為使用結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，其用於製造用於治療眼部血管疾病之藥物，

其中該雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0045】 本發明之一個實施例為使用結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，其用於製造用於治療眼部血管疾病之藥物，其中相比於給予該雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，該患者增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)。在一個實施例中，雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0046】 本發明之一個實施例為使用結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，其用於製造用於治療眼部血管疾病之藥物，其中相比於給予該雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，如藉由增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)所量測，在投與該雙特異性VEGF/ANG2抗體之後該患者經歷視覺改善。在一個實施例中，雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或

以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0047】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後4週時、及/或8週時、及/或12週時、及/或16週時、及/或20週時、及/或24週時量測。

【0048】 在本發明之一個實施例中，BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時、及/或54週時、及/或55週時、及/或56週時、及/或57週時、及/或58週時、及/或59週時、及/或60週時量測。

【0049】 在本發明之一個實施例中，藥物用於延長再治療時間且/或延長視力喪失時間，且其中在確定為以下之疾病活動性之情況下，投與用雙特異性抗體之再治療：

中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ (在一個實施例中使用頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT))；及/或

最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0050】 在一個實施例中，該方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物中之BCVA測定係基於早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)方案適應性視力圖表，且在4米之初始距離下評估。

【0051】 該方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物可包含依序投與初始劑量(「治療開始」)(例如，每月3至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月3至4次投與，在一個實施例中治療開始包

括每月4至5次投與；在一個實施例中治療開始包括每月4至6次投與；在一個實施例中治療開始包括每月至少4次投與；在一個實施例中治療開始包括每月5至7次投與，在一個實施例中治療開始包括每月6次投與)，隨後為一或多次第二劑量之治療有效量之雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物。

【0052】 在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物(在治療開始之後)每10至12週一次投與。

【0053】 在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物(在治療開始之後)每11至13週一次投與。

【0054】 在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物(在治療開始之後)每12至14週一次投與。

【0055】 在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物(在治療開始之後)每13至15週一次投與。

【0056】 在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物(在治療開始之後)每14至16週一次投與。

【0057】 在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物(分別在治療開始之後)每10至11週一次、或每11至12週一次、或每12至13週一次、或每13至14週一次、或每14至15週一次、或每15至16週一次投與。

【0058】 在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物(分別在治療開始之後)每10週一次、或每11週一次、或每12週一次、或每13週一次、或每14週一次或每16週一次投與。

【0059】 在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物(在各治療下)以約5至7 mg之劑量投與。在一個實施例中，雙特異性

抗體(在各治療下)以6 mg +/- 10%之劑量投與。在一個實施例中，雙特異性抗體(在各治療下)以約6 mg之劑量(在一個實施例中(在各治療下)以6 mg之劑量)投與。

【0060】 在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物以約30 mg/ml之雙特異性抗體之濃度投與。在本發明之一個實施例中，雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物以約120 mg/ml之雙特異性抗體之濃度投與。

【0061】 術語「眼部血管疾病」及「血管眼睛疾病」可在本文中互換使用，且包括但不限於眼內新生血管性症候群，諸如糖尿病性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、早產兒視網膜病變、新生血管性青光眼、(分支)視網膜靜脈阻塞、中央視網膜靜脈阻塞、黃斑變性、年齡相關之黃斑變性、色素性視網膜炎、視網膜血管瘤增生、黃斑毛細管擴張、缺血性視網膜病變、虹膜新生血管、眼內新生血管、角膜新生血管、視網膜新生血管、脈絡膜新生血管及視網膜變性。(Garner, A., Vascular diseases, 於: Pathobiology of ocular disease, A dynamic approach, Garner, A., 及 Klintworth, G.K., (編),第2版, Marcel Dekker, New York (1994), 第1625-1710頁)。如本文所用，眼部血管病症係指任何病理性病況，其特徵在於改變或不受調控之增生及新血管侵入眼部組織結構，諸如視網膜或角膜。在一個實施例中，眼部血管疾病選自由以下組成之群：濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD)、新生血管性AMD (nAMD)、糖尿病性黃斑水腫(DME)、囊樣黃斑水腫(CME)、非增生性糖尿病性視網膜病變(NPDR)、增生性糖尿病性視網膜病變(PDR)、繼發於中央視網膜靜脈阻塞、繼發於半側視網膜靜脈阻塞或繼發於分支靜脈阻塞之黃斑水腫、視網膜炎、結膜

炎、葡萄膜炎、脈絡膜炎、繼發於眼部發炎(包括繼發於眼部組織漿菌病或假組織漿菌病或脈絡膜炎)之脈絡膜新生血管(CNV)、近視脈絡膜新生血管(mCNV)、及繼發於創傷之脈絡膜新生血管、早產兒視網膜病變及虹膜紅變/虹膜紅變性青光眼及其他眼科疾病，其中眼睛疾病或病症與眼部新血管生成、血管滲漏及/或視網膜水腫相關。因此，本文中所述之所用抗VEGF/ANG2雙特異性抗體及方法適用於預防及治療濕性AMD、nAMD CME、DME、NPDR、PDR及葡萄膜炎，亦較佳地濕性AMD、nAMD，亦較佳地DME、CME、NPDR及PDR，且亦特定言之濕性AMD。在一些實施例中，眼部血管疾病選自由以下組成之群：濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD)、新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD)、(糖尿病性)黃斑水腫、視網膜靜脈阻塞、早產兒視網膜病變及糖尿病性視網膜病變。

【0062】 與角膜新生血管相關之其他疾病/病況(或其可為角膜新生血管之原因)包括但不限於傳染性角膜結膜炎、維生素A缺乏症、隱型眼鏡超戴症、異位性角膜炎、上輪部角膜炎、翼狀胬肉乾性角膜炎、薛格連氏症候群(sjogrens syndrome)、痤瘡、費氏病(phlyctenulosis)、梅毒、分枝桿菌(Mycobacteria)感染、脂質變性、化學燒傷、細菌潰瘍、真菌潰瘍、單純疱疹感染、帶狀疱疹感染、原蟲感染、卡波西氏肉瘤(Kaposi sarcoma)、蠶食性角膜潰瘍、Terrien角膜緣變性(Terrien's marginal degeneration)、邊緣角質溶解、類風濕性關節炎、全身性狼瘡、多動脈炎、創傷、韋格納氏類肉瘤病(Wegeners sarcoidosis)、鞏膜炎、史蒂芬斯強森疾病(Steven's Johnson disease)、放射狀角膜切除及角膜移植排斥反應。

【0063】 與視網膜/脈絡膜新生血管相關之疾病/病況(或其可為視網

膜/脈絡膜新生血管之原因)包括但不限於糖尿病性視網膜病變、黃斑變性、鎌狀細胞貧血、類肉瘤、梅毒、彈性假黃瘤、佩吉特氏病(Pagets disease)、靜脈阻塞、動脈阻塞、頸動脈阻塞性疾病、慢性葡萄膜炎/玻璃體炎、分支桿菌感染、萊姆氏病(Lyme's disease)、全身性紅斑狼瘡、早產兒視網膜病變、色素性視網膜炎、視網膜水腫(包括黃斑水腫)、伊爾斯氏病(Eales disease)、白塞氏病(Bechets disease)、引起視網膜炎或脈絡膜炎之感染、眼假組織漿菌病、貝斯特病(Best's disease)、近視、視(神經)窩、斯特格氏病(Stargardts disease)、睫狀體扁平部炎、慢性視網膜剝離、黏性過大症候群、弓蟲病、創傷及雷射後併發症。其他疾病包括但不限於與虹膜紅變相關之疾病(眼角新生血管)及由維管或纖維組織之異常增生引起之疾病，包括增生性玻璃體視網膜病變之所有形式。

【0064】 早產兒視網膜病變(ROP)為影響早產嬰兒之眼睛疾病。認為其由可能導致疤痕及視網膜剝離之視網膜血管之雜亂生長引起。ROP可為輕度的，且可自發地消散，但在嚴重情況下會引起(全)失明。因此，所有早產嬰兒處於ROP之風險下，且非常低的出生重量為額外風險因素。氧毒性及相對缺氧均可促使ROP發展。

【0065】 黃斑變性為主要發現於老年成年人中之醫學病況，其中稱為視網膜之黃斑區域的眼睛之內襯中央遭遇變薄、萎縮且在一些情況下出血。此會導致中央視覺喪失，此引起不能看見精細細節、閱讀或辨識面部。根據美國眼科學會(the American Academy of Ophthalmology)，其在當今美國為五十歲以上之中央視覺喪失(失明)之主要原因。儘管影響較年輕個體之一些黃斑營養不良有時稱為黃斑變性，但該術語一般係指年齡相關之黃斑變性(AMD或ARMD)。

【0066】 如本文所用，「年齡相關之黃斑變性(AMD)」係指在稱為黃斑之小的視網膜中央部分惡化時的嚴重眼睛病況。AMD包括濕性AMD及新生血管性AMD。濕性形式之AMD(濕性AMD、wAMD或亦稱為新生血管性AMD、nAMD)之特徵在於異常血管自黃斑下方之脈絡膜生長。此稱為脈絡膜新生血管。此等血管將血液及流體滲漏(至視網膜下方及)至視網膜中，導致使直線看起來呈波浪狀之(視網膜升高及)視覺失真以及盲點及中央視覺喪失。此等異常血管最終結疤，導致中央視覺永久性喪失。AMD之症狀包括視覺中央之區域黑暗、模糊；及顏色感知降低或改變。可在常規眼睛檢查中偵測到AMD。黃斑變性之最常見早期跡象中之一者為在視網膜及色素凝集下存在為微小黃色沈積物之玻璃膜疣。

【0067】 造成深遠視覺喪失之晚期AMD具有兩種形式：乾性及濕性。中央地圖狀萎縮，即乾性形式之晚期AMD由萎縮至視網膜下方之視網膜色素上皮層引起，其經由眼睛之中央部分中之感光體(桿狀體及錐體)喪失而引起視覺喪失。儘管無治療可用於此病況，但具有高劑量之抗氧化劑、葉黃素及玉米黃素之維生素補充劑已由國家眼科研究所(the National Eye Institute)及其他證實可減緩乾性黃斑變性之進展且在一些患者中改善視力。

【0068】 色素性視網膜炎(RP)為遺傳性眼睛病況之組。在RP症狀進展中，夜盲症一般先於隧道視覺多年或甚至數十年。許多患有RP的人在40歲或50歲之前不會成為法律上失明的人並且在其一生一直保留一些視覺。其他人自RP完全失明，在一些情況下早在兒童期。RP之進展在各情況下不同。RP為一類遺傳性視網膜營養不良，其為一組遺傳病症，其中視網膜之感光體(桿狀體及錐體)或視網膜色素上皮(RPE)之異常導致漸進

性視覺喪失。受影響個體首先經歷缺陷性暗適應或夜盲症(nyctalopia/night blindness)，隨後降低周圍視野(稱為隧道視覺)，且有時在疾病過程後期喪失中央視覺。

【0069】當流體及蛋白質沈積物收集在眼睛之黃斑上或下方時，出現黃斑水腫，視網膜之中央區域造成精細視覺，使其變厚且腫脹。當黃斑在眼球背面處的視網膜中央附近時，腫脹可能使個人中央視覺變形。此區域保持密封的錐體，其提供尖銳清晰的中央視覺以使得個人能夠看見直接在視線中之形式、色彩及細節。囊樣黃斑水腫為包括囊腫形成之黃斑水腫之類型。

【0070】如本文所用，「糖尿病性黃斑水腫」(DME)係指影響患有糖尿病(1或2型)之人之嚴重眼睛病況。當視網膜中之血管滲漏至黃斑中且流體及蛋白質沈積物收集於眼睛之黃斑上或下方且使其變厚及腫脹(水腫)時，出現黃斑水腫。當黃斑在眼球背面處的視網膜中央附近時，腫脹可能使個人中央視覺變形。DME之主要症狀包括但不限於視覺模糊、漂浮物、對比度喪失、雙重視覺及視覺最終喪失。DME之病變之特徵在於血液-視網膜內障壁分解，通常防止流體在視網膜中移動，因此使流體積聚在視網膜組織中且存在視網膜變厚。目前在眼睛檢查期間診斷DME，該眼睛檢查由視力測試(其測定個人可在標準化圖表上讀到的最小字母)、檢查疾病之跡象之擴張眼睛檢查、成像測試(諸如光學同調斷層掃描技術(OCT)或螢光素血管造影(FA)及壓力量測術)、儀器(其量測眼睛內部壓力)組成。亦進行以下研究以確定治療：光學同調斷層掃描技術(OCT)、螢光素血管造影及色彩立體眼底攝影術。DME可廣泛表徵為兩個主要類別-病灶性及瀰漫性。病灶性DME之特徵在於具有足夠黃斑血流之黃斑中之單

獨及不同滲漏之特定區域。瀰漫性DME由黃斑周圍之整個毛細血管床之滲漏產生，其由眼睛之內部血液-視網膜障壁分解而產生。除了病灶性及瀰漫性以外，亦基於臨床檢查結果將DME分類成臨床上顯著黃斑水腫(CSME)、非CSME及具有中央參與之CSME (CSME-CI)，其涉及中央窩。本發明包括治療以上提及之類別之DME的方法。

【0071】 使用自4公尺早期治療糖尿病性視網膜病變研究[ETDRS]方案調適(使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表)且產生相應字母評分之方法來測定最佳矯正視力(BCVA)。

【0072】 疾病活動性例如藉由BCVA/ETDRS字母評分減少及/或例如藉由黃斑增厚(其藉由涉及黃斑中央之頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)作為中央子域厚度(CST)) (亦稱為中央視網膜視窩下厚度)測定。在一個較佳實施例中，中央子域厚度(CST)使用頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)測定；在一個較佳實施例中，CST用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測；在一個較佳實施例中，CST用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測；在一個實施例中，CST用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測；在一個實施例中，CST用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測)。如本文所用，術語「罹患……之患者」係指展現如本文所述之眼部血管疾病之一或多種症狀或適應症及/或已診斷患有如本文所述之眼部血管疾病的人類。術語「罹患……之患者」亦可包括例如在治療之前，呈現(或已展現)血管眼睛疾病(例如視網膜血管生成、新生血管、血管洩漏、視窩之中央之視網膜變厚、相鄰視網膜變厚之視窩之中央的硬的黃色泌出物及至少1個視網膜變厚之盤面積(其任何部分在視窩之

中央之1個盤直徑內)、視覺模糊、漂浮物、對比度喪失、複視及視覺最終喪失)之一或多種適應症的個體。

【0073】 如本文所用，術語「罹患……之患者」可包括更易受DME或AMD影響之群體之子組或可展示升高含量之DME相關或AMD相關之生物標記物。舉例而言，「有需要之個體」可包括罹患糖尿病超過10年、具有頻繁高血糖含量或高空腹血糖含量之個體。在某些實施例中，術語「罹患……之患者」包括在投與雙特異性抗VEGF/ANG2抗體之前或在投與雙特異性抗VEGF/ANG2抗體時患有或診斷患有糖尿病之個體。在某些實施例中，術語「罹患……之患者」包括在投與抗VEGF/ANG2抗體之前或在投與抗VEGF/ANG2抗體時超過50歲之個體。在一些實施例中，術語「罹患……之患者」包括為吸菸者之個體或患有高血壓或高膽固醇之個體。

【0074】 本發明包括治療、預防或降低眼部血管疾病之嚴重程度之方法或雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物，該等方法包含向有需要之個體投與治療有效量之雙特異性抗VEGF/ANG2抗體(或包含雙特異性抗VEGF/ANG2抗體之藥物或醫藥調配物)，其中以多次劑量向個體(在玻璃體內)投與包含該雙特異性抗VEGF/ANG2抗體之雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物，例如作為特定治療性給藥方案之一部分。

【0075】 本發明之一個實施例為如本文所述之治療方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物，其中罹患眼部血管疾病之患者先前未用抗VEGF治療(例如單一療法)進行治療(為未治療的)。

【0076】 本發明之一個實施例為如本文中所述之治療方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物，其中罹患眼部血管疾病之患者先前已用抗VEGF治療(例如單一療法)進行治療。

【0077】 本發明之一個實施例為如本文所述之治療方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物，其中眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括固定的每8週一次(Q8W)給藥時程(在一個實施例中治療開始包括每月5至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月6次投與)。

【0078】 本發明之一個實施例為如本文所述之治療方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物，其中眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括固定的Q12W給藥時程(在一個實施例中治療開始包括每月5至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月6次投與)。在一個實施例中，在治療開始之後，在該固定的Q12W給藥時程之前進行Q8W之前一個劑量週期。

【0079】 本發明之一個實施例為如本文所述之治療方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物，其中眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括給藥時程，該給藥時程在穩定沒有疾病之情況下延長投與間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔(在一個實施例中治療開始包括每月3至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月3至5次投與；在一個實施例中治療開始包括每月至少4次投與；在一個實施例中治療開始包括每月4至6次投與)。在一個實施例中，該給藥時程包括該患者視其疾病狀態而接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W給藥。在一個實施例中，穩定沒有疾病確定為

-中央子域厚度(CST)增加了 $< 50 \mu\text{m}$

-最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 < 5 個字母

且該疾病活動性確定為

-中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50\ \mu\text{m}$

-最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0080】 在一個實施例中，穩定沒有疾病確定為

-中央子域厚度(CST)低於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $295\ \mu\text{m}$)，

且該疾病活動性確定為

-中央子域厚度(CST)高於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $295\ \mu\text{m}$)。

【0081】 本發明之一個實施例為如本文所述之治療方法、用途、雙特異性抗體(供使用)、藥物或醫藥調配物，其中眼部血管疾病為AMD(在一個實施例中為濕性AMD)，且在治療開始之後，對罹患AMD (在一個實施例中為濕性AMD)之患者的治療包括給藥時程，該給藥時程在穩定沒有疾病之情況下延長投與間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔(在一個實施例中治療開始包括每月3至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月3至5次投與；在一個實施例中治療開始包括每月至少4次投與；在一

個實施例中治療開始包括每月4至6次投與)。在一個實施例中，該給藥時程包括該患者視其疾病狀態而接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W給藥。在一個實施例中，穩定沒有疾病確定為

- 中央子域厚度(CST)增加了 $< 50\ \mu\text{m}$ ；及/或

- 最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 < 5 個字母

且該疾病活動性確定為

- 中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50\ \mu\text{m}$ ；及/或

- 最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0082】 在一個實施例中，穩定沒有疾病確定為

- 中央子域厚度(CST)低於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $295\ \mu\text{m}$)，

且該疾病活動性確定為

- 中央子域厚度(CST)高於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $295\ \mu\text{m}$)。

【0083】 在一個實施例中，在該方法、用途、雙特異性抗體(供使

用)、藥物或醫藥調配物中之血管眼部疾病為濕性AMD (nAMD)。

【0084】如本文所用，「抗體」係指包含抗原結合位點之結合蛋白。如本文所用之術語「結合位點」或「抗原結合位點」表示與配位體實際結合之抗體分子之區域。術語「抗原結合位點」包含抗體重鏈可變域(VH)及抗體輕鏈可變域(VL) (VH/VL對)。

【0085】抗體特異性係指抗體對抗原之特定抗原決定基的選擇性識別。舉例而言，天然抗體為單特異性的。

【0086】根據本發明之「雙特異性抗體」為具有兩種不同抗原結合特異性之抗體。本發明之抗體特異性針對兩種不同抗原，VEGF作為第一抗原且ANG-2作為第二抗原。

【0087】如本文所用之術語「單特異性」抗體表示具有一或多個結合位點之抗體，該一或多個結合位點中之各者結合至相同抗原之相同抗原決定基。

【0088】如本申請案中所用之術語「價」表示抗體分子中存在指定數目個結合位點。同樣，術語「二價」、「四價」及「六價」分別表示抗體分子中存在兩個結合位點、四個結合位點及六個結合位點。根據本發明之雙特異性抗體較佳為「二價」。

【0089】如本文所用之術語「結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體」、「雙特異性抗VEGF/ANG2抗體」及「雙特異性<VEGF/ANG2>抗體」可互換，且係指具有至少兩個不同抗原結合位點，第一個結合至VEGF且第二個結合至ANG2之抗體。

【0090】雙特異性抗VEGF/ANG2抗體例如描述於

WO2010040508 、 WO2011/117329 、 WO2012/131078 、 WO2015/083978 、 WO2017/197199 及 WO2014/009465 中 。 WO2014/009465描述尤其經設計用於治療眼部血管疾病之雙特異性抗 VEGF/ANG2抗體。WO2014/009465 (其全文併入本文中)之雙特異性抗 VEGF/ANG2抗體尤其適用於如本文所述之眼部血管疾病之治療及治療方案。

【0091】 在一個實施例中，結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體為雙特異性抗VEGF/ANG2抗體，其包含特異性結合至人類VEGF之第一抗原結合位點及特異性結合至人類ANG-2之第二抗原結合位點，其中

i) 特異性結合至VEGF之該第一抗原結合位點在重鏈可變域中包含SEQ ID NO: 1之CDR3H區、SEQ ID NO: 2之CDR2H區及SEQ ID NO:3之CDR1H區，且在輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 4之CDR3L區、SEQ ID NO:5之CDR2L區及SEQ ID NO:6之CDR1L區；且

ii) 特異性結合至ANG-2之該第二抗原結合位點在該重鏈可變域中包含SEQ ID NO: 9之CDR3H區、SEQ ID NO: 10之CDR2H區及SEQ ID NO: 11之CDR1H區，且在該輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 12之CDR3L區、SEQ ID NO: 13之CDR2L區及SEQ ID NO: 14之CDR1L區，且其中

iii) 該雙特異性抗體包含人類IgG1亞類之恆定重鏈區，該恆定重鏈區包含突變I253A、H310A及H435A以及突變L234A、L235A及P329G (根據Kabat之EU索引編號)。

【0092】 在一個實施例中，該雙特異性抗 VEGF/ANG2抗體為二

價。

【0093】 在一個實施例中，該雙特異性抗VEGF/ANG2抗體之特徵在於

i) 特異性結合至VEGF之該第一抗原結合位點包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列作為重鏈可變域VH，且包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列作為輕鏈可變域VL，且

ii) 特異性結合至ANG-2之該第二抗原結合位點包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列作為重鏈可變域VH，且包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列作為輕鏈可變域VL。

【0094】 在本發明之一個態樣中，根據本發明之該雙特異性二價抗體之特徵在於包含

a) 特異性結合至VEGF之第一全長抗體之重鏈及輕鏈；

b) 特異性結合至ANG-2之第二全長抗體之經修飾重鏈及經修飾輕鏈，其中恆定域CL及CH1相互替代。

【0095】 特異性結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體之此雙特異性二價抗體形式描述於WO 2009/080253 (包括杵臼(Knob-into-Hole)修飾之CH3域)中。將基於此雙特異性二價抗體形式之抗體命名為互換MAb。

【0096】 在一個實施例中，該雙特異性二價抗VEGF/ANG2抗體之特徵在於包含

a) SEQ ID NO: 17之胺基酸序列作為第一全長抗體之重鏈，及SEQ ID NO: 18之胺基酸序列作為第一全長抗體之輕鏈，及

b) SEQ ID NO: 19之胺基酸序列作為第二全長抗體之經修飾重鏈，

及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列作為第二全長抗體之經修飾輕鏈。

【0097】 在一個實施例中，該雙特異性二價抗VEGF/ANG2抗體之特徵在於包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。在一個較佳實施例中，雙特異性二價抗VEGF/ANG2抗體為氟西匹單抗(faricimab)。

【0098】 因此，本發明之一個實施例為包含特異性結合至人類VEGF之第一抗原結合位點及特異性結合至人類ANG-2之第二抗原結合位點的雙特異性二價抗體，其特徵在於包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。在一個較佳實施例中，雙特異性二價抗VEGF/ANG2抗體為氟西匹單抗。

【0099】 在一個實施例中，根據本發明之雙特異性二價抗體之CH3域藉由「杵臼」技術改變，該技術藉由幾個實例詳細描述於例如WO 96/027011, Ridgway J.B. 等人, Protein Eng 9 (1996) 617-621；及 Merchant, A.M. 等人, Nat Biotechnol 16 (1998) 677-681中。在此方法中，改變兩個CH3域之相互作用表面以增加含有此等兩個CH3域之兩條重鏈的雜二聚。(兩條重鏈之)兩個CH3域中之各者可為「杵」，而另一者為「臼」。引入二硫橋鍵使雜二聚體穩定(Merchant, A.M 等人, Nature Biotech 16 (1998) 677-681；Atwell, S.等人J. Mol. Biol. 270 (1997) 26-35)且提高產量。

【0100】 在本發明之一較佳態樣中，根據本發明之雙特異性抗VEGF/ANG2抗體之特徵在於

一條重鏈之CH3域及另一重鏈之CH3域各自在界面處遇到，該界面包含抗體CH3域之間的初始界面，

其中改變該界面以促進形成雙特異性抗體，其中改變之特徵在於：

a)改變一條重鏈之CH3域，

使得在初始界面內，一條重鏈之CH3域遇到雙特異性抗體中另一重鏈之CH3域的初始界面，

胺基酸殘基經具有較大側鏈體積之胺基酸殘基置換，從而在一條重鏈之CH3域之界面內產生突起，該突起可定位於另一重鏈之CH3域之界面內的空腔中

且

b)改變另一重鏈之CH3域，

使得在第二CH3域之初始界面內遇到雙特異性抗體內第一CH3域之初始界面

胺基酸殘基經具有較小側鏈體積之胺基酸殘基置換，從而在第二CH3域之界面內產生空腔，在該空腔內可定位第一CH3域之界面內的突起。

【0101】 因此，本文所述使用之雙特異性抗VEGF/ANG2抗體之特徵較佳在於

a)之全長抗體之重鏈之CH3域及b)之全長抗體之重鏈之CH3域各自在抗體CH3域之間的初始界面中包含改變的界面處遇到；

其中i)在一條重鏈之CH3域中

胺基酸殘基經具有較大側鏈體積之胺基酸殘基置換，從而在一條重鏈之CH3域之界面內產生突起，該突起可定位於另一重鏈之CH3域之界面內的空腔中

且其中

ii)在另一重鏈之CH3域中

胺基酸殘基經具有較小側鏈體積之胺基酸殘基置換，從而在第二CH3域之界面內產生空腔，在該空腔內可定位第一CH3域之界面內的突起。

【0102】 較佳地，具有較大側鏈體積之該胺基酸殘基選自由精胺酸(R)、苯丙胺酸(F)、酪胺酸(Y)、色胺酸(W)組成之群。

【0103】 較佳地，具有較小側鏈體積之該胺基酸殘基選自由丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、蘇胺酸(T)、纈胺酸(V)組成之群。

【0104】 在本發明之一個態樣中，兩個CH3域藉由將作為胺基酸之半胱胺酸(C)引入各CH3域之相應位置以使得可在兩個CH3域之間形成二硫橋鍵而進一步改變。

【0105】 在一個實施例中，雙特異性抗體在「杵鏈」之CH3域中包含T366W突變，且在「臼鏈」之CH3域中包含T366S、L368A、Y407V突變。亦可例如將S354C突變引入一個CH3域中且將Y349C突變引入另一CH3域中使用各CH3域之間之額外鏈間二硫橋鍵(Merchant, A.M等人, Nature Biotech 16 (1998) 677-681)。

【0106】 在另一較佳實施例中，雙特異性抗體在兩個CH3域中之一者中包含S354C及T366W突變，且在兩個CH3域中之另一者中包含Y349C、T366S、L368A、Y407V突變。在另一較佳實施例中，雙特異性抗體在兩個CH3域中之一者中包含Y349C、T366W突變，且在兩個CH3域中之另一者中包含S354C、T366S、L368A、Y407V突變(在一個CH3域中包含額外Y349C或S354C突變，且在另一CH3域中包含額外S354C或Y349C突變，形成鏈間二硫橋鍵)(始終根據Kabat之EU索引(Kabat, E.A.

等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) 編號)。

【0107】 涵蓋用於增強雜二聚化之CH3修飾的其他技術作為本發明之替代方案且描述於例如WO 96/27011、WO 98/050431、EP 1870459、WO 2007/110205、WO 2007/147901、WO 2009/089004、WO 2010/129304、WO 2011/90754、WO 2011/143545、WO 2012/058768、WO 2013/157954及WO 2013/096291中。

【0108】 在一個實施例中，替代地使用EP 1 870 459A1中所述之雜二聚方法。此方法基於在兩條重鏈之間的CH3/CH3域界面中的特定胺基酸位置處引入具有相反電荷之帶電胺基酸的取代/突變。該多特異性抗體之一個較佳實施例為多特異性抗體之一條重鏈之CH3域中之胺基酸R409D及K370E突變及另一重鏈之CH3域中之胺基酸D399K及E357K突變(根據Kabat EU索引編號)。

【0109】 在另一實施例中，該多特異性抗體包含「杵鏈」之CH3域中的胺基酸T366W突變及「臼鏈」之CH3域中的胺基酸T366S、L368A及Y407V突變；且另外包含「杵鏈」之CH3域中的胺基酸R409D及K370E突變及「臼鏈」之CH3域中的胺基酸D399K及E357K突變。

【0110】 在一個實施例中，替代地使用WO2013/157953中所述之雜二聚方法。在一個實施例中，一條重鏈之CH3域包含胺基酸T366K突變，且另一重鏈之CH3域包含胺基酸L351D突變。在另一實施例中，一條重鏈之CH3域進一步包含胺基酸L351K突變。在另一實施例中，另一重鏈之CH3域進一步包含選自Y349E、Y349D及L368E (在一個實施例中L368E)

之胺基酸突變。

【0111】 在一個實施例中，替代地使用WO2012/058768中所述之雜二聚方法。在一個實施例中，一條重鏈之CH3域包含胺基酸L351Y及Y407A突變，且另一重鏈之CH3域包含胺基酸T366A及K409F突變。在另一實施例中，另一重鏈之CH3域在位置T411、D399、S400、F405、N390或K392處進一步包含胺基酸突變。在一個實施例中，該胺基酸突變選自由以下組成之群

- a) T411N、T411R、T411Q、T411K、T411D、T411E及T411W，
- b) D399R、D399W、D399Y及D399K，
- c) S400E、S400D、S400R及S400K，
- d) F405I、F405M、F405T、F405S、F405V及F405W，
- e) N390R、N390K及N390D，
- f) K392V、K392M、K392R、K392L、K392F及K392E。

【0112】 在另一實施例中，一條重鏈之CH3域包含胺基酸L351Y及Y407A突變，且另一重鏈之CH3域包含胺基酸T366V及K409F突變。在另一實施例中，一條重鏈之CH3域包含胺基酸Y407A突變，且另一重鏈之CH3域包含胺基酸T366A及K409F突變。在另一實施例中，另一重鏈之CH3域進一步包含胺基酸K392E、T411E、D399R及S400R突變。

【0113】 在一個實施例中，替代地使用WO2011/143545中所述之雜二聚方法。在一個實施例中，在選自由368及409組成之群之位置處將根據WO2011/143545之胺基酸修飾引入重鏈之CH3域中。

【0114】 在一個實施例中，替代地使用WO2011/090762中所述之雜二聚化方法，其亦使用上述杵臼技術。在一個實施例中，一條重鏈之CH3

域包含胺基酸T366K突變，且另一重鏈之CH3域包含胺基酸Y407A突變。在一個實施例中，一條重鏈之CH3域包含胺基酸T366K突變，且另一重鏈之CH3域包含胺基酸Y407T突變。

【0115】 在一個實施例中，多特異性抗體具有IgG2同型，且替代地使用WO2010/129304中所述之雜二聚方法。

【0116】 在一個實施例中，替代地使用WO2009/089004中所述之雜二聚方法。在一個實施例中，一條重鏈之CH3域包含用帶負電胺基酸之K392或N392之胺基酸取代(在一個實施例中為麩胺酸(E)或天冬胺酸(D)；在另一實施例中為K392D或N392D突變)，且另一重鏈之CH3域包含用帶正電胺基酸之D399、E356、D356或E357之胺基酸取代(在一個實施例中為離胺酸(K)或精胺酸(R)，在另一實施例中為D399K、E356K、D356K或E357K取代；且在甚至再一實施例中為D399K或E356K突變)。在另一實施例中，一條重鏈之CH3域進一步包含用帶負電胺基酸之K409或R409之胺基酸取代(在一個實施例中為麩胺酸(E)或天冬胺酸(D)；在另一實施例中為K409D或R409D突變)。在另一實施例中，一條重鏈之CH3域進一步或可替代地包含用帶負電胺基酸之K439及/或K370之胺基酸取代(在一個實施例中為麩胺酸(E)或天冬胺酸(D))。

【0117】 在一個實施例中，替代地使用WO2007/147901中所述之雜二聚方法。在一個實施例中，一條重鏈之CH3域包含胺基酸K253E、D282K及K322D突變，且另一重鏈之CH3域包含胺基酸D239K、E240K及K292D突變。

【0118】 在一個實施例中，替代地使用WO2007/110205中所述之雜二聚方法。

【0119】 在一個實施例中，結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體為雙特異性抗VEGF/ANG2抗體，其包含特異性結合至人類VEGF之第一抗原結合位點及特異性結合至人類ANG-2之第二抗原結合位點，其中

i) 特異性結合至VEGF之該第一抗原結合位點在重鏈可變域中包含SEQ ID NO: 1之CDR3H區、SEQ ID NO: 2之CDR2H區及SEQ ID NO: 3之CDR1H區，且在輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 4之CDR3L區、SEQ ID NO: 5之CDR2L區及SEQ ID NO: 6之CDR1L區；且

ii) 特異性結合至ANG-2之該第二抗原結合位點在該重鏈可變域中包含SEQ ID NO: 9之CDR3H區、SEQ ID NO: 10之CDR2H區及SEQ ID NO: 11之CDR1H區，且在該輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 12之CDR3L區、SEQ ID NO: 13之CDR2L區及SEQ ID NO: 14之CDR1L區，

且其中

iii) 該雙特異性抗體包含人類IgG1亞類之恆定重鏈區，該恆定重鏈區包含突變I253A、H310A及H435A以及突變L234A、L235A及P329G (根據Kabat之EU索引編號)；且其中

iv) 在恆定重鏈區中，T366W突變包含於一個CH3域中，且T366S、L368A、Y407V突變包含於另一CH3域中(根據Kabat EU索引編號)。

【0120】 在一個實施例中，結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體為雙特異性抗VEGF/ANG2抗體，其包含特異性結合至人類VEGF之第一抗原結合位點及特異性結合至人類ANG-2之第二抗原結合位點，其中

i) 特異性結合至VEGF之該第一抗原結合位點在重鏈可變域中包含

SEQ ID NO: 1之CDR3H區、SEQ ID NO: 2之CDR2H區及SEQ ID NO:3之CDR1H區，且在輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 4之CDR3L區、SEQ ID NO:5之CDR2L區及SEQ ID NO:6之CDR1L區；且

ii) 特異性結合至ANG-2之該第二抗原結合位點在該重鏈可變域中包含SEQ ID NO: 9之CDR3H區、SEQ ID NO: 10之CDR2H區及SEQ ID NO: 11之CDR1H區，且在該輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 12之CDR3L區、SEQ ID NO: 13之CDR2L區及SEQ ID NO: 14之CDR1L區，

且其中

iii) 該雙特異性抗體包含人類IgG1亞類之恆定重鏈區，該恆定重鏈區包含突變I253A、H310A及H435A以及突變L234A、L235A及P329G(根據Kabat之EU索引編號)；且其中

iv) 在恆定重鏈區中，S354C及T366W突變包含於一個CH3域中，且Y349C、T366S、L368A及Y407V突變包含於另一CH3域中(根據Kabat之EU索引編號)。

【0121】 在一個實施例中，該雙特異性抗VEGF/ANG2抗體為二價。

【0122】 在一個實施例中，該雙特異性抗VEGF/ANG2抗體之特徵在於

i) 特異性結合至VEGF之該第一抗原結合位點包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列作為重鏈可變域VH，且包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列作為輕鏈可變域VL，且

ii) 特異性結合至ANG-2之該第二抗原結合位點包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列作為重鏈可變域VH，且包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列

作為輕鏈可變域VL。

【0123】 在本發明之一個態樣中，根據本發明之該雙特異性二價抗體之特徵在於包含

a)特異性結合至VEGF之第一全長抗體之重鏈及輕鏈；

b)特異性結合至ANG-2之第二全長抗體之經修飾重鏈及經修飾輕鏈，其中恆定域CL及CH1相互替代。

【0124】 如本文所用之術語「VEGF」係指人類血管內皮生長因子(VEGF/VEGF-A)，165個胺基酸之人類血管內皮細胞生長因子(人類VEGF165之前驅體序列之胺基酸27-191：SEQ ID NO: 24；胺基酸1-26表示信號肽)，及相關121、189及206個血管內皮細胞生長因子同功異型物，如Leung, D.W.等人, Science 246 (1989) 1306-9；Houck等人, Mol. Endocrin. 5 (1991) 1806 -1814；Keck, P.J.等人, Science 246 (1989) 1309-12及Connolly, D.T.等人, J. Biol. Chem. 264 (1989) 20017-24所述；以及天然存在之對偶基因及經處理形式之彼等生長因子。VEGF涉及與腫瘤及眼內病症相關之正常及異常血管生成及新生血管之調節(Ferrara, N.等人, Endocr. Rev. 18 (1997) 4-25；Berkman, R.A.等人., J. Clin. Invest. 91 (1993) 153-159；Brown, L.F.等人, Human Pathol. 26 (1995) 86-91；Brown, L.F.等人, Cancer Res. 53 (1993) 4727-4735；Mattern, J.等人, Brit. J. Cancer. 73 (1996) 931-934；及Dvorak, H.F.等人, Am. J. Pathol. 146 (1995) 1029-1039)。VEGF為已與幾種來源分離之均二聚糖蛋白且包括幾種同功異型物。VEGF展示內皮細胞之高度特異性細胞分裂活性。VEGF拮抗劑/抑制劑抑制VEGF結合至其受體VEGFR。已知VEGF拮抗劑/抑制劑包括如WO2014/009465中所述之雙特異性抗VEGF/ANG2

抗體。

【0125】如本文所用之術語「ANG-2」係指人類血管生成素-2 (ANG-2) (或者縮寫為ANGPT2或ANG2) (SEQ ID NO: 25)，其描述於例如Maisonpierre, P.C.等人, *Science* 277 (1997) 55-60及Cheung, A.H.等人, *Genomics* 48 (1998) 389-91中。發現血管生成素-1 (SEQ ID NO: 26) 及血管生成素-2為Tie之配位體，Tie為在血管內皮內選擇性表現之酪胺酸激酶之家族(Yancopoulos, G.D.等人, *Nature* 407 (2000) 242-48)。現存在血管生成素家族之四個確定成員。血管生成素-3及-4 (Ang-3及Ang-4)可表示小鼠及人類中相同基因座的大大不同的對應物(Kim, I.等人, *FEBS Let*, 443 (1999) 353-56；Kim, I.等人, *J Biol Chem* 274 (1999) 26523-28)。在組織培養實驗中分別將ANG-1及ANG-2最初鑑別為促效劑及拮抗劑(參見ANG-1: Davis, S.等人, *Cell* 87 (1996) 1161-69；及ANG-2: Maisonpierre, P.C.等人, *Science* 277 (1997) 55-60)。所有已知血管生成素主要結合至其受體TIE2 (SEQ ID NO: 27)，且Ang-1及Ang-2兩者均結合至親和力為3 nM (Kd)之TIE2 (Maisonpierre, P.C.等人, *Science* 277 (1997) 55-60)。ANG2拮抗劑/抑制劑抑制ANG2結合至其受體TIE2。已知ANG2拮抗劑/抑制劑包括如WO2014/009465中所述之雙特異性抗VEGF/ANG2抗體。

【0126】本發明之雙特異性抗體之抗原結合位點含有六個互補決定區(CDR)，其對抗原之結合位點之親和力有不同程度貢獻。存在三個重鏈可變域CDR (CDRH1、CDRH2及CDRH3)及三個輕鏈可變域CDR (CDRL1、CDRL2及CDRL3)。CDR及構架區(FR)之程度藉由與胺基酸序列之經編譯資料庫比較來測定，其中彼等區域已根據序列之間的變化而定

義。

【0127】 本發明之抗體包含衍生自一或多種免疫球蛋白類別之人類來源之免疫球蛋白恆定區，其中免疫球蛋白類別包括IgG、IgM、IgA、IgD及IgE類別，且在IgG及IgA之情況下包括其亞類，尤其為IgG1及IgG4。

【0128】 如本文所用之術語「單株抗體」或「單株抗體組合物」係指單一胺基酸組合物之抗體分子之製劑。

【0129】 術語「嵌合抗體」係指包含來自一個來源或物種之可變區(亦即結合區)及衍生自不同來源或物種之恆定區之至少一部分的抗體，其通常藉由重組DNA技術製備。包含鼠類可變區及人類恆定區之嵌合抗體為較佳的。本發明所涵蓋之「嵌合抗體」之其他較佳形式係恆定區已自初始抗體修飾或改變以產生根據本發明之特性，尤其為C1q結合及/或Fc受體(FcR)結合的抗體。該等嵌合抗體亦稱為「類別轉換抗體」。嵌合抗體係包含編碼免疫球蛋白可變區之DNA鏈段及編碼免疫球蛋白恆定區之DNA鏈段的免疫球蛋白基因之表現產物。用於產生嵌合抗體之方法涉及此項技術中熟知的習知重組DNA及基因轉染技術。參見例如Morrison, S.L.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 (1984) 6851-6855；US 5,202,238及US 5,204,244。

【0130】 術語「人類化抗體」係指其中構架或「互補決定區」(CDR)已經修飾以包含與母體免疫球蛋白之CDR相比具有不同特異性之免疫球蛋白之CDR的抗體。在一較佳實施例中，將鼠類CDR移植至人類抗體之構架區中以製備「人類化抗體」。參見例如，Riechmann, L.等人, Nature 332 (1988) 323-327；及Neuberger, M.S.等人, Nature 314 (1985)

268-270。尤其較佳CDR對應於表示識別上文針對嵌合抗體所提及之抗原之序列的CDR。本發明所涵蓋之「人類化抗體」之其他形式為其中恆定區已自初始抗體另外修飾或改變以產生根據本發明之特性，尤其為C1q結合及/或Fc受體(FcR)的抗體。

【0131】如本文所用，術語「人類抗體」意欲包括具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區的抗體。人類抗體在目前先進技術(van Dijk, M.A., 及 van de Winkel, J.G., Curr. Opin. Chem. Biol. 5 (2001) 368-374)中為熟知的。人類抗體亦可在轉殖基因動物(例如小鼠)中製備，該等動物能夠在不存在內源性免疫球蛋白產生下在免疫後產生完整譜系或一系列人類抗體。將人類生殖系免疫球蛋白基因陣列轉移至該生殖系突變小鼠中將使得人類抗體在抗原攻擊時產生(參見例如Jakobovits, A. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993) 2551-2555 ; Jakobovits, A. 等人, Nature 362 (1993) 255-258 ; Brueggemann, M. 等人, Year Immunol. 7 (1993) 33-40)。人類抗體亦可在噬菌體呈現文庫中產生(Hoogenboom, H.R., 及 Winter, G., J. Mol. Biol. 227 (1992) 381-388 ; Marks, J.D. 等人, J. Mol. Biol. 222 (1991) 581-597)。Cole, A. 等人及 Boerner, P. 等人之技術亦可用於製備人類單株抗體(Cole, A. 等人, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Liss, A.L., 第77頁(1985) ; 及 Boerner, P. 等人, J. Immunol. 147 (1991) 86-95)。如針對根據本發明之嵌合及人類化抗體已經提及，如本文所用之術語「人類抗體」亦包含在恆定區中經修飾以產生根據本發明之特性，尤其為C1q結合及/或FcR結合的該等抗體，其例如藉由「類別轉換」，亦即Fc部分之變化或突變(例如自IgG1至IgG4及/或IgG1/IgG4突變)。

【0132】如本文中所用，術語「重組抗體」意欲包括藉由重組方式所製備、表現、形成或分離之所有人類抗體，諸如與諸如NS0或CHO細胞之宿主細胞或與對於人類免疫球蛋白基因為轉殖基因的動物(例如，小鼠)分離的抗體，或使用轉染至宿主細胞中之重組表現載體表現的抗體。該等重組抗體具有呈重新佈置形式之可變區及恆定區。根據本發明之重組抗體已經歷活體內體細胞超突變。因此，重組抗體VH區及VL區之胺基酸序列為衍生自且關於人類生殖系VH及VL序列，但可能並非在活體內天然存在於人類抗體生殖系譜系內的序列。

【0133】如本文所用之「可變域」(輕鏈之可變域(VL)、重鏈之可變域(VH))表示輕鏈及重鏈之對中之各者，其直接涉及將抗體與抗原結合。可變的人類輕鏈及重鏈之結構域具有相同的通式結構且各結構域包含四個構架(FR)區域，其序列廣泛為保守性的，由三個「高變區」(或互補決定區，CDR)連接。構架區採用 β -片層構形且CDR可形成連接 β -片層結構之迴路。各鏈中之CDR藉由框架區保持在其三維結構中且與來自其他鏈之CDR一起形成抗原結合位點。抗體重鏈及輕鏈CDR3區在根據本發明之抗體之結合特異性/親和力方面發揮尤其重要作用且因此提供本發明之另一目標。

【0134】當在本文中使用時，術語「高變區」或「抗體之抗原結合部分」係指負責抗原結合之抗體之胺基酸殘基。高變區包含來自「互補決定區」或「CDR」之胺基酸殘基。「構架」或「FR」區為不同於如本文所定義之高變區殘基之彼等可變域區。因此，抗體之輕鏈及重鏈自N端至C端包含結構域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。各鏈上之CDR藉由該等構架胺基酸分離。尤其，重鏈之CDR3為最有助於抗原結

合之區域。CDR及FR區根據Kabat, E.A.等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)之標準定義確定。

【0135】術語「全長抗體」表示由兩個「全長抗體重鏈」及兩個「全長抗體輕鏈」組成的抗體。「全長抗體重鏈」為在N端至C端方向上由抗體重鏈可變域(VH)、抗體恆定重鏈域1 (CH1)、抗體鉸鏈區(HR)、抗體重鏈恆定域2 (CH2)及抗體重鏈恆定域3 (CH3) (縮寫為VH-CH1-HR-CH2-CH3)以及在亞類IgE之抗體的情況下視情況選用之抗體重鏈恆定域4 (CH4)組成的多肽。較佳地,「全長抗體重鏈」為在N端至C端方向上由VH、CH1、HR、CH2及CH3組成的多肽。「全長抗體輕鏈」為在N端至C端方向上由抗體輕鏈可變域(VL)及抗體輕鏈恆定域(CL) (縮寫為VL-CL)組成的多肽。抗體輕鏈恆定域(CL)可為 κ (kappa)或 λ (lambda)。兩個全長抗體鏈經由CL域與CH1域之間的及全長抗體重鏈之鉸鏈區之間的多肽間二硫鍵連接在一起。典型全長抗體之實例為天然抗體,如IgG (例如,IgG 1及IgG2)、IgM、IgA、IgD及IgE。根據本發明之全長抗體可來自單一物種,例如人類,或其可為嵌合或人類化抗體。根據本發明之全長抗體包含兩個各自藉由VH及VL對形成之抗原結合位點,其均特異性結合至相同抗原。該全長抗體之重鏈或輕鏈的C端表示該重鏈或輕鏈的C端處之最末胺基酸。該全長抗體之重鏈或輕鏈的N端表示該重鏈或輕鏈的N端處之最末胺基酸。

【0136】如本申請案中所用之術語「恆定區」表示除可變區外之抗體之結構域之總和。恆定區不直接涉及結合抗原,但展現各種效應功能。視抗體重鏈之恆定區之胺基酸序列而定,抗體分次以下類別: IgA、

IgD、IgE、IgG及IgM，且此等類別中之幾種可進一步分為亞類，諸如IgG1、IgG2、IgG3及IgG4、IgA1及IgA2。對應於不同類別之抗體之重鏈恆定區分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。可見於所有抗體類別中之輕鏈恆定區稱為 κ 及 λ 。

【0137】如本申請案中所用之術語「衍生自人類來源之恆定區」或「人類恆定區」表示亞類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4之人類抗體之恆定重鏈區及/或恆定輕鏈 κ 或 λ 區。該等恆定區在目前先進技術中為熟知的，且例如由Kabat, E.A.等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)描述(亦參見例如，Johnson, G.,及Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28 (2000) 214-218；Kabat, E.A.等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72 (1975) 2785-2788)。在用於位置及突變之編號之應用內，根據Kabat, E.A.等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)之EU編號系統(EU索引)經使用且稱作「根據Kabat之EU索引編號」。

【0138】在一個實施例中，根據本發明之雙特異性抗體具有人類IgG1亞類(衍生自人類IgG1亞類)之恆定區。因此，Fc區之C端離胺酸(Lys447)或C端甘胺酸(Gly446)及C端離胺酸(Lys447)可能存在或可能不存在。

【0139】在一個實施例中，如本文所述之雙特異性抗體屬於IgG1同型/亞類，且包含SEQ ID NO: 23之恆定重鏈域或SEQ ID NO: 17之重鏈胺基酸序列及SEQ ID NO: 18之重鏈胺基酸序列的恆定部分。在一個實施例

中，另外存在C端甘胺酸(Gly446)。在一個實施例中，另外存在C端甘胺酸(Gly446)及C端離胺酸(Lys447)。

【0140】 除非本文中另外規定，否則恆定區中胺基酸殘基之編號係根據EU編號系統，其亦稱為Kabat之EU索引，如Kabat, E.A.等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), NIH Publication 91-3242中所描述。

【0141】 在一個實施例中，根據本發明之雙特異性抗體屬於突變L234A (Leu235Ala)、L235A (Leu234Ala)及P329G (Pro329Gly)之人類IgG1亞類。該抗體具有經減少之FcR結合(尤其其不再展示與FcR γ I、FcR γ II及FcR γ III之結合)。此尤其適用於減少潛在副作用，例如血栓(Meyer, T.等人, J. Thromb. Haemost. 7 (2009) 171-81)。

【0142】 儘管已經描述之Pro329Ala突變僅移除三分之二之Fc γ RIIIa三明治相互作用(sandwich interaction)，但根據本發明之抗體中之Pro329Gly完全賦予Fc部分與Fc γ RIII之結合。此尤其適用，因為與Fc γ RIII之結合涉及引起細胞死亡之ADCC (抗體依賴性細胞毒性)，其可有助於治療癌症疾病，但其可在其他血管或免疫疾病之基於抗體之治療中引起嚴重副作用。因此，突變L234A、L235A及P329G之IgG1亞類及突變S228P、L235E及P329G之IgG4亞類的根據本發明之抗體尤其適用，因為其均不再展示結合至FcR γ I、FcR γ II及FcR γ III。

【0143】 藥劑(例如醫藥調配物或雙特異性抗VEGF/ANG2抗體)之「有效量」係指在必要劑量下且必要時間段下有效實現所需治療或防治性結果之量。

【0144】 在本發明之一個實施例中，如本文所述之雙特異性抗體、藥物或醫藥調配物藉由玻璃體內應用，例如藉由玻璃體內注射投與(「在玻璃體內」投與)。此可根據此項技術中已知之標準程序進行。參見例如Ritter等人, J. Clin. Invest. 116 (2006) 3266-76；Russelakis-Carneiro等人, Neuropathol. Appl. Neurobiol. 25 (1999) 196-206；及Wray等人, Arch. Neurol. 33 (1976) 183-5。

【0145】 在一些實施例中，本發明之治療套組可含有一或多次劑量之存在於藥物或醫藥調配物中的所述雙特異性抗體、適用於玻璃體內注射藥物或醫藥調配物之裝置及詳述用於進行注射之適合個體及方案的說明。在此等實施例中，通常藉由玻璃體內注射向需要治療之個體投與藥物或醫藥調配物。此可根據此項技術中已知之標準程序進行。參見例如Ritter等人, J. Clin. Invest. 116 (2006) 3266-76；Russelakis-Carneiro等人, Neuropathol. Appl. Neurobiol. 25 (1999) 196-206；及Wray等人, Arch. Neurol. 33 (1976) 183-5。

【0146】 不論所選擇之投與途徑如何，藉由熟習此項技術者已知之習知方法將如本文所述之雙特異性抗體調配成醫藥學上可接受之劑型。

胺基酸序列之描述

SEQ ID NO:	1	重鏈CDR3H，<VEGF>蘭尼單抗
SEQ ID NO:	2	重鏈CDR2H，<VEGF>蘭尼單抗
SEQ ID NO:	3	重鏈CDR1H，<VEGF>蘭尼單抗
SEQ ID NO:	4	輕鏈CDR3L，<VEGF>蘭尼單抗
SEQ ID NO:	5	輕鏈CDR2L，<VEGF>蘭尼單抗
SEQ ID NO:	6	輕鏈CDR1L，<VEGF>蘭尼單抗
SEQ ID NO:	7	重鏈可變域VH，<VEGF>蘭尼單抗
SEQ ID NO:	8	輕鏈可變域VL，<VEGF>蘭尼單抗
SEQ ID NO:	9	重鏈CDR3H，<ANG-2> Ang2i_LC10變異體

SEQ ID NO:	10	重鏈CDR2H，<ANG-2> Ang2i_LC10變異體
SEQ ID NO:	11	重鏈CDR1H，<ANG-2> Ang2i_LC10變異體
SEQ ID NO:	12	輕鏈CDR3L，<ANG-2> Ang2i_LC10變異體
SEQ ID NO:	13	輕鏈CDR2L，<ANG-2> Ang2i_LC10變異體
SEQ ID NO:	14	輕鏈CDR1L，<ANG-2> Ang2i_LC10變異體
SEQ ID NO:	15	重鏈可變域VH，<ANG-2> Ang2i_LC10變異體
SEQ ID NO:	16	輕鏈可變域VL，<ANG-2> Ang2i_LC10變異體
SEQ ID NO:	17	AAA 突變 及 P329G LALA 突變 (VEGFang2-0016) 之<VEGF-ANG-2>互換MAb IgG1之重鏈1
SEQ ID NO:	18	AAA 突變 及 P329G LALA 突變 (VEGFang2-0016) 之<VEGF-ANG-2>互換MAb IgG1之重鏈2
SEQ ID NO:	19	AAA 突變 及 P329G LALA 突變 (VEGFang2-0016) 之<VEGF-ANG-2>互換MAb IgG1之輕鏈1
SEQ ID NO:	20	AAA 突變 及 P329G LALA 突變 (VEGFang2-0016) 之<VEGF-ANG-2>互換MAb IgG1之輕鏈2
SEQ ID NO:	21	κ輕鏈恆定區
SEQ ID NO:	22	λ輕鏈恆定區
SEQ ID NO:	23	衍生自人類IgG1之重鏈恆定區
SEQ ID NO:	24	人類血管內皮生長因子(VEGF)；人類VEGF165之前驅體序列
SEQ ID NO:	25	人類血管生成素-2 (ANG-2)
SEQ ID NO:	26	人類血管生成素-1 (ANG-1)
SEQ ID NO:	27	人類Tie-2受體

在下文中，列舉本發明之實施例：

【0147】 1. 一種結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，其用於治療眼部血管疾病，

其中該雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週

一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0148】 2A. 一種結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，其用於治療罹患眼部血管疾病之患者，其中相比於給予該雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，該患者增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母、15個或更多個字母)。

【0149】 2B. 一種結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)之雙特異性抗體，其用於治療罹患眼部血管疾病之患者，其中相比於在給藥雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，如藉由增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母、15個或更多個字母)所量測，在投與該雙特異性VEGF/ANG2抗體之後該患者經歷視覺改善。

【0150】 3. 如實施例2A至2B中任一項(使用)之雙特異性抗體，

其中該雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體

內投與(待投與)。

【0151】 4. 如實施例1至3中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該BCVA BCVA/ETDRS中之字母增加分別在治療開始之後4週時、及/或8週時、及/或12週時、及/或16週時、及/或20週時、及/或24週時量測。

【0152】 5 如實施例1至3中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該BCVA BCVA/ETDRS中之字母增加分別在開始治療之後45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時、及/或54週時、及/或55週時、及/或56週時、及/或57週時、及/或58週時、及/或59週時、及/或60週時量測。

【0153】 6. 如實施例1至5中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體用於延長再治療時間且/或延長視力(例如最佳矯正視力(BCVA) BCVA/ETDRS)喪失時間，且其中在確定為以下之疾病活動性的情況下，認為該再治療為必要的：

中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ (在一個實施例中使用頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT))；且/或最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0154】 7. 如實施例1至6中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體在每月3至7次投與之治療開始之後投與(在一個實施例中治療開始包括每月3至5次投與，在一個實施例中治療開始包括每月4次投與；在一個實施例中治療開始包括每月5至7次投與，在一個實施例中治療開始包括每月6次投與)。

【0155】 8. 如實施例1至7中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該眼部血管疾病選自以下之群：濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD)、

新生血管性AMD、糖尿病性黃斑水腫(DME)、囊樣黃斑水腫(CME)、非增生性糖尿病性視網膜病變(NPDR)、增生性糖尿病性視網膜病變(PDR)、繼發於中央視網膜靜脈阻塞、繼發於半側視網膜靜脈阻塞或繼發於分支靜脈阻塞之黃斑水腫、視網膜炎、結膜炎、葡萄膜炎、脈絡膜炎、繼發於眼部發炎(包括繼發於眼部組織漿菌病或假組織漿菌病或脈絡膜炎)之脈絡膜新生血管(CNV)、近視脈絡膜新生血管(mCNV)、及繼發於創傷之脈絡膜新生血管、早產兒視網膜病變及虹膜紅變/虹膜紅變性青光眼。

【0156】 9. 如實施例1至7中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該眼部血管疾病為糖尿病性黃斑水腫(DME)。

【0157】 10. 如實施例1至7中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該眼部血管疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD)或新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD)。

【0158】 11. 如實施例1至10中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中結合至VEGF及人類ANG-2之該雙特異性抗體為VEGF拮抗劑/抑制劑及ANG2拮抗劑/抑制劑或抑制VEGF與其受體VEGFR結合且抑制ANG2與其受體TIE2結合。

【0159】 12. 如實施例1至11中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體每10至12週一次投與。

【0160】 13. 如實施例1至11中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體每11至13週一次投與。

【0161】 14. 如實施例1至11中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體每12至14週一次投與。

【0162】 15. 如實施例1至11中任一項(使用)之雙特異性抗體，其

中該雙特異性抗體每13至15週一次投與。

【0163】 16. 如實施例1至11中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體每14至16週一次投與。

【0164】 17. 如實施例1至16中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中結合至人類VEGF及人類ANG2之該雙特異性抗體為雙特異性二價抗VEGF/ANG2抗體，其包含特異性結合至人類VEGF之第一抗原結合位點及特異性結合至人類ANG-2之第二抗原結合位點，其中

i) 特異性結合至VEGF之該第一抗原結合位點在重鏈可變域中包含SEQ ID NO: 1之CDR3H區、SEQ ID NO: 2之CDR2H區及SEQ ID NO: 3之CDR1H區，且在輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 4之CDR3L區、SEQ ID NO: 5之CDR2L區及SEQ ID NO: 6之CDR1L區；且

ii) 特異性結合至ANG-2之該第二抗原結合位點在該重鏈可變域中包含SEQ ID NO: 9之CDR3H區、SEQ ID NO: 10之CDR2H區及SEQ ID NO: 11之CDR1H區，且在該輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 12之CDR3L區、SEQ ID NO: 13之CDR2L區及SEQ ID NO: 14之CDR1L區，

且其中

iii) 該雙特異性抗體包含人類IgG1亞類之恆定重鏈區，該恆定重鏈區包含突變I253A、H310A及H435A以及突變L234A、L235A及P329G(根據Kabat之EU索引編號)。

【0165】 18. 如實施例17 (使用)之雙特異性抗體，其中

i) 特異性結合至VEGF之該第一抗原結合位點包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列作為重鏈可變域VH，且包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列作為輕鏈可變域VL，且

ii) 特異性結合至ANG-2之該第二抗原結合位點包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列作為重鏈可變域VH，且包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列作為輕鏈可變域VL。

【0166】 19. 如實施例18 (使用)之雙特異性抗體，其中結合至人類VEGF及人類ANG2之該雙特異性抗體包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0167】 20. 如實施例17至19中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體(在各治療下)以約5至7 mg之劑量投與。

【0168】 21. 如實施例17至19中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體(在各治療時)以約6 mg之劑量(在一個實施例中(在各治療下)以6 mg +/- 10%之劑量；(在一個實施例中(在各治療下)以6 mg之劑量))投與。

【0169】 22. 如實施例20至21中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體以約30 mg/ml之濃度投與。

【0170】 23. 如實施例20至21中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體以約120 mg/ml之濃度投與。

【0171】 24. 如前述實施例中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中罹患眼部血管疾病之患者先前未用抗VEGF治療(例如單一療法)進行治療(為未治療的)。

【0172】 25. 如前述實施例中任一項(使用)之雙特異性抗體，其中罹患眼部血管疾病之患者先前已用抗VEGF治療(例如單一療法)進行治療(為未治療的)。

【0173】 26. 如前述實施例(使用)之雙特異性抗體，其中該眼部血

管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括固定的每8週一次(Q8W)給藥時程(在一個實施例中治療開始包括每月5至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月6次投與)。

【0174】 27. 如前述實施例(使用)之雙特異性抗體，其中該眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括固定的Q12W給藥時程(在一個實施例中治療開始包括每月5至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月6次投與)。

【0175】 28. 如實施例27 (使用)之雙特異性抗體，其中在該治療開始之後，在該固定的Q12W給藥時程之前進行Q8W之前一個劑量週期。

【0176】 29. 如前述實施例(使用)之雙特異性抗體，其中該眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括給藥時程，該給藥時程在穩定沒有疾病之情況下延長投與間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔(在一個實施例中治療開始包括每月3至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月4至6次投與)。

【0177】 30. 如實施例29 (使用)之雙特異性抗體，其中該給藥時程包括該患者視其疾病狀態而接受Q8W或Q12W或Q16W給藥(在一個實施例中視其疾病狀態而接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W給藥)。

【0178】 31. 如實施例29或30 (使用)之雙特異性抗體，其中該穩定沒有疾病確定為

- 中央子域厚度(CST)增加了 $< 50 \mu\text{m}$ ；及/或

- 最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 < 5 個字母

且該疾病活動性確定為

- 中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ ；及/或

-最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0179】 32. 如實施例29或30之方法，其中該穩定沒有疾病確定為

-中央子域厚度(CST)低於約300 μm (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於325 μm ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於315 μm ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於315 μm ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於295 μm)，

且該疾病活動性確定為

-中央子域厚度(CST)高於約300 μm (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於325 μm ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於315 μm ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於315 μm ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於295 μm)。

【0180】 33. 如前述實施例(使用)之雙特異性抗體，其中該眼部血管疾病為AMD (在一個實施例中為濕性AMD)，且在治療開始之後(在一個實施例中治療開始包括每月3至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月4至6次投與)，對罹患AMD (在一個實施例中為濕性AMD)之患者的治療包括給藥時程，該給藥時程在穩定沒有疾病之情況下延長投與間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔。

【0181】 34. 如實施例33 (使用)之雙特異性抗體，其中該給藥時程包括該患者視其疾病狀態而接受Q8W或Q12W或Q16W給藥(在一個實施例

中視其疾病狀態而接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W給藥)。

【0182】 35. 如實施例33或34 (使用)之雙特異性抗體，其中該穩定沒有疾病確定為

-中央子域厚度(CST)增加了 $< 50\ \mu\text{m}$ ；及/或

-最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 < 5 個字母

且該疾病活動性確定為

-中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50\ \mu\text{m}$ ；及/或

-最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0183】 36. 如實施例33或34 (使用)之雙特異性抗體，其中該穩定沒有疾病確定為

-中央子域厚度(CST)低於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $295\ \mu\text{m}$)，

且該疾病活動性確定為

-中央子域厚度(CST)高於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $295\ \mu\text{m}$)。

在下文中，列舉本發明之實施例：

【0184】 1. 一種治療罹患眼部血管疾病之患者之方法，該方法包含向患者投與有效量之結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)的雙特異性抗體，

其中該雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與。

【0185】 2A. 一種治療罹患眼部血管疾病之患者之方法，該方法包含向患者投與有效量之結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)的雙特異性抗體，其中相比於在給藥雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，該患者增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)。

【0186】 2B. 一種治療罹患眼部血管疾病之患者之方法，該方法包含向患者投與有效量之結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2 (ANG-2)的雙特異性抗體，其中相比於給予該雙特異性VEGF/ANG2抗體之前該患者之BCVA字母評分，使用早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表量測，如藉由增加12個或更多個最佳矯正視力(BCVA)之字母(在一個實施例中13個或更多個字母，在一個實施例

中14個或更多個字母，在一個實施例中15個或更多個字母)所量測，在投與該雙特異性VEGF/ANG2抗體之後該患者經歷視覺改善。

【0187】 3. 如實施例2A至2B中任一項之方法，

其中該雙特異性抗體每8週一次或以更低頻率(在一個實施例中每9週一次或以更低頻率；在一個實施例中每10週一次或以更低頻率；在一個實施例中每11週一次或以更低頻率；在一個實施例中每12週一次或以更低頻率；在一個實施例中每13週一次或以更低頻率；在一個實施例中每14週一次或以更低頻率；在一個實施例中每15週一次或以更低頻率)在玻璃體內投與(待投與)。

【0188】 4. 如實施例1至3中任一項之方法，其中該BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在治療開始之後4週時、及/或8週時、及/或12週時、及/或16週時、及/或20週時、及/或24週時量測。

【0189】 5. 如實施例1至3中任一項之方法，其中該BCVA/ETDRS字母評分中之字母增加分別在開始治療之後45週時、及/或46週時、及/或47週時、及/或48週時、及/或49週時、及/或50週時、及/或51週時、及/或52週時、及/或53週時、及/或54週時、及/或55週時、及/或56週時、及/或57週時、及/或58週時、及/或59週時、及/或60週時量測。

【0190】 6. 如實施例1至5中任一項之方法，其中該雙特異性抗體用於延長再治療時間且/或延長視力喪失時間，且其中在確定為以下之疾病活動性之情況下，投與用雙特異性抗體之再治療：

中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ (在一個實施例中使用頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT))；及/或

最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0191】 7. 如實施例1至6中任一項之方法，其中該雙特異性抗體在每月3至7次投與之治療開始之後投與(在一個實施例中治療開始包括每月3至5次投與，在一個實施例中治療開始包括每月4次投與，在一個實施例中治療開始包括每月5至7次投與，在一個實施例中治療開始包括每月6次投與)。

【0192】 8. 如實施例1至7中任一項之方法，其中該眼部血管疾病選自以下之群：濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD)、新生血管性AMD、糖尿病性黃斑水腫(DME)、囊樣黃斑水腫(CME)、非增生性糖尿病性視網膜病變(NPDR)、增生性糖尿病性視網膜病變(PDR)、繼發於中央視網膜靜脈阻塞、繼發於半側視網膜靜脈阻塞或繼發於分支靜脈阻塞之黃斑水腫、視網膜炎、結膜炎、葡萄膜炎、脈絡膜炎、繼發於眼部發炎(包括繼發於眼部組織漿菌病或假組織漿菌病或脈絡膜炎)之脈絡膜新生血管(CNV)、近視脈絡膜新生血管(mCNV)、及繼發於創傷之脈絡膜新生血管、早產兒視網膜病變及虹膜紅變/虹膜紅變性青光眼。

【0193】 9. 如實施例1至7中任一項之方法，其中該眼部血管疾病為糖尿病性黃斑水腫(DME)。

【0194】 10. 如實施例1至7中任一項之方法，其中該眼部血管疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(濕性AMD)或新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD)。

【0195】 11. 如實施例1至10中任一項之方法，其中結合至VEGF及人類ANG-2之該雙特異性抗體為VEGF拮抗劑/抑制劑及ANG2拮抗劑/抑制劑或抑制VEGF與其受體VEGFR結合且抑制ANG2與其受體TIE2結合。

【0196】 12. 如實施例1至11中任一項之方法，其中該雙特異性抗體每10至12週一次投與。

【0197】 13. 如實施例1至11中任一項之方法，其中該雙特異性抗體每11至13週一次投與。

【0198】 14. 如實施例1至11中任一項之方法，其中該雙特異性抗體每12至14週一次投與。

【0199】 15. 如實施例1至11中任一項之方法，其中該雙特異性抗體每13至15週一次投與。

【0200】 16. 如實施例1至11中任一項之方法，其中該雙特異性抗體每14至16週一次投與。

【0201】 17. 如實施例1至16中任一項之方法，其中結合至人類VEGF及人類ANG2之該雙特異性抗體為雙特異性二價抗VEGF/ANG2抗體，其包含特異性結合至人類VEGF之第一抗原結合位點及特異性結合至人類ANG-2之第二抗原結合位點，其中

i) 特異性結合至VEGF之該第一抗原結合位點在重鏈可變域中包含SEQ ID NO: 1之CDR3H區、SEQ ID NO: 2之CDR2H區及SEQ ID NO: 3之CDR1H區，且在輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 4之CDR3L區、SEQ ID NO: 5之CDR2L區及SEQ ID NO: 6之CDR1L區；且

ii) 特異性結合至ANG-2之該第二抗原結合位點在該重鏈可變域中包含SEQ ID NO: 9之CDR3H區、SEQ ID NO: 10之CDR2H區及SEQ ID NO: 11之CDR1H區，且在該輕鏈可變域中包含SEQ ID NO: 12之CDR3L區、SEQ ID NO: 13之CDR2L區及SEQ ID NO: 14之CDR1L區，且其中

iii) 該雙特異性抗體包含人類IgG1亞類之恆定重鏈區，該恆定重鏈

區包含突變I253A、H310A及H435A以及突變L234A、L235A及P329G (根據Kabat之EU索引編號)。

【0202】 18. 如實施例17之方法，其中

i) 特異性結合至VEGF之該第一抗原結合位點包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列作為重鏈可變域VH，且包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列作為輕鏈可變域VL，且

ii) 特異性結合至ANG-2之該第二抗原結合位點包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列作為重鏈可變域VH，且包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列作為輕鏈可變域VL。

【0203】 19. 如實施例18之方法，其中結合至人類VEGF及人類ANG2之該雙特異性抗體包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0204】 20. 如實施例17至19中任一項之方法，其中該雙特異性抗體(在各治療下)以約5至7 mg之劑量投與。

【0205】 21. 如實施例17至19中任一項之方法，其中該雙特異性抗體(在各治療時)以約6 mg之劑量(在一個實施例中(在各治療下)以6 mg +/- 10%之劑量；(在一個實施例中(在各治療下)以6 mg之劑量))投與。

【0206】 22. 如實施例20至21中任一項之方法，其中該雙特異性抗體以約30 mg/ml之濃度投與。

【0207】 23. 如實施例20至21中任一項之方法，其中該雙特異性抗體以約120 mg/ml之濃度投與。

【0208】 24. 如前述實施例中任一項之方法，其中罹患眼部血管疾病之患者先前未用抗VEGF治療(例如單一療法)進行治療(其為未治療

的)。

【0209】 25. 如前述實施例中任一項之方法，其中罹患眼部血管疾病之患者先前已用抗VEGF治療(例如單一療法)進行治療。

【0210】 26. 如前述實施例之方法，其中該眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括固定的每8週一次(Q8W)給藥時程(在一個實施例中治療開始包括每月5至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月6次投與)。

【0211】 27. 如前述實施例之方法，其中該眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括固定的Q12W給藥時程(在一個實施例中治療開始包括每月5至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月6次投與)。

【0212】 28. 如實施例27之方法，其中在治療開始之後，在該固定的Q12W給藥時程之前進行Q8W之前一個劑量週期。

【0213】 29. 如前述實施例之方法，其中該眼部血管疾病為DME，且在治療開始之後，對罹患DME之患者的治療包括給藥時程，該給藥時程在穩定沒有疾病之情況下延長投與間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔(在一個實施例中治療開始包括每月3至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月4至6次投與)。

【0214】 30. 如實施例29之方法，其中該給藥時程包括該患者視其疾病狀態而接受Q8W或Q12W或Q16W給藥(在一個實施例中視其疾病狀態而接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W給藥)。

【0215】 31. 如實施例28或29之方法，其中該穩定沒有疾病確定為-中央子域厚度(CST)增加了 $< 50\ \mu\text{m}$ ；及/或

-最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了< 5個字母

且該疾病活動性確定為

-中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50\ \mu\text{m}$ ；及/或

-最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0216】 32. 如實施例28或29之方法，其中該穩定沒有疾病確定為

-中央子域厚度(CST)低於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $295\ \mu\text{m}$)，

且該疾病活動性確定為

-中央子域厚度(CST)高於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $295\ \mu\text{m}$)。

【0217】 33. 如前述實施例之方法，其中在治療開始之後(在一個實施例中治療開始包括每月3至7次投與；在一個實施例中治療開始包括每月4至6次投與)，對罹患AMD (在一個實施例中濕性AMD)之患者的治療包括給藥時程，該給藥時程在穩定沒有疾病之情況下延長投與間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔。

【0218】 34. 如實施例33之方法，其中該給藥時程包括該患者視其疾病狀態而接受Q8W或Q12W或Q16W給藥(在一個實施例中視其疾病狀態而接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W給藥)。

【0219】 35. 如實施例33或34之方法，其中該穩定沒有疾病確定為

- 中央子域厚度(CST)增加了 $< 50\ \mu\text{m}$ ；及/或
- 最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 < 5 個字母

且該疾病活動性確定為

- 中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50\ \mu\text{m}$ ；及/或
- 最佳矯正視力(BCVA/ETDRS)減少了 ≥ 5 個字母。

【0220】 36. 如實施例33或34之方法，其中該穩定沒有疾病確定為

- 中央子域厚度(CST)低於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，低於 $295\ \mu\text{m}$)，

且該疾病活動性確定為

- 中央子域厚度(CST)高於約 $300\ \mu\text{m}$ (在一個實施例中用Spectralis™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $325\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Cirrus™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Topcon™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $315\ \mu\text{m}$ ；在一個實施例中用Optovue™裝置藉由頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)量測，高於 $295\ \mu\text{m}$)。

實例

用結合至人類VEGF及人類ANG2之雙特異性抗體治療罹患血管眼睛疾病之患者

實例1A：對罹患糖尿病性黃斑水腫(DME)之患者的治療之功效及耐久性目標

主要目標

【0221】 此研究之主要目標為：

為了評估結合至人類VEGF及人類ANG2之雙特異性抗體之功效，該雙特異性抗體包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列(此抗體VEGFang2-0016及其產生亦詳細描述於WO2014/009465中，其以引用之方式併入)，在患有涉及中央之糖尿病性黃斑水腫(CI-DME)之未治療的患者中與活性比較劑進行比較。本文中此雙特異性抗VEGF/ANG2抗體之名稱為RO6867461或RG7716或VEGFang2-0016或氟西匹單抗。使用RO6867461之無菌、無色至淺棕色、無防腐劑溶液之小瓶，用於每4週一次1.5 mg或6 mg劑量之IVT投與。雙特異性抗體之濃度為約120 mg/ml。

次要目標

【0222】 此研究之次要目標如下：

為了研究對RO6867461之作用機制告知之藥效學及解剖結果

為了研究血漿抗RO6867461抗體之形成

為了探究RO6867461之效果之持續時間

探究性目標

【0223】 此研究之探究性目標如下：

為了探究先前IVT 抗VEGF治療對RO6867461之功效之預測效果

為了評估RO6867461之功效及安全性，在患有先前IVT 抗VEGF治療之CI DME之患者中與活性比較劑進行比較。

為了評估對血管生成及發炎之標記物之血漿含量的RO6867461效果

為了研究RO6867461濃度，且若樣品體積允許，水狀液樣品(視情況選用)及玻璃體(視情況選用)中之血管生成及發炎之生物標記物

為了評估糖尿病性視網膜病變(DR)嚴重程度評分之改善

研究設計

【0224】 此為對患有CI-DME之患者的多中央、多劑量、隨機分組、活性比較劑對照、雙重遮蔽、三個平行組、36週的研究。

【0225】 此研究之三個組如下：

A組：0.3 mg 蘭尼單抗IVT

B組：1.5 mg RO6867461 IVT

C組：6 mg RO6867461 IVT

【0226】 僅選擇一隻眼睛作為研究眼睛。在兩隻眼睛符合所有合格準則之情況下，將具有較差BCVA之眼睛定義為研究眼睛。在兩隻眼睛符合所有合格準則且在第1天具有相同BCVA字母評分之情況下，研究眼睛選擇在研究者之判斷下進行。

患者數目

【0227】 將至多210名患者隨機分組。

【0228】 大約150名未治療的患者及約60名先前已用IVT抗VEGF治療之患者參與研究。

【0229】 大約50名未治療的患者隨機分組在各組(1:1:1隨機分組流

程)，且大約30名先前用IVT抗VEGF治療之患者隨機分組為A及C組。

目標群體

【0230】 患有CI-DME之 ≥ 18 歲之男性及女性。

納入/排除準則

納入準則

【0231】 患者必須滿足以下研究登記之準則：

研究眼睛之眼部準則：

【0232】 與DR相關之黃斑水腫藉由涉及黃斑中央之頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)定義為黃斑變厚：在篩選時用Spectralis™(Heidelberg)中央子域厚度(CST) $\geq 325 \mu\text{m}$ (在Spectralis™不可用時，以下裝置及CST臨限值為可接受的：Cirrus™之CST $\geq 315 \mu\text{m}$ ，Topcon之CST $\geq 315 \mu\text{m}$ ，Optovue™之CST $\geq 295 \mu\text{m}$)。

【0233】 視力降低可主要歸因於DME，在第1天對於早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表(20/40-20/320 Snellen等效)最佳矯正視力(BCVA)字母評分為73-24個字母(包括端點)。

【0234】 澄清的眼部介質及足夠的瞳孔擴張，以使得獲取良好品質之視網膜影像以確認診斷

通用準則：

【0235】 如藉由世界衛生組織(the World Health Organization)及/或美國糖尿病協會(American Diabetes Association)所定義，糖尿病(DM；1型或2型)之診斷

能夠且願意提供書面知情同意書且根據國際協調會議(International Conference on Harmonisation；ICH)及當地法規遵守研究方案。或者，

經合法授權之代表必須能夠根據ICH及當地法規來同意患者。

年齡 $\geq$ 18歲

【0236】 對於女性，其未絕經後(亦即，由FSH證實，在未進行激素置換之情況下，非療法誘導之閉經 $\geq$ 12個月)或以無菌手術方式(缺乏卵巢及/或子宮)同意保持禁慾或使用組合避孕方法，該等在治療期間每年造成 $< 1\%$ 之失敗率，且在最後一次劑量後至少通過4週。

【0237】 禁慾在當此與患者之較佳及常見生活方式一致時可接受。週期性禁慾(例如，日曆、排卵、症狀體溫法或排卵後方法)，且體外射精(withdrawal)不為可接受的避孕方法；

【0238】 每年預期失敗率 $< 1\%$ 之避孕方法之實例包括男性絕育、激素植入物、適當使用組合的口服或注射激素避孕藥及某些子宮內裝置。替代地，可組合兩種方法(例如，兩種障壁方法，諸如避孕套及子宮頸帽)以達成每年 $< 1\%$ 之失敗率，障壁方法必須始終補充有殺精子劑之使用。

【0239】 對於男性：同意在治療期期間在最後一次劑量之研究藥物之後至少4週使用避孕之障壁方法

【0240】 患者必須願意不參與包括研究性醫學產品(IMP)或裝置之任何其他臨床試驗直至當前研究完成。

排除準則

【0241】 滿足以下準則中之任一者的患者自研究登記排除：

研究眼睛之眼部準則：

高風險PDR之任何跡象定義為：

任何玻璃體或視網膜前出血

在臨床檢查時，等效於標準散瞳劑ETDRS 7-場之區域內之NVE $\geq$

1/2盤面積

在臨床檢查時NVD $\geq$ 1/3盤面積

在第1天之前3個月內之任何IVT抗VEGF治療

在第1天前之任何全視網膜光凝(PRP)治療

在第1天之前3個月內之任何黃斑雷射光凝

玻璃體內視網膜手術之病史

在第1天之前3個月內之任何IVT或眼周皮質類固醇治療。在第1天前Iluvien®或Ozurdex®植入物之任何病史將不經允許。

在第1天前3個月內之對用類固醇之白內障手術之併發症的任何白內障手術或治療

切口青光眼手術之病史

不受控青光眼(例如儘管用抗青光眼藥物治療，但視野漸進性喪失或定義為眼內壓[IOP] $\geq$ 25 mmHg)

研究眼睛中之併發性眼部病況：

虹膜紅變之病史

除可能混淆黃斑之評估或影響中央視覺之DME外的眼部疾病之任何當前或病史(例如年齡相關之黃斑變性、視網膜靜脈栓塞、葡萄膜炎、血管樣條紋、組織漿菌病、活性或無活性巨細胞病毒、病理性近視、視網膜剝離、黃斑牽引、黃斑白、顯著白內障)

任何當前眼部病況，其在研究者看來，將不會自黃斑水腫之消退改善視力喪失(例如，視窩萎縮、色素異常、緻密視窩下硬分泌出物、非視網膜病況)

在第1天任何活性眼部感染

在第1天任何活性眼內發炎(痕量級或以上)

以下眼睛之特徵：

在第1天之前7天內任何抗VEGF治療

任何視網膜病況，其在研究者看來可在自第1天之7天內需要抗VEGF治療

通用準則：

在第1天之前6個月內之任何全身性抗VEGF

在第1天前1個月內之任何嚴重疾病或嚴重手術程序

在第1天前1週內之任何發熱性疾病

在第1天之前12個月內之任何中風或心肌梗塞

不受控血壓(BP；定義為收縮 > 180 mmHg及/或舒張 >100 mmHg，同時患者休息)。若患者之初始讀數超過此等值，則可在篩選時段期間的同一天或另一天30分鐘或更長時間後取第二讀數。若患者之BP需要受抗高血壓藥物控制，則患者應在第1天之前至少1個月連續服用相同藥物。

在篩選時具有經糖基化血紅素HbA1c $> 12\%$ 之患者

【0242】 在第1天之前4個月內未經治療之糖尿病或口服抗糖尿病藥物或胰島素之起始，或在研究持續時間期間預期抗糖尿病藥物之變化

【0243】 在第1天之前6個月內需要腎移植、血液透析或腹膜透析或預期在該研究期間之任何時間需要血液透析或腹膜透析之腎衰竭

【0244】 其他疾病、代謝功能異常、身體檢查結果或臨床實驗室結果之病史，在研究者看來，得到禁忌使用IMP或可影響研究結果之解釋或致使患者處於治療併發症之高風險下的病況之合理懷疑

【0245】 對於有生育能力之女性，陽性血液妊娠測試

哺乳期女性

在第1天前之1個月內使用全身性皮質類固醇

已知對活性比較劑、螢光素、所用調配物之任何成分、擴張滴眼劑
或任何所用麻醉劑及抗微生物滴劑中之任一者超敏

符合使用活性比較劑之任何其他限制

在第1天之前3個月內用IMP之任何治療

研究時長

【0246】 對於如下各參與患者，研究總持續時間長達40週(自整個
研究完成篩選)：

篩選：長達4週

基線：第1天

研究治療投與時段：自第1天至第20週

觀測時段：自第20週直至第36週

安全性隨訪：在觀測時段期間及蘭尼單抗投與後7天

研究終點

【0247】 研究終點定義為最後一個患者最後一次觀測結果(LPLO)進
行之日期。預期LPLO在最後一個患者參與之後進行36週。

功效及藥效動力學結果量測

【0248】 主要分析群體為未治療的患者。額外分析可在總群體中及
在先前用IVT抗VEGF治療之患者中進行。

【0249】 此研究之主要功效結果量測為在未治療的患者中在第24週
相對於基線之BCVA之平均變化(ETDRS字母)。

藉由SD-OCT之解剖結果量測：

在第24週視窩中央點厚度相對於基線之平均變化

在第24週平均CST (1 mm直徑)相對於基線之平均變化

在第24週視網膜下及視網膜內流體之消退的患者比例

藉由眼底螢光素血管造影(FFA)之解剖結果量測

在第24週在黃斑處滲漏之消退的患者比例

在第24週視窩無血管區之尺寸相對於基線的變化

探究性結果量測

【0250】 此研究之探究性結果量測包括但不限於以下：

BCVA：

自未治療的患者與先前IVT抗VEGF之患者之間之基線的平均BCVA變化之差異(RO6867461之不同效果)

耐久性相關之探究性結果量測：

相比於第20週時之值，由於DME，CST增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ 及/或BCVA損失 ≥ 5 個字母之時間

第20週後用0.3 mg 蘭尼單抗之再治療之時間

結果

【0251】 主要功效分析包括所有隨機分組之患者，其中根據隨機分組指定之治療將患者分組。

【0252】 主要功效變數為基線至第24週之BCVA變化。主要功效分析使用重複量測之混合模型(Mixed Model for Repeated Measurement；MMRM)模型進行。

最佳矯正視力

【0253】 在由對研究藥物組分配遮蔽的經培訓及認證之VA檢查員擴

張眼睛之前量測4公尺之初始測試距離下的BCVA。

【0254】藉由使用三個Precision Vision™或Lighthouse距離清晰度圖表(改進之ETDRS圖表1、2及R)量測BCVA。向研究者提供VA手冊。在進行任何VA檢查之前獲得VA檢查員及VA檢查室認證。

【0255】對BCVA檢查員遮蔽研究眼睛及治療分配且將僅進行折射及BCVA評估(例如，視力規格手冊)。亦已對BCVA檢查員遮蔽患者之先前問診之BCVA字母評分，且僅知道來自先前問診之患者之折射資料。不允許BCVA檢查員進行涉及直接患者護理之任何其他任務。

表：研究眼睛中之基線眼部特徵

研究眼睛、所有患者、未治療的患者方案之所關注基線眼部特徵之概述：BP30099				
	0.3 mg 蘭尼單抗 (N=59)	1.5 mg RO6867461 (N=54)	6 mg RO6867461 (N=55)	所有患者 (N=168)
最佳矯正視力結果				
n	58	54	53	165
平均值(SD)	61.24 (9.87)	60.94 (11.11)	60.15 (10.80)	60.79 (10.53)
中值	64.00	63.50	63.00	63.00
最小值-最大值	33.0 - 73.0	35.0 - 85.0	25.0 - 73.0	25.0 - 85.0
最佳矯正視力分類				
n	58	54	53	165
20/40或更佳	13 (22.4%)	15 (27.8%)	11 (20.8%)	39 (23.6%)
20/200或更糟	4 (6.9%)	3 (5.6%)	3 (5.7%)	10 (6.1%)
好於20/200但糟於20/40	41 (70.7%)	36 (66.7%)	39 (73.6%)	116 (70.3%)
基線BCVA 20/40或好於/糟於20/40				
n	58	54	53	165
糟於20/40	45 (77.6%)	39 (72.2%)	42 (79.2%)	126 (76.4%)
20/40或更佳	13 (22.4%)	15 (27.8%)	11 (20.8%)	39 (23.6%)
基線BCVA 20/200或糟於/好於20/200				
n	58	54	53	165
好於20/200	54 (93.1%)	51 (94.4%)	50 (94.3%)	155 (93.9%)
20/200或更糟	4 (6.9%)	3 (5.6%)	3 (5.7%)	10 (6.1%)
中央子域厚度				
n	58	54	53	165
平均值(SD)	490.88 (139.01)	535.44 (163.13)	495.57 (132.70)	506.97 (145.95)
中值	476.00	489.00	466.00	478.00
最小值-最大值	316.0 - 999.0	302.0 - 1000.0	234.0 - 825.0	234.0 - 1000.0

【0256】 主要功效結果量測展示於圖1中。圖1顯示主要功效終點：

在至今未治療的患者之時間至第24週相對於基線之BCVA變化。VA2係指雙特異性抗VEGF/ANG2抗體RO6867461，其包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列(以6.0 mg或1.5 mg劑量在玻璃體內投與)，RBZ係指蘭尼單抗(Lucentis®) (以0.3 mg劑量在玻璃體內投與)。

相對於基線之中央子域厚度(CST)變化(研究眼睛)

【0257】 關鍵次要終點為CST(中央子域厚度)中相對於基線之變化。結果展示於圖2中。將包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列的雙特異性抗VEGF/ANG2抗體RO6867461 (以6.0 mg或1.5 mg劑量在玻璃體內投與)與蘭尼單抗(Lucentis®) (以0.3 mg劑量在玻璃體內投與)進行比較。此次要解剖終點定向支持BCVA主要結果。

耐久性/再治療時間

在觀測時段期間用蘭尼單抗治療之準則

【0258】 在最後一次劑量之研究治療(第20週問診)之後的各訪問時，評估BCVA且進行SD-OCT成像(除了第26週問診)。

【0259】 將在第24週獲得之BCVA及CST值與在第20週問診時獲得之彼等進行比較。將在第28週、第32週及第36週獲得之BCVA及CST值與第24週之彼等進行比較。

【0260】 若患者滿足以下兩個準則，則患者接受單次劑量之0.3 mg蘭尼單抗且退出研究：

- CST增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ ，
- 由於DME，BCVA減少了 ≥ 5 個字母

【0261】 結果展示於圖3中：基於藉由以下兩者評估之疾病活動性，圖3展示給藥中斷後再治療之時間(20週或6次每月一次劑量後=最後一次玻璃體內(IVT)投與後時間)：BCVA減少了 ≥ 5 個字母，且CST增加了 $\geq 50 \mu\text{m}$ 。將包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列的雙特異性抗VEGF/ANG2抗體RO6867461(以6.0 mg或1.5 mg劑量在玻璃體內投與)與蘭尼單抗(Lucentis®) (以0.3 mg劑量在玻璃體內投與)進行比較。

【0262】 出於概述，圖4表示與基於已公佈結果之DME的其他治療選項之示意性比較(比較以下藥劑：Lucentis® (蘭尼單抗)、Eylea® (阿柏西普)、布羅盧西珠單抗及VA2 (RO6867461/RG7716))。

實例1B：對罹患糖尿病性黃斑水腫(DME)之患者的治療之功效及耐久性

【0263】 在類似於根據實例1A之上述研究之另一研究中，患有DME (例如涉及中央之糖尿病性黃斑水腫(CI-DME))之患者用結合至人類VEGF及人類ANG2之雙特異性抗體治療，該雙特異性抗體包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。將在治療中使用例如阿柏西普及/或蘭尼單抗及/或溴魯珠單抗(brolucizumab)作為活性比較劑。患者包括未用抗VEGF治療的患者(先前未用使用例如阿柏西普及/或蘭尼單抗及/或溴魯珠單抗之抗VEGF單一療法治療))以及一組先前已用抗VEGF單一療法治療之患者。結合至人類VEGF及人類ANG2之相應雙特異性抗體之名稱為RO6867461或RG7716。使用RO6867461之無菌、無色至淺棕色、無防腐劑溶液之小瓶，用於1.5 mg或6 mg劑量之IVT投與。

【0264】 使用以下給藥時程中之一或多者：

a) 罹患DME之患者將在治療開始(例如6次初始每月一次注射)之後用固定的Q8W給藥時程治療

b) 罹患DME之患者將在治療開始(例如6次初始每月一次注射)之後用固定的Q12W給藥治療(在一個時程中，首先為Q8W給藥之一個週期)。

c) 罹患DME之患者將在治療開始(例如，3-7次初始每月一次注射)之後用給藥方案治療，該給藥方案在穩定沒有疾病之情況下延長注射間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔。該方案包括例如患者視其疾病狀態而接受Q4W/Q8W/Q12W/Q16W給藥。

【0265】 疾病穩定性評估將基於最佳矯正視力(BCVA)及CST以及基於光學同調斷層掃描技術(OCT)之視網膜厚度。結果量測及結果將如例如實例1A中所描述進行評估。主要終點將在45週與60週之間。

【0266】 在一個實施例中，罹患DME之患者為未治療的(先前未使用例如阿柏西普及/或蘭尼單抗及/或溴魯珠單抗之抗VEGF單一療法治療)。

【0267】 在一個實施例中，罹患DME之患者先前已用使用例如阿柏西普及/或蘭尼單抗及/或溴魯珠單抗之抗VEGF單一療法治療。

【0268】 在一個實施例中，在治療開始(例如，6次初始每月一次注射)之後，罹患DME之患者將用固定的Q8W給藥時程治療。

【0269】 在一個實施例中，在治療開始(例如，6次初始每月一次注射)之後，罹患DME之患者將用固定的Q12W給藥(在一個實施例中首先為Q8W給藥之一個週期)治療。

【0270】 在一個實施例中，罹患DME之患者將在治療開始(例如，3-7次初始每月一次注射)之後用給藥方案治療，該給藥方案在穩定沒有疾

病之情況下延長注射間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔。在一個實施例中，該方案包括患者視其疾病狀態而接受Q4w/Q8w/Q12w/Q16w給藥。

【0271】 在一個實施例中，罹患AMD之患者將在治療開始(例如，3-4次初始每月一次注射)之後用給藥方案治療，該給藥方案在穩定沒有疾病之情況下延長注射間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔。在一個實施例中，該方案包括患者視其疾病狀態而接受Q4W/Q8W/Q12W/Q16W給藥。

實例2A：對罹患年齡相關之黃斑變性(AMD)之患者的治療之功效及耐久性

目標及終點

【0272】 此研究已評估在患有新生血管性年齡相關之黃斑變性(nAMD)之患者中以12週與16週間隔投與的RO6867461之功效、安全性及藥物動力學。RO6867461為結合至人類VEGF及人類ANG2之雙特異性抗體，該雙特異性抗體包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列(此抗體VEGFang2-0016及其產生亦詳細描述於WO2014/009465中，其以引用之方式併入)。本文中此雙特異性抗VEGF/ANG2抗體之名稱為RO6867461或RG7716或VEGFang2-0016或氟西匹單抗。

【0273】 研究之特定目標及相應終點概述於下文中。

目標及相應終點

主要功效目標

- 為了評估在以12週及16週間隔投與時RO6867461對視力之功效

相應終點

- 使用ETDRS類似圖表在第40週相對於基線BCVA之平均變化

次要功效目標：

- 1)為了評估RO6867461對額外視力結果之功效

相應終點

- 使用ETDRS類似圖表隨時間相對於基線BCVA之平均變化
- 隨時間相對於基線BCVA獲得 ≥ 15 、 ≥ 10 、 ≥ 5 或 ≥ 0 個字母之患者

之比例

- 隨時間相對於基線BCVA避免 ≥ 15 、 ≥ 10 、 ≥ 5 或 ≥ 0 個字母之喪失

之患者之比例

- 隨時間20/40或更佳的BCVA之患者之比例
- 隨時間20/200或更糟的BCVA之患者之比例

- 2)為了使用SD-OCT評估RO6867461對解剖結果量測之功效

相應終點

- 隨時間CFT之相對於基線之平均變化
- 隨時間平均CST (1 mm直徑)之相對於基線之平均變化
- 隨時間患有視網膜內流體、視網膜下流體、囊腫或色素上皮剝離之

患者之比例

- 3)為了使用FFA評估RO6867461對解剖結果量測之功效

相應終點

- 在第40週及第52週CNV之總面積相對於基線之平均變化
- 在第40週及第52週CNV組分之總面積相對於基線之平均變化
- 在第40週及第52週滲漏之總面積相對於基線之平均變化

探究性功效目標

- 為了研究在第24週疾病活動性之發病率
相應終點
- 在第24週具有疾病活動性之患者之比例

安全性目標

- 為了評估在12週及16週間隔下多次IVT劑量之RO6867461之安全性
相應終點
- 眼部不良事件之發病率及嚴重程度
- 非眼部不良事件之發病率及嚴重程度
- 將以描述方式列舉及概述其他安全性資料，包括但不限於自研究退出之原因、實驗室資料、伴隨藥物治療、生命體徵及身體檢查結果。

探究性藥物動力學/藥效動力學目標

- 1)為了評估RO6867461之全身性PK概況
相應終點

- 在指定時間點RO6867461之血漿濃度

- 2)為了評估水狀液中RO6867461、蘭尼單抗、游離VEGF-A及Ang-2
概況

- 水狀液RO6867461濃度或PK參數與游離VEGF-A及Ang-2濃度之間之關係

- 相應終點

- 水狀液蘭尼單抗濃度或PK參數與游離VEGF-A及Ang-2濃度之間之關係
- 水狀液中游離VEGF-A及Ang-2濃度之時程

免疫原性目標

- 為了研究血漿抗RO6867461抗體之形成

相應終點

- 在研究期間ADA之發病率

探究性生物標記物目標

- 在基線及額外時間點探究水狀液中血管生成及發炎之潛在生物標記之水準以評估其對RO6867461之反應

相應終點

- 潛在生物標記物之水狀液濃度與主要及次要終點之間的關係

上文所用之縮寫：

ADA=抗藥物抗體；Ang-2=血管生成素-2；BCVA=最佳矯正視力；CFT=中央視窩厚度；CNV=脈絡膜新生血管；CST=中央子域厚度；ETDRS=早期治療糖尿病性視網膜病變研究；FFA=眼底螢光素血管造影；IVT=玻璃體內；PK=藥物動力學；SD-OCT=頻譜域光學同調斷層攝影術；VEGF-A=血管內皮生長因子A。

研究設計(圖5呈現研究設計之概述)

研究之描述

【0274】 此為第II階段、多中心、隨機分組、活性比較劑對照、所遮蔽個體及結果、平行組、52週的研究，以研究以12週與16週間隔投與之RO6867461在患有nAMD之未治療的患者中之功效、安全性及藥物動力學。

【0275】 大約75名患者參與且以2:2:1比率隨機分成三個治療組中之一者：

- A組(Q12W)：6 mg RO6867461玻璃體內(IVT)，每4週直至第12週(4次注射)，隨後6 mg RO6867461 IVT，每12週直至第48週(在第24週、第36週及第48週注射；3次注射)

- B組(Q16W)：6 mg RO6867461 IVT，每4週直至第12週(4次注射)，隨後6 mg RO6867461 IVT，每16週直至第48週(在第28週及第44週注射；2次注射)。在第24週疾病活動性之經方案定義之評估需要患有活動性疾病之B組患者(參見下文標準)，以針對研究之其餘部分轉換為6 mg RO6867461之12次每週給藥方案，其中注射在第24週開始且在第36週及第48週重複。

- C組(比較劑組)：0.5 mg 蘭尼單抗IVT，每4週持續48週(13次注射)。僅將選擇一隻眼睛作為研究眼睛。各患者之研究之總持續時間將為至多56週，如下分為：

- 篩選：在隨機分組之前至多4週或在與隨機分組同一日
- 隨機分組：第1天
- 研究治療投與：自第1天至第48週
- 最終問診：第52週

患者在研究治療投與4週內已經歷篩選檢查。若所有評估(除知情同意書外)在48小時內完成，則篩選及第1週/第1天(隨機分組)問診可以組合問診進行。在篩選(或組合篩選/第1天問診)期間，評估患者之合格性，包括眼底攝影術(FP)、頻譜域光學同調斷層攝影術(SD-OCT)及眼底螢光素血管造影(FFA)之中央審查以確保繼發於AMD之CNV符合研究中之預先界定的眼部準則。出於以下原因中之任一者，使基於篩選結果視為不符合條件的患者再篩選：

- 不受控血壓
- 投與原因(例如，不能在篩選問診之28天內時程第1天)
- 不符合研究眼睛之合格準則(在患者可能符合在初始篩選時段之後參與第二眼睛之條件下)

在再篩選時，進行所有篩選問診評估(除FFA成像收集以外)，其限制條件為在新的第1天問診(隨機分組)之前4週內取得中央讀數中央符合條件的的FFA影像。

【0276】 在第1天，符合條件的患者根據上文所述之隨機分組時程且遵循已確立的標準投與程序接受RO6867461或蘭尼單抗之其第一次IVT投與。患者在其第一次IVT投與之後7天及隨後每4週返回至眼睛診所，以便研究治療投與及評估，如方案中活動之時程中所概述。將假處理組IVT投與遞送至隨機分組為A組及B組之患者以維持整個研究時段中之遮蔽。

【0277】 在第24週評估所有患者之疾病活動性。將隨機分組為B組的在第24週患有活動性疾病之患者(參見以下準則)轉換為研究之其餘部分之6 mg RO6867461之Q12W給藥方案，其中注射在第24週開始且在第36週及第48週重複。

【0278】 若滿足以下準則中之任一者，則進行活動性疾病之測定：

- 中央子域厚度增加(相比於在最後2次問診(第16週及第20週)內之平均CST，根據Spectralis® OCT CST > 50 μm)

或

- 相比於在第16週或第20週記錄之最低CST，CST之增量 $\geq 75 \mu\text{m}$

或

- 由於nAMD疾病活動性，相比於在最後2次問診(第16週及第20週)

內之平均BCVA，最佳矯正視力(BCVA)減少至少5個字母

或

• 由於nAMD疾病活動性，相比於在第16週或第20週記錄之最高BCVA，BCVA減少 ≥ 10 個字母，或

• 歸因於nAMD活性之新黃斑出血之存在

患者將在第52週返回最終問診。在最終問診之後，應遵循不良事件，如方案中所概述。在不定期問診之情況下進行之評估由研究者酌情處理

患者數目：預期大約75名患有nAMD之未經治療之患者參與且在美國在此研究中隨機分組。

目標群體

納入準則

【0279】 患者滿足以下研究登記之準則：研究眼睛之眼部準則

• 繼發於AMD之未治療的CNV (nAMD)

• 具有藉由FFA或SD-OCT而與CNV活性相關之視窩下組分(如視網膜下流體、視網膜下超反射物質、滲漏跡象或出血所證明)之視窩下CNV或近視窩CNV

• 具有以下之所有類型(主要典型、最低限度典型或隱性)之CNV病變：藉由FFA總病變尺寸(包括血液、萎縮、纖維化及新生血管) ≤ 6 盤面積；及藉由FFA之總共病變尺寸之CNV組分面積 $\geq 50\%$ ；及藉由FFA (滲漏跡象)證實之活性CNV；及藉由SD-OCT證實之CNV分泌物(流體存在)

• 澄清的眼部介質及足夠的瞳孔擴張，以使得獲取良好品質之視網膜影像以確認診斷通用準則

- 簽署知情同意書
- 第1天年齡 ≥ 50 歲
- 在研究者之判斷下遵守研究方案之能力
- 對於有生育能力之女性：同意保持禁慾(避免異性性交)或使用在治療期期間及在研究治療之最後一次劑量之後至少28天具有每年 $< 1\%$ 之失敗率的避孕方法
- 患者必須願意不參與包括研究性醫藥產品(IMP)或裝置之任何其他臨床試驗直至當前研究完成

排除準則

滿足以下準則中之任一者的患者自研究登記排除：

研究眼睛之眼部準則

- 由於除AMD外之病因的CNV，諸如眼部組織漿菌病、創傷、病理性近視、血管樣條紋、脈絡膜破裂或葡萄膜炎
- 在篩選時中央漿液性脈絡膜視網膜病變
- 涉及黃斑之視網膜色素上皮撕裂
- 在FFA下，總病變面積之 $> 50\%$ 之視網膜下出血及/或涉及總病變面積之中央窩纖維化或萎縮 $> 50\%$ 及/或涉及中央窩之視網膜下出血
- CNV之任何先前或伴隨治療，包括(但不限於) IVT治療(類固醇；抗血管內皮生長因子[VEGF]；組織纖維蛋白溶酶原活化因子；微纖溶酶(ocriplasmin)；C3F8氣體；空氣)；眼周藥理學干預；氬氣LASER光凝；維替泊芬(verteporfin)光動力療法；二極體雷射；經瞳孔熱療法；或手術干預
- 在基線評估(第1天)之3個月內白內障手術
- 任何其他眼內手術(平坦部玻璃體切除術(pars plana vitrectomy)、

青光眼手術、角膜移植、放射線療法)

- 除用類固醇IVT治療管理白內障併發症外，先前IVT治療(包括抗VEGF藥物) • 對其他視網膜疾病併發性眼部病況之先前眼周藥理學干預

- 研究眼睛中之任何併發性眼內病況(例如，弱視、少晶狀體、視網膜剝離、白內障、糖尿病性視網膜病變或黃斑病或具有牽引之視網膜前膜)，在研究者看來，其可減少視覺改善之可能性或在研究過程期間需要醫學或手術干預

- 在第1天(在隨機分組之前)研究眼睛中之活性眼內發炎(痕量級或以上) • 在第1天根據早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)類似圖表(20/40至20/320 Snellen等效物)之BCVA字母評分為73至24個字母(包括端點)

- 研究眼睛中之當前玻璃體出血

- 研究眼睛中之不受控青光眼(例如儘管用抗青光眼藥物治療，但視野漸進性喪失或定義為眼內壓[IOP] ≥ 25 mmHg)

- 展現研究眼睛中近視之大於8屈光度的折射誤差之球形等效物

- 任一眼睛中特發性或自體免疫相關葡萄膜炎之病史

- 在第1天(在隨機分組之前)任一眼睛中之活性感染性結膜炎、角膜炎、鞏膜炎或內眼炎通用準則

- 在篩選前1個月內之任何嚴重疾病或嚴重手術程序

- 不受控血壓([BP]定義為收縮 > 180 mmHg及/或舒張 > 100 mmHg，同時患者休息)。若患者之初始讀數超過此等值，則可在篩選時段期間在同一天或在另一天採取第二讀數。若患者之BP受抗高血壓藥物控制，則患者應在第1天之前至少30天連續服用相同藥物。

- 在第1天之前3個月內之中風或心肌梗塞
- 其他疾病、代謝功能異常、身體檢查結果或臨床實驗室結果之病史，在研究者看來，得到禁忌使用研究性藥物或可影響研究結果之解釋或致使患者處於治療併發症之高風險下的病況之合理懷疑
- 懷孕或哺乳，或意欲在有生育能力之研究女性期間懷孕，必須在開始研究治療之前28天內具有陰性尿液妊娠測試結果。若尿液妊娠測試呈陽性，則其必須藉由血清妊娠測試證實。
- 已知對蘭尼單抗、螢光素、所用調配物之任何成分、擴張滴眼劑或所用麻醉劑及抗微生物滴劑中之任一者超敏
- 在開始研究治療之前3個月內，用研究性療法治療

研究終點

【0280】 研究終點定義為最後一個患者最後一次問診(LPLV)進行之日期。預期LPLV在最後一個患者參與之後進行52週。

研究時長

【0281】 預期自篩選第一患者至研究終點之研究的總長度為大約18-19個月。

研究性醫藥產品測試產品

【0282】 提供呈無菌、無色至淺棕色液體狀之RO6867461藥品(120 mg/mL)且不含防腐劑。使用RO6867461之無菌、無色至淺棕色、無防腐劑溶液之小瓶，用於6 mg劑量之IVT投與。雙特異性抗體之濃度為約120 mg/ml。

劑量及投與，

RO6867461、蘭尼單抗及假處理組

【0283】 根據如下所述之隨機分組時程給與患者50 µL IVT注射之RO6867461或蘭尼單抗至研究眼睛中或假處理組投與。

- A組(Q12W)：6 mg RO6867461 IVT，每4週直至第12週(4次注射)，隨後6 mg RO6867461 IVT，每12週直至第48週(在第24週、第36週及第48週注射；3次注射)

- B組(Q16W)：6 mg RO6867461 IVT，每4週直至第12週(4次注射)，隨後6 mg RO6867461 IVT，每16週直至第48週(在第28週及第44週注射；2次注射)

- C組(比較劑組)：每4週0.5 mg蘭尼單抗IVT，持續48週(13次注射)
僅選擇一隻眼睛作為研究眼睛。

研究評估

【0284】 在若干評估一致時之時間點，由研究者酌情處理，建議以下順序。除明確陳述為必選(亦即，呈斜體之文字)外，可調整次序以使現場人員及患者之時間管理最佳化：

- 生命體徵

- 血液取樣：在進行FFA之問診時，可由相同靜脈導管進行血液取樣及血管造影。必須在血管造影之前收集血液樣品。

- 眼部評估及成像

BCVA：在瞳孔擴張之前必須進行BCVA。在篩選及第1天問診時，BCVA可在生命體徵及血液取樣之前進行以避免彼等患者之不必要研究，該等患者可能由於BCVA字母評分而為篩選失敗。

裂隙燈檢查

瞳孔擴張

SD-OCT

FP (+紅外反射率)

FFA

擴張雙眼間接高放大率檢眼鏡

IOP：在所有成像評估之後必須進行，且應在整個研究時段中使用相同方法

- 水狀液取樣(視情況選用)

疾病特異性評估

除非另外指出，否則在活動時程(附錄1)中，對兩隻眼睛進行所有眼部評估。

最佳矯正視力

【0285】 在4米之初始測試距離下之BCVA在由遮蔽研究眼睛及治療分配之經訓練及認證之視力(VA)檢查員來擴張眼睛之前量測。

【0286】 使用三個Precision Vision™或Lighthouse距離清晰度圖表(改進之ETDRS圖表1、2及R)量測BCVA。向研究者提供VA程序手冊。在進行任何VA檢查之前獲得VA檢查員及VA檢查室認證。

【0287】 對BCVA檢查員遮蔽研究眼睛及治療分配且將進行折射及BCVA評估(例如，VA規格手冊)。亦已對BCVA檢查員遮蔽患者之先前問診之BCVA字母評分，且可僅知道來自先前問診之患者折射資料。

額外眼部評估

【0288】 在研究期間進行之額外眼部評估包括以下：

- 裂隙燈檢查(分級閃焰/細胞之等級及玻璃體出血密度在附錄2中詳述)

- 擴張雙眼間接高放大率檢眼鏡
- IOP

【0289】 用於患者之IOP量測之方法在整個研究中保持恆定。在所有成像之後進行兩隻眼睛之IOP量測。

【0290】 在研究治療劑問診時，IOP壓力在研究治療投與之前及研究眼睛中治療投與後30 (± 15)分鐘進行，且若IOP $\geq$ 30 mmHg，則IOP應在30 (± 15)分鐘後再評估。若IOP繼續升高，則由研究者酌情處理進行治療。

- 手指計數視覺評估

【0291】 在研究眼睛中，在研究治療投與後立即(治療投與後15分鐘內之最大值)藉由適當時測試手指計數視覺、手運動或光感知來評估各患者之治療後視神經頭灌注。

眼部成像

【0292】 中央讀數中央與中央讀書中央手冊及訓練材料一起提供用於研究指定眼部成像之部位。在獲得研究影像之前，由讀數中央認證現場人員及成像系統(適用時)，如中央讀數中央手冊中所指定。所有研究個體眼部影像僅由經訓練且中央讀數中央認證人員在研究部位之認證/登記設備上獲得。將所有研究個體眼部影像之複本轉移至中央讀數中央供儲存且進行獨立分析，包括確認定義影像相關準則之合格性。

疾病活動性之第24週評估

【0293】 在第24週評估所有患者之疾病活動性。將隨機分組為B組的在第24週患有活動性疾病之患者(參見以下準則)轉換為研究之其餘部分之6 mg RO6867461之Q12W給藥方案，其中注射在第24週開始且在第36

週及第48週重複。

【0294】 若滿足以下準則中之任一者，則進行活動性疾病之測定：

- 相比於在最後2次問診(第16週及第20週)內之平均CST，CST之增量 $> 50 \mu\text{m}$

或

- 相比於在第16週或第20週記錄之最低CST，CST之增量 $\geq 75 \mu\text{m}$

或

由於nAMD疾病活動性，相比於在最後2次問診(第16週及第20週)內之平均BCVA，BCVA減少至少5個字母

或

- 由於nAMD疾病活動性，相比於在第16週或第20週記錄之最高BCVA，BCVA減少 ≥ 10 個字母

或

- 歸因於nAMD活性之新黃斑出血之存在

結果

最佳矯正視力(BCVA)及BCVA增加之持久性(再治療以維持BCVA增加之時間)

【0295】 主要功效結果量測展示於圖6中。圖6顯示主要功效終點：至第40週隨時間相對於基線之BCVA變化。RO6867461係指雙特異性抗VEGF/ANG2抗體RO6867461，其包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列(以6.0 mg劑量Q12W或Q16W在玻璃體內投與)，蘭尼單抗(Lucentis®)以0.3 mg劑量Q4W在玻璃體內投與。針對RO6867461 Q12W或Q16W組及在與蘭尼單抗

(Lucentis®) Q4W組類似之範圍內完全維持初始BCVA增加。

相對於基線之中央子域厚度(CST)變化(研究眼睛)

【0296】 關鍵次要終點為CST(中央子域厚度)中相對於基線之變化。結果展示於圖7中。將包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列的雙特異性抗VEGF/ANG2抗體RO6867461 (以6.0 mg劑量Q12W或Q16W在玻璃體內投與)與蘭尼單抗(Lucentis®) (以0.3 mg劑量Q4W在玻璃體內投與)進行比較。此次要解剖終點定向支持BCVA主要結果。與蘭尼單抗相比，在治療開始期間用雙特異性抗VEGF/ANG2抗體RO6867461大大降低CST。

實例2B：對罹患年齡相關之黃斑變性(AMD)之患者的治療之功效及耐久性

【0297】 在根據實例2A類似於上述研究之另一研究中，罹患AMD (例如，濕性年齡相關之黃斑變性(wAMD)，尤其新生血管性AMD)之患者用結合至人類VEGF及人類ANG2之雙特異性抗體治療，該雙特異性抗體包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。將使用例如阿柏西普及/或蘭尼單抗及/或溴魯珠單抗之治療作為活性比較劑。患者包括未用抗VEGF治療的患者(先前未用抗VEGF單一療法治療，例如，阿柏西普及/或蘭尼單抗及/或溴魯珠單抗)，以及一組患者，其先前已用抗VEGF單一療法治療，例如，阿柏西普及/或蘭尼單抗及/或溴魯珠單抗。結合至人類VEGF及人類ANG2之相應雙特異性抗體之名稱為RO6867461或RG7716。使用RO6867461之無菌、無色至淺棕色、無防腐劑溶液之小瓶，用於1.5 mg或6 mg劑量之IVT投與。

【0298】 例如，使用以下給藥時程：

罹患AMD之患者將在治療開始(例如，3-7次初始每月一次注射)之後用給藥方案治療，該給藥方案在穩定沒有疾病之情況下延長注射間隔，或若存在疾病活動性，則縮短該間隔。該方案包括例如患者視其疾病狀態而接受Q4W/Q8W/Q12W/Q16W給藥。

【0299】 疾病穩定性評估將基於最佳矯正視力(BCVA)及CST以及基於光學同調斷層掃描技術(OCT)之視網膜厚度。結果量測及結果將如例如實例1A中所描述進行評估。主要終點將在45週與60週之間。

實例3

抗VEGF/ANG2抗體與VEGF、Ang2、FcγR及FcRn之結合 VEGF同功異型物動力學親和力，包括評估物種交叉反應性

【0300】 藉由使用GE Healthcare所供應之胺偶合套組在pH 5.0下於CM5晶片(GE Healthcare BR-1005-30)上偶合捕捉系統(10 μg/ml山羊抗人類F(ab')₂；命令碼：28958325；GE Healthcare Bio-Sciences AB, Sweden)之約12000個共振單位(RU)。樣品及系統緩衝液為PBS-T (10 mM磷酸鹽緩衝鹽水，包括0.05% Tween® 20) pH 7.4。將流動槽設置為25℃，且將樣品區塊設置為12℃，且用操作緩衝液預塗佈兩次。藉由以5 μl/min之流動注射50 nM溶液持續30秒，捕捉雙特異性抗體。在1:3稀釋液中以300 nM起始，以30 μl/min之流動在溶液中以各種濃度藉由注射人類hVEGF121、小鼠mVEGF120或大鼠rVEGF164持續300秒量測相關性。解離階段經監測長達1200秒且藉由自樣品溶液轉換為操作緩衝劑來觸發。以30 μl/min之流動速率，用甘胺酸pH 2.1溶液洗滌60秒使表面再生。藉由減去自山羊抗人類F(ab')₂表面獲得之反應來校正整體折射率差異。亦減去空白注射(=二次參考)。為計算表觀K_D及其他動力學參數，使

用朗格繆爾(Langmuir) 1:1模型。結果展示於表5中。

包括評估物種交叉反應性之Ang2溶液親和力

【0301】 溶液親和力藉由測定自由相互作用搭配物在平衡混合物中之濃度來量測相互作用之親和力。溶液親和力分析涉及將<VEGF-ANG-2>雙特異性抗體(保持恆定濃度)與不同濃度之配位體(= Ang2)混合。使用由GE Healthcare供應之胺偶合套組將抗體之最大可能共振單位(例如17000個共振單位(RU))在pH 5.0下固定在CM5晶片(GE Healthcare BR-1005-30)表面上。樣品及系統緩衝液為HBS-P pH 7.4。將流動槽設置為25℃，且將樣品區塊設置為12℃，且用操作緩衝液預塗佈兩次。為了產生校準曲線，將遞增濃度之Ang2注射至含有固定VEGF-ANG-2>雙特異性抗體之BIAcore™流動槽中。結合Ang2之量以共振單位(RU)確定，且相對於濃度繪製。將各配位體之溶液(對於VEGF-ANG-2>雙特異性抗體，0至200 nM之11種濃度)與10 nM Ang2一起培育且使其在室溫下達至平衡。自由Ang2濃度由在量測具有已知量之Ang2之溶液的反應之前及之後產生的校準曲線測定。使用模型201，使用自由Ang2濃度作為y軸及所用濃度之抑制之抗體作為x軸，用XLfit4 (IDBS軟體)固定4個參數擬合。親和力藉由測定此曲線之拐點來計算。藉由用0.85% H₃PO₄溶液以30 µl/min之流動速率洗滌30秒一次使表面再生。藉由減去自空白偶合表面獲得之反應來校正整體折射率差異。結果展示於表6中。

FcRn穩定狀態親和力

【0302】 對於FcRn量測，穩定狀態親和力用於比較針對彼此之雙特異性抗體。將人類FcRn稀釋至偶合緩衝液(10 µg/ml，Na-Acetate pH5.0)中且藉由使用達至200 RU之最終反應之BIAcore™靶向固定程序而固定於

C1-晶片(GE Healthcare BR-1005-35)上。將流動槽設置為25℃，且將樣品區塊設置為12℃，且用操作緩衝液預塗佈兩次。樣品及系統緩衝液為PBS-T (10 mM磷酸鹽緩衝鹽水，包括0.05% Tween® 20) pH 6.0。為評估各抗體之不同IgG濃度，製備62.5 nM、125 nM及250 nM、500 nM之濃度。將流動速率設置為30 μ l/min且不同樣品連續注射至晶片表面上，選擇180秒相關性時間。藉由以30 μ l/min之流動速率注射PBS-T pH 8持續60秒使表面再生。藉由減去自空白表面獲得之反應來校正整體折射率差異。亦減去緩衝液注射(=二次參考)。為了計算穩定狀態親和力，使用來自Bia-Evaluation軟體之方法。簡言之，相對於分析濃度繪製RU值(RU最大值)，得到劑量-反應曲線。基於2個參數擬合，計算上部漸近線，從而允許測定半最大RU值，且因此測定親和力。結果展示於圖5及表7中。類似地，可測定對食蟹獼猴、小鼠及兔FcRn之親和力。

Fc γ RIIIa量測

【0303】對於Fc γ RIIIa量測，使用直接結合分析。在pH 5.0下藉由使用由GE Healthcare供應之胺偶合套組將捕捉系統(1 μ g/ml Penta-His；Qiagen)之約3000個共振單位(RU)偶合於CM5晶片(GE Healthcare BR-1005-30)上。樣品及系統緩衝液為HBS-P+ pH 7.4。將流動槽設置為25℃，且將樣品區塊設置為12℃，且用操作緩衝液預塗佈兩次。藉由以5 μ l/min之流動注射100 nM溶液持續60秒，捕捉Fc γ RIIIa-His-抗體。藉由以30 μ l/min之流動注射100 nM之雙特異性抗體或單特異性對照抗體(IgG1亞類及IgG4亞類抗體之抗Dig)持續180秒來量測結合。以30 μ l/min之流動速率，用甘胺酸pH 2.5溶液洗滌120秒使表面再生。由於Fc γ RIIIa結合不同於朗格繆爾1:1模型，僅結合/無結合藉由此分析測定。以類似方式，可測

定FcγRIa及FcγRIIa結合。結果展示於圖6中，其中其後藉由引入突變P329G LALA，不可偵測到更多與FcγRIIIa之結合。

獨立VEGF及Ang2與<VEGF-ANG-2>雙特異性抗體之結合之評估

【0304】 在pH 5.0下藉由使用由GE Healthcare供應之胺偶合套組將捕捉系統(10 µg/ml山羊抗人類IgG；GE Healthcare Bio-Sciences AB, Sweden)之約3500個共振單位(RU)偶合於CM4晶片(GE Healthcare BR-1005-34)上。樣品及系統緩衝液為PBS-T (10 mM磷酸鹽緩衝鹽水，包括0.05% Tween® 20) pH 7.4。將流動槽之溫度設置為25℃且將樣品區塊之溫度設置為12℃。在捕捉之前，將流動槽用操作緩衝液預塗佈兩次。

【0305】 藉由以5 µl/min之流動注射10 nM溶液持續60秒，捕捉雙特異性抗體。藉由測定依序或同時添加(30 µl/min之流動)之各配位體之活性結合能力來分析各配位體與雙特異性抗體之獨立結合：

1. 注射濃度為200 nM之人類VEGF持續180秒(鑑別抗原之單一結合)。
2. 注射濃度為100 nM之人類Ang2持續180秒(鑑別抗原之單一結合)。
3. 注射濃度為200 nM之人類VEGF持續180秒，隨後再注射濃度為100 nM之人類Ang2持續180秒(鑑別在VEGF存在下Ang2之結合)。
4. 注射濃度為100 nM之人類Ang2持續180秒，隨後再注射濃度為200 nM之人類VEGF (鑑別在Ang2存在下VEGF之結合)。
5. 共同注射濃度為200 nM之人類VEGF及濃度為100 nM之人類Ang2持續180秒(同時鑑別VEGF及Ang2之結合)。

【0306】 以30 µl/min之流動速率，用3mM MgCl₂溶液洗滌60秒使

表面再生。藉由減去自山羊抗人類IgG表面獲得之反應來校正整體折射率差異。

【0307】 若方法3、4及5之所得最終信號等於或類似於方法1及2之個別最終信號之總和，則雙特異性抗體能夠獨立地結合兩種抗原。結果展示於下表中，其中展示VEGFang2-0016 (= RO6867461)，能夠獨立於VEGF及ANG2相互結合。

VEGF-及Ang2與<VEGF-ANG-2>雙特異性抗體同時結合之評估

【0308】 首先，在pH 5.0下藉由使用由GE Healthcare供應之胺偶合套組將VEGF (20 µg/ml)之約1600個共振單位(RU)偶合於CM4晶片(GE Healthcare BR-1005-34)上。樣品及系統緩衝液為PBS-T (10 mM磷酸鹽緩衝鹽水，包括0.05% Tween® 20) pH 7.4。將流動槽設置為25℃，且將樣品區塊設置為12℃，且用操作緩衝液預塗佈兩次。其次，以30 µl/min之流動注射雙特異性抗體之50 nM溶液維持180秒。第三，以30 µl/min之流動注射hAng-2維持180秒。hAng-2之結合反應視結合至VEGF之雙特異性抗體之量而定且展示同時結合。藉由用0.85% H3PO4溶液以30 µl/min之流動速率洗滌60秒使表面再生。同時結合由與先前VEGF結合<VEGF-ANG-2>雙特異性抗體之hAng2之額外特異性結合信號展示。

表：結果：對來自不同物種之VEGF同功異型物的動力學親和力

	VEGFang2-0016-表觀親和力
人類VEGF 121	≤1 pM (出自Biacore規格)
小鼠VEGF 120	無結合
大鼠VEGF 164	14 nM

表：結果：針對Ang2之溶液親和力

	VEGFang2-0016 KD [nM]
人類Ang2	20
食蟹獼猴Ang2	13
小鼠Ang2	13
兔Ang2	11

表：結果：<VEGF-ANG-2>雙特異性抗體之FcRn之親和力

	VEGFang2-0016 [affinity]
人類FcRn	無結合
食蟹獼猴FcRn	無結合
小鼠FcRn	無結合

表：與FcγRI-IIIa之結合結果

	VEGFang2-0016
FcγRIa	無結合
FcγRIIa	無結合
FcγRIIIa	無結合

表：結果：VEGF及Ang2與<VEGF-ANG-2>雙特異性抗體之獨立結合

	1) Ang2 [RU最 大值]	2) VEGF [RU最 大值]	3)首先VEGF 其次Ang2 [RU 最大值]	4)首先Ang2其 次VEGF [RU 最大值]	5)共同注射 Ang2+VEGF [RU 最大值]
VEGFang2-0016	174	50	211	211	211

【序列表】

<110> 美商建南德克公司（GENENTECH, INC.）

<120> 眼科疾病之治療

<130> P34648

<140>

<141> 2019-02-11

<150> US 62/627,103

<151> 2018-02-06

<150> US 62/729,333

<151> 2018-09-10

<160> 27

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 重鏈 CDR3H, <VEGF>蘭尼單抗

<400> 1

Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 重鏈 CDR2H, <VEGF>蘭尼單抗

<400> 2

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys
1 5 10 15

Arg

<210> 3
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重鏈 CDR1H, <VEGF>蘭尼單抗

<400> 3

His Tyr Gly Met Asn
1 5

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 輕鏈 CDR3L, <VEGF>蘭尼單抗

<400> 4

Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 輕鏈 CDR2L, <VEGF>蘭尼單抗

<400> 5

Phe Thr Ser Ser Leu His Ser
1 5

<210> 6
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>

<223> 輕鏈 CDR1L, <VEGF>蘭尼單抗

<400> 6

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 7

<211> 123

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 重鏈可變域 VH, <VEGF>蘭尼單抗

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Asp Phe Thr His Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL, <VEGF>蘭尼單抗

<400> 8

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 9
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重鏈 CDR3H, <ANG-2> Ang2i_LC10 變異體

<400> 9

Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Pro Gly
1 5 10 15

Ala Phe Asp Ile
20

<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重鏈 CDR2H, <ANG-2> Ang2i_LC10 變異體

<400> 10

Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重鏈 CDR1H, <ANG-2> Ang2i_LC10 變異體

<400> 11

Gly Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 輕鏈 CDR3L, <ANG-2> Ang2i_LC10 變異體

<400> 12

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Trp Val
1 5 10

<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 輕鏈 CDR2L, <ANG-2> Ang2i_LC10 變異體

<400> 13

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser
1 5

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 輕鏈 CDR1L, <ANG-2> Ang2i_LC10 變異體

<400> 14

Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His
1 5 10

<210> 15
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 重鏈可變域 VH, <ANG-2> Ang2i_LC10 變異體

<400> 15

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 16
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL, <ANG-2> Ang2i_LC10 變異體

<400> 16

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser
100 105 110

<210> 17
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 具有AAA突變及P329G LALA突變(VEGFang2-0016)之
<VEGF-ANG-2>CrossMAb IgG1之重鏈1

<400> 17

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Asp Phe Thr His Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala	Lys	Tyr	Pro	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Thr	Ser	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
100				105				110							
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
115				120				125							
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
130				135				140							
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
145				150				155				160			
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
165				170				175							
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
180				185				190							
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
195				200				205							
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
210				215				220							
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala
225				230				235				240			
Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
245				250				255							
Leu	Met	Ala	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
260				265				270							
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
275				280				285							
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser

290

295

300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu

305310315320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala

325330335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

340345350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln

355360365

Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

370375380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

385390395400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

405410415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

420425430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

435440445

Leu Ser Pro
450

<210> 18
<211> 461
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 具有AAA突變及P329G LALA突變(VEGFang2-0016)之

<VEGF-ANG-2>CrossMAb IgG1之重鏈2

<400> 18

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Asp Lys Thr His
225 230 235 240

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

<210> 19
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 具有AAA突變及P329G LALA突變(VEGFang2-0016)之
<VEGF-ANG-2>CrossMAb IgG1之輕鏈1

<400> 19

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 20
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 具有AAA突變及P329G LALA突變(VEGFang2-0016)之
<VEGF-ANG-2>CrossMAb IgG1之輕鏈2

<400> 20

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
115 120 125

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
180 185 190

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys
210

<210> 21
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 22
<211> 105
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 23
<211> 328
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
				85					90					95		
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	
			100					105					110			
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	
		115					120					125				
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	
	130					135				140						
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	
145					150				155						160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	
			165					170						175		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	
			180					185					190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	
		195					200					205				
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	
	210					215					220					
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	
225					230					235					240	
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
			245						250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	
		260						265					270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	

275

280

285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 24
<211> 191
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24

Met Asn Phe Leu Leu Ser Trp Val His Trp Ser Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

Tyr Leu His His Ala Lys Trp Ser Gln Ala Ala Pro Met Ala Glu Gly
20 25 30

Gly Gly Gln Asn His His Glu Val Val Lys Phe Met Asp Val Tyr Gln
35 40 45

Arg Ser Tyr Cys His Pro Ile Glu Thr Leu Val Asp Ile Phe Gln Glu
50 55 60

Tyr Pro Asp Glu Ile Glu Tyr Ile Phe Lys Pro Ser Cys Val Pro Leu
65 70 75 80

Met Arg Cys Gly Gly Cys Cys Asn Asp Glu Gly Leu Glu Cys Val Pro
85 90 95

Thr Glu Glu Ser Asn Ile Thr Met Gln Ile Met Arg Ile Lys Pro His
100 105 110

Gln	Gly	Gln	His	Ile	Gly	Glu	Met	Ser	Phe	Leu	Gln	His	Asn	Lys	Cys	
		115					120					125				
Glu	Cys	Arg	Pro	Lys	Lys	Asp	Arg	Ala	Arg	Gln	Glu	Asn	Pro	Cys	Gly	
	130					135					140					
Pro	Cys	Ser	Glu	Arg	Arg	Lys	His	Leu	Phe	Val	Gln	Asp	Pro	Gln	Thr	
145					150				155					160		
Cys	Lys	Cys	Ser	Cys	Lys	Asn	Thr	Asp	Ser	Arg	Cys	Lys	Ala	Arg	Gln	
				165				170					175			
Leu	Glu	Leu	Asn	Glu	Arg	Thr	Cys	Arg	Cys	Asp	Lys	Pro	Arg	Arg		
		180					185					190				
<210>	25															
<211>	496															
<212>	PRT															
<213>	智人															
<400>	25															
Met	Trp	Gln	Ile	Val	Phe	Phe	Thr	Leu	Ser	Cys	Asp	Leu	Val	Leu	Ala	
1			5					10					15			
Ala	Ala	Tyr	Asn	Asn	Phe	Arg	Lys	Ser	Met	Asp	Ser	Ile	Gly	Lys	Lys	
			20					25					30			
Gln	Tyr	Gln	Val	Gln	His	Gly	Ser	Cys	Ser	Tyr	Thr	Phe	Leu	Leu	Pro	
	35						40					45				
Glu	Met	Asp	Asn	Cys	Arg	Ser	Ser	Ser	Ser	Pro	Tyr	Val	Ser	Asn	Ala	
	50					55				60						
Val	Gln	Arg	Asp	Ala	Pro	Leu	Glu	Tyr	Asp	Asp	Ser	Val	Gln	Arg	Leu	
65				70					75					80		
Gln	Val	Leu	Glu	Asn	Ile	Met	Glu	Asn	Asn	Thr	Gln	Trp	Leu	Met	Lys	
			85					90					95			

Leu	Glu	Asn	Tyr	Ile	Gln	Asp	Asn	Met	Lys	Lys	Glu	Met	Val	Glu	Ile	
			100					105					110			
Gln	Gln	Asn	Ala	Val	Gln	Asn	Gln	Thr	Ala	Val	Met	Ile	Glu	Ile	Gly	
		115					120				125					
Thr	Asn	Leu	Leu	Asn	Gln	Thr	Ala	Glu	Gln	Thr	Arg	Lys	Leu	Thr	Asp	
	130				135						140					
Val	Glu	Ala	Gln	Val	Leu	Asn	Gln	Thr	Thr	Arg	Leu	Glu	Leu	Gln	Leu	
145				150						155					160	
Leu	Glu	His	Ser	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys	Leu	Glu	Lys	Gln	Ile	Leu	Asp	
			165					170					175			
Gln	Thr	Ser	Glu	Ile	Asn	Lys	Leu	Gln	Asp	Lys	Asn	Ser	Phe	Leu	Glu	
		180					185						190			
Lys	Lys	Val	Leu	Ala	Met	Glu	Asp	Lys	His	Ile	Ile	Gln	Leu	Gln	Ser	
	195					200					205					
Ile	Lys	Glu	Glu	Lys	Asp	Gln	Leu	Gln	Val	Leu	Val	Ser	Lys	Gln	Asn	
	210					215					220					
Ser	Ile	Ile	Glu	Glu	Leu	Glu	Lys	Lys	Ile	Val	Thr	Ala	Thr	Val	Asn	
225					230					235					240	
Asn	Ser	Val	Leu	Gln	Lys	Gln	Gln	His	Asp	Leu	Met	Glu	Thr	Val	Asn	
			245					250						255		
Asn	Leu	Leu	Thr	Met	Met	Ser	Thr	Ser	Asn	Ser	Ala	Lys	Asp	Pro	Thr	
		260						265					270			
Val	Ala	Lys	Glu	Glu	Gln	Ile	Ser	Phe	Arg	Asp	Cys	Ala	Glu	Val	Phe	
		275					280					285				
Lys	Ser	Gly	His	Thr	Thr	Asn	Gly	Ile	Tyr	Thr	Leu	Thr	Phe	Pro	Asn	

290					295					300					
Ser	Thr	Glu	Glu	Ile	Lys	Ala	Tyr	Cys	Asp	Met	Glu	Ala	Gly	Gly	Gly
305					310					315					320
Gly	Trp	Thr	Ile	Ile	Gln	Arg	Arg	Glu	Asp	Gly	Ser	Val	Asp	Phe	Gln
				325						330				335	
Arg	Thr	Trp	Lys	Glu	Tyr	Lys	Val	Gly	Phe	Gly	Asn	Pro	Ser	Gly	Glu
			340					345					350		
Tyr	Trp	Leu	Gly	Asn	Glu	Phe	Val	Ser	Gln	Leu	Thr	Asn	Gln	Gln	Arg
		355					360					365			
Tyr	Val	Leu	Lys	Ile	His	Leu	Lys	Asp	Trp	Glu	Gly	Asn	Glu	Ala	Tyr
	370					375					380				
Ser	Leu	Tyr	Glu	His	Phe	Tyr	Leu	Ser	Ser	Glu	Glu	Leu	Asn	Tyr	Arg
385					390					395					400
Ile	His	Leu	Lys	Gly	Leu	Thr	Gly	Thr	Ala	Gly	Lys	Ile	Ser	Ser	Ile
				405						410				415	
Ser	Gln	Pro	Gly	Asn	Asp	Phe	Ser	Thr	Lys	Asp	Gly	Asp	Asn	Asp	Lys
			420						425				430		
Cys	Ile	Cys	Lys	Cys	Ser	Gln	Met	Leu	Thr	Gly	Gly	Trp	Trp	Phe	Asp
		435					440					445			
Ala	Cys	Gly	Pro	Ser	Asn	Leu	Asn	Gly	Met	Tyr	Tyr	Pro	Gln	Arg	Gln
	450					455						460			
Asn	Thr	Asn	Lys	Phe	Asn	Gly	Ile	Lys	Trp	Tyr	Tyr	Trp	Lys	Gly	Ser
465					470					475					480
Gly	Tyr	Ser	Leu	Lys	Ala	Thr	Thr	Met	Met	Ile	Arg	Pro	Ala	Asp	Phe
				485					490					495	

<210> 26
<211> 498
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

Met	Thr	Val	Phe	Leu	Ser	Phe	Ala	Phe	Leu	Ala	Ala	Ile	Leu	Thr	His
1			5					10					15		
Ile	Gly	Cys	Ser	Asn	Gln	Arg	Arg	Ser	Pro	Glu	Asn	Ser	Gly	Arg	Arg
		20					25					30			
Tyr	Asn	Arg	Ile	Gln	His	Gly	Gln	Cys	Ala	Tyr	Thr	Phe	Ile	Leu	Pro
	35					40					45				
Glu	His	Asp	Gly	Asn	Cys	Arg	Glu	Ser	Thr	Thr	Asp	Gln	Tyr	Asn	Thr
50					55					60					
Asn	Ala	Leu	Gln	Arg	Asp	Ala	Pro	His	Val	Glu	Pro	Asp	Phe	Ser	Ser
65				70					75					80	
Gln	Lys	Leu	Gln	His	Leu	Glu	His	Val	Met	Glu	Asn	Tyr	Thr	Gln	Trp
		85						90					95		
Leu	Gln	Lys	Leu	Glu	Asn	Tyr	Ile	Val	Glu	Asn	Met	Lys	Ser	Glu	Met
	100						105					110			
Ala	Gln	Ile	Gln	Gln	Asn	Ala	Val	Gln	Asn	His	Thr	Ala	Thr	Met	Leu
	115					120					125				
Glu	Ile	Gly	Thr	Ser	Leu	Leu	Ser	Gln	Thr	Ala	Glu	Gln	Thr	Arg	Lys
130					135					140					
Leu	Thr	Asp	Val	Glu	Thr	Gln	Val	Leu	Asn	Gln	Thr	Ser	Arg	Leu	Glu
145				150					155					160	
Ile	Gln	Leu	Leu	Glu	Asn	Ser	Leu	Ser	Thr	Tyr	Lys	Leu	Glu	Lys	Gln
		165					170					175			

Leu Leu Gln Gln Thr Asn Glu Ile Leu Lys Ile His Glu Lys Asn Ser
180 185 190

Leu Leu Glu His Lys Ile Leu Glu Met Glu Gly Lys His Lys Glu Glu
195 200 205

Leu Asp Thr Leu Lys Glu Glu Lys Glu Asn Leu Gln Gly Leu Val Thr
210 215 220

Arg Gln Thr Tyr Ile Ile Gln Glu Leu Glu Lys Gln Leu Asn Arg Ala
225 230 235 240

Thr Thr Asn Asn Ser Val Leu Gln Lys Gln Gln Leu Glu Leu Met Asp
245 250 255

Thr Val His Asn Leu Val Asn Leu Cys Thr Lys Glu Gly Val Leu Leu
260 265 270

Lys Gly Gly Lys Arg Glu Glu Glu Lys Pro Phe Arg Asp Cys Ala Asp
275 280 285

Val Tyr Gln Ala Gly Phe Asn Lys Ser Gly Ile Tyr Thr Ile Tyr Ile
290 295 300

Asn Asn Met Pro Glu Pro Lys Lys Val Phe Cys Asn Met Asp Val Asn
305 310 315 320

Gly Gly Gly Trp Thr Val Ile Gln His Arg Glu Asp Gly Ser Leu Asp
325 330 335

Phe Gln Arg Gly Trp Lys Glu Tyr Lys Met Gly Phe Gly Asn Pro Ser
340 345 350

Gly Glu Tyr Trp Leu Gly Asn Glu Phe Ile Phe Ala Ile Thr Ser Gln
355 360 365

Arg Gln Tyr Met Leu Arg Ile Glu Leu Met Asp Trp Glu Gly Asn Arg
370 375 380

Ala Tyr Ser Gln Tyr Asp Arg Phe His Ile Gly Asn Glu Lys Gln Asn
385 390 395 400

Tyr Arg Leu Tyr Leu Lys Gly His Thr Gly Thr Ala Gly Lys Gln Ser
405 410 415

Ser Leu Ile Leu His Gly Ala Asp Phe Ser Thr Lys Asp Ala Asp Asn
420 425 430

Asp Asn Cys Met Cys Lys Cys Ala Leu Met Leu Thr Gly Gly Trp Trp
435 440 445

Phe Asp Ala Cys Gly Pro Ser Asn Leu Asn Gly Met Phe Tyr Thr Ala
450 455 460

Gly Gln Asn His Gly Lys Leu Asn Gly Ile Lys Trp His Tyr Phe Lys
465 470 475 480

Gly Pro Ser Tyr Ser Leu Arg Ser Thr Thr Met Met Ile Arg Pro Leu
485 490 495

Asp Phe

<210> 27
<211> 1124
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

Met Asp Ser Leu Ala Ser Leu Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu
1 5 10 15

Ser Gly Thr Val Glu Gly Ala Met Asp Leu Ile Leu Ile Asn Ser Leu
20 25 30

Pro	Leu	Val	Ser	Asp	Ala	Glu	Thr	Ser	Leu	Thr	Cys	Ile	Ala	Ser	Gly	
		35					40					45				
Trp	Arg	Pro	His	Glu	Pro	Ile	Thr	Ile	Gly	Arg	Asp	Phe	Glu	Ala	Leu	
	50					55				60						
Met	Asn	Gln	His	Gln	Asp	Pro	Leu	Glu	Val	Thr	Gln	Asp	Val	Thr	Arg	
65					70					75					80	
Glu	Trp	Ala	Lys	Lys	Val	Val	Trp	Lys	Arg	Glu	Lys	Ala	Ser	Lys	Ile	
			85						90					95		
Asn	Gly	Ala	Tyr	Phe	Cys	Glu	Gly	Arg	Val	Arg	Gly	Glu	Ala	Ile	Arg	
		100						105						110		
Ile	Arg	Thr	Met	Lys	Met	Arg	Gln	Gln	Ala	Ser	Phe	Leu	Pro	Ala	Thr	
	115						120				125					
Leu	Thr	Met	Thr	Val	Asp	Lys	Gly	Asp	Asn	Val	Asn	Ile	Ser	Phe	Lys	
	130					135					140					
Lys	Val	Leu	Ile	Lys	Glu	Glu	Asp	Ala	Val	Ile	Tyr	Lys	Asn	Gly	Ser	
145					150					155					160	
Phe	Ile	His	Ser	Val	Pro	Arg	His	Glu	Val	Pro	Asp	Ile	Leu	Glu	Val	
			165						170					175		
His	Leu	Pro	His	Ala	Gln	Pro	Gln	Asp	Ala	Gly	Val	Tyr	Ser	Ala	Arg	
		180						185					190			
Tyr	Ile	Gly	Gly	Asn	Leu	Phe	Thr	Ser	Ala	Phe	Thr	Arg	Leu	Ile	Val	
	195						200					205				
Arg	Arg	Cys	Glu	Ala	Gln	Lys	Trp	Gly	Pro	Glu	Cys	Asn	His	Leu	Cys	
	210					215					220					
Thr	Ala	Cys	Met	Asn	Asn	Gly	Val	Cys	His	Glu	Asp	Thr	Gly	Glu	Cys	

I885720

225 230 235 240

Ile Cys Pro Pro Gly Phe Met Gly Arg Thr Cys Glu Lys Ala Cys Glu
245 250 255

Leu His Thr Phe Gly Arg Thr Cys Lys Glu Arg Cys Ser Gly Gln Glu
260 265 270

Gly Cys Lys Ser Tyr Val Phe Cys Leu Pro Asp Pro Tyr Gly Cys Ser
275 280 285

Cys Ala Thr Gly Trp Lys Gly Leu Gln Cys Asn Glu Ala Cys His Pro
290 295 300

Gly Phe Tyr Gly Pro Asp Cys Lys Leu Arg Cys Ser Cys Asn Asn Gly
305 310 315 320

Glu Met Cys Asp Arg Phe Gln Gly Cys Leu Cys Ser Pro Gly Trp Gln
325 330 335

Gly Leu Gln Cys Glu Arg Glu Gly Ile Pro Arg Met Thr Pro Lys Ile
340 345 350

Val Asp Leu Pro Asp His Ile Glu Val Asn Ser Gly Lys Phe Asn Pro
355 360 365

Ile Cys Lys Ala Ser Gly Trp Pro Leu Pro Thr Asn Glu Glu Met Thr
370 375 380

Leu Val Lys Pro Asp Gly Thr Val Leu His Pro Lys Asp Phe Asn His
385 390 395 400

Thr Asp His Phe Ser Val Ala Ile Phe Thr Ile His Arg Ile Leu Pro
405 410 415

Pro Asp Ser Gly Val Trp Val Cys Ser Val Asn Thr Val Ala Gly Met
420 425 430

Val	Glu	Lys	Pro	Phe	Asn	Ile	Ser	Val	Lys	Val	Leu	Pro	Lys	Pro	Leu
435			440			445									
Asn	Ala	Pro	Asn	Val	Ile	Asp	Thr	Gly	His	Asn	Phe	Ala	Val	Ile	Asn
450			455			460									
Ile	Ser	Ser	Glu	Pro	Tyr	Phe	Gly	Asp	Gly	Pro	Ile	Lys	Ser	Lys	Lys
465			470			475			480						
Leu	Leu	Tyr	Lys	Pro	Val	Asn	His	Tyr	Glu	Ala	Trp	Gln	His	Ile	Gln
485			490			495									
Val	Thr	Asn	Glu	Ile	Val	Thr	Leu	Asn	Tyr	Leu	Glu	Pro	Arg	Thr	Glu
500			505			510									
Tyr	Glu	Leu	Cys	Val	Gln	Leu	Val	Arg	Arg	Gly	Glu	Gly	Gly	Glu	Gly
515			520			525									
His	Pro	Gly	Pro	Val	Arg	Arg	Phe	Thr	Thr	Ala	Ser	Ile	Gly	Leu	Pro
530			535			540									
Pro	Pro	Arg	Gly	Leu	Asn	Leu	Leu	Pro	Lys	Ser	Gln	Thr	Thr	Leu	Asn
545			550			555			560						
Leu	Thr	Trp	Gln	Pro	Ile	Phe	Pro	Ser	Ser	Glu	Asp	Asp	Phe	Tyr	Val
565			570			575									
Glu	Val	Glu	Arg	Arg	Ser	Val	Gln	Lys	Ser	Asp	Gln	Gln	Asn	Ile	Lys
580			585			590									
Val	Pro	Gly	Asn	Leu	Thr	Ser	Val	Leu	Leu	Asn	Asn	Leu	His	Pro	Arg
595			600			605									
Glu	Gln	Tyr	Val	Val	Arg	Ala	Arg	Val	Asn	Thr	Lys	Ala	Gln	Gly	Glu
610			615			620									
Trp	Ser	Glu	Asp	Leu	Thr	Ala	Trp	Thr	Leu	Ser	Asp	Ile	Leu	Pro	Pro

625 630 635 640

Gln Pro Glu Asn Ile Lys Ile Ser Asn Ile Thr His Ser Ser Ala Val
645 650 655

Ile Ser Trp Thr Ile Leu Asp Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Ile Thr Ile
660 665 670

Arg Tyr Lys Val Gln Gly Lys Asn Glu Asp Gln His Val Asp Val Lys
675 680 685

Ile Lys Asn Ala Thr Ile Thr Gln Tyr Gln Leu Lys Gly Leu Glu Pro
690 695 700

Glu Thr Ala Tyr Gln Val Asp Ile Phe Ala Glu Asn Asn Ile Gly Ser
705 710 715 720

Ser Asn Pro Ala Phe Ser His Glu Leu Val Thr Leu Pro Glu Ser Gln
725 730 735

Ala Pro Ala Asp Leu Gly Gly Gly Lys Met Leu Leu Ile Ala Ile Leu
740 745 750

Gly Ser Ala Gly Met Thr Cys Leu Thr Val Leu Leu Ala Phe Leu Ile
755 760 765

Ile Leu Gln Leu Lys Arg Ala Asn Val Gln Arg Arg Met Ala Gln Ala
770 775 780

Phe Gln Asn Val Arg Glu Glu Pro Ala Val Gln Phe Asn Ser Gly Thr
785 790 795 800

Leu Ala Leu Asn Arg Lys Val Lys Asn Asn Pro Asp Pro Thr Ile Tyr
805 810 815

Pro Val Leu Asp Trp Asn Asp Ile Lys Phe Gln Asp Val Ile Gly Glu
820 825 830

Gly Asn Phe Gly Gln Val Leu Lys Ala Arg Ile Lys Lys Asp Gly Leu
835 840 845

Arg Met Asp Ala Ala Ile Lys Arg Met Lys Glu Tyr Ala Ser Lys Asp
850 855 860

Asp His Arg Asp Phe Ala Gly Glu Leu Glu Val Leu Cys Lys Leu Gly
865 870 875 880

His His Pro Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Glu His Arg Gly
885 890 895

Tyr Leu Tyr Leu Ala Ile Glu Tyr Ala Pro His Gly Asn Leu Leu Asp
900 905 910

Phe Leu Arg Lys Ser Arg Val Leu Glu Thr Asp Pro Ala Phe Ala Ile
915 920 925

Ala Asn Ser Thr Ala Ser Thr Leu Ser Ser Gln Gln Leu Leu His Phe
930 935 940

Ala Ala Asp Val Ala Arg Gly Met Asp Tyr Leu Ser Gln Lys Gln Phe
945 950 955 960

Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Val Gly Glu Asn Tyr
965 970 975

Val Ala Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ser Arg Gly Gln Glu Val Tyr
980 985 990

Val Lys Lys Thr Met Gly Arg Leu Pro Val Arg Trp Met Ala Ile Glu
995 1000 1005

Ser Leu Asn Tyr Ser Val Tyr Thr Thr Asn Ser Asp Val Trp Ser
1010 1015 1020

Tyr Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Val Ser Leu Gly Gly Thr Pro

1025	1030	1035
Tyr Cys Gly Met Thr Cys Ala Glu Leu Tyr Glu Lys Leu Pro Gln		
1040	1045	1050
Gly Tyr Arg Leu Glu Lys Pro Leu Asn Cys Asp Asp Glu Val Tyr		
1055	1060	1065
Asp Leu Met Arg Gln Cys Trp Arg Glu Lys Pro Tyr Glu Arg Pro		
1070	1075	1080
Ser Phe Ala Gln Ile Leu Val Ser Leu Asn Arg Met Leu Glu Glu		
1085	1090	1095
Arg Lys Thr Tyr Val Asn Thr Thr Leu Tyr Glu Lys Phe Thr Tyr		
1100	1105	1110
Ala Gly Ile Asp Cys Ser Ala Glu Glu Ala Ala		
1115	1120	

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種結合至人類血管內皮生長因子(VEGF)及人類血管生成素-2(ANG-2)之雙特異性抗體的用途，其係用於製備治療罹患繼發於視網膜靜脈栓塞之黃斑水腫之患者的藥物，

其中該藥物係以給藥時程於玻璃體內投與，該給藥時程包括該患者接受Q12W或Q16W給藥；

且其中結合至人類VEGF及人類ANG-2之該雙特異性抗體包含SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19及SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【請求項2】

如請求項1之用途，其中該黃斑水腫係繼發於中央視網膜靜脈阻塞、繼發於半側視網膜靜脈阻塞或繼發於分支靜脈阻塞。

【請求項3】

如請求項1之用途，其中該藥物在每月3至7次投與之治療開始之後投與。

【請求項4】

如請求項1之用途，其中該藥物在各治療下以約6 mg之劑量投與。

【請求項5】

如請求項4之用途，其中該雙特異性抗體以約120 mg/ml之濃度投與。

【請求項6】

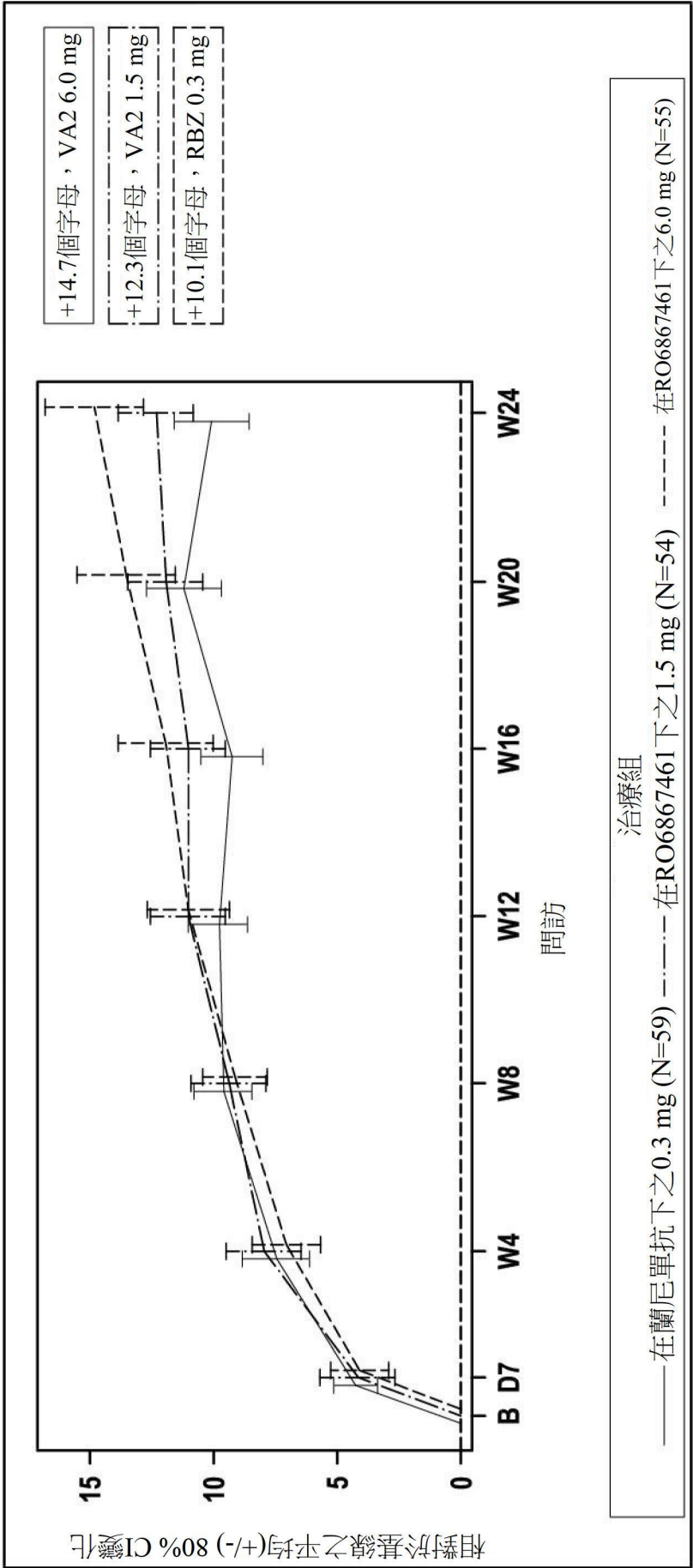
如請求項1至5中任一項之用途，其中罹患黃斑水腫之該患者係繼發於中央視網膜靜脈阻塞，且先前未用抗VEGF治療進行治療。

【請求項7】

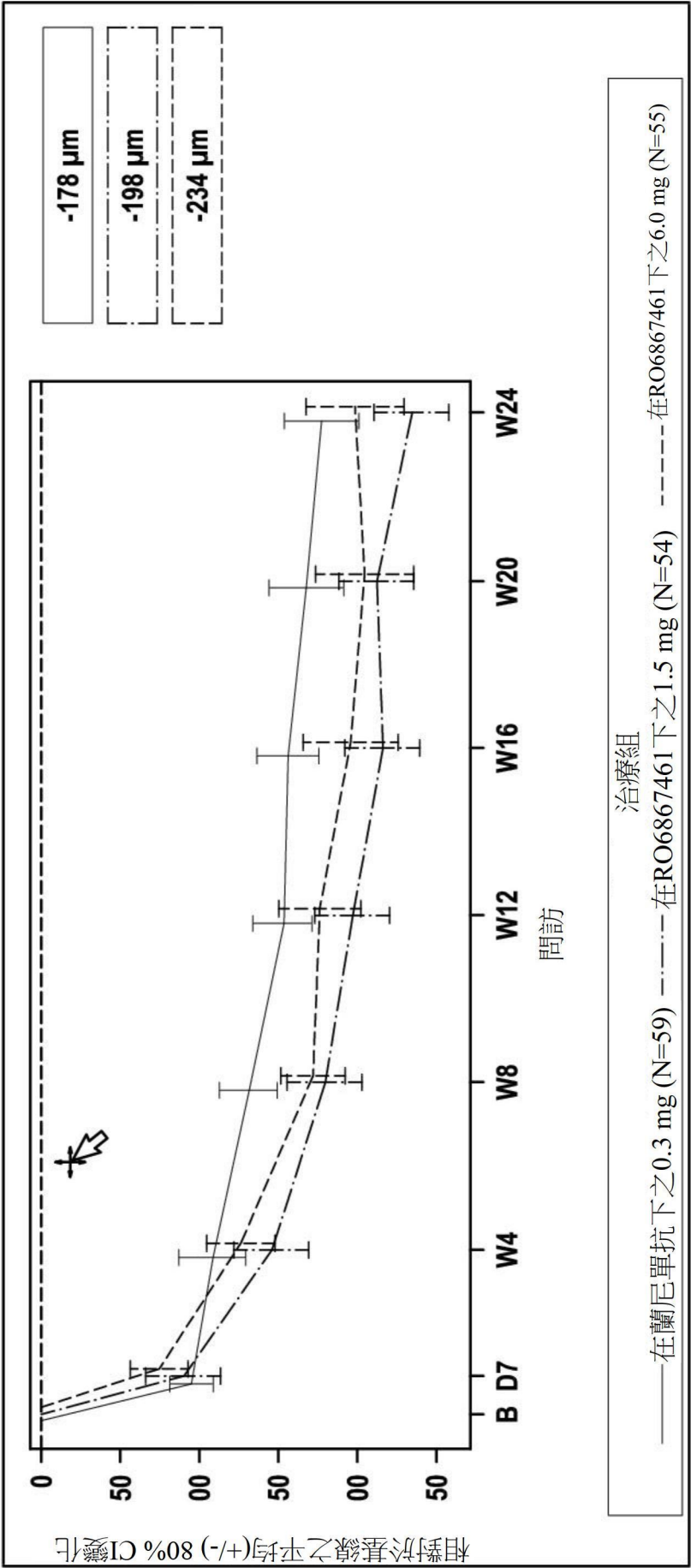
如請求項1至5中任一項之用途，其中罹患黃斑水腫之該患者係繼發於中央視網膜靜脈阻塞，且先前已用抗VEGF治療進行治療。

【發明圖式】

至第24週隨時間相對於基線之BCAV變化(研究眼睛)
未治療的患者之主要終點

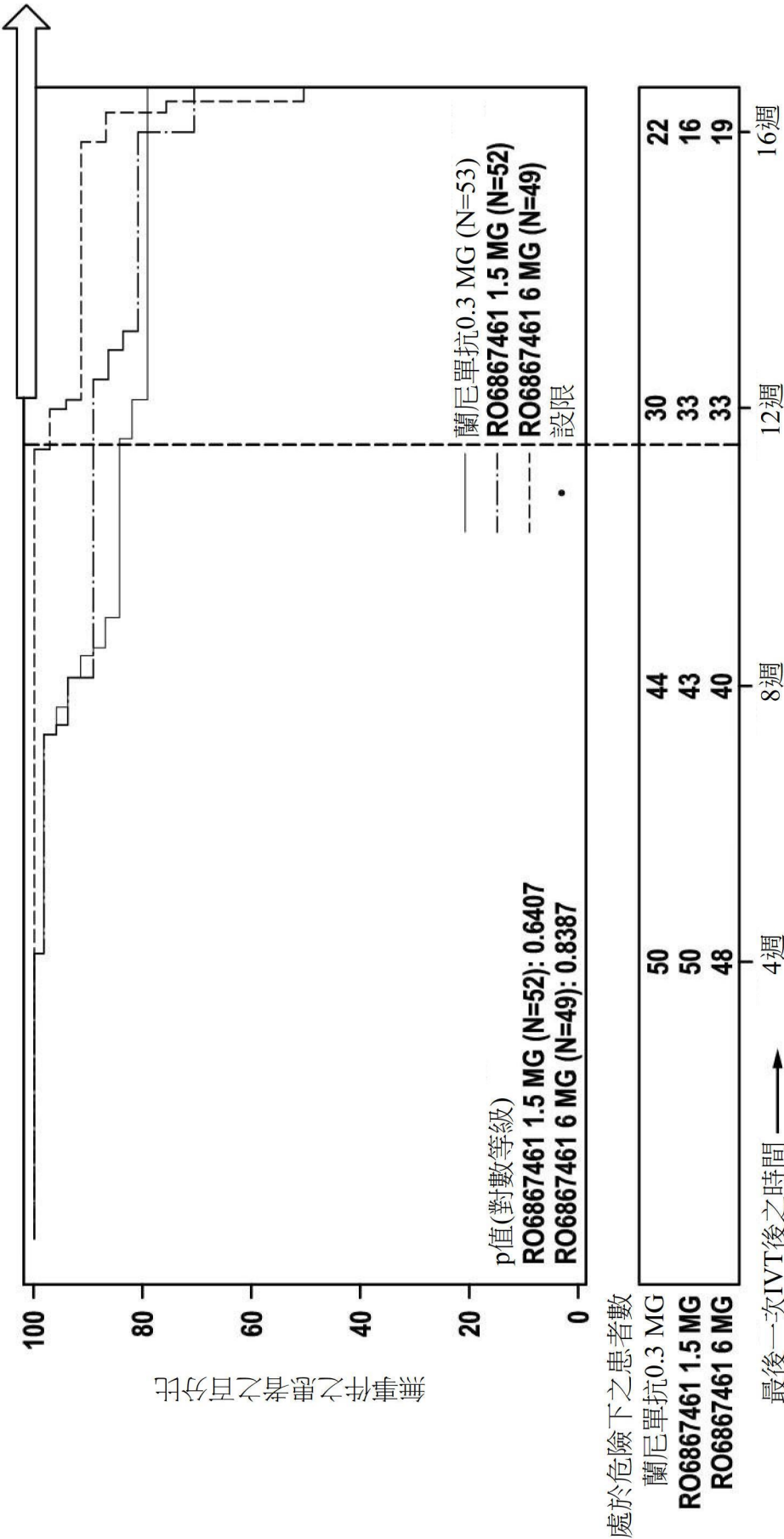


【圖1】

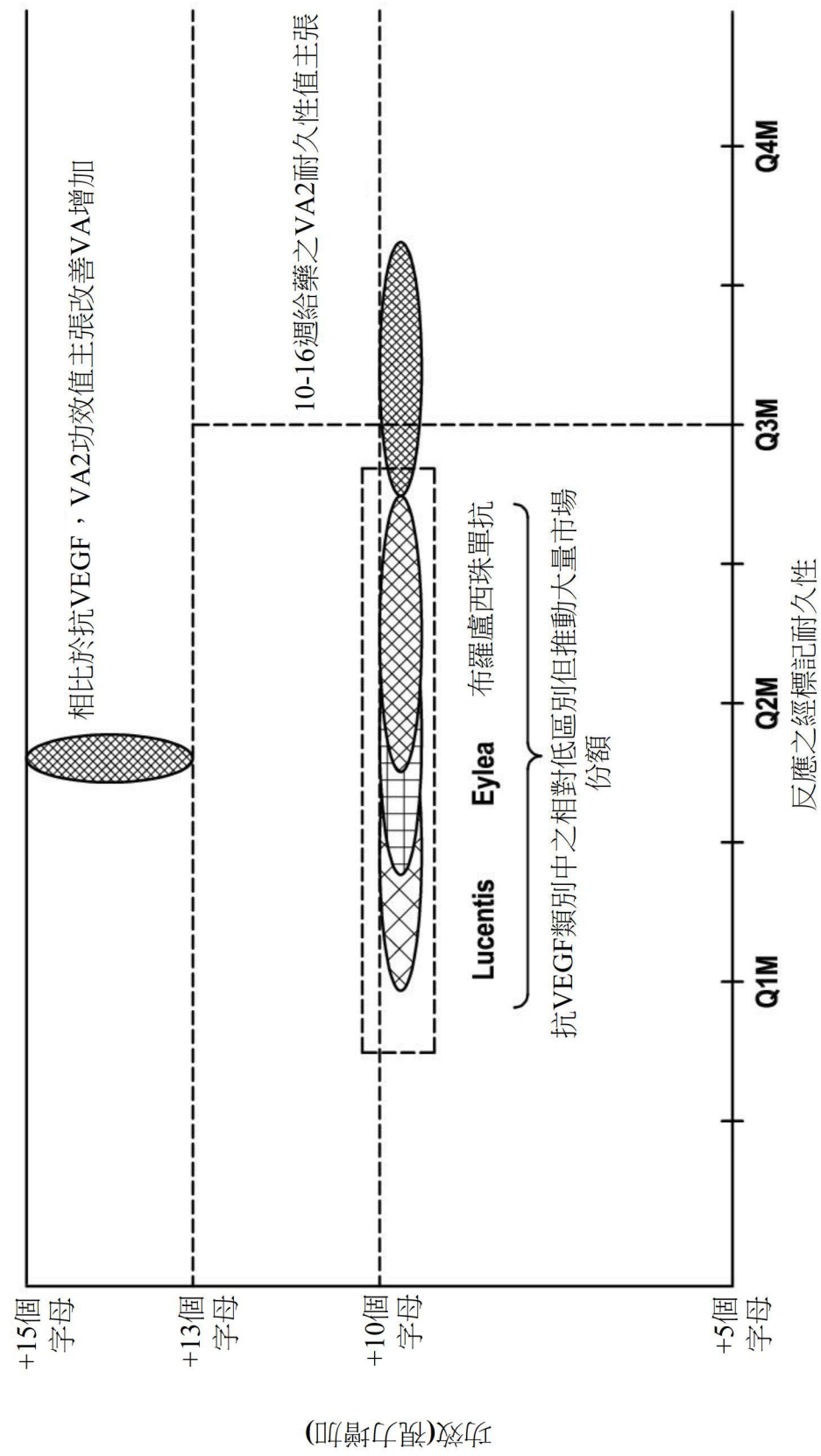


【圖2】

第20週(用0.3 mg RBZ)後治療時間的卡本－麥爾圖
觀測階段中之再治療時間，VA2 治療比RBZ 更長



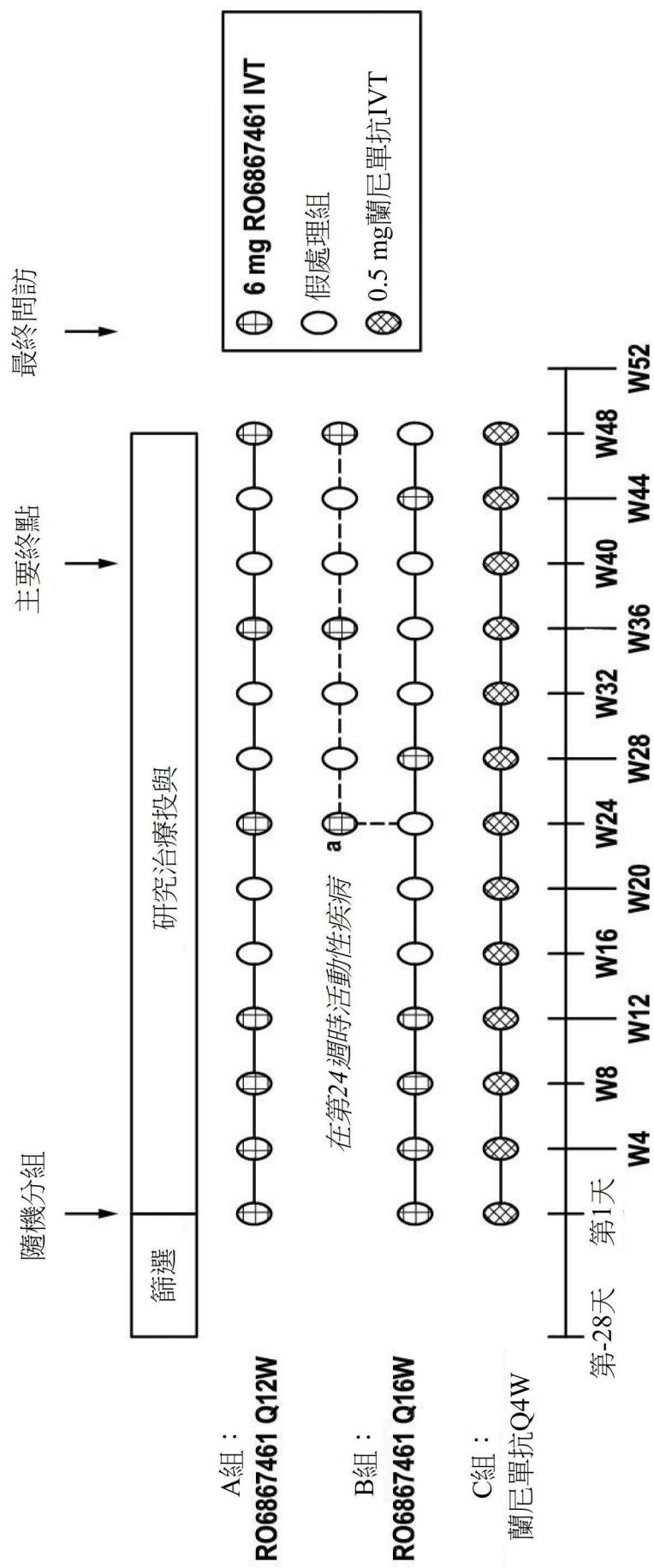
【圖3】



免責聲明：基於交叉研究比較及現實世界資料之概念網絡，旨在促進討論

【圖4】

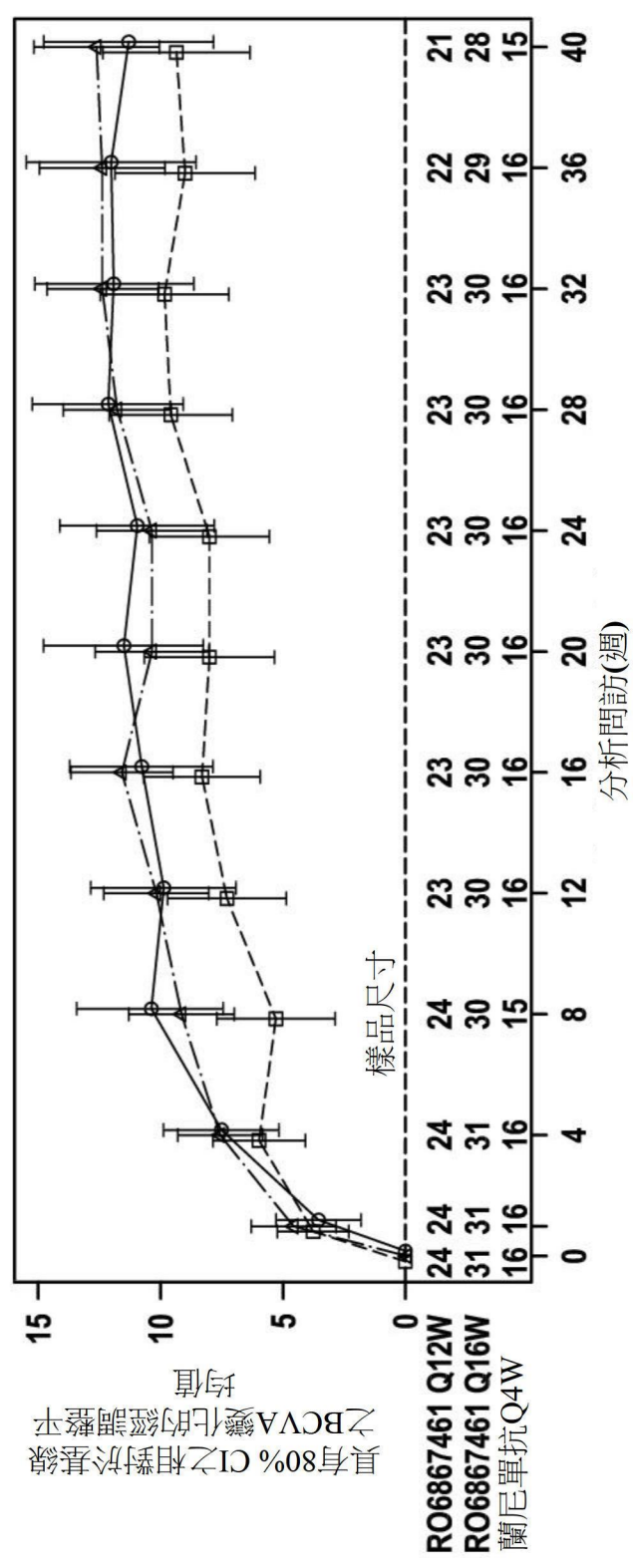
VA2之12或16次每週一次給藥間隔相比於4次每週一次蘭尼單抗



IVT=玻璃體內；Q4W=每4週一次；Q12W=每12週一次；Q16W=每16週一次；W=週

^a 將在第24週評估所有患者之疾病活動性。在第24週具有活動性疾之B組之患者將針對研究之其餘部分轉換為RO6867461 Q12W給藥方案。

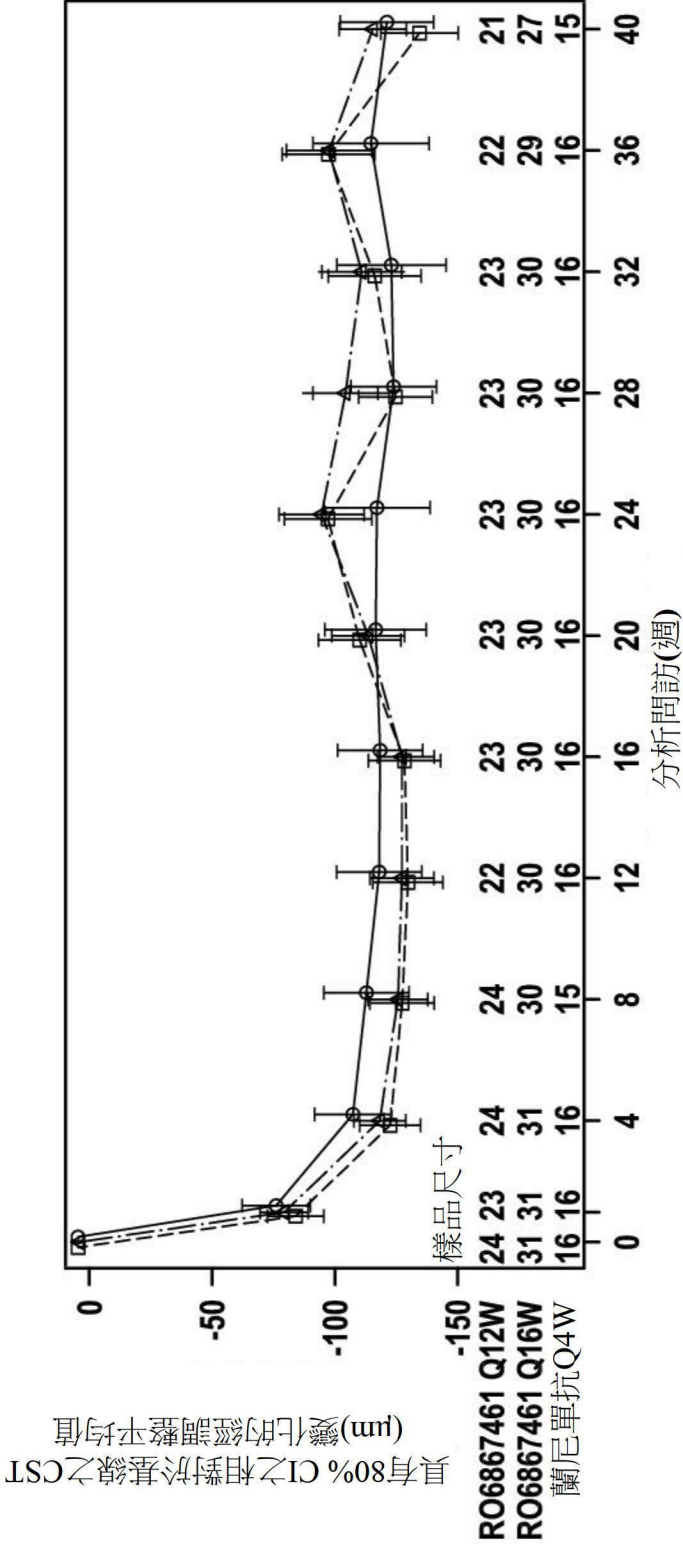
【圖5】



治療組			
問訪	RO6867461 Q12W (N=24)	RO6867461 Q16W (N=31)	蘭尼單抗Q4W (N=16)
第40週			
n	21	28	15
80% CI之最小均方(LSM)	9.34 (6.38, 12.30)	12.61 (10.00, 15.21)	11.30 (7.71, 14.88)
相比於蘭尼單抗Q4W差異，差異之80% CI	-1.96 (-6.60, 2.69)	1.31 (-3.13, 5.75)	

BCVA=最佳矯正視力；MMRM=重複量測之混合模型。問訪為時間窗口的。模型包括治療組之分類協變量、問訪、治療組相互作用之問訪及基線BCVA之連續協變量。使用非結構化協方差。

【圖6】



治療組		
--日-- RO6867461 Q12W (N=24)	--△-- RO6867461 Q16W (N=31)	—○— 蘭尼單抗Q4W (N=16)
問訪	RO6867461 Q12W (N=24)	蘭尼單抗 Q4W (N=16)
第40週		
n	21	15
80% CI之	-139.32	-120.23
最小均方(LSM)	(-155.07, -123.57)	(-134.20, -106.25)
相比於蘭尼單抗Q4W 差異，差異之 80% CI	-13.07 (-37.87, 11.73)	6.02 (-17.94, 29.99)

CFT=中央視窗厚度；MMRM=重複量測之混合模型。問訪為時間窗口的。模型包括治療組之分類協變量、問訪、治療組相互作用之問訪及基線CST之連續協變量。使用非結構化協方差。

【7回】