



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116724236 A

(43) 申请公布日 2023. 09. 08

(21) 申请号 202180056699.1

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

(22) 申请日 2021.08.05

专利代理师 封新琴

(30) 优先权数据

(51) Int.Cl.

63/062,243 2020.08.06 US

G01N 33/68 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.02.06

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/044761 2021.08.05

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/031978 EN 2022.02.10

(71) 申请人 美国比奥维拉迪维股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 J·M·阿里亚斯 W·E·霍布斯

M·J·斯托克 P·S·帕特尔

权利要求书2页 说明书28页

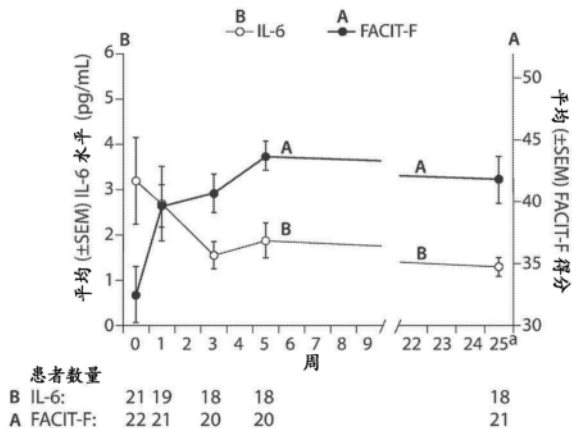
序列表15页 附图2页

(54) 发明名称

患有补体介导的疾病的受试者中的炎性细胞因子和疲劳

(57) 摘要

本文提供了使用抗C1s抗体如苏替莫单抗治疗补体介导的疾病如冷凝集素疾病(CAD)和相关病症如疲劳的方法,其中所述方法涉及IL-6和/或IL-10水平的测量。



1. 一种方法,所述方法包括
向受试者施用抗C1s抗体;
测量来自所述受试者的样品中的IL-6和/或IL-10水平;以及
任选地评估所述受试者的疲劳。
2. 一种方法,所述方法包括
测量来自正在用抗C1s抗体治疗的受试者的样品中的IL-6和/或IL-10水平;以及
任选地评估所述受试者的疲劳。
3. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述受试者患有补体介导的疾病,任选地经典补体介导的疾病,进一步任选地冷凝集素疾病(CAD)。
4. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述受试者患有疲劳。
5. 一种方法,所述方法包括
用抗C1s抗体治疗受试者,其中所述受试者患有疲劳;
测量来自所述受试者的样品中的IL-6和/或IL-10水平;以及
任选地评估所述受试者的疲劳。
6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述受试者患有补体介导的疾病,任选地经典补体介导的疾病,进一步任选地冷凝集素疾病(CAD)。
7. 一种方法,所述方法包括
用抗C1s抗体治疗受试者,其中所述受试者患有补体介导的疾病,任选地冷凝集素疾病(CAD);
测量来自所述受试者的样品中的IL-6和/或IL-10水平;以及
任选地评估所述受试者的疲劳。
8. 根据权利要求7所述的方法,其中所述受试者患有疲劳。
9. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述受试者在用所述抗C1s抗体治疗之前具有基线IL-6和/或IL-10水平,和/或其中所述受试者在用所述抗C1s抗体治疗之前具有基线疲劳水平。
10. 根据权利要求9所述的方法,其中
 - (a) 如果所述样品中的IL-6和/或IL-10水平相对于基线有所降低,任选地降低至少10%和/或所述受试者的疲劳相对于基线有所改善,所述方法进一步包括继续当前抗C1s抗体治疗;或
 - (b) 如果所述样品中的IL-6和/或IL-10水平在基线的10%之内和/或所述受试者的疲劳相对于基线被维持或恶化,所述方法进一步包括改变当前抗C1s抗体治疗。
11. 根据权利要求10所述的方法,其中改变当前抗C1s抗体治疗包括调整用所述抗C1s抗体治疗的剂量和/或频率。
12. 根据权利要求10或11所述的方法,其中改变当前抗C1s抗体治疗包括用抗炎剂进一步治疗所述受试者。
13. 根据权利要求10-12中任一项所述的方法,其中改变当前抗C1s抗体治疗包括进一步治疗所述受试者以改善疲劳。
14. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,所述方法进一步包括在一段时间内监测所述受试者的IL-6和/或IL-10水平。

15. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述受试者已经经历了输血。

16. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述疲劳是基于慢性病治疗功能评估-疲劳 (FACIT-F) 得分来评估的,任选地其中疲劳的改善是FACIT-F得分相对于基线变化至少3分。

17. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO: 5的氨基酸序列的重链 (HC) 互补决定区1 (CDR1)、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC互补决定区2 (CDR2)、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HC互补决定区3 (CDR3)、含有SEQ ID NO: 8的氨基酸序列的轻链 (LC) CDR1、含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LC CDR2和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LC CDR3。

18. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO: 3的氨基酸序列的重链可变区 (VH) 并且包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变区 (VL)。

19. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO: 1的氨基酸序列的HC和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LC。

20. 根据权利要求1-16中任一项所述的方法,其中所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO: 15的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ IDNO:17的氨基酸序列的HC CDR3、含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的LC CDR2和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的LC CDR3。

21. 根据权利要求1-16和20中任一项所述的方法,其中所述抗C1s抗体包含含有SEQ IDNO:13的氨基酸序列的VH并且包含含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的VL。

22. 根据权利要求1-16、20和21中任一项所述的方法,其中所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HC和含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的LC。

23. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述抗C1s抗体包含IgG4恒定区。

患有补体介导的疾病的受试者中的炎性细胞因子和疲劳

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年8月6日提交的美国临时申请序列号63/062,243的优先权,将其全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本申请涉及用于治疗补体介导的疾病和相关病症的方法。

背景技术

[0004] 冷凝集素疾病(CAD)是一种罕见的慢性类型的自身免疫性溶血性贫血,其中溶血是由经典补体途径激活驱动的。补体激活确保作为早期免疫应答的一部分的补体级联的快速启动。

发明内容

[0005] 已经在其他溶血性疾病如阵发性睡眠性血红蛋白尿和非典型溶血性尿毒症综合征中证明了继发于补体激活的促炎状态。补体级联激活刺激经由过敏毒素C3a和C5a的细胞因子产生(TNF、IL-6、IL-8、IL-17),并且增加血管炎症标记物,与补体介导的炎症一致。此外,除贫血外,补体激活和慢性炎症可能会导致患者的冷凝集素疾病(CAD)中的疲劳。

[0006] 尚未在CAD患者中正式研究导致促炎状态的经典补体激活。此外,尚未在CAD患者中探索补体介导的炎症与疲劳之间的相互影响。本文所述的研究的结果证明了在用人源化单克隆抗C1s抗体苏替莫单抗(sutimlimab)治疗的CAD患者中炎性细胞因子表达(例如,IL-6和IL-10)与疲劳之间的关系。

[0007] 本公开文本的一些方面提供了一种方法,所述方法包括向受试者施用抗C1s抗体(例如,表1或表2的抗C1s抗体)以及测量来自所述受试者的样品(例如,血液,例如血清)中的C反应蛋白(CRP)、IL-6和/或IL-10的水平。在一些实施方案中,所述方法进一步包括评估所述受试者的疲劳(例如,测量FACIT-F得分)。

[0008] 本公开文本的其他方面提供了一种方法,所述方法包括测量来自正在用抗C1s抗体(例如,苏替莫单抗)治疗的受试者的样品中的CRP、IL-6和/或IL-10的水平。在一些实施方案中,所述方法进一步包括评估所述受试者的疲劳。

[0009] 在一些实施方案中,测量CRP的水平。在一些实施方案中,CRP被用作IL-6的替代物。在一些实施方案中,测量IL-6的水平。在一些实施方案中,测量IL-10。

[0010] 在一些实施方案中,所述受试者患有补体介导的疾病。在一些实施方案中,所述受试者患有CAD。

[0011] 在一些实施方案中,所述受试者患有疲劳。

[0012] 本公开文本的又其他方面提供了一种方法,所述方法包括用抗C1s抗体疗法(例如,苏替莫单抗疗法)治疗受试者,其中所述受试者患有疲劳,以及测量来自所述受试者的样品中的CRP、IL-6和/或IL-10的水平。在一些实施方案中,所述方法进一步包括评估所述

受试者的疲劳。在一些实施方案中,所述受试者患有补体介导的疾病,例如CAD。

[0013] 本公开文本的其他方面提供了一种方法,所述方法包括用抗C1s抗体疗法(例如,苏替莫单抗疗法)治疗受试者,其中所述受试者患有补体介导的疾病,例如CAD,以及测量来自所述受试者的样品中的CRP、IL-6和/或在IL-10的水平。在一些实施方案中,所述方法进一步包括评估所述受试者的疲劳。在一些实施方案中,所述受试者患有疲劳。

[0014] 在一些实施方案中,所述受试者在用抗C1s抗体(例如,苏替莫单抗)治疗之前具有基线CRP、IL-6和/或IL-10水平,和/或其中所述受试者在用抗C1s抗体治疗之前具有基线疲劳水平。在一些实施方案中,如果所述样品中的CRP、IL-6和/或IL-10水平相对于基线有所降低,例如降低至少5%或至少10%(例如,至少15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%)和/或所述受试者的疲劳相对于基线有所改善,所述方法进一步包括继续当前抗C1s抗体治疗(例如,苏替莫单抗治疗)。在一些实施方案中,如果所述样品中的CRP、IL-6和/或IL-10水平在基线的5%之内或10%之内和/或所述受试者的疲劳相对于基线被维持或恶化,所述方法进一步包括改变当前抗C1s抗体治疗。在一些实施方案中,如果所述样品中的CRP、IL-6和/或IL-10的水平在基线的5%之内或10%之内,所述方法进一步包括改变当前抗C1s抗体治疗。在一些实施方案中,如果所述受试者的疲劳相对于基线被维持或恶化,所述方法进一步包括改变当前抗C1s抗体治疗。

[0015] 在一些实施方案中,改变当前抗C1s抗体治疗包括调整用所述抗C1s抗体治疗的剂量和/或频率。

[0016] 在一些实施方案中,改变当前抗C1s抗体治疗包括用抗炎剂进一步治疗所述受试者。

[0017] 在一些实施方案中,改变当前抗C1s抗体治疗包括进一步治疗所述受试者以改善疲劳。

[0018] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括在一段时间(例如,数小时、数天、数周或数月)内监测所述受试者的CRP、IL-6和/或IL-10的水平(例如,重新评估水平)。

[0019] 在一些实施方案中,所述受试者已经经历了输血。在一些实施方案中,所述受试者已经在开始用抗C1s抗体治疗之前,例如在一个月內、在3周内、在2周内或在1周内经历了输血。

[0020] 在一些实施方案中,所述疲劳是基于慢性病治疗功能评估-疲劳(FACIT-F)得分来评估的。在一些实施方案中,疲劳的改善是FACIT-F得分相对于基线变化至少3(例如,至少4、5、6、7、8、9或10)分。

[0021] 在一些实施方案中,所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链(HC)互补决定区1(CDR1)、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC互补决定区2(CDR2)、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HC互补决定区3(CDR3)、含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链(LC)CDR1、含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LC CDR2和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LC CDR3。

[0022] 在一些实施方案中,所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变区(VH)并且包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。

[0023] 在一些实施方案中,所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HC和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LC。

[0024] 在一些实施方案中,所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HC CDR3、含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的LC CDR2和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的LC CDR3。

[0025] 在一些实施方案中,所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH并且包含含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的VL。

[0026] 在一些实施方案中,所述抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HC和含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的LC。

[0027] 在一些实施方案中,所述抗C1s抗体包含IgG4恒定区。

[0028] 将2012年11月2日提交的标题为抗补体C1s抗体及其用途 (Anti-Complement C1s Antibodies and Uses Thereof) 的国际公开号W0 2014/071206、2015年4月6日提交的标题为人源化抗C1s抗体及其使用方法 (Humanized Anti-C1s Antibodies and Methods of Use Thereof) 的国际公开号W0 2016/164358以及2017年3月14日提交的标题为用于治疗补体介导的疾病和障碍的方法 (Methods for Treating Complement-Mediated Diseases and Disorders) 的国际公开号W0 2018/170145中的每一个通过引用以其整体并入本文。

附图说明

[0029] 图1示出了在冷凝集素疾病 (CAD) 患者中,在基线时的促炎细胞因子IL-6水平 (B) 和FACIT-F (A) 得分以及促炎细胞因子IL-6水平 (B) 和FACIT-F (A) 得分随时间的变化。FACIT-F, 慢性病治疗功能评估-疲劳; SEM, 平均值的标准误差; TAT, 治疗评估时间点。将第25周的平均值和SEM值用于表示TAT。IL-6的正常对照值 $<3.2\text{pg/mL}$ 。

[0030] 图2示出了在CAD患者中,在基线时的调节性细胞因子IL-10水平 (B) 和FACIT-F (A) 得分以及调节性细胞因子IL-10水平 (B) 和FACIT-F (A) 得分随时间的变化。FACIT-F, 慢性病治疗功能评估-疲劳; SEM, 平均值的标准误差; TAT, 治疗评估时间点。将第25周的平均值和SEM值用于表示TAT。

[0031] 图3示出了苏替莫单抗治疗对CAD患者中的平均IL-6水平 (A)、疲劳 (B)、平均总C4 (C) 和经典补体途径活性 (D) 的影响。将第25周的平均值和SEM值用于表示TAT。IL-6的正常值 $<3.2\text{pg/mL}$ 。CAD, 冷凝集素疾病; CP, 经典补体途径; FACIT-疲劳, 慢性病治疗功能评估-疲劳; IL, 白细胞介素; SEM, 平均值的标准误差; TAT, 治疗评估时间点。

[0032] 图4示出了苏替莫单抗治疗对CAD患者中的平均IL-10水平 (A)、疲劳 (B)、平均总C4 (C) 和经典补体途径活性 (D) 的影响。将第25周的平均值和SEM值用于表示TAT。CAD, 冷凝集素疾病; CP, 经典补体途径; FACIT-疲劳, 慢性病治疗功能评估-疲劳; IL, 白细胞介素; SEM, 平均值的标准误差; TAT, 治疗评估时间点。

具体实施方式

[0033] 补体系统是一种熟知的免疫应答效应机制,其不仅提供针对病原体和其他有害物质的保护,而且还提供了从损伤恢复。补体途径包括通常以非活性形式存在于体内的蛋白质。经典补体途径是由补体的第一组分的激活触发的,所述第一组分称为C1复合物,其包含

C1q、C1r和C1s蛋白。当C1与免疫复合物或其他激活剂结合时，C1s组分，即对二异丙基氟磷酸酯(DFP)敏感的丝氨酸蛋白酶裂解补体组分C4和C2以启动经典补体途径的激活。例如，经典补体途径在冷凝集素疾病中起作用。

[0034] 冷凝集素疾病(CAD)是慢性自身免疫性溶血性贫血(AIHA)的一种形式，伴有经典补体依赖性溶血(参见Berentsen S.Semin Hematol.2018;55(3):141-149;和Noris M, Remuzzi G.Semin Nephrol.2013;33(6):479-492,将其中的每一个通过引用并入本文)。CAD的症状可以包括慢性溶血、贫血和相关症状(例如呼吸困难)、血红蛋白尿、黄疸和循环症状。一些患有冷凝集素疾病的人也可能会出现手指或脚趾发冷、发麻和发白，称为雷诺现象。

[0035] 本文提供的数据证明了在用人源化单克隆抗C1s抗体苏替莫单抗治疗的CAD患者中炎性细胞因子表达(例如，IL-6和IL-10)与疲劳之间的关系。

[0036] IL-6是一种具有多效性活性特征的促炎细胞因子；它诱导肝细胞中急性期蛋白如CRP、血清淀粉样蛋白A、纤维蛋白原和铁调素的合成，而其抑制白蛋白的产生。IL-6还通过刺激抗体产生和效应T细胞发育在获得性免疫应答中起重要作用。此外，IL-6可以促进几种非免疫细胞的分化或增殖。由于多效性活性，IL-6的失调的持续产生导致各种疾病的发作或发展。

[0037] IL-10，以前称为细胞因子合成抑制因子和相应细胞因子家族的同名物，被认为是能够在各种病理生理环境中抑制明显炎症的关键免疫调节细胞因子。除了影响细胞因子网络外，IL-10还具有除了其他活性氧类和基质金属蛋白酶外，尤其抑制参与组织损伤发展的关键效应介质的产生的能力。

[0038] 疲劳是CAD的常见症状。虽然并非仅由贫血引起，但是认为CAD中的疲劳继发于溶血性贫血，所述溶血性贫血是指由于RBC的破坏而导致的RBC数量低。RBC负责将氧气递送到机体的所有部分，并且负责去除由于代谢活动而产生的二氧化碳。当RBC数量由于溶血性贫血而较低时，器官接受的氧低于其正常功能所需。这会影响到机体的所有器官，尤其是其功能需要高能量的器官。结果是疲乏和疲劳，因为机体跟不上日常任务的能量需求。

[0039] 监测炎症和疲劳的方法

[0040] 本公开文本部分基于如下观察结果，即正在接受抗C1s抗体治疗的患有补体介导的疾病(例如，CAD)的受试者显示出炎性细胞因子水平的降低以及疲劳症状的同时改善。

[0041] 因此，本公开文本提供了通过分析患有补体介导的障碍的受试者中的一种或多种炎性细胞因子(例如，IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-17、IL-18、IL-1 β 、IFN- γ 、TNF- α 、TNF受体等)的状态来监测和/或治疗所述患者的炎症和/或疲劳的方法。在一些实施方案中，一种或多种炎性细胞因子的状态是通过测量一种或多种炎症生物标记物的水平来确定的。在一些实施方案中，炎性细胞因子和/或炎症生物标记物的水平提供了疲劳的客观量度。测量炎性细胞因子和/或炎症生物标记物水平的方法是本领域已知的。炎性细胞因子或炎症生物标记物的水平可以使用标准电泳和免疫诊断技术(包括但不限于免疫测定，如竞争型测定、直接反应型测定或夹心型测定)来测量。此类技术包括但不限于蛋白质印迹；凝集试验；酶标记和介导的免疫测定，如ELISA；生物素/抗生物素蛋白测定；放射免疫测定；免疫电泳；免疫沉淀等。所述方法可以包括等离子体共振方法，或通过抗体、适体或其他结合分子的结合来检测炎性细胞因子或炎症生物标记物的存在的任何方法。

[0042] 在一个方面,本公开文本提供了一种方法,所述方法包括向受试者施用抗C1s抗体(例如,表1或表2的抗C1s抗体);测量来自所述受试者的样品(例如血液,例如血清)中的一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6和/或IL-10)的水平。在一些实施方案中,所述受试者患有补体介导的疾病,如CAD。在一些实施方案中,所述受试者患有疲劳。

[0043] 在另一方面,本公开文本提供了一种方法,所述方法包括测量来自正在用抗C1s抗体(例如,表1或表2的抗C1s抗体)治疗的受试者的样品中的一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6,和/或IL-10)的水平。在一些实施方案中,所述受试者患有补体介导的疾病(例如,CAD)。在一些实施方案中,所述受试者患有疲劳。

[0044] 本公开文本的又其他方面提供了一种方法,所述方法包括用抗C1s抗体(例如,表1或表2的抗C1s抗体)治疗受试者,其中所述受试者患有疲劳,以及测量来自所述受试者的样品中的一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6和/或IL-10)的水平。在一些实施方案中,所述受试者患有补体介导的疾病,如CAD。

[0045] 本公开文本的其他方面提供了一种方法,所述方法包括用抗C1s抗体(例如,表1或表2的抗C1s抗体)治疗受试者,其中所述受试者患有补体介导的疾病(例如,CAD),以及测量来自所述受试者的样品中的一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6和/或IL-10)的水平。在一些实施方案中,所述受试者患有疲劳。

[0046] 在一些实施方案中,测量CRP的水平。在一些实施方案中,CRP被用作IL-6的替代物。在一些实施方案中,测量IL-6的水平。在一些实施方案中,测量IL-10的水平。

[0047] 在一些实施方案中,本公开文本的方法进一步包括评估所述受试者的疲劳。在一些实施方案中,所述疲劳是基于FACIT-F得分来评估的。FACIT-F是一种13项的患者报告的情况调查表,其设计为评估疲劳相关症状和对日常功能的影响(Cella等人Cancer94(2):528-238(2002);Yellen等人,J Pain Symptom Manage 13(2):63-74(1997);Lai等人,JRheumatol 38(4):672-9(2011);Reddy等人,J Palliat Med 19(5):1068-75(2007))。可以使用评估疲劳的其他方法。本领域已知许多疲劳测量量表(例如疲劳严重程度量表(FSS)、疲劳影响量表(FIS)、简易疲劳量表(BFI)、疲劳症状量表(FSI)、多维疲劳评估(MAF)和多维疲劳症状量表(MFSI)等(Whitehead,J Pain Symptom Manage 37(1):10-7-28(2009))。疲劳可以作为多症状量表或疲劳专用量表的一部分来评估(Hjollund等人,Health Qual Life Outcomes 5:12(2007))。

[0048] 在一些实施方案中,所述受试者在用抗C1s抗体治疗之前具有基线CRP、IL-6和/或IL-10水平。在一些实施方案中,所述受试者具有大于3mg/mL(例如,大于4mg/mL、大于5mg/mL、大于6mg/mL、大于7mg/mL、大于8mg/mL、大于9mg/mL、或大于10mg/mL、大于20mg/mL、大于50mg/mL等)的基线CRP水平。在一些实施方案中,所述受试者具有大于1.8pg/mL(例如,大于2pg/mL、大于2.5pg/mL、大于3pg/mL、约1.8pg/mL与约2pg/mL之间、约2pg/mL与约2.5pg/mL之间、约2.5至约3pg/mL之间、约3pg/mL至约3.5pg/mL之间、约3.5pg/mL至约4pg/mL之间等)的基线IL-6水平。在一些实施方案中,所述受试者具有大于1pg/mL(例如,大于1.1pg/mL、大于1.2pg/mL、大于1.3pg/mL、大于1.4pg/mL、大于1.5pg/mL、2pg/mL、大于2.5pg/mL、大于3pg/mL、约1pg/mL至约1.5pg/mL之间、约1pg/mL与约2pg/mL之间、约2pg/mL至约2.5pg/mL之间、约2.5至约3pg/mL之间、约3pg/mL至约3.5pg/mL之间、约3.5pg/mL至约4pg/mL之间等)的

基线IL-10水平。在一些实施方案中,所述受试者在用抗C1s抗体治疗之前具有基线疲劳水平。在一些实施方案中,所述基线疲劳水平是基于FACIT-F得分来评估的。在一些实施方案中,受试者的基线FACIT-F得分范围为20-25、25-30、30-35或35-40。在一些实施方案中,受试者的基线FACIT-F得分为25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40。

[0049] 本文证明,在正在接受抗C1s抗体治疗的受试者中,炎性细胞因子水平的降低与疲劳的改善相关。因此,已经显示测试的炎性细胞因子的水平指示治疗的功效,例如,改善疲劳。

[0050] 在一些实施方案中,在一段时间(例如,1周、一个月、6-8周、三个月、六个月、一年、两年等)内监测一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6和/或IL-10)的水平。在一些实施方案中,在几个月(例如,至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12等)的过程中或在几年(例如,至少2、3、4、5等)的过程中,每周一次、每两周、每月两次或每月评估所述水平。

[0051] 在一些实施方案中,如果所述样品中的一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6和/或IL-10)的水平相对于基线有所降低,例如降低至少5%或至少10%(例如,至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%或至少80%、约5%至约10%之间、约10%至约15%之间、约15%至约20%之间、约20%至约25%之间、约25%至约30%之间、约30%至约40%之间、约40%至约50%之间、约50%至约60%之间、约60%至约80%之间等,或者如果所述水平降低至该生物标记物或炎性细胞因子的正常范围内的水平)和/或所述受试者的疲劳相对于基线得到改善,所述方法进一步包括继续当前抗C1s抗体治疗。在一些实施方案中,疲劳的改善是FACIT-F得分相对于基线提高至少3分(例如,至少4分、至少5分、至少6分、至少7分、至少8分、至少9分、至少10分、至少11分、至少12分、至少13分、至少14分、至少15分、3-15分、3-10分、3-5分、5-15分、5-10分等)。在一些实施方案中,如果所述样品中的一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6和/或IL-10)的水平在基线的5%或10%之内和/或所述受试者的疲劳相对于基线被维持或恶化,所述方法进一步包括改变当前抗C1s抗体治疗。在一些实施方案中,所述疲劳是基于FACIT-F得分来评估的。在一些实施方案中,疲劳的恶化是FACIT-F得分相对于基线降低至少3分(例如,至少4分、至少5分、至少6分、至少7分、至少8分、至少9分、至少10分、至少11分、至少12分、至少13分、至少14分、至少15分、3-15分、3-10分、3-5分、5-15分、5-10分等)。

[0052] 在一些实施方案中,在开始用抗C1s抗体治疗后的第一时间点和第二时间点测量一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6和/或IL-10)的水平。在一些实施方案中,所述第一时间点和所述第二时间点间隔几天(例如,小于1周)、间隔1周、间隔2周、间隔3周、间隔1个月、间隔2个月或间隔几个月(例如,至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个月等)。在一些实施方案中,如果所述样品中的一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6和/或IL-10)的水平在第二时间点相对于第一时间点有所降低,例如降低至少5%或至少10%(例如,至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%或至少80%、约5%至约10%之间、约10%至约15%之间、约15%至约20%之间、约20%至约25%之间、约25%至约30%之间、约30%至约40%之间、约40%至约50%之间、约50%至约60%之

间、约60%至约80%之间等,或者如果所述水平降低至该生物标记物或炎性细胞因子的正常范围内的水平)和/或所述受试者的疲劳相对于第一时间点得到改善,所述方法进一步包括继续当前抗C1s抗体治疗。在一些实施方案中,如果所述样品中的一种或多种炎症生物标记物(例如,CRP)或一种或多种炎性细胞因子(例如,IL-6和/或IL-10)在第二时间点的水平在第一时间点的水平的5%或10%之内和/或所述受试者的疲劳相对于第一时间点被维持或恶化,所述方法进一步包括改变当前抗C1s抗体治疗。在一些实施方案中,疲劳的恶化是FACIT-F得分相对于基线降低至少3分(例如,至少4分、至少5分、至少6分、至少7分、至少8分、至少9分、至少10分、至少11分、至少12分、至少13分、至少14分、至少15分、3-15分、3-10分、3-5分、5-15分、5-10分等)。

[0053] 在一些实施方案中,在患者体重<75kg的情况下,继续当前抗C1s抗体治疗包括:a)在第1天施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体;b)在第8天施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体;和c)在第8天施用后每隔一周施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续约4周至1年的时间段,例如约4周至约8周、约2个月至约6个月或约6个月至1年。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续多于1年的时间段。例如,在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续1年至50年的时间段,例如1年至2年、2年至5年、5年至10年、10年至20年、20年至30年、30年至40年或40年至50年。在一些实施方案中,在患者体重≥75kg的情况下,继续当前抗C1s抗体治疗包括:a)在第1天施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体;b)在第8天施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体;和c)在第8天施用后每隔一周施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续约4周至1年的时间段,例如约4周至约8周、约2个月至约6个月或约6个月至1年。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续多于1年的时间段。例如,在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续1年至50年的时间段,例如1年至2年、2年至5年、5年至10年、10年至20年、20年至30年、30年至40年或40年至50年。

[0054] 在一些实施方案中,改变用抗C1s抗体治疗包括调整用所述抗C1s抗体治疗的剂量和/或频率。在一些实施方案中,调整用抗C1s抗体治疗的剂量和/或频率涉及增加用抗C1s抗体治疗的剂量和/或频率。在一些实施方案中,所述抗C1s抗体的有效剂量增加约0.1g至约0.5g、约0.5g至约1g、约1g至约1.5g、约1.5g至约2.0g、约2.0至约2.5g、约2.5g至约3g或约3g至约3.5g。在一些实施方案中,所述抗C1s抗体的有效剂量增加约0.1g、约0.2g、约0.3g、约0.4g、约0.5g、约0.6g、约0.7g、约0.8g、约0.9g、约1g、约1.5g、约2g、约2.5g、约3g或约3.5g。在一些实施方案中,所述治疗的频率增加至每月、每两周、每周、每隔一天或每天。在一些实施方案中,抗C1s抗体作为一个或多个负荷剂量来施用,随后按给药间隔给药。在一些实施方案中,负荷剂量的频率增加至每月、每两周、每周、每隔一天或每天。在一些实施方案中,在初始一个或多个负荷剂量之后的给药间隔被减少(例如,减小至每月、每两周、每周、每隔一天、每天等)。在一些实施方案中,负荷剂量的数量增加(例如,增加1、2、3、4或更多)。

[0055] 在一些实施方案中,改变用抗C1s抗体治疗包括用抗炎剂进一步治疗受试者。在一些实施方案中,抗炎剂选自以下中的一种或多种:糖皮质激素(例如,皮质醇、泼尼松龙、甲

基泼尼松龙、地塞米松)；非甾体类抗炎药(NSAID)(例如,阿司匹林、布洛芬、非诺洛芬、萘普生、舒林酸、双氯芬酸、吡罗昔康、酮洛芬、二氟尼柳、萘丁美酮、依托度酸或奥沙普嗪、吲哚美辛)；Cox-2抑制剂(例如,罗非昔布和塞来昔布)；干扰素、干扰素衍生物,包括betaseron、 β -干扰素；可溶性TNF受体；抗TNF抗体；白细胞介素或其他细胞因子的可溶性受体(例如,IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-17、IL-18、IL-1 β 或IFN- γ 的受体)；针对白细胞介素或其他细胞因子(例如,IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-17、IL-18、IL-1 β 或IFN- γ)的抗体；和针对白细胞介素或其他细胞因子的受体(例如,IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-17、IL-18、IL-1 β 或IFN- γ 的受体)的抗体。在一些实施方案中,所述抗炎剂是IL-6拮抗剂(例如,抗IL-6抗体)。在一些实施方案中,所述抗炎剂是IL-10拮抗剂(例如,抗IL-10抗体)。

[0056] 在一些实施方案中,改变用抗C1s抗体治疗包括进一步治疗所述受试者以改善疲劳。在一些实施方案中,改善疲劳的进一步治疗包括施用以下中的一种或多种:NSAID(例如,阿司匹林、布洛芬、非诺洛芬、萘普生、舒林酸、双氯芬酸、吡罗昔康、酮洛芬、二氟尼柳、萘丁美酮、依托度酸、奥沙丙嗪或吲哚美辛)；抗组胺药(苯海拉明或多西拉明)；兴奋剂(例如,莫达非尼、阿莫达非尼(armodafinil)、哌甲酯、右旋苯丙胺或苯丙胺盐)；睡眠助剂(例如,褪黑素、环苯扎林、氯硝西洋、唑吡坦、佐匹克隆或异丙嗪)；抗癫痫药(例如,加巴喷丁或普瑞巴林)；抗抑郁药(例如,阿米替林、多塞平、去甲替林、曲唑酮或米氮平)；止痛药(例如,对乙酰氨基酚、羟考酮、氢可酮、吗啡、芬太尼、丁丙诺啡、他喷他多(tapendatol)、或曲马多)。

[0057] 在一些实施方案中,所述受试者已经经历了输血。在一些实施方案中,所述受试者已经在开始用抗C1s抗体治疗之前,例如在一个月内、在3周内、在2周内或在1周内经历了输血。

[0058] 人源化抗C1s抗体

[0059] 示例性人源化抗C1s抗体序列提供于下文表1中。

[0060] 表1. 抗C1s抗体1号(苏替莫单抗)

抗体区	序列	SEQ ID NO:
HC	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATISGGSHYYLDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTALYYCARLFTGYAMDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNPKVDKRVESKYGPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTP E V T C V V D V S Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K	1
LC	QIVLTQSPATLSLSPGERATMSCTASSSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLWIYS TSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYYCHQYRLLPPIITFGQ GTKLEIKRTVAAPSVEFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNRFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC	2
VH	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATISGGSHYYLDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTALYYCARLFTGYAMDYWGQGTLLVTVSS	3
VL	QIVLTQSPATLSLSPGERATMSCTASSSVSSSYLHWYQQKPGKAPKLWIYS TSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYYCHQYRLLPPIITFGQ GTKLEIK	4
HC CDR1	NYAMS	5
HC CDR2	TISSGGSHYYLDSVKG	6

[0061]

[0062]	HC CDR3	LFTGYAMDY	7
	LC CDR1	TASSSVSSSYLH	8
	LC CDR2	STSNLAS	9
	LC CDR3	HQYYRLPPIIT	10

[0063] 残基编号遵循Kabat等人,美国卫生与公众服务部,“Sequence of Proteins of Immunological Interest”(1991)的命名法。

[0064] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的重链互补决定区2(HC CDR2)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链互补决定区3(HC CDR3)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC CDR2和含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HC CDR3。

[0065] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链互补决定区1(LC CDR1)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的轻链互补决定区2(LC CDR2)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链互补决定区3(LC CDR3)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LC CDR2和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LC CDR3。

[0066] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HC CDR3、含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LC CDR2和含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LC CDR3。

[0067] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变区(VH)。

[0068] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。

[0069] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的VL。

[0070] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链(HC)。

[0071] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链(LC)。

[0072] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HC和含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LC。

[0073] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含HC CDR1,所述HC CDR1包含含有相对于SEQ ID NO:5的HC CDR1氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含HC CDR2,所述HC CDR2包含含有相对于SEQ ID NO:6的HC CDR2氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含HC CDR3,所述HC CDR3包含含有相对于SEQ ID NO:7的HC CDR3氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例

如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。在一些实施方案中,亲和力成熟可用于鉴定保留结合特异性的CDR变异。

[0074] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含LC CDR1,所述LC CDR1包含含有相对于SEQ ID NO:8的LC CDR1氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含LC CDR2,所述LC CDR2包含含有相对于SEQ ID NO:9的LC CDR2氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含LC CDR3,所述LC CDR3包含含有相对于SEQ ID NO:10的LC CDR3氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。

[0075] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VH,所述VH包含含有相对于SEQ ID NO:3的VH氨基酸序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。

[0076] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VL,所述VL包含含有相对于SEQ ID NO:4的VL氨基酸序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。

[0077] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VH,所述VH包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HC CDR3,并且包含含有相对于SEQ ID NO:3的VH序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的框架区。

[0078] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VL,所述VL包含含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LC CDR2、含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LC CDR3,并且包含含有相对于SEQ ID NO:4的VL序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的框架区。

[0079] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含(a)VH,其包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HC CDR3,并且包含含有相对于SEQ ID NO:3的VH序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的框架区,和(b)VL,其包含含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LC CDR2、含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LC CDR3,并且包含含有相对于SEQ ID NO:4的VL序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的框架区。

[0080] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VH,所述VH包含具有与SEQ ID NO:3的VH氨基酸序列至少80%(例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。

[0081] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VL,所述VL包含具有与SEQ ID NO:4的VL氨基酸序列至少80%(例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。

[0082] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VH,所述VH包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HC CDR3,并且包含具有与SEQ ID NO:3的VH序列的框架区至少80% (例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 同一性的框架区。

[0083] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VL,所述VL包含含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LC CDR2、含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LC CDR3,并且包含具有与SEQ ID NO:4的VL序列的框架区至少80% (例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 同一性的框架区。

[0084] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含 (a) VH,其包含含有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HC CDR3,并且包含具有与SEQ ID NO:3的VH序列的框架区至少80% (例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 同一性的框架区,和 (b) VL,其包含含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的LC CDR2、含有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的LC CDR3,并且包含具有与SEQ ID NO:4的VL序列的框架区至少80% (例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 同一性的框架区。

[0085] 另一个示例性人源化抗C1s抗体序列提供于下文表2中。

[0086] 表2. 抗C1s抗体2号

抗体区	序列	SEQ ID NO:
HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCTASGFNIKDDYIHWVKQAPGQGLEWIGRIDPADGHTKYAPKFQVKVTITADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARYGYG REVFDYWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTITTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS QEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSLGK	11
LC	DIVLTQSPD SLAVSLGERATISCKASQSV D YDGD SYM N W Y Q Q K P G Q P P K I L IYDASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAIYYCQQSNEDPWT GGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	12
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCTASGFNIKDDYIHWVKQAPGQGLEWIGRIDPADGHTKYAPKFQVKVTITADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARYGYG REVFDYWGQGT TTVTVSS	13
VL	DIVLTQSPD SLAVSLGERATISCKASQSV D YDGD SYM N W Y Q Q K P G Q P P K I L IYDASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAIYYCQQSNEDPWT GGGTKVEIK	14
HC CDR1	DDYIH	15
HC CDR2	RIDPADGHTKYAPKFQV	16
HC CDR3	YGYGREVFDY	17
LC CDR1	KASQSV D YDGD SYM N	18
LC CDR2	DASNLES	19
LC CDR3	QQSNEDPWT	20

[0088] 残基编号遵循Kabat等人,美国卫生与公众服务部,“Sequence of Proteins of Immunological Interest”(1991)的命名法。

[0089] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:16的

氨基酸序列的重链互补决定区2(HC CDR2)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的重链互补决定区3(HC CDR3)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HC CDR2和含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HC CDR3。

[0090] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的轻链互补决定区1(LC CDR1)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的轻链互补决定区2(LC CDR2)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链互补决定区3(LC CDR3)。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的LC CDR2和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的LC CDR3。

[0091] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HC CDR3、含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的LC CDR2和含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的LC CDR3。

[0092] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的重链可变区(VH)。

[0093] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。

[0094] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的VL。

[0095] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的重链(HC)。

[0096] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的轻链(LC)。

[0097] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HC和含有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的LC。

[0098] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含HC CDR1,所述HC CDR1包含含有相对于SEQ ID NO:15的HC CDR1氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含HC CDR2,所述HC CDR2包含含有相对于SEQ ID NO:16的HC CDR2氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含HC CDR3,所述HC CDR3包含含有相对于SEQ ID NO:7的HC CDR3氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。

[0099] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含LC CDR1,所述LC CDR1包含含有相对于SEQ ID NO:18的LC CDR1氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含LC CDR2,所述LC CDR2包含含有相对于SEQ ID NO:19的LC CDR2氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含LC CDR3,所述LC CDR3包含含有相对于SEQ ID NO:20的LC CDR3氨基酸序列的不多于3个氨基酸变异

(例如,不多于3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。

[0100] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VH,所述VH包含含有相对于SEQ ID NO:13的VH氨基酸序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。

[0101] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VL,所述VL包含含有相对于SEQ ID NO:14的VL氨基酸序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的氨基酸序列。

[0102] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VH,所述VH包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HC CDR3,并且包含含有相对于SEQ ID NO:13的VH序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的框架区。

[0103] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VL,所述VL包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的LC CDR2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的LC CDR3,并且包含含有相对于SEQ ID NO:14的VL序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的框架区。

[0104] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含(a) VH,其包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HC CDR3,并且包含含有相对于SEQ ID NO:13的VH序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的框架区,和(b) VL,其包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的LC CDR2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的LC CDR3,并且包含含有相对于SEQ ID NO:14的VL序列的不多于20个氨基酸变异(例如,不多于20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸变异)的框架区。

[0105] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VH,所述VH包含具有与SEQ ID NO:13的VH氨基酸序列至少80%(例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。

[0106] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VL,所述VL包含具有与SEQ ID NO:14的VL氨基酸序列至少80%(例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。

[0107] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VH,所述VH包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HC CDR3,并且包含具有与SEQ ID NO:13的VH序列的框架区至少80%(例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的框架区。

[0108] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含VL,所述VL包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的LC CDR2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的LC CDR3,并且包含具有与SEQ ID NO:14的VL序列的框架区至少80%(例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的框架区。

[0109] 在一些实施方案中,人源化抗C1s抗体包含(a) VH,其包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的HC CDR1、含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的HC CDR2、含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的HC CDR3,并且包含具有与SEQ ID NO:13的VH序列的框架区至少80% (例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 同一性的框架区,和(b) VL,其包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的LC CDR1、含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的LC CDR2、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的LC CDR3,并且包含具有与SEQ ID NO:14的VL序列的框架区至少80% (例如,80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%) 同一性的框架区。

[0110] “抗体”涵盖任何同种型的抗体或免疫球蛋白,包括但不限于人源化抗体和嵌合抗体。抗体可以是单链抗体(scAb)或单结构域抗体(dAb) (例如,单结构域重链抗体或单结构域轻链抗体;参见Holt等人(2003) Trends Biotechnol. 21:484)。术语“抗体”还涵盖保留与抗原特异性结合的抗体的片段(抗体片段)。“抗体”还包含单链可变片段(scFv) (其是用短接头肽连接的抗体的重链(V_H)和轻链(V_L)的可变区的融合蛋白)和双抗体(其是包含通过小肽接头连接的 V_H 和 V_L 的scFv片段的非共价二聚体(Zapata等人, Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995))。包含抗体的抗原结合部分和非抗体蛋白的其他融合蛋白也包含在术语“抗体”中。

[0111] “抗体片段”包括完整抗体的一部分,例如,完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的例子包括抗原结合片段(Fab)、Fab'、F(ab')₂、可变结构域Fv片段(Fv)、Fd片段和嵌合抗原受体的抗原结合片段。

[0112] 抗体的木瓜蛋白酶消化产生两个称为“Fab”片段的相同抗原结合片段(每个片段具有单个抗原结合位点)和残留的“Fc”片段(这一名称反映了容易结晶的能力)。胃蛋白酶处理产生F(ab')₂片段,其具有两个抗原结合位点并且仍能够使抗原交联。

[0113] “Fv”是含有完全抗原识别和结合位点的最小抗体片段。此区域包括紧密非共价缔合的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域的二聚体。在此构型中,每个可变结构域的三个CDR相互作用以将抗原结合位点限定在 V_H - V_L 二聚体的表面上。总的来说,这六个CDR赋予抗体以抗原结合特异性。然而,即使单个可变结构域(或仅包含三个对抗原具有特异性的CDR的半个Fv)也具有识别和结合抗原的能力,但其亲和力低于整个结合位点。

[0114] “Fab”片段含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH₁)。Fab片段与Fab'片段的不同之处在于在重链CH₁结构域的羧基末端处添加几个残基,包括来自抗体铰链区的至少一个半胱氨酸。Fab'-SH是本文中Fab'的名称,其中恒定结构域的一个或多个半胱氨酸残基带有游离巯基。F(ab')₂抗体片段最初是作为Fab'片段对产生的,它们之间具有铰链半胱氨酸。抗体片段的其他化学偶联也是已知的。

[0115] “scFv”抗体片段包含抗体的 V_H 和 V_L ,其中这些区域存在于单条多肽链中。在一些实施方案中,Fv多肽进一步在 V_H 区与 V_L 区之间包含使得sFv能够形成抗原结合所需的结构的肽接头。关于scFv的综述,参见Pluckthun的The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore编辑, Springer-Verlag, New York,第269-315页(1994)。

[0116] “双抗体”是指具有两个抗原结合位点的小抗体片段,所述片段包含与同一条多肽链中的 V_L 连接的 V_H (V_H - V_L)。通过使用过短而不允许在同一条链上的两个结构域之间配对的接头,迫使结构域与另一条链的互补结构域配对并产生两个抗原结合位点。双抗体更全面

地描述于例如Hollinger等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)。

[0117] 抗体可以是单价或二价的。抗体可以是Ig单体,它是由四条多肽链组成的“Y形”分子:通过二硫键连接的两条重链和两条轻链。

[0118] 抗体可以例如用放射性同位素、产生可检测产物的酶和/或荧光蛋白可检测地标记。抗体可进一步缀合到其他部分,如特异性结合对的成员,例如生物素-亲和素特异性结合对的生物素成员。抗体还可以结合到固体支持物,包括但不限于聚苯乙烯板和/或珠等。

[0119] “分离的”抗体是已鉴定出并且与其天然环境的组分分离和/或从其天然环境的组分回收的(即不是天然存在的)抗体。其天然环境的污染物组分是会干扰抗体的用途(例如,诊断或治疗用途)的材料,并且可以包括酶、激素和其他蛋白质或非蛋白质溶质。在一些实施方案中,抗体被纯化(1)至如通过Lowry方法确定的按重量计大于90%、大于95%或大于98%,例如按重量计大于99%的抗体;(2)至通过使用旋杯式测序仪足以获得N末端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度;或(3)至在还原或非还原条件下使用考马斯蓝或银染试剂通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)测得的同质性。分离的抗体涵盖重组细胞内的原位抗体,因为抗体的天然环境的至少一种组分将不存在。在一些实施方案中,分离的抗体通过至少一个纯化步骤来制备。

[0120] “单克隆抗体”是由一组相同细胞产生的抗体,所有这些细胞都是通过重复细胞复制从单个细胞产生的。也就是说,细胞克隆仅产生单一的抗体种类。虽然可使用杂交瘤生产技术产生单克隆抗体,但也可使用本领域技术人员已知的其他生产方法(例如,来源于抗体噬菌体展示文库的抗体)。

[0121] “互补决定区(CDR)”是在重链多肽和轻链多肽两者的可变区内发现的非连续抗原结合位点。CDR已经描述于Lefranc等人(2003) *Developmental and Comparative Immunology* 27:55;Kabat等人, *J.Biol.Chem.* 252:6609-6616(1977);Kabat等人,美国卫生与公众服务部,“Sequences of proteins of immunological interest”(1991);Chothia等人, *J.Mol.Biol.* 196:901-917(1987);和MacCallum等人, *J.Mol.Biol.* 262:732-745(1996),其中定义包括当彼此比较时氨基酸残基的重叠或子集。然而,应用任一定义来指代抗体或移植的抗体或其变体的CDR旨在处于如本文所定义和使用的术语的范围内。

[0122] 术语“LC CDR1”、“LC CDR2”和“LC CDR3”分别是指轻链可变区中的第一、第二和第三CDR。如本文所用,术语“HC CDR1”、“HC CDR2”和“HC CDR3”分别是指重链可变区中的第一、第二和第三CDR。如本文所用,术语“CDR1”、“CDR2”和“CDR3”分别是指任一链可变区的第一、第二和第三CDR。

[0123] “框架”在关于抗体可变区使用时包括抗体可变区内CDR区外的所有氨基酸残基。可变区框架通常是仅包括CDR之外的那些氨基酸的不连续的氨基酸序列。“框架区”包括由CDR分隔的框架的每个结构域。

[0124] “人源化抗体”是包含不同来源的抗体部分的抗体,其中至少一个部分包含人来源的氨基酸序列。例如,人源化抗体可以包含源自具有必需特异性的非人来源抗体(如小鼠)和源自人来源抗体序列(例如嵌合免疫球蛋白)的部分,它们通过常规技术(例如合成)化学连接在一起,或者使用基因工程技术制备成连续多肽(例如,可表达编码嵌合抗体的蛋白质部分的DNA,以产生连续多肽链)。人源化抗体的另一个例子是含有至少一条链的抗体,所述链包含源自非人来源抗体的CDR和源自人来源的轻链和/或重链的框架区(例如,具有或不

具有框架改变的CDR移植的抗体)。术语人源化免疫球蛋白还包括嵌合或CDR移植的单链抗体。参见例如, Cabilly等人, 美国专利号4,816,567; Cabilly等人, 欧洲专利号0,125,023B1; Boss等人, 美国专利号4,816,397; Boss等人, 欧洲专利号0,120,694B1; Neuberger, M.S.等人, WO 86/01533; Neuberger, M.S.等人, 欧洲专利号0,194,276B1; Winter, 美国专利号5,225,539; Winter, 欧洲专利号0,239,400B1; Padlan, E.A.等人, 欧洲专利申请号0,519,596A1。关于单链抗体还参见, Ladner等人, 美国专利号4,946,778; Huston, 美国专利号5,476,786; 和Bird, R.E.等人, *Science*, 242:423-426 (1988)。

[0125] 在一些实施方案中, 使用合成和/或重组核酸来产生人源化抗体, 以制备编码所希望人源化链的基因(例如cDNA)。例如, 编码人源化可变区的核酸(例如, DNA)序列可以使用PCR诱变方法改变编码人或人源化链的DNA序列(如来自先前人源化可变区的DNA模板)来构建(参见例如, Kamman, M., 等人, *Nucl. Acids Res.*, 17:5404 (1989); Sato, K., 等人, *Cancer Research*, 53:851-856 (1993); Daugherty, B.L.等人, *Nucleic Acids Res.*, 19(9):2471-2476 (1991); 和Lewis, A.P.和J.S.Crowe, *Gene*, 101:297-302 (1991))。使用这些或其他合适的方法, 也可容易地产生变体。例如, 可以诱变克隆的可变区, 并且可以选择编码具有所希望特异性的变体的序列(例如, 从噬菌体文库; 参见例如, Krebber等人, 美国专利号5,514,548; Hoogenboom等人, WO 93/06213, 1993年4月1日公开)。

[0126] 在一些实施方案中, 本文所述的人源化抗C1s抗体是全长IgG、Ig单体、Fab片段、F(ab')₂片段、Fd片段、scFv、scAb或Fv。在一些实施方案中, 本文所述的人源化抗C1s抗体是全长IgG。在一些实施方案中, 如本文所述的任何人源化抗C1s抗体的重链包含重链恒定区(CH)或其部分(例如, CH1、CH2、CH3或其组合)。重链恒定区可以具有任何合适的来源, 例如人、小鼠、大鼠或兔。在一些实施方案中, 所述重链恒定区来自人IgG(γ重链), 例如IgG1、IgG2或IgG4。

[0127] 在一些实施方案中, 可以将突变引入本文所述的任一种人源化抗C1s抗体的重链恒定区。在一些实施方案中, 将一个、两个或更多个突变(例如, 氨基酸取代)引入重链恒定区(例如, 在CH2结构域(人IgG1的残基231-340)和/或CH3结构域(人IgG1的残基341-447)和/或铰链区中, 其中根据Kabat编号系统(例如, Kabat中的EU索引)编号)以增加或降低抗体对效应细胞表面上的Fc受体(例如, 激活的Fc受体)的亲和力。降低或增加抗体对Fc受体的亲和力的抗体的Fc区中的突变以及将这种突变引入Fc受体或其片段中的技术是本领域技术人员已知的。可以改变抗体对Fc受体的亲和力的抗体的Fc受体中的突变的例子描述于例如Smith P等人, (2012) PNAS 109:6181-6186、美国专利号6,737,056和国际申请号WO 02/060919; WO 98/23289; 和WO 97/34631, 将其通过引用并入本文。

[0128] 在一些实施方案中, 将一个、两个或更多个突变(例如, 氨基酸取代)引入重链恒定区(CH1结构域)的铰链区中, 使得铰链区中的半胱氨酸残基的数量改变(例如, 增加或减少), 如描述于例如美国专利号5,677,425。可以改变CH1结构域的铰链区中的半胱氨酸残基的数量以例如促进轻链和重链的组装、或改变(例如, 增加或减少)抗体的稳定性或促进接头缀合。

[0129] 在一些实施方案中, 将一个、两个或更多个氨基酸突变(即, 取代、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FcRn结合片段中以改变(例如, 减少或增加)抗体的体内半衰期。在一些实施方案中, 将所述一个或多个突变引入Fc或铰链-Fc结构域片段中。对于将改变(例如,

减少或增加)抗体的体内半衰期的突变的例子,参见例如,国际申请号W002/060919;W0 98/23289;和W0 97/34631;和美国专利号5,869,046;6,121,022;6,277,375;和6,165,745。

[0130] 在一些实施方案中,本文所述的恒定区抗体是IgG1恒定区,并且包含位置252处的甲硫氨酸(M)至酪氨酸(Y)取代、位置254处的丝氨酸(S)至苏氨酸(T)取代和位置256处的苏氨酸(T)至谷氨酸(E)取代,根据如Kabat中的EU索引编号。参见美国专利号7,658,921,将其通过引用并入本文。与相同抗体的野生型版本相比,这种类型的突变IgG(被称为“YTE突变体”)被证明显示出增加四倍的半衰期(参见Dall’Acqua W F等人,(2006) J Biol Chem 281:23514-24)。在一些实施方案中,抗体包含IgG恒定结构域,所述IgG恒定结构域包含位置251-257、285-290、308-314、385-389和428-436处的氨基酸残基的一个、两个、三个或更多个氨基酸取代,根据如Kabat中的EU索引编号。可以引入到重链恒定区以增加抗体的半衰期的其他突变是本领域已知的,例如M428L/N434S(EU编号;M459L/N466S Kabat编号)突变,如描述于Zalevsky等人,Nat Biotechnol.2010年2月;28(2):157-159。

[0131] 在一些实施方案中,将一个、两个或更多个氨基酸取代引入IgG恒定结构域Fc区以改变抗体的一种或多种效应子功能。改变对其亲和力的效应配体可以是例如Fc受体或补体的C1组分。此方法更详细地描述于美国专利号5,624,821和5,648,260中。在一些实施方案中,恒定区结构域的缺失或失活(通过点突变或其他方式)可以减少循环抗体的Fc受体结合,从而增加肿瘤定位。对于缺失或失活恒定结构域并且从而增加肿瘤定位的突变的描述,参见例如,美国专利号5,585,097和8,591,886。在一些实施方案中,可以将至少一个氨基酸取代引入本文所述抗体的Fc区以去除Fc区上潜在的糖基化位点,这可以降低Fc受体结合(参见例如,Shields R L等人,(2001) J Biol Chem 276:6591-604)。

[0132] 在一些实施方案中,恒定区中的至少一个氨基酸可以用不同的氨基酸残基替代,使得抗体具有改变的C1q结合和/或减少或消除的补体依赖性细胞毒性(CDC)。此方法更详细地描述于美国专利号6,194,551(Idusogie等人)中。在一些实施方案中,改变本文所述抗体的CH2结构域的N末端区域中的至少一个氨基酸残基,从而改变抗体固定补体的能力。此方法进一步描述于国际公开号W0 94/29351中。在一些实施方案中,本文所述的抗体的Fc区被修饰以增加抗体介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的能力和/或增加抗体对Fc γ 受体的亲和力。此方法进一步描述于国际公开号W0 00/42072中。

[0133] 在一些实施方案中,为了避免已知用天然IgG4 mAb发生的由于Fab臂交换引起的潜在并发症,本文提供的抗体可以包含稳定的“Adair”突变(Angal S.,等人,“A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody,” Mol Immunol 30,105-108;1993),其中丝氨酸228(EU编号;残基241Kabat编号)被转化为脯氨酸,产生IgG1样铰链序列。在一些实施方案中,为了减少残留的抗体依赖性细胞毒性,将L235E(EU编号,对应于Kabat编号中的L248E)突变引入重链恒定区,例如,如描述于Benhnia等人,JOURNAL OF VIROLOGY,2009年12月,第12355-12367页。

[0134] 在一些实施方案中,本文所述的任一种人源化抗C1s抗体中的重链恒定区是IgG4恒定区或其变体。IgG4恒定区和变体的例子提供于表3中。

[0135] 表3.重链恒定区的例子

	重链恒定区	氨基酸序列
[0136]	IgG4恒定区WT (本文也称为 “IgG4wt”)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 21)
	IgG4恒定区变 体1 (本文也称为	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEF EGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
	重链恒定区	氨基酸序列
	“IgG4v1”)	REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 22)
[0137]	IgG4恒定区变 体2 (本文也称为 “IgG4v2”)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEF EGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 23)

[0138] 在一些实施方案中,本文所述的任何人源化抗C1s抗体的轻链可以进一步包含轻链恒定区(C_L)。在一些例子中,C_L是κ轻链。在其他例子中,C_L是λ轻链。在一些实施方案中,C_L是κ轻链,其序列提供如下:

[0139] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:24)

[0140] 其他抗体重链恒定区和轻链恒定区是本领域熟知的,例如IMGT数据库(www.imgt.org)或www.vbase2.org/vbstat.php.中提供的那些,将其两者均通过引用并入本文。

[0141] 组合物

[0142] 抗C1s抗体通常存在于组合物中,例如药物组合物中。

[0143] 在一些实施方案中,包含抗C1s抗体的组合物包含以下中的一种或多种:盐,例如NaCl、MgCl₂、KCl、MgSO₄等;缓冲剂,例如Tris缓冲液,N-(2-羟乙基)哌嗪-N'-(2-乙磺酸)(HEPES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸(MES)、2-(N-吗啉代)乙磺酸钠盐(MES)、3-(N-吗啉代)丙磺酸(MOPS)、N-三[羟甲基]甲基-3-氨基丙磺酸(TAPS)等;增溶剂;去污剂,例如非离子型去污剂如吐温-20等;蛋白酶抑制剂;和/或甘油。

[0144] 可以使用能够产生所需的治疗效果或诊断效果的任何方便手段向受试者施用抗C1s抗体。因此,抗C1s抗体可被掺入多种用于治疗性施用的配制品中。例如,抗C1s抗体可通过与适当的药学上可接受的载体、药学上可接受的稀释剂或其他药学上可接受的赋形剂组合而被配制成药物组合物,并且可被配制成固体、半固体、液体或气体形式的制剂,如片剂、胶囊、散剂、颗粒、软膏、溶液、栓剂、注射剂、吸入剂和气雾剂。在一些实施方案中,药物组合物包含抗C1s抗体和药学上可接受的赋形剂。

[0145] 在药物剂型中,抗C1s抗体可以以其药学上可接受的盐的形式施用,或者它们还可单独或与其他药学活性化合物适当联合以及组合使用。

[0146] 对于口服制剂,抗C1s抗体可单独或与适当的添加剂组合用于制成片剂、粉剂、颗粒或胶囊,例如与常规的添加剂如乳糖、甘露醇、玉米淀粉或马铃薯淀粉;与粘合剂如结晶

纤维素、纤维素衍生物、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；与崩解剂如玉米淀粉、马铃薯淀粉或羧甲基纤维素钠；与润滑剂如滑石粉或硬脂酸镁；和（如果希望）与稀释剂、缓冲剂、润湿剂、防腐剂 and 调味剂组合。

[0147] 通过将抗C1s抗体溶解、悬浮或乳化在水性或非水性溶剂，如植物油或其他类似油、丙二醇、合成脂族酸甘油酯、可注射有机酯（例如油酸乙酯）、高级脂肪酸的酯或丙二醇中；并且在希望时与常规添加剂，如增溶剂、等张剂、助悬剂、乳化剂、稳定剂和防腐剂一起，可以将所述抗体配制成注射用制剂。肠胃外媒介物包括氯化钠溶液、林格氏右旋糖、右旋糖和氯化钠、乳酸林格氏液或固定油。静脉内媒介物包括流体和营养补充剂、电解质补充剂（如基于林格氏右旋糖的那些）等。此外，根据药物组合物的预期用途，本公开文本的药物组合物可包含其他药剂，如多巴胺或精神药理学药物。

[0148] 通过将具有所希望纯度的主题抗体与任选的生理上可接受的载体、其他赋形剂、稳定剂、表面活性剂、缓冲液和/或张力剂混合来制备包含抗C1s抗体的药物组合物。可接受的载体、其他赋形剂和/或稳定剂在采用的剂量和浓度下对受体无毒，并且包括缓冲液，如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸、谷胱甘肽、半胱氨酸、甲硫氨酸和柠檬酸；防腐剂（如乙醇、苯甲醇、苯酚、间甲酚、对氯间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵或其组合）；氨基酸，如精氨酸、甘氨酸、鸟氨酸、赖氨酸、组氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸、甲硫氨酸、丝氨酸、脯氨酸及其组合；单糖、二糖和其他碳水化合物；低分子量（少于约10个残基）多肽；蛋白质，如明胶或血清白蛋白；螯合剂，如EDTA；糖，如海藻糖、蔗糖、乳糖、葡萄糖、甘露糖、麦芽糖、半乳糖、果糖、山梨糖、棉子糖、葡糖胺、N-甲基葡糖胺、半乳糖胺和神经氨酸；和/或非离子表面活性剂，如吐温、Brij Pluronic、Triton-X或聚乙二醇（PEG）。

[0149] 药物组合物可以是液体形式、冻干形式或从冻干形式重构的液体形式，其中冻干制剂在施用之前用无菌溶液重构。重构冻干组合物的标准程序是添加回一定体积的纯水（通常相当于冻干过程中去除的体积）；然而，包含抗菌剂的溶液可用于生产肠胃外施用的药物组合物；还参见Chen(1992)Drug Dev Ind Pharm 18,1311-54。

[0150] 适用于本公开文本方法的药物组合物中的示例性抗体浓度可在约1mg/mL至约200mg/mL或约50mg/mL至约200mg/mL、或约150mg/mL至约200mg/mL的范围内。在一些方面，所述抗体浓度是约10mg/mL至约60mg/mL、约12mg/mL至约58mg/mL、约14mg/mL至约56mg/mL、约16mg/mL至约54mg/mL、约17mg/mL至约52mg/mL、或约18mg/mL至约50mg/mL。在一些方面，所述抗体浓度是18mg/mL。在一些方面，所述抗体浓度是50mg/mL。

[0151] 抗C1s抗体的水性配制品可在pH缓冲溶液中，例如，在范围从约4.0至约7.0、或约5.0至约6.0、或可替代地约5.5的pH下制备。适合于该范围内的pH的缓冲液例子包括磷酸盐缓冲液、组氨酸缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、琥珀酸盐缓冲液、乙酸盐缓冲液和其他有机酸缓冲液。缓冲液浓度可以是约1mM至约100mM或约5mM至约50mM，这取决于例如缓冲液和配制品的所需张力。

[0152] 抗体配制品中可包含张力剂以调节配制品的张力。示例性的张力剂包括氯化钠、氯化钾、甘油和来自氨基酸、糖以及其组合的组的任何组分。在一些实施方案中，水性配制品是等渗的，但高渗或低渗溶液可能是合适的。术语“等渗”指示具有与其比较的某些其他溶液（如生理盐溶液或血清）相同张力的溶液。可以按约5mM至约350mM的量，例如以100mM至

350nM的量使用张力剂。

[0153] 表面活性剂也可添加到抗体配制品中,以减少配制抗体的聚集和/或使配制品中颗粒的形成最小化和/或减少吸附。示例性的表面活性剂包括聚氧乙烯脱水山梨醇脂肪酸酯(Tween)、聚氧乙烯烷基醚(Brij)、烷基苯基聚氧乙烯醚(Triton-X)、聚氧乙烯-聚丙烯共聚物(泊洛沙姆、Pluronic)和十二烷基硫酸钠(SDS)。合适的聚氧乙烯脱水山梨醇脂肪酸酯的例子是聚山梨醇酯20(以商标Tween 20TM出售)和聚山梨醇酯80(以商标Tween 80TM出售)。合适的聚乙烯-聚丙烯共聚物的例子是以名称PLURONIC®F68或POLOXAMER 188TM出售的那些。合适的聚氧乙烯烷基醚的例子是以商标BRIJTM出售的那些。表面活性剂的示例性浓度可在约0.001%至约1%w/v的范围内。

[0154] 还可加入冻干保护剂,以便保护不稳定的活性成分(例如蛋白质)在冻干过程中免受去稳定条件的影响。例如,已知的冻干保护剂包括糖(包括葡萄糖和蔗糖);多元醇(包括甘露醇、山梨醇和甘油);和氨基酸(包括丙氨酸、甘氨酸和谷氨酸)。可以以约10mM至500nM的量包括冻干保护剂。

[0155] 在一些实施方案中,合适的配制品包括抗C1s抗体和一种或多种上述药剂(例如表面活性剂、缓冲液、稳定剂、张力剂),并且基本上不含一种或多种防腐剂,如乙醇、苯甲醇、苯酚、间甲酚、对氯间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵及其组合。在其他实施方案中,配制品中包含防腐剂,例如浓度范围为约0.001至约2%(w/v)。

[0156] 例如,合适的配制品可以是适用于肠胃外施用的液体或冻干配制品,并且可包含:约1mg/mL至约200mg/mL的主题抗体;约0.001%至约1%的至少一种表面活性剂;约1mM至约100mM的缓冲液;任选约10mM至约500mM的稳定剂;和约5mM至约305mM的张力剂;并且具有约4.0至约7.0的pH。

[0157] 作为另一个例子,合适的肠胃外配制品是液体或冻干配制品,其包含:约1mg/mL至约200mg/mL的抗C1s抗体;0.04%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM蔗糖;并且具有5.5的pH。

[0158] 作为另一个例子,主题肠胃外配制品包含冻干配制品,其包含:1) 15mg/mL抗C1s抗体;0.04%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或2) 75mg/mL主题抗体;0.04%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或3) 75mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或4) 75mg/mL抗C1s抗体;0.04%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM海藻糖;并且具有5.5的pH;或5) 75mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM海藻糖;并且具有5.5的pH。

[0159] 作为另一个例子,合适的肠胃外配制品是液体配制品,其包含:1) 7.5mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;120mM L-组氨酸;和250 125mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或2) 37.5mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;10mM L-组氨酸;和125mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或3) 37.5mg/mL抗C1s抗体;0.01%吐温20w/v;10mM L-组氨酸;和125mM蔗糖;并且具有5.5的pH;或4) 37.5mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;10mM L-组氨酸;125mM海藻糖;并且具有5.5的pH;或5) 37.5mg/mL抗C1s抗体;0.01%吐温20w/v;10mM L-组氨酸;和125mM海藻糖;并且具有5.5的pH;或6) 5mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM海藻糖;并且具有5.5的pH;或7) 75mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM甘露醇;并且具有5.5的pH;或8) 75mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;20mM L组氨酸;和

140mM氯化钠;并且具有5.5的pH;或9) 150mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM海藻糖;并且具有5.5的pH;或10) 150mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和250mM甘露醇;并且具有5.5的pH;或11) 150mg/mL抗C1s抗体;0.02%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和140mM氯化钠;并且具有5.5的pH;或12) 10mg/mL抗C1s抗体;0.01%吐温20w/v;20mM L-组氨酸;和40mM氯化钠;并且具有5.5的pH。

[0160] 合适的赋形剂媒介物是例如水、盐水、右旋糖、甘油、乙醇等及其组合。此外(如果希望),所述媒介物可含有少量的辅助物质如润湿剂或乳化剂或pH缓冲剂。制备此类剂型的实际方法是本领域技术人员已知的或应是本领域技术人员清楚的。参见例如,Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 第17版, 1985。待施用的组合物或配制品将(无论如何)含有足以在所治疗的受试者中实现所需状态的量的主题抗体。

[0161] 所述药学上可接受的赋形剂(如媒介物、佐剂、载体或稀释剂)对公众而言易于得到。此外,药学上可接受的辅助物质(如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、润湿剂等)对公众而言易于得到。

[0162] 剂量

[0163] 本公开文本提供了一种治疗个体的补体介导的疾病的方法,所述方法包括向所述个体施用抗C1s抗体,其中将抗C1s抗体以至少4g、至少4.5g、至少5g、至少5.5g、至少6g、至少6.5g、至少7g、至少7.5g、至少8g、至少8.5g、至少9g、至少9.5g、或至少10g的有效量施用。

[0164] 在一些实施方案中,将抗C1s抗体以在约5.5g与约10g之间、约5.5g与约9.5g之间、约5.5g与约9g之间、约5.5g与约8.5g之间、约5.5g与约8g之间、约5.5g与约7.5g之间、约5.5g与约7g之间、约5.5g与约6.5g之间、或约5.5g与约6g之间的有效量施用。在一些实施方案中,将抗C1s抗体以在约4.5g与约8.5g之间、约4.5g与约8g之间、约4.5g与约7.5g之间、约4.5g与约7g之间、约4.5g与约6.5g之间、约4.5g与约6g之间、约4.5g与约5.5g之间、或约4.5g与约5g之间的量施用。在一些实施方案中,将抗C1s抗体以在约7.5g至约12g之间、约7.5g与约11.5g之间、约7.5g与约11g之间、约7.5g与约10.5g之间、约7.5g与约10g之间、约7.5g与约9.5g之间、约7.5g与约9g之间、约7.5g与约8.5g之间、或约7.5g与约8g之间的量施用。

[0165] 在一个方面,本公开文本提供了一种治疗个体的补体介导的疾病的方法,所述方法包括向所述个体施用抗C1s抗体,其中所述抗C1s抗体以5.5g的量施用。在一些实施方案中,每隔一周向所述个体施用5.5g剂量的抗C1s抗体。在一些实施方案中,所述方法包括:a) 在第1天施用5.5g抗C1s抗体;b) 在第8天施用5.5g抗C1s抗体;和c) 在第8天施用后每隔一周施用5.5g抗C1s抗体。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用5.5g剂量的抗C1s抗体,持续约4周至1年的时间段,例如约4周至约8周、约2个月至约6个月或约6个月至1年。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用5.5g剂量的抗C1s抗体,持续多于1年的时间段。例如,在一些实施方案中,每隔一周向个体施用5.5g剂量的抗C1s抗体,持续1年至50年的时间段,例如1年至2年、2年至5年、5年至10年、10年至20年、20年至30年、30年至40年或40年至50年。

[0166] 在一些实施方案中,本发明方法的个体体重为75kg或更重,并且将抗C1s抗体以约7.5g的有效剂量施用。在其他方面,本发明方法的个体体重小于75kg,并且将抗C1s抗体以约6.5g的有效剂量施用。

[0167] 在另一方面,本公开文本还提供了一种治疗个体的补体介导的疾病的方法,所述方法包括向所述个体施用抗C1s抗体,其中所述抗C1s抗体以约6.5g的有效剂量施用。在一些实施方案中,每隔一周向所述个体施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体。在一些实施方案中,所述方法包括:a)在第1天施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体;b)在第8天施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体;和c)在第8天施用后每隔一周施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续约4周至1年的时间段,例如约4周至约8周、约2个月至约6个月或约6个月至1年。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续多于1年的时间段。例如,在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约6.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续1年至50年的时间段,例如1年至2年、2年至5年、5年至10年、10年至20年、20年至30年、30年至40年或40年至50年。

[0168] 在另一方面,本公开文本还提供了一种治疗个体的补体介导的疾病的方法,所述方法包括向所述个体施用抗C1s抗体,其中将抗C1s抗体以约7.5g的有效剂量施用。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体。在一些实施方案中,所述方法包括:a)在第1天施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体;b)在第8天施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体;和c)在第8天施用后每隔一周施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续约4周至1年的时间段,例如约4周至约8周、约2个月至约6个月或约6个月至1年。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续多于1年的时间段。例如,在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约7.5g有效剂量的抗C1s抗体,持续1年至50年的时间段,例如1年至2年、2年至5年、5年至10年、10年至20年、20年至30年、30年至40年或40年至50年。

[0169] 在其他方面,本公开文本提供了一种治疗个体的补体介导的疾病的方法,所述方法包括向所述个体施用抗C1s抗体,其中将抗C1s抗体以约6.5g与约7.5g之间的有效剂量施用。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约6.5g至约7.5g之间的有效剂量的抗C1s抗体。在一些实施方案中,所述方法包括在第0天和第7天,并且然后此后每隔一周,施用约6.5g与约7.5g之间的有效剂量的抗C1s抗体。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约6.5g与约7.5g之间的有效剂量的抗C1s抗体,持续约4周至1年的时间段,例如约4周至约8周、约2个月至约6个月或约6个月至1年。在一些实施方案中,每隔一周向个体施用约6.5g与7.5g之间的有效剂量的抗C1s抗体,持续多于1年的时间段。

[0170] 本公开文本提供了一种治疗有需要的受试者的补体介导的疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效剂量的抗C1s抗体,其中施用后抗C1s抗体的血清浓度是至少约20 μ g/mL、至少约25 μ g/mL、至少约30 μ g/mL、至少约35 μ g/mL、至少约40 μ g/mL、至少约45 μ g/mL、至少约50 μ g/mL、至少约55 μ g/mL、至少约60 μ g/mL、至少约65 μ g/mL、至少约70 μ g/mL、至少约75 μ g/mL、至少约80 μ g/mL、至少约85 μ g/mL、至少约90 μ g/mL、至少约95 μ g/mL、或至少约100 μ g/mL。在本公开文本的一些实施方案中,施用后抗C1s抗体的血清浓度在约20 μ g/mL与约100 μ g/mL之间、约20 μ g/mL与约90 μ g/mL之间、约20 μ g/mL与约80 μ g/mL之间、约20 μ g/mL与约70 μ g/mL之间、约20 μ g/mL与约70 μ g/mL之间、约20 μ g/mL与约60 μ g/mL之间、约20 μ g/mL与约50 μ g/mL之间、约20 μ g/mL与约40 μ g/mL之间、或约20 μ g/mL与约30 μ g/mL之间。在一些实施方案中,施用后抗C1s抗体的血清浓度是至少约20 μ g/mL。

[0171] 可使用本领域已知的技术测量受试者中抗C1s抗体的血清浓度。在一些实施方案

中,使用直接结合酶联免疫吸附测定(ELISA)测量抗C1s抗体。在一些实施方案中,使用间接ELISA测量抗C1s抗体。在一些实施方案中,使用夹心ELISA测量抗C1s抗体。在一些实施方案中,使用竞争性ELISA测量抗C1s抗体。

[0172] 本公开文本提供了一种治疗有需要的受试者的补体介导的疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效剂量的抗C1s抗体,其中抗C1s抗体的有效剂量是至少约45mg/kg、至少约50mg/kg、至少约55mg/kg、至少约60mg/kg、至少约65mg/kg、至少约70mg/kg、至少约75mg/kg、至少约80mg/kg、至少约85mg/kg、至少约90mg/kg、至少约95mg/kg或至少约100mg/kg。在一些实施方案中,抗C1s抗体的有效剂量是至少约60mg/kg。

[0173] 在一些实施方案中,抗C1s抗体的有效剂量在约60mg/kg与约100mg/kg之间、约60mg/kg与约95mg/kg之间、约60mg/kg与约90mg/kg之间、约60mg/kg与约85mg/kg之间、约60mg/kg与约80mg/kg之间、约60mg/kg与约75mg/kg之间、约60mg/kg与约70mg/kg之间、或约60mg/kg与约65mg/kg之间。在一些实施方案中,抗C1s抗体的有效剂量在约45mg/kg与约85mg/kg之间、约45mg/kg与约80mg/kg之间、约45mg/kg与约75mg/kg之间、约45mg/kg与约70mg/kg之间、约45mg/kg与约65mg/kg之间、约45mg/kg与约60mg/kg之间、或约45mg/kg与约50mg/kg之间。在一些实施方案中,抗C1s抗体的有效剂量在约85mg/kg与约150mg/kg之间、约85mg/kg与约145mg/kg之间、约85mg/kg与约140mg/kg之间、约85mg/kg与约135mg/kg之间、约85mg/kg与约130mg/kg之间、约85mg/kg与约125mg/kg之间、约85mg/kg与约125mg/kg之间、约85mg/kg与约120mg/kg之间、约85mg/kg与约115mg/kg之间、约85mg/kg与约110mg/kg之间、约85mg/kg与约105mg/kg之间、约85mg/kg与约100mg/kg之间、约85mg/kg与约95mg/kg之间、或约85mg/kg与约90mg/kg之间。

[0174] 在一些实施方案中,本发明方法的有效剂量是约45mg/kg、约50mg/kg、约55mg/kg、约60mg/kg、约65mg/kg、约70mg/kg、约75mg/kg、约80mg/kg、约85mg/kg、约90mg/kg、约95mg/kg、约100mg/kg、约105mg/kg、约110mg/kg、约115mg/kg、约120mg/kg、约125mg/kg、约130mg/kg、约135mg/kg、约140mg/kg、约145mg/kg、或约150mg/kg。

[0175] 本公开文本提供了一种治疗有需要的受试者的补体介导的疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效剂量的抗C1s抗体,其中以五天、六天、七天、八天、九天、十天、十一天、十二天、十三天、十四天、十五天、十六天、十七天、十八天、十九天、二十天、二十一天、二十二天、二十三天、二十四天、二十五天、二十六天、二十七天、二十八天、二十九天、三十天、或三十一天的给药间隔施用抗C1s抗体。

[0176] 在一些实施方案中,以一周、两周、三周、四周、一个月、两个月、三个月、或四个月的给药间隔施用抗C1s抗体。在一些实施方案中,在施用抗C1s抗体后,抗C1s抗体增加了受试者血液中网织红细胞的数量。

[0177] 在一些实施方案中,抗C1s抗体作为一个或多个负荷剂量来施用,随后按给药间隔给药。可间隔约7天、间隔约14天、间隔约21天、间隔约28天、间隔约2个月、间隔约3个月或间隔约4个月施用负荷剂量。在一些实施方案中,本公开文本的负荷剂量是约45mg/kg、约50mg/kg、约55mg/kg、约60mg/kg、约65mg/kg、约70mg/kg、约75mg/kg、约80mg/kg、约85mg/kg、约90mg/kg、约95mg/kg、约100mg/kg、约105mg/kg、约110mg/kg、约115mg/kg、约120mg/kg、约125mg/kg、约130mg/kg、约135mg/kg、约140mg/kg、约145mg/kg、或约150mg/kg。在一些实施方案中,负荷剂量是与以给药间隔施用的剂量不同的剂量。在一些实施方案中,负荷剂

量是与以给药间隔施用的剂量相同的剂量。在一个方面,抗C1s抗体作为两个60mg/kg的每周负荷剂量来施用,随后每隔一周施用60mg/kg的剂量。

[0178] 施用途径

[0179] 使用适用于药物递送的任何可用方法和途径,包括体内和离体方法以及全身性和局部施用途径向个体施用抗C1s抗体。

[0180] 常规和药学上可接受的施用途径包括鼻内、肌内、气管内、鞘内、颅内、皮下、皮内、外用、静脉内、腹膜内、动脉内(例如,经由颈动脉)、脊髓或脑递送、直肠、鼻、口服和其他肠内和肠胃外施用途径。如果希望,可组合施用途径,或者根据抗体和/或希望的效果进行调整。可以将抗C1s抗体组合物以单剂量或多剂量施用。在一些实施方案中,口服施用抗C1s抗体。在一些实施方案中,皮下施用抗C1s抗体。在一些实施方案中,肌内施用抗C1s抗体。在一些实施方案中,静脉内施用抗C1s抗体。

[0181] 可使用适合于递送常规药物的任何可用的常规方法和途径,包括全身性或局部途径,向宿主施用抗C1s抗体。一般而言,本公开文本考虑的施用途径包括但不限于肠内、肠胃外或吸入途径。

[0182] 除吸入施用之外的肠胃外施用途径包括但不限于外用、透皮、皮下、肌内、眶内、囊内、脊柱内、胸骨内、鞘内和静脉内途径,即除通过消化道之外的任何施用途径。可以进行肠胃外施用以实现主题抗体的全身或局部递送。在需要全身递送的情况下,施用通常涉及药物制剂的侵入性或全身吸收的外用或粘膜施用。

[0183] “治疗”意指至少改善与困扰宿主的病理学病症相关的症状,其中改善在广义上用于指代至少减少与被治疗的病理学病症(如补体介导的疾病)相关的参数(例如症状)的量值。因此,治疗还包括以下情形,其中病理学病症或至少与其相关的症状被完全抑制,例如,防止发生,或停止,例如终止,使得宿主不再患有所述病理学病症或至少作为所述病理学病症的特征的症状。

[0184] 在一些实施方案中,例如通过注射和/或递送将抗C1s抗体施用至脑动脉中的部位或直接施用至脑组织中。还可以将抗C1s抗体直接施用至靶位点,例如通过基因枪法递送施用至靶位点。

[0185] 多种宿主(其中术语“宿主”在本文中与术语“受试者”、“个体”和“患者”可互换地使用)可根据主题方法进行治疗。通常此类宿主是“哺乳动物(mammals)”或“哺乳动物(mammalian)”,其中这些术语被广泛用于描述哺乳动物类中的生物,包括食肉动物(例如猫)、食草动物(例如牛、马和羊)、杂食动物(例如狗、山羊和猪)、啮齿动物(例如小鼠、豚鼠和大鼠)和灵长类动物(例如人、黑猩猩和猴子)。在一些实施方案中,宿主是具有补体系统的个体,如哺乳动物、鱼或无脊椎动物。在一些实施方案中,宿主是含补体系统的哺乳动物、鱼类或无脊椎伴侣动物、农业动物、工作动物、动物园动物或实验室动物。在一些实施方案中,所述个体是人。

[0186] 补体介导的疾病

[0187] 在一些实施方案中,补体介导的疾病的特征在于细胞、组织或体液中存在升高(高于正常)量的C1s或升高水平的补体C1s活性。例如,在一些实施方案中,补体介导的疾病的特征在于脑组织和/或脑脊液中存在升高量的C1s和/或升高的C1s活性。细胞、组织或体液中C1s的“高于正常”量表明,细胞、组织或体液中C1s的量高于正常对照水平,例如高于同一

年龄组的个体或个体群体的正常对照水平。细胞、组织或体液中C1s活性的“高于正常”水平表明,细胞、组织或体液中通过C1s实现的蛋白水解裂解高于正常对照水平,例如高于同一年龄组的个体或个体群体的正常对照水平。在一些实施方案中,患有补体介导的疾病的个体展现出这种疾病的一种或多种其他症状。应当理解,术语“疾病”涵盖“障碍”。这两个术语可以互换使用。在一些实施方案中,补体介导的疾病是经典补体介导的疾病。

[0188] 在一些实施方案中,补体介导的疾病的特征在于细胞、组织或体液中存在低于正常量的C1s或较低水平的补体C1s活性。例如,在一些实施方案中,补体介导的疾病的特征在于脑组织和/或脑脊液中存在较低量的C1s和/或较低的C1s活性。细胞、组织或体液中C1s的“低于正常”量表明,细胞、组织或体液中C1s的量低于正常对照水平,例如低于同一年龄组的个体或个体群体的正常对照水平。细胞、组织或体液中C1s活性的“低于正常”水平表明,细胞、组织或体液中通过C1s实现的蛋白水解裂解低于正常对照水平,例如低于同一年龄组的个体或个体群体的正常对照水平。在一些实施方案中,患有补体介导的疾病的个体展现出这种疾病的一种或多种其他症状。

[0189] 补体介导的疾病是其中补体C1s的量或活性例如会引起个体疾病的疾病。补体介导的疾病的非限制性例子包括冷凝集素病(CAD)、大疱性类天疱疮、多灶性运动神经病(MMN)、自身抗体介导的周围神经病、重症肌无力、狼疮性肾炎、粘膜类天疱疮、瘢痕性类天疱疮、眼类天疱疮和抗中性粒细胞胞浆自身抗体(ANCA)相关的血管炎。

[0190] 在一些实施方案中,本发明方法包括治疗有需要的受试者的原发性CAD,其包括施用有效剂量的抗C1s抗体,例如苏替莫单抗,所述有效剂量对于体重小于75kg的受试者在约6.5g与约7.5g之间,例如约6.5g,并且对于体重为75kg或更重的受试者为7.5g。在一些实施方案中,本发明方法没有与贫血严重程度、输血史或先前治疗经历相关的使用限制。在一些实施方案中,在给药之前没有REMS要求;在开始治疗之前,根据本地指南为患者接种疫苗,以降低严重感染的风险。在一些实施方案中,在第0天、第7天以及此后在第21天开始每14天 \pm 2天,以静脉输注的形式经1小时施用所述剂量。静脉输注可以在诊所或家庭环境中进行。作为治疗的结果,抗C1s抗体可改善贫血和相关的临床症状、消除输血、防止溶血、快速起效、改善疲劳和生活质量和/或其任何组合。在其他实施方案中,所述治疗未显示与药物相关的严重或重度不良事件;没有因不良事件引起的停药,没有严重感染;没有REMS要求,最常报告的不良事件类似于安慰剂或其任何组合。在其他实施方案中,作为治疗的结果,抗C1s抗体防止慢性溶血,从而导致贫血的改善、输血的消除、生活质量的改善,并最终降低威胁生命的血栓栓塞事件、发病和死亡的风险,并且降低医疗保健利用率。在一些实施方案中,抗C1s抗体改善疲劳。

[0191] 在一些实施方案中,补体介导的疾病是大疱性类天疱疮。在一些实施方案中,补体介导的疾病是抗体介导的器官移植排斥。在一些实施方案中,补体介导的疾病是冷凝集素疾病。在一些实施方案中,补体介导的疾病是温型自身免疫性溶血性贫血。在一些实施方案中,补体介导的疾病是抗体介导的移植排斥。在一些实施方案中,经典补体介导的疾病是免疫性血小板减少性紫癜。在一些实施方案中,补体介导的疾病是视神经脊髓炎。

[0192] 在一些实施方案中,补体介导的疾病是多灶性运动神经病(MMN)。在一些实施方案中,补体介导的疾病是重症肌无力。在一些实施方案中,补体介导的疾病是慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病。在一些实施方案中,补体介导的疾病是狼疮性肾炎。在一些实施方案中,

补体介导的疾病是粘膜类天疱疮。在一些实施方案中,补体介导的疾病是瘢痕性天疱疮。在一些实施方案中,补体介导的疾病是眼类天疱疮。在一些实施方案中,补体介导的疾病是抗中性粒细胞胞浆自身抗体 (ANCA) 相关的血管炎。

[0193] 在其他实施方案中,补体介导的疾病是自身抗体介导的周围神经病,包括但不限于格林-巴利综合征、重症肌无力、急性炎性脱髓鞘性多发性神经病 (AIDP)、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病 (CIDP)、急性运动性轴索神经病 (AMAN)、急性运动性和感觉轴索神经病 (AMSAN)、咽-颈臂变异体、米勒费希尔综合征 (Miller Fisher syndrome) 或其任何组合。在一些实施方案中,补体介导的疾病是格林-巴利综合征,其表现为快速发作的肌肉无力,从脚和手开始,蔓延到手臂和上身。在急性期,它可能是致命的,因为可能发生呼吸衰竭,并且其他自主功能 (如心率) 可能受到影响。所有病例中的约7.5%是致命的。发病率:1-2/100,000。

[0194] 在其他实施方案中,补体介导的疾病是重症肌无力,其展现出乏力,在身体活动期间逐渐恶化的疲劳,通常始于眼部乏力;发展到更严重的形式,特征为四肢无力且无力进行基本生活功能 (咀嚼、吞咽、呼吸)。在肌无力危象中,发生呼吸麻痹,需要辅助通气来维持生命。

[0195] 在其他实施方案中,补体介导的疾病是多灶性运动神经病 (MMN),它是下神经系统的炎性自身免疫性疾病。MMN是一种纯运动神经病,平均发病年龄为40岁。MMN的特征在于:缓慢进行性远端肢体不对称无力;传导阻滞 (CB),通常影响尺神经、正中神经、桡神经或胫神经;和/或萎缩的肌肉。其他临床特征包括肌肉痉挛、抽筋和寒冷条件下无力的加重。GM1 特异性IgM抗体存在于所有患者中约一半的血清中,其滴度与其体外补体激活能力和疾病严重程度相关。静脉内免疫球蛋白 (IVIg) 在MMN中有效。然而,患者仍经历缓慢进行的轴突退化和肌肉无力,长期IVIg疗法无法完全阻止。

[0196] 在其他实施方案中,可进行治疗的补体介导的疾病是视神经脊髓炎 (NMO)。NMO是由抗水通道蛋白-4IgG自身抗体 (NMO-IgG) 引起的,所述抗体激活补体并杀死星形胶质细胞,从而导致形成视神经和脊髓髓鞘的少突胶质细胞死亡。攻击后发生视力丧失和瘫痪。

[0197] 在其他实施方案中,可进行治疗的补体介导的疾病是系统性红斑狼疮 (SLE)。系统性红斑狼疮 (SLE) 是一种自身免疫性疾病,其影响发达国家0.04%的人口。据信SLE是由于人体废物处理系统受损而引起的,补体在所述系统中起关键作用。在人类中,C1复合物以及C2和C4中补体蛋白的先天缺陷与发展SLE的风险增加相关。然而,大量SLE患者出现低补体血症,同时伴有C1q和经典途径的其他组分的耗竭:例如,RBC上的补体沉积和/或受影响组织中的C1q沉积。

[0198] 在其他实施方案中,可进行治疗的补体介导的疾病是狼疮性肾炎 (LN)。LN是SLE的肾脏表现,发生在25%-50%的患者中,并且是发病率和死亡率的主要原因。C1q抗体与肾脏受累密切相关,并且高度预示爆发并且在爆发期间存在。在不存在C1q Ab的情况下,很少观察到活性LN。多项研究已经显示LN患者中C1q Ab滴度和血清C1q的负相关以及与肾小球中C1q沉积的正相关。

[0199] 在一些实施方案中,可进行治疗的补体介导的疾病是膜增生性肾小球肾炎 (I型) (混合性冷球蛋白血症)。混合性冷球蛋白血症是一种由免疫复合物 (IC) 介导的系统性血管炎。其最常出现在慢性感染的情况下 (HCV-80%的MC病例)。临床上,冷球蛋白血症自身表现

为如虚弱和关节炎以及不同的皮肤和内脏器官受累的症状。类固醇成功地抑制了一些患者的炎症,但通常需要额外的血浆置换来去除循环的冷球蛋白和免疫抑制治疗来抑制新冷球蛋白的形成。

[0200] 实施例

[0201] 在一项用于评估苏替莫单抗在近期有输血史的原发性冷凝集素疾病(CAD)患者中的功效和安全性的3期、关键、开放标签、多中心研究(ClinicalTrials.gov标识符:NCT03347396;EudraCT号2017-003538-10;EFC16215)中,CAD患者在第0天和第7天接受静脉内剂量的苏替莫单抗,并且此后每两周进行输注。体重<75kg的患者接受6.5g剂量,体重 \geq 75kg的患者接受7.5g剂量。用可用血清样品评估患者的IL-6和IL-10的细胞因子水平。从基线到苏替莫单抗治疗后第1周、第3周、第5周和表示为治疗评估时间点(TAT)的第25周的随访时间点,评价细胞因子概况和慢性病治疗功能评估-疲劳(FACIT-F)得分。报告了描述每周IL-6和IL-10变化的汇总统计。使用重复测量的混合模型(Mixed Model for Repeated Measures,MMRM)分析从基线到TAT的变化。FACIT-F得分的3到10分改善被认为是患者疲劳的有意义的差异(基于自身免疫性疾病或肿瘤疾病中的FACIT-F数据;Lai等人J Rheumatol.2011和Reddy等人J Palliat Med.2007)。

[0202] 平均IL-6水平(平均pg/mL[平均值的标准误差(SEM)])从基线(3.21[0.958];正常值IL-6<3.2pg/mL)到开始苏替莫单抗治疗后的所有随访时间点稳步降低(图1),显示早在第1周(2.70[0.839])的快速起始且持久的下降模式。到第3周,平均IL-6水平降低了多于一半(1.56[0.297]),在第5周略有上升(1.88[0.383]),在TAT最低(1.31[0.201])。平均IL-10水平(pg/mL[SEM])也从基线(1.36[0.310])在第1周(0.99[0.250])开始以时间依赖性方式降低。在苏替莫单抗治疗的情况下,平均IL-10在第3周略有增加(1.07[0.306]),但是在第5周下降(0.83[0.142]),并且到TAT最低(0.82[0.129]) (图2)。在基线时,平均(SEM)FACIT-F得分为32.5(2.265) (图1-图2)。患者FACIT-F得分显示早期和晚期改善,其平均得分在第1周(39.67[1.740])、第3周(40.70[1.542])、第5周(43.75[1.191])和TAT(41.86[1.958])增加。如通过IL-6和IL-10活性所显示,炎症减少与FACIT-F得分随时间的改善呈逆相关。

[0203] 在这项3期研究中,在苏替莫单抗治疗期间观察到促炎细胞因子IL-6水平和调节性细胞因子IL-10水平从基线至TAT的降低,突出了补体抑制对CAD中的炎症的影响。FACIT-F得分的改善与苏替莫单抗治疗和对经典补体途径的抑制同时发生。在选择的炎性细胞因子与患者疲劳的有意义的改善之间存在逆相关,这表明补体介导的炎症可能另外促进CAD患者中疲劳的表现。

[0204] 另外的时间点和参数呈现在图3和图4中。从基线到第一苏替莫单抗剂量后第1周、第3周、第5周、第9周、第13周和第25周(第25周表示治疗评估时间点[TAT]),评价IL-6和IL-10的细胞因子概况、FACIT-F得分和血红蛋白(Hb)水平。FACIT-F是一种患者报告的生活质量(QOL)结局,其是一种用于测量CAD患者的疲劳的经验证的评估工具(Röth A等人N Engl J Med.384(14):1323-1334(2021)和Hill QA等人EHA 2021;Poster)。FACIT-疲劳量表范围为0(最严重疲劳)至52(不疲劳);从基线增加3分被认为是临床上有意义的改善(Röth A等人N Engl J Med.384(14):1323-1334(2021))。经由Wieslab CP测定测量经典补体途径的活性。在每个时间点报告了IL-6、IL-10、FACIT-疲劳、Hb、C4和经典补体途径活性的变化的描述性汇总统计。

[0205] 早在第1周(2.70[0.839]pg/mL)以及在开始苏替莫单抗治疗后的所有其他时间点,平均(SEM)IL-6水平低于基线(3.21[0.958]pg/mL)(图3)。与基线相比,在第3周时平均IL-6水平降低了多于一半(1.56[0.297]pg/mL),在第13周时维持所述水平(1.57[0.201]pg/mL),且在TAT时仍较低(1.31[0.201]pg/mL)。平均(SEM)IL-10水平也从基线(1.36[0.310]pg/mL)至在苏替莫单抗治疗期间的随访降低(图4),其中早在第1周就观察到降低(0.99[0.250]pg/mL)。在第13周时平均(SEM)IL-10为0.83(0.132)pg/mL,在TAT时最低(0.82[0.129]pg/mL)。IL-6和IL-10水平的降低与平均FACIT-疲劳得分的快速且持久增加(即疲劳降低)相吻合。在基线时,平均(SEM)FACIT-疲劳得分为32.5(2.3),与患有阵发性睡眠性血红蛋白尿(Schrezenmeier H等人Haematologica99(5):922-929(2014))和癌症(Escalante CP等人Cancer Med.8(2):543-553(2019))的患者报告的疲劳水平一致。在第1周(平均得分改善7分)和TAT(平均得分改善10分)观察到疲劳的临床有意义的改善,并且与经典补体途径的抑制相吻合。苏替莫单抗治疗导致Wieslab CP活性的快速抑制和平均总C4水平的正常化,所述作用在治疗期间得以维持。

[0206] 因此,使用苏替莫单抗(选择性C1s抑制剂)治疗与炎性细胞因子(IL-6、IL-10)从基线到TAT的随访的快速且持久降低相关,突出了CAD患者中经典补体途径抑制(即,抑制Wieslab CP活性和使总C4水平正常化)的作用。对于这些选择的炎性/调节细胞因子和疲劳观察到随时间的并行逆向变化;这些结果表明,除了贫血之外,补体介导的炎症可能促进CAD患者的疲劳,并且进一步支持C1s抑制作为此障碍的有效治疗靶标。

	165		170		175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser					
	180		185		190
Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser					
	195		200		205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys					
	210		215		220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu					
225		230		235	240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu					
	245		250		255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln					
	260		265		270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys					
	275		280		285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu					
	290		295		300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys					
305		310		315	320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys					
	325		330		335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser					
	340		345		350
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys					
	355		360		365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln					
	370		375		380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly					
385		390		395	400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln					
	405		410		415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn					
	420		425		430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys					
	435		440		445

<210> 2

<211> 216

<212> PRT

<213> 人工序列

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 4

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 4

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp
 35 40 45
 Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Arg Leu Pro
 85 90 95
 Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 5

Asn Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 6

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser His Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 7

Leu Phe Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 8

Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 9

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 10

His Gln Tyr Tyr Arg Leu Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 11

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 11

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asp Gly His Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Val Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Tyr Gly Arg Glu Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
	165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
	180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro			
	195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro			
	210	215	220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe			
225	230	235	240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro			
	245	250	255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val			
	260	265	270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr			
	275	280	285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val			
	290	295	300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys			
305	310	315	320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser			
	325	330	335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro			
	340	345	350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val			
	355	360	365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly			
	370	375	380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp			
385	390	395	400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp			
	405	410	415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His			
	420	425	430
Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys			
	435	440	445
<210>	12		
<211>	218		

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 12
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30
 Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Ile Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 13
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽

<400> 13

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asp Gly His Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
 50 55 60
 Gln Val Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Gly Tyr Gly Arg Glu Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 14

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 14

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30
 Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Ile Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 15

<211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 15
 Asp Asp Tyr Ile His
 1 5
 <210> 16
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 16
 Arg Ile Asp Pro Ala Asp Gly His Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Val
 <210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 17
 Tyr Gly Tyr Gly Arg Glu Val Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 18
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成多肽
 <400> 18
 Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn
 1 5 10 15
 <210> 19
 <211> 7
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 19

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 20

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Trp Thr

1 5

<210> 21

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 21

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr		
65	70	75
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
	85	90
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro		
	100	105
Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
	115	120
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
	130	140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
	145	155
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
	165	170
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
	180	185
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
	195	200
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
	210	220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
	225	235
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
	245	250
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
	260	265
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
	275	280
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser		
	290	295
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
	305	310
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		315
	325	

<210> 23

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 23

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	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	Lys	Thr
65					70					75				80	
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90						95	
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
			100					105						110	
Glu	Phe	Glu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
		115					120						125		
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
		130				135					140				
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
145					150					155				160	
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
				165						170				175	
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
			180					185						190	
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
		195					200							205	
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
			210				215					220			
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
225					230					235				240	
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
			245							250				255	
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
			260					265						270	
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
			275					280						285	

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

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 24

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 24

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

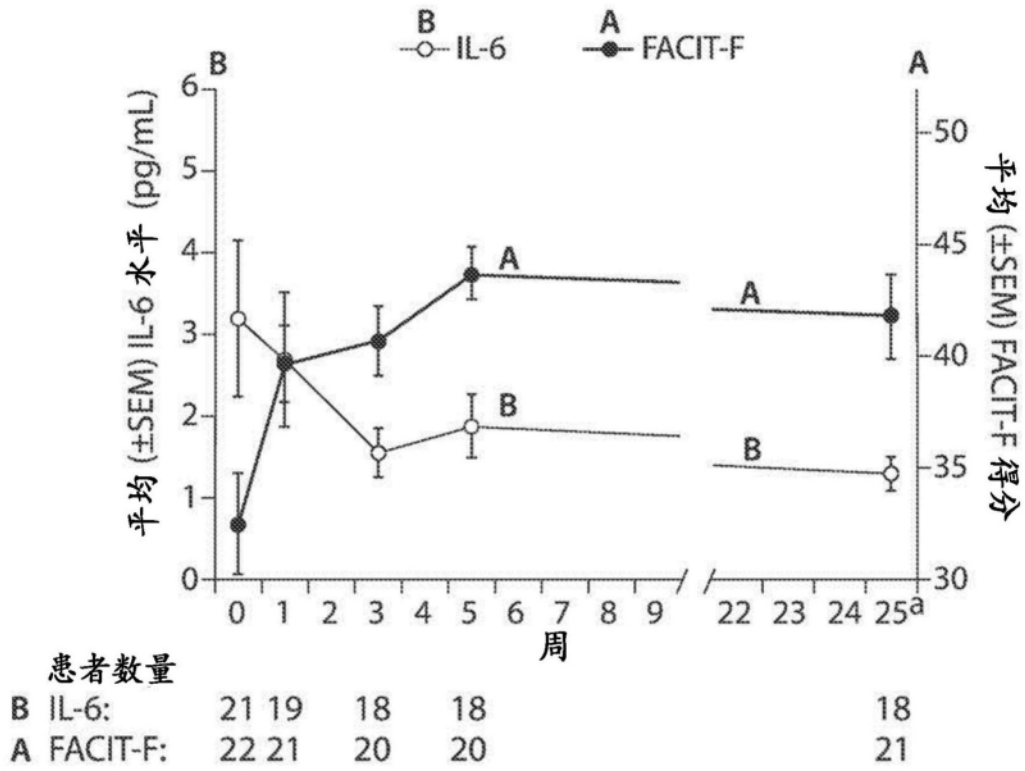


FIG.1

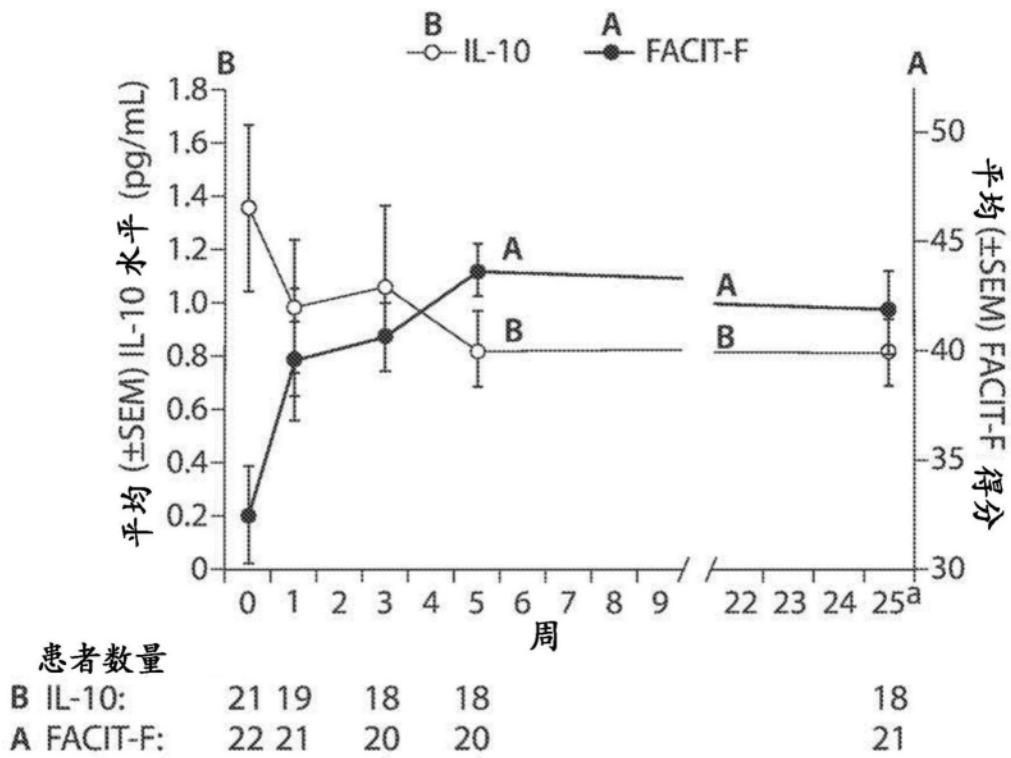


FIG.2

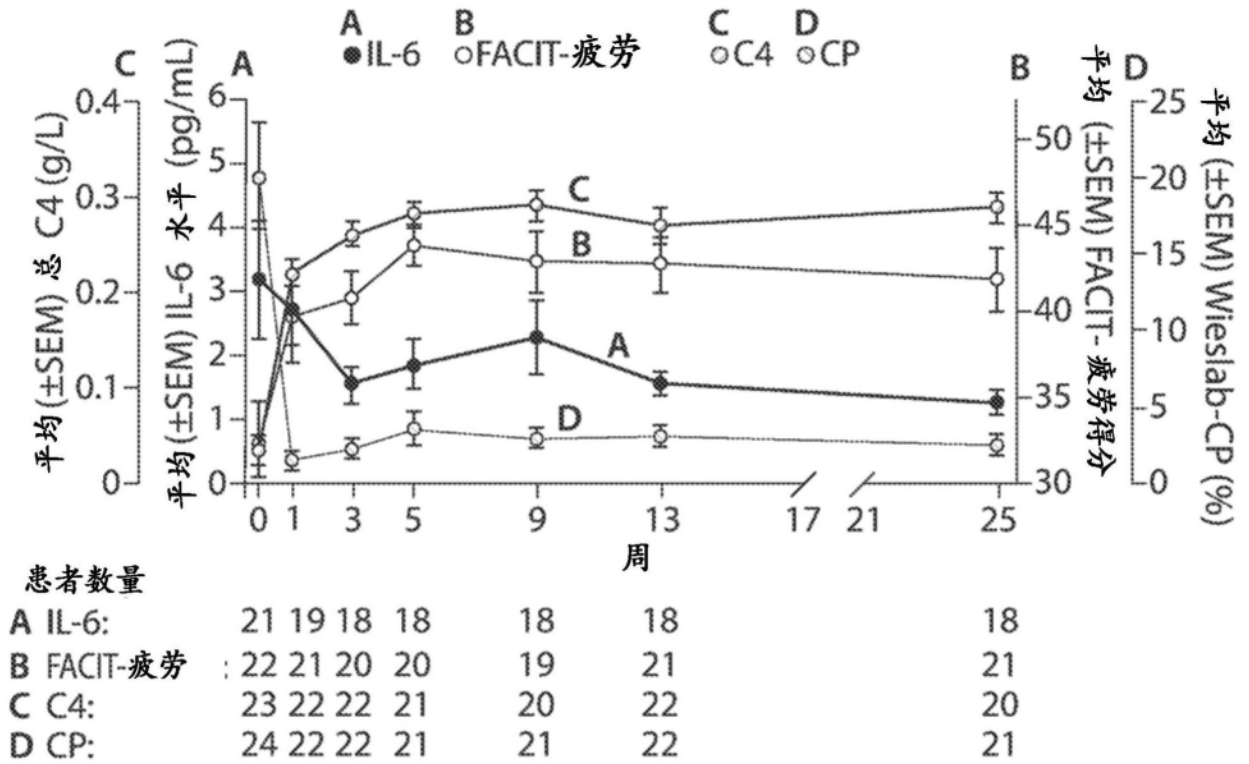


FIG. 3

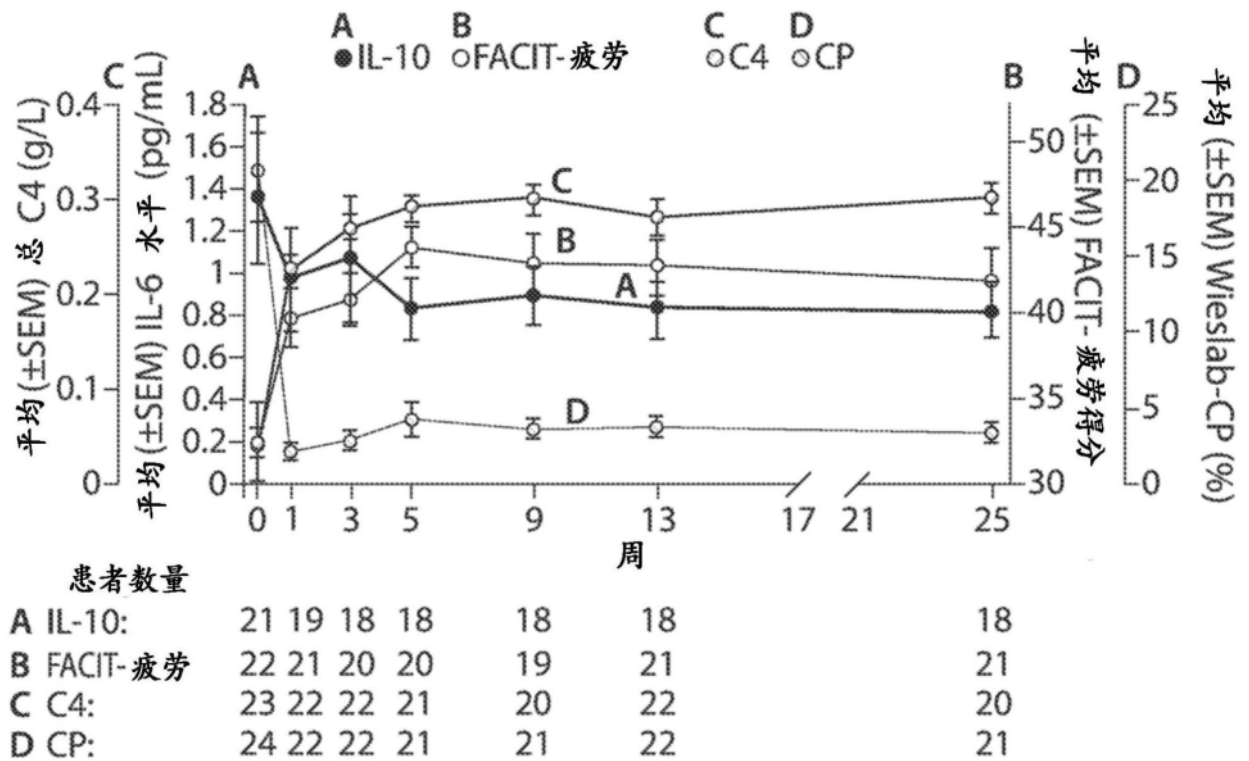


FIG. 4