



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105169390 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 23

(21) 申请号 201510591057. 8

A61P 11/10(2006. 01)

(22) 申请日 2011. 12. 16

A61P 11/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 33/68(2006. 01)

61/459, 760 2010. 12. 16 US

61/465, 425 2011. 03. 18 US

61/484, 650 2011. 05. 10 US

61/574, 485 2011. 08. 02 US

61/557, 295 2011. 11. 08 US

(62) 分案原申请数据

201180067674. 8 2011. 12. 16

(71) 申请人 弗·哈夫曼-拉罗切有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 J·R·阿罗恩 R·W·埃里克森

M·弗雷莫 M·哈森 G·贾

J·G·马修斯 W·普特纳姆

H·谢伦斯 Y·郑

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 张莉 黄革生

(51) Int. Cl.

A61K 39/395(2006. 01)

权利要求书2页 说明书79页

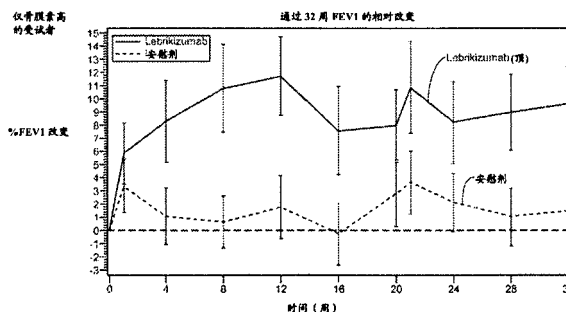
序列表30页 附图31页

(54) 发明名称

与 TH2 抑制相关的诊断和治疗

(57) 摘要

本发明提供诊断和治疗与 TH2 抑制相关的病症,包括但不限于哮喘,的方法。还提供选择或鉴定用于特定治疗剂治疗的患者的方法,所述治疗剂是 TH2 途径抑制剂。



1. 抗 IL-13 抗体在制备用于治疗哮喘或呼吸病症的药物中的用途,其包括每 2-8 周以 125-500mg 固定剂量给患有哮喘或呼吸病症的患者施用抗 IL-13 抗体,所述抗体包含分别具有 SEQ ID NO.:11、SEQ ID NO.:12、SEQ ID NO.:13、SEQ ID NO.:14、SEQ ID NO.:15 和 SEQ ID NO.:16 的氨基酸序列的 HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2 和 HVRL3。

2. 根据权利要求 1 的用途,其中所述患者正患有中度至重度哮喘。

3. 根据权利要求 1 或 2 的用途,其中所述哮喘或呼吸病症用皮质类固醇得不到控制。

4. 根据权利要求 3 的用途,其中所述哮喘或呼吸病症用吸入皮质类固醇得不到控制。

5. 根据权利要求 3 的用途,其中所述哮喘或呼吸病症用总日剂量至少 500mcg 的丙酸氟替卡松 (FP) 得不到控制。

6. 根据权利要求 4 的用途,其中所述皮质类固醇是吸入皮质类固醇,是

**Qvar®、Pulmicort®、Symbicort®、Aerobid®、Flovent®、Flonase®、
Advair®、Azmactort®.**

7. 根据权利要求 1-6 中任一项的用途,其中所述患者正在用第二控制剂治疗。

8. 根据权利要求 1-7 中任一项的用途,其中所述患者在用抗 IL-13 抗体治疗的过程中继续用皮质类固醇,任选地吸入皮质类固醇,进行治疗。

9. 根据权利要求 8 的用途,其中所述患者在用抗 IL-13 抗体治疗的过程中继续用第二控制剂治疗。

10. 根据权利要求 7 或 9 的用途,其中所述第二控制剂是长效支气管扩张剂。

11. 根据权利要求 10 的用途,其中所述长效支气管扩张剂是 LABA、LTRA、LAMA、茶碱或 OCS。

12. 根据权利要求 11 的用途,其中所述患者已被确定为 EIP。

13. 根据权利要求 11 的用途,其中所述患者已使用试剂盒确定为 EIP,其中所述试剂盒为用于测量得自哮喘患者或患有呼吸病症的患者的生物样品中的总骨膜素的试剂盒,其中所述试剂盒包含 (1) 与第二核酸分子杂交的第一核酸分子,其中所述第二核酸分子编码总骨膜素或其部分,或 (2) 所述试剂盒包含与总骨膜素结合的抗体。

14. 根据权利要求 11 的用途,其中所述患者已在嗜酸性粒细胞炎症诊断测定法 (EIDA) 中确定为 EIP,其中所述 EIDA 检测总骨膜素,包括步骤:

a) 在得自哮喘患者的样品中确定总骨膜素量;

b) 比较步骤 a) 中确定的总骨膜素量与参考量;和

c) 基于步骤 b) 中获得的比较,将所述患者分层为应答者类型或非应答者类型。。

15. 抗 IL-13 抗体在制备用于治疗哮喘或呼吸病症的药物中的用途,其包括以每 4 周 37.5mg、或每 4 周 125mg、或每 8 周 125mg、或每 4 周 250mg、或每 8 周 250mg、或每 12 周 250mg 的固定剂量,给患有哮喘或呼吸病症的人患者施用抗 IL-13 抗体,所述抗体包含分别具有 SEQ ID NO.:11、SEQ ID NO.:12、SEQ ID NO.:13、SEQ ID NO.:14、SEQ ID NO.:15 和 SEQ ID NO.:16 的氨基酸序列的 HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2 和 HVRL3。

16. 根据权利要求 15 的用途,其中所述患者是 18 岁或更大。

17. 根据权利要求 15 的用途,其中所述患者是 12-17 岁或 12 岁和更大。

18. 根据权利要求 15 的用途,其中所述患者是 6-11 岁或 6 岁和更大。

19. 根据权利要求 1-18 中任一项的用途,其中所述抗 IL-13 抗体皮下施用。

20. 根据权利要求 19 的用途,其中所述抗 IL-13 抗体使用预装注射器或自动注射装置施用。

21. 根据权利要求 1 的用途,其中所述待治疗的哮喘患者是 18 岁或更大,且具有 $\geq 50\text{ng/mL}$ 的血清骨膜素,并且用吸入皮质类固醇和第二控制剂药物得不到控制。

22. 根据权利要求 21 的用途,其中所述血清骨膜素使用免疫测定法进行测量。

23. 根据权利要求 22 的用途,其中所述免疫测定法是夹心免疫测定法。

24. 根据权利要求 23 的用途,其中所述夹心免疫测定法是 E4 测定法或通过 **Elecsys®** 分析器执行。

25. 根据权利要求 19 的用途,其中所述血清骨膜素使用试剂盒进行测量,其中所述试剂盒为用于测量得自哮喘患者或患有呼吸病症的患者的生物样品中的总骨膜素的试剂盒,其中所述试剂盒包含 (1) 与第二核酸分子杂交的第一核酸分子,其中所述第二核酸分子编码总骨膜素或其部分,或 (2) 所述试剂盒包含与总骨膜素结合的抗体。

26. 根据权利要求 1-25 中任一项的用途,其中所述抗 IL-13 抗体是包括包含 SEQ ID NO:9 的 VH 和包含 SEQ ID NO:10 的 VL 的抗体。

27. 根据权利要求 1-25 中任一项的用途,其中所述抗 IL-13 抗体是 lebrikizumab。

28. 根据权利要求 17 的用途,其中所述哮喘患者是 12 岁及以上,并且用吸入皮质类固醇和第二控制剂药物得不到控制。

29. lebrikizumab 在制备用于治疗哮喘或呼吸疾病的药物中的用途,其包括给所述患者施用治疗有效量的 lebrikizumab,其中所述治疗导致,与用 lebrikizumab 治疗前比较,大于 5% 的 FEV1 相对改善。

30. 根据权利要求 29 的用途,其中与用 lebrikizumab 治疗前比较,FEV1 的相对改善大于 8%。

31. lebrikizumab 在制备用于治疗哮喘或呼吸疾病的药物中的用途,其包括给所述患者施用治疗有效量的 lebrikizumab,其中所述治疗导致重度恶化的减少。

32. 用于监控事件数目和 / 或严重性的试剂在制备用于评估患者中与用 lebrikizumab 治疗哮喘相关的不良事件的试剂盒中的用途,其包括监控事件数目和 / 或严重性的步骤,所述事件是恶化、社区获得性肺炎、过敏反应、肌肉骨骼痛、肌肉骨骼病症、结缔组织痛或结缔组织病症。

33. 根据权利要求 32 的用途,其中所述肌肉骨骼或结缔组织病症是关节痛、背痛、四肢疼痛、肌痛、颈痛、关节炎、骨发育异常、滑囊炎、肋软骨炎、外生骨疣、肋腹痛、肌肉骨骼胸痛、肌肉骨骼痛、颞疼痛或腱炎。

34. 权利要求 15 的用途,其中患者患有呼吸病症,其中所述呼吸病症是特发性肺纤维化,且给患者施用 250mg 的固定剂量。

35. 权利要求 15 的用途,其中抗 IL-13 抗体是每 8 周 250mg 固定剂量的 lebrikizumab。

与 TH2 抑制相关的诊断和治疗

[0001] 本申请是申请日为 2011 年 12 月 16 日的、发明名称为“与 TH2 抑制相关的诊断和治疗”的中国专利申请 201180067674.8 (PCT/US2011/065410) 的分案申请。

[0002] 与相关申请的交叉参考

[0003] 本申请要求于 2010 年 12 月 16 日提交的临时美国申请号 61/459,760、于 2011 年 3 月 18 日提交的临时美国申请号 61/465,425、于 2011 年 5 月 10 日提交的临时美国申请号 61/484,650、于 2011 年 8 月 2 日提交的临时美国申请号 61/574,485、和于 2011 年 11 月 8 日提交的临时美国申请号 61/557,295 的优先权权益,所述申请都在此整体引入作为参考。

[0004] 序列列表

[0005] 本申请包括通过 EFS-Web 以 ASCII 形式提交的序列列表,该序列列表在此整体引入作为参考。所述 ASCII 拷贝于 2011 年 11 月 17 日创建,命名为 P4569R1W0_PCTSequenceListing.txt 且大小为 73,118 字节。

技术领域

[0006] 本发明提供诊断和治疗与 TH2 抑制相关的病症,包括但不限于哮喘,的方法。本发明还提供用于选择或鉴定以特定治疗剂治疗的患者的方法,其中所述治疗剂是 TH2 途径抑制剂。

背景技术

[0007] 哮喘是一种复杂疾病,全球发病率日益增加。除了其他事件,嗜酸性粒细胞炎症已在哮喘患者的气道中报道。该疾病的病理生理学具有如下特征:变化的气流阻塞、气道炎症、粘液分泌过多和上皮下纤维化。临床上,患者可以呈现咳嗽、哮鸣和呼吸短促。虽然许多患者用目前可得的疗法足够治疗,但一些哮喘患者尽管使用目前疗法仍具有持续性疾病。

[0008] 林林总总的用于治疗哮喘的药物在销售中或在开发中。哮喘治疗的众多靶标之一是 IL-13。IL-13 是由活化的 T 细胞、NKT 细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞和肥大细胞产生的多效性 TH2 细胞因子,并且它已被强烈提示在临床前模型中牵涉哮喘发病机理。尽管在文献中在 IL-13、IL-4 和哮喘之间存在许多联系,但许多 IL13 和 / 或 IL4 拮抗剂疗法在临床中具有令人失望的结果。目前,无 IL-13 或 IL-4 拮抗剂疗法被批准用于在哮喘中使用。此外,中度至重度哮喘患者持续缺乏良好的备选治疗方案。因此,需要鉴定用于治疗哮喘的更佳疗法和用于理解如何治疗哮喘患者的改良方法。

[0009] 本文引用的所有参考文献,包括专利申请和出版物,为了任何目的整体引入作为参考。

[0010] 发明概述

[0011] 本申请提供用于抑制 TH2 途径的治疗剂和使用其的更佳方法。本申请还提供了更好的疾病诊断方法用于疾病的治疗(任选地以 TH2 途径抑制剂治疗)中。

[0012] 如本文提供的治疗和诊断方法可以应用于患有哮喘、嗜酸性粒细胞病症、呼吸病症、IL-13 介导的病症和 / 或 IgE 介导的病症、或与这些病症相关的症状的患者。患有哮喘

样症状的患者,包括尚未诊断为患有哮喘的患者,可以根据本文提供的方法进行治疗。

[0013] 根据一个实施方案,根据本文提供的方法治疗的患者患有哮喘、嗜酸性粒细胞病症、呼吸病症、IL-13 介导的病症和 / 或 IgE 介导的病症、或与这些病症相关的症状,并且不具有癌症或肿瘤。根据另一个实施方案,根据本文提供的方法治疗的患者患有哮喘、嗜酸性粒细胞病症、呼吸病症、IL-13 介导的病症和 / 或 IgE 介导的病症、或与这些病症相关的症状,并且是 12 岁或更大、18 岁或更大或 19 岁或更大、或在 12-17 岁之间或在 18-75 岁之间。

[0014] 在一个实施方案中,根据本发明用 TH2 途径抑制剂治疗的患者还用一种、两种、三种或更多种治疗剂进行治疗。在一个实施方案中,患者是哮喘患者。根据一个实施方案,患者用 TH2 途径抑制剂和一种、两种、三种或更多种治疗剂进行治疗,其中除 TH2 抑制剂外的至少一种治疗剂是皮质类固醇、白三烯拮抗剂、LABA、皮质类固醇 /LABA 联合组合物、茶碱 (theophylline)、色甘酸钠 (cromolyn sodium)、萘多罗米钠 (nedocromil sodium)、奥马珠单抗 (omalizumab)、LAMA、MABA、5- 脂加氧酶活化蛋白质 (FLAP) 抑制剂、或酶 PDE-4 抑制剂。根据本发明的一个方面,TH2 途径抑制剂施用于诊断为 EIP 状态的哮喘患者,其中诊断包括使用 EID 测定法 (单独或与其他测定法组合) 以确定 EIP 状态。在一个进一步的实施方案中,哮喘患者在治疗前应用皮质类固醇得不到控制。在另一个实施方案中,哮喘患者还正在使用第二控制剂治疗。在一个实施方案中,第二控制剂是皮质类固醇、LABA 或白三烯拮抗剂。在进一步的实施方案中,哮喘患者患有中度至重度哮喘。因此,在一个实施方案中,待用 TH2 途径抑制剂治疗的患者是在以 TH2 途径抑制剂治疗前应用皮质类固醇得不到控制的中度至重度哮喘患者,随后该患者用 TH2 途径抑制剂和一种、两种、三种或更多种控制剂进行治疗。在一个实施方案中,至少一种控制剂是皮质类固醇。在进一步的实施方案中,此类患者用 TH2 途径抑制剂、皮质类固醇和另一种控制剂进行治疗。在另一个实施方案中,患者患有轻度哮喘,但没有正在用皮质类固醇治疗。应当理解,治疗剂可以具有与 TH2 抑制剂不同的治疗周期,并且因而可以在与 TH2 抑制剂不同的时间施用作为患者治疗的一部分。因此,根据一个实施方案,根据本发明的治疗方法包括给患者施用 TH2 途径抑制剂和任选施用至少一种、两种或三种另外的治疗剂的步骤。在一个实施方案中,TH2 途径抑制剂存在于具有另外治疗剂的组合物中。在另一个实施方案中,TH2 途径抑制剂不存在于具有另外治疗剂的组合物中。

[0015] 根据另一个实施方案,本发明包含用于治疗哮喘的方法,其包括以固定剂量 (flat dose) 施用抗 IL-13 抗体,所述抗体包括包含 SEQ ID NO:9 的 VH 和包含 SEQ ID NO:10 的 VL,或所述抗体包含分别具有 SEQ ID NO.:11、SEQ ID NO.:12、SEQ ID NO.:13、SEQ ID NO.:14、SEQ ID NO.:15 和 SEQ ID NO.:16 的氨基酸序列的 HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2 和 HVRL3。在一个实施方案中,包括包含 SEQ ID NO:9 的 VH 和包含 SEQ ID NO:10 的 VL 的抗 IL-13 抗体以 125-1000mg 固定剂量 (即,不依赖体重),通过皮下注射或通过静脉内注射,以选自下述的时间频率施用:每 2 周、每 3 周、和每 4 周。在一个实施方案中,包含分别具有 SEQ ID NO.:11、SEQ ID NO.:12、SEQ ID NO.:13、SEQ ID NO.:14、SEQ ID NO.:15 和 SEQ ID NO.:16 的氨基酸序列的 HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2 和 HVRL3 的抗 IL-13 抗体以 125-1000mg 固定剂量 (即,不依赖体重),通过皮下注射或通过静脉内注射,以选自下述的时间频率施用:每 2 周、每 3 周、和每 4 周。在一个实施方案中,抗 IL-13 抗体是 lebrikizumab,其以 125-1000mg 固定剂量 (即,不依赖体重) 通过皮下注射或通过静脉内

注射以选自下述的时间频率施用：每 2 周、每 3 周、和每 4 周。在另一个实施方案中，通过使用总骨膜素 (Periostin) 测定法确定 EIP 状态，患者被诊断为具有 EIP 状态。

[0016] 根据另一个实施方案，包括包含 SEQ ID NO:9 的 VH 和包含 SEQ ID NO:10 的 VL 的抗体以治疗有效量施用以治疗哮喘，所述治疗有效量足以降低患者随着时间的恶化率或改善 FEV1。在另外一个实施方案中，本发明包括用于治疗哮喘的方法，其包括以 37.5mg 的固定剂量（即，不依赖体重）、或 125mg 的固定剂量、或 250mg 的固定剂量，施用抗 IL-13 抗体，所述抗 IL-13 抗体包括包含 SEQ ID NO:9 的 VH 和包含 SEQ ID NO:10 的 VL、或包含分别具有 SEQ ID NO.:11、SEQ ID NO.:12、SEQ ID NO.:13、SEQ ID NO.:14、SEQ ID NO.:15 和 SEQ ID NO.:16 的氨基酸序列的 HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2 和 HVRL3。在特定实施方案中，剂量通过皮下注射按每 4 周一次施用一段时间。在特定实施方案中，所述时间段是 6 个月、一年、二年、五年、十年、15 年、20 年、或患者的有生之年。在特定实施方案中，哮喘是重度哮喘，并且在吸入皮质类固醇加上第二控制剂药物时患者得不到适当控制或得不到控制。在另一个实施方案中，使用总骨膜素测定法确定 EIP 状态，患者被诊断为具有 EIP 状态，并且患者被选择以如上所述的抗 IL-13 抗体治疗。在另一个实施方案中，本发明方法包括用如上所述的抗 IL-13 抗体治疗哮喘患者，其中患者先前已经使用总骨膜素测定法确定 EIP 状态而被诊断为具有 EIP 状态。在一个实施方案中，哮喘患者的年龄为 18 岁或更大。在一个实施方案中，哮喘患者的年龄是 12 - 17 岁，并且抗 IL-13 以 250mg 的固定剂量或 125mg 的固定剂量施用。在一个实施方案中，哮喘患者的年龄是 6 - 11 岁，并且抗 IL-13 抗体以 125mg 的固定剂量或 62.5mg 的固定剂量施用。

[0017] 本发明提供骨膜素测定法。在一个实施方案中，骨膜素测定法是总骨膜素测定法。在另一个实施方案中，总骨膜素测定法包括使用本发明的一种或多种抗骨膜素抗体，以结合得自患者的生物样品中的总骨膜素。在本发明的另外一个实施方案中，生物样品是得自全血的血清。在一个实施方案中，生物样品得自哮喘患者。在进一步的实施方案中，哮喘患者是中度至重度哮喘患者。在再进一步的实施方案中，中度至重度哮喘患者在用皮质类固醇时得不到控制，且任选地正在用一种、两种、三种或更多种控制剂治疗。

[0018] 本文公开的抗骨膜素测定法和抗体测定法可以用于其中骨膜素升高的其他疾病，例如特发性肺纤维化 (IPF)、非特异性间质性肺炎 (NSIP) 和癌症。

[0019] 本发明提供 TH2 途径抑制剂作为治疗剂用于在患者中治疗哮喘或呼吸病症，其中所述患者表达升高水平的总骨膜素。在一个实施方案中，TH2 途径中抑制作用所针对的靶标选自：IL-9、IL-5、IL-13、IL-4、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33 和 IgE；和受体例如：IL-9 受体、IL-5 受体、IL-4 受体 α 、IL-13 受体 $\alpha 1$ 和 IL-13 受体 $\alpha 2$ 、OX40、TSLP-R、IL-7R α (TSLP 的共受体)、IL17RB (IL-25 的受体)、ST2 (IL-33 的受体)、CCR3、CCR4、CRTH2、Fc ϵ RI 和 Fc ϵ RII/CD23 (IgE 的受体)。在一个实施方案中，待根据本发明的方法治疗的患者患有轻度至重度哮喘，任选中度至重度哮喘，并且其哮喘在用皮质类固醇时不受控制。在进一步的实施方案中，在用皮质类固醇时不受控制的中度至重度哮喘患者中，总骨膜素的血清水平在 E4 测定法中大于 20ng/ml、21ng/ml、22ng/ml、23ng/ml、24ng/ml 或 25ng/ml。在再进一步的实施方案中，待治疗的患者还具有下述任何一种、或其组合、或其所有的升高表达水平：CEA、TARC (CCL17) 和 MCP-4 (CCL13) mRNAs 或蛋白质。在再进一步的实施方案中，待治疗的患者，除了具有如本文所述的升高表达水平的骨膜素，还具有大于 21ppb 或大于 35ppb 的

FE_{NO}水平。

[0020] 本发明提供结合 TH2 诱导的哮喘途径靶标的治疗剂在制备用于治疗具有哮喘或呼吸病症的患者的药物中的用途,其中所述患者表达升高水平的总骨膜素,并且其中所述靶标是 IL-9、IL-5、IL-13、IL-4、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33 和 IgE ;和受体例如 :IL-9 受体、IL-5 受体、IL-4 受体 α 、IL-13 受体 α 1 和 IL-13 受体 α 2、OX40、TSLP-R、IL-7R α (TSLP 的共受体)、IL17RB(IL-25 的受体)、ST2(IL-33 的受体)、CCR3、CCR4、CRTH2、Fc ϵ RI 和 Fc ϵ RII/CD23(IgE 的受体)。在一个实施方案中,患者是 EIP。根据一个实施方案,通过使用根据本发明的测定法,患者已经被确定为具有 EIP。在另外一个实施方案中,测定法是总骨膜素测定法。在另一个实施方案中,该测定法测量得自患者的生物样品中的总骨膜素水平。在一个实施方案中,该测定法测量得自患者的血清样品中的总骨膜素蛋白的水平。

[0021] 本发明包括用于诊断患者中的哮喘亚型的试剂盒或制造品,其包含 :

[0022] (1) 确定得自患者的血清样品中的总骨膜素水平和任选的选自 TARC 和 MCP-4 的一种或多种蛋白质的蛋白质表达水平 ;和

[0023] (2) 用于测量血清样品中的总骨膜素和任选的 TARC 和 / 或 MCP-4 蛋白质的表达水平的说明书,其中所述蛋白质之任何一种、组合或所有的升高表达水平指示哮喘亚型。

[0024] 在另外一个实施方案中,提供鉴定可能响应 TH2 途径抑制剂治疗的哮喘患者或呼吸病症患者的方法。在特定实施方案中,该方法包括使用嗜酸性粒细胞炎症诊断测定法 (EIDA) 确定患者是否是嗜酸性粒细胞炎症阳性 (EIP),其中 EIP 状态指示患者可能响应用 TH2 途径抑制剂进行治疗。

[0025] 在另一个实施方案中,提供鉴定可能罹患重度恶化的哮喘患者或呼吸病症患者的方法。在特定实施方案中,该方法包括使用 EIDA 确定患者是否是 EIP,其中 EIP 状态指示患者可能罹患重度恶化的增加。

[0026] 在另外一个实施方案中,提供鉴定较不可能响应 TH2 途径抑制剂治疗的哮喘患者或呼吸病症患者的方法。在特定实施方案中,该方法包括使用 EIDA 确定患者是否是嗜酸性粒细胞炎症阴性 (EIN),其中 EIN 状态指示患者较不可能响应用 TH2 途径抑制剂进行治疗。

[0027] 在另一个实施方案中,提供监控正在用 TH2 途径抑制剂治疗的哮喘患者的方法。在特定实施方案中,该方法包括使用 EIDA 确定患者是 EIP 还是 EIN。在一个实施方案中,该方法包括确定用于 TH2 途径抑制剂的治疗方案。在一个实施方案中,EIP 的确定指示继续用 TH2 途径抑制剂进行治疗,而 EIN 的确定指示中断用 TH2 途径抑制剂进行治疗。

[0028] 在特定实施方案中,在上文描述的方法中使用的 EIDA 包括步骤 : (a) 测定得自哮喘患者的样品中的总骨膜素量 ; (b) 比较步骤 (a) 中测定的总骨膜素量与参考量 ; 和 (c) 基于步骤 (b) 中获得的比较,将所述患者分层为应答者类型或非应答者类型。在特定实施方案中,总骨膜素是血清骨膜素,所述骨膜素使用免疫测定法进行测量。在特定实施方案中,免疫测定法是夹心免疫测定法。在特定实施方案中,夹心免疫测定法通过 **Elecsys®** 分析器 (Roche Diagnostics GmbH) 执行。在特定实施方案中,夹心免疫测定法是 E4 测定法。在一个实施方案中,当在步骤 (a) 中使用 E4 测定法时,EIP 的参考量是 23ng/ml 或更大。在一个实施方案中,当在步骤 (a) 中使用 **Elecsys®** 分析器时,EIP 的参考量是 50ng/ml 或更大。在一个实施方案中,当在步骤 (a) 中使用 E4 测定法时,EIN 的参考量是 21ng/ml 或更

低。在一个实施方案中,当在步骤(a)中使用**Elecsys®**分析器时,EIN的参考量是48ng/ml或更低。

[0029] 在特定实施方案中,根据上文描述的方法的患者患有中度至重度哮喘。在特定实施方案中,哮喘或呼吸病症在用皮质类固醇时得不到控制。在特定实施方案中,皮质类固醇是吸入的皮质类固醇。在特定实施方案中,吸入皮质类固醇是**Qvar®**、**Pulmicort®**、**Symbicort®**、**Aerobid®**、**Flovent®**、**Flonase®**、**Advair®**或**Azmacort®**。在一个实施方案中,患者还正在用第二控制剂治疗。在特定实施方案中,第二控制剂是长效支气管扩张剂(LABD)。在特定实施方案中,LABD是长效 β -2激动剂(LABA)、白三烯受体拮抗剂(LTRA)、长效毒蕈碱拮抗剂(LAMA)、茶碱、或口服皮质类固醇(OCS)。在特定实施方案中,LABD是**Symbicort®**、**Advair®**、**Brovana®**、**Foradil®**、**Perforomist™**或**Serevent®**。

[0030] 在特定实施方案中,根据上文方法的TH2途径抑制剂抑制靶标ITK、BTK、IL-9(例如MEDI-528)、IL-5(例如美泊利单抗(Mepolizumab),CAS编号196078-29-2;resilizumab)、IL-13(例如IMA-026、IMA-638(也称为安芦珠单抗(anrukinzumab),INN编号910649-32-0;QAX-576;IL4/IL13阱(trap))、tralokinumab(也称为CAT-354,CAS编号1044515-88-9);AER-001、ABT-308(也称为人源化13C5.5抗体)、IL-4(例如AER-001、IL4/IL13阱)、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33和IgE(例如XOLAIR、QGE-031;MEDI-4212);和受体例如:IL-9受体、IL-5受体(例如MEDI-563(贝那利珠单抗(benralizumab),CAS编号1044511-01-4))、IL-4受体 α (例如AMG-317、AIR-645)、IL-13受体 α 1(例如R-1671)和IL-13受体 α 2、OX40、TSLP-R、IL-7R α (TSLP的共受体)、IL17RB(IL-25的受体)、ST2(IL-33的受体)、CCR3、CCR4、CRTH2(例如AMG-853、AP768、AP-761、MLN6095、ACT129968)、Fc ϵ RI和Fc ϵ RII/CD23(IgE的受体)、Flap(例如GSK2190915)、Syk激酶(R-343、PF3526299);CCR4(AMG-761)、TLR9(QAX-935),或是CCR3、IL5、IL3、GM-CSF(例如TPI ASM8)的多细胞因子抑制剂。在特定实施方案中,TH2途径抑制剂是抗IL13/IL4途径抑制剂或抗IgE结合剂。在特定实施方案中,TH2途径抑制剂是抗IL-13抗体。在特定实施方案中,抗IL-13抗体是包括包含SEQ ID NO:9的VH和包含SEQ ID NO:10的VL的抗体、或包含分别具有SEQ ID NO.:11、SEQ ID NO.:12、SEQ ID NO.:13、SEQ ID NO.:14、SEQ ID NO.:15和SEQ ID NO.:16的氨基酸序列的HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2和HVRL3的抗IL-13抗体、或lebrikizumab。在特定实施方案中,抗IL-13抗体是还结合IL-4的双特异性抗体。在特定实施方案中,TH2途径抑制剂是抗IgE抗体。在特定实施方案中,抗IgE抗体是(i) **XOLAIR®**抗体,(ii) 包含可变重链和可变轻链的抗M1'抗体,其中可变重链是SEQ ID NO:24,并且可变轻链是SEQ ID NO:25,或(iii) 包含可变重链和可变轻链的抗M1'抗体,其中可变重链进一步包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,并且可变轻链进一步包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,且:(a)HVR-H1是SEQ ID NO:24的残基26-35,[GFTFSDYGIA];(b)HVR-H2是SEQ ID NO:24的残基49-66,[AFISDLAYTIYYADTVTG];(c)HVR-H3是SEQ ID NO:24的残基97-106,[ARDNWDAMDY];(d)HVR-L1是SEQ ID NO:25的残基24-39,[RSSQSLVHNNANTYLH];(e)HVR-L2是SEQ ID NO:25的残基55-61,[KVSNRFS];(f)HVR-L3是SEQ ID NO:25的残基94-102,[SQNTLVPWT]。

[0031] 在另一个方面,涉及用于检测得自哮喘患者的样品中的总骨膜素的试剂盒的用途,用于将哮喘患者分层/分类为对于 TH2 途径抑制剂的治疗性处理的可能应答者和非应答者。在特定实施方案中,总骨膜素使用 EIDA 进行检测,所述 EIDA 包括步骤:(a) 测定得自哮喘患者的样品中的总骨膜素量;(b) 比较步骤(a)中测定的总骨膜素量与参考量;和(c) 基于步骤(b)中获得的比较,将所述患者分层为应答者类型或非应答者类型。在特定实施方案中,总骨膜素是血清骨膜素,所述骨膜素使用免疫测定法进行测量。在特定实施方案中,免疫测定法是夹心免疫测定法。在特定实施方案中,夹心免疫测定法通过 **Elecsys®** 分析器 (Roche Diagnostics GmbH) 执行。在特定实施方案中,夹心免疫测定法是 E4 测定法。在一个实施方案中,当在步骤(a)中使用 E4 测定法时,EIP 的参考量是 23ng/ml 或更大。在一个实施方案中,当在步骤(a)中使用 **Elecsys®** 分析器时,EIP 的参考量是 50ng/ml 或更大。

[0032] 在特定实施方案中,根据上文段落中描述的用途,所述患者患有中度至重度哮喘。在特定实施方案中,哮喘或呼吸病症在用皮质类固醇时得不到控制。在特定实施方案中,皮质类固醇是吸入皮质类固醇。在特定实施方案中,吸入皮质类固醇是 **Qvar®**、**Pulmicort®**、**Symbicort®**、**Aerobid®**、**Flovent®**、**Flonase®**、**Advair®** 或 **Azmacort®**。在一个实施方案中,患者也正在用第二控制剂治疗。在特定实施方案中,第二控制剂是长效支气管扩张剂 (LABD)。在特定实施方案中,LABD 是长效 β -2 激动剂 (LABA)、白三烯受体拮抗剂 (LTRA)、长效毒蕈碱拮抗剂 (LAMA)、茶碱、或口服皮质类固醇 (OCS)。在特定实施方案中,LABD 是 **Symbicort®**、**Advair®**、**Brovana®**、**Foradil®**、Perforomist™ 或 **Serevent®**。

[0033] 在特定实施方案中,根据上文的用途,TH2 途径抑制剂抑制靶标 ITK、BTK、IL-9 (例如 MEDI-528)、IL-5 (例如美泊利单抗, CAS 编号 196078-29-2; reslizumab)、IL-13 (例如 IMA-026、IMA-638 (也称为安芦珠单抗, INN 编号 910649-32-0; QAX-576; IL4/IL13 阱)、tralokinumab (也称为 CAT-354, CAS 编号 1044515-88-9); AER-001、ABT-308 (也称为人源化 13C5.5 抗体)、IL-4 (例如 AER-001、IL4/IL13 阱)、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33 和 IgE (例如 XOLAIR、QGE-031; MEDI-4212); 和受体例如: IL-9 受体、IL-5 受体 (例如 MEDI-563 (贝那利珠单抗, CAS 编号 1044511-01-4))、IL-4 受体 α (例如 AMG-317、AIR-645)、IL-13 受体 α 1 (例如 R-1671) 和 IL-13 受体 α 2、OX40、TSLP-R、IL-7R α (TSLP 的共受体)、IL17RB (IL-25 的受体)、ST2 (IL-33 的受体)、CCR3、CCR4、CRTH2 (例如 AMG-853、AP768、AP-761、MLN6095、ACT129968)、Fc ϵ RI 和 Fc ϵ RII/CD23 (IgE 的受体)、Flap (例如 GSK2190915)、Syk 激酶 (R-343、PF3526299); CCR4 (AMG-761)、TLR9 (QAX-935), 或是 CCR3、IL5、IL3、GM-CSF (例如 TPI ASM8) 的多细胞因子抑制剂。在特定实施方案中,TH2 途径抑制剂是抗 IL13/IL4 途径抑制剂或抗 IgE 结合剂。在特定实施方案中,TH2 途径抑制剂是抗 IL-13 抗体。在特定实施方案中,抗 IL-13 抗体是包括包含 SEQ ID NO:9 的 VH 和包含 SEQ ID NO:10 的 VL 的抗 IL-13 抗体、或包含分别具有 SEQ ID NO.:11、SEQ ID NO.:12、SEQ ID NO.:13、SEQ ID NO.:14、SEQ ID NO.:15 和 SEQ ID NO.:16 的氨基酸序列的 HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2 和 HVRL3 的抗 IL-13 抗体、或 lebrikizumab。在特定实施方案中,抗

IL-13 抗体是还结合 IL-4 的双特异性抗体。在特定实施方案中, TH2 途径抑制剂是抗 IgE 抗体。在特定实施方案中, 抗 IgE 抗体是 (i) **XOLAIR®** 抗体, (ii) 包含可变重链和可变轻链的抗 M1' 抗体, 其中可变重链是 SEQ ID NO:24, 并且可变轻链是 SEQ ID NO:25, 或 (iii) 包含可变重链和可变轻链的抗 M1' 抗体, 其中可变重链进一步包含 HVR-H1、HVR-H2 和 HVR-H3, 并且可变轻链进一步包含 HVR-L1、HVR-L2 和 HVR-L3, 且: (a) HVR-H1 是 SEQ ID NO:24 的残基 26-35, [GFTFSDYGIA]; (b) HVR-H2 是 SEQ ID NO:24 的残基 49-66, [AFISDLAYTIYYADTVTG]; (c) HVR-H3 是 SEQ ID NO:24 的残基 97-106, [ARDNWDAMDY]; (d) HVR-L1 是 SEQ ID NO:25 的残基 24-39, [RSSQSLVHNNANTYLH]; (e) HVR-L2 是 SEQ ID NO:25 的残基 55-61, [KVSNRFS]; (f) HVR-L3 是 SEQ ID NO:25 的残基 94-102, [SQNTLVPTW]。

[0034] 在另外一个方面, 提供用于测量得自哮喘患者或患有呼吸病症的患者的生物样品中的总骨膜素的试剂盒, 其中所述试剂盒包含与第二核酸分子杂交的第一核酸分子, 其中所述第二核酸分子编码总骨膜素或其部分, 或所述试剂盒包含与总骨膜素结合的抗体。在特定实施方案中, 试剂盒包含含有描述上文提供的用途的信息的包装说明书。

[0035] 在另外再一个方面, 提供用于诊断患者中的哮喘亚型的试剂盒, 该试剂盒包含: (1) 测定得自患者的血清样品中的总骨膜素水平和任选的选自 TARC 和 MCP-4 的一种或多种蛋白质在血清样品中的蛋白质表达水平; 和 (2) 用于测量血清样品中的总骨膜素和任选的 TARC 和 / 或 MCP-4 水平的说明书, 其中所述蛋白质中的任何一种或组合或所有的升高表达水平指示哮喘亚型。在特定实施方案中, 该试剂盒进一步包含用于确定哮喘患者或呼吸病症患者是 EIP 还是 EIN 的包装说明书。在特定实施方案中, 该试剂盒进一步包含用于确定哮喘患者是否可能响应 TH2 途径抑制剂的包装说明书。在特定实施方案中, 该试剂盒进一步包含含有描述上文提供的任何用途的信息的包装说明书。在特定实施方案中, 该试剂盒进一步包含容纳生物样品的空容器。在特定实施方案中, 该试剂盒包含用于在测定总骨膜素水平的免疫测定法中使用的两种抗骨膜素抗体。

[0036] 在另一个方面, 治疗哮喘或呼吸病症的方法包括每 2-8 周以 125-500mg 固定剂量给患有哮喘或呼吸病症的患者施用包含 HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2 和 HVRL3 的抗 IL-13 抗体, 其中各 HVRs 分别具有 SEQ ID NO.:11、SEQ ID NO.:12、SEQ ID NO.:13、SEQ ID NO.:14、SEQ ID NO.:15 和 SEQ ID NO.:16 的氨基酸序列。在特定实施方案中, 患者患有中度至重度哮喘。在特定实施方案中, 哮喘或呼吸病症在用皮质类固醇时得不到控制。在特定实施方案中, 哮喘或呼吸病症在用吸入皮质类固醇时得不到控制。在特定实施方案中, 哮喘或呼吸病症用日总剂量至少 500mcg 的丙酸氟替卡松 (FP) 得不到控制。在特定实施方案中, 皮质类固醇是吸入皮质类固醇, 是 **Qvar®**、**Pulmicort®**、**Symbicort®**、**Aerobid®**、**Flovent®**、**Flonase®**、**Advair®**、**Azmacort®**。在特定实施方案中, 患者正在用第二控制剂治疗。在特定实施方案中, 患者在用抗 IL-13 抗体治疗的过程中继续用皮质类固醇, 任选吸入皮质类固醇, 治疗。在特定实施方案中, 患者在用抗 IL-13 抗体治疗的过程中继续用第二控制剂治疗。在特定实施方案中, 第二控制剂是长效支气管扩张剂。在特定实施方案中, 长效支气管扩张剂是 LABA、LTRA、LAMA、茶碱或 OCS。在特定实施方案中, 患者已被确定为 EIP。在特定实施方案中, 使用上文描述的试剂盒, 患者已被确定为 EIP。在特定实施方案中, 使用如上所述的方法, 患者已被确定为 EIP。在特定实施方案中, 患者每四周施用 125mg 或 250mg 的固定剂量。在特定实施方案中, 患者是 18 岁或更大,

或患者是 12-17 岁或 12 岁和更大,或患者是 6-11 岁或 6 岁和更大。

[0037] 在特定实施方案中,抗 IL-13 抗体皮下施用。在特定实施方案中,抗 IL-13 抗体使用预装注射器或自动注射装置施用。在特定实施方案中,待根据上文方法治疗的哮喘患者是 18 岁或更大,且具有以 $\geq 50\text{ng/mL}$ 的血清骨膜素,并且在用吸入皮质类固醇和第二控制剂药物时得不到控制。在特定实施方案中,血清骨膜素使用免疫测定法进行测量,所述免疫测定法选自 **Elecsys®** 骨膜素测定法和 E4 测定法。在特定实施方案中,血清骨膜素使用如上所述的试剂盒进行测量。在特定实施方案中,抗 IL-13 抗体是包括包含 SEQ ID NO:9 的 VH 和包含 SEQ ID NO:10 的 VL 的抗体。在特定实施方案中,抗 IL-13 抗体是 lebrikizumab。在特定实施方案中,待根据上文所述方法治疗的哮喘患者是 12 岁及以上,并且在用吸入皮质类固醇和第二控制剂药物时得不到控制。

[0038] 在另外一个方面,提供了治疗哮喘或呼吸疾病的方法,其包括给患者施用治疗有效量的 lebrikizumab。在特定实施方案中,与用 lebrikizumab 治疗前比较,治疗导致大于 5% 的 FEV1 相对改善。在特定实施方案中,与用 lebrikizumab 治疗前比较,FEV1 的相对改善大于 8%。在特定实施方案中,治疗导致重度恶化的减少。

[0039] 在另外一个方面,提供了治疗患有哮喘或呼吸疾病的患者的方法,其包括给诊断为 EIP 的患者施用 TH2 途径抑制剂。在特定实施方案中,该方法包括使用总骨膜素测定法将患者诊断为 EIP 的步骤。在特定实施方案中,该方法进一步包括步骤:如果患者被确定为 EIP,则用 TH2 途径抑制剂重治疗该患者。在特定实施方案中,来自患者的血清用于确定患者是否是 EIP。

[0040] 在特定实施方案中,根据上文方法,EIP 状态的确定使用包括下述步骤的 EIDA:
(a) 测定得自患者的样品中的总骨膜素量;(b) 比较步骤 (a) 中测定的总骨膜素量与参考量;和 (c) 基于步骤 (b) 中获得的比较,将所述患者分层为应答者类型或非应答者类型。在特定实施方案中,总骨膜素是血清骨膜素,所述骨膜素使用免疫测定法进行测量。在特定实施方案中,免疫测定法是夹心免疫测定法。在特定实施方案中,夹心免疫测定法通过 **Elecsys®** 分析器 (Roche Diagnostics GmbH) 执行。在特定实施方案中,夹心免疫测定法是 E4 测定法。在一个实施方案中,当在步骤 (a) 中使用 E4 测定法时,EIP 的参考量是 23ng/mL 或更大。在一个实施方案中,当在步骤 (a) 中使用 **Elecsys®** 分析器时,EIP 的参考量是 50ng/mL 或更大。

[0041] 在特定实施方案中,根据上文描述的方法,患者患有中度至重度哮喘。在特定实施方案中,哮喘或呼吸病症在用皮质类固醇时得不到控制。在特定实施方案中,皮质类固醇是吸入皮质类固醇。在特定实施方案中,吸入皮质类固醇是 **Qvar®**、**Pulmicort®**、**Symbicort®**、**Aerobid®**、**Flovent®**、**Flonase®**、**Advair®** 或 **Azmacort®**。在一个实施方案中,患者也正在用第二控制剂治疗。在特定实施方案中,第二控制剂是长效支气管扩张剂 (LABD)。在特定实施方案中,LABD 是长效 β -2 激动剂 (LABA)、白三烯受体拮抗剂 (LTRA)、长效毒蕈碱拮抗剂 (LAMA)、茶碱、或口服皮质类固醇 (OCS)。在特定实施方案中,LABD 是 **Symbicort®**、**Advair®**、**Brovana®**、**Foradil®**、**Perforomist™** 或 **Serevent®**。

[0042] 在特定实施方案中,根据上文方法,TH2 途径抑制剂抑制靶标 ITK、BTK、IL-9(例如 MEDI-528)、IL-5(例如美泊利单抗,CAS 编号 196078-29-2;reslizumab)、IL-13(例如 IMA-026、IMA-638(也称为安芦珠单抗,INN 编号 910649-32-0;QAX-576;IL4/IL13 拮)、tralokinumab(也称为 CAT-354,CAS 编号 1044515-88-9);AER-001、ABT-308(也称为人源化 13C5.5 抗体)、IL-4(例如 AER-001、IL4/IL13 拮)、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33 和 IgE(例如 **XOLAIR®**、QGE-031;MEDI-4212);和受体例如:IL-9 受体、IL-5 受体(例如 MEDI-563(贝那利珠单抗,CAS 编号 1044511-01-4))、IL-4 受体 α (例如 AMG-317、AIR-645)、IL-13 受体 α 1(例如 R-1671)和 IL-13 受体 α 2、OX40、TSLP-R、IL-7R α (TSLP 的共受体)、IL17RB(IL-25 的受体)、ST2(IL-33 的受体)、CCR3、CCR4、CRTH2(例如 AMG-853、AP768、AP-761、MLN6095、ACT129968)、Fc ϵ RI 和 Fc ϵ RII/CD23(IgE 的受体)、Flap(例如 GSK2190915)、Syk 激酶(R-343、PF3526299);CCR4(AMG-761)、TLR9(QAX-935),或是 CCR3、IL5、IL3、GM-CSF(例如 TPI ASM8)的多细胞因子抑制剂。在特定实施方案中,TH2 途径抑制剂是抗 IL13/IL4 途径抑制剂或抗 IgE 结合剂。在特定实施方案中,TH2 途径抑制剂是抗 IL-13 抗体。在特定实施方案中,抗 IL-13 抗体是包括包含 SEQ ID NO:9 的 VH 和包含 SEQ ID NO:10 的 VL 的抗体、或包含分别具有 SEQ ID NO.:11、SEQ ID NO.:12、SEQ ID NO.:13、SEQ ID NO.:14、SEQ ID NO.:15 和 SEQ ID NO.:16 的氨基酸序列的 HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2 和 HVRL3 的抗 IL-13 抗体、或 lebrikizumab。在特定实施方案中,抗 IL-13 抗体是还结合 IL-4 的双特异性抗体。

[0043] 在特定实施方案中,TH2 途径抑制剂是抗 IgE 抗体。在特定实施方案中,抗 IgE 抗体是 (i) **XOLAIR®** 抗体, (ii) 包含可变重链和可变轻链的抗 M1' 抗体,其中可变重链是 SEQ ID NO:24,并且可变轻链是 SEQ ID NO:25,或 (iii) 包含可变重链和可变轻链的抗 M1' 抗体,其中可变重链进一步包含 HVR-H1、HVR-H2 和 HVR-H3,并且可变轻链进一步包含 HVR-L1、HVR-L2 和 HVR-L3,且:(a)HVR-H1 是 SEQ ID NO:24 的残基 26-35, [GFTFSDYGIA]; (b)HVR-H2 是 SEQ ID NO:24 的残基 49-66, [AFISDLAYTIYYADTVTG]; (c)HVR-H3 是 SEQ ID NO:24 的残基 97-106, [ARDNWDAMDY]; (d)HVR-L1 是 SEQ ID NO:25 的残基 24-39, [RSSQSLVHNNANTYLH]; (e)HVR-L2 是 SEQ ID NO:25 的残基 55-61, [KVSNRFS]; (f)HVR-L3 是 SEQ ID NO:25 的残基 94-102, [SQNTLVPTW]。

[0044] 在另一个方面,提供了用于评估患者中与用 lebrikizumab 治疗哮喘相关的不良事件的方法。在特定实施方案中,该方法包括监控事件数目和/或严重性的步骤,所述事件是恶化、社区获得性肺炎(Community acquired pneumonia)、过敏反应、肌肉骨骼痛、肌肉骨骼病症、结缔组织痛或结缔组织病症。在特定实施方案中,肌肉骨骼或结缔组织病症是关节痛(arthralgia)、背痛、四肢疼痛、肌痛、颈痛、关节炎、骨发育异常、滑囊炎、肋软骨炎、外生骨疣、胁腹痛(flank pain)、肌肉骨骼胸痛、肌肉骨骼痛、颞疼痛或腱炎。

[0045] 在另外一个方面,提供了抗骨膜素抗体。在特定实施方案中,抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:1 的 HVR 序列和 SEQ ID NO:2 的 HVR 序列。在特定实施方案中,抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的序列。在特定实施方案中,抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:3 的 HVR 序列和 SEQ ID NO:4 的 HVR 序列。在特定实施方案中,抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的序列。在特定实施方案中,提供了包括使用上述抗骨膜素抗体的总骨膜素测定法。

[0046] 附图简述

[0047] 图 1 提供了在实施例 1 中描述的变应原攻击试验的示意图。

[0048] 图 2 显示了在筛选中 (A) 和在第 13 周时 (B) 在攻击后变应原诱导的 FEV1 变化。在变应原攻击后,在前 90 分钟每 10 分钟测量 FEV1 一次,随后自 2 至 8 小时每小时测量 FEV1 一次。误差条代表平均值的标准误。

[0049] 图 3 显示了 IgE、CCL13(MCP-4) 和 CCL17(TARC) 的血清水平。血清水平表示为随着时间 (A) 在安慰剂处理的患者中和 (B) 在 lebrikizumab 治疗的患者中给药前水平的百分数 (%)。线代表各个患者个体;未显示组中值。箭头指示在第 0、4、8 和 12 周(第 0、28、56 和 84 天)时给药。(C),在患者个体中在第 13 周时 IgE、CCL13 和 CCL17 的减少(相对于那些标记的基线水平)。

[0050] 图 4 显示了在生物标记高和生物标记低的患者亚组中 lebrikizumab 诱导的对晚期哮喘反应(LAR)的抑制。数据表示为在第 13 周时 LAR 的 AUC(曲线下面积)的安慰剂校正的平均值减少($n = 5-8$ 活跃患者/组)。

[0051] 图 5 提供了在实施例 2 中描述的哮喘试验的示意图。

[0052] 图 6 提供了参与实施例 2 的哮喘试验的患者的基线特征。

[0053] 图 7 提供了来自实施例 2 的哮喘试验的结果。

[0054] 图 8 提供了,对于所有功效可评估的受试者 (A) 和对于仅骨膜素高的受试者 (B),来自实施例 2 的哮喘试验的 FEV1 结果。

[0055] 图 9 提供了来自实施例 2 的哮喘试验的恶化的减少率。

[0056] 图 10 提供了来自实施例 2 的哮喘试验的 FE_{NO} 变化百分比。

[0057] 图 11 提供了来自实施例 2 的哮喘试验的安全性结果。

[0058] 图 12 提供了在实施例 3 中描述的哮喘试验的示意图。

[0059] 图 13 提供了如实施例 5 中所述的哮喘观察性研究的示意图。

[0060] 图 14 显示了,如实施例 5 中描述的,在 BOBCAT 群组中受试者内多次访问之间血清骨膜素水平之间的相关性。(A) 在访问 1 和访问 2 之间的相关性;(B) 在访问 1 和访问 3 之间的相关性;(C) 在访问 2 和访问 3 之间的相关性;(D) 在访问 1 和所有访问的平均血清骨膜素之间的相关性;(E) 在访问 2 和所有访问的平均血清骨膜素之间的相关性;和 (F) 在访问 3 和跨越所有访问的平均血清骨膜素之间的相关。

[0061] 图 15 显示了,如实施例 5 中所述,根据气道嗜酸性粒细胞炎症(BOBCAT 群组), FE_{NO} 可以区分在高剂量 ICS 上不受控制的中度至重度哮喘。(A) 与具有 <3%痰嗜酸性粒细胞的哮喘相比较,具有 >3%痰嗜酸性粒细胞的哮喘具有显著升高的 FE_{NO} (通过 Wilcoxon 秩和检验, $p < 0.001$)。(B) 与具有 <22 嗜酸性粒细胞/mm² 总支气管组织的哮喘相比较,具有 >22 嗜酸性粒细胞/mm² 总支气管组织的哮喘具有 FE_{NO} 升高的趋势(通过 Wilcoxon 秩和检验, $p = 0.07$)。(C) 通过复合气道嗜酸性粒细胞得分,其中 0 = 痰嗜酸性粒细胞 <3% 且组织(“Bx”)嗜酸性粒细胞 <22/mm²; 1 = 痰嗜酸性粒细胞 >3% 或组织嗜酸性粒细胞 >22/mm²(相互排斥的); 2 = 痰嗜酸性粒细胞 >3% 且组织嗜酸性粒细胞 >22/mm²,证实:随着增加的复合气道嗜酸性粒细胞得分, FE_{NO} 水平增加的强阳性趋势(通过 logistic 回归, $p = 0.001$)。血清骨膜素状态如图例中所示。(D) 血清骨膜素和 FE_{NO} 在具有升高的痰或组织嗜酸性粒细胞的大多数受试者中均是升高的,但受试者子集具有仅骨膜素或 FE_{NO} 的升高。缺

乏升高的痰并组织嗜酸性粒细胞的大多数受试者显示出低血清骨膜素和低 FE_{NO} 。(E) 对于复合气道嗜酸性粒细胞状态,血清骨膜素、 FE_{NO} 、血液嗜酸性粒细胞和血清 IgE 的灵敏度与特异性的受试者工作特征 (ROC) 曲线分析。AUC = 曲线下面积。

[0062] 图 16 提供了在实施例 3 中描述的哮喘试验中无治疗失败的患者的百分比。

[0063] 图 17 显示了对于得自实施例 3 和实施例 5 中描述的临床试验的样品,如在类似于实施例 4 测定法 (E4 测定法) 或 **Elecsys®** 骨膜素测定法 (实施例 7) 的测定法上测量的,血清骨膜素水平之间的比较。

[0064] 图 18 显示了如实施例 2 中描述的,在骨膜素低的患者 (A) 和骨膜素高的患者 (B) 中的血清骨膜素药效学。

[0065] 图 19 显示了如实施例 2 中描述的,在安慰剂和 lebrikizumab 治疗的患者中,随着时间,中值骨膜素水平变化的百分比。

[0066] 图 20 显示了如实施例 6 中描述的,对于在如实施例 2 描述的 II 期研究 (A) 和如实施例 3 描述的 II 期研究 (B) 中的个体,在第 12 周时 FEV1 的 % 变化和体重之间的相关性。

[0067] 图 21 显示了,如实施例 6 中描述的,具有在不同水平之上的稳态谷浓度的患者的预测的比例。

[0068] 图 22 显示了如实施例 6 中描述的,对于实施例 2 研究 (A) 和实施例 3 研究 (B),随着时间,lebrikizumab 对血清 CCL17 (TARC) 水平的影响。

[0069] 图 23 显示了如实施例 6 中描述的,在下述的各 III 期剂量,模拟的群体 PK 曲线: 每 4 周 250mg、每 4 周 125mg、和每 4 周 37.5mg。

[0070] 发明详述

[0071] 除非另有定义,本文使用的技术和科学术语具有本发明所属领域普通技术人员通常理解的含义。Singleton 等人,Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 第 2 版, J. Wiley & Sons (New York, N. Y. 1994), 和 March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 第 4 版, John Wiley & Sons (New York, N. Y. 1992), 为本领域技术人员提供有关本申请使用的许多术语的一般指导。

[0072] 一些定义

[0073] 为了解释本说明书的目的,将应用下述定义,并且在合适时,以单数使用的术语也涵盖复数形式,并且反之亦然。当下文给出的任何定义与引入本文作为参考的任何文献发生冲突时,以下文给出的定义为准。

[0074] 如本说明书和后附权利要求中使用的,除非上下文另有明确说明,单数形式“a”、“an”和“the”涵盖对复数形式的提及。因此,例如,提及“蛋白质”或“抗体”分别涵盖多个蛋白质或抗体;提及“细胞”包括细胞的混合物等。

[0075] 如本文使用的术语“总骨膜素”指,至少骨膜素的同种型 1、2、3 和 4。根据 NCBI 数据库,人骨膜素同种型 1、2、3 和 4 在本领域中已知,分别包含下述氨基酸序列: NP_006466.2 (SEQ ID NO:19); NP_001129406.1 (SEQ ID NO:20)、NP_001129407.1 (SEQ ID NO:21) 和 NP_001129408.1 (SEQ ID NO:22)。此外,申请人已检测到另外形式的骨膜素。这种新同种型在本文中被称作“同种型 5”并且已部分测序。同种型 5 包含 SEQ ID NO:23 的氨基酸序列。在一个实施方案中,骨膜素同种型是人骨膜素。在进一步的实施方案中,术语总骨膜素包括人骨膜素的同种型 5 加上同种型 1-4。在另一个实施方案中,总骨膜素是总血

清骨膜素或总血浆骨膜素（即，得自全血的血清样品中或得自全血的血浆样品中的总骨膜素，全血得自患者）。

[0076] 术语“总骨膜素测定法”指，测量生物样品中的总骨膜素水平的测定法。在一个实施方案中，总骨膜素水平使用抗骨膜素抗体进行测量。在另一个实施方案中，抗骨膜素抗体是本文描述的抗骨膜素抗体。在另一个例子中，总骨膜素水平使用相对于编码骨膜素同种型 1-4 的 mRNA 反义的一种或多种核酸序列进行测量。在另外一个例子中，总骨膜素测定法是在实施例 4 中描述的测定法（“实施例 4 测定法”或“E4 测定法”）。在一个实施方案中，总骨膜素测定法包括：(1) 使用包含序列 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的抗体（“25D4”抗体）和 / 或包含序列 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的抗体（“23B9”抗体）结合生物样品中的骨膜素，(2) 使用包含 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的可变区序列的抗体和 / 或包含 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的可变区序列的抗体结合生物样品中的骨膜素，(3) 使用包含 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的 HVR 序列的抗体和 / 或包含 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的 HVR 序列的抗体结合生物样品中的骨膜素，(4) 使用包含与 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的 HVR 序列 95% 或更多相同的 HVR 序列的抗体和 / 或包含与 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的 HVR 序列 95% 或更多相同的 HVR 序列的抗体。

[0077] 如本文使用的，“嗜酸性粒细胞炎症诊断测定法”，缩写为“EIDA”，是一种测定法，其中通过测量来自患者的生物样品中的嗜酸性粒细胞炎症标记的水平，诊断身体中具有嗜酸性粒细胞炎症或身体中具有 TH2 途径炎症的患者，其中所述标记选自骨膜素 mRNA 水平或骨膜素蛋白质水平、iNOS mRNA 水平或 iNOS 蛋白质水平、或 FE_{NO} 水平或 CCL26mRNA 或 CCL26 蛋白质水平、serpinB2mRNA 水平或 serpinB2 蛋白质水平、serpinB4mRNA 水平或 serpinB4 蛋白质水平、CST1mRNA 水平或 CST1 蛋白质水平、CST2mRNA 水平或 CST2 蛋白质水平、CST4mRNA 水平或 CST4 蛋白质水平。在一个实施方案中，测量总骨膜素血清或血浆水平。高度有效的测定法例子包括但不限于，下文实施例 4 中所述的例子（也称为 E4 测定法），或测量生物样品中的总骨膜素血清或血浆水平的其他骨膜素测定法。可以进行两种或更多种测定法，以在患者中作出嗜酸性粒细胞炎症的诊断。在一个实施方案中，EID 测定法包括与 FE_{NO} 测定法组合的总骨膜素测定法。在另一个实施方案中，EID 测定法包括总骨膜素测定法 +/- FE_{NO} 水平测定法、以及测量下述标记之任何一种或组合的水平的测定法的组合：CST1、CST2、CCL26、CLCA1、PRR4、PRB4、SERPINB2、CEACAM5、iNOS、SERPINB4、CST4 和 SERPINB10。

[0078] 术语“骨膜素抗体”或“抗骨膜素抗体”指与骨膜素的同种型结合的抗体。在一个实施方案中，骨膜素是人骨膜素。在一个实施方案中，抗体包含序列 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2（“25D4”抗体），或包含序列 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4（“23B9”序列）。在另一个实施方案中，抗体包含 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的可变区序列，或包含 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的可变区序列。在另一个实施方案中，抗体包含 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的 HVR 序列或 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的 HVR 序列。在另一个实施方案中，抗体包含与 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的 HVR 序列 95% 或更多相同的 HVR 序列，和 / 或抗体包含与 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的 HVR 序列 95% 或更多相同的 HVR 序列。

[0079] 嗜酸性粒细胞炎症阳性 (EIP) 患者或状态：指这样的患者，如果来自该患者的血清或血浆样品已使用 E4 测定法（实施例 4）测试血清或血浆骨膜素水平，则该患者将具有 20ng/ml 或更高的总血清骨膜素水平（嗜酸性粒细胞阳性的）。根据一个实施方案，在具

有 EIP 的患者中总骨膜素水平可以选自：在血清或血浆中，21ng/ml 或更高、22ng/ml 或更高、23ng/ml 或更高、24ng/ml 或更高、25ng/ml 或更高、26ng/ml 或更高、27ng/ml 或更高、28ng/ml 或更高、29ng/ml 或更高、30ng/ml 或更高、31ng/ml 或更高、32ng/ml 或更高、33ng/ml 或更高、34ng/ml 或更高、35ng/ml 或更高、36ng/ml 或更高、37ng/ml 或更高、38ng/ml 或更高、39ng/ml 或更高、40ng/ml 或更高、41ng/ml 或更高、42ng/ml 或更高、43ng/ml 或更高、44ng/ml 或更高、45ng/ml 或更高、46ng/ml 或更高、47ng/ml 或更高、48ng/ml 或更高、49ng/ml 或更高、50ng/ml 或更高、51ng/ml 或更高、52ng/ml 或更高、53ng/ml 或更高、54ng/ml 或更高、55ng/ml 或更高、56ng/ml 或更高、57ng/ml 或更高、58ng/ml 或更高、59ng/ml 或更高、60ng/ml 或更高、61ng/ml 或更高、62ng/ml 或更高、63ng/ml 或更高、64ng/ml 或更高、65ng/ml 或更高、66ng/ml 或更高、67ng/ml 或更高、68ng/ml 或更高、69ng/ml 或更高、和 70ng/ml 或更高。应当理解，EIP 状态代表患者的状态，并且不依赖于测定该状态的测定法类型。因此，其他嗜酸性粒细胞炎症诊断测定法，包括其他骨膜素测定法例如实施例 7 中所示的 **Elecsys®** 骨膜素测定法，可以用于或开发用于测试嗜酸性粒细胞炎症阳性状态。

[0080] 嗜酸性粒细胞炎症阴性 (EIN) 患者或状态指这样的患者，如果来自该患者的血清或血浆样品已使用 E4 测定法测试血清或血浆骨膜素水平，则该患者将具有小于 20ng/ml 的总血清骨膜素水平。应当理解，EIN 状态代表患者的状态，并且不依赖于测定该状态的测定法类型。因此，其他嗜酸性粒细胞炎症诊断测定法，包括其他骨膜素测定法例如实施例 7 中所示的 **Elecsys®** 骨膜素测定法，可以用于或开发用于测试嗜酸性粒细胞炎症阴性状态。

[0081] 如本文使用的术语“生物样品”包括但不限于血液、血清、血浆、痰、组织活检物（例如肺样品）、和鼻样品，包括鼻拭子或鼻息肉。

[0082] FE_{NO} 测定法指测量 FE_{NO} （呼出气一氧化氮分数）水平的测定法。此水平可以使用例如手提式便携装置 NIOX **MINO**₁ (Aerocrine, Solna, 瑞典)，依照在 2005 年由 American Thoracic Society (ATS) 公开的指南，进行评估。 FE_{NO} 可以记为其他相似方式例如 $FeNO$ 或 $FENO$ ，并且应当理解所有这些相似的变化形式具有相同含义。

[0083] 待根据本文提供的方法测试或治疗的患者年龄包括：所有年龄。在一个实施方案中，年龄是 18+ 岁。在另一个实施方案中，年龄是 12+ 岁。在另外一个实施方案中，年龄是 2+ 岁。在一个实施方案中，年龄是 18-75 岁、12-75 岁或 2-75 岁。

[0084] 哮喘是一种复杂病症，具有如下特征：变化和复发的症状、可逆的气流阻塞（例如通过支气管扩张剂）和支气管高反应性，其可以与潜在的炎症相关或不相关。哮喘的例子包括，阿司匹林敏感性 / 恶化的哮喘、特应性哮喘、重度哮喘、轻度哮喘、中度至重度哮喘、未接受过皮质类固醇的哮喘 (corticosteroid **naïve** asthma)、慢性哮喘、皮质类固醇抵抗哮喘、皮质类固醇难治性哮喘、新近诊断且未治疗的哮喘、吸烟引起的哮喘、在皮质类固醇应用时得不到控制的哮喘、和如 J Allergy Clin Immunol (2010) 126(5):926-938 中提及的其他哮喘。

[0085] 嗜酸性粒细胞病症意指：与过量嗜酸性粒细胞数目相关的病症，其中由于身体局部或全身的嗜酸性粒细胞水平或活性，可以表现为非典型症状。与过量嗜酸性粒细胞数目或活性相关的病症包括但不限于，哮喘（包括阿司匹林敏感性哮喘），特应性哮喘，特应性

皮炎,变应性鼻炎(包括季节性变应性鼻炎),非变应性鼻炎,哮喘,重度哮喘,慢性嗜酸性粒细胞肺炎,变应性支气管肺曲霉病,腹腔疾病,丘斯综合征(Churg-Strauss syndrome)(特应性结节性动脉外膜炎),嗜酸性粒细胞增多肌痛综合征,嗜酸性粒细胞增多综合征,水肿反应,包括周期性血管性水肿(episodic angiodema),其中嗜酸性粒细胞可以具有保护作用的蠕虫感染,盘尾丝虫皮炎(onchocercal dermatitis)、和嗜酸性粒细胞相关胃肠道病症,包括但不限于嗜酸性粒细胞性食管炎、嗜酸性粒细胞性胃炎、嗜酸性粒细胞性胃肠炎、嗜酸性粒细胞性肠炎和嗜酸性粒细胞性结肠炎,鼻微息肉病和息肉病,阿司匹林不耐受,哮喘和阻塞性睡眠呼吸暂停。嗜酸性粒细胞衍生的分泌产物也已与以下关联:肿瘤中血管生成的促进和结缔组织形成、病状例如慢性哮喘、克罗恩氏病、硬皮病和心内膜心肌纤维化中可见的纤维化反应(Munitz A, Levi-Schaffer F. Allergy 2004 ;59:268-75, Adamko 等人 Allergy 2005 ;60:13-22, Oldhoff, 等人 Allergy 2005 ;60:693-6)。其他例子包括癌症(例如成胶质细胞瘤(例如多形性成胶质细胞瘤)、非何杰金氏淋巴瘤(NHL))、特应性皮炎、变应性鼻炎、哮喘、纤维化、炎性肠病、肺纤维化(包括特发性肺纤维化(IPF)和硬化症继发的肺纤维化)、COPD、肝纤维化。

[0086] IL-13 介导的病症意指与过量 IL-13 水平或活性相关的病症,其中由于身体局部和/或全身的 IL-13 水平或活性,可以表现为非典型症状。IL-13 介导的病症的例子包括:癌症(例如非何杰金氏淋巴瘤、成胶质细胞瘤)、特应性皮炎、变应性鼻炎、哮喘、纤维化、炎性肠病(例如克罗恩氏病)、肺炎性病症(例如肺纤维化例如 IPF)、COPD、肝纤维化。

[0087] IL-4 介导的病症意指与过量 IL4 水平或活性相关的病症,其中由于身体局部和/或全身的 IL4 水平或活性,可以表现为非典型症状。IL4 介导的病症的例子包括:癌症(例如非何杰金氏淋巴瘤、成胶质细胞瘤)、特应性皮炎、变应性鼻炎、哮喘、纤维化、炎性肠病(例如克罗恩氏病)、肺炎性病症(例如肺纤维化例如 IPF)、COPD、肝纤维化。

[0088] IL-5 介导的病症意指与过量 IL5 水平或活性相关的病症,其中由于身体局部和/或全身的 IL5 水平或活性,可以表现非典型症状。IL5 介导的病症的例子包括:癌症(例如非何杰金氏淋巴瘤、成胶质细胞瘤)、特应性皮炎、变应性鼻炎、哮喘、纤维化、炎性肠病(例如克罗恩氏病)、肺炎性病症(例如肺纤维化例如 IPF)、COPD、肝纤维化。

[0089] IL-9 介导的病症意指与过量 IL9 水平或活性相关的病症,其中由于身体局部和/或全身的 IL9 水平或活性,可以表现非典型症状。IL9 介导的病症的例子包括:癌症(例如非何杰金氏淋巴瘤、成胶质细胞瘤)、特应性皮炎、变应性鼻炎、哮喘、纤维化、炎性肠病(例如克罗恩氏病)、肺炎性病症(例如肺纤维化例如 IPF)、COPD、肝纤维化。

[0090] TSLP 介导的病症意指与过量 TSLP 水平或活性相关的病症,其中由于身体局部和/或全身的 TSLP 水平或活性,可以表现非典型症状。TSLP 介导的病症的例子包括:癌症(例如非何杰金氏淋巴瘤、成胶质细胞瘤)、特应性皮炎、变应性鼻炎、哮喘、纤维化、炎性肠病(例如克罗恩氏病)、肺炎性病症(例如肺纤维化例如 IPF)、COPD、肝纤维化。

[0091] IgE 介导的病症意指:与过量 IgE 水平或活性相关的病症,其中由于身体局部和/或全身的 IgE 水平,可以表现非典型症状。此类病症包括哮喘、特应性皮炎、变应性鼻炎、纤维化(例如肺纤维化,例如 IPF)。

[0092] 哮喘样症状包括选自下述的症状:呼吸短促、咳嗽(痰产生和/或痰质量和/或咳嗽频率的变化)、哮喘、胸闷、支气管狭窄(bronchioconstriction)和归因于上述症状

之一或这些症状的組合的夜间觉醒 (Juniper 等人 (2000) Am. J. Respir. Crit. Care Med., 162(4), 1330-1334.)。

[0093] 术语“呼吸病症”包括但不限于,哮喘(例如变应性和非变应性哮喘(例如,由于感染,例如呼吸道合胞病毒(RSV)感染,例如在幼儿中));支气管炎(例如慢性支气管炎);慢性阻塞性肺疾病(COPD)(例如肺气肿(例如香烟诱导的肺气肿));涉及气道炎症、嗜酸性粒细胞增多症、纤维化和过量粘液产生的状况,例如囊性纤维化、肺纤维化和变应性鼻炎。可以具有气道炎症、过量气道分泌和气道阻塞的特征的疾病的例子包括,哮喘、慢性支气管炎、支气管扩张和囊性纤维化。

[0094] 恶化(通常被称为哮喘发作或急性哮喘)是下述状况的新的发作或进行性的增加:呼吸短促、咳嗽(痰产生和/或痰质量和/或咳嗽频率的变化)、哮鸣、胸闷、归于上述症状之一或这些症状的組合的夜间觉醒。恶化通常特征在于:呼出气流(PEF或FEV1)的减少。然而,PEF变异性在恶化过程中通常不增加,但它可以增加从而导致自恶化的恢复、或它可以在从恶化恢复的过程中增加。恶化的严重性可以从轻度到威胁生命,并且可以基于症状和肺功能进行评估。如本文描述的重度哮喘恶化包括导致下述之任一或組合的恶化:随后的住院哮喘治疗、高皮质类固醇使用(例如翻两番皮质类固醇日总剂量、或大于或等于500微克FP或等价物的日总剂量、连续三天或更多天)、或经口/肠胃外皮质类固醇使用。

[0095] TH2途径抑制剂是抑制TH2途径的活性剂。

[0096] TH2途径抑制剂的例子包括选自下述的任何一种靶标的活性的抑制剂:ITK、BTK、IL-9(例如MEDI-528)、IL-5(例如美泊利单抗,CAS编号196078-29-2;reslizumab)、IL-13(例如IMA-026、IMA-638(也称为安芦珠单抗,INN编号910649-32-0;QAX-576;IL4/IL13拮)、tralokinumab(也称为CAT-354,CAS编号1044515-88-9);AER-001、ABT-308(也称为人源化13C5.5抗体)、IL-4(例如AER-001、IL4/IL13拮)、OX40L、TSLP、IL-25、IL-33和IgE(例如XOLAIR、QGE-031;MEDI-4212);和受体例如:IL-9受体、IL-5受体(例如MEDI-563(贝那利珠单抗,CAS编号1044511-01-4))、IL-4受体 α (例如AMG-317、AIR-645)、IL-13受体 α 1(例如R-1671)和IL-13受体 α 2、OX40、TSLP-R、IL-7R α (TSLP的共受体)、IL17RB(IL-25的受体)、ST2(IL-33的受体)、CCR3、CCR4、CRTH2(例如AMG-853、AP768、AP-761、MLN6095、ACT129968)、Fc ϵ RI、Fc ϵ RII/CD23(IgE的受体)、Flap(例如GSK2190915)、Syk激酶(R-343、PF3526299);CCR4(AMG-761)、TLR9(QAX-935),和CCR3、IL5、IL3、GM-CSF的多细胞因子抑制剂(例如TPI ASM8)。上述靶标的抑制剂的例子公开于例如WO2008/086395;WO2006/085938;US 7,615,213;US 7,501,121;WO2006/085938;WO 2007/080174;US 7,807,788;WO2005007699;WO2007036745;WO2009/009775;WO2007/082068;WO2010/073119;WO2007/045477;WO2008/134724;US2009/0047277;和WO2008/127,271)中。

[0097] 本文提供的治疗剂包括可以与上文鉴定的靶标结合的活性剂,例如多肽(一或多种)(例如抗体、免疫粘附素或肽体(peptibody))、可以与蛋白质结合的适体或小分子、或可以与编码本文鉴定的靶标的核酸分子结合的核酸分子(即,siRNA)。

[0098] “抗IL-13/IL4途径抑制剂”指抑制IL-13和/或IL-4信号传递的治疗剂。抗IL-13/IL4途径抑制剂的例子包括IL13和/或IL4与其受体的相互作用的抑制剂,此类抑制剂包括但不限于抗IL13结合剂、抗IL4结合剂、抗IL3/IL4双特异性结合剂、抗IL4受体

α 结合剂、抗 IL13 受体 $\alpha 1$ 结合剂和抗 IL13 受体 $\alpha 2$ 结合剂。作为抑制剂,特别包括可以结合 IL13、IL4(包括具有结合 IL13 的单结构域和结合 IL4 的单结构域的双特异性抗体)、IL-13R $\alpha 1$ 、IL-13R $\alpha 2$ 或 IL-4R α 的单结构域抗体。应当理解,包括可以结合超过一种靶标的分子。

[0099] “抗 IL4 结合剂”指结合人 IL-4 的活性剂。此类结合剂可以包括小分子、适体或多肽。此类多肽可以包括但不限于选自免疫粘附素、抗体、肽体和肽的多肽。根据一个实施方案,结合剂以 1 μ M - 1pM 的亲和力结合人 IL-4 序列。抗 IL4 结合剂的具体例子可以包括可溶性 IL4 受体 α (例如融合至人 Fc 区的 IL4 受体的细胞外结构域)、抗 IL4 抗体、和可溶性 IL13 受体 $\alpha 1$ (例如融合至人 Fc 区的 IL13 受体 $\alpha 1$ 的细胞外结构域)。

[0100] “抗 IL4 受体 α 结合剂”指结合人 IL4 受体 α 的活性剂。此类结合剂可以包括小分子、适体或多肽。此类多肽可以包括但不限于选自免疫粘附素、抗体、肽体和肽的多肽。根据一个实施方案,结合剂以 1 μ M - 1pM 的亲和力结合人 IL-4 受体 α 序列。抗 IL4 受体 α 结合剂的具体例子可以包括抗 IL4 受体 α 抗体。

[0101] “抗 IL13 结合剂”指结合人 IL13 的活性剂。此类结合剂可以包括小分子、适体或多肽。此类多肽可以包括但不限于选自免疫粘附素、抗体、肽体和肽的多肽。根据一个实施方案,结合剂以 1 μ M - 1pM 的亲和力结合人 IL-13 序列。抗 IL-13 结合剂的具体例子可以包括抗 IL-13 抗体、融合至人 Fc 的可溶性 IL13 受体 $\alpha 2$ 、融合至人 Fc 的可溶性 IL4 受体 α 、融合至人 Fc 的可溶性 IL13 受体 α 。根据一个实施方案,抗 IL-13 抗体包含 (1) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO 11 的 HVRH1, (2) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:12 的 HVRH2, (3) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:13 的 HVRH3, (4) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:14 的 HVRL1, (5) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:15 的 HVRL2, 和 (6) 包含氨基酸序列 SEQ ID NO:16 的 HVRL3。在另一个实施方案中,抗 IL-13 抗体包括包含氨基酸序列 SEQ ID NO:9 的 VH 结构域和包含氨基酸序列 SEQ ID NO:10 的 VL 结构域。根据一个实施方案,抗体是 IgG1 抗体。根据另一个实施方案,抗体是 IgG4 抗体。根据一个实施方案,IgG4 抗体在其恒定结构域中包含 S228P 突变。

[0102] “抗 IL13 受体 $\alpha 1$ 结合剂”指特异性结合人 IL13 受体 $\alpha 1$ 的活性剂。此类结合剂可以包括小分子、适体或多肽。此类多肽可以包括但不限于选自免疫粘附素、抗体、肽体和肽的多肽。根据一个实施方案,结合剂以 1 μ M - 1pM 的亲和力结合人 IL-13 受体 $\alpha 1$ 序列。抗 IL13 受体 $\alpha 1$ 结合剂的具体例子可以包括抗 IL13 受体 $\alpha 1$ 抗体。

[0103] “抗 IL13 受体 $\alpha 2$ 结合剂”指特异性结合人 IL13 受体 $\alpha 2$ 的活性剂。此类结合剂可以包括小分子、适体或多肽。此类多肽可以包括但不限于选自免疫粘附素、抗体、肽体和肽的多肽。根据一个实施方案,结合剂以 1 μ M - 1pM 的亲和力结合人 IL-13 受体 $\alpha 2$ 序列。抗 IL13 受体 $\alpha 2$ 结合剂的具体例子可以包括抗 IL13 受体 $\alpha 2$ 抗体。

[0104] “抗 IgE 结合剂”指特异性结合人 IgE 的活性剂。此类结合剂可以包括小分子、适体或多肽。此类多肽可以包括但不限于选自免疫粘附素、抗体、肽体和肽的多肽。根据一个实施方案,抗 IgE 抗体包括包含氨基酸序列 SEQ ID NO:17 的 VL 序列和包含氨基酸序列 SEQ ID NO:18 的 VH 序列。

[0105] “抗 M1' 结合剂”指特异性结合在 B 细胞上表面表达的 IgE 的膜近端 M1' 区的活性剂。此类结合剂可以包括小分子、适体或多肽。此类多肽可以包括但不限于选自免疫粘附素、抗体、肽体和肽的多肽。根据一个实施方案,该抗 IgE 抗体包括在 WO2008/116149

中描述的抗体或其变体。根据另一个实施方案,抗 M1' 抗体包含可变重链和可变轻链,其中所述可变重链是 SEQ ID NO:24,并且所述可变轻链是 SEQ ID NO:25。根据另一个实施方案,抗 IgE/M1' 抗体包含可变重链和可变轻链,其中所述可变重链进一步包含 HVR-H1、HVR-H2 和 HVR-H3,并且所述可变轻链进一步包含 HVR-L1、HVR-L2 和 HVR-L3,且:(a)HVR-H1 是 SEQ ID NO:24 的残基 26-35, [GFTFSDYGIA];(b)HVR-H2 是 SEQ ID NO:24 的残基 49-66, [AFISDLAYTIYYADTVTG];(c)HVR-H3 是 SEQ ID NO:24 的残基 97-106, [ARDNWDAMDY];(d)HVR-L1 是 SEQ ID NO:25 的残基 24-39, [RSSQSLVHNNANTYLH];(e)HVR-L2 是 SEQ ID NO:25 的残基 55-61, [KVSNRFS];(f)HVR-L3 是 SEQ ID NO:25 的残基 94-102, [SQNTLVPWT]。

[0106] 术语“小分子”指具有 50 道尔顿 - 2500 道尔顿的分子量的有机分子。

[0107] 术语“抗体”以最广泛含义使用且特别涵盖例如单克隆抗体、多克隆抗体、具有多表位特异性的抗体、单链抗体、多特异性抗体和抗体片段。此类抗体可以是嵌合、人源化、人和合成的。此类抗体和生成其的方法在下文更详细地描述。

[0108] 术语“得不到控制的”或“不能得到控制的”指治疗方案不足以使疾病症状最小化。如本文使用的,术语“得不到控制的”和“得不到充分控制的”可以互换使用,且意指相同状态。患者的控制状态可以通过主治医生基于许多因素进行确定,所述因素包括患者的临床史、对治疗的应答性和医嘱的当前治疗水平。例如,医生可以考虑因素例如 FEV1< 预测的或个人的最佳值的 75%、在过去 2-4 周中 SABA 的需要频率(例如大于或等于两剂/周)、在过去 2-4 周中夜间觉醒/症状(例如小于或等于 2 晚/周)、在过去 2-4 周中对活动的限制性、在过去 2-4 周中的白天症状。

[0109] 术语“治疗剂”指用于治疗疾病的任何活性剂。

[0110] 术语“控制剂”或“防止剂”指用于控制哮喘炎症的任何治疗剂。控制剂的例子包括皮质类固醇、白三烯受体拮抗剂(例如抑制白三烯的合成或活性,例如孟鲁司特(montelukast)、齐留通(zileuton)、普仑司特(pranlukast)、扎鲁司特(zafirlukast))、LABAs、皮质类固醇/LABA 联合组合物、茶碱(包括氨茶碱(aminophylline))、色甘酸钠、奈多罗米钠、奥马珠单抗、LAMAs、MABA(例如双功能毒蕈碱拮抗剂- β 2 激动剂)、5-脂加氧酶活化蛋白质(FLAP)抑制剂、和酶 PDE-4 抑制剂(例如罗氟司特(roflumilast))。“第二控制剂”典型地指与第一控制剂不同的控制剂。

[0111] 术语“省皮质类固醇的”或“CS”意指:在服用皮质类固醇治疗疾病的患者中,由于另一种治疗剂的施用,减少了用于治疗该疾病的皮质类固醇的频率和/或量、或消除了对皮质类固醇的使用。“CS 剂”指可以在服用皮质类固醇的患者中引起 CS 的治疗剂。

[0112] 术语“皮质类固醇”包括但不限于,氟替卡松(fluticasone)(包括丙酸氟替卡松(FP))、倍氯米松(beclometasone)、布地奈德(budesonide)、环索奈德(ciclesonide)、莫米他松(mometasone)、去氟肤轻松(flunisolide)、倍他米松(betamethasone)和曲安西龙(triamcinolone)。“可吸入皮质类固醇”意指适于通过吸入递送的皮质类固醇。示例性可吸入皮质类固醇是氟替卡松、二丙酸倍氯米松、布地奈德、糠酸莫米他松(mometasone furoate)、环索奈德、去氟肤轻松、醋酸曲安缩松(Triamcinolone Acetonide)、和目前可获得或将来可获得的任何其他皮质类固醇。可以吸入且与长效 β 2- 激动剂组合的皮质类固醇的例子包括但不限于:布地奈德/福莫特罗(formoterol)和氟替卡松/沙美特罗(salmeterol)。

[0113] 皮质类固醇/LABA 组合药物的例子包括糠酸氟替卡松/三氟甲磺酸维兰特罗 (vilanterol trifenate) 和茚达特罗 (indacaterol)/莫米他松。

[0114] 术语“LABA”意指长效 β 2- 激动剂,所述激动剂包括例如沙美特罗、福莫特罗、班布特罗 (bambuterol)、舒喘灵 (albuterol)、茚达特罗、阿福特罗 (arformoterol) 和克伦特罗 (clenbuterol)。

[0115] 术语“LAMA”意指长效毒蕈碱拮抗剂,所述拮抗剂包括:噻托溴铵 (tiotropium)。

[0116] LABA/LAMA 组合的例子包括但不限于:奥达特罗噻托溴铵 (Boehringer Ingelheim's) 和茚达特罗 glycopyrronium (Novartis)。

[0117] 术语“SABA”意指短效 β -2 激动剂,所述激动剂包括但不限于,沙丁胺醇 (salbutamol)、左沙丁胺醇 (levosalbutamol)、非诺特罗 (fenoterol)、特布他林 (terbutaline)、吡布特罗 (pirbuterol)、丙卡特罗 (procaterol)、比托特罗 (bitolterol)、利米特罗 (rimiterol)、卡布特罗 (carbuterol)、妥洛特罗 (tulobuterol) 和瑞普特罗 (reproterol)。

[0118] 白三烯受体拮抗剂 (有时称为 leukast) (LTRA) 是抑制白三烯的药物。白三烯抑制剂的例子包括孟鲁司特、齐留通、普仑司特和扎鲁司特。

[0119] 术语“FEV₁”指在用力呼气的第一秒内呼出的空气体积。它是气道阻塞的量度。诱导 20% 的 FEV₁ 下降所需的乙酰甲胆碱的激发浓度 (PC₂₀) 是气道高反应性的量度。FEV₁ 可以以其他相似方式例如 FEV_t 表示,并且应当理解所有这些相似的变化形式具有相同含义。

[0120] 术语“FEV₁ 的相对变化” = (在治疗第 12 周时的 FEV₁ - 在治疗开始前的 FEV₁) 除以 FEV₁。

[0121] 术语“轻度哮喘”指患者一般经历每周小于两次的症状或恶化、每月小于两次的夜间症状,并且在两次恶化之间是无症状的。轻度、间歇性哮喘常根据需要用下述进行治疗:吸入性支气管扩张剂 (短效吸入 β 2- 激动剂);已知触发剂的避免;每年流感疫苗接种;每 6 - 10 年肺炎球菌疫苗接种,以及在某些情况下,在暴露于鉴定的触发剂前,吸入性 β 2- 激动剂、色甘酸或茶多罗米。如果患者对短效 β 2- 激动剂具有增加的需要 (例如对于急性恶化,在 1 天内使用短效 β 2- 激动剂超过三到四次;或针对症状,每月使用超过一盒 (canister)),则患者可能需要治疗的逐步增加。

[0122] 术语“中度哮喘”一般指这样的哮喘,其中患者经历每周超过两次的恶化,且恶化影响睡眠和活动;患者具有每月超过两次的由哮喘导致的夜间觉醒;患者具有慢性哮喘症状,所述症状每天或每隔一天需要短效吸入 β 2- 激动剂;以及患者的治疗前基线 PEF 或 FEV₁ 是预测的 60% - 80%,并且 PEF 变异性是 20 - 30%。

[0123] 术语“重度哮喘”一般指这样的哮喘,其中患者具有几乎连续的症状、频繁恶化、频繁的由哮喘导致的夜间觉醒、有限的活动、小于预测的 60% 的 PEF 或 FEV₁ 基线、和 20 - 30% 的 PEF 变异性。

[0124] 急救药品 (rescue medications) 的例子包括舒喘灵 (albuterol)、万托林 (ventolin) 及其他。

[0125] “抵抗”指在用治疗剂治疗后几乎未表现出或根本未表现出临床上显著改善的疾病。例如,需要用高剂量 ICS 治疗 (例如,翻两番皮质类固醇总日剂量或大于或等于 500 微克日总剂量的 FP (或等价物) 用至少连续三天或更多天、或全身皮质类固醇用两周试验,以

确立哮喘是否保持不受控制或 FEV1 未改善) 的哮喘通常被视为重度难治性哮喘。

[0126] 如本文提供的治疗剂可以通过任何合适的方式进行施用, 包括肠胃外、皮下、腹膜内、肺内和鼻内。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。在一个实施方案中, 治疗剂是吸入剂。根据另一个实施方案, 给药是通过注射例如静脉内或皮下注射给予。在另外一个实施方案中, 治疗剂使用注射器(例如预装或非预装)或自动注射器进行施用。

[0127] 对于疾病的预防或治疗, 治疗剂的合适剂量可以依赖待治疗疾病的类型、疾病的严重性和过程、治疗剂是施用用于预防还是治疗目的、先前治疗、患者的临床史和对治疗剂的应答、和主治医生的判断。治疗剂可以适宜地一次性地或经过一系列治疗而施用于患者。可以以与良好医疗实践相符的方式配制、剂量和施用治疗剂组合物。在此情况下考虑的因素包括待治疗的具体病症、待治疗的具体哺乳动物、患者个体的临床状况、病症的原因、活性剂的递送部位、施用方法、施用时间安排、和医学从业者已知的其他因素。

[0128] 对于使用 TH2 疗法用于嗜酸性粒细胞疾病(包括哮喘)和用于治疗其他疾病, lebrikizumab 的剂量如下: 可以按 0.1mg/kg-100mg/kg 患者体重, 施用 lebrikizumab。在一个实施方案中, 施用于患者的剂量是 0.1mg/kg-20mg/kg 患者体重。在另一个实施方案中, 剂量是 1mg/kg-10mg/kg 患者体重。

[0129] 在可替代实施方案中, lebrikizumab 可以作为固定剂量施用。在一个实施方案中, lebrikizumab 作为 125-1000mg 固定剂量(即, 不是重量依赖的)通过皮下注射或通过静脉内注射以选自下述的时间频率施用: 每 2 周、3 周、4 周、5 周、6 周、7 周、8 周、9 周、10 周、11 周、12 周、13 周、14 周、15 周、16 周、1 个月、2 个月、3 个月或 4 个月。在另一个实施方案中, 如果患者是超重的, 则 lebrikizumab 可以以每月 3 次的频率施用例如 125-250mg。在一个实施方案中, lebrikizumab 作为 125mg、250mg 或 500mg 的固定剂量每 4 周施用。在另一个实施方案中, lebrikizumab 在 >40kg 的患者中作为 37.5mg、125mg、250mg 或 500mg 的固定剂量每 4 周施用。

[0130] 在一个实施方案中, 患者是 18 岁或更大。在一个实施方案中, 哮喘患者是 12 - 17 岁, 并且 lebrikizumab 作为 250mg 的固定剂量或 125mg 的固定剂量施用。在一个实施方案中, 哮喘患者是 6 - 11 岁, 并且 lebrikizumab 作为 125mg 的固定剂量施用。

[0131] “患者应答”或“应答”(及其语法变体)可以使用指示有益于患者的任何终点进行评价, 包括但不限于(1) 疾病进展的一定程度抑制, 包括减慢和完全停滞; (2) 疾病发作数和 / 或症状的减少; (3) 损伤大小的减少; (4) 疾病细胞向邻近周围器官和 / 或组织浸润的抑制(即减少、减慢或完全停止); (5) 疾病扩散的抑制(即减少、减慢或完全停止); (6) 自身免疫反应的降低, 其可以, 但不必, 导致疾病损伤的消退或消除; (7) 与病症相关的一种或多种症状的一定程度缓解; (8) 在治疗后无疾病呈现的长度(length of disease-free presentation) 的增加; 和 / 或 (9) 在治疗后在给定时间点上减少的死亡率。

[0132] “亲和力”指在分子(例如抗体)的单个结合位点及其结合配偶体(例如抗原)之间的非共价相互作用的总和强度。除非另有说明, 如本文使用的, “结合亲和力”指反映结合对的成员(例如抗体和抗原结合臂)之间的 1:1 相互作用的内在结合亲和力。分子 X 对于其配偶体 Y 的亲和力一般可以通过解离常数(Kd)表示。亲和力可以通过本领域已知的常见方法, 包括本文描述的那些, 进行测量。用于测量结合亲和力的特定举例说明性和示例性

实施方案在下文描述。

[0133] “亲和力成熟的”抗体指与不具有此类改变的亲本抗体相比较,在一个或多个高变区 (HVRs) 中具有一个或多个改变的抗体,此类改变导致抗体对于抗原的亲力的改善。

[0134] 术语“抗靶标抗体”和“与靶标结合的抗体”指能够以足够的亲和力结合靶标的抗体,这使得抗体可以用作靶向靶标的诊断和 / 或治疗剂。在一个实施方案中,抗靶标抗体与无关的非靶标蛋白质的结合程度,例如通过放射性免疫测定法 (RIA) 或 biacore 测定法测量的,是抗体与靶标的结合的不到约 10%。在特定实施方案中,与靶标结合的抗体具有 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更少,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M) 的解离常数 (Kd)。在特定实施方案中,抗靶标抗体与在不同物种中保守的靶标的表位结合。

[0135] 术语“抗体”在本文中以最广泛的含义使用,并且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体 (例如双特异性抗体) 和抗体片段,只要它们显示出所需抗原结合活性即可。

[0136] “抗体片段”指非完整抗体的分子,其包含完整抗体中结合与完整抗体结合的抗原的部分。抗体片段的例子包括但不限于 Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂; 双抗体; 线性抗体; 单链抗体分子 (例如 scFv); 和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0137] 与参考抗体“结合相同表位的抗体”指,该抗体在竞争测定法中阻断参考抗体与其抗原的结合达 50% 或更多,且反过来地,参考抗体在竞争测定法中阻断该抗体与其抗原的结合达 50% 或更多。示例性竞争测定法在本文中提供。

[0138] 用于本文目的的“受体人构架”是包含衍生自人免疫球蛋白构架或人共有构架 (如下文定义) 的轻链可变结构域 (VL) 构架或重链可变 (VH) 构架的氨基酸序列的构架。“衍生自”人免疫球蛋白构架或人共有构架的受体人构架可以包含与其相同的氨基酸序列,或它可以含有氨基酸序列变化。在一些实施方案中,氨基酸变化数目是 10 个或更少、9 个或更少、8 个或更少、7 个或更少、6 个或更少、5 个或更少、4 个或更少、3 个或更少、或 2 个或更少。在一些实施方案中,VL 受体人构架在序列上与 VL 人免疫球蛋白构架序列或人共有构架序列相同。

[0139] 术语“嵌合”抗体指这样的抗体,其中重和 / 或轻链的部分衍生自特定来源或物种,而重和 / 或轻链的剩余部分衍生自不同来源或物种。

[0140] 抗体的“类”指抗体重链具有的恒定结构域或恒定区的类型。存在五大类抗体: IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM,并且其中几个可以进一步分为亚类 (同种型),例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2。对应于不同类免疫球蛋白的重链恒定结构域分别被称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。

[0141] 如本文使用的术语“细胞毒素剂”指抑制或阻止细胞功能和 / 或引起细胞死亡或破坏的物质。细胞毒素剂包括但不限于放射性同位素 (例如 At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212 和 Lu 的放射性同位素); 化学治疗剂或药物 (例如氨甲蝶呤 (methotrexate)、阿霉素 (adriamycin)、长春花生物碱 (vinca alkaloids) (长春新碱 (vincristine)、长春碱 (vinblastine)、依托泊苷 (etoposide))、多柔比星 (doxorubicin)、美法仑 (melphalan)、丝裂霉素 C (mitocycin C)、苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、柔红霉素 (daunorubicin) 或其他嵌入剂); 生长抑制剂; 酶及其片段例如

溶核酶 ; 抗生素 ; 毒素例如小分子毒素或细菌、真菌、植物或动物源的酶活性毒素, 包括其片段和 / 或变体 ; 和下文公开的多种抗肿瘤或抗癌剂。

[0142] “效应子功能”指可归于抗体的 Fc 区的那些生物活性, 其随着抗体同种型而改变。抗体效应子功能的例子包括 : C1q 结合和补体依赖性细胞毒性 (CDC) ; Fc 受体结合 ; 抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) ; 吞噬作用 ; 细胞表面受体 (例如 B 细胞受体) 的下调 ; 和 B 细胞活化。

[0143] 活性剂例如药物制剂的“有效量”指, 在所需剂量和时间段, 有效地实现期望的治疗或预防结果的量。

[0144] 术语“Fc 区”在本文中用于定义免疫球蛋白重链的 C 端区域, 其含有恒定区的至少部分。该术语包括天然序列 Fc 区和变体 Fc 区。在一个实施方案中, 人 IgG 重链 Fc 区从 Cys226 或 Pro230 延伸到重链的羧基末端。然而, Fc 区的 C 末端赖氨酸 (Lys447) 可以存在或不存在。除非本文另有说明, Fc 区或恒定区中的氨基酸残基编号根据 EU 编号系统, 也称为 EU 索引, 见 Kabat 等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 中描述。

[0145] “构架”或“FR”指除了高变区 (HVR) 残基外的可变结构域残基。可变结构域的 FR 一般由四个 FR 结构域组成 : FR1、FR2、FR3 和 FR4。相应地, HVR 和 FR 序列一般以下述顺序在 VH (或 VL) 中出现 : FR1-H1 (L1)-FR2-H2 (L2)-FR3-H3 (L3)-FR4。

[0146] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文中可互换使用, 指具有基本上类似于天然抗体结构的结构或具有含有如本文定义的 Fc 区的重链的抗体。

[0147] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用, 并且指外源核酸已引入其内的细胞, 包括此细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“转化的细胞”, 其包括原代转化的细胞和由其衍生的后代, 不考虑传代数。后代可以在核酸内容上与亲本细胞不完全等同, 而是可以含有突变。在本文中涵盖具有针对原始转化细胞所筛选或选择的功能或生物活性的突变体后代。

[0148] “人抗体”是具有氨基酸序列的抗体, 所述氨基酸序列对应于通过人或人细胞产生的或者衍生自非人来源的抗体的氨基酸序列, 其中所述非人来源利用人抗体库或其他人抗体编码序列。人抗体的这个定义特别地排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0149] “人共有构架”是代表在选择的人免疫球蛋白 VL 或 VH 构架序列中最常出现的氨基酸残基的构架。一般地, 该选择的人免疫球蛋白 VL 或 VH 序列来自可变结构域序列亚组。一般地, 该序列亚组是如 Kabat 等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 第 1-3 卷中的亚组。在一个实施方案中, 对于 VL, 亚组是如 Kabat 等人, 同上引文中的亚组 κ I。在一个实施方案中, 对于 VH, 亚组是如 Kabat 等人, 同上引文中的亚组 III。

[0150] “人源化”抗体指包含来自非人 HVRs 的氨基酸残基和来自人 FRs 的氨基酸残基的嵌合抗体。在特定实施方案中, 人源化抗体将包含至少一个和一般两个可变结构域的基本上全部, 其中 HVRs (例如 CDRs) 的全部或基本上全部对应于非人抗体的, 而 FRs 的全部或基本上全部对应于人抗体的。人源化抗体任选可以包含衍生自人抗体的抗体恒定区的至少部分。抗体例如非人抗体的“人源化形式”指已经历人源化的抗体。

[0151] 如本文使用的, 术语“高变区”或“HVR”指抗体可变结构域中在序列上高变和 / 或

形成结构上限定的环（“高变环”）的各个区域。一般地，天然四链抗体包含六个 HVRs：三个在 VH 中（H1、H2、H3），并且三个在 VL 中（L1、L2、L3）。HVRs 一般包含来自高变环和 / 或来自“互补决定区”（CDRs）的氨基酸残基，后者一般具有最高序列变异性和 / 或参与抗原识别。如本文使用的 HVR 区包含位于位置 24-36（对于 HVRL1）、46-56（对于 HVRL2）、89-97（对于 HVRL3）、26-35B（对于 HVRH1）、47-65（对于 HVRH2）和 93-102（对于 HVRH3）内的任何数目的残基。

[0152] “免疫缀合物”是缀合至一种或多种异源分子，包括但不限于细胞毒素剂，的抗体。

[0153] “个体”或“受试者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯养的动物（例如牛、绵羊、猫、犬和马）、灵长类动物（例如人和非人灵长类动物例如猴）、兔和啮齿类动物（例如小鼠和大鼠）。在特定实施方案中，个体或受试者是人。

[0154] “分离的”抗体是已与其天然环境中的组分分离的抗体。在一些实施方案中，抗体纯化至大于 95% 或 99% 纯度，如通过例如电泳（例如 SDS-PAGE、等电点聚焦（IEF）、毛细管电泳）或色谱法（例如离子交换或反相 HPLC）测定的。关于用于评价抗体纯度的方法的综述，参见例如 Flatman 等人，J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)。

[0155] “分离的”核酸指已与其天然环境中的组分分离的核酸分子。分离的核酸包括包含在通常含有该核酸分子的细胞中的核酸分子，但是该核酸分子存在于染色体外或存在于与其天然染色体位置不同的染色体位置上。

[0156] “编码抗靶标抗体的分离核酸”指编码抗体重和轻链（或其片段）的一个或多个核酸分子，包括在单个载体中或在分开载体中的此（一个或多个）核酸分子，以及存在于宿主细胞中的一个或多个位置上的此（一个或多个）核酸分子。

[0157] 如本文使用的术语“单克隆抗体”指得自基本上同质的抗体群体的抗体，所谓基本上同质的抗体群体是指，除了一般以微小量存在的可能的变体抗体（例如含有天然突变或在单克隆抗体制品的生产过程中出现）外，群体中的各抗体是相同的和 / 或结合相同的表位。与一般包括针对不同决定簇（表位）的不同抗体的多克隆抗体制剂形成对比，单克隆抗体制剂的每个单克隆抗体都针对抗原上的一个决定簇。因此，修饰词“单克隆”是指抗体得自基本上同质的抗体群体的特征，并不应解释为要求通过任何特定方法生产该抗体。例如，待根据本文提供的方法使用的单克隆抗体可以通过多种技术进行制备，包括但不限于杂交瘤法、重组 DNA 法、噬菌体展示法、和利用含有全部或部分人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法，这些方法和用于制备单克隆抗体的其他示例性方法在本文中描述。

[0158] “裸抗体”指不缀合至异源部分（例如细胞毒部分）或放射性标记的抗体。裸抗体可以存在于药物制剂中。

[0159] “天然抗体”指具有各种结构的天然存在的免疫球蛋白分子。例如，天然 IgG 抗体是约 150,000 道尔顿的异四聚体糖蛋白，由二硫键连接的两条相同轻链和两条相同重链组成。从 N 到 C 末端，每条重链具有可变区（VH），也称为可变重链结构域或重链可变结构域，随后为三个恒定结构域（CH1、CH2 和 CH3）。类似地，从 N 到 C 末端，每条轻链具有可变区（VL），也称为可变轻链结构域或轻链可变结构域，随后为恒定轻链（CL）结构域。抗体的轻链，基于其恒定结构域的氨基酸序列，可以分至称为 kappa（ κ ）和 lambda（ λ ）的两个类型之一。

[0160] 术语“包装说明书”用于指：习惯上包括在治疗产品的商业包装中的说明书，其含

有与此治疗产品使用相关的如下信息：适应症、用法、剂量、施用、联合治疗、禁忌和 / 或警告。术语“包装说明书”也用于指习惯上包括在诊断产品的商业包装中的说明书，其含有关于如下的信息：预期用途、测试原理、试剂的准备和操作、样本的收集和准备、测定法和测定方案的校准、性能和精确度数据，例如测定法的灵敏度与特异性。

[0161] 相对于参考多肽序列而言，“氨基酸序列同一性百分比(%)”定义为，在比对参考序列和候选序列且在需要时引入空位以实现最大序列同一性百分比后，不将任何保守置换考虑为序列同一的部分，在候选序列中与参考多肽序列的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比目的的比对可以以在本领域内的多种方法实现，例如使用可公开获得的计算机软件例如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign(DNASTAR) 软件。技术人员可以确定用于比对序列的合适参数，包括为在待比较的序列的全长上实现最大对齐所需的任何算法。然而，对于本文的目的，%氨基酸序列同一性值使用序列比较计算机程序 ALIGN-2 生成。ALIGN-2 序列比较计算机程序由 Genentech, Inc. 创作，并且源代码已与用户文档一起提交过美国版权局 (U.S. Copyright Office), Washington D.C., 20559, 其注册为美国版权登记号 TXU510087。ALIGN-2 程序可从 Genentech, Inc., South San Francisco, California 公开获得，或可以由源代码编译。ALIGN-2 程序应编译以用于在 UNIX 操作系统（包括数字 UNIX V4.0D）上使用。所有序列比较参数通过 ALIGN-2 程序设置并且不改变。

[0162] 在 ALIGN-2 用于氨基酸序列比较的情况下，给定氨基酸序列 A 与或相对于给定氨基酸序列 B 的 %氨基酸序列同一性（其可以可替代地表达为，与或相对于给定氨基酸序列 B，具有或包含特定 %氨基酸序列同一性的给定氨基酸序列 A）如下计算：

[0163] $100 \times \frac{X}{Y}$ ，其中 X 是在 ALIGN-2 程序的 A 和 B 比对中由序列比对程序 ALIGN-2 评为相同匹配的氨基酸残基的数目，其中 Y 是 B 中的氨基酸残基的总数目。应当理解，当氨基酸序列 A 的长度不等于氨基酸序列 B 的长度时，A 相对于 B 的 %氨基酸序列同一性不等于 B 相对于 A 的 %氨基酸序列同一性。除非另有具体说明，本文使用的所有 %氨基酸序列同一性值，如紧先前段落中所述，通过 ALIGN-2 计算机程序获得。

[0164] 术语“药物制剂”指这样的制品，该制品的形式使得其中含有的活性成分的生物活性是有效的，并且不含有对制剂将施用于的受试者具有无法接受的毒性的另外组分。

[0165] “药学可接受的载体”指，在药物制剂中除了活性成分外的对受试者无毒的成分。药学可接受的载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0166] 除非另有说明，如本文使用的，术语“靶标”指来自任何脊椎动物来源的任何天然分子，所述脊椎动物来源包括哺乳动物例如灵长类动物（例如人）和啮齿类动物（例如小鼠和大鼠）。该术语涵盖“全长”、未加工的靶标，以及由细胞中的加工导致的任何形式的靶标。该术语也涵盖天然存在的靶标变体，例如剪接变体或等位基因变体。

[0167] 如本文使用的，“治疗”（及其语法变体）指，尝试改变所治疗个体的自然过程的临床干预，其可以执行用于预防或在临床病理学的过程中执行。治疗的期望效应包括但不限于，防止疾病的出现或复发、减轻症状、减弱疾病的任何直接或间接病理后果、防止转移、降低疾病进展速率、改善或缓和疾病状态、和缓解或改善预后。在一些实施方案中，抗体用于延迟疾病的发展或减慢疾病的进展。

[0168] 术语“可变区”或“可变结构域”指参与抗体与抗原结合的抗体重或轻链的结构

域。天然抗体的重链和轻链的可变结构域（分别为 VH 和 VL）一般具有相似结构，其中每个结构域包含四个保守构架区（FRs）和三个高变区（HVRs）。（参见例如 Kindt 等人 Kuby Immunology, 第 6 版, W.H. Freeman and Co., 第 91 页 (2007).）单个 VH 或 VL 结构域可能足以赋予抗原结合特异性。此外，结合特定抗原的抗体可以使用来自结合该抗原的抗体的 VH 或 VL 结构域分别筛选互补 VL 或 VH 结构域的文库，以分离。参见例如, Portolano 等人, J. Immunol. 150:880-887(1993) ;Clarkson 等人, Nature 352:624-628(1991)。

[0169] 如本文使用的，术语“载体”指能够繁殖与之连接的另一核酸的核酸分子。该术语包括作为自主复制核酸结构的载体以及掺入已引入其的宿主细胞的基因组内的载体。特定载体能够指导与之可操作地连接的核酸的表达。此类载体在本文中被称为“表达载体”。

[0170] 组合物和方法

[0171] 在一个方面，本发明部分地基于新的诊断测定法和更佳的治疗方法。在特定实施方案中，提供了与骨膜素结合的抗体。本发明的抗体例如可以用于诊断或治疗哮喘及其他疾病。

[0172] 示例性抗体

[0173] 抗骨膜素抗体

[0174] 在一个方面，本发明提供了与骨膜素结合的分离抗体。在特定实施方案中，抗骨膜素抗体可以以良好亲和力与人骨膜素同种型 1-4 结合。

[0175] 在一个实施方案中，抗体包含序列 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 (“25D4”抗体)，或包含 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的序列 (“23B9”抗体)。在另一个实施方案中，抗体包含可变区序列 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2, 或包含 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的可变区序列。在另一个实施方案中，抗体包含 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的 HVR 序列, 或 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的 HVR 序列。在另一个实施方案中，抗体包含与 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的 HVR 序列 95% 或更多相同的 HVR 序列, 和 / 或抗体包含与 SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 的 HVR 序列 95% 或更多相同的 HVR 序列。

[0176] 在任何上述实施方案中，抗骨膜素抗体可以是人源化的。在一个实施方案中，抗骨膜素抗体可以包含如任何上述实施方案中的 HVRs, 并且进一步包含受体人构架, 例如人免疫球蛋白构架或人共有构架。

[0177] 在另一个方面，抗骨膜素抗体包含与 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 序列同一性的重链可变结构域 (VH) 序列。在特定实施方案中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的 VH 序列, 相对于参考序列, 含有置换（例如保守置换）、插入或缺失, 但包含该序列的抗骨膜素抗体保留与骨膜素结合的能力。在特定实施方案中，总共 1 - 10 个氨基酸已在 SEQ ID NO:1 中被置换、插入和 / 或缺失。在特定实施方案中，置换、插入或缺失发生在 HVRs 外的区域中（即在 FRs 中）。任选地，抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:1 中的 VH 序列, 包括该序列的翻译后修饰。

[0178] 在另一个方面，提供了抗骨膜素抗体, 其中所述抗体包含与 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 序列同一性的轻链可变结构域 (VL)。在特定实施方案中，具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的 VL 序列, 相对于参考序列, 含有置换（例如保守置

换)、插入或缺失,但包含该序列的抗骨膜素抗体保留与骨膜素结合的能力。在特定实施方案中,总共 1-10 个氨基酸已在 SEQ ID NO:2 中被置换、插入和/或缺失。在特定实施方案中,置换、插入或缺失发生在 HVRs 外的区域中(即在 FRs 中)。任选地,抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:2 中的 VL 序列,包括该序列的翻译后修饰。

[0179] 在另一个方面,抗骨膜素抗体包含与 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在特定实施方案中,具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%同一性的 VH 序列,相对于参考序列,含有置换(例如保守置换)、插入或缺失,但包含该序列的抗骨膜素抗体保留与骨膜素结合的能力。在特定实施方案中,总共 1-10 个氨基酸已在 SEQ ID NO:3 中被置换、插入和/或缺失。在特定实施方案中,置换、插入或缺失发生在 HVRs 外的区域中(即在 FRs 中)。任选地,抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:3 中的 VH 序列,包括该序列的翻译后修饰。

[0180] 在另一个方面,提供了抗骨膜素抗体,其中所述抗体包含与 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在特定实施方案中,具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%同一性的 VL 序列,相对于参考序列,含有置换(例如保守置换)、插入或缺失,但包含该序列的抗骨膜素抗体保留与骨膜素结合的能力。在特定实施方案中,总共 1-10 个氨基酸已在 SEQ ID NO:4 中被置换、插入和/或缺失。在特定实施方案中,置换、插入或缺失发生在 HVRs 外的区域中(即在 FRs 中)。任选地,抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:4 中的 VL 序列,包括该序列的翻译后修饰。

[0181] 在另一个方面,提供了抗骨膜素抗体,其中所述抗体包含如上文提供的任何实施方案中的 VH 和如上文提供的任何实施方案中的 VL。

[0182] 在进一步方面,本发明提供了与本文提供的抗骨膜素抗体结合相同的表位的抗体。例如,在特定实施方案中,提供了与抗骨膜素抗体结合相同的表位的抗体,其中所述抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:1 的 VH 序列和 SEQ ID NO:2 的 VL 序列。例如,在特定实施方案中,提供了与抗骨膜素抗体结合相同的表位的抗体,其中所述抗骨膜素抗体包含 SEQ ID NO:3 的 VH 序列和 SEQ ID NO:4 的 VL 序列。

[0183] 在本发明的进一步方面,根据任何上述实施方案的抗骨膜素抗体是单克隆抗体,包括嵌合、人源化或人抗体。在一个实施方案中,抗骨膜素抗体是抗体片段,例如 Fv、Fab、Fab'、scFv、双抗体或 F(ab')₂ 片段。在另一个实施方案中,抗体是全长抗体,例如完整 IgG1 或 IgG4 抗体或如本文定义的其他抗体类或同种型。在另一个实施方案中,抗体是双特异性抗体。

[0184] 在进一步方面,根据任何上述实施方案的抗骨膜素抗体可以并入单独或组合的如下文章节 1-7 中所述的任何特征。

[0185] 抗 IL13 抗体

[0186] 在一个方面,本发明提供了与人 IL-13 结合的分离抗体。

[0187] 在一个实施方案中,抗 IL-13 抗体包含:含有氨基酸序列 SEQ ID NO:14 的 HVR-L1;含有氨基酸序列 SEQ ID NO:15 的 HVR-L2;含有氨基酸序列 SEQ ID NO:16 的 HVR-L3;含有氨基酸序列 SEQ ID NO:11 的 HVR-H1;含有氨基酸序列 SEQ ID NO:12 的 HVR-H2;和含有氨

基酸序列 SEQ ID NO:13 的 HVR-H3。

[0188] 在另一个实施方案中,抗体包含可变区序列 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:10。

[0189] 在任何上述实施方案中,抗 IL-13 抗体可以是人源化的。在一个实施方案中,抗 IL-13 抗体包含如任何上述实施方案中的 HVRs,并且进一步包含受体人构架,例如人免疫球蛋白构架或人共有构架。

[0190] 在另一个方面,抗 IL-13 抗体包含与 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 序列同一性的重链可变结构域 (VH) 序列。在特定实施方案中,具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的 VH 序列,相对于参考序列,含有置换(例如保守置换)、插入或缺失,但包含该序列的抗 IL-13 抗体保留与人 IL-13 结合的能力。在特定实施方案中,总共 1-10 个氨基酸已在 SEQ ID NO:9 中被置换、改变、插入和/或缺失。在特定实施方案中,置换、插入或缺失发生在 HVRs 外的区域中(即在 FRs 中)。任选地,抗 IL-13 抗体包含 SEQ ID NO:9 中的 VH 序列,包括该序列的翻译后修饰。

[0191] 在另一个方面,提供了抗 IL-13 抗体,其中所述抗体包含与 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 序列同一性的轻链可变结构域 (VL)。在特定实施方案中,具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的 VL 序列,相对于参考序列,含有置换(例如保守置换)、插入或缺失,但包含该序列的抗 IL-13 抗体保留与 IL-13 结合的能力。在特定实施方案中,总共 1-10 个氨基酸已在 SEQ ID NO:10 中被置换、插入和/或缺失。在特定实施方案中,置换、插入或缺失发生在 HVRs 外的区域中(即在 FRs 中)。任选地,抗 IL-13 抗体包含 SEQ ID NO:10 中的 VL 序列,包括该序列的翻译后修饰。

[0192] 在另外一个实施方案中,抗 IL-13 抗体包含与 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 VL 区、和与 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 VH 区。在再进一步的实施方案中,抗 IL-13 抗体包括:包含氨基酸序列 SEQ ID NO:14 的 HVR-L1;包含氨基酸序列 SEQ ID NO:15 的 HVR-L2;包含氨基酸序列 SEQ ID NO:16 的 HVR-L3;包含氨基酸序列 SEQ ID NO:11 的 HVR-H1;包含氨基酸序列 SEQ ID NO:12 的 HVR-H2;和包含氨基酸序列 SEQ ID NO:13 的 HVR-H3。

[0193] 在另一个方面,提供了抗 IL-13 抗体,其中所述抗体包含如上文提供的任何实施方案中的 VH 和如上文提供的任何实施方案中的 VL。

[0194] 在进一步方面,本发明提供了与本文提供的抗 IL-13 抗体结合相同的表位的抗体。例如,在特定实施方案中,提供了与抗 IL-13 抗体结合相同的表位或可以被抗 IL-13 抗体竞争性抑制的抗体,其中所述抗 IL-13 抗体包含 SEQ ID NO:9 的 VH 序列和 SEQ ID NO:10 的 VL 序列。

[0195] 在本发明的进一步方面,根据任何上述实施方案的抗 IL-13 抗体可以是单克隆抗体,包括嵌合、人源化或人抗体。在一个实施方案中,抗 IL-13 抗体是抗体片段,例如 Fv、Fab、Fab'、scFv、双抗体或 F(ab')₂ 片段。在另一个实施方案中,抗体是全长抗体,例如完整 IgG1 或 IgG4 抗体或如本文定义的其他抗体类或同种型。根据另一个实施方案,抗体是双特异性抗体。在一个实施方案中,双特异性抗体包含上文描述的 HVRs 或包含上文描述的

VH 和 VL 区。

[0196] 在进一步方面,根据任何上述实施方案的抗 IL-13 抗体可以并入单独或组合的如下文章节 1-7 中所述的任何特征。

[0197] 1. 抗体亲和力

[0198] 在特定实施方案中,本文提供的抗体具有 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更少,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M) 的解离常数 (K_d)。

[0199] 在一个实施方案中, K_d 通过用目的抗体的 Fab 形式及其抗原实施放射性标记的抗原结合测定法 (RIA) 进行测量,如通过下述测定法描述的。Fabs 对于抗原的溶液结合亲和力通过下述进行测量:在滴定系列的未标记抗原的存在下用最低浓度的 (^{125}I) 标记的抗原平衡 Fab,随后用抗 Fab 抗体包被的板捕获结合的抗原 (参见例如 Chen 等人, J. Mol. Biol. 293:865-881(1999))。为了确定用于该测定法的条件, **MICROTITER®** 多孔板 (Thermo Scientific) 用在 50mM 碳酸钠 (pH 9.6) 中的 $5 \mu\text{g/ml}$ 捕获抗 Fab 抗体 (Cappel Labs) 包被过夜,并且随后用在 PBS 中的 2% (w/v) 牛血清白蛋白在室温 (约 23°C) 封闭二到五小时。在非吸附性板 (Nunc#269620) 中,将 100pM 或 26pM [^{125}I]- 抗原与系列稀释的目的 Fab 混合 (例如,与在 Presta 等人, Cancer Res. 57:4593-4599(1997) 中抗 VEGF 抗体 Fab-12 的评价一致)。目的 Fab 随后温育过夜;然而,温育可以继续更长时间 (例如约 65 小时),以确保达到平衡。其后,将混合物转移至捕获板用于在室温温育 (例如一小时)。随后去除溶液并且将板用在 PBS 中的 0.1% 聚山梨醇酯 20 (**TWEEN-20®**) 洗涤八次。当板干燥后,加入 $150 \mu\text{l}$ /孔的闪烁剂 (MICROSCINT-20TM; Packard), 并且将板在 TOPCOUNT TM γ 计数器 (Packard) 上计数十分钟。选择给出小于或等于 20% 最大结合的每种 Fab 的浓度,用于在竞争结合测定法中使用。

[0200] 根据另一个实施方案, K_d 使用表面等离子体共振测定法、在 25°C 使用 **BIACORE®-2000** 或 **BIACORE®-3000** (Biacore, Inc., Piscataway, NJ) 进行测量,其中以 ~ 10 应答单位 (RU) 使用固定化抗原 CM5 芯片。简言之,根据供应商的说明书,用 N- 乙基 -N'-(3- 二甲基氨基丙基)- 碳化二亚胺盐酸盐 (EDC) 和 N- 羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 活化羧甲基化葡聚糖生物传感器芯片 (CM5, BIACORE, Inc.)。将抗原用 10mM 乙酸钠, pH 4.8 稀释至 $5 \mu\text{g/ml}$ ($\sim 0.2 \mu\text{M}$), 之后以 $5 \mu\text{l}$ /分钟的流速注射,以实现约 10 应答单位 (RU) 的偶联蛋白质。在抗原注射后,注射 1M 乙醇胺以封闭未反应的基团。对于动力学测量,在 25°C 以约 $25 \mu\text{l}$ /分钟的流速注射在具有 0.05% 聚山梨醇酯 20 (TWEEN-20TM) 表面活性剂的 PBS (PBST) 中两倍系列稀释的 Fab (0.78nM-500nM)。通过同时拟合结合和解离传感图,使用简单的一对一兰米尔结合模型 (**BIACORE®** Evaluation Software 版本 3.2), 计算结合速率 (k_{on}) 和解离速率 (k_{off})。平衡解离常数计算为 k_{off}/k_{on} 比值。参见例如 Chen 等人, J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)。如果通过上文表面等离子体共振测定法结合速率超过 $10^6\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, 则结合速率可以通过使用荧光猝灭技术进行测定,所述荧光猝灭技术测量在递增浓度的抗原的存在下在 25°C 在 PBS, pH 7.2 中 20nM 抗原抗体 (Fab 形式) 的荧光发射强度 (激发 = 295nm; 发射 = 340nm, 16nm 带通) 的增加或降低,其中测量可以使用例如分光光度计,例如配备停流的分光光度计 (Aviv Instruments) 或具有搅拌比色杯的 8000 系

列 SLM-AMINCO™ 分光光度计 (ThermoSpectronic)。

[0201] 2. 抗体片段

[0202] 在特定实施方案中,本文提供的抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于 Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv 和 scFv 片段及下文描述的其他片段。关于一些抗体片段的综述,参见 Hudson 等人 Nat. Med. 9:129-134(2003)。关于 scFv 片段的综述,参见例如 Pluckthün, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第 113 卷, Rosenberg 和 Moore 编辑 (Springer-Verlag, New York), 第 269-315 页 (1994); 还参见 WO 93/16185; 以及美国专利号 5,571,894 和 5,587,458。关于包含补救受体结合表位残基且具有增加的体内半衰期的 Fab 和 F(ab')₂ 片段的讨论,参见美国专利号 5,869,046。

[0203] 双抗体 (diabody) 是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价或双特异性的。参见例如, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson 等人, Nat. Med. 9:129-134(2003); 和 Hollinger 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448(1993)。三抗体 (triabody) 和四抗体 (tetrabody) 也在 Hudson 等人, Nat. Med. 9:129-134(2003) 中描述。

[0204] 单结构域抗体是包含抗体的重链可变结构域的全部或部分或者轻链可变结构域的全部或部分的抗体片段。在特定实施方案中,单结构域抗体是人单结构域抗体 (Domantis, Inc., Waltham, MA; 参见例如美国专利号 6,248,516B1)。

[0205] 抗体片段可以通过多种技术进行制备,包括但不限于,完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞(例如大肠杆菌或噬菌体)产生,如本文描述的。

[0206] 3. 嵌合和人源化抗体

[0207] 在特定实施方案中,本文提供的抗体是嵌合抗体。特定嵌合抗体例如在美国专利号 4,816,567; 和 Morrison 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984) 中描述。在一个例子中,嵌合抗体包含非人可变区(例如衍生自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物例如猴的可变区)和人恒定区。在进一步例子中,嵌合抗体是“类别转换的”抗体,其中类或亚类已相对于亲本抗体发生改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0208] 在特定实施方案中,嵌合抗体是人源化抗体。一般地,将非人抗体人源化,以减少对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。一般地,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中 HVRs 例如 CDRs(或其部分)衍生自非人抗体,并且 FRs(或其部分)衍生自人抗体序列。人源化抗体任选地还可以包含人恒定区的至少部分。在一些实施方案中,在人源化抗体中的一些 FR 残基被置换为来自非人抗体(例如 HVR 残基所源自的抗体)的相应残基,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0209] 人源化抗体和制备其的方法例如在 Almagro 和 Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633(2008) 中综述,并且例如在下述文献中进一步描述: Riechmann 等人, Nature 332:323-329(1988); Queen 等人, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033(1989); 美国专利号 5,821,337、7,527,791、6,982,321 和 7,087,409; Kashmiri 等人, Methods 36:25-34(2005)(描述 SDR(a-CDR)移植); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498(1991)(描述“表面重建”(resurfacing)); Dall'Acqua 等人, Methods 36:43-60(2005)(描述“FR 改组”); 和 Osbourn 等人, Methods 36:61-68(2005) 和 Klimka 等人, Br. J. Cancer, 83:252-260(2000)(描述“引导选择”方法到 FR 改组)。

[0210] 可以用于人源化的人构架区包括但不限于:使用“最佳配合”法选择的构架区(参

见例如 Sims 等人 J. Immunol. 151:2296(1993)) ;衍生自特定亚组的轻或重链可变区的人抗体共有序列的构架区 (参见例如 Carter 等人 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285(1992) ;和 Presta 等人 J. Immunol. ,151:2623(1993)) ;人成熟 (体细胞成熟的) 构架区或人种系构架区 (参见例如 Almagro 和 Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633(2008)) ;和自筛选 FR 文库得到的构架区 (参见例如 Baca 等人, J. Biol. Chem. 272:10678-10684(1997) 和 Rosok 等人, J. Biol. Chem. 271:22611-22618(1996))。

[0211] 4. 人抗体

[0212] 在特定实施方案中,本文提供的抗体是人抗体。人抗体可以使用本领域已知的多种技术产生。人抗体一般在 van Dijk 和 van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74(2001) 和 Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459(2008) 中描述。

[0213] 人抗体可以通过给转基因动物施用免疫原进行制备,所述转基因动物已经修饰为响应抗原攻击而产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物一般含有全部或部分的人免疫球蛋白基因座,其替换内源免疫球蛋白基因座、或在染色体外存在或随机整合到动物的染色体。在此类转基因小鼠中,内源免疫球蛋白基因座一般已灭活。关于用于从转基因动物获得人抗体的方法的综述,参见 Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125(2005)。还参见例如描述 XENOMOUSE™ 技术的美国专利号 6,075,181 和 6,150,584 ;描述 **HUMAB®** 技术的美国专利号 5,770,429 ;描述 K-M **MOUSE®** 技术的美国专利号 7,041,870, 和描述 **VELOCIMOUSE®** 技术的美国专利申请公开号 US 2007/0061900)。来自此类动物生成的完整抗体的人可变区可以进一步修饰,例如与不同人恒定区组合。

[0214] 人抗体还可以通过基于杂交瘤的方法进行制备。用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人杂交骨髓瘤细胞系已得到描述。(参见例如 Kozbor J. Immunol. , 133:3001(1984) ;Brodeur 等人, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 第 51-63 页 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987) ;和 Boerner 等人, J. Immunol. ,147:86(1991).) 经由人 B 细胞杂交瘤技术生成的人抗体也在 Li 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562(2006) 中描述。另外的方法包括例如在下述文献中描述的方法:美国专利号 7,189,826 (描述自杂交瘤细胞系产生单克隆人 IgM 抗体) 和 Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268(2006) (描述人-人杂交瘤)。人杂交瘤技术 (三源杂交瘤 (trioma) 技术) 也在 Vollmers 和 Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937(2005) 以及 Vollmers 和 Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91(2005) 中描述。

[0215] 人抗体还可以通过分离从人衍生的噬菌体展示文库选择的 Fv 克隆可变结构域序列而生成。此类可变结构域序列随后可以与所需人恒定结构域组合。用于从抗体文库中选择人抗体的技术在下文描述。

[0216] 5. 文库衍生的抗体

[0217] 本发明的抗体可以通过在组合文库中筛选具有一种或多种期望活性的抗体进行分离。例如,本领域已知多种方法可以用于生成噬菌体展示文库且在此类文库中筛选具有所需结合特征的抗体。此类方法例如在 Hoogenboom 等人于 Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien 等人, 编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2001) 中综述, 并

且例如在下述文献中进一步描述:McCafferty 等人, Nature 348:552-554;Clackson 等人, Nature 352:624-628(1991);Marks 等人, J. Mol. Biol. 222:581-597(1992); Marks 和 Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175(Lo, 编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2003);Sidhu 等人, J. Mol. Biol. 338(2):299-310(2004); Lee 等人, J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093(2004);Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472(2004); 和 Lee 等人, J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132(2004)。

[0218] 在特定噬菌体展示方法中, VH 和 VL 基因库通过聚合酶链反应 (PCR) 分开克隆, 且随机重组在噬菌体文库中, 随后可以如 Winter 等人, Ann. Rev. Immunol., 12:433-455(1994) 中所述在所述噬菌体文库中筛选抗原结合性噬菌体。噬菌体一般展示抗体片段, 以单链 Fv(scFv) 片段的形式或以 Fab 片段的形式。来自经免疫的来源的文库提供了针对免疫原的高亲和力抗体, 无需构建杂交瘤。可替代地, 可以克隆(例如从人中)幼稚库(**naïve** repertoire), 无需任何免疫接种, 以提供单个抗体来源, 该来源中的抗体针对广泛的非自身以及自身抗原, 如通过 Griffiths 等人, EMBO J, 12:725-734(1993) 描述的。最后, 幼稚文库还可以通过下述方式合成地制备: 从干细胞中克隆未重排的 V 基因区段, 且使用含有随机序列的 PCR 引物以编码高可变 CDR3 区, 在体外实现重排, 如通过 Hoogenboom 和 Winter, J. Mol. Biol., 227:381-388(1992) 描述的。描述人抗体噬菌体文库的专利出版物包括例如: 美国专利号 5, 750, 373 以及美国专利申请公开号 2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936 和 2009/0002360。

[0219] 从人抗体文库中分离的抗体或抗体片段在本文中被视为人抗体或人抗体片段。

[0220] 6. 多特异性抗体

[0221] 在特定实施方案中, 本文提供的抗体是多特异性抗体, 例如双特异性抗体。多特异性抗体是具有针对至少两个不同位点的结合特异性的单克隆抗体。在特定实施方案中, 结合特异性之一针对 IL-13, 并且另一个针对任何其他抗原。在特定实施方案中, 双特异性抗体可以与 IL-13 的两个不同表位结合。双特异性抗体还可以用于将细胞毒素剂定位至细胞。双特异性抗体可以制备为全长抗体或抗体片段。

[0222] 用于制备多特异性抗体的技术包括但不限于, 具有不同特异性的两个免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(参见 Milstein 和 Cuello, Nature 305:537(1983))、WO 93/08829 和 Traunecker 等人, EMBO J. 10:3655(1991))、和“鼓突进洞(knob-in-hole)”工程(参见例如美国专利号 5, 731, 168)。多特异性抗体还可以通过下述进行制备: 改造静电转向效应(electrostatic steering effects)用于制备抗体 Fc- 异二聚体分子(WO 2009/089004A1); 交联两种或更多种抗体或片段(参见例如美国专利号 4, 676, 980 和 Brennan 等人, Science, 229:81(1985)); 使用亮氨酸拉链以产生双特异性抗体(参见例如 Kostelny 等人, J. Immunol., 148(5):1547-1553(1992)); 使用“双抗体”技术用于制备双特异性抗体片段(参见例如 Hollinger 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448(1993)); 使用单链 Fv(sFv) 二聚体(参见例如 Gruber 等人, J. Immunol., 152:5368(1994)); 和制备三特异性抗体, 如例如 Tutt 等人 J. Immunol. 147:60(1991) 中所述的。

[0223] 具有三个或更多个功能性抗原结合位点的改造抗体,包括“章鱼抗体 (Octopus antibodies)”,也包括在本文中 (参见例如 US 2006/0025576A1)。

[0224] 本文的抗体或片段还包括包含抗原结合位点的“双重作用 FAb”或“DAF”,其中所述抗原结合位点与 IL-13 以及另一不同抗原结合 (参见例如 US 2008/0069820)。

[0225] 7. 抗体变体

[0226] 在特定实施方案中,考虑本文提供的抗体的氨基酸序列变体。例如,可能期望改善抗体的结合亲和力和 / 或其他生物性质。抗体的氨基酸序列变体可以通过将合适修饰引入编码抗体的核苷酸序列内、或通过肽合成,进行制备。此类修饰包括例如在抗体的氨基酸序列内的残基的缺失、和 / 或插入和 / 或置换。可以制备缺失、插入和置换的任何组合,以达到最终构建体,条件是最终构建体具有所需特征,例如抗原结合。

[0227] 置换、插入和缺失变体

[0228] 在特定实施方案中,提供了具有一个或多个氨基酸置换的抗体变体。用于置换诱变的目的位点包括 HVRs 和 FRs。保守置换显示于表 1 中标题“保守置换”下。更实质性的变化在表 1 中标题“示例性置换”下提供,并且在下文参考氨基酸侧链种类进一步描述。可以将氨基酸置换引入目的抗体内且就所需活性筛选产物,例如保留 / 改善的抗原结合、减少的免疫原性或改善的 ADCC 或 CDC。

[0229] 表 1

[0230]

原始残基	示例性置换	保守置换
Ala (A)	Val ;Leu ;Ile	Val
Arg (R)	Lys ;Gln ;Asn	Lys
Asn (N)	Gln ;His ;Asp, Lys ;Arg	Gln
Asp (D)	Glu ;Asn	Glu
Cys (C)	Ser ;Ala	Ser
Gln (Q)	Asn ;Glu	Asn
Glu (E)	Asp ;Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn ;Gln ;Lys ;Arg	Arg
Ile (I)	Leu ;Val ;Met ;Ala ;Phe ;正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸 ;Ile ;Val ;Met ;Ala ;Phe	Ile
Lys (K)	Arg ;Gln ;Asn	Arg

Met (M)	Leu ;Phe ;Ile	Leu
---------	---------------	-----

[0231]

Phe (F)	Trp ;Leu ;Val ;Ile ;Ala ;Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val ;Ser	Ser
Trp (W)	Tyr ;Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp ;Phe ;Thr ;Ser	Phe
Val (V)	Ile ;Leu ;Met ;Phe ;Ala ;正亮氨酸	Leu

[0232] 氨基酸可以根据共同侧链性质进行分组：

[0233] (1) 疏水性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

[0234] (2) 中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

[0235] (3) 酸性：Asp、Glu；

[0236] (4) 碱性：His、Lys、Arg；

[0237] (5) 影响链方向的残基：Gly、Pro；

[0238] (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

[0239] 非保守置换造成这些类型之一的成员交换为另一类型的成员。

[0240] 一类置换变体涉及置换亲本抗体（例如人源化或人抗体）的一个或多个高变区残基。一般地，选择用于进一步研究的所得变体将相对于亲本抗体在特定生物性质（例如增加的亲和力、减少的免疫原性）上具有修饰（例如改善）、和 / 或基本上保留了亲本抗体的特定生物性质。示例性置换变体是亲和力成熟抗体，其可以例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术，例如本文描述的，方便地生成。简言之，使一个或多个 HVR 残基突变，并且将变体抗体展示在噬菌体上且筛选特定生物活性（例如结合亲和力）。

[0241] 可以在 HVRs 中作出改变（例如置换），例如以改善抗体亲和力。此类改变可以在 HVR “热点”（即，由在体细胞成熟过程中高频率经历突变的密码子编码的残基）（参见例如 Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)）、和 / 或 SDRs (a-CDRs) 中作出，测试所得到的变体 VH 或 VL 的结合亲和力。通过构建二级文库且从中再选择而进行的亲和力成熟，已例如描述在 Hoogenboom 等人, Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien 等人, 编辑, Human Press, Totowa, NJ, (2001).) 中。在亲和力成熟的一些实施方案中，可以通过多种方法（例如易错 PCR、链改组、或寡核苷酸定向诱变）中的任何，将多样性引入选择用于成熟的可变基因内。随后制备二级文库。随后筛选文库以鉴定具有所需亲和力的任何抗体变体。引入多样性的另一种方法涉及 HVR 指导的方法，其中几个 HVR 残基（例如一次 4-6 个残基）被随机化。参与抗原结合的 HVR 残基可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模，特

别鉴定。常特别靶向 CDR-H3 和 CDR-L3。

[0242] 在特定实施方案中,置换、插入或缺失可以在一个或多个 HVRs 内发生,只要此类改变基本上不减少抗体结合抗原的能力。例如,可以在 HVRs 中进行基本上不减少结合亲和力的保守改变(例如如本文提供的保守置换)。此类改变可以在 HVR “热点”或 SDRs 外。在上文提供的变体 VH 和 VL 序列的特定实施方案中,每个 HVR 或者是未改变的、或者含有不超过一个、两个或三个氨基酸置换。

[0243] 用于鉴定可以作为靶标进行诱变的抗体残基或区域的一个有用方法称为“丙氨酸扫描诱变”,如通过 Cunningham 和 Wells(1989)Science,244:1081-1085 描述的。在此方法中,鉴定残基或靶标残基组(例如荷电残基例如 arg、asp、his、lys 和 glu),并且替换为中性或带负电的氨基酸(例如丙氨酸或聚丙氨酸),以测定抗体与抗原的相互作用是否受影响。可以在对该最初置换显示出功能性敏感的氨基酸位置上引入进一步的置换。可替代地或另外地,可以利用抗原-抗体复合物的晶体结构,鉴定在抗体和抗原之间的接触点。此类接触残基和邻近残基可以作为用于置换的候选物被靶向或消除。可以筛选变体,以确定它们是否含有所需性质。

[0244] 氨基酸序列插入包括氨基和/或羧基末端融合(长度范围从一个残基到含有一百个或更多个残基的多肽)、以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的例子包括具有 N 末端甲硫氨酰残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括抗体的 N 或 C 末端与酶(例如对于 ADEPT)或增加抗体的血清半衰期的多肽的融合。

[0245] 糖基化变体

[0246] 在特定实施方案中,改变本文提供的抗体,以增加或减少抗体糖基化的程度。糖基化位点向抗体的添加或缺失可以通过改变氨基酸序列从而产生或去除一个或多个糖基化位点,而方便地完成。

[0247] 当抗体包含 Fc 区时,可以改变与之附着的碳水化合物。通过哺乳动物细胞产生的天然抗体一般包含分支的、二天线型的寡糖,其一般通过 N 连接附着于 Fc 区的 CH2 结构域的 Asn297。参见例如,Wright 等人 TIBTECH15:26-32(1997)。寡糖可以包括各种碳水化合物,例如甘露糖、N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及附着在二天线型寡糖结构的“茎”中的 GlcNAc 上的岩藻糖。在一些实施方案中,可以在本发明的抗体中进行寡糖的修饰,以便产生具有特定改善性质的抗体变体。

[0248] 在一个实施方案中,提供了具有缺乏(直接或间接)附着在 Fc 区上的岩藻糖的碳水化合物结构的抗体变体。例如,此类抗体中的岩藻糖量可以是 1%-80%、1%-65%、5%-65%或 20%-40%。如例如 WO 2008/077546 中所述的,如通过 MALDI-TOF 质谱法测量的,相对于与 Asn 297 附着的所有糖结构(例如复杂的、杂合的和甘露糖的结构)的总和,通过计算在 Asn297 的糖链内岩藻糖的平均量,确定岩藻糖的量。Asn297 指位于 Fc 区的大约位置 297 上的天冬酰胺残基(Fc 区残基的 Eu 编号);然而,由于抗体中的微小序列变异,Asn297 也可以位于位置 297 的上游或下游的约 ± 3 个氨基酸处,即位置 294 和 300 之间。此类岩藻糖基化变体可以具有改善的 ADCC 功能。参见例如,美国专利公开号 US 2003/0157108(Presta, L.);US 2004/0093621(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。与“去岩藻糖化的”或“岩藻糖缺陷的”抗体变体有关的出版物的例子包括:US 2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US

2004/0132140 ;US 2004/0110704 ;US 2004/0110282 ;US 2004/0109865 ;WO 2003/085119 ;WO 2003/084570 ;WO 2005/035586 ;WO 2005/035778 ;WO2005/053742 ;WO2002/031140 ;Okazaki 等 人 J. Mol. Biol. 336:1239-1249(2004) ;Yamane-Ohnuki 等 人 Biotech. Bioeng. 87 :614(2004) 。能够产生去岩藻糖基化的抗体的细胞系的例子包括具有蛋白质岩藻糖基化缺陷的 Lec13CHO 细胞 (Ripka 等人 Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545(1986) ;美国专利申请号 US 2003/0157108A1, Presta, L ;和 WO 2004/056312A1, Adams 等人, 特别在实施例 11 上), 和敲除细胞系, 例如 α -1, 6-岩藻糖基转移酶基因, FUT8, 敲除 CHO 细胞 (参见例如, Yamane-Ohnuki 等人 Biotech. Bioeng. 87 :614(2004) ;Kanda, Y. 等人, Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688(2006) ;和 WO2003/085107)。

[0249] 进一步提供了具有平分型寡糖 (bisected oligosaccharide) 的抗体变体, 例如其中与抗体的 Fc 区附着的二天线寡糖通过 GlcNAc 平分。此类抗体变体可以具有减少的岩藻糖化和 / 或改善的 ADCC 功能。此类抗体变体的例子例如在 WO 2003/011878 (Jean-Mairet 等人) ;美国专利号 6, 602, 684 (Umana 等人) ;和 US 2005/0123546 (Umana 等人) 中描述。还提供了在与 Fc 区附着的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的 CDC 功能。此类抗体变体例如在 WO 1997/30087 (Patel 等人) ;WO 1998/58964 (Raju, S.) ;和 WO 1999/22764 (Raju, S.) 中描述。

[0250] Fc 区变体

[0251] 在特定实施方案中, 一个或多个氨基酸修饰可以引入本文提供的抗体的 Fc 区内, 从而生成 Fc 区变体。Fc 区变体可以包括包含在一个或多个氨基酸位置上的氨基酸修饰 (例如置换) 的人 Fc 区序列 (例如人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4Fc 区)。

[0252] 在特定实施方案中, 本发明考虑具有一些但并非所有效应子功能的抗体变体, 这使得其成为用于如下应用的期望候选物, 在所述应用中抗体在体内的半衰期是重要的, 而一些效应子功能 (例如补体和 ADCC) 是不需要的或有害的。可以进行体外和 / 或体内细胞毒性测定, 以证实 CDC 和 / 或 ADCC 活性的减少 / 耗竭。例如, 可以进行 Fc 受体 (FcR) 结合测定试验, 以确保抗体缺乏 Fc γ R 结合 (从而可能缺乏 ADCC 活性), 但保留 FcRn 结合能力。用于介导 ADCC 的主要细胞, NK 细胞, 仅表达 **Fc γ RIII**, 而单核细胞表达 **Fc γ RI**、**Fc γ RII** 和 **Fc γ RIII**。在造血细胞上的 FcR 表达概括在 Ravetch 和 Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492(1991) 的第 464 页表 3 中。评估目的分子的 ADCC 活性的体外测定试验的非限制性例子在美国专利号 5, 500, 362 (参见例如, Hellstrom, I. 等人 Proc. Nat' l Acad. Sci. USA 83:7059-7063(1986)) 和 Hellstrom, I 等人, Proc. Nat' l Acad. Sci. USA 82:1499-1502(1985) ;5, 821, 337 (参见 Bruggemann, M. 等人, J. Exp. Med. 166:1351-1361(1987)) 中描述。可替代地, 可以采用非放射性测定试验方法 (参见例如, 用于流式细胞术的 ACT1™ 非放射性细胞毒性测定试验 (Cell Technology, Inc. Mountain View, CA ;和 **CytoTox 96**® 非放射性细胞毒性测定试验 (Promega, Madison, WI))。可以用于此类测定试验的效应细胞包括外周血单核细胞 (PBMC) 和自然杀伤 (NK) 细胞。可替代地或另外地, 目的分子的 ADCC 活性可以在体内评估, 例如在动物模型中, 例如公开于 Clynes 等人 Proc. Nat' l Acad. Sci. USA 95:652-656(1998) 中的。还可以执行 C1q 结合测定试验, 以证实抗体不能结合 C1q 且因此缺乏 CDC 活性。参见例如, WO

2006/029879 和 WO 2005/100402 中的 C1q 和 C3c 结合 ELISA。为了评估补体激活,可以执行 CDC 测定试验(参见例如,Gazzano-Santoro 等人,J. Immunol. Methods 202:163(1996); Cragg, M. S. 等人, Blood 101:1045-1052(2003);以及 Cragg, M. S. 和 M. J. Glennie, Blood 103:2738-2743(2004))。FcRn 结合和体内清除率/半衰期确定还可以使用本领域已知的方法进行(参见例如, Petkova, S. B. 等人, Int' l. Immunol. 18(12):1759-1769(2006))。

[0253] 具有减少的效应子功能的抗体包括具有 Fc 区残基 238、265、269、270、297、327 和 329 中的一个或多个的置换的那些(美国专利号 6, 737, 056)。此类 Fc 突变体包括在氨基酸位置 265、269、270、297 和 327 的两个或更多个上具有置换的 Fc 突变体,包括具有残基 265 和 297 至丙氨酸的置换的所谓“DANA”Fc 突变体(美国专利号 7, 332, 581)。

[0254] 描述了具有改善或减少的 FcRs 结合的特定抗体变体。(参见例如,美国专利号 6, 737, 056 ;WO 2004/056312 和 Shields 等人, J. Biol. Chem. 9(2) :6591-6604(2001).)

[0255] 在特定实施方案中,抗体变体包含具有改善 ADCC 的一个或多个氨基酸置换的 Fc 区,例如在 Fc 区的位置 298、333 和 / 或 334 上的置换(残基的 EU 编号)。

[0256] 在一些实施方案中,在 Fc 区中作出改变,以导致改变的(例如改善或减少的)C1q 结合和 / 或补体依赖性细胞毒性(CDC),例如如美国专利号 6, 194, 551、WO 99/51642 和 Idusogie 等人 J. Immunol. 164 :4178-4184(2000) 中所述的。

[0257] 在 US2005/0014934A1 (Hinton 等人) 中描述了具有增加的半衰期和改善的新生儿 Fc 受体 (FcRn) 结合的抗体,所述新生儿 Fc 受体负责母源 IgGs 至胎儿的转移 (Guyer 等人, J. Immunol. 117:587(1976) 和 Kim 等人, J. Immunol. 24:249(1994))。这些抗体包含其中具有一个或多个置换的 Fc 区,所述一个或多个置换改善 Fc 区与 FcRn 的结合。此类 Fc 变体包括在如下 Fc 区残基的一个或多个上具有置换的那些:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424 或 434,例如 Fc 区残基 434 的置换(美国专利号 7, 371, 826)。

[0258] 关于 Fc 区变体的其他例子,还参见 Duncan&Winter, Nature 322:738-40(1988);美国专利号 5, 648, 260 ;美国专利号 5, 624, 821 ;和 WO 94/29351。

[0259] 半胱氨酸工程化抗体变体

[0260] 在特定实施方案中,可能期望制备半胱氨酸工程化抗体,例如“thioMAbs”,其中抗体的一个或多个残基由半胱氨酸残基置换。在特定实施方案中,被置换的残基位于抗体的可接近位点上。通过用半胱氨酸置换这些残基,从而将反应性巯基基团置于抗体的可接近位点上,这些巯基基团可以用于使抗体缀合至其他部分例如药物部分或接头-药物部分,以产生免疫缀合物,如本文进一步描述的。在特定实施方案中,下述残基中的任何一个或多个可以由半胱氨酸残基置换:轻链的 V205(Kabat 编号);重链的 A118(EU 编号);和重链 Fc 区的 S400(EU 编号)。半胱氨酸工程化抗体可以如例如美国专利号 7, 521, 541 中所述生成。

[0261] 抗体衍生物

[0262] 在特定实施方案中,本文提供的抗体可以进一步被修饰,以含有本领域已知的且可容易获得的另外非蛋白质性部分。适合于抗体衍生化的部分包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包括但不限于聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(同聚物或随机共聚物)、和葡聚糖或聚(n-乙烯吡咯

烷酮) 聚乙二醇、propylene glycol 同聚物、聚氧丙烷 / 聚氧乙烷共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛, 由于其在水中的稳定性, 可以在制造中具有优点。聚合物可以具有任何分子量, 并且可以是分支或未分支的。附着至抗体的聚合物数目可以改变, 并且如果附着超过一个聚合物, 那么它们可以是相同或不同分子。一般而言, 用于衍生化的聚合物的数目和 / 或类型可以基于如下考虑进行确定, 所述考虑包括但不限于待改善的抗体的特定性质或功能, 抗体衍生物是否用于在限定条件下的治疗中, 等。

[0263] 在另一个实施方案中, 提供了抗体和可以通过暴露于辐射线而被选择性加热的非蛋白质性部分的缀合物。在一个实施方案中, 非蛋白质性部分是碳纳米管(Kam 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:11600-11605(2005))。辐射线可以具有任何波长, 并且包括但不限于, 这样的波长, 所述波长不伤害普通细胞、但使非蛋白质性部分加热至可杀死抗体-非蛋白质性部分附近的细胞的温度。

[0264] 重组方法和组合物

[0265] 抗体可以使用重组方法和组合物进行生产, 例如如美国专利号 4,816,567 中所述的。在一个实施方案中, 提供了编码本文描述的抗骨膜素抗体的分离核酸。此核酸可以编码包含抗体的 VL 的氨基酸序列和 / 或包含抗体的 VH 的氨基酸序列(例如抗体的轻和 / 或重链)。在进一步实施方案中, 提供了包含此核酸的一个或多个载体(例如表达载体)。在进一步实施方案中, 提供了包含此核酸的宿主细胞。在一个此实施方案中, 宿主细胞包含(例如已转化了):(1) 包含编码含有抗体 VL 的氨基酸序列和含有抗体 VH 的氨基酸序列的核酸的载体, 或 (2) 包含编码含有抗体 VL 的氨基酸序列的核酸的第一载体、和包含编码含有抗体 VH 的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一个实施方案中, 宿主细胞是真核的, 例如中国仓鼠卵巢(CHO) 细胞或淋巴样细胞(例如 Y0、NS0、Sp20 细胞)。在一个实施方案中, 提供了制备抗骨膜素抗体的方法, 其中所述方法包括在适合于抗体表达的条件下培养如上文提供的包含编码抗体的核酸的宿主细胞, 且任选从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收抗体。

[0266] 对于抗骨膜素抗体的重组生产, 分离例如如上所述的编码抗体的核酸, 并且插入一个或多个载体内用于进一步克隆和 / 或在宿主细胞中表达。此核酸可以使用常规程序(例如通过使用能够与编码抗体重和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)容易地分离且测序。

[0267] 用于抗体编码载体的克隆或表达的合适宿主细胞包括本文描述的原核或真核细胞。例如, 特别是当不需要糖基化和 Fc 效应子功能时, 抗体可以在细菌中生产。对于抗体片段和多肽在细菌中的表达, 参见例如美国专利号 5,648,237、5,789,199 和 5,840,523。(还参见 Charlton, Methods in Molecular Biology, 第 248 卷(B. K. C. Lo, 编辑, Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第 245-254 页, 描述抗体片段在大肠杆菌中的表达)。在表达后, 抗体可以在可溶级分中从细菌细胞糊分离且可以进一步纯化。

[0268] 除了原核生物外, 真核微生物例如丝状真菌或酵母是用于抗体编码载体的合适的克隆或表达宿主, 包括其糖基化途径已被“人源化”的真菌和酵母菌株, 这导致具有部分或全人糖基化模式的抗体生产。参见 Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414(2004) 和 Li 等人, Nat. Biotech. 24:210-215(2006)。

[0269] 用于糖基化抗体表达的合适宿主细胞也可以源自多细胞生物（无脊椎动物和脊椎动物）。无脊椎动物细胞的例子包括植物和昆虫细胞。已鉴定了众多杆状病毒株，其可以与昆虫细胞结合使用，特别用于草地贪夜蛾（*Spodoptera frugiperda*）细胞的转染。

[0270] 植物细胞培养物也可以用作宿主。参见例如，美国专利号 5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978 和 6,417,429（描述用于在转基因植物中生产抗体的 PLANTIBODIES™ 技术）。

[0271] 脊椎动物细胞也可以用作宿主。例如，悬浮生长适应化的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他例子是 SV40 转化的猴肾 CV1 系（COS-7）；人胚肾系（如例如 Graham 等人，*J. Gen. Virol.* 36:59(1977) 中所述的 293 或 293 细胞）；幼仓鼠肾细胞（BHK）；小鼠塞尔托利细胞（如例如 Mather，*Biol. Reprod.* 23:243-251(1980) 中所述的 TM4 细胞）；猴肾细胞（CV1）；非洲绿猴肾细胞（VERO-76）；人宫颈癌细胞（HELA）；犬肾细胞（MDCK）；Buffalo 大鼠肝细胞（BRL 3A）；人肺细胞（W138）；人肝细胞（Hep G2）；小鼠乳房肿瘤（MMT 060562）；如例如 Mather 等人，*Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68(1982) 中所述的 TRI 细胞；MRC 5 细胞；和 FS4 细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢（CHO）细胞，包括 DHFR⁺CHO 细胞（Urlaub 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216(1980)）；和骨髓瘤细胞系例如 Y0、NS0 和 Sp2/0。对于适合于抗体生产的一些哺乳动物宿主细胞系的综述，参见例如，Yazaki 和 Wu，*Methods in Molecular Biology*，第 248 卷（B. K. C. Lo，编辑，Humana Press，Totowa, NJ），第 255-268 页（2003）。

[0272] 测定法

[0273] 通过本领域已知的多种测定法，可以就其物理 / 化学性质和 / 或生物活性，鉴定、筛选、或表征本文提供的抗骨膜素抗体。

[0274] 结合测定法及其他测定法

[0275] 在一个方面，可以就其抗原结合活性，例如通过已知方法例如 ELISA、蛋白质印迹等，测试本发明的抗体。

[0276] 在另一个方面，竞争测定法可以用于鉴定分别与 IL-13 或骨膜素竞争结合 IL-13 或骨膜素的抗体。在特定实施方案中，此类竞争抗体与 lebrikizumab 或本文详述的另外抗 IL-13 抗体或本文详述的抗骨膜素抗体结合相同的表位（例如线性或构象表位）。用于抗体所结合的表位的作图的详细示例性方法在 Morris(1996) “Epitope Mapping Protocols,” *Methods in Molecular Biology* 第 66 卷（Humana Press，Totowa, NJ）中提供。

[0277] 在示例性竞争测定法中，在溶液中温育固定化的骨膜素，所述溶液包含与骨膜素结合的第一标记的抗体（例如，25D4）、和待测试其与第一抗体竞争结合骨膜素的能力的第二未标记的抗体。第二抗体可以存在于杂交瘤上清液中。作为对照，在溶液中温育固定化的骨膜素，所述溶液包含第一标记的抗体但不包含第二未标记的抗体。在允许第一抗体与骨膜素结合的条件下温育后，去除过量的未结合的抗体，测量与固定化的骨膜素结合的标记量。如果与固定的骨膜素结合的标记量在测试样品中相对于在对照样品中有实质性的减少，那么这指示第二抗体与第一抗体竞争结合骨膜素。参见 Harlow 和 Lane(1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* 第 14 章（Cold Spring Harbor Laboratory，Cold Spring Harbor, NY）。

[0278] 活性测定法

[0279] 在一个方面,提供了用于鉴定具有生物活性的抗 IL-13 抗体的测定法。生物活性可以包括例如在哮喘中的活性。还提供了在体内和 / 或在体外具有此类生物活性的抗体。

[0280] 在特定实施方案中,本发明的抗体就此类生物活性进行测试。

[0281] 免疫缀合物

[0282] 本发明还提供了免疫缀合物,所述免疫缀合物包含缀合至一个或多个细胞毒素剂的本文的抗骨膜素抗体,所述细胞毒素剂例如化学治疗剂或药物、生长抑制剂、毒素(例如蛋白质毒素,细菌、真菌、植物或动物来源的酶促活性毒素,或其片段)、或放射性同位素。

[0283] 在一个实施方案中,免疫缀合物是抗体-药物缀合物(ADC),其中抗体缀合至一种或多种药物,包括但不限于类美登素(maytansinoid)(参见美国专利号 5,208,020、5,416,064 和欧洲专利 EP 0 425 235 B1);澳瑞他汀(auristatin)例如单甲基澳瑞他汀药物部分 DE 和 DF(MMAE 和 MMAF)(参见美国专利号 5,635,483 和 5,780,588 和 7,498,298);多拉司他汀(dolastatin);加利车霉素(calicheamicin)或其衍生物(参见美国专利号 5,712,374、5,714,586、5,739,116、5,767,285、5,770,701、5,770,710、5,773,001 和 5,877,296;Hinman 等人, Cancer Res. 53:3336-3342(1993);和 Lode 等人, Cancer Res. 58:2925-2928(1998));蒽环类例如道诺霉素(daunomycin)或多柔比星(参见 Kratz 等人, Current Med. Chem. 13:477-523(2006);Jeffrey 等人, Bioorganic&Med. Chem. Letters 16:358-362(2006);Torgov 等人, Bioconj. Chem. 16:717-721(2005);Nagy 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834(2000);Dubowchik 等人, Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532(2002);King 等人, J. Med. Chem. 45:4336-4343(2002);和美国专利号 6,630,579);氨甲蝶呤;长春地辛(vindesine);紫杉烷(taxane)例如多西他赛(docetaxel)、紫杉醇(paclitaxel)、larotaxel、tesetaxel 和 ortataxel;单端孢霉烯;和 CC1065。

[0284] 在另一个实施方案中,免疫缀合物包含缀合至酶促活性毒素或其片段的如本文描述的抗体,所述酶促活性毒素或其片段包括但不限于白喉毒素 A 链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素 A 链(来自铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa))、蓖麻毒蛋白 A 链、相思豆毒蛋白 A 链、葫莲根毒蛋白 A 链、 α -帚曲霉素、油桐(Aleurites fordii)蛋白质、香石竹毒蛋白、美洲商陆(Phytolacca americana)蛋白质(PAPI、PAPII 和 PAP-S)、苦瓜(momordica charantia)抑制剂、麻疯树毒蛋白、巴豆毒蛋白、肥皂草(saponaia officinalis)抑制剂、多花白树毒蛋白、mitogellin、局限曲菌素、酚霉素、依诺霉素和单端孢菌毒素类。

[0285] 在另一个实施方案中,免疫缀合物包含缀合至放射性原子的如本文描述的抗体,以形成放射性缀合物。多种放射性同位素可用于放射性缀合物的产生。例子包括 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 和 Lu 的放射性同位素。当放射性缀合物用于检测时,它可以包含用于闪烁研究的放射性原子,例如 ^{99m}Tc 或 I^{123} ,或用于核磁共振(NMR)成像(也称为磁共振成像, mri)的自旋标记,例如再次碘-123、碘-131、钆-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、钆、锰或铁。

[0286] 抗体和细胞毒素剂的缀合物可以使用多种双官能蛋白质偶联剂进行制备,例如 3-(2-吡啶二巯基)丙酸 N-琥珀酰亚胺酯(SPDP)、4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧

酸琥珀酰亚胺酯 (SMCC)、亚氨基硫烷 (IT)、亚氨酸酯的双官能衍生物 (例如二甲基己二酸酯 HCl)、活性酯 (例如辛二酸二琥珀酰亚胺酯)、醛 (例如戊二醛)、双-叠氮基化合物 (例如双 (对叠氮基苯甲酰基) 己二胺)、双-重氮衍生物 (例如双 (对重氮苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯 (例如 2,6-二异氰酸甲苯酯)、和双-活性氟化合物 (例如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。例如,蓖麻毒蛋白免疫毒素可以如 Vitetta 等人 Science 238:1098 (1987) 中所述进行制备。碳-14 标记的 1-异硫氰基苯甲基-3-甲基二亚乙基三胺五乙酸 (MX-DTPA) 是用于放射性核素与抗体缀合的示例性螯合剂。参见 W094/11026。接头可以是促进细胞毒药物在细胞中释放的“可断裂接头”。例如,可以使用对酸敏感的接头、对肽酶敏感的接头、光敏接头、二甲基接头或含二硫键的接头 (Chari 等人 Cancer Research 52:127-131 (1992))。

[0287] 免疫缀合物或 ADCs 在本文中明确考虑,但不限于,用交联接头试剂制备的此类缀合物,包括但不限于 BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC 和磺基-SMPB 和 SVSB (琥珀酰亚胺基-(4-乙烯基磺)苯甲酸酯),其是商购可得的 (例如来自 Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A.)。

[0288] 用于诊断和检测的方法和组合物

[0289] 在特定实施方案中,本文提供的任何抗骨膜素抗体可以用于检测生物样品中骨膜素的存在。如本文使用的术语“检测”涵盖定量或定性检测。在特定实施方案中,生物样品包含细胞或组织,例如血清、血浆、鼻拭子和痰。

[0290] 在一个实施方案中,提供了抗骨膜素抗体用于在诊断或检测方法中使用。在进一步方面,提供了检测生物样品中骨膜素存在的方法。在特定实施方案中,该方法包括在允许抗骨膜素抗体与骨膜素结合的条件下,使生物样品与如本文描述的抗骨膜素抗体接触,并且检测是否在抗骨膜素抗体和骨膜素之间形成复合物。此方法可以是体外或体内方法。在一个实施方案中,抗骨膜素抗体用于选择如下疗法的合格受试者,所述疗法使用抗 IL-13 抗体或任何其它 TH2 途径抑制剂来进行,例如,当骨膜素是用于患者选择的生物标记时。

[0291] 可以使用本发明的抗体诊断的示例性病症在本文中提供。

[0292] 在特定实施方案中,提供了标记的抗骨膜素抗体。标记包括但不限于,直接检测的标记或部分 (例如荧光、生色、电子致密、化学发光和放射性标记),以及间接 (例如通过酶促反应或分子相互作用) 检测的部分,例如酶或配体。示例性标记包括但不限于,放射性同位素 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^3H 和 ^{131}I , 荧光团例如稀土螯合物或荧光素及其衍生物,罗丹明及其衍生物,丹磺酰,伞形酮,萤光素酶例如萤火虫萤光素酶和细菌萤光素酶 (美国专利号 4,737,456), 萤光素,2,3-二氢酞嗪二酮,辣根过氧化物酶 (HRP),碱性磷酸酶, β -半乳糖苷酶,葡糖淀粉酶,溶菌酶,糖氧化酶例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶,杂环氧化酶例如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶,与采用过氧化氢以氧化染料前体的酶例如 HRP、乳过氧化物酶或微过氧化物酶偶联,生物素/抗生物素蛋白,自旋标记,噬菌体标记,稳定自由基等。

[0293] 药物制剂

[0294] 可以通过使具有所需纯度的抗体或分子与一种或多种任选的药学可接受的载体 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. 标记 (1980)) 混合,以

冻干制剂或水溶液形式,制备如本文描述的抗 IL-13 抗体或其它 TH2 途径抑制剂的药物制剂。药学可接受的载体在采用的剂量和浓度下对接受者一般是无毒的,并且包括但不限于:缓冲剂例如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(例如十八基二甲基苄基氯化铵;氯己双铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烷基酯例如对羟基苯甲酸甲或丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(小于约 10 个残基)多肽;蛋白质例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水聚合物例如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖及其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂例如 EDTA;糖例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐抗衡离子例如钠;金属络合物(例如 Zn-蛋白质络合物);和/或非离子型表面活性剂例如聚乙二醇(PEG)。示例性药学可接受的载体在本文中进一步包括间质(institial)药物分散剂例如可溶性中性-活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),例如人可溶性 PH-20 透明质酸酶糖蛋白,例如 rHuPH20(**HYLENEX®**, Baxter International, Inc.)。一些示例性 sHASEGPs 和使用方法,包括 rHuPH20,在美国专利公开号 2005/0260186 和 2006/0104968 中描述。在一个方面,将 sHASEGP 与一种或多种另外的葡糖胺聚糖酶例如软骨素酶组合。

[0295] 示例性冻干抗体制剂在美国专利号 6,267,958 中描述。水性抗体制剂包括美国专利号 6,171,586 和 W02006/044908 中所述的那些,后面的制剂包括组氨酸-乙酸盐缓冲液。

[0296] 本文制剂还可以针对所治疗的特定适应症按照需要含有一种以上的活性成分,优选具有互补活性且不会不利地彼此影响的那些。例如,可能期望进一步与 TH2 途径抑制剂一起提供控制剂。此类活性成分适于以对于预期目的有效的量组合存在。

[0297] 活性成分可以截留在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微囊中(例如分别地羟甲基纤维素或明胶-微囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微囊)、在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球体、微乳液、纳米颗粒和纳米囊)中、或在粗乳液中。此类技术公开于 Remington's Pharmaceutical Sciences,第 16 版,Oslo, A., Ed., (1980) 中。

[0298] 可以制备持续释放的制剂。持续释放的制剂的合适例子包括含有抗体的固体疏水聚合物的半透性基质,所述基质可以为成形物品例如薄膜或微胶囊的形式。

[0299] 待用于体内施用的制剂一般是无菌的。无菌性可以通过例如经由无菌过滤膜过滤而容易地达到。

[0300] 治疗方法和组合物

[0301] 嗜酸性粒细胞炎症与变应性和非变应性的多种病变相关(Gonlugur(2006) Immunol. Invest. 35(1):29-45)。炎症是活组织对损伤的康复性应答。炎症反应的特征在于:由于损伤组织自身中产生的一些化学物质,白细胞在损伤组织中的累积。嗜酸性白细胞在广泛多样的状况,例如变应性病症、蠕虫感染和赘生性疾病中累积(Kudlacz 等人, (2002) Inflammation 26:111-119)。嗜酸性白细胞作为免疫系统的一种组分,是粘膜表面的防御性元件。它们不仅响应抗原、还响应寄生虫、化学物质和创伤。

[0302] 组织嗜酸性粒细胞增多症在皮肤疾病中发生,所述皮肤疾病例如湿疹、天疱疮、急性荨麻疹和中毒性表皮坏死松解症、以及特应性皮炎([Rzany 等人,1996])。在 IgE 介导的变应性皮肤反应中嗜酸性粒细胞聚集在组织中并倒空颗粒蛋白质([Nielsen 等人, 2001])。嗜酸性粒细胞与肥大细胞组合可能引起关节炎症(Miossec 等人,1997)。嗜酸性粒

细胞炎症有时伴随关节创伤。滑液嗜酸性粒细胞增多可能与如下疾病相关,所述疾病例如类风湿性关节炎、寄生虫疾病、高嗜酸性粒细胞综合征、莱姆病和变应性过程、以及关节积血和关节造影([Atanes 等人,1996])。嗜酸性粒细胞炎症还可以影响骨([Yetiser 等人,2002])。嗜酸性粒细胞肌病的例子包括嗜酸性粒细胞性肌周炎、嗜酸性粒细胞性多肌炎和局灶性嗜酸性粒细胞性肌炎([Lakhanpal 等人,1988])。影响骨骼肌的嗜酸性粒细胞炎症可与寄生虫感染、或药物、或嗜酸性粒细胞过多的一些全身性病症(例如特发性高嗜酸性粒细胞综合征和嗜酸性粒细胞增多性肌痛综合征)的特征相关。嗜酸性粒细胞参与针对自身免疫抗体所识别的表位的炎症反应([Engineer 等人,2001])。结缔组织疾病可以导致嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞或淋巴细胞性血管炎症([Chen 等人,1996])。组织和外周血嗜酸性粒细胞增多可以发生在活跃风湿性疾病中。在强直性脊柱炎(一种结缔组织病)中血清 ECP 水平的升高提示,嗜酸性粒细胞也参与该深层过程(Feltelius 等人,1987)。韦格纳氏肉芽肿可以罕见地与肺结节、胸腔积液和外周血嗜酸性粒细胞增多一起存在([Krupsky 等人,1993])。

[0303] 在 7% 的系统性硬化症病例、31% 的局限性硬皮病病例和 61% 的嗜酸性粒细胞筋膜炎病例中可以发生至少 $400/\text{mm}^3$ 的外周血嗜酸性粒细胞增多([Falanga 和 Medsger, 1987])。硬皮病产生极为类似于粘膜下丛和肠肌丛的炎性过程,由胃肠道系统中的肥大细胞和嗜酸性白细胞组成。嗜酸性粒细胞来源的神经毒素可以促成胃肠道运动功能障碍,如在硬皮病中发生的([de Schryver Kecskemeti 和 Clouse,1989])。

[0304] 嗜酸性粒细胞可以伴随局限性([Varga 和 Kahari,1997])或全身性([Bouros 等人,2002])结缔组织增生。它们可以通过抑制成纤维细胞中的蛋白聚糖降解而引起纤维化([Hernnas 等人,1992]),并且成纤维细胞通过分泌 GM-CSF 介导嗜酸性粒细胞存活([Vancheri 等人,1989])。嗜酸性粒细胞可以在鼻([Bacherct 等人,2001])、支气管([Arguelles 和 Blanco,1983])、和胃肠道息肉组织([Assarian 和 Sundareson,1985])中发现。同样地,嗜酸性粒细胞可以位于炎性假瘤(肌纤维母细胞瘤)中。嗜酸性粒细胞常伴随眶区中的炎性假瘤,在所述情况下病状可以类似血管性水肿或变应性鼻结膜炎([Li 等人,1992])。

[0305] 嗜酸性粒细胞炎症可以在组织创伤(例如由于手术或损伤)中发现。嗜酸性粒细胞炎症还可以与心血管病(例如嗜酸性粒细胞性心肌炎、嗜酸性粒细胞性冠状动脉炎、缺血性心脏病、急性心肌梗死、心脏破裂)相关。坏死性炎症过程也可以涉及嗜酸性粒细胞炎症(多肌炎、冠状动脉解剖、神经白塞氏病的坏死性损伤、痴呆、脑梗死)。

[0306] 本文提供:通过测量患者中的总血清骨膜素水平,鉴定预测响应(或将响应)TH2 途径抑制剂治疗的嗜酸性粒细胞炎症阳性(EIP)患者的方法。

[0307] 本文还提供:治疗哮喘、嗜酸性粒细胞病症、IL-13 介导的病症、IL4 介导的病症、IL9 介导的病症、IL5 介导的病症、IL33 介导的病症、IL25 介导的病症、TSLP 介导的病症、IgE 介导的病症或哮喘样症状的方法,其包括给嗜酸性粒细胞炎症阳性患者施用 TH2 途径抑制剂,其中所述患者通过测量患者中的总血清骨膜素水平而已被诊断为 EIP。

[0308] 在特定实施方案中,提供了治疗哮喘、嗜酸性粒细胞病症、IL-13 介导的病症、IL-4 介导的病症或 IgE 介导的病症的方法,其包括给嗜酸性粒细胞炎症阳性患者施用 lebrikizumab。

[0309] 在特定实施方案中,提供了治疗哮喘、嗜酸性粒细胞病症、IL-13 介导的病症、IL-4 介导的病症或 IgE 介导的病症的方法,其包括给患有病症的患者每 4 周施用 125-500mg 固定剂量的 lebrikizumab。

[0310] 还提供:治疗哮喘(或呼吸疾病)的方法,其包括给哮喘患者施用治疗有效量的 Lebrikizumab,其中所述治疗导致 FEV1 大于 5% 的相对变化。在另一个实施方案中,FEV1 是大于 6%、7%、8%、9% 或 10% FEV1。在另一个实施方案中,患者已使用总骨膜素测定法诊断为 EIP。在另一个实施方案中,哮喘患者已用总血清骨膜素测定法进行诊断。

[0311] 在特定实施方案中,提供了治疗哮喘(或呼吸疾病)的方法,其包括给哮喘患者施用治疗有效量的 Lebrikizumab,其中所述治疗导致大于 35% 的恶化率减少(其他实施方案,大于 36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、最高达 85%;另一个实施方案,其中患者已诊断为 EIP)。

[0312] 在特定实施方案中,提供了治疗哮喘(或呼吸疾病)的方法,其包括给哮喘患者施用治疗有效量的 Lebrikizumab,其中所述治疗导致夜间觉醒的减少。在一个实施方案中,通过测量患者中的总血清骨膜素水平,对患者进行诊断。在另一个实施方案中,患者的哮喘在用皮质类固醇时得不到控制。在另一个实施方案中,患者诊断有 EIP。

[0313] 还提供:治疗哮喘(或呼吸疾病)的方法,其包括给哮喘患者施用治疗有效量的 Lebrikizumab,其中所述治疗导致哮喘控制的改善。在一个实施方案中,通过测量患者中的总血清骨膜素水平,对患者进行诊断。在另一个实施方案中,哮喘在用皮质类固醇治疗时得不到控制。在另一个实施方案中,患者诊断有 EIP。

[0314] 提供:治疗哮喘(或呼吸疾病)的方法,其包括给哮喘患者施用治疗有效量的 Lebrikizumab,其中所述治疗导致肺中炎症的减少。在一个实施方案中,通过测量患者中的总血清骨膜素水平,对患者进行诊断。在另一个实施方案中,该哮喘在用皮质类固醇治疗时不能得到控制。在另一个实施方案中,患者诊断有 EIP。

[0315] 在特定实施方案中,提供了在患有嗜酸性粒细胞病症且正在用皮质类固醇治疗的患者中治疗嗜酸性粒细胞病症的方法,所述方法包括给哮喘患者施用治疗有效量的 Lebrikizumab,其中所述治疗导致用于治疗该疾病的皮质类固醇疗法(在量或频率上)的减少或消除。在一个实施方案中,通过测量患者中的总血清骨膜素水平,对患者进行诊断。在另一个实施方案中,患者的哮喘在用皮质类固醇时不能得到控制。在另一个实施方案中,患者在治疗前被诊断有 EIP。

[0316] 还提供治疗患有哮喘(或呼吸疾病)的患者的方法,其包括:使用总骨膜素测定法将患者诊断为 EIP,给该哮喘患者施用治疗有效量的 TH2 途径抑制剂,诊断患者的 EIP 状态,并且如果状态是 EIP,则用 TH2 途径抑制剂再治疗该患者。所述诊断使用总骨膜素测定法单独进行或组合 FE_{NO} 水平进行,并且任选地与选自下述的其他生物标记组合:CST1、CST2、CCL26、CLCA1、PRR4、PRB4、SERPINB2、CEACAM5、iNOS、SERPINB4、CST4 和 SERPINB10。在再一实施方案中,待治疗的患者,除了具有如本文描述的升高表达水平的骨膜素外,还具有大于 21ppb 的 FE_{NO} 水平。在另外一个实施方案中,待治疗的患者,除了具有如本文描述的升高表达水平的骨膜素外,还具有大于 35ppb 的 FE_{NO} 水平。

[0317] 在特定实施方案中,提供了鉴定嗜酸性粒细胞炎症阴性(EIN)患者的方法,其包括步骤:测量患者中的总骨膜素水平和确定患者为 EIN。

[0318] 本文提供的任何 TH2 途径抑制剂均可以用于本文描述的治疗方法,尤其是哮喘中。在一个实施方案中,哮喘患者正在用皮质类固醇治疗,并且已使用本文描述的骨膜素测定法诊断为响应 TH2 途径抑制剂。在进一步的实施方案中,哮喘患者正患有中度至重度哮喘。在另一个实施方案中,患者正患有轻度哮喘,但未正在使用皮质类固醇治疗。

[0319] 本发明的抗体(和任何另外的治疗剂)可以通过任何合适方法进行施用,包括肠胃外、肺内和鼻内、和如果需要局部治疗的话,损伤内施用。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。给药可以通过任何合适途径,例如通过注射,例如静脉内或皮下注射(部分取决于施用是暂时的还是长期的)。本文考虑各种给药方案,包括但不限于,单次或经过多个时间点的多次施用、大剂量施用(bolus administration)和脉冲输注。

[0320] 本发明的抗体将以符合良好医疗实践的方式配制,给药和施用。在此考虑的因素包括待治疗的特定病症、待治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床状况、病症原因、活性剂递送部位、施用方法、施用时间安排和医学从业者已知的其他因素。抗体无需但可以任选地与目前用于预防或治疗所讨论的病症的一种或多种活性剂配制在一起。此类其他活性剂的有效量取决于存在于制剂中的抗体量、病症或治疗的类型、和上文讨论的其他因素。这些一般以与本文描述相同的剂量和施用途径使用,或以本文描述的剂量的约 1-99% 使用,或以经验/临床上确定为合适的任何剂量和任何途径使用。

[0321] 对于疾病预防或治疗,本发明抗体的合适剂量(当单独或与一种或多种其他的另外治疗剂组合使用时)将取决于待治疗的疾病类型、抗体类型、疾病严重性和过程、抗体是施用用于预防还是治疗、先前疗法、患者的临床史和对抗体的应答、和主治医师的判断。本发明抗体适宜一次或经过一系列治疗而施用于患者。取决于疾病类型和严重性,约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ - $15\text{mg}/\text{kg}$ (例如 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ - $10\text{mg}/\text{kg}$) 抗体可以是用于施用于患者的起始候选剂量,无论是例如通过一次或多次分开施用,还是通过连续输注。取决于上文提及的因素,一个典型的日剂量可以为大约 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ - $100\text{mg}/\text{kg}$ 或更多。对于历经几天或更久时间的反复施用,取决于状况,治疗一般持续直至出现期望的疾病症状抑制。一个示例性抗体剂量为约 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ -约 $10\text{mg}/\text{kg}$ 。因此,约 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ 、 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ 或 $10\text{mg}/\text{kg}$ (或其任何组合)的一个或多个剂量可以施用于患者。此剂量可以间歇地施用,例如每周或每三周一次(例如,以使得患者接受抗体的约二个至约二十个,例如约六个剂量)。然而,其它剂量方案也是可用的。此疗法的进展可以通过常规技术和测定法容易地监控。

[0322] 在特定实施方案中,本发明的抗体以 37.5mg 的固定剂量(即,不是体重依赖的)、或 125mg 的固定剂量或 250mg 的固定剂量施用。在特定实施方案中,该剂量通过皮下注射每 4 周一次施用一段时间。在特定实施方案中,时间段是 6 个月、一年、二年、五年、十年、15 年、20 年或患者的生命期。在特定实施方案中,哮喘是重度哮喘,并且患者在用吸入皮质类固醇加上第二控制剂药物治疗时得不到充分的控制或得不到控制。在另一个实施方案中,使用总骨膜素测定法测定 EIP 状态,患者被诊断为具有 EIP 状态,并且患者被选择用于如上所述的抗 IL-13 抗体治疗。在另一个实施方案中,该方法包括用如上所述的抗 IL-13 抗体治疗哮喘患者,其中通过使用总骨膜素测定法测定 EIP 状态,患者先前已经被诊断为 EIP 状态。在一个实施方案中,哮喘患者年龄是 18 岁或更大。在一个实施方案中,哮喘患者是 12-17 岁,并且抗 IL-13 作为 250mg 的固定剂量或 125mg 的固定剂量施用。在一个实施方案中,哮喘患者是 6-11 岁,并且抗 IL-13 抗体作为 125mg 的固定剂量施用。

[0323] 应当理解,可以使用本发明的免疫缀合物代替或加上抗靶标抗体或抗骨膜素抗体,实施上述任何制剂或治疗方法。

[0324] 制造品

[0325] 在本发明的另一个方面,提供了含有用于治疗、预防和 / 或诊断上文描述的病症的材料的制造品。制造品包含容器和在容器上或与容器结合的标签或包装说明书。合适的容器包括例如瓶、小瓶、注射器、IV 溶液袋等。容器可以由多种材料例如玻璃或塑料形成。容器容纳单独或与对于治疗、预防和 / 或诊断所述状况有效的另一种组合物组合的组合物,且可以具有无菌访问口(例如容器可以是具有可被皮下注射针穿透的塞子的静脉内溶液袋或小瓶)。组合物中的至少一种活性剂是本发明的抗体。标签或包装说明书指示组合物用于治疗所选择的状况。此外,制造品可以包含 (a) 其中含有组合物的第一容器,其中所述组合物包含本发明的抗体;和 (b) 含有组合物的第二容器,其中所述组合物包含其它的细胞毒素剂或另外的治疗剂。在本发明的这个实施方案中,制造品可以进一步包含指示组合物可以用于治疗特定状况的包装说明书。可替代地或另外地,制造品可以进一步包括包含药学可接受的缓冲液的第二(或第三)容器,所述药学可接受的缓冲液例如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。它可以进一步包括从商业和用户观点来看希望的其他材料,包括其他缓冲液、稀释剂、滤器、针头和注射器。

[0326] 应当理解,任何上述制造品都可以包括本发明的免疫缀合物代替或加上抗靶标抗体或抗骨膜素抗体。

实施例

[0327] 实施例 1 - 变应原攻击临床研究

[0328] II 期随机化、双盲、安慰剂对照研究;5mg/kg lebrikizumab: 安慰剂(1:1 比率)皮下 q4 周共 12 周。表 2 和图 1 高度概括了该试验的设计。主要结果的量度是在第 13 周时变应原诱导的晚期哮喘反应(LAR)。在筛选期和在第 13 周,患者接受变应原攻击,之后在 18-24 小时后接受乙酰甲胆碱攻击。还评价了血清生物标记,以证实 IL13 途径抑制和鉴定自 lebrikizumab 获得增加的益处的患者。

[0329] 表 2

[0330]

设计	随机化、双盲、安慰剂对照的、多剂量研究，以评估 MILR1444A，与安慰剂相比较，对变应原攻击的气道高反应性的影响
群体	18-55 岁的轻度哮喘患者
样本大小	24 个 (12 个/群组)
研究持续时间	12 周 (和 4 个月随访)
时间表, 剂量	皮下制剂 (SQ), Q4w, (1 个活性剂量水平 5mg/kg)
1° 终点	LAR AUC (变应原攻击)
2° 终点	PC20 (变应原攻击)、FEV1、PC20 (乙酰甲胆碱攻击)

[0331] 包括在该研究中的患者是轻度哮喘患者, 18-55 岁, 具有: (a) 在针对屋尘螨、猫毛屑或豚草的筛选时阳性的皮肤测试 (超过阴性对照 > 或 = 3mm); (b) 在 1 秒内用力呼气量 (FEV1) > 或 = 预测的 70%; 和 (c) 在变应原攻击后 5-30 分钟内 FEV1 的 > 或 = 20% 减少的早期哮喘反应, 和在攻击后 2-8 小时内 FEV1 的 > 或 = 15% 减少的晚期哮喘反应 (LAR)。

[0332] 二十八个患者包括在主要终点的分析中 (n = 16 个安慰剂, 12 个 lebrikizumab)。在第 13 周时, lebrikizumab 抑制了 LAR。在 lebrikizumab 治疗的患者中变应原攻击后 2-8 小时 (LAR) FEV1 的平均 AUC (曲线下面积), 与安慰剂相比较, 减少了 48% (26.3% 相当于 50.5%; 95% CI: -19 至 90%), 在第 13 周对早期反应 (EAR) 没有影响。在变应原攻击后 0-2 小时 FEV1 的平均 AUC 和 FEV1 的最大减少在 lebrikizumab 和安慰剂组中是相似的 (对于两个参数, 均为 27.5% 相当于 26.4%; 表 3)。也参见图 2。在对乙酰甲胆碱的气道高反应性上, 未观察到 lebrikizumab 和安慰剂组之间有显著差异。在 lebrikizumab 组中乙酰甲胆碱加倍剂量的算术平均值比安慰剂组的高 0.33 个加倍剂量 (1.58 相当于 1.25, 95% CI -0.64 至 1.3), 其不视为临床上有意义的抑制。

[0333] 表 3

[0334]

	筛选			第 13 周		
	PB N=16	LB N=12	(LB-PB) /PB	PB N=16	LB N=12	(LB-PB) /PB
早期哮喘反应						
FEV1 的最大 % 减少	30.3	38.0	25.4	25.5	29.6	16.1
AUC FEV1 (攻 击后 0-2 小时), %FEV1 x 小时	34.1	39.9	17.0	26.4	27.5	4.2
晚期哮喘反应						
FEV1 的最大 % 减少	24.8	30.8	24.2	16.4	13.8	-15.9
AUC FEV1 (攻 击后 2-8 小时), %FEV1 x 小时	73.8	77.0	4.3	50.5	26.3	-47.9

[0335] Lebrikizumab 治疗明显地对 Th2 炎症标记产生了全身影响,其中血清 IgE、MCP-4/CCL13 和 TARC/CCL17 分别具有 24%、25%和 26%的平均安慰剂调整的减少 ($p < 0.01$)。参见图 3A 和 3B。血清骨膜素水平在治疗后轻微减少 (5-10%)。血清 IL-13 水平在治疗后大多数低于检测水平 ($< 150\text{pg/ml}$)。图 3C 显示了在第 13 周时在个体患者中 IgE、CCL13 和 CCL17 的减少 (相对于这些标记的基线水平)。一般地,骨膜素、YKL-40、CEA 和血液嗜酸性粒细胞水平在 lebrikizumab 治疗后没有发生显著改变 (数据未显示)。

[0336] 在外周血嗜酸性粒细胞、血清 IgE 或血清骨膜素上具有超过中值的基线水平的受试者显示出:比在这些生物标记上具有低于中值的基线水平的受试者,在 LAR 上更大的安慰剂调整的 lebrikizumab 依赖性减少。参见图 4。

[0337] 基于基线时如下炎症生物标记高于或低于中值水平,将患者分类为“生物标记高的”或“生物标记低的”:血清 IgE、CCL13、CCL17、CEA、骨膜素、YKL-40 和外周血嗜酸性粒细胞。如图 4 中所示,血清 IgE、嗜酸性粒细胞和骨膜素的结果指示,具有升高的 (与中值相比较) 基线血清 IgE、骨膜素或增加的外周血嗜酸性粒细胞的患者更可能响应 IL13 阻断 (例如通过 lebrikizumab)。

[0338] 总之,该研究满足其主要终点:平均晚期 AUC 的 48% 减少 (90% CI[-19%, 90%])。与安慰剂相比较,Lebrikizumab 显著减少了 LAR。在安全性数据中未观察到安全信号。IL-13 的治疗性阻断可以用于变应性哮喘的有效治疗,特别是在具有升高的气道 TH2 炎症标记的患者中。

[0339] 实施例 2 - 哮喘患者临床研究 I

[0340] 进行随机化、双盲、安慰剂对照的研究,以评估 lebrikizumab 在具有哮喘的患者

中的效应,所述患者在用 ICS 的长期治疗时保持得不到充足的控制或得不到控制。患者继续其护理标准治疗 (standard-of-care therapy),其包括吸入皮质类固醇 (ICS) 以及可能还包括 LABA。在该双臂研究中,将患者随机分配至接受 lebrikizumab 或安慰剂共 6 个月。在 14-20 天的导入期 (run-in period) 中 (访问 1 至访问 3),患者必须显示出顺应 ICS 并且其能够使用在整个研究过程进行每日监控所需的设备。随后评估患者参与研究的合格性,并随机分配 (1:1) 给研究药物 (lebrikizumab 或安慰剂),其中基于 IL-13 标签替代物状态 (下文进一步描述)、LABA 使用和研究场所进行分层。第一个 SC 剂量发生在随机分配的 24 小时内 (研究第 1 天,即,随机分配的当天,与第一研究药物施用日期无关)。接下来的 20 周,每 4 周一次重复研究药物的施用 (总共六个研究药物剂量,提供 24 周治疗期)。在治疗期中评价对 lebrikizumab 的功效果的量度。

[0341] 在下述时间点,通过皮下 (SC) 注射,将研究药物施用于所选患者:第 1 天以及第 4、8、12、16 和 20 周。lebrikizumab 的每个剂量是 250mg。每个安慰剂剂量是 2mL 不含 lebrikizumab 的相同液体。SC 注射在臂、大腿或腹部中施用。该试验设计的示意图可见于图 5 中。

[0342] 在随机分配 (第 1 天) 后在所有 (约 200 个) 患者治疗并且跟踪 24 周后,进行主要分析。在整个研究过程中,评价安全性。在研究药物的最后剂量 (第 20 周) 后,再监控患者 12 周;最后剂量之后的第一个 4 周视为 (24 周) 治疗期的部分,而最后 8 周构成随访期。8 周随访期,连同治疗期的最后 4 周,允许在末次剂量后对患者进行 3-4 个半衰期的监控。因此,患者一般参与研究的时间为总共约 34 周。参见图 5。定义了功效可评估患者 ($n = 180$) 用于决策目的,以基于两个原因排除受试者:(1) 在关键特征上不是靶标群体的部分,和 (2) 量度治疗效果所依据的基线 FEV1 不可靠。关于参与该试验的患者的基线特征,参见图 6。

[0343] 表 4

[0344]

设计	1:1 随机化、双盲、安慰剂对照的研究，以评估 lebrikizumab 与安慰剂相比较的功效和安全性
群体	18-65 岁具有哮喘的患者，其在用吸入皮质类固醇（ICS）时得不到充分的控制。
样本大小	约 218 个
研究持续时间	2 周筛选期，24 周治疗期，8 周安全性随访期
剂量	250 mg，每 28 天，总共 6 个剂量
1° 终点	从基线到第 12 周 FEV1 的相对变化
2° 终点	从基线到第 24 周 FEV1 的相对变化。 从基线到第 12 周 FEV1 的相对变化或具有 IL-13 标签替代物阳性状态的患者。 在 24 周的过程中哮喘恶化率。

[0345] 关键的入选标准包括下述：根据研究明确的肺功能测试（PFT）手册，在访问 1-3 时能够实施肺活量测定；在访问 1 的 12 个月内胸片没有临床上显著异常的迹象；基于在访问 1-3 之间顺应每日完成和 PEF 测量而度量的完成研究材料的能力；基于所有下述标准选择的得不到控制的哮喘：

[0346] ->12 个月的哮喘诊断

[0347] - 在访问 1 或 2 时的支气管扩张剂反应

[0348] - 在访问 1 和 3 时支气管扩张剂前 FEV1 $\geq$ 预测的 40% 和 $\leq$ 预测的 80%

[0349] - 在访问 1 前至少连续 6 个月使用 ICS $\geq 200 \mu\text{g}$ 和 $\leq 1000 \mu\text{g}$ 日总剂量的丙酸氟替卡松（FP）或等价物

[0350] - 访问 3 哮喘控制问卷（ACQ）s 得分 ≥ 1.5 ，尽管 ICS 顺应。

[0351] 关键的排除标准包括下述：

[0352] 医学状况：

[0353] - 从访问 1-3 开始的哮喘恶化、显著气流阻塞或呼吸道感染

[0354] - 已知恶性肿瘤或关于潜在恶性肿瘤的目前评估

[0355] - 已知免疫缺陷，包括但不限于 HIV 感染

[0356] - 预先存在的非哮喘的肺疾病，包括急性感染

[0357] - 得不到控制的临床上显著的医学疾病

[0358] 暴露：

[0359] - 现行吸烟者或具有 >10 包年（pack-years）的一生吸烟史的曾经吸烟者

[0360] - 禁止的并行药物治疗（非 ICS 的类固醇、非 SABA 的短效支气管扩张剂、免疫调节剂）

[0361] - 怀孕或不愿意使用高度有效的避孕措施。

[0362] 考虑到在肺本身中测量 IL-13 的实际困难,将外周血中的嗜酸性粒细胞和 IgE 水平用作替代量度,表示为“IL-13 标签替代物”。IL-13 标签替代物阳性患者定义为:具有总 IgE>100IU/mL 和血液嗜酸性粒细胞 $\geq 0.14 \times 10^9$ 细胞/L 的患者,而 IL-13 标签替代物阴性患者具有总 IgE ≤ 100 IU/mL 或血液嗜酸性粒细胞 $< 0.14 \times 10^9$ 细胞/L。用于确定患者的 IL-13 标签替代物状态的 IgE 和嗜酸性粒细胞水平的标准由如下具有哮喘的患者确立,在所述哮喘患者中在支气管上皮中 IL-13 诱导的基因表达 (IL-13 标签) 与外周血 IgE 和嗜酸性粒细胞关联 (Corren 等人, N Engl J Med 365:1088-1098[2011])。

[0363] 使用哮喘活性的多重量度,评价了 lebrikizumab 的功效,包括肺功能 (即 FEV1、峰流量,包括峰流量的变异性、在所选中心对乙酰甲胆碱的反应、呼出气一氧化氮分数 [FE_{N0}]) 和疾病活性或控制的量度 (即患者报告的结果 [PROs]、急救药品的使用、恶化率)。FEV1 的变化是主要结果。在用 lebrikizumab 治疗后下述标记:TARC (CCL17)、MCP-4 (CCL13) 和 IgE 用于药效学分析。

[0364] 主要功效结果量度

[0365] 主要功效结果量度是支气管扩张剂前 FEV1 (体积) 从基线到第 12 周的相对变化。

[0366] 次要功效结果量度

[0367] 次要功效结果量度如下:从基线到第 24 周,支气管扩张剂前 FEV1 (体积) 的相对变化;对于具有 IL-13 标签替代物阳性状态的患者,从基线到第 12 周,支气管扩张剂前 FEV1 (体积) 的相对变化;从基线到第 12 周,哮喘控制问卷 (ACQ) 得分的变化;从基线到第 12 周,通过哮喘控制每日日记 (ACDD) 测量的哮喘症状得分的变化;从基线到第 12 周,晨支气管扩张剂前峰流量值的变化;在 24 周治疗期中,哮喘恶化率;在 24 周治疗期中,重度哮喘恶化率;从基线到第 12 周,急救药品使用的变化 (由每天吸急救药品或雾化的急救药品的次数度量)。

[0368] 探索性量度:

[0369] 评价了下述探索性结果量度:通过从基线到第 12 周的 ACDD 测量,具有良好控制的哮喘的每周天数的变化;从基线到第 12 周,由哮喘引起的夜间觉醒的每周频率的变化;从基线到第 12 周,FE_{N0}水平的变化。

[0370] 初始观察

[0371] 在对具有不良控制的哮喘的患者的该研究中,lebrikizumab 治疗与支气管扩张剂前 FEV1 (主要结果变量) 的统计显著改善相关。FEV1 的改善在治疗开始后不久发生,指示 IL-13 抑制相对快速地影响气流的测量结果。尽管使用 Elecsys® 骨膜素测定法 lebrikizumab 治疗不导致在方案限定的和重度的恶化上的统计显著减少 (下文描述,由于无法获得值以促成该分析),但观察到了重度恶化率的降低趋势 (尤其是对于骨膜素高的患者)。然而,使用如下所述的 E4 测定法,lebrikizumab 治疗的确导致了在方案限定的和重度的恶化上的统计显著减少 (在骨膜素高的亚组中 84% (95% CI 14%, 97%, $p = 0.03$)。还参见下文。此外,FE_{N0}亚组分析的确实现重度恶化的统计显著减少 ($p = 0.04$)。通过仅症状形式的 ACQ5 (排除急救 SABA 使用和 FEV1) 或每日日记量度测量,Lebrikizumab 治疗不改善哮喘症状。

[0372] 血清 Th2 趋化因子 CCL13 和 CCL17 和 IgE 的减少支持 lebrikizumab 介导的生物效应,其构成气道中测量到的临床影响的基础。血液嗜酸性粒细胞计数的轻微增加与在引

诱嗜酸性粒细胞的趋化因子受到抑制后从血液到肺区室的嗜酸性粒细胞的总体减少运输一致。lebrikizumab 减少 FE_{NO} 的该发现与此提示一致。然而, lebrikizumab 可能通过经由 IL-13 阻断间接抑制一氧化氮合酶表达, 而不是通过修饰嗜酸性粒细胞炎症 (其也被认为影响 FE_{NO}), 导致了 FE_{NO} 减少。

[0373] 对于该研究, 患者的合格性标准要求对于 400 μ g 舒喘灵至少 12% 的可逆性 (在访问前至少 4 小时不使用 SABA 并且至少 12 小时不使用 LABA)。这确保当寻找肺功能的至少 10% 的总体相对变化时, 患者具有“活动余地”。此简单临床试验可能对于将这些数据推广至未选择的更一般性的哮喘患者群体的能力构成限制。事实上, 关于患者不合格的最常见原因是未通过该试验 (未通过筛查的 263 个患者中的 92 个)。

[0374] 在本研究中, 我们首先假定高血清 IgE 和高血液嗜酸性粒细胞计数的组合是用于鉴定在肺中具有 IL-13 相关基因的增加表达的患者 (IL-13 标签替代物, 或 Th2 高) 的替代物。虽然对数据仍然就治疗分配而言进行掩盖, 但我们写下了统计分析计划, 以使用基于血清骨膜素水平的区分。如下文更详细地描述的, 此亚组分析显示, 如通过 FEV1 的更强增加和 FE_{NO} 的更大下降以及显著相互作用试验观察到的, lebrikizumab 治疗的有效性在骨膜素高的患者中相对于在骨膜素低的患者中增强。这些发现提示, 预先指定的标记——血清骨膜素——可以潜在地用于选择可能更响应 lebrikizumab 治疗的哮喘患者。

[0375] 参与该研究的患者的基线特征显示于图 6 中。除非另有说明, 数字指平均值 (SD)。骨膜素高指, 根据下文描述的 E4 测定法, 患者具有超过 23ng/ml 的基线骨膜素。骨膜素低指, 根据下文描述的 E4 测定法, 患者具有低于 23ng/ml 的基线骨膜素。

[0376] 对于所治疗的患者, 第 12 周和第 24 周时 FEV1 (升) 的相对变化 (95% 置信区间) 显示于图 7 中。与 IL-13 标签阳性患者相比较, 骨膜素阳性患者经历了更高的 FEV1 相对变化。

[0377] 图 7 显示了对于所有来者从基线到 12 周安慰剂校正的 FEV1 相对变化是 5.9% (95% CI 0.9%, 10.9%, $p = 0.2$), 并且对于骨膜素高的亚组是 10% (95% CI 2.5%, 17.5%, $p = 0.01$)。从基线到 24 周安慰剂校正的 FEV1 相对变化对于所有来者是 4.8% (95% CI 0.3%, 9.3%, $p = 0.04$), 并且对于骨膜素高的亚组是 6.1% (95% CI -1.4%, 13.6%, $p = 0.11$)。图 8 显示了对于所有功效可评估的受试者 (A) 和仅骨膜素高的受试者 (B) 在整个治疗期 (32 周) FEV1 的相对变化。在治疗 32 周时 lebrikizumab 的功效不减弱, 提示可能可以降低 lebrikizumab 的施用频率。

[0378] 我们还检查了 lebrikizumab 治疗对支气管扩张剂后 FEV1 的影响作为探索性结果和气道重塑的间接替代物。在四次 100mcg 舒喘灵吸入后测量在 20 周时支气管扩张剂后 FEV1 的变化。在研究药物施用前的基线, 平均支气管扩张剂后 FEV1 在安慰剂和 lebrikizumab 组中分别是 2.50 升 (0.71) 和 2.54 升 (0.73)。在两个组中这均对应于预测的 77.9%。总体安慰剂校正的支气管扩张剂后 FEV1 变化是 4.9% (95% CI 0.2% 到 9.6%; $p = 0.04$)。在骨膜素高的组中, lebrikizumab 治疗增加了 20 周时支气管扩张剂后 FEV1 (8.5%; 95% CI 1.1% 到 16%; $p = 0.03$)。在骨膜素低的组中不存在支气管扩张剂后 FEV1 改善的迹象 (1.8%; 95% CI -4.1 到 7.7; $p = 0.55$)。此外, 在骨膜素高的组中 lebrikizumab 增加了绝对支气管扩张剂后 FEV1 (170mls; 95% CI 10 到 320ml)。我们得出结论: 在如下得不到控制的哮喘患者中 lebrikizumab 改善了支气管扩张剂后 FEV1, 所述哮

喘患者具有增加的 Th2 气道炎症的迹象（骨膜素高）。基于此数据，lebrikizumab 可能具有减少哮喘中气道重塑的潜力。

[0379] 图 9 显示了在治疗 24 周时观察到的恶化率和重度恶化率。与安慰剂相比较，在 lebrikizumab 治疗的所有来者中恶化率减少了 37% (95% CI-22%, 67%, $p = 0.17$)，并且在骨膜素高的亚组中减少了 61% (95% CI-6%, 86%, $p = 0.07$)。重度恶化率对于所有来者减少了 51% (95% CI-33%, 82%, $p = 0.16$)，并且在骨膜素高的亚组中减少了 84% (95% CI 14%, 97%, $p = 0.03$)。我们还检查了在 32 周时（随访期结束，lebrikizumab 的最后剂量后 12 周）ITT 群体中的重度恶化率。如表 10 中所示，与安慰剂相比较，在 lebrikizumab 治疗的患者中在 32 周时所有患者的重度恶化率显著减少达 50% ($p = 0.03$)。重度恶化率在用 lebrikizumab 治疗的骨膜素高的患者中是最低的 (0.13)；然而，相对于安慰剂的该比率减少在此亚分析中未达到统计显著性。我们得出结论：在使用 ICS 得不到充分控制的患者中，Lebrikizumab 具有减少重度恶化的显著益处。在治疗前具有高骨膜素水平的患者中，见到重度恶化的最大减少。对于运转关于此终点的研究，为捕获事件进行的观察的持续时间是重要的；为在约 200 个受试者中检测至少 50% 减少，与 24 周相比较。可能需要 32 周的观察。

[0380] 表 10. 在第 32 周（最终剂量后 12 周）重度恶化率。

[0381]

组别*	Lebrikizumab, 重度恶化率	安慰剂, 重度恶化率	减少率 (95%CI) p-值
所有患者 (n=218)	0.17	0.34	50% (9, 72) $p=0.03$
骨膜素高 (n=110)	0.13	0.32	61% (-1, 85) $p=0.06$
骨膜素低 (n=101)	0.23	0.40	43% (-30, 75) $p=0.18$

[0382] Lebrikizumab 满足其主要终点且在减少重度恶化上是非常有效的。数据提示，患者的骨膜素状态可以预后恶化事件和较小程度地预后 FEV1。数据支持骨膜素水平对于确定 Lebrikizumab 治疗反应的预测价值。例如，使用 E4 测定法，具有血清或血浆骨膜素水平低于 20ng/ml 的那些患者较不可能从 lebrikizumab 获益，而具有血清或血浆骨膜素水平超过 20ng/ml 的那些患者更可能从 lebrikizumab 获益。此外，具有血清或血浆骨膜素水平超过 23ng/ml（如通过 E4 测定法测定的）的那些患者具有甚至更大的从 lebrikizumab 获益的可能性。

[0383] 患者报告的结果：ACQ 和微型 AQLQ 未在治疗组之间显示一致的差异。在几次访问后，ACDD 数据显示在良好控制的天数、哮喘症状、夜间觉醒和急救药品使用方面在治疗组之间平均得分的一些差异，所有都支持 lebrikizumab 治疗。对于 ACDD 数据中的所有终点（良好控制的天数、哮喘症状、夜间觉醒和急救药品使用），与所有受试者相比较，在骨膜素高的

受试者中存在更大的安慰剂校正的治疗效应；然而，在 12 周时治疗组之间的差异无一是在统计上显著的。

[0384] 肺功能：在 lebrikizumab 治疗的所有受试者中在大多数时间点、和在骨膜素高的 lebrikizumab 治疗的受试者中在所有时间点，观察到相对于基线的肺功能 (PEF) 改善。安慰剂治疗的受试者中在所有时间点相对于基线下降。

[0385] 肺炎症：对于 lebrikizumab 治疗的受试者和骨膜素高亚组中的受试者， FE_{NO} 在整个研究过程中下降（改善），而安慰剂治疗的受试者具有 FE_{NO} 增加（恶化）。在 12 周时 FE_{NO} 的变化百分比对于 lebrikizumab 治疗的受试者 ($n = 83$) 是 -20.1%，而对于安慰剂治疗的受试者 ($n = 86$) 则为 15% [$p < 0.01$]。在 12 周时 FE_{NO} 的变化百分比对于 lebrikizumab 治疗的受试者是 -24.2%，而对于安慰剂治疗的受试者 ($n = 44$) 则为 17.5% [$p < 0.01$]。在 12 周时在治疗组之间的差异是统计上显著的。参见图 10。在事后分析中，与安慰剂相比较，高基线 FE_{NO} 还与在改善 FEV1 方面的功效和较低的重度恶化率相关。然而，我们注意到，与骨膜素相比，基线 FE_{NO} 显示出在导入期中更大的患者内变异性 (19.8% 相对于 5.0%)。

[0386] 我们还检查了数据，以确定，与骨膜素高的患者相比，骨膜素低且 FE_{NO} 高的患者是否相同程度地从 lebrikizumab 治疗获益。在基线，我们观察到在 FE_{NO} 和血清骨膜素之间的适度关联性 ($r_s = 0.31, P < 0.001$; $N = 210$ 具有匹配数据)。使用中值截断，骨膜素和 FE_{NO} 状态一般但不完全重叠 (表 11)。对于表 11 中所示的数据，使用下文描述的 E4 测定法，骨膜素截断值是 25ng/mL；使用本领域已知的标准方法测量， $FENO$ 截断值是 21ppb。基于复合的骨膜素和 FE_{NO} 状态的 FEV1 评估揭示了，在 12 周时安慰剂调整的 lebrikizumab 效应在具有高水平的骨膜素和 FE_{NO} 的组中是最大的 (表 12)。相比之下，在骨膜素低/ FE_{NO} 高的组中观察到的治疗益处是微小的 (2.3%, $P = 0.73$)。因此， FE_{NO} 看起来不鉴定可以从 lebrikizumab 获益的骨膜素低患者子集。骨膜素和 FE_{NO} 对于 lebrikizumab 治疗反应的相对预测价值值得进一步研究。

[0387] 表 11. 根据基线骨膜素和 FE_{NO} 状态的患者分布。

[0388]

		FE _{NO} 状态	
		低	高
骨膜素状态	低	62	39
	高	42	67

[0389] $p = 0.0004$, Fisher 确切检验 (1 侧)

[0390] 表 12. 在 ITT 患者中在 12 周时 FEV_1 的相对于基线的平均相对变化。对于满足方案限定的入选标准的所有患者， FE_{NO} 或骨膜素的中值基线水平被用于定义表中描述的子集 (高 = 中值或更高；低 = 小于中值)。

[0391]

	所有受试者 (n=218)	骨膜素低 F _{ENO} 低 (n=62)	骨膜素低 F _{ENO} 高 (n=39)	骨膜素高 F _{ENO} 低 (n=42)	骨膜素高 F _{ENO} 高 (n=67)
Lebrikizumab	9.8%	2.6%	9.1%	8.6%	16.7%
安慰剂	4.3%	1.5%	6.8%	6.3%	5.4%
差异	5.5%	1.1%	2.3%	2.3%	11.2%
(95%CI)	(0.8%, 10.2%)	(-4.5%, 6.6%)	(-10.7%, 15.2%)	(-9.3%, 13.9%)	(1.9%, 20.5%)

[0392] lebrikizumab 的药物代谢动力学特征类似于在先前研究中已见到的。受试者的体重对 lebrikizumab 的药物代谢动力学具有影响。

[0393] 就上文治疗益处而言,评估了几个标记,加上或替代血清骨膜素水平,提供预测价值的能力。这些标记包括 CEA、IgE、TARC(CCL17) 和 MCP-4(CCL13)。

[0394] 另外,我们假设在骨膜素高的哮喘患者中过量的血清骨膜素是由于 IL-13 的效应。因此,我们试图在安慰剂和 lebrikizumab 治疗的具有得不到控制的哮喘的患者中评价 IL-13 对全身总骨膜素水平的相对贡献。对于这些实验,我们使用实施例 7 中所述的 **Elecsys®** 骨膜素测定法,测量了血清骨膜素。如图 18 和 19 中所示,我们发现,在基线时骨膜素低的大多数(>90%)患者在研究的两个臂中均仍是低的(图 18A),而用安慰剂治疗的骨膜素高的患者中 72%和用 lebrikizumab 治疗的骨膜素高的患者中 40%在第 12 周时保持骨膜素高的(图 18B)。我们得出结论:在尽管使用 ICS 但具有得不到控制的哮喘的成人中,与安慰剂相比较,骨膜素高的患者显示出在 lebrikizumab 治疗后血清骨膜素水平的显著减少,但骨膜素低的患者未显示出响应 lebrikizumab 的显著减少。这些发现提示,在得不到控制的哮喘患者中,过量血清骨膜素是由于 IL-13 的活性引起的,并且用 lebrikizumab 抑制 IL-13 可以降低血清骨膜素水平。

[0395] 四个 lebrikizumab 治疗的患者经历了严重不良事件(SAEs)(哮喘恶化[n=2]、社区获得性肺炎、和与汽车事故有关的创伤性气胸)。六个安慰剂患者经历了七个 SAEs(哮喘恶化[n=2]、头痛、在硬膜外术后脑脊髓液渗漏、shingles、带状疱疹、急性化脓性脑膜炎、和疼痛药物成瘾)。关于本试验的安全性结果,参见图 11。

[0396] AEs 的总体频率在两个治疗臂中是相似的(lebrikizumab, 74.5%;安慰剂, 78.6%),严重 AEs 的频率同样如此(lebrikizumab, 3.8%;安慰剂, 5.4%)(表 9)。肌肉骨骼事件对于 lebrikizumab 更常见(lebrikizumab, 13.2%;安慰剂, 5.4%;P=0.045)(表 9)。二十五个患者(11.5%)早期中断研究,包括 12 个安慰剂和 13 个 lebrikizumab 治疗的患者。

[0397] 表 9

[0398]

肌肉骨骼或结缔组织 病症的类型	报告至少一个事件的参与者的数目 (%)		
	安慰剂 (n=112)	Lebrikizumab (n=106)	全部 (n=218)
关节痛	2(1.8)	3 (2.8)	5 (2.3)
背痛	2(1.8)	1 (0.9)	3 (1.4)
四肢疼痛	1(0.9)	2 (1.9)	3 (1.4)
肌痛	0	2 (1.9)	2 (0.9)
颈痛	2(1.8)	0	2 (0.9)
关节炎	0	1 (0.9)	1 (0.5)
骨发育异常	1(0.9)	0	1 (0.5)
滑囊炎	0	1 (0.9)	1 (0.5)
肋软骨炎	0	1 (0.9)	1 (0.5)
外生骨疣	0	1 (0.9)	1 (0.5)
肋腹痛	0	1 (0.9)	1 (0.5)
肌肉骨骼胸痛	0	1 (0.9)	1 (0.5)
肌肉骨骼痛	0	1 (0.9)	1 (0.5)
颌疼痛	1(0.9)	0	1 (0.5)
腱炎	0	1 (0.9)	1 (0.5)
肌肉骨骼和结缔组织病症(总计)	6(5.4)	14 (13.2)	20 (9.2)

[0399] 实施例 3 - 哮喘患者研究 II (剂量范围研究)

[0400] 进行随机化、双盲、安慰剂对照的、四臂、剂量范围研究,就功效、安全性和耐受性而言,在没有使用吸入皮质类固醇的哮喘患者中,进一步评估 lebrikizumab 剂量和反应之间的关系。该试验设计的示意性图参见图 12。所选患者具有至少 15% 的支气管扩张剂反应和 $\geq$ 预测的 60% 和 $\leq$ 预测的 85% 的支气管扩张剂前 FEV₁, 在导入期中显示出疾病稳定性。先前用 ICS 管理的用于研究的所选患者在第一次研究访问 (访问 1) 前可能最少 30 天未接受 ICS。研究没有撤药期 (withdrawal period); 患者不为具有研究合格性此唯一目的而撤消皮质类固醇。

[0401] 在访问 1 时第一个研究相关程序开始约 2 周的导入期。在导入期 (访问 1-3) 中,评价了哮喘控制 (通过哮喘控制问卷 (ACQ) 得分测量) 和肺功能。患者的哮喘用皮肤点刺

试验以及有关生物标记（包括 IgE 和外周血嗜酸性粒细胞）进一步表征。使用 IgE 和嗜酸性粒细胞水平，基于患者的 IL-13 标签替代物状态，分类患者。在导入期结束时，合格的患者随机分配 (1:1:1:1)，以经由 SC 施用接受三个 lebrikizumab 剂量之一 (500mg、250mg 或 125mg) 或安慰剂。研究药物在 12 周治疗期过程中施用四次。在研究药物的最后剂量后，监控患者另 8 周的随访期。因此，在访问 1 后，大多数患者参与该研究的时间总共为约 22 周，在此时间过程中获得间歇性 PK 样品。除了在研究和随访期过程中获得另外的 PK 样品、以及在末次研究药物施用后 16 周获得另外的 PK 样品，还进行密集 PK 采样 (intensive PK sampling)，直至 70 个受试者完成了密集 PK 采样。因此，对于在密集 PK 采样组中的患者，研究参与时间在访问 1 后持续约 26 周。在整个研究中评价了安全性，并且规定了预定的治疗失败阈值，从而使得如果患者具有临床上显著的衰退，则他们可以去掉研究药物，以重新开始标准治疗。

[0402] 初始观察

[0403] 功效：对于所有 lebrikizumab 治疗的受试者，从基线到 12 周安慰剂校正的 FEV1 相对变化是 4.1% (95% CI: -0.4, 8.6% ; p = 0.075) 改善。在整个 12 周治疗期，在所有 lebrikizumab 治疗的受试者中估计的治疗失败风险比安慰剂治疗的患者低 75% (HR 0.25, 95% CI: 0.11, 0.78 ; p = 0.001)。这些结果被视为临床和统计上显著的。不存在剂量反应的证据（参见图 16）。

[0404] 安全性：除了注射部位反应外 (lebrikizumab 与安慰剂分别为 23% 对 6%)，在 lebrikizumab 治疗和安慰剂治疗的患者之间不存在临床上显著的失衡。

[0405] 实施例 4 - 骨膜素测定法 (E4 测定法)

[0406] 下文描述了非常灵敏的骨膜素捕获 ELISA 测定法（灵敏度 1.88ng/ml）。抗体以 nM 亲和力识别骨膜素同种型 1-4 (SEQ ID NOs: 5-8)。

[0407] 用磷酸盐缓冲盐水将 80uL 纯化的单克隆抗体 25D4 (包被抗体，由杂交瘤或 CHO 细胞系表达，SEQ ID NOs: 1 和 2) 稀释至 2ug/mL 的终浓度。用包被抗体 100 μL/孔在 2-8℃ 包被微量滴定板过夜，盖板。用 400 μL 洗涤缓冲液 (PBS/0.05% Tween (聚山梨醇酯 20)/孔 / 周期洗涤缓冲液，在室温将板洗涤三次。将 200 μL/孔封闭缓冲液加入板中。将盖上的板在振荡下在室温温育 1.5 小时。

[0408] 制备 rhuPeriostin 标准曲线 (rhuPeriostin 的标准原液 = rhuPeriostin 同种型 1, R&D 系统 #3548-F2, 5.25ng/ml，在测定稀释剂 (PBS/0.5% 牛血清白蛋白 (BSA)/0.05% 聚山梨醇酯 20/0.05% ProClin300, pH7.4) 中。标准曲线稀释剂 = PBS/0.5% BSA/0.05% 聚山梨醇酯 20, 0.05% ProClin300, pH 7.4。例如：

[0409]

标准浓度 (pg/mL)	程序
600	80 μ L rhuPeriostin, 在测定稀释剂中 5.25ng/ml + 620 μ L 标准曲线稀释剂
300	300 μ L 600 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 标准曲线稀释剂
150	300 μ L 300 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 标准曲线稀释剂
75	300 μ L 150 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 标准曲线稀释剂
37.5	300 μ L 75 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 标准曲线稀释剂
18.75	300 μ L 37.5 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 标准曲线稀释剂
9.38	300 μ L 18.75 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 标准曲线稀释剂
0	标准曲线稀释剂

[0410] 制备对照和样品。三个对照：掺料来源对照 (rhuPeriostin 全长, 同种型 1, R&D Systems#3548-F2), 正常基质对照 (正常人血清合并物, Bioreclamation, Inc.), 高基质对照 (正常人血清合并物, 加上 100ng/ml rhuPeriostin 掺料)。

[0411] 例如：

[0412] 10 μ L 对照 (或样品) 血清 + 1.99mL 样品 / 对照稀释剂 = 1:200

[0413] 300 μ L 1:200 稀释度 + 300 μ L 样品 / 对照稀释剂 = 1:400

[0414] 300 μ L 1:400 稀释度 + 300 μ L 样品 / 对照稀释剂 = 1:800

[0415] 300 μ L 1:800 稀释度 + 300 μ L 样品 / 对照稀释剂 = 1:1600

[0416] 每个稀释度一式一份运行。

[0417] 使用正常人血清合并物构建基质对照。使用未掺料的合并人血清作为正常对照。如上所述, 通过将 100ng/mL rhuPOSTN 掺入合并的血清内, 生成高对照。对于每块板上的每个对照的四个稀释度, 计算平均值、标准差 (SD) 和 % 变异系数 (CV, 以百分比表示)。CV 定量就重复试验的平均值而言在重复试验的测量值上的变异量级。% CV = $100 * (SD / \text{平均值})$ 。跨所有板, 评估这些平均浓度, 以确定板间精确度。此对照表随后用于定义正常和高对照通过 / 失败标准, 将可允许的变异设为每个对照的平均浓度的 $\pm 20\%$ 。

[0418] 用 400 μ L / 孔 / 周期洗涤缓冲液 (PBS/0.05% 聚山梨醇酯 20), 将板洗涤三次。将稀释的标准 (一式两份的孔)、对照 (所有四个稀释度) 和样品 (所有四个稀释度) 加入板中, 100 μ L / 孔。将盖上的板在振荡下在室温温育 2 小时。用测定稀释剂将 80 μ L 检测 MAb 原液 I (生物素化的鼠抗人骨膜素, MAb 23B9, 在测定稀释剂中 7.5 μ g/ml) 稀释至 12mL, = 50ng/mL。用 400 μ L / 孔 / 周期洗涤缓冲液将板洗涤四次。将稀释的检测 MAb 加入板中, 100 μ L / 孔。将盖上的板在振荡下在室温温育一小时。用测定稀释剂, 将

在测定稀释剂中 1:80 稀释的 80 μ L 链霉亲和素 -HRP 原液 I (AMDEX 链霉亲和素 -HRP, GE Healthcare#RPN4401, 约 1mg/ml), 稀释至 12mL, = 1:12k。用 400 μ L/ 孔 / 周期洗涤缓冲液, 将板洗涤四次。将稀释的链霉亲和素 -HRP 加入板中, 100 μ L/ 孔。将盖上的板在振荡下在室温温育 45 分钟。使 Kirkegaard 和 Perry (KPL) 两步 TMB 试剂达到室温; 不组合。用 400 μ L/ 孔 / 周期洗涤缓冲液, 将板洗涤四次。混合等体积的 KPL TMB 底物组分且加入板中, 100 μ L/ 孔。将板在振荡下在室温温育 20 分钟。将 1M 磷酸加入板中, 100 μ L/ 孔。使用 450nm 阅读波长和 650nm 参考波长, 阅读板。此测定法或类似于上文测定法的测定法用于实施例 3 中所述的临床试验中。

[0419] 使用类似的抗体捕获形式, 对不同哮喘患者样品, 使用针对同种型 1 (非总骨膜素) 的抗体进行了骨膜素测定法。初步研究指示, 对于作为 TH2 炎症的标记而言, 骨膜素同种型 1 不如总骨膜素强。

[0420] 实施例 5 - 哮喘患者观察研究 (BOBCAT)

[0421] 我们先前基于贮存于在 University of California, San Francisco (UCSF) 的气道组织库中的生物样品的研究, 报道了一些生物标记发现, 所述生物样品在为研究目的而对健康和哮喘志愿者进行的支气管镜检查过程中收集。参见例如国际公开号 W02009/124090。为了在大的中度至重度哮喘群组中验证这些发现并跨多个临床地点对其进行归纳, 针对在高剂量 ICS (>1000 μ g/ 天氟替卡松 DPI 或等价物) 时得不到控制的中度至重度哮喘 (ACQ>1.50 和 FEV1 在 40-80% 之间), 我们进行了多中心 3 次访问观察研究 (“BOBCAT”), 收集诱导的痰、支气管内活检组织和外周血。我们从 59 个受试者中获得匹配的血液和气道数据 (参见图 13 中研究概述)。研究的细节在下文提供。

[0422] BOBCAT (在皮质类固醇难治性哮喘中生物标记的支气管镜检探索性调查研究) 是在美国、加拿大和英国进行的多中心研究, 以在约 60 个中度至重度哮喘患者中收集匹配的气道和血液样品。入选标准要求: 中度至重度哮喘的诊断 (通过在预测的 40-80% 之间的 FEV1 以及在过去 5 年内气道阻塞用短效支气管扩张剂 >12% 的可逆性或乙酰甲胆碱敏感性 (PC20) <8mg/ml 的证据证实), 其中, 尽管使用高剂量 ICS (>1000 μ g 氟替卡松或等价物 / 天) 的稳定剂量方案 (>6 周) 连同或不连同长效 β 激动剂, 所述哮喘得不到控制 (定义为: 在前一年中至少 2 次恶化、或哮喘控制问卷 (ACQ) >1.50 的得分 (Juniper, E. F., 等人, Respir Med 100, 616-621 (2006))。允许的并行药物治疗还包括白三烯受体拮抗剂和口服皮质类固醇。BOBCAT 研究方案在图 13 中描述。

[0423] 如先前所述, 实施 FE_{N0}、支气管镜检查、BAL、诱导的痰和用于嗜酸性粒细胞计数的免疫组织化学 (Woodruff, P. G., 等人, Am J Respir Crit Care Med 180, 388-395 (2009); Boushey, H. A., 等人, N Engl J Med 352, 1519-1528 (2005); Brightling, C. E., 等人, Thorax 58, 528-532 (2003); Lemiere, 等人, J Allergy Clin Immunol 118, 1033-1039 (2006))。所有研究方案都得到有关机构评审委员会批准, 并且在入选前从所有受试者获得知情同意书。患者人口统计学和肺功能数据总结于下表 5 中。

[0424] 表 5. BOBCAT 人口统计学和临床数据。

[0425]

	UCSF 健康 对照	UCSF 群组 1 轻度至中 度哮喘, 无 ICS	UCSF 群组 2 中度哮喘, 使用 ICS	UCSF 群组 3 中度哮喘, 使用 ICS	Leicester 健康对照	Leicester 中度至重度 哮喘, 使用 ICS	BOBCA T 中度至重 度哮喘, 使用 ICS
受试者数目	13	15	24	23	10	27	67
年龄	35 ± 11	35 ± 14	36 ± 11	43 ± 14	33 ± 18	36 ± 11	46 ± 12
性别 (男:女)	7:6	8:7	7:17	10:13	4:6	18:9	32:35
FEV1 (%预测的)	99 ± 15	85 ± 12	84 ± 14	75 ± 19	99 ± 12	79 ± 18	60 ± 11
ACQ 得分	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.7 ± 0.8
每日 ICS 剂量 (µg FPI 当量*)	0	0	250	N.D.	0	500 (50-1500)**	≥ 1000***

[0426] N. D., 未测定

[0427] 值作为平均值 ± SD 或中值 (范围) 呈现

[0428] *FPI, 二丙酸氟替卡松。氟替卡松:布地奈德的当量比 = 1:1.6

[0429] ** 在这些中, 6 个受试者还使用全身皮质类固醇, 接受 4-20mg 泼尼松龙当量 / 天

[0430] *** 在这些中, 7 个受试者还使用全身皮质类固醇, 接受 5-40mg 泼尼松龙当量 / 天

[0431] 我们使用了与先前研究一致的预定截断值: 对于痰嗜酸性粒细胞, 3% (Green, R. H., 等人, Lancet 360, 1715-1721 (2002); Haldar, P., 等人, N Engl J Med 360, 973-984 (2009)), 和 22 个嗜酸性粒细胞 / mm² 总活检面积 (Miranda, C., A. 等人, J Allergy Clin Immunol 113, 101-108 (2004); Silkoff, P. E., 等人, J Allergy Clin Immunol 116, 1249-1255 (2005))。血清骨膜素水平在跨高达 5 周的三次访问之间在受试者个体中是非常稳定的 (数据未显示)。如通过痰或组织嗜酸性粒细胞测量所定义的, 与“嗜酸性粒细胞低的”受试者相比较, 平均骨膜素水平在“嗜酸性粒细胞高的”受试者中显著更高 (数据未显示)。通过复合得分 (0 代表痰和组织无一嗜酸性粒细胞增多, 1 代表痰和组织中的一个嗜酸性粒细胞增多, 或 2 代表痰和组织均嗜酸性粒细胞增多) 分层的受试者显示出: 随着嗜酸性粒细胞得分增加, 血清骨膜素增加的高度显著趋势 (数据未显示)。此外, 使用上文描述的 E4 测定法, 所有群组中的非嗜酸性粒细胞哮喘均一致地具有低于 25ng/ml 的血清骨膜素水平。使用 25ng/ml 血清骨膜素作为截断值, 在 BOBCAT 中“嗜酸性粒细胞低的”和“嗜酸性粒细胞高的”受试者被有效地区分, 具有 93% 的阳性预测值 (表 6)。组织嗜中性粒细胞计数与组织嗜酸性粒细胞和血清骨膜素水平正相关 (数据未显示)。总之, 这些数据显示, 血清骨膜素是中度至重度哮喘患者中尽管类固醇治疗但持续气道嗜酸性粒细胞增多的全身性生物标记。

[0432] 表 6. 在 BOBCAT 中血清骨膜素 (N = 57) 和 FE_{N0} (N = 56) 的截断值相对于复合气道嗜酸性粒细胞状态的列联表。

[0433]

测试		血清骨膜素 ≥ 25 ng/ml		FE _{NO} ≥ 35 ppb	
气道表型		嗜酸性粒细胞低	嗜酸性粒细胞高	嗜酸性粒细胞低	嗜酸性粒细胞高
测试	-	11	19	12	26
结果	+	2	25	1	17
灵敏度		0.57		0.40	
特异性		0.85		0.92	
PPV		0.93		0.94	
NPV		0.37		0.32	
p 值		0.011		0.042	

[0434] 嗜酸性粒细胞低 :痰嗜酸性粒细胞 $<3\%$ 且活检组织嗜酸性粒细胞 $<22/\text{mm}^2$

[0435] 嗜酸性粒细胞高 :痰嗜酸性粒细胞 $>3\%$ 或活检组织嗜酸性粒细胞 $>22/\text{mm}^2$

[0436] PPV, 阳性预测值

[0437] NPV, 阴性预测值

[0438] p 值是 Fisher 确切检验 (2 尾)

[0439] 血清骨膜素与呼出气一氧化氮分数 (FE_{NO})、外周血嗜酸性粒细胞、血清 IgE 和血清 YKL-40 作为哮喘生物标记的比较

[0440] 近年来,哮喘严重性和气道炎症的其他非侵袭性生物标记已得到描述。四种特别有意义的标记是:呼出气一氧化氮分数 (FE_{NO})——由发炎的支气管粘膜中酶 iNOS (诱导型一氧化氮合酶) 的作用产生的呼出气体 (Pavord, I. D. 等人, J Asthma 45, 523-531 (2008)); 外周血嗜酸性粒细胞; 血清 IgE; 和 YKL-40——在外周血中可检测的壳多糖酶样蛋白质 (Chupp, G. L., 等人, N Engl J Med 357, 2016-2027 (2007))。在我们的哮喘群组中,我们测量了这些生物标记,并且将值与气道嗜酸性粒细胞增多和其他生物标记比较。

[0441] 骨膜素、FE_{NO}、IgE 和血清嗜酸性粒细胞在 BOBCAT 中都不与 ACQ、FEV1、年龄、性别或体重指数 (BMI) 中显著相关。在 BOBCAT 中,FE_{NO} 水平,如同血清骨膜素水平,跨多次访问一般保持一致,但是 FE_{NO} 在更高水平时变化更大 (数据未显示),而血液嗜酸性粒细胞的变异性大相当多 (在访问 1 和 3 之间血清骨膜素的 $r^2 = 0.65$,而在访问 1 和 3 之间血液嗜酸性粒细胞的 $r^2 = 0.18$,未显示)。如图 14A-F 中所示,在 BOBCAT 中,在访问 1、2 和 3 时血清骨膜素水平彼此高度相关且与跨所有访问的平均骨膜素水平高度相关。

[0442] 如表 6 中所示基于痰和活检组织嗜酸性粒细胞状态进行分层,与非嗜酸性粒细胞哮喘相比较,FE_{NO} 水平在嗜酸性粒细胞哮喘中显著更高。然而,虽然 FE_{NO} 和骨膜素都具有高度特异性,对于“嗜酸性粒细胞低的”受试者显示出一致的更低值,但 FE_{NO} 检测到更少的具有组织嗜酸性粒细胞增多的受试者,并且根据所用的每一个度量,在“嗜酸性粒细胞低的”和“嗜酸性粒细胞高的”受试者之间显示出更大的重叠 (图 15A-D)。我们拟合逻辑回归模型,并入年龄、性别、BMI、血液嗜酸性粒细胞、血清 IgE、FE_{NO} 和血清骨膜素 (表 7); 我们发现骨膜素是复合气道嗜酸性粒细胞状态的最显著单一预测物 ($p = 0.007$)。

[0443] 表 7. 在 BOBCAT 研究中 ($N = 59$) 生物标记相对于嗜酸性粒细胞状态的逻辑回归模型。

[0444]

	估计值	标准误	z 得分	p- 值
年龄	-0.0396	0.039	-1.015	0.31
性别（男）	-0.2031	0.889	-0.229	0.82
体重指数	-0.1004	0.066	-1.527	0.13
血液嗜酸性粒细胞	1.7482	3.621	0.483	0.63
血清 IgE	-0.0002	0.001	-0.100	0.92
FE _{NO}	0.0476	0.038	1.238	0.22
血清骨膜素	0.2491	0.092	2.719	0.007

[0445] 使用如先前描述的 35ppb 的截断值 (Dweik, R. A., 等人, Am J Respir Crit Care Med 181,1033-1041(2010)), FE_{NO}区分“嗜酸性粒细胞低的”和“嗜酸性粒细胞高的”哮喘患者,与 25ng/ml 的骨膜素截断值具有可比的特异性但较低的灵敏度(表 6)。外周血嗜酸性粒细胞在“嗜酸性粒细胞高的”哮喘患者中趋于更高,但未达到统计显著性(数据未显示)。为了评价在连续基础上每种标记的相对性能,我们执行了骨膜素、FE_{NO}、血液嗜酸性粒细胞和血清 IgE 相对于复合气道嗜酸性粒细胞状态的受试者工作特征(ROC)分析,并且发现骨膜素与 FENO 表现有利(分别为 0.84 和 0.79 的 AUCs),而血液嗜酸性粒细胞和血清 IgE 表现实质性较差(图 15E)。

[0446] YKL-40 在任何群组中均未显示与骨膜素显著关联、也未显示出与气道或外周嗜酸性粒细胞增多的任何量度显著关联(数据未显示)。与呼吸和血液生物标记水平的这些发现一致,我们发现:骨膜素和 NOS2(编码 iNOS 的基因)的支气管上皮基因表达水平彼此显著相关、并与 IL-13 和 IL-5 的支气管粘膜表达水平显著相关,而 CHI3L1(编码 YKL-40 的基因)的表达与骨膜素、IL-13 和 IL-5 都不相关(表 8)。总之,这些数据提示,在跨一系列严重度和类固醇治疗的哮喘患者中,外周血骨膜素是比 FE_{NO}、血液嗜酸性粒细胞、血清 IgE 或 YKL-40 更可靠的气道 Th2/嗜酸性粒细胞炎症的指示剂。

[0447] 表 8. 编码生物标记的基因的表达水平和 Th2 细胞因子之间的相关性矩阵

[0448]

	POSTN_210809_s_at	NOS2_210037_s_at	CHI3L1_209395_at
IL-13	0.42(0.014)	0.37(0.029)	-0.23(0.198)
IL-5	0.42(0.013)	0.34(0.048)	-0.13(0.450)
POSTN_210809_s_at	-	0.72(<0.001)	-0.24(0.136)
NOS2_210037_s_at	-	-	-0.34(0.027)

[0449] 值作为 Spearman 秩相关性给出 (p 值)

[0450] IL-13 和 IL-5 表达水平通过 qPCR 由支气管内活检组织测定

[0451] 骨膜素 (POSTN_210809_s_at)、NOS2 (NOS2_210037_s_at) 和 CHI3L1 (CHI3L1_209395_at), 编码 YKL-40 的基因, 如 Truyen, E., L. 等人 Thorax 61, 202-208 (2006) 中描述的自支气管上皮微阵列确定。

[0452] 讨论

[0453] 虽然哮喘传统上被视为是由 Th2 驱动的炎症介导的变应性疾病 (1), 但出现病理生理异质性的证据 (3-8)。我们近期证实, 在未使用皮质类固醇的轻度至中度哮喘患者中, 仅约一半受试者在其气道中具有 Th2 炎症的迹象。“Th2 高的”子集通过升高的变应性标记、嗜酸性粒细胞气道炎症、支气管纤维化和对 ICS 的敏感性而被区别开 (13)。因为 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 的拮抗剂作为哮喘疗法正处在活跃开发中 (35-37), 所以鉴定最可能获益于这些靶向疗法的哮喘患者将变得重要。虽然支气管镜检查、诱导痰取样和呼出气体的测量使得可以对气道中的炎症途径进行直接表征, 但这些模式可能是耗时、昂贵、侵入性的和 / 或在一级护理环境中无法广泛获得。此外, 测定程序未在配备有分析气道样品的装置的相对少中心进行过标准化, 这使得在多中心临床试验中的实施成为挑战。因此, 为了选择在其气道中具有 Th2 驱动的嗜酸性粒细胞炎症迹象的患者用于靶向治疗, 有利的是: 开发在可及的测定平台上可广泛使用的、Th2 驱动的嗜酸性粒细胞气道炎症的非侵入性生物标记。为了解决此需要, 我们已使用哮喘气道样品中的基因表达谱分析, 以使得可以发现和表征 Th2 驱动的嗜酸性粒细胞气道炎症的临床上有用的外周生物标记。

[0454] 骨膜素是与纤维化相关的分泌的基质细胞蛋白质, 其表达在培养的支气管上皮细胞 (21, 38) 和支气管成纤维细胞 (39) 中被重组 IL-4 和 IL-13 上调。在哮喘小鼠模型 (40)、哮喘恒河猴模型 (未公布的数据)、以及人哮喘患者的支气管上皮细胞 (21) 和支气管上皮下层 (39) 中, 它在体内以升高水平表达。在人哮喘患者中, 骨膜素表达水平与网状基底膜厚度 (上皮纤维化的指标) 关联 (23)。骨膜素也在与阿司匹林敏感性哮喘相关的鼻息肉 (41, 42) 中和具有嗜酸性粒细胞食管炎的患者食管上皮 (43) 中以 IL-13 依赖性方式过表达, 并且因此可能在 Th2 驱动的疾病过程中在嗜酸性粒细胞的组织浸润中起作用 (44)。升高的骨膜素表达也已在几个类型的上皮衍生的癌症中观察到 (45-49), 并且升高水平的可溶性骨膜素已在一些癌症患者的血清中报道 (24-26, 45, 46)。迄今仍不明了, 骨膜素在哮喘或其他状况中的局部和全身表达是由于 IL-13 的直接还是间接作用, 而这将通过比较在 IL-13 治疗性阻断前和后骨膜素表达的评价得到最佳地解决。

[0455] 骨膜素在非哮喘受试者的外周血中可以以相当大的全身浓度检测到, 但在不使用 ICS 治疗的哮喘患者子集的外周血中骨膜素是升高的。骨膜素在支气管上皮中的表达通过 ICS 治疗被抑制 (13, 21), 并且与使用 ICS 得不到控制的哮喘患者相比较, 在用 ICS 时得到相对良好控制的中度哮喘患者中骨膜素的全身水平一般更低, 但是具有相当大的异质性。考虑到 ICS 主要在气道中局部发挥其作用、并且全身骨膜素水平 (如我们先前证实的, 参见例如国际专利公开号 W02009/124090) 在经历 ICS 治疗后的哮喘患者中被抑制, 可以得出结论: 哮喘患者中全身骨膜素的实质性部分来源于气道, 并且因此全身骨膜素水平的 10-20% 差异就气道炎症而言是临床上有意义的。

[0456] FE_{NO} 与气道炎症相关, 并且预测不同严重性的哮喘患者中的 ICS 反应性 (11, 34)。

然而, FE_{NO} 水平不能可靠地反映出在重度、类固醇依赖性哮喘中的气道嗜酸性粒细胞增多, 并且就 FE_{NO} 而言在痰和粘膜嗜酸性粒细胞定量之间存在不一致 (29, 50)。滴定 ICS 治疗以抑制痰嗜酸性粒细胞计数可以减少重度哮喘恶化率 (12), 但滴定 ICS 治疗至 FE_{NO} 水平则不能 (51)。血清 YKL-40 已描述为哮喘气道炎症的标记, 但它的水平与 Th2 炎症的量度例如 IgE 或嗜酸性粒细胞不相关 (33)。因此, 在本研究中, 我们发现, 骨膜素和 NOS2 而不是 CHI3L1 的支气管上皮基因表达水平与支气管 IL-13 和 IL-5 表达相关 (表 8)。虽然我们观察到在支气管或全身嗜酸性粒细胞增多和血清骨膜素水平之间相对强的正相关, 但在嗜酸性粒细胞增多和 FE_{NO} 之间的相关性较弱, 并且我们未在研究的哮喘患者中观察到在血清 YKL-40 和嗜酸性粒细胞炎症之间的相关性。取决于变应原暴露、恶化和类固醇治疗, 痰和血液嗜酸性粒细胞计数和 FE_{NO} 发生显著的暂时变异性 (50, 52, 53)。虽然循环骨膜素的半衰期目前未知, 但可能地, 如果骨膜素在血液中是相对长寿的, 则全身骨膜素水平可以反映经过一个长时间段整合的总气道 Th2 炎症。与此可能性一致, 我们观察到在高达 5 周的过程中在 3 次测量中血清骨膜素相对微小的受试者内变异性 (数据未显示)。未来研究应指向比较性评价经过更长时间段在血清骨膜素、气道嗜酸性粒细胞增多、 FE_{NO} 和 Th2 炎症的其他候选生物标记中的纵向受试者内变异性。

[0457] 在对症治疗 (例如 β -拮抗剂) 上得不到良好控制的支气管哮喘的护理标准是吸入皮质类固醇 (ICS)。对于在气道中具有升高水平的 IL-13 的轻度至中度哮喘患者 (19) 和在食管组织中具有升高表达水平的 IL-13 的嗜酸性粒细胞性食管炎患者 (43), ICS 治疗实质性地减少在受累组织中 IL-13 及 IL-13 诱导的基因的水平。在 ICS 治疗一周后的哮喘患者的气道上皮和培养的支气管上皮细胞中, 我们已证实, 皮质类固醇治疗实质性地降低 IL-13 诱导的 Th2 标签基因的表达水平 (13, 21)。此下调可能是 ICS 介导的 IL-13 水平减少、ICS 介导的靶标基因表达减少或两者的组合的结果。与在轻度、未使用过 ICS 的哮喘患者中所可见到的相比 (19), 在对 ICS 治疗具有难治性的重度哮喘患者中发现了类似比例的受试者 (约 40%) 具有可检测的痰 IL-13 水平, 这与我们已描述过的具有支气管上皮 Th2 标签的受试者的比例相当 (13)。类似观察已报道, 在类固醇难治性哮喘患者中 BAL 中的 IL-4 和 IL-5 表达细胞 (54) 和支气管活检组织和痰中的嗜酸性粒细胞炎症 (8) 的持续性。这些观察提示, 尽管 Th2 驱动的嗜酸性粒细胞炎症在中度哮喘患者中被 ICS 治疗所抑制, 但它在通过类固醇治疗得不到完全控制的重度哮喘患者中集中重现。通过对 ICS 处方治疗的不完全遵守可以引起另外的并发症, 其可能是一些重度哮喘患者中不良控制的根本原因。因此, 未来研究应指向: 在得到控制和得不到控制的哮喘患者中, 在 ICS 治疗状态、ICS 剂量、固有类固醇敏感性和 ICS 治疗遵守性的情况中, 评价血液骨膜素水平。

[0458] 目前, 有许多生物疗法在临床开发中靶向 IL-13 和在哮喘中驱动 Th2 炎症的有关因子 (35-37), 包括本文描述的那些。这些治疗被靶向具有有关分子病理学的患者是重要的, 否则重要的治疗效应可能会被低估; 抗 IL5 疗法的研究突出了这一点 (14, 15, 55)。我们的发现说明, 大约一半的未使用过类固醇的轻度至中度哮喘患者可以在其气道中显示出 Th2 途径的活性, 并且相似比例的中度至重度、类固醇难治性哮喘患者显示出这个途径的活性。因此, 如本文描述的, 鉴定可能在其气道中具有 Th2 驱动的炎症的哮喘患者的生物标记可以帮助鉴定和选择最可能响应这些实验靶向疗法的患者。

[0459] 参考文献 (实施例 5)

- [0460] 1. Galli, S. J., M. Tsai and A. M. Piliponsky, The development of allergic inflammation. *Nature* 454, 445-454 (2008)
- [0461] 2. Haldar, P. and I. D. Pavord, Noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 119, 1043-1052; quiz 1053-1044 (2007)
- [0462] 3. Anderson, G. P., Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. *Lancet* 372, 1107-1119 (2008)
- [0463] 4. Moore, W. C., D. A. Meyers, S. E. Wenzel, W. G. Teague, H. Li, X. Li, R. D'Agostino, Jr., M. Castro, D. Curran-Everett, A. M. Fitzpatrick, B. Gaston, N. N. Jarjour, R. Sorkness, W. J. Calhoun, K. F. Chung, S. A. Comhair, R. A. Dweik, E. Israel, S. P. Peters, W. W. Busse, S. C. Erzurum and E. R. Bleecker, Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med* 181, 315-323 (2010)
- [0464] 5. Siddiqui, S. and C. E. Brightling, Airways disease: phenotyping heterogeneity using measures of airway inflammation. *Allergy Asthma Clin Immunol* 3, 60-69 (2007)
- [0465] 6. Simpson, J. L., R. Scott, M. J. Boyle and P. G. Gibson, Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. *Respirology* 11, 54-61 (2006)
- [0466] 7. Wardlaw, A. J., M. Silverman, R. Siva, I. D. Pavord and R. Green, Multi-dimensional phenotyping: towards a new taxonomy for airway disease. *Clin Exp Allergy* 35, 1254-1262 (2005)
- [0467] 8. Wenzel, S. E., S. J. Szefler, D. Y. Leung, S. I. Sloan, M. D. Rex and R. J. Martin, Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med* 156, 737-743 (1997)
- [0468] 9. Fahy, J. V., Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma: insights from clinical studies. *Proc Am Thorac Soc* 6, 256-259 (2009)
- [0469] 10. Fahy, J. V., Identifying clinical phenotypes of asthma: steps in the right direction. *Am J Respir Crit Care Med* 181, 296-297 (2010)
- [0470] 11. Cowan, D. C., J. O. Cowan, R. Palmay, A. Williamson and D. R. Taylor, Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma. *Thorax* 65, 384-390 (2010)
- [0471] 12. Green, R. H., C. E. Brightling, S. McKenna, B. Hargadon, D. Parker, P. Bradding, A. J. Wardlaw and I. D. Pavord, Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 360, 1715-1721 (2002)
- [0472] 13. Woodruff, P. G., B. Modrek, D. F. Choy, G. Jia, A. R. Abbas, A. Ellwanger, L. L. Koth, J. R. Arron and J. V. Fahy, T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 180, 388-395 (2009)
- [0473] 14. Haldar, P., C. E. Brightling, B. Hargadon, S. Gupta, W. Monteiro, A. Sousa,

- R. P. Marshall, P. Bradding, R. H. Green, A. J. Wardlaw and I. D. Pavord, Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med* 360,973-984(2009)
- [0474] 15. Nair, P., M. M. Pizzichini, M. Kjarsgaard, M. D. Inman, A. Efthimiadis, E. Pizzichini, F. E. Hargreave and P. M. O'Byrne, Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. *N Engl J Med* 360, 985-993(2009)
- [0475] 16. Hershey, G. K., IL-13 receptors and signaling pathways:an evolving web. *J Allergy Clin Immunol* 111,677-690 ;quiz 691(2003)
- [0476] 17. Berry, M. A., D. Parker, N. Neale, L. Woodman, A. Morgan, P. Monk, P. Bradding, A. J. Wardlaw, I. D. Pavord and C. E. Brightling, Sputum and bronchial submucosal IL-13 expression in asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 114,1106-1109(2004)
- [0477] 18. Humbert, M., S. R. Durham, P. Kimmitt, N. Powell, B. Assoufi, R. Pfister, G. Menz, A. B. Kay and C. J. Corrigan, Elevated expression of messenger ribonucleic acid encoding IL-13 in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 99,657-665(1997)
- [0478] 19. Saha, S. K., M. A. Berry, D. Parker, S. Siddiqui, A. Morgan, R. May, P. Monk, P. Bradding, A. J. Wardlaw, I. D. Pavord and C. E. Brightling, Increased sputum and bronchial biopsy IL-13 expression in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 121, 685-691(2008)
- [0479] 20. Truyen, E., L. Coteur, E. Dilissen, L. Overbergh, L. J. Dupont, J. L. Ceuppens and D. M. Bullens, Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. *Thorax* 61,202-208(2006)
- [0480] 21. Woodruff, P. G., H. A. Boushey, G. M. Dolganov, C. S. Barker, Y. H. Yang, S. Donnelly, A. Ellwanger, S. S. Sidhu, T. P. Dao-Pick, C. Pantoja, D. J. Erle, K. R. Yamamoto and J. V. Fahy, Genome-wide profiling identifies epithelial cell genes associated with asthma and with treatment response to corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104,15858-15863(2007)
- [0481] 22. Winpenny, J. P., L. L. Marsey and D. W. Sexton, The CLCA gene family:putative therapeutic target for respiratory diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets* 8,146-160(2009)
- [0482] 23. Sidhu, S. S., S. Yuan, A. L. Innes, S. Kerr, P. G. Woodruff, L. Hou, S. J. Muller and J. V. Fahy, Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF- β activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2010)
- [0483] 24. Sasaki, H., M. Dai, D. Auclair, I. Fukai, M. Kiriya, Y. Yamakawa, Y. Fujii and L. B. Chen, Serum level of the periostin, a homologue of an insect cell adhesion molecule, as a prognostic marker in nonsmall cell lung carcinomas. *Cancer* 92,843-848(2001)

- [0484] 25. Sasaki, H. , K. M. Lo, L. B. Chen, D. Auclair, Y. Nakashima, S. Moriyama, I. Fukai, C. Tam, M. Loda and Y. Fujii, Expression of Periostin, homologous with an insect cell adhesion molecule, as a prognostic marker in non-small cell lung cancers. *Jpn J Cancer Res* 92,869-873(2001)
- [0485] 26. Sasaki, H. , C. Y. Yu, M. Dai, C. Tam, M. Loda, D. Auclair, L. B. Chen and A. Elias, Elevated serum periostin levels in patients with bone metastases from breast but not lung cancer. *Breast Cancer Res Treat* 77,245-252(2003)
- [0486] 27. Gibson, P. G. , Inflammatory phenotypes in adult asthma:clinical applications. *Clin Respir J* 3,198-206(2009)
- [0487] 28. Chanez, P. , S. E. Wenzel, G. P. Anderson, J. M. Anto, E. H. Bel, L. P. Boulet, C. E. Brightling, W. W. Busse, M. Castro, B. Dahlen, S. E. Dahlen, L. M. Fabbri, S. T. Holgate, M. Humbert, M. Gaga, G. F. Joos, B. Levy, K. F. Rabe, P. J. Sterk, S. J. Wilson and I. Vachier, Severe asthma in adults:what are the important questions ? *J Allergy Clin Immunol* 119,1337-1348(2007)
- [0488] 29. Lemiere, C. , P. Ernst, R. Olivenstein, Y. Yamauchi, K. Govindaraju, M. S. Ludwig, J. G. Martin and Q. Hamid, Airway inflammation assessed by invasive and noninvasive means in severe asthma:eosinophilic and noneosinophilic phenotypes. *J Allergy Clin Immunol* 118,1033-1039(2006) 30. Miranda, C. , A. Busacker, S. Balzar, J. Trudeau and S. E. Wenzel, Distinguishing severe asthma phenotypes:role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 113, 101-108(2004) 31. Silkoff, P. E. , A. M. Lent, A. A. Busacker, R. K. Katial, S. Balzar, M. Strand and S. E. Wenzel, Exhaled nitric oxide identifies the persistent eosinophilic phenotype in severe refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* 116, 1249-1255(2005)
- [0489] 32. Pavord, I. D. and D. Shaw, The use of exhaled nitric oxide in the management of asthma. *J Asthma* 45,523-531(2008)
- [0490] 33. Chupp, G. L. , C. G. Lee, N. Jarjour, Y. M. Shim, C. T. Holm, S. He, J. D. Dziura, J. Reed, A. J. Coyle, P. Kiener, M. Cullen, M. Grandsaigne, M. C. Dombret, M. Aubier, M. Pretolani and J. A. Elias, A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. *N Engl J Med* 357,2016-2027(2007)
- [0491] 34. Dweik, R. A. , R. L. Sorkness, S. Wenzel, J. Hammel, D. Curran-Everett, S. A. Comhair, E. Bleecker, W. Busse, W. J. Calhoun, M. Castro, K. F. Chung, E. Israel, N. Jarjour, W. Moore, S. Peters, G. Teague, B. Gaston and S. C. Erzurum, Use of exhaled nitric oxide measurement to identify a reactive, at-risk phenotype among patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 181,1033-1041(2010)
- [0492] 35. Barnes, P. J. , The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest* 118,3546-3556(2008)
- [0493] 36. Holgate, S. T. and R. Polosa, Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* 8,218-230(2008)

- [0494] 37. Walsh, G. M. , Emerging drugs for asthma. *Expert Opin Emerg Drugs* 13, 643-653(2008)
- [0495] 38. Yuyama, N. , D. E. Davies, M. Akaiwa, K. Matsui, Y. Hamasaki, Y. Suminami, N. L. Yoshida, M. Maeda, A. Pandit, J. L. Lordan, Y. Kamogawa, K. Arima, F. Nagumo, M. Sugimachi, A. Berger, I. Richards, S. L. Roberds, T. Yamashita, F. Kishi, H. Kato, K. Arai, K. Ohshima, J. Tadano, N. Hamasaki, S. Miyatake, Y. Sugita, S. T. Holgate and K. Izuhara, Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. *Cytokine* 19, 287-296(2002)
- [0496] 39. Takayama, G. , K. Arima, T. Kanaji, S. Toda, H. Tanaka, S. Shoji, A. N. McKenzie, H. Nagai, T. Hotokebuchi and K. Izuhara, Periostin: a novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *J Allergy Clin Immunol* 118, 98-104(2006)
- [0497] 40. Hayashi, N. , T. Yoshimoto, K. Izuhara, K. Matsui, T. Tanaka and K. Nakanishi, T helper 1 cells stimulated with ovalbumin and IL-18 induce airway hyperresponsiveness and lung fibrosis by IFN-gamma and IL-13 production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 14765-14770(2007)
- [0498] 41. Plager, D. A. , J. C. Kahl, Y. W. Asmann, A. E. Nilson, J. F. Pallanch, O. Friedman and H. Kita, Gene transcription changes in asthmatic chronic rhinosinusitis with nasal polyps and comparison to those in atopic dermatitis. *PLoS One* 5, e11450(2010)
- [0499] 42. Stankovic, K. M. , H. Goldsztein, D. D. Reh, M. P. Platt and R. Metson, Gene expression profiling of nasal polyps associated with chronic sinusitis and aspirin-sensitive asthma. *Laryngoscope* 118, 881-889(2008)
- [0500] 43. Blanchard, C. , M. K. Mingler, M. Vicario, J. P. Abonia, Y. Y. Wu, T. X. Lu, M. H. Collins, P. E. Putnam, S. I. Wells and M. E. Rothenberg, IL-13 involvement in eosinophilic esophagitis: transcriptome analysis and reversibility with glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 120, 1292-1300(2007)
- [0501] 44. Blanchard, C. , M. K. Mingler, M. McBride, P. E. Putnam, M. H. Collins, G. Chang, K. Stringer, J. P. Abonia, J. D. Molkentin and M. E. Rothenberg, Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses. *Mucosal Immunol* 1, 289-296(2008)
- [0502] 45. Baril, P. , R. Gangeswaran, P. C. Mahon, K. Caulee, H. M. Kocher, T. Harada, M. Zhu, H. Kalthoff, T. Crnogorac-Jurcevic and N. R. Lemoine, Periostin promotes invasiveness and resistance of pancreatic cancer cells to hypoxia-induced cell death: role of the beta4 integrin and the PI3k pathway. *Oncogene* 26, 2082-2094(2007)
- [0503] 46. Ben, Q. W. , Z. Zhao, S. F. Ge, J. Zhou, F. Yuan and Y. Z. Yuan, Circulating levels of periostin may help identify patients with more aggressive colorectal cancer. *Int J Oncol* 34, 821-828(2009)

- [0504] 47. Kudo, Y., I. Ogawa, S. Kitajima, M. Kitagawa, H. Kawai, P. M. Gaffney, M. Miyauchi and T. Takata, Periostin promotes invasion and anchorage-independent growth in the metastatic process of head and neck cancer. *Cancer Res* 66, 6928–6935 (2006)
- [0505] 48. Puglisi, F., C. Puppini, E. Pegolo, C. Andreetta, G. Pascoletti, F. D' Aurizio, M. Pandolfi, G. Fasola, A. Piga, G. Damante and C. Di Loreto, Expression of periostin in human breast cancer. *J Clin Pathol* 61, 494–498 (2008)
- [0506] 49. Siriwardena, B. S., Y. Kudo, I. Ogawa, M. Kitagawa, S. Kitajima, H. Hatano, W. M. Tilakaratne, M. Miyauchi and T. Takata, Periostin is frequently overexpressed and enhances invasion and angiogenesis in oral cancer. *Br J Cancer* 95, 1396–1403 (2006)
- [0507] 50. Nair, P., M. Kjarsgaard, S. Armstrong, A. Efthimiadis, P. M. O' Byrne and F. E. Hargreave, Nitric oxide in exhaled breath is poorly correlated to sputum eosinophils in patients with prednisone-dependent asthma. *J Allergy Clin Immunol* (2010)
- [0508] 51. Shaw, D. E., M. A. Berry, M. Thomas, R. H. Green, C. E. Brightling, A. J. Wardlaw and I. D. Pavord, The use of exhaled nitric oxide to guide asthma management: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 176, 231–237 (2007)
- [0509] 52. Pavord, I. D., P. K. Jeffery, Y. Qiu, J. Zhu, D. Parker, A. Carlsheimer, I. Naya and N. C. Barnes, Airway inflammation in patients with asthma with high-fixed or low-fixed plus as-needed budesonide/formoterol. *J Allergy Clin Immunol* 123, 1083–1089, 1089 e1081–1087 (2009)
- [0510] 53. D' Silva, L., R. J. Cook, C. J. Allen, F. E. Hargreave and K. Parameswaran, Changing pattern of sputum cell counts during successive exacerbations of airway disease. *Respir Med* 101, 2217–2220 (2007)
- [0511] 54. Leung, D. Y., R. J. Martin, S. J. Szefler, E. R. Sher, S. Ying, A. B. Kay and Q. Hamid, Dysregulation of interleukin 4, interleukin 5, and interferon gamma gene expression in steroid-resistant asthma. *J Exp Med* 181, 33–40 (1995)
- [0512] 55. Flood-Page, P., C. Swenson, I. Faiferman, J. Matthews, M. Williams, L. Brannick, D. Robinson, S. Wenzel, W. Busse, T. T. Hansel and N. C. Barnes, A study to evaluate safety and efficacy of Mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 176, 1062–1071 (2007).
- [0513] 实施例 6 - 哮喘患者研究 III (评价安全性、耐受性和功效)
- [0514] 本研究是 lebrikizumab 在具有重度哮喘的患者中的随机化、多中心、双盲、安慰剂对照的、平行组研究, 其中所述哮喘尽管以 ICS (500 – 2000 μ g/ 天丙酸氟替卡松干粉吸入剂 [DPI] 或等价物) 加上第二控制剂药物进行每日治疗, 但仍得不到控制, 所述第二控制剂药物例如长效 β - 激动剂 (LABA)、白三烯受体拮抗剂 (LTRA)、长效毒蕈碱拮抗剂 (LAMA) 或茶碱。本研究还将评价血清骨膜素 ≥ 50 ng/mL (如通过 Elecsys® 测定法测量的) 的基线水平的诊断价值。虽然继续其护理标准疗法 (必须包括 ICS 和第二控制剂药物), 但患者将

随机分配给三个 lebrikizumab 剂量之一或安慰剂,共 52 周安慰剂对照期。

[0515] 在 2 周导入期也称为筛选期(访问 1 到访问 3)过程中,患者将被评价对其目前哮喘疗法的顺应性、及其在整个研究中对每月临床访问所需的设备的使用能力、以及由其护理标准药物疗法提供的哮喘控制程度。报告哮喘控制问卷(ACQ-5)得分 ≥ 1.5 和一种或多种得不到控制的哮喘症状(夜间觉醒 ≥ 1 次/周、症状 >2 天/周、SABA 使用 >2 天/周、和/或干扰日常活动)的患者将被视为得不到控制的。尽管坚持控制剂用药但在访问 1 或 2 和访问 3 时其症状仍得不到控制的患者,将具有入选资格。在坚持数据不完全的情况下、以及对于其 ACQ-5 在访问 3 时 <1.5 的患者,如果研究者对于该患者的经验提示这周对于其疾病是非典型的,则筛选期可以延长 1 周。患者对于基于所选原因多达另外两次的再筛选可以是合格的。

[0516] 在导入(筛选)期结束时,合格的患者将随机分配(1:1:1:1)至研究药物(安慰剂或 lebrikizumab 每月 37.5mg SC、每月 125mg SC、或每 4 周 250mg SC)。随机化将通过下述分层:使用 Elecsys®测定法测量的基线血清骨膜素($<42\text{ng/mL}$ 、 ≥ 42 至 $<50\text{ng/mL}$ 、 ≥ 50 至 $<58\text{ng/mL}$ 、 $\geq 58\text{ng/mL}$)、在末 12 个月中的哮喘恶化史(0、1-2、 ≥ 3 次事件)、基线哮喘药疗(ICS 剂量 $\geq 1000\mu\text{g/天}$ 的丙酸氟替卡松 DPI 或等价物加上 LABA[是,否]),和地理区域(美国/加拿大、欧洲、亚洲、世界其他地方)。除了接受双盲研究治疗 52 周,患者将继续稳定剂量的其护理标准疗法,其必须包括 ICS(500-2000 $\mu\text{g/天}$ 的丙酸氟替卡松 DPI 或等价物)和第二控制剂药疗。

[0517] 研究治疗的第一次 SC 注射将与随机化发生在相同日(访问 3[第 1 天]),并且给药将在 52 周安慰剂对照期中每 4 周重复一次(总共 13 个研究治疗剂量)。在整个 52 周安慰剂对照期中评价安全性、功效和患者报告结果(PRO)量度。主要功效终点是哮喘恶化率,并且将经过 52 周安慰剂对照期评价。

[0518] 完成 52 周安慰剂对照期的患者(即未过早中断研究治疗的患者)将继续进入 52 周积极治疗延长研究。

[0519] 继续进入 52 周积极治疗延长研究的所有患者将每 4 周以 125mg 或 250mg 剂量接受双盲 SC lebrikizumab。在 52 周安慰剂对照期过程中指定接受 125mg 或 250mg lebrikizumab 的患者将保持其指定的 lebrikizumab 剂量。在 52 周安慰剂对照期过程中指定接受安慰剂或每 4 周 lebrikizumab 37.5mg SC 的患者将以 1:1 比例随机化分配至每 4 周 SC lebrikizumab 125mg 或 250mg,进行 52 周积极治疗延长,其中随机化通过基线骨膜素水平和先前的治疗安排进行分层。

[0520] 在 52 周积极治疗延长的第 76 周时,每个患者将使用来自三次最近访问(第 68、72 和 76 周)的数据,评价哮喘控制。其哮喘症状已连续 12 周得到控制(在每次评价时 $\text{ACQ } 5 \leq 0.75$)且在积极治疗延长的前一半内(第 52-76 周)仍未恶化的患者将中断 lebrikizumab 疗法且进入随访期。在随访过程中,患者将在研究药物的末次剂量后跟踪安全性共 24 周。在第 76 周时保持症状($\text{ACQ-5} > 0.75$)或在积极治疗延长的前一半期间(第 52-76 周)已经历恶化事件的患者将继续 lebrikizumab 治疗另外 28 周。在整个 52 周积极治疗延长中,评价安全性、功效和 PRO 量度。

[0521] 在随访期中,所有患者将在研究治疗的末次剂量后跟踪安全性共 24 周($>$ 药物的 5 个半衰期),不论所述末次剂量可以发生在何时(如方案中计划的或在早期中断研究治疗

的事件中)。对于完成研究到访问 23(第 76 周)、得到良好控制、并中断研究治疗的患者,访问 23 将替换安全性随访访问 1。对于完成整个研究到访问 30(第 104 周)的患者,访问 30 将替换安全性随访访问 1。在这两种情况下,随访期中的下一次访问将是在第 12 周时的安全性随访访问 2。对于所有其他患者,第一次随访访问将是安全性随访访问 1,在安全性随访期的第 4 周时(在研究治疗的末次剂量后约 4 周)。

[0522] 研究中的总参与,从在访问 3 时的随机化(第 1 天),包括 52 周安慰剂对照期、52 周积极治疗延长和安全性随访期,可以长达 124 周。

[0523] 在该研究中,在全球约 250 个地点,入选约 1400 个患者(175 个患者/治疗组[SC lebrikizumab 250mg、125mg、37.5mg 或安慰剂]/骨膜素组[骨膜素高 $\geq 50\text{ng/mL}$ 、骨膜素低 $<50\text{ng/mL}$])。最少 650 个患者将入选骨膜素高的组($\geq 50\text{ng/mL}$)。入选最少约 450 个使用 ICS 氟替卡松 $\geq 1000\text{ }\mu\text{g/天 DPI}$ 或等价物加上 LABA 的患者。

[0524] 关键入选标准包括下述:在筛选前 ≥ 12 个月的哮喘诊断;支气管扩张剂反应/可逆性:患者必须在筛选期过程中具有响应四次短效 β -激动剂(例如沙丁胺醇或舒喘灵)喷雾的 $\geq 12\%$ 支气管扩张剂反应;在访问 2 和访问 3 时支气管扩张剂前 FEV1 为预测的 $40\% - 80\%$;在筛选前使用 ICS ≥ 500 (例如 $500 - 2000$) μg 丙酸氟替卡松 DPI 或等价物(日总剂量) ≥ 6 个月;在筛选前使用第二控制剂药疗(例如在处方剂量范围内的 LABA、LAMA、LTRA 或茶碱)6 个月;在筛选期过程中(即访问 1[第 -14 天]或访问 2[第 -7 天])和在随机化时(访问 3[第 1 天])均证实的如下定义的得不到控制的哮喘:ACQ-5 得分 ≥ 1.5 、和基于 National Heart, Lung, and Blood Institute and National Asthma Education and Prevention Program Expert Panel Report 3(2007) 和 Global Initiative for Asthma(2010) 指南得不到控制的下述至少一种哮喘症状:

[0525] • 症状 >2 天/周

[0526] • 夜间觉醒 ≥ 1 次/周

[0527] • SABA 作为急救药的使用 >2 天/周

[0528] • 干扰正常日常活动;

[0529] 在访问 1 前 12 个月内获得的胸部 X 射线或计算机断层扫描(CT)或在筛选期过程中的胸部 X 射线证实其他肺疾病不存在;和证实在筛选期过程中对控制剂药疗 $\geq 70\%$ 的坚持(坚持定义为患者肯定地回答他们已采取其哮喘控制剂治疗 $\geq$ 筛选期(访问 1 至访问 3)天数的 70% ,记录在其峰气流计量装置中)。

[0530] 关键的排除标准包括下述:对生物活性剂的严重变态反应或过敏性反应史、或对 lebrikizumab 注射的任何组分的已知超敏性;维持口服皮质类固醇治疗,定义为在访问 1 前 3 个月内的每日或隔日口服皮质类固醇维持疗法;在筛选前(访问 1)的 4 周过程中或在筛选过程中的任何时间的、由于任何原因(包括急性恶化事件)而需要全身(口服、静脉内(IV)或肌内(IM))皮质类固醇的哮喘恶化;需要下述中的任何的主要感染发作:

[0531] 1. 在筛选前(访问 1)4 周内的住院治疗 ≥ 24 小时

[0532] 2. 在筛选(访问 1)4 周内用 IV 抗生素的治疗

[0533] 3. 在筛选前(访问 1)2 周内的口服抗生素;

[0534] 在访问 1 前 6 个月内的活动性寄生虫感染;在筛选前 12 个月内需要治疗的肺结核(接受过肺结核治疗且在完成治疗后 12 个月内无复发的患者是允许的);已知的免疫缺陷,

包括但不限于 HIV 感染 ; 免疫调节治疗的目前使用 ; 已知的目前恶性肿瘤或对潜在恶性肿瘤的目前评估 ; 活动性肝炎 B/C 或不稳定肝疾病的迹象 ; 在筛选前 6 个月内的活动性寄生虫感染 ; AST/ALT 升高 ≥ 2.0 正常上限 ; 囊性纤维化史 ; 慢性阻塞性肺疾病, 和 / 或非哮喘的其他临床上显著的肺疾病 ; 现时吸烟者或 >10 包 - 年的吸烟史 ; 在筛选前 6 个月过程中的任何时间的生物疗法的使用 ; 在研究的持续期中不愿意使用高度有效的避孕方法的具有生育可能性的女性患者, 或怀孕或泌乳的女性患者 ; 其他不稳定的医学疾病 ; 体重指数 $>38\text{kg}/\text{m}^2$; 体重 $<40\text{kg}$ 。

[0535] III 期剂量给药依据

[0536] 群体 PK 分析

[0537] 开发初步群体 PK 模型以描述 lebrikizumab 在成年患者中的 PK 情况。在上文描述的研究中来自 333 个 lebrikizumab 治疗患者的总共 4914 个血清浓度 - 时间样品被用于开发该模型。如通过在每个研究中观察到的平均 PK 谱和由历史数据预测的 PK 谱之间的良好一致性所证明的, 在研究之间未观察到明显差异。

[0538] 具有一级吸收和消除动力学的两区室模型足够描述血清 lebrikizumab 浓度 - 时间数据。结构模型参数包括在 SC 施用后的清除率 (CL)、中央区室的分布容量 (V1)、外周区室的容量 (V2)、区室间清除率 (Q)、以及一级吸收率 (Ka) 和生物利用度 (F)。除了 V2 和 Q (其固定在群体平均值) 外, 所有参数都假定为对数正态分布。

[0539] 群体平均 CL 和 V1 估计分别为 $0.18\text{L}/\text{天}$ 和 3.7L 。群体平均生物利用度估计为 76%。PK 参数的个体间变异性是中等的, 范围为 15% - 27%。发现体重是 lebrikizumab 的 CL 和分布容量的显著协变量, 其中更高的体重与更高的清除率和更高的分布容量相关。在 CL 中约 19% 的个体间变异性和在 V1 中 11% 的个体间变异性通过体重进行了解释。估计的群体 PK 参数总结于表 13 中。群体 PK 分析指出, lebrikizumab 的 PK 特征与 IgG 单克隆抗体典型的 PK 特征一致。

[0540] 通过在实施例 2 研究和实施例 3 研究中具有基线骨膜素水平高于和低于中值的患者之间比较 PK 参数的个体事后估计值, 评价了骨膜素对 PK 参数的影响。对于 CL ($p = 0.54, 0.11$)、V1 ($p = 0.83, 0.79$) 和 F ($p = 0.74, 0.37$), 差异在两个研究中均是不显著的 ($p > 0.05$)。

[0541] 表 13. Lebrikizumab 群体 PK 参数。

[0542]

参数描述	群体平均估计值 (%SE)	个体间变异性 (%SE)
清除率, CL (L/天)	0.176 (3.2%)	24.5%(23.3%)
BW 对 CL 的影响	0.864 (10.6%)	
中央区室中的分布容量, V ₁ (L)	3.74 (3.4%)	24.6%(39.6%)
BW 对 V ₁ 的影响	0.890 (12.1%)	
外周区室中的分布容量, V ₂ (L)	2.01 (4.9%)	
BW 对 V ₂ 的影响	0.316 (34.8%)	
分布清除率, Q (L/天)	0.443 (10.2%)	
一级吸收率, K _a (1/天)	0.213 (5.0%)	26.9%(39.4%)
生物利用度, F (%)	75.6 (3.7%)	14.9%(70.9%)
比例残差(proportional residual error)	13.6% (3.6%)	
加和残差(additive residual error) (μg/mL)	442 (15.6%)	

[0543] BW = 体重 ;CL = 清除率 ;PK = 药物代谢动力学 ;Q = 区室间清除率 ;SE = 标准误 ;

[0544] V₁ = 中央区室的分布容量 ;V₂ = 外周区室的分布容量。

[0545] 注 :BW 效应作为幂函数 (power function) 建模, $TVP_i = \theta_1 * (BW_i / BW_{Ref})^{\theta_2}$, 对

[0546] 于其, TVP 是 PK 参数的典型值 ;BW_i 指第 i 个个体的体重, BW_{Ref} 指参考体重,

[0547] 其是在群体 PK 模型中包括的所有患者的中值体重 (82kg), θ_1 指 PK 参数的群

[0548] 体平均估计值, 并且 θ_2 指体重对 PK 参数的影响。

[0549] 固定剂量给药的依据

[0550] 固定剂量给药用于上文描述的 II 期研究中。考虑到体重对 lebrikizumab 的 PK 谱的影响, 较重的患者一般具有较低的药物暴露。然而, 在用 lebrikizumab 治疗的个体患者中在体重和从基线到第 12 周的 FEV1 变化比例之间未发现关联, 说明体重对暴露的影响并没有对功效产生影响 (参见图 20)。此外, 来自这些研究的数据指出, 在测试的体重范围内 (53 - 135kg) 没有与固定剂量给药相关的安全性问题。

[0551] 为了评估固定剂量给药对 lebrikizumab 暴露的总体变异性的影响, 进行群体 PK 模拟, 以比较固定剂量给药和等价的基于体重 (即 mg/kg) 的剂量给药方案, 其中假定体重分布类似于在上文描述的 II 期研究中见到的。具有在不同水平之上的稳态谷浓度的患者的预测比例在固定剂量和基于体重的剂量给药方案之间是相似的 (参见图 21), 提示基于体重的给药没有明显优点。因此, 鉴于与个体化的基于体重的给药相比较固定剂量给药的优点——降低给药误差的风险和操作复杂性 (例如药物制备), 选择固定剂量给药用于 III 期研究。

[0552] 靶标浓度的依据

[0553] 使用 II 期数据进行暴露 - 反应分析, 以得到靶标 lebrikizumab 浓度, 为 III 期研究提供剂量选择的信息。在上文描述的两个 II 期研究中, 在用 lebrikizumab 治疗的个体

患者中在安慰剂校正的 FEV1 自基线的变化和第 12 周时的血清谷药物浓度（数据未显示）之间未发现明显相关，提示 lebrikizumab 对 FEV1 的作用在两个研究中的测试的暴露范围是饱和的。此外，在 II 期研究中 PD 生物标记（FeNO、IgE、CCL17 和 CCL13）的变化和血清谷药物浓度之间的相关性评价提示，在两个研究中的治疗期过程中这些 PD 反应是饱和的。这些结果在骨膜素高的组中是相似的。在这些结果的基础上，提出 $10 \mu\text{g/mL}$ 的靶标血清稳态谷浓度，以排除在两个研究中观察到的 $C_{\text{trough, wk12}}$ 范围的低端（第 5–第 95 个百分位数：在实施例 2 研究中 $9.6 - 50 \mu\text{g/mL}$ ，在实施例 3 研究中 $9.4 - 73 \mu\text{g/mL}$ ）。此外，考虑到基于文献中的可用数据假定的 lebrikizumab 的血清对肺的分配（1:500）和 IL-13 在肺中的水平， $10 \mu\text{g/mL}$ 的血清浓度预期可以在肺中维持足够高的药物水平，以中和哮喘患者中的 IL-13。因此，预期 III 期中的有效剂量将维持血清稳态谷浓度 $>10 \mu\text{g/mL}$ 。

[0554] 为了选择在 III 期中的部分有效剂量，提出 $5 \mu\text{g/mL}$ 的较低靶标稳态谷浓度，以确保与实施例 2 和实施例 3 研究中观察到的 $C_{\text{trough, wk12}}$ 范围（在其中观察到功效）无重叠。另外，在两个研究中，在平均血清 lebrikizumab 浓度 $>5 \mu\text{g/mL}$ 时，lebrikizumab 对 CCL17 (TARC) 水平的作用在药物洗脱期朝向基线返回（参见图 22；(A) 实施例 2 研究，(B) 实施例 3 研究）。尽管 lebrikizumab 对血清 CCL17 (TARC) 的作用与功效不直接相关，但此生物标记的恢复提示在此浓度时在一些生物途径中 IL-13 活性的亚最佳抑制。因此，提出部分有效剂量以维持血清稳态谷浓度 $<5 \mu\text{g/mL}$ 。

[0555] 提出的 III 期剂量的依据

[0556] 考虑到如上所述在实施例 3 研究中明确剂量反应的缺乏（即，剂量 125mg、250mg 和 500mg 看起来同等有效），通过包括有效和部分有效剂量水平，选择 III 期剂量，以阐明 lebrikizumab 的剂量反应。为了达成这个目标，对于 III 期计划提出的 lebrikizumab 剂量包括每四周（q4wk）通过 SC 注射给予的 250mg、125mg 和 37.5mg。图 23 显示了在这些剂量的模拟群体 PK 谱，其中假定体重分布类似于在 II 期研究中所见的。

[0557] 250mg（两次 1-mL SC 注射）q4wk 的最高剂量预期可以在 III 期中显示临床功效。它是在 II 期概念验证研究中研究的唯一剂量方案（实施例 2），并且显示在如下患者中减少重度哮喘恶化率的功效，其中，所述患者尽管使用 ICS 疗法，但其哮喘得不到控制，该患者群体旨在用于治疗。尽管用 ICS 连同或不连同另一种控制剂治疗，实施例 2 患者具有得不到控制的哮喘，并且实施例 2 中使用 $\text{ICS} \geq 500 \mu\text{g/天}$ 的患者的 $\geq 90\%$ 也正在采用 LABA 药疗。以此剂量方案，基于群体 PK 模拟，几乎所有（99%）患者都预测达到 $10 \mu\text{g/mL}$ 的靶标 $C_{\text{trough, ss}}$ （参见表 14），这意味着预期最大功效。因此，将测试此剂量以重复在 II 期中见到的临床功效。

[0558] 表 14. 以提出的 III 期剂量，具有在靶标之上的稳态谷浓度的患者的预测百分比

[0559]

剂量 (mg 每 4 周)	靶稳态谷浓度	
	$>5 \mu\text{g/mL}$	$>10 \mu\text{g/mL}$
250	100%	99%
125	99%	78%
37.5	28%	0.6%

[0560] 基于在 II 期剂量范围研究中（实施例 3）在 125 和 250mg q4wk 观察到的 FEV1 改善的相似量级，提出 125mg（一次 1-mL SC 注射）q4wk 的中间剂量。合理地预期相同剂量 - 反应关系在具有重度哮喘的患者群体中对于恶化终点仍是正确的，并且因此，预期 125mg 剂量在 III 期中显示功效。此预期通过群体 PK 模拟得到进一步支持，这提示大多数（78%）患者用此剂量方案将达到 $10 \mu\text{g/mL}$ 的靶标 $C_{\text{trough, ss}}$ （参见表 14）。

[0561] 提出 37.5mg（一次 0.3-mL SC 注射）q4wk 的剂量，以阐明部分有效或临床上无效的 lebrikizumab 剂量，这对建立剂量 - 反应关系是重要的。鉴于下述考虑因素，选择此剂量方案：

[0562] • 在大多数（72%）患者中维持低于 $5 \mu\text{g/mL}$ 以及在几乎所有（99%）患者中维持低于 $10 \mu\text{g/mL}$ 的靶标 $C_{\text{trough, ss}}$ 的能力（参见表 14）

[0563] • 与中间剂量的合理（3.3 倍）分隔

[0564] • 与中间剂量在 lebrikizumab 的血清暴露的模拟范围中的最小重叠（参见表 14），以便阐明差异临床反应

[0565] • 方便的注射体积（多个 0.1mL），以减少可能的给药误差

[0566] 此 III 期试验的各种结果量度在下文描述。

[0567] 结果量度

[0568] 下述终点各自将在骨膜素高和骨膜素低的患者中分开评价。如果当 250mg lebrikizumab 组与安慰剂组相比较时，在骨膜素高的组中满足主要终点，则该试验被视为阳性的。

[0569] 主要功效结果量度

[0570] 主要功效结果量度是在 52 周安慰剂对照期过程中的哮喘恶化率。对于此试验，哮喘恶化将定义为新的或增加的导致用全身皮质类固醇治疗或住院治疗的哮喘症状（包括例如哮喘、咳嗽、呼吸困难或胸闷、或由于这些症状的夜间觉醒）。此处，用全身皮质类固醇治疗定义为用口服（即 OCS）或肠胃外皮质类固醇治疗 ≥ 3 天或用一个或多个剂量的肠胃外（IV 或 IM）皮质类固醇的急诊科就诊。

[0571] 次级功效结果量度

[0572] 在第 52 周时的次级功效结果量度如下：从基线到第 52 周支气管扩张剂前 FEV1 的相对变化；在 52 周治疗期中到第一次哮喘恶化的时间；从基线到第 52 周在呼出气一氧化氮分数（ FE_{NO} ）中的变化；从基线到第 52 周，通过标准化版本的哮喘生活质量问卷总体得分（AQLQ(S)）评价，哮喘特异性健康相关生活质量的变化；从基线到第 52 周，在急救药使用中的变化（通过急救药或雾化急救药（即 SABA）的每天喷雾次数测量）；在 52 周安慰剂对照期中紧急哮喘相关健康护理的利用率（即住院治疗、急诊科就诊、和急性护理就诊）。

[0573] 探索性结果量度

[0574] 探索性结果量度将包括下述：在 52 周安慰剂对照期中未经历方案规定的哮喘恶化的患者的比例；从基线到第 52 周，晨支气管扩张剂后峰气流值（L/分钟）的变化；从基线到第 52 周，支气管扩张剂后 FEV1 的变化；在 52 周安慰剂对照期中，到支气管扩张剂前 FEV1 的 150-mL 改善的时间；在第 4 到 52 周上平均的支气管扩张剂前 FEV1（升）的距基线的相对变化；从基线到第 52 周，用力肺活量的相对变化；与肺功能减退相关的恶化率，定义为在筛选期中（访问 1-3）导致 PEF 或 FEV1 < 最高值的 60% 的恶化，其需要用全身皮质类固

醇治疗 ;从基线到第 52 周,通过工作生产力和活动损伤哮喘问卷 (WPAI - 哮喘) 评价,在工作、学校和活动损伤中的变化 ;从基线到第 52 周,哮喘控制问卷 -5 (ACQ-5) 得分的变化 ;从基线到第 52 周,通过哮喘症状效用指数 (ASUI) 测量,哮喘症状的变化 ;从基线到第 52 周,通过 EQ-5D 评价,健康效用的变化 ;从基线到第 52 周,治疗有效性总体评估 (GETE) 的变化。

[0575] 这些探索性结果量度也可以在 52 周积极治疗延长和 24 周随访期中进行评价。另外的探索性结果量度可以包括在暴露于 lebrikizumab>52 周的患者中不良事件的频率和严重性 ;在 52 周积极治疗延长或 24 周随访期中,白细胞介素 -13 (IL-13) / 哮喘相关 PD 生物标记的变化 ;和在 52 周积极治疗延长或 24 周随访期中血清 lebrikizumab 浓度。

[0576] 患者报告的结果

[0577] 哮喘生活质量问卷 - 标准化的 (AQLQ(S))

[0578] AQLQ(S) 将用于评估患者的哮喘特异性健康相关生活质量 (Juniper2005)。该问卷含有四个域,包括活动限制、症状、情绪功能和环境刺激。AQLQ(S) 已被认可用于本研究群体。AQLQ(S) 具有 2 周的回忆要求 (recall specification)。AQLQ(S) 将在所有其他非 PRO 评价之前并于患者在该评价过程中接受任何疾病状态信息或研究药物前用于患者。

[0579] 工作、生产力和活动损伤 - 哮喘 (WPAI - 哮喘)

[0580] 为了评价在工作、学校以及活动时的损伤,将进行 WPAI- 哮喘问卷 (Reilly 等人 1993,1996)。问卷项目由 WPAI- 变应性特异 (WPAI - AS) 问卷适应性修改而成,用哮喘替换所有出现的术语变应性。WPAI - AS 将在所有其他非 PRO 评价之前并于患者在该评价过程中接受任何疾病状态信息或研究药物前用于患者。

[0581] Euro-QOL 5D 问卷 (EQ-5D)

[0582] EQ-5D 是基于偏好的普适性健康相关生活质量问卷,其提供关于健康状态的单指数值 (The EuroQol Group 1990)。EQ-5D 设计用于由患者自己完成。EQ-5D 将在所有其他非 PRO 评价之前并于患者在该评价过程中接受任何疾病状态信息或研究药物前用于患者。

[0583] 哮喘症状效用指数 (ASUI)

[0584] ASUI (Revicki 1998) 是量度咳嗽、哮喘、呼吸短促和夜间觉醒的哮喘特异性症状问卷。ASUI 将在所有其他非 PRO 评价之前并于患者在该评价过程中接受任何疾病状态信息或研究药物前用于患者。

[0585] 实施例 7- Elecsys® 骨膜素测定法

[0586] 骨膜素的定量检测在自动化 Roche cobas e601 Elecsys® 分析器 (Roche Diagnostics GmbH) 中进行评价。该试验以夹心形式执行,其中分析物骨膜素夹在与骨膜素上的两个不同表位结合的两种单克隆抗体之间。一种抗体是生物素化的,致使免疫复合物能够被捕获至链霉亲和素包被的磁珠。第二种抗体具有络合的钆阳离子作为发信号部分,其允许电压依赖性电化学发光检测结合的免疫复合物。

[0587] 详细地,试剂使用如下 :

[0588] - 珠 (M) :链霉亲和素包被的磁性微粒 0.72mg/mL ;防腐剂。

[0589] - 试剂 1 (R1) :抗骨膜素抗体~生物素 :

[0590] 这种纯化的小鼠单克隆抗体对应于根据实施例 4 的包被抗体 25D4,并且以生物素化形式使用 >1.0mg/L ;TRIS 缓冲液 >100mmol/L, pH 7.0 ;防腐剂。

[0591] - 试剂 2 (R2) :抗骨膜素抗体~ Ru (bpy) :

[0592] 这种纯化的小鼠单克隆抗骨膜素抗体对应于根据实施例 4 的检测抗体 23B9, 并且以标记形式使用 (用 (三 (2, 2' - 双吡啶基) 钌 (II) - 络合物 (Ru(bpy)) 络合物标记)) >1.0mg/L; TRIS 缓冲液 >100mmol/L, pH 7.0; 防腐剂。

[0593] 使用两次温育, 进行该免疫测定试验。在约 9 分钟的第一次温育中, 在 20 μ L 样品中的骨膜素和生物素化的单克隆抗骨膜素抗体 (R1) 形成复合物。在再 9 分钟的第二个温育步骤中, 将钌化的单克隆抗骨膜素抗体 (R2) 和链霉亲和素包被的微粒 (M) 加入第一次温育的小瓶中, 使得 3 成员的夹心复合物形成, 并且经由生物素和链霉亲和素的相互作用而与固相 (微粒) 结合。

[0594] 将反应混合物抽吸到测量室内, 在其中微粒被磁性捕获到铂电极的表面上。洗掉未结合的物质, 并且用 ProCell (含有三丙胺的试剂) 冲洗室。对电极施加电压可以随后诱导化学发光发射, 该发射可以通过光电倍增管测量。

[0595] 结果经由通过 2 点校准生成的仪器特异性校准曲线和经由试剂条形码提供的主曲线 (master curve) 而进行确定。校准物 1 是无分析物的, 而校准物 2 含有在缓冲基质中的 50ng/mL 重组人骨膜素。为了验证校准, 采用具有约 30 和 80ng/mL 骨膜素的两种对照。

[0596] 实施例 8 - E4 测定法和 **Elecsys®** 骨膜素测定法的比较

[0597] 使用类似于 E4 测定法 (实施例 4) 和 **Elecsys®** 骨膜素测定法 (实施例 7) 的方法, 在来自实施例 2 和实施例 3 之每一个中所述的临床试验的患者血清样品中, 测量骨膜素水平。来自两个试验的样品的结果显示, 骨膜素值重叠。变异性和扩散在测定法之间是可比较的。一般而言, 在中值, **Elecsys®** 测定法结果典型地 = E4 测定法结果或比 E4 测定法结果高 >2 倍。参见图 17, 即中值对于 **Elecsys®** 骨膜素测定法是 50-51ng/ml, 而中值对于 E4 测定法是 23ng/ml。

[0598] 尽管为了用于理解清楚的目的本发明已通过举例说明和实施例一定详细地进行了描述, 但说明书和实施例不应解释为限制本发明的范围。本文引用的所有专利和科学文献的公开内容明确地整体引入作为参考。

[0599] 序列表关键词

[0600]

SEQ ID NO:	序列
1	QVHLQQSGAELAKPGASVHMSCKASGYTFTTYWMHWVKQRPGQGLE WIGYINPNTIGYADYNQKFRDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSTVYF CARRRTGTSYFDYWGQGITLTVSSTKITPPSV
2	QTVLSQSPAILASAPGEKVTMTCRASSSVTYMHWYQQKPGSSPKPWIFA TSNLASGVPARFSGSGSTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPLTFG AGIK
3	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYSFTHYWMQWVKQRPGQGLE WIGAIYPGDGDTRYTQRLKGKATLTADKSSSTAYMELSSLASEDSAVYY CAREGEGNSAMDYWGQGSTVTVSSAKTTPPSV
4	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGSSVAWFQQKPGQSPKTLI YSASYRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLTDYFCLQYGYTPYTF GGGTR
5	MIPFLPMFSL LLLIVNPIN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLVECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLSDIR RGLSNVNVE LLNALHSHMI NKRMLTKDLK NGMIHPSMYN NLGLFNHYP NGVVTVNCAR IIHGNQIATN GVVHVIDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPTNEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLIPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSMDQRLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKGSQQRNGAIHIFRE IIPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEKE ILIRDKNALQ NIILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNLIKTTQG SKIFLKEVNDTLVNELKSK ESDIMTTNGV IHVVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLKY IQKFVRGST FKEIPVTYVT TKIITKVVEP KIKVIEGSLQ PIKTEGPTL TKVKIEGEPE FRLIKEGETTIEVIHGEPII KKYTKIIDGV PVEITEKETR EERIITGPEI KYTRISTGGG ETEETLKKLLQEEVTKVTKF IEGGDGHLFE DEEIKRLQGG DTPVRKLQAN KKVQGSRRRL REGRSQ
6	MIPFLPMFSL LLLIVNPIN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLVECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLSDIR RGLSNVNVE LLNALHSHMI NKRMLTKDLKNGMIHPSMYN NLGLFNHYP NGVVTVNCAR IIHGNQIATN GVVHVIDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPTNEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLIPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSMDQRLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKGSQQRNGAIHIFRE IIPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEKE ILIRDKNALQ NIILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNLIKTTQG SKIFLKEVNDTLVNELKSK ESDIMTTNGV IHVVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLKY IQKFVRGSTFKEIPVTYVK PIIKKYTKII DGVVPVEITEK ETREERIITG PEIKYTRIST GGGETEETLK KLLQEEVTKV TKFIEGGDGH LFEDEEIKRL LQGDTPVRKL QANKKVQGSRRRLREGRSQ
7	MIPFLPMFSL LLLIVNPIN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLVECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLSDIR RGLSNVNVE LLNALHSHMI NKRMLTKDLKNGMIHPSMYN NLGLFNHYP NGVVTVNCAR IIHGNQIATN GVVHVIDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPINEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLIPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSMDQRLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKGSQQRNGAIHIFRE IIPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEKE ILIRDKNALQ NIILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNLIKTTQG SKIFLKEVNDTLVNELKSK ESDIMTTNGV IHVVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLKY IQKFVRGSTFKEIPVTYVR PTLTKVKIEG EPEFRLIKEG EITTEVIHGE PIKKYTKII DGVVPVEITEK ETREERIITG PEIKYTRIST GGGETEETLK KLLQEDTPVR

[0601]

	KIQANKKVQG SRRRLREGRSQ
8	MIPFLPMFSL LLLLVNPN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLYECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGTGLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLSDIR RGLESNVNVE LLNALHSHMI NKRMLTKDLKNGMIIPSMYN NLGLFINHYP NGVVTVNCAR IHHGNQIATN GVVHVIDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPINEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLIPDSA KQVIELAGKQ QTTFDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSDQRLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKGSKQGRNGAIHIFRE IIPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEK ILIRDKNALQ NIILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNILKTTQG SKIFLKEVNDTLVNELKSK ESDIMTTNGV IHHVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLIK YIQKFVRGST FKEIPVTYK PIKKYTKII DGVPVETEK ETREERIITG PEIKYTRIST GGGETEETLKKILQEDTPVR KIQANKKVQG SRRRLREGRS Q
9	VTLRESGPALVKPTQLTLTCTVSGFSLAYSVNWIRQPPGKALEWLAMI WGDGKIVYNSALKSRLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDATYYCAGD GYYPYAMDNWGQGS LVTVSS
10	DIVMTQSPDLSVSLGERATINCRAKSVDSYGNSEFMHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLES GVPDRFSGSGGTDFLTITSLQAEDVAVYYCQQNNED PRTFGGGTKVEIK
11	AYSVNW
12	MIWGDGKIVYNSALKS
13	DGYYPYAMDN
14	RASKSVDSYGNSEFMH
15	LASNLES
16	QQNNEDPRT
17	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
18	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly Gln Gly
19	MIPFLPMFSL LLLLVNPN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQILGTKKKYFSTCKNWKKSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMKGCPAVLPIDH VYGTGLGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKGSFTYFAPSNEAWDNLDSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHYPNGVVTVNCAR IHHGNQIATNGVVHVIDRVL TQI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAAITSDILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQQTTFDLVAQLG LASALRPDGEYTLAPVNNAFSDDTLSDQRLKLILQN HILKVKVGLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSKQGRNGAIHIFREIIPAEKSLHEKLKQDKRFS TFLSLLEAADLKELLTQPGDWTLFVPTNDAFKGMTSEEK EILIRDKNALQNIILYHLTPGVFIGKGFEPGVTNILKTTQG SKIFLKEVNDTLVNELKSKESDIMTTNGVIHHVDKLLY PADTPVGNDQLLEILNKLIK YIQKFVRGSTFKEIPVTYVT

[0602]

	TKIITKVVEPKIKVIEGSLQPIIKTEGPTLTQVKIEGEPEFR LIKEGETITEVIHGEPPIKKYTKIIDGVPVEITEKETREERII TGPEIKYTRISTGGGETEETLKKLLQEEVTKVTKFIEGGD GHLFEDEEIKRLLQGDTPVRKLQANKKVQGSRRRLREG RSQ
20	MIPFLPMFSLLLLLIVNPNANNHYDKILAHSRIRGRDQG PNVCALQQILGTTKKYFSTCKNWKKSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMKGCPAVLPIDHVVYGLGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKGSFTYFAPSNEAWNLDSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHYPNGVVTVNCARIIHGNQIATNGVVHVIDRVLTQI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAAITS DILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQQTTFDLVAQLG LASALRPDGEYTLAPVNNAFSDDTLSMDQRLKLLQ HILKVKVGLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSKQGRNGAIHIFREIIPAEKSLHEKCLKQDKRFS TFLSLLEAADLKELLTQPGDWTLFVPTNDAFKGMTSEEK EILIRDKNALQNIILYHILTPGVFIGKGFEPGVNLTQ SKIFLKEVNDTLLVNELKSKESDIMTTNGVIHVVDKLLY PADTPVGNDQLEILNKLKIKYQIKFVRGSTFKEIPVTY KPIKKYTKIIDGVPVEITEKETREERIIITGPEIKYTRISTGG GETEETLKKLLQEEVTKVTKFIEGGDGHLEFEDEEIKRLLQ GDTPVRKLQANKKVQGSRRRLREGRSQ
21	MIPFLPMFSLLLLLIVNPNANNHYDKILAHSRIRGRDQG PNVCALQQILGTTKKYFSTCKNWKKSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMKGCPAVLPIDHVVYGLGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKGSFTYFAPSNEAWNLDSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHYPNGVVTVNCARIIHGNQIATNGVVHVIDRVLTQI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAAITS DILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQQTTFDLVAQLG LASALRPDGEYTLAPVNNAFSDDTLSMDQRLKLLQ HILKVKVGLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSKQGRNGAIHIFREIIPAEKSLHEKCLKQDKRFS TFLSLLEAADLKELLTQPGDWTLFVPTNDAFKGMTSEEK EILIRDKNALQNIILYHILTPGVFIGKGFEPGVNLTQ SKIFLKEVNDTLLVNELKSKESDIMTTNGVIHVVDKLLY PADTPVGNDQLEILNKLKIKYQIKFVRGSTFKEIPVTYR PTLTKVKIEGEPEFRLIKEGETITEVIHGEPPIKKYTKIIDG VPVEITEKETREERIIITGPEIKYTRISTGGGETEETLKKLL QEDTPVRKLQANKKVQGSRRRLREGRSQ
22	MIPFLPMFSLLLLLIVNPNANNHYDKILAHSRIRGRDQG PNVCALQQILGTTKKYFSTCKNWKKSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMKGCPAVLPIDHVVYGLGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKGSFTYFAPSNEAWNLDSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHYPNGVVTVNCARIIHGNQIATNGVVHVIDRVLTQI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAAITS DILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQQTTFDLVAQLG LASALRPDGEYTLAPVNNAFSDDTLSMDQRLKLLQ HILKVKVGLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSKQGRNGAIHIFREIIPAEKSLHEKCLKQDKR FSTFLSLLEAADLKELLTQPGDWTLFVPTNDAFKGMTSE

[0603]

	EKEILIRDKNALQNIILYHLTPGVFIGKGFEPGVTNILKTT QGSKIFLKEVNDTLLVNELKSKESDIMTTNGVIHVVDKL LYPADTPVGNDQLEILNKLKIKYIYQIKFVRGSTFKEIPVTV YKPIKKYTKIIDGVPVEITEKETREERIITGPEIKYTRISTG GGETEETLKKLLQEDTPVRKLQANKKVQGSRRRLREGR SQ
23	MIPFLPMFSLLLLLIVNPINANNHYDKILAHSRIRGRDQG PNVCALQQILGTTKKYFSTCKNWKKSICGQKTTVLYE CCPGYMRMEGMKGCPAVLPIDHVYGTGIVGATTTQR YSDASKLREEIEGKGSFTYFAPSNEAWDNLDSDIRRGLES NVNVELLNALHSHMINKRMLTKDLKNGMIIPSMYNNLG LFINHYPNGVVTVNCARIIHGNQIATNGVVHVIDRVLTQI GTSIQDFIEAEDDLSSFRAAAITSDILEALGRDGHFTLFAP TNEAFEKLPRGVLERIMGDKVASEALMKYHILNTLQCSE SIMGGAVFETLEGNTIEIGCDGDSITVNGIKMVNKKDIVT NNGVIHLIDQVLIPDSAKQVIELAGKQQTTFDLVAQLG LASALRPDGEYTLLAPVNNAFSDDTLSMDQRLLKLILQN HILKVKVGLNELYNGQILETIGGKQLRVFVYRTAVCIEN SCMEKGSKQGRNGAIHIFREIKPAEKSLEKLKQDKRFS TFLSLLEAADLKELLTQPGDWTLFVPTNDAFKGMTSEEK EILIRDKNALQNIILYHLTPGVFIGKGFEPGVTNILKTTQG SKIFLKEVNDTLLVNELKSKESDIMTTNGVIHVVDKLLY PADTPVGNDQLEILNKLKIKYIYQIKFVRGSTFKEIPVTVYS PEIKYTRISTGGETEETLKKLLQE
24	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGIWVR QAPGKGLEWVAFISDLAYTIYYADTVTGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNWDAMDYWGQGTLV TVSS
25	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRSSQSLVHNNANTYLH WYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCSQNTLVPWTFGQGTKVEIK

[0001]

序列表

<110> 弗·哈夫曼-拉罗切有限公司

<120> 与 TH2 抑制相关的诊断和治疗

<130> P4569R1-WO

<140>

<141>

<150> 61/557,295

<151> 2011-11-08

<150> 61/574,485

<151> 2011-08-02

<150> 61/484,650

<151> 2011-05-10

<150> 61/465,425

<151> 2011-03-18

<150> 61/459,760

<151> 2010-12-16

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 127

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成的
多肽

<400> 1

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

1 5 10 15

Ser Val His Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

[0002]

<400> 3

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

<210> 4

<211> 103

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的
 多肽

<400> 4

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

<210> 5

[0004]

<211> 836
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 5
 Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ile Val
 1 5 10 15
 Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser
 20 25 30
 Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln
 35 40 45
 Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr
 50 55 60
 Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys
 65 70 75 80
 Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu
 85 90 95
 Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr
 100 105 110
 Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
 115 120 125
 Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
 130 135 140
 Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
 145 150 155 160
 Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
 165 170 175
 Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu
 180 185 190
 Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys
 195 200 205
 Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His
 210 215 220
 Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe
 225 230 235 240
 Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr
 245 250 255
 Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe
 260 265 270
 Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu
 275 280 285
 Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His
 290 295 300
 Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val
 305 310 315 320

[0005]

```

Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp
      325                      330                      335
Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val
      340                      345                      350
Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp
      355                      360                      365
Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe
      370                      375                      380
Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp
      385                      390                      395                      400
Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp
      405                      410                      415
Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His
      420                      425                      430
Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile
      435                      440                      445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr
      450                      455                      460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly
      465                      470                      475                      480
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu
      485                      490                      495
Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe
      500                      505                      510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro
      515                      520                      525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met
      530                      535                      540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
      545                      550                      555                      560
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly
      565                      570                      575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys
      580                      585                      590
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys
      595                      600                      605
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val
      610                      615                      620
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
      625                      630                      635                      640
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val
      645                      650                      655
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Thr Thr Lys
      660                      665                      670
Ile Ile Thr Lys Val Val Glu Pro Lys Ile Lys Val Ile Glu Gly Ser

```

[0006]

675	680	685
Leu Gln Pro Ile Ile Lys Thr	Glu Gly Pro Thr Leu Thr Lys Val Lys	
690	695	700
Ile Glu Gly Glu Pro Glu Phe Arg Leu Ile Lys Glu Gly Glu Thr Ile		
705	710	715
Thr Glu Val Ile His Gly Glu Pro Ile Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile		
725	730	735
Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu		
740	745	750
Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly		
755	760	765
Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys Lys Leu Leu Gln Glu Glu Val		
770	775	780
Thr Lys Val Thr Lys Phe Ile Glu Gly Gly Asp Gly His Leu Phe Glu		
785	790	795
Asp Glu Glu Ile Lys Arg Leu Leu Gln Gly Asp Thr Pro Val Arg Lys		
805	810	815
Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu		
820	825	830
Gly Arg Ser Gln		
835		

<210> 6

<211> 779

<212> PRT

<213> 智人

<400> 6

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ile Val		
1	5	10
Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser		
20	25	30
Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln		
35	40	45
Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr		
50	55	60
Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys		
65	70	75
Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu		
85	90	95
Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr		
100	105	110
Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly		
115	120	125
Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn		

[0007]

130	135	140
Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu		
145	150	155
Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr		160
165	170	175
Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu		
180	185	190
Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys		
195	200	205
Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His		
210	215	220
Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe		
225	230	235
Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr		
245	250	255
Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe		
260	265	270
Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu		
275	280	285
Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His		
290	295	300
Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val		
305	310	315
Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp		
325	330	335
Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val		
340	345	350
Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp		
355	360	365
Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe		
370	375	380
Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp		
385	390	395
Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp		
405	410	415
Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His		
420	425	430
Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile		
435	440	445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr		
450	455	460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly		
465	470	475
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu		
485	490	495

[0008]

```

Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe
      500                      505                      510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro
      515                      520                      525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met
      530                      535                      540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
      545                      550                      555                      560
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly
      565                      570                      575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys
      580                      585                      590
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys
      595                      600                      605
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val
      610                      615                      620
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
      625                      630                      635                      640
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val
      645                      650                      655
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Lys Pro Ile
      660                      665                      670
Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr
      675                      680                      685
Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys
      690                      695                      700
Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys
      705                      710                      715                      720
Lys Leu Leu Gln Glu Glu Val Thr Lys Val Thr Lys Phe Ile Glu Gly
      725                      730                      735
Gly Asp Gly His Leu Phe Glu Asp Glu Glu Ile Lys Arg Leu Leu Gln
      740                      745                      750
Gly Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val Gln Gly
      755                      760                      765
Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln
      770                      775

```

<210> 7

<211> 781

<212> PRT

<213> 智人

<400> 7

```

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Ile Val
1                      5                      10                      15

```

[0009]

```

Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser
      20                      25                      30
Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln
      35                      40                      45
Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr
      50                      55                      60
Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys
      65                      70                      75                      80
Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu
      85                      90                      95
Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr
      100                     105                     110
Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
      115                     120                     125
Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
      130                     135                     140
Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
      145                     150                     155                     160
Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
      165                     170                     175
Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu
      180                     185                     190
Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys
      195                     200                     205
Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His
      210                     215                     220
Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe
      225                     230                     235                     240
Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr
      245                     250                     255
Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe
      260                     265                     270
Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu
      275                     280                     285
Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His
      290                     295                     300
Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val
      305                     310                     315                     320
Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp
      325                     330                     335
Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val
      340                     345                     350
Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp
      355                     360                     365
Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe

```

[0010]

370	375	380
Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp		
385	390	395
Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp		400
405	410	415
Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His		
420	425	430
Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile		
435	440	445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr		
450	455	460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly		
465	470	475
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu		
485	490	495
Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe		
500	505	510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro		
515	520	525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met		
530	535	540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln		
545	550	555
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly		
565	570	575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys		
580	585	590
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys		
595	600	605
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val		
610	615	620
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu		
625	630	635
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val		
645	650	655
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Arg Pro Thr		
660	665	670
Leu Thr Lys Val Lys Ile Glu Gly Glu Pro Glu Phe Arg Leu Ile Lys		
675	680	685
Glu Gly Glu Thr Ile Thr Glu Val Ile His Gly Glu Pro Ile Ile Lys		
690	695	700
Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr Glu Lys		
705	710	715
Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys Tyr Thr		
725	730	735

[0011]

Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys Lys Leu
 740 745 750
 Leu Gln Glu Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val
 755 760 765
 Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln
 770 775 780

<210> 8
 <211> 751
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 8
 Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ile Val
 1 5 10 15
 Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser
 20 25 30
 Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln
 35 40 45
 Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr
 50 55 60
 Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys
 65 70 75 80
 Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu
 85 90 95
 Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr
 100 105 110
 Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
 115 120 125
 Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
 130 135 140
 Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
 145 150 155 160
 Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
 165 170 175
 Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu
 180 185 190
 Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys
 195 200 205
 Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His
 210 215 220
 Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe
 225 230 235 240
 Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr
 245 250 255

[0012]

```

Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe
      260                      265                      270
Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu
      275                      280                      285
Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His
      290                      295                      300
Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val
      305                      310                      315                      320
Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp
      325                      330                      335
Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val
      340                      345                      350
Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp
      355                      360                      365
Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe
      370                      375                      380
Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp
      385                      390                      395                      400
Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp
      405                      410                      415
Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His
      420                      425                      430
Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile
      435                      440                      445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr
      450                      455                      460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly
      465                      470                      475                      480
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu
      485                      490                      495
Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe
      500                      505                      510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro
      515                      520                      525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met
      530                      535                      540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
      545                      550                      555                      560
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly
      565                      570                      575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys
      580                      585                      590
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys
      595                      600                      605
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val

```

[0013]

610	615	620
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu		
625	630	635
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val		640
	645	650
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Lys Pro Ile		655
	660	665
Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr		670
	675	680
Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys		685
	690	695
Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys		700
705	710	715
Lys Leu Leu Gln Glu Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys		720
	725	730
Lys Val Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln		735
	740	745
		750

<210> 9

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的
多肽

<400> 9

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

[0014]

<210> 10
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成的
多肽

<400> 10
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Asp Ser Tyr
 20 25 30
Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 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 Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
 85 90 95
Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 11
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成的
肽

<400> 11
Ala Tyr Ser Val Asn Trp
1 5

<210> 12
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成的

[0015]

肽

<400> 12

Met Ile Trp Gly Asp Gly Lys Ile Val Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

1

5

10

15

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的
肽

<400> 13

Asp Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Asn

1

5

10

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的
肽

<400> 14

Arg Ala Ser Lys Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met His

1

5

10

15

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的
肽

<400> 15

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1

5

[0016]

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成的
肽

<400> 16
Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Arg Thr
1 5

<210> 17
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成的
多肽

<400> 17
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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30
Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
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 Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95
Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val

<210> 18
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

[0017]

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成的
多肽

<400> 18

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 Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
 20 25 30
 Tyr Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Val Ala Ser Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Phe 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 Arg Gly Ser His Tyr Phe Gly His Trp His Phe Ala Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly

<210> 19

<211> 836

<212> PRT

<213> 智人

<400> 19

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

[0018]

130	135	140
Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu		
145	150	155
Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr		
165	170	175
Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu		
180	185	190
Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys		
195	200	205
Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His		
210	215	220
Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe		
225	230	235
Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr		
245	250	255
Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe		
260	265	270
Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu		
275	280	285
Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His		
290	295	300
Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val		
305	310	315
Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp		
325	330	335
Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val		
340	345	350
Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp		
355	360	365
Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe		
370	375	380
Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp		
385	390	395
Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp		
405	410	415
Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His		
420	425	430
Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile		
435	440	445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr		
450	455	460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly		
465	470	475
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu		
485	490	495

[0019]

Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe		
500	505	510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro		
515	520	525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met		
530	535	540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln		
545	550	555
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly		
565	570	575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys		
580	585	590
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys		
595	600	605
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val		
610	615	620
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu		
625	630	635
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val		
645	650	655
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Thr Thr Lys		
660	665	670
Ile Ile Thr Lys Val Val Glu Pro Lys Ile Lys Val Ile Glu Gly Ser		
675	680	685
Leu Gln Pro Ile Ile Lys Thr Glu Gly Pro Thr Leu Thr Lys Val Lys		
690	695	700
Ile Glu Gly Glu Pro Glu Phe Arg Leu Ile Lys Glu Gly Glu Thr Ile		
705	710	715
Thr Glu Val Ile His Gly Glu Pro Ile Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile		
725	730	735
Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu		
740	745	750
Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly		
755	760	765
Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys Lys Leu Leu Gln Glu Glu Val		
770	775	780
Thr Lys Val Thr Lys Phe Ile Glu Gly Gly Asp Gly His Leu Phe Glu		
785	790	795
Asp Glu Glu Ile Lys Arg Leu Leu Gln Gly Asp Thr Pro Val Arg Lys		
805	810	815
Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu		
820	825	830
Gly Arg Ser Gln		
835		

[0020]

<210> 20
 <211> 779
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 20

```

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ile Val
1           5           10           15
Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser
           20           25           30
Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln
           35           40           45
Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr
           50           55           60
Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys
65           70           75           80
Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu
           85           90           95
Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr
           100          105          110
Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
           115          120          125
Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
           130          135          140
Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
145          150          155          160
Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
           165          170          175
Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu
           180          185          190
Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys
           195          200          205
Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His
           210          215          220
Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe
225          230          235          240
Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr
           245          250          255
Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe
           260          265          270
Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu
           275          280          285
Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His
           290          295          300
Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val

```

[0021]

305	310	315	320
Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp			
	325	330	335
Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val			
	340	345	350
Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp			
	355	360	365
Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe			
	370	375	380
Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp			
385	390	395	400
Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp			
	405	410	415
Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His			
	420	425	430
Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile			
	435	440	445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr			
	450	455	460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly			
465	470	475	480
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu			
	485	490	495
Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe			
	500	505	510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro			
	515	520	525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met			
	530	535	540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln			
545	550	555	560
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly			
	565	570	575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys			
	580	585	590
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys			
	595	600	605
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val			
	610	615	620
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu			
625	630	635	640
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val			
	645	650	655
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Lys Pro Ile			
	660	665	670

[0022]

```

Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr
    675                      680                      685
Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys
    690                      695                      700
Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys
    705                      710                      715                      720
Lys Leu Leu Gln Glu Glu Val Thr Lys Val Thr Lys Phe Ile Glu Gly
    725                      730                      735
Gly Asp Gly His Leu Phe Glu Asp Glu Glu Ile Lys Arg Leu Leu Gln
    740                      745                      750
Gly Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val Gln Gly
    755                      760                      765
Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln
    770                      775

```

<210> 21

<211> 781

<212> PRT

<213> 智人

<400> 21

```

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Ile Val
1          5          10          15
Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser
    20          25          30
Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln
    35          40          45
Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr
    50          55          60
Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys
    65          70          75          80
Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu
    85          90          95
Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr
    100         105         110
Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
    115         120         125
Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
    130         135         140
Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
    145         150         155         160
Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
    165         170         175
Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu
    180         185         190

```

[0023]

Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys		
195	200	205
Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His		
210	215	220
Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe		
225	230	235 240
Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr		
245	250	255
Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe		
260	265	270
Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu		
275	280	285
Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His		
290	295	300
Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val		
305	310	315 320
Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp		
325	330	335
Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val		
340	345	350
Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp		
355	360	365
Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe		
370	375	380
Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp		
385	390	395 400
Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp		
405	410	415
Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His		
420	425	430
Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile		
435	440	445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr		
450	455	460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly		
465	470	475 480
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu		
485	490	495
Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe		
500	505	510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro		
515	520	525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met		
530	535	540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln		

[0024]

545	550	555	560
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly			
	565	570	575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys			
	580	585	590
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys			
	595	600	605
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val			
610	615	620	
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu			
625	630	635	640
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val			
	645	650	655
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Arg Pro Thr			
	660	665	670
Leu Thr Lys Val Lys Ile Glu Gly Glu Pro Glu Phe Arg Leu Ile Lys			
	675	680	685
Glu Gly Glu Thr Ile Thr Glu Val Ile His Gly Glu Pro Ile Ile Lys			
690	695	700	
Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr Glu Lys			
705	710	715	720
Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys Tyr Thr			
	725	730	735
Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys Lys Leu			
	740	745	750
Leu Gln Glu Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys Lys Val			
	755	760	765
Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln			
770	775	780	

<210> 22

<211> 751

<212> PRT

<213> 智人

<400> 22

Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Ile Val			
1	5	10	15
Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser			
	20	25	30
Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln			
	35	40	45
Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr			
50	55	60	
Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys			

[0025]

65	70	75	80
Pro Gly Tyr Met Arg	Met Glu Gly Met	Lys Gly Cys Pro	Ala Val Leu
85	90	95	
Pro Ile Asp His Val	Tyr Gly Thr Leu	Gly Ile Val Gly	Ala Thr Thr
100	105	110	
Thr Gln Arg Tyr Ser	Asp Ala Ser Lys	Leu Arg Glu Glu	Ile Glu Gly
115	120	125	
Lys Gly Ser Phe Thr	Tyr Phe Ala Pro	Ser Asn Glu Ala	Trp Asp Asn
130	135	140	
Leu Asp Ser Asp Ile	Arg Arg Gly Leu	Glu Ser Asn Val	Asn Val Glu
145	150	155	160
Leu Leu Asn Ala Leu	His Ser His Met	Ile Asn Lys Arg	Met Leu Thr
165	170	175	
Lys Asp Leu Lys Asn	Gly Met Ile Ile	Pro Ser Met Tyr	Asn Asn Leu
180	185	190	
Gly Leu Phe Ile Asn	His Tyr Pro Asn	Gly Val Val Thr	Val Asn Cys
195	200	205	
Ala Arg Ile Ile His	Gly Asn Gln Ile	Ala Thr Asn Gly	Val Val His
210	215	220	
Val Ile Asp Arg Val	Leu Thr Gln Ile	Gly Thr Ser Ile	Gln Asp Phe
225	230	235	240
Ile Glu Ala Glu Asp	Asp Leu Ser Ser	Phe Arg Ala Ala	Ala Ile Thr
245	250	255	
Ser Asp Ile Leu Glu	Ala Leu Gly Arg	Asp Gly His Phe	Thr Leu Phe
260	265	270	
Ala Pro Thr Asn Glu	Ala Phe Glu Lys	Leu Pro Arg Gly	Val Leu Glu
275	280	285	
Arg Ile Met Gly Asp	Lys Val Ala Ser	Glu Ala Leu Met	Lys Tyr His
290	295	300	
Ile Leu Asn Thr Leu	Gln Cys Ser Glu	Ser Ile Met Gly	Gly Ala Val
305	310	315	320
Phe Glu Thr Leu Glu	Gly Asn Thr Ile	Glu Ile Gly Cys	Asp Gly Asp
325	330	335	
Ser Ile Thr Val Asn	Gly Ile Lys Met	Val Asn Lys Lys	Asp Ile Val
340	345	350	
Thr Asn Asn Gly Val	Ile His Leu Ile	Asp Gln Val Leu	Ile Pro Asp
355	360	365	
Ser Ala Lys Gln Val	Ile Glu Leu Ala	Gly Lys Gln Gln	Thr Thr Phe
370	375	380	
Thr Asp Leu Val Ala	Gln Leu Gly Leu	Ala Ser Ala Leu	Arg Pro Asp
385	390	395	400
Gly Glu Tyr Thr Leu	Leu Ala Pro Val	Asn Asn Ala Phe	Ser Asp Asp
405	410	415	
Thr Leu Ser Met Asp	Gln Arg Leu Leu	Lys Leu Ile Leu	Gln Asn His
420	425	430	

[0026]

```

Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile
    435                      440                      445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr
    450                      455                      460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly
    465                      470                      475                      480
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu
    485                      490                      495
Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe
    500                      505                      510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro
    515                      520                      525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met
    530                      535                      540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln
    545                      550                      555                      560
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly
    565                      570                      575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys
    580                      585                      590
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys
    595                      600                      605
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val
    610                      615                      620
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu
    625                      630                      635                      640
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val
    645                      650                      655
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Lys Pro Ile
    660                      665                      670
Ile Lys Lys Tyr Thr Lys Ile Ile Asp Gly Val Pro Val Glu Ile Thr
    675                      680                      685
Glu Lys Glu Thr Arg Glu Glu Arg Ile Ile Thr Gly Pro Glu Ile Lys
    690                      695                      700
Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr Leu Lys
    705                      710                      715                      720
Lys Leu Leu Gln Glu Asp Thr Pro Val Arg Lys Leu Gln Ala Asn Lys
    725                      730                      735
Lys Val Gln Gly Ser Arg Arg Arg Leu Arg Glu Gly Arg Ser Gln
    740                      745                      750

```

<210> 23

<211> 695

<212> PRT

<213> 智人

[0027]

<400> 23
 Met Ile Pro Phe Leu Pro Met Phe Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ile Val
 1 5 10 15
 Asn Pro Ile Asn Ala Asn Asn His Tyr Asp Lys Ile Leu Ala His Ser
 20 25 30
 Arg Ile Arg Gly Arg Asp Gln Gly Pro Asn Val Cys Ala Leu Gln Gln
 35 40 45
 Ile Leu Gly Thr Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Thr Cys Lys Asn Trp Tyr
 50 55 60
 Lys Lys Ser Ile Cys Gly Gln Lys Thr Thr Val Leu Tyr Glu Cys Cys
 65 70 75 80
 Pro Gly Tyr Met Arg Met Glu Gly Met Lys Gly Cys Pro Ala Val Leu
 85 90 95
 Pro Ile Asp His Val Tyr Gly Thr Leu Gly Ile Val Gly Ala Thr Thr
 100 105 110
 Thr Gln Arg Tyr Ser Asp Ala Ser Lys Leu Arg Glu Glu Ile Glu Gly
 115 120 125
 Lys Gly Ser Phe Thr Tyr Phe Ala Pro Ser Asn Glu Ala Trp Asp Asn
 130 135 140
 Leu Asp Ser Asp Ile Arg Arg Gly Leu Glu Ser Asn Val Asn Val Glu
 145 150 155 160
 Leu Leu Asn Ala Leu His Ser His Met Ile Asn Lys Arg Met Leu Thr
 165 170 175
 Lys Asp Leu Lys Asn Gly Met Ile Ile Pro Ser Met Tyr Asn Asn Leu
 180 185 190
 Gly Leu Phe Ile Asn His Tyr Pro Asn Gly Val Val Thr Val Asn Cys
 195 200 205
 Ala Arg Ile Ile His Gly Asn Gln Ile Ala Thr Asn Gly Val Val His
 210 215 220
 Val Ile Asp Arg Val Leu Thr Gln Ile Gly Thr Ser Ile Gln Asp Phe
 225 230 235 240
 Ile Glu Ala Glu Asp Asp Leu Ser Ser Phe Arg Ala Ala Ala Ile Thr
 245 250 255
 Ser Asp Ile Leu Glu Ala Leu Gly Arg Asp Gly His Phe Thr Leu Phe
 260 265 270
 Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Leu Pro Arg Gly Val Leu Glu
 275 280 285
 Arg Ile Met Gly Asp Lys Val Ala Ser Glu Ala Leu Met Lys Tyr His
 290 295 300
 Ile Leu Asn Thr Leu Gln Cys Ser Glu Ser Ile Met Gly Gly Ala Val
 305 310 315 320
 Phe Glu Thr Leu Glu Gly Asn Thr Ile Glu Ile Gly Cys Asp Gly Asp
 325 330 335
 Ser Ile Thr Val Asn Gly Ile Lys Met Val Asn Lys Lys Asp Ile Val

[0028]

340	345	350
Thr Asn Asn Gly Val Ile His Leu Ile Asp Gln Val Leu Ile Pro Asp		
355	360	365
Ser Ala Lys Gln Val Ile Glu Leu Ala Gly Lys Gln Gln Thr Thr Phe		
370	375	380
Thr Asp Leu Val Ala Gln Leu Gly Leu Ala Ser Ala Leu Arg Pro Asp		
385	390	395
Gly Glu Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Val Asn Asn Ala Phe Ser Asp Asp		
405	410	415
Thr Leu Ser Met Asp Gln Arg Leu Leu Lys Leu Ile Leu Gln Asn His		
420	425	430
Ile Leu Lys Val Lys Val Gly Leu Asn Glu Leu Tyr Asn Gly Gln Ile		
435	440	445
Leu Glu Thr Ile Gly Gly Lys Gln Leu Arg Val Phe Val Tyr Arg Thr		
450	455	460
Ala Val Cys Ile Glu Asn Ser Cys Met Glu Lys Gly Ser Lys Gln Gly		
465	470	475
Arg Asn Gly Ala Ile His Ile Phe Arg Glu Ile Ile Lys Pro Ala Glu		
485	490	495
Lys Ser Leu His Glu Lys Leu Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ser Thr Phe		
500	505	510
Leu Ser Leu Leu Glu Ala Ala Asp Leu Lys Glu Leu Leu Thr Gln Pro		
515	520	525
Gly Asp Trp Thr Leu Phe Val Pro Thr Asn Asp Ala Phe Lys Gly Met		
530	535	540
Thr Ser Glu Glu Lys Glu Ile Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ala Leu Gln		
545	550	555
Asn Ile Ile Leu Tyr His Leu Thr Pro Gly Val Phe Ile Gly Lys Gly		
565	570	575
Phe Glu Pro Gly Val Thr Asn Ile Leu Lys Thr Thr Gln Gly Ser Lys		
580	585	590
Ile Phe Leu Lys Glu Val Asn Asp Thr Leu Leu Val Asn Glu Leu Lys		
595	600	605
Ser Lys Glu Ser Asp Ile Met Thr Thr Asn Gly Val Ile His Val Val		
610	615	620
Asp Lys Leu Leu Tyr Pro Ala Asp Thr Pro Val Gly Asn Asp Gln Leu		
625	630	635
Leu Glu Ile Leu Asn Lys Leu Ile Lys Tyr Ile Gln Ile Lys Phe Val		
645	650	655
Arg Gly Ser Thr Phe Lys Glu Ile Pro Val Thr Val Tyr Ser Pro Glu		
660	665	670
Ile Lys Tyr Thr Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Glu Thr Glu Glu Thr		
675	680	685
Leu Lys Lys Leu Leu Gln Glu		
690	695	

[0029]

<210> 24
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成的
多肽

<400> 24
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 Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
Gly Ile Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ala Phe Ile Ser Asp Leu Ala Tyr Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
 50 55 60
Thr 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 Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ala Arg Asp Asn Trp Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 25
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 合成的
多肽

<400> 25
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn
 20 25 30
Asn Ala Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

[0030]

50	55	60													
Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile
65					70					75					80
Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Gln	Asn
					85					90					95
Thr	Leu	Val	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
					100					105					110

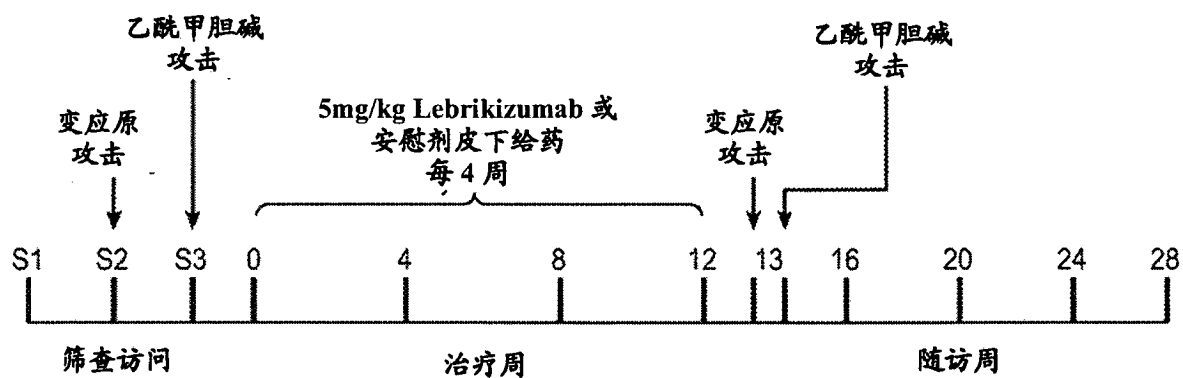


图 1

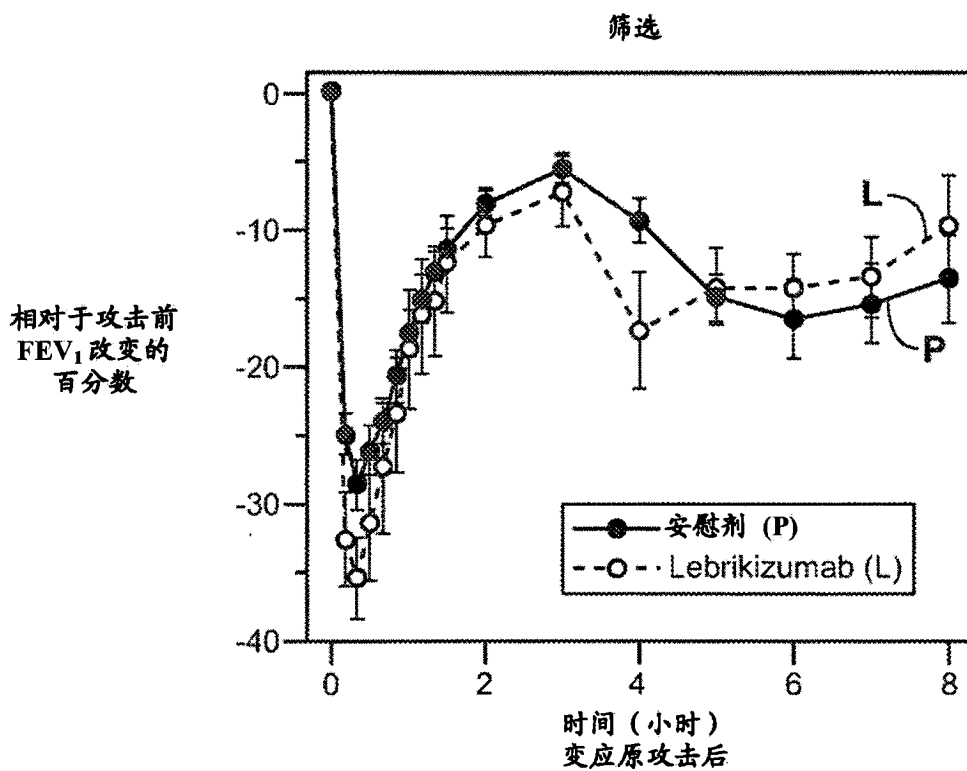


图 2A

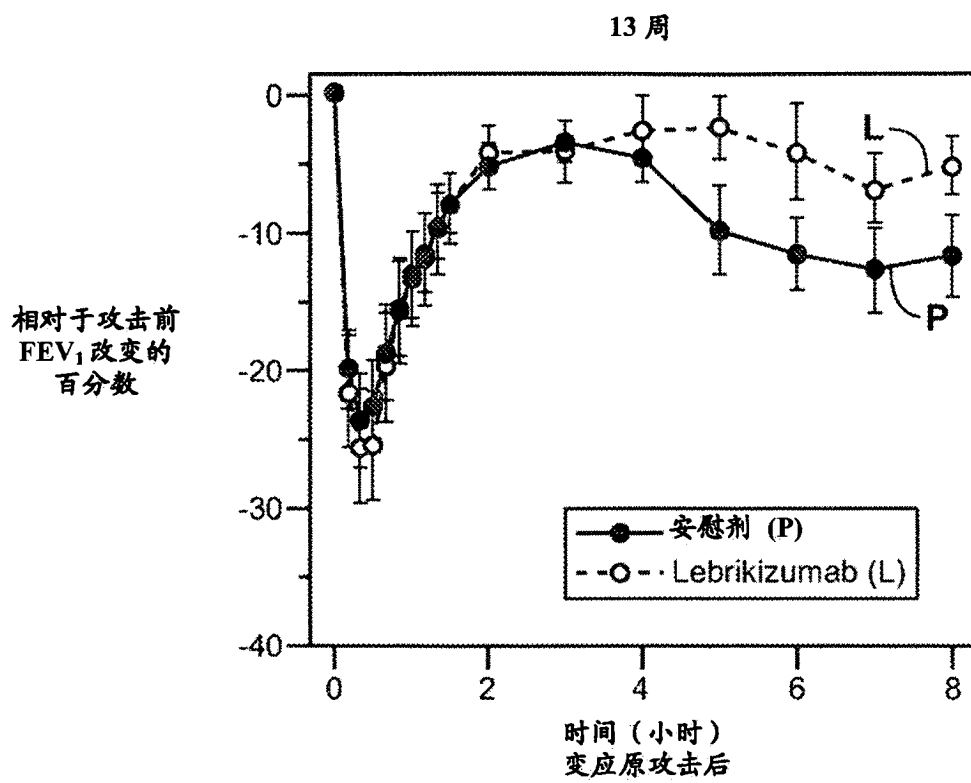


图 2B

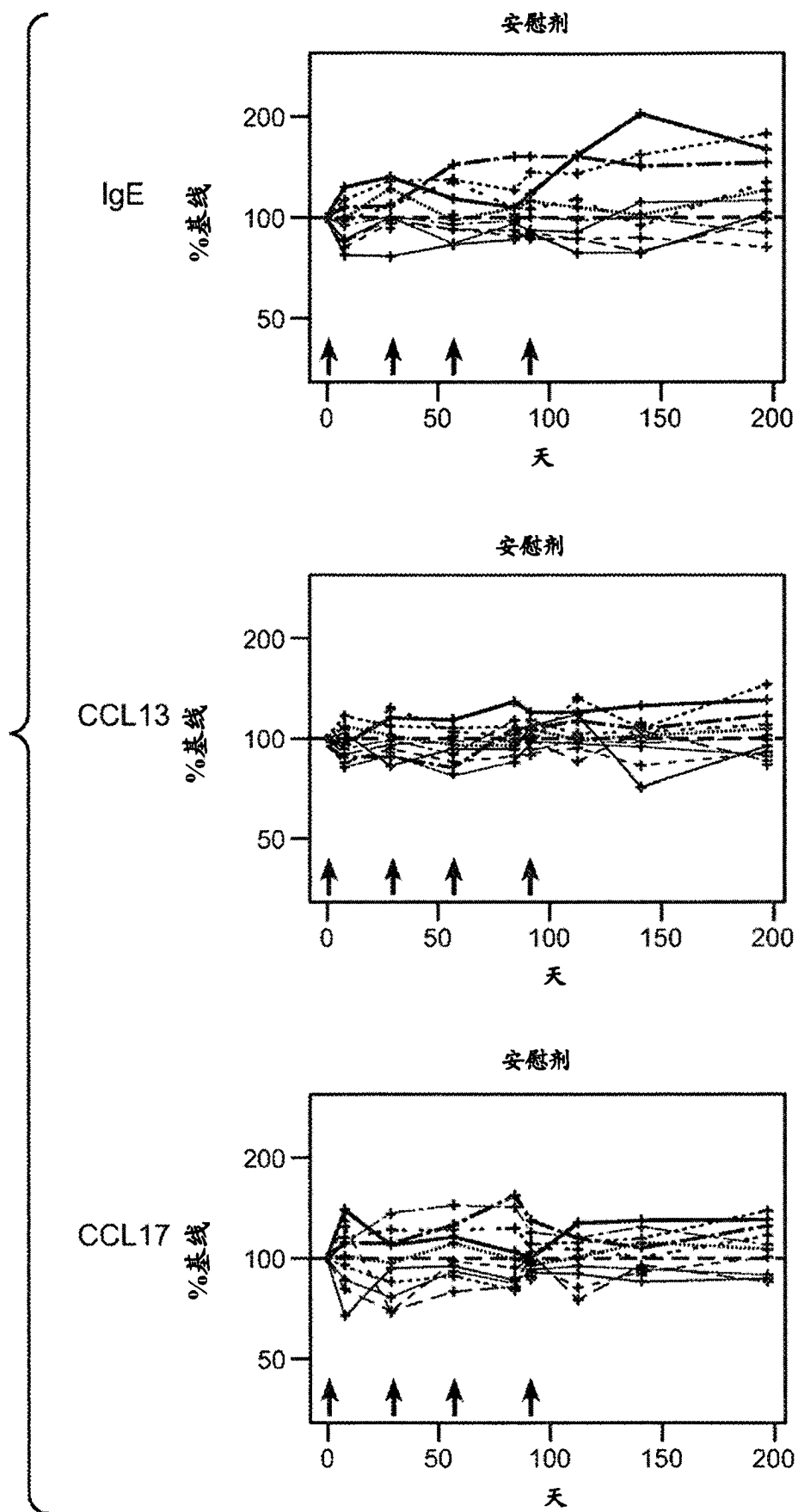


图 3A

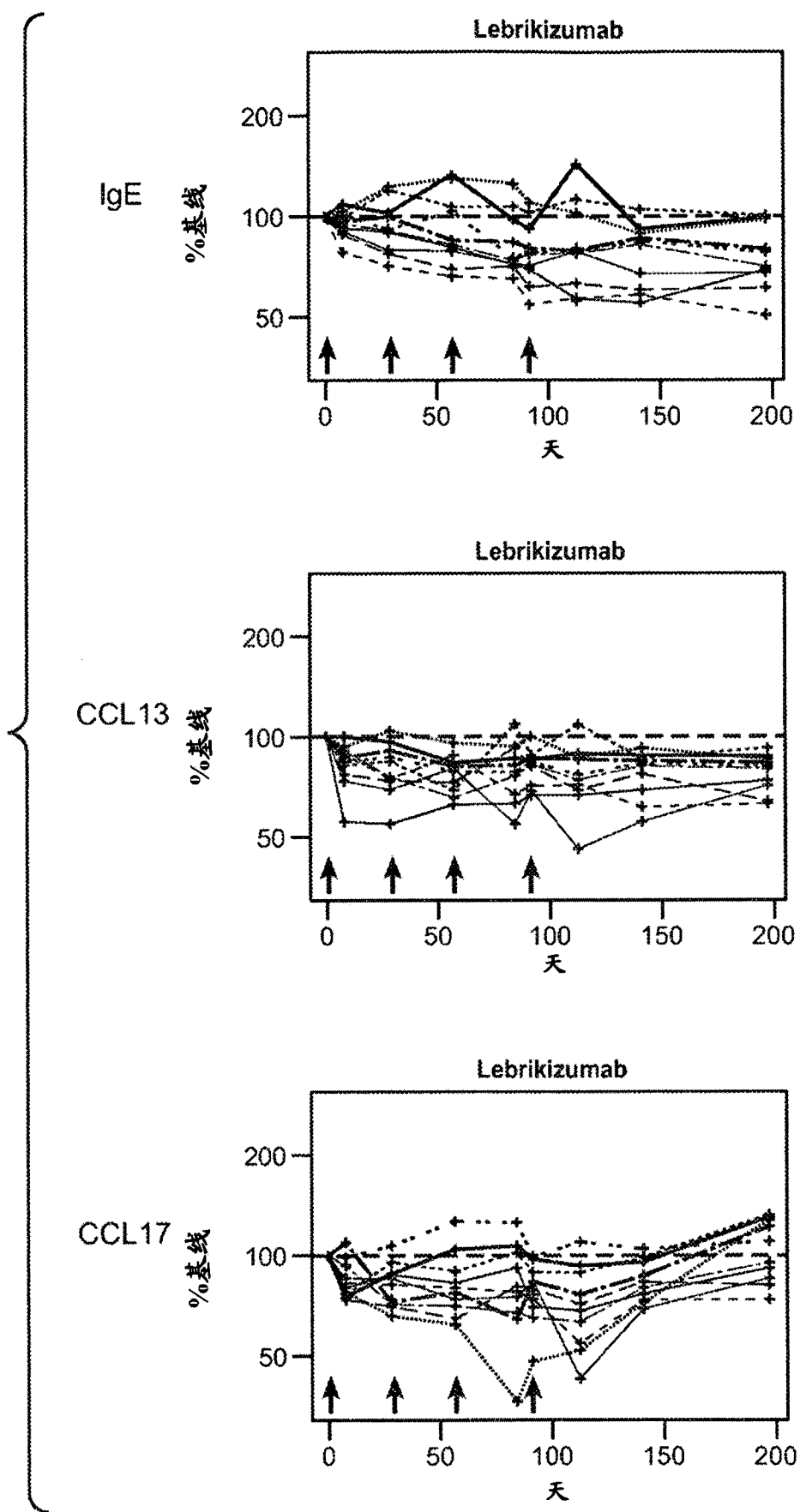


图 3B

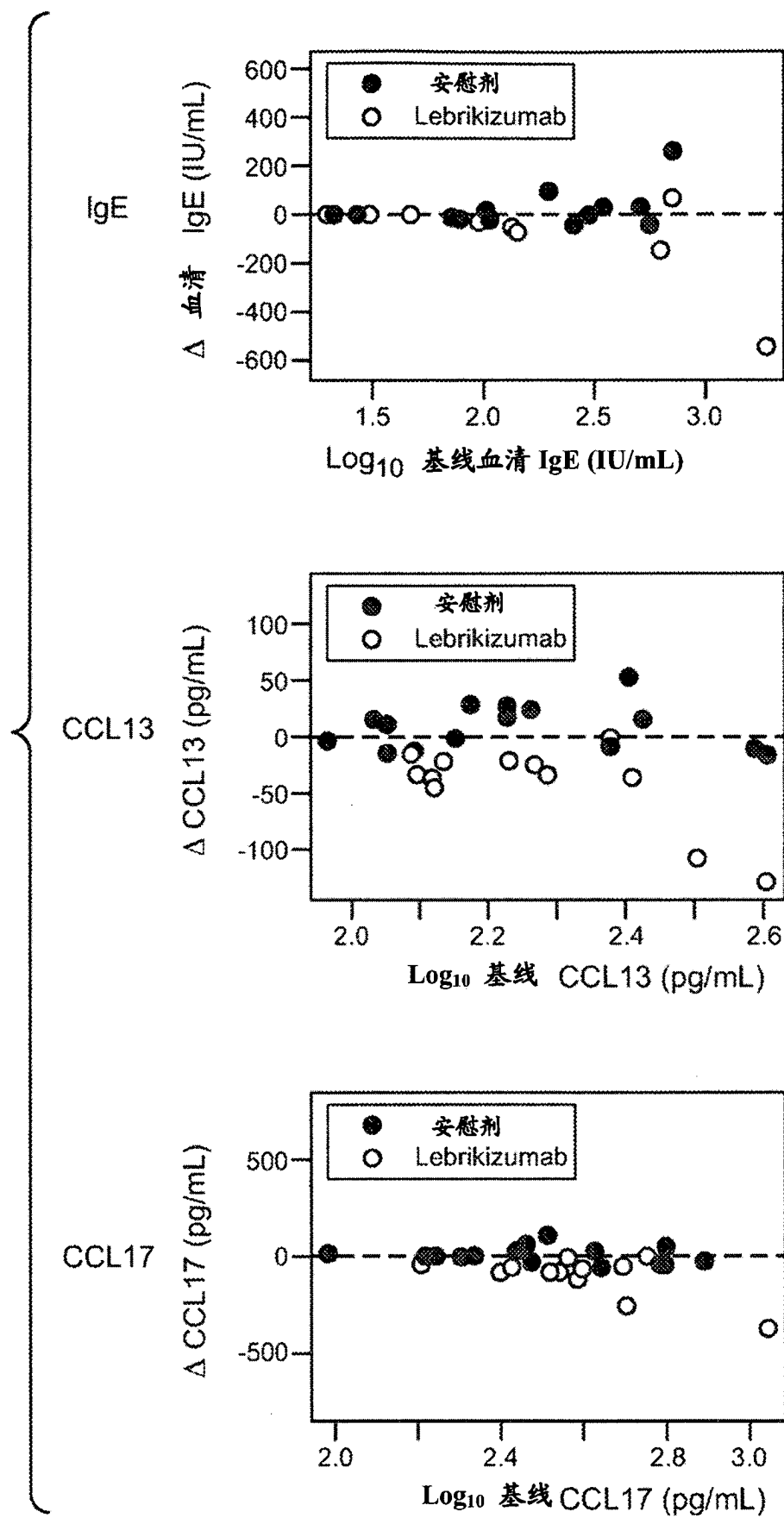


图 3C

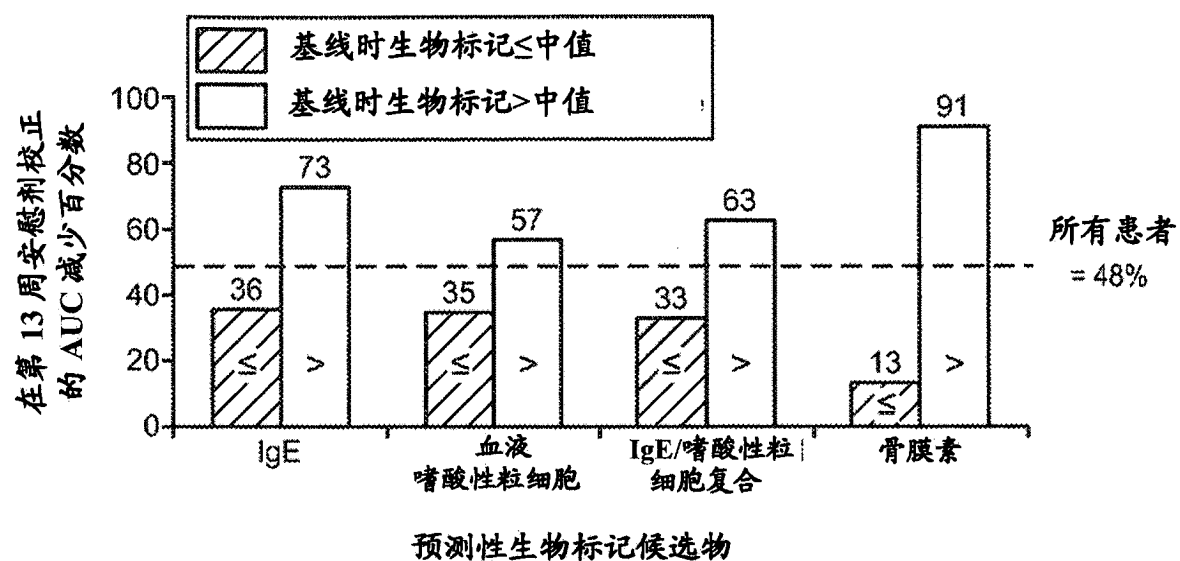


图 4

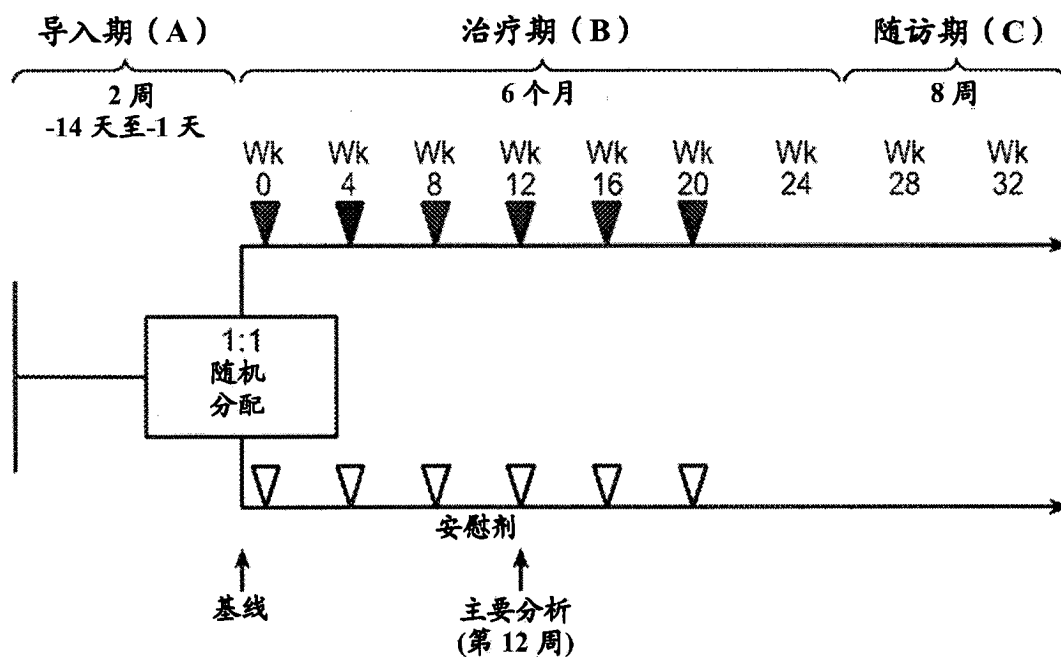


图 5

	Lebrikizumab (N = 88)	安慰剂 (N = 92)
年龄(岁)	45 (11)	44 (13)
性别 (女)	61%	65%
种族(白人)	86%	86%
IL-13 标签替代物阳性	57%	50%
IgE 中值	173	211
嗜酸性粒细胞	0.2 (0.2)	0.3 (0.2)
骨髓素高	41%	51%
体重	87 (20)	85 (19)
FEV1 % 预测的	65 (11)	67 (10)
LABA 使用(是)	77.3%	80.4%
高剂量 ICS (≥500 mcg FP)	51%	63%
从未吸烟	81%	86%
皮肤检查(阳性)	86% (n=59)	88% (n=60)
ACQ	2.5 (0.9)	2.6 (0.9)
FeNO	30.0 (24.7)	29.3 (27.6)
湿疹(是)	6.8%	18.5%
变应性鼻炎(是)	76%	75%
%可逆性	22.0 (18.3)	18.1 (11.7)

图 6

时间	12 周 (95% CI)				24 周 (95% CI)		
	Lebrikizumab	安慰剂	Lebrikizumab- 安慰剂		Lebrikizumab	安慰剂	Lebrikizumab- 安慰剂
治疗组							
所有受试者 N = 180	9.1%	3.2%	5.9% (0.9%, 10.9%)		8.2%	3.5%	4.8% (0.3%, 9.3%)
IL-13 标签+ N = 96	9.0%	2.8%	6.2% (-0.2%, 12.6%)		9.2%	2.4%	6.8% (0.5%, 13.1%)
IL-13 标签- N = 84	9.1%	3.5%	5.6% (-2.4%, 13.5%)		7.0%	4.5%	2.5% (-4.4%, 9.3%)
骨膜素高 (≥中值) N = 83	11.8%	1.8%	10.0% (2.5%, 17.5%)		8.2%	2.2%	6.1% (-1.4%, 13.6%)
骨膜素低 (<中值) N = 97	7.2%	4.6%	2.5% (-4.1%, 9.2%)		8.3%	4.8%	3.5% (-2.2%, 9.1%)

图 7

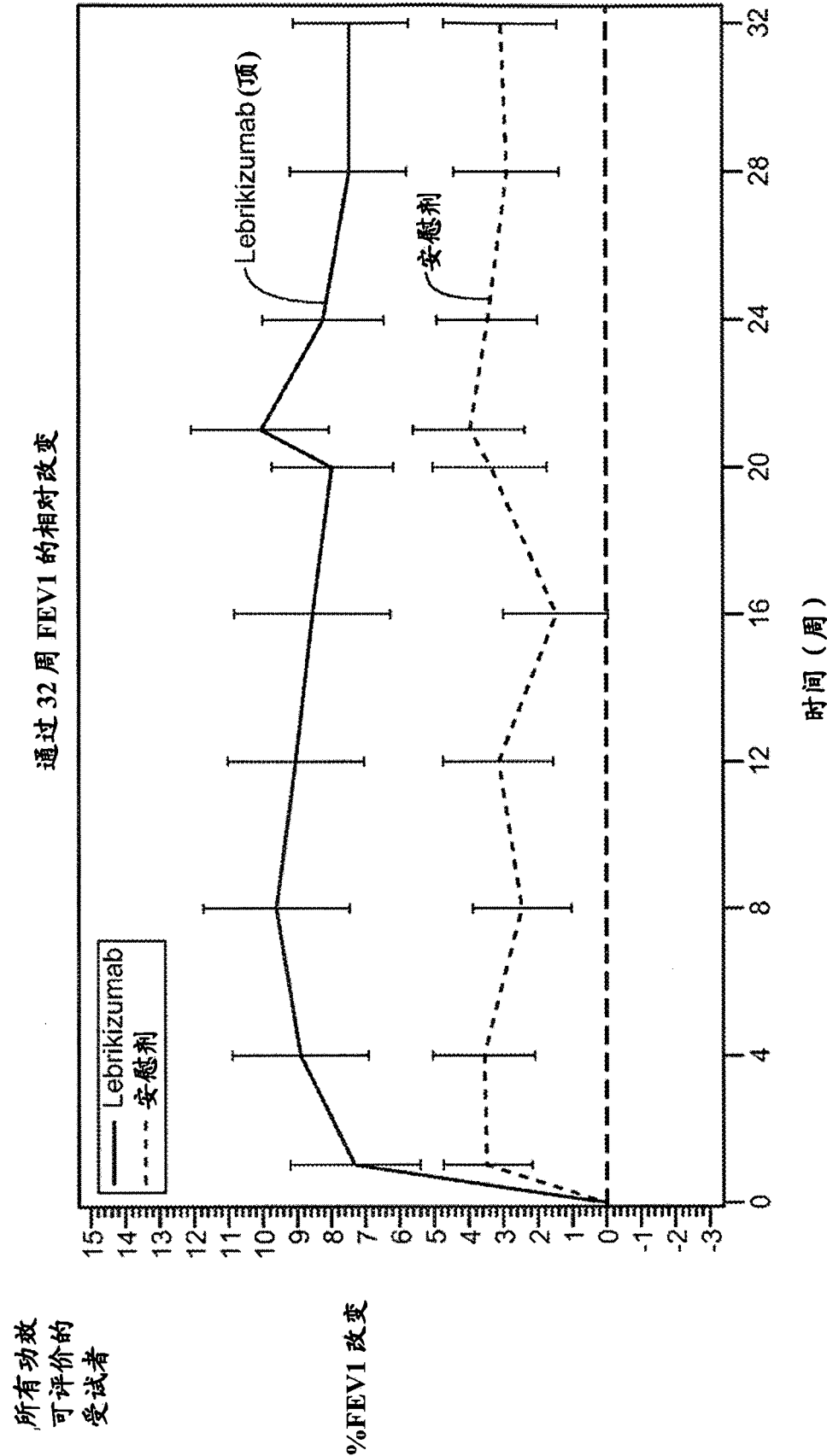


图 8A

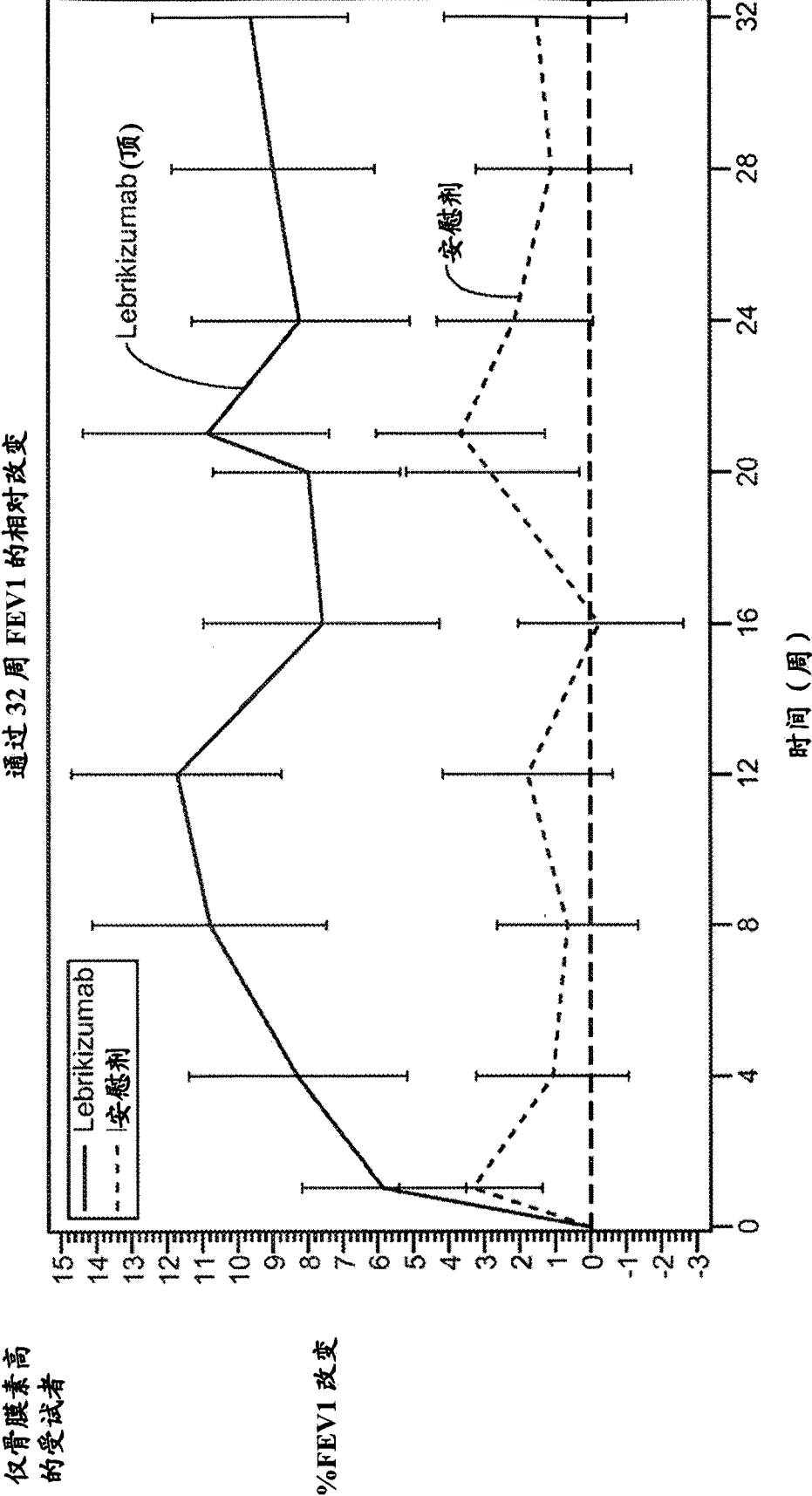


图 8B

组别	经 24 周 恶化的减少率 (95% CI) p 值	经 24 周 严重恶化的减少率 (95% CI) p 值
所有受试者 (n = 180)	37% (-22%, 67%) p = 0.17	51% (-33%, 82%) p = 0.16
骨膜素高* (n = 83)	61% (-6%, 86%) p = 0.07	84% (14%, 97%) p = 0.03
骨膜素低* (n = 97)	25% (-73%, 68%) p = 0.50	9% (-228%, 75%) p = 0.89

*由 $\geq$ 所有受试者中的中值骨膜素定义

图 9

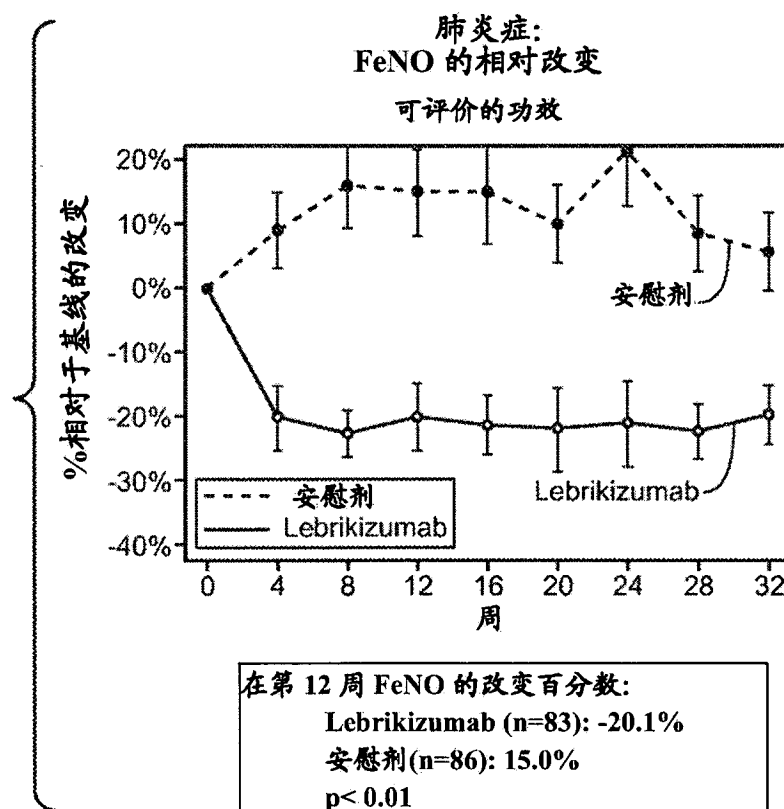


图 10

	Lebrikizumab n = 106	安慰剂 n = 112	所有 n = 218
任何不良事件	79 (74.5%)	87 (77.7%)	166 (76.1%)
所有 SAE	4 (3.8%)	6 (5.4%)	10 (4.6%)
与研究药物相关的 SAE	0	0	0
由于 AE 导致的中断	5 (4.7%)	3 (2.7%)	8 (3.7%)
轻度 AE	58 (54.7%)	66 (58.9%)	124 (56.9%)
轻度相关的 AE	12 (11.3%)	11 (9.8%)	23 (10.6%)
中度 AE	51 (48.1%)	58 (51.8%)	109 (50.0%)
中度相关的 AE	9 (8.5%)	7 (6.3%)	16 (7.3%)
重度 AE	15 (14.2%)	20 (17.9%)	35 (16.1%)
重度相关的 AE	5 (4.7%)	3 (2.7%)	8 (3.7%)
死亡	0	0	0
怀孕	0	0	0
恶性肿瘤	0	1	1

¹n=具有至少一个事件的受试者的数目

图 11

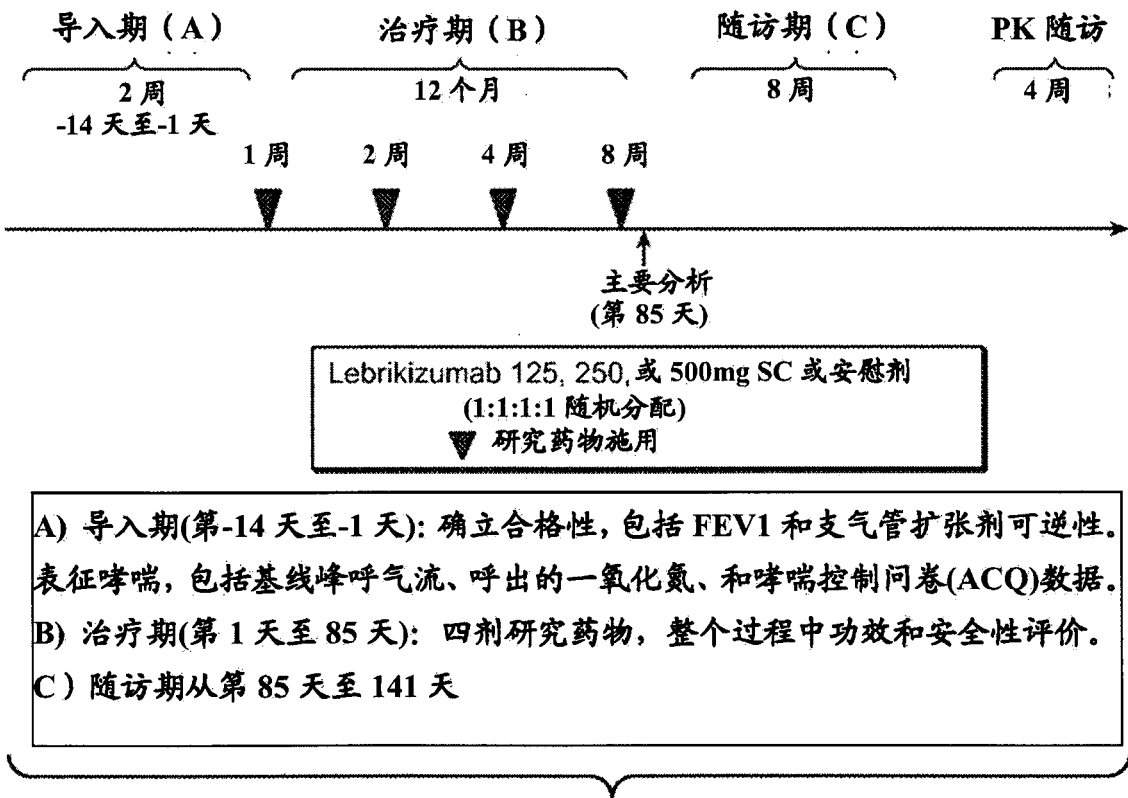


图 12

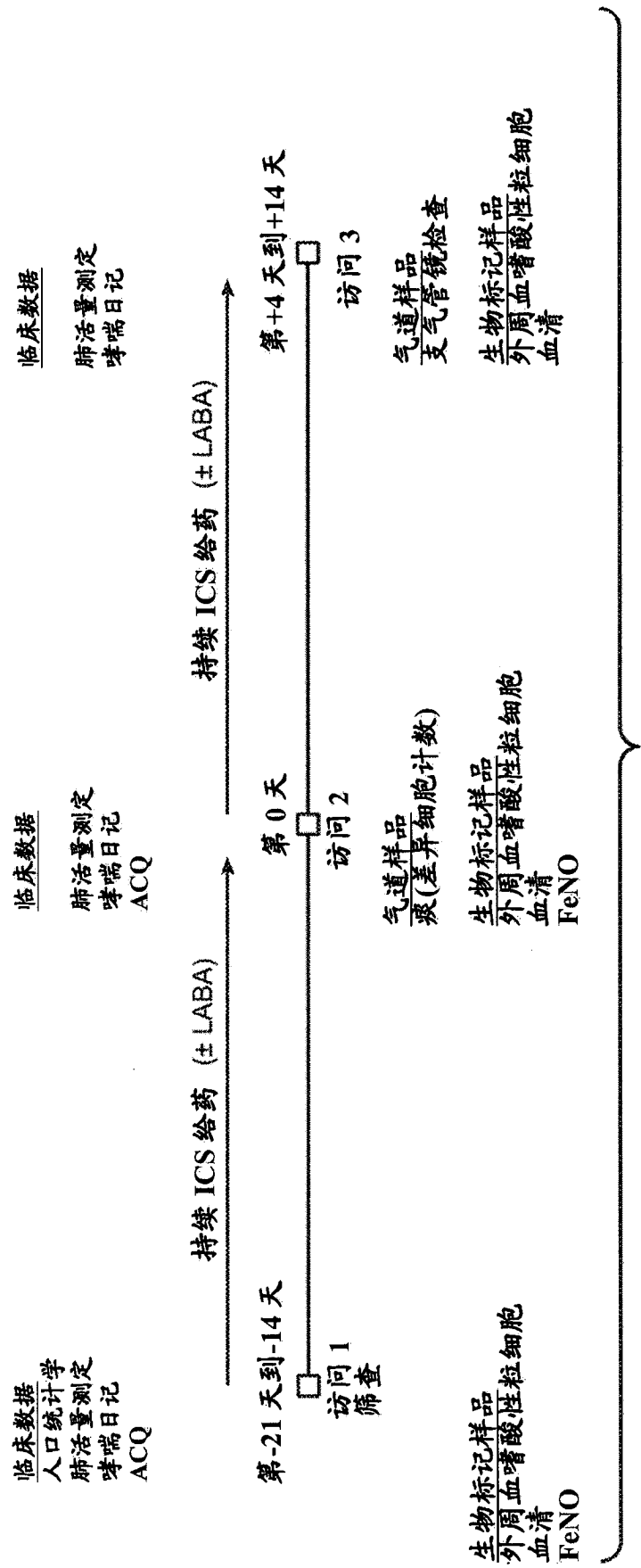


图 13

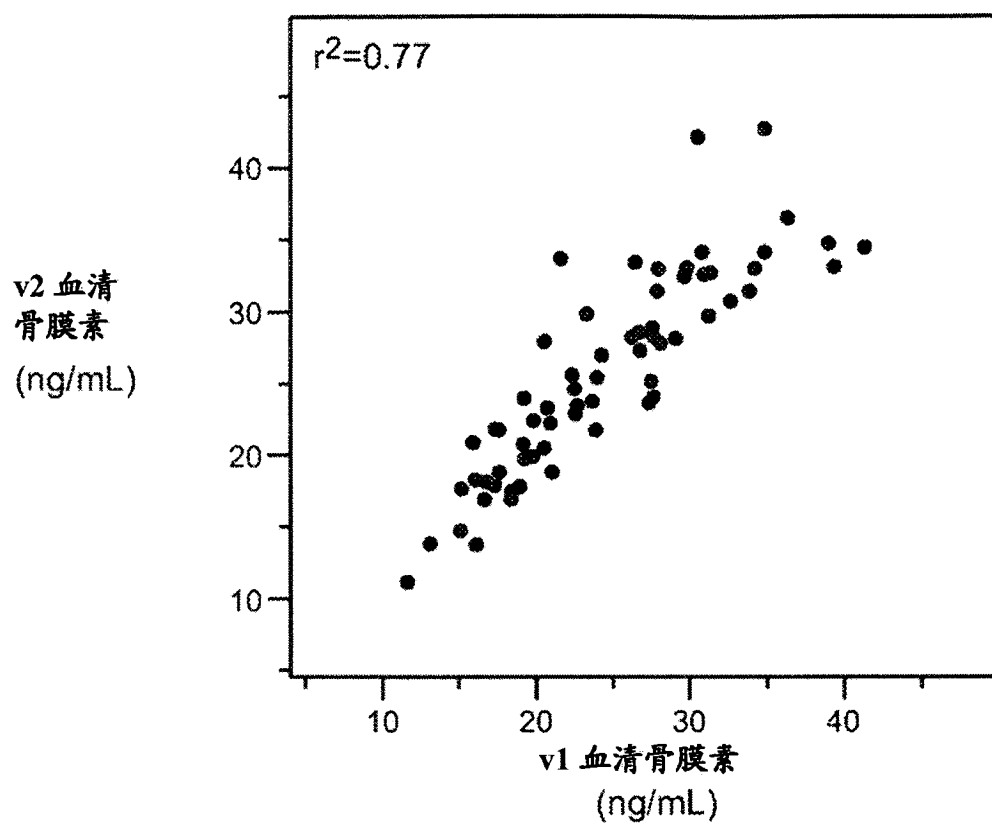


图 14A

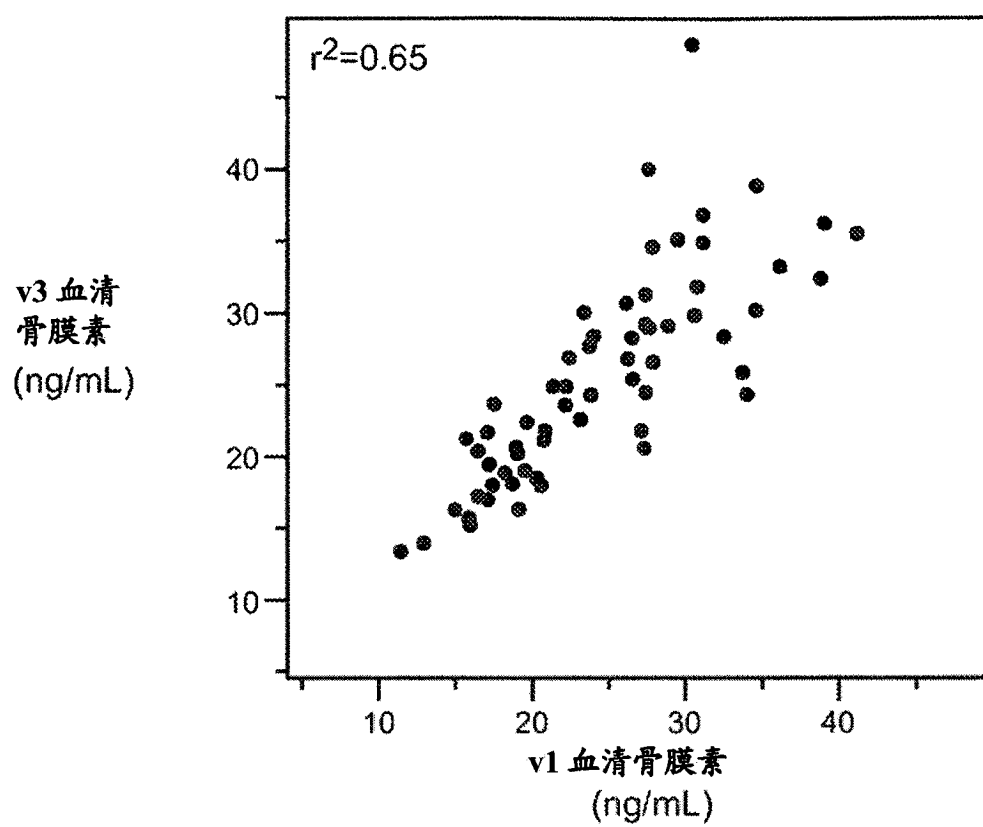


图 14B

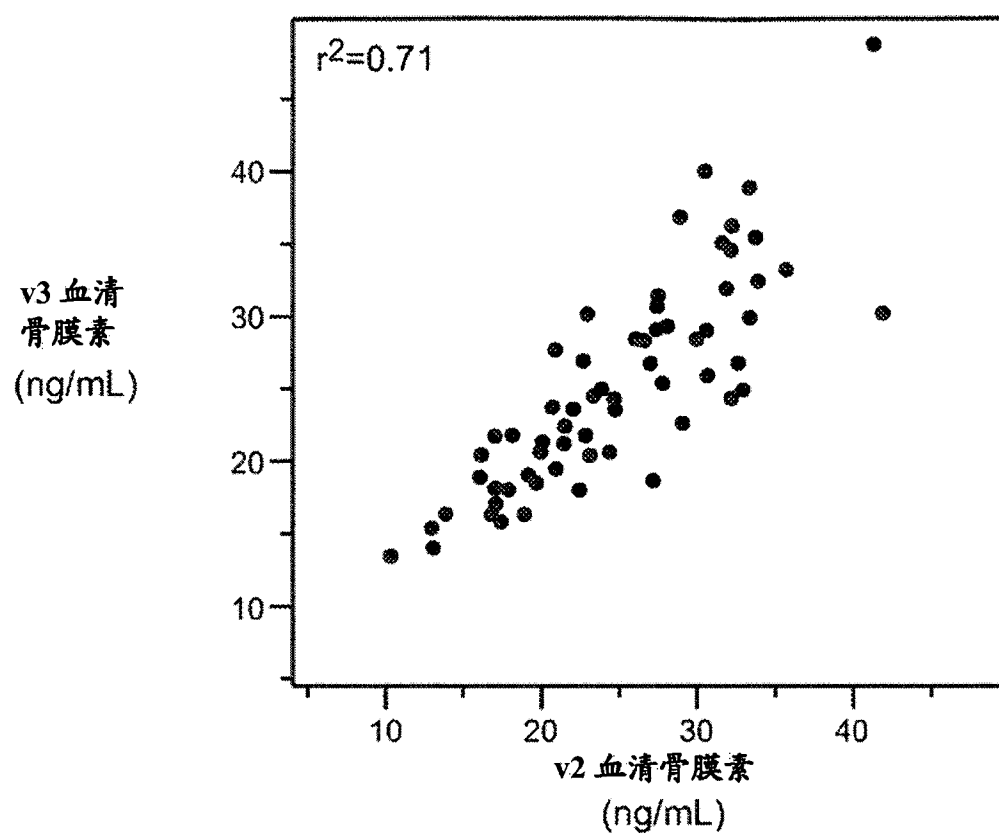


图 14C

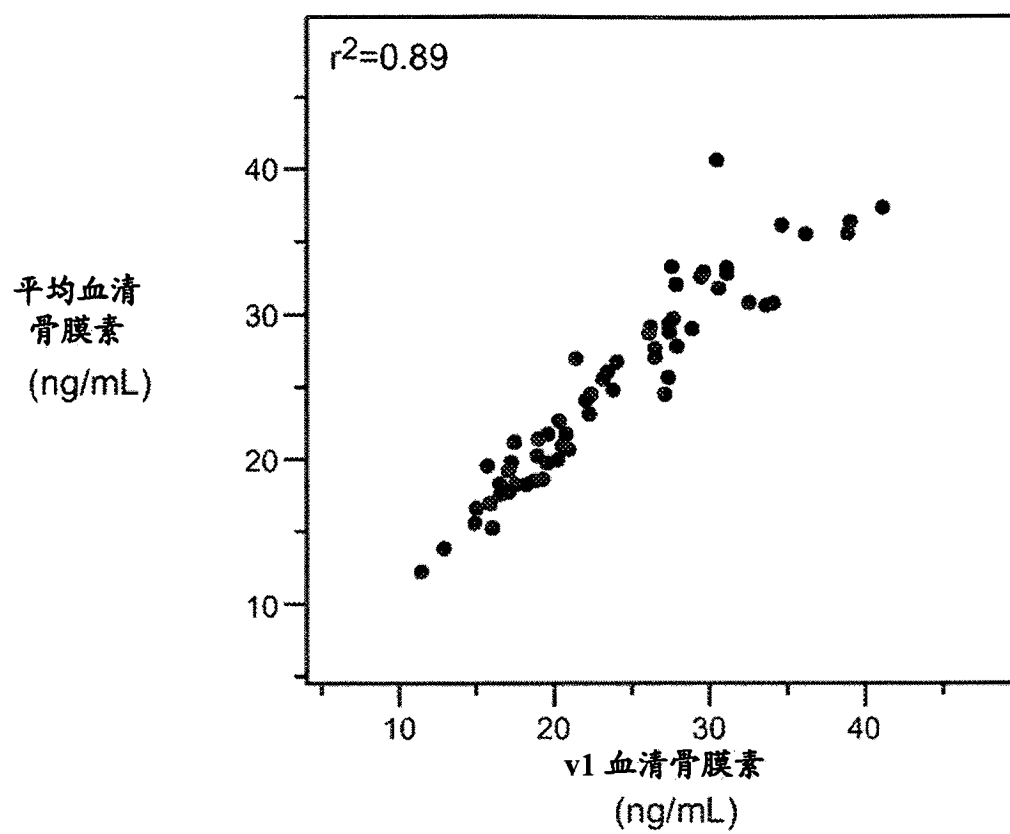


图 14D

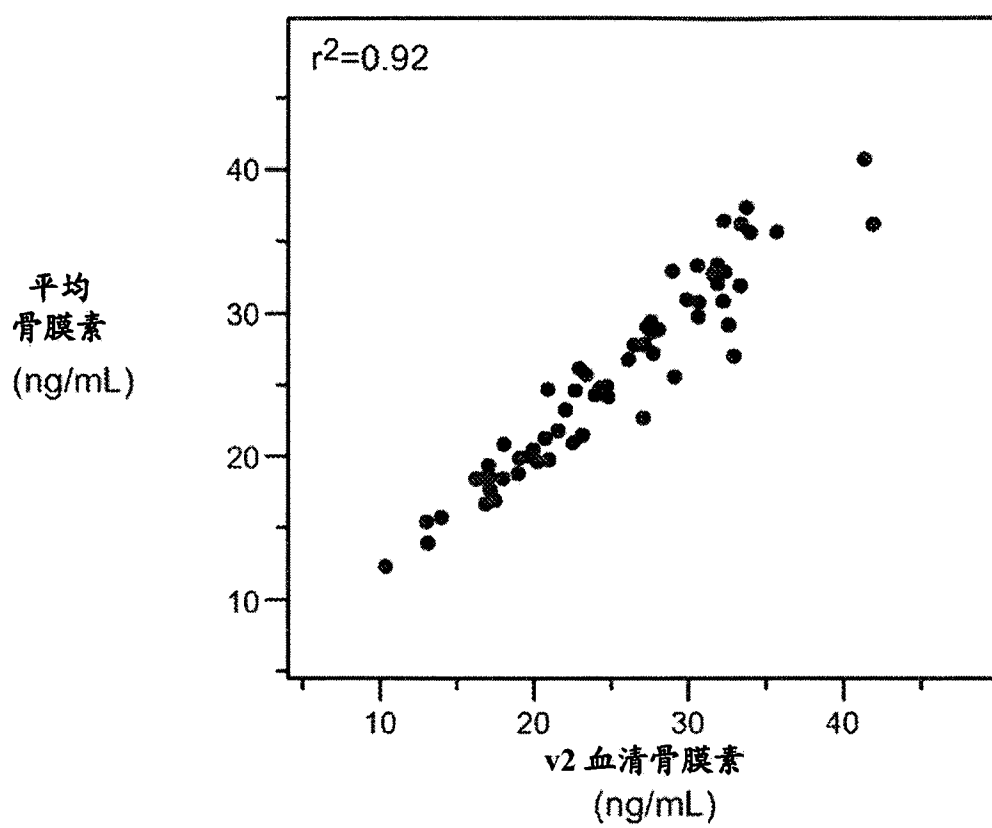


图 14E

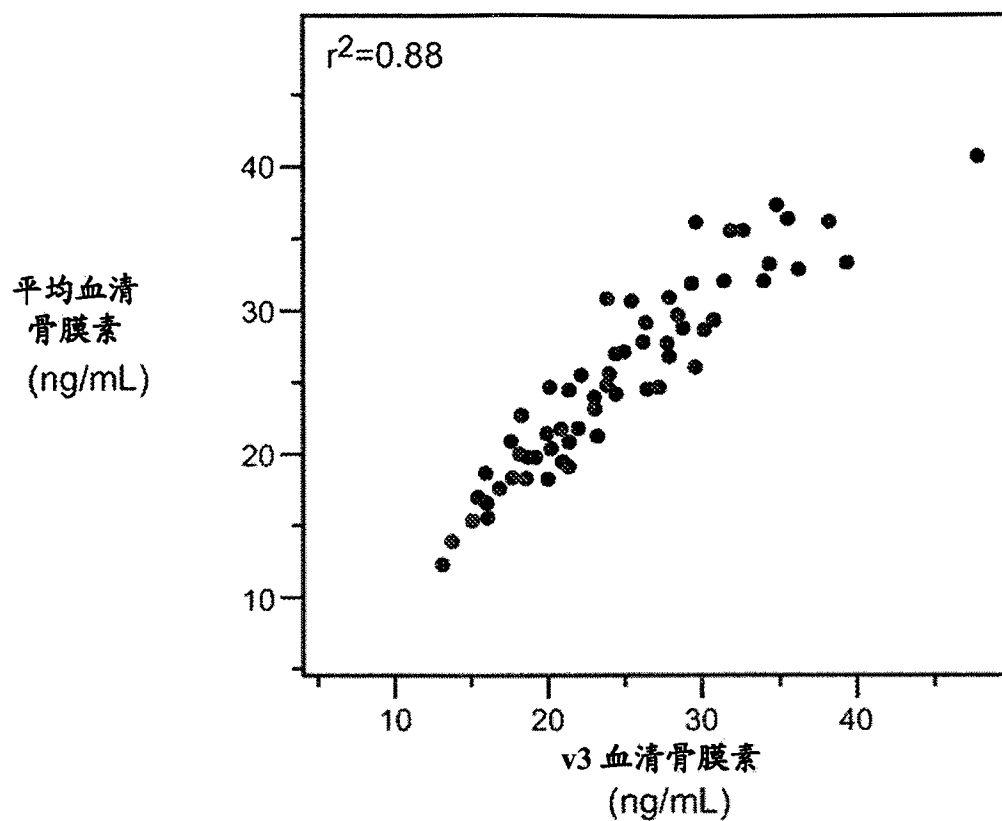


图 14F

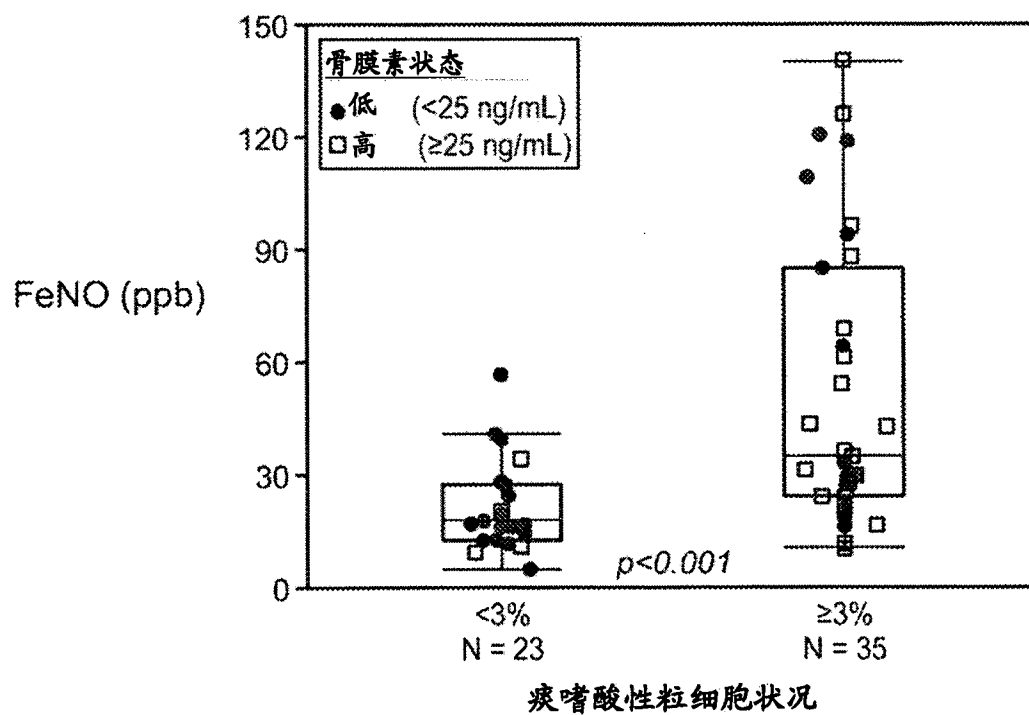


图 15A

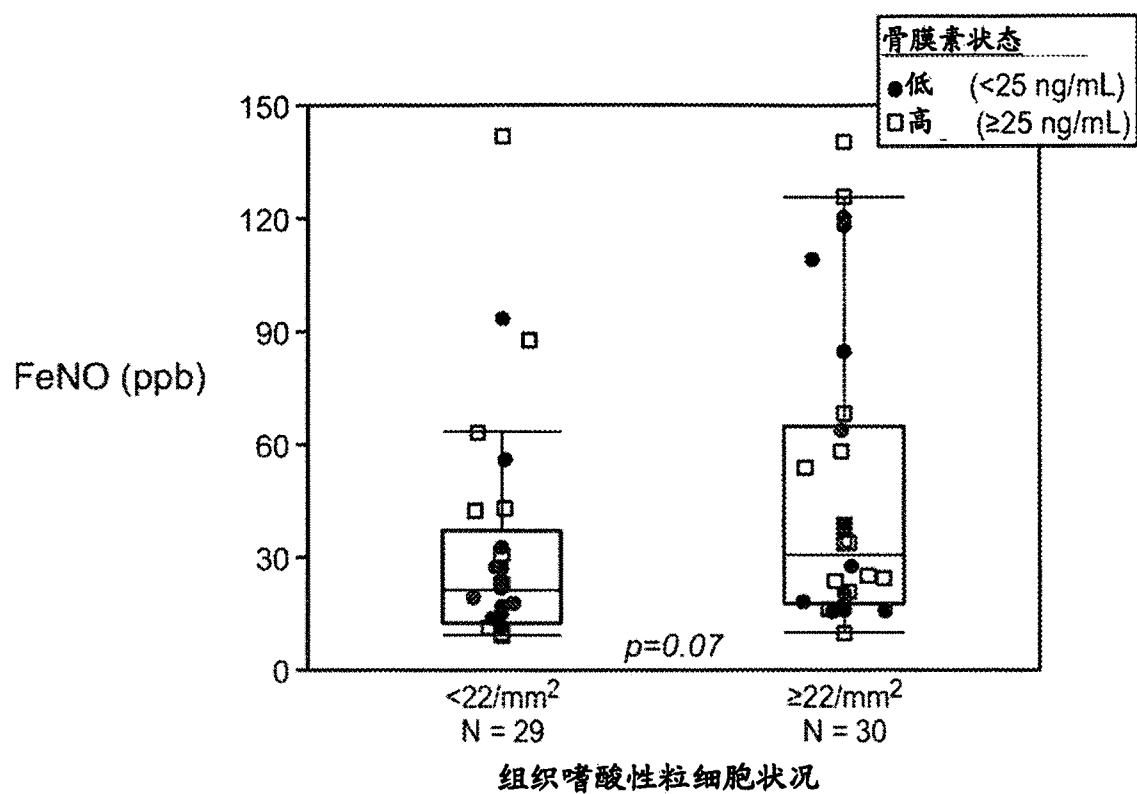


图 15B

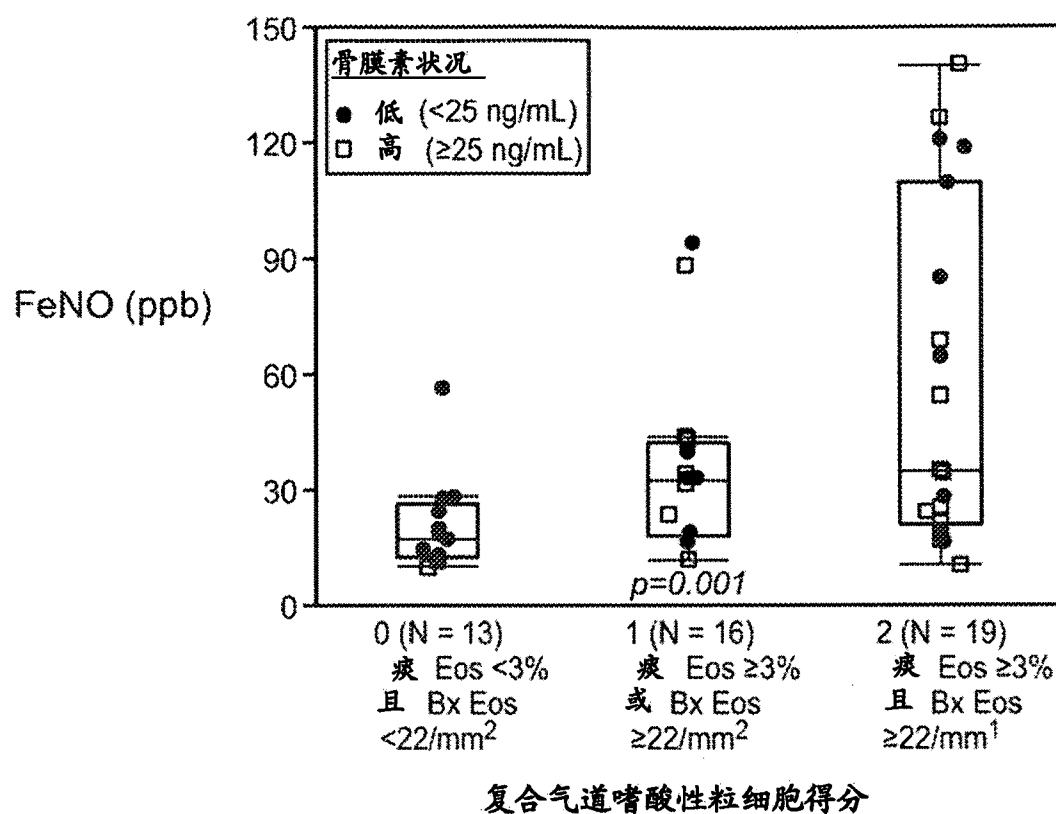


图 15C

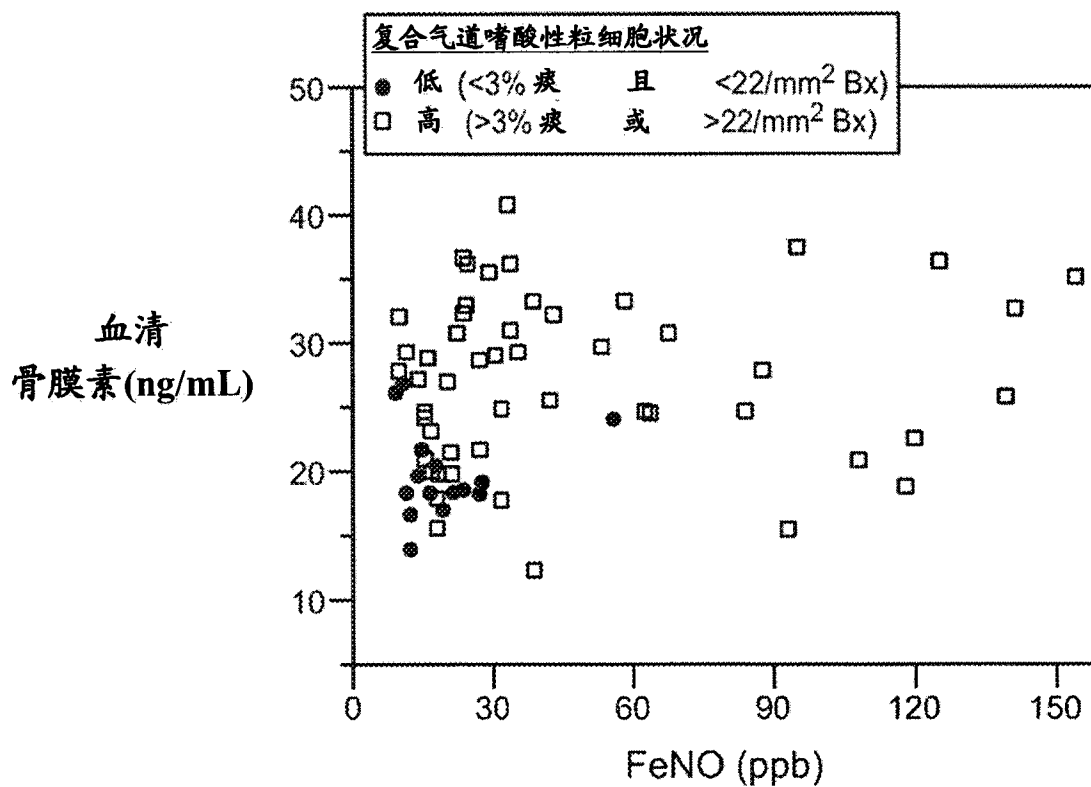


图 15D

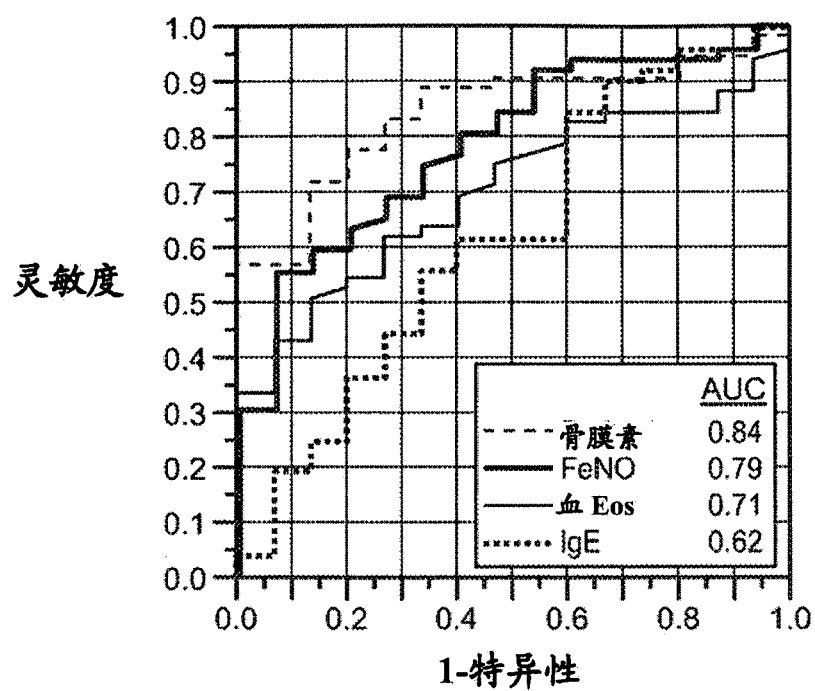


图 15E

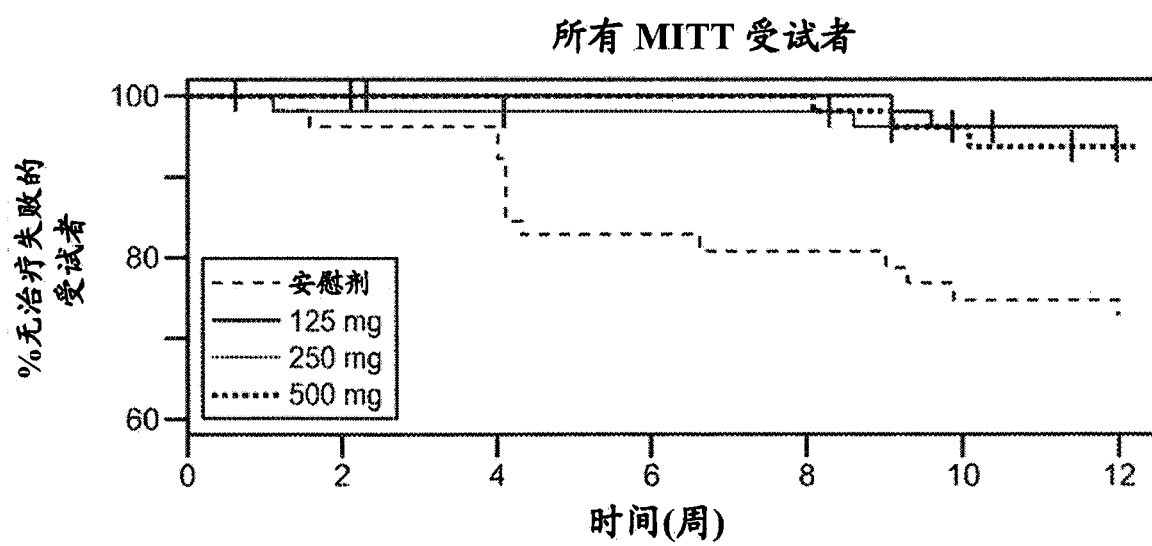


图 16

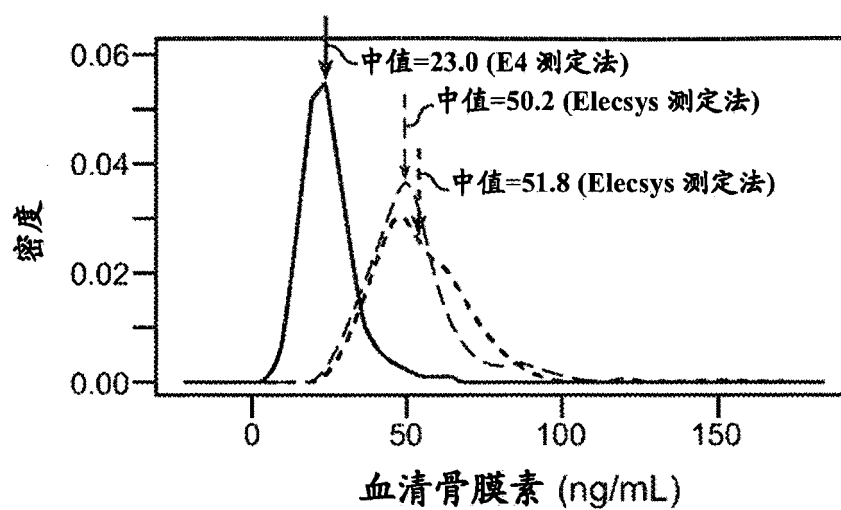


图 17

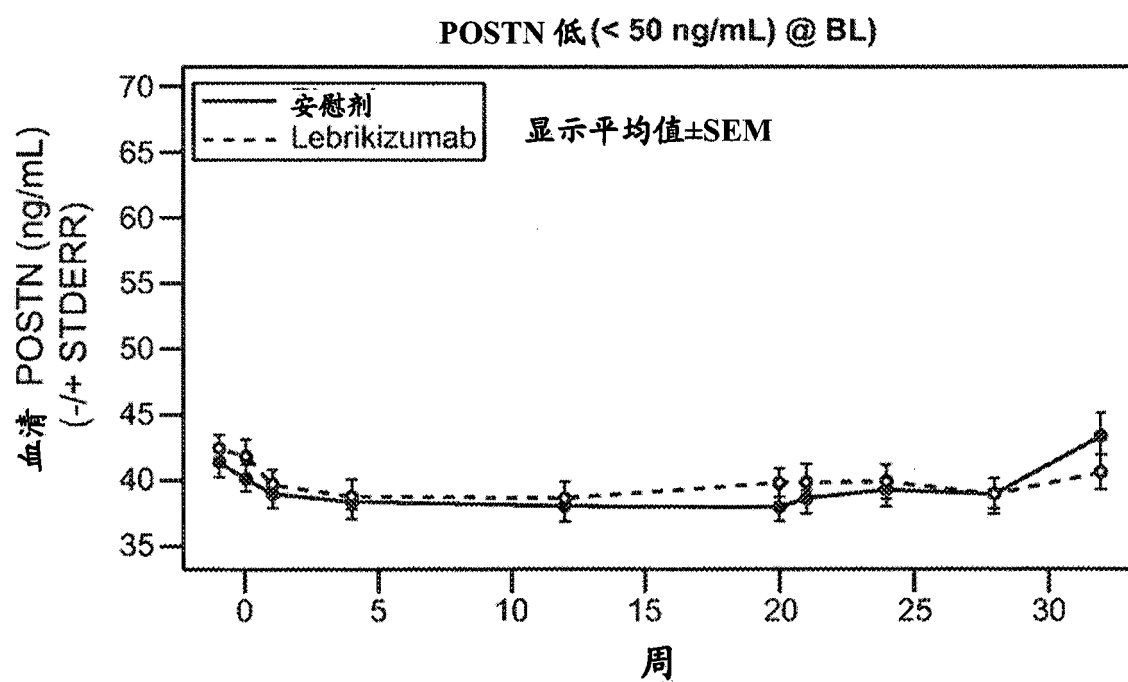


图 18A

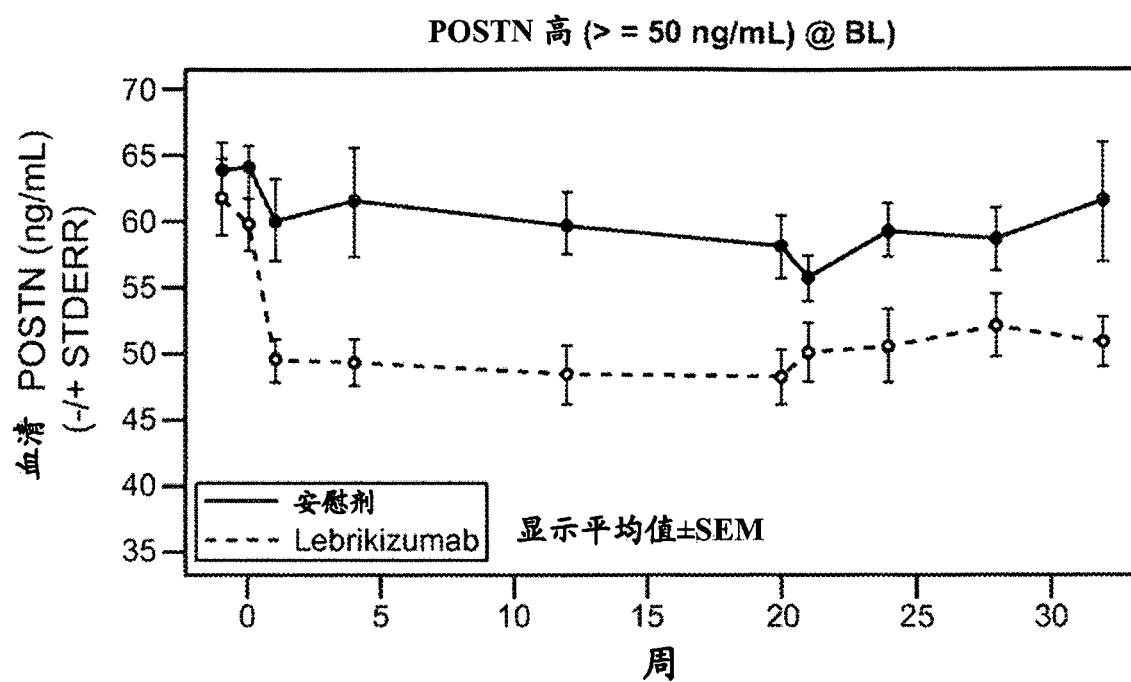


图 18B

		安慰剂	ebrikizumab	Δ	p 值
1 周	骨膜素低	-2.3%	-5.9%	-3.6%	0.2
	骨膜素高	-8.1%	-14.9%	-6.8%	0.0006
	总	-5.4%	-9.8%	-4.4%	0.003
		安慰剂	Lebrikizumab	Δ	p 值
4 周	骨膜素低	-4.0%	-6.5%	-2.5%	0.6
	骨膜素高	-7.1%	-17.2%	-10.1%	<0.0001
	总	-4.9%	-10.5%	-5.6%	0.005
		安慰剂	Lebrikizumab	Δ	p 值
12 周	骨膜素低	-4.9%	-7.1%	-2.2%	0.6
	骨膜素高	-3.9%	-19.2%	-15.3%	<0.0001
	总	-4.6%	-12.3%	-7.7%	0.0006
		安慰剂	Lebrikizumab	Δ	p 值
24 周	骨膜素低	-2.6%	-6.7%	-4.1%	0.2
	骨膜素高	-6.0%	-16.5%	-10.5%	0.0003
	总	-4.6%	-10.7%	-6.1%	0.002
		安慰剂	Lebrikizumab	Δ	p 值
32 周	骨膜素低	+0.3%	-3.0%	-3.3%	0.02
	骨膜素高	-7.4%	-14.1%	-6.7%	0.009
	总	-2.2%	-8.9%	-6.7%	0.005

图 19

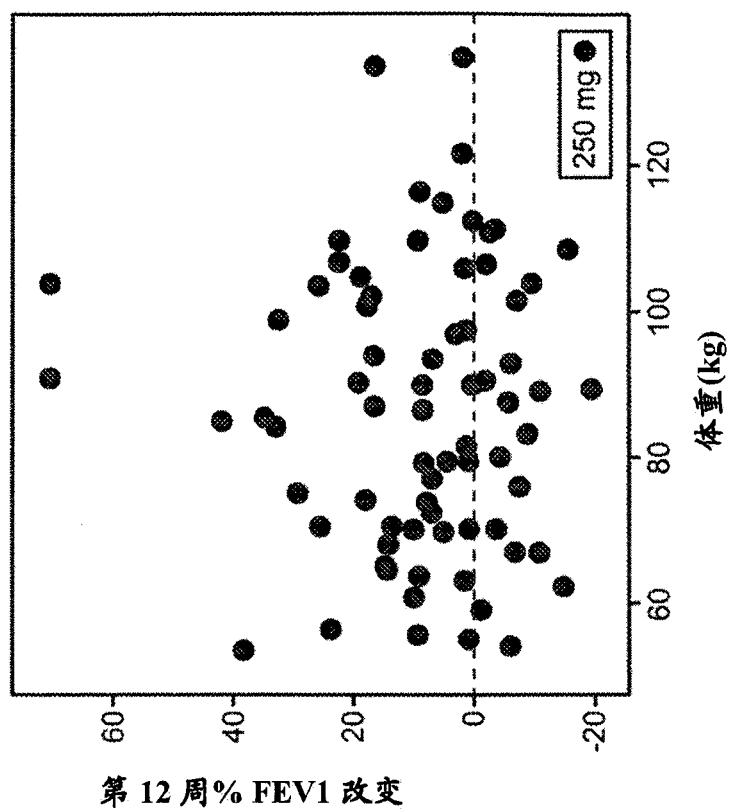


图 20A

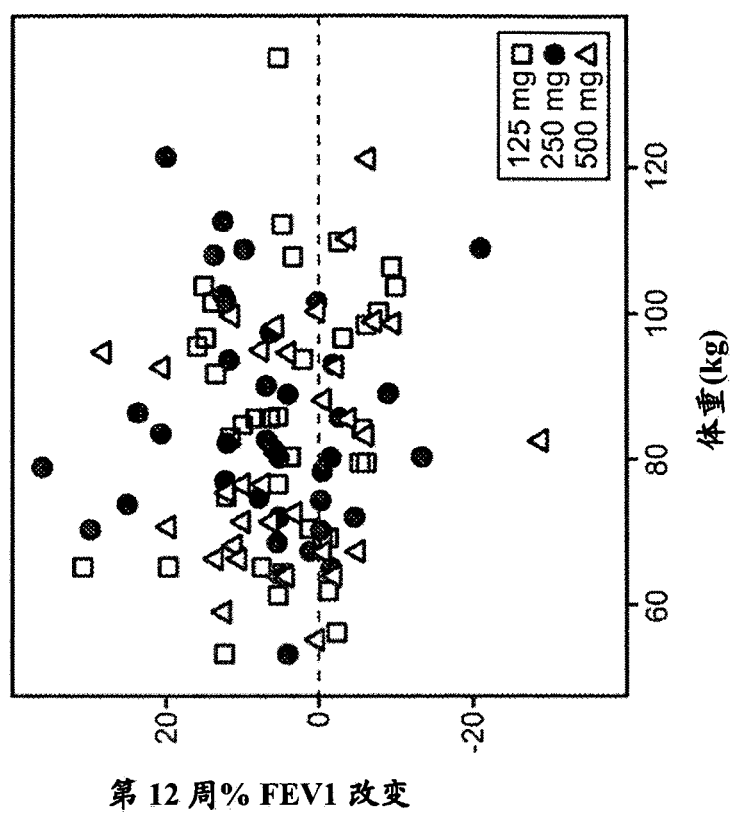


图 20B

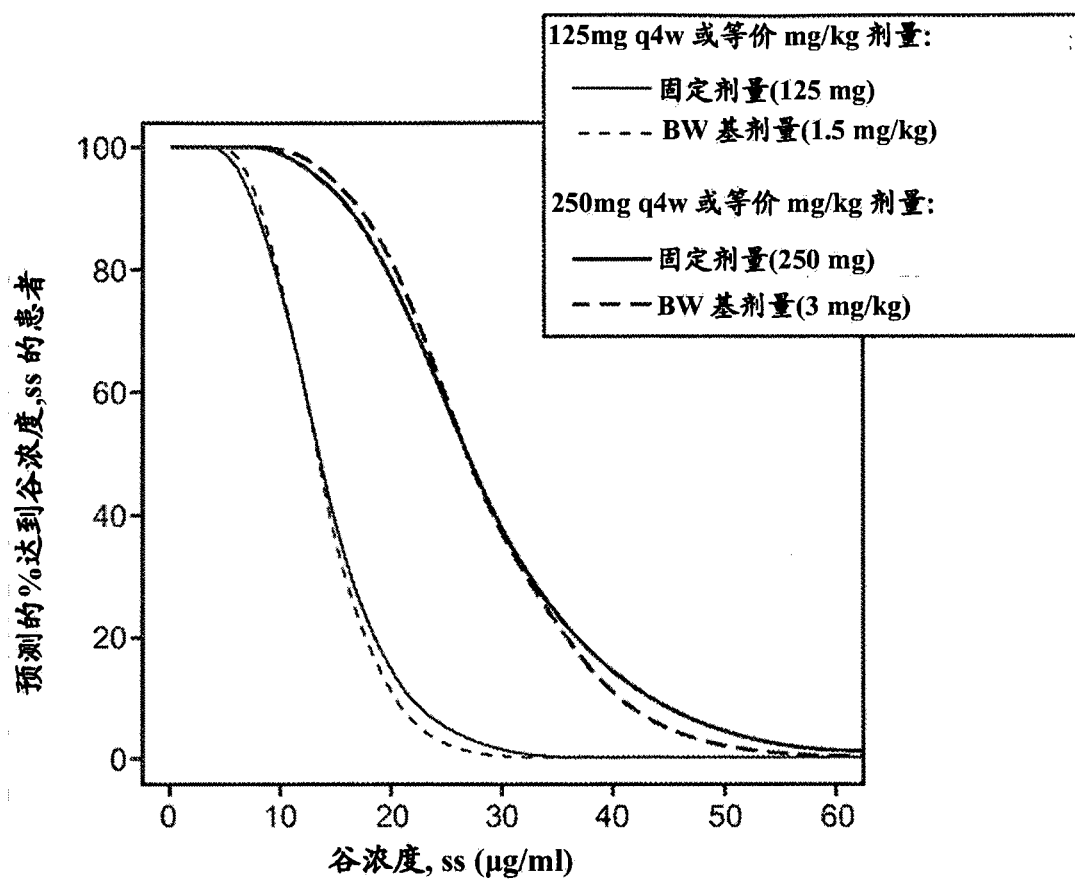


图 21

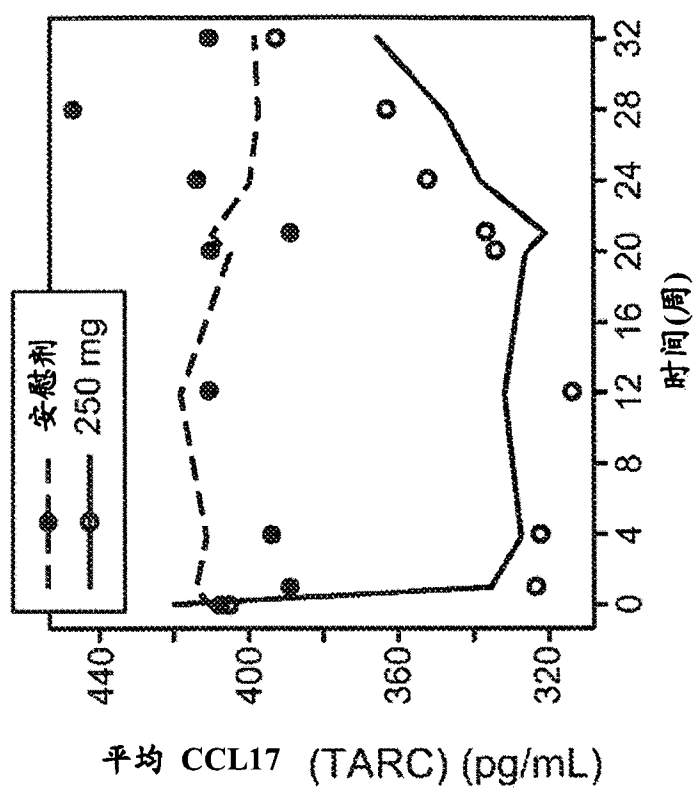


图 22A

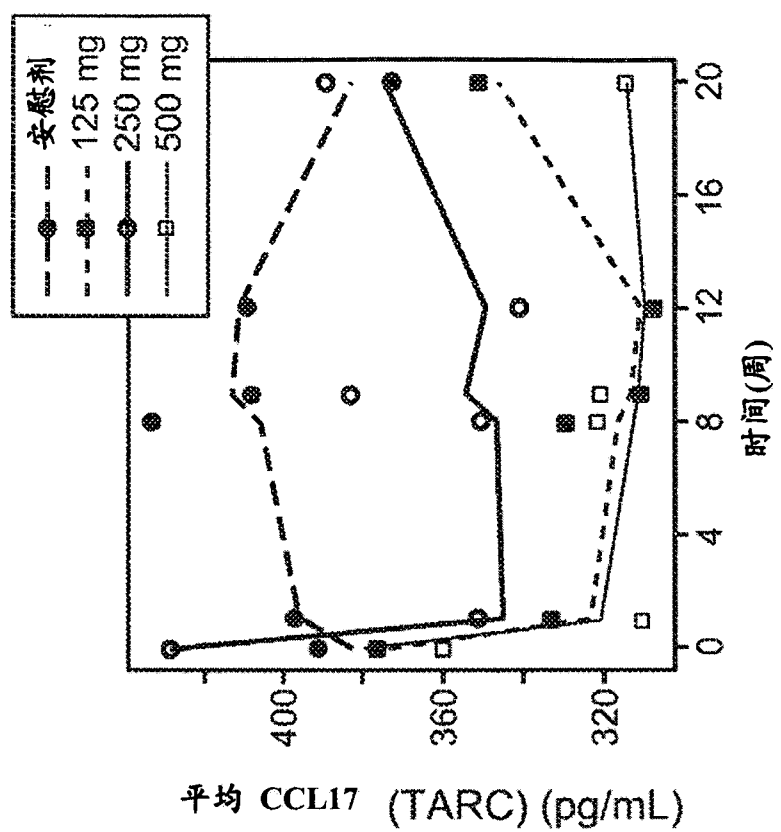


图 22B

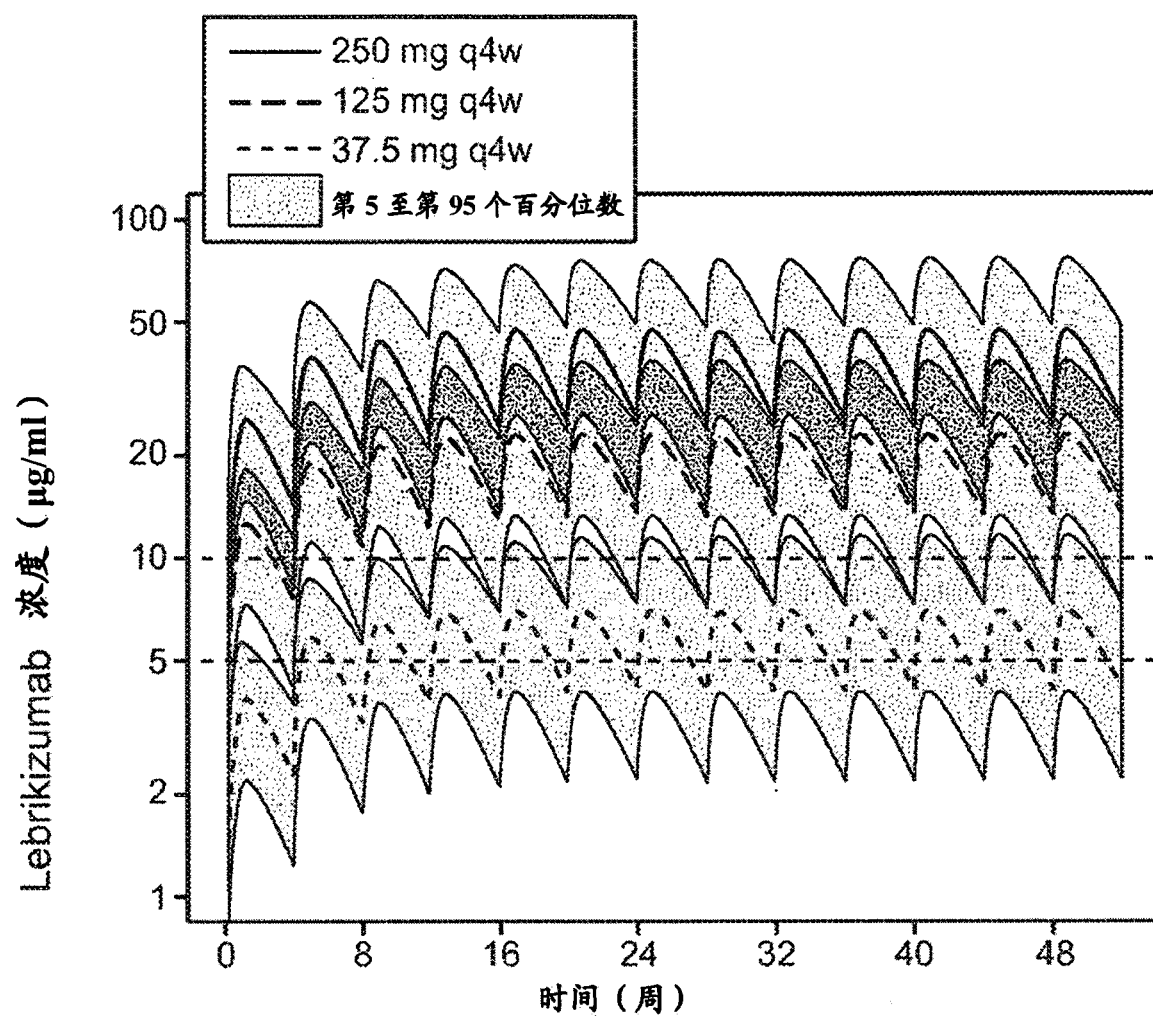


图 23

Abstract

Methods of diagnosing and treating disorders related to TH2 inhibition, including but not limited to asthma, are provided. Also provided are methods of selecting or identifying patients for treatment with certain therapeutic agents that are TH2 pathway inhibitors.