(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119997976 A
(43)申请公布日 2025.05.13

(21)申请号 202380063004.1
(22)申请日 2023.09.01
(30)优先权数据
63/403,408 2022.09.02 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2025.02.28
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2023/116576 2023.09.01
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2024/046476 EN 2024.03.07
(71)申请人 联合生物制药股份有限公司
地址 中国台湾新竹县
(72)发明人 郭必盛 李昭鋐 邵晓云 刘耀祯 林淑菁 王长怡
(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
专利代理师 程伟
(51)Int.Cl.
A61K 39/42(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 31/22(2006.01)
C07K 16/08(2006.01)
G01N 33/563(2006.01)
G01N 33/569(2006.01)

权利要求书2页 说明书20页
序列表（电子公布） 附图14页

(54)发明名称

单纯疱疹病毒感染的治疗

(57)摘要

本发明有关使用抗HSV抗体的单纯疱疹病毒(HSV)感染的治疗。具体而言,该抗HSV抗体特异性地结合至单纯疱疹病毒-1(HSV-1)及单纯疱疹病毒-2(HSV-2)的醣蛋白D(gD)。本发明的治疗可有效针对抗药性及/或复发型HSV感染。

CN 119997976 A

1.一种用于治疗抗药性及/或复发型单纯疱疹病毒(HSV)感染的方法,其包含向有需求的个体投予抗HSV抗体,其中该抗HSV抗体特异性地结合至单纯疱疹病毒-1(HSV-1)及单纯疱疹病毒-2(HSV-2)的醣蛋白D(gD)。

2.如权利要求1的方法,其中该抗HSV抗体可有效中和抗药性HSV病毒株及/或抑制病毒传播。

3.如权利要求1或2的方法,其中该抗HSV抗体包含

(a)重链可变区(VH),其包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的重链互补决定区2(HC CDR2),以及含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的重链互补决定区3(HC CDR3);以及

(b)轻链可变区(VL),其包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的轻链互补决定区1(LC CDR1)、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的轻链互补决定区2(LC CDR2),以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的轻链互补决定区3(LC CDR3)。

4.如权利要求3的方法,其中

该VH包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;及/或

该VL包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

5.如权利要求1或2的方法,其中该抗HSV抗体包含

(a)重链可变区(VH),其包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的重链互补决定区2(HC CDR2),以及含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的重链互补决定区3(HC CDR3);以及

(b)轻链可变区(VL),其包含含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链互补决定区1(LC CDR1)、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的轻链互补决定区2(LC CDR2),以及含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的轻链互补决定区3(LC CDR3)。

6.如权利要求5的方法,其中

该VH包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;及/或

该VL包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列。

7.如权利要求1或2的方法,其中该抗HSV抗体包含

(a)重链可变区(VH),其包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链互补决定区2(HC CDR2),以及含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的重链互补决定区3(HC CDR3);以及

(b)轻链可变区(VL),其包含含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的轻链互补决定区1(LC CDR1)、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的轻链互补决定区2(LC CDR2),以及含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的轻链互补决定区3(LC CDR3)。

8.如权利要求7的方法,其中

该VH包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列;及/或

该VL包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

9.如权利要求1至8中任一项的方法,其中该抗体为其抗原结合片段。

10.如权利要求1至9中任一项的方法,其中该抗体经人源化。

11.如权利要求1至10中任一项的方法,其中该个体易感受抗药性HSV病毒株或感染了抗药性HSV病毒株。

12.如权利要求1至11中任一项的方法,其中该个体为免疫系统低下的患者。

13.如权利要求1至12中任一项的方法,其中该抗HSV抗体以单一剂量向个体投予。

14.如权利要求1至13中任一项的方法,其中该抗HSV抗体在感染早期阶段向个体投予。

15.如权利要求1至14中任一项的方法,其中该抗体以有效减轻由HSV感染引起的症状的量投予。

16.如权利要求1至15中任一项的方法,其中该抗体以有效延缓复发发生率及/或减少复发频率的量投予。

17.如权利要求1至16中任一项的方法,其中该抗HSV抗体在症状出现后向个体投予。

18.一种如权利要求1至10中任一项所定义的抗HSV抗体或其组合物在有需求的个体中用于治疗抗药性及/或复发型HSV感染的用途。

19.一种如权利要求1至10中任一项所定义的抗HSV抗体在制造用于治疗有需求的个体中抗药性及/或复发型HSV感染的药剂的用途。

20.一种如权利要求18的抗HSV抗体或其组合物的用途或如权利要求19的抗HSV抗体的用途,其中

该个体易感受抗药性HSV病毒株或感染了抗药性HSV病毒株;

该个体为免疫系统低下的患者;

该抗HSV抗体以单一剂量向个体投予;

该抗HSV抗体在感染早期阶段向个体投予;

其中该抗体以有效减轻由HSV感染引起的症状的量投予;

其中该抗体以有效延缓复发发生率及/或减少复发频率的量投予;及/或

其中该抗HSV抗体在症状出现后向个体投予。

单纯疱疹病毒感染的治疗

[0001] 相关申请案

[0002] 本申请案主张美国暂时专利申请案第63/403,408号于2022年9月2日提申的内容,其内容在此通过引用整体并入本案

技术领域

[0003] 本发明有关使用抗HSV抗体的单纯疱疹病毒(HSV)感染的治疗。具体而言,抗HSV抗体特异性地结合至单纯疱疹病毒-1(HSV-1)及单纯疱疹病毒-2(HSV-2)的醣蛋白D(gD)。本发明的治疗可有效针对抗药性及/或复发型HSV感染。

背景技术

[0004] 单纯疱疹病毒1型及2型(HSV-1及HSV-2)为疱疹病毒家族成员,且为全球高度流行的病原体,导致复发型口腔及生殖器溃疡。一般而言,HSV感染不会引起严重症状及并发症,但在免疫功能低下患者及新生儿的一些感染病例中可引起严重症状。尽管普通患者的症状不太严重,但许多患者仍可能复发。HSV复发可能困扰该等患者多年并降低其等生活品质。

[0005] 尽管有几种许可的抗病毒剂用于治疗原发型及复发型HSV感染,但此等抗病毒剂并非总是有效且可能具有显著副作用。此外,抗药性HSV病毒株(例如,阿昔洛韦抗性(acyclovir-resistant))显著降低此等传统抗病毒剂的功效。

[0006] 该等复发率高或由抗药性病毒株感染的患者缺乏良好的替代治疗选项。需要提供更好的疗法来治疗复发型HSV感染,尤其是该等具有抗药性HSV感染的患者。因此,仍然迫切需要用于有效预防及治疗目的的新颖介入疗法。

发明内容

[0007] 本发明基于以下发现:抗HSV抗体可有效针对抗药性HSV病毒株及减少HSV感染的复发。具体而言,抗HSV抗体特异性地结合至单纯疱疹病毒-1(HSV-1)及单纯疱疹病毒-2(HSV-2)的醣蛋白D(gD)。抗HSV抗体可中和抗药性HSV病毒株及/或抑制病毒传播。利用抗HSV抗体治疗可有效地减轻由抗药性HSV感染引起的症状,并减少或延缓HSV感染的复发。

[0008] 因此,在一方面中,本发明提供一种用于治疗抗药性及/或复发型单纯疱疹病毒(HSV)感染的方法,其包含向有需求的个体投予抗HSV抗体,其中抗HSV抗体特异性地结合至单纯疱疹病毒-1(HSV-1)及单纯疱疹病毒-2(HSV-2)的醣蛋白D(gD)。

[0009] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体中和抗药性HSV病毒株。

[0010] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体抑制病毒传播。

[0011] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体包含

[0012] (a)重链可变区(VH),其包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)、含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的重链互补决定区2(HC CDR2),以及含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的重链互补决定区3(HC CDR3);以及

[0013] (b)轻链可变区(VL),其包含含有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的轻链互补决定区1

(LC CDR1)、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的轻链互补决定区2(LC CDR2),以及含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的轻链互补决定区3(LC CDR3)。

[0014] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体包含

[0015] 所述VH包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;及/或

[0016] 所述VL包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0017] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体包含

[0018] (a)重链可变区(VH),其包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)、含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的重链互补决定区2(HC CDR2),以及含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的重链互补决定区3(HC CDR3);以及

[0019] (b)轻链可变区(VL),其包含含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链互补决定区1(LC CDR1)、含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的轻链互补决定区2(LC CDR2),以及含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的轻链互补决定区3(LC CDR3)。

[0020] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体包含

[0021] 所述VH包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;及/或

[0022] 所述VL包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列。

[0023] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体包含

[0024] (a)重链可变区(VH),其包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链互补决定区2(HC CDR2),以及含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的重链互补决定区3(HC CDR3);以及

[0025] (b)轻链可变区(VL),其包含含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的轻链互补决定区1(LC CDR1)、含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的轻链互补决定区2(LC CDR2),以及含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的轻链互补决定区3(LC CDR3)。

[0026] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体包含

[0027] 所述VH包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列;及/或

[0028] 所述VL包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0029] 在部分具体实施例中,所述抗体为其抗原结合片段。

[0030] 在部分具体实施例中,所述抗体经人源化。

[0031] 在部分具体实施例中,个体易感受抗药性HSV病毒株或已感染抗药性HSV病毒株。

[0032] 在部分具体实施例中,个体为免疫系统低下的患者。

[0033] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体以单一剂量向个体投予。

[0034] 在部分具体实施例中,所述抗体以有效减轻由HSV感染引起的症状的量投予。

[0035] 在部分具体实施例中,所述抗体以有效延缓复发发生率及/或减少复发频率的量投予。

[0036] 在部分具体实施例中,抗HSV抗体在症状出现后向个体投予。

[0037] 本发明亦提供如本文所述的抗HSV抗体或包含该抗HSV抗体的组合物用于在有需求的个体中治疗抗药性及/或复发型HSV感染。进一步揭示了如本文所述的抗HSV抗体在制造用于治疗有需求的个体中抗药性及/或复发型HSV感染的药剂的用途。

[0038] 本发明的一或多个具体实施例的细节阐述于以下描述中。本发明的其他特征或优势将因以下数个具体实施例的详细描述以及所附的申请专利范围而显见。

附图说明

[0039] 当结合附图阅读时,将更好地理解上述发明内容及以下本发明的实施方式。为了说明本发明,在图示中显示目前较佳的具体实施例。然而,应当理解,本发明不限于所示的精准安排及手段

[0040] 在下图中:

[0041] 图1显示通过表面电浆共振(SPR)分析而测定UB-621与重组gD的结合亲和力。

[0042] 图2显示UB-621抑制实验室HSV-1及HSV-2病毒株对Vero细胞的效力、IC_{50}值及IC_{90}值。

[0043] 图3A及3B显示单一SC剂量的UB-621对患有HSV-2阴道感染的小鼠的生殖器症状(图3A)及死亡率(图3B)的治疗效果。

[0044] 图4A及4B显示在出现感染症状后向小鼠投予UB-621的治疗效果。阴道炎的严重性(生殖器症状)如图4A所示,且存活率(死亡率)如图4B所示。

[0045] 图5A及5B显示UB-621及阿昔洛韦(ACV)对Vero细胞中的ACV抗性人工HSV突变体病毒株、HSV-1RE TKnull(图5A)及HSV-2 333TKnull(图5B)的抑制效力、IC_{50}值。结果显示,UB-621针对ACV抗性HSV-1RE TKnull(A)及HSV-2 333TKnull(B)突变体病毒株的感染更有效。

[0046] 图6A-6C显示UB-621及阿昔洛韦(ACV)对临床HSV-1及HSV-2分离病毒株的抑制效力、IC_{50}值及IC_{90}值,该分离病毒株包括来自亚洲起源的HSV-1及HSV-2(图6A)、来自亚洲起源的HSV-2(图6B),以及ACV抗性HSV-2(图6C)。结果显示,UB-621在抑制临床上衍生的美国及亚洲起源的HSV分离病毒株以及ACV抗性方面比ACV更有效。

[0047] 图7显示对ACV(阿昔洛韦)、PFA(膦甲酸(Foscarnet))或CDV(西多福韦(Cidofovir))具有抗性的临床HSV分离病毒株对于UB-621的抑制的易感受性。

[0048] 图8显示单一剂量的UB-621针对鼠科模型中ACV抗性HSV-1临床分离病毒株的感染的治疗效果。

[0049] 图9A及9B显示UB-621针对生殖器感染小鼠中ACV抗性HSV-2临床分离病毒株的感染的治疗效果。UB-621对HSV-2IC临床分离病毒株感染后的存活率的效果如图9A所示。单一剂量的UB-621增加针对ACV抗性HSV-2IC病毒株的感染的存活率。UB-621对HSV-2IC临床分离病毒株的感染所引发的阴道炎严重性的效果如图9B所示。单一剂量的UB-621减少针对ACV抗性HSV-2IC病毒株的感染的临床阴道炎。*统计显著性,p值<0.05;**p值<0.01。

[0050] 图10A及10B显示UB-621针对生殖器感染小鼠中ACV抗性HSV-2临床分离病毒株的感染的治疗效果。UB-621对HSV-2临床分离pol-mut感染后的存活率的效果如图10A所示。单一剂量的UB-621增加针对ACV抗性HSV-2pol-mut病毒株的感染的存活率。UB-621对HSV-2pol-mut临床分离病毒株的感染所引发的阴道炎严重性的效果如图10B所示。单一剂量的UB-621减少针对ACV抗性HSV-2pol-mut病毒株的感染的临床阴道炎。*统计显著性,p值<0.05。

[0051] 图11A及11B显示UB-621对HSV-1(图11A)及HSV-2(图11B)的细胞间传播的抑制。

[0052] 图12显示UB-621对BALB/c小鼠中HSV-1顺行神经元间传播的抑制效果。**统计显著性,p值<0.01。

[0053] 图13A及13B显示UB-621对天竺鼠中原发型HSV-2感染的显著效果。UB-621对原发型感染的阴道炎严重性的效果如图13A所示。UB-621投剂可减轻生殖器HSV-2感染的天竺鼠

的阴道炎症状。UB-621对累积复发次数的效果如图13B所示。UB-621投剂在生殖器HSV-2感染的天竺鼠中可延缓复发发生率并减少复发频率。

[0054] 图14A及14B显示UB-621对天竺鼠中复发型HSV-2感染的显著效果。UB-621对首次HSV复发后的阴道炎严重性的效果如图14A所示。在首次HSV复发后投剂UB-621可减轻生殖器HSV-2感染的天竺鼠的阴道炎症状。UB-621对累积复发次数的效果如图14B所示。在首次HSV复发后投剂UB-621可减少生殖器HSV-2感染的天竺鼠的复发频率。

具体实施方式

[0055] 下列描述仅旨在说明本发明的各种具体实施例。因此,本文所论及的特定具体实施例或修改不应解释为限制本发明的范畴。对本领域技术人员显见的是,在不背离本发明范畴的情况下可进行各种改变或等效物。

[0056] 为了提供对本发明的清晰及易懂的理解,首先定义特定术语。在整个实施方式中阐述了额外的定义。除非另有定义,否则本文使用的所有技术与科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的相同含义。

[0057] I.定义

[0058] 为了提供对本发明的清晰及易懂的理解,首先定义特定术语。在整个实施方式中阐述了额外的定义。除非另有定义,否则本文使用的所有技术与科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的相同含义。

[0059] 如本文所用,单数形式“一”、“一者”及“该”包括复数参考体,除非上下文另有明确规定。因此,例如,提及“组分”包括本领域技术人员已知的复数个此类组分及其等同物。

[0060] 术语“包含有”或“包含”通常以包括了/包括的含义使用,其意指允许存在一或多个特征、成分或组分。术语“包含有”或“包含”涵盖了术语“组成自”或“由~组成”。

[0061] 如本文所用,“疱疹病毒”意指疱疹病毒科(herpetoviridae)家族成员,其包括单纯疱疹病毒1型(HSV-1)及单纯疱疹病毒2型(HSV-2)。本发明特别有利于用于减轻由HSV感染引起的症状。HSV可感染身体许多部位,包括口腔、生殖器部位、眼睛、皮肤及大脑。一般而言,HSV-1主要感染口腔,且HSV-2主要感染生殖部位。正常而言,通过与感染者的感染部位直接接触而向未感染个体传播HSV。与HSV感染相关的临床症状为本领域中熟知。HSV感染可能无症状或有症状,其可包括疼痛性水疱或溃疡,并可随时间推移而复发。HSV复发可由几个因素引发,例如压力、免疫缺陷、晒伤及受伤。HSV感染可能致命,尤其是针对免疫缺陷个体。典型的HSV感染性疾病包括疱疹性龈口炎(herpetic gingivostomatitis)、唇疱疹(herpes labialis)、疱疹性眼部感染(疱疹性角膜炎(herpes keratitis))、生殖器疱疹、疱疹性瘭疽(herpetic whitlow)、格斗者疱疹(herpes gladiatorum)、疱疹病毒性脑炎(herpesviral encephalitis)、疱疹病毒性脑膜炎(herpesviral meningitis)及疱疹性食道炎(herpes esophagitis)。口唇疱疹(orolabial herpes)的最初症状包括疼痛性小疱疹(painful vesicular eruption),其中嘴唇、舌头或颊黏膜上出现明显的水疱。水疱可接合并破裂,以形成覆盖有坏死性物质的浅溃疡(shallow ulcer)。生殖器疱疹的典型临床症状包括在红斑性基底上的小型成群水疱。水疱可自发性地脱落或通过直接磨损而形成溃疡。溃疡典型上形成痂(crust),随后经历再上皮化(re-epithelialization)。

[0062] 参见例如美国公开号US20020147210A1及US6599945B2,其内容在此通过引用整体

并入本案。

[0063] 如本文所用,术语“多肽”意指由氨基酸残基经由肽键连接所组成的聚合物。术语“蛋白”通常意指相对较大的多肽。术语“肽”通常意指相对较短的多肽(例如,含有多达100、90、70、50、30、20或10个氨基酸残基)。

[0064] 如本文所用,术语“大约”或“约”意指本领域普通技术人员将理解的可接受偏差的程度,可根据使用其的上下文而在一定程度上变化。具体而言,“大约”或“约”可指具有在引用值附近±10%或±5%或±3%的范围内的数值。

[0065] 如本文所用,术语“实质上相同”意指两序列具有80%或更多,较佳为85%或更多,更佳为90%或更多,甚至更佳为95%或更多的同源性。

[0066] 如本文所用,术语“抗体”(与复数形式的抗体可互换使用)意指具有特异性结合特定标靶抗原分子能力的免疫球蛋白分子。如本文所用,术语“抗体”不仅包括完整(亦即,全长)抗体分子,还包括保留了抗原结合能力的抗原结合片段(例如,Fab、Fab’、F(ab’)2及Fv)。此类片段为本领域中熟知且经常用于体外及体内。术语“抗体”亦包括嵌合抗体、人源化抗体、人类抗体、双价抗体、线型抗体、单链抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体),以及免疫球蛋白分子的任何其他修饰配置(包含所需特异性的抗原辨识位点),包括抗体的氨基酸序列变体、抗体的醣基化变体及共价修饰的抗体。

[0067] 完整或完全抗体包含两条重链及两条轻链。每条重链包含可变区(V_H)与第一、第二及第三恒定区(C_H1、C_H2及C_H3);且每条轻链含有可变区(V_L)及恒定区(C_L)。抗体呈“Y”形,其中Y的主干由通过双硫键接结合在一起的两条重链的第二及第三恒定区组成。Y的每一臂包括单一重链的可变区及第一恒定区,其结合至单一轻链的可变区及恒定区。轻链及该等重链的可变区负责抗原结合。两条链的可变区通常负责抗原结合,其的每一者含有三个高度可变区,称为互补决定区(CDR);亦即,重(H)链CDR,包括HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3,以及轻(L)链CDR,包括LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3。三个CDR由框架区(FR1、FR2、FR3及FR4)隔开,其等比CDR更高度保留,并形成支持高度可变区的骨架。重链及轻链的恒定区不负责抗原结合,但参与各种效应功能。根据其重链的恒定结构域的抗体氨基酸序列,免疫球蛋白可分为不同类别。免疫球蛋白有五种主要类别:IgA、IgD、IgE、IgG及IgM。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为α、δ、ε、γ及μ。

[0068] 如本文所用,术语“抗原结合片段”或“抗原结合结构域”意指负责抗原结合的完整抗体分子的一部分或区域。抗原结合片段能结合与亲代抗体所结合的相同抗原。抗原结合片段的实例包括但不限于:(i)Fab片段,其可为由V_H-C_H-1链与V_L-C_L链组成的单价片段;(ii)F(ab′)2片段,其可为由在铰链区处通过双硫键连接两个Fab片段而组成的双价片段;(iii)Fv片段,其由通过非共价交互作用而结合在一起的抗体分子的V_H与V_L结构域组成;(iv)单链Fv(scFv),其可为由V_H结构域与V_L结构域经由肽连接子组成的单一多肽链;以及(v)$(scFv)_2$,其可含有通过肽连接子连接的两个V_H结构域与两个V_L结构域,该两个V_L结构域经由双硫键与两个V_H结构域相连接。

[0069] 如本文所用,术语“嵌合抗体”意指含有来自不同来源(例如,不同物种)的多肽的抗体。在部分具体实施例中,在嵌合抗体中,轻链及重链两者的可变区可模拟源自哺乳动物物种(例如,非人类哺乳动物,例如小鼠、兔及大鼠)的抗体的可变区,而恒定区可与源自另一哺乳动物(例如,人类)的抗体序列同源。

[0070] 如本文所用,术语“人源化抗体”意指包含源自人类抗体的框架区及来自非人类(通常为小鼠或大鼠)免疫球蛋白的一或多个CDR的抗体。

[0071] 如本文所用,术语“人类抗体”意指基本上轻链及重链序列的整个序列,包括互补决定区(CDR),皆来自人类基因的抗体。在一些情况下,人类抗体可包括一或多个不由人类种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基,例如,通过CDR的一或多者的突变,或FR的一或多者的突变,例如,以降低可能的免疫原性、增加亲和力,以及去除可能导致不期望的折迭的半胱胺酸。

[0072] 如本文所用,术语“特异性结合”或“特异性地结合”意指两个分子之间的非随机结合反应,例如抗体与其标靶抗原的表位的结合。“特异性地结合”至标靶抗原或表位的抗体为本领域熟习的术语,且用以确定此特异性结合的方法亦为本领域熟习。若抗体以比其与其他物质结合更大的亲和性/亲和力、更容易及/或更长的持续时间结合至标靶抗原,则称为抗体“特异性地结合”至标靶抗原。换言之,通过阅读此定义亦可理解到,例如,特异性地结合至第一个标靶抗原的抗体可能或可能不特异性地或偏好地结合至第二个标靶抗原。因此,“特异性结合”或“偏好结合”不一定需要(尽管其可包括)排他的结合。通常,结合的亲和力可以解离常数(K_D)定义。通常,当用于抗体时,特异性地结合可指以小于约10^{-8}M,例如约10^{-9}M或更小、约10^{-10}M或更小、约10^{-11}M或更小、约10^{-12}M或更小,或甚至更小的K_D值特异性地结合至(辨识)其标靶的抗体,并以相应于低于结合至非特异性抗原(例如,BSA或酪蛋白)的亲和力至少10倍,例如低于至少100倍,例如低于至少1,000倍或低于至少10,000倍的K_D结合至特定标靶。

[0073] 如本文所用,术语“核酸”或“多核苷酸”可指由核苷酸单元组成的聚合物。多核苷酸包括天然存在的核酸,例如去氧核醣核酸(“DNA”)与核醣核酸(“RNA”)以及核酸类似物,包括具有非天然存在的核苷酸的该等。多核苷酸可例如使用自动化DNA合成仪合成。将理解到,当核苷酸序列以DNA序列(亦即,A、T、G、C)表示时,此亦包括RNA序列(亦即,A、U、G、C),其中“U”代替“T”。术语“cDNA”意指与mRNA互补或一致的DNA,不论是单股或双股形式。

[0074] 如本文所用,术语“互补”意指两条多核苷酸的交互作用表面的拓扑学相容性或匹配在一起。当第一条多核苷酸的核苷酸序列与第二条多核苷酸的多核苷酸结合伴侣的核苷酸序列一致时,第一条多核苷酸与第二条多核苷酸互补。因此,序列为5′-ATATC-3′的多核苷酸与序列为5′-GATAT-3′的多核苷酸互补。

[0075] 如本文所用,术语“编码”意指多核苷酸(例如,基因、cDNA或mRNA)中特定核苷酸序列的天然性质,可用作在具有给定的RNA转录本(亦即,rRNA、tRNA及mRNA)序列或给定的氨基酸序列的生物过程中合成其他聚合物与大分子的模板,以及由此产生的生物学性质。因此,若由该基因产生的mRNA的转录及转译在细胞或其他生物系统中产生蛋白,则该基因编码蛋白。本领域技术人员应当理解,由于遗传密码的退化性,许多不同的多核苷酸及核酸可编码相同的多肽。亦应理解,本领域技术人员可使用常规技术进行不影响由此处所述多核苷酸编码的多胜肽序列的核苷酸取代,以反映欲于其中表达多胜肽的任何特定宿主生物体的密码子使用。因此,除非另有说明,否则“编码氨基酸序列的核苷酸序列”涵盖彼此为退化形式且编码相同氨基酸序列的所有核苷酸序列。

[0076] 如本文所用,术语“重组核酸”意指具有非天然连接在一起的序列的多核苷酸或核酸。重组核酸可以载体的形式存在。“载体”可含有给定的感兴趣核苷酸序列及调节序列。载

体可用于表达给定的核苷酸序列(表达载体)或维持给定的核苷酸序列以将其复制、将其操纵,或在不同位置之间(例如,在不同生物体之间)将其转移。载体可被导入适用的宿主细胞中以用于上述目的。“重组细胞”意指已将重组核酸导入其中的宿主细胞。“转形的细胞”意指透过重组DNA技术而使编码感兴趣蛋白的DNA分子被导入的细胞。

[0077] 载体可为多种类型,包括质体、黏粒、游离基因组、F型黏接质体、人工染色体、噬菌体、病毒载体等。通常,在载体中,给定的核苷酸序列可操作地连接至调节序列,使得当载体被导入宿主细胞时,给定的核苷酸序列可在调节序列的控制下表达在宿主细胞中。调节序列可包含,例如但不限于,启动子序列(例如,巨细胞病毒(CMV)启动子、猴病毒40(SV40)早期启动子、T7启动子、及酒精氧化酶基因(AOX1)启动子)、起始密码子、复制起点、增强子、分泌讯号序列(例如,α交配因子讯号)、终止密码子,以及其他控制序列(例如,Shine-Dalgarno序列及终止序列)。较佳地,载体可进一步含有用于后续筛选/选择程序的标记序列(例如,抗生素抗性标记序列)。为了蛋白生产的目的,在载体中,给定的感兴趣核苷酸序列可连接至除上述调节序列以外的另一核苷酸序列,使得产生融合的多胜肽且有利于后续的纯化程序。该融合多胜肽包括用于纯化目的的标签(例如,His标签)。

[0078] 如本文所用,术语“治疗”意指将一或多种活性剂施用或投予患有病症、病症的症状或病况,或病症的进展的个体,目的在于治愈、愈合、减轻、缓解、改变、补救、改善、改进,或影响病症、病症的症状或病况、由病症引起的失能,或病症的进展或预先倾向性。

[0079] II.针对HSV的抗体

[0080] 根据本发明,如本文所用,抗HSV抗体特异性地结合至HSV-1及HSV-2的gD,且能够中和抗药性HSV病毒株。当抗体与病毒结合时,典型上会发生病毒中和作用,从而防止易感受细胞的感染。已经发现,本发明的抗HSV抗体在中和抗药性HSV病毒株方面表现出高效力。中和效力可以本领域中已知的方法测量。举例而言,在病毒溶斑试验中,本发明的抗HSV抗体可具有小于100nM,例如约1nM至约99nM,诸如约1nM至约80nM、约1nM至约70nM、约1nM至约60nM、约1nM至约50nM、约1nM至约40nM、约1nM至约30nM、约1nM至约20nM,或约1nM至约10nM的IC50值。

[0081] 亦已发现,如本文所用,抗HSV抗体抑制病毒传播,包括细胞间及/或神经元间的传播。

[0082] 示例性抗HSV抗体包括如美国专利第8,252,906号所述的单株抗体(mAb)E317(亦即,下面实例中所述的UB-621mAb)、E425及Y571,其内容在此通过引用整体并入本案。

[0083] 根据美国专利第8,252,906号,mAb E317、E425及Y571各自包含具有其互补决定区的重链可变区(V_H)(HC CDR1、HC CDR2及HC CDR3)及具有其互补决定区的轻链可变区(V_L)(LC CDR1、LC CDR2及LC CDR3),如表1所述。

[0084] 表1.mAb E317、E425及Y571的氨基酸序列。

[0085]

E317			
V_H 结构域			
FW1	**CDR1**	FW2	**CDR2**
MAQVTLKQSGAEVKK PGSSVKVSCTAS (SEQ ID NO: 1)	**GGTLRTYGVS (SEQ ID NO: 2)**	WVRQAPGQGLEWL G (SEQ ID NO: 3)	**RTIPLFGKTDY AQKFQG (SEQ ID NO: 4)**
FW3	**CDR3**	FW4	
RVTITADKSMDTSFMEL TSLTSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 5)	**DLTTLTSYNW WDL (SEQ ID NO: 6)**	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 7)	
V_L 结构域			
FW1	**CDR1**	FW2	**CDR2**
EIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSC (SEQ ID NO: 8)	**RASQSVTSSQ LA (SEQ ID NO: 9)**	WYQQKPGQAPRLLI S (SEQ ID NO: 10)	**GASNRAT (SEQ ID NO: 11)**
FW3	**CDR3**	FW4	
GIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO: 12)	**QQYGSSPT (SEQ ID NO: 13)**	FGGGTKVEIKRAA (SEQ ID NO: 14)	
重链及轻链的全长氨基酸序列			
重链	MAQVTLKQSGAEVKKPGSSVKVSCTAS**GGTLRTYGVS**WVRQAPGQGLE WLG**RTIPLFGKTDYAQKFQG**RVTITADKSMDTSFMELTSLTSEDTAVYYC AR**DLTTLTSYNWWDL**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 15)		
轻链	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVTSSQLA**WYQQKPGQAPRLLIS**GA**		

	SNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC**QQYGSSPT**FGGGTKV EIKRAA (SEQ ID NO: 16)

E425			
V_H 结构域			
FW1	**CDR1**	FW2	**CDR2**
MAQVQLQQSGAGVKK PGSSVRVSCSAS (SEQ ID NO: 17)	**GGTLRTYALS (SEQ ID NO: 18)**	WVRQVPGQGFEWM G (SEQ ID NO: 19)	**RIIPMFGKTDY AQKFQG (SEQ ID NO: 20)**
FW3	**CDR3**	FW4	
RLSITADKSMDTGFMEL TSLTSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 21)	**DLTTLTSYNW LDI (SEQ ID NO: 22)**	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 7)	
V_L 结构域			
FW1	**CDR1**	FW2	**CDR2**
ETTLTQSPGTLSLSPGE RATLSC (SEQ ID NO: 23)	**RASQSVSSNY LA (SEQ ID NO: 24)**	WYQKKPGQAPRLLI Y (SEQ ID NO: 25)	**GASSRAT (SEQ ID NO: 26)**
FW3	**CDR3**	FW4	
GIPDRFSGSGSGTDFTL TINRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO: 27)	**QQYGRSPT (SEQ ID NO: 28)**	FGQGTKVEIKRAA (SEQ ID NO: 29)	
重链及轻链的全长氨基酸序列			
重链	MAQVQLQQSGAGVKKPGSSVRVSCSAS**GGTLRTYALS**WVRQVPGQGFE WMG**RIIPMFGKTDYAQKFQG**RLSITADKSMDTGFMELTSLTSEDTAVYYC AR**DLTTLTSYNWLDI**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 30)		
轻链	ETTLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSNYLA**WYQKKPGQAPRLLIY**G ASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTINRLEPEDFAVYYC**QQYGRSPT**FGQGTK VEIKRAA (SEQ ID NO: 31)		
Y571			
V_H 结构域			
FW1	**CDR1**	FW2	**CDR2**
QVQLQQSGAEVKKPGS SVKVSCKAS (SEQ ID NO: 32)	**GGTLRTYGVS (SEQ ID NO: 2)**	WVRQAPGQGLEWL G (SEQ ID NO: 3)	**GTIPLFGKTDY AQKFQG (SEQ ID NO: 33)**
FW3	**CDR3**	FW4	

[0086]

[0087]

RVTITADKSMDTSFMELTSLTSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 5)	**DLTTLTSYNWWDL (SEQ ID NO: 6)**	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 7)	
V_L 结构域			
FW1	**CDR1**	FW2	**CDR2**
ETTLTQSPGILSLSPGDRATLSC (SEQ ID NO: 34)	**RASQSVGSVNLA (SEQ ID NO: 35)**	WYQQRPGQAPRLLIH (SEQ ID NO: 36)	**GASNRAT (SEQ ID NO: 11)**
FW3	**CDR3**	FW4	
GIPDRFSGVGSGTDFTLTINRLEPDDFAVYYC (SEQ ID NO: 37)	**QQYGTSPIT (SEQ ID NO: 38)**	FGQGTRLEIKR (SEQ ID NO: 39)	
重链及轻链的全长氨基酸序列			
重链	QVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS**GGTLRTYGVS**WVRQAPGQGLEWL**GGTIPLFGKTDYAQKFQG**RVTITADKSMDTSFMELTSLTSEDTAVYYCAR **DLTTLTSYNWWDL**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 40)		
轻链	ETTLTQSPGILSLSPGDRATLSC**RASQSVGSVNLA**WYQQRPGQAPRLLIH**GASNRAT**GIPDRFSGVGSGTDFTLTINRLEPDDFAVYYC**QQYGTSPIT**FGQGTRLEIKR (SEQ ID NO: 41)		

[0088] 在部分具体实施例中,本发明的抗HSV抗体为mAb E317的功能性变体,其特征在于包含:(a)VH,其包含SEQ ID NO:2的HC CDR1、SEQ ID NO:4的HC CDR2,以及SEQ ID NO:6的HC CDR3;以及(b)V_L,其包含SEQ ID NO:9的LC CDR1、SEQ ID NO:11的LC CDR2,以及SEQ ID NO:13的HC CDR3,或其抗原结合片段。

[0089] 在部分具体实施例中,本发明的抗HSV抗体具有:(a)VH,其包含SEQ ID NO:2的HC CDR1、SEQ ID NO:4的HC CDR2,以及SEQ ID NO:6的HC CDR3;以及(b)V_L,其包含SEQ ID NO:9的LC CDR1、SEQ ID NO:11的LC CDR2,以及SEQ ID NO:13的HC CDR3,可包含V_H,其包含SEQ ID NO:15或实质上与其相同的氨基酸序列,以及V_L,其包含SEQ ID NO:16或实质上与其相同的氨基酸序列。具体而言,本发明的抗HSV抗体包括V_H,其包含与SEQ ID NO:15具有至少80%(例如,82%、84%、85%、86%、88%、90%、92%、94%、95%、96%、98%或99%)相同性的氨基酸序列,以及V_L,其包含与SEQ ID NO:16具有至少80%(例如,82%、84%、85%、86%、88%、90%、92%、94%、95%、96%、98%或99%)相同性的氨基酸序列。

[0090] 在部分具体实施例中,本发明的抗HSV抗体为mAb E425的功能性变体,其特征在于包含:(a)VH,其包含SEQ ID NO:18的HC CDR1、SEQ ID NO:20的HC CDR2,以及SEQ ID NO:22的HC CDR3;以及(b)V_L,其包含SEQ ID NO:24的LC CDR1、SEQ ID NO:26的LC CDR2,以及SEQ ID NO:28的HC CDR3,或其抗原结合片段。

[0091] 在部分具体实施例中,本发明的抗HSV抗体具有:(a)VH,其包含SEQ ID NO:18的HC CDR1、SEQ ID NO:20的HC CDR2,以及SEQ ID NO:22的HC CDR3;以及(b)V_L,其包含SEQ ID NO:24的LC CDR1、SEQ ID NO:26的LC CDR2,以及SEQ ID NO:28的HC CDR3,可包含V_H,其包含SEQ ID NO:30或实质上与其相同的氨基酸序列,以及V_L,其包含SEQ ID NO:31或实质上

与其相同的氨基酸序列。具体而言,本发明的抗HSV抗体包括V_H,其包含与SEQ ID NO:30具有至少80%(例如,82%、84%、85%、86%、88%、90%、92%、94%、95%、96%、98%或99%)相同性的氨基酸序列,以及V_L,其包含与SEQ ID NO:31具有至少80%(例如,82%、84%、85%、86%、88%、90%、92%、94%、95%、96%、98%或99%)相同性的氨基酸序列。

[0092] 在部分具体实施例中,本发明的抗HSV抗体为mAb Y571的功能性变体,其特征在于包含:(a)VH,其包含SEQ ID NO:2的HC CDR1、SEQ ID NO:33的HC CDR2,以及SEQ ID NO:6的HC CDR3;以及(b)V_L,其包含SEQ ID NO:35的LC CDR1、SEQ ID NO:11的LC CDR2,以及SEQ ID NO:38的HC CDR3,或其抗原结合片段。

[0093] 在部分具体实施例中,本发明的抗HSV抗体具有:(a)VH,其包含SEQ ID NO:2的HC CDR1、SEQ ID NO:33的HC CDR2,以及SEQ ID NO:6的HC CDR3;以及(b)V_L,其包含SEQ ID NO:35的LC CDR1、SEQ ID NO:11的LC CDR2,以及SEQ ID NO:38的HC CDR3,可包含V_H,其包含SEQ ID NO:40或实质上与其相同的氨基酸序列,以及V_L,其包含SEQ ID NO:41或实质上与其相同的氨基酸序列。具体而言,本发明的抗HSV抗体包括V_H,其包含与SEQ ID NO:40具有至少80%(例如,82%、84%、85%、86%、88%、90%、92%、94%、95%、96%、98%或99%)相同性的氨基酸序列,以及V_L,其包含与SEQ ID NO:41具有至少80%(例如,82%、84%、85%、86%、88%、90%、92%、94%、95%、96%、98%或99%)相同性的氨基酸序列。

[0094] 本发明的抗HSV抗体亦包括由编码如本文所述的相关V_H或V_L氨基酸序列的多核苷酸序列所编码的任何以重组方式(工程改造)衍生的抗体。

[0095] 术语"实质上相同"可指变体的相关氨基酸序列(例如,在FRs、CDR、V_H或V_L中)与参考抗体相比几乎无差异,使得变体相对于参考抗体具有实质上类似的结合活性(例如,亲和力、特异性或两者)及生物活性。此变体可能包括较小的氨基酸变化。可理解的是,多胜肽可能具有数量有限的变化或修饰,彼等可在与其活性或功能无关的多胜肽的某个部分内进行,但仍会产生具有可接受水平的等效或类似生物活性或功能的变体。在一些实例中,氨基酸残基变化为保留性氨基酸取代,意指氨基酸残基与另一氨基酸残基具有类似的化学结构,而对多胜肽功能、活性或其他生物作用的影响较小或实质上无影响。通常,与CDR区相比,FR区可进行相对更多的取代,只要其等不会对抗体的结合功能及生物活性产生不利影响(例如,相较于原始抗体,结合亲和力降低超过50%)。在部分具体实施例中,在参考抗体与变体之间,序列相同性可为约80%、82%、84%、85%、86%、88%、90%、92%、94%、95%、96%、98%,或99%或更高。可根据本领域普通技术人员已知的用于改变多胜肽序列的方法制备变体,例如结合此类方法的该等参考文献,例如,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,J.Sambrook等人,第二版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,New York,1989。举例而言,氨基酸的保留性取代包括在下列群组内的氨基酸之间进行的取代:(i)A、G;(ii)S、T;(iii)Q、N;(iv)E、D;(v)M、I、L、V;(vi)F、Y、W;以及(vii)K、R、H。

[0096] 本文所述的抗体可为动物抗体(例如,小鼠衍生的抗体)、嵌合抗体(例如,小鼠-人类嵌合抗体)、人源化抗体,或人类抗体。本文所述的抗体亦可包括其等的抗原结合片段,例如,Fab片段、F(ab')2片段、Fv片段、单链Fv(scFv),以及$(scFv)_2$。抗体或其等的抗原结合片段可通过本领域已知的方法制备。

[0097] III.抗体的制备

[0098] 本领域的许多常规方法可用于获得抗体或其抗原结合片段。

[0099] 在部分具体实施例中,本文提供的抗体可通过常规杂交瘤技术制备。通常,可选地与载体蛋白耦接及/或与佐剂混合的标靶抗原可用于使宿主动物进行免疫以产生结合至该抗原的抗体。收取分泌单株抗体的淋巴球并与骨髓瘤细胞融合以产生杂交瘤。随后,筛选以此方式形成的杂交瘤殖株,以确定及选择分泌所需单株抗体的该等杂交瘤殖株。

[0100] 在部分具体实施例中,本文提供的抗体可经由重组技术制备。在相关方面中,亦提供编码所揭示氨基酸序列的分离的核酸,以及包含此类核酸的载体,以及以该核酸转形或转染的宿主细胞。

[0101] 举例而言,可将包含编码此类抗体的重链及轻链可变区的核苷酸序列的核酸经由常规技术选殖至表达载体(例如,细菌载体,例如大肠杆菌载体、酵母菌载体、病毒载体,或哺乳动物载体)中,并可将任何载体导入适用的细胞(例如,细菌细胞、酵母菌细胞、植物细胞,或哺乳动物细胞)中以表达抗体。哺乳动物宿主细胞株的实例为人类胚胎肾细胞株(293细胞)、幼仓鼠肾细胞(BHK细胞)、中国仓鼠卵巢细胞(CHO细胞)、非洲绿猴肾细胞(VERO细胞),以及人类肝细胞(Hep G2细胞)。用于表达本文所述抗体的重组载体通常含有编码抗体氨基酸序列的核酸,该核酸可操作地连接至组成型或诱导型启动子。典型的载体含有用于调节编码抗体的核酸表达的转录及转译终止子、起始序列,以及启动子。载体可选地含有用于原核及真核系统的选择标记。在一些实例中,重链及轻链编码序列皆包括在相同的表达载体中。在其他实例中,抗体的每条重链及轻链系选殖至单独载体中并分开产生,其随后可在适用条件下培养以进行抗体组装。

[0102] 用于表达本文所述抗体的重组载体通常含有编码抗体氨基酸序列的核酸,该核酸可操作地连接至组成型或诱导型启动子。重组抗体可在原核或真核表达系统中产生,例如细菌、酵母菌、昆虫,以及哺乳动物细胞。典型的载体含有用于调节编码抗体的核酸表达的转录及转译终止子、起始序列,以及启动子。载体可选地含有用于原核及真核系统的选择标记。可进一步分离或纯化所产生的抗体蛋白,以获得实质上均质的制备物,其用于进一步的试验及应用。适用的纯化程序,例如,可包括在免疫亲和性或离子交换管柱上的分离、乙醇沉淀、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、高效能液相层析术(HPLC)、硫酸铵沉淀,以及凝胶过滤。

[0103] 当需要全长抗体时,本文所述的任何V_H及V_L链的编码序列可连接至免疫球蛋白的Fc区的编码序列,从而所得的编码全长抗体重链及轻链的基因可在适用的宿主细胞(例如,植物细胞、哺乳动物细胞、酵母菌细胞,或昆虫细胞)中表达及组装。

[0104] 抗原结合片段可经由常规方法制备。举例而言,$F(ab')_2$片段可通过全长抗体分子的胃蛋白酶消化生成,而Fab片段可通过还原$F(ab')_2$片段的双硫键而产生。或者,此类片段亦可经由重组技术制备,其通过在适用的宿主细胞中表达重链及轻链片段,并在体内或体外使其等组装以形成所需的抗原结合片段。单链抗体可经由重组技术制备,其通过连接编码重链可变区的核苷酸序列与编码轻链可变区的核苷酸序列。较佳地,在两个可变区之间并入挠性连接子。

[0105] IV.组合物

[0106] 根据本发明,抗HSV抗体可与医药上可接受的载体一起配制成组合物,其用于输送及吸收。

[0107] 如本文所用,“医药上可接受”意指载体与组合物中的活性成分相容,且较佳为可稳定该活性成分,并对接受个体具有安全性。该载体可为活性成分的稀释剂、载具、赋形剂,或基质。通常,包含如本文所述的抗HSV抗体以作为活性成分的组合物可为溶液形式,例如水溶液(例如,盐溶液,或其可以粉末形式提供)。组合物可进一步含有所需的医药上可接受辅助物质以近似于生理条件,例如,pH调节剂及缓冲剂,例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠等。组合物的形式可为悬浮剂、洗剂、溶液、无菌注射液,以及包装粉末。本发明的组合物可经由任何生理上可接受的途径输送,例如肠胃外(例如,肌内、静脉内、皮下,以及腹腔)及鼻内方法。在某些具体实施例中,本发明的组合物作为液体可注射制剂投予,其可作为即用剂型或作为可重构的稳定粉末提供。

[0108] V.治疗

[0109] 本发明提供一种通过投予如本文所述的抗HSV抗体而治疗抗药性及/或复发型HSV感染的方法。本发明的方法可有效减轻由HSV感染引起的症状、延缓复发率及/或降低复发频率。本发明的方法可有效减轻由HSV感染引起的症状、延缓复发率及/或降低复发频率。

[0110] 如本文所用,术语“抗药性”可表明病毒在暴露于一或多种抗病毒药物时能够存活。具体而言,对于抗病毒药物的抗药性可表明病毒复制不被正常量的抗病毒药物抑制,或者尚未显示药剂针对病毒的临床功效。术语“多重抗药性”可指对一种以上的抗病毒药物具有抗药性的病毒。

[0111] 在部分具体实施例中,抗药性HSV病毒株的酪胺酸激酶(TK)或DNA聚合酶具有突变。在部分具体实施例中,病毒株对选自由以下所组成群组的至少一者具有抗性:阿昔洛韦(ACV)、泛昔洛韦(famciclovir,FCV)、喷昔洛韦(penciclovir,PCV)、伐昔洛韦(valacyclovir,VCV)、脱氧尿苷(trifluridine,TFD)、膦甲酸(foscarnet)(膦酰基-甲酸(phosphono-formic acid,PFA))及西多福韦(CDV)。在部分具体实施例中,病毒株包括临床分离病毒株,诸如HSV-1RH(美国起源)、HSV-1贝塞斯达(美国起源)、HSV-2MO(美国起源)、HSV-2贝塞斯达(美国起源)、HSV-2JA-1(亚洲起源)、HSV-2JA-2(亚洲起源)、HSV-2JA-3(亚洲起源)、HSV-2poly-mut(聚合酶突变体)、HSV-2C7(TK突变体)、C8(TK突变体)、IC(ACV抗性)。在部分具体实施例中,病毒株包括临床分离病毒株(德国起源),诸如HSV-1R2、R4、R7、R8、R9、R10、R11及R13,以及HSV-2R5、R6及R14。

[0112] 使用如本文所述抗HSV抗体的本发明方法可有效针对抗药性HSV感染。在部分具体实施例中,如本文所述的抗HSV抗体针对几种抗药性HSV病毒株可达到低的IC_{50}值(诸如1nM至30nM),其效力比阿昔洛韦的高出3倍或更多(例如,5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、250倍、500倍、1,000倍、2,500倍、5,000倍或更多),阿昔洛韦针对几种抗药性HSV病毒株可提供高的IC_{50}值(诸如100nM至35,000或更多)。在部分具体实施例中,以单一剂量15至50mg/kg的量投予如本文所述的抗HSV抗体可有效保护患有抗药HSV感染的动物免于死亡。

[0113] 如本文所用,术语“减轻症状”或“症状减轻”可指减轻或消除疾病或其他异常状态的一或多个症状的活性药剂。疾病的症状严重程度可通过本领域已知的任何适用指数或评分而确定。一般而言,更高水平的指数或更高的评分表明疾病的严重程度更高。在部分具体实施例中,具有HSV感染的动物所观察到的临床疾病及临床症状可评分如下:0分为无病灶;1分为仅红斑;2分为单个或少数水疱;3分为溃疡性病灶;且4分为除了3分的病灶以外的异常运动。在部分具体实施例中,具有HSV感染的动物所观察到的临床疾病及临床症状可评分

如下:0分为正常;1分为外生殖器轻微发红;2分为外生殖器红肿,及/或脓/黏液;3分为外生殖器严重肿胀,伴随脓/黏液,且周围区域有些脱毛(alopecia);4分为生殖器组织溃疡、红肿;5分为溃疡加重、红肿、后肢麻痹;且6分为死亡。在部分具体实施例中,相较于本领域普通技术人员及/或医疗专业人员(例如,医师)将期望患病的个体或具有类似身体特征及病史的群体的患病水平指数或患病评分,症状减轻可包括此类指数的水平降低或分数降低例如5%、10%、15%、20%、25%、30%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在部分具体实施例中,症状减轻可指疾病或其他异常状态的一或多种感知症状减轻至正常状态。

[0114] 如本文所用,“复发型感染”可指在先前/原发型感染事件被认为治愈后在患者中再次或重复发生感染,例如第二次、第三次或后续的感染发作。正常而言,第一次出现症状时称为初步或初次发作,而后续的发作称为复发。在临床上,复发型HSV感染可表明病灶内HSV的重新活化与血清中抗体的相同。患者历经复发型感染可指病毒再次发生反应。在特定具体实施例中,有些患有生殖器疱疹的患者可能每个月经历一或多次复发;有些每二至四个月复发一次,且有些每四个月复发一次以内。在特定具体实施例中,有些患有口腔疱疹的患者每个月复发一或多次,有些每二至四个月复发,且有些每四个月复发一次以内。

[0115] 如本文所用,术语“治疗复发型HSV感染”可指在感染个体中的一或多种复发型病毒症状的严重性、频率、持续时间及/或数量的减少,或者一群个体的一或多种复发型病毒症状的平均值或中位数严重性、频率、持续时间及/或数量的减少。在部分具体实施例中,投予如本文所述的抗HSV抗体可有效延缓复发发生率。在部分具体实施例中,投予如本文所述的抗HSV抗体可有效减少复发数量或频率。在某些实例中,当将本文所述的抗HSV抗体向患有疱疹病灶的患者群体投予时,在停止治疗之后,在至少一个月的中位时间内不出现临床症状。较佳地,无复发时间大于2-3个月。

[0116] 本文所用的术语“有效量”意指在受到治疗的个体或细胞中赋予所需生物效果的活性成分的量。举例而言,如本文所述,有效量可为作为活性剂的抗HSV抗体的量,其可提供减轻HSV感染的症状及/或延缓HSV感染的复发。有效量可根据各种原因而改变,例如投予途径及频率、接受该医药的个体的体重及物种,以及投予目的。本领域技术人员可基于本文揭示内容、建立的方法,以及其等自身经验来确定每一情况下的剂量。

[0117] 在部分具体实施例中,如本文所述的抗HSV抗体以个体每公斤体重0.01至100mg,特别是0.1至100mg,更特别是1至80mg,且甚至更特别是10至50mg的剂量范围投予。在某些实例中,如本文所述的抗HSV抗体以1至10mg/kg的剂量范围投予,例如1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg,或10mg/kg。

[0118] 在部分具体实施例中,抗体以整个剂量包括在组合物中,并以单一剂量投予个体。一般而言,抗体越早投予越好。在部分具体实施例中,抗体在感染过程的早期投予,例如在感染后10天(例如,10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天)之内投予。较佳地,抗体在感染后5天(例如,5天、4天、3天、2天或1天)之内投予。

[0119] 欲通过本文所述治疗方法治疗的个体可为哺乳动物,更佳为人类。哺乳动物包括(但不限于)农场动物、运动动物、宠物、灵长类、马、狗、猫、小鼠及大鼠。需要治疗的人类个体可为患有、处于风险中或怀疑患有标靶疾病/病症的人类患者。怀疑患有任何此类标靶疾病/病症的个体可能表现出疾病/病症的一或多个症状。处于疾病/病症风险中的个体可为

具有该疾病/病症的一或多个风险因子的个体。在部分具体实施例中,个体为感染HSV的患者或免疫系统低下的患者,诸如婴儿、孕妇、癌症患者、器官移植接受者,以及人类免疫缺陷病毒(HIV)带原者。在部分具体实施例中,个体为感染HSV且小分子药物控制不良的患者。

[0120] 在部分具体实施例中,在潜伏期(早期/无症状阶段)内向有需求的个体投予如本文所述的抗HSV抗体。典型上,在症状出现前HSV-1及HSV-2的潜伏期为2至12天。因此,在某些实例中,在感染后10天内(诸如10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天或1天)向有需求的个体投予如本文所述的抗HSV抗体。

[0121] 在部分具体实施例中,在症状出现后向有需求的个体投予如本文所述的抗HSV抗体。在某些实例中,在初步或初次发作期间出现症状后向有需求的个体投予如本文所述的抗HSV抗体。在某些实例中,在复发期期间出现症状后向有需求的个体投予如本文所述的抗HSV抗体。在某些实例中,在感染后10天或之后(诸如12天、15天、20天、25天、30天或更久)向有需求的个体投予如本文所述的抗HSV抗体。

[0122] 在部分具体实施例中,以低频率向有需求的个体投予如本文所述的抗HSV抗体。在部分具体实施例中,如本文所述的抗HSV抗体系每周或较不频繁地(例如,每2周、每3周、每4周、每5周、每6周、每7周、每8周或较不频繁地)投予。在部分具体实施例中,如本文所述的抗HSV抗体在1至3个月期间内投予一次,例如每个月一次、每两个月一次,或每三个月一次。

[0123] 在部分具体实施例中,投予如本文所述的抗HSV抗体可有效减少复发次数或频率。在一些实例中,相较于投予多剂量小分子抗病毒药物的复发次数超过3次(例如4或5次),在复发期期间投予单一剂量抗HSV抗体后30天的复发次数减至3次或以下(参见图14B)。

[0124] 本发明通过下列实施例进一步说明,其等的提供目的出于说明而非限制。鉴于本揭示内容,本领域的技术人员应理解到,在不脱离本发明的精神及范畴的情况下,可对所揭示的特定具体实施例进行许多改变且仍获得相似或类似的结果。

[0125] 实施例

[0126] 实施例1:通过表面电浆共振(SPR)分析测定UB-621与重组gD的结合亲和力UB-621(抗HSV-gD mAb)与重组gD结合的动力学分析通过表面电浆共振(SPR)技术进行,其使用Biacore X100仪器。首先通过胺基耦合将抗人类IgG Fc片段抗体固定在CM5金感应器晶片表面。UB-621在运行缓冲液中稀释至5mg/mL(两倍系列稀释,6.25至100nM),并由CM5晶片上的抗FC抗体捕获。将在HBS-EP缓冲液中稀释的gD样本注入,包括参考池。使用1:1模型自动地计算解离速率常数(kd)、结合速率常数(ka)及平衡解离速率常数(KD),并使用Biacore评估软体计算稳态亲和力。

[0127] UB-621的KD平均值估计为1.35x 10^{-10}M(图1)。

[0128] 实施例2:UB-621针对HSV-1及HSV-2实验室病毒株感染的中和作用

[0129] 首先通过细胞存活力试验在Vero细胞中研究UB-621针对HSV感染的效力,并以IC_{50}及IC_{90}表示。四种受测的实验室HSV病毒株为HSV-1KOS、HSV-1RE、HSV-2333及HSV-2G。将病毒株在室温下与一系列浓度的UB-621混合一小时。随后,将混合物等分分配至接种有Vero细胞的96孔盘中。在37℃下培养48小时之后,以PBS洗涤培养盘一次,且活细胞以1% Alamar蓝培养1小时。在530nm及590nm下测量萤光,以计算细胞死亡百分比。

[0130] UB-621以高效力完全地中和所有的实验室HSV-1及HSV-2病毒株(图2),如低水平的IC_{50}及IC_{90}所示(表2)。

[0131] 表2:UB-621以低的IC_{50}值及IC_{90}值抑制实验室HSV-1及HSV-2病毒株对Vero细胞的感染

IC_{50}	HSV-1 RE	HSV-1 KOS	HSV-2 333	HSV-2 G
μg/mL	0.31	1.51	1.06	0.85
nM	2.07	10.07	7.07	5.67

[0132]

IC50	HSV-1 RE	HSV-1 KOS	HSV-2 333	HSV-2 G
μg/mL	0.31	1.51	1.06	0.85
nM	2.07	10.07	7.07	5.67

[0133] 实施例3:UB-621对生殖器HSV-2感染的治疗效果

[0134] 3.1感染症状出现前的感染后治疗

[0135] 将6-8周大的雌性BALB/c小鼠用于HSV-2阴道内感染模型(Marshak JO等人,2014)。将小鼠随机分配至hIgG对照组及UB-621治疗组(n=6)。在HSV-2阴道内感染前第4天及第1天,小鼠在上背部皮下注射2.5mg黄体素。随后,小鼠阴道内接种10μL的病毒悬浮液(HSV-2病毒株333,1×10^5PFU)。在感染后第1天,通过皮下注射向每只小鼠投予300μg的UB-621(UB-621治疗组)或等量的人类IgG(hIgG对照组)。在感染后第1、2、3、4、5、6、7、8、10及12天对生殖器感染的临床征象进行评分,其根据综合量表进行0至5分的评分(Gill N等人,2005):0分为无感染征象;1分为外生殖器轻微发红;2分为外生殖器红肿,及/或脓/黏液;3分为外生殖器严重肿胀,伴随脓/黏液,且周围区域有些脱毛(alopecia);4分为生殖器组织溃疡、红肿;5分为溃疡加重、红肿、后肢麻痹;6分为死亡。

[0136] 相较于HSV-2感染后第7天hIgG治疗小鼠的得分5分,单一300μg剂量的UB-621将生殖器症状及征象控制在2分之内(图3A)。相较于hIgG治疗的小鼠,UB-621治疗的小鼠的存活时间延长了5.5天(12天对比6.5天)(图3B)。

[0137] 3.2感染症状出现后的感染后治疗

[0138] 将小鼠随机分配至hIgG对照组及UB-621治疗组(n=3)。在HSV-2阴道内感染前第4天及第1天,小鼠在上背部皮下注射2.5mg黄体素。随后,小鼠阴道内接种10μL的病毒悬浮液(HSV-2病毒株333,1×10^5PFU)。在感染后第4天,通过皮下注射向每只小鼠投予300μg的UB-621(UB-621治疗组)或等量的人类IgG(hIgG对照组)。

[0139] 相较于HSV-2感染后第12天hIgG治疗小鼠的得分5至6分,单一300μg剂量的UB-621将生殖器症状及征象控制在3分(图4A)。相较于hIgG治疗的小鼠的中位存活时间为8天,UB-621治疗的小鼠100%存活(图4B)。

[0140] 实施例4:UB-621针对Vero细胞中HSV-1RE TKnull及HSV-2 333TKnull突变体病毒株的中和作用

[0141] 使用以两种HSV实验室突变体病毒株感染的Vero细胞来进行UB-621与阿昔洛韦(ACV)的比较研究,并通过溶斑试验分析抑制活性。通过在TK基因中插入增强型绿色萤光蛋白(EGFP)而对野生型HSV-1RE及HSV-2 333病毒株进行突变,使得所得HSV-1RE TKnull及HSV-2 333TKnull突变体对ACV具有抗性。种植在12孔盘中的Vero细胞在37℃下以HSV-1RE突变体或HSV-2突变体(MOI=0.01)感染75分钟。随后,感染的细胞在含有或不含一系列浓度的UB-621或ACV的培养基中培养24小时。计数病毒溶斑,并计算半最大抑制活性,以IC_{50}表示。

[0142] UB-621以比ACV高得多的效力中和两种病毒株(图5A及5B)。UB-621以低水平的IC_{50}抑制感染,针对HSV-1RE突变体为11.3nM,且针对HSV-2 333突变体为28.1nM(表3)。UB-621的IC_{50}值可表示比ACV高出1000倍的效力。

[0143] 表3:UB-621以远低于ACV(阿昔洛韦)的IC_{50}值抑制两种HSV-1RE TKnull及HSV-2 333TKnull病毒株

[0144]

HSV (IC_{50})	UB-621	ACV	相对效力
HSV-1 RE TKnull	11.3 nM	> 100 nM	NA
HSV-2 333 TKnull	28.1 nM	> 100 nM	NA

[0145] 实施例5:UB-621针对临床上衍生的HSV-1及HSV-2分离病毒株的中和作用

[0146] 5.1美国和亚洲起源以及ACV抗性。

[0147] 将UB-621及ACV在抑制临床上衍生的HSV-1及HSV-2分离病毒株的效力与美国、亚洲起源以及阿昔洛韦抗性的11种分离病毒株进行比较。经由细胞存活力试验而调查4种美国分离病毒株(HSV-1贝塞斯达及HSV-1RH;HSV-2贝塞斯达及HSV-2RH)、3种亚洲分离病毒株(HSV-2JA-1、HSV-2JA-2及HSV-2JA-3)以及4种ACV抗性分离病毒株(poly-mut、C7、C8及IC)。将病毒株与一系列浓度的UB-621或ACV在室温下混合一小时。随后,将混合物等分分配至接种有Vero细胞的96孔盘中。在37℃下培养48小时之后,以PBS洗涤培养盘一次,且活细胞以1% Alamar蓝培养1小时。在530nm及590nm下测量萤光,以计算细胞死亡百分比。

[0148] UB-621以高效力(低的IC_{50}及IC_{90})中和所有的临床HSV-1及HSV-2病毒株(图6A、6B及6C),其比ACV高出至少500倍(表4)。

[0149] 表4:UB-621以远低于ACV(阿昔洛韦)的IC50值及IC90值抑制临床上衍生的美国和亚洲起源以及ACV抗性的HSV分离病毒株

[0150]

类型	临床HSV分离病毒株		UB-621	ACV	UB-621	ACV
	标识	其他资讯	IC_{50} (nM)		IC_{90} (nM)	
HSV-1	RH	美国起源	2.38	4,730	6.14	> 35,500
	贝塞斯达		1.87	3,620	9.52	> 35,500
HSV-2	MO		8.05	6,110	15.25	> 35,500
	贝塞斯达		13.6	> 35,500	22.4	> 35,500
	JA-1	亚洲起源	4.31	5,530	18.2	> 35,500
	JA-2		12.7	7,970	26.67	> 35,500
	JA-3		18.3	6,310	31.6	> 35,500
	poly-mut	聚合酶突变体	27.1	> 35,500	69.79	> 35,500
	C7	TK突变体	7.14	> 35,500	20.85	> 35,500
	C8		17.9	> 35,500	36.2	> 35,500
	IC	ACV抗性	11.4	> 35,500	20.85	> 35,500

[0151] 5.2德国起源及其他抗药性。

[0152] 将浓度从250至0nM的连续稀释的UB-621与病毒负荷量为100$TCID_{50}$的抗药性HSV-1或HSV-2分离病毒株培养在37℃下的细胞培养基中1小时。随后,将抗体病毒接种物施加至生长在96孔盘中的Vero细胞单层。在培养48小时后,通过光学显微镜进行细胞病变效应(CPE)评分。将病毒完全中和所需的抗体浓度定义为中和效价(neutralizing titer)。

[0153] 相较于该等以低至高μM的IC_{50}水平抑制HSV的小分子抗病毒药物,UB-621可以非常低的浓度(范围为7.8至31.3nM)完全地中和所有受测药物敏感性或单一或多重抗药性临床HSV分离病毒株(HSV-1,其包括R2、R4、R7、R8、R9、R10、R11及R13)及HSV-2分离病毒株(R5、R6及R14)(图7)。UB-621的中和功效与病毒株来源及抗药性状态无关。

[0154] 实施例6:UB-621针对小鼠中ACV抗性HSV-1临床分离病毒株的感染的功效研究。

[0155] 将BALB/c小鼠分成3组,每组6只小鼠。在麻醉每只小鼠后,以针划破每只小鼠的右眼角膜,并施加5μL的病毒接种物,内含5×10^6pfu的ACV抗性HSV-1临床分离病毒株。在感染后第1天,通过皮下注射向每只指定的小鼠投予一剂的UB-621(50mg/kg)或人类IgG(50mg/kg)。在感染后第1天及第2天,通过口腔胃管灌食法每天两次向每只指定的小鼠投予125mg/kg的阿昔洛韦(ACV)。所有小鼠在感染后第3天牺牲,并收取小鼠右眼、三叉神经节及大脑,并以溶斑试验测定组织中的病毒负荷量。

[0156] 相较于人类IgG(对照)治疗,50mg/kg的UB-621显著减少眼睛(病毒接种部位)中的病毒复制(图8)。ACV治疗组与对照组之间无显著差异。然而,此种HSV临床分离病毒株难以在所有小鼠的神经组织(三叉神经节及大脑)中传播及复制,因此未评估此等组织中的药效差异。

[0157] 实施例7:UB-621针对小鼠中ACV抗性HSV-2临床分离病毒株的感染的功效研究

[0158] 7.1HSV-2临床分离株IC病毒株

[0159] 如先前所报导,在攻毒(challenge)前第4天及第1天,通过皮下注射给予6-8周大雌性BALB/c小鼠0.1ml的含有2.5mg黄体素的悬浮液,以增加对阴道HSV感染的易感受性。随后,动物以阴道内接种10μL的含有1×10^6pfu的HSV-2临床分离株IC病毒株的悬浮液(图9)。在感染后第1天,动物以皮下注射投予单一剂量的UB-621,或在第1-5天口服多个剂量的ACV。随后,每日追踪动物,持续至少15天。阴道炎的严重性通过综合量表进行0至6分的评分。

[0160] 15mg/kg至50mg/kg的剂量水平的UB-621完全保护小鼠免受病毒感染引起的死亡(图9A)。相较于盐液对照小鼠及ACV治疗小鼠,单一剂量的UB-621以剂量依赖性方式显著控制生殖器症状(图9B)。

[0161] 7.2HSV-2临床分离株pol-mut病毒株

[0162] 使用其他临床分离株pol-mut病毒株来进行单独研究。简言之,动物以阴道内接种10μL的含有1×10^6pfu的HSV-2临床分离株pol-mut病毒株的悬浮液(图10)。在感染后第1天,动物以皮下注射投予单一剂量的UB-621,或在第1-5天口服多个剂量的ACV。随后,每日追踪动物,持续至少15天。

[0163] 在UB-621对临床分离株pol-mut病毒株的功效评估研究中观察到类似的结果。15mg/kg至50mg/kg的剂量水平的UB-621完全保护小鼠免于死亡(图10A)。相较于盐液对照小鼠,单一剂量的UB-621以剂量依赖性方式显著控制生殖器症状(图10B)。

[0164] 实施例8:通过UB-621抑制HSV-1及HSV-2细胞间传播

[0165] 如先前所述的(Krawczyk A,等,2013)并伴随修改,调查了UB-621对细胞间的传播的抑制。简言之,以每孔1x 10^5个细胞将Vero细胞接种在24孔盘上。以每孔200$TCID_{50}$ HSV-1-或HSV-2-ΔgE-GFP报导病毒感染汇合的细胞培养物。在培养2小时后,移除接种培养基,将细胞培养物与连续稀释的UB-621(0-1000nM)一起培养。在培养2天后,通过萤光显微镜检

查溶斑形成。仅以2% DMEM作为阴性对照,并以抗gB mAb H1817(Pereira L等人,1989)作为阳性对照。通过萤光显微镜评估溶斑形成。

[0166] HSV-1及HSV-2的溶斑形成随着UB-621浓度的增加而减少。在1000nM(150μg/mL)的UB-621浓度下观察到HSV-1的完全中和(图11A)。UB-621清楚地显示出针对HSV-2的溶斑减少效果,其为细胞间传播抑制活性的证据(图11B)。

[0167] 实施例9:通过UB-621抑制BALB/c小鼠中HSV-1顺行神经元间的传播

[0168] 雌性BALB/c小鼠经由角膜接种HSV-1RE病毒株以感染右眼,其剂量为每只小鼠5μL(含有1×10^6pfu)。在感染后第1天,动物接受单一腹腔注射剂量(15mg/kg)的UB-621。在感染后第5天牺牲动物(每组5只(n=5)),以分析右眼、右三叉神经节及全脑中的病毒负荷量。

[0169] 结果表明,UB-621的存在可显著抑制从眼睛到三叉神经节及大脑的神经元间的传播(图12)。

[0170] 实施例10:UB-621对天竺鼠中复发型HSV-2感染的功效研究

[0171] 不同于小鼠模型,天竺鼠生殖器模型表现出急性疾病及自发性复发。在第0天,雌性Hartley品系天竺鼠(200-300g)在生殖道中感染了10^6PFU的HSV-2病毒株333。为了研究UB-621功效及对复发的效果(图13A及13B,以及图14A及14B),当在HSV原发型及复发型感染中投剂时,在感染后第1天或第20天以皮下方式投予单一剂量的UB-621(30或60mg/kg)。在感染后第1-7天或第20至26天,口服投予多个剂量的阿昔洛韦(125mg/kg,每天两次)。对照动物以皮下及口服途径投予生理盐液。通过直接检查外生殖器皮肤及动物活力来确定感染后症状的严重性。每只动物进行55天的每日观察(在急性感染期内投剂;图13A)或在治疗后观察40天(在复发感染期内投剂;图14A),其系使用临床评分:0分为无病灶;1分为仅红斑;2分为单个或少数水疱;3分为溃疡性病灶;且4分为除了3分的病灶以外的异常运动。当症状评分为4分时,动物以人道方式牺牲。当临床症状比前一天更严重时,确定为复发。

[0172] 结果证明,单一剂量的UB-621可有效地缓解阴道炎临床症状,不论是在原发型感染时(图13A)或首次HSV复发后(图14A)对感染动物投剂。相较于以盐液或ACV治疗,UB-621治疗不仅延缓复发发生率,还减少了累积复发次数(图13B及14B)。

[0173] 3.结论

[0174] UB-621有效地中和野生型及抗药性HSV-1及HSV-2(实施例2、4及5),且单一剂量的UB-621在HSV感染的小鼠及天竺鼠中可减轻疾病症状并提高存活率(实施例3、6、7、9及10)。

[0175] UB-621在所有23种抗药性HSV临床分离病毒株中可有效地抑制HSV体外复制,其中分离病毒株对几种小分子药物(例如,ACV、PFA)具有抗性(实施例5)。

[0176] 许多患者受到抗药性HSV的感染,且需要使用较高剂量的小分子药物来治疗该疾病。同时,单一剂量的UB-621在抗药性病毒株的原发型HSV感染中可减轻疾病症状并提高存活率(实施例6及7)。

[0177] 当患者的免疫系统减弱或小分子药物治疗中断时,有些患者可能会出现HSV的复发症状。在HSV复发型天竺鼠模型中,原发型HSV感染阶段的单一剂量UB-621显示出强的治疗效果(实施例10)。

[0178] UB-621在动物中的显著治疗效果可能与HSV gD的中和作用及HSV细胞间传播的抑制作用有关(实施例8及9)。

[0179] 目前尚未有核可用于HSV治疗的mAb药物,且小分子药物存在许多限制及副作用。

UB-621在动物模型中显示出有效的治疗功效,并可使感染抗药性HSV病毒株且小分子药物症状控制不良的患者受益。

[0180] 参考资料

[0181] Boado RJ,Zhou Q-H,Lu JZ,et al.Pharmacokinetics and brain uptake of agenetically engineered bifunctional fusion antibody targeting the mouse transferrin receptor.Mol Pharmacol 7:237-244(2010).

[0182] Eddie C hang,Laurence Galle,David Maggs,D.Mark Estes,and William J.Mitchell.Pathogenesis of Herpes Simplex Virus Type 1Induced Corneal Inflammation in Perforin Deficient Mice.(2000)Journal of Virology.74:11832 11840.

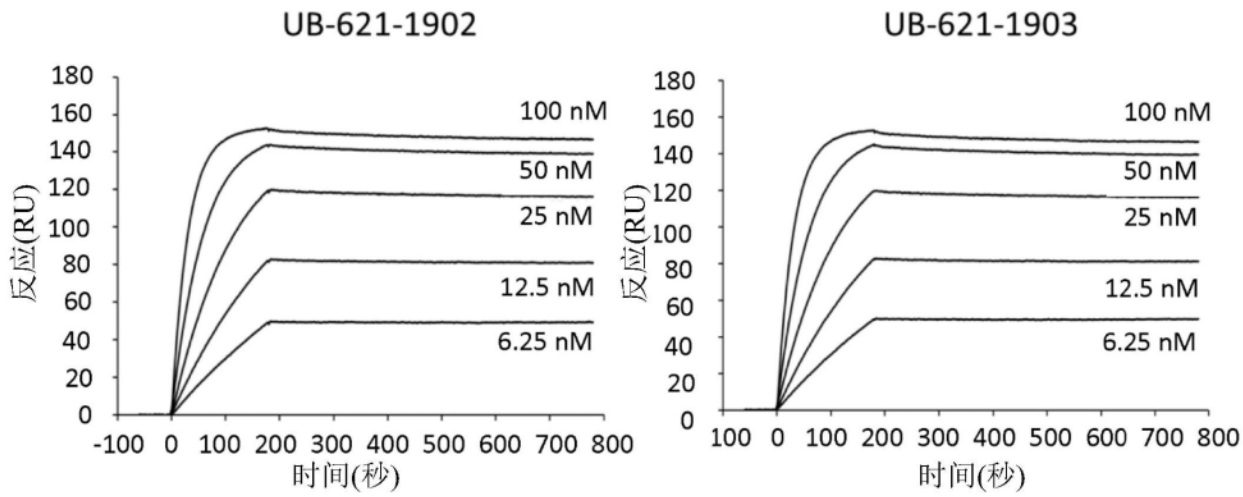
[0183] Gill N,Rosenthal KL,Ashkar AA.NK and NKT cell-independent contribution of interleukin-15to innate protection against mucosal viral infection.J.Virol.79:4470-4478(2005).

[0184] Krawczyk A,Arndt MA,Grosse-Hovest L,Weichert W,Giebel B,Dittmer U,Hengel H,Jager D,Schneweis KE,Eis-Hubinger AM,Roggendorf M,KraussJ.Overcoming drug-resistant herpes simplex virus(HSV)infection by a humanizedantibody.PNAS,USA 110:6760-6765(2013).

[0185] Marshak JO,Dong L,Koelle DM,et al.The Murine Intravaginal HSV-2 ChallengeModel for Investigation.Methods Mol Biol.1144:305-327(2014).

[0186] Pereira L,Ali M,Kousoulas K,Huo B,Banks T.Domain structure of herpessimplex virus 1 glycoprotein B:neutralizing epitopes map in regions of continuous anddiscontinuous residues.Virology 172:11-24(1989).

[0187] Pepinsky RB,Shao Z,Ji B,et al.Wang,Q.,Meng,G.,Walus,L.,Lee,X.,Hu,Y.,Graff,C.,Garber,E.,Meier,W.,and Mi,S.Exposure levels of anti-LINGO-1 Li81antibody in the central nervous system and dose-efficacy relationships in rat spinal cordremyelination models after systemic administration.J.Pharmacol.Exp.Ther.339:519-529(2011).



批号	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)
UB-621-1902	3.55×10^{5}	4.87×10^{-5}	1.37×10^{-10}
UB-621-1903	3.56×10^{5}	4.78×10^{-5}	1.34×10^{-10}

图1

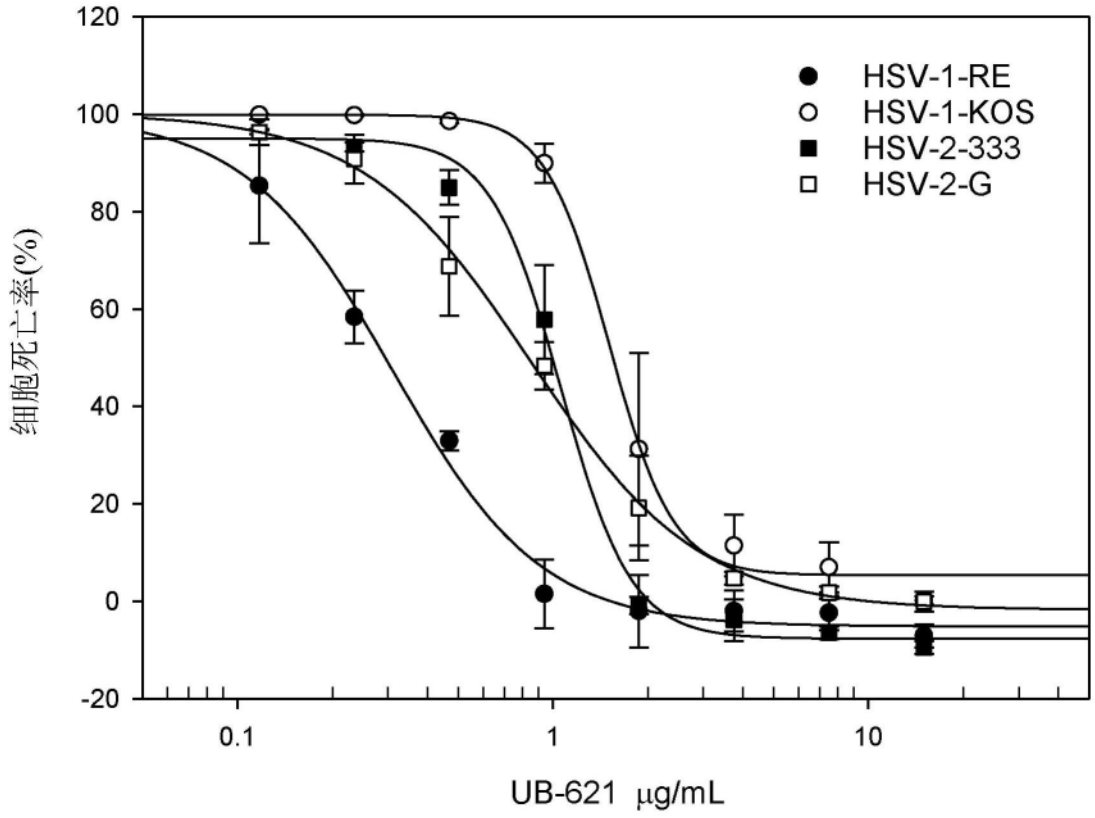


图2

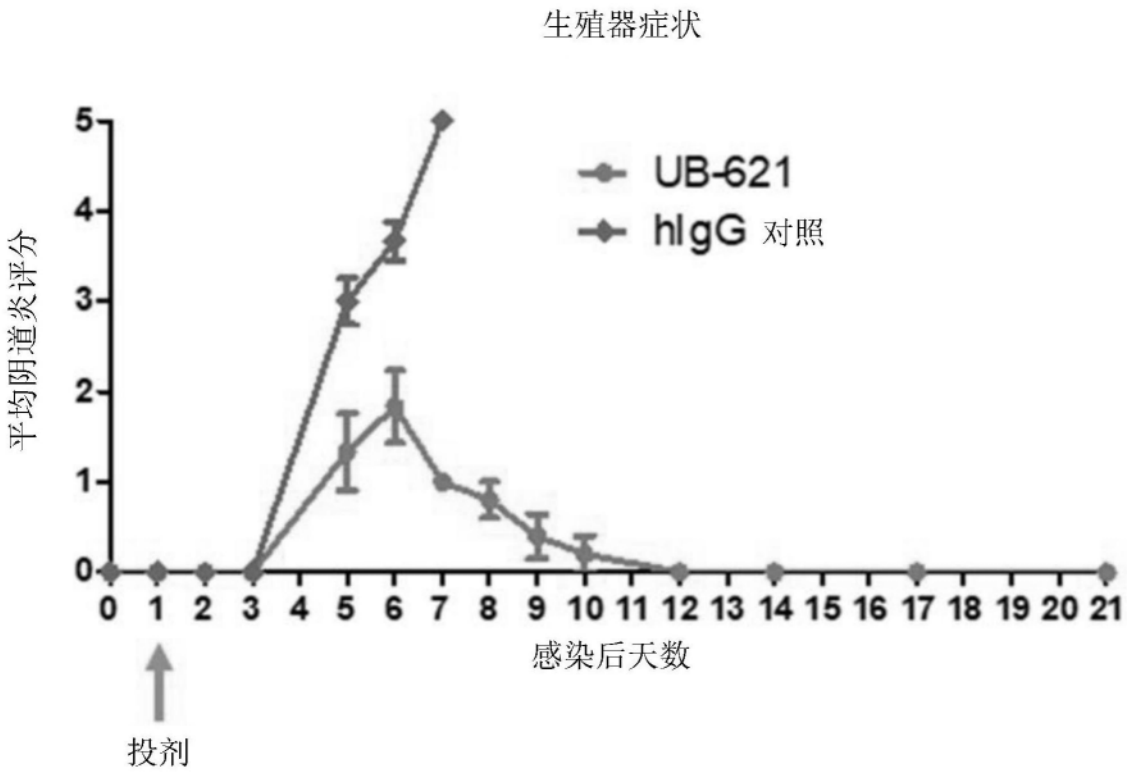

生殖器症状
平均阴道炎评分
UB-621
hIgG 对照
感染后天数
投剂

图3A

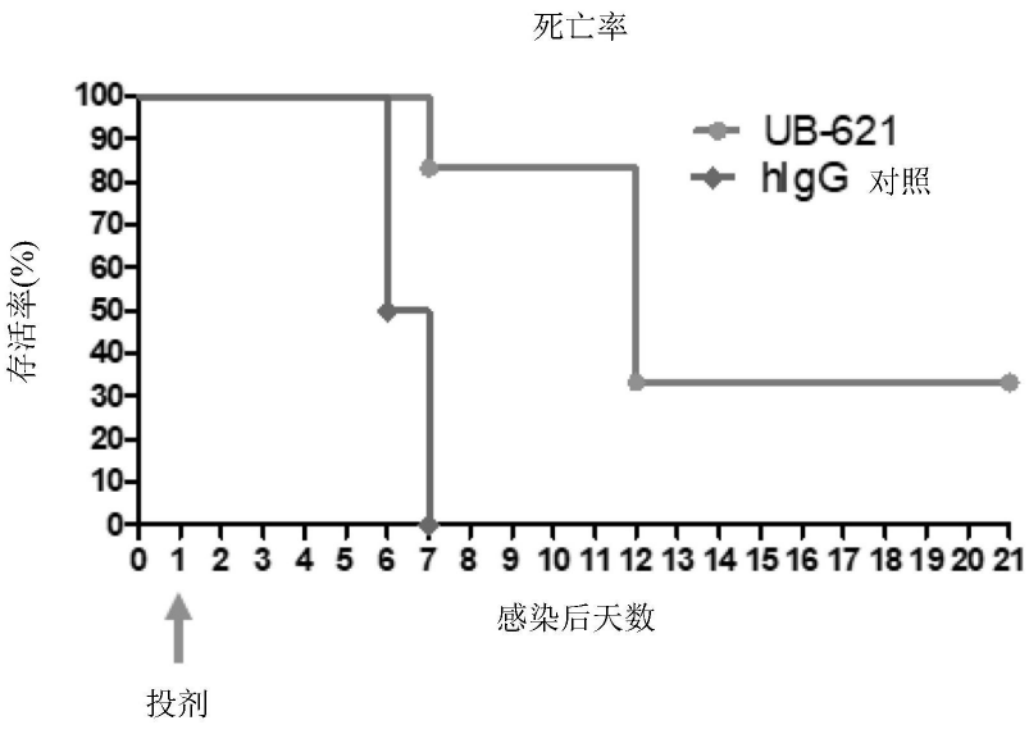

死亡率
存活率(%)
UB-621
hIgG 对照
感染后天数
投剂

图3B

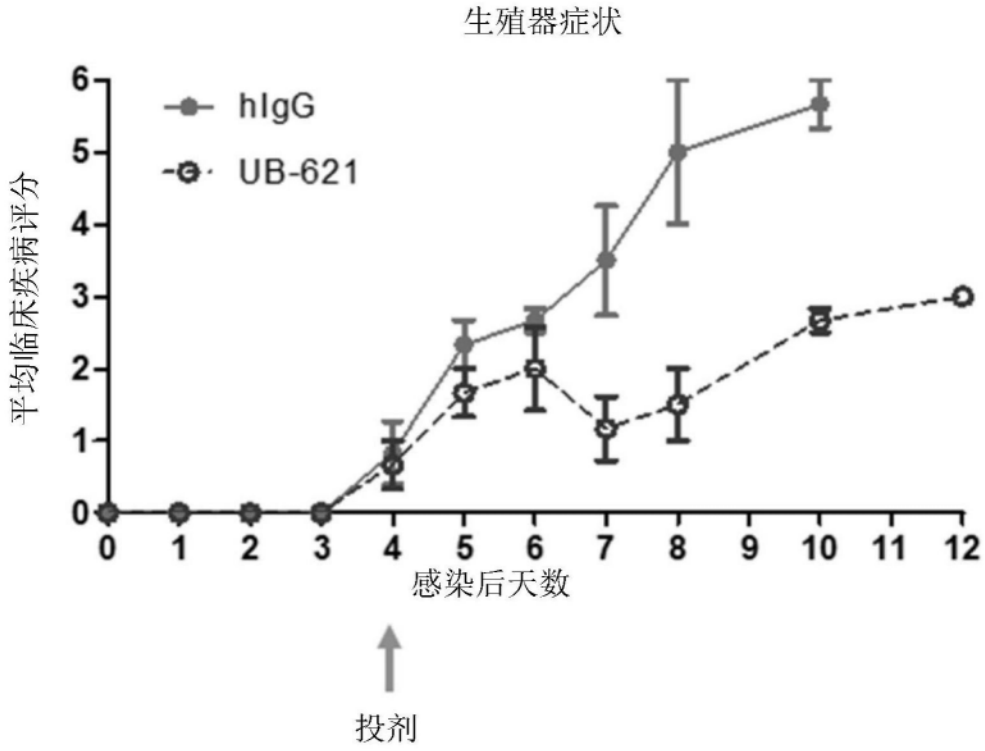

生殖器症状
平均临床疾病评分
hIgG
UB-621
0
1
2
3
4
5
6
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
感染后天数
投剂

图4A

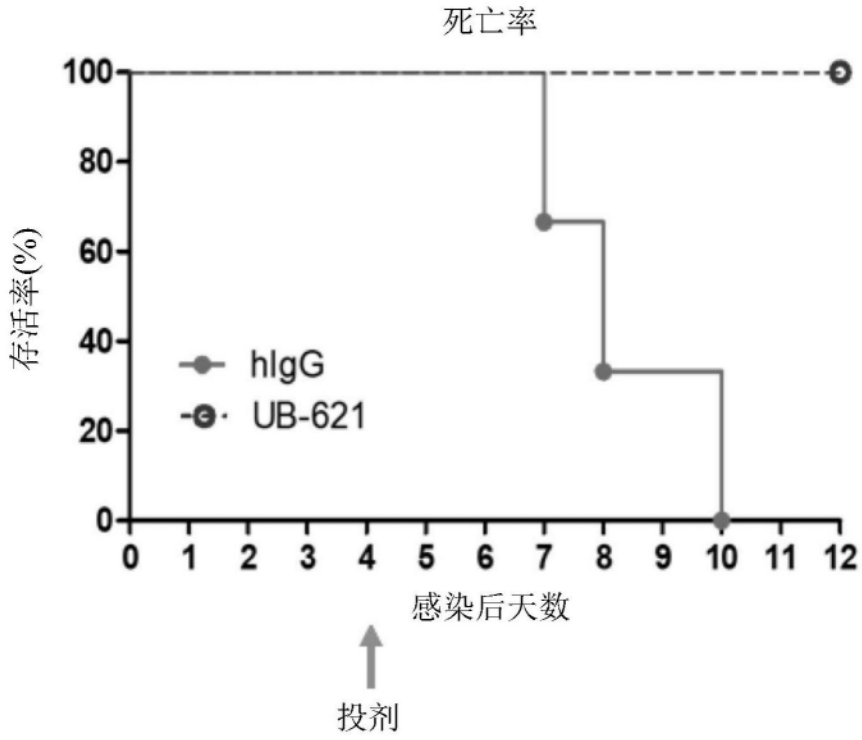

死亡率
存活率(%)
100
80
60
40
20
0
hIgG
UB-621
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
感染后天数
投剂

图4B

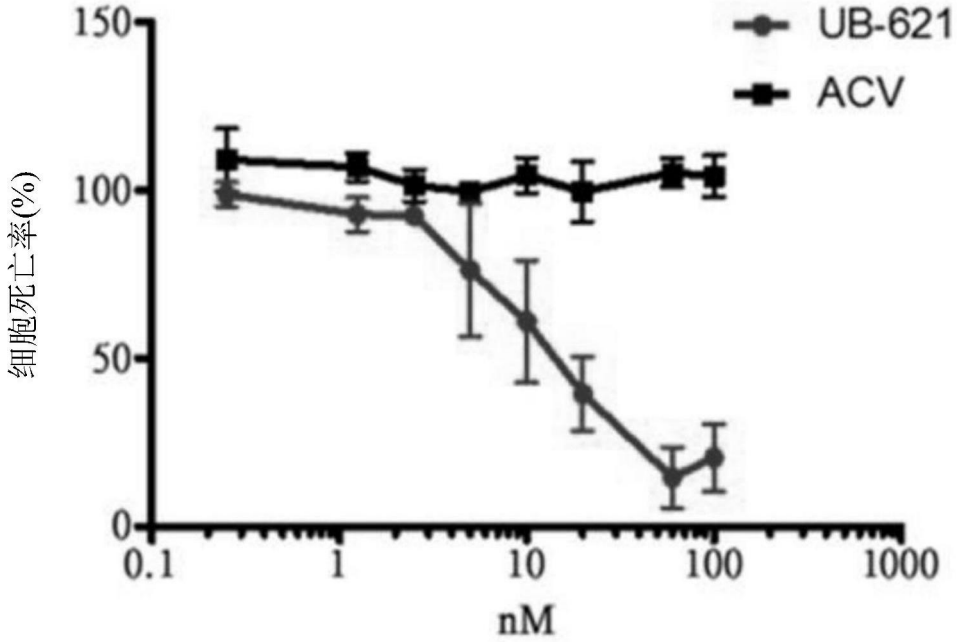

UB-621
ACV
细胞死亡率(%)
150
100
50
0
0.1
1
10
100
1000
nM

图5A

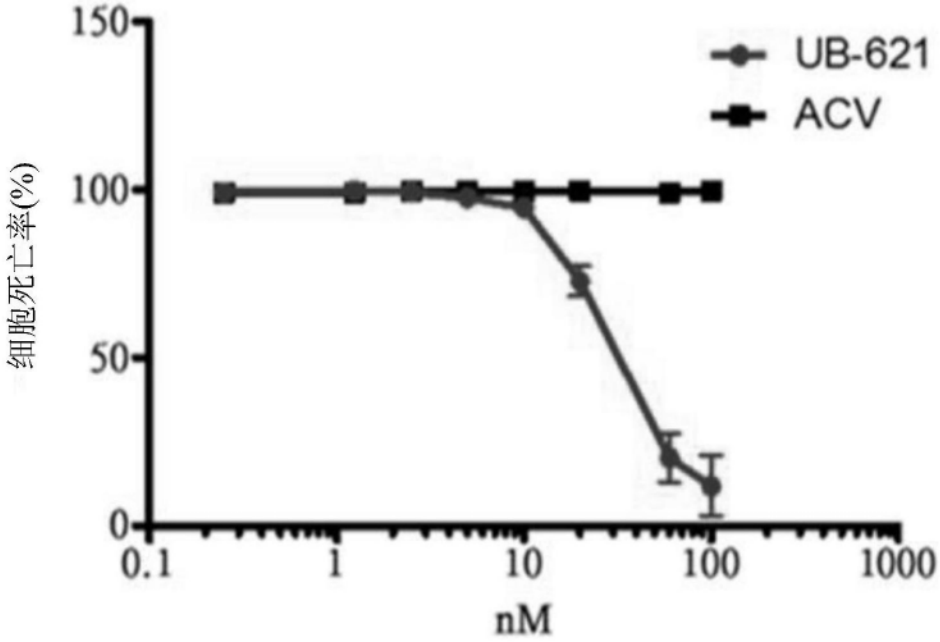

UB-621
ACV
细胞死亡率(%)
150
100
50
0
0.1
1
10
100
1000
nM

图5B

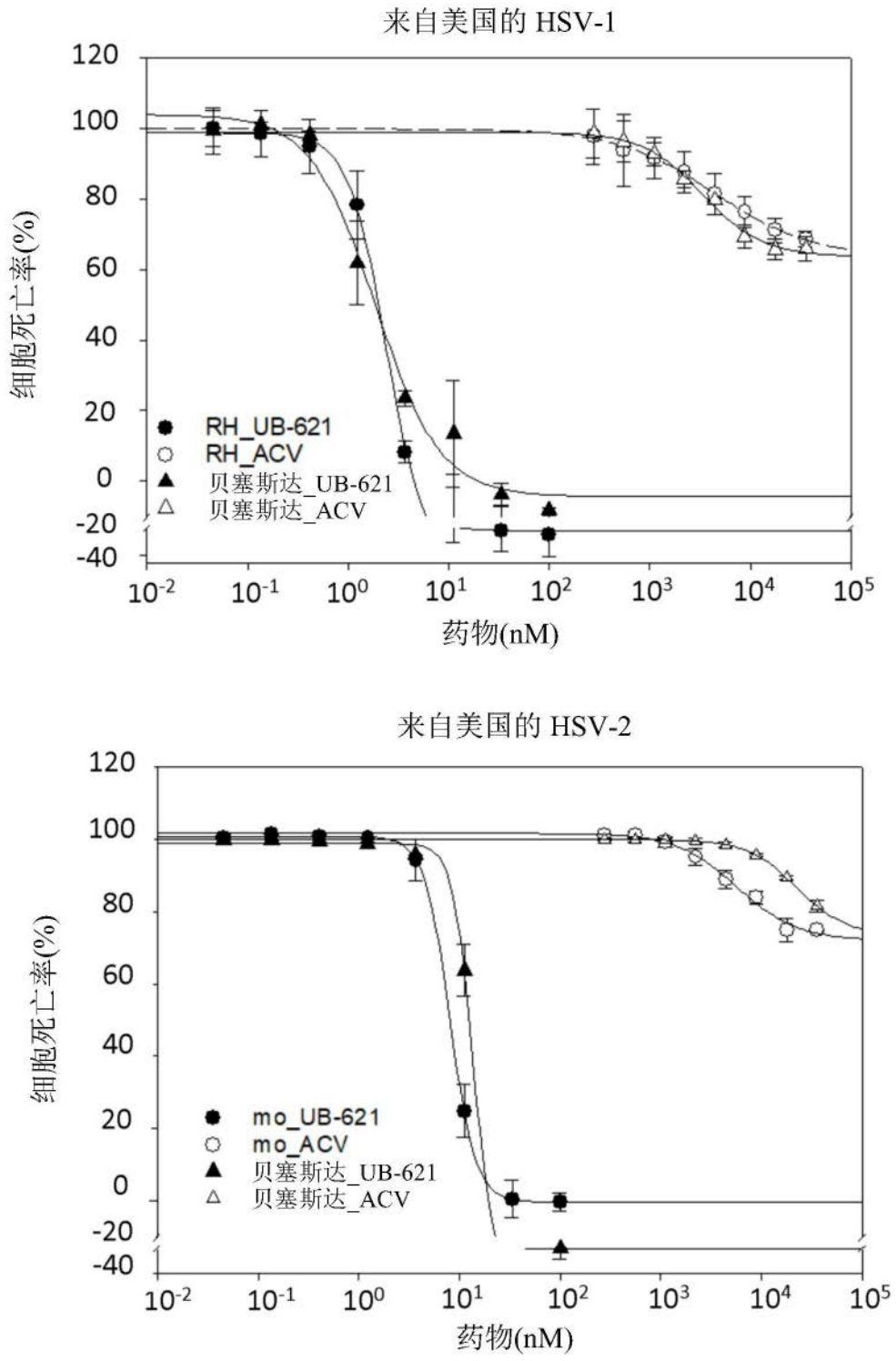

来自美国的 HSV-1
细胞死亡率(%)
药物(nM)
RH_UB-621
RH_ACV
贝塞斯达_UB-621
贝塞斯达_ACV
来自美国的 HSV-2
细胞死亡率(%)
药物(nM)
mo_UB-621
mo_ACV
贝塞斯达_UB-621
贝塞斯达_ACV

图6A

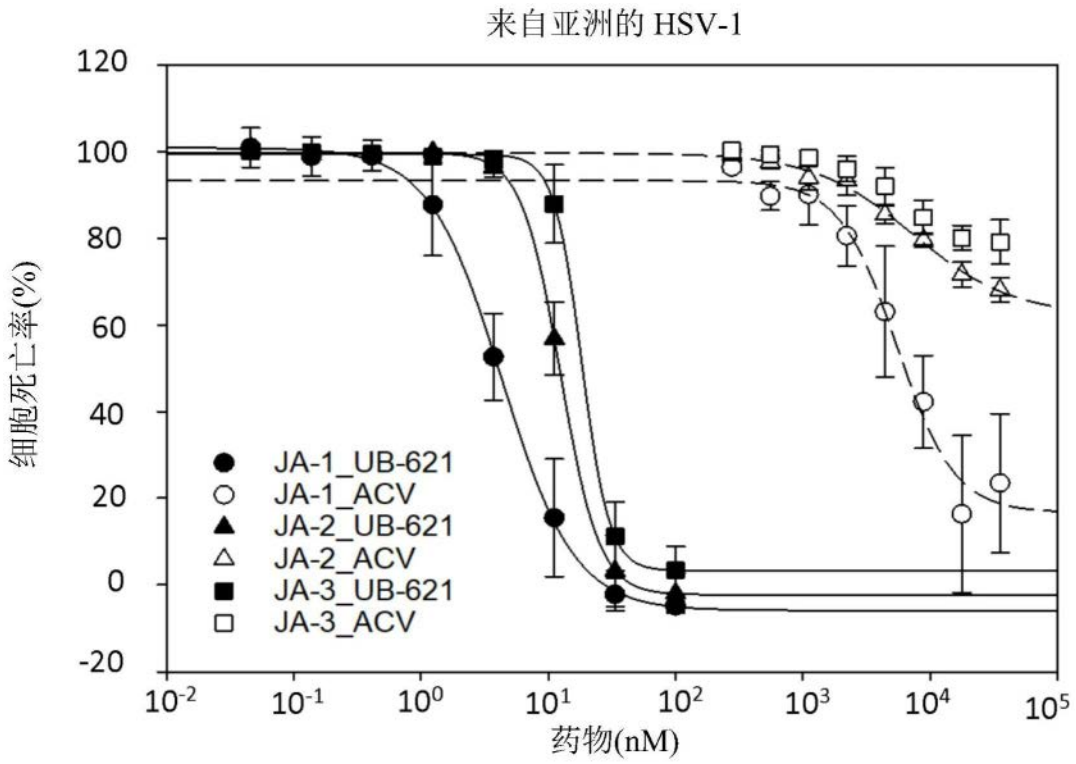

来自亚洲的 HSV-1
细胞死亡率(%)
药物(nM)
JA-1_UB-621
JA-1_ACV
JA-2_UB-621
JA-2_ACV
JA-3_UB-621
JA-3_ACV

图6B

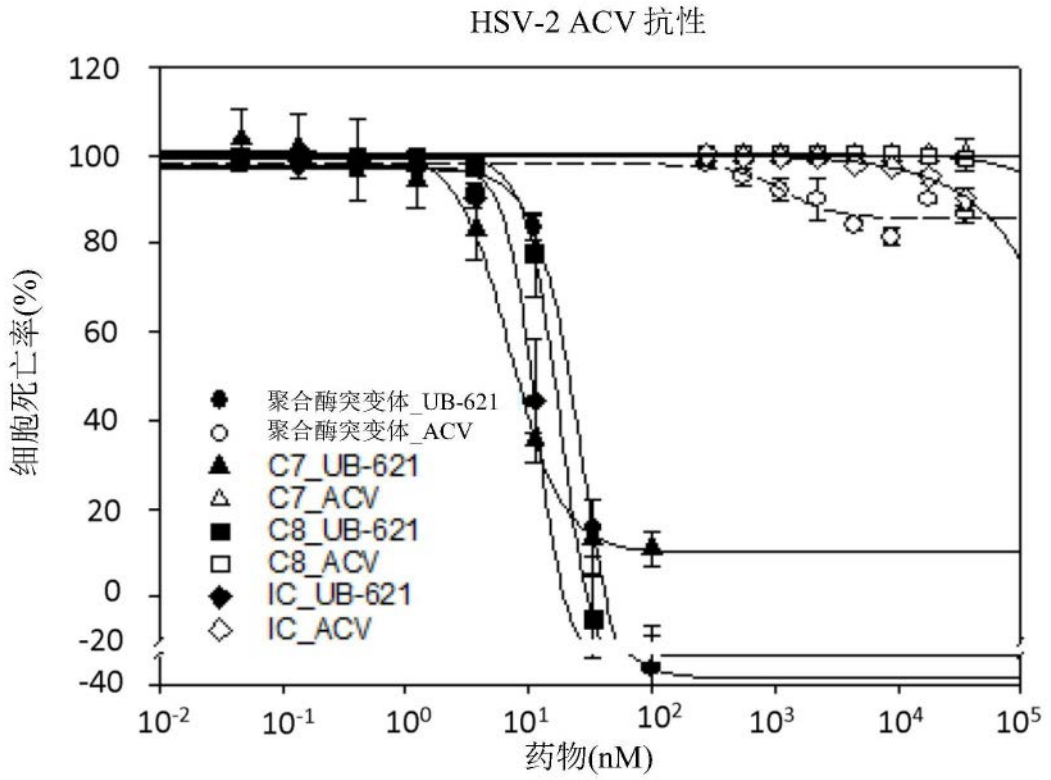

HSV-2 ACV 抗性
细胞死亡率(%)
药物(nM)
聚合酶突变体_UB-621
聚合酶突变体_ACV
C7_UB-621
C7_ACV
C8_UB-621
C8_ACV
IC_UB-621
IC_ACV

图6C

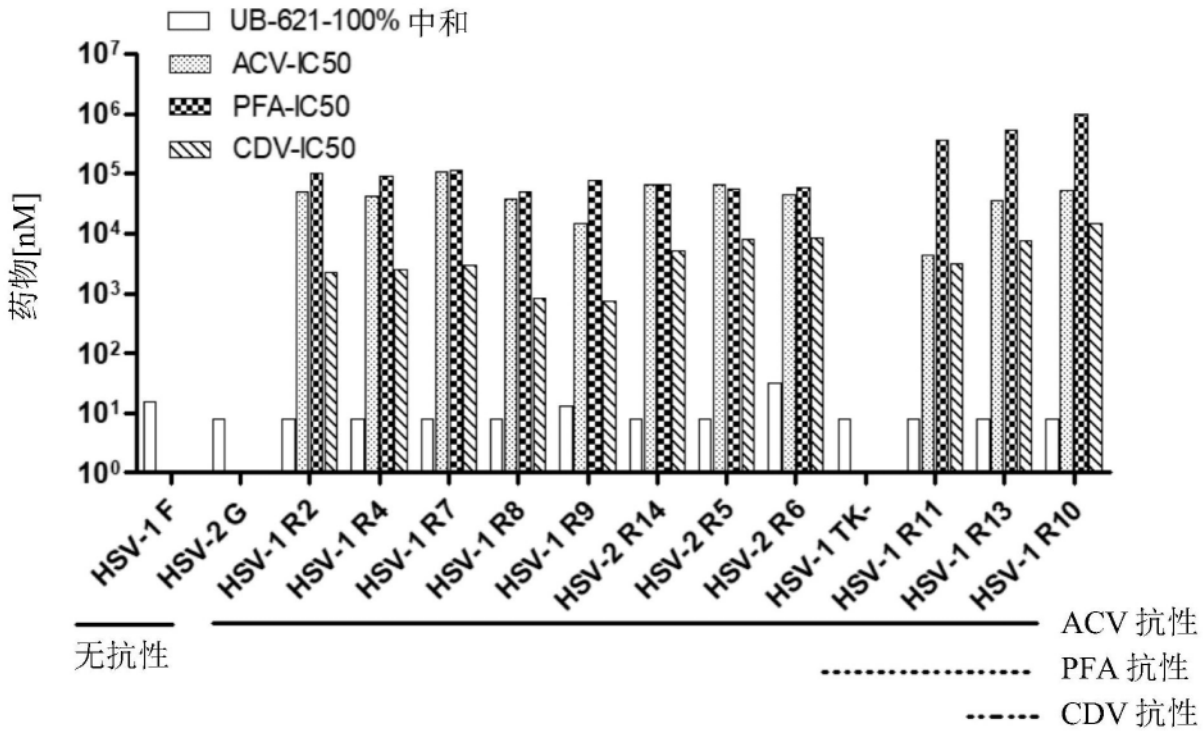

UB-621-100% 中和
ACV-IC50
PFA-IC50
CDV-IC50
药物[nM]
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
HSV-1 F
HSV-2 G
HSV-1 R2
HSV-1 R4
HSV-1 R7
HSV-1 R8
HSV-1 R9
HSV-2 R14
HSV-2 R5
HSV-2 R6
HSV-1 TK-
HSV-1 R11
HSV-1 R13
HSV-1 R10
无抗性
ACV 抗性
PFA 抗性
CDV 抗性

图7

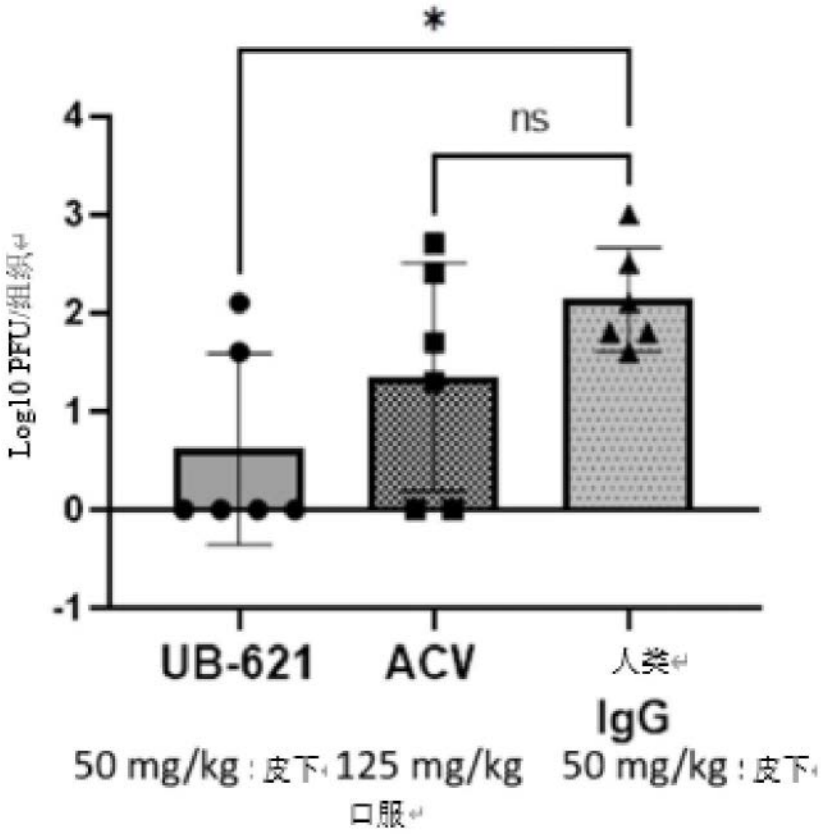

*
ns
Log10 PFU/组织
4
3
2
1
0
-1
UB-621
ACV
人类
IgG
50 mg/kg：皮下
125 mg/kg
口服
50 mg/kg：皮下

图8

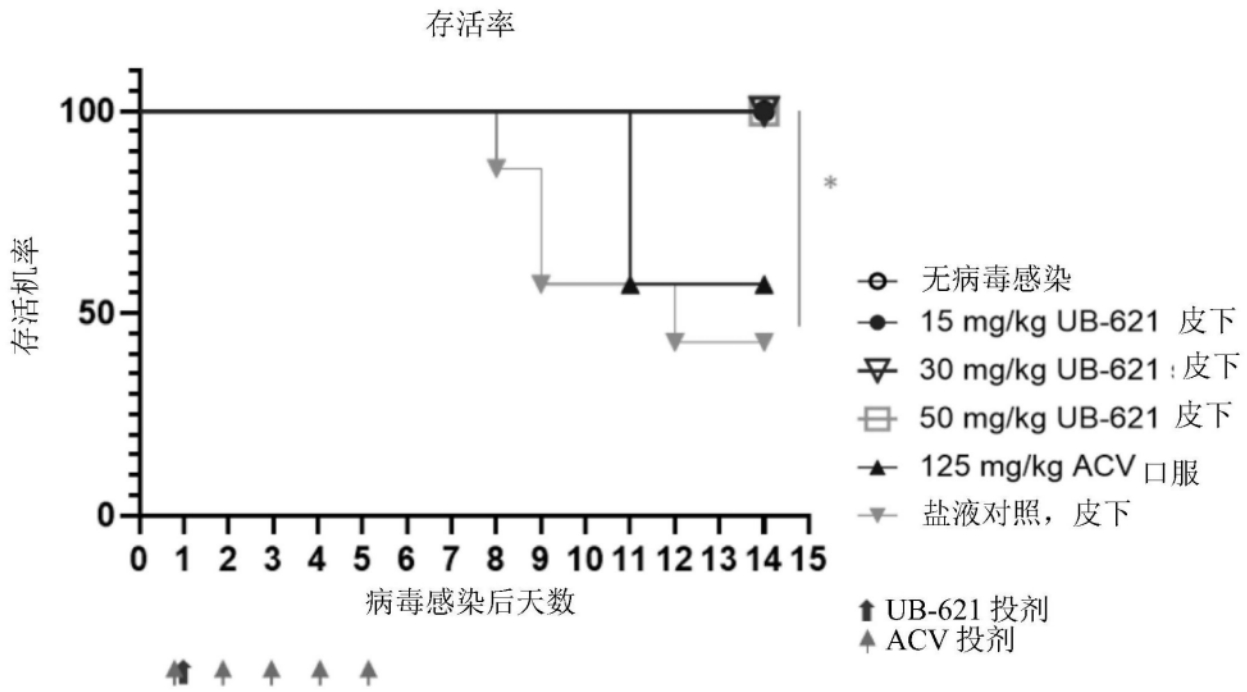

存活率
存活机率
100
50
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
病毒感染后天数
*
无病毒感染
15 mg/kg UB-621 皮下
30 mg/kg UB-621 皮下
50 mg/kg UB-621 皮下
125 mg/kg ACV 口服
盐液对照，皮下
UB-621 投剂
ACV 投剂

图9A

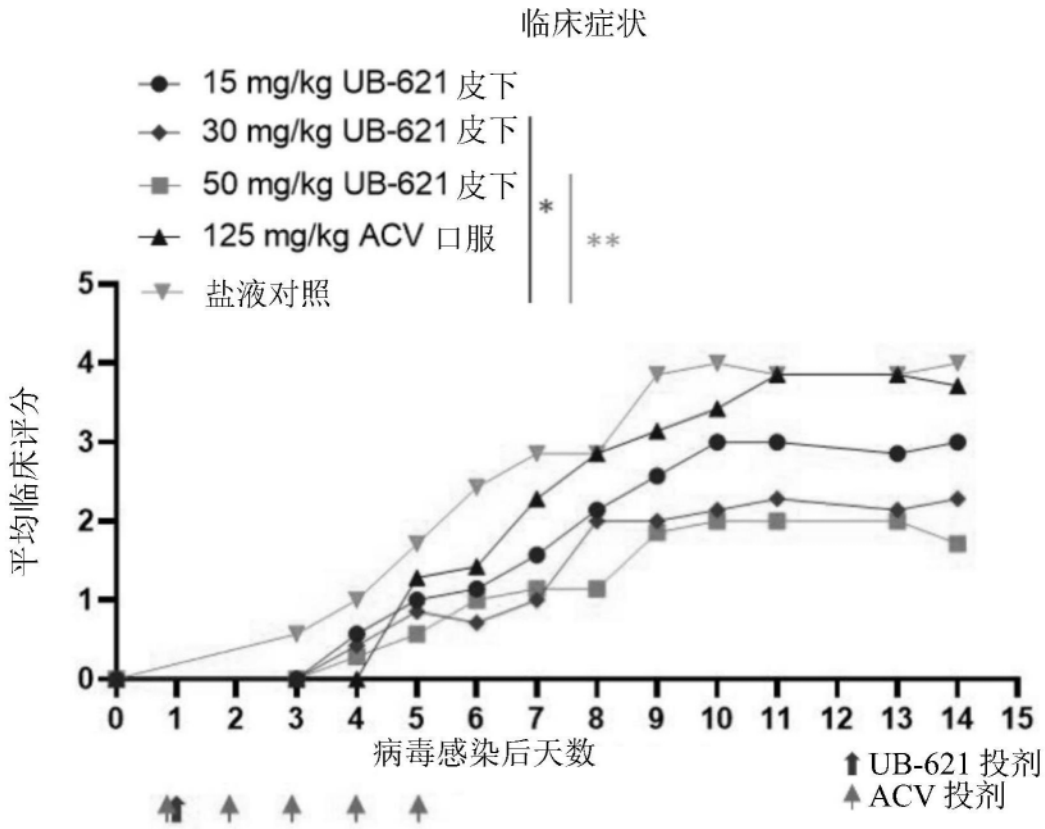

临床症状
15 mg/kg UB-621 皮下
30 mg/kg UB-621 皮下
50 mg/kg UB-621 皮下
125 mg/kg ACV 口服
盐液对照
*
**
平均临床评分
5
4
3
2
1
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
病毒感染后天数
UB-621 投剂
ACV 投剂

图9B

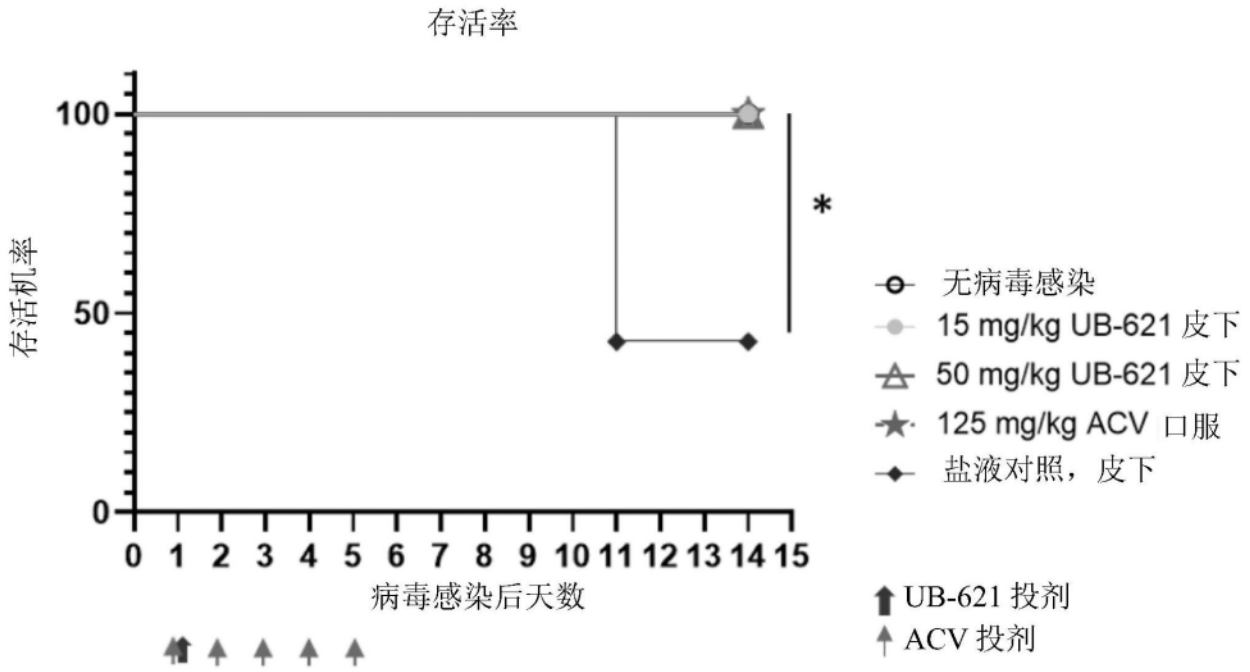

存活率
存活机率
100
50
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
病毒感染后天数
*
无病毒感染
15 mg/kg UB-621 皮下
50 mg/kg UB-621 皮下
125 mg/kg ACV 口服
盐液对照，皮下
UB-621 投剂
ACV 投剂

图10A

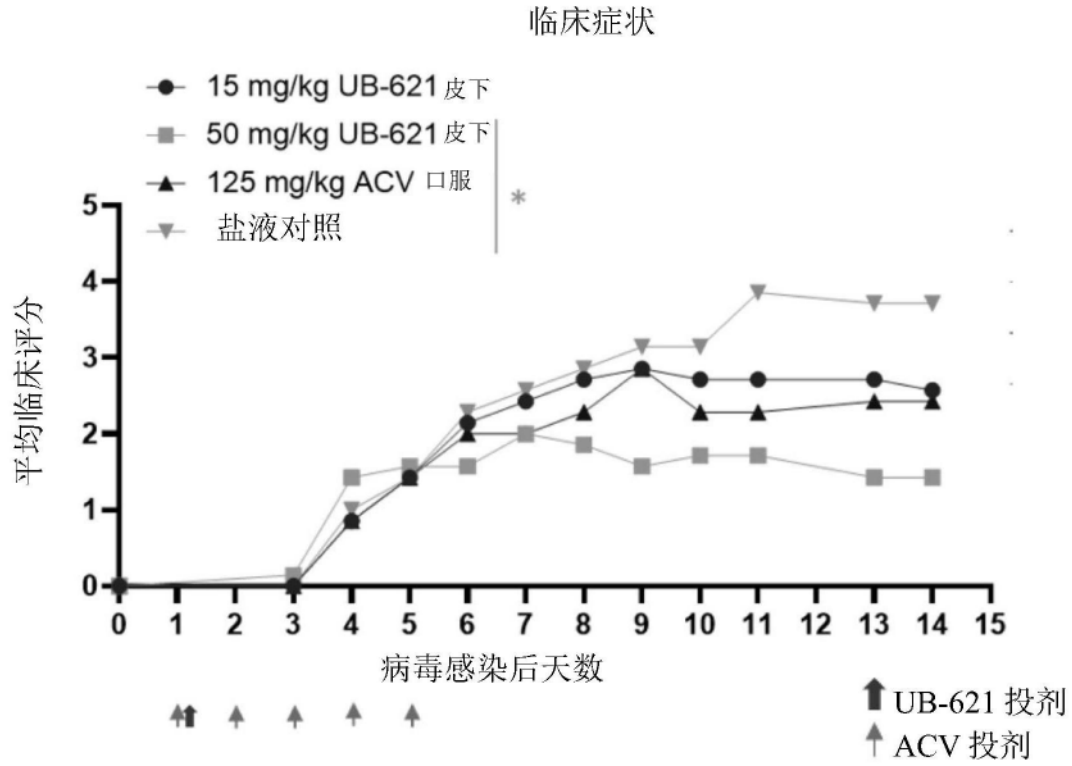

临床症状
15 mg/kg UB-621 皮下
50 mg/kg UB-621 皮下
125 mg/kg ACV 口服
盐液对照
*
平均临床评分
5
4
3
2
1
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
病毒感染后天数
UB-621 投剂
ACV 投剂

图10B

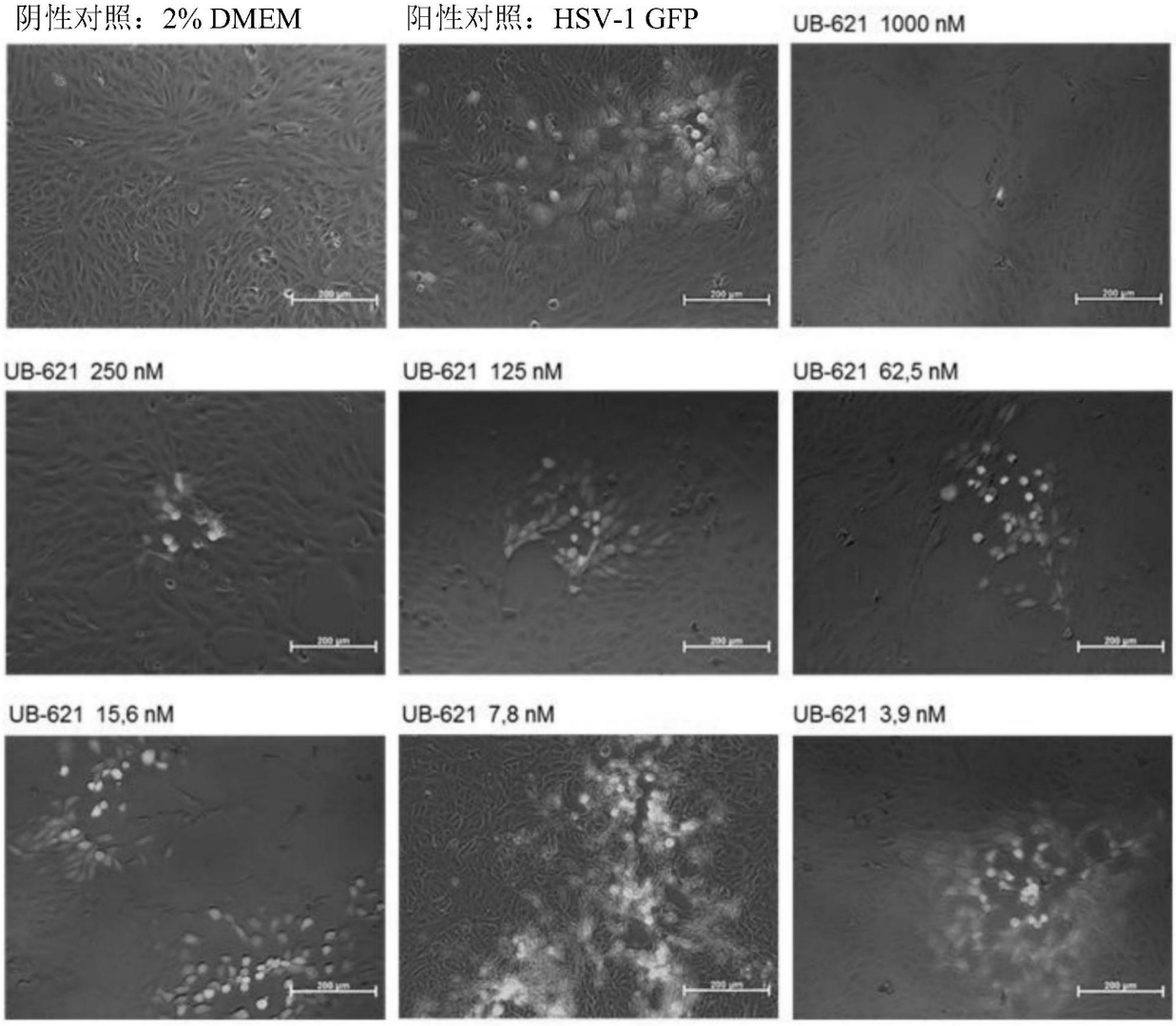

阴性对照：2% DMEM
阳性对照：HSV-1 GFP
UB-621 1000 nM
UB-621 250 nM
UB-621 125 nM
UB-621 62,5 nM
UB-621 15,6 nM
UB-621 7,8 nM
UB-621 3,9 nM

图11A

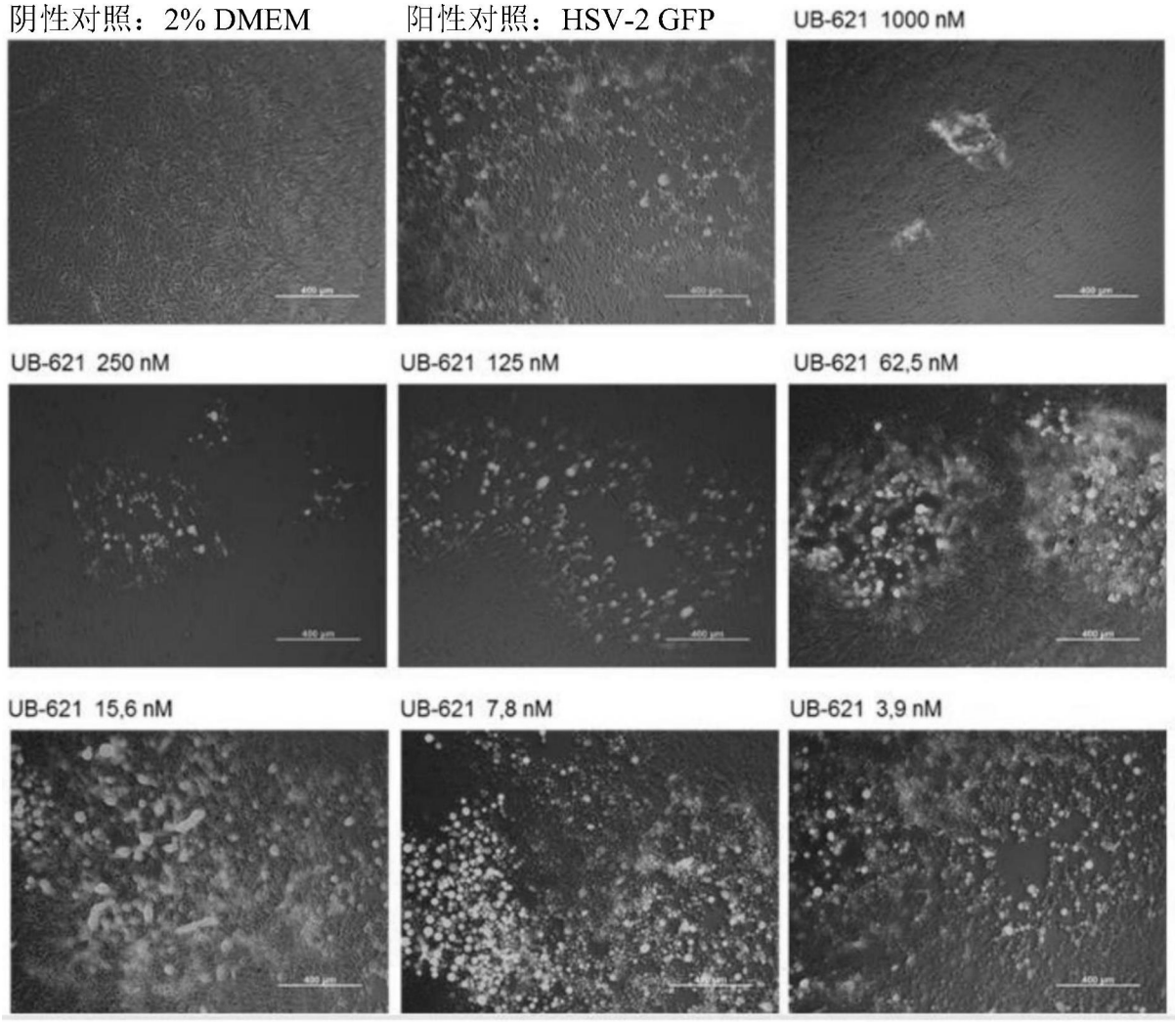

阴性对照：2% DMEM
阳性对照：HSV-2 GFP
UB-621 1000 nM
UB-621 250 nM
UB-621 125 nM
UB-621 62,5 nM
UB-621 15,6 nM
UB-621 7,8 nM
UB-621 3,9 nM

图11B

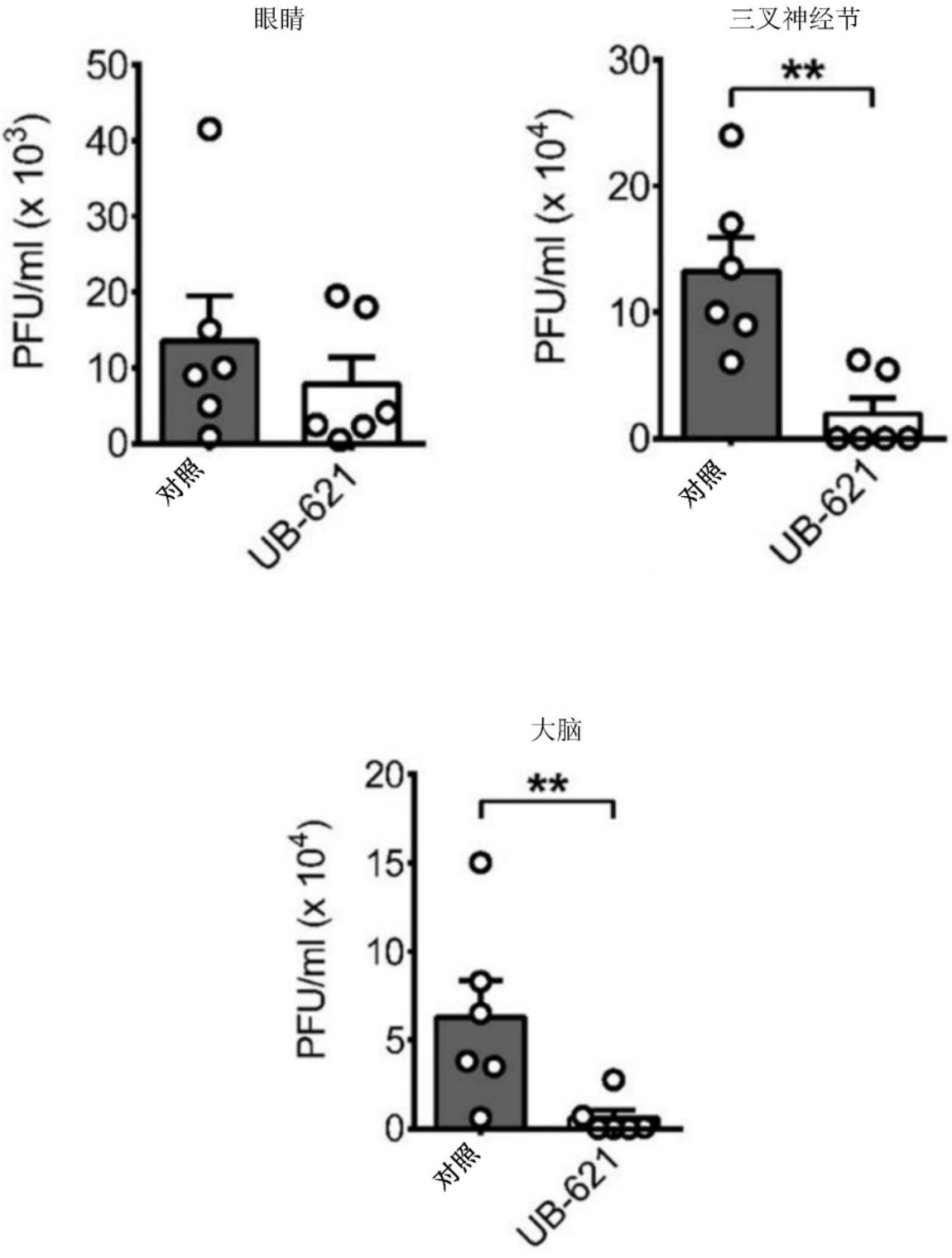

眼睛
PFU/ml (x 10^3)
50
40
30
20
10
0
对照
UB-621
三叉神经节
PFU/ml (x 10^4)
30
20
10
0
**
对照
UB-621
大脑
PFU/ml (x 10^4)
20
15
10
5
0
**
对照
UB-621

图12

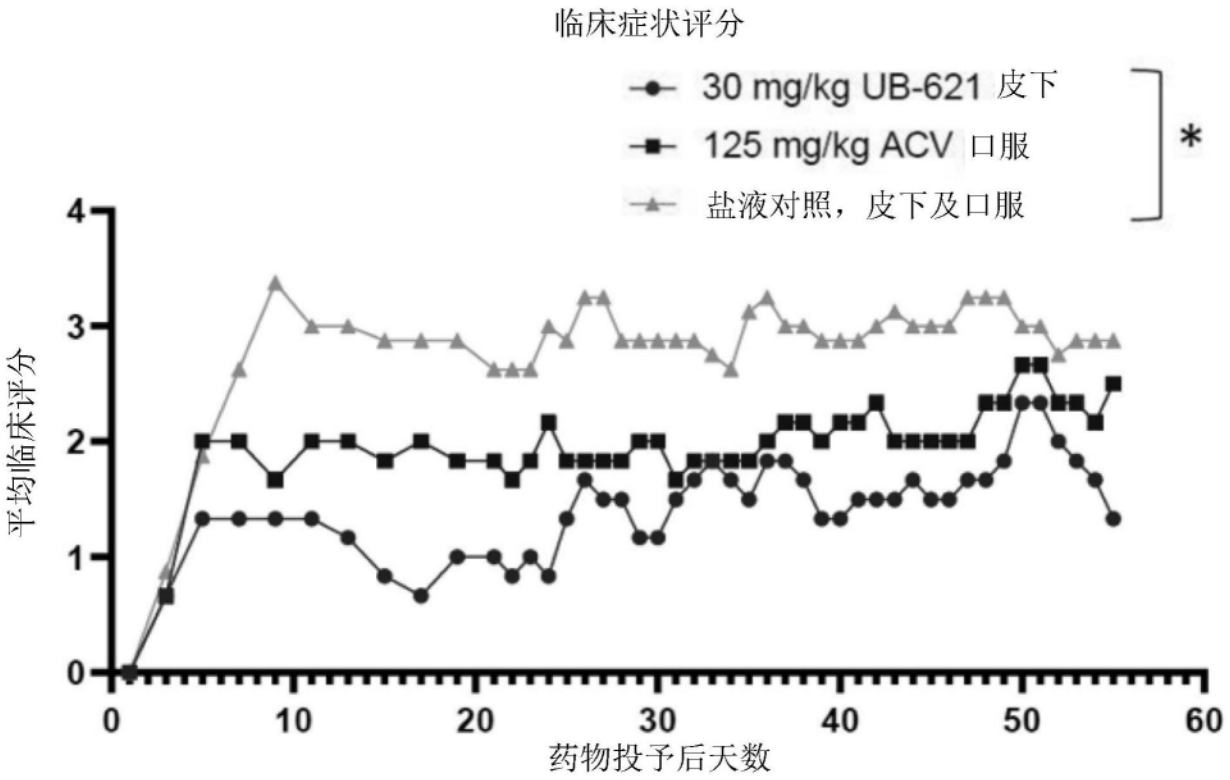

临床症状评分
30 mg/kg UB-621 皮下
125 mg/kg ACV 口服
盐液对照，皮下及口服
*
平均临床评分
0
1
2
3
4
0
10
20
30
40
50
60
药物投予后天数

图13A

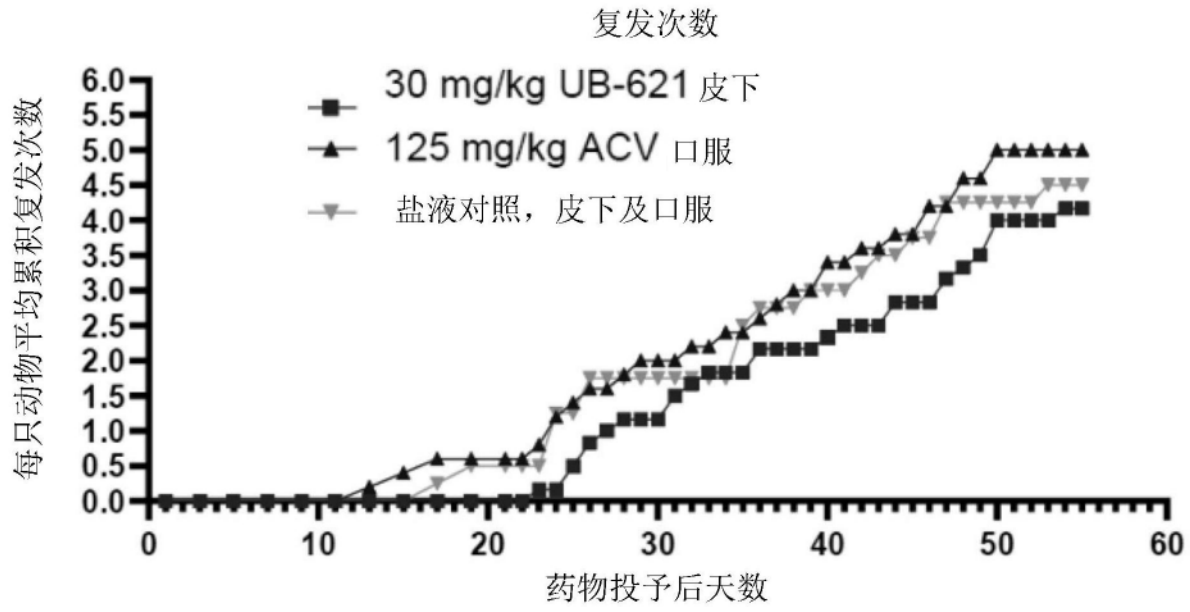

复发次数
30 mg/kg UB-621 皮下
125 mg/kg ACV 口服
盐液对照，皮下及口服
每只动物平均累积复发次数
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
4.0
4.5
5.0
5.5
6.0
0
10
20
30
40
50
60
药物投予后天数

图13B

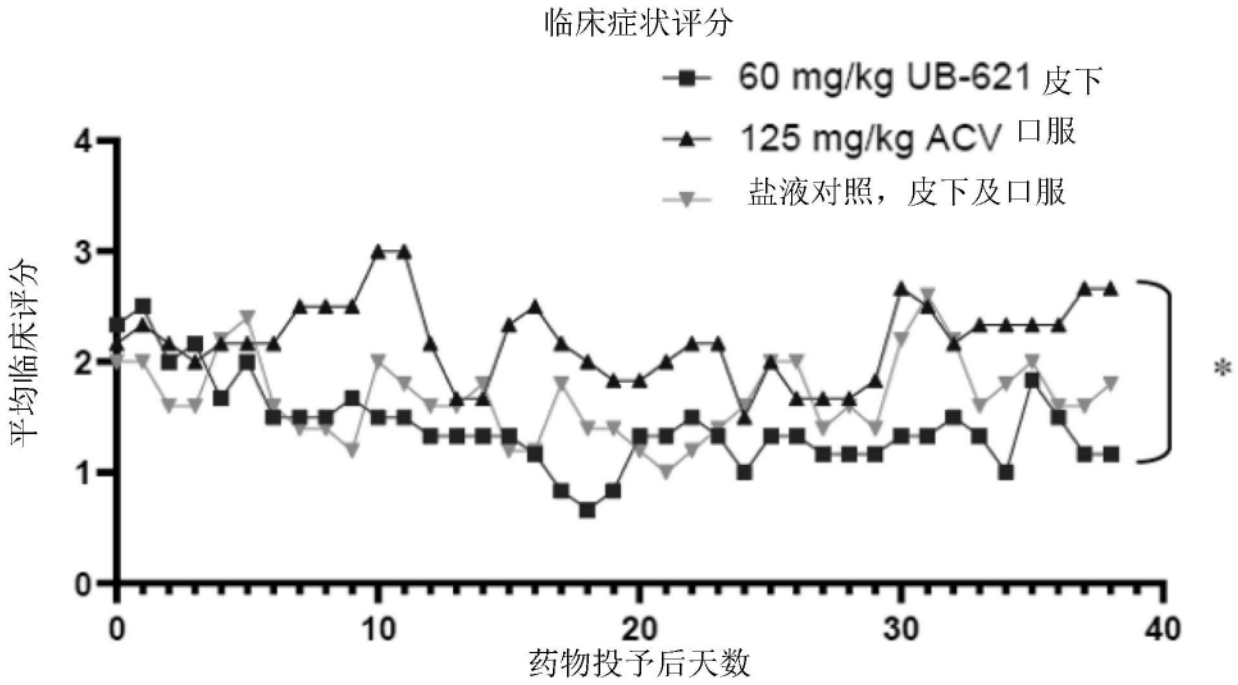

临床症状评分
60 mg/kg UB-621 皮下
125 mg/kg ACV 口服
盐液对照，皮下及口服
平均临床评分
药物投予后天数
*

图14A

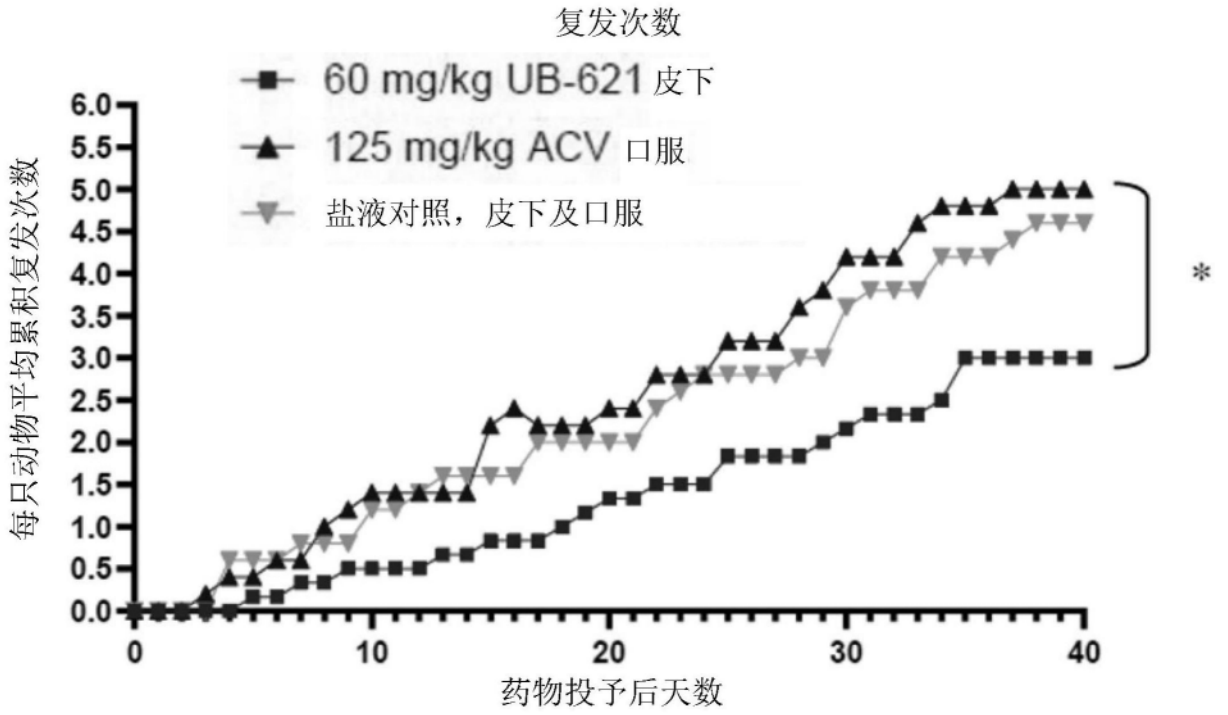

复发次数
60 mg/kg UB-621 皮下
125 mg/kg ACV 口服
盐液对照，皮下及口服
每只动物平均累积复发次数
药物投予后天数
*

图14B