



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112424226 B

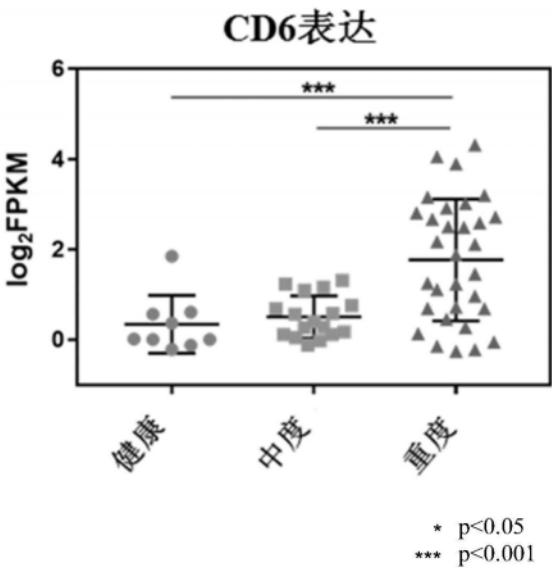
(45) 授权公告日 2025. 03. 14

(21) 申请号 201980027155.5
(22) 申请日 2019.02.27
(65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 112424226 A
(43) 申请公布日 2021.02.26
(30) 优先权数据
 62/636,092 2018.02.27 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2020.10.20
(86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2019/019872 2019.02.27
(87) PCT国际申请的公布数据
 W02019/169015 EN 2019.09.06
(73) 专利权人 平衡生物科技股份有限公司
 地址 美国加利福尼亚州
(72) 发明人 斯蒂芬·康纳利 切丽·吴
(74) 专利代理机构 北京汇泽知识产权代理有限公司 11228
 专利代理师 张瑾
(51) Int.Cl.
 C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)
(56) 对比文件
 CN 102559636 A,2012.07.11
 US 2017362331 A1,2017.12.21
 Mi Na Kim.“The effect of activated leukocyte cell adhesion molecule on development of Th2 inflammation in a mouse model of allergic asthma”.《The Doctoral Dissertation》.2017,第1-76页.
 Patricia Hernández et al..
 “Therapeutic Targeting of CD6 in Autoimmune Diseases: A Review of Cuban Clinical Studies with the Antibodies IOR-T1 and Itolizumab”.《Current Drug Targets》.2016,第17卷第665-676页.
 L. Cosmi et al..“Th17 cells: new players in asthma pathogenesis”.
 《Allergy》.2011,第66卷第989-998页. (续)
审查员 赵二双

权利要求书1页 说明书27页
序列表4页 附图8页

(54) 发明名称
 用于治疗重度哮喘的抗CD6抗体
(57) 摘要
 本发明提供了使用抗CD6抗体itolizumab或其抗原结合部分以治疗、改善和预防哮喘、以及尤其是类固醇抗性或难治性重度哮喘有关的组合和方法,所述抗CD6抗体或其抗原结合部分单独使用或与可用于治疗哮喘的其他试剂组合。



[接上页]

(56) 对比文件

Mahesh Raundhal et al..“High IFN- γ
and low SLPI mark severe asthma in mice

and humans”.《The Journal of Clinical
Investigation》.2015,第125卷(第8期),第
3037-3050页.

1. 抗CD6抗体或其抗原结合片段在制备用于治疗非过敏性的重度哮喘的药物中的应用,其特征在于,所述抗CD6抗体或其抗原结合片段的CDR序列如SEQ ID NO:5-10所示,所述非过敏性的重度哮喘的特征在于:

- 无嗜酸性粒细胞或嗜酸性粒细胞计数 ≤ 300 个细胞/ μl ,
- T细胞中Th1、Th17或Th1和Th17 T细胞类型高,
- 是类固醇治疗难治性的,并且
- 是粒细胞缺乏性的。

2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述抗CD6抗体或其抗原结合片段是Itolizumab,其中重链和轻链可变区包含 SEQ ID NO :1 和 SEQ ID NO :2 所示的氨基酸序列。

3. 根据权利要求1-2任一项所述的应用,其特征在于,所述治疗还包括施用一种或多种能够治疗、预防或减缓一种或多种所述哮喘症状的另外的试剂。

4. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述另外的试剂包括异丙托铵。

5. 根据权利要求4所述的应用,其特征在于,所述异丙托铵以喷雾剂型施用。

6. 根据权利要求1-2任一项所述的应用,其特征在于,所述治疗还包括施用插管、机械通气和/或氧气治疗。

7. 根据权利要求1-2任一项所述的应用,其特征在于,所述抗CD6抗体或其抗原结合片段作为药物组合物施用,所述药物组合物包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或溶媒。

用于治疗重度哮喘的抗CD6抗体

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年2月27日提交的申请号为62/636,092的美国临时申请的优先权,其申请内容通过引用据此全部并入。

[0003] 序列列表声明

[0004] 与本申请相关联的序列列表以文本格式代替纸质副本提供,并且据此通过引用并入说明书中。包含序列列表的文本文件的名称为EQIL_006_01W0_ST25.txt。文本文件为5KB,创建于2019年2月27日,并将通过EFS-Web电子提交。

背景技术

技术领域

[0005] 本发明涉及用于治疗重度哮喘的组合物和方法。哮喘是一种疾病,在该疾病中出现:(i)支气管狭窄;(ii)过多的粘液产生;以及(iii)气道的炎症和肿胀,引起了广泛而可变的气流阻塞,从而使哮喘患者难以呼吸。哮喘是一种慢性疾病,主要特征是持续的气道炎症。然而,哮喘的进一步特征是通过高反应性气道平滑肌收缩而引起额外的气道狭窄的急性发作。

[0006] 在哮喘中,气道中的慢性炎症过程在增加对肺内气流的抵抗中起着核心作用。

[0007] 哮喘的慢性性质也可导致气道壁重塑(即结构变化,例如增厚或浮肿),这会进一步影响气道壁的功能并影响气道高反应性。与哮喘相关的其他生理变化包括产生过多的粘液,并且如果哮喘很严重,则粘液堵塞,并且上皮不断剥脱和修复。上皮剥脱使下面的组织暴露于通常不会与它们接触的物质,从而进一步增强了细胞损伤和炎症反应的周期。

[0008] 在易感个体中,哮喘病症状包括反复发作的呼吸急促(呼吸困难)、喘息、胸闷和咳嗽。目前,哮喘是通过避免刺激和药理学的结合来控制的,这主要取决于患者患有的哮喘的亚型。

[0009] 哮喘是一种异质性疾病,根据哮喘的严重程度,美国国家哮喘教育和预防项目(National Asthma Education and Prevention Program,NAEPP)将其分为四个主要临床类别,包括:(1)间歇性哮喘;(2)轻度持续性哮喘;(3)中度持续性哮喘;(4)和重度持续性哮喘。另一方面,2016年全球哮喘防治倡议(Global Initiative for Asthma,GINA)将哮喘的严重程度分为轻度、中度或重度,严重程度根据控制症状和恶化所需的治疗水平进行评估。

[0010] 例如,NAEPP具有以下临床特征:

[0011] 间歇性哮喘的特征是:

[0012] 咳嗽、喘息、胸闷或呼吸困难的症状每周少于两次;短暂爆发,但强度可能有所不同;夜间症状每月少于两次;爆发之间没有症状;肺功能测试FEV₁在正常值的80%以上或更高;每天从上午到上午或从上午到下午的峰值流量变化小于20%([worldwide web page://emedicine.medscape.com/article/296301-guidelines#g2](http://www.emedicine.medscape.com/article/296301-guidelines#g2))。

[0013] 轻度持续性哮喘的特征是:

- [0014] 咳嗽、喘息、胸闷或呼吸困难的症状每周3-6次;爆发可能影响活动水平;夜间症状
- [0015] 每月3-4次;肺功能测试FEV₁在正常值的80%以上或更高;峰值流量变化小于
- [0016] 20%-30% (Id.)。
- [0017] 中度持续性哮喘的特征是:
- [0018] 每天出现咳嗽、喘息、胸闷或呼吸困难的症状;爆发可能影响活动水平;夜间症状每
- [0019] 月出现5次或更多次;肺功能测试FEV₁在正常值的60%以上但在正常值的80%以下;
- [0020] 峰值流量变化大于30% (Id.)。
- [0021] 重度持续性哮喘的特征是:
- [0022] 持续出现的咳嗽、喘息、胸闷或呼吸困难的症状;夜间症状频繁;肺功能测试FEV₁
- [0023] 是正常值的60%或更低;峰值流量变化大于30% (Id.)。
- [0024] 此外,根据哮喘气道中炎症细胞的类型、或缺乏炎症细胞,有四种不同的气道炎症表型:嗜酸性粒细胞炎症、中性粒细胞炎症、混合性炎症和粒细胞缺乏性炎症。如下面进一步讨论的,中性粒细胞炎症、混合性炎症和粒细胞缺乏性炎症是非嗜酸性粒细胞哮喘的形式。
- [0025] 嗜酸性粒细胞炎症,通常称为嗜酸性粒细胞哮喘或过敏性哮喘,其被认为是Th2介导的炎症反应(通常称为2型高)的产物,伴随IL-4、IL-5和IL-13的产生,从而导致肺嗜酸性粒细胞增加。嗜酸性粒细胞分泌额外的细胞因子,该细胞因子增强潜在的炎症并使哮喘症状恶化。在临床上,与非嗜酸性粒细胞形式相反,嗜酸性粒细胞哮喘的分化主要基于血液样本中发现的循环性嗜酸性粒细胞的水平,其用作了解可能存在于肺中的嗜酸性粒细胞水平的替代。通常,如果患者的嗜酸性粒细胞计数 ≤ 300 个细胞/ μl ,则认为患者具有“低的”嗜酸性粒细胞计数。这种患者患有非嗜酸性粒细胞哮喘。相反,嗜酸性粒细胞计数 > 300 个细胞/ μl 的患者被视为患有嗜酸性粒细胞哮喘。
- [0026] 中性粒细胞炎症,通常称为中性粒细胞哮喘或非过敏性哮喘,其被认为是Th1/Th17介导的炎症反应(通常称为2型低)的产物,伴随IFN- γ 、IL-6、IL-17和IL-8的产生,从而导致肺中性粒细胞增加。中性粒细胞分泌额外的细胞因子,该细胞因子增强潜在的炎症并使哮喘症状恶化。通常,患有中性粒细胞哮喘的患者显现出血液中性粒细胞计数 > 4600 个细胞/ μl ,例如(Vedel-Krogh, S. et al., Clin Chem. 2017 Apr; 63(4):823-832; Schleich, F. et al., BMC Pulm Med. 2013; 13:11)。
- [0027] 混合性炎症是一种患者能同时表现出嗜酸性粒细胞炎症和/或中性粒细胞炎症的表型,尽管这些粒细胞中任何一种的水平都可能很低。
- [0028] 粒细胞缺乏性炎症是一种尽管嗜酸性粒细胞和中性粒细胞的水平正常,但患者仍表现出肺部炎症的表型。粒细胞缺乏性炎症也是非过敏性哮喘的一种形式,被认为是Th1/Th17介导的炎症反应(通常称为2型低)的产物,伴随IFN- γ 、IL-6和IL-17的产生。值得注意的是,粒细胞缺乏性哮喘患者通常不具有可检测到的嗜酸性粒细胞计数。
- [0029] 哮喘的异质性在图7中示出,其示出了炎症类型(例如,高Th2或低Th2)与当前对各种哮喘表型的了解之间的关系。尽管表型重叠,但Th2介导的反应显示在图的左侧,并且这些反应与对皮质类固醇治疗有反应的过敏性嗜酸性粒细胞反应相关。相反,图右侧的非过

敏性、非嗜酸性反应显示出低Th2反应,具有高Th1反应和/或Th1/Th17反应,是中性粒细胞性的或粒细胞缺乏性的,并且没有展示出对皮质类固醇治疗的反应性。

[0030] 当前针对哮喘的治疗/控制的选择范围从避免刺激到药理学干预甚至外科干预。

[0031] 避免刺激是通过系统地识别并使与每种类型刺激的接触最小化来实现的。然而,避免所有潜在的刺激可能不切实际,并且并非总是有帮助的。

[0032] 哮喘通过以下在药理上进行控制:(1)通过使用抗炎药和长效支气管扩张剂进行长期控制;以及(2)通过使用短效支气管扩张剂(例如, β 激动剂)进行急性加重的短期控制。这两种方法都需要重复和定期使用处方药。

[0033] 在临床环境中,最经常通过分析哮喘患者的血嗜酸性粒细胞计数来测试哮喘患者是过敏性哮喘还是其他形式的哮喘,以确定关于疾病控制的最佳行动方案。如本文进一步讨论的,对于血液中嗜酸性粒细胞计数低或没有嗜酸性粒细胞计数的患者,禁忌使用类固醇治疗。尽管在本领域中存在关于区分低血嗜酸粒计数与正常血嗜酸粒计数或高血嗜酸粒计数的确切界限的频谱,但如本文所用,“低”血嗜酸性粒计数意指对象的血嗜酸性粒计数 ≤ 300 个细胞/ μl 。具有低(或没有)可检测到的血嗜酸性粒细胞的这类患者代表了急需有效治疗剂的重度哮喘患者的高危人群。

[0034] 当前用于哮喘的治疗包括:长效 β 激动剂(Long-acting beta agonist, LABA)、短效 β 激动剂(Short-acting beta agonist, SABA),例如沙丁胺醇(ProAir HFA、舒喘灵HFA (Proventil HFA)、喘乐宁HFA (Ventolin HFA))、奥西那林(Metaproterenol)、左旋沙丁胺醇(Levalbuterol, Xopenex HFA)、以及吡丁醇(Pirbuterol, 吡布特罗(Maxair)),这些通过将药物转变成可以被深深地吸入病人的肺中的薄雾的速效(救援)吸入器或通过雾化器来施用。皮质类固醇也用于治疗哮喘。这些通常以药丸形式吸入或服用的药物有助于减轻肺部炎症并控制哮喘症状。皮质类固醇也可以静脉内给药,通常给药至呕吐或呼吸衰竭的患者。异丙托铵(爱喘乐(atrovent))有时也用作支气管扩张剂,以治疗重度哮喘发作,尤其是沙丁胺醇不能完全有效时。表1提供了各种药理剂的清单,这些药理剂目前已被FDA批准用于治疗重度哮喘,或者当前或已经在开发中用于治疗哮喘。

[0035] 表1:已批准或开发用于治疗重度哮喘的试剂

[0036]

项目	公司	开发阶段	目标哮喘人群	技术、MoA	剂量
Xolair (omalizumab)	Roche	批准	中度/重度、持续性	mAb、抗IgE	SC, Q2W-Q4W
Cinqair (reslizumab)	Teva	批准	重度、嗜酸性	mAb、抗IL-5	IV, Q4W
Nucala (mepolizumab)	GSK	批准	重度、嗜酸性	mAb、抗IL-5	SC, Q4W
Fasenra (benralizumab)	AstraZeneca	批准	重度、嗜酸性	mAb、抗IL-5	SC Q4W-Q8W
Dupixent (dupilumab)	Regeneron, Sanofi	阶段3	重度	mAb、抗IL-4/ IL-3	SC, Q2W
Fevipiprant	Novartis	阶段3	中度/重度	小分子、CRTH2拮抗剂	每日口服
Tezepelumab	Amgen	阶段2/3	重度、不受控	mAb、抗TSLP	SC, Q4W
CJM112	Novartis	阶段2	中度/重度、不受控	mAb、抗IL17A	SC
MST1041A	Roche	阶段2	重度、不受控	mAb、抗IL-33	SC, Q4W
SAR440340/ REGN3500	Regeneron, Sanofi	阶段2	中度/重度	mAb、抗IL-33	SC, Q2W
GSK3772847	GSK	阶段2	中等重度	mAb、抗IL-33	IV, Q4W
ANB020	AnaptysBio	阶段2	重度、嗜酸性	mAb、抗IL-33	SC
OC000459	Chiesi/ Atopix	阶段2	中度/重度	小分子、CRTH2拮抗剂	每日口服
AZD1419	AstraZeneca, Dynavax	阶段2	中度/重度	寡核苷酸、TLR-9受体激动剂	吸入, QW
Risankizumab	AbbVie, Boehringer Ingelheim	阶段2	重度、持续性	mAb、抗IL-23	SC
ACT-774312	Idorsia	阶段1	中度/重度、不受控	小分子、CRTH2拮抗剂	口服
PRS-040	Pieris, AstraZeneca	阶段1	中度/重度	生物学、IL-4拮抗剂	吸入
UCB4144/ VR942	UCB, Vectura	阶段1	中度/重度	生物学、IL-13拮抗剂	吸入
Lebrikizumab	Roche	失败	重度不受控	mAb、抗IL-13	SC, Q4W
Tralokinumab	AstraZeneca	失败	重度不受控	mAb、抗IL-13	SC, Q2W

[0037] (截至2018年1月)

[0038] 最后,如果哮喘发作危及生命,则可能需要插管、机械通气以及氧气来帮助患者呼吸,同时尝试其他药物来控制哮喘。

[0039] 然而,目前可用的治疗方法均存在缺陷。

[0040] 患者依从药物控制涉及的困难以及难以避免触发哮喘的刺激是成功控制哮喘的常见障碍。此外,这些疗法中的许多疗法集中于减轻哮喘的症状,但没有找到该疾病的根本原因。因此,目前的控制技术既不是完全成功的,也不是没有副作用的。

[0041] 高剂量的皮质类固醇消炎药可能具有严重的副作用,这些副作用需要仔细处理。另外,一些患者对类固醇治疗有抗性或是类固醇治疗难治性的。这些患者构成了另一类哮喘患者,称为重度哮喘 (Severe asthma, SA) 患者,由于其疾病的严重性和对传统哮喘治疗缺乏反应,因此这些患者获得了极大的临床关注。事实上,尽管只有5%至10%的哮喘病患者患有类固醇抗性或难治性疾病,但在美国、欧洲和澳大利亚,由于这些患者经常住院并需要紧急护理,因此对这些患者的护理占有所有与哮喘相关的医疗保健费用的50% - 80% (Hansbro et al., Immunological Reviews. 2017; 278: 41-62)。

[0042] 重度哮喘最常见的与例如中性粒细胞哮喘或粒细胞缺乏性哮喘的非过敏性Th1/Th17表型相关、或与Th1/Th17-中性粒细胞哮喘/Th2-嗜酸性粒细胞哮喘的混合性表型相关,其中Th17细胞和中性粒细胞对皮质类固醇反应较差,并且有时完全没有反应(图7)。

[0043] 而Th2介导的过敏性嗜酸性粒细胞哮喘通常对皮质类固醇治疗有反应(图7)。

[0044] 因此,存在选择性地治疗该疾病的潜在病理的新的哮喘治疗的需要。还存在对有效治疗类固醇抗性或难治性形式的哮喘(即SA)的新哮喘疗法的需求。本发明提供了用于治疗、预防和减缓以下疾病的组合物和方法:重度哮喘、以及在特定的实施方式中具有低血嗜酸性粒细胞计数或没有血嗜酸性粒细胞计数的特征的重度哮喘。

发明内容

[0045] 本发明尤其涉及哮喘的治疗、预防或减缓,包括向对象施用抗CD6抗体。在特定的实施方式中,抗CD6抗体是EQ001。在一些实施方式中,哮喘是重度哮喘。在一些实施方式中,哮喘具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在一些实施方式中,哮喘是中性粒细胞哮喘。在一些实施方式中,哮喘是粒细胞缺乏性哮喘。在一些实施方式中,哮喘是混合性炎症哮喘。在某些实施方式中,哮喘是非过敏性哮喘。在某些实施方式中,哮喘是非嗜酸性粒细胞哮喘。

[0046] 在一些实施方式中,本发明提供抑制患有哮喘的对象的T细胞介导的肺部炎症的方法,包括:向对象施用抗CD6抗体或其抗原结合片段,其中抗CD6抗体或其抗原结合片段包括:重链和轻链可变区,该重链和轻链可变区包含SEQ ID NO:1和2所示的氨基酸序列。

[0047] 在一些实施方式中,本发明提供抑制患有哮喘的对象的T细胞介导的肺部炎症的方法,包括:向对象施用抗CD6抗体或其抗原结合片段。

[0048] 在一些实施方式中,本发明提供预防或减缓T细胞响应于哮喘诱导抗原向肺组织中迁移以及通过肺组织迁移的方法,包括:向对象施用抗CD6抗体或其抗原结合片段。

[0049] 在一些实施方式中,本发明提供调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法,包括:向对象施用抗CD6抗体或其抗原结合片段。

[0050] 在一些实施方式中,本发明提供调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法,包括:使T细胞与抗CD6抗体或其抗原结合片段接触。

[0051] 在一些实施方式中,哮喘是重度哮喘。在一些实施方式中,哮喘具有低血嗜酸性粒细胞或无血嗜酸性粒细胞的特征。在一些实施方式中,哮喘是类固醇治疗难治性的。在一些实施方式中,哮喘是中性粒细胞哮喘。在一些实施方式中,哮喘是混合性炎症哮喘。在一些实施方式中,哮喘是粒细胞缺乏性的。

[0052] 在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段与T细胞表面上的CD6蛋白结合。在一些实施方式中,T细胞是Th1 T细胞、Th17 T细胞、或Th1和Th17 T细胞。

[0053] 在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段是EQ001或EQ001的抗原结合片段。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段与CD6上的结构域1或结构域3结合。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段与CD6上的结构域3结合。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段与T细胞表面上的CD6蛋白的结合调节T细胞的活性和/或迁移。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段是人源化抗体。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:UMCD6 mAb、Itolizumab (EQ001)、表2中所述的抗CD6抗体、和本文公开的抗CD6抗体。在一些实施方式中,抗CD6单克隆抗体是:通过保藏于ECACC保藏号为ECACC 96112640的分泌性杂交瘤IOR-T1A产生的抗体;具有与由所述分泌性杂交瘤产生的所述抗体相同的序列的抗体;或具有与所述分泌性杂交瘤产生的所述抗体相同的CDR序列的抗体。

[0054] 在一些特定的实施方式中,本文公开的方法中的任一方法包括施用EQ001。在一些特定的实施方式中,本文公开的方法中的任一方法包括施用抗原结合片段EQ001。在一些实施方式中,抗原结合片段选自:Fv、Fab、CDR1、CDR2、CDR3、CDR的组合、可变区、重链和轻链。

[0055] 在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含一个或多个选自SEQ ID NO:5-10的CDR序列。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变

区,该重链和轻链可变区包含SEQ ID NO:1和2所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,SEQ ID NO:1和2分别由SEQ ID NO:3和4编码。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列至少80%相同的VH序列。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列至少80%相同的VK序列。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含:与SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列至少80%相同的VH序列和与SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列至少80%相同的VK序列。

[0056] 在一些实施方式中,本发明的方法中的任一方法还包括施用一种或多种能够治疗、预防或减缓一种或多种哮喘相关症状的另外的试剂。在一些实施方式中,另外的试剂包括能够调节免疫系统的试剂。在一些实施方式中,另外的试剂包括为免疫抑制剂的试剂。在一些实施方式中,另外的试剂包括长效 β 激动剂、短效 β 激动剂或其组合。在一些实施方式中,另外的试剂包括沙丁胺醇。在一些实施方式中,沙丁胺醇以选自以下的剂型施用:气雾剂粉末;溶液;胶囊;和粉末悬浮液。在一些实施方式中,另外的试剂包括皮质类固醇。在一些实施方式中,皮质类固醇作为吸入制剂施用。在一些实施方式中,皮质类固醇以选自以下的剂型施用:片剂、缓释胶囊;延长释放片剂;延长释放胶囊;糖浆;溶液;酏剂;悬浮剂;缓释片剂;液体;和崩解片剂。在一些实施方式中,另外的试剂包括异丙托铵。在一些实施方式中,异丙托铵以喷雾剂型施用。

[0057] 在一些实施方式中,本发明的方法中的任一方法还包括施用插管、机械通气和/或氧气治疗。

[0058] 在一些实施方式中,在本发明的方法中的任一方法中,抗CD6抗体或其抗原结合片段作为药物组合物施用,该药物组合物包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或溶媒。在一些实施方式中,组合物包含一种或多种选自由以下组成的组的试剂:载体、赋形剂、稀释剂、抗氧化剂、防腐剂、着色剂、调味和稀释剂、乳化剂、悬浮剂、溶剂、填充剂、膨胀剂、缓冲剂、递送溶媒、张度剂、助溶剂、润湿剂、络合剂、缓冲剂、抗微生物剂和/或表面活性剂。

[0059] 在一些实施方式中,本发明提供抑制患有哮喘的对象的T细胞介导的肺部炎症的方法,包括:向对象施用抗CD6抗体或其抗原结合片段,其中抗CD6抗体或其抗原结合片段包括:重链和轻链可变区,该重链和轻链可变区包含SEQ ID NO:1和2所示的氨基酸序列,并且其中哮喘具有低血嗜酸性粒细胞或无血嗜酸性粒细胞的特征。在一些实施方式中,哮喘对类固醇治疗有抗性或是类固醇治疗难治性的。在一些实施方式中,哮喘是中性粒细胞哮喘。在一些实施方式中,哮喘是混合性炎症哮喘。在一些实施方式中,哮喘是粒细胞缺乏性哮喘。在一些实施方式中,T细胞选自:(i)Th1 T细胞;(ii)Th17T细胞;或(iii)Th1和Th17 T细胞。在一些实施方式中,对象的血嗜酸性粒细胞计数 ≤ 300 个细胞/ μl 。在一些实施方式中,对象患有非过敏性哮喘。在一些实施方式中,抗CD6抗体是EQ001。

[0060] 在一些实施方式中,本发明提供抑制患有哮喘的对象的T细胞介导的肺部炎症的方法,包括:向对象施用抗CD6抗体或其抗原结合片段,其中哮喘具有低血嗜酸性粒细胞或无血嗜酸性粒细胞的特征。

[0061] 在一些实施方式中,本发明提供预防或减缓T细胞响应于哮喘诱导抗原向肺组织中迁移以及通过肺组织迁移的方法,其中哮喘具有低血嗜酸性粒细胞或无血嗜酸性粒细胞的特征,该方法包括:向对象施用抗CD6抗体或其抗原结合片段。

[0062] 在一些实施方式中,本发明提供调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法,包括:

当哮喘具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征时,向对象施用抗CD6抗体或其抗原结合片段。

[0063] 在一些实施方式中,本发明提供调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法,包括:使T细胞与抗CD6抗体或其抗原结合片段接触,其中哮喘具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。

[0064] 在一些实施方式中,哮喘对类固醇治疗有抗性或是类固醇治疗难治性的。在一些实施方式中,哮喘是中性粒细胞哮喘。在一些实施方式中,哮喘是混合性炎症哮喘。在一些实施方式中,哮喘是粒细胞缺乏性的。在一些实施方式中,T细胞选自:(i) Th1 T细胞;(ii) Th17 T细胞;或(iii) Th1和Th17 T细胞。在一些实施方式中,对象的嗜酸性粒细胞计数 ≤ 300 个细胞/ μl 。在一些实施方式中,对象患有非过敏性哮喘。在一些实施方式中,哮喘是重度哮喘。在一些实施方式中,哮喘是重度哮喘。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段是EQ001或其抗原结合片段。在一些实施方式中,抗CD6抗体是EQ001。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段与CD6上的结构域1或结构域3结合。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段与CD6上的结构域3结合。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:UMCD6 mAb、Itolizumab (EQ001)、表2中所述的抗CD6抗体、和本文公开的抗CD6抗体。在一些实施方式中,抗CD6单克隆抗体是:通过保藏于ECACC保藏号为ECACC 96112640的分泌性杂交瘤IOR-T1A产生的抗体;具有与由所述分泌性杂交瘤产生的所述抗体相同的序列的抗体;或具有与所述分泌性杂交瘤产生的所述抗体相同的CDR序列的抗体。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含一个或多个选自SEQ ID NO:5-10的CDR序列。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区,该重链和轻链可变区包含SEQ ID NO:1和2所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,SEQ ID NO:1和2分别由SEQ ID NO:3和4编码。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列至少80%相同的VH序列。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列至少80%相同的VK序列。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段包含:与SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列至少80%相同的VH序列和与SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列至少80%相同的VK序列。在一些实施方式中,抗原结合片段选自:Fv、Fab、CDR1、CDR2、CDR3、CDR的组合、可变区、重链和轻链。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段与T细胞表面上的CD6蛋白结合。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段与T细胞表面上的CD6蛋白的结合调节T细胞的活性和/或迁移。

[0065] 在一些实施方式中,这种方法方法还包括施用一种或多种能够治疗、预防或减缓一种或多种哮喘相关症状的另外的试剂。在一些实施方式中,另外的试剂包括能够调节免疫系统的试剂。在一些实施方式中,另外的试剂包括为免疫抑制剂的试剂。在一些实施方式中,另外的试剂包括长效 β 激动剂、短效 β 激动剂或其组合。在一些实施方式中,另外的试剂包括沙丁胺醇。在一些实施方式中,沙丁胺醇以选自以下的剂型施用:气雾剂粉末;溶液;胶囊;和粉末悬浮液。在一些实施方式中,另外的试剂包括皮质类固醇。在一些实施方式中,皮质类固醇作为吸入制剂施用。在一些实施方式中,另外的试剂包括异丙托铵。在一些实施方式中,异丙托铵以喷雾剂型施用。在一些实施方式中,该方法还包括施用插管、机械通气和/或氧气治疗。在一些实施方式中,抗CD6抗体或其抗原结合片段作为药物组合物施用,该药

物组合物包含一种或多种药学上可接受的盐、赋形剂或溶媒。在一些实施方式中,组合物包含一种或多种选自以下组成的组的试剂:载体、赋形剂、稀释剂、抗氧化剂、防腐剂、着色剂、调味和稀释剂、乳化剂、悬浮剂、溶剂、填充剂、膨胀剂、缓冲剂、递送溶媒、张度剂、助溶剂、润湿剂、络合剂、缓冲剂、抗微生物剂和/或表面活性剂。

[0066] 序列说明

[0067] SEQ ID NO:1:EQ001 VH序列的氨基酸序列;

[0068] SEQ ID NO:2:EQ001 VK序列的氨基酸序列;

[0069] SEQ ID NO:3:EQ001 VH序列的核酸(DNA)序列;

[0070] SEQ ID NO:4:EQ001 VK序列的核酸(DNA)序列;

[0071] SEQ ID NO:5:EQ001 VH CDR1的氨基酸序列;

[0072] SEQ ID NO:6:EQ001 VH CDR2的氨基酸序列;

[0073] SEQ ID NO:7:EQ001 VH CDR3的氨基酸序列;

[0074] SEQ ID NO:8:EQ001 VK CDR1的氨基酸序列;

[0075] SEQ ID NO:9:EQ001 VK CDR2的氨基酸序列;

[0076] SEQ ID NO:10:EQ001 VK CDR3的氨基酸序列。

附图说明

[0077] 图1.EQ001抗CD6抗体的序列。图1A:衍生自质粒和基因组DNA的EQ001的可变重链(VH)和轻链(VK)的核苷酸序列。图1B:EQ001的VH和VK的氨基酸序列;

[0078] 图2.重度哮喘患者的肺中CD6⁺细胞含量高。左栏:ALCAM在致死性哮喘肺部的固有层中表达(左下),但在正常肺部的固有层中不表达(左上)。中心栏:与正常肺部(顶部中央)相比,致死性哮喘肺部(底部中央)的CD6⁺细胞增加。右栏:CD6⁺细胞与表达了ALCAM的固有层共同定位在哮喘肺部(右下)中;

[0079] 图3.基于从头测序生物信息学(De novo bioinformatics)的分析,使用通过细支气管灌洗收集的细胞生成的可公开获得的RNASeq数据集,比较了对照、中度哮喘患者和重度哮喘患者中CD4、CD6和各种Th17标记物的表达。图3A:CD4表达水平中的显著差异,重度哮喘患者表达的CD4水平明显更高。图3B:CD6表达水平中的显著差异,重度哮喘患者表达的CD6水平明显更高。图3C至3G:Th17标记物表达水平中的显著差异,重度哮喘患者表达的CD6水平明显更高。图3C:CCR6表达;图3D:CCR4表达;图3E:KLRB1表达;图3F:IL-17A表达;图3G:IL-17F表达;

[0080] 图4.在一群重度哮喘患者中CD6最高。图4A:基于>1000个基因(与哮喘严重程度无关)表达的无监督集群分析显示,哮喘患者分为4个主要集群。图4B:每个集群展现出不同的CD6平均表达,其中在仅由重度哮喘患者组成的集群3中出现最高的CD6表达,表明这一重度哮喘患者的子集具有高指标;

[0081] 图5.过敏性哮喘鼠模型中的CD6阻断降低了细支气管灌洗液中的Th2细胞因子水平。图5A:该表示出了治疗组和剂量方案。图5B:剂量方案的说明。图5C:攻击过程中用mCD6D1抗CD6抗体进行CD6阻断导致细支气管灌洗液(Bronchiolar lavage fluid,BALF)中的Th2细胞因子IL-4、IL-5和IL-13的水平降低,并且肺细胞中这些细胞因子适度降低(数据未显示);

[0082] 图6.经典的接种OVA疫苗的Th2模型中的CD6阻断抑制Th2驱动的IgE的产生。图6A:该表示出了治疗组和剂量方案。图6B:剂量方案的说明。图6C:用mCD6D1抗CD6抗体进行预防性CD6阻断抑制OVA特异性IgE的产生,证明了CD6通路对Th2反应的影响;

[0083] 图7.实施例示出了与炎症类型(Th2高或Th2低)和其他变量相关的哮喘表型。CS=皮质类固醇;GM-CSF=粒细胞-巨噬细胞集落-刺激因子。

具体实施方式

[0084] 除非有特别的相反指示,否则本发明的实施将采用本领域技术范围内的常规分子生物学方法和重组DNA技术,为说明目的在下文中描述了其中的许多方法。文献中对这种技术进行了充分的解释。例如参见Sambrook,et al.,Molecular Cloning:A Laboratory Manual (3rd Edition,2000);DNA Cloning:A Practical Approach,vol.I&II(D.Glover,ed.);Oligonucleotide Synthesis(N.Gait,ed.,1984);Oligonucleotide Synthesis:Methods and Applications(P.Herdewijn,ed.,2004);Nucleic Acid Hybridization(B.Hames&S.Higgins,eds.,1985);Nucleic Acid Hybridization:Modern Applications(Buzdin and Lukyanov,eds.,2009);Transcription and Translation(B.Hames&S.Higgins,eds.,1984);Animal Cell Culture(R.Freshney,ed.,1986);Freshney,R.I.(2005)Culture of Animal Cells,a Manual of Basic Technique,5th Ed.Hoboken NJ,John Wiley&Sons;B.Perbal,A Practical Guide to Molecular Cloning(3rd Edition 2010);Farrell,R.,RNA Methodologies:A Laboratory Guide for Isolation and Characterization(3rd Edition 2005).Poly(ethylene glycol),Chemistry and Biological Applications,ACS,Washington,1997;Veronese,F.,and J.M.Harris,Eds.,Peptide and protein PEGylation,Advanced Drug Delivery Reviews,54(4) 453-609 (2002);聚乙二醇化学:生物技术和生物医学应用中的Zalipsky,S.,et al.,“Use of functionalized Poly(Ethylene Glycols)for modification of polypeptides”。本申请以上讨论的出版物仅提供其先于本申请申请日前的公开内容。本文中的任何内容均不应解释为对该发明由于在先发明而无权早于所述公开的承认。

[0085] 定义

[0086] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有的含义均如本发明所属的领域中的普通技术人员通常所理解的相同。尽管与本文描述的那些方法或材料相似或等同的任何方法和材料都可以用于本发明的实践或测试中,但本文描述了优选的方法和材料。为了本发明的目的,以下术语如下定义。

[0087] 本文使用的冠词“一”和“一个”是指一个或多于一个(即至少一个)合乎语法的物品对象。举例而言,“一元素”意指一个元素或多于一个元素。

[0088] 除非另外指出,否则术语“和/或”在本发明中用于表示“和”或“或”。

[0089] 本文所使用的术语“如”意指“例如”,并且将被理解为暗示包括所述的步骤或元素、或步骤或元素组,而不是排除任何其他步骤或元素、或步骤或元素组。

[0090] “约”意指量、水平、值、数、频率、百分比、尺寸、大小、数量、重量或长度相对于参考量、水平、值、数、频率、百分比、尺寸、大小、数量、重量或长度相差至多30%、25%、20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%。

[0091] 如本文所用,术语“施用”是指以任何模式向对象转移、递送、引入或运输物质,比如化合物(例如药物化合物)或其他试剂(如抗原)。施用模式包括口服施用、局部接触、静脉内、腹膜内、肌内、鼻内或皮下施用。与诸如一种或多种治疗剂的另一种物质“组合”施用包括以任何顺序同时(并行的)和连续施用。

[0092] 如本文所用,术语“结合伴侣”是指可以通过足以使试剂与核酸分子、肽、蛋白质或糖、多糖或脂质形成复合物的相互作用(通常通过非共价键合)而与核酸分子(例如DNA或RNA,包括mRNA分子)、以及肽、蛋白质、糖、多糖或脂质结合的物质(例如分子,特别是聚合物分子)。在一些实施方式中,结合伴侣是免疫球蛋白或具有如下定义的免疫球蛋白样功能的似蛋白质结合分子。在一些实施方式中,结合伴侣是适体。在一些实施方式中,结合伴侣对特定靶标具有特异性。在一些实施方式中,结合伴侣包括多个结合位点,每个结合位点对于特定靶标是具有特异性的。作为说明性示例,结合伴侣可以是具有两个结合位点的具有免疫球蛋白样功能的似蛋白质试剂。例如,结合伴侣可以是抗体的抗原结合片段。例如,结合伴侣可以是双特异性双抗体,例如双特异性单链双抗体。

[0093] 如本发明中所使用的,术语“载体”涵盖参与将药物制剂从对象的身体的一个器官或一部分运载或运输到对象的身体的另一器官或另一部分的载体、赋形剂和稀释剂,并且意指材料、组合物或溶媒,例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或封装材料。

[0094] 如本文所用,术语“嵌合抗体”是指包含来自多于一个物种的序列的免疫球蛋白多肽或结构域抗体。在嵌合抗体中,重链或轻链可包含来自一种物种(例如人)的可变区序列和来自另一物种(例如小鼠)的恒定区序列。例如,“嵌合抗体”可以是与另一分子(例如,衍生自人抗体的恒定结构域)融合的、具有衍生自动物抗体(例如大鼠或小鼠抗体)的可变区的免疫球蛋白。术语“嵌合抗体”旨在涵盖以下抗体,其中:(i)重链是嵌合的,但轻链包含来自仅一个物种的V区和C区;(ii)轻链是嵌合的,但重链包含来自仅一个物种的V区和C区;以及(iii)重链和轻链都是嵌合的。

[0095] 当与化合物结合使用时,“有效量”是引起期望反应所需的化合物(例如抗CD6抗体(例如,EQ001))的量。在一些实施方式中,期望反应是例如在对象中的生物反应。在一些实施方式中,可以将化合物(例如抗CD6抗体)以有效量施用于对象,以在对象中产生生物反应。在一些实施方式中,有效量是“治疗有效量”。

[0096] 术语“治疗有效量”和“治疗剂量”在本文中互换使用,是指化合物、例如抗CD6抗体(例如,EQ001)的量,其在施用于对象后有效用于治疗如本文所述的对象的疾病或病症。

[0097] 术语“预防有效量”在本文中用于指化合物、例如抗CD6抗体(例如,EQ001))的量,该化合物在施用于对象后有效用于预防或延迟如本文所述的对象的疾病或病症的发病。

[0098] 在这方面,如本文所用的“人源化抗体”是含有人抗体的结构元件和非人抗体的抗原结合位点的免疫球蛋白多肽或结构域抗体。“人源化抗体”含有来自非人抗体的最少数量的残基,人源化抗体衍生自非人抗体。例如,人源化抗体可以仅包含非人抗体的CDR区,或仅包含构成非人抗体的高变区的那些残基。人源化抗体还可能含有来自非人多肽的可变区之外的某些残基,例如模拟非人抗体的结构或使空间干扰最小化所必需的残基。通常,人源化抗体包含人框架、至少一个来自非人抗体的CDR,存在的任何恒定区与人免疫球蛋白恒定区基本相同,即至少约85%-90%相同,例如至少95%相同。因此,在某些情况下,人源化免疫球蛋白的所有部分(可能不包括CDR)与一种或多种天然人免疫球蛋白序列的相应部分基本

相同。另外,人源化抗体可包含不对应于人抗体或非人抗体的残基。

[0099] 如本文所用,术语“抗体片段”是指除全长形式以外的任何形式的抗体。本文的抗体片段包括是存在于全长抗体中的较小成分的抗体和已被工程化的抗体。抗体片段包括但不限于:Fv、Fc、Fab、和(Fab')₂、单链Fv(scFv)、双抗体、三抗体、四抗体、双功能杂交抗体、CDR1、CDR2、CDR3、CDR组合、可变区、框架区、恒定区、重链、轻链、替代支架非抗体分子、以及双特异性抗体。除非另有特别说明,否则使用术语一个或多个“抗体”的记载和权利要求可以具体包括一个或多个“抗体片段”。

[0100] 术语“哮喘”具有其普通的科学含义,并且包括间歇性哮喘、轻度持续性哮喘、中度持续性哮喘和重度持续性哮喘。

[0101] 术语“重度哮喘”在本文中用于描述哮喘的单独类别,在该类别中疾病症状用类固醇控制较差。重度哮喘包括为类固醇抗性的和/或是皮质类固醇(Corticosteroid,CS)难治性的哮喘。在一些实施方式中,重度哮喘(Severe asthma,SA)主要由中性Th1/Th17 T细胞介导的应答驱动。在一些实施方式中,SA主要由粒细胞缺乏性Th1/Th17 T细胞介导的应答驱动。在一些实施方式中,SA还对一种或多种其他的哮喘治疗剂有抗性。例如,在一些实施方式中,SA还对SABA和/或LABA中的一种或多种有抗性。在一些实施方式中,重度哮喘的特征可以在于具有中性Th1/Th17 T细胞介导的应答、粒细胞缺乏性Th1/Th17 T细胞介导的应答、或组合的中性Th1/Th17和嗜酸性Th2 T细胞介导的应答。在某些实施方式中,重度哮喘可包括中性T细胞应答,但不包括嗜酸性T细胞应答。在某些实施方式中,重度哮喘可包括粒细胞缺乏性T细胞应答,而不是嗜酸性T细胞应答。

[0102] 术语“类固醇抗性哮喘”在本文中用于描述类固醇治疗(例如,皮质类固醇)具有有限功效的哮喘。因此,用类固醇(例如皮质类固醇)来治疗类固醇抗性哮喘将产生微乎其微的可检测到的治疗益处。在某些情况下,这种治疗基本上不产生治疗益处。

[0103] 术语“类固醇难治性哮喘”在本文中用于描述类固醇治疗(例如,皮质类固醇)没有功效的哮喘。因此,用类固醇(例如,皮质类固醇)来治疗类固醇难治性哮喘将不会产生可检测到的治疗益处。

[0104] 术语“LABA”意指长效 β 激动剂。LABA在本领域中是已知的,并且包括但不限于:富马酸福莫特罗;昔萘酸沙美特罗。

[0105] 术语“SABA”意指短效 β 激动剂。SABA在本领域中是已知的,并且包括但不限于:沙丁胺醇(例如,硫酸沙丁胺醇、硫酸沙丁胺醇HFA、硫酸沙丁胺酯吸入溶液、硫酸沙丁胺醇雾化器溶液和盐酸左沙丁胺)、奥西那林、吡丁醇(例如,醋酸吡布特罗);盐酸异他林;盐酸异丙肾上腺素;以及硫酸特布他林。

[0106] 术语“VH”在本文中用于表示抗体的可变重链。

[0107] 术语“VK”在本文中用于表示抗体的可变轻链。

[0108] 关于抗体的术语“抗原结合片段”是指对亲本全长抗体所结合的抗原保持结合亲和力的任何抗体片段,并且抗原结合片段包括但不限于:Fv、Fab、(Fab')₂、scFv、双抗体、三抗体、四抗体、双功能杂交抗体、CDR1、CDR2、CDR3、CDR组合、可变区、重链、轻链和双特异性抗体。

[0109] 在整个说明书中,除非上下文另外要求,否则词语“包括”、“包含”和“含有”并且将被理解为暗示包括所述的步骤或元素、或步骤或元素组,而不是排除任何其他步骤或元素、

或步骤或元素组。“由……组成”意指包括且限于跟随在短语“由……组成”之后的任何内容。因此,短语“由……组成”表示所列元素是必须的或强制性的,并且不可以存在其它元素。“基本上由……组成”意指包括在该短语之后列出的任何元素,并且限于不干扰或不促进本发明中针对所列元素所指定的活性或动作的其他元素。因此,短语“基本上由……组成”表示所列出的元素是必需的或强制性的,但是其他元素是可选的并且可以存在或可以不存在,这取决于其是否实质性地影响所列出的元素的活性或动作。

[0110] 术语“调节”包括与对照相比通常以统计上显著或生理上显著的量“增加”、“增强”或“刺激”以及“减少”或“降低”。“增加的”、“刺激的”或“增强的”的量通常是“统计上显著”的量,并且可以包括为无组合物(例如,在不存在本发明的任何抗CD6抗体的情况下)或对照组合物、样品或测试对象产生的量的1.1、1.2、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30倍或更多倍(例如500倍、1000倍)(包括介于1.5、1.6、1.7、1.8等之间及以上的所有整数和小数点)的增加。“减少的”或“降低的”的量通常是“统计上显著”的量,并且可以包括无组合物(不存在试剂或化合物)或对照组合物产生的量减少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%(包括其间的所有整数)。

[0111] 术语“多肽”和“蛋白质”在本文可互换使用,是指氨基酸残基的聚合物以及其变体和合成类似物。因此,这些术语适用于其中一个或多个氨基酸残基是合成的非天然存在的氨基酸(例如相应的天然存在的氨基酸的化学类似物)的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物。

[0112] 如本文所用,“对象”或“患者”包括表现出症状或有表现出症状风险的任何动物,该症状可以用抗CD6抗体或其抗原结合片段治疗或诊断。合适的对象(患者)优选包括人患者。合适的对象还包括实验动物(例如小鼠、大鼠、兔或豚鼠)、耕畜(例如猪、马、牛)、以及家畜或宠物(例如猫或狗)。还包括非人灵长类动物(例如猴子、黑猩猩、狒狒或恒河猴)。

[0113] “实质上”或“基本上”意指几乎完全的或完全的,例如,一些给定数量的95%或更高。

[0114] 如本文所用,“治疗”或“对……进行治疗”包括对疾病或病症的症状或病理的任何期望的效果,并且可以包括对所治疗的疾病或病症的一种或多种可测量标记物的甚至最小的改变或改善。“治疗”或“对……进行治疗”不一定表示完全根除或治愈了该疾病或病症或其相关症状。接受该治疗的对象是需要该治疗的任何对象。临床改善的示例性标记物对本领域技术人员将是显而易见的。

[0115] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有的含义均如本发明所属的领域中的普通技术人员通常所理解的相同。尽管与本文描述的那些方法、组合物、试剂、细胞相似或等同的任何方法、组合物、试剂、细胞都可以用于本发明的实践或测试中,但本文描述了优选的方法和材料。本说明书中引用的所有出版物和参考文献,包括但不限于专利和专利申请,其全部内容通过引用并入本文,就像每个单独的出版物或参考文献均被明确地和单独地表示为通过引用其全部内容并入本文一样。本申请要求优先权的任何专利申请也以上述针对出版物和参考文献的方式通过引用全部并入本文。

[0116] 概要

[0117] 本发明涉及重度哮喘的治疗、预防或减缓,包括向对象施用抗CD6抗体。

[0118] CD6是一种重要的细胞表面蛋白,主要由人T细胞和B细胞的一个子集、以及一些B细胞慢性淋巴细胞白血病和神经元表达[Aruffo et al., J.Exp.Med.1991,174:949; Kantoun et al., J.Immunol.1981,127:987;Mayer et al., J.Neuroimmunol.1990.29:193]。CD6是一个蛋白质大家族的成员,其特征具有至少一个与I型巨噬细胞的富含半胱氨酸的清道夫受体结构域(Scavenger receptor cysteine-rich domain, SRCR)同源的结构域[Matsumoto, et al., J.Exp.Med.1991,173:55and Resnick et al., Trends Biochem.Sci.1994,19:5]。该家族的其他成员包括CD5[Jones et al., Nature.1986,323:346];亲环蛋白C[Friedman et al.1993,PNAS 90:6815];补体因子I,其结合活化的补体蛋白C3b和C4b[Goldberger, et al., J.Biol.Chem.1987,262:10065]; τ/δ T细胞[Wijingaard et al., J.Immunol.1992,149:3273]和M130[Law et al., Eur J.Immunol.1993,23:2320]表达的牛WC-1,牛WC-1为巨噬细胞活化标记物。

[0119] 成熟CD6蛋白的胞外结构域由三个SRCR结构域(以下称为D1、D2和D3)组成。D3对应于膜近端SRCR结构域,后接33个氨基酸的短茎区。这些胞外结构域经由短跨膜结构域锚定至细胞膜,短跨膜结构域后是可变长度的胞浆结构域[Aruffo et al., J.Exp.Med.1991,174:949]。

[0120] 使用CD6-免疫球蛋白融合蛋白(包含与人IgG1恒定结构域(CD6-Rgs)融合的CD6的选定的胞外结构域)进行的研究导致了CD6配体(称为“活化白细胞粘附分子”(ALCAM),也称为CD166)的识别和克隆[Patel, et al., J.Exp.Med.1995.181:1563-1568;Bowen et al., J.Exp.Med 1995,181:2213-2220]。

[0121] ALCAM是一种100kD-105kD的I型跨膜糖蛋白,该I型跨膜糖蛋白是免疫球蛋白超家族的成员并且包含五个胞外免疫球蛋白结构域(2个NH₂末端的膜远端可变-(V)型(V1、V2或D1、D2) Ig折叠和3个膜近端恒定-(C2)型[C1、C2、C3] Ig折叠)、跨膜区和短胞质尾区。N端结构域(D1)仅参与配体结合,而膜近端结构域(C2、C3或D4、D5)是亲同种抗原相互作用所必需的。

[0122] ALCAM与CD6中对应于膜近端SRCR结构域的结构域3结合[Whitney, et.al., J.Biol.Chem1995,270:18187-18190]。

[0123] CD6在T细胞(包括CD4⁺T细胞)的表面上表达,并可以在T细胞活化、分化、存活和迁移中发挥作用。然而,以前没有报道过CD6⁺T细胞在重度非过敏性鼻炎的发病机理中的作用。

[0124] 我们在本文中报道了令人惊讶的发现:类固醇难治性的致死性重度哮喘患者比没有哮喘的患者在肺组织中表达显著更高水平的CD6蛋白及其配体ALCAM(图2)。此外,对公开可获得的RNASeq数据集进行基于生物信息学的从头测序分析通过以下证实了这一结果:证明与中度哮喘患者和非哮喘患者相比,重度哮喘患者在细支气管灌洗液(BALF)中表达显著更高水平的CD6 mRNA(图3B)。此外,对这些数据集的基于生物信息学的从头测序分析还表明,与中度哮喘患者和非哮喘患者相比,重度哮喘患者在细支气管灌洗液(BALF)中表达了显著更高的Th17标记物和细胞因子CCR6、CCR4、KLRB1、IL-17A和IL-17F(图3C-3G)。考虑到这些重度哮喘患者的疾病(指非Th2疾病,因为Th2介导的哮喘通常对类固醇治疗反应良好,参见图7)的类固醇难治性,以及这些Th17标记物和细胞因子的高表达,我们得出结论,这种升高的CD6表达主要归因于Th17 T细胞浸润肺组织。

[0125] 有趣的是,最近的一份报告表明,嗜酸性Th2驱动的过敏性哮喘可能部分由ALCAM介导,因为敲除ALCAM的小鼠和用抗ALCAM抗体治疗的小鼠显示出响应于过敏原暴露而降低的Th2细胞因子水平(Kim,et al.,Am J Respir Crit Care Med.2018Apr 15;197(8):994-1008)。然而,这些发现仅限于过敏性哮喘模型中的嗜酸性Th2介导的应答(集中在Th2细胞因子,包括IL-4、IL-5、IL-13和IgE)上;然而相反的是,我们的上述结果集中在表现出低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的非过敏性重度哮喘病例。此外,我们的研究结果表明,高水平的Th1和Th17 T细胞(表达显著升高水平的Th17标记物(CCR6、CCR4、KLRB1、IL-17A和IL-17F))可能是重度类固醇难治性哮喘的病理基础。有趣的是,我们的数据也不同于Kim,et al中报道的发现,在Kim,et al中他们发现由于ALCAM脱落(通过ADAM家族的金属蛋白酶活性)导致肺中驻留ALCAM蛋白水平低;然而相反的是,我们在非过敏性重度哮喘患者的肺中观察到高水平的ALCAM蛋白(图2)。因此,基于Kim et al.的报告,我们的数据进一步说明了嗜酸性粒细胞型和非嗜酸性粒细胞型哮喘之间的复杂差异,这可能是前者通常具有类固醇反应性质和后者通常具有类固醇难治性质或抵抗性质的基础。

[0126] 值得注意的是,我们在本文中报道了在Th2介导的过敏性哮喘的鼠模型(与上述Kim et al.,所使用的模型相同)中,CD6抑制有效降低了细支气管灌洗液中的Th2细胞因子(图5C)并抑制了Th2-驱动的IgE产生(图6),表明嗜酸性Th2哮喘也可以用抗CD6抗体来治疗。因此,与对类固醇治疗的分歧反应(几乎是嗜酸性粒细胞型和非嗜酸性粒细胞型哮喘之间标志性区别)不同,我们的数据表明,CD6抑制可能为同时抑制Th2-介导的哮喘和Th1/Th17介导的哮喘提供一站式机制。据我们所知,这是第一份建议用CD6抗体治疗具有低嗜酸性粒细胞成分或无嗜酸性粒细胞成分特征的重度哮喘(即Th1/Th17介导的哮喘,而不是Th2介导的过敏性哮喘)的报告。

[0127] 因此,本发明的某些方面提供了指向抑制患有哮喘的对象的T细胞介导的肺部炎症(包括抑制或阻断CD6-信号通路)的方法和组合物。在特定的实施方式中,该方法和组合物指向抑制患有哮喘的对象中的T细胞介导的肺部炎症,该哮喘具有低血嗜酸性粒细胞或无血嗜酸性粒细胞的特征。测定血嗜酸性粒细胞计数的方法是本领域众所周知的,并且可以根据本发明使用(参见例如,Kostikas,et al.,Curr Drug Targets.2018Dec;19(16):1882-1896,其内容通过引用全部并入本文)。

[0128] 如本领域普通技术人员所清楚的,高或低嗜酸性粒细胞的存在是区分过敏性哮喘与其他形式的非过敏性哮喘的所谓的黄金标准。嗜酸性粒细胞通常少于外周血白细胞的5%,但对2型辅助T细胞(Th2)介导的炎症(例如过敏性哮喘中存在的炎症)作出反应后,其产量大大增加,并且许多临床研究已使用血嗜酸性粒细胞计数的测量值作为肺嗜酸性粒细胞水平的替代指标。例如参见,Kostikas,et al.,Curr Drug Targets.2018Dec;19(16):1882-1896,其内容通过引用全部并入本文。如本文所用,提及具有“低”嗜酸性粒细胞的哮喘对象意指该对象的血嗜酸性粒细胞计数 ≤ 300 个细胞/ μl 。提及“无”嗜酸性粒细胞的哮喘对象意指该对象不具有可检测到的血嗜酸性粒细胞/ μl 。

[0129] 本发明的某些方面提供了指向抑制患有哮喘的对象的T细胞介导的肺部炎症的方法和组合物,包括:向对象施用抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合片段。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式

中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0130] 本发明的某些方面提供了指向治疗、预防或减缓T细胞响应于哮喘诱导抗原向肺组织中迁移以及通过肺组织迁移的方法和组合物,包括:向对象施用抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合片段。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0131] 本发明的某些方面提供了指向调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法和组合物,包括:向对象施用抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合片段。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0132] 本发明的某些方面提供了指向调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法和组合物,包括:使T细胞与抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合片段接触。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0133] 本发明的某些方面提供了指向抑制患有哮喘的对象中的T细胞介导的肺部炎症的方法和组合物,包括:向对象施用结合伴侣,该结合伴侣与T细胞上的CD6特异性结合并预防或抑制CD6信号的激活。结合伴侣可以是抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合片段。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0134] 本发明的某些方面提供了指向治疗、预防或减缓T细胞响应于哮喘诱导抗原向肺组织中迁移以及通过肺组织迁移的方法和组合物,包括:向对象施用结合伴侣,该结合伴侣与T细胞上的CD6特异性结合并预防或抑制CD6信号的激活。结合伴侣可以是抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合片段。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0135] 本发明的某些方面提供了指向调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法和组合物,包括:向对象施用结合伴侣,该结合伴侣与T细胞上的CD6特异性结合并预防或抑制CD6信号的激活。结合伴侣可以是抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合片段。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0136] 本发明的某些方面提供了指向调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法和组合物,包括:使T细胞与结合伴侣接触,该结合伴侣与T细胞上的CD6特异性结合并预防或抑制

CD6信号的激活。结合伴侣可以是抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合片段。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0137] 本发明的某些方面提供了指向治疗、预防或减缓T细胞响应于哮喘诱导抗原向肺组织中迁移以及通过肺组织迁移的方法和组合物,包括:抑制或阻断CD6通路。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0138] 本发明的某些方面提供了指向调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法和组合物,包括:抑制或阻断CD6通路。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0139] 本发明的某些方面提供了指向调节或减缓哮喘的症状或严重程度的方法和组合物,包括:抑制或阻断CD6通路。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0140] 在一些实施方式中,治疗重度哮喘的方法包括通过使细胞与抗CD6抗体(例如,EQ001)接触来调节一种或多种CD6表达细胞的活化、增殖、分化、存活和/或迁移。例如,与抗CD6抗体(例如,EQ001)接触的CD6表达细胞可以是表达CD6的T细胞。因此,在患有重度哮喘的对象中,可以通过使用抗CD6抗体来调节这种T细胞的这种特性。在一些实施方式中,如此调节的T细胞是CD4⁺T细胞。在一些实施方式中,如此调节的T细胞是T辅助1(Th1) T细胞。在一些实施方式中,如此调节的T细胞是T辅助17(Th17) T淋巴细胞(T细胞)。在一些实施方式中,抗CD6抗体(例如,EQ001)调节Th1 T细胞和/或Th17 T细胞以及表达CD6的另一细胞的活化、分化、存活和/或迁移。例如,抗CD6抗体(例如,EQ001)可以调节选自以下的细胞的组合的活化、分化、存活和/或迁移:(i)Th17 T细胞和Th2 T细胞;(ii)Th17 T细胞和Th1 T细胞;(iii)Th1 T细胞和Th2 T细胞;以及(iv)Th17 T细胞、Th1 T细胞和Th2 T细胞。在一些实施方式中,哮喘可以是重度哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以具有低嗜酸性粒细胞或无嗜酸性粒细胞的特征。在特定的实施方式中,哮喘可以是中性粒细胞哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是粒细胞缺乏性哮喘。在特定的实施方式中,哮喘可以是混合性炎症哮喘。

[0141] 在一些实施方式中,哮喘是包括中性粒细胞表型、或是嗜酸性粒细胞和中性粒细胞两者的混合表型的重度哮喘。在一些实施方式中,哮喘是包括中性粒细胞表型、粒细胞缺乏性表型、或是嗜酸性粒细胞和中性粒细胞两者的混合表型的重度哮喘。在一些实施方式中,哮喘是中性粒细胞重度哮喘,其特征涉及CD6⁺T细胞的气道炎症,该CD6⁺T细胞是Th17 T细胞。在一些实施方式中,哮喘是中性粒细胞重度哮喘,其特征涉及CD6⁺T细胞的气道炎症,该CD6⁺T细胞是Th1 T细胞。在某些特定的实施方式中,哮喘是中性粒细胞重度哮喘,其特征涉及Th1 CD6⁺T细胞和Th17 CD6⁺T细胞的气道炎症。在一些实施方式中,哮

喘是粒细胞缺乏性重度哮喘,其特征在于涉及CD6⁺T细胞的气道炎症,该CD6⁺T细胞是Th17 T细胞。在一些实施方式中,哮喘是粒细胞缺乏性重度哮喘,其特征在于涉及CD6⁺T细胞的气道炎症,该CD6⁺T细胞是Th1 T细胞。在某些特定的实施方式中,哮喘是粒细胞缺乏性重度哮喘,其特征在于涉及Th1 CD6⁺T细胞和Th17 CD6⁺T细胞的气道炎症。在一些实施方式中,重度哮喘是中性粒细胞和嗜酸性粒细胞混合性哮喘,其特征在于涉及为Th1 T细胞的CD6⁺T细胞、为Th17 T细胞的CD6⁺T细胞、以及为Th2 T细胞的CD6⁺T细胞的气道炎症。

[0142] 在特定的实施方式中,本发明提供了一种方法,该方法包括向患有中性粒细胞重度哮喘的患者施用抗CD6抗体(例如,EQ001),该中性粒细胞重度哮喘的特征在于涉及为Th17 T细胞的CD6⁺T细胞的气道炎症。

[0143] 在特定的实施方式中,本发明提供了一种方法,该方法包括向患有中性粒细胞重度哮喘的患者施用抗CD6抗体(例如,EQ001),该中性粒细胞重度哮喘的特征在于涉及为Th1 T细胞的CD6⁺T细胞的气道炎症。

[0144] 在特定的实施方式中,本发明提供了一种方法,该方法包括向患有中性粒细胞重度哮喘的患者施用抗CD6抗体(例如,EQ001),该中性粒细胞重度哮喘的特征在于涉及为Th17 T细胞的CD6⁺T细胞和为Th1 T细胞的CD6⁺T细胞的气道炎症。

[0145] 在某些实施方式中,本发明涉及使用本文公开的抗CD6抗体(例如,EQ001)来治疗包含低嗜酸性T细胞应答的重度哮喘。在某些实施方式中,本发明涉及使用本文公开的抗CD6抗体(例如,EQ001)来治疗包含无嗜酸性T细胞应答的重度哮喘。

[0146] 在某些实施方式中,本发明涉及使用本文公开的抗CD6抗体(例如,EQ001)来治疗包含中性T细胞应答、但无嗜酸性T细胞应答的重度哮喘。在某些实施方式中,本发明涉及使用本文公开的抗CD6抗体(例如,EQ001)来治疗包含中性T细胞应答、但基本上无嗜酸性T细胞应答的重度哮喘。在某些实施方式中,本发明涉及使用本文公开的抗CD6抗体(例如,EQ001)来治疗包含中性T细胞应答和低嗜酸性T细胞应答的重度哮喘。在某些实施方式中,本发明涉及使用本文公开的抗CD6抗体(例如,EQ001)来治疗包含基本上由Th17 CD4⁺效应细胞介导的T细胞应答的重度哮喘。在某些实施方式中,本发明涉及使用本文公开的抗CD6抗体(例如,EQ001)来治疗包含基本上由Th1和Th17 CD4⁺效应细胞介导的T细胞应答的重度哮喘。在某些实施方式中,本发明涉及治疗哮喘(例如重度哮喘),该哮喘包含由Th1和/或Th17 CD4⁺效应细胞介导的T细胞应答,该Th1和/或Th17 CD4⁺效应细胞是Th2 CD4⁺效应细胞的至少2倍(2x)、或是Th2 CD4⁺效应细胞的3x、4x、5x、10x、15x、20x、30x、40x、50x、100x、1,000x、10,000x。

[0147] 与T细胞上的CD6特异性结合并预防或抑制CD6信号的激活的结合伴侣可以是抗CD6抗体或其抗原结合部分。

[0148] 抗CD6抗体可以是与CD6结合并阻断T细胞中CD6介导的下游信号的任何抗体。例如,使用抗CD6单克隆抗体(Monoclonal antibody,mAb)进行的阻断研究表明CD6通过调节T细胞与胸腺上皮(Thymic epithelial,TE)细胞的粘附作用在T细胞发育中起重要作用(Patel et al.,J.Exp.Med.(1995)181:1563-1568)。其他研究已经表明,CD6可以在T细胞活化中起重要的辅助分子的作用。例如,某些抗CD6mAb直接促T细胞进行有丝分裂的(Gangemi et al.,J.Immunol.(1989)143:2439;Bott et al.,Int.Immunol.(1993)7:783),而其他抗CD6mAb则是能够连同抗CD3、抗CD2或PMA共同刺激T细胞增殖(Gangemi et

al., J. Immunol. (1989) 143:2439; Morimoto et al., J. Immunol. (1988) 140:2165-2170; Osorio et al., Cell. Immunol. (1994) 154:23)。CD6在T细胞活化中的作用的其他证据来自于以下研究:显示出CD6在Ser和Thr残基上过度磷酸化的研究(Swack et al., Mol. Immunol. (1989) 26:1037-1049; Swack et al., J. Biol. Chem. (1991) 266:7137; Cardenas et al., J. Immunol., 145:1450-1455 (1990))、以及在Tyr残基上磷酸化的研究(Wee et al., J. Exp. Med. (1993) 177:219-223)。这些研究和其他研究暗示CD6作为体内未成熟和成熟T细胞功能的重要调节剂,既影响T细胞活化又影响信号转导(De Wit, J., et al., Blood (2011) 118:6107-6114),并且能够防止这些作用的任何抗体都适用于本发明。

[0149] 美国专利第6,372,215号公开了与人CD6(hCD6)或人CD6茎结构域(CD6S)的SRCR结构域3(D3)特异性结合并抑制与CD6结合的活化白细胞粘附分子(ALCAM)的抗体和其他结合剂。

[0150] 较早的出版物和专利公开了鼠抗CD6(IOR-T1)单克隆抗体的序列以及为了将IOR-T1人源化为T1h(人源化IOR-T1)而进行的氨基酸修饰。美国专利第5,712,120号及其同族EP 0699755公开了使鼠单克隆抗体人源化的具体方法以及IOR-T1和T1h的序列。美国专利第6,572,857号及其同族EP 0807125公开了IOR-T1和T1h(人源化IOR-T1)的序列。PCT/IN2008/00562及相关的标题为“A Monoclonal Antibody and a Method Thereof”的美国专利第8,524,233号公开了在NS0细胞中产生抗CD6抗体,该抗CD6抗体具有本文以SEQ ID NO:1和2提供的重链和轻链序列。该抗体在该专利中也被称为T1h,尽管其序列与原始T1h不同。该抗体的INN名称是itolizumab。Itolizumab在小鼠来源的NS0细胞系和中国仓鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary, CHO)细胞中产生,并且当在CHO细胞中产生时,本文引用其商品名称EQ001;当在NS0细胞中产生时,本文引用其商品名称ALZUMAb。EQ001(即在CHO细胞中产生的itolizumab)在本领域中也称为“Bmab-600”。在本文的各种实施方式中,无论其产生方法如何,我们以其INN名称itolizumab来指代抗体本身。因此,如本文所用,术语itolizumab包括ALZUMAb和EQ001,其中的每个都具有与itolizumab相同的序列。Itolizumab(和EQ001/ALZUMAb)的可变重链(Variable heavy, VH)和可变轻链(Variable light, VK)的氨基酸序列在本文中分别提供为SEQ ID NO:1和2。Itolizumab(和EQ001/ALZUMAb)的VH和VK的核苷酸(DNA)序列在本文中分别提供为SEQ ID NO:3和4。Itolizumab(和EQ001/ALZUMAb)的VH CDR1-3的氨基酸序列分别提供为SEQ ID NO:5-7。Itolizumab(和EQ001/ALZUMAb)的VK CDR1-3的氨基酸序列分别提供为SEQ ID NO:8-10。

[0151] 因此,抗CD6抗体可以是包含重链和轻链可变区的抗CD6单克隆抗体,该重链和轻链可变区包含SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列。

[0152] 抗CD6抗体可以是包含重链和轻链可变区的抗CD6单克隆抗体,该重链和轻链可变区包含:SEQ ID NO:3所示的核苷酸序列或其互补序列;和(b)核酸分子,该核酸分子包含SEQ ID NO:4所示的核苷酸序列或其互补序列。

[0153] 抗CD6抗体可以是包含重链和轻链可变区的抗CD6单克隆抗体,该重链和轻链可变区包含与SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列至少80%同源的氨基酸序列。

[0154] 抗CD6抗体可以是特异性结合CD6的抗CD6单克隆抗体,并且在对应于由SEQ ID NO:1和2表示的氨基酸残基的部分中包含至少约65%的氨基酸序列同一性或同源性、至少约70%的氨基酸序列同一性或同源性、至少约75%的氨基酸序列同一性或同源性、至少约

80%氨基酸序列同一性或同源性、至少约80%氨基酸序列同一性或同源性、至少约85%氨基酸序列同一性或同源性、至少约90%氨基酸序列同一性或同源性、至少约95%的氨基酸序列同一性或同源性、至少约98%的氨基酸序列同一性或同源性、或至少约99%的氨基酸序列同一性或同源性。

[0155] 抗CD6抗体可以包含一个或多个选自以下的CDR:EQ001重链CDR1:GFKFSRYAMS (SEQ ID NO:5);EQ001重链CDR2:TISGGSYIYYPDSVKG (SEQ ID NO:6);EQ001重链CDR3:RDYDLDFDS (SEQ ID NO:7);EQ001轻链CDR1:KASRDIRSYLT (SEQ ID NO:8);EQ001轻链CDR2:YATSLAD (SEQ ID NO:9);EQ001轻链CDR3:LQHGESP (SEQ ID NO:10);及其组合。

[0156] 在特定的实施方式中,抗CD6抗体包含以SEQ ID NO:5-10提供的EQ001 CDR中的每个CDR。在特定的实施方式中,抗CD6抗体是人源化抗体,该人源化抗体包含以SEQ ID NO:5-10提供的EQ001 CDR中的每个CDR。在特定的实施方式中,抗CD6抗体是人源化IgG抗体,该人源化IgG抗体包含以SEQ ID NO:5-10提供的EQ001 CDR中的每个CDR。在特定的实施方式中,抗CD6抗体是人源化IgG1抗体,该人源化IgG抗体包含以SEQ ID NO:5-10提供的EQ001 CDR中的每个CDR。在特定的实施方式中,抗CD6抗体是在CHO细胞中产生的人源化抗体,其中该人源化抗体包含以SEQ ID NO:5-10提供的EQ001 CDR中的每个CDR。

[0157] 抗CD6抗体可以选自UMCD6 mAb (Li et al., PNAS March 7, 2017, vol.114, no.10, 2687-2692, 通过引用全部并入本文) 和表2上列出的抗体中的任何一种抗体:

[0158] 表2:抗CD6抗体

名称	特异性	亚型	注释	引用
OX126	人CD6结构域3	小鼠IgG1	提出以抵抗重组CD6结构域3, 并与大鼠CD6发生交叉反应。阻断可溶性CD166与CD6的结合。阻断细胞之间的相互作用。	[5]
T12	人CD6结构域1	小鼠IgM	阻断细胞之间的相互作用。临床上用于消耗T细胞。	[12]及[51]中的回顾
UMCD6	人CD6结构域1	小鼠IgG1	对CD6的亲合力高于MT605。与IOR-T1竞争。阻断细胞之间的相互作用。	[57]
MT605	人CD6结构域1	小鼠IgG1	对重组CD6的亲合力低于UMCD6。与IOR-T1部分竞争。阻断细胞之间的相互作用。	[57]
IOR-T1/T1h	人CD6结构域1	小鼠IgG2a/人IgG1	与UMCD6竞争, 以及与MT605部分竞争。阻断细胞之间的相互作用。临床上用作免疫抑制剂。	[57]
J4-81	人CD166 V2。结合VV但不结合V1或VCCC。	小鼠IgG1	部分抑制可溶性CD6与细胞的结合。可以促进和抑制CD166的推测依赖于化合价的亲同种抗原相互作用。	[13, 29, 39]
AZN-L50	人CD166 C2C3	小鼠IgG2a	提出抑制CD166亲同种抗原相互作用是通过抑制CD166亲同种抗原顺式关联。	[29]
MAB656	人CD166 VCCC	小鼠IgG1	报道了在人和小鼠中的抑制作用, 但不与重组小鼠CD166结合。	[59], Lee I, Garner, 未公开数据
1/F8	人CD166结构域1	人单链抗体片段	阻断CD6/CD166和CD166/CD166的相互作用, 并结合猴子和鼠CD166。	[60]

[0160] 抗CD6抗体可以是美国专利第8,524,233号 (通过引用全部并入本文) 中公开的T1h。

[0161] 抗CD6抗体可以是itolizumab。抗CD6抗体可以是ALZUMAb。抗CD6抗体可以是EQ001。

[0162] 抗CD6抗体可以通过保藏于ECACC中保藏号为ECACC 96112640的分泌性杂交瘤IOR-T1A产生的抗体。

[0163] 抗CD6抗体可以与T细胞表面上的CD6结合。抗CD6抗体可以与T细胞表面上CD6的结构域1、结构域2或结构域3结合。在某些方面,抗CD6抗体与CD6上的结构域1或结构域3结合。在特定的实施方式中,抗CD6抗体与CD6上的结构域3结合。抗CD6抗体与T细胞表面上的CD6的结合可以调节T细胞的活性。在某些方面,抗CD6抗体与T细胞表面上的CD6的结合调节T细胞的活性和/或迁移。在特定方面,抗CD6抗体与T细胞表面上的CD6的结合调节T细胞向肺组织的迁移和通过肺组织的迁移。

[0164] 抗CD6抗体(例如,EQ001)可以作为抗CD6药物组合物递送至对象。

[0165] 适合于递送抗CD6抗体的药物组合物及其制备方法对于本领域技术人员将是显而易见的。这种组合物及其制备方法可以在例如,第19版《雷明顿药物科学》(马克出版公司,1995)(Remington's Pharmaceutical Sciences,19th Edition(Mack Publishing Company,1995)中找到,其内容通过引用全部并入本文。含有抗CD6抗体的药物组合物也是本领域已知的。例如,抗CD6抗体可以是美国专利申请第12/525,449号(US20100047242)(通过引用全部并入本文)中公开的药物组合物。

[0166] 本发明的药物组合物可包含活性药物制剂(例如抗CD6抗体,比如EQ001)和一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂、稀释剂、表面活性剂、和/或溶媒。

[0167] 药物组合物可包含抗CD6抗体(或其抗原结合片段)和一种或多种选自以下组成的组的试剂:载体、赋形剂、稀释剂、抗氧化剂、防腐剂、着色剂、调味和稀释剂、乳化剂、悬浮剂、溶剂、填充剂、膨胀剂、缓冲剂、递送溶媒、张度剂、助溶剂、润湿剂、络合剂、缓冲剂、抗微生物剂和/或表面活性剂。这些试剂是本领域已知的(例如参见,雷明顿药物科学,第18版,马克出版有限公司,Easton,PA(1990)(Remington's Pharmaceutical Sciences,18th edition,Mack Publishing Co.,Easton,PA(1990),通过引用全部并入本文)。

[0168] 本发明还包括联合疗法,该联合疗法包括:向患者施用与第二活性剂结合的抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合部分;或能够治疗、预防或减轻一种或多种哮喘相关症状的装置或程序。在这种情况下,“联合施用”意指:(1)相同的单位剂型的一部分;(2)分开施用,但作为同一治疗项目或方案的一部分,通常但不一定在同一天施用。

[0169] 如前所述,EQ001(或另一抗CD6抗体)在某些方面可以作为单一疗法单独施用,或在某些方面作为联合疗法施用。在一些方面,根据本文公开的方法用于向患者施用的本文所述的EQ001(或另一抗CD6抗体)中的任何一种(例如,EQ001)可以与一种或多种其他治疗剂作为联合疗法联合施用。例如,可以将EQ001(或另一抗CD6抗体)与另一种试剂作为联合疗法施用于患者用于炎性或自身免疫性疾病的治疗。联合疗法可以包括施用EQ001(或另一抗CD6抗体)和试剂,该试剂选自:例如但不限于,类固醇或免疫抑制剂。类固醇可以是皮质类固醇。皮质类固醇可以是强的松。

[0170] EQ001(或另一抗CD6抗体)可以在一种或多种此类抗炎或自身免疫性疾病试剂之前、之后或同时施用。在一些实施方式中,这种联合可以提供显著优势,包括在疗法中的附加或协同活性。

[0171] 在各种实施方式中,本文公开的组合物和方法,例如用于治疗哮喘的方法,涉及向对象施用有效量的EQ001(或另一抗CD6抗体)或包含EQ001(或另一抗CD6抗体)的组合物(例如,药物组合物)。

[0172] EQ001(或另一抗CD6抗体)可以作为药物组合物施用。CD6-ALCAM通路抑制剂可以

在一种或多种其他治疗剂之前、之后和/或同时施用。如果与一种或多种其他治疗剂同时施用,则这种施用可以是同时的(例如,以单一组合物形式)、或者可以通过两种或更多种单独的组合物,任选地通过相同或不同的施用模式(例如,非全身的、全身的、口服的、静脉内的,等等)。

[0173] EQ001(或另一抗CD6抗体)和/或其他治疗剂的施用可以通过用于治疗剂的任何施用模式来完成。这些模式包括全身或非全身施用,例如口服、鼻腔、肠胃外、透皮、皮下、阴道、颊、直肠或局部施用模式。

[0174] 为了以本文所述的使用方法施用,可以在施用前将EQ001(或另一抗CD6抗体)与无毒的药学上可接受的载体物质(例如生理盐水或磷酸盐缓冲盐水)混合,并且将使用任何医学上适当的方法来施用,例如肠胃外施用(例如,注射),比如通过静脉内或动脉内注射。

[0175] 根据本发明使用的EQ001(或另一抗CD6抗体)的制剂可以通过将具有所需纯度的抗体与任选的药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂以冻干制剂或水溶液形式混合来制备。可接受的载体、赋形剂、或稳定剂在采用的剂量和浓度下对接受者是无毒的,并且包括: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,如十八烷基二甲基苄基氯化铵;氯化六甲铵;氯化苄甲烃铵、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酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇和间甲酚;低分子量(少于约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、和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖、或糊精;螯合剂,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;金属配合物(例如锌蛋白配合物);和/或非离子表面活性剂,例如TWEENTM、PLURONICSTM、或聚乙二醇(PEG)。

[0176] EQ001(或另一抗CD6抗体)也可以通过例如凝聚技术或通过界面聚合而包埋在微胶囊中来制备,该微胶囊例如,在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)或粗乳液中的羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊。这种技术在本领域中是众所周知的。

[0177] 可以准备缓释制剂。缓释制剂的合适实例包括含有EQ001(或另一抗CD6抗体)的固体疏水性聚合物的半透性基质,该基质为成形制品的形式,例如薄膜或微胶囊。缓释基质的实例包括聚酯、水凝胶、L-谷氨酸的共聚物、不可降解的乙烯-醋酸乙烯酯、以及可降解的乳酸-乙醇酸共聚物。

[0178] EQ001(或另一抗CD6抗体)可以按照已知的方法施用于对象,例如推注静脉内施用或通过肌内、腹膜内、脊髓内、皮下、关节内、滑膜内、鞘内或口服途径在一段时间内连续输注。在一些情况下,优选静脉内或皮下施用EQ001(或另一抗CD6抗体)。

[0179] 取决于预期的施用模式,所公开的化合物或药物组合物可以是固体、半固体或液体剂型,例如,注射剂、片剂、栓剂、丸剂、延时释放胶囊、酞剂、酞剂、乳剂、糖浆、粉剂、液体、混悬剂等,有时为单位剂量,并且与常规制药实践一致。同样,所公开的化合物或药物组合物也可以以静脉内(推注和输注)、腹膜内、皮下或肌内的形式施用,并且全部使用药学领域技术人员熟知的形式。适合递送EQ001(或另一抗CD6抗体)(单独或例如,根据本发明与另一种治疗剂联合)的药物组合物及其制备方法对本领域技术人员而言是显而易见的。这种组

合物及其制备方法可以在例如,第19版《雷明顿药物科学》(马克出版公司)中找到,其内容全部并入本文。

[0180] 使用EQ001(或另一抗CD6抗体)的剂量方案根据以下多种因素来选择,包括:患者的类型、物种、年龄、体重、性别和身体状况;待治疗疾病的严重程度;施用途径;患者的肾功能或肝功能;以及所使用的具体公开的化合物。本领域普通技术人员的医师或兽医可以容易地确定并开出预防、反击或阻止病情进展所需的药物的有效量。

[0181] 在本发明中使用的EQ001(或另一抗CD6抗体)的治疗有效量的示例性非限制性范围是每对象体重的约0.01mg/kg-100mg/kg,例如约0.01mg/kg-50mg/kg,例如约0.01mg/kg-25mg/kg。具有本领域普通技术的医疗技术人员可以容易地确定和开出所需药物组合物的有效量。例如,医师可以水平按比获得所需治疗效果的所要求水平更低的EQ001(或另一抗CD6抗体)剂量开始,并逐渐增加剂量直至达到预期的效果。

[0182] 在一个实施方式中,EQ001(或另一抗CD6抗体)通过以每kg对象体重1mg至500mg(例如20mg/kg至200mg/kg)的周剂量进行输注。这种施用可以重复例如1-8次,例如3-5次。在替代方式中,可以通过在2小时至24小时、例如2小时至12小时的时间内连续输注来进行施用。

[0183] 在一个实施方式中,以0mg至200mg的周剂量施用EQ001(或另一抗CD6抗体)至多7次,例如4-6次。可以通过在2小时至24小时、例如2至12小时的时间内连续输注来进行施用。这种方案可以根据需要重复一次或多次,例如在6个月或2个月后。

[0184] 在这些联合疗法的一些方面,第二活性剂是一种或多种能够调节免疫系统的试剂。在这些联合疗法的一些方面,第二活性剂是一种或多种免疫抑制剂。在这些联合疗法的一些方面,第二活性剂是一种或多种 β 激动剂。

[0185] 在这些联合疗法的一些方面,第二活性剂是一种或多种短效 β 激动剂。在这些联合疗法的一些方面,第二活性剂是沙丁胺醇。在一些方面,沙丁胺醇以选自以下的剂型施用:气雾剂粉末;溶液;胶囊;和粉末悬浮液。在这些联合疗法的一些方面,第二活性剂是类固醇,例如皮质类固醇。在一些方面,皮质类固醇以选自以下的剂型施用:片剂、缓释胶囊;延长释放片剂;延长释放胶囊;糖浆;溶液;酏剂;悬浮剂;缓释片剂;液体;和崩解片剂。

[0186] 在这些联合疗法的一些方面,第二活性剂是异丙托铵。在一些方面,异丙托铵以喷雾剂型施用。

[0187] 在这些联合疗法的一些方面中,第二活性剂包括一种或多种选自以下的试剂:二丙酸倍氯米松(beclomethasone dipropionate);布地奈德(budesonide);氟尼缩松(flunisolide);氟替卡松丙酸酯(fluticasone propionate);糠酸莫米松(mometasone furoate);曲安奈德(triamcinolone acetonide);地塞米松(dexamethasone);氢化可的松(hydrocortisone);甲泼尼松(methylprednisone);泼尼松龙(prednisolone);强的松(prednisone);富马酸福莫特罗(formoterol fumarate);昔萘酸沙美特罗(salmeterol xinafoate);硫酸沙丁胺醇(albuterol sulfate);盐酸异他林(isoetharine hydrochloride);盐酸异丙肾上腺素(isoproterenol hydrochloride);盐酸左旋沙丁胺醇(levsalbutamol hydrochloride);醋酸吡布特罗(pirbuterol acetate);硫酸特布他林(terbutaline sulfate);异丙托溴铵(ipratropium bromide);孟鲁司特钠(montelukast sodium);扎鲁司特(zafirlukast);齐留通(zileuton);茶碱胆碱(oxytriphylline);茶碱

(theophylline);色甘酸钠(cromolyn sodium);奈多克罗米钠(nedocromil sodium);奥马珠单抗(omalizumab);包含氟替卡松(fluticasone)和沙美特罗(salmeterol)的联合药物;包含西那福酯(xinafoate)(吸入类固醇加长效 β -2激动剂)的联合药物;包含布地奈德(budesonide)和富马酸福莫特罗(formoterol fumarate)(吸入类固醇加长效 β -2激动剂)的联合药物;包含丙酸氟替卡松(fluticasone propionate)和昔萘酸沙美特罗(salmeterol xinafoate)(吸入类固醇加长效 β -2激动剂)的联合药物;包含布地奈德(budesonide)和富马酸福莫特罗(formoterol fumarate)(吸入类固醇加长效 β -2激动剂)的联合药物;包含异丙托溴铵(ipratropium bromide)和硫酸沙丁胺醇(albuterol sulfate)的联合药物;或其组合。

[0188] 在一些方面,本发明还包括联合疗法,该联合疗法包括将抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合部分与选自插管、机械通气、氧气疗法及其组合的程序联合向患者施用。这种程序也可以与可用于本文所述的联合疗法中的前述另外的试剂中的任何一种或多种联合施用于对象。

[0189] 在某些方面,可以包括向对象施用抗CD6抗体(例如,EQ001)或其抗原结合部分)的本文公开的方法可以提供一种或多种哮喘相关症状的治疗。

[0190] 待施用的最佳剂量和剂量方案可由本领域技术人员容易地确定,并且将随特定试剂的药效特点、其施用时间和方式、制剂的强度以及疾病状况(包括疾病的性质和症状程度)的发展而变化。另外,与所治疗的特定患者相关的因素(包括患者的性别、年龄、体重、饮食、身体活动和伴随疾病)将导致需要调整剂量和/或方案。

[0191] 所有在本说明书中引用的或在任何申请数据表中列出的美国专利、美国专利申请出版物、美国专利申请、PCT专利申请、PCT专利申请出版物、外国申请、外国专利申请以及非专利出版物,均通过引用全部并入本文。从前述内容可以理解,尽管本文已经出于说明的目的描述了本发明的特定实施方式,但是在不脱离本发明的精神和范围的情况下可以进行各种修改。

[0192] 实施例

[0193] 实施例1

[0194] 人致命性哮喘患者中CD6表达显著升高

[0195] 结果总结:与对照相比,取自致命性哮喘患者的肺组织显示CD6⁺细胞高度浸润到固有层中,在该区域中ALCAM过表达。

[0196] 从致命性哮喘患者或非哮喘患者中获得新鲜的肺。固定组织样品,并随后通过免疫荧光法对CD6 ALCAM表达进行染色。在致命性哮喘患者中固有层中的ALCAM表达升高;而非哮喘对照的固有层中不存在ALCAM表达。在这些肺中,ALCAM染色区位于高水平的浸润性CD6⁺细胞中(图2)。这表明重度哮喘与CD6⁺T细胞的浸润有关,并且ALCAM表达可能参与重度/致命性哮喘期间CD6⁺细胞向肺的迁移/浸润。相反,先前的研究表明,由于金属蛋白酶介导的ALCAM脱落增加,在过敏性哮喘模型中暴露于过敏原的动物肺组织中ALCAM减少。

[0197] 实施例2

[0198] 人致命性哮喘患者中CD6表达显著升高

[0199] 结果总结:对可公开获得的RNASeq数据集的从头测序分析证实,与中度哮喘患者和非哮喘患者相比,重度哮喘患者表达的CD6水平明显更高。

[0200] RNA数据来自通过细支气管灌洗收集的细胞团,这是两项纵向前瞻性临床研究的一部分:

[0201] • BOBCAT研究(Arron et al.,Eur Respir J.2014Feb;43(2):627-9)

[0202] • MAST研究(Simpson et al.,Nat Immunol.2014Dec;15(12):1162-70)

[0203] 通过RNASeq确定这些样品的转录组,并在公共数据库中获得包含转录读数计数的数据集,相对于每个样品的所有单个基因对该转录读数计数进行绘谱(Sun et al.,Sci Signal.2015Dec 1;8(405))。

[0204] 我们使用生物信息学来挖掘文献,以比较对照、中度哮喘和重度哮喘患者的CD6表达,并且我们的分析表明CD6表达水平存在显著差异,重度哮喘患者表达的CD6水平明显更高(图3B)。类似地,尽管也观察到了不太明显的CD4表达的增加,但是重度哮喘患者表达的CD4水平明显高于中度和健康患者(图3A)。伴随性增加表明了重度哮喘患者的肺中CD6⁺T细胞的存在增加。因此,这些数据表明,由于T细胞浸润的增加,重度哮喘患者的肺中的CD6⁺T细胞增加。

[0205] 对对照、中度哮喘和重度哮喘患者中的Th17标记物和细胞因子的表达的比较分析显示出CCR6(图3C)、CCR4(图3D)、KLRB1(图3E)、IL-17A(图3F)和IL-17F(图3G)的表达水平的显著差异,表明了重度哮喘患者中Th17细胞的存在增加以及CD6和Th17细胞之间的关联。

[0206] 利用相同的数据集,对所有哮喘患者(无论哮喘类型如何)进行的客观集群分析显示出,重症哮喘患者亚组具有高CD6和相似的基因表达谱,这表明独特的患者谱可能与高CD6表达相关(图4A和图4B)。

[0207] 作者不知晓任何在先的检查了该数据集中的CD6表达的分析或任何在先的CD6表达在重度哮喘中增加报道。这些数据表明,在用类固醇治疗较差的重度哮喘患者中,CD6在肺中高表达。因此,这些数据作为首次证据出现,支持使用CD6抑制来治疗重度哮喘(例如,由Th1/Th17 T细胞引起的哮喘)。

[0208] 值得注意的是,过敏性哮喘还包括T细胞成分,尽管Th2介导的应答对类固醇治疗反应良好。因此,我们试图确定CD6是否可能是有效抵抗重度和过敏性哮喘的治疗的可行的靶标,因为这有望达到:(1)使由于长期使用类固醇的不良副作用而导致的患者依从性的问题最小化;(2)为所有的哮喘形式提供方便的单药剂疗法;以及(3)提供一种即使患者的哮喘内型改变(例如Th2变为Th2/Th17或Th1/Th17),患者也可以继续使用的疗法。

[0209] 实施例3

[0210] CD6抑制是用于过敏性和重度哮喘的可行的治疗

[0211] 结果总结:在过敏性哮喘的鼠模型中,CD6阻断被证明是Th2介导的疾病的有效的免疫调节剂。

[0212] 图5A和图5B分别示出了在该过敏性哮喘实验中使用的实验组和实验方案。简单来说,通过在第0天和第14天用OVA/明矾进行接种,诱导了抗OVA Th2驱动的免疫应答,以对卵白蛋白(Ovalbumin,OVA)致敏诱导过敏性哮喘。在第23天、第25天和第27天,使用抗小鼠CD6 Sc结构域1抗体(mCD6D1)对小鼠进行治疗,该抗体是EQ001的小鼠替代物,其与CD6的结构域1结合,具有与抗人CD6抗体itolizumab相似的特征。随后,在第25-27天用OVA对致敏小鼠进行鼻内攻击,然后在第28天终止以评估肺中的细胞和细胞因子。

[0213] 攻击期间的CD6阻断导致了细支气管灌洗液(BALF)中Th2细胞因子IL-4、IL-5和

IL-13的水平降低(图5C),伴随在肺细胞中也适度减少,表明了CD6阻断对Th2应答的抑制作用。

[0214] 为了进一步支持CD6阻断影响Th2应答的能力,我们测试了CD6阻断在经典的OVA疫苗接种的经典Th2模型中的阻断作用。图6A和图6B分别示出了在该实验中使用的实验组和实验方案。简单来说,在第0天和第14天对小鼠接种OVA/明矾,并从第-1天到第16天每周用抗CD6治疗两次。在第19天,处死小鼠以检查抗OVA抗体应答。预防性CD6阻断抑制了OVA特异性IgE的产生,证明了CD6通路对Th2应答的影响(图6C)。

[0215] 因此,这些数据综合表明,CD6阻断对于Th2介导的过敏性哮喘是一种可行的治疗,无论是急性的还是预防性的。并且,综合本文提供的数据并结合已知的抗CD6抗体(例如EQ001)抑制Th1/Th17型T细胞活化和迁移能力,支持了CD6抑制(例如,使用EQ001)将能够治疗重度和过敏性哮喘。

[0216] 实施例4

[0217] 重度哮喘模型中抗CD6抗体的功效

[0218] 在第1天、第3天和第5天用25μg的HDM使小鼠鼻内致敏。然后搁置小鼠5天,然后进行3次攻击设置,涉及使用25μg的HDM进行3次连续攻击,攻击设置之间搁置4天。仅在后两次攻击中使用25μg的HDM。从攻击的第一天开始腹膜内给予浓度为4mg/kg的地塞米松(Dexamethasone, Dex)阳性治疗对照或抗CD6抗体测试制品,然后每隔三天重复给予一次Dex,每隔一天给予一次抗CD6抗体。

[0219] 实施例5

[0220] 哮喘模型中抗CD6抗体的功效

[0221] 由于CD6阻断靶向多种T细胞亚型的能力,因此预期CD6抑制还将在许多哮喘模型中显示出功效,包括HDM诱导的、HDM+LPS诱导的、蟑螂诱导的和烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*)诱导的哮喘模型以及在STAT6-/-小鼠中产生能够具有Th1/Th17表型的哮喘模型。因此,采用若干模型来测试抗CD6抗体在600ug降至10ug范围中的剂量(表3)。

[0222] 表3:另外的小鼠模型

小鼠模型 (引用)	主要的 Th 应答	注释
[0223] HDM 诱导的哮喘 (<i>Woo et al., Sci Rep. 2018 May 2;8(1):6925</i>)	Th2/Th17	可以用两种方式诱导疾病: 1) 通过在第 0 天和第 14 天用 HDM+明矾进行接种使小鼠敏化,以诱导抗 HDM 应答。在第 21-23 天期间,每天用 HDM 鼻内攻击小鼠,引起嗜酸性粒细

[0224]		胞的募集以及 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 的分泌 2) 使用 HDM 的盐水溶液通过鼻内或气管内使小鼠敏化 1 周。随后, 在处死前, 另持续 3-7 周使用 HDM 抗原每周鼻内攻击小鼠 3-5 次。鼻内攻击诱导了中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、以及 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 的分泌
	HDM+LPS 诱导的哮喘 (Daan De Boer et al., <i>Am J Respir Cell Mol Biol.</i> 2013 Mar;48(3):382-9)	Th1/Th17 用 HDM+LPS 对小鼠进行一周鼻内敏化, 随后另持续 1-4 周对小鼠进行每周 3 次鼻内攻击, 以诱导特征为的肺部炎症
	烟草赤星病菌诱导的哮喘 (Havaux et al., <i>Clin Exp Immunol.</i> 2005 Feb;139(2):179-88)	Th2 通过接种烟草赤星病菌 (<i>A. alternata</i>) 的孢子/明矾使小鼠敏化, 以诱导抗孢子应答。几周后, 使用孢子对小鼠进行连续鼻内攻击, 引发嗜酸性粒细胞的募集以及 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 的分泌
	蟑螂诱导的哮喘	Th2 通过接种蟑螂过敏原+IFA 使小鼠敏化, 以诱导抗蟑螂应答。几周后, 使用蟑螂过敏原对小鼠进行连续鼻内攻击, 引发嗜酸性粒细胞的募集、Th2 细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13、以及趋化因子的分泌
	STAT6-/-小鼠中的哮喘模型 (Valladoa et al., <i>J Immunol.</i> 2016 Dec 15;197(12):4541-4551)	Th1/Th17 哮喘中 Th2 型应答需要 STAT6 信号。因此, 该通路的缺失消除了正常的嗜酸性/Th2 优势应答, 并使模型偏向嗜中性/Th1/Th17 型疾病

[0225] 这些实验的结果将表明, CD6抑制在抑制: Th1/Th17形式的哮喘; Th2、以及T2/Th17形式的哮喘等上是有效的。因此, 本发明支持用于治疗重度和过敏性哮喘的抗CD6抗体的开发。

[0226] 实施例6

[0227] 组织样品的分析

[0228] 完成实施例4和5中的方案后收集组织样品, 并根据以下程序进行分析。

[0229] 根据机构动物管理与使用委员会 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) 批准的方案每天收集所有小鼠的体重和临床评分。

[0230] 在最后的过敏原攻击后二十四小时, 麻醉小鼠并进行支气管肺泡灌洗 (Bronchoalveolar lavage, BAL)。结扎每只小鼠的左支气管, 并用0.7ml无菌PBS灌洗右叶以得到BAL液。使用台盼蓝染色和标准光学显微镜确定总BAL细胞数, 然后将750,000个BAL液细胞离心涂片到干净的载玻片上, 使用姬姆萨染色 (Giemsa staining) 进行分化细胞计数。

[0231] 离心BAL液以从上清液中分离细胞。使用标准细胞因子测定法分析上清液, 以识别具体的细胞标记物和/或细胞因子, 同时通过标准流式细胞术方法对细胞进行分析。将灌洗过的肺在固定液中放置48小时, 然后转移到70%乙醇中, 直到进行石蜡包埋, 用于对T细胞标记物 (例如CD3、CD4、CD8)、CD6、ALCAM和CD6的其他已知或潜在配体进行高碘酸-希夫氏 (Periodic acid-Schiff, PAS) 染色、苏木精和伊红 (hematoxylin and eosin) 染色、和/或免疫组化或免疫荧光染色。

[0232] 可以将上述各种实施方式组合以提供其他实施方式。所有在本说明书中引用的或任何申请数据表中列出的美国专利、美国专利申请出版物、美国专利申请、外国专利、外

国专利申请以及非专利出版物,均通过引用全部并入本文。如果需要采用各种专利、申请和出版物的概念来提供其他实施方式,则可以修改实施方式的各方面。

[0233] 可以根据以上详细描述对实施方式进行这些改变和其他改变。一般而言,在权利要求书中所用的术语不应解释为将权利要求限制在本说明书和权利要求书所公开的具体实施方式中,而应当解释为包括所有可能的实施方式,以及所述权利要求的保护范围的所有等同范围。因此,权利要求不受所公开内容的限制。

[0001] 序列表
 [0002] <110> 平衡生物科技股份有限公司
 [0003] 斯蒂芬·康纳利
 [0004] 切丽·NG
 [0005] <120> 用于治疗重度哮喘的抗CD6抗体
 [0006] <130> EQIL-006/01W0 330372-2026
 [0007] <150> US 62/636,092
 [0008] <151> 2018-02-27
 [0009] <160> 10
 [0010] <170> PatentIn version 3.5
 [0011] <210> 1
 [0012] <211> 119
 [0013] <212> PRT
 [0014] <213> Artificial Sequence
 [0015] <220>
 [0016] <223> Made in Lab - humanized T1h VH sequence
 [0017] <400> 1
 [0018] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 [0019] 1 5 10 15
 [0020] Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Lys Phe Ser Arg Tyr
 [0021] 20 25 30
 [0022] Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Val
 [0023] 35 40 45
 [0024] Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 [0025] 50 55 60
 [0026] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Val Lys Asn Thr Leu Tyr
 [0027] 65 70 75 80
 [0028] Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 [0029] 85 90 95
 [0030] Ala Arg Arg Asp Tyr Asp Leu Asp Tyr Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
 [0031] 100 105 110
 [0032] Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 [0033] 115
 [0034] <210> 2
 [0035] <211> 107
 [0036] <212> PRT
 [0037] <213> Artificial Sequence
 [0038] <220>

[0039]	<223> Made in Lab - humanized T1h VL sequence
[0040]	<400> 2
[0041]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0042]	1 5 10 15
[0043]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Ile Arg Ser Tyr
[0044]	20 25 30
[0045]	Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile
[0046]	35 40 45
[0047]	Tyr Tyr Ala Thr Ser Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0048]	50 55 60
[0049]	Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser
[0050]	65 70 75 80
[0051]	Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Gly Glu Ser Pro Phe
[0052]	85 90 95
[0053]	Thr Leu Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0054]	100 105
[0055]	<210> 3
[0056]	<211> 357
[0057]	<212> DNA
[0058]	<213> Artificial Sequence
[0059]	<220>
[0060]	<223> Made in Lab - humanized T1h VH nucleic acid sequence
[0061]	<400> 3
[0062]	gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60
[0063]	tcctgtgcag cctctggatt caagtttagt agatatgcca tgtcttgggt tcgccaggct 120
[0064]	ccggggaaga ggctggagtg ggtcgcaacc attagtagtg gtggtagtta catctactat 180
[0065]	ccagacagtg tgaagggtcg attcaccatc tccagagaca atgtcaagaa caccctgtat 240
[0066]	ctgcaaatga gcagtctgag gtctgaggac acggccatgt attactgtgc aagacgagat 300
[0067]	tacgacctgg actactttga ctcttggggc caaggcaccc ttgtcaccgt ctccctca 357
[0068]	<210> 4
[0069]	<211> 321
[0070]	<212> DNA
[0071]	<213> Artificial Sequence
[0072]	<220>
[0073]	<223> Made in Lab - humanized T1h VL nucleic acid sequence
[0074]	<400> 4
[0075]	gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat cgggtgggaga cagagtcact 60
[0076]	atcacttgca aggcgagtcg ggacattaga agctatttaa cctggtacca gcagaaacca 120
[0077]	gggaaagctc ctaagaccct gatctattat gcaacaagct tggcagatgg ggtcccgtcg 180

[0078] agattcagtg gcagtggatc tgggcaagat tattctctca ccatcagcag cctggagtct 240
 [0079] gacgatacag caacttacta ctgtctacaa catggtgaga gtccattcac gctcggctcg 300
 [0080] gggaccaagc tggaaatcaa a 321
 [0081] <210> 5
 [0082] <211> 10
 [0083] <212> PRT
 [0084] <213> Artificial Sequence
 [0085] <220>
 [0086] <223> Made in Lab - humanized T1h VH CDR1
 [0087] <400> 5
 [0088] Gly Phe Lys Phe Ser Arg Tyr Ala Met Ser
 [0089] 1 5 10
 [0090] <210> 6
 [0091] <211> 17
 [0092] <212> PRT
 [0093] <213> Artificial Sequence
 [0094] <220>
 [0095] <223> Made in Lab - humanized T1h VH CDR2
 [0096] <400> 6
 [0097] Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
 [0098] 1 5 10 15
 [0099] Gly
 [0100] <210> 7
 [0101] <211> 10
 [0102] <212> PRT
 [0103] <213> Artificial Sequence
 [0104] <220>
 [0105] <223> Made in Lab - humanized T1h VH CDR3
 [0106] <400> 7
 [0107] Arg Asp Tyr Asp Leu Asp Tyr Phe Asp Ser
 [0108] 1 5 10
 [0109] <210> 8
 [0110] <211> 11
 [0111] <212> PRT
 [0112] <213> Artificial Sequence
 [0113] <220>
 [0114] <223> Made in Lab - humanized T1h VL CDR1
 [0115] <400> 8
 [0116] Lys Ala Ser Arg Asp Ile Arg Ser Tyr Leu Thr

[0117]	1	5	10
[0118]	<210> 9		
[0119]	<211> 7		
[0120]	<212> PRT		
[0121]	<213> Artificial Sequence		
[0122]	<220>		
[0123]	<223> Made in Lab - humanized T1h VL CDR2		
[0124]	<400> 9		
[0125]	Tyr Ala Thr Ser Leu Ala Asp		
[0126]	1	5	
[0127]	<210> 10		
[0128]	<211> 7		
[0129]	<212> PRT		
[0130]	<213> Artificial Sequence		
[0131]	<220>		
[0132]	<223> Made in Lab - humanized T1h VL CDR3		
[0133]	<400> 10		
[0134]	Leu Gln His Gly Glu Ser Pro		
[0135]	1	5	

VH 序列: (SEQ ID NO: 3)

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAAGTTTAGTAGATATGCCATGTCTGGGTTCGCCAGGCT
CCGGGGAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTAGTTACATCTACTAT
CCAGACAGTGTGAAGGGTCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGTCAAGAACACCCTGTAT
CTGCAAATGAGCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGACGAGAT
TACGACCTGGACTACTTTGACTCCTGGGGCCAAGGCACCCTTGTCACCGTCTCCTCA

VK 序列: (SEQ ID NO: 4)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCGGTGGGAGACAGAGTCACT
ATCACTTGCAAGGCGAGTCGGGACATTAGAAGCTATTTAACCTGGTACCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCTCCTAAGACCCTGATCTATTATGCAACAAGCTTGGCAGATGGGGTCCCGTCG
AGATTCAGTGGCAGTGGATCTGGGCAAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTCT
GACGATACAGCAACTTACTACTGTCTACAACATGGTGAGAGTCCATTACGCTCGGCTCG
GGGACCAAGCTGGAAATCAAA

图1A

VH 序列: (SEQ ID NO: 1)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFKFSRYAMSWVRQAPGKRLEWVATISSGGSYIYY
PDSVKGRFTISRDNVKNLTLYLQMSSLRSEDAMYYCARRDYDLDFDSWGQGTLVTVSS

VK 序列: (SEQ ID NO: 2)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDIRSYLTWYQQKPGKAPKTLIIYYATSLADGVPS
RFGSGSGQDYSLTISSLESDDTATYYCLQHGESPFTLGSGTKLEIK

图1B

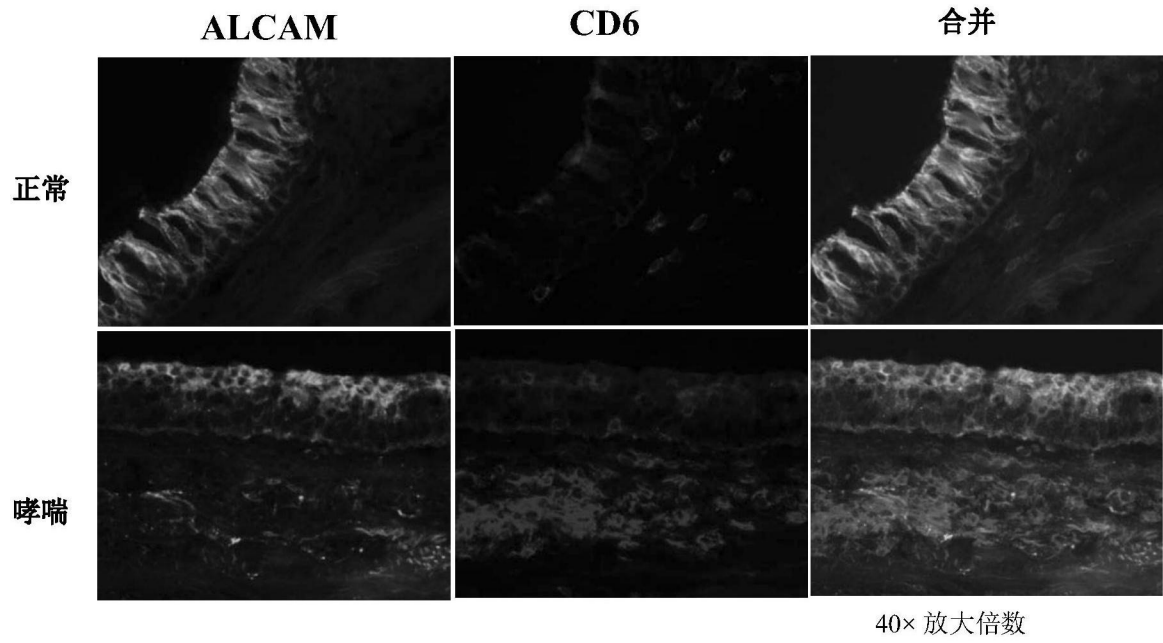


图2

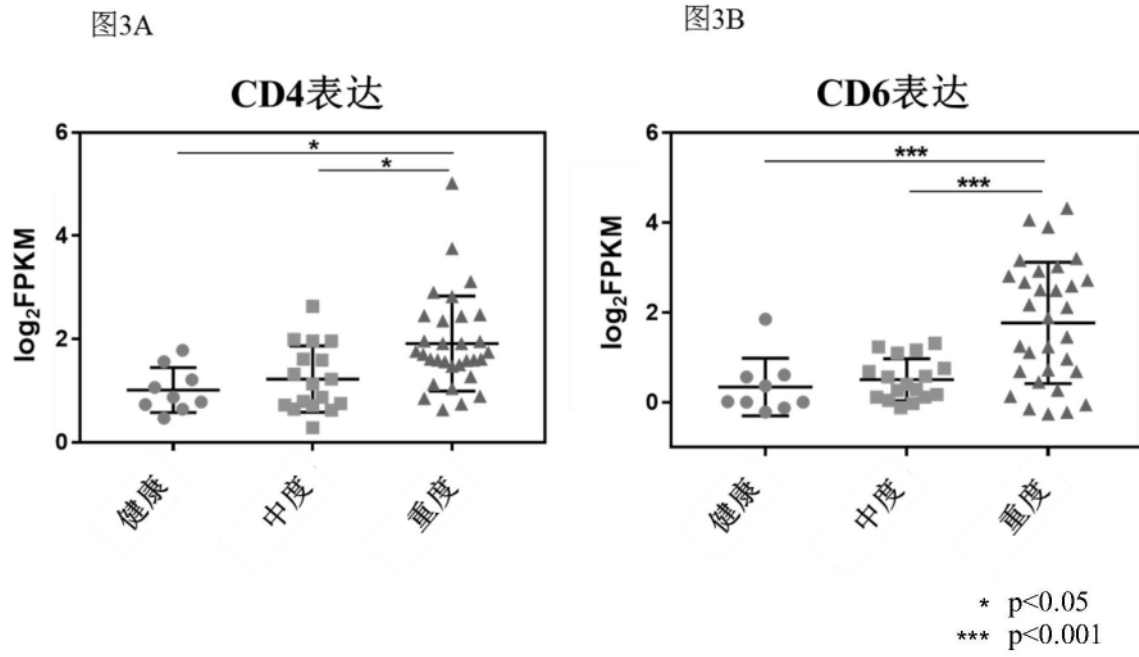


图3

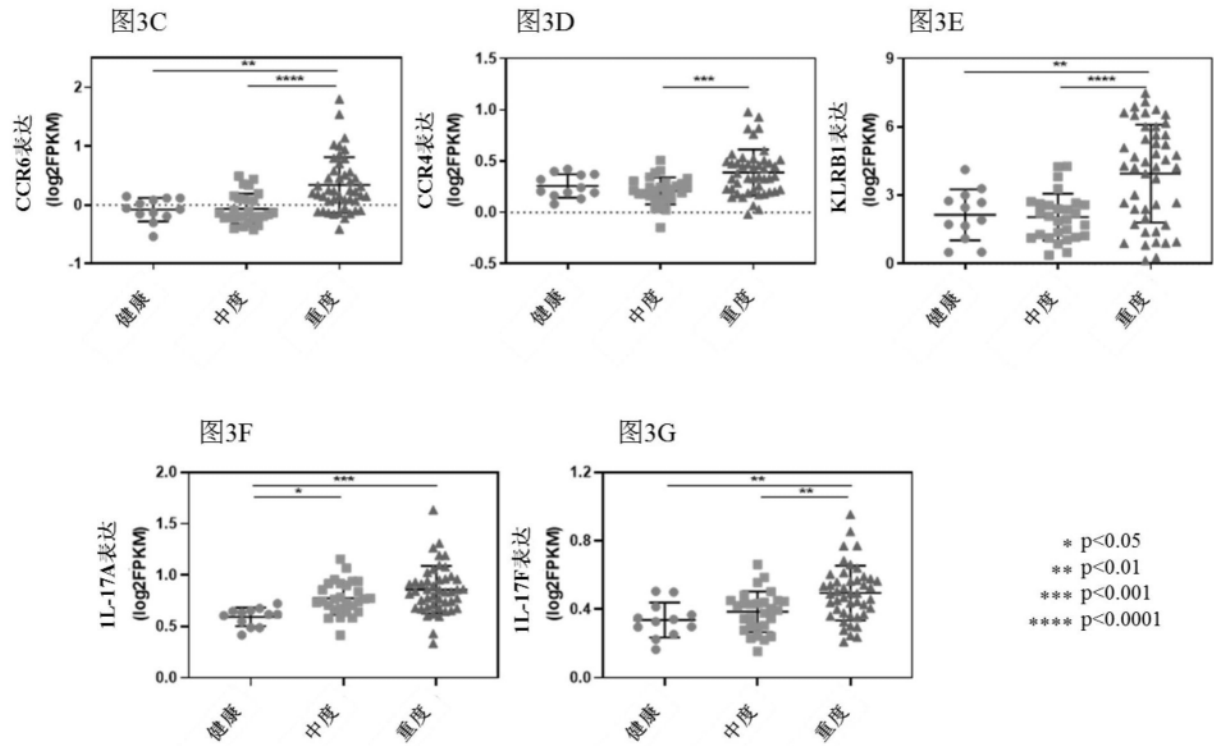


图3 (续)

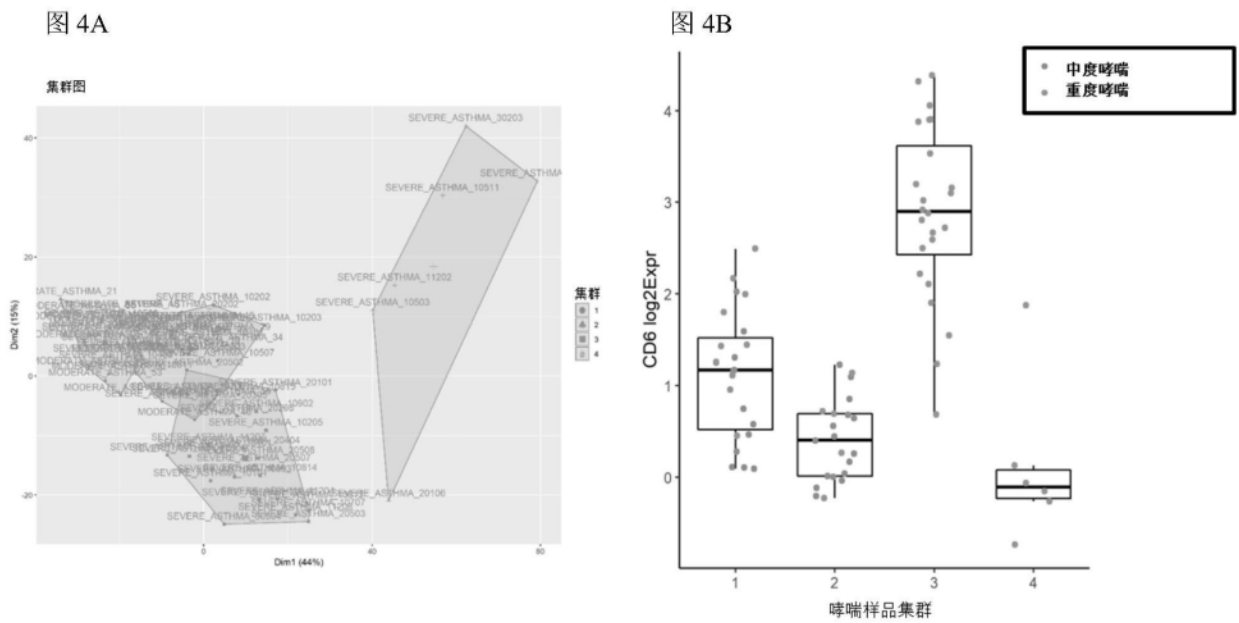


图4

图 5A

组#	组大小	组描述	疾病诱导	途径	剂量水平	剂量体积	剂量方案
1	N=5	天然	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2	N=10	溶媒 (PBS)	第 0 天和第 14 天通过腹腔内注射 OVA/明矾致敏，并在第 14 天、第 25-27 天用 OVA 的 PBS 溶液进行鼻内攻击。	IP	N/A	200ul	第 23 天、第 25 天和第 27 天
3	N=11	地塞米松		IP	10mg/kg	10ml/kg (200µl)	第 25 天、第 26 天和第 27 天
4	N=11	10D12		IP	60ug	200ul	第 23 天、第 25 天和第 27 天
5	N=11	10D12		IP	300ug	200ul	

图5

图 5B

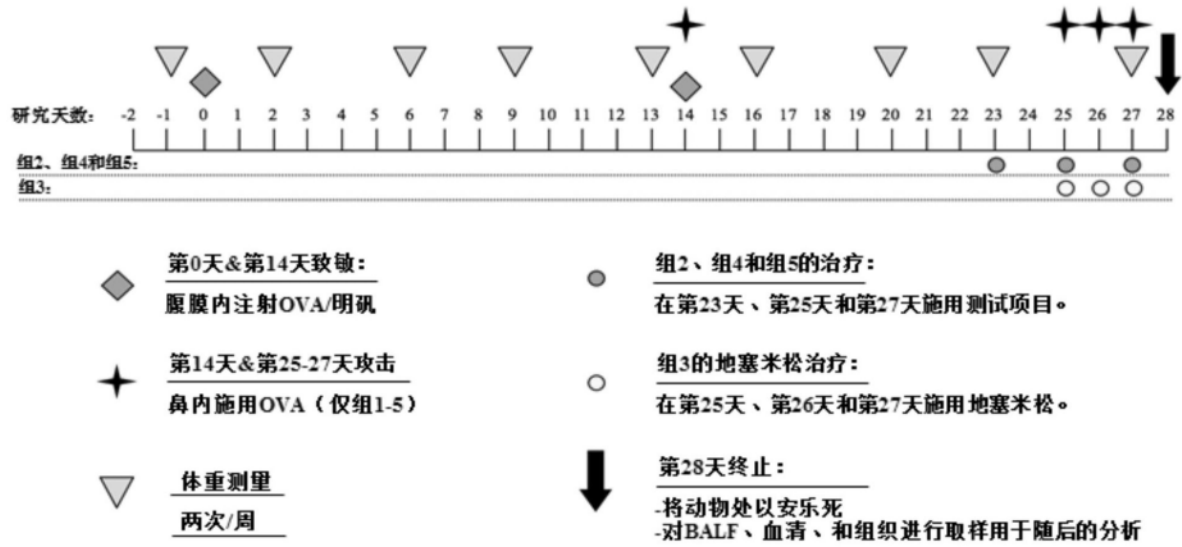


图 5C

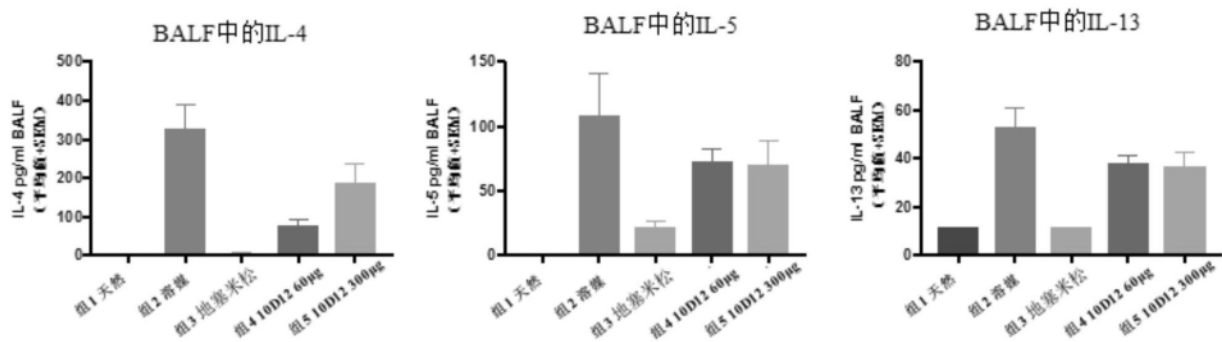


图5(续)

图 6A

组 #	组大小	组描述	疾病诱导	剂量途径	剂量水平	体积剂量	剂量方案
6	N=3	天然	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
7	N=9	溶媒对照	第 0 天和第 14 天通过腹腔内注射 OVA/明矾致敏	IP	N/A	200ul	第-2 天、第 1 天、第 4 天、第 7 天、第 10 天、第 13 天和第 16 天
8	N=9	CTLA-4-Ig		IP	300ug	200ul	
9	N=9	10D12		IP	60ug	200ul	
10	N=9	10D12		IP	300ug	200ul	

图6

图 6B

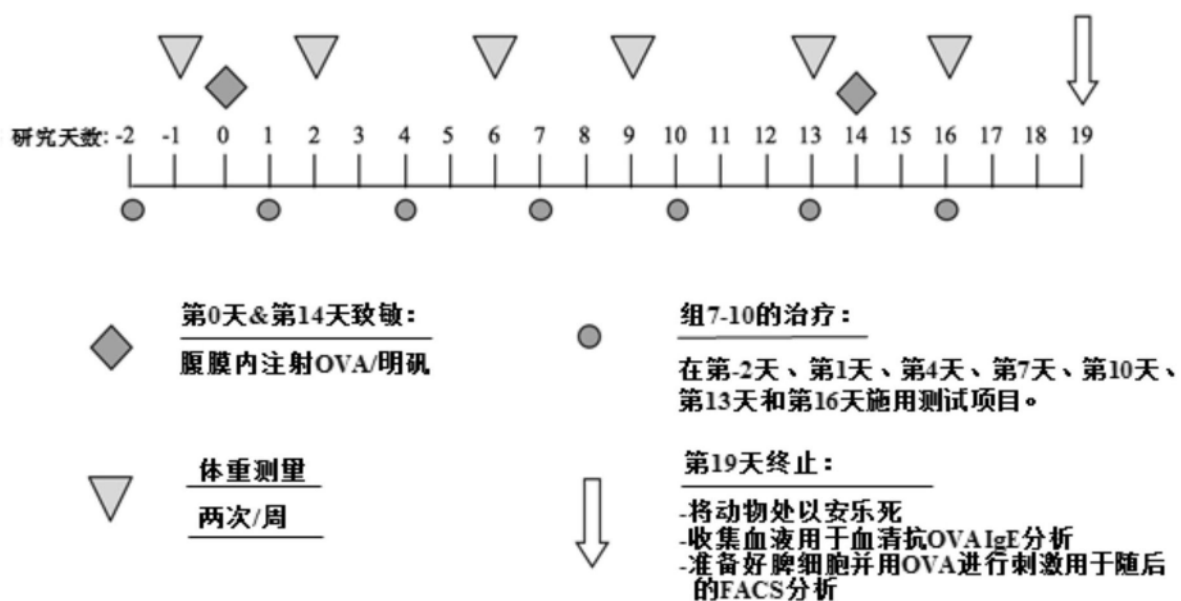


图 6C

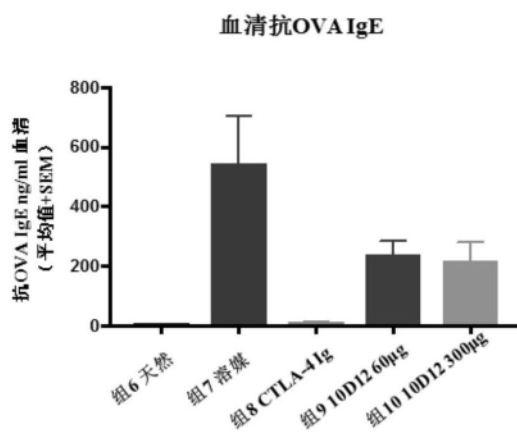
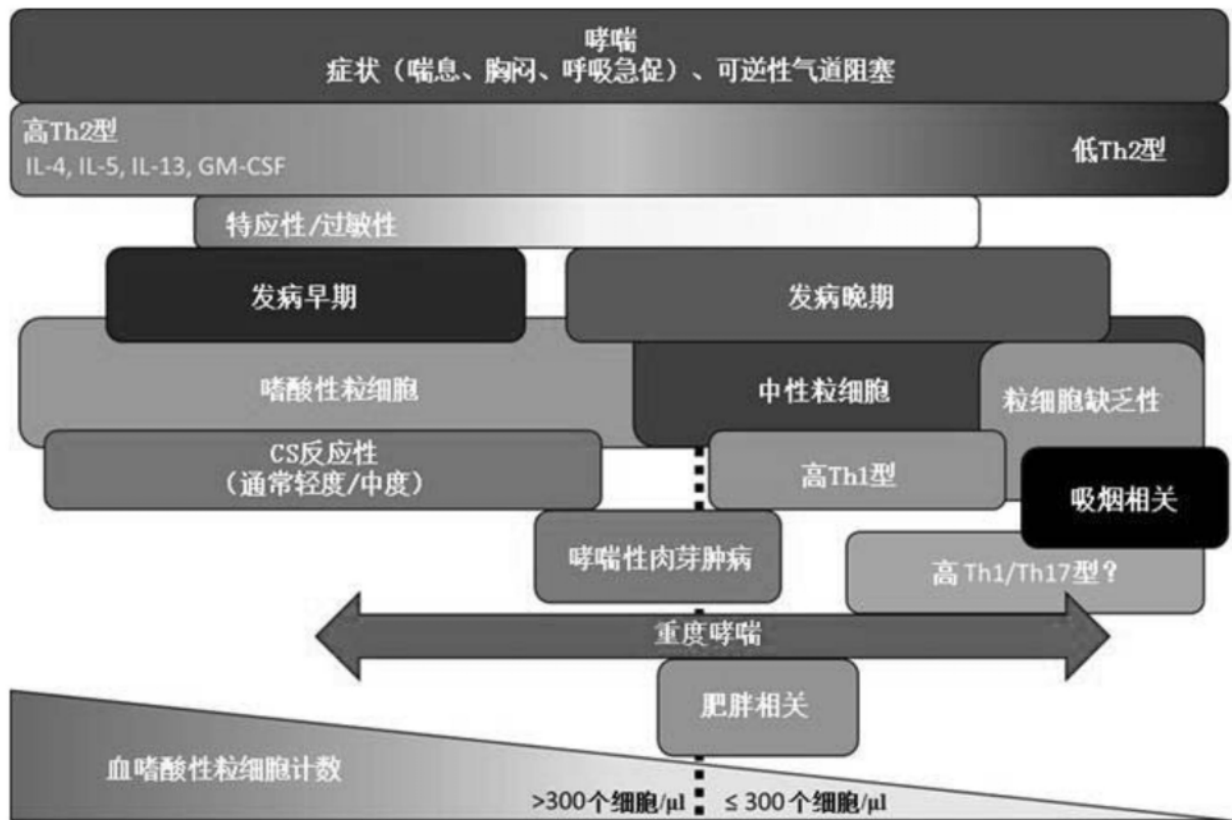


图6(续)



图片改编自 Gauthier *et al.*, Am J Respir Crit Care Med. 2015 Sep 15; 192(6): 660–668, 其内容通过引用全部并入。

图7