



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112969711 B

(45) 授权公告日 2024.12.17

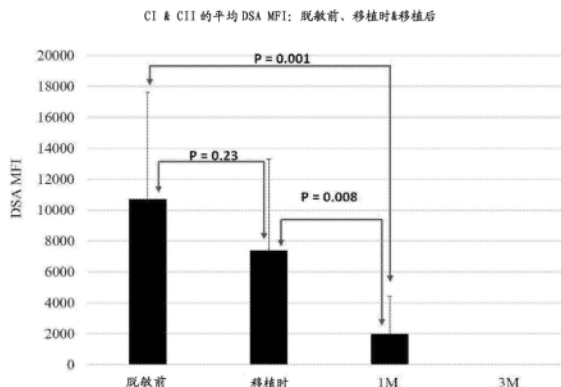
(21) 申请号 201980073394.4  
 (22) 申请日 2019.11.08  
 (65) 同一申请的已公布的文献号  
 申请公布号 CN 112969711 A  
 (43) 申请公布日 2021.06.15  
 (30) 优先权数据  
 62/757,676 2018.11.08 US  
 62/855,988 2019.06.01 US  
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日  
 2021.05.07  
 (86) PCT国际申请的申请数据  
 PCT/US2019/060622 2019.11.08  
 (87) PCT国际申请的公布数据  
 W02020/097566 EN 2020.05.14  
 (73) 专利权人 西达赛奈医疗中心  
 地址 美国加利福尼亚  
 (72) 发明人 S·C·乔丹 A·沃 N·阿默曼  
 J·崔  
 (74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所  
 有限公司 11038  
 专利代理师 张小勇

(51) Int.Cl.  
 C07K 16/24 (2006.01)  
 C07K 16/28 (2006.01)  
 (56) 对比文件  
 US 2010150829 A1,2010.06.17  
 Choi et al..Assessment of tocilizumab  
 (anti-interleukin-6 receptor monoclonal)  
 as a potential treatment for chronic  
 antibody-mediated rejection and  
 transplant glomerulopathy in HLA-  
 sensitized renal allograft recipients.  
 《American journal of transplantation》  
 .2017,第17卷(第9期),第2381-2389页。  
 Vo et al..A Phase I/II trial of the  
 interleukin-6 receptor specific humanized  
 monoclonal (Tocilizumab) + intravenous  
 immunoglobulin in difficult to  
 desensitize patients.《Transplantation》  
 .2015,第99卷(第11期),第2356-2363页。  
 审查员 柳一夫

权利要求书2页 说明书26页  
 序列表5页 附图22页

(54) 发明名称  
 使用克拉扎珠单抗脱敏和改善HLA致敏患者  
 中的肾脏移植

(57) 摘要  
 本发明提供了使需要器官移植的患者脱敏  
 的方法。等待不相容的肾脏移植的人白细胞抗原  
 致敏的患者已用克拉扎珠单抗治疗以显示出降  
 低或消除的供体特异性抗体水平以及改善的移  
 植率。本发明提供了克拉扎珠单抗和变体以用于  
 该方法的各种实施方案中。在一些实施方案中，  
 克拉扎珠单抗或其变体与静脉内免疫球蛋白同  
 时或顺序施用。



1. 克拉扎珠单抗在制备药物中的用途, 所述药物用于减少和/或消除人白细胞抗原 (HLA) 致敏的受试者中的供体特异性抗体 (DSA) 的方法, 其中所述药物包含克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的白介素6 (IL-6) 结合片段, 其具有包含分别如SEQ ID NO:1、2或3和4中所示的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别如SEQ ID NO:5、6和7中所示的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽; 和一种或多种药学上可接受的赋形剂,

其中所述受试者需要实体器官移植, 并且其中所述实体器官是肾脏。

2. 权利要求1的用途, 其中在实体器官移植之前施用克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段。

3. 权利要求1的用途, 其中在实体器官移植之后和/或在实体器官移植期间施用克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段。

4. 权利要求1的用途, 其中在实体器官移植之前和之后施用克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段。

5. 权利要求1的用途, 其中所述受试者进一步被施用包括静脉内免疫球蛋白 (IVIG) 施用、利妥昔单抗施用、血浆去除术或它们的组合的护理标准治疗。

6. 权利要求5的用途, 其中所述护理标准治疗在克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段之前施用。

7. 权利要求1的用途, 其中克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段是皮下或静脉内施用的。

8. 权利要求1的用途, 其中以0.1-1mg/月、1-5mg/月、5-10mg/月、10-20mg/月、20-30mg/月或30-40mg/月的平均剂量皮下施用克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段持续至少一个月到多至18个月。

9. 权利要求1的用途, 其中以每月间隔施用多个剂量的克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段持续1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月或12个月。

10. 权利要求1的用途, 其中以10-30mg/次的平均剂量将克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段在实体器官移植之前皮下施用1、2、3、4、5或6次, 和在实体器官移植后之皮下施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12次。

11. 权利要求1的用途, 其中所述受试者是人。

12. 权利要求1的用途, 其中所述受试者进一步被施用一种或多种抗感染剂。

13. 权利要求12的用途, 其中所述一种或多种抗感染剂与所述实体器官移植一起施用或在所述实体器官移植之后施用。

14. 权利要求12的用途, 其中所述抗感染剂包括更昔洛韦、缬更昔洛韦、氟康唑、甲氧苄啶、磺胺甲噁唑或其组合。

15. 权利要求1的用途, 其中所述受试者进一步被施用包括静脉内免疫球蛋白 (IVIG) 施用、利妥昔单抗施用、血浆去除术或它们的组合的护理标准治疗; 抗感染剂; 或护理标准治疗和抗感染剂的组合。

16. 权利要求1的用途, 其中所述减少和/或消除进一步包括选择具有50%或更多的计算的群体反应性抗体 (cPRA) 的人受试者, 或进行群体反应性抗体测定并确定具有50%或更

多的cPRA的人受试者。

17. 权利要求1的用途,其中在实体器官移植之后,所述受试者未显示出发生实体器官移植的抗体介导的排斥的可检测到的证据、未显示出发生病毒感染的可检测到的证据或两者。

18. 权利要求1的用途,其中在实体器官移植之后,所述受试者进一步被施用包含阿仑珠单抗、抗胸腺细胞球蛋白或两者的抗体诱导疗法;被施用包含他克莫司、霉酚酸酯、泼尼松或其组合的免疫抑制疗法;或被施用抗体诱导疗法和免疫抑制疗法。

19. 权利要求1的用途,其中需要实体器官移植的受试者经历了实体器官移植,并且所述减少和/或消除进一步包括对所述受试者进行一次或多次免疫监测,包括测定受试者的血液样品以定量包括CRP、Treg、Tfh、Th17、B细胞、IL-6、浆细胞、浆母细胞IgG或其组合的标志物的水平。

20. 权利要求19的用途,当所述免疫监测表明基于与在实体器官移植时或之前进行的基线测量值相比所述标志物的一个或多个降低的水平或基于与从先前的免疫监测所获得的水平相比一个或多个降低的水平的改善时,克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段的进一步施用被停止或限制至不超过另外的6个月;当所述免疫监测表明基于与基线测量值或与从先前的免疫监测所获得的水平相比所述标志物的可比较或增加的水平性能不佳时,施用一个或多个剂量的克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段。

21. 权利要求1的用途,其中需要实体器官移植的受试者经历了实体器官移植,并且所述减少和/或消除进一步包括在实体器官移植之后测量肾小球滤过率、DSA或两者的量。

22. 权利要求21的用途,当肾小球滤过率、DSA或两者的量与在实体器官移植时或之前测量的基线水平相比是相似或降低时,所述受试者的克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段的进一步施用被停止或限制至不超过另外的6个月;当肾小球滤过率、DSA或两者的量高于基线水平时,所述受试者被施用一个或多个剂量的克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段。

## 使用克拉扎珠单抗脱敏和改善HLA致敏患者中的肾脏移植

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35U.S.C.§119(e)要求于2018年11月8日提交的美国临时专利申请号62/757,676和于2019年6月1日提交的美国临时专利申请号62/855,988的优先权,其全部内容通过引用并入本文。

### 发明领域

[0003] 本发明涉及用于脱敏和改善致敏患者中的器官移植的疗法和治疗方法。

[0004] 背景

[0005] 本文的所有出版物都以相同的程度通过引用并入,就好像每个单独的出版物或专利申请被具体地和单独地表明通过引用并入一样。以下描述包括在理解本发明中可能有用的信息。不承认本文提供的任何信息是现有技术或与本发明所保护的发明有关,或不承认明确或隐含引用的任何出版物是现有技术。

[0006] 肾同种异体移植物的加速衰退的原因是多因素的。最新数据表明,长期存在的认为钙调神经磷酸酶抑制剂(CNI)毒性是大多数慢性同种异体移植失败的主要原因的观点得到反转。现在,已经认识到,同种免疫反应是大多数肾脏同种异体移植失败(其在美国每年总计发生5,000次)的原因。与同种异体移植失败相关的成本对医疗保健系统构成了可观的财务负担,同时降低了那些受影响的人的寿命长度和质量。同种异体移植失败后返回移植名单的患者现在代表了美国的新患者名单的第四大类别。这些患者代表了移植中心的主要问题,因为它们是高度人白细胞抗原(HLA)致敏的,因此在没有明显的脱敏的情况下不太可能接受另一次移植。目前,在此类别中没有美国FDA批准的药物。开发降低同种异体致敏性并提高移植率的新疗法非常重要。今天,这代表了移植医学的最重要目标之一。

[0007] HLA分子是多态性的。每个HLA分子表达一个或多个多态性私有表位以及代表多于一个HLA分子共有的表位的许多公共决定簇。在先前的移植、输血或怀孕后进行免疫可导致HLA特异性抗体的发展。免疫遗传学实验室的一项重要职责是鉴定和分析在移植之前或之后在患者血清中存在的HLA特异性抗体。对同种抗体特异性的了解可以帮助预测找到交叉匹配相容的供体的可能性,以避免与携带用于对患者致敏的HLA抗原的供体进行移植,以选择最佳的交叉匹配方法和/或以通过排除临床上不相关的抗体避免与供体的假阳性交叉匹配。

[0008] 针对HLA抗原的抗体对同种异体移植损伤和损失的介导有很强的影响,并且对于全球范围内在肾脏移植名单上的成千上万的患者来说,仍然是成功移植的持久且通常不可逾越的障碍。预先形成的或从头合成的供体特异性抗体(DSA)激活补体,诱导内皮细胞增殖并介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC),其使受体高度HLA致敏的,遭受对同种异体移植物的持续的免疫攻击,并导致间质纤维化、肾小管萎缩(IF/TA)以及同种异体移植功能障碍和损失的进展。恢复透析的患者几乎没有接受后续移植的希望,并且透析时往往面临更高的死亡风险。还已知DSA加速同种异体移植物中的动脉粥样硬化,从而加速肾脏的血管死亡。

[0009] 为了增加致敏患者中的肾脏移植率,已经出现了用于HLA脱敏的新方案。这些方法

需要应用静脉内免疫球蛋白 (IVIG)、利妥昔单抗和血浆置换(血浆去除术, PLEX)。对开发新的比较便宜并且更方便用于改善移植中的抗体减少的免疫调节药物的兴趣与日俱增。

[0010] 现有的与IVIG相关的疗法主要有两种脱敏方案,即具有血浆置换的小剂量静脉内免疫球蛋白 (IVIG/PLEX) 和大剂量IVIG (HD-IVIG)。IVIG/PLEX已成功用于ABO不相容和阳性交叉匹配(+CMX)的活供体肾脏移植,而HD-IVIG已用于使活供体+CMX和在候补名单上的高度HLA致敏的死亡的供体(HS-DD)受体脱敏。多次给药方案中的HD-IVIG(2g/kg)被认为是用于脱敏的合理方法。B细胞耗竭剂利妥昔单抗通常与HD-IVIG和IVIG/PLEX方案结合使用。IVIG/利妥昔单抗方案中的利妥昔单抗被显示能够修饰同种异体反应性B细胞并防止DSA反弹。

[0011] 现有的脱敏方案的主要问题是当测试血清中存在IVIG和利妥昔单抗时CMX和DSA结果的解释。以2gm/kg的剂量(最大140克)给予的IVIG可能会干扰DSA的LUMINEX测试,从而产生假阳性结果。从理论上讲,这可以通过在IVIG施用后至少等待1个月以进行LUMINEX单抗原珠(LSA)测试来避免,因为IVIG的半衰期为30-40天。利妥昔单抗不会干扰LSA测试平台,但确实给出“假阳性”CDC+和流式细胞术交叉匹配(FCMX)阳性的B细胞交叉匹配,其可能被错误地解释为是由于DSA引起的。在FCMX和CDC测试之前,B细胞的链霉蛋白酶处理通常降低利妥昔单抗的效果,但这并不总是可靠的。

[0012] 同种异体抗体是获得拯救生命的器官移植物并使其成功的主要妨碍物。尽管在脱敏化方面取得了进步,但是设计用于去除病原性抗-HLA抗体的高效和起作用的方法仍然是重大的医学挑战。现有的脱敏方案存在许多明显的缺陷。例如,现有的疗法未能在移植前基本上完全去除DSA导致急性排斥反应的风险。还存在伴随着同种异体移植物的急性和慢性损伤的移植后反弹DSA形成的风险。而且,现有的一些方案(尤其是利用补体抑制剂来预防慢性抗体介导的排斥反应(cABMR)的那些方案)仍然无法实现理想的结果。因此,存在将减少或消除预先存在的HLA抗体的能力提高到允许患者接受挽救生命的器官移植的水平尚未得到满足的医疗需求。

[0013] 因此,本发明的目的是提供一种组合物,其与脱敏的现有标准治疗结合使用、改善脱敏的现有标准治疗或替代脱敏的现有标准治疗,以提高HLA致敏受试者的实体器官移植率。

[0014] 发明概述

[0015] 本发明结合旨在是示例性和举例说明性的而非限制范围的组合物和方法来描述和举例说明以下实施方案及其方面。

[0016] 本发明提供了用于在人白细胞抗原(HLA)致敏的人受试者中减少供体特异性抗体和/或脱敏的方法。该方法包括给受试者施用有效量的克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽的多肽;其中受试者需要或已经经历实体器官移植。各种实施方案提供的受试者是人。

[0017] 在一个实施方案中,在移植之前施用克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本文公开的多肽。在另一个实施方案中,在移植后施用克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽。另一个实施方案提供了在移植之前和之后施用克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽。

[0018] 所公开的方法的一些实施方案提供了除了克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本文公开的多肽的施用以外,还施用护理标准治疗,包括静脉内免疫球蛋白(IVIG)施用、利妥昔单抗施用、血浆去除术或它们的组合。一方面,护理标准治疗是在克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽之前施用的。在另一个方面,护理标准治疗是与克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽同时施用的或在其之后施用。

[0019] 一个实施方案提供了用于使等待肾脏移植的HLA致敏的人患者脱敏的方法,其中该方法包括施用有效量的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本文公开的多肽。另一个实施方案提供了用于使等待肾脏移植的HLA致敏的人患者脱敏的方法,包括施用有效量的(1)克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本文公开的多肽,(2)护理标准治疗,例如IVIG、血浆去除术、利妥昔单抗或其组合,以及任选地(3)抗感染剂。

[0020] 其他实施方案提供了一种或多种方法用于使HLA致敏的人患者脱敏以进行其他实体器官移植(包括心脏、肝脏、肺、胰腺或肠)。

[0021] 在一个实施方案中,以约1-5、5-10、10-20或20-30mg/次的平均剂量在移植前皮下施用克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽1次、2次、3次、4次、5次或6次以及在移植后施用4次、5次、6次、7次、8次、9次、10次、11次或12次,其中受试者在治疗后与治疗前相比具有减少的供体特异性抗体的量。各个方面提供了移植后以约每月的间隔施用克拉扎珠单抗、其抗原结合片段或本文公开的多肽。一个实施方案提供了在移植前向受试者施用一个剂量的克拉扎珠单抗、IVIG和血浆去除术,随后在移植后施用六个剂量的或12个剂量的克拉扎珠单抗。各种实施方案提供的所公开的方法包括向HLA致敏的并且需要或已经历肾脏移植的人受试者施用克拉扎珠单抗、其抗原结合片段或本文公开的多肽,其中该受试者的肌酐水平在治疗后与治疗前相比降低,不存在或没有可检测到的存在的供体特异性抗体,和/或受试者没有发展抗体介导的排斥反应的可检测到的症状或证据(例如,没有通过血清肌酐和估计的肾小球滤过率测量的同种异体移植物功能的退化;没有毛细血管炎、炎症或补体(C4d)沉积的可检测的证据)。该实施方案的另一个方面提供了在施用克拉扎珠单抗、其抗原结合片段或本文公开的多肽的同时或之后,将受试者的肌酐水平降低并维持在降低的水平持续1、2、3、4、5个月或更长时间。

[0022] 本发明还提供了用于向HLA致敏的受试者施用以使受试者脱敏并提高移植率的药物组合物。药物组合物包含克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本文公开的多肽,以及药学上可接受的赋形剂,例如氨基酸、山梨糖醇和稀释剂。

[0023] 各种实施方案提供了克拉扎珠单抗在HLA致敏且正在等待不相容的肾脏移植的患者中的使用,其中减少或消除了DSA、补体依赖性细胞毒性(CDC)和/或抗体依赖性细胞毒性(ADCC)(例如,DSA从血清中减少或消除)。在一些实施方案中,接受克拉扎珠单抗治疗的患者适合于移植而具有较小可能性的抗体反应。

[0024] 一些方面提供的一种或多种公开的方法还包括选择HLA致敏的并等待不相容的死亡的供体(DD)或活供体(LD)肾脏移植的哺乳动物(例如人)患者。

[0025] 通过以下详细描述结合附图,本发明的其他特征和优点将变得明显,所述附图以示例的方式示出了本发明的实施方案的各种特征。

[0026] 附图的简要说明

[0027] 在附图中示出了示例性实施方案。旨在将本文公开的实施方案和附图视为举例说明性而非限制性的。

[0028] 图1描绘了受试者“ClazaDES01”在研究中的DSA谱,该受试者是50岁的非洲裔美国女性,其具有活检证实的局灶性节段性肾小球硬化症(FSGS)继发的终末期肾病(ESRD)的病史且自2008年11月以来一直接受透析(即对于B+血型的约10年的等待时间),其具有58%的计算出的群体反应性抗体(cPRA)。患者的致敏事件包括妊娠×4和输血。

[0029] 图2描绘了受试者“ClazaDES05”在移植之前和之后的DSA谱。(中值荧光强度, MFI)。受试者“ClazaDES05”是36岁的女性,具有IgA肾病继发的ESRD的病史,并且她自2008年6月以来一直接受透析(即对于A+血型的约10年的等待时间),具有100%的cPRA。患者的致敏事件包括先前的移植和输血。受试者“ClazaDES05”在4个剂量的克拉扎珠单抗后接受已故供体肾脏移植。患者在移植之前和之后进行了2次DSA(I类和II类)。I类的DSA强度从移植时的MFI>12,500降低到移植后10天的MFI=0,II类的DSA强度从移植时的MFI>17,500降低到移植后10天的MFI>3250。根据研究方案,患者在移植后连续6个月每月接受克拉扎珠单抗。

[0030] 图3A描绘了克拉扎珠单抗脱敏研究中的总C反应蛋白量。总体而言,到第2个月,C反应蛋白(CRP)从基线降低到几乎为零。括号中标出了每个时间点的在分析中包含的受试者数量。

[0031] 图3B描绘了从基线到第7个月在克拉扎珠单抗脱敏研究中个体C反应蛋白量。

[0032] 图4描绘了从血浆去除术(PLEX)之前(pre-PLEX)到第5个剂量的克拉扎珠单抗(N=9)随时间推移的MFI总数。通常,MFI倾向于在完成PLEX/IVIG之后约1-3个月反弹。在这里,在每月克拉扎珠单抗注射的情况下,与pre-PLEX相比,MFI总数随着时间推移保持减少。迄今为止,已有3例患者进行了移植。在第1个剂量的克拉扎珠单抗移植后,将ClazaDES01和ClazaDES03患者进行移植。在第4个剂量的克拉扎珠单抗注射后,患者ClazaDES05接受了移植。

[0033] 图5是在肾脏移植之前使HLA致敏的患者脱敏的示例性方法的示意图。在研究期间的选定时间点,患者将接受多达6个剂量的克拉扎珠单抗,同时监测抗HLA抗体(DSA水平)、Treg细胞和浆母细胞。例如,在所有时间点(包括第0天,第7天除外)收集DSA水平。在所有时间点(包括基线(-15天),除了第0天)收集C反应蛋白(CRP)和定量免疫球蛋白(QIG)的量。此外,在基线(-15天)和第180天收集以下:CD4+/CD25+/Fox P3+/CD127低的细胞数(Treg); Th17+细胞数;和CD19+/CD38+/CD27+/IL-6+(浆母细胞)。对于在移植前180天之前未进行移植的受试者,将进行专门的测试。对于在移植前180天之前接受移植的受试者,将在移植的第0天进行专门测试。标准方案的维持包括他克莫司、霉酚酸酯和类固醇。

[0034] 图6是用于移植后预防和/或治疗以减少供体特异性抗体的示例性方法的示意图。在如图5所示的移植前治疗之后的一个方面,在移植后施用IVIG和克拉扎珠单抗(移植日在图6中表示为第0天)。在第0、90和180天监测DSA水平;在接受第二轮给药的患者中还在第270天进行了监测。在第0、30、60、90、120、150和180天收集CRP和QIG的水平;在接受第二轮给药的患者中还在第240和300天进行了收集。移植后第180天(约6个月),收集了以下水平:CD4+/CD25+/Fox P3+/CD127低的细胞数(Tregs); Th17+细胞数;和CD19+/CD38+/CD27+/IL-6+(浆母细胞)。在第30、90、180天进行病毒PCT测试(针对巨细胞病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、

多瘤病毒、BK病毒、JC病毒和细小病毒B19)；如果患者接受第二轮给药,还在第270、330天进行了测试。标准方案的维持包括他克莫司、霉酚酸酯和类固醇。“增加的计划”包括如果患者表现出在a)6M方案活检Banff 2015读数;b)肾小球滤过率(GFR);c)DSA中的稳定或改善,则患者应每月继续接受另外6个剂量的克拉扎珠单抗(约在180、210、240、270、300和330天)。

[0035] 图7描绘了实施例中研究的患者“ClazaDES03”的治疗时间线及其从治疗前到治疗后的肌酐水平(mg/dL)。

[0036] 图8显示了在患者“ClazaDES03”移植后约2个月的肾脏移植活检(包括肾小管损伤、动脉硬化和非常局灶性肾小管炎)。

[0037] 图9显示了在患者“ClazaDES03”移植后约6个月的肾脏移植活检(包括急性肾小管坏死、罕见的等距泡和轻度肾小管间质发炎)。

[0038] 图10A和10B分别描绘了脱敏前和移植后(post-Tx)的I/II类流动群体抗体测试(flow-PRA)。

[0039] 图11描绘了对于接受克拉扎珠单抗的受试者DES03,在脱敏前和在移植后约6-12个月的最后一次随访(F/U)时,各种标志物的HLA I类和II类抗体以及总量。移植时和移植后均未检测到DSA。

[0040] 图12A-12C描绘了已接受克拉扎珠单抗的受试者DES05在脱敏前和移植后各种标志物的HLA I类和II类抗体以及总量。

[0041] 图13A-13C描绘了已接受克拉扎珠单抗的受试者DES07在脱敏前和移植后各种标志物的HLA I类和II类抗体以及总量。

[0042] 图14描绘了受试者DES02(未移植)在脱敏前和克拉扎珠单抗后各种标志物的HLA I类和II类抗体以及总量。

[0043] 图15描绘了受试者DES09(未移植)在脱敏前和克拉扎珠单抗后各种标志物的HLA I类和II类抗体以及总量。

[0044] 图16描绘了所有研究患者在克拉扎珠单抗之前和之后的HLA I类和II类抗体(N=10)。

[0045] 图17A-17C描绘了移植的患者(N=8)在克拉扎珠单抗之前和之后的HLA I类抗体(图17A)、II类抗体(图17B)(图17C中组合比较)。

[0046] 图18描绘了对于I类和II类的个体患者的DSA:脱敏前、移植时和移植后(N=8)。

[0047] 图19描绘了对于I类和II类的平均DSA MFI:脱敏前、移植时和移植后。

[0048] 发明概述

[0049] 本文中引用的所有参考文献均如同完全示出通过引用整体并入本文。除非另有定义,否则本文所使用的技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。Singleton等人,Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3<sup>rd</sup> ed.,Revised,J.Wiley&Sons(New York,NY 2006);March,Advanced Organic Chemistry Reactions,Mechanisms and Structure 7<sup>th</sup> ed.,J.Wiley&Sons(New York,NY 2013);和 Sambrook and Russel,Molecular Cloning:A Laboratory Manual 4<sup>th</sup> ed.,Cold Spring Harbor Laboratory Press(Cold Spring Harbor,NY 2012)向本领域技术人员提供了本申请中使用的许多术语的一般指南。有关如何制备抗体的参考,参见D.Lane, Antibodies:A Laboratory Manual 2<sup>nd</sup> ed.(Cold Spring Harbor Press,Cold Spring

Harbor NY, 2013); Kohler and Milstein, (1976) Eur. J. Immunol. 6:511; Queen等人 U.S. Patent No. 5,585,089; 和 Riechmann等人, Nature 332:323 (1988); U.S. Pat. No. 4,946,778; Bird, Science 242:423-42 (1988); Huston等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988); Ward等人, Nature 334:544-54 (1989); Tomlinson I. and Holliger P. (2000) Methods Enzymol, 326, 461-479; Holliger P. (2005) Nat. Biotechnol. Sep; 23(9): 1126-36)。

[0050] 本领域的技术人员将认识到可以与本发明中描述的方法或材料相似或等同的许多方法和材料,其可以用于本发明的实践中。实际上,本发明决不限于所描述的方法和材料。为了本发明的目的,以下术语定义如下。

[0051] 术语“移植率”通常是指一年中在等待名单中的每100个患者中接受移植的患者数。在一些方面,它是计划等待名单上的患者接受移植的速率的度量。为了更容易地比较数字,在一些方面,比率被给出为“每100个患者-年”,这意味着该比率被标准化至一年中在名单上的100个患者。例如,每100个患者-年的5个的移植率意味着一年中名单上每100个患者中有5个进行移植。由于这是标准化的比率,因此该数字可能包含小数,例如每100个患者-年的5.1个。这意味着一年中名单上每100个患者中有略超过5个患者接受移植。

[0052] 阳性交叉匹配(+CMX)表明潜在受体的血清中存在供体特异性同种异体抗体(DSA),并且通常与超过80%的移植物丢失率相关。

[0053] 实施例的研究中的“HLA致敏(HS)患者”指的是在器官共有联合网络(UNOS)等待名单上等待肾脏移植的患者,其计算的群体反应性抗体(cPRA)或可能的交叉匹配不相容供体的百分比是 $\geq 50\%$ ,其在各种实施方案中还具有使用LUMINEX珠技术可证实的DSA和致敏事件的历史(例如,先前的移植、输血和/或怀孕)。HLA特异性抗体的存在可以通过测试患者血清中来自一组HLA型供体的细胞或附着在固相支持物上的可溶性HLA抗原来确定。通常,HLA致敏的患者是指cPRA不小于10%、20%、30%、40%或50%的患者。

[0054] “受试者”是指人或动物。通常,动物是脊椎动物,例如灵长类动物、啮齿动物、家畜或野生动物。灵长类动物包括黑猩猩、食蟹猴、蜘蛛猴和猕猴,例如恒河猴。啮齿动物包括小鼠、大鼠、土拨鼠、雪貂、兔子和仓鼠。家畜和野生动物包括牛、马、猪、鹿、野牛、水牛、猫科动物(例如家猫)和犬科物种(例如狗、狐狸、狼)。术语“患者”、“个体”和“受试者”在本文可互换使用。在一个实施方案中,受试者是哺乳动物。哺乳动物可以是人、非人的灵长类动物、小鼠、大鼠、狗、猫、马或牛,但不限于这些例子。另外,本文描述的方法可以用于治疗家养的动物和/或宠物。

[0055] 术语“治疗”、“医治”、“疗治”或“缓解”是指治疗性治疗,其中目的是逆转、减轻、改善、抑制、减慢或停止与疾病或病症有关的病况的进展或严重程度。术语“治疗”包括减轻或缓解病况、疾病或病症的至少一种不利影响或症状,例如由于癌症恶病质而导致的体重减轻或肌肉损失。如果减轻一种或多种症状或临床标志,治疗通常是“有效的”。或者,如果疾病的进展减少或停止,则治疗是“有效的”。即“治疗”不仅包括症状或标志的改善,而且包括症状的进展或恶化(在没有治疗的情况下会预期发生的)的停止或至少减慢。有益或理想的临床结果包括但不限于减轻一种或多种症状,疾病程度的减轻,疾病状态的稳定(即不恶化),疾病进展的延迟或减慢,疾病状态的改善或减轻和缓解(无论是部分还是全部),无论是可检测的还是不可检测的。疾病的术语“治疗”还包括提供疾病的症状或副作用的减轻

(包括姑息治疗)。

[0056] 术语“抗体”是指完整的免疫球蛋白或具有Fc(可结晶片段)区或Fc区的FcRn结合片段的单克隆或多克隆抗原结合片段(在本文中称为“Fc片段”或“Fc结构域”)。抗原结合片段可以通过重组DNA技术或通过完整抗体的酶或化学切割来产生。抗原结合片段尤其包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、dAb和互补决定区(CDR)片段、单链抗体(scFv)、单结构域抗体、嵌合抗体、双抗体和含有足以使多肽与特异性抗原结合的至少一部分免疫球蛋白的多肽。Fc结构域包括两个重链的部分,其促成抗体的两个或三个类别。Fc结构域可以通过重组DNA技术或通过酶促(例如木瓜蛋白酶切割)或通过完整抗体的化学切割来产生。抗体可以是嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。抗体可以是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗体。在一些方面,本文的抗体具有已被修饰以改变效应子功能、半衰期、蛋白水解或糖基化中的至少一种的Fc区。

[0057] 术语“抗体片段”是指仅包含完整抗体的一部分的蛋白质片段,通常包含完整抗体的抗原结合位点并因此保留结合抗原的能力。本定义涵盖的抗体片段的实例包括:(i)具有V<sub>L</sub>、CL、V<sub>H</sub>和CH1结构域的Fab片段;(ii)Fab'片段,其是在CH1结构域的C端具有一个或多个半胱氨酸残基的Fab片段;(iii)具有V<sub>H</sub>和CH1结构域的Fd片段;(iv)具有V<sub>H</sub>和CH1结构域以及在CH1结构域的C末端的一个或多个半胱氨酸残基的Fd'片段;(v)具有抗体的单臂的V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>结构域的Fv片段;(vi)由V<sub>H</sub>结构域组成的dAb片段;(vii)分离的CDR区;(viii)F(ab')<sub>2</sub>片段,其是一个二价片段,包含通过铰链区的二硫键连接的两个Fab'片段;(ix)单链抗体分子(例如,单链Fv;scFv);(x)具有两个抗原结合位点的“双抗体”,其包含与同一条多肽链中的轻链可变结构域(V<sub>L</sub>)连接的重链可变结构域(V<sub>H</sub>);(xi)“线性抗体”,其包含一对串联的Fd区段(V<sub>H</sub>-CH1-V<sub>H</sub>-CH1),其与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区。抗体或抗体片段可以是scFv、骆驼抗体、纳米抗体、IgNAR(源自鲨鱼的单链抗体)和Fab、Fab'或F(ab')<sub>2</sub>片段。

[0058] “选择性结合”或“特异性结合”是指本文所述的抗体或其抗体片段以K<sub>D</sub> 10<sup>-5</sup>M(10000nM)或更小,例如10<sup>-6</sup>M、10<sup>-7</sup>M、10<sup>-8</sup>M、10<sup>-9</sup>M、10<sup>-10</sup>M、10<sup>-11</sup>M、10<sup>-12</sup>M或更小结合靶标(例如,存在于细胞表面上的分子)的能力。特异性结合可以受到例如多肽试剂的亲力和亲合力以及多肽试剂的浓度的影响。本领域普通技术人员可以使用任何合适的方法,例如在合适的细胞结合测定中多肽试剂的滴定,来确定本文所述的多肽试剂选择性结合靶标的合适条件。

[0059] “无效的”治疗是指当给受试者施用治疗时症状改善小于5%。如果对于权利要求书特别提供,则无效的治疗可以指症状改善小于1%、2%、3%、4%、6%、7%、8%、9%或10%。

[0060] “不良事件”,不良事件是与研究性医药产品(IMP)或其他协议施加的干预措施的使用在时间上相关的任何不利和非计划中的体征、症状或疾病,无论其归因如何。不良事件可以是与医药产品的使用在时间上相关的任何不利和非计划中的体征(包括异常实验室发现)、症状或疾病,无论是否考虑与医药产品相关。手术过程不是不良事件;它们是需要手术的病况的治疗措施。但是,如果在实施例的研究中发生或被检测到,则需要手术的病况是不良事件。如果病况在研究治疗开始之前是已知的,则计划的手术措施和导致这些措施的病况就不是不良事件。在后一种情况下,应将病况报告为病史。

[0061] 先前存在的状况是在研究开始时存在的状况。在研究过程中恶化的先前状况被视为不良事件。如果在研究期间病情的频率,强度或特征恶化,则应将先前存在的病情记录为

不良事件。

[0062] “异常测试发现”,满足以下标准中任一项的异常测试发现应视为不良事件:

[0063] 测试结果与伴随的症状有关;

[0064] 测试结果需要其他诊断测试或医疗/外科干预;

[0065] 测试结果导致研究治疗药物给药的改变(例如剂量调整、中断或永久终止)或伴随药物治疗的变化(例如添加、中断或终止)或伴随药物治疗或疗法的任何其他变化;

[0066] 测试结果导致危急不良事件的定义中包含的任何结果(注意:这将被报告为危急不良事件);

[0067] 测试结果被研究者认为是不良事件。

[0068] 落在参考范围之外并且不满足以上标准之一的实验室结果不应被报告为不良事件。在没有上述条件的情况下重复异常测试不构成不良事件。被确定为是错误的任何异常测试结果都不需要报告为不良事件。

[0069] “危急不良事件”,危急不良事件(SAE)是任何不良医学事件,其在任何剂量下:

[0070] 是致命的(导致死亡);

[0071] 是威胁生命的:发生不良事件时,患者因不良事件立即有死亡危险。这包括以更严重的形式发生或被允许继续发生而可能已导致死亡的事件;

[0072] 需要住院病人住院或延长现有住院时间;

[0073] 导致持续或严重的残疾/无行为能力;

[0074] 是先天性异常/出生缺陷(在接受研究治疗的患者的孩子中);

[0075] 当基于适当的医学判断,事件可能危及受试者并可能需要医学或外科手术干预以防止此定义中列出的结果之一时,可能不会导致死亡、威胁生命或需要住院的重要医学事件可能被视为SAE。此类事件的示例是在急诊室或家中进行强化治疗以用于过敏性支气管痉挛、血液恶病质或抽搐而不会导致住院或发展药瘾或药物滥用。

[0076] 导致住院的不良事件被认为是危急的。任何导致首次允许进入医疗机构或在医院内转移到急症/重症监护室的不良事件都被认为是危急的。

[0077] 在没有促发的临床不良事件的情况下住院或住院时间延长本身并不是危急的不良事件。不被认为是危急不良事件的例子包括:(1)入院治疗与新的不良事件的发展或与原有病况的恶化无关的既往病况,(2)社会或行政上的住院,(3)与促发的临床不良事件无关的可选入院,(4)基线文件中应注明预先计划的治疗或外科手术程序。

[0078] 所有不良事件都需要研究者对严重性的评估。以下标准用于评估严重性:

[0079] 轻度:注意到不适,但正常的日常活动没有中断;

[0080] 中度:不适感足以减少或影响日常活动;和

[0081] 严重:无法工作或进行日常活动。

[0082] 为了澄清术语“危急”和“严重”之间的区别(它们不是同义词),注意,术语“严重”通常用于描述特定事件的强度(严重性),例如轻度、中度或严重的心肌梗塞。但是,该事件本身可能具有相对较小的医学意义,例如严重的头痛。这与“危急”不同,“危急”是基于通常与威胁患者生命或功能运作的事件相关的患者/事件结果或行动标准。危急性(Seriousness)(不是严重度(severity))用作定义监管报告义务的指南。

[0083] 因果关系评估是确定研究治疗引起或促成不良事件是否存在合理的可能性。“不

相关”描述与研究治疗施用的时间关系是丢失的或难以置信的,或有其他原因的证据。“不太可能相关”描述与研究治疗施用的时间关系使得因果关系不太可能;并且其他药物、化学品或潜在疾病提供了合理的解释。“可能相关”描述研究治疗施用的合理的时间顺序,但该事件也可以由其他药物或化学品的并发症解释。有关停药的信息可能缺乏或不清楚。“确定相关”描述了与研究治疗药物施用的合理的时间关系;事件不能通过并发症或其他药物或化学品解释。对停药(去激发)的反应在临床上应该是合理的。该事件在药理或现象学上必须是确定的,如有必要,请使用令人满意的再激发程序。

[0084] 白介素-6是炎症以及T细胞、B细胞和浆细胞的发育、成熟和活化的重要介质。过量的IL-6产生与许多的人类疾病有关,这些疾病的特征在于过量和失控的抗体生产以及自身免疫。

[0085] 所公开的用于使HLA致敏的受试者脱敏、减少供体特异性抗体的量和/或提高器官移植率或移植存活的方法包括向该受试者施用有效量的克拉扎珠单抗或与克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的互补决定区(CDR)具有至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、为90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同源性(同一性)的抗体或其抗原结合片段。一些实施方案提供的一种或多种方法进一步包括施用有效量的IVIG或血浆去除术。

[0086] 克拉扎珠单抗是靶向白介素6的糖基化人源化(来自兔亲本抗体)的单克隆抗体。克拉扎珠单抗的肽序列和结构信息可从IMGT/mAb-db记录号#414获得。BLAST肽序列分析揭示了与美国专利号8,062,864中保护的肽的相同匹配,该专利通过引用整体并入本文。美国专利号7,935,340中显示了克拉扎珠单抗及其变体的进一步描述(该专利通过引用整体并入本文),其抗体或抗体片段适用于本文公开的减少或消除有需要的或已经进行了同种异体移植的受试者中的供体特异性抗体的方法。例如,抗体具有包含分别包含在SEQ ID NO:1(对于V<sub>H</sub> CDR1)、2或3(对于V<sub>H</sub> CDR2)和4(对于V<sub>H</sub> CDR3)中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽。抗人IL-6抗体包括包含在SEQ ID NO:8、9或10中的可变重链,以及包含在SEQ ID NO:11或12中的可变轻链。

[0087] Asn-Tyr-Tyr-Val-Thr(SEQ ID NO:1)

[0088] Ile-Ile-Tyr-Gly-Ser-Asp-Glu-Thr-Ala-Tyr-Ala-Thr-Trp-Ala-Ile-Gly(SEQ ID NO:2)

[0089] Ile-Ile-Tyr-Gly-Ser-Asp-Glu-Thr-Ala-Tyr-Ala-Thr-Ser-Ala-Ile-Gly(SEQ ID NO:3)

[0090] Asp-Asp-Ser-Ser-Asp-Trp-Asp-Ala-Lys-Phe-Asn-Leu(SEQ ID NO:4)

[0091] Gln-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Asn-Asn-Glu-Leu-Ser(SEQ ID NO:5)

[0092] Arg-Ala-Ser-Thr-Leu-Ala-Ser(SEQ ID NO:6)

[0093] Gln-Gln-Gly-Tyr-Ser-Leu-Arg-Asn-Ile-Asp-Asn-Ala(SEQ ID NO:7)。

[0094] 可变重链序列在SEQ ID NO:8中列出-METGLRWLLLVAVLKGVQCQSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSNYYVTWVRQAPGKGLEWIGIIYGSDEYATWAIGRFTISKSTTTVDLKMTSLTAADTATYFCA RDDSSDWDKFNWLGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK。

[0095] 被置换的可变重链序列在SEQ ID NO:9中列出-

[0096] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYYVTWVRQ APGKGLEWVGIIYGSDEYATWAIGRF TISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARDSSDWDKAFNL。

[0097] 另一被置换的可变重链序列在SEQ ID NO:10中列出-

[0098] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYYVTWVRQ APGKGLEWVGIIYGSDEYATSAIGRF TISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARDSSDWDKAFNL。

[0099] 可变轻链序列在SEQ ID NO:11中列出-

[0100] MDTRAPTQLLGLLLLWLPGARCAYDMTQTPASVSAAVGGTVTIKCQASQSINNELSWYQQKPGQRPKL LIYRASTLASGVSSRFKSGSGTEFTLTISDLECAATYYCQQGYSLRNIDNAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLN。

[0101] 被置换的可变轻链序列在SEQ ID NO:12中列出-

[0102] IQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQSINNELSWYQQKPGK APKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPDFATYY CQQGYSLRNIDNA。

[0103] 克拉扎珠单抗是基因工程化的人源化免疫球蛋白G1 (IgG1) 抗体,其以约4pM的亲合力与人IL-6结合。通过使用针对响应单独的IL-6 (以测量经典信号传导) 和IL-6和sIL-6R的组合 (以测量反式信号传导) 的信号传导和细胞功能的多种测定,证明克拉扎珠单抗是IL-6诱导的信号转导 (如通过信号转导子和转录激活子3 (STAT3) 的磷酸化测量的) 以及细胞功能例如细胞增殖、分化、激活、免疫球蛋白的B细胞产生和急性期蛋白 (C反应蛋白 [CRP] 和纤维蛋白原) 的肝细胞产生的有效而完整的拮抗剂。另外,显示克拉扎珠单抗是IL-6诱导的细胞增殖的竞争性拮抗剂。

[0104] 克拉扎珠单抗表现出广泛的免疫调节作用,其可以解决对同种异体移植物的破坏性同种异体抗体反应,并可用作脱敏剂以改善高度HLA致敏的患者的肾脏移植率。已经在类风湿关节炎患者中广泛评估了克拉扎珠单抗,但尚未获得美国FDA批准用于任何病况。自从引入IL-6/IL-6R阻断药物以来,已有报道表明,抑制IL-6/IL-6R途径可能在系统性红斑狼疮 (SLE) 和其他血管性疾病中具有显著的益处,并减少治疗的患者中的抗体产生细胞。目前尚无在等待不相容 (HLA<sub>i</sub>) 移植的高度致敏的患者中或用于抗体介导的排斥反应的治疗的克拉扎珠单抗的信息。

[0105] 迄今为止,尽管在健康受试者和患有风湿性关节炎 (RA)、银屑病关节炎 (PsA)、克罗恩病、移植物-对抗宿主疾病 (GVHD) 和肿瘤的受试者中进行了克拉扎珠单抗研究,但没有在受试者中关于经历肾脏移植的高度致敏的患者进行使用克拉扎珠单抗的研究。

[0106] 各个实施方案提供了一种或多种用于减少HLA致敏受试者中的供体特异性抗体的方法,该受试者的特征在于具有至少10%、20%、30%、40%、50%、60%或70%的计算的群体反应性抗体 (cPRA) 或可能交叉匹配不相容的供体的百分比,其中所述方法包括在肾脏移植之前、肾脏移植之后或在肾脏移植之前和之后对受试者施用有效量的克拉扎珠单抗;其抗原结合片段;或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽的多肽。该方法的各种实施方案提供了在受试者接受同种异体移植之前或之后向具有HLA致敏的受试者施用有效量的抗人IL-6抗体或抗体片段,其包括SEQ ID NO:8、9或10中的可变重链和SEQ ID NO:11或12中的可变轻链,以减少或消除在同种异体移植后受试者中的供体特异性抗体。该方法的一些实施方案还包括选择具有至少10%、20%、30%、40%、50%、60%

或70%的计算的群体反应性抗体 (cPRA) 或可能交叉匹配不相容的供体的百分比的受试者。该方法的一些实施方案还包括在受试者中进行肾脏移植。该方法的其他实施方案的特征在于,由于施用了克拉扎珠单抗或其抗原结合片段,在肾脏移植后减少了供体特异性抗体;或者其特征在于,由于施用了克拉扎珠单抗或其抗原结合片段,从肾脏移植后约一个月、两个月、三个月、四个月、五个月或六个月开始,没有可检测量的供体特异性抗体。

[0107] 各个实施方案提供了一种或多种用于减少HLA致敏受试者中的供体特异性抗体的方法,其中该方法包括施用有效量的(1) IVIG和(2)有效量的克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含SEQ ID NO:1中包含的CDR1的多肽、SEQ ID NO:2或3中包含的CDR2和SEQ ID NO:4中包含的CDR3的多肽的 $V_H$ 多肽和具有包含SEQ ID NO:5中包含的CDR1、SEQ ID NO:6中包含的CDR2和SEQ ID NO:7中包含的CDR3的多肽的 $V_L$ 多肽的多肽。在一个实施方案中,IVIG是在克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_H$ 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_L$ 多肽的多肽之前或与其同时施用的。在一些方面,HLA致敏的受试者将接受实体器官移植-一方面,实体器官来自交叉匹配供体,即HLA致敏的受试者包含针对来自供体的器官的HLA的移植前抗体;在另一方面,该实体器官不是来自阳性交叉匹配供体。在其他方面,该一种或多种方法除了施用有效量的(1) IVIG和(2)有效量的克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_H$ 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_L$ 多肽的多肽之外,还包括进行实体器官移植。

[0108] 用于在HLA致敏的受试者中减少供体特异性抗体的方法的各种实施方案包括施用(1)有效量的IVIG与克拉扎珠单抗的组合;(2)有效量的IVIG与克拉扎珠单抗的IL-6结合片段的组合;或(3)有效量的IVIG与具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_H$ 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_L$ 多肽的多肽的组合。在一个实施方案中,IVIG是在克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_H$ 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_L$ 多肽的多肽之前或与其同时施用的。在另一个实施方案中,在受试者的实体器官移植之前、期间或之后立即进一步施用IVIG。

[0109] 还有更多的实施方案提供了在HLA致敏的受试者中减少供体特异性抗体的方法,其中该方法包括施用(1)有效量的IVIG、血浆去除术和克拉扎珠单抗的组合;(2)有效量的IVIG、血浆去除术和克拉扎珠单抗的IL-6结合片段的组合;或(3)有效量的IVIG,血浆去除术和具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_H$ 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_L$ 多肽的多肽的组合。在一个实施方案中,IVIG和血浆去除术是在克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_H$ 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_L$ 多肽的多肽之前或与其同时施用的。

[0110] 在各种实施方案中,由于克拉扎珠单抗引起的脱敏导致(1) 实施例的研究中的10位患者中的8位的移植;(2) 尽管cPRA没有明显改变,但HLA特异性显著降低;和(3) 在持续施

用有效量的克拉扎珠单抗的情况下移植时和移植后的DSA的减少。

[0111] 在进一步的实施方案中,抗IL-6治疗(例如,克拉扎珠单抗施用)对降低II类/II类HLA抗体的MFI水平具有显著作用;从而增加了HLA致敏的患者的移植率或个体HLA致敏的患者的移植存活可能性或百分比。抗IL-6通过减少产生IL-6的浆细胞(抗HLA)介导此作用。治疗后,抗IL-6疗法降低或消除DSA水平,并防止从头的DSA产生。进一步的方面提供了接受克拉扎珠单抗和实体器官移植的患者没有发展出抗体介导的移植物排斥。

[0112] 各个实施方案提供的所公开的方法包括鉴定需要实体器官移植的HLA致敏的患者,施用PLEX和IVIG以及每月剂量的克拉扎珠单抗,进行实体器官移植(例如,肾脏移植),施用诱导疗法,例如阿仑单抗和/或THYMOGLOBULIN(抗胸腺细胞球蛋白),和施用免疫抑制疗法,例如他克莫司,CELLCEPT(霉酚酸酯)和逐渐减少的泼尼松。一方面,用克拉扎珠单抗和PLEX/IVIG脱敏后HLA致敏的受试者的移植率为至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在另一方面,对于HLA致敏的受试者,在用克拉扎珠单抗和PLEX/IVIG完成移植前脱敏后开始移植的时间为0天至1周、1周至1个月、1个月至3个月、3个月至六个月、六个月至一年、一年至两年或更长时间。在另一方面,已经接受有效量的克拉扎珠单抗(任选地与PLEX/IVIG组合)的脱敏治疗并接受同种异体肾脏移植的先前HLA致敏的受试者为至少95%、90%、85%、80%、75%或70%没有抗体介导的移植排斥反应的体征或症状。该方法的其他方面包括该受试者没有风湿性关节炎(RA)、银屑病关节炎(PsA)、克罗恩氏病、移植物抗宿主病(GVHD)、癌症或其组合。该方法的其他方面还包括选择不患有或未曾患有风湿性关节炎(RA)、银屑病关节炎(PsA)、克罗恩氏病、移植物抗宿主病(GVHD)或癌症且为HLA致敏的并且需要或已经进行了实体器官(例如肾脏)移植的受试者,以用于减少和/或消除供体特异性抗体的方法。

[0113] 各个实施方案提供的一种或多种所公开的方法进一步包括在同种异体移植之前和/或之后针对受试者的与巨细胞病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、多瘤病毒、BK病毒、JC病毒、细小病毒B19或其组合有关的感染的存在或不存在进行一种或多种测定。在其他实施方案中,一种或多种公开的方法的特征在于,受试者在同种异体移植之前和/或之前没有可检测的与巨细胞病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、多瘤病毒、BK病毒、JC病毒、细小病毒B19或其组合有关的感染。进一步的实施方案提供了一种或多种所公开的移植后克拉扎珠单抗方法中的受试者不具有实体器官移植的慢性抗体介导的排斥或已经针对慢性抗体介导的排斥的证据的缺乏进行了测试。

[0114] 用于减少或消除需要或已经经受同种异体移植的HLA致敏受试者中的供体特异性抗体和/或使所述受试者脱敏的方法的各种实施方案包括随时间推移以一个或多个剂量施用有效量的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段、含有SEQ ID NO:8、9或10的可变重链和SEQ ID NO:12或12的可变轻链的多肽或含有具有SEQ ID NO:1的CDR1、SEQ ID NO:2或3的CDR2和SEQ ID NO:4的CDR3的可变重链以及具有SEQ ID NO:5的CDR1、SEQ ID NO:6的CDR2和SEQ ID NO:7的CDR3的可变轻链的多肽,其中(1)该受试者在同种异体移植之前具有或曾具有预形成的供体特异性抗体(DSA),和/或是在同种异体移植之后发展DSA,(2)该受试者具有50%或更高的计算的群体反应性抗体,(3)受试者具有高强度的供体特异性抗体,例如通过单抗原LUMINEX珠测定确定并表示为针对I类或II类的大于9,000、10,000、11,000、12,000或更高的平均荧光强度(MFI),(4)或受试者已具有一种或多种怀孕、输血和/或以前

的移植。一方面,该受试者具有上述特征之一。在另一方面,受试者具有所提及的特征中的两个。在另一方面,受试者具有所提及的特征中的三个。在另一方面,受试者具有所提及的特征中的四个。

[0115] 本文公开的方法的另外的实施方案包括同种异体移植之前和/或之后的免疫监测的一个或多个步骤。在各个方面,在同种异体移植之前减少或消除具有预先形成的DSA、50%或更高的cPRA或高强度的DSA的受试者以及随后进行了同种异体移植(例如,同种异体移植对于受试者是HLA不相容的)的受试者中的供体特异性抗体的方法包括(i)以一个或多个剂量施用有效量的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或上文公开的多肽;(ii)进行(a)受试者的免疫监测,例如测定受试者的血样以定量Treg、Tfh、Th17、B细胞、IL-6、CRP、浆细胞、浆母细胞IgG水平或其组合,b)移植物的活检评估,(c)测量肾小球滤过率,和/或(d)测量受试者中DSA的量,分别进行一次或多次,例如,每次在在一段时间(例如1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、15个月、18个月、24个月或更长时间)内一个或多个剂量的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽之后;以及任选地(iii)当(a)免疫监测表明免疫反应性的改善,例如通过CRP、Treg、Tfh、Th17、B细胞、IL-6、浆细胞或浆母细胞IgG的与同种异体移植时或之前的先前免疫监测或基线测量值相比降低的水平,或相对于健康受试者或已脱敏的受试者相当水平的CRP、Treg、Tfh、Th17、B细胞、IL-6、浆细胞或浆母细胞IgG水平表征的,当(b)移植物的活检评估表明缺乏细胞介导的和抗体介导的排斥反应,缺乏或减少的证据的同种异体移植功能障碍(例如,使用Banff 2015标准通过C4d染色和移植肾小球病变确定的),和/或根据Banff 2015标准的改善,(c)当肾小球滤过率是稳定的,例如与上次测量或移植前相比相似或降低的水平,或(d)当DSA量是稳定的,例如与上次测量或移植前相比相似或降低的水平,则中断或限制克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽的进一步施用至不超过另外六个月;当免疫监测表明免疫反应性(例如上文描述的)未改善或肾小球滤过率或DSA的量未稳定时,则继续施用克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽或以调整的剂量施用;和当移植物的活检评估表明存在细胞介导的和/或抗体介导的排斥反应时,则施用护理标准治疗以治疗排斥反应,例如IVIg、血浆去除术或两者。在一些情况下,将(ii)和(iii)的步骤重复一、二、三、四、五、六、七、八、九或十次,或根据需要进行继续施用,或者直到可以观察到改善、稳定或甚至治愈。

[0116] 在一些方面,如果观察到抗体介导的排斥的证据,则将受试者导向至用于抗体介导的排斥的治疗。在一些方面,在步骤(i)和(ii)之后,在一段时间内(例如1周、2周、3周、4周、2个月和3个月)不进行更多剂量的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽的施用,并且在“休息”后,监测免疫反应性或评估同种异体移植物的活检,并取决于结果,例如步骤(iii)中的表征,本领域技术人员将中止或继续施用克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽,以进一步减少或消除受试者的DSA。

[0117] 剂量

[0118] 在一个实施方案中,用于在受试者(例如,人受试者)中减少供体特异性抗体和HLA脱敏的方法包括在移植之前施用有效量的克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的抗体结合片段(例如,皮下约25mg/剂量,每4周一次,最多6个剂量)。在一个实施方案中,用于在受试者(例如,人受试者)中减少供体特异性抗体和HLA脱敏的方法包括在移植之前施用五、六或七次

(session) 血浆置换(或血浆去除术),然后施用有效量的IVIG(例如,约2g/kg受试者,最多140g),并施用有效量的克拉扎珠单抗(例如,皮下约25mg,每4周一次,最多6个剂量)。在另一个实施方案中,该方法包括将同种异体移植物移植到受试者。在另一方面,同种异体移植物的移植是在最后一次剂量的克拉扎珠单抗和自IVIG施用后约270天之间。这在图5中描绘。在一方面,对于4、5、6或更多个剂量,用于降低HLA致敏的受试者中DSA水平的克拉扎珠单抗的有效量为约12.5mg/剂量。一方面,对于4、5、6或更多个剂量,用于降低HLA致敏的受试者中DSA水平的克拉扎珠单抗的有效量为约25mg/剂量。一方面,用于降低HLA致敏的受试者中DSA水平的克拉扎珠单抗的有效量不是在4、5或6个剂量的每月剂量下的25mg/剂量。

[0119] 在另一个实施方案中,用于在受试者(例如,人受试者)中减少供体特异性抗体和HLA脱敏的方法包括在移植后施用有效量的克拉扎珠单抗或其抗原结合片段(例如,皮下约25mg,移植后约5到7天开始每4周一次,最多6个剂量)。在另一个实施方案中,该方法包括施用额外有效量的克拉扎珠单抗(例如,另外6个剂量,直至移植后第330天)。这在图6中进行了描述。一方面,对于1、2、3、4、5或更多个剂量,用于在HLA致敏的受试者中在实体器官移植后降低DSA水平的克拉扎珠单抗的有效量为约12.5mg/剂量。一方面,对于1、2、3、4、5或更多个剂量,用于在HLA致敏的受试者中在实体器官移植后降低DSA水平的克拉扎珠单抗的有效量为约25mg/剂量。一方面,用于在HLA致敏的受试者中在实体器官移植后降低DSA水平的克拉扎珠单抗的有效量不是每4周施用的25mg/剂量。

[0120] 在另一个实施方案中,用于在受试者(例如,人受试者)中减少供体特异性抗体和HLA脱敏的方法包括在移植之前施用有效量的克拉扎珠单抗或其抗体结合片段(例如,皮下约25mg/剂量,每4周一次,最多6个剂量),和在移植后施用有效量的克拉扎珠单抗或其抗原结合片段(例如,皮下约25mg,移植后约5到7天开始每4周一次,最多6个剂量)。

[0121] 这些方法的一些实施方案提供了测定来自患者的活检,并确认随时间推移的肾小球滤过率(GFR)的稳定水平(例如,在两次、三次或四次连续活检之间低于10%、20%或30%的变化)和与脱敏治疗之前相比或与移植后进行的较早的活检相比较低水平(例如低于10%、20%或30%)的DSA。在一些实施方案中,当GFR的水平不稳定或DSA水平高时,该方法进一步包括重复施用有效量的IVIG和克拉扎珠单抗,直到GFR的水平稳定并且DSA的水平低。

[0122] 又一个实施方案提供了用于在高度HLA致敏的受试者(例如人受试者)中减少供体特异性抗体和HLA脱敏的方法,该方法包括在移植前施用血浆置换(或血浆去除术);在移植之前、期间或之后施用有效量的IVIG;在向受试者施用有效量的克拉扎珠单抗之前、之后或之前和之后,其中该受试者具有随时间推移稳定的水平的肾小球滤过率(GFR)(例如,在两次、三次或四次连续活检之间低于10%、20%或30%的变化)和与脱敏治疗之前相比较低水平(例如,低于10%、20%或30%)的DSA。

[0123] 在以1小时IV输注方式施用克拉扎珠单抗后,在健康受试者中在30mg至640mg的剂量范围内,和在患有风湿性关节炎(RA)的受试者中在80mg至320mg的剂量范围内,克拉扎珠单抗的药代动力学呈线性,如通过这些剂量水平上的一致清除率表明的。在健康男性受试者和患有RA的受试者中,所有剂量的克拉扎珠单抗的半衰期(T-half)非常相似,并且与人源化IgG1抗体所预期的一致。在研究的所有剂量中,健康男性受试者中克拉扎珠单抗的平均半衰期为19.5至31.0天,在患有RA的受试者中为26.4至30.9天。在健康男性受试者中,

SC施用后克拉扎珠单抗的半衰期类似于IV施用。在比较健康男性受试者中的IV和SC给药的1期研究中,单次IV剂量后克拉扎珠单抗的平均半衰期为30.7天,而SC施用后为31.1至33.6天。施用SC后克拉扎珠单抗的生物利用度为IV制剂的60%。如所预期的,相对于IV施用,SC施用的C<sub>max</sub>较低且T<sub>max</sub>较长。

[0124] 来自RA、PsA和健康受试者中的临床研究的数据的群体PK分析表明,体重影响克拉扎珠单抗的PK,因此清除率和中心分布体积随体重的增加而增加。因此,与体重较轻的受试者相比,体重较重的受试者将具有较低的药物暴露量。

[0125] 可以基于安全评估来研究或限制针对受试者的克拉扎珠单抗的有效量。安全评估包括医学访谈,不良事件记录,身体检查,血压和实验室测量。通常评估受试者在其参加研究期间每次研究访视时的不良事件(所有级别)、危急不良事件以及需要中断研究药物中断或中止的不良事件。

[0126] 在一些实施方案中,适合于在所公开的方法中施用的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽的多肽的有效量可以在约10-50μg/剂量、50-100μg/剂量、100-150μg/剂量、150-200μg/剂量、100-200μg/剂量、200-300μg/剂量、300-400μg/剂量、400-500μg/剂量、500-600μg/剂量、600-700μg/剂量、700-800μg/剂量、800-900μg/剂量、900-1000μg/剂量、1000-1100μg/剂量、1100-1200μg/剂量、1200-1300μg/剂量、1300-1400μg/剂量、1400-1500μg/剂量、1500-1600μg/剂量、1600-1700μg/剂量、1700-1800μg/剂量、1800-1900μg/剂量、1900-2000μg/剂量、2000-2100μg/剂量、2100-2200μg/剂量、2200-2300μg/剂量、2300-2400μg/剂量、2400-2500μg/剂量、2500-2600μg/剂量、2600-2700μg/剂量、2700-2800μg/剂量、2800-2900μg/剂量或2900-3000μg/剂量的范围内,以用于总共一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、11、12、13、14、15或更多个剂量,或继续减少受试者中的DSA量所需要的,并以每天、每周、每两周、每月或每两月一次或其组合的频率施用。

[0127] 在一些实施方案中,适于在所公开的方法中施用的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽的多肽在上述方法中每单位重量受试者的有效量包括10-100μg、100-200μg、200-300μg、300-400μg、400-500μg、500-600μg、600-700μg、700-800μg、800-900μg、1-5mg、5-10mg、10-20mg、20-30mg、30-40mg、40-50mg、50-60mg、60-70mg、70-80mg、80-90mg、90-100mg、100-200mg、200-300mg、300-400mg、400mg-500mg、500mg-1g或1g-10g。受试者的单位重量可以是每kg体重或每个受试者。在一个实施方案中,用于减少DSA水平并使需要或已经接受同种异体肾脏移植的先前HLA致敏的人受试者脱敏的克拉扎珠单抗的有效量为约25mg/月。在一个实施方案中,用于降低DSA水平并使需要或已经接受同种异体肾脏移植的先前HLA致敏的人受试者脱敏的克拉扎珠单抗的有效量不是25mg/月。

[0128] 在进一步的实施方案中,适于在所公开的方法中施用的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽的多肽的有效量可以在0.01-0.05mg/kg、0.05-0.1mg/kg、0.1-1mg/kg、1-5mg/kg、5-

10mg/kg、10-50mg/kg、50-100mg/kg的范围内。在另外的实施方案中,克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的抗原结合片段或公开的多肽的有效量为约1-2mg/kg、2-3mg/kg、3-4mg/kg、4-5mg/kg、5-6mg/kg、6-7mg/kg、7-8mg/kg、8-9mg/kg、9-10mg/kg、10-11mg/kg、11-12mg/kg、12-13mg/kg、13-15mg、15-20mg/kg或20-25mg/kg。在另外的实施方案中,克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的抗原结合片段或公开的多肽的有效量为约100-125mg、125-150mg、150-175mg、160-170mg、175-200mg、155-165mg、160-165mg、165-170mg、155-170mg或其组合,其可以施用超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18个剂量,其中一些在移植前,而另一些在移植后。

[0129] 在各个实施方案中,适于在所公开的方法中施用的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽的多肽以本文所述的任何一种或多种剂量施用每周至少一次1-7次、每月1-7次或每年1-12次或如所需的一次或多次以持续1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、14个月、16个月、18个月、约24个月、约30个月、约36个月或其组合。

[0130] 药物组合物

[0131] 在各种实施方案中,本发明提供了药物组合物。该药物组合物包括(1)克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽的多肽,和(2)药学上可接受的赋形剂。

[0132] 根据本发明的药物组合物可以包含任何药学上可接受的赋形剂。“药学上可接受的赋形剂”是指可用于制备药物组合物的通常安全、无毒且理想的赋形剂,并且包括兽医学使用以及人药使用可接受的赋形剂。这样的赋形剂可以是固体、液体、半固体,或者在气雾剂组合物的情况下是气体。赋形剂的实例包括但不限于氨基酸、淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、制粒剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂、湿润剂、乳化剂、着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、调味剂、芳香剂、防腐剂、抗氧化剂、增塑剂、胶凝剂、增稠剂、硬化剂、固化剂、悬浮剂、表面活性剂、湿润剂、载体、稳定剂及其组合。

[0133] 在一个实施方案中,公开的方法包括施用药物组合物,所述药物组合物包含L-组氨酸、L-组氨酸一盐酸盐、山梨糖醇、聚山梨酯-80和注射用水,以及克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽的多肽。

[0134] 在各种实施方案中,可以配制根据本发明的药物组合物以用于通过任何施用途径递送。在一个实施方案中,将药物组合物静脉内或皮下施用至受试者。“施用途径”可以指本领域已知的任何施用途径,包括但不限于气雾剂、鼻腔、经口、经粘膜、经皮、肠胃外或肠内。“肠胃外”是指通常与注射相关的施用途径,包括眶内、输注、动脉内、囊内、心内、皮内、肌内、腹膜内、肺内、脊柱内、胸骨内、鞘内、子宫内、静脉内、蛛网膜下、蛛网膜下、被膜下的、皮下、经粘膜或经气管。经由肠胃外途径,组合物可以为用于输注或注射的溶液或悬浮液的形式,或为冻干粉剂的形式。经由肠胃外途径,组合物可以为用于输注或注射的溶液或悬浮液

的形式。经由肠途径,药物组合物可以是允许控释的片剂、凝胶胶囊、糖衣片剂、糖浆、悬浮液、溶液、粉剂、颗粒剂、乳剂、微球或纳米球或脂质囊泡或聚合物囊泡的形式。通常,组合物通过注射施用。这些施用的方法是本领域技术人员已知的。

[0135] 根据本发明的药物组合物可以包含任何药学上可接受的载体。如本文所用,“药学上可接受的载体”是指参与将感兴趣的化合物从一个组织、器官或身体的一部分携带或运输到另一组织、器官或身体部分的药学上可接受的材料、组合物或媒介物。例如,载体可以是液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料,或它们的组合。载体的每种组分必须是“药学上可接受的”,因为它必须与制剂的其他成分相容。它也必须适合于与其可能接触的任何组织或器官接触,这意味着它绝不能携带毒性、刺激性、过敏性反应、免疫原性或过度超过其治疗益处的任何其他并发症的风险。

[0136] 根据本发明的药物组合物也可以被包封、压片或制备在乳剂中。可以添加药学上可接受的固体或液体载体以增强或稳定组合物,以促进组合物的制备,或提供组合物的缓释或受控释放(或增加半衰期)。液体载体包括糖浆、花生油、橄榄油、甘油、盐水、酒精和水。固体载体包括淀粉、乳糖、硫酸钙、二水合物、石膏粉、硬脂酸镁或硬脂酸、滑石粉、果胶、阿拉伯胶、琼脂或明胶。乳剂载体包括脂质体或本领域已知的控释聚合物纳米颗粒。制备脂质体递送系统的方法在Gabizon等人,Cancer Research (1982) 42:4734;Cafiso,Biochem Biophys Acta (1981) 649:129;和Szoka,Ann Rev Biophys Eng (1980) 9:467中讨论。其他药物递送系统是本领域已知的,并且描述于例如Poznansky等人,DRUG DELIVERY SYSTEMS (R.L.Juliano,ed.,Oxford,N.Y.1980),pp.253-315;M.L.Poznansky,Pharm Revs (1984) 36:277。载体还可单独地或与蜡一起包含持续释放材料,例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0137] 药物制剂是根据药学的常规技术制备的,所述常规技术包括研磨、混合、制粒和压片(必要时用于片剂形式);或研磨、混合和填充用于硬明胶胶囊形式。当使用液体载体时,制剂将为糖浆剂、酏剂、乳剂或水性或非水性悬浮液的形式。这样的液体制剂可以直接p.o.施用或填入软明胶胶囊中。

[0138] 根据本发明的药物组合物可以以治疗有效量递送。精确的治疗有效量是在治疗功效方面将在给定受试者中产生最有效结果的组合物的量。该量将取决于多种因素而变化,包括但不限于治疗化合物的特征(包括活性、药代动力学、药效动力学和生物利用度)、受试者的生理状况(包括年龄、性别、疾病类型和阶段、一般身体状况、对给定剂量的反应性和药物类型)、制剂中一种或多种药学上可接受的载体的性质以及施用途径。临床和药理学领域的技术人员将能够通过常规实验确定治疗有效量,例如,通过监测受试者对化合物施用的反应并相应地调整剂量。对于其他指导,参见Remington:The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed.20th edition,Williams&Wilkins PA,USA) (2000)。

[0139] 在施用至患者之前,可以将制剂添加至克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>H</sub>多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V<sub>L</sub>多肽的多肽。液体制剂可以是优选的。例如,这些制剂可以包括油、聚合物、维生素、碳水化合物、氨基酸、盐、缓冲剂、白蛋白、表面活性剂、填充剂或其组合。

[0140] 碳水化合物制剂包括糖或糖醇,例如单糖、二糖或多糖,或水溶性葡聚糖。糖或葡

聚糖可包括果糖、右旋糖、乳糖、葡萄糖、甘露糖、山梨糖、木糖、麦芽糖、蔗糖、右旋糖酐、普鲁兰多糖、糊精、 $\alpha$ 和 $\beta$ 环糊精、可溶性淀粉、羟乙基淀粉和羧甲基纤维素或其混合物。“糖醇”定义为具有-OH基团的C4-C8烃,并且包括半乳糖醇、肌醇、甘露醇、木糖醇、山梨糖醇、甘油和阿拉伯糖醇。上述这些糖或糖醇可以单独使用或组合使用。只要糖或糖醇可溶于水性制剂中,对使用的量没有固定的限制。在一个实施方案中,糖或糖醇浓度为1.0w/v%至7.0w/v%,更优选2.0至6.0w/v%。

[0141] 氨基酸制剂包括肉碱、精氨酸和甜菜碱的左旋(L)形式;但是,可以添加其他氨基酸。

[0142] 在一些实施方案中,作为配制物的聚合物包括平均分子量为2,000至3,000的聚乙烯吡咯烷酮(PVP)或平均分子量为3,000至5,000的聚乙二醇(PEG)。

[0143] 还优选在组合物中使用缓冲液以最小化冻干之前或重构之后溶液中的pH变化。可以使用大多数生理缓冲液,包括但不限于柠檬酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐和谷氨酸盐缓冲液或其混合物。在一些实施方案中,浓度为0.01至0.3摩尔。可以添加到制剂中的表面活性剂显示在EP 270,799和268,110中。

[0144] 在制备液体药物组合物之后,可以将其冻干以防止降解并保持无菌。用于冻干液体组合物的方法是本领域普通技术人员已知的。刚好在使用前,可以用可以包括其他成分的无菌稀释剂(例如,林格氏溶液、蒸馏水或无菌盐水)将组合物重构。重构后,使用本领域技术人员已知的那些方法将组合物施用至受试者。

[0145] 抗感染剂

[0146] 各种实施方案提供了用于脱敏的方法进一步包括施用一种或多种抗感染剂(优选在移植后)作为针对细菌、病毒或真菌感染的预防或治疗剂。

[0147] 适用于所公开的方法的示例性抗感染剂包括抗生素,例如氨基糖苷类(例如,阿米卡星,庆大霉素,卡那霉素,新霉素,奈替米星,链霉素,妥布霉素,巴龙霉素),安沙霉素类(例如,格尔德霉素,除草霉素),碳头孢烯类(例如氯碳头孢),碳青霉烯类(例如厄他培南,多利培南,亚胺培南,西司他丁,美罗培南),头孢菌素(例如,第一代:头孢羟氨苄,头孢唑啉,头孢洛汀或头孢噻吩,头孢氨苄;第二代:头孢克洛,头孢羟唑,头孢西丁,头孢罗齐,头孢呋辛;第三代:头孢克肟,头孢地尼,头孢托仑,头孢哌酮,头孢噻肟,头孢泊肟,头孢他啶,头孢布烯,头孢唑肟,头孢曲松;第四代:头孢吡肟;第五代:头孢吡普),糖肽(例如替考拉宁,万古霉素),大环内酯类(例如阿奇霉素,克拉霉素,地红霉素,红霉素,罗红霉素,醋竹桃霉素,替利洛霉素,壮观霉素),单内酯环类(例如氨曲南),青霉素(例如阿莫西林,氨苄青霉素,阿洛西林,羧苄青霉素,氯唑西林,双氯西林,氟氯西林,美洛西林,甲氧西林,纳夫西林,苯唑西林,盘尼西林,哌拉西林,替卡西林),抗生素多肽(例如杆菌肽,粘菌素,多粘菌素b),喹诺酮类(例如环丙沙星,依诺沙星,加替沙星,左氧氟沙星,洛美沙星,莫西沙星,诺氟沙星,氧氟沙星,曲伐沙星),利福霉素(例如利福平(rifampicin)或利福平(rifampin),利福布汀,利福喷汀,利福昔明),磺胺类(例如磺胺米隆,百浪多息,磺乙酰胺,磺胺甲二唑,氨苯磺胺,柳氮磺吡啶,磺酰异噁唑,甲氧苄氨嘧啶,甲氧苄胺嘧啶-磺胺甲噁唑(磺胺甲基异噁唑,“tmp-smx”)和四环素类(例如地美环素,多西环素,米诺环素,土霉素,四环素),以及肿凡纳明,氯霉素,克林霉素,林可霉素,乙胺丁醇,磷霉素,夫西地酸,呋喃唑酮,异烟肼,利奈唑胺,甲硝唑,莫匹罗星,呋喃妥因,平板霉素,吡嗪酰胺,奎奴普汀/达福普汀组合和替硝

唑。在一些实施方案中,在HLA致敏的受试者中在同种异体移植之前和/或之后减少供体特异性抗体的方法包括向受试者施用有效量的克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合抗体片段,以及向受试者施用有效量的更昔洛韦、缬更昔洛韦、氟康唑、甲氧苄啶、磺胺甲噁唑或其组合。

#### [0148] 试剂盒

[0149] 在各个实施方案中,本发明提供了用于器官移植受体的脱敏的试剂盒。该试剂盒是材料或组分的集合,包括克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段,或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_H$ 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_L$ 多肽的多肽;用于器官移植之前和之后的脱敏施用的说明书或手册;一个或多个作为容器的器皿;以及任选地一种或多种稀释剂。

[0150] 在本发明的试剂盒中配置的组分的确切性质取决于其预期目的。在一个实施方案中,该试剂盒特别地配置用于人受试者。在进一步的实施方案中,试剂盒被配置用于兽医学应用,以治疗受试者例如但不限于农场动物、家畜和实验动物。

[0151] 使用说明书可以包含在试剂盒中。“使用说明书”通常包括有形表达,其描述了在使用试剂盒的组分以实现期望的结果(例如以治疗或抑制受试者的癌症恶病质)中所采用的技术。任选地,试剂盒还包含其他有用的组分,例如,测量工具、稀释剂、缓冲液、药学上可接受的载体、注射器或如本领域技术人员将容易认识到的其他有用的用具。

[0152] 试剂盒中组装的材料或组分可以以保持其可操作性和实用性的任何方便且合适的方式储存而提供给从业者。例如,组分可以是溶解的、脱水的或冻干的形式;它们可以在室温、冷藏或冷冻温度下提供。组分通常包含在合适的包装材料中。如本文所用,短语“包装材料”是指用于容纳试剂盒的内容物(例如本发明的组合物等)的一种或多种物理结构。包装材料通过公知的方法构造,优选地以提供无菌的、无污染物的环境。如本文所用,术语“包装”是指能够容纳各个试剂盒组分的合适的固体基质或材料,例如玻璃、塑料、纸、箔等。因此,例如,包装可以是用于容纳适当量的本发明的组合物的瓶,所述组合物包含克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_H$ 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 $V_L$ 多肽的多肽。包装材料通常具有外部标签,其指示试剂盒和/或其组分的内容物和/或目的。

## 实施例

[0153] 提供以下实施例以更好地举例说明要求保护的发明,并且不应将其解释为限制本发明的范围。就提及特定材料的程度而言,其仅出于举例说明的目的,并不旨在限制本发明。本领域技术人员可以开发等同的手段或反应物,而无需发挥创造能力并且不背离本发明的范围。

[0154] 研究:I/II期试验评估了克拉扎珠单抗在等待肾脏移植的高度HLA致敏(HS)的患者中消除供体特异性HLA抗体并提高移植率的安全性和耐受性。

[0155] 这项研究是开放标签设计,以评估克拉扎珠单抗在等待HLA不相容(HLAI)肾脏移植的HS患者中消除DSA和诱导Treg亚型的安全性和有效性。该方案在图5和6中进行了概述。安全性测定旨在评估与克拉扎珠单抗施用相关的任何副作用以及与用于使等待肾脏HLAI

移植的HS患者的脱敏的克拉扎珠单抗疗法相关联的感染性并发症的风险。有限的功效测定包括评估允许移植率增加的DSA水平的降低以及随后在克拉扎珠单抗治疗后ABMR (eGFR、SCr)的预防。

[0156] 被测试的试剂克拉扎珠单抗具有基因工程化的人源化抗IL-6单克隆抗体的活性成分。由Ajinomoto Althea (San Diego CA) 生产,它具有25mg/mL的强度。它包含赋形剂包括L-组氨酸、L-组氨酸一盐酸盐、山梨糖醇、聚山梨酯80和注射用水。在用于未稀释的注射的25mg/mL的单剂量小瓶中。克拉扎珠单抗小瓶应在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$  ( $-4^{\circ}\text{F}$ ) 避光保存。准备好的注射器可在 $2^{\circ}\text{C}$ - $8^{\circ}\text{C}$  ( $36^{\circ}\text{F}$ - $46^{\circ}\text{F}$ )  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  ( $-4^{\circ}\text{F}$ ) 在冰箱中保存多至24小时,并且24小时中的多至4小时可以保存在室温 $15^{\circ}\text{C}$ - $25^{\circ}\text{C}$  ( $59^{\circ}\text{F}$ - $77^{\circ}\text{F}$ )。准备好的注射器应避光。施用前,应在使用前通过不冷藏地保存30至60分钟使克拉扎珠单抗达到室温。

[0157] 程序

[0158] 这是在等待肾脏移植的高度HLA致敏的患者中克拉扎珠单抗的I/II期临床研究。研究打算持续3年。使用目前在Cedars-Sinai Medical Center HLA Laboratory使用的固相测定系统检测HLA抗体。

[0159] 通常,进入研究的患者最初在IVIG后一周接受PLEX (5-7次治疗)+IVIG,并皮下(SC)接受25mg克拉扎珠单抗。如果在初始剂量后未观察到安全性/耐受性/功效问题,则这些患者每四周(Q4W)接受5次另外的注射。如果患者接受HLAi移植,则在移植后以6个剂量的25mg SC Q4W继续使用克拉扎珠单抗6个月(从移植后第5天开始)。在移植后6个月进行方案活检,以评估同种异体移植物的ABMR证据,包括使用Banff 2015标准进行的C4d染色和TG。如果在第6个剂量的克拉扎珠单抗后看到改善,则患者将在6个月内继续接受另外6个剂量。表现出持续的同种异体移植物功能障碍的证据的患者可能因而具有非方案活检。移植后接受12个剂量的克拉扎珠单抗的患者将接受12M方案活检。在患者在接受6个剂量的克拉扎珠单抗后未显示改善的情况下,不进行进一步治疗,并且患者在第365天返回进行最终研究问诊。

[0160] 具体地,在移植时(第0天),进行了IVIG的一次剂量施用(IVIG#1)。在第1天施用IVIG的第二个剂量。随后开始治疗期。分别在第5天 $\pm 2\text{d}$ 、第30天 $\pm 7\text{d}$ 、第60天 $\pm 7\text{d}$ 、第90天 $\pm 14\text{d}$ 、第120天 $\pm 14\text{d}$ 和第150天 $\pm 14\text{d}$ 施用克拉扎珠单抗6次。

[0161] 图7描绘了患者ClazaDes03的研究时间线及其随时间推移的肌酐水平。患者“ClazaDES03”是32岁的男性,有不明病因继发的终末期肾病史。他的状态是在2012年但在2016年失败的不相关肾脏移植后为存活的。对于患者“ClazaDES03”,移植在第一个剂量的克拉扎珠单抗(皮下25mg)之后和第二个剂量的克拉扎珠单抗之前进行。该患者在第-15天接受了PLEX (5-7次);在第0天接受2g/kg IVIG;在第7天(2018年4月5日)接受移植前#1克拉扎珠单抗(25mg SQ);在第21天(2018年4月29日)接受已故供体的肾脏移植;约每月间隔接受移植后#1-#6克拉扎珠单抗(25mg SQ);用阿仑单抗(CAMPATH 1H)诱导,并在他克莫司、霉酚酸酯(MMF)和泼尼松上维持。当肾同种异体移植物活检在移植后约两个月的2018年6月28日(图8)检查并显示次优的肌酐水平时,贝拉西普的每月一次给药从2018年8月14日开始。在2018年10月23日,检查6M活检(图9)。从2018年10月31日开始,开始第二轮(#7-#12)的克拉扎珠单抗给药(#7移植后克拉扎珠单抗)。对于该患者,自移植以来,没有供体特异性抗体存在。

[0162] 抗-HLA抗体可以自然产生,或因先前的怀孕、输血或先前的移植而产生。用6个剂量的克拉扎珠单抗进行治疗以用于脱敏的患者接受了针对HLA抗体的血液采样,以及其他监测血样和免疫学研究。如果患者在研究期间接受了HLA移植,则他们将接受标准的移植后免疫抑制方案,和每4周皮下接受6个剂量的25mg克拉扎珠单抗,并进行免疫监测。血液样品中的免疫监测包括针对Treg、Tfh、Th17和B细胞亚群以及IL-6和CRP监测,其在Cedars-Sinai Transplant Immunology Laboratory进行。

#### [0163] 结果

[0164] 图1显示了受试者“ClazaDES01”在研究中的DSA谱,该受试者是50岁的非洲裔美国女性,具有活检证实的局灶性节段性肾小球硬化症(FSGS)继发的终末期肾病(ESRD)病史且自2008年11月以来一直接受透析(即对于B+血型的约10年的等待时间),其具有58%的计算出的群体反应性抗体(cPRA)。患者的致敏事件包括妊娠×4和输血。

[0165] 图2显示了受试者“ClazaDES05”在移植之前和之后的DSA谱。(中值荧光强度, MFI)。受试者“ClazaDES05”是36岁的女性,具有IgA肾病继发的ESRD的病史,并且她自2008年6月以来一直接受透析(即对于A+血型的约10年的等待时间),具有100%的cPRA。患者的致敏事件包括先前的移植和输血。受试者“ClazaDES05”在4个剂量的克拉扎珠单抗后接受已故供体肾脏移植。患者在移植之前和之后进行了2次DSA(I类和II类)。I类的DSA强度从移植时的MFI>12,500MFI降低到移植后10天的MFI=0,II类的DSA强度从移植时的MFI>17,500降低到移植后10天的MFI>3250。根据研究方案,患者在移植后连续6个月每月接受克拉扎珠单抗。

[0166] 图3A显示了克拉扎珠单抗脱敏研究中的总C反应蛋白量。总体而言,到第2个月,C反应蛋白(CRP)从基线降低到几乎为零。括号中标出了每个时间点的在分析中包含的受试者数量。图3B显示了从基线到第7个月在克拉扎珠单抗脱敏研究中个体C反应蛋白量。

[0167] 图4显示了从血浆去除术(PLEX)之前(pre-PLEX)到第5个剂量的克拉扎珠单抗(N=9)随时间推移的MFI总数。通常,MFI倾向于在完成PLEX/IVIg之后约1-3个月反弹。在这里,在每月克拉扎珠单抗注射的情况下,与pre-PLEX相比,MFI总数随着时间推移保持减少。迄今为止,已有3例患者进行了移植。在第1个剂量的克拉扎珠单抗移植后,将ClazaDES01和ClazaDES03患者进行移植。在第4个剂量的克拉扎珠单抗注射后,患者ClazaDES05接受了移植。

[0168] 对于患者“ClazaDES03”,图7显示了他的随时间推移的肌酐(mg/dL)水平,比较了脱敏治疗之前和脱敏治疗和肾脏移植之后。移植后在两轮移植后克拉扎珠单抗施用的情况下维持了较低水平的肌酐。图8显示了患者“ClazaDES03”的2个月肾脏移植活检。在该活检中,出现了轻度急性肾小管损伤;轻度至中度的动脉硬化和轻度小动脉硬化,这与供体疾病一致;没有急性排斥反应的诊断证据(根据Banff标准,至多为细胞介导的排斥反应的边界线);没有相关的肾小球增生变化的肾小球系膜IgA沉积。由于在来自该患者先前在2012年的肾脏移植物的活检上没有IgA染色,因此认为该活检上存在的IgA可能与供体相关。图9显示了患者“ClazaDES03”的6个月肾脏移植植物活检。在该活检中,存在具有罕见的等距上皮泡的急性肾小管坏死;轻度肾小管间质炎症(对于细胞介导的排斥反应的最多临界变化);动脉硬化;和最小的间质纤维化/管状萎缩。检测到罕见的等距上皮泡,并且其可能与最近的IVIg治疗的急性钙调神经磷酸酶抑制剂毒性有关。没有抗体介导的排斥反应或多瘤病毒肾

病的诊断特征。

[0169] 总的来说,使用克拉扎珠单抗的脱敏治疗减少HLA抗体,并容许该研究中至少40%的患者的移植。

[0170] 从2018年3月至11月,总共招募了十个患者。九个患者容许接受移植:在研究期间移植了八个患者,并且在研究完成两个月后移植了第九个患者。四个患者已达到12个月的研究期。接受的所有输注均良好耐受。没有观察到移植物丢失或患者死亡,并且没有归因于克拉扎珠单抗或需要停用克拉扎珠单抗的重大感染。六个月时肾功能是稳定的。人口统计信息和免疫学/移植特性总结于表1和表2中。

[0171] 表1.接受移植的9名受试者的人口统计信息和基线特征。

患者人口统计信息	移植的 N=9
性别(男) (No., %)	5 (55.6%)
年龄范围 (Yrs)	32-66
ESRD (No., %)	
HTN	1 (11.1%)
肾小球肾炎	3 (33.3%)
IgA 肾病	2 (22.2%)
病因不明	1 (11.1%)
反流性肾病	1 (11.1%)
PKD	1 (11.1%)
非裔美国人 (No., %)	3 (33.3%)
冷缺血时间(Hrs)	19.3 ± 7.15
移植物功能延迟恢复(No., %)	6 (66.7%)
从透析到移植的时间(D)	3095 ± 1545.18
从最后一次克拉扎珠单抗到移植的平均时间(D)	143.6 ± 91.5

[0173] 表2.接受移植的9位受试者的免疫学和移植特征。

免疫/移植特征	移植的 N=8
先前的 Tx (No., %)	9 (100%)
cPRA (No., %)	
50-60%	1 (11.1%)
90-98%	1 (11.1%)
99-100%^ (范围 99.51-99.93)	7 (77.8%)
HLA A/B/DR 不匹配, 平均值(SD)	1.67±1.96
流动 CMX 阳性 (截断值: T <70 MCS 链霉蛋白酶; B <130 MCS 链霉蛋白酶)	
仅 B 细胞	6 (66.7%)
T 细胞+ B 细胞	1 (11.1%)
无	2 (22.2%)
移植时的 DSA	
仅 II 类	6 (66.7%)
I 类+ II 类	1 (11.1%)
无	2 (22.2%)
移植物损失(No., %)	
手术/技术	1 (11.1%)
死亡(No., %)	0 (0%)
病毒感染	
CMV 病毒血症	0 (0%)
BK 病毒血症	1 (11.1%)
eGFR 平均值(SD) (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	
3 个月时	56.8±27.8

[0174] ^:1位患者接受了OMM

[0176] 除第九个患者外,所有患者均经历了6个月方案活检。两个患者(25%)具有活检证实的排斥反应:1个患者具有慢性活性细胞介导的排斥反应,Banff 1A级;1个患者具有慢性活性抗体介导的排斥反应和细胞介导的排斥反应,Banff 1B级。两个患者均对根据研究中心的护理标准方案的治疗做出了反应。

[0177] 9个移植患者中的7个(78%) 在脱敏前和在移植时具有DSA。仅3个患者(33%) 在一个月时检测到DSA;2个患者(22%) 在3个月时检测到DSA;并且没有患者在六个月(6M)、九个月(9M)和12个月(12M)时检测到DSA(包括在一个月和三个月时检测到DSA的患者)。脱敏前、在移植时、在1个月和3个月时的DSA MFI值(平均值±SD)如下:11060±6990、7980±6260、1923±3973、1040±2650以及6M、9M和12M分别为0±0。当比较脱敏前与1M(p=0.0004)和3M(p=0.0001)以及移植时与1M(p=0.007)和3M(p=0.001)时,平均DSA MFI显著降低。

[0178] 有七个SAE,但是全部被认为与克拉扎珠单抗无关。这些SAE包括在接受第一剂量的研究药物前的需要伤口重新闭合的伤口裂开(1个SAE)、血尿和UTI(1个SAE)以及菌血症(1个SAE),右髂外动脉血栓形成伴随移植物丢失(1个SAE),需要生长MSSA的移植物周围液体的CT引导引流的持续的手术部位疼痛(1个SAE),由于克拉扎珠单抗施用d/t感染的延迟导致的活检证明的慢性活动性ABMR和慢性血小板减少症(1个SAE),需要CT引导引流的肾周液体收集(1个SAE)。

[0179] 主要目标

[0180] 为了确定克拉扎珠单抗治疗是否可以显著减少或消除在克拉扎珠单抗脱敏后移植到高度HLA致敏的患者中的不相容同种异体移植物中的ABMR发作和C4d沉积。移植后评估同种异体移植物功能长达6-12个月(6-12M),使用血清肌酐(SCr)、肾脏疾病中饮食修改(MDRD)GFR计算值(对于18岁以下的患者将使用Schwartz方程估算肌酐清除率(CrCl))和DSA水平确定肾脏功能。在克拉扎珠单抗治疗后6M进行方案活检。此外,在开始克拉扎珠单抗治疗之前和之后的时间点评估血液样品的几种免疫学测定。这些包括:

[0181] 评估T<sub>reg</sub>细胞(CD4+,CD25+,FoxP3+CD127<sup>dim</sup>)

[0182] 评估T<sub>fh</sub>细胞(CD4+,ICOS+,CXCR5+,IL-21+)

[0183] 评估循环浆母细胞(CD19+,CD38+,CD27+,IL-6+)

[0184] 评估CRP和IL-6水平

[0185] 这些次要终点将帮助我们了解对同种异体移植物的同种异体免疫反应的生物学特性,并确定克拉扎珠单抗有益作用的能力和机制。按照护理标准监测病毒PCR。

[0186] 入选标准

[0187] 筛选时的年龄15-75岁。在UNOS名单上等待DD或LD肾脏移植的HS患者(cPRA≥50%)。怀孕、输血和/或肾脏移植的既往史。受试者/父母/监护人必须愿意充分参与研究要求。受试者/父母/监护人必须能够理解并提供知情同意。肺炎球菌接种疫苗的。阴性结核菌素(ppd)放置结果或阴性Quantiferon TB金结果。这些个体还必须在UNOS名单上有足够的等待时间,以允许具有阳性交叉匹配(DD)或不相容(LD)伴随阳性流式细胞术(FCMX)和阴性补体依赖性细胞毒性(CDC+)交叉匹配的历史的频繁提供。脱敏后进行HLA<sub>i</sub>移植的患者会具有在1:2稀释度下的CDC CMX阴性、FCMX<225通道移位和处于先前定义的可接受的MFI的DSA。

[0188] 排除标准

[0189] 多器官移植(例如,肾脏和胰腺)。

[0190] 对克拉扎珠单抗或其他IL-6抑制剂治疗不耐受。

[0191] 哺乳期或怀孕的女性。

[0192] 在研究期间以及最后一次施用后5个月,不愿或无法实行FDA批准的避孕方式的育龄妇女和育龄妇女的男性伴侣。

[0193] HIV阳性受试者。

[0194] 通过HBVeAg/DNA对于HBV或对于HCV感染[阳性抗HCV(EIA)和证实的HCV RIBA]测试为阳性的受试者。

[0195] 具有潜在或活动性TB的受试者。受试者必须具有阴性Quantiferon TB金测试结果。

[0196] 筛选访视的两个月内任何许可的或研究性减毒活疫苗(包括但不限于以下任何一种:腺病毒[口服7型腺病毒疫苗],水痘[Varivax],甲型肝炎[VAQTA],轮状病毒[Rotashield],黄热病[Y-F-Vax],麻疹和腮腺炎[活麻疹和腮腺炎病毒活疫苗],麻疹、腮腺炎和风疹疫苗[M-M-R-II],Sabin口服脊髓灰质炎疫苗和狂犬病疫苗[IMOVAX狂犬病I.D., RabAvert])的最近接受者。

[0197] 明显异常的一般血清筛查实验室结果,定义为ANC<2000,血小板计数<100×10<sup>3</sup>/

ml, SGOT或SGPT $>1.5 \times$ 正常上限。

[0198] 被视为无法遵守方案的个体。

[0199] 具有CMV特异性血清学(IgG或IgM)定义并通过定量PCR确认的具有活不具有相容性疾病的活动性CMV或EBV感染的受试者(定量PCR截断值定义为具有 $>50$ 个拷贝的CMV或EBV DNA/PCR)参与的4周之内使用研究试剂。

[0200] 病史或活跃的炎症性肠病或憩室病或胃肠穿孔

[0201] 需要任何抗生素使用(口服、肠胃外或局部)的最近的感染(在筛选的过去6周内)。

[0202] 除基底细胞癌、完全切除的皮肤鳞状细胞癌或非复发性(5年内)原位宫颈癌外,目前或以前(5年内)的恶性肿瘤。

[0203] 申请人还进行了一项研究,其评估与透析相比脱敏的成本/收益分析。脱敏后移植的相关费用包括所有药物、器官获得、治疗排斥反应发作以及失去其同种异体移植物的患者的回到透析的费用(有利地与在相同时间内保持透析的费用相比)。最重要的是在该队列中移植带来的生存利益。在第3年时,脱敏和移植的患者的死亡率为3.5%、而一直在透析的患者的死亡率为22.8%。

[0204] 如果在研究期间发生排斥反应(经活检证实),则患者使用“负载(pulse)”甲泼尼龙(10mg/kg/天,对于 $>100$ kg最大1000mg,持续3天)和抗胸腺细胞球蛋白(1.5mg/kg,每日 $\times 4$ )针对对负载类固醇无反应的细胞介导的排斥反应发作进行治疗。在研究药物治疗后经历复发性抗体介导的排斥(ABMR)发作的患者将最初接受每天IV $\times 3$ 个剂量负载甲泼尼龙(10mg/kg/天,对于 $>100$ kg最大1000mg),然后取决于严重程度,使用IV $\times 1$ 剂量的IVIG 10%溶液2gm/kg(对于 $>70$ kg最大140g),然后是IV $\times 1$ 剂量的利妥昔单抗(375mg/m<sup>2</sup>)。在发现同种异体移植功能的迅速恶化和/或诊断出血栓形成性微血管病的情况下,则患者将接受3-5次血浆置换,随后每周IV接受抗C5(**Eculizumab®**)持续4周(第1周1200mg,随后900mg/周持续另外3周)。如果需要,将通过确定肾功能改善、监测DSA反应并重复同种异体移植活检来评估治疗的效果。为了本研究的目的,ABMR的定义如下:通过血清Cr和eGFR测量的高风险移植受者(即具有DSA病史的致敏患者)中的同种异体移植功能的恶化(定义为从基线下降 $>30\%$ );与通过LUMINEX技术测量的DSA的存在(通常强度增加)相关;基于BANFF 2015分级的活检证据,包括:毛细血管炎、炎症和C4d沉积。

[0205] 在用克拉扎珠单抗治疗后监测不良事件(AE)和危急不良事件。这些包括仔细注意可能与克拉扎珠单抗治疗相关的感染并发症。我们的研究小组评估了与IVIG+利妥昔单抗脱敏和阿仑单抗诱导治疗随后使用他克莫司、MMF和泼尼松的维持治疗相关的感染并发症。该脱敏方案的使用随后使用阿仑单抗诱导不会与低风险组的患者相比增加移植后常见或危急感染的风险。危急感染定义为需要i.v.抗生素或住院治疗的任何病毒感染和真菌或细菌感染。因此,ABMR治疗后研究组(克拉扎珠单抗)中的感染风险将可能与非致敏的患者相似和相当。参加本研究的所有患者都需要接种针对肺炎链球菌的疫苗。

[0206] 在该研究中,所有研究患者(无论其巨细胞病毒(CMV)状态如何)均在肾脏移植后接受6个月的IV更昔洛韦,而住院患者和门诊患者作为门诊患者,其中使用了针对肾功能的剂量调整。移植后使用1个月的每天100mg氟康唑完成真菌预防。移植后使用12个月的每天80mg甲氧苄啶和400mg磺胺甲噁唑完成耶氏肺孢子虫肺炎和细菌预防。移植后使用每月

对研究患者进行针对CMV、爱泼斯坦-巴尔病毒、细小病毒B-19、多瘤病毒BK和JC的病毒聚合酶链反应测定,持续6个月。

[0207] 以上在详细描述中描述了本发明的各种实施方案。尽管这些描述直接描述了上述实施方案,但是应当理解,本领域技术人员可以想到对这里示出和描述的特定实施方案的修改和/或变化。落入本说明书范围内的任何这样的修改或变化也意图包括在其中。除非特别指出,否则发明人的意图是将说明书和权利要求书中的词语和短语赋予适用领域的普通技术人员普通和习惯的含义。

[0208] 已经提出了在提交本申请时申请人已知的本发明的各个实施方案的前述描述,并且其意图是为了举例说明和描述的目的。本说明书不旨在面面俱到的,也不旨在将本发明限制为所公开的精确形式,并且根据以上教导,许多修改和变型是可能的。所描述的实施方案用于解释本发明的原理及其实际应用,并且使本领域的其他技术人员能够在各种实施方案中以适于所考虑的特定用途的各种修改来利用本发明。因此,意图是本发明不限于公开的用于执行本发明的特定实施方案。

[0209] 尽管已经示出和描述了本发明的特定实施方案,但是对于本领域技术人员而言明显的是,基于本文的教导,可以在不脱离本发明及其更广泛的方面和范围的情况下进行改变和修改,因此,所附权利要求书将在本发明的真实精神和范围内的所有这些改变和修改都包含在其范围内。本领域技术人员将理解,通常,本文中使用的术语通常旨在作为“开放”术语(例如,术语“包括”应解释为“包括但不限于”,术语“具有”应该被解释为“至少具有”,术语“包含”应被解释为“包含但不限于”,等等)。

[0210] 如本文所用,术语“包含”或“包括”用于指对实施方案有用的,但对包括未指定的元素(无论是否有用)开放的组合物、方法及其相应的组分。本领域技术人员将理解,通常,本文中使用的术语通常旨在作为“开放”术语(例如,术语“包括”应解释为“包括但不限于”,术语“具有”应该被解释为“至少具有”,术语“包含”应被解释为“包含但不限于”,等等)。尽管在本文中使用的开放式术语“包括”作为术语诸如包括、包含或具有的同义词来描述和要求保护本发明,但是可替代地可以使用替代术语诸如“由.....组成”或“基本上由.....组成”来描述。

[0211] 除非另有说明,否则所有表示数量的数字在任何情况下均应理解为由术语“约”修饰。术语“约”可以指所提及的值的 $\pm 10\%$ 。如果在权利要求书中明确定义和提供,则术语“约”可以指所指数值的 $\pm 9\%$ 、 $\pm 8\%$ 、 $\pm 7\%$ 、 $\pm 6\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 4\%$ 、 $\pm 3\%$ 、 $\pm 2\%$ 、或 $\pm 1\%$ ;例如,权利要求书可陈述值约为X,其中约为 $\pm 6\%$ 。

[0212] 在提供值的范围的情况下,在该范围的上限和下限之间并且包括该范围的上限和下限的每个数值被预期如本文所公开的。应当理解,本文列举的任何数值范围旨在包括其中包含的所有子范围。例如,范围“1至10”旨在包括在所列举的最小值1和所列举的最大值10之间并且包括所列举的最小值1和所列举的最大值10的所有子范围;即具有等于或大于1的最小值和等于或小于10的最大值。因为公开的数值范围是连续的,所以它们包括最小值和最大值之间的每个值。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 西达赛奈医疗中心
- [0003] <120> 使用克拉扎克珠单抗脱敏和改善HLA致敏患者中的肾脏移植
- [0004] <130> 065472-000762W000
- [0005] <150> 62/757,676
- [0006] <151> 2018-11-08
- [0007] <150> 62/855,988
- [0008] <151> 2019-06-01
- [0009] <160> 12
- [0010] <170> PatentIn version 3.5
- [0011] <210> 1
- [0012] <211> 5
- [0013] <212> PRT
- [0014] <213> 人工序列
- [0015] <220>
- [0016] <223> VH CDR1
- [0017] <400> 1
- [0018] Asn Tyr Tyr Val Thr
- [0019] 1 5
- [0020] <210> 2
- [0021] <211> 16
- [0022] <212> PRT
- [0023] <213> 人工序列
- [0024] <220>
- [0025] <223> VH CDR2
- [0026] <400> 2
- [0027] Ile Ile Tyr Gly Ser Asp Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Trp Ala Ile Gly
- [0028] 1 5 10 15
- [0029] <210> 3
- [0030] <211> 16
- [0031] <212> PRT
- [0032] <213> 人工序列
- [0033] <220>
- [0034] <223> 另一VH CDR2
- [0035] <400> 3
- [0036] Ile Ile Tyr Gly Ser Asp Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Ser Ala Ile Gly
- [0037] 1 5 10 15
- [0038] <210> 4

[0039] <211> 12  
 [0040] <212> PRT  
 [0041] <213> 人工序列  
 [0042] <220>  
 [0043] <223> VH CDR3  
 [0044] <400> 4  
 [0045] Asp Asp Ser Ser Asp Trp Asp Ala Lys Phe Asn Leu  
 [0046] 1 5 10  
 [0047] <210> 5  
 [0048] <211> 11  
 [0049] <212> PRT  
 [0050] <213> 人工序列  
 [0051] <220>  
 [0052] <223> VL CDR1  
 [0053] <400> 5  
 [0054] Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Glu Leu Ser  
 [0055] 1 5 10  
 [0056] <210> 6  
 [0057] <211> 7  
 [0058] <212> PRT  
 [0059] <213> 人工序列  
 [0060] <220>  
 [0061] <223> VL CDR2  
 [0062] <400> 6  
 [0063] Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser  
 [0064] 1 5  
 [0065] <210> 7  
 [0066] <211> 12  
 [0067] <212> PRT  
 [0068] <213> 人工序列  
 [0069] <220>  
 [0070] <223> VL CDR3  
 [0071] <400> 7  
 [0072] Gln Gln Gly Tyr Ser Leu Arg Asn Ile Asp Asn Ala  
 [0073] 1 5 10  
 [0074] <210> 8  
 [0075] <211> 166  
 [0076] <212> PRT  
 [0077] <213> 人工序列

[0078] <220>  
 [0079] <223> VH  
 [0080] <400> 8  
 [0081] Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly  
 [0082] 1 5 10 15  
 [0083] Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro  
 [0084] 20 25 30  
 [0085] Gly Thr Pro Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser  
 [0086] 35 40 45  
 [0087] Asn Tyr Tyr Val Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 [0088] 50 55 60  
 [0089] Trp Ile Gly Ile Ile Tyr Gly Ser Asp Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Trp  
 [0090] 65 70 75 80  
 [0091] Ala Ile Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu  
 [0092] 85 90 95  
 [0093] Lys Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala  
 [0094] 100 105 110  
 [0095] Arg Asp Asp Ser Ser Asp Trp Asp Ala Lys Phe Asn Leu Trp Gly Gln  
 [0096] 115 120 125  
 [0097] Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 [0098] 130 135 140  
 [0099] Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala  
 [0100] 145 150 155 160  
 [0101] Leu Gly Cys Leu Val Lys  
 [0102] 165  
 [0103] <210> 9  
 [0104] <211> 109  
 [0105] <212> PRT  
 [0106] <213> 人工序列  
 [0107] <220>  
 [0108] <223> 另一VH  
 [0109] <400> 9  
 [0110] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 [0111] 1 5 10 15  
 [0112] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr  
 [0113] 20 25 30  
 [0114] Tyr Val Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 [0115] 35 40 45  
 [0116] Gly Ile Ile Tyr Gly Ser Asp Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Trp Ala Ile

[0117]	50	55	60
[0118]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
[0119]	65	70	75 80
[0120]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
[0121]	85	90	95
[0122]	Arg Asp Asp Ser Ser Asp Trp Asp Ala Lys Phe Asn Leu		
[0123]	100	105	
[0124]	<210> 10		
[0125]	<211> 109		
[0126]	<212> PRT		
[0127]	<213> 人工序列		
[0128]	<220>		
[0129]	<223> 另一VH		
[0130]	<400> 10		
[0131]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
[0132]	1 5 10 15		
[0133]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr		
[0134]	20 25 30		
[0135]	Tyr Val Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
[0136]	35 40 45		
[0137]	Gly Ile Ile Tyr Gly Ser Asp Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Ser Ala Ile		
[0138]	50 55 60		
[0139]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
[0140]	65 70 75 80		
[0141]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
[0142]	85 90 95		
[0143]	Arg Asp Asp Ser Ser Asp Trp Asp Ala Lys Phe Asn Leu		
[0144]	100 105		
[0145]	<210> 11		
[0146]	<211> 163		
[0147]	<212> PRT		
[0148]	<213> 人工序列		
[0149]	<220>		
[0150]	<223> VL		
[0151]	<400> 11		
[0152]	Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp		
[0153]	1 5 10 15		
[0154]	Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser		
[0155]	20 25 30		

[0156]	Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser
[0157]	35 40 45
[0158]	Gln Ser Ile Asn Asn Glu Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
[0159]	50 55 60
[0160]	Arg Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val
[0161]	65 70 75 80
[0162]	Ser Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
[0163]	85 90 95
[0164]	Ile Ser Asp Leu Glu Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
[0165]	100 105 110
[0166]	Gly Tyr Ser Leu Arg Asn Ile Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu
[0167]	115 120 125
[0168]	Val Val Val Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
[0169]	130 135 140
[0170]	Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
[0171]	145 150 155 160
[0172]	Leu Asn Asn
[0173]	<210> 12
[0174]	<211> 99
[0175]	<212> PRT
[0176]	<213> 人工序列
[0177]	<220>
[0178]	<223> 另一VL
[0179]	<400> 12
[0180]	Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp
[0181]	1 5 10 15
[0182]	Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Glu Leu
[0183]	20 25 30
[0184]	Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
[0185]	35 40 45
[0186]	Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
[0187]	50 55 60
[0188]	Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
[0189]	65 70 75 80
[0190]	Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ser Leu Arg Asn Ile
[0191]	85 90 95
[0192]	Asp Asn Ala

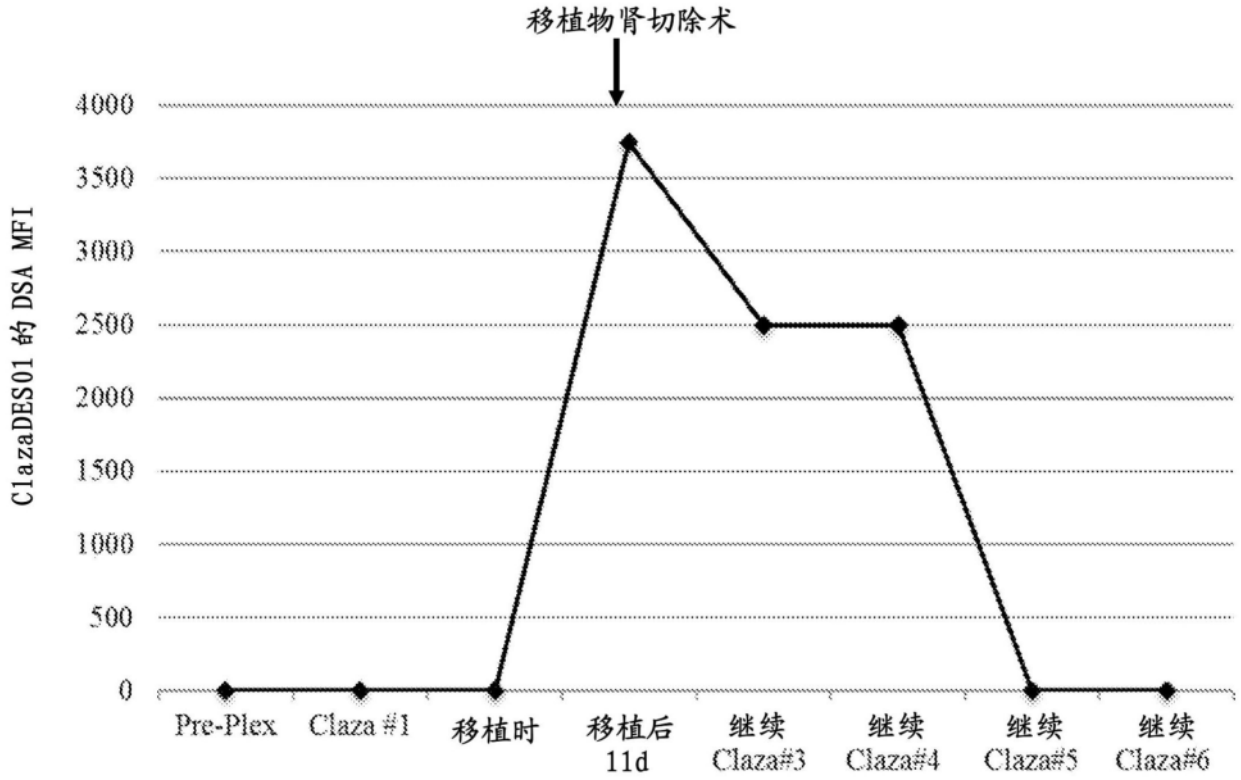


图1

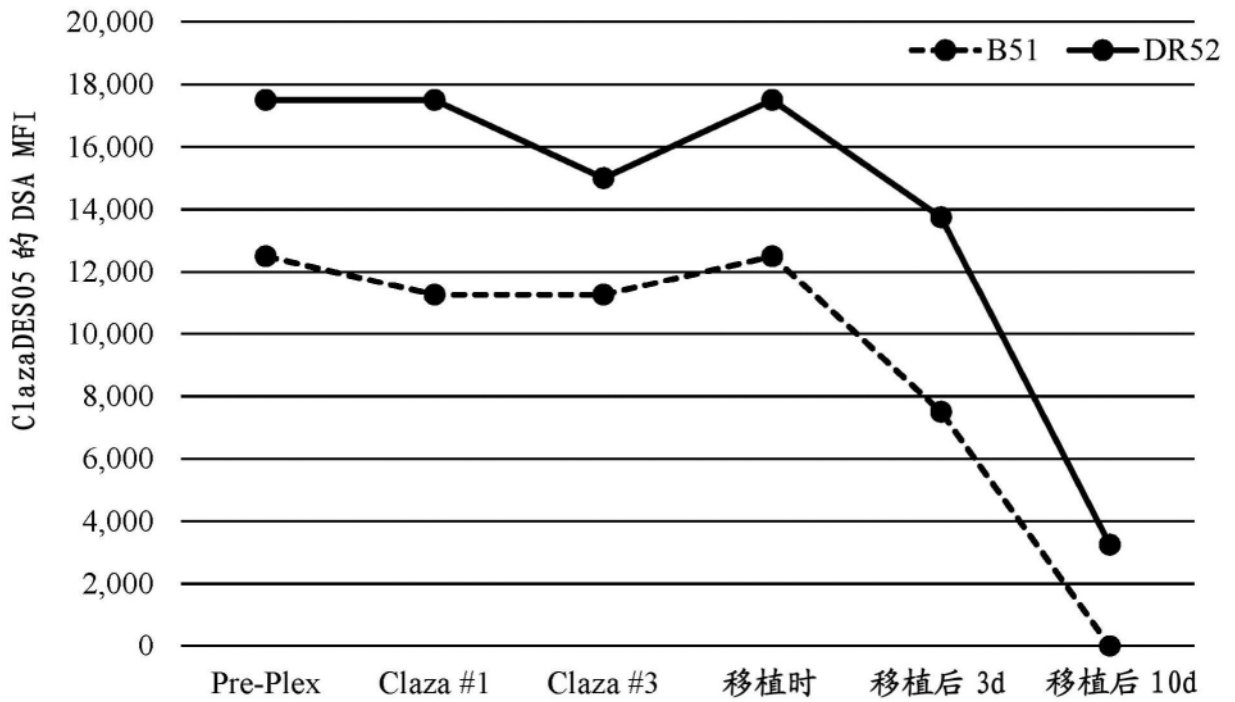


图2

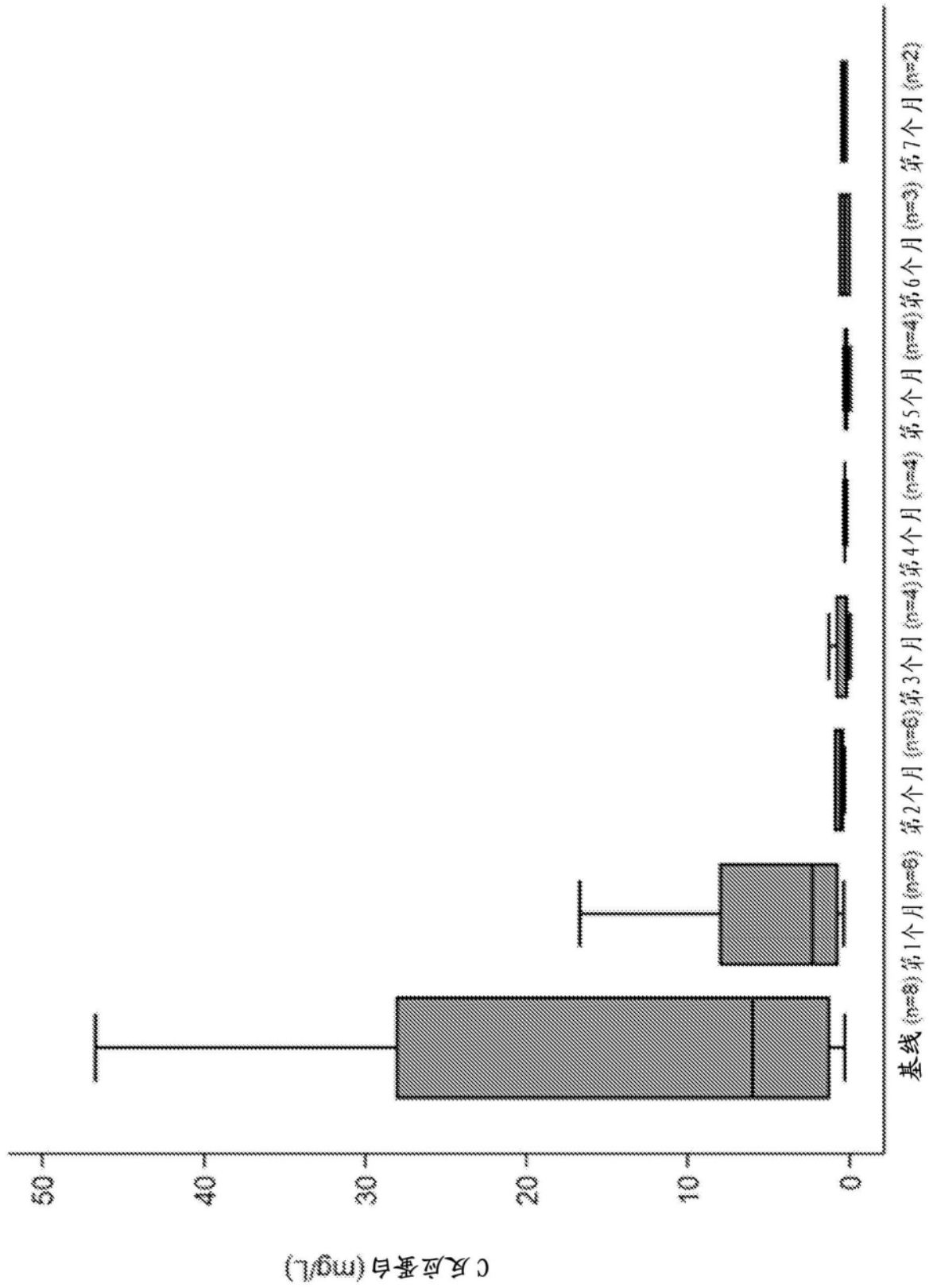


图3A

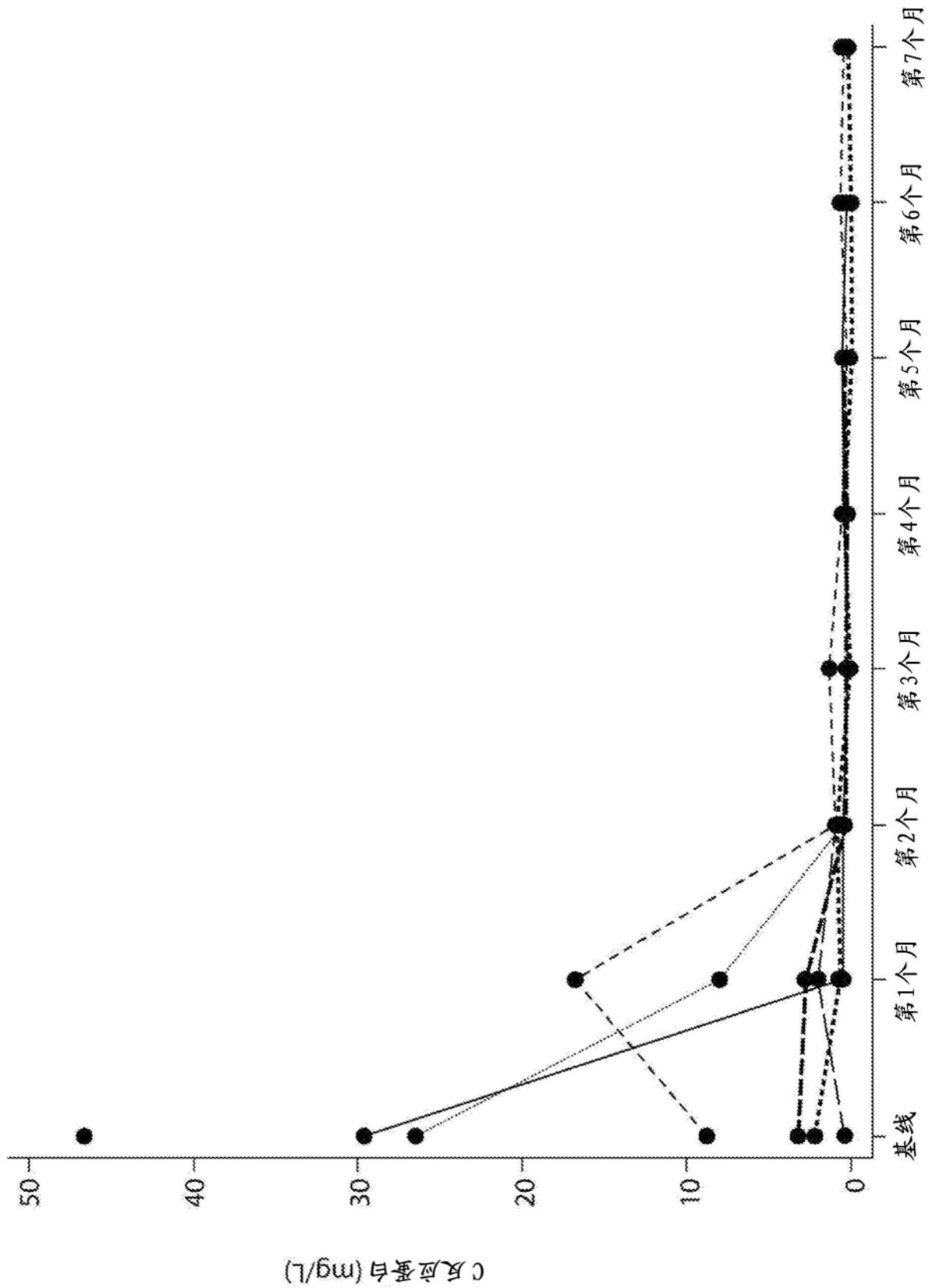


图3B

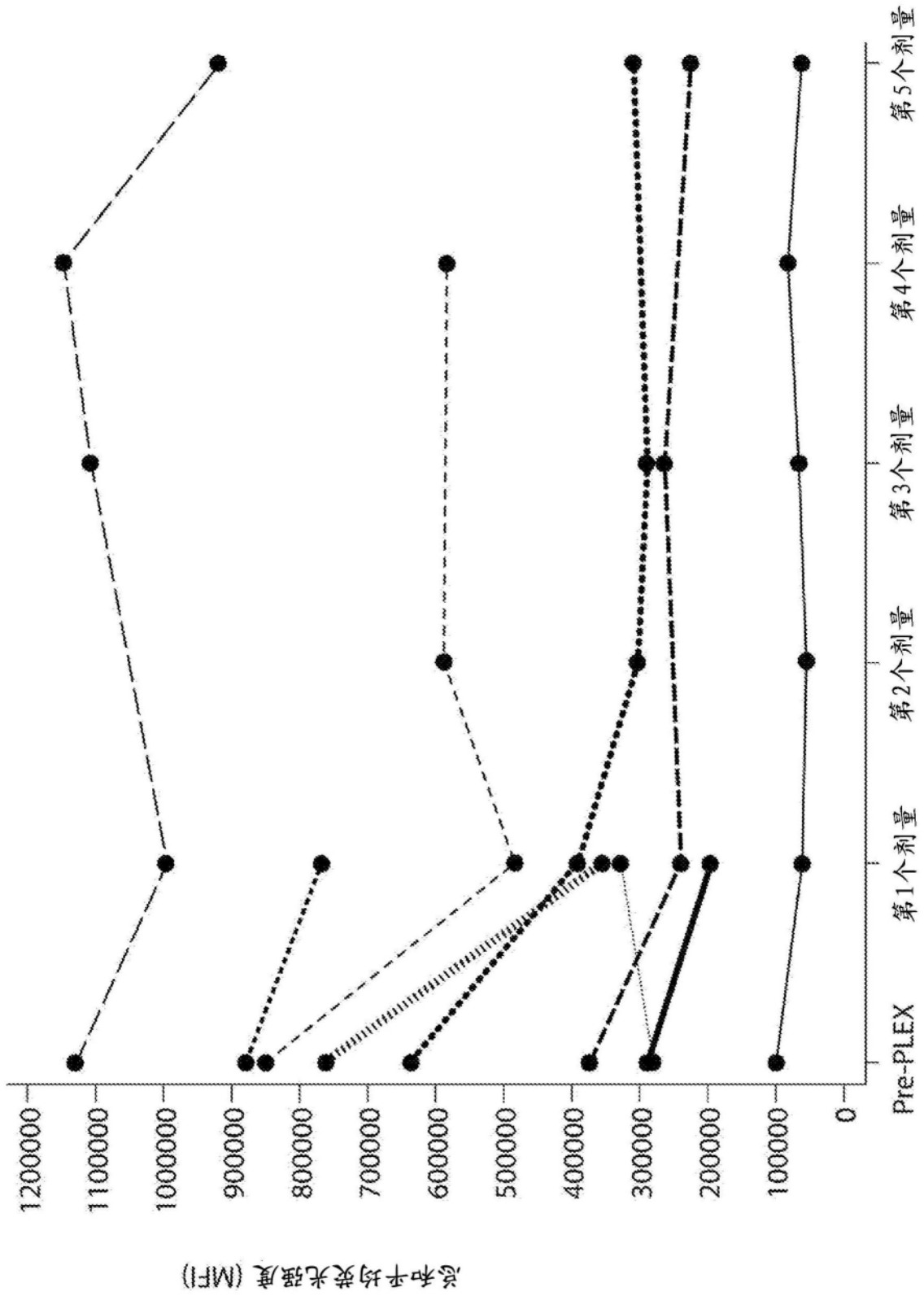


图4

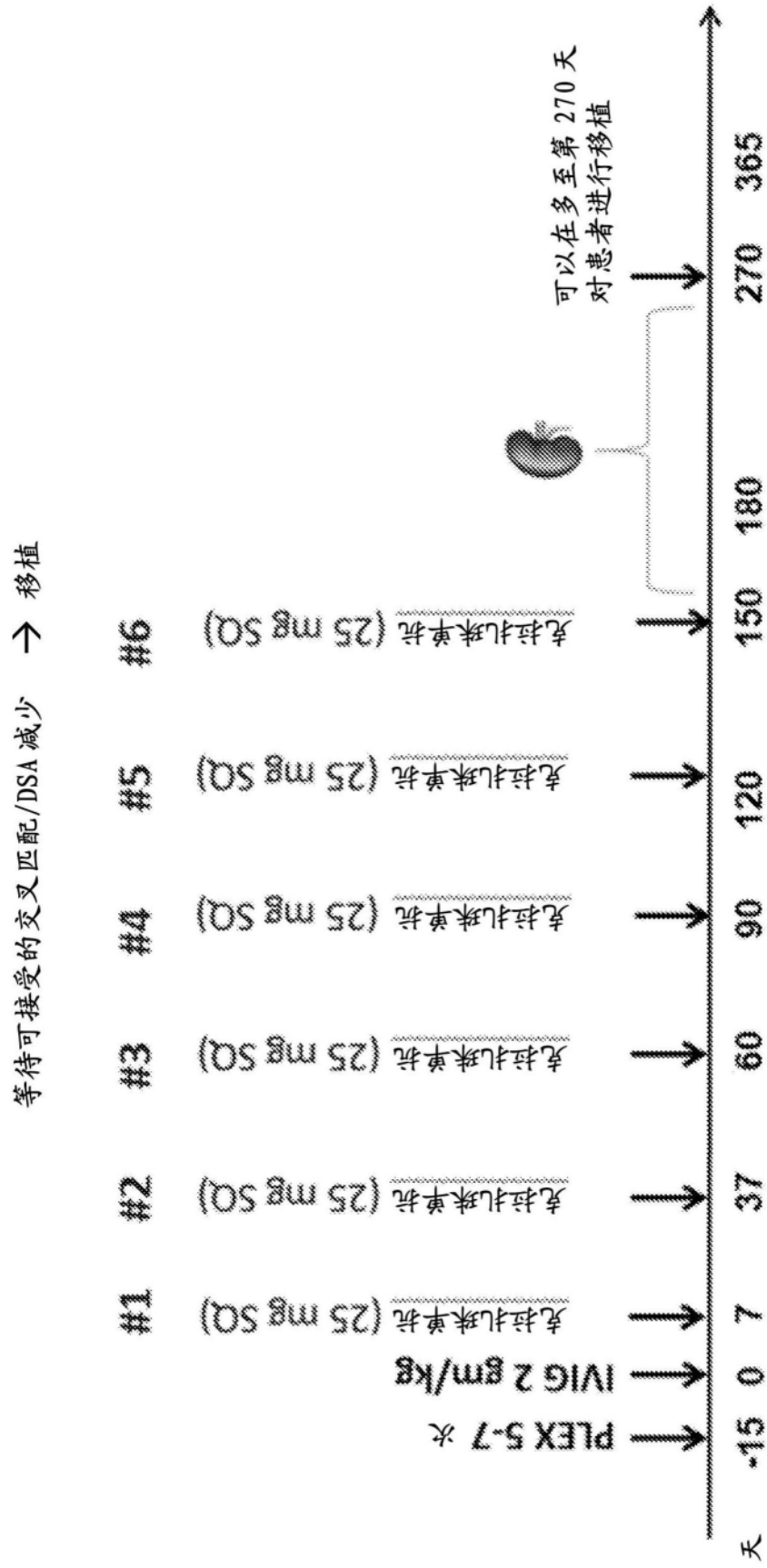


图5



图6

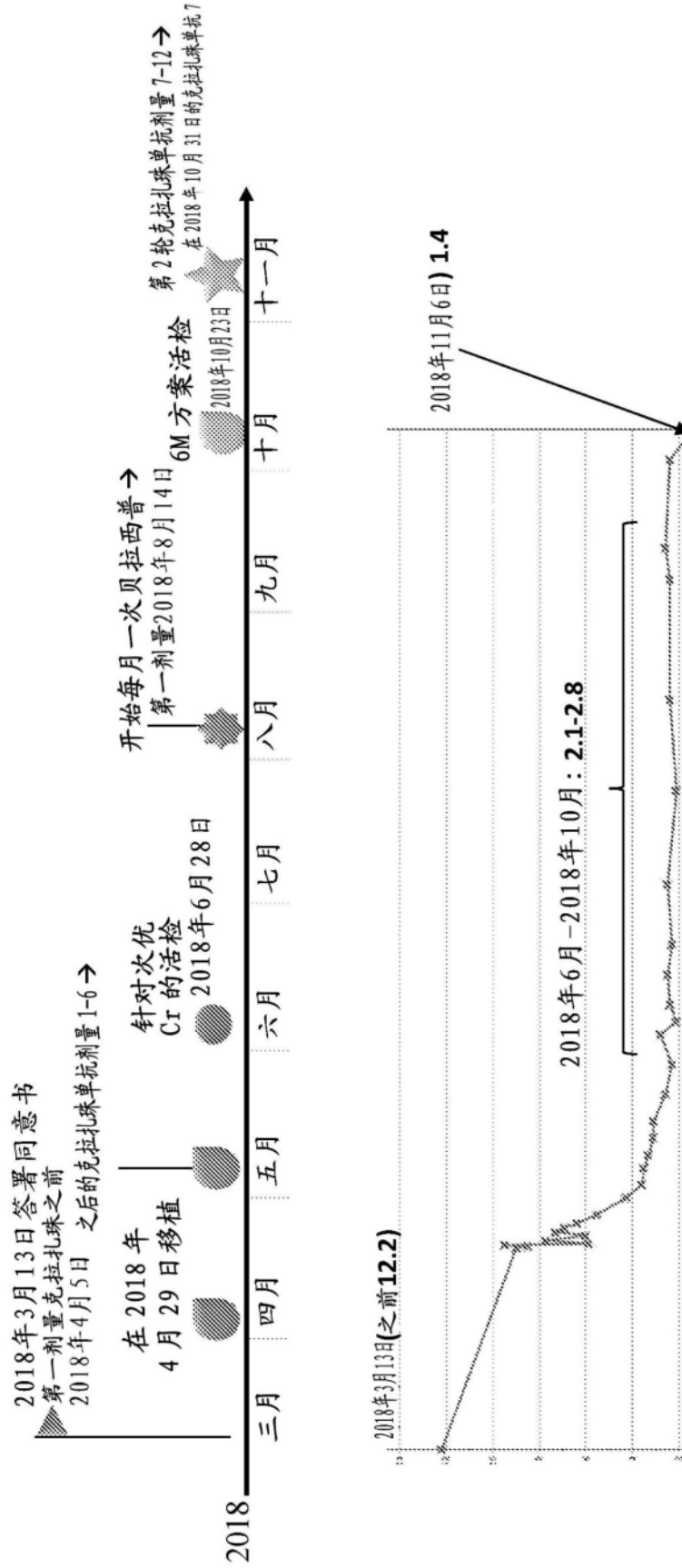
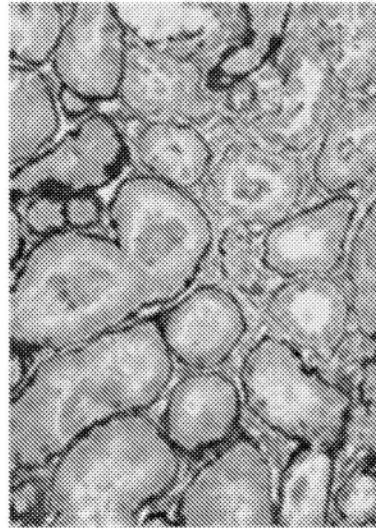
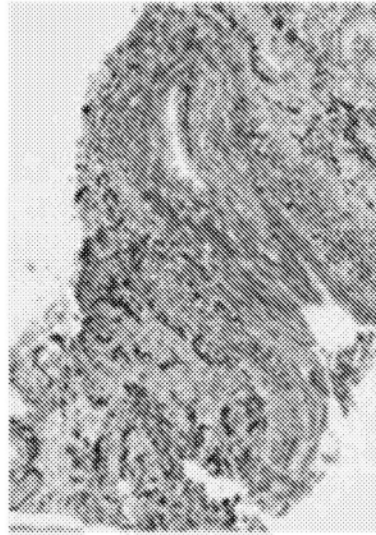


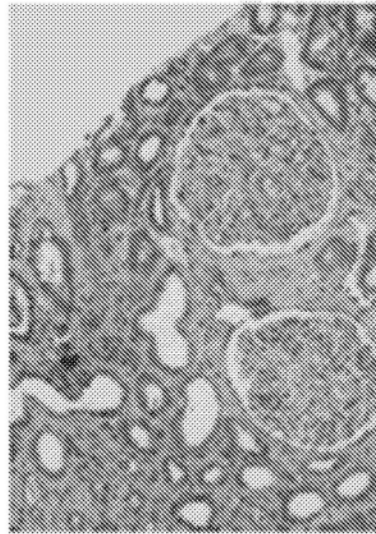
图7



非常局灶性肾小管炎

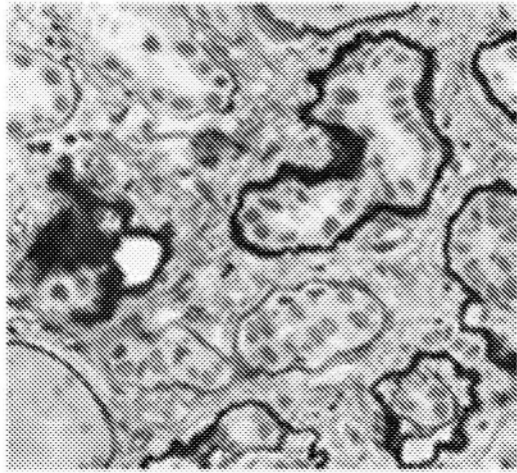


动脉硬化

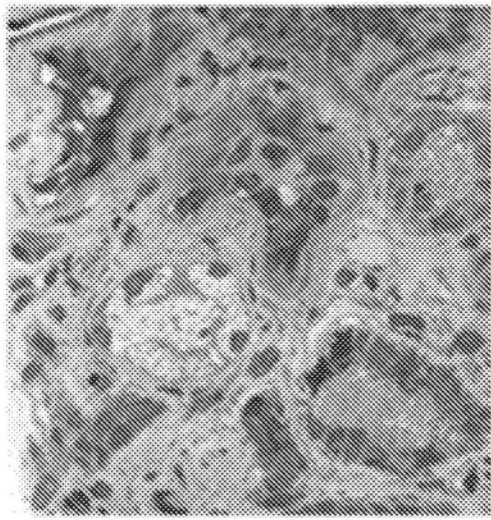


肾小管损伤

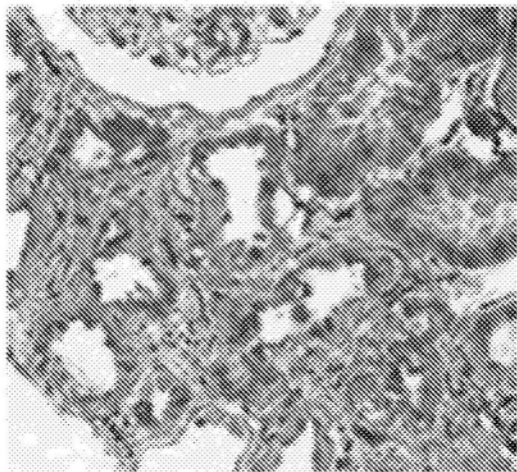
图8



轻度肾小管间质发炎



罕见的等距泡



急性肾小管坏死

图9

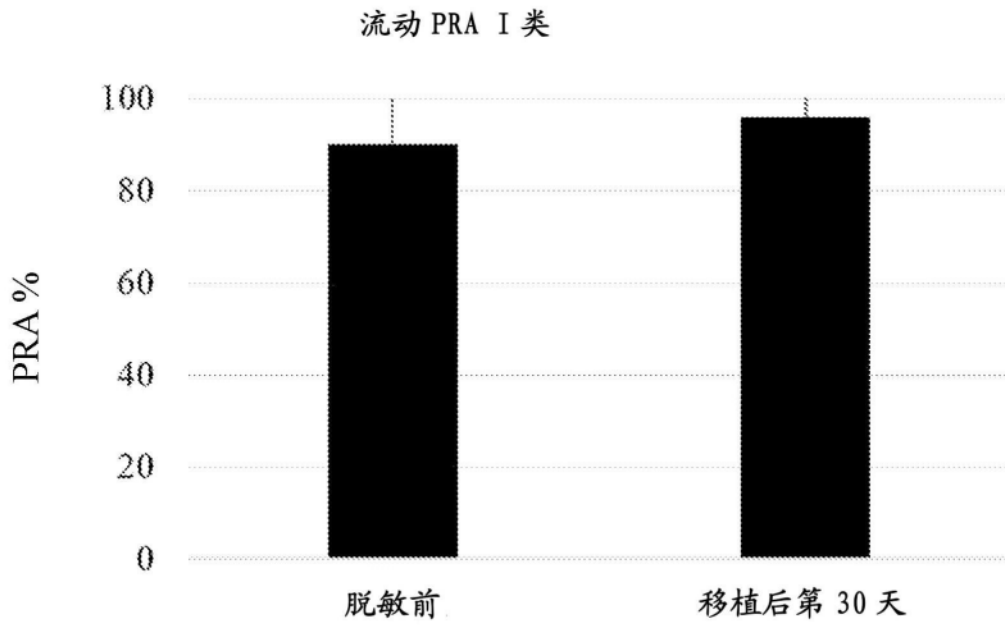


图10A

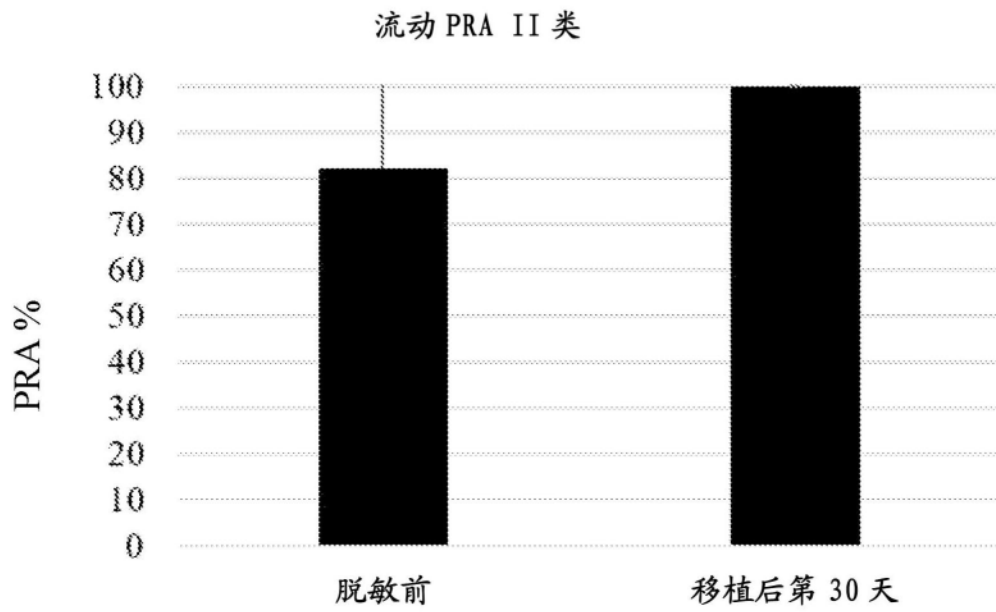


图10B

克拉扎珠单抗之前和之后的 HLA CI&CII 抗体 (移植的)

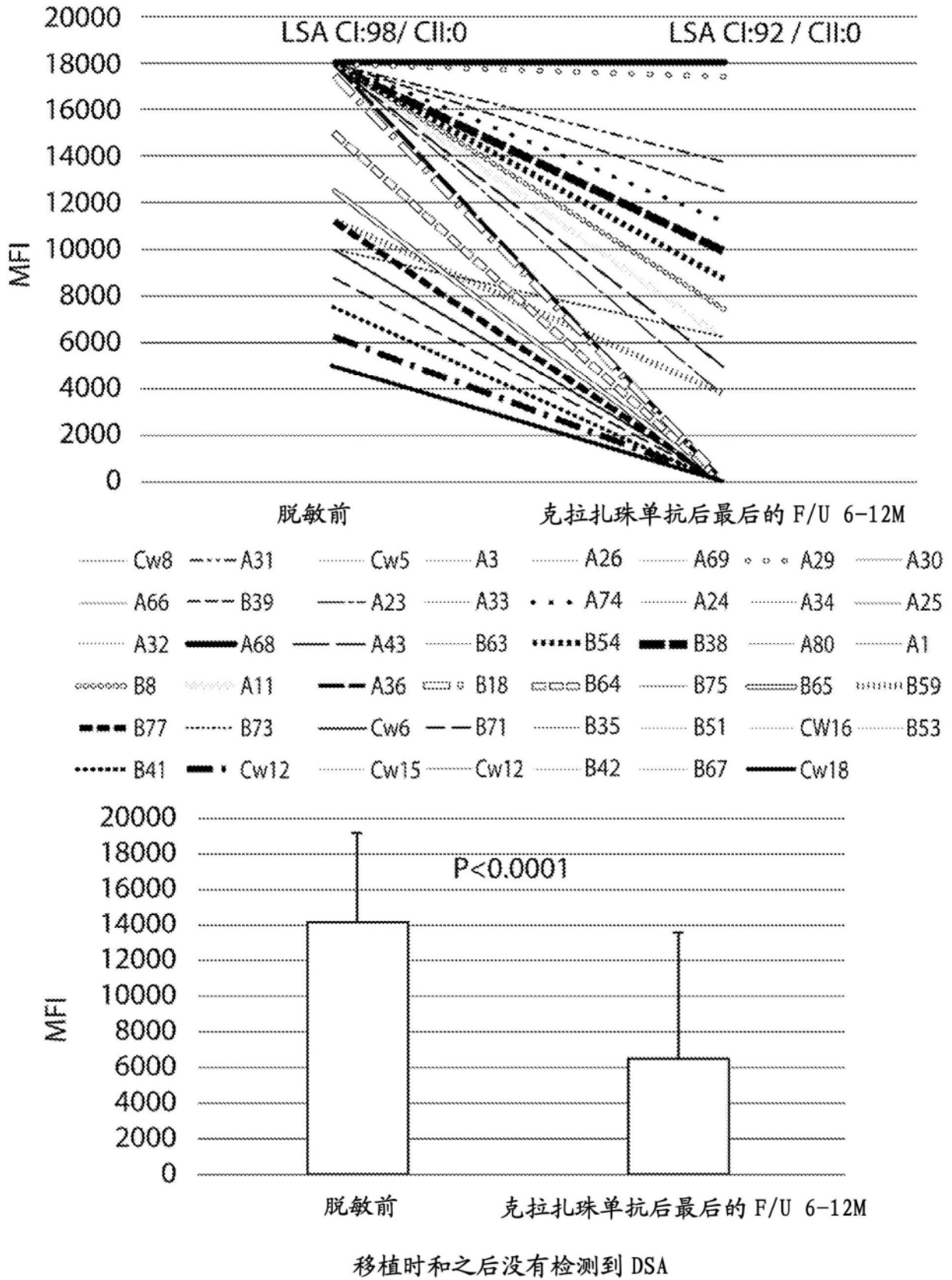


图11

克拉扎珠单抗之前和之后的 HLA CI&CII 抗体 (移植的)

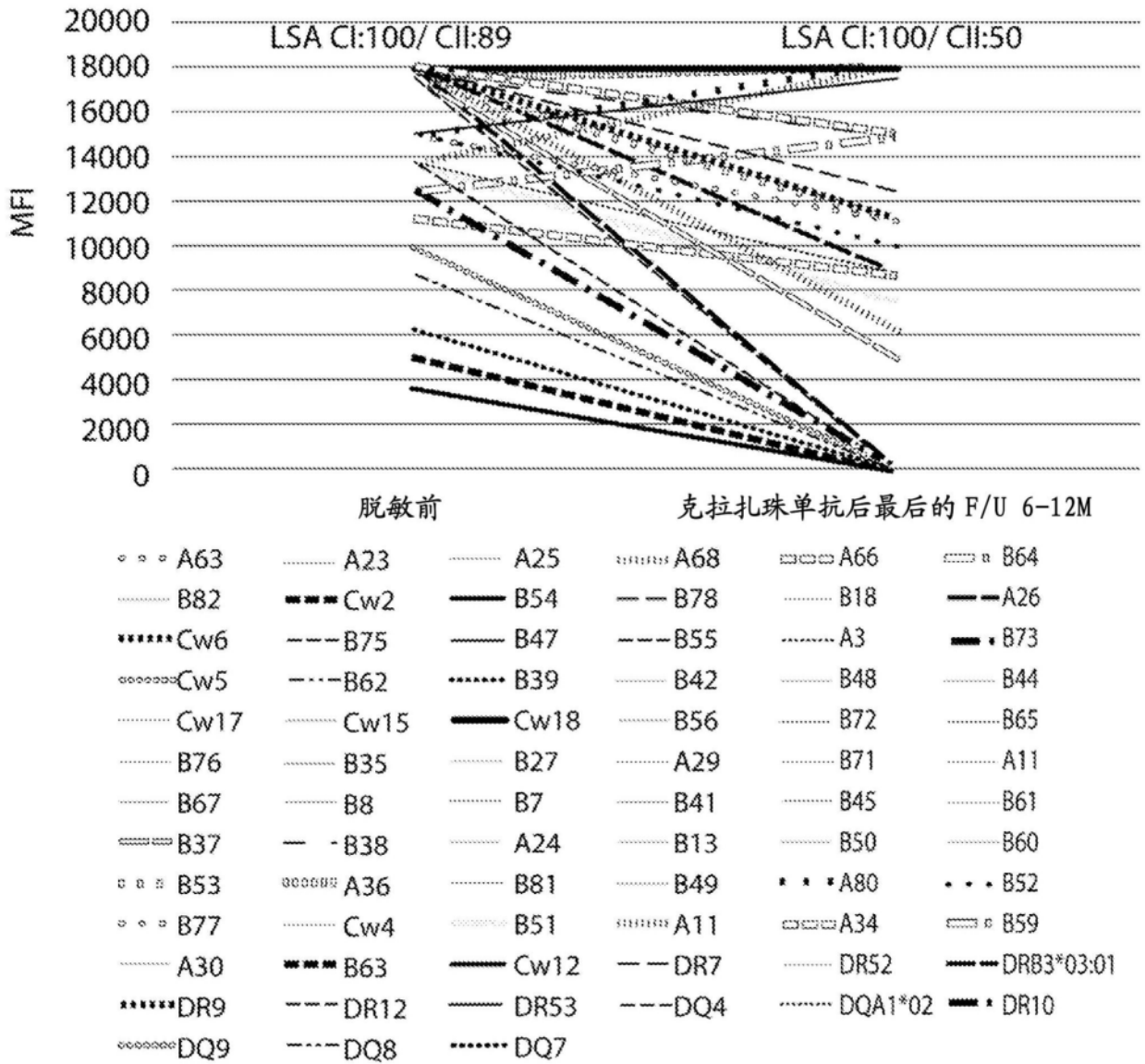


图12A

克拉扎珠单抗之前和之后的 HLA CI&CII 抗体 (移植的)

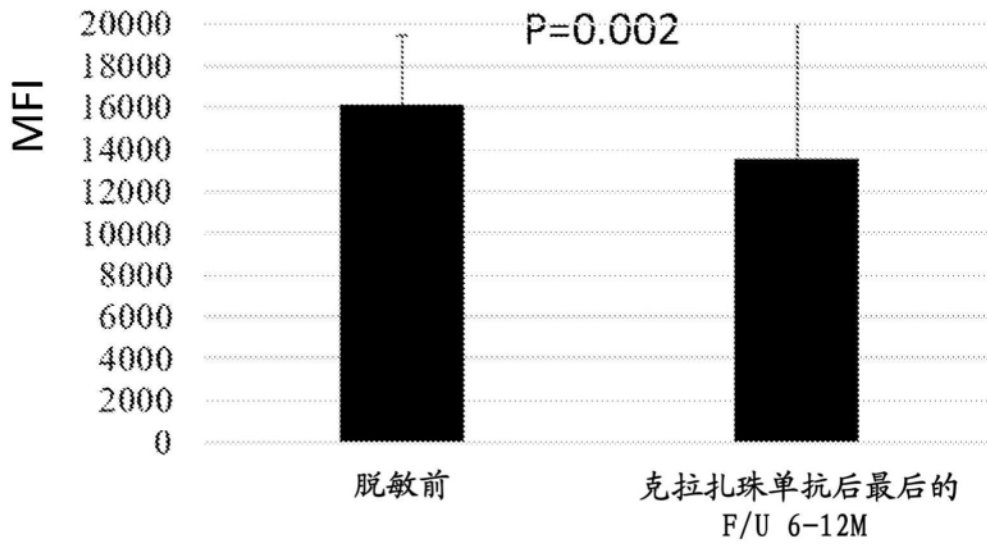


图12B

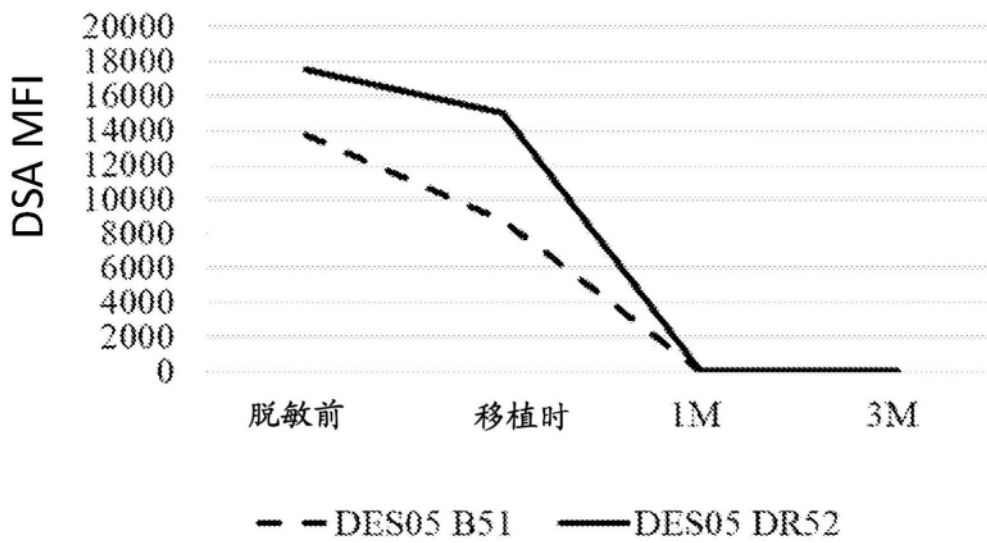


图12C

克拉扎珠单抗之前和之后的 HLA CI&CII 抗体 (移植的)

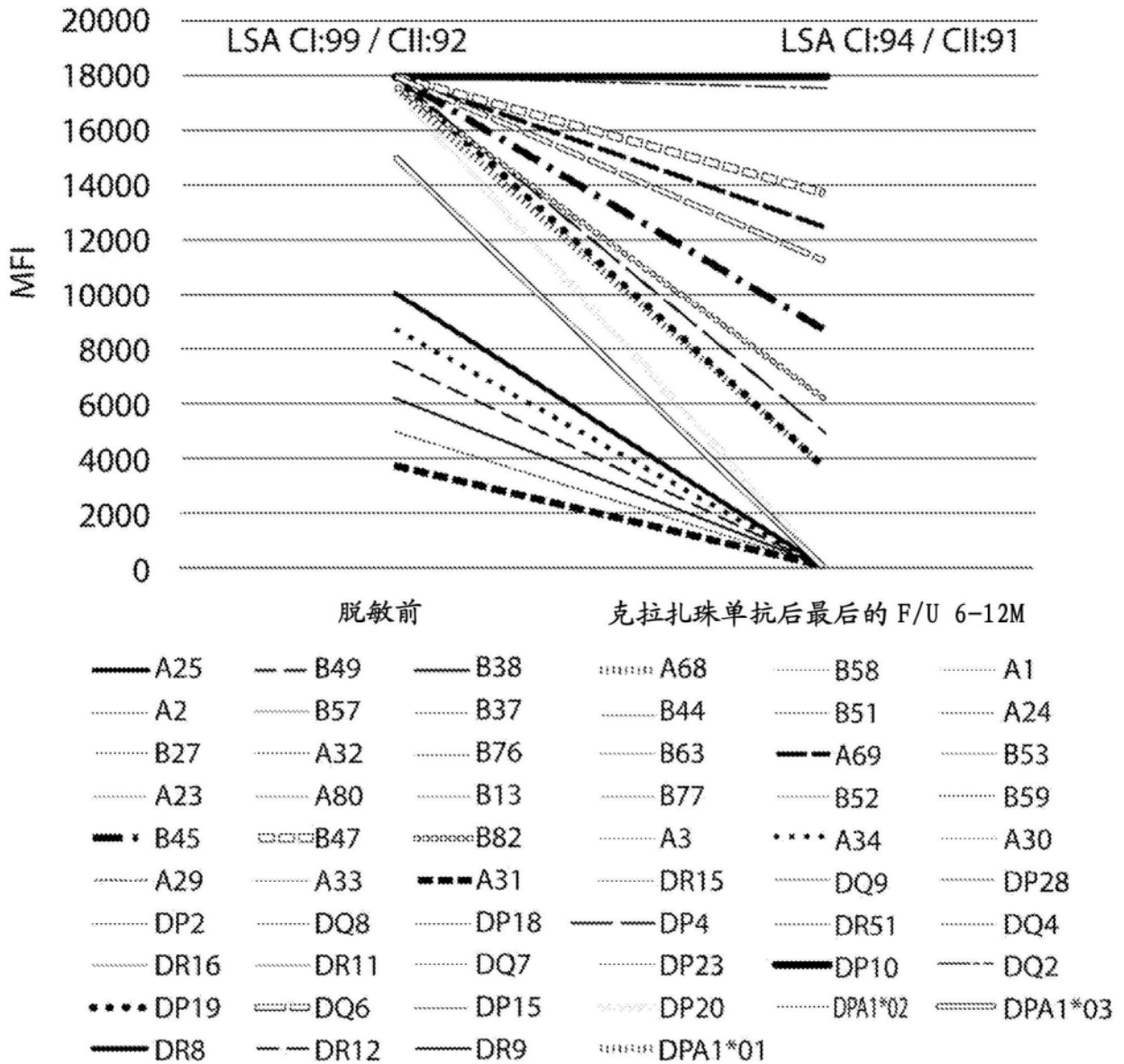


图13A

克拉扎珠单抗之前和之后的 HLA CI&CII 抗体 (移植的)

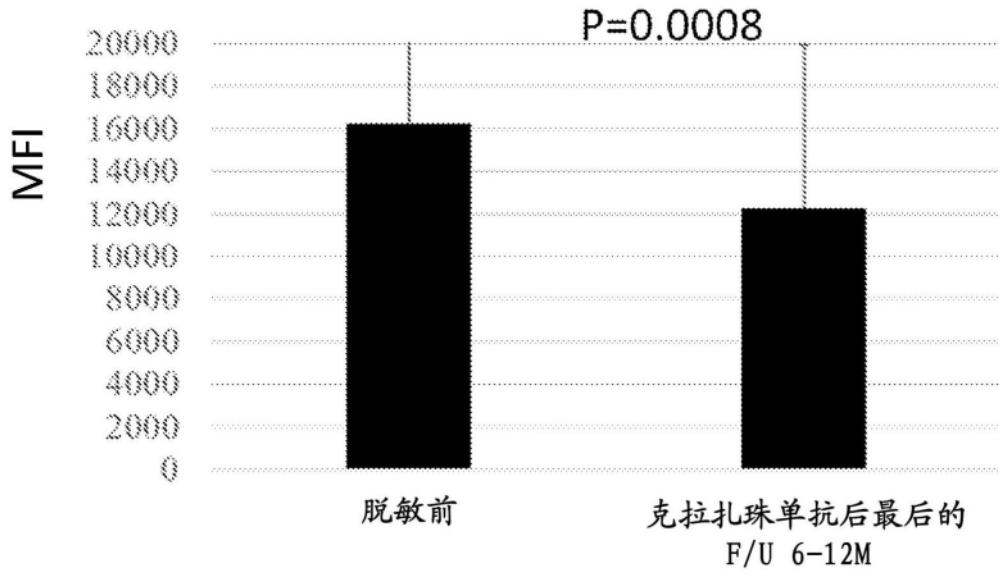


图13B

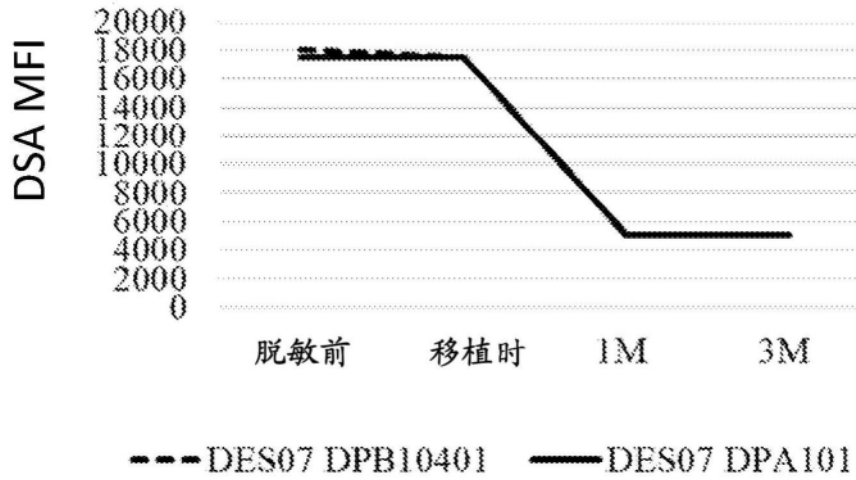


图13C

克拉扎珠单抗之前和之后的 HLA CI&CII 抗体 (未移植的)

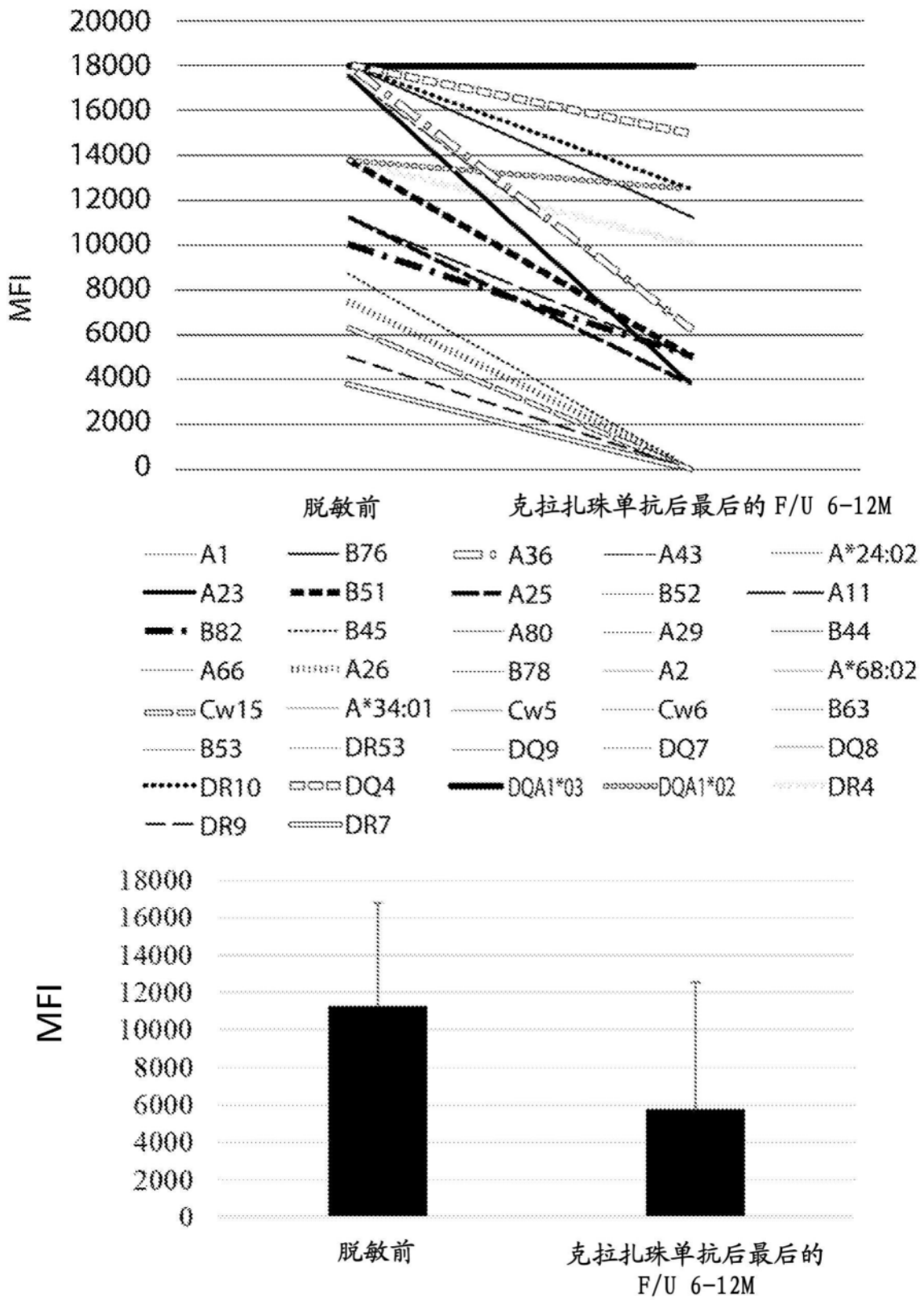


图14

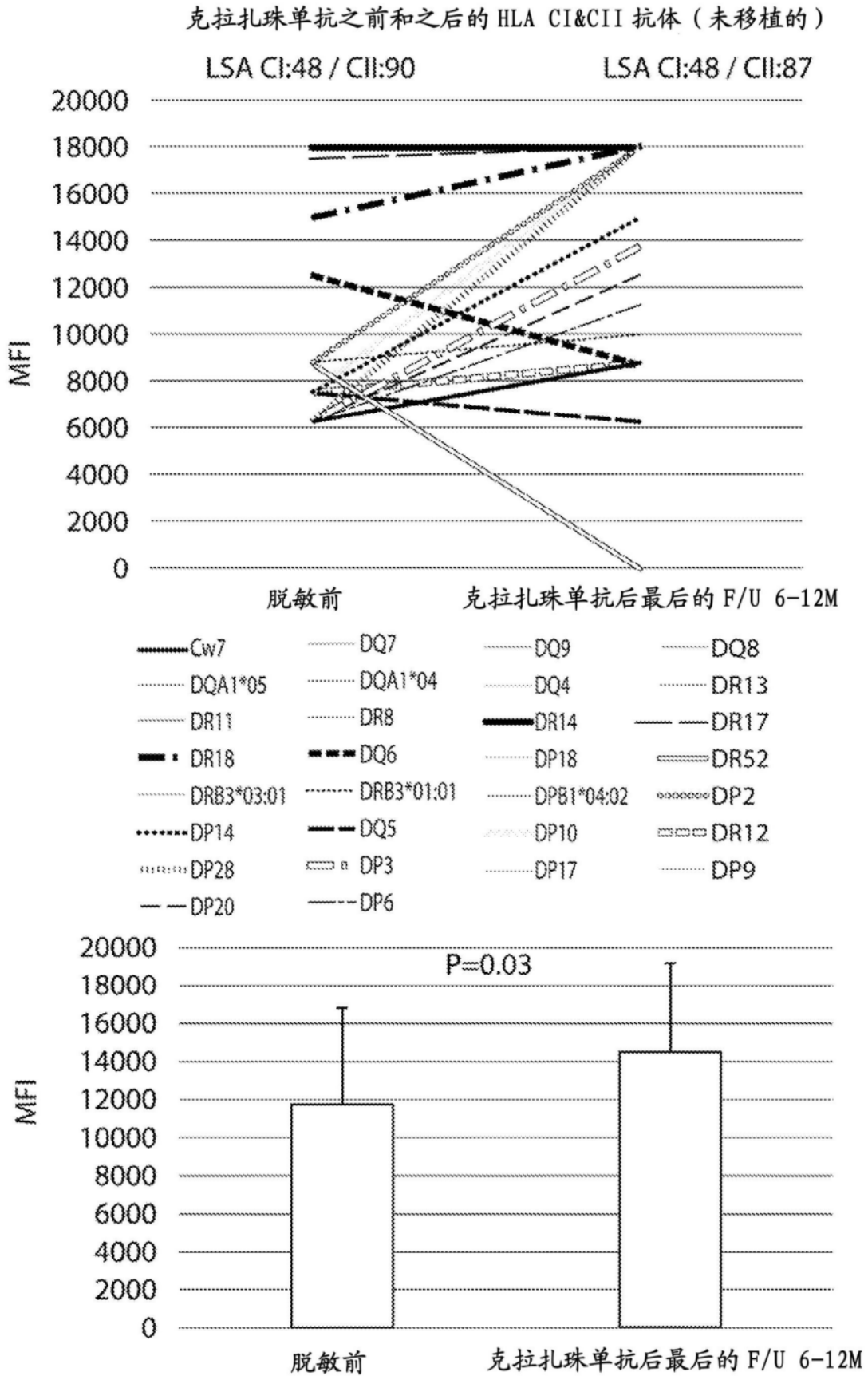


图15

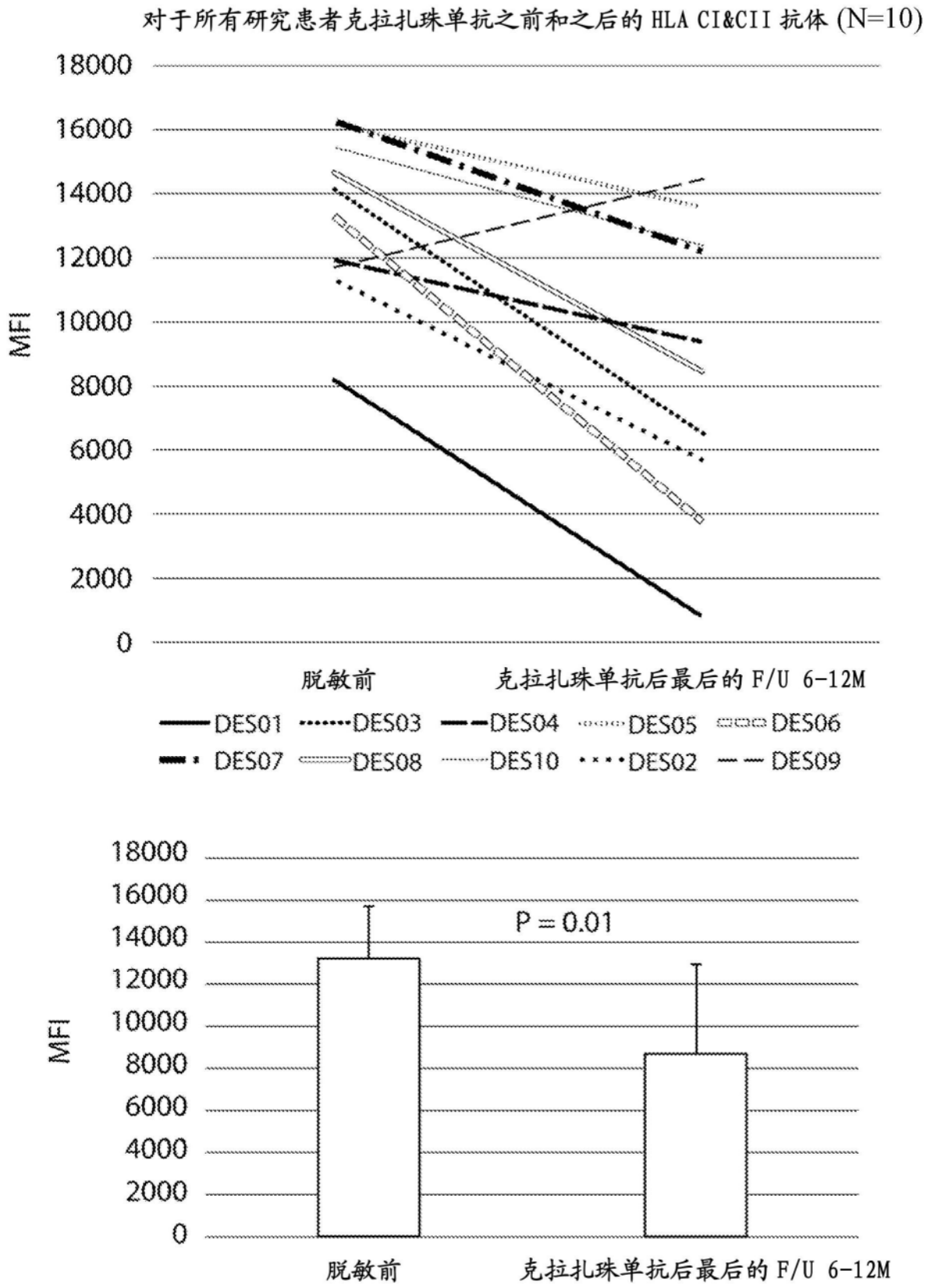


图16

对于移植的患者克拉扎珠单抗之前和之后的 HLA CI/CII 抗体 (N=8)

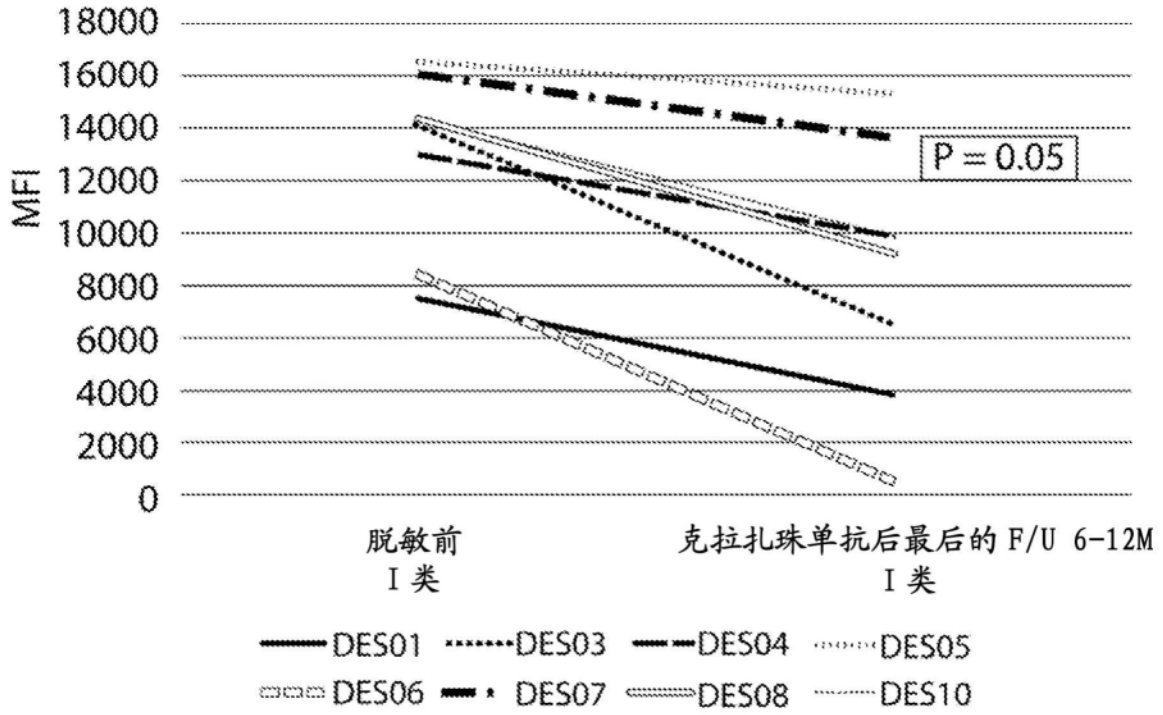


图17A

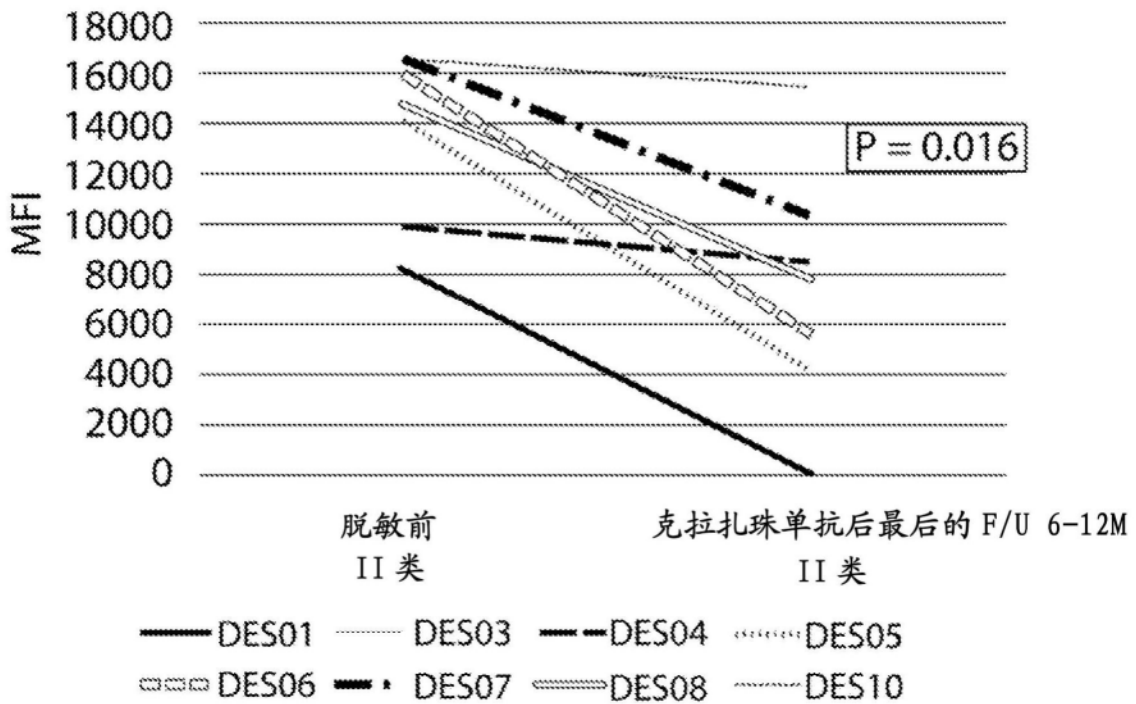


图17B

对于移植的患者克拉扎珠单抗之前和之后的 HLA CI/CII 抗体 (N=8)

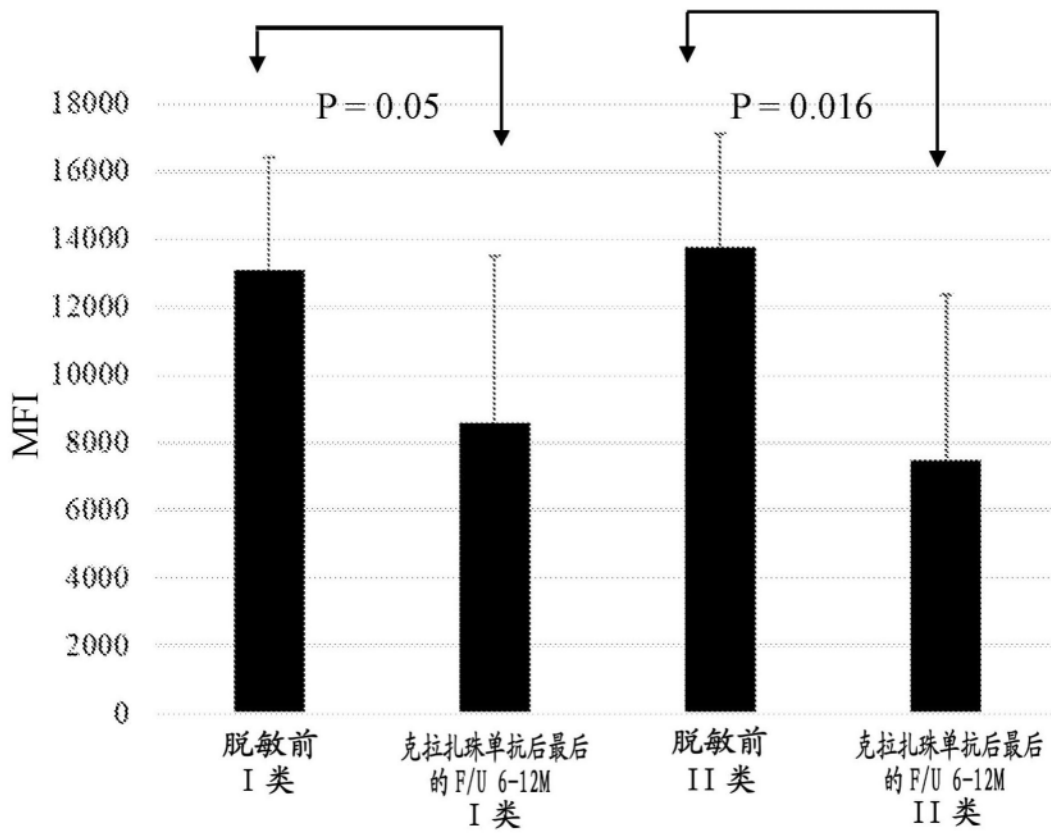


图17C

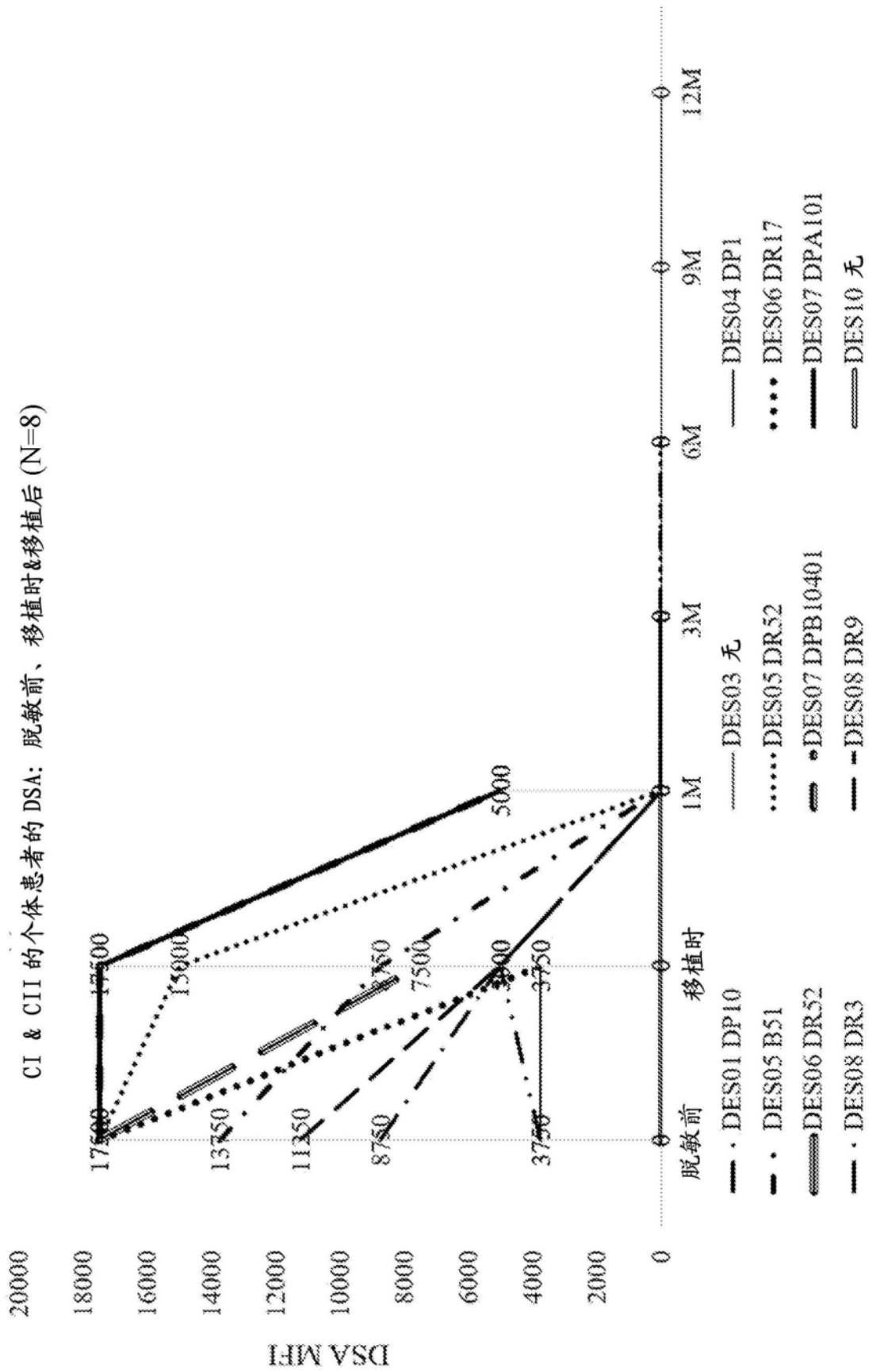


图18

CI & CII 的平均 DSA MFI: 脱敏前、移植时 & 移植后

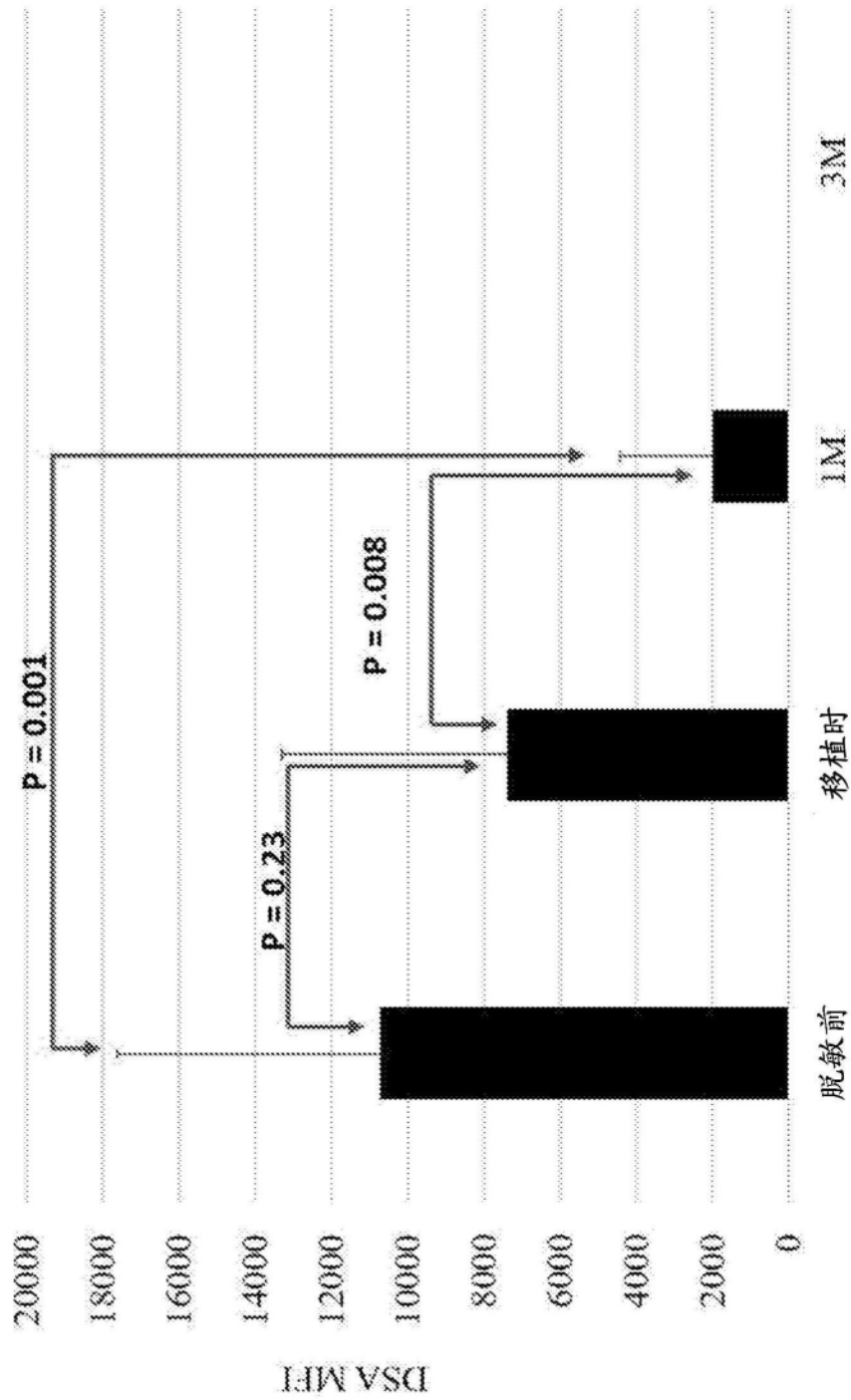


图19