



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107531772 B

(45) 授权公告日 2021.09.21

(21) 申请号 201680026449.2  
 (22) 申请日 2016.05.06  
 (65) 同一申请的已公布的文献号  
 申请公布号 CN 107531772 A  
 (43) 申请公布日 2018.01.02  
 (30) 优先权数据  
 62/158,157 2015.05.07 US  
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日  
 2017.11.07  
 (86) PCT国际申请的申请数据  
 PCT/US2016/031109 2016.05.06  
 (87) PCT国际申请的公布数据  
 W02016/179456 EN 2016.11.10  
 (73) 专利权人 肿瘤免疫股份有限公司  
 地址 美国马里兰州  
 (72) 发明人 Y.刘 P.郑

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所  
 11105  
 代理人 张文辉

(51) Int.Cl.  
 C07K 14/705 (2006.01)  
 C12Q 1/60 (2006.01)  
 G01N 33/92 (2006.01)

(56) 对比文件  
 US 2011002846 A1,2011.01.06  
 CN 104039134 A,2014.09.10  
 US 2011142913 A1,2011.06.16  
 CN 1323544 A,2001.11.28  
 US 2013136739 A1,2013.05.30  
 Amanda Vinson 等.Sex-Specific Heritability of Spontaneous Lipid Levels in an Extended Pedigree of Indian-Origin Rhesus Macaques (Macaca mulatta).《PLOS ONE》.2013,第8卷(第8期),

审查员 李梦华

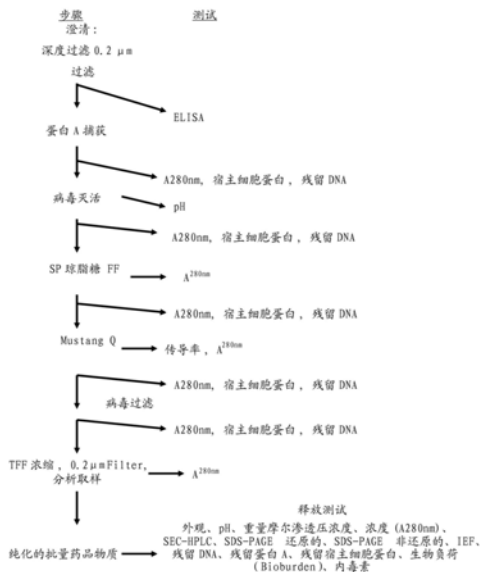
权利要求书1页 说明书19页  
 序列表9页 附图5页

(54) 发明名称

CD24用于降低低密度脂蛋白胆固醇水平的用途

(57) 摘要

本发明涉及CD24蛋白用于降低低密度脂蛋白胆固醇水平、治疗和预防动脉粥样硬化以及降低心血管疾病风险的用途。



1. CD24融合蛋白在制备用于降低受试者中低密度脂蛋白 (LDL) 胆固醇 (LDL-C) 水平的药物中的用途,

其中所述CD24融合蛋白由以下组成: (1) 成熟的人CD24多肽, 所述多肽如SEQ ID NO:1或2中的序列所示; 和 (2) 人Ig蛋白的Fc区, 其中所述Fc区在所述CD24融合蛋白的C-末端融合。

2. 权利要求1的用途, 其中所述受试者具有升高的LDL-C。

3. 权利要求2的用途, 其中所述受试者具有大于或等于75mg/dL的LDL-C。

4. 权利要求2的用途, 其中所述受试者具有大于或等于70mg/dL的LDL-C。

5. 权利要求2的用途, 其中所述受试者具有大于或等于190mg/dL的LDL-C。

6. 权利要求1的用途, 其中先前已经用另一种降LDL-C药物治疗过所述受试者。

7. 权利要求6的用途, 其中所述另一种降LDL-C药物是他汀类药物 (statin)。

8. 权利要求6的用途, 其中所述另一种降LDL-C药物是PCSK9的拮抗剂。

9. 权利要求1的用途, 其中所述人Ig蛋白选自下组: IgG1、IgG2、IgG3、IgG4, 和IgA。

10. 权利要求9的用途, 其中所述Fc区包含人Ig蛋白的铰链区和CH2和CH3结构域。

11. 权利要求1的用途, 其中所述Fc区包含人IgM的铰链区和CH2、CH3和CH4结构域。

12. 权利要求10的用途, 其中所述CD24融合蛋白具有如SEQ ID NO:6、11或12中所示的序列。

13. CD24融合蛋白在制备用于治疗或预防受试者中动脉粥样硬化的药物中的用途,

其中所述CD24融合蛋白由以下组成: (1) 成熟的人CD24多肽, 所述多肽如SEQ ID NO:1或2中的序列所示; 和 (2) 人Ig蛋白的Fc区, 其中所述Fc区在所述CD24融合蛋白的C-末端融合。

14. CD24融合蛋白在制备用于降低受试者中动脉粥样硬化性心血管疾病风险的药物中的用途,

其中所述CD24融合蛋白由以下组成: (1) 成熟的人CD24多肽, 所述多肽如SEQ ID NO:1或2中的序列所示; 和 (2) 人Ig蛋白的Fc区, 其中所述Fc区在所述CD24融合蛋白的C-末端融合。

15. 权利要求1-14中任一项的用途, 其中所述CD24融合蛋白是可溶的。

16. 权利要求15的用途, 其中所述CD24融合蛋白是糖基化的。

17. 权利要求16的用途, 其中使用真核蛋白表达系统产生所述CD24融合蛋白。

18. 权利要求17的用途, 其中所述表达系统包含中国仓鼠卵巢细胞系中包含的载体或复制缺陷型逆转录病毒载体。

19. 权利要求18的用途, 其中所述复制缺陷型逆转录病毒载体稳定整合到真核细胞的基因组中。

20. 权利要求13或14的用途, 其中所述CD24融合蛋白具有如SEQ ID NO:6、11或12中所示的序列。

## CD24用于降低低密度脂蛋白胆固醇水平的用途

### 发明领域

[0001] 本发明涉及CD24蛋白用于降低低密度脂蛋白胆固醇水平的用途。

[0002] 发明背景

[0003] 包括高水平的低密度脂蛋白 (LDL) 胆固醇 (LDL-C) 在内的血脂异常是动脉粥样硬化性心血管疾病 (ASCVD) 的主要危险因素,这是全球死亡和主要医疗保健成本的主要原因。在几十年的遗传和生物化学研究、观察性流行病学和生态学研究以及体外和动物实验中已经建立了LDL-C与ASCVD的风险之间的关联。降低LDL-C减少ASCVD事件,证明LDL-C在冠心病 (CHD) 和ASCVD中具有重要的因果关系。因此,使用固定剂量的降胆固醇药物作为降低ASCVD风险的主要方法。特别地,最经常用他汀类药物 (3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶抑制剂) 治疗升高的LDL-C。他汀类药物将LDL-C从基线降低至50%,并降低ASCVD风险15-37%。

[0004] 然而,即使在最佳的他汀类药物治疗的情况下,仍然残余60-80%的ASCVD风险,其在约20%患有CHD的患者中引起主要血管事件。此外,他汀类药物可以引起肌肉症状,如疼痛、触痛、僵硬、绞痛、虚弱、疲劳、肌病和横纹肌溶解。此外,尽管包括胆汁酸结合树脂、贝特类、烟酸和依泽替米贝 (ezetimibe) 在内的非他汀类药物显著地改善脂质分布,但是当与他汀类药物组合时,却没有一种提供心血管事件的额外风险降低。因此,需要改善的非他汀类药物用于降低LDL-C水平并降低ASCVD的风险。

[0005] 发明概述

[0006] 本文提供的是通过向有需要的受试者施用CD24蛋白来降低受试者中LDL-C水平的方法。还提供的是通过向有需要的受试者施用CD24蛋白来治疗或预防中受试者中动脉粥样硬化的方法。进一步提供的是通过向有需要的受试者施用CD24蛋白来降低心血管疾病的风险的方法,所述心血管疾病可能是动脉粥样硬化性心血管疾病。受试者可具有升高的LDL-C,其可以大于或等于70、75或190mg/dL。以前可能已经用另一种降LDL-C药物治疗过该受试者,所述降LDL-C药物可以是他汀类药物或PCSK9的拮抗剂。

[0007] CD24蛋白可以包含成熟的人CD24或其变体的序列。成熟的人CD24可以包含SEQ ID NO:1或2的序列。CD24蛋白可以包含人CD24的任何或全部胞外域。CD24蛋白可以包含信号序列,其可以允许从表达蛋白的细胞进行分泌。信号肽序列可以包含人CD24的信号肽,其可以具有SEQ ID NO:4,或者可以是在其他跨膜或分泌蛋白上发现的信号肽,或者可以是可以从本领域已知的现有信号肽修饰的信号肽。CD24蛋白可以是可溶性的并且可以是糖基化的。可以使用真核蛋白表达系统来产生CD24蛋白,其可以包含中国仓鼠卵巢细胞系中所含的载体或复制缺陷型逆转录病毒载体。复制缺陷型逆转录病毒载体可以稳定地整合到真核细胞的基因组中。

[0008] CD24蛋白可以包含蛋白标签,其可以在CD24蛋白的N-或C-末端融合。CD24蛋白可以包含哺乳动物免疫球蛋白 (Ig) 蛋白的部分,所述哺乳动物免疫球蛋白可以是人的。Ig蛋白的部分可以是Fc区。Fc区可以包含Ig蛋白的铰链区和CH2以及CH3结构域并且Ig蛋白可以是IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgA。Fc区还可以包含IgM的铰链区和CH2、CH3和CH4结构域。CD24蛋白可以包含SEQ ID NO:5、6、8、9、11或12的序列。

[0009] 本文还提供的是监测受试者中CD24蛋白的活性的方法。所述方法可以包括比较在向受试者施用CD24蛋白之后的时间点从受试者获得的血液样品中的LDL-C的量与在该时间点之前从受试者获得的血液样品中的LDL-C的量。随着时间的推移,LDL-C的量的减少可以指示CD24蛋白活性的增加。该方法可以进一步包括测量在向受试者施用CD24蛋白后获得的血液样品中的LDL-C的量。该方法还可以包括测量在所述时间点之前从受试者获得的血液样品中的LDL-C的量。可以根据将CD24蛋白施用于受试者之后获得的样品中的LDL-C的量来调节随后施用于受试者的CD24蛋白的量。可以调节随后施用中CD24蛋白的量以维持受试者中CD24蛋白的浓度水平的比活性。

[0010] 附图简述

[0011] 图1A显示全长CD24融合蛋白,CD24Fc(本文也称为CD24Ig)(SEQ ID NO:5)的氨基酸组成。加下划线的26个氨基酸是CD24的信号肽(SEQ ID NO:4),其在从表达蛋白的细胞分泌过程中被切除并因此从加工版本的蛋白(SEQ ID NO:6)中缺失。序列的粗体部分是融合蛋白中使用的成熟CD24蛋白的胞外域(SEQ ID NO:2)。通常存在于成熟CD24蛋白中的最后一个氨基酸(A或V)已从构建体中缺失,以避免免疫原性。未加下划线的非粗体字母是IgG1Fc的序列,包括铰链区和CH2和CH3结构域(SEQ ID NO:7)。图1B显示CD24<sup>V</sup>Fc(SEQ ID NO:8)的序列,其中成熟的人CD24蛋白(粗体)是SEQ ID NO:1的缬氨酸多态性变体。图1C显示CD24<sup>A</sup>Fc(SEQ ID NO:9)的序列,其中成熟的人CD24蛋白(粗体)是SEQ ID NO:1的丙氨酸多态性变体。图1B和1C中的融合蛋白的多个部分如图1中所标注,并且变体缬氨酸/丙氨酸氨基酸被加双重下划线。

[0012] 图2显示用于纯化和加工从哺乳动物细胞系表达的CD24蛋白的方法。

[0013] 图3显示来自小鼠(SEQ ID NO:3)和人(SEQ ID NO:1)的成熟CD24蛋白之间的氨基酸序列变异。潜在的O-糖基化位点被加粗,而N-糖基化位点被加下划线。

[0014] 图4A-C显示小鼠中CD24Fc(CD24Ig)的药物代谢动力学的WinNonlin分区模型分析。开放的圆圈表示3只小鼠的平均值,并且该线是预测的药物代谢动力学曲线。图4A.静脉内(i.v.)注射1mg CD24Fc。图4B.皮下(s.c.)注射1mg CD24Fc。图4C.通过曲线下面积(AUC)、半衰期和最大血液浓度测量的血液中抗体总量的比较。注意总体来说,皮下注射的AUC和C<sub>max</sub>是静脉内注射的约80%,尽管差异在统计学上不显著。

[0015] 图5显示通过治疗人类受试者中PK可评估群体的平均血浆CD24Fc浓度(±SD)的图。PK=药物代谢动力学;SD=标准差。

[0016] 图6显示PK可评估群体的CD24Fc C<sub>max</sub>相对于剂量的剂量比例图。

[0017] 图7显示PK可评估群体的CD24Fc AUC<sub>0-42d</sub>相对于剂量的剂量比例图。

[0018] 图8显示PK可评估群体的CD24Fc AUC<sub>0-inf</sub>相对于剂量的剂量比例图。

[0019] 发明详述

[0020] 发明人已经发现令人惊讶的是,含有成熟CD24序列的蛋白对于降低LDL-C水平是有效的,并且另外可用于治疗和/或预防动脉粥样硬化,和降低心血管疾病如动脉粥样硬化心血管疾病的风险。如本文更详细地描述的,CD24是在造血细胞和非造血细胞中具有广泛表达的糖基-磷脂酰肌醇(GPI)-锚定的小糖蛋白,其由240个碱基对的编码序列编码。在80个氨基酸中,前26个构成信号肽,而最后23个充当切割信号,以允许GPI尾部的附着。结果,成熟的人CD24分子仅具有31个氨基酸。31位氨基酸在人群中是多态的。在226位核苷酸处

C至T的转变导致缬氨酸(V)取代丙氨酸(A)。由于该残基就处于切割位点的N末端位置,并且由于置换是非保守的,所以这两个等位基因可以在细胞表面上以不同的效率表达。用拷贝DNA进行的转染研究证明,CD24<sup>v</sup>等位基因在细胞表面上更有效地表达。与此一致,CD24<sup>v/v</sup>外周血白细胞表达更高水平的CD24,特别是在T细胞上。三条证据证明CD24是MS的遗传修饰物。在群体水平上,CD24<sup>v/v</sup>基因型的频率是正常人群的两倍以上。在多重MS家族中,与健康对照相比,CD24<sup>v</sup>等位基因优先传递给MS患者。此外,在具有更严重疾病形式(扩展残疾状态量表(Expanded Disability Status Scale) [EDSS]等于或超过6.0,当患者失去独立行走能力时)的MS患者中,CD24<sup>v/v</sup>个体平均花费7年从第一临床症状达到EDSS 6.0,但CD24<sup>a/v</sup>或CD24<sup>a/a</sup>个体在13至15年内达到EDSS 6.0。相反,在CD24信使核糖核酸(mRNA)的3'非翻译区域中的二核苷酸缺失(其降低CD24mRNA的稳定性并因此降低CD24表达)保护人免受MS和其他自身免疫性疾病。迄今为止,CD24尚未显示会影响脂质水平。

[0021] 1. 定义

[0022] 本文使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,而不是限制性的。如在说明书和所附权利要求书中所使用的,单数形式“一个”、“一种”和“所述/该”包括复数指示物,除非上下文另有明确规定。

[0023] 为了详述本文中的数值范围,明确地考虑了其间具有相同精确程度的每个中间数字。例如,对于6-9的范围,除了6和9之外,还考虑了数字7和8,并且对于范围6.0-7.0,明确考虑数字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9和7.0。

[0024] “肽”或“多肽”是连接的氨基酸序列,并且可以是天然的、合成的、或天然和合成的修饰或组合。

[0025] “基本相同”可以表示第一和第二氨基酸序列在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290或300个氨基酸的区域上是至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0026] “治疗”或“处理”在涉及动物免受疾病的保护时,是指预防、抑制、压制或完全消除所述疾病。预防该疾病涉及在疾病发作前向动物施用本发明的组合物。抑制该疾病涉及在诱发疾病之后但在其临床表现之前向动物施用本发明的组合物。压制疾病涉及在疾病临床表现之后向动物施用本发明的组合物。

[0027] “变体”可以是氨基酸的插入、缺失或保守取代而在氨基酸序列上不同,但保留至少一种生物活性的肽或多肽。“生物活性”的代表性实例包括结合to11状受体并被特异性抗体结合的能力。变体还可以是具有与参考蛋白基本相同的氨基酸序列的蛋白,所述参考蛋白具有保留至少一种生物活性的氨基酸序列。氨基酸的保守取代,即用具有相似性质(例如亲水性、带电区域的程度和分布)的不同氨基酸替换氨基酸在本领域中被认为通常涉及微小变化。这些微小变化可以部分地通过考虑氨基酸的亲水指数来鉴定,如本领域所理解的。Kyte等, *J. Mol. Biol.* 157:105-132 (1982)。氨基酸的亲水指数是基于其疏水性和电荷的考虑。本领域已知的是,相似亲水指数的氨基酸可被取代并仍保留蛋白功能。一方面,具有±2的亲水指数的氨基酸被取代。氨基酸的亲水性也可用于揭示导致蛋白保留生物学功

能的取代。在肽的上下文中考虑氨基酸的亲水性允许计算该肽的最大局部平均亲水性,这是已报道与抗原性和免疫原性非常相关的重要量度。美国专利号4,554,101,通过引用完全并入本文。具有相似亲水性值的氨基酸的取代可导致肽保留生物学活性,例如免疫原性,如本领域所理解的。可以用亲水性值彼此在 $\pm 2$ 以内的氨基酸进行取代。氨基酸的疏水性指数和亲水性值均受该氨基酸的具体侧链的影响。与该观察一致,理解与生物功能相容的氨基酸取代取决于氨基酸的相对相似性,特别是那些氨基酸的侧链,如疏水性、亲水性、电荷、大小和其他性质所揭示。

[0028] 2. CD24

[0029] 本文提供的是CD24蛋白,其可以包含成熟人CD24的氨基酸序列或来自其他哺乳动物的那些氨基酸序列,其对应于CD24的胞外域(ECD)或其变体。如上所述,成熟人CD24蛋白的序列是31个氨基酸长,在其C末端具有可变的丙氨酸(A)和缬氨酸(V)残基:

[0030] SETTTGTSSNSSQSTSNSGLAPNPTNATTK (V/A) (SEQ ID NO:1)

[0031] C-末端缬氨酸或丙氨酸可以是免疫原性的,并且可以从CD24蛋白中省略以降低其免疫原性。因此,CD24蛋白可以包含氨基酸序列或缺乏C端氨基酸的成熟的人CD24:

[0032] SETTTGTSSNSSQSTSNSGLAPNPTNATTK (SEQ ID NO:2)

[0033] 尽管来自小鼠和人的成熟CD24蛋白的氨基酸序列存在相当大的序列变异,但它们在功能上是等同的,因为已显示人CD24Fc在小鼠中是有活性的。人CD24ECD的氨基酸序列与小鼠蛋白显示了一些序列保守性(39%同一性;Genbank登录号NP\_033976),如图3所示。然而,不令人惊讶的是,百分比同一性不是较高的,因为根据物种,CD24ECD长度仅为27-31个氨基酸,并且与其一些受体,例如Siglec 10/G的结合是由糖蛋白的其唾液酸和/或半乳糖糖介导的。人Siglec-10 (GenBank登录号AF310233) 与其鼠类同系物Siglec-G (GenBank登录号NP\_766488) 受体蛋白胞外域之间的氨基酸序列同一性为63%。由于主要在C末端和糖基化位点的丰度上的小鼠和人CD24之间的序列保守性,在使用CD24蛋白时可以容许成熟CD24蛋白的显著变异,特别是如果那些变异不影响C末端的保守残基或不影响来自小鼠或人CD24的糖基化位点。因此,CD24蛋白可以包含成熟鼠类CD24的氨基酸序列:

[0034] NQTSVAPFPGNQNISASPNPTNATTRG (SEQ ID NO:3)。

[0035] 人CD24ECD的氨基酸序列与小鼠相比显示与猕猴蛋白更多的序列保守性(52%同一性;UniProt登录号UniProtKB-I7GKK1)。同样,这并不令人惊讶,鉴于由于ECD在这些物种中长度仅为29-31个氨基酸,同一性百分比并不是较高的以及糖残基与其受体结合中的作用。猕猴Siglec-10受体的氨基酸序列尚未确定,但人和猕猴Siglec-10 (GenBank登录号XP\_001116352) 蛋白之间的氨基酸序列同一性为89%。因此,CD24蛋白也可以包含成熟的猕猴CD24的氨基酸序列:

[0036] TVTTSAPLSSNSPQNTSTTPNPANTTTKA (SEQ ID NO:10)

[0037] CD24蛋白可以是可溶的。CD24蛋白可以包含N末端信号肽,以允许从表达蛋白的细胞中分泌。信号肽序列可以包含氨基酸序列MGRAMVARLGLLLLLALLLPTQIYS (SEQ ID NO:4)。或者,信号序列可以是任何在其他跨膜或分泌蛋白上发现的那些或从现有技术中已知的现有信号肽修饰的那些。

[0038] a. 融合

[0039] CD24蛋白可以在其N-或C-末端与蛋白标签融合。蛋白标签可以包含哺乳动物Ig蛋

白的一部分,其可以是人或小鼠或另一物种。该部分可以包含Ig蛋白的Fc区。Fc区可以包含Ig蛋白的铰链区、CH2、CH3和CH4结构域中的至少一个。Ig蛋白可以是人IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgA,并且Fc区可以包含Ig的铰链区和CH2和CH3结构域。Fc区可以包含可以具有SEQ ID NO:7的序列的人免疫球蛋白G1 (IgG1) 同种型。Ig蛋白也可以是IgM,并且Fc区可以包含IgM的铰链区和CH2、CH3和CH4结构域。蛋白标签可以是有助于蛋白纯化的亲和标签,或增强功能蛋白的溶解度和回收率的溶解性增强标签。蛋白标签还可以增加CD24蛋白的效价。蛋白标签还可以包含GST、His、FLAG、Myc、MBP、NusA、硫氧还蛋白 (TRX)、小泛素样修饰物 (SUMO)、泛素 (Ub)、白蛋白或骆驼化Ig。用于制备融合蛋白和纯化融合蛋白的方法是本领域公知的。

[0040] 基于临床前研究,为了构建实施例中鉴定的融合蛋白CD24Fc,已经使用30个氨基酸的天然CD24分子的截短形式,其在GPI信号切割位点之前缺少最终的多态氨基酸(即具有SEQ ID NO:2的成熟的CD24蛋白)。将成熟的人CD24序列与人IgG1Fc结构域(SEQ ID NO:7)融合。在SEQ ID NO:5中提供全长CD24Fc融合蛋白(图1),并且在SEQ ID NO:6中提供从细胞分泌的加工版本的CD24Fc融合蛋白(即,缺少被切掉的信号序列)。与IgG1Fc融合的成熟CD24的加工多态变体(即,具有SEQ ID NO:1的成熟的CD24蛋白)可以包含SEQ ID NO:11或12。

[0041] b. 产生

[0042] CD24蛋白可以是严重糖基化的,并且可以参与CD24的功能,例如免疫细胞的共刺激和与损伤相关分子模式分子(DAMP)的相互作用。可以使用真核表达系统制备CD24蛋白。表达系统可使得从哺乳动物细胞如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中的载体的表达。该系统还可以是病毒载体,如可用于感染真核细胞的复制缺陷型逆转录病毒载体。也可以从稳定的细胞系产生CD24蛋白,所述细胞系从已经整合到细胞基因组中的载体或载体的一部分表达CD24蛋白。稳定的细胞系可以从整合的复制缺陷型逆转录病毒载体中表达CD24蛋白。表达系统可以是GPEx™。

[0043] c. 药物组合物

[0044] CD24蛋白可以包含在可以包含药学上可接受量的CD24蛋白的药物组合物中。所述药物组合物可以包含药学上可接受的载体。该药物组合物可以包含溶剂,其可以使CD24蛋白在长时间内保持稳定。溶剂可以是PBS,其可以保持CD24蛋白在-20℃(-15~-25℃)下稳定至少66个月。溶剂能够将CD24蛋白与另一种药物组合使用。

[0045] 可以配制药物组合物用于肠胃外施用,包括但不限于通过注射或连续输注。用于注射的制剂可以是在油性或水性媒介物中的悬浮液、溶液或乳液的形式,并且可以含有制剂,包括但不限于悬浮剂、稳定剂和分散剂。组合物还可以以粉末形式提供,用于与合适的媒介物,包括但不限于无菌的无热原水重建。

[0046] 药物组合物还可以配制成可以通过植入或通过肌肉注射施用的贮库制剂。组合物可以用合适的聚合物或疏水材料(例如在可接受的油中的乳液)、离子交换树脂或作为微溶衍生物(例如,作为微溶盐)来配制。

[0047] d. 剂量

[0048] 可以最终通过临床试验确定CD24蛋白的剂量以确定具有可接受的毒性和临床疗效的剂量。可以通过啮齿动物和非人灵长类动物的药物代谢动力学和毒性研究来估计初始

临床剂量。CD24蛋白的剂量可以为0.01mg/kg至1000mg/kg,并且可以为1至500mg/kg,这取决于所需的LDL-C降低量和施用途径。CD24蛋白可以通过静脉输注或皮下或壁内(即在腔或器官的壁内)注射施用,并且剂量可以是10-1000mg、10-500mg、10-240mg、10-120mg,或10、30、60、120或240mg,其中受试者是人。

### [0049] 3. 治疗方法

[0050] CD24蛋白可以施用于受试者以降低LDL-C水平,其可以升高,并且可以进一步升高到正常范围以上。正常范围可以由本领域已知的标准定义,如国家胆固醇教育小组成人治疗组(National Cholesterol Education Panel Adult Treatment Panel) (ATP) III或其2005年更新(Circulation 2002;106:3143-421;和J Am Coll Cardiol.2004Aug 4;44(3):720-32中所述;两者的内容通过引用并入本文),或由国家健康与护理优秀研究所(National Institute for Health and Care Excellence) (NICE)提出。受试者可以具有溶酶体酸性脂肪酶(LAL)缺乏症、家族性高胆固醇血症或高脂血症。CD24蛋白也可以施用于受试者以治疗或预防动脉粥样硬化,或降低心血管疾病事件的风险,所述心血管疾病事件可以是动脉粥样硬化性心血管疾病(ASCVD)事件。ASCVD事件可以是急性冠状动脉综合征、心肌梗塞、稳定或不稳定心绞痛、冠状动脉或其他动脉血管再形成、中风、短暂性脑缺血发作或推定为动脉粥样硬化起源的外周动脉疾病。受试者可以是哺乳动物如人。

[0051] 受试者可以是男性/雄性或女性/雌性。所述受试者可以是任何年龄,但特别地年龄可以在40-75岁,或大于75岁。受试者可以具有大于或等于70mg/dL、75mg/dL或190mg/dL的LDL-C。受试者也可以是糖尿病或非糖尿病,年龄40-75岁,并且LDL-C为70-189mg/dL。该受试者可以具有大于或等于7.5%,或5-7.5%的10年ASCVD风险(定义为非致死性心肌梗死、冠心病死亡或非致命和致命中风)。根据2013年美国心脏病学会/美国心脏协会指南(American College of Cardiology/American Heart Association Guidelines) (Stone NJ,等,2013ACC/AHA guideline of the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults:a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines,J Am Coll Cardiol 2014;63:2889-934)推荐该受试者可以具有LDL-C降低的受试者的特征。受试者可以具有家族性高胆固醇血症,其可以由LDL受体基因、载脂蛋白B基因或前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexintype (subtilisin/kexintype) 9基因中的突变引起。

[0052] 以前可以已经用降LDL-C药物,如他汀类药物治疗过受试者。受试者也可能由于药物而经历不良事件。不良事件可能是肌肉症状,如疼痛、触痛、僵硬、绞痛、虚弱或一般疲劳,并且可能是肌酸磷酸激酶水平,表明不良肌肉事件的风险增加(可能大于正常的上限10倍)。受试者可能抵抗另一种降胆固醇药物的治疗,并且在用可能是他汀类的另一种药物治疗后可以具有大于或等于75mg/dL的LDL-C。该受试者可能具有移植物抗宿主病,并且与移植前的受试者的LDL-C相比,在经历移植后可能已经表现出10%或以上LDL-C增加。受试者可具有多发性硬化症、类风湿性关节炎或自身免疫性或炎性疾病。

#### [0053] a. 施用

[0054] 药物组合物的施用途径可以是肠胃外施用。肠胃外施用包括但不限于静脉内、动脉内、腹膜内、皮下、肌内、鞘内、关节内和直接注射。药物组合物可以施用于人患者、猫、狗、

大型动物或禽类。组合物可以每天施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12次。

[0055] b. 组合治疗

[0056] CD24蛋白可以与另一种治疗如药物组合,所述药物包括他汀类、胆汁酸结合树脂、贝特类、烟酸、依泽替米贝或增加LDL受体水平的药物,包括但不限于抗体或其他抑制剂,其拮抗或阻碍PCSK9的功能。CD24蛋白和其他药物可以一起或依次施用。

[0057] CD24蛋白可以与其他治疗同时或有节奏地 (metronomically) 施用。如本文所用的术语“同时”是指CD24蛋白和其他治疗彼此在48小时内,优选24小时,更优选12小时,还更优选6小时,并且最优选3小时或更短时间内施用。如本文所用的术语“有节奏地”是指在不同于其治疗的时间内并且以相对于重复施用的一定频率施用药剂。

[0058] CD24蛋白可以在另一种治疗之前的任何时间点施用,包括约120小时、118小时、116小时、114小时、112小时、110小时、108小时、106小时、104小时、102小时、100小时、98小时、96小时、94小时、92小时、90小时、88小时、86小时、84小时、82小时、80小时、78小时、76小时、74小时、72小时、70小时、68小时、66小时、64小时、62小时、60小时、58小时、56小时、54小时、52小时、50小时、48小时、46小时、44小时、42小时、40小时、38小时、36小时、34小时、32小时、30小时、28小时、26小时、24小时、22小时、20小时、18小时、16小时、14小时、12小时、10小时、8小时、6小时、4小时、3小时、2小时、1小时、55分钟、50分钟、45分钟、40分钟、35分钟、30分钟、25分钟、20分钟、15分钟、10分钟、9分钟、8分钟、7分钟、6分钟、5分钟、4分钟、3分钟、2分钟和1分钟。CD24蛋白可以在CD24蛋白的第二次治疗之前的任何时间点施用,包括约120小时、118小时、116小时、114小时、112小时、110小时、108小时、106小时、104小时、102小时、100小时、98小时、96小时、94小时、92小时、90小时、88小时、86小时、84小时、82小时、80小时、78小时、76小时、74小时、72小时、70小时、68小时、66小时、64小时、62小时、60小时、58小时、56小时、54小时、52小时、50小时、48小时、46小时、44小时、42小时、40小时、38小时、36小时、34小时、32小时、30小时、28小时、26小时、24小时、22小时、20小时、18小时、16小时、14小时、12小时、10小时、8小时、6小时、4小时、3小时、2小时、1小时、55分钟、50分钟、45分钟、40分钟、35分钟、30分钟、25分钟、20分钟、15分钟、10分钟、9分钟、8分钟、7分钟、6分钟、5分钟、4分钟、3分钟、2分钟和1分钟。

[0059] CD24蛋白可以在另一种治疗后的任何时间点施用,包括约1分钟、2分钟、3分钟、4分钟、5分钟、6分钟、7分钟、8分钟、9分钟、10分钟、15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、35分钟、40分钟、45分钟、50分钟、55分钟、1小时、2小时、3小时、4小时、6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、26小时、28小时、30小时、32小时、34小时、36小时、38小时、40小时、42小时、44小时、46小时、48小时、50小时、52小时、54小时、56小时、58小时、60小时、62小时、64小时、66小时、68小时、70小时、72小时、74小时、76小时、78小时、80小时、82小时、84小时、86小时、88小时、90小时、92小时、94小时、96小时、98小时、100小时、102小时、104小时、106小时、108小时、110小时、112小时、114小时、116小时、118小时和120小时。CD24蛋白可以在先前的CD24治疗之后的任何时点施用,包括约120小时、118小时、116小时、114小时、112小时、110小时、108小时、106小时、104小时、102小时、100小时、98小时、96小时、94小时、92小时、90小时、88小时、86小时、84小时、82小时、80小时、78小时、76小时、74小时、72小时、70小时、68小时、66小时、64小时、62小时、60小时、58小时、56小时、54小时、52小时、50小时、48小时、46小时、44小时、42小时、40小时、38小时、36小时、34小时、32

小时、30小时、28小时、26小时、24小时、22小时、20小时、18小时、16小时、14小时、12小时、10小时、8小时、6小时、4小时、3小时、2小时、1小时、55分钟、50分钟、45分钟、40分钟、35分钟、30分钟、25分钟、20分钟、15分钟、10分钟、9分钟、8分钟、7分钟、6分钟、5分钟、4分钟、3分钟、2分钟和1分钟。

#### [0060] 4. 监测CD24蛋白活性的方法

[0061] 可以通过检测受试者中LDL-C的浓度来监测施用于受试者的CD24蛋白的活性。受试者可以经历CD24蛋白的治疗,例如用于多发性硬化症、类风湿性关节炎、移植物抗宿主病、免疫介导的组织损伤取样的治疗。LDL-C的浓度可以指示受试者中CD24蛋白活性的水平,其中患者中LDL-C的降低表明较高的CD24蛋白活性。该方法可以包括从受试者获得样品并检测样品中LDL-C的量。样品可以是血液样品,例如血清或血浆。测量LDL-C浓度的方法是本领域众所周知的,例如基于ELISA的测定或胆固醇酯酶和胆固醇氧化酶处理后的比色/荧光测定。可以通过Friedewald计算来测量LDL-C的量,其可以包括基于样品中测量的总胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的量来计算LDL-C的量。可以通过使用硫酸葡聚糖-Mg<sup>2+</sup>的沉淀程序或通过直接的HDL-C测定来测量HDL-C的量。也可以通过DIRECT LDL™测定、均质N-GENEOUS™LDL测定或衍生自基于ApoB的取样式:0.41TC-0.32TG+1.70ApoB-0.27(Clin Chem 1997;43:808-815;其内容通过引用并入本文)计算的LDL-C值来测量LDL-C的量。可以随着时间的推移和在CD24蛋白处理过程中监测LDL-C水平以监测对治疗的反应。

[0062] 可以基于使用LDL-C检测的CD24蛋白活性的水平来调整施用于受试者的用于治疗本文所述或本领域已知的适应症的CD24蛋白的量。可以在一段时间内或在CD24蛋白治疗过程中监测LDL-C的水平。如果受试者中的LDL-C浓度降低到正常范围内的水平,则可以例如通过降低CD24蛋白的剂量或较少施用它来降低施用于受试者的CD24蛋白的量。如果LDL-C浓度保持不变或保持高于正常范围,则可以例如通过增加CD24蛋白的剂量或更频繁地施用它来增加施用于受试者的CD24蛋白的量。作为LDL-C的替代方案,还可以测量LDL颗粒(LDL-P)的浓度以监测CD24蛋白活性。可以使用NMR直接检测LDL-P浓度。

[0063] 还可以监测施用于受试者的CD24蛋白的水平,其可以通过包括从受试者获得样品并检测样品中CD24蛋白的量的方法。样品可以是血液样品,例如血清或血浆。蛋白检测方法是本领域公知的。样品中的CD24蛋白可以通过任何蛋白检测方法检测,例如包括ELISA的免疫测定、Gyros、MSD、Biacore、AlphaLISA、Delfia、Singulex、Luminex、Immuno-PCR、基于细胞的测定、RIA、Western印迹、亲和柱取样。ELISA方法可以是夹层ELISA或竞争性ELISA。例如,ELISA可以包括将样品与抗CD24蛋白抗体接触,使CD24蛋白-CD24蛋白抗体复合物与结合抗CD24蛋白抗体的标记抗体接触,并通过检测标记产生的信号来测量标记的抗体的量,其中信号的量与样品中CD24蛋白的量相关。

[0064] 可以基于CD24蛋白的药物代谢动力学参数调整施用于受试者的CD24蛋白的量(例如通过调整施用剂量和频率)。例如,可以调整施用于受试者的CD24蛋白的量以获得大于1ng/ml的血浆CD24浓度。在另一个实例中,调整施用于受试者的CD24蛋白的量以维持大于1ng/mL的稳态血浆浓度。在另一个实例中,可以调整施用于受试者的CD24蛋白的量以获得至少约1ng/mL的CD24蛋白的C<sub>max</sub>。在仍然另一个实例中,可以调整施用于受试者的CD24蛋白的量,以实现至少约400,000ng\*hr/mL的CD24蛋白的AUC<sub>0-inf</sub>定义的接触水平。

[0065] 本发明具有多个方面,由以下非限制性实施例说明。

## 实施例

[0066] 实施例1:

[0067] 制备可溶性CD24蛋白

[0068] 将CD24的成熟序列与IgG1Fc融合。在图1中提供了CD24融合蛋白的氨基酸组成。然后产生驱动CD24Fc融合蛋白表达的复制缺陷型逆转录病毒载体。GPEX™ (基因产物表达的首字母缩略词) 系统提供了几个重要的优点,其中最重要的是平均>1000个插入/细胞,但只有1个拷贝/插入。此外,由于逆转录病毒优先插入转录活性基因座,所以GPEX™导致靶向蛋白的高水平表达。产生稳定的细胞系,其产生高产量的CD24Fc。此外,产生了45克GLP级产品和约100克cGMP级产品。在下面的流程图中总结了用于从生物反应器收集的培养基的下游处理的方法(图2)。

[0069] 收集物澄清

[0070] 使用Cuno 60M02 Maximizer深度过滤器,然后使用Millipore Opticap 0.22um过滤器澄清生物反应器培养基。将滤液收集到无菌收集袋中。通过ELISA获得用于CD24-Fc产量定量的样品。

[0071] 蛋白A捕获

[0072] 将澄清的培养基以不超过16g/L树脂的浓度(基于ELISA)和4分钟的接触时间通过一系列蛋白A树脂(GE Healthcare MabSelect)。将柱用平衡缓冲液(50mM Tris+0.15M NaCl pH7.5)洗涤,然后用10mM柠檬酸钠/柠檬酸pH6.0洗涤5次。使用10mM柠檬酸钠/柠檬酸pH3.5从柱上洗脱结合的CD24Fc。

[0073] 病毒灭活

[0074] 加入2M盐酸立即将蛋白A洗脱液级分调至pH3.0,并在该pH下在环境温度下保持30分钟。然后加入1M Tris碱将其升至pH5.0,并使用0.65um玻璃纤维过滤器(Sartorius Sartopure GF2)和0.2um(Sartorius Sartopore 2)过滤至澄清至无菌收集袋中。

[0075] SP-Sepharose色谱

[0076] 将病毒灭活材料以不超过25g/L树脂的浓度(基于1.22的A280nm=1mg/mL)和250cm/hr的线性流速应用到SP-Sepharose(GE Healthcare)柱上。用平衡缓冲液(10mM柠檬酸钠/柠檬酸pH5.0)洗涤该柱,并用10mM柠檬酸钠/柠檬酸+0.2M NaCl pH5.0从柱上洗脱结合的CD24Fc。将流出液收集到无菌收集袋中。

[0077] Mustang Q色谱

[0078] 通过加入1M Tris碱将SP-Sepharose洗脱液调节至pH7.5,并用WFI稀释以降低电导率。将稀释的材料以不超过0.5g/L树脂(基于1.22的A280nm=1mg/mL)的浓度和5柱体积/分钟的流速应用到Mustang Q过滤器(Pall)上。用平衡缓冲液(10mM Tris pH7.5)洗涤过滤器,并将CD24-Fc包含在流过物中并收集到无菌收集袋中。

[0079] 病毒过滤

[0080] 然后通过0.2um过滤器和Millipore NFP病毒过滤器(名义孔径20nm)在30psi的恒定压力下过滤Mustang Q流过物,并收集到无菌收集袋中。

[0081] 浓缩和最终配制

[0082] 使用10kDa超滤膜(Millipore Prep/Scale)将产物浓缩并渗滤到10mM磷酸钠、150mM氯化钠pH 7.2中,其最终浓度为如通过280nm处的吸光度测定的约10mg/mL。在生物安全柜内从批量抽取分析样品。进行标记,并将样品送至QC进行测试,同时将大量等分试样储存在2-8°C,待释放。

[0083] 实施例2:

[0084] 小鼠中的CD24药物代谢动力学

[0085] 将1mg的CD24Fc (CD24Fc)注射到未免疫的C57BL/6小鼠中,并用3只小鼠在不同时间点(5分钟、1小时、4小时、24小时、48小时、7天、14天和21天)每个时间点收集血液样品。将血清以1:100稀释,并使用夹层ELISA检测CD24Fc的水平,所述夹层ELISA使用纯化的抗人CD24 (3.3µg/ml)作为捕获抗体和过氧化物酶缀合的山羊抗人IgG Fc (5µg/ml)作为检测抗体。如图4a所示。CD24Fc的衰变曲线揭示了蛋白的典型双相衰变。第一个生物分布阶段具有12.4小时的半衰期。第二阶段遵循中央室(central compartment)的一级消除模式。第二阶段的半衰期为9.54天,其与体内抗体的半衰期相似。这些数据表明融合蛋白在血流中非常稳定。在皮下注射融合蛋白的另一项研究中,观察到几乎相同的9.52天的半衰期(图4b)。更重要的是,虽然CD24Fc需要大约48小时达到血液中的峰值水平,但是血液中融合蛋白的总量通过任一注射途径是基本上相同的,如通过AUC测量。因此,从治疗的角度来看,不同的注射途径不应影响药物的治疗效果。这一观察大大简化了灵长类动物毒性和临床试验的实验设计。

[0086] 实施例3:

[0087] CD24降低LDL-C水平

[0088] 这个实施例证明CD24降低LDL-C。在临床研究中分析了自基线的血浆中空腹LDL-C的变化,其在下文更详细地描述(参见本实施例的方法部分)。对于组(Cohort)1(CD24Fc 10mg组),在第1天、第7天和第42天获得的样品中测定空腹LDL-C水平。从组2(CD24Fc 30mg组)开始,将该脂质取样扩大到包括第14天。数据总结在表1中。由于组1中的不完整的数据集,使用组2-5来分析LDL-C水平的剂量依赖性降低。观察到统计学显著的剂量依赖性降低(表1)。

[0089] 表1在第7天(U1)、第14天(U2)和第42天(U3),LDL-C水平从基线(U0,定义为100%)的变化

剂量	Obs	变量	标记	N	均值	Std Dev	最小值	最大值
////////////////////////////////////								
10mg	6	u0	基线LDL	6	100.0000000	0	100.0000000	100.0000000
		u1	7天LDL比例	5	99.6785886	8.5665505	87.0370370	107.7586207
		u2	14天LDL比例	0	.	.	.	.
		u3	42天LDL比例	6	102.9957054	5.3134796	96.8085106	110.5769231
30mg	6	u0	基线LDL	6	100.0000000	0	100.0000000	100.0000000
		u1	7天LDL比例	6	96.9190313	9.5257894	86.9047619	113.4328358
		u2	14天LDL比例	6	97.5816504	15.2482354	84.5238095	122.3880597
		u3	42天LDL比例	6	106.1959745	8.2383407	95.2830189	113.4328358
60mg	6	u0	基线LDL	6	100.0000000	0	100.0000000	100.0000000
		u1	7天LDL比例	6	90.7620588	12.6697467	72.0720721	106.1728395
		u2	14天LDL比例	6	102.5671170	5.2461286	96.5517241	110.3773585
		u3	42天LDL比例	6	105.1546943	13.4340830	93.2773109	127.1604938
120mg	6	u0	基线LDL	6	100.0000000	0	100.0000000	100.0000000
		u1	7天LDL比例	6	87.1476632	16.0595374	61.7391304	106.4516129
		u2	14天LDL比例	6	95.2625418	11.8341667	83.4782609	116.1290323
		u3	42天LDL比例	6	100.1377165	9.9404474	87.1794872	112.3456790
240mg	6	u0	基线LDL	6	100.0000000	0	100.0000000	100.0000000
		u1*	7天LDL比例	6	84.6472221	7.6553896	71.5596330	94.0476190
		u2*	14天LDL比例	5	90.1393086	5.2501807	86.2385321	99.0825688
		u3	42天LDL比例	6	107.0369419	14.7154796	79.8449612	121.1009174
Control	10	u0	基线LDL	10	100.0000000	0	100.0000000	100.0000000
		u1	7天LDL比例	10	93.7350811	8.9747121	83.7837838	107.1428571
		u2	14天LDL比例	8	104.5965396	13.8625952	83.7837838	125.2631579
		u3	42天LDL比例	10	102.6699920	16.2815599	77.0270270	138.1578947
////////////////////////////////////								

[0092] \*与安慰剂组相比时，student t检验， $P < 0.05$ 。

[0093] 使用组1作为参考，确定CD24Fc是否以剂量和时间依赖的方式降低LDL-C水平。如表2所示，与接受10mg的CD24Fc的组1相比，观察到LDL-C水平的显著剂量依赖性降低 ( $p <$

0.0001)。

[0094] 表2使用组1(最低剂量作为参考),通过GEE模型的组中LDL-C降低的剂量和时间依赖性

[0095]	参数	测量值	标准		95% 置信度		Z	Pr >  Z
			误	界限	界限			
	截距	98.0544	5.4745	87.3245	108.7842	17.91	<.0001	
	时间	1.6471	2.1861	-2.6375	5.9317	0.75	0.4512	
	30mg	3.7167	7.3244	-10.6389	18.0722	0.51	0.6118	
	时间*30 mg	-1.4733	3.5435	-8.4183	5.4718	-0.42	0.6776	
	60mg	-25.4898	14.4124	-53.7377	2.7581	-1.77	0.0770	
[0096]	时间* 60 mg	10.7245	5.0225	0.8805	20.5685	2.14	0.0327	
	120 mg	-21.2684	9.4771	-39.8431	-2.6936	-2.24	0.0248	
	时间* 120 mg	6.6669	3.9357	-1.0468	14.3806	1.69	0.0903	
	240 mg	-15.8681	6.9247	-29.4402	-2.2960	-2.29	0.0219	
	时间*240 mg	5.4390	2.8825	-0.2106	11.0887	1.89	0.0592	

[0097] 观察到LDL-C的统计学显著的剂量依赖性降低,表明CD24Fc对于降低人类患者中的LDL-C有效。

[0098] 方法

[0099] 这是I期,随机,双盲,安慰剂对照,单次上升剂量研究,以评估健康男性和女性成年受试者中CD24Fc的安全性、耐受性和PK。本研究共纳入了5组共40名受试者,其中每组8名受试者。每组8名受试者中有6名接受研究药物,2名受试者接受安慰剂(0.9%氯化钠,盐水)。给第一组施用10mg。后续组接受30mg、60mg、120mg和240mg的CD24Fc或匹配的安慰剂,并且相隔至少3周给药,以允许检查每个先前组的安全性和耐受性数据。只有在证明了足够的安全性和耐受性的情况下,才允许向新的受试者组施用下一次更高的剂量。

[0100] 在每组中,最初的2名受试者在第1天为1名研究药物受体和1名安慰剂受体。在第7天之后,向第3至第5和第6至第8名受试者给药(在亚组之间间隔最少24小时)。在同一亚组中间隔至少1小时向每个受试者给药。如有必要,其余受试者的给药被延迟,以检查涉及该组中第一个或第二个亚组的给药后期间可能出现的任何重大安全性问题。随后的组在先前组后至少3周给药。

[0101] 筛选期:

[0102] 筛选访问(访问1)在积极治疗期开始前21天发生。提供知情同意后,受试者接受合格性的筛查程序。

[0103] 治疗期:

[0104] 受试者在第-1天(访问2)被许可进入临床药理科(Clinical Pharmacology Unit)(CPU),并且在最少10小时过夜禁食(fast)后,随机治疗期在第1天开始。受试者被随机分配为用CD24Fc或安慰剂作为单一剂量的治疗。受试者保持受限直至第4天上午。

[0105] 随访:

[0106] 所有受试者在第7天、第14天、第21天、第28天和第42天(±1天)返回到CPU,进行随访(访问3、访问4、访问5、访问6和访问7)。访问7是所有受试者的最后访问。

[0107] 治疗时间:每个受试者的总研究时间长达63天。单剂量施用发生在第1天。

[0108] 受试者数:

[0109] 计划:40名受试者

[0110] 筛选:224名受试者

[0111] 随机:40名受试者

[0112] 完成:39名受试者

[0113] 中断:1名受试者

[0114] 诊断和纳入的主要标准:本研究的人群为健康的男性和女性,年龄在18至55岁之间,包括身体质量指数在 $18\text{kg}/\text{m}^2$ 到 $30\text{kg}/\text{m}^2$ 之间。

[0115] 调查产品和比较信息:

[0116] CD24Fc:通过IV输注施用的10mg、30mg、60mg、120mg或240mg的单次剂量;批号:09MM-036。CD24Fc是由人CD24的成熟序列和人免疫球蛋白G1的可结晶片段区域(IgG1Fc)组成的完全人源化融合蛋白。CD24Fc作为无菌、透明、无色、无防腐剂的水溶液供给,用于IV施用。CD24Fc配制成单剂量注射液,浓度为 $10\text{mg}/\text{mL}$ ,pH为7.2。每个CD24Fc小瓶含有在 $16\text{mL} \pm 0.2\text{mL}$  CD24Fc中的160mg CD24Fc、5.3mg氯化钠、32.6mg磷酸氢二钠七水合物和140mg磷酸二氢钠一水合物。CD24Fc用具有氯丁橡胶塞和铝翻盖密封的透明硼硅酸盐玻璃小瓶提供。

[0117] 通过IV输注施用匹配安慰剂(0.9%氯化钠,盐水)批号:P296855、P311852、P300715、P315952。

[0118] 意向治疗(ITT)人群由接受至少1个剂量研究药物的所有受试者组成。ITT人群是用于受试者信息和安全评估的主要分析人群。

[0119] 通过治疗和访问总结临床实验室评估(化学、血液学和尿分析)。也总结了从基线的变化。通过治疗和时间点总结了生命体征(血压、心率、呼吸频率和体温)。也总结了从基线的变化。列出所有身体检查数据。总结了心电图参数和基线变化。列出总体解释。在第-1天、第7天和第42天获得组1(CD24Fc 10mg组)的空腹LDL-C和高密度脂蛋白胆固醇。从组2(Cd24Fc 30mg组)开始,这种脂质取样扩大到包括第14天。

[0120] 实施例4:

[0121] 人中的CD24药物代谢动力学

[0122] 该实施例显示了人中CD24蛋白的药物代谢动力学分析。

[0123] 血浆CD24Fc浓度

[0124] 如图5所示,CD24Fc的平均血浆浓度与施用的CD24Fc的剂量成比例地增加。对于120mg以外的所有剂量组,在给药后1小时达到CD24Fc的最大平均血浆浓度。在给药后2小时120mg组达到CD24Fc的最大平均血浆浓度。到第42天(984小时),所有组的CD24Fc的平均血浆浓度已经降低至最大平均血浆浓度的2%至4%。

[0125] 表3总结了通过PK评估人群的治疗的血浆CD24Fc PK参数。

[0126] 表3通过治疗的血浆CD24Fc药物代谢动力学参数的综述-PK评估人群

[0127]

	<b>CD24Fc 10 mg (N=6)</b>	<b>CD24Fc 30 mg (N=6)</b>	<b>CD24Fc 60 mg (N=6)</b>	<b>CD24Fc 120 mg (N=6)</b>	<b>CD24Fc 240 mg (N=6)</b>
<b>参数统计</b>					
$C_{max}$ (ng/mL)					
n	6	6	6	6	6
均值(SD)	2495 (576)	9735 (1715)	30 083 (7179)	52 435 (9910)	95 865 (10 734)
CV%	23.1	17.6	23.9	18.9	11.2
中位数	2371	9218	29 026	50 401	93 206
Min, Max	1,967, 3,390	8,583, 13,086	22,557, 42,628	40,434, 65,704	81,296, 110,110
几何平均	2,442	9,625	29,424	51,666	95,365

[0128]

参数统计	CD24Fc 10 mg (N=6)	CD24Fc 30 mg (N=6)	CD24Fc 60 mg (N=6)	CD24Fc 120 mg (N=6)	CD24Fc 240 mg (N=6)
数					
几何CV%	22.8	16.1	23.0	19.0	11.2
AUC <sub>0-42d</sub> (ng*hr/mL)					
n	6	6	6	6	6
均值(SD)	423,061 (99,615)	1,282,430 (88,798)	3,226,255 (702,862)	6,541,501 (2,190,944)	12,704,705 (1,918,596)
CV%	23.5	6.9	21.8	33.5	15.1
中位数	434,043	1,302,719	3,124,933	5,785,142	12,563,426
Min, Max	291,020, 528,079	1,175,733, 1,403,024	2,487,550, 4,139,748	4,485,193, 9,415,266	10,466,635, 15,693,606
几何平均 数	412,795	1,279,851	3,163,252	6,249,552	12,586,731
几何CV%	25.0	7.0	22.0	33.8	15.0
AUC <sub>0-inf</sub> (ng*hr/mL)					
n	6	6	6	6	6
均值(SD)	462,260 (116,040)	1,434,464 (131,316)	3,497,196 (705,653)	7,198,196 (2,458,320)	13,861,796 (1,962,780)
CV%	25.1	9.2	20.2	34.2	14.2
中位数	470,426	1,422,205	3,519,732	6,463,665	13,713,034
Min, Max	310,956, 596,599	1,281,715, 1,650,503	2,703,655, 4,309,023	4,910,640, 10,479,940	11,822,988, 17,175,236
几何平均 数	449,583	1,429,578	3,437,036	6,862,129	13,750,972
几何CV%	26.7	9.0	20.7	34.6	13.8
T <sub>max</sub> (hr)					

[0129]

参数统计	CD24Fc 10 mg (N=6)	CD24Fc 30 mg (N=6)	CD24Fc 60 mg (N=6)	CD24Fc 120 mg (N=6)	CD24Fc 240 mg (N=6)
n	6	6	6	6	6
均值(SD)	1.15 (0.42)	1.17 (0.41)	1.01 (0.01)	1.34 (0.51)	1.33 (0.52)
CV%	36.1	35.0	1.2	38.0	38.7
中位数	1.00	1.00	1.00	1.03	1.00
Min, Max	0.92, 2.00	1.00, 2.00	1.00, 1.03	1.00, 2.00	1.00, 2.00
$t_{1/2}$ (hr)					
n	6	6	6	6	6
均值(SD)	280.83 (22.37)	327.10 (41.32)	279.82 (65.59)	286.45 (23.38)	285.33 (24.33)
CV%	8.0	12.6	23.4	8.2	8.5
中位数	279.61	317.23	264.69	290.76	287.74
Min, Max	258.87, 321.26	289.82, 394.24	210.18, 362.46	243.89, 309.26	249.24, 322.26
AUCextr (%)					
n	6	6	6	6	6
均值(SD)	7.61 (2.14)	10.44 (2.94)	7.88 (4.26)	8.92 (1.94)	8.46 (1.99)
CV%	28.1	28.2	54.0	21.8	23.5
中位数	7.16	10.01	6.35	9.27	8.45
Min, Max	5.46, 11.47	7.10, 15.05	3.92, 14.48	5.49, 10.99	5.56, 11.50
CL (L/hr)					
n	6	6	6	6	6
均值(SD)	0.0229 (0.0061)	0.0211 (0.0019)	0.0178 (0.0036)	0.0183 (0.0058)	0.0176 (0.0023)
CV%	26.7	8.8	20.5	31.7	13.3
中位数	0.0216	0.0211	0.0173	0.0191	0.0175
Min, Max	0.0168, 0.0322	0.0182, 0.0234	0.0139, 0.0222	0.0115, 0.0244	0.0140, 0.0203

[0130]

参数统计	CD24Fc 10 mg (N=6)	CD24Fc 30 mg (N=6)	CD24Fc 60 mg (N=6)	CD24Fc 120 mg (N=6)	CD24Fc 240 mg (N=6)
Vd (L)					
n	6	6	6	6	6
均值(SD)	9.153 (1.943)	9.867 (0.804)	7.289 (2.592)	7.491 (2.202)	7.276 (1.426)
CV%	21.2	8.1	35.6	29.4	19.6
中位数	8.507	10.007	7.486	7.691	7.151
Min, Max	7.326, 12.010	8.771, 10.958	4.222, 11.139	4.933, 9.974	5.814, 9.438
<p>AUC<sub>0-42d</sub> = 从时间第0天到第42天的浓度-时间曲线下的面积; AUC<sub>0-inf</sub> =从时间第0天到无穷大外推的浓度-时间曲线下的面积; AUC<sub>extr</sub> = 由最后可测量浓度 (每个受试者) 到无穷大外推的AUC<sub>0-inf</sub>百分比; CL =全身清除率; C<sub>max</sub> = 最大观察血浆药物浓度; CV% = 变异系数; Min =最小值; Max =最大值; SD =标准偏差; t<sub>1/2</sub> =末端消除半衰期; T<sub>max</sub> =最大观察血浆药物浓度的时间; V<sub>d</sub> =分布体积。</p>					

[0131] 血浆CD24Fc剂量比例分析

[0132] 图6显示了PK可评估群体的CD24Fc C<sub>max</sub> 相对于剂量的剂量比例图。图7显示了PK可评估群体的CD24Fc AUC<sub>0-42d</sub> 相对于剂量的剂量比例图。图8显示了PK可评估群体的CD24Fc AUC<sub>0-inf</sub> 相对于剂量的剂量比例图。表4显示了剂量比例的药效分析 (power analysis)。

[0133]

表4 剂量比例的功效分析: 血浆CD24Fc药物代谢动力学参数-PK可评估群体

参数统计	CD24Fc 10 mg (N=6)	CD24Fc 30 mg (N=6)	CD24Fc 60 mg (N=6)	CD24Fc 120 mg (N=6)	CD24Fc 240 mg (N=6)	剂量比例	
						斜率 评估	标准误差 90% CI
$C_{max}$ (ng/mL)						1.172	0.040 (1.105, 1.240)
几何平均数	2,441.8	9,624.9	29,424.4	51,666.4	95,364.9		
几何CV%	22.8	16.1	23.0	19.0	11.2		
$AUC_{0-42d}$ (ng*hr/mL)						1.088	0.036 (1.027, 1.148)
几何平均数	412,794.8	1,279,850.8	3,163,251.7	6,249,551.9	12,586,731.3		
几何CV%	25.0	7.0	22.0	33.8	15.0		
$AUC_{0-inf}$ (ng*hr/mL)						1.087	0.036 (1.026, 1.148)
几何平均数	449,583.5	1,429,577.5	3,437,035.6	6,862,128.7	13,750,972.4		
几何CV%	26.7	9.0	20.7	34.6	13.8		

几何CV% =  $100 * \sqrt{\exp(SD^2) - 1}$ 。其中SD是对数转化数据的标准偏差。通过受限的最大可能性拟合功效模型, 回归对数转化剂量上的对数转化PK参数。截距和斜率均被拟合为固定效应。如果90%CI位于(0.8, 1.25), 那么剂量比例被拒绝。

$AUC_{0-42d}$  = 从时间第0天到第42天的浓度-时间曲线下的面积;  $AUC_{0-inf}$  = 从时间第0天到无穷大外推的浓度-时间曲线下的面积; CI = 置信区间;  $C_{max}$  = 最大观察血浆药物浓度; CV% = 变异系数; PK = 药物代谢动力学; SD = 标准偏差。

[0134]  $C_{max}$ 斜率估计为1.172, 90%CI为1.105至1.240。 $AUC_{0-42d}$ 斜率估计为1.088, 90%CI为1.027至1.148。 $AUC_{0-inf}$ 斜率估计为1.087, 90%CI为1.026至1.1。

[0135] 药物代谢动力学结论

[0136] 血浆CD24Fc的 $C_{\max}$ 和AUC与在小鼠,猴和人中施用的剂量成比例地增加。血浆CD24Fc在1.01到1.34小时之间达到 $T_{\max}$ 。血浆CD24Fc的 $t_{1/2}$ 在280.83到327.10小时范围内。



[0039]	1	5	10	15
[0040]	Ser Pro Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Arg Gly			
[0041]	20	25		
[0042]	<210> 4			
[0043]	<211> 26			
[0044]	<212> PRT			
[0045]	<213> 智人			
[0046]	<400> 4			
[0047]	Met Gly Arg Ala Met Val Ala Arg Leu Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu			
[0048]	1	5	10	15
[0049]	Ala Leu Leu Leu Pro Thr Gln Ile Tyr Ser			
[0050]	20	25		
[0051]	<210> 5			
[0052]	<211> 287			
[0053]	<212> PRT			
[0054]	<213> 人工的			
[0055]	<220>			
[0056]	<223> 融合蛋白			
[0057]	<400> 5			
[0058]	Met Gly Arg Ala Met Val Ala Arg Leu Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu			
[0059]	1	5	10	15
[0060]	Ala Leu Leu Leu Pro Thr Gln Ile Tyr Ser Ser Glu Thr Thr Thr Gly			
[0061]	20	25	30	
[0062]	Thr Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr Ser Asn Ser Gly Leu Ala Pro			
[0063]	35	40	45	
[0064]	Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His			
[0065]	50	55	60	
[0066]	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val			
[0067]	65	70	75	80
[0068]	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
[0069]	85	90	95	
[0070]	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu			
[0071]	100	105	110	
[0072]	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
[0073]	115	120	125	
[0074]	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
[0075]	130	135	140	
[0076]	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
[0077]	145	150	155	160

[0078]	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
[0079]	165 170 175
[0080]	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
[0081]	180 185 190
[0082]	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
[0083]	195 200 205
[0084]	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
[0085]	210 215 220
[0086]	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
[0087]	225 230 235 240
[0088]	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
[0089]	245 250 255
[0090]	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
[0091]	260 265 270
[0092]	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0093]	275 280 285
[0094]	<210> 6
[0095]	<211> 261
[0096]	<212> PRT
[0097]	<213> 人工的
[0098]	<220>
[0099]	<223> 融合蛋白
[0100]	<400> 6
[0101]	Ser Glu Thr Thr Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr Ser
[0102]	1 5 10 15
[0103]	Asn Ser Gly Leu Ala Pro Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys Pro Lys
[0104]	20 25 30
[0105]	Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
[0106]	35 40 45
[0107]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
[0108]	50 55 60
[0109]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
[0110]	65 70 75 80
[0111]	Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
[0112]	85 90 95
[0113]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
[0114]	100 105 110
[0115]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
[0116]	115 120 125

[0117]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
[0118]	130 135 140
[0119]	Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[0120]	145 150 155 160
[0121]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
[0122]	165 170 175
[0123]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[0124]	180 185 190
[0125]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[0126]	195 200 205
[0127]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
[0128]	210 215 220
[0129]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[0130]	225 230 235 240
[0131]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
[0132]	245 250 255
[0133]	Leu Ser Pro Gly Lys
[0134]	260
[0135]	<210> 7
[0136]	<211> 231
[0137]	<212> PRT
[0138]	<213> 智人
[0139]	<400> 7
[0140]	Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
[0141]	1 5 10 15
[0142]	Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
[0143]	20 25 30
[0144]	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
[0145]	35 40 45
[0146]	Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
[0147]	50 55 60
[0148]	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
[0149]	65 70 75 80
[0150]	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
[0151]	85 90 95
[0152]	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
[0153]	100 105 110
[0154]	Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
[0155]	115 120 125

[0156]	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
[0157]	130 135 140
[0158]	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
[0159]	145 150 155 160
[0160]	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
[0161]	165 170 175
[0162]	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
[0163]	180 185 190
[0164]	Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
[0165]	195 200 205
[0166]	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
[0167]	210 215 220
[0168]	Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0169]	225 230
[0170]	<210> 8
[0171]	<211> 288
[0172]	<212> PRT
[0173]	<213> 人工的
[0174]	<220>
[0175]	<223> 融合蛋白
[0176]	<400> 8
[0177]	Met Gly Arg Ala Met Val Ala Arg Leu Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu
[0178]	1 5 10 15
[0179]	Ala Leu Leu Leu Pro Thr Gln Ile Tyr Ser Ser Glu Thr Thr Thr Gly
[0180]	20 25 30
[0181]	Thr Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr Ser Asn Ser Gly Leu Ala Pro
[0182]	35 40 45
[0183]	Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys Val Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
[0184]	50 55 60
[0185]	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
[0186]	65 70 75 80
[0187]	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
[0188]	85 90 95
[0189]	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
[0190]	100 105 110
[0191]	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
[0192]	115 120 125
[0193]	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
[0194]	130 135 140

[0195]	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
[0196]	145 150 155 160
[0197]	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
[0198]	165 170 175
[0199]	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
[0200]	180 185 190
[0201]	Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
[0202]	195 200 205
[0203]	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
[0204]	210 215 220
[0205]	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
[0206]	225 230 235 240
[0207]	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
[0208]	245 250 255
[0209]	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
[0210]	260 265 270
[0211]	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0212]	275 280 285
[0213]	<210> 9
[0214]	<211> 288
[0215]	<212> PRT
[0216]	<213> 人工的
[0217]	<220>
[0218]	<223> 融合蛋白
[0219]	<400> 9
[0220]	Met Gly Arg Ala Met Val Ala Arg Leu Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu
[0221]	1 5 10 15
[0222]	Ala Leu Leu Leu Pro Thr Gln Ile Tyr Ser Ser Glu Thr Thr Thr Gly
[0223]	20 25 30
[0224]	Thr Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr Ser Asn Ser Gly Leu Ala Pro
[0225]	35 40 45
[0226]	Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys Ala Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
[0227]	50 55 60
[0228]	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
[0229]	65 70 75 80
[0230]	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
[0231]	85 90 95
[0232]	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
[0233]	100 105 110

[0234]	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
[0235]	115 120 125
[0236]	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
[0237]	130 135 140
[0238]	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
[0239]	145 150 155 160
[0240]	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
[0241]	165 170 175
[0242]	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
[0243]	180 185 190
[0244]	Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
[0245]	195 200 205
[0246]	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
[0247]	210 215 220
[0248]	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
[0249]	225 230 235 240
[0250]	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
[0251]	245 250 255
[0252]	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
[0253]	260 265 270
[0254]	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0255]	275 280 285
[0256]	<210> 10
[0257]	<211> 29
[0258]	<212> PRT
[0259]	<213> 食蟹猴
[0260]	<400> 10
[0261]	Thr Val Thr Thr Ser Ala Pro Leu Ser Ser Asn Ser Pro Gln Asn Thr
[0262]	1 5 10 15
[0263]	Ser Thr Thr Pro Asn Pro Ala Asn Thr Thr Thr Lys Ala
[0264]	20 25
[0265]	<210> 11
[0266]	<211> 262
[0267]	<212> PRT
[0268]	<213> 人工的
[0269]	<220>
[0270]	<223> 融合蛋白
[0271]	<400> 11
[0272]	Ser Glu Thr Thr Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr Ser

[0273]	1	5	10	15
[0274]	Asn Ser Gly Leu Ala Pro Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys Val Pro			
[0275]	20	25	30	
[0276]	Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu			
[0277]	35	40	45	
[0278]	Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp			
[0279]	50	55	60	
[0280]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp			
[0281]	65	70	75	80
[0282]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
[0283]	85	90	95	
[0284]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn			
[0285]	100	105	110	
[0286]	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp			
[0287]	115	120	125	
[0288]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro			
[0289]	130	135	140	
[0290]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu			
[0291]	145	150	155	160
[0292]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn			
[0293]	165	170	175	
[0294]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile			
[0295]	180	185	190	
[0296]	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr			
[0297]	195	200	205	
[0298]	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys			
[0299]	210	215	220	
[0300]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys			
[0301]	225	230	235	240
[0302]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu			
[0303]	245	250	255	
[0304]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
[0305]	260			
[0306]	<210> 12			
[0307]	<211> 262			
[0308]	<212> PRT			
[0309]	<213> 人工的			
[0310]	<220>			
[0311]	<223> 融合蛋白			

[0312] <400> 12  
 [0313] Ser Glu Thr Thr Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ser Ser Gln Ser Thr Ser  
 [0314] 1 5 10 15  
 [0315] Asn Ser Gly Leu Ala Pro Asn Pro Thr Asn Ala Thr Thr Lys Ala Pro  
 [0316] 20 25 30  
 [0317] Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu  
 [0318] 35 40 45  
 [0319] Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 [0320] 50 55 60  
 [0321] Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 [0322] 65 70 75 80  
 [0323] Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 [0324] 85 90 95  
 [0325] Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn  
 [0326] 100 105 110  
 [0327] Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
 [0328] 115 120 125  
 [0329] Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro  
 [0330] 130 135 140  
 [0331] Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 [0332] 145 150 155 160  
 [0333] Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn  
 [0334] 165 170 175  
 [0335] Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 [0336] 180 185 190  
 [0337] Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 [0338] 195 200 205  
 [0339] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 [0340] 210 215 220  
 [0341] Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 [0342] 225 230 235 240  
 [0343] Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 [0344] 245 250 255  
 [0345] Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 [0346] 260

MGRAMVARLGLGLLLLALLLPTQIYS**SETTTGTSSNSSQSTSNGLAP**  
**NPTNATTK**PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT  
PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS  
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL  
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD  
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图1A

MGRAMVARLGLGLLLLALLLPTQIYS**SETTTGTSSNSSQSTSNGLAP**  
**NPTNATTKV**PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR  
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV  
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL  
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD  
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图1B

MGRAMVARLGLGLLLLALLLPTQIYS**SETTTGTSSNSSQSTSNGLAP**  
**NPTNATTKA**PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR  
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV  
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL  
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD  
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

图1C



小鼠 CD24 **NQTSVAPFPGN**--**QNI**SAS----PNPT**N**ATTRG  
 -\* - \* \* \* \* \*  
 人 CD24 **SETTTGTSS**-**NSSQSTSN**S-GLAPNPT**N**ATTKA (V)

图3

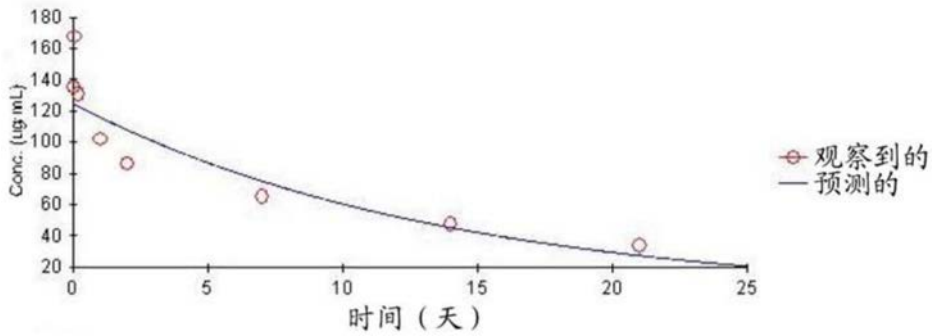


图4a

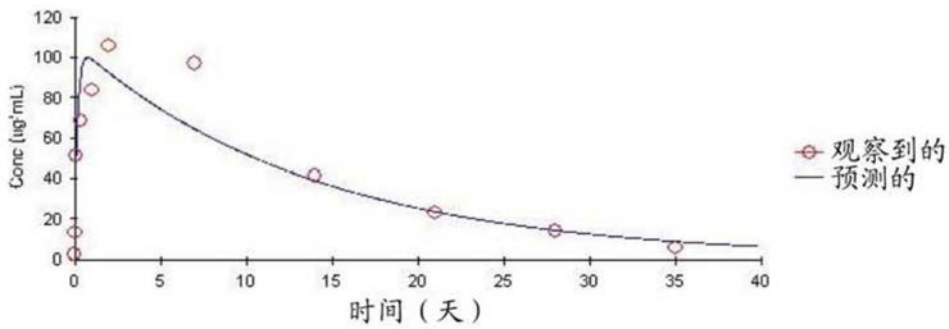


图4b

途径	参数	单位	评估值	标准误	CV%
i.v.	AUC	天*ug/mL	1709.5	305.2	17.85
s.c.			1453.2	181.4	12.49
i.v.	K10_HL	天	9.52	1.96	20.56
s.c.			9.54	1.43	14.97
i.v.	Cmax	ug/mL	124.4	10.3	8.31
s.c.			99.6	11.1	11.11

图4c

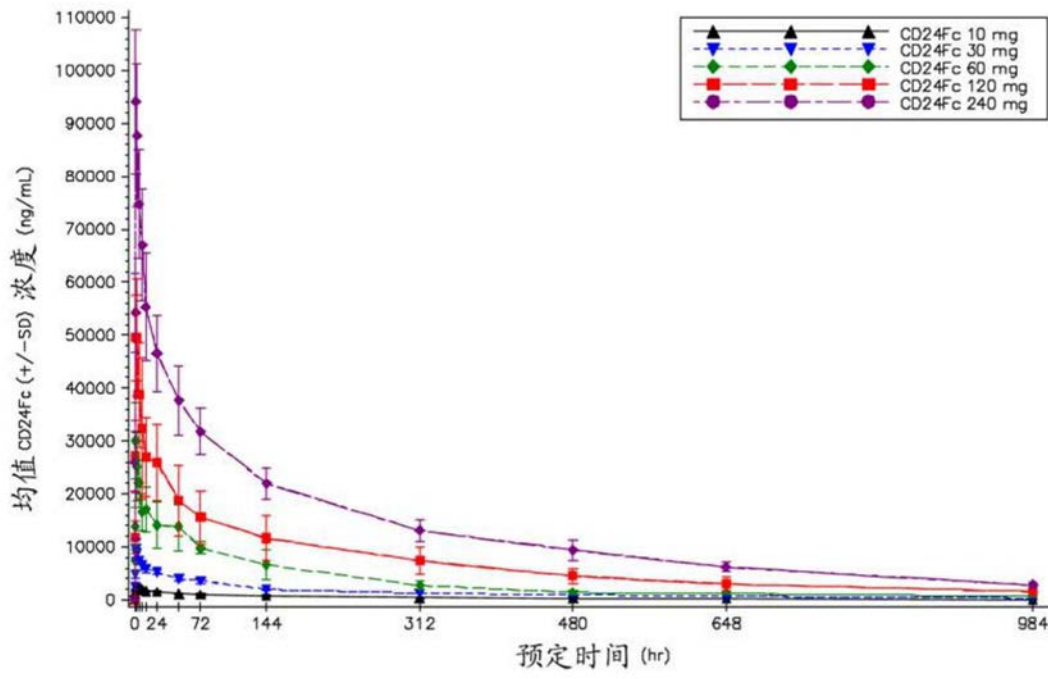


图5

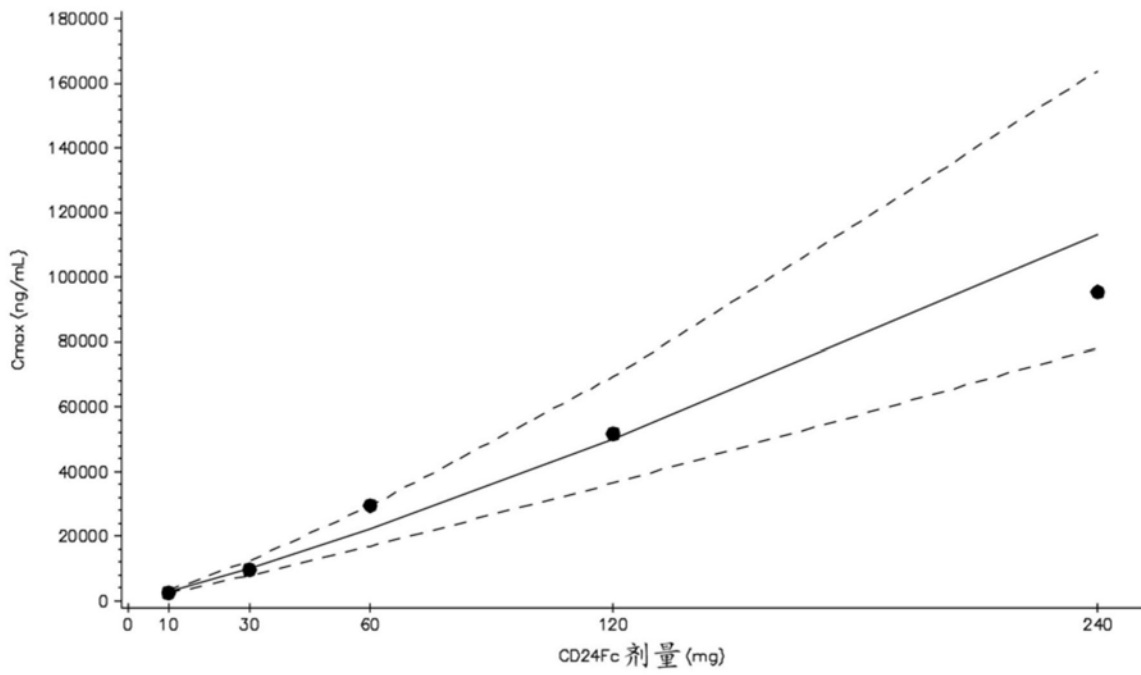


图6

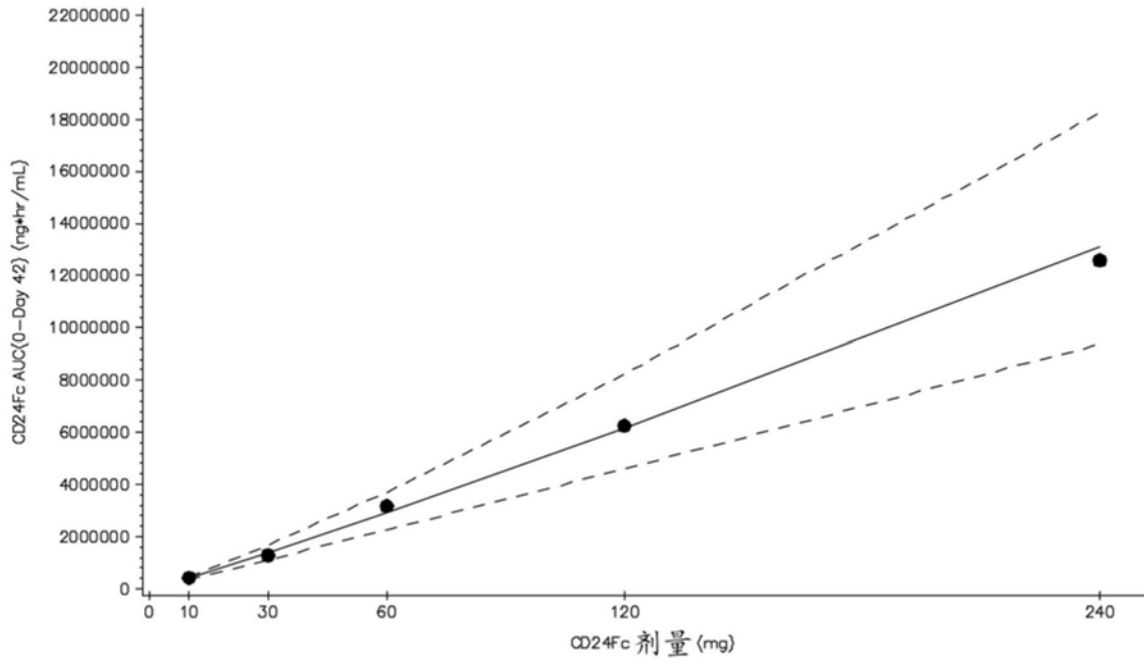


图7

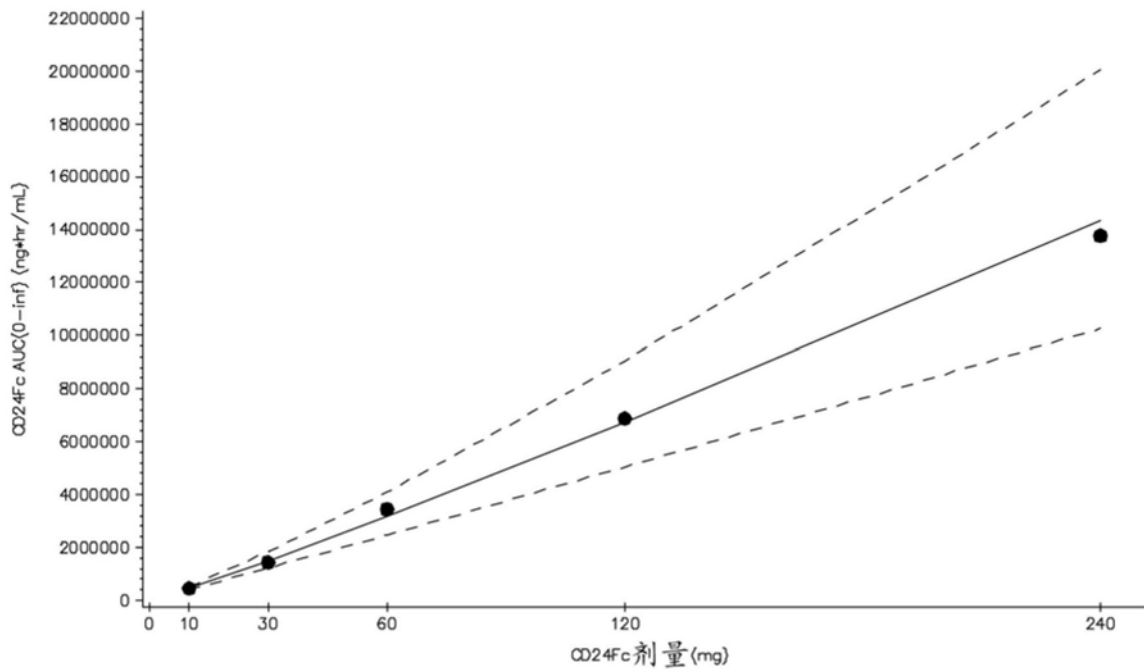


图8