



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105408355 A

(43) 申请公布日 2016. 03. 16

---

(21) 申请号 201480012412. 5 *C07K 16/28*(2006. 01)  
(22) 申请日 2014. 01. 31 *A61P 29/00*(2006. 01)  
(30) 优先权数据 *A61P 31/00*(2006. 01)  
61/759, 108 2013. 01. 31 US  
(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2015. 09. 06  
(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2014/014107 2014. 01. 31  
(87) PCT国际申请的公布数据  
W02014/121053 EN 2014. 08. 07  
(71) 申请人 瓦克纳斯有限公司  
地址 美国纽约州  
(72) 发明人 莫里斯·扎德尔 吉田胜  
山本浩司 欧内斯特·S·史密斯  
(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理  
有限责任公司 11204  
代理人 王达佐 洪欣  
(51) Int. Cl.  
*C07K 16/24*(2006. 01)

权利要求书3页 说明书36页  
序列表14页 附图4页

---

(54) 发明名称

用于提高免疫球蛋白 A 水平的方法

(57) 摘要

本文提供了用于提高患有免疫球蛋白 A(IgA) 缺乏症的受试者的免疫球蛋白 A 水平的方法, 所述方法是通过向所述受试者施用抑制 CXCL13 活性的药剂, 如抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体来实现的。还提供了用于治疗缺乏 IgA 的受试者的炎症性病症的方法, 所述方法是通过向所述受试者施用抑制 CXCL13 活性的药剂来实现的。

1. 一种用于提高患有免疫球蛋白 A (IgA) 缺乏症的受试者的免疫球蛋白 A 水平的方法, 所述方法包括向所述受试者施用有效量的抑制 CXCL13 活性的药剂。

2. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述 IgA 缺乏症继发于感染或对药物的暴露。

3. 如权利要求 2 所述的方法, 其中所述感染是粘膜感染。

4. 如权利要求 2 或 3 所述的方法, 其中所述感染是细菌感染。

5. 如权利要求 4 所述的方法, 其中所述细菌感染是螺杆菌 (*Helicobacter*) 感染。

6. 如权利要求 5 所述的方法, 其中所述螺杆菌选自以下各项组成的组: 幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*)、海尔曼螺杆菌 (*Helicobacter heilmannii*)、以及猪螺杆菌 (*Helicobacter suis*)。

7. 如权利要求 6 所述的方法, 其中所述螺杆菌是猪螺杆菌。

8. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述 IgA 缺乏症是原发性 IgA 缺乏症。

9. 一种用于治疗患有免疫球蛋白 A (IgA) 缺乏症的受试者的炎症性病症的方法, 所述方法包括向所述受试者施用有效量的抑制 CXCL13 活性的药剂。

10. 如权利要求 9 所述的方法, 其中所述炎症性病症是由粘膜感染所引起。

11. 如权利要求 9 或 10 所述的方法, 其中所述炎症性病症是由细菌感染所引起。

12. 如权利要求 11 所述的方法, 其中所述方法降低了所述受试者的所述细菌感染的负荷。

13. 如权利要求 11 或 12 所述的方法, 其中所述细菌感染是螺杆菌感染。

14. 如权利要求 13 所述的方法, 其中所述螺杆菌选自以下各项组成的组: 幽门螺杆菌、海尔曼螺杆菌以及猪螺杆菌。

15. 如权利要求 14 所述的方法, 其中所述螺杆菌是猪螺杆菌。

16. 如权利要求 10 至 15 中任一项所述的方法, 其中所述粘膜感染是胃粘膜感染。

17. 如权利要求 9 至 16 中任一项所述的方法, 其中所述炎症性病症是 MALT 淋巴瘤。

18. 如权利要求 17 所述的方法, 其中所述 MALT 淋巴瘤是胃 MALT 淋巴瘤。

19. 如权利要求 9 至 16 中任一项所述的方法, 其中所述炎症性病症是胃溃疡或十二指肠溃疡。

20. 如权利要求 9 所述的方法, 其中所述炎症性病症是自身免疫性病症。

21. 如权利要求 20 所述的方法, 其中所述自身免疫性病症选自以下各项组成的组: 类风湿性关节炎、全身性红斑狼疮、格雷夫斯氏病、1 型糖尿病、重症肌无力以及乳糜泻。

22. 如权利要求 1 至 21 中任一项所述的方法, 其中在施用所述抑制 CXCL13 活性的药剂后所述受试者的分泌型 IgA 水平升高。

23. 如权利要求 22 所述的方法, 其中在施用所述抑制 CXCL13 活性的药剂后所述受试者的胃 IgA 水平升高。

24. 如权利要求 1 至 23 中任一项所述的方法, 其中所述方法增加了所述受试者的粘膜组织中的 IgA 抗体反应。

25. 如权利要求 1 至 24 中任一项所述的方法, 其中所述药剂是特异性结合 CXCR5 的结合分子。

26. 如权利要求 1 至 24 中任一项所述的方法, 其中所述药剂是特异性结合 CXCL13 的结合分子。

27. 如权利要求 1 至 26 中任一项所述的方法,其中所述结合分子包括抗体或其抗原结合片段。

28. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述抗体是嵌合抗体、人类抗体、或人源化抗体。

29. 如权利要求 27 或 28 所述的方法,其中所述抗体特异性结合 CXCL13 并且包含与 SEQ ID NO:10 或 14 中所示的氨基酸序列具有至少 90%序列同一性的重链可变 (VH) 域。

30. 如权利要求 29 所述的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含具有 SEQ ID NO:14 中所示的序列的 VH 域。

31. 如权利要求 27 至 30 中任一项所述的方法,其中所述抗体特异性结合 CXCL13 并且包含与 SEQ ID NO:15、19 或 21 中所示的氨基酸序列具有至少 90%序列同一性的轻链可变 (VL) 域。

32. 如权利要求 31 所述的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含具有 SEQ ID NO:19 中所示的序列的 VL 域。

33. 如权利要求 32 所述的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含具有 SEQ ID NO:14 中所示的序列的 VH 域和具有 SEQ ID NO:19 中所示的序列的 VL 域。

34. 如权利要求 27 或 28 所述的方法,其中所述抗体特异性结合 CXCL13 并且包含具有以下互补决定区 (CDR) 中的至少一个的 VH 域:

- a) 与 SEQ ID NO:11 具有至少 90%序列同一性的 CDR1;
- b) 与 SEQ ID NO:12 具有至少 90%序列同一性的 CDR2;以及
- c) 与 SEQ ID NO:13 具有至少 90%序列同一性的 CDR3。

35. 如权利要求 34 所述的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含 VH 域,所述 VH 域包含具有 SEQ ID NO:11 中所示的序列的 CDR1、具有 SEQ ID NO:12 中所示的序列的 CDR2、以及具有 SEQ ID NO:13 中所示的序列的 CDR3。

36. 如权利要求 27、28、34 以及 35 中任一项所述的方法,其中所述抗体特异性结合 CXCL13 并且包含具有以下互补决定区 (CDR) 中的至少一个的 VL 域:

- a) 与 SEQ ID NO:20 具有至少 90%序列同一性的 CDR1;
- b) 与 SEQ ID NO:17 具有至少 90%序列同一性的 CDR2;以及
- c) 与 SEQ ID NO:18 具有至少 90%序列同一性的 CDR3。

37. 如权利要求 36 所述的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含 VL 域,所述 VL 域包含具有 SEQ ID NO:20 中所示的序列的 CDR1、具有 SEQ ID NO:17 中所示的序列的 CDR2、以及具有 SEQ ID NO:18 中所示的序列的 CDR3。

38. 如权利要求 27 或 28 所述的方法,其中所述抗体选自由以下各项组成的组:MAb 5261、MAb 5378、MAb 5080、MAb 1476 以及 MAb 3D2。

39. 如权利要求 38 所述的方法,其中所述抗体是 mAb 5378。

40. 如权利要求 1 至 24 中任一项所述的方法,其中所述药剂是 CXCR5 的可溶形式。

41. 如权利要求 1 至 40 中任一项所述的方法,其中所述药剂抑制 CXCL13 与 CXCL13 受体的相互作用。

42. 如权利要求 41 所述的方法,其中所述 CXCL13 受体是 CXCR5。

43. 如权利要求 1 至 42 中任一项所述的方法,其中所述药剂抑制 CXCR5 受体内化。

44. 如权利要求 1 至 43 中任一项所述的方法,其中将所述药剂与药学上可接受的载体

一起施用。

45. 如权利要求 1 至 44 中任一项所述的方法,其中所述受试者是动物。

46. 如权利要求 45 所述的方法,其中所述动物是哺乳动物。

47. 如权利要求 46 所述的方法,其中所述哺乳动物是人类。

## 用于提高免疫球蛋白 A 水平的方法

[0001] 对作为文本文件经由 EFS-WEB 递交的序列表的引用

[0002] 序列表的正式文本是使用名称为 441418SEQLIST.TXT, 在 2014 年 1 月 20 日创建的并且具有 35.3 千字节的大小的文件, 以 ASCII 格式的序列表的形式经由 EFS-Web 以电子方式递交的, 并且与本说明书同时提交。在这份 ASCII 格式的文档中所含的序列表是本说明书的一部分并且以引用的方式整体并入本文。

### 技术领域

[0003] 本发明大体上涉及提高患有免疫球蛋白 A (IgA) 缺乏症的受试者的免疫球蛋白 A 水平。

### 背景技术

[0004] 免疫球蛋白是一组由包含可变域和恒定域的重链和轻链构成的结构相关蛋白质。重链和轻链的可变区决定了完整分子的分子特异性。免疫球蛋白基于它们的重链恒定区的种类而被分为 IgG、IgM、IgE、IgD、或 IgA。免疫球蛋白 A (IgA) 在它的重链中包含  $\alpha$  恒定区。

[0005] IgA 是由沿着呼吸道、胃肠道、以及生殖泌尿道的粘膜内层定位的浆细胞产生的。IgA 分子与入侵的病原体结合并且削弱它们穿透粘膜层以及进入宿主的内部组织和血流的能力。一般参见 J. G. Nedrud 等人, “佐剂和粘膜免疫系统 (Adjuvants and the Mucosal Immune System)”, 《疫苗佐剂研究课题》(Topics in Vaccine Adjuvant Research), (Spiggs, D. E., Koff, W. C. 编著) CRC Press, Boca Raton, Fla. (1990)。IgA 与吞噬性白细胞的细胞表面上的受体结合并且从而促进抗体依赖性细胞介导的对入侵的病原体的杀灭。IgA 还可以结合致敏物质, 从而阻止过敏原结合 IgE 或激活引起迟发型超敏反应的 T 细胞。

[0006] IgA 缺乏症可以短暂地存在, 例如在暴露于某些药物或响应于各种感染时, 或永久地存在, 如在患有先天性 IgA 缺乏症的患者中。

[0007] 已经发现, 具有低的 IgA 产生的个体比具有正常的 IgA 水平的个体更易患各种炎症性疾病, 如自身免疫性疾病和过敏。因此, 提高总 IgA 或抗原特异性 IgA 的水平可以治疗或预防炎症性疾病。

### 发明内容

[0008] 本文提供了用于提高患有免疫球蛋白 A (IgA) 缺乏症的受试者的免疫球蛋白 A 水平的方法, 所述方法是通过施用抑制 CXCL13 活性的药剂, 如抗 CXCL13 抗体来实现的。还提供了用于治疗缺乏 IgA 的受试者的炎症性病征的方法, 所述方法是通过向所述受试者施用抑制 CXCL13 活性的药剂来实现的。IgA 缺乏症可以是一种由遗传决定的永久性缺乏症或可以继发于感染或对药物的暴露。施用 CXCL13 抑制剂可以预防炎症性病征, 如自身免疫性病征的产生, 或可以治疗活动性炎症性病征。

[0009] 本发明涵盖了以下实施方案。

[0010] 1. 一种用于提高患有免疫球蛋白 A(IgA) 缺乏症的受试者的免疫球蛋白 A 水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的抑制 CXCL13 活性的药剂。

[0011] 2. 实施方案 1 的方法,其中所述 IgA 缺乏症继发于感染或对药物的暴露。

[0012] 3. 实施方案 2 的方法,其中所述感染是粘膜感染。

[0013] 4. 实施方案 2 或 3 的方法,其中所述感染是细菌感染。

[0014] 5. 实施方案 4 的方法,其中所述细菌感染是螺杆菌 (*Helicobacter*) 感染。

[0015] 6. 实施方案 5 的方法,其中所述螺杆菌选自自由以下各项组成的组:幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*)、海尔曼螺杆菌 (*Helicobacter heilmannii*) 以及猪螺杆菌 (*Helicobacter suis*)。

[0016] 7. 实施方案 6 的方法,其中所述螺杆菌是猪螺杆菌。

[0017] 8. 实施方案 1 的方法,其中所述 IgA 缺乏症是原发性 IgA 缺乏症。

[0018] 9. 一种用于治疗患有免疫球蛋白 A(IgA) 缺乏症的受试者的炎症性病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的抑制 CXCL13 活性的药剂。

[0019] 10. 实施方案 9 的方法,其中所述炎症性病症是由粘膜感染所引起。

[0020] 11. 实施方案 9 或 10 的方法,其中所述炎症性病症是由细菌感染所引起。

[0021] 12. 实施方案 11 的方法,其中所述方法降低了所述受试者的所述细菌感染的负荷。

[0022] 13. 实施方案 11 或 12 的方法,其中所述细菌感染是螺杆菌感染。

[0023] 14. 实施方案 13 的方法,其中所述螺杆菌选自自由以下各项组成的组:幽门螺杆菌、海尔曼螺杆菌以及猪螺杆菌。

[0024] 15. 实施方案 14 的方法,其中所述螺杆菌是猪螺杆菌。

[0025] 16. 实施方案 10 至 15 中任一个的方法,其中所述粘膜感染是胃粘膜感染。

[0026] 17. 实施方案 9 至 16 中任一个的方法,其中所述炎症性病症是 MALT 淋巴瘤。

[0027] 18. 实施方案 17 的方法,其中所述 MALT 淋巴瘤是胃 MALT 淋巴瘤。

[0028] 19. 实施方案 9 至 16 中任一个的方法,其中所述炎症性病症是胃溃疡或十二指肠溃疡。

[0029] 20. 实施方案 9 的方法,其中所述炎症性病症是自身免疫性病症。

[0030] 21. 实施方案 20 的方法,其中所述自身免疫性病症选自自由以下各项组成的组:类风湿性关节炎、全身性红斑狼疮、格雷夫斯氏病 (Graves disease)、1 型糖尿病、重症肌无力以及乳糜泻。

[0031] 22. 实施方案 1 至 21 中任一个的方法,其中在施用所述抑制 CXCL13 活性的药剂后所述受试者的分泌型 IgA 水平升高。

[0032] 23. 实施方案 22 的方法,其中在施用所述抑制 CXCL13 活性的药剂后所述受试者的胃 IgA 水平升高。

[0033] 24. 实施方案 1 至 23 中任一个的方法,其中所述方法增加了所述受试者的粘膜组织中的 IgA 抗体反应。

[0034] 25. 实施方案 1 至 24 中任一个的方法,其中所述药剂是特异性结合 CXCR5 的结合分子。

- [0035] 26. 实施方案 1 至 24 中任一个的方法,其中所述药剂是特异性结合 CXCL13 的结合分子。
- [0036] 27. 实施方案 1 至 26 中任一个的方法,其中所述结合分子包括抗体或其抗原结合片段。
- [0037] 28. 实施方案 27 的方法,其中所述抗体是嵌合抗体、人类抗体、或人源化抗体。
- [0038] 29. 实施方案 27 或 28 的方法,其中所述抗体特异性结合 CXCL13 并且包含与 SEQ ID NO:10 或 14 中所示的氨基酸序列具有至少 90%序列同一性的重链可变 (VH) 域。
- [0039] 30. 实施方案 29 的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含具有 SEQ ID NO:14 中所示的序列的 VH 域。
- [0040] 31. 实施方案 27 至 30 中任一个的方法,其中所述抗体特异性结合 CXCL13 并且包含与 SEQ ID NO:15、19 或 21 中所示的氨基酸序列具有至少 90%序列同一性的轻链可变 (VL) 域。
- [0041] 32. 实施方案 31 的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含具有 SEQ ID NO:19 中所示的序列的 VL 域。
- [0042] 33. 实施方案 32 的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含具有 SEQ ID NO:14 中所示的序列的 VH 域和具有 SEQ ID NO:19 中所示的序列的 VL 域。
- [0043] 34. 实施方案 27 或 28 的方法,其中所述抗体特异性结合 CXCL13 并且包含具有以下互补决定区 (CDR) 中的至少一个的 VH 域:
- [0044] a) 与 SEQ ID NO:11 具有至少 90%序列同一性的 CDR1;
- [0045] b) 与 SEQ ID NO:12 具有至少 90%序列同一性的 CDR2;以及
- [0046] c) 与 SEQ ID NO:13 具有至少 90%序列同一性的 CDR3。
- [0047] 35. 实施方案 34 的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含 VH 域,所述 VH 域包含具有 SEQ ID NO:11 中所示的序列的 CDR1、具有 SEQ ID NO:12 中所示的序列的 CDR2、以及具有 SEQ ID NO:13 中所示的序列的 CDR3。
- [0048] 36. 实施方案 27、28、34 以及 35 中任一个的方法,其中所述抗体特异性结合 CXCL13 并且包含具有以下互补决定区 (CDR) 中的至少一个的 VL 域:
- [0049] a) 与 SEQ ID NO:20 具有至少 90%序列同一性的 CDR1;
- [0050] b) 与 SEQ ID NO:17 具有至少 90%序列同一性的 CDR2;以及
- [0051] c) 与 SEQ ID NO:18 具有至少 90%序列同一性的 CDR3。
- [0052] 37. 实施方案 36 的方法,其中所述特异性结合 CXCL13 的抗体包含 VL 域,所述 VL 域包含具有 SEQ ID NO:20 中所示的序列的 CDR1、具有 SEQ ID NO:17 中所示的序列的 CDR2、以及具有 SEQ ID NO:18 中所示的序列的 CDR3。
- [0053] 38. 实施方案 27 或 28 的方法,其中所述抗体选自由以下各项组成的组:MAb 5261、MAb 5378、MAb 5080、MAb 1476 以及 MAb 3D2。
- [0054] 39. 实施方案 38 的方法,其中所述抗体是 mAb 5378。
- [0055] 40. 实施方案 1 至 24 中任一个的方法,其中所述药剂是 CXCR5 的可溶形式。
- [0056] 41. 实施方案 1 至 40 中任一个的方法,其中所述药剂抑制 CXCL13 与 CXCL13 受体的相互作用。
- [0057] 42. 实施方案 41 的方法,其中所述 CXCL13 受体是 CXCR5。

- [0058] 43. 实施方案 1 至 42 中任一个的方法,其中所述药剂抑制 CXCR5 受体内化。
- [0059] 44. 实施方案 1 至 43 中任一个的方法,其中将所述药剂与药学上可接受的载体一起施用。
- [0060] 45. 实施方案 1 至 44 中任一个的方法,其中所述受试者是动物。
- [0061] 46. 实施方案 45 的方法,其中所述动物是哺乳动物。
- [0062] 47. 实施方案 46 的方法,其中所述哺乳动物是人类。

### 附图说明

- [0063] 图 1 示出了如通过实时定量 PCR 所测定的在接受抗 CXCL13 抗体或同种型对照抗体处理的受猪螺杆菌感染的小鼠的胃粘膜中猪螺杆菌特异性 16S 核糖体 RNA 的水平。
- [0064] 图 2A 和 2B 示出了受猪螺杆菌感染的小鼠在接受同种型对照或抗 CXCL13 抗体处理之后胃中 TGF- $\beta$  (图 2A) 和 IL-6 (图 2B) mRNA 的表达。
- [0065] 图 3A 和 3B 示出了接受抗 CXCL13 抗体或同种型对照抗体处理的受猪螺杆菌感染的小鼠的抗猪螺杆菌 IgG (图 3A) 和 IgA (图 3B) 的血清水平。
- [0066] 图 4A 和 4B 示出了在接受抗 CXCL13 抗体或同种型对照抗体处理的受猪螺杆菌感染的小鼠的胃液中抗猪螺杆菌 IgG (图 4A) 和 IgA (图 4B) 的水平。

### 具体实施方式

[0067] 如本文所证实,抑制 CXCL13 活性的药剂(例如抗 CXCL13 抗体或其结合片段)可以在胃感染动物模型(即受螺杆菌属细菌感染的小鼠(参见 Nobutani 等人(2010)))的粘膜组织中降低细菌负荷并且提高对感染因子具有特异性的免疫球蛋白 A(IgA)的水平。施用抗 CXCL13 抗体还提高了未受感染的小鼠的胃中 TGF- $\beta$  和 IL-6 的表达水平,它们涉及 IgA 水平的上调。因此,抑制 CXCL13 活性的药剂还可用于总体上调缺乏 IgA 的受试者的 IgA 水平。

[0068] 术语“免疫球蛋白 A”或“IgA”指的是在重链中具有  $\alpha$  恒定区的免疫球蛋白。术语“免疫球蛋白 A”和“IgA”涵盖了单体 IgA(即单个分子)和多聚 IgA(由超过一个分子构成),包括但不限于二聚 IgA(由两个分子构成)和三聚 IgA(由三个分子构成)。IgA 单体在它们的重链恒定区处由 J 链连接在一起形成多聚体(例如二聚体)。IgA 多聚体中 J 链的存在允许 IgA 多聚体与分泌组分,即由上皮细胞产生的蛋白质连接。

[0069] 术语“免疫球蛋白 A”和“IgA”指的是 IgA 的两个亚类,即 IgA1 和 IgA2。IgA1 的轻链与它的重链共价结合。然而,IgA2 的轻链彼此经由二硫键结合并且通过非共价相互作用与它的重链结合。在血清中以 IgA1 为主,其中它大部分以单体形式存在。分泌型淋巴组织比非分泌型淋巴组织产生更多的 IgA2。

[0070] IgA 还可以基于它的位置来分类。术语“免疫球蛋白 A”和“IgA”指的是血清型 IgA(即存在于血清中)和分泌型 IgA 这两者,所述分泌型 IgA 存在于粘膜分泌物(例如泪液、唾液、初乳、汗液、以及生殖泌尿道、胃肠道、前列腺以及呼吸道上皮的分泌物)中。分泌型 IgA 一般以由 J 链连接的并且包含分泌组分的二聚体或三聚体的形式存在。分泌型 IgA 的分泌组分保护免疫球蛋白防止由蛋白水解酶,如胃肠道环境中存在的那些蛋白水解酶降解。术语“分泌型免疫球蛋白 A”和“分泌型 IgA”指的是在粘膜分泌物中存在的 IgA。因

此,术语“分泌型 IgA”和“分泌型免疫球蛋白 A”可以指的是 IgA、连接单体的 J 链、以及分泌组分的多聚体。

[0071] 初始 B 细胞最初在它们的表面上表达 IgM 和 / 或 IgD, 并且一旦被激活, 最初产生的抗体就主要是 IgM 同种型。如果这些激活的 B 细胞遇到特异性信号转导分子, 那么 B 细胞可以进行“类别转换”而分化成表达 IgG 受体、IgA 受体或 IgE 受体的细胞。在类别转换期间, 免疫球蛋白重链的恒定区发生变化, 但可变区以及因此抗原特异性保持相同。

[0072] 多项研究已经表明转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 诱导 IgA 类别转换并且白细胞介素-6 (IL-6) 刺激 IgA 合成 (Sonoda 等人 (1989) *J Exp Med* 170:1415-1420 ;Beagley 等人 (1989) *J Exp Med* 169:2133-2148, 这些文献中的每一篇以引用的方式整体并入本文)。虽然不受任何理论或作用机制所束缚, 但认为抑制 CXCL13 活性的药剂通过提高 TGF- $\beta$  和 IL-6 的水平来提高 IgA 水平。

[0073] 如本文所证实, 抑制 CXCL13 活性会使得 TGF- $\beta$  和 IL-6 的表达水平以及 IgA 的水平升高并且因此可用于提高缺乏 IgA 的受试者的 IgA 水平。如本文所用的“IgA 缺乏症”指的是与对照受试者相比免疫球蛋白 A 的水平降低。与合适的对照受试者相比, 患有 IgA 缺乏症的受试者可以经受血清型 IgA 水平降低、分泌型 IgA 水平降低、或这两者。所述受试者可以在所有分泌物中以及所有粘膜表面处或仅在一种或多种类型的粘膜表面和 / 或分泌物中具有降低的分泌型 IgA 水平。在一些实施方案中, 患有 IgA 缺乏症的受试者与合适的对照相比具有降低的胃 IgA 水平。

[0074] 在一些实施方案中, 患有 IgA 缺乏症的受试者与对照受试者相比具有约 95%、约 90%、约 85%、约 80%、约 75%、约 70%、约 65%、约 60%、约 55%、约 50%、约 45%、约 40%、约 35%、约 30%、约 25%、约 20%、约 15%、约 10% 或更少的 IgA (血清型、分泌型或总 IgA)。

[0075] 本领域的普通技术人员将了解如何选择将与被认为患有 IgA 缺乏症的受试者相比较的合适的对照受试者。合适的对照受试者的非限制性实例包括表现为健康个体的受试者、未患或被认为未患活动性感染 (例如粘膜感染) 或炎症性病症的个体、以及没有 IgA 缺乏症的遗传易感性或家族史的受试者。

[0076] 在其中受试者患有血清型 IgA 缺乏症的那些实施方案中, IgA 的血清水平小于约 0.1g/L、小于约 0.09g/L、小于约 0.08g/L、小于约 0.07g/L、小于约 0.06g/L、小于约 0.05g/L、小于约 0.04g/L、小于约 0.03g/L、小于约 0.02g/L、小于约 0.01g/L 或更小。

[0077] 虽然术语“IgA 缺乏症”涵盖了与对照受试者相比具有降低的 IgA 水平的所有个体, 但是许多患有 IgA 缺乏症的个体具有另外正常的 IgM 和 IgG 水平。

[0078] IgA 缺乏症可以是原发性的 (遗传性) 或继发性的 (获得性)。原发性 IgA 缺乏症是由遗传决定的并且主要是先天性的, 如大多数形式的选择性 IgA 缺乏症。选择性 IgA 缺乏症已经由泛美免疫缺陷病组 (Pan-American Group for Immunodeficiency) 和欧洲免疫缺陷病协会 (European Society for Immunodeficiencies) 定义为大于或等于 4 岁的个体的血清型 IgA 水平小于 0.07g/L 而伴有正常的 IgM 和 IgG 水平 (Notarangelo 等人 (2009) *J Allergy Clin Immunol* 124:1161-1178, 该文献以引用的方式整体并入本文)。

[0079] 某些感染或某些类型的药物或抑制免疫系统的其它药剂可以导致继发性 IgA 缺乏症, 所述继发性 IgA 缺乏症一般是短暂的。暴露于例如免疫抑制剂、D-青霉素

(D-penicillamine)、柳氮磺胺吡啶 (sulfasalazine)、金硫葡萄糖 (aurothioglucose)、芬氟酸 (fenclofenac)、金 (gold)、卡托普利 (captopril)、唑尼沙胺 (zonisamide)、苯妥英 (phenytoin)、丙戊酸 (valproic acid)、甲状腺素 (thyroxine)、氯喹 (chloroquine)、卡马西平 (carbamazepine)、乙内酰脲 (hydantoin)、左旋咪唑 (levamisole)、布洛芬 (ibuprofen)、水杨酸、苯、以及环孢素 A (cyclosporin A) 可能引起短暂的 IgA 缺乏症, 该 IgA 缺乏症在药物清除后消退。可以引起继发性 IgA 缺乏症的感染的非限制性实例包括风疹、巨细胞病毒、刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*)、以及埃 - 巴二氏病毒 (Epstein-Barr virus)。

[0080] 在一些实施方案中, 所述受试者患有继发于粘膜感染的 IgA 缺乏症。在这些实施方案中的一些中, 所述粘膜感染是细菌感染。在某些实施方案中, 引起继发性 IgA 缺乏症的细菌感染是螺杆菌感染, 如幽门螺杆菌、海尔曼螺杆菌或猪螺杆菌。

[0081] 在本发明所公开的方法的一些实施方案中, 向患有 IgA 缺乏症的受试者施用抑制 CXCL13 活性的药剂使得总 IgA (血清型和分泌型) 增加。在其它实施方案中, 施用 CXCL13 抑制剂使得分泌型 IgA 增加。在具体实施方案中, 已经接受 CXCL13 抑制剂施用的受试者经历胃 IgA 水平的升高。在其中受试者正经受感染因子侵袭的那些实施方案中, 施用 CXCL13 抑制剂可以提高对所述感染因子具有特异性的 IgA 的水平, 这在一些实施方案中可以引起所述感染因子的清除率提高。

[0082] 在某些实施方案中, 施用抑制 CXCL13 活性的药剂使受试者的血清型 IgA、分泌型 IgA、或总 IgA 水平提高约 1%、约 2%、约 3%、约 4%、约 5%、约 10%、约 15%、约 20%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90%、约 100% 或更多。

[0083] 鉴于 CXCL13 活性的抑制剂可以提高 IgA 水平, 抑制 CXCL13 活性的药剂可以用于治疗患有 IgA 缺乏症的受试者的炎症性病症。炎症性疾病的特征在于炎症和组织破坏或其组合。“抗炎活性”意指炎症的减轻或预防。“炎症性疾病”或“炎症性病症”包括任何炎症免疫介导的过程, 其中免疫反应的起始事件或靶标涉及一种或多种非自体抗原, 包括例如同种异体抗原、异种抗原、病毒抗原、细菌抗原、自体抗原、未知抗原、或过敏原。在一些实施方案中, 所述炎症性病症是感染性疾病。在一个实施方案中, 所述炎症性病症与粘膜感染 (例如细菌、病毒) 有关和 / 或由粘膜感染所引起。在一些实施方案中, 所述炎症性疾病与细菌感染有关和 / 或由细菌感染所引起, 例如大肠杆菌或螺杆菌感染, 例如幽门螺杆菌、海尔曼螺杆菌、豹螺杆菌 (*H. acinonychis*)、鹅螺杆菌 (*H. anseris*)、金仓鼠螺杆菌 (*H. aurati*)、棒状螺杆菌 (*H. baculiformis*)、胆型螺杆菌 (*H. bilis*)、毕氏螺杆菌 (*H. bizzozeronii*)、白雁螺杆菌 (*H. brantae*)、加拿大螺杆菌 (*H. canadensis*)、犬螺杆菌 (*H. canis*)、胆囊螺杆菌 (*H. cholecystus*)、同性恋螺杆菌 (*H. cinaedi*)、犬胃螺杆菌 (*H. cynogastricus*)、马螺杆菌 (*H. equorum*)、猫螺杆菌 (*H. felis*)、芬奈尔螺杆菌 (*H. feneliae*)、蛇形螺杆菌 (*H. ganmani*)、肝螺杆菌 (*H. hepaticus*)、仓鼠螺杆菌 (*H. mesocricetorum*)、旱獭螺杆菌 (*H. marmotae*)、小家鼠螺杆菌 (*H. muridarum*)、雪貂螺杆菌 (*H. mustelae*)、帕美特螺杆菌 (*H. pametensis*)、鸡螺杆菌 (*H. pulorum*)、羊螺杆菌 (*H. rappini*)、啮齿类螺杆菌 (*H. rodentium*)、所罗门螺杆菌 (*H. salomonis*)、猪螺杆菌、大鼠结肠螺杆菌 (*H. trogontum*)、盲肠螺杆菌 (*H. typhlonius*) 以及温哈门螺杆菌 (*H. winghamensis*) 感染。在某些实施方案中, 螺杆菌感染是幽门螺杆菌、海尔曼螺杆菌、或猪螺杆菌感染。

[0084] 在另一个实施方案中,螺杆菌相关的炎症性疾病是 MALT 淋巴瘤(例如胃 MALT 淋巴瘤)、胃癌(例如食道癌或胃癌)、胃溃疡或十二指肠溃疡、胃炎(胃壁炎症)、或胃损伤(参见例如 Chen 等人, *J Clin Pathol* 55(2):133-7(2002); Genta 等人, *Hum Pathol* 24(6):577-83(1993); Okiyama 等人, *Pathol Int* 55(7):398-404(2005))。

[0085] 在一些实施方案中,施用抑制 CXCL13 活性的药剂使得受试者体内感染因子(例如细菌)的负荷降低。在这些实施方案中的一些中,施用抗 CXCL13 剂使得粘膜中感染因子(例如细菌)的负荷降低并且在这些实施方案中的一些中,至少一种粘膜分泌物中感染因子(例如细菌)的水平降低。在这些实施方案中的一些中,向患有感染的受试者施用抗 CXCL13 剂使得受试者体内感染因子(例如细菌)的水平降低了至少 1%、至少 5%、至少 10%、至少 15%、至少 20%、至少 25%、至少 30%、至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99% 或更多。

[0086] 在其中向患有 IgA 缺乏症的受试者施用 CXCL13 抑制剂的那些实施方案中的一些中, CXCL13 抑制剂增加了所述受试者的粘膜组织中的 IgA 抗体反应。在这些实施方案中,抗原特异性 IgA(例如特异性识别感染因子的 IgA)的水平升高,这在一些实施方案中引起对感染因子的更高效的清除。术语“炎症性病症”或“炎症性疾病”包括但不限于对过敏原的过敏性反应。过敏性反应是由免疫球蛋白 E(IgE)介导的。IgA 可以结合致敏物质,从而阻止过敏原结合 IgE 或激活引起迟发型超敏反应的 T 细胞。因此,抑制 CXCL13 活性,从而引起 IgA 水平升高的药剂的施用可以用于治疗或预防响应于各种过敏原的过敏性反应,包括但不限于哮喘、过敏性鼻炎、过敏性鼻窦炎、接触性皮炎、湿疹、荨麻疹、呼吸困难、呕吐、腹胀以及腹泻,所述过敏原包括但不限于某些食物、药物、昆虫叮咬、花粉、胶乳以及植物毒素。

[0087] 此外,出于本发明的目的,术语“一种或多种炎症性疾病”包括但不限于“一种或多种自身免疫性疾病”,在本文也被称为“一种或多种自身免疫性病症”。如本文所用的术语“自身免疫”一般被理解为涵盖涉及“自体”抗原的炎症免疫介导的过程。在自身免疫性疾病中,一种或多种自体抗原触发宿主免疫反应。

[0088] 在一些实施方案中,所述炎症性疾病是由遗传决定的选择性 IgA 缺乏症的结果,所述缺乏症可能阻止对感染因子的清除或促成自身免疫性疾病,包括但不限于类风湿性关节炎、全身性红斑狼疮、格雷夫斯氏病、1 型糖尿病、重症肌无力、舍格伦综合征(Sjogren syndrome)、多发性硬化、或乳糜泻(Wang 等人(2011) *Mol Med* 17(11-12):1383-1396,这篇文献以引用的方式整体并入本文)。在一些实施方案中,所述炎症性疾病是 B 细胞介导的炎症性疾病。如本文所用的术语“B 细胞介导的炎症性疾病”是如本文所述的炎症性疾病,其中所述疾病的发病、进展、或发病和进展这两者主要取决于 B 细胞的活性。B 细胞介导的炎症性疾病的非限制性实例包括特征在于产生自身抗体的那些疾病。

[0089] “B 细胞”是一种在骨髓内成熟的淋巴细胞,并且包括初始 B 细胞、记忆 B 细胞、或效应 B 细胞(浆细胞)。在本文中 B 细胞可以是正常的或非恶性的 B 细胞。

[0090] 在本文中“B 细胞表面标志物”或“B 细胞表面抗原”是在 B 细胞的表面上表达的抗原,所述抗原可以用与其结合的拮抗剂所靶向。示例性 B 细胞表面标志物包括例如 CD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD37、CD40、CD53、CD72、CD73、CD74、CDw75、CDw76、CD77、CDw78、CD79a、CD79b、CD80、CD81、CD82、CD83、CDw84、CD85 和 CD86、以及 CXCR5。与

哺乳动物的其它非 B 细胞组织相比,所特别关注的 B 细胞表面标志物优先在 B 细胞上表达,并且可以在前体 B 细胞和成熟 B 细胞这两者上表达。在本文中优选的 B 细胞表面标志物是 CD19 和 CXCR5。出于本发明的目的,术语“一种或多种炎症性疾病”包括但不限于“一种或多种自身免疫性疾病”。

[0091] 根据本发明所公开的方法,向患有 IgA 缺乏症的受试者施用抑制 CXCL13 活性的药剂。在某些实施方案中,向有需要的受试者施用药剂以治疗炎症性病征。

[0092] 在一些实施方案中,治疗包括向受试者应用或施用抑制 CXCL13 活性的药剂(例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子)、或向从受试者分离的组织或细胞系应用或施用所述药剂,其中所述受试者患有炎症性病征、炎症性病征的症状、或对炎症性病征有易感性。在另一个实施方案中,治疗还意图包括向受试者应用或施用包含抑制 CXCL13 活性的药剂(例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子)的药物组合物、或向从受试者分离的组织或细胞系应用或施用包含所述药剂的药物组合物,所述受试者患有炎症性病征、炎症性病征的症状、或对炎症性病征有易感性。

[0093] 根据本发明的方法,使用抑制 CXCL13 活性的至少一种药剂(例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子)来促进积极的治疗反应以治疗或预防 IgA 缺乏症和/或炎症性病征。针对炎症性疾病的“积极的治疗反应”意指与所施用的药剂的抗炎活性、抗血管生成活性、抗细胞凋亡活性等相关的疾病改善和/或与所述疾病相关的症状的改善。也就是说,可以观测到抗增殖作用、防止了表达 CXCL13 的细胞进一步增殖、炎症反应的减少,包括但不限于炎症性细胞因子、粘附分子、蛋白酶、免疫球蛋白(在带有 CXCL13 的细胞是 B 细胞的情况下)、其组合等的分泌减少、抗炎蛋白的产生增加、自身反应性细胞数目减少、免疫耐受性增加、抑制了自身反应性细胞存活、细胞凋亡减少、内皮细胞迁移减少、自发单核细胞迁移增加、异位淋巴滤泡数目减少、受影响的组织中存在的 B 细胞数目减少、B 细胞向受影响的组织中的迁移减少、由刺激表达 CXCL13 的细胞所介导的一种或多种症状减轻和/或减少。针对感染性疾病的“积极的治疗反应”意指感染因子,例如细菌的清除以及与感染相关的疾病症状的改善。

[0094] 这些积极的治疗反应不限于施用途径并且可以包括向供体施用、向供体组织施用(例如像器官灌注)、向宿主施用、其任何组合等。临床反应可以使用筛选技术来评估,所述筛选技术诸如磁共振成像(MRI)扫描、x 射线照相成像、计算机断层(CT)扫描、流式细胞术或荧光激活细胞分选仪(FACS)分析、组织学、宏观病理学、以及血液化学,包括但不限于可由 ELISA、RIA、色谱法等检测的变化。除了这些积极的治疗反应之外,接受使用抑制 CXCL13 活性的药剂(例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子)进行的疗法的受试者还可以经历与炎症性病征相关的症状改善的有益作用。

[0095] 如本文所用的术语“治疗(treat)”或“治疗(treatment)”指的是治疗性处理和防治性或预防性措施这两者,其中目的在于预防或减缓(减轻)不希望有的生理变化或病症、减少不希望有的生理变化或病症加重、或预防不希望有的生理变化或病症复发,所述不希望有的生理变化或病症诸如炎症性病征的进展。有益的或所需的临床结果包括但不限于减轻症状、降低疾病程度、使疾病状态稳定(即不恶化)、延迟或减缓疾病进展、改善或缓和疾病状态以及缓解(无论是部分还是完全),无论是可检测的或是不可检测的。“治疗”还可以意指使存活期与在不接受治疗的情况下的预期存活期相比延长。需要治疗的那些包括

已经患有所述病况或病症的那些以及易患所述病况或病症的那些或有待预防所述病况或病症的那些。

[0096] “受试者”或“个体”或“动物”或“患者”或“哺乳动物”意指需要被诊断、预后、或治疗的任何受试者，特别是哺乳动物受试者。哺乳动物受试者包括人类、家畜、农畜以及动物园动物、竞技动物或宠物动物，如狗、猫、豚鼠、兔、大鼠、小鼠、马、母牛等。

[0097] 如本文所用的短语如“将受益于抑制 CXCL13 活性的药剂的施用的受试者”和“需要治疗的动物”包括将受益于抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体）的施用以治疗，即缓和或预防炎症性病症的受试者，如哺乳动物受试者。如本文所更详细地描述，抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体可以未缀合的形式使用或可以是与例如药物、前药或同位素缀合的。

[0098] 本发明所公开的方法利用了抑制 CXCL13 活性的药剂。CXCL13（另外被称为稳态 B 细胞趋化因子 (homeostatic B Cell-attracting chemokine)1 (BCA-1) 或 ANGIE、BLC、BLR1L、ANGIE2、或 Scyb13）在次级淋巴器官（例如脾脏、淋巴结以及派尔集合淋巴结 (Peyer's patch)）中由滤泡树突状细胞 (FDC) 和巨噬细胞组成型表达。参见 Gunn 等人, Nature 391:799-803(1998)；以及 Carlsen 等人, Blood 104(10):3021-3027(2004)。CXCL13 主要经由 G 蛋白偶联 CXCR5 受体（伯基特氏淋巴瘤受体 1 (Burkitt's lymphoma receptor 1)）起作用。CXCR5 表达在例如成熟 B 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup> 滤泡辅助性 T 细胞 (Thf 细胞)、CD8<sup>+</sup>T 细胞的小子集以及激活的扁桃体调节性 T 细胞上。参见 Legler 等人, J. Exp. Med. 187:655-660(1998)；Förster 等人, Blood 84:830-840(1994)；Fazilleau 等人, Immunity 30:324-335(2009)；Ansel 等人, J. Exp. Med. 190:1123-1134(1999)；Lim 等人, J. Clin. Invest. 114(11):1640-1649(2004)；以及 R. Förster, 学术出版社细胞因子参考文献中的章节 (Chapter in Academic Press Cytokine Reference), 2000 年 8 月。

[0099] 如本文所用的术语“CXCL13”和“CXCL13 多肽”可互换使用。在某些实施方案中，CXCL13 可以包括全尺寸的 CXCL13 或其片段、或 CXCL13 变体多肽，其中 CXCL13 的片段或 CXCL13 变体多肽保留全尺寸的 CXCL13 的一些或所有功能特性。人类 CXCL13 多核苷酸和多肽序列（分别是 SEQ ID NO:1 和 2）已经有所描述，参见例如 Legler 等人, J. Exp. Med. 187(4):655-660(1998)。小鼠 CXCL13 多核苷酸和多肽序列（分别是 SEQ ID NO:3 和 4）已经有所描述，参见例如 Gunn 等人, Nature 391(6669):799-803(1998)。此外，食蟹猴 CXCL13 多肽序列已经有所描述，如 SEQ ID NO:5 中所示。

[0100] 如本文所用的术语“CXCR5”和“CXCR5 多肽”可互换使用。在某些实施方案中，CXCR5 可以包括全尺寸的 CXCR5 或其片段、或 CXCR5 变体多肽，其中 CXCR5 的片段或 CXCR5 变体多肽保留全尺寸的 CXCR5 的一些或所有功能特性。术语“CXCR5”和“CXCR5 多肽”还涵盖 CXCR5 的可溶形式。如本文所用的术语“CXCR5 的可溶形式”是没有与质膜结合的 CXCR5 形式。全长 CXCR5 是七次跨膜受体。因此，CXCR5 的可溶形式的非限制性实例包括基本上由细胞外域组成的 CXCR5 片段（例如约前 60 个氨基酸）。人类 CXCR5 多核苷酸和多肽序列是本领域已知的并且在本文分别作为 SEQ ID NO:6 和 7 提供。鼠类 CXCR5 多核苷酸和多肽序列是本领域已知的并且在本文分别作为 SEQ ID NO:8 和 9 提供。

[0101] 可用于抑制 CXCL13 活性的药剂包括小分子、多肽以及多核苷酸。在某些实施方案中，所述药剂阻断 CXCL13 与它的受体结合。在一些实施方案中，所述药剂阻断 CXCL13 与

CXCR5 之间的相互作用。在具体实施方案中,所述药剂是特异性结合 CXCL13 或 CXCR5 的特异性结合分子。在这些实施方案中的一些中,所述药剂是抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体或其抗原结合片段。在其它实施方案中,所述药剂是 CXCR5 的可溶形式。

[0102] 如本文所用的术语“多肽”意图涵盖单数形式“多肽”以及复数形式“多肽”,并且指的是由以酰胺键(也被称为肽键)线性连接的单体(氨基酸)构成的分子。术语“多肽”指的是具有两个或更多个氨基酸的任何一条链或多条链,并且不指产物的具体长度。因此,肽、二肽、三肽、寡肽、“蛋白质”、“氨基酸链”或用于指具有两个或更多个氨基酸的一条链或多条链的任何其它术语被包括在“多肽”的定义内,并且术语“多肽”可以代替这些术语中的任一个或与这些术语中的任一个互换使用。术语“多肽”还意图指多肽的表达后修饰的产物,包括而不限于糖基化、乙酰化、磷酸化、酰胺化、由已知的保护基/阻隔基衍生化、蛋白水解切割、或由非天然存在的氨基酸修饰。多肽可以源自于天然的生物来源或通过重组技术产生,但是未必由所指定的核酸序列翻译而来。它可以任何方式产生,包括通过化学合成。

[0103] 可用于本发明所公开的方法中的多肽可以具有以下尺寸:约 3 个或更多个、5 个或更多个、10 个或更多个、20 个或更多个、25 个或更多个、50 个或更多个、75 个或更多个、100 个或更多个、200 个或更多个、500 个或更多个、1,000 个或更多个、或 2,000 个或更多个氨基酸。多肽可以具有确定的三维结构,尽管它们并不一定具有这种结构。具有确定的三维结构的多肽被称为折叠多肽,并且不具有确定的三维结构,而是可以采用很多不同的构象的多肽被称为未折叠多肽。如本文所用的术语糖蛋白指的是与至少一种碳水化合物部分连接的蛋白质,所述碳水化合物部分经由氨基酸残基,例如丝氨酸残基或天冬酰胺残基的含氧侧链或含氮侧链与蛋白质连接。

[0104] “分离的”多肽或片段、变体、或其衍生物意指不处在它的天然环境中的多肽。不需要特定水平的纯化。举例来说,分离的多肽可以从它的原生环境或天然环境中被取出。在宿主细胞中表达的重组产生的多肽和蛋白质出于本发明的目的被认为是分离的,已经通过任何合适的技术分离、分级分离、或者部分地或基本上纯化的原生多肽或重组多肽也如此。

[0105] 作为可用于本发明所公开的方法中的多肽,还包括多肽的片段、衍生物、类似物、或变体以及其任何组合。在提到抗 CXCL13 或抗 CXCR5 抗体或抗体多肽时,术语“片段”、“变体”、“衍生物”以及“类似物”包括保留相应抗体或抗体多肽的至少一些抗原结合特性的任何多肽。除了本文别处所论述的特异性抗体片段之外,多肽的片段还包括蛋白水解片段以及缺失片段。抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的变体包括如上文所述的片段以及具有由于氨基酸取代、缺失或插入而发生改变的氨基酸序列的多肽。变体可以天然存在或非天然存在。非天然存在的变体可以使用本领域已知的诱变技术而产生。变体多肽可以包含保守的或非保守的氨基酸取代、缺失或添加。变体多肽在本文还可以被称为“多肽类似物”。如本文所用的抗 CXCL13 或抗 CXCR5 抗体或抗体多肽的“衍生物”指的是具有通过功能性侧基的反应而化学衍生的一个或多个残基的主题多肽。作为“衍生物”,还包括含有二十种标准氨基酸的一种或多种天然存在的氨基酸衍生物的那些肽。举例来说,4-羟脯氨酸可以取代脯氨酸;5-羟赖氨酸可以取代赖氨酸;3-甲基组氨酸可以取代组氨酸;高丝氨酸可以取代丝氨酸;并且鸟氨酸可以取代赖氨酸。抗 CXCL13 和抗 CXCR5 抗体和抗体多肽的衍生物可以包括已经发生改变以表现出在参考抗体或抗体多肽上不存在的另外的特征的多肽。

[0106] 在多肽的背景下，“线性序列”或“序列”是在氨基端至羧基端的方向上多肽中氨基酸的顺序，其中在序列中彼此相邻的残基在多肽的一级结构中是连续的。

[0107] 术语“多核苷酸”意图涵盖单数形式核酸以及复数形式核酸，并且指的是分离的核酸分子或构建体，例如信使 RNA (mRNA) 或质粒 DNA (pDNA)。多核苷酸可以包含常规的磷酸二酯键或非常规的键（例如酰胺键，如在肽核酸 (PNA) 中所存在）。术语“核酸”指的是多核苷酸中存在的任何一个或多个核酸段，例如 DNA 片段或 RNA 片段。“分离的”核酸或多核苷酸意指已经从它的原生环境中取出的核酸分子、DNA 或 RNA。举例来说，载体中所含的编码抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子，例如抗体或其抗原结合片段的重组多核苷酸出于本发明的目的被认为是分离的。分离的多核苷酸的另外的实例包括维持在异源宿主细胞中的重组多核苷酸或溶液中（部分地或基本上）纯化的多核苷酸。分离的 RNA 分子包括本发明的多核苷酸的体内或体外 RNA 转录物。根据本发明的分离的多核苷酸或核酸还包括合成产生的这些分子。此外，多核苷酸或核酸可以是或可以包括调节元件，如启动子、核糖体结合位点、或转录终止子。

[0108] 如本文所用的“编码区”是核酸中由被翻译成氨基酸的密码子组成的部分。尽管“终止密码子”(TAG、TGA 或 TAA) 不被翻译成氨基酸，但它可以被认为是编码区的一部分，但是任何侧接序列，例如启动子、核糖体结合位点、转录终止子、内含子等不是编码区的一部分。可用于本发明所公开的方法中的两个或更多个编码区可以存在于单个多核苷酸构建体中，例如单个载体上，或存在于独立的多核苷酸构建体中，例如独立的（不同的）载体上。此外，任何载体可以含有单个编码区，或可以包含两个或更多个编码区，例如单个载体可以分别编码免疫球蛋白重链可变区和免疫球蛋白轻链可变区。此外，可用于本发明所公开的方法中的载体、多核苷酸或核酸可以编码异源编码区，所述异源编码区与编码抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体或其片段、变体或衍生物的核酸融合或未融合。异源编码区包括而限于专用的元件或基序，如分泌信号肽或异源功能域。

[0109] 在某些实施方案中，可用于本发明所公开的方法中的多核苷酸或核酸是 DNA。在 DNA 的情况下，包含编码多肽的核酸的多核苷酸通常可以包括与一个或多个编码区可操作地缔合的启动子和 / 或其它转录或翻译控制元件。可操作的缔合是指基因产物，例如多肽的编码区以某种方式与一个或多个调节序列缔合以使得所述基因产物的表达处在所述一个或多个调节序列的影响或控制之下。如果诱导启动子功能会引起编码所需基因产物的 mRNA 的转录以及如果两个 DNA 片段之间的键合的性质不干扰表达调节序列引导基因产物表达的能力或不干扰 DNA 模板进行转录的能力，那么这两个 DNA 片段（如多肽编码区和与其缔合的启动子）是“可操作地缔合的”。因此，如果启动子能够实现编码多肽的核酸的转录，那么所述启动子区将与该核酸可操作地缔合。启动子可以是仅在预定的细胞中引导 DNA 显著转录的细胞特异性启动子。除启动子之外的其它转录控制元件，例如增强子、操纵子、阻遏子以及转录终止信号可以与多核苷酸可操作地缔合以引导细胞特异性转录。本文公开了合适的启动子和其它转录控制区。

[0110] 多种转录控制区是本领域技术人员已知的。这些包括而限于在脊椎动物细胞中起作用的转录控制区，诸如但不限于来自巨细胞病毒（立即早期启动子，连同内含子 -A 一起）、猿猴病毒 40（早期启动子）以及逆转录病毒（如劳氏肉瘤病毒 (Rous sarcoma virus)）的启动子段和增强子段。其它转录控制区包括源自于脊椎动物基因，如肌动蛋白、

热休克蛋白、牛生长激素以及兔  $\beta$ -球蛋白的那些以及能够控制真核细胞中的基因表达的其它序列。另外的合适的转录控制区包括组织特异性启动子和增强子以及淋巴因子诱导型启动子（例如可由干扰素或白细胞介素诱导的启动子）。

[0111] 类似地,多种翻译控制元件是本领域的普通技术人员已知的。这些包括但不限于核糖体结合位点、翻译起始密码子和终止密码子以及源自于小核糖核酸病毒的元件（特别是内部核糖体进入位点或 IRES,也被称为 CITE 序列）。

[0112] 在其它实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的多核苷酸是 RNA,例如呈信使 RNA (mRNA) 的形式。

[0113] 可用于本发明所公开的方法中的多核苷酸和核酸编码区可以与编码分泌肽或信号肽的另外的编码区缔合,所述肽引导由本发明的多核苷酸所编码的多肽分泌。根据信号假说,由哺乳动物细胞分泌的蛋白质具有信号肽或分泌前导序列,在增长的蛋白质链已经开始穿过粗面内质网输出时,该信号肽或分泌前导序列从成熟蛋白质上被切除。本领域的普通技术人员知道的是,由脊椎动物细胞分泌的多肽一般具有与多肽的 N 末端融合的信号肽,所述信号肽从完整的或“全长”多肽上被切除以产生分泌或“成熟”形式的多肽。在某些实施方案中,使用原生信号肽,例如免疫球蛋白重链信号肽或轻链信号肽,或该序列的功能性衍生物,该衍生物保留引导与它可操作地缔合的多肽分泌的能力。或者,可以使用异源哺乳动物信号肽或其功能性衍生物。举例来说,野生型前导序列可以被人类组织纤溶酶原激活物 (TPA) 或小鼠  $\beta$ -葡萄糖醛酸酶的前导序列取代。

[0114] 如本文所用的术语“表达”指的是基因产生生化物质,例如多肽的过程。该过程包括细胞内基因的功能呈现的任何表现形式,包括而限于基因敲落以及瞬时表达和稳定表达这两者。它包括而限于基因被转录成信使 RNA (mRNA) 以及这种 mRNA 被翻译成一种或多种多肽。如果最终的所需产物是生化物质,那么表达包括该生化物质和任何前体的形成。基因的表达产生“基因产物”。如本文所用的基因产物可以是核酸,例如由基因转录所产生的信使 RNA,或从转录物翻译而来的多肽。本文所述的基因产物还包括具有转录后修饰（例如多聚腺苷酸化）的核酸或具有翻译后修饰的多肽,所述翻译后修饰例如甲基化、糖基化、脂质添加、与其它蛋白亚基的缔合、蛋白水解切割等。

[0115] “结合分子”或“抗原结合分子”在它最广泛的意义上指的是特异性结合抗原决定簇的分子。在一个实施方案中,所述结合分子特异性结合 CXCL13(也被称作 BCA-1)。在另一个实施方案中,所述结合分子特异性结合 CXCR5。在另一个实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的结合分子是抗体或其抗原结合片段,例如抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体。在另一个实施方案中,结合分子包含抗体分子的至少一个重链 CDR 或轻链 CDR。在另一个实施方案中,结合分子包含来自一种或多种抗体分子的至少两个 CDR。在另一个实施方案中,结合分子包含来自一种或多种抗体分子的至少三个 CDR。在另一个实施方案中,结合分子包含来自一种或多种抗体分子的至少四个 CDR。在另一个实施方案中,结合分子包含来自一种或多种抗体分子的至少五个 CDR。在另一个实施方案中,结合分子包含来自一种或多种抗体分子的至少六个 CDR。在某些实施方案中,这些 CDR 中的一个或多个来自于 MAb 5261、MAb 5378、MAb5080、MAb 1476 或 3D2。

[0116] 在一些实施方案中,本发明所公开的方法涉及某些抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物。除非确切地提到全尺寸的抗体,如天然存在的抗体,否

则术语“抗 CXCL13 抗体”和“抗 CXCR5 抗体”涵盖全尺寸的抗体以及这些抗体的抗原结合片段、变体、类似物或衍生物，例如天然存在的抗体或免疫球蛋白分子或以类似于抗体分子的方式结合抗原的工程抗体分子或片段。

[0117] 如本文所用的“人类”抗体或“完全人类”抗体包括具有人类免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体并且包括从人类免疫球蛋白文库或针对一种或多种人类免疫球蛋白转基因的并且不表达内源性免疫球蛋白的动物分离的抗体，如下文以及例如 Kucherlapati 等人的美国专利号 5,939,598 中所述。“人类”抗体或“完全人类”抗体还包括至少包含重链的可变域、或至少包含重链和轻链的可变域的抗体，其中该一个或多个可变域具有一个或多个人类免疫球蛋白可变域的氨基酸序列。

[0118] “人类”抗体或“完全人类”抗体还包括如上文所述的“人类”抗体或“完全人类”抗体，这些抗体包含已知的抗 CXCL13 抗体分子或抗 CXCR5 抗体分子（例如 VH 区和 / 或 VL 区）的变体（包括衍生物）、基本上由所述变体组成、或由所述变体组成，所述抗体或其片段免疫特异性结合 CXCL13 或 CXCR5 多肽或其片段或变体。可以使用本领域技术人员已知的标准技术在编码人类抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的核苷酸序列中引入突变，包括但不限于定点诱变和 PCR 介导的诱变，从而引起氨基酸取代。优选地，所述变体（包括衍生物）编码相对于参考 VH 区、VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VL 区、VLCDR1、VLCDR2 或 VLCDR3 少于 50 处氨基酸取代、少于 40 处氨基酸取代、少于 30 处氨基酸取代、少于 25 处氨基酸取代、少于 20 处氨基酸取代、少于 15 处氨基酸取代、少于 10 处氨基酸取代、少于 5 处氨基酸取代、少于 4 处氨基酸取代、少于 3 处氨基酸取代、或少于 2 处氨基酸取代。

[0119] 在某些实施方案中，所述氨基酸取代是下文进一步论述的保守氨基酸取代。或者，可以沿着编码序列的全部或一部分，如通过饱和诱变随机地引入突变，并且可以针对生物活性对所得的突变体进行筛选以鉴定保留活性（例如结合 CXCL13 或 CXCR5 多肽，例如人类、鼠类或人类和鼠类这两者的 CXCL13 或 CXCR5 的能力）的突变体。“人类”抗体或“完全人类”抗体的这些变体（或其衍生物）也可以被称为“优化”或“针对抗原结合优化”的人类抗体或完全人类抗体并且包括对抗原具有提高的亲合力的抗体。

[0120] 术语“抗体”和“免疫球蛋白”在本文可互换使用。抗体或免疫球蛋白至少包含重链的可变域，并且通常至少包含重链和轻链的可变域。脊椎动物系统中的基本免疫球蛋白结构是相对充分了解的。参见例如 Harlow 等人 (1988)《抗体：实验室手册》(Antibodies: A Laboratory Manual) (第 2 版; Cold Spring Harbor Laboratory Press)。

[0121] 如下文将更详细地论述，术语“免疫球蛋白”包含可以在生化上加以区分的各种广泛类别的多肽。本领域技术人员将了解的是，重链被分类为  $\gamma$ 、 $\mu$ 、 $\alpha$ 、 $\delta$ 、或  $\epsilon$ ，在它们当中存在一些亚类（例如  $\gamma 1$ - $\gamma 4$ ）。正是这条链的性质决定了抗体的“类别”分别是 IgG、IgM、IgA、IgD 或 IgE。免疫球蛋白亚类（同种型），例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 等被充分表征并且已知赋予了功能特化。鉴于本公开，这些类别和同种型中的每一种的修饰型式容易由本领域技术人员辨别并且因此，在本发明的范围内。所有的免疫球蛋白类别的使用均明确地在本发明所公开的方法的范围内，然而，以下论述将大体上涉及 IgG 类别的免疫球蛋白分子。对于 IgG，标准的免疫球蛋白分子包含具有约 23,000 道尔顿的分子量的两个相同的轻链多肽和具有分子量 53,000-70,000 的两个相同的重链多肽。四条链通常由二硫键连接成“Y”构型，其中轻链在“Y”的开口处开始外托重链并且继续通过可变区。

[0122] 轻链被分类为  $\kappa$  或  $\lambda$ 。每一种重链类别均可以与  $\kappa$  轻链或  $\lambda$  轻链结合。一般来说,在免疫球蛋白由杂交瘤、B 细胞或遗传工程宿主细胞产生时,轻链和重链彼此共价键合,并且两条重链的“尾区”部分通过共价二硫键或非共价键彼此键合。在重链中,氨基酸序列从 Y 构型的叉端处的 N 末端延伸到每一条链尽头处的 C 末端。

[0123] 轻链和重链这两者均被分成具有结构和功能同源性的区域。术语“恒定”和“可变”是在功能上使用的。在这方面,将了解的是,轻链 (VL 或 VK) 和重链 (VH) 部分这两者的可变域决定了抗原识别和特异性。相反,轻链 (CL) 和重链 (CH1、CH2 或 CH3) 的恒定域赋予了重要的生物特性,如分泌、经胎盘移动性、Fc 受体结合、补体结合等。按照惯例,恒定区结构域的编号随着它们变得离抗体的抗原结合位点或氨基末端更远而增大。N 末端部分是可变区并且在 C 末端部分处是恒定区;CH3 域和 CL 域实际上分别包含重链和轻链的羧基末端。

[0124] 如本文所示,可变区允许抗体选择性地识别并且特异性地结合抗原上的表位。也就是说,抗体的 VL 域和 VH 域、或这些可变域内的互补决定区 (CDR) 的子集组合形成限定了三维抗原结合位点的可变区。这种四级抗体结构形成了存在于 Y 的每条臂的末端处的抗原结合位点。更确切地说,抗原结合位点是由 VH 链和 VL 链中的每一个上的三个 CDR 限定的。在一些情况下,例如源自于骆驼科动物物种或基于骆驼科动物免疫球蛋白工程化的某些免疫球蛋白分子,完整的免疫球蛋白分子可以仅由重链组成而没有轻链。参见例如 Hamers-Casterman 等人, *Nature* 363:446-448 (1993)。

[0125] 在天然存在的抗体中,每一个抗原结合域中存在的六个“互补决定区”或“CDR”是短的不连续的氨基酸序列,它们被特定地定位以在抗体在水性环境中呈现它的三维构型时形成抗原结合域。抗原结合域中其余的氨基酸被称为“框架”区,显示出较小的分子间变异性。框架区基本上采用  $\beta$ -折叠构象并且 CDR 形成环,这些环连接  $\beta$ -折叠结构并且在一些情况下,形成  $\beta$ -折叠结构的一部分。因此,框架区用以形成通过链间非共价相互作用使得 CDR 在正确的取向上定位的支架。由定位的 CDR 形成的抗原结合域限定了与免疫反应性抗原上的表位互补的表面。这一互补表面促进了抗体与它的关联表位的非共价结合。任何给定的重链可变域或轻链可变域中分别构成 CDR 和框架区的氨基酸可以容易由本领域的普通技术人员鉴定,这是因为它们已经被精确定义(参见下文)。

[0126] 在其中本领域内使用和 / 或接受的术语存在两种或更多种定义的情况下,除非明确地有相反的说明,否则如本文所用的术语的定义意图包括所有这些含义。具体实例是使用术语“互补决定区”(“CDR”)描述了重链多肽和轻链多肽这两者的可变区内存在的不连续的抗原结合位点。这个特定的区域已经由 Kabat 等人 (1983) 美国卫生与公众服务部 (U. S. Dept. of Health and Human Services), “免疫相关的蛋白质的序列 (Sequences of Proteins of Immunological Interest)”以及 Chothia 和 Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987) 描述,这些文献以引用的方式并入本文,其中在将所述定义彼此相比较时,所述定义包括氨基酸残基的重叠或子集。尽管如此,应用任何一种定义来指抗体或其变体的 CDR 均意图落入如本文所定义和使用的术语的范围内。构成了如由上文所引用的参考文献中的每一篇所定义的 CDR 的适当的氨基酸残基作为比较阐述于下表 1 中。构成具体 CDR 的精确残基数目将不同,这取决于 CDR 的序列和尺寸。本领域技术人员可以鉴于抗体的可变区氨基酸序列常规地确定哪些残基构成了具体的 CDR。

[0127] 表 1. CDR 的定义<sup>1</sup>

[0128]

	Kabat	Chothia
--	-------	---------

[0129]

VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102
VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96

[0130] 表 1 中所有 CDR 定义的编号是根据由 Kabat 等人（参见下文）所阐述的编号惯例。

[0131] Kabat 等人还限定了适用于任何抗体的可变域序列的编号系统。本领域的普通技术人员可以明确地为任何可变域序列指定这种“Kabat 编号”系统，而不依赖于序列本身以外的任何实验数据。如本文所用的“Kabat 编号”指的是由 Kabat 等人（1983）美国卫生与公众服务部（U. S. Dept. of Health and Human Services），“免疫相关的蛋白质的序列（Sequences of Proteins of Immunological Interest）”所阐述的编号系统。除非另外说明，否则在提到本发明的抗 CXCL13 抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物中特定氨基酸残基位置的编号时，是根据 Kabat 编号系统。

[0132] 可用于本发明所公开的方法中的抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物包括但不限于多克隆抗体、单克隆抗体、多特异性抗体、人类抗体、人源化抗体、灵长类源化抗体、或嵌合抗体、单链抗体、表位结合片段，例如 Fab、Fab' 和 F(ab')<sub>2</sub>、Fd、Fv、单链 Fv(scFv)、二硫键连接的 Fv(sdFv)、包含 VL 域或 VH 域的片段、由 Fab 表达文库产生的片段以及抗独特型（抗 Id）抗体（包括例如抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的抗 Id 抗体）。ScFv 分子是本领域已知的并且描述于例如美国专利号 5, 892, 019 中。用于本发明所公开的方法中的免疫球蛋白或抗体分子可以是任何类型（例如 IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 以及 IgY）、类别（例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 以及 IgA2 等）、或亚类的免疫球蛋白分子。

[0133] 如本文所用的术语“重链部分”包括源自于免疫球蛋白重链的氨基酸序列。包含重链部分的多肽包含以下各项中的至少一个：CH1 域、铰链域（例如上部、中部、和 / 或下部铰链区）、CH2 域、CH3 域、或其变体或片段。举例来说，用于本发明所公开的方法中的结合多肽可以包含：包含 CH1 域的多肽链；包含 CH1 域、铰链域的至少一部分以及 CH2 域的多肽链；包含 CH1 域和 CH3 域的多肽链；包含 CH1 域、铰链域的至少一部分以及 CH3 域的多肽链；或包含 CH1 域、铰链域的至少一部分、CH2 域以及 CH3 域的多肽链。在另一个实施方案中，可用于本发明所公开的方法中的多肽包含含有 CH3 域的多肽链。此外，用于本发明所公开的方法中的结合多肽可以缺少 CH2 域的至少一部分（例如 CH2 域的全部或一部分）。如上文所阐述，本领域的普通技术人员将理解的是，这些结构域（例如重链部分）可以被修饰以

使得它们在氨基酸序列上不同于天然存在的免疫球蛋白分子。

[0134] 在本文公开的某些抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物中，多聚体的一条多肽链的重链部分与所述多聚体的第二条多肽链上的重链部分相同。或者，可用于本发明所公开的方法中的含有重链部分的单体不相同。举例来说，每一个单体可以包含不同的靶标结合位点，从而形成例如双特异性抗体。

[0135] 用于本文所公开的方法中的结合分子的重链部分可以源自于不同的免疫球蛋白分子。举例来说，多肽的重链部分可以包含源自于 IgG1 分子的 C<sub>H1</sub> 域和源自于 IgG3 分子的铰链区。在另一个实例中，重链部分可以包含部分地源自于 IgG1 分子并且部分地源自于 IgG3 分子的铰链区。在另一个实例中，重链部分可以包含部分地源自于 IgG1 分子并且部分地源自于 IgG4 分子的嵌合铰链。

[0136] 如本文所用的术语“轻链部分”包括源自于免疫球蛋白轻链，例如  $\kappa$  轻链或  $\lambda$  轻链的氨基酸序列。优选地，所述轻链部分包含 VL 域或 CL 域中的至少一个。

[0137] 可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物可以根据它们所识别或特异性结合的抗原，例如本文所公开的靶多肽（例如 CXCL13 或 CXCR5）的一个或多个表位或一个或多个部分来描述或说明。靶多肽中与抗体的抗原结合域特异性相互作用的部分是“表位”或“抗原决定簇”。靶多肽可以包含单个表位，但通常包含至少两个表位，并且可以包括许多表位，这取决于抗原的尺寸、构象以及类型。此外，应当指出的是，靶多肽上的“表位”可以是或可以包括非多肽元件，例如表位可以包括碳水化合物侧链。

[0138] 认为抗体的肽表位或多肽表位的最小尺寸是约四个至五个氨基酸。肽表位或多肽表位优选地含有至少七个，更优选地至少九个并且最优选地至少约 15 个至约 30 个氨基酸。由于 CDR 可以识别呈三级形式的抗原肽或多肽，因此构成表位的氨基酸不需要是连续的，并且在一些情况下，甚至可以不在同一肽链上。由可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体识别的肽表位或多肽表位可以含有具有 CXCL13 或 CXCR5 的至少 4 个、至少 5 个、至少 6 个、至少 7 个，更优选地至少 8 个、至少 9 个、至少 10 个、至少 15 个、至少 20 个、至少 25 个、或约 15 个至约 30 个连续或非连续氨基酸的序列。

[0139] “特异性结合”一般意指抗体经由它的抗原结合域结合表位，并且所述结合需要抗原结合域与表位之间有一定的互补性。根据这种定义，当与和随机的无关表位结合相比，抗体更容易经由它的抗原结合域与表位结合时，所述抗体被说成与该表位“特异性结合”。术语“特异性”在本文中用以对某种抗体与某个表位结合的相对亲和力加以定性。举例来说，抗体“A”可以被认为比抗体“B”对给定的表位有更高的特异性，或抗体“A”可以被说成以比它对相关表位“D”更高的特异性结合表位“C”。

[0140] “优先结合”意指与和相关的、相似的、同源的或类似的表位结合相比，抗体更容易特异性地与表位结合。因此，与和相关表位的结合相比，“优先结合”给定表位的抗体将更可能结合该表位，尽管这种抗体可能与所述相关表位交叉反应。

[0141] 通过非限制性实例的方式，如果抗体以小于所述抗体对第二表位的解离常数 ( $K_D$ ) 的  $K_D$  结合第一表位，那么所述抗体可以被认为优先地结合所述第一表位。在另一个非限制性实例中，如果抗体以比所述抗体对第二表位的  $K_D$  小了至少一个数量级的  $K_D$  结合第一表位，那么所述抗体可以被认为优先地结合所述第一抗原。在另一个非限制性实例中，如果抗

体以比所述抗体对第二表位的 $K_D$ 小了至少两个数量级的 $K_D$ 结合第一表位,那么所述抗体可以被认为优先地结合所述第一表位。

[0142] 在另一个非限制性实例中,如果抗体以比所述抗体对第二表位的解离速率( $k$ (解离))小的 $k$ (解离)结合第一表位,那么所述抗体可以被认为优先地结合所述第一表位。在另一个非限制性实例中,如果抗体以比所述抗体对第二表位的 $k$ (解离)小了至少一个数量级的 $k$ (解离)结合第一表位,那么所述抗体可以被认为优先地结合所述第一表位。在另一个非限制性实例中,如果抗体以比所述抗体对第二表位的 $k$ (解离)小了至少两个数量级的 $k$ (解离)结合第一表位,那么所述抗体可以被认为优先地结合所述第一表位。可用于本文所公开的方法中的抗体或抗原结合片段、变体、或衍生物可以被说成以小于或等于 $5 \times 10^2 \text{sec}^{-1}$ 、 $10^2 \text{sec}^{-1}$ 或 $5 \times 10^3 \text{sec}^{-1}$ 的解离速率( $k$ (解离))结合本文所公开的靶多肽(例如CXCL13或CXCR5,例如人类、鼠类、或人类和鼠类这两者的CXCL13或CXCR5)或其片段或变体。在某些实施方案中, $k$ (解离)小于或等于约 $3 \times 10^2$ ,例如其中所述抗体是3D2并且CXCL13是人类或小鼠CXCL13。在另一个实施方案中, $k$ (解离)小于或等于约 $3 \times 10^3$ ,例如其中所述抗体是MAB5261并且CXCL13是人类或小鼠CXCL13。在另一个实施方案中, $k$ (解离)小于或等于约 $4 \times 10^3$ ,例如其中所述抗体是MAB 5378并且CXCL13是人类或小鼠CXCL13。在一个实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的抗体可以被说成以小于或等于 $5 \times 10^4 \text{sec}^{-1}$ 、 $10^4 \text{sec}^{-1}$ 、 $5 \times 10^5 \text{sec}^{-1}$ 、或 $10^5 \text{sec}^{-1}$ 、 $5 \times 10^6 \text{sec}^{-1}$ 、 $10^6 \text{sec}^{-1}$ 、 $5 \times 10^7 \text{sec}^{-1}$ 或 $10^7 \text{sec}^{-1}$ 的解离速率( $k$ (解离))结合本文所公开的靶多肽(例如CXCL13,例如人类、鼠类或人类和鼠类这两者的CXCL13)或其片段或变体。

[0143] 可用于本文所公开的方法中的抗体或抗原结合片段、变体或衍生物可以被说成以大于或等于 $10^3 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 、 $5 \times 10^3 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 、 $10^4 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 、 $5 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 、 $10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 、 $5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 、 $10^6 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或 $5 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 的缔合速率( $k$ (缔合))结合本文所公开的靶多肽(例如CXCL13或CXCR5,例如人类、鼠类、或人类和鼠类这两者的CXCL13或CXCR5)或其片段或变体。在某些实施方案中, $k$ (缔合)大于或等于约 $5 \times 10^5$ ,例如其中所述抗体是3D2并且CXCL13是人类CXCL13;或 $k$ (缔合)大于或等于约 $1 \times 10^5$ ,例如其中所述抗体是3D2并且CXCL13是小鼠CXCL13。在另一个实施方案中, $k$ (缔合)大于或等于约 $1 \times 10^6$ ,例如其中所述抗体是MAB 5261并且CXCL13是人类或小鼠CXCL13。在另一个实施方案中, $k$ (缔合)大于或等于约 $1 \times 10^6$ ,例如其中所述抗体是MAB5378并且CXCL13是人类或小鼠CXCL13。在一个实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的抗体可以被说成以大于或等于 $10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 、 $5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 、 $10^6 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或 $5 \times 10^6 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或 $10^7 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 的缔合速率( $k$ (缔合))结合本文所公开的靶多肽(例如CXCL13,例如人类、鼠类或人类和鼠类这两者的CXCL13)或其片段或变体。

[0144] 如果抗体优先地结合给定表位达到它在某种程度上阻断了参考抗体与所述表位的结合的程度,那么所述抗体被说成竞争性抑制所述参考抗体,例如抗CXCL13抗体或抗CXCR5抗体与该表位的结合。竞争性抑制可以通过本领域已知的任何方法,例如竞争ELISA测定法来测定。抗体可以被说成将参考抗体与给定表位的结合竞争性地抑制了至少90%、至少80%、至少70%、至少60%或至少50%。

[0145] 如本文所用的术语“亲和力”指的是单个表位与免疫球蛋白分子的CDR的结合强度的量度。参见例如Harlow等人(1988),《抗体:实验室手册》(Antibodies:A Laboratory

Manual), (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第 2 版) 的第 27-28 页。如本文所用的术语“亲合力”指的是一群免疫球蛋白与抗原之间的复合体的总体稳定性,即免疫球蛋白混合物与抗原的功能性结合强度。参见例如 Harlow 的第 29-34 页。亲合力与该群体中的单个免疫球蛋白分子与特异性表位的亲和力以及免疫球蛋白和抗原的效价这两者有关。举例来说,二价单克隆抗体与具有高度重复表位结构,如多聚体的抗原之间的相互作用将是具有高亲合力的相互作用。

[0146] 可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物还可以根据它们的交叉反应性来描述或说明。如本文所用的术语“交叉反应性”指的是对一种抗原具有特异性的抗体与第二抗原反应的能力;两种不同的抗原物质之间相关性的量度。因此,如果抗体与除诱导所述抗体形成的表位以外的表位结合,那么所述抗体具有交叉反应性。交叉反应性表位一般与诱导表位含有许多相同的互补结构特征,并且在一些情况下,实际上可以比原始表位更契合。

[0147] 举例来说,某些抗体具有一定程度的交叉反应性,这是因为它们结合相关的,但是不相同的表位,例如与参考表位具有至少 95%、至少 90%、至少 85%、至少 80%、至少 75%、至少 70%、至少 65%、至少 60%、至少 55% 以及至少 50% 同一性(如使用本领域已知的以及本文描述的方法所计算)的表位。如果抗体不结合与参考表位具有小于 95%、小于 90%、小于 85%、小于 80%、小于 75%、小于 70%、小于 65%、小于 60%、小于 55% 以及小于 50% 同一性(如使用本领域已知的以及本文描述的方法所计算)的表位,那么所述抗体可以说成具有很小或没有交叉反应性。如果抗体不结合某个表位的任何其它类似物、直系同源物或同源物,那么所述抗体可以被认为对所述表位“高度特异”。

[0148] 可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子,例如抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物还可以根据它们对多肽,例如 CXCL13 或 CXCR5,例如人类、鼠类或人类和鼠类这两者的 CXCL13 或 CXCR5 的结合亲和力来描述或说明。在某些实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的抗体或其抗原结合片段的结合亲和力包括具有以下解离常数或 Kd 的那些:小于或不大于  $5 \times 10^2 \text{M}$ 、 $10^2 \text{M}$ 、 $5 \times 10^3 \text{M}$ 、 $10^3 \text{M}$ 、 $5 \times 10^4 \text{M}$ 、 $10^4 \text{M}$ 、 $5 \times 10^5 \text{M}$ 、 $10^5 \text{M}$ 、 $5 \times 10^6 \text{M}$ 、 $10^6 \text{M}$ 、 $5 \times 10^7 \text{M}$ 、 $10^7 \text{M}$ 、 $5 \times 10^8 \text{M}$ 、 $10^8 \text{M}$ 、 $5 \times 10^9 \text{M}$ 、 $10^9 \text{M}$ 、 $5 \times 10^{10} \text{M}$ 、 $10^{10} \text{M}$ 、 $5 \times 10^{11} \text{M}$ 、 $10^{11} \text{M}$ 、 $5 \times 10^{12} \text{M}$ 、 $10^{12} \text{M}$ 、 $5 \times 10^{13} \text{M}$ 、 $10^{13} \text{M}$ 、 $5 \times 10^{14} \text{M}$ 、 $10^{14} \text{M}$ 、 $5 \times 10^{15} \text{M}$ 、或  $10^{15} \text{M}$ 。在一个实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子,例如抗体或其抗原结合片段以小于约  $5 \times 10^9 \text{M}$  至约  $5 \times 10^{10} \text{M}$  的 Kd 结合人类 CXCL13 或 CXCR5,例如其中该抗体是 MAb 5261 并且 Kd 小于或等于约  $5 \times 10^9 \text{M}$ 。在另一个实施方案中,抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子,例如抗体或其抗原结合片段以小于约  $5 \times 10^7 \text{M}$  至约  $9 \times 10^9 \text{M}$  的 Kd 结合鼠类 CXCL13 或 CXCR5,例如其中该抗体是 MAb 5261 并且 Kd 小于或等于约  $8 \times 10^9 \text{M}$ 。

[0149] 可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物可以具有“多特异性”,例如双特异性、三特异性、或更大的多特异性,意指它同时识别并且结合一种或多种不同的抗原(例如蛋白质)上存在的两个或更多个不同的表位。因此,无论抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体具有“单特异性”还是“多特异性”,例如“双特异性”,指的是与结合多肽反应的不同表位的数目。多特异性抗体可以对本文所述的靶多肽的不同表位具有特异性或可以对靶多肽以及异源表位,如异源多肽或固体载体材料具有特异性。

[0150] 如本文所用的术语“效价”指的是结合多肽或 CXCL13 或 CXCR5 结合分子,例如抗体或其抗原结合片段中存在的潜在结合域,例如抗原结合域的数目。每一个结合域特异性结合一个表位。当结合多肽或 CXCL13 或 CXCR5 结合分子包含超过一个结合域时,每一个结合域可以特异性结合相同的表位,对于具有两个结合域的抗体,被称作“二价单特异性”;或结合不同的表位,对于具有两个结合域的抗体,被称作“二价双特异性”。抗体或其抗原结合片段还可以具有双特异性并且对于每一种特异性均是二价的(被称作“双特异性四价抗体”)。在另一个实施方案中,可以产生四价微型抗体或结构域缺失抗体。

[0151] 双特异性二价抗体和产生它们的方法描述于例如美国专利号 5,731,168;5,807,706;5,821,333;以及美国专利申请公开号 2003/020734 和 2002/0155537 中,所有这些的公开内容以引用的方式并入本文。双特异性四价抗体和产生它们的方法描述于例如 WO 02/096948 和 WO 00/44788 中,这两者的公开内容以引用的方式并入本文。一般参见 PCT 公开 WO 93/17715;WO 92/08802;WO 91/00360;WO 92/05793;Tutt 等人, J. Immunol. 147:60-69(1991);美国专利号 4,474,893;4,714,681;4,925,648;5,573,920;5,601,819;Kostelny 等人, J. Immunol. 148:1547-1553(1992)。

[0152] 如先前所示,各种免疫球蛋白类别的恒定区的亚基结构和三维构型是公知的。如本文所用的术语“VH 域”包括免疫球蛋白重链的氨基末端可变域并且术语“CH1 域”包括免疫球蛋白重链的第一(最靠氨基末端)恒定区结构域。CH1 域靠近 VH 域并且是免疫球蛋白重链分子的铰链区的氨基末端。

[0153] 如本文所用的术语“CH2 域”包括重链分子中例如使用常规的编号方案从抗体的大约残基 244 延伸到残基 360 的部分(残基 244 至 360, Kabat 编号系统;以及残基 231-340, EU 编号系统;参见 Kabat EA 等人)。CH2 域是独特的,这是因为它不与另一个结构域紧密配对。相反,两个 N 连接的分支碳水化合物链插入完整原生 IgG 分子的两个 CH2 域之间。还完全证实的是,CH3 域从 IgG 分子的 CH2 域延伸到 C 末端并且包含约 108 个残基。

[0154] 如本文所用的术语“铰链区”包括重链分子中使 CH1 域与 CH2 域连接的部分。这一铰链区包含约 25 个残基并且是柔性的,从而允许两个 N 末端抗原结合区独立地移动。铰链区可以被细分成三个不同的结构域:上部铰链域、中部铰链域以及下部铰链域(Roux 等人, J. Immunol. 161:4083(1998))。

[0155] 如本文所用的术语“二硫键”包括两个硫原子之间形成的共价键。氨基酸半胱氨酸包含可以与第二硫醇基形成二硫键或二硫桥的硫醇基。在大部分的天然存在的 IgG 分子中,CH1 区和 CL 区由二硫键连接并且两条重链由使用 Kabat 编号系统对应于 239 和 242 的位置(位置 226 或 229, EU 编号系统)处的两个二硫键连接。

[0156] 如本文所用的术语“嵌合抗体”将用来意指如下的任何抗体,在所述抗体中,免疫反应性区域或位点获自或源自于第一物种并且恒定区(根据本发明,它可以是完整的、部分的或修饰的)获自第二物种。在某些实施方案中,靶标结合区域或位点将来自于非人类来源(例如小鼠或灵长类动物)并且恒定区是人类恒定区(例如单克隆抗体(MAb)1476)。

[0157] 如本文所用的术语“工程抗体”指的是如下的抗体,在所述抗体中,重链或轻链或这两者中的可变域通过来自具有已知特异性的抗体的一个或多个 CDR 的至少部分置换以及如果有必要,通过部分框架区置换以及序列改变而发生变化。尽管 CDR 可以源自于与产生框架区的抗体相同的类别或甚至亚类的抗体,但是设想的是,CDR 将源自于不同类别的抗

体并且优选地源自于来自不同物种的抗体。其中来自具有已知特异性的非人类抗体的一个或多个“供体” CDR 被移植到人类重链或轻链框架区中的工程抗体在本文被称为“人源化抗体”。可能不需要将所有的 CDR 均置换为来自供体可变域的完整 CDR 将一个可变域的抗原结合能力转移到另一个可变域上。相反,可能仅需要转移为维持靶标结合位点的活性所必需的那些残基。在某些实施方案中,人源化抗体包含来自供体重链可变域的 1 个、2 个或 3 个 CDR。在另一个实施方案中,人源化抗体包含来自供体轻链可变域的 1 个、2 个或 3 个 CDR。

[0158] 还认识到的是,人源化抗体的重链或轻链或这两者中的可变域内的框架区可以仅包含人类来源的残基,在这种情况下,人源化抗体的这些框架区被称为“完全人类框架区”。或者,如果有必要,供体可变域的一个或多个框架区的一个或多个残基可以在人源化抗体的重链或轻链或这两者中的可变域的一个或多个人类框架区的相应位置内被工程化以维持适当的结合或提高与 CXCL13 抗原或 CXCR5 抗原的结合。已经以这种方式工程化的人类框架区因此将包含人类框架残基和供体框架残基的混合物,并且在本文被称为“部分人类框架区”。

[0159] 举例来说,抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的人源化可以基本上遵循 Winter 和同事的方法 (Jones 等人, *Nature* 321:522-525(1986); Riechmann 等人, *Nature* 332:323-327(1988); Verhoeyen 等人, *Science* 239:1534-1536(1988), 这些文献中的每一篇以引用的方式整体并入本文), 通过用啮齿动物或突变型啮齿动物 CDR 或 CDR 序列取代人类抗 CXCL13 抗体的相应序列来进行。还参见美国专利号 5, 225, 539 ; 5, 585, 089 ; 5, 693, 761 ; 5, 693, 762 ; 以及 5, 859, 205 ; 以引用的方式并入本文。所得的人源化抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体将在该人源化抗体的重链和 / 或轻链的可变域的完全人类框架区内包含至少一个啮齿动物或突变型啮齿动物 CDR。在一些情况下,人源化抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的一个或多个可变域的框架区内的残基被相应的非人类 (例如啮齿动物) 残基置换 (参见例如美国专利号 5, 585, 089 ; 5, 693, 761 ; 5, 693, 762 ; 以及 6, 180, 370, 这些专利中的每一件以引用的方式整体并入本文), 在这种情况下,所得的人源化抗 CXCL13 抗体将在重链和 / 或轻链的可变域内包含部分人类框架区。

[0160] 此外,人源化抗体可以包含接受体抗体或供体抗体中不存在的残基。进行这些修饰以进一步改进抗体性能 (例如以获得所需的亲和力)。一般来说,人源化抗体将包含基本上所有的至少一个,并且通常两个可变域,其中所有的或基本上所有的 CDR 对应于非人类免疫球蛋白的 CDR 并且所有的或基本上所有的框架区是人类免疫球蛋白序列的框架区。人源化抗体任选地还将包含免疫球蛋白恒定区,通常是人类免疫球蛋白恒定区的至少一部分 (Fc)。关于另外的细节,参见 Jones 等人, *Nature* 331:522-525(1986); Riechmann 等人, *Nature* 332:323-329(1988); 以及 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596(1992); 以引用的方式并入本文。因此,这些“人源化”抗体可以包括其中显著小于完整人类可变域已经被来自非人类物种的相应序列取代的抗体。实际上,人源化抗体通常是其中一些或所有的 CDR 残基以及可能一些框架残基被来自啮齿动物抗体中类似位点的残基所取代的人类抗体。参见例如美国专利号 5, 225, 539 ; 5, 585, 089 ; 5, 693, 761 ; 5, 693, 762 ; 以及 5, 859, 205。还参见美国专利号 6, 180, 370, 以及国际公开号 W0 01/27160, 其中公开了人源化抗体以及用于产生对预定抗原具有提高的亲和力的人源化抗体的技术。

[0161] 市售的结合 CXCL13 的抗体已经在本领域中公开,例如大鼠抗小鼠 MAb 470 (R&D Systems 公司) 和小鼠抗人类 MAb 801 (R&D Systems 公司)。此外,鼠类抗 CXCL13 抗体公开在美国专利申请公开号 20080227704 A1 中,该专利申请公开以引用的方式整体并入本文。单克隆抗 CXCL13 抗体 MAb 5261、MAb 5378、MAb 5080、MAb 1476 以及 3D2 公开在国际申请公开号 WO 2012/031099 中,该国际申请公开以引用的方式整体并入本文。

[0162] 单克隆抗体 5261 包含具有 SEQ ID NO:14 中所示的序列的重链可变 (VH) 域和具有 SEQ ID NO:19 中所示的序列的轻链可变 (VL) 域。MAb 5261 在它的重链内包含人类 Ig $\gamma$ 1-F 同种异型恒定区并且在它的轻链内包含人类  $\kappa$  恒定区。单克隆抗体 5378 包含具有 SEQ ID NO:14 中所示的序列的重链可变 (VH) 域和具有 SEQ ID NO:19 中所示的序列的轻链可变 (VL) 域。MAb 5378 在它的重链内包含鼠类 IgG2a 恒定区并且在它的轻链内包含鼠类  $\kappa$  恒定区。MAb 5080 包含具有 SEQ ID NO:14 中所示的序列的 VH 域和具有 SEQ ID NO:21 中所示的序列的 VL 域。MAb 5080 在它的重链内包含人类 IgG1 恒定区并且在它的轻链内包含人类  $\kappa$  恒定区。单克隆抗体 1476 包含具有 SEQ ID NO:10 中所示的序列的 VH 域和具有 SEQ ID NO:15 中所示的序列的 VL 域。MAb 1476 在它的重链内包含人类 IgG1 恒定区并且在它的轻链内包含人类  $\kappa$  恒定区。单克隆抗体 3D2 包含具有 SEQ ID NO:10 中所示的序列的 VH 域和具有 SEQ ID NO:15 中所示的序列的 VL 域。MAb 3D2 在它的重链内包含鼠类 IgG1 恒定区并且在它的轻链内包含鼠类  $\kappa$  恒定区。

[0163] 在一些实施方案中,本发明所公开的方法利用了 MAb 5261、MAb 5378、MAb 5080、MAb 1476、或 3D2 抗 CXCL13 单克隆抗体。

[0164] 在一些实施方案中,用于本发明所公开的方法中的抗体包含结合 CXCL13 的抗 CXCL13 抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物。在某些实施方案中,抗 CXCL13 抗体结合人类、灵长类动物、鼠类、或人类和鼠类这两者的 CXCL13。在某些实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 抗体被人源化。在其它实施方案中,抗 CXCL13 抗体阻断 CXCL13 结合它的受体,例如 CXCR5。在某些实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 抗体是 MAb 5261、MAb 5378、MAb 5080、MAb 1476、或 3D2、或其抗原结合片段、变体或衍生物。在一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了与参考抗体,例如 MAb 5261、MAb 5378、MAb 5080、MAb 1476 或 3D2 特异性结合相同的 CXCL13 或 CXCR5 表位的分离的结合分子,例如抗体或其抗原结合片段、变体以及衍生物。在另一个实施方案中,本发明所公开的方法涉及特异性结合 CXCL13 并且竞争性地抑制参考抗体,例如 MAb 5261、MAb 5378、MAb 5080、MAb 1476 或 3D2 特异性结合 CXCL13,例如人类、灵长类动物、鼠类或人类和鼠类这两者的 CXCL13 的分离的结合分子,例如抗体或其抗原结合片段。

[0165] 在某些实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的结合分子具有与参考抗 CXCL13 抗体分子的氨基酸序列具有至少约 80%、约 85%、约 88%、约 89%、约 90%、约 91%、约 92%、约 93%、约 94%、或约 95% 序列同一性的氨基酸序列。在另一个实施方案中,结合分子与参考抗体共有至少约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 或 100% 的序列同一性。在某些实施方案中,所述参考抗体是 MAb 5261、MAb 5378、MAb 5080、MAb 1476 或 3D2。

[0166] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白重链可变域 (VH 域)、基本上由 VH 域组成或由 VH 域组成的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VH 域的 CDR 中的至少一个具有与 SEQ ID NO:10 或 14 的 CDR1、CDR2 或 CDR3 至少约 80%、约 85%、

约 90%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 同一或同一的氨基酸序列。

[0167] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白重链可变域(VH 域)、基本上由 VH 域组成或由 VH 域组成的分离的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VH 域的 CDR 中的至少一个具有与 SEQ ID NO:11、12 或 13 至少约 80%、约 85%、约 90%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 同一或同一的氨基酸序列。

[0168] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白重链可变域(VH 域)、基本上由 VH 域组成或由 VH 域组成的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VH 域具有与 SEQ ID NO:10 或 14 至少约 80%、约 85%、约 90%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 同一或同一的氨基酸序列。

[0169] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白重链可变域(VH 域)、基本上由 VH 域组成或由 VH 域组成的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VH 域的 CDR 中的至少一个具有除了 1、2、3、4 或 5 处保守氨基酸取代之外与 SEQ ID NO:10 或 14 的 CDR1、CDR2 或 CDR3 同一的氨基酸序列。

[0170] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白重链可变域(VH 域)、基本上由 VH 域组成或由 VH 域组成的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VH 域的 CDR 中的至少一个具有除了 1、2、3、4 或 5 处保守氨基酸取代之外与 SEQ ID NO:11、12 或 13 同一的氨基酸序列。

[0171] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白轻链可变域(VL 域)、基本上由 VL 域组成或由 VL 域组成的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VL 域的 CDR 中的至少一个具有与 SEQ ID NO:15、19 或 21 的 CDR1、CDR2 或 CDR3 至少约 80%、约 85%、约 90%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 同一或同一的氨基酸序列。

[0172] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白轻链可变域(VL 域)、基本上由 VL 域组成或由 VL 域组成的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VL 域的 CDR 中的至少一个具有与 SEQ ID NO:16、17、18 或 20 至少约 80%、约 85%、约 90%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 同一或同一的氨基酸序列。

[0173] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白轻链可变域(VL 域)、基本上由 VL 域组成或由 VL 域组成的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VL 域具有与 SEQ ID NO:15、19 或 21 至少约 80%、约 85%、约 90%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 同一或同一的氨基酸序列。

[0174] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白轻链可变域(VL 域)、基本上由 VL 域组成或由 VL 域组成的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VL 域的 CDR 中的至少一个具有除了 1、2、3、4 或 5 处保守氨基酸取代之外与 SEQ ID NO:15、19 或 21 的 CDR1、CDR2 或 CDR3 同一的氨基酸序列。

[0175] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含免疫球蛋白轻链可变域(VL 域)、基本上由 VL 域组成或由 VL 域组成的抗体或其抗原结合片段,其中所述 VL 域的 CDR 中的至少一个具有除了 1、2、3、4 或 5 处保守氨基酸取代之外与 SEQ ID NO:16、17、18 或 20 同一的氨基酸序列。

[0176] 在另一个实施方案中,本发明所公开的方法利用了包含 VL 域、基本上由 VL 域组成或由 VL 域组成的抗体或其抗原结合片段,所述 VL 域具有与 SEQ ID NO:15、19 或 21 至少

约 80%、约 85%、约 90%、约 91%、约 92%、约 93%、约 94%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 或 100% 同一的氨基酸序列,其中包含所述编码的 VL 域的抗 CXCL13 抗体特异性或优先地结合 CXCL13。

[0177] 在某些实施方案中,本发明所公开的方法利用包含以下各项、基本上由以下各项组成或由以下各项组成的抗体或其抗原结合片段:具有 SEQ ID NO:14 中所示的氨基酸序列的 VH 域以及具有 SEQ ID NO:19 中所示的氨基酸序列的 VL 域。在这些实施方案中的一些中,所述抗体在它的重链内包含人类 IgG1 恒定区并且在它的轻链内包含人类  $\kappa$  恒定区。

[0178] 在具体实施方案中,本发明所公开的方法利用包含以下各项、基本上由以下各项组成或由以下各项组成的抗体或其抗原结合片段:VH 域,所述 VH 域包含具有 SEQ ID NO:11 中所示的氨基酸序列的 CDR1、具有 SEQ ID NO:12 中所示的氨基酸序列的 CDR2、以及具有 SEQ ID NO:13 中所示的氨基酸序列的 CDR3;以及 VL 域,所述 VL 域包含具有 SEQ ID NO:20 中所示的氨基酸序列的 CDR1、具有 SEQ ID NO:17 中所示的氨基酸序列的 CDR2、以及具有 SEQ ID NO:18 中所示的氨基酸序列的 CDR3。在这些实施方案中的一些中,所述抗体在它的重链内包含人类 IgG1 恒定区并且在它的轻链内包含人类  $\kappa$  恒定区。

[0179] 参考抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的合适的生物活性变体可以用于本发明所公开的方法中。这些变体将保留亲本抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的所需的结合特性。用于产生抗体变体的方法一般可在本领域获得。

[0180] 用于诱变和改变核苷酸序列的方法是本领域公知的。参见例如 Walker 和 Gastra 编著,(1983)《分子生物学技术》(Techniques in Molecular Biology)(MacMillan Publishing Company, New York);Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488-492(1985);Kunkel 等人, Methods Enzymol. 154:367-382(1987);Sambrook 等人(1989)《分子克隆:实验室手册》(Molecular Cloning:A Laboratory Manual)(Cold Spring Harbor, N. Y.);美国专利号 4,873,192;以及其中所引用的参考文献;以引用的方式并入本文。有关不会影响所关注的多肽的生物活性的适当氨基酸取代的指导可以见于 Dayhoff 等人(1978),《蛋白质序列和结构图册》(Atlas of Protein Sequence and Structure)(华盛顿特区的国家生物医学研究基金会(Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D. C.)),第 345-352 页的模型中,该文献以引用的方式整体并入本文。Dayhoff 等人的模型使用了可接受点突变(Point Accepted Mutation, PAM)氨基酸相似矩阵(PAM 250 矩阵)来确定合适的保守氨基酸取代。保守取代,如一个氨基酸与具有相似特性的另一个氨基酸交换可以是优选的。如通过 Dayhoff 等人模型的 PAM 250 矩阵所教导的保守氨基酸取代的实例包括但不限于 Gly $\leftrightarrow$ Ala、Val $\leftrightarrow$ Ile $\leftrightarrow$ Leu、Asp $\leftrightarrow$ Glu、Lys $\leftrightarrow$ Arg、Asn $\leftrightarrow$ Gln 以及 Phe $\leftrightarrow$ Trp $\leftrightarrow$ Tyr。

[0181] 在构建抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子,例如抗体或其抗原结合片段或所关注的多肽的变体中,进行修饰以使得变体继续具有所需的特性,例如能够特异性结合 CXCL13 或 CXCR5,例如人类、灵长类动物、鼠类或人类和鼠类这两者的 CXCL13 或 CXCR5。显然,在编码变体多肽的 DNA 中产生的任何突变不得使所述序列处于阅读框外,并且优选地将不产生可能产生二级 mRNA 结构的互补区。参见例如欧洲专利号 EP0075444 B1。

[0182] 用于测量抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子,例如抗体或其抗原结合片段的结合

特异性的方法包括但不限于标准竞争性结合测定法、用于监测 T 细胞或 B 细胞的免疫球蛋白分泌的测定法、T 细胞增殖测定法、细胞凋亡测定法、ELISA 测定法等。参见例如以下文献中所公开的这些测定法:WO 93/14125;Shi 等人, *Immunity* 13:633-642(2000); Kumanogoh 等人, *J Immunol* 169:1175-1181(2002); Watanabe 等人, *J Immunol* 167:4321-4328(2001); Wang 等人, *Blood* 97:3498-3504(2001); 以及 Giraudon 等人, *J Immunol* 172(2):1246-1255(2004), 所有这些文献以引用的方式并入本文。

[0183] 经由在多种免疫细胞(例如 B 细胞、滤泡辅助性 T 细胞以及新激活的 T 细胞)上存在的 CXCL13 受体,即 CXCR5, CXCL13 诱导为维持免疫系统稳态、淋巴器官发生、白细胞运输和趋化性迁移以及次级淋巴组织(例如生发中心)的发育所需的细胞内变化。因此,“抗 CXCL13 活性”或“CXCL13 阻断活性”可以包括调节以下与 CXCL13 相关的活性中的一种或多种的活性:阻断 CXCL13 与它的受体相互作用、抑制 B 细胞和滤泡 B- 辅助性 T 细胞迁移到发炎的组织中、抑制生发中心形成(例如在自身免疫性疾病的情况下)、抑制次级淋巴滤泡或异位淋巴滤泡;抑制肿瘤疾病中癌细胞增殖和扩散的能力;或与表达 CXCL13 的细胞相关的任何其它活性。抗 CXCL13 活性还可以归于与 CXCL13 表达相关的疾病的发病率或严重程度降低,所述疾病包括但不限于某些类型的自身免疫性疾病(例如多发性硬化、关节炎(例如类风湿性关节炎)、慢性胃炎、胃淋巴瘤、移植排斥反应、舍格伦综合征(SS)、全身性红斑狼疮(SLE)、丙型肝炎病毒感染中的活动性混合型冷球蛋白血症(MC) 脉管炎、青少年皮炎以及重症肌无力)和某些癌症(例如伯基特氏淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma)、MALT 淋巴瘤(例如胃 MALT 淋巴瘤)、癌瘤(例如结肠癌、前列腺癌、乳腺癌、胃癌、食道癌以及胰腺癌)以及慢性淋巴细胞性白血病(CLL)) 以及其它炎症性疾病,如螺杆菌感染诱发的炎症性疾病,例如胃炎、溃疡以及胃粘膜病变。

[0184] 当在本文中论述包括参考多肽的恒定区、CDR、VH 域或 VL 域在内的任何具体多肽是否与另一种多肽具有至少约 65%、约 70%、约 75%、约 80%、约 85%、约 90%、约 91%、约 92%、约 93%、约 94%、约 95%、约 96%、约 97%、约 98%、约 99% 或是甚至约 100% 的同一性时,该同一性%可以使用本领域已知的方法和计算机程序/软件来确定,诸如但不限于 BESTFIT 程序(威斯康星序列分析包(Wisconsin Sequence Analysis Package),用于 Unix 系统的第 8 版,威斯康星州麦迪逊科学大道 575 号大学研究园的遗传学计算机小组(Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis.), 邮编 53711)。BESTFIT 使用了 Smith 和 Waterman(1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482-489 的局部同源性算法以寻找两个序列之间具有同源性的最佳区段。当使用 BESTFIT 或任何其它序列比对程序来确定具体序列是否与根据本发明的参考序列具有例如 95% 同一性时,当然要对参数进行设定以使得在参考多肽序列的全长上计算同一性百分比,以及允许在参考序列中氨基酸总数的最多 5% 的同源性空位。

[0185] 出于本发明的目的,可以使用史密斯-沃特曼同源性搜索算法(Smith-Waterman homology search algorithm),使用仿射空位搜索,以 12 分的空位开放罚分和 2 分的空位延伸罚分、62 分的 BLOSUM 矩阵来确定序列同一性百分比。史密斯-沃特曼同源性搜索算法在 Smith 和 Waterman(1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482-489 中有教导。变体可以例如与参考抗 CXCL13 抗体(例如 MAb 5261、MAb 5378、MAb 5080、MAb1476 或 3D2) 或抗 CXCR5 抗体有少到 1 至 15 个氨基酸残基、少到 1 至 10 个氨基酸残基,如 6-10 个、少到 5 个、少至 4 个、3

个、2 个或甚至 1 个氨基酸残基不同。

[0186] 能够特异性结合 CXCL13 或 CXCR5 并且保留所需的 CXCL13 阻断活性的多肽的精确的化学结构取决于多种因素。由于在分子中存在可离子化的氨基和羧基,因此特定的多肽可以酸盐或碱盐或中性形式获得。在被放置在合适的环境条件中时保留生物活性的所有这样的制剂均被包括在如本文所用的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的定义中。此外,多肽的一级氨基酸序列可以通过使用糖部分(糖基化)或通过其它补充性分子,如脂质、磷酸酯、乙酰基等衍生化来扩充。它还可以通过与糖类缀合来扩充。这种扩充的某些方面是经由产生宿主的翻译后加工系统来实现的;可以体外引入其它这类修饰。在任何情况下,这些修饰被包括在本文所使用的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的定义中,只要抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的所需特性没有被破坏即可。预期的是,在各种测定中,这些修饰可以通过提高或降低多肽的活性而定量地或定性地影响活性。此外,链中的单个氨基酸残基可以通过氧化、还原或其它衍生化来修饰,并且多肽可以被切割以获得保留活性的片段。这些不破坏所需特性(例如对 CXCL13 或 CXCR5 的结合特异性、结合亲和力和/或 CXCL13 阻断活性)的变化并没有使多肽序列被排除在如本文所用的所关注的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的定义之外。

[0187] 本领域提供了大量关于制备和使用多肽变体的指导。在制备抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子,例如抗体或其抗原结合片段、变体中,本领域技术人员可以容易地确定对原生蛋白质的核苷酸或氨基酸序列进行的哪些修饰将产生适于用作本发明的方法中所用的药物组合物的治疗活性组分的变体。

[0188] 参考抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的恒定区可以多种方式发生突变以改变效应功能。举例来说,参见美国专利号 6,737,056B1 和美国专利申请公开号 2004/0132101A1,它们公开了优化了抗体与 Fc 受体的结合的 Fc 突变。

[0189] 在某些抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体中,可以使用本领域已知的技术使 Fc 部分突变以减少效应功能。举例来说,恒定区结构域的缺失或失活(经由点突变或其它手段)可以减少循环修饰抗体的 Fc 受体结合,从而提高肿瘤定位。在其它情况下,与本发明相一致的恒定区修饰可以减少补体结合并且因此缩短缀合的细胞毒素的血清半衰期并减少它的非特异性缔合。可以使用恒定区的另外的其它修饰来修饰二硫键或低聚糖部分,从而允许由于抗原特异性或抗体灵活性增加而提高定位。修饰所产生的生理学特征、生物利用度以及其它生化作用,如肿瘤定位、生物分布以及血清半衰期可以容易地使用公知的免疫学技术来测量和定量而无需过多的实验。

[0190] 一般来说,可用于本发明所公开的方法中的 CXCR5 结合分子不激活 CXCR5 受体(即不是该受体的激动剂)。

[0191] “保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基被具有带相似电荷的侧链的氨基酸残基所置换的氨基酸取代。具有带相似电荷的侧链的氨基酸残基的家族在本领域中已加以定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、具有  $\beta$ -分支侧链的氨基酸(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)以及具有芳族侧链的氨基酸(例如酪氨酸、苯

丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。或者,可以沿着编码序列的全部或一部分,如通过饱和诱变随机地引入突变,并且可以针对生物活性对所得的突变体进行筛选以鉴定保留活性(例如对 CXCL13 或 CXCR5 的结合特异性、结合亲和力和 / 或 CXCL13 阻断活性)的突变体。

[0192] 举例来说,有可能仅在抗体分子的框架区中或仅在抗体分子的 CDR 区中引入突变。所引入的突变可以是沉默或中性错义突变,即对抗体结合抗原的能力没有影响或影响很小。这些类型的突变可用于优化密码子使用,或提高杂交瘤的抗体产生。或者,非中性错义突变可以改变抗体结合抗原的能力。大部分沉默和中性错义突变的位置有可能位于框架区内,而大部分非中性错义突变的位置有可能在 CDR 内,但这不是绝对要求。本领域技术人员将能够设计和测试具有所需特性,如抗原结合活性没有改变或结合活性有改变(例如抗原结合活性提高或抗体特异性变化)的突变型分子。在诱变后,编码蛋白可以常规方式表达,并且编码蛋白的功能活性和 / 或生物活性(例如免疫特异性结合 CXCL13 多肽或 CXCR5 多肽的至少一个表位的能力)可以使用本文所述的技术或通过本领域已知的常规修饰技术来测定。

[0193] 在某些实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体与参考抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体相比包含至少一个优化的互补决定区(CDR)。“优化的 CDR”意指已经对 CDR 进行修饰并且基于向包含优化的 CDR 的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体所赋予的维持的或提高的结合亲和力和 / 或抗 CXCL13 活性来选择优化序列。

[0194] 如本文别处所更详细地论述,抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子或可溶性 CXCR5 可以进一步在 N 末端或 C 末端处与异源多肽以重组方式融合或与多肽或其它组合物化学缀合(包括共价缀合和非共价缀合)。举例来说,抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体或可溶性 CXCR5 可以与可用作检测测定中的标记的分子以及效应分子(如异源多肽、药物、放射性核素、或毒素)以重组方式融合或缀合。参见例如 PCT 公开 WO 92/08495 ;WO 91/14438 ;WO 89/12624 ;美国专利号 5,314,995 ;以及 EP 396,387。

[0195] 如本文所用的术语“连接”、“融合(fused)”或“融合(fusion)”可互换使用。这些术语指的是通过包括化学缀合或重组手段在内的任何手段将两个或更多个元件或组分连接在一起。“框内融合”指的是两个或更多个多核苷酸开放阅读框(ORF)以维持原始 ORF 的正确翻译阅读框的方式连接形成连续的更长的 ORF。因此,重组融合蛋白是含有对应于由原始 ORF 所编码的多肽的两个或更多个区段(这些区段在自然界中通常不是这样连接的)的单个蛋白。尽管因此使得阅读框在整个融合区段中是连续的,但是这些区段可以由例如框内接头序列在物理或空间上隔开。举例来说,编码免疫球蛋白可变区 CDR 的多核苷酸可以在框内融合,但由编码至少一个免疫球蛋白框架区或另外的 CDR 区的多核苷酸隔开,只要“融合的”CDR 被共同翻译成连续多肽的一部分即可。

[0196] 可用于本发明所公开的方法中的抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体可以包括经过修饰的衍生物,即通过使任何类型的分子与抗体进行共价连接以使得该共价连接不会阻止抗体结合 CXCL13 或 CXCR5 来修饰。举例来说但不是以限制的方式,抗体衍生物包括已经例如通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、由已知的保护基 / 阻隔基衍生化、蛋白水解切割、与细胞配体或其它蛋白质连接等修饰的抗体。许多化学修饰中的任一种可以通过已知的技术来进行,包括但不限于特异性化学切割、乙酰化、甲酰化等。此外,所述衍生物可以含有一种或多种非经典氨基酸。

[0197] 抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子,例如抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物可以由通过肽键或修饰的肽键(即肽电子等排体)而彼此连接的氨基酸构成,并且可以含有除 20 种基因编码氨基酸以外的氨基酸。举例来说,抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体可以通过自然过程,如翻译后加工,或通过本领域公知的化学修饰技术来修饰。这些修饰充分地描述于基础教科书和更详细的专题论文以及大量的研究文献中。修饰可以存在于抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子中的任何地方,包括肽骨架、氨基酸侧链以及氨基末端或羧基末端、或诸如碳水化合物之类的部分上。将了解的是,相同类型的修饰可以在相同或不同的程度上存在于给定抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子中的若干个位点上。并且,给定的抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子可以含有许多类型的修饰。抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子可以例如由于泛素化而是分支的,并且它们可以是环状的而存在或不存在分支。环状的、分支的以及分支环状的抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子可以由翻译后自然过程产生或可以通过合成方法来制备。修饰包括乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、共价连接黄素、共价连接血红素部分、共价连接核苷酸或核苷酸衍生物、共价连接脂质或脂质衍生物、共价连接磷脂酰肌醇、交联、环化、二硫键形成、去甲基化、形成共价交联、形成半胱氨酸、形成焦谷氨酸、甲酰化、 $\gamma$ -羧化、糖基化、GPI 锚形成、羟基化、碘化、甲基化、豆蔻酰化、氧化、聚乙二醇化、蛋白水解加工、磷酸化、异戊二烯化、外消旋化、硒化、硫酸化、转移 RNA 介导的氨基酸加入到蛋白质中(如精氨酸酰化)以及泛素化。(参见例如《蛋白质——结构和分子特性》(Proteins—Structure and Molecular Properties), T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, NY; 第 2 版(1993); Johnson 编著(1983)《蛋白质的翻译后共价修饰》(Posttranslational Covalent Modification of Proteins)(Academic Press, NY), 第 1-12 页; Seifter 等人, Meth. Enzymol. 182:626-646(1990); Rattan 等人, Ann. NY Acad. Sci. 663:48-62(1992))。

[0198] 本发明所公开的方法涵盖了使用融合蛋白,所述融合蛋白包含抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物以及异源多肽。与抗体融合的异源多肽可能可用于靶向表达抗 CXCL13 或抗 CXCR5 多肽的细胞的功能或可用于靶向表达抗 CXCL13 或抗 CXCR5 多肽的细胞。

[0199] 在一个实施方案中,可用于本发明所公开的方法中的融合蛋白包含如下的多肽、基本上由如下的多肽组成或由如下的多肽组成,所述多肽具有抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体的 VH 域中的任何一个或多个的氨基酸序列或抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体或其片段或变体的 VL 域中的任何一个或多个的氨基酸序列以及异源多肽序列。

[0200] 在另一个实施方案中,用于本文所公开的治疗方法中的融合蛋白包含如下的多肽、基本上由如下的多肽组成或由如下的多肽组成,所述多肽具有抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体或其片段、变体或衍生物的 VH 域的 CDR 中的任何一个、两个、三个的氨基酸序列和/或抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体、或其片段、变体或衍生物的 VL 域的 CDR 中的任何一个、两个、三个的氨基酸序列以及异源多肽序列。在一些实施方案中,融合蛋白的 VH 域和 VL 域对应于特异性结合 CXCL13 或 CXCR5 的至少一个表位的单一来源抗体(或 scFv 或 Fab 片段)。在一些实施方案中,VH 域或 VL 域的两个、三个、四个、五个、六个或更多个 CDR 对应于单一来源抗体(或 scFv 或 Fab 片段)。

[0201] 在文献中所报道的示例性融合蛋白包括以下各项的融合体:T 细胞受体(Gascoigne 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:2936-2940(1987)); CD4(Capon 等

人, Nature 337:525-531(1989); Traunecker 等人, Nature 339:68-70(1989); Zettmeissl 等人, DNA Cell Biol. USA 9:347-353(1990); 以及 Byrn 等人, Nature 344:667-670(1990); L-选择素(归巢受体)(Watson 等人, J. Cell. Biol. 110:2221-2229(1990); 以及 Watson 等人, Nature 349:164-167(1991)); CD44(Aruffo 等人, Cell 61:1303-1313(1990)); CD28 和 B7(Linsley 等人, J. Exp. Med. 173:721-730(1991)); CTLA-4(Lisley 等人, J. Exp. Med. 174:561-569(1991)); CD22(Stamenkovic 等人, Cell 66:1133-1144(1991)); TNF 受体(Ashkenazi 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539(1991)); Lesslauer 等人, Eur. J. Immunol. 27:2883-2886(1991); 以及 Peppel 等人, J. Exp. Med. 174:1483-1489(1991)); 以及 IgE 受体  $\alpha$  (Ridgway 和 Gorman, J. Cell. Biol. 第 115 卷, 摘要第 1448 号(1991))。

[0202] 如本文别处所论述, 抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子, 例如抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物可以使用本领域已知的方法与异源多肽融合以延长所述多肽的体内半衰期或用于免疫测定法中。举例来说, 在一个实施方案中, PEG 可以与抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体缀合以延长它们的体内半衰期。参见 Leong 等人, Cytokine 16:106(2001); Adv. in Drug Deliv. Rev. 54:531(2002); 或 Weir 等人, Biochem. Soc. Transactions 30:512(2002)。

[0203] 此外, 抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子, 例如抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物可以与标记序列, 如肽融合以促进对它们的纯化或检测。在某些实施方案中, 标记氨基酸序列是六组氨酸肽, 如 pQE 载体(快而精公司(QIAGEN, Inc.), 加利福尼亚州查茨沃斯伊顿大街 9259 号(9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif.), 邮编 91311) 中所提供的标签等等, 其中有许多是可商购获得的。如 Gentz 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824(1989) 中所述, 例如, 六组氨酸提供了对融合蛋白适当的纯化。可用于纯化的其它肽标签包括但不限于“HA”标签, 它对应于源自于流感血凝素蛋白的表位(Wilson 等人, Cell 37:767(1984)); 以及“flag”标签。

[0204] 融合蛋白可以使用本领域公知的方法来制备(参见例如美国专利号 5, 116, 964 和 5, 225, 538)。进行融合的精确位点可以凭经验来选择以优化融合蛋白的分泌或结合特征。然后将编码融合蛋白的 DNA 转染到宿主细胞中以进行表达。

[0205] 抗 CXCL13 和抗 CXCR5 结合分子, 例如抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物可以非缀合形式使用或可以与多种分子中的至少一种缀合, 例如以改进分子的治疗特性、以促进靶标检测、或用于对患者进行成像或治疗。抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子, 例如抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物可以在纯化之前或之后或者在进行纯化时被标记或缀合。

[0206] 具体来说, 抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物可以与治疗剂、前药、肽、蛋白质、酶、病毒、脂质、生物反应调节剂、药剂或 PEG 缀合。

[0207] 本领域技术人员将了解的是, 缀合物还可以使用多种技术来组装, 这取决于待缀合的所选药剂。举例来说, 例如通过使结合多肽与生物素的活化酯, 如生物素 N-羟基丁二酰亚胺酯反应来制备与生物素的缀合物。类似地, 可以在偶合剂, 例如本文所列的那些偶合剂存在下, 或通过与异硫氰酸酯, 优选地荧光素-异硫氰酸酯反应来制备与荧光标记物的缀合物。以类似的方式制备抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物的缀合物。

[0208] 抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子,例如抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物可以与治疗性部分,如细胞毒素、治疗剂或放射性金属离子缀合。细胞毒素或细胞毒性剂包括对细胞有害的任何药剂。

[0209] 用于使各种部分与抗体,例如抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物缀合的技术是公知的,参见例如 Amon 等人 (1985) “癌症疗法中用于药物的免疫靶向的单克隆抗体 (Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy)”,《单克隆抗体和癌症疗法》(Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy),Reisfeld 等人编著 (Alan R.Liss, Inc.), 第 243-56 页;Hellstrom 等人 (1987) “用于药物递送的抗体 (Antibodies for Drug Delivery)”,《受控药物递送》(Controlled Drug Delivery),Robinson 等人编著 (第 2 版;Marcel Dekker, Inc.), 第 623-53 页;Thorpe (1985) “癌症疗法中细胞毒性剂的抗体载体:综述 (Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy:A Review)”,《单克隆抗体'84:生物学和临床应用》(Monoclonal Antibodies'84:Biological and Clinical Applications),Pinchera 等人编著,第 475-506 页;“癌症疗法中放射性标记的抗体的治疗性使用的分析、结果以及未来前景 (Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy)”,《用于癌症检测和治疗的单克隆抗体》(Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy),Baldwin 等人编著,Academic Press, 第 303-16 页 (1985);以及 Thorpe 等人,Immunol. Rev. 62:119-58 (1982)。

[0210] 制备和向有需要的受试者施用抑制 CXCL13 活性的药剂(例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子)的方法是本领域技术人员公知的或容易由本领域技术人员确定。抑制 CXCL13 活性的药剂(例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子)的施用途径可以是例如口服、肠胃外、通过吸入或局部施用。如本文所用的术语肠胃外包括例如静脉内、动脉内、腹膜内、肌内、皮下、经直肠、或经阴道施用。虽然所有这些施用形式均明确地被考虑落入本发明的范围内,但是施用形式的实例将是用于注射,特别是用于静脉内或动脉内注射或滴注的溶液。通常,用于注射的合适的药物组合物可以包含缓冲剂(例如乙酸盐、磷酸盐或柠檬酸盐缓冲剂)、表面活性剂(例如聚山梨醇酯)、任选的稳定剂(例如人白蛋白)等。然而,在与本文的教导相容的其它方法中,抑制 CXCL13 活性的药剂(例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子)可以被直接递送到不良细胞群体的部位,从而提高病变组织对治疗剂的暴露。

[0211] 如本文所论述,抑制 CXCL13 活性的药剂(例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子)可以药理学有效量施用以在体内治疗炎症性病症以及提高 IgA 的水平。在这方面,将了解的是,抑制 CXCL13 活性的药剂将被配制以有助于活性剂的施用以及促进它的稳定性。在某些实施方案中,根据本发明的药物组合物包含药理学上可接受的无毒的无菌载体,如生理盐水、无毒缓冲剂、防腐剂等。出于本申请的目的,抑制 CXCL13 活性的药剂(例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子)的药理学有效量应当用以意指足以实现与靶标的有效结合以及足以实现益处,例如改善疾病或病症的症状或检测物质或细胞的量。

[0212] 用于本发明中的药物组合物包含药理学上可接受的载体,包括例如离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白如人血清白蛋白、缓冲物质如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质,如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二

钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶态二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇以及羊毛脂。

[0213] 用于肠胃外施用的制剂包括无菌水性或非水性溶液、悬浮液以及乳液。非水性溶剂的实例是丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油,以及可注射的有机酯如油酸乙酯。水性载体包括例如水、醇性/水性溶液、乳液或悬浮液,包括盐水和缓冲介质。在本发明中,药学上可接受的载体包括但不限于 0.01M-0.1M,例如 0.05M 磷酸盐缓冲液或 0.8% 盐水。其它常见的肠胃外媒介物包括磷酸钠溶液、林格氏右旋糖 (Ringer's dextrose)、右旋糖以及氯化钠、乳酸林格氏液 (lactated Ringer's) 或不挥发性油。静脉内媒介物包括体液和营养补充剂、电解质补充剂 (如基于林格氏右旋糖的那些) 等。还可以存在防腐剂和 其它添加剂,例如像抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂以及惰性气体等。

[0214] 更具体地说,适合于注射使用的药物组合物包括无菌水溶液 (在具有水溶性的情况下) 或分散液以及用于临时制备无菌注射溶液或分散液的无菌粉末。在这些情况下,所述组合物必须是无菌的并且应当是流体以达到存在易注射性的程度。它在制造和储存的条件下应当是稳定的并且将优选地经过防腐处理以防止微生物 (如细菌和真菌) 的污染作用。载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇 (例如甘油、丙二醇以及液体聚乙二醇等) 以及其合适的混合物的溶剂或分散介质。可以例如通过使用如卵磷脂的包衣、在分散液的情况下通过维持所需的粒度以及通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。用于本文所公开的治疗方法中的合适的制剂描述于《雷明顿药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences), 马克出版公司 (Mack Publishing Co.), 第 16 版 (1980) 中。

[0215] 可以通过各种抗细菌剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等来实现对微生物作用的预防。在某些情况下,将优选的是,在组合物中包括等渗剂,例如糖、多元醇,如甘露醇、山梨糖醇、或氯化钠。可以通过在组合物中包括延迟吸收剂 (例如单硬脂酸铝和明胶) 来使可注射组合物的吸收延长。

[0216] 在任何情况下,可以通过将活性化合物 (例如抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物单独或与其它活性剂的组合) 以所需量连同本文所列的成分中的一种或组合一起并入适当的溶剂中,在必要时继而进行过滤灭菌来制备无菌可注射溶液。一般来说,通过将活性化合物并入到无菌媒介物中来制备分散液,所述无菌媒介物含有基本分散介质和上文所列的那些成分中的所需的其它成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥,所述方法产生活性成分加上来自其先前无菌过滤的溶液的任何另外的所需成分的粉末。注射用制剂在无菌条件下根据本领域已知的方法被加工,填充到容器,如安瓿、袋、瓶、注射器或小瓶中,并且密封。此外,所述制剂可以试剂盒的形式被包装和出售,如美国专利申请序列号 09/259,337 中所述的那些。这些制品将优选地具有标签或药品说明书,表明相关的组合物可用于治疗患有或易患疾病或病症的受试者。

[0217] 肠胃外制剂可以是单次推注剂量、输注或负荷推注剂量,继而是维持剂量。这些组合物可以特定的固定时间间隔或可变时间间隔施用,例如每天一次,或“按需”施用。

[0218] 用于本发明中的某些药物组合物可以可接受的剂型口服施用,所述剂型包括例如胶囊、片剂、水性悬浮液或溶液。某些药物组合物还可以通过鼻气溶胶或吸入来施用。这些

组合物可以在盐水中利用苯甲醇或其它合适的防腐剂、提高生物利用度的吸收促进剂和/或其它常规的增溶剂或分散剂而制备成溶液。

[0219] 可以与载体材料组合以产生单一剂型的抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子）的量将不同，这取决于所治疗的宿主以及具体的施用方式。所述组合物可以作为单次剂量、多次剂量或在确定时间段内通过输注施用。还可以调整给药方案以提供最佳的所需反应（例如治疗性或防治性反应）。

[0220] 在符合本公开的范围的情况下，抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物）可以根据上述治疗方法以足以产生治疗作用的量向人类或其它动物施用。抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 抗体或抗 CXCR5 抗体、或其抗原结合片段、变体或衍生物）可以常规的剂型向所述人类或其它动物施用，所述常规的剂型是通过根据已知的技术将活性剂与常规的药学上可接受的载体或稀释剂组合来制备的。本领域技术人员将认识到的是，药学上可接受的载体或稀释剂的形式和特征由待与它组合的活性成分的量、施用途径以及其它公知的变量决定。本领域技术人员将进一步了解的是，包含一种或多种抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子）的混合液可以被证明是特别有效的。

[0221] “治疗有效剂量或治疗有效量”或“有效量”意指抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子）在施用时产生积极的治疗反应以治疗患有待治疗的疾病的患者的量。

[0222] 抑制 CXCL13 活性的药剂治疗炎症性病症以及提高 IgA 水平的治疗有效剂量取决于许多不同的因素而不同，包括施用手段、靶标部位、患者的生理状态、患者是人类还是动物、所施用的其它药物以及治疗是防治性的还是治疗性的。通常，患者是人类，但也可以治疗非人类哺乳动物，包括转基因哺乳动物。可以使用本领域技术人员已知的常规方法对治疗剂量进行滴定以优化安全性和功效。

[0223] 鉴于本发明的公开内容，待施用的抑制 CXCL13 活性的至少一种药剂（例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子）的量容易由本领域的普通技术人员来确定而无需过多的实验。影响抑制 CXCL13 活性的至少一种药剂（例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子）的施用方式和对应的量的因素包括但不限于疾病的严重程度、疾病的病史以及接受治疗的个体的年龄、身高、体重、健康情况以及身体状况。类似地，待施用的抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子）的量将取决于施用方式以及受试者将接受这种药剂的单次给药还是多次给药。

[0224] 在一些实施方案中，所施用的抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子）的剂量在约 0.1mg/kg 至约 100mg/kg 的范围内，包括但不限于约 0.1mg/kg、约 0.2mg/kg、约 0.3mg/kg、约 0.4mg/kg、约 0.5mg/kg、约 0.6mg/kg、约 0.7mg/kg、约 0.8mg/kg、约 0.9mg/kg、约 1mg/kg、约 1.5mg/kg、约 2mg/kg、约 2.5mg/kg、约 3mg/kg、约 3.5mg/kg、约 4mg/kg、约 4.5mg/kg、约 5mg/kg、约 5.5mg/kg、约 6mg/kg、约 6.5mg/kg、约 7mg/kg、约 7.5mg/kg、约 8mg/kg、约 8.5mg/kg、约 9mg/kg、约 9.5mg/kg 以及约 10mg/kg。在某些实施方案中，所施用的剂量在约 1mg/kg 至约 10mg/kg 的范围内。在具体实施方案中，向有需要的受试者施用约 4mg/kg 至约 5mg/kg 的抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子）。在这些实施方案中的一些中，经由腹膜内注射施用所述药剂。

[0225] 本发明还提供了抑制 CXCL13 活性的药剂（例如抗 CXCL13 或抗 CXCR5 结合分子）制造用于治疗炎症性病症以及用于提高 IgA 水平的药物的用途。

[0226] 除非另外指示，否则本发明的实施将利用细胞生物学、细胞培养、分子生物学、转基因生物学、微生物学、重组 DNA 以及免疫学的常规技术，这些技术在本领域的技术范围内。这些技术充分阐述于文献中。参见例如 Sambrook 等人编著，(1989)《分子克隆：实验室手册》(Molecular Cloning A Laboratory Manual) (第 2 版；Cold Spring Harbor Laboratory Press)；Sambrook 等人编著，(1992)《分子克隆：实验室手册》(Molecular Cloning:A Laboratory Manual)，(Cold Springs Harbor Laboratory, NY)；D. N. Glover 编著，(1985)《DNA 克隆》(DNA Cloning)，第 I 和 II 卷；Gait 编著，(1984)《寡核苷酸合成》(Oligonucleotide Synthesis)；Mullis 等人的美国专利号 4,683,195；Hames 和 Higgins 编著，(1984)《核酸杂交》(Nucleic Acid Hybridization)；Hames 和 Higgins 编著，(1984)《转录与翻译》(Transcription And Translation)；Freshney(1987)《动物细胞培养》(Culture Of Animal Cells) (Alan R. Liss, Inc.)；《固定的细胞和酶》(Immobilized Cells And Enzymes) (IRL Press) (1986)；Perbal(1984)，《分子克隆实践指南》(A Practical Guide To Molecular Cloning)；论文《酶学方法》(Methods In Enzymology) (Academic Press, Inc., N. Y.)；Miller 和 Calos 编著 (1987)《用于哺乳动物细胞的基因转移载体》(Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells)，(Cold Spring Harbor Laboratory)；Wu 等人编著，《酶学方法》(Methods In Enzymology)，第 154 和 155 卷；Mayer 和 Walker 编著，(1987)《细胞和分子生物学的免疫化学方法》(Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology) (Academic Press, London)；Weir 和 Blackwell 编著，(1986)《实验免疫学手册》(Handbook Of Experimental Immunology)，第 I-IV 卷；《小鼠胚胎操作》(Manipulating the Mouse Embryo)，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.，(1986)；以及 Ausubel 等人 (1989)《最新分子生物学实验方法汇编》(Current Protocols in Molecular Biology) (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)。

[0227] 抗体工程化的一般原理阐述于 Borrebaeck 编著，(1995)《抗体工程化》(Antibody Engineering) (第 2 版；Oxford Univ. Press) 中。蛋白质工程化的一般原理阐述于 Rickwood 等人编著。(1995)《蛋白质工程化：实践方法》(Protein Engineering, A Practical Approach) (英国牛津的牛津大学出版社的 IRL 出版公司 (IRL Press, Oxford Univ. Press, Oxford, Eng.)) 中。抗体和抗体-半抗原结合的一般原理阐述于以下文献中：Nisonoff(1984)《分子免疫学》(Molecular Immunology) (第 2 版；Sinauer Associates, Sunderland, Mass.)；以及 Steward(1984)《抗体、它们的结构和功能》(Antibodies, Their Structure and Function) (Chapman and Hall, New York, N. Y.)。此外，一般遵循本领域已知的并且没有具体描述的标准免疫学方法，如以下文献中所述：《最新免疫学实验方法汇编》(Current Protocols in Immunology)，John Wiley&Sons, New York；Stites 等人编著 (1994)《基础和临床免疫学》(Basic and Clinical Immunology) (第 8 版；Appleton&Lange, Norwalk, Conn.)；以及 Mishell 和 Shiigi (编著) (1980)《细胞免疫学精选方法》(Methods in Cellular Immunology) (W. H. Freeman and Co., NY)。

[0228] 阐述免疫学的一般原理的标准参考书包括《最新免疫学实验方法汇编》(Current Protocols in Immunology)，John Wiley&Sons, New York；Klein(1982) J.，《免疫学：自

身-非自身区分的科学》(Immunology:The Science of Self-Nonself Discrimination)(John Wiley&Sons, NY);Kennett 等人编著,(1980)《单克隆抗体、杂交瘤:生物学分析的新领域》(Monoclonal Antibodies,Hybridoma:A New Dimension in Biological Analyses)(Plenum Press, NY);Campbell(1984)“单克隆抗体技术(Monoclonal Antibody Technology)”,《生化和分子生物学实验室技术》(Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology),Burden 等人编著,(Elsevier, Amsterdam);Goldsby 等人编著,(2000)《库比免疫学》(Kuby Immunology)(第4版;H.Freeman&Co.);Roitt 等人(2001)《免疫学》(Immunology)(第6版;London: Mosby);Abbas 等人(2005)《细胞和分子免疫学》(Cellular and Molecular Immunology)(第5版;Elsevier Health Sciences Division);Kontermann 和 Dubel(2001)《抗体工程化》(Antibody Engineering)(Springer Verlag);Sambrook 和 Russell(2001)《分子克隆:实验室手册》(Molecular Cloning:A Laboratory Manual)(Cold Spring Harbor Press);Lewin(2003)《基因 VIII》(Genes VIII)(Prentice Hall2003);Harlow 和 Lane(1988)《抗体:实验室手册》(Antibodies:A Laboratory Manual)(Cold Spring Harbor Press);Dieffenbach 和 Dveksler(2003)《PCR入门》(PCR Primer)(Cold Spring Harbor Press)。

[0229] 要指出的是,术语“一个(种)(a/an)”实体指的是一个(种)或多个(种)该实体;例如,“抗 CXCL13 抗体”被理解成表示一种或多种抗 CXCL13 抗体。因而,术语“一个(种)(a/an)”、“一个(种)或多个(种)”以及“至少一个(种)”在本文中可互换使用。

[0230] 本文所使用的所有技术和科学术语具有相同的含义。已经努力确保所用数字(例如量、温度等)的准确度,但应当考虑到一些实验误差和偏差。

[0231] 在整个本说明书和权利要求书中,除非上下文另有要求,否则词语“包含(comprise)”、“包含(comprises)”以及“包含(comprising)”在非排他性意义上使用。

[0232] 如本文所用的术语“约”在提到值时意指涵盖相对于规定量在一些实施方案中有 $\pm 50\%$ 、在一些实施方案中有 $\pm 20\%$ 、在一些实施方案中有 $\pm 10\%$ 、在一些实施方案中有 $\pm 5\%$ 、在一些实施方案中有 $\pm 1\%$ 、在一些实施方案中有 $\pm 0.5\%$ 以及在一些实施方案中有 $\pm 0.1\%$ 的变化,这是因为这样的变化对于执行所公开的方法或利用所公开的组合物来说是适当的。

[0233] 在提供值的范围的情况下,应当了解的是,除非上下文另外明确规定,否则所述范围的上限和下限以及该所述范围中的任何其它所述值或中间值之间的直到下限单位的十分之一的每一个中间值均被涵盖在本发明内。可以独立地被包括在较小范围内的这些小范围的上限和下限也被涵盖在本发明内,受限于所述范围中任何具体排除的限值。在所述范围包括这些限值中的一个或两个的情况下,不包括那些所包括的限值中的任何一个或两个的范围也被包括在本发明中。

[0234] 以说明的方式而不是以限制的方式提供以下实施例。

[0235] 实验

[0236] 实施例 1:在螺杆菌感染小鼠模型中评价抗 CXCL13 抗体

[0237] 螺杆菌感染鼠类模型:诸如海尔曼螺杆菌和幽门螺杆菌之类的螺杆菌属菌种诱发患者的胃 MALT 淋巴瘤。螺杆菌诱发的胃淋巴滤泡的小鼠模型描述在 Nobutani 等人(2010) FEMS Immunol Med Microbiol 60:156-164 中,该文献以引用的方式整体并入本文。在本文

使用 Nobutani 等人的小鼠模型以测试抗 CXCL13 抗体降低该组织中的感染负荷的作用,所述感染负荷意指细菌的滴度。使 C57BL/6J 小鼠 (n = 5) 经口感染猪螺杆菌。从感染后的一周开始,小鼠每周一次接受 0.6mg (腹膜内) 同种型抗体对照 (MAb 2510) 或抗 CXCL13 抗体 (MAb 5378),持续十二周。

[0238] 在猪螺杆菌感染后的十二周时,将小鼠处死。通过 PCR 评价来自小鼠的胃样品中作为猪螺杆菌感染的相对水平的量度的猪螺杆菌特异性 16s rRNA 基因的表达。猪螺杆菌特异性 16s rRNA 基因 PCR 引物显示如下:

[0239] F:5'-TTGGGAGGCTTTGTCTTTCCA-3' (SEQ ID NO:22)

[0240] R:5'-GATTAGCTCTGCCTCGCGGCT-3' (SEQ ID NO:23)

[0241] PCR 扩增反应涉及 1× 反应缓冲液 [20mM Tris/HCl (pH 8.0)、100mM KCl、0.1mM EDTA、1mM DTT、0.5% Tween-20、0.5% 诺乃 (Nonidet)P40 以及 50% 甘油],所述缓冲液在 50 μl 的最终体积中含有 1 单位的 Taq DNA 聚合酶 (日本大阪的东洋纺株式会社 (TOYOBO, Osaka, Japan));10nmol 的每一种三磷酸脱氧核苷酸;10pmol 的每一种寡核苷酸引物;以及 1 μl 的稀释了的 DNA,所述稀释了的 DNA 是通过以约 20-100ng/μl 的 DNA 浓度 1:10 稀释原始样品而制得。16s rRNA 反应的循环条件涉及 94℃ 持续 30 秒、56℃ 持续 30 秒以及 72℃ 持续 30 秒的 35 个循环。

[0242] 抗 CXCL13 抗体降低受螺杆菌感染的小鼠的滴度。通过实时定量 PCR 测定在接受抗 CXCL13 抗体或同种型对照抗体处理的受猪螺杆菌感染的小鼠的胃粘膜中猪螺杆菌的相对数目。图 1 中的这些结果显示在接受抗 CXCL13 抗体处理的受感染的小鼠的胃中猪螺杆菌的滴度降低。

[0243] 抗 CXCL13 抗体诱导受猪螺杆菌感染的小鼠的胃淋巴滤泡中的 TGF-β 和 IL-6。通过逆转录 PCR 测定受猪螺杆菌感染的小鼠在接受同种型对照或抗 CXCL13 抗体 (mAb 5378) 处理之后胃粘膜中 TGF-β 和 IL-6 mRNA 的 mRNA 表达水平。将胃的粘膜层和粘膜下层从肌层和浆膜层中取出,然后用 1ml TRIZOL 试剂 (英杰公司 (Invitrogen)) 匀浆。根据制造商的说明书从匀浆中提取 RNA。使用大容量 cDNA 逆转录试剂盒 (High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit) (加利福尼亚州福斯特城的应用生物系统公司 (Applied Biosystems, Foster City, CA)),根据制造商的方案对 RNA 进行逆转录反应,并且使用 Power SYBR 绿色 PCR 主混合物 (Power SYBR Green PCR Master Mix) (应用生物系统公司) 根据制造商的说明书进行定量 PCR。为了允许对 RNA 表达水平进行相对比较,将来自定量 PCR 的数据针对作为内源性对照的 β-肌动蛋白 cDNA 的量归一化。用于定量 PCR 的特异性引物对 (日本札幌的北海道系统科学有限公司 (Hokkaido System Science Co. Ltd., Sapporo, Japan)) 如下:

[0244] TGF-β 正义引物:5'-TCTTGGTCCAGATCACAACTTCA-3' (SEQ ID NO:24)

[0245] TGF-β 反义引物:5'-CACTGATACGCCTGAGTGR-3' (SEQ ID NO:25)

[0246] IL-6 正义引物:5'-GTGAGCGCTGAATCGAAA-3' (SEQ ID NO:26)

[0247] IL-6 反义引物:5'-GAGGATACCACTCCCAACAGACC-3' (SEQ ID NO:27)

[0248] β-肌动蛋白正义引物:5'-ATCACTGACGCTGATTGCAC-3' (SEQ ID NO:28)

[0249] β-肌动蛋白反义引物:5'-AAGCCAACCGTGAAAAGAT-3' (SEQ ID NO:29)

[0250] 定量实时 PCR 涉及将胃的粘膜层和粘膜下层用 1ml 的 TRIZOL 试剂 (英杰公司) 匀

浆,并且根据制造商的说明书从匀浆中提取 RNA。然后使用大容量 cDNA 逆转录试剂盒(加利福尼亚州福斯特城的应用生物科学公司),根据制造商的说明书对 RNA 进行逆转录反应,并且使用 Power SYBR 绿色 PCR 主混合物(加利福尼亚州福斯特城的应用生物科学公司)和 ABI Prism 7500 实时 PCR 系统(加利福尼亚州福斯特城的应用生物科学公司)根据制造商的说明书进行定量实时 PCR。为了允许对 RNA 表达水平进行相对比较,将来自实时 PCR 的数据针对作为内源性对照的  $\beta$ -肌动蛋白 cDNA 的量归一化。

[0251] 图 2A 和 2B 分别示出了受猪螺杆菌感染的小鼠在接受同种型对照或抗 CXCL13 抗体(MAb 5378)处理之后胃中 TGF- $\beta$  和 IL-6 mRNA 的表达。这些结果显示与接受同种型对照处理的小鼠和未受感染的小鼠相比,接受抗 CXCL13 抗体处理的受猪螺杆菌感染的小鼠的 TGF- $\beta$  和 IL-6 这两者的 mRNA 的表达显著增加。有趣的是,未受感染的小鼠的胃中 TGF- $\beta$  和 IL-6 的表达水平也由抗 CXCL13 抗体(MAb 5378)处理显著诱导(数据未示)。

[0252] 由于 TGF- $\beta$  和 IL-6 可以提高 IgA 的表达,因此这些结果表明在受猪螺杆菌感染的小鼠的胃中,猪螺杆菌特异性 IgA 可以通过抗 CXCL13 抗体处理而上调。因此,使用抗 CXCL13 抗体对受猪螺杆菌感染的小鼠进行处理可能引起对猪螺杆菌定殖的抑制,所述抑制是通过激活 TGF- $\beta$  和 IL-6 依赖性途径来诱导猪螺杆菌特异性 IgA 来实现的。

[0253] 抗 CXCL13 抗体处理提高受螺杆菌感染的小鼠的胃淋巴滤泡中 IgA 的分泌。在猪螺杆菌感染后三个月时切除小鼠的胃并且在胃大弯处打开。来自未受感染的野生型小鼠、接受同种型对照和接受抗 CXCL13 抗体(MAb 5378)处理的小鼠的胃样品中 IgA 和肌动蛋白的免疫荧光染色(数据未示)显示与对照处理相比,接受抗 CXCL13 抗体处理的受猪螺杆菌感染的小鼠的胃淋巴滤泡中 IgA 分泌增加。

[0254] 在猪螺杆菌感染后小鼠的血清和胃液中抗猪螺杆菌特异性 IgG 和 IgA 的水平。为了检测血清和胃液中的猪螺杆菌特异性 IgG,将胃液在 4°C 以 16,000 $\times$ g 离心 5 分钟,并且收集所得上清液。通过在 4°C 以 15,000 $\times$ g 离心 10 分钟从血液中分离血清。将九十六孔培养板在 4°C 用含有 100  $\mu$ g/ml 幽门螺杆菌裂解物的 100  $\mu$ l 碳酸氢盐溶液(pH 9.6)涂覆过夜,并且通过在 37°C 添加含 1.5% (重量/体积) BSA 的 PBS,持续 1 小时来封闭。将分别 1:200 和 1:15 稀释的血清和胃液添加到培养板中,继而添加 100  $\mu$ l 在含有 0.2% (重量/体积) BSA 的 PBST 中 1:5,000 稀释的与 HRP 缀合的山羊抗小鼠 IgG 抗体(加利福尼亚州赫拉克勒斯的伯乐实验室公司(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA))和抗小鼠 IgA。通过添加邻苯二胺底物来检测结合的抗体,并且对在 490nm 处的吸光度进行测量。

[0255] 测量了受猪螺杆菌感染的小鼠的血清和胃液中抗猪螺杆菌特异性 IgG 和 IgA 的水平。图 3A 和 4A 示出了虽然在血清和胃液中猪螺杆菌的感染诱导了抗猪螺杆菌特异性 IgG,但是在接受抗 CXCL13 抗体(MAb5378)和接受同种型对照抗体处理的小鼠的血清或胃液中抗猪螺杆菌特异性 IgG 的水平不存在差异。图 3B 和 4B 示出了在血清和胃液中猪螺杆菌的感染诱导了抗猪螺杆菌特异性 IgA。虽然在接受抗 CXCL13 抗体和接受同种型对照抗体处理的小鼠的血清中抗猪螺杆菌特异性 IgA 的水平不存在显著性差异,但是与接受同种型对照抗体处理的小鼠相比,在接受抗 CXCL13 抗体处理的小鼠的胃液中抗猪螺杆菌特异性 IgA 的水平显著更高。这些结果表明抑制由受感染的组织的炎症细胞产生的 CXCL13 会使得对感染因子具有特异性的 IgA 增加并且与对该细菌感染的清除率提高有关。

[0256] 上述对具体实施方案的说明将如此充分地揭示了本发明的一般性质以使得他人

可以在不需要过多的实验的情况下容易地通过应用本领域技术范围内的知识来针对各种应用修改和 / 或改动这些具体的实施方案而不脱离本发明的总体构思。因此,基于本文所呈现的教导和指导,这些改动和修改意图落入所公开的实施方案的等同物的含义和范围内。应当了解的是,本文中的措词或术语是为了说明的目的而不具有限制性,因此本说明书的术语或措词将由本领域技术人员根据所述教导和指导来解释。

[0257] 本文所阐述的发明的许多修改方案和其它实施方案将由已经获益于上述说明和相关附图中所呈现的教导的这些发明所属领域的技术人员所想到。因此,应当了解的是,本发明不限于所公开的具体实施方案并且修改方案和其它实施方案意图被包括在所附权利要求书的范围内。尽管在本文使用了特定的术语,但它们仅在一般的和描述性的意义上使用并且不是为了限制的目的。

[0258] 本说明书中所提及的所有出版物和专利申请表明了本发明所属领域的技术人员的水平。所有出版物和专利申请以引用的方式并入本文,其引用的程度就如同具体地和单独地表明每一篇单独的出版物或专利申请以引用方式并入本文一般。

[0001]

序列表

<110> 莫里斯·扎德尔  
 吉田 胜  
 山本 浩司  
 欧内斯特·S·史密斯

<120> 用于提高免疫球蛋白A水平的方法

<130> 15C81159CN

<150> 61/759,108  
 <151> 2013-01-31

<160> 29

<170> 用于Windows 4.0版的FastSEQ

<210> 1  
 <211> 1201  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (79)... (408)

<400> 1  
 gagaagatgt ttgaaaaaac tgactctgct aatgagcctg gactcagagc tcaagtctga 60  
 actctaccctc cagacaga atg aag ttc atc tcg aca tct ctg ctt etc atg 111  
 Met Lys Phe Ile Ser Thr Ser Leu Leu Leu Met  
 1 5 10

ctg ctg gtc agc agc ctc tct cca gtc caa ggt gtt ctg gag gtc tat 159  
 Leu Leu Val Ser Ser Leu Ser Pro Val Gln Gly Val Leu Glu Val Tyr  
 15 20 25

tac aca agc ttg agg tgt aga tgt gtc caa gag agc tca gtc ttt atc 207  
 Tyr Thr Ser Leu Arg Cys Arg Cys Val Gln Glu Ser Ser Val Phe Ile  
 30 35 40

cct aga cgc ttc att gat cga att caa atc ttg ccc cgt ggg aat ggt 255  
 Pro Arg Arg Phe Ile Asp Arg Ile Gln Ile Leu Pro Arg Gly Asn Gly  
 45 50 55

tgt cca aga aaa gaa atc ata gtc tgg aag aag aac aag tca att gtg 303  
 Cys Pro Arg Lys Glu Ile Ile Val Trp Lys Lys Asn Lys Ser Ile Val  
 60 65 70 75

tgt gtg gac cct caa get gaa tgg ata caa aga atg atg gaa gta ttg 351  
 Cys Val Asp Pro Gln Ala Glu Trp Ile Gln Arg Met Met Glu Val Leu  
 80 85 90

aga aaa aga agt tct tca act cta cea gtt cea gtg ttt aag aga aag 399  
 Arg Lys Arg Ser Ser Ser Thr Leu Pro Val Pro Val Phe Lys Arg Lys  
 95 100 105

att ccc tga tgetgatatt tecaetaaga acacctgeat tcttcetta 448  
 Ile Pro

tccctgetct ggattttagt tttgtgetta gttaaatctt ttcaggaaa aagaacttcc 508  
 ccatacaaat aagcatgaga ctatgtaaaa ataaccttgc agaagctgat ggggcaact 568

[0002]

```

:caagcttctt cactcacagc acctatata cacttggagt ttgcattctt attcatcagg 628
:gaggaaggtt tctttgaaaa tagttattca gttataagta atacaggatt attttgatta 688
:tatacttggt gtttaatggt taaaatttct tagaaaacaa tggaatgaga atttaagcct 748
:caaatitgaa caigtggctt gaattaaagaa gaaaattatg gcatatata aaagcaggct 808
:tctatgaaag actcaaaaag ctgcctggga ggcagatgga acttgagcct gtcaagagge 868
:aaaggaatee atgtagtaga tatcctctgc ttaaaaacte actacggagg agaattaagt 928
:ectactttta aagaatttct ttataaaaatt tacigtetaa gattaatage attegaagat 988
:ccccagactt catagaatac tcagggaaag catttaaagg gtgatgtaca catgtatect 1048
:ttcacacatt tgccttgaca aacttcttte actcacatct ttttactga ctttttttgt 1108
:gggggggggg gccgggggga ctcfggtate taattcttta atgattecta taaatetaat 1168
:gacattcaat aaagttgagc aaacatttta ctt 1201

```

<210> 2  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 2  
 Met Lys Phe Ile Ser Thr Ser Leu Leu Leu Met Leu Leu Val Ser Ser  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Pro Val Gln Gly Val Leu Glu Val Tyr Tyr Thr Ser Leu Arg  
 20 25 30  
 Cys Arg Cys Val Gln Glu Ser Ser Val Phe Ile Pro Arg Arg Phe Ile  
 35 40 45  
 Asp Arg Ile Gln Ile Leu Pro Arg Gly Asn Gly Cys Pro Arg Lys Glu  
 50 55 60  
 Ile Ile Val Trp Lys Lys Asn Lys Ser Ile Val Cys Val Asp Pro Gln  
 65 70 75 80  
 Ala Glu Trp Ile Gln Arg Met Met Glu Val Leu Arg Lys Arg Ser Ser  
 85 90 95  
 Ser Thr Leu Pro Val Pro Val Phe Lys Arg Lys Ile Pro  
 100 105

<210> 3  
 <211> 1162  
 <212> DNA  
 <213> 小家鼠

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (33)... (362)

<400> 3  
 gagctaaagg ttgaactcca cctccaggea ga atg agg ctc agc aca gca acg 53  
 Met Arg Leu Ser Thr Ala Thr  
 1 5  
 etg ctt ctc ctc ctg gcc agc tgc ctc tet cca ggc cac ggt att etg 101  
 Leu Leu Leu Leu Ala Ser Cys Leu Ser Pro Gly His Gly Ile Leu  
 10 15 20  
 gaa gcc cat tac aca aac tta aaa tgt agg tgt tet gga gtg att tca 149  
 Glu Ala His Tyr Thr Asn Leu Lys Cys Arg Cys Ser Gly Val Ile Ser  
 25 30 35  
 act gtt gtc ggt cta aac atc ata gat egg att caa gtt acg ccc cct 197  
 Thr Val Val Gly Leu Asn Ile Ile Asp Arg Ile Gln Val Thr Pro Pro  
 40 45 50 55  
 ggg aat ggc tgc ccc aaa act gaa gtt gtg atc tgg acc aag atg aag 245  
 Gly Asn Gly Cys Pro Lys Thr Glu Val Val Ile Trp Thr Lys Met Lys  
 60 65 70  
 aaa gtt ata tgt gtg aat cct cgt gcc aaa tgg tta caa aga tta tta 293

[0003]

Lys Val Ile Cys Val Asn Pro Arg Ala Lys Trp Leu Gln Arg Leu Leu  
 75 80 85  
 aga cat gtc caa agc aaa agt ctg tet tea act ccc caa get cca gtg 341  
 Arg His Val Gln Ser Lys Ser Leu Ser Ser Thr Pro Gln Ala Pro Val  
 90 95 100  
 agt aag aga aga gct gcc tga agccactatc atctcaaaag acacacctgc 392  
 Ser Lys Arg Arg Ala Ala  
 105  
 accttttttt ttatecctgc tetgaatttt agatattgttc ttagttaaag aatttccaag 452  
 aaaataacte cccetctaca acaaacatga ctgtaggtaa aacaaagcaa aaacaacaa 512  
 gcaaacaaac aaactaaaaa aaacccaate ctgcaggagc tgagagggaa tgctcaagct 572  
 ccgttgcata cccaaccac atccttggtc ctttagaaaag gctatttgag aacaggcatt 632  
 tagtgacaac ccacttcaga tgcattggtt aatagatctg ttgtttaatg ttaactatc 692  
 ctatattgic gaggaatgaa aaacctacat gtcaaaatgig aactlgtage lcgtaetaac 752  
 aagaggtttg cgagatggac ttcagttatt ttgcaccctt gtaaaacgea ggcttccaaa 812  
 atagtctcca gaagttcctt ggaagctgg tgcaatgcca tcatgaggtg gtgcaagca 872  
 ggtctccttt agagaaaage ttctggggg aaacagctct acittgaaag gttgettga 932  
 taagatttat tgtcttgc ataaaaccagt aacaattgaa agatectcag cttaaaggtc 992  
 caggctcttc agcagtatac aatatattc ctttgactg tgacctgat gatctatatt 1052  
 tattattcat atctttcaca cagacaaaat accagctct tgtatcagat tctttaatgt 1112  
 ttctattea tctggtgtea ticaataaat gtaatcaaat gitttgetta 1162

<210> 4  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 小家鼠

<400> 4  
 Met Arg Leu Ser Thr Ala Thr Leu Leu Leu Leu Ala Ser Cys Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Pro Gly His Gly Ile Leu Glu Ala His Tyr Thr Asn Leu Lys Cys  
 20 25 30  
 Arg Cys Ser Gly Val Ile Ser Thr Val Val Gly Leu Asn Ile Ile Asp  
 35 40 45  
 Arg Ile Gln Val Thr Pro Pro Gly Asn Gly Cys Pro Lys Thr Glu Val  
 50 55 60  
 Val Ile Trp Thr Lys Met Lys Lys Val Ile Cys Val Asn Pro Arg Ala  
 65 70 75 80  
 Lys Trp Leu Gln Arg Leu Leu Arg His Val Gln Ser Lys Ser Leu Ser  
 85 90 95  
 Ser Thr Pro Gln Ala Pro Val Ser Lys Arg Arg Ala Ala  
 100 105

<210> 5  
 <211> 82  
 <212> PRT  
 <213> 食蟹猴

<400> 5  
 Val Leu Glu Val Tyr Tyr Thr His Leu Arg Cys Arg Cys Val Gln Glu  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Val Phe Ile Pro Arg Arg Phe Ile Asp Arg Ile Gln Ile Ser  
 20 25 30  
 Pro Arg Gly Asn Gly Cys Pro Arg Lys Glu Ile Ile Val Trp Lys Lys  
 35 40 45  
 Asn Lys Ser Val Val Cys Val Asp Pro Gln Ala Glu Trp Ile Gln Arg  
 50 55 60  
 Ile Met Glu Met Leu Arg Lys Lys Ser Ser Ser Thr Pro Pro Val Pro  
 65 70 75 80  
 Val Phe

[0004]

```

<210> 6
<211> 2902
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (177)... (1295)

<400> 6
aaaaaaaaa agtgaigagt tgtgaggcag gtcgcgcccc tactgectca ggagacgatg 60
cgcagcteat ttgcitaaat ttgcagctga cggetgccac ctctctagag gcacctggcg 120
gggagcctct caacataaga cagtgaccag tctgggtgact cacagccggc acagcc atg 179
Met
1

aac tac ccg cta acg ctg gaa atg gac ctc gag aac ctg gag gac ctg 227
Asn Tyr Pro Leu Thr Leu Glu Met Asp Leu Glu Asn Leu Glu Asp Leu
5 10 15

ttc tgg gaa ctg gac aga ttg gac aac tat aac gac acc tcc ctg gtg 275
Phe Trp Glu Leu Asp Arg Leu Asp Asn Tyr Asn Asp Thr Ser Leu Val
20 25 30

gaa aat cat ctc tgc cct gcc aca gag ggg ccc ctc atg gcc tcc ttc 323
Glu Asn His Leu Cys Pro Ala Thr Glu Gly Pro Leu Met Ala Ser Phe
35 40 45

aag gcc gtg ttc gtg ccc gtg gcc tac agc ctc atc ttc ctc ctg ggc 371
Lys Ala Val Phe Val Pro Val Ala Tyr Ser Leu Ile Phe Leu Leu Gly
50 55 60 65

gtg atc ggc aac gtc ctg gtg ctg gtg atc ctg gag egg cac egg eag 419
Val Ile Gly Asn Val Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg His Arg Gln
70 75 80

aca cgc agt tcc acg gag acc ttc ctg ttc cac ctg gcc gtg gcc gac 467
Thr Arg Ser Ser Thr Glu Thr Phe Leu Phe His Leu Ala Val Ala Asp
85 90 95

ctc ctg ctg gtc ttc atc ttg ccc ttt gcc gtg gcc gag ggc tet gtg 515
Leu Leu Leu Val Phe Ile Leu Pro Phe Ala Val Ala Glu Gly Ser Val
100 105 110

ggc tgg gtc ctg ggg acc ttc ctc tgc aaa act gtg att gcc ctg cac 563
Gly Trp Val Leu Gly Thr Phe Leu Cys Lys Thr Val Ile Ala Leu His
115 120 125

aaa gtc aac ttc tac tgc agc agc ctg ctc ctg gcc tgc atc gcc gtg 611
Lys Val Asn Phe Tyr Cys Ser Ser Leu Leu Leu Ala Cys Ile Ala Val
130 135 140 145

gac cgc tac ctg gcc att gtc cac gcc gtc cat gcc tac cgc cac cgc 659
Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val His Ala Tyr Arg His Arg
150 155 160

cgc ctc ctc tcc atc cae atc acc tgt ggg acc atc tgg ctg gtg ggc 707
Arg Leu Leu Ser Ile His Ile Thr Cys Gly Thr Ile Trp Leu Val Gly
165 170 175

ttc ctc ett gcc ttg cca gag att ctc ttc gcc aaa gtc agc caa ggc 755
Phe Leu Leu Ala Leu Pro Glu Ile Leu Phe Ala Lys Val Ser Gln Gly
180 185 190

```

[0005]

cat cac aac aac tcc ctg cca cgt tgc acc ttc tcc caa gag aac caa His His Asn Asn Ser Leu Pro Arg Cys Thr Phe Ser Gln Glu Asn Gln 195 200 205	803
gca gaa acg cat gcc tgg ttc acc tcc cga ttc ctc tac cat gtg gcg Ala Glu Thr His Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr His Val Ala 210 215 220 225	851
gga ttc ctg ctg ccc atg ctg gtg atg ggc tgg tgc tac gtg ggg gta Gly Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr Val Gly Val 230 235 240	899
gtg cac agg ttg cgc cag gcc cag cgg cgc cct cag cgg cag aag gca Val His Arg Leu Arg Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg Gln Lys Ala 245 250 255	947
gtc agg gtg gcc atc ctg gtg aca agc atc ttc ttc ctc tgc tgg tca Val Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu Cys Trp Ser 260 265 270	995
ccc tac cac atc gtc atc ttc ctg gac acc ctg gcg agg ctg aag gcc Pro Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Ala Arg Leu Lys Ala 275 280 285	1043
gtg gac aat acc tgc aag ctg aat ggc tct ctc ccc gtg gcc atc acc Val Asp Asn Thr Cys Lys Leu Asn Gly Ser Leu Pro Val Ala Ile Thr 290 295 300 305	1091
atg tgt gag ttc ctg ggc ctg gcc cac tgc tgc ctc aac ccc atg ctc Met Cys Glu Phe Leu Gly Leu Ala His Cys Cys Leu Asn Pro Met Leu 310 315 320	1139
tac act ttc gcc ggc gtg aag ttc cgc agt gac ctg tgc cgg ctc ctg Tyr Thr Phe Ala Gly Val Lys Phe Arg Ser Asp Leu Ser Arg Leu Leu 325 330 335	1187
acg aag ctg ggc tgt acc ggc cct gcc tcc ctg tgc cag ctc ttc cct Thr Lys Leu Gly Cys Thr Gly Pro Ala Ser Leu Cys Gln Leu Phe Pro 340 345 350	1235
age tgg cgc agg agc agt ctc tct gag tca gag aat gcc acc tct ctc Ser Trp Arg Arg Ser Ser Leu Ser Glu Ser Glu Asn Ala Thr Ser Leu 355 360 365	1283
acc acg ttc tag gtcccagtgt ccccttttat tgetgettitt ccttggggca Thr Thr Phe 370	1335
ggcagtgat ctggatgctc ctccaacag gagctgggat cetaaggget caccgtggct aagagtgtcc taggagtatc ctcatttggg gtagctagag gaaccaacce ccatttctag aacatccecly ccagctcttc tgcgggccel ggggctagge tggagccag ggagcggaaa gcagctcaaa ggcacagtga aggetgtcet taccatctg cacccectg ggetgagaga acctcagca cctcccatec taatcateca atgctcaaga aacaacttet acttetgecc ttgccaacgg agagcctg cccctcccag aacacactcc atcagcttag gggetgtgta ctccacagc ttcccctctc tctcctgcc cactgtcaa acaaagecag aagctgagca ccaggggatg agtggaggtt aaggctgagg aaaggccagc tggcagcaga gtgtggcctt cggacaactc agtccctaaa aacacagaca ttctgccagg cccccaagcc tgcagtcac ttgaccnagc aggaagctca gactggttga gtteaggtag ctgccctgg ctctgaccga aacagegtg ggtccacccc atgtcacegg atcttgggtg gctgagcagc agggctgact ctaggtgccc ttggaggcca gccagtgacc tgaggaagcg tgaaggcca gaagcaagaa cgaacccca cagaggaag aaaagactt tcttcccga ccccaaggag ggagatggat caatcaaac ccgggtccc ctccgceagg ctgagatggg tgggtggag aactctagg gtggctgggt ccagggatg ggaggttgt gccattgat ggaaggagg ctggettgtc ccctctcac tccctccca taagctatag acccaggaa actcagagtc ggaacggaga	1395 1455 1515 1575 1635 1695 1755 1815 1875 1935 1995 2055 2115 2175 2235 2295

[0006]

aaggtggact ggaaggggcc cgtgggagtc atctcaacca tccctccgt ggcacacct 2355  
 taggcagggg agtgtaagaa acacactgag gcagggaagt ccccaggccc caggaagccg 2415  
 tgccctgccc ccgtgaggat gteacteaga tggaaaccga ggaagetget ccgtgettgt 2475  
 ttgctcacct ggggtgtggg aggcccgtcc ggcagttctg ggtgctccct accacctccc 2535  
 cagcctttga tcagggtgggg agtcaggggac ccctgccctt gtcccactca agccaagcag 2595  
 ccaagetcct tgggagggccc caetggggaa ataacagctg tggetcaegt gagagtgtct 2655  
 tcacggcagg acaacgagga agccctaaga cgtcccttll lletctgagt atctctcgc 2715  
 aagctgggta atcgatgggg gagtctgag cagatgcaaa gaggcaagag gctggatttt 2775  
 gaattttctt ttttaataaaa aggcacctat aaaacaggtc aatacagtac aggeagcaca 2835  
 gagacccccc gaacaagcct aaaaattgtl tcaaaaataaa aaccaagaag atgtcttcc 2895  
 atattgt 2902

<210> 7  
 <211> 372  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 7

Met Asn Tyr Pro Leu Thr Leu Glu Met Asp Leu Glu Asn Leu Glu Asp  
 1 5 10 15  
 Leu Phe Trp Glu Leu Asp Arg Leu Asp Asn Tyr Asn Asp Thr Ser Leu  
 20 25 30  
 Val Glu Asn His Leu Cys Pro Ala Thr Glu Gly Pro Leu Met Ala Ser  
 35 40 45  
 Phe Lys Ala Val Phe Val Pro Val Ala Tyr Ser Leu Ile Phe Leu Leu  
 50 55 60  
 Gly Val Ile Gly Asn Val Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg His Arg  
 65 70 75 80  
 Gln Thr Arg Ser Ser Thr Glu Thr Phe Leu Phe His Leu Ala Val Ala  
 85 90 95  
 Asp Leu Leu Leu Val Phe Ile Leu Pro Phe Ala Val Ala Glu Gly Ser  
 100 105 110  
 Val Gly Trp Val Leu Gly Thr Phe Leu Cys Lys Thr Val Ile Ala Leu  
 115 120 125  
 His Lys Val Asn Phe Tyr Cys Ser Ser Leu Leu Leu Ala Cys Ile Ala  
 130 135 140  
 Val Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val His Ala Tyr Arg His  
 145 150 155 160  
 Arg Arg Leu Leu Ser Ile His Ile Thr Cys Gly Thr Ile Trp Leu Val  
 165 170 175  
 Gly Phe Leu Leu Ala Leu Pro Glu Ile Leu Phe Ala Lys Val Ser Gln  
 180 185 190  
 Gly His His Asn Asn Ser Leu Pro Arg Cys Thr Phe Ser Gln Glu Asn  
 195 200 205  
 Gln Ala Glu Thr His Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr His Val  
 210 215 220  
 Ala Gly Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr Val Gly  
 225 230 235 240  
 Val Val His Arg Leu Arg Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg Gln Lys  
 245 250 255  
 Ala Val Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu Cys Trp  
 260 265 270  
 Ser Pro Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Ala Arg Leu Lys  
 275 280 285  
 Ala Val Asp Asn Thr Cys Lys Leu Asn Gly Ser Leu Pro Val Ala Ile  
 290 295 300  
 Thr Met Cys Glu Phe Leu Gly Leu Ala His Cys Cys Leu Asn Pro Met  
 305 310 315 320  
 Leu Tyr Thr Phe Ala Gly Val Lys Phe Arg Ser Asp Leu Ser Arg Leu  
 325 330 335  
 Leu Thr Lys Leu Gly Cys Thr Gly Pro Ala Ser Leu Cys Gln Leu Phe  
 340 345 350  
 Pro Ser Trp Arg Arg Ser Ser Leu Ser Glu Ser Glu Asn Ala Thr Ser  
 355 360 365  
 Leu Thr Thr Phe

[0007]

370

```

<210> 8
<211> 2614
<212> DNA
<213> 小家鼠

<220>
<221> CDS
<222> (44)... (1168)

<400> 8
cgacatcaga cagtgaccag cctgggtgagc cagagctgca gct atg aac tac cca 55
                                         Met Asn Tyr Pro
                                         1

cta acc ctg gac atg ggc tcc atc aca tac aat atg gat gac ctg tac 103
Leu Thr Leu Asp Met Gly Ser Ile Thr Tyr Asn Met Asp Asp Leu Tyr
 5          10          15          20

aag gaa ctg gcc ttc tac agt aac agc acg gag att ccc cta cag gac 151
Lys Glu Leu Ala Phe Tyr Ser Asn Ser Thr Glu Ile Pro Leu Gln Asp
          25          30          35

agt aac ttc tgc tct aca gtc gag gga ccc tta ctg acg tcc ttt aag 199
Ser Asn Phe Cys Ser Thr Val Glu Gly Pro Leu Leu Thr Ser Phe Lys
          40          45          50

gcg gta ttc atg cct gtg gcc tac agc ctc atc ttc ctc ctg ggt atg 247
Ala Val Phe Met Pro Val Ala Tyr Ser Leu Ile Phe Leu Leu Gly Met
          55          60          65

atg gga aac atc ctg gtg ctg gta atc ctg gag agg cac cgg cac act 295
Met Gly Asn Ile Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg His Arg His Thr
          70          75          80

cgg agc tca acc gag acc ttc ctg ttc cac ctc gca gta gcc gac ctt 343
Arg Ser Ser Thr Glu Thr Phe Leu Phe His Leu Ala Val Ala Asp Leu
          85          90          95          100

ctc tta gtc ttc atc ctg cct ttt gca gtg gct gag ggc tct gtg ggt 391
Leu Leu Val Phe Ile Leu Pro Phe Ala Val Ala Glu Gly Ser Val Gly
          105          110          115

tgg gtc cta ggg acc ttc ctc tgc aaa act gtg atc gct ctg cac aag 439
Trp Val Leu Gly Thr Phe Leu Cys Lys Thr Val Ile Ala Leu His Lys
          120          125          130

ate aat ttc tac tgc agc agc ctg ctg ctg gcc tgt ata gct gta gac 487
Ile Asn Phe Tyr Cys Ser Ser Leu Leu Leu Ala Cys Ile Ala Val Asp
          135          140          145

cgg tac cta gcc atc gtc cat gct gtt cac gcc tac cgc cgc cgt cga 535
Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val His Ala Tyr Arg Arg Arg Arg
          150          155          160

ctc ctc tcc atc cac atc acc tgc acg gcc att tgg ctg gcc gcc ttc 583
Leu Leu Ser Ile His Ile Thr Cys Thr Ala Ile Trp Leu Ala Gly Phe
          165          170          175          180

ctg ttc gcc tta ccg gaa ctc ctc ttt gcc aag gtt gcc caa cct cat 631
Leu Phe Ala Leu Pro Glu Leu Leu Phe Ala Lys Val Gly Gln Pro His
          185          190          195
    
```

[0008]

序 列 表

aac aac gac tcc tta cca cag tgc acc ttc tcc cag gaa aac gaa ggc Asn Asn Asp Ser Leu Pro Gln Cys Thr Phe Ser Gln Glu Asn Glu Ala 200 205 210	679
gaa act aga gcc tgg ttc acc tcc cgt ttc etc tac cac atc ggg ggc Glu Thr Arg Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr His Ile Gly Gly 215 220 225	727
ttc eta cta ccg atg ctt gtg atg gga tgg tgt tac gtg ggc gtg gtc Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr Val Gly Val Val 230 235 240	775
cac agg cta ctg cag gcc cag ccg cgc cct cag cgg cag aag gcg gtc His Arg Leu Leu Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg Gln Lys Ala Val 245 250 255 260	823
agg gtg gcc att tta gtg aca age att ttc ttc etc tgc tgg tgc ecc Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu Cys Trp Ser Pro 265 270 275	871
tac cac att gtc atc ttc eta gat aca ctg gag agg ctg aag get gtg Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Glu Arg Leu Lys Ala Val 280 285 290	919
aat agc agc tgc gag ctg agt ggc tat etc tct gtg gcc atc acc ttg Asn Ser Ser Cys Glu Leu Ser Gly Tyr Leu Ser Val Ala Ile Thr Leu 295 300 305	967
tgt gaa ttc ctg gcc ctg gca cac tgc tgt etc aat ccc atg etc tac Cys Glu Phe Leu Gly Leu Ala His Cys Cys Leu Asn Pro Met Leu Tyr 310 315 320	1015
acc ttc get ggc gta aag ttc cgc agt gac etc tet cgg ctt ctg acc Thr Phe Ala Gly Val Lys Phe Arg Ser Asp Leu Ser Arg Leu Leu Thr 325 330 335 340	1063
aag ctg gcc tgt get ggc ccg gcc tcc ctt tgc caa ctt ttc ecc aac Lys Leu Gly Cys Ala Gly Pro Ala Ser Leu Cys Gln Leu Phe Pro Asn 345 350 355	1111
tgg cgc aag agt agt etc tet gag tea gag aat get act tcc etc acc Trp Arg Lys Ser Ser Leu Ser Glu Ser Glu Asn Ala Thr Ser Leu Thr 360 365 370	1159
acc ttc tag atcccgaag tctcggggcc cctgtctgtt tetgttttcc Thr Phe	1208
ttgggaggat aaagtgtggtg cggaacccat ccaactcgag ctiggggccag tgtcccacaga tgggaaagct agataaaactc tctcaaacct tcccaaaggg gaaagcagcc caaagcmeta gcaagctata tccagccac ctgtatcacc ttagatgaag agaactecat acacctccca tctaaccag ctaaagetaa gctcagcttt atttctctct ggccataggg acaaccacct ctgetgtggc ccacagtctc atcttctctc tgattatgag cccagactct cctcccagaa tgtattecat catcttaag actactgget gccacagcta cccaccacte ctataaccaca gaggaatage cagetggcgg eggcagacta tggecttaat gtgectgtct cataaataca gactcaltg cacacctca acctgtcctt tctcttaacc aagcagaaag ctgaaaccga tctactttag gtactgtct ggttcaacc taaccagcat tgggtcagcc ccatgttact ggatcttggg ttacagactg agggcaagt ccagaaggt ctggaagcta gccagtatcc taagaagagt aaagggeaag ccagcaggaa agaggcccag tggaaaagt gaaagacacc ttttccaggc tctaaggaag aacaagtaaa aatcaaaccc agetgtcttc tccaccat gtaccaaaagc ttacagactg gtggggaat gagatccagg gccctctgtg attctacgca ccaatggggg aggaagccaa ctgtcctggg gaaagcaaga tagcaaagt gtcttagctc cgagagagg gagacctage taagagaatg acgacagagg tctctgtctt catfaggcag aggeaatata agaagccaac ctgggcaggc aagtcctcaa accccaggaa ggcagtacc tgccctggg aggttaccac tcaatggaa ccagaggaag ctctctcatg calacatagg	1268 1328 1388 1448 1508 1568 1628 1688 1748 1808 1868 1928 1988 2048 2108 2168 2228

[0009]

```

: ggaagttagc aggcatttct gagctcggtt tcttcccagc caccgatctg ggggcgtggg 2288
: ggtaggaagc agagttgect agtaccacte aagccaaccg tacaagctcc ctgggggata 2348
: ccactgggga aaccaatget atagetttag agaetgtate etcattgtag aaccgtgaag 2408
: acacctgggg accccctttt ctgctcccag catccaacaa ccagctggga agaggcaaac 2468
: cgggcacaga aataaaaatg caagagatgg cttttttgaa ttttctctt ttaataaaaa 2528
: ggcacctata aaacaggtea atacaggcag agacccccgg aacangeeta aanaagtgtt 2588
: caaaataaaa acaggaagat gtcttc 2614

```

<210> 9  
 <211> 374  
 <212> PRT  
 <213> 小家鼠

```

<400> 9
Met Asn Tyr Pro Leu Thr Leu Asp Met Gly Ser Ile Thr Tyr Asn Met
 1          5          10          15
Asp Asp Leu Tyr Lys Glu Leu Ala Phe Tyr Ser Asn Ser Thr Glu Ile
 20          25          30
Pro Leu Gln Asp Ser Asn Phe Cys Ser Thr Val Glu Gly Pro Leu Leu
 35          40          45
Thr Ser Phe Lys Ala Val Phe Met Pro Val Ala Tyr Ser Leu Ile Phe
 50          55          60
Leu Leu Gly Met Met Gly Asn Ile Leu Val Leu Val Ile Leu Glu Arg
 65          70          75          80
His Arg His Thr Arg Ser Ser Thr Glu Thr Phe Leu Phe His Leu Ala
 85          90          95
Val Ala Asp Leu Leu Leu Val Phe Ile Leu Pro Phe Ala Val Ala Glu
100          105          110
Gly Ser Val Gly Trp Val Leu Gly Thr Phe Leu Cys Lys Thr Val Ile
115          120          125
Ala Leu His Lys Ile Asn Phe Tyr Cys Ser Ser Leu Leu Leu Ala Cys
130          135          140
Ile Ala Val Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Val His Ala Val His Ala Tyr
145          150          155          160
Arg Arg Arg Arg Leu Leu Ser Ile His Ile Thr Cys Thr Ala Ile Trp
165          170          175
Leu Ala Gly Phe Leu Phe Ala Leu Pro Glu Leu Leu Phe Ala Lys Val
180          185          190
Gly Gln Pro His Asn Asn Asp Ser Leu Pro Gln Cys Thr Phe Ser Gln
195          200          205
Glu Asn Glu Ala Glu Thr Arg Ala Trp Phe Thr Ser Arg Phe Leu Tyr
210          215          220
His Ile Gly Gly Phe Leu Leu Pro Met Leu Val Met Gly Trp Cys Tyr
225          230          235          240
Val Gly Val Val His Arg Leu Leu Gln Ala Gln Arg Arg Pro Gln Arg
245          250          255
Gln Lys Ala Val Arg Val Ala Ile Leu Val Thr Ser Ile Phe Phe Leu
260          265          270
Cys Trp Ser Pro Tyr His Ile Val Ile Phe Leu Asp Thr Leu Glu Arg
275          280          285
Leu Lys Ala Val Asn Ser Ser Cys Glu Leu Ser Gly Tyr Leu Ser Val
290          295          300
Ala Ile Thr Leu Cys Glu Phe Leu Gly Leu Ala His Cys Cys Leu Asn
305          310          315          320
Pro Met Leu Tyr Thr Phe Ala Gly Val Lys Phe Arg Ser Asp Leu Ser
325          330          335
Arg Leu Leu Thr Lys Leu Gly Cys Ala Gly Pro Ala Ser Leu Cys Gln
340          345          350
Leu Phe Pro Asn Trp Arg Lys Ser Ser Leu Ser Glu Ser Glu Asn Ala
355          360          365
Thr Ser Leu Thr Thr Phe
370

```

<210> 10

[0010]

<211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> H1609: 3D2抗体的VII域

<400> 10  
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Asn Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe  
 20 25 30  
 Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Arg Arg Tyr Asn Pro Ala  
 50 55 60  
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Glu Thr Ser Lys Asn Gln Val  
 65 70 75 80  
 Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr  
 85 90 95  
 Cys Thr Arg Ile Ala Gly Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Trp Phe Ala Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 11  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> H1609-CDR1

<400> 11  
 Thr Phe Gly Met Gly Val Gly  
 1 5

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

<220>  
 <223> H1609-CDR2

<400> 12  
 His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Arg Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser  
 1 5 10 15

<210> 13  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> H1609-CDR3

<400> 13  
 Ile Ala Gly Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Trp Phe Ala Tyr  
 1 5 10

[0011]

<210> 14  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> H5188/H2177; 来自MAb 5378和5261的VH域

<400> 14  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe  
 20 25 30  
 Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Ile Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Arg Arg Tyr Asn Pro Ala  
 50 55 60  
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 85 90 95  
 Cys Ala Arg Ile Ala Gly Tyr Tyr Gly Ser Arg Asp Trp Phe Ala Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 15  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> L0293; 来自MAb 3D2的VL域

<400> 15  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Ser  
 20 25 30  
 Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
 35 40 45  
 Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala  
 50 55 60  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Val Asn  
 65 70 75 80  
 Pro Val Glu Thr Asp Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asn  
 85 90 95  
 Lys Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 16  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> L0293-CDR1

<400> 16  
 Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Ser Gly Ile Ser Phe Met His  
 1 5 10 15

[0012]

<210> 17  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> L0293-CDR2

<400> 17  
 Arg Ala Ser Asp Leu Glu Ser  
 1 5

<210> 18  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> L0293-CDR3

<400> 18  
 Gln Gln Ser Asn Lys Asp Pro Trp Thr  
 1 5

<210> 19  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> L5153/L5140; 来自MAb 5378和5261的VL域

<400> 19  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Met  
 20 25 30  
 Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 35 40 45  
 Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser  
 50 55 60  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn  
 85 90 95  
 Lys Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 20  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> L5153-CDR1

<400> 20  
 Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Met Gly Ile Ser Phe Met His  
 1 5 10 15

<210> 21

[0013]

<211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> I.5055; MAb 5080的VL域

<400> 21  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Ser  
 20 25 30  
 Gly Ile Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 35 40 45  
 Lys Leu Leu Ile Phe Arg Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser  
 50 55 60  
 Gly Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn  
 85 90 95  
 Lys Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 22  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 猪螺杆菌16S rRNA正向引物

<400> 22  
 ttgggagget ttgtttttcc a 21

<210> 23  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 猪螺杆菌16S rRNA反向引物

<400> 23  
 gattagctct gcctecgggc t 21

<210> 24  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> TGF-β 正义引物

<400> 24  
 tetttgtcca gateacaact tea 23

<210> 25  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> TGF-β 反义引物  
 <400> 25

[0014]

cactgatacg cctgagtgr	19
<210> 26	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> IL-6正义引物	
<400> 26	
gtgagcgctg aatcgaaa	18
<210> 27	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> IL-6反义引物	
<400> 27	
gaggatacca ctcccaacag acc	23
<210> 28	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> $\beta$ -肌动蛋白正义引物	
<400> 28	
atcactgacg ctgattgcac	20
<210> 29	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> $\beta$ -肌动蛋白反义引物	
<400> 29	
aaggccaacc gtgaaaagat	20

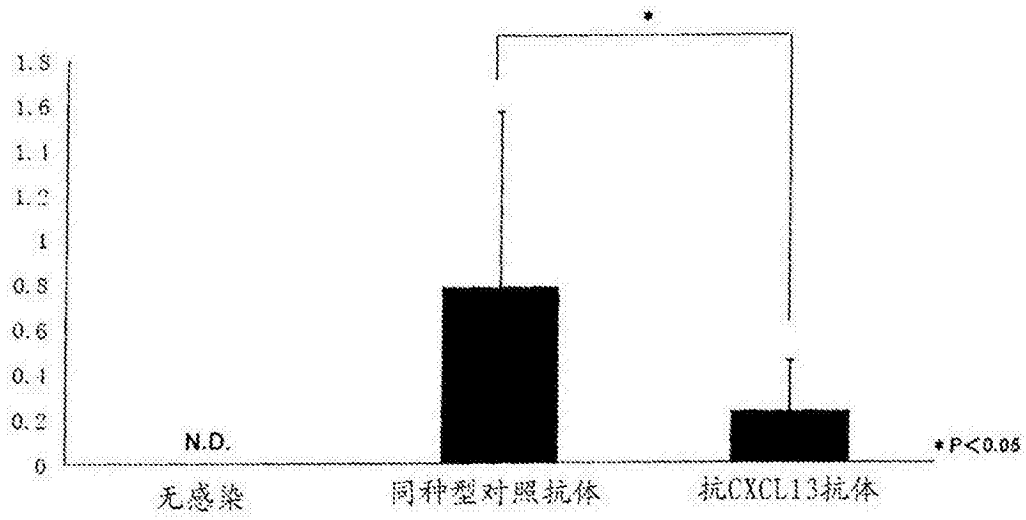


图 1

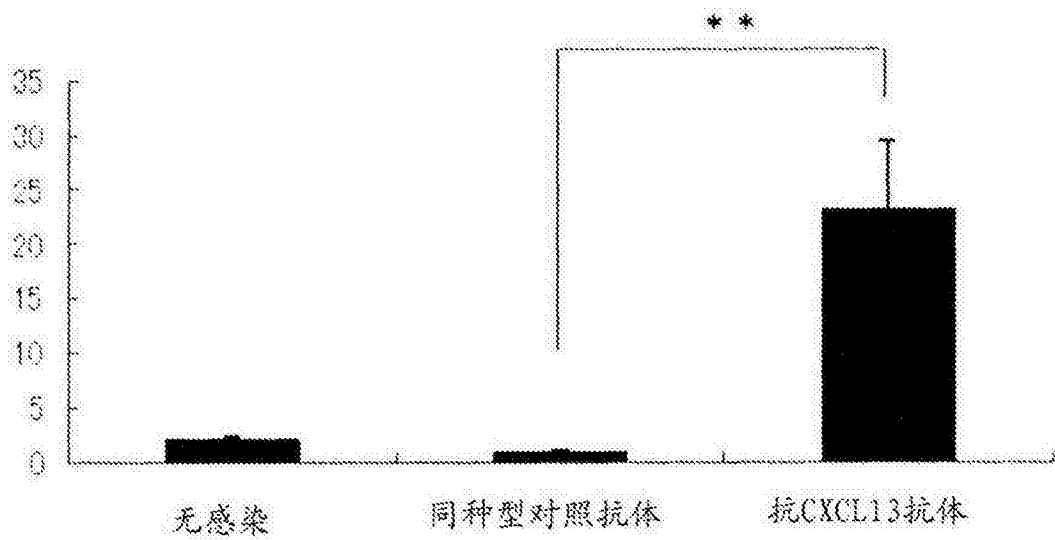


图 2A

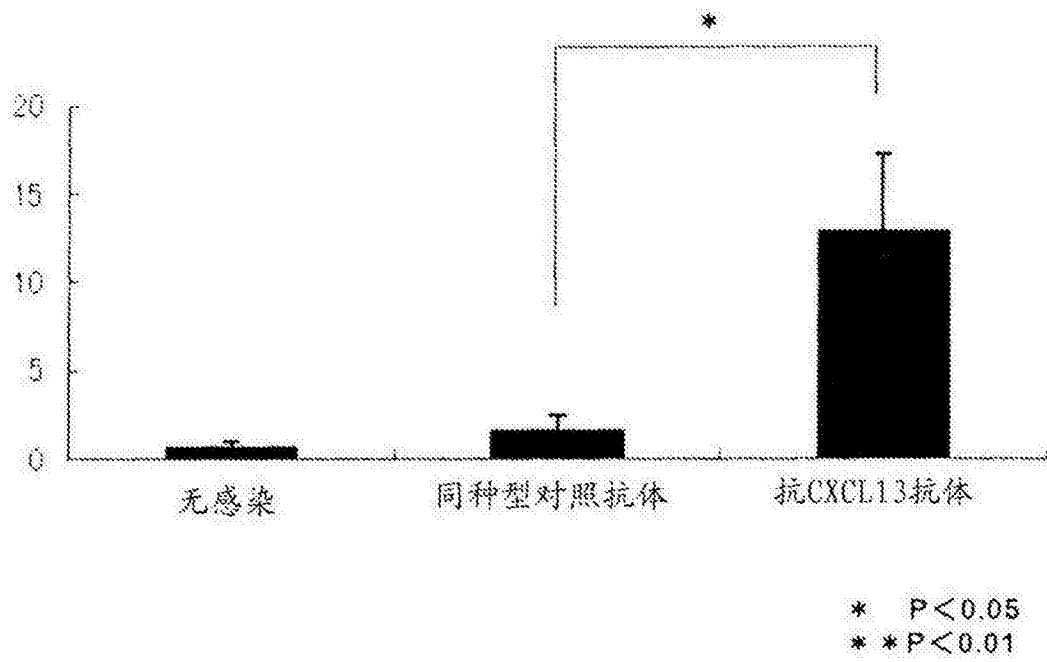


图 2B

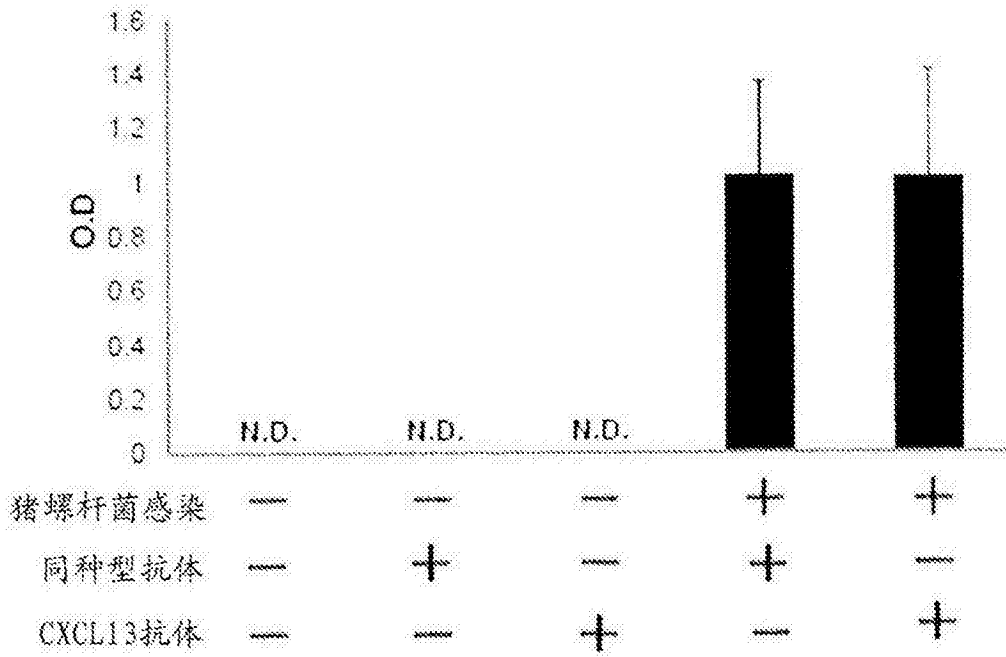


图 3A

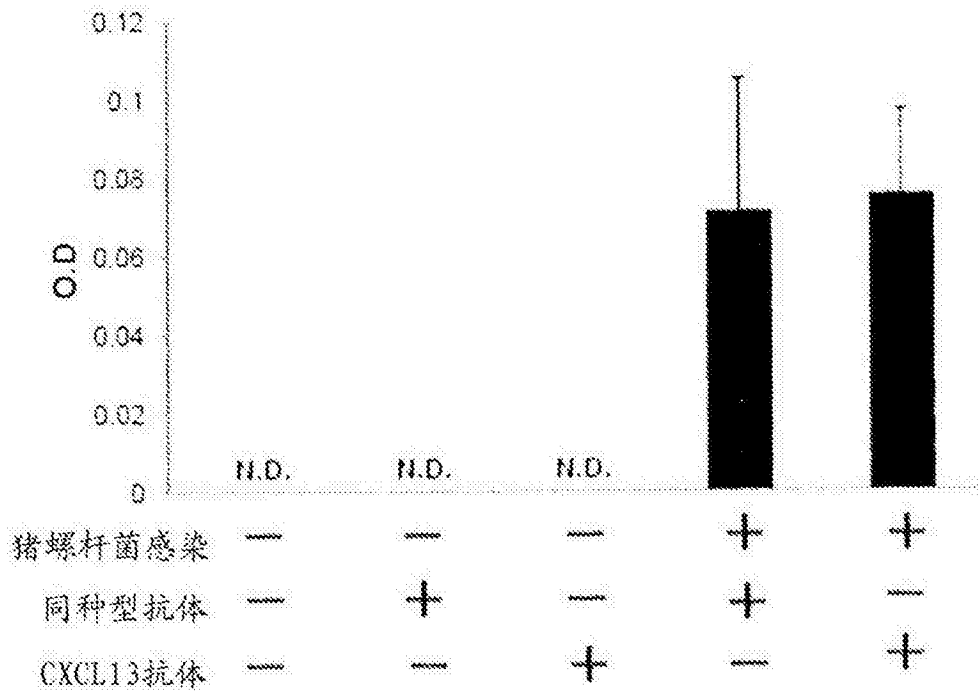


图 3B

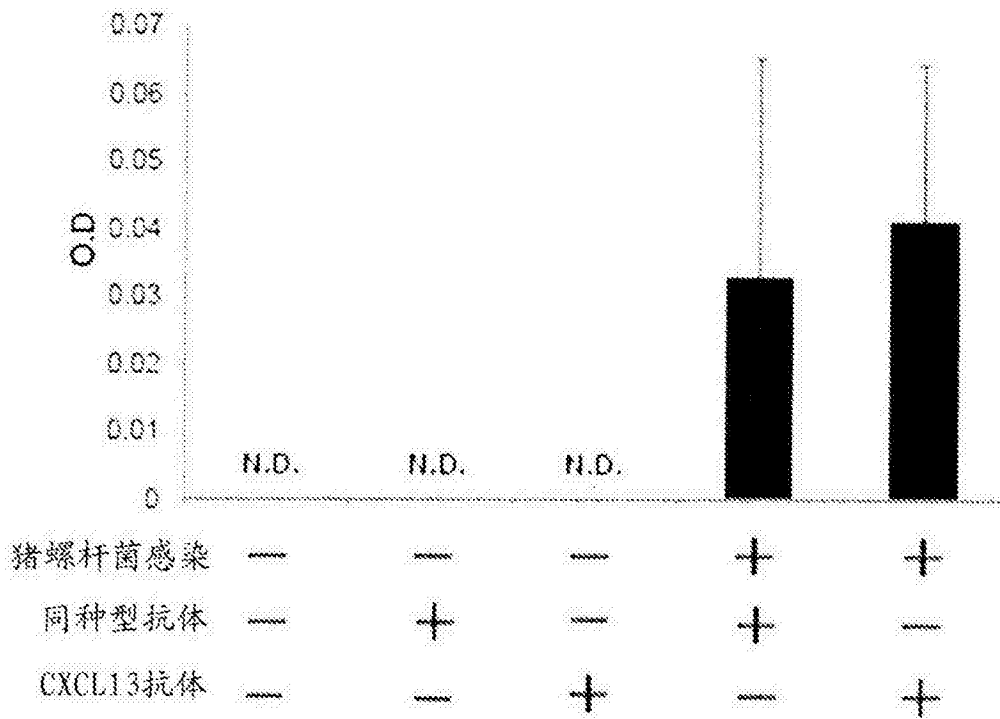


图 4A

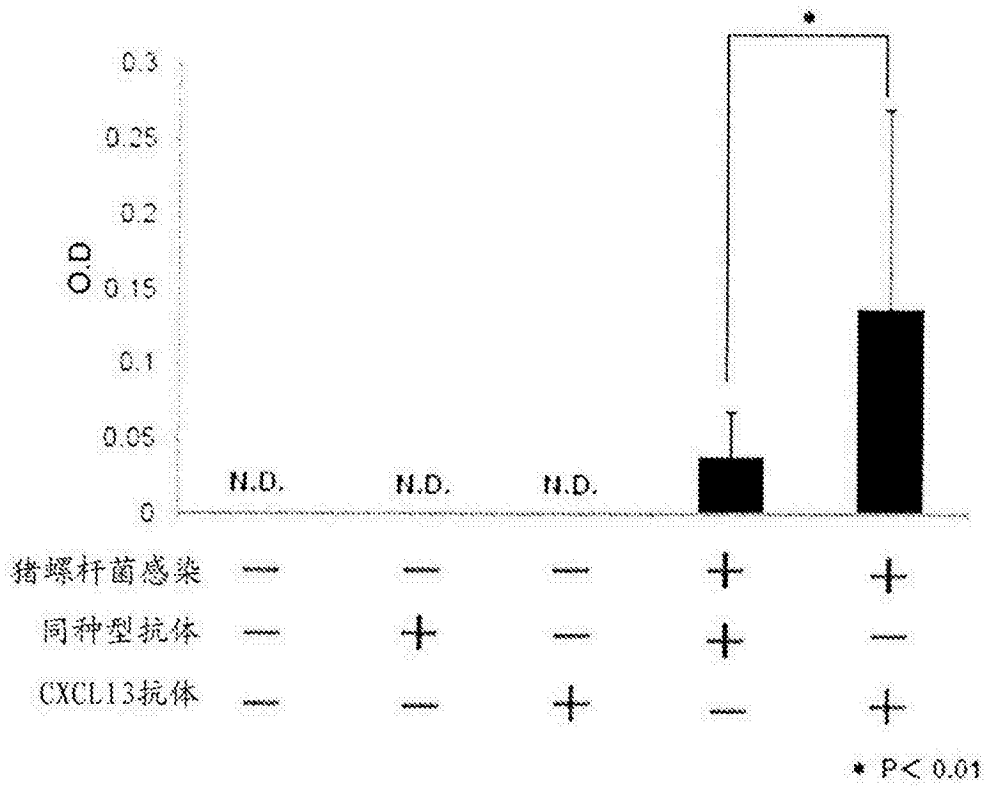


图 4B