



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109153721 A

(43)申请公布日 2019.01.04

(21)申请号 201780024678.5

(74)专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限公司  
11287

(22)申请日 2017.03.13

代理人 沈锦华

(30)优先权数据

62/307,896 2016.03.14 US

62/420,825 2016.11.11 US

(51)Int.Cl.

*G07K 16/28*(2006.01)

*A61K 39/00*(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.10.19

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/022067 2017.03.13

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/160700 EN 2017.09.21

(71)申请人 千禧制药公司

地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 J·A·萨克斯 J·E·福特

权利要求书6页 说明书33页  
序列表7页 附图3页

(54)发明名称

治疗或预防移植物抗宿主疾病的方法

(57)摘要

一种用于治疗或预防人患者的GvHD的方法，其包括向患有GvHD或处于GvHD风险中的患者施用对人 $\alpha 4 \beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体。

1. 一种用于治疗人的移植物抗宿主疾病 (GvHD) 的方法, 其包括向有需要的人施用对人  $\alpha 4\beta 7$  整联蛋白复合物具有结合特异性的抗体, 其中所述抗体根据以下方案施用: a) 第一剂量的抗体; b) 在所述第一剂量后约两周的第二剂量的抗体; c) 在所述第二剂量后约四周的第三剂量的抗体; 和任选地 d) 另外剂量的抗体, 其中每个另外剂量在紧接先前剂量后约四周施用; 并且其中 a) -d) 中的每个剂量是 300mg, 或 a) -d) 中的每个剂量是 600mg。

2. 如权利要求 1 所述的方法, 其中所述 GvHD 是急性 GvHD。

3. 如权利要求 2 所述的方法, 其中所述急性 GvHD 是类固醇难治性急性 GvHD。

4. 如权利要求 1-3 中任一项所述的方法, 其中所述人患有具有肠疾病受累类固醇难治性急性 GvHD, 其严重性指数为使用 BMT CTN-修改的 IBMTR 指数的 B、C 或 D。

5. 如权利要求 1-4 中任一项所述的方法, 其中所述有需要的人已接受同种异体造血干细胞移植。

6. 如权利要求 5 所述的方法, 其中所述有需要的人具有骨髓移植。

7. 如权利要求 1-6 中任一项所述的方法, 其中所述有需要的人具有 0 至 3 的东部肿瘤协作组 (ECOC) 行为状态。

8. 如权利要求 1-7 中任一项所述的方法, 其中基于科克罗夫特-高尔特估计, 所述有需要的人具有  $\geq 60\text{mL}/\text{分钟}/1.73\text{m}^2$  的肌酐清除率。

9. 如权利要求 1-8 中任一项所述的方法, 其中所述抗体是静脉内施用的。

10. 如权利要求 9 所述的方法, 其中所述抗体以输注施用。

11. 如权利要求 10 所述的方法, 其中所述抗体在约 30 至约 60 分钟的时间段内输注。

12. 如权利要求 1-11 中任一项所述的方法, 其中所述抗体包含 CDR:

轻链: CDR1 SEQ ID NO: 7

CDR2 SEQ ID NO: 8 和

CDR3 SEQ ID NO: 9; 以及

重链: CDR1 SEQ ID NO: 4

CDR2 SEQ ID NO: 5 和

CDR3 SEQ ID NO: 6。

13. 如权利要求 1-12 中任一项所述的方法, 其中所述抗体具有 SEQ ID NO: 1 的氨基酸 20 至 140 的重链可变区序列。

14. 如权利要求 1-12 中任一项所述的方法, 其中所述抗体具有 SEQ ID NO: 2 的氨基酸 20 至 131 的轻链可变区序列。

15. 如权利要求 1-12 所述的方法, 其中所述抗体具有包含 SEQ ID NO: 1 的氨基酸 20 至 470 的重链和包含 SEQ ID NO: 2 的氨基酸 20 至 238 的轻链。

16. 如权利要求 1-15 中任一项所述的方法, 其中所述抗体是人源化抗体。

17. 如权利要求 16 所述的方法, 其中所述抗体是维多珠单抗。

18. 一种降低急性移植物抗宿主疾病 (GvHD) 严重性的方法, 其中所述方法包括以下步骤:

向经历同种异体造血干细胞移植 (allo-HSCT) 的人患者施用对人  $\alpha 4\beta 7$  整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体, 其中所述患者处于急性 GvHD 风险中。

其中根据以下给药方案向所述患者施用所述人源化抗体:

a. 在allo-HSCT后,以静脉内输注施用初始剂量为300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

b. 随后在所述初始剂量后约两周时,以静脉内输注施用第二后续剂量为300mg的所述人源化抗体;

c. 随后在所述初始剂量后约六周时,以静脉内输注施用第三后续剂量为300mg的所述人源化抗体;

其中所述人源化抗体包含非人来源的抗原结合区和人来源抗体的至少一部分,其中所述人源化抗体对所述 $\alpha 4\beta 7$ 复合物具有结合特异性,其中所述抗原-结合区包含CDR:

轻链:CDR1 SEQ ID NO:7

CDR2 SEQ ID NO:8和

CDR3 SEQ ID NO:9;以及

重链:CDR1 SEQ ID NO:4

CDR2 SEQ ID NO:5和

CDR3 SEQ ID NO:6,

由此减少GvHD的发生。

19. 如权利要求18所述的方法,其中降低所述急性移植物抗宿主疾病(GvHD)的严重性导致根据修改的格鲁兹堡标准的I级或II级GvHD、或根据其它评分系统的类似的GvHD严重性,或无GvHD。

20. 如权利要求18所述的方法,其中降低所述急性GvHD的严重性是与单独使用甲氨蝶呤和钙调神经磷酸酶抑制剂的治疗相比在第100天时II-IV级或III-IV级急性GvHD的累积发病率和严重性降低50%。

21. 如权利要求18所述的方法,其中降低所述急性移植物抗宿主疾病(GvHD)的严重性是与单独使用甲氨蝶呤和钙调神经磷酸酶抑制剂的治疗相比降低了1年死亡率。

22. 如权利要求18所述的方法,其中在测量选自由生物标志物、临床体征和对类固醇使用的难治性组成的组的标准后,将所述患者鉴定为处于急性GvHD的风险中。

23. 如权利要求18所述的方法,其中所述人源化抗体在造血干细胞输注后超过15天施用。

24. 一种抑制癌症患者中免疫响应的方法,其中所述方法包括以下步骤:

向经历同种异体造血干细胞移植(allo-HSCT)的人患者施用对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,

其中根据以下给药方案向所述患者施用所述人源化抗体:

a. 在allo-HSCT前一天,以静脉内输注施用初始剂量为300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

b. 随后在所述初始剂量后约两周时,以静脉内输注施用第二后续剂量为300mg的所述人源化抗体;

c. 随后在所述初始剂量后约六周时,以静脉内输注施用第三后续剂量为300mg的所述人源化抗体;

另外其中所述人源化抗体包含非人来源的抗原结合区和人来源抗体的至少一部分,其中所述人源化抗体对 $\alpha 4\beta 7$ 复合物具有结合特异性,其中所述抗原-结合区包含以下CDR:

轻链:CDR1 SEQ ID NO:7  
CDR2 SEQ ID NO:8和  
CDR3 SEQ ID NO:9;以及  
重链:CDR1 SEQ ID NO:4  
CDR2 SEQ ID NO:5和  
CDR3 SEQ ID NO:6。

25. 一种治疗移植患者的方法,其中所述移植患者是输注同种异体造血细胞的接受者,所述方法包括施用抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。

26. 如权利要求25所述的方法,其中,在所述输注之前,所述移植患者是选自清髓性调理或降低强度的调理的调理疗法的接受者。

27. 如权利要求25或26所述的方法,其中在所述输注之前施用所述抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。

28. 如权利要求25或26所述的方法,其中以其中至少一个剂量在所述输注之前的多剂量施用所述抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。

29. 如权利要求25或26所述的方法,其中以其中所述第一剂量与所述输注同一天的多剂量施用所述抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。

30. 如权利要求25或26所述的方法,其中以其中所述第一剂量在所述输注第二天的多剂量施用所述抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。

31. 如权利要求25或26所述的方法,其中在所述输注后10至28天以单剂量施用所述抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。

32. 如权利要求27或28所述的方法,其中在调理与所述输注之间施用一个剂量的抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。

33. 如权利要求25至32中任一项所述的方法,其中所述移植患者患有癌症。

34. 如权利要求33所述的方法,其中所述癌症是血液学癌症。

35. 如权利要求34所述的方法,其中所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤、骨髓瘤或骨髓增生性肿瘤。

36. 如权利要求35所述的方法,其中所述白血病是急性成淋巴细胞白血病(ALL)或急性骨髓性白血病(AML)。

37. 如权利要求25至32中任一项所述的方法,其中所述移植患者患有非恶性血液学疾病或免疫疾病。

38. 如权利要求37所述的方法,其中所述非恶性血液学疾病或免疫疾病选自由以下组成的组:血红蛋白病、骨髓衰竭综合征和免疫疾病。

39. 如权利要求25至38中任一项所述的方法,其中所述抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂是抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体,其对所述 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白复合物具有结合特异性。

40. 如权利要求39所述的方法,其中所述抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体是人源化抗体,其中所述人源化抗体的抗原结合区包含CDR:

轻链:CDR1 SEQ ID NO:7  
CDR2 SEQ ID NO:8和  
CDR3 SEQ ID NO:9;以及  
重链:CDR1 SEQ ID NO:4

CDR2 SEQ ID NO:5和

CDR3 SEQ ID NO:6。

41. 如权利要求40所述的方法,其中所述人源化抗体自冻干制剂复原。

42. 如权利要求39或40所述的方法,其中所述人源化抗体是静脉内施用的。

43. 如权利要求40至42中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体具有SEQ ID NO:1的氨基酸20至140的重链可变区序列。

44. 如权利要求40至43中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体具有SEQ ID NO:2的氨基酸20至131的轻链可变区序列。

45. 如权利要求43或44所述的方法,其中所述人源化抗体具有包含SEQ ID NO:1的氨基酸20至470的重链和包含SEQ ID NO:2的氨基酸20至238的轻链。

46. 如权利要求40至45中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体是维多珠单抗。

47. 如权利要求25至46中任一项所述的方法,其还包括用他克莫司、他克莫司和甲氨蝶呤或甲氨蝶呤治疗所述移植患者。

48. 如权利要求25至47中任一项所述的方法,其还包括通过测量嗜中性粒细胞数量来检测所述allo-HSC的植入。

49. 如权利要求48所述的方法,其还包括测量选自由以下组成的组的生物标志物:白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-17 (IL-17)、致瘤性抑制因子2 (ST2)、CD8+细胞、CD38+细胞、CD8+亮效应记忆T细胞和CD4+记忆T细胞,其中在所述输注前或所述输注后一周内测量的所述生物标志物的量和在所述输注后20至100天时测量的所述生物标志物的量是不变的。

50. 如权利要求25至49中任一项所述的方法,其中所述患者具有不包括肠的3期或4期GvHD的不良事件。

51. 如权利要求25至50中任一项所述的方法,其中所述同种异体造血细胞是同种异体造血干细胞。

52. 如权利要求25至50中任一项所述的方法,其中所述同种异体造血细胞是同种异体白血球细胞。

53. 如权利要求52所述的方法,其中所述同种异体白血球细胞是T淋巴细胞。

54. 一种预防移植物抗宿主疾病 (GvHD) 的方法,其中所述方法包括以下步骤:

向经历同种异体造血干细胞移植 (allo-HSCT) 的人患者施用对人 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,

其中根据以下给药方案向所述患者施用所述人源化抗体:

a. 在allo-HSCT前一天,以静脉内输注施用初始剂量为75mg、300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

b. 随后在所述初始剂量后约两周时,以静脉内输注施用第二后续剂量为75mg、300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

c. 随后在所述初始剂量后约六周时,以静脉内输注施用第三后续剂量为75mg、300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

另外其中所述人源化抗体包含非人来源的抗原结合区和人来源抗体的至少一部分,其中所述人源化抗体对 $\alpha$ 4 $\beta$ 7复合物具有结合特异性,其中所述抗原-结合区包含CDR:

轻链:CDR1 SEQ ID NO:7

CDR2 SEQ ID NO:8和  
CDR3 SEQ ID NO:9;以及  
重链:CDR1 SEQ ID NO:4  
CDR2 SEQ ID NO:5和  
CDR3 SEQ ID NO:6。

55. 如权利要求54所述的方法,其中所述给药方案导致II级GvHD、I级GvHD或无GvHD。

56. 如权利要求54所述的方法,其中所述预防在造血干细胞输注时导致持续的 $\alpha 4\beta 7$ 阻断。

57. 如权利要求54或55所述的方法,其中向所述人患者共施用他克莫司。

58. 如权利要求54至57中任一项所述的方法,其中向所述人患者共施用甲氨蝶呤。

59. 如权利要求54至58中任一项所述的方法,其中在约30分钟内向所述患者施用所述人源化抗体。

60. 如权利要求54至59中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体自冻干制剂复原。

61. 如权利要求60所述的方法,另外其中复原所述人源化抗体以构成稳定液体制剂。

62. 如权利要求54至61中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体具有SEQ ID NO:1的氨基酸20至140的重链可变区序列。

63. 如权利要求54至62中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体具有SEQ ID NO:2的氨基酸20至131的轻链可变区序列。

64. 如权利要求62或63所述的方法,其中所述人源化抗体具有包含SEQ ID NO:1的氨基酸20至470的重链和包含SEQ ID NO:2的氨基酸20至238的轻链。

65. 如权利要求54至64中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体是维多珠单抗。

66. 一种治疗患有癌症或非恶性血液学疾病、免疫学疾病或自身免疫疾病的患者的方法,其包括以下步骤:

a. 调理所述患者的免疫系统进行造血干细胞移植,

b. 施用对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,

c. 等待至少12个小时,

d. 施用同种异体造血干细胞,

e. 等待十三天,然后施用第二剂量的对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,以及

f. 等待四周,然后施用第三剂量的对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体。

67. 如权利要求66所述的方法,其还包括向所述患者施用他克莫司。

68. 如权利要求66或67所述的方法,其还包括向所述患者施用甲氨蝶呤。

69. 如权利要求66至68中任一项所述的方法,其中所述免疫系统的调理是骨髓性调理或降低强度的调理。

70. 如权利要求66至69中任一项所述的方法,其中所述患者具有不包括肠的3期或4期GvHD的不良事件。

71. 如权利要求66至69中任一项所述的方法,其中所述患者具有不包括III级或IV级GvHD的不良事件。

72. 如权利要求66至69中任一项所述的方法,其中所述患者患有白血病或淋巴瘤。

73. 如权利要求66至69中任一项所述的方法,其中所述同种异体造血干细胞来自外周血。

74. 如权利要求66至69中任一项所述的方法,其中所述同种异体造血干细胞在没有进一步免疫抑制疗法的情况下植入。

75. 如权利要求66至69中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体包含非人来源的抗原结合区和人来源抗体的至少一部分,其中所述人源化抗体对所述 $\alpha 4\beta 7$ 复合物具有结合特异性,其中所述抗原结合区包含CDR:

轻链:CDR1 SEQ ID NO:7

CDR2 SEQ ID NO:8和

CDR3 SEQ ID NO:9;以及

重链:CDR1 SEQ ID NO:4

CDR2 SEQ ID NO:5和

CDR3 SEQ ID NO:6。

76. 如权利要求75所述的方法,其中所述人源化抗体自冻干制剂复原。

77. 如权利要求75所述的方法,其中所述人源化抗体具有SEQ ID NO:1的氨基酸20至140的重链可变区序列。

78. 如权利要求75所述的方法,其中所述人源化抗体具有SEQ ID NO:2的氨基酸20至131的轻链可变区序列。

79. 如权利要求75至78中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体具有包含SEQ ID NO:1的氨基酸20至470的重链和包含SEQ ID NO:2的氨基酸20至238的轻链。

80. 如权利要求75至78中任一项所述的方法,其中所述人源化抗体是维多珠单抗。

## 治疗或预防移植物抗宿主疾病的方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2016年3月14日提交的美国临时申请号62/307,896和2016年11月11日提交的美国临时申请号62/420,825的权益。前述申请的全部内容据此以引用的方式并入本文。

### 背景技术

[0003] 同种异体造血细胞移植,诸如造血干细胞移植(allo-HSCT)是一种用于治疗血液学恶性病症和血液学遗传疾病的重要疗法,但其使用受到移植物抗宿主疾病(GvHD)的主要并发症的限制。allo-HSCT后的GvHD是发病和死亡的主要原因。GvHD的风险是可变的并且取决于患者因素、供体因素、供体与接受者之间的组织相容性程度、调理方案和所采用的GvHD预防策略。对患者进行allo-HSCT调理允许植入供体造血细胞并且涉及化学疗法或放射,并在移植之前立即给予。调理的目的是在输注造血干细胞(HSC)之前帮助根除患者的疾病并抑制免疫反应。移植后预后经常包括可能危及生命的急性和慢性移植物抗宿主疾病。在清髓性调理后接受同种异体造血干细胞的患者中,2至4级急性GvHD的风险是大约40%至50%。在不引起显著的系统性免疫抑制的情况下,GvHD的减少可改善allo-HSCT后的总体结果。

[0004] GvHD是由宿主抗原呈递细胞(APC)上的组织相容性抗原活化同种异体反应性供体淋巴细胞引起的。据推测,肠道微生物群落和内毒素在APC活化中发挥关键作用,并且此过程发生在肠道相关淋巴组织(GALT)中。临床上,通过使用T细胞耗尽策略和肠道净化可减少GvHD,这突出了T细胞和胃肠(GI)微生物群落两者对GvHD发展的各自作用。在临床HSCT中,与发展皮肤急性GvHD或无GvHD的患者相比,随后发展肠道急性GvHD的患者中显示原初和记忆T细胞上的人淋巴细胞整联蛋白 $\alpha 4\beta 7$ 的表达显著增加。已在急性GvHD的鼠模型中研究了T细胞向GALT的运输以及 $\alpha 4\beta 7$ 与粘膜地址素细胞粘附分子-1(MAdCAM-1)之间的相互作用。

[0005] GvHD的风险是可变的并且取决于患者因素、供体因素、供体与接受者之间的组织相容性程度、调理方案和GvHD预防策略。在清髓性调理后接受来自无关供体来源的造血干细胞的患者中,2、3或4级急性GvHD的风险是大约40%至50%。发展急性GvHD的患者具有增加的不良事件风险,包括与GvHD的免疫抑制疗法和慢性GvHD的发展相关的感染。allo-HSCT后患者中由GvHD和感染引起的综合死亡率很高,仅次于由于原发性疾病的死亡。另外,对于在急性GvHD的初始治疗后未实现响应的患者的预后很差。

[0006] 使用各种策略,诸如钙调神经磷酸酶抑制剂、甲氨蝶呤和体内或离体T细胞耗尽,对所有经历allo-HSCT的患者采用GvHD预防;然而,尽管进行了GvHD预防,GvHD仍在30%至50%的allo-HSCT接受者中发展(Gooley TA等,N Engl J Med 2010;363(22):2091-101; McDonald GB等,Blood 2015;126(1):113-20)。用于患有急性GvHD(II级或更高级)的患者的一线治疗是皮质类固醇,诸如甲泼尼龙。虽然一线治疗在超过50%的患者中有效,但仅在三分之一的患者中观察到持久响应(定义为到第28天完全响应[CR],其在发病后6个月仍存在)(Levine JE等,Lancet Haematol 2015;2(1)e21-e9)。在未响应于用类固醇进行的初级

治疗的患者中,急性GvHD与主要来自感染和/或多器官衰竭的高发病率和死亡率相关(Martinez C等,Biol Blood Marrow Transplant 2009;15(5):639-42;Xhaard A.等,Biol Blood Marrow Transplant 2009;15(5):639-42)。尽管如此,对于仍然主要是存活率有限的无法治疗的疾病的类固醇难治性GvHD尚未得到批准或同意的标准治疗,这代表了主要的未满足的治疗需求。

[0007] allo-HSCT后发生的急性GvHD在最严重和危及生命的病例中涉及皮肤、肝脏和肠道。急性皮肤GvHD通常不对现有疗法造成生命危险,所述疗法通常是有效的,并且3期或4期肝脏GvHD的发病率为约2%(Gooley TA等,N Engl J Med 2010;363(22):2091-101)。虽然近年来3期或4期肠道GvHD的发病率有所下降,但大部分治疗方案仍不成功,其中大多数致命的GvHD病例涉及胃肠(GI)道(Gooley TA等,N Engl J Med 2010;363(22):2091-101)。下肠道GvHD呈现分泌性、富含蛋白质的腹泻(严重情况下每天超过1.5升)、肠道扩张引起的腹痛、小肠和结肠的炎症、粘膜溃疡和出血。接受allo-HSCT的患者的研究显示,7.9%的患者在移植后35天的中位发作时间发展成3期或4期肠道GvHD(Castilla-Llorente C等,Bone Marrow Transplant 2014;49(7):966-71)。这些患者中的73%在3期或4期肠道GvHD发作之前或14天内发展皮质类固醇抗性。重要的死亡风险因素包括皮质类固醇抗性、年龄>18岁、血清胆红素升高和明显GI出血。因此,对于治疗或预防急性GvHD的药剂和方法仍存在迫切的未满足的医疗需求。

## 发明内容

[0008] 本发明涉及通过向有需要的受试者施用人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白的拮抗剂来治疗或预防移植物抗宿主疾病的方法。本发明涉及用 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白的拮抗剂,诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体,诸如人源化抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体(例如维多珠单抗(vedolizumab))预防移植物抗宿主疾病(GvHD)。在一些实施方案中,患者患有急性成淋巴细胞白血病(ALL)或急性骨髓性白血病(AML)。

[0009] GvHD是经历allo-HSCT的患者中发病和死亡的主要原因。由GvHD引起的显著死亡率限制了HSCT作为疾病,例如恶性疾病的潜在治愈性疗法的用途。降低非复发死亡率(诸如由GvHD和感染引起)可改善allo-HSCT后的总体存活率。类固醇和其它系统性免疫抑制剂(诸如他克莫司+短期甲氨蝶呤)是目前用于预防和治疗GvHD的护理标准(SOC)。然而,这种护理标准会增加感染的风险,并且也不是完全有效的。针对减少GvHD的免疫抑制还可降低移植物抗肿瘤(GvT)效应。因此,如本发明所述,在没有系统性免疫抑制的情况下减少GvHD,具有改善allo-HSCT的总体结果并且可能从此疾病延长和/或挽救生命的潜力。

[0010] 在allo-HSCT后,造血干细胞(HSC)接种物中表达低水平 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白的原初T细胞循环到宿主培氏斑(Peyer's patch)(PP)或肠系膜淋巴结(MLN),在那里它们在同种异体抗原的背景下遇到肠道微生物抗原并被活化。这些活化的效应T细胞通过 $\alpha 4\beta 7$ /MADCAM-1途径上调 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白,然后归巢回到肠粘膜,并产生肠粘膜损伤。同种异体反应性效应T细胞、肠道微生物和肠粘膜组织之间的相互作用导致许多炎症介质的释放,从而产生正反馈回路。同种异体反应性T细胞的扩张、导致微生物和微生物刺激易位的肠屏障的破坏以及系统性细胞因子风暴的组合导致GvHD的弥漫系统性症状。

[0011] 为了预防GvHD,不希望受任何特定理论的束缚,据信本发明通过干扰 $\alpha 4\beta 7$ /MADCAM-1途径阻断T细胞向次级淋巴器官,例如PP或MLN的初始运输。因此,本发明抑制和/

或预防急性GvHD的进展。在一些实施方案中,与目前的护理标准(SOC)相比,本发明提供了100天时急性GVHD的累积发病率和严重性降低50%以及1年死亡率降低25%。在另一个实施方案中,与SOC相比,本发明改善6个月时无GvHD存活率并且改善1年时无GvHD和无复发存活率;改善HSCT后6个月时急性GvHD的累积发病率和严重性;改善12个月时需要免疫抑制的慢性GVHD累积发病率;或改善GRFS(无GvHD和无复发存活率)。在一些实施方案中,施用 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体),导致急性GvHD死亡风险降低5%、10%、15%、20%、25%、30%,例如从40%的死亡风险降低至例如35%或30%或更低。

[0012] 在一个方面,本发明涉及一种预防移植物抗宿主疾病(GvHD)的方法,其中所述方法包括以下步骤:向经历同种异体造血干细胞移植(allo-HSCT)的人患者施用对人 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,其中根据以下给药方案向患者施用所述人源化抗体:

[0013] a. 在allo-HSCT前一天,以静脉内输注施用初始剂量为75mg、300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

[0014] b. 随后在所述初始剂量后约两周时,以静脉内输注施用第二后续剂量为75mg、300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

[0015] c. 随后在所述初始剂量后约六周时,以静脉内输注施用第三后续剂量为75mg、300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;其中给药方案产生II级GvHD、I级GvHD或无GvHD,另外其中所述人源化抗体包含非人来源的抗原结合区和人来源抗体中的至少一部分,其中所述人源化抗体对 $\alpha$ 4 $\beta$ 7复合物具有结合特异性,其中抗原结合区包含SEQ ID NO:7(CDR1)、SEQ ID NO:8(CDR2)和SEQ ID NO:9(CDR3)的轻链CDR;以及重链CDR:SEQ ID NO:4(CDR1)、SEQ ID NO:5(CDR2)和SEQ ID NO:6(CDR3)。

[0016] 在另一方面,本发明涉及一种减少急性移植物抗宿主疾病(GvHD)发生的方法,其中所述方法包括以下步骤:向经历同种异体造血干细胞移植(allo-HSCT)的人患者施用对人 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,其中根据以下给药方案向患者施用所述人源化抗体:

[0017] a. 在allo-HSCT前一天,以静脉内输注施用初始剂量为75mg、300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

[0018] b. 随后在所述初始剂量后约两周时,以静脉内输注施用第二后续剂量为300mg的所述人源化抗体;

[0019] c. 随后在所述初始剂量后约六周时,以静脉内输注施用第三后续剂量为300mg的所述人源化抗体;其中所述人源化抗体包含非人来源的抗原结合区和人来源抗体中的至少一部分,其中所述人源化抗体对 $\alpha$ 4 $\beta$ 7复合物具有结合特异性,其中抗原结合区包含SEQ ID NO:7(CDR1)、SEQ ID NO:8(CDR2)和SEQ ID NO:9(CDR3)的轻链CDR;以及重链CDR:SEQ ID NO:4(CDR1)、SEQ ID NO:5(CDR2)和SEQ ID NO:6(CDR3)。在另一方面,本发明涉及一种降低急性移植物抗宿主疾病(GvHD)严重性的方法,其中所述方法包括以下步骤:向经历同种异体造血干细胞移植(allo-HSCT)的人患者施用对人 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,其中根据以下给药方案向患者施用所述人源化抗体:

[0020] a. 在allo-HSCT前一天,以静脉内输注施用初始剂量为300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

[0021] b. 随后在所述初始剂量后约两周时,以静脉内输注施用第二后续剂量为300mg的所述人源化抗体;

[0022] c. 随后在所述初始剂量后约六周时,以静脉内输注施用第三后续剂量为300mg的所述人源化抗体;其中所述人源化抗体包含非人来源的抗原结合区和人来源抗体中的至少一部分,其中所述人源化抗体对 $\alpha 4\beta 7$ 复合物具有结合特异性,其中抗原结合区包含SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)和SEQ ID NO:9 (CDR3)的轻链CDR;以及重链CDR:SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)和SEQ ID NO:6 (CDR3)。

[0023] 在一些实施方案中,降低急性移植物抗宿主疾病 (GvHD) 严重性导致根据修改的格鲁兹堡标准 (Glucksberg criteria) 的I级或II级GvHD、或根据其它评分系统的类似的GvHD严重性,或无GvHD。在一些实施方案中,降低急性GvHD严重性是与单独使用甲氨蝶呤和钙调神经磷酸酶抑制剂的治疗相比在第100天时II-IV级或III-IV级急性GvHD的累积发病率和严重性降低50%。在一些实施方案中,降低急性移植物抗宿主疾病 (GvHD) 严重性是与单独使用甲氨蝶呤和钙调神经磷酸酶抑制剂的治疗相比降低了1年死亡率。

[0024] 在一些实施方案中,在测量选自由生物标志物、临床体征和对类固醇使用的难治性组成的组的标准后,将患者鉴定为处于急性GvHD的风险中。

[0025] 在一些实施方案中,在造血干细胞输注后超过15天、超过16天、超过17天、超过20天或超过21天施用所述人源化抗体。

[0026] 在一些实施方案中,减少急性GvHD的发生导致根据修改的格鲁兹堡标准的I级或II级GvHD、或根据其它评分系统的类似的GvHD严重性,或无GvHD。在其它实施方案中,减少急性GvHD的发生是与单独使用甲氨蝶呤和钙调神经磷酸酶抑制剂的治疗相比在第100天时II-IV级或III-IV级急性GvHD的累积发病率和严重性降低50%。在其它实施方案中,减少急性移植物抗宿主疾病 (GvHD) 的发生是与单独使用甲氨蝶呤和钙调神经磷酸酶抑制剂的治疗相比降低了1年死亡率。

[0027] 在另一方面,本发明涉及一种治疗患有癌症或非恶性血液学、免疫学疾病或自身免疫疾病的患者的方法,其包括以下步骤

[0028] a. 调理所述患者的免疫系统以供进行造血干细胞移植,

[0029] b. 施用对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,

[0030] c. 等待至少12个小时,

[0031] d. 施用同种异体造血干细胞,

[0032] e. 等待十三天,然后施用第二剂量的对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,以及

[0033] f. 等待四周,然后施用第三剂量的对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体。

[0034] 在另一方面,本发明涉及一种抑制癌症患者中免疫响应的方法,其中所述方法包括以下步骤:向经历同种异体造血干细胞移植 (allo-HSCT) 的人患者施用对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化抗体,其中根据以下给药方案向患者施用所述人源化抗体:

[0035] a. 在allo-HSCT前一天,以静脉内输注施用初始剂量为75mg、300mg、450mg或600mg的所述人源化抗体;

[0036] b. 随后在所述初始剂量后约两周时,以静脉内输注施用第二后续剂量为300mg的

所述人源化抗体；

[0037] c. 随后在所述初始剂量后约六周时，以静脉内输注施用第三后续剂量为300mg的所述人源化抗体；另外其中所述人源化抗体包含非人来源的抗原结合区和人来源抗体中的至少一部分，其中所述人源化抗体对 $\alpha 4\beta 7$ 复合物具有结合特异性，其中抗原结合区包含SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2) 和SEQ ID NO:9 (CDR3) 的轻链CDR；以及重链CDR:SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2) 和SEQ ID NO:6 (CDR3)。

[0038] 人源化抗体可具有SEQ ID NO:1的氨基酸20至140的重链可变区序列。

[0039] 人源化抗体可具有SEQ ID NO:2的氨基酸20至131的轻链可变区序列。

[0040] 人源化抗体可具有包含SEQ ID NO:1的氨基酸20至470的重链和包含SEQ ID NO:2的氨基酸20至238的轻链。在一些实施方案中，人源化抗体是维多珠单抗。

[0041] 在另一方面，本发明涉及一种治疗移植患者的方法，其中所述移植患者是输注同种异体造血细胞的接受者，所述方法包括施用抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。在一些实施方案中， $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白拮抗剂是抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体。在一些实施方案中，抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体是人源化抗体。在一些实施方案中，在输注后10至28天、14至30天、15至32天或15至35天以单剂量施用抗 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。

[0042] 在另外的方面，本公开提供了一种用于治疗人的移植物抗宿主疾病 (GvHD) 的方法，其包括向有需要的人施用对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白复合物具有结合特异性的抗体。在一个实例中，根据以下方案施用对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白复合物具有结合特异性的抗体：a) 第一剂量的抗体；b) 在第一剂量后约两周的第二剂量的抗体；c) 在第二剂量后约四周的第三剂量的抗体；和任选地d) 另外剂量的抗体，其中每个另外剂量在紧接先前剂量后约四周施用；并且其中a) -d) 中的每个剂量是300mg，或a) -d) 中的每个剂量是600mg。在一些实施方案中，在每个剂量中以300或600mg抗体接受a) -d) 中的五个剂量的患者可以每个剂量300mg的抗体剂量进一步重复a) -d)。

## 附图说明

[0043] 图1是说明从第-1天至第+50天的研究设计概述的示意图。Allo-HSCT发生在第0天。维多珠单抗在allo-HSCT前一天 (第-1天)，并且在allo-HSCT后第+13天和第+42天施用。

[0044] 图2说明了阻断GALT和MLN中 $\alpha 4\beta 7$ /MADCAM-1相互作用可如何减少同种异体反应性记忆T细胞的产生及其随后进入肠道，由此减少GvHD的发生。

[0045] 图3是示出来自三名患者的模拟和观察到的PK数据的图。PK模拟数据由锯齿线之间的区域 (模拟数据的2.5和97.5百分位数) 示出，没有点的黑色虚线表示模拟数据的中值，点和线是使用标称时间绘制的单独观察数据，并且水平虚线表示LLOQ为0.2mcg/mL。

## 具体实施方式

[0046] 本发明涉及一种通过预防GvHD治疗疾病的方法。所述方法包括向经历同种异体造血细胞移植，诸如同种异体造血干细胞移植 (allo-HSCT) 的患者施用 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白拮抗剂 (诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体)。在一些实施方案中，患者所患有的疾病是癌症，例如血液学癌症 (诸如白血病、淋巴瘤、骨髓瘤或骨髓增生异常综合征)。在其它实施方案中，患者所患有的疾病的特征在于非恶性血液学或免疫学缺陷 (诸如骨髓衰竭综合征、血红蛋白病或SCID)。在一个方面，对移植患者进行调理，例如经历一定过程以使身体准备好接受移植物。在一些实施方

案中,所述调理是骨髓性调理(“骨髓调理”)或降低强度的调理(RIC),例如较少,诸如10%、20%、30%、40%、20-40%、30-50%或50%更少的药剂用于骨髓性调理。在一些实施方案中,所述调理是例如通过环磷酰胺和/或白消安和/或氟达拉滨进行化学诱导的、例如通过全身照射进行辐射诱导的,或者通过化学治疗和辐射,诸如环磷酰胺和全身照射的组合进行诱导的。

[0047] 在一个方面,例如以输注向患者,例如移植患者施用同种异体造血细胞。在一些实施方案中,同种异体造血细胞是同种异体造血干细胞,即患者接受同种异体造血干细胞移植(allo-HSCT)。在一些实施方案中,同种异体造血细胞是同种异体白血球细胞。在一些实施方案中,同种异体白血球细胞包括淋巴细胞,例如T淋巴细胞。在一些实施方案中,同种异体白血球细胞包括表达嵌合抗原受体的淋巴细胞。在一些实施方案中,同种异体白血球细胞包括天然杀伤细胞。在一些实施方案中,同种异体白血球细胞包括细胞毒性T淋巴细胞,例如表达CD8的T细胞。在一些实施方案中,选择同种异体白血球细胞由至少30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的淋巴细胞组成。在一些实施方案中,选择同种异体白血球细胞由至少30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的T淋巴细胞组成。在一些实施方案中,同种异体造血细胞具有一种或多种本领域已知的重组修饰以控制它们在患者中的行为。

[0048] 在一些实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体),预防移植物抗宿主疾病(GVHD)。在一些实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体),不预防移植物抗肿瘤活性。在一些实施方案中,植入的移植细胞对患者组织具有耐受性。在一些实施方案中,本发明涉及并通过向经历allo-HSCT的患者施用抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体来预防移植物抗宿主疾病(GvHD)的方法。在一些实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂在接受造血细胞,诸如同种异体造血干细胞之前向患者施用,并且在造血细胞植入期间进一步提供,并由此预防GVHD。在其它实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂在接受造血细胞后不久,诸如最多7天后向患者施用。在一些实施方案中,抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体是人源化抗体,例如具有Act-1小鼠单克隆抗体的表位特异性的人源化抗体。在一些实施方案中,抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体是维多珠单抗。

[0049] 造血细胞,例如干细胞,可源于非自身供体,即同种异体的骨髓或血液(例如外周血或脐带血)。在一些实施方案中,造血细胞,例如干细胞,可在输注前被操作,例如通过抗体选择或其它机制富集或耗尽某些细胞、体外扩增或者经受基因编辑或基因治疗。被富集或耗尽用于输注的造血细胞的组合物的实例包括细胞,其可通过例如阴性选择来收集,例如从红细胞中分离白血球(例如,通过致密糖或聚合物溶液(例如FICOLL®溶液(GE healthcare的Amersham Biosciences部门,NJ)或HISTOPAQUE®-1077溶液,Sigma-Aldrich Biotechnology LP和Sigma-Aldrich Co.,St.Louis,MO)的差速离心)和/或通过选择剂(例如结合B细胞标志物,诸如CD19或CD20、结合骨髓祖细胞标志物,诸如CD34、CD38、CD117、CD138、CD133或ZAP70,或者结合T细胞标志物,诸如CD2、CD3、CD4、CD5或CD8的试剂用于直接分离(例如,将磁场施加到包含磁珠(例如,来自Miltenyi Biotec, Auburn, CA)或其它珠粒的细胞溶液,例如在结合细胞标志物的柱(R&D Systems, Minneapolis, MN)中)或荧光激活细胞分选)结合进行的阳性选择来收集。在一个实施方案中,差速离心浓缩包含白血球的细胞层。

[0050] 在一些实施方案中,患者患有疾病,诸如癌症或非恶性疾病。在一些实施方案中,

患者患有白血病,例如,急性成淋巴细胞白血病(ALL)或急性骨髓性白血病(AML)。在一些实施方案中,患者患有骨髓增生异常或骨髓增生性疾病。在一些实施方案中,患者患有淋巴瘤,诸如非霍奇金淋巴瘤或霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,患者具有非恶性血液病,诸如血红蛋白病,例如镰状细胞疾病或地中海贫血、骨髓衰竭综合征,例如再生障碍性贫血、范科尼贫血(Fanconi's anemia)或其它骨髓衰竭综合征、免疫疾病,诸如重度联合免疫缺陷(SCID)或自身免疫疾病,诸如糖尿病。在一些实施方案中,患者患有可用器官移植治疗的病症,诸如硬化性胆管炎、肝硬化或血色病(例如用于肝移植);充血性心脏病、扩张型心肌病或严重冠状动脉疾病(例如用于心脏移植);囊性纤维化、慢性阻塞性肺疾病或肺纤维化(例如用于肺移植);或糖尿病、多囊肾病、系统性红斑狼疮或局灶性节段性肾小球硬化(例如用于肾移植)。在一些实施方案中,患者接受两次移植,例如造血细胞移植,例如出于耐受诱导的目的,和实体器官移植,例如肝脏、心脏、肺或肾的移植。在另一个实例中,患者通过供体白血球输注(DLI)接受两次移植,首先是allo-HSCT,并且第二次是同种异体T细胞。在此实例中,在两个移植程序中都有可能发展急性GvHD,并且因此向患者施用 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)可用于两种移植。

[0051] 急性移植物抗宿主疾病的特征在于由同种异体反应性免疫细胞诸如T细胞引起的对组织诸如肝脏、皮肤(皮疹)、胃肠道和其它粘膜的损伤。在一些实施方案中,自身反应性免疫细胞可引起急性移植物抗宿主疾病。免疫细胞可从造血细胞输注变得具有反应性,或者在识别患者,例如移植患者的组织中的信号时被活化,由同种异体反应性造血细胞或自身反应性免疫细胞识别的信号可从调理方案或肿瘤崩解综合征诱导,例如作为GVT活性的结果。GvHD的预防可能是在造血细胞(例如造血干细胞)输注时开始的持续 $\alpha$ 4 $\beta$ 7阻断引起的。向经历allo-HSCT的患者预防性施用维多珠单抗可防止同种异体反应性T细胞向GALT(例如培氏斑)或肠系膜淋巴结和GI粘膜的运输,由此防止急性GvHD的发展。持续 $\alpha$ 4 $\beta$ 7阻断可在造血细胞植入期间进一步防止GvHD,例如阻断自身反应性免疫细胞。抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体以足以在allo-HSCT后的前100天(绝大多数急性GvHD发生的时间段)内实现持续受体饱和的剂量提供。III-IV级或指数C-D急性GvHD是发展慢性GvHD的风险因素,因此可预防急性GvHD的疗法可降低发展慢性GvHD的风险(Flowers M.E.D.等,Blood 2011年3月17日117(11): 3214-19)。

[0052] 本发明的一个方面涉及用于预防GvHD的 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白拮抗剂(例如维多珠单抗)。与健康受试者不同,预计经历调理方案(例如清髓性或降低强度的调理),随后进行造血细胞移植(诸如allo-HSCT)的患者在移植后期间具有显著改变的T细胞群,其具有可变 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白表达。例如,HSC的植入包括将移植HSC归巢至骨髓并且使供体淋巴细胞成熟并归巢至次级淋巴器官和其它组织,从而导致患者对植入时发生感染的高度易感性。系统性治疗,例如施用用于控制淋巴细胞异常活化的免疫抑制剂(诸如皮质类固醇、环孢霉素、甲氨蝶呤和霉酚酸酯和抗体疗法,如阿仑单抗、抗胸腺细胞球蛋白或利妥昔单抗,以及抗TNF疗法)可能影响植入和对移植物或疾病(例如癌症或非恶性血液病)的响应。肠道选择性疗法(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)提供了在此环境中减少同种异体反应性肠特异性淋巴细胞的产生和归巢的潜力,同时可能保留移植物的GVT效应。

[0053] 本发明的另一方面涉及一种用于治疗GvHD(诸如类固醇难治性急性肠道GvHD)的 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白拮抗剂(例如维多珠单抗),以及通过向有需要的受试者施用 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白拮

抗剂(例如维多珠单抗)治疗GvHD(诸如类固醇难治性急性肠道GvHD)的方法。

[0054] 定义

[0055] 术语“医药制剂”是指一种含有呈使抗体的生物活性有效的形式的 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体),并且不含有对将施用制剂的受试者具有不可接受毒性的另外组分的制剂。

[0056] 细胞表面分子“ $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白”或“ $\alpha 4\beta 7$ ”是 $\alpha 4$ 链(CD49D, ITGA4)与 $\beta 7$ 链(ITGB7)的异二聚体。各链可与替代性整联蛋白链形成异二聚体,以形成 $\alpha 4\beta 1$ 或 $\alpha E\beta 7$ 。人 $\alpha 4$ 和 $\beta 7$ 基因(分别为GenBank(National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD) RefSeq登录号NM\_000885和NM\_000889)由B和T淋巴细胞、特别是记忆CD4+淋巴细胞表达。作为许多整联蛋白的典型, $\alpha 4\beta 7$ 可以静止或活化状态存在。 $\alpha 4\beta 7$ 的配体包括血管细胞粘着分子(VCAM)、纤维结合蛋白(fibronectin)和粘膜地址素(MAdCAM(例如MAdCAM-1))。

[0057] “ $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂”是拮抗、降低或抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白功能的分子。这种拮抗剂可拮抗 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白与其一种或多种配体的相互作用。 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂可结合异二聚体的任一链或需要 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白的两条链的复合物,或者其可结合配体,诸如MAdCAM。 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂可以是进行这种结合功能的抗体,诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ -整联蛋白抗体或“抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体”。在一些实施方案中, $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体),“对 $\alpha 4\beta 7$ 复合物具有结合特异性”并且与 $\alpha 4\beta 7$ 结合,但不与 $\alpha 4\beta 1$ 或 $\alpha E\beta 7$ 结合。

[0058] 本文中的术语“抗体”以最广泛意义使用,并且明确涵盖全长抗体、抗体肽或免疫球蛋白、单克隆抗体、嵌合抗体(包括灵长类动物源化抗体)、多克隆抗体、人抗体、人源化抗体和来自非人物种的抗体,包括衍生自转导到非人物种(例如小鼠、绵羊、鸡或山羊中)的人种系免疫球蛋白序列的人抗体、重组抗原结合形式诸如单抗体和双抗体、由至少两种全长抗体形成的多特异性抗体(例如双特异性抗体)(例如每个部分包含针对不同抗原或表位的抗体的抗原结合区),以及任何前述例如抗体或其衍生的抗体的单个抗原结合片段,包括dAb、Fv、scFv、Fab、F(ab)'<sub>2</sub>、Fab'。

[0059] 如本文所用的术语“单克隆抗体”是指从基本上均质抗体的群体获得的抗体,即构成所述群体的个别抗体是相同的和/或结合相同的表位。修饰语“单克隆”指示抗体是从基本上均质的抗体群体获得的特性,并且不应解释为需要通过任何特定方法来产生所述抗体。

[0060] 抗体的“抗原结合片段”优选地至少包含抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体的重链和/或轻链的可变区。例如,维多珠单抗的抗原结合片段可包含SEQ ID NO:2的人源化轻链序列的氨基酸残基20-131和SEQ ID NO:1的人源化重链序列的氨基酸残基20-140。此类抗原结合片段的实例包括Fab片段、Fab'片段、Fv片段、scFv和F(ab')<sub>2</sub>片段。抗体的抗原结合片段可通过酶裂解或通过重组技术来产生。例如,木瓜蛋白酶或胃蛋白酶裂解可分别用于产生Fab或F(ab')<sub>2</sub>片段。还可使用其中一个或多个终止密码子已被引入在天然终止位点上游的抗体基因以多种截短形式产生抗体。例如,编码F(ab')<sub>2</sub>片段的重链的重组构建体可经设计以包括编码重链的CH<sub>1</sub>结构域和铰链区的DNA序列。在一个方面,抗原结合片段抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白与其一个或多个配体(例如粘膜地址素MAdCAM(例如MAdCAM-1)、纤维结合蛋白)结合。

[0061] “治疗性单克隆抗体”是用于人受试者疗法的抗体。本文中公开的治疗性单克隆抗体包括抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体。抗体“效应功能”是指可归因于抗体Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)的那些生物活性。抗体效应功能的实例包括:C1q结合;补体依赖性细胞毒性;Fc

受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体;BCR)的下调等。为了评估感兴趣分子的ADCC活性,可进行体外ADCC测定,诸如描述于美国专利号5,500,362或5,821,337中的那些测定。

[0062] 取决于全长抗体的重链的恒定域的氨基酸序列,可将全长抗体指定为不同“类别”。存在五种主要类型的全长抗体:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且其中数个可进一步分成“亚类”(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA和IgA2。对应于抗体的不同类别的重链恒定域分别称为 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 和 $\mu$ 。不同类别的抗体的亚基结构和三维构型是熟知的。

[0063] 来自任何脊椎动物物种的抗体的“轻链”可基于其恒定域的氨基酸序列指定为两种明显不同类型(称为卡帕( $\kappa$ )及兰布达( $\lambda$ ))中的一者。

[0064] 术语“高变区”当在本文中使用时是指抗体的负责抗原结合的氨基酸残基。高变区通常包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(例如轻链可变域中的残基24-34(L1)、50-56(L2)和89-97(L3)以及重链可变域中的31-35(H1)、50-65(H2)和95-102(H3);Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991))和/或来自“高变环”的那些残基(例如轻链可变域中的残基26-32(L1)、50-52(L2)和91-96(L3)以及重链可变域中的26-32(H1)、53-55(H2)和96-101(H3);Chothia和Lesk J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。“框架区”或“FR”残基是除如本文定义的高变区残基外的那些可变域残基。可将高变区或其CDR从一个抗体链转移至另一抗体链或至另一蛋白质以赋予所得(复合)抗体或结合蛋白抗原结合特异性。

[0065] “人源化”形式的非人(例如啮齿动物)抗体是含有来源于非人抗体的最小序列的嵌合抗体。人源化抗体大部分是人免疫球蛋白(接受者抗体),其中来自接受者的高变区的残基被来自诸如小鼠、大鼠、兔或非人类灵长类动物的非人物种(供体抗体)的高变区的具有所需特异性、亲和力和能力的残基替换。在一些情况下,所述人抗体的框架区(FR)残基被相应非人残基替换。此外,人源化抗体可包含在接受者抗体中或在供体抗体中没有发现的残基。进行这些改性以进一步精制抗体性能。更多细节参见Jones等,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等,Nature 332:323-329(1988);以及Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。

[0066] 与不具有变化的亲本抗体相比,“亲和力成熟”抗体在其一个或多个高变区中具有一个或多个导致抗体对抗原的亲和力提高的变化。在一个方面,亲和力成熟抗体将对目标抗原具有纳摩尔或甚至皮摩尔亲和力。亲和力成熟抗体是通过本领域中已知的程序制备。Marks等,Bio/Technology 10:779-783(1992)描述通过VH和VL结构域改组达成亲和力成熟。对CDR和/或框架残基的随机突变诱发由以下文献描述:Barbas等,Proc Natl.Acad.Sci,USA 91:3809-3813(1994);Schier等,Gene 169:147-155(1995);Yelton等,J.Immunol.155:1994-2004(1995);Jackson等,J.Immunol.154(7):3310-9(1995);以及Hawkins等,J.Mol.Biol.226:889-896(1992)。“分离的”抗体是已鉴定且与其天然环境的组分分离和/或从其天然环境的组分回收的抗体。在某些实施方案中,抗体将:(1)被纯化至如通过劳立法(Lowry method)所测定大于95重量%蛋白质并且可替代地大于99重量%;(2)被纯化至足以通过使用旋杯式测序仪获得N端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度;或(3)通过使用考马斯蓝(Coomassie blue)或银染色法,在还原或非还原条件下进行SDS-

PAGE被纯化至均质。分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体,因为抗体的天然环境的至少一种组分将不存在。然而,通常将通过至少一个纯化步骤来制备分离的抗体。

[0067] “癌症”或“肿瘤”旨在包括患者中的任何恶性或肿瘤生长,包括初始肿瘤和任何转移。癌症可以是血液学或实体瘤类型。血液学肿瘤包括血液学来源的肿瘤,包括例如骨髓瘤(例如多发性骨髓瘤)、白血病(例如瓦尔登斯特伦综合征(Waldenstrom's syndrome)、慢性淋巴细胞白血病、急性髓性白血病、慢性髓性白血病、粒细胞性白血病、单核细胞性白血病、急性淋巴细胞白血病、其它白血病)、淋巴瘤(例如B细胞淋巴瘤,诸如弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、浆细胞瘤或网状细胞肉瘤)以及骨髓增生性肿瘤,诸如骨髓增生异常综合征、血小板增多症、真性红细胞增多症或骨髓纤维化。实体瘤可起源于器官,并且包括癌症诸如在皮肤、肺、脑、乳腺、前列腺、卵巢、结肠、肾、胰腺、肝脏、食道、胃、肠、膀胱、子宫、子宫颈、睾丸、肾上腺等中。如本文所用,癌细胞,包括肿瘤细胞,是指以异常(增加)速率分裂或者其生长或存活的控制与癌细胞产生或生存的不同组织中的细胞不同的细胞。癌细胞包括但不限于癌、肉瘤、骨髓瘤、白血病、淋巴瘤和神经系统肿瘤(包括神经胶质瘤、脑膜瘤、成神经管细胞瘤、神经鞘瘤或室管膜瘤)中的细胞。

[0068] “治疗”是指治疗性治疗。需要治疗的人包括那些已患有疾病的人。因此,本文中待治疗的患者(例如人)可能已被诊断为患有疾病,诸如癌症或非恶性血液疾病或经受调理方案。可替代地,患者可能无GvHD,但是移植患者,例如正在经历同种异体造血细胞移植调理的患者、正在经历同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)的候选者或患者,或者最近例如在过去五个月内经历了同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)的患者。另外,或可替代地,可计划例如在allo-HSCT后,患者通过供体白血球输注(DLI)接收同种异体T细胞。可替代地,接受allo-HSCT的患者可能患有急性GvHD或可能已接受皮质类固醇用于治疗GvHD。allo-HSCT后,例如在表现出GvHD症状后的治疗,可缓解症状并可提供更长的存活时间。

[0069] 如果缓解、终止、减缓、最小化或预防了所述病状的至少一种症状(如由响应性/无响应性或本领域已知和本文所述的指示物确定),则疾病,例如癌症或GvHD被“抑制”或“治疗”了。术语“患者”和“受试者”在本文中可互换使用。

[0070] “预防”是指导致不良事件严重性不存在或减少的治疗。在一组患者中,治疗通常导致一定比例的不良事件或一定比例的严重不良事件,但出于预防目的而施用的治疗反而导致较低比例的不良事件(即降低或减小不良事件的风险)或较低比例的严重不良事件(即降低或减小严重不良事件的风险)。

[0071] 在同种异体造血干细胞移植患者(诸如经历清髓性或降低强度的调理并接受同种异体造血干细胞移植的患者)的背景下,移植物抗宿主疾病的不良事件至少具有25%风险、30%至60%风险、35%至55%风险、40%至50%风险或45%至65%风险,并且可能导致由所有不良事件导致的30%至50%严重治疗相关死亡率。预防不良GVHD、或预防高等级(例如III级或IV级或指数C或D)GVHD可减小不良事件的风险百分比,或可减小GVHD导致移植患者治疗相关死亡率的风险百分比。在一些实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)的施用预防患者中的GVHD。在其它实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)的施用预防患者中GVHD的肠道表现。在一些实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)的施用预防患者中GVHD的肠道表现,但不阻止皮肤或肝脏中GVHD的一种或多种表现。在一些实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7

拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体)的施用减少了患者中免疫抑制疗法的使用。在一些实施方案中,向经历allo-HSCT的患者施用 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体)导致干细胞植入。在一些实施方案中,向经历allo-HSCT的患者施用 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体)导致干细胞植入和移植物抗肿瘤(GVT)效应。

[0072] 抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体是基本上纯净的并且宜为基本上均质的(即不含污染性蛋白质等)。“基本上纯净”抗体意指以组合物中的蛋白质的总重量计,包含至少约90重量%、至少约95重量%或97重量%抗体的组合物。“基本上均质”抗体意指包含蛋白质的组合物,其中以蛋白质的总重量计,至少约99重量%蛋白质是特定抗体,例如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体。

[0073] 抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体,维多珠单抗,一种对 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的人源化单克隆抗体,已被用于治疗患有中度至重度活动性溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病(CD)的患者。维多珠单抗还可用于预防GvHD。维多珠单抗具有新颖的肠道选择作用机制。通过与细胞表面表达的 $\alpha 4\beta 7$ 结合,维多珠单抗是 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂,并且阻断一个子集的记忆肠道-归巢T淋巴细胞与内皮细胞上表达的粘膜地址素细胞粘附分子-1(MAdCAM-1)相互作用。

[0074] 几种因素与抗体的加速清除有关,包括抗药物抗体的存在、性别、体型、伴随的免疫抑制剂使用、疾病类型、白蛋白浓度和系统性炎症的程度。此外,对于许多这些药剂,区别于药物剂量,已观察到功效与暴露之间的一致关系,使得较高谷药物浓度与较大功效相关。药物清除的差异可能是这一观察的重要解释。例如,癌症患者经历肿瘤的免疫抑制治疗和感染治疗。因此,了解移植患者中治疗性抗体清除的决定因素可能导致药物方案的优化。

[0075] 在先前的研究中,在健康志愿者(静脉内[IV]输注)(未发表的数据)中,在0.2至10mg/kg的剂量范围内研究了单剂量药代动力学、药效动力学( $\alpha 4\beta 7$ 受体饱和)、安全性和维多珠单抗的耐受性。在达到峰值浓度后,维多珠单抗血清浓度以一般双指数方式下降,直至浓度达到大约1至10ng/mL。此后,浓度似乎以非线性方式下降。在患有CD的患者中IV输注0.5和2mg/kg以及在患有UC的患者中输注2、6和10mg/kg后,研究了维多珠单抗的多-剂量药代动力学和药效动力学。在患有UC的患者中在2至10mg/kg的剂量范围内IV输注后,维多珠单抗药代动力学通常是线性的。在多剂量施用后,在初始剂量的维多珠单抗后实现快速且接近完全的 $\alpha 4\beta 7$ 受体饱和。

[0076] 在患有CD的患者中,在GEMINI 2(ClinicalTrials.gov编号(ClinicalTrials.gov number),NCT00783692)和GEMINI 3(ClinicalTrials.gov编号,NCT01224171)试验中证实了维多珠单抗诱导和维持治疗的功效和安全性。用于诱导和维持治疗的CD患者中维多珠单抗的暴露-响应(功效)关系已在其它地方提出。

[0077] 本发明涉及一种通过在同种异体造血细胞移植患者(例如人患者,例如经历allo-HSCT)中预防GvHD或GvHD相关不良事件来治疗患者疾病的方法。人患者可以是成人(例如18岁或18岁以上)、青少年或儿童。包含抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体的药物组合物可如本文所述用于治疗移植患者、癌症患者、非恶性血液疾病患者或预防患有所述疾病的受试者中的GvHD。

[0078] 根据修改的格鲁兹堡标准(表2)以及血液和骨髓移植临床试验网络(BMT CTN)修改的国际骨髓移植登记数据库(IBMTR)指数表3)测量急性GvHD的严重性。GvHD的临床分期和等级如表1所示被划分。

[0079] 表1:急性移植物抗宿主疾病临床分期

分期	皮肤	肝脏 胆红素: SI 单位 (标准单位)	肠道 腹泻/天
1	斑状丘疹<身体表面的 25% (a)	34-50 $\mu\text{mol/L}$ (2-3 mg/dL)	>500 mL 腹泻/天
2	斑状丘疹为身体表面的 25%-50%	51-102 $\mu\text{mol/L}$ (3.1-6 mg/dL)	>1000 mL 腹泻/天
3	皮疹>身体表面的 50%	103-225 $\mu\text{mol/L}$ (6.1-15 mg/dL)	>1500 mL 腹泻/天
4	具有大疱形成的一般性红皮 病	>255 $\mu\text{mol/L}$ (>15 mg/dL)	严重的腹痛,伴有或 不伴有肠梗阻

[0081] 表2:急性移植物抗宿主疾病等级(修改的格鲁兹堡)

等级	皮肤	肝脏	肠道
I	1-2 期	无	无
II	3 期或→	1 期或→	1 期
III	-	2-3 期或→	2-4 期
IV	4 期或→	4 期	-

[0083] 表3:急性移植物抗宿主疾病的国际骨髓移植登记数据库 (IBMTR) 严重性指数的标准

指数	皮肤		肝脏		肠道	
	分期(最大)	皮疹的程度	分期(最大)	总胆红素 ( $\mu\text{mol/L}$ )	分期(最大)	腹泻的体积(mL/天)
A	1	<25%	0	<34	0	<500
B	2	25-50% 或	1-2	34-102	或 1-2	550-1500
C	3	>50% 或	3	103-255	或 3	>1500
D	4	大疱 或	4	>255	或 4	严重的疼痛 和肠梗阻

[0085] 在施用 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(例如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体)后,同种异体造血细胞,例如allo-HSC,可在以下情况下植入:无GvHD、仅皮肤GvHD、仅肝脏GvHD、仅皮肤和肝脏GvHD、无肠道GvHD以及仅皮肤或肝脏GvHD、无IV级GvHD、无III级或IV级GvHD、仅1期或2期肠道GvHD以及仅2-3期皮肤和/或肝脏GvHD、仅I级至II级GvHD、或无或仅皮肤GvHD、仅指数A GvHD、仅指数A或B GvHD、无指数C或D GvHD,或具有GVT的任何前述物质。

[0086] 预防急性GvHD的发展可能是减少或阻断同种异体反应性T细胞向GALT、肠系膜淋巴结和/或GI粘膜运输的结果。如果在同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)后约50天、约75天、约90天、约100天、约110天、约120天、约150天或约180天时,患者未显示出急性GvHD的迹象,则GvHD(例如急性GvHD)的预防可被认为是成功的。在一些实施方案中,经历同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)的患者,用不包括进一步施用免疫抑制疗法的方案进行治疗,例如在调理治疗后或在初始移植期(例如在同种异体造血细胞移植后,紧接着在例如0至1周、0至2周、0至3周或0至4周之前和/或之后)后不施用免疫抑制疗法。

[0087] 缓解由常规的世界卫生组织(WHO)标准定义:<5%的胚细胞,计数恢复,并且没有

髓外疾病的证据。在a11o-HSCT后,急性和/或慢性GvHD的缓解可持续约4个月、约5个月、约6个月、约9个月或约12个月。

[0088] GvHD复发或无进展存活率 (GRFS) 被定义为3-4级急性GvHD、需要系统性免疫抑制的慢性GvHD、疾病复发或进展,或由于任何原因导致的死亡。

[0089] 植入是移植的造血细胞填充在患者中或适应患者组织环境的过程,例如增殖、分化、开始进行从其获得或被编程为成熟信号的血液细胞的功能特征。通过定量血液成分(诸如嗜中性粒细胞和血小板)来测量a11o-HSCT的植入。植入的时间取决于造血干细胞的来源,例如脐带血干细胞比外周血干细胞更久。嗜中性粒细胞植入(绝对嗜中性粒细胞计数[ANC]的恢复)定义为ANC>500/mm<sup>3</sup>持续连续的3天或>2000/mm<sup>3</sup>持续1天。3天期间的第一天被认为是嗜中性粒细胞植入的日子。

[0090] 外周血淋巴细胞上 $\alpha$ 4 $\beta$ 7的平均表达可通过在同种异体造血细胞移植患者(例如清髓性a11o-HSCT人群)中给药抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体(例如维多珠单抗)之前和之后的MadCAM-1-Fc结合抑制测定来测量。

[0091] 血液或血清生物标志物,包括但不限于白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-17(IL-17)和致瘤性抑制因子2(ST2)和/或细胞生物标志物,包括但不限于CD8<sup>+</sup>、CD38<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>亮效应记忆T细胞和CD4<sup>+</sup>记忆T细胞的变化可预测急性GvHD的发作或严重性。在a11o-HSCT后检测到此类标志物中一种或多种的增加可指示急性GVHD的发作。生物标志物的检测可从生物标志物的免疫检测来实现,例如通过抗体与表达生物标志物的细胞(例如血细胞)结合并且例如通过流式细胞术测量抗体结合量,或者通过抗体与血清中的可溶性生物标志物结合并且例如通过ELISA测量抗体结合量。生物标志物的量与在移植过程早期或移植之前获得的对照或样品或与预定标准(例如非移植受试者群体中的生物标志物的量)的比较可提供指示生物标志物的量是否改变,例如是否增加。在一些实施方案中,向经历同种异体造血细胞移植(例如a11o-HSCT)的患者施用 $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)防止这些生物标志物中的一种或多种改变或增加。

[0092] 可测试患者以确定,在不同时间点,例如在基线、a11o-HSCT后第20天和第100天时,他们对针对 $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)的抗体是否是阳性的,例如对抗维多珠单抗抗体是否是阳性的。

[0093] 可测试患者的需要系统性免疫抑制的GvHD的发展。

[0094] 以有效量施用 $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体),其抑制 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白与其配体的结合。对于治疗,有效量将足以实现所需的预防效果(例如减少或消除同种异体反应性T细胞向GALT、肠系膜淋巴结和/或GI粘膜的运输并降低GvHD的发病率或严重性)。有效量的抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体(例如足以维持 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白饱和(例如中和)的有效效价)可导致在造血干细胞输注时持续的 $\alpha$ 4 $\beta$ 7阻断。 $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)可以单位剂量或多剂量施用。剂量可通过本领域中已知的方法确定并且可取决于例如个体的年龄、敏感性、耐受性和总体健康。施用模式的实例包括局部途径,诸如经鼻或吸入或经皮施用;肠内途径,诸如通过饲管或栓剂;以及肠胃外途径,诸如静脉内、肌内、皮下、动脉内、腹膜内或玻璃体内施用。抗体的合适剂量可为每次治疗约0.1mg/kg体重至约10.0mg/kg体重,例如约2mg/kg至约7mg/kg、约3mg/kg至约6mg/kg或约3.5mg/kg至约5mg/kg。在特定实施方案中,施用的剂量是约0.3mg/kg、约0.5mg/kg、约1mg/kg、约2mg/kg、约3mg/kg、约4mg/kg、约5mg/kg、约6mg/kg、约7mg/kg、约

8mg/kg、约9mg/kg或约10mg/kg。在一些实施方案中，维多珠单抗以50mg、75mg、100mg、300mg、450mg、500mg或600mg的剂量施用。在一些实施方案中，维多珠单抗以108mg、90至120mg、216mg、160mg、165mg、155至180mg、170mg或180mg的剂量施用。在一些实施方案中，维多珠单抗以180至250mg、300至350mg或300至500mg的剂量施用。

[0095] 在 $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)作为冻干固体储存的情况下,在施用之前将抗体在溶液(诸如注射用水)中复原。如果准备用于输注,则抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体的最终剂型(例如在(例如于生理盐水、林格氏或5%右旋糖输注系统中)稀释复原的抗体之后)可为约0.5mg/ml至约5mg/ml以便施用。最终剂型可在介于以下之间的浓度下:约0.3mg/ml至约3.0mg/ml、约1.0mg/ml至约1.4mg/ml、约1.0mg/ml至约1.3mg/ml、约1.0mg/ml至约1.2mg/ml、约1.0至约1.1mg/ml、约1.1mg/ml至约1.4mg/ml、约1.1mg/ml至约1.3mg/ml、约1.1mg/ml至约1.2mg/ml、约1.2mg/ml至约1.4mg/ml、约1.2mg/ml至约1.3mg/ml或约1.3mg/ml至约1.4mg/ml。最终剂型可在以下浓度下:约0.6mg/ml、0.8mg/ml、1.0mg/ml、1.1mg/ml、约1.2mg/ml、约1.3mg/ml、约1.4mg/ml、约1.5mg/ml、约1.6mg/ml、约1.8mg/ml或约2.0mg/ml。在一个实施方案中,总剂量是75mg。在一个实施方案中,总剂量是150mg、225mg、375mg或525mg。在另一个实施方案中,总剂量是300mg。在一个实施方案中,总剂量是450mg。在一个实施方案中,总剂量是600mg。抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体剂量可稀释在250ml生理盐水、林格氏或5%右旋糖溶液中以便施用。

[0096] 可在约20分钟、约25分钟、约30分钟、约35分钟或约40分钟内向患者施用剂量。

[0097] 可优化给药方案以导致预防GvHD或降低患者遭受的GvHD的严重等级或指数水平(例如III或IV级,指数C或指数D)的风险。在一些实施方案中,给药方案不改变接受治疗的患者的脑脊髓液中的CD4与CD8比率。例如,抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂不损害神经系统(例如脑或脊髓)的免疫监视。

[0098] 在一个实施方案中,给药方案包括在同种异体干细胞移植(allo-HSCT)前一天的初始剂量、在初始剂量后大约两周的后续剂量,和在初始剂量后大约六周的第二后续剂量。在一个实施方案中,抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体的初始剂量是在同种异体干细胞输注前至少12小时。尽管这种抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体给药方案对于批准用于治疗克罗恩病或溃疡性结肠炎的维多珠单抗的诱导剂量和方案是可用的,但预计经历同种异体造血细胞移植(诸如用调理方案治疗,随后进行移植(例如allo-HSCT))的受试者在移植后期间具有显著改变的具有可变 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白表达的T细胞群。此外,如果患者感染了感染或GVHD或对移植程序具有其它不良反应,则抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体的清除可能受到影响。例如,如果肾损伤是由用于调理的药剂引起的,则用透析治疗可增加抗体从血流中的清除。可替代地,在骨髓性疗法后,可能存在其它生理条件,其可能导致在初始治疗期间抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体的意外高的清除。

[0099] 在一些实施方案中,抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体在同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)之前施用。在一些实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)在同种异体造血细胞移植(诸如allo-HSCT)之前和之后向患者施用。在一些实施方案中, $\alpha$ 4 $\beta$ 7拮抗剂(诸如抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体)在同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)后,例如在同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)后1天、1至2天、1至3天、2至3天或2至4天、2天、3天、4天、5天、6天或7天内向患者施用。在一些实施方案中,在allo-HSCT后向患者施用抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体1至100天、5至80天、5至30天、10至28天、10至50天、14至30天、15至32天、18至25天、15至35天或大于100天。例如,抗 $\alpha$ 4 $\beta$ 7抗体(例如维多珠单抗)可在同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)前一天通过静脉内输注

作为初始剂量施用,并且然后在初始剂量后两周和六周时再次施用。

[0100] 在具体方面,本发明提供了一种使用维多珠单抗在同种异体造血细胞移植(例如同种异体造血干细胞移植)患者中预防GvHD的方法。所述方法包括以下步骤:向血液癌症患者(诸如患有白血病的人)施用初始300mg剂量的抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体(维多珠单抗);在初始剂量的维多珠单抗后一天进行a11o-HSCT、在初始剂量后两周施用后续300mg剂量的维多珠单抗;并且在初始剂量后六周施用第二后续300mg剂量的维多珠单抗。可替代地,在一些实施方案中,抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体(维多珠单抗)的剂量低于300mg(例如75mg或150mg),或者高于300mg(例如450mg或600mg)。

[0101] 本发明提供一种抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体,其用于预防具有同种异体造血细胞移植(例如a11o-HSCT)的患者中的GVHD,所述使用包括在a11o-HSCT前一天施用初始剂量的抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体;在初始剂量后两周和在初始剂量后六周施用抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体。在预防中的使用还可包括施用他克莫司和/或甲氨蝶呤。在一些实施方案中,抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体是维多珠单抗。

[0102] 本公开还涉及用于通过向有需要的受试者施用有效量的人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体(例如维多珠单抗))来治疗GvHD的方法。所述方法特别适用于治疗急性GvHD和类固醇难治性急性GvHD。类固醇难治性急性GvHD的实例是具有肠疾病受累的一类固醇难治性急性GvHD,例如,其严重性指数为B、C或D(使用BMT CTN修改的IBMTR指数),ECOC表现状态为0至3,和/或肌酐清除率 $\geq 60\text{mL}/\text{分钟}/1.73\text{m}^2$ (基于科克罗夫特-高尔特估计)。类固醇难治性患者在用皮质类固醇(例如可的松、氢化可的松、泼尼松或甲泼尼龙)治疗5至7天后可能恶化或没有改善,或者已接受了皮质类固醇剂量的增加。所述方法或治疗特别适用于治疗已接受a11o-HSCT的患者(包括具有骨髓移植证据的患者)的GvHD。

[0103] 对于GvHD(包括类固醇难治性急性GvHD)的治疗,对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的抗体(例如维多珠单抗)可以约300mg、350mg、400mg、450mg、500mg、550mg或600mg抗体的一个或多个剂量(例如300mg或600mg的剂量)施用。向患者施用的每个剂量均可含有相同量的抗体,例如可施用多剂量的300mg抗体(维多珠单抗)或多剂量的600mg抗体(维多珠单抗)。

[0104] 对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的抗体可根据施用方案施用。一种方案包括a)施用第一剂量的抗体;b)在第一剂量后约两周施用第二剂量的抗体;以及c)在第二剂量后约四周施用第三剂量的抗体。任选地,可施用另外剂量的抗体,条件是在紧接先前剂量后约四周施用每个另外剂量。在一些实施方案中,根据所述方案施用的每个剂量含有约300mg抗体(例如维多珠单抗),或者每个剂量含有约600mg抗体(例如维多珠单抗)。

[0105] 将对人 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白具有结合特异性的抗体静脉内,例如通过静脉内输注向有需要的患者施用。当通过静脉内输注施用,输注可持续约30分钟至约60分钟的时间段。

[0106] 包含抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体的药物组合物可如本文所述用于治疗移植患者、癌症患者、非恶性血液疾病患者或预防患有所述疾病的受试者中的GvHD。包含抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体的药物组合物还可如本文所述用于治疗GvHD(包括类固醇难治性急性GvHD)。以有效量施用 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体),其抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白与其配体的结合。

[0107] 本文所述的方法包括向患者施用有效量的抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体。如果抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体处于固体(例如干燥状态)的制剂中,则施用方法可包括使所述制剂转化为液态的步骤。在一个方面,干燥制剂可例如用如上所述的液体复原以用于注射,例如静脉内、肌肉或皮下注射。在另一

方面,固体或干燥制剂可例如以贴片、霜剂、气溶胶或栓剂形式局部施用。

[0108] 为抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体的 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂可与 $\alpha 4$ 链(例如人源化MAb 21.6(Bendig等,美国专利号5,840,299))、 $\beta 7$ 链(例如FIB504或人源化衍生物(例如Fong等,美国专利号7,528,236))上的表位结合,或与由 $\alpha 4$ 链与 $\beta 7$ 链缔合所形成的组合表位结合。描述于US 2010/0254975中的AMG-181或其它抗体是抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体。在一个方面,抗体结合 $\alpha 4\beta 7$ 复合物上的组合表位,但不结合 $\alpha 4$ 链或 $\beta 7$ 链上的表位,除非所述链彼此缔合。 $\alpha 4$ 整联蛋白与 $\beta 7$ 整联蛋白的缔合可例如通过以下方式来产生组合表位:使存在于两条链上的一起构成表位的残基邻近或构象暴露一条链(例如 $\alpha 4$ 整联蛋白链或 $\beta 7$ 整联蛋白链)上的表位结合位点,所述表位结合位点在不存在适当的整联蛋白搭配物(partner)或不存在整联蛋白活化下不可达成抗体结合。在另一方面,抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体结合 $\alpha 4$ 整联蛋白链与 $\beta 7$ 整联蛋白链两者,并且因此对 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白复合物具有特异性。例如,抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体可结合 $\alpha 4\beta 7$ 但不结合 $\alpha 4\beta 1$ ,和/或不结合 $\alpha E\beta 7$ 。在另一方面,抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体与Act-1抗体结合于相同或基本上相同表位(Lazarovits, A. I.等, J. Immunol., 133(4):1857-1862(1984); Schweighoffer等, J. Immunol., 151(2):717-729, 1993; Bednarczyk等, J. Biol. Chem., 269(11):8348-8354, 1994)。产生鼠Act-1单克隆抗体的鼠ACT-1杂交瘤细胞系根据2001年8月22日的布达佩斯条约(Budapest Treaty)的规定,以Millennium Pharmaceuticals, Inc., 40Landsdowne Street, Cambridge, Mass. 02139, U.S.A. 名义以登录号PTA-3663存放于美国菌种保存中心(American Type Culture Collection), 10801University Boulevard, Manassas, Va. 20110-2209, U.S.A.。在另一方面,抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体是使用美国专利申请公布号2010/0254975中提供的CDR的人抗体或 $\alpha 4\beta 7$ 结合蛋白。

[0109] 在一个方面, $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂是抗MAdCAM抗体(参见例如美国专利号8,277,808、PF-00547659或W02005/067620中描述的抗体)、或配体(诸如美国专利号7,803,904中描述的诸如MAdCAM-Fc嵌合体)的工程化形式。

[0110] 在一个方面,抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体抑制 $\alpha 4\beta 7$ 与其一个或多个配体(例如粘膜地址素(例如MAdCAM(例如MAdCAM-1))、纤维结合蛋白和/或血管地址素(VCAM))结合。灵长类动物MAdCAM描述于PCT公布WO 96/24673中,所述公布的全部教义以引用的方式并入本文。在另一方面,抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体抑制 $\alpha 4\beta 7$ 与MAdCAM(例如MAdCAM-1)和/或纤维结合蛋白结合而不抑制结合VCAM。

[0111] 在一个方面,适用于治疗的抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体是小鼠Act-1抗体的人源化形式。适于制备人源化抗体的方法在本领域中是熟知的。一般而言,人源化抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体将含有包含小鼠Act-1抗体的3个重链互补决定区(CDR, CDR1, SEQ ID NO:4、CDR2, SEQ ID NO:5和CDR3, SEQ ID NO:6)和适合人重链框架区的重链;并且还含有包含小鼠Act-1抗体的3个轻链CDR(CDR1, SEQ ID NO:7、CDR2, SEQ ID NO:8以及CDR3, SEQ ID NO:9)和适合人轻链框架区的轻链。人源化Act-1抗体可含有具有或不具有氨基酸取代的任何适合人框架区,包括共有框架区。例如,一个或多个框架氨基酸可被另一氨基酸(诸如小鼠Act-1抗体中相应位置处的氨基酸)替换。如果存在,则人恒定区或其部分可源于人抗体(包括等位基因变体)的 $\kappa$ 或 $\lambda$ 轻链和/或 $\gamma$ (例如 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$ 、 $\gamma 4$ )、 $\mu$ 、 $\alpha$ (例如 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ )、 $\delta$ 或 $\epsilon$ 重链。可选择特定恒定区(例如IgG1)、其变体或部分以调整效应功能。例如,可将突变恒定区(变体)并入融合蛋白中以使与Fc受体的结合和/或固定补体的能力减至最小(参见例如Winter等, GB 2,209,757B;

Morrison等,WO 89/07142;Morgan等,WO 94/29351,1994年12月22日)。Act-1抗体的人源化形式描述于PCT公布号WO 98/06248和WO 07/61679中,其各自的全部教义以引用的方式并入本文。使用抗 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白抗体的治疗方法描述于出版物编号U.S.2005/0095238、U.S.2005/0095238、WO2012151248和WO 2012/151247。

[0112] 在一个方面,抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体是维多珠单抗。维多珠单抗IV(也称为MLN0002、ENTYVIO™或KYNTELES™)是针对人淋巴细胞整联蛋白 $\alpha 4\beta 7$ 的人源化抗体(IgG1mAb)。 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白通过与在肠系膜淋巴结和GI粘膜的内皮上表达的黏膜地址素细胞粘附分子-1(MAdCAM-1)的粘附相互作用介导淋巴细胞向GI粘膜、肠道相关淋巴组织(GALT)和肠系膜淋巴结的运输。维多珠单抗结合 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白,拮抗其对MAdCAM-1的粘附,并且因此,损害原初T细胞向GALT和肠系膜淋巴结的迁移,并使肠白血球归巢到GI粘膜中。

[0113] 在另一方面,适用于治疗的人源化抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体含有包含SEQ ID NO:1的氨基酸20至140的重链可变区;和包含SEQ ID NO:2的氨基酸20至131或SEQ ID NO:3的氨基酸1至112的轻链可变区。如果需要,则可存在适合人恒定区。例如,人源化抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体可含有包含SEQ ID NO:1的氨基酸20至470的重链和包含SEQ ID NO:3的氨基酸1至219的轻链。在另一实施例中,人源化抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体可含有包含SEQ ID NO:1的氨基酸20至470的重链和包含SEQ ID NO:2的氨基酸20至238的轻链。维多珠单抗在Chemical Abstract Service(CAS,American Chemical Society)登记号943609-66-3下编目。

[0114] 人源化抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体序列的取代可为例如重链和轻链框架区的突变,诸如SEQ ID NO:10的残基2上的异亮氨酸突变为缬氨酸;SEQ ID NO:10的残基4上的甲硫氨酸突变为缬氨酸;SEQ ID NO:11的残基24上的丙氨酸突变为甘氨酸;SEQ ID NO:11的残基38处的精氨酸突变为赖氨酸;SEQ ID NO:11的残基40处的丙氨酸突变为精氨酸;SEQ ID NO:11的残基48上的甲硫氨酸突变为异亮氨酸;SEQ ID NO:11的残基69上的异亮氨酸突变为亮氨酸;SEQ ID NO:11的残基71上的精氨酸突变为缬氨酸;SEQ ID NO:11的残基73上的苏氨酸突变为异亮氨酸;或其任何组合;以及用小鼠Act-1抗体的CDR(CDR1,SEQ ID NO:4、CDR2,SEQ ID NO:5和CDR3,SEQ ID NO:6)置换重链CDR;以及用小鼠Act-1抗体的轻链CDR(CDR1,SEQ ID NO:7、CDR2,SEQ ID NO:8和CDR3,SEQ ID NO:9)置换轻链CDR。

[0115]  $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体)可单独或与另一药剂联合向个体(例如人)施用。 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体)可在另一药剂施用之前施用、与另一药剂一起施用或在另一药剂施用之后施用。在一个实施方案中,施用多于一种抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整联蛋白与其配体结合的 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂。在这种实施方案中,可施用药剂,例如单克隆抗体,诸如抗MAdCAM(例如抗MAdCAM-1)或抗VCAM-1单克隆抗体。在另一个实施方案中,另一药剂在不同于 $\alpha 4\beta 7$ 途径的途径中抑制白血球与内皮配体结合。这种药剂可抑制例如表达趋化因子(C-C基序)受体9(CCR9)的淋巴细胞与胸腺表达的趋化因子(TECK或CCL25)结合或是防止LFA-1与细胞间粘着分子(ICAM)结合的药剂。例如,除本发明的制剂之外,还施用抗TECK或抗CCR9抗体或小分子CCR9抑制剂(诸如公开于PCT公布W003/099773或W004/046092中的抑制剂)或抗ICAM-1抗体或阻止ICAM表达的寡核苷酸。在又一个实施方案中,在本发明方法中,通常用于GvHD预防治疗的一种或多种另外的活性成分(例如甲氨蝶呤或钙调神经磷酸酶抑制剂(例如他克莫司或环孢霉素))可与 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体)联合施用。在一个实施方案中,共施用药物的剂量可在用 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗剂(诸如抗 $\alpha 4\beta 7$ 抗体)治疗期间随时间减少。

[0116] 在一些实施方案中,共施用的药物是钙调神经磷酸酶抑制剂(诸如他克莫司)。在一些实施方案中,钙调神经磷酸酶抑制剂治疗在同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)前开始并且持续直至至少第100天。在一个实施方案中,他克莫司治疗可在调理同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)期间开始。他克莫司治疗可实现约1ng/dL、约2ng/dL、约3ng/dL、约4ng/dL、约5ng/dL、约6ng/dL、约7ng/dL、约8ng/dL、约9ng/dL、约10ng/dL或约5-10ng/dL的谷浓度。如果没有观察到GvHD的迹象,则他克莫司治疗可在同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)后保持治疗水平约2周、约6周、约2个月、约3个月、约100天。他克莫司治疗可在同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)后约5个月、约6个月、约7个月停止。

[0117] 在一些实施方案中,共施用的药物是甲氨蝶呤。在一个实施方案中,在同种异体造血细胞移植(例如allo-HSCT)后(例如在第1、3、6和11天),以约2、4、6、8、10或12mg/m<sup>2</sup>IV向患者施用甲氨蝶呤。可基于毒性修改或保持向患者施用的甲氨蝶呤的量。

[0118] 通过参照以下实施例,将获得对本发明的更全面理解。然而,其不应解释为限制本发明的范围。所有文献和专利引用都以引用的方式并入本文。

[0119] 例证

[0120] 实施例1

[0121] 一项1b期、开放标记、剂量探索研究被设计来评估将维多珠单抗加入到经历同种异体造血干细胞移植(allo-HSCT)的成年患者的标准移植抗宿主疾病(GvHD)预防(他克莫司加上短期甲氨蝶呤)中的安全性、耐受性和临床活性。维多珠单抗剂量探索是基于群组的,并且遵循基于规则的剂量探索研究设计与药代动力学(PK)指导。在鉴定具有可接受的PK的耐受剂量后,可扩展所述剂量水平的群组以进一步评估维多珠单抗的耐受性和有效性。

[0122] 在筛选期间确定合格性,所述筛选期可在第-1天(指定维多珠单抗的第一次IV输注的那天)前持续长达28天。符合所有合格标准并且提供书面知情同意书的患者被招募到本研究中。研究药物最初在allo-HSCT前的第-1天施用,并且然后在allo-HSCT后的第+13天和+42天施用。正在经历无关供者骨髓性移植用于治疗血液恶性肿瘤并且年龄小于或等于60岁的患者有资格入选。在鉴定推荐的2期剂量后,可扩展所述剂量水平的群组,以包括正在接受骨髓性调理或降低强度的调理“RIC”(小于或等于75岁)的另外患者,所述患者正在经历相关或不相关的同种异体HSCT以治疗血液恶性肿瘤或骨髓增生性肿瘤。

[0123] 如果患者接受了先前的同种异体移植,或者他们计划经历脐带血移植、接受离体T细胞耗尽的造血干细胞(HSC)、接受任何体内T细胞耗尽抗体或RIC,则所述患者被排除在本研究之外(仅在剂量探索部分)。患有活动性脑/脑膜疾病、活动性巨细胞病毒(CMV)结肠炎或进行性多灶性白质脑病(PML)或任何PML病史的体征和症状的患者也被排除在外。此外,患有非恶性血液病(例如再生障碍性贫血、镰状细胞性贫血、地中海贫血、范科尼贫血)的患者在本研究的两个部分中被排除。

[0124] 对于PK终点,可评估的患者是接受维多珠单抗并且收集了至少1PK样品的患者。

[0125] 在allo-HSCT后,对于保持缓解的患者进行急性和慢性GvHD的安全性和发展的随访持续1年或者直至患者死亡或撤回同意书或由主办人终止本研究。随访所有患者的总体存活率(OS)直至死亡、撤回同意书、由主办人终止本研究,或者在最后一患者被招募到本研究后最多1年。患者参加+100天访问(±7天),此时他们将进入治疗后随访。

[0126] 剂量递增开始于低剂量群组,所述低剂量群组在第-1天以及在allo-HSCT后第+13天和+42天以75mg IV接受维多珠单抗。HSC输注发生在第0天(在第-1天完成IV输注维多珠单抗后不迟于12小时)。从第-1天第一次IV输注维多珠单抗开始至allo-HSCT后第+28天(DLT观察期),监测每个给药群组中的第一名患者的剂量限制毒性(DLT),包括在第+28天评估嗜中性粒细胞恢复情况。如果第一群组中的第一名患者耐受75mg的维多珠单抗IV并且发生植入,则另外2名患者将被招募到第一群组。如果前3名患者均未经历DLT,则下一群组在第-1天和allo-HSCT后第+13和+42天IV接受维多珠单抗300mg。如果此群组中的第一名患者耐受300mg的维多珠单抗IV并且发生植入,则另外2名患者被招募到第二群组。如果300mg下的前3名患者在没有经历DLT的情况下耐受治疗,则下一群组中是否增加维多珠单抗IV剂量的决定由PK结果指导。如果群组中的前3名患者中的1名经历DLT,则另外3名患者以相同的剂量水平被招募并且从第-1天直至第+28天监测DLT。如果没有另外患者经历DLT,则下一群组中是否增加维多珠单抗IV剂量的决定由PK结果指导。如果3或6名患者的群组中的2名或更多名患者经历DLT,则下一3名患者的群组的维多珠单抗IV的剂量减少。将以先前群组中患者被监测的相同方式监测这些患者的DLT。

[0127] 在经历无关供体骨髓性移植用于治疗血液恶性肿瘤的患者中鉴定了具有可接受PK的耐受剂量水平后,可扩展所述剂量水平的群组,以包括大约18名另外患者,所述患者正在经历骨髓性调理或降低强度的调理(RIC)并且正在接受相关或不相关的allo-HSCT用于治疗血液恶性肿瘤或骨髓增生性肿瘤。此组患者允许进一步评估维多珠单抗IV的耐受性和临床活性。

[0128] 获得生命体征、身体和神经系统检查、不良事件(AE)评估和实验室值(化学、血液学和尿分析)以评估维多珠单抗IV的安全性和耐受性。为了排除患有进行性多灶性白质脑病(PML)的患者,在筛选时并且在allo-HSCT前第-1天,和在allo-HSCT后第+13天和+42天施用维多珠单抗IV前进行风险评估和最小化PML(RAMP)调查问卷。在预定的时间点获得用于评估维多珠单抗的PK的系列血液样品。针对每个剂量水平的前3名患者中的每名分析维多珠单抗的PK。预计维多珠单抗的浓度-时间曲线将受 $\alpha_4\beta_7$ 目标饱和水平的影响。如果 $\alpha_4\beta_7$ 是饱和的,则维多珠单抗清除将是线性的;如果 $\alpha_4\beta_7$ 是不饱和的,则清除将是非线性的,其表明快速消除。如果维多珠单抗的清除在300mg剂量下是非线性的,则所有患者的后续给药以大约150mg增量增加(最多600mg),直至实现线性PK清除。

[0129] 在预先指定的时间点获得用于测定维多珠单抗和抗维多珠单抗抗体和血清生物标志物(包括但不限于白细胞介素-6[IL-6]、白细胞介素-17[IL-17]和致瘤性抑制因子2[ST2])的血清浓度的系列血液样品。此外,将收集血液样品以进行流式细胞术用于细胞免疫表型分析以如通过各种细胞生物标志物(诸如CD8<sup>+</sup>、CD38<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>效应记忆T细胞和CD4<sup>+</sup>记忆T细胞)的水平所确定来测量细胞群,并且在预先指定的时间点进行MadCAM-1-FC结合抑制测定。

[0130] 根据国家癌症研究所不良事件通用术语标准(NCI CTCAE),版本4.03,生效日期2010年6月14日评估毒性。

[0131] 实施例2移植物抗宿主疾病的治疗

[0132] 开展了一项开放标签2a期研究,以评估静脉内施用维多珠单抗用于治疗经历了同种异体造血干细胞移植(allo-HSCT)的患者的移植物抗宿主疾病的耐受性和有效性。所述

研究还将用于确定用于此适应症的静脉内施用维多珠单抗的推荐剂量和方案。所述研究将招募大约38名参与者，他们将以1:1的比率随机分至2个治疗组，以在第1、15、43、71和99天IV接受300mg或600mg维多珠单抗。

[0133] A. 研究剂的描述

[0134] 维多珠单抗药物产品是在单个小瓶中提供的无菌冻干固体制剂，其中每个小瓶标称地含有300mg维多珠单抗抗体。复原的维多珠单抗IV药物产品含有60mg/mL活性维多珠单抗抗体、50mM组氨酸/组氨酸HCl、125mM精氨酸HCl、100mg/mL蔗糖和0.6mg/mL聚山梨醇酯80，其pH为6.3。每个小瓶将用4.8mL无菌注射用水复原。对于300mg剂量，将从每个小瓶中取出5.0mL并稀释到0.9%氯化钠中至大约250mL的体积。对于600mg剂量，将从2个小瓶中的每个中取出5.0mL并稀释到0.9%氯化钠中至大约250mL的体积。在整个研究过程中，所有参与者将在每天的同一时间进行静脉内输注。如果参与者具有不可接受的维多珠单抗相关毒性，则其将停止治疗。

[0135] B. 研究概述

[0136] 所述研究被设计用于评估维多珠单抗治疗已发展了对原发性类固醇治疗不应急性肠道GvHD的患者的安全性、耐受性和临床活性。临床GvHD评分将用于评估对治疗的响应(Martin PJ等, *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15(7):777-84.)。除皮质类固醇之外，未接受系统性疗法用于治疗急性GvHD(可接受的预防)的急性肠道GvHD患者将有资格被招募到本研究中。

[0137] 将在筛选期间确定合格性，所述筛选期可在第1天(指定维多珠单抗的第一次IV输注的那天)前持续长达28天。符合所有合格标准的患者将被招募到本研究中。将招募大约38名可评估的患者。

[0138] 患者将以1:1的比率随机分至2个治疗组，以在第1、15、43、71和99天IV接受300mg或600mg维多珠单抗。以每个剂量水平招募大约10名患者并从他们的第28天评估获得数据后，将以两个维多珠单抗剂量水平(300mg和600mg)评估患者的安全性、耐受性、功效和PK结果，并且贝叶斯统计方法将用于促进确定研究中用于后续患者的适当剂量。然后，所选剂量水平的群组将扩展大约18名另外可评估患者，以进一步评估维多珠单抗的耐受性和有效性。可基于累积结果扩展两个剂量水平。响应并耐受所有5个计划剂量的维多珠单抗并在停止治疗后(即，第五剂量后)发展肠道GvHD复发病状的患者可有资格进入延长期，在那里他们可每2周IV接受2个剂量的300mg维多珠单抗，随后从第一剂量的研究药物开始接受Q4W长达1年。

[0139] 将获得生命体征、身体和神经系统检查、AE评估和实验室值(化学、血液学和尿分析)以评估维多珠单抗IV的安全性和耐受性。在筛选期间以及研究的第1、7、15、22、28、36、43、71、99天、4个月随访、5个月随访、6个月随访、9个月随访和12个月随访期间将获得生命体征，并且还将在任何剂量延长访问时获得生命体征。在筛选期间将获得身体和神经系统检查，并且将在研究的第1、7、15、22、28、36、43、71、99天、12个月随访时获得症状-指导的身体检查，并且还将在任何剂量延长访问时获得症状-指导的身体检查。将进行任意的内窥镜检查以评估对维多珠单抗治疗的临床响应。

[0140] 用于评估维多珠单抗PK的系列血液样本将在研究的第1、2、3、5、7、9、11、15、16、18、20、22、24、28、32、36、40、43、71和99天获得。还将获得系列血液样品用于测定抗维多珠

单抗抗体和可能与急性GvHD的严重性有关的血清生物标志物(包括但不限于IL-6、IL-17和ST2)(McDonald GB等,Blood 2015;126(1):113-20;Ponce DM等,Biol Blood Marrow Transplant 2015;21(11)1985-93.)和/或细胞生物标志物(包括但不限于CD8+、CD38+和CD8+亮效应记忆T细胞和CD4+记忆T细胞)(Khandelwal P等,Biol Blood Marrow Transplant 2015;21(7):1215-22.)的血清浓度。可测试的GvHD的其它生物标志物(Levine JE等,Lancet Haematol 2015;2(1):e21-e9.)包括瓜氨酸(Vokurka S等,Med Sci Monit 2013;19:81-5.)、血清肠脂肪酸结合蛋白(Van den Abbeele P.等,ISME J 2013;7(5):949-61.)和整体肠损伤的替代标志物(例如,REG3a(Levine JE等,Biol Blood Marrow Transplant 2012;18(1Suppl):S116-24.)和尿硫酸吡啶酚(Weber D.等,Blood 2015;126(14):1723-8.)。在研究的第36、43、71和99天将收集粪便样品用于分析微生物组。

[0141] 将使用EQ-5D和FACT-BMT调查问卷评估与健康相关的生活质量的变化。将在整个研究过程中收集医疗资源利用措施。将根据国家癌症研究所不良事件通用术语标准(NCI CTCAE),版本4.03,生效日期2010年6月14日(不良事件通用术语标准(CTCAE),National Cancer Institute,National Institutes of Health,U.S.Department of Health and Human Services Series v4.03,2010年6月14日,公布号09-5410)评估毒性。

[0142] C. 治疗的持续时间

[0143] 患者将接受最多5个剂量的维多珠单抗IV(在第1、15、43、71和99天中的每天的单剂量)。经医学监测员审查和同意,响应并耐受所有5个计划剂量的维多珠单抗并在停止治疗后(即,第五剂量后)发展肠道GvHD复发症状的患者可每2周IV接受2个剂量的300mg维多珠单抗,随后从第一剂量的研究药物开始每4周接受长达1年。基于累积的安全性、功效和PK结果,可选择除300mg之外的剂量和/或除每4周之外的施用频率。如果研究人员认为患者受益于治疗,则患者可在研究人员和主办人的同意下接受超过1年的药物。

[0144] D. 评估周期

[0145] 患者可能接受维多珠单抗,除非他们经历了潜在恶性肿瘤的复发。如果患者具有不可接受的维多珠单抗相关毒性,则其将停止治疗。将每3个月随访所有患者的总体存活率(OS)直至死亡、撤回同意书、由主办人终止本研究,或者在最后一位患者被招募到本研究后最多1年。另外,在最后一个剂量的研究药物后6个月,患者将被要求参加LTFU安全性调查。

[0146] E. 入选和排除标准

[0147] 入选的主要标准是:年龄 $\geq 18$ 岁,接受过1次allo-HSCT并且患有具有肠疾病受累的原发性类固醇难治性急性GvHD,其严重性指数为B、C或D(使用血液和骨髓移植临床试验网络(BMT CTN)修改的国际骨髓移植登记数据库(IBMTR)指数)的成人患者将被招募。患者应具有骨髓移植的证据、0至3的东部肿瘤协作组行为状态,以及基于科克罗夫特-高尔特估计 $\geq 60$ mL/分钟/1.73m<sup>2</sup>的估计肌酐清除率。

[0148] 患有慢性GvHD、在allo-HSCT后复发潜在恶性肿瘤,或已接受除皮质类固醇之外的系统性药物用于治疗急性GvHD(除GvHD预防剂之外)的患者将被排除在本研究之外。患有活动性CNS疾病、活动性巨细胞病毒结肠炎或PML的体征和症状或任何PML病史的患者也将被排除在外。此外,患有严重肝静脉闭塞性疾病/窦状阻塞综合征的患者将被排除在外。符合以下标准的患者有资格被招募到本研究中:

[0149] 1. 18岁或以上的男性或女性患者。

[0150] 2. 接受1次allo-HSCT但不超过1次allo-HSCT。

[0151] 3. 患有原发性类固醇难治性GvHD的患者。类固醇难治性疾病被定义为在用甲泼尼龙2mg/kg或等效物进行初级治疗14天后,用甲泼尼龙2mg/kg或等效物治疗5至7天后恶化或没有改善或缺乏CR。注意,即使肠道GvHD在整个持续时间内没有出现,在5至7天后接受系统性治疗其它GvHD时发展肠道GvHD的患者仍是有资格的。在招募前可能已接受类固醇剂量治疗增加(例如甲泼尼龙从1mg/kg增加至2mg/kg)的患者将是有资格的,只要所述患者符合上述类固醇难治性的定义。

[0152] 4. 0至3的东部肿瘤协作组(ECOG)行为状态(参见,表4)。

等级	描述
0	正常活动。完全活动,能够无限制地进行所有的预疾病性能。
1	有症状但能走动。在身体剧烈活动中受限制,但能走动并且能够进行轻度或久坐性工作(例如,轻松的家务、办公室工作)。
[0153] 2	<50%的时间在床上。能走动并且能够完全自我护理,但无法进行任何工作活动。超过50%的清醒时间起床走动。
3	>50%的时间在床上。仅能够进行有限的自我护理,超过50%的清醒时间仅限于床或椅子。
4	100%卧床不起。完全残疾。不能进行任何自我护理。完全局限于床或椅子。
5	死亡

[0154] 5. 具有肠疾病受累的急性GvHD,其严重性指数为B、C或D(使用血液和骨髓移植临床试验网络(BMT CTN)修改的国际骨髓移植登记数据库(IBMTR)指数)(参见表1和表3)。注意,来自急性GvHD的其它器官受累也被允许。

[0155] 6. 由连续3天绝对嗜中性粒细胞计数 $\geq 0.5 \times 10^9/L$ 定义的骨髓移植的证据。

[0156] 7. 对于血清肌酸酐浓度高于机构限值的患者,基于科克罗夫特-高尔特估计 $\geq 60\text{mL}/\text{分钟}/1.73\text{m}^2$ 的肌酸酐清除率。

[0157] 8. 足够的认知能力以可靠地完成基线的RAMP调查问卷。

[0158] 9. 女性患者,其:在筛选访问前绝经至少1年、或手术绝育,或者她们在具有生育潜力的情况下,同意从签署知情同意书至最后一个剂量的研究药物后18周从同一时间实施一种高效的避孕方法和一种另外的有效(屏障)方法,或当符合受试者的首选和通常的生活方式时同意实施真正的禁欲。(周期性禁欲[例如,日历、排卵、症状体温法和排卵后方法]、戒断、仅杀精子剂和哺乳期闭经是不可接受的避孕方法。女性和男性避孕套不应一起使用。)

[0159] 男性患者,即使手术绝育(即输精管切除术后状态),其:同意在整个研究治疗期间和最后一个剂量的研究药物后18周内实施有效的屏障避孕,或当符合受试者的首选和通常的生活方式时同意实施真正的禁欲。(周期性禁欲[例如,日历、排卵、症状体温法和排卵后方法]、戒断、仅杀精子剂和哺乳期闭经是不可接受的避孕方法。女性和男性避孕套不应一起使用。)

[0160] 10. 在执行与标准医疗护理无关的任何研究相关程序之前,必须给出自愿书面同意书,其中应了解患者可在任何时间撤回同意书,而不影响未来的医疗护理。

- [0161] 11. 适合于研究所需血液采样(包括PK和生物标志物采样)的静脉通路。具有计划的中心静脉通路装置的患者将被允许。
- [0162] 符合任何以下排除标准的患者将不被招募到本研究中：
- [0163] 1. 筛查时存在慢性GvHD(包括急性-慢性重叠综合征)。
- [0164] 2. 在allo-HSCT后复发疾病。
- [0165] 3. 患有超急性GvHD的患者被定义为在造血干细胞输注后的前15天内发作GvHD。
- [0166] 4. 接受除皮质类固醇之外的系统性药物用于治疗急性GvHD。可继续GvHD预防剂(例如钙调神经磷酸酶抑制剂)。
- [0167] 5. 初级治疗后超过28天的急性类固醇抗性GvHD。
- [0168] 6. 具有阳性PML主观检查表的患者必须在招募前由神经科医生评估可能的PML(参见第10.7节)。如果不能排除PML,则患者将被排除在外。
- [0169] 7. 筛查时脑病的证据。
- [0170] 8. 严重肝静脉闭塞性疾病/窦状阻塞综合征的证据。
- [0171] 9. 预期寿命<3周。
- [0172] 10. 任何主要神经系统病症的病史,包括多发性硬化或神经退行性疾病。在过去3年内有中风或脑瘤病史的患者也被排除在外。
- [0173] 11. 患有活动性巨细胞病毒(CMV)结肠炎的患者(见第8.5.3节)。
- [0174] 12. 患者通过检测阳性HBV表面抗原和/或HCV RNA表明患有慢性乙型肝炎(HBV)或丙型肝炎(HCV)感染。
- [0175] 13. 任何已鉴定的先天性或后天性免疫缺陷(例如,常见变异性免疫缺陷、人免疫缺陷病毒[HIV]感染、器官移植)。
- [0176] 14. 在筛选期间对粪便样品的阳性艰难梭状芽孢杆菌毒素测试或其它肠道病原体(例如腺病毒)的证据。
- [0177] 15. 不受控制的活动性系统性感染的证据。
- [0178] 16. 根据本协议,研究人员或医学监测员认为可能干扰治疗完成的任何严重的医疗或精神病状。
- [0179] 17. 研究人员或医学监测员认为将使研究结果混淆或危及患者安全的任何不稳定或不受控制的心血管、肺、肝、肾、GI、泌尿生殖系统、血液学、凝血、免疫、内分泌/代谢、神经系统或其它医学病症。
- [0180] 18. 对维多珠单抗或其成分超敏反应或过敏史。
- [0181] 19. 如果是女性,患者在参加本研究之前、期间或之后18周内怀孕或哺乳或打算怀孕;或者打算在这段时间内捐献卵子。
- [0182] 20. 如果是男性,患者打算在本研究过程中或之后18周内捐献精子。
- [0183] F. 研究终点
- [0184] 本研究的主要和次要终点将是：
- [0185] 主要终点和测量
- [0186] 1. 在第28天具有总体响应(部分响应(PR)+非常良好的部分响应(VGPR)+完全响应(CR))的受试者的比例。
- [0187] 完全响应(CR)被定义为急性移植物抗宿主疾病(GvHD)的所有体征和症状的消退。

[0188] 非常良好的部分响应 (VGPR) 被定义为GvHD体征和症状的消退:1) 皮肤:无皮疹,或残留的斑疹性皮疹涉及<25%身体表面,没有大疱(排除残留的微弱斑疹和色素沉着过度)。2) 肝脏:血清总胆红素浓度<2mg/dL或<招募时基线的25%。3) 肠道:a) 参与者容忍食物或肠内喂养;b) 主要形成的粪便;c) 没有明显的胃肠道出血或腹部绞痛;d) 不超过偶然的恶心或呕吐。

[0189] 部分响应 (PR) 被定义为在一个或多个器官中1GvHD期的改善而在任何器官中没有进展。

[0190] 2. 从IV施用第一剂量的维多珠单抗至第28天经历严重不良事件 (SAE) 的患者数量和百分比。

[0191] 不良事件 (AE) 被定义为施用药物的临床研究参与者的任何不适的医疗事件;其不一定与这种治疗具有因果关系。SAE被定义为任何剂量下的不适的医疗事件、显著危害、禁忌症、副作用或预防:导致死亡、危及生命、需要住院治疗或延长现有住院时间,导致持续或显著残疾/无能力,是先天性异常/出生缺陷或具有医学意义。其中,被认为可能与医药产品相关的事件被定义为药物不良反应。

[0192] 次要终点

[0193] 在allo-HSCT后6个月时,在不存在原发性恶性肿瘤复发的情况下死亡的受试者比例。

[0194] 在第28天具有CR的受试者比例。

[0195] 在第28天具有肠道总体响应的受试者比例。总体肠道响应被定义为急性肠道GvHD的所有体征和症状的消退。急性肠道GvHD的症状将使用格鲁兹堡以及血液和骨髓移植临床试验网络 (BMT CTN) 修改的国际骨髓移植登记数据库 (IBMTR) 标准测量,其分级量表为1至4,其中1是最不严重。

[0196] 在6个月和12个月时的OS。OS被定义为从招募日期到由于任何原因的死亡日期的时间。

[0197] 在6个月和12个月时没有GvHD或原发性恶性肿瘤复发的存活的受试者比例。

[0198] 从IV施用第一剂量的维多珠单抗至IV施用最后一个剂量的维多珠单抗后18周经历治疗突发不良事件 (TEAE) 的患者数量和百分比。TEAE被定义为在接受研究药物后发生的不良事件发作。

[0199] 从IV施用第一剂量的维多珠单抗至IV施用最后一个剂量的维多珠单抗后18周经历SAE的患者数量和百分比。

[0200] 在第99天在给药前的维多珠单抗的平均血清浓度(谷浓度)。从第一次IV输注维多珠单抗开始至6个月和12个月,施用类固醇的总剂量(甲泼尼龙或等效物的mg/kg/天)。

[0201] 研究终点

[0202] 在第15、43、71和99天以及6个月时具有CR的受试者比例。

[0203] 在第15、43、71和99天以及6个月时具有肠道总体响应的受试者比例。

[0204] 在6个月和12个月时没有活动性GvHD复发或死亡的受试者比例。

[0205] 具有内窥镜响应的受试者比例(任选)。

[0206] 发展需要系统性免疫抑制的慢性GvHD的患者百分比。

[0207] 抗维多珠单抗抗体的存在(对在基线和暴露期结束时收集的试样进行评估)。

[0208] 在基线、第20天和6个月时抗维多珠单抗抗体阳性的患者比例。

[0209] 血清生物标志物(包括但不限于白细胞介素[IL]-6、IL-17和致瘤性抑制因子2[ST2])和/或细胞生物标志物(包括但不限于CD8<sup>+</sup>、CD38<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>亮效应记忆T细胞和CD4<sup>+</sup>记忆T细胞)中的变化可能与急性GvHD的严重性有关。可测试的GvHD的其它生物标志物包括瓜氨酸、血清肠脂肪酸结合蛋白和整体肠损伤的替代标志物(例如REG3a和尿硫酸吡啶酚)。

[0210] 粪便微生物组的变化。

[0211] 医疗资源利用措施,诸如:住院天数、住院类型(重症监护、普通病房、急诊)、门诊就诊、医院/门诊就诊期间施用的药物、医院/门诊就诊期间的医疗研究以及研究期间的外科手术。

[0212] 以欧洲生活质量5维(EQ-5D)评分从基线变化(Stark RG等, *Inflamm Bowel Dis* 2010;16(1):42-51)。

[0213] 以癌症治疗功能评估-骨髓移植量表(FACT-BMT)评分从基线变化(Parikh A等, *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(8)1470-9)。

[0214] 实施例3

[0215] 在临床研究中使用维多珠单抗血清浓度的群体药代动力学模型进行蒙特卡罗(Monte Carlo)模拟。模拟包括除重量和白蛋白效应之外的个体间和剩余变异性。将所有其它协变数都设置为其参考值。在此研究中模拟了一千名成年患者。从正态分布中随机取样白蛋白和重量。模拟的给药方案是在第-1天、+13、+42(即相对于第一剂量的第0、14和43天)通过30分钟IV输注的75mg维多珠单抗。

[0216] 将来自招募到1b期、开放标记、剂量探索研究(实施例1)的三名患者的观察数据用模拟数据覆盖(参见图3)。锯齿线之间区域的“模糊性”是由于剩余变异性。图3示出了测量和模拟的维多珠单抗血清浓度随时间的变化。在此图中,除了给药后立即,一名患者的维多珠单抗浓度未达到10 $\mu$ g/ml。另一名患者在第二次给药但不是第一次给药后保持超过10 $\mu$ g/ml维多珠单抗数天。第三名患者在第一次给药后保持超过10 $\mu$ g/ml维多珠单抗数天。

[0217] 序列公开

[0218] SEQ ID NO:1

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
                   20                    25                    30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe  
                   35                    40                    45  
 Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu  
                   50                    55                    60  
 Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asp Pro Ser Glu Ser Asn Thr Asn Tyr Asn  
 65                    70                    75                    80  
 Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Ile Ser Ala Ser  
                   85                    90                    95  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
                   100                    105                    110  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Trp Asp Tyr Ala Ile Asp  
                   115                    120                    125  
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys  
                   130                    135                    140  
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly  
 145                    150                    155                    160

[0219]

[0220]

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro			
	165	170	175
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr			
	180	185	190
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val			
	195	200	205
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn			
	210	215	220
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro			
225	230	235	240
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu			
	245	250	255
Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp			
	260	265	270
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp			
	275	280	285
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
	290	295	300
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn			
305	310	315	320
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp			
	325	330	335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn

370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

385 390 395 400

[0221]

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

465 470

[0222]

SEQ ID NO:2

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

[0223]

1 5 10 15

Val	His	Ser	Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val
			20					25					30		
Thr	Pro	Gly	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu
		35					40					45			
Ala	Lys	Ser	Tyr	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Ser	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro
		50				55					60				
Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Gly	Ile	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser
65					70					75					80
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
				85					90						95
[0224]															
Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys
				100					105					110	
Leu	Gln	Gly	Thr	His	Gln	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val
			115					120					125		
Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro
		130					135					140			
Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu
145					150						155				160
Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn
					165					170					175
Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser

	180	185	190
	Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala		
	195	200	205
[0225]	Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly		
	210	215	220
	Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
	225	230	235
[0226]	SEQ ID NO:3		
	Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly		
	1	5	10
	Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ala Lys Ser		
	20	25	30
	Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
	35	40	45
[0227]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
	50	55	60
	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
	65	70	75
	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly		
	85	90	95
	Thr His Gln Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		

	100		105		110
	Arg Ala Asp Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu				
	115		120		125
	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe				
	130		135		140
	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln				
	145		150		155
[0228]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser				
	165		170		175
	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu				
	180		185		190
	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser				
	195		200		205
	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys				
	210		215		
[0229]	SEQ ID NO:4				
	Ser Tyr Trp Met His				
[0230]					
	1		5		
[0231]	SEQ ID NO:5				
[0232]	Glu Ile Asp Pro Ser Glu Ser Asn Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys				
	1		5		10
					15
[0233]	Gly				
[0234]	SEQ ID NO:6				
	Gly Gly Tyr Asp Gly Trp Asp Tyr Ala Ile Asp Tyr				
[0235]					
	1		5		10
[0236]	SEQ ID NO:7				
	Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Ser				
[0237]					
	1		5		10
					15
[0238]	SEQ ID NO:8				

[0239] Gly Ile Ser Asn Arg Phe Ser  
1 5

[0240] SEQ ID NO:9  
Leu Gln Gly Thr His Gln Pro Tyr Thr

[0241] 1 5

[0242] SEQ ID NO:10  
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

[0243] 1 5 10 15  
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30  
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45  
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
50 55 60

[0244] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80  
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
85 90 95  
Leu Gln Thr Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

[0245] SEQ ID NO:11  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

[0246] 20 25 30  
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
[0247] 85 90 95  
Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110  
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

## 序列表

- <110> 千禧制药公司  
 <120> 预防移植物抗宿主疾病的方法  
 <130> 079259-0803  
 <140>  
 <141>  
 <150> 62/307,896  
 <151> 2016-03-14  
 <160> 11  
 <170> PatentIn 3.5版  
 <210> 1  
 <211> 470  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"  
 <400> 1

```

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1           5           10           15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
           20           25           30
Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe
           35           40           45
Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu
           50           55           60
Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asp Pro Ser Glu Ser Asn Thr Asn Tyr Asn
65           70           75           80
Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Ile Ser Ala Ser
           85           90           95
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
           100          105          110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Trp Asp Tyr Ala Ile Asp
           115          120          125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
           130          135          140
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
145          150          155          160
  
```

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro  
 165 170 175  
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr  
 180 185 190  
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
 195 200 205  
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn  
 210 215 220  
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro  
 225 230 235 240  
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu  
 245 250 255  
 Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 260 265 270  
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 275 280 285  
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 290 295 300  
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn  
 305 310 315 320  
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp  
 325 330 335  
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro  
 340 345 350  
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 355 360 365  
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn  
 370 375 380  
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 385 390 395 400  
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 405 410 415  
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 420 425 430  
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 435 440 445  
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 450 455 460  
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys





<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 4

Ser Tyr Trp Met His

1                    5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 5

Glu Ile Asp Pro Ser Glu Ser Asn Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 6

Gly Gly Tyr Asp Gly Trp Asp Tyr Ala Ile Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 7

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成肽"

<400> 7

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Ser

1                    5                    10                    15

<210> 8

<211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /注意="人工序列的描述:合成肽"  
 <400> 8  
 Gly Ile Ser Asn Arg Phe Ser  
 1 5  
 <210> 9  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /注意="人工序列的描述:合成肽"  
 <400> 9  
 Leu Gln Gly Thr His Gln Pro Tyr Thr  
 1 5  
 <210> 10  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <221> 来源  
 <223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"  
 <400> 10  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95

Leu Gln Thr Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 11

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注意="人工序列的描述:合成多肽"

<400> 11

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

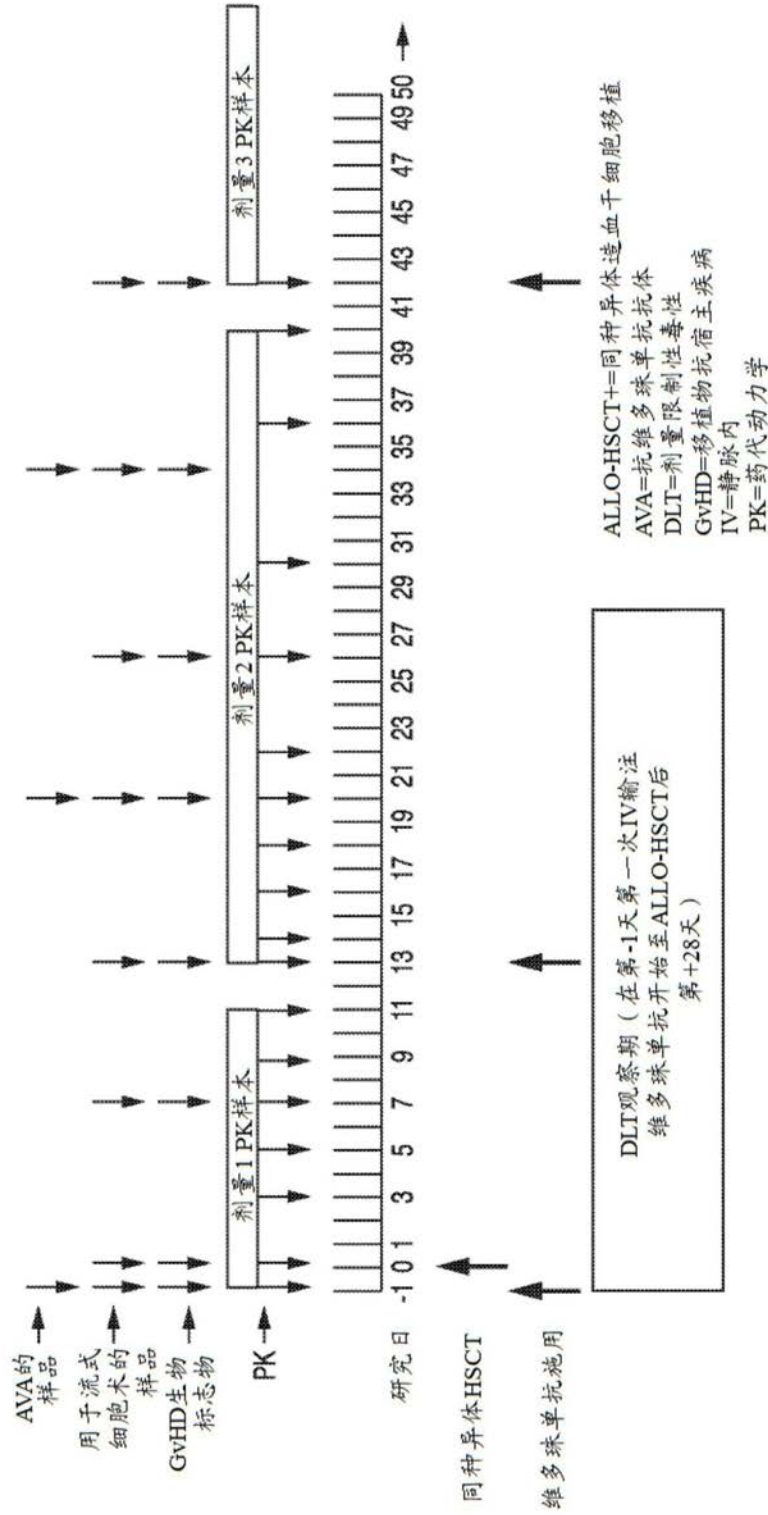
Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

从第-1天至第+50天的研究设计概述

研究药物施用、药代动力学和药效动力学收集：第-1天至第+50天

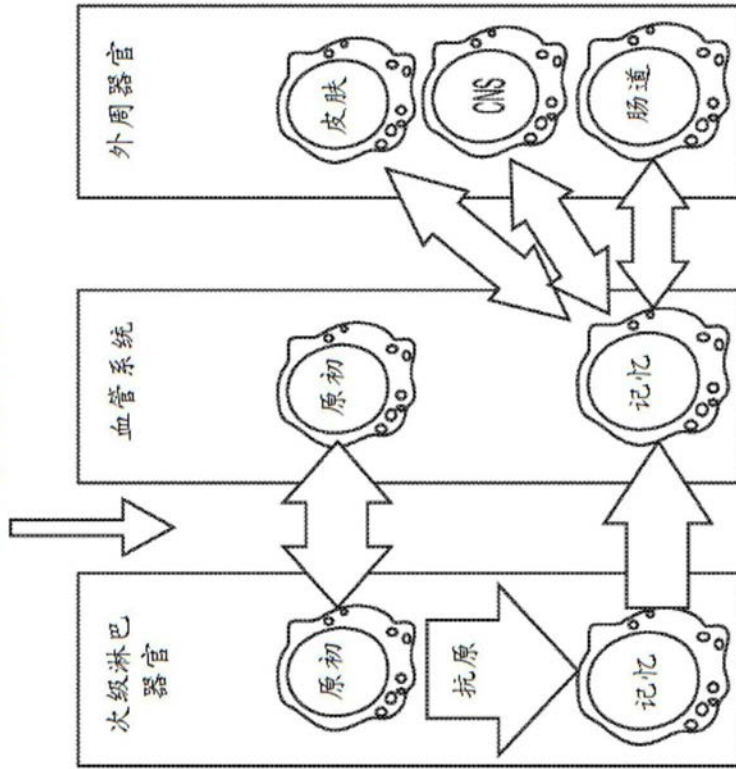
- 第0天的ALLO-HSCT
- 在ALLO-HSCT前第-1天并且在ALLO-HSCT后第+13和第+42天施用维多珠单抗



对于已从医院出院的患者的PK取样将与临床访问一致，并且因此可能不像此图中所示的那样频繁。

图1

阻断GALIT和MLN中 $\alpha 4\beta 7$ /MADCAM-1相互作用可减少  
同种异体反应性记忆T细胞的生产,  
由此减少GvHD的发生



阻断 $\alpha 4\beta 7$ /MADCAM-1相互作用可通过  
阻断同种异体反应性T细胞和其它  
白细胞归巢到肠道来减少GvHD的发生

图2

维多珠单抗血清  
浓度( $\mu\text{g/mL}$ )

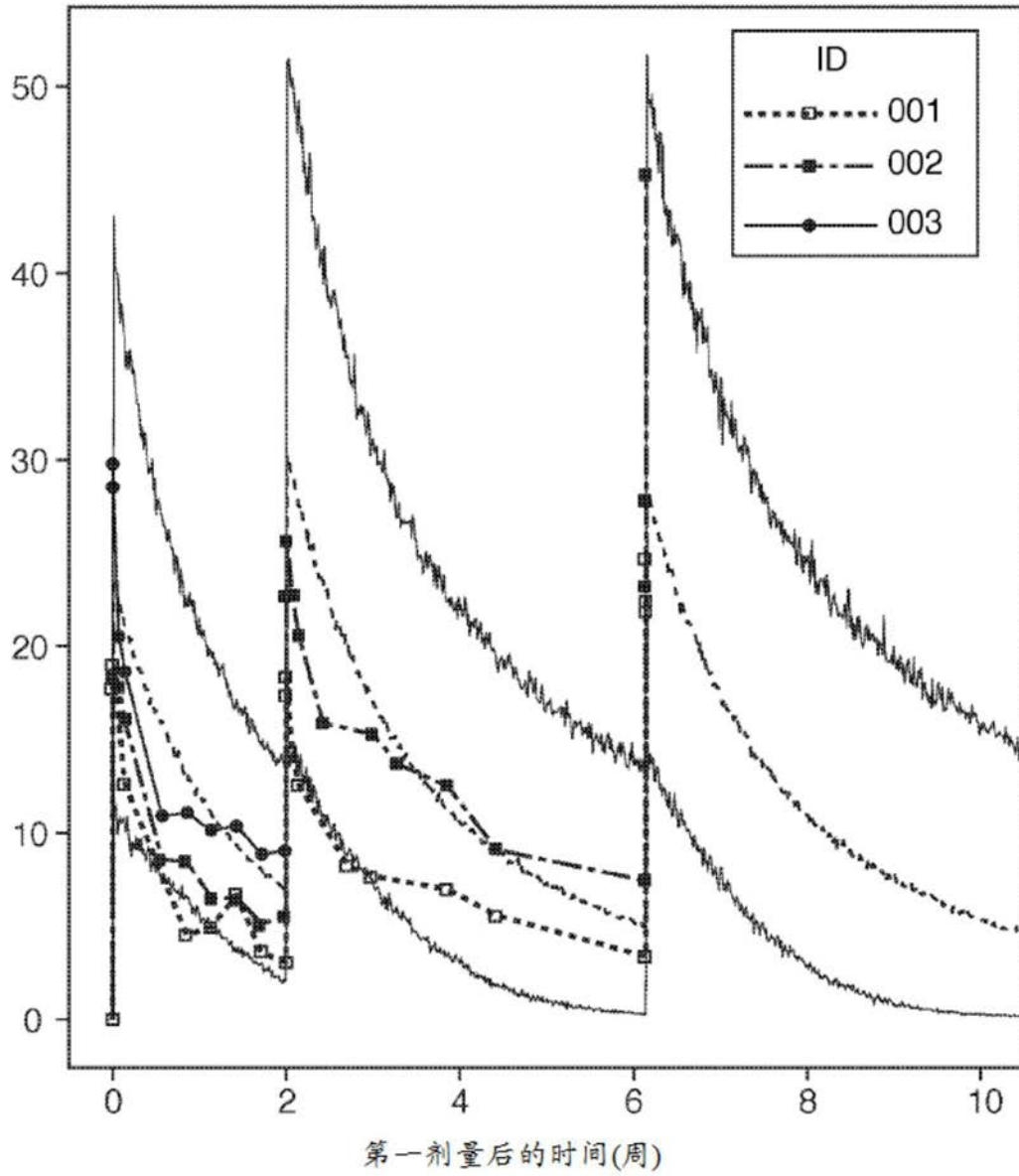


图3