(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103751780 A
(43)申请公布日 2014.04.30

(21)申请号 201410043208.1
(22)申请日 2006.03.02
(30)优先权数据
60/657,789 2005.03.02 US
(62)分案原申请数据
200680013989.3 2006.03.02
(71)申请人 比奥根艾迪克 MA 公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 保罗.D.伦纳特 帕特里夏.麦库恩
弗罗尼克.贝利
亚历克西.卢戈夫斯科伊
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
代理人 封新琴
(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/18(2006.01)
A61P 11/06(2006.01)
A61P 37/08(2006.01)
A61P 37/00(2006.01)

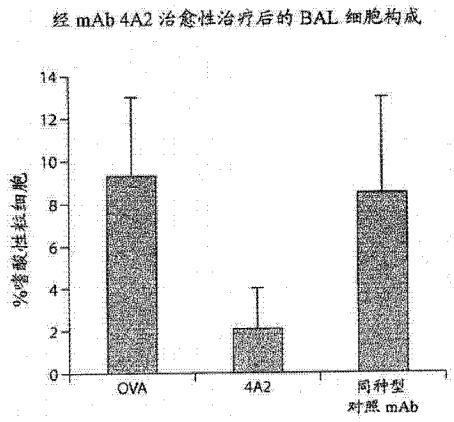
权利要求书3页 说明书15页
序列表3页 附图7页

(54)发明名称

用于治疗 TH2 介导的疾病的 KIM-1 抗体

(57)摘要

本发明提供了治疗 Th2- 介导的疾病和 Th1- 介导的疾病的组合物和方法。



CN 103751780 A

1. 治疗哺乳动物中 Th2 介导的疾病的方法，包括对该哺乳动物给药与 KIM-1 柄区结合的抗体或其抗原结合片段。

2. 权利要求 1 的方法，其中所述哺乳动物是人。

3. 权利要求 1 的方法，其中所述疾病是特应性。

4. 权利要求 1 的方法，其中所述疾病是哮喘。

5. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中所述抗体与至少部分包含在肽 DGNDTVTESSDGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTK(SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-269) 中的表位结合。

6. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中所述抗体是人源化抗体或者完全是人的单特异性抗体。

7. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中所述抗体是人源化抗体或者完全是人的单特异性抗体，且所述抗体与至少部分包含在肽 DGNDTVTESSDGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTK(SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-269) 中的表位结合。

8. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中给药了全长抗体。

9. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中给药了全长抗体，且所述抗体与至少部分包含在肽 DGNDTVTESSDGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTK(SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-269) 中的表位结合。

10. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中给药了抗体的抗原结合片段。

11. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中给药了抗体的抗原结合片段，且所述抗体与至少部分包含在肽 DGNDTVTESSDGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTK(SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-269) 中的表位结合。

12. 权利要求 10 的方法，其中所述抗原结合片段选自：单链抗体，Fab 片段、F(ab')2 片段、Fd 片段、Fv 片段、以及 dAb 片段。

13. 权利要求 11 的方法，其中所述抗原结合片段选自：单链抗体，Fab 片段，F(ab')2 片段，Fd 片段，Fv 片段，和 dAb 片段。

14. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段与针对该疾病的第二种治疗剂联用。

15. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段与针对该疾病的第二种治疗剂联用，且所述抗体与至少部分包含在肽 DGNDTVTESSDGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTK(SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-269) 中的表位结合。

16. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段的用量为 0.05-20mg/kg。

17. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段的用量为 0.05-20mg/kg，且所述抗体与至少部分包含在肽 DGNDTVTESSDGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTK(SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-269) 中的表位结合。

18. 分离的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段与 KIM-1 柄区特异性结合，其中所述抗体不抑制 KIM-1 从培养的 E293 细胞中释出。

19. 权利要求 1,2,3 或 4 的方法，其中所述抗体与具有选自下组的序列的肽结合：

(a)SEQ ID NO:1 的氨基酸 262-270，

(b)SEQ ID NO:1 的氨基酸 260-269，

(c)SEQ ID NO:1 的氨基酸 257-270，

(d)SEQ ID NO:1 的氨基酸 252-270，

(e)SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-250，和

(f)SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-258。

20. 权利要求 19 的方法，其中所述抗体是人源化抗体或者完全是人的单特异性抗体。

21. 权利要求 19 的方法，其中给药了全长抗体。

22. 权利要求 19 的方法，其中给药了所述抗体的抗原结合片段。

23. 权利要求 19 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段与针对该疾病的第二种治疗剂联用。

24. 权利要求 19 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段的用量为 0.05-20mg/kg。

25. 在哺乳动物中治疗 Th1 介导的疾病或减弱致病性 Th1 应答的方法，包括对该哺乳动物给药与人 KIM-1 的序列 VATSPSSPQPAETHPTTLQGAIRREPTSSPLYSYTT(SEQ ID NO:1 的氨基酸 200-235) 或覆盖该序列的表位结合的抗体或其抗原结合片段。

26. 权利要求 25 的方法，其中所述哺乳动物是人。

27. 权利要求 25 的方法，其中所述抗体是人源化抗体或者完全是人的单特异性抗体。

28. 权利要求 25 的方法，其中给药了全长抗体。

29. 权利要求 25 的方法，其中所述给药了所述抗体的抗原结合片段。

30. 权利要求 25 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段与针对该疾病的第二种治疗剂联用。

31. 权利要求 25 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段的用量为 0.05-20mg/kg。

32. 治疗哺乳动物中 Th2 介导的疾病的方法，包括对该哺乳动物给药与 KIM-1 的唾液酸结合基元结合的抗体或其抗原结合片段。

33. 权利要求 32 的方法，其中所述抗体与包含在具有序列 GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1 的氨基酸 81-107) 或 RGSCSLFTCQNGIV(SEQ ID NO:1 的氨基酸 29-42) 的肽中或与所述肽重叠的表位至少部分地结合。

34. 权利要求 32 的方法，其中所述抗体与连续氨基酸残基 GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1 的氨基酸 81-107) 或 RGSCSLFTCQNGIV(SEQ ID NO:1 的氨基酸 29-42) 的线性表位结合。

35. 权利要求 32 的方法，其中所述抗体与由序列 GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1 的氨基酸 81-107) 和 RGSCSLFTCQNGIV(SEQ ID NO:1 的氨基酸 29-42) 之一或两者组成的结构性表位结合。

36. 权利要求 32 的方法，其中所述抗体保护 SEQ ID NO:1 的氨基酸 81-107。

37. 权利要求 32 的方法，其中所述抗体干扰 SEQ ID NO:1 的残基 R86、W92 和 F93 中的一个或多个。

38. 权利要求 32,33,34,35,36 或 37 的方法，其中所述哺乳动物是人。

39. 权利要求 32,33,34,35,36 或 37 的方法，其中所述疾病是特应性。

40. 权利要求 1 的方法，其中所述疾病是哮喘。

41. 权利要求 32,33,34,35,36 或 37 的方法，其中所述抗体是人源化抗体或者完全是人的单特异性抗体。

42. 权利要求 32,33,34,35,36 或 37 的方法，其中给药了全长抗体。

43. 权利要求 32,33,34,35,36 或 37 的方法，其中给药了所述抗体的抗原结合片段。

44. 权利要求 43 的方法，其中所述抗原结合片段选自：单链抗体、Fab 片段、F(ab')2 片段、Fd 片段、Fv 片段、以及 dAb 片段。

45. 权利要求 32,33,34,35,36 或 37 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段与针对该疾病的第二种治疗剂联用。

46. 权利要求 32,33,34,35,36 或 37 的方法，其中所述抗体或其抗原结合片段的用量为 0.05-20mg/kg。

用于治疗 TH2 介导的疾病的 KIM-1 抗体

[0001] 本申请是基于申请日为 2006 年 3 月 2 日，优先权日为 2005 年 3 月 2 日，申请号为 200680013989.3（PCT/US2006/007441），发明名称为：“用于治疗 TH2 介导的疾病的 KIM-1 抗体”的专利申请的分案申请。

[0002] 发明背景

[0003] 特应性疾病如过敏性哮喘（allergic asthma）和特应性皮炎（atopic dermatitis）都被认为涉及向优势 Th2 免疫（predominant Th2immunity）方面进行致病性转变（Umetsu 等，2002,Nat Immunol.3:715-20）。

[0004] 在哮喘中，Th2 细胞因子的生成驱使嗜酸性粒细胞流入肺中、嗜酸性粒细胞活化、IgE 生成且 IgE 介导肥大细胞活化并脱颗粒、单核细胞在肺间隙（lung interstitial space）中积累，T 细胞和活化的粒细胞在这里继续分泌 Th2 细胞因子、趋化因子和效应分子，从而造成（fostering）持续的肺部炎症。含有 KIM 基因家族的 TAPR 基因座在小鼠中参与特应性炎症的发生，KIM-1 等位基因变异在患病群体分析（patient population analyses）中被发现与特应性（atopy）的发生率有关（McIntire 等，2001,Nat Immunol2:1109-16;McIntire 等，2003,Nature425:576）。

[0005] 发明概述

[0006] 本发明是基于（至少是部分基于）以下发现：与 KIM-1 的特定区域结合的试剂（agent）（如抗体分子）可以有差别的调节 Th1 和 / 或 Th2 介导的免疫。例如，与 KIM-1 柄区（stalk region）或与 KIM-1 的唾液酸结合区结合的试剂，可调节 Th2 细胞因子的表达，并可用于治疗 Th2 介导的疾病如哮喘；与 KIM-1 的粘蛋白（mucin）区中特定表位结合的试剂，可减弱致病性 Th1 应答，并可用于治疗 Th1 介导的疾病，如炎性疾病（inflammatory disorder）或自身免疫病，如炎性肠病（inflammatory bowel disease，IBD）、克隆病（Crohn’s disease）、多发性硬化（multiple sclerosis）、糖尿病、类风湿性关节炎、银屑病（psoriasis）、急性移植物抗宿主疾病（GVHD）、移植（transplant）、胰腺炎（pancreatitis）、迟 发型超敏反应（DTH）。本发明还提供了可以用于治疗 Th2 和 Th1 介导的疾病的组合物和方法。

[0007] 本发明一个方面提供了治疗疾病的方法，所述疾病是 Th2 介导的疾病，如哮喘（特别是过敏性哮喘）、过敏性鼻炎（allergic rhinitis）、变态反应（allergy）、湿疹（eczema）、以及其它特应性疾病。所述方法包括，对患有 Th2 介导的疾病的哺乳动物（优选人）给药与 KIM-1 柄区或与 KIM-1 的唾液酸结合基元结合的试剂。例如，所述方法可以包括给药药物组合物，所述组合物含有与 KIM-1 柄区或与 KIM-1 的唾液酸结合基元结合的单特异性抗体，如单克隆抗体（或其抗原结合片段），给药量和给药时间导致足以治疗所述疾病。本文中，KIM-1 柄区是指，位于 KIM-1 的粘蛋白区和跨膜区之间的带电荷区，且该区中含有高度保守的 N 连接糖基化位点。人 KIM-1 的柄区和唾液酸结合基元见图 1。应理解，本文中提到这些区的 N 末端和 C 末端时，是模糊的概念，可以多几个（如 1、2 或 3 个）或少几个来自 KIM-1 序列的邻接残基。

[0008] 在一实施方案中，所述试剂是与人 KIM-1 柄区结合的抗体。例如，所述抗体与具

有序列 DGNDTVTESSDGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTK(SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-269) 的肽结合。在一实施方案中，所述抗体结合具有序列 LLTANTTKG(SEQ ID NO:1 的氨基酸 262-270)、HSLLTANTTKG(SEQ ID NO:1 的氨基酸 260-269)、FLEHSLLTANTTKG(SEQ ID NO:1 的氨基酸 257-270)、或 NQTQLFLEHSLLTANTTKG(SEQ ID NO:1 的氨基酸 252-270) 的肽。在另一些实施方案中，所述抗体与具有 SEQ ID NO:1 的氨基酸 236-250 或 236-258 所示序列的肽结合。

[0009] 在一实施方案中，所述抗体结合 KIM-1 的唾液酸结合基元。例如，所述抗体结合（至少部分结合）包含在具有序列 GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1 的氨基酸 81-107) 或 RGSCSLFTCQNGIV(SEQ ID NO:1 的氨基酸 29-42) 的肽中、或与所述肽重叠的表位。在一实施方案中，所述抗体结合还原型和非还原型蛋白，即，它结合 GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1 的氨基酸 81-107) 或 RGSCSLFTCQNGIV(SEQ ID NO:1 的氨基酸 29-42) 的至少 4,5,6,7,8,9, 或 10 个邻接氨基酸残基的线性表位。

[0010] 在另一实施方案中，所述抗体结合由序列 GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1 的氨基酸 81-107) 和 RGSCSLFTCQNGIV(SEQ ID NO:1 的氨基酸 29-42) 之一或两者组成的结构性表位。在一实施方案中，所述表位可以是包含在与重组小鼠 KIM-1IgV- 人 IgG1Fc 融合蛋白的 8kDa TPCK 胰蛋白酶片段对应的人 KIM-1 序列中的结构性表位。

[0011] 在一实施方案中，所述抗体干扰 SEQ ID NO:1 的残基 R86、W92 和 F93 中的一个或多个，这些残基是唾液酸结合所必需的。

[0012] 虽然可以理解，本文所述方法不局限于任何具体机制或理论，但所述抗体可以具有下列一或多个特征：(a) 它干扰 KIM-1 的 IgV 区中的唾液酸结合基元与 KIM-1 柄区的一或多个 N 糖基化位点上展示的糖分子之间的相互作用，(b) 它结合所述柄区中的一或多个 N 连接糖基化位点，或者对所述位点产生空间阻碍，(c) 它抑制对 KIM-1 信号传递的下调，(d) 它是激动剂抗体，例如，它通过结合来促进或增加经由 KIM-1 向下游传递信号，(e) 它阻止 KIM-1 多聚化 (multimerization)，(f) 它结合所述柄区或者在空间上阻碍该柄区与共同受体 (co-receptor) 或配体的相互作用，从而破坏正常功能，(g) 它干扰 KIM-1 的 IgV 区中的唾液酸结合基元与邻接 KIM-1 柄区的粘蛋白区的一或多个 O 糖基化位点上展示的糖分子之间的相互作用，(h) 它改变 Ig 区的结构特征，因而改变蛋白构象，例如，通过改变或干扰二硫键或氢键来实现这种改变，(i) 它改变 KIM-1Ig- 区的结构特征或功能特征，因而改变与其它蛋白如 KIM-1 配体的结合。

[0013] 在一实施方案中，所述抗体并不抑制 KIM-1 从细胞表面释出，例如，它不抑制 KIM-1 从培养的 293Ebna(E293) 细胞中释出。

[0014] 在优选实施方案中，所述抗体是单特异性抗体，例如，所述抗体是单克隆抗体，例如人源化或完全人化 (fully human) 的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0015] 在一实施方案中，所述疾病是过敏性哮喘。在该实施方案中，所述方法任选 (optionally) 还包括鉴定有患过敏性哮喘的风险或者已经患有过敏性哮喘的受试者。任选地，所述方法还包括评估受试者中的哮喘症状，如 IgE 水平、气道过度反应 (airway hyperresponsiveness)、咳嗽 (coughing)、喘鸣 (wheezing)、胸闷 (chest tightness)、呼吸困难 (dyspnea)、气道平滑肌收缩 (airway smooth muscle contraction)、支气管粘液分泌 (bronchial mucus secretion)、炎症 (inflammation)、血管舒张 (vasodilation)、炎性细胞（如中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞）募集、杯状细胞增生

(goblet cell hyperplasia)、肥大细胞或迁移中的炎性细胞释放炎性介质。所述评估步骤可以在给药步骤之前、期间和/或之后进行。所述评估可以由医师、其它提供健康护理服务者或者由该受试者进行。所述评估可以进行一次或多次,例如在给药后一或多次,例如在给药后的一周、一个月、两个月、三个月、六个月期间或更长时间内进行至少两次。

[0016] 在一优选实施方案中,所述方法包括,测定给药所述试剂(或多次给药)是否减轻所述受试者中气道疾病的一或多个症状的严重程度或减少所述症状的发生。

[0017] 在一些实施方案中,所述抗体与第二种有效治疗受试者哮喘的试剂一起给药,所述第二种试剂例如皮质类固醇(corticosteroid)、支气管扩张剂(bronchodilator)、白三烯调节剂(leukotriene modifier)、抗炎剂、抗IgE剂(如抗IgE抗体,如omalizumab(Xolair®))。"一起给药(co-administered)"或"联用(administered in combination)"是指,同时给药或有间隔地给药,如隔周给药,使这些物质对患者的效果发生重叠。

[0018] 在另一实施方案中,所述疾病是变态反应,如食物变态反应或季节性(如花粉)变态反应。可以通过以下一或多种方法诊断变态反应:进行过敏原(allergen)皮肤测试;测定血清IgE浓度(如IgE>300ng/ml);以及测定血清中的过敏原特异性IgE或IgG抗体。

[0019] 所述抗体可以在以下一或多个时期给药:在特应性患者暴露于过敏原之前;在暴露于过敏原之后、但在出现症状之前;在出现症状之时;在出现症状之后。

[0020] 在一实施方案中,所述试剂作为疗程来给药,如按预定的频率(如每天一次、每周一次、两周一次、或一个月一次)间歇给药(in periodic administration)。在一些实施方案中,抗体的给药时间和/或给药量足以在一段时间(如3个月、6个月、1年或更长时间)内,减少(如大大减少)喘鸣、咳嗽、气促(shortness of breath)、胸闷(tightness in the chest)发作的频率或严重程度。

[0021] 本发明另一方面提供了分离的与KIM-1柄区特异性结合的抗体或其抗原结合片段。所述抗体不抑制KIM-1从培养的E293细胞中释出。在一实施 方案中,所述抗体结合人KIM-1柄区。例如,所述抗体结合具有序列DGNDTVTESSDGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTK(SEQ ID NO:1的氨基酸236-269)的肽。在一实施方案中,所述抗体结合具有序列LLTANTTKG(SEQ ID NO:1的氨基酸262-270)、HSLLTANTTKG(SEQ ID NO:1的氨基酸260-270)、FLEHSLLTANTTKG(SEQ ID NO:1的氨基酸257-270)或NQTQLFLEHSLLTANTTKG(SEQ ID NO:1的氨基酸252-270)的肽。在另一些实施方案中,所述抗体结合具有SEQ ID NO:1的氨基酸241-254、242-258、242-255所示序列的肽。

[0022] 本发明另一方面提供了分离的、与KIM-1的唾液酸结合基元特异性结合的抗体或其抗原结合片段。例如,所述抗体结合(至少部分结合)包含在具有序列GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1的氨基酸81-107)或RGSCSLFTCQNGIV(SEQ ID NO:1的氨基酸29-42)的肽中的表位,或者与该肽重叠的表位。在一实施方案中,所述抗体结合还原型和非还原型蛋白,即它结合GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1的氨基酸81-107)或RGSCSLFTCQNGIV(SEQ ID NO:1的氨基酸29-42)的至少4、5、6、7、8、9或10个邻接氨基酸残基的线性表位。在另一实施方案中,所述抗体结合由序列GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1的氨基酸81-107)和RGSCSLFTCQNGIV(SEQ ID NO:1的氨基酸29-42)之一或两者构成的结构性表位。在一些实施方案中,所述表位是

包含在与重组小鼠 KIM-1IgV- 人 IgG1Fc 融合蛋白的 8kDa TPCK 胰蛋白酶片段相对应的人 KIM-1 区中的结构性表位。在一实施方案中，所述抗体干扰 SEQ ID NO:1 的残基 R86、W92 和 F93 中的一个或多个，这些残基是唾液酸结合所必需的。

[0023] 所述分离的抗体可以具有下列一或多个特征：(a) 它干扰 KIM-1 的 IgV 区中的唾液酸结合基元与 KIM-1 柄区的一或多个 N 糖基化位点上展示的糖分子之间的相互作用，(b) 它结合所述柄区中的一个或全部两个 N 连接糖基化位点，或者对所述位点产生空间阻碍，(c) 它抑制对 KIM-1 信号传递的下调，(d) 它是激动剂抗体，例如，它通过结合来促进或增加经由 KIM-1 向下游传递信号，(e) 它阻止 KIM-1 多聚化，(f) 它结合所述柄区与共同受体或配体的相互作用，或者空间上阻碍该相互作用，从而破坏正常功能，(g) 它干扰 KIM-1 的 IgV 区中的唾液酸结合基元与邻接 KIM-1 柄区的粘蛋白区的一或 多个 O 糖基化位点上展示的糖分子之间的相互作用，(h) 它改变 Ig 区的结构特征，因而改变蛋白构象，例如，通过改变或干扰二硫键或氢键来实现这种改变，(i) 它改变 KIM-1Ig- 区的结构特征或功能特征，因而改变与其它蛋白如 KIM-1 配体的结合。

[0024] 本发明另一方面涉及治疗 Th1 介导的疾病的方法，所述疾病例如以致病性或增强的 Th1 应答为特征的疾病。所述疾病包括炎性疾病和 / 或自身免疫病，如炎性肠病 (IBD)、克隆病、多发性硬化、糖尿病、类风湿性关节炎、银屑病、急性移植物抗宿主疾病 (GVHD)、移植、胰腺炎、迟发型超敏反应 (DTH)。所述方法包括，对患有 Th1 介导的疾病的哺乳动物 (优选人) 给药与包含在序列 VATSPSSPQPAETHPTTLQGAIRREPTSSPLYSYTT(SEQ ID NO:1 的残基 200-235) 中的表位结合的试剂，所述试剂例如是抗体。例如，所述方法可以包括给药药物组合物，所述组合物含有与 KIM-1 的特定区域结合的单特异性抗体，如单克隆抗体 (或其抗原结合片段)，给药量和给药时间导致足以治疗所述疾病。所述 KIM-1 的特定区域被发现在小鼠的 KIM-1 另路剪接变体中。应理解，本文中提到该区的 N 末端和 C 末端时，是模糊的概念，可以多几个 (如 1 或 2 个) 或少几个来自 KIM-1 序列的邻接残基。

[0025] 在一实施方案中，所述抗体结合还原型和非还原型蛋白。

[0026] 在优选实施方案中，所述抗体是单特异性抗体，如所述抗体是单克隆抗体，如人源化或完全人化的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0027] 在一实施方案中，所述疾病是炎性肠病 (IBD)、克隆病、类风湿性关节炎、银屑病、急性移植物抗宿主疾病 (GVHD)、移植、胰腺炎、或迟发型超敏反应 (DTH)。所述方法任选还包括鉴定有患上述任一种疾病的风险或者已患上述任一种疾病的受试者。

[0028] 在一优选实施方案中，所述方法包括，测定给药所述试剂 (或多次给药) 是否减轻该受试者中所述疾病的一或多个症状的严重程度或减少所述症状的发生。

[0029] 在一些实施方案中，所述抗体与第二种有效治疗受试者中所述疾病的试剂一起给药，所述第二种试剂例如皮质类固醇、或其它抗炎剂、DMARD、抗 TNF 疗法或抗 CD20 疗法。"一起给药"或"联用"是指，同时给药或有间隔地给药，如隔周给药，使这些物质对患者的效果发生重叠。

[0030] 在一实施方案中，所述试剂作为疗程来给药，如按预定的频率 (如每天一次、每周一次、两周一次、或一个月一次) 间歇给药。在一些实施方案中，抗体的给药时间和 / 或给药量足以在一段时间 (如 3 个月、6 个月、1 年或更长时间) 内，减少 (如大大减少) 症状的频率或严重程度。

[0031] 本文中，术语“治疗”是指，实施疗法，且治疗量、治疗方式 (manner) 和 / 或治疗模式 (mode) 导致有效改进病理性疾病 (pathological condition) 特有的症状或参数；降低病理性疾病特有的症状或参数的严重程度；阻止、延缓或逆转该病理性疾病的进展；或预防该病理性疾病的一或多个症状或参数。

[0032] 本文中，与 KIM-1 的指定区域“结合的试剂”是指，与该指定区域以小于 10^{-6}M 的 K_d 结合的任何化合物。一例 KIM-1 结合试剂是 KIM-1 结合蛋白，如 KIM-1 结合抗体，优选单特异性抗体。

[0033] 本文中术语“唾液酸结合区”、“唾液酸结合基元”、和“唾液酸结合所需”、以及这些术语的变化形式是指，与在结合唾液酸的 Ig 类凝集素（涎免凝集素 (Siglec)）家族中鉴定出的、结合糖分子所需的氨基酸残基、氨基酸序列、以及氨基酸二级和三级结构相似或同源的氨基酸残基、氨基酸序列、以及氨基酸二级和三级结构。

[0034] 术语“抗体或其抗原结合片段”是指蛋白，其包括至少一个免疫球蛋白可变区，如提供足以特异性结合抗原的免疫球蛋白可变区或免疫球蛋白可变区序列的氨基酸序列。例如，该术语包括具有重链 (H) 可变区（缩写 VH) 和轻链 (L) 可变区（缩写 VL) 的抗原结合蛋白。在另一例中，该术语包括含有两个重链 (H) 可变区和两个轻链 (L) 可变区的抗原结合蛋白。该术语还包括抗体的抗原结合片段（如单链抗体、Fab 片段、F(ab')2 片段、Fd 片段、Fv 片段、和 dAb 片段）以及完整抗体，如 IgA、IgG、IgE、IgD、IgM 型（及其亚型）的完整幼稚 (intact) 免疫球蛋白。免疫球蛋白的轻链可以是 kappa 型或 lambda 型。在一实施方案中，抗体是糖基化抗体。抗体可以具有抗体依赖性细胞毒活性和 / 或补体 - 介导的细胞毒活性，或者可以不具有上述一种或全部两种活性。VH 和 VL 区可以进一步细分成：被称为“互补决定区”（“CDR”）的超变区，以及多个超变区之间间插的更为保守、被称为“框架区”(FR) 的区。FR 和 CDR 的范围是确定的（间 Kabat, E.A., 等 (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, US Department of Health and 人 Services, NIH Publication No. 91-3242; Chothia, C. 等 (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917)。Kabat 定义在本文中使用。每一个 VH 和 VL 通常由三个 CDR 和四个 FR 组成，它们按以下顺序从氨基端到羧基端排列：FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4。

[0035] 以上概述和以下说明都不对权利要求的发明构成限制。

附图说明

[0036] 图 1 是带注解的人 KIM-1 多肽序列 (SEQ ID NO:1)（不含信号序列，也不含插入多态性 (insertional polymorphism) MTTVP)，显示了本文所述的各种区。

[0037] 图 2 显示，用 OVA 进行气溶胶攻击 (aerosol challenge)、并用 3A2 进行治疗后，支气管灌洗液 (bronchial lavage fluid, BAL) 中的嗜酸性粒细胞百分比 (y 轴）。

[0038] 图 3 显示，洗出 (draining) 的（支气管）淋巴结细胞用 OVA 抗原进行体外 (exvivo) 刺激、并用 3A2 进行治疗后的增殖。Y 轴是滴定出的胸苷掺入量，以 cpm 表示。

[0039] 图 4 显示洗出的（支气管）淋巴结细胞对 OVA 抗原体外刺激的反应。LN 在经 OVA 气溶胶攻击后收集，用 OVA 进行体外培养并用 3A2 进行治疗。取这些培养物的上清液，分析 TH2 细胞因子 (IL-4、IL-5 和 IL-10) 的生成。Y 轴是皮克 (pg)/ml。

[0040] 图 5 显示 3A2 与固相蛋白的结合曲线。MAb3A2 等效地结合 mKIM-1-ECD-Fc（圆）、

mKIM-1-137-216-Fc（三角）、和 mKIM-1-196-216-Fc（菱形），但不结合 mKIM-1-IgV-Fc（正方形）。

[0041] 图 6 显示，用 OVA 进行气溶胶攻击、并用 4A2 进行治疗后，支气管灌洗液 (BAL) 中嗜酸性粒细胞和淋巴细胞的百分比 (y 轴）。

[0042] 图 7 显示洗出的（支气管）淋巴结细胞对 OVA 抗原体外刺激及 4A2 治疗的反应。LN 在经 OVA 气溶胶攻击后收集，用 OVA 进行体外培养。取这些培养物的上清液，分析 TH2 细胞因子 (IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13) 的生成。Y 轴是皮克 (pg)/ml。

[0043] 图 8 显示，用 OVA 进行气溶胶攻击、并用 4A2 进行治愈性治疗 (therapeutic treatment) 后，支气管灌洗液 (BAL) 中嗜酸性粒细胞的百分比 (y 轴）。

[0044] 图 9 显示 mAb4A2 与纯化的 KIM-1 蛋白的结合曲线。

[0045] 发明详述

[0046] 如本文所述，用抗体疗法靶定 KIM-1 的特定区域，可以对 Th2 和 Th1 细胞因子表达产生严格的控制，并提供了治疗 Th2 介导的疾病和其它特应性疾病，以及治疗 Th1 介导的疾病的治疗策略。

[0047] 抗体生成 (Antibody Generation)

[0048] 与 KIM-1 柄区或 KIM-1 的唾液酸结合基元结合的抗体可以通过免疫（例如用动物进行免疫）、或通过体外方法如噬菌体展示方法而生成。包含 KIM-1 的靶表位（如 KIM-1 柄区或 KIM-1 的唾液酸结合基元）的多肽可以用作免疫原。在另一些实施方案中，KIM-1 多肽的较大一部分，例如胞外区，可以用作免疫原，并可以对所得抗体筛选与目标 KIM-1 区或结构域的反应性。

[0049] 在一实施方案中，经免疫的动物含有产生免疫球蛋白的细胞，这些细胞具有天然的、人化的或部分人化的免疫球蛋白基因座。在一实施方案中，所述非人动物包含人免疫球蛋白基因的至少一部分。例如，可以用人 Ig 基因座的大片段对抗体生成有缺陷的小鼠品系进行改造。可以用杂交瘤技术从具有所需特异性的基因生成并筛选出抗原特异性单克隆抗体。参见例如 XenoMouse™，Green 等 Nature Genetics7:13-21(1994)，US2003-0070185，美国专利 5,789,650 以及 WO96/34096。

[0050] 还可以在例如啮齿类动物中产生抗 KIM-1 的非人抗体。可以将这种非人抗体人源化，例如参见美国专利6,602,503,EP239400，美国专利5,693,761，和美国专利6,407,213。

[0051] EP239400(Winter 等）描述了通过将一个物种的抗体（指定可变区内）的互补决定区 (CDR) 用另一物种的 CDR 取代，从而改变抗体的方法。CDR- 取代型抗体可比真正的嵌合抗体较少激发人的免疫应答，因为 CDR- 取代型抗体中的非人成分很少 (Riechmann 等，1988,Nature332,323-327;Verhoeyen 等，1988,Science239,1534-1536)。通常利用重组核酸技术，将鼠抗体的 CDR 取代为人抗体的相应区，产生编码所需取代型抗体的序列。可以添加具有所需 同种型 (isotype) 的人恒定区基因节段（通常是 CH 的 gamma I 和 CL 的 kappa），并使人源化的重链基因和轻链基因在哺乳动物细胞中一起表达，从而产生可溶性人源化抗体。

[0052] Queen 等，1989 和 WO90/07861 描述了一种方法，其包括，通过利用计算机分析与原始鼠抗体的 V 区框架的最佳蛋白序列同源性，来选择人 V 区框架区，并建立鼠 V 区的三级结构模型，从而显示出很有可能与鼠 CDR 相互作用的框架氨基酸残基。然后将这些鼠氨

基酸残基置于同源人框架之上。也参见美国专利 5,693,762;5,693,761;5,585,089; 和 5,530,101。Tempest 等 (1991,Biotechnology9:266-271) 利用分别源自 NEWM 和 REI 重链和轻链的 V 区框架作为标准,在不引进小鼠残基的情况下,进行 CDR- 移植。用 Tempest 等的方法构建基于 NEWM 和 REI 的人源化抗体的一个好处在于,NEWM 和 REI 的可变区的三维结构已通过 X- 线晶体成像技术弄清楚了,因而可以针对 CDR 和 V 区框架残基之间的特异性相互作用建立模型。

[0053] 非人抗体可以经过修饰而包括插入人免疫球蛋白序列的取代,例如在具体位置的共有的人氨基酸残基,例如以下一或多个 (优选至少 5,10,12,或全部) 位置 :(在轻链可变区的 FR 中)4L,35L,36L,38L,43L,44L,58L,46L,62L,63L,64L,65L,66L,67L,68L,69L,70L,71L,73L,85L,87L,98L, 和 / 或 (在重链可变区的 FR 中)2H,4H,24H,36H,37H,39H,43H,45H,49H,58H,60H,67H,68H,69H,70H,73H,74H,75H,78H,91H,92H,93H, 和 / 或 103H(遵循 Kabat 编号)。参见,例如美国专利 6,407,213。

[0054] 与目标 KIM-1 区结合的完全的人单克隆抗体可以利用例如体外刺激 (invitro-primed) 的人脾细胞来制备,参见 Boerner 等 ,1991,J.Immunol.,147,86-95。它们可以通过所有组分克隆 (repertoire cloning) 来制备,参见 Persson 等 ,1991,Proc.Nat.Acad.Sci.USA,88:2432-2436 或 Huang 和 Stollar,1991,J.Immunol.Methods141,227-236; 以及美国专利 5,798,230。大型非致敏人噬菌体展示文库也可以用于分离高亲和力抗体,将它们研发为人类治疗剂,这可以利用标准噬菌体技术 (参见,例如 Vaughan 等 ,1996;Hoogenboom 等 (1998)Immunotechnology4:1-20;Hoogenboom 等 (2000)Immunol Today2:371-8;US2003-0232333)。

[0055] 本文中,“免疫球蛋白可变区序列”是指,可形成免疫球蛋白可变区结构的氨基酸序列。例如,所述序列可包括天然可变区的全部或部分氨基酸序列。 例如,所述序列可省略 1 个、2 个或更多个 N- 端或 C- 端氨基酸、内部氨基酸,可包括一或多个插入或额外的末端氨基酸,或者可包括其它改变。在一个实施方案中,含有免疫球蛋白可变区序列的多肽可以与另一免疫球蛋白可变区序列结合,形成靶结合结构 (或“抗原结合位点”),例如与 KIM-1 的指定区域相互作用的结构。

[0056] 抗体的 VH 或 VL 链还可以包括重链恒定区或轻链恒定区的全部或部分,以分别形成免疫球蛋白重链或轻链。在一个实施方案中,抗体是具有两条免疫球蛋白重链和两条免疫球蛋白轻链的四聚体。免疫球蛋白重链和轻链可以经二硫键相连。重链恒定区一般包括三个恒定区 :CH1、CH2 和 CH3。轻链恒定区一般包括 CL 区。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合区。抗体恒定区一般介导抗体与宿主组织或因子 (包括免疫系统的多种细胞 (如效应细胞) 和经典补体系统的第一种成分 (C1q)) 的结合。

[0057] 抗体的一或多个区可以是人的、被有效人化或人源化。例如,一或多个可变区可以是人的或被有效人化。例如,一或多个 CDR,例如 HC CDR1,HC CDR2,HC CDR3,LC CDR1,LC CDR2, 和 LC CDR3 可以是人的。每一轻链 CDR 可以是人的。HC CDR3 可以是人的。一或多个框架区,例如 HC 或 LC 的 FR1,FR2,FR3, 和 FR4 可以是人的。在一个实施方案中,所有框架区都已经是人的,例如源自人的体细胞,例如生成免疫球蛋白的造血细胞、或非造血细胞。在一个实施方案中,所述人的序列是种系 (germline) 序列,例如由种系核酸编码的序列。一或多个恒定区可以是人的、被有效人化或人源化。在另一实施方案中,框架区 (如 FR1、

FR2、和 FR3 一起，或 FR1、FR2、FR3、和 FR4 一起）的至少 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 或 98% 或整个抗体可以是人的、被有效人化或人源化。例如，FR1, FR2, 和 FR3 一起可以至少 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 98%, 或 99% 与由人的种系节段 (germline segment) 编码的人的序列相同。

[0058] “有效人化”免疫球蛋白可变区是，含有足够数量的人框架氨基酸位置、因而在正常人体内不激发免疫应答的免疫球蛋白可变区。“有效人化”抗体是，含有足够数量的人氨基酸位置、因而不在正常人体内激发免疫应答的抗体。

[0059] “人源化”免疫球蛋白可变区是经过修饰的免疫球蛋白可变区，所述修饰致使修饰后的形式在人体内激发的免疫应答比未经修饰的形式激发的应答 弱，例如免疫球蛋白可变区经过修饰含有足够数量的人框架氨基酸位置、因而该免疫球蛋白可变区在正常人体内不激发免疫应答。对“人源化”免疫球蛋白的描述包括例如美国专利 6,407,213 和 5,693,762。在一些情况中，人源化免疫球蛋白可以在一或多个框架氨基酸位置包含非人氨基酸。

[0060] 抗体的全部或部分可以由免疫球蛋白基因或其节段编码。人免疫球蛋白基因例如有 kappa, lambda, alpha (IgA1 和 IgA2), gamma (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), delta, epsilon 和 mu 恒定区基因，以及众多的免疫球蛋白可变区基因。全长免疫球蛋白“轻链”（约 25Kd 或 214 个氨基酸）在 NH2- 末端（约 110 个氨基酸）由可变区基因编码，在 COOH- 末端由 kappa 或 lambda 恒定区基因编码。同样，全长免疫球蛋白“重链”（约 50Kd 或 446 个氨基酸）由可变区基因（约 116 个氨基酸）和上述其它恒定区基因之一，例如 gamma（编码约 330 个氨基酸）编码。

[0061] 术语全长抗体的“抗原结合片段”是指，全长抗体的一或多个保留与目标靶特异性结合的能力的片段。由术语全长抗体的“抗原结合片段”所涵盖的结合片段的实例包括：(i) Fab 片段，是单价片段，由 VL, VH, CL 和 CH1 区组成；(ii) $F(ab')_2$ 片段，是二价片段，包括两个经二硫桥在铰链区相连的 Fab 片段；(iii) Fd 片段，由 VH 和 CH1 区组成；(iv) Fv 片段，由抗体单臂的 VL 和 VH 区组成；(v) dAb 片段 (Ward 等，(1989) Nature341:544-546)，由 VH 区组成；和 (vi) 分离的保留功能的互补决定区 (CDR)。此外，尽管 Fv 片段的 VL 和 VH 区分别由不同基因编码，但可以利用重组方法将它们用合成的连接子连接，使它们能够形成单链蛋白，从而其中的 VL 和 VH 区配对形成已知为单链 Fv (scFv) 的单价分子。参见，例如 Bird 等 (1988) Science242:423-426; Huston 等 (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA85:5879-5883。

[0062] 抗体制备 (Antibody Production)

[0063] 抗体可以在原核细胞和真核细胞中产生。在一个实施方案中，抗体（如 scFv）在毕赤酵母 (Pichia)（参见，例如 Powers et al. (2001) J Immunol Methods. 251:123-35）、汉逊酵母 (Hanseula) 或糖酵母 (Saccharomyces) 等酵母细胞中表达。

[0064] 在一个实施方案中，抗体，尤其是全长抗体，例如 IgG，在哺乳动物细胞中生成。用于重组表达的哺乳动物宿主细胞例如有，中国仓鼠卵巢 (CHO 细胞）（包括 dhfr-CHO 细胞，见 Urlauband Chasin (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA77:4216-4220，使用 DHFR 选择标记，例如见 Kaufman and Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621）、淋巴细胞系例如 NS0 骨髓瘤细胞和 SP2 细胞、COS 细胞、K562、以及转基因动物（例如转基因哺乳动物）的细胞。例如，所述细胞是哺乳动物上皮细胞。

[0065] 重组表达载体除了携带编码免疫球蛋白区的核酸序列，还可以携带其它核酸序列，如调节该载体在宿主细胞中的复制的序列（如复制起点）和选择标记基因。选择标记基因有利于选出引入了所述载体的宿主细胞（参见，例如美国专利 4,399,216、4,634,665 和 5,179,017）。选择标记基因例如有，二氢叶酸还原酶 (DHFR) 基因（其利用氨甲蝶呤选择 / 扩增 dhfr⁻ 宿主细胞）和 neo 基因（其用于 G418 筛选）。

[0066] 在一例抗体（如全长抗体或其抗原结合部分）重组表达系统中，将编码抗体重链和抗体轻链两者的重组表达载体，通过磷酸钙介导的转染，引入 dhfr⁻CHO 细胞。在该重组表达载体中，抗体的重链和轻链基因各自与增强子 / 启动子调节元件（如源自 SV40、CMV、腺病毒等，诸如 CMV 增强子 /AdMLP 启动子调节元件或 SV40 增强子 /AdMLP 启动子调节元件）可操作相连，以便驱动所述基因的高水平转录。所述重组表达载体还可以携带 DHFR 基因，其允许用氨甲蝶呤选择 / 扩增转染了所述载体的 CHO 细胞。对选出的转化宿主细胞进行培养，使之表达抗体重链和轻链，并从培养基中回收完整抗体。用标准分子生物学技术制备所述重组表达载体，来转染宿主细胞，选出转化体，培养宿主细胞，并从培养基中回收抗体。例如，一些抗体可以利用蛋白 A 或蛋白 G 通过亲和层析进行分离。

[0067] 抗体还可以包含修饰，例如改变 Fc 功能的修饰，从而例如减弱或消除与 Fc 受体和 / 或与 C1q 的相互作用。例如，人 IgG1 恒定区可以突变一或多个残基，例如残基 234 和 237 的一或多个，编号例如见美国专利 5,648,260。其它修饰例子可参见美国专利 5,648,260。

[0068] 对于一些含 Fc 区的抗体，可以设计抗体制备系统，来合成含糖基化 Fc 区的抗体。例如，IgG 分子的 Fc 区在 CH2 区的天冬酰胺 297 处糖基化。该天冬酰胺是用双触角型寡糖 (biantennary-type oligosaccharide) 进行修饰的位置。这种糖基化参与 Fcγ 受体和补体 C1q 所介导的效应器功能 (Burton and Woof(1992)Adv. Immunol. 51:1-84;Jefferis 等 (1998)Immunol. Rev. 163: 59-76)。Fc 区可以在哺乳动物表达系统中产生，从而使对应于天冬酰胺 297 的残基适当糖基化。Fc 区也可以包含其它的真核细胞翻译后修饰。

[0069] 抗体也可以由转基因动物产生。例如，美国专利 5,849,992 描述了在转基因哺乳动物乳腺中表达抗体的方法。构建转基因，使其含有乳特异性启动子、编码目标抗体（如本文所述抗体）的核酸序列、以及用于分泌的信号序列。由这类转基因哺乳动物中的雌性动物产出的乳汁含有分泌至其中的目标抗体（如本文所述抗体）。所述抗体可以从乳汁中纯化出来，或在一些应用中，不经纯化而直接使用。

[0070] 抗体还可以用例如改进其在循环（如血液、血清、淋巴）、支气管肺泡灌洗液或其它组织中的稳定性和 / 或滞留时间的组分 (moiety) 进行修饰，所述改进例如是改进至少 1.5、2、5、10、或 50 倍。

[0071] 在一例中，KIM-1 结合抗体可以与聚合物结合，所述聚合物例如基本上无抗原性的聚合物，如聚环氧烷烃 (polyalkylene oxide) 或聚环氧乙烷 (polyethylene oxide)。合适的聚合物分子量可以差别很大。可以采用分子量平均约 200- 约 35,000 道尔顿（或约 1,000- 约 15,000、以及 2,000- 约 12,500）的聚合物。

[0072] 在另一例中，KIM-1 结合抗体可以与水溶性聚合物偶联，所述聚合物例如亲水聚乙烯聚合物，如聚乙烯醇或聚乙烯吡咯烷酮。这类聚合物的非限制性例子有，聚环氧烷烃均聚物如聚乙二醇 (PEG) 或聚丙二醇、聚氧乙烯化多元醇 (polyoxyethylenated polyols)、它们的共聚物和嵌段共聚物，只要维持所述嵌段共聚物的水溶性即可。其它可用的聚合

物包括，聚氧化烯 (polyoxyalkylenes) 如聚氧化乙烯 (polyoxyethylene)、聚氧化丙烯 (polyoxypropylene)、以及聚氧化乙烯和聚氧化丙烯的嵌段共聚物 (Pluronics)；聚甲基丙烯酸酯 (polymethacrylates)；丙烯酸共聚物 (carbomer)；含有以下单糖的分支或非分支多糖：D- 甘露糖、D- 及 L- 半乳糖、岩藻糖 (fucose)、果糖、D- 木糖 (xylose)、L- 阿拉伯糖、D- 葡糖醛酸 (glucuronic acid)、唾液酸 (sialicacid)、D- 半乳糖醛酸 (galacturonic acid)、D- 甘露糖醛酸 (mannuronic acid)（如聚甘露糖醛酸或藻酸 (alginic acid)）、D- 葡糖胺 (glucosamine)、D- 半乳糖胺 (galactosamine)、D- 葡萄糖和神经氨酸 (neuraminic acid) 包括同多糖 (homopolysaccharide) 和杂多糖 (heteropolysaccharide) 如乳糖、支链淀粉 (amylopectin)、淀粉 (starch)、羟乙基淀粉、直链淀粉 (amylose)、硫酸葡聚糖 (dextrane sulfate)、葡聚糖 (dextran)、糊精 (dextrin)、糖原 (glycogen)、或酸性粘多糖 (acid mucopolysaccharide) 的多糖亚基，如透明质酸 (hyaluronic acid)；糖醇聚合物如聚山梨糖醇 (polysorbitol) 和聚甘露糖醇 (polymannitol)；肝素 (heparin) 或 heparon。

[0073] 用途和给药方法

[0074] 在本文所述方法中，对受试者给药与 KIM-1 具体区域结合的试剂（如抗体），以治疗 Th2 介导的疾病或 Th1 介导的疾病。接受治疗的受试者是哺乳动物，例如人。

[0075] “给药 (Administration)”不限于任何具体的配制剂 (formulation)、递送体系 (delivery system)、或途径，可以包括例如支气管内 (intrabronchial)、非胃肠道（包括皮下、静脉、髓内 (intramedullary)、关节内 (intraarticular)、肌肉、或腹腔 (intraperitoneal) 注射）直肠、表面局部 (topical)、经皮 (transdermal)、或口服（例如胶囊、悬液、或片剂）。给药可以是，在单次剂量中或在重复多次剂量中，给药含有生理可接受的盐形式和 / 或可药用赋形剂 (excipient) 的多种药物组合物中的任一种。生理可接受的盐形式、药物配制剂、以及赋形剂是本领域已知的（参见，例如 2004Physicians' Desk Reference ® (PDR)(2003)Thomson Healthcare, 第 58 版 ;Gennado 等 ,(2000), 第 20 版 ,Lippincott,Williams&Wilkins)Remington:The Science and Practice of Pharmacy)。

[0076] 有多种治疗剂可以有效用于管理 (management) 和治疗哮喘。它们包括但不限于，用于放松气道的支气管扩张剂，如抗胆碱能的支气管扩张剂（如异丙托品 (ipratropium bromide), 羟甲叔丁肾上腺素 (albuterol)/ 异丙托品）；用于放松气道肌肉的 beta 激动剂（如肾上腺素 (epinephrine)、间羟异丙肾上腺素 (metaproterenol)、间羟叔丁肾上腺素 (terbutaline)、甲磺酸乙基异丙肾上腺素 (isoetharinemesylate)、乙基异丙肾上腺素 (isoetharine)、异丙肾上腺素 (isuprel)、吡布特罗 (pirbuterol)、羟甲叔丁肾上腺素、沙美特罗 (salmeterol)、比托特罗 (bitolterol)）；用于减少炎症的口服型或吸入型皮质类固醇（如氢化可的松 (hydrocortisone)、可的松 (cortisone)、地塞米松 (dexamethasone)、强的松龙 (prednisolone)、强的松 (prednisone)、甲基强的松龙 (methylprednisolone)、氟尼缩松 (flunisolide)、氟羟强的松龙 (triamcinolone)、丙酸倍氯米松 (beclomethosone)、地塞米松、氟替卡松 (fluticasone)、布地缩松 (budesonide)）；用于防止气道肿胀并减少粘液生成的白三烯调节剂（如扎鲁司特 (zafirlukast)、孟鲁司特钠 (montelukast sodium)、弃白通 (zileuton)）；以及茶碱 (theophylline)，在其多种用途中，包括帮助打开气道并减少粘液释放。抗哮喘剂还包括治疗性抗体（或其功能片段），包

括但不限于，抗 IgE、抗 IL-9、抗 IL-3、抗 IL-4、抗 IL-5、抗 IL-13、抗 VLA 蛋白、和抗移动抑制因子 (MIF)。本文所述抗体可以与一或多种上述试剂联用而治疗过敏性哮喘。

[0077] 治疗剂可以有效管理和治疗 Th1- 介导的炎性疾病，包括抗炎性化合物，如类固醇 (steroid) 和 NSAID。

[0078] 在一个动物模型中实现有效治疗的剂量，可以用已知的换算系数 (conversion factor) 换算后用于其它动物 (包括人)，所述系数参见例如 Freireich 等 (1966)Cancer Chemother. Reports, 50(4) :219-244。

[0079] 以下实施例旨在举例说明实施方案。这些实施例无论如何都不对本发明构成限制。本领域技术人员可以理解，在本发明范围内可以进行多种改良和变化。这些改良和变化因此都被本发明涵盖。

实施例

[0080] 实施例 1: 鉴定抗小鼠 KIM-1 的大鼠单克隆抗体

[0081] 鼠 KIM-1 的全长胞外区表达构建体和仅有 IgV 区的表达构建体用标准 PCR 和克隆技术产生，并稳定转染到 CHO 细胞中。这些融合蛋白通过蛋白 A 层析和 SEC 层析从 CHO 细胞系上清液中纯化出来。与人 IgG1-Fc 区融合的全长 KIM-1 看上去是双联体 (doublet)，与差异糖基化 (differential glycosylation) 一致。大鼠用由完整胞外区组成的全长小鼠 KIM-1-Ig 融合蛋白免疫。一组抗 mKIM-1 的大鼠单克隆抗体用 ELISA 试验和 FACS 筛选法进行鉴定，其中的一些抗体还通过 Biacore(Biacore 表面等离子共振仪)、以及通过区 (domain) 特异性 ELISA 和 Western 印迹分析进行鉴定，结果表明，该组中包含结合不同表位的多种抗体。因此，有 7 种抗体在 Biacore 和 ELISA 分析中结合全长蛋白，但其中有 4 种不与仅编码 IgV 区的蛋白结合 (表 1)。在 4 种于 Biacore 模式中表现为需要粘蛋白 - 柄区的存在才能结合的抗体中，有 3 种进一步经 ELISA 和 Western 印迹分析确定与粘蛋白区结合，1 种则在柄区结合 (表 1)。多种抗体识别粘蛋白区中由外显子 4 编码的特有区 (表 1)。 因此，鉴定出识别 IgV、粘蛋白、以及柄区的抗体。表 1 显示了大鼠抗 mKIM-1mAb 的总体 (gross) 表位作图结果。表 1 的数据是用 KIM-1-Ig 的全长胞外区 (ECD)、KIM-1-IgV-Ig、及 KIM-1-Ig 蛋白的水解片段进行多项试验 (Biacore、ELISA、Western 印迹、和 FACS) 汇总得到的。

[0082] 表 1

[0083]

	ECD 区	IgV 区	ECD 由另路剪接的外显子编码的最小区(minus region)	仅有柄区
1H9	+	+	+	-
1D9	+	-	-	-
1C11	+	-	-	-
3A2	+	-	+	+
1H8	+	-	-	-
4A2	+	+	+	-*
2A7	+	+	+	-*

[0084] * 预测的结果

[0085] 实施例 2: 在高活性肺 (hyperactive lung) 中诱导 KIM-1 表达

[0086] Balb/c 小鼠用 OVA/ 明矾 (alum) 进行两次引发免疫 (prime)，休息 3 周后，用喷雾器 (nebulizer) 使该小鼠连续 3 天暴露于 OVA 气溶胶。收集肺组织、洗出的 (支气管) 淋巴结 (LN) 和脾脏，通过 RT-PCR 检测 KIM-1 表达的诱导情况。在支气管 LN 和肺组织中，直到喷雾之后 24 小时，KIM-1 讯息 (message) 都被诱导。与 KIM-1mRNA 水平不同的是，KIM-3mRNA 水平在用 OVA 气溶胶攻击后未受到调节。KIM-2 水平被上调，其方式与 KIM-1 相似。

[0087] 实施例 3: 抗 KIM-1 抗体对 OVA- 诱导的超反应 (hyper-responsiveness) 的影响

[0088] 用 OVA 气溶胶模型，以及预防性剂量方案和治疗性剂量方案，测试具有不同的表位特异性的抗 KIM-1 抗体影响肺部炎症发展的能力。

[0089] 在预防性研究中，OVA 诱导的肺部炎症和回忆试验 (recall assay) 如下进行 : Balb/c 小鼠在第 1 天和第 7 天腹腔 (ip) 注射 100μl 10.5mg/ml OVA(Grade V, Sigma) 与 100μl ImjectAlum(Pierce, Rockford IL USA) 的混合物。第二次注射的三周后，用超声喷雾器 (Devilbiss, Carlsbad CA USA)，使小鼠连续 3 天每 天暴露于 1%OVA-PBS 气溶胶 20 分钟。mAbs 剂量方案如下 : 在第 1, 3, 6 和 9 天腹腔注射 200μg，然后，在开始喷雾的当天，腹腔注射 500μg。

[0090] 在治疗性研究中，小鼠如上所述用 OVA 的明矾制剂免疫，但直到马上要进行一系列喷雾之前，一直都未给予 mAb : 即，在第一次喷雾的前一天，给予 250μg mAb4A2，在第二次喷雾的当天早上 (morning) 给予 250μg mAb4A2。

[0091] 在预防性研究和治疗性研究中，都是在最后一次喷雾结束的两天后，将小鼠处死，进行分析。经气管切开术 (tracheotomy) 收集支气管灌洗液 (BAL)，用含 0.1%BSA 和 0.02mM EDTA 的 PBS 洗 3 次。BAL 细胞用 cytospin 沉降 (pellet)，用载玻片 (Shandon, Pittsburgh, PA USA) 覆盖，然后在空气中干燥，用 Hema3 染料 (Fisher Scientific, Pittsburgh PA USA) 染色，鉴别不同的细胞群。将肺组织收集在中性缓冲的福尔马林溶液 (neutral buffered formalin) 中进行常规组织学检查，或者在 trizol 中速冻 (snap-frozen)，接着分离 RNA。收集洗出的 (支气管) 淋巴结和脾脏，分离单核细胞，将这些细胞放置在含有不同浓度的 OVA 的 RPMI/10%FBS 中进行培养。72 小时后，收集上清液，细胞则用 1uCi 氚标记的胸苷 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ USA) 脉冲 8 小时，平板用 Microbetajet system(Wallac, Gaithersburg, MD USA) 计数。上清液用 CBA Th1/Th2 及炎症试剂盒 (CBA Th1/Th2and Inflammation kits, BD Biosciences) 和 IL-13ELISA 试验 (R&D Systems, Minneapolis MN USA) 进行分析。

[0092] 结果 :

[0093] 小鼠在 OVA 引发免疫阶段以及攻击阶段被给予抗体。攻击后，收集支气管灌洗液 (BAL)、支气管淋巴结、脾脏、和肺组织。算出 BAL 中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、和淋巴细胞的百分率。mAb1H8 在治疗组小鼠的 BAL 中诱导出高活力 (robust) 嗜酸性粒细胞计数，使嗜酸性粒细胞百分率比对照高出两倍还多。另外还发现，中性粒细胞和淋巴细胞的百分率有中等程度的增加，这两种细胞构成了 BAL 细胞组成 (cellularity) 中的一小部分。与该结果一致，从经 1H8 处理并经 OVA 体外攻击的小鼠中分离出的支气管 LN 细胞，比对照培养物增殖更活跃，且表达更高水平的 Th2 相关细胞因子。尤其是，相对于对照而言，产生了非常

高水平的 IL-5 和 IL-13，而 IL-4、IL-6、和 IL-10 的水平也有升高。有趣的是，IFN-γ 水平也升高，但该细胞因子的总体水平 较低。优先诱导 Th2 细胞因子对于 Th1 细胞因子依赖性病理情况，如多发性硬化 (MS)、类风湿性关节炎 (RA)、克隆病，是有效的。

[0094] 与 1H8 不同，在支气管淋巴结回忆试验中，mAb3A2 减少 BAL 中的嗜酸性粒细胞百分率，并减少 Th2 相关细胞因子的生成（图 2)。即，抗体 1H8 和 3A2 在该试验中具有相反的效果。其它几种抗体，包括识别 IgV 区中的表位的 1H9，在该模型中对于肺部炎症或细胞因子生成不产生影响。分析洗出的（支气管）淋巴结细胞对 OVA 抗原和 3A2 体外刺激的反应，结果表明，细胞对抗原刺激发生反应而出现的增殖减少（图 3)。此外，分析这些培养物的上清液的结果表明，Th2 细胞因子包括 IL-4、IL-5、和 IL-10 的表达明显减少（图 4)。该试验中，IL-13 的水平也减少。

[0095] 用抗 Ig 区的 mAb4A2 进行治疗，导致经 OVA 致敏并经喷雾处理后回流到 BAL 中的嗜酸性粒细胞和淋巴细胞大大减少（图 6)。BAL 中的嗜酸性粒细胞百分率比对照平均减少 84%($p<0.0001$，平均等值检验 (test of mean equivalence))，淋巴细胞百分率比对照平均减少 90%($p<0.001$，平均等值检验）。当支气管淋巴结细胞用 OVA 再次进行体外刺激时，Th2 细胞因子包括 IL-4、IL-5、IL-10、和 IL-13 的生成明显减少（图 7)。可见，用 mAb4A2 进行治疗减少了肺部炎症，并减少了与哮喘反应有关的细胞因子的生成。

[0096] 为了进一步鉴定 mAb4A2 的临床效力，进行治疗性用药实验。在该模型中，对小鼠进行免疫，使之对 OVA 抗原敏感，但不给予任何 mAb 治疗。然后，让小鼠休息 3 周，也是不进行任何治疗，接下来，在用 1%OVA 进行 3 轮喷雾的第 1 轮开始的前一天，给予 4A2mAb。在第二轮喷雾之前，反复给予 mAb。该治疗方案导致肺部炎症减少，可通过测量嗜酸性粒细胞回流到 BAL 中的量来反映（图 8)。嗜酸性粒细胞百分率平均减少 70%($p<0.001$，平均等值检验）。可见，在 OVA 诱导肺部炎症的模型中，mAb4A2 对于预防性剂量方案和治疗性剂量方案都有效。这提示，4A2 所识别的表位是治疗 Th2 介导的疾病的相关治疗目标。

[0097] 其它抗 KIM-1mAb 经证实也在 OVA 诱导肺部炎症的模型中具有治疗活性，这些抗体包括，例如 mAb2A7 和 mAb2B3。在 Biocore ®试验中，结果显示，mAb2A7 与 4A2 竞争结合固相 KIM-1，这表明它们分享相同或重叠的表位。

[0098] 实施例 4:KIM-1 抗体对 CD4T 细胞的抗原应答的影响

[0099] 抗 KIM-1mAb 的活性用 KLH 抗原回忆试验进行评估。小鼠用抗 KIM-1mAb、对照 mAb、或 PBS 进行处理，接着用 KLH 进行免疫，6 天后切出洗过的 LN。分离出 LN CD4+T 细胞，在有从未处理的小鼠分离得到、并接受了辐射的全部脾细胞存在的条件下，LN CD4+T 细胞用纯化的 OVA 进行体外再刺激。体外刺激的 48 小时后，测定细胞增殖和细胞因子生成。在该试验中，多种抗 KIM-1mAb 有明显的效果。mAb1H8 大大增加 T 细胞对 KLH 体外攻击产生反应所导致的细胞增殖。相反，mAb3A2 在该试验中减少 T 细胞增殖。测定培养物中由接受 mAb1H8 处理的细胞所产生的细胞因子。结果发现，经处理的培养物比对照含有更多的 IFN-γ 和 TH2 相关细胞因子。但 TNF 和 IL-2 的水平与对照相似。

[0100] 该信息表明，1H8 可以减少致病性 Th1 应答。该信息还表明，1H8 以及其它结合 KIM-1 中本文针对 1H8 所限定的区的抗体可以作为佐剂增强免疫应答。本发明还涉及增强免疫应答的方法，例如增加疫苗效果的方法。上述的佐剂活性 (adjuvancy) 也可以用在免疫接种、免疫缺陷、以及抗肿瘤免疫中。

[0101] 在 Western 印迹中，1H8 结合 Balb/C 序列的 KIM-1ECD 但不结合 Dba/2 序列的 KIM-1ECD。这表明，该抗体结合另路剪接的、具有序列 EPTTFCPHETTAEVTGIPSHTPT(SEQ ID NO:2) 的小鼠等位基因变体。所述序列与人 KIM-1 的序列 VATSPSSPQPAETHPTTLQGAIRREPTS SPLYSYTT(SEQ ID NO:1 的氨基酸 200-235) 对应。

[0102] 实施例 5：鉴定 mAb3A2

[0103] 鉴于 3A2mAb 在 OVA 模型中显示治疗效果，因此更详细鉴定了它与 KIM-1 的结合。

[0104] 在 ELISA 试验中，用多种纯化蛋白测定 mAb3A2 的表位（表 2）。就 3A2 与固相蛋白的相互作用生成全部结合曲线（图 5）。MAb3A2 与下列小鼠蛋白等效结合：鼠 KIM-1 胞外区 (KIM-1-ECD-1-216)、mKIM-1-137-216 和 mKIM-1-196-216-Fc。相反，mAb3A2 不与单独的 mKIM-1-IgV 区结合，该区缺乏完整的粘蛋白和柄区。该信息表明，3A2 的表位在 mKIM-1 的 196-216 位所示 21 个氨基酸残基中，该区域是 KIM-1 柄区的一部分。此表位等同于人 KIM-1 的 247-272，见图 1。

[0105] 表 2

[0106]

区域	序列	3A2 结合
mKIM-1-ECD (1-216)	SYVEVKGVVGHPVTLPCTYSTYRGITTTCWGRGQCPSSA CQNTLIWTNGHRVTYQKSSRYNLKGHISEGDVSLTIENSV ESDSGLYCCRVEIPGWFNDQKVTFSLQVKPEIPTRPPTRPT TTRPTATGRPTTISTRSTHVPTSIRVSTSTPPTSTHTWTHKP EPTTFCPHETTAEVTGIPSHTPTDWNGTATSSGDTWSNHT EAIPPGKPQKNPTK (下划线区由另路剪接的外显子编码)	有
mKIM-1-IgV (1-109)	SYVEVKGVVGHPVTLPCTYSTYRGITTTCWGRGQCPSSA CQNTLIWTNGHRVTYQKSSRYNLKGHISEGDVSLTIENSV ESDSGLYCCRVEIPGWFNDQKVTFSLQVKP	无
mKIM-1-137-216 (137-216)	STHVPTSIRVSTSTPPTSTHTWTHKPEPTTFCPHETTAEVT GIPSHTPTDWNGTATSSGDTWSNHTEAIPPGKPQKNPTK	有
mKIM-1-196-216 (196-216)	DTWSNHTEAIPPGKPQKNPTK	有

[0107] 由于包含小鼠 KIM-1 的氨基酸 196-216（对应于人 KIM-1 的氨基酸 247-272）的柄区含有 N- 糖基化位点，因此有兴趣测定，是否糖分子与 N- 糖基化位点结合是 3A2 结合所必需的。对糖基化和去糖基化的 KIM-1-196-216-Fc 进行 Western 印迹分析（图 2）。结果表明，去糖基化 (deglycosylation) 不影响 3A2 与 KIM-1-196-216-Fc 结合的能力。可见，糖分子并非 3A2 识别其表位时所必需的结构。

[0108] 为了确定 3A2 是否抑制 KIM-1 从细胞表面释出，将经过 KIM-1 转染的 E293 细胞用 5ug/mL3A2、25ug/mL3A2 或无 3A2 的对照进行处理。从两组 3A2 处理组的细胞获得的上清液表明，在用生物素化 1H8 抗体进行的 Western 印迹中，KIM-1 染色与对照无差别。这提示，3A2 不阻止 KIM-1 的释出。

[0109] 实施例 6. 鉴定 4A2mAb

[0110] 经 ELISA 和 Biacore 分析证实，mAb4A2 识别鼠 KIM-1 的 Ig- 区（图 9，表 1）。为进一步鉴别 mAb4A2 所识别的表位，将单独的重组鼠 KIM-1IgV- 人 IgG1Fc 融合蛋白、或其与 4A2 的复合物，用 TPCK 胰蛋白酶消化。单独 的 KIM-1 产生 8kDa 的条带，而与 4A2 结合时不产生该条带。这表明，4A2 与 KIM-1 结合封闭了产生该条带所必需的裂解位点，使之不能被胰蛋白酶接近。该 8kDa 条带在非还原条件下进行消化，结果发现，4A2 保护与人 KIM-1 序列 GVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPP(SEQ ID NO:1 的氨基酸 81-107) 对应的片段。因此，4A2 抗体保护 TPCK 胰蛋白酶位点，所述位点至少部分位于 SEQ ID NO:1 的氨基酸 81-107 中，或与该区域重叠。

[0111] 用 2A7 进行同样的 TPCK 胰蛋白酶消化实验，得到差不多相同分子量的条带。用 1H9 进行同样的实验未得到该条带，鉴于 1H9 是在哮喘模型中无效力但也与 Ig 区结合的 mAb，上述结果表明，该表位与在哮喘中的效力有关 (track with)。

[0112] 本说明书可参照文中引用的参考文献的指教进行最全面的理解。说明书中的实施方案是对本发明的举例说明，不应理解为对本发明进行限制。本领域技术人员可以很容易地认识到，多种其它的实施方案也被本发明覆盖。本文中提到的所有出版物、专利以及生物序列都完整引入作参考。当引入作为参考的信息与本说明书冲突或者不一致时，本说明书将取代任何这类信息。本文中对任何参考文献的引用并不表示承认这些文献是本发明的现有技术。

[0113] 除非另外指明，本说明书包括权利要求书中用到的表示成分含量、细胞培养、处理条件等等的所有数字，都应被理解为在所有情况下可以用术语“约”进行调整。相应地，除非有相反指示，参数数字是近似值，可以根据需要由本发明进行改变。除非另外指明，出现在一系列元素 (element) 之前的术语“至少”应被理解为指该系列中的每一个元素。本领域技术人员可以认识到，或者能够确定，仅仅用常规实验，就可以得到本文所述发明的具体实施方案的多种等价方案。这些等价方案都打算被权利要求书覆盖。

[0001]

序列表

<110> 比奥根艾迪克MA公司(Biogen Idec MA Inc)
Rennert, Paul
McCoon, Patricia
Bailly, Veronique
Lugovskoy, Alexey

<120> 用于治疗TH2介导的疾病的KIM-1抗体

<130> P0643

<150> 60/657,789
<151> 2005-03-02

<160> 2

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 339
<212> PRT
<213> 人

<400> 1

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

His Tyr Ser Gly Ala Val Thr Ser Met Cys Trp Asn Arg Gly Ser Cys
20 25 30

Ser Leu Phe Thr Cys Gln Asn Gly Ile Val Trp Thr Asn Gly Thr His
35 40 45

Val Thr Tyr Arg Lys Asp Thr Arg Tyr Lys Leu Leu Gly Asp Leu Ser
50 55 60

Arg Arg Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Thr Ala Val Ser Asp Ser
65 70 75 80

Gly Val Tyr Cys Cys Arg Val Glu His Arg Gly Trp Phe Asn Asp Met
85 90 95

Lys Ile Thr Val Ser Leu Glu Ile Val Pro Pro Lys Val Thr Thr Thr
100 105 110

[0002]

Pro Ile Val Thr Thr Val Pro Thr Val Thr Thr Val Arg Thr Ser Thr
115 120 125

Thr Val Pro Thr Thr Thr Thr Val Pro Thr Thr Thr Val Pro Thr Thr
130 135 140

Met Ser Ile Pro Thr Thr Thr Thr Val Pro Thr Thr Met Thr Val Ser
145 150 155 160

Thr Thr Thr Ser Val Pro Thr Thr Thr Ser Ile Pro Thr Thr Thr Ser
165 170 175

Val Pro Val Thr Thr Thr Val Ser Thr Phe Val Pro Pro Met Pro Leu
180 185 190

Pro Arg Gln Asn His Glu Pro Val Ala Thr Ser Pro Ser Ser Pro Gln
195 200 205

Pro Ala Glu Thr His Pro Thr Thr Leu Gln Gly Ala Ile Arg Arg Glu
210 215 220

Pro Thr Ser Ser Pro Leu Tyr Ser Tyr Thr Thr Asp Gly Asn Asp Thr
225 230 235 240

Val Thr Glu Ser Ser Asp Gly Leu Trp Asn Asn Asn Gln Thr Gln Leu
245 250 255

Phe Leu Glu His Ser Leu Leu Thr Ala Asn Thr Thr Lys Gly Ile Tyr
260 265 270

Ala Gly Val Cys Ile Ser Val Leu Val Leu Leu Ala Leu Leu Gly Val
275 280 285

Ile Ile Ala Lys Lys Tyr Phe Phe Lys Lys Glu Val Gln Gln Leu Ser
290 295 300

Val Ser Phe Ser Ser Leu Gln Ile Lys Ala Leu Gln Asn Ala Val Glu
305 310 315 320

Lys Glu Val Gln Ala Glu Asp Asn Ile Tyr Ile Glu Asn Ser Leu Tyr
325 330 335

Ala Thr Asp

<210> 2
<211> 23

[0003]

<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 2

Glu Pro Thr Thr Phe Cys Pro His Glu Thr Thr Ala Glu Val Thr Gly
1 5 10 15

Ile Pro Ser His Thr Pro Thr
20

人 KIM-1 氨基酸序列(SEQ ID NO:1):

1 SVKVGGEAGPSVTLPCHYSGAVTSMCWNRGSCSLFTCQNGIVWTNGTHVTYRKDTRYKLL

61 GDLSRRDVSLTIENTAVSDSGVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPPKVTTTPIVTTVPT

121 VTTVRTSTTVPTTTTVPTTTVPTTMSIPTTTTVPTTMTVSTTTSVPTTTSIPTTTSVPVT

181 TTVSTFVPPMPLPRQNHEPVATSPSSPQPAETHPTTLQGAIRREPTSSPLYSYTTDGNDT

241 VTESSDGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTKGIYAGVCISVLVLLALLGVIIAKKYFFKKEV

301 QQLSVSFSSLQIKALQNAVEKEVQAEDNIYIENSLYATD

斜体=IgV 区

下划线=粘蛋白区

粗体=柄区

双下划线 =跨膜区

浅阴影 =含有唾液酸结合基元的序列

深阴影下划线 =与小鼠另路剪接变体对应的序列

图 1

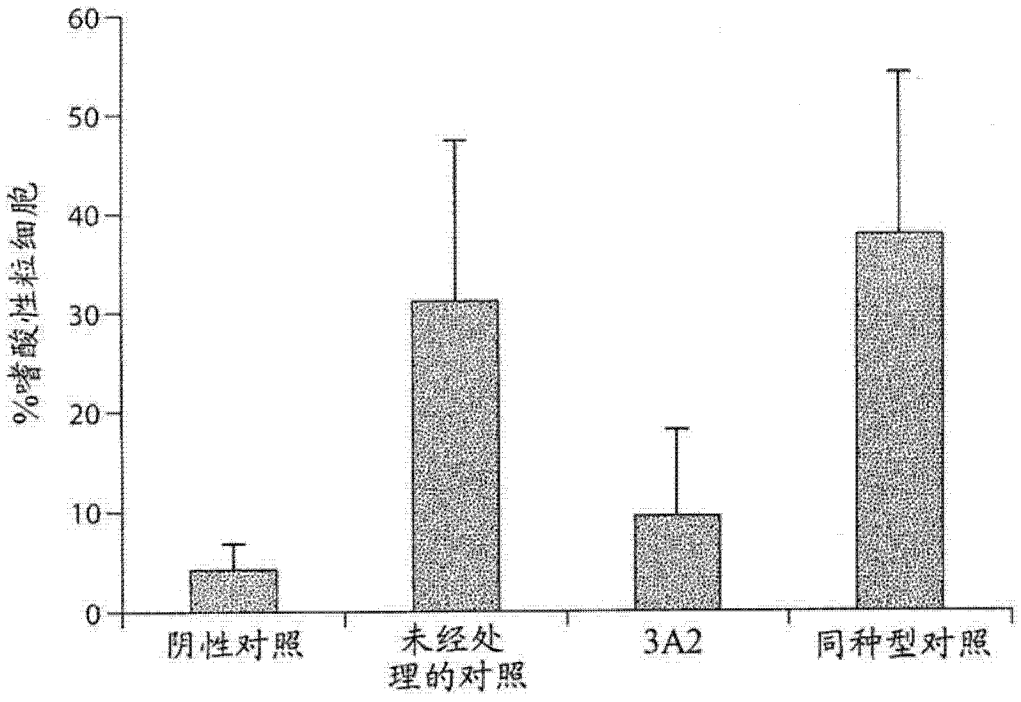


图 2

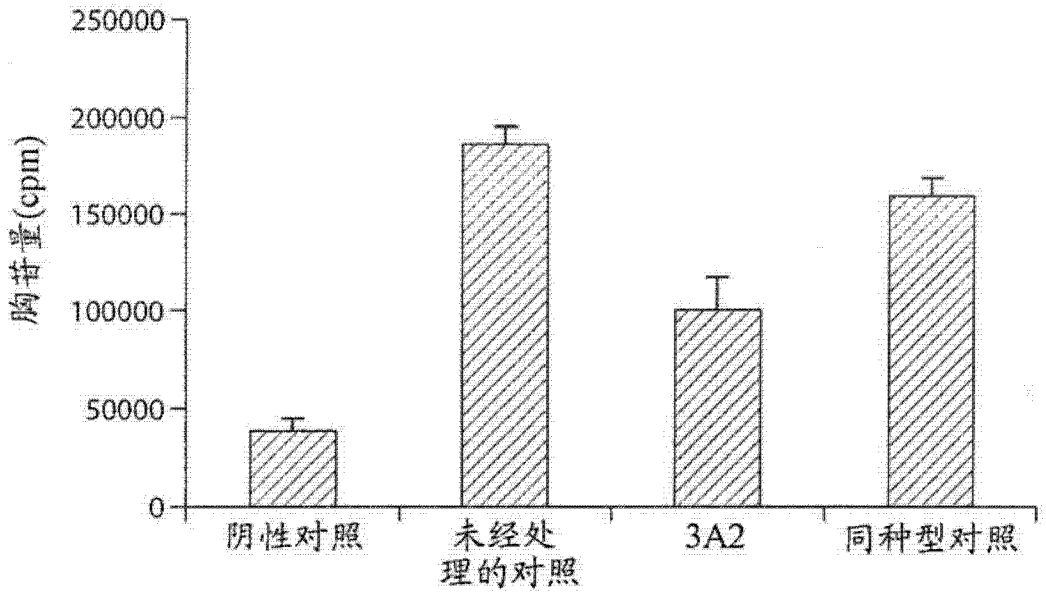

250000
200000
150000
100000
50000
0
胸苷量(cpm)
阴性对照
未经处理的对照
3A2
同种型对照

图 3

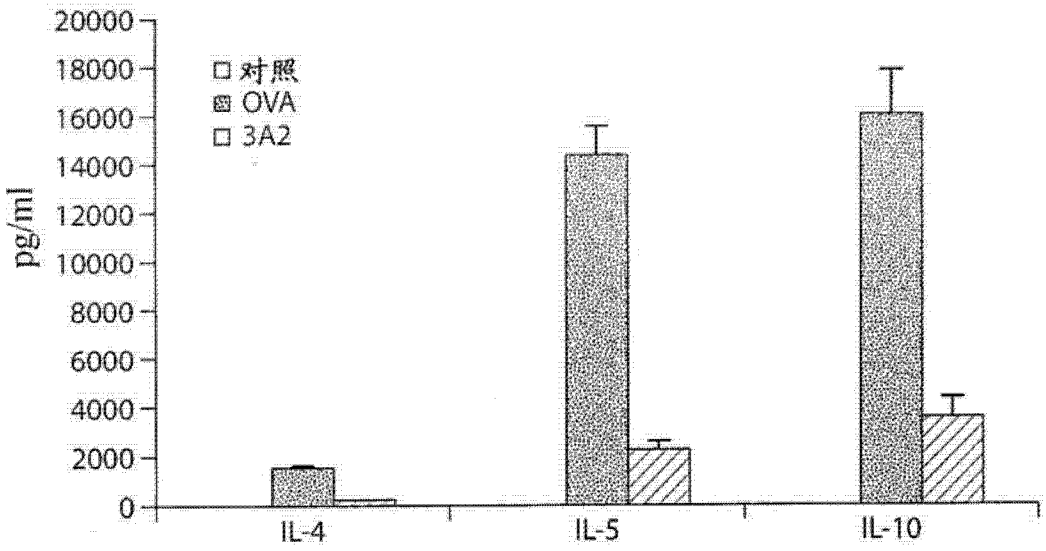

20000
18000
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
pg/ml
对照
OVA
3A2
IL-4
IL-5
IL-10

图 4

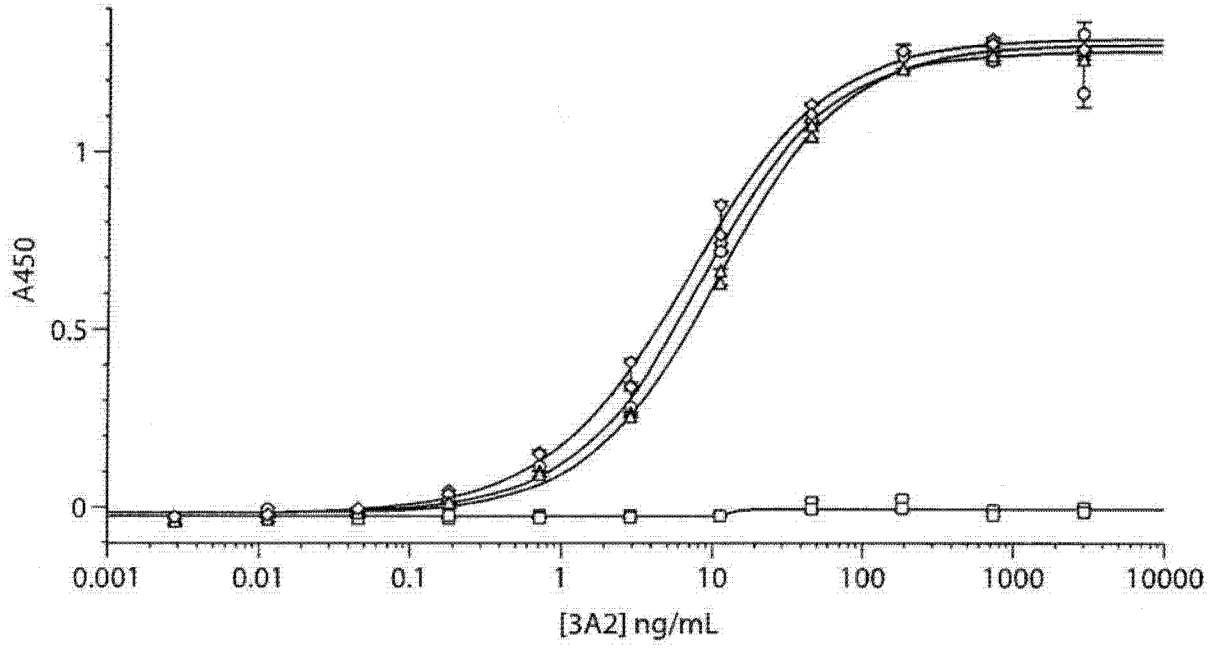


图 5

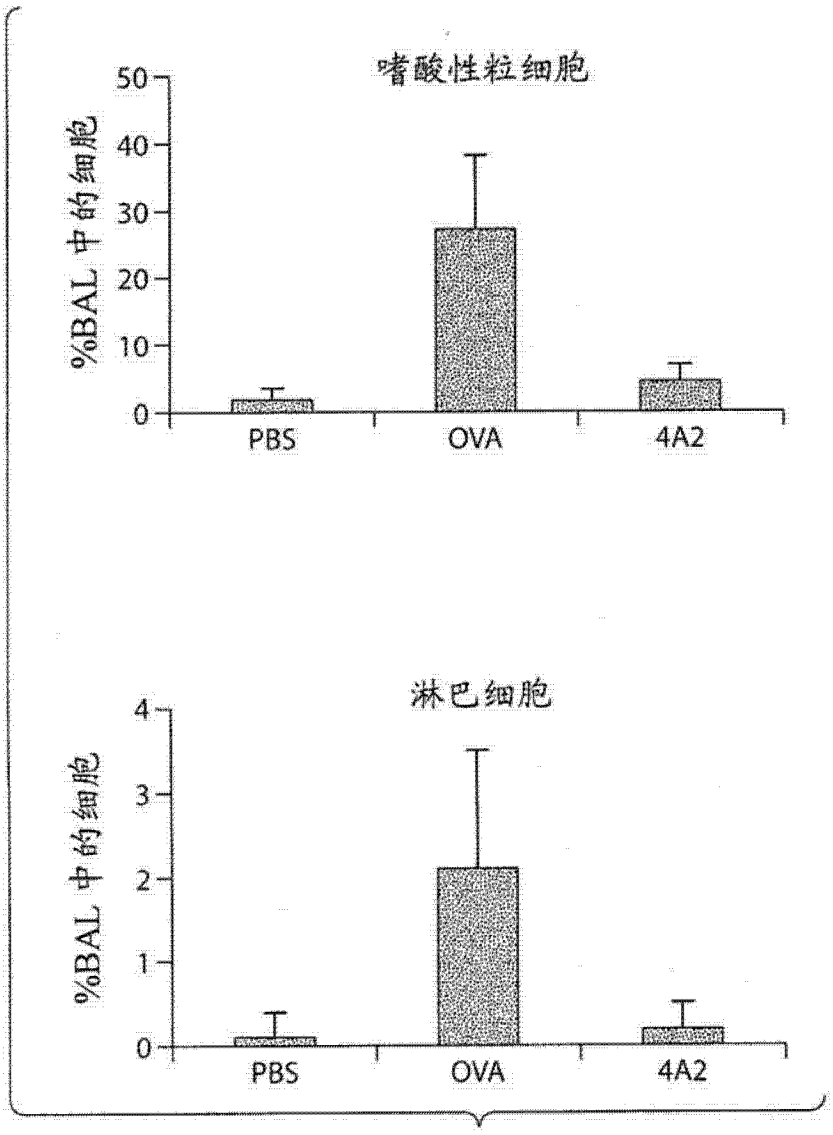

嗜酸性粒细胞
%BAL 中的细胞
50
40
30
20
10
0
PBS
OVA
4A2
淋巴细胞
%BAL 中的细胞
4
3
2
1
0
PBS
OVA
4A2

图 6

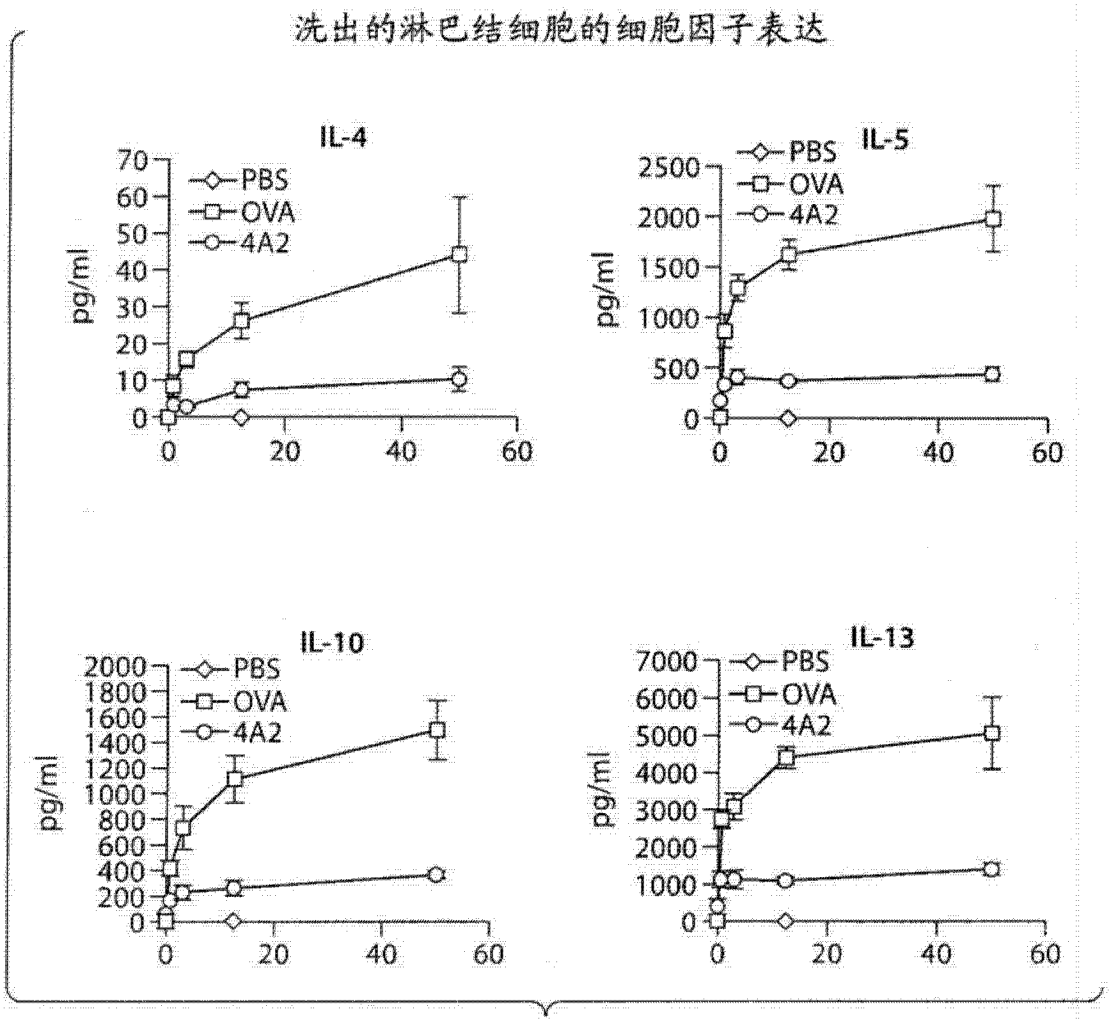


图 7

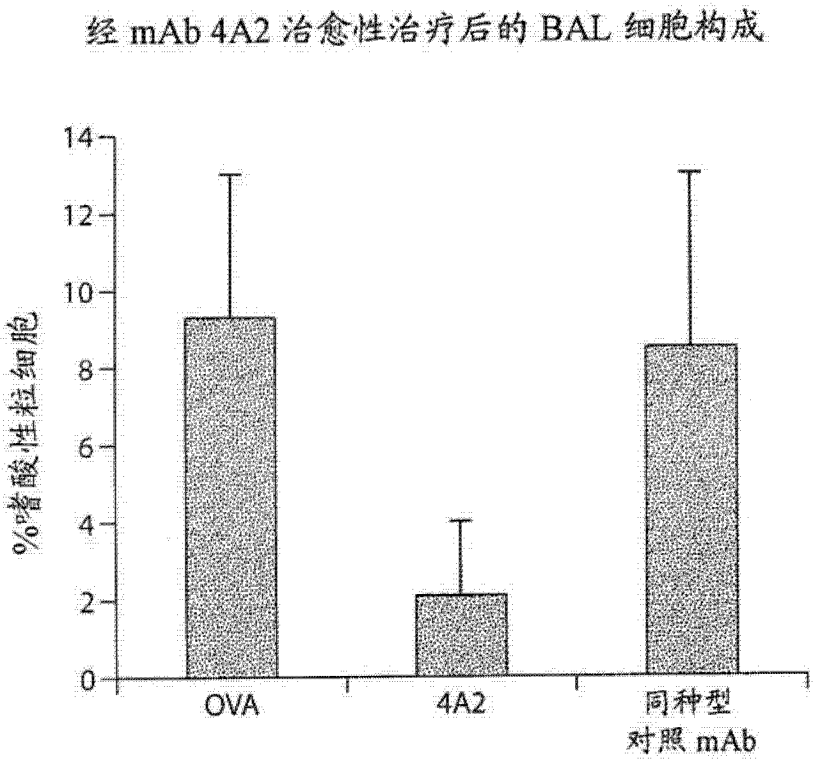
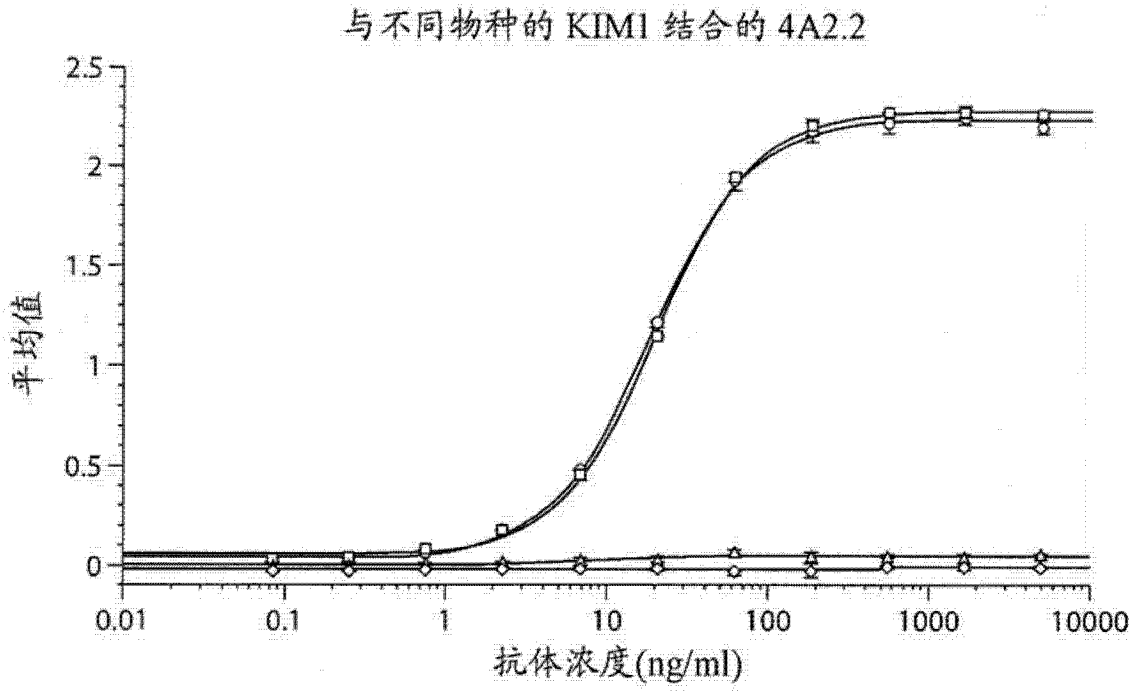

经 mAb 4A2 治愈性治疗后的 BAL 细胞构成
%嗜酸性粒细胞
14
12
10
8
6
4
2
0
OVA
4A2
同种型
对照 mAb

图 8



y = ((A - D)/(1 + (x/C)^B)) + D:	A	B	C	D	R^2
○ muKIM1 (muKIM1: 浓度对(vs)平均值)	0.027	1.414	18.352	2.237	0.999
□ muKIM1 DBA (muKIM1 DBA: 浓度对(vs)平均值)	0.047	1.448	20.303	2.278	1
△ 大鼠 KIM1 (大鼠 KIM1: 浓度对(vs)平均值)	-0.007	1.278	6.09	0.047	0.885
◇ 人 KIM1 (人 KIM1: 浓度对(vs)平均值)	-0.026	22.339	491.314	-0.01	0.685

图 9