



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101500607 B

(45) 授权公告日 2013. 11. 27

(21) 申请号 200680023737. 9

(22) 申请日 2006. 05. 16

(30) 优先权数据

60/681, 645 2005. 05. 16 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007. 12. 28

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/019982 2006. 05. 16

(87) PCT申请的公布数据

W02006/125229 EN 2006. 11. 23

(73) 专利权人 阿布维生物技术有限公司

地址 英国百慕大汉密尔顿

(72) 发明人 R·S·霍夫曼 M·温伯格

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 孟凡宏

(51) Int. Cl.

A61K 39/395 (2006. 01)

(56) 对比文件

Roberts 等. < Tumour necrosis factor

权利要求书1页 说明书32页

序列表14页 附图4页

(54) 发明名称

TNF α 抑制剂治疗腐蚀性多关节炎的用途

(57) 摘要

本发明描述了治疗腐蚀性多关节炎的方法，其包括施用 TNF α 抗体或其抗原结合部分。本发明还描述了一种测试 TNF α 抗体或其抗原结合部分治疗腐蚀性多关节炎的功效的方法。

1. 人抗 TNF α 抗体或其抗原结合部分在制备用于治疗患有牛皮癣性关节炎的人类受试者的腐蚀性多关节炎的药物中的用途。

2. 如权利要求 1 的用途,其中所述人抗 TNF α 抗体或其抗原结合部分是多价抗体。

3. 如权利要求 1 的用途,其中所述人抗 TNF α 抗体或其抗原结合部分为格里木单抗。

4. 如权利要求 1 的用途,其中所述人类抗体或其抗原结合部分以通过表面等离子共振测定的 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 或更低的 K_d 及 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 或更低的 K_{off} 速率常数从人类 TNF α 上解离,并且在标准体外 L929 分析中以 $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 或更低的 IC_{50} 中和人类 TNF α 细胞毒性。

5. 如权利要求 1 的用途,其中所述人类抗体或其抗原结合部分具有以下特征:

a) 以通过表面等离子共振测定的 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 或更低的 K_{off} 速率常数从人类 TNF α 上解离;

b) 具有一个轻链 CDR3 域,其包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列,或通过位置 1、4、5、7 或 8 处的单一丙氨酸置换或通过位置 1、3、4、6、7、8 和 / 或 9 处的 1 至 5 个保守氨基酸置换由 SEQ ID NO:3 修饰得到的氨基酸序列;

c) 具有一个重链 CDR3 域,其包含 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列,或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 处的单一丙氨酸置换或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10、11 和 / 或 12 处的 1 至 5 个保守氨基酸置换由 SEQ ID NO:4 修饰得到的氨基酸序列。

6. 如权利要求 1 的用途,其中所述人类抗体或其抗原结合部分包含一个具有 CDR3 域的轻链可变区 (LCVR),该 CDR3 域包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列或通过位置 1、4、5、7 或 8 处的单一丙氨酸置换由 SEQ ID NO:3 修饰得到的氨基酸序列;以及包含一个具有 CDR3 域的重链可变区 (HCVR),该 CDR3 域包含 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 处的单一丙氨酸置换由 SEQ ID NO:4 修饰得到的氨基酸序列。

7. 如权利要求 1 的用途,其中所述人类抗体或其抗原结合部分包含一个轻链可变区 (LCVR),该轻链可变区包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列;以及一个重链可变区 (HCVR),该重链可变区包含 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列。

8. 如权利要求 1 的用途,其中所述人类抗体或其抗原结合部分为阿达木单抗。

9. 如权利要求 1 至 8 中任一项的用途,其中所述药物为适于每两周一次给药的形式。

10. 如权利要求 1 至 8 中任一项的用途,其中所述药物进一步包含其他治疗剂。

11. 如权利要求 10 的用途,其中所述其他治疗剂为氨甲喋呤。

12. 阿达木单抗在制备治疗患有牛皮癣性关节炎的受试者的腐蚀性多关节炎的药物中的用途,其中所述药物为适于每两周一次给药的形式。

13. 如权利要求 12 的用途,其中阿达木单抗的剂量为约 40mg。

14. 如权利要求 12 的用途,其中所述药物进一步包含其他治疗剂。

15. 如权利要求 14 的用途,其中所述其他治疗剂为氨甲喋呤。

TNF α 抑制剂治疗腐蚀性多关节炎的用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2005 年 5 月 16 日提交的美国临时申请 60/681645 的优先权。

[0003] 本申请涉及美国专利 No. 6, 090, 382、6, 258, 562 和 6, 509, 015。本申请还涉及 2001 年 3 月 7 日提交的美国专利申请系列号 09/801, 185；2002 年 6 月 5 日提交的美国专利申请系列号 10/16367；和 2002 年 4 月 26 日提交的美国专利申请系列号 10/422287；2002 年 8 月 16 日提交的美国专利申请系列号 10/525292；2003 年 10 月 24 日提交的美国专利申请系列号 10/693233；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/622932；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/623039；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/623076；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/623065；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/622928；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/623075；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/623035；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/622683；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/622205；2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/622210；和 2003 年 7 月 18 日提交的美国专利申请系列号 10/623318。本申请还涉及 2005 年 4 月 11 日提交的 PCT/US05/12007 (WO 05/110452)，和 2005 年 10 月 6 日提交的美国申请 11/245, 254。这些专利和专利申请的全部内容引入本文作为参考。

[0004] 发明背景

[0005] 多关节炎可为腐蚀性或非腐蚀性的。在腐蚀性形式中，基本疾病过程腐蚀软骨；在非腐蚀性形式中，软骨不受影响。腐蚀性多关节炎为关节炎性疾病，其导致受影响关节内组织毁坏和腐蚀。腐蚀性多关节炎发生于许多患有包括牛皮癣性关节炎、脊椎关节炎（例如强直性脊柱炎和幼年型类风湿性关节炎）炎性病症的患者中。表达为腐蚀性多关节炎的病症的许多当前治疗未能集中于减少关节疾病的放射学进展。

发明内容

[0006] 需要采用安全有效的方式治疗腐蚀性多关节炎。尽管例如施用 DMARD 的腐蚀性多关节炎的传统治疗可延缓疾病进展，然而传统治疗见效缓慢，可随时间失去功效，且可与潜在严重毒性作用相关。本发明提供一种安全有效的治疗腐蚀性多关节炎及减缓关节疾病进展的方法。

[0007] 本发明包括治疗腐蚀性多关节炎的方法，其包括施用 TNF 抑制剂。本发明也提供一种治疗患有腐蚀性多关节炎的人类受试者的方法，其包括将抗 TNF α 抗体施用于该受试者从而治疗腐蚀性多关节炎。本发明也包括包含 TNF α 抑制剂的试剂盒和制造物品。

[0008] 在一个实施方案中，TNF α 抑制剂选自：抗 TNF α 抗体或其抗原结合部分、TNF 融合蛋白或重组 TNF 结合蛋白。在一个实施方案中，该 TNF 融合蛋白为依那西普 (etanercept)。在另一实施方案中，该抗 TNF α 抗体或其抗原结合部分选自人源化抗体、嵌合抗体及多价抗体。在一个实施方案中，该抗 TNF α 抗体或其抗原结合部分为英利昔单抗 (infliximab)、格里木单抗 (golimumab) 或阿达木单抗 (adalimumab)。在另一实施方案中，该抗 TNF α 抗

体或其抗原结合部分为人类抗体。

[0009] 本发明提供一种治疗患有腐蚀性多关节炎的人类受试者的方法,其包括将 TNF α 抗体或其抗原结合部分施用于该受试者从而治疗腐蚀性多关节炎。

[0010] 在一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分选自人源化抗体、嵌合抗体和多价抗体的抗体。在另一实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分为英利昔单抗或格里木单抗。

[0011] 在一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分为人类抗体。在一个实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分以通过表面等离子共振测定的 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 或更低的 K_d 和 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 或更低的 K_{off} 率常数与人类 TNF α 解离,并在标准体外 L929 分析中以 $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 或更低的 IC_{50} 中和人类 TNF α 细胞毒性。在另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分具有以下特征:

[0012] a) 以如通过表面等离子共振测定的 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 或更低的 K_{off} 速率常数与人类 TNF α 解离;

[0013] b) 具有一个轻链 CDR3 域,其包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列或通过位置 1、4、5、7 或 8 处的单一丙氨酸置换或通过位置 1、3、4、6、7、8 和 / 或 9 处的 1 至 5 个保守氨基酸置换而由 SEQ ID NO:3 修饰的氨基酸序列;

[0014] c) 具有一个重链 CDR3 域,其包含 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 处的单一丙氨酸置换或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10、11 和 / 或 12 处的 1 至 5 个保守氨基酸置换而由 SEQ ID NO:4 修饰的氨基酸序列。在另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分包含一个轻链可变区 (LCVR),其具有一个包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列或通过位置 1、4、5、7 或 8 处的单一丙氨酸置换而由 SEQ ID NO:3 修饰的氨基酸序列的 CDR3 域;且包含一个重链可变区 (HCVR),其具有一个包含 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 处的单一丙氨酸置换而由 SEQ ID NO:4 修饰的氨基酸序列的 CDR3 域。在另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分包含一个包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的轻链可变区 (LCVR) 及一个包含 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列的重链可变区 (HCVR)。在一个实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分为阿达木单抗。

[0015] 在一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分以两周一次的给药方案施用于受试者。

[0016] 在一个实施方案中,该受试者患有 TNF α 活性为有害的病症。在一个实施方案中,该 TNF α 活性为有害的病症选自牛皮癣性关节炎、强直性脊柱炎及幼年型类风湿性关节炎。在另一实施方案中,该 TNF α 活性为有害的病症为牛皮癣性关节炎。在另一实施方案中,该 TNF α 活性为有害的病症为类风湿性关节炎。

[0017] 在一个实施方案中,本发明包括进一步包含将其他治疗剂施用于受试者。在一个实施方案中,该其他治疗剂为氨甲喋呤。在另一实施方案中,该其他治疗剂为缓解疾病的抗风湿药物 (DMARD) 或非甾体抗炎药 (NSAID) 或类固醇或其任意组合。

[0018] 本发明包括一种测试 TNF α 抗体或其抗原结合部分降低与腐蚀性多关节炎相关的关节疾病的放射照相进展的功效的方法。在一个实施方案中,测试 TNF α 抗体或其抗原结合部分的功效的方法包括:使用患有与腐蚀性多关节炎相关的关节疾病的患者群体的改良总 Sharp 评分 (modified Total Sharp Score) (mTSS) 和施用 TNF α 抗体或其抗原结合

部分之后患者群体的 mTSS 来测定 TNF α 抗体或其抗原结合部分的功效,其中 mTSS 不变或降低表示 TNF α 抗体或其抗原结合部分有效降低与腐蚀性多关节炎相关的关节疾病的放射照相进展。在一个实施方案中,mTSS 降低约 -0.2。

[0019] 在一个实施方案中,该患者群体也患有 TNF α 活性为有害的病症。在一个实施方案中,该 TNF α 活性为有害的病症选自牛皮癣性关节炎、强直性脊柱炎及幼年型类风湿性关节炎。

[0020] 在一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分选自人源化抗体、嵌合抗体及多价抗体。在一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分为英利昔单抗或格里木单抗。在另一实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分为人类抗体。在一个实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分以通过表面等离子共振测定的 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 或更低的 K_d 与 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 或更低的 K_{off} 速率常数与人类 TNF α 解离,并在标准体外 L929 分析中以 $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 或更低的 IC_{50} 中和人类 TNF α 细胞毒性。

[0021] 在另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分具有以下特征:

[0022] a) 以如通过表面等离子共振测定的 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 或更低的 K_{off} 速率常数与人类 TNF α 解离;

[0023] b) 具有一个轻链 CDR3 域,其包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列或通过位置 1、4、5、7 或 8 处的单一丙氨酸置换或通过位置 1、3、4、6、7、8 和 / 或 9 处的 1 至 5 个保守氨基酸置换而由 SEQ ID NO:3 修饰的氨基酸序列;

[0024] c) 具有一个重链 CDR3 域,其包含 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 处的单一丙氨酸置换或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10、11 和 / 或 12 处的 1 至 5 个保守氨基酸置换而由 SEQ ID NO:4 修饰的氨基酸序列。在另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分包含一个轻链可变区 (LCVR),其具有一个包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列或通过位置 1、4、5、7 或 8 处的单一丙氨酸置换而由 SEQ ID NO:3 修饰的氨基酸序列的 CDR3 域;且包含一个重链可变区 (HCVR),其具有一个包含 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 处的单一丙氨酸置换而由 SEQ ID NO:4 修饰的氨基酸序列的 CDR3 域。

[0025] 在另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分包含一个包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的轻链可变区 (LCVR) 及一个包含 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列的重链可变区 (HCVR)。在本发明的另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分为阿达木单抗。

[0026] 在本发明的一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分以两周一次的给药方案施用于受试者。在一个实施方案中,该抗体或其抗原结合部分与包括 (例如) 氨甲喋呤的其他治疗剂组合给药。

[0027] 本发明描述一种监测 TNF α 抗体或其抗原结合部分治疗人类受试者的腐蚀性多关节炎的有效性的方法,其包括使用患有腐蚀性多关节炎的患者群体的改良总 Sharp 评分 (mTSS) 基线及施用 TNF α 抗体或其抗原结合部分之后患者群体的 mTSS 来确定 TNF α 抗体或其抗原结合部分的有效性,其中选自约 9-27% 的患者群体 mTSS 减少;约 65-73% 的患者群体 mTSS 不变;及约 9-28% 的患者群体 mTSS 增加的结果表明,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分在治疗腐蚀性多关节炎中有效。

[0028] 在本发明的一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分选自人源化抗体、

嵌合抗体及多价抗体。在一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分为英利昔单抗或格里木单抗。在另一实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分为人类抗体。

[0029] 在另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分以通过表面等离子共振测定的 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 或更低的 K_d 与 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 或更低的 K_{off} 速率常数从人类 TNF α 解离,并在标准体外 L929 分析中以 $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 或更低的 IC_{50} 中和人类 TNF α 细胞毒性。在另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分为阿达木单抗。

[0030] 本发明也包括一种测试 TNF α 抗体或其抗原结合部分治疗与牛皮癣性关节炎相关的腐蚀性多关节炎的功效的方法,其包括使用患有腐蚀性多关节炎的患者群体的改良总 Sharp 评分 (mTSS) 基线及牛皮癣面积及严重度指数 (PASI) 评分基线或 ACR 评分基线与施用 TNF α 抗体或其抗原结合部分之后患者群体的 mTSS 及 PASI 或 ACR 评分相比较来确定 TNF α 抗体或其抗原结合部分的功效,其中 mTSS 不变或降低及在至少约 57% 的患者群体中获得 ACR20 反应或在至少约 75% 的患者群体中获得 PASI 50 应答表明该 TNF α 抗体或其抗原结合部分在治疗与牛皮癣性关节炎相关的腐蚀性多关节炎中有效。在一个实施方案中,ACR50 反应在至少约 39% 的患者群体中获得。在另一实施方案中,ACR70 反应在至少约 23% 的患者群体中获得。在另一实施方案中,PASI75 应答在至少约 59% 的患者群体中获得。在另一实施方案中,PASI90 应答在至少约 42% 的患者群体中获得。在一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分为阿达木单抗。

[0031] 本发明描述一种治疗腐蚀性多关节炎的方法,其包括以两周一次的给药方案将阿达木单抗施用于患有腐蚀性多关节炎的受试者。在一个实施方案中,阿达木单抗的剂量为约 40mg。

[0032] 本发明也包括一种试剂盒,其包含含 TNF α 抗体或其抗原结合部分及药学上可接受的载体的药物组合物和用于施用用于治疗腐蚀性多关节炎的药物组合物的说明。在一个实施方案中,该药物组合物包含 TNF α 抗体或其抗原结合部分阿达木单抗。在一个实施方案中,药物组合物包含约 40mg 阿达木单抗。在另一实施方案中,该试剂盒进一步包含其他治疗剂。在一个实施方案中,该其他治疗剂为氨甲喋呤。

[0033] 本发明描述一种制造物品,其包含包装材料、TNF α 抗体或其抗原结合部分及包装材料内所含的说明该 TNF α 抗体或其抗原结合部分可用于治疗腐蚀性多关节炎的标签或包装插页。

[0034] 本发明也包括一种制造物品,其包含包装材料、TNF α 抗体或其抗原结合部分及包装材料内所含的说明该 TNF α 抗体或其抗原结合部分可用于抑制关节疾病的放射线进展的标签或包装插页。

[0035] 在一个实施方案中,该制造物品包含选自人源化抗体、嵌合抗体及多价抗体的抗体。

[0036] 在一个实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分为英利昔单抗或格里木单抗。在另一实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合部分为人类抗体。在一个实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分以通过表面等离子共振测定的 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 或更低的 K_d 与 $1 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$ 或更低的 K_{off} 速率常数与人类 TNF α 解离,并在标准体外 L929 分析中以 $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 或更低的 IC_{50} 中和人类 TNF α 细胞毒性。在另一实施方案中,该人类抗体或其抗原结合部分为阿达木单抗。

附图说明

[0037] 图 1a 及 1b 显示改良总 Sharp 评分 (mTSS) 图 (图 1a) 和与 PsA 相关的放射线照相结果 (图 1b)。

[0038] 图 2 显示改良总 Sharp 评分 (mTSS) 的累积分布函数图。该图采用基线与第 24 周的放射线相片显示受试者的基线至第 24 周的变化。

[0039] 图 3a 及 3b 显示采用氨甲喋呤 (mtx) (图 3a) 及不采用氨甲喋呤 (mtx) (图 3b) 的受试者的 mTSS 的累积分布函数图。

[0040] 图 4 显示在第 48 周 mTSS 的平均变化图。

[0041] 发明详述

[0042] I. 定义

[0043] 为了可以更容易地理解本发明,首先定义某些术语。

[0044] 本文使用的术语“人类 TNF α ”(本文中缩写为 hTNF α 或简称为 hTNF)指以 17kD 分泌形式及 26 kD 膜相关形式存在的人类细胞因子,其生物活性形式由非共价结合的 17kD 分子的三聚体组成。hTNF α 的结构进一步描述于(例如)Pennica, D. 等人 (1984)Nature 312:724-729;Davis, J. M. 等人 (1987)Biochemistry 26:1322-1326;及 Jones, E. Y. 等人 (1989)Nature 338:225-228 中。术语人类 TNF α 包括重组人类 TNF α (rhTNF α),其可由标准重组表达方法制备或购买得到 (R&D Systems, 目录第 210-TA 号, Minneapolis, MN)。TNF α 也称作 TNF。

[0045] 术语“TNF α 抑制剂”指干扰 TNF α 活性的药剂。该术语也包括本文中所述的各抗 TNF α 人类抗体及抗体部分以及美国专利第 6,090,382 号、第 6,258,562 号、第 6,509,015 号及美国专利申请序号 09/801185 及 10/302356 中所述的那些抗 TNF α 人类抗体及抗体部分。在一个实施方案中,用于本发明的 TNF α 抑制剂为抗 TNF α 抗体或其片段,其包括英利昔单抗 (Remicade[®], Johnson and Johnson;描述于美国专利第 5,656,272 号中,该专利引入本文作为参考)、CDP571 (人源化单株抗 TNF α IgG4 抗体)、CDP 870 (人源化单株抗 TNF α 抗体片段)、抗 TNFdAb (Peptech)、CNTO 148 (格里木单抗;Medarex and Centocor, 参见 WO 02/12502) 及阿达木单抗 (Humira[®] Abbott Laboratories, 人类抗 TNFmAb, 在美国 6,090,382 中描述为 D2E7)。其它的可用于本发明的抗体描述于美国专利 6,593,458;6,498,237;6,451,983;和 6,448,380,其中每一个专利在此引入作为参考。在另一实施方案中,该 TNF α 抑制剂为 TNF 融合蛋白,例如依那西普 (Enbrel[®], Amgen;描述于 WO 91/03553 及 WO 09/406476 中,引入本文作为参考)。在另一实施方案中,该 TNF α 抑制剂为重组 TNF 结合蛋白 (r-TBP-I) (Serono)。

[0046] 本文使用的术语“抗体”指包含 4 条多肽链 (由二硫键相互连接的 2 条重 (H) 链及 2 条轻 (L) 链) 的免疫球蛋白分子。各重链包含一个重链可变区 (本文中缩写为 HCVR 或 VH) 及一个重链恒定区。该重链恒定区包含 3 个域 (CH1、CH2 及 CH3)。各轻链包含一个轻链可变区 (本文中缩写为 LCVR 或 VL) 及一个轻链恒定区。该轻链恒定区包含 1 个域 CL。VH 及 VL 区可进一步再分为高变区,称作互补决定区 (CDR),其中散布有更保守的区,称作构架区 (FR)。VH 及 VL 各包含 3 个 CDR 及 4 个 FR,按以下顺序从氨基末端至羧基末端

排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。本发明的抗体进一步详细描述于美国专利第 6,090,382 号、第 6,258,562 号及第 6,509,015 号中,均全文引入本文作为参考。

[0047] 本文使用的术语抗体的“抗原结合部分”(或简称为“抗体部分”)指保持特异性结合抗原(例如 hTNF α)的能力的抗体的一个或多个片段。已显示抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段执行。术语抗体的“抗原结合部分”内包含的结合片段的实施例包括(i)Fab 片段,由 VL、VH、CL 及 CH1 域组成的单价片段;(ii)F(ab')₂ 片段,包含在铰链区由二硫桥连接的 2 个 Fab 片段的二价片段;(iii)由 VH 及 CH1 域组成的 Fd 片段;(iv)由抗体的单臂 VL 域及 VH 域组成的 Fv 片段,(v) dAb 片段(Ward 等人(1989)Nature 341:544-546),其由 VH 域组成;及(vi)分离的互补决定区(CDR)。此外,尽管 Fv 片段的 2 个域(VL 及 VH)由各自基因编码,但是其可使用重组方法由能使其成为单一蛋白链的合成连接体连接,其中 VL 及 VH 区配对以形成单价分子(称为单链 Fv(scFv);参见例如 Bird 等人(1988)Science 242:423-426;及 Huston 等人(1988)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883)。该单链抗体也包括于术语抗体的“抗原结合部分”中。也包括单链抗体的其它形式,例如双抗体。双抗体为二价、双特异性抗体,其中 VH 及 VL 域表达于单一多肽链上,但使用太短而不能使其在相同链上的两个域之间配对的连接体,因此使该域与另一链的互补域配对并形成两个抗原结合位点(参见例如 Holliger 等人(1993)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448;Poljak 等人(1994)Structure 2:1121-1123)。本发明的抗体部分进一步详细描述于美国专利第 6,090,382 号、第 6,258,562 号、第 6,509,015 号中,均全文引入本文作为参考。

[0048] 结合片段由重组 DNA 技术或由完整免疫球蛋白的酶或化学裂解而产生。结合片段包括 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fabc、Fv、单链及单链抗体。除了“双特异性”或“双功能”免疫球蛋白或抗体之外,应理解免疫球蛋白或抗体具有相同的各结合位点。“双特异性”或“双功能”抗体为具有 2 对不同重/轻链对及 2 个不同结合位点的人工杂合抗体。双特异性抗体可由包括融合杂交瘤或连接 Fab' 片段的多种方法而产生。参见(例如)Songsivilai 和 Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321(1990);Kostelny 等人, J. Immunol. 148,1547-1553(1992)。

[0049] 本文使用的“保守氨基酸置换”为一个氨基酸残基被具有类似侧链的另一氨基酸残基置换。具有类似侧链的氨基酸残基家族已在现有技术中定义,所述侧链包括碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带电的极性侧链(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)、 β -分枝侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)及芳族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0050] 本文使用的术语“人类抗体”包括具有由人类种系免疫球蛋白序列衍生的可变区及恒定区的抗体。例如在 CDR 中,尤其在 CDR3 中,本发明的人类抗体可包括并非由人类种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机或特定位点突变或通过体内体细胞突变引起的突变)。然而,本文使用的术语“人类抗体”并非包括其中由例如小鼠的另一哺乳物种的种系衍生的 CDR 序列已被移植于人类构架序列上的抗体。

[0051] 本文使用的术语“重组人类抗体”包括由重组方式制备、表达、产生或分离的所有人类抗体,例如使用转染至宿主细胞(以下进一步描述)内的重组表达载体表达的抗体;自重组、组合人类抗体库(以下进一步描述)分离的抗体;从对于人类免疫球蛋白基

因而言为转基因的动物（例如小鼠）分离的抗体（参见例如 Taylor 等人（1992）Nucl. Acids Res. 20 :6287）；或由包含将人类免疫球蛋白基因序列剪接为其它 DNA 序列的任意其它方式制备、表达、产生或分离的抗体。这些重组人类抗体具有从人类种系免疫球蛋白序列衍生的可变区及恒定区。然而，在某些实施方案中，这些重组人类抗体经受体外突变（或当使用对于人类 Ig 序列而言为转基因的动物时的体内体细胞突变），并且因此重组抗体的 VH 及 VL 区的氨基酸序列为当衍生自人类种系 VH 及 VL 序列且与人类种系 VH 及 VL 序列相关时可能并非体内天然存在于人类抗体种系所有组成部分内的序列。

[0052] 本文使用的“分离的抗体”指基本上不含具有不同抗原特异性的其它抗体的抗体（例如特异性结合 hTNF α 的分离的抗体基本上不含特异性结合除 hTNF α 之外的抗原的抗体）。然而，特异性结合 hTNF α 的分离的抗体可对例如来自其它物种（以下进一步详细描述）的 TNF α 分子的其它抗原具有交叉反应性。此外，分离的抗体可基本上不含其它细胞物质和 / 或化学物质。

[0053] 本文使用的“中和抗体”（或“中和 hTNF α 活性的抗体”）是指其与 hTNF α 结合导致 hTNF α 的生物活性受抑制的抗体。此 hTNF α 的生物活性的抑制可通过测定一种或多种 hTNF α 生物活性指标（例如 hTNF α 诱导的细胞毒性（体外或体内）、hTNF α 诱导的细胞活化及 hTNF α 对 hTNF α 受体的结合）而评估。这些 hTNF α 生物活性指标可通过一种或多种现有技术中已知的若干体外或体内标准分析进行评估（参见美国专利第 6,090,382 号）。优选地，抗体中和 hTNF α 活性的能力通过抑制 hTNF α 诱导的 L929 细胞的细胞毒性而评估。作为 hTNF α 活性的其他或替代性参数，可评估作为 hTNF α 诱导的细胞活化的测量值的抗体抑制 hTNF α 诱导的 ELAM-1 在 HUVEC 上表达的能力。

[0054] 本文使用的术语“表面等离子共振”是指例如使用 BIAcore 系统 (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, NJ) 由检测生物感应器基质内蛋白质浓度改变从而分析实时生物特异性相互作用的光学现象。进一步描述参见美国专利第 6,258,562 号的实施例 1 及 J. Ö nsson 等人 (1993) Ann. Biol. Clin. 51 :19 ; J. Ö nsson 等人 (1991) Biotechniques 11 :620-627 ; Johnsson 等人 (1995) J. Mol. Recognit. 8 :125 及 Johnsson 等人 (1991) Anal. Biochem. 198 :268。

[0055] 本文使用的术语“ K_{off} ”是指抗体从抗体 / 抗原复合物上解离的解离速率常数。

[0056] 本文使用的术语“ K_d ”是指特异性抗体 - 抗原相互作用的解离常数。

[0057] 本文使用的术语“ IC_{50} ”是指抑制目的生物终点（例如中和细胞毒性活性）所需要的抑制剂的浓度。

[0058] 本文使用的术语“核酸分子”包括 DNA 分子及 RNA 分子。核酸分子可为单链或双链，但优选为双链 DNA。

[0059] 如本文关于编码结合 hTNF α 的抗体或抗体部分（例如 VH、VL、CDR3）的核酸使用的术语“分离的核酸分子”是指以下核酸分子，其中编码抗体或抗体部分的核苷酸序列不含编码结合除 hTNF α 之外的抗原的抗体或抗体部分的其它核苷酸序列，其它序列可以天然地位于人类基因组 DNA 中核酸的侧翼。因此，例如，编码抗 hTNF α 抗体的 VH 区的本发明的分离的核酸不含编码结合除 hTNF α 之外的抗原的其它 VH 区的其它序列。

[0060] 本文使用的术语“载体”是指能转运另一个已连接的核酸的核酸分子。一种类型的载体为“质粒”，其指其他 DNA 片段可连接至其中的环状双链 DNA 环。另一类载体为病

毒载体,其中其他 DNA 片段可连接至病毒基因组内。某些载体能在其导入的宿主细胞内自主复制(例如具有细菌复制起点的细菌载体及游离型哺乳动物载体)。其它载体(例如非游离型哺乳动物载体)可在导入宿主细胞中时而整合到宿主细胞的基因组内,且因此随宿主基因组一起复制。此外,某些载体能将基因表达定位于其有效连接之处。在本文中这些载体被称作“重组表达载体”(或简称“表达载体”)。一般而言,用于重组 DNA 技术中的表达载体经常以质粒形式存在。在本说明书中,“质粒”与“载体”可互换使用,因为质粒为载体的最常用形式。然而,本发明包括表达载体的这些其它形式,例如起等同作用的病毒载体(例如复制缺陷型反转录病毒、腺病毒及腺伴随病毒)。

[0061] 本文使用的术语“重组宿主细胞”(或简称为“宿主细胞”)是指已将重组表达载体导入其中的细胞。应理解这些术语不仅是指特定受试者细胞而且指该细胞的子代。由于在后代中因突变作用或环境影响可发生某些改变,因此事实上该子代可能不同于亲代细胞,但仍包括于本文中所使用的术语“宿主细胞”的范围内。

[0062] 本文使用的术语“剂量”是指施用于受试者的 TNF α 抑制剂的量。

[0063] 术语“多可变剂量”包括为治疗目的施用于受试者的 TNF α 抑制剂的不同剂量。“多可变剂量方案”或“多可变剂量治疗”描述基于在整个治疗过程中不同时间点施用不同量的 TNF α 抑制剂的治疗方案。在一个实施方案中,本发明描述一种治疗腐蚀性多关节炎的多可变剂量的方法,其包含诱导阶段及治疗阶段,其中在诱导阶段采用比治疗阶段高的剂量施用 TNF α 抑制剂。多可变剂量疗法描述于 PCT 申请第 PCT/US05/12007 号中。

[0064] 本文使用的术语“给药”是指施用物质(例如抗 TNF α 抗体)以获得治疗目的(例如治疗腐蚀性多关节炎)。

[0065] 本文使用的术语“两周一次给药方案”、“两周一次给药”及“两周一次施用”是指施用物质(例如抗 TNF α 抗体)于受试者以获得治疗目的(例如治疗腐蚀性多关节炎)的时间进程。两周一次给药方案并不包括每周一次给药方案。优选每隔 9-19 天、更优选每隔 11-17 天、甚至更优选每隔 13-15 天及最优选每隔 14 天施用该物质。

[0066] 短语“与第二药剂联合的第一药剂”中的术语“联合”包括共同施用第一药剂及第二药剂,例如其可溶解于或混合于相同的药学上可接受的载体中,或施用第一药剂随后施用第二药剂,或施用第二药剂随后施用第一药剂。因此,本发明包括联合治疗的方法及联合药物组合物。在一个实施方案中,本发明提供一种用于治疗腐蚀性多关节炎的联合疗法,其包含施用抗 TNF 抗体。

[0067] 短语“伴随治疗”中的术语“伴随”包括在第二药剂存在下施用药剂。伴随治疗方法包括共同施用第一、第二、第三或其他药剂的方法。伴随治疗方法也包括在第二或其他药剂存在下施用第一或其他药剂的方法,其中该第二或其他药剂(例如)可以预先施用。伴随治疗方法可由不同参与者逐步执行。例如,一名参与者可将第一药剂施用于受试者且第二参与者可将第二药剂施用于该受试者,且给药步骤可同时或几乎同时或在不同时间进行,只要该第一药剂(及其他药剂)在该第二药剂(及其他药剂)存在之后施用即可。参与者与受试者可为相同实体(例如人)。

[0068] 本文使用的术语“联合疗法”是指施用两种或两种以上的治疗物质,例如抗 TNF α 抗体及另一药物。该其它药物可在抗 TNF α 抗体之前或之后或同时施用。

[0069] 本文使用的术语“试剂盒”是指包含成分的包装产品或制造物品。该试剂盒优选

包含装有试剂盒成分的盒或容器。该盒或容器附有标签或食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration) 批准的协议。该盒或容器装有优选包含于塑料、聚乙烯、聚丙烯、乙烯或丙烯容器内的本发明的成分。这些容器可为带盖的管或瓶。试剂盒也可包括施用 TNF α 抗体或其抗原结合部分的说明。在一个实施方案中,本发明的试剂盒包括包含人类抗体 D2E7 的制剂,如 PCT/IB03/04502 及美国申请第 10/222140 号中所述。

[0070] 本发明的各方面在本文中进一步详细描述。

[0071] II. TNF α 抑制剂

[0072] 本发明提供一种治疗腐蚀性多关节炎的方法,其中施用 TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分是有益的。在一个实施方案中,这些方法包括施用以高亲和力及低解离速率结合至人类 TNF α 并具有高中和能力的分离的人类抗体或其抗原结合部分。优选地,本发明的人类抗体为重组、中和性的人类抗 hTNF α 抗体。

[0073] 在一个实施方案中,本发明中使用的 TNF α 抑制剂为抗 TNF α 抗体或其片段,包括英利昔单抗 (Remicade[®], Johnson and Johnson ;描述于美国专利第 5,656,272 号中,引入本文作为参考)、CDP571 (人源化单株抗 TNF α IgG4 抗体)、CDP 870 (人源化单株抗 TNF α 抗体片段)、抗 TNFdAb (Peptech)、CNT0 148 (格里木单抗 ;Medarex and Centocor, 参见 WO 02/12502) 及阿达木单抗 (Humira[®] Abbott Laboratories, 人类抗 TNFmAb, US 6,090,382 中描述为 D2E7)。其它的可用于本发明的抗体描述于美国专利 6,593,458 ;6,498,237, ; 6,451,983 ;和 6,448,380,其中每一个专利在此引入作为参考。

[0074] 本发明中使用的最优选的重组、中和抗体在本文中称作 D2E7,也称作 HUMIRA[®] 及阿达木单抗 (D2E7 VL 区的氨基酸序列显示于 SEQ ID NO :1 中 ;D2E7 VH 区的氨基酸序列显示于 SEQ ID NO :2 中)。D2E7 (HUMIRA[®]) 的性质已描述于 Salfeld 等人,美国专利第 6,090,382 号、第 6,258,562 号及第 6,509,015 号中,均引入本文作为参考。TNF α 抑制剂的其它实施例包括已进行治疗类风湿性关节炎的临床试验的嵌合及人源化鼠抗 hTNF α 抗体 (参见例如 Elliott 等人 (1994) Lancet 344 :1125-1127 ;Elliot 等人 (1994) Lancet 344 :1105-1110 ;Rankin 等人 (1995) Br. J. Rheumatol. 34 :334-342)。在另一实施方案中,该抗 TNF α 抗体为多价抗体。

[0075] 在一个实施方案中,本发明的治疗腐蚀性多关节炎的方法包括施用 D2E7 抗体及抗体部分、与 D2E7 相关的抗体及抗体部分及具有与 D2E7 等同性质 (例如以低解离动力学结合 hTNF α 的高亲和力及高中和能力) 的其它人类抗体及抗体部分。在一个实施方案中,本发明提供一种以分离的人类抗体或其抗原结合部分治疗腐蚀性多关节炎的方法,该分离的人类抗体或其抗原结合部分以通过表面等离子共振测定的 1×10^{-8} M 或更低的 K_d 与 $1 \times 10^{-3} s^{-1}$ 或更低的 K_{off} 速率常数与人类 TNF α 解离,并在标准体外 L929 分析中以 1×10^{-7} M 或更低的 IC_{50} 中和人类 TNF α 细胞毒性。更优选地,该分离的人类抗体或其抗原结合部分以 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ 或更低的 K_{off} ,或甚至更优选以 $1 \times 10^{-4} s^{-1}$ 或更低的 K_{off} 自人类 TNF α 解离。更优选地,该分离的人类抗体或其抗原结合部分在标准体外 L929 分析中以 1×10^{-8} M 或更低的 IC_{50} ,甚至更优选以 1×10^{-9} M 或更低的 IC_{50} 及仍更优选以 1×10^{-10} M 或更低的 IC_{50} 中和人类 TNF α 细胞毒性。在一优选实施方案中,该抗体为分离的人类重组抗体或其抗原结合部分。

[0076] 本领域公知抗体重链及轻链 CDR3 域在抗体对抗原的结合特异性 / 亲和力中起重要作用。因此,在另一方面,本发明涉及施用具有与 hTNF α 相关的低解离动力学且具有结构上与 D2E7 相同或相关的轻链及重链 CDR3 域的人类抗体治疗腐蚀性多关节炎的方法。D2E7 VLCDR3 的位置 9 可由 Ala 或 Thr 占据而不会显著影响 K_{off} 。因此,D2E7 VLCDR3 的共同基序包含氨基酸序列:Q-R-Y-N-R-A-P-Y-(T/A) (SEQ ID NO :3)。另外,D2E7 VH CDR3 的位置 12 可由 Tyr 或 Asn 占据而不会显著影响 K_{off} 。因此,D2E7 VH CDR3 的共同基序包含氨基酸序列:V-S-Y-L-S-T-A-S-S-L-D-(Y/N) (SEQ ID NO :4)。此外,如美国专利第 6,090,382 号的实施例 2 中所阐述,D2E7 重链及轻链的 CDR3 域适合以单一丙氨酸残基(在 VL CDR3 内的位置 1、4、5、7 或 8 或在 VH CDR3 内的位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11) 置换而不会显著影响 K_{off} 。另外,熟练技术人员应当理解,如果 D2E7 VL 及 VH CDR3 域适合经丙氨酸置换,则 CDR3 域内其它氨基酸的置换可以是可能的,同时仍保持抗体的低解离速率常数,尤其为通过保守氨基酸置换。优选地,在 D2E7 VL 和 / 或 VH CDR3 域内进行不超过 1 至 5 个保守氨基酸置换。更优选地,在 D2E7 VL 和 / 或 VH CDR3 域内进行不超过 1 至 3 个保守氨基酸置换。另外,保守氨基酸置换不应在对结合 hTNF α 而言关键的氨基酸位置上进行。D2E7 VL CDR3 的位置 2 和 5 和 D2E7 VH CDR3 的位置 1 和 7 看来对于与 hTNF α 的相互作用是关键的,并且因此优选地不在这些位置上进行保守氨基酸置换(尽管如上所述在 D2E7 VL CDR3 的位置 5 上进行丙氨酸置换是可接受的)(参见美国专利第 6,090,382 号)。

[0077] 因此,在另一实施方案中,本发明提供由施用分离的人类抗体或其抗原结合部分治疗腐蚀性多关节炎的方法。该抗体或其抗原结合部分优选地具有以下特征:

[0078] a) 以如通过表面等离子共振测定的 $1 \times 10^{-3} s^{-1}$ 或更低的 K_{off} 速率常数从人类 TNF α 上解离;

[0079] b) 具有一个轻链 CDR3 域,其包含 SEQ ID NO :3 的氨基酸序列或通过位置 1、4、5、7 或 8 处的单一丙氨酸置换或通过位置 1、3、4、6、7、8 和 / 或 9 处的 1 至 5 个保守氨基酸置换而由 SEQ ID NO :3 修饰的氨基酸序列;

[0080] c) 具有一个重链 CDR3 域,其包含 SEQ ID NO :4 的氨基酸序列或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 处的单一丙氨酸置换或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10、11 和 / 或 12 处的 1 至 5 个保守氨基酸置换而由 SEQ ID NO :4 修饰的氨基酸序列。

[0081] 更优选地,该抗体或其抗原结合部分以 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ 或更低的 K_{off} 从人类 TNF α 上解离。甚至更优选地,该抗体或其抗原结合部分以 $1 \times 10^{-4} s^{-1}$ 或更低的 K_{off} 从人类 TNF α 上解离。

[0082] 在另一实施方案中,本发明提供一种通过施用分离的人类抗体或其抗原结合部分治疗腐蚀性多关节炎的方法。该抗体或其抗原结合部分优选含有一个轻链可变区(LCVR),其具有一个包含 SEQ ID NO :3 的氨基酸序列或通过位置 1、4、5、7 或 8 处的单一丙氨酸置换而由 SEQ ID NO :3 修饰的氨基酸序列的 CDR3 域;且含有一个重链可变区(HCVR),其具有一个包含 SEQ ID NO :4 的氨基酸序列或通过位置 2、3、4、5、6、8、9、10 或 11 处的单一丙氨酸置换而由 SEQ ID NO :4 修饰的氨基酸序列的 CDR3 域。优选地,该 LCVR 进一步具有一个包含 SEQ ID NO :5 的氨基酸序列的 CDR2 域(即 D2E7 VL CDR2),并且该 HCVR 进一步具有一个包含 SEQ ID NO :6 的氨基酸序列的 CDR2 域(即 D2E7 VH CDR2)。甚至更优选地,该 LCVR 进一步具有包含 SEQ ID NO :7 的氨基酸序列的 CDR1 域(即 D2E7 VL CDR1),并且该 HCVR 具有包

含 SEQ ID NO :8 的氨基酸序列的 CDR1 域 (即 D2E7 VH CDR1)。VL 的构架区优选来自 V_kI 人类种系家族,更优选来自 A20 人类种系 Vk 基因,且最优选来自美国专利第 6,090,382 号的图 1A 及 1B 中所示的 D2E7VL 构架序列。VH 的构架区优选来自 V_H3 人类种系家族,更优选来自 DP-31 人类种系 VH 基因,且最优选来自美国专利第 6,090,382 号的图 2A 及 2B 中所示的 D2E7 VH 构架序列。

[0083] 因此,在另一实施方案中,本发明提供一种通过施用分离的人类抗体或其抗原结合部分治疗腐蚀性多关节炎的方法。该抗体或其抗原结合部分优选地含有一个包含 SEQ ID NO :1 的氨基酸序列的轻链可变区 (LCVR) (即 D2E7 VL) 及一个包含 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列的重链可变区 (HCVR) (即 D2E7 VH)。在某些实施方案中,该抗体包含一个重链恒定区,例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM 或 IgD 恒定区。优选地,该重链恒定区为 IgG1 重链恒定区或 IgG4 重链恒定区。此外,该抗体可包含一个轻链恒定区,κ 轻链恒定区或 λ 轻链恒定区。优选地,该抗体包含一个 κ 轻链恒定区。或者,该抗体部分可为 (例如) Fab 片段或单链 Fv 片段。

[0084] 在其它实施方案中,本发明描述一种通过施用抗 TNF α 抗体治疗腐蚀性多关节炎的方法,其中该抗体为分离的人类抗体或其抗原结合部分。该抗体或其抗原结合部分优选地含有与 D2E7 相关的 VL 及 VHCDR3 域,例如抗体或其抗原结合部分具有一个轻链可变区 (LCVR),该 LCVR 具有包含选自 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :11、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :17、SEQ ID NO :18、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :24、SEQ ID NO :25 和 SEQ ID NO :26 的氨基酸序列的 CDR3 域;或具有一个重链可变区 (HCVR),该 HCVR 具有包含选自 SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :31、SEQ ID NO :32、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34 和 SEQ ID NO :35 的氨基酸序列的 CDR3 域。

[0085] 本发明中使用的 TNF α 抗体也可以是修饰的。在一些实施方案中,该 TNF α 抗体或其抗原结合片段被化学修饰以提供所需的效应。例如,本发明的抗体及抗体片段的聚乙二醇化作用可由本领域中已知的任意聚乙二醇化反应进行,如 (例如) 以下参考文献中所述: Focus on Growth Factors 3:4-10 (1992); EP 0 154 316; 及 EP 0 401 384 (均全文引入本文作为参考)。优选地,使用反应性聚乙二醇分子 (或类似的反应性水溶性聚合物) 通过酰化反应或烷基化反应进行聚乙二醇化作用。用于本发明的抗体及抗体片段的聚乙二醇化作用的优选的水溶性聚合物为聚乙二醇 (PEG)。如本文中使用的“聚乙二醇”包括已经用来衍生化其它蛋白质的任意形式的 PEG,例如单 (C1-C10) 烷氧基聚乙二醇或芳氧基聚乙二醇。

[0086] 制备本发明的聚乙二醇化抗体及抗体片段的方法通常应包括以下步骤: (a) 在由此使抗体或抗体片段连接于一个或多个 PEG 基团的条件下使抗体或抗体片段与例如 PEG 的反应性酯或醛衍生物的聚乙二醇反应,及 (b) 获得反应产物。本领域技术人员应当清楚地基于已知参数及所需结果选择最佳反应条件或酰化反应。

[0087] 聚乙二醇化抗体及抗体片段通常可以用来通过施用本文中所述的 TNF 抗体及抗体片段来治疗腐蚀性多关节炎及本发明的与 TNF α 相关的病症。通常与未聚乙二醇化抗体及抗体片段相比,聚乙二醇化抗体及抗体片段的半衰期延长。聚乙二醇化抗体及抗体片段

可单独使用、一起使用或与其它药物组合物联合使用。

[0088] 在本发明的另一实施方案中, TNF α 抗体或其片段可以被改变, 其中该抗体的恒定区被修饰以相对于未修饰的抗体减少至少一种恒定区调节的生物效应功能。为了修饰本发明的抗体从而使其显示出对 Fc 受体降低的结合, 可使抗体的免疫球蛋白恒定区片段在对 Fc 受体 (FcR) 相互作用所必需的特定区突变 (参见例如 Canfield and Morrison (1991) J. Exp. Med. 173 :1483-1491 ;和 Lund 等人 (1991) J. of Immunol. 147 :2657-2662)。降低抗体的 FcR 结合力也可减少依赖于 FcR 相互作用的其它效应功能, 例如调理作用及吞噬作用及抗原依赖性细胞毒性。

[0089] 本发明的抗体或抗体部分可以衍生化或连接于另一功能分子 (例如另一个肽或蛋白质)。因此, 本发明的抗体及抗体部分包括本文中所述的人类抗 hTNF α 抗体的衍生化及其它修饰形式, 包括免疫粘附分子。例如, 本发明的抗体或抗体部分可 (通过化学偶联、基因融合、非共价结合或其它方式) 功能性连接于一种或多种其它分子实体上, 例如另一抗体 (例如双特异性抗体或双抗体)、可检测剂、细胞毒性剂、药剂和 / 或可调节抗体或抗体部分与另一分子 (例如链霉抗生物素核心区或聚组氨酸标记) 结合的蛋白质或肽。

[0090] 一种类型的衍生化抗体通过使两种或多种 (相同种类或不同种类的) 抗体交联而产生 (例如产生双特异性抗体)。适当的交联剂包括具有由适当间隔基分开的两种不同反应性基团的异双功能交联剂 (例如间 - 马来酰亚胺基苯甲酰基 -N- 羟基琥珀酰亚胺酯) 或同双功能交联剂 (例如辛二酸二琥珀酰亚胺酯)。这些交联剂购自 Pierce Chemical Company, Rockford, IL。

[0091] 可用来使本发明的抗体或抗体部分衍生化的有用的可检测剂包括荧光化合物。示例性荧光可检测剂包括荧光素、荧光素异硫氰酸酯、罗丹明、5- 二甲胺 -1- 萘磺酰氯、藻红蛋白等。也可以诸如碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、葡萄糖氧化酶等可检测酶使抗体衍生化。当用可检测酶使抗体衍生化时, 通过添加该酶用来生成可检测反应产物的其他试剂进行检测。例如, 当存在可检测剂辣根过氧化物酶时, 添加过氧化氢及二氨基联苯胺导致生成可检测的有色反应产物。也可采用生物素使抗体衍生化, 并通过间接测量抗生物素蛋白或链霉抗生物素的结合进行检测。

[0092] 本发明的抗体或抗体部分可通过在宿主细胞中重组表达免疫球蛋白轻链及重链基因而制备。为重组表达抗体, 用一种或多种携带编码抗体的免疫球蛋白轻链及重链的 DNA 片段的重组表达载体转染宿主细胞, 使得轻链及重链在宿主细胞内表达并且优选地分泌至培养宿主细胞的培养基中, 抗体可自该培养基回收。标准重组 DNA 方法用来获得抗体重链及轻链基因, 将这些基因引入重组表达载体中, 并且将这些载体导入宿主细胞内, 例如 Sambrook、Fritsch 及 Maniatis (编), Molecular Cloning ; A Laboratory Manual, 第 2 版, Cold Spring Harbor, N. Y., (1989), Ausubel 等人 (编) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates, (1989) 及 Boss 等人的美国专利第 4, 816, 397 号中所述的那些标准重组 DNA 方法。

[0093] 为表达 D2E7 或与 D2E7 相关的抗体, 首先获得编码轻链及重链可变区的 DNA 片段。这些 DNA 可通过使用聚合酶链反应 (PCR) 扩增及修饰种系轻链及重链可变序列而获得。人类重链及轻链可变区基因的种系 DNA 序列在本领域中已知 (参见例如 " Vbase " 人类种系序列数据库 ; 也参见 Kabat 等人 (1991) Sequences of Proteins

of Immunological Interest, 第 5 版, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication 第 91-3242 号; Tomlinson 等人 (1992) " The Repertoire of Human Germline V_H Sequences Reveals about Fifty Groups of V_H Segments with Different Hypervariable Loops " J. Mol. Biol. 227 :776-798 ;及 Cox 等人 (1994) " A Directory of Human Germ-line V_{H8} Segments Reveals a Strong Bias in their Usage " Eur. J. Immunol. 24 :827-836 ;其内容均引入本文作为参考)。为获得编码 D2E7 或与 D2E7 相关的抗体的重链可变区的 DNA 片段, 通过标准 PCR 扩增人类种系 VH 基因的 V_H3 家族成员。最优选地, 扩增 DP-31 VH 种系序列。为获得编码 D2E7 或与 D2E7 相关的抗体的轻链可变区的 DNA 片段, 通过标准 PCR 扩增人类种系 VL 基因的 V_{K1} 家族成员。最优选地, 扩增 A20 VL 种系序列。适用于扩增 DP-31 种系 VH 及 A20 种系 VL 序列的 PCR 引物可基于先前引用的文献中所揭示的核苷酸序列使用标准方法进行设计。

[0094] 一旦获得种系 VH 及 VL 片段, 则可使这些序列突变以编码本文中所揭示的 D2E7 或与 D2E7 相关的氨基酸序列。首先将由种系 VH 及 VL DNA 序列编码的氨基酸序列与 D2E7 或与 D2E7 相关的 VH 及 VL 氨基酸序列比较以鉴定与种系不同的 D2E7 或与 D2E7 相关的序列中的氨基酸残基。随后, 使用遗传密码测定应进行哪些核苷酸改变, 使种系 DNA 序列的适当核苷酸突变, 从而使突变的种系序列编码 D2E7 或与 D2E7 相关的氨基酸序列。种系序列的诱变通过例如 PCR 介导的突变 (其中突变的核苷酸引入 PCR 引物中, 使得 PCR 产物含有该突变) 或定点诱变的标准方法进行。

[0095] 一旦 (如上所述通过种系 VH 和 VL 基因的扩增及诱变) 获得编码 D2E7 或与 D2E7 相关的 VH 和 VL 片段的 DNA 片段, 则这些 DNA 片段可通过标准重组 DNA 技术进一步操作, 例如使可变区基因转变为全长抗体链基因、Fab 片段基因或 scFv 基因。在这些操作中, 编码 VL 或 VH 的 DNA 片段有效连接于编码另一种蛋白质例如抗体恒定区或柔性连接体的另一种 DNA 片段。如本发明内容中所使用的术语 " 有效连接 " 意思是使两个 DNA 片段连接, 使得由这两个 DNA 片段编码的氨基酸序列保持在框内。

[0096] 编码 VH 区的分离的 DNA 可通过使编码 VH 的 DNA 有效连接于另一编码重链恒定区 (CH1、CH2 及 CH3) 的 DNA 分子而转变为全长重链基因。人类重链恒定区基因的序列在本领域中已知 (参见例如 Kabat 等人 (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242), 并且包含这些区的 DNA 片段可通过标准 PCR 扩增获得。重链恒定区可为 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM 或 IgD 恒定区, 但最优选为 IgG1 或 IgG4 恒定区。对于 Fab 片段重链基因而言, 编码 VH 的 DNA 可有效连接于另一仅编码重链 CH1 恒定区的 DNA 分子。

[0097] 编码 VL 区的分离的 DNA 可通过使编码 VL 的 DNA 有效连接于另一编码轻链恒定区 (CL) 的 DNA 分子而转变为全长轻链基因 (以及 Fab 轻链基因)。人类轻链恒定区基因的序列在本领域中已知 (参见例如 Kabat 等人 (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242), 并且包含这些区的 DNA 片段可通过标准 PCR 扩增获得。轻链恒定区可为 κ 或 λ 恒定区, 但最优选为 κ 恒定区。

[0098] 为得到 scFv 基因, 将编码 VH 及 VL 的 DNA 片段有效连接于另一编码柔性连接体 (例如编码氨基酸序列 $(Gly_4-Ser)_3$) 的片段, 使得 VH 及 VL 序列可表达为相邻的单

链蛋白,且 VL 及 VH 区由柔性连接体连接(参见例如 Bird 等人(1988)Science 242:423-426;Huston 等人(1988)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883;McCafferty 等人, Nature(1990)348:552-554)。

[0099] 为表达本发明的抗体或抗体部分,将如上所述获得的编码部分或全长轻链及重链的 DNA 插入表达载体内,使得这些基因有效连接于转录及翻译控制序列。在本发明内容中,术语“有效连接”意思是将抗体基因连接至载体内使得载体内的转录及翻译控制序列起调节抗体基因的转录及翻译的预期功能。选择表达载体及表达控制序列以使其可与所使用的表达宿主细胞相容。可将抗体轻链基因及抗体重链基因插入各自载体中,或更通常地将两种基因均插入相同表达载体中。通过标准方法(例如连接抗体基因片段和载体上的互补限制性位点,或者若不存在限制性位点则钝端连接)将抗体基因插入表达载体中。在插入 D2E7 或与 D2E7 相关的轻链或重链序列之前,该表达载体可以已经携带抗体恒定区序列。例如,一种使 D2E7 或与 D2E7 相关的 VH 及 VL 序列转变为全长抗体基因的方法是将其分别插入已编码重链恒定区及轻链恒定区的表达载体中,使得 VH 片段有效连接于该载体内的 CH 片段且 VL 片段有效连接于该载体内的 CL 片段。另外或者可替代地,重组表达载体可编码促进抗体链从宿主细胞中分泌的信号肽。可将抗体链基因克隆到载体中使得该信号肽框内连接于抗体链基因的氨基末端。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即来自非免疫球蛋白的信号肽)。

[0100] 除抗体链基因之外,本发明的重组表达载体携带控制抗体链基因在宿主细胞内表达的调节序列。术语“调节序列”意思是包括控制抗体链基因转录或翻译的启动子、增强子及其它表达控制组件(例如聚腺苷酸化信号)。这些调节序列描述于(例如)Goeddel; Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA(1990)中。熟练技术人员应当了解包括选择调节序列的表达载体的设计可取决于例如待转化的宿主细胞的选择、所需的蛋白质表达水平等因素。用于哺乳动物宿主细胞表达的优选调节序列包括在哺乳动物细胞内引导高水平蛋白质表达的病毒组件,例如由以下病毒衍生的启动子和/或增强子:巨细胞病毒(CMV)(例如 CMV 启动子/增强子)、猿猴病毒 40(SV40)(例如 SV40 启动子/增强子)、腺病毒(例如腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))及多瘤病毒。关于病毒调节组件及其序列的进一步描述,参见例如 Stinski 的美国专利第 5,168,062 号、Bell 等人的美国专利第 4,510,245 号及 Schaffner 等人的美国专利第 4,968,615 号。

[0101] 除抗体链基因及调节序列之外,本发明的重组表达载体可携带其他序列,例如调节载体在宿主细胞内复制的序列(例如复制起点)及选择性标记基因。选择性标记基因有助于选择已导入载体的宿主细胞(参见例如均为 Axel 等人的美国专利第 4,399,216 号、第 4,634,665 号及第 5,179,017 号)。例如,通常选择性标记基因赋予已导入载体的宿主细胞对例如 G418、潮霉素或氨甲喋呤的药物的抗性。优选的可选择标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用氨甲喋呤选择/扩增在 dhfr⁻ 宿主细胞中使用)及 neo 基因(用于 G418 选择)。

[0102] 为表达轻链及重链,由标准技术将编码重链及轻链的表达载体转染至宿主细胞内。术语“转染”的各种形式包括通常用于将外源 DNA 导入原核或真核宿主细胞的大量技术,例如电穿孔、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染等。尽管在原核或真核宿主细胞内表达本

发明的抗体在理论上是可能的,然而抗体最优选地在真核细胞中表达,最优选地在哺乳动物宿主细胞内表达,因为这些真核细胞、尤其哺乳动物细胞比原核细胞更有可能组装且分泌适当折叠的免疫活性抗体。已报导抗体基因的原核表达对于活性抗体的高产量生产无效(Boss 和 Wood(1985) *Immunology Today* 6:12-13)。

[0103] 优选用于表达本发明的重组抗体的哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO 细胞)(包括 dhfr-CHO 细胞,描述于 Urlaub 和 Chasin, (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220,与 DHFR 选择性标记一起使用,例如,如 Kaufman 和 Sharp(1982) *Mol. Biol.* 159:601-621 中所述)、NS0 骨髓瘤细胞、COS 细胞及 SP2 细胞。当将编码抗体基因的重组表达载体导入哺乳动物宿主细胞时,通过培养宿主细胞足以使抗体在宿主细胞内表达或更优选地使抗体分泌至宿主细胞于其中生长的培养基内的一段时间来产生抗体。抗体可使用标准蛋白质纯化方法从培养基中回收。

[0104] 宿主细胞也可用于产生完整抗体的部分,例如 Fab 片段或 scFv 分子。应了解以上程序的变化在本发明的范围内。例如,可能期望用编码本发明的抗体的轻链或重链(但并非两者)的 DNA 转染宿主细胞。也可利用重组 DNA 技术除去编码对于结合 hTNF α 并非必需的轻链及重链的任一个或两者的一些或全部 DNA。由这些经截短 DNA 分子表达的分子也包含于本发明的抗体中。此外,可通过标准化学交联方法使本发明的抗体与第二抗体交联产生双抗体,其中一条重链及一条轻链为本发明的抗体且另一条重链及轻链对除 hTNF α 之外的抗原具有特异性。

[0105] 在用于重组表达本发明的抗体或其抗原结合部分的优选系统中,通过磷酸钙介导的转染将编码抗体重链与抗体轻链的重组表达载体导入 dhfr-CHO 细胞。在重组表达载体内,抗体重链及轻链基因各自有效连接于 CMV 增强子/AdMLP 启动子调节组件以驱动高水平的基因转录。重组表达载体也携带 DHFR 基因,其允许选择已使用氨甲喋呤选择/扩增用载体转染的 CHO 细胞。培养选择后的转化株宿主细胞以表达抗体重链及轻链并且从培养基中回收完整抗体。使用标准分子生物学技术制备重组表达载体、转染宿主细胞、选择转化株、培养宿主细胞并且从培养基中回收抗体。

[0106] 除本文中所揭示的 D2E7 或其抗原结合部分或与 D2E7 相关的抗体之外的本发明的重组人类抗体可通过筛选使用由衍生自人类淋巴细胞的 mRNA 制备的人类 VL 及 VH cDNA 制备的重组组合抗体库、优选 scFv 噬菌体展示库而分离。制备及筛选这些库的方法在本领域中已知。除商业上可购得的用于产生噬菌体展示库的试剂盒(例如 Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, 目录号 27-9400-01;及 Stratagene SurfZAP™ 噬菌体展示试剂盒, 目录号 240612)之外,尤其适用于产生及筛选抗体展示库的方法及试剂的实例可发现于(例如)Ladner 等人美国专利第 5,223,409 号;Kang 等人 PCT 公开第 W092/18619 号;Dower 等人 PCT 公开第 W0 91/17271 号;Winter 等人 PCT 公开第 W0 92/20791 号;Markland 等人 PCT 公开第 W0 92/15679 号;Breitling 等人 PCT 公开第 W0 93/01288 号;McCafferty 等人 PCT 公开第 W0 92/01047 号;Garrard 等人 PCT 公开第 W0 92/09690 号;Fuchs 等人 (1991) *Bio/Technology* 9:1370-1372;Hay 等人 (1992) *Hum AntibodHybridomas* 3:81-85;Huse 等人 (1989) *Science* 246:1275-1281;McCafferty 等人, *Nature* (1990) 348:552-554;Griffiths 等人 (1993) *EMBO J* 12:725-734;Hawkins 等人 (1992) *J Mol Biol* 226:889-896;Clackson 等人 (1991) *Nature* 352:624-628;Gram 等人 (1992) *PNAS* 89:3576-3580;

Garrard等人(1991)Bio/Technology 9:1373-1377;Hoogenboom等人(1991)Nuc Acid Res 19:4133-4137;及Barbas等人(1991)PNAS 88:7978-7982中。

[0107] 在一个优选实施方案中,为分离对hTNF α 具有高亲和力及低解离速率常数的人类抗体,首先使用Hoogenboom等人,PCT公开第W093/06213号中所述的表位印记方法使用对hTNF α 具有高亲和力及低解离速率常数的鼠抗hTNF α 抗体(例如MAK 195,登录号为ECACC 87050801的杂交瘤)选择对hTNF α 具有类似结合活性的人类重链及轻链序列。此方法中所使用的抗体库优选为如McCafferty等人,PCT公开第W0 92/01047号、McCafferty等人,Nature(1990)348:552-554及Griffiths等人,(1993)EMBO J 12:725-734中所述制备并筛选的scFv库。scFv抗体库优选地使用重组人类TNF α 作为抗原进行筛选。

[0108] 一旦选择初始人类VL及VH片段,则进行“混合及匹配”试验(其中筛选不同对的初始选择的VL及VH片段用于hTNF α 结合),以选择优选的VL/VH对组合。另外,为了进一步改善对hTNF α 结合的亲和力和/或降低对hTNF α 结合的解离速率常数,优选的VL/VH对的VL及VH片段可在类似于天然免疫应答过程中引起抗体亲和力成熟的体内体细胞突变过程的过程中随机突变,优选地在VH和/或VL的CDR3域内突变。该体外亲和力成熟可使用分别与VH CDR3或VL CDR3互补的PCR引物通过扩增VH及VL区实现,这些引物已采用四种核苷酸碱基的随机混合物在特定位置“刺突”(spike),使得产生的PCR产物编码VH及VL片段,其中随机突变作用已被导入VH和/或VL CDR3域。可再次筛选用于结合hTNF α 的这些随机突变的VH及VL片段,并且可以选择显示对于hTNF α 结合而言高亲和力及低解离速率的序列。

[0109] 从重组免疫球蛋白展示库筛选并分离本发明的抗hTNF α 抗体之后,可从展示包装(例如从噬菌体基因组)回收编码选择的抗体的核酸,并通过标准重组DNA技术亚克隆到其它表达载体中。如果需要,可以将核酸进一步操作,以产生本发明的其它抗体形式(例如连接于编码例如其他恒定区的其他免疫球蛋白域的核酸)。如以上进一步详细描述,为了表达通过筛选组合文库而分离的重组人类抗体,将编码抗体的DNA克隆到重组表达载体中,并导入哺乳动物宿主细胞。

[0110] 分离对hTNF α 具有高亲和力及低解离速率常数的人类抗体的方法也描述于美国专利第6,090,382号、第6,258,562号及第6,509,015号中,均引入本文作为参考。

[0111] 该TNF α 抑制剂也可以为TNF融合蛋白,例如依那西普(Enbrel[®], Amgen;描述于W0 91/03553及W0 09/406476中,引入本文作为参考)。在另一实施方案中,该TNF α 抑制剂为重组TNF结合蛋白(r-TBP-I)(Serono)。

[0112] III. 腐蚀性多关节炎的治疗

[0113] 本发明提供治疗腐蚀性多关节炎的方法,包括将包含例如TNF α 抗体的TNF α 抑制剂施用于患有腐蚀性多关节炎的受试者。本发明也描述确定TNF α 抑制剂治疗腐蚀性多关节炎的功效的方法。优选地,该TNF α 为人类TNF α ,并且该受试者为人类受试者。在一个实施方案中,该TNF α 抑制剂为阿达木单抗,也称作HUMIRA[®]或D2E7。下文进一步描述利用包含抗体及抗体部分的TNF α 抑制剂治疗腐蚀性多关节炎的用途以及确定TNF α 抑制剂治疗腐蚀性多关节炎的功效的方法。

[0114] 术语“多关节炎”通常是指在受试者的两个或两个以上关节处的炎症,即肿胀、

压痛或发热。

[0115] 本文使用的术语“腐蚀性多关节炎”是指受试者所患的对关节造成损伤的多关节炎。

[0116] 本发明提供一种治疗腐蚀性多关节炎的方法,包括施用包含例如 TNF α 抗体的 TNF α 抑制剂。本发明也提供一种抑制与腐蚀性多关节炎相关的关节疾病的放射照相进展的方法。下文更详细地描述施用 TNF α 抗体或其抗原结合部分用于治疗腐蚀性多关节炎的方法。

[0117] 本发明提供一种确定抗 TNF α 治疗腐蚀性多关节炎的功效的方法。测定该功效的测量包括测定治疗后关节破坏或腐蚀是否改善的试验。例如,可以利用受试者的改良总 Sharp 评分 (mTSS) 测定受试者体内腐蚀性多关节炎的改善。也可以利用 mTSS 作为确定治疗腐蚀性多关节炎的功效的分析。

[0118] Sharp 评分为通过骨腐蚀及关节间隙狭窄评估的总关节损伤的变化的 x 射线测量值 (Sharp 等人 (1971) *Arthritis & Rheumatism* 14:706; Sharp 等人 (1985) *Arthritis & Rheumatism* 28:16)。mTSS 为基于评估患者的手及足的 x 射线对关节损伤程度及严重性的测量值。针对关节腐蚀与关节间隙狭窄对关节评分。mTSS 为腐蚀评分 (ES) 与关节间隙狭窄 (JSN) 评分的和,例如范围为约 0 至约 398,其中 0 = 无损伤。ES 为对 46 个关节收集的关节评分的和,范围例如为约 0 至约 230。JSN 为对 42 个关节收集的关节评分的和,范围例如为约 0 至约 168。评分 0 表示无变化。在本发明的一个实施方案中, mTSS 通过结合范围为约 0-192 的关节间隙狭窄评分及范围为约 0-378 的腐蚀评分而确定。

[0119] mTSS 改善或不变证明 TNF α 抑制剂对治疗腐蚀性多关节炎有效。在一个实施方案中,关节疾病未进展证明 TNF α 抑制剂治疗腐蚀性多关节炎的功效,例如在患有腐蚀性多关节炎的受试者体内随着时间推移 Sharp 评分、mTSS 不变。在另一实施方案中,关节疾病的放射线进展降低证明 TNF α 抑制剂治疗腐蚀性多关节炎的功效,例如在患有腐蚀性多关节炎的受试者体内随着时间推移 Sharp 评分、mTSS 降低。

[0120] 在一个实施方案中,基线与用 TNF α 抑制剂治疗之后一段时间之间 mTSS 的总变化为约 0.9 与约 -0.2。在另一实施方案中,基线与用 TNF α 抑制剂治疗之后一段时间之间 mTSS 的总变化为约 0.5 与约 -0.2。在另一实施方案中,基线与用 TNF α 抑制剂治疗之后一段时间之间 mTSS 的总变化为约 0.2 与约 -0.2。

[0121] 应注意到上述评分中间的范围 (例如约 -0.1 至约 0.3) 也预期为本发明的一部分。例如,预期包括使用任意上述数值的组合作为上限和 / 或下限的数值范围。

[0122] 虽然以抗炎症药剂治疗炎性疾病在治疗后可得到临床改善,但是仍会存在由腐蚀性多关节炎引起的进行性关节损伤 (Gladman 等人 (1990) *J Rheumatol* 17:809; Hanly 等人 (1988) *Ann Rheum Dis* 47:386)。因此,本发明的一个特征为提供一种治疗可与另一病症相关的腐蚀性多关节炎的方法。在一个优选实施方案中,本发明包括治疗与包括但不限于以下病症的 TNF α 活性为有害的病症相关的腐蚀性多关节炎:类风湿性关节炎 (包括幼年型类风湿性关节炎)、克罗恩病、牛皮癣、牛皮癣性关节炎和强直性脊柱炎。腐蚀性多关节炎也可与多中心网状组织细胞增多症 (MRH) 相关 (Santilli 等人 (2002) *Ann Rheum Dis* 61:485)。

[0123] 本文使用的术语“TNF α 活性为有害的病症”包括其中患有病症的受试者体内

TNF α 的存在已显示为或怀疑为造成病症的病理生理学原因或导致病症恶化的因素的疾病及其它病症。因此, TNF α 活性为有害的病症为预期抑制 TNF α 活性可减轻其病症的症状和/或进展的病症。这些病症可以(例如)由可(例如)使用如上所述抗 TNF α 抗体检测的患有病症受试者的生物流体中 TNF α 浓度增加(例如受试者的血清、血浆、滑液等中 TNF α 浓度增加)而证实。存在大量 TNF α 活性为有害的病症的实例。下文进一步论述利用 TNF α 抑制剂治疗与特定病症相关的腐蚀性多关节炎的用途:

[0124] A. 自身免疫疾病

[0125] 在一个实施方案中, 本发明包括治疗与自身免疫疾病相关的腐蚀性多关节炎。在患有包括例如类风湿性关节炎及幼年型类风湿性关节炎的关节炎形式的自身免疫疾病的患者中可发现腐蚀性多关节炎 (Verloes (1998) Med Genet. 35 :943)。

[0126] 例如阿达木单抗的 TNF α 抗体可用于治疗自身免疫疾病, 尤其是与腐蚀性多关节炎相关的那些自身免疫疾病。这些自身免疫疾病的实例包括类风湿性关节炎、类风湿性脊椎炎、骨关节炎及痛风性关节炎、变态反应、多发性硬化症、自身免疫糖尿病、自身免疫葡萄膜炎及肾病综合征。自身免疫疾病的其它实例包括多系统自身免疫疾病和自身免疫听觉丧失。自身免疫疾病的其它实例描述于美国申请第 10/622932 号中, 引入本文作为参考。

[0127] 幼年型类风湿性关节炎

[0128] 肿瘤坏死因子与包括幼年型类风湿性关节炎的幼年型关节炎的病理生理学有关 (Grom 等人 (1996) Arthritis Rheum. 39 :1703 ;Mangge 等人 (1995) Arthritis Rheum. 8 :211)。在一个实施方案中, 本发明的 TNF α 抗体用于治疗幼年型类风湿性关节炎。

[0129] 本文使用的术语“幼年型类风湿性关节炎”或“JRA”是指发生在 16 岁之前可导致关节或结缔组织损伤的慢性、炎性疾病。JRA 也被称作幼年型慢性多关节炎和 Still 病。

[0130] JRA 在 16 岁或更小的儿童体内导致关节炎症及僵硬 6 周以上。炎症导致关节发红、肿胀、发热及疼痛。任意关节均可受影响, 并且炎症可限制受影响关节的移动性。一种类型的 JRA 也可影响内脏器官。

[0131] 通常由所涉及的关节数、症状及由血液检测所发现的某些抗体的存在与否将 JRA 分为三类。这种分类有助于医生判定疾病如何发展及内脏器官或皮肤是否受影响。JRA 的分类包括以下:

[0132] a. 少关节型 JRA, 其中患者有 4 个或少于 4 个关节受影响。少关节型为最常见的 JRA 形式, 通常影响大关节, 例如膝。

[0133] b. 多关节型 HRA, 其中 5 个或 5 个以上关节受影响。最常涉及小关节, 例如手及足中的那些小关节, 但该疾病也可影响大关节。

[0134] c. 全身型 JRA, 其特征在于关节肿胀、发烧、轻度皮疹, 也可影响内脏器官, 例如心脏、肝脏、脾及淋巴结。全身型 JRA 也称作 Still 病。这些儿童中的一小部分在多个关节发展关节炎并且可能患有持续至成人的严重关节炎。

[0135] B. 脊椎关节病

[0136] 在一个实施方案中, 本发明包括治疗与脊椎关节病相关的腐蚀性多关节炎。在患有例如与有害的 TNF α 活性相关的脊椎关节病的炎性疾病的患者中可发现腐蚀性多关节炎 (参见例如 Moeller 等人 (1990) Cytokine 2 :162 ;美国专利第 5, 231, 024 号 ;欧洲专利

申请第 260610 号)。

[0137] 本文使用的术语“脊椎关节病”用来指几种影响脊关节的疾病的任意一种,其中这些疾病有同样的普通临床、放射学及组织学特征。许多脊椎关节病有同样的遗传特征,即其与 HLA-B27 等位基因相关。在一个实施方案中,术语脊椎关节病除用来指强直性脊柱炎以外,还指几种影响脊关节的疾病的任意一种,其中这些疾病有同样的普通临床、放射学及组织学特征。脊椎关节病的实例包括强直性脊柱炎、牛皮癣性关节炎/脊椎炎、肠道性关节炎、反应性关节炎或 Reiter 综合征和未分化型脊椎关节病。用于研究脊椎关节病的动物模型的实例包括 ank/ank 转基因小鼠、HLA-B27 转基因大鼠(参见 Taurog 等人 (1998) *The Spondylarthritides*. Oxford:Oxford University Press)。

[0138] 处于患脊椎关节病的风险中的受试者的实例包括患有有关节炎的人。脊椎关节病可与包括类风湿性关节炎在内的关节炎的形式相关。在本发明的一实施方案中, TNF α 抑制剂用于治疗患有与腐蚀性多关节炎相关的脊椎关节病的受试者。可用 TNF α 抑制剂治疗的脊椎关节病的实例描述如下:

[0139] 强直性脊柱炎 (AS)

[0140] 在一个实施方案中,本发明包括使用 TNF α 抗体或其抗原结合部分治疗与强直性脊柱炎相关的腐蚀性多关节炎。肿瘤坏死因子与强直性脊柱炎的病理生理学有关(参见 Verjans 等人 (1991) *Arthritis Rheum.* 34:486; Verjans 等人 (1994) *Clin Exp Immunol.* 97:45; Kaijzel 等人 (1999) *Hum Immunol.* 60:140)。强直性脊柱炎 (AS) 为包括一处或多处椎骨炎症的炎性病症。AS 为影响包括脊骨的椎骨与骶髂关节之间的关节及脊骨与骨盆之间的关节的轴向骨骼和/或周边关节的慢性炎性疾病。AS 最终可导致受影响的椎骨融合或生长在一起。包括 AS 的脊椎关节病可与牛皮癣性关节炎 (PsA) 和/或包括溃疡性结肠炎及克罗恩病的炎性肠病 (IBD) 相关。

[0141] AS 的早期表现可通过包括 CT 扫描及 MRI 扫描在内的放射线检测来确定。AS 的早期表现通常包括 sacroiliitis 以及骶髂关节变化,这由软骨下骨的皮质边缘模糊,随后腐蚀及硬化而证实。疲劳也已被看作 AS 的常见症状 (Duffy 等人 (2002) *ACR 66th Annual Scientific Meeting* 摘要)。

[0142] 牛皮癣性关节炎

[0143] 在一个实施方案中,本发明包括使用 TNF α 抗体或其抗原结合部分治疗与牛皮癣性关节炎相关的腐蚀性多关节炎。肿瘤坏死因子与牛皮癣性关节炎 (PsA) 的病理生理学有关 (Partsch 等人 (1998) *Ann Rheum Dis.* 57:691; Ritchlin 等人 (1998) *J Rheumatol.* 25:1544)。如本文中所指的牛皮癣性 TNF α 与类风湿性关节炎的活化组织炎症有关,并且导致关节破坏(参见例如 Moeller, A. 等人 (1990) *Cytokine* 2:162-169; Moeller 等人的美国专利第 5,231,024 号; Moeller, A. 的欧洲专利申请第 260 610B1 号; Tracey 和 Cerami, 同上; Arend, W. P. 及 Dayer, J-M. (1995) *Arth. Rheum.* 38:151-160; Fava, R. A. 等人 (1993) *Clin. Exp. Immunol.* 94:261-266)。TNF α 也与促进糖尿病中的胰岛细胞死亡及调节胰岛素抗性有关(参见例如 Tracey 及 Cerami, 同上; PCT 公开第 WO 94/08609 号)。TNF α 也与多发性硬化症中的介导对少突胶质细胞的细胞毒性及诱导炎性斑块有关(参见例如 Tracey 及 Cerami, 同上)。已对嵌合及人源化鼠抗 hTNF α 抗体进行了治疗类风湿性关节炎的临床试验(参见例如 Elliott, M. J. 等人 (1994) *Lancet* 344:1125-1127; Elliot, M. J. 等人

(1994) Lancet 344 :1105-1110 ;Rankin, E. C. 等人 (1995) Br. J. Rheumatol. 34 :334-342)。

[0144] 牛皮癣性关节炎是指与牛皮癣(一种在身体上导致红斑的常见慢性皮肤病)相关的慢性炎性关节炎。20 名牛皮癣患者中约有 1 人将发展伴随有皮肤病的关节炎,并且在约 75% 的情况下,牛皮癣早于关节炎发生。PsA 本身以多种方式表现,从轻微关节炎至严重关节炎,其中该关节炎通常影响手指及脊骨。当脊骨受影响时,症状与如上所述的强直性脊柱炎的那些症状类似。TNF α 抗体或其抗原结合片段可用于治疗与 PsA 相关的腐蚀性多关节炎。

[0145] PsA 有时与关节残毁相关。关节残毁是指以过量骨腐蚀导致损坏关节的全部腐蚀性畸形为特征的病症。

[0146] PsA 的特征性放射线特征包括关节腐蚀、关节间隙狭窄、包括关节周围及骨体骨膜炎的骨增生、包括“铅笔帽”畸形和肢端骨质溶解的骨质溶解、关节强直、骨刺形成及脊椎炎(Wassenberg 等人 (2001) ZRheumatol 60 :156)。与类风湿性关节炎(RA)不同,PsA 中的关节涉及通常为不对称的且可为寡关节的;骨质疏松症为非典型的。尽管早期 PsA 中的腐蚀性变化与 RA 中的腐蚀性变化一样在边缘出现,然而其随着疾病进展由于靠近腐蚀处的骨膜骨形成而变得不规则且不正常界定。在严重的情况中,腐蚀性变化可发展为形成铅笔帽畸形或全部骨质溶解(Gold 等人 (1988) Radiol Clin North Am 26 :1195 ;Resnick 等人 (1977) J Can Assoc Radiol 28 :187)。不对称腐蚀在腕骨内及在手的掌部指骨(MCP)、近端指骨之间(PIP)及远侧指骨之间(DIP)关节内通过放射线可见,但 DIP 关节通常先受影响。在指骨丛及在腱及韧带与骨的连接位置处可见到异常。DIP 腐蚀性变化的存在可提供灵敏且特异性的放射结果以支持 PsA 诊断。另外,手趋向于涉及比足高得多的频率,两者的比率接近 2 : 1。

[0147] 脊椎关节病的其它实例描述于美国申请第 10/622932 号中,引入本文作为参考。

[0148] C. 皮肤及指甲病症

[0149] 在一个实施方案中,本发明包括治疗与皮肤及指甲病症相关的腐蚀性多关节炎。本文使用的术语“TNF α 活性为有害的皮肤及指甲病症”包括其中患有病症的受试者体内 TNF α 的存在已显示为或怀疑为造成病症的病理生理学的原因或导致病症恶化的因素的皮肤和/或指甲病症及其它病症,例如牛皮癣。因此,TNF α 活性为有害的皮肤及指甲病症为预期抑制 TNF α 活性可减轻病症的症状和/或进展的病症。下文中进一步论述利用抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂治疗特定皮肤及指甲病症的用途。在某些实施方案中,将本发明的抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂与如下文中所述的另一治疗剂联合施用于受试者。在一个实施方案中,将 TNF α 抗体与另一治疗剂联合施用于受试者,用于治疗与牛皮癣相关的腐蚀性多关节炎以及治疗与关节炎相关的牛皮癣。

[0150] 牛皮癣

[0151] 肿瘤坏死因子与牛皮癣的病理生理学有关(Takematsu 等人 (1989) Arch Dermatol Res. 281 :398 ;Victor 及 Gottlieb (2002) J Drugs Dermatol. 1 (3) :264)。牛皮癣被描述为皮肤炎症(刺激及发红),其特征为经常伴随有皮肤发红、发痒及厚干银色鳞屑。具体地说,形成的病变涉及在表皮增生、皮肤炎性应答及例如淋巴因子和炎性因子的调节分子的表达中的初级及次级改变。牛皮癣性皮肤的形态学特征为表皮细胞更换增加、表皮变厚、异常角质化、炎性细胞渗透至表皮及多形核白细胞及淋巴细胞渗透至表皮层导致基底细胞循环增

加。牛皮癣通常涉及指甲,其常常显示为凹陷、指甲分离、变厚及变色。牛皮癣通常与例如关节炎(包括类风湿性关节炎)、炎性肠病(IBD)及克罗恩病的其它炎性病症相关。

[0152] 虽然牛皮癣的迹象最常见于躯干、肘、膝、头皮、皮褶或手指甲上,但其可影响皮肤的任意或所有部分。通常,新皮肤细胞自底层向上移至表面需要约一个月。在牛皮癣中,此过程仅需要几天,从而导致死皮细胞叠加和厚鳞屑的形成。牛皮癣的症状包括:覆盖有银色鳞屑的干或红皮肤斑、可裂开及变疼并且通常在肘、膝、躯干、头皮及手上呈杂绿色的皮肤凸斑伴有红色边界;包括脓疮的皮肤病变、皮肤裂开及皮肤发红;可与例如牛皮癣性关节炎的关节炎相关的关节疼或痛。

[0153] 牛皮癣的治疗通常包括局部施用皮质类固醇、维生素 D 类似物及局部施用或口服类视色素或其组合。在一个实施方案中,本发明的 TNF α 抑制剂以与这些常用治疗之一组合的形式或在这些常用治疗之一存在下施用。也可与 TNF α 抑制剂组合用于治疗牛皮癣的其他治疗剂在下文中更详细地描述。

[0154] 牛皮癣的诊断通常基于皮肤外观。另外可能需要皮肤活组织检查或皮肤斑的碎屑或培养物以排除其它皮肤病症。若关节疼痛存在并持续存在,则可用 x 射线检查牛皮癣性关节炎。

[0155] 在本发明的一个实施方案中, TNF α 抑制剂用于治疗牛皮癣,包括慢性斑状牛皮癣、点状牛皮癣、反式牛皮癣、脓疱型牛皮癣、寻常天疱疮、红皮症型牛皮癣、与炎性肠病(IBD)相关的牛皮癣及与类风湿性关节炎(RA)相关的牛皮癣。本发明治疗方法中包括的特定类型的牛皮癣包括慢性斑状牛皮癣、点状牛皮癣、反式牛皮癣和脓疱型牛皮癣。牛皮癣及其它类型的皮肤及指甲病症的其它实例描述于美国申请第 10/622932 号,引入本文作为参考。

[0156] 确定 TNF α 抑制剂治疗与 TNF α 活性为有害的病症相关的腐蚀性多关节炎的功效的方法包括测量包括关节间隙狭窄和/或关节腐蚀的关节毁坏程度的任一分析。在一个实施方案中,使用放射线照相术测量关节毁坏。这些分析可通过测定在以 TNF α 抑制剂治疗的受试者或患者群体中是否得到改善而用于检查 TNF α 抑制剂的功效。一般而言,通过比较以 TNF α 抑制剂治疗之前测定的评分基线与以 TNF α 抑制剂治疗之后的时间测定的评分,来确定改善状况。

[0157] 关节炎疾病(例如 RA、PsA 及 JRA) 的其他改善可以通过测定 ACR 应答来确定。例如 ACR20、ACR50、ACR70 的 ACR 阈值可用于定义 RA 及 PsA 的改善,并且显示 7 种疾病活性测量值的改善百分比。标准包括脆弱及肿胀关节计数的改善百分比及以下至少 3 种标准的改善:患者疼痛评估、患者整体评估、医生整体评估、患者自我评估失能或疾病活性(即红细胞沉降速率或 C 反应蛋白水平)的实验室测量值(Felson 等人(1993) Arthritis Rheum. 36(6): 729)。

[0158] 其它用于测定针对治疗 RA、JRA 及 PsA 的特定疗法的改善的分析包括 EULAR 反应、DAS 评分、FACIT-F、HAQ 评分及 SJC 和/或 TJC 计数。

[0159] EULAR 标准使用 DAS 来定义应答。应答定义为:(a) 疾病活性相对于基线的变化,和 (b) 追踪过程中达到的疾病活性水平。用于定义 DAS 的标准包括:Ritchie 关节指标、肿胀关节计数(44 个关节计数)、红细胞沉降速率及健康评估调查问卷。DAS 标准的变化形式 DAS28 对于肿胀及脆弱关节使用 28 个关节计数。应答定义为相对于基线的显著变化与所

获得的疾病活性水平的组合。良好应答定义为 DAS 显著降低 (> 1.2) 及低水平疾病活性 (小于或等于 2.4)。无应答定义为降低小于或等于 0.6, 或在获得 DAS > 3.7 的情况下 DAS 降低大于 0.6 及小于或等于 1.2。任意其它评分均被视为适度应答。

[0160] DAS 为基于 Ritchie 关节指标、44 个肿胀关节计数、ESR 及对 VAS 的整体健康评估的评分。范围从 1 至 9 变化。DAS 及 DAS28 的连续测量值为身体障碍及放射照相进展的强有力预测, 两种指标均为具有高和低疾病活性的患者之间及活性和安慰剂治疗的患者组之间的灵敏鉴别器。

[0161] FACIT-F(慢性疾病疗法的功能评估-疲劳)为设计为确定患者的疲劳-慢性疾病中的相关因素的评估的有效调查问卷(参见 Cella 及 Webster(1997) Oncology(Huntingt). 11:232 及 Lai 等人(2003) Qual Life Res. 12(5):485)。

[0162] 健康评估调查问卷(HAQ)为设计用来评估患者进行日常活动的能力的有效调查问卷, 尤其在成人关节炎患者中。手段由 HAQ 障碍指标(20 项)、疼痛等级(1 项)及测量障碍/身体机能及生活质量的全身健康状况(1 项)组成(Fries 等人(1982) J Rheumatol. 9(5):789)。

[0163] 肿胀及脆弱关节(SJC 及 TJC)是 RA 的最具特征性的特征, 疾病严重性直接与肿胀及脆弱关节的数量相关。计数肿胀和脆弱关节是临床评估 RA 的关键部分。

[0164] PsA 及牛皮癣的改善也可使用 PASI 应答、DLQI 和 BSA 评分测定。DLQI(皮肤病学生活质量指数)为广泛用于包括 PsA 及牛皮癣的多种皮肤疾病的与健康相关的生活质量测量值。体表面积(BSA)评分提供基于身高及体重并以 m^2 表示的表面积测量值。PASI(牛皮癣面积及严重度指数)为对于特定患者而言红斑、硬化、脱皮及受牛皮癣影响的体表面积的复合测量值。针对头、躯干、上肢及下肢侵犯评估患者。评分范围为 0(无缺陷)至 72(最严重)。

[0165] 治疗中 PsA 的改善也可使用 PsARC(牛皮癣性关节炎反应标准)测量值, 其提供脆弱及肿胀关节评分变化的临床测量值以及疾病活性的一系列全面评估。

[0166] AS 的改善可通过使用任意数量的手段评估各种 AS 症状来测量。一些常用等级包括强直性脊柱炎(ASAS)、Bath 强直性脊柱炎病情活动指标(BASDAD(Garrett 等人(1994) J Rheumatol 21:2286)、Bath 强直性脊柱炎度量指标(BASMI)(Jenkinson 等人(1994) J Rheumatol 21:1694)及 Bath 强直性脊柱炎功能指标(BASFI)(Calin 等人(1994) J Rheumatol 21:2281)中的评估。这些指标可用以随时间监测患者并测定改善。用于评估 AS 的改善的其他描述测量描述于美国申请第 10/622932 号, 引入本文作为参考。

[0167] IV. 药物组合物及药物给药

[0168] A. 组合物及给药

[0169] 用于本发明的方法中的抗体、抗体部分及其它 $TNF\alpha$ 抑制剂可引入适于施用于患有腐蚀性多关节炎的受试者的药物组合物中。通常, 该药物组合物包含本发明的抗体、抗体部分或其它 $TNF\alpha$ 抑制剂及药学上可接受的载体。本文使用的“药学上可接受的载体”包括生理上相容的任意及所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂及抗真菌剂、等渗剂及吸收延迟剂及其类似物。药学上可接受的载体的实例包括水、盐水、磷酸盐缓冲液、右旋糖、甘油、乙醇等的一种或多种及其组合。在许多情况中, 优选地组合物中包括等渗剂, 例如糖、例如甘露醇、山梨糖醇的多元醇或氯化钠。药学上可接受的载体可进一步包括少量辅助物质, 例

如湿润剂或乳化剂、防腐剂或缓冲剂,其增加抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂的保存期或有效性。

[0170] 用于本发明的方法中的组合物可以以多种形式存在。这些形式包括(例如)液体、半固体及固体药剂形式,例如液体溶液(例如可注射及可输注溶液)、分散液或悬浮液、锭剂、丸剂、粉剂、脂质体和栓剂。优选的形式取决于预期的给药方式及治疗应用。通常,优选的组合物为可注射或可输注溶液形式,例如类似于以其它抗体或其它 TNF α 抑制剂用于人类的被动免疫的那些组合物的组合物。优选的给药方式为非肠胃(例如静脉内、皮下、腹膜内、肌肉内)方式。在一个实施方案中,抗体或其它 TNF α 抑制剂由静脉内输注或注射施用。在另一实施方案中,抗体或其它 TNF α 抑制剂由肌肉内或皮下注射施用。

[0171] 治疗组合物在制造及储存条件下通常必须为无菌且稳定的。可将该组合物配制为溶液、微乳液、分散液、脂质体或适于高药物浓度的其它有序结构。无菌可注射溶液可通过采用以上列举的成份的一种或组合将活性化合物(即抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂)以所需要的量引入适当溶剂中并根据需要随后过滤灭菌而制备。一般而言,分散液通过将活性化合物引入含有碱性分散介质及来自以上列举的那些成份的所需其它成份的无菌载体中而制备。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉剂的情况中,优选的制备方法为真空干燥及冷冻干燥,其产生活性成份加上来自其预先无菌过滤的溶液的任意其他所需成份的粉剂。溶液的适当流动性可(例如)通过使用例如卵磷脂的包衣,由在分散液情况中保持所需粒径及由使用界面活性剂而得以保持。可注射组合物的延迟吸收可通过将例如硬脂酸盐及明胶的延迟吸收剂包含于组合物中而获得。

[0172] 补充的活性化合物也可以引入组合物中。在某些实施方案中,用于本发明的方法中的抗体或抗体部分与一种或多种包括腐蚀性多关节炎抑制剂或拮抗剂的其他治疗剂共配制和/或共施用。例如,本发明的抗 hTNF α 抗体或抗体部分可与一种或多种结合与腐蚀性多关节炎相关的其它靶标的其他抗体(例如结合其它细胞因子或结合细胞表面分子的抗体)、一种或多种细胞因子、可溶性 TNF α 受体(参见例如 PCT 公开第 WO 94/06476 号)和/或一种或多种抑制 hTNF α 产生或活性的化学药剂(例如如 PCT 公开第 WO 93/19751 号中所述的环己烷-亚基衍生物)或其任意组合共配制和/或共施用。此外,本发明的一种或多种抗体可与两种或两种以上上述治疗剂组合使用。这些组合疗法可有利地利用以更低剂量施用的治疗剂,因此避免由于与各种单一疗法相关的患者可能出现的副作用、并发症或低水平应答。

[0173] 在一个实施方案中,本发明包括包含有效量的 TNF α 抑制剂及药学上可接受的载体的药物组合物,其中该有效量的 TNF α 抑制剂可有效地治疗腐蚀性多关节炎。在一个实施方案中,将用于本发明的方法中的抗体或抗体部分掺入药物制剂中,如 PCT/IB03/04502 及美国申请第 10/222140 号中所述,引入本文作为参考。该制剂包括浓度为 50mg/ml 的抗体 D2E7,其中一个预先填充的注射器含有 40mg 的抗体用于皮下注射。在另一实施方案中,本发明的制剂包括 D2E7。

[0174] 尽管对于许多治疗应用而言优选的给药途径/方式为皮下注射,但是本发明的抗体、抗体部分及其它 TNF α 抑制剂可通过本领域中已知的多种方法施用。在另一实施方案中,给药通过静脉内注射或输注进行。如熟练技术人员所了解的,给药途径和/或方式可根据所需结果而改变。在某些实施方案中,活性化合物可用保护化合物不会快速释放的载体

制备,例如控释制剂,包括植入物、透皮贴剂和微胶囊递送系统。可使用生物可降解、生物相容的聚合物,例如乙烯醋酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。制备这些制剂的许多方法已申请专利或通常为熟练技术人员所知。参见例如 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, Robinson 编, Dekker, Inc., New York, 1978。

[0175] TNF α 抗体也可以蛋白质晶体制剂形式施用,包括包裹于聚合载体内以形成包衣颗粒的蛋白质晶体的组合。蛋白质晶体制剂的包衣颗粒可为球形,且为直径高达 500 微米的微球体或其可具有一些其它形态且为微粒。蛋白质晶体的增加的浓度使得本发明的抗体可以皮下方式递送。在一个实施方案中,本发明的 TNF α 抗体通过蛋白质递送系统递送,其中将一种或多种蛋白质晶体制剂或组合物施用于患有与 TNF α 相关的病症的受试者。组合物及制备全部抗体晶体或抗体片段晶体的稳定制剂的方法也描述于 WO 02/072636 中,引入本文作为参考。在一个实施方案中,描述于 PCT/IB03/04502 及美国申请第 10/222140 号中的包含晶体化抗体片段的制剂用来使用本发明的治疗方法治疗腐蚀性多关节炎。

[0176] 在某些实施方案中,本发明的抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂可口服给药,例如与惰性稀释剂或可吸收可食用的载体一起给药。该化合物(和,如果需要,其它成份)也可装入硬壳或软壳明胶胶囊中压缩成片剂,或直接掺入患者的饮食中。对于口服治疗给药而言,可将化合物与赋形剂一起掺入且可以可摄取片剂、口腔片剂、锭剂、胶囊、酏剂、悬浮液、糖浆、糯米纸囊剂等形式使用。为通过除非肠胃给药之外的形式施用本发明的化合物,必需以防止其失活的物质涂覆化合物或与化合物共施用。

[0177] 本发明的药物组合物可包括“治疗有效量”或“预防有效量”的本发明的抗体或抗体部分。“治疗有效量”是指在剂量上及对于所需要的时间而言对获得所需治疗结果有效的量。抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂的治疗有效量可根据例如个体的疾病状态、年龄、性别及体重及抗体、抗体部分、其它 TNF α 抑制剂在个体内引起所需应答的能力等因素而变化。治疗有效量也为其中治疗有益效果超过抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂的任意有毒或有害效果的量。“预防有效量”是指在剂量上及对于所需要的时间而言对获得所需预防结果有效的量。通常,由于预防剂量在疾病的较早期阶段之前或在疾病的较早期阶段时用于受试者,因此预防有效量比治疗有效量要小。

[0178] 可调节给药方案以提供最适宜的所需应答(例如治疗或预防应答)。例如,可施用单个大丸剂,可随时间以几个分开的剂量施用或在显示紧急治疗状况时可成比例地减少或增加剂量。尤其有利的是配制易于施用且剂量均一的剂量单位形式的非肠胃组合物。本文使用的剂量单位形式是指适用于待治疗的哺乳动物受试者的单位剂量的实体离散单位;各单位含有计算为与所需药物载体产生所需治疗效果的预定量的活性化合物。本发明的剂量单位形式的规格由以下规定并且直接取决于:(a) 活性化合物的独特特征及待获得的特定治疗或预防效果,及(b) 在配制该活性化合物用于治疗个体的敏感性的技术中的固有限制。

[0179] 在一个实施方案中,本发明提供一种治疗腐蚀性多关节炎的单剂量方法,其包括向需要治疗的受试者施用单剂量的例如人类抗体的 TNF α 抑制剂。在一个实施方案中,该 TNF α 抑制剂为抗 TNF α 抗体阿达木单抗。该 TNF α 抑制剂的单剂量可为任意治疗或预防有效量。在一个实施方案中,将 20mg、40mg 或 80mg 单剂量的阿达木单抗(也称作 D2E7)施用于受试者。单剂量可通过包括(例如)皮下给药的任意途径施用。两周一次给药方案可

用于治疗腐蚀性多关节炎,进一步描述于美国申请第 10/163657 号中。治疗或预防的多可变量剂量方法也可用于治疗腐蚀性多关节炎,进一步描述于 PCT 申请第 PCT/US05/012007 号中。

[0180] 应当注意,剂量值可随待减轻的疾病类型及严重性而变化。进一步应当理解,对于任意特定受试者而言,应根据个体需要及施用或监督组合物施用者的专业判断随时间调整特定给药方案,本文中所提出的剂量范围仅为示例性的,并不意在限制所要求保护的组合物的范围或实施。也应当注意到,本发明关于治疗腐蚀性多关节炎的方法,包括疾病的急性处理及慢性处理。

[0181] 本发明也涉及用于施用本发明的抗 TNF 抗体以治疗腐蚀性多关节炎的包装的药物组合物或试剂盒。在本发明的一个实施方案中,该试剂盒包含例如抗体的 TNF α 抑制剂、包含其他治疗剂的第二药物组合物及用于给药以治疗腐蚀性多关节炎的说明。这些说明可描述如何(例如经皮下)及何时(例如在第 0 周及第 2 周)将不同剂量的 TNF α 抑制剂和/或其他治疗剂施用于受试者进行治疗。

[0182] 本发明的另一方面涉及含有包含抗 TNF α 抗体及药学上可接受的载体的药物组合物及各自包含适用于治疗腐蚀性多关节炎的药物及药学上可接受的载体的一种或多种药物组合物的试剂盒。或者,该试剂盒包含含有抗 TNF α 抗体、一种或多种适用于治疗腐蚀性多关节炎的药物及药学上可接受的载体的单一药物组合物。该试剂盒含有用于药物组合物给药以治疗腐蚀性多关节炎的说明。

[0183] 该包装或试剂盒可含有 TNF α 抑制剂,并且可将其促进以(在包装内或通过所附说明)使用或治疗本文中所所述的病症。包装药物或试剂盒另外可包括与使用第二药剂(如本文中所所述)以及第一药剂(如本文中所所述)的说明一同包装或共促进的第二药剂。

[0184] B. 其他治疗剂

[0185] 本发明也描述治疗腐蚀性多关节炎的方法,包括将 TNF α 抑制剂与其他治疗剂联合施用。本发明也涉及药物组合物及使用它与其他治疗剂联合治疗腐蚀性多关节炎的方法。该药物组合物包含治疗腐蚀性多关节炎的第一药剂。该药物组合物也可包含为活性医药成份的第二药剂;换言之,该第二药剂为治疗性的且其功能为非惰性成份,所述惰性成分例如为药物载体、防腐剂、稀释剂或缓冲剂。在一个实施方案中,该第二药剂可适用于治疗或预防腐蚀性多关节炎。在另一实施方案中,该第二药剂可减少或治疗至少一种与例如牛皮癣性关节炎的与腐蚀性多关节炎相关的病症相关的症状。在另一实施方案中,该其他药剂适用于治疗腐蚀性多关节炎和其他病症。第一及第二药剂可由类似或无关的作用机制发挥其生物效应;或第一与第二药剂的任一或两者可由多重作用机制发挥其生物效应。药物组合物也可包含第三化合物或甚至更多化合物,其中该第三(及第四,等)化合物具有与第二药剂相同的特征。

[0186] 应当了解,对于各个所述实施方案而言,本文中所所述的药物组合物含有在相同药学上可接受的载体中或不同药学上可接受的载体中的第一及第二药剂、第三或其他药剂。进一步应当了解,在所述实施方案中,第一药剂、第二药剂、第三药剂及其他药剂可同时或相继施用。或者,第一及第二药剂可同时施用,且第三或其他药剂可在前面两种药剂之前或之后施用。

[0187] 本文中所所述的方法及药物组合物中所使用的药剂的联合可对所治疗的病症或疾

病具有其他或协同治疗效果。本文中所述的方法或药物组合物中所使用的药剂的联合也可减少当单独施用或无特定药物组合物的其它药剂时与至少一种药剂相关的有害作用。例如,一种药剂的毒性副作用可被组合物的另一药剂削弱,因此允许更高剂量、改善患者顺应性及改善治疗结果。组合物的附加或协同效应、益处及优点应用于治疗剂的种类(结构或功能类别)或个别化合物本身。

[0188] 补充的活性化合物也可掺入组合物中。在某些实施方案中,本发明的抗体或抗体部分与一种或多种适用于治疗腐蚀性多关节炎的其他治疗剂共配制和/或共施用。例如,本发明的抗 hTNF α 抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂可与一种或多种结合其它靶标的其他抗体(例如结合其它细胞因子或结合细胞表面分子的抗体)、一种或多种细胞因子、可溶性 TNF α 受体(参见例如 PCT 公开第 WO 94/06476 号)和/或一种或多种抑制 hTNF α 产生或活性的化学药剂(例如如 PCT 公开第 W093/19751 号中所述的环己烷-亚基衍生物)共配制和/或共施用。此外,一种或多种本发明的抗体或其它 TNF α 抑制剂可与两种或两种以上的上述治疗剂组合使用。这些组合疗法有利地可利用更低剂量的施用的治疗剂,从而避免与各种单一疗法相关的可能的毒性或并发症。

[0189] 本文中所述的 TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分可与其他治疗剂联合使用,用于治疗腐蚀性多关节炎。优选地,其它药物为缓解疾病的抗类风湿药物(DMARD)或非甾体抗炎药(NSAID)或类固醇或其任意联合。DMARD 的优选实例为羟氯喹、来氟米特、氨甲喋呤、非肠胃金、口服金和柳氮磺吡啶。

[0190] 也可与 TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分联合使用治疗腐蚀性多关节炎的非限制性的其他药剂包括但不限于以下药剂:非甾体抗炎药(NSAID);细胞因子抑制抗炎症药物(CSAID);CDP-571/BAY-10-3356(人源化抗 TNF α 抗体;Celltech/Bayer);cA2/英利昔单抗(嵌合抗 TNF α 抗体;Centocor);75 kDTNFR-IgG/依那西普(75 kD TNF 受体-IgG 融合蛋白;Immunex;参见例如 Arthritis&Rheumatism(1994)Vol. 37, S295;J. Invest. Med. (1996)Vol. 44, 235A);55 kDTNF-IgG(55 kD TNF 受体-IgG 融合蛋白;Hoffmann-LaRoche);IDEC-CE9.1/SB 210396(非消耗的灵长动物化抗 CD4 抗体;IDEC/SmithKline;参见例如 Arthritis & Rheumatism(1995)Vol. 38, S185);DAB 486-IL-2 和/或 DAB 389-IL-2(IL-2 融合蛋白;Seragen;参见例如 Arthritis & Rheumatism(1993)Vol. 36, 1223);抗 Tac(人源化抗 IL-2R α ;Protein Design Labs/Roche);IL-4(抗炎性细胞因子;DNAX/Schering);IL-10(SCH 52000;重组 IL-10, 抗炎性细胞因子;DNAX/Schering);IL-4、IL-10 和/或 IL-4 激动剂(例如激动剂抗体);IL-1RA(IL-1 受体拮抗剂;Synergen/Amgen);阿那白滞素(Kineret[®]/Amgen);TNF-bp/s-TNF(可溶性 TNF 结合蛋白;参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996)Vol. 39, No. 9(增刊), S284; Amer. J. Physiol.-Heart and Circulatory Physiology(1995)第 268 卷,第 37-42 页);R973401(IV 型磷酸二酯酶抑制剂;参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996)Vol. 39, No. 9(增刊), S282);MK-966(COX-2 抑制剂;参见(例如 Arthritis & Rheumatism(1996)Vol. 39, No. 9(增刊), S81);伊洛前列素(参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996)Vol. 39, No. 9(增刊), S82);氨甲喋呤;沙立度胺(thalidomide)(参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996)Vol. 39, No. 9(增刊), S282)及与沙立度胺相关的药物(例如 Celgen);来氟米特(抗炎症及细胞因子抑制剂;参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996)Vol. 39,

No. 9(增刊), S131; Inflammation Research(1996) Vol. 45, pp. 103-107); 抗凝血酸 (tranexamic acid) (血浆素原活化的抑制剂; 参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(增刊), S284); T-614(细胞因子抑制剂; 参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(增刊), S282); 前列腺素 E1(参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(增刊), S282); 替尼达普 (Tenidap) (非甾体抗炎药; 参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(增刊), S280); 萘普生 (Naproxen) (非甾体抗炎药; 参见例如 Neuro Report(1996) Vol. 7, pp. 1209-1213); 美洛昔康 (非甾体抗炎药); 布洛芬 (非甾体抗炎药); 吡罗昔康 (非甾体抗炎药); 双氯芬酸 (非甾体抗炎药); 吲哚美辛 (非甾体抗炎药); 柳氮磺吡啶 (参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(增刊), S281); 硫唑嘌呤 (参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(增刊), S281); ICE 抑制剂 (酶白介素-1 β 转化酶的抑制剂); zap-70 和 / 或 lck 抑制剂 (酪氨酸激酶 zap-70 或 lck 的抑制剂); VEGF 抑制剂和 / 或 VEGF-R 抑制剂 (血管内皮细胞生长因子或血管内皮细胞生长因子受体的抑制剂; 血管生成的抑制剂); 皮质类固醇抗炎症药物 (例如 SB203580); TNF- 转化酶抑制剂; 抗 IL-12 抗体; 抗 IL-18 抗体; 白介素-11(参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(增刊), S296); 白介素-13(参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(增刊), S308); 白介素-17 抑制剂 (参见例如 Arthritis & Rheumatism(1996) Vol. 39, No. 9(增刊), S120); 金; 青霉胺; 氯喹; 苯丁酸氮芥; 羟氯喹; 环孢菌素; 环磷酰胺; 全淋巴照射; 抗胸腺细胞球蛋白; 抗 CD4 抗体; CD5- 毒素; 口服施用的肽及胶原蛋白; 氯苯扎利二钠; 细胞因子调节剂 (CRA) HP228 及 HP466 (Houghten Pharmaceuticals, Inc.); ICAM-1 反义硫代磷酸酯寡脱氧核苷酸 (ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); 可溶性补体受体 1 (TP10; T Cell Sciences, Inc.); 泼尼松; 奥古蛋白; 聚硫酸葡萄糖胺聚糖; 米诺环素; 抗 IL2R 抗体; 海洋及植物脂质 (鱼及植物种子脂肪酸; 参见例如 DeLuca 等人 (1995) Rheum. Dis. Clin. North Am. 21:759-777); 金诺芬; 苯基丁氮酮; 甲氯芬那酸; 氟芬那酸; 静脉内免疫球蛋白; 齐留通; 阿扎立平; 霉酚酸 (RS-61443); 他克莫司 (FK-506); 西罗莫司 (雷帕霉素); 氨普立糖 (therafectin); 克拉屈滨 (2- 氯脱氧腺苷); 氨甲喋呤; 抗病毒药; 免疫调节剂。任意以上提及的药剂均可与 TNF α 抑制剂包括 TNF α 抗体联合施用以治疗腐蚀性多关节炎或抑制关节疾病的放射照相进展。

[0191] 在一个实施方案中, 将 TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分与以下的药剂之一联合施用以治疗类风湿性关节炎: KDR 的小分子抑制剂 (ABT-123)、Tie-2 的小分子抑制剂; 氨甲喋呤; 泼尼松; 赛来昔布; 叶酸; 硫酸羟化氯喹; 罗非昔布; 依那西普; 英利昔单抗; 来氟米特; 萘普生; 伐地考昔; 柳氮磺吡啶; 甲泼尼龙; 布洛芬; 美罗昔康; 醋酸甲泼尼龙; 硫代苹果酸金钠; 阿司匹林; 硫唑嘌呤; 曲安奈德; 萘磺酸右丙氧芬 (propoxyphene napsylate)/apap; 叶酸盐 (或酯); 萘丁美酮; 双氯芬酸; 吡罗昔康; 依托度酸; 双氯芬酸钠; 奥沙普秦; 盐酸羟考酮; 二酒石酸氢可酮/apap; 双氯芬酸钠 / 米索前列醇; 芬太尼; 阿那白滞素, 人类重组; 盐酸曲马多; 双水杨酸酯; 舒林酸; 氰基钴胺素 /fa/ 吡哆醇; 乙酰胺苯酚; 阿仑膦酸钠; 泼尼龙; 硫酸吗啡碱; 盐酸利多卡因; 吲哚美辛; 硫酸葡萄糖胺 / 软骨素; 环孢菌素; 盐酸阿密曲替林; 磺胺嘧啶; 盐酸羟考酮 / 乙酰胺苯酚; 盐酸奥洛他定; 米索前列醇; 萘普生钠; 奥美拉唑; 霉酚酸酯; 环磷酰胺; 利妥昔单抗; IL-1 TRAP; MRA; CTLA4-IG;

IL-18 BP ;ABT-874 ;ABT-325 (抗 IL18) ;抗 IL 15 ;BIRB-796 ;SCIO-469 ;VX-702 ;AMG-548 ;VX-740 ;罗氟司特 ;IC-485 ;CDC-801 ;及 mesopram。在另一实施方案中,本发明的 TNF α 抗体与以上提到的用于治疗类风湿性关节炎的药剂之一联合施用,治疗与 TNF α 相关的病症。

[0192] 在一个实施方案中, TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分与用于治疗克罗恩病或与克罗恩病相关的病症的药物联合使用。可用于治疗克罗恩病的治疗剂的实例包括美沙拉秦、泼尼松、硫唑嘌呤、巯嘌呤、英利昔单抗、布地奈德、柳氮磺吡啶、甲泼尼龙二酸钠、地芬诺酯 / 硫酸阿托品、盐酸咯哌丁胺、氨甲喋呤、奥美拉唑、叶酸盐 (或酯)、环丙沙星 / 右旋糖 - 水、二酒石酸氢可酮 / apap、盐酸四环素、氟轻松、甲硝唑、硫柳汞 / 硼酸、考来烯胺 / 蔗糖、盐酸环丙沙星、硫酸茛菪碱、盐酸哌替啶、盐酸咪达唑、盐酸羟考酮 / 乙酰胺苯酚、盐酸异丙嗪、磷酸钠、磺胺甲噁唑 / 甲氧苄啶、赛来昔布、聚卡波非、萘磺酸丙氧芬、氢化可的松、多种维生素剂、巴柳氮二钠、磷酸可待因 / apap、盐酸考来维仑、氰基钴胺素、叶酸、左氧氟沙星、甲泼尼龙、那他珠单抗和干扰素 - γ 。

[0193] 在一个实施方案中, TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分与通常用于治疗脊椎关节病的药剂例如 AS 联合施用。这些药剂的实例包括非甾体抗炎药 (NSAID)、包括 Celebrex[®]、Vioxx[®] 及 Bextra[®] 的 COX 2 抑制剂和埃托考昔。物理疗法也常用于治疗脊椎关节病,通常与非甾体抗炎药联合进行治疗。

[0194] 在一个实施方案中, TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分与其他治疗剂联合施用以治疗强直性脊柱炎。可用于减轻或抑制强直性脊柱炎的症状的药剂的实例包括布洛芬、双氯芬酸及米索前列醇、萘普生、美罗昔康、吲哚美辛、双氯芬酸、赛来昔布、罗非昔布、柳氮磺吡啶、泼尼松、氨甲喋呤、硫唑嘌呤、米诺环素、泼尼松、依那西普及英利昔单抗。

[0195] 在一个实施方案中, TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分与其他治疗剂联合施用以治疗牛皮癣性关节炎。可用于减轻或抑制牛皮癣性关节炎的症状的药剂的实例包括氨甲喋呤;依那西普;罗非昔布;赛来昔布;叶酸;柳氮磺吡啶;萘普生;来氟米特;醋酸甲泼尼龙;吲哚美辛;硫酸羟化氯喹;舒林酸;泼尼松;强化倍他米松二丙酸酯;英利昔单抗;氨甲喋呤;叶酸盐;曲安奈德;双氯芬酸;二甲亚砷;吡罗昔康;双氯芬酸钠;酮洛芬;美洛昔康;泼尼松;甲泼尼龙;萘丁美酮;托美丁钠;卡泊三烯;环孢菌素;双氯芬酸;钠 / 米索前列醇;氟轻松;硫酸葡萄糖胺;硫代苹果酸金钠;氢可酮;酒石酸氢盐 / apap;布洛芬;利塞膦酸钠;磺胺嘧啶;硫鸟嘌呤;伐地考昔;阿来法塞及依法珠单抗 (efalizumab)。

[0196] 在一个实施方案中, TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分与局部皮质类固醇、维生素 D 类似物及局部或口服类视色素或其组合联合施用以治疗牛皮癣。此外,本发明的 TNF α 抗体与以下药剂之一联合施用以治疗牛皮癣:KDR 的小分子抑制剂 (ABT-123)、Tie-2 的小分子抑制剂、卡泊三烯、氯倍他索丙酸酯、曲安奈德、卤倍他索丙酸酯、他扎罗汀、氨甲喋呤、氟轻松、强化倍他米松二丙酸酯、氟轻松、丙酮化物、阿曲汀 (acitretin)、焦油香波 (tar shampoo)、戊酸倍他米松、莫米松糠酸酯、酮康唑、普莫卡因 / 氟轻松、戊酸氢化可的松、丙酮缩氟氢羟龙、尿素、倍他米松、氯倍他索丙酸酯 / emol1、氟替卡松丙酸酯、阿奇霉素、氢化可的松、增湿分子、叶酸、地奈德、煤焦油、双醋二氟拉松、依那西普、叶酸盐、乳酸、甲氧沙林、hc/bismuthsubgal/znox/resor、醋酸甲泼尼龙、泼尼松、防

晒剂、水杨酸、氯氟舒松、地蒎酚、新戊酸氯可托龙、煤提取物、煤焦油 / 水杨酸、煤焦油 / 水杨酸 / 硫、去羟米松、地西洋、润肤剂、吡美莫司润肤剂、氟轻松 / 润肤剂、矿物油 / 蓖麻油 / 乳酸钠、矿物油 / 花生油、石油 / 十四烷酸异丙酯、补骨脂素、水杨酸、脂肪酸盐 / 三溴沙仑、硫柳汞 / 硼酸、赛来昔布、英利昔单抗、阿来法塞、依法珠单抗、他克莫司、吡美莫司、PUVA、UVB 和柳氮磺吡啶。

[0197] 抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂,例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分,可与其它药剂联合使用以治疗皮肤病症。例如,本发明的抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂与 PUVA 疗法组合。PUVA 是补骨脂素 (P) 与用于治疗许多不同皮肤病症的长波紫外辐射 (UVA) 的组合。本发明的抗体、抗体部分或其它 TNF α 抑制剂也可与吡美莫司组合。在另一实施方案中,本发明的抗体用于治疗牛皮癣,其中这些抗体与他克莫司组合施用。在另一实施方案中,他克莫司及 TNF α 抑制剂与氨甲喋呤和 / 或环孢菌素组合施用。在另一实施方案中,本发明的 TNF α 抑制剂以准分子激光疗法施用于治疗牛皮癣。

[0198] 可与 TNF α 抑制剂例如 TNF α 抗体或其抗原结合部分组合治疗皮肤或指甲病症的其它治疗剂的非限制性实例包括 UVA 及 UVB 光疗法。可与 TNF α 抑制剂组合使用的其它非限制性实例包括抗 IL-12 和抗 IL-18 治疗剂,包括抗体。

[0199] 可将任一以上提到的治疗剂 (单独或与其组合) 与包括 TNF α 抗体或其抗原结合部分的 TNF α 抑制剂组合施用于患有腐蚀性多关节炎的受试者。TNF α 抗体或其抗原结合部分可与已知对患有腐蚀性多关节炎的受试者的急性治疗有效的其他治疗剂组合使用。TNF α 抗体或其抗原结合部分也可与已知对患有腐蚀性多关节炎的受试者的治疗有效的其他治疗剂组合使用。

[0200] 本发明由以下实施例进一步说明,这些实施例不应视为限制性的。贯穿本申请中所引用的所有参考文献、专利和公开的专利申请的内容均引入本文作为参考。

[0201] 实施例

[0202] 使用 TNF 抑制剂治疗牛皮癣性关节炎患者中的腐蚀性多关节炎

[0203] 相当大比例的牛皮癣性关节炎 (PsA) 患者中发生腐蚀性多关节炎。通常,非生物 DMARD 并未显示对该疾病中关节损伤的放射照相进展具有有效抑制作用。

[0204] 进行以下研究来评估 TNF 抑制剂,更具体而言,抗 TNF 抗体阿达木单抗治疗腐蚀性多关节炎的功效。进行该研究来评估阿达木单抗在抑制中度至严重 PsA 患者中与腐蚀性多关节炎相关的关节疾病的放射线进展方面是否有效。

[0205] 对应用 NSAID 疗法失败的中度至严重活性 PsA (≥ 3 个肿胀关节及 ≥ 3 个脆弱关节) 成年患者进行 24 周双盲随机安慰剂控制试验。根据氨甲喋呤 (MTX) 使用 (是 / 否) 及牛皮癣程度 ($< 3\%$ 或 $\geq 3\%$ 体表面积 [BSA]) 将患者分级。除具有 ≥ 3 个肿胀关节及 ≥ 3 个脆弱关节之外,纳入标准包括对 NSAID 疗法不充分应答、牛皮癣病史及年龄 ≥ 18 岁。排除标准包括以下标准:预先抗 TNF 疗法、研究开始前 12 周内以阿来法塞治疗、研究开始前 6 周内以其它生物制剂治疗、研究开始前 4 周内对牛皮癣进行全身治疗及研究开始前 2 周内进行光疗法及局部疗法。

[0206] 患者每隔一周 (eow) 随机皮下接受阿达木单抗 40mg 或安慰剂共 24 周。完成 24 周试验的患者有资格参加标签公开延长 (OLE) 研究,其中所有患者均每隔一周接受阿达木单抗。采用标签公开治疗 12 周之后,未满足预先规定的标准的患者每周接受 40mg。

[0207] 在盲试部分（第 0 及 24 周）和标签公开部分（第 48 周）期间进行放射照相评估。手和足的放射线照片利用改良总 Sharp 评分（mTSS）评估，其中加入 PsA 中通常所涉及的其他关节以更好地量化 PsA 中发生的显著骨质溶解，数值范围得以扩大。通过将关节间隙狭窄评分（0-192）和腐蚀评分（0-378）组合确定 mTSS，如图 1a 所示。还评估与 PsA 相关的临床结果例如铅笔帽变化。用于该研究的 mTSS 图以及与 PsA 相关的放射线照相结果分别显示于图 1a 及 1b 中。

[0208] 放射线照片读取程序包括以下内容。所有胶片均由不知道治疗及胶片次序的两位独立读取者读取。读取号 1 为基线及第 24 周胶片的评估。读取号 2 为基线、第 24 周及第 48 周胶片的评估。

[0209] 利用几个灵敏度分析来评估缺失放射线照片的影响（归因于零改变、最差级变化、基于具有类似基线评分的患者的 50/75 百分数变化以及当可得到多张放射线照片时的线性外推）。

[0210] 第 24 周分析包括以下内容：第 24 周分析中包含所需要的基线与第 24 周胶片，其中可评估至少 50% 的关节。第 48 周分析包括以下内容：来自第 24 周分析的所有患者均进行第 48 周分析。若不可获得第 48 周胶片（或可评估小于 50% 的关节），则进行以下原因分析：若安慰剂初始随机化则归因于 0 改变；且若阿达木单抗初始随机化则使用开始两张胶片进行线性外推。

[0211] 基线人口统计及疾病严重程度特征与中度至严重 PsA 一致，并且在治疗组之间良好匹配（阿达木单抗 N = 151，安慰剂 N = 162；平均值 ± SD）：年龄 49.0 ± 11.8 岁；PsA 持续时间 9.5 ± 8.5 年；SJC(76) 14 ± 12；TJC(78) 25 ± 18；HAQ 1.0 ± 0.6；mTSS 20.8 ± 40.9；51% 同时服用氨甲喋呤。总计，296 名患者在基线及第 24 周照射 X 射线，265 名患者也在第 48 周照射 X 射线。

[0212] 如以前研究中所报道的，以阿达木单抗治疗的患者在第 24 周的 ACR20、ACR50 及 ACR70 应答和 PASI50、PASI75 及 PASI90 应答显著优于安慰剂组。在第 24 周的 ACR 及 PASI 应答显示于以下表 1 及 2 中（所有结果均 $p \leq 0.001$ ，安慰剂对阿达木单抗）：

[0213] 表 1：ACR 反应：患者 %

[0214]

	ACR20	ACR50	ACR70
安慰剂 (N = 162)	15	6	1
阿达木单抗 (N = 151)	57	39	23

[0215] 表 2：PASI 反应：患者 %

[0216]

	PASI50	PASI75	PASI90
安慰剂 (N = 69)	12	1	0
阿达木单抗 (N = 69)	75	59	42

[0217] 在盲试研究阶段（24 周），阿达木单抗治疗的患者 mTSS 进展显著低于安慰剂处理患者的 mTSS 进展（mTSS 平均改变为 -0.2 对 1.0， $p < 0.001$ ，秩 ANCOVA）。在所有灵敏度

分析中均保持统计学显著性。图 2 显示 mTSS 评分的分布,表明与安慰剂治疗的患者相比,在 24 周治疗过程中更少的以阿达木单抗治疗的患者结构损伤增加。根据在第 24 周所看到的平均评分及研究过程中 Sharp 评分增加的患者数量及百分数观察分布差异(参见表 3)。在起初 24 周治疗过程中,mTSS 增加(大于 0.5 单位)的患者中安慰剂治疗的患者为阿达木单抗治疗的患者的大约 3 倍。

[0218] 表 3:第 24 周时改良总 Sharp 评分的变化*

[0219]

	安慰剂 N = 152 n(%)	阿达木单抗 N = 144 n(%)
Sharp 评分降低	8(5.3%)	27(18.8%)
Sharp 评分不变	100(65.8%)	104(72.2%)
Sharp 评分增加	44(28.9%)	13(9.0%)

[0220] $p \leq 0.001$,使用 CMH 检验,安慰剂对阿达木单抗

[0221] *变化定义为 mTSS 评分大于 0.5 单位

[0222] 在以阿达木单抗与安慰剂治疗的受试者之间,腐蚀评分与关节狭窄评分($p \leq 0.001$,使用秩 ANACOVA)均观察到统计显著差异。在第 24 周,腐蚀评分的变化(相对于基线变化)对于安慰剂患者而言为 0.6,对于阿达木单抗患者而言为 0.0($p < 0.001$,秩 ANCOVA),关节间隙狭窄评分的变化(相对于基线变化)对于安慰剂患者而言为 0.4,对于阿达木单抗患者而言为 -0.2($p < 0.001$,秩 ANCOVA)。

[0223] 进行说明缺失的患者胶片的灵敏度分析,所有分析的结果均保持统计学显著性。排除足和 DIP 的事后灵敏度分析如下:排除足和 DIP 进行一种分析,并排除所有 DIP 关节进行第二分析。在两种分析中均保持统计学显著性。

[0224] 在用阿达木单抗和安慰剂治疗的受试者之间不论是否使用伴随的 MTX 均观察到统计学显著性差异。对于服用伴随的 MTX 的患者而言,平均差异略高。采用单一疗法的患者显示对于阿达木单抗($n = 68$)相对于基线变化为 -0.1,对于安慰剂($n = 74$)相对于基线变化为 0.9($p \leq 0.001$,使用秩 ANACOVA)。采用伴随的 MTX 的患者显示对于阿达木单抗($n = 76$)相对于基线变化为 -0.3,对于安慰剂($n = 78$)相对于基线变化为 1.2($p \leq 0.001$,使用秩 ANACOVA)。图 3a 及 3b 显示采用及不采用 MTX 的受试者的 mTSS 的累积分布函数图。

[0225] 48 周放射线照片分析说明在阿达木单抗患者中在第 24 周观察到的未进展(mTSS 不变)保持到第 48 周(参见图 4)。用安慰剂治疗 24 周的患者在标签公开期间并未有疾病的放射线进展。没有治疗组证明与 PsA 相关的特征显著进展。与 PsA 相关的结果的分布情况显示于表 4 中。在基线处各组之间未发现显著差异,在 24 周研究期间在任一组中未发现显著进展。

[0226] 表 4:与 PsA 相关的结果的分布情况

[0227]

	全部患者(N = 313)n(%)
--	-------------------

关节间隙变宽	38(12.1%)
全部骨质溶解	60(19.2%)
不全脱位	49(15.7%)
铅笔帽	9(2.9%)
近关节骨膜炎	247(78.9%)
骨干骨膜炎	140(44.7%)
指骨丛再吸收	224(71.6%)

[0228] 此外,如以前所报道的,阿达木单抗通常具有良好的耐受性。

[0229] 在 24 周阶段期间阿达木单抗抑制放射线疾病进展比安慰剂更有效。在服用伴随的氨甲喋呤的患者中与服用阿达木单抗作为单一疗法的那些患者中,阿达木单抗显示出相对于安慰剂的差异。在用阿达木单抗治疗的患者中在 24 周所观察到的结构损伤进展的抑制作用保持 1 年。总之,该研究证明阿达木单抗在也患有中度至严重活性 PsA 的患者中有效治疗腐蚀性多关节炎及放射照片疾病进展超过 1 年。

[0230] 等同方案

[0231] 熟练技术人员应当认识到或仅仅使用常规试验就能确定本文所述的本发明的特定实施方案的许多等同方案。这些等同方案包括于以下的权利要求书范围中。贯穿本申请中所引用的所有参考文献、专利及公开的专利申请的内容均引入本文作为参考。

[0232] 评分评分评分评分评分评分

序列表

<120>TNF α 抑制剂治疗腐蚀性多关节炎的用途

<130>BBI-224CPPC

<160>37

<170>FastSEQ for Windows Version 4.0

<210>1

<211>107

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 轻链可变区

<400>1

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

<210>2

<211>121

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 重链可变区

<400>2

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

<210>3

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 轻链可变区 CDR3

<221> 变体

<222>)9

<223>Xaa =任意氨基酸

<400>3

Gln	Arg	Tyr	Asn	Arg	Ala	Pro	Tyr	Xaa
1				5				

<210>4

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 重链可变区 CDR3

<221> 变体

<222>12

<223>Xaa =任意氨基酸

<400>4

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Xaa

1

5

10

<210>5

<211>7

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 轻链可变区 CDR2

<400>5

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1

5

<210>6

<211>17

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 重链可变区 CDR2

<400>6

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu

1

5

10

15

Gly

<210>7

<211>11

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 轻链可变区 CDR1

<400>7

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1

5

10

<210>8

<211>5

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 重链可变区 CDR1

<400>8

Asp Tyr Ala Met His

1

5

<210>9

<211>107

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>2SD4 轻链可变区

<400>9

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr

20

25

30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35

40

45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60														
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	
65					70					75					80	
Glu	Asp	Val	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Lys	Tyr	Asn	Ser	Ala	Pro	Tyr	
				85					90						95	
Ala	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys						
				100					105							

<210>10

<211>121

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>2SD4 重链可变区

<400>10

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

<210>11

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>2SD4 轻链可变区 CDR3

<400>11

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Ala

1

5

<210>12

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>EPB12 轻链可变区 CDR3

<400>12

Gln Lys Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Ala

1

5

<210>13

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VL10E4 轻链可变区 CDR3

<400>13

Gln Lys Tyr Gln Arg Ala Pro Tyr Thr

1

5

<210>14

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VL100A9 轻链可变区 CDR3

<400>14

Gln Lys Tyr Ser Ser Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210>15

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VLL100D2 轻链可变区 CDR3

<400>15

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210>16

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VLL0F4 轻链可变区 CDR3

<400>16

Gln Lys Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210>17

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>L0E5 轻链可变区 CDR3

<400>17

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Tyr
1 5

<210>18

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VLLOG7 轻链可变区 CDR3

<400>18

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Asn

1

5

<210>19

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VLLOG9 轻链可变区 CDR3

<400>19

Gln Lys Tyr Thr Ser Ala Pro Tyr Thr

1

5

<210>20

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VLL0H1 轻链可变区 CDR3

<400>20

Gln Lys Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Asn

1

5

<210>21

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VLL0H10 轻链可变区 CDR3

<400>21

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Ala Tyr Ser

1

5

<210>22

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VL1B7 轻链可变区 CDR3

<400>22

Gln Gln Tyr Asn Ser Ala Pro Asp Thr

1

5

<210>23

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VL1C1 轻链可变区 CDR3

<400>23

Glu Lys Tyr Asn Ser Asp Pro Tyr Thr

1

5

<210>24

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VL0. 1F4 轻链可变区 CDR3

<400>24

Gln Lys Tyr Ile Ser Ala Pro Tyr Thr

1

5

<210>25

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VL0. 1H8 轻链可变区 CDR3

<400>25

Gln Lys Tyr Asn Arg Pro Pro Tyr Thr

1

5

<210>26

<211>9

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>LOE7. A 轻链可变区 CDR3

<400>26

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Ala

1

5

<210>27

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>2SD4 重链可变区 CDR3

<400>27

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Asn
1 5 10

<210>28

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VH1B11 重链可变区 CDR3

<400>28

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Lys
1 5 10

<210>29

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VH1D8 重链可变区 CDR3

<400>29

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Tyr
1 5 10

<210>30

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VH1A11 重链可变区 CDR3

<400>30

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Asp
1 5 10

<210>31

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VH1B12 重链可变区 CDR3

<400>31

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Phe Ser Leu Asp Tyr

1

5

10

<210>32

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VH1E4 重链可变区 CDR3

<400>32

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu His Tyr

1

5

10

<210>33

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VH1F6 重链可变区 CDR3

<400>33

Ala Ser Phe Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Glu Tyr

1

5

10

<210>34

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>3C-H2 重链可变区 CDR3

<400>34

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Glu Tyr

1

5

10

<210>35

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223>VH1-D2. N 重链可变区 CDR3

<400>35

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Asn

1

5

10

<210>36

<211>321

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 轻链可变区

<400>36

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtagggga cagagtcacc	60
atcacttgtc gggcaagtca gggcatcaga aattacttag cctggtatca gcaaaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct	180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctacagcct	240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaagg tataaccgtg caccgtatac ttttggccag	300
gggaccaagg tggaatcaa a	321

<210>37

<211>363

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223>D2E7 重链可变区

<400>37

gaggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ccggcaggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcgg	cctctggatt	cacctttgat	gattatgcca	tgcactgggt	ccggcaagct	120
ccaggaagg	gcctggaatg	ggtctcagct	atcacttgga	atagtgggtca	catagactat	180
gcggactctg	tggagggcgc	attcaccatc	tccagagaca	acgccaagaa	ctccctgtat	240
ctgcaaatga	acagtctgag	agctgaggat	acggccgtat	attactgtgc	gaaagtctcg	300
taccttagca	ccgcgtcttc	ccttgactat	tggggccaag	gtaccctggg	caccgtctcg	360
agt						363

1

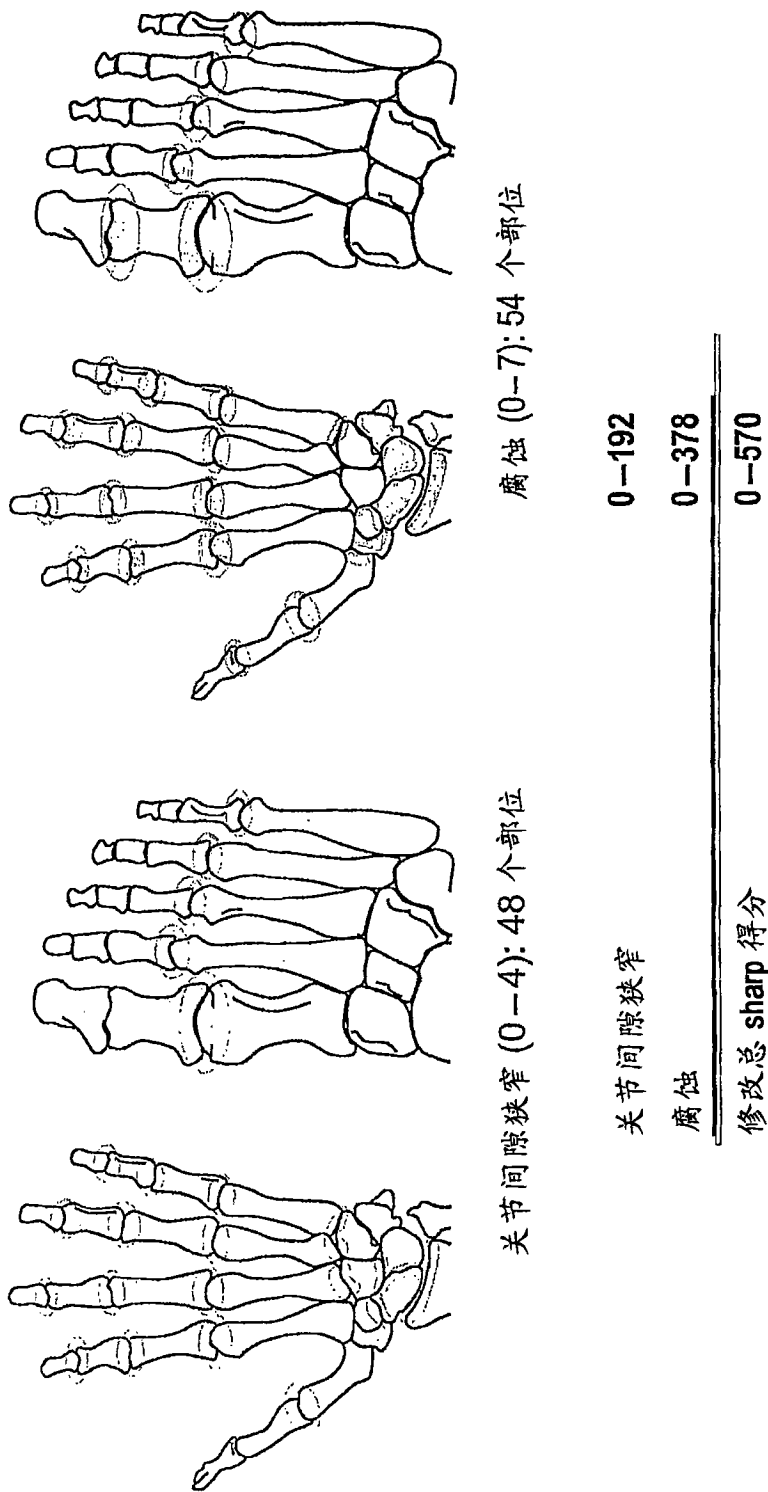


图 1a

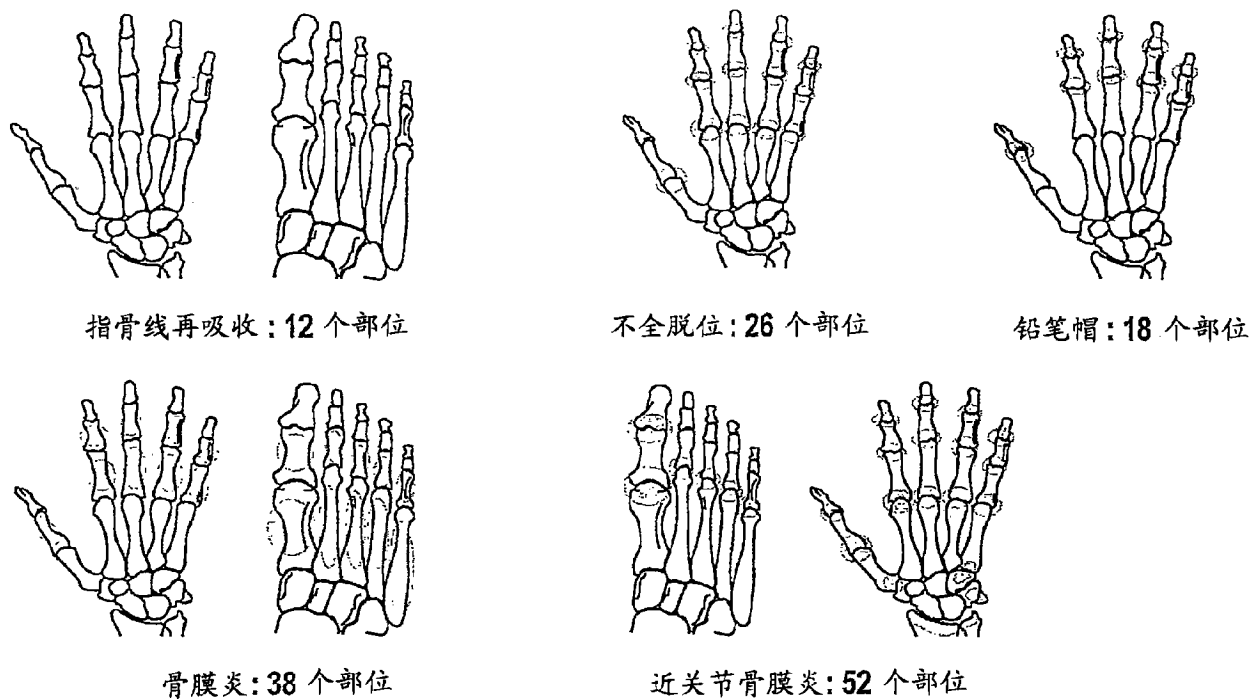


图 1b

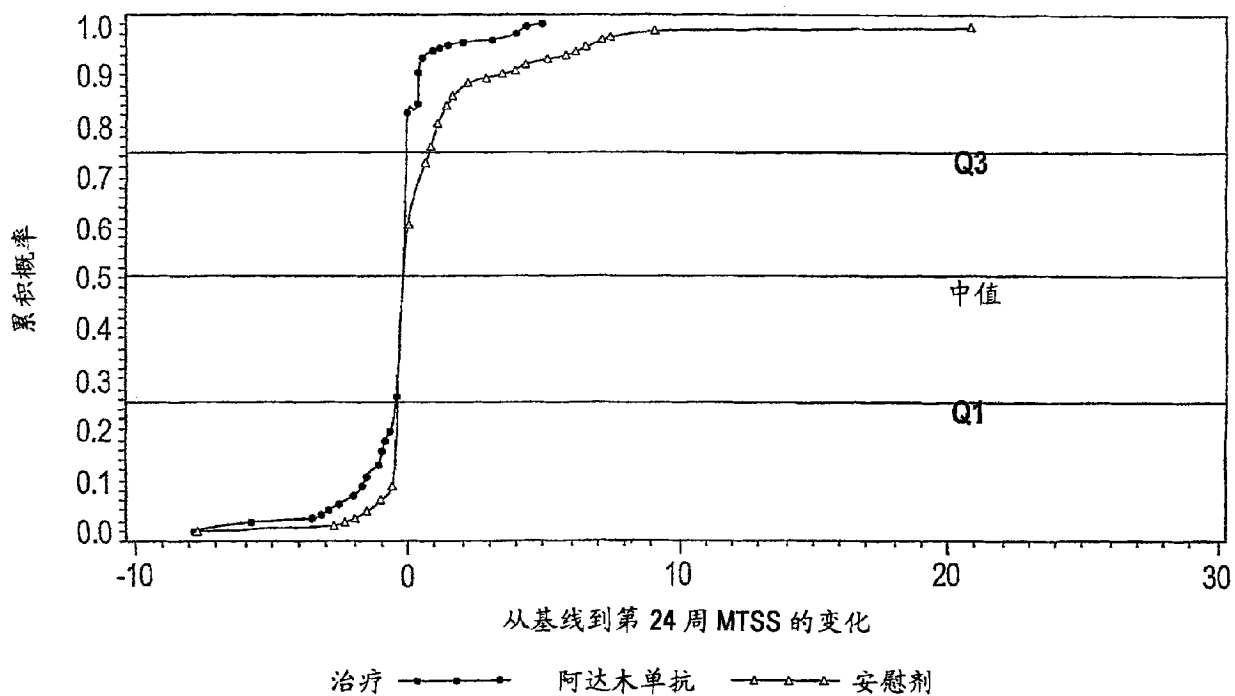


图 2

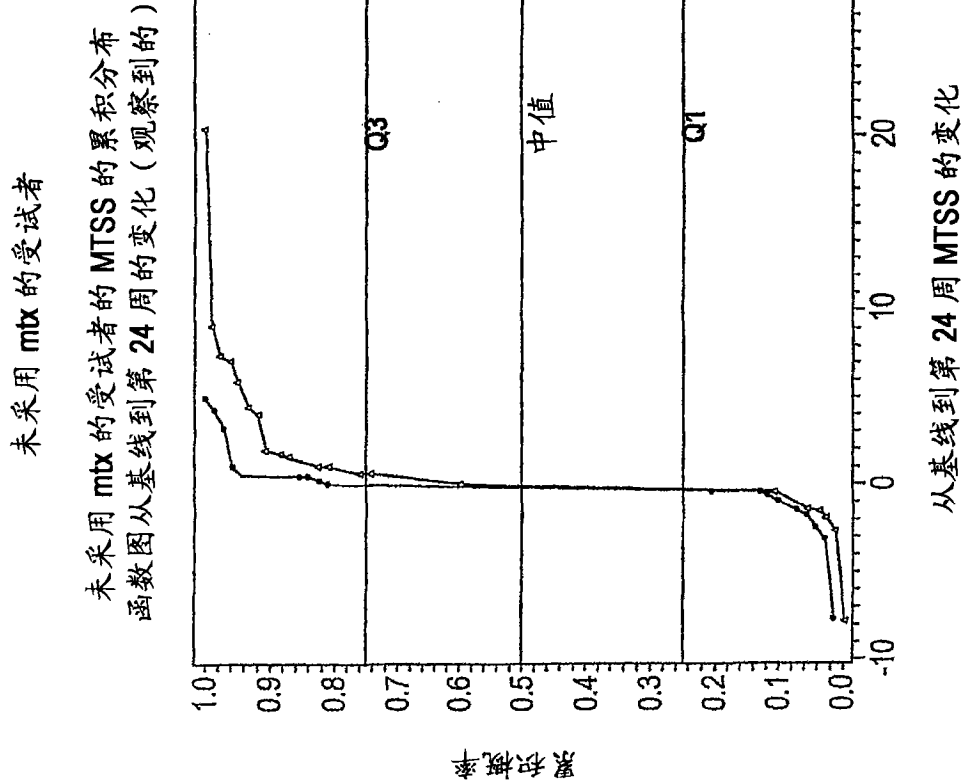


图 3b

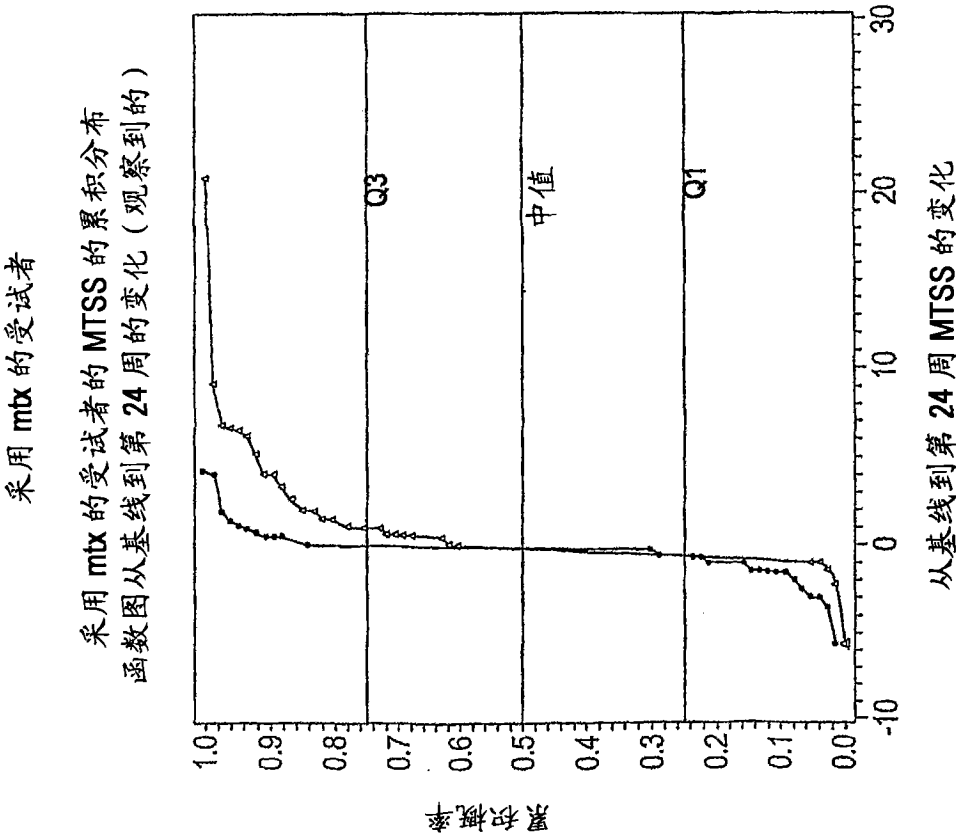


图 3a

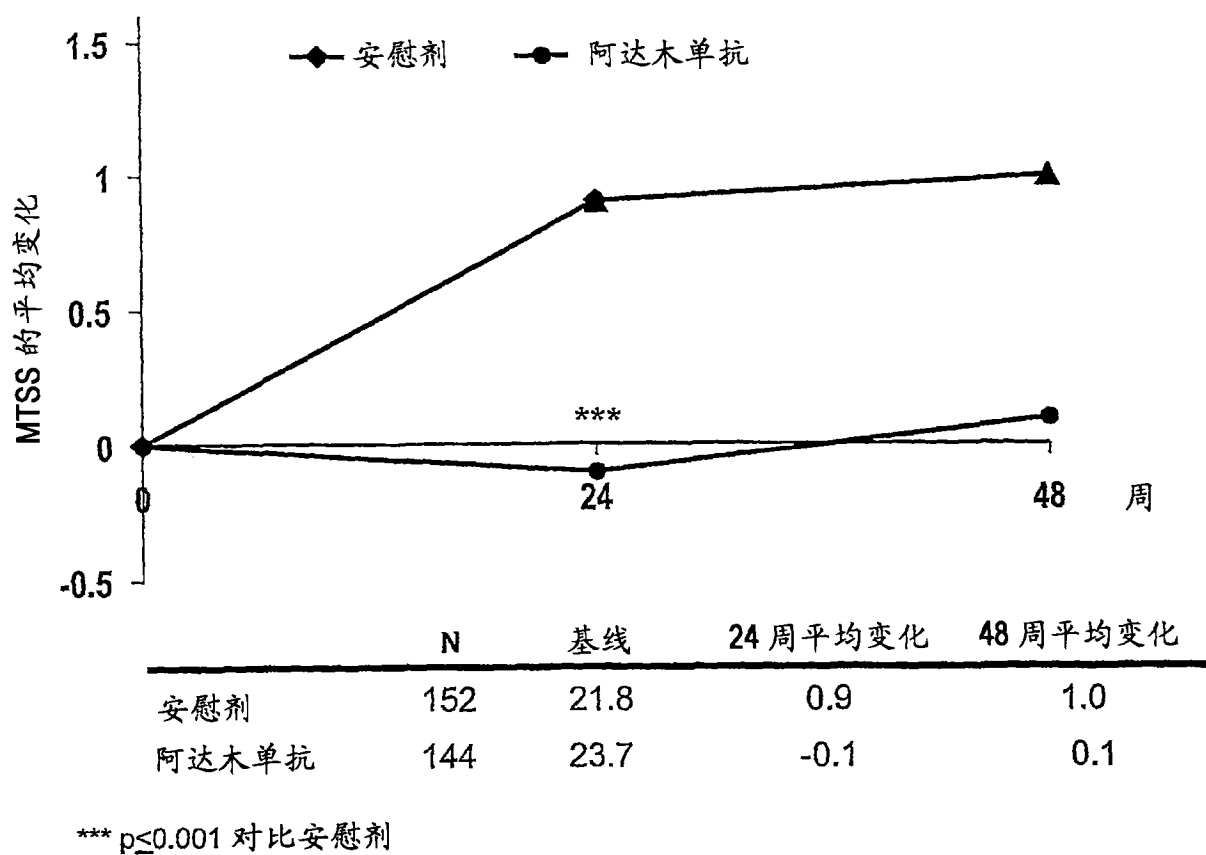


图 4