



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 118320078 A

(43) 申请公布日 2024. 07. 12

(21) 申请号 202410462229.0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2017.12.22

A61K 39/395 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 7/02 (2006.01)

62/438,654 2016.12.23 US

C07K 16/36 (2006.01)

62/589,851 2017.11.22 US

(62) 分案原申请数据

201780087088.7 2017.12.22

(71) 申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士

(72) 发明人 C·弗里德曼 Y·赫德尔

M·莱夫科维茨

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 史文静 黄革生

权利要求书2页 说明书80页

序列表(电子公布) 附图7页

(54) 发明名称

采用抗因子XI/XIa抗体治疗的方法

(57) 摘要

本发明涉及采用抗因子XI/XIa抗体治疗的方法。本发明涉及罹患终末期肾脏病的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理、降低风险的方法,所述方法包括施用药物组合物,所述药物组合物包含与人因子XI和/或激活型因子XI(“因子XIa”)结合的单克隆抗体或其抗原结合片段。

1. 一种对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,包括向罹患终末期肾脏病的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在因子XI (“FXI”)和/或激活型FXI (“FXIa”)的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段。

2. 对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险的方法,包括向罹患心房纤维性颤动和终末期肾脏病并且正在接受透析(如血液透析)的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段。

3. 对导管相关性血栓形成进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,包括向罹患终末期肾脏病的用插入的隧道式导管启用血液透析的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段。

4. 对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防或降低风险的方法,包括向罹患心房纤维性颤动的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段,其中个体具有展示的高出血风险,所述的高出血风险表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 。

5. 在已经接受在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗FXI/FXIa抗体或抗原结合片段治疗或施用的罹患终末期肾脏病的个体中管理或减少出血或出血风险的方法,所述方法包括通过以下方式之一暂时逆转抗凝血作用持续足够时间以管理出血:(i) 使用胶体、类晶体、人血浆或血浆蛋白(如白蛋白)体液置换;(ii) 用浓缩红细胞血液或全血输血;或(iii) 施用冷冻的新鲜血浆(FFP)、凝血酶原复合浓缩物(PCC)、激活型PCC(APCC)如因因子VIII抑制物,和/或重组激活型因子VII。

6. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段,或包含所述抗体或其抗原结合片段和可药用载体的药物组合物,用于在罹患终末期肾脏病的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

7. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段,或包含所述抗体或其抗原结合片段和可药用载体的药物组合物,用于在罹患心房纤维性颤动和终末期肾脏病并且正在接受透析(如血液透析)的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

8. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段,或包含所述抗体或其抗原结合片段的药物组合物,用于在罹患终末期肾脏病并以导管启用血液透析的个体中对导管相关性血栓形成进行预防、治疗或管理或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

9. 抗原结合片段和可药用载体的药物组合物,用于在罹患心房纤维性颤动的个体中对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防或降低风险,其中个体具有展示的高出血风险,所述的高出血风险表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 ,并且其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

10. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患终末期肾脏病的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述

轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

11. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患心房纤维性颤动和终末期肾脏病并且正在接受透析(如血液透析)的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

12. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患终末期肾脏病并以导管启用血液透析的个体中对导管相关性血栓形成进行预防、治疗或管理或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

13. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患心房纤维性颤动的个体中对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防或降低风险,其中个体具有展示的高出血风险,所述的高出血风险表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 ,并且其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

采用抗因子XI/XIa抗体治疗的方法

[0001] 本申请为2017年12月22日提交的、发明名称为“采用抗因子XI/XIa抗体治疗的方法”的PCT申请PCT/IB2017/058345的分案申请,所述PCT申请进入中国国家阶段的日期为2019年8月21日,申请号为201780087088.7。

[0002] 本申请要求2016年12月23日提交的美国临时申请号62/438,654和2017年11月22日提交的美国临时申请号62/589,851的权益,所述文献各自通过引用的方式完整并入。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有已经以ASCII格式通过电子方式提交并因而通过引用方式完整并入的序列表。在2017年11月30日创建的所述ASCII副本命名为PAT057550-WO-PCT_SL.txt并且大小是45,591比特。

[0005] 发明背景

[0006] 血栓形成(Thrombosis)是指在经历称为血栓形成倾向或凝固性过高状态的遗传性及获取性风险因子的组合之后,血管内部的血栓形成。血管壁损伤、淤滞、血小板反应性增加及凝血因子活化为血栓形成的一些基本特征。血栓形成可发生于静脉与动脉循环中且可导致发生深层静脉血栓形成(DVT)、肺栓塞及卒中。若血栓发生于动脉系统中,则可发生下游局部缺血,从而导致急性冠状动脉综合征(ACS)、缺血性卒中及急性肢体局部缺血。静脉系统中的血栓形成通常导致深度静脉血栓形成、肺栓塞及慢性血栓栓塞肺高血压。血凝块也可形式于AF(AF)患者的左心耳中,且移位性血栓可导致潜在破坏性并发症,也即血栓栓塞卒中及全身栓塞。包括低分子量肝素(LMWH)、凝血酶抑制剂及因子Xa(FXa)抑制剂的当前可用的抗血栓药物均与重大出血风险有关(Weitz J.I. (2010) Thromb.Haemost.103, 62)。极其需要不影响止血且因此不会导致出血并发症的抗血栓药物的开发。

[0007] 当前抗凝血药注射或口服使用。可注射抗凝血药LMWH已广泛使用且改进先前引用的未分化肝素的治疗状况。对于过去的几十年,最常用的口服抗凝血药为华法林(warfarin)。华法林具有狭窄治疗窗,其需要频繁监测凝血状态,且显示多种药物间相互作用。最近,经口可用的直接FXa及凝血酶抑制剂进入抗凝血药市场且逐渐得以应用。

[0008] LMWH、FXa抑制剂及凝血酶抑制剂在预防手术后静脉血栓栓塞性疾病中、在治疗自发性DVT及在肺栓塞中及在心房纤维性颤动的卒中预防中均有效。然而,这些抗凝血药也与出血并发症有关,该并发症通常与在早期药物华法林及未分化肝素观察到的那些并发症相当。在ADVANCE-2临床试验中,将FXa抑制剂阿派沙班(apixaban)(艾乐妥(Eliquis))与LMWH依诺肝素(enoxaparin)在全膝置换后的患者中相比。尽管与依诺肝素相比急性阿派沙班治疗对预防静脉血栓栓塞性疾病更有效,两种药物与重大出血风险有关。临床上相关的出血出现于4%的接受阿派沙班的患者及5%的用依诺肝素治疗的患者中(Lassen, M.R.等人, (2009) N.Engl. J. Med. 361, 594)。

[0009] 在RE-LY试验中,在具有AF及卒中风险的患者中将直接凝血酶抑制剂达比加群(dabigatran)(泰毕全(Pradaxa))与华法林相比(Connolly, S.J.等人, (2009) N.Engl. J. Med. 361, 1139)。慢性达比加群治疗与显著较低的卒中风险或全身栓塞有关。然而,主要出血并发症出现于3.1%的每天接受150mg达比加群的患者及3.4%的接受华法林

($p=0.31$)的患者中。

[0010] 心房纤维性颤动(AF)仍为临床实践中最常见的心律不整,占因心脏性节律不整住院的大约三分之一。目前,估计影响欧洲超过600万患者及美国大约230万患者,且此数目因老龄化群体的比例增大而持续快速增长。估计大约5%的超过65岁群体及10%的超过80岁的人将发生AF,然而AF的发病数增大超过单独由年龄所解释的发病数。诸如高血压、充血性心脏衰竭、左心室肥大、冠状动脉疾病及糖尿病及阻塞性睡眠呼吸暂停的AF风险因子也有增加。同样,在接下来的三十年西方群体中受影响AF个体的数量预计以增两至三倍。(Kannel及Benjamin(2008)Med Clin North Am.2008;92:17-40;Bunch等人,(2012)J Innovations of Card Rhythm Manag 2012;3:855-63)。

[0011] AF的主要风险在栓塞卒中增加四至五倍。在80至89岁,与AF有关的卒中的可归因风险随着年龄增长大幅度增加至23.5%。在两种性别中AF与死亡的倍增相关(Kannel及Benjamin 2008)。AF也独立地与认知下降及所有形式的痴呆有关(Marzona等人,(2012)CMAJ 2012;184:329-36;Geita等人2013;Bunch等人2012)。

[0012] 大部分AF患者需要终生抗凝治疗以预防心源性卒中及全身栓塞。CHA2DS2-VASc风险评分为确定并且广泛使用的层次化工具以预测AF患者的血栓栓塞风险且鉴别应受益于抗凝治疗的患者(LIP 2011;Camm等人,(2012)Eur Heart J 2012;33:2719-2747);积累的证据表明在鉴别发生卒中及血栓栓塞的患者中CHA2DS2-VASc与诸如CHADS2的评分至少一样精确或可能更佳,且对于鉴别“真正低风险”AF患者确定更佳。估计85至90%的AF患者需要抗凝治疗。

[0013] 卒中在最近几年中,也称为直接口服抗凝血药(DOAC)的新颖口服抗凝血药(NOAC)已获批准并且引入临床实践中。与华法林相比,对于减轻血栓栓塞疾病,这些药物至少有效或甚至更佳(Connolly等人,(2009)N Engl J Med;361:1139-51;Connolly等人,(2011)N Engl J Med;364:806-17;Patel等人,(2011)N Engl J Med 2011;365:883-91)。NOAC也与华法林的最具破坏性的并发症,也即出血性卒中及颅内出血的大大减轻有关。主要出血事件类似于或略低于充分进行的华法林治疗。另外,NOAC与低于华法林的药物间交互作用的可能性有关,且不采用程序监测即可使用;期望其易于在每日医疗实践中应用。

[0014] 尽管近来有所改良,但使用抗凝血药的出血风险仍持续较高。例如,在ROCKET研究中,用利伐沙班治疗的患者中主要及临床相关的非主要出血的每年发生率为14.9%且主要出血事件的每年发生率为3.6%(Patel等人2011)。在定义为HAS-Bled风险评分 ≥ 3 的高出血风险的患者中,主要出血的每年发生率 $>5\%$ (Gallego等人,(2012)Circ Arrhythm Electrophysiol.;5:312-318)。主要出血为尤其相关的临床结果;例如,在ROCKET研究中,一旦主要出血出现,则在利伐沙班组中全因死亡率为20.4%且在华法林组中为26.1%。一旦主要出血事件已出现,则卒中及全身栓塞出分别现于利伐沙班及华法林组中的4.7%及5.4%患者中(Piccini等人,(2014)Eur Heart J;35:1873-80)。住院时间、血液制品输注及资源使用也受主要出血出现严重影响。出血风险也为符合条件的患者中不接受抗凝血药的主要原因。在关于AF的欧洲心脏调查(Euro Heart Survey)中,所述调查包含来自35个国家182所医院及5333个不卧床的住院AF患者的资料,仅67%的符合条件的患者在出院时接收口服抗凝血药(Nieuwlaet等人,(2005)Eur Heart J;26:2422-2434)。因此存在对安全治疗的非常希望的医疗需要,其可在与现有治疗具有类似疗效但出血倾向较低时,减轻AF血栓

栓塞并发症,诸如卒中、全身栓塞、认知下降及死亡率。

[0015] 在终末期肾病(ESRD)背景下,血栓事件的发生率和风险升高并且使用抗凝血药是常见的,尤其在接受血液透析的ESRD患者中如此。然而,发生出血也是频繁的问题并在管理抗凝疗法中产生额外难题。

[0016] 另外,AF是ESRD患者中高度盛行的伴随病(Zimmerm等人(2012)Nephrol Dial Transplant,27:3816-3822)。例如,AF与ESRD患者中较高的卒中风险和死亡率相关(Zimmerm等人(2012)Nephrol Dial Transplant,27:3816-3822)。因此,在接受透析的ESRD患者和尤其AF和ESRD患者中,对无肾清除作用的安全抗凝血药存在尚未满足的迫切医疗需要。

[0017] 发明简述

[0018] 本公开涉及对与罹患终末期肾脏病(ESRD)的个体治疗相关的血栓形成或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法。方法包括向个体施用与人凝血因子XI和XIa(激活型因子X)(下文,有时称作“FXI”、“FXIa”和相似的术语)结合的单克隆抗体或其抗原结合片段。开发有效预防和治疗与治疗终末期肾脏病相关的血栓形成或血栓栓塞性疾病/病症(例如,血栓性卒中、AF、AF中的卒中预防(SPAF)、深层静脉血栓形成、静脉血栓栓塞、肺栓塞、缺血性卒中、急性肢体局部缺血、慢性血栓栓塞性肺动脉高压、全身栓塞)、但不带来或仅带来微弱出血风险的抗血栓药将满足颇大的尚未满足的医疗需求。

[0019] 在一些实施方案中,个体正在接受透析。例如,个体患有终末期肾脏病和AF(例如,非瓣膜性AF)并且正在接受透析。

[0020] 在特定方面,本公开涉及在接受透析的终末期肾脏病(ESRD)和AF(例如,非瓣膜性AF)个体中对血栓形成或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,所述方法包括向个体施用抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中描述的那些)。

[0021] 在一些实施方案中,个体肥胖。

[0022] 在具体方面,向个体施用本文提供的抗体或片段(例如,人、嵌合、人源化单克隆抗体或片段),所述抗体或片段以相似高的亲和力与人FXIa和FXI的催化结构域(CD)结合并且在FXIa中诱导无活性蛋白酶结构域构象。

[0023] 在一些实施方案中,用于本文所述方法中的抗体或其抗原结合片段在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合、特别地与活性部位区域的表面结合。

[0024] 本文描述的方法可以包括施用抗体或其抗原结合片段,其结合FXI和/或FXIa且进一步与如表1中所述的抗体(例如NOV1401)竞争结合。如本文所述,抗体和/或其抗原结合片段之间的“竞争”表示两种抗体(或其结合片段)皆结合至相同或重叠FXI和/或FXIa表位(例如由竞争性结合分析通过本领域技术人员所熟知的方法中的任一个所确定)。如本文所用,抗体或其抗原结合片段并不与本公开的FXI和/或FXIa抗体或抗原结合片段(例如NOV1401或NOV1090)“竞争”,除非该竞争性抗体或其抗原结合片段结合与本公开的抗体或抗原结合片段相同的FXI和/或FXIa表位,或重叠FXI和/或FXIa表位。如本文所用,竞争性抗体或其抗原结合片段不包括具有以下之一:(i)空间上阻断本公开的抗体或抗原结合片段结合其目标(例如若该竞争性抗体结合至邻近非重叠FXI和/或FXIa表位且以物理方式防止本公开的抗体或抗原结合片段结合其目标);和/或(ii)结合至不同非重叠FXI和/或FXIa表位且诱导FXI和/或FXIa蛋白的构象变化以使得该蛋白质可不再以不存在该构象变化下进行的方式,

与本公开的FXI和/或FXIa抗体或抗原结合片段结合。

[0025] 在一个实施方案中,该方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其与活性FXI (FXIa) 结合并且一旦与活性FXI (FXIa) 催化结构域结合,则导致FXIa将自身构象变成无活性构象。在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段进一步诱导这样的变化,其中与活性构象相比,无活性构象的N末端4个残基、环145、188和220移动和/或无序。

[0026] 在一个实施方案中,该方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其与FXI (例如,人FXI) 结合并且一旦与FXI结合,则阻止FXI催化结构域采取其中环145、188和220如FXIa催化结构域的结构中那样有序的活性构象。

[0027] 在一个实施方案中,该方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其与FXI结合并且一旦与FXI结合,则阻止FXI催化结构域采取其中N末端4个残基、环145、188和220如FXIa催化结构域的结构中那样有序的活性构象。

[0028] 在一个实施方案中,该方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其与FXI结合并且一旦与FXI结合,则通过在酶原结构中诱导构象变化,阻止FXI催化结构域采取活性构象,这进一步导致与FXIa结合时所观察到情况密切相关的抑制型FXI构象。

[0029] 在一个实施方案中,该方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其与FXI结合并且通过在酶原结构中诱导构象变化,阻止催化结构域采取活性构象,因而导致与FXIa结合时所观察到情况密切相关的抑制型FXI构象。

[0030] 本文所述的方法可以包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其结合与如表1中所述抗体(例如,NOV1401)相同的表位。

[0031] 在所述方法中使用的抗FXI和/或FXIa抗体或抗原结合片段可以按照小于或等于100nM、小于或等于50nM、小于或等于35nM、小于或等于25nM、小于或等于10nM、或小于或等于5.2nM的 IC_{50} 抑制因子IX(也称作FIX)、因子X(FX)和/或凝血酶直接或间接激活。更具体地,抗体或其抗原结合片段可以按照小于或等于100nM、小于或等于50nM、小于或等于35nM、小于或等于25nM、小于或等于10nM、或小于或等于5.2nM的 IC_{50} 抑制因子IX(也称作FIX)、因子X(FX)和/或凝血酶直接或间接激活。更具体地,抗体或其抗原结合片段可以按照小于或等于100nM、小于或等于50nM、小于或等于35nM、小于或等于25nM、小于或等于20nM、或小于或等于18nM的 IC_{50} 抑制因子IX(也称作FIX)、因子X(FX)和/或凝血酶直接或间接激活。更具体地,抗体或其抗原结合片段可以按照小于或等于100nM、小于或等于50nM、小于或等于35nM、小于或等于25nM、小于或等于10nM、或小于或等于5nM的 IC_{50} 抑制因子IX(也称作FIX)、因子X(FX)和/或凝血酶直接或间接激活。在一个具体实施方案中,抗FXI/FXIa抗体或其抗原结合片段以小于或等于2nM(例如,1.8nM)的 IC_{50} 抑制FXIa介导的对其天然底物FIX的激活。

[0032] 在一些实施方案中,该方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其按照浓度依赖性方式延长人血浆的凝血时间(例如,直至血凝块开始形成的时间),如通过aPTT测定法所测定,例如,如实施例部分中所述。在一个具体实施方案中,在10nM至20nM范围内(例如大约14nM或15nM)的总抗FXI抗体(例如,NOV1401)浓度,凝血时间(aPTT)与基线相比加倍,如通过aPTT测定法所测定。在具体的实施方案中,抗体或其抗原结合片段按照浓度依赖性方式延长人血浆的凝血时间, IC_{50} 处于5nM至20nM范围内,例如为大约13nM,如通过aPTT测定法所测定,例如,如实施例部分中所述。

[0033] 在一些实施方案中,该方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其按照浓度依赖性方式延长人血浆的凝血时间(例如,直至血凝块开始形成的时间)至少1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、或2倍,如通过aPTT测定法所测定,例如,如实施例部分中所述。在具体实施方案中,抗体或其抗原结合片段延长人血浆的凝血时间(例如,直至血凝块开始形成的时间)至少1.4倍、1.5倍、1.6倍或1.7倍,如通过aPTT测定法所测定,例如,如实施例部分中所述。

[0034] 在一些实施方案中,该方法包括施用抗体或其抗原结合片段,其在人血浆的凝血酶生成测定法(TGA)中按照浓度依赖性方式减少凝血酶的量,所述测定法测量在很低组织因子(TF)浓度的存在下,FXIa抑制对凝血酶→FXIa前馈环的影响。在具体的实施方案中,抗体或其抗原结合片段在人血浆的凝血酶生成测定法(TGA)中减少凝血酶的量,IC₅₀值处于10nM至30nM范围内,例如为大约20nM或24nM,并且残余凝血酶浓度为大约159nM。

[0035] 在一些实施方案中,该方法包括施用这样的抗体(例如,表1中的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的HCDR 1-3和LCDR 1-3的抗体)或其抗原结合片段,所述抗体与人FXI和/或FXIa的催化结构域特异性结合并在食蟹猴中具有如大约14-15天的总抗体终末消除半衰期(t_{1/2})。在具体实施方案中,抗体或其抗原结合片段显示大约61-66%的绝对皮下(s.c.)生物利用率。

[0036] 在一个实施方案中,所述方法包括施用抗体或其抗原结合片段(例如表1中所述的抗体,诸如NOV1401),所述抗体特异性结合于人FXI和/或FXIa并且展现以下特征中的一个或多个(例如两个、或三个、或四个、或五个、或六个、或七个)或所有:

[0037] (i) 例如以分别大约1-2pM及4-5pM的表观K_D特异性结合于人FXI及FXIa的催化结构域(CD);

[0038] (ii) 由活化部分促凝血酶原激酶时间(aPTT)分析所评估的延长凝血时间;

[0039] (iii) 分别通过活化因子XII(FXIIa)且通过凝血酶通过抑制FXI活化来抑制人血浆中的凝血酶产生;

[0040] (iv) 表明用人FXI重建的FXI-/-小鼠中的抗血栓剂及抗凝血药活性;

[0041] (v) 降低例如食蟹猴中游离FXI(FXI_f)含量或延长其降低时间;

[0042] (vi) 其例如在食蟹猴中的总抗体的终末消除半衰期为大约14-15天;

[0043] (vii) 特异性结合至人及猕猴FXI和/或FXIa,但不特异性结合至小鼠或大鼠FXI和/或FXIa;及

[0044] (viii) 使以下人FXI残基(Swissprot编号)中的一个或多个(例如两个、三个、四个、五个、六个或七个或更多个)或一些或所有接触:Pro410、Arg413、Leu415、Cys416、His431、Cys432、Tyr434、Gly435、Glu437、Tyr472-Glu476、Tyr521-Lys527、Arg548、His552、Ser575、Ser594-Glu597及Arg602-Arg604。

[0045] 在本文所述方法中使用的抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体、人或人源化抗体、嵌合抗体、单链抗体、Fab片段、Fv片段、F(ab')₂片段或scFv片段、和/或IgG同种型(例如,IgG1如人IgG1)。在具体实施方案中,抗体可以是重组人抗体。在具体实施方案中,抗体是人IgG1/λ抗体。在具体实施方案中,抗体是人IgG1/λ抗体,其包含经工程化以减少潜在效应子功能(例如,ADCC和/或CDC)的Fc结构域,例如包含D265A和/或P329A置换的人Fc结构域。

[0046] 用于本文所述方法中的抗体或其抗原结合片段还可以包括这样的构架,其中已经将氨基酸置换入来自各自的人VH或VL种系序列的抗体构架。

[0047] 本文所述的方法可以包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其具有表1中所述的抗体的重链序列和轻链序列。更具体地,抗体或其抗原结合片段可以具有NOV1090或NOV1401的重链序列和轻链序列。

[0048] 本文所述的方法可以包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其具有表1中所述的Fab的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列。更具体地,分离的抗体或其抗原结合片段可以具有NOV1090和NOV1401的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列。

[0049] 本文所述的方法可以包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其包含表1中所述的抗体的重链可变结构域CDR(即,HCDR1、HCDR2和HCDR3)和轻链可变结构域CDR(即,LCDR1、LCDR2和LCDR3)序列,如Kabat CDR、IMGT CDR、Chothia CDR或组合型CDR。更具体地,分离的抗体或其抗原结合片段可以具有例如,如表1中所展示的NOV1090和NOV1401的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,如Kabat CDR、IMGT CDR、Chothia CDR或组合型CDR。

[0050] 在具体方面,本文所述的方法可以包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其包含如Chothia所定义的SEQ ID NOs:9和29的可变重链的HCDR1、HCDR2和HCDR3及SEQ ID NOs:19和39的可变轻链的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在本公开的另一个方面,抗体或抗原结合片段可以具有如Kabat所定义的SEQ ID NOs:9和29的重链可变结构域序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3以及SEQ ID NOs:19和39的轻链可变结构域序列的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0051] 在具体方面,本文所述的方法可以包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其包含如IMGT所定义的SEQ ID NOs:9和29的可变重链的HCDR1、HCDR2和HCDR3及SEQ ID NOs:19和39的可变轻链的LCDR1、LCDR2和LCDR3。在本公开的另一个方面,抗体或抗原结合片段可以具有如组合型所定义的SEQ ID NOs:9和29的重链可变结构域序列的HCDR1、HCDR2和HCDR3以及SEQ ID NOs:19和39的轻链可变结构域序列LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0052] 在具体方面,本文所述的方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NOs:9和29的重链可变结构域序列。分离的抗体或抗原结合片段还可以包含这样的轻链可变结构域序列,其中重链可变结构域和轻链可变结构域组合以形成针对FXIa的抗原结合位点。特别地,轻链可变结构域序列可以选自SEQ ID NOs:19和39,其中所述分离的抗体或其抗原结合片段结合FXI和/或FXIa。

[0053] 在具体方面,本文所述的方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其包含选自SEQ ID NOs:19和39的轻链可变结构域序列,其中所述分离的抗体或其抗原结合片段与人FXI和/或FXIa结合。分离的抗体或抗原结合片段还可以包含这样的重链可变结构域序列,其中轻链可变结构域和重链可变结构域组合以形成针对FXI和/或FXIa的抗原结合位点。

[0054] 在具体方面,本文所述的方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其结合FXI和/或FXIa,可以具有分别包含SEQ ID NOs:9和19;或19和39的序列的重链可变结构域和轻链可变结构域。

[0055] 在具体方面,本文所述的方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其包含与选自SEQ ID NOs:9和29的序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%序列同一

性的重链可变结构域,其中所述抗体与FXI和/或FXIa结合。在一个方面,分离的抗体或其抗原结合片段还包含与选自SEQ ID NOs:19和39的序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变结构域。在本公开的又一个方面,分离的抗体或抗原结合片段具有如Kabat所定义和如表1中所述的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。在一个具体实施方案中,分离的抗体或抗原结合片段具有如Chothia、IMGT或组合型所定义和如表1中所述的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0056] 在具体方面,本文所述的方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其具有与选自SEQ ID NOs:19和39的序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%序列同一性的轻链可变结构域,其中所述抗体结合FXI和/或FXIa。

[0057] 在具体方面,本文所述的方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其与FXI和/或FXIa结合,可以具有包含SEQ ID NOs:11和31的序列的重链。分离的抗体还可以包括可以与重链组合以形成针对人FXI和/或FXIa的抗原结合位点的轻链。特别地,轻链可以具有包含SEQ ID NOs:21或41的序列。特别地,结合FXI和/或FXIa的分离的抗体或其抗原结合片段可以具有分别包含SEQ ID NO:11和21;或31和41的序列的重链和轻链。

[0058] 在具体方面,本文所述的方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其包含与选自SEQ ID NOs:11或31的序列具有至少90%序列同一性的重链,其中所述抗体与FXI和/或FXIa结合。在一个方面,分离的抗体或其抗原结合片段还包含与选自SEQ ID NOs:21或41的序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%序列同一性的轻链。

[0059] 在具体方面,本文所述的方法包括施用这样的抗体或其抗原结合片段,其包含与选自SEQ ID NOs:21或41的序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%序列同一性的轻链,其中所述抗体结合FXI和/或FXIa。

[0060] 在具体方面,本文所述的方法包括施用药物组合物,所述药物组合物包含表1的抗体或其抗原结合片段,如,例如抗体NOV1090和NOV1401。在具体方面,本文所述的方法包括施用药物组合物,所述药物组合物包含表1的两种或更多种分离的抗体或其抗原结合片段的组合。

[0061] 本公开还涉及一种治疗、改善或预防个体中血栓栓塞性疾病的方法,其中所述方法包括步骤:向个体施用有效量的组合物,所述组合物包含本文所述的结合FXI和/或FXIa的抗体或其抗原结合片段。在一个方面,血栓栓塞性疾病是血栓形成性病症(例如,血栓形成、血栓性卒中,AF、AF中的卒中预防(SPAF)、深层静脉血栓形成、静脉血栓栓塞和肺栓塞)。构思了个体是人。

[0062] 前述任一种分离的抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0063] 在以下方面中描述本公开的非限制性实施方案:

[0064] 1. 对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,包括向罹患终末期肾脏病的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段。

[0065] 2. 方面1的方法,其中个体正在接受透析或体外膜氧合。

[0066] 3. 方面1或2的方法,其中个体罹患心房纤维性颤动。

[0067] 4. 方面3的方法,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0068] 5. 对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险的方法,包括向罹患心房纤维性颤动和

终末期肾脏病并且正在接受透析或体外膜氧合的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段。

[0069] 6. 方面5的方法,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0070] 7. 方面3、4、5或6的方法,其中个体具有展示的高出血风险。

[0071] 8. 方面1-7中任一者的方法,其中抗体或其片段与FXI和/或FXIa的一个或多个表位结合,其中表位包含Pro410、Arg413、Leu415、Cys416、His431、Cys432、Tyr434、Gly435、Glu437、Tyr472、Lys473、Met474、Ala475、Glu476、Tyr521、Arg522、Lys523、Leu524、Arg525、Asp526、Lys527、Arg548、His552、Ser575、Ser594、Trp595、Gly596、Glu597、Arg602、Glu603和Arg604中的两个或更多个氨基酸残基。

[0072] 9. 方面8的方法,其中抗体或其片段与抗FXI和/或FXIa的一个或多个表位结合并且表位包含Pro410、Arg413、Leu415、Cys416、His431、Cys432、Tyr434、Gly435、Glu437、Tyr472、Lys473、Met474、Ala475、Glu476、Tyr521、Arg522、Lys523、Leu524、Arg525、Asp526、Lys527、Arg548、His552、Ser575、Ser594、Trp595、Gly596、Glu597、Arg602、Glu603和Arg604中的四个或更多个氨基酸残基。

[0073] 10. 方面8的方法,其中抗体或其片段与抗FXI和/或FXIa的一个或多个表位结合并且表位包含Pro410、Arg413、Leu415、Cys416、His431、Cys432、Tyr434、Gly435、Glu437、Tyr472、Lys473、Met474、Ala475、Glu476、Tyr521、Arg522、Lys523、Leu524、Arg525、Asp526、Lys527、Arg548、His552、Ser575、Ser594、Trp595、Gly596、Glu597、Arg602、Glu603和Arg604中的六个或更多个氨基酸残基。

[0074] 11. 方面8的方法,其中抗体或其片段与抗FXI和/或FXIa的一个或多个表位结合并且表位包含Pro410、Arg413、Leu415、Cys416、His431、Cys432、Tyr434、Gly435、Glu437、Tyr472、Lys473、Met474、Ala475、Glu476、Tyr521、Arg522、Lys523、Leu524、Arg525、Asp526、Lys527、Arg548、His552、Ser575、Ser594、Trp595、Gly596、Glu597、Arg602、Glu603和Arg604中的八个或更多个氨基酸残基。

[0075] 12. 方面8的方法,其中抗体或其片段与抗FXI和/或FXIa的一个或多个表位结合并且表位包含Pro410、Arg413、Leu415、Cys416、His431、Cys432、Tyr434、Gly435、Glu437、Tyr472、Lys473、Met474、Ala475、Glu476、Tyr521、Arg522、Lys523、Leu524、Arg525、Asp526、Lys527、Arg548、His552、Ser575、Ser594、Trp595、Gly596、Glu597、Arg602、Glu603和Arg604中的残基。

[0076] 13. 方面8的方法,其中抗体或其片段与抗FXI和/或FXIa的一个或多个表位结合并且表位包含Pro410、Arg413、Lys527中的氨基酸残基和Leu415、Cys416、His431、Cys432、Tyr434、Gly435、Glu437、Tyr472、Lys473、Met474、Ala475、Glu476、Tyr521、Arg522、Lys523、Leu524、Arg525、Asp526、Arg548、His552、Ser575、Ser594、Trp595、Gly596、Glu597、Arg602、Glu603和Arg604中的一个或多个氨基酸残基。

[0077] 14. 方面8的方法,其中抗体或其片段与抗FXI和/或FXIa的一个或多个表位结合并且表位包含Pro410、Arg413、Lys527中的氨基酸残基和Leu415、Cys416、His431、Cys432、Tyr434、Gly435、Glu437、Tyr472、Lys473、Met474、Ala475、Glu476、Tyr521、Arg522、Lys523、Leu524、Arg525、Asp526、Arg548、His552、Ser575、Ser594、Trp595、Gly596、Glu597、Arg602、Glu603和Arg604中的四个或多个氨基酸残基。

[0078] 15. 方面8的方法, 其中抗体或其片段与抗FXI和/或FXIa的一个或多个表位结合并且表位包含Pro410、Arg413、Lys527中的氨基酸残基和Leu415、Cys416、His431、Cys432、Tyr434、Gly435、Glu437、Tyr472、Lys473、Met474、Ala475、Glu476、Tyr521、Arg522、Lys523、Leu524、Arg525、Asp526、Arg548、His552、Ser575、Ser594、Trp595、Gly596、Glu597、Arg602、Glu603和Arg604中的六个或多个氨基酸残基。

[0079] 16. 方面1-15中任一者的方法, 其中所述抗体或片段阻断FXI和/或FXIa与因子IX、因子XIIa和凝血酶中一者或多者结合。

[0080] 17. 方面16的方法, 其中抗体或片段阻断FXI和/或FXIa与因子IX、因子XIIa或凝血酶中一者或多者和凝血途径的其他组分的结合。

[0081] 18. 方面1-15中任一者的方法, 其中抗体或片段阻断FIX、FXI和FXIa中一者或多者与血小板受体结合。

[0082] 19. 方面1-15中任一者的方法, 其中所述抗体或片段防止激活内在凝血途径或共同凝血途径。

[0083] 20. 方面1-19中任一者的方法, 其中抗体或其片段以小于或等于34nM(如通过BIACORE™测定法所测量) 或小于或等于4pM(如通过溶液平衡滴定测定法(SET)所测量)的 K_D 与人FXI和/或FXIa蛋白结合。

[0084] 21. 方面1-20中任一者的方法, 其中抗体或片段包含与表1中列举的至少一个CDR具有至少90%同一性的至少一个互补决定区。

[0085] 22. 方面1-20中任一者的方法, 其中抗体或片段包含来自表1的CDR1、CDR2和CDR3。

[0086] 23. 方面1-20中任一者的方法, 其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:5和25的重链CDR3。

[0087] 24. 方面1-23中任一者的方法, 其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:9和29的VH或与其具有90%同一性的氨基酸序列; 和选自SEQ ID NO:19和39的VL或与其具有90%同一性的氨基酸序列。

[0088] 25. 方面24的方法, 其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:9和29的VH或与其具有95%同一性的氨基酸序列; 和选自SEQ ID NO:19和39的VL或与其具有95%同一性的氨基酸序列。

[0089] 26. 方面24的方法, 其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:9和29的VH或与其具有97%同一性的氨基酸序列; 和选自SEQ ID NO:19和39的VL或与其具有97%同一性的氨基酸序列。

[0090] 27. 方面24的方法, 其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:9和29的可变重链序列。

[0091] 28. 方面24的方法, 其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:19和39的可变轻链序列。

[0092] 29. 方面24的方法, 其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:9和29的可变重链; 和选自SEQ ID NO:19和39的可变轻链序列。

[0093] 30. 方面24的方法, 其中抗体或片段选自: (i) 包含SEQ ID NO:9的可变重链和SEQ ID NO:19的可变轻链序列的抗体或片段; (ii) 包含SEQ ID NO:29的可变重链和SEQ ID NO:39的可变轻链序列的抗体或片段; (iii) 包含重链和轻链的抗体, 所述重链包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列, 所述轻链包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列; 和(iv) 包含重链和轻链的抗

体,所述重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列。

[0094] 31.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段包含(i)重链可变区CDR1,其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;CDR2,其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;CDR3,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;和(ii)轻链可变区CDR1,其包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;CDR2,其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;和CDR3,其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列。

[0095] 32.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段包含(i)重链可变区CDR1,其选自SEQ ID NO:3和23;CDR2,其选自SEQ ID NO:4和24;CDR3,其选自SEQ ID NO:5和25;和(ii)轻链可变区CDR1,其选自SEQ ID NO:13和33;CDR2,其选自SEQ ID NO:14和34;和CDR3,其选自SEQ ID NO:15和35。

[0096] 33.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段包含(i)重链可变区CDR1,其选自SEQ ID NO:6和26;CDR2,其选自SEQ ID NO:7和27;CDR3,其选自SEQ ID NO:8和28;和(ii)轻链可变区CDR1,其选自SEQ ID NO:16和36;CDR2,其选自SEQ ID NO:17和37;和CDR3,其选自SEQ ID NO:18和38。

[0097] 34.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段包含SEQ ID NO:3的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:13的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3。

[0098] 35.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段包含SEQ ID NO:23的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:24的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR3。

[0099] 36.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段包含SEQ ID NO:6的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:7的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:8的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:16的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:17的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:18的轻链可变区CDR3。

[0100] 37.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段包含SEQ ID NO:26的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:27的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:28的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:38的轻链可变区CDR3。

[0101] 38.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段结合至与包含SEQ ID NO:9的可变重链和SEQ ID NO:19的可变轻链序列的抗体或包含SEQ ID NO:29的可变重链和SEQ ID NO:39的可变轻链序列的抗体相同的表位。

[0102] 39.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段与包含SEQ ID NO:9的可变重链和SEQ ID NO:19的可变轻链序列的抗体或包含SEQ ID NO:29的可变重链和SEQ ID NO:39的可变轻链序列的抗体竞争结合人FXI和/或FXIa蛋白。

[0103] 40.方面1-30中任一者的方法,其中抗体或片段选自NOV1090和NOV1401。

[0104] 41.在已经接受在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗FXI/FXIa抗体或抗原结合片段治疗或施用的罹患终末期肾脏病的个体中管理或减少出血或出血风险的方法,包括步骤:向有需求的个体施用与抗FXI/FXIa抗体特异性结合并阻断抗FXI/FXIa抗体与FXI和/或FXIa结合的抗独特型抗体或其片段,并且其中抗独特型抗体或其片段逆转抗FXI/FXIa抗体的抗凝血活性。

[0105] 42.方面41的方法,其中将抗独特型抗体或其片段向个体施用一次或数次(例如,两次、三次或四次)以逆转抗FXI/FXIa抗体的抗凝血作用。

[0106] 43. 在已经接受在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗FXI/FXIa抗体或抗原结合片段治疗或施用的罹患终末期肾脏病的个体中管理或减少出血或出血风险的方法,所述方法包括通过以下方式之一暂时逆转抗凝血作用持续足够时间以管理出血:(i) 使用胶体、类晶体、人血浆或血浆蛋白(如白蛋白)体液置换;(ii) 用浓缩红细胞血液或全血输血;或(iii) 施用冷冻的新鲜血浆(FFP)、凝血酶原复合浓缩物(PCC)、激活型PCC(APCC)如因子VIII抑制物,和/或重组激活型因子VII。

[0107] 44. 方面41-43中任一者的方法,其中个体正在接受透析,如血液透析。

[0108] 45. 方面41-43中任一者的方法,其中个体罹患心房纤维性颤动。

[0109] 46. 方面45的方法,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0110] 47. 方面45或46的方法,其中个体具有展示的高出血风险。

[0111] 48. 方面41-47中任一者的方法,其中抗FXI/FXIa抗体或抗原结合片段包含选自SEQ ID NO:9和29的VH或与其具有90%同一性的氨基酸序列;和选自SEQ ID NO:19和39的VL或与其具有90%同一性的氨基酸序列。

[0112] 49. 方面41-47中任一者的方法,其中抗FXI/FXIa抗体或抗原结合片段按浓度依赖性方式与包含SEQ ID NO:9的可变重链和SEQ ID NO:19的可变轻链序列的抗体或包含SEQ ID NO:29的可变重链和SEQ ID NO:39的可变轻链序列的抗体竞争结合人FXI和/或FXIa蛋白。

[0113] 50. 方面1-49中任一者的方法,其中抗体是重组人抗体或人源化抗体。

[0114] 51. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段,或包含所述抗体或其抗原结合片段的药物组合物,用于在罹患终末期肾脏病的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0115] 52. 根据方面51的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中个体正在接受透析。

[0116] 53. 根据方面51或52的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中个体正在接受血液透析或其他类型的透析,如,腹膜透析。

[0117] 54. 根据权利要求51-53中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中个体罹患心房纤维性颤动,如非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0118] 55. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段,或包含所述抗体或其抗原结合片段的药物组合物,用于在罹患心房纤维性颤动和终末期肾脏病并且正在接受透析(如血液透析)的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0119] 56. 根据方面51-55中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0120] 57. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段,或包含所述抗体或其抗原结合片段的药物组合物,用于在罹患终末期肾脏病并以导管启用血液透析的个体中对导管相关性血栓形成进行预防、治疗或管理或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0121] 58. 根据方面51-58中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体具有展示的高出血风险。

[0122] 59. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段, 或包含所述抗体或其抗原结合片段的药物组合物, 用于在罹患心房纤维性颤动的个体中对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防或降低风险, 其中个体具有展示的高出血风险, 所述的高出血风险表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 , 并且其中抗体包含重链和轻链, 所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列, 所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0123] 60. 根据方面51-59中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体至少55岁。

[0124] 61. 根据方面51-60中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体具有展示的高出血风险, 所述的高出血风险表征为(i) 具有CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 和(ii) 以下一种、两种或更多种风险因子:

[0125] (a) 超过65岁;

[0126] (b) 既往卒中或短暂性缺血发作史;

[0127] (c) 既往主要出血或临床相关的出血;

[0128] (d) 3期至4期慢性肾脏病(CKD);

[0129] (e) 经单一或双联抗血小板疗法治疗; 和

[0130] (f) 与血肿瘀伤或其他表现相关的跌倒史。

[0131] 62. 根据方面51-61中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中将抗体或其抗原结合片段皮下施用至个体。

[0132] 63. 根据方面37-48中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中将抗体或其抗原结合片段按至少90mg、120mg、150mg、180mg或210mg的剂量施用。

[0133] 64. 根据方面51-63中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中将抗体或其抗原结合片段按120mg、150mg或180mg的剂量施用。

[0134] 65. 根据方面51-64中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中将抗体或其抗原结合片段每月一次施用。

[0135] 66. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途, 所述药物用于在罹患终末期肾脏病的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险, 其中抗体包含重链和轻链, 所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列, 所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0136] 67. 根据方面66的用途, 其中个体正在接受透析。

[0137] 68. 根据方面66或67的用途, 其中个体正在接受血液透析或其他类型的透析, 如, 腹膜透析。

[0138] 69. 根据方面66-68中任一者的用途, 其中个体罹患心房纤维性颤动, 如非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0139] 70. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途, 所述药物用于在罹患心房纤维性颤动和终末期肾脏病并且正在接受透析(如血液透析)的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险, 其中抗体包含重链和轻链, 所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列, 所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0140] 71. 根据方面66-70中任一者的用途,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0141] 72. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患终末期肾脏病并以导管启用血液透析的个体中对导管相关性血栓形成进行预防、治疗或管理或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0142] 73. 根据权利要求66-72中任一项所述的用途,其中个体具有展示的高出血风险。

[0143] 74. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患心房纤维性颤动的个体中对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防或降低风险,其中个体具有展示的高出血风险,所述的高出血风险表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 ,并且其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0144] 75. 根据方面66-74中任一者的用途,其中个体至少55岁。

[0145] 76. 根据方面66-75中任一者的用途,其中个体具有具有展示的高出血风险,所述的高出血风险表征为(i) CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 和(ii)以下一种、两种或更多种风险因子:

[0146] (a) 超过65岁;

[0147] (b) 既往卒中或短暂性缺血发作史;

[0148] (c) 既往主要出血或临床相关的出血;

[0149] (d) 3期至4期慢性肾脏病(CKD);

[0150] (e) 经单一或双联抗血小板疗法治疗;和

[0151] (f) 与血肿瘀伤或其他表现相关的跌倒史。

[0152] 77. 根据方面66-76中任一者的用途,其中药物适于皮下施用至个体。

[0153] 78. 根据方面66-77中任一者的用途,其中药物适于按至少90mg、120mg、150mg、180mg或210mg的剂量施用。

[0154] 79. 根据方面66-78中任一者的用途,其中药物适于按120mg、150mg或180mg的剂量施用。

[0155] 80. 根据方面66-79中任一者的用途,其中药物适于每月一次施用至个体。

[0156] 81. 方面1-40中任一者的方法,其中还包括向个体施用一种或多种治疗活性物质。

[0157] 82. 方面81的方法,其中一种或多种治疗活性物质选自:血栓烷抑制剂(例如,阿司匹林)、腺苷二磷酸受体拮抗剂(或P2Y₁₂抑制剂)如噻吩并吡啶类(例如,氯吡格雷和普拉格雷(prasugrel))和非噻吩并吡啶类(例如,替卡格雷(ticagrelor)和坎格瑞洛(cangrelor)),和蛋白酶激活的受体-1(PAR1)拮抗剂(例如,沃拉帕沙(Vorapaxar))。

[0158] 83. 方面81的方法,其中一个或多个治疗活性物质是质子泵抑制剂(PPI)并且其中个体具有GI病(如既往胃肠出血或消化性溃疡前兆)或具有GI病(如既往胃肠出血或消化性溃疡前兆)史。

[0159] 84. 根据方面51-64中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其用于与一种或多种治疗活性物质联用。

[0160] 85. 根据方面84的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中一种或多种治疗活性物质选自:血栓烷抑制剂(例如,阿司匹林)、腺苷二磷酸受体拮抗剂(或P2Y₁₂抑制剂)如

噻吩并吡啶类(例如,氯吡格雷和普拉格雷)和非噻吩并吡啶类(例如,替卡格雷和坎格瑞洛),和蛋白酶激活的受体-1(PAR1)拮抗剂(例如,沃拉帕沙)。

[0161] 86.根据方面84的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中个体具有GI病(如既往胃肠出血或消化性溃疡前兆)或具有GI病(如既往胃肠出血或消化性溃疡前兆)史。

[0162] 87.对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,包括向有需求的个体施用约100mg至约250mg在FXI的催化结构域内部特异性结合的抗因子XI(“FXI”)抗体或其抗原结合片段,其中个体具有以下一个、两个或更多个或全部特征:

[0163] (i) ≥ 55 岁和 < 85 岁的男性和女性个体;

[0164] (ii) 体重在50kg和130kg(含)之间;

[0165] (iii) 心房纤维性颤动(AF)或心房扑动,如依据心电图证明;

[0166] (iv) 男性和女性个体的CHA₂DS₂-VASc风险评分 ≥ 2 ;

[0167] (v) CHA₂DS₂VASc风险评分为1的男性个体并且保证采用抗凝疗法;和

[0168] (vi) 抗凝血药初用或在治疗之前接受推荐剂量的新口服抗凝血药(NOAC)稳定治疗历经8周。

[0169] 88.方面87的方法,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0170] 89.方面87或88的方法,其中抗FXI/FXIa抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0171] 90.前述方面中任一者的方法,其中将抗FXI抗体或其抗原结合片段按120mg、150mg或180mg的剂量每月一次施用。

[0172] 术语

[0173] 除非另外定义,否则本文中所用的所有技术及科学术语皆具有与本公开所述领域的技术人员通常理解的含义相同的含义。

[0174] 术语“FXI蛋白”、“FXI抗原”及“FXI”可互换使用,且是指不同物种的因子XI蛋白。因子XI为哺乳动物血浆凝血因子XI,一种以酶原形式以25-30nM的浓度存在于人血浆中的糖蛋白,当通过有限蛋白水解转化为活性丝氨酸蛋白酶时其参与血液凝血的内在途径。

[0175] 术语“FXIa蛋白”、“FXIa抗原”及“FXIa”可互换使用,且是指不同物种的活化FXI蛋白。酶原凝血因子XI通过血凝接触阶段或通过血小板表面上的凝血酶介导的活化转化为其活性形式,即凝血因子XIa(FXIa)。在此因子XI活化期间,内部肽键的两个链中的每一个裂解,从而产生活化因子XIa,一种由通过二硫键结合在一起的两个重链及两个轻链构成的丝氨酸蛋白酶。此丝氨酸蛋白酶FXIa使凝血因子IX转化为IXa,其随后活化凝血因子X(Xa)。Xa接着可介导凝血因子II/凝血酶活化。例如,人FXI具有如表1中所述的序列(SEQ ID NO:1),且已描述于先前报导及文献(Mandle RJ Jr等人,(1979)Blood;54(4):850;NCBI Reference Sequence:AAA51985)中。

[0176] 在本公开的上下文中,术语“FXI”及“FXIa”(及其类似术语)分别包括天然FXI及FXIa蛋白的突变体及变体,其具有与以上提及的报导所述的天然一级结构(氨基酸序列)大体上相同的氨基酸序列。

[0177] 如本文所用,术语“催化结构域”、“丝氨酸蛋白酶催化结构域”及类似术语是指氨基酸Ile370至Val607,如由循环中成熟蛋白的N端的Glu1开始计数。其也可描述为FXI的C端的残基388-625。如本文所用,术语“活性位点”是指包含氨基酸His413、Asp462及Ser557的催

化三联体。(Bane及Gailani (2014) Drug Disc. 19(9))。

[0178] 相对于数值x的术语“约”是指例如 $x \pm 10\%$ 。

[0179] 如本文所用,术语“抗体”是指完整抗体及其任何抗原结合片段(也即“抗原结合部分”)或单链。完整抗体为包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链及两条轻(L)链的糖蛋白。每一重链包含重链可变区(本文缩写为VH)及重链恒定区。重链恒定区包含三个区域(CH1、CH2及CH3)。各轻链包含轻链可变区(本文中简化为VL)及轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域CL。VH及VL区可进一步再分成高变区,称为互补决定区(CDR),穿插称为构架区(FR)的更保守区域。各VH及VL由自氨基末端至羧基末端按照以下顺序排列的三个CDR及四个FR组成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链及轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体恒定区可介导免疫球蛋白结合至宿主组织或因子,包括免疫系统的多种细胞(例如效应细胞)及经典补系统的第一组分(C1q)。在一些具体方面,抗体可以是单克隆抗体、人抗体、人源化抗体、骆驼化抗体或嵌合抗体。抗体可以属于任何同种型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类。

[0180] 如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”或“抗原结合片段”是指保留与给定抗原(例如因子XIa (FXIa))特异性结合的能力的完整抗体的一或更多个片段。抗体的抗原结合功能可由完整抗体的片段执行。术语抗体的抗原结合部分或抗原结合片段内所涵盖的结合片段的实施例包括Fab片段,一种由VL、VH、CL及CH1结构域组成的单价片段;F(ab)₂片段,一种包含两个Fab片段的二价片段,该两个Fab片段经位于铰链区的二硫桥键连接;Fd片段,其由VH及CH1结构域组成;Fv片段,其由抗体的单臂的VL及VH结构域组成;单域抗体(dAb)片段(Ward等人,1989Nature 341:544-546),其由VH结构域或VL结构域组成;及分离的互补决定区(CDR)。

[0181] 此外,尽管Fv片段的两个结构域VL和VH由独立基因编码,但其可使用重组方法,通过人工肽接头接合,所述接头使其能够制备成单一蛋白质链形式,其中VL区和VH区配对形成单价分子(称为单链Fv(scFv);参见例如Bird等人,1988Science 242:423-426;及Huston等人,1988Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883)。此类单链抗体包括抗体的一或更多个抗原结合部分或片段。这些抗体片段是使用本领域技术人员已知的常规技术获得,且以与完整抗体相同的方式来筛选供使用的片段。

[0182] 抗原结合片段也可并入至单域抗体、最大抗体(maxibody)、微型抗体(minibody)、胞内抗体(intrabody)、双抗体、三抗体、四抗体、v-NAR及双scFv中(参见例如Hollinger及Hudson,2005,Nature Biotechnology,23,9,1126-1136)。抗体的抗原结合部分可嫁接至基于诸如纤连蛋白III型(Fn3)的多肽的骨架中(参见美国专利第6,703,199号,其描述纤连蛋白多肽单体)。

[0183] 抗原结合片段可并入至包含一对串联Fv片段(VH-CH1-VH-CH1)的单链分子中,该对串联Fv片段连同互补轻链多肽一起形成一对抗原结合区(Zapata等人,1995Protein Eng. 8(10):1057-1062;及美国专利第5,641,870号)。

[0184] 如本文所用,术语“亲和力”是指单一抗原位点处抗体与抗原之间相互作用的强度。在各抗原位点内,抗体“臂”的可变区通过弱非共价力与抗原在多个位点处相互作用;相互作用愈大,亲和力愈强。如本文所用,抗体或其抗原结合片段(例如Fab片段)的术语“高亲和力”通常是指具有 10^{-9} M或更小的 K_D (例如 10^{-10} M或更小的 K_D 、 10^{-11} M或更小的 K_D 、 10^{-12} M或更

小的 K_D 、 $10^{-13}M$ 或更小的 K_D 、 $10^{-14}M$ 或更小的 K_D 等)的抗体或抗原结合片段。

[0185] 术语“氨基酸”是指天然产生且合成的氨基酸,以及以类似于天然产生的氨基酸的方式发挥功能的氨基酸类似物及氨基酸模拟物。天然产生的氨基酸为通过基因密码编码的氨基酸,以及随后经修饰的氨基酸,例如羟基脯氨酸、 γ -羧基谷氨酸及O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指具有与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构(也即与氢、羧基、氨基及R基结合的 α 碳)的化合物,例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基磺(methyl sulfonium)。此类类似物具有经修饰的R基(例如正亮氨酸)或经修饰的肽主链,然而保持与天然产生的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构,然而以与天然产生的氨基酸类似的方式起作用的化合物。

[0186] 如本文所用,术语“结合特异性”是指个别抗体结合位点与仅一个抗原决定簇反应的能力。

[0187] 短语“特异性(或选择性)结合”至抗体(例如FXI和/或FXIa结合抗体)是指决定在蛋白质及其他生物制品的非均质群体中存在关联抗原(例如人FXI和/或FXIa或猕猴FXI和/或FXIa)的结合反应。本文中短语“识别抗原的抗体”及“对抗原具有特异性的抗体”可与术语“与抗原特异性结合的抗体”互换使用。

[0188] 术语“FXI和/或FXIa介导”是指如下事实:FXI和/或FXIa通过直接或间接激活因子IX(也称为FIX)、因子X(FX)和/或凝血酶和/或通过结合至血小板受体介导内在和/或共同凝血途径。

[0189] 术语“止血”表示在伤口愈合期间分别遏制损伤部位流血且使血管回复通畅的主要机制。在正常止血及病理性血栓期间,同时活化三种机制:活化的血小板与血管壁的相互作用的初期止血、纤维蛋白形成及成为纤维蛋白溶解的过程。

[0190] 术语“凝血及凝血级联”、“凝血级联模型”及其类似术语是指基于蛋白质的系统,其用以使形成以密封伤口的凝块稳定。凝血途径为蛋白水解级联。该途径的各酶以酶原形式(非活性形式)存在于血浆中,其在活化时经历蛋白水解分裂自前体分子释放活性因子。凝血级联充当控制活化过程的一系列正及负反馈环。途径的最终目的为产生凝血酶,其接着可使可溶性纤维蛋白原转化为形成凝块的纤维蛋白。

[0191] 产生凝血酶的过程可划分为三个阶段:内在及外来途径,其为产生活性凝血因子(即FXa(活化型因子-X))提供替代途径,及最终共同途径,其致使凝血酶形成(Hoffman M.M.及Monroe D.M. (2005) Curr Hematol Rep.4:391 -396;Johne J等人, (2006) Biol Chem.387:173-178)。

[0192] “血小板聚集”是指一种过程,其中当血管破裂发生时通常不会与血流直接接触的物质得以暴露。这些物质(主要为胶原蛋白及von Willebrand因子)使血小板黏着于破裂表面。一旦血小板黏着于表面,其即释放将其他血小板吸引至受损区域的化学物质,称为血小板聚集。这两个过程为终止出血的第一反应。

[0193] 如本文所用,“血栓栓塞病症”或类似术语是指内在和/或共同凝血途径异常活化或并非天然失活(例如在无治疗性手段下)的许多病症或疾病。这些病症包括(但不限于)血栓栓塞性卒中和其它类型的缺血性起源的卒中、心房纤维性颤动、心房纤维性颤动中的卒中预防(SPAF)、深层静脉血栓形成、静脉血栓栓塞及肺栓塞。这些病症也可包括导管中形成血栓的导管相关的血栓(例如肿瘤患者中的希克曼导管(Hickman catheter)),及管道中和

氧化膜产生凝块的体外膜氧合 (ECMO) 的预防和治疗。

[0194] 如本文所用,“血栓栓塞”或类似术语也可指本公开的抗FXI和/或FXIa抗体或其抗原结合片段可用以预防或治疗的以下病状中的许多病状:

[0195] -怀疑或确诊有心律不整,诸如突发性、持久性或永久性心房纤维性颤动或心房颤动的个体的血栓栓塞;

[0196] -心房纤维性颤动中的卒中预防 (SPAF),其亚群为经受经皮冠状动脉干预 (PCI) 的 AF 患者;

[0197] -高出血风险的患者中急性静脉血栓栓塞事件 (VTE) 治疗及持久继发性VTE预防;

[0198] -短暂缺血性发作 (TIA) 或非失能性卒中后二级预防及并发窦性节律的心脏衰竭中血栓栓塞事件预防中的大脑及心脏血管事件;

[0199] -经受针对心律不整的心脏复律的个体的左心房的凝块形成及血栓栓塞;

[0200] -在针对心律不整的切除程序前、期间及后的血栓形成;

[0201] -静脉血栓形成,此情况包括(但不排除)治疗及二级预防下部或上部的深层或表面静脉血栓、腹部及胸部静脉的血栓、窦血栓形成及颈静脉血栓形成;

[0202] -静脉或动脉中任何人工表面(如导管、起搏器导线、合成动脉移植物;机械性或生物性心脏瓣膜或左心室辅助装置)上的血栓形成;

[0203] -有或无静脉血栓的患者的肺栓塞;

[0204] -慢性血栓栓塞性肺高血压 (CTEPH);

[0205] -破裂动脉粥样硬化斑上的动脉血栓、动脉内辅具或导管上的血栓及表面上正常的动脉中的血栓,此病状包括(但不限于)急性冠状动脉综合征、ST抬高性心肌梗塞、非ST抬高性心肌梗塞、不稳定绞痛、支架血栓、动脉系统中任何人工表面的血栓及有或无肺高血压的个体的肺部动脉的血栓;

[0206] -经受经皮冠状动脉干预 (PCI) 的患者的血栓形成及血栓栓塞;

[0207] -心因性及隐源性卒中;

[0208] -患有侵入性及非侵入性癌症恶性肿瘤的患者的血栓形成;

[0209] -留置导管上的血栓;

[0210] -严重疾病患者的血栓及血栓栓塞;

[0211] -心脏血栓及血栓栓塞,此包括(但非独占式地)心肌梗塞后的心脏血栓、与诸如心脏动脉瘤、心肌纤维化、心脏增大及功能障碍、心肌炎及心脏中的人工表面的病状有关的心脏血栓;

[0212] -有或无心房纤维性颤动的心脏瓣膜病患者的血栓栓塞;

[0213] -瓣膜机械或生物辅具上的血栓栓塞;

[0214] -在简单或复杂心脏畸形的心脏修复之后具有天然或人工心脏补片、动脉或静脉导管的患者的血栓栓塞;

[0215] -膝置换手术、髋置换手术及矫形外科手术、胸部或腹部手术后的静脉血栓及血栓栓塞;

[0216] -包括颅内及脊髓干预的神经外科手术后的动脉或静脉血栓;

[0217] -先天性或获取性血栓形成倾向,包括(但非独占式地)因子V莱顿、凝血酶原突变、抗凝血酶III、蛋白C及蛋白S缺乏、因子XIII突变、家族纤维蛋白原不良血症、先天性纤维蛋

白溶酶原缺乏、因子XI含量增加、镰状细胞疾病、抗磷脂综合征、自身免疫性疾病、慢性肠病、肾病综合征、溶血性尿毒症、骨髓增生疾病、散播性血管内凝血、阵发性夜间血红素尿症及肝素诱导的血小板减少症；

[0218] -慢性肾病中的血栓形成及血栓栓塞；及

[0219] -经受血液透析的患者及经受体外膜氧合的患者的血栓及血栓栓塞。

[0220] 术语“嵌合抗体”为一种抗体分子，其中 (a) 恒定区或其一部分发生变化、置换或交换，使得抗原结合位点(可变区)连接至不同或改变类别、效应功能和/或物种或赋予嵌合抗体(例如酶、毒素、激素、生长因子、药物等)新特性的完全不同分子的恒定区；或 (b) 可变区或其一部分变成具有不同或改变抗原特异性的可变区、经具有不同或改变抗原特异性的可变区置换或交换。例如，小鼠抗体可通过用来自人免疫球蛋白的恒定区置换其恒定区来修饰。由于经人恒定区置换，因此嵌合抗体可保持其识别抗原的特异性，同时相较于初始小鼠抗体，其在人中的抗原性降低。

[0221] 术语“保守修饰的变体”适用于氨基酸与核酸序列。关于特定核酸序列，经保守修饰的变体是指编码相同或基本上相同氨基酸序列的那些核酸，或其中该核酸不依照基本上相同序列来编码氨基酸序列。由于遗传密码的简并性，因此许多在功能上相同的核酸编码任何指定蛋白质。例如，密码子GCA、GCC、GCG及GCU皆编码氨基酸丙氨酸。因此，在丙氨酸通过密码子说明的每一位置上，密码子可在不改变所编码的多肽的情况下改变成任一个所述对应密码子。此类核酸变异为“沉默变异”，其为一种保守修饰型变异。本文中编码多肽的每一核酸序列也描述核酸的每一可能的沉默变异。本领域技术人员应认识到核酸中的各密码子(除通常为甲硫氨酸的唯一密码子的AUG及通常为色氨酸的唯一密码子的TGG外)可经修饰以产生功能上相同的分子。因此，编码多肽的核酸的各沉默变异隐含于各所述序列中。

[0222] 就多肽序列而言，“经保守修饰的变体”包括对多肽序列的各个取代、删除或添加，其导致用化学上相似氨基酸取代氨基酸。提供功能上类似的氨基酸的保守取代表在本领域中已熟知。此类经保守修饰的变体另外为且不排除本公开的多态变体、种间同源物及等位基因。以下八组含有彼此为保守取代的氨基酸：1) 丙氨酸(A)、甘氨酸(G)；2) 天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)；3) 天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q)；4) 精氨酸(R)、赖氨酸(K)；5) 异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甲硫氨酸(M)、缬氨酸(V)；6) 苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W)；7) 丝氨酸(S)、苏氨酸(T)；及8) 半胱氨酸(C)、甲硫氨酸(M)(参见例如Creighton, Proteins (1984))。在一些实施方案中，术语“保守序列修饰”用于指氨基酸修饰，其不会显著影响或改变含有氨基酸序列的抗体的结合特征。

[0223] 术语“表位”是指能够特异性结合至抗体的蛋白质决定子。表位通常由诸如氨基酸或糖侧链的分子的化学活性表面基团组成，且通常具有特定三维结构特征，以及荷质比(specific charge)特征。构象表位与非构象表位区别在于，在变性溶剂存在下，与前者的结合消失，但与后者的结合未消失。若在竞争性结合分析中一个抗体展示为通过本领域技术人员熟知的方法中的任一个结合与第二抗体相同的表位，则两个抗体称为“竞争”。

[0224] 如本文所用，术语“人抗体”意欲包括可变区中的构架与CDR区均来源于人序列的抗体。此外，若抗体含有恒定区，则恒定区也源自此类人序列，例如人种系序列或人种系序列的突变形式。本公开的人抗体可包括不由人序列编码的氨基酸残基(例由体外随机或定点突变诱发或通过体内体细胞突变所引入的突变)。

[0225] 术语“人单克隆抗体”是指具有可变区呈现单结合特异性的抗体,其中构架与CDR区均来源于人序列。在一个实施方案中,人单克隆抗体使用筛选人免疫球蛋白基因库的噬菌体展示方法制备。

[0226] “人源化”抗体为保持非人抗体的反应性同时其在人中具较低免疫原性的抗体。此可例如由保留非人CDR区且用其人对对应物替换抗体的剩余部分来达成(也即恒定区以及可变区的构架部分)。参见例如Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855,1984;Morrison及Oi,Adv.Immunol.,44:65-92,1988;Verhoeyen等人,Science,239:1534-1536,1988;Padlan,Molec.Immun.,28:489-498,1991;及Padlan,Molec.Immun.,31:169-217,1994。人工程改造技术的其他实施例包括(但不限于)US 5,766,886中所揭示的Xoma技术。

[0227] 在两个或两个以上核酸或多肽序列的情况下,术语“相同”或“同一性”百分比是指两个或更多个序列或子序列相同。当在比较窗或指定区域上根据最大同一性比较及比定时,若两个序列具有特定百分比的相同氨基酸残基或核苷酸(也即在特定区域上,或未说明时在整个序列上,60%同一性,任选65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%同一性),如使用以下序列比较算法之一或通过人工比对及目视检查所测定,则两个序列“基本上相同”。任选地,同一性存在于至少约50个核苷酸(或10个氨基酸)长度的区域上,或更佳100至500个或1000个或1000个以上核苷酸(或20、50、200个或200个以上氨基酸)长度的区域上。

[0228] 就序列比较而言,通常一个序列用作参考序列,测试序列与其比较。使用序列比对算法时,将测试序列及参考序列输入计算机中,必要时指定子序列坐标,且指定序列算法程序参数。可使用默认程序参数,或可指定替代参数。序列比较算法接着基于程序参数来计算测试序列相对于参考序列的序列同一性百分比。

[0229] 如本文所用,“比较窗”包括提及在两个序列最佳比对之后,一个序列可与具有相同邻接位置数目的参考序列比较的区段,该区段具有任一个选自20至600、通常约50至约200、更通常约100至约150的邻接位置数目。用于比较的序列比对方法为本领域中所熟知。用于比较的最佳序列比对可例由Smith及Waterman(1970)Adv.Appl.Math.2:482c的局部同源性算法、通过Needleman及Wunsch,J.Mol.Biol.48:443,1970的同源性比对算法、通过Pearson及Lipman,Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA 85:2444,1988的相似性搜寻方法、通过这些算法的计算机化实施方案(Wisconsin Genetics Software Package,Genetics Computer Group,575Science Dr.,Madison,WI中的GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA)或通过人工比对及目测进行(参见例如Brent等人,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley& Sons,Inc.(Ringbou编,2003))。

[0230] 适用于确定序列同一性百分比及序列相似性的算法的两个实例为BLAST及BLAST 2.0算法,其分别描述于Altschul等人,(1977)Nuc.Acids Res.25:3389-3402;及Altschul等人,(1990)J.Mol.Biol.215:403-410中。进行BLAST分析的软件可通过国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)公开获得。此算法包括通过鉴别查询序列中的长度W的短字来首先鉴别高评分序列对(HSP),该短字在与数据库序列中相同长度的字比定时匹配或满足某些正值阈值分数T。T称为邻域字分数阈值(Altschul等人,前述)。这些初始邻域字成功结果充当用于起始搜寻的种子以寻找含有其的较长HSP。字匹

配沿各序列在两个方向上延伸,只要累积比对分数增加即可。就核苷酸序列而言,累积分数是使用参数M(一对匹配残基的奖励分数;始终>0)及N(失配残基的罚分;始终<0)计算。就氨基酸序列而言,计分矩阵用于计算累积分数。当以下情况时,字命中在各方向中的延伸中断:累积比对分数从其达成的最大值降低量X;累积分数归因于一或多种负评分残基比对的累积而变成0或0以下;或达到任一序列的末端。BLAST算法参数W、T及X决定比对的灵敏度及速度。BLASTN程序(用于核苷酸序列)是使用字长(W)11、期望值(E)或10、M=5、N=-4及双链比较作为预设参数。就氨基酸序列而言,BLASTP程序使用以下默认:字长为3,及期望值(E)为10,且BLOSUM62评分矩阵(参见Henikoff及Henikoff,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:10915,1989)采用以下预设:比对(B)为50,期望值(E)为10,M=5,N=-4,及双链的对比。

[0231] BLAST算法也对两个序列之间的相似性进行统计学分析(参见例如Karlin及Altschul,Proc.Natl.Acad.Sci.USA90:5873-5787,1993)。通过BLAST算法提供的一种相似性度量为最小总和概率(P(N)),其提供两个核苷酸或氨基酸序列之间偶然出现匹配的概率的指示。例如,若测试核酸与参考核酸比较时的最小总和概率小于约0.2,更佳小于约0.01,且最佳小于约0.001,则认为核酸与参考序列相似。

[0232] 两个氨基酸序列之间的同一性百分比也可使用E.Meyers及W.Miller(Comput.Appl.Biosci.,4:11-17,1988)的算法(其已并入至ALIGN程序(2.0版)中)使用PAM120权重残基表(weight residue table)(空位长度罚分为12且空位罚分为4)测定。此外,两个氨基酸序列之间的同一性百分比可使用Needleman及Wunsch(J.Mol.Biol.48:444-453,1970)算法(其已并入至GCG软件包(可在全球信息网gcg.com获得)的GAP程序中),使用Blossom62矩阵或PAM250矩阵,及空位权重16、14、12、10、8、6或4以及长度权重1、2、3、4、5或6来测定。

[0233] 如下文所述,除以上提到的序列同一性的百分比之外,两个核酸序列或多肽基本上相同的另一指示为,通过第一核酸编码的多肽在针对通过第二核酸编码的多肽所引起的抗体的情况下具免疫交叉活性。因此,多肽通常与第二多肽基本上相同,例如其中两个肽不同指出仅为保守性取代。如下所述,两个核酸序列基本上相同的另一指示为两个分子或其补体在严格条件下彼此杂交。两个核酸序列基本上相同的另一指示为可使用相同引物扩增序列。

[0234] 术语“分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如特异性结合FXI和/或FXIa的分离的抗体基本上不含特异性结合除FXI和/或FXIa外的抗原的抗体)。然而,特异性结合至FXI和/或FXIa的分离的抗体可与其他抗原具有交叉反应性。另外,分离的抗体可基本上不含其他细胞物质和/或化学物质。

[0235] 术语“同种型”是指由重链恒定区基因得到的抗体类别(例如IgM、IgE、IgG,诸如IgG1或IgG4)。同种型也包括这些类别之一的修饰型,其中已进行修饰以改变Fc功能,例如以增强或减少效应子功能或与Fc受体的结合。

[0236] 如本文所用,术语“ k_{assoc} ”或“ k_a ”意指特定抗体-抗原相互作用的结合速率,然而如本文所用,术语“ k_{dis} ”或“ k_d ”意指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。如本文所用,术语“ K_d ”意指解离常数,其获自 k_d 与 k_a 的比率(也即 k_d/k_a)且以摩尔浓度(M)表示。抗体的 K_d 值可使用本领域中充分确立的方法测定。测定抗体的 K_d 的方法包括使用诸如BIACORE™系统的生物传感器系统测定表面等离子共振,或通过溶液平衡滴定(SET)在溶液中测定亲和力。

[0237] 如本文所用,术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”是指单一分子组成的抗体分子的制备物。单克隆抗体组合物显示针对特定表位的单一结合特异性及亲和性。

[0238] 术语“核酸”在本文中可与术语“多核苷酸”互换使用且是指呈单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物。该术语涵盖含有已知核苷酸类似物或经修饰的主链残基或键的核酸,该核酸为合成的、天然产生的及非天然产生的,具有与参考核酸类似的结合特性,且以类似于参考核苷酸的方式代谢。此类类似物的实施例包括(但不限于)硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、磷酸甲酯、手性磷酸甲酯、2-0-甲基核糖核苷酸、肽核酸(PNA)。

[0239] 除非另外指明,否则特定核酸序列也含蓄地涵盖其经保守修饰的变体(例如简并密码子取代)及互补序列,以及经明确指示的序列。特别地,如下详述,简并密码子取代可通过产生其中一或更多个所选(或所有)密码子的第三位置经混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列来达成(Batzer等人,Nucleic Acid Res.19:5081,1991;Ohtsuka等人,J.Biol.Chem.260:2605-2608,1985;及Rossolini等人,Mol.Cell.Probes 8:91-98,1994)。

[0240] 术语“有效连接”是指两个或更多个多核苷酸(例如DNA)片段之间的功能关系。典型地,该术语是指转录调节序列相对于所转录序列的功能关系。例如,启动子或增强子序列若其在适当宿主细胞或其他表达系统中刺激或调节编码序列的转录,则有效连接至编码序列。一般而言,有效连接至转录序列的启动子转录调节序列在物理上邻接于所转录序列,也即其为顺式作用。然而,诸如增强子的一些转录调节序列无需在物理上邻接于或紧邻于其增强转录的编码序列。

[0241] 如本文所使用的术语“经优化”是指,使用密码子改变核苷酸序列以编码氨基酸序列,该密码子优选于生产细胞或生物体,一般而言为真核细胞,例如毕赤酵母(*Pichia*)细胞、中国仓鼠卵巢细胞(CHO)或人细胞。使经优化核苷酸序列工程化以完全或尽可能地保留通过起始核苷酸序列来最初编码的氨基酸序列,其也被称为“亲本”序列。本文中的优化序列已经工程改造以具有哺乳动物细胞中的优选密码子。然而,本文中也预想在其他真核细胞或原核细胞中这些序列的经优化表达。由优化核苷酸序列编码的氨基酸序列也称为优化。

[0242] 术语“多肽”或“蛋白质”在本文中可互换使用,且是指氨基酸残基的聚合物。该术语适用于氨基酸聚合物,其中一或多种氨基酸残基为相应天然产生的氨基酸的人工化学模拟物,以及适用于天然产生的氨基酸聚合物及非天然产生的氨基酸聚合物。除非另外指明,否则特定多肽序列也隐含地涵盖其保守修饰型变体。

[0243] 如本文所用,术语“重组人抗体”包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人抗体,诸如从人免疫球蛋白基因的转基因或转染色体动物(例如小鼠)或从其制备的融合瘤中分离的抗体;自经转染以表达人抗体的宿主细胞(例如转染瘤)中分离的抗体;自重组、组合人抗体文库中分离的抗体;及通过任何其他方式(包括将人免疫球蛋白基因序列的全部或一部分与其他DNA序列剪接)制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人抗体具有其中构架及CDR区来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区。然而,在某些实施方案中,此类重组人抗体可进行体外突变诱发(或当使用人Ig序列的转基因动物时,为体内体细胞突变诱发),且因此重组抗体的VH及VL区的氨基酸序列为体内可不天然产生于人抗体种系的所有组成成分,虽然该序列来源于人种系VH及VL序列且与人种系VH及VL序列有关。

[0244] 术语“重组宿主细胞”(或简言的“宿主细胞”)是指已引入重组表达载体的细胞。应

了解,此类术语不仅意指特定个体细胞,而且指此类细胞的后代。因为某些修饰可能因突变或环境影响而出现在后代中,所以此类后代可能实际上不与亲本细胞相同,然而仍包括于如本文所使用的术语“宿主细胞”范畴内。

[0245] 术语“个体”包括人及非人动物。非人动物包括所有脊椎动物(例如:哺乳动物及非哺乳动物),诸如非人灵长类动物(例如食蟹猴)、绵羊、兔、狗、母牛、鸡、两栖动物及爬虫。除提到时外,术语“患者”或“个体”在本文中互换使用。如本文所用,术语“猕猴”或“食蟹猴(cynomolgus)”是指食蟹猴(cynomolgus monkey)(食蟹猴)。在具体方面中,患者或个体为人。

[0246] 如本文所用,术语“治疗(treating/treatment)”任何疾病或病症(例如血栓栓塞病症)在一个实施方案中是指改善疾病或病症(也即减缓或遏制或减少疾病或其临床症状中的至少一个的发展)。在另一实施方案中,“治疗(treating/treatment)”是指缓解或改善至少一种身体参数,包括患者可能辨别不出的身体参数。在又一实施方案中,“治疗(treating/treatment)”是指身体上(例如使可辨别症状稳定)、生理学上(例如使身体参数稳定)或以两种方式调节疾病或病症。在又一实施方案中,“治疗(treating/treatment)”是指预防或延迟疾病或病症的发作或发展或进展。

[0247] “预防”在其涉及本文所述的适应症(包括例如血栓栓塞病症)时是指预防或减缓有该恶化风险的患者的如下所述例如血栓栓塞疾病参数的恶化的任何作用。

[0248] 术语“载体”意指多核苷酸分子,其能够传输其已连接的另一多核苷酸。载体的一种类型为“质粒”,其是指其他DNA片段可接合至其中的环形双链DNA环。另一种载体类型为病毒载体,诸如腺相关病毒载体(AAV或AAV2),其中其他DNA区段可连接至病毒基因组。某些载体能够在引入其的宿主细胞中自主复制(例如具有复制的细菌源的细菌载体及游离型哺乳动物载体)。其他载体(例如非游离型哺乳动物载体)在引入宿主细胞中时可整合至宿主细胞的基因组中,且进而与宿主基因组一起复制。此外,某些载体能够引起其有效连接的基因的表达。该载体在本文中称为“重组表达载体”(或简言的“表达载体”)。一般而言,用于重组DNA技术中的表达载体常常呈质粒形式。由于质粒为载体的最常用形式,因而在本发明书中,“质粒”及“载体”可互换使用。然而,本公开意欲包括提供等效功能的此类其他形式的表达载体,诸如病毒载体(例如复制缺陷反转录病毒、腺病毒以及腺相关病毒)。

[0249] 附图简述

[0250] 图1A-C展示在用人FXI蛋白重建的FXI^{-/-}小鼠中NOV1401对FeCl₃诱导的血栓形成的影响。NOV1401剂量依赖性地抑制血栓形成。抗体会延长aPTT,其延长程度与未处理的FXI^{-/-}小鼠相同。

[0251] 图2A-B展示食蟹猴中多种静脉内(i.v.) (A;N=2)或皮下(s.c.) (B;N=2)剂量3mg/kg、10mg/kg及30mg/kg的NOV1401对aPTT(菱形)及总血浆NOV1401含量关系(方块)的影响。单次剂量3mg/kg导致约2倍aPTT,其维持5-6周。所有所测试的剂量均使aPTT以类似程度延长,且所测试的较高剂量似乎不会使3mg/kg剂量下观察到的aPTT延长的量级增加。

[0252] 图3A-B展示在食蟹猴中多种静脉内(A;N=2)或皮下(B;N=2)剂量3mg/kg、10mg/kg及30mg/kg的NOV1401对血浆游离FXI(方块)及aPTT关系(菱形)的影响。单次剂量3mg/kg会降低游离FXI大约90%,维持5-6周。所有所测试的剂量均使游离FXI以类似程度降低,且所测试的较高剂量似乎不会使3mg/kg剂量下观察到的游离FXI减少的量级增加。

[0253] 图4A-C展示抗FXI/FXIa抗体的化合物反应曲线。图4A展示通过NOV1401抑制因子XIa活性。抗体NOV1401抑制全长人FXIa的酶活性的代表性化合物反应曲线。如实施例2中所述,该分析测定荧光标记的肽的裂解。使用非线性曲线拟合对数拟合模型 $[y = A2 + (A1 - A2) / (1 + (x / IC_{50})^p)]$,其中y为抑制剂浓度x下的抑制百分比。A1为最低抑制值,且A2为最大抑制值。该代表性数据集的指数p[为希尔系数]产生160pM的 IC_{50} 值。图4B展示aPTT化合物反应曲线。aPTT分析中使用汇集的人血浆得到的抗体NOV1401延长凝血时间的代表性化合物反应曲线。如实施例3中所述,该分析测定在不同浓度的NOV1401存在下起始内在凝血级联后的凝血时间。黑线表示使用逻辑非线性拟合模型得到的拟合结果。点线表示不存在NOV1401下汇集的人血浆的基线凝血时间。基线凝血时间为32.3秒,且在图中指示为灰色虚线。灰色点线指示与基线相比凝血时间加倍的抗体浓度,也即 $2 \times aPTT$ 值,其为14nM。图4C展示TGA反应曲线。展示TGA中用汇集的人血浆得到的抗体NOV1401抑制凝血酶产生的代表性化合物反应曲线。如实施例3中所述,该分析测定通过可通过极低组织因子(TF)浓度触发的所谓凝血酶 \rightarrow FXIa前馈环得到的不同浓度的NOV1401对FXI依赖性凝血酶产生的影响。黑线表示使用四参数剂量-反应曲线模型得到的拟合结果。点线表示归因于通过少量TF诱导的凝血酶产生的残余凝血酶浓度。计算此化合物反应曲线的24nM的 IC_{50} 值及159nM的残余凝血酶浓度(点线)。

[0254] 图5A-B展示皮下10mg/kg (N=3) 及100mg/kg (N=5) 的每周NOV1401剂量维持13周(14个剂量)或静脉内50mg/kg (N=3) 维持4周(5个剂量)对aPTT及FXI活性(FXI:C)的影响。图5A展示对aPTT的影响,在研究第2、23及79天测定。在接受NOV1401的所有动物中aPTT增加2.1至3倍且在研究的整个给药阶段中持续升高。未观察到剂量依赖性且未注意到性别相关的差异。图5B展示对FXI:C的影响,在研究第2、23及79天测定且描绘为血浆FXI活性的百分比。在接受NOV1401的所有动物中FXI:C降低至5-12%的程度且在该研究的整个给药阶段中维持于这些程度。未观察到剂量依赖性且未注意到性别相关的差异。

[0255] 具体描述

[0256] 本公开部分地基于以下发现:与FXIa特异性结合并抑制其生物学活性的抗体分子(例如,NOV1090或NOV1401)用于在ESRD个体(如接受血液透析的ESRD个体)中对血栓形成或血栓栓塞(如卒中)进行预防或降低风险。在特定方面,本文提供在AF和ESRD个体(如接受血液透析的ESRD个体)中对血栓形成或血栓栓塞(如卒中或全身栓塞)进行预防或降低风险的方法。在具体方面,这类个体面临高出血风险。

[0257] 本公开涉及完整IgG样式抗体(例如,人抗体)以及其抗原结合片段,如Fab片段(例如,抗体NOV1090和NOV1401)的用途。

[0258] 因子XI

[0259] FXI保持在内在与外来凝血途径及桥接血浆止血的起始及扩增阶段中起重要作用。因子XIIa与凝血酶可活化FXI,从而导致持续产生凝血酶及抑制纤维蛋白溶解。FXI在高组织因子环境中“在血管损伤之后”在正常止血中起次要作用,然而其似乎在血栓形成中起重要作用。重度因子XI缺乏与缺血性卒中及静脉血栓栓塞事件发生率较低相关(Salomon等人2008;Salomon等人,(2011)Thromb Haemost.;105:269-73)。重度因子XI缺乏个体中的出血表现不频繁,通常为轻度的,损伤诱导的且优选影响纤维蛋白溶解活性增加的组织,诸如口腔黏膜、鼻黏膜及泌尿道(Salomon等人2011)。关键器官的出血极其罕见或不存在。

[0260] 血浆凝血为血液中的凝血因子相互作用且发生活化的连续过程,最后导致纤维蛋白产生及凝块形成。在凝血的经典级联模型中,纤维蛋白产生的方法可通过两种不同途径起始,也即分别内在及外来途径 (Mackman,2008)。

[0261] 在外来途径中,血管损伤使血管外组织因子 (TF) 与因子VII (FVII) 相互作用且将其活化,其相继导致因子X及凝血酶原活化。活性凝血酶最终将可溶性纤维蛋白原转化成纤维蛋白。外来途径为止血的核心问题,在此途径中干扰凝血因子导致出血风险。

[0262] 在内在途径中,在一些情况下,因子XII可通过称为接触活化的过程活化。产生活化因子XIIa导致因子XI及因子IX连续活化。当因子IXa活化因子X时,外来及内在途径在此阶段会聚(在共同途径)。凝血酶活性通过通过前馈环使其自身产生增强来强化,其中凝血酶独立于因子XII活化因子XI。此前馈环有助于持续血栓生长,但仅以最低限度涉及止血,因为通过血管外组织因子强力活化足以使凝块形成。内在途径因此基本上不涉及止血 (Gailani及Renné (2007) *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007, 27 (12):2507-13, Müller, Gailani, and Renné 2011)。

[0263] 使用跨越多种物种的多种途径抑制FXI或FXIa的临床前研究有助于验证此目标。FXI-/-小鼠对实验性静脉 (Wang等人, (2006) *J Thromb Haemost*;4:1982-8) 及动脉 (Wang等人 (2005) *J Thromb Haemost*;3:695-702) 血栓具有抗性。用阻断通过FXIIa进行的FXI活化的抗体 (Ab, 14E11) 治疗小鼠会致使抑制实验性血栓 (Cheng等人, (2010) *Blood*, 116:3981-9) 且降低缺血性卒中的小鼠模型中大脑梗塞尺寸 (Leung等人, (2012) *Transl Stroke Res* 2012;3:381-9)。在施用阻断FIX的结合及FXIa进行的FIX的活化的抗FXI Ab的狒狒中,在包覆胶原蛋白的血管移植物上观察到富血小板的血栓的生长减低 (Tucker等人, (2009) *Blood* 2009;113:936-44) 且在此模型中在14E11下发现类似结果 (Cheng 2010)。在这些研究中的任一个中未注意到过量出血。

[0264] 在小鼠 (Zhang等人, (2010) *Blood* 2010;116:4684-92)、食蟹猴 (Younis等人, (2012) *Blood* 2012;119:2401-8) 及狒狒 (Crosby等人, (2013) *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33:1670-8) 中用反义寡核苷酸阻断FXI合成在无过量出血下产生抗血栓剂及抗凝血药效果。此外,在大鼠 (Schumacher等人, (2007) *Eur J Pharmacol* 2007;570:167-74) 及兔 (Wong等人, (2011) *J Thromb Thrombolysis* 2011;32:129-37) 中的血栓的静脉及动脉模型中类似效果已由用低分子量抑制剂阻断FXIa产生。

[0265] 重度FXI缺乏患者很少自发出血且其仅展示轻度创伤诱导出血,具有高纤维蛋白溶解活性的组织中除外。重度FXI缺乏的罕见性使得必须使用群体研究,该群体研究相对于一般群体展现这些患者的血栓概况。值得注意的是,此类研究报导这些患者中缺血性卒中 (Salomon 2008) 及深层静脉血栓形成 (DVT) (Salomon等人, (2011) *Blood* 2008;111:4113-17) 的发生率降低。因此,在115位重度FXI缺乏患者中观察到的局部缺血性卒中 (N=1) 的数量低于 ($p<0.003$) 一般犹太人群体中的预期发生率 (N=8.6), 而重度FXI缺乏患者中DVT的发生率 (N=0) 低于 ($p<0.019$) 对照群体中所预期 (N=4.7)。相反,FXI含量高于90%的个体发生DVT的风险为两倍 (Meijers等人, (2000) *N Engl J Med.* 2000;342:696-701)。

[0266] 近年来,经全膝置换 (一种易患DVT的程序) 的患者用FXI反义疗法 (antisense therapy) 或标准疗法 (standard of care) (依诺肝素) 治疗。反义组 (300mg) 与标准疗法相比显示静脉血栓发生率降低7倍且较少 (不显著) 出血事件 (Büller等人, (2014) *N Engl J*

Med.372(3):232-40.doi:10.1056/NEJMoa1405760.Epub 2014年12月7日)。

[0267] 总而言之,以上研究强烈支持FXI作为抗血栓治疗的有效目标。

[0268] FXIa抗体及抗原结合片段

[0269] 本公开提供与FXI和/或FXIa特异性结合的抗体,用于对血栓形成或血栓栓塞(如卒中)进行治疗、预防或降低风险。在一些实施方案中,本公开提供与人、兔和食蟹猴FXI和/或FXIa特异性结合的抗体。本公开的抗体包括但不限于如实施例所述那样分离的人单克隆抗体和Fab。

[0270] 本公开提供特异性结合FXI和/或FXIa蛋白(例如人、兔及食蟹猴FXI和/或FXIa)的抗体,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:9及29的VH域。本公开也提供特异性结合至FXI和/或FXIa蛋白的抗体,其中该抗体包含具有下文表1中所列的任一VH CDR的氨基酸序列的VH CDR。特别地,本公开提供特异性结合至FXI和/或FXIa蛋白(例如人、兔及食蟹猴FXI和/或FXIa)的抗体,其中该抗体包含一个、两个、三个或更多个具有下文表1中所列的任一VH CDR氨基酸序列的VH CDR(或者备选地,由其组成)(参见2016年6月24日提交并且作为W02016/207858公开的PCT国际专利申请号PCT/IB2016/053790,所述文献因而通过引用方式完整地并入)。

[0271] 本公开提供与FXIa蛋白特异性结合的抗体,所述抗体包含具有SEQ ID NOs:19或39的氨基酸序列的VL结构域,用于本文所述方法中(例如,用于降低ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法)。本公开还提供与FXI和/或FXIa蛋白(例如,人、兔和食蟹猴FXI和/或FXIa)特异性结合的抗体,所述抗体包含具有本文下表1中所列出任一VL CDR的氨基酸序列的VL CDR,用于本文所述方法中(例如,用于降低ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法)。特别地,本公开提供与FXIa蛋白(例如,人、兔和食蟹猴FXI和/或FXIa)特异性结合的抗体,所述抗体包含具有本文下表1中所列任意VL CDR的氨基酸序列的一个、两个、三个或更多个VL CDR(或备选地,由其组成)。

[0272] 用于本文所述方法(例如,用于降低ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法)中的其他抗体包含已经被突变,然而在CDR区内与表1中所述的序列描述的CDR区具有至少60%、70%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸。在一些实施方案中,它包括这样的突变氨基酸序列,其中与表1所述序列中描述的CDR区相比时,已经突变CDR区内不多于1、2、3、4或5个氨基酸。

[0273] 表1FXIa抗体、Fab和FXIa蛋白的例子。

[0274]

序列描述	序列标识符 (SEQ ID NO:)	氨基酸或多核苷酸序列
人 FXI 全长蛋白质序列 (NCBI 参考序列 : AAA51985)	1	MIFLYQVVHF ILFTSVSGEC VTQLLKDTCF EGGDITTVFT PSAKYCQVVC TYHPRCLLFT FTAESPSEDP TRWFTCVLKD SVTETLPRVN RTAAISGYSF KQCSHQISAC NKDIYVDLDM KGINYNSSVA KSAQECQERC TDDVHCHFFT YATRQFPSLE HRNICLLKHT QTGTPTRITK LDKVVSGFSL KSCALSNLAC IRDIFPNTVF ADSNIDSVMA PDAFVSGRIC THHPGCLFFT FFSQEWPKEs QRNLCLLKTS ESGLPSTRIK KSKALSGFSL QSCRHSIPVF CHSSFYHDTD FLGEELDIVA AKSHEACQKL CTNAVRCQFF TYTPAQASCN EGKGKCYLKL SSNGSPTKIL HGRGGISGYT LRLCKMDNEC TTKIKPRIVG GTASVRGEWP WQVTLHTTSP TQRHLCGGSI IGNQWILTAA HCFYGVESPK ILRVYSGILN QSEIKEDTSF FGVQEIIIHD QYKMAESGYD IALLKLETTV NYTDSQRPIC LPSKGDRNVI YTDCWVTGWG YRKLRLDKIQN TLQKAKIPLV TNEECQKRYR GHKITHKMIC AGYREGGKDA CKGDSGGPLS CKHNEVWHLV GITSWGEGCA QRERPGVYTN VVEYVDWILE KTQAV
人 FXI 全长核苷酸序列 (NCBI 参考序	2	AGGCACACAG GCAAAATCAA GTTCTACATC TGTCCCTGTG TATGTCACTT GTTGAATAC GAAATAAAAT TAAAAAATA AATTCAGTGT ATTGAGAAAG CAAGCAATTC TCTCAAGGTA TATTTCTGAC ATACTAAGAT TTTAACGACT TTCACAAATA TGCTGTACTG AGAGAGAATG

[0275]

列 : NM_000128. 3)	<p>TTACATAACA TTGAGAACTA GTACAAGTAA ATATTAAAGT GAAGTGACCA TTTCCTACAC AAGCTCATTG AGAGGAGGAT GAAGACCATT TTGGAGGAAG AAAAGCACCC TTATTAAGAA TTGCAGCAAG TAAGCCAACA AGGTCTTTTC AGGATGATTT TCTTATATCA AGTGGTACAT TTCATTTTAT TTACTTCAGT TTCTGGTGAA TGTGTGACTC AGTTGTTGAA GGACACCTGC TTTGAAGGAG GGGACATTAC TACGGTCTTC ACACCAAGCG CCAAGTACTG CCAGGTAGTC TGCACTTACC ACCCAAGATG TTTACTCTTC ACTTTCACGG CGGAATCACC ATCTGAGGAT CCCACCCGAT GGTTTACTTG TGTCTGAAA GACAGTGTTA CAGAAACACT GCCAAGAGTG AATAGGACAG CAGCGATTTC TGGGTATTCT TTCAAGCAAT GCTCACACCA AATAAGCGCT TGCAACAAAG ACATTTATGT GGACCTAGAC ATGAAGGGCA TAAACTATAA CAGCTCAGTT GCCAAGAGTG CTCAGAATG CCAAGAAAGA TGCACGGATG ACGTCCACTG CCACCTTTTTC ACGTACGCCA CAAGGCAGTT TCCCAGCCTG GAGCATCGTA ACATTTGTCT ACTGAAGCAC ACCCAAACAG GGACACCAAC CAGAATAACG AAGCTCGATA AAGTGGTGTC TGGATTTTCA CTGAAATCCT GTGCACTTTC TAATCTGGCT TGTATTAGGG ACATTTTCCC TAATACGGTG TTTGCAAGCA GCAACATCGA CAGTGTCATG GCTCCCGATG CTTTTGTCTG TGGCCGAATC TGCACTCATC ATCCCGGTTG CTTGTTTTTT ACCTTCTTTT CCCAGGAATG GCCCAAAGAA TCTCAAAGAA ATCTTTGTCT CCTTAAACA TCTGAGAGTG GATTGCCAG TACACGCATT AAAAAGAGCA AAGCTCTTTC TGTTTTCAGT CTACAAAGCT GCAGGCACAG CATCCCAGTG TTCTGCCATT CTTCAATTTA CCATGACACT GATTCTTTGG GAGAAGAACT GGATATTGTT GCTGCAAAAA GTCACGAGGC CTGCCAGAAA CTGTGCACCA ATGCCGTCCG CTGCCAGTTT TTTACCTATA CCCCAGCCCA AGCATCCTGC AACGAAGGGA AGGGCAAGTG TTACTTAAAG CTTTCTTCAA ACGGATCTCC AACTAAAATA CTTCACGGGA GAGGAGGCAT CTCTGGATAC ACATTAAGGT TGTGTAAGAT GGATAATGAG TGTACCACCA AAATCAAGCC CAGGATCGTT GGAGGAACTG CGTCTGTTTC TGGTGAGTGG CCGTGGCAGG TGACCCTGCA CACAACCTCA CCCCTCAGA GACACCTGTG TGGAGGCTCC ATCATTGGAA ACCAGTGGAT ATTAACAGCC GCTCACTGTT TCTATGGGGT AGAGTCACCT AAGATTTTGC GTGTCTACAG TGGCATTTTA AATCAATCTG AAATAAAAGA GGACACATCT TTCTTTGGGG TTCAAGAAAT AATAATCCAT GATCAGTATA AAATGGCAGA AAGCGGGTAT GATATTGCCT TGTGAAACT GGAAACCACA GTGAATTACA CAGATTCTCA ACGACCCATA TGCCTGCCTT CCAAAGGAGA TAGAAATGTA ATATACACTG ATTGCTGGGT GACTGGATGG GGGTACAGAA AACTAAGAGA CAAAATACAA AATACTCTCC AGAAAGCCAA GATACCCTTA GTGACCAACG AAGAGTGCCA GAAGAGATAC AGAGGACATA AAATAACCCA TAAGATGATC TGTGCCGGCT ACAGGGAAGG AGGGAAGGAC GCTTGCAAGG GAGATTCTGG AGGCCCTCTG TCCTGCAAAC ACAATGAGGT CTGGCATCTG GTAGGCATCA CGAGCTGGGG CGAAGGCTGT GCTCAAAGGG AGCGGCCAGG TGTTTACACC AACGTGGTCG AGTACGTGGA CTGGATTCTG GAGAAACTC AAGCAGTGTG AATGGGTTC CAGGGGCCAT TGGAGTCCCT GAAGGACCCA GGATTTGCTG GGAGAGGGTG TTGAGTTCAC TGTGCCAGCA TGCTTCCTCC ACAGTAACAC GCTGAAGGGG CTTGGTGTGT GTAAGAAAAT GCTAGAAGAA AACAAACTGT CACAAGTTGT TATGTCCAAA ACTCCGTTT TATGATCGTT GTAGTTTGTG TGAGCATTCG GTCTCTTTGT TTTTGATCAC GCTTCTATGG AGTCCAAGAA TTACCATAAG GCAATATTTT TGAAGATTAC TATATAGGCA GATATAGCAG AAAATAACCA AGTAGTGGCA GTGGGGATCA GGCAGAAGAA CTGGTAAAAG AAGCCACCAT AAATAGATTT GTTTCGATGAA AGATGAAAAC TGAAGAAAAG GAGAACAAAG ACAGTCTTCA CCATTTTGCA GGAATCTACA CTCTGCCTAT GTGAACACAT TTCTTTTGTA AAGAAAGAAA TTGATTGCAT TTAATGGCAG ATTTTCAGAA TAGTCAGGAA TTCTTGTCAT TTCCATTTTA AAATATATAT TAAAAAAAAT CAGTTCGAGT AGACACGAGC TAAGAGTGAA TGTGAAGATA ACAGAATTTT TGTGTGGAAG AGGATTACAA GCAGCAATTT ACCTGGAAGT GATACCTTAG GGGCAATCTT</p>
-------------------------	---

[0276]

		GAAGATACAC TTCCTGAAA AATGATTTGT GATGGATTGT ATATTTATTT AAAATATCTT GGGAGGGGAG GCTGATGGAG ATAGGGAGCA TGCTCAAACC TCCCTAAGAC AAGCTGCTGC TGTGACTATG GGCTCCCAA GAGCTAGATC GTATATTTAT TTGACAAAA TCACCATAGA CTGCATCCAT ACTACAGAGA AAAACAATT AGGGCGCAA TGGATAGTTA CAGTAAAGTC TTCAGCAAGC AGCTGCCTGT ATTCTAAGCA CTGGGATTTT CTGTTTCGTG CAAATATTTA TCTCATTATT GTTGTGATCT AGTTCAATAA CCTAGAATTT GAATTGTCAC CACATAGCTT TCAATCTGTG CCAACAATA TACAATTCAT CAAGTGTG
NOV1090		
HCDR1 (Kabat)	3	TAAMS
HCDR2 (Kabat)	4	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (Kabat)	5	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (Chothia)	6	GFTFSTA
HCDR2 (Chothia)	7	SGSGSS
HCDR3 (Chothia)	8	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (IMGT)	43	GFTFSTAA
HCDR2 (IMGT)	44	ISGSGSST
HCDR3 (IMGT)	45	ARELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (组合 型)	46	GFTFSTAAMS
HCDR2 (组合 型)	4	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (组合 型)	5	ELSYLYSGYYFDY
VH	9	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTAAMSWVRQAPGKLEWVSGISGSGSSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSYLYSGYYFDYWGQGLVTVSS
编码 VH 的 DNA	10	CAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGTGGCCTGGTGCAGCCGGGTGGCAGCCTGCGTCTGAGCTG CGCGGCGTCCGGATTACCTTTTCTACTGCTGCTATGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCCGGGCAAAG GTCTCGAGTGGGTTTCCGGTATCTCTGGTTCTGGTTCTTCTACCTACTATGCGGATAGCGTGAAA GGCCGCTTTACCATCAGCCGCATAATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCG TGCGGAAGATACGGCCGTGTATTATGCGCGCGTGAAGTGTCTTACCTGTACTCTGGTTACTACT TCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTAGCTCA

[0277]

重链	11	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTAAMSWVRQAPGKGLEWVSGISGSGSSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSYLYSGYYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLTGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
编码重链的 DNA	12	CAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGTGGCCTGGTGCAGCCGGGTGGCAGCCTGCGTCTGAGCTG CGCGGCGTCCGGATTACCTTTTCTACTGCTGCTATGTCTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGCAAAG GTCTCGAGTGGGTTTCCGGTATCTCTGGTTCTGGTCTTCTACCTACTATGCGGATAGCGTGAAA GGCCGCTTTACCATCAGCCGCGATAATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCG TGCGGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGAAGTGTCTTACCTGTACTCTGGTTACTACT TCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGAAGTGTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTCCATCGGTC TTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACA CCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAG CAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA CGTACCGGGTGGTCAAGCTCTCACCCTGCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCA GCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCCTGGACAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
LCDR1 (Kabat)	13	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (Kabat)	14	KNYNRPS
LCDR3 (Kabat)	15	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (Chothia)	16	SSSNIGSND
LCDR2 (Chothia)	17	KNY
LCDR3 (Chothia)	18	WDQRQFDV
LCDR1 (IMGT)	47	SSNIGSND
LCDR2	37	KNY

[0278]

(IMGT)		
LCDR3 (IMGT)	15	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (组合型)	33	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (组合型)	14	KNYNRPS
LCDR3 (组合型)	15	SAWDQRQFDVV
VL	19	DIVLTQPPSVSGAPGQRTTISCSGSSSNIGSNDVSWYQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCSAWDQRQFDVVFVGGGTKLTVL
编码VL的DNA	20	GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAGCGGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATTAGCTG TAGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGTTCTAACGACGTGTCTTGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGG CGCCGAAACTGCTGATCTACAAAACTACAACCGCCCGAGCGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGA TCCAAAAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCGATTACCGGCCTGCAAGCAGAAGACGAAGCGGATTA TACTGCTCTGCTTGGGACCAGCGTCAGTTCGACGTTGTGTTTGGCGGGCCACGAAGTTAACCG TCCTA
轻链	21	DIVLTQPPSVSGAPGQRTTISCSGSSSNIGSNDVSWYQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCSAWDQRQFDVVFVGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQ ANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
编码轻链的DNA	22	GATATCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGCGTGAGCGGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATTAGCTG TAGCGGCAGCAGCAGCAACATTGGTTCTAACGACGTGTCTTGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGG CGCCGAAACTGCTGATCTACAAAACTACAACCGCCCGAGCGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGA TCCAAAAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCGATTACCGGCCTGCAAGCAGAAGACGAAGCGGATTA TACTGCTCTGCTTGGGACCAGCGTCAGTTCGACGTTGTGTTTGGCGGGCCACGAAGTTAACCG TCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCAA GCCAACAAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTG GAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCACCCCTCCAAACAAAGCAACA ACAAGTACGCGGCCAGCAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAAGTCCACAGAAGCTAC AGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA
NOV1401		
HCDR1 (Kabat)	23	TAAMS
HCDR2 (Kabat)	24	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (Kabat)	25	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (Chothia)	26	GFTFSTA
HCDR2 (Chothia)	27	SGSGSS

[0279]

HCDR3 (Chothia)	28	ELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (IMGT)	43	GFTFSTAA
HCDR2 (IMGT)	44	ISGSGSST
HCDR3 (IMGT)	45	ARELSYLYSGYYFDY
HCDR1 (组合 型)	46	GFTFSTAAMS
HCDR2 (组合 型)	4	GISGSGSSTYYADSVKG
HCDR3 (组合 型)	5	ELSYLYSGYYFDY
VH	29	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTAAMSWVRQAPGKLEWVSGISGSGSSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSYLYSGYYFDYWGQGLTVTVSS
编码 VH 的 DNA	30	CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTG CGCTGCTAGTGGCTTCACCTTTAGCACCGCCGCTATGAGCTGGGTTCGACAGGCCCCAGGGAAAG GCCTCGAGTGGGTCTCAGGGATTAGCGGTAGCGGCTCTAGCACCTACTACGCCGATAGCGTGAAG GGCCGGTTCACCTATCTCTAGGGATAACTCTAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAG AGCCGAGGACACCGCCGCTCTACTACTGCGCTAGAGAGCTGAGCTACCTGTATAGCGGCTACTACT TCGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGC
重链	31	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTAAMSWVRQAPGKLEWVSGISGSGSSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARELSYLYSGYYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
编码重链的 DNA	32	CAGGTGCAGCTGCTGGAATCAGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGTAGCCTGAGACTGAGCTG CGCTGCTAGTGGCTTCACCTTTAGCACCGCCGCTATGAGCTGGGTTCGACAGGCCCCAGGGAAAG GCCTCGAGTGGGTCTCAGGGATTAGCGGTAGCGGCTCTAGCACCTACTACGCCGATAGCGTGAAG GGCCGGTTCACCTATCTCTAGGGATAACTCTAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAG AGCCGAGGACACCGCCGCTCTACTACTGCGCTAGAGAGCTGAGCTACCTGTATAGCGGCTACTACT TCGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCCCTCCGTG TTCCCTCTGGCCCCCTTCCAGCAAGTCTACCTCCGCGCGCACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAAGTCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACA CCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGTCACAGTGCCTTCA AGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGA CAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCTCGGACAAGACCCACACCTGTCTCCCTGCCCTGCTCCTGAAC TGCTGGGCGGCCCTTCTGTGTTCTGTTCCTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGG ACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGCCGTGTCCACGAGGATCCTGAAGTGAAGTTCAATTG

[0280]

		GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTACAACCTCCA CCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAG TGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGGCCGCCCTATCGAAAAGACAATCTCCAAGGCCAAGGGCCA GCCTAGGGGAACCCAGGTGTACACCCTGCCACCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAACGGC CAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTGTA CTCCAAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAG
LCDR1 (Kabat)	33	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (Kabat)	34	KNYNRPS
LCDR3 (Kabat)	35	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (Chothia)	36	SSSNIGSND
LCDR2 (Chothia)	37	KNY
LCDR3 (Chothia)	38	WDQRQFDV
LCDR1 (IMGT)	47	SSNIGSND
LCDR2 (IMGT)	37	KNY
LCDR3 (IMGT)	15	SAWDQRQFDVV
LCDR1 (组合 型)	33	SGSSSNIGSNDVS
LCDR2 (组合 型)	14	KNYNRPS
LCDR3 (组合 型)	15	SAWDQRQFDVV
VL	39	QSVLTQPPSASGTPGQRVTI SCSSSSNIGSNDVSWYQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCSAWDQRQFDVVFGGGTKLTVL
编码VL的DNA	40	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGCTAGTGGCACCCCTGGTCAAAGAGTGACTATTAGCTG TAGCGGCTCTAGCTCTAATATCGGCTCTAACGACGTCAGCTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCG CCCCTAAGCTGCTGATCTATAAGAACTATAATAGGCCTAGCGGCTGCCCGATAGGTTTAGCGGA TCTAAATCAGGGACTTCTGCTAGTCTGGCTATTAGCGGCTGCAGTCAGAGGACGAGGCCGACTA CTACTGTAGCGCCTGGGATCAGCGTCAGTTCGACGTGGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCTGACCG TGCTG

[0281]

轻链	41	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNDVSWYQQLPGTAPKLLIYKNYNRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCSAWDQRQFDVVFGGGKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQ ANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
编码轻链的 DNA	42	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGCGCTAGTGGCACCCCTGGTCAAAGAGTGACTATTAGCTG TAGCGGCTCTAGCTCTAATATCGGCTCTAACGACGTCAGCTGGTATCAGCAGCTGCCGGCACCG CCCCTAAGCTGCTGATCTATAAGAACTATAATAGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGA TCTAAATCAGGGACTTCTGCTAGTCTGGCTATTAGCGGCCTGCAGTCAGAGGACGAGGCCGACTA CTACTGTAGCGCCTGGGATCAGCGTCAGTTCGACGTGGTGTTCGGCGGAGGCACCTAAGCTGACCG TGCTGGGTCAACCTAAGGCTGCCCCAGCGTGACCTGTTCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAG GCCAACAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTG GAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACCACCACCCCAAGCAGAGCAACA ACAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCGAGCAGTGGAAGGCCACAGGTCTTAC AGCTGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCGAGTGCAGC

[0282] 用于本文所述方法 (例如, 用于降低ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法) 中的其他抗体包括氨基酸或编码氨基酸的核酸已突变, 但与描述于表1中的序列具有至少60、65、70、75、80、85、90或95%同一性的那些抗体。一些实施方式包括突变氨基酸序列, 其中当相比于描绘于表1中的序列所描绘的可变区时, 不超过1个、2个、3个、4个或5个氨基酸已在可变区中发生突变, 同时保持基本上相同的抗原结合活性。

[0283] 由于这些抗体中的每一个均可结合至FXI和/或FXIa, 因此VH、VL、全长轻链及全长重链序列 (氨基酸序列及编码氨基酸序列的核苷酸序列) 可经“混合及匹配”以产生本公开的其他FXI和/或FXIa结合抗体。此类“经混合及匹配”的FXI和/或FXIa结合抗体可使用本领域中已知的结合分析 (例如ELISA及实施例章节中所述的其他分析) 来测试。当这些链混合及匹配时, 来自特定VH/VL配对的VH序列应经结构上类似的VH序列置换。同样, 来自特定全长重链/全长轻链配对的全长重链序列应经结构上类似的全长重链序列置换。同样, 自特定VH/VL配对的VL序列应用结构上类似的VL序列替换。同样, 自特定全长重链/全长轻链配对的全长轻链序列应用结构上类似的全长轻链序列置换。

[0284] 因此, 在一个方面中, 为了用于本文所述方法 (例如, 用于降低ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法) 中, 本公开提供一种分离的抗体或其抗原结合区, 其具有: 包含选自SEQ ID NO: 9及29的氨基酸序列的重链可变结构域, 及包含选自SEQ ID NO: 19及39的氨基酸序列的轻链可变结构域, 其中该抗体特异性结合于FXI和/或FXIa (例如人\兔及食蟹猴FXIa)。

[0285] 更具体的, 在某些方面中, 本公开提供一种分离的抗体或其抗原结合区, 其具有包含分别选自SEQ ID NO: 9及29; 或19及39的重链可变结构域及轻链可变结构域。

[0286] 在用于本文所述方法 (例如, 用于降低ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法) 中的一个具体实施方案中, 特异性结合于人FXI和/或FXIa的本文提供的抗体或其抗原结合片段包含有包含SEQ ID NO: 9的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO: 19的氨基酸序列的轻链可变区。

[0287] 在用于本文所述方法 (例如, 用于降低ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法) 中的一个具体实施方案中, 特异性结合于人FXI和/或FXIa的本文提供的抗体或其抗原结合片段包含有包含SEQ ID NO: 29的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO: 39的氨基酸序列的轻链可变区。

[0288] 在另一方面中,为了用于本文所述的方法,本公开提供(i)分离的抗体,其具有:包含选自SEQ ID NO:11或31就在哺乳动物细胞中表达而言已经优化的氨基酸序列的全长重链,及包含选自SEQ ID NO:21或41就在哺乳动物细胞中表达而言已经优化的氨基酸序列的全长轻链;或(ii)功能蛋白,其包含其抗原结合部分。更具体的,在某些方面中,本公开提供一种分离的抗体或其抗原结合区,其具有包含分别选自SEQ ID NO:11及31;或19及39的氨基酸序列的重链及轻链。

[0289] 在用于本文所述的方法的具体实施方案中,特异性结合于人FXI和/或FXIa的本文提供的抗体或其抗原结合片段包含有包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的重链及包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的轻链。

[0290] 在用于本文所述的方法的具体实施方案中,特异性结合于人FXI和/或FXIa的本文提供的抗体或其抗原结合片段包含有包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的重链可变区及包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的轻链可变区。

[0291] 如本文所用,术语“互补决定区”及“CDR”是指抗体可变区内赋予抗原特异性及结合亲和力的氨基酸序列。一般而言,各重链可变区中存在三种CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3),且各轻链可变区中存在三种CDR(LCDR1、LCDR2、LCDR3)。

[0292] 给定CDR的精确氨基酸序列边界可容易使用多种熟知流程中的任一个确定,该流程包括Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest”,第5版,公共卫生署(Public Health Service),美国国家卫生研究院(National Institutes of Health),Bethesda,MD(“Kabat”编号流程);Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948(“Chothia”编号流程);Lefranc等人,(2003)Dev.Comp.Immunol.,27,55-77(“IMGT”编号流程)或“组合的”系统所述的那些流程。

[0293] 例如,根据Kabat,抗体NOV1090在重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31至35(HCDR1)、50至66(HCDR2)及99至111(HCDR3);且轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为22至35(LCDR1)、51至57(LCDR2)及90至100(LCDR3)。根据Chothia,VH中的CDR氨基酸编号为26至32(HCDR1)、52至57(HCDR2)及99至111(HCDR3);且VL中的氨基酸残基编号为25至33(LCDR1)、51至53(LCDR2)及92至99(LCDR3)。根据Kabat与Chothia的CDR定义组合,CDR是由人VH中的氨基酸残基26至35(HCDR1)、50至66(HCDR2)及99至111(HCDR3)及人VL中的氨基酸残基22至35(LCDR1)、51至57(LCDR2)及90至100(LCDR3)组成。根据Kabat与Chothia的CDR定义组合,“组合的”CDR由人VH中的氨基酸残基26至35(HCDR1)、50至66(HCDR2)及99至108(HCDR3)及人VL中的氨基酸残基24至38(LCDR1)、54至60(LCDR2)及93至101(LCDR3)组成。作为另一实施例,根据IMGT,将重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为26至33(HCDR1)、51至58(HCDR2)及97至108(HCDR3);且将轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为27至36(LCDR1)、54至56(LCDR2)及93至101(LCDR3)。表1提供抗FXI/FXIa抗体(例如NOV1090及NOV1401)的例示性Kabat、Chothia、组合的及IMGT HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3。在另一方面中,本公开提供FXIa结合抗体,其包含如表1中所述的重链及轻链CDR1、CDR2及CDR3或其组合。抗体的VH CDR1的氨基酸序列示于SEQ ID NO:3及23中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列示于SEQ ID NO:4及24中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列示于SEQ ID NO:5及25中。抗体的VL CDR1的氨基酸序列示于SEQ ID NO:13及33中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列示于SEQ ID NO:14及34中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列示于

SEQ ID NO:15及35中。这些CDR区使用Kabat系统描绘。

[0294] 或者,如使用Chothia系统(Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948)所定义,抗体的VH CDR1的氨基酸序列示于SEQ ID NO:6及26中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列示于SEQ ID NO:7及27中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列示于SEQ ID NO:8及28中。抗体的VL CDR1的氨基酸序列示于SEQ ID NO:16及36中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列示于SEQ ID NO:17及37中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列示于SEQ ID NO:18及38中。

[0295] 或者,如使用组合的系统所定义,抗体的VH CDR1的氨基酸序列示于SEQ ID NO:46中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列示于SEQ ID NO:4中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列示于SEQ ID NO:5中。抗体的VL CDR1的氨基酸序列示于SEQ ID NO:33中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列示于SEQ ID NO:14中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列示于SEQ ID NO:15中。

[0296] 或者,如使用IMGT编号流程所定义,抗体的VH CDR1的氨基酸序列示于SEQ ID NO:43中。抗体的VH CDR2的氨基酸序列示于SEQ ID NO:44中。抗体的VH CDR3的氨基酸序列示于SEQ ID NO:45中。抗体的VL CDR1的氨基酸序列示于SEQ ID NO:47中。抗体的VL CDR2的氨基酸序列示于SEQ ID NO:37中。抗体的VL CDR3的氨基酸序列示于SEQ ID NO:15中。

[0297] 假定这些抗体中的每一个可结合至FXI和/或FXIa且抗原结合特异性主要由CDR1、CDR2及CDR3区域提供,因此VH CDR1、CDR2及CDR3序列与VL CDR1、CDR2及CDR3序列可“经混合及匹配”(也即来自不同抗体的CDR可经混合及匹配,但各抗体优选含有VH CDR1、CDR2及CDR3以及VL CDR1、CDR2及CDR3以产生本公开的其他FXI和/或FXIa结合分子。此类“经混合及匹配”的FXI和/或FXIa结合抗体可使用本领域中已知的结合分析及实施例中所所述的分析(例如ELISA、SET、BIAcore™分析)来测试。当VH CDR序列混合及匹配时,来自特定VH序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应经结构上类似的CDR序列置换。同样,当VL CDR序列混合及匹配时,来自特定VL序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列应经结构上类似的CDR序列置换。本领域技术人员显而易见,新颖的VH及VL序列可通过用选自本文中针对本公开的单克隆抗体所示的CDR序列的结构类似序列取代一或多个VH和/或VL CDR区序列来产生。除前述以外,在一个实施方案中,本文所述的抗体的抗原结合片段可包含VH CDR1、CDR2及CDR3或VL CDR 1、2及3,其中该片段以单可变结构域结合至FXI和/或FXIa。

[0298] 在本公开的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段可具有表1中所述的Fab的重链及轻链序列。更具体的,抗体或其抗原结合片段可具有NOV1090及NOV1401的重链及轻链序列。

[0299] 在本公开的其他实施方案中,特异性结合FXI和/或FXIa的抗体或抗原结合片段包含重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2及轻链可变区CDR3,如Kabat所定义且如表1中所述。在本公开的其他实施方案中,特异性结合FXI和/或FXIa的抗体或抗原结合片段包含重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2及轻链可变区CDR3,如Chothia所定义且如表1中所述。在其他实施方案中,特异性结合FXI和/或FXIa的抗体或抗原结合片段包含重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2及轻链可变区CDR3,如组合的系统所定义且如表1中所述。在本公开的其他实施方案中,特异性结合FXI和/或FXIa的抗体或抗原结合片段包含重链可变区CDR1、重链可变区CDR2、重链可变区CDR3、轻链可变区CDR1、轻链可变区CDR2及轻链可变区CDR3,如IMGT所定义且如表1中所述。

[0300] 在用于本文所述的方法的具体实施方案中,本公开包括特异性结合于FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:3的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:13的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2;及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3。

[0301] 在一具体实施方案中,本公开包括特异性结合于FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:23的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:24的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR2;及SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR3。

[0302] 在一具体实施方案中,本公开包括特异性结合于FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:6的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:7的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:8的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:16的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:17的轻链可变区CDR2;及SEQ ID NO:18的轻链可变区CDR3。

[0303] 在一具体实施方案中,本公开包括特异性结合于FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:26的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:27的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:28的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;及SEQ ID NO:38的轻链可变区CDR3。

[0304] 在一具体实施方案中,本文提供特异性结合于FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:43的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:44的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:45的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:47的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3。

[0305] 在一具体实施方案中,本文提供特异性结合于FXI和/或FXIa的抗体,其包含SEQ ID NO:46的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2;及SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3。

[0306] 在某些实施方案中,本公开包括如表1中所述的特异性结合至FXI和/或FXIa的抗体或抗原结合片段。在用于本文所述的方法的具体实施方案中,结合FXI和/或FXIa的抗体或抗原结合片段为NOV1090及NOV1401。

[0307] 如本文所使用,人抗体包含重链或轻链可变区或全长重链或轻链,若抗体的可变区或全长链获自使用人种系免疫球蛋白基因的系统,则其为特定种系序列的“产物”或“来源于”特定种系序列。此类系统包括用目的抗原使具有人免疫球蛋白基因的转基因小鼠免疫或用目的抗原筛选呈现在噬菌体上的人免疫球蛋白基因库。为人种系免疫球蛋白序列的“产物”或“来源于”人种系免疫球蛋白序列的人抗体可通过将人抗体的氨基酸序列与人种系免疫球蛋白的氨基酸序列进行比较且选择按顺序(也即最大同一性百分比)最接近人抗体序列的人种系免疫球蛋白序列来如此识别。

[0308] 如与种系序列所比较,为特定人种系免疫球蛋白序列的“产物”或“来源于”特定人种系免疫球蛋白序列的人抗体可含有氨基酸差异,其归因于例如天然产生的体细胞突变或定点突变的有意引入。然而,在VH或VL构架区中,所选人抗体通常在氨基酸序列上与由人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列具有至少90%同一性,且含有当与其他物种的种系免疫球蛋白氨基酸序列(例如鼠类种系序列)相比时鉴别人抗体为人的氨基酸残基。在某些情

况中,人抗体在氨基酸序列上与通过种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列具有至少60%、70%、80%、90%,或至少95%,或甚至至少96%、97%、98%,或99%同一性。

[0309] 通常,重组人抗体在VH或VL构架区中将呈现异于通过人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列的不超过10个氨基酸差异。在某些情况下,人抗体可能呈现异于通过种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列的不超过5个,或甚至不超过4个、3个、2个或1个氨基酸差异。人种系免疫球蛋白基因的实施例包括(但不限于)下文所述的可变结构域种系片段,以及DP47及DPK9。

[0310] 同源抗体

[0311] 在用于本文所述方法(例如,用于降低或预防ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法)中的又一个实施方案中,本公开提供一种抗体或其抗原结合片段,其包含与表1中所述的序列(例如SEQ ID NO:29、31、39或41)同源的氨基酸序列,且抗体结合至FXI和/或FXIa蛋白(例如人、兔及食蟹猴FXIa),且保留表1中所述的那些抗体(诸如NOV1090及NOV1401)的所需功能特性。在具体方面中,此类同源抗体保留表1中所述的CDR氨基酸序列(例如Kabat CDR、Chothia CDR、IMGT CDR或组合的CDR)。

[0312] 例如,本公开提供一种分离的抗体或其功能性抗原结合片段,其包含重链可变结构域及轻链可变结构域,其中该重链可变结构域包含与选自SEQ ID NO:9及29的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;该轻链可变结构域包含与选自SEQ ID NO:19及39的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;且抗体特异性结合于FXI和/或FXIa(例如人、兔及食蟹猴FXIa)。在一个实施方案中,分离的抗体或其功能性抗原结合片段包含重链可变结构域及轻链可变结构域,其中该重链可变结构域包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;该轻链可变结构域包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;且该抗体特异性结合于FXI和/或FXIa(例如人、兔及食蟹猴FXIa)。在一个实施方案中,分离的抗体或其功能性抗原结合片段包含重链可变结构域及轻链可变结构域,其中该重链可变结构域包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;该轻链可变结构域包含与SEQ ID NO:39的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;且该抗体特异性结合于FXI和/或FXIa(例如人、兔及食蟹猴FXIa)。在本公开的某些方面中,重链及轻链序列分别进一步包含由Kabat所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:3、4、5、13、14及15。在本公开的某些其他方面中,重链及轻链序列分别进一步包含由Chothia所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:6、7、8、16、17及18。在某些其他方面中,重链及轻链序列分别进一步包含由组合的系统所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:46、4、5、33、14及15。在某些其他方面中,重链及轻链序列分别进一步包含由IMGT所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:43、44、45、47、37及15。

[0313] 在用于本文所述方法的其他实施方案中,VH和/或VL氨基酸序列可与表1中所述的序列50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。在其他实施方案中,VH和/或VL氨基酸序列可为相同的,但其中不超过1、2、3、4或5个氨基酸位置存在氨基酸取代。与表1中所述那些抗体的VH及VL区具有高(也即80%或大于80%)同一性的具有VH及

VL区的抗体可通过分别编码SEQ ID NO:10或30及SEQ ID NO:20及40的核酸分子的突变诱发(例如定点或PCR介导的突变诱发),之后使用本文所述的功能性分析测试经编码的改变抗体的保留功能来获得。

[0314] 在用于本文所述方法的其他实施方案中,全长重链和/或全长轻链氨基酸序列可与表1中所述的序列(例如SEQ ID NO:11和/或21或31和/或41)具有50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。与SEQ ID NO:11或31中的任一个的全长重链及SEQ ID NO:21或41中的任一个的全长轻链具有高(也即80%或大于80%)同一性的具有全长重链及全长轻链的抗体可通过编码此类多肽的核酸分子的突变诱发(例如定点或PCR介导的突变诱发),之后使用本文所述的功能性分析测试经编码的改变抗体的保留功能来获得。

[0315] 在一个方面中,本文提供一种分离的抗体或其功能性抗原结合片段,其包含重链及轻链,其中该重链包含与选自SEQ ID NO:11及31的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;该轻链包含与选自SEQ ID NO:21及41的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;且该抗体特异性结合于FXI和/或FXIa(例如人、兔及食蟹猴FXIa)。在一个实施方案中,分离的抗体或其功能性抗原结合片段包含重链及轻链,其中该重链包含与SEQ ID NO:11的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;该轻链包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;且该抗体特异性结合于FXI和/或FXIa(例如人、兔及食蟹猴FXIa)。在一个实施方案中,分离的抗体或其功能性抗原结合片段包含重链及轻链,其中该重链包含与SEQ ID NO:31的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;该轻链包含与SEQ ID NO:41的氨基酸序列具有至少80%、至少90%或至少95%同一性的氨基酸序列;且该抗体特异性结合于FXI和/或FXIa(例如人、兔及食蟹猴FXIa)。在本公开的某些方面中,重链及轻链序列分别进一步包含由Kabat所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:3、4、5、13、14及15。在本公开的某些其他方面中,重链及轻链序列分别进一步包含由Chothia所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:6、7、8、16、17及18。在某些其他方面中,重链及轻链序列分别进一步包含由组合的系统所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:46、4、5、33、14及15。在某些其他方面中,重链及轻链序列分别进一步包含由IMGT所定义的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及LCDR3序列,例如SEQ ID NO:43、44、45、47、37及15。

[0316] 在用于本文所述方法的其他实施方案中,全长重链和/或全长轻链核苷酸序列可与表1中所述的序列(例如SEQ ID NO:12和/或22,或32和/或42)具有60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。

[0317] 在用于本文所述方法的其他实施方案中,轻链核苷酸序列的重链可变区和/或轻链可变区可与表1中所述的序列(例如SEQ ID NO:10和/或20,或30和/或40)具有60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性。

[0318] 如本文所使用,两个序列之间的同一性百分比为序列共享的相同位置的数目的函数(也即,同一性百分比等于相同位置数/总位置数 $\times 100$),考虑就两个序列的最佳比对而言需要引入的空位数及各空位的长度。如下文非限制性实施例中所述,序列比较及测定两

个序列之间的同一性百分比可使用数学算法完成。

[0319] 或者或另外,本公开的蛋白序列可进一步用作“查询序列”以对公共数据库进行搜寻,例如鉴别相关序列。例如,此类检索可使用Altschul等人,1990J.Mol.Biol.215:403-10的BLAST程序(2.0版)进行。

[0320] 具有保守性修饰的抗体

[0321] 在某些实施方案中,用于本文所述方法(例如,用于降低或预防ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法)中的本公开抗体具有包含CDR1、CDR2及CDR3序列的重链可变区及包含CDR1、CDR2及CDR3序列的轻链可变区,其中这些CDR序列中的一个或多个具有基于本文所述的抗体或其保守修饰的特定氨基酸序列,且其中抗体保留本公开的FXIa结合抗体的所需功能特性。

[0322] 因此,为了用于本文所述的方法,本公开提供一种分离的抗体或其抗原结合片段,其由包含CDR1、CDR2及CDR3序列的重链可变区及包含CDR1、CDR2及CDR3序列的轻链可变区组成,其中:该重链可变区CDR1氨基酸序列选自SEQ ID NO:3及23及其保守性修饰;该重链可变区CDR2氨基酸序列选自SEQ ID NO:4及24及其保守性修饰;该重链可变区CDR3氨基酸序列选自SEQ ID NO:5及25及其保守性修饰;该轻链可变区CDR1氨基酸序列选自SEQ ID NO:13及33及其保守性修饰;该轻链可变区CDR2氨基酸序列选自SEQ ID NO:14及34及其保守性修饰;该轻链可变区CDR3氨基酸序列选自SEQ ID NO:15及35及其保守性修饰;且该抗体或其抗原结合片段特异性结合于FXIa。

[0323] 在一个方面中,本文提供一种分离的抗体或其抗原结合片段,其由包含CDR1、CDR2及CDR3序列的重链可变区及包含CDR1、CDR2及CDR3序列的轻链可变区组成,其中:该重链可变区CDR1氨基酸序列选自表1中所述的那些序列及其保守性修饰;该重链可变区CDR2氨基酸序列选自表1中所述的那些序列及其保守性修饰;该重链可变区CDR3氨基酸序列选自表1中所述的那些序列及其保守性修饰;该轻链可变区CDR1氨基酸序列选自表1中所述的那些序列及其保守性修饰;该轻链可变区CDR2氨基酸序列选自表1中所述的那些序列及其保守性修饰;该轻链可变区CDR3氨基酸序列选自表1中所述的那些序列及其保守性修饰;且该抗体或其抗原结合片段特异性结合至FXIa。

[0324] 在用于本文所述的方法的其他实施方案中,就在哺乳动物细胞中表达而言优化的本公开抗体具有全长重链序列及全长轻链序列,其中这些序列中的一个或多个具有基于本文所述的抗体或其保守性修饰的特定氨基酸序列,且其中抗体保留本公开的FXIa结合抗体的所需功能特性。因此,本公开提供一种就在哺乳动物细胞中表达而言经优化的分离的抗体,其由全长重链及全长轻链组成,其中该全长重链具有选自SEQ ID NO:11或31及其保守性修饰的氨基酸序列;且该全长轻链具有选自SEQ ID NO:21或41及其保守性修饰的氨基酸序列;且抗体特异性结合至FXI和/或FXIa(例如人、兔及食蟹猴FXIa)。

[0325] 结合至相同表位的抗体

[0326] 本公开提供与表1中所述的FXI和/或FXIa结合抗体结合至相同表位的抗体,用于本文所述的方法(例如,用于降低或预防ESRD和/或AF个体的卒中和/或全身栓塞风险的方法)。其他抗体因此可在FXI和/或FXIa结合分析(诸如实施例部分中所述的那些分析)中根据其与其他本公开抗体竞争(例如以统计显著方式竞争性抑制结合至相同或重叠表位的结合)的能力进行识别。测试抗体抑制本公开的抗体与FXI和/或FXIa蛋白结合的能力表明测

试抗体可与该抗体竞争结合至FXI和/或FXIa;根据非限制性理论,此类抗体可结合至与其所竞争的抗体相同或相关(例如结构上相似或空间上邻近)的FXI和/或FXIa蛋白的表位。在某一具体实施方案中,结合至与本公开的抗体相同的FXI和/或FXIa表位的抗体为人单克隆抗体。此类人单克隆抗体可如本文所述制备及分离。

[0327] 如本文所用,当竞争性抗体结合至与本公开的抗体或抗原结合片段(例如NOV1401或NOV1090)相同的FXI和/或FXIa表位且在等摩尔浓度的竞争性抗体存在下抑制本公开的抗体或抗原结合片段的FXI和/或FXIa结合超过50%(例如80%、85%、90%、95%、98%或99%)时,抗体“竞争”以结合。这可在竞争性结合分析中,例如由本领域技术人员熟知的方法中的任一个来确定。

[0328] 如本文所用,抗体或其抗原结合片段并不与本公开的FXI和/或FXIa抗体或抗原结合片段(例如NOV1401 NOV1090)“竞争”,除非该竞争性抗体或其抗原结合片段结合与本公开的抗体或抗原结合片段相同的FXI和/或FXIa表位,或重叠FXI和/或FXIa表位。如本文所用,竞争性抗体或其抗原结合片段不包括具有以下特征之一:(i)空间上阻断本公开的抗体或抗原结合片段结合其目标(例如若该竞争性抗体结合至邻近非重叠FXI和/或FXIa表位且以物理方式防止本公开的抗体或抗原结合片段结合其目标);和/或(ii)结合至不同非重叠FXI和/或FXIa表位且诱导FXI和/或FXIa蛋白的构象变化以使得该蛋白可不再以不存在该构象变化下进行的方式与本公开的FXI和/或FXIa抗体或抗原结合片段结合。

[0329] 经工程改造及经修饰的抗体

[0330] 用于本文所述方法的本公开的抗体进一步可使用具有本文中所示的VH和/或VL序列中的一个或多个的抗体来制备作为工程改造经修饰抗体的起始材料,该经修饰抗体可具有自起始抗体的经改变的特性。抗体可通过在一种或两种可变区(也即VH和/或VL)内,例如一或多种CDR区内和/或在一或多种构架区内修饰一或多个残基来工程改造。或者或另外,抗体可通过在恒定区内工程改造以例如改变抗体的效应功能。

[0331] 可进行的可变区工程改造的一种类型为CDR接枝。抗体主要通过位于六个重链及轻链互补决定区(CDR)中的氨基酸残基与目标抗原相互作用。出于此原因,个别抗体之间的CDR内的氨基酸序列比CDR外的序列更多样化。因为CDR序列造成大部分抗体抗原相互作用,所以有可能表达重组抗体,其通过建构表达载体模拟特定天然存在的抗体的特性,所述表达载体包括接枝至自具有不同特性的不同抗体的构架序列上的自特定天然产生的抗体的CDR序列(参见例如Riechmann,L.等人,1998Nature 332:323-327;Jones,P.等人,1986Nature 321:522-525;Queen,C.等人,1989Proc.Natl.Acad.,U.S.A.86:10029-10033;Winter的美国专利第5,225,539号及Queen等人的美国专利第5,530,101号;第5,585,089号;第5,693,762号及第6,180,370号)。

[0332] 因此,本公开的另一实施例是关于分离的抗体或其抗原结合片段,其包含以下:重链可变区分别,其包含具有选自SEQ ID NO:3及23的氨基酸序列的CDR1序列;具有选自SEQ ID NO:4及24的氨基酸序列的CDR2序列;具有选自SEQ ID NO:5及25的氨基酸序列的CDR3序列;轻链可变区分别,其具有有选自SEQ ID NO:13及33的氨基酸序列的CDR1序列;具有选自SEQ ID NO:14及34的氨基酸序列的CDR2序列;及由选自SEQ ID NO:15及35的氨基酸序列组成的CDR3序列。由此,此类抗体含有单克隆抗体的VH及VL CDR序列,但可能含有与这些抗体不同的构架序列。

[0333] 此类构架序列可获自公共DNA数据库或包括种系抗体基因序列的公开文献。例如,人重链及轻链可变区基因的种系DNA序列可见于"VBase"人种系序列数据库(基于全球信息网在mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase上获得)以及Kabat,E.A.等人,1991Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,美国卫生及公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),国家卫生研究院出版号91-3242;Tomlinson,I.M.等人,1992J.Mol.Biol.227:776-798;及Cox,J.P.L.等人,1994Eur.J Immunol.24:827-836;;每一个的内容以引用的方式明确并入本文中。

[0334] 用于本公开抗体的构架序列的一个实施例为结构上类似于本公开的所选抗体所使用的构架序列的构架序列,例如本公开的单克隆抗体所使用的共同序列和/或构架序列。VH CDR1、CDR2及CDR3序列及VL CDR1、CDR2及CDR3序列可接枝至构架区上,其具有与起源构架序列的种系免疫球蛋白基因中所发现的序列相同的序列,或CDR序列可接枝至与种系序列相比含有一或多种突变的构架区上。例如,已发现在某些情况下使构架区内的残基突变为有益的,以维持或增强抗体的抗原结合能力(参见例如Queen等人的美国专利第5,530,101号;第5,585,089号;第5,693,762号及第6,180,370号)。可用作在上面建构本文所述的抗体及抗原结合片段的骨架的构架包括(但不限于)VH1A、VH1B、VH3、Vk1、V12及Vk2。其他构架在本领域中已知,且可见于例如基于全球信息网在vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/index.php?&MMN_position=1:1下的vBase资料中。

[0335] 因此,为了用于本文所述的方法,本公开的一实施方案是关于分离的FXIa结合抗体或其抗原结合片段,其包含有包含选自SEQ ID NO:9及29的氨基酸序列或在此类序列的构架区中具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的重链可变区,且进一步包含具有选自SEQ ID NO:19或39的氨基酸序列或在此类序列的构架区中具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的轻链可变区。

[0336] 可变区修饰的另一类型为使VH和/或VL CDR1、CDR2和/或CDR3区内的氨基酸残基发生突变以藉此改良所关注抗体的一或多种结合特性(例如亲和力),称为"亲和力成熟"。可进行定点突变诱发或PCR介导的突变诱发以引入突变且对抗体结合或目的其他功能性特性的影响可在如本文所述的体外或体内分析中评估且提供于实施例部分中。可引入保守性修饰(如上文所论述)。突变可为氨基酸取代、添加或缺失。另外,典型地,在CDR区域内不超过一个、两个、三个、四个或五个经改变。

[0337] 因此,在用于本文所述方法的另一实施方案中,本公开提供分离的FXIa结合抗体或其抗原结合片段,其由以下组成:重链可变区,其具有由选自具有SEQ ID NO:3及23的氨基酸序列或与SEQ ID NO:3及23相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR1区;具有选自SEQ ID NO:4及24的氨基酸序列或与SEQ ID NO:4及24相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR2区;具有选自SEQ ID NO:5及25的氨基酸序列或与SEQ ID NO:5及25相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR3区;具有选自SEQ ID NO:13及33的氨基酸序列或与SEQ ID NO:13及33相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR1区;具有选自SEQ ID NO:14及34的氨基酸序列或与SEQ ID NO:14及34相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR2区;及具有选自SEQ ID NO:15及35的氨基酸序列或与SEQ ID

NO:15及35相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR3区。

[0338] 因此,在用于本文所述方法的另一实施方案中,本公开提供分离的FXIa结合抗体或其抗原结合片段,其由以下组成:重链可变区,其具有由选自具有SEQ ID NO:6及26的氨基酸序列或与SEQ ID NO:6及26相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列组成的VH CDR1区;具有选自SEQ ID NO:7及27的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7及27相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR2区;具有选自SEQ ID NO:8及28的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8及28相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VH CDR3区;具有选自SEQ ID NO:16及36的氨基酸序列或与SEQ ID NO:16及36相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR1区;具有选自SEQ ID NO:17及37的氨基酸序列或与SEQ ID NO:17及37相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR2区;及具有选自SEQ ID NO:18及38的氨基酸序列或与SEQ ID NO:18及38相比具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列的VL CDR3区。

[0339] 半衰期延长的抗体

[0340] 本公开提供特异性结合至FXIa蛋白、体内半衰期延长的抗体,用于本文所述的方法。

[0341] 许多因素可影响蛋白体内半衰期。例如,肾脏过滤、肝脏代谢、通过蛋白水解酶(蛋白酶)降解及免疫原性反应(例由抗体中和蛋白及通过巨噬细胞及树突状细胞吸收)。多种策略可用于延长本公开抗体的半衰期。例如,通过化学连接至聚乙二醇(PEG)、reCODE PEG、抗体骨架、聚唾液酸(PSA)、羟乙基淀粉(HES)、结合白蛋白的配体及糖类遮蔽物;通过与结合至血清蛋白的蛋白质(诸如白蛋白、IgG、FcRn)遗传融合且转移;通过与结合至血清蛋白质的其他结合部分(诸如纳米抗体、Fab、DARPin、高亲和性多聚体(avimer)、亲和抗体(affibody)及抗运载蛋白(anticalin))偶联(遗传方式或化学方式);通过与rPEG、白蛋白、白蛋白域、白蛋白结合蛋白及Fc遗传融合;或通过并入纳米载体、缓释制剂或医学装置中。

[0342] 为了延长体内抗体的血清循环,诸如高分子量PEG的惰性聚合物分子可通过PEG与抗体的N末端或C末端的位点特异性结合或通过存在于赖氨酸残基上的 ϵ 氨基、使用或不使用多官能性接头连接至抗体或其片段。为使抗体发生聚乙二醇化,一般使抗体或其片段与聚乙二醇(PEG)(诸如PEG的反应性酯或醛衍生物)在其中使一或更多个PEG基团连接至抗体或抗体片段的条件下反应。聚乙二醇化可通过与反应性PEG分子(或类似的反应性水溶聚合物)的酰化反应或烷化反应来进行。如本文所用,术语“聚乙二醇”意欲涵盖已用于衍生其他蛋白质的任一种PEG形式,诸如单(C1-C10)烷氧基或芳氧基聚乙二醇或聚乙二醇-顺丁烯二酰亚胺。在某些实施方案中,待聚乙二醇化的抗体为无糖基化(aglycosylate)抗体。将使用使生物活性损失最小的直链或分支链聚合物衍生作用。结合程度可由SDS-PAGE及质谱严格监测以确保PEG分子与抗体的适当结合。未反应的PEG可通过尺寸排阻或通过离子交换层析而与抗体-PEG缀合物分离。可使用本领域技术人员熟知的方法(例如本文所述的免疫分析)测试PEG衍生化抗体的结合活性以及体内功效。聚乙二醇化蛋白质的方法为本领域中已知,且可应用于本公开的抗体。参见例如Nishimura等人的EP 0 154 316及Ishikawa的EP 0

401 384。

[0343] 其他经修改的聚乙二醇化技术包括重建化学正交导引工程改造技术 (ReCODE PEG), 其通过包括tRNA合成酶及tRNA的重建系统将化学上特定的侧链并入生物合成蛋白质中。此技术能够将超过30种新氨基酸并入大肠杆菌、酵母及哺乳动物细胞的生物合成蛋白中。tRNA将非原生氨基酸并入琥珀密码子所在的任何位置, 从而将琥珀密码子从终止密码子转换为传递引入化学上特定氨基酸的信号密码子。

[0344] 重组聚乙二醇化技术 (rPEG) 也可用于延长血清半衰期。此技术包括以遗传方式将300至600个氨基酸非结构化蛋白尾与现有医药蛋白融合。由于此类非结构化蛋白链的表观分子量比其实际分子量大约15倍, 因此蛋白的血清半衰期大大延长。与需要化学结合及再纯化的传统聚乙二醇化相比, 此制造方法大大简化且产物为均质的。

[0345] 另一技术为聚唾液酸化, 其使用天然聚合物聚唾液酸 (PSA) 延长有效寿命且改良治疗肽及蛋白的稳定性。PSA为唾液酸聚合物 (一种糖)。当用于递送蛋白及治疗肽药物时, 聚唾液酸为结合提供保护性微环境。此提高治疗性蛋白在循环中的有效寿命且防止其被免疫系统识别。PSA聚合物天然地见于人体中。进化超过数百万年的某些细菌采用其覆盖其细胞壁。这些天然聚唾液酸化细菌接着能够凭借分子拟态来阻挡人体防御系统。此类细菌中可容易产生大量且具有预定物理特征的PSA (天然的终极隐匿技术)。由于细菌PSA与人体中的PSA在化学上相同, 因此细菌PSA完全不具免疫原性, 即使与蛋白偶联。

[0346] 另一技术包括使用连接至抗体的羟乙基淀粉 (“HES”) 衍生物。HES为来源于糯性玉米淀粉的经修饰的天然聚合物, 且可通过人体的酶代谢。通常施用HES溶液以取代血容量不足及改良血液的流变特性。抗体的羟乙基淀粉化 (hesylation) 通过提高分子的稳定性以及通过减小肾脏清除作用实现循环半衰期的延长, 使得生物活性提高。根据改变不同参数, 诸如HES的分子量, 可定制广泛范围的HES抗体缀合物。

[0347] 也可通过将一或多个氨基酸修饰 (也即取代、插入或缺失) 引入IgG恒定域或其FcRn结合片段 (优选Fc或铰链Fc域片段) 中来产生体内半衰期延长的抗体。参见例如国际公开案第W0 98/23289号; 国际公开案第W0 97/34631号; 及美国专利第6,277,375号。

[0348] 此外, 抗体可与白蛋白 (例如人血清白蛋白; HSA) 结合以便使得抗体或抗体片段在体内更稳定或在体内具有较长半衰期。该技术在本领域中熟知, 参见例如国际公开案第W0 93/15199号、第W0 93/15200号及第W0 01/77137号, 及欧洲专利第EP 413,622号。另外, 在如上所述的双特异性抗体的情况下, 抗体的特异性可经设计以使得抗体的一个结合结构域与FXIa结合, 同时抗体的第二结合结构域与血清白蛋白 (优选HSA) 结合。

[0349] 增加半衰期的策略尤其适用于纳米抗体、基于纤连蛋白的结合剂及需要增加体内半衰期的其他抗体或蛋白。

[0350] 抗体缀合物

[0351] 本公开提供特异性结合至FXIa蛋白的抗体或其片段, 用于本文所述的方法, 其与异源蛋白或多肽 (或其片段, 优选至少10个、至少20个、至少30个、至少40个、至少50个、至少60个、至少70个、至少80个、至少90个或至少100个氨基酸的多肽) 以重组方式融合或以化学方式结合 (包括共价与非共价结合) 而产生融合蛋白。具体而言, 本公开提供融合蛋白, 其包含本文所述抗体的抗原结合片段 (例如Fab片段、Fd片段、Fv片段、F(ab)2片段、VH域、VH CDR、VL结构域或VL CDR) 及异源蛋白、多肽或肽。使蛋白、多肽或肽与抗体或抗体片段融合

或结合的方法在本领域中已知。参见例如美国专利第5,336,603号、第5,622,929号、第5,359,046号、第5,349,053号、第5,447,851号及第5,112,946号；欧洲专利第EP 307,434号及第EP 367,166号；国际公开案第W0 96/04388号及第W0 91/06570号；Ashkenazi等人,1991, Proc.Natl.Acad.Sci.USA88:10535-10539；Zheng等人,1995, J.Immunol.154:5590-5600；及Vil等人,1992, Proc.Natl.Acad.Sci.USA89:11337-11341。

[0352] 其他融合蛋白可通过基因改组、基序改组、外显子改组和/或密码子改组(统称为“DNA改组”)的技术产生。可采用DNA改组以改变本公开的抗体或其片段(例如具有较高亲和力及较低离解速率的抗体或其片段)的活性。一般而言,参见美国专利第5,605,793号、第5,811,238号、第5,830,721号、第5,834,252号及第5,837,458号；Patten等人,1997, Curr.Opinion Biotechnol.8:724-33；Harayama,1998, Trends Biotechnol.16(2):76-82；Hansson等人,1999, J.Mol.Biol.287:265-76；及Lorenzo及Blasco,1998, Biotechniques 24(2):308-313(这些专利及公开案中的每一个以全文引用的方式并入本文中)。抗体或其片段,或所编码的抗体或其片段在重组之前可如下改变:通过易错PCR进行随机突变诱发、随机核苷酸插入或其他方法。编码与FXIa蛋白特异性结合的抗体或其片段的多核苷酸可与一或更多个异源分子的一或更多个组份、基序、小段、部分、结构域、片段等重组。

[0353] 此外,抗体或其片段可与诸如肽的标记序列融合以促进纯化。在优选实施方案中,标记氨基酸序列为六组氨酸肽(SEQ ID NO:48),诸如尤其pQE载体(QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311)中提供的标签,其中许多为市售的。如Gentz等人,1989, Proc.Natl.Acad.Sci.USA86:821-824中所述,例如六组氨酸(SEQ ID NO:48)便于纯化融合蛋白。适用于纯化的其他肽标签包括(但不限于)血凝素(“HA”)标签,其对应于来源于流感红血凝素蛋白的表位(Wilson等人,1984, Cell 37:767),及“旗标”标签。

[0354] 在其他实施方案中,本公开的抗体或其片段与诊断剂或检测剂缀合。作为临床测试程序的一部分,此类抗体可适用于监测或预后疾病或病症的发作、发展、进展和/或严重程度,诸如测定特定疗法的功效。此类诊断及检测可通过使抗体与可检测物质偶联来实现,可检测物质包括(但不限于)各种酶,诸如(但不限于)辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;辅基,诸如(但不限于)抗生蛋白链菌素/生物素及抗生物素蛋白/生物素;荧光物质,诸如(但不限于)伞酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明(rhodamine)、二氯三嗪基胺荧光素、二甲氨基磺萘酰氯或藻红素;发光物质,诸如(但不限于)鲁米诺(鲁米诺);生物发光物质,诸如(但不限于)荧光素酶、荧光素及水母素;放射性物质,诸如(但不限于)碘(^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 及 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^3H)、铟(^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 及 ^{111}In)、镓(^{67}Ga)、铊(^{201}Tl)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇(^{90}Y)、钪(^{47}Sc)、铼(^{186}Re 、 ^{188}Re)、钷(^{147}Pm)、铈(^{140}La)、镧(^{139}La)、铈(^{140}La)、镱(^{177}Yb)、钬(^{166}Ho)、钇($^{90}\$

的蛋白、肽或多肽。此类蛋白可包括例如毒素,诸如相思豆毒蛋白、蓖麻毒蛋白A、假单胞杆菌属外毒素、霍乱毒素或白喉毒素;蛋白质,诸如肿瘤坏死因子、 α 干扰素、 β 干扰素、神经生长因子、血小板衍生生长因子、组织纤维蛋白溶酶原活化因子;细胞凋亡剂;抗血管生成剂;或生物反应调节剂,诸如淋巴因子。

[0357] 此外,抗体可与以下结合:治疗部分,诸如放射性金属离子,诸如 α -发射体,诸如 ^{213}Bi ;或适用于放射金属离子(包括但不限于) ^{131}In 、 ^{131}Lu 、 ^{131}Y 、 ^{131}Ho 、 ^{131}Sm 与多肽的结合的巨环螯合剂。在某些实施方案中,巨环螯合剂为1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(DOTA),其可通过接头分子附接至抗体。此类接头分子通常为本领域中已知,且描述于Denardo等人,1998,Clin Cancer Res.4(10):2483-90;Peterson等人,1999,Bioconjug.Chem.10(4):553-7;及Zimmerman等人,1999,Nucl.Med.Biol.26(8):943-50中,各文献皆以全文引用的方式并入本文中。

[0358] 熟知使治疗部分与抗体结合的技术,参见例如Arnon等人,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”,Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy,Reisfeld等人(编),第243-56页(Alan R.Liss, Inc.1985);Hellstrom等人,“Antibodies For Drug Delivery”,Controlled Drug Delivery(第2版),Robinson等人(编.),第623-53页(Marcel Dekker, Inc.1987);Thorpe, “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review”,Monoclonal Antibodies 84:Biological And Clinical Applications,Pinchera等人(编.),第475-506页(1985);“Analysis,Results,And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”,Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy,Baldwin等人(编.),第303-16页(Academic Press 1985)及Thorpe等人,1982,Immunol.Rev.62:119-58。

[0359] 抗体也可附接至实心支撑物,其尤其适用于目标抗原的免疫分析或纯化。此类固体载体包括(但不限于)玻璃、纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

[0360] 产生抗体的方法

[0361] 编码抗体的核酸

[0362] 本公开提供经基本上纯化的核酸分子,其编码包含上文所述的FXIa结合抗体链的区段或结构域的多肽,以及用于产生抗体的载体和宿主细胞。本公开的一些核酸包含编码展示于SEQ ID NO:10或30中的重链可变区的核苷酸序列和/或编码展示于SEQ ID NO:20或40中的轻链可变区的核苷酸序列。在一具体实施方案中,核酸分子为表1中所识别的各个。一些其他本公开的核酸分子包含与表1中所识别的核苷酸序列基本上相同(例如至少65%、80%、95%或99%)的核苷酸序列。当自适当表达载体表达时,由这些多核苷酸编码的多肽能够展现FXI和/或FXIa抗原结合能力。在具体的方面中,因为密码子的简并性,所以多种核酸序列将编码免疫球蛋白氨基酸序列中的每一个。

[0363] 核酸分子可编码抗体的可变区与恒定区。一些本公开的核酸序列包含编码与SEQ ID NO:11或31中所述的重链序列基本上相同(例如至少80%、90%或99%)的重链序列的核苷酸。一些其他核酸序列包含编码与SEQ ID NO:21或41中所述的轻链序列基本上相同(例如至少80%、90%或99%)的轻链序列的核苷酸。

[0364] 多核苷酸序列可通过重新固相DNA合成或通过编码FXIa结合抗体或其结合片段的

现有序列(例如如下文实施例中所述的序列)的PCR突变诱发来产生。核酸的直接化学合成可通过本领域中已知的方法实现,诸如Narang等人,1979,Meth.Enzymol.68:90的磷酸三酯法;Brown等人,Meth.Enzymol.68:109,1979的磷酸二酯法;Beaucage等人,Tetra.Lett.,22:1859,1981的二乙基氨基磷酸酯法;及美国专利第4,458,066号的固体支撑物法。通过PCR向多核苷酸序列引入突变可如以下文献中所述进行:例如PCR Technology:Principles and Applications for DNA Amplification,H.A.Erlich(编),Freeman Press,NY,NY,1992;PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications,Innis等人(编),Academic Press,San Diego,CA,1990;Mattila等人,Nucleic Acids Res.19:967,1991;及Eckert等人,PCR Methods and Applications 1:17,1991。

[0365] 各种表达载体可用于表达编码FXIa结合抗体链或结合片段的多核苷酸。基于病毒的表达载体与非病毒表达载体均可用于在哺乳动物宿主细胞中产生抗体。非病毒载体及系统包括质粒、游离型载体,其典型地具有用于表达蛋白或RNA及人人工染色体的表达盒(参见例如Harrington等人,Nat Genet 15:345,1997)。例如,适用于在哺乳动物(例如人)细胞中表达FXIa结合多核苷酸及多肽的非病毒载体包括pThioHis A、B及C、pcDNA3.1/His、pEBVHis A、B及C(Invitrogen,San Diego,CA)、MPSV载体及本领域中已知用于表达其他蛋白的许多其他载体。适用的病毒载体包括基于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒的载体;基于SV40、乳头状瘤病毒、HBP埃-巴二氏病毒(HBP Epstein Barr virus)、痘苗病毒载体及胜利基森林病毒(Semliki Forest virus;SFV)的载体。参见Brent等人,前述;Smith,Annu.Rev.Microbiol.49:807,1995;及Rosenfeld等人,Cell 68:143,1992。

[0366] 表达载体也可提供分泌信号序列位置以与插入的FXIa结合抗体序列所编码的多肽形成融合蛋白。更通常,所插入的FXI和/或FXIa结合抗体序列在包含于载体中之前连接至信号序列。用以容纳编码FXI和/或FXIa结合抗体轻链及重链可变结构域的序列的载体有时也编码恒定区或其部分。此类载体允许可变区与恒定区呈融合蛋白表达,从而产生完整抗体或其片段。通常,此类恒定区为人恒定区。

[0367] 含有及表达FXI和/或FXIa结合抗体链的宿主细胞可为原核或真核细胞。大肠杆菌为一种适用于克隆及表达本公开多核苷酸的原核宿主。适用的其他微生物宿主包括杆菌(诸如枯草杆菌),及其他肠内菌科(诸如沙门氏菌、沙雷氏菌),及多种假单胞菌物种。在这些原核宿主中,也可制造表达载体,其通常含有与宿主细胞兼容的表达控制序列(例如复制起点)。另外,将存在任何数目的多种熟知启动子,诸如乳糖启动子系统、色氨酸(trp)启动子系统、 β -内酰胺酶启动子系统或来自噬菌体 λ 的启动子系统。启动子通常控制表达(任选与操纵序列一起控制表达),且具有核糖体结合位点序列及其类似序列,用于起始且完成转录及转译。其他微生物(诸如酵母)也可用于表达本公开的FXIa结合多肽。也可使用昆虫细胞与杆状病毒载体组合。

[0368] 在具体的方面中,哺乳动物宿主细胞用于表达及产生本公开的FXI和/或FXIa结合多肽。这些细胞包括任何正常死亡或正常或异常永生动物或人细胞。例如,已开发出能够分泌完整免疫球蛋白的多种适合宿主细胞系,包括CHO细胞系、各种Cos细胞系、海拉细胞(HeLa cell)、骨髓瘤细胞系及经转染的B细胞。使用哺乳动物组织细胞培养物表达多肽大体上论述于例如Winnacker,FROM GENES TO CLONES,VCH Publishers,N.Y.,N.Y.,1987中。哺乳动物宿主细胞的表达载体可包括表达控制序列,诸如复制起点、启动子及增强子(参见

例如Queen等人, *Immunol. Rev.* 89:49-68, 1986), 及必需的处理信息位点 (诸如核糖体结合位点、RNA剪接位点、聚腺苷酸化位点), 及转录终止子序列。

[0369] 引入含有目的多核苷酸序列的表达载体的方法视细胞宿主的类型而变化。例如, 氯化钙转染通常用于原核细胞, 而磷酸钙处理或电穿孔可用于其他细胞宿主。(大体上参见 Sambrook等人, 前述)。其他方法包括例如电穿孔、磷酸钙处理、脂质粒介导转染、注射及显微注射、冲击法、仿病毒颗粒 (virosome)、免疫微脂囊、聚阳离子:核酸缀合物、裸DNA、人工病毒颗粒、与疱疹病毒结构蛋白VP22的融合 (Elliot及O'Hare, *Cell* 88:223, 1997)、DNA的试剂增强摄取及体外转导。就长期高产量生产重组蛋白质而言, 通常需要稳定的表达。例如, 稳定表达FXIa结合抗体链或结合片段的细胞系可使用本发明的表达载体制备, 其含有复制的病毒来源或内源性表达元件及可选标记基因。在引入载体之后, 可使细胞在交换至选择性培养基之前, 于丰富培养基中生长1-2天。可选标记的目的为赋予抗选择性, 且其存在允许成功表达所引入序列的细胞在选择性培养基中生长。经稳定转染的耐药性细胞可使用适合于该细胞类型的组织培养技术增殖。

[0370] 预防性用途和治疗性用途

[0371] 如本文所述的结合FXI和/或FXIa的抗体 (例如, 在表1中所述的抗体, 如, 包含NOV1401的VL CDR和VHCDR的抗FXI/FXIa抗体), 可以按治疗有用浓度用于治疗血栓栓塞性疾病或病症, 如, 降低接受透析的ESRD和/或AF患者的卒中和/或全身栓塞风险。本公开提供一种通过向有需求的个体施用有效量的本公开抗体, 治疗血栓栓塞性疾病的方法。本公开提供一种通过向有需求的个体施用有效量的本公开的抗FXI/FXIa抗体, 治疗血栓栓塞性疾病 (例如, 缺血性卒中 (心源性栓塞、血栓形成性) 或全身栓塞、AF、AF中的卒中预防 (SPAF)、深层静脉血栓形成、静脉血栓栓塞、肺栓塞、急性冠状动脉综合征 (ACS)、急性肢体局部缺血、慢性血栓栓塞性肺动脉高压或全身栓塞) 的方法。本文中还提供联合疗法。

[0372] 可尤其使用本文所述的抗体 (例如表1中所述的抗体, 诸如NOV1401或NOV1090或包含NOV1401或NOV1090的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体) 以预防治疗、预防及改良血栓栓塞病状或病症, 包括 (但不限于) 血栓性病症, 如本文中更详细描述。

[0373] 本文所提供的抗体 (例如表1中所述的抗体, 诸如包含NOV1401或NOV1090的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体) 也可与其他药物组合使用以预防、治疗或改良血栓栓塞病症。例如, 抑制素疗法可与本公开的FXIa抗体及抗原结合片段组合使用以治疗血栓性和/或血栓栓塞病症患者。

[0374] 在一具体实施方案中, 本文提供一种治疗或预防AF患者的卒中的方法, 其包含向有需要患者施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体, 例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体, 诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0375] 在一具体实施方案中, 本文提供一种管理或预防AF患者中的与心房纤维性颤动 (AF) 有关的风险或病状, 诸如心源性卒中及全身栓塞的方法, 其包含向有需要患者施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体, 例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体, 诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0376] 在一具体实施方案中, 本文提供一种治疗、管理或预防AF患者的与心房纤维性颤动 (AF) 有关的病状, 诸如心源性卒中及全身栓塞的方法, 其包含向有需要患者施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体, 例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体, 诸如NOV1401或包含

NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。在具体实施方案中,AF患者具有高出血风险。在一个特定方面,AF患者具有如通过CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 所确定的高出血风险。在具体方面,AF患者具有非瓣膜性AF及如通过CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 所确定的高出血风险。在具体方面,AF患者为55岁年龄或更大,并且具有非瓣膜性AF及如通过CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 所确定的高出血风险。

[0377] 在一具体实施方案中,本文提供一种治疗、处理或预防个体(例如发生深层静脉血栓形成或有发生深层静脉血栓形成风险的个体)的深层静脉血栓形成或与其相关的病状的方法,其包含向有需要个体施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0378] 在一个具体实施方案中,本文提供一种在个体中(例如,患有静脉血栓栓塞或面临出现静脉血栓栓塞风险的个体)治疗、管理或预防静脉血栓栓塞(VTE)或与其相关之病状的方法,包括向有需要的个体施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如,表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,如,NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。在具体的实施方案中,正在接受本文提供的抗FXI/FXIa抗体治疗的个体已经出现1)首次诱发或非诱发的VTE伴随低出血风险,2)非诱发的VTE复发,或3)与血栓形成倾向相关的VTE,包括癌症患者。在一个特定方面,因VTE正在接受治疗的个体年龄在0岁和18岁之间。在一个特定方面,因VTE正在接受治疗的个体年龄在1岁和18岁之间。在一个特定方面,因VTE正在接受治疗的个体年龄在2岁和18岁之间。在一个特定方面,因VTE正在接受治疗的个体年龄在0岁和12岁之间。在一个特定方面,因VTE正在接受治疗的个体年龄在1岁和12岁之间。在一个特定方面,因VTE正在接受治疗的个体年龄在2岁和12岁之间。在一个特定方面,因VTE正在接受治疗的个体年龄在12岁和18岁之间。在一个特定方面,因VTE正在接受治疗的个体是至少2岁和18岁以下的儿童。在一个特定方面,因VTE正在接受治疗的个体是至少12岁和18岁以下的儿童。

[0379] 在一个具体实施方案中,本文提供一种用于次级预防(例如,范围为28天至18岁阶段的次级预防)静脉血栓栓塞的方法,包括向有需要的个体施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如,表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,如,NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。在本文提供的用于次级预防(例如,范围为28天至18岁阶段的次级预防)静脉血栓栓塞的方法的一个特定方面,个体年龄在0岁和18岁之间。在本文提供的用于次级预防(例如,范围为28天至18岁阶段的次级预防)静脉血栓栓塞的方法的一个特定方面,个体年龄在0岁和12岁之间。在本文提供的用于次级预防静脉血栓栓塞的方法的一个特定方面,个体年龄在12岁和18岁之间。在本文提供的用于次级预防静脉血栓栓塞的方法的一个特定方面,个体是至少2岁并且18岁以下的儿童。在本文提供的用于次级预防静脉血栓栓塞的方法的一个特定方面,个体是至少12岁并且18岁以下的儿童。

[0380] 在一具体实施方案中,本文提供一种治疗、管理或预防个体(例如发生肺栓塞或有发生肺栓塞风险的个体)的肺栓塞或与其相关的病状的方法,其包含向有需要个体施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0381] 在一具体实施方案中,本文提供一种治疗、管理或预防个体的急性冠状动脉综合征(ACS)或与其相关的病状的方法,其包含向有需要个体施用有效量的本文所述的抗FXI/

FXIa抗体,例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0382] 在一具体实施方案中,本文提供一种治疗、管理或预防个体(例如发生缺血性卒中或有发生缺血性卒中风险的个体)的缺血性卒中的方法,其包含向有需要个体施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0383] 在一具体实施方案中,本文提供一种治疗、管理或预防个体的急性肢体局部缺血的方法,其包含向有需要患者施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0384] 在一具体实施方案中,本文提供一种治疗、管理或预防个体的慢性血栓栓塞肺高血压的方法,其包含向有需要个体施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0385] 在一具体实施方案中,本文提供一种治疗、管理或预防个体(例如发生全身栓塞或有发生全身栓塞风险的个体)的全身栓塞的方法,其包含向有需要个体施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0386] 在某一实施方案中,本文提供一种治疗、管理或预防作为导管相关病状(例如癌症患者中的希克曼导管)的血栓栓塞病状的方法,其中导管会形成血栓或体外膜氧合(ECMO),其中管道会产生凝块,该方法包含向有需要个体施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0387] 在具体方面,本文提供一种对导管相关性血栓形成进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,所述方法包括向罹患ESRD的以导管启用血液透析(例如,插入隧道式导管)的有需求的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如,表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,如,NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR(例如,SEQ ID NO:31的VH CDR和SEQ ID NO:41的VL CDR)的抗FXI/FXIa抗体。在本文提供的方法的特定方面,个体具有已展示的高出血风险。在本文提供的方法的特定方面,罹患ESRD的个体患有AF,如非瓣膜性AF,和如通过CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 所确定的高出血风险。在具体方面,在本文提供的方法的特定方面,罹患ESRD的个体患有AF,如非瓣膜性AF,和如通过CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 所确定的高出血风险,并且为55岁或更大。

[0388] 在具体方面,本文提供在因ESRD而接受血液透析的患者中降低血栓形成发生率和改善血管通路存活(例如,隧道式导管、动静脉的接合物和动静脉瘘)以及单独使用或与其他抗凝血药如未分级肝素或低分子量肝素联合使用时防止身体血栓形成的方法和用途,其中所述方法或用途涉及向患者施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,如NOV1401(例如,包含SEQ ID NOs:31和41的抗体)。

[0389] 在其他实施方案中,本文提供下述方法,所述方法用于治疗急性VTE、初级和延长型次级预防VTE、预防接受透析(伴有或未伴有AF)的患者中的重大不良血栓栓塞事件、预防进行PCI并接受单一或双重抗血小板疗法的CAD患者中的重大心血管事件和脑事件(MACCE)、急性冠状动脉综合征(ACS)后患者、肝素所致血小板减少症(HIT)、预防心力衰竭

患者中的血栓栓塞事件和预防继发性卒中,其中所述方法包括向有需要的个体施用有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如,表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,如,NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。

[0390] 在具体的实施方案中,需要用本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,如,NOV1401(例如,包含重链和轻链的抗体,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列)或包含NOV1401的VL CDR和VHCDR的抗FXI/FXIa抗体)治疗的个体可以包括:

[0391] ●具有用于慢性抗凝治疗的适应症(例如AF、左心室血栓、先前心脏栓塞性卒中)的个体

[0392] ●有中到高主要出血风险的个体;

[0393] ●经受可需要接受单一或双重抗血小板治疗(例如阿司匹林和/或P2Y12受体拮抗剂)以预防血管支架血栓的任选或原发经皮冠状动脉介入术(PCI)加入支架的个体。

[0394] 在具体实施方案中,以下病状之一可用本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体治疗或处理:

[0395] ●怀疑或确诊有心律不整,诸如突发性、持久性或永久性心房纤维性颤动或心房颤动的个体的血栓栓塞;

[0396] ●心房纤维性颤动中的卒中预防(SPAF),其亚群为经受经皮冠状动脉干预(PCI)的AF患者;

[0397] ●高出血风险的患者中急性静脉血栓栓塞事件(VTE)治疗及持久继发性VTE预防;

[0398] ●短暂缺血性发作(TIA)或非失能性卒中后二级预防及并发窦性节律的心脏衰竭中血栓栓塞事件预防中的大脑及心脏血管事件;

[0399] ●经受针对心律不整的心脏复律的个体的左心房的凝块形成及血栓栓塞;

[0400] ●在针对心律不整的切除程序前、期间及后的血栓;

[0401] ●静脉血栓,此情况包括(但非独占式地)治疗及二级预防下部或上部的深层或表面静脉血栓、腹部及胸部静脉的血栓、窦血栓及颈静脉血栓;

[0402] ●静脉样导管或起搏器导线中的任何人工表面上的血栓;

[0403] ●有或无静脉血栓的患者的肺栓塞;

[0404] ●慢性血栓栓塞性肺高血压(CTEPH);

[0405] ●破裂动脉粥样硬化斑上的动脉血栓、动脉内辅具或导管上的血栓及表面上正常的动脉中的血栓,此病状包括(但非独占式地)急性冠状动脉综合征、ST抬高性心肌梗塞、非ST抬高性心肌梗塞、不稳定绞痛、支架血栓、动脉系统中任何人工表面的血栓及有或无肺高血压的个体的肺部动脉的血栓;

[0406] ●经受经皮冠状动脉干预(PCI)的患者的血栓及血栓栓塞;

[0407] ●心因性及隐源性卒中;

[0408] ●患有侵入性及非侵入性癌症恶性疾病的患者的血栓;

[0409] ●留置导管上的血栓;

[0410] ●严重疾病患者的血栓及血栓栓塞;

[0411] ●心脏血栓及血栓栓塞,此包括(但非独占式地)心肌梗塞后的心脏血栓、与诸如

心脏动脉瘤、心肌纤维化、心脏增大及功能障碍、心肌炎及心脏中的人工表面的病状有关的
心脏血栓；

[0412] ●有或无心房纤维性颤动的心脏瓣膜病患者的血栓栓塞；

[0413] ●瓣膜机械或生物辅具上的血栓栓塞；

[0414] ●在简单或复杂心脏畸形的心脏修复之后具有天然或人工心脏补片、动脉或静脉
导管的患者的损伤或创伤；

[0415] ●膝置换手术、髌置换手术及矫形外科手术、胸部或腹部手术后的静脉血栓及血
栓栓塞；

[0416] ●包括颅内及脊髓干预的神经外科手术后的动脉或静脉血栓；

[0417] ●先天性或获取性血栓形成倾向，包括（但非独占式地）因子V莱顿、凝血酶原突
变、抗凝血酶III、蛋白C及蛋白S缺乏、因子XIII突变、家族纤维蛋白原不良血症、先天性纤
维蛋白溶酶原缺乏、因子XI含量增加、镰状细胞疾病、抗磷脂综合征、自身免疫性疾病、慢性
肠病肾病综合征溶血性尿骨髓增生疾病、散播性血管内凝血、阵发性夜间血红蛋白尿症及肝素
诱导的血小板减少症；

[0418] ●慢性肾脏病（例如，3期或4期）中的血栓形成和血栓栓塞；

[0419] ●终末期肾脏病（ESRD）中的血栓形成和血栓栓塞；

[0420] ●接受血液透析的慢性肾脏病或ESRD患者中的动脉和静脉血栓形成和血栓栓塞，
包括血栓形成或血管通路闭塞（例如导管血栓形成、动静脉的接合物、血栓形成或动静脉
瘘）；

[0421] ●预防接受血液透析的ESRD患者中的重大心脏和脑事件（例如心血管源性死亡、
心肌梗死、卒中和紧急血运重建）；

[0422] ●预防重大不良肢体事件（MALE）（例如，危重肢体局部缺血中的血运重建疗法，包
括指标肢体中的截肢或任何血管重大介入术（血栓切除术、溶栓或外科大手术[新旁路移植
术、迁移/插入移植修整]）。

[0423] 终末期肾脏病（ESRD）患者中心房纤维性颤动（AF）的发生率和流行率高于一般群
体并且与卒中和死亡风险升高相关。（Zimmerman等人，Nephrol Dial Transplant（2012）
27:3816-3822）。ESRD或终末期肾衰竭是慢性肾脏病的晚期阶段（例如，4期）并且一般与不
良肾功能相关。例如，ESRD患者的肾小球滤过率（GFR）一般提示小于15%的肾功能。ESRD的
症状可以包括但不限于贫血、易出血和淤紫、头痛、疲乏和困倦感、虚弱、精神症状（如精神
警觉性降低、难以集中注意力、意识模糊、癫痫发作）、恶心、呕吐、总体较低的食欲、肌肉痉
挛、肌肉颤搐、夜尿（夜间排尿）、四肢麻木感觉、腹泻、皮肤痒、眼痒、皮肤色泽变化（面色晦
暗，有时带微黄-微褐色调）、肿胀和浮肿、呼吸困难（归因于肺中有液体、贫血）、高血压和消
化不良。ESRD的治疗选项是透析（例如，血液透析或腹膜透析）。

[0424] 因此，本文特别提供一种对卒中或血栓栓塞（例如，全身栓塞）进行预防、治疗或管
理或降低风险的方法，所述方法包括向罹患终末期肾病（ESRD）的个体施用有效量的药物组
合物，所述药物组合物包含本文所述的抗FXI/FXIa抗体，例如，表1中所述的抗FXI/FXIa抗
体，如，NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。在具体方面，个体正在
接受透析或体外膜氧合。在某些方面，个体经诊断患有4期慢性肾脏病。在某些方面，个体经
诊断患有3期或4期慢性肾脏病。在特定方面，确定个体具有大约15至60ml/分钟的肌酐清除

率(Cr Cl 15至60ml/分钟)。

[0425] 因此,本文特别提供一种对卒中或血栓栓塞(例如,全身栓塞)进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,所述方法包括向罹患终末期肾病(ESRD)的有需要的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含抗FXI/FXIa抗体,所述抗体包含分别包含SEQ ID N0s: 29和39的VH和VL,或包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID N0:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID N0:41的氨基酸序列。在具体方面,个体正在接受透析(如血液透析)或体外膜氧合。在某些方面,个体经诊断患有4期慢性肾脏病。在某些方面,个体经诊断患有3期或4期慢性肾脏病。在特定方面,确定个体具有大约15至60ml/分钟的肌酐清除率(Cr Cl 15至60ml/分钟)。在具体方面,个体还患有心房纤维性颤动(AF),如,非瓣膜性AF。

[0426] 在具体方面,本文特别提供一种对与因ESRD的血液透析相关的卒中或血栓栓塞(例如,全身栓塞)进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,所述方法包括向罹患终末期肾病(ESRD)的有需要的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含抗FXI/FXIa抗体,所述抗体包含分别包含SEQ ID N0s:29和39的VH和VL,或包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID N0:31的氨基酸序列、所述轻链包含SEQ ID N0:41的氨基酸序列。在具体方面,个体正在接受透析(如血液透析)或体外膜氧合。在某些方面,个体经诊断患有4期慢性肾脏病。在某些方面,个体经诊断患有3期或4期慢性肾脏病。在特定方面,确定个体具有大约15至60ml/分钟的肌酐清除率(Cr Cl 15至60ml/分钟)。在具体方面,个体还患有心房纤维性颤动(AF),如,非瓣膜性AF。

[0427] 在另一个具体方面,本文提供一种对卒中或血栓栓塞(例如,全身栓塞)进行预防或降低风险的方法,所述方法包括向罹患心房纤维性颤动(AF)和ESRD且正在接受透析(如血液透析)或体外膜氧合的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如,表1中所述的抗FXI/FXIa抗体,如,NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VHCDR的抗FXI/FXIa抗体。在特定方面,个体罹患非瓣膜性AF。在其他具体方面,个体罹患非瓣膜性AF伴有展示的高出血风险。某些方面,个体具有如表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 的高出血风险。

[0428] 在另一个具体方面,本文提供一种对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险的方法,包括向罹患心房纤维性颤动(AF)和ESRD且正在接受透析(如血液透析)的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含本文所述的抗FXI/FXIa抗体,例如,包含VH和VL或包含重链和轻链的抗FXI/FXIa抗体,所述VH包含SEQ ID N0:29的氨基酸序列,所述VL包含SEQ ID N0:39的氨基酸序列,所述重链包含SEQ ID N0:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID N0:41的氨基酸序列。在特定方面,个体罹患非瓣膜性AF。在其他具体方面,个体罹患非瓣膜性AF伴有展示的高出血风险。某些方面,个体具有如表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 的高出血风险。

[0429] 在一个具体方面,本文提供一种对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)预防、治疗或管理或降低风险的方法,包括向有需求的个体施用约100mg至约250mg在FXI的催化结构域内部特异性结合的抗FXI/FXIa抗体(例如,包含VH和VL或者包含重链和轻链的抗FXI/FXIa抗体,所述VH包含SEQ ID N0:29的氨基酸序列,所述VL包含SEQ ID N0:39的氨基酸序列,所述重链包含SEQ ID N0:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID N0:41的氨基酸序列)或其抗原结合片段,其中个体具有以下一个、两个或更多个或全部特征:

- [0430] (i) ≥ 55 岁和 < 85 岁的男性或女性个体;
- [0431] (ii) 体重在50kg和130kg(含)之间;
- [0432] (iii) 心房纤维性颤动(AF)或心房扑动,如依据心电图证明;
- [0433] (iv) 男性和女性个体的CHA₂DS₂-VASc风险评分 ≥ 2 ;
- [0434] (v) CHA₂DS₂-VASc风险评分为1的男性个体并且保证抗凝疗法;和
- [0435] (vi) 抗凝血药初用或在治疗之前接受推荐剂量的新口服抗凝血药(NOAC)稳定治疗历经8周。

[0436] 在特定方面,具有中等至高度卒中和全身栓塞风险的个体的CHA₂DS₂-VASc风险评分 ≥ 2 。在其他的特定方面,HAS-BLED风险评分 ≥ 3 的个体表征作为具有高出血风险(参见Gallego等人,(2012)Circ Arrhythm Electrophysiol.;5:312-318,和Friberg等人,(2012)Circulation.;125:2298-2307)。

[0437] 血栓栓塞事件(包括卒中,全身栓塞、冠脉或外周动脉血栓形成、静脉血栓形成和肺栓塞)的风险随着存在诱因因素如血栓形成倾向、血管壁损伤和淤滞而升高。评价病史、家族前情和相关伴随疾病可能有助于将患者根据其血栓栓塞风险分层。在AF患者中,已经开了几种评估卒中风险的评分体系,例如,CHADS₂和CHA₂DS₂-VASc。每种评分体系基于来自随机试验和临床与流行病学队列研究的数据开发,并且将卒中危险因素的加权、多变量公式转换成简化的易用型助记装置、算法、计算器或在线工具。使用CHADS₂风险评分作为预测AF患者中血栓栓塞风险的分层工具(LIP 2011;Camm等人2012);然而,积累的证据显示CHA₂DS₂-VASc与诸如CHADS₂的评分在鉴定形成卒中和血栓栓塞的患者方面至少同样良好或可能较之更好并且在鉴定‘真实低风险’AF患者方面明确地更好。CHA₂DS₂-VASc评分目前受多项指南(Camm等人Eur Heart J(2012)33,2719-2747;January等人,AHA/ACC/HRS Atrial Fibrillation Guideline;J Am Coll Cardiol 2014;64:2246-80)推荐,以指导就应当得益于抗凝疗法的患者做出决策并且还鉴定其中无法保证抗凝疗法的低风险患者。

[0438] 开发了专用于AF患者的出血风险评估工具,例如HAS-BLED、ATRIA、HEMORR2HAGES;ORBIT和ABC风险评分,以预测AF患者中的出血风险。不幸地,由于出血风险与卒中风险紧密相关,这些风险评分指导使用维生素K拮抗剂(如华法林或NOACs)的治疗决策的价值相当有限。但是,出血风险评分可以变得相当有助于鉴定可能得益于降低出血风险的新疗法(例如抗FXI/FXIa抗体(例如,抗体NOV1401))的患者。

[0439] 在某些方面,可以通过既往出血病史(例如,手术期间或之后出血或抗凝血药(例如华法林)治疗时出血),鉴定展示高出血风险的个体。此外,可以通过本领域已知的体外/离体测定法(例如,个体血浆aPTT测定法)鉴定展示高出血风险的个体。出血风险因素的其他非限制性例子包括:既往卒中/TIA史、既往主要出血或临床相关的出血、CKD 3期或4期(Cr Cl 15至60ml/min)、双联抗血小板疗法治疗(例如,ACS/PCI后)和与血肿淤伤或其他表现相关的跌倒史。

[0440] 在具体方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体至少18岁。在另一个方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体至少50岁。在另一个方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体至少55岁。在另一个方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体至少60岁。在另一个方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体至少65岁。

[0441] 在具体方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体具有大于或等于18kg/m²的体

质指数(BMI)。在另一个方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体具有大于或等于30kg/m²的BMI。在另一个方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体具有大于或等于35kg/m²的BMI。在另一个方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体具有大于或等于40kg/m²的BMI。在一个具体方面,正在接受本文提供的方法治疗的个体是人类个体。

[0442] 在具体方面,本文提供的方法导致一种或多种治疗益处:(i) 抗凝;(ii) 住院时间减少;(iii) 凝血时间延长,例如,如通过aPTT所测定;(iv) 血栓形成的发生率或血栓形成的频率降低;和(v) 与血栓栓塞性疾病(例如,卒中,全身栓塞、心肌梗死、深层静脉血栓、肺栓塞、心血管源性死亡、紧急血运重建需求)相关的一个或多个症状减少或与血栓栓塞性疾病相关的一个或多个症状的严重程度降低。在特定方面,本文提供的方法导致凝血时间延长,例如,如通过aPTT所测定,延长达1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍或2倍。

[0443] 在具体方面,本公开提供一种通过向有需求的个体施用与另一种治疗活性物质组合的有效量的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,NOV1401),对血栓栓塞性疾病进行治疗、预防或管理或降低风险的方法。这类联合疗法可以用于治疗血栓栓塞性疾病,如,缺血性卒中(心源性栓塞、血栓形成的)或全身栓塞、AF、AF中的卒中预防(SPAF)、深层静脉血栓形成、静脉血栓栓塞、肺栓塞、急性冠状动脉综合征(ACS)、急性肢体局部缺血、慢性血栓栓塞性肺动脉高压或全身栓塞。

[0444] 在特定方面,适合与本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,NOV1401)组合使用的治疗活性物质的非限制性例子包括血栓烷抑制剂(例如,阿司匹林)、腺苷二磷酸受体拮抗剂(或P2Y₁₂抑制剂)如噻吩并吡啶类(例如,氯吡格雷和普拉格雷)和非噻吩并吡啶类(例如,替卡格雷和坎格瑞洛)、蛋白酶激活的受体-1(PAR1)拮抗剂(例如,沃拉帕沙(vorapaxar)和atopaxar)和质子泵抑制剂(PPI)(例如,奥美拉唑、地西泮、苯妥英、兰索拉唑、右兰索拉唑(dexlansoprazole)、雷贝拉唑、泮托拉唑、埃索美拉唑和萘普生)。联合疗法中使用PPI可能在个体具有GI病(如既往胃肠出血或消化性溃疡前兆)或具有GI病(如既往胃肠出血或消化性溃疡前兆)史的情况时适用。

[0445] 在一具体方面中,本文提供一种管理经治疗或施用本文所提供的抗FXI/FXIa抗体(例如表1中所述的抗体,诸如包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体)的患者出血,例如与创伤、手术、月经或产后有关的出血的方法,该方法包含逆转抗凝血药作用。FXI缺乏很少与自发性出血现象有关;在具体方面中,出血最通常与创伤、手术、月经或产后有关。长期出血可在严重创伤之后或在涉及具有高纤维蛋白溶解区域(诸如经颊、经鼻、生殖器或泌尿黏膜)的器官的手术之后出现。拔牙、扁桃体切除及子宫或前列腺切除为引起高出血风险的手术的实施例。病症患者也具有呈现鼻出血及瘀斑及更罕见出血至尿液或肠中的强烈倾向。在FXI缺乏患者中自发性肌肉或关节及颅内出血频率不增加。静脉穿刺通常不与长期出血有关。与FXI缺乏有关的其他遗传突变可有助于重度FXI缺乏患者的非均质及不可预测的出血倾向。伴随使用抗血小板剂、其他抗凝血药及纤维蛋白溶解剂可使出血风险增加。

[0446] 在具体实施方案中,本文提供一种管理用本文所提供的抗FXI/FXIa抗体(例如表1中所述的抗体,诸如包含NOV1401的VL CDR及VHCDR的抗FXI/FXIa抗体)治疗的患者(例如ESRD和/或AF的患者)的出血的方法,该方法包含暂时逆转抗凝血药影响维持一定时间以足

以处理出血。在具体实施方案中,逆转抗凝血药影响的步骤包含(i)使用胶体、类晶体、人血浆或血浆蛋白(诸如白蛋白)的体液置换;或(ii)输注浓缩红细胞或全血。在一具体实施方案中,逆转抗凝血药影响的治疗剂,例如在重度紧急情况下,包括(但不限于)止血血液组分(诸如新鲜冷冻血浆(FFP))、凝血酶原复合浓缩物(PCC)及活化PCC[APCC];例如因子VIII抑制剂旁路活性(FEIBA)]及重组活化因子VII(rFVIIa)。在一个实施方案中,包含施用30 μ g/kg剂量的rFVIIa,之后每2-4小时施用15-30 μ g/kg剂量的rFVIIa维持24-48小时,外加每6小时施用胺甲环酸1g维持5至7天的疗法可使经受重大手术的用本文所提供的抗FXI/FXIIa抗体(例如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR及VH CDR的抗体)治疗的个体及具有活性不可接近出血点的患者回复止血且终止出血。例如,Riddell等人报导经受手术的4位不使用抑制剂的重度FXI缺乏患者的经历(Riddell等人,2011,Thromb.Haemost.;106:521-527);患者在诱导麻醉下施用rFVIIa 30 μ g/kg及胺甲环酸1g(静脉内)。每间隔2至4小时施用后续单次剂量的rFVIIa 15-30 μ g/kg,如旋转血栓形成(ROTEM)结果所引导。患者用上文所提及剂量的rFVIIa治疗24-48小时。每六小时胺甲环酸1g持续五天。在此小系列中,在此研究中,剂量低至15-30 μ g/kg的rFVIIa以及胺甲环酸在校正重度FXI缺乏的止血缺陷中安全且有效。在包含经历5次手术的4位使用抑制剂的重度FXI缺乏患者的另一研究中,(自体中和通常在向重度FXI缺乏患者输注或施用血液制品之后获取的FXI抗体),作者(Livnat等人,2009,Thromb.Haemost.;102:487-492)应用以下方案:在手术之前两小时经口1g胺甲环酸,接着患者在干预之前立即再静脉内接受1g胺甲环酸。手术完成时灌注15至30 μ g/kg范围内剂量的重组FVIIa。随后,每6小时口服胺甲环酸1g维持至少7天。在一个患者中,在切除的胆囊床处喷雾纤维蛋白胶。在使用抑制剂的重度FXI缺乏患者中此方案保证正常止血。

[0447] 在一个方面中,纤维蛋白胶可在牙科手术期间用以恢复FXI缺乏患者的局部止血(Bolton-Maggs(2000)Haemophilia;6(S1):100-9)。在关于处理用本文所提供的抗FXI/FXIIa抗体(例如NOV1401)治疗的患者出血的方法的某一实施方案中,与使用纤维蛋白胶有关的由每6小时胺甲环酸1g维持5至7天组成的疗法可用以产生经受微小手术的个体及具有可及出血部位(包括口服及经鼻出血事件)的个体的局部止血。

[0448] 在一个特定方面,本文提供在接受本文所述的抗FXI抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的HCDR和LCDR的抗FXI抗体)治疗或施用的患者(例如,ESRD和/或AF患者)中管理出血或出血风险的方法,所述方法包括步骤:向有需要的患者施用抗FXI抗体的抗独特型抗体或其抗原结合片段(例如,Fab),其中抗独特型或其抗原结合片段(例如,Fab)与抗FXI抗体特异性结合并且阻断抗FXI抗体与FXI结合。在具体实施方案中,例如在紧急大手术或创伤期间,抗独特型抗体或其抗原结合片段(例如,Fab)逆转本文所述的抗FXI抗体缓和出血风险的作用。

[0449] 在具体方面,抗独特型抗体或其抗原结合片段(例如,Fab)逆转或抑制抗FXI抗体的抗凝血作用。在特定方面,将抗独特型抗体或其抗原结合片段(例如,Fab)施用至有需要的患者,以暂时逆转本文所述的抗FXI抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的HCDR和LCDR的抗FXI抗体)的抗凝血作用。

[0450] 在一个特定方面,本文提供在接受抗FXI抗体如NOV1401(例如,SEQ ID NOs:31和41)治疗或施用的患者中管理出血或出血风险的方法,所述方法包括步骤:向有需要的患者施用抗FXI抗体如NOV1401(例如,SEQ ID NOs:31和41)的抗独特型抗体或其抗原结合片段

(例如, Fab), 其中抗独特型或其抗原结合片段(例如, Fab)与抗FXI抗体如NOV1401(例如, SEQ ID NOs:31和41)的抗原结合区特异性结合并且阻断抗FXI抗体与FXI和/或FXIa结合。在一个具体实施方案中, 抗FXI抗体如NOV1401(例如, SEQ ID NOs:31和41)的抗独特型抗体或其抗原结合片段(例如, Fab)逆转或抑制抗FXI抗体(例如, NOV1401)的一种或多种抗凝血作用。在某些实施方案中, 实现暂时逆转或抑制抗FXI抗体(例如, NOV1401)的一种或多种抗凝血作用。在具体实施方案中, 在暂时逆转或抑制抗FXI抗体(例如, NOV1401)后, 向患者再次施用抗FXI抗体(例如, NOV1401)。

[0451] 可以通过先前描述的多种方法产生抗独特型抗体, 参见, 例如, Pan等人, 1995, FASEB J. 9:43-49。抗独特型抗体由抗体分子(例如, NOV1401)激发并且针对在抗体结合位点中或与之接近的抗原决定簇(独特位)。抗独特型抗体识别与结合位点中接触原始抗原的部分重叠的抗原决定簇并且它们可以模拟起激发作用的抗原。

[0452] 药物组合物

[0453] 本公开提供药物组合物, 所述药物组合物包含与可药用载体配制在一起的结合FXIa的抗体(完整的或结合片段), 例如, 表1中所述的抗FXI/FXIa抗体, 用于本文所述的方法(例如, 降低卒中和/或全身栓塞风险的方法)中。组合物可另外含有一或多种适用于治疗或预防例如血栓栓塞病症(例如血栓性病症)的其他治疗剂。可药用载体会使组合物增强或稳定, 或可用于促进组合物的制备。可药用载体包括生理上相容的溶剂、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。

[0454] 用于本公开的药物组合物可通过本领域中已知的多种方法施用。施用途径和/或方式根据所需结果而变化。优选静脉内(i.v.)、肌肉内(i.m.)、腹膜内(i.p.)或皮下(s.c.)施用或接近目标部位施用。可药用载体应适用于静脉内、肌肉内、皮下、非经肠、脊椎或表皮施用(例如注射或输注)。视施用途径而定, 活性化合物(也即抗体、双特异性及多特异性分子)可用保护化合物不受酸作用及可使化合物不活化的其他天然条件影响的物质涂布。

[0455] 在具体方面中, 本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如表1中所述的抗体, 诸如NOV1401或包含NOV1401的LCDR及HCDR的抗体)以大约75mg/mL至大约200mg/mL的浓度配制于液体小瓶中用于皮下注射。在具体实施方案中, 药物组合物包含医药载体或赋形剂, 例如蔗糖及聚山梨醇酯20。在具体实施方案中, 药物组合物包含L-组氨酸和/或组氨酸HCl单水合物。在某些实施方案中, 药物组合物的pH为大约4至7、或5至6。

[0456] 在具体方面中, 本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如表1中所述的抗体, 诸如NOV1401或包含NOV1401的LCDR及HCDR的抗体)以150mg/mL的浓度配制于液体小瓶中用于皮下注射。在一个实施方案中, 150mg/mL液体制剂含有150mg抗FXI/FXIa抗体、L-组氨酸、组氨酸HCl单水合物、蔗糖及聚山梨醇酯20, 其中 $\text{pH}=5.5\pm0.5$ 。组合物应为无菌流体。例如, 可通过使用诸如卵磷脂的包衣、通过在分散液的情况下维持必要粒度及通过使用界面活性剂来维持适当流动性。在许多情况下, 组合物中优选包括等渗剂, 例如糖、多元醇(诸如甘露糖醇或山梨糖醇)及氯化钠。通过使组合物中包括延迟吸收剂(例如单硬脂酸铝或明胶), 可达成可注射组合物的长期吸收。

[0457] 用于本公开的药物组合物可根据本领域中熟知且常规实践的方法制备。参见例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Mack Publishing Co., 第20版, 2000; 及 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson编,

Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。药物组合物优选根据GMP条件制造。通常,在本公开的药物组合物中采用治疗上有效剂量或有作用剂量的FXIa结合抗体。FXIa结合抗体通过本领域技术人员已知的常规方法配制成可药用剂型。调节剂量方案以得到最佳所需响应(例如治疗响应)。例如,可施用单一浓注,可随时间施用若干分次剂量,或可依治疗情况的紧急性所指示按比例减少或增加剂量。就易施用性及剂量的均一性而言,将非经肠组合物配制成单位剂型尤其有利。如本文所用的单位剂型是指适合作为单一剂量用于待治疗的个体的物理上分散单位;各单位含有与所需医药载体结合的经计算以产生所需治疗性效应的预定量活性化合物。

[0458] 可改变本公开药物组合物中的活性成分的实际剂量水平,以便使得活性成分的量有效达成针对特定患者、组合物及施用模式的所需治疗反应,而不会对患者产生毒性。所选剂量浓度视多种药物动力学因素而定,其包括本公开所用的特定组合物的活性、施用途径、施用时间、所用特定化合物的排泄速率、治疗持续时间、与所用特定组合物组合使用的其他药物、化合物和/或物质、所治疗患者的年龄、性别、体重、病状、一般健康状况及先前病史及其类似因素。

[0459] 医生可以比获得所需治疗作用所需水平更低的水平的以药物组合物形式采用的本公开抗体的剂量起始且逐渐增加剂量直至达成所需效果。一般而言,治疗本文所述的血栓性和/或血栓栓塞病症的本公开组合物的有效剂量视许多不同因子而变化,包括施用手段、目标部位、患者的生理状态、施用的其他药物及治疗是否为预防性或治疗性的。需要滴定治疗剂量以使安全性及功效达最佳。对于全身施用抗体,剂量在每公斤宿主体重约0.01至约15mg/kg范围内。对于施用(例如皮下施用)抗体,剂量可在0.1mg至5mg或1mg至600mg的范围内。例如,本文所述的抗FXI/FXIa抗体可以以下剂量施用:0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.6mg/kg、0.7mg/kg、0.8mg/kg、0.9mg/kg、1.0mg/kg、1.1mg/kg、1.2mg/kg、1.3mg/kg、1.4mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.7mg/kg、1.8mg/kg、1.9mg/kg、2.0mg/kg、2.1mg/kg、2.2mg/kg、2.3mg/kg、2.4mg/kg、2.5mg/kg、2.6mg/kg、2.7mg/kg、2.8mg/kg、2.9mg/kg、3.0mg/kg、3.1mg/kg、3.2mg/kg、3.3mg/kg、3.4mg/kg、3.5mg/kg、3.6mg/kg、3.7mg/kg、3.8mg/kg、3.9mg/kg、4.0mg/kg、4.1mg/kg、4.2mg/kg、4.3mg/kg、4.4mg/kg、4.5mg/kg、4.6mg/kg、4.7mg/kg、4.8mg/kg、4.9mg/kg或5.0mg/kg。示例性治疗方案需要每两周全身施用一次或一月一次或每3至6个月一次。一种示例性治疗方案需要每周一次、每两周一次、每三周一次、一月一次或每3至6个月一次或视需要(PRN)全身施用。

[0460] 在某个实施方案中,将本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体),例如通过i.v.或s.c.,按3mg/kg的剂量施用。在一个具体方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0461] 在某个实施方案中,将本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体),例如通过i.v.或s.c.,按10mg/kg的剂量施用。在一个具体方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0462] 在某个实施方案中,将本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体),例如通过i.v.或s.c.,按30mg/kg的剂

量施用。在一个具体方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0463] 在某个实施方案中,将本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体),例如通过i.v.或s.c.,按50mg/kg的剂量施用。在一个具体方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0464] 在某个实施方案中,将本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体),例如通过i.v.或s.c.,按100mg/kg的剂量施用。在一个具体方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0465] 在某个实施方案中,在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用,例如通过i.v.或s.c.途径,剂量为5mg至600mg范围内。在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体),例如通过i.v.或s.c.途径,按100mg至200mg范围内的剂量,例如,每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0466] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体),例如通过i.v.或s.c.途径,按大约5mg、10mg、15mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、90mg、100mg、120mg、150mg、180mg、200mg、210mg、240mg、250mg、270mg、300mg、330mg、350mg、360mg、390mg、400mg、420mg、450mg、480mg、500mg、510mg、540mg、550mg、570mg、或600mg的剂量施用至有此需求的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体)。在一个具体方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在一个特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0467] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为5mg。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0468] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为15mg。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施

用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0469] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为50mg。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0470] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为120mg。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0471] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为150mg。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0472] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为180mg。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0473] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为210mg。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0474] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中

所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为300mg。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0475] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为600mg。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0476] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为5mg或更多。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0477] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为15mg或更多。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0478] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为50mg或更多。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0479] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为120mg或更多。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每

月一次)施用。

[0480] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为150mg或更多。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0481] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为180mg或更多。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0482] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为210mg或更多。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0483] 在某个实施方案中,用于本文提供的方法(例如,用于对卒中或血栓栓塞如全身栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法)中的本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体)被施用给有此需要的个体(例如,心房纤维性颤动和/或ESRD个体),例如通过s.c.途径,剂量为300mg或更多。在具体的方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0484] 在某个实施方案中,将本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体),例如通过i.v.或s.c.途径,按这样的剂量施用,所述剂量足实现不超过30天、35天、36天、37天、38天、39天、40天、41天、42天、43天、44天、45天或50天时间段的2倍或更多倍aPTT延长平均持续期。

[0485] 在某个实施方案中,将本文所述的抗FXI/FXIa抗体(例如,表1中所述的抗体,如NOV1401或包含NOV1401的VL CDR和VH CDR的抗体),例如通过i.v.或s.c.途径,按这样的剂量施用,所述剂量足实现不超过42天时间段的2倍或更多倍aPTT延长平均持续期。

[0486] 在某个实施方案中,抗体NOV1401(例如,包含重链和轻链的抗体,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列)或包含NOV1401和可药用载体的药物组合物用于对与治疗ESRD(如血液透析)相关的卒中或血栓栓塞(如全身

栓塞)进行预防、治疗或管理或降低风险,其中将抗体按100mg至300mg范围内的剂量皮下施用。

[0487] 在特定方面,抗体NOV1401(例如,包含重链和轻链的抗体,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列)或包含NOV1401和可药用载体的药物组合物用于在个体中对与治疗ESRD(如血液透析)相关的卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防、治疗或管理或降低风险,其中将抗体按大约100mg、120mg、150mg、180mg、210mg或240mg的剂量每月一次皮下施用。在具体方面,个体罹患AF和ESRD。

[0488] 在某个实施方案中,抗体NOV1401(例如,包含重链和轻链的抗体,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列)或包含NOV1401或其抗原结合片段和可药用载体的药物组合物用于在罹患AF(如非瓣膜性AF)的个体中对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防、治疗或管理或降低风险,其中将抗体按100mg至300mg范围内的剂量每月一次皮下施用。在具体方面,个体患有非瓣膜性AF,其具有展示的高出血风险,例如,如通过CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 所确定,并且其中个体为55岁或更大。

[0489] 在特定方面,抗体NOV1401(例如,包含重链和轻链的抗体,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列)或包含NOV1401或其抗原结合片段和可药用载体的药物组合物用于在罹患AF(如非瓣膜性AF)的个体中对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防、治疗或管理或降低风险,其中将抗体按大约100mg、120mg、150mg、180mg、210mg、240mg或300mg的剂量每月一次皮下施用。在具体方面,个体患有非瓣膜性AF,其具有展示的高出血风险,例如,如通过CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 所确定,并且其中个体为55岁或更大。在一个具体方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每周一次、每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在一个特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体每两周一次、每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在一个具体方面,将这种抗FXI/FXIa抗体按大约100mg、110mg、120mg、130mg或140mg的剂量每周一次或每两周一次施用。在一个具体方面,将这种抗FXI/FXIa抗体按大约140mg、150mg、160mg、170mg或180mg的剂量每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。在一个特定方面,将这种抗FXI/FXIa抗体按150mg或180mg的剂量每3周一次或每4周一次(或每月一次)施用。

[0490] 在特定方面,抗体NOV1401(例如,包含重链和轻链的抗体,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列)或包含NOV1401或其抗原结合片段和可药用载体的药物组合物用于在罹患AF(如非瓣膜性AF)的个体中对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防、治疗或管理或降低风险,其中将抗体按120mg、150mg或180mg的剂量每月一次皮下施用。在具体方面,个体患有非瓣膜性AF,其具有展示的高出血风险,例如,如通过CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 所确定,并且其中个体为55岁或更大。

[0491] 抗体通常多次时机施用。单次剂量之间的时间间隔可为每周、两周一次、每月或每年。时间间隔也可为不规则的,如测定患者的FXI和/或FXIa结合抗体的血液含量所指示。另外,替代给药时间间隔可由医师测定,且每月或视需要施用以具灵验性。在一些全身施用的方法中,调节剂量以达成1-1000 μ g/mL或1-1200 μ g/mL的血浆抗体浓度,且在一些方法中为25-500 μ g/mL。或者,抗体可以持续释放制剂的形式施用,在此情况下,降低所需施用的频率。剂量及频率视患者中抗体或其目标的半衰期而变化。一般而言,人及人源化抗体在人中展示比嵌合抗体及非人抗体更长的半衰期。施用物量及频率可视治疗是否为预防性或治疗

性的而变化。在预防性应用中,通常在长时间段内,在相对不频繁的间隔时间施用相对低的剂量。一些患者在其余生中持续接受治疗。在治疗性应用中,有时需要以相对较短的间隔施用相对较高的剂量,直至疾病的进展降低或终止,且优选直至患者展示疾病的症状的部分或完全改善。此后,可向患者施用预防性疗法。

[0492] 本发明在一个方面涉及以下具体实施方案:

[0493] 1. 一种对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,包括向罹患终末期肾脏病的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在因子XI (“FXI”) 和/或激活型FXI (“FXIa”) 的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段。

[0494] 2. 根据实施方案1所述的方法,其中个体正在接受透析。

[0495] 3. 根据实施方案1或2所述的方法,其中个体正在接受血液透析或其他类型的透析,如腹膜透析。

[0496] 4. 根据实施方案1、2或3所述的方法,其中个体罹患心房纤维性颤动。

[0497] 5. 根据实施方案4所述的方法,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0498] 6. 对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险的方法,包括向罹患心房纤维性颤动和终末期肾脏病并且正在接受透析(如血液透析)的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段。

[0499] 7. 根据实施方案6所述的方法,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0500] 8. 对导管相关性血栓形成进行预防、治疗或管理或降低风险的方法,包括向罹患终末期肾脏病的用插入的隧道式导管启用血液透析的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段。

[0501] 9. 根据前述实施方案中任一项所述的方法,其中个体具有展示的高出血风险。

[0502] 10. 对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防或降低风险的方法,包括向罹患心房纤维性颤动的个体施用有效量的药物组合物,所述药物组合物包含在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或抗原结合片段,其中个体具有展示的高出血风险,所述的高出血风险表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 。

[0503] 11. 根据实施方案1-10中任一项所述的方法,其中个体至少55岁。

[0504] 12. 根据实施方案9-11中任一项所述的方法,其中个体具有展示的高出血风险,所述的高出血风险表征为具有CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 和以下一种、两种或更多种风险因子:

[0505] (a) 超过65岁;

[0506] (b) 既往卒中或短暂性缺血发作史;

[0507] (c) 既往主要出血或临床相关的出血;

[0508] (d) 3期至4期慢性肾脏病(CKD);

[0509] (e) 经单一或双联抗血小板疗法治疗;和

[0510] (f) 与血肿瘀伤或其他表现相关的跌倒史。

[0511] 13. 根据实施方案1-12中任一项所述的方法,其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:9和29的VH或与其具有至少90%同一性的氨基酸序列;和选自SEQ ID NO:19和39的VL或与其具有至少90%同一性的氨基酸序列。

[0512] 14. 根据实施方案13所述的方法,其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:9和29的VH或与其具有至少95%同一性的氨基酸序列;和选自SEQ ID NO:19和39的VL或与其具有至少

95%同一性的氨基酸序列。

[0513] 15. 根据实施方案13所述的方法,其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:9和29的VH或与其具有至少97%同一性的氨基酸序列;和选自SEQ ID NO:19和39的VL或与其具有至少97%同一性的氨基酸序列。

[0514] 16. 实施方案13的方法,其中抗体或片段包含选自SEQ ID NO:9和29的可变重链;和选自SEQ ID NO:19和39的可变轻链序列。

[0515] 17. 根据前述实施方案中任一项所述的方法,其中抗体或片段包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0516] 18. 实施方案13的方法,其中抗体或片段是:(i) 包含SEQ ID NO:9的可变重链和SEQ ID NO:19的可变轻链序列的抗体或片段;(ii) 包含SEQ ID NO:29的可变重链和SEQ ID NO:39的可变轻链序列的抗体或片段;(iii) 包含重链和轻链的抗体,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;或(iv) 包含重链和轻链的抗体,所述重链包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列。

[0517] 19. 实施方案1-18中任一者的方法,其中抗体或片段包含(i) 重链可变区CDR1,其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;CDR2,其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;和CDR3,其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;和(ii) 轻链可变区CDR1,其包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;CDR2,其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;和CDR3,其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列。

[0518] 20. 实施方案1-18中任一者的方法,其中抗体或片段包含(i) 重链可变区CDR1,其选自SEQ ID NO:3和23;CDR2,其选自SEQ ID NO:4和24;和CDR3,其选自SEQ ID NO:5和25;和(ii) 轻链可变区CDR1,其选自SEQ ID NO:13和33;CDR2,其选自SEQ ID NO:14和34;和CDR3,其选自SEQ ID NO:15和35。

[0519] 21. 实施方案1-18中任一者的方法,其中抗体或片段包含重链可变区CDR1,其选自SEQ ID NO:6和26;CDR2,其选自SEQ ID NO:7和27;CDR3,其选自SEQ ID NO:8和28;轻链可变区CDR1,其选自SEQ ID NO:16和36;CDR2,其选自SEQ ID NO:17和37;和CDR3,其选自SEQ ID NO:18和38。

[0520] 22. 实施方案1-18中任一者的方法,其中抗体或片段包含(i) SEQ ID NO:3的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:4的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:5的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:13的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:14的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:15的轻链可变区CDR3;

[0521] (ii) SEQ ID NO:23的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:24的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:25的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:33的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:34的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:35的轻链可变区CDR3。

[0522] (iii) SEQ ID NO:6的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:7的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:8的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:16的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:17的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:18的轻链可变区CDR3;或

[0523] (iv) SEQ ID NO:26的重链可变区CDR1;SEQ ID NO:27的重链可变区CDR2;SEQ ID NO:28的重链可变区CDR3;SEQ ID NO:36的轻链可变区CDR1;SEQ ID NO:37的轻链可变区CDR2;和SEQ ID NO:38的轻链可变区CDR3。

[0524] 23. 实施方案1-22中任一者的方法,其中抗体或片段结合至与包含SEQ ID NO:9的可变重链和SEQ ID NO:19的可变轻链序列的抗体或包含SEQ ID NO:29的可变重链和SEQ ID NO:39的可变轻链序列的抗体相同的表位。

[0525] 24. 实施方案1-22中任一者的方法,其中抗体或片段与包含SEQ ID NO:9的可变重链和SEQ ID NO:19的可变轻链序列的参考抗体或包含SEQ ID NO:29的可变重链和SEQ ID NO:39的可变轻链序列的参考抗体竞争结合人FXI和/或FXIa蛋白;并且其中抗体或片段与选自下列的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个或十个或更多残基接触: Pro410, Arg413, Leu415, Cys416, His431, Cys432, Tyr434, Gly435, Glu437, Tyr472, Lys473, Met474, Ala475, Glu476, Tyr521, Arg522, Lys523, Leu524, Arg525, Asp526, Lys527, Arg548, His552, Ser575, Ser594, Trp595, Gly596, Glu597, Arg602, Glu603和Arg604。

[0526] 25. 实施方案1-24中任一者的方法,其中抗体或片段选自NOV1090、NOV1401,或包含SEQ ID NO:29的3H CDR和NOV1401的SEQ ID NO:39的3VL CDR。

[0527] 26. 在已经接受在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗FXI/FXIa抗体或抗原结合片段治疗或施用的罹患终末期肾脏病的个体中管理或减少出血或出血风险的方法,包括步骤:向有需求的个体施用与抗FXI/FXIa抗体特异性结合并阻断抗FXI/FXIa抗体与FXI和/或FXIa结合的抗独特型抗体或其片段,并且其中抗独特型抗体或其片段逆转抗FXI/FXIa抗体的抗凝血活性。

[0528] 27. 实施方案26的方法,其中将抗独特型抗体或其片段向个体施用一次或数次(例如,两次、三次或四次)以逆转抗FXI/FXIa抗体的抗凝血作用。

[0529] 28. 在已经接受在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗FXI/FXIa抗体或抗原结合片段治疗或施用的罹患终末期肾脏病的个体中管理或减少出血或出血风险的方法,所述方法包括通过以下方式之一暂时逆转抗凝血作用持续足够时间以管理出血:(i) 使用胶体、类晶体、人血浆或血浆蛋白(如白蛋白)体液置换;(ii) 用浓缩红细胞血液或全血输血;或(iii) 施用冷冻的新鲜血浆(FFP)、凝血酶原复合浓缩物(PCC)、激活型PCC(APCC)如因子VIII抑制物,和/或重组激活型因子VII。

[0530] 29. 实施方案26-28中任一者的方法,其中个体正在接受透析,如血液透析或体外膜氧合。

[0531] 30. 实施方案26-28中任一者的方法,其中个体罹患心房纤维性颤动。

[0532] 31. 实施方案30的方法,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0533] 32. 实施方案30或31的方法,其中个体具有展示的高出血风险。

[0534] 33. 实施方案26-32中任一者的方法,其中抗FXI/FXIa抗体或抗原结合片段包含选自SEQ ID NO:9和29的VH或与其具有至少90%同一性的氨基酸序列;和选自SEQ ID NO:19和39的VL或与其具有90%同一性的氨基酸序列。

[0535] 34. 实施方案26-32中任一者的方法,其中抗FXI/FXIa抗体或抗原结合片段按浓度依赖性方式与包含SEQ ID NO:9的可变重链和SEQ ID NO:19的可变轻链序列的抗体或包含SEQ ID NO:29的可变重链和SEQ ID NO:39的可变轻链序列的抗体竞争结合人FXI和/或FXIa蛋白。

[0536] 35. 根据实施方案1-34中任一项所述的方法,其中抗FXI/FXIa抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0537] 36. 根据实施方案1-35中任一项所述的方法, 其中将抗FXI/FXIa抗体或其抗原结合片段皮下施用至个体。

[0538] 37. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段, 或包含所述抗体或其抗原结合片段和可药用载体的药物组合物, 用于在罹患终末期肾脏病的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险, 其中抗体包含重链和轻链, 所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列, 所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0539] 38. 根据实施方案37的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体正在接受透析。

[0540] 39. 根据实施方案37或38的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体正在接受血液透析或其他类型的透析, 如, 腹膜透析。

[0541] 40. 根据实施方案37-39中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体罹患心房纤维性颤动, 如非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0542] 41. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段, 或包含所述抗体或其抗原结合片段和可药用载体的药物组合物, 用于在罹患心房纤维性颤动和终末期肾脏病并且正在接受透析(如血液透析)的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险, 其中抗体包含重链和轻链, 所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列, 所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0543] 42. 根据实施方案37-41中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。

[0544] 43. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段, 或包含所述抗体或其抗原结合片段的药物组合物, 用于在罹患终末期肾脏病并以导管启用血液透析的个体中对导管相关性血栓形成进行预防、治疗或管理或降低风险, 其中抗体包含重链和轻链, 所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列, 所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0545] 44. 根据实施方案37-43中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体具有展示的高出血风险。

[0546] 45. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段, 或包含所述抗体或其抗原结合片段和可药用载体的药物组合物, 用于在罹患心房纤维性颤动的个体中对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防或降低风险, 其中个体具有展示的高出血风险, 所述的高出血风险表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 , 并且其中抗体包含重链和轻链, 所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列, 所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。

[0547] 46. 根据实施方案37-45中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体至少55岁。

[0548] 47. 根据实施方案37-46中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物, 其中个体具有展示的高出血风险, 所述的高出血风险表征为(i) 具有CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 和(ii) 以下一种、两种或更多种风险因子:

[0549] (a) 超过65岁;

[0550] (b) 既往卒中或短暂性缺血发作史;

[0551] (c) 既往主要出血或临床相关的出血;

- [0552] (d) 3期至4期慢性肾脏病 (CKD) ;
- [0553] (e) 经单一或双联抗血小板疗法治疗;和
- [0554] (f) 与血肿瘀伤或其他表现相关的跌倒史。
- [0555] 48. 根据实施方案37-47中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中将抗体或其抗原结合片段皮下施用至个体。
- [0556] 49. 根据实施方案37-48中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中将抗体或其抗原结合片段按至少90mg、120mg、150mg、180mg或210mg的剂量施用。
- [0557] 50. 根据实施方案37-48中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中将抗体或其抗原结合片段按120mg、150mg或180mg的剂量施用。
- [0558] 51. 根据实施方案37-50中任一者的抗体或其抗原结合片段或药物组合物,其中将抗体或其抗原结合片段每月一次施用。
- [0559] 52. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患终末期肾脏病的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防、治疗或管理或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。
- [0560] 53. 根据实施方案52的用途,其中个体正在接受透析。
- [0561] 54. 根据实施方案52或53的用途,其中个体正在接受血液透析或其他类型的透析,如,腹膜透析。
- [0562] 55. 根据实施方案52-54中任一者的用途,其中个体罹患心房纤维性颤动,如非瓣膜性心房纤维性颤动。
- [0563] 56. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患心房纤维性颤动和终末期肾脏病并且正在接受透析(如血液透析)的个体中对卒中或血栓栓塞进行预防或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。
- [0564] 57. 根据实施方案52-56中任一者的用途,其中个体罹患非瓣膜性心房纤维性颤动。
- [0565] 58. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患终末期肾脏病并以导管启用血液透析的个体中对导管相关性血栓形成进行预防、治疗或管理或降低风险,其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。
- [0566] 59. 根据实施方案52-58中任一项所述的用途,其中个体具有展示的高出血风险。
- [0567] 60. 在FXI和/或FXIa的催化结构域内部结合的抗体或其抗原结合片段用于制造药物的用途,所述药物用于在罹患心房纤维性颤动的个体中对卒中或血栓栓塞(如全身栓塞)进行预防或降低风险,其中个体具有展示的高出血风险,所述的高出血风险表征为CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 ,并且其中抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列。
- [0568] 61. 根据实施方案52-60中任一者的用途,其中个体至少55岁。
- [0569] 62. 根据实施方案52-60中任一者的用途,其中个体具有具有展示的高出血风险,所述的高出血风险表征为(i)CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 和(ii)以下一种、两种或更多种风险

因子:

- [0570] (a) 超过65岁;
- [0571] (b) 既往卒中或短暂性缺血发作史;
- [0572] (c) 既往主要出血或临床相关的出血;
- [0573] (d) 3期至4期慢性肾脏病 (CKD);
- [0574] (e) 经单一或双联抗血小板疗法治疗;和
- [0575] (f) 与血肿瘀伤或其他表现相关的跌倒史。
- [0576] 63. 根据实施方案52-62中任一者的用途, 其中药物适于皮下施用至个体。
- [0577] 64. 根据实施方案52-63中任一者的用途, 其中药物适于按至少90mg、120mg、150mg、180mg或210mg的剂量施用。
- [0578] 65. 根据实施方案52-63中任一者的用途, 其中药物适于按120mg、150mg或180mg的剂量施用。
- [0579] 66. 根据实施方案52-65中任一者的用途, 其中药物适于每月一次施用至个体。

实施例

[0580] 提供以下实施例以进一步说明本公开, 然而不限制其范畴。本公开的其他变化形式对于本领域技术人员而言显而易见且涵盖于随附权利要求范围中。

[0581] 实施例1

[0582] 实施例1

[0583] 结合数据

[0584] FXI催化结构域的表面等离子共振 (SPR) 分析.

[0585] 经BIAcore™ T200基于表面等离子共振的光学生物传感器 (BIAcore™, GE Healthcare, Uppsala) 进行SPR测定。S系列感测子芯片 (CM5)、固定试剂盒及再生缓冲液购自GE Healthcare (Uppsala)。两种不同分析设定视配体形式IgG或Fab而进行。首先, 表面通过N-羟基丁二酰亚胺 (NHS) 及N-(3-二甲氨基丙基)-N-乙基碳化二亚胺盐酸盐 (EDC) 活化。NOV1401-Fab通过标准胺偶联方法 (GE Healthcare, Uppsala) 共价连接至CM5芯片上的活化葡聚糖基质。对于NOV1401-IgG, 进行捕获分析且将山羊抗人IgG-Fc抗体 (JIR) 以14000个RU固定于芯片上。用乙醇胺 (EA) 使剩余活性表面基团失活。制备无固定配体的参考细胞且用1×HBS-EP+缓冲液 (10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA、0.05% P20、pH 7.4, Teknova H8022) 平衡系统。

[0586] 所有结合实验在25°C下使用HBS-EP+缓冲液在50μL/min的流动速率下进行。对于捕获分析, 捕获NOV1401-IgG直至达到80的RU含量。对于动力学研究, 使用于HBS-EP+缓冲液中的浓度在0-200nM范围内的一系列FXI催化结构域稀释液。结合时间为120s且解离时间为180s。表面用单次注射10mM甘氨酸 (pH 1.5) 再生 (接触时间60s, 稳定化时间120s)。用T200 BiaEvaluation软件1.0版实现数据处理以及 k_{on} 、 k_{off} 及 K_D 测定。应用双重参比 (减去参比及空白注射) 以校正体效应及其他系统人工制品。通过应用1:1结合模型 (全局下设定的 R_{max}) 拟合传感图。

[0587] FXI及FXIa的溶液平衡滴定 (SET)

[0588] 用样品缓冲液 (PBS pH 7.4, 含有0.5% BSA及0.02% Tween 20) 制备22份抗原的

连续1.6n稀释液且将恒定浓度的NOV1401-Fab (对于huFXI为200pM且对于huFXIa为500pM) 或NOV1401-抗体 (对于huFXI及huFXIa为10pM) 添加至各抗原浓缩物中。抗原稀释液系列的起始浓度对于huFXIa为100nM, 及20nM huFXI (Fab分析) 或1nM (IgG分析)。60 μ l/孔的各稀释液混合物一式两份分布于384孔聚丙烯MTP中。样品缓冲液充当阴性对照且不含抗原的样品充当阳性对照 (Bmax)。将板密封, 且在室温下在振荡器上培育隔夜。标准384孔MSD阵列MTP涂布有30 μ l/孔用PBS稀释的0.1 μ g/ml huFXIa (对于huFXIa及huFXI), 密封且在4 $^{\circ}$ C下培育隔夜。

[0589] 在培育且用TBST (TBS含有0.05% Tween 20) 洗涤三次之后, 用50 μ l/孔阻断缓冲液 (PBS含有5% BSA) 阻断涂有抗原的MSD板且在室温下在振荡器上培育1小时。重复洗涤步骤且将30 μ l/孔的Fab/IgG抗原制剂从聚丙烯MTP转移至涂有抗原的MSD板且在室温下在振荡器上培育20分钟。在其他洗涤步骤之后, 将30 μ l 0.5 μ g/ml用样品缓冲液稀释的ECL标记的山羊抗人IgG/Fab检测抗体 (MSD) 添加至各孔中且在室温下在振荡下培育30分钟。在又洗涤板三次之后, 将35 μ l读取缓冲液 (MSD) 添加至各孔中。产生电化学发光 (ECL) 信号且用MSD Sector Imager 6000检测。

[0590] 在各分析内由重复测定计算平均ECL信号。数据通过自所有数据点减去最低值进行基线调节且针对对应抗原浓度绘图。 K_D 值通过曲线拟合以下1:1 (对于Fab) 或1:2 (对于IgG) 拟合模型确定 (根据Piehler等人, 1997)。

[0591] 结果

[0592] 结果概述于表3及4中。对于两种NOV1401形式Fab与IgG, 如BIAcore™所确定, 获得FXI催化结构域的 K_D 值为大约20nM。Fab与活化FXI及酶原FXI的亲合力在pM范围内且分别为与催化结构域的亲合力66及300倍。根据其高亲合力, 这些相互作用通过SET分析测定。NOV1401-Fab展示与酶原FXI的亲合力 (62pM) 为活化FXI (305pM) 的五倍。NOV1401-IgG与二聚合酶原及活化FXI的亲合力标记为表观 K_D 值, 因为交互作用可受亲合力作用影响。

[0593] 为确定NOV2401也结合至食蟹猴FXI, 用活化食蟹猴FXI及食蟹猴FXI酶原进行SET实验, 分别产生 12.5 ± 6.6 pM (N=2) 及 5.0 ± 0.7 pM (N=2) 的表观 K_D 值。因此, NOV1401与食蟹猴FXI蛋白 (活性形式及酶原) 的亲合力与结合至人FXI (表3) 相当。

[0594] 表2. 如BIAcore™所确定的人FXI催化结构域的NOV1401-Fab/IgG的 K_D 值及动力学结合参数。

[0595]

催化结构域	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)	n
NOV1401-Fab	$3.2 \pm 0.5E+4$	$6.1 \pm 1.8E-4$	19 ± 6	3
NOV1401-IgG	$4.2 \pm 1.6E+4$	$8.8 \pm 2.2E-4$	21 ± 3	2

[0596] 表3. 通过溶液平衡滴定 (SET) 确定的人活化FXI及FXI酶原的NOV1401-Fab/IgG的 K_D 值。*仅值表观 K_D 值, 因为交互作用可受亲合力作用影响。

[0597]

NOV1401-Fab	K_D [pM]	N
人活化FXI	305 ± 8	3
人FXI酶原	62 ± 18	3
NOV1401-IgG		
人活化FXI	$4.7 \pm 2.1^*$	3
人FXI酶原	$1.3 \pm 0.3^*$	3

[0598] 参考文献:Piehler等人Assessment of affinity constants by rapid solid phase detection of equilibrium binding in a flow system, J.Immunol.Meth.1997.189-206

[0599] 实施例2

[0600] 生物化学分析:在活性分析中使用荧光肽作为底物抑制FXIa

[0601] 人FXIa(Kordia Life Science NL,目录号HFXIa 1111a)的活性通过监测具有序列D-Leu-Pro-Arg*^{*}Rh110-D-Pro的荧光标记的肽(产品号BS-2494;Biosyntan GmbH, Berlin,德国)的裂解确定。在上文所写的底物序列中,*指示易切断键,D-Leu:D-亮氨酸,Pro:脯氨酸,Arg:精氨酸,Rh110:罗丹明110,D-Pro:D-脯氨酸)。当分别使用485nm及535nm的激发及发射波长时,肽底物的易切断键的FXIa介导的裂解导致罗丹明110的荧光强度增加。在室温(RT)下使用微量滴定板读取器Safire2(TECAN, Maennedorf, 瑞士)连续测定荧光强度。分析缓冲液含有50mM HEPES(pH 7.4)、125mM NaCl、5mM CaCl₂及0.05% (w/v) CHAPS。在最终活性分析中,人FXIa及底物BS-2494的分析浓度分别为0.1nM及0.5μM。在这些条件下,荧光强度随时间推移的增加为线性的,维持至少60分钟。

[0602] 对于测试抗体的抑制活性,用含有0.05% (w/v) CHAPS的PBS缓冲液(137mM NaCl、2.7mM KCl、10mM Na₂HPO₄、1.8mM KH₂PO₄)制备抗体的连续稀释液。在室温下2μL的抗体溶液与10μL FXIa溶液(于分析缓冲液中)一起预培育60分钟。在预培育步骤之后,添加10μL底物BS-2494(用分析缓冲液稀释),且使酶反应进行60分钟,其后测定荧光强度。荧光强度值转化为抑制百分比,通过使用对照反应(不受抑制反应的信号相当于0%抑制,且不含酶的反应相当于100%抑制)及以下关于转移值的式:

[0603] $y = 100\% - [FI(x) - FI(min)] / [FI(max) - FI(min)]$,

[0604] 其中y为抗体浓度x下的抑制百分比,FI(x)为抗体浓度x下测定的荧光强度,FI(min)为不存在抗体的对照反应中测定的荧光强度且FI(max)为不受抑制的对照反应中测定的荧光强度。使用程序Origin 7.5SR6(OriginLab Corporation,USA)分析资料。使用数理逻辑函数计算平均数据的IC₅₀值:

[0605] $y = A2 + (A1 - A2) / (1 + (x / IC50)^p)$,

[0606] 其中y为抗体浓度x下的抑制百分比,A1为最低抑制值,且A2为最大抑制值。指数p为希尔系数。

[0607] 图4A展示抗体NOV1401抑制全长人FXIa的酶活性的代表性化合物反应曲线。结果展示NOV1401以浓度相关方式抑制人全长FXIa的酶活性(图4A)。拟合对数拟合模型产生大约160pM的IC₅₀值。

[0608] 实施例3

[0609] 抗FXIa Ab的抗凝血活性

[0610] 抗体NOV1401及NOV1090的抗血栓剂活性通过使用活化部分促凝血酶原激酶时间(aPTT)分析及凝血酶产生分析(TGA)测试。

[0611] aPTT分析:

[0612] 冻干正常人血浆‘凝血对照N’(参考号5020050)购自Technoclone GmbH(Vienna, 奥地利)。其收集自所选健康供体的柠檬酸化血浆。由此正常血浆获得的凝血时间反映涉及凝血的凝血因子的正常浓度。冻干血浆储存于4℃下。在其使用之前,通过小心旋转小瓶且

接着将其保持于室温下10分钟使血浆再悬浮于1mL蒸馏水中。

[0613] 内在途径触发试剂 ‘aPTT-s’ (参考号TE0350) 购自SYCOmed (Lemgo, 德国) 且含有于缓冲溶液(氯化钠、聚乙二醇20000; 蔗糖、叠氮化钠) 中的磷脂及硅酸酯(胶态)。溶液储存于4°C下。

[0614] 用双蒸馏水制备25mM储备浓度的氯化钙(参考号C1016-500G; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, 德国)。

[0615] UltraPure Tris/HCl缓冲液(pH 7.5) (参考号15567-027; Life Technologies Corporation, NY, USA) 及磷酸盐缓冲盐水(PBS, 参考号P4417-100TAB; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, 德国) 为化合物稀释液。

[0616] 3-[(3-胆酰氨基丙基) 二甲基铵基]-1-丙磺酸酯水合物(CHAPS, 参考号C3023-25G) 及无水二甲亚砜(DMSO, 参考号276855-100ML) 购自Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, 德国)。

[0617] 凝血时间的测定在Amelung滚珠凝血计模型KC4A(通过SYCOmed, Lemgo, 德国购买) 中进行, 其为半自动化机械凝血检测系统。系统利用特定样品池(参考号AI4000; SYCOmed), 其中置放不锈钢滚珠(参考号AI5000; SYCOmed)。

[0618] 将样品添加至样品池中。在适当孵育期之后, 将样品池置放于滚珠凝血计的测定孔中。测定孔缓慢旋转, 从而使样品池沿其纵向轴线旋转。因为样品池成微小角度, 重力及惯性使滚珠始终置于样品池的最低点。与滚珠位置恰好相对的为磁传感器。在添加触发试剂下, 起始定时器。当凝血进行时, 纤维蛋白链在反应混合物中形成。纤维蛋白链将滚珠拉离触发磁传感器中的脉冲的其惯性位置。此脉冲会以电子方式使定时器停止。吸液流程如下(表4a):

[0619] 表4a

	分析步骤	溶液	aPTT 分析
			体积[μ L]
[0620]	1	化合物稀释液或稀释剂	50
	2	人血浆	50
	3	aPTT-s 试剂	50
	4		在 37°C下在旋转下培育 3 分钟
	5	25 mM 氯化钙	50
	6		立即起始定时器
	7		当凝块形成时定时器停止

[0621] 在37°C的温度下于Amelung滚珠凝血计中一式两份测定样品。

[0622] 图4B展示导致aPTT凝血时间的浓度相关性延长的抗体NOV1401的代表性化合物反应曲线。结果表明NOV1401导致人血浆的aPTT凝血时间以浓度相关性方式延长。与NOV1401浓度大约14nM的基线相比, aPTT凝血时间加倍。IC₅₀值计算为大约13nM。

[0623] 凝血酶产生分析(TGA):

[0624] TGA冻干正常人血浆(凝血对照N) 购自Technoclone GmbH(参考号5020040, 批号

1P37B00) 且用蒸馏水以制造商所推荐的体积复原。

[0625] 底物溶液使用来自Technoclone GmbH(参考号5006230,批号8F41B00)的荧光底物Z-Gly-Gly-Arg-AMC制备。冻干底物的等分试样保持于4°C。将底物在其用于分析之前20分钟新近溶解于以小瓶所示的体积的蒸馏水中。复原的底物溶液含有浓度为1mM的荧光肽及浓度为15mM的CaCl₂。

[0626] 分别触发内在及外来途径的两种不同试剂‘TGA RD’(参考号500622)及‘低TGA RC’(参考号5006213)购自Technoclone GmbH(Vienna,Austria)。触发试剂‘低贫血小板血浆(PPP)-试剂’购自Thrombinoscope(TS31.00,批号PPL1409/01)且用如所小瓶指示的蒸馏水复原。‘低PPP试剂’含有极低浓度的磷脂及组织因子的混合物。试剂在即将使用之前用80mM Tris/HCl(pH 7.4)、0.05%(w/v)CHAPS 8倍稀释。

[0627] 将样品在购自Costar(产品号3603)的96孔黑色/透明底板中等分且测定。对于自动转移,将样品置放于V底96孔板(Costar,3894)中且使用CyBio自动系统(Alytik Jena US,Woburn,MA,USA)进行转移。

[0628] 在水浴中在37°C下将复原的人血浆、触发试剂‘低PPP试剂’及底物预温热10分钟。以5μM的NOV1401浓度为起始(5×最高最终浓度1μM),在96孔板中制备于PBS中的连续1:3抗体稀释液,总计8次稀释。将222μl触发试剂与1108μl底物溶液混合以产生10+50触发试剂底物混合物。以每孔80μl添加至V底96孔板中以用于使用自动系统后续转移。将板保持于37°C下。根据表4b中指定的流程添加试剂。

[0629] 表4b

	分析步骤	溶液	体积[μl]
	1	抗体溶液(8次稀释)	20
[0630]	2	血浆储备溶液 在37°C下于热混合器中在300转/分钟下培育5分钟	20
	3	触发试剂/底物混合物	10+50

[0631] 触发/底物混合物使用自动方式转移。在添加混合物之后,立即使用Synergy Neo仪器(BioTek Instrument Inc.,Winooski,VT,USA)分别记录360nm、460nm的激发及发射。于板读取器中在37°C的温度下以55秒的时间间隔一式两份测定样品90分钟。

[0632] 为产生峰值凝血酶浓度值,使用由Technoclone提供的TGA评估软件文件处理数据。为产生峰值凝血酶浓度相对于抗体浓度的曲线,使用GraphPad软件拟合数据。这些数据拟合GraphPad Prism5软件(GraphPad Software Inc.,La Jolla,CA,美国)中的非线性回归模型。IC₅₀值使用内建式四参数剂量-反应曲线等式(可变斜率)确定: $y = \text{底值} + (\text{顶值} - \text{底值}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - x) * \text{希尔斜率})})$,其中y为抑制剂浓度x下形成的凝血酶的最大浓度,且顶值及底值分别表示无抑制剂下及在最高抑制剂浓度下凝血酶的浓度。

[0633] 图4C展示呈现TGA中凝血酶产生的浓度相关性抑制的抗体NOV1401的代表性化合物反应曲线。计算此化合物反应曲线的24nM的IC₅₀值及159nM的残余凝血酶浓度(点线)。

[0634] 实施例5

[0635] FXI抗体对小鼠中FeCl₃诱导的血栓形成的影响

[0636] 缺乏FXI的小鼠(FXI^{-/-}小鼠)在C57B1背景上在Novartis(E.Hanover,NJ)下培育且

用以评定NOV1401的抗血栓疗效。当用人FXI (hFXI) 静脉内重构时, 这些小鼠在暴露于形成血栓的刺激时采集野生型易栓表达型。在本文中的研究中, 在颈动脉中血栓通过施用氯化铁 (FeCl_3) 至动脉表面来诱导。

[0637] NOV1401在诱导血栓形成之前15分钟通过麻醉小鼠的颈静脉快速浓注。抗体的剂量在0.24mg/kg-0.47mg/kg的范围内。FXI^{-/-}小鼠通过在 FeCl_3 攻击之前10分钟通过颈静脉注入0.47mg/kg人FXI用人FXI复原。接着将两个用3.5% FeCl_3 饱和的1mm×1.5mm滤纸片施加至颈动脉的相对侧, 与其外膜表面接触, 且3分钟之后移除, 之后用生理食盐水彻底洗涤。用跨音速流动探针(Transonic flow probe)测定通过颈动脉的血流。在 FeCl_3 施用之前5分钟且接着在施用 FeCl_3 之后30分钟(也即在形成血栓时段期间)获得基线血流。在实验结束时, 自腔静脉取样血液至含有3.8%柠檬酸钠的注射器中, 制备血浆且经受aPTT分析。

[0638] 图1A展示用人FXI复原的FXI^{-/-}小鼠(人源化FXI小鼠模型)中NOV1401对 FeCl_3 诱导的血栓形成的作用。图1B展示相同小鼠模型中, NOV1401对aPTT的作用。图1C展示与野生型小鼠相比, FXI^{-/-}小鼠中的aPTT延长。

[0639] NOV1401以0.24mg/kg起始完全抑制重构的FXI^{-/-}小鼠中 FeCl_3 诱导的血栓形成(图1A)。观察到陡峭剂量反应, 可能反映化学计量的全有或全无抗血栓反应。在高剂量组中aPTT延长至相比于载体对照的1.6倍(图1B), 对应于通过FXI的遗传消耗得到的相同延长程度(图1C), 也即最大作用。这些结果展示NOV1401在小鼠 FeCl_3 血栓模型中具有抗血栓活性。

[0640] 实施例6

[0641] FXI抗体对食蟹猴中游离FXI及aPTT的影响

[0642] 为评估抗FXI/FXIa抗体(诸如NOV1401)的药物动力学(PK)概况及药理效应, 在递增剂量研究中抗体通过皮下(s.c.)或静脉内(i.v.)注射施用到食蟹猴中。

[0643] NOV1401的抗凝血作用在食蟹猴中通过在单次静脉内(N=2)或皮下(N=2)给药3mg/kg之后测试抗体延长aPTT及减低游离FXI(FXI_f)含量的能力来表征。向所有动物施用第二剂量10mg/kg, 之后第三剂量30mg/kg, 以判定在3mg/kg下观察到的作用是否可通过较高剂量增强。这些结果展示NOV1401在食蟹猴中具有持续抗凝血活性。接着使由如由aPTT及FXI_f含量所确定的其抗凝血作用表征的NOV1401的药效动力学(PD)与PK概况相比。比较结果指示存在良好PK/PD相关性。

[0644] 动物经静脉内(N=2)或皮下(N=2)给药在研究第1天3mg/kg, 第85天10mg/kg及第114天30mg/kg的NOV1401。对于静脉内给药动物在给药后15分钟及2小时, 且对于所有动物在测试前、给药后6、24、48、72及96小时(第1、85及114天)及在给药后8、11、15、18、22、25、29、32、36、39、43、46、50、53、57、60、64、66、71、75及78天(仅第1天), 将血液样品收集至柠檬酸钠凝血管中。也在第92、95、99、102、107、110、121、124、128天及在第114天给药之前收集血液。将所有血液样品离心; 获得血浆样品且冷冻于大约-70°C或低于-70°C下。

[0645] 总NOV1401血浆浓度通过ELISA的标准人IgG检测方法使用夹心免疫分析用小鼠抗人IgG单克隆抗体作为捕捉抗体及具有HRP标记的山羊抗人IgG作为检测抗体来测定。

[0646] 对于含有FXI与NOV1401的血浆样品中的游离FXI测定, 用固定的NOV1401捕获未结合FXI且洗掉已与NOV1401复合的FXI。接着用小鼠含Fc抗体14E11, 一种结合至FXI的A2结构域且描述于文献(Cheng等人, Blood, 116:3981-3989, 2010)中的单克隆抗体检测板结合FXI。NOV1401与FXI及FXIa的极高亲和力及NOV1401的不同结合位点及检测抗体14E11使得

精确确定游离FXI。

[0647] ELISA板(384孔LUMITRAC™600HB)涂布有NOV1401(于PBS中 $5\mu\text{g/mL}$)以结合游离FXI。在阻断(乳汁阻断剂:KPL号50-82-01,1:20稀释)及用洗涤缓冲液(PBS;0.05% Tween 20)洗涤板之后,在室温下培育用分析缓冲液(50mM HEPES (pH 7.4)、125mM NaCl、5mM CaCl_2 、5mM EDTA及0.05% (w/v) CHAPS) 1:40稀释的血浆样品30分钟,且用洗涤缓冲液洗涤3次。添加 $1\mu\text{g/mL}$ 于含有0.7%酪蛋白的稀释缓冲液(1.7mM单碱磷酸钠、8.1mM磷酸氢二钠七水合物、0.15M氯化钠、0.7% Triton X-100及0.1%叠氮化钠,pH 7)中的检测抗体14E11。在用洗涤缓冲液洗涤板之后,添加 $0.5\mu\text{g/mL}$ 于含有0.4%酪蛋白的稀释缓冲液中的二级检测抗体,过氧化酶标记的抗小鼠IgG(Sigma号A5278)。在用洗涤缓冲液洗涤板之后,添加50 μL 过氧化酶化学发光底物溶液(LumiGLO,KPL号54-61-01)且经多模式微量板读取器(SPECTRAMAX M5E)立即读取发光信号。各样品中的游离FXI浓度使用由来自Enzyme Research Laboratories的人FXI(酶原)(目录号HFXI 1111)产生的标准曲线以100nM FXI为起始物质来确定,其中稀释因子为2及22个稀释步骤。考虑在测定之前1:40稀释,定量分析的下限(LLoQ)为0.24nM FXI。

[0648] 来自所有时间点的血浆样品经受aPTT分析且将aPTT结果与总血浆NOV1401浓度及游离FXI含量相比。图2A及2B展示对于静脉内及皮下给药动物,与总血浆NOV1401含量相关的aPTT凝血时间的变化。图3A及3B展示对于静脉内及皮下给药动物,与游离FXI含量相关的aPTT凝血时间的变化。

[0649] 对于静脉内施用的NOV1401,在给药后15min观察到最高血浆总NOV1401含量(图2A)。此时,在两种动物中aPTT相对于基线大约加倍,且维持此含量平均5-6周。对于各动物,自给药后15min经测定过程在向基线下降前的平均aPTT延长为 2.0 ± 0.02 倍及 1.9 ± 0.03 倍。

[0650] 第85天,在施用第二剂量之前,aPTT达到基线含量且NOV1401血浆浓度降落至低于10nM。在第85天施用第二剂量10mg/kg,从而使总NOV1401的血浆浓度增至约至少3倍且产生与第一剂量后所观察到类似的aPTT延长。在第114天施用第三剂量30mg/kg,同时aPTT仍延长,但不会导致任何显著其他aPTT延长,但总NOV1401血浆浓度再增加至至少3倍(图2A)。因此,高于3mg/kg的NOV1401剂量实现与3mg/kg剂量类似的aPTT延长,但似乎不会使aPTT延长的量值增加。正如所料,皮下施用NOV1401致使aPTT升高比静脉内施用慢,但延长程度与静脉内组相当(图2B)。在两种动物中aPTT相对于基线延长维持平均5-6周。自给药后6小时通过测定过程在朝向基线下降之前平均aPTT倍数延长与静脉内治疗的动物类似: 2.0 ± 0.03 及 1.8 ± 0.02 。如在静脉内施用中,较高剂量不会引起较高aPTT反应,但会有较高NOV1401血浆暴露。

[0651] 图2A-2B中的结果表明在食蟹猴中NOV1401会延长aPTT。

[0652] 平均基线血浆FXI_f浓度在静脉内组中为 $10.9 \pm 0.3\text{nM}$ 且在注射NOV1401后快速下降(15min)(图3A)。血浆FXI_f含量仍保持低直至总NOV1401血浆含量降至15nM与25nM之间(图2A、图3A)。在皮下组中,平均基线FXI_f浓度为 $14.3 \pm 1.0\text{nM}$ 。治疗后6小时FXI_f相对于基线急剧降低(图3B),且保持低直至血浆NOV1401含量下降至15nM与25nM之间(图2B、图3B)。在所有动物中FXI_f在10mg/kg的第二剂量之后又急剧降低,且仍保持低直至研究结束。两个较高剂量不会使FXI_f相对于基线进一步降低。

[0653] 在所有经治疗的动物中,FXI_f含量的降低及恢复与NOV1401诱导的aPTT延长按时序且成反比相关,从而确定NOV1401会通过降低FXI_f抑制内在凝血途径(延长aPTT)的功能。

[0654] 这些结果(例如图3A及3B)表明在食蟹猴中NOV1401会降低血浆FXI_f含量。在食蟹猴研究中,在静脉穿刺位置或通过尸检时的总观察结果未观察到过量出血迹象。此外,在整个研究中在粪便中未检测到潜血。

[0655] 在食蟹猴中在13周皮下/4周静脉内重复剂量毒性研究中也观察到NOV1401的持续抗凝血作用。在此研究中,每周皮下施用剂量为10mg/kg (N=3,雄性 & 雌性组合) 及100mg/kg (N=5,雄性 & 雌性组合) 的NOV1401维持13周(14个剂量) 或静脉内施用50mg/kg (N=3,雄性 & 雌性组合) 维持4周(5个剂量)。对照组(N=5,雄性 & 雌性组合) 分别皮下及静脉内接受载体13及4周。FXI:C通过在人FXI缺乏血浆存在下测定食蟹猴血浆样品的凝血时间来评定(一级aPTT)。对于皮下组在研究第2、23及79天及对于静脉内组在第2及23天测定aPTT及FXI:C。在所有动物及所有治疗组上,观察到aPTT延长2.1至3倍(图5A)。该作用持续于整个研究的给药阶段中,且与先前递增剂量研究中观察到类似,未观察到剂量依赖性。在动物及治疗组上FXI:C降低88-95%且在整個研究的给药阶段中仍维持这些含量(图5B)。FXI:C的作用在这些剂量上也为剂量无关的。

[0656] 在静脉穿刺位置(包括皮下及静脉内注射及血液取样位置)或尸检时通过总观察结果未观察到包括过量出血的出血的宏观或微观适应症的迹象。此外,在研究结束时在粪便中未检测到潜血。另外,未出现死亡且不存在对临床症状、体重、食物消耗、眼科及心电图参数、血液病、临床化学方法或尿分析的测试物品相关的作用。未鉴别出具有毒性的目标器官。

[0657] 在雄性中在100mg/kg皮下观察到甲状腺重量增加。然而,此研究结果的毒理学显著性不确定,因为不存在组织学相关性。在动物中存在甲状腺重量的较大变化,且该研究结果仅存在于一种性别中。在两种性别中在10及100mg/kg/周皮下注射下,用显微镜在皮下注射位置下观察到剂量依赖性纤维化。不会将这些研究结果视为不良。

[0658] 在食蟹猴中,在单次递增剂量或重复剂量的通用毒性研究中,长达13周均未观察到显著毒性研究结果。因此,13周GLP毒性研究(100mg/kg/周)中施用的最高皮下剂量定义为NOAEL。

[0659] 实施例7

[0660] 食蟹猴中的药物动力学-单次剂量

[0661] 食蟹猴(雌性,N=2) 静脉内或皮下施用单次3mg/kg剂量的NOV1401,且进行观察直至血浆FXI_f浓度及aPTT返回至给药前值。动物接着静脉内或皮下施用单次10mg/kg剂量的NOV1401,2周后静脉内或皮下施用30mg/kg剂量且另外2周观察期。NOV1401的PK通过测定总NOV1401来评定。由最大观察总NOV1401浓度(C_{max})或总NOV1401浓度-时间曲线下面积(AUC_{0-14d})所测定,在各组的个别动物之间对于总NOV1401的暴露类似。对于各给药途径,暴露(C_{max} 或 AUC_{0-14d})大约与剂量成比例(表9)。与皮下组相比,在静脉内组中, C_{max} 大约高达3倍。然而,在两个组中在起始分布阶段之后,血浆总NOV1401浓度类似。在施用3mg/kg剂量后使用二室模型估计各动物的最终消除半衰期($t_{1/2}$)。 $t_{1/2}$ 在14-15天的范围内(N=2)。皮下注射后的绝对生物可用性在61%-66%的范围内(3次剂量)。在任何动物中在静脉内或皮下施用之后未检测到抗NOV1401抗体。

[0662] 表9:雌性食蟹猴中单次(递增)剂量施用后的平均药物动力学参数

[0663]	剂量(mg/kg)	途径	t_{\max} (hr)*	C_{\max} (μg/mL)	AUC_{0-14d} (μg·d/mL)
	3	静脉内	0.25	96.0	544
	3	皮下	168	36.0	360
	10	静脉内	0.25	325	1,810
	10	皮下	132	101	1,160
	30	静脉内	1.08	1,170	6,770
[0664]	30	皮下	132	344	4,140

[0665] * t_{\max} 报导为中间值。

[0666] 实施例8

[0667] 食蟹猴中的药物动力学-重复剂量

[0668] 食蟹猴每周皮下施用剂量10或100mg/kg的NOV1401维持13周(14个剂量)或静脉内每周施用剂量50mg/kg的NOV1401维持4周(5个剂量)。在该研究的给药阶段期间用NOV1401治疗的动物暴露于NOV1401;在对照动物中未注意到暴露。在暴露于血浆总NOV1401中未观察到性别相关的差异。在雄性与雌性动物中暴露的增加(C_{\max} 与 AUC_{0-7d})与剂量成比例(表10)。在皮下10mg/kg/周下在6只动物中的5只中,在皮下100mg/kg/周下在10只动物中的1只中及在静脉内50mg/kg/周下在6只动物中的1只中检测到抗NOV1401抗体。在任一皮下剂量组中,对总NOV1401的暴露不受损。仅一只抗药物抗体(ADA)阳性动物在研究第22天的 AUC_{0-7d} 低于相同组中的其他动物(50mg/kg/周,静脉内)。在此动物中对aPTT延长无影响且未观察到毒性。

[0669] 表10:食蟹猴(雄性+雌性组合)中13周/4周GLP适应毒性研究的倒数第二剂量(皮下组研究第85天,静脉内组研究第22天)的平均毒理动力学参数

[0670]	剂量 (mg/kg/周)	途径	t_{\max} (hr)*	C_{\max} (μg/mL)	$AUC_{0-14天}$ (μg · d/mL)
	10	皮下	24-120	719	3,100
	100	皮下	72-120	5,630	23,400
	50	静脉内	0.25-96	1,990	10,700

[0671] * t_{\max} 为报导为观察到的值的范围。

[0672] 实施例9

[0673] 人体中的剂量递增研究1

[0674] 在健康个体中单次剂量施用之后,进行人研究以评定抗FXI/FXIa抗体,诸如NOV1401的安全性及耐受性。总计大约60个18与55岁之间的健康雄性及绝经后/以手术方式不育的雌性个体进入此研究。良好健康状况通过以往病史、身体检查、神经研究、生命体征、心电图(ECG)及筛检时的实验室测试来确定。所选个体重量为至少50kg,且身体质量指数(BMI)在18-35kg/m²的范围内。 $BMI = \text{体重 (kg)} / [\text{身高 (m)}]^2$ 。

[0675] 在人研究中测试六个皮下剂量5mg、15mg、50mg、150mg、300mg及600mg,其限制条件

为在任何测试剂量下aPTT延长的预测平均持续时间 ≥ 2 倍不会保持 ≥ 42 天。进行两次临时分析(IA)以确定2种最高剂量的剂量选择。若在300mg或600mg剂量下模型预测的平均aPTT延长持续时间 ≥ 2 倍维持比42天更长,则剂量可例如根据模型仿真降低以确保平均aPTT延长持续时间不超过2倍维持 ≥ 42 天。非限制性例示性剂量调节可包括使用10mg、20mg、30mg、40mg或50mg的递减量使剂量降低。

[0676] 前三个剂量递增步骤以约1/2的对数增量出现。最后2个剂量递增步骤 ≤ 2 倍增量,以降低目标饱和度和度及aPTT延长延伸的风险。

[0677] 用治疗目标FXI使aPTT延长2倍维持数天的最大持续时间(例如30天、35天、40天、42天等)可根据展示重度FXI缺乏患者的轻度出血现象型的遗传资料、来自获取抑制剂的FXI缺乏患者的资料以及来自人研究的数据来评定,(例如FXI-ASO)(参见例如Liu等人,(2011)“ISIS-FXIRx,a novel and specific antisense inhibitor of factor XI, caused significant reduction in FXI antigen and activity and increased aPTT without causing bleeding in healthy volunteers.”第53界美国血液学学会年度会议和博览会(American Society of Hematology annual meeting and exposition)上提出, San Diego, California. Blood;118:Abstract 209),其中经6周多剂量施用FXI-ASO产生超过6周(42天)的稳固且持续的FXI消耗,但无出血事件。在某些实施方案中,基于模型的分析预测约2.7倍(相对于给药前)的最大aPTT延长可在50mg皮下剂量的NOV1401下瞬时实现(60kg个体)。在某些实施方案中,预测较高剂量会使此2.7倍的最大aPTT延长的持续时间延伸。

[0678] 在整个研究中监测个体的安全性参数和/或端点,诸如身体检查、神经检查、生命体征、心电图(ECG)、安全性实验室、及包括严重AE(SAE)的不良事件(AE),直至且包括给药后106天。

[0679] 抗FXI/FXIa抗体(例如NOV1401)对aPTT的作用根据与基线的相对变化来评定。测定总抗FXI/FXIa抗体(例如NOV1401)的血浆浓度以评定这些个体中单次剂量的PK。

[0680] 为评定抗FXI/FXIa抗体(例如NOV1401)的免疫原性(IG),进行ADA的筛检及确认。

[0681] 测定游离及总FXI及FXI凝血活性(FXI:C)以评定抗FXI/FXIa抗体(例如NOV1401)对目标接合及目标相关PD参数的作用。

[0682] 评定D-二聚体、凝血酶原片段1.2(F1.2)及凝血酶原抗凝血酶复合物(TAT)以确定抗FXI/FXIa抗体(例如NOV1401)对血栓形成参数的作用。

[0683] 为研究抗FXI/FXIa抗体(例如NOV1401)对其他凝血参数的作用,可评定个体中的以下:凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)及探索性凝血实验室参数(诸如凝血酶可活化纤维蛋白溶解抑制剂、纤维蛋白原、组织纤维蛋白溶酶原激活物(tPA)和TGA)。

[0684] 所研究的生物标记可包括(但不限于):D-二聚体、FXI活性、PT/INR、TT、F1.2、纤维蛋白原、TGA、TAFI活性、TAT、PAI-1抗原、TFPi活性、tPA活性及vWF活性。

[0685] 人体中的剂量递增研究2

[0686] 在首次人体(FIH)研究中评价NOV1401以表征单次s.c.施用后健康个体中其安全性/耐受性、药代动力学(PK)和药效动力学(PD)。总计60名个体入选于6个连续队列中,每个队列10名个体(8名接受NOV1401:2名接受安慰剂),并且接受剂量从5mg至240mg(例如,5mg,15mg,50mg,150mg,240mg)的皮下NOV1401或对等性安慰剂。

[0687] 在这项研究中,NOV1401安全且良好耐受,并且不良事件(AE)发生率跨各个剂量组并相对于安慰剂相当。未报告出血事件、超敏反应或注射部位反应。暴露量随s.c.NOV1401剂量增加而增加;中位最大观测浓度(C_{max})出现在第7天至21天并且平均终末消除半衰期($t_{1/2}$)为20天至28天。在单次s.c.施用后,剂量和时间依赖的aPTT延长随NOV1401出现;150mg剂量在第29天导致平均aPTT延长 ≥ 2 倍并且240mg剂量延长aPTT延长的持续时间。在接受150mg NOV1401的全部患者中观察到直至第29天并在接受240mg的全部患者中观察到直至第43天稳健和持久的游离FXI降低 $\geq 90\%$ 。在2/3级肥胖症个体中,NOV1401 240mg剂量导致 $\geq 80\%$ 的FXI抑制作用持续 ≥ 43 天,并且在其他个体中, ≥ 57 天。

[0688] 预测稳健的游离FXI减少和FXI凝血活性及相关aPTT延长的降低在NOV1401按相关的临床剂量s.c.施用后12至24小时内发生。

[0689] 这项研究的结果展示了NOV1401在人体中的抗凝血活性并且支持其中抗凝血在抑制FXIa活性的背景下治疗有益的临床环境下使用NOV1401。

[0690] 实施例10

[0691] 患有AF的人体中的研究1

[0692] 实施人体研究以评估NOV1401在心房纤维性颤动(AF)患者中的PK、PD、安全性和耐受性。纳入标准包括展示出高出血风险的AF患者,所述的高出血风险表征为具有CHA₂DS₂VASc风险评分 ≥ 2 和以下一种、两种或更多种风险因子:

[0693] (a) 65岁或更大;

[0694] (b) 既往卒中或短暂性缺血发作史;

[0695] (c) 既往主要出血或临床相关的出血;

[0696] (d) 3期至4期慢性肾脏病(CKD);

[0697] (e) 经单一或双联抗血小板疗法治疗;和

[0698] (f) 与血肿瘀伤或其他表现相关的跌倒史。

[0699] 在3个月时间期间将要测试每月一次90mg、120mg、150mg、180mg、210mg和240mg的NOV1401 s.c.剂量水平。

[0700] 在整个研究期间监测个体的安全性参数和/或终点,如,体检、神经系统检查、生命体征、心电图(ECG)、安全性实验室结果和不良事件(AE),包括严重AE(SAE)。本研究的主要目标是评价在NOV1401每月一次给药后低谷浓度时实现FXI抑制作用 $\geq 80\%$ 的患者的比例。

[0701] 评估NOV1401对aPTT的影响,并且测量总NOV1401的血浆浓度以评估PK。

[0702] 测量游离和总FXI和FXI凝血活性(FXI:C)以评估NOV1401对目标接合作用和目标相关PD参数的影响。

[0703] 评估D二聚体、凝血酶原片段1.2(F1.2)和凝血酶原-抗凝血酶复合物(TAT)以确定NOV1401对血栓形成参数的影响。

[0704] 为了研究NOV1401对其他凝血参数的影响,可以评估个体中的以下:凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)和探索性凝血实验室参数(如凝血酶可活化纤维蛋白溶解抑制剂、纤维蛋白原、组织纤维蛋白溶酶原激活物(tPA)和TGA)。

[0705] 所研究的生物标记可包括(但不限于):D-二聚体、FXI活性、PT/INR、TT、F1.2、纤维蛋白原、TGA、TAFI活性、TAT、PAI-1抗原、TFPi活性、tPA活性及vWF活性。

[0706] 患有AF的人体中的研究2

[0707] 研究目的/目标:这项研究的目的是评价NOV1401在面临低至中等卒中风险的心房纤维性颤动患者中的药代动力学(PK)、药效动力学(PD)、安全性和耐受性。该试验将评价NOV1401的三种给药方案对因子XI抑制、凝血指标,血栓形成过程生物标记、出血和重大心血管(CV)和脑血管事件的影响。还将评估PK/PD关系、超敏反应、注射部位反应和免疫原性。可以平行用NOAC实施对比研究。

[0708] 主要目标:本研究的主要目标是评价在每月一次按3个NOV1401剂量水平给药后低谷浓度时(第91天)实现FXI抑制作用 $\geq 80\%$ 的患者的比例。

[0709] 次要目标:

[0710] 1:评价按3个NOV1401剂量水平第一次和第二次给药(第31天和第61天)后低谷浓度时实现FXI抑制作用 $\geq 80\%$ 的患者的比例;

[0711] 2:评价治疗阶段期间相对于NOAC,采用NOV1401时主要出血事件、临床相关的非主要出血事件和总出血的发生率;

[0712] 3:与NOAC相比,在第31天、第61天和第91天评估NOV1401对作为功效指示物的D二聚体和其他血栓形成过程生物标记的影响;和

[0713] 4:与NOAC相比,评价NOV1401的安全性和耐受性。

[0714] 研究设计:这是一个随机分配、开放标签、终点评估设盲、活动性控制(active-controlled)、剂量范围确定研究。在1周至2周筛选阶段后,患者将按照1:1:1:1比率随机分组至以下4个治疗组中的1个(低、中等或高剂量NOV1401或NOAC)并且在90天治疗阶段期间接受随访:

[0715] 1.每月一次NOV1401 120mg皮下施用;

[0716] 2.每月一次NOV1401 150mg皮下施用;

[0717] 3.每月一次NOV1401 180mg皮下施用;和

[0718] 4.NOAC。

[0719] 随机化将依据国家和筛选时患者是否为抗凝血药初用(是/否)来分层。患者将在第91天依据医生决定过渡到NOAC和/或其他标准护理疗法并且接受随访直至第170天。

[0720] 群体:本研究中将随机600名年龄 ≥ 55 至 < 85 的男性和女性心房纤维性颤动患者。

[0721] 关键纳入标准:

[0722] • 男性和女性患者 ≥ 55 岁和 < 85 岁;

[0723] • 体重在50kg和130kg(含)之间;

[0724] • 心房纤维性颤动或心房扑动,如由心电图证明;

[0725] • 男性和女性患者的CHA₂DS₂-VASc风险评分 ≥ 2 ,如果抗凝疗法得到保证,则可以纳入CHA₂DS₂-VASc风险评分为1的男性患者;和

[0726] • 抗凝血药初用或在筛选之前接受推荐剂量的新口服抗凝血药(NOAC)稳定治疗历经8周。

[0727] 疗效评估:

[0728] • 在第31天、第61天和第91天对游离因子XI的抑制;和

[0729] • D二聚体、凝血酶原片段1.2、凝血酶-抗凝血酶III复合体和纤维蛋白原从基线至第31天、第61天和第91天的变化。

[0730] 关键安全性评估:

- [0731] • 确认的主要出血事件、临床相关的非主要出血事件和总出血事件；
- [0732] • 不良事件监测；
- [0733] • 出现重大的心血管和脑事件(卒中、短暂缺血性发作、全身栓塞、心肌梗死、静脉血栓栓塞和心血管死亡；
- [0734] • 体检；
- [0735] • 监测血液的实验室参数；
- [0736] • ECG；
- [0737] • 超敏反应；
- [0738] • 注射部位反应；和
- [0739] • 出现抗药物抗体；
- [0740] 其他评估：因子XI凝血活性、活化部分凝血酶原激酶时间(aPTT)和药代动力学。
- [0741] 中期分析：计划了四项中期分析。当大约80、160和300名患者已经完成至少1个月治疗，并且当全部患者已经完成治疗阶段并且在第91天访视采集的数据可获得时，将实施中期分析。将评估可获得的PD参数(例如，有关的凝血参数)、安全性和耐受性数据。
- [0742] 参考文献的并入
- [0743] 本文中所引用的全部参考文献(包括专利、专利申请案、论文、公开、教科书及类似者)及其中引用的参考文献就其尚未引用的程度而言是以全文引用的方式特此并入本文中。
- [0744] 等效物
- [0745] 前述书面说明书被认为足以使本领域技术人员能够实施本发明。前述说明及实施例详述本发明的某些优选实施例且描述本发明人所预期的最佳方式。然而，将了解无论前述在本文中如何详述呈现，本发明可以许多方式实施，且本发明应根据所附申请专利范围及其任何等效物解释。

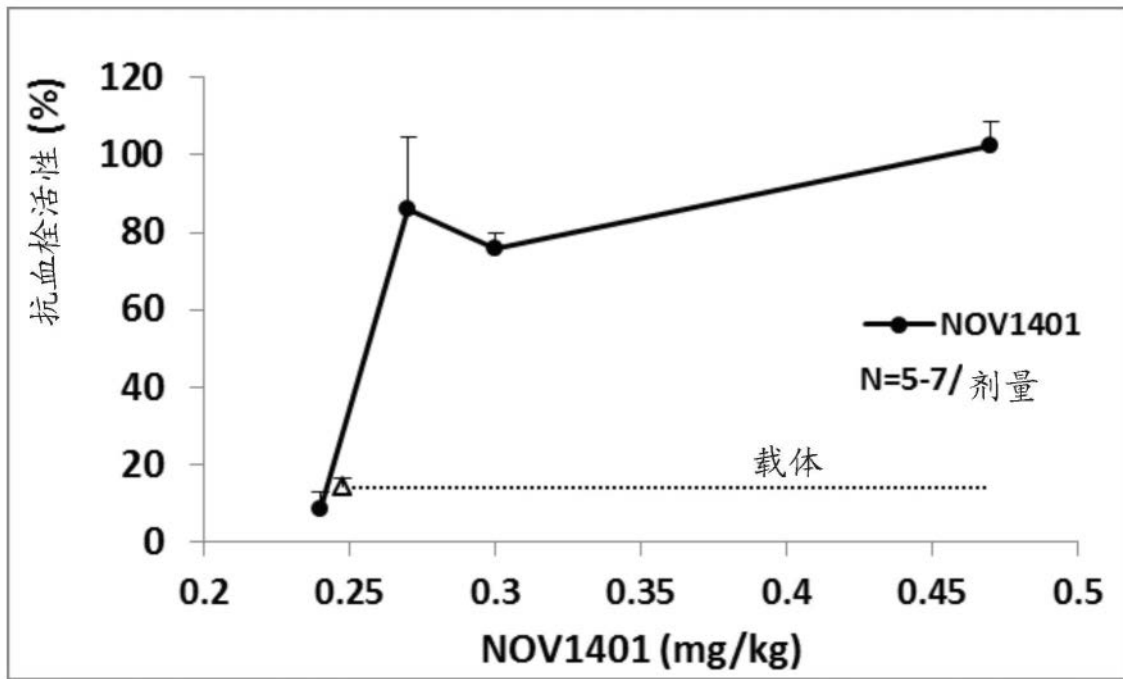


图1A

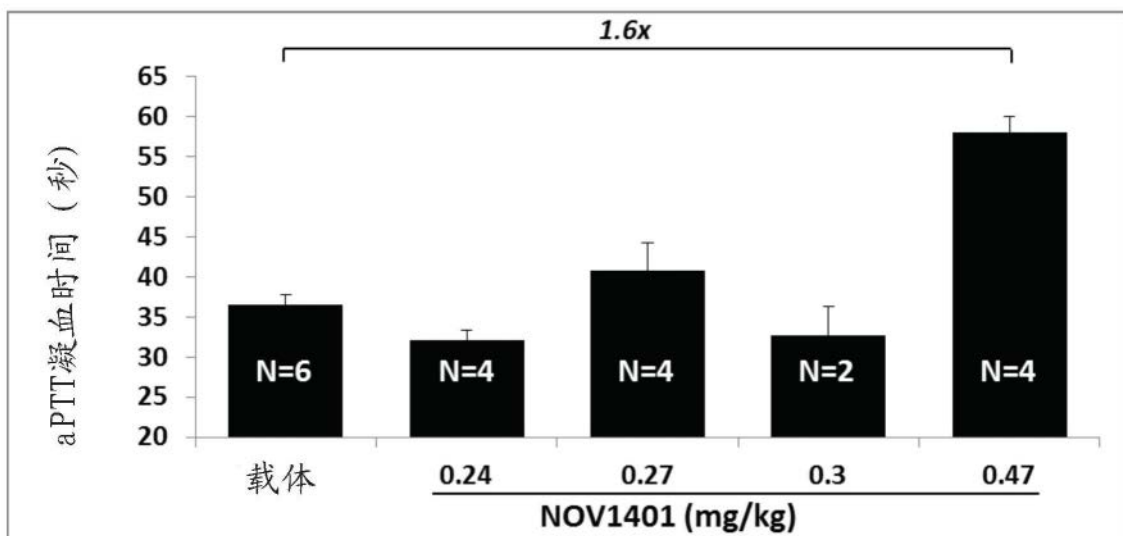


图1B

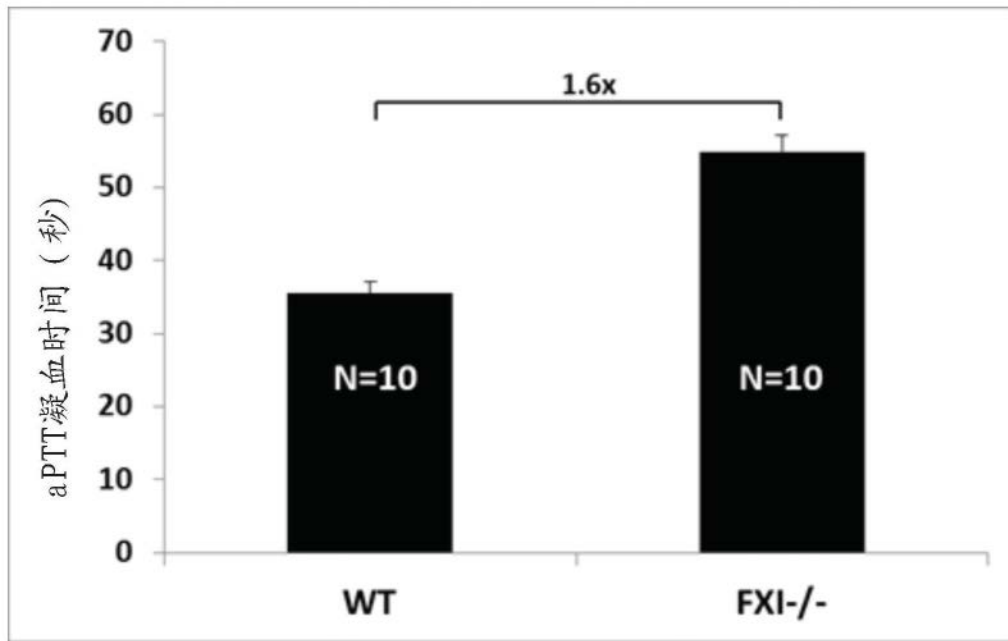


图1C

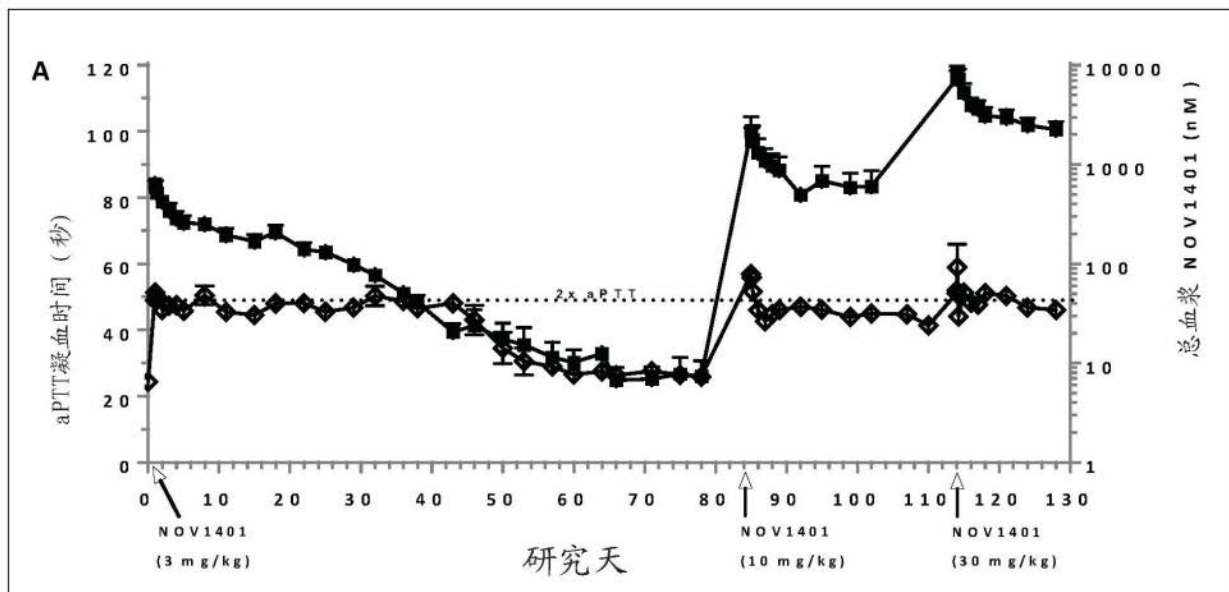


图2A

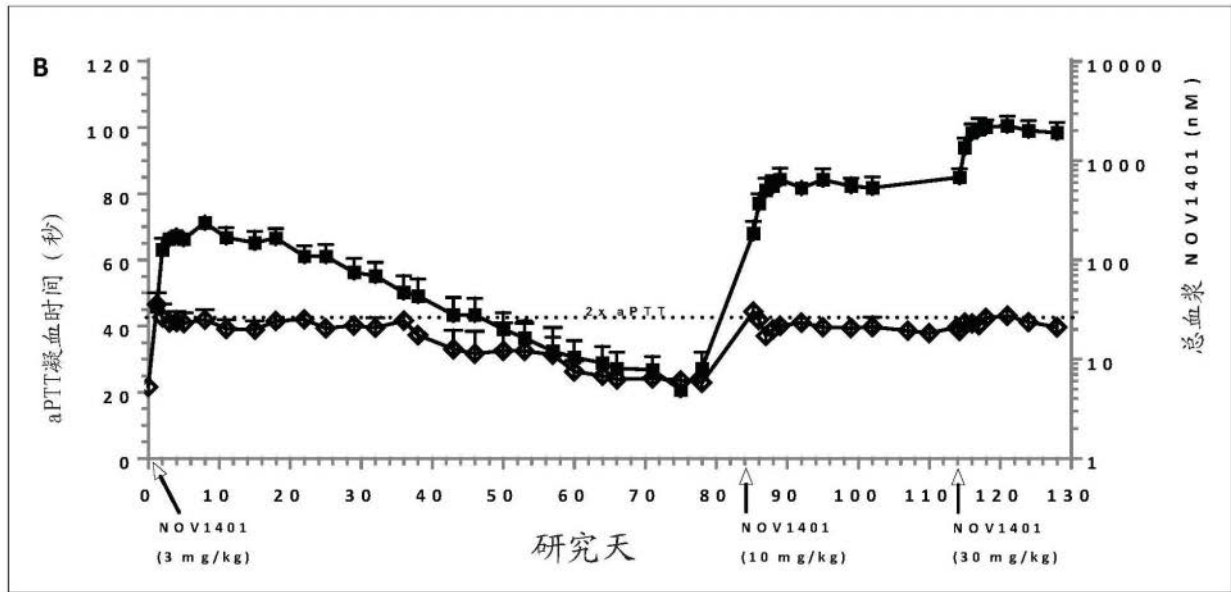


图2B

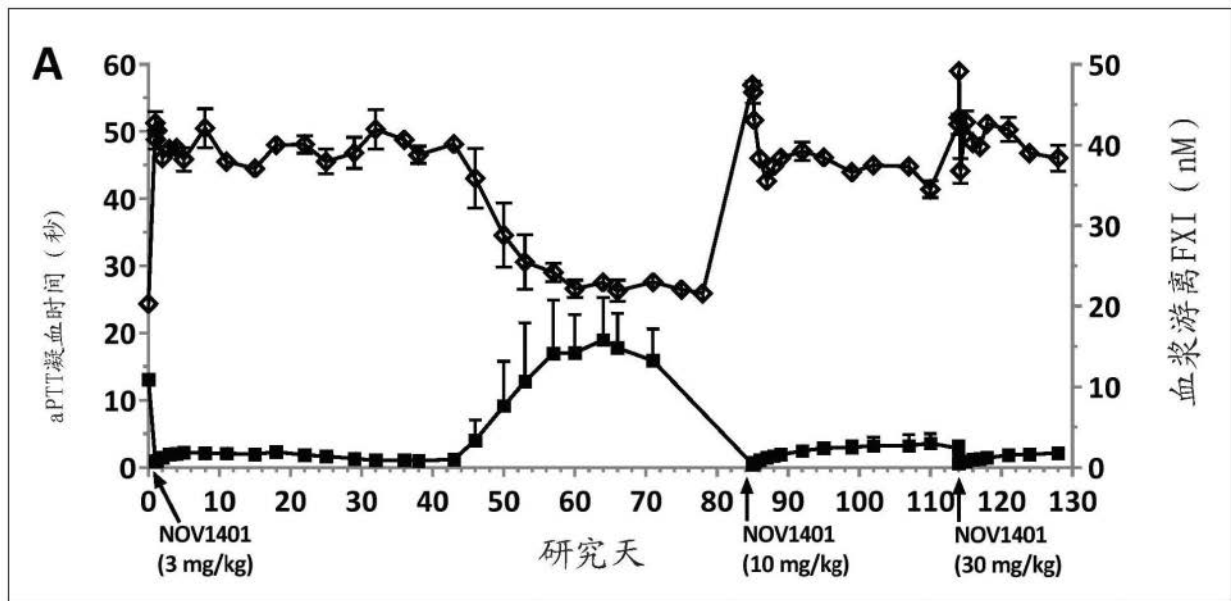


图3A

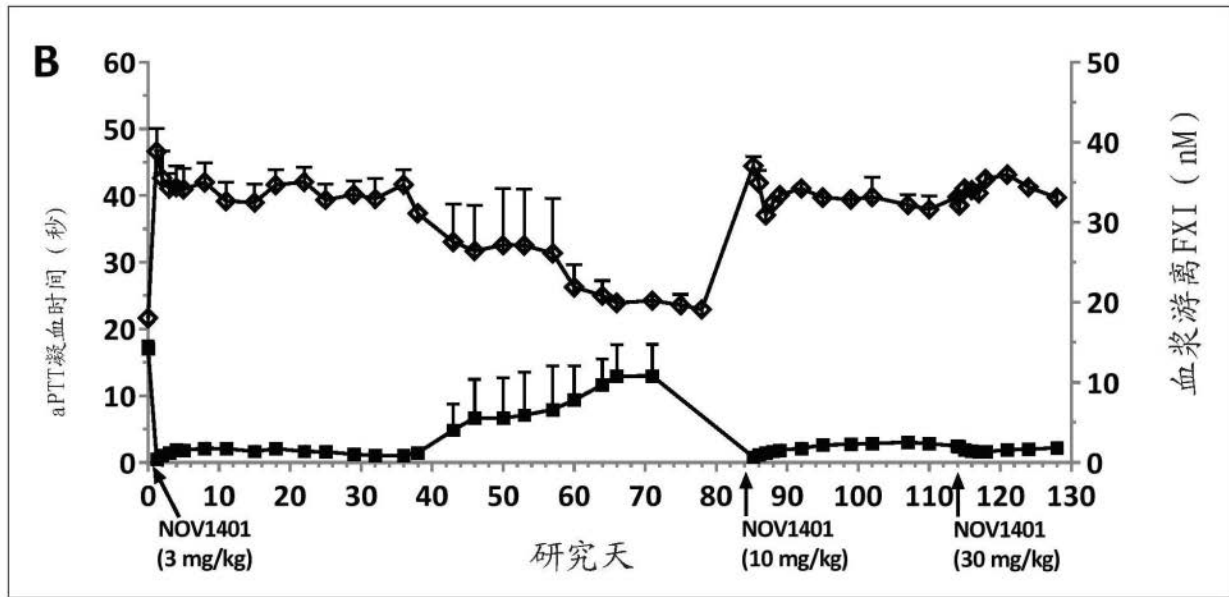


图3B

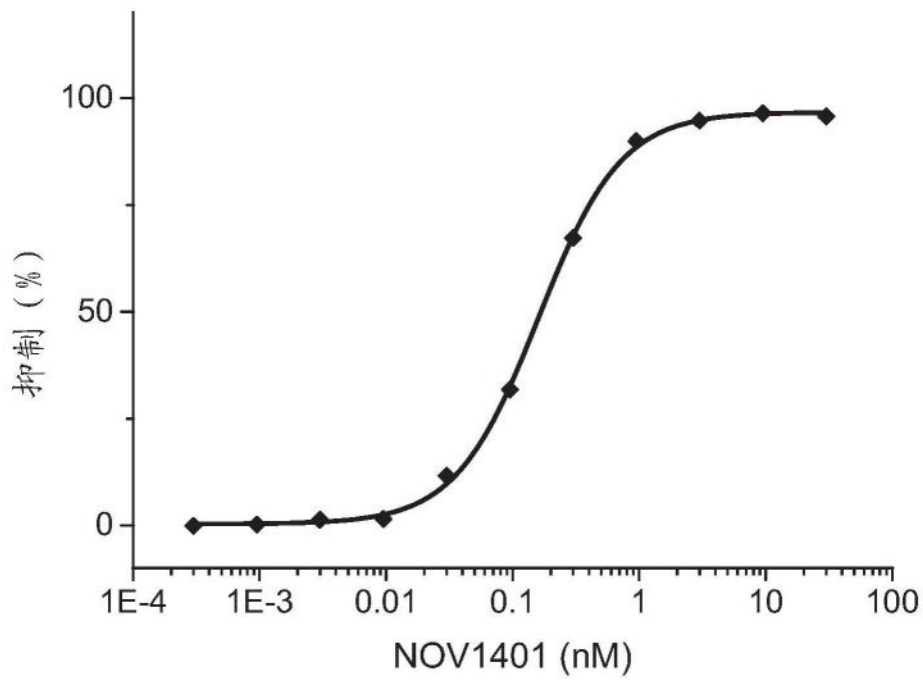


图4A

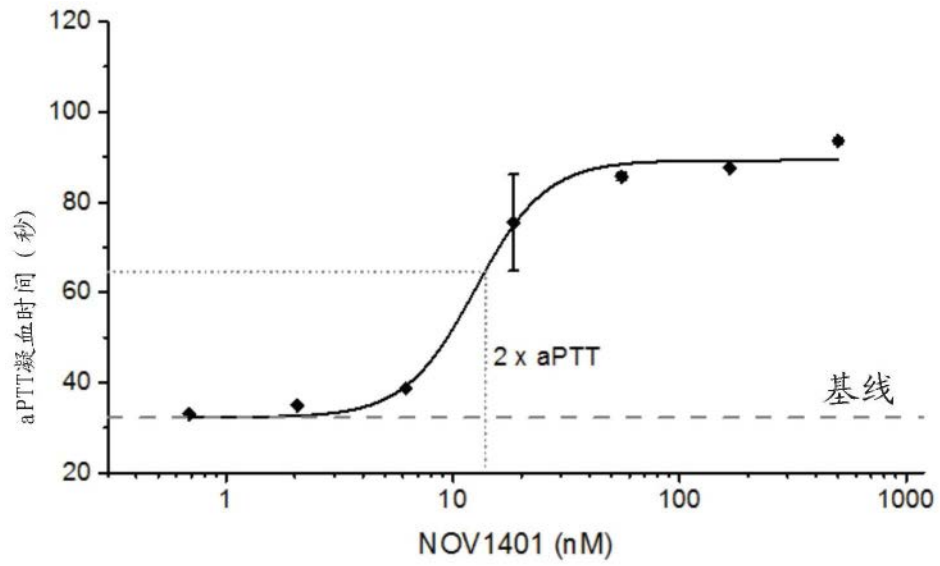


图4B

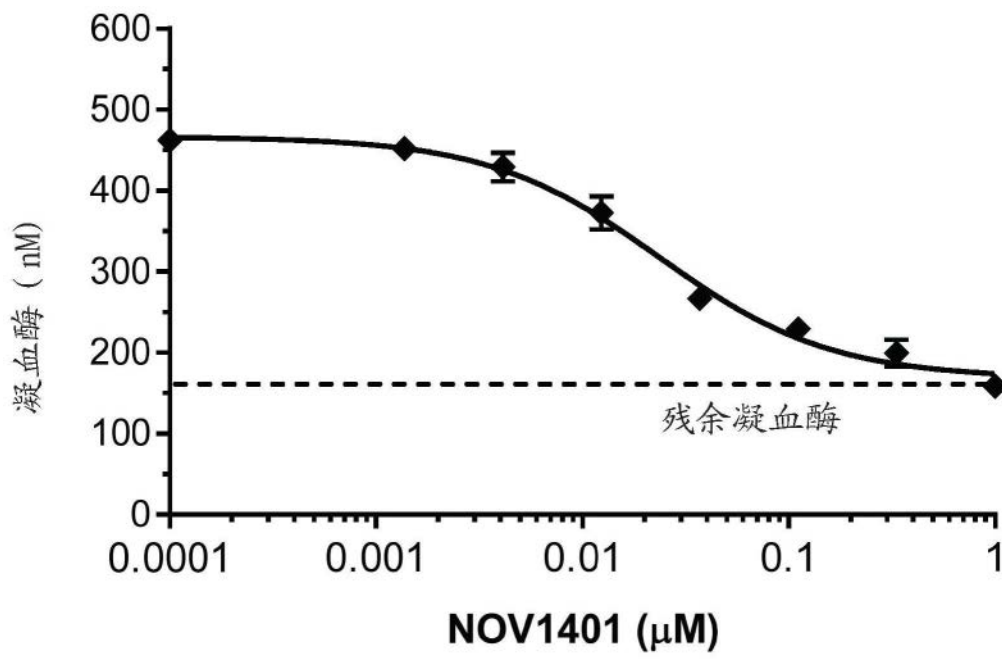


图4C

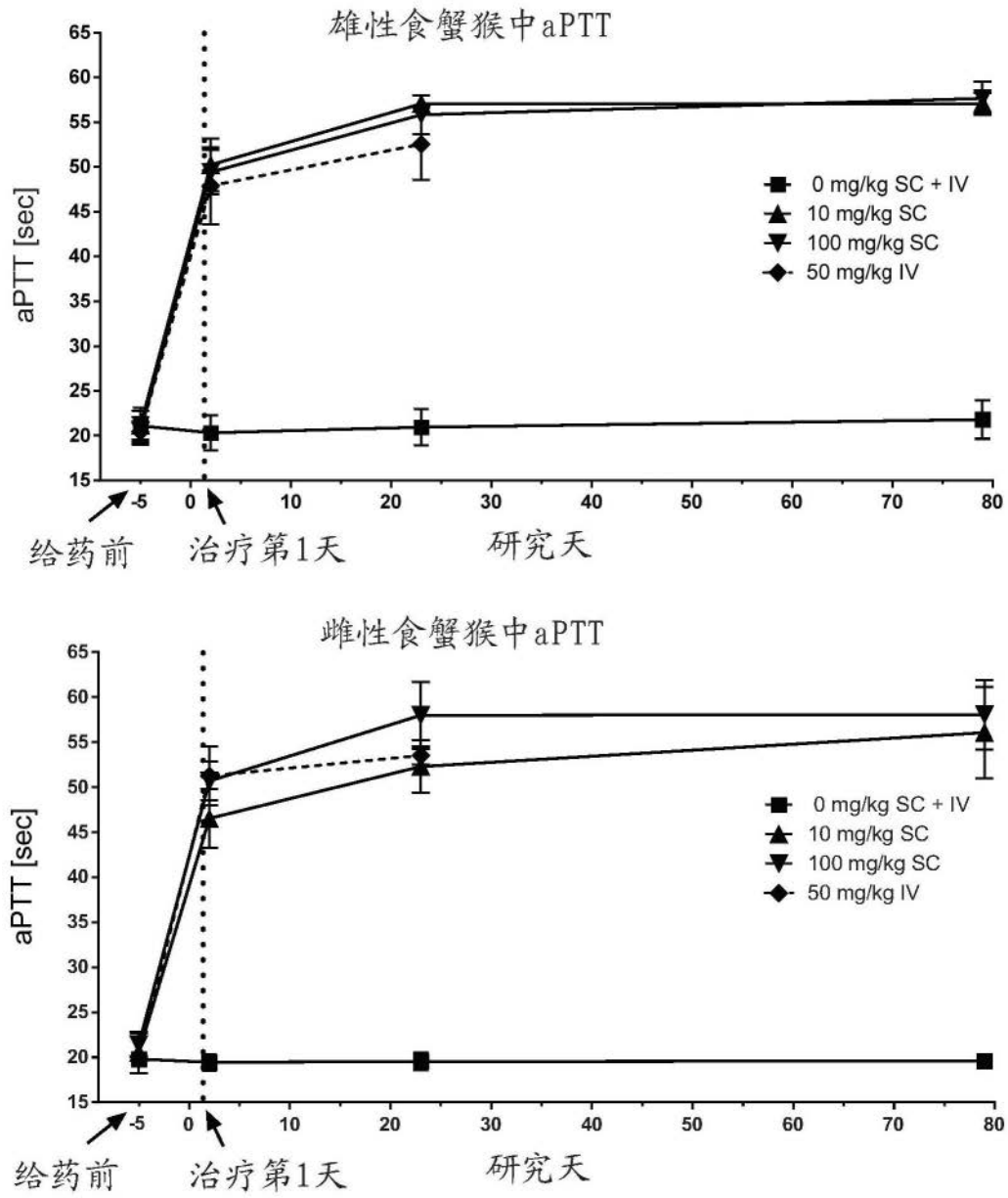


图5A

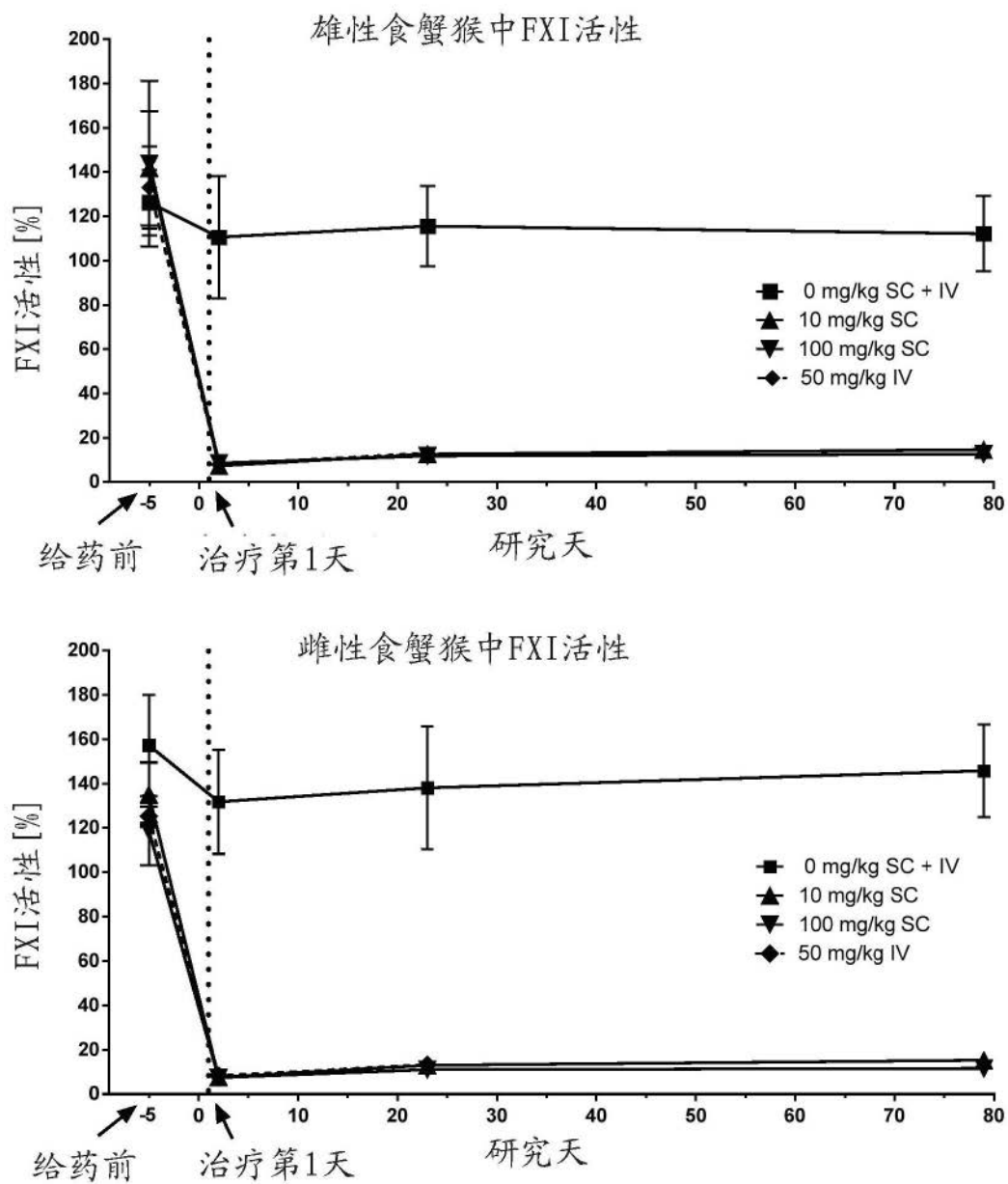


图5B