



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I857389 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：111142355

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 11 月 29 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K45/06 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

(30)優先權：2016/12/01 美國

62/428,634

2017/03/20 美國

62/473,738

2017/10/03 美國

62/567,318

(71)申請人：美商再生元醫藥公司 (美國) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國(72)發明人：奧倫戈 傑米 ORENGO, JAMIE M. (US)；艾莉安 珍妮 ALLINNE, JEANNE
(FR)；墨菲 安德魯 MURPHY, ANDREW J. (US)；揚科普洛斯 喬治
YANCOPOULOS, GEORGE D. (US)

(74)代理人：何愛文；王仁君

(56)參考文獻：

TW 201420116A

TW 201522370A

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：18 項 圖式數：9 共 273 頁

(54)名稱

治療發炎症狀的方法

(57)摘要

本發明提供用於治療與升高之 IL-33 及 IL-4 含量相關或部分地由其引起之發炎疾病或症狀、具體而言發炎症狀之方法。本發明之該等方法包括單獨或與一或多個治療有效劑量之 IL-4R 拮抗劑組合向有需要之個體投與一或多個治療有效劑量之 IL-33 拮抗劑。在某些實施例中，本發明之該等方法包括使用該等拮抗劑來治療部分地由增強之 IL-33 介導之信號傳導及 IL-4 介導之信號傳導介導的任一發炎疾病或症狀。

The present invention provides methods for treating inflammatory diseases, or conditions associated with, or resulting in part from, elevated levels of IL-33 and IL-4, in particular inflammatory lung disorders. The methods of the present invention comprise administering to a subject in need thereof one or more therapeutically effective doses of an IL-33 antagonist alone or in combination with one or more therapeutically effective doses of an IL-4R antagonist. In certain embodiments, the methods of the present invention include use of the antagonists to treat any inflammatory disease or condition mediated in part by enhanced IL-33-mediated signaling and IL-4-mediated signaling.

發明摘要

【發明名稱】（中文/英文）

治療發炎症狀的方法

METHODS OF TREATING INFLAMMATORY CONDITIONS

【中文】

本發明提供用於治療與升高之 IL-33 及 IL-4 含量相關或部分地由其引起之發炎疾病或症狀、具體而言發炎肺病症之方法。本發明之該等方法包括單獨或與一或多個治療有效劑量之 IL-4R 拮抗劑組合向有需要之個體投與一或多個治療有效劑量之 IL-33 拮抗劑。在某些實施例中，本發明之該等方法包括使用該等拮抗劑來治療部分地由增強之 IL-33 介導之信號傳導及 IL-4 介導之信號傳導介導的任一發炎疾病或症狀。

【英文】

The present invention provides methods for treating inflammatory diseases, or conditions associated with, or resulting in part from, elevated levels of IL-33 and IL-4, in particular inflammatory lung disorders. The methods of the present invention comprise administering to a subject in need thereof one or more therapeutically effective doses of an IL-33 antagonist alone or in combination with one or more therapeutically effective doses of an IL-4R antagonist. In certain embodiments, the methods of the present invention include use of the antagonists to treat any inflammatory disease or condition mediated in part by enhanced IL-33-mediated signaling and IL-4-mediated signaling.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

治療發炎症狀的方法

METHODS OF TREATING INFLAMMATORY CONDITIONS

【技術領域】

【0001】 本發明係關於治療發炎症狀之方法，其包括單獨或與介白素-4 (IL-4)拮抗劑組合向有需要之個體投與治療有效量之介白素-33 (IL-33)拮抗劑。更特定而言，本發明係關於藉由單獨或與介白素-4R (IL-4R)抗體組合投與治療有效量之介白素-33 (IL-33)抗體來治療發炎或阻塞性肺疾病或病症。

【先前技術】

【0002】 發炎係始於宿主之保護性反應，但其通常可引起全身性病狀。諸如氣喘、過敏及慢性阻塞性肺病(COPD)等發炎性肺病在發達國家正在增加，從而對健康照護成本造成巨大後果。若干種發炎細胞及其調介劑參與該等疾病之發展及進展。在某些情形下，該等疾病反映第 2 型免疫性之結果，其特徵為組織經嗜酸性球、嗜鹼性球、肥大細胞、CD4+ T 輔助 2 (Th2) 細胞、第 2 組先天淋巴樣細胞(ILC2)、介白素-4 (IL-4)及/或 IL-13 誘導之巨噬細胞浸潤，以及血清 IgE 升高及細胞介素 IL-4、IL-5、IL-9 及 IL-13 增加。

【0003】 據信在發炎性肺病中起作用之一種細胞介素係介白素-33 (IL-33)，其係由受損上皮組織響應危害(例如過敏原、病毒或吸菸)而釋放之促發炎細胞介素。IL-33 係介白素-1 (IL-1)家族之成員，其可有效驅動 T 輔助細胞-2 (Th2)相關細胞介素(例如，IL-4)之產生。IL-33 係由多種細胞類型表現，該等細胞包括纖維母細胞、肥大細胞、樹突細胞、巨噬細胞、成骨

細胞、內皮細胞及上皮細胞。介白素-33 (IL-33)係 ST2 (有時稱作「致腫瘤抑制因子 2」) (類鐸/介白素-1 受體超家族成員)之配體，其與輔助蛋白 IL-1RAcP (「介白素-1 受體輔助蛋白」，綜述參見例如 Kakkar 及 Lee, *Nature Reviews - Drug Discovery* 7(10):827-840 (2008)，Schmitz 等人，*Immunity* 23:479-490 (2005)；Liewet 等人，*Nature Reviews - Immunology* 10:103-110 (2010)；US 2010/0260770；US 2009/0041718)締合。在 ST2/IL-1RAcP 由 IL-33 活化之後，信號傳導級聯藉助下游分子(例如 MyD88 (髓樣分化因子 88)及 TRAF6 (TNF 受體相關因子 6))被觸發，從而尤其導致 NF κ B (核因子- κ B)之活化。IL-33 信號傳導已被視為多種疾病及病症(包括本文所揭示之發炎性肺病)中之因素。(Liewet 等人，*Nature Reviews - Immunology* 10:103-110 (2010))。IL-33 信號傳導之抑制劑已闡述於以下各項中：例如 US9,453,072；US8187596；US2013/17373761；US2014/0212412；US2014/0271658；US2014/0271642；US2014/0004107；WO2015/099175；WO2015/106080；WO2011/031600；WO2014/164959；WO2014/152195；WO2013/165894；WO2013/173761；EP1725261；EP10815921A1；及 EP2850103A2。

【0004】 介白素-4 (IL-4，亦稱為 B 細胞刺激因子或 BSF-1)亦一直被視為驅動過敏及第 2 型 T 輔助細胞(Th2)極化發炎過程之關鍵細胞介素。已顯示 IL-4 具有廣譜生物活性，包括生長刺激 T 細胞、肥大細胞、顆粒球、巨核細胞及紅血球。IL-4 誘導靜息 B 細胞中 II 類主要組織相容性複合分子之表現，且增強受刺激 B 細胞對 IgE 及 IgG1 同型之分泌。IL-4 之生物活性係由 IL-4 之特定細胞表面受體介導的。人類 IL-4 受體 α (hIL-4R) (SEQ ID NO: 347)闡述於(例如)美國專利第 5,599,905 號、第 5,767,065 號及第 5,840,869 號中。針對 hIL-4R 之抗體闡述於美國專利第 5,717,072 號、第 7,186,809 號及第 7,605,237 號中。使用針對 hIL-4R 之抗體之方法闡述於美國專利第 5,714,146 號、第 5,985,280 號、第 6,716,587 號及第 9,290,574 號中。

【0005】 用於治療肺發炎疾病之當前療法在罹患(例如)氣喘及慢性阻塞性肺病(COPD)之患者中、特別是在減輕惡化方面為安全性及功效之改良留有顯著空間。儘管抗發炎及支氣管擴張劑藥物之多種吸入型組合可用，但許多患者繼續經歷惡化。惡化可能需要使用全身性皮質類固醇，該等皮質類固醇由於其廣泛免疫中和能力而有效，但充滿了不期望的副作用，包括骨損失及感染。若干生物療法(其大部分靶向單一免疫調介劑)正處於針對氣喘及 COPD 之晚期研發中。然而，由於發炎環境之複雜性，該等藥劑之使用將可能受限。

【0006】 因此，業內急需用於治療及/或預防發炎性肺病之療法之新穎組合，例如本文所闡述之彼等。

【發明內容】

【0007】 根據本發明之某些態樣，提供用於治療發炎疾病或病症或與該發炎疾病或病症相關之至少一種症狀之方法，該方法包括向有需要之患者向有需要之個體投與一或多個劑量之治療有效量之單獨介白素-33 (IL-33)拮抗劑或其與一或多個劑量之治療有效量之介白素-4 (IL-4)拮抗劑之組合或包含 IL-33 拮抗劑及 IL-4 α 拮抗劑之醫藥組合物。在一個實施例中，與投與單獨 IL-33 拮抗劑或單獨 IL-4 拮抗劑所觀察到者相比，與 IL-4 拮抗劑組合投與 IL-33 拮抗劑引起增強之治療功效。

【0008】 在某些實施例中，IL-33 拮抗劑係能阻斷、減弱或以其他方式干擾 IL-33 信號傳導及/或 IL-33 與細胞受體(例如 ST2)或共受體(例如 IL-1RAcP)或其複合物之間之相互作用之任一藥劑。上文中之任一者可阻斷或抑制 IL-33 之至少一種生物活性。

【0009】 在某些實施例中，IL-33 拮抗劑係結合至 IL-33 或與 IL-33 發生相互作用且阻斷 IL-33 與其受體 ST2 之相互作用且預防或阻止 ST2 與共受

體 IL1-RAcP 發生相互作用或阻止信號傳導複合物形成之抗體。在一個實施例中，IL-33 拮抗劑係特異性結合至人類 IL-33 或與人類 IL-33 特定地相互作用之單株抗體。在一個實施例中，IL-33 拮抗劑係特異性結合至人類 IL-33 或與人類 IL-33 特定地相互作用之基於受體之拮。

【0010】 在一個實施例中，IL-4 拮抗劑係介白素-4 受體(IL-4R)拮抗劑。

【0011】 在一個實施例中，IL-4R 拮抗劑係任一結合至 IL-4R α 或 IL-4R 配體或與 IL-4R α 或 IL-4R 配體相互作用且抑制或減弱第 1 型及/或第 2 型 IL-4 受體之正常生物信號傳導功能之藥劑。在一個實施例中，IL-4R 拮抗劑係特異性結合至人類 IL-4R α 之單株抗體。在一個實施例中，IL-4R 拮抗劑係結合 IL-4R α 且阻斷經由 I 型或 II 型受體之 IL-4 及 IL-13 介導之信號傳導之單株抗體。在一個實施例中，特異性結合至人類 IL-4R α 且阻斷 IL-4 及 IL-13 介導之信號傳導之單株抗體係杜匹魯單抗(dupilumab)或其生物等效物。在一個實施例中，治療發炎病症或症狀之方法係藉助使用具有 SEQ ID NO: 274/282 之重鏈可變區/輕鏈可變區(HCVR/LCVR)胺基酸序列對之 REGN3500 及具有 SEQ ID NO: 337/338 之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對之杜匹魯單抗的組合來實現。

【0012】 在一個實施例中，可藉由本發明方法治療之發炎疾病或病症係選自由以下組成之群：氣喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、氣喘及 COPD 重疊症候群(ACOS)、異位性皮膚炎、鼻息肉、過敏反應、慢性支氣管炎、肺氣腫、伴或不伴鼻息肉之慢性鼻竇炎、發炎性腸病、克羅恩氏病(Crohn's disease)、潰瘍性結腸炎、過敏性肺炎、多發性硬化、關節炎(包括骨關節炎、類風濕性關節炎、或牛皮癬性關節炎)、過敏性鼻炎、纖維變性、嗜酸性球性食道炎、血管炎、蕁麻疹、許-施二氏症候群(Churg Strauss syndrome)、發炎性疼痛及牛皮癬。

【0013】 在一個實施例中，氣喘係嗜酸性球性氣喘。

【0014】 在一個實施例中，氣喘係非嗜酸性球性氣喘。

【0015】 在一個實施例中，氣喘係過敏性氣喘。

【0016】 在一個實施例中，氣喘係非過敏性氣喘。

【0017】 在一個實施例中，氣喘係嚴重難治性氣喘。

【0018】 在一個實施例中，氣喘係類固醇抗性氣喘。

【0019】 在一個實施例中，氣喘係類固醇敏感性氣喘。

【0020】 在一個實施例中，氣喘係類固醇難治性氣喘。

【0021】 在一個實施例中，氣喘係氣喘惡化。

【0022】 在一個實施例中，發炎疾病或病症之嚴重性、持續時間或發生頻率減輕或降低，或與該發炎疾病或病症相關之至少一種症狀之嚴重性、持續時間或發生頻率減輕或降低。

【0023】 在一個實施例中，單獨或與一或多個劑量之治療有效量之 IL-4R 拮抗劑組合向有需要之個體投與治療有效量之一或多個劑量之 IL-33 拮抗劑引起增強之治療功效，如藉由以下參數中之任一或多者所量測：

a) 組織試樣中以下中之一或多者之頻率降低：嗜酸性球、經活化 B 細胞、經活化 CD8 T 細胞；或 CD4/CD8 T 細胞之比率降低；

b) 以下中之一或多者之降低：組織試樣中之介白素-1 β (IL-1 β)、介白素-4 (IL-4)、介白素-5 (IL-5)、介白素-6 (IL-6)、介白素-13 (IL-13)、單核球趨化蛋白-1 (MCP-1)或腫瘤壞死因子 α (TNF α)含量；或

c) 以下中之一或多者之基因表現程度之降低：組織試樣中之 *Il4*、*Il5*、*Il6*、*Il9*、*Il13*、*Il1rl1*、*Il13ra2*、*tnf*、*Tgfb1*、*Ccl2*、*Ccl11*、*Ccl24*、*Col15a1* 或 *Col24a1*。

【0024】 在一個實施例中，單獨或與一或多個劑量之治療有效量之 IL-4R 拮抗劑組合向有需要之個體投與治療有效量之一或多個劑量之 IL-33 拮抗劑引起增強之治療功效，如藉由以下中之一或多者進一步量測：

- d) 血清 IgE 含量之降低
- e) 肺中杯狀細胞化生之降低；
- f) 肺實變之改良；或
- g) 肺中上皮下纖維變性之降低。

【0025】 在一個實施例中，組織試樣係自肺獲得。

【0026】 在一個實施例中，組織試樣係選自由肝臟、腎臟、心臟或全血組成之群。在某些實施例中，血球、血清或血漿可用於量測上述參數中之一或多者。

【0027】 在一個實施例中，可藉由本發明方法治療之慢性阻塞性肺病因以下中之一或多者而惡化：氣喘、病毒疾病、細菌感染、暴露於過敏原、暴露於化學品或化學煙霧或暴露於環境刺激物或空氣污染。

【0028】 在相關實施例中，可藉由本發明方法治療之氣喘因以下中之一或多者而惡化：病毒疾病、細菌感染、暴露於過敏原、暴露於化學品或化學煙霧或暴露於環境刺激物或空氣污染。

【0029】 在某一實施例中，可藉由本發明方法治療之氣喘係選自由以下組成之群：嗜酸性球性氣喘、非嗜酸性球性氣喘、類固醇抗性氣喘及類固醇敏感性氣喘。

【0030】 在一個實施例中，可藉由本發明方法治療之慢性阻塞性肺病部分地由香菸煙霧引起或惡化。

【0031】 在一個實施例中，罹患可藉由本發明方法治療之慢性阻塞性肺病之患者可或可不展現嗜酸性球數量之增加。

【0032】 在一個實施例中，罹患可藉由本發明方法治療之氣喘及 COPD 重疊症候群(ACOS)之患者可或可不展現嗜酸性球數量之增加。

【0033】 本發明之第二態樣提供治療發炎疾病或病症或與該發炎疾病或病症相關之至少一種症狀，其係藉由與治療有效量之介白素-33 (IL-33)拮抗

劑(例如 IL-33 抗體或 IL-33 拮抗劑)及治療有效量之介白素-4 (IL-4)拮抗劑(例如 IL-4R 抗體，例如杜匹魯單抗)或其治療等效物組合投與有效量之一或多種可用於減輕發炎疾病或病症或發炎疾病或病症之至少一種症狀的其他治療劑達成。

【0034】 在一個實施例中，一或多種其他治療劑係選自由以下組成之群：非類固醇抗炎劑(NSAID)、皮質類固醇(例如吸入皮質類固醇或 ICS)、長效 β 2 腎上腺素激動劑(LABA)、長效蕁毒鹼拮抗劑(LAMA)、支氣管擴張劑、抗組織胺、腎上腺素、去充血劑、胸腺基質淋巴生成素(TSLP)拮抗劑、IL-1 拮抗劑、IL-8 拮抗劑、IL-13 拮抗劑、不同 IL-4 拮抗劑、IL-4/IL-13 雙重拮抗劑、IL-33/IL-13 雙重拮抗劑、IL-5 拮抗劑、IL-6 拮抗劑、IL-12/23 拮抗劑、IL-22 拮抗劑、IL-25 拮抗劑、IL-17 拮抗劑、IL-31 拮抗劑、TNF 抑制劑、IgE 抑制劑、白三烯抑制劑、口服 PDE4 抑制劑、甲基黃嘌呤、奈多羅米鈉(nedocromil sodium)、色甘酸鈉、長效 β 2 激動劑及另一 IL-33 拮抗劑(例如抗 IL-33 之不同抗體、基於 IL-33 受體之不同拮抗劑、ST2 拮抗劑(包括針對 ST2 之抗體或可溶性 ST2 受體)，或針對除 ST2 以外之另一 IL-33 受體之拮抗劑，或 IL-1RAcP 拮抗劑(包括抗 IL-1RAcP 之抗體)，或與 IL-33/ST2 複合物相互作用之抗體)。

【0035】 在一些實施例中，本發明提供治療中度至嚴重慢性阻塞性肺病(COPD)之方法，其包括除背景療法(包括(例如)吸入皮質類固醇(ICS)及/或長效 β 2 腎上腺素激動劑(LABA)及/或長效蕁毒鹼拮抗劑(LAMA))以外，伴隨投與 IL-4R 拮抗劑(例如杜匹魯單抗)及 IL-33 拮抗劑(例如 REGN3500)。

【0036】 在某些實施例中，本發明提供降低「氣喘失控」(LOAC)事件之發生率之方法，其包括利用 IL-4R 拮抗劑(例如杜匹魯單抗)與 IL-33 拮抗劑(例如 REGN3500)之組合治療罹患氣喘之患者。在某些實施例中，組合使用 IL-4R 拮抗劑與 IL-33 拮抗劑提供較投與單獨 IL-4R 拮抗劑或單獨 IL-33 拮

抗劑更有效之結果。

【0037】 在相關實施例中，與 IL-4R 拮抗劑組合投與 IL-33 拮抗劑引起第 1 型免疫反應之增加及/或由疾病或由疾病或過敏之致病物質引發之第 2 型免疫反應之降低。

【0038】 本發明之第三態樣提供治療纖維變性疾病或病症或與纖維變性疾病或病症相關之至少一種症狀之方法，該方法包括向有需要之患者投與特異性結合至 IL-33 之 IL-33 拮抗劑(IL-33 抗體或 IL-33 拮)及特異性結合至 IL-4R α 之抗體或其抗原結合片段之組合或包含 IL-33 拮抗劑及 IL-4 α 拮抗劑之醫藥組合物，其中該纖維變性疾病或病症之嚴重性或持續時間減輕或降低，或與纖維變性疾病或病症相關之至少一種症狀之嚴重性、持續時間或發生頻率減輕或降低。在一個實施例中，利用 IL-33 拮抗劑與 IL-4R 拮抗劑之組合治療纖維變性疾病可使得纖維變性組織恢復至其正常狀態。

【0039】 在一個實施例中，可藉由與本文所闡述之 IL-4R α 抗體組合投與本發明之抗 IL-33 及 IL-4R 拮抗劑(例如 IL-33 抗體或 IL-33 拮)來治療之纖維變性疾病或病症包括肺纖維變性(例如，特發性肺纖維變性、博來黴素(bleomycin)誘導之肺纖維變性、石棉誘導之肺纖維變性及閉塞性細支氣管炎症候群)、慢性氣喘、與急性肺損傷及急性呼吸窘迫相關之纖維變性(例如，細菌性肺炎誘導之纖維變性、創傷誘導之纖維變性、病毒肺炎誘導之纖維變性、呼吸機誘導之纖維變性、非肺敗血症誘導之纖維變性及抽吸誘導之纖維變性)、矽肺病、輻射誘導之纖維變性、慢性阻塞性肺病(COPD，其可或可不與暴露於一手或二手香菸煙霧相關，部分地由其造成或由其引起)、硬皮症、眼部纖維變性、皮膚纖維變性(例如，硬皮症)、肝纖維變性(例如，硬化、酒精誘導之肝纖維變性、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、膽管損傷、原發性膽汁性硬化、感染誘導或病毒誘導之肝纖維變性、自體免疫肝炎、腎臟(腎)纖維變性、心臟纖維變性、動脈粥樣硬化、支架再狹窄及骨髓纖維變

性。

【0040】 本發明之第四態樣提供預防過敏反應或降低過敏反應之嚴重性之方法，該方法包括與一或多個劑量之治療有效量之 IL-4R 拮抗劑組合向有需要之個體投與一或多個劑量之治療有效量之 IL-33 拮抗劑，其中與投與單獨 IL-33 拮抗劑或單獨 IL-4R 拮抗劑所觀察到者相比，該組合之投與引起對於預防過敏反應或降低過敏反應之嚴重性增強之治療功效。與 IL-4R 拮抗劑組合經 IL-33 拮抗劑治療之個體可展示降低之對過敏原之敏感性或減少之針對過敏原之過敏反應，或在投與 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之組合或包含該等拮抗劑之組合物之後可不經歷對過敏原之任何敏感性或過敏反應或對過敏原之過敏性反應。

【0041】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 拮抗劑係特異性結合至人類 IL-33 或與人類 IL-33 特定地相互作用之單株抗體或其抗原結合片段。IL-33 抗體或其抗原結合片段可阻斷 IL-33 及 ST2 之相互作用，或其可容許 IL-33 以低親和力結合至 ST2 受體。如此，可阻止 ST2 與 IL-1RAcP 發生相互作用。因此，本發明之 IL-33 抗體尤其可用於抑制 IL-33 介導之信號傳導且可用於治療由 IL-33 活性及/或信號傳導造成或與其相關之疾病及病症。

【0042】 在一個實施例中，IL-33 抗體或其抗原結合片段在投與患有過敏原誘導之肺發炎之哺乳動物時可降低嗜酸性球、CD4⁺ T 細胞、B 細胞、T 細胞群體中之 ST2⁺/CD4⁺細胞中之一或多者之頻率，或降低肺中 CD4/CD8 T 細胞之比率。

【0043】 在一個實施例中，IL-33 抗體或其抗原結合片段在投與患有過敏原誘導之肺發炎之哺乳動物時降低肺中之 IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-13、Ccl2、Ccl11、Ccl24 或 MCP-1 中之一或多者之表現程度。

【0044】 在一個實施例中，IL-33 抗體或其抗原結合片段在投與患有過敏

原誘導之肺發炎之哺乳動物時降低肺中之血清 IgE 含量、杯狀細胞化生或上皮膠原蛋白厚度。

【0045】 在某些實施例中，可用於本發明方法中之特異性結合至人類 IL-33 之 IL-33 抗體或其抗原結合片段包含三個重鏈 CDR (HCDR1、HCDR2 及 HCDR3)，該等重鏈 CDR 含於選自由以下組成之群之重鏈可變區(HCVR)胺基酸序列內：SEQ ID NO: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290 及 308；且包含三個輕鏈 CDR (LCDR1、LCDR2 及 LCDR3)，該等輕鏈 CDR 含於選自由以下組成之群之輕鏈可變區(LCVR)胺基酸序列內：SEQ ID NO: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298 及 316。

【0046】 在某些實施例中，可用於本發明方法中之特異性結合至人類 IL-33 之 IL-33 抗體或其抗原結合片段包含具有選自由以下組成之群之胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之實質上類似序列之重鏈可變區(HCVR)：SEQ ID NO: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290 及 308。

【0047】 根據某些實施例，用於本發明方法中之抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段包含具有選自由以下組成之群之胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之實質上類似序列之輕鏈可變區(LCVR)：SEQ ID NO: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298 及 316。

【0048】 根據某些實施例，用於本發明方法中之抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段包含選自由以下組成之群之 HCVR 及 LCVR (HCVR/LCVR)序列對：SEQ ID NO: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、

130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298 及 308/316。

【0049】 根據某些實施例，用於本發明方法中之抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段包含具有選自由以下組成之群之胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之實質上類似序列之重鏈 CDR3 (HCDR3)結構域：SEQ ID NO: 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296 及 314；及具有選自由以下組成之群之胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之實質上類似序列之輕鏈 CDR3 (LCDR3)結構域：SEQ ID NO: 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304 及 322。

【0050】 根據某些實施例，用於本發明方法中之抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段包含選自由以下組成之群之 HCDR3/LCDR3 胺基酸序列對：SEQ ID NO: 8/16、24/32、40/48、56/64、72/80、88/96、104/112、120/128、136/144、152/160、168/176、184/192、200/208、216/224、232/240、248/256、264/272、280/288、296/304 及 314/322。

【0051】 根據某些實施例，用於本發明方法中之抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段進一步包含具有選自由以下組成之群之胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之實質上類似序列之重鏈 CDR1 (HCDR1)結構域：SEQ ID NO: 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292 及 310；具有選自由以下組成之群之胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之實質上類似序列之重鏈 CDR2 (HCDR2)結構域：SEQ ID NO: 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294 及 312；具有選自由以下組成之群之

胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之實質上類似序列之輕鏈 CDR1 (LCDR1)結構域：SEQ ID NO: 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300 及 318；及具有選自由以下組成之群之胺基酸序列或其具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之實質上類似序列之輕鏈 CDR2 (LCDR2)結構域：SEQ ID NO: 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302 及 320。

【0052】 可用於本發明方法中之某些非限制性、例示性抗 IL-33 抗體及抗原結合片段包含 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 結構域，其分別具有選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 4-6-8-12-14-16 (例如 H1M9559N)；20-22-24-28-30-32 (例如 H1M9566N)；36-38-40-44-46-48 (例如 H1M9568N)；52-54-56-60-62-64 (例如 H4H9629P)；68-70-72-76-78-80 (例如 H4H9633P)；84-86-88-92-94-96 (例如 H4H9640P)；100-102-104-108-110-112 (例如 H4H9659P)；116-118-120-124-126-128 (例如 H4H9660P)；132-134-136-140-142-144 (例如 H4H9662P)；148-150-152-156-158-160 (例如，H4H9663P)；164-166-168-172-174-176 (例如 H4H9664P)；180-182-184-188-190-192 (例如，H4H9665P)；196-198-200-204-206-208 (例如 H4H9666P)；212-214-216-220-222-224 (例如 H4H9667P)；228-230-232-236-238-240 (例如 H4H9670P)；244-246-248-252-254-256 (例如 H4H9671P)；260-262-264-268-270-272 (例如 H4H9672P)；276-278-280-284-286-288 (例如 H4H9675P)；292-294-296-300-302-304 (例如 H4H9676P)；及 310-312-314-318-320-322 (H1M9565N)。

【0053】 根據某些實施例，用於本發明方法中之用於(例如)治療發炎症狀之抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段包含含於選自由以下組成之群之重鏈及

輕鏈可變區(HCVR/LCVR)序列內之重鏈及輕鏈 CDR 結構域：SEQ ID NO: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298 及 308/316。鑑別 HCVR 及 LCVR 胺基酸序列內之 CDR 之方法及技術為業內熟知且可用於鑑別本文所揭示之指定 HCVR 及/或 LCVR 胺基酸序列內之 CDR。可用於鑑別 CDR 之邊界之例示性慣例包括(例如) Kabat 定義、Chothia 定義及 AbM 定義。概括而言，Kabat 定義係基於序列可變性，Chothia 定義係基於結構環區之位置，且 AbM 定義係介於 Kabat 方法與 Chothia 方法之間之折中。例如參見，Kabat, 「Sequences of Proteins of Immunological Interest,」 National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)；Al-Lazikani 等人，*J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997)；及 Martin 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989)。公開資料庫亦可用於鑑別抗體內之 CDR 序列。

【0054】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 抗體或抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 274/282 之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對之重鏈及輕鏈 CDR。

【0055】 在相關實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 抗體或抗原結合片段包含分別 SEQ ID NO: 276-278-280-284-286-288 之 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 結構域。

【0056】 在一個實施例中，用於本發明方法中之特異性結合人類介白素-33 (IL-33)之抗體或抗原結合片段包含：(a)具有 SEQ ID NO: 274 之胺基酸序列之重鏈可變區(HCVR)；及(b)具有 SEQ ID NO:282 之胺基酸序列之輕鏈可變區(LCVR)。

【0057】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 抗體或抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 274/282 之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對。

【0058】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 抗體或其抗原結合

片段與在 SEQ ID NO: 349 之約位置 1 至約位置 12 範圍內之胺基酸序列及/或與在 SEQ ID NO: 349 之約位置 50 至約位置 94 範圍內之胺基酸序列發生相互作用，如藉由氫/氖交換所測定。

【0059】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 抗體或其抗原結合片段與在 SEQ ID NO: 348 之約位置 112 至約位置 123 範圍內之胺基酸序列及/或與在 SEQ ID NO: 348 之約位置 161 至約位置 205 範圍內之胺基酸序列發生相互作用，如藉由氫/氖交換所測定。

【0060】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 抗體或其抗原結合片段與 SEQ ID NO: 350 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO: 351 之胺基酸序列發生相互作用，或與 SEQ ID NO: 350 及 351 發生相互作用，如藉由氫/氖交換所測定。

【0061】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 抗體或其抗原結合片段與包含 SEQ ID NO: 274/282 之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對之參考抗體競爭結合至 IL-33。

【0062】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 抗體或其抗原結合片段結合至 IL-33 上與包含 SEQ ID NO: 274/282 之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對之參考抗體相同之表位。

【0063】 在第五態樣中，本發明提供編碼用於本發明方法中之抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段之核酸分子。本發明亦涵蓋攜載本發明核酸之重組體表現載體及引入該等載體之宿主細胞，亦涵蓋藉由在允許產生抗體之條件下培養宿主細胞產生抗體及回收所產生抗體之方法。

【0064】 在一個實施例中，本發明提供使用特異性結合至人類 IL-33 之抗體或其片段之方法，該抗體或其片段包含由選自由以下組成之群之核酸序列或與該核酸序列具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%同源性之實質上一致序列編碼之 HCVR：SEQ ID NO: 1、17、33、49、65、81、

97、113、129、145、161、177、193、209、225、241、257、273、289 及 307。

【0065】 本發明亦提供使用特異性結合至人類 IL-33 之抗體或其片段之方法，該抗體或其片段包含由選自由以下組成之群之核酸序列或與該核酸序列具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%同源性之實質上一致序列編碼之 LCVR：SEQ ID NO: 9、25、41、57、73、89、105、121、137、153、169、185、201、217、233、249、265、281、297 及 315。

【0066】 本發明亦提供使用特異性結合至人類 IL-33 之抗體或抗體之抗原結合片段之方法，該抗體或抗體之抗原結合片段包含由選自由以下組成之群之核苷酸序列或與該核苷酸序列具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%同源性之實質上一致序列編碼之 HCDR3 結構域：SEQ ID NO: 7、23、39、55、71、87、103、119、135、151、167、183、199、215、231、247、263、279、295 及 313；及由選自由以下組成之群之核苷酸序列或與該核苷酸序列具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%同源性之實質上一致序列編碼之 LCDR3 結構域：SEQ ID NO: 15、31、47、63、79、95、111、127、143、159、175、191、207、223、239、255、271、287、303 及 321。

【0067】 本發明亦提供使用特異性結合至人類 IL-33 之抗體或其片段之方法，該抗體或其片段進一步包含由選自由以下組成之群之核苷酸序列或與該核苷酸序列具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%同源性之實質上一致序列編碼之 HCDR1 結構域：SEQ ID NO: 3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、179、195、211、227、243、259、275、291 及 309；由選自由以下組成之群之核苷酸序列或與該核苷酸序列具有至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%同源性之實質上一致序列編碼之 HCDR2 結構域：SEQ ID NO: 5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、

165、181、197、213、229、245、261、277、293 及 311；由選自由以下組成之群之核苷酸序列或與該核苷酸序列具有至少 90%、至少 95%、至少 98% 或至少 99% 同源性之實質上一致序列編碼之 LCDR1 結構域：SEQ ID NO: 11、27、43、59、75、91、107、123、139、155、171、187、203、219、235、251、267、283、299 及 317；及由選自由以下組成之群之核苷酸序列或與該核苷酸序列具有至少 90%、至少 95%、至少 98% 或至少 99% 同源性之實質上一致序列編碼之 LCDR2 結構域：SEQ ID NO: 13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、189、205、221、237、253、269、285、301 及 319。

【0068】 根據某些實施例，本發明方法提供特異性結合至人類 IL-33 之抗體或其片段之用途，該抗體或其片段包含由以下核酸序列編碼之重鏈及輕鏈 CDR 序列：SEQ ID NO: 1 及 9 (例如 H1M9559N)、17 及 25 (例如 H1M9566N)、33 及 41 (例如 H1M9568N)、49 及 57 (例如 H4H9629P)、65 及 73 (例如 H4H9633P)、81 及 89 (例如 H4H9640P)、97 及 105 (例如 H4H9659P)、113 及 121 (例如 H4H9660P)、129 及 137 (例如 H4H9662P)、145 及 153 (例如 H4H9663P)、161 及 169 (例如 H4H9664P)、177 及 185 (例如 H4H9665P)、193 及 201 (例如 H4H9666P)、209 及 217 (例如 H4H9667P)、225 及 233 (例如 H4H9670P)、241 及 249 (例如 H4H9671P)、257 及 265 (例如 H4H9672P)、273 及 281 (例如 H4H9675P)、289 及 297 (例如 H4H9676P)、或 307 及 315 (H1M9565N)。

【0069】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 拮抗劑係基於 IL-33 受體之拮，例如本文所闡述之彼等(參見圖 1)。

【0070】 在一個實施例中，基於 IL-33 受體之拮包含附接至多聚化結構域(M)之第一 IL-33 結合結構域(D1)，其中 D1 包含 ST2 蛋白之 IL-33 結合部分。

【0071】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 拮進一步包含附接

至 D1 及/或 M 之第二 IL-33 結合結構域(D2)，其中 D2 包含 IL-1RAcP 蛋白之細胞外部分。在一個實施例中，D1 附接至 M 之 N 末端。在一個實施例中，D1 附接至 M 之 C 末端。在一個實施例中，D2 附接至 M 之 N 末端。在一個實施例中，D2 附接至 M 之 C 末端。在一個實施例中，D1 附接至 D2 之 N 末端，且其中 D2 附接至 M 之 N 末端。

【0072】 在一個實施例中，D1 包含 SEQ ID NO: 328 或 329 之胺基酸序列或與其具有至少 90%一致性之胺基酸序列。在一個實施例中，D2 包含 SEQ ID NO: 330 或 331 之胺基酸序列或與其具有至少 90%一致性之胺基酸序列。

【0073】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 拮抗劑包含附接至第一多聚化結構域(M1)之第一 IL-33 結合結構域(D1)及附接至第二多聚化結構域(M2)之第二 IL-33 結合結構域(D2)，其中 D1 及/或 D2 結構域包含選自由 ST2 及 IL-1RAcP 組成之群之受體之 IL-33 結合部分。

【0074】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 拮抗劑包含附接至 D1 或 M1 之第三 IL-33 結合結構域(D3)，且其中 D3 包含選自由 ST2 及 IL-1RAcP 組成之群之受體之 IL-33 結合部分。

【0075】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 拮抗劑包含附接至 D2 或 M2 之第四 IL-33 結合結構域(D4)，且其中 D4 包含選自由 ST2 及 IL-1RAcP 組成之群之受體之 IL-33 結合部分。

【0076】 在一個實施例中，D1 附接至 M1 之 N 末端，且 D2 附接至 M2 之 N 末端。

【0077】 在一個實施例中，D3 附接至 D1 之 N 末端。

【0078】 在一個實施例中，D3 附接至 M1 之 C 末端。

【0079】 在一個實施例中，D4 附接至 D2 之 N 末端。

【0080】 在一個實施例中，D4 附接至 M2 之 C 末端。

【0081】 在一個實施例中，D3 附接至 D1 之 N 末端，且 D1 附接至 M1

之 N 末端；且其中 D4 附接至 D2 之 N 末端，且 D2 附接至 M2 之 N 末端。

【0082】 在一個實施例中，D3 與 D4 一致或實質上一致且其中 D1 與 D2 一致或實質上一致。

【0083】 在一個實施例中，D3 及 D4 各自包含 ST2 蛋白之 IL-33 結合部分；且其中 D1 及 D2 各自包含 IL-1RAcP 蛋白之細胞外部分。

【0084】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-33 拮抗劑包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 323、324、325、326 及 327。

【0085】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-4 拮抗劑係介白素-4 受體(IL-4R)拮抗劑。

【0086】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-4R 拮抗劑係結合 IL-4R α 且阻止 IL-4 及/或 IL-13 與第 1 型或第 2 型 IL-4 受體發生相互作用之抗體或其抗原結合片段。

【0087】 在相關實施例中，用於本發明方法中之 IL-4R 抗體或其抗原結合片段阻止 IL-4 及/或 IL-13 與第 1 型及第 2 型 IL-4 受體發生相互作用。

【0088】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-4R 拮抗劑係特異性結合至人類 IL-4R α 之單株抗體。

【0089】 在一個實施例中，用於本發明方法中之特異性結合至人類 IL-4R α 之單株抗體係杜匹魯單抗或其生物等效物。

【0090】 在某一實施例中，用於本發明方法中之 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包括包含 SEQ ID NO:335 或 SEQ ID NO: 337 之胺基酸序列之重鏈可變區(HCVR)之重鏈互補決定區(HCDR)，及包含 SEQ ID NO:336 或 SEQ ID NO: 338 之胺基酸序列之輕鏈可變區(LCVR)之輕鏈互補決定區(LCDR)。

【0091】 在相關實施例中，用於本發明方法中之 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含三個 HCDR (HCDR1、HCDR2 及 HCDR3)及三個 LCDR (LCDR1、LCDR2 及 LCDR3)，其中 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 339 之胺基酸

序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO:340 之胺基酸序列；HCDR3 包含 SEQ ID NO:341 之胺基酸序列；LCDR1 包含 SEQ ID NO:342 之胺基酸序列；LCDR2 包含 SEQ ID NO:343 之胺基酸序列；且 LCDR3 包含 SEQ ID NO:344 之胺基酸序列。

【0092】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包括包含 SEQ ID NO: 335 或 SEQ ID NO: 337 之胺基酸序列之 HCVR 及包含 SEQ ID NO: 336 或 SEQ ID NO: 338 之胺基酸序列之 LCVR。

【0093】 在一個實施例中，用於本發明方法中之 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 335/336 或 SEQ ID NO: 337/338 之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對。

【0094】 在相關實施例中，用於本發明方法中之 IL-4R 拮抗劑係杜匹魯單抗(SEQ ID NO: 337/338)或其生物等效物。

【0095】 在某些實施例中，IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑係在分開調配物中投與。

【0096】 在某些實施例中，IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑經共調配用於投與有需要之患者。

【0097】 在某些實施例中，IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑係經皮下、靜脈內、肌內或鼻內投與個體。

【0098】 本發明之 IL-33 及 IL-4R 抗體可具有全長(例如，IgG1 或 IgG4 抗體)或可僅包含抗原結合部分(例如，Fab、F(ab')₂ 或 scFv 片段)，且可經改質以影響功能，例如以消除殘餘效應物功能(Reddy 等人，2000, J. Immunol. 164:1925-1933)。

【0099】 在一個實施例中，特異性結合至人類介白素-33 或人類 IL-4R 之抗體係經分離的完整人類單株抗體。

【0100】 在第六態樣中，本發明提供醫藥組合物，其包含特異性結合

IL-33 之重組體人類抗體或其片段或併或特異性結合 IL-4R 之抗體及醫藥上可接受之載劑。在相關態樣中，本發明係關於組合物，該組合物係抗 IL-33 抗體或 IL-33 併或特異性結合 IL-4R 之抗體及一或多種其他治療劑之組合。在一個實施例中，一或多種其他治療劑係有利地與 IL-33 拮抗劑及/或 IL-4R 拮抗劑中之任一者或其二者組合之任一藥劑。可有利地與 IL-33 拮抗劑及/或 IL-4R 拮抗劑組合之例示性藥劑包括(但不限於)抑制 IL-33 活性及/或 IL-4 活性之其他藥劑(包括其他抗體或其抗原結合片段、肽抑制劑、小分子拮抗劑等)，及/或不直接結合 IL-33 或 IL-4 或 IL-4R 但會干擾、阻斷或減弱 IL-33 或 IL-4 介導之信號傳導之藥劑。在一個實施例中，該一或多種其他治療劑可選自由以下組成之群：非類固醇抗炎劑(NSAID)、皮質類固醇(例如吸入皮質類固醇)、支氣管擴張劑、抗組織胺、腎上腺素、去充血劑、胸腺基質淋巴生成素(TSLP)拮抗劑、IL-1 拮抗劑、IL-8 拮抗劑、IL-13 拮抗劑、不同 IL-4 拮抗劑、IL-4/IL-13 雙重拮抗劑、IL-33/IL-13 雙重拮抗劑、IL-5 拮抗劑、IL-6 拮抗劑、IL-12/23 拮抗劑、IL-22 拮抗劑、IL-25 拮抗劑、IL-17 拮抗劑、IL-31 拮抗劑、TNF 抑制劑、IgE 抑制劑、白三烯抑制劑、口服 PDE4 抑制劑、甲基黃嘌呤、奈多羅米鈉、色甘酸鈉、長效 β 2 激動劑(LABA)、長效蕁毒鹼拮抗劑(LAMA)、吸入皮質類固醇(ICS)及另一 IL-33 或 IL-4 拮抗劑或針對 IL-33 或 IL-4 或 IL-4R 之不同抗體，及另一 IL-33 拮抗劑。

【0101】 在某些實施例中，細胞介素拮抗劑可為與細胞介素自身或與細胞介素之受體或與包含細胞介素及其受體二者之複合物發生相互作用之小分子抑制劑(合成或天然衍生)或蛋白質(例如抗體)。本文別處揭示涉及本發明之抗 IL-33 抗體及/或 IL-4R 抗體之其他組合療法及共調配物。

【0102】 在又一態樣中，本發明提供使用抗 IL-33 拮抗劑(例如 IL-33 抗體或 IL-33 併)及 IL-4R 抗體或本發明之一或多種抗體之抗原結合部分來抑制 IL-33 及/或 IL-4 信號傳導活性之治療方法，其中該等治療方法包括單獨

或與 IL-4R 抗體或本發明之一或多種抗體之抗原結合片段組合投與治療有效量之包含 IL-33 抗體或 IL-33 拮之醫藥組合物。所治療病症為藉由去除、抑制或降低 IL-33 及/或 IL-4 信號傳導而經改良、改善、抑制或預防之任一疾病或症狀。本發明之抗 IL-33 及/或 IL-4R 拮抗劑在一起使用時可用於阻斷 IL-33 與 IL-33 結合配體之間及 IL-4 與 IL-4 結合配體之間之相互作用或以其他方式抑制 IL-33 及 IL-4 之信號傳導活性。在一個實施例中，IL-4R 拮抗劑係結合至 IL-4R α 且如此阻止經由 I 型或 II 型受體之 IL-4 及 IL-13 信號傳導之抗體。在一個實施例中，IL-4R α 拮抗劑係杜匹魯單抗或其生物等效物。鑒於杜匹魯單抗對 IL-4 及 IL-13 二者之雙重阻斷活性，人們相信當與本發明之 IL-33 拮抗劑組合使用時，組合治療方案將增強對部分地由經由 IL-4、IL-13 及 IL-33 信號傳導路徑之信號傳導引起之不期望發炎活性的抑制，該不期望發炎活性可在發炎期間出現。

【0103】 在一個實施例中，IL-33 拮抗劑係特異性結合至 IL-33 且阻斷 IL-33 及其受體 ST2 (亦稱為 IL1RL1) 之相互作用之抗體或其抗原結合片段。

【0104】 在一個實施例中，特異性結合至 IL-33 之抗體或其抗原結合片段包含三個重鏈 CDR (HCDR1、HCDR2 及 HCDR3)，該等重鏈 CDR 含於選自由以下組成之群之重鏈可變區(HCVR)胺基酸序列內：SEQ ID NO: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290 及 308；且包含三個輕鏈 CDR (LCDR1、LCDR2 及 LCDR3)，該等輕鏈 CDR 含於選自由以下組成之群之輕鏈可變區(LCVR)胺基酸序列內：SEQ ID NO: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298 及 316。

【0105】 在一個實施例中，特異性結合至 IL-33 之抗體或其抗原結合片段包含具有選自由以下組成之群之胺基酸序列之重鏈可變區(HCVR)：SEQ ID NO: 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、

226、242、258、274、290 及 308。

【0106】 在一個實施例中，特異性結合至 IL-33 之抗體或其抗原結合片段包含具有選自由以下組成之群之胺基酸序列之輕鏈可變區(LCVR)：SEQ ID NO: 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298 及 316。

【0107】 在一個實施例中，特異性結合至 IL-33 之抗體或其抗原結合片段包含：

(a) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列之 HCDR1 結構域：SEQ ID NO: 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292 及 310；

(b) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列之 HCDR2 結構域：SEQ ID NO: 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294 及 312；

(c) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列之 HCDR3 結構域：SEQ ID NO: 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296 及 314；

(d) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列之 LCDR1 結構域：SEQ ID NO: 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284 及 318；

(e) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列之 LCDR2 結構域：SEQ ID NO: 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286 及 320；

(f) 具有選自由以下組成之群之胺基酸序列之 LCDR3 結構域：SEQ ID NO: 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288 及 322。

【0108】 在一個實施例中，特異性結合至 IL-33 之抗體或其抗原結合片段包含選自由以下組成之群之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對：SEQ ID NO: SEQ ID NO: 2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298 及 308/316。

【0109】 本發明亦包括單獨 IL-33 拮抗劑或其與 IL-4R 拮抗劑之組合之用途，其用於製造用以治療患者中與 IL-33 及/或 IL-4 活性或信號傳導相關或由其造成之疾病或病症之醫藥。在一個實施例中，患者中與 IL-33 活性及/或 IL-4 活性相關或由其造成之疾病或病症係發炎疾病或病症，其中該發炎疾病或病症係選自由以下組成之群：氣喘(嗜酸性球性或非嗜酸性球性)、慢性阻塞性肺病(COPD)、氣喘及 COPD 重疊症候群(ACOS)、異位性皮膚炎、鼻息肉、過敏反應、慢性支氣管炎、肺氣腫、伴或不伴鼻息肉之慢性鼻竇炎、發炎性腸病、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、過敏性肺炎、多發性硬化、關節炎(包括骨關節炎、類風濕性關節炎及牛皮癬性關節炎)、過敏性鼻炎、纖維變性、嗜酸性球性食道炎、血管炎、蕁麻疹、許-施二氏症候群、發炎性疼痛及牛皮癬。本發明亦包括治療有效量之 IL-33 拮抗劑與治療有效量之 IL-4R 拮抗劑之組合，其用於治療發炎疾病或病症或發炎疾病或病症之至少一種症狀，其中與投與單獨 IL-33 拮抗劑或單獨 IL-4R 拮抗劑所觀察到者相比，與 IL-4R 拮抗劑組合投與 IL-33 拮抗劑可引起增強之治療功效。本文所論述之任一方法亦涵蓋使用 IL-33 及/或 IL-4R 拮抗劑(例如，抗體)來治療或用於治療結合該等方法論述之疾病、病症及/或症狀。

【0110】 由查閱下列詳細說明將明瞭其他實施例。

【圖式簡單說明】

【0111】 圖 1 顯示 IL-33 拮抗劑之個別組分相對於彼此之四種例示性佈

置。圖 A 顯示其中第一 IL-33 結合結構域(D1)附接至第一多聚化結構域(M1)之 N 末端且第二 IL-33 結合結構域(D2)附接至第二多聚化結構域(M2)之 N 末端的佈置。D1 顯示為白盒且 D2 顯示為黑盒，以指示 D1 及 D2 源於不同的 IL-33 結合蛋白。圖 B 顯示其中第一 IL-33 結合結構域(D1)附接至第一多聚化結構域(M1)之 N 末端且第二 IL-33 結合結構域(D2)附接至第二多聚化結構域(M2)之 C 末端的佈置。D1 顯示為白盒且 D2 顯示為黑盒，以指示 D1 及 D2 源於不同的 IL-33 結合蛋白。圖 C 及圖 D 顯示包含四個 IL-33 結合結構域 D1、D2、D3 及 D4 之佈置。在該等佈置中，D3-D1-M1 及 D4-D2-M2 係串聯附接，其中 D3 附接至 D1 之 N 末端，且 D1 附接至 M1 之 N 末端；且 D4 附接至 D2 之 N 末端，且 D2 附接至 M2 之 N 末端。在圖 C 中，D3 及 D4 彼此一致或實質上一致，且 D1 及 D2 彼此一致或實質上一致。在圖 D 中，D1 及 D4 彼此一致或實質上一致，且 D3 及 D2 彼此一致或實質上一致。

【0112】 圖 2 顯示 HDM 暴露誘導 IL-33-、IL-4-及 IL-4R α 三重人類化及野生型小鼠之肺中經活化嗜酸性球之類似增加。統計顯著性係藉由二因子 ANOVA 以及圖基多重比較測試(Tukey's multiple comparisons test)來測定。使用以下符號來指示統計顯著差異：「*」星號標記鹽水暴露及 HDM 暴露之相同基因型小鼠之間之比較；「&」和號符號標記小鼠之各別鹽水暴露或 HDM 暴露之野生型組之比較。增加之符號數值指示增加之顯著性：1 $\times$ = $p \leq 0.05$ ；2 $\times$ = $p \leq 0.01$ ；3 $\times$ = $p \leq 0.001$ ；4 $\times$ = $p \leq 0.0001$ 。縮寫：WT = 野生型。所有小鼠皆具有混合之 C57BL/6NTac / 129S6SvEvTac 背景。

【0113】 圖 3 顯示 REGN3500 及杜匹魯單抗之組合投與可阻斷 HDM 暴露誘導之相對肺重量增加。相對肺重量表示為肺濕重(以 mg 計)對體重(以 g 計)之比率。統計顯著性係藉由克-瓦二氏單因子(Kruskal-Wallis one-way) ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試(Dunn's multiple comparison post hoc test)來測定。使用以下符號來指示統計顯著差異：「*」星號標記在所有 19

週 HDM 暴露組之間之比較；且「#」標籤標記鹽水-暴露之未治療動物與所有其他組之比較。增加之符號數值指示增加之顯著性：1×= $p \leq 0.05$ ；2×= $p \leq 0.01$ ；3×= $p \leq 0.001$ 。縮寫：wk = 週；IgG4^P = 同型對照抗體，REGN1945。

【0114】 圖 4A 及圖 4B 顯示 REGN3500 及杜匹魯單抗單獨及以組合對 HDM 暴露誘導之嗜酸性球性浸潤之效應。統計顯著性係藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試來測定。使用以下符號來指示統計顯著差異：「*」星號標記在所有 19 週 HDM 暴露組之間之比較；「#」標籤標記鹽水暴露之未經治療動物與所有其他組之比較；且「+」加號標記 11 週 HDM 暴露之未經治療動物與所有其他組之比較。增加之符號數值指示增加之顯著性：1×= $p \leq 0.05$ ；2×= $p \leq 0.01$ ；3×= $p \leq 0.001$ ；4×= $p \leq 0.0001$ 。縮寫：wk = 週；IgG4^P = 同型對照抗體，REGN1945。

【0115】 圖 5 顯示 REGN3500 單獨或與杜匹魯單抗組合可阻斷 HDM 暴露誘導之 ST2⁺ CD4⁺ T 細胞之肺浸潤。統計顯著性係藉由單因子 ANOVA 以及圖基多重比較事後測試來測定。使用以下符號來指示統計顯著差異：「*」星號標記在所有 19 週 HDM 暴露組之間之比較；「#」標籤標記鹽水暴露之未經治療動物與所有其他組之比較；且「+」加號標記 11 週 HDM 暴露之未經治療動物與所有其他組之比較。增加之符號數值指示增加之顯著性：1×= $p \leq 0.05$ ；2×= $p \leq 0.01$ ；3×= $p \leq 0.001$ ；4×= $p \leq 0.0001$ 。縮寫：wk = 週；IgG4^P = 同型對照抗體，REGN1945。

【0116】 圖 6 顯示 REGN3500 及杜匹魯單抗之組合投與可阻斷 HDM 暴露誘導之 MPO 肺蛋白質(嗜中性球浸潤之標記物)含量增加。統計顯著性係藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試來測定。使用以下符號來指示統計顯著差異：「*」星號標記在所有 19 週 HDM 暴露組之間之比較；且「#」標籤標記鹽水暴露之未經治療動物與所有其他組之比較。增加之符號數值指示增加之顯著性：1×= $p \leq 0.05$ ；2×= $p \leq 0.01$ ；3×= $p \leq 0.001$ 。

縮寫：wk =週；IgG4^P =同型對照抗體，REGN1945。

【0117】 圖 7A 及圖 7B 顯示 REGN3500 及杜匹魯單抗單獨或以組合對 HDM 暴露誘導之肺 IL-5 及 IL-6 蛋白質含量之增加之效應。收集肺(右肺之前葉及中葉)且藉由多重免疫分析來量測 IL-5 (A)及 IL-6 (B)蛋白質含量。肺組織 IL-5 及 IL-6 蛋白質含量表示為蛋白質量(pg)/肺葉。統計顯著性係藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試來測定。使用以下符號來指示統計顯著差異：「*」星號標記在所有 19 週 HDM 暴露組之間之比較；且「#」標籤標記鹽水暴露之未經治療動物與所有其他組之比較。增加之符號數值指示增加之顯著性：1×=p≤0.05；2×= p≤0.01；3×=p≤0.001。縮寫：wk =週；IgG4^P =同型對照抗體，REGN1945。

【0118】 圖 8 顯示 REGN3500 單獨或與杜匹魯單抗組合可阻斷 HDM 暴露誘導之循環 SAA 蛋白質含量之增加。在最後抗體注射之後 4 天，藉由心臟穿刺收集全血並分離血清。使用市售 ELISA 套組量測循環 SAA 蛋白質含量。循環 SAA 蛋白質含量表示為 SAA 蛋白質量(μg)/mL 血清。統計顯著性係藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試來測定。使用以下符號來指示統計顯著差異：「*」星號標記在所有 19 週 HDM 暴露組之間之比較；且「#」標籤標記鹽水暴露之未經治療動物與所有其他組之比較。增加之符號數值指示增加之顯著性：1×=p≤0.05；2×= p≤0.01；3×=p≤0.001。縮寫：wk =週；IgG4^P =同型對照抗體，REGN1945。

【0119】 圖 9 顯示循環 IgE 蛋白質含量因應 HDM 暴露而增加。藉由心臟穿刺收集全血並分離血清。使用市售 ELISA 套組量測循環 IgE 蛋白質含量。循環 IgE 蛋白質含量表示為 IgE 蛋白量(μg)/mL 血清。統計顯著性係藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試來測定。使用以下符號來指示統計顯著差異：「*」星號標記在所有 19 週 HDM 暴露組之間之比較；且「#」標籤標記鹽水暴露之未經治療動物與所有其他組之比較。增加之符

號數值指示增加之顯著性：1×= $p \leq 0.05$ ；2×= $p \leq 0.01$ ；3×= $p \leq 0.001$ 。縮寫：
wk =週；IgG4^P =同型對照抗體，REGN1945。

【實施方式】

【0120】 在闡述本發明之前，應瞭解本發明並不限於所述之具體方法及實驗條件，乃因該等方法及條件可有所變化。亦應瞭解，本文所使用之術語僅出於闡述具體實施例之目的，並且並非意欲加以限制，乃因本發明之範圍將僅受限於隨附申請專利範圍。

【0121】 除非另外定義，否則本文所用全部技術及科學術語皆具有與熟習本發明所屬領域技術者通常所瞭解相同之含義。如本文所用，術語「約」在參考具體列舉數值使用時意味著該值可自列舉值變化不超過 1%。例如，如本文所用，表述「約 100」包括 99 及 101 及其間之所有值(例如，99.1、99.2、99.3、99.4 等)。

【0122】 儘管類似於或等效於本文所述之彼等方法及材料之任何方法及材料可用於實踐或測試本發明，但現在闡述較佳方法及材料。本說明書中所提及之所有專利、申請案及非專利公開案以全文引用方式併入本文中。

定義

【0123】 如本文所用術語「介白素-33」、「IL-33」及諸如此類係指人類 IL-33 蛋白質且涵蓋 270 個胺基酸、全長、未處理之 IL-33 (例如參見，SEQ ID NO: 348 或 UniProtKB 登錄號 095760)，以及自在細胞中之處理產生之 IL-33 之任一形式(例如參見，SEQ ID NO: 349，其含有全長蛋白質之胺基酸殘基 112-270)。IL-33 之其他處理形式闡述於 Lefrançois 等人(Lefrançois 等人，(2012), Proc. Natl. Acad. Sci. 109(5):1693-1678)中。該術語亦涵蓋 IL-33 之天然變體，例如，剪接變體(例如參見，Hong 等人，(2011), J. Biol. Chem. 286(22):20078-20086)或等位基因變體或 IL-33 之任何其他同種型，例如闡述

於 WO2016/156440 中之彼等。除非明確指定為來自非人類物種，否則本文中對蛋白質、多肽及蛋白質片段之所有提及皆意欲指各別蛋白質、多肽或蛋白質片段之人類型式。

【0124】 如本文所用，表述「IL-33 拮抗劑」意指能阻斷、減弱或以其他方式干擾 IL-33 信號傳導及/或 IL-33 與細胞表面受體(例如，ST2，亦稱為 IL1RL1)或共受體(例如 IL1-RAcP)或其複合物之間之相互作用之任一藥劑。例如，「IL-33 拮抗劑」(亦稱作「IL-33 抑制劑」或「IL-33 阻斷劑」)包括以下中之任一者：(1)結合至 IL-33 或與 IL-33 發生相互作用之藥劑；或(2)結合至 IL-33 受體(有時稱作「致腫瘤抑制因子」或「ST2」；亦稱為「IL1RL1」)或與 IL-33 受體發生相互作用之藥劑；或(3)結合至 IL-33 共受體(介白素-1 受體輔助蛋白或 IL1-RAcP)或與 IL-33 共受體發生相互作用之藥劑；或(4)結合至 IL-33/ST2 之複合物之藥劑；或(5)結合至 ST2/IL-1RAcP 或與 ST2/IL-1RAcP 發生相互作用之藥劑。上述中之任一者可抑制或減弱 IL-33 之至少一種生物活性，例如(但不限於)在 IL-33 結合至其受體/共受體複合物時出現之生物信號傳導功能。

【0125】 在一個實施例中，「IL-33 拮抗劑」係特異性結合至 IL-33 或與 IL-33 發生相互作用且阻止 IL-33 結合至 ST2 且如此可阻止 ST2 與共受體 IL-1RAcP 發生相互作用的抗體。在一個實施例中，「IL-33 拮抗劑」係特異性結合至 ST2 或 ST2/IL-1RAcP 複合物且阻止 IL-33 結合至 ST2 或 ST2/IL-1RAcP 受體複合物之抗體。在一個實施例中，「IL-33 拮抗劑」係結合至 IL-33/ST2 複合物且然後阻止 ST2 與 IL-1RAcP 共受體發生相互作用之抗體。在一個實施例中，「IL-33 拮抗劑」係結合至 IL-33 且可容許低親和力結合至 ST2 但同時該低親和力結合可阻止 ST2 隨後與共受體 IL-1RAcP 發生相互作用之抗體。

【0126】 「IL-33 拮抗劑」亦可為諸如可溶性 ST2 受體或基於 IL-33 受體

之拮抗劑，例如本文所闡述及揭示於 US2014/0271642 中之彼等。阻斷 IL-33 介導之信號傳導之任一藥劑均視為「IL-33 拮抗劑」。「IL-33 拮抗劑」可為小的有機分子、蛋白質(例如抗體或其片段或基於 IL-33 受體之可溶性拮抗劑(如本文所闡述))或核酸(例如反義分子或 siRNA)。如本文所用，「結合 IL-33 之抗體」或「抗 IL-33 抗體」包括結合人類 IL-33 蛋白質或其生物活性片段(例如參見 SEQ ID NO: 348、349、350 及 351)之抗體及其抗原結合片段。

【0127】 如本文所用表述「介白素-4 受體」或「IL-4R」係指具有 SEQ ID NO: 347 之胺基酸序列之人類 IL-4R α 受體。

【0128】 如本文所用，「IL-4R 拮抗劑」(在本文亦稱作「IL-4R 抑制劑」、「IL-4R α 拮抗劑」、「IL-4R 阻斷劑」、「IL-4R α 阻斷劑」等)係任一結合至 IL-4R α 或 IL-4R 配體或與 IL-4R α 或 IL-4R 配體發生相互作用且抑制或減弱第 1 型及/或第 2 型 IL-4 受體之正常生物信號傳導功能之藥劑。第 1 型 IL-4 受體係包含 IL-4R α 鏈及 γ c 鏈之二聚體受體。第 2 型 IL-4 受體係包含 IL-4R α 鏈及 IL-13R α 1 鏈之二聚體受體。第 1 型 IL-4 受體與 IL-4 發生相互作用且由 IL-4 刺激，而第 2 型 IL-4 受體與 IL-4 及 IL-13 發生相互作用且由 IL-4 及 IL-13 二者刺激。因此，可用於本發明方法中之 IL-4R 拮抗劑可藉由阻斷 IL-4 介導之信號傳導、IL-13 介導之信號傳導或 IL-4 及 IL-13 介導之信號傳導二者起作用。本發明之 IL-4R 拮抗劑由此可阻止 IL-4 及/或 IL-13 與第 1 型或第 2 型受體發生相互作用。IL-4R 拮抗劑之類別之非限制性實例包括小分子 IL-4R 抑制劑、抗 IL-4R 適配體、基於肽之 IL-4R 抑制劑(例如，「肽體」分子)、「受體體」(例如，包含 IL-4R 組分之配體結合結構域之經改造分子)及特異性結合人類 IL-4R α 之抗體或抗體之抗原結合片段。如本文所用，IL-4R 拮抗劑亦包括特異性結合 IL-4 及/或 IL-13 之抗原結合蛋白。

【0129】 如本文所用術語「抗體」意指特異性結合至特定抗原(例如，IL-33

或 IL-4R)或與該特定抗原發生相互作用且包含至少一個互補決定區(CDR)之任一抗原結合分子或分子複合物。術語「抗體」包括包含四條多肽鏈(兩條重(H)鏈及兩條輕(L)鏈藉由二硫鍵互連)之免疫球蛋白分子以及其多聚體(例如, IgM)。每一重鏈包含重鏈可變區(在本文中縮寫為 HCVR 或 V_H)及重鏈恆定區。重鏈恆定區包含三個結構域: C_H1 、 C_H2 及 C_H3 。每一輕鏈包含輕鏈可變區(在本文中縮寫為 LCVR 或 V_L)及輕鏈恆定區。輕鏈恆定區包含一個結構域(C_L1)。可將 V_H 及 V_L 區進一步細分成超變區(稱為互補決定區(CDR)), 其中散佈有更保守之區(稱為框架區(FR))。每一 V_H 及 V_L 由三個 CDR 及四個 FR 構成, 其自胺基末端至羧基末端按以下順序佈置: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本發明之不同實施例中, 抗 IL-33 抗體(或其抗原結合部分)或抗 IL-4R 抗體之 FR 與人類種系序列可能一致或可經天然或人工修飾。可基於兩種或更多種 CDR 之並行分析來定義胺基酸共有序列。

【0130】 如本文所用術語「抗體」亦包括完整抗體分子之抗原結合片段。如本文所用術語抗體之「抗原結合部分」、抗體之「抗原結合片段」及諸如此類包括任何特異性結合抗原從而形成複合物之天然存在、可以酶促方式獲得、合成或經遺傳改造之多肽或醣蛋白。可使用任何適宜標準技術(例如蛋白質分解消化或涉及操縱及表現編碼抗體可變及視情況恆定結構域之 DNA 之重組遺傳改造技術)自(例如)完整抗體分子衍生抗體之抗原結合片段。該 DNA 已為人所知及/或可容易自(例如)商業來源、DNA 庫(包括(例如)噬菌體-抗體庫)獲得或可進行合成。可對 DNA 進行測序並以化學方式或藉由使用分子生物學技術進行操縱, 以(例如)將一或多個可變及/或恆定結構域佈置成適宜構形, 或引入密碼子、產生半胱胺酸殘基、修飾、添加或缺失胺基酸等。

【0131】 抗原結合片段之非限制性實例包括: (i) Fab 片段; (ii) F(ab')₂ 片

段；(iii) Fd 片段；(iv) Fv 片段；(v) 單鏈 Fv (scFv) 分子；(vi) dAb 片段；及(vii) 由模仿抗體之超可變區(例如，經分離互補決定區(CDR)，例如 CDR3 肽)之胺基酸殘基組成之最小識別單元，或限制型 FR3-CDR3-FR4 肽。其他經改造分子(例如結構域特異性抗體、單結構域抗體、結構域缺失之抗體、嵌合抗體、CDR 移植抗體、雙價抗體、三價抗體、四價抗體、微抗體、奈米抗體(例如單價奈米抗體、二價奈米抗體等)、小型模組免疫醫藥(SMIP)及鯊魚可變 IgNAR 結構域)亦涵蓋在如本文所用表述「抗原結合片段」內。

【0132】 抗體之抗原結合片段通常將包含至少一個可變結構域。可變結構域可具有任何大小或胺基酸組合成且通常將包含至少一個毗鄰一或多個框架序列或與該一或多個框架序列同框之 CDR。在具有與 V_L 結構域締合之 V_H 結構域之抗原結合片段中， V_H 及 V_L 結構域可相對於彼此以任一適宜佈置定位。例如，可變區可為二聚體且含有 V_H - V_H 、 V_H - V_L 或 V_L - V_L 二聚體。或者，抗體之抗原結合片段可含有單體 V_H 或 V_L 結構域。

【0133】 在某些實施例中，抗體之抗原結合片段可含有至少一個共價連接至至少一個恆定結構域之可變結構域。可見於本發明抗體之抗原結合片段內之可變及恆定結構域之非限制性例示性構形包括：(i) V_H - C_H1 ；(ii) V_H - C_H2 ；(iii) V_H - C_H3 ；(iv) V_H - C_H1 - C_H2 ；(v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ；(vi) V_H - C_H2 - C_H3 ；(vii) V_H - C_L ；(viii) V_L - C_H1 ；(ix) V_L - C_H2 ；(x) V_L - C_H3 ；(xi) V_L - C_H1 - C_H2 ；(xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ；(xiii) V_L - C_H2 - C_H3 ；及(xiv) V_L - C_L 。在可變及恆定結構域之任一構形(包括上文所列示例示性構形中之任一者)中，可變及恆定結構域可彼此直接連接或可藉由完整或部分鉸鏈或連接體區來連接。鉸鏈區可由在單一多肽分子中在毗鄰可變及/或恆定結構域之間產生撓性或半撓性鏈接之至少 2 個(例如，5 個、10 個、15 個、20 個、40 個、60 個或更多個)胺基酸組成。此外，本發明之抗體之抗原結合片段可包含具有任一上文所列示可變及恆定結構域構形之同源二聚體或異源二聚體

(或其他多聚體)，該等二聚體或多聚體彼此及/或與一或多個單體 V_H 或 V_L 結構域(例如，藉由二硫鍵)非共價締合。

【0134】 就完整抗體分子而言，抗原結合片段可為單特異性或多特異性(例如，雙特異性)。多特異性抗體之抗原結合片段通常將包含至少兩個不同可變結構域，其中每一可變結構域能特異性結合至單獨抗原或同一抗原上之不同表位。可使用業內可用之常規技術對任一多特異性抗體形式(包括本文所揭示之例示性雙特異性抗體形式)進行調適以在本發明之抗體之抗原結合片段之情況下使用。例如，本發明包括包含使用雙特異性抗體(其中免疫球蛋白之一個臂特異性針對 IL-4R α 或其片段或免疫球蛋白特異性針對 IL-33 或其片段且免疫球蛋白之另一臂特異性針對第二治療靶標或偶聯至治療性部分)之方法。可在本發明之背景下使用之例示性雙特異性形式包括(但不限於)(例如)基於 scFv 之或雙價抗體雙特異性形式、IgG-scFv 融合物、雙重可變結構域(DVD)-Ig、四價體瘤(Quadroma)、突出物進入孔洞(knobs-into-holes)、共用輕鏈(例如，具有突出物進入孔洞之共用輕鏈等)、CrossMab、CrossFab、(SEED)體、白胺酸拉鏈、Duobody、IgG1/IgG2、雙重作用 Fab (DAF)-IgG 及 Mab² 雙特異性形式(例如參見，Klein 等人 2012, mAbs 4:6, 1-11，及其中所引用之參考文獻，對於上述形式之綜述)。亦可使用肽/核酸偶聯來構築雙特異性抗體，例如，其中使用具有正交化學反應性之非天然胺基酸來生成位點特異性抗體-寡核苷酸偶聯物，該等偶聯物然後自組裝成具有所定義組成、化合價及幾何形狀之多聚體複合物。(例如參見，Kazane 等人，*J. Am. Chem. Soc.* [電子版: 2012 年 12 月 4 日])。

【0135】 在本發明之某些實施例中，本發明之抗 IL-33 及 IL-4R 抗體係人類抗體。如本文所用術語「人類抗體」意欲包括具有源於人類種系免疫球蛋白序列之可變及恆定區之抗體。本發明之人類抗體可包括並非由人類種系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如藉由活體外隨機誘變或位點特異

性誘變或藉由活體內體細胞突變引入之突變)，例如在 CDR 且尤其 CDR 中。然而，如本文所用術語「人類抗體」並非意欲包括源自另一哺乳動物物種(例如小鼠)種系之 CDR 序列已移植至人類框架序列上之抗體。該術語包括在非人類哺乳動物中或在非人類哺乳動物之細胞中重組產生之抗體。該術語並非意欲包括自人類個體分離或在人類個體中生成之抗體。

【0136】 在一些實施例中，本發明之抗體可為重組體人類抗體。如本文所用術語「重組體人類抗體」意欲包括藉由重組方式製備、表現、產生或分離之所有人類抗體，例如使用轉染至宿主細胞中之重組體表現載體表現之抗體(下文進一步所述)、自重組體分離之抗體、組合人類抗體庫(下文進一步所述)、自針對人類免疫球蛋白基因轉基因之動物(例如，小鼠)分離之抗體(例如參見，Taylor 等人 (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295)，或藉由任何其他涉及人類免疫球蛋白基因序列剪接為其他 DNA 序列之方式來製備、表現、產生或分離之抗體。該等重組體人類抗體具有源於人類種系免疫球蛋白序列之可變及恆定區。然而，在某些實施例中，可使該等重組人類抗體經受活體外誘變(或，當使用人類 Ig 序列之轉基因動物時，經受活體內體細胞誘變)，且因此重組抗體之 V_H 及 V_L 區之胺基酸序列儘管源自人類種系 V_H 及 V_L 序列並與其相關，但其係可不天然存在於人類活體內抗體種系譜內的序列。

【0137】 人類抗體可以與鉸鏈異質性相關之兩種形式存在。在一種形式中，免疫球蛋白分子包含其中二聚體藉由鏈間重鏈二硫鍵保持在一起之約 150-160 kDa 之穩定四鏈構築體。在第二種形式中，二聚體並非經由鏈間二硫鍵連接且形成由共價偶合之輕鏈及重鏈(半抗體)構成之約 75-80 kDa 之分子。該等形式即使在親和純化之後亦極難分離。

【0138】 在多種完整 IgG 同型中出現第二種形式之頻率歸因於(但不限於)與抗體之鉸鏈區同型相關之結構差異。人類 IgG4 鉸鏈之鉸鏈區中之單一

胺基酸取代可將第二種形式之出現 (Angal 等人 (1993) *Molecular Immunology* 30:105) 顯著降低至使用人類 IgG1 鉸鏈通常所觀察到之位準。本發明涵蓋在(例如)產生中在鉸鏈、C_H2 或 C_H3 區中具有一或多個可能合意之突變以改良期望抗體形式之產率之抗體。

【0139】 本發明之抗體可為單離抗體。如本文所用「單離抗體」意指已經鑑別並自其天然環境之至少一種組分中分離及/或回收之抗體。例如，出於本發明之目的，已自生物體之至少一種組分或自其中天然存在或天然產生抗體之組織或細胞中分離或去除之抗體為「單離抗體」。單離抗體亦包括原位在重組體細胞內之抗體。單離抗體係已經受至少一個純化或分離步驟之抗體。根據某些實施例，單離抗體實質上可不含其他細胞材料及/或化學品。

【0140】 本發明包括中和及/或阻斷抗 IL-33 抗體及 IL-4R 抗體。如本文所用「中和」或「阻斷」抗體意指指結合至靶標分子(例如 IL-33 或 IL-4R) 達成如下之抗體：(i)干擾靶標分子與其受體(在 IL-33 抗體之情形下)或其配體(在 IL-4R 抗體之情形下)之間之相互作用；及/或(ii)抑制靶標分子之至少一種生物功能，例如信號傳導。由 IL-33 或 IL-4R 中和或阻斷抗體造成之抑制無需完整，只要其可使用適當分析來檢測即可。

【0141】 與衍生抗體之相應種系序列相比，本文所揭示之抗體可在重鏈及輕鏈可變結構域之框架及/或 CDR 區中包含一或多個胺基酸取代、插入及/或缺失。該等突變可容易地藉由將本文所揭示之胺基酸序列與可自(例如)公共抗體序列資料庫獲得之種系序列比較來確定。本發明包括源於本文所揭示之任一胺基酸序列之抗體及其抗原結合片段，其中一或多個框架及/或 CDR 區內之一或多個胺基酸突變成衍生抗體之種系序列之相應殘基，或突變成另一人類種系序列之相應殘基，或突變成相應種系殘基之保守胺基酸取代(該等序列變化在本文中統稱作「種系突變」)。熟習此項技術者以本文

所揭示之重鏈及輕鏈可變區序列開始可易於產生眾多包含一或多個個別種系突變或其組合之抗體及抗原結合片段。在某些實施例中，V_H及/或 V_L結構域內之所有框架及/或 CDR 殘基突變回成見於衍生抗體之原始種系序列中之殘基。在其他實施例中，僅某些殘基突變回成原始種系序列，例如，僅見於 FR1 之前 8 個胺基酸內或見於 FR4 之後 8 個胺基酸內之突變殘基，或僅見於 CDR1、CDR2 或 CDR3 內之突變殘基。在其他實施例中，一或多個框架及/或 CDR 殘基突變成不同種系序列(亦即，與原始衍生抗體之種系序列不同之種系序列)之相應殘基。另外，本發明之抗體可含有框架及/或 CDR 區內之兩種或更多種種系突變之任一組合，例如，其中某些個別殘基突變成具體種系序列之相應殘基，而與原始種系序列不同之某些其他殘基維持或突變成不同種系序列之相應殘基。在獲得之後，可易於測試含有一或多個種系突變之抗體及抗原結合片段之一或多種期望性質，例如，改良之結合特異性、增加之結合親和力、改良或增強之拮抗性或激動性生物性質(視情況而定)、降低之免疫原性等。以此一般方式獲得之抗體及抗原結合片段涵蓋在本發明內。

【0142】 本發明亦包括包含本文所揭示之 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列中之任一者之具有一或多個保守取代之變體之抗體。例如，本發明包括含有相對於本文所揭示之 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列中之任一者具有(例如) 10 個或更少個、8 個或更少個、6 個或更少個、4 個或更少個等保守胺基酸取代之 HCVR、LCVR 及/或 CDR 胺基酸序列之抗體。

【0143】 術語「表位」係指與抗體分子之可變區中之特定抗原結合位點(稱為互補位)發生相互作用之抗原性決定子。單一抗原可具有一個以上表位。因此，不同抗體可結合至抗原上之不同區域且可具有不同的生物效應。表位可為構象或線性的。構象表位係由來自線性多肽鏈之不同區段之在空間上並置之胺基酸產生。線性表位係由多肽鏈中之毗鄰胺基酸殘基所產生

者。在某些情形中，表位可包括抗原上之醣、磷醯基或磺醯基之部分。

【0144】 術語「實質上一致性」或「實質上一致」在指核酸或其片段時指示，在與具有適當核苷酸插入或缺失之另一核酸(或其互補鏈)最佳比對時，在至少約 95%、且更佳至少約 96%、97%、98%或 99%之核苷酸鹼基中存在核苷酸序列一致性，如藉由序列一致性之任何熟知算法所量測，例如 FASTA、BLAST 或 Gap，如下文所論述。在某些情形中，與參考核酸分子具有實質上一致性之核酸分子可編碼與參考核酸分子所編碼之多肽具有相同或實質上類似之胺基酸序列之多肽。

【0145】 在應用至多肽時，術語「實質上類似性」或「實質上類似」意味著兩個肽序列在藉由(例如)程式 GAP 或 BESTFIT 使用缺省空位權重進行最佳比對時共有至少 95%序列一致性、甚至更佳地至少 98%或 99%序列一致性。較佳地，不一致殘基位置因保守胺基酸取代而不同。「保守胺基酸取代」係胺基酸殘基由含有具有類似化學性質(例如，電荷或疏水性)之側鏈(R 基團)的另一胺基酸殘基取代者。一般而言，保守胺基酸取代將不實質上改變蛋白質之功能性質。倘若兩個或更多個胺基酸序列因保守取代而彼此不同，則可向上調節序列一致性百分比或類似性程度以校正取代之保守性質。進行此調節之方式為彼等熟習此項技術者所熟知。參見(例如) Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331，其以引用方式併入本文中。含有具有類似化學性質之側鏈之胺基酸之基團的實例包括(1)脂肪族側鏈：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸；(2)脂肪族-羥基側鏈：絲胺酸及蘇胺酸；(3)含有醯胺之側鏈：天冬醯胺及麩醯胺酸；(4)芳香族側鏈：苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸；(5)鹼性側鏈：離胺酸、精胺酸及組胺酸；(6)酸性側鏈：天冬胺酸鹽及麩胺酸鹽及(7)含硫側鏈係半胱胺酸及甲硫胺酸。較佳保守胺基酸取代基團為：纈胺酸-白胺酸-異白胺酸、苯丙胺酸-酪胺酸、離胺酸-精胺酸、丙胺酸-纈胺酸、麩胺酸-天冬胺酸及天冬醯胺-麩醯胺酸。或

者，保守替代係在如 Gonnet 等人(1992) *Science* 256: 1443-1445 中所揭示之 PAM250 對數似然矩陣中具有正值之任一變化，該文獻以引用方式併入本文中。「中等保守」替代係在 PAM250 對數似然矩陣中具有非負值之任一變化。

【0146】 多肽序列類似性(其亦稱作序列一致性)通常係使用序列分析軟體來量測。蛋白質分析軟體使用指配給多個取代、缺失及其他修飾(包括保守胺基酸取代)之類似性之量測來匹配類似序列。舉例而言，GCG 軟體含有諸如 Gap 及 Bestfit 等程式，該等程式可與缺省參數一起使用來測定密切相關多肽(例如來自生物體之不同物種之同源多肽)之間或野生型蛋白質與其突變蛋白之間的序列同源性或序列一致性。例如參見，GCG 6.1 版。多肽序列亦可使用 FASTA 使用缺省或推薦參數(GCG 6.1 版中之程式)來比較。FASTA (例如 FASTA2 及 FASTA3)提供詢問與搜索序列之間之最佳重疊之區的比對及序列一致性百分比(Pearson (2000)，參見上文)。在比較本發明序列與含有來自不同生物體之大量序列之資料庫時之另一較佳算法係電腦程式 BLAST，尤其 BLASTP 或 TBLASTN，其使用缺省參數。例如參見 Altschul 等人(1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410 及 Altschul 等人(1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402，其各自以引用方式併入本文。

【0147】 如本文所用「疾病或病症」係可利用本發明之 IL-33 及 IL-4 拮抗劑來治療之任一症狀。如本文所用「發炎疾病或病症」係指病狀全部或部分地由(例如)免疫系統細胞之數量變化、遷移速率變化或活化變化引起之疾病、病症或病理學症狀。免疫系統之細胞包括(例如)T 細胞、B 細胞、單核球或巨噬細胞、先天淋巴樣細胞、抗原呈遞細胞(APC)、樹突細胞、小神經膠質細胞、NK 細胞、嗜中性球、嗜酸性球、肥大細胞或特別是與免疫學相關之任何其他細胞(例如，產生細胞介素之內皮或上皮細胞)。如本文所用，在一個實施例中，「發炎疾病或病症」係選自由以下組成之群之免疫

病症或症狀：氣喘(包括類固醇抗性氣喘、類固醇敏感性氣喘、嗜酸性球性氣喘或非嗜酸性球性氣喘)、過敏、重度過敏、多發性硬化、發炎性腸病症(例如克羅恩氏病或潰瘍性結腸炎)、慢性阻塞性肺病(COPD，其可或可不與暴露於一手或二手香菸煙霧相關，部分地由其造成，或由其引起)、氣喘及 COPD 重疊症候群(ACOS)、嗜酸性球性食道炎、慢性支氣管炎、肺氣腫、伴或不伴鼻息肉之慢性鼻竇炎、狼瘡、異位性皮膚炎、牛皮癬、硬皮症及其他纖維變性疾病、修格連氏症候群(sjogren's syndrome)、血管炎(貝西氏病(behcet's disease)、巨細胞動脈炎、亨-舍二氏紫癍(Henoch-Schonlein purpura)及許-施二氏症候群)、發炎性疼痛及關節炎。在一個實施例中，關節炎係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、骨關節炎及牛皮癬性關節炎。

【0148】 在一個實施例中，「發炎疾病或病症」係包含第 1 型反應及/或第 2 型反應之免疫病症或症狀。

【0149】 「第 1 型免疫反應」係藉由以下來定義：T 輔助 1 (T_H1)細胞及 T_H17 細胞、細胞毒性 T 細胞、第 1 組及第 3 組先天淋巴樣細胞(ILC)及免疫球蛋白 M (IgM)、IgA 及特定 IgG 抗體類別及細胞介素(包括(例如) TNF、IL- 1β 及 IL-6)。此效應物反應介導對許多微生物(包括細菌、病毒、真菌及原生動物)之免疫性。第 1 型免疫性之要素亦有助於維持腫瘤免疫監督。

【0150】 「第 2 型免疫反應」係以下列為特徵：CD4+ T 輔助 2 (T_H2)細胞、第 2 組先天淋巴樣細胞(ILC)、嗜酸性球、嗜鹼性球、肥大細胞、IL-4 及/或 IL-13 活化之巨噬細胞、IgE 抗體亞類及細胞介素(包括(例如) IL-4、IL-5、IL-9、IL-13、胸腺基質淋巴生成素、IL-25 及 IL-33)。第 2 型免疫性因加強障壁防禦而提供抵抗大型細胞外寄生蟲之保護。第 2 型免疫反應之要素亦有助於維持代謝穩態且促進損傷後之組織重塑。此類型之反應亦可因應過敏原而開始。

【0151】 如本文所用片語「抑制或減弱 IL-33 介導之信號傳導」係指相對

於 IL-33 在不存在如本文所闡述之拮抗劑(例如 IL-33 抗體或 IL-33 拮)下刺激經由 ST2 及 IL-1RAcP 之信號轉導之程度，IL-33 在存在如本文所闡述之拮抗劑(例如 IL-33 抗體或 IL-33 拮)下刺激經由其受體 ST2 及共受體 IL-1RAcP 之信號轉導之程度有所減少。如本文所用片語「抑制或減弱 IL-4R 介導之信號轉導」係指相對於 IL-4 在不存在如本文所闡述之拮抗劑(例如 IL-4 或 IL-4R 抗體)下刺激經由第 1 型及/或第 2 型 IL-4 受體之信號轉導之程度，IL-4 在存在如本文所闡述之拮抗劑(例如 IL-4 或 IL-4R 抗體)下刺激經由第 1 型及/或第 2 型 IL-4 受體之信號轉導之程度有所減少。為檢驗抑制之程度，用潛在抑制劑/拮抗劑處理試樣並將其與沒有抑制劑/拮抗劑之對照試樣進行比較。將對照試樣(亦即，未經拮抗劑處理)指配為 100% 之相對活性值。當相對於對照之活性值為約 90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25% 或 20% 或更低時達成抑制。抑制之終點可包含(例如)發炎或細胞去粒、分泌或活化(例如細胞介素之釋放)之指示物之預定量或百分比。對經由 ST2 及 IL-1RAcP 之 IL-33 信號轉導之抑制可藉由在活體外分析(例如熟習此項技術者已知之彼等)中分析 IL-33 信號轉導來測定。另外，可使用活體內分析來確定分子是否為 IL-33 之拮抗劑。例如，可使用活體內分析來評估抗 IL-33 之抗體對關於人類 IL-33 之表現為同型接合之過敏原敏感型動物中之肺發炎之效應。在用過敏原敏化動物之後，用本發明之抗 IL-33 抗體或陰性同型對照抗體來治療動物之子集。之後，將動物處死並收集肺用於細胞浸潤之評估以及細胞介素量測(IL-4 及 IL-5)。作為拮抗劑有效之 IL-33 抗體應展示肺中發炎細胞減少之趨勢，以及細胞介素(例如 IL-4 及 IL-5)減少之趨勢。可實施類似分析以評估 IL-4R 拮抗劑在活體外或活體內阻斷 IL-4 結合至第 1 型及/或第 2 型受體之後的信號轉導的能力。此外，可修改上述分析中之任一者以比較使用單獨 IL-33 拮抗劑、單獨 IL-4 或 IL-4R 拮抗劑之效應或使用 IL-33 拮抗劑及 IL-4 或 IL-4R 拮抗劑一起之組

合之效應。

【0152】 在另一態樣中，本發明提供降低有需要之個體中氣喘或 COPD 或氣喘或 COPD 惡化之發生率或復發之方法，其包括與包含 IL-33 拮抗劑之醫藥組合物組合向該個體投與包含介白素-4 受體(IL-4R)拮抗劑之醫藥組合物。如本文所用，表述「氣喘或 COPD 惡化」意指氣喘或 COPD 之一或多個症狀或標記之嚴重性及/或頻率及/或持續時間之增加。「氣喘或 COPD 惡化」亦包括需要針對氣喘或 COPD 之治療性介入(例如，類固醇治療、吸入皮質類固醇治療、住院等)及或可藉由該治療性介入治療之個體之呼吸健康之任何劣化。

【0153】 氣喘或 COPD 惡化之「發生率或復發之降低」意味著已接受本發明醫藥組合物之個體在治療後經歷較治療前更少之氣喘或 COPD 惡化(亦即，少至少一次惡化)，或在開始本發明醫藥組合物之治療後不經歷氣喘或 COPD 惡化達至少 4 週(例如，4 週、6 週、8 週、12 週、14 週或更多個週)。氣喘或 COPD 惡化之「發生率或復發之降低」或者意味著與未接受本發明醫藥組合物之個體相比，在投與本發明醫藥組合物之後，個體經歷氣喘或 COPD 惡化之似然度降低至少 10% (例如，10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%或更多)。

【0154】 如本文所用「纖維變性疾病或病症」係指涉及組織或器官中之過量纖維性結締組織之症狀。「纖維變性」係指病理過程，其包括結締組織形成瘢痕及過度產生細胞外基質作為對組織損害之反應。如本文所用可藉由投與本發明之抗 IL-33 及 IL-4R 拮抗劑治療之例示性「纖維變性疾病或病症」包括肺纖維變性(例如，特發性肺纖維變性、博來黴素誘導之肺纖維變性、石棉誘導之肺纖維變性及閉塞性細支氣管炎症候群)、慢性氣喘、與急性肺損傷及急性呼吸窘迫相關之纖維變性(例如，細菌性肺炎誘導之纖維變性、創傷誘導之纖維變性、病毒肺炎誘導之纖維變性、呼吸機誘導之纖

維變性、非肺敗血症誘導之纖維變性及抽吸誘導之纖維變性)、矽肺病、輻射誘導之纖維變性、慢性阻塞性肺病(COPD，其可或可不與暴露於一手或二手香菸煙霧相關，部分地由該暴露造成或由該暴露引起)、硬皮症、眼部纖維變性、皮膚纖維變性(例如，硬皮症)、肝纖維變性(例如，硬化、酒精誘導之肝纖維變性、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、膽管損傷、原發性膽汁性硬化、感染誘導或病毒誘導之肝纖維變性、自體免疫肝炎、腎臟(腎)纖維變性、心臟纖維變性、動脈粥樣硬化、支架再狹窄及骨髓纖維變性。儘管氣喘及 COPD 通常被視為發炎症狀，但亦已知每一者展現纖維變性病之性質。

【0155】 對治療或療法(例如包含 IL-33 拮抗劑(例如，IL-33 或 ST2 結合拮抗劑)或 IL-4 拮抗劑之治療)之患者之「反應」或患者之「反應性」係指自該治療或由於該治療給予具有發生 IL-33 介導之病症(例如，氣喘、COPD、ACOS、鼻息肉或肺纖維變性，例如，特發性肺纖維變性)之風險或患有該病症之患者臨床或治療益處。該益處可包括患者來自拮抗劑治療或由該治療引起之細胞或生物反應、完全反應、部分反應、穩定疾病(無進展或反復)或後來復發之反應。熟習此項技術者將能容易地確定患者是否具有反應性。例如，罹患氣喘且對包含 IL-33 拮抗劑及/或 IL-4 拮抗劑之治療具有反應性之患者可顯示以下例示性症狀中之一或多者之可觀察及/或可量測之降低或不存在：復發性喘鳴、咳嗽、呼吸困難、胸部壓迫感、夜間發生或惡化之症狀、由冷空氣、鍛煉或暴露於過敏原觸發之症狀。

【0156】 另外，「增強之治療功效」可藉由以下來測定：在與當使用單獨 IL-33 拮抗劑或 IL-4R 拮抗劑時所達成之結果比較時，評估利用 IL-33 拮抗劑加 IL-4R 拮抗劑之組合治療是否使得疾病或病症之至少一種症狀顯著改善或如本文所量測生物參數(例如肺發炎、細胞介素釋放等)中之至少一者改善。如本申請案中所闡述之功效之任一生物量測均可用於測定治療功效

或其增強。

IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑

【0157】 本發明方法包括與治療有效量之 IL-4R 拮抗劑組合向罹患發炎疾病或病症之患者投與治療有效量之 IL-33 拮抗劑。

IL-33 拮抗劑

【0158】 術語「人類介白素-33」或「人類 IL-33」或「hIL-33」或「IL-33」係指具有 270 個胺基酸之全長未處理之 IL-33 (例如參見, SEQ ID NO: 348 或 UniProtKB 登錄號 O95760)或其生物活性片段,以及由細胞中之處理產生之 IL-33 之任一形式(例如參見, SEQ ID NO: 349, 其含有全長蛋白質之胺基酸殘基 112-270)。該術語亦涵蓋 IL-33 之天然變體,例如,剪接變體(例如參見, Hong 等人, (2011), J. Biol. Chem. 286(22):20078-20086)或等位基因變體或 IL-33 之任何其他同種型,例如闡述於 WO2016/156440 中之 IL-33 之氧化或還原形式。可由本發明之抗體或其抗原結合片段或本發明之 IL-33 拮抗劑中和、抑制、阻斷、廢除、減弱、減少或干擾之 IL-33 之活性包括(但不限於)抑制 IL-33 受體介導之信號傳導或抑制 IL-33 介導之發炎。

【0159】 如本文所用,「IL-33 拮抗劑」(在本文亦稱作「IL-33 抑制劑」或「IL-33 阻斷劑」等)係任何抑制 IL-33 與其一或多種結合配體發生相互作用且如此可抑制 IL-33 介導之信號傳導之藥劑。例如,「IL-33 拮抗劑」可結合至以下各項及/或與以下各項發生相互作用: IL-33 或 IL-33 受體(稱作「致腫瘤抑制因子」(「ST2」))或 IL-33 共受體(稱作「介白素-1 受體輔助蛋白」(「IL-1RAcP」))或以下中之任一者之複合物: IL-33/ST2 或 ST2/IL-1RAcP, 且如此可抑制 IL-33 介導之信號傳導。

【0160】 IL-33 拮抗劑之類別之非限制性實例包括小分子 IL-33 抑制劑或受體拮抗劑,或在嚴格條件下與編碼 IL-33 或 IL-33 受體或共受體之核酸序

列(例如，短干擾 RNA (siRNA)或成簇規律間隔短回文重複 RNA (CRISPR-RNA 或 crRNA)，包括具有 crRNA 及 tracrRNA 序列之單導向 RNA (sgRNA)，如 Mali 等人(Science. 339: 823-26, 2013)中所闡述，該文獻係以全文引用方式併入本文中)雜交之核酸。其他 IL-33 拮抗劑包括包含 IL-33 受體(例如 ST2)之配體結合部分、IL-33 結合支架分子(例如，DARPin、HEAT 重複蛋白、ARM 重複蛋白、三角形四肽重複蛋白、基於纖網蛋白之支架構築體及基於天然重複蛋白之其他支架等[例如參見，Boersma 及 Pluckthun, 2011, *Curr. Opin. Biotechnol.* 22:849-857，及其中所引用之參考文獻])及抗 IL-33 適配體或其部分的蛋白質。

IL-33 抗體

【0161】 根據某些實施例，可用於本發明之背景中之 IL-33 拮抗劑或抑制劑係特異性結合人類 IL-33 之抗 IL-33 抗體或抗體之抗原結合片段。用於本文所述方法中之例示性抗 IL-33 抗體之胺基酸序列標識符顯示於表 1 中且編碼該等 IL-33 抗體之核酸序列標識符顯示於表 2 中。

【0162】 在一個實施例中，用於本發明方法中之本文所述抗 IL-33 抗體揭示於 US9,453,072 中，該案係以全文引用方式併入。

【0163】 根據某些實施例，用於本發明方法中之抗 IL-33 抗體特異性結合至 IL-33。術語「特異性結合」或諸如此類意味著抗體或其抗原結合片段與抗原形成在生理學條件下相對穩定之複合物。用於確定抗體是否特異性結合至抗原之方法為業內熟知且包括(例如)平衡透析、表面電漿共振及諸如此類。例如，如在本發明背景下使用之「特異性結合」IL-33 之抗體包括以如下 K_D 結合至 IL-33 或其生物活性部分之抗體：小於約 1000 nM、小於約 500 nM、小於約 300 nM、小於約 200 nM、小於約 100 nM、小於約 90 nM、小於約 80 nM、小於約 70 nM、小於約 60 nM、小於約 50 nM、小於約 40 nM、小於約 30 nM、小於約 20 nM、小於約 10 nM、小於約 5 nM、小於約 4 nM、

小於約 3 nM、小於約 2 nM、小於約 1 nM 或小於約 0.5 nM，如在表面電漿共振分析中所量測。然而，特異性結合 IL-33 之分離抗體可與其他抗原(例如來自其他(非人類)物種之 IL- IL-33 分子)具有交叉反應性。

【0164】 根據本發明之某些例示性實施例，IL-33 拮抗劑為抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段，該抗原結合片段包含包括如美國專利第 9,453,072 號中及本文所揭示之表 1 中所闡述之抗 IL-33 抗體之任一胺基酸序列之重鏈可變區(HCVR)、輕鏈可變區(LCVR)及/或互補決定區(CDR)。在某些實施例中，IL-33 拮抗劑係具有闡述於 US9,453,072 中之參考抗體之結合特徵之抗 IL-33 抗體。在某些例示性實施例中，可用於本發明方法背景中之抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段包括包含 SEQ ID NO: 274 之胺基酸序列之重鏈可變區(HCVR)之重鏈互補決定區(HCDR)及包含 SEQ ID NO: 282 之胺基酸序列之輕鏈可變區(LCVR)之輕鏈互補決定區(LCDR)。根據某些實施例，抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段包含三個 HCDR (HCDR1、HCDR2 及 HCDR3)及三個 LCDR (LCDR1、LCDR2 及 LCDR3)，其中 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 276 之胺基酸序列；HCDR2 包含 SEQ ID NO: 278 之胺基酸序列；HCDR3 包含 SEQ ID NO: 280 之胺基酸序列；LCDR1 包含 SEQ ID NO: 284 之胺基酸序列；LCDR2 包含 SEQ ID NO: 286 之胺基酸序列；且 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 288 之胺基酸序列。在再其他實施例中，抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段包括包含 SEQ ID NO: 274 之 HCVR 及包含 SEQ ID NO: 282 之 LCVR。

【0165】 在一個實施例中，IL-33 拮抗劑為稱作 REGN3500 之 IL-33 抗體，其包含具有 SEQ ID NO: 274 之胺基酸序列之 HCVR 及具有 SEQ ID NO: 282 之胺基酸序列之 LCVR 及分別具有 SEQ ID NO: 276-278-280 之胺基酸序列之重鏈互補決定區(HCDR1-HCDR2-HCDR3)及分別具有 SEQ ID NO: 284-286-288 之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(LCDR1-LCDR2-LCDR3)。

【0166】 可用於本文所闡述方法中之其他抗 IL-33 抗體及其抗原結合片

段揭示於 EP1725261、US8187596、WO2011031600、WO2015099175、WO2015106080 (ANB020)、US2016/0168242、WO2016/077381、WO2016/077366 或 WO2016/156440 中，該等案件各自以全文引用方式併入本文中。

IL-33 阱

【0167】 根據某些實施例，可在本發明背景下使用之 IL-33 拮抗劑或抑制劑係基於 IL-33 受體之阱，例如本文所闡述之彼等。

【0168】 本文所闡述之 IL-33 阱包含至少一個 IL-33 結合結構域，該結構域包含 IL-33 受體蛋白(命名為 ST2)之 IL-33 結合部分。在某些實施例中，IL-33 阱進一步包含 IL-33 共受體(命名為 IL-1 受體輔助蛋白或 IL-1RAcP)之細胞外部分。IL-33 阱亦可含有至少一種多聚化組分，該組分用於使該阱之多種組分彼此連接。IL-33 阱之多種組分闡述於下文中且顯示於圖 1 中。

【0169】 在一個實施例中，用於本發明方法中之本文所述之 IL-33 阱揭示於 US2014/0271642 及 WO2014/152195 中，該等案件以全文引用方式併入本文中。

【0170】 簡言之，IL-33 阱包含附接至多聚化結構域(M)之第一 IL-33 結合結構域(D1)。在某些實施例中，本發明之 IL-33 拮抗劑包含附接至 D1 及/或 M 之第二 IL-33 結合結構域(D2)。根據某些實施例，D1 包含 ST2 蛋白之 IL-33 結合部分。根據某些實施例，D2 包含 IL-1RAcP 蛋白之細胞外部分。

【0171】 IL-33 阱之個別組分可相對於彼此以多種使得功能拮抗劑分子能結合 IL-33 之方式佈置。例如，D1 及/或 D2 可附接至 M 之 N 末端。在其他實施例中，D1 及/或 D2 附接至 M 之 C 末端。在再其他實施例中，D1 附接至 D2 之 N 末端，且 D2 附接至 M 之 N 末端，從而引起自由式 D1-D2-M 表示之拮抗劑分子之 N 末端至 C 末端之串聯式融合(in-line fusion)。個別組分之其他定向於本文別處於圖 1 中揭示。

【0172】 用於本發明方法中之 IL-33 阱之非限制性實例顯示於表 3a 及 3b 中，且包括命名為「hST2-hFc」、「hST2-mFc」、「hST2-hIL1RAcP-mFc」、「hST2-hIL1RAcP-hFc」及「mST2-mIL1RAcP-mFc」之 IL-33 阱。此等分別對應於 SEQ ID NO: 323、324、325、326 及 327。本發明包括具有與本文所述之例示性的基於 IL-33 受體之阱(例如 SEQ ID NO: 323、324、325、326 及 327)中之任一者至少 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致之胺基酸序列的基於 IL-33 受體之阱。

【0173】 可使用標準分子生物技術(例如，重組體 DNA 技術)來構築本發明 IL-33 阱或其變體中之任一者。

【0174】 用於本發明方法中之 IL-33 阱包含至少一個 IL-33 結合結構域(在本文中有時以名稱「D」或「D1」、「D2」等來提及)。在某些實施例中，IL-33 結合結構域包含 ST2 蛋白之 IL-33 結合部分。ST2 蛋白之 IL-33 結合部分可包含 ST2 蛋白之所有或一部分細胞外結構域或由其組成。在某些實施例中，ST2 蛋白為人類 ST2 蛋白。如本文所用「人類 ST2 蛋白」係指如登錄號 NP_057316.3 之胺基酸 1-556 中所顯示(亦顯示為 SEQ ID NO: 352)之 ST2 蛋白。在某些實施例中，ST2 蛋白為來自非人類物種之 ST2 蛋白(例如，小鼠 ST2、猴 ST2 等)。ST2 蛋白之例示性 IL-33 結合部分在本文闡述為 SEQ ID NO: 328 之胺基酸序列(對應於人類 ST2 之細胞外結構域[NCBI 登錄號 NP_057316.3 之 K19-S328])。ST2 蛋白之 IL-33 結合部分之其他實例在本文闡述為 SEQ ID NO:329 之胺基酸序列(對應於小鼠 ST2 之細胞外結構域[NCBI 登錄號 P14719 之 S27-R332])。

【0175】 在某些實施例中，IL-33 結合結構域包含 IL-1RAcP 蛋白之細胞外部分。在某些實施例中，IL-1RAcP 蛋白為人類 IL-1RAcP 蛋白。如本文所用「人類 IL-1RAcP 蛋白」係指具有 SEQ ID NO:353 之胺基酸序列之 IL-1RAcP 蛋白。在某些實施例中，IL-1RAcP 蛋白為來自非人類物種之

IL-1RAcP 蛋白(例如，小鼠 IL-1RAcP、猴 IL-1RAcP 等)。IL-1RAcP 蛋白之例示性細胞外部分在本文闡述為 SEQ ID NO:330 之胺基酸序列(對應於人類 IL-1RAcP 之細胞外結構域[NCBI 登錄號 Q9NPH3 之 S21-E359])。IL-1RAcP 蛋白之細胞外部分之另一實例在本文闡述為 SEQ ID NO:331 之胺基酸序列(對應於小鼠 IL-1RAcP 之細胞外結構域[NCBI 登錄號 Q61730 之 S21-E359])。

【0176】 本發明包括包含 D1 及/或 D2 組分之 IL-33 拮抗劑，該等 D1 及/或 D2 組分具有與本文所述之例示性 IL-33 結合結構域組分胺基酸序列(例如，SEQ ID NO: 328、329、330 及 331)中之任一者至少 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致之胺基酸序列。

【0177】 本發明之 IL-33 拮抗劑亦包含至少一個多聚化結構域(在本文中有時以縮寫「M」、「M1」、「M2」等來提及)。概括而言，本發明之多聚化結構域用於使 IL-33 拮抗劑之多種組分(例如，IL-33 結合結構域)彼此連接。如本文所用，「多聚化結構域」係任何能(共價或非共價地)與相同或類似結構或組分之第二巨分子締合之巨分子。例如，多聚化結構域可為包含免疫球蛋白 C_H3 結構域之多肽。多聚化結構域之非限制性實例係免疫球蛋白之 Fc 部分，例如，選自以下之 IgG 之 Fc 結構域：同型 IgG1、IgG2、IgG3 及 IgG4 以及每一同型組內之任一異型。

【0178】 可用於本發明 IL-33 拮抗劑中之非限制性例示性多聚化結構域包括人類 IgG1 Fc (SEQ ID NO:332)或小鼠 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)。本發明包括包含 M 組分之 IL-33 拮抗劑，該等 M 組分具有與本文所述之例示性 M 組分胺基酸序列(例如，SEQ ID NO:332 或 333)中之任一者至少 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%一致之胺基酸序列。

【0179】 在某些實施例中，本發明之 IL-33 拮抗劑包含兩個多聚化結構域 M1 及 M2，其中 M1 及 M2 彼此一致。例如，M1 可為具有特定胺基酸序列

之 Fc 結構域，且 M2 為具有與 M1 相同之胺基酸序列之 Fc 結構域。

【0180】 本發明之 IL-33 拮抗劑之個別組分(例如，D1、D2、M 等)可相對於彼此以多種方式佈置。所有上述佈置之非限制性實例示意性地闡釋於圖 1 中。

【0181】 用於本發明方法中之包含兩個多聚化結構域(M1 及 M2)及四個 IL-33 結合結構域(D1、D2、D3 及 D4)之 IL-33 阱之非限制性闡釋性實例亦顯示於圖 1 佈置 C 及 D 中。

【0182】 本發明之 IL-33 阱之個別組分(例如，D1、D2、M1、M2 等)可彼此直接附接(例如，D1 及/或 D2 可直接附接至 M 等)；或者，該等個別組分可經由連接體組分彼此附接(例如，D1 及/或 D2 可經由在個別組分之間定向之連接體附接至 M；D1 可經由連接體附接至 D2；等)。在本文所揭示佈置中之任一者中，其中一種組分闡述為「附接」至另一組分，該附接可經由連接體(即使未特定指定如此)。如本文所用，「連接體」係任何將兩種多肽組分接合在一起之分子。

【0183】 用於本發明方法中之 IL-33 阱之生物特徵闡述於 US2014/0271642 及 WO2014/152195 中，該等案件係以全文引用方式併入本文中。

其他 IL-33 拮抗劑

【0184】 結合 IL-33 及/或其受體(ST2 及/或 IL-1 RAcP)且阻斷配體-受體相互作用之多肽被視為 IL-33 拮抗劑且揭示於 WO2014/152195 中，該案係以全文引用方式併入。可用作 IL-33 拮抗劑且可用於本發明方法中之其他藥劑包括免疫黏附素、肽體及可溶性 ST2 或其衍生物；抗 IL-33 受體抗體(例如，抗 ST2 抗體，例如，AMG-282 (Amgen)或 STLM15 (Janssen)或闡述於 WO2012/113813、WO 2013/173761、WO 2013/165894、US8,444,987 或 US7,452,980 中之任一抗 ST2 抗體，該等案件各自以全文引用方式併入本文

中。用於本發明方法中之其他 IL-33 拮抗劑包括 ST2-Fc 蛋白質，例如闡述於 WO2013/173761 或 WO 2013/165894 中之彼等，該等案件各自以全文引用方式併入本文中。

IL-4R 拮抗劑

【0185】 如本文所用，「IL-4R 拮抗劑」(在本文亦稱作「IL-4R 抑制劑」、「IL-4R α 拮抗劑」、「IL-4R 阻斷劑」、「IL-4R α 阻斷劑」等)係任何結合至 IL-4R α 或 IL-4R 配體或與該配體發生相互作用且抑制或減弱第 1 型及/或第 2 型 IL-4 受體之正常生物信號傳導功能之藥劑。如本文所用術語「人類 IL-4R」或「hIL-4R」係指具有 SEQ ID NO: 347 之胺基酸序列之 IL-4R 或其生物活性片段。第 1 型 IL-4 受體係包含 IL-4R α 鏈及 γ c 鏈之二聚體受體。第 2 型 IL-4 受體係包含 IL-4R α 鏈及 IL-13R α 1 鏈之二聚體受體。第 1 型 IL-4 受體與 IL-4 發生相互作用且受 IL-4 刺激，而第 2 型 IL-4 受體與 IL-4 及 IL-13 發生相互作用且受 IL-4 及 IL-13 刺激。因此，可用於本發明方法中之 IL-4R 拮抗劑可藉由阻斷 IL-4 介導之信號傳導、IL-13 介導之信號傳導或 IL-4 及 IL-13 介導之信號傳導來起作用。本發明之 IL-4R 拮抗劑可由此阻止 IL-4 及/或 IL-13 與第 1 型或第 2 型受體發生相互作用。

【0186】 IL-4R 拮抗劑之類別之非限制性實例包括小分子 IL-4R 拮抗劑、IL-4R 表現或活性之基於核酸之抑制劑(例如，siRNA 或反義)、與 IL-4R 特異性相互作用之基於肽之分子(例如，肽體)、「受體體」(例如，包含 IL-4R 組分之配體-結合結構域之經改造分子)、IL-4R 結合支架分子(例如，DARPin、HEAT 重複蛋白、ARM 重複蛋白、三角形四肽重複蛋白、基於纖維網蛋白之支架構築體及基於天然重複蛋白之其他支架等[例如參見，Boersma 及 Pluckthun, 2011, *Curr. Opin. Biotechnol.* 22:849-857，及其中所引用之參考文獻])及抗 IL-4R 適配體或其部分。根據某些實施例，可在本發明之背景下使用之 IL-4R 拮抗劑係特異性結合人類 IL-4R 之抗 IL-4R 抗體或抗體之抗原

結合片段。

【0187】 在一個實施例中，用於本發明方法中之揭示於本文中之抗 IL-4R 抗體係杜匹魯單抗(亦參見美國專利第 7,605,237 號；第 7,608,693 號及第 9,290,574 號)。

抗 IL-4R 抗體

【0188】 根據本發明之某些例示性實施例，IL-4R 拮抗劑係特異性結合至 IL-4R α 之抗 IL-4R α 抗體或其抗原結合片段。術語「特異性結合」或諸如此類意味著抗體或其抗原結合片段與抗原形成在生理學條件下相對穩定之複合物。用於確定抗體是否特異性結合至抗原之方法為業內熟知且包括(例如)平衡透析、表面電漿共振及諸如此類。例如，如在本發明背景下使用之「特異性結合」IL-4R α 之抗體包括以如下 K_D 結合 IL-4R α 或其生物活性部分之抗體：小於約 1000 nM、小於約 500 nM、小於約 300 nM、小於約 200 nM、小於約 100 nM、小於約 90 nM、小於約 80 nM、小於約 70 nM、小於約 60 nM、小於約 50 nM、小於約 40 nM、小於約 30 nM、小於約 20 nM、小於約 10 nM、小於約 5 nM、小於約 4 nM、小於約 3 nM、小於約 2 nM、小於約 1 nM 或小於約 0.5 nM，如在表面電漿共振分析中所量測。然而，特異性結合人類 IL-4R α 之單離抗體可與其他抗原(例如來自其他(非人類)物種之 IL-4R α 分子)具有交叉反應性。

【0189】 根據本發明之某些例示性實施例，IL-4R 拮抗劑為抗 IL-4R α 抗體或其抗原結合片段，該抗原結合片段包括包含如美國專利第 7,605,237 號及第 7,608,693 號中所闡述之抗 IL-4R 抗體之任一胺基酸序列之重鏈可變區(HCVR)、輕鏈可變區(LCVR)及/或互補決定區(CDR)。在某些實施例中，IL-4R 拮抗劑係具有參考抗體(在本文稱作杜匹魯單抗)(參見 US7,605,237 及 US7,608,693)之結合特徵之抗 IL-4R 抗體。在某些例示性實施例中，可在本發明方法之背景下使用之抗 IL-4R α 抗體或其抗原結合片段包含包含 SEQ

ID NO: 337 之胺基酸序列之重鏈可變區(HCVR)之重鏈互補決定區(HCDR)及包含 SEQ ID NO: 338 之胺基酸序列之輕鏈可變區(LCVR)之輕鏈互補決定區(LCDR)。根據某些實施例，抗 IL-4R α 抗體或其抗原結合片段包含三個 HCDR (HCDR1、HCDR2 及 HCDR3)及三個 LCDR (LCDR1、LCDR2 及 LCDR3)，其中 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 339 之胺基酸序列；HCDR2 包含 SEQ ID NO: 340 之胺基酸序列；HCDR3 包含 SEQ ID NO: 341 之胺基酸序列；LCDR1 包含 SEQ ID NO: 342 之胺基酸序列；LCDR2 包含 SEQ ID NO: 343 之胺基酸序列；且 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 344 之胺基酸序列。在再其他實施例中，抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包括包含 SEQ ID NO: 337 之 HCVR 及包含 SEQ ID NO: 338 之 LCVR。在再其他實施例中，抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包括包含 SEQ ID NO: 335 之 HCVR 及包含 SEQ ID NO: 336 之 LCVR。在再其他實施例中，抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含如 SEQ ID NO: 345 中所闡述之重鏈(HC)胺基酸序列及如 SEQ ID NO: 346 中所闡述之輕鏈(LC)胺基酸序列。根據某些例示性實施例，本發明方法包括在業內以杜匹魯單抗提及並知曉之抗 IL-4R α 抗體或其生物等效物之使用。杜匹魯單抗包含具有 SEQ ID NO: 337 之胺基酸序列之 HCVR 及具有 SEQ ID NO: 338 之胺基酸序列之 LCVR 及分別具有 SEQ ID NO: 339-340-341 之胺基酸序列之重鏈互補決定區(HCDR1-HCDR2-HCDR3)及分別具有 SEQ ID NO: 342-343-344 之胺基酸序列之輕鏈互補決定區(LCDR1-LCDR2-LCDR3)。

【0190】 可在本發明方法之背景下使用之其他抗 IL-4R α 抗體包括(例如)在業內以 AMG317 提及及知曉之抗體(Corren 等人，2010, *Am J Respir Crit Care Med.*, 181(8):788-796)或 MEDI 9314，或如美國專利第 7,186,809 號、美國專利第 7,605,237 號、美國專利第 7,638,606 號、美國專利第 8,092,804 號、美國專利第 8,679,487 號或美國專利第 8,877,189 號中所闡述之任一抗 IL-4R α 抗體。

抗 IL-4 及/或抗 IL-33 抗體之 pH 依賴性特徵

【0191】 在本發明方法之背景下使用之抗 IL-4R α 及 IL-33 抗體可具有 pH 依賴性結合特徵。例如，與中性 pH 相比，在酸性 pH 下用於本發明方法中之抗 IL-4R α 抗體或抗 IL-33 抗體可分別展現降低之與 IL-4R α 或 IL-33 之結合。或者，與中性 pH 相比，在酸性 pH 下本發明之抗 IL-4R α 抗體或本發明之抗 IL-33 抗體可展現增強之與其抗原之結合。表述「酸性 pH」包括小於約 6.2 之 pH 值，例如，約 6.0、5.95、5.9、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0 或更小。如本文所用，表述「中性 pH」意指約 7.0 至約 7.4 之 pH。表述「中性 pH」包括約 7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35 及 7.4 之 pH 值。

【0192】 在某些情形中，「與中性 pH 相比在酸性 pH 下與 IL-4R α 之結合降低」或「與中性 pH 相比在酸性 pH 下與 IL-33 之結合降低」係以在酸性 pH 下抗體分別結合至 IL-4R α 或 IL-33 之 K_D 值對在中性 pH 下抗體分別結合至 IL-4R α 或 IL-33 之 K_D 值之比率來表述(或反之亦然)。例如，出於本發明之目的，若抗體或其抗原結合片段展現約 3.0 或更大之酸性/中性 K_D 比，則該抗體或其抗原結合片段可視為展現「與中性 pH 相比在酸性 pH 下與 IL-4R α 之結合降低」或「與中性 pH 相比在酸性 pH 下與 IL-33 之結合降低」。在某些例示性實施例中，本發明之抗體或抗原結合片段之酸性/中性 K_D 比可為約 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5、14.0、14.5、15.0、20.0、25.0、30.0、40.0、50.0、60.0、70.0、100.0 或更大。

【0193】 具有 pH 依賴性結合特徵之抗體可藉由(例如)篩選與中性 pH 相比在酸性 pH 下與特定抗原之結合降低(或增強)之抗體群體獲得。另外，在胺基酸層面上修飾抗原結合結構域可得到具有 pH 依賴性特徵之抗體。例如，藉由用組胺酸殘基取代抗原結合結構域(例如，在 CDR 內)之一或多個

胺基酸，可獲得相對於中性 pH 在酸性 pH 下具有降低之抗原結合之抗體。如本文所用，表述「酸性 pH」意指 6.0 或更小之 pH。

用於組合療法中之 IL-33 及 IL-4R 拮抗劑之生物效應

【0194】 本發明包括 IL-33 拮抗劑與 IL-4R 拮抗劑組合用於治療發炎症狀之用途。在一個實施例中，與當單獨使用每一抗體作為單一療法時所獲得之結果相比，在動物纖維變性及肺發炎模型中與抗 IL4R 抗體組合使用抗 IL-33 抗體展示增強之功效。

【0195】 例如，在本文所闡述之動物模型(稱作肺發炎及纖維變性之屋塵蟎(HDM)模型)中，肺中某些細胞介素之含量顯著升高。此包括 IL-4、IL-5、IL-6、IL-1 β 及 MCP-1 之升高。在投與屋塵蟎過敏原之後小鼠肺中 IL-13 及 TNF α 之含量亦有增加之趨勢。然而，當在此模型中測試時，IL-33 抗體及 IL-4R 抗體之組合使用可降低經治療小鼠之肺中細胞介素 IL-4、IL-5、IL-6、IL-13、IL-1 β 、MCP-1 及 TNF α 之含量。利用抗 IL-33 及抗 IL-4R 抗體之組合所觀察到之對肺細胞介素含量之效應大於任一個別抗體在單獨使用時之治療，如實例 4 中所顯示。

【0196】 另外，在接受屋塵小鼠過敏原之小鼠中，細胞介素基因、趨化介素基因及膠原蛋白基因(包括 *Il4*、*Il13*、*Il6*、*Ccl2*、*Tgfb1*、*Il13ra2* 及 *Col24a1*) 之含量升高。此模型中存在 *Il5*、*Il9*、*Ccl11*、*Ccl24*、*Tnf*、*Il1rl1* 及 *Coll5a1* 之含量增加之趨勢。與利用任一單獨抗體之治療所觀察到之程度相比，在利用抗 IL-33 抗體及抗 IL-4R 抗體之組合治療之後，*Il6*、*Ccl2*、*Ccl11* 及 *Ccl24* 之表現顯著降低。與利用任一單獨抗體之治療相比，當用抗 IL-33 抗體加抗 IL-4R 抗體治療小鼠時，亦存在 *Il4*、*Il5*、*Il13*、*Il9*、*Tnf*、*Tgfb1*、*Il1rl1*、*Il13ra2*、*Coll5a1* 及 *Col24a1* 降低之趨勢。

【0197】 當在屋塵蟎模型中對肺細胞浸潤進行分析時，觀察到與抗 IL-33 加抗 IL-4R 抗體之組合使用相關之另一生物效應。如實例 4 中所顯示，在接

受屋塵蟎過敏原之小鼠中，嗜酸性球、經活化 B 細胞、經活化 CD8 細胞、ST2+CD4+ T 細胞之頻率及 CD4/CD8 T 細胞比率顯著更高。在給予屋塵蟎過敏原之小鼠之肺中亦存在經活化 CD4+ T 細胞之頻率增加之趨勢。與當單獨使用任一抗體時所觀察到者相比，在經抗 IL-33 抗體加抗 IL-4R 抗體治療之小鼠中存在嗜酸性球、經活化 B 細胞、經活化 CD8 細胞、ST2+CD4+ T 細胞之頻率及 CD4/CD8 T 細胞比率降低之趨勢。

【0198】 另外，接受屋塵蟎過敏原之小鼠亦顯示其肺中杯狀細胞化生之增加。類似地，在此小鼠模型中亦存在肺實變(肺泡空間中固體或液體物質之累積)及上皮下纖維變性(肺上皮下方過量間質膠原蛋白沈積)之增加。與當單獨使用兩種抗體中之任一者時所觀察到之結果相比，用抗 IL-33 抗體與抗 IL-4R 抗體之組合治療該等小鼠可引起杯狀細胞化生及上皮下膠原蛋白厚度之減少及肺實變之顯著減少。

【0199】 接受屋塵蟎過敏原之小鼠亦展示循環 IgE 含量之增加以及屋塵蟎(HDM)特異性 IgG1 增加之趨勢。與當單獨使用任一抗體時所觀察到之 IgE 及 HDM 特異性 IgG1 之含量相比，投與抗 IL-33 抗體及 IL-4R 抗體二者引起血清 IgE 含量之顯著降低及 HDM 特異性 IgG1 降低之趨勢。

【0200】 作為組合療法用於治療發炎肺病症或症狀之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑(例如本文所闡述之抗體)可抑制或減弱 IL-33 介導之信號傳導及 IL-4R 介導之信號傳導且其在本文所闡述之 HDM 模型中可展現所觀察到之生物性質中之一或多者，例如，(1)在哺乳動物中由於暴露於過敏原而升高之細胞介素含量(例如 IL-4 或 IL-5)降低；(2)對由短期或長期暴露於過敏原(例如屋塵蟎(HDM))引起之肺發炎之抑制；(3)由短期或長期暴露於過敏原(例如屋塵蟎(HDM))引起之細胞肺浸潤之減少；(4)複雜性肺整體病理學之改良。

【0201】 量測 IL-33 介導之信號傳導或 IL-4R 介導之信號傳導之抑制可在

基於細胞之生物分析中量測，且意味著抗 IL-33 抗體或其抗原結合片段或抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段抑制或減少在表現 IL-33 受體或 IL-4 受體及因應 IL-33 結合或 IL-4 結合產生可檢測信號之報導子元件之細胞中產生之信號。例如，本發明包括以如下 IC₅₀ 分別阻斷表現人類 ST2 之細胞中或表現 IL-4 受體之細胞中 IL-33 介導之信號傳導或 IL-4 介導之信號傳導之抗體及其抗原結合片段：小於約 2 nM、小於約 1 nM、小於約 900 pM、小於約 800 pM、小於約 700 pM、小於約 600 pM、小於約 500 pM、小於約 400 pM、小於約 350 pM、小於約 300 pM、小於約 250 pM、小於約 200 pM、小於約 150 pM、小於約 100 pM、小於約 90 pM、小於約 80 pM、小於約 70 pM、小於約 60 pM、小於約 50 pM、小於約 40 pM、小於約 30 pM、小於約 20 pM 或小於約 10 pM，如在基於細胞之阻斷生物分析中所量測。

【0202】 本發明之抗體可展示上述生物效應中之一或多者或其任一組合。熟習此項技術者根據本發明之綜述(包括本文之工作實例)將明瞭本發明抗體之其他生物效應。與 IL-4 拮抗劑組合使用其他 IL-33 拮抗劑可展示類似效應。

醫藥組合物及投與

【0203】 本發明提供包含本發明之 IL-33 拮抗劑及/或 IL-4R 拮抗劑之醫藥組合物。IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑可在分開組合物中調配，或其可在一種組合物中共調配。將本發明醫藥組合物與適宜載劑、賦形劑及其他提供改良之轉移、遞送、耐受性及諸如此類之試劑一起調配。大量適當調配物可參見所有醫藥化學家已知之處方集：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA。該等調配物包括(例如)粉劑、糊劑、軟膏劑、凝膠劑、蠟狀物、油狀物、脂質、含有脂質(陽離子或陰離子)之囊泡(例如 LIPOFECTIN™, Life Technologies, Carlsbad, CA)、DNA 偶聯物、無水吸收糊劑、水包油及油包水乳液、乳液 carbowax (多個分子重

量之聚乙二醇)、半固體凝膠及含有 carbowax 之半固體混合物。亦參見 Powell 等人「Compendium of excipients for parenteral formulations」PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

【0204】 投與患者之抗體之劑量可端視患者之年齡及體型、目標疾病、症狀、投與途徑及諸如此類而變化。較佳劑量通常係根據體重或體表面積來計算。當使用本發明抗體來治療成年患者中與 IL-33 活性及/或 IL-4 相關之症狀或疾病時，可有利地靜脈內投與本發明之抗體，其通常以約 0.01 mg/kg 體重至約 20 mg/kg 體重、更佳地約 0.02 mg/kg 體重至約 7 mg/kg 體重、約 0.03 mg/kg 體重至約 5 mg/kg 體重或約 0.05 mg/kg 體重至約 3 mg/kg 體重之單一劑量投與。端視症狀之嚴重性，可調節治療之頻率及持續時間。投與抗 IL-33 抗體之有效劑量及時間表可憑經驗來確定；例如，可藉由定期評估來監測患者進展，且因此調節劑量。此外，可使用業內熟知之方法來實施劑量之種間比例縮放(例如，Mordenti 等人，1991, *Pharmaceut. Res.* 8:1351)。

【0205】 多種遞送系統為人已知且可用於投與本發明醫藥組合物，例如，脂質體、微粒、微膠囊包裹、能表現突變病毒之重組細胞、受體介導之胞吞作用(例如參見，Wu 等人，1987, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432)。引入方法包括(但不限於)皮內、肌內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻內、硬膜外及經口途徑。組合物可藉由任一便捷途徑來投與，例如藉由輸注或濃注注射，藉由經由上皮或皮膚黏膜內襯(例如，口腔黏膜、直腸及腸黏膜等)吸收，且可與其他生物活性劑一起投與。投與可為全身性或局部的。

【0206】 本發明醫藥組合物可利用標準針頭及注射器經皮下或靜脈內來遞送。另外，就皮下遞送而言，筆型遞送裝置可容易地用於遞送本發明醫藥組合物。此一筆型遞送裝置可為可重複使用的或拋棄式的。可重複使用之筆型遞送裝置通常利用含有醫藥組合物之可替換筒柱。在筒柱內之所有

醫藥組合物皆投與且筒柱變空之後，變空筒柱可便於丟棄並被含有醫藥組合物之新筒柱替代。筆型遞送裝置然後可重複使用。在拋棄式筆型遞送裝置中，不存在可替換筒柱。而是，拋棄式筆型遞送裝置預裝有裝在裝置內之貯存器中的醫藥組合物。在將貯存器之醫藥組合物卸空之後，丟棄整個裝置。

【0207】 眾多可重複使用之筆型及自動注射器型遞送裝置可用於皮下遞送本發明醫藥組合物。實例包括(但不限於) AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC™ 筆 (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™ 筆、HUMALOG™ 筆、HUMALIN 70/30™ 筆 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN™ I、II 及 III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD™ 筆 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™ 及 OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)，不一而足。可用於遞送本發明醫藥組合物之拋棄式筆型遞送裝置之實例包括(但不限於) SOLOSTAR™ 筆 (sanofi-aventis)、FLEXPEN™ (Novo Nordisk) 及 KWIKPEN™ (Eli Lilly)、SURECLICK™ 自動注射器 (Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.) 及 HUMIRA™ 筆 (Abbott Labs, Abbott Park IL)，不一而足。

【0208】 在某些情形中，可在控釋系統中遞送醫藥組合物。在一個實施例中，可使用幫浦(參見 Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201)。在另一實施例中，可使用聚合物材料；參見 Medical Applications of Controlled Release, Langer 及 Wise (編輯), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida。在又一實施例中，可將控釋系統置於組合物靶附近，因此僅需要全身劑量之一部分(例如，參見 Goodson, Medical Applications of Controlled

Release, 同上, 第 2 卷, 第 115-138 頁(1984))。其他控釋系統論述於 Langer, 1990, Science 249:1527-1533 之綜述中。

【0209】 可注射製劑可包括用於靜脈內、皮下、皮內及肌內注射、點滴輸注等之劑型。該等可注射製劑可藉由公知之方法來製備。例如, 可藉由(例如)在注射習用之無菌水性介質或油性介質中溶解、懸浮或乳化上述抗體或其鹽來製備可注射製劑。作為注射用之水性介質, 存在(例如)生理鹽水、含有葡萄糖及其他輔助劑之等滲溶液等, 其可與適當增溶劑(例如醇(例如, 乙醇)、多元醇(例如, 丙二醇、聚乙二醇))、非離子表面活性劑[例如, 聚山梨酯 80、HCO-50 (氫化蓖麻油之聚氧乙烯(50 mol)加合物)]等組合使用。作為油性介質, 可採用(例如)芝麻油、大豆油等, 其可與諸如苯甲酸苄酯、苄醇等之增溶劑組合使用。由此製備之注射劑較佳地填充在適當安瓿中。

【0210】 有利地, 將上述用於經口或非經腸使用之醫藥組合物製備成呈適於適合活性成分之劑量之單位劑量的劑型。該等呈單位劑量之劑型包括(例如)錠劑、丸劑、膠囊、注射劑(安瓿)、栓劑等。單位劑量中所含有之上述拮抗劑之量通常為約 5 mg/劑型至約 500 mg/劑型; 尤其在注射劑形式之情況下, 較佳地上述拮抗劑係以約 5 mg 至約 100 mg 包含在內, 且對於其他劑型該等拮抗劑係以約 10 mg 至約 250 mg 包含在內。

劑量

【0211】 根據本發明方法投與個體之 IL-33 及 IL-4R 拮抗劑之量通常為治療有效量。如本文所用, 片語「治療有效量」意指 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑在組合使用時引起以下中之一或多者顯著變化之量: (a)發炎之預防; (b)發炎之治療或發炎嚴重性之降低; (c) 以下中之一或多者之頻率降低: 肺中嗜酸性球、經活化 B 細胞、經活化 CD8 T 細胞; 或 CD4/CD8 T 細胞比率降低; (d)以下中之一或多者之降低: 肺中介白素-1 β (IL-1 β)含量、介白素-4 (IL-4)含量、介白素-5 (IL-5)含量、介白素-6 (IL-6)含量、介白素-13 (IL-13)

含量、單核球趨化蛋白-1 (MCP-1)含量或腫瘤壞死因子 α (TNF α)含量；(e) 以下中之一或多者之基因表現程度之降低：肺中之 *Il4*、*Il5*、*Il6*、*Il9*、*Il13*、*Il1rl1*、*Il13ra2*、*tnf*、*Tgfb1*、*Ccl2*、*Ccl11*、*Ccl24*、*Col15a1* 或 *Col24a1*；(f) 血清 IgE 含量之降低；(g)肺中杯狀細胞化生之降低；或(h)肺實變之降低，如本文所闡述。儘管投與任一單獨 IL-33 拮抗劑或單獨 IL-4R 拮抗劑可引起積極治療效應(如使用一或多個上述參數所量測)，但與使用利用單獨 IL-33 拮抗劑或單獨 IL-4R 拮抗劑之單一療法所觀察到者相比，組合使用 IL-33 及 IL-4R 拮抗劑將顯示該等參數中之任一或多者之顯著改良(例如加性或協同效應)。

【0212】 在 IL-33 拮抗劑或 IL-4R 拮抗劑之情形下，治療有效量可為約 0.05 mg 至約 600 mg，例如，約 0.05 mg、約 0.1 mg、約 1.0 mg、約 1.5 mg、約 2.0 mg、約 10 mg、約 20 mg、約 30 mg、約 40 mg、約 50 mg、約 60 mg、約 70 mg、約 80 mg、約 90 mg、約 100 mg、約 110 mg、約 120 mg、約 130 mg、約 140 mg、約 150 mg、約 160 mg、約 170 mg、約 180 mg、約 190 mg、約 200 mg、約 210 mg、約 220 mg、約 230 mg、約 240 mg、約 250 mg、約 260 mg、約 270 mg、約 280 mg、約 290 mg、約 300 mg、約 310 mg、約 320 mg、約 330 mg、約 340 mg、約 350 mg、約 360 mg、約 370 mg、約 380 mg、約 390 mg、約 400 mg、約 410 mg、約 420 mg、約 430 mg、約 440 mg、約 450 mg、約 460 mg、約 470 mg、約 480 mg、約 490 mg、約 500 mg、約 510 mg、約 520 mg、約 530 mg、約 540 mg、約 550 mg、約 560 mg、約 570 mg、約 580 mg、約 590 mg 或約 600 mg。在某些實施例中，與 IL-33 拮抗劑組合將 75 mg、150 mg、200 mg 或 300 mg IL-4R 拮抗劑投與個體。在某些實施例中，與 IL-4R 拮抗劑組合將 75 mg、150 mg、200 mg 或 300 mg IL-33 拮抗劑投與個體。

【0213】 含於個別劑量內之 IL-33 拮抗劑或 IL-4R 拮抗劑之量可以毫克抗

體/公斤患者體重(亦即，mg/kg)表示。例如，可將 IL-33 拮抗劑或 IL-4R 拮抗劑以約 0.0001 mg/kg 至約 25 mg/kg 患者體重之劑量投與患者。在某些實施例中，可將 IL-4R 及 IL-33 拮抗劑中之每一者以約 0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、1.0 mg/kg、3.0 mg/kg 或 10 mg/kg 之劑量投與。

【0214】 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之組合可經皮下、靜脈內、肌內或鼻內投與個體。其可同時或依序投與。

抗體之治療用途

【0215】 本發明者實施之使用小鼠模型系統之實驗有助於鑑別多種可藉由組合之 IL-33 及 IL-4R 拮抗作用來治療、預防及/或改善之疾病及症狀。例如，在肺發炎及纖維變性之屋塵蟎模型中，與當單獨使用每一抗體作為單一療法時所獲得之結果相比，利用 IL-33 抗體及 IL-4R 抗體之組合治療可降低肺中之細胞介素含量、減少肺中之肺細胞浸潤(嗜酸性球、經活化 B 細胞、經活化 CD8 陽性細胞、ST2+CD4+ T 細胞及 CD4/CD8 T 細胞比率)，以及改良肺實變及上皮下纖維變性。

【0216】 本發明之抗體尤其可用於治療、預防及/或改善任何與 IL-33 表現及 IL-4 表現、信號傳導或活性相關或由其介導或可藉由阻斷 IL-33 與 IL-33 受體(例如，ST2)之間之相互作用或阻斷 IL-4 與 IL-4 受體之間之相互作用或以其他方式抑制 IL-33 及 IL-4 活性及/或信號傳導來治療的疾病或病症。在某些實施例中，IL-4R 拮抗劑為結合至 IL-4R α 或與其相互作用且如此阻斷經由 IL-4R 第 1 型及第 2 型受體之 IL-4 及 IL-13 信號傳導路徑之抗體。因此，與 IL-33 拮抗劑組合使用此雙重 IL-4 及 IL-13 拮抗劑在投與患有部分地由所有三條信號傳導路徑介導之發炎症狀之患者時可提供其他臨床益處。例如，本發明提供用於治療以下之方法：氣喘(過敏性氣喘、非過敏性氣喘、嚴重難治性氣喘、氣喘惡化、類固醇抗性或類固醇難治性氣喘、類固醇敏感性氣喘、嗜酸性球性氣喘或非嗜酸性球性氣喘等)、慢性阻塞性

肺病(COPD)及 COPD 惡化、氣喘及 COPD 重疊症候群(ACOS)、慢性支氣管炎、肺氣腫、過敏性肺炎、異位性皮膚炎、蕁麻疹、牛皮癬、過敏、過敏性鼻炎、伴或不伴鼻息肉之慢性鼻竇炎、嗜酸性球性食道炎、重度過敏、心血管疾病、中樞神經系統疾病、疼痛(包括發炎性疼痛)、關節炎(例如，類風濕性關節炎、骨關節炎、牛皮癬性關節炎等)、巨細胞動脈炎、血管炎(貝西氏病及許-施二氏症候群)、亨-舍二氏紫癥、多發性硬化、發炎性腸病症(例如克羅恩氏病或潰瘍性結腸炎)、狼瘡、修格連氏症候群及部分地由 IL-33 及/或 IL-4 信號傳導介導之其他發炎疾病或病症。

【0217】 本發明之抗體亦可用於治療、預防及/或改善一或多種纖維變性疾病或病症。可藉由投與本發明之抗 IL-33 及 IL-4R 拮抗劑治療之例示性纖維變性疾病或病症包括肺纖維變性(例如，特發性肺纖維變性、博來黴素誘導之肺纖維變性、石棉誘導之肺纖維變性及閉塞性細支氣管炎症候群)、與急性肺損傷及急性呼吸窘迫相關之纖維變性(例如，細菌性肺炎誘導之纖維變性、創傷誘導之纖維變性、病毒肺炎誘導之纖維變性、呼吸機誘導之纖維變性、非肺敗血症誘導之纖維變性及抽吸誘導之纖維變性)、矽肺病、輻射誘導之纖維變性、硬皮症、眼部纖維變性、皮膚纖維變性(例如，硬皮症)、肝纖維變性(例如，硬化、酒精誘導之肝纖維變性、非酒精性脂肪肝炎(NASH)、膽管損傷、原發性膽汁性硬化、感染誘導或病毒誘導之肝纖維變性、自體免疫肝炎、腎臟(腎)纖維變性、心臟纖維變性、動脈粥樣硬化、支架再狹窄及骨髓纖維變性。

【0218】 在本文所闡述之治療方法之背景下，抗 IL-33 抗體及 IL-4R 抗體可一起投與(亦即，作為唯一治療方案)或與一或多種其他治療劑(其實例在本文別處有闡述)組合。

組合療法

【0219】 本發明包括包含本文所述抗 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑中之任

一者之組合物及治療調配物與一或多種其他治療活性組分之組合之用途，及包括向有需要之個體投與該等組合之治療方法。如本文所用，表述「與.....組合」意味著該等其他治療劑係在包含 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之醫藥組合物之前、之後或同時投與。術語「與.....組合」亦包括 IL-4R 拮抗劑及 IL-33 拮抗劑及一或多種其他治療劑之依序或伴隨投與。本發明包括其中本發明之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑係與該一或多種其他治療活性組分中之一或多者共調配之醫藥組合物。

【0220】 例如，當在包含 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之醫藥組合物「之前」投與時，該其他治療劑可在投與包含 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之醫藥組合物之前約 72 小時、約 60 小時、約 48 小時、約 36 小時、約 24 小時、約 12 小時、約 10 小時、約 8 小時、約 6 小時、約 4 小時、約 2 小時、約 1 小時、約 30 分鐘、約 15 分鐘或約 10 分鐘投與。當在包含 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之醫藥組合物「之後」投與時，該其他治療劑可在投與包含 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之醫藥組合物之後約 10 分鐘、約 15 分鐘、約 30 分鐘、約 1 小時、約 2 小時、約 4 小時、約 6 小時、約 8 小時、約 10 小時、約 12 小時、約 24 小時、約 36 小時、約 48 小時、約 60 小時或約 72 小時投與。與包含 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之醫藥組合物「同時」投與意味著該其他治療劑係在投與包含 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之醫藥組合物少於 5 分鐘內(之前、之後或同時)在分開劑型中投與個體，或以同時包含該其他治療劑、IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之單一組合劑量調配物投與個體。

【0221】 其他治療劑可為(例如)另一 IL-33 拮抗劑、另一 IL-4R 拮抗劑、IL-1 拮抗劑(包括(例如)如 US 6,927,044 中所闡述之 IL-1 拮抗劑)、IL-6 拮抗劑、IL-6R 拮抗劑(包括(例如)如 US 7,582,298 中所闡述之抗 IL-6R 抗體)、IL-13 拮抗劑、TNF 拮抗劑、IL-8 拮抗劑、IL-9 拮抗劑、IL-17 拮抗劑、IL-5 拮抗劑(例如美泊利單抗(mepolizumab)或 NUCALA®)、IgE 拮抗劑(例如奧

馬佐單抗(omalizumab)或 XOLAIR®)、CD48 拮抗劑、IL-31 拮抗劑(包括(例如)如 US7,531,637 中所闡述者)、胸腺基質淋巴生成素(TSLP)拮抗劑(包括(例如)如 US 2011/027468 中所闡述者)、干擾素 γ (IFN γ)、抗生素、皮質類固醇(包括吸入皮質類固醇或 ICS)、長效 β 2 腎上腺素激動劑(LABA)、長效葦毒鹼拮抗劑(LAMA)、他克莫司(tacrolimus)、吡美莫司(pimecrolimus)、環孢菌素(cyclosporine)、硫唑嘌呤(azathioprine)、胺甲蝶呤(methotrexate)、色甘酸鈉、蛋白酶抑制劑、抗組胺或其組合。

投藥方案

【0222】 根據本發明之某些實施例，可經定義時程向個體投與多個劑量之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑(或包含 IL-33 拮抗劑、IL-4R 拮抗劑及任一本本文所提及之其他治療活性劑之組合之醫藥組合物)。本發明之此態樣之方法包括向個體依序投與多個劑量之本發明之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑。如本文所用，「依序投與」意指每一劑量之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑係在不同時間點(例如，在由預定間隔(例如，小時、天、週或月)分開之不同日期)投與個體。本發明包括包含向患者依序投與單一初始劑量之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑、隨後一或多個第二劑量之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑及視情況隨後一或多個第三劑量之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之方法。

【0223】 術語「初始劑量」、「第二劑量」及「第三劑量」係指本發明之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑投與之時間順序。因此，「初始劑量」係在開始治療方案時投與之劑量(亦稱作「基線劑量」)；「第二劑量」係在初始劑量之後投與之劑量；且「第三劑量」係在第二劑量之後投與之劑量。初始、第二及第三劑量可皆含有相同量之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑，但通常可在投與頻次方面彼此不同。然而在某些實施例中，在治療過程期間含於初始、第二及/或第三劑量內之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之量彼此不同(例如，上調或下調(若適當))。在某些實施例中，在治療方案開始作為「負

載劑量」投與兩個或更多個(例如，2 個、3 個、4 個或 5 個)劑量，隨後以較不頻繁之基礎投與後續劑量(例如，「維持劑量」)。

【0224】 在本發明之某些例示性實施例中，每一第二及/或第三劑量係在緊接於前面的劑量之後 1 週至 26 週(例如，1 週、1½週、2 週、2½週、3 週、3½週、4 週、4½週、5 週、5½週、6 週、6½週、7 週、7½週、8 週、8½週、9 週、9½週、10 週、10½週、11 週、11½週、12 週、12½週、13 週、13½週、14 週、14½週、15 週、15½週、16 週、16½週、17 週、17½週、18 週、18½週、19 週、19½週、20 週、20½週、21 週、21½週、22 週、22½週、23 週、23½週、24 週、24½週、25 週、25½週、26 週、26½週或更多週)投與。如本文所用片語「緊接於前面的劑量」意指在多次投與之序列中，在無介入劑量之序列中在投與下一緊接劑量之前投與患者之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑之劑量。

【0225】 根據本發明之此態樣之方法可包括向患者投與任一數量之第二及/或第三劑量之 IL-33 拮抗劑及 IL-4R 拮抗劑。例如，在某些實施例中，僅向患者投與單一第二劑量。在其他實施例中，向患者投與兩個或更多個(例如，2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個或更多個)第二劑量。同樣，在某些實施例中，僅向患者投與單一第三劑量。在其他實施例中，向患者投與兩個或更多個(例如，2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個或更多個)第三劑量。

【0226】 在涉及多個第二劑量之實施例中，每一第二劑量可以與其他第二劑量相同之頻率投與。例如，每一第二劑量可在緊接於前面的劑量之後 1 週至 2 週或 1 個月至 2 個月投與患者。類似地，在涉及多個第三劑量之實施例中，每一第三劑量可以與其他第三劑量相同之頻率投與。例如，每一第三劑量可在緊接於前面的劑量之後 2 週至 12 週投與患者。在本發明之某些實施例中，在治療方案之過程中投與患者之第二及/或第三劑量之頻率可變

化。醫師亦可在治療過程中端視臨床檢查後個別患者之需要來調節投與頻率。

【0227】 本發明包括如下投與方案：其中以第一頻率(例如，一週一次、每兩週一次、每三週一次、一月一次、每兩個月一次等)向患者投與 2 至 6 個負載劑量，隨後以較不頻繁之基礎向患者投與兩個或更多個維持劑量。例如，根據本發明之此態樣，若以一月一次之頻率投與負載劑量，那麼可每六週一次、每兩個月一次、每三個月一次等向患者投與維持劑量。

實例

【0228】 提出以下實例以便為熟習此項技術者提供如何製備及使用本發明方法及組合物之完整揭示內容及說明，且該等實例並非意欲限制本發明者視為其發明之範圍。已努力確保所用數值(例如量、溫度等)之精確性，但應計及一些誤差及偏差。除非另外指示，否則份數係重量份數，分子量係重量平均分子量，溫度係以攝氏度表示，且壓力為大氣壓力或接近大氣壓力。

實例 1. 針對人類 IL-33 之人類抗體之生成

【0229】 如美國專利第 9,453,072 號中所闡述來生成人類抗 IL-33 抗體。表 1 闡述所選抗 IL-33 抗體之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列對及 CDR 序列及其相應抗體標識符。表 2 闡述編碼所選抗 IL-33 抗體之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列對及 CDR 序列之核酸序列及其相應抗體標識符。

表 1 胺基酸序列標識符

抗體命名	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCD R2	LCDR 3
H1M9559N	2	4	6	8	10	12	14	16
H1M9566N	18	20	22	24	26	28	30	32
H1M9568N	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H9629P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H9633P	66	68	70	72	74	76	78	80

H4H9640P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H9659P	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H9660P	114	116	118	120	122	124	126	128
H4H9662P	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H9663P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H9664P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H9665P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H9666P	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H9667P	210	212	214	216	218	220	222	224
H4H9670P	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H9671P	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H9672P	258	260	262	264	266	268	270	272
H4H9675P	274	276	278	280	282	284	286	288
H4H9676P	290	292	294	296	298	300	302	304
H1M9565N	308	310	312	314	316	318	320	322

表 2 核酸序列標識符

抗體名稱	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCD R1	HCD R2	HCD R3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M9559N	1	3	5	7	9	11	13	15
H1M9566N	17	19	21	23	25	27	29	31
H1M9568N	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H9629P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H9633P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H9640P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H9659P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H9660P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4H9662P	129	131	133	135	137	139	141	143
H4H9663P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4H9664P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4H9665P	177	179	181	183	185	187	189	191
H4H9666P	193	195	197	199	201	203	205	207
H4H9667P	209	211	213	215	217	219	221	223
H4H9670P	225	227	229	231	233	235	237	239
H4H9671P	241	243	245	247	249	251	253	255
H4H9672P	257	259	261	263	265	267	269	271
H4H9675P	273	275	277	279	281	283	285	287
H4H9676P	289	291	293	295	297	299	301	303
H1M9565N	307	309	311	313	315	317	319	321

【0230】 抗體在本文通常係根據以下命名法來提及：Fc 前綴(例如「H1M」或「H4H」)，隨後數值標識符(例如「9559」、「9566」或「9629」，如表 1 中所顯示)，隨後「P」或「N」後綴。因此，根據此命名法，抗體在本文可稱作(例如)「H1M9559N」、「H1M9566N」、「H4H9629P」等。本文所

用抗體名稱上之 H1M 及 H4H 前綴指示抗體之具體 Fc 區同型。例如，「H1M」抗體具有小鼠 IgG1 Fc，而「H4H」抗體具有人類 IgG4 Fc。如熟習此項技術者將瞭解，可將具有具體 Fc 同型之抗體轉化為具有不同 Fc 同型之抗體(例如，可將具有小鼠 IgG1 Fc 之抗體轉化為具有人類 IgG4 之抗體等)，但在任一事件中，由表 1 中所顯示數值標識符指示之可變結構域(包括 CDR)將保持相同，且預計無論 Fc 結構域之性質如何，結合性質均一致或實質上類似。

實例 2：IL-33 拮抗劑(IL-33 阱)之構築

【0231】 如美國專利公開案第 2014/0271642 號中所闡述來生成人類抗 IL-33 阱。表 3a 闡述 IL-33 阱之多種組分之胺基酸序列標識符之概要且表 3b 闡述阱之全長胺基酸序列。

【0232】 使用標準分子生物技術來構築本發明之 5 種不同例示性 IL-33 拮抗劑。第一 IL-33 拮抗劑(hST2-hFc, SEQ ID NO:323)由融合於人類 IgG1 Fc 區(SEQ ID NO:332)之 C 末端至 N 末端之人類 ST2 之可溶性細胞外區(SEQ ID NO:328)組成。第二 IL-33 拮抗劑(hST2-mFc, SEQ ID NO:324)由融合於小鼠 IgG2a Fc 區(SEQ ID NO:333)之 C 末端至 N 末端之人類 ST2 之可溶性細胞外區(SEQ ID NO:328)組成。第三 IL-33 拮抗劑(hST2-hIL1RAcP-mFc, SEQ ID NO: 325)由具有位於其 N 末端之人類 ST2 (SEQ ID NO:328)、隨後人類 IL-1RAcP 之細胞外區(SEQ ID NO:330)、隨後位於其 C 末端之小鼠 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)之串聯式融合組成。第四 IL-33 拮抗劑(mST2-mIL1RAcP-mFc, SEQ ID NO: 326)由具有位於其 N 末端之小鼠 ST2 (SEQ ID NO:329)、隨後小鼠 IL-1RAcP 之細胞外區(SEQ ID NO:331)、隨後位於其 C 末端之小鼠 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)之串聯式融合組成。第五 IL-33 拮抗劑(hST2-hIL1RAcP-hFc, SEQ ID NO:327)由具有位於其 N 末端之 SEQ ID NO: 328 之人類 ST2、隨後人類 IL-1RAcP 之細胞外區(SEQ ID NO: 330)、隨後位於其 C 末端之人類 IgG1 Fc (SEQ ID NO: 332)之串聯式融合組

成。表 3a 闡述不同 IL-33 拮抗劑及其組分部分之概要闡述。表 3b 闡述 IL-33 拮抗劑及其組分部分之胺基酸序列。

表 3a：IL-33 拮抗劑及組分部分之概要

IL-33 拮抗劑	完整拮抗劑分子之胺基酸序列	D1 組分	D2 組分	M 組分
hST2-hFc	SEQ ID NO: 323	細胞外人類 ST2 (SEQ ID NO:328)	不存在	人類 IgG1 Fc (SEQ ID NO:332)
hST2-mFc	SEQ ID NO: 324	細胞外人類 ST2 (SEQ ID NO:328)	不存在	小鼠 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)
hST2-hIL1RAcP-mFc	SEQ ID NO: 325	細胞外人類 ST2 (SEQ ID NO:328)	細胞外人類 IL-1RAcP (SEQ ID NO:330)	小鼠 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)
mST2-mIL1RAcP-mFc	SEQ ID NO: 326	細胞外小鼠 ST2 (SEQ ID NO:329)	細胞外小鼠 IL-1RAcP (SEQ ID NO:331)	小鼠 IgG2a Fc (SEQ ID NO:333)
hST2-hIL1RAcP-hFc	SEQ ID NO: 327	細胞外人類 ST2 (SEQ ID NO:328)	細胞外人類 IL-1RAcP (SEQ ID NO:330)	人類 IgG1 Fc (SEQ ID NO:332)

表 3b：胺基酸序列

標識符	序列
SEQ ID NO: 323 (hST2-hFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIYCPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTEDAGDYTCCKFIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLPVIGA PAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRI QQEEGQNQSFSNGLACLDMLRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLRRH TVRLSRKNPIDHSDKTHTCPPCPAPELIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 324 (hST2-mFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIYCPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTEDAGDYTCCKFIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLPVIGA PAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRI QQEEGQNQSFSNGLACLDMLRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLRRH TVRLSRKNPIDHSEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLIGGPSVFIFPPKIKDVLMI SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV

標識符	序列
	VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO: 325 (hST2-hIL1 RAcP-mFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKS IPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIY CPTIDL YNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTEDAGDYTC FFIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFS LFPVIGA PAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRI QQEEGQNQSFSNGLACLDMVLRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLRRH TVRLSRKNPIDHHSSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKF NYSTAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLL NDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFPLEV VQKDSCFNSPMKLPVHKLYIEYGI QRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMG CYKIQNFN NVIPEGMNLSFLIALISN NGNYTCVV TYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVE KEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRT EDET RTQILSIKKVTS EDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKVPAPRY TVESGEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLIGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ DWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEEEMTK KQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYS KLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO: 326 (mST2-mIL 1RAcP-mFc)	SKSSWGLENEALIVRCPRQGRSTYPVEWYYSDTNESIPTQKRNRIFVSRD RLKFLPARVEDSGIYACVIRSPNLNKTGYLNV TIHKKPPSCNIPDYL MYST VRGSDKNFKITCPTIDL YNWTAPVQWFKNCKALQEPRFRAHRSYLFIDN VTHDDEGDYTCQFTHAENG TNYIVTATRSFTVEEKGF SMFPVITNPPYNH TMEVEIGKPASIACSACFGKGSHFLADVLWQINKTVVGNFGEARIQEEEG RNESSSNDMDCLTSVL RITGVTEKDLSLEYDCLALNLHGMIRHTIRLRK QPIDHRSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKYNYSTAHSS GLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTC MLRNTTYCSKVAFPLEV VQKDSCFN SAMRFPVHKMYIEHGIHKITCPNV DGYFPSSVKPSVTWYKGCTEIVDFHNVLP EGMNLSFFIPLVSNNGNYTCV VTYPENGR L FHLTRTVTVKVVGSPKDALPPQIYSPNDRVVYEKEPGEELV IPCKVYFSFIMDSHNEVWWTIDGKKPDDVTVDITINESVSYSSTEDETR TQ ILSIKKVTPEDLRNRYVCHARNTKGEAEQAAKVQKQVIPPRYTVESGEPR GPTIKPCPPCKCPAPNLIGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCV VVDVSEDD PDVQISW FVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKE FKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMYSKLRVEKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO: 327 (hST2-hIL1 RAcP-hFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKS IPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIY CPTIDL YNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTEDAGDYTC FFIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFS LFPVIGA PAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRI QQEEGQNQSFSNGLACLDMVLRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLRRH TVRLSRKNPIDHHSSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKF NYSTAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLL NDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFPLEV VQKDSCFN SPMLKLPVHKLYIEYGI QRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMG CYKIQNFN NVIPEGMNLSFLIALISN NGNYTCVV TYPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVE

標識符	序列
	KEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRT EDETRTQILSIKKVTSSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKVPAPRY TVEDKTHTCPPCPAPELIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 328 (人 類 ST2 細胞外結構 域)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQERNRVFA SGQLLKFLPAAVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTVSGSEKNSKIYCTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFL VIDNVMTEDAGDYTCCKFIHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGA PAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGEPRI QQEEGQNQSFSNGLACLDMLRIADVKEEDLLLQYDCLALNLHGLRRH TVRLSRKNPIDHHS
SEQ ID NO: 329 (小 鼠 ST2 細胞外結構 域)	SKSSWGLENEALIVRCPRQGRSTYPVEWYYSDTNESIPTQKRNRIFVSRD RLKFLPARVEDSGIYACVIRSPNLNKTGYLNVTHKKPPSCNIPDYLMYST VRGSDKNFKITCPTIDLYNWTAPVQWFKNCKALQEPRFRAHRSYLFIDN VTHDDEGDYTCQFTHAENGTYIVTATRSFTVEEKGFSMFPVITNPPYNH TMEVEIGKPASIACSACFGKGSHFLADVLWQINKTVVGNFGEARIQEEEG RNESSNDMDCLTSVLRITGVTEKDLSEYDCLALNLHGMIRHTIRLRK QPIDHR
SEQ ID NO: 330 (人 類 IL1RAcP 細 胞外結構域)	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIW YWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNT TYCSKVAFPLEVVQKDSCFNPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSS VKPTITWYMGCYKIQNFNNVIPEGMNLSFLIALISNNGNYTCVVTPENG RTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEYEKEPGEELLIPCTVYFS FLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTOILSIKKVTS EDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKVPAPRYTVE
SEQ ID NO: 331 (小 鼠 IL1RAcP 細 胞外結構域)	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKYNYSTAHSSGLTLIW YWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNT TYCSKVAFPLEVVQKDSCFNAMRFPVHKMYIEHGIHKITCPNVDGYFPS SVKPSVTWYKGCIEIVDFHNVLPEGMNLSFFIPLVSNNNGNYTCVVTPEN GRLFHLTRTVTVKVVGSPKDALPPQIYSPNDRVVYEKEPGEELVIPCKVY FSFIMDSHNEVWWTIDGKKPDDVTVDITINESVSYSSTEDETRTOILSIKK VTPEDLRRNYVCHARNTKGEAEQAAKVQKVIPPRYTVE
SEQ ID NO: 332 (人 類 IgG1 Fc)	DKTHTCPCPPAPELIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 333 (小 鼠 IgG2a Fc)	EPRGPTIKPCPPCKCPAPNLIGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVS EDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMS GKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTL TCMVTDMPEDYVVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO: 334 (食蟹猴(M. fascicularis) IL-33-6His)	SITGISPITESLASLSTYNDQSITFALEDESYEIYVEDLKKDKKKDKVLLSY YESQHPSSSESGDGVGDKMLMVTLSPTKDFWLQANNKEHSVELHKCEKP LPDQAFFVLHNRSFNCVSFECKTDPGVFIGVKDNHLALIKVDYSENLGSE NILFKLSEILEHHHHHH

實例 3：IL-4R 拮抗性抗體

【0233】 如美國專利第 7,608,693 號中所闡述來生成人類抗 IL-4R 抗體。以下實例中所使用之例示性 IL-4R 抗體為特異性針對小鼠 IL-4R 之小鼠抗體且具有以下胺基酸序列：包含 SEQ ID NO:335 之重鏈可變區(HCVR)及包含 SEQ ID NO: 336 之輕鏈可變結構域(LCVR)。人類抗 IL-4R 抗體(稱作杜匹魯單抗)特異性結合至人類 IL-4R α 且包括包含 SEQ ID NO: 337 之重鏈可變區(HCVR)及包含 SEQ ID NO: 338 之輕鏈可變區(LCVR)、包含 SEQ ID NO: 339 之重鏈互補決定區 1 (HCDR1)、包含 SEQ ID NO: 340 之 HCDR2、包含 SEQ ID NO: 341 之 HCDR3、包含 SEQ ID NO:342 之輕鏈互補決定區 1 (LCDR1)、包含 SEQ ID NO: 343 之 LCDR2 及包含 SEQ ID NO: 344 之 LCDR3。杜匹魯單抗之全長重鏈顯示為 SEQ ID NO: 345 且全長輕鏈顯示為 SEQ ID NO: 346。

實例 4：用於研究 IL-33 在肺發炎中之作用之慢性屋塵蟎(HDM)誘導之纖維變性及嚴重肺發炎模型 - 抗 IL-33 抗體、IL-4R 抗體或二者之組合之功效之比較。

【0234】 慢性發炎氣道疾病係主要由重複暴露於過敏原或其他病原體引起之氣道發炎復發發作之結果。在人類中，該等長期危害誘導大量病狀，該等病狀包括免疫細胞之肺浸潤、增加之細胞介素產生、黏液產生及膠原蛋白沈積(Hirota, (2013) Chest. Sep;144(3):1026-32. ; Postma, (2015), N Engl J Med., 9 月 24 日 ; 373(13):1241-9)。此伴有強烈氣道重塑之發炎細胞介素及免疫細胞浸潤增加導致氣道窄化、對吸入觸發物(例如過敏原或病原體)之高反應性、氣道阻塞及肺功能喪失。

【0235】 為測定抗 IL-33 抑制在相關活體內模型中之效應，在對於人類 IL-33 (代替小鼠 IL-33)之表現為同型接合之小鼠(IL-33 HumIn 小鼠；參見美國專利公開案第 2015/0320021 號及第 2015/0320022 號)中實施慢性屋塵蟎提

取物(HDM)誘導之纖維變性及嚴重肺發炎及重塑研究。長期 HDM 提取物暴露誘導嚴重肺發炎，從而導致顯著細胞浸潤、細胞介素表現及重塑。在此模型中比較抗 IL-33 抗體、抗小鼠 IL-4R α 抗體或二者之組合之功效。此研究中所使用之抗小鼠 IL-4R α 抗體命名為 M1M1875N 且包含 SEQ ID NO: 335/336 之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對。此研究中所使用之抗 IL-33 抗體命名為 H4H9675P 且包含 SEQ ID NO: 274/282 之 HCVR/LCVR 胺基酸序列對。

【0236】 每週 3 天鼻內投與 IL-33 HumIn 小鼠 50 μ g 屋塵蟎提取物 (HDM；Greer，編號 XPB70D3A2.5) (在 20 μ L 1X 磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)或 20 μ L 1X PBS 中稀釋)達 15 週。每週 3 天將在 20 μ L 1X PBS 中稀釋之 50 μ g HDM 提取物投與第二對照組之 IL-33 HumIn 小鼠達 11 週，以評估在抗體治療開始時疾病之嚴重性。在 11 週 HDM 攻擊後開始且然後每週兩次用 25 mg/kg 抗 IL-33 抗體 H4H9675P、抗小鼠 IL-4R α 抗體 M1M1875N、兩種抗體之組合或同型對照抗體皮下注射四組 HDM 攻擊之小鼠，直至 HDM 攻擊結束為止(4 週抗體治療)。在研究之第 108 天，將所有小鼠處死且收集其肺。各組小鼠之實驗投藥及治療方案顯示於表 4 中。

表 4：各組小鼠之實驗投藥及治療方案

群組	小鼠	鼻內攻擊	鼻內攻擊之時長	抗體
1	IL-33 HumIn 小鼠	1X PBS	15 週	無
2	IL-33 HumIn 小鼠	於 20 μ L 1X PBS 中之 50 μ g HDM	11 週	無
3	IL-33 HumIn 小鼠	於 20 μ L 1X PBS 中之 50 μ g HDM	15 週	無
4	IL-33 HumIn 小鼠	於 20 μ L 1X PBS 中之 50 μ g HDM	15 週	同型對照抗體
5	IL-33 HumIn 小鼠	於 20 μ L 1X PBS 中之 50 μ g HDM	15 週	抗 IL-33 抗體 (H4H9675P)
6	IL-33 HumIn 小鼠	於 20 μ L 1X PBS 中之 50 μ g HDM	15 週	抗 IL-4R α 抗體 (M1M1875N)
7	IL-33 HumIn 小鼠	於 20 μ L 1X PBS 中之 50 μ g HDM	15 週	抗 IL-33 (H4H9675P)抗體 + 抗 IL-4R α

				(M1M1875N)抗體
--	--	--	--	--------------

肺收集用於細胞介素分析：

【0237】 人類肺病之發展已涉及肺中升高之關鍵調介劑(例如原型第 2 型細胞介素 IL-4、IL-5 及 IL-13)以及更表徵第 1 型免疫反應之細胞介素(例如 IL-1 β 或 TNF α)含量(Gandhi, (2016) Nat Rev Drug Discov Jan;15(1):35-50. ; Barnes, (2008), Nat Rev Immunol, Mar;8(3):183-92。在本研究中量測肺中該等發炎細胞介素之含量。

【0238】 在放血之後，去除每一小鼠右肺之前葉及中葉並將置於含有補充有 1X Halt 蛋白酶抑制劑混合劑(Thermo Scientific，編號 87786)之組織蛋白質提取試劑(1X T-PER 試劑；Pierce，編號 78510)之溶液之管中。所有其他步驟皆在冰上實施。針對每一試樣調節 T-PER 試劑(含有蛋白酶抑制劑混合劑)之體積以使 1:7 (w/v)組織與 T-PER 比率匹配。使用 TissueLyser II (Qiagen 編號 85300)機械破壞肺試樣。將所得溶解物離心成沈澱物碎片。將含有可溶性蛋白質提取物之上清液轉移至新管中並在 4°C 下儲存直至另一分析為止。

【0239】 使用 Bradford 分析量測肺蛋白質提取物中之總蛋白質含量。對於該分析，將 10 μ L 稀釋之提取物試樣一式兩份平鋪於 96 孔板中並將其與 200 μ L 1X Dye 試劑(Biorad，編號 500-0006)混合。使用牛血清白蛋白(BSA；Sigma，編號 A7979)之連續稀釋液(在 1X T-Per 試劑中以 700 μ g/mL 開始)作為標準品來測定提取物之蛋白質濃度。在室溫下培育 5 分鐘後，在 Molecular Devices SpectraMax M5 板讀取儀上量測 595nm 下之吸光度。使用 GraphPad Prism™軟體實施基於 BSA 標準來測定總肺提取物蛋白質含量之數據分析。

【0240】 使用 Proinflammatory Panel 1 (小鼠)多重免疫分析套組

(MesoScale Discovery, 編號 K15048G-2)及習用小鼠 6plex Multi-Spot®免疫分析套組(MesoScale Discovery, 編號 K152A41-4)根據製造商之說明書量測肺蛋白質提取物中之細胞介素濃度。簡言之, 將 50 μ L/孔校準劑及試樣(在稀釋劑 41 中稀釋)添加至經捕獲抗體預塗覆之板中且在室溫下培育同時以 700 rpm 振盪 2 小時。然後用含有 0.05% (w/v) Tween-20 之 1X PBS 將各板洗滌 3 次, 隨後添加 25 μ L 在稀釋劑 45 中稀釋之檢測抗體溶液。在振盪之同時在室溫下培育 2 小時後, 將板洗滌 3 次, 且將 150 μ L 2 $\times$ 讀取緩衝液添加至每一孔中。在 MSD Sceptor®儀器上立即讀取電化學發光。使用 GraphPad Prism 軟體實施數據分析。

【0241】 將每一組中所有小鼠之肺總蛋白質提取物之每一細胞介素濃度正規化為藉由 Bradford 分析量測提取物之總蛋白質含量, 並針對每一組表示為平均 pg 細胞介素/mg 總肺蛋白質(pg/mg 肺蛋白質, $\pm$ SD), 如表 5 中所顯示。

肺細胞介素分析：

【0242】 如表 5 中所顯示, 在聯合或未聯合同型對照抗體治療接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠肺中釋放之細胞介素及趨化介素 IL-4、IL-5、IL-6、IL-1 β 及 MCP-1 之含量顯著高於經單獨 1X PBS 攻擊之 IL-33 HumIn 小鼠。類似地, 在接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠之肺中存在細胞介素 IL-13 及 TNF α 釋放增加之趨勢。相比之下, 與在長期 HDM 攻擊之最後四週期間與同型對照抗體一起投與 HDM 之 IL-33 HumIn 小鼠相比, 在此時間段期間經抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體之組合治療之 IL-33 HumIn 小鼠肺中 IL-6、IL-13 及 MCP-1 之含量存在顯著降低。與在長期 HDM 攻擊之最後四週期間與同型對照抗體一起投與 HDM 之 IL-33 HumIn 小鼠相比, 在此時間段期間經抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體之組合治療之 IL-33 HumIn 小鼠肺中 IL-4、IL-5、IL-1 β 及 TNF α 之含量存在降低之趨勢。利用組合抗

IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體所觀察到之對肺細胞介素之效應大於用任一個別單獨抗體之治療。

表 5：肺蛋白質提取物中之細胞介素濃度

實驗組	肺蛋白質 質提取 物中之 平均 [IL-4] (pg/mg 肺蛋白 質) ($\pm$ SD)	肺蛋白質 質提取 物中之 平均 [IL-5] (pg/mg 肺 蛋白質) ($\pm$ SD)	肺蛋白質 質提取 物中之 平均 [IL-13] (pg/mg 肺 蛋白質) ($\pm$ SD)	肺蛋白質 質提取 物中之 平均 [IL-6] (pg/mg 肺 蛋白質) ($\pm$ SD)	肺蛋白質 質提取 物中之 平均 [IL-1 β] (pg/mg 肺 蛋白質) ($\pm$ SD)	肺蛋白質 質提取 物中之 平均 [TNF α] (pg/mg 肺 蛋白質) ($\pm$ SD)	肺蛋白質 質提取 物中之 平均 [MCP-1] (pg/mg 肺蛋白 質) ($\pm$ SD)
1. 1X PBS 攻 擊(n=5)	0.13 ($\pm$ 0.17)	0.80 ($\pm$ 1.41)	ND	4.75 ($\pm$ 3.39)	1.97 ($\pm$ 1.67)	2.86 ($\pm$ 1.01)	4.12 ($\pm$ 1.12)
2. HDM 攻擊 11 週(n=4)	5.71 ($\pm$ 3.76) *	7.31 ($\pm$ 3.67)	0.20 ($\pm$ 0.03)	293.1 ($\pm$ 139.3) *	181.8 ($\pm$ 131.0) *	17.39 ($\pm$ 8.90)	43.06 ($\pm$ 24.21)
3. HDM 攻擊 15 週(n=4)	2.70 ($\pm$ 1.71)	5.13 ($\pm$ 3.20)	0.19 ($\pm$ 0.03)	308.3 ($\pm$ 390.1)	51.79 ($\pm$ 16.97)	15.38 ($\pm$ 8.11)	105.6 ($\pm$ 106.5) *
4. HDM 攻擊 15 週+同型 對照抗 體(n=4)	5.46 ($\pm$ 3.38) **	7.00 ($\pm$ 4.50) *	0.22 ($\pm$ 0.02)	395.0 ($\pm$ 270.1) **	162.3 ($\pm$ 166.5) **	19.57 ($\pm$ 14.81)	141.7 ($\pm$ 126.3) **
5. HDM 攻擊 15 週+ 抗 IL-33 抗 體 (n=5)	1.15 ($\pm$ 1.38)	1.93 ($\pm$ 1.90)	0.20 ($\pm$ 0.02)	136.8 ($\pm$ 164.1)	122.9 ($\pm$ 194.1)	17.05 ($\pm$ 4.48) *	16.64 ($\pm$ 6.40)
6. HDM 攻擊 15 週+ 抗小 鼠 IL-4R α 抗 體 (n=5)	2.88 ($\pm$ 2.43)	13.13 ($\pm$ 12.81) **	0.16 ($\pm$ 0.03)	18.24 ($\pm$ 12.43)	26.73 ($\pm$ 20.94)	7.85 ($\pm$ 4.89)	11.63 ($\pm$ 8.69)
7. HDM 攻擊 15 週+ 抗 IL-33 + 抗小	0.47 ($\pm$ 0.13)	0.73 ($\pm$ 0.37)	0.10 ($\pm$ 0.05) $\dagger\dagger$	7.46 ($\pm$ 2.52) $\dagger$	3.722 ($\pm$ 1.59)	3.07 ($\pm$ 1.34)	4.62 ($\pm$ 1.27) $\dagger\dagger$

鼠 IL-4R α 抗體 (n=5)							
------------------------------------	--	--	--	--	--	--	--

注意：指示藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試測定之統計顯著性(*= $p<0.05$, **= $p<0.01$, 與第 1 組：IL33 HumIn 小鼠，鹽水攻擊相比；[†] $p<0.05$, ^{††} $p<0.01$, 與第 4 組：IL33 Humin 小鼠，HDM 攻擊 15 週+同型對照抗體相比)。ND：未測定。

肺收集用於基因表現分析

【0243】 在放血之後，去除每一小鼠右肺之副葉，將其置於含有 400 μ L RNA Later (Ambion，編號 AM7020)之管中並在-20°C 下儲存直至處理為止。在 TRIzol 中均質化組織且使用氯仿進行相分離。使用 Microarrays 總 RNA 分離套組(Life Technologies 之 Ambion，編號 AM1839)之 MagMAX™-96 根據製造商之說明書純化含有總 RNA 之水相。使用來自上文所列示 MagMAX 套組之 MagMAX™Turbo™DNase 緩衝液及 TURBO DNase 去除基因體 DNA 。使用 SuperScript® VILO™ Master Mix (Life Technologies 之 Invitrogen，編號 11755500)將 mRNA (至多 2.5 μ g)反轉錄為 cDNA。將 cDNA 稀釋至 2ng/ μ L 並使用 ABI 7900HT 序列檢測系統(Applied Biosystems)用 TaqMan® Gene Expression Master Mix (Life Technologies 之 Applied Biosystems，編號 4369542)及相關探針(Life Technologies；小鼠 *B2m*: Mm00437762_m1；小鼠 *Il4*: Mm00445259_m1；小鼠 *Il5*: Mm00439646_m1；小鼠 *Il13*: Mm00434204_m1；小鼠 *Il9*: Mm00434305_m1；小鼠 *Il6*: Mm00446190_m1；小鼠 *Ccl2*: Mm00441242_m1；小鼠 *Ccl11*: Mm00441238_m1；小鼠 *Ccl24*: Mm00444701_m1；小鼠 *Tnf*: Mm00443258_m1；小鼠 *Tgfb1*: Mm01178820_m1；小鼠 *Il1rl1*: Mm00516117_m1；小鼠 *Il13ra2*: Mm00515166_m1；小鼠 *Coll5a1*: Mm00456584_m1；小鼠 *Col24a1*: Mm01323744_m1)擴增 10ng cDNA。使用

B2m 作為內部對照基因來正規化任何 cDNA 輸入差異。用於正規化所有試樣之參考組為第 1 組試樣(「1X PBS 攻擊」)之平均值。將每一基因之表現正規化為相同試樣內之 *B2m* 表現並相對於參考組中其正規化表現來表示(平均值 $\pm$ SD)，如表 6 中所顯示。

肺基因表現分析

【0244】 如表 6 中所顯示，與經單獨 1X PBS 攻擊之 IL-33 HumIn 小鼠相比，聯合或未聯合同型對照抗體之治療接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠肺中細胞介素、趨化介素及膠原蛋白基因 *Il4*、*Il13*、*Il6*、*Ccl2*、*Tgfb1*、*Il13ra2* 及 *Col24a1* 之表現程度顯著增加。類似地，接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠肺中存在基因 *Il5*、*Il9*、*Ccl11*、*Ccl24*、*Tnf*、*Il1rl1* 及 *Coll5a1* 之表現增加之趨勢。

【0245】 相比之下，與在長期 HDM 攻擊之最後四週期間與同型對照抗體一起投與 HDM 之 IL-33 HumIn 小鼠相比，在此時間段期間經抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體之組合治療之 IL-33 HumIn 小鼠肺中 *Il6*、*Ccl2*、*Ccl11* 及 *Ccl24* 之表現程度顯著降低。與在長期 HDM 攻擊之最後四週期間與同型對照抗體一起投與 HDM 之 IL-33 HumIn 小鼠相比，在此時間段期間經抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體之組合治療之小鼠中存在 *Il4*、*Il5*、*Il13*、*Il9*、*Tnf*、*Tgfb1*、*Il1rl1*、*Il13ra2*、*Coll5a1* 及 *Col24a1* 表現程度降低之趨勢。對利用組合抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體所觀察到之基因表現之效應大於用任一個別單獨抗體之治療。

表 6：小鼠肺中之基因表現(TaqMan)。

實驗組	肺中之平均相對 <i>Il4</i> 表現 ($\pm$ SD)	肺中之平均相對 <i>Il5</i> 表現 ($\pm$ SD)	肺中之平均相對 <i>Il13</i> 表現 ($\pm$ SD)	肺中之平均相對 <i>Il9</i> 表現 ($\pm$ SD)	肺中之平均相對 <i>Il6</i> 表現 ($\pm$ SD)	肺中之平均相對 <i>Ccl2</i> 表現 ($\pm$ SD)	肺中之平均相對 <i>Ccl11</i> 表現 ($\pm$ SD)	肺中之平均相對 <i>Ccl24</i> 表現($\pm$ SD)
1. 1X PBS 攻擊	1.03 ($\pm$ 0.28)	1.54 ($\pm$ 1.61)	4.51 ($\pm$ 7.59)	15.91 ($\pm$ 34.81)	1.25 ($\pm$ 1.09)	1.20 ($\pm$ 0.93)	1.24 ($\pm$ 1.07)	1.05 ($\pm$ 0.33)

(n=5)								
2. HDM 攻擊 11 週(n=4)	12.78 (±8.45) *	7.13 (±3.49)	114.1 (±68.3) *	38.66 (±30.04)	9.12 (±1.65)	18.86 (±8.40)	13.36 (±5.05)	15.44 (±12.02)
3. HDM 攻擊 15 週(n=4)	6.27 (±3.39)	4.20 (±1.51)	58.05 (±31.61)	30.63 (±20.54)	8.92 (±4.55)	22.61 (±13.37) *	8.65 (±3.20)	4.58 (±1.91)
4. HDM 攻擊 15 週+同型 對 照 抗 體(n=4)	10.98 (±5.46) *	5.50 (±3.16)	92.51 (±75.96) *	19.51 (±10.29)	13.80 (±6.98) **	24.53 (±9.13) **	12.14 (±7.82)	12.41 (±8.73)
5. HDM 攻擊 15 週+ 抗 IL-33 抗 體 (n=5)	2.80 (±3.11)	1.74 (±1.11)	12.91 (±12.93)	0.00 (±0.00)	3.87 (±3.00)	5.20 (±2.44)	6.21 (±3.55)	1.45 (±2.09)
6. HDM 攻擊 15 週+ 抗 小 鼠 IL-4Rα 抗 體 (n=5)	1.87 (±1.03)	7.98 (±6.52)	69.56 (±66.86) *	63.50 (±92.04)	2.77 (±1.39)	2.97 (±1.86)	1.00 (±0.18)	0.44 (±0.34)
7. HDM 攻擊 15 週+ 抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4Rα 抗 體 (n=5)	1.37 (±0.35)	1.56 (±0.97)	9.34 (±3.10)	0.57 (±1.27)	1.04 (±0.31) ††	1.08 (±0.24) ††§	0.72 (±0.28) †	0.15 (±0.10) ††

表 6 續：小鼠肺中之基因表現(TaqMan)。

實驗組	肺中之 平均相 對 <i>Tnf</i> 表 現(±SD)	肺中之平 均相對 <i>Tgfb1</i> 表 現(±SD)	肺中之平 均相對 <i>Il1rl1</i> 表現 (±SD)	肺中之平 均相對 <i>Il13ra2</i> 表 現(±SD)	肺中之平均 相對 <i>Col15a1</i> 表 現(±SD)	肺中之平均相 對 <i>Col24a1</i> 表 現(±SD)
1. 1X PBS 攻擊(n=5)	1.02 (±0.24)	1.00 (±0.11)	1.11 (±0.58)	1.59 (±1.96)	1.00 (±0.10)	1.02 (±0.16)
2. HDM 攻擊 11 週 (n=4)	1.45 (±0.41)	1.40 (±0.27)	3.03 (±0.88) *	48.43 (±34.21)	2.75 (±0.96)	24.55 (±7.97) **
3. HDM	1.58	1.32	2.53	32.07	3.00 (±1.22)	17.25 (±5.29) *

攻擊 15 週 (n=4)	(±0.43)	(±0.33)	(±0.79) *	(±13.45)		
4. HDM 攻擊 15 週 +同型對 照抗體 (n=4)	1.59 (±0.78)	1.37 (±0.12) *	3.45 (±1.48) *	52.02 (±40.63)	3.80 (±0.96) *	23.58 (±6.18) ***
5. HDM 攻擊 15 週 + 抗 IL-33 抗體(n=5)	1.38 (±0.27)	1.22 (±0.24)	0.99 (±0.47)	13.54 (±12.25)	1.64 (±0.30)	10.58 (±5.42)
6. HDM 攻擊 15 週 + 抗小鼠 IL-4Ra 抗 體(n=5)	1.00 (±0.25)	1.13 (±0.20)	3.38 (±1.97)	1.89 (±0.59)	1.24 (±0.28)	7.08 (±4.56)
7. HDM 攻擊 15 週 + 抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4Ra 抗 體(n=5)	0.68 (±0.08) [§]	1.09 (±0.12)	1.12 (±0.57)	1.89 (±0.27)	0.74 (±0.21) ^{††§}	1.76 (±0.15) [†]

注意：指示藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試測定之統計顯著性(*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.01, 與第 1 組：IL33 HumIn 小鼠，鹽水攻擊相比；[§]p<0.05, ^{§§}p<0.01, 與第 3 組：IL33 Humin 小鼠，HDM 攻擊 15 週相比；[†]p<0.05, ^{††}p<0.01, 與第 4 組：IL33 Humin 小鼠，HDM 攻擊 15 週+同型對照抗體相比)。

肺收集用於肺細胞浸潤分析

【0246】 在多發性氣道發炎疾病(包括氣喘及 COPD)中觀察到免疫細胞之肺浸潤。嗜中性肺發炎與氣喘患者中之肺功能降低及嚴重組織重塑(Wenzel 等人,(2012), Nat Med 18(5):716-725)及 COPD 患者中之肺損害增加(Meijer 等人, (2013), Expert Rev. Clin. Immunol. 9(11):1055-1068)相關。嗜酸性球性肺發炎係通常見於異位性疾病中之第 2 型發炎之標誌(Jacobsen 等人, (2014), Clin. Exp., Allergy, 44(9):1119-1136)。在人類中，在患有肉芽腫

性肺病及其他慢性發炎症狀之患者中觀察到高 CD4/CD8 比率(Costabel 等人, (1997), Eur. Respir. J. 10(12):2699-2700 ; Guo 等人, (2011), Ann. Clin. Biochem, 48(第 4 部分):344-351)。本研究使用流式細胞術來測定 HDM 暴露之小鼠肺中細胞浸潤之程度。

【0247】 在放血之後，去除每一小鼠右肺之尾狀葉，將其切碎成大小為約 2 mm 至 3 mm 之立方體，且然後將其置於含有 20 $\mu\text{g/mL}$ DNase (Roche, 編號 10104159001)及 0.7 U/mL 在漢氏平衡鹽溶液(HBSS) (Gibco, 編號 14025)中稀釋之 Liberase TH (Roche, 編號 05401151001)之溶液之管中，將其在 37°C 水浴中培育 20 分鐘且每 5 分鐘進行渦旋。藉由添加乙二胺四乙酸(EDTA, Gibco, 編號 15575) (最終濃度為 10mM)來終止反應。隨後使用 gentleMACS 離解器[®] (MiltenyiBiotec, 編號 130-095-937)離解每一肺，然後藉助 70 μm 過濾器過濾並離心。將所得肺沈澱物再懸浮於 1 mL 1×紅血球溶解緩衝液(Sigma, 編號 R7757)中以去除紅血球。在室溫下培育 3 分鐘後，添加 3 mL 1X DMEM 以去活化紅血球溶解緩衝液。然後將細胞懸浮液離心，並將所得細胞沈澱物再懸浮於 5 mL MACS 緩衝液(autoMACS 運行緩衝液; MiltenyiBiotec, 編號 130-091-221)中。藉助 70 μm 過濾器過濾再懸浮試樣並將 1×10^6 個細胞/孔平鋪於 96 孔 V 形底部板中。然後對細胞進行離心並在 1X PBS 中洗滌沈澱物。在第二次離心之後，將細胞沈澱物再懸浮於 100 μL 在 1X PBS 中以 1:500 稀釋之 LIVE/DEAD[®]可固定藍色死細胞染色劑(Life Technologies, 編號 L23105)中以測定細胞活力並在室溫下在避光之同時培育 20 分鐘。在 1X PBS 中洗滌一次之後，在 4°C 下將細胞在含有 10 $\mu\text{g/mL}$ 經純化大鼠抗小鼠 CD16/CD32 Fc Block (純系: 2.4G2; BD Biosciences, 編號 553142)之 MACS 緩衝液之溶液中培育 10 分鐘。然後在 4°C 下在避光之同時將細胞於在 MACS 緩衝液中稀釋之適當 2×抗體混合物(闡述於中表 7)中培育 30 分鐘。在抗體培育之後，將細胞在 MACS 緩衝液中洗滌兩次，將

其再懸浮於 BD CytoFix (BD Biosciences，編號 554655)中且然後在 4°C 下在避光之同時培育 15 分鐘。隨後洗滌細胞，將其再懸浮於 MACS 緩衝液中，且然後將其轉移至 BD FACS 管(BD Biosciences，編號 352235)用於藉由流式細胞術分析細胞浸潤。

【0248】 CD4 及 CD8 T 細胞係定義為分別為活的 CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻及活的 CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁻、CD8⁺之細胞。經活化 CD4 T 細胞係定義為活的 CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻及 CD69⁺之細胞。經活化 CD8 T 細胞係定義為活的 CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁻、CD8⁺及 CD69⁺之細胞。經活化 B 細胞係定義為活的 CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁻、CD19⁺及 CD69⁺之細胞。ST2⁺ CD4⁺ T 細胞係定義為活的 CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺、CD19⁻、ST2⁺及 CD4⁺之細胞。嗜酸性球係定義為活的 CD45⁺、GR1⁻、CD11c^{lo}、SiglecF^{hi}。肺泡巨噬細胞係定義為活的 CD45⁺、GR1⁻、CD11c^{Hi}、SiglecF^{hi}。經活化細胞之數據表示為親本群體內經活化細胞(CD69⁺)之頻率(CD4, ± SD)。ST2⁺ CD4⁺ T 細胞之數據表示為 T 細胞(定義為活的 CD45⁺、SSC^{Lo}、FSC^{Lo}、CD3⁺及 CD19⁻之細胞)之頻率。嗜酸性球及肺泡巨噬細胞之數據表示為活細胞之頻率。CD4/CD8 T 細胞比率計算為活群體內 CD4 T 之頻率對 CD8 T 細胞之頻率之比率。所有數據皆顯示於表 8 中。

表 7：用於流式細胞術分析之抗體

抗體	螢光染料	製造商	目錄號	最終稀釋度
CD45.2	PerCP-Cy5.5	eBioscience	45-0454	1/800
Siglec-F	BV 421	BD	562681	1/200
F4/80	APC	eBioscience	17-4801-82	1/200
Ly6G	BUV395	BD	563978	1/200
Ly6C	PE-Cy7	BD	560593	1/100

CD11c	PE	eBioscience	12-0114-82	1/200
CD11b	FITC	eBioscience	53-0112-82	1/200
CD19	BV650	BD	562701	1/400
CD3	PE-Cy7	BD	552774	1/200
CD4	BV421	BioLegend	100438	1/200
CD8	BUV 395	BD	563786	1/400
NKp46 (CD335)	FITC	eBioscience	11-3351	1/800
CD69	PE	eBioscience	12-0691	1/200
CD25	BV510	BioLegend	102042	1/200
ST2	APC	BioLegend	145306	1/200

肺細胞浸潤分析：

【0249】 如表 8 中所顯示，聯合或未聯合同型對照抗體之治療接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠肺中嗜酸性球、經活化 B 細胞、經活化 CD8 細胞、ST2+ Cd4+ T 細胞之頻率及 CD4/CD8 T 細胞比率顯著高於經單獨 1X PBS 攻擊之 IL-33 HumIn 小鼠。類似地，在接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠肺中存在經活化 CD4 T 細胞之頻率增加之趨勢。在不存在或存在同型對照抗體治療下接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠肺中存在肺泡巨噬細胞之頻率降低之趨勢，如藉由流式細胞術檢測。與在長期 HDM 攻擊之最後四週期間與同型對照抗體一起投與 HDM 之 IL-33 HumIn 小鼠相比，在此時間段期間經抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體之組合治療之 IL-33 HumIn 小鼠肺中肺泡巨噬細胞之頻率顯著增加。類似地，與在長期 HDM 攻擊之最後四週期間與同型對照抗體一起投與 HDM 之 IL-33 HumIn 小鼠相比，在此時間段期間經抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體之組合治療之小鼠之肺中存在嗜酸性球、經活化 CD4 及 CD8 T 細胞、經活化 B 細胞、ST2+ CD4+ T 細胞之

頻率以及 CD4/CD8 T 細胞比率降低之趨勢。對針對組合抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體所觀察到之肺中嗜酸性球、肺泡巨噬細胞、經活化 CD8 T 細胞、ST2+ CD4+ T 細胞之頻率及 CD4/CD8 比率之效應顯示與用任一個別單獨抗體之治療相比功效提高之趨勢。

表 8：如藉由流式細胞術測定之肺細胞浸潤之頻率

實驗組	活群體中嗜酸性球之平均頻率(±SD)	活群體中肺泡巨噬細胞之平均頻率(±SD)	平均 CD4/C D8 T 細胞比率(±SD)	CD4 T 細胞群體中經活化細胞之平均頻率(±SD)	CD8 T 細胞群體中經活化細胞之平均頻率(±SD)	B 細胞群體中經活化細胞之平均頻率(±SD)	T 細胞群體中 ST2+ CD4+ 細胞之平均頻率(±SD)
1. 1X PBS 攻擊(n=5)	1.45 (±0.92)	5.05 (±1.64)	3.00 (±1.48)	13.12 (±9.89)	3.26 (±1.64)	0.39 (±1.17)	3.25 (±4.15)
2. HDM 攻擊 11 週(n=4)	17.08 (±3.94) *	2.34 (±0.93)	6.42 (±2.71)	49.95 (±8.76)	9.58 (±7.44)	4.67 (±1.47) **	32.60 (±12.23)
3. HDM 攻擊 15 週(n=4)	15.40 (±3.99) *	4.92 (±1.55)	6.95 (±0.71) **	58.53 (±5.76)	15.68 (±3.03) *	3.70 (±1.44) *	37.33 (±8.98) *
4. HDM 攻擊 15 週+同型對照抗體(n=4)	15.00 (±3.35) *	2.33 (±1.60)	7.49 (±1.28) *	57.75 (±7.64)	14.59 (±3.82)	3.90 (±1.48) *	37.96 (±16.71) *
5. HDM 攻擊 15 週+抗 IL-33 抗體(n=5)	8.51 (±7.52)	7.44 (±4.18)	4.03 (±1.28)	48.22 (±5.66)	13.86 (±5.21)	1.72 (±0.72)	19.24 (±5.72)
6. HDM 攻擊 15 週+抗小鼠 IL-4R α 抗體(n=5)	12.30 (±7.83)	9.93 (±5.18)	5.56 (±2.22)	53.42 (±6.52)	13.11 (±6.26)	2.14 (±1.23)	35.01 (±9.83) *
7. HDM 攻擊 15 週+	3.78 (±1.60)	14.64 (±3.86) [†]	2.96 (±0.93)	42.52 (±9.79)	7.90 (±1.30)	1.74 (±0.91)	11.78 (±3.73)

抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4Rα 抗 體 (n=5)							
--	--	--	--	--	--	--	--

注意：指示藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試測定之統計顯著性(*= $p<0.05$ ，**= $p<0.01$ ，與第 1 組：IL33 HumIn 小鼠，鹽水攻擊相比；[†] $p<0.05$ ，與第 4 組：IL33 Humin 小鼠，HDM 攻擊 15 週+同型對照抗體相比)。

肺收集用於量化組織病理學：

【0250】 在此模型中觀察到之發炎型式伴有 HDM 暴露之肺中廣泛且嚴重之結構變化，且有證據表明杯狀細胞化生、上皮下膠原蛋白沈積及顯著肺實變之增加。該等病理學係促成肺功能下降及氣道高反應性之人類發炎性呼吸疾病之已知特徵(James, (2007)EurRespir J., 7 月；30(1):134-55；Jeong, (2007) Radiographics5 月至 6 月；27(3):617-37)。

【0251】 在放血之後，去除左肺並將其置於含有 3 mL 4% (w/v)多聚甲醛 (Boston Bioproducts，編號 BM-155)於 1X 磷酸鹽緩衝鹽水中之溶液之板中並在室溫下儲存 3 天。然後將肺試樣吸乾並將其轉移至含有 70%乙醇之管用於組織學分析。將試樣發送至 Histoserv, Inc (Germantown, MD)用於石蠟包埋、切片及過碘酸希夫(periodic acid Schiff，PAS)或蘇木精-伊紅 (Hematoxylin and Eosin，H&E)染色。

杯狀細胞化生之量化：

【0252】 杯狀細胞化生及黏液分泌過多係許多肺病(包括氣喘、慢性阻塞性肺病及囊性纖維變性)之標誌(Boucherat, (2013) Exp Lung Res. 2013 May-Jun;39(4-5):207-16)。過量黏液產生導致氣道阻塞且影響人類之若干重要結果(例如肺功能、健康相關生活品質、惡化、住院及死亡率) (Ramos, FL 等人，(2014), Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 1 月 24 日；9:139-150)。在 1 毫米長度之初級支氣管中對 PAS 陽性杯狀細胞及總上皮細胞進行計數。杯

狀細胞化生表示為 1 毫米支氣管上皮中 PAS 陽性細胞之頻率($\%$, $\pm$ SD), 如表 9 中所顯示。

肺實變之量化：

【0253】 「肺實變」定義為肺泡空間中固體或液體物質之累積。肺實變係複合終點，可能反映細胞浸潤、增生及黏液產生之組合，其在本文用作整體病理學之量度。在 Movat pentachrome 染色之石蠟包埋肺切片上使用 ImageJ 軟體(NIH, Bethesda, MD)量化由晶體佔據之肺區域之分數。使用粒子分析功能，量測切片中之總肺面積以及該切片中之實變面積。實變肺區域之分數係藉由兩個量測值之比率給出，如表 9 中所顯示。

上皮下纖維變性之量化

【0254】 「上皮下纖維變性」係定義為在肺上皮下方沈積過量間質膠原蛋白(Redington 等人, (1997), Thorax, 四月; 52(4):310-312)。已報導增加之上皮下纖維變性與人類之氣喘特別相關(Boulet 等人, (1997) Chest, 七月; 112(1):45-52; James, AL 及 Wenzel, S., (2007), Eur Respir J, 7 月, 30(1):134-155)。在本模型中，在麥森三色(Masson's trichrome)染色之石蠟包埋肺切片上使用 HaLo 軟體(Indica Labs, NM)量測上皮下纖維變性。使用「層厚度」工具，跨越 1 毫米之初級支氣管以約 30 μ m 間隔多次記錄支氣管上皮下方膠原蛋白層之厚度。上皮下纖維變性表示為上皮下方膠原蛋白層之平均厚度(μ m, $\pm$ SD), 如表 9 中所顯示。

肺組織病理學之分析：

【0255】 如表 9 中所顯示，與經單獨 1X PBS 攻擊之 IL-33 HumIn 小鼠相比，在聯合或未聯合同型對照抗體之治療接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠肺中存在杯狀細胞化生增加之趨勢。類似地，在接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠中肺實變以及上皮下膠原蛋白厚度顯著增加。

【0256】 相比之下，與在長期 HDM 攻擊之最後四週期間與同型對照抗

體一起投與 HDM 之 IL-33 HumIn 小鼠相比，在此時間段期間經抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4Rα 抗體之組合治療之 IL-33 HumIn 小鼠中存在杯狀細胞化生及上皮下膠原蛋白厚度降低及肺實變顯著降低之趨勢。對針對組合抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4Rα 抗體所觀察到之杯狀細胞化生、肺實變及上皮下膠原蛋白厚度之效應顯示與用任一個別單獨抗體之治療相比功效提高之趨勢。

表 9：小鼠肺中組織病理學之量化

實驗組	平均杯狀細胞化生 (% PAS 陽性細胞) (±SD)	平均肺實變 (% ±SD)	平均上皮下膠原蛋白厚度 (µm) (±SD)
1. 1X PBS 攻擊(n=5)	32.94 (±43.61)	6.97 (±3.72)	25.90 (±4.00)
2. HDM 攻擊 11 週(n=4)	59.98 (±39.01)	70.70 (±12.94)	81.76 (±25.37) *
3. HDM 攻擊 15 週(n=4)	92.15 (±10.16)	83.21 (±3.65) **	82.12 (±23.04) *
4. HDM 攻擊 15 週+同型對照抗體(n=4)	81.60 (±17.56)	84.16 (±5.85) **	63.11 (±11.87)
5. HDM 攻擊 15 週+抗 IL-33 抗體(n=5)	39.22 (±18.93)	58.82 (±18.26)	70.99 (±23.85)
6. HDM 攻擊 15 週+抗小鼠 IL-4Rα 抗體(n=5)	79.82 (±25.02)	57.79 (±18.72)	57.62 (±15.34)
7. HDM 攻擊 15 週+抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4Rα 抗體(n=5)	19.69 (±8.80)	35.01 (±20.68)	48.19 (±18.58)

注意：指示藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試測定之統計顯著性(**= p<0.01，與第 1 組：IL33 HumIn 小鼠，鹽水攻擊相比)。

血清收集用於 IgE 及 HDM 特異性 IgG1 含量量測：

【0257】 為測定每一小鼠之血清試樣中之總 IgE 濃度，根據製造商之說明書使用夾心 ELISA OPTeia 套組(BD Biosciences，編號 555248)。稀釋血清試樣並與塗佈於 96 孔板上之抗 IgE 捕獲抗體一起培育。藉由生物素化抗小鼠 IgE 二級抗體檢測總 IgE。使用經純化山葵過氧化酶(HRP)標記之小鼠 IgE 作為標準品。使用色素原 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB) (BD OPTeia 受質試劑集合，BD，編號 555214)來檢測 HRP 活性。然後添加 1 M 硫酸之終

止溶液，且在 Molecular Devices SpectraMax M5 板讀取儀上量測 450nm 下之吸光度。使用 Prism™軟體實施數據分析。每一實驗組之血清中循環 IgE 含量之平均量表示為 ng/mL ($\pm$ SD)，如表 10 中所顯示。

【0258】 利用 ELISA 測定每一小鼠之血清試樣中之 HDM 特異性 IgG1 含量。將 HDM (Greer，編號 XPB70D3A2.5)塗佈之板與連續稀釋之小鼠血清試樣一起培育，隨後與大鼠抗小鼠 IgG1-HRP 偶聯抗體(BD Biosciences，編號 559626)一起培育。利用 TMB 溶液對所有試樣進行顯影並如上文所闡述進行分析。血清中循環 IgG1 之相對含量表示為效價單位(效價單位係藉由將所測得 OD 乘以達成大於兩倍背景之 OD450 所需要之稀釋係數來計算)。每一實驗組之血清中之平均循環 HDM 特異性 IgG1 含量表示為效價 $\times 10^6$ ($\pm$ SD)，如表 10 中所顯示。

循環 IgE 及 HDM 特異性 IgG1 含量之分析

【0259】 如表 10 中所顯示，與經單獨 1X PBS 攻擊之 IL-33 HumIn 小鼠相比，在聯合或未聯合同型對照抗體之治療接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠之血清中循環 IgE 含量顯著增加。類似地，在接受 HDM 達 15 週之 IL-33 HumIn 小鼠之血清中存在循環 HDM 特異性 IgG1 含量增加之趨勢。相比之下，與投與 HDM 與同型對照抗體之 IL-33 HumIn 小鼠相比，在長期 HDM 攻擊之最後四週期間經抗 IL-33 及抗小鼠 IL-4R α 抗體之組合治療之 IL-33 HumIn 小鼠之血清中存在循環 IgE 含量顯著降低及循環 HDM 特異性 IgG1 含量降低之趨勢。

表 10：小鼠血清中循環 IgE 及 HDM 特異性 IgG1 之含量.

實驗組	平均循環 IgE 含量(μ g/mL) ($\pm$ SD)	平均循環 HDM 特異性 IgG1 含量(效價 $\times 10^6$) ($\pm$ SD)
1. 1X PBS 攻擊(n=5)	2.16 ($\pm$ 2.02)	ND
2. HDM 攻擊 11 週(n=4)	50.16 ($\pm$ 8.35)	1.18 ($\pm$ 0.15)
3. HDM 攻擊 15 週(n=4)	131.38 ($\pm$ 106.84) *	1.88 ($\pm$ 0.81)
4. HDM 攻擊 15 週+同型對照抗體(n=4)	193.07 ($\pm$ 78.96) ***	1.62 ($\pm$ 0.62)

5. HDM 攻擊 15 週+抗 IL-33 抗體(n=5)	45.74 (±45.74)	1.76 (±0.98)
6. HDM 攻擊 15 週+抗小鼠 IL-4Rα 抗體(n=5)	11.12 (±8.65)	0.99 (±0.56)
7. HDM 攻擊 15 週+抗 IL-33 + 抗小鼠 IL-4Rα 抗體(n=5)	6.45 (±5.79) [†]	0.75 (±0.30)

注意：指示藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試測定之統計顯著性(*= p<0.05, **= p<0.01, ***= p<0.001，與第 1 組：IL33 HumIn 小鼠，鹽水攻擊相比；[†]p<0.05，與第 4 組：IL33 Humin 小鼠，HDM 攻擊 15 週+同型對照抗體相比)。ND：未測定。

【0260】 在嚴重、混合型發炎之背景下開始之 H4H9675P 及抗 mIL-4Rα 治療之組合可改良所量測之所有發炎參數，幾乎降低至基線水準。另外，在一些最致命終點(包括複雜肺整體病理學、杯狀細胞化生、肺細胞浸潤及細胞介素含量)上觀察到加性效應。因此，同時阻斷兩條路徑可在嚴重混合發炎及組織病理學之情況下影響多種發炎介導劑，並將多個參數正規化為基線。

實例 5：藉由氫氙交換對結合至 IL33 之 H4H9675P 之表位定位

【0261】 為測定由抗 IL33 抗體 H4H9675P 識別之人類 IL33 之表位，針對與人類 IL33 共複合之抗體實施氫-氙(H/D)交換研究。對於該等實驗，使用表現有 C 末端六聚組胺酸標籤(SEQ ID NO: 356)之重組體人類 IL33。H/D 交換方法之一般闡述已闡述於 Ehring 等人 (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259 及 Engen 及 Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A 中。在積體 Waters HDX/MS 平台上實施 H/D 交換實驗，該平台由以下組成：用於氙標記之 Leaptec HDX PAL 系統、用於試樣消化及負載之 Waters Acquity M-Class (輔助溶劑管理器)、用於分析型管柱梯度之 Waters Acquity M-Class (μ 二元溶劑管理器)及用於消化性肽質量量測之 Synapt G2-Si 質譜儀。

【0262】 在於 D₂O 中之 10 mM PBS 緩衝液(pD 7.0) (等效於 pH 6.6)中製

備標記溶液。為進行氘標記，將 3.8 μL hIL33-MMH (96 pmol/ μL)或以 1:1 莫耳比與抗體預混合之 hIL33-MMH 與 56.2 μL D_2O 標記溶液一起培育多個時間點(2 min、10 min 及未氘化對照=0 sec)。藉由將 50 μL 試樣轉移至 50 μL 預冷凍的含 0.2 M TCEP、6 M 鹽酸胍之 100 mM 磷酸鹽緩衝液(pH 2.5) (淬滅緩衝液)淬滅氘化，並將混合試樣在 1.0°C 下培育兩分鐘。然後將淬滅試樣注射至 Waters HDX 管理器中用於在線胃蛋白酶/蛋白酶 XIII 消化。在 0°C 下使消化肽陷獲至 ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm , 2.1 $\times$ 5 mm VanGuard 預管柱上並使用 5%-40% B 之 9 分鐘梯度分離在 ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm , 1.0 $\times$ 50 mm 管柱上溶析(移動相 A：0.1%甲酸水溶液，移動相 B：於乙腈中之 0.1%甲酸)。將質譜儀設為 37 V 之錐電壓、0.5 s 之掃描時間及 50-1700 Th 之質荷比範圍。

【0263】 為鑑別來自 hIL33-MMH 之肽，處理未氘化試樣之 LC-MS^E 數據並經由 Waters ProteinLynx Global Server (PLGS)軟體針對資料庫(包括人類 IL33、胃蛋白酶及其隨機化序列)進行搜索。將經鑑別肽輸入至 DynamX 軟體且藉由兩個準則進行過濾：1)每個胺基酸之最小產物為 0.3，及 2)複製檔案臨限值為 3。DynamX 軟體然後跨越多個時間點基於滯留時間及高質量準確度(<10ppm)自動測定每一肽之氘吸收，其中在每一時間點有 3 個複製。

【0264】 使用與 MS^E 數據採集耦合之在線胃蛋白酶/蛋白酶 XIII 管柱，在不存在或存在 H4H9675P 下鑑別來自 hIL33-MMH 之總共 68 種肽，代表 95% 序列覆蓋率。11 種肽在結合至 H4H9675P 時具有顯著降低之氘化吸收(質心 Δ 值>0.4 道爾頓(dalton)，且 p 值<0.05)且列示於表 11 中。所記錄肽質量對應於三個重複之質心 MH^+ 質量之平均值。該等肽(對應於 SEQ ID NO: 349 之胺基酸 1-12 及 50-94)因 H4H9675P 之結合而具有較慢氘化速率。該等經鑑別殘基亦對應於人類 IL-33 之殘基 112-123 及 161-205，如藉由 Uniprot 條目 O95760 所定義(IL33_人類；亦參見 SEQ ID NO: 348)。該等數據支持

SEQ ID NO: 348 之胺基酸殘基 112-123 及 161-205 或 SEQ ID NO: 349 之胺基酸殘基 1-12 及 50-94，其至少部分地定義 IL-33 中針對抗體 H4H9675P 之結合區。

表 11. 在結合至 H4H9675P 之後具有顯著降低之氘化之人類 IL33 肽

基於 SEQ ID NO: 349 之殘基 數	2 min 氘化			10 min 氘化		
	IL33 質心 MH ⁺	IL33+H4H9675 P 質心 MH ⁺	Δ	IL33 質心 MH ⁺	IL33+H4H967 5P 質心 MH ⁺	Δ
1-9	893.43±0.06	891.89±0.02	-1.54	893.60±0.03	892.00±0.08	-1.60
1-10	1023.15±0.06	1021.53±0.05	-1.62	1023.31±0.01	1021.69±0.03	-1.63
1-11	1186.18±0.06	1184.39±0.13	-1.80	1186.43±0.02	1184.61±0.03	-1.82
1-12	1300.27±0.07	1297.88±0.04	-2.39	1300.60±0.03	1298.65±0.01	-1.95
50-61	1458.12±0.06	1456.36±0.00	-1.75	1458.27±0.08	1456.34±0.01	-1.93
52-67	1791.16±0.12	1789.89±0.25	-1.27	1791.20±0.02	1790.27±0.02	-0.93
52-72	2353.80±0.12	2351.27±0.05	-2.53	2353.89±0.03	2351.95±0.10	-1.94
53-70	1945.19±0.10	1944.26±0.07	-0.93	1945.25±0.02	1944.84±0.03	-0.41
53-72	2189.95±0.13	2188.03±0.03	-1.92	2190.02±0.02	2188.58±0.04	-1.44
71-81	1253.89±0.07	1253.08±0.18	-0.81	1254.07±0.02	1253.52±0.16	-0.55
71-94	2815.35±0.05	2814.48±0.00	-0.87	2816.06±0.12	2815.10±0.12	-0.96

實例 6：在使用 IL-33-、IL-4 及 IL-4Rα-人類化小鼠之 19 週過敏原誘導之肺發炎模型中 IL-33 抗體(REGN3500)及 IL-4R 抗體(杜匹魯單抗)單獨或組合之效應

【0265】 在上文實例 4 中使用對於人類 IL-33 之表現為同型接合之小鼠代替小鼠 IL-33 (IL-33 HumIn 小鼠；參見美國專利公開案第 2015/0320021 號及第 2015/0320022 號)首先測試單獨 IL-33 抗體、單獨 IL-4R 抗體或兩種抗體之組合之效應。在此模型中比較完整人類抗 IL-33 抗體(REGN3500)及抗小鼠 IL-4Rα 抗體或二者之組合且結果闡述於實例 4 中。

【0266】 由於人類抗 IL-33 抗體(REGN3500)及人類抗 IL-4R 抗體(杜匹魯單抗)皆不結合其各別鼠類靶標蛋白質，故生成經遺傳修飾小鼠，其中小鼠 IL-33、IL-4 及 IL-4Rα 之胞外域經相應人類序列(*Il4ra*^{hu/hu}*Il4*^{hu/hu}*Il33*^{hu/hu})替

代。驗證 $Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}$ 小鼠品可作為使用 4 週之 HDM 暴露誘導之肺發炎模型研究 REGN3500 及杜匹魯單抗投與之效應之工具。在此模型中，HDM 暴露之 $Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}$ 小鼠展示類似於野生型小鼠之免疫反應，如藉由評估嗜酸性球性肺浸潤所評估。

【0267】 實施下述研究來確定同時阻斷 IL-33 及 IL-4/IL-13 路徑對肺發炎之影響是否可大於阻斷任一單獨路徑。在此研究中，將 $Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}$ 小鼠鼻內(IN)暴露於 HDM 或鹽水達 19 週。在 11 週 HDM 暴露之後將 $Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}$ 小鼠之對照組處死，來評估抗體治療開始時之疾病嚴重性。19 週之 HDM 暴露之小鼠不接受抗體治療或自第 12 週至第 19 週 HDM 暴露接受每週兩次之皮下(SC)抗體注射達總共 8 週及 16 個劑量。以 11 mg/kg 之最終蛋白質劑量投與以下抗體：(a) 11 mg/kg 同型對照抗體，(b) 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 同型對照抗體(c) 10 mg/kg 杜匹魯單抗+ 1 mg/kg 同型對照抗體或(d) 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 杜匹魯單抗。針對氣道發炎之以下病理學標記物評估 REGN3500 及杜匹魯單抗治療單獨或以組合對 HDM 暴露之小鼠之效應：

-整體病理學(相對肺重量)

-第 1 型發炎細胞(嗜中性球，藉由嗜中性球標記物髓過氧化物酶[MPO]之肺蛋白質含量來量化)及第 2 型發炎細胞(總的及經活化[CD11c^{Hi}]嗜酸性球及 ST2⁺ CD4⁺ T 細胞，藉由流式細胞術來量化)之肺組織浸潤

-發炎細胞介素肺蛋白質含量(人類 IL-4 及小鼠 IL-5、IL-6、IL-1 β 、TNF α 、IFN γ 、GRO α 及 MCP-1，藉由免疫分析來量化)

-發炎之全身性標記物血清類澱粉蛋白 A [SAA]蛋白質之循環含量(藉由免疫分析來量化)

材料及方法

測試系統

IL-33-、IL-4及 IL-4R α 胞外域-人類化小鼠

【0268】 REGN3500 及杜匹魯單抗分別不結合小鼠 IL-33 或小鼠 IL-4R α 。因此，為測試單獨 REGN3500 及杜匹魯單抗及其組合，生成經遺傳修飾之小鼠，其中小鼠 IL-33、IL-4 及 IL-4R α 之胞外域經相應人類序列 (*Il4ra*^{hu/hu}*Il4*^{hu/hu}*Il33*^{hu/hu}) 替代。使用 Regeneron Pharmaceuticals (Valenzuela, DM 等人 Nat Biotechnol. 2003 年 6 月 21 日(6):652-9, Poueymirou, WT 等人 Nat Biotechnol. 2007 年 1 月 25 日(1):91-9) 之 VelociGene® 技術藉由將先前描述之 IL-4/IL-4R α 胞外域人類化小鼠品系 *Il4ra*^{hu/hu}*Il4*^{hu/hu} 與先前描述之 IL-33 人類化品系 *Il33*^{hu/hu} 雜交生成此三重人類化小鼠品系。

肺發炎小鼠模型

【0269】 小鼠肺發炎模型採用重複鼻內(IN)暴露於 HDM 提取物，該提取物用作屋塵蟎過敏原之來源 (Johnson 等人；American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine; (2004) 2 月 1 日;169 (3):378-85)，其為人類室內過敏之顯著原因(Calderon 等人，(2015), Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? J Allergy Clin Immunol. 2015 年 7 月；136 (1):38-48)。據報導長期暴露於 HDM 誘導嚴重肺發炎，從而引起顯著肺細胞浸潤、細胞介素表現及重塑。具體而言，已展示長期暴露於 HDM 之小鼠展現混合第 1 型/第 2 型表型之肺發炎，例如由第 1 型及第 2 型發炎細胞(分別為嗜中性球及嗜酸性球)之組織浸潤、增加之血清 IgE、增加之血清 HDM 特异性 IgG1 以及第 2 型發炎細胞介素(例如 IL-5 及 IL-13)之誘導(Johnson 等人 (2004), American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine; 2 月 1 日；169 (3):378-85；Johnson 等人(2011).PloS ONE.1 月 20 日;6 (1):e16175; Llop-Guevara 等人(2008), PloS ONE, 6 月 11 日;3(6):e2426。

實驗設計

四週 HDM 暴露誘導之肺發炎模型

【0270】 將表 12 中所指示基因型之雌性小鼠隨機化為 2 個組，每一基因型一隻。每週 3 次 IN 投與鹽水(20 μ L)或在 20 μ L 鹽水溶液中稀釋之 50 μ g HDM 達 4 週。所有小鼠品系皆具有混合 C57BL/6NTac / 129S6SvEvTac 背景。在最後暴露後 4 天將小鼠處死，收集肺並測定嗜酸性球形肺浸潤。

表 12：針對 4 週 HDM 模型之實驗方案

群組	基因型	N	暴露試劑	暴露之持續時間(週)
A	野生型	3	20 μ L 鹽水	4
B	野生型	5	50 μ g HDM	4
C	<i>Il33^{hu/hu}</i>	5	20 μ L 鹽水	4
D	<i>Il33^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4
E	<i>Il4ra^{hu/hu}</i>	5	20 μ L 鹽水	4
F	<i>Il4ra^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4
G	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu}</i>	5	20 μ L 鹽水	4
H	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4
I	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}</i>	4	20 μ L 鹽水	4
J	<i>Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}</i>	5	50 μ g HDM	4

野生型= C57BL/6NTac / 129S6SvEvTac

19 週 HDM 暴露誘導之肺發炎模型

【0271】 用於此研究中之 *Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}* 小鼠具有混合背景 C57BL/6NTac (72%) / 129S6SvEvTac (28%)；將雌性小鼠隨機化為 7 個分開組。每一組小鼠之 HDM 暴露及治療或對照投藥方案顯示於表 13 中。每週 3 次 IN 投與鹽水(20 μ L)或於 20 μ L 鹽水溶液中之 50 μ g HDM 稀釋液達 19 週。在 11 週 HDM 暴露後將對照組之 *Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}* 小鼠處死以評估抗體治療開始時之疾病嚴重性。19 週之 HDM 暴露之小鼠不接受抗體治療，或自 HDM 暴露之第 12 週至第 19 週接受每週兩次的皮下(SC)注射達總共 16

個抗體劑量，如表 13 中所指示。簡言之，以 11 mg/kg 之最終蛋白質劑量投與以下抗體：11 mg/kg 同型對照抗體(D 組)、1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 同型對照抗體(E 組)、10 mg/kg 杜匹魯單抗+ 1 mg/kg 同型對照抗體(F 組)或 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 杜匹魯單抗(G 組)。出於此文件之目的，雙重抗體治療組(D-G)將僅由治療抗體(REGN3500 及/或杜匹魯單抗)來鑑別。在該研究之第 134 天，最後 IN 暴露及抗體注射之後 4 天，將所有小鼠處死，經由心臟穿刺收集血液，且收集肺用於分析。

表 13：針對 19 週 HDM 模型之實驗方案

群組	N	暴露試劑	暴露之持續時間(週)	抗體投與	抗體劑量 (mg/kg)
A	5	20 µL 鹽水	19	無	無
B	9	50 µg HDM	11	無	無
C	9	50 µg HDM	19	無	無
D	9	50 µg HDM	19	IgG4 ^P 組	11
E	7	50 µg HDM	19	REGN3500 + IgG4 ^P 對照	1 + 10
F	8	50 µg HDM	19	杜匹魯單抗+ IgG4 ^P 對照	10 + 1
G	8	50 µg HDM	19	REGN3500 + 杜匹魯單抗	1 + 10

IgG4^P 對照=同型匹配之對照抗體，REGN1945。

小鼠飼養

【0272】 對於每一實驗之整個持續時間，將動物在標準條件下圈養在 Regeneron 動物設施中，且在置於研究之前將其馴化至少 7 天。所有動物實驗皆係根據 Regeneron 之動物照護及使用委員會(Institutional Animal Care and Use Committee)之指南來實施。

特定程序

相對肺重量量測

【0273】 在處死之前記錄終點體重量測。在放血之後，去除每一小鼠之左肺並將其置於含有 4%多聚甲醛溶液之管中。在 Mettler Toledo New Classic MS 量表上記錄每一小鼠左肺之濕重。為測定相對肺重量，藉由將肺濕重除以體重計算肺濕重(以 mg 計)對體重(以 g 計)之比率。

細胞肺浸潤之分析

【0274】 在放血之後，去除每一小鼠右肺之尾狀葉，將其置於含有 20 $\mu\text{g/mL}$ DNase I 及 0.7 U/mL Liberase TH 稀釋於漢氏平衡鹽溶液(HBSS)中之溶液之管中，並將其切成大小約 2 mm 至 3 mm 之碎片。然後將含有切粒肺葉之管在 37°C 水浴中培育 20 分鐘。藉由添加最終濃度 10mM 之乙二胺四乙酸(EDTA)終止反應。然後將試樣轉移至 gentleMACS C 管。然後，添加 2 mL autoMACS 緩衝液且隨後使用 gentleMACS™離解器(Miltenyi Biotec)離解試樣以形成單細胞懸浮液。然後將管離心並將所得沈澱物再懸浮於 4 mL 1×紅血球溶解緩衝液中以溶解紅血球。在室溫下培育 3 分鐘之後，添加 2.5 倍體積之 1X DPBS 以去活化紅血球溶解緩衝液。然後將細胞懸浮液離心，並將所得細胞沈澱物再懸浮於 1 mL DPBS 中。藉助 50 μm 杯型 filcon 各自過濾再懸浮試樣並將其轉移至 2 mL 深孔板。以 400 × g 將板離心 4 min 並將每一試樣再懸浮於 1mL DPBS 中。將約 1.5×10^6 個細胞/孔平鋪於 96 孔 U 形底部板中。然後將細胞離心並將細胞沈澱物再懸浮於 100 μL 在 1X DPBS 中以 1:500 稀釋之 LIVE/DEAD Fixable Dead Cell Stain 以測定細胞活力。在避光之同時在室溫下將細胞與活力染料一起培育 15 分鐘。在 1X DPBS 中洗滌一次之後，在 4°C 下將細胞與在 50 μL autoMACS 緩衝液中以 1:50 稀釋之經純化大鼠抗小鼠 CD16/CD32 Fc 阻斷劑一起培育 15 分鐘。然後在避光之同時在 4°C 下將細胞於在 Brilliant 染色緩衝液中稀釋之適當 2×抗體混合物(闡述於表 14 中)培育 30 分鐘。在抗體培育後，將細胞在 autoMACS 緩衝液中洗滌兩次，再懸浮於在 1X DPBS 中 1:4 稀釋之 BD CytoFix 中且然後在避光之

同時在 4°C 下培育 15 分鐘。隨後洗滌細胞並將其再懸浮於 autoMACS 緩衝液中。然後藉助 30-40 µm 之 AcroPrep Advance 96 過濾器板將細胞懸浮液過濾至新的 U 形底部板中。在使用 HTS 附接之 LSR Fortessa X-20 細胞分析儀 (BD Biosciences) 上獲取試樣數據。使用 FlowJo X 軟體 (Tree Star, OR) 實施數據分析且使用 GraphPad Prism™ (GraphPad Software, CA) 實施統計分析。

針對嗜酸性球(總的及經活化的)之門控策略

【0275】 嗜酸性球定義為完整、單一、活的細胞(低 LIVE/DEAD 活力染料信號)CD45⁺、F4/80⁺、Ly6G⁻、SiglecF⁺。嗜酸性球之數據表示為活細胞之頻率。在嗜酸性球群體內，經活化嗜酸性球定義為完整、單一、活的 CD45⁺、F4/80⁺、Ly6G⁻、SiglecF⁺、CD11c^{Hi} 且表示為總嗜酸性球之頻率。

針對 ST2⁺ CD4⁺ T 細胞之門控策略

【0276】 ST2⁺ CD4⁺ T 細胞定義為完整、單一、活的 CD45⁺、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻、ST2⁺。ST2⁺ CD4⁺ T 細胞之數據表示為 CD4⁺ T 細胞(完整、單一、活的 CD45⁺、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻)之頻率。

表 14：用於流式細胞術分析之抗體

抗體	螢光染料	製造商	目錄號	批號	最終稀釋度
混合物 1：總的及經活化嗜酸性球					
CD45	Alexa Fluor 700	BioLegend	103128	B191240/ B211311	1/200
Siglec-F	BV421	BD	562681	4234913/ 6007723	1/200
F4/80	PE	BD	565410	5168713/ 5257914	1/500
Ly6G	BUV395	BD	563978	5156800/ 7103737	1/200
CD11c	PerCP-Cy5.5	BD	560584	5148566/707475 8	1/200
混合物 2：ST2 ⁺ CD4 ⁺ T 細胞					
CD45	Alexa Fluor 700	BioLegend	103128	B211311	1/200
CD19	BUV737	BD	564296	6315651	1/200
ST2	PerCP-eFluor710	eBioscience	H6-9335-8 2	E17254-105	1/200
CD3	PE-Cy7	BD	552774	7074769	1/200

抗體	螢光染料	製造商	目錄號	批號	最終稀釋度
CD8	BUV395	BD	563786	6245983	1/200
CD4	BV786	BD	563331	7075503	1/200

肺蛋白質含量之測定

【0277】 在放血之後，將每一小鼠右肺之前葉及中葉去除，稱重，並將其置於含有補充有蛋白酶抑制劑混合劑之組織蛋白質提取試劑(T-PER)之溶液之管中。為達成最終 1:8 (w/v)之肺組織重量對 T-PER 體積比率，每 mg 組織添加 8 μ L T-PER 溶液(含有蛋白酶抑制劑混合劑)。使用 TissueLyser II 機械均質化肺試樣。將所得溶解物離心成沈澱物碎片。將含有可溶性蛋白質提取物之上清液轉移至新管並在 4°C 下儲存直至進一步分析為止。細胞介素及 MPO 濃度表示為蛋白質之總量/所檢驗葉(分別為 ng/肺葉及 μ g/肺葉)。

細胞介素多重免疫分析

【0278】 使用多重免疫分析套組(Custom 小鼠 10-Plex, MSD)根據製造商之說明書量測肺蛋白質提取物中之小鼠細胞介素(IL-5、IL-13、IL-6、IL-1 β 、IL-12p70、TNF α 、IFN γ 、GRO α 及 MCP-1)濃度。簡言之，稀釋肺均質物試樣並在經捕獲抗體預塗覆之板上培育。使用製造商提供之校準劑蛋白質作為標準品。藉由與讀取緩衝液一起培育之加標籤檢測抗體檢測均質物中之細胞介素。在 MSD Sceptor[®]儀器上立即讀取電化學發光。使用 GraphPad Prism 軟體實施數據分析。將每一分析之線性範圍內之標準品最低濃度定義為各別細胞介素之分析之量化下限(LLOQ)。所測試個別細胞介素之 LLOQ 值係如下：IFN γ =0.2 pg/mL，IL-1 β =1.6 pg/mL，IL-5=0.2 pg/mL，IL-6=1.4 pg/mL，IL-12p70=125.8 pg/mL，IL-13=24.4 pg/mL，GRO α : 0.5 pg/mL，MCP-1=9.8 pg/mL，TNF α =2.4 pg/mL。

人類 IL-4 ELISA

【0279】 使用夾心 ELISA 套組根據製造商之說明書(人類 IL-4 Quantikine

ELISA, R&D Systems)量測肺蛋白質提取物中之人類 IL-4 濃度。簡言之，稀釋肺均質物並在經抗人類 IL-4 捕獲抗體預塗覆之 96 孔板上培育。使用經純化人類 IL-4 作為標準品。使用 HRP 偶聯之抗人類 IL-4 檢測抗體檢測所捕獲人類 IL-4。使用色素原 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB)檢測 HRP 活性。然後添加終止溶液，並在 Molecular Devices SpectraMax M5 板讀取儀上量測 450nm 下之光學密度(OD₄₅₀)。使用 GraphPad Prism 軟體實施數據分析。將該分析之線性範圍內之標準品最低濃度定義為分析之 LLOQ=31.25 pg/mL。

MPO ELISA

【0280】 使用夾心 ELISA 套組根據製造商之說明書(小鼠 MPO ELISA 套組, Hycult Biotech)量測肺蛋白質提取物中之 MPO 濃度。簡言之，稀釋肺均質物並在經抗 MPO 捕獲抗體預塗覆之 96 孔板上培育。使用經純化小鼠 MPO 作為標準品。使用生物素化抗小鼠 MPO 檢測抗體檢測所捕獲 MPO。使用經純化 HRP 偶聯之鏈黴親和素來檢測生物素化抗小鼠 MPO。使用色素原 3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB)檢測 HRP 活性。然後添加終止溶液，並在 Molecular Devices SpectraMax M5 板讀取儀上量測 450nm 下之光學密度(OD₄₅₀)。使用 GraphPad Prism 軟體實施數據分析。將分析之線性範圍內之最低標準濃度定義為該分析之 LLOQ=156.3 ng/mL。

血清收集

【0281】 在研究結束時藉由心臟穿刺將全血收集至微試管中。藉由使血液在室溫下不受干擾至少 30 分鐘使血液凝固。藉由在 4°C 下以 18,000 × g 離心 10 分鐘沈澱凝固血液及細胞物。將所得上清液(稱為血清)轉移至清潔聚丙烯板且使用其來測定循環抗體含量，如下文所闡述。

藉由 ELISA 測定血清中之 SAA 含量

【0282】 使用商業免疫分析(Quantikine ELISA, R&D Systems)根據製造商之說明書測定每一小鼠血清試樣中之總 SAA 濃度。簡言之，稀釋血清試

樣並在先前經單株抗小鼠 SAA 捕獲抗體塗覆之 96 孔板上培育。使用重組體小鼠 SAA 作為標準品。使用 HRP 偶聯之多珠抗小鼠 SAA 檢測抗體檢測所捕獲 SAA。使用比色 HRP 受質 TMB 檢測 HRP 活性。然後添加稀鹽酸之終止溶液，並在 Molecular Devices SpectraMax M5 板讀取儀上量測 OD₄₅₀。將每一試樣之血清中循環 SAA 之濃度測定為 ng/mL 且描繪為 µg/mL。使用 GraphPad Prism 軟體實施數據分析。將分析之線性範圍內之最低標準濃度定義為該分析之 LLOQ= 31.2 ng/mL。

藉由 ELISA 測定血清 IgE 含量

【0283】 使用比色夾心 ELISA OPTeia 套組根據製造商之說明書測定每一小鼠之血清試樣中之總 IgE 濃度。簡言之，稀釋血清試樣並在先前經抗 IgE 捕獲抗體塗覆之 96 孔板上培育。使用經純化小鼠 IgE 作為標準品。使用生物素化抗小鼠 IgE 檢測抗體檢測所捕獲 IgE。使用經純化 HRP 偶聯之鏈黴親和素來檢測生物素化抗小鼠 IgE。使用 TMB 檢測 HRP 活性。然後添加 2N 硫酸之終止溶液，並在 Molecular Devices SpectraMax M5 板讀取儀上量測 OD₄₅₀。每一試樣之血清中循環 IgE 之濃度表示為 µg/mL。使用 GraphPad Prism 軟體實施數據分析。將分析之線性範圍內之最低標準濃度定義為該分析之 LLOQ = 78.15 ng/mL。

藉由 ELISA 測定血清 HDM 特異性 IgG1 含量

【0284】 研發比色 ELISA 分析來測定血清試樣中之 HDM 特異性 IgG1 之含量。在 4°C 下用於磷酸鹽緩衝液鹽水(PBS)中之 4 µg/mL 濃度之 HDM 將板塗覆過夜，洗滌，在室溫下用 0.5% BSA 於 PBS 中之溶液封阻 1 小時，並與連續稀釋之小鼠血清試樣一起培育。在室溫下 1 小時後，洗滌板並藉由在室溫下與大鼠抗小鼠 IgG1 HRP 偶聯抗體一起培育 1 小時來檢測捕獲至板上之 IgG1 抗體。使用 TMB 檢測 HRP 活性。然後添加 2N 硫酸之終止溶液，且在 Molecular Devices SpectraMax M5 板讀取儀上量測 OD₄₅₀。血清中之

IgG1 相對含量表示為效價單位。效價單位係藉由將所量測 OD_{450} 乘以達成大於 2 倍背景 OD_{450} 之 OD_{450} 讀取所需要之稀釋係數來計算。使用 GraphPad Prism 軟體實施數據分析。將分析中所使用之最低稀釋係數定義為分析之 LLOQ = 100。

藉由 ELISA 測定人類靶標特異性 IgG4 抗體含量

【0285】 使用為檢測人類 IgG4 抗體而研發之比色夾心 ELISA 來測定每一小鼠之血清試樣中之人類抗體(REGN3500、杜匹魯單抗或 IgG4^P 同型對照)之濃度。在 4°C 下在 PBS 中用 2 $\mu\text{g/mL}$ 濃度之特異性針對欲量測之人類抗體之抗原(亦即用以捕獲 REGN3500 之人類 IL-33 (REGN3931)、用以捕獲 REGN668 之人類 IL-4R α (REGN560)、用以捕獲 REGN1945 之 Natural Fc ϵ 1)將微量滴定孔塗覆過夜。用於 DPBS 中之 0.05% Tween 20 將孔洗滌四次，在室溫下用 5% BSA 於 DPBS 中之溶液封阻 3 小時並與連續稀釋之小鼠血清試樣或連續稀釋之校準標準品一起培育。使用經純化抗體(REGN3500、REGN668 及 IgG4^P 對照抗體)作為校準及量化血清中各別抗體濃度之標準品。在室溫下 1 小時之後，將板洗滌 7 次且使用生物素化小鼠抗人類 IgG4 特異性單株抗體檢測捕獲至板上之人類 IgG4，隨後與偶聯鏈黴親和素之 Poly HRP 一起培育。使用 TMB 受質根據製造商之說明書檢測 HRP 活性。10 分鐘後，使用 Molecular Devices SpectraMax 多模式板讀取儀在 450 nm 下量測吸光度。用於校準之標準品(REGN3500、REGN668 或 IgG4^P 對照抗體)之最低濃度(0.002 $\mu\text{g/mL}$)定義為此分析之 LLOQ。使用 GraphPad PrismTM (GraphPad Software, CA)實施數據分析。每一試樣之血清中人類抗體之濃度表示為 $\mu\text{g/mL}$ 。

統計學分析

【0286】 使用 GraphPad Prism 7.0 版(GraphPad Software, CA)實施統計學分析。

來自 4 週 HDM 暴露模型中 IL-33-、IL-4-及 IL-4R α -人類化小鼠之表徵之數據之統計學分析

【0287】 藉由二因子方差分析(ANOVA)、隨後用於多重比較之圖基事後測試來解釋結果。當 $p \leq 0.05$ 時將差異視為統計學顯著。

來自 19 週 HDM 暴露誘導之肺發炎模型中之 REGN3500/杜匹魯單抗治療之數據之統計學分析

【0288】 使用 Shapiro-Wilk 測試評估數據之常態性。若數據通過常態性測試，且不同組之標準偏差彼此並非統計不同(如藉由 Brown-Forsythe 測試所評估)，則藉由單因子 ANOVA、隨後用於多重比較之圖基事後測試來解釋結果。若數據未能通過常態性測試，或標準偏差顯著不同，則使用 Kruskal-Wallis 測試、隨後用於多重比較之鄧恩事後測試來解釋結果。當 $p \leq 0.05$ 時將差異視為統計學顯著。

結果

IL-33-、IL-4-及 IL-4R α 胞外域-人類化小鼠之描述

【0289】 每週 3 次將野生型、 $Il33^{hu/hu}$ -及 $Il4ra^{hu/hu}$ -單一人類化、 $Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}$ 雙重人類化及 $Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}$ 三重人類化小鼠 IN 暴露於鹽水或 HDM 達 4 週。在最後暴露之後 4 天將小鼠處死且收集肺以評估經活化嗜酸性球之肺浸潤(藉由高 CD11c 表現來鑑別)。個別小鼠數據及統計學分析提供於圖 2 中。三重人類化 $Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}$ 小鼠顯示類似於野生型小鼠之對 HDM 之穩健反應，如藉由在 4 週 HDM 暴露之後肺組織中經活化嗜酸性球之頻率顯著增加所指示。 $Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}$ 及野生型小鼠在不存在 HDM 暴露(鹽水暴露之對照小鼠)下亦顯示肺組織中經活化嗜酸性球之類似頻率。在比較 HDM 暴露之野生型小鼠與來自任一所測試人類化小鼠品系之 HDM 暴露之小鼠($Il4ra^{hu/hu}$ 單一人類化小鼠除外)時未觀察到統計顯著性差異。 $Il4ra^{hu/hu}$ 小鼠中經活化嗜酸性球性肺浸潤之百分比沒有

HDM 暴露誘導之統計學顯著性增加可能歸因於小鼠 IL-4 不經由人類 IL-4R α 受體發信號之事實。另一方面，人類 IL-33 已顯示經由鼠類受體複合物(REGN3500-MX-16069)發信號。另外，在比較鹽水暴露之野生型小鼠與來自任一所測試人類化小鼠品系之鹽水暴露之小鼠時未觀察到統計顯著性差異。該等發現驗證用作小鼠 HDM 暴露誘導之肺發炎模型之 *Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}* 小鼠品系。

在 19 週 HDM 暴露之小鼠中 REGN3500 及杜匹魯單抗治療之效應

【0290】 每週 3 次將 *Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}* 小鼠 IN 暴露於鹽水或 HDM 達 11 週或 19 週。四組 19 週 HDM 暴露之小鼠自第 12 週至第 19 週接受每週兩次之 SC 抗體注射；所有其他組皆不接受治療(無，淺灰色盒)。以 11 mg/kg 之最終蛋白質劑量單獨或組合投與抗體，如下所示：11 mg/kg 同型對照抗體、1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 同型對照抗體、10 mg/kg 杜匹魯單抗 + 1 mg/kg 同型對照抗體或 1 mg/kg REGN3500 + 10 mg/kg 杜匹魯單抗。在 11 週暴露之後將一隊小鼠處死以測定抗體治療開始時之發炎概況(11 週暴露組)。在第 134 天(最後暴露及抗體注射之後 4 天)將其他 4 個隊列處死(19 週暴露組)。藉由心臟穿刺收集全血用於血清分離且收集肺用於進一步分析。除非另外說明，否則所有組皆包含相同品系之小鼠(*Il4ra^{hu/hu}Il4^{hu/hu}Il33^{hu/hu}*)。

整體肺病理學之分析

【0291】 與鹽水暴露之對照小鼠相比，在 19 週 HDM 暴露之小鼠中相對肺重量顯著增加(圖 3)。此可能歸因於增加之細胞浸潤、膠原蛋白沈積、肌肉肥大及黏液產生。與投與同型對照抗體之小鼠相比，在 HDM 暴露之小鼠中，REGN3500 及杜匹魯單抗之組合投與顯著阻斷 HDM 暴露誘導之相對肺重量增加(圖 3)。在用單獨 REGN3500 投藥之 HDM 暴露之小鼠中亦觀察到相對肺重量降低之趨勢。

肺細胞浸潤之分析

【0292】 在最後抗體注射之後 4 天，收集小鼠肺並將右肺之尾狀葉離解成單一細胞懸浮液用於嗜酸性球之流式細胞術分析。嗜酸性球係定義為完整、單一、活的 $CD45^+$ 、 $F4/80^+$ 、 $Ly6G^-$ 、 $SiglecF^+$ 且經活化嗜酸性球進一步定義為 $CD11c^{Hi}$ 。經活化嗜酸性球之肺浸潤係報告為(A)中總肺嗜酸性球之頻率(%)且總體肺嗜酸性球性浸潤係報告為活的(完整、單一、活的)細胞中總肺嗜酸性球之頻率(%)。與鹽水暴露之對照小鼠相比，暴露於 HDM 達 19 週顯著增加了細胞肺浸潤(如藉由用於檢測總的及經活化的肺嗜酸性球之流式細胞術所評估)(圖 4A 及 4B)及肺 $ST2^+ CD4^+$ T 細胞($ST2^+ CD4^+$ T 細胞係定義為完整、單一、活的 $CD45^+$ 、 $CD3^+$ 、 $CD19^-$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^-$ 、 $ST2^+$ 且報告為 $CD4^+$ T 細胞之頻率)(圖 5)，或藉由用於檢測肺 MPO 蛋白質含量(作為嗜中性球之標記物)之免疫分析(MPO 蛋白質含量係藉由酶聯免疫吸附分析量測。肺 MPO 蛋白質含量表示為 MPO 蛋白量(μg)/肺葉)(圖 6)。

【0293】 與投與同型對照抗體相比，在 19 週 HDM 暴露之小鼠中組合投與 REGN3500 及杜匹魯單抗而非任一單獨抗體可顯著降低經活化嗜酸性球之肺浸潤程度。值得注意的是，與對應於治療開始之 11 週 HDM 暴露誘導之程度相比，在組合投與 REGN3500 及杜匹魯單抗之小鼠中經活化嗜酸性球之肺浸潤程度亦顯著降低(圖 4A)。儘管投與任一單獨抗體未引起顯著效應，但在投與杜匹魯單抗之小鼠中觀察到經活化嗜酸性球之肺浸潤降低之趨勢。組合投與 REGN3500 及杜匹魯單抗之 HDM 暴露之小鼠亦顯示 HDM 誘導之總嗜酸性球之肺浸潤降低之趨勢(圖 4B)。

【0294】 與投與同型對照之小鼠中之程度相比及與治療開始時 11 週 HDM 暴露誘導之程度相比，在單獨或與杜匹魯單抗組合投與 REGN3500 之 19 週 HDM 暴露之小鼠中， $ST2^+ CD4^+$ T 細胞之肺浸潤程度顯著降低(圖 5)。對於單獨 REGN3500 及與杜匹魯單抗組合觀察到類似的浸潤阻斷(在 1.02 倍內之平均頻率)，指示此病理學主要係由 IL-33 驅動。

【0295】 類似於嗜酸性球性浸潤，組合投與 REGN3500 及杜匹魯單抗顯示較任一單獨抗體更強的阻斷嗜中性肺浸潤之效應。與同型對照相比，藉由組合投與 REGN3500 及杜匹魯單抗可顯著阻斷 HDM 暴露誘導之髓過氧化物酶(MPO) (嗜中性球浸潤之標記物)之肺蛋白質含量增加(圖 6)。儘管投與任一單獨抗體未引起顯著效應，但在投與 REGN3500 之小鼠中觀察到肺 MPO 蛋白質含量降低之趨勢。

肺組織細胞介素含量分析

【0296】 針對小鼠細胞介素 IL-5、IL-13、IL-6、IL-1 β 、IL-12p70、TNF α 、IFN γ 、GRO α 及 MCP-1 及針對人類細胞介素 hIL-4 評估 HDM 暴露及抗體治療對肺蛋白質含量(總蛋白質/葉)之效應。

【0297】 收集肺(右肺前葉及中葉)且藉由多重免疫分析量測所指示小鼠細胞介素之蛋白質含量。使用市售 ELISA 套組檢測人類 IL-4 蛋白質含量(hIL-4)。藉由多重免疫分析量測 IL-5 (圖 7A)及 IL-6 (圖 7B)蛋白質含量。將肺組織細胞介素蛋白質含量計算為蛋白量(pg)/肺葉。生成偽彩色熱圖(本文未顯示)以表示在淺黃色至深藍色範圍內之相對細胞介素。藉由將每一單獨細胞介素之最低及最高記錄平均肺蛋白質含量分別定義為 0% (淺黃色)及 100% (深藍色)產生相對肺細胞介素含量之範圍。相對肺細胞介素蛋白質含量(%)係藉由數值及熱圖中之色彩來指示。統計顯著性係藉由克-瓦二氏單因子 ANOVA 以及鄧恩多重比較事後測試來測定。

【0298】 IL-12p70 之結果低於所有組之量化下限且因此在本文未作報告。

【0299】 與鹽水暴露之對照小鼠相比，八種細胞介素(hIL-4、IL-5、IL-6、IL-13、IL-1 β 、TNF α 、GRO α 及 MCP-1)顯示因應於 19 週 HDM 暴露之肺蛋白質含量顯著增加。與鹽水暴露之對照小鼠相比，僅 IFN γ 未顯示因應於 19 週 HDM 暴露之肺蛋白質含量顯著增加，與投與同型對照抗體之 19 週 HDM

暴露之小鼠相比，IFN γ 含量亦未受治療抗體投與影響。與投與同型對照抗體之小鼠相比，藉由組合投與 REGN3500 及杜匹魯單抗顯著阻斷了 HDM 暴露誘導之 5 種細胞介素(hIL-4、IL-6、TNF α 、GRO α 及 MCP-1)之肺蛋白質含量增加，但藉由投與任一單獨抗體未阻斷。

【0300】 與投與同型對照抗體之小鼠相比，藉由組合之 REGN3500 及杜匹魯單抗治療，另外 2 種 HDM 暴露反應性細胞介素(IL-5 及 IL-1 β)顯示阻斷之趨勢，其中肺蛋白質含量分別降低 83%及 78% (圖 7A 及 7B)。投與個別抗體引起 IL-5 及 IL-1 β 含量較不顯著降低之趨勢。

SAA(發炎之全身性標記物)之分析

【0301】 在最後暴露及抗體注射之後 4 天，藉由心臟穿刺收集全血並分離血清。使用市售 ELISA 套組量測循環 SAA 蛋白質含量。循環 SAA 蛋白質含量表示為 SAA 蛋白量(μ g)/mL 血清。與鹽水暴露之對照小鼠相比，在 19 週 HDM 暴露之小鼠中發炎之全身性標記物 SAA 之循環蛋白質含量顯著增加(圖 8)。

【0302】 在單獨或與杜匹魯單抗組合投與 REGN3500 之小鼠中 HDM 暴露誘導之循環 SAA 含量之增加顯著降低(圖 8)，而在投與單獨杜匹魯單抗之小鼠中觀察到循環 SAA 含量降低之趨勢。

在 HDM 暴露後體液過敏反應之量化

【0303】 在最後暴露及抗體注射之後 4 天，藉由心臟穿刺收集全血並分離血清。使用市售 ELISA 套組量測循環 IgE 蛋白質含量。循環 IgE 蛋白質含量表示為 IgE 蛋白量(μ g)/mL 血清。

【0304】 藉由 HDM 暴露引發體液過敏反應，如在研究結束時(第 134 天)藉由循環 IgE(圖 9)及 HDM 特異性 IgG1 (表 9)之含量所評估。

【0305】 與鹽水暴露之對照小鼠相比，在 19 週 HDM 暴露之小鼠中 IgE 之循環蛋白質含量顯著增加(圖 9)。循環 HDM 特異性 IgG1 之平均效價自

1.14E+02 (在鹽水暴露之對照小鼠中)增加至在 1.37E+06 至 2.43E+06 範圍內之位準(在暴露於 HDM 達 19 週之小鼠中) (表 15)。對於該等終點中之任一者未觀察到 REGN3500、杜匹魯單抗或組合治療之統計學顯著效應，但在投與 REGN3500 及杜匹魯單抗之組合之小鼠中觀察到血清 IgE 含量降低之趨勢。

表 15：血清中 HDM 特異性 IgG1 之濃度之概要

血清中之 HDM 特異性 IgG1 (效價)	鹽水 19 週	HDM 11 週	HDM 19 週				
			無抗體	IgG4 ^P	REGN3500 + IgG4 ^P	杜匹魯單抗 + IgG4 ^P	REGN3500 + 杜匹魯單抗
平均值	1.14E+02	2.19E+06	2.43E+06	2.14E+06	1.47E+06	1.37E+06	1.21E+06
SD	6.15E+01	1.07E+06	9.81E+05	5.60E+05	1.17E+06	5.79E+05	5.29E+05

血清中人類抗體濃度之量化

【0306】 在研究結束時(第 134 天)(最後抗體投與後 4 天)，藉由靶標特異性抗人類 IgG4 ELISA 測定人類 IgG4^P 抗體(IgG4^P 同型對照、REGN3500 及杜匹魯單抗)之血清濃度。人類 IgG4 抗體之平均濃度概述於表 16 中。

表 16：研究結束時之人類抗體血清含量

	血清抗體含量，平均值 ± SD (µg/mL)						
	19 wk 鹽水	11 wk HDM	19 wk HDM	19 wk HDM IgG4 ^P (11 mg/kg)	19 wk HDM REGN3500 (1 mg/kg) + IgG4 ^P (10 mg/kg)	19 wk HDM 杜匹魯單抗 (10 mg/kg) + IgG4 ^P (1 mg/kg)	19 wk HDM REGN3500 (1 mg/kg) + 杜匹魯單抗(10 mg/kg)
REGN3500	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	n/t	11.4±10.1	n/t	12.7±8.8
杜匹魯單抗	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	n/t	n/t	8.0±13.5	48.9±27.9
IgG4 ^P	0.0±0.0	<LLOQ	<LLOQ	54.5±6	88.6±76.0	0.1±0.1	n/t

	血清抗體含量，平均值 ± SD (µg/mL)						
	19 wk 鹽水	11 wk HDM	19 wk HDM	19 wk HDM IgG4 ^P (11 mg/kg)	19 wk HDM REGN350 0 (1 mg/kg) + IgG4 ^P (10 mg/kg)	19 wk HDM 杜 匹魯單抗 (10 mg/kg) + IgG4 ^P (1 mg/kg)	19 wk HDM REGN35 00 (1 mg/kg) + 杜匹魯單 抗(10 mg/kg)
	^a		Q	3.9			

^a此組中之一隻小鼠之血清 IgG4^P 含量>LLOQ，因此此處報告約整值。

概要

【0307】 與僅暴露於鹽水之對照小鼠相比，在未治療時或在投與 IgG4^P 同型對照抗體之後，暴露於 HDM 達 19 週之小鼠展示發炎之所有 14 種量測病理學標記物(一種肺 IFN γ 含量除外)皆顯著增加。

【0308】 與同型對照抗體相比，REGN3500 及杜匹魯單抗之組合投與顯著阻斷了所測試 HDM 暴露反應性終點之 10/13 (相對肺重量、經活化嗜酸性球之肺浸潤、嗜中性球[MPO 含量]及 ST2⁺ CD4⁺ T 細胞、細胞介素 hIL-4、IL-6、TNF α 、GRO α 及 MCP-1 之肺蛋白質含量，及血清中 SAA 之含量)。另外，經活化嗜酸性球及 ST2⁺ CD4⁺ T 細胞之肺浸潤程度顯著降低至低於在對應於抗體治療開始之 11 週 HDM 暴露之小鼠中所觀察到之彼等之程度。在此模型中投與單獨杜匹魯單抗未顯著阻斷 13 種所測試 HDM 暴露反應性終點中之任一者，而投與單獨 REGN3500 顯著阻斷了 2 個測試終點：ST2⁺ CD4⁺ T 細胞肺浸潤及循環 SAA 含量。對於該 2 個終點，由單獨 REGN3500 介導之阻斷類似於由 REGN3500 與杜匹魯單抗之組合介導之阻斷，表明該等病理學標記物主要係由 IL-33 驅動。

【0309】 REGN3500 及杜匹魯單抗之組合投與顯示阻斷針對另外 3 個 HDM 暴露反應性終點之 HDM 暴露誘導之反應之趨勢而未達成統計顯著性(嗜酸性球[總的]之肺浸潤、細胞介素 IL-5 及 IL-1 β 之肺蛋白質含量，及 IgE

之血清蛋白質含量)。對於該等標記物，利用 REGN3500 或杜匹魯單抗之個別抗體治療通常引起較組合治療更弱的降低。

【0310】 在研究結束時，所有抗體治療組皆與可檢測的血清靶標特異性人類 IgG4 抗體之含量相關。在持續 8 週每週兩次用任一單獨治療抗體或其組合投藥之小鼠中，在研究結束時，REGN3500 之平均血清濃度分別為 $11.4 \pm 10.1 \mu\text{g/mL}$ 及 $12.7 \pm 8.8 \mu\text{g/mL}$ ，且杜匹魯單抗之平均血清濃度分別為 $8.0 \pm 13.5 \mu\text{g/mL}$ 及 $48.9 \pm 27.9 \mu\text{g/mL}$ 。

【0311】 總之，與利用任一單獨抗體之治療相比，在使用 *Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}* 小鼠之 19 週 HDM 暴露誘導之肺發炎模型中 REGN3500 及杜匹魯單抗之組合治療更顯著的改良了幾乎所有的測試肺病狀及發炎標記物。

結論

【0312】 與利用任一單獨抗體之治療相比，在使用 *Il4ra^{hu/hu} Il4^{hu/hu} Il33^{hu/hu}* 小鼠之 19 週 HDM 暴露誘導之肺發炎模型中 REGN3500 及杜匹魯單抗之組合治療更顯著的改良了幾乎所有的測試肺病狀及發炎標記物。

實例 7：對 SAR440340/REGN3500 或杜匹魯單抗在中度至嚴重 COPD 患者中單獨使用時及以組合療法使用時之評估

研究設計

【0313】 此研究為隨機化、雙盲、安慰劑對照、平行組、24 週概念驗證研究，其用來評估 IL-33 單株抗體(SAR440340/REGN3500)、IL-4R 單株抗體(杜匹魯單抗，亦稱為 DUPIXENT®)在患有中度至嚴重慢性阻塞性肺病(COPD)之患者中在各自單獨使用時或在組合使用時之功效、安全性及耐受性。

【0314】 總共 832 名個體將參與該研究。該研究將由四個組組成，一個組為皮下(SC)投與單獨抗 IL-33 單株抗體(SAR440340/REGN3500)之患者；

第二組為皮下投與單獨抗 IL-4R 單株抗體(杜匹魯單抗)之患者；第三組為皮下共投與 SAR440340/REGN3500 及杜匹魯單抗二者之患者；且第四組為安慰劑。

【0315】 第 1 組中之患者將持續 24 週每 2 週接受 2 次 SAR440340/REGN3500 之 SC 注射且持續 24 週每 2 週以 1 次 SC 注射共投與杜匹魯單抗安慰劑；第 2 組中之患者將持續 24 週每 2 週接受 1 次杜匹魯單抗之 SC 注射且持續 24 週每 2 週以 2 次 SC 注射共投與 SAR440340/REGN3500 安慰劑；第 3 組中之患者將持續 24 週每 2 週接受 2 次 SAR440340/REGN3500 之 SC 注射且持續 24 週每 2 週以 1 次 SC 注射共投與杜匹魯單抗；第 4 組中之患者將持續 24 週每 2 週接受分別以 2 次及 1 次 SC 注射投與之 SAR440340/REGN3500 及杜匹魯單抗之匹配安慰劑。

研究目標

【0316】 此研究之主要目標係測定並比較介白素-33 抗體(SAR440340/REGN3500)、介白素-4 受體單株抗體(杜匹魯單抗)及二者共投與(與安慰劑相比)持續 24 週在患有中度至嚴重慢性阻塞性肺病(COPD)且已經吸入皮質類固醇(ICS)及/或長效 β 2 腎上腺素激動劑(LABA)及/或長效蕁毒鹼拮抗劑(LAMA)背景療法(雙重或三重療法)治療之患者中對改良呼吸功能之效應，如藉由支氣管擴張劑後之一秒努力呼吸容積(FEV1)所評估。

【0317】 次要目標將為評估 SAR440340/REGN3500、杜匹魯單抗及二者共投與(各自與安慰劑相比)在持續 24 週治療之情況下對中度至嚴重 COPD 急性惡化(AECOPD)之發生率之效應。

【0318】 另一次要目標係評估 SAR440340/REGN3500、杜匹魯單抗及二者共投與(各自與安慰劑相比)對以下之效應：支氣管擴張劑前之 FEV1 (持續 24 週)；自基線至第一中度或嚴重 AECOPD 事件之持續時間(持續 24 週)；COPD 臨床症狀之評估；安全性及耐受性。

納入準則

【0319】 研究之納入準則如下：(1)患者患有中度至嚴重慢性阻塞性肺病(COPD) (支氣管擴張劑後之一秒努力呼吸容積(FEV1)努力肺活量(FVC) <70%且支氣管擴張劑後之 FEV1%經預測<80%但≥30%)；(2)患者在篩選訪視 1 及訪視 2/隨機化時具有≥ 10 之 COPD 評估測試(CAT)評分；(3)患者報告慢性支氣管炎之體徵及症狀史(慢性排痰性咳嗽在當年持續 3 個月，直至已在已排除慢性咳嗽之其他原因(例如胃食道回流、慢性鼻竇炎、支氣管擴張)之患者中進行篩選)；(4)患者在一年內在篩選之前記載≥ 2 次之中度惡化或≥1 次之嚴重惡化之歷史；(5)患者在訪視 2/隨機化之前利用標準照護背景療法持續 3 個月，且在篩選訪視 1 之前以穩定劑量持續至少 1 個月，包括：雙重療法：長效β激動劑(LABA)+長效蕁毒鹼拮抗劑(LAMA)或吸入皮質類固醇(ICS)+LABA 或 ICS+LAMA；或三重療法：ICS+LABA+LAMA；(6)簽署書面知情同意書；及(7)具有≥10 包/年之吸菸史之現時吸菸者或曾吸菸者。

排除準則

【0320】 研究之排除準則如下：(1)年齡≤40 歲或> 75 歲；(2)患者之身體質量指數(BMI) <16；(3)患者在隨機化前 6 個月內診斷出患有 COPD；(4)目前氣喘診斷係根據全球氣喘防治創議(GINA)指南；(5)診斷出除 COPD 以外之顯著肺病(例如，肺纖維變性、類肉瘤病、間質肺病、肺高血壓、支氣管擴張、伴多血管炎之嗜酸性球性肉芽腫、基於雙相氣道正壓之顯著睡眠呼吸暫停等)或與升高之外周嗜酸性球計數相關另一肺病或全身性疾病；(6)診斷出 α-1 抗胰蛋白酶缺乏；(7)需要長期(>15 小時/天)氧支持之晚期 COPD；(8)患者在篩選前 4 週內患有中度或嚴重的 COPD 事件急性惡化；(9)在篩選/訪視 1 前 4 週內或在篩選時段期間，患者經歷上呼吸道或下呼吸道感染；(10)先前具有肺切除術或肺減容手術之歷史或計劃進行肺切除術或肺

減容手術；(11)患者具有對生物藥物具有全身性高敏感性反應之歷史。

實例8. SAR440340/REGN3500 或杜匹魯單抗在中度至嚴重氣喘患者中在單獨使用時及在作為組合療法使用時之評估

研究設計

【0321】 此研究係隨機化、雙盲、安慰劑對照、平行組、12 週概念驗證 (PoC) 研究，其用於評估 SAR440340/REGN3500、杜匹魯單抗(亦稱為 DUPIXENT®)及 SAR440340 及杜匹魯單抗之共投與在患有中度至嚴重氣喘且基於吸入皮質類固醇(ICS)加長效 β_2 腎上腺素激動劑(LABA)療法未得到充分控制之患者中之功效、安全性及耐受性。

【0322】 總共 800 名個體將參與此研究。該研究將由四個組組成，一個組為皮下(SC)投與單獨抗 IL-33 單株抗體(SAR440340/REGN3500)之患者；第二組為皮下投與單獨抗 IL-4R 單株抗體(杜匹魯單抗)之患者；第三組為皮下共投與 SAR440340/REGN3500 及杜匹魯單抗之患者；且第四組為安慰劑。

【0323】 第 1 組中之患者將接受持續 12 週每 2 週以 2 次皮下(SC)注射投與之 SAR440340/REGN3500 及持續 12 週每 2 週以 1 次 SC 注射進行之杜匹魯單抗安慰劑之共投與；第 2 組中之患者將接受持續 12 週每 2 週以 1 SC 注射投與之杜匹魯單抗及持續 12 週每 2 週以 2 次 SC 注射進行之 SAR440340/REGN3500 安慰劑之共投與；第 3 組中之患者將接受持續 12 週每 2 週以 2 次 SC 注射投與之 SAR440340/REGN3500 及持續 12 週每 2 週以 1 次 SC 注射投與之杜匹魯單抗之共投與；第 4 組中之患者將接受持續 12 週每 2 週分別以 2 次及 1 次 SC 注射投與之 SAR440340/REGN3500 及杜匹魯單抗之匹配安慰劑之共投與。

研究目標

【0324】 主要研究目標係評估與安慰劑相比 SAR440340/REGN3500 聯合或不聯合杜匹魯單抗對降低「氣喘失控」(LOAC)事件之發生率之效應。

【0325】 次要研究目標將為評估與安慰劑相比 SAR440340/REGN3500 及 SAR440340/REGN3500 及杜匹魯單抗之共投與對一秒努力呼吸容積(FEV1)之效應；評估與 SAR440340/REGN3500 相比及與杜匹魯單抗相比共投與 SAR440340/REGN3500 及杜匹魯單抗對 FEV1 之效應；評估與單獨 SAR440340/REGN3500 及單獨杜匹魯單抗相比同時投與 SAR440340/REGN3500 及杜匹魯單抗對降低 LOAC 之效應；及評估單獨 SAR440340/REGN3500 及其與杜匹魯單抗共投與之安全性及耐受性。

納入準則

【0326】 研究之納入準則如下：(1)成年患者(18 歲及以上)，醫師基於全球氣喘防治創議(GINA) 2016 指南診斷出氣喘持續至少 12 個月，利用以下準則該等患者之氣喘基於 ICS/LABA 組合療法部分地受控或不受控：在訪視 1 前，現有治療利用中等至高劑量吸入皮質類固醇(ICS) (每天兩次(BID)≥250 mcg 之丙酸氟替卡松(fluticasone propionate)或等效 ICS 日劑量至最大值 2000 mcg/天之丙酸氟替卡松或臨床相當)，且與作為第二控制劑之長效 β-激動劑(LABA)組合，該第二控制劑持續至少 3 個月，其中穩定劑量≥1 個月；(2)支氣管擴張劑前之一秒努力呼吸容積(FEV1)為在訪視 2/基線時所預測正常值之≥50%但≤85%；(3)在篩選期間在投與 2 噴至 4 噴(200-400 mcg)沙丁胺醇/舒喘靈(albuterol/salbutamol)或左旋沙丁胺醇/左旋舒喘靈(levsalbutamol/levosalbutamol)之後，FEV1 之可逆性為至少 12%及 200 mL (在同一訪視期間容許至多 3 次機會，且在患者耐受之情況下舒緩醫藥最多為 12 噴)；在訪視 1/篩選前 6 個月內，在比較 2 次可接受之呼吸量測定評估時，記載有支氣管擴張劑前之 FEV1 具有 20%可變性之歷史；或在訪視 1/篩選前 12 個月內，對乙醯甲膽鹼(methacholine)具有陽性氣道高反應性，此二者視為可接受地滿足此納入準則；(4)在訪視 1 前 1 年內必須經歷以下事件中之任一者至少一次：針對惡化氣喘利用全身性類固醇(經口或非經腸)進行治

療，或針對惡化氣喘進行住院或緊急醫療照護訪視；(5)簽署書面知情同意書。

排除準則

【0327】 該研究之排除準則如下：(1)患者<18 歲或>70 歲(亦即，在篩選訪視時達到 71 歲之年齡)；(2)患者之身體質量指數(BMI)<16；(3)可損害肺功能之慢性肺病(例如，慢性阻塞性肺病[COPD]或特發性肺纖維變性[IPF])；(4)威脅生命的氣喘(亦即，需要插管之嚴重惡化)之歷史；(5)可干擾 IMP 之評估之共病疾病；(6)患者在其篩選訪視 1 前之 4 週內具有以下事件中之任一者：針對惡化氣喘利用 1 或多次全身性(經口及/或非經腸)類固醇爆裂進行治療，或針對惡化氣喘進行住院或緊急醫療照護訪視；(7)在 V2/隨機化時，氣喘控制問卷 5 問題版本(Asthma Control Questionnaire 5-question version, ACQ-5)評分<1.25 或>3.0。在篩選時段期間，最高≤4 之 ACQ-5 係可接受的；(8)在訪視 1 前 130 天內使用抗免疫球蛋白 E (IgE)療法(例如，奧馬佐單抗[Xolair®])，或在訪視 1 前 2 個月或 5 個半衰期內使用任何其他生物療法(包括抗 IL5 mAb)或全身性免疫抑制劑(例如，胺甲喋呤)來治療發炎疾病或自體免疫疾病(例如，類風濕性關節炎、發炎性腸病、原發性膽汁性硬化、全身性紅斑狼瘡、多發性硬化等)及其他疾病，以更長者為準；(9)患者具有對生物藥物有全身性高敏感性反應之歷史；(10)患者在訪視 1 前 2 年內處於支氣管熱形成術中或開始該支氣管熱形成術，或在篩選時段或隨機化治療時段期間計劃開始療法；(11)現時吸菸者或在訪視 1 前之 6 個月內停止吸菸；(12)具有>10 吸菸積累指數(pack-years)之吸菸史之先前吸菸者。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

無

【序列表】(請換頁單獨記載)

序列表

- <110> 美商再生元醫藥公司
Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
- <120>治療發炎症狀的方法
METHODS OF TREATING INFLAMMATORY CONDITIONS
- <130> 10142W001
- <150> 62/428,634
<151> 2016-12-01
- <150> 62/473,738
<151> 2017-03-30
- <150> 62/567,318
<151> 2017-10-03
- <160> 356
- <170> FastSEQ, Windows 版本 4.0
- <210> 1
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列
- <220>
<223> 合成
- <400> 1
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agttatggca tgcattgggt ccgccagget 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagaaa taaatactat 180
acagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatgg acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagagg 300
tatatcagca gctattatgg ggggttcgac ccctggggcc agggagccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366
- <210> 2
<211> 122
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 2

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

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 3

ggattcacct tcagtagtta tggc 24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 5
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 5
atatggtatg atggaagaaa taaa 24

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 6
Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys
1 5

<210> 7
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 7
gcgagagaga ggtatatcag cagctattat ggggggttcg accccc 45

<210> 8
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 8
Ala Arg Glu Arg Tyr Ile Ser Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Asp Pro
1 5 10 15

<210> 9
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 9
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggatattagt agttggtttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaggtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggcct 300
gggaccaaac tggatatcaa g 321

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
100 105

<210> 11
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 11
cagggtatta gtagttgg 18

<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 12
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 13
gctgcatcc 9

<210> 14
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 14
Ala Ala Ser
1

<210> 15
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 15
caacaggcta acagtttccc attcact 27

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 16
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 17
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 17
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta gtggaagtag cacagactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatt tccagagaca attccaggga cacgctgcat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaacgttc 300
tactacttct acggttttga cgtctgggga caagggaacca cggtcaccgt ctctctca 357

<210> 18
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 18
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asp Thr Leu His
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Thr Phe Tyr Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 19
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 19
ggattcacct tcagcagcta tgcc 24

<210> 20
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 20
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 21
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 21
attagtggtgta gtggaagtag caca 24

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 22
Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr
1 5

<210> 23
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 23

gcgaaaacgt tctactactt ctacggttg gacgtc 36

- <210> 24
- <211> 12
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成

<400> 24
Ala Lys Thr Phe Tyr Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10

- <210> 25
- <211> 321
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成

<400> 25
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctttaagaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtca gggcattagc aattatttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtgc ctaaggctct aatctatgct gcateccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagtt ttcactctca ccatcagcag cctgcagact 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tatagcagtg ccccatcac ttctggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

- <210> 26
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 合成

<400> 26
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Arg
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Val Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Thr
65 70 75 80
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Ser Ser Ala Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 27
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 27
cagggcatta gcaattat 18

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 28
Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 29
gctgcatcc 9

<210> 30
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 30
Ala Ala Ser
1

<210> 31
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 31
caaaagtata gcagtgcgcc attcact 27

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 32
Gln Lys Tyr Ser Ser Ala Pro Phe Thr
1 5

<210> 33
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>	
<223> 合成	
<400> 35	
ggatccactt tcaccggcta ctat	24
<210> 36	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成	
<400> 36	
Gly Ser Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr	
1 5	
<210> 37	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成	
<400> 37	
atcaacccta acaatggtgg caca	24
<210> 38	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成	
<400> 38	
Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr	
1 5	
<210> 39	

<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 39
gcgagagagt tgcggtataa ctggaagtcc 30

<210> 40
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 40
Ala Arg Glu Leu Arg Tyr Asn Trp Lys Ser
1 5 10

<210> 41
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 41
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagtcacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttggc aggccctact tagcctggta ccaacagata 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tgacatccca 180
gacaggttca gtggcaatgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag tagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatgata attcccctta tacttttggc 300
caggggacca ggctggagat caaa 324

<210> 42
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 42

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

<210> 43

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 43

cagagtgttg gcaggcccta c 21

<210> 44

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 44

Gln Ser Val Gly Arg Pro Tyr
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 45
ggtgcatcc 9

<210> 46
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 46
Gly Ala Ser
1

<210> 47
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 47
cagcagtatg ataattcccc ttatact 27

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 48

Gln Gln Tyr Asp Asn Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 49
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 49
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacaac ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttaga agctttgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggaatt ggtctcagat ctcaggacta gtggtggttag tacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gctcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaagccac 300
tatagcacca gctggttcgg gggctttgac tactggggcc agggaaccct ggtcactgtc 360
tcctca 366

<210> 50
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 51
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 51
ggattcacct ttagaagctt tgcc 24

<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 52
Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe Ala
1 5

<210> 53
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 53
ctcaggacta gtggtggtag taca 24

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 54
Leu Arg Thr Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 55
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 55
gcgaaaagcc actatagcac cagctggttc gggggctttg actac 45

<210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 56
Ala Lys Ser His Tyr Ser Thr Ser Trp Phe Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 57
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 57
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgctt ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcaccttgtc gggcgagtca gggtttttagc agctggtttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaccaa cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 58
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 58
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 59
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 59
cagggtttta gcagctgg 18

<210> 60
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 60
Gln Gly Phe Ser Ser Trp
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 61
gctgcatcc 9

<210> 62
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 62
Ala Ala Ser
1

<210> 63
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 63
caacaggcta acagtttccc tctcact 27

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 64
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 65
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 65
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacgttttagc agctatgtca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaagt attagtggta atgggtggtag cacaaactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
ctggaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaatcactg 300
ggaactacca cgactttttt ggggtttgac tattggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 66
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 66
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Val Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

354045

Ser Ser Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val

505560

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe

65707580

Leu Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

859095

Ala Lys Ser Leu Gly Thr Thr Thr Thr Phe Leu Gly Phe Asp Tyr Trp

100105110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115120

<210> 67
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 67

ggattcacgt ttagcagcta tgtc

24

<210> 68
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 68

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val

15

<210> 69
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 69
attagtggta atggtggtag caca 24

<210> 70
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 70
Ile Ser Gly Asn Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 71
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 71
gcgaaatcac tgggaactac cagactttt ttggggtttg actat 45

<210> 72
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 72
Ala Lys Ser Leu Gly Thr Thr Thr Thr Phe Leu Gly Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 73
<211> 321
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 73

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggattagc agctggtag cctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacatat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac tticggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 74

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

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 75
caggggtatta gcagctgg

18

<210> 76
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 76
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 77
gctgcatcc

9

<210> 78
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 78
Ala Ala Ser
1

<210> 79
<211> 27

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 79
caacaggcta acagtttccc tctcact 27

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 80
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 81
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 81
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtag ctccatcagt agttattact ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtt gattgggtat atttattaca gtgggagcac caattataac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatatct gtagacacgt ccaagaacca cttctccctg 240
aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtatatt actgtgagag atcccagtat 300
accagtagtt ggtacgggtc ttttgatata tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
tca 363

<210> 82
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 82

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

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 83

ggtggctcca tcagtagtta ttac 24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 84

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 85
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 85
atttattaca gtgggagcac c 21

<210> 86
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 86
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 87
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 87
gcgagatccc agtataccag tagttgttac ggttcttttg atatc 45

<210> 88
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

{

<400> 88
Ala Arg Ser Gln Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Ser Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 89
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 89
gacatccaga tgaccagtc tccatcttc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggggtattag acctgggttag cctgggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tacaagggtg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggccagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 90
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

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

100	105
<210> 91 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 合成 <400> 91 cagggtatta gcacctgg	
	18
<210> 92 <211> 6 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成 <400> 92 Gln Gly Ile Ser Thr Trp 15	
<210> 93 <211> 9 <212> DNA <213> 人工序列 <220> <223> 合成 <400> 93 gctgcatcc	
	9
<210> 94 <211> 3 <212> PRT <213> 人工序列 <220>	

<223> 合成

<400> 94
Ala Ala Ser
1

<210> 95
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 95
caacaggcta acagtttccc gtggacg 27

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 96
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 97
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 97
caggttcagc tggatgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcttgcaagg cctctgggta cacctttaac agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagctccc acaatggtaa cagtcactat 180
gtacagaagt tccagggcag agtctccatg accacagaca catccacgag tacagcctac 240

atggaactga ggagccttag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagacactcg 300
tataccacca gctggtacgg gggttttgac tattggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tctca 366

<210> 98
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 98
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Ser His Asn Gly Asn Ser His Tyr Val Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 99
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 99
ggttacacct ttaacagcta tggt 24

<210> 100
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 100
Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr Gly
1 5

<210> 101
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 101
atcagctccc acaatggtaa cagt 24

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 102
Ile Ser Ser His Asn Gly Asn Ser
1 5

<210> 103
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 103

gcgagacact cgtataccac cagctgggtac gggggttttg actat 45

<210> 104
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 104
Ala Arg His Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 105
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 105
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggtttttagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctgagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggtcagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 106
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 106
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Ser Trp
20 25 30

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

<210> 107
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 107
cagggtttta gcagctgg 18

<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 108
Gln Gly Phe Ser Ser Trp
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 109
gctgcatcc

9

<210> 110
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 110
Ala Ala Ser
1

<210> 111
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 111
caacaggcta acagtttccc tctcact

27

<210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 112
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 113
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 113

gaggtgcagc ttgtggagtc cgggggaggc ttggttcagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaat caccttgagc agctatggca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg gactggagtg ggtcgcatcc atttttggtg gtggtggtgg ccatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatg tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ttgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attattgtgc gaaagatcga 300
tacagtggga gctactacgg aggttttgac tactggggcc ggggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 114

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 114

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

<210> 115

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 115

ggaatcacct tgagcagcta tggc 24

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 116

Gly Ile Thr Leu Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 117

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 117

atTTTTGGTA GTGGTGGTGG Ccca 24

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 118

Ile Phe Gly Ser Gly Gly Gly Pro
1 5

<210> 119
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 119
gcgaaagatc gatacagtgg gagctactac ggaggttttg actac 45

<210> 120
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 120
Ala Lys Asp Arg Tyr Ser Gly Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 121
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 121
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggattacc agctggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctacactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaactgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaacattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctcctac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 122
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 122

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

<210> 123

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 123

cagggtatta ccagctgg 18

<210> 124

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 124

Gln Gly Ile Thr Ser Trp
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 125
gctgcatcc 9

<210> 126
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 126
Ala Ala Ser
1

<210> 127
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 127
caacaggcta acagtttccc tcctact 27

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 128
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr
1 5

<210> 129
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 129
gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctaagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttatgcct tgacctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctctttt attagtggta gtggtggtag gccattctac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa catgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gaagtccttg 300
tataccacca gctggtacgg ggggttcgac tcctggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 130
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 130
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Leu Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Phe Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Pro Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Met Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Trp

100

105

110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 131
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 131

ggattcacct ttagcagtta tgcc

24

<210> 132
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 132

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 133
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 133

attagtggta gtggtggtag gcc

24

<210> 134
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 134

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Pro
1 5

<210> 135

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 135

gcgaagtc cc tgtataccac cagctgggtac ggggggttcg actcc 45

<210> 136

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 136

Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser
1 5 10 15

<210> 137

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 137

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggggtgtcgtc agctgggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ttgtcaacag tctaacagtt tccctttcac tctcggcct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 138
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 138
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Val Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95
Thr Leu Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 139
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 139
cagggtgtcg tcagctgg 18

<210> 140
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 140

Gln Gly Val Val Ser Trp
1 5

<210> 141

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 141

gctgcatcc 9

<210> 142

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 142

Ala Ala Ser
1

<210> 143

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 143

caacagtcta acagtttccc ttcc 24

<210> 144
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 144
Gln Gln Ser Asn Ser Phe Pro Phe
1 5

<210> 145
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 145
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgaa gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggccactata tgtactggat gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaactat 180
gcacagaagt ttcaggacag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
atggagctga gcaggtgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagggaga 300
tatggcagta gctggtacgg ggggtttgag tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 146
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 146
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly His
20 25 30

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

<210> 147
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 147
ggatacacct tcaccggcca ctat 24

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 148
Gly Tyr Thr Phe Thr Gly His Tyr
1 5

<210> 149
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 149
atcaacccta acagtgggtgg caca 24

<210> 150
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 150
Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
1 5

<210> 151
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 151
gcgagaggga gatatggcag tagctggtac ggggggtttg agtac 45

<210> 152
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 152
Ala Arg Gly Arg Tyr Gly Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Glu Tyr
1 5 10 15

<210> 153
<211> 321

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 153
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggattacc agctggtag cctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcagccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacggat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagacttta caacttacta ttgtcaacag gttacagtc tccctctcac ttctggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 154
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 154
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Thr Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ala Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Thr Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Ser Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 155
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 155
cagggattaa ccagctgg 18

<210> 156
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 156
Gln Gly Ile Thr Ser Trp
1 5

<210> 157
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 157
gctgcagcc 9

<210> 158
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 158
Ala Ala Ala
1

<210> 159

<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 159
caacaggctt acagtctccc tctcact 27

<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 160
Gln Gln Ala Tyr Ser Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 161
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 161
caggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggct tgcactgggt ccgccagtct 120
ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcactt atatcatatg acggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag acctgaggac acggctggat atttctgtgc gaaatcccta 300
tatacaacca gctggtacgg gggctttgac tattggggcc aggggaaccct ggtcaccgtc 360
tctca 366

<210> 162
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 162

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

<210> 163

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 163

ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 164

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 165
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 165
atatcatatg acggaagtaa taaa 24

<210> 166
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 166
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 167
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 167
gcgaaatccc tatatacaac cagctggtac gggggctttg actat 45

<210> 168
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 168

Ala Lys Ser Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 169

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 169

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggggtattaga agctggtag cctggtatca gcaaaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcgtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctccac tttcggcct 300
gggaccacaaag tggatatcaa a 321

<210> 170

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 170

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 171
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 171
cagggtatta gaagctgg 18

<210> 172
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 172
Gln Gly Ile Arg Ser Trp
1 5

<210> 173
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 173
gctgcgtcc 9

<210> 174
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 174
Ala Ala Ser
1

<210> 175
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 175
caacaggcta acagtttccc tcccact 27

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 176
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr
1 5

<210> 177
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 177
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggggt caccttcagc aactatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact atcagtggca gtggtgataa cacatactac 180

gcagactccg tgcagggccg gttcaccatc tccagaggcc attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaacctacg 300
tatagcagaa gctggtacgg tgcttttgat ttctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 360
tcttca 366

<210> 178
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 178
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gly His Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Pro Thr Tyr Ser Arg Ser Trp Tyr Gly Ala Phe Asp Phe Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 179
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 179
gggttcacct tcagcaacta tgcc 24

<210> 180

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 180
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5

<210> 181
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 181
atcagtgcca gtggtgataa caca 24

<210> 182
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 182
Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr
1 5

<210> 183
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 183
gcgaaaccta cgtatagcag aagctggtag ggtgcttttg atttc 45

<210> 184
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 184
Ala Lys Pro Thr Tyr Ser Arg Ser Trp Tyr Gly Ala Phe Asp Phe
1 5 10 15

<210> 185
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 185
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggtagtagc agctggtag cctggtagtca gcagaaaccg 120
gggaaagccc ctcaactcct gatctatgct gcatccagat tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttctggg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacaatt tccattcac tttcggccct 300
gggaccaaaag tggatatcaa a 321

<210> 186
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 186
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

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

<210> 187
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 187
cagggtatta gcagctgg 18

<210> 188
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 188
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 189
gctgcatcc

9

<210> 190
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 190
Ala Ala Ser
1

<210> 191
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 191
caacaggcta acaatttccc attcact

27

<210> 192
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 192
Gln Gln Ala Asn Asn Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 193
<211> 366
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 193

caggttcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agttatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag gccttgagtg gatgggatgg atccgcgctt acaatgggta cacaactat 180
gcacagaagt ttcagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgaa caccgcctac 240
atggagctga ggaccctgaa ttctgacgat acggccgttt attactgtgc gagagatcga 300
tatagtggga gcttcacagg taactttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 194

<211> 122

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 194

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

<210> 195

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 195

ggttacacct ttaccagtta tggt 24

<210> 196

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 196

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly
1 5

<210> 197

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 197

atccgcgctt acaatggta caca 24

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 198

Ile Arg Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 199
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 199
gcgagagatc gatatagtg gagcttccac ggtaactttg actac 45

<210> 200
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 200
Ala Arg Asp Arg Tyr Ser Gly Ser Phe His Gly Asn Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 201
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 201
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcgt ctgtaggaga cagagtgacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggatatttc agctggtttag cctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaggctct aatctatgct gcatccaatt tggaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt taccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 202
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 202

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

<210> 203

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 203

cagggatattt tcagctgg 18

<210> 204

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 204

Gln Gly Ile Phe Ser Trp
1 5

<210> 205
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 205
gctgcatcc

9

<210> 206
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 206
Ala Ala Ser
1

<210> 207
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 207
caacaggcta acagtttacc gctcact

27

<210> 208
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 208
Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 209
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 209
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctattcta tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg gactggaata tgtttcaact attaataata atggggatac cacatattat 180
gcagactctg tgaagggcag attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
cttcaactgg gcagcctgag acctgaggac atggctgtgt attactgtgc gagacagacg 300
tataccagca gctggtacgg ggggttcgac tcctggggcc agggaaccct ggtcacccgc 360
tcctca 366

<210> 210
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 210
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Thr Ile Asn Asn Asn Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Gly Ser Leu Arg Pro Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

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

<220>
<223> 合成

<400> 211
ggattcacct tcagtaccta ttct 24

<210> 212
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 212
Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ser
1 5

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

<220>
<223> 合成

<400> 213
attaataata atggggatac caca 24

<210> 214
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 214

Ile Asn Asn Asn Gly Asp Thr Thr
1 5

<210> 215

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 215

gcgagacaga cgtataccag cagctggtac ggggggttcg actcc 45

<210> 216

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 216

Ala Arg Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ser
1 5 10 15

<210> 217

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 217

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggcga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca ggggtattacc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaccag cctgcagcct 240
gaggattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtc tccattcac tttcggccct 300
gggaccaaaag tggatatcaa a 321

<210> 218
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 218
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Thr Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 219
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 219
cagggtatta ccagctgg 18

<210> 220
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 220
Gln Gly Ile Thr Ser Trp
1 5

<210> 221
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 221
gctgcatcc 9

<210> 222
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 222
Ala Ala Ser
1

<210> 223
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 223

caacaggcta acagtctccc attcact

27

<210> 224
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 224
Gln Gln Ala Asn Ser Leu Pro Phe Thr
1 5

<210> 225
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 225
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacccttagc agctatgcca tgagctgggt cggccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggcag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa ctcgctgtat 240
ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaagacgctg 300
tatactacca gctggtacgg gggttccag cactggggcc agggcaccct ggtcactgtc 360
tcctca 366

<210> 226
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 226
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr

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

<210> 227
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 227
ggattcaccc ttagcagcta tgcc 24

<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 228
Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 229
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 229
attagtggta gtggtggcag caca 24

<210> 230
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 230
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 231
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 231
gcgaagacgc tgtatactac cagctggtac gggggcttcc agcac 45

<210> 232
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 232
Ala Lys Thr Leu Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His
1 5 10 15

<210> 233

<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 233
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctataggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggaatcagc agttggtttag cctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctatgct gcgtcctctt tgcaaagtgg gttcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagtag cctgcagccc 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actcacagtt tcccgtggac ggtcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 234
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 234
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Phe Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr His Ser Phe Pro Trp
85 90 95
Thr Val Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 235
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>	
<223> 合成	
<400> 235	
cagggaatca gcagttgg	18
<210> 236	
<211> 6	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成	
<400> 236	
Gln Gly Ile Ser Ser Trp	
1 5	
<210> 237	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成	
<400> 237	
gctgcgtcc	9
<210> 238	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成	
<400> 238	
Ala Ala Ser	
1	

<210> 239
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 239
caacagactc acagtttccc gtgg 24

<210> 240
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 240
Gln Gln Thr His Ser Phe Pro Trp
1 5

<210> 241
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 241
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacccttagg agctatttca tgacctgggt ccgccaggtt 120
ccagggaagg ggctggaggg ggtctcagct attagtggca ttagtgggtg cacatactac 180
acagactccg ttaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccgtat atttctgtgc gagaacggtg 300
tatagtagta gttactacgg gggcttccag cactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 242
<211> 122
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 242

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

<210> 243

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 243

ggattcaccc ttaggagcta tttc 24

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 244

Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr Phe
1 5

<210> 245
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 245
attagtggca ttagtggtgg caca 24

<210> 246
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 246
Ile Ser Gly Ile Ser Gly Gly Thr
1 5

<210> 247
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 247
gcgagaacgg tgtatagtag tagttactac gggggcttcc agcac 45

<210> 248
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 248
Ala Arg Thr Val Tyr Ser Ser Ser Tyr Tyr Gly Gly Phe Gln His
1 5 10 15

<210> 249
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 249
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgtat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggggtattagc agttggtttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtt gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta tigtcaacag actaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 250
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 250
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu

859095

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100105

<210> 251
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 251

cagggtatta gcagttgg18

<210> 252
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 252

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

15

<210> 253
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 253

gttgcattcc9

<210> 254
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 254
Val Ala Ser
1

<210> 255
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 255
caacagacta acagtttccc tctcact 27

<210> 256
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 256
Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 257
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 257
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacccttagg agttatgtca tgtactgggt ccgccagggt 120

ccaggaagg ggctggagg ggtctcaggt attagtggca gtagtggtgg cacatactac 180
acagactccg tgaagggcgg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccgtat atttctgtgc gagatcgggtg 300
tatagtacca cctgggtacgg gggcttccag cactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 258
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 258
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr
20 25 30
Val Met Tyr Trp Val Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gly Leu Glu Gly Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Gly Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Val Tyr Ser Thr Thr Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 259
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 259
ggattcaccc ttaggagtta tgtc 24

<210> 260
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 260
Gly Phe Thr Leu Arg Ser Tyr Val
1 5

<210> 261
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 261
attagtggca gtagtggtgg caca 24

<210> 262
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 262
Ile Ser Gly Ser Ser Gly Gly Thr
1 5

<210> 263
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 263
gcgagatcgg tgtatagtac cacctgggtac gggggcttcc agcac 45

<210> 264
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 264
Ala Arg Ser Val Tyr Ser Thr Thr Trp Tyr Gly Gly Phe Gln His
1 5 10 15

<210> 265
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 265
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgtat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agttgggttag cctgggtatca gctgaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcgg cctgcagcct 240
gaagattttg cagtttacta ttgtcaacag actaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 266
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 266
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15

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

<210> 267
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 267
caggttatta gcagttgg 18

<210> 268
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 268
Gln Val Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 269
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 269
gctgcatcc

9

<210> 270
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 270
Ala Ala Ser
1

<210> 271
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 271
caacagacta acagtttccc tctcact

27

<210> 272
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 272
Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 273
<211> 366

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 273
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaaac ttggaacagc ctgggggggtc ccttagactc 60
tcctgtacag cctctggatt caccttttagc agatctgcc a tgaactgggt ccgccgggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagga attagtggta gtggtggtcg aacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctatat 240
ctgcaaatga acagcctgag cgccgaggac acggccgcat attactgtgc gaaagattcg 300
tatactacca gttggtacgg aggtatggac gtctggggcc acgggaccac ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 274
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 274
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Leu Glu Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 275
<211> 24

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 275
ggattcacct ttagcagatc tgcc 24

<210> 276
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 276
Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ala
1 5

<210> 277
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 277
attagtggta gtggtggtcg aaca 24

<210> 278
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 278
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr
1 5

<210> 279
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 279
gcgaaagatt cgtatactac cagttggtac ggaggtatgg acgtc 45

<210> 280
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 280
Ala Lys Asp Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 281
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 281
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca gggatatttc agctgggttag cctggtatca gcagaaacca 120
ggaaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcttccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
agattcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaggatittg caatttacta ttgtcaacag gctaacagtg tcccgatcac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 282
<211> 107

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 282
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Phe Ser Trp
 20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Val Pro Ile
 85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 283
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 283
cagggtattt tcagctgg 18

<210> 284
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 284
Gln Gly Ile Phe Ser Trp

1 5

<210> 285
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 285
gctgcttcc 9

<210> 286
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 286
Ala Ala Ser
1

<210> 287
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 287
caacaggcta acagtgtccc gatcacc 27

<210> 288
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 288
Gln Gln Ala Asn Ser Val Pro Ile Thr
1 5

<210> 289
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 289
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgttcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgaactgggt ccgccagget 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtcaccgct attagtggca gtggtggtgg cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa ctcgctgttt 240
ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaacaaacg 300
tataccagca gctggtacgg tggctttgat atctggggcc aggggacaat ggtcaccgtc 360
tcttca 366

<210> 290
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 290
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Thr Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Lys Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ile Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 291
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 291
ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 292
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 292
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 293
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 293
attagtggca gtggtggtgg caca 24

<210> 294
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 294
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr
1 5

<210> 295
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 295
gcgaaacaaa cgtataccag cagctggtac ggtggetttg atatc 45

<210> 296
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 296
Ala Lys Gln Thr Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Gly Gly Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 297
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 297

gacatccaga tgacccagtc gccatcttcc gtgtccgcgt ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggttttagt tcttggttag cctgggtatca gcagatacca 120
gggaaagccc ccaagtcct gatctatgct gcatcaaggt tgcaaagtgg ggtcccatcc 180
aggttcgcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaggattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtcac ttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 298
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 298
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 299
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 299
cagggtttta gttcctgg 18

<210> 300

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 300
Gln Gly Phe Ser Ser Trp
1 5

<210> 301
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 301
gctgcatca

9

<210> 302
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 302
Ala Ala Ser
1

<210> 303
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 303

caacaggcta acagtttccc gctcact

27

<210> 304

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 304

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 305

<211> 167

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 305

Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser

1 5 10 15

Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr

20 25 30

Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val

35 40 45

Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp

50 55 60

Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp

65 70 75 80

Phe Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys

85 90 95

Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg

100 105 110

Ser Phe Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe

115 120 125

Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Tyr Ser

130 135 140

Glu Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Ile Leu

<223> 合成

<400> 307

caggtcacct tgaaggagtc tggctctgtg ctggtgaaac ccacagagag cctcacgctg 60
acctgctccg tctctggatt ctactcagt aatgttagaa tgggtgtgag ctggatccgt 120
cagtcgccag ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt tttcgaatga cgaaaaatcc 180
tacaccacat ctctgaagac caggctcacc atctccaagg acacctccag aagccaggtg 240
gtccttiacca tgaccgacat ggaccctggg gacacagcca catattactg tgcacggata 300
cggaatttgg cctttaatta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 308

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 308

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

<210> 309

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 309
ggattctcac tcagtaatgt tagaatgggt 30

<210> 310
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 310
Gly Phe Ser Leu Ser Asn Val Arg Met Gly
1 5 10

<210> 311
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 311
attttttcga atgacgaaaa a 21

<210> 312
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 312
Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys
1 5

<210> 313
<211> 30
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 313

gcacggatac ggaatttggc ctttaattac 30

<210> 314

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 314

Ala Arg Ile Arg Asn Leu Ala Phe Asn Tyr
1 5 10

<210> 315

<211> 339

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 315

gacttcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtgtta cacaggtcca gcaataagaa ctacttagct 120
tggtatcagc agaagccagg acagcctcct aacctgctca tttactgggc atctaccgg 180
gaatcegggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatggtact 300
ctatttactt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 316

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 316
Asp Phe Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu His Arg
20 25 30
Ser Ser Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Gly Thr Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100 105 110
Lys

<210> 317
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 317
cagagtgtgt tacacaggtc cagcaataag aactac 36

<210> 318
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 318
Gln Ser Val Leu His Arg Ser Ser Asn Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 319
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 319
tgggcatct

9

<210> 320
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 320
Trp Ala Ser
1

<210> 321
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 321
cagcaatatt atggtactct atttact

27

<210> 322
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 322

Gln Gln Tyr Tyr Gly Thr Leu Phe Thr
1 5

<210> 323
<211> 537
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hST2-hFc

<400> 323

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val
1 5 10 15
Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
20 25 30
Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe
35 40 45
Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser
50 55 60
Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly
65 70 75 80
Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro
85 90 95
Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys
100 105 110
Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu
115 120 125
Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His
130 135 140
Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp
145 150 155 160
Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val
165 170 175
Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu
180 185 190
Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu
195 200 205
Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly
210 215 220
Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile
225 230 235 240
Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln

<210> 324
 <211> 543
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> hST2-mFc

<400> 324

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

Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
325 330 335
Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
340 345 350
Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
355 360 365
Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
370 375 380
Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
385 390 395 400
Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
405 410 415
Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile
420 425 430
Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
435 440 445
Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met
450 455 460
Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn
465 470 475 480
Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser
485 490 495
Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn
500 505 510
Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu
515 520 525
His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
530 535 540

<210> 325
<211> 884
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hST2-hIL1RAcP-mFc

<400> 325
Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val
1 5 10 15
Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
20 25 30
Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe

35	40	45
Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser		
50	55	60
Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly		
65	70	75
Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro		
85	90	95
Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys		
100	105	110
Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu		
115	120	125
Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His		
130	135	140
Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp		
145	150	155
Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val		
165	170	175
Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu		
180	185	190
Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu		
195	200	205
Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly		
210	215	220
Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile		
225	230	235
Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln		
245	250	255
Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala		
260	265	270
Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu		
275	280	285
Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys Asn		
290	295	300
Pro Ile Asp His His Ser Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp		
305	310	315
Thr Met Arg Gln Ile Gln Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys		
325	330	335
Cys Pro Leu Phe Glu His Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His		
340	345	350
Ser Ala Gly Leu Thr Leu Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp		
355	360	365
Leu Glu Glu Pro Ile Asn Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys		
370	375	380
Glu Lys Asp Val Leu Trp Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly		

385	390	395	400
Asn Tyr Thr Cys Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala			
405	410	415	
Phe Pro Leu Glu Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met			
420	425	430	
Lys Leu Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile			
435	440	445	
Thr Cys Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr			
450	455	460	
Ile Thr Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val			
465	470	475	480
Ile Pro Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn			
485	490	495	
Asn Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr			
500	505	510	
Phe His Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys			
515	520	525	
Asn Ala Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr			
530	535	540	
Glu Lys Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe			
545	550	555	560
Ser Phe Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly			
565	570	575	
Lys Lys Pro Asp Asp Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile			
580	585	590	
Ser His Ser Arg Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile			
595	600	605	
Lys Lys Val Thr Ser Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala			
610	615	620	
Arg Ser Ala Lys Gly Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys			
625	630	635	640
Val Pro Ala Pro Arg Tyr Thr Val Glu Ser Gly Glu Pro Arg Gly Pro			
645	650	655	
Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu			
660	665	670	
Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu			
675	680	685	
Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser			
690	695	700	
Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu			
705	710	715	720
Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr			
725	730	735	
Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser			

740 745 750
Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro
755 760 765
Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln
770 775 780
Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val
785 790 795 800
Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val
805 810 815
Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu
820 825 830
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg
835 840 845
Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val
850 855 860
Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg
865 870 875 880
Thr Pro Gly Lys

<210> 326

<211> 880

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> mST2-mIL1RAcP-mFc

<400> 326

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

Cys	Pro	Thr	Ile	Asp	Leu	Tyr	Asn	Trp	Thr	Ala	Pro	Val	Gln	Trp	Phe	115	120	125
Lys	Asn	Cys	Lys	Ala	Leu	Gln	Glu	Pro	Arg	Phe	Arg	Ala	His	Arg	Ser	130	135	140
Tyr	Leu	Phe	Ile	Asp	Asn	Val	Thr	His	Asp	Asp	Glu	Gly	Asp	Tyr	Thr	145	150	155
Cys	Gln	Phe	Thr	His	Ala	Glu	Asn	Gly	Thr	Asn	Tyr	Ile	Val	Thr	Ala	165	170	175
Thr	Arg	Ser	Phe	Thr	Val	Glu	Glu	Lys	Gly	Phe	Ser	Met	Phe	Pro	Val	180	185	190
Ile	Thr	Asn	Pro	Pro	Tyr	Asn	His	Thr	Met	Glu	Val	Glu	Ile	Gly	Lys	195	200	205
Pro	Ala	Ser	Ile	Ala	Cys	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Lys	Gly	Ser	His	Phe	210	215	220
Leu	Ala	Asp	Val	Leu	Trp	Gln	Ile	Asn	Lys	Thr	Val	Val	Gly	Asn	Phe	225	230	235
Gly	Glu	Ala	Arg	Ile	Gln	Glu	Glu	Glu	Gly	Arg	Asn	Glu	Ser	Ser	Ser	245	250	255
Asn	Asp	Met	Asp	Cys	Leu	Thr	Ser	Val	Leu	Arg	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	260	265	270
Glu	Lys	Asp	Leu	Ser	Leu	Glu	Tyr	Asp	Cys	Leu	Ala	Leu	Asn	Leu	His	275	280	285
Gly	Met	Ile	Arg	His	Thr	Ile	Arg	Leu	Arg	Arg	Lys	Gln	Pro	Ile	Asp	290	295	300
His	Arg	Ser	Glu	Arg	Cys	Asp	Asp	Trp	Gly	Leu	Asp	Thr	Met	Arg	Gln	305	310	315
Ile	Gln	Val	Phe	Glu	Asp	Glu	Pro	Ala	Arg	Ile	Lys	Cys	Pro	Leu	Phe	325	330	335
Glu	His	Phe	Leu	Lys	Tyr	Asn	Tyr	Ser	Thr	Ala	His	Ser	Ser	Gly	Leu	340	345	350
Thr	Leu	Ile	Trp	Tyr	Trp	Thr	Arg	Gln	Asp	Arg	Asp	Leu	Glu	Glu	Pro	355	360	365
Ile	Asn	Phe	Arg	Leu	Pro	Glu	Asn	Arg	Ile	Ser	Lys	Glu	Lys	Asp	Val	370	375	380
Leu	Trp	Phe	Arg	Pro	Thr	Leu	Leu	Asn	Asp	Thr	Gly	Asn	Tyr	Thr	Cys	385	390	395
Met	Leu	Arg	Asn	Thr	Thr	Tyr	Cys	Ser	Lys	Val	Ala	Phe	Pro	Leu	Glu	405	410	415
Val	Val	Gln	Lys	Asp	Ser	Cys	Phe	Asn	Ser	Ala	Met	Arg	Phe	Pro	Val	420	425	430
His	Lys	Met	Tyr	Ile	Glu	His	Gly	Ile	His	Lys	Ile	Thr	Cys	Pro	Asn	435	440	445
Val	Asp	Gly	Tyr	Phe	Pro	Ser	Ser	Val	Lys	Pro	Ser	Val	Thr	Trp	Tyr	450	455	460

Lys Gly Cys Thr Glu Ile Val Asp Phe His Asn Val Leu Pro Glu Gly			
465	470	475	480
Met Asn Leu Ser Phe Phe Ile Pro Leu Val Ser Asn Asn Gly Asn Tyr			
	485	490	495
Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Leu Phe His Leu Thr			
	500	505	510
Arg Thr Val Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asp Ala Leu Pro			
	515	520	525
Pro Gln Ile Tyr Ser Pro Asn Asp Arg Val Val Tyr Glu Lys Glu Pro			
	530	535	540
Gly Glu Glu Leu Val Ile Pro Cys Lys Val Tyr Phe Ser Phe Ile Met			
545	550	555	560
Asp Ser His Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys Pro Asp			
	565	570	575
Asp Val Thr Val Asp Ile Thr Ile Asn Glu Ser Val Ser Tyr Ser Ser			
	580	585	590
Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys Val Thr			
	595	600	605
Pro Glu Asp Leu Arg Arg Asn Tyr Val Cys His Ala Arg Asn Thr Lys			
	610	615	620
Gly Glu Ala Glu Gln Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Ile Pro Pro			
625	630	635	640
Arg Tyr Thr Val Glu Ser Gly Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro			
	645	650	655
Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser			
	660	665	670
Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu			
	675	680	685
Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro			
	690	695	700
Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala			
705	710	715	720
Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val			
	725	730	735
Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe			
	740	745	750
Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr			
	755	760	765
Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu			
	770	775	780
Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys			
785	790	795	800
Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn			
	805	810	815

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
820 825 830
Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
835 840 845
Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
850 855 860
Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
865 870 875 880

<210> 327
<211> 876
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hST2-hL1RAcP-hFc

<400> 327
Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val
1 5 10 15
Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
20 25 30
Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe
35 40 45
Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser
50 55 60
Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly
65 70 75 80
Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro
85 90 95
Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys
100 105 110
Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu
115 120 125
Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His
130 135 140
Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp
145 150 155 160
Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val
165 170 175
Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu
180 185 190
Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu

195	200	205
Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly		
210	215	220
Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile		
225	230	235
Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln		240
245	250	255
Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala		
260	265	270
Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu		
275	280	285
Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys Asn		
290	295	300
Pro Ile Asp His His Ser Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp		
305	310	315
Thr Met Arg Gln Ile Gln Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys		
325	330	335
Cys Pro Leu Phe Glu His Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His		
340	345	350
Ser Ala Gly Leu Thr Leu Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp		
355	360	365
Leu Glu Glu Pro Ile Asn Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys		
370	375	380
Glu Lys Asp Val Leu Trp Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly		
385	390	395
Asn Tyr Thr Cys Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala		
405	410	415
Phe Pro Leu Glu Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met		
420	425	430
Lys Leu Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile		
435	440	445
Thr Cys Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr		
450	455	460
Ile Thr Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val		
465	470	475
Ile Pro Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn		
485	490	495
Asn Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr		
500	505	510
Phe His Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys		
515	520	525
Asn Ala Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr		
530	535	540
Glu Lys Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe		

545		550		555		560									
Ser	Phe	Leu	Met	Asp	Ser	Arg	Asn	Glu	Val	Trp	Trp	Thr	Ile	Asp	Gly
		565		570		575									
Lys	Lys	Pro	Asp	Asp	Ile	Thr	Ile	Asp	Val	Thr	Ile	Asn	Glu	Ser	Ile
		580		585		590									
Ser	His	Ser	Arg	Thr	Glu	Asp	Glu	Thr	Arg	Thr	Gln	Ile	Leu	Ser	Ile
		595		600		605									
Lys	Lys	Val	Thr	Ser	Glu	Asp	Leu	Lys	Arg	Ser	Tyr	Val	Cys	His	Ala
		610		615		620									
Arg	Ser	Ala	Lys	Gly	Glu	Val	Ala	Lys	Ala	Ala	Lys	Val	Lys	Gln	Lys
625				630		635									640
Val	Pro	Ala	Pro	Arg	Tyr	Thr	Val	Glu	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro
				645		650									655
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
				660		665									670
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
				675		680									685
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe
				690		695									700
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
705				710		715									720
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
				725		730									735
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
				740		745									750
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala
				755		760									765
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
				770		775									780
Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
785				790		795									800
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
				805		810									815
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
				820		825									830
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
				835		840									845
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
				850		855									860
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
865				870		875									

<210> 328

<211> 310

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類 ST2 細胞外結構域

<400> 328

```

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

```

Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys Asn
290 295 300
Pro Ile Asp His His Ser
305 310

<210> 329

<211> 306

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠 ST2 細胞外結構域

<400> 329

Ser Lys Ser Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys
1 5 10 15
Pro Gln Arg Gly Arg Ser Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp
20 25 30
Thr Asn Glu Ser Ile Pro Thr Gln Lys Arg Asn Arg Ile Phe Val Ser
35 40 45
Arg Asp Arg Leu Lys Phe Leu Pro Ala Arg Val Glu Asp Ser Gly Ile
50 55 60
Tyr Ala Cys Val Ile Arg Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu
65 70 75 80
Asn Val Thr Ile His Lys Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr
85 90 95
Leu Met Tyr Ser Thr Val Arg Gly Ser Asp Lys Asn Phe Lys Ile Thr
100 105 110
Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Val Gln Trp Phe
115 120 125
Lys Asn Cys Lys Ala Leu Gln Glu Pro Arg Phe Arg Ala His Arg Ser
130 135 140
Tyr Leu Phe Ile Asp Asn Val Thr His Asp Asp Glu Gly Asp Tyr Thr
145 150 155 160
Cys Gln Phe Thr His Ala Glu Asn Gly Thr Asn Tyr Ile Val Thr Ala
165 170 175
Thr Arg Ser Phe Thr Val Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe Pro Val
180 185 190
Ile Thr Asn Pro Pro Tyr Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile Gly Lys
195 200 205
Pro Ala Ser Ile Ala Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser His Phe
210 215 220
Leu Ala Asp Val Leu Trp Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly Asn Phe

225 230 235 240
Gly Glu Ala Arg Ile Gln Glu Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser Ser Ser
245 250 255
Asn Asp Met Asp Cys Leu Thr Ser Val Leu Arg Ile Thr Gly Val Thr
260 265 270
Glu Lys Asp Leu Ser Leu Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn Leu His
275 280 285
Gly Met Ile Arg His Thr Ile Arg Leu Arg Arg Lys Gln Pro Ile Asp
290 295 300
His Arg
305

<210> 330
<211> 339
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IL1RAcP 細胞外結構域

<400> 330
Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met Arg Gln Ile Gln
1 5 10 15
Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro Leu Phe Glu His
20 25 30
Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala Gly Leu Thr Leu
35 40 45
Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu Pro Ile Asn
50 55 60
Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys Asp Val Leu Trp
65 70 75 80
Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Cys Met Leu
85 90 95
Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro Leu Glu Val Val
100 105 110
Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu Pro Val His Lys
115 120 125
Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys Pro Asn Val Asp
130 135 140
Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr Trp Tyr Met Gly
145 150 155 160
Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro Glu Gly Met Asn
165 170 175

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

<210> 331

<211> 339

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠 IL1RAcP 細胞外結構域

<400> 331

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

123

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly Lys
225

<210> 333

<211> 233

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠 IgG2a Fc

<400> 333

Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro
1 5 10 15
Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys

20 25 30
Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val
35 40 45
Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe
50 55 60
Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu
65 70 75 80
Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
85 90 95
Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
100 105 110
Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser
115 120 125
Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met
130 135 140
Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro
145 150 155 160
Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn
165 170 175
Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met
180 185 190
Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser
195 200 205
Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr
210 215 220
Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
225 230

<210> 334
<211> 167
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 食蟹猴 IL-33-6His

<400> 334
Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser
1 5 10 15
Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr
20 25 30
Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val
35 40 45

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

<210> 335

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCVR-小鼠代用 IL-4R Ab

<400> 335

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

<210> 336

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LCVR-小鼠代用 IL-4R Ab

<400> 336

```

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

```

<210> 337

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 杜匹魯單抗 HCVR

<400> 337

```

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

```

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

<210> 338
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杜匹魯單抗 LCVR

<400> 338
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30
Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser
 35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 339
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杜匹魯單抗 HCDRI

<400> 339
Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala

1 5

<210> 340
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杜匹魯單抗 HCDR2

<400> 340
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
1 5

<210> 341
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杜匹魯單抗 HCDR3

<400> 341
Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
1 5 10 15
Asp Val

<210> 342
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杜匹魯單抗 LCDR1

<400> 342
Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 343
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杜匹魯單抗 LCDR2

<400> 343
Leu Gly Ser
1

<210> 344
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杜匹魯單抗 LCDR3

<400> 344
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 345
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杜匹魯單抗重鏈

<400> 345
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
20 25 30
Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65		70		75		80									
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
		85		90		95									
Ala	Lys	Asp	Arg	Leu	Ser	Ile	Thr	Ile	Arg	Pro	Arg	Tyr	Tyr	Gly	Leu
		100		105		110									
Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
		115		120		125									
Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser
		130		135		140									
Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu
145				150		155									160
Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His
				165		170									175
Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
				180		185									190
Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys
				195		200									205
Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu
				210		215									220
Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu
225				230		235									240
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
				245		250									255
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
				260		265									270
Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
				275		280									285
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr
				290		295									300
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
305				310		315									320
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser
				325		330									335
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
				340		345									350
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val
				355		360									365
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val
				370		375									380
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro
385				390		395									400
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr
				405		410									415
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val

420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Gly
450

<210> 346
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杜匹魯單抗輕鏈

<400> 346
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30
Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 347

<211> 207

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類 IL-4R α

<400> 347

```

Met Lys Val Leu Gln Glu Pro Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile
 1             5             10             15
Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu
      20             25             30
Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu Val Phe Leu Leu Ser Glu Ala His Thr
      35             40             45
Cys Ile Pro Glu Asn Asn Gly Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu
      50             55             60
Met Asp Asp Val Val Ser Ala Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala
65             70             75             80
Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val
      85             90             95
Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp
      100            105            110
Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu
      115            120            125
Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro
      130            135            140
Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg
145            150            155            160
Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val
      165            170            175
Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro
      180            185            190
Ser Thr Lys Trp His Asn Ser Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln His
      195            200            205

```

<210> 348

<211> 270

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> hIL33_095760 (在蛋白質分解處理之前)

<400> 348
Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys
1 5 10 15
Trp Lys Asn Thr Ala Ser Lys Ala Leu Cys Phe Lys Leu Gly Lys Ser
20 25 30
Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys Pro Met Tyr Phe Met Lys Leu Arg
35 40 45
Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr
50 55 60
Thr Lys Arg Pro Ser Leu Lys Thr Gly Arg Lys His Lys Arg His Leu
65 70 75 80
Val Leu Ala Ala Cys Gln Gln Gln Ser Thr Val Glu Cys Phe Ala Phe
85 90 95
Gly Ile Ser Gly Val Gln Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp Ser Ser
100 105 110
Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Thr
115 120 125
Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu
130 135 140
Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val Leu
145 150 155 160
Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp Gly
165 170 175
Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe
180 185 190
Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys
195 200 205
Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Met His
210 215 220
Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile
225 230 235 240
Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser Glu
245 250 255
Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
260 265 270

<210> 349
<211> 159
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hIL33_成熟_肽(在蛋白質分解處理之後)

<400> 349
Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser
1 5 10 15
Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr
20 25 30
Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val
35 40 45
Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp
50 55 60
Gly Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp
65 70 75 80
Phe Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys
85 90 95
Cys Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Met
100 105 110
His Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe
115 120 125
Ile Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser
130 135 140
Glu Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
145 150 155

<210> 350
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SEQ ID NO: 349 之胺基酸殘基 1-12; 亦對應於 SEQ ID NO: 348
(Uniprot 095760)之殘基 112-123

<400> 350
Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu
1 5 10

<210> 351
<211> 87

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> SEQ ID NO: 349 之胺基酸殘基 50-94；亦對應於 SEQ ID NO: 348
(Uniprot 095760)之殘基 161-205

<400> 351
Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Asn Asp Gln Ser Ile
1 5 10 15
Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu Ile Tyr Val Glu Asp Leu
20 25 30
Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser
35 40 45
Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp Gly Val Asp Gly Lys Met Leu
50 55 60
Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe Trp Leu His Ala Asn Asn
65 70 75 80
Lys Glu His Ser Val Glu Leu
85

<210> 352
<211> 556
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 ST2 (參見 GenBank 登錄號 NP_057316)

<400> 352
Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr
1 5 10 15
Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu
20 25 30
Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp
35 40 45
Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg
50 55 60
Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala
65 70 75 80
Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg

85						90						95					
Thr	Gly	Tyr	Ala	Asn	Val	Thr	Ile	Tyr	Lys	Lys	Gln	Ser	Asp	Cys	Asn		
100						105						110					
Val	Pro	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ser	Thr	Val	Ser	Gly	Ser	Glu	Lys	Asn		
115						120						125					
Ser	Lys	Ile	Tyr	Cys	Pro	Thr	Ile	Asp	Leu	Tyr	Asn	Trp	Thr	Ala	Pro		
130						135						140					
Leu	Glu	Trp	Phe	Lys	Asn	Cys	Gln	Ala	Leu	Gln	Gly	Ser	Arg	Tyr	Arg		
145						150						155					
Ala	His	Lys	Ser	Phe	Leu	Val	Ile	Asp	Asn	Val	Met	Thr	Glu	Asp	Ala		
165						170						175					
Gly	Asp	Tyr	Thr	Cys	Lys	Phe	Ile	His	Asn	Glu	Asn	Gly	Ala	Asn	Tyr		
180						185						190					
Ser	Val	Thr	Ala	Thr	Arg	Ser	Phe	Thr	Val	Lys	Asp	Glu	Gln	Gly	Phe		
195						200						205					
Ser	Leu	Phe	Pro	Val	Ile	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asn	Glu	Ile	Lys	Glu		
210						215						220					
Val	Glu	Ile	Gly	Lys	Asn	Ala	Asn	Leu	Thr	Cys	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly		
225						230						235					
Lys	Gly	Thr	Gln	Phe	Leu	Ala	Ala	Val	Leu	Trp	Gln	Leu	Asn	Gly	Thr		
245						250						255					
Lys	Ile	Thr	Asp	Phe	Gly	Glu	Pro	Arg	Ile	Gln	Gln	Glu	Glu	Gly	Gln		
260						265						270					
Asn	Gln	Ser	Phe	Ser	Asn	Gly	Leu	Ala	Cys	Leu	Asp	Met	Val	Leu	Arg		
275						280						285					
Ile	Ala	Asp	Val	Lys	Glu	Glu	Asp	Leu	Leu	Leu	Gln	Tyr	Asp	Cys	Leu		
290						295						300					
Ala	Leu	Asn	Leu	His	Gly	Leu	Arg	Arg	His	Thr	Val	Arg	Leu	Ser	Arg		
305						310						315					
Lys	Asn	Pro	Ile	Asp	His	His	Ser	Ile	Tyr	Cys	Ile	Ile	Ala	Val	Cys		
325						330						335					
Ser	Val	Phe	Leu	Met	Leu	Ile	Asn	Val	Leu	Val	Ile	Ile	Leu	Lys	Met		
340						345						350					
Phe	Trp	Ile	Glu	Ala	Thr	Leu	Leu	Trp	Arg	Asp	Ile	Ala	Lys	Pro	Tyr		
355						360						365					
Lys	Thr	Arg	Asn	Asp	Gly	Lys	Leu	Tyr	Asp	Ala	Tyr	Val	Val	Tyr	Pro		
370						375						380					
Arg	Asn	Tyr	Lys	Ser	Ser	Thr	Asp	Gly	Ala	Ser	Arg	Val	Glu	His	Phe		
385						390						395					
Val	His	Gln	Ile	Leu	Pro	Asp	Val	Leu	Glu	Asn	Lys	Cys	Gly	Tyr	Thr		
405						410						415					
Leu	Cys	Ile	Tyr	Gly	Arg	Asp	Met	Leu	Pro	Gly	Glu	Asp	Val	Val	Thr		
420						425						430					
Ala	Val	Glu	Thr	Asn	Ile	Arg	Lys	Ser	Arg	Arg	His	Ile	Phe	Ile	Leu		

```

      435              440              445
Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Lys Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val
      450              455              460
Ala Leu His Cys Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ala Lys Val Ile Leu Ile
465              470              475              480
Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu
      485              490              495
Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Met Lys Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp
      500              505              510
Arg Glu Asp His Ile Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp
      515              520              525
Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Ile Pro Arg Lys
      530              535              540
Ala Ser Ser Leu Thr Pro Leu Ala Ala Gln Lys Gln
545              550              555

```

<210> 353

<211> 570

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類 IL-1RAcP (參見 GenBank 登錄號 Q9NPH3)

<400> 353

```

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

```

130	135	140			
Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys					
145	150	155	160		
Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr					
165	170	175			
Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro					
180	185	190			
Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly					
195	200	205			
Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His					
210	215	220			
Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala					
225	230	235	240		
Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys					
245	250	255			
Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe					
260	265	270			
Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys					
275	280	285			
Pro Asp Asp Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His					
290	295	300			
Ser Arg Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys					
305	310	315	320		
Val Thr Ser Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser					
325	330	335			
Ala Lys Gly Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro					
340	345	350			
Ala Pro Arg Tyr Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr Val					
355	360	365			
Leu Leu Val Val Ile Leu Ile Val Val Tyr His Val Tyr Trp Leu Glu					
370	375	380			
Met Val Leu Phe Tyr Arg Ala His Phe Gly Thr Asp Glu Thr Ile Leu					
385	390	395	400		
Asp Gly Lys Glu Tyr Asp Ile Tyr Val Ser Tyr Ala Arg Asn Ala Glu					
405	410	415			
Glu Glu Glu Phe Val Leu Leu Thr Leu Arg Gly Val Leu Glu Asn Glu					
420	425	430			
Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Asp Arg Asp Ser Leu Pro Gly Gly					
435	440	445			
Ile Val Thr Asp Glu Thr Leu Ser Phe Ile Gln Lys Ser Arg Arg Leu					
450	455	460			
Leu Val Val Leu Ser Pro Asn Tyr Val Leu Gln Gly Thr Gln Ala Leu					
465	470	475	480		
Leu Glu Leu Lys Ala Gly Leu Glu Asn Met Ala Ser Arg Gly Asn Ile					

485 490 495
Asn Val Ile Leu Val Gln Tyr Lys Ala Val Lys Glu Thr Lys Val Lys
500 505 510
Glu Leu Lys Arg Ala Lys Thr Val Leu Thr Val Ile Lys Trp Lys Gly
515 520 525
Glu Lys Ser Lys Tyr Pro Gln Gly Arg Phe Trp Lys Gln Leu Gln Val
530 535 540
Ala Met Pro Val Lys Lys Ser Pro Arg Arg Ser Ser Ser Asp Glu Gln
545 550 555 560
Gly Leu Ser Tyr Ser Ser Leu Lys Asn Val
565 570

<210> 354

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> H4H9675P 之 HC

<400> 354

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Leu Glu Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ala Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Ser Tyr Thr Thr Ser Trp Tyr Gly Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly His Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

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

<210> 355

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> H4H9675P 之 LC

<400> 355

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1             5             10             15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Phe Ser Trp
      20             25             30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
      35             40             45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50             55             60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65             70             75             80
Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Val Pro Ile
      85             90             95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
      100            105            110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
      115            120            125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
      130            135            140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145            150            155            160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
      165            170            175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
      180            185            190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
      195            200            205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      210

```

<210> 356

<211> 166

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有 HEXA-HIS 標籤之人類 IL-33 (GENBANK 登錄號 095760 之胺基酸 112-270)

<400> 356

```

Met Ser Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu

```

1				5					10					15			
Ser	Thr	Tyr	Asn	Asp	Gln	Ser	Ile	Thr	Phe	Ala	Leu	Glu	Asp	Glu	Ser		
			20					25					30				
Tyr	Glu	Ile	Tyr	Val	Glu	Asp	Leu	Lys	Lys	Asp	Glu	Lys	Lys	Asp	Lys		
		35					40					45					
Val	Leu	Leu	Ser	Tyr	Tyr	Glu	Ser	Gln	His	Pro	Ser	Asn	Glu	Ser	Gly		
	50					55					60						
Asp	Gly	Val	Asp	Gly	Lys	Met	Leu	Met	Val	Thr	Leu	Ser	Pro	Thr	Lys		
65					70					75					80		
Asp	Phe	Trp	Leu	His	Ala	Asn	Asn	Lys	Glu	His	Ser	Val	Glu	Leu	His		
			85					90					95				
Lys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Pro	Asp	Gln	Ala	Phe	Phe	Val	Leu	His	Asn		
			100					105					110				
Met	His	Ser	Asn	Cys	Val	Ser	Phe	Glu	Cys	Lys	Thr	Asp	Pro	Gly	Val		
		115					120					125					
Phe	Ile	Gly	Val	Lys	Asp	Asn	His	Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Val	Asp	Ser		
	130					135					140						
Ser	Glu	Asn	Leu	Cys	Thr	Glu	Asn	Ile	Leu	Phe	Lys	Leu	Ser	Glu	Thr		
145					150				155					160			
His	His	His	His	His	His												
			165														

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種介白素-33(IL-33)拮抗劑用於製備降低有需要之個體之血清類澱粉蛋白A含量之藥物之用途；

其中該IL-33拮抗劑係包含重鏈可變區(HCVR)及輕鏈可變區(LCVR)之單株抗體，該重鏈可變區包含三個重鏈互補決定區(HCDR)，為HCDR1、HCDR2及HCDR3，該HCDR1、HCDR2及HCDR3分別包含SEQ ID NO:276、278及280之胺基酸序列；該輕鏈可變區(LCVR)包含三個輕鏈互補決定區(LCDR)，為LCDR1、LCDR2及LCDR3，該LCDR1、LCDR2及LCDR3分別包含SEQ ID NO:284、286及288之胺基酸序列。

【請求項2】 如請求項1之用途，其中該個體具有呼吸道或肺部之發炎疾病或病症。

【請求項3】 如請求項2所述之用途，其中該呼吸道或肺部之發炎疾病或病症係選自由以下組成之群：氣喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、氣喘及COPD重疊症候群(ACOS)、慢性支氣管炎、肺氣腫、伴或不伴鼻息肉之慢性鼻竇炎、過敏性肺炎及過敏性鼻炎。

【請求項4】 如請求項3所述之用途，其中該發炎疾病或病症係氣喘。

【請求項5】 如請求項3所述之用途，其中該發炎疾病或病症係慢性阻塞性肺病(COPD)。

【請求項6】 如請求項1之用途，其中該個體具有發炎性腸病、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎之發炎疾病或病症。

【請求項7】 如請求項1至6中任一項所述之用途，其中該藥物係以70至300 mg之劑量投予。

【請求項8】 如請求項7所述之用途，其中該藥物係以300 mg之劑量投予。

【請求項9】 如請求項1至6中任一項所述之用途，其中該藥物係每週一次投予該個體。

【請求項10】 如請求項1至6中任一項所述之用途，其中該藥物係每二週一次投予該個體。

【請求項11】 如請求項1至6中任一項所述之用途，其中該藥物係與介白素-4受體(IL-4R)拮抗劑組合使用，其中該IL-4R拮抗劑係包含HCVR及LCVR之單株抗體，該HCVR包含三個HCDR，為HCDR1、HCDR2及HCDR3，該HCDR1、HCDR2及HCDR3分別包含SEQ ID NO:339、340及341之胺基酸序列；該LCVR包含三個LCDR，為LCDR1、LCDR2及LCDR3，該LCDR1、LCDR2及LCDR3分別包含SEQ ID NO:342、343及344之胺基酸序列。

【請求項12】 如請求項11所述之用途，其中該IL-33拮抗劑及該IL-4R拮抗劑係分別調配。

【請求項13】 如請求項11所述之用途，其中該IL-33拮抗劑及該IL-4R拮抗劑係共同調配。

【請求項14】 如請求項1至6中任一項所述之用途，其中該藥物係以皮下、靜脈內、肌內、或鼻內方式投予該個體。

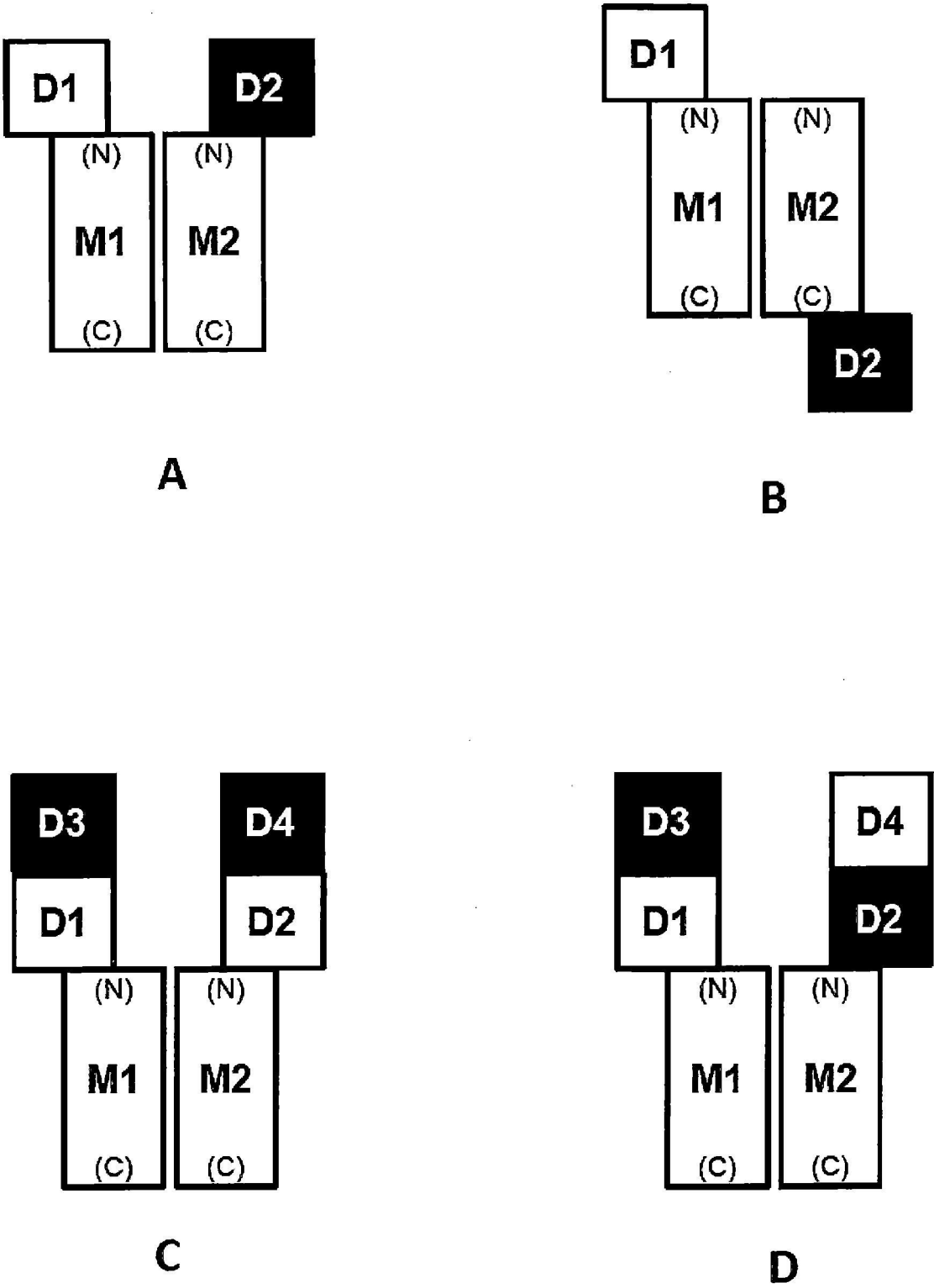
【請求項15】 如請求項1至6中任一項所述之用途，其中該IL-33拮抗劑包含含有SEQ ID NO:274之核苷酸序列或與SEQ ID NO:274之核苷酸序列具有至少95%序列一致性的序列之HCVR，及含有SEQ ID NO:282之核苷酸序列或與SEQ ID NO:282之核苷酸序列具有至少95%序列一致性的序列之LCVR。

【請求項16】 如請求項15所述之用途，其中該IL-33拮抗劑包含含有SEQ ID NO:274之核苷酸序列之HCVR及含有SEQ ID NO:282之核苷酸序列之LCVR。

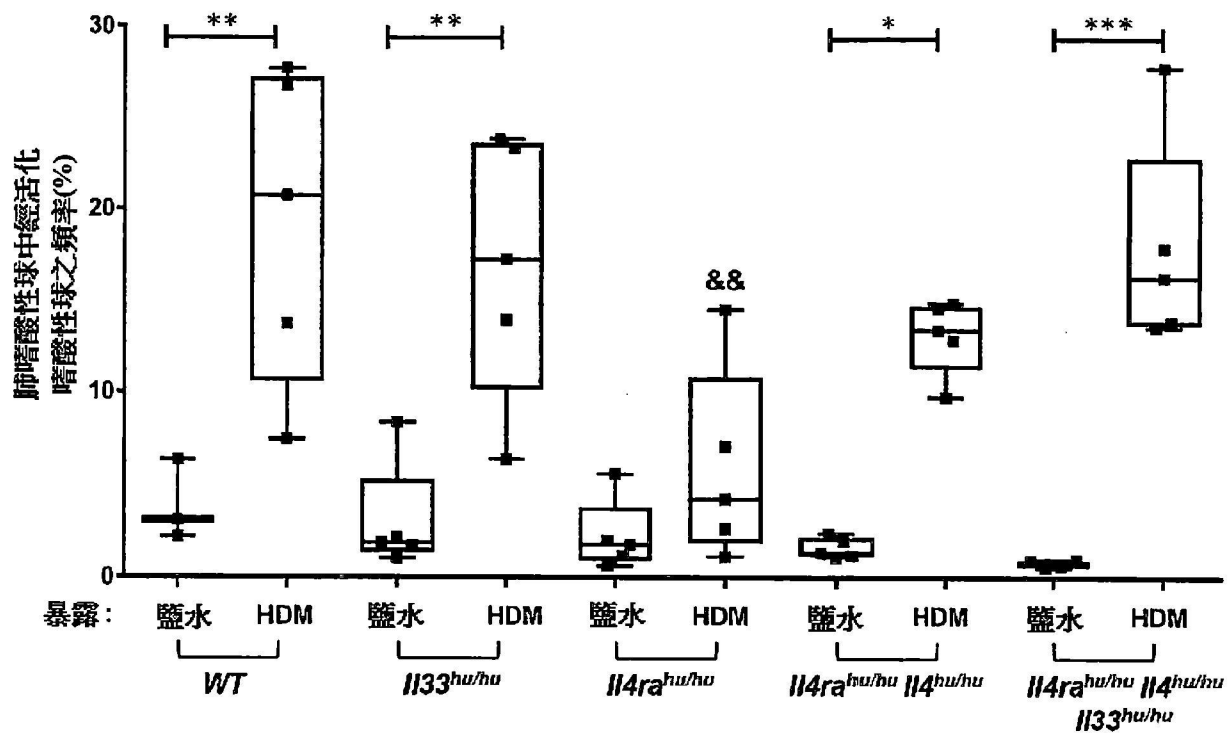
【請求項17】 如請求項11所述之用途，其中該IL-4R拮抗劑包含含有SEQ ID NO:337之核苷酸序列或與SEQ ID NO:337之核苷酸序列具有至少95%序列一致性的序列之HCVR，及含有SEQ ID NO:338之核苷酸序列或與SEQ ID NO:338之核苷酸序列具有至少95%序列一致性的序列之LCVR。

【請求項18】 如請求項17所述之用途，其中該IL-4R拮抗劑係包含含有SEQ ID NO: 337之核苷酸序列的HCVR及含有SEQ ID NO: 338之核苷酸序列的LCVR。

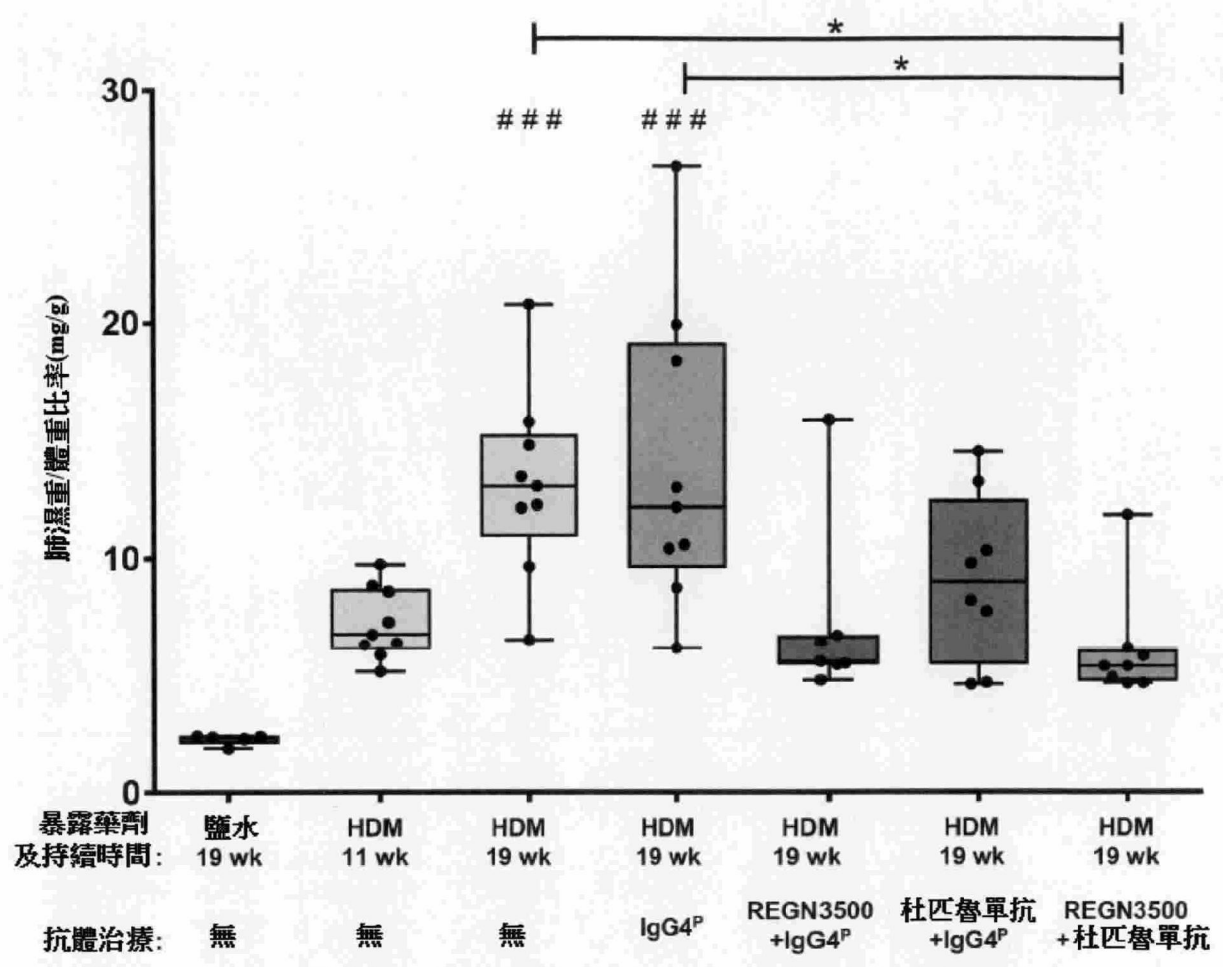
【發明圖式】



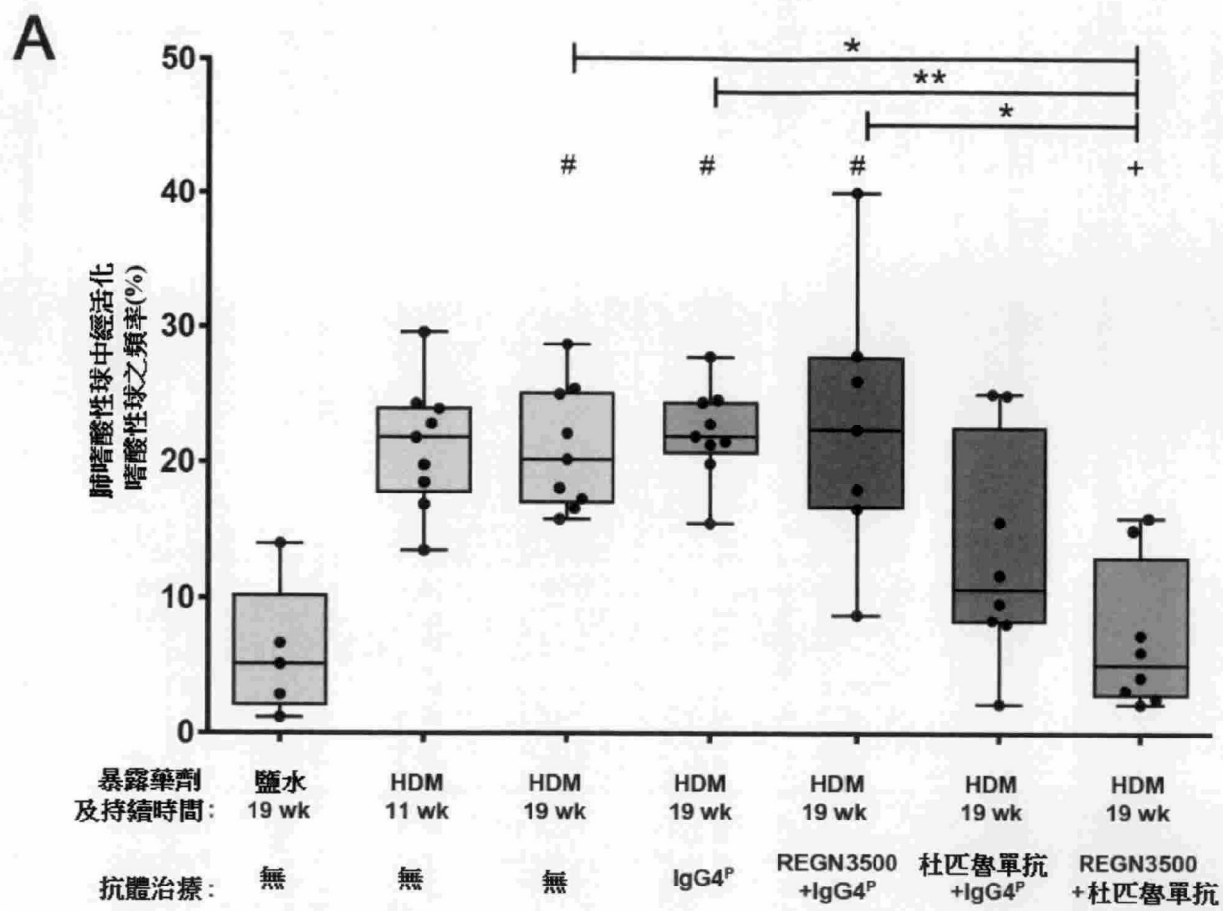
【圖 1】



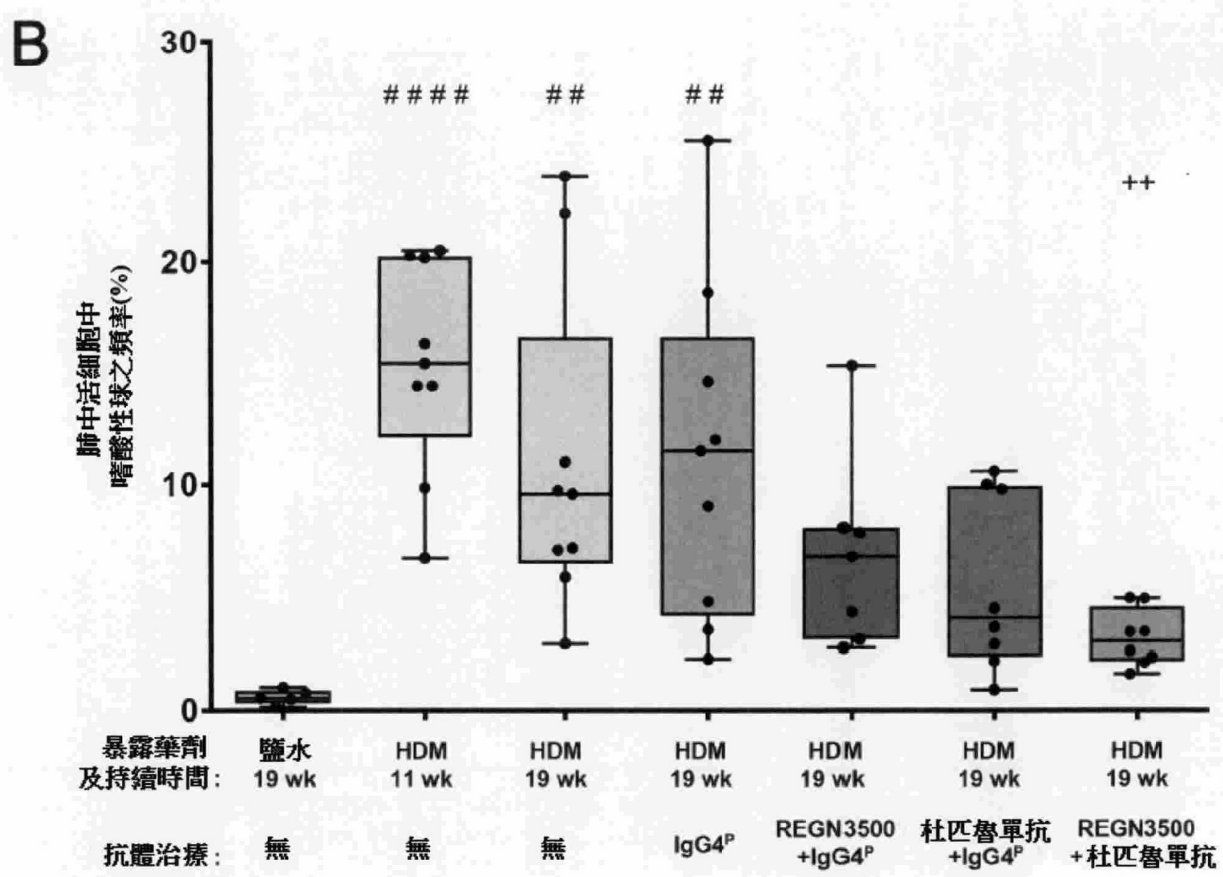
【圖 2】



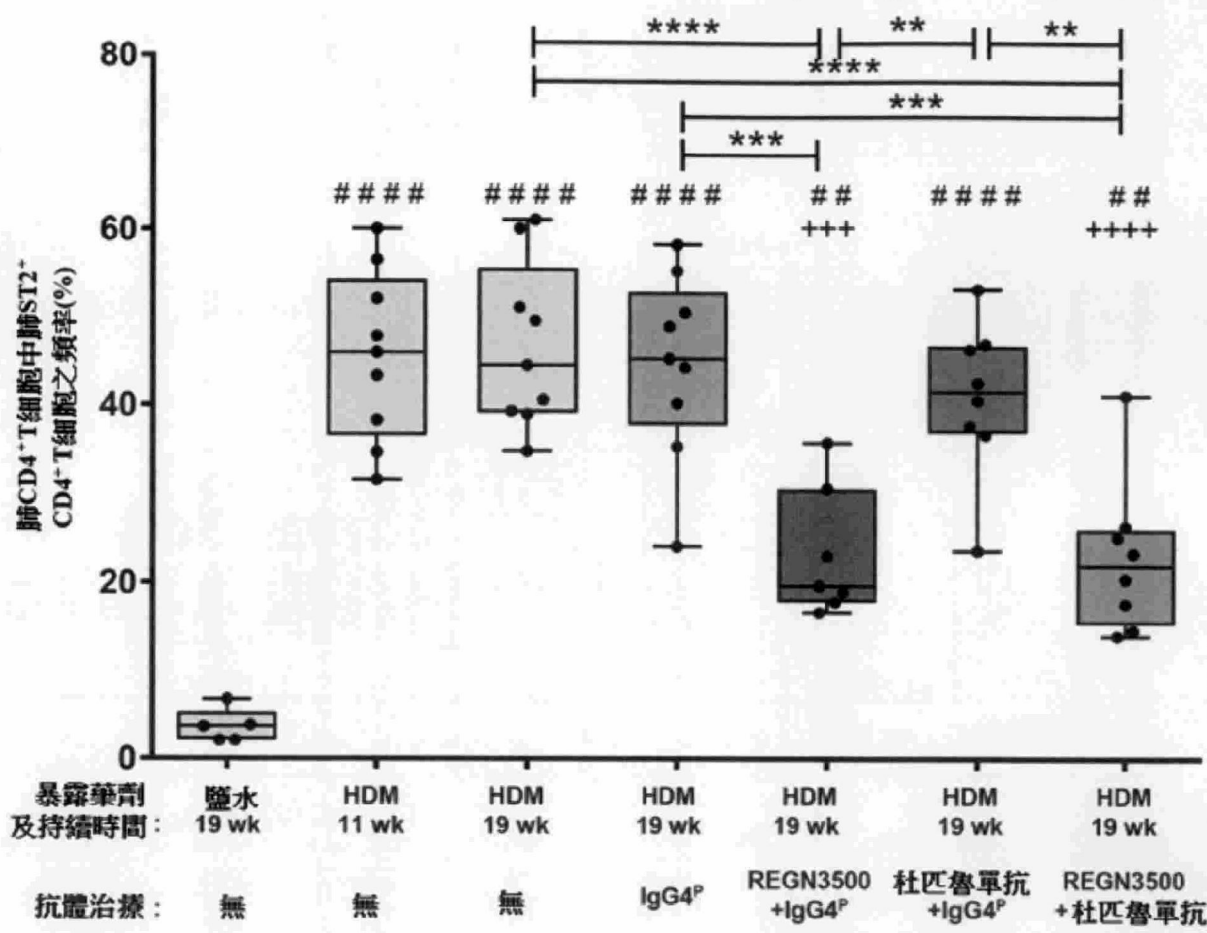
【圖 3】



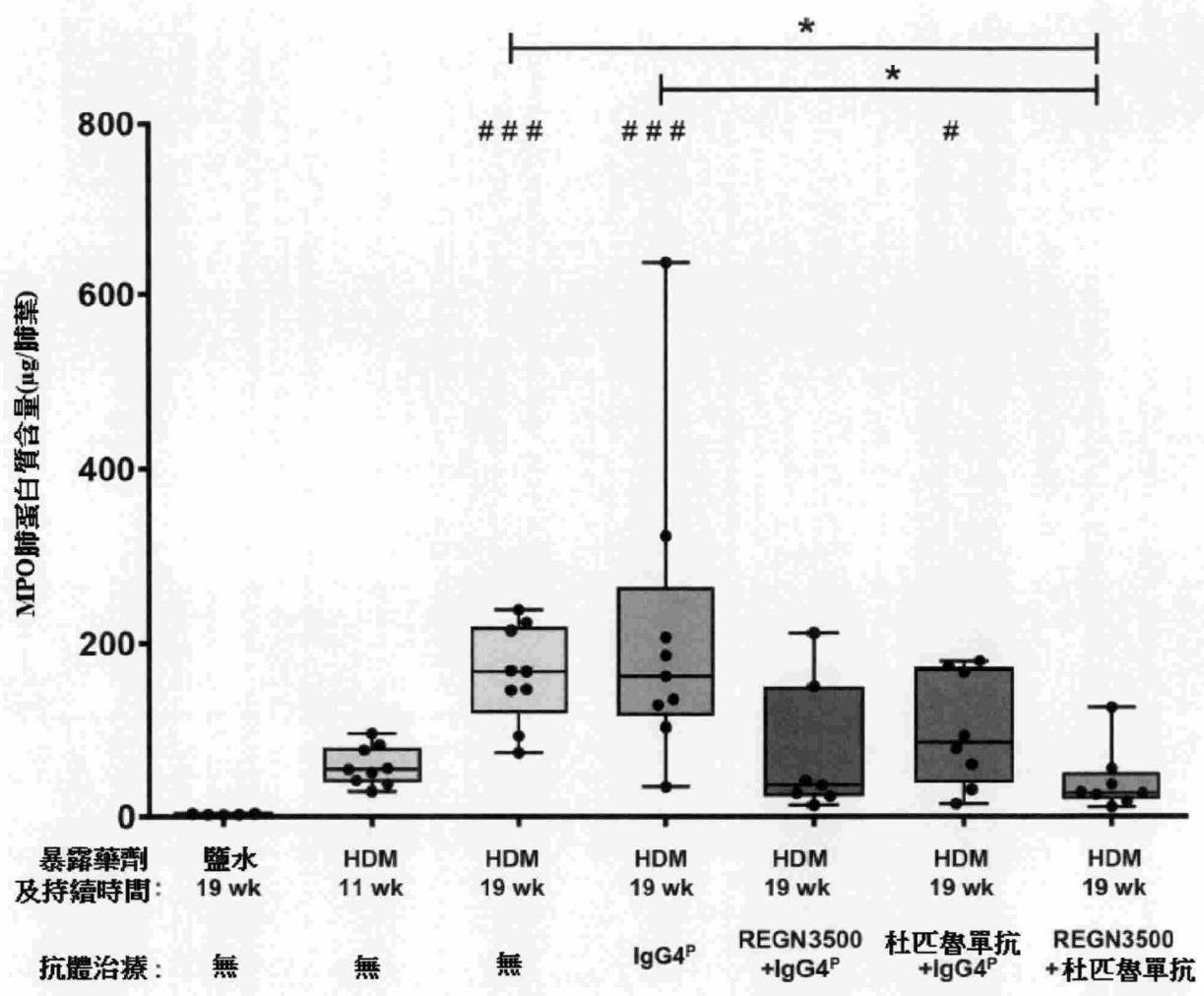
【圖 4A】



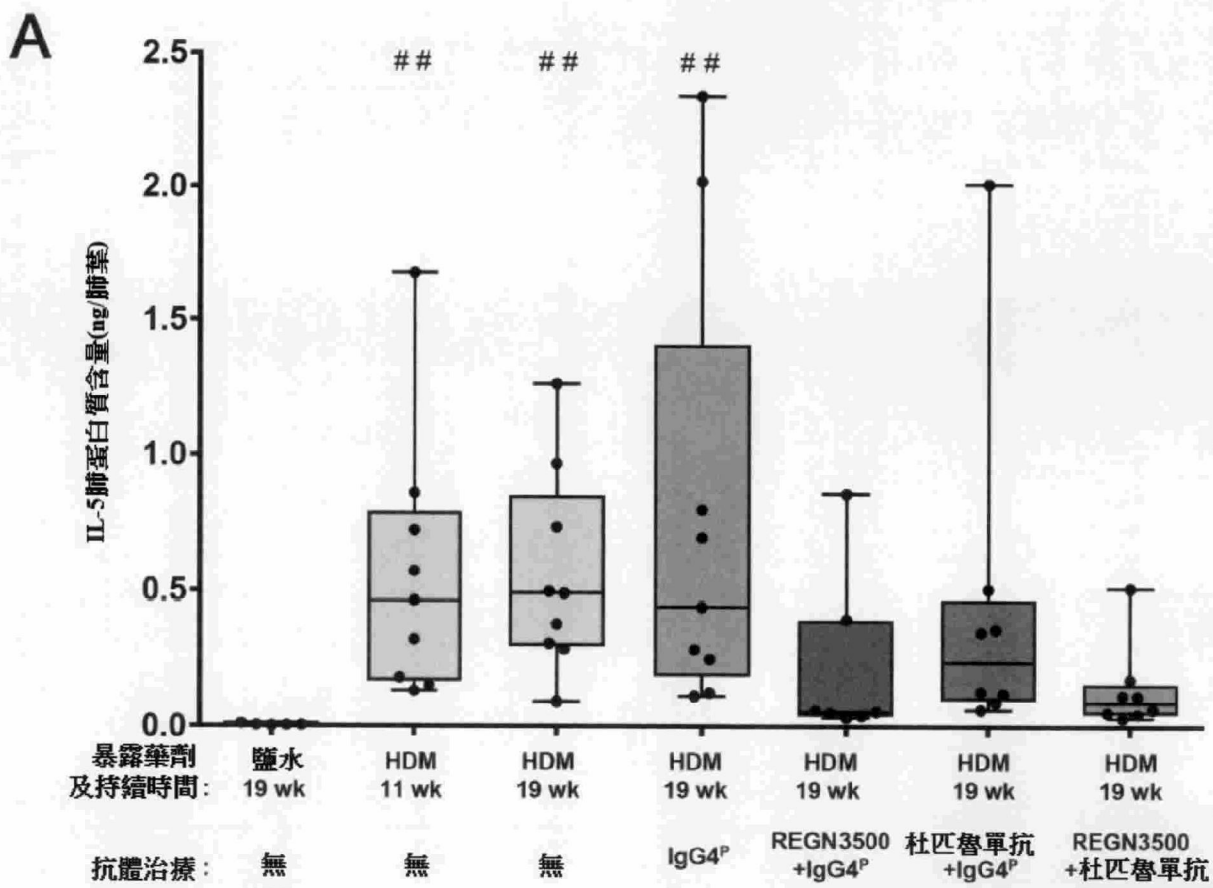
【圖 4B】



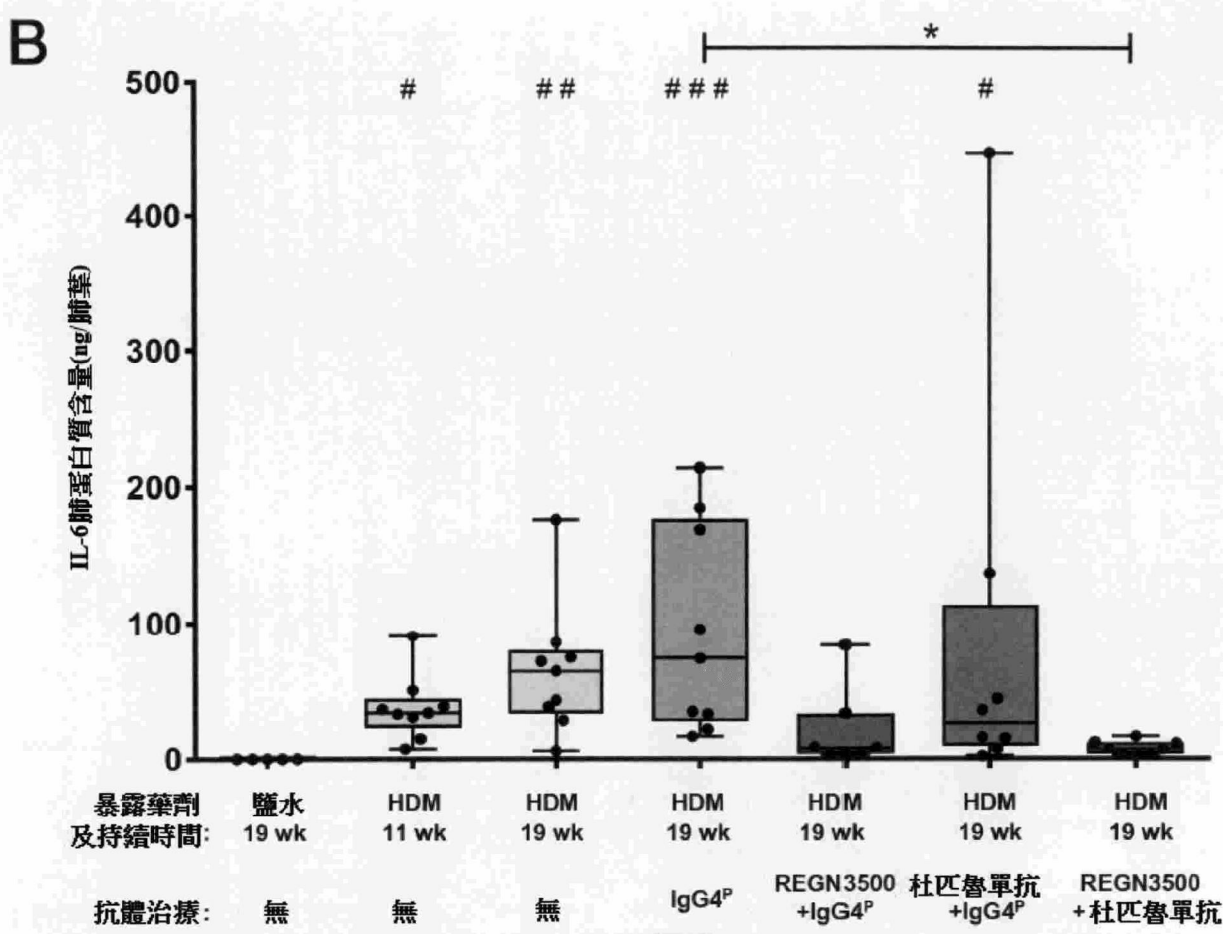
【圖 5】



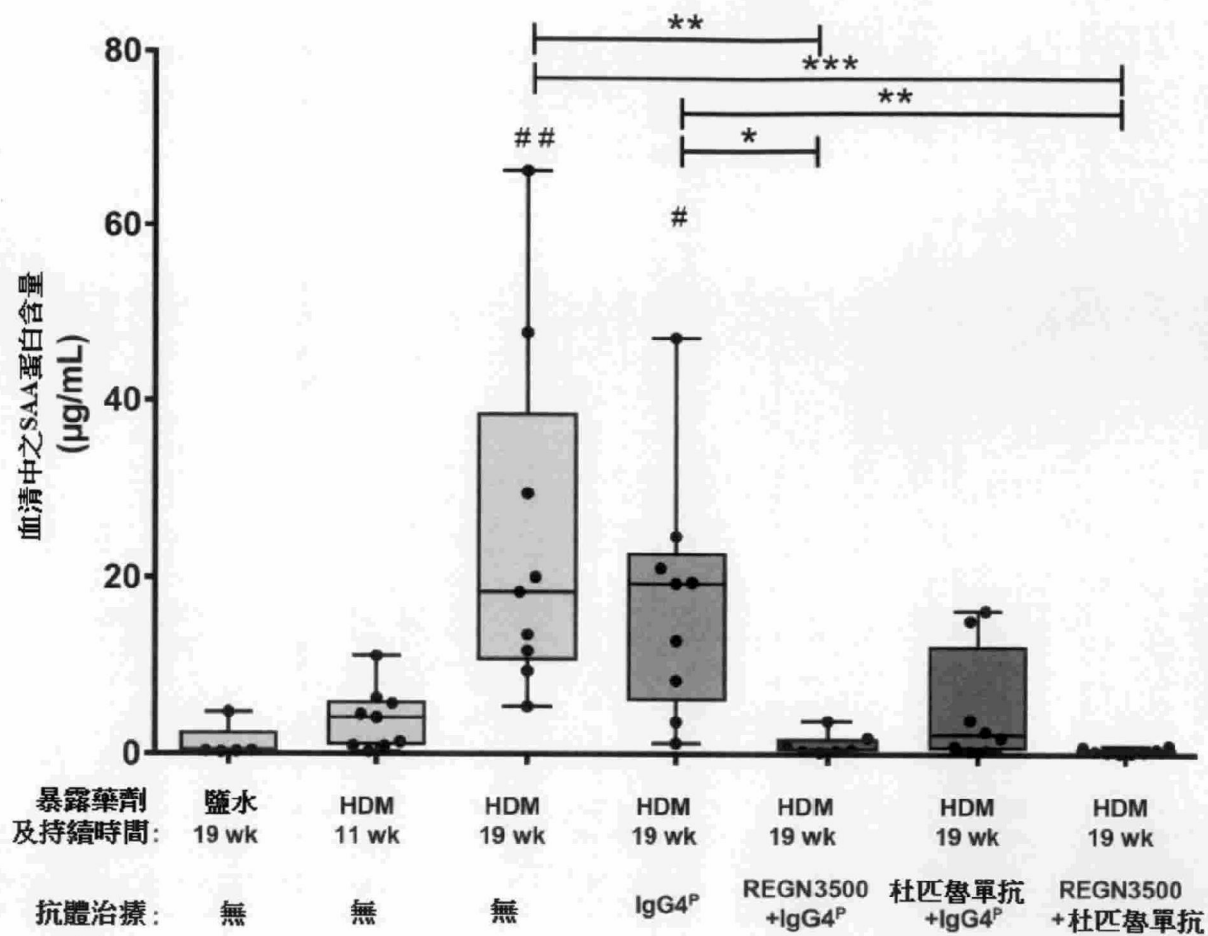
【圖 6】



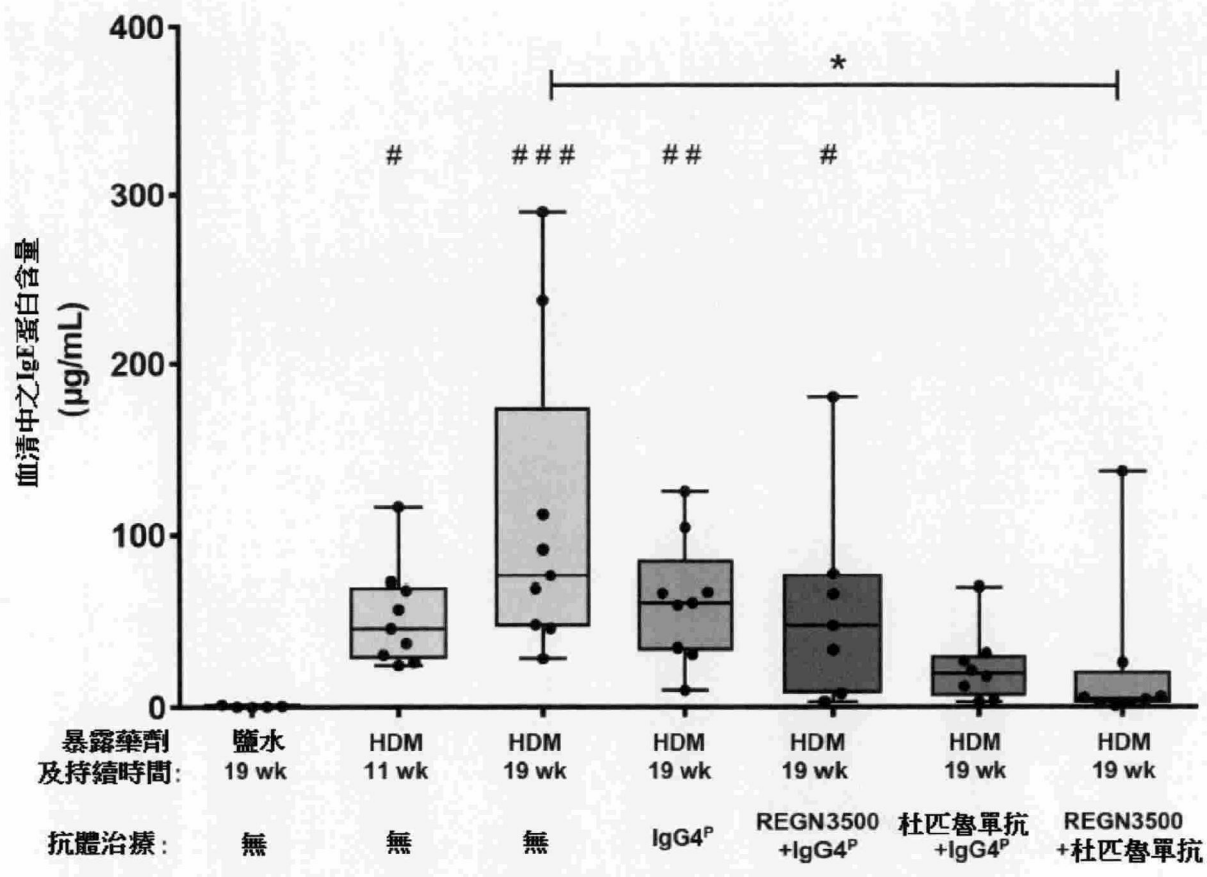
【圖 7A】



【圖 7B】



【圖 8】



【圖 9】