



(21)申請案號：105130046

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 05 月 02 日

(51)Int. Cl.：

*A61K39/395 (2006.01)**A61K47/10 (2006.01)**A61K47/14 (2006.01)**A61K47/18 (2006.01)**A61K47/36 (2006.01)**A61K9/08 (2006.01)**A61K9/19 (2006.01)**A61P1/04 (2006.01)**A61P37/02 (2006.01)*

(30)優先權：2011/05/02 美國

61/481,533

2011/10/24 美國

61/550,545

2012/01/12 美國

61/585,859

(71)申請人：千禧製藥公司(美國) MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：福克斯 艾文 H FOX, IRVING H (US)；史可茲 凱薩琳 SCHOLZ, CATHERINE (US)；瓦加 科沙納德 M VARGA, CSANAD M. (US)；派倫尼亞潘恩 維斯亞納桑 PALANIAPPAN, VAITHIANATHAN (US)；布朗 傑森 BROWN, JASON (US)；迪魯茲歐 威洛 DILUZIO, WILLOW (US)；楚恩 諾貝爾 T TRUONG, NOBEL T. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：68 項 圖式數：9 共 120 頁

(54)名稱

抗- $\alpha 4 \beta 7$ 抗體之調配物FORMULATION FOR ANTI- $\alpha 4 \beta 7$ ANTIBODY

(57)摘要

本發明描述包含非還原糖、抗- $\alpha 4 \beta 7$ 抗體及至少一種胺基酸之混合物的抗體調配物。所揭示之調配物具有改良之穩定性、減少之聚集體形成，且可延遲其中抗- $\alpha 4 \beta 7$ 抗體之降解，或呈現其任何組合。本發明進一步提供一種此等抗體調配物之安全給藥方案，其易於遵循，且在活體內產生治療有效量之抗- $\alpha 4 \beta 7$ 抗體。

Antibody formulations are described comprising a mixture of a non-reducing sugar, an anti- $\alpha 4 \beta 7$ antibody and at least one amino acid. The disclosed formulations have improved stability, reduced aggregate formation, and may retard degradation of the anti- $\alpha 4 \beta 7$ antibody therein or exhibit any combinations thereof. The present invention further provides a safe dosing regimen of these antibody formulations that is easy to follow, and which results in a therapeutically effective amount of the anti- $\alpha 4 \beta 7$ antibody in vivo.

指定代表圖：

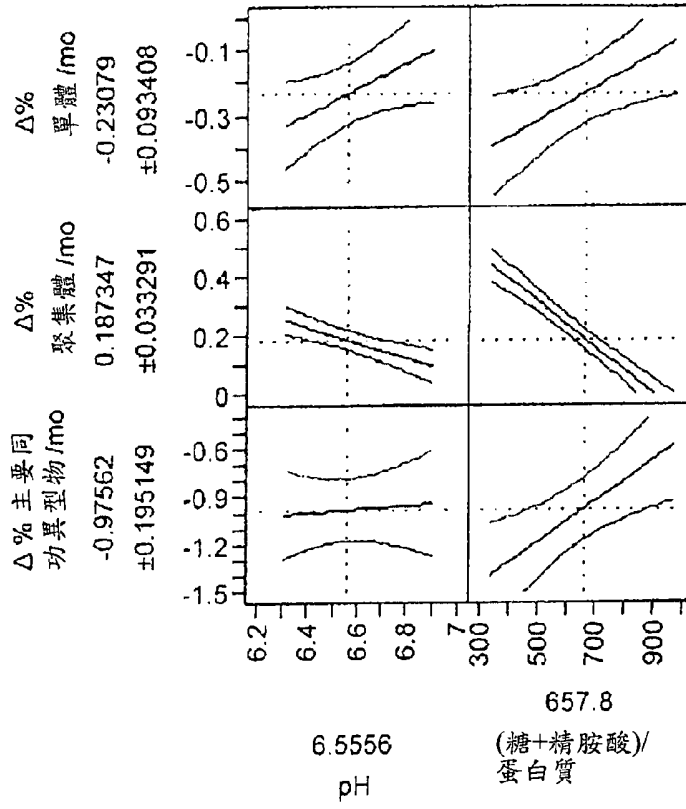


圖 6A

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】

抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之調配物

FORMULATION FOR ANTI- $\alpha 4\beta 7$ ANTIBODY

[相關申請案]

本申請案主張2012年1月12日申請之美國臨時申請案61/585,859、2011年10月24日申請之美國臨時申請案61/550,545及2011年5月2日申請之美國臨時申請案61/481,533之權益。前述申請案之全部內容以引用的方式併入本文中。

【先前技術】

生物技術之進步使得可能使用重組DNA技術製造多種蛋白質用於醫藥應用。因為蛋白質比傳統有機及無機藥物更大且更複雜(亦即除複雜的三維結構外亦具有多個官能基)，所以該等蛋白質之調配出現特殊問題。為了使蛋白質保持生物學活性，調配物必須保持蛋白質胺基酸之至少一個核心序列之構形完整性，同時保護蛋白質之多個官能基免於降解。蛋白質可受缺乏穩定性的影響，且單株及多株抗體尤其會相對不穩定(參見例如Wang等人, *J. Pharm Sci.* 96:1-26 (2007))。許多調配選擇物係可用的，但沒有一種方法或系統可適用於所有蛋白質。待考量之若干因素已有報導(參見例如Wang等人)。

許多特徵可影響蛋白質之穩定性。實際上，即使在純化抗體之情況下，抗體結構亦可能為非均質的，此進一步使該等系統之調配複雜化。此外，包括於抗體調配物中之賦形劑較佳將任何潛在免疫反應減至最小。

在抗體之情況下，保持構形完整性更加重要。蛋白質之降解路

徑可包括化學不穩定性(亦即包括藉由鍵形成或裂解修飾蛋白質產生新化學實體的任何過程)或物理不穩定性(亦即蛋白質更高級結構之變化)。化學不穩定性以例如脫醯胺、異構化、水解、氧化、片段化、聚糖 β 消除或雙硫鍵互換(disulfide exchange)形式表現。物理不穩定性可由例如變性、聚集、沈澱或吸附造成。四種最常見之蛋白質降解路徑為蛋白質片段化、聚集、脫醯胺及氧化。治療性蛋白質之化學或物理不穩定性之後果包括有效投與劑量減少、因例如刺激或免疫反應性所致之療法安全性降低及因存放期短所致之更頻繁製造。

冷凍乾燥為用於保存蛋白質之常用技術；冷凍乾燥用於自相關蛋白質製劑移除水。冷凍乾燥或凍乾為首先冷凍待乾燥物質且隨後在真空下藉由昇華移除冰或冷凍溶劑的製程。賦形劑可包括於預凍乾調配物中以及在凍乾製程期間使蛋白質穩定及/或改良凍乾蛋白質調配物之穩定性(Pikal M., *Biopharm.* 3(9)26-30 (1990)及 Arakawa 等人, *Pharm. Res.* 8(3):285-291 (1991))。

數個公開案已大體上揭示治療發炎性腸病之多種方法，且提供用於投與經設計以治療發炎性腸病之藥劑的給藥方案。舉例而言，WO 96/24673揭示黏膜血管定址素及治療與因白血球結合至表現MAdCAM之細胞所致之白血球募集至胃腸道相關的疾病。U.S. 2005/0095238描述治療與黏膜組織之白血球浸潤相關之疾病的方法及向人類投與有效量之對 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之人類或人類化免疫球蛋白或抗原結合片段。U.S. 2005/0095238進一步描述多種劑量(例如每公斤體重0.15 mg、約0.5 mg、約1.0 mg、約1.5 mg或約2.0 mg免疫球蛋白或片段)及劑量之間的多個間隔時間(7天、14天、21天、28天或30天)。然而，上述專利及公開案並未揭示本文中描述且主張的抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之特定調配物或特定劑量及給藥方案。重要的是，上述專利並未揭示為本文中描述且主張的治療方法(由臨床試驗資料證

明)而提供之調配物、劑量及給藥方案。

本發明之抗體調配物可適用於抑制白血球結合至表現MAdCAM之細胞且因此幫助治療患者之發炎性腸病。因此，急需找到此等化合物之適合劑量及給藥時程，且急需開發在長時間段內以穩定及適宜形式產生穩態治療有效血液含量之抗體調配物的調配物，較佳為皮下調配物。

【發明內容】

本發明係關於識別非還原糖及至少一種胺基酸作為適用於調配抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物之賦形劑，該等調配物之不穩定性使其易受脫醯胺、氧化、異構化及/或聚集。調配物改良穩定性，減少聚集體形成且延遲其中抗體之降解。

因此，在第一態樣中，本發明係關於一種穩定調配物，其包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體及至少一種游離胺基酸之混合物，且非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳：莫耳)大於600:1。調配物可為液體調配物或乾燥調配物(例如凍乾)。調配物亦可含有緩衝劑。在一些實施例中，非還原糖為甘露糖醇、山梨糖醇、蔗糖、海藻糖或其任何組合。

在一些實施例中，調配物之游離胺基酸為組胺酸、丙胺酸、精胺酸、甘胺酸、麩胺酸或其任何組合。調配物可包含約50 mM至約175 mM的游離胺基酸。調配物可包含約100 mM至約175 mM的游離胺基酸。游離胺基酸與抗體莫耳比之比率可為至少250:1。

調配物亦可含有界面活性劑。界面活性劑可為聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、泊洛沙姆(poloxamer)或其任何組合。

在一些態樣中，調配物可將抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之免疫原性減至最小。

調配物(例如呈乾燥狀態)在40°C及75%相對濕度(RH)下可穩定持續至少三個月。

在另一態樣中，調配物經凍乾且在凍乾之前包含至少約5%至約10%抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。調配物在凍乾之前可含有至少約6%抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。調配物可自凍乾調配物復原(例如經復原以包含穩定液體調配物)。

在另一態樣中，本發明係關於一種穩定調配物，其包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體及至少一種游離胺基酸之混合物，且非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1且游離胺基酸與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之比率(莫耳:莫耳)大於250:1。

在另一態樣中，本發明係關於一種穩定液體調配物，其包含於水溶液中之非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體及至少一種游離胺基酸，其中非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1。在另一態樣中，本發明係關於一種液體調配物，其包含至少約40 mg/ml至約80 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、至少約50 mM至175 mM一或多種胺基酸及至少約6%至至少約10%(w/v)糖。液體調配物亦可含有緩衝劑。在一些實施例中，液體調配物亦包含金屬螯合劑。在一些實施例中，液體調配物亦包含抗氧化劑。

在另一態樣中，本發明係關於一種液體調配物，其包含至少約60 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、至少約10%(w/v)非還原糖及至少約125 mM一或多種游離胺基酸。

在另一態樣中，本發明係關於一種液體調配物，其包含至少約60 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、至少約10%(w/v)非還原糖及至少約175 mM一或多種游離胺基酸。

在另一態樣中，本發明亦係關於乾燥、例如凍乾調配物，其包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、組胺酸、精胺酸及聚山梨醇酯80之混合物，其中調配物呈固體形式，且非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1。

在另一態樣中，本發明係關於一種凍乾調配物，其包含非還原

糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、組胺酸、精胺酸及聚山梨醇酯80之混合物。在此態樣中，非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1。此外，調配物中之精胺酸與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於250:1。

在另一態樣中，本發明係關於一種製造本文所述之調配物的方法，其包含在初級乾燥期間維持產物溫度低於塌陷溫度(collapse temperature)。該方法亦可含有退火步驟。

在一個態樣中，本發明係關於一種治療罹患發炎性腸病之人類患者之方法，其中該方法包含步驟：向罹患發炎性腸病之患者投與對人類 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段，其中人類化免疫球蛋白或抗原結合片段包含非人類來源之抗原結合區及至少一部分人類來源之抗體，其中根據以下給藥方案向患者投與人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段：(a)呈靜脈內輸注形式之300 mg人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段的初始劑量；(b)隨後在初始劑量之後約兩週時，呈靜脈內輸注形式之300 mg人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段的第二後續劑量；(c)隨後在初始劑量之後約六週時，呈靜脈內輸注形式之300 mg人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段的第三後續劑量；(d)隨後在人類化抗體之第三後續劑量之後，視需要每四週或每八週呈靜脈內輸注形式之300 mg人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段的第四後續劑量；其中給藥方案誘導患者之發炎性腸病之臨床反應及/或臨床緩解；且此外，其中人類化免疫球蛋白或抗原結合片段對 $\alpha 4\beta 7$ 複合物具有結合特異性，其中抗原結合區包含以下闡述之胺基酸序列的輕鏈可變區之三個互補決定區(CDR1、CDR2及CDR3)及重鏈可變區之三個互補決定區(CDR1、CDR2及CDR3)：輕鏈：CDR1 SEQ ID NO:9、CDR2 SEQ ID NO:10、CDR3 SEQ ID NO:11；重鏈：CDR1 SEQ ID NO:12、CDR2 SEQ ID NO:13、CDR3

SEQ ID NO:14。

在另一態樣中，本發明係關於一種用於治療性治療發炎性腸病之給藥方案，其中該給藥方案包含步驟：向罹患發炎性腸病之患者投與對人類 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段，其中人類化免疫球蛋白或抗原結合片段包含非人類來源之抗原結合區及至少一部分人類來源之抗體，其中根據以下給藥方案向患者投與人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段：(a)呈靜脈內輸注形式之300 mg人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段的初始劑量；(b)隨後在初始劑量之後約兩週時，呈靜脈內輸注形式之300 mg人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段的第二後續劑量；(c)隨後在初始劑量之後約六週時，呈靜脈內輸注形式之300 mg人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段的第三後續劑量；(d)隨後在人類化抗體之第三後續劑量之後，視需要每四週或每八週呈靜脈內輸注形式之300 mg人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段的第四後續劑量；其中給藥方案誘導患者之發炎性腸病之臨床反應及/或臨床緩解；且此外，其中人類化免疫球蛋白或抗原結合片段對 $\alpha 4\beta 7$ 複合物具有結合特異性，其中抗原結合區包含以下闡述之胺基酸序列的輕鏈可變區之三個互補決定區(CDR1、CDR2及CDR3)及重鏈可變區之三個互補決定區(CDR1、CDR2及CDR3)：輕鏈：CDR1 SEQ ID NO:9、CDR2 SEQ ID NO:10、CDR3 SEQ ID NO:11；重鏈：CDR1 SEQ ID NO:12、CDR2 SEQ ID NO:13、CDR3 SEQ ID NO:14。

在一些態樣中，用抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物、劑量或給藥方案治療之方法可將抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之免疫原性減至最小。

患者可能對用免疫調節劑、腫瘤壞死因子- α (TNF- α)拮抗劑中之至少一者或其組合進行的治療缺乏足夠反應、喪失反應或不耐受。

發炎性腸病可為克隆氏病(Crohn's disease)或潰瘍性結腸炎。發

炎性腸病可為中度至重度活動性潰瘍性結腸炎。

給藥方案可使罹患中度至重度活動性潰瘍性結腸炎之患者的黏膜癒合。

患者可能先前已接受用至少一種用於發炎性腸病之皮質類固醇進行的治療。給藥方案可使患者之皮質類固醇的使用減少、消除或減少及消除。

在一些態樣中，以約1.0 mg/ml至約1.4 mg/ml之濃度之最終劑型投與人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段。可以約1.2 mg/ml之最終劑型投與人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段。可在約30分鐘內向患者投與人類化免疫球蛋白或抗原結合片段。

人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段可自凍乾調配物復原。

人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段可經復原以包含穩定液體調配物。

在一些態樣中，給藥方案不改變接受該治療之患者之腦脊髓液中的CD4與CD8之比率。

患者可為65歲或65歲以上之人且不需要給藥方案之任何調整。

【圖式簡單說明】

圖1為編碼人類化抗- $\alpha 4\beta 7$ 免疫球蛋白之重鏈之核苷酸序列(SEQ ID NO:1)及重鏈之演繹胺基酸序列(SEQ ID NO:2)的說明圖。核苷酸序列在重鏈之5'端處含有選殖位點(小寫)、Kozak序列(大寫，SEQ ID NO:1之核苷酸18至23)及前導序列(小寫，SEQ ID NO:1之核苷酸24至86)。核苷酸序列之開放閱讀框架為SEQ ID NO:1之核苷酸24至1433。

圖2為編碼人類化免疫球蛋白(在本文中稱為維多珠單抗(vedolizumab))之輕鏈之核苷酸序列(SEQ ID NO:3)及輕鏈之演繹胺基酸序列(SEQ ID NO:4)的說明圖。核苷酸序列在重鏈之5'端處含有選殖位點(小寫)、Kozak序列(大寫，SEQ ID NO:3之核苷酸18至23)及前導

序列(小寫, SEQ ID NO:3之核苷酸24至80)。核苷酸序列之開放閱讀框架為SEQ ID NO:3之核苷酸24至737。

圖3為(A)人類化免疫球蛋白(在本文中稱為維多珠單抗)之成熟人類化輕鏈(SEQ ID NO:4之胺基酸20-238)與(B)人類化免疫球蛋白(在本文中稱為LDP-02)之成熟人類化輕鏈(SEQ ID NO:5)之胺基酸序列的比對。(關於LDP-02, 參見WO 98/06248及Feagan等人, N. Eng. J. Med. 352:2499-2507 (2005)。Feagan等人描述LDP-02之臨床研究, 但在該文章中, 其將LDP-02稱為MLN02)。該比對說明維多珠單抗與LDP-02之輕鏈之胺基酸序列在成熟輕鏈之位置114及115處不同。

圖4為(A)同屬人類 κ 輕鏈恆定區(SEQ ID NO:6)與(B)同屬鼠類 κ 輕鏈恆定區(SEQ ID NO:7)之胺基酸序列的比對。胺基酸殘基Thr及Val(其存在於成熟維多珠單抗輕鏈之位置114及115處(SEQ ID NO:4之胺基酸133及134))存在於人類 κ 輕鏈之恆定區中, 而胺基酸殘基Ala及Asp(其存在於成熟LDP-02輕鏈(SEQ ID NO:5)之位置114及115處)存在於小鼠 κ 輕鏈之恆定區中。

圖5為載體pLKTOK38D(亦稱為pTOK38MLN02-TV)之圖譜, 其編碼MLN02之人類化重鏈及人類化輕鏈, 且適用於在CHO細胞中產生維多珠單抗。(參見揭示pLKTOK38之美國專利申請公開案第2004/0033561 A1號。pLKTOK38D為pLKTOK38之變異體, 其中圖譜上指示之限制位點側接編碼輕鏈可變區之序列。)

圖6A展示抗- $\alpha\beta 7$ 凍乾調配物之單體百分比之變化、聚集體百分比之變化及主要同功異型物百分比之變化的預測模型。模型係基於實例1中呈現之數據的統計分析。中心線展示預測模型之結果且外部線展示預測模型之95%置信界限。圖6B展示當輸入因子為pH值、糖:蛋白質莫耳比及精胺酸:蛋白質莫耳比時基於表1至表3之40°C數據之統計分析的替代性模型。中心線展示預測模型之結果且外部線展示預測

模型之95%置信界限。

圖7展示(A)成熟人類GM607'CL抗體 κ 輕鏈可變區及(B)人類21/28'CL重鏈可變區的胺基酸序列。

圖8為展示固體及負載影響乾燥時間之圖(線中之數目表示乾燥時間之分鐘數)。

圖9為展示與安慰劑對照物相比，維多珠單抗不延遲實驗性自體免疫性腦脊髓炎(EAE)之臨床症狀發作的圖。與安慰劑對照物相比，那他珠單抗(natalizumab)顯著($p < 0.05$)延遲EAE之臨床症狀發作。

【實施方式】

本發明係關於包含抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之調配物。調配物可為包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體及一或多種游離胺基酸之混合物，且非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比大於600莫耳非還原糖:1莫耳抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。調配物可呈固體或液體形式。

定義

術語「醫藥調配物」係指一種製劑，其含有呈使抗體之生物活性有效之形式的抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體，且其不含對將投與調配物之個體具不可接受毒性之其他組分。

「穩定」調配物為在儲存時其中之抗體實質上保持其物理穩定性及/或化學穩定性及/或其生物活性的調配物。在一個態樣中，調配物在儲存時實質上保持其物理及化學穩定性以及其生物活性。一般基於調配物之預期存放期選擇儲存期。用於量測蛋白質穩定性之多種分析技術在此項技術中可用且於例如 *Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301, Vincent Lee編，Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991)及 Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10: 29-90 (1993)中有綜述。

「脫醯胺」單株抗體為其一或多個天冬醯胺或麩醯胺酸殘基已經衍生化為例如天冬胺酸或異天冬胺酸的單株抗體。

「易受脫醯胺」之抗體為包含一或多個發現有脫醯胺傾向之殘基的抗體。

「易受氧化」之抗體為包含一或多個發現有氧化傾向之殘基的抗體。

「易聚集」之抗體為發現其與其他抗體分子聚集(尤其在冷凍、加熱、乾燥、復原及/或攪拌時)的抗體。

「易片段化」之抗體為發現例如在其鉸鏈區處裂解為兩個或兩個以上片段的抗體。

「減少脫醯胺、氧化、聚集或片段化」欲意謂相對於在不同pH值下或在不同緩衝劑中調配之單株抗體，防止或減少(例如至80%、60%、50%、40%、30%、20%或10%)脫醯胺、聚集或片段化之量。

「聚集體」、「SEC聚集體」或「可溶性聚集體」為大於一個且小於或等於十個抗體蛋白質及/或片段經由共價、離子或疏水性相互作用結合在一起形成更大蛋白質體。

「不溶性聚集體」或「顆粒」為大於十個抗體蛋白質及/或片段經由共價、離子或疏水性相互作用結合在一起形成更大蛋白質體。

如本文所用，單株抗體之「生物活性」係指抗體結合至抗原且產生可活體外或活體內量測之可量測生物反應的能力。該活性可為拮抗性或促效性。

細胞表面分子「 $\alpha_4\beta_7$ 整合素」或「 $\alpha_4\beta_7$ 」為 α_4 鏈(CD49D，ITGA4)與 β_7 鏈(ITGB7)之雜二聚體。每條鏈可與替代性整合素鏈形成雜二聚體，形成 $\alpha_4\beta_1$ 或 $\alpha_E\beta_7$ 。人類 α_4 及 β_7 基因(分別為GenBank(National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD)RefSeq寄存編號NM_000885及NM_000889)由B及T淋巴細胞、尤其是記憶性CD4+淋巴細胞表現。作為許多整合素之典型， $\alpha_4\beta_7$ 可以靜止或活化狀態存在。 $\alpha_4\beta_7$ 之配位體包括血管細胞黏著分子(VCAM)、纖維結合

蛋白及黏膜定址素(MAdCAM(例如MAdCAM-1))。

如本文所用，具有「對 $\alpha 4\beta 7$ 複合物之結合特異性」之人類免疫球蛋白或其抗原結合片段結合至 $\alpha 4\beta 7$ ，但不結合至 $\alpha 4\beta 1$ 或 $\alpha EB7$ 。

如本文所用，「等張」調配物具有與人類血液實質上相同之滲透壓。等張調配物一般具有約250 mOsm至350 mOsm之滲透壓。可使用例如蒸氣壓或冰凍型滲壓計來量測等張性。

如本文所用，「緩衝劑」係指藉由其酸鹼共軛組分之作用抵抗pH值變化之緩衝劑。緩衝劑可以本發明之液體或固體調配物形式存在。緩衝劑將調配物之pH值調節為約5.0至約7.5、約5.5至約7.5、約6.0至約6.5或約6.3之pH值。在一個態樣中，控制pH值於5.0至7.5範圍內之緩衝劑之實例包括乙酸鹽、丁二酸鹽、葡糖酸鹽、組胺酸、檸檬酸鹽、磷酸鹽、順丁烯二酸鹽、二甲基胍酸鹽、2-[N-嗎啉基]乙磺酸(MES)、雙(2-羥乙基)亞胺基參[羥甲基]甲烷(Bis-Tris)、N-[2-乙醯胺基]-2-亞胺二乙醯(ADA)、甘胺醯甘胺酸及其他有機酸緩衝劑。在另一態樣中，本文中之緩衝劑為組胺酸或檸檬酸鹽。

「組胺酸緩衝劑」為包含組胺酸離子之緩衝劑。組胺酸緩衝劑之實例包括組胺酸氯化物、組胺酸乙酸鹽、組胺酸磷酸鹽、組胺酸硫酸鹽溶液。組胺酸緩衝劑或組胺酸鹽酸鹽緩衝劑之pH值在約pH 5.5至6.5、約pH 6.1至6.5之範圍內或為約pH 6.3。

本文中之「醣」為具有通式 $(CH_2O)_n$ 之化合物及其衍生物，包括單醣、雙醣、三醣、多醣、糖醇、還原糖、非還原糖及其類似物。在一個態樣中，本文中之醣之實例包括葡萄糖、蔗糖、海藻糖、乳糖、果糖、麥芽糖、聚葡萄糖、赤藻糖醇、甘油、阿拉伯糖醇、木糖醇(sylitol)、山梨糖醇、甘露糖醇、蜜二糖、松三糖、棉子糖、甘露三糖、水蘇糖、麥芽糖、乳酮糖、麥芽酮糖、葡萄糖醇、麥芽糖醇、乳糖醇、異麥芽酮糖及其類似物。醣可為凍乾保護劑。在另一態樣中，

本文中之醣為非還原雙醣，諸如蔗糖。

本文中之「界面活性劑」係指降低液體之表面張力的試劑。界面活性劑可為非離子界面活性劑。在一個態樣中，本文中之界面活性劑之實例包括聚山梨醇酯(聚氧乙烯脫水山梨糖醇單月桂酸酯，例如聚山梨醇酯20及聚山梨醇酯80)；TRITON(第三辛基苯氧基聚乙氧基乙醇，非離子清潔劑，Dow Chemical Co., Midland MI之Union Carbide子公司)；十二烷基硫酸鈉(SDS)；月桂硫酸鈉；辛基醣苷鈉；月桂基磺基甜菜鹼、肉豆蔻基磺基甜菜鹼、亞油烯基(linoleyl)磺基甜菜鹼或硬脂醯基磺基甜菜鹼；月桂基肌胺酸、肉豆蔻基肌胺酸、亞油烯基肌胺酸或硬脂醯基肌胺酸；亞油烯基甜菜鹼、肉豆蔻基甜菜鹼或鯨蠟基甜菜鹼；月桂醯胺丙基甜菜鹼、椰油醯胺丙基甜菜鹼、亞油醯胺丙基甜菜鹼、肉豆蔻醯胺丙基甜菜鹼、棕櫚醯胺丙基(palimidopropyl)甜菜鹼或異硬脂醯胺丙基甜菜鹼(例如月桂醯胺丙基甜菜鹼)；肉豆蔻醯胺丙基二甲胺、棕櫚醯胺丙基二甲胺或異硬脂醯胺丙基二甲胺；甲基椰油醯基牛磺酸鈉或甲基油烯基牛磺酸二鈉；脫水山梨糖醇單棕櫚酸酯；及MONAQUAT系列(Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.)；聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇(PPG)及聚氧乙烯與聚氧丙烯二醇之共聚物(例如泊洛尼克(Pluronic)/泊洛沙姆、PF68等)；等。在另一態樣中，界面活性劑為聚山梨醇酯80。

本文中之術語「抗體」以最廣泛含義使用且尤其涵蓋全長單株抗體、免疫球蛋白、多株抗體、由至少兩種全長抗體例如各與不同抗原或抗原決定基形成之多特異性抗體(例如雙特異性抗體)及個別抗原結合片段(包括dAbs、scFv、Fab、F(ab)'₂、Fab')，包括人類、人類化及來自非人類物種及重組抗原結合形式之抗體(諸如單功能抗體(monobody)及雙功能抗體)。

設想抗體之近似分子量為約150,000道爾頓(dalton)來計算本文中

所描述之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體與其他賦形劑之莫耳量及比率。實際抗體分子量可不為150,000道爾頓，視胺基酸組成或轉譯後修飾(例如視用於表現抗體之細胞株)而定。實際抗體分子量可為150,000道爾頓 \pm 5%。

術語「人類抗體」包括具有由人類生殖系免疫球蛋白序列衍生之序列之抗體，諸如由具有人類免疫球蛋白基因之轉殖基因小鼠(例如XENOMOUSE基因工程改造小鼠(Abgenix, Fremont, CA)、HUMAB-MOUSE®、KIRIN TC MOUSE™轉染色體小鼠、KMMOUSE®(MEDAREX, Princeton, NJ))、人類噬菌體呈現庫、人類骨髓瘤細胞或人類B細胞衍生之抗體。

如本文所用之術語「單株抗體」係指由實質上均質抗體之群獲得之抗體，亦即除可在產生單株抗體期間出現之可能變異體(該等變異體一般以少量存在)之外，構成該群之個別抗體相同及/或結合相同抗原決定基。與通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體之多株抗體製劑對比，各單株抗體針對抗原上之單一決定子。修飾語「單株」指示抗體係自實質上均質之抗體群獲得之特性，且不應理解為需要藉由任何特定方法來產生該抗體。舉例而言，欲根據本發明使用之單株抗體可藉由最初由Kohler等人, *Nature*, 256:495 (1975)所述之融合瘤方法產生，或可藉由重組DNA方法(參見例如美國專利第4,816,567號)產生。「單株抗體」亦可使用例如Clackson等人, *Nature*, 352:624-628 (1991)及Marks等人, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991)中所述之技術自噬菌體抗體庫中分離。

本文中之單株抗體特定言之包括「嵌合」抗體，其中一部分重鏈及/或輕鏈與衍生自特定物種或屬於特定抗體種類或子類之抗體中的相應序列相同或同源，而該(該等)鏈之剩餘部分與衍生自另一物種或屬於另一抗體種類或子類之抗體中的相應序列相同或同源；以及該等抗體之片段，只要其展現所要生物活性即可(美國專利第4,816,567

號；及 Morrison 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)。本文中之相關嵌合抗體包括包含衍生自非人類靈長類動物(例如舊大陸猴(Old World Monkey)、猿(Ape)等)之可變域抗原結合序列及人類恆定區序列的「靈長類化」抗體。

在本發明之調配物中製備之人類化免疫球蛋白之「抗原結合片段」至少包含抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之重鏈及/或輕鏈之可變區。舉例而言，維多珠單抗(vedolizumab)之抗原結合片段包含SEQ ID NO:4之人類化輕鏈序列之胺基酸殘基20至131。該等抗原結合片段之實例包括在此項技術中已知之人類化免疫球蛋白之Fab片段、Fab'片段、scFv及F(ab')₂片段。本發明之人類化免疫球蛋白之抗原結合片段可藉由酶促裂解或藉由重組技術產生。舉例而言，番木瓜蛋白酶或胃蛋白酶裂解可分別用於產生Fab或F(ab')₂片段。抗體亦可使用已將一或多個終止密碼子引入天然終止位點之上游的抗體基因以多種截短形式產生。舉例而言，編碼F(ab')₂片段之重鏈之重組構築體可經設計以包括編碼重鏈之CH₁結構域及鉸鏈區的DNA序列。在一個態樣中，抗原結合片段抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整合素結合至一或多個其配位體(例如黏膜定址素MAdCAM(例如MAdCAM-1)、纖維結合蛋白)。

番木瓜蛋白酶消化抗體產生兩個稱為「Fab」片段之相同抗原結合片段，各具有單一抗原結合位點；及一剩餘「Fc」片段，其名稱反映其易於結晶之能力。胃蛋白酶處理產生F(ab')₂片段，其具有兩個抗原結合位點且仍能夠交聯抗原。

「Fv」為由一個重鏈可變域及一個輕鏈可變域呈非共價締合形式之二聚體組成之抗體片段。

Fab片段亦含有輕鏈之恆定域及重鏈之第一恆定域(CH₁)。Fab'片段因在重鏈CH₁結構域之羧基端添加少量殘基(包括一或多個來自抗體鉸鏈區之半胱胺酸)而不同於Fab片段。Fab'-SH在本文中為恆定域

之半胱胺酸殘基帶有至少一個游離硫醇基之Fab'的命名。F(ab')₂抗體片段最初被製成其之間具有鉸鏈半胱胺酸之Fab'片段對。亦已知抗體片段之其他化學偶聯。

「單鏈Fv」或「scFv」抗體片段包含抗體之V_H及V_L結構域，其中此等結構域存在於單一多肽鏈中。在一個態樣中，Fv多肽進一步包含位於V_H與V_L結構域之間的多肽連接子，其使得scFv可形成抗原結合所需之結構。關於scFv之綜述，參見Pluckthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第113卷，Rosenburg及Moore編，Springer-Verlag, New York, 第269頁至第315頁(1994)。

術語「雙功能抗體」係指具有兩個抗原結合位點之小抗體片段，該等片段包含與同一多肽鏈(V_H-V_L)中之輕鏈可變域(V_L)連接的重鏈可變域(V_H)。藉由使用過短而無法使同一鏈上兩個結構域之間配對的连接子，迫使該等結構域與另一鏈之互補結構域配對且產生兩個抗原結合位點。雙功能抗體更充分地描述於例如EP 404,097；WO 93/11161；及Hollinger等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)中。

「全長抗體」為包含抗原結合可變區以及輕鏈恆定域(C_L)及重鏈恆定域C_{H1}、C_{H2}及C_{H3}之抗體。恆定域可為原生序列恆定域(例如人類原生序列恆定域)或其胺基酸序列變異體。在一個態樣中，全長抗體具有一或多種效應功能。

本文中之「胺基酸序列變異」抗體為具有不同於主要物種抗體之胺基酸序列的抗體。通常，胺基酸序列變異體將與主要物種抗體具有至少約70%、至少約80%、至少約85%、至少約90%或至少約95%同源性。胺基酸序列變異體在主要物種抗體之胺基酸序列內或鄰近於主要物種抗體之胺基酸序列的某些位置處具有取代、缺失及/或添加，但仍保持抗原結合活性。抗體之恆定區序列的變異對抗原結合活性之

影響比可變區之變異小。在可變區中，胺基酸序列變異體將與主要物種抗體至少約90%同源、至少約95%同源、至少約97%同源、至少約98%同源或至少約99%同源。

「同源性」定義為在比對序列且(若必要)引入缺口以達成最大同源性百分比之後在胺基酸序列變異體中相同之殘基的百分比。用於比對之方法及電腦程式為此項技術中所熟知。

「治療性單株抗體」為用於治療人類個體之抗體。本文中所揭示之治療性單株抗體包括抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。

本文中之「糖基化變異」抗體為附接有不同於附接於主要物種抗體之一或多種碳水化合物部分之一或多種碳水化合物部分之抗體。本文中之糖基化變異體之實例包括有G1或G2寡醣結構而非G0寡醣結構附接於其Fc區之抗體，有一或兩種碳水化合物部分附接於其一或兩個輕鏈之抗體，無碳水化合物附接於抗體之一或兩個重鏈之抗體等，及糖基化變化之組合。

抗體「效應功能」係指可歸因於抗體之Fc區(原生序列Fc區或胺基酸序列變異Fc區)之彼等生物活性。抗體效應功能之實例包括：C1q結合；補體依賴性細胞毒性；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體；BCR)之下調；及其類似功能。

視全長抗體之重鏈之恆定域的胺基酸序列而定，可將全長抗體分為不同「類別」。存在五種主要類別之全長抗體：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等中之若干種可進一步細分為「子類」(同型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA及IgA2。對應於抗體之不同類別的重鏈恆定域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。免疫球蛋白之不同類別之次單元結構及三維組態係熟知的。

來自任何脊椎動物物種之抗體之「輕鏈」可基於其恆定域之胺

基酸序列指派為兩種明顯不同類型(稱為 κ 及 λ)中之一者。

「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性」及「ADCC」係指細胞介導之反應，其中表現Fc受體(FcR)之非特異性細胞毒性細胞(例如自然殺手(Natural Killer, NK)細胞、嗜中性白血球及巨噬細胞)識別目標細胞上之結合抗體且隨後導致目標細胞溶解。用於介導ADCC之一次細胞(NK細胞)僅表現Fc γ RIII，而單核細胞表現Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII。FcR在造血細胞上之表現概述於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991)第464頁上的表3中。為了評估相關分子之ADCC活性，可進行活體外ADCC分析，諸如美國專利第5,500,362號或第5,821,337號中所述之分析。適用於該等分析之效應細胞包括外周血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。或者或另外，可例如在Clynes等人, *PNAS (USA)* 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型中活體內評估相關分子之ADCC活性。

術語「Fc受體」或「FcR」用來描述結合至抗體之Fc區的受體。在一個態樣中，FcR為原生序列人類FcR。在另一態樣中，FcR為結合IgG抗體之受體(γ 受體)且包括Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII子類之受體，包括此等受體之對偶基因變異體及交替剪接形式。Fc γ RII受體包括Fc γ RIIA(「活化受體」)及Fc γ RIIB(「抑制受體」)，該等受體具有主要在其細胞質域中不同之類似胺基酸序列。活化受體Fc γ RIIA在其細胞質域中含有免疫受體酪胺酸基活化基元(ITAM)。抑制受體Fc γ RIIB在其細胞質域中含有免疫受體酪胺酸基抑制基元(ITIM)。(參見M. Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)中之綜述)。FcR於Ravetch及Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991)；Capel等人, *Immunomethods* 4:25-34 (1994)；及de Haas等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126:33-41 (1995)中有綜述。本文中之術語「FcR」涵蓋其他FcR，包括將來待鑑別之FcR。該術語亦包括新生兒受體FcRn，其負責將母體

IgG轉移至胎兒(Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)及Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))。

術語「高變區」當在本文中使用时係指負責抗原結合之抗體的胺基酸殘基。高變區通常包含「互補決定區」或「CDR」之胺基酸殘基(例如輕鏈可變域中之殘基24-34(L1)、50-56(L2)及89-97(L3), 及重鏈可變域中之31-35(H1)、50-65(H2)及95-102(H3); Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))及/或「高變環」之彼等殘基(例如輕鏈可變域之殘基26-32(L1)、50-52(L2)及91-96(L3), 及重鏈可變域之26-32(H1)、53-55(H2)及96-101(H3); Chothia及Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))。「構架區」或「FR」殘基為除如本文所定義之高變區殘基外的彼等可變域殘基。可將高變區或其CDR自一個抗體鏈轉移至另一抗體鏈或至另一蛋白質以賦予所得(複合)抗體或結合蛋白以抗原結合特異性。

「人類化」形式之非人類(例如齧齒動物)抗體為含有衍生自非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合抗體。人類化抗體大部分為人類免疫球蛋白(受體抗體), 其中來自受體之高變區的殘基經來自諸如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物之非人類物種(供體抗體)之高變區的具有所需特異性、親和力及容量之殘基置換。在一些情況下, 人類免疫球蛋白之構架區(FR)殘基經相應非人類殘基置換。此外, 人類化抗體可包含未見於受體抗體或供體抗體中之殘基。進行此等修飾以進一步改良抗體效能。一般而言, 人類化抗體將包含實質上所有至少一個且通常兩個可變域, 其中所有或實質上所有高變環對應於非人類免疫球蛋白之高變環, 且所有或實質上所有FR為人類免疫球蛋白序列之FR。人類化抗體視情況亦將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分, 通常為人類免疫球蛋白之恆定區之至少一部分。更多細節參見

Jones 等人, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann 等人, *Nature* 332:323-329 (1988); 及 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)。

「親和力成熟」抗體為與不具有變化之親本抗體相比，在其一或多個高變區中具有一或多個導致抗體對抗原之親和力改良之變化的抗體。在一個態樣中，親和力成熟抗體對目標抗原將具有奈莫耳或甚至皮莫耳親和力。藉由此項技術中已知之程序製備親和力成熟抗體。Marks 等人, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) 描述藉由 VH 及 VL 結構域改組實現之親和力成熟。CDR 及/或構架殘基之無規突變誘發由以下描述：Barbas 等人, *Proc Nat. Acad. Sci, USA* 91:3809-3813 (1994); Schier 等人, *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton 等人, *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson 等人, *J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); 及 Hawkins 等人, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992)。

「經分離」抗體為已經鑑別且與其天然環境之組分分離及/或自其天然環境之組分中回收的抗體。在某些實施例中，抗體將：(1) 經純化至如藉由勞立法(Lowry method)所測定大於95重量%蛋白質且或者大於99重量%；(2) 經純化至足以藉由使用旋杯式序列分析儀獲得N端或內部胺基酸序列之至少15個殘基之程度；或(3) 在還原或非還原條件下使用庫馬斯藍(Coomassie blue)或銀染色法藉由SDS-PAGE經純化至均質。經分離之抗體包括重組細胞內之原位抗體，這是因為抗體之天然環境之至少一種組分將不存在。然而，通常將藉由至少一個純化步驟來製備經分離抗體。

「治療」係指治療性治療及預防性(prophylactic或preventative)措施兩者。需要治療之人包括已患有疾病之人以及需要預防疾病或其復發之人。因此，本文中待治療之患者可能已診斷為患有疾病或可能易患疾病或對疾病易感。術語「患者」及「個體」在本文中可互換使

用。

調配之抗體為實質上純的且宜為實質上均質的(亦即不含污染蛋白質等)。「實質上純的」抗體意謂包含以組合物中之蛋白質之總重量計至少約90重量%、至少約95重量%或97重量%抗體的組合物。「實質上均質」抗體意謂包含蛋白質之組合物，其中以蛋白質之總重量計至少約99重量%蛋白質為特異性抗體，例如抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。

關於潰瘍性結腸炎個體的如本文所用之「臨床緩解」係指2或小於2個點之完全 Mayo 計分且沒有個別子計分大於1個點。克隆氏病「臨床緩解」係指150個點或小於150個點之 CDAI 計分。

關於潰瘍性結腸炎個體的如本文所用之「臨床反應」係指3或大於3個點及自基線30%之完全 Mayo 計分(或若在隨訪時不進行完全 Mayo 計分，則為2或大於2個點及自基線25%或大於25%的部分 Mayo 計分)的降低，伴有1或大於1個點之直腸出血子計分或1個或小於1個點之絕對直腸出血計分的降低。關於克隆氏病個體的如本文所用之「臨床反應」係指 CDAI 計分自基線(0週)的70個點或大於70個點之降低。

關於潰瘍性結腸炎個體的如本文所用之「黏膜癒合」係指1個點或小於1個點之內窺鏡子計分。

如本文所用，「治療失敗」係指疾病惡化、需要急救藥物或手術介入來治療潰瘍性結腸炎或克隆氏病。急救藥物為任何新穎藥物或治療新型或未知之潰瘍性結腸炎或克隆氏病症狀所需之基線藥物劑量的任何增加(除用於控制慢性腹瀉之止瀉藥以外)。

調配物

如本文中所述，已發現抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體當呈乾燥(例如具有過量(基於莫耳)非還原糖之凍乾調配物)形式時為高度穩定的。特定言之，在本文中展示非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之比率(莫耳:莫耳)大於600:1的凍

乾調配物穩定持續至少2年。

在第一態樣中，本發明提供一種穩定抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物。在一個態樣中，調配物包含緩衝劑、至少一種穩定劑及抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。在一個態樣中，乾燥調配物包含一或多種非還原糖及抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體，其中非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之比率(莫耳:莫耳)大於600:1。調配物亦包含一或多種游離胺基酸。胺基酸中之一或多者亦可充當緩衝劑。在一個態樣中，胺基酸中之一或多者亦可充當穩定劑。調配物可視情況進一步包含至少一種界面活性劑。在一個實施例中，調配物為乾燥，例如凍乾的。調配物中之抗體可為全長抗體或其抗原結合片段(諸如 Fab、Fv、scFv、Fab'或F(ab')₂片段)。

調配物可含有任何所要非還原糖。在一個態樣中，可包括於調配物中之非還原糖包括例如甘露糖醇、山梨糖醇、蔗糖、海藻糖、棉子糖、水蘇糖、松三糖、聚葡萄糖、麥芽糖醇、乳糖醇、異麥芽酮糖、帕拉金糖醇(palatinin)及其組合。在另一態樣中，非還原糖為蔗糖、海藻糖、甘露糖醇及山梨糖醇。調配物中之非還原糖之絕對量並不關鍵，但非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之比率(莫耳:莫耳)大於400:1。在另一態樣中，非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之比率(莫耳:莫耳)為至少約600:1、至少約625:1、至少約650:1、至少約675:1、至少約700:1、至少約750:1、至少約800:1、至少約1000:1、至少約1200:1、至少約1400:1、至少約1500:1、至少約1600:1、至少約1700:1、至少約1800:1、至少約1900:1或至少約2000:1。一般而言，需要非還原糖以減少液體調配物中之可溶性聚集體形成(諸如在冷凍及解凍及/或乾燥及復原時發生之聚集體形成)之量存在。高於約730:1之非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之比率(莫耳:莫耳)可稍微減少凍乾狀態下之可溶性聚集體形成。糖:蛋白質重量比可大於1.5:1(w/w)。在另一態樣中，液體(例如乾燥前或復原後)調配物之非還原糖濃度在約10 mM至約1 M範圍內，

例如為約60 mM至約600 mM、約100 mM至約450 mM、約200 mM至約350 mM、約250 mM至約325 mM及約275 mM至約300 mM。在另一態樣中，乾燥(例如凍乾)調配物中之非還原糖之量在約40%至約70%(乾燥調配物之w/w)範圍內。在另一態樣中，乾燥(例如凍乾)調配物中之非還原糖之量在約40%至約60%、約45%至約55%範圍內或為約51%(w/w)。在其他態樣中，當乾燥調配物中之蛋白質之量為約31%(乾燥調配物之w/w)或非還原糖與蛋白質之質量比大於約1.6:1時，乾燥(例如凍乾)調配物中之非還原糖之量大於約51%(乾燥調配物之w/w)。在另一態樣中，蔗糖為用於調配物之非還原糖。

調配物可含有任何所要游離胺基酸，其可呈L形式、D形式或此等形式之任何所要混合物。在一個態樣中，可包括於調配物中之游離胺基酸包括例如組胺酸、丙胺酸、精胺酸、甘胺酸、麩胺酸、絲胺酸、離胺酸、色胺酸、纈胺酸、半胱胺酸及其組合。一些胺基酸可例如經由氫鍵、鹽橋、抗氧化性質或疏水性相互作用或藉由自蛋白質表面排阻在製造、乾燥、凍乾及/或儲存期間穩定蛋白質使其免於降解。胺基酸可充當張力調節劑或可用來降低調配物之黏度。在另一態樣中，游離胺基酸(諸如組胺酸及精胺酸)可充當低溫保護劑及凍乾保護劑，且當凍乾為調配物之組分時不結晶。單獨或呈組合形式之游離胺基酸(諸如麩胺酸及組胺酸)可充當pH值範圍在5至7.5內之水溶液中的緩衝劑。在另一態樣中，調配物含有組胺酸；或組胺酸及精胺酸。在另一態樣中，液體調配物之游離胺基酸濃度在約10 mM至約0.5 M範圍內，例如為約15 mM至約300 mM、約20 mM至約200 mM或約25 mM至約150 mM、約50 mM或約125 mM。在另一態樣中，乾燥(例如凍乾)調配物中之組胺酸之量在約1%至約10%(乾燥調配物之w/w)或約3%至約6%(w/w)範圍內。在一些實施例中，當乾燥調配物中之蛋白質之量為約31%(乾燥調配物之w/w)或組胺酸與蛋白質之質量比大於約

0.15:1時，乾燥(例如凍乾)調配物中之組胺酸之量大於約4%(乾燥調配物之w/w)。在另一態樣中，乾燥(例如凍乾)調配物中之精胺酸之量在約4%至約20%(乾燥調配物之w/w)或約10%至約15%(w/w)範圍內。在一些實施例中，當乾燥調配物中之蛋白質之量為約31%(乾燥調配物之w/w)或精胺酸與蛋白質之質量比大於約0.4:1時，乾燥(例如凍乾)調配物中之精胺酸之量大於約13%(乾燥調配物之w/w)。在胺基酸之組合(諸如組胺酸與精胺酸)之實施例中，總胺基酸與抗體之莫耳比可為至少200:1，約200:1至約500:1，或至少400:1。

調配物可視情況進一步含有至少一種界面活性劑。在一個態樣中，可包括於調配物中之界面活性劑包括例如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、泊洛沙姆(泊洛尼克®)及其組合。當存在時，界面活性劑通常以減少例如在裝瓶、冷凍、乾燥、凍乾及/或復原期間抗體之不溶性聚集體形成之量包括在內。界面活性劑濃度(例如在乾燥(例如凍乾)前或復原後之調配物中)通常為約0.0001%至約1.0%、約0.01%至約0.1%，例如為約0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%或0.09%(w/v)，0.05%至0.07%或0.06%(w/v)。界面活性劑之量(例如在乾燥(例如凍乾)調配物中)通常為約0.01%至約3.0%(w/w)、約0.10%至約1.0%，例如為約0.15%、0.20%、0.25%、0.30%、0.35%、0.40%或0.50%(w/w)。在另一態樣中，界面活性劑：抗體莫耳比為約1:1。抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體可以任何所要量存在於調配物中，只要非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之比率(莫耳：莫耳)大於約600:1即可。然而，調配物可含有高濃度之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。舉例而言，液體調配物可包含至少約10 mg/ml、至少約20 mg/ml、至少約30 mg/ml、至少約40 mg/ml、至少約50 mg/ml、至少約60 mg/ml、至少約70 mg/ml、至少約80 mg/ml、至少約90 mg/ml、至少約100 mg/ml、約40 mg/ml至約80 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體，約60 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。乾燥調配物(例如凍乾)可含有至

少約5重量%、至少約10重量%、至少約15重量%、至少約20重量%、至少約25重量%、至少約30重量%或約31重量%或約32重量%抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。

若需要，則調配物可進一步包含金屬螯合劑及/或抗氧化劑以及其他醫藥學上可接受之賦形劑。適合金屬螯合劑包括例如甲胺、乙二胺、去鐵胺、曲恩汀(trientine)、組胺酸、蘋果酸酯、磷酸酯化合物(例如依替膦酸(etidronic acid))、乙二胺四乙酸(EDTA)、乙二醇四乙酸(EGTA)及其類似物。適合抗氧化劑包括例如檸檬酸、尿酸、抗壞血酸、硫辛酸、麩胱甘肽、生育酚、胡蘿蔔素、番茄紅素、半胱胺酸及其類似物。

調配物可為液體或固體。液體調配物可為在適合水性溶劑(諸如水)或水性/有機混合物(諸如水醇混合物)中製備之水性溶液或懸浮液。液體調配物之pH值可介於約5.5與約7.5之間、約6.0與約7.0之間或約6.0與約6.5之間，諸如為約6.0、6.1、6.2、6.3、6.4或6.5。液體調配物可冷藏(例如2°C至8°C)或冷凍(例如在-20°C或-80°C下)儲存。固體調配物可以任何適合方法製備且可呈例如餅或粉末形式。例如藉由凍乾、噴霧乾燥、以膜劑(例如用於經皮傳遞)形式風乾來乾燥如本文所述之液體調配物，混合至脂質乳液中且乾燥為用於經口傳遞之球體或用於經皮傳遞之膜劑，從而製備固體調配物。當調配物為固體調配物時，調配物之水分含量可不超過約5%、不超過約4.5%、不超過約4%、不超過約3.5%、不超過約3%、不超過約2.5%、不超過約2%、不超過約1.5%、不超過約1%，或實質上無水。可將固體調配物溶解(亦即復原)於適合介質或溶劑中，變為適用於投與之液體。用於復原固體調配物之適合溶劑包括水、等張生理食鹽水、緩衝劑(例如磷酸鹽緩衝生理食鹽水)、林格氏(Ringer's)(乳酸鹽或右旋糖)溶液、最低必需培養基、醇/水性溶液、右旋糖溶液等。溶劑之量可使得治療性

蛋白質濃度與乾燥前之濃度相比更高、相同或更低。在一個態樣中，復原之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體濃度為與乾燥前液體調配物相同之濃度。

調配物可為無菌的，且此可在製備調配物之前或之後根據熟習此項技術者已知用於產生適用於向人類個體投與之無菌醫藥調配物的程序來達成。調配物可藉由經由小孔隙過濾、經由無菌處理或藉由暴露於紫外輻射以液體(例如在乾燥之前及/或復原之後)形式來滅菌。過濾器孔隙尺寸可為0.1 μm 或0.2 μm 以過濾微生物或為10 nm至20 nm以過濾病毒顆粒。或者或另外，乾燥調配物可例如藉由暴露於 γ 輻射來滅菌。在一個態樣中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體液體調配物係藉由在乾燥之前過濾來滅菌。

在一個態樣中，調配物在儲存時為穩定的。在另一態樣中，調配物在以乾燥狀態儲存時係穩定的。可藉由評估調配物中之抗體在調配時以及在指示溫度下儲存之後的物理穩定性、化學穩定性及/或生物活性來測試穩定性。可以多種不同方法定性及/或定量評估液體調配物或復原乾燥粉末之物理及/或化學穩定性(參見例如 *Analytical Techniques for Biopharmaceutical Development*, Rodriguez-Diaz等人編, Informa Healthcare (2005))，包括評估聚集體形成(例如使用尺寸排阻(或凝膠過濾)層析法(SEC)、基質輔助雷射脫附離子化飛行時間質譜法(MALDI-TOF MS)、分析超速離心、光散射(光子相關光譜法、動態學散射(DLS)、多角雷射光散射(MALLS))、基於流動之顯微鏡成像、電子阻抗(庫爾特(coulter))計數、光遮蔽或其他液體顆粒計數系統、藉由量測混濁度、藉由密度梯度離心及/或藉由目視檢查)；藉由使用陽離子交換層析(亦參見 Vlasak 及 Ionescu, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 9:468-481 (2008)及 Harris等人, *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 752:233-245 (2001))、等電聚焦(IEF)(例如毛細管技術(cIEF))或毛細管帶電泳評估電荷非均勻性；胺基端或羧基端序列分

析；質譜分析；SDS-PAGE或SEC分析以比較片段化、完整及多聚(亦即二聚、三聚等)抗體；肽圖(例如胰蛋白酶或LYS-及其類似物)；評估抗體之生物活性或抗原結合功能；及其類似方法。可使用熟練技藝者可用之多種技術來評估生物活性或抗原結合功能(例如抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體與MAdCAM(例如MAdCAM-1)之結合或抑制表現 $\alpha 4\beta 7$ 整合素之細胞與MAdCAM(例如MAdCAM-1)(例如固定MAdCAM(例如MAdCAM-1))之結合)(參見例如Soler等人，*J. Pharmacol. Exper. Ther.* 330: 864-875 (2009))。

亦可以多種不同方法定性及/或定量評估固態調配物之穩定性，該等方法包括直接測試，諸如藉由X射線粉末繞射(XRPD)鑑別晶體結構；使用傅立葉轉換紅外光譜法(FTIR)評估固態下之抗體結構；及使用差示掃描熱量測定(DSC，例如用來評估變性)量測凍乾固體(熔融、玻璃轉移等)中之熱轉移；及間接測試，諸如藉由卡爾費雪(Karl Fisher)測試量測水分含量例如從而外推由水解所致之化學不穩定性之可能性。量測乾燥調配物之水分含量可指示調配物有多大可能經受化學或物理降解，水分含量愈高，降解愈多。

穩定性可在選定溫度下持續選定時段量測。在一個態樣中，乾燥(例如凍乾)調配物在約 40°C 、75% RH下穩定持續至少約2至4週、至少約2個月、至少約3個月、至少約6個月、至少約9個月、至少約12個月或至少約18個月。在另一態樣中，調配物(液體或乾燥(例如凍乾))在約 5°C 及/或 25°C 及60% RH下穩定持續至少約3個月、至少約6個月、至少約9個月、至少約12個月、至少約18個月、至少約24個月、至少約30個月、至少約36個月或至少約48個月。在另一態樣中，調配物(液體或乾燥(例如凍乾))在約 -20°C 下穩定持續至少約3個月、至少約6個月、至少約9個月、至少約12個月、至少約18個月、至少約24個月、至少約30個月、至少約36個月、至少約42個月或至少約48個月。

此外，在一些實施例中，液體調配物在冷凍(至例如-80°C)及解凍之後(諸如在1、2或3個冷凍及解凍循環之後)可為穩定的。

不穩定性可包括以下任一或多者：聚集(例如非共價可溶性聚集(由疏水性或電荷相互作用造成)、共價可溶性聚集(例如二硫鍵重排/混雜)、不溶性聚集(由使液體/空氣及液體/固體界面處之蛋白質變性造成))、脫醯胺(例如Asn脫醯胺)、氧化(例如Met氧化)、異構化(例如Asp異構化)、變性、剪短/水解/片段化(例如鉸鏈區片段化)、丁二醯亞胺形成、N端延長、C端加工、糖基化差異及其類似變化。

穩定調配物可促成抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之低免疫原性。免疫原性抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體可導致人類個體或患者之人類-抗-人類抗體(HAHA)反應。對於抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體顯現HAHA反應之患者在治療時可具有不利事件(例如位點輸注反應)或可快速消除抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體，導致劑量比治療所計劃的低。抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體治療之早期研究之報導(Feagen等人(2005) *N. Engl. J. Med.* 352: 2499-2507)指示人類抗人類抗體截至第8週時在44%治療患者中出現。此研究中之抗體係以液體形式儲存且不含任何聚山梨醇酯。

在一些實施例中，與不太穩定調配物之HAHA結果相比，調配物可將HAHA陰性患者之比例增至至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%之患者。

在一些實施例中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有 $\geq 50\%$ 主要帶電同功異型物、 $\geq 55\%$ 主要帶電同功異型物或65%至70%主要帶電同功異型物。在其他態樣中，穩定抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有 $\leq 45\%$ 酸性帶電同功異型物、 $\leq 40\%$ 酸性帶電同功異型物、 $\leq 30\%$ 酸性帶電同功異型物或22%至28%酸性同功異型物。在其他態樣中，穩定抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有 $\leq 25\%$ 鹼性同功異型物、 $\leq 20\%$ 鹼性同功異型物、 $\leq 15\%$ 鹼性同功異型物、約5%鹼性同功異型物或約10%鹼性同功異型物。在一個態樣中，

例如如藉由CEX所測定，穩定抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有 $\geq 55\%$ 主要同功異型物、 $\leq 30\%$ 酸性同功異型物及/或 $\leq 20\%$ 鹼性同功異型物。在另一態樣中，例如如藉由cIEF所測定，穩定抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有 $\geq 50\%$ 主要同功異型物、 $\leq 45\%$ 酸性同功異型物及/或 $\leq 10\%$ 鹼性同功異型物。

在一些態樣中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體乾燥固體調配物具有 $\leq 10\%$ 水分含量、 $\leq 5\%$ 水分含量或 $\leq 2.5\%$ 水分含量。復原所需時間為 ≤ 60 分鐘、 ≤ 50 分鐘或 ≤ 40 分鐘或 ≤ 30 分鐘或 ≤ 20 分鐘。

可藉由SEC、MALDI-TOF MS、分析超速離心、光散射(DLS或MALLS)或奈米尺寸量測(諸如奈米粒子徑跡分析，NTA, NanoSight Ltd, Wiltshire, UK)來量測液體調配物或復原後之乾燥調配物中之單體含量及/或聚集體含量(例如二聚體、三聚體、四聚體、五聚體、寡聚物及更高級聚集體)。可以許多方法達成聚集體之解析、示性及定量，該等方法包括例如藉由更長管柱或藉由連續附接第二或更多SEC管柱與初始分析SEC管柱成直線來增加SEC管柱分離之長度；用光散射或藉由使用NTA來補充單體之SEC定量。

在一個實施例中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有 $\geq 90\%$ 單體抗體、 $\geq 95\%$ 單體抗體或 97% 至 99% 單體抗體。在另一實施例中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物中之大部分物質之平均半徑 ≤ 20 nm、 ≤ 15 nm、 ≤ 10 nm，或為約 5 nm至約 7 nm。在一個態樣中，藉由蛋白質分析，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有 $\geq 80\%$ 量之重鏈加輕鏈。在一個態樣中，存在 $\geq 90\%$ 重鏈加輕鏈。在另一態樣中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有 $\leq 10\%$ 聚集體、 $\leq 5\%$ 聚集體、 $\leq 2.5\%$ 聚集體、 $\leq 1.5\%$ 聚集體、 $\leq 1.0\%$ 聚集體或 $\leq 0.5\%$ 聚集體。在另一態樣中，穩定抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有 $\geq 96\%$ 單體及/或 $\leq 2.5\%$ 聚集體。在另一態樣中，穩定抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有約 99% 單體及/或約 $< 1\%$ 聚集體。

可藉由光遮蔽(例如，Hach Ultra Analytics(Grants Pass, OR)之液

體顆粒計數系統(HIAC))、顯微法、庫爾特計數器或基於數位(例如基於流動之)顯微鏡成像系統(諸如Brightwell(Ottawa, CA)之微流體(microfluidics)成像(MFI)或Fluid Imaging Technologies(Yarmouth, ME)之FLOWCAM® Image顆粒分析儀)來量測經復原調配物中之(例如)聚集體或不溶性賦形劑之粒度。在一個態樣中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體製劑之粒度為約30 μm 、約25 μm 、約10 μm 、約5 μm 、約2 μm 或1 μm 或小於1 μm 。應將抗體調配物中之顆粒之量減至最少。在一個態樣中，在一個劑量中抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有少於6000個顆粒 $\geq 10 \mu\text{m}$ 及少於600個顆粒 $\geq 25 \mu\text{m}$ 直徑(美國藥典(U.S. Pharmacopoeia)第788章，光遮蔽計數法；一半彼等量藉由顯微鏡定量法)。在另一態樣中，例如藉由MFI量測，在一個劑量之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物(例如復原調配物)中，每毫升顆粒之量為每毫升約500個至約2000個或約1000個至約3000個2 μm 至10 μm 顆粒、每毫升約50個至約350個 $\geq 10 \mu\text{m}$ 顆粒及每毫升約0至約50個 $\geq 25 \mu\text{m}$ 顆粒。

在一個實施例中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物之結合親和力為參考標準抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之約60%至約140%。在一個態樣中，本文所述之調配物中之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體以參考標準之約80%至約120%的值結合至例如於細胞上之 $\alpha 4\beta 7$ (WO 98/06248或美國專利第7,147,851號)。在另一實施例中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物具有抑制表現 $\alpha 4\beta 7$ 整合素之細胞與MAdCAM(例如MAdCAM-1，MAdCAM-Ig嵌合體)之結合至少50%或至少60%的能力(參見美國專利申請公開案第20070122404號，亦參考標準實例)。

如上所述，本文中尤其涵蓋調配物之冷凍。因此，可測試調配物在冷凍及解凍時之穩定性。因此，液體調配物中之抗體在冷凍及解凍調配物時可為穩定的，例如抗體在一個、兩個、三個、四個、五個或五個以上冷凍/解凍循環之後可為穩定的。

在一些實施例中，調配物為包含至少約50 mg/ml至約100 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、緩衝劑(例如組胺酸)及至少約9%(w/w)非還原糖(例如蔗糖、海藻糖或甘露糖醇)之液體調配物。在一個實施例中，調配物包含至少約50 mg/ml至約80 mg/ml、約60 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、緩衝劑(例如組胺酸)、游離胺基酸(例如精胺酸)及至少約9%或10%(w/w)非還原糖(例如蔗糖、海藻糖或甘露糖醇)。

在另一實施例中，調配物包含至少約60 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、緩衝劑(例如組胺酸)、游離胺基酸(例如精胺酸)及至少約10%(w/w)非還原糖(例如蔗糖、海藻糖或甘露糖醇)。在該等實施例中，緩衝劑濃度為約15 mM至約75 mM、約25 mM至約65 mM，或為約50 mM。游離胺基酸濃度為約50 mM至約250 mM、約75 mM至約200 mM、約100 mM至約150 mM，或為約125 mM。

在一個實施例中，調配物為乾燥固體調配物(例如凍乾調配物)，其包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、組胺酸、精胺酸及聚山梨醇酯80之混合物，且非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1。

在另一實施例中，調配物為乾燥固體非晶調配物(例如凍乾調配物)，其包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、組胺酸、精胺酸及聚山梨醇酯80之混合物，且非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1。

在一個實施例中，調配物為凍乾調配物，其包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、組胺酸、精胺酸及聚山梨醇酯80，且調配物中之非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1。

在一個實施例中，調配物為凍乾調配物，其包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、組胺酸、精胺酸及聚山梨醇酯80，其中調配物中之非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1且調配物中之精胺酸與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於250:1。

在一個實施例中，調配物為液體調配物且包含至少約60 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、至少約10%(w/v)非還原糖及至少約125 mM一或多種游離胺基酸。

在一個實施例中，調配物為液體調配物且包含至少約60 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、至少約10%(w/v)非還原糖及至少約175 mM一或多種游離胺基酸。

在一個實施例中，調配物為液體調配物且包含約60 mg/ml與約80 mg/ml之間的抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、緩衝劑及至少約10%(w/v)糖。

在一個實施例中，調配物為液體調配物且包含約60 mg/ml與約80 mg/ml之間的抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、組胺酸及至少約10%(w/v)蔗糖。

在一個實施例中，調配物經凍乾且以單劑量形式儲存於一個小瓶中。小瓶宜儲存於約2°C至8°C下直至將其向有需要之個體投與。小瓶可例如為20 cc或50 cc小瓶(例如用於60 mg/ml劑量)。小瓶可含有至少約120 mg、至少約180 mg、至少約240 mg、至少約300 mg、至少約360 mg、至少約540 mg或至少約900 mg抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。在一個態樣中，小瓶含有約300 mg抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。

一或多種其他醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑(諸如 *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 第21版, Hendrickson, R.編(2005)中所述者)可包括於調配物中，只要其不會不利地影響調配物之所要特徵即可。可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在所用劑量及濃度下對受體無毒且包括：其他緩衝劑；共溶劑；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；螯合劑，諸如EDTA；金屬複合物(例如Zn-蛋白質複合物)；生物可降解聚合物，諸如聚酯；防腐劑；及/或成鹽相對離子，諸如鈉。

$\alpha 4\beta 7$ 抗體

適用於調配物中之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體包括來自任何所要來源之抗體，

諸如全人類抗體、鼠類抗體、兔抗體及其類似抗體；及任何所要工程改造抗體，諸如嵌合抗體、人類化抗體及其類似抗體。此等類型抗體任一者之抗原結合片段(諸如Fab、Fv、scFv、Fab'及F(ab')₂片段)亦適用於調配物中。

抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體可結合至 $\alpha 4$ 鏈(例如人類化MAb 21.6(Bendig等人，美國專利第5,840,299號))、 $\beta 7$ 鏈(例如FIB504或人類化衍生物(例如Fong等人，美國專利第7,528,236號))上之抗原決定基，或結合至由 $\alpha 4$ 鏈與 $\beta 7$ 鏈締合所形成之組合抗原決定基。在一個態樣中，抗體結合 $\alpha 4\beta 7$ 複合物上之組合抗原決定基，但不結合 $\alpha 4$ 鏈或 $\beta 7$ 鏈上之抗原決定基，除非該等鏈彼此締合。 $\alpha 4$ 整合素與 $\beta 7$ 整合素之締合可例如藉由引入至存在於兩個鏈(其一起構成抗原決定基)上之近接殘基中或藉由構形暴露一個鏈(例如 $\alpha 4$ 整合素鏈或 $\beta 7$ 整合素鏈)上之抗原決定基結合位點(其在不存在適當整合素搭配物或不存在整合素活化的情況下難以達成抗體結合)來製造組合抗原決定基。在另一態樣中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體結合 $\alpha 4$ 整合素鏈及 $\beta 7$ 整合素鏈兩者，且因此對於 $\alpha 4\beta 7$ 整合素複合物具有特異性。該等抗體可例如結合 $\alpha 4\beta 7$ 但不結合 $\alpha 4\beta 1$ 且/或不結合 $\alpha_E\beta 7$ 。在另一態樣中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體結合至與Act-1抗體相同或實質上相同之抗原決定基(Lazarovits, A. I.等人，*J. Immunol.*, 133(4): 1857-1862 (1984)；Schweighoffer等人，*J. Immunol.*, 151(2): 717-729, 1993；Bednarczyk等人，*J. Biol. Chem.*, 269(11): 8348-8354, 1994)。產生鼠類Act-1單株抗體之鼠類ACT-1融合瘤細胞株係根據2001年8月22日之布達佩斯條約(Budapest Treaty)之規定代表 Millennium Pharmaceuticals, Inc., 40 Landsdowne Street, Cambridge, Mass. 02139, U.S.A.以寄存編號PTA-3663存放於美國菌種保存中心(American Type Culture Collection), 10801 University Boulevard, Manassas, Va. 20110-2209, U.S.A.。在另一態樣中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體為使用美國專利申請公開

案第2010/0254975號中提供之CDR之人類抗體或 $\alpha 4\beta 7$ 結合蛋白。

在一個態樣中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體抑制 $\alpha 4\beta 7$ 與其一或多個配位體(例如黏膜定址素(例如MAdCAM(例如MAdCAM-1))、纖維結合蛋白及/或血管定址素(VCAM))之結合。靈長類動物MAdCAM描述於PCT公開案WO 96/24673中，該案之全部教示係以引用的方式併入本文中。在另一態樣中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體抑制 $\alpha 4\beta 7$ 與MAdCAM(例如MAdCAM-1)及/或纖維結合蛋白之結合而不抑制與VCAM之結合。

在一個態樣中，用於調配物中之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體為小鼠Act-1抗體之人類化型式。適用於製備人類化抗體之方法在此技術中熟知。一般而言，人類化抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體將含有重鏈，其含有小鼠Act-1抗體之3個重鏈互補決定區(CDR, CDR1, SEQ ID NO:8；CDR2, SEQ ID NO:9；及CDR3, SEQ ID NO:10)及適合人類重鏈構架區；且亦含有輕鏈，其含有小鼠Act-1抗體之3個輕鏈CDR (CDR1, SEQ ID NO:11；CDR2, SEQ ID NO:12；及CDR3, SEQ ID NO:13)及適合人類輕鏈構架區。人類化Act-1抗體可含有任何適合人類構架區，包括共同構架區，有或無胺基酸取代。舉例而言，構架胺基酸中之一或多者可經另一胺基酸(諸如小鼠Act-1抗體之相應位置之胺基酸)置換。人類恆定區或其部分，若存在，可衍生自人類抗體之 κ 或 λ 輕鏈及/或 γ (例如 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$ 、 $\gamma 4$)、 μ 、 α (例如 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$)、 δ 或 ϵ 重鏈，包括對偶基因變異體。可選擇特定恆定區(例如IgG1)、其變異體或部分以調整效應功能。舉例而言，可將突變恆定區(變異體)併入融合蛋白中以使結合Fc受體及/或固定補體之能力最小(參見例如Winter等人，GB 2,209,757 B；Morrison等人，WO 89/07142；Morgan等人，WO 94/29351, 1994年12月22日)。Act-1抗體之人類化型式描述於PCT公開案第WO 98/06248號及第WO 07/61679號中，各全部教示以引用的方式併入本文中。

在另一態樣中，用於調配物中之抗- $\alpha 4\beta 7$ 人類化抗體包含重鏈可

變區，其包含SEQ ID NO:2之胺基酸20至140；及輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO:4之胺基酸20至131或SEQ ID NO:5之胺基酸21至132。若需要，則可存在適合人類恆定區。舉例而言，人類化抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體可包含重鏈，其包含SEQ ID NO:2之胺基酸20至470；及輕鏈，其包含SEQ ID NO:5之胺基酸21至239。在另一實例中，人類化抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體可包括包含SEQ ID NO:2之胺基酸20至470之重鏈及包含SEQ ID NO:4之胺基酸20至238之輕鏈。圖4展示比較人類抗體與鼠類抗體之同屬輕鏈的比對。該比對說明有兩個小鼠殘基轉換為人類殘基之維多珠單抗(例如化學文摘社(Chemical Abstract Service, CAS, 美國化學學會(American Chemical Society))登記編號943609-66-3)之人類化輕鏈比LDP-02之輕鏈(圖3)更人類。另外，LDP-02具有輕微疏水性、可撓性丙胺酸114及親水性位點(天冬胺酸115)，其在維多珠單抗中置換為輕微親水性的含羥基蘇胺酸114及疏水性的可能面向內纈胺酸115殘基。

抗體序列之其他取代可為例如重鏈及輕鏈構架區之突變，諸如SEQ ID NO:14之殘基2上之異白胺酸突變為纈胺酸；SEQ ID NO:14之殘基4上之甲硫胺酸突變為纈胺酸；SEQ ID NO:15之殘基24上之丙胺酸突變為甘胺酸；SEQ ID NO:15之殘基38處之精胺酸突變為離胺酸；SEQ ID NO:15之殘基40處之丙胺酸突變為精胺酸；SEQ ID NO:15之殘基48上之甲硫胺酸突變為異白胺酸；SEQ ID NO:15之殘基69上之異白胺酸突變為白胺酸；SEQ ID NO:15之殘基71上之精胺酸突變為纈胺酸；SEQ ID NO:15之殘基73上之蘇胺酸突變為異白胺酸；或其任何組合；及用小鼠Act-1抗體之CDR(CDR1, SEQ ID NO:8、CDR2, SEQ ID NO:9及CDR3, SEQ ID NO:10)置換重鏈CDR；及用小鼠Act-1抗體之輕鏈CDR(CDR1, SEQ ID NO:11、CDR2, SEQ ID NO:12及CDR3, SEQ ID NO:13)置換輕鏈CDR。

在一些實施例中，適用於調配物中之抗- $\alpha 4\beta 7$ 人類化抗體包含相對於SEQ ID NO:2之胺基酸20至140具有約95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之重鏈可變區，及相對於SEQ ID NO:4之胺基酸20至131或SEQ ID NO:5之胺基酸21至132具有約95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之輕鏈可變區。可使用預設參數使用適合序列比對演算法(諸如Lasergene系統(DNASTAR, Inc., Madison, Wis.))測定胺基酸序列一致性。在一個實施例中，適用於調配物中之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體為維多珠單抗(CAS，美國化學學會，登記編號943609-66-3)。

其他 $\alpha 4\beta 7$ 抗體亦可用於本文所述之調配物及給藥方案中。舉例而言，全文以引用的方式併入本文中之US 2010/ 0254975(Amgen, Inc.)中所述之 $\alpha 4\beta 7$ 抗體適用於治療個體之發炎性腸病之調配物及方法中。

抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體可藉由在活細胞(例如培養中之細胞)中表現編碼各鏈之核酸序列而產生。可使用多種宿主-表現載體系統來表現本發明之抗體分子。該等宿主-表現系統表示藉此相關編碼序列可產生且隨後純化之媒劑，但亦表示當用適當核苷酸編碼序列轉型或轉染時可原位表現抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之細胞。其包括(但不限於)微生物，諸如用含有抗體編碼序列之重組噬菌體DNA、質體DNA或黏質體DNA表現載體轉型之細菌(例如大腸桿菌(*E. coli*)、枯草桿菌(*B. subtilis*))；用含有抗體編碼序列之重組酵母表現載體轉型之酵母(例如酵母(*Saccharomyces*)、畢赤酵母(*Pichia*))；用含有抗體編碼序列之重組病毒表現載體(例如桿狀病毒)感染之昆蟲細胞系統；用重組病毒表現載體(例如花椰菜嵌紋病毒CaMV、菸草嵌紋病毒TMV)感染或用含有抗體編碼序列之重組質體表現載體(例如Ti質體)轉型之植物細胞系統；或具有含有源自哺乳動物細胞之基因組(例如金屬硫蛋白啟動子)或哺乳動物病毒(例如腺病毒晚期啟動子、痘瘡病毒7.5K啟動子)之啟動子

之重組表現構築體的哺乳動物細胞系統(例如COS、CHO、BHK、293、3T3、NS0細胞)。舉例而言，與載體(諸如來自人類巨大細胞病毒之主要中間早期基因啟動子元件)結合之哺乳動物細胞(諸如中國倉鼠卵巢細胞(Chinese hamster ovary cell, CHO))為抗體之有效表現系統(Foecking等人, *Gene* 45:101 (1986); Cockett等人, *Bio/Technology* 8:2 (1990))。

在細菌系統中，許多表現載體宜視所表現之抗體分子之預期用途來選擇。舉例而言，當欲製備大量該種蛋白質時，為了產生抗體分子之醫藥組合物，可需要指導表現高含量之易於純化之融合蛋白產物的載體。該等載體包括(但不限於)大腸桿菌表現載體pUR278(Ruther等人, *EMBO J.* 2:1791 (1983))，其中抗體編碼序列可單獨接合至與lac Z編碼區同框之載體中，以便製備融合蛋白；pIN載體(Inouye & Inouye, *Nucleic Acids Res.* 13:3101-3109 (1985)；Van Heeke & Schuster, *J. Biol. Chem.* 24:5503-5509 (1989))；及其類似載體。pGEX載體亦可用來與麩胱甘肽S-轉移酶(GST)一起表現呈融合蛋白形式之外來多肽。一般而言，該等融合蛋白為可溶性的，且易於藉由吸附且結合至基質麩胱甘肽-瓊脂糖珠粒隨後在游離麩胱甘肽存在下溶離而自溶解細胞中純化。pGEX載體經設計以包括凝血酶或因子Xa蛋白酶裂解位點以便可自GST部分釋放選殖目標基因產物。

在昆蟲系統中，使用加洲苜蓿夜蛾核多角體病毒(*Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus, AcNPV)作為表現外來基因之載體。病毒生長於草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)細胞中。可將抗體編碼序列單獨選殖至病毒之非必需區(例如多角體蛋白基因)中且置於AcNPV啟動子(例如多角體蛋白啟動子)之控制下。

在哺乳動物宿主細胞中，可使用許多基於病毒之表現系統。在使用腺病毒作為表現載體之情況下，相關抗體編碼序列可接合至腺病

毒轉錄/轉譯控制複合物(例如晚期啟動子及三聯前導序列)。隨後可藉由活體外或活體內重組將此嵌合基因插入腺病毒基因組中。插入病毒基因組之非必需區(例如區E1或E3)中將產生活的且能夠在受感染宿主中表現抗體分子之重組病毒(例如參見Logan & Shenk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:355-359 (1984))。亦可需要特異性起始信號來有效轉譯插入之抗體編碼序列。此等信號包括ATG起始密碼子及鄰近序列。此外，起始密碼子必須與所要編碼序列之閱讀框架同相以確保轉譯全部插入物。此等外生轉譯控制信號及起始密碼子可具有多種來源，天然及合成皆可。可藉由納入適當轉錄增強子元件、轉錄終止子等來提高表現效率(參見Bittner等人, *Methods in Enzymol.* 153:51-544 (1987))。

另外，可選擇調節插入序列之表現或以所要特定方式修飾並加工基因產物的宿主細胞品系。對蛋白質產物之該等修飾(例如糖基化)及加工(例如裂解)對蛋白質功能很重要。不同宿主細胞在蛋白質及基因產物之轉譯後加工及修飾中具有特徵化及特定機制。可選擇適當細胞株或宿主系統以確保所表現之外來蛋白質的恰當修飾及加工。為此目的，可使用具有用於適當加工初級轉錄物、糖基化且磷酸化基因產物之細胞機構的真核宿主細胞。該等哺乳動物宿主細胞包括(但不限於)中國倉鼠卵巢(CHO)、NS0、HeLa、VERY、幼倉鼠腎(BHK)、猴腎(COS)、MDCK、293、3T3、WI38、人類肝細胞癌細胞(例如Hep G2)、乳癌細胞株(諸如BT483、Hs578T、HTB2、BT20及T47D)及正常乳腺細胞株(諸如CRL7030及Hs578Bst)。

不同細胞類型之糖基化機構可產生具有與另一細胞類型不同之糖基化組成或沒有糖基化(如在細菌細胞之情況下)的抗體。在一個態樣中，用於產生抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之細胞類型為哺乳動物細胞，諸如NS0或CHO細胞。在一個態樣中，哺乳動物細胞可包含與細胞代謝有關之

酶之缺失，且相關外生基因可例如在構築體或載體中藉由轉型或轉染可操作地連接於置換酶以引入至細胞中。具有外生基因之構築體或載體賦予構築體或載體之宿主細胞以選擇優勢，從而促進產生由外生基因編碼之多肽。在一個實施例中，CHO細胞為DG44細胞(Chasin及Urlaub (1980) *PNAS USA* 77: 4216)，其包含二氫葉酸還原酶基因之缺失或不活化。在另一實施例中，CHO細胞為CHO K1細胞，其包含麩醯胺酸合成酶基因之缺失或不活化(參見例如美國專利第5,122,464號或第5,827,739號)。

固體調配物

本發明之固體調配物通常藉由乾燥液體調配物來製備。可使用任何適合乾燥方法，諸如凍乾或噴霧乾燥。凍乾包括通常在將用以儲存、運送及分配調配物之容器(例如小瓶)中冷凍液體調配物。(參見例如Gatlin及Nail, *Protein Purification Process Engineering*, Roger G. Harrison編，Marcel Dekker Inc., 317-367 (1994))。一旦冷凍調配物，則降低大氣壓且調節溫度以使得可例如經由昇華移除冷凍溶劑。凍乾製程之此步驟有時稱為初級乾燥。若需要，則隨後可升高溫度以藉由蒸發來移除仍結合至乾燥調配物之任何溶劑。凍乾製程之此步驟有時稱為二級乾燥。當調配物達到所要乾燥程度時，結束乾燥製程且密封容器。最終固體調配物有時稱為「凍乾調配物」或「餅」。凍乾製程可使用任何適合設備來進行。適合凍乾設備可自許多商業來源(例如SP Scientific, Stone Ridge, NY)獲得。

可使用多種適合裝置乾燥液體調配物來製備固體(例如凍乾)調配物。一般而言，熟習此項技術者使用含有架子之密封室製備凍乾調配物，在該等架子上置放待乾燥之液體調配物之小瓶。可控制架子之溫度以及冷卻及加熱速率，亦可控制腔室內之壓力。應瞭解，本文中所論述之各種製程參數係指使用此類型裝置進行之製程。若需要，則一

般技術者可輕易使本文所述之參數適於其他類型之乾燥裝置。

一般技術者可輕易測定用於初級及二級乾燥之適合溫度及真空之量。一般而言，調配物於約 -30°C 或小於 -30°C 之溫度(諸如 -40°C 或 -50°C)下冷凍。冷卻速率可影響基質中之冰晶之量及尺寸。初級乾燥通常在比冷凍溫度高約 10°C 、約 20°C 、約 30°C 、約 40°C 或約 50°C 之溫度下進行。在一個態樣中，初級乾燥條件可經設定以維持抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體低於調配物之玻璃轉移溫度或塌陷溫度。高於塌陷溫度時，非晶冷凍基質可流動(塌陷)，結果為蛋白質分子可能不被剛性固體基質所包圍，且蛋白質分子在塌陷基質中會不穩定。再者，若發生塌陷，則調配物可能難以充分地乾燥。調配物中生成之較高水分量可導致蛋白質降解速率較高及在凍乾產物之品質削弱至不可接受水準之前其可儲存之時間量減少。在一個態樣中，選擇架子溫度及腔室壓力以在初級乾燥期間維持產物溫度低於塌陷溫度。冷凍調配物之玻璃轉移溫度可藉由此項技術中已知之方法(例如藉由差示掃描熱量測定(DSC))量測。塌陷溫度可藉由此項技術中已知之方法(例如冷凍乾燥顯微法)量測。非還原糖與蛋白質之比率(莫耳：莫耳)及其他調配物組分之量將影響玻璃轉移溫度及塌陷溫度。在一些實施例中， $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物之玻璃轉移溫度為約 -35°C 至約 -10°C 、約 -35°C 至約 -25°C 或約 -35°C 至約 -29°C 。在另一實施例中， $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物之玻璃轉移溫度為約 -29°C 。在一些實施例中， $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物之玻璃轉移溫度為約 -30°C 、約 -31°C 、約 -32°C 、約 -33°C 、約 -34°C 、約 -35°C 或約 -36°C 。在一些實施例中， $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物之塌陷溫度為約 -30°C 至約 0°C 、約 -28°C 至約 -25°C 或約 -20°C 至約 -10°C 。在另一實施例中， $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物之塌陷溫度為約 -26°C 。在不希望受任何特定理論限制的情況下，溫度快速上升速率(ramp-up)愈快，產物之塌陷溫度愈高。初級乾燥步驟可移除至少50%、至少60%、至少70%或大於70%之溶劑。在一個態樣

中，初級乾燥步驟自抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物移除大於80%溶劑。

初級乾燥視架子溫度及壓力而定。可在不同製程參數下之凍乾的情況下憑經驗確定用於初級乾燥之條件。亦可基於產物溫度以數學方法模型化初級乾燥。質量及熱量傳遞方程式(Milton等人(1997) *PDA J of Pharm Sci & Tech*, 51: 7-16)外加對 R_p 及 K_v 之認識使得可瞭解輸入變數(包括製程輸入變數，諸如架子溫度及壓力；及在 R_p 值中擷取之調配物變數)之組合及相互作用。此等模型可基於由塌陷溫度及設備容量對產物溫度之限制，幫助測定待用於有效製程之參數。

$$\frac{dm}{dt} = \frac{A_p(P_o - P_c)}{R_p} \quad \ln P_o = -6144.96/T_p + 24.0185$$

方程式1

$$\frac{dQ}{dt} = A_v K_v (T_s - T_p)$$

方程式3

方程式2

$$\frac{dQ}{dt} = \Delta H_s \frac{dm}{dt}$$

方程式4

方程式1使初級乾燥期間之昇華速率(dm/dt)與容器之內部截面積(A_p)、冰之蒸氣壓(P_o)、腔室之壓力(P_c)及餅及塞子之面積正規化質量傳遞阻力(R_p)相關。昇華界面處之 P_o 可自方程式2確定，其中 P_o 與昇華界面處之產物冰之溫度有關，該溫度為產物溫度(T_p)之近似值，其可在小瓶底部用熱電偶量測或當其他變數確定時可自以上方程式衍生。方程式3係關於自架子至小瓶之熱傳遞速率，其中 A_v 為小瓶之面積， K_v 為小瓶之熱傳遞係數， T_s 為架子之溫度，且 T_p 為產物溫度。方程式4偶聯熱傳遞與質量傳遞方程式，其中 ΔH_s 為昇華熱。

如自初級乾燥之方程式可見，架子溫度(T_s)、產物溫度(T_p)、腔室壓力(P_c)、餅之質量傳遞阻力(R_p)及熱傳遞係數(K_v)可影響昇華速率。

冷凍之後及初級乾燥之前視情況選用之步驟為退火。在此步驟中，使凍乾器之架子溫度升高至高於調配物之玻璃轉移持續較短時期

(例如約2至6小時、約3至5小時或約4小時)，隨後再使架子溫度降低至低於調配物之玻璃轉移溫度。退火可用於使增積劑結晶且形成更大更均勻的冰晶。退火製程可影響復原時間，這是因為經退火的乾燥餅之表面積比未經退火之乾燥餅更高。 $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物之退火步驟可在約 -30°C 至約 -10°C 或約 -25°C 至約 -15°C 下。在一個態樣中， $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物之退火溫度為約 -20°C 。

二級乾燥通常在高於液體調配物之冷凍溫度之溫度下進行。舉例而言，二級乾燥可在約 10°C 、約 20°C 、約 30°C 、約 40°C 或約 50°C 下進行。在一個態樣中，二級乾燥之溫度為周圍溫度，例如 20°C 至 30°C 。二級乾燥之時間應足以減少水分之量至 $<5\%$ 。

在另一態樣中，凍乾循環包括在約 -45°C 下冷凍、在約 -20°C 下退火、在約 -45°C 下再冷凍、在約 -24°C 及150毫托(mTorr)下初級乾燥及在約 27°C 及150毫托下二級乾燥。

R_p 受冷凍DP之固體含量及DP之熱歷程(冷凍、退火及再冷凍階段)影響，該熱歷程影響餅之孔隙結構。熱歷程亦可影響二級乾燥階段，其中較大表面積可幫助水脫附(Pikal等人, (1990) *Int. J. Pharm.*, 60: 203-217)。在初級及二級凍乾階段期間控制適用之製程參數可為在乾燥循環之各階段期間的架子溫度及腔室壓力。

就按比例增大而言，冷凍乾燥器負荷及固體含量可影響乾燥循環。初級乾燥時間可受調配物之固體含量的影響。在較高固體含量下，例如當總固體(賦形劑及/或蛋白質)濃度自乾燥時間確定之調配物改變大於10 w/v%或大於15 w/v%(例如50%至100%變化)時，乾燥時間可受影響。舉例而言，高固體含量調配物可比低固體含量調配物具有更長乾燥時間。在一些實施例中，冷凍乾燥器容量之使用百分比可在約25%至約100%範圍內。在較高負荷%容量下，與較低負荷%容量相比，初級乾燥時間可增加高達2倍。不同負荷%下之初級乾燥時間之

間的差異隨固體含量增加而增加。在一個實施例中，固體含量小於20%至25%且負荷為25%至100%。

可基於在凍乾期間暴露於架子及真空之表面積來選擇小瓶尺寸。乾燥時間與餅高度成正比，因此可基於經測定為合理之餅高度來選擇小瓶尺寸。直徑相對於體積較大之小瓶可提供與架子之大量接觸，以便於在凍乾循環期間的有效熱傳遞。在大體積液體中之稀釋抗體溶液將需要更多乾燥時間。小瓶尺寸與調配物體積需要達到平衡，這是因為較大小瓶儲存及運送起來更為昂貴且具有較大頂空與調配物比率且在較長儲存期間內可使高比例之調配物暴露於水分之降解效應。就300 mg劑量而言，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物在凍乾之前可具有3 ml、5 ml、6 ml、10 ml、20 ml、50 ml或100 ml之體積。在一個態樣中，在300 mg劑量中，小瓶尺寸就60 mg/ml溶液而言為20 ml。

在凍乾之後，小瓶可在真空下密封，例如塞住。或者，可在密封之前使氣體(例如乾燥空氣或氮氣)進入小瓶。在涉及氧化之情況下，允許進入凍乾腔室中之氣體可包含延遲或防止凍乾產物氧化之氣體。在一個態樣中，氣體為非含氧氣體，例如氮氣或惰性氣體(例如氮氣、氖氣、氬氣、氦氣或氙氣)。在另一態樣中，氣體為氫氣或氫氣。

在一些實施例中，凍乾前抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物體積與投與前復原溶液體積相同。舉例而言，凍乾前為約5.5 ml之調配物可藉由添加一定量液體(例如水或鹽水)(考慮到乾固體之體積)而復原為約5.5 ml之體積。在其他實施例中，可能需要以與復原溶液體積不同之體積凍乾抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物。舉例而言，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物可以稀溶液(例如0.25x、0.5x或0.75x)形式凍乾且藉由添加少於凍乾前體積(例如少於75%、少於一半或少於25%)之液體復原為1x。在一個實施例中，300 mg劑量可以於5%蔗糖中之30 mg/ml抗體溶液形式凍乾且復原為於

10%蔗糖中之60 mg/ml抗體溶液。或者，凍乾抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物可復原為比凍乾前調配物更稀之溶液。

用抗體調配物之治療

在一個態樣中，本發明提供一種治療個體之疾病或病症之方法，其包含向個體投與有效治療例如人類之疾病或病症之量的本文所述之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物。人類個體可為成人(例如18歲或18歲以上)、青少年或兒童。人類個體可為65歲或65歲以上之人。與替代性治療給藥方案對比，65歲或65歲以上之人類個體不需要本文所描述之給藥方案的任何修改，且可投與本文所述之習知抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物。

個體可能會對用免疫調節劑、TNF- α 拮抗劑或其組合進行的治療缺乏足夠反應、喪失反應或不耐受。患者先前可能已接受用至少一種用於發炎性腸病之皮質類固醇(例如潑尼松(prednisone))的治療。對皮質類固醇之不足反應係指儘管經歷至少一個包括等於每日口服30 mg潑尼松之劑量持續2週或靜脈內1週的4週誘導方案，仍有持續活動性疾病之體征及症狀。對皮質類固醇之反應喪失係指逐漸減少皮質類固醇至低於等於每日口服10 mg潑尼松之劑量的兩種失敗嘗試。皮質類固醇之不耐性包括庫欣氏(Cushing's)症候群、骨質減少/骨質疏鬆症、高血糖症、失眠症及/或感染之病史。

免疫調節劑可為例如口服硫唑嘌呤(azathioprine)、6-巯基嘌呤或甲胺喋呤(methotrexate)。對免疫調節劑之不足反應係指儘管經歷至少一個8週方案或口服硫唑嘌呤(≥ 1.5 mg/kg)、6-巯基嘌呤(≥ 0.75 mg/kg)或甲胺喋呤(≥ 12.5 毫克/週)，仍有持續活動性疾病之體征及症狀。免疫調節劑之不耐性包括(但不限於)噁心/嘔吐、腹痛、胰腺炎、LFT異常、淋巴球減少症、TPMT遺傳突變及/或感染。

在一個態樣中，個體可能會對用TNF- α 拮抗劑進行之治療缺乏足夠反應、喪失反應或不耐受。TNF- α 拮抗劑為例如抑制TNF- α 之生物

活性且較佳結合TNF- α 之藥劑，諸如單株抗體，例如REMICADE(英利昔單抗 (infliximab))、HUMIRA(阿達木單抗 (adalimumab))、CIMZIA(賽妥珠單抗 (certolizumab pegol))、SIMPONI(戈利木單抗 (golimumab))；或循環受體融合蛋白，諸如ENBREL(依那西普 (etanercept))。對TNF- α 拮抗劑之不足反應係指儘管經歷5 mg/kg IV(2個劑量相隔至少2週)英利昔單抗；一個80 mg皮下劑量之阿達木單抗、隨後一個40 mg劑量(相隔至少兩週)；或400 mg皮下賽妥珠單抗(2個劑量相隔至少2週)的至少一個4週誘導方案，仍有持續活動性疾病之體征及症狀。對TNF- α 拮抗劑之反應喪失係指在先前臨床益處之後的維持給藥期間症狀之復發。TNF- α 拮抗劑之不耐性包括(但不限於)輸注相關反應、脫髓鞘、充血性心臟衰竭及/或感染。

如本文所用，潰瘍性結腸炎個體之緩解維持的喪失係指Mayo計分增加至少3個點且修正Baron計分(Modified Baron Score)增加至少2。

在另一態樣中，本發明提供抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物，其(1)可活體外及/或活體內結合 $\alpha 4\beta 7$ 整合素；及(2)可調節 $\alpha 4\beta 7$ 整合素之活性或功能，諸如(a)結合功能(例如 $\alpha 4\beta 7$ 整合素結合至MAdCAM(例如MAdCAM-1)、纖維結合蛋白及/或VCAM-1之能力)及/或(b)白血球浸潤功能，包括組織中之白血球之募集及/或積聚(例如抑制淋巴細胞遷移至腸黏膜組織之能力)。在一個實施例中，調配物中之抗體可結合 $\alpha 4\beta 7$ 整合素，且可抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整合素結合至其一或多個配位體(例如MAdCAM(例如MAdCAM-1)、VCAM-1、纖維結合蛋白)，從而抑制組織之白血球浸潤(包括組織中之白血球之募集及/或積聚)。在另一實施例中，調配物中之抗體可結合 $\alpha 4\beta 7$ 整合素，且可選擇性抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整合素結合至其一或多個配位體(例如MAdCAM(例如MAdCAM-1)、VCAM-1、纖維結合蛋白)，從而抑制組織之白血球浸潤(包括組織中

之白血球之募集及/或積聚)。該等抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物可活體外及/或活體內抑制帶有 $\alpha 4\beta 7$ 整合素之細胞細胞性黏著至黏膜組織(包括腸管相關組織、淋巴器官或白血球(尤其是淋巴細胞，諸如T細胞或B細胞))中之血管內皮細胞。在另一實施例中，本發明之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物可抑制 $\alpha 4\beta 7$ 與MAdCAM(例如MAdCAM-1)及/或纖維結合蛋白之相互作用。在另一實施例中，本發明之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物可選擇性抑制 $\alpha 4\beta 7$ 與MAdCAM(例如MAdCAM-1)及/或纖維結合蛋白之相互作用，例如不抑制 $\alpha 4\beta 7$ 與VCAM之相互作用。

本發明之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物可用於調節(例如抑制(降低或防止)) $\alpha 4\beta 7$ 整合素之結合功能及/或白血球(例如淋巴細胞、單核細胞)浸潤功能。舉例而言，抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整合素結合至配位體(亦即一或多個配位體)之人類化免疫球蛋白可根據治療與組織(尤其表現分子MAdCAM(例如MAdCAM-1)之組織)之白血球(例如淋巴細胞、單核細胞)浸潤(包括組織中之白血球之募集及/或積聚)相關的疾病之方法投與。

向個體(例如哺乳動物，諸如人類或其他靈長類動物)投與有效量之本發明之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物(亦即一或多種)來治療該疾病。舉例而言，可根據本發明方法治療發炎疾病，包括與胃腸道(包括腸管相關內皮)、其他黏膜組織或表現分子MAdCAM(例如MAdCAM-1)之組織(例如腸管相關組織，諸如小腸及大腸之固有層之微靜脈；及乳腺(例如泌乳性乳腺))之白血球浸潤相關的疾病。同樣，可根據本發明治療患有由於白血球結合至表現MAdCAM(例如MAdCAM-1)之細胞(例如內皮細胞)所致的與組織之白血球浸潤相關之疾病的個體。

在一個實施例中，可治療之疾病因此包括發炎性腸病(IBD)，諸如潰瘍性結腸炎、克隆氏病、迴腸炎、乳糜瀉(Celiac disease)、非熱帶口炎性腹瀉(nontropical Sprue)、與血清陰性關節病相關之腸病、顯

微性或膠原性結腸炎、嗜酸性胃腸炎、或直腸結腸切除術及迴腸肛門(ileoanal)吻合術後所致的囊炎(pouchitis)。發炎性腸病較佳為克隆氏病或潰瘍性結腸炎。潰瘍性結腸炎可為中度至重度活動性潰瘍性結腸炎。治療可使罹患中度至重度活動性潰瘍性結腸炎之患者之黏膜癒合。治療亦可使患者之皮質類固醇使用減少、消除或減少及消除。

胰腺炎及胰島素依賴型糖尿病為可使用本發明之調配物治療之其他疾病。已報導MAdCAM(例如MAdCAM-1)係由來自NOD(非肥胖性糖尿病)小鼠以及BALB/c及SJL小鼠之外分泌胰臟中之一些血管表現。MAdCAM-1之表現據報導誘導於NOD小鼠之胰臟之發炎胰島中之內皮上，且MAdCAM-1為在胰島炎早期由NOD胰島內皮表現之主要定址素(Hanninen, A.等人, *J. Clin. Invest.*, 92: 2509-2515 (1993))。用抗-MAdCAM(例如抗-MAdCAM-1)或抗 $\beta 7$ 抗體治療NOD小鼠預防糖尿病之發展(Yang等人, *Diabetes*, 46:1542-1547 (1997))。此外，觀測到胰島內表現 $\alpha 4\beta 7$ 之淋巴細胞的積聚，且MAdCAM-1牽涉於淋巴瘤細胞經由 $\alpha 4\beta 7$ 與來自發炎胰島之血管(Hanninen, A.等人, *J. Clin. Invest.*, 92: 2509-2515 (1993))或與套細胞淋巴瘤中之胃腸道(Geissmann等人, *Am. J. Pathol.*, 153:1701-1705 (1998))之結合中。

可使用本發明之調配物治療的與黏膜組織相關之發炎疾病之實例包括膽囊炎、膽管炎(Adams及Eksteen, *Nature Reviews* 6:244-251 (2006); Grant等人, *Hepatology* 33:1065-1072 (2001))(例如原發性硬化性膽管炎)、(例如)腸之白塞氏病(Behcet's disease)或膽管周圍炎(膽管及肝臟之周圍組織)及移植物抗宿主疾病(例如在胃腸道中(例如在骨髓移植之後)(Petrovic等人, *Blood* 103:1542-1547 (2004))。如克隆氏病中所見，發炎常延伸超出黏膜表面，因此慢性發炎疾病(諸如類肉瘤病、慢性胃炎(例如自體免疫胃炎(Katakai等人, *Int. Immunol.*, 14:167-175 (2002)))及其他特發性病況)可經受治療。

本發明亦係關於一種抑制黏膜組織之白血球浸潤之方法。本發明亦係關於一種治療癌症(例如 $\alpha 4\beta 7$ 陽性腫瘤，諸如淋巴瘤)之方法。可使用本發明之調配物治療的與黏膜組織相關之發炎疾病之其他實例包括乳腺炎(乳腺)及大腸急躁症(irritable bowel syndrome)。

其病因為MAdCAM(例如MAdCAM-1)與 $\alpha 4\beta 7$ 之相互作用的疾病或病原體可用本文所述之調配物中之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體來治療。該等疾病之實例包括諸如由人類免疫缺乏病毒所引起之免疫缺乏病症(參見例如WO 2008140602)。

本發明之調配物係以抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整合素結合至其配位體之有效量投與。在治療中，有效量將足以達成所要治療(包括預防)作用(諸如足以降低或預防 $\alpha 4\beta 7$ 整合素介導之結合及/或信號傳導，從而抑制白血球黏著及浸潤及/或相關細胞反應的量)。有效量之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體(例如足以維持 $\alpha 4\beta 7$ 整合素之飽和(例如中和)之有效效價)可誘導發炎性腸病之臨床反應或緩解。本發明之調配物可以單位劑量或多個劑量投與。劑量可由此項技術中已知之方法確定且可視例如個體之年齡、敏感性、耐受性及總體健康而定。投與模式之實例包括局部途徑，諸如經鼻或吸入或經皮投與；腸內途徑，諸如經由飼管或栓劑；及非經腸途徑，諸如靜脈內、肌內、皮下、動脈內、腹膜內或玻璃體內投與。抗體之適合劑量可為每次治療約0.1 mg/kg體重至約10.0 mg/kg體重，例如約2 mg/kg至約7 mg/kg、約3 mg/kg至約6 mg/kg或約3.5 mg/kg至約5 mg/kg。在特定實施例中，投與之劑量為約0.3 mg/kg、約0.5 mg/kg、約1 mg/kg、約2 mg/kg、約3 mg/kg、約4 mg/kg、約5 mg/kg、約6 mg/kg、約7 mg/kg、約8 mg/kg、約9 mg/kg或約10 mg/kg。

抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之最終劑型(例如在稀釋復原抗體之後(例如於生理食鹽水或5%右旋糖輸注系統中))可為約0.5 mg/ml至約5 mg/ml以供投與。最終劑型可在約1.0 mg/ml至約1.4 mg/ml、約1.0 mg/ml至約1.3

mg/ml、約1.0 mg/ml至約1.2 mg/ml、約1.0 mg/ml至約1.1 mg/ml、約1.1 mg/ml至約1.4 mg/ml、約1.1 mg/ml至約1.3 mg/ml、約1.1 mg/ml至約1.2 mg/ml、約1.2 mg/ml至約1.4 mg/ml、約1.2 mg/ml至約1.3 mg/ml或約1.3 mg/ml至約1.4 mg/ml之濃度下。最終劑型可在約0.6 mg/ml、0.8 mg/ml、1.0 mg/ml、1.1 mg/ml、約1.2 mg/ml、約1.3 mg/ml、約1.4 mg/ml、約1.5 mg/ml、約1.6 mg/ml、約1.8 mg/ml或約2.0 mg/ml之濃度下。在一個實施例中，總劑量為180 mg。在另一實施例中，總劑量為300 mg。可將300 mg抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體劑量稀釋至250 ml生理食鹽水或5%右旋糖溶液中用於投與。

在一些態樣中，給藥方案具有兩個期，即誘導期及維持期。在誘導期中，以快速提供有效量之適用於某些目的(諸如誘導對抗體或其抗原結合片段之免疫耐受性或誘導臨床反應且改善發炎性腸病症狀)之抗體或其抗原結合片段之方式投與抗體或其抗原結合片段。當首次以抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體治療時、當自抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體療法以來長期不治療之後(例如超過三個月、超過四個月、超過六個月、超過九個月、超過一年、超過十八個月或超過兩年)又進行治療時、或在抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體療法之維持期期間，若發炎性腸病症狀又重現(例如自疾病緩解中又復發)，則可對患者執行誘導期治療。在一些實施例中，誘導期方案產生比在維持方案期間維持之平均穩態最低(trough)血清濃度更高之平均最低血清濃度(例如在下一劑量之前即刻的濃度)。

在維持期中，用穩定含量之抗體或其抗原結合片段以使由誘導療法所達成之反應延續的方式投與抗體或其抗原結合片段。維持方案可預防症狀重現或發炎性腸病復發。維持方案可向患者提供便利，例如為簡單給藥方案或無需頻繁的療程。在一些實施例中，維持方案可包括藉由選自由以下組成之群之策略投與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體或其抗原結合片段(例如於本文所述之調配物中)：小劑量、不頻繁投與、自投與及

前述任一者之組合。

在一個實施例中，例如在療法之誘導期期間，給藥方案提供有效量之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體或抗原結合片段於本文所述之調配物中用於誘導人類患者發炎性腸病的緩解。在一些實施例中，有效量之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體足以在誘導期結束時達成約5 $\mu\text{g/ml}$ 至約60 $\mu\text{g/ml}$ 、約15 $\mu\text{g/ml}$ 至約45 $\mu\text{g/ml}$ 、約20 $\mu\text{g/ml}$ 至約30 $\mu\text{g/ml}$ ，或約25 $\mu\text{g/ml}$ 至約35 $\mu\text{g/ml}$ 平均最低血清濃度之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。誘導期之期間可為約四週、約五週、約六週、約七週或約八週之治療。在一些實施例中，誘導方案可利用一種選自由以下組成之群之策略：例如於本文所述之調配物中，抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體或其抗原結合片段大劑量、頻繁投與，及大劑量與頻繁投與組合。誘導給藥可為一次或多次一個以上劑量(例如至少兩個劑量)。在誘導期期間，劑量可以每日一次、每隔一天一次、每週兩次、每週一次、每十天一次、每兩週一次或每三週一次投與。在一些實施例中，在以抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體治療之頭兩週內投與誘導劑量。在一個實施例中，誘導給藥可為在治療開始時(第0天)一次及在治療開始之後約兩週時一次。在另一實施例中，誘導期期間為六週。在另一實施例中，誘導期期間為六週，且在頭兩週期間投與多個誘導劑量。

在一些實施例中，例如當開始治療患有重度發炎性腸病之患者(例如抗-TNF α 療法失敗之患者)時，誘導期需要具有比患有輕度或中度疾病之患者更長期間。在一些實施例中，患有重度疾病之患者之誘導期可具有至少6週、至少8週、至少10週、至少12週或至少14週之期間。在一個實施例中，患有重度疾病之患者之誘導給藥方案可包括第0週(開始治療)一劑量、第2週一劑量及第6週一劑量。在另一實施例中，患有重度疾病之患者之誘導給藥方案可包含第0週(開始治療)一劑量、第2週一劑量、第6週一劑量及第10週一劑量。

在一個實施例中，例如在療法之維持期期間，給藥方案維持約5

$\mu\text{g/mL}$ 至約25 $\mu\text{g/mL}$ 、約7 $\mu\text{g/mL}$ 至約20 $\mu\text{g/mL}$ 、約5 $\mu\text{g/mL}$ 至約10 $\mu\text{g/mL}$ 、約10 $\mu\text{g/mL}$ 至約20 $\mu\text{g/mL}$ 、約15 $\mu\text{g/mL}$ 至約25 $\mu\text{g/mL}$ 或約9 $\mu\text{g/mL}$ 至約13 $\mu\text{g/mL}$ 抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體的平均穩態最低血清濃度(例如在下一劑量之前即刻的平台(plateau)濃度)。在另一實施例中，例如在療法之維持期期間，給藥方案維持約20 $\mu\text{g/mL}$ 至約30 $\mu\text{g/mL}$ 、約20 $\mu\text{g/mL}$ 至約55 $\mu\text{g/mL}$ 、約30 $\mu\text{g/mL}$ 至約45 $\mu\text{g/mL}$ 、約45 $\mu\text{g/mL}$ 至約55 $\mu\text{g/mL}$ 或約35 $\mu\text{g/mL}$ 至約40 $\mu\text{g/mL}$ 抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體的平均穩態最低血清濃度。

劑量可每週一次、每2週一次、每3週一次、每4週一次、每6週一次、每8週一次或每10週一次投與。更高或更頻繁劑量(例如每週一次、每2週一次、每3週一次或每4週一次)可適用於誘導活動性疾病之緩解或適用於治療新患者，例如用於誘導對抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之耐受性。不太頻繁之劑量(例如每4週一次、每5週一次、每6週一次、每8週一次或每10週一次)可適用於預防性療法，例如用來維持患有慢性疾病之患者之緩解。在一個態樣中，治療方案為第0天、約第2週、約第6週時及此後每4週或每8週之治療。在一個實施例中，維持方案包括每8週之劑量。在一個實施例中，當處於每八週一個劑量之維持方案下之患者經歷一或多種疾病症狀之重現(例如復發)時，可增加給藥頻率例如至每4週一次。

可在約20分鐘、約25分鐘、約30分鐘、約35分鐘或約40分鐘內向患者投與劑量。

可使給藥方案最佳化以誘導患者之發炎性腸病之臨床反應及臨床緩解。在一些實施例中，給藥方案不改變接受治療之患者之腦脊髓液中的CD4與CD8之比率。

在一些態樣中，可用最佳化給藥方案達成開始治療之後六個月或一年期之內的持久臨床緩解(例如持續至少兩個、至少三個、至少四個護理醫師之隨訪之臨床緩解)。

在一些態樣中，可用最佳化給藥方案達成持久臨床反應(例如開始治療之後持續至少6個月、至少9個月、至少一年的臨床反應)。

在一個實施例中，給藥方案包含300 mg之初始劑量、初始劑量後約兩週時300 mg之第二後續劑量、初始劑量後約六週時300 mg之第三後續劑量、隨後在第三後續劑量之後每四週或每八週300 mg之第四後續劑量。

在一些實施例中，治療方法、劑量或給藥方案降低患者產生對抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之HAHA反應的可能性。例如由對抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體有反應性之抗體所量測，HAHA之產生可增加抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之清除率，例如降低抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之血清濃度，例如降低結合至 $\alpha 4\beta 7$ 整合素之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之數目，由此使得治療不太有效。在一些實施例中，為了預防HAHA，可相繼用誘導方案及維持方案治療患者。在一些實施例中，誘導方案與維持方案之間不存在中止。在一些實施例中，誘導方案包含向患者投與複數個劑量之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。為了預防HAHA，當開始用抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體治療時，可用較高初始劑量(例如至少1.5 mg/kg、至少2 mg/kg、至少2.5 mg/kg、至少3 mg/kg、至少5 mg/kg、至少8 mg/kg、至少10 mg/kg或約2 mg/kg至約6 mg/kg)或頻繁初始投與(例如約每週一次、約每兩週一次或約每三週一次)標準劑量來治療患者。在一些實施例中，治療方法維持至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%之患者呈HAHA陰性。在其他實施例中，治療方法維持患者呈HAHA陰性持續至少6週、至少10週、至少15週、至少6個月、至少1年、至少2年或持續療法持續時間。在一些實施例中，患者或至少30%、至少40%、至少50%或至少60%的產生HAHA之患者維持低效價(例如 ≤ 125)之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。在一個實施例中，在開始抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之療法之後，治療方法維持至少70%患者呈HAHA陰性持續至少12週。

調配物可單獨或與另一藥劑聯合向個體(例如人類)投與。本發明之調配物可在另一藥劑投與之前、與另一藥劑一起投與或在另一藥劑投與之後投與。在一個實施例中，投與一種以上抑制 $\alpha 4\beta 7$ 整合素結合至其配位體的調配物。在該實施例中，可投與藥劑，例如單株抗體，諸如抗-MAAdCAM(例如抗-MAAdCAM-1)或抗-VCAM-1單株抗體。在另一實施例中，另一藥劑以不同於 $\alpha 4\beta 7$ 路徑之路徑抑制白血球結合至內皮配位體。該藥劑可抑制(例如)表現趨化因子(C-C基元)受體9(CCR9)之淋巴細胞結合至胸腺表現趨化因子(TECK或CCL25)或為防止LFA-1結合至細胞間黏著分子(ICAM)之藥劑。舉例而言，除本發明之調配物之外，亦投與抗-TECK或抗-CCR9抗體或小分子CCR9抑制劑(諸如揭示於PCT公開案WO 03/099773或WO 04/046092中之抑制劑)或抗-ICAM-1抗體或防止ICAM表現之寡核苷酸。在另一實施例中，可與本發明之調配物聯合投與另一活性成分，例如消炎化合物，諸如含有柳氮磺胺吡啶、硫唑嘌呤、6-巰基嘌呤、5-胺基水楊酸之消炎劑；另一非類固醇消炎化合物；類固醇消炎化合物；或通常為控制IBD而投與之抗生素(例如環丙沙星(ciprofloxacin)、甲硝達唑(metronidazole))；或另一生物藥劑(例如TNF α 拮抗劑)。

在一個實施例中，共投與藥物之劑量可在由包含抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之調配物治療期間隨時間減少。舉例而言，在用抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物治療開始時或之前用類固醇(例如潑尼松、潑尼龍)治療之患者將經歷早在用抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物治療6週時即開始的減少類固醇劑量之方案。在用抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物治療期間，類固醇劑量在開始逐漸減少之4至8週內將減少約25%，在逐漸減少之約8至12週時減少50%且在逐漸減少之約12至16週時減少75%。在一個態樣中，藉由用抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物治療約16至24週，可消除類固醇劑量。在另一實例中，在用抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物治療開始時或之前用消炎化合物(諸如6-巰基嘌呤)

治療之患者將經歷類似於如上所述之類固醇給藥之逐漸減少方案的減少消炎化合物之劑量的方案。

在一個實施例中，該方法包含向患者投與有效量之本發明之調配物。若調配物呈固體形式(例如乾燥狀態)，則投與方法可包含將調配物轉化為液態之步驟。在一個態樣中，乾燥調配物可例如由如上所述適用於注射(例如靜脈內、肌內或皮下注射)之液體復原。在另一態樣中，固體或乾燥調配物可例如以貼片、乳膏、氣溶膠或栓劑形式局部投與。

本發明亦係關於一種治療與表現分子MAdCAM(例如MAdCAM-1)之組織之白血球浸潤相關之疾病的方法。該方法包含向有需要之患者投與有效量之本發明之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物。在一個實施例中，該疾病為移植物抗宿主疾病。在一些實施例中，該疾病為由於表現 $\alpha 4\beta 7$ 整合素之白血球結合至表現分子MAdCAM(例如MAdCAM-1)之腸管相關內皮所致的與組織之白血球浸潤相關之疾病。在其他實施例中，該疾病為胃炎(例如嗜酸性胃炎或自體免疫胃炎)、胰腺炎或胰島素依賴型糖尿病。在其他實施例中，該疾病為膽囊炎、膽管炎或膽管周圍炎。

本發明亦係關於一種治療患者之發炎性腸病之方法。在一個實施例中，該方法包含向患者投與有效量之本發明之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物。在一些實施例中，發炎性腸病為潰瘍性結腸炎或克隆氏病。在其他實施例中，發炎性腸病為乳糜瀉、與血清陰性關節病相關之腸病、顯微性或膠原性結腸炎、胃腸炎(例如嗜酸性胃腸炎)或囊炎。

在一些實施例中，用抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之治療不改變CD4:CD8淋巴細胞之比率。CD4:CD8比率可在血液、淋巴結吸出物及腦脊髓液(CSF)中量測。健康個體中之CSF CD4+:CD8+淋巴細胞比率通常大於或等於約1。(Svenningsson等人，*J. Neuroimmunol.* 1995; 63:39-46；Svenningsson等人，*Ann Neurol.* 1993; 34:155-161)。免疫調節劑可改

變CD4:CD8比率至小於1。

製品

在另一態樣中，本發明為含有本發明之醫藥調配物且提供其使用說明之製品。製品包含容器。適合容器包括例如瓶、小瓶(例如雙室小瓶、具有或不具有針之液體調配物之小瓶、具有或不具有復原液體之小瓶與具有或不具有針之固體調配物之小瓶)、注射器(諸如雙室注射器、預裝載注射器)及試管。容器可由多種材料(諸如玻璃、金屬或塑膠)形成。容器容納調配物且容器上之標籤或與容器關聯之標籤可指示使用說明。在另一實施例中，可製備調配物以供自投與及/或含有用於自投與之說明。在一個態樣中，容納調配物之容器可為單次使用之小瓶。在另一態樣中，容納調配物之容器可為多次使用之小瓶，其允許(例如)使用復原調配物之一個以上部分重複投與(例如2至6次投與)調配物。製品可進一步包括自商業及使用者立場出發所要之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、濾紙、針、注射器及具有如先前部分所述之使用說明之藥品說明書。

臨床及品質分析

在另一態樣中，本發明為一種確定醫藥調配物滿足產品品質標準之方法。該方法可包含評估凍乾醫藥調配物(例如人類化抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體)，該評估包含檢驗調配物以評價外觀、測定復原時間、測定凍乾調配物之水分含量、量測凍乾調配物中之聚集體、量測片段化、量測氧化/脫醯胺、及視情況評價生物活性及效能，其中達到預定標準表明產品可指定用於臨床用途。

可接受之品質水準包括 $\leq 5.0\%$ 水分、 ≤ 40 分鐘復原時間、pH 6.3 ± 0.3 復原液體、 54.0 mg/ml 至 66.0 mg/ml 抗體濃度、 $\geq 55.0\%$ 主要同功異型物(藉由CEX測定)、 $\geq 96.0\%$ 單體(藉由SEC測定)、 $\leq 2.5\%$ 高分子量(聚集體)、 $\geq 90\%$ H+L鏈(藉由SDS-PAGE測定)、 60% 至 140% 參考標

準黏著。

參考以下實例將更充分地瞭解本發明。然而，不應將其視為限制本發明之範疇。所有文獻及專利引證以引用的方式併入本文中。

製備調配物之開發方案

A. 抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體溶液

在室溫下解凍具有高濃度之冷凍抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體製劑(維多珠單抗、50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3)之瓶持續16至24小時。將經解凍瓶集中至不鏽鋼混合容器中且混合。隨後以稀釋緩衝劑A(50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3)將製劑稀釋至80 mg/mL之維多珠單抗且混合。隨後藉由以含有蔗糖之稀釋緩衝劑B(50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、40%蔗糖、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3)稀釋製劑來添加蔗糖。此步驟將抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體製劑稀釋成60 mg/mL維多珠單抗、50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、10%蔗糖、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3之液體調配物。

B. 凍乾

將於pH 6.3下之50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、0.06%聚山梨醇酯80、10%蔗糖中之60 mg/ml抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體液體調配物以每小瓶5.52 mL填充至20 mL玻璃小瓶中且將塞子置於凍乾位置。將小瓶裝載於凍乾器中設定於約20°C之架子上。在裝載所有小瓶且關閉門之後，降低架子溫度以冷凍溶液約-45°C。在此溫度下3小時之後，使架子之溫度升高至-20°C以退火。在退火四小時之後，降低架子之溫度以再冷凍溶液約-45°C。在小瓶平衡至此溫度之後，自腔室中抽出空氣。當壓力為150毫托時，使架子溫度勻變至初級乾燥溫度約-24°C。進行初級乾燥，直至所有結晶冰自小瓶中昇華。隨後使架子溫度升高至27°C用於二級乾燥持續16小時，直至水分大致小於凍乾調配物之2.5%。當完成二級乾燥時，將氮氣回填至腔室中直至達到周圍壓力。塞上小瓶且

將其自凍乾器中移出。

C.凍乾抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之儲存及使用

抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之凍乾小瓶儲存於 -70°C 、 -20°C 、 2°C 至 8°C 或 25°C 下持續所要時段。當準備使用時，使小瓶平衡至室溫。隨後使用21 G針以含有注射用水(「WFI」)之注射器復原小瓶之內含物。確定WFI之量以使得復原抗體溶液之最終體積為凍乾前溶液之相同體積。就5.52 ml凍乾前體積而言，添加4.8 ml WFI。將小瓶輕柔地旋動且隨後靜置10至30分鐘以使調配物復原，隨後使用注射器移出抗體溶液且添加至經靜脈(IV)袋中以經靜脈內輸注至患者。

例證

實例1

改變凍乾調配物中之糖及胺基酸%之比較數據

進行實驗方法設計以發現改變的糖(蔗糖及甘露糖醇)與蛋白質之莫耳比、精胺酸與蛋白質之莫耳比及組胺酸緩衝劑之莫耳量的影響。已知組胺酸及精胺酸在凍乾製程期間不結晶，使其成為潛在的低溫或凍乾保護劑。將1.5 mL調配物填充至5 mL小瓶中，凍乾，在 -30°C 、150毫托(mT)下進行初級乾燥，且在 20°C 、150 mT下進行二級乾燥。在不同儲存條件之後復原至1.5 ml之凍乾調配物之穩定性展示於表1至3中(自兩個實驗彙編60 mg/ml結果)。圖6A展示當改變pH值及糖與精胺酸之莫耳比時，當儲存於 40°C 下時的單體百分比、聚集體百分比及主要同功異型物百分比之變化的預測模型。調配物之穩定性在低pH值及(糖+精胺酸)與蛋白質之高莫耳比下最佳。在所檢驗之組胺酸莫耳量下，組胺酸不影響調配物之穩定性。所有調配物在儲存期間均具有1%至2%水分。

表1：當儲存於 5°C 、 $25^{\circ}\text{C}/60\% \text{RH}$ 及 $40^{\circ}\text{C}/75\% \text{RH}$ 下3個月時的單體百分比之變化。使用尺寸排阻層析法(SEC)量測單體百分比。

調配物 60 mg/mL維多珠單抗+	單體%(藉由SEC測定)			
	t=0	5°C 3個月	25°C 60% RH 3個月	40°C 75% RH 3個月
25 mM組胺酸、75 mM精胺酸、2% 蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.3	98.1	98.1	97.8	96.5
25 mM組胺酸、75 mM精胺酸、4% 蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.9	98.0	98.2	98.0	97.5
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、2% 蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.7	98.0	98.3	98.1	97.4
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、4% 蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.9	98.0	98.3	98.1	97.4
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、6% 蔗糖、1.5%甘露糖醇、0.06%聚山梨 醇酯80、pH 6.3	98.7	98.4	98.4	98.1
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、9% 蔗糖、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3	98.7	98.3	98.1	98.3

表2：當儲存於5°C、25°C/60% RH及40°C/75% RH下3個月時的聚集體百分比之變化。使用尺寸排阻層析法(SEC)量測單體百分比。

調配物 60 mg/mL維多珠單抗+	聚集體%(藉由SEC測定)			
	t=0	5°C 3個月	25°C 60% RH 3個月	40°C 75% RH 3個月
25 mM組胺酸、75 mM精胺酸、2% 蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.3	0.42	0.53	0.89	1.99
25 mM組胺酸、75 mM精胺酸、4% 蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.9	0.41	0.51	0.62	1.15
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、2% 蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.7	0.42	0.47	0.60	1.23
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、4% 蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.9	0.36	0.44	0.52	0.82
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、6% 蔗糖、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3	0.53	0.49	0.51	0.56

蔗糖、1.5%甘露糖醇、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3				
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、9%蔗糖、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3	0.51	0.51	0.59	0.56

表3：當儲存於5°C、25°C/60% RH及40°C/75% RH下3個月時的主要同功異型物百分比之變化。使用陽離子交換層析法(CEX)量測主要同功異型物。

調配物 60 mg/mL維多珠單抗+	主要同功異型物%(藉由CEX測定)			
	t=0	5°C 3個月	25°C 60% RH 3個月	40°C 75% RH 3個月
25 mM組胺酸、75 mM精胺酸、2%蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.3	70.5	68.8	67.4	66.3
25 mM組胺酸、75 mM精胺酸、4%蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.9	70.8	98.9	68.0	67.7
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、2%蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.7	70.5	68.9	67.8	66.5
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、4%蔗糖、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.9	70.6	68.9	68.0	67.4
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、6%蔗糖、1.5%甘露糖醇、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3	69.6	69.5	69.3	67.4
50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、9%蔗糖、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3	69.5	69.3	69.2	68.1

圖6A展示基於表1至表3之40°C數據之統計分析的預測模型。藉由SEC分析之40°C下每月單體百分比之變化的模型為 $-3.10+(0.386)*\text{pH}+0.000516*((\text{糖之莫耳數}+\text{精胺酸之莫耳數})/(\text{蛋白質之莫耳數}))$ 。藉由SEC分析之40°C下每月聚集體百分比之變化的模型為 $2.43-(0.263)*\text{pH}-0.000787*((\text{糖之莫耳數}+\text{精胺酸之莫耳數})/(\text{蛋白質$

之莫耳數))。藉由CEX分析之40°C下每月主要同功異型物百分比之變化的模型為 $-2.54+(0.109)*\text{pH}-0.00130*((\text{糖之莫耳數}+\text{精胺酸之莫耳數})/(\text{蛋白質之莫耳數}))$ 。中心線展示預測模型之結果且外部線展示預測模型之95%置信界限。

圖6B展示當輸入因子為pH值、糖:蛋白質莫耳比及精胺酸:蛋白質莫耳比時基於表1至表3之40°C數據之統計分析的替代性模型。藉由SEC分析之40°C下每月單體百分比之變化的模型為 $-3.02+(0.370)*\text{pH}+0.000482*((\text{糖之莫耳數})/(\text{蛋白質之莫耳數}))+0.000657*((\text{精胺酸之莫耳數})/(\text{蛋白質之莫耳數}))$ 。藉由SEC分析之40°C下每月聚集體百分比之變化的模型為 $2.35-(0.244)*\text{pH}-0.000727*((\text{糖之莫耳數})/(\text{蛋白質之莫耳數}))-0.00102*((\text{精胺酸之莫耳數})/(\text{蛋白質之莫耳數}))$ 。藉由CEX分析之40°C下每月主要同功異型物百分比之變化的模型為 $-2.92+(0.210)*\text{pH}+0.00164*((\text{糖之莫耳數})/(\text{蛋白質之莫耳數}))-0.000220*((\text{精胺酸之莫耳數})/(\text{蛋白質之莫耳數}))$ 。中心線展示預測模型之結果且外部線展示預測模型之95%置信界限。

實例2

穩定性數據

在指定儲存條件(5°C及25°C/60% RH持續高達24個月)下儲存之後，測試三批初級穩定性調配物(批次A、B及C)的穩定性。所有三個批次含有相同之凍乾液體調配物：60 mg/mL抗- α 4 β 7抗體、50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、10%蔗糖、0.06%聚山梨醇酯80、pH 6.3。對於批次A，將3.5 mL溶液填充至20 mL小瓶中且凍乾，對於批次B及批次C，將5.52 mL溶液填充至20 mL小瓶中且凍乾。

在各別研究中，將60 mg/mL抗- α 4 β 7抗體、50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、10%蔗糖、0.06%聚山梨醇酯80(pH 6.3)之單一藥物調配物分別以兩個體積3.5 ml及9.5 ml凍乾，獲得批次R及批次S，以供穩

定性樣品之用，其經歷38個月之分析。空白為NT(不測試)。

數據(表4至表19)顯示抗體調配物當在5°C及25°C/60% RH下儲存高達24個月時保持穩定。所有產物屬性在24個月時間點自始至終維持於規範內。

表4：當在5°C下儲存時藉由SEC測定之單體百分比之變化。

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	99.8	99.8	99.8	98.9	98.8
1	99.8	99.1	99.2	98.8	99.2
3	99.8	99.1	99.1	98.8	98.8
6	99.8	99.8	99.8	98.9	99.0
9	99.1	99.2	99.2	99.2	99.1
12	99.4	99.0	99.0	98.8	98.9
15	99.4	99.1	99.1		
18	99.5	99.4	99.4	98.9	98.9
24	99.4	99.2	99.2	99.0	99.0
30		99.2	99.2		
38				99.3	99.3

表5：當在5°C下儲存時藉由SEC測定之聚集體百分比之變化。

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2
1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1
3	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
6	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
9	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2
12	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
15	0.2	0.2	0.2		
18	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
24	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

30		0.2	0.2		
38				0.2	0.2

表6：當在5°C下儲存時藉由CEX測定之主要同功異型物百分比之變化。

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	68.6	69.9	69.5	71.7	71.6
1	67.5	68.9	68.8	71.2	72.0
3	68.7	68.8	68.7	70.4	70.3
6	67.7	68.2	68.2	71.9	71.9
9	70.0	68.3	67.8	69.2	69.7
12	67.8	68.3	68.1	70.8	70.9
15	66.9	67.5	67.5		
18	67.4	67.0	66.7	71.0	70.8
24	68.1	69.6	69.1	71.3	70.9
30		68.5	68.6		
38				73.6	73.1

表7：當在5°C下儲存時藉由CEX測定之酸性同功異型物百分比之變化。

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	22.8	20.8	21.4	20.3	20.6
1	21.9	21.7	22.3	21.6	20.3
3	21.7	22.2	22.8	22.0	22.0
6	22.9	23.1	23.6	21.1	21.4
9	19.8	22.2	22.9	21.8	21.8
12	22.9	21.3	22.1	21.2	21.2
15	22.7	22.3	22.8		
18	22.8	22.3	22.6	21.1	21.5
24	21.7	22.1	22.9	20.6	20.7

30		22.8	23.2		
38				18.9	19.1

表8：當在5°C下儲存時藉由CEX測定之鹼性同功異型物百分比之變化。

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	8.5	9.3	9.1	8.1	7.8
1	10.7	9.4	8.9	7.3	7.7
3	9.7	9.0	8.5	7.6	7.8
6	9.5	8.7	8.2	7.0	6.7
9	10.2	9.6	9.3	9.0	8.4
12	9.3	10.3	9.9	8.0	7.9
15	10.4	10.1	9.7		
18	9.8	10.7	10.7	7.9	7.7
24	10.2	8.3	8.1	8.1	8.3
30		8.7	8.2		
38				7.5	7.7

表9：當在5°C下儲存時藉由還原-SDS Page測定之(H+L)%之變化。

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	98	98	98	96	96
1	98	94	98	98	98
3	98	98	98	98	98
6	98	97	97	97	97
9	97	97	97	98	98
12	98	96	97	98	98
15	97	98	97		
18	98	97	97	99	99
24	98	98	98	99	99

30		97	97		
38				99	99

表10：當在5°C下儲存時結合功效之變化。

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	107	106	105	93	102
1	106	106	103	103	111
3	101	109	108	91	98
6	97	106	105	114	121
9	100	93	88	102	102
12	103	101	87	119	116
15	105	90	94		
18	86	101	96	95	104
24	92	82	95	81	101
30		87	94		
38				89	91

表11：當在5°C下儲存時藉由KF測定之水分%之變化

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	0.5	0.6	0.6	0.8	1.0
1	0.5	0.4	0.6		
3	0.5	0.6	0.6		
6	0.6	0.7	0.5	0.8	1.3
12	0.6	0.6	0.7	0.9	0.9
24	0.5	0.7	0.7	0.9	0.9
30		0.7	0.7		

表12：當在25°C /60% RH下儲存時藉由SEC測定之單體百分比之變化

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	99.8	99.8	99.8	98.9	98.8
1	99.8	99.1	99.2	98.7	98.7
3	99.8	99.0	99.0	98.6	98.5
6	99.8	99.7	99.7	98.9	98.9
9	99.0	99.1	99.1	99.1	99.1
12	99.3	98.9	98.9	98.8	98.9
15	99.3	99.0	99.0		
18	99.4	99.3	99.3	98.7	98.9
24	99.2	99.1	99.1	98.9	98.9
30		99.0	99.0		

表13：當在25°C /60% RH下儲存時藉由SEC測定之聚集體百分比之變化

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2
1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3
6	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2
9	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2
12	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3
15	0.3	0.3	0.3		
18	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2
24	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2
30		0.4	0.3		

表14：當在25°C /60% RH下儲存時藉由CEX測定之主要同功異型物百分比之變化

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	68.6	69.9	69.5	71.7	71.6

1	67.2	68.4	68.6	71.2	71.0
3	68.1	68.6	68.2	70.3	70.3
6	65.9	67.8	67.8	71.5	71.1
9	69.3	67.5	66.3	68.6	69.0
12	66.7	67.5	67.4	70.1	70.2
15	66.2	66.6	66.8		
18	66.1	65.8	64.9	70.0	70.3
24	66.7	68.4	68.2	70.6	70.1
30		67.2	67.2		

表15：當在25°C /60% RH下儲存時藉由CEX測定之酸性同功異型物百分比之變化

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	22.8	20.8	21.4	20.3	20.6
1	21.9	21.8	22.2	21.4	21.6
3	21.7	22.2	22.8	21.8	22.0
6	22.6	22.9	23.5	21.1	21.4
9	19.9	22.1	23.1	21.8	21.8
12	23.0	21.4	22.0	21.3	21.3
15	22.5	22.1	22.7		
18	22.6	22.1	22.6	21.3	21.5
24	21.7	21.9	22.6	20.7	20.7
30		22.7	23.2		

表16：當在25°C /60% RH下儲存時藉由CEX測定之鹼性同功異型物百分比之變化

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	8.5	9.3	9.1	8.1	7.8
1	10.8	9.8	9.2	7.4	7.3

3	10.3	9.3	9.0	7.8	7.7
6	11.5	9.3	8.7	7.4	7.5
9	10.8	10.4	10.6	9.7	9.3
12	10.3	11.1	10.7	8.7	8.5
15	11.3	11.2	10.6		
18	11.2	12.1	12.5	8.7	8.2
24	11.6	9.7	9.1	8.7	9.2
30		10.2	9.6		

表 17：當在 25°C /60% RH 下儲存時藉由還原-SDS Page 測定之 (H+L)% 之變化

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	98	98	98	96	96
1	98	98	98	98	98
3	97	98	98	98	98
6	97	97	97	97	97
9	97	97	97	98	98
12	98	96	96	98	98
15	97	97	97		
18	98	97	97	99	99
24	98	97	98	99	99
30		97	98		

表 18：當在 25°C /60% RH 下儲存時結合功效之變化

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	107	106	105	93	102
1	115	103	109		
3	92	113	100	96	94
6	109	89	97	101	114

9	97	89	85	97	102
12	83	91	123		
15	96	91	96		
18	106	123	87	92	102
24	103	82	90	98	94
30		84	114		

表19：當在25°C /60% RH下儲存時藉由KF測定之水分%之變化

時間(月)	批次A	批次B	批次C	批次R	批次S
0	0.5	0.6	0.6	0.8	1.0
1	0.5	0.6	0.5		
3	0.5	0.7	0.6		
6	0.5	0.7	0.7	1.3	1.2
12	0.6	0.8	0.6	0.9	1.0
24	0.7	0.8	0.6	1.1	1.0
30		0.8	0.7		

陽離子交換層析法(CEX)

弱陽離子交換管柱上之磷酸鹽/氯化鈉梯度在高效液相層析系統中用於分離抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體調配物中之帶電物質且測定抗體物質之電荷組成。酸性同功異型物在主要同功異型物之前溶離且鹼性同功異型物在主要同功異型物之後溶離。

使用CEX分析產生之所有維多珠單抗批次之穩定性數據呈現於表3、表6至表8及表14至表16中。該等表中顯示，在此等儲存條件下，主要同功異型物%沒有降低至低於55.0%的趨勢。

尺寸排阻層析法(SEC)

使用分析型SEC管柱(Tosoh Bioscience, LLC, King of Prussia, PA)進行SEC。移動相為磷酸鹽緩衝生理食鹽水溶液且在280 nm下監測吸

光度。

使用SEC分析產生之穩定性數據呈現於表1、表2、表4、表5、表12及表13中。該等表中顯示所列儲存條件無一者導致單體%降低至低於96.0%。同樣，在所有所列儲存條件下，所有批次的聚集體%均保持 $\leq 2.5\%$ 。

SDS-PAGE分析

使用Invitrogen(Carlsbad, CA)Tris-甘胺酸凝膠(在還原條件下為4%至20%且在非還原條件下為4%至12%)進行SDS-PAGE。將復原抗體調配物樣品於液體調配物緩衝液中稀釋，隨後以具有10% 2-巰基乙醇(還原樣品緩衝劑)或不具有2-巰基乙醇(非還原樣品緩衝劑)之Tris-甘胺酸SDS樣品緩衝液(2X, Invitrogen)1:2稀釋。短暫加熱樣品且裝載，以與分子量標記物(Invitrogen)相比較。用膠狀庫馬斯藍(coomassie blue)(Invitrogen)根據製造商說明書對凝膠染色。藉由密度測定法分析蛋白質帶以確定還原凝膠之重鏈及輕鏈%及非還原凝膠之IgG %。

使用還原SDS-PAGE分析產生之穩定性數據呈現於表9及表17中。在為所有穩定性批次所列之所有儲存條件下，均未觀測到重+輕(H+L)鏈%之顯著變化。帶型類似於參考標準之帶型且(H+L)%保持在 $\geq 90\%$ 之水準下。

結合功效

使懸浮於含1% BSA之PBS、0.01%疊氮化鈉中之HuT78細胞(人類T細胞淋巴瘤細胞，美國菌種保存中心，Manassas, VA)與初級測試抗體之連續稀釋液接觸。在冰上培育之後，洗滌細胞且以螢光標記之二級抗體處理。在進一步洗滌之後，將細胞固定且懸浮於FACS試劑中用於藉由流動式細胞測量術(Becton Dickinson Franklin Lakes, NJ)分析；亦參見美國專利第7,147,851號。

量測維多珠單抗相對於參考標準之結合功效且報導為參考標準%及EC50。穩定性數據呈現於表10及表18中。參考標準%之數據顯示變化性，但在所有儲存條件下均保持在規範之限值內。在所列儲存條件下所評估之維多珠單抗批次沒有顯示減小結合功效之趨勢。

水分(藉由卡爾費雪(Karl Fischer)測定)

用甲醇滴定調配物以供庫侖卡爾費雪水分測定之用。水分數據呈現於表11及表19中。在所有所列儲存條件下，所有評估之維多珠單抗批次均具有小於5%水分。

毛細管等電聚焦(cIEF)

使用iCE280全柱偵測cIEF系統(Convergent Biosciences, Toronto, Ontario)進行cIEF。兩性電解質之選擇可由製造商推薦或可為市售兩性電解質之組合。適用之組合為3-10與5-8 PHARMALYTE™之混合物(GE Healthcare, Piscataway, NJ)。

實例3：模型化按比例增大之凍乾製程

在操縱冷凍乾燥器中之負載及調配物之固體含量之時使用品質源於設計(Quality by Design)。負載在33%至100%之範圍內變化。調配物固體含量藉由在負載中納入調配物(即0.5x、1.0x及1.5x之目標調配物)而在9%至27%之範圍內變化。此等調配物具有類似 T_g 。隨著固體%的增加，初級乾燥時間亦增加。另外，在較高固體含量下，產物溫度因 R_p 較大而升高。負載亦對兩個乾燥階段有影響(圖8)。

實例4：非臨床安全性研究

設計研究以比較那他珠單抗與維多珠單抗對於恆河猴(Rhesus)EAE之CNS之免疫監視的影響。用安慰劑對照物每週一次向八個動物給藥。用那他珠單抗以30 mg/kg每週一次向七個動物給藥。用維多珠單抗以30 mg/kg每週一次向七個動物給藥。觀測EAE之臨床症狀；藉由流動式細胞測量術量測CSF中之白血球子集之頻率及比

率；使用MRI量測腦中之總T2病變負荷；且使用組織病理學量測腦之病變負荷及脫髓鞘。

與安慰劑對照物相比，維多珠單抗不延遲EAE之臨床症狀的發作。其不抑制EAE發生，亦不抑制臨床計分之量值。與安慰劑對照物相比，那他珠單抗顯著($p < 0.05$)延遲EAE之臨床症狀的發作。其抑制EAE發生且抑制臨床記分之量值。(圖9)

維多珠單抗不預防CSF的白血球、T淋巴細胞(輔助T淋巴細胞、細胞毒性T淋巴細胞)、B淋巴細胞、自然殺手細胞或單核細胞之浸潤。相反，那他珠單抗抑制CSF之浸潤。

如藉由經由MRI確定之T2升高及MTR值降低所偵測，維多珠單抗不抑制腦病變之積聚。那他珠單抗僅預防一個動物之病變形成。藉由組織學量測腦浸潤及脫髓鞘之顯著($p < 0.05$)抑制。

如由活體內給藥之維多珠單抗與離體添加之分析型抗- $\alpha 4\beta 7$ 單株抗體之間的競爭性結合分析所示，在研究期間由維多珠單抗使 $\alpha 4\beta 7$ 整合素飽和。分析型抗- $\alpha 4\beta 7$ mAb不結合至用維多珠單抗給藥之動物的記憶性輔助T淋巴細胞。CNS中維多珠單抗效應之缺乏因此係歸因於 $\alpha 4\beta 7$ 整合素之胃腸向性生物學。

總而言之，維多珠單抗($\alpha 4\beta 7$ 拮抗劑)不抑制EAE。相反，那他珠單抗($\alpha 4\beta 1$ 及 $\alpha 4\beta 7$ 拮抗劑)抑制EAE。 $\alpha 4\beta 1$ 整合素介導EAE中之CNS浸潤。因此，維多珠單抗可具有比那他珠單抗低的易感染患者患PML之風險，這是因為其不拮抗 $\alpha 4\beta 1$ 整合素且削弱恆河猴EAE之CNS之免疫監視。

實例5：用維多珠單抗之I期臨床研究

使四十九個健康個體隨機化且接受單次劑量之研究藥物：39個個體接受維多珠單抗(5 mg/mL抗體、20 mM檸檬酸鹽/檸檬酸、125 mM氯化鈉、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.0(長期儲存於 -70°C 且儲存於-

20°C下高達3個月))且10個個體接受安慰劑。在39個接受維多珠單抗之個體中，8個個體各接受0.2、2.0、6.0及10.0 mg/kg之劑量且7個個體接受0.5 mg/kg之維多珠單抗。所有49個個體均完成研究。

維多珠單抗群組間就任何人口資料或基線特徵而言不存在顯著差異。平均年齡在35.4歲至51.0歲範圍內；個別個體年齡在21歲至63歲範圍內。

PK結果

以30分鐘靜脈內輸注形式投與濃度為0.2 mg/kg至10.0 mg/kg之維多珠單抗。C_{最大}及血清藥物濃度-時間曲線下之面積(AUC)值隨劑量增加而增加。劑量校正C_{最大}在群組間大致相同，表明此參數具劑量正比性。自時間零點至無限大之血清藥物濃度下之劑量正規化面積值(AUC_{0-inf})隨劑量增加至2.0 mg/kg而增加，表明AUC_{0-inf}在此研究中投與之低劑量範圍內隨劑量增加而非線性增加。此後，AUC_{0-inf}隨劑量按比例增加，顯示AUC_{0-inf}在2.0 mg/kg至10.0 mg/kg劑量範圍內的線性。與0.2 mg/kg劑量相比，在10.0 mg/kg劑量下，AUC_{0-inf}之增加比預期高約2.4倍。

同樣，清除率、分佈體積及終點半衰期之估計值在0.2 mg/kg至2.0 mg/kg劑量範圍內呈劑量依賴性。隨著劑量增加，清除率降低，分佈體積增加，且因此終點消除半衰期延長。然而，自2 mg/kg至10.0 mg/kg，此等參數不存在明顯變化，表明在低濃度下維多珠單抗之快速消除過程之飽和。較慢線性消除過程很可能造成較高劑量下之大部分維多珠單抗之清除。

在一些對維多珠單抗顯現HAHA之個體中，在各別劑量水準內，與HAHA陰性個體相比，觀測到維多珠單抗之清除率更快。

表20：在健康個體中靜脈內投與0.2 mg/kg至10.0 mg/kg維多珠單抗之後的劑量群組之維多珠單抗PK的概述(PK分析組)

參數	VDZ 劑量	N	平均值	SD	幾何 平均值	CV%	中值	最小值	最大值
C _{最大} ($\mu\text{g/mL}$)	0.2 mg/kg	4	5.65	0.629	5.62	11.1	5.45	5.13	6.56
	0.5 mg/kg	4	10.6	2.09	10.4	19.7	10.6	8.07	13.1
	2.0 mg/kg	7	59.3	11.6	58.4	19.6	58.4	47.6	78.4
	6.0 mg/kg	6	151	19.1	150	12.6	157	120	168
	10.0 mg/kg	7	243	22.1	243	9.07	242	213	281
AUC _{0-tlast} (天 數* $\mu\text{g/mL}$)	0.2 mg/kg	4	31.6	4.98	31.3	15.8	31.6	25.7	37.5
	0.5 mg/kg	4	127	48.0	119	37.9	129	70.9	178
	2.0 mg/kg	7	964	147	955	15.2	972	772	1170
	6.0 mg/kg	6	3090	749	3020	24.2	2830	2360	4100
	10.0 mg/kg	7	4870	624	4840	12.8	4750	4120	5870
AUC _{0-inf} (天 數* $\mu\text{g/mL}$)	0.2 mg/kg	4	39.5	5.79	39.1	14.7	40.2	31.7	45.7
	0.5 mg/kg	4	134	48.9	127	36.5	134	79.2	188
	2.0 mg/kg	7	979	146	969	14.9	993	784	1180
	6.0 mg/kg	6	3100	750	3030	24.2	2840	2390	4110
	10.0 mg/kg	7	4880	637	4850	13.0	4750	4130	5920

V _z (L)	0.2 mg/kg	4	4.02	0.151	4.02	3.76	4.03	3.83	4.18
	0.5 mg/kg	4	4.92	0.620	4.89	12.6	4.66	4.52	5.84
	2.0 mg/kg	7	3.34	0.665	3.28	19.9	3.23	2.29	4.27

	6.0 mg/kg	6	2.98	0.644	2.92	21.6	2.98	2.06	3.98
	10.0 mg/kg	7	2.89	1.02	2.73	35.2	2.98	1.49	4.58
CL(公升/天)	0.2 mg/kg	4	0.413	0.042	0.412	10.1	0.395	0.388	0.476
	0.5 mg/kg	4	0.310	0.106	0.297	34.3	0.291	0.212	0.446
	2.0 mg/kg	7	0.165	0.018	0.164	10.7	0.162	0.145	0.194
	6.0 mg/kg	6	0.140	0.031	0.136	22.0	0.145	0.083	0.166
	10.0 mg/kg	7	0.140	0.024	0.139	16.9	0.135	0.103	0.171
$t_{1/2}$ (天)	0.2 mg/kg	4	6.79	0.736	6.76	10.8	6.95	5.79	7.47
	0.5 mg/kg	4	11.7	2.83	11.4	24.2	11.4	9.09	14.8
	2.0 mg/kg	7	14.1	2.67	13.9	18.9	14.3	10.6	17.5
	6.0 mg/kg	6	15.1	3.15	14.8	20.9	14.0	11.9	20.3
	10.0 mg/kg	7	14.8	7.38	13.7	49.8	12.5	8.26	30.7

縮寫： AUC_{0-inf} =外推至無限大之藥物濃度-時間曲線下之面積； $AUC_{0-t_{last}}$ =自投與時間至濃度超過定量下限所處之最終量測時間點之藥物濃度-時間曲線下的面積；CL=總清除率； $C_{最大}$ =最大藥物濃度； $t_{1/2}$ =終點半衰期； V_z =基於末期之分佈體積。

在達到 $C_{最大}$ 之後，維多珠單抗之血清濃度以一般單指數(monoexponential)方式下降直至濃度達到約1 mg/L至10 mg/L。此後，濃度似乎以非線性方式下降。

$C_{最大}$ 及AUC值隨劑量增加而增加。在可用數據中，劑量校正 $C_{最大}$ 在群組間大致相同，表明此參數具劑量正比性。劑量正規化 AUC_{0-inf}

隨劑量增加至2.0 mg/kg而增加，表明AUC_{0-inf}在此研究中投與之低劑量範圍內隨劑量增加而非線性增加。此後，AUC_{0-inf}隨劑量按比例增加，顯示AUC_{0-inf}在2.0 mg/kg至10.0 mg/kg劑量範圍內的線性。與0.2 mg/kg劑量相比，在10.0 mg/kg劑量下，AUC_{0-inf}之增加比預期高約2.4倍。

同樣，清除率、分佈體積及終點半衰期之估計值在0.2 mg/kg至2.0 mg/kg劑量範圍內有劑量依賴性。隨著劑量增加，清除率降低，分佈體積增加，且因此終點消除半衰期延長。然而，自2 mg/kg至10.0 mg/kg，此等參數不存在明顯變化，表明在低濃度下維多珠單抗之快速消除過程之飽和。較慢線性消除過程很可能造成較高劑量下之大部分的維多珠單抗之清除。

在一些對維多珠單抗顯現HAHA之個體中，在各別劑量水準內，與HAHA陰性(HAHA⁻)個體相比，觀測到維多珠單抗之清除率更快。

PD結果

維多珠單抗群組在30分鐘靜脈內輸注0.2 mg/kg至10.0 mg/kg維多珠單抗之後之PD參數分別概述於表21(Act-1)及表22(MAdCAM)中。

表21：在健康個體中靜脈內投與0.2 mg/kg至10.0 mg/kg維多珠單抗之後的劑量群組之維多珠單抗藥效學、%Act-1⁺ [CD4⁺ CD45RO^{high}]之抑制百分比的概述(PD分析組)

參數	VDZ劑量	N	平均值	SD	幾何平均值	CV%	中值	最小值	最大值
E _{最大} (抑制%)	0.2 mg/kg	4	99.6	0.387	99.6	0.388	99.6	99.1	100
	0.5 mg/kg	4	99.5	0.599	99.5	0.602	99.5	98.9	100
	2.0 mg/kg	6	99.9	0.172	99.9	0.172	100	99.6	100
	6.0	6	100	0.000	100	0.000	100	100	100

	mg/kg								
	10.0 mg/kg	6	99.7	0.326	99.7	0.327	99.8	99.3	100
AUEC _{0-inf} (抑制%*d)	0.2 mg/kg	4	4030	1010	3920	25.2	4090	2760	5160
	0.5 mg/kg	4	6430	1450	6300	22.6	6530	4860	7810
	2.0 mg/kg	6	13200	623	13200	4.72	12900	12800	14500
	6.0 mg/kg	6	16700	3030	16500	18.1	16300	13300	20100
	10.0 mg/kg	6	19300	644	19300	3.33	19600	18200	19900

AUEC_{0-inf}=自時間0至最後非零濃度之時間的藥物效應-時間曲線下面積；E_{最大}=最大藥物效應

表22：在健康個體中靜脈內投與0.2 mg/kg至10.0 mg/kg維多珠單抗之後的劑量群組之維多珠單抗藥效學、% MADCAM⁺ [CD4⁺ CD45RO^{high}]之抑制百分比的概述(PD分析組)

參數	VDZ劑量	N	平均值	SD	幾何平均值	CV%	中值	最小值	最大值
E _{最大} (抑制%)	0.2 mg/kg	4	99.2	0.537	99.2	0.542	99.4	98.4	99.6
	0.5 mg/kg	4	99.6	0.323	99.6	0.324	99.5	99.3	100
	2.0 mg/kg	6	99.7	0.365	99.7	0.366	99.7	99.2	100
	6.0 mg/kg	6	99.8	0.279	99.8	0.280	100	99.4	100
	10.0 mg/kg	6	100	0.000	100	0.000	100	100	100
AUEC _{0-inf} (抑制%*d)	0.2 mg/kg	4	4000	576	3970	14.4	4210	3160	4440
	0.5 mg/kg	4	6770	1400	6660	20.6	6840	5170	8230

2.0 mg/kg	6	13000	796	13000	6.12	13000	11700	13900
6.0 mg/kg	6	16200	3320	15900	20.5	15800	11800	20000
10.0 mg/kg	6	17700	1330	17700	7.5	17700	16500	19000

$AUEC_{0-inf}$ = 自時間0至最後非零濃度之時間的藥物效應-時間曲線下面積； $E_{最大}$ = 最大藥物效應

在維多珠單抗在血清中可量測時所處的所有時間點，維多珠單抗幾乎均最大限度地抑制PD參數Act-1及MAdCAM-1-Fc。一旦維多珠單抗濃度降低至低於分析之偵測限值，則Act-1及MAdCAM-1-Fc之抑制返回至大致基線水準。

在一些對維多珠單抗顯現HAHA之個體中，在各別劑量水準下，與HAHA陰性個體相比，觀測到 $\alpha 4\beta 7$ 受體飽和之損失更快。

安全性結果

維多珠單抗在高達10.0 mg/kg之單次靜脈內劑量下通常為安全且可充分耐受的。在研究期間，未發生導致研究中止之死亡、嚴重不利事件(SAE)或AE。

免疫原性/人類抗人類抗體(HAHA)形成

在研究期間的一些時點，安慰劑組中之一個(10%)個體及組合維多珠單抗劑量組中之21個(54%)個體具有陽性HAHA。雖然在所有劑量群組中均觀測到陽性HAHA樣品，但僅在2個最低維多珠單抗劑量組中發現HAHA效價>125。已先前在用維多珠單抗的情況下觀測到HAHA形成之劑量依賴性抑制。22個HAHA陽性之維多珠單抗治療個體中有19個存在中和HAHA。

表23：人類抗人類抗體研究結果之概述：安全性群體

	安慰劑 N=10	0.2 mg/kg VDZ N=8	0.5 mg/kg VDZ N=7	2.0 mg/kg VDZ N=8	6.0 mg/kg VDZ N=8	10.0 mg/kg VDZ N=8	組合 VDZ N=39
治療之 個體	10	8	7	8	8	8	39
任何 HAHA 陽性， n(%)	1 (10)	6 (75)	4 (57)	2 (25)	3 (38)	6 (75)	21 (54)
最高 HAHA 效價 <125， n(%)	1 (10)	4 (50)	2 (29)	2 (25)	3 (38)	6 (75)	17 (44)

最高 HAHA 效價 ≥125， n(%)	0	2 (25)	2 (29)	0	0	0	4 (10)
任何 中和 HAHA 陽性， n(%)	0	5 (63)	4 (57)	2 (25)	3 (38)	5 (63)	19 (49)
最高 中和 HAHA 效價 <125， n(%)	0	3 (38)	2 (29)	2 (25)	3 (38)	5 (63)	15 (38)
最高 中和 HAHA 效價 ≥125， n(%)	0	2 (25)	2 (29)	0	0	0	4 (10)

安慰劑組中之1個個體及維多珠單抗組中之11個個體持續為HAHA陽性。

表24：總體人類抗人類抗體狀態(安全性群體)

	安慰劑 N=10	0.2 mg/kg VDZ N=8	0.5 mg/kg VDZ N=7	2.0 mg/kg VDZ N=8	6.0 mg/kg VDZ N=8	10.0 mg/kg VDZ N=8	組 合 VDZ N=39
HAHA 陰性 ^a n(%)	9 (90)	2 (25)	3 (43)	6 (75)	5 (63)	2 (25)	18 (46)
分離 HAHA ^b n(%)	0	2 (25)	1 (14)	1 (13)	1 (13)	5 (63)	10 (26)
持續 HAHA ^c n(%)	1 (10)	4 (50)	3 (43)	1 (13)	2 (25)	1 (13)	11 (28)

a HAHA陰性：無陽性HAHA結果之個體

b 分離HAHA：僅有1個效價<25之陽性HAHA樣品之個體

c 持續HAHA：具有2個或2個以上陽性HAHA樣品或1個效價≥25之陽性樣品的個體

結論

此第1期研究表徵源自CHO細胞之維多珠單抗之PK/PD及初始安全概況。使用此研究結果來證明發炎性腸病之第3期關鍵試驗之劑量選擇。

維多珠單抗在測試劑量範圍內就C_{最大}參數而言顯示劑量正比性；然而，自0.2 mg/kg至2.0 mg/kg觀測到AUC_{0-inf}、CL、V_z及t_{1/2}之劑量依賴性變化，提示維多珠單抗之非線性PK變化。在大於2.0 mg/kg之劑量水準下，未觀測到此等參數之其他變化，提示在低濃度下維多珠單抗之快速消除過程之飽和。較慢線性消除過程很可能造成較高劑量下的大部分維多珠單抗之清除。

在當維多珠單抗在血清中可量測時之所有時間點，維多珠單抗

均最大程度上或幾乎最大程度上抑制PD參數Act-1及MAdCAM-1-Fc。一旦維多珠單抗濃度降低至低於分析之偵測限值，則Act-1及MAdCAM-1-Fc之抑制返回至大致基線水準。

在一些對維多珠單抗顯現HAHA之個體中，在各別劑量水準內，與HAHA陰性個體相比，觀測到更快之維多珠單抗清除率及 $\alpha 4\beta 7$ 受體飽和之損失。

維多珠單抗為充分耐受的。在研究期間，未發生導致研究藥物投與中止之死亡、SAE或AE，亦未觀測到任何劑量-毒性關係。未報導全身性機會性感染(包括PML)或腫瘤。

不同於非特異性 $\alpha 4$ 拮抗劑，維多珠單抗與淋巴球增多症或循環嗜酸性粒細胞、嗜鹼性粒細胞或單核細胞之平均增加無關，亦不存在任何淋巴細胞消耗之跡象。

維多珠單抗確實引發HAHA形成，但僅在2個最低劑量組中觀測到最高效價(>125)，此發現證明免疫原性之劑量依賴性降低之先前觀測結果。此等數據顯示投與較高劑量維多珠單抗可將臨床上顯著之HAHA形成減至最少。

總之，當以0.2 mg/kg至10.0 mg/kg之單一劑量向健康個體投與時，維多珠單抗通常為安全且可充分耐受的。

實例6：測定維多珠單抗對CD4:CD8比率之效應

以自10%蔗糖之凍乾調配物復原且稀釋至0.9%生理食鹽水之輸注系統中的單次450 mg劑量之維多珠單抗治療18歲至45歲之健康個體。在單次450 mg劑量之維多珠單抗之前(基線)及5週之後藉由腰椎穿刺收集腦脊髓液(CSF)。每一個體充當其自己之對照物。

基於先前研究選擇5週時間點，該研究展示以那他珠單抗治療之患有MS之患者僅在一個劑量之後即顯示對CSF CD4+:CD8+淋巴細胞比率的效應及腦病變之數目的減少(Stuve等人，*Arch Neurol.* 2006;

63:1383-1387；Stuve等人，*Ann Neurol.* 2006； 59:743-747；Miller等人，*N Engl J Med.* 2003； 348(1): 15-23)；且亦因為在5週時，450 mg劑量之維多珠單抗足以使目標飽和且提供超過與每4週300 mg之第3期劑量方案相關之穩態最低含量估計值的血清濃度。

自每一個體獲得約15 mL CSF用於免疫表型。若CSF樣品滿足以下準則，則將其納入分析：每樣品 ≤ 10 RBC/MI (將外周血液污染減至最少)；陰性CSF培養結果；在每一流動式細胞測量術樣品中有足夠T淋巴細胞數目；及未偵測到對維多珠單抗之血清抗體。

第5週中值(34.80 $\mu\text{g/mL}$)及個別個體血清維多珠單抗濃度(範圍24.9 $\mu\text{g/mL}$ 至47.9 $\mu\text{g/mL}$)高於第3期劑量方案之計劃穩態最低濃度(約24 $\mu\text{g/mL}$)。如藉由MAdCAM-1-Fc所量測，在第5週時觀測到高度(>90%) $\alpha\beta 7$ 受體飽和，表明在終點評估時其目標之維多珠單抗飽和。

在任何CSF樣品中均未偵測到維多珠單抗(偵測限值=0.125 $\mu\text{g/mL}$)。

對CD4+及CD8+ T淋巴細胞數目及比率之效應

維多珠單抗不顯著減小CD4+:CD8+比率(表25)。個體中無一者具有劑量後CD4+:CD8+比率 < 1 ($p < 0.0001$ (1側t檢驗))。維多珠單抗不顯著減小CSF中的CD4+或CD8+ T淋巴細胞之數目。另外，CSF % CD4+及% CD8+ T淋巴細胞不存在顯著變化(表26)。亦未觀測到外周血液WBC、CD4+及CD8+記憶性T淋巴細胞有顯著變化(表27)。

表25：治療對CSF CD4+:CD8+比率之效應(可評估群體，n=13)

	基線	第5週	CD4+:CD8+比率差†
CD4+:CD8+比率	3.59 (0.273)	3.60 (0.265)*	0.01 (0.197)
平均(SE)範圍	1.53-5.67	1.42-5.15	
比率之90% 2-側CI	3.00-4.19	3.132, 4.077	

差異之90% 2-側CI			-0.337, 0.363
--------------	--	--	---------------

CI=置信區間

* $p < 0.0001$ ($H_0: \mu < 1$ 對 $H_1: \mu \geq 1$ 之一側一個樣品t檢驗)。

†差異定義為第5週之比率減去基線比率

表26：治療對CSF CD4+及CD8+淋巴細胞計數之效應(可評估群體，n=13)

	基線	第5週
淋巴細胞之%形式之CD4+，平均值(SD)	75.160 (7.3831)	74.215 (6.3732)
淋巴細胞之%形式之CD8+，平均值(SD)	22.272 (5.4320)	22.007 (6.1624)

表27：外周血液記憶性T淋巴細胞(RO+)計數(可評估群體，n=13)

	基線	第5週
	平均值(SD)	平均值(SD)
CD4+CD45RO+	27.85 (4.98)	27.06 (5.02)
CD8+CD45RO+(%)	11.24 (3.40)	10.78 (2.98)

概述

維多珠單抗在單次450 mg劑量之後不影響健康志願者之CSF CD4+及CD8+細胞計數或CD4+:CD8+比率。個體中無一者的劑量後CSF CD4+:CD8+比率減小至小於1。在CSF中未偵測到維多珠單抗。另外，未觀測到外周血液中總WBC或記憶性T淋巴細胞CD4+及CD8+子集之變化。在終點評估時，在所有個體中均出現血液中目標($\alpha 4\beta 7$)之飽和。CSF CD4+及CD8+淋巴細胞含量及比率類似於文獻中先前報導之含量及比率。

此等結果與維多珠單抗缺乏對猴之生理性CNS免疫監視及病理性CNS發炎兩者之效應(參見實例4)一致。

實例7：維多珠單抗用於治療IBD之長期臨床經驗

完成第2期開放標記之安全性擴展研究以評估維多珠單抗之長期藥物動力學(PK)、藥效學(PD)、安全性及功效。患者年齡為18歲至75歲，且先前參與過潰瘍性結腸炎患者之初期PK/PD/安全性研究或在篩選之36個月內具有內窺鏡檢查及/或組織病理學及/或放射學證實的IBD症狀持續至少2個月。

所有患者均接受以下靜脈內給藥方案：在第1天、第15天及第43天投與2 mg/kg或6 mg/kg維多珠單抗(5 mg/mL抗體、20 mM檸檬酸鹽/檸檬酸、125 mM氯化鈉、0.05%聚山梨醇酯80、pH 6.0(長期儲存於-70°C且儲存於-20°C高達3個月))，隨後每8週一個劑量，持續高達總共78週。患者為未治療處理之潰瘍性結腸炎或克隆氏病患者，或參與過初期臨床試驗之潰瘍性結腸炎患者。

使用功效/生活品質(QoL)、部分Mayo計分(PMS)、克隆氏病活動性指數(CDAI)及發炎性腸病問卷(IBDQ)來評估研究結果。

PK結果

平均輸注前維多珠單抗濃度與劑量成比例，且在整個研究期間保持穩定及可偵測。

PD結果

在所有劑量水準下在整個研究期間受體(%ACT-1+[CD4+CD45RO HIGH]及% MADCAM+[CD4+CD45RO HIGH])幾乎得到完全抑制。

部分Mayo計分

未治療處理之潰瘍性結腸炎患者(5.4)之基線平均PMS比潰瘍性結腸炎反覆(rollover)患者(2.3)高。至第43天，反覆及未治療處理之潰瘍

性結腸炎患者之平均PMS均顯示顯著降低。至第155天，兩組之平均計分類似。平均PMS繼續降低直至第267天，且此後趨於平衡。

克隆氏病活動性指數

CD患者之平均CDAI自基線處之294.6降低至第43天時之237.7，且繼續降低直至第155天(156.1)。

IBDQ

潰瘍性結腸炎反覆患者在基線處具有最高平均IBDQ計分。至第43天，平均IBDQ計分在所有三個疾病組中均增加。平均IBDQ計分在所有3個疾病組中均繼續隨時間增加，在克隆氏病患者中在第155天時達到最大，且在未治療處理之潰瘍性結腸炎患者及潰瘍性結腸炎反覆患者中在第491天時達到最大。

C-反應性蛋白

潰瘍性結腸炎反覆及克隆氏病患者均顯示平均CRP含量降低直至第155天且隨後趨於平衡。未治療處理之潰瘍性結腸炎患者之平均CRP含量在基線時比潰瘍性結腸炎反覆患者低(2.28相較於7.09)。未治療處理之潰瘍性結腸炎患者之平均CRP含量在所評估之所有時間點均保持相對恆定。

其他安全性結果

在研究期間未有全身機會性感染(包括PML)之報導。一個患者在單一時間點經測試為JC病毒血症陽性，但在所有其他時間點為JCV陰性。72個患者中有3個(4%)具有陽性HAHA結果(其中兩個為短暫性陽性)。研究顯示沒有肝毒性、淋巴球增多症或淋巴球減少症或任何其他藥物相關實驗室變化的跡象。

結論

以2.0 mg/kg或6.0 mg/kg每8週一次投與維多珠單抗持續高達78週達成目標受體飽和，與疾病活動性之持久平均降低及改良IBDQ計分

相關，通常為安全且可充分耐受的，且顯示可接受之免疫原性。

實例8：患有中度至重度活動性克隆氏病之患者之反應及緩解的誘導

完成隨機化雙盲安慰劑對照多中心研究以評估在300 mg劑量下之維多珠單抗(自於50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、0.06%聚山梨醇酯80、10%蔗糖(pH 6.3)中之60 mg/mL抗體之凍乾調配物復原)在TNF α 拮抗劑失敗患者中在第6週時(在2個劑量--第0週及第2週之後)及在第10週時(在3個劑量之後)之誘導效應。研究由416個患者組成，其中75%為TNF α 拮抗劑失敗的，且其中25%為未經TNF α 處理的。使治療組間的人口資料及伴隨IBD藥物平衡。亦使治療組間的基線疾病特徵平衡，但不使基線疾病活動性平衡。

研究所指定之主要終點為抗-TNF- α 拮抗劑失敗群體的第6週緩解(%)。評估(依序測試程序)之關鍵次要終點為：總群體之第6週緩解(%)，抗-TNF- α 拮抗劑失敗及總群體之第10週緩解(%) (使用Hochberg程序)，抗-TNF- α 拮抗劑失敗及總群體之第6週及第10週持續緩解(%) (使用Hochberg程序)，及抗-TNF- α 拮抗劑失敗群體之第6週提高反應(%)。

表28：基線CDAI：

	安慰劑	維多珠單抗	p值
TNF ITT：平均(標準差)	306.1 (55.43)	316.1 (52.63)	0.0945
總ITT：平均(標準差)	301.3 (54.97)	313.9 (53.17)	0.0153

表29：誘導研究結果：主要及關鍵次要終點

終點	TNF ITT (N=315)				總ITT (N=416)			
	PLA N=157	VDZ V=158	差異 (RR)	P值	PLA N=207	VDZ N=209	差異 (RR)	P值
主要第6週 緩解	12.1%	15.2%	3.0% (1.2)	0.4332				

第1次要第6週緩解					12.1%	19.1%	6.9% (1.6)	0.0478
第2次要第10週緩解	12.1%	26.6%	14.4% (2.2)	0.0012	13%	28.7%	15.5% (2.2)	<0.0001
持續緩解 (第6週及第10週兩者)	8.3%	12.0%	3.7% (1.4)	0.2755	8.2%	15.3%	7%(1.9)	0.0249
提高反應 (CDAI100)	22.3%	39.2%	16.9% (1.8)	0.0011				

表 30：未經抗-TNF- α 拮抗劑處理之患者之結果(n=101，總體之24%)

	安慰劑%	維多珠單抗%	差異%	95% CI
第6週緩解	12	31.4	19.1	(3.3, 35.0)
第10週緩解	16	35.3	19.2	(2.4, 35.8)

表 31：研究結果：關鍵子組--先前Tx失敗、ITT總體在第6週及第10週時之臨床緩解

子組	變數	安慰劑	VDZ	差異	95% CI
任何先前抗-TNF 失敗(ITT之75%)	N	156	155		
	第6週緩解 (%)	12.8	14.8	2	(-5.7, 9.7)
	第10週緩解 (%)	12.8	26.5	13.6	(4.9, 22.3)
先前免疫調節劑 失敗而非抗-TNF 失敗(21% ITT)	N	45	44		
	第6週緩解 (%)	11.1	31.8	20.7	(-0.5, 39.7)
	第10週緩解 (%)	15.6	31.8	16.3	(-1.1, 33.6)
僅先前皮質類固 醇失敗(3% ITT)	N	5	9		
	第6週緩解 (%)	0	33.3	33.3	(-23.9, 75.7)
	第10週緩解 (%)	0	44.4	44.4	(-13.4, 85.3)

研究顯示TNF- α 拮抗劑失敗患者需要3個劑量來誘導緩解。TNF- α

拮抗劑失敗患者之緩解率在第6週與第10週之間增加，但僅在維多珠單抗組(而非安慰劑)中如此。未經TNF- α 拮抗劑處理之患者之緩解率在第6週與第10週之間實質上不增加。在具有高疾病嚴重程度之TNF- α 拮抗劑失敗群體之中，43%從不對TNF- α 拮抗劑有反應，且45%喪失反應。

實例9：患有中度至重度活動性潰瘍性結腸炎之患者之反應及緩解的誘導及維持

設計包含兩個隨機化雙盲多中心研究之單一試驗以評估患有中度至重度活動性潰瘍性結腸炎之患者之反應及緩解的誘導及維持。人口資料及基線疾病特徵在所有治療組間相當。

使用靜脈內投與之誘導研究將安慰劑與維多珠單抗(在自於50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、0.06%聚山梨醇酯80、10%蔗糖(pH 6.3)中之60 mg/mL抗體之凍乾調配物復原之300 mg劑量下)相比較，終點為2個劑量之維多珠單抗後第6週時。

使用與誘導研究相同之調配物及投與途徑的維持研究將安慰劑與每四週給藥之維多珠單抗及安慰劑與每八週給藥之維多珠單抗相比較。此研究之終點為在第52週時分析誘導反應者群體。

在研究期間收集血液樣品以量測維多珠單抗之濃度。在誘導期結束時維多珠單抗之平均血清濃度為20 $\mu\text{g/mL}$ 至30 $\mu\text{g/mL}$ 。30分鐘靜脈內輸注300 mg劑量之後的穩態下平均維多珠單抗最低血清濃度在每8週1次方案中為9 $\mu\text{g/mL}$ 至13 $\mu\text{g/mL}$ 且在每4週1次方案中為35 $\mu\text{g/mL}$ 至40 $\mu\text{g/mL}$ 。在輸注結束時，維多珠單抗中值血漿濃度在每8週1次方案中為98 $\mu\text{g/mL}$ 至101 $\mu\text{g/mL}$ 且在每4週1次中為約129 $\mu\text{g/mL}$ 至137 $\mu\text{g/mL}$ 。

誘導及維持研究之反應的概述提供於表32至表35中。與安慰劑相比，在第6週時，顯著更大比例之維多珠單抗治療之患者達成臨床

反應、緩解及黏膜癒合(表32)。誘導期欲治療群體中有39%具有先前抗-TNF α 失敗。在具有先前抗-TNF失敗之患者及無先前抗-TNF暴露之患者中，維多珠單抗患者之臨床反應及緩解率均高於安慰劑患者。在直至第6週之初步分析中，安慰劑組中導致研究中止之不利事件(AE)、嚴重AE及不利事件之比率高於維多珠單抗組。與安慰劑患者相比，顯著更大比例之維多珠單抗患者在第52週時達成臨床緩解、黏膜癒合及無皮質類固醇之緩解，且達成持久反應及緩解(表33)。維持研究群體中有32%具有先前抗-TNF α 失敗。在TNF失敗及未經TNF處理之患者中，維多珠單抗之臨床緩解及持久臨床反應率均比安慰劑大。在第0週至第52週中，在安全性群體(N=895)中，不利事件(AE)、嚴重AE及嚴重感染之比率在維多珠單抗與安慰劑組之間類似。在維多珠單抗組中未觀測到機會性感染或腸道感染之比率的增加。

表32：誘導研究結果--主要及關鍵次要終點

功效終點	安慰劑	維多珠單抗	差異/RR	P值
臨床反應(%)	25.5%	47.1%	21.7%/1.8	<0.0001
臨床緩解(%)	5.4%	16.9%	11.5%/3.1	0.0010
黏膜癒合(%)	24.8%	40.9	16.1%/1.6	0.0013

表33：維持研究結果--主要及關鍵次要終點

功效終點	安慰劑N=126	VDZ Q8 N=122	VDZ Q4 N=125	差異/RR Q8相較於Pb Q4相較於Pb	P值
臨床緩解(%)	15.9	41.8	44.8	26.1/2.7 29.1/2.8	<0.0001 <0.0001
持久反應(%)	23.8	56.6	52.0	32.8/2.4	<0.0001

				28.5/2.2	<0.0001
黏膜癒合(%)	19.8	51.6	56.0	32.0/2.6 36.3/2.8	<0.0001 <0.0001
持久緩解(%)	8.7	20.5	24.0	11.8/2.4 15.3/2.8	0.0090 0.0011
無皮質類固醇之緩解(%)	13.9 n=72	31.4 n=70	45.2 N=73	17.6/2.3 31.4/3.3	0.0133 <0.0001

表34：誘導研究：ITT群體中具有先前抗-TNF- α 拮抗劑失敗及不具有抗-TNF暴露之患者在第6週時之臨床反應及緩解

具有先前抗-TNF- α 拮抗劑失敗之患者(39%)				
終點	安慰劑 N=63	維多珠單抗 N=82	差異	95% CI
臨床反應(%)	20.6	39.0	18.4	3.9, 32.9
臨床緩解(%)	3.2	9.8	6.6	-9.8, 22.8
不具有抗-TNF- α 拮抗劑暴露之患者(55%)				
	安慰劑 N=76	維多珠單抗 N=130	差異	95% CI
臨床反應(%)	26.3	53.1	26.8	13.7, 39.9
臨床緩解(%)	6.6	23.1	16.5	2.4, 30.2

表35：在第52週時之臨床緩解及持久臨床反應：ITT群體中具有先前抗-TNF- α 拮抗劑失敗或不具有抗-TNF- α 拮抗劑暴露之患者

具有先前抗-TNF- α 拮抗劑失敗之患者(32%)					
終點	安慰劑 N=38	VDZ 每8週1次 N=43	VDZ 每4週1次 N=40	差異 每8週1次相較於安慰劑 每4週1次相較於安慰劑	95% CI
臨床緩解(%)	5.3	37.2	35.0	31.9 29.7	10.3, 51.4 7.4, 49.4
持久臨床反	15.8	46.5	42.5	30.7	11.8, 49.6

應(%)				26.7	7.5, 45.9
不具有抗-TNF- α 拮抗劑暴露之患者(60%)					
	安慰劑 N=79	VDZ 每8週1次 N=72	VDZ 每4週1次 N=73	差異 每8週1次相較於安慰劑 每4週1次相較於安慰劑	95% CI
臨床緩解(%)	19.0	45.8	47.9	26.8 29.0	12.4, 41.2 14.6, 43.3
持久臨床反應(%)	26.6	65.3	56.2	38.7 29.6	24.0, 53.4 14.6, 44.6

實例10：患有中度至重度活動性克隆氏病之患者之反應及緩解的誘導及維持

設計包含兩個隨機化雙盲多中心研究之單一試驗以評估患有中度至重度活動性克隆氏病之患者之反應及緩解的誘導及維持。人口資料及基線疾病特徵在所有治療組間相當。

使用靜脈內投與之誘導研究將安慰劑與維多珠單抗(在自於50 mM組胺酸、125 mM精胺酸、0.06%聚山梨醇酯80、10%蔗糖(pH 6.3)中之60 mg/mL抗體之凍乾調配物復原之300 mg劑量下)相比較，終點為2個劑量之維多珠單抗後第6週時。

使用與誘導研究相同之調配物及投與途徑之維持研究將安慰劑與每四週給藥之維多珠單抗及安慰劑與每八週給藥之維多珠單抗相比較。此研究之終點為在第52週時分析誘導反應者群體。

令人驚訝的是，此研究顯示每4週1次及每8週1次組產生極類似結果。誘導及維持研究之反應的概述提供於表36至表39中。與安慰劑相比，顯著更大比例之維多珠單抗治療之患者達成臨床緩解及增加反應(表36)。在具有先前抗-TNF失敗之患者及無先前抗-TNF暴露之患者中，維多珠單抗患者之臨床緩解及提高反應率均高於安慰劑患者。不利事件(AE)、嚴重AE及嚴重感染之比率在維多珠單抗與安慰劑組之間類似。在維多珠單抗組中未觀測到機會性感染或腸道感染之比率的

增加。

表36：誘導研究結果--主要及次要終點

終點	安慰劑 N=148	維多珠單抗 N=220	調整差異/RR	P值
臨床緩解(%)	6.8%	14.5%	7.8%/2.1	0.0206
提高反應(%)	25.7%	31.4%	5.7%/1.2	0.2322
平均CRP變化 (µg/mL)	-3.6 N=147	-2.9 N=220		0.9288

表37：維持研究結果--主要及關鍵次要終點

功效終點	安慰劑N=153	VDZ Q8 N=154	VDZ Q4 N=154	調整差異/RR Q8相較於Pb Q4相較於Pb	P值
臨床緩解(%)	21.6	39.0	36.4	17.4/1.8 14.7/1.7	0.0007 0.0042
提高反應(%)	30.1	43.5	45.5	13.4/1.4 15.3/1.5	0.0132 0.0053
無皮質類固醇之 緩解(%)	15.9 N=82	31.7 N=82	28.8 N=80	15.9/2.0 12.9/1.8	0.0154 0.0450
持久緩解(%)	14.4	21.4	16.2	7.2/1.5 2.0/1.1	0.1036 0.6413

表38：ITT群體中具有先前抗-TNF-α拮抗劑失敗及不具有抗-TNF暴露之患者在第6週時之臨床緩解及提高反應

具有先前抗-TNF-α拮抗劑失敗之患者(48%)				
終點	安慰劑 N=70	維多珠單抗 N=105	差異	95% CI

臨床緩解(%)	4.3	10.5	6.2	(-9.1, 21.3)
提高反應(%)	22.9	23.8	1.0	(-11.8, 13.7)
不具有抗-TNF- α 拮抗劑暴露之患者(50%)				
	安慰劑 N=76	維多珠單抗 N=130109	差異	95% CI
臨床緩解(%)	9.2	17.4	8.2	(-1.4, 17.9)
提高反應(%)	30.3	42.2	11.9	(-1.9, 25.8)

表39：在第52週時之臨床緩解及提高反應：ITT群體中具有先前抗-TNF- α 拮抗劑失敗或不具有抗-TNF- α 拮抗劑暴露之患者

具有先前抗-TNF- α 拮抗劑失敗之患者(51%)					
終點	安慰劑 N=78	VDZ 每8週1次 N=82	VDZ 每4週1次 N=77	差異 每8週1次相較於安慰劑 每4週1次相較於安慰劑	95% CI
臨床緩解 (%)	12.8	28.0	27.3	15.2 14.5	(3.0, 27.5) (2.0, 26.9)
提高反應 (%)	20.5	29.3	37.7	8.8 17.1	(-4.6, 22.1) (3.1, 31.2)
不具有抗-TNF- α 拮抗劑暴露之患者(45%)					
	安慰劑 N=71	VDZ 每8週1次 N=66	VDZ 每4週1次 N=71	差異 每8週1次相較於安慰劑 每4週1次相較於安慰劑	95% CI
臨床緩解 (%)	26.8	51.1	46.5	24.8 19.7	(8.9, 40.6) (4.2, 35.2)
提高反應 (%)	38.0	60.6	53.5	22.6 15.5	(6.3, 38.9) (-0.7, 31.7)

表40.序列之概述

SEQ ID NO:	所示序列	描述
1	圖1	編碼人類化抗- α 4 β 7免疫球蛋白之重鏈之DNA

2	圖1	人類化抗- $\alpha 4\beta 7$ 免疫球蛋白之重鏈之胺基酸序列
3	圖2	編碼人類化抗- $\alpha 4\beta 7$ 免疫球蛋白之輕鏈之DNA
4	圖2	人類化抗- $\alpha 4\beta 7$ 免疫球蛋白之輕鏈之胺基酸序列
5	圖3	LDP-02之成熟人類化輕鏈
6	圖4	同屬人類 κ 輕鏈恆定區
7	圖4	同屬鼠類 κ 輕鏈恆定區
8	參考第30頁 SYWMH	重鏈小鼠ACT-1抗體之CDR1
9	參考第30頁 EIDPSESNTNYNQKFKG	重鏈小鼠ACT-1抗體之CDR2
10	參考第30頁 GGYDGWDYAIDY	重鏈小鼠ACT-1抗體之CDR3
11	參考第30頁 RSSQSLAKSYGN TYLS	輕鏈小鼠ACT-1抗體之CDR1
12	參考第30頁 GISNRFS	輕鏈小鼠ACT-1抗體之CDR2
13	參考第30頁 LQGTHQPYT	輕鏈小鼠ACT-1抗體之CDR3
14	圖7	人類GM607 CL抗體 κ 輕鏈可變區
15	圖7	人類21/28 CL抗體重鏈可變區

雖然本發明已參考其較佳實施例進行特別展示及描述，但熟習此項技術者應瞭解，可在不悖離由隨附申請專利範圍涵蓋之本發明之範疇的情況下在其中作出形式及細節之各種改變。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商千禧製藥公司

<120> 抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之調配物

<130> 079259-0616

<140> 101115712

<141> 2012/05/02

<150> 61/481,533; 61/550,545; 61/585,859

<151> 2011/05/02; 2011/10/24; 2012/01/12

<160> 15

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1445

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 1

```

gaattctcga gatcgatcic accatgggat ggagctgtat calccctctc ttggtagcaa      60
cagctiacagg tgtccacicc caggtgcaat tgggtcagtc tgggctgag gttaaagaagc      120
ctggggcttc agtgaaggatg tccctgcaagg gtctcggcia caccttcacc agctactgga      180
tgcatgggt gaggcaggcg cctggccaac gtctagagtg gatcggagag atlgatcctt      240
ctgagagtaa taclaactac aatcaaaaat tcaagggacg cgtcacatlg actgiagaca      300
tticcgttag cacagcctac atggagctct ccagcctgag atctgaggac actgcggtct      360
actattgtgc aagagggggt tacgacggat gggactatgc tattgactac tggggtcaag      420
gcacccctggt caccgtcagc tcagccfcca ccaagggccc atcggctctc ccctggcac      480
cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact      540
tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct      600
tcccggctgt cctacagicc tcaggactct actccctcag cagcglggig accgtgccct      660
ccagcagctt gggcaccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca      720
aggtggacaa gaaagttgag cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc      780
cagcacctga acicgcgggg gcaccgtcag tcctcctctt cccccaaaa cccaaggaca      840
ccctcatgat ctcccggacc cctgaggica catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag      900
accctgaggt caagltcaac tggctacgtg acggcglgga ggtgcataat gccaagacaa      960
agcccgggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgiggf cagcglcctc accgicctgc      1020
accaggactg gctgaatggc aaggagtlaca agtgcaaggf ctccaacaaa gccctcccag      1080
cccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca      1140
ccctgcccc atcccgggat gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggltca      1200
aaggcttcta tcccagcgac atcggcgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca      1260

```

actacaagac cacgcctccc gtgctggact cgcacggctc cttcttctc tacagcaagc 1320
 tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcattgtcc gtgatgcatg 1380
 aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaataatcta 1440
 gagca 1445

<210> 2
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 2
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asp Pro Ser Glu Ser Asn Thr Asn Tyr Asn
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Ile Ser Ala Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Trp Asp Tyr Ala Ile Asp
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
225 230 235 240

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
245 250 255

Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
260 265 270

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
275 280 285

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
290 295 300

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
305 310 315 320

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 3
<211> 751
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成聚核苷酸

<400> 3

gaatctcga gatcgatctc accatgggat ggagctgtat catcctcttc ttggtagcaa 60
 cagctacagg tglccactcc gaigtatgta tgactcaaag tccactctcc ctgcctgtca 120
 cccctggaga accagcttct atctcttgca ggtctagtca gagtcttgca aagagttatg 180
 ggaacacctt ttgtcttgg tacctgcaga agcctggcca gtcaccacag cttctcatct 240
 atgggatttc caacagattt tctgggggtc cagacaggtt cagtggcagt ggttcaggga 300
 cagalitcac actcaagatc tcgcgagtac aggcctgagga cgtggggagt tattactgct 360
 tacaaggtag acatcagccg tacacgltcg gacaggggac caaggtggag atcaagcgta 420
 cgggtggctc accatctgtc ttcactctcc cggcatctga tgagcagttg aaatctggaa 480
 ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tclatcccag agaggccaaa glacagtgga 540
 aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag lgtcacagag caggacagca 600
 aggacagcac ctacagcctc agcagcacc tgaccctgag caaagcagac tacgagaac 660
 acaaagtcta cgccctcgaa gtcacccatc agggcctgag ctgcccctc acaaagagct 720
 tcaacagggg agagtgtag tctagagcag c 751

<210> 4
 <211> 238
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 4
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30
 Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
 35 40 45
 Ala Lys Ser Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 50 55 60
 Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Ile Ser Asn Arg Phe Ser
 65 70 75 80
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 100 105 110
 Leu Gln Gly Thr His Gln Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
 115 120 125
 Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 130 135 140
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
 145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 5

<211> 219

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 5

Asp Val 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 Ala Lys Ser
20 25 30

Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
85 90 95

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

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

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> 6
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 7
<211> 107
<212> PRT
<213> 小鼠種

<400> 7
Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
35 40 45

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
65 70 75 80

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
85 90 95

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 100 105

<210> 8
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 小鼠種

<400> 8
 Ser Tyr Trp Met His
 1 5

<210> 9
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 小鼠種

<400> 9
 Glu Ile Asp Pro Ser Glu Ser Asn Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 10
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 小鼠種

<400> 10
 Gly Gly Tyr Asp Gly Trp Asp Tyr Ala Ile Asp Tyr
 1 5 10

<210> 11
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 小鼠種

<400> 11
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10 15

<210> 12
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 小鼠種

<400> 12
 Gly Ile Ser Asn Arg Phe Ser
 1 5

<210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 小鼠種

<400> 13
 Leu Gln Gly Thr His Gln Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 14
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 14
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

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

<210> 15
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 15
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

※ 申請案號：105130046 (由101115712分割)

※ 申請日：101/05/02

※IPC 分類：*A61K 39/395* (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 47/14 (2006.01)

A61K 47/18 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

【發明名稱】

抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之調配物

FORMULATION FOR ANTI- $\alpha 4\beta 7$ ANTIBODY

【中文】

本發明描述包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體及至少一種胺基酸之混合物的抗體調配物。所揭示之調配物具有改良之穩定性、減少之聚集體形成，且可延遲其中抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之降解，或呈現其任何組合。本發明進一步提供一種此等抗體調配物之安全給藥方案，其易於遵循，且在活體內產生治療有效量之抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。

【英文】

Antibody formulations are described comprising a mixture of a non-reducing sugar, an anti- $\alpha 4\beta 7$ antibody and at least one amino acid. The disclosed formulations have improved stability, reduced aggregate formation, and may retard degradation of the anti- $\alpha 4\beta 7$ antibody therein or exhibit any combinations thereof. The present invention further provides a safe dosing regimen of these antibody formulations that is easy to follow, and which results in a therapeutically effective amount of the anti- $\alpha 4\beta 7$ antibody in vivo.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（6A）圖。

【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

申請專利範圍

1. 一種穩定調配物，其包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體及至少一種游離胺基酸之混合物，其中該調配物呈固體形式，且非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1。
2. 如請求項1之調配物，其中該調配物進一步包含緩衝劑。
3. 如請求項1之調配物，其中該非還原糖係選自由以下組成之群：甘露糖醇、山梨糖醇、蔗糖、海藻糖及其組合。
4. 如請求項1之調配物，其中該游離胺基酸係選自由以下組成之群：組胺酸、丙胺酸、精胺酸、甘胺酸、麩胺酸及其組合。
5. 如請求項1之調配物，其中該調配物進一步包含界面活性劑。
6. 如請求項5之調配物，其中該界面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、泊洛沙姆(poloxamer)及其組合。
7. 如請求項1之調配物，其中該調配物經凍乾，且在凍乾之前包含至少約5%至約10%抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。
8. 如請求項1之調配物，其中該調配物在凍乾之前包含至少約6%抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體。
9. 如請求項1之調配物，其中該調配物包含約100 mM與約175 mM之間的游離胺基酸。
10. 如請求項1之調配物，其中該調配物為液體調配物。
11. 如請求項1之調配物，其中該調配物為乾燥調配物。
12. 如請求項1之調配物，其中該調配物在40°C、75% RH下穩定至少三個月。
13. 一種穩定液體調配物，其包含於水溶液中之非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體及至少一種游離胺基酸，其中非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫

耳比(莫耳：莫耳)大於600:1。

14. 如請求項13之液體調配物，其中該調配物進一步包含緩衝劑。
15. 如請求項13之液體調配物，其中該非還原糖係選自由以下組成之群：甘露糖醇、山梨糖醇、蔗糖、海藻糖及其組合。
16. 如請求項13之液體調配物，其中該胺基酸係選自由以下組成之群：組胺酸、丙胺酸、精胺酸、甘胺酸、麩胺酸及其組合。
17. 如請求項13之液體調配物，其中該調配物進一步包含界面活性劑。
18. 如請求項17之液體調配物，其中該界面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、泊洛沙姆及其組合。
19. 如請求項13之液體調配物，其中該調配物具有介於約5.5與約7.5之間的pH。
20. 如請求項13之液體調配物，其中該調配物具有介於約6.0與約6.5之間的pH。
21. 如請求項13之液體調配物，其中該調配物包含至少約60 mg/ml至約80 mg/ml抗- α 4 β 7抗體。
22. 如請求項13之液體調配物，其中該調配物包含至少約60 mg/ml抗- α 4 β 7抗體。
23. 一種穩定調配物，其包含至少約60 mg/ml至約80 mg/ml抗- α 4 β 7抗體、緩衝劑及至少約10%(w/w)糖，其中該調配物為液體調配物。
24. 如請求項23之調配物，其中該緩衝劑為組胺酸緩衝劑。
25. 如請求項23之調配物，其中該糖為蔗糖。
26. 一種穩定調配物，其包含至少約60 mg/ml抗- α 4 β 7抗體及至少約10%(w/w)非還原糖，其中該調配物經凍乾。
27. 如請求項26之調配物，其中該調配物進一步包含聚山梨醇酯

80。

28. 如請求項26之調配物，其中該非還原糖為蔗糖。
29. 一種穩定調配物，其包含非還原糖、抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體、組胺酸、精胺酸及聚山梨醇酯80之混合物，其中該調配物呈固體形式，且非還原糖與抗- $\alpha 4\beta 7$ 抗體之莫耳比(莫耳:莫耳)大於600:1。
30. 如請求項13至25中任一項之調配物，其中該調配物進一步包含金屬螯合劑。
31. 如請求項13至25中任一項之調配物，其中該調配物進一步包含抗氧化劑。
32. 如請求項1至31中任一項之調配物，其中該抗體為維多珠單抗(vedolizumab)。
33. 一種製造如請求項1至32中任一項之調配物之方法，該方法包含在初級乾燥期間維持產物溫度低於塌陷溫度(collapse temperature)。
34. 如請求項33之方法，其進一步包含退火步驟。
35. 一種測定凍乾調配物品質之方法，其包含檢驗該調配物外觀；測定復原時間；測定水分含量；測定存在之聚集體之百分比；測定存在之片段之百分比；及測定氧化/脫醯胺程度。
36. 如請求項35之方法，其進一步包含測定該調配物之生物活性及效能。
37. 一種治療罹患發炎性腸病之人類患者之方法，其中該方法包含以下步驟：

向罹患發炎性腸病之患者投與對於人類 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段，

其中根據以下給藥方案向該患者投與該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段：

a.靜脈內輸注初始劑量300 mg之該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段；

b.隨後在該初始劑量之後約兩週，靜脈內輸注第二後續劑量300 mg之該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段；

c.隨後在該初始劑量之後約六週，靜脈內輸注第三後續劑量300 mg之該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段；

d.隨後在該第三後續劑量之該人類化抗體之後，視需要，每四週或每八週靜脈內輸注第四後續劑量300 mg之該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段；

其中該給藥方案誘導該患者發炎性腸病之臨床反應及臨床緩解；及

另外其中該人類化免疫球蛋白或抗原結合片段包含非人類來源之抗原結合區及至少一部分人類來源之抗體，其中該人類化免疫球蛋白或抗原結合片段對於 $\alpha 4\beta 7$ 複合物具有結合特異性，其中該抗原結合區包含以下CDR：

輕鏈：CDR1 SEQ ID NO:9

CDR2 SEQ ID NO:10

CDR3 SEQ ID NO:11

重鏈：CDR1 SEQ ID NO:12

CDR2 SEQ ID NO:13

CDR3 SEQ ID NO:14。

38. 如請求項37之方法，其中該患者對用免疫調節劑、腫瘤壞死因子- α 拮抗劑中之至少一者或其組合的治療缺乏足夠反應、喪失反應或不耐受。
39. 如請求項37之方法，其中發炎性腸病為克隆氏病(Crohn's disease)或潰瘍性結腸炎。

40. 如請求項39之方法，其中該發炎性腸病為潰瘍性結腸炎。
41. 如請求項39之方法，其中該發炎性腸病為中度至重度活動性潰瘍性結腸炎。
42. 如請求項41之方法，其中該給藥方案使得罹患中度至重度活動性潰瘍性結腸炎之患者之黏膜癒合。
43. 如請求項37之方法，其中該給藥方案使得該患者之皮質類固醇使用減少、消除，或減少及消除。
44. 如請求項37之方法，其中該患者先前已接受至少一種用於該發炎性腸病之皮質類固醇的治療。
45. 如請求項37之方法，其中以約1.0 mg/mL至約1.4 mg/ mL濃度之最終劑型投與該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段。
46. 如請求項45之方法，其中以約1.2 mg/mL之最終劑型投與該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段。
47. 如請求項37之方法，其中在約30分鐘內向該患者投與該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段。
48. 如請求項45之方法，其中該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段係自凍乾調配物復原。
49. 如請求項45之方法，另外其中該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段經復原以包含穩定液體調配物。
50. 如請求項1之方法，其中該給藥方案不改變接受該治療之患者腦脊髓液中CD4與CD8之比率。
51. 一種用於治療性治療發炎性腸病之給藥方案，其中該方法包含以下步驟：

向罹患發炎性腸病之患者投與對於人類 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段，

其中根據以下給藥方案向該患者投與該人類化免疫球蛋白或

其抗原結合片段：

a.靜脈內輸注初始劑量300 mg之該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段；

b.隨後在該初始劑量之後約兩週，靜脈內輸注第二後續劑量300 mg之該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段；

c.隨後在該初始劑量之後約六週，靜脈內輸注第三後續劑量300 mg之該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段；

d.隨後在該第三後續劑量之該人類化抗體之後，視需要，每四週或每八週靜脈內輸注第四後續劑量300 mg之該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段；

其中該給藥方案誘導該患者發炎症腸病之臨床反應及臨床緩解；及

另外其中該人類化免疫球蛋白或抗原結合片段包含非人類來源之抗原結合區及至少一部分人類來源之抗體，其中該人類化免疫球蛋白或抗原結合片段對於 $\alpha 4\beta 7$ 複合物具有結合特異性，其中該抗原結合區包含下述互補決定區(CDR)：

輕鏈：CDR1	SEQ ID NO:9
CDR2	SEQ ID NO:10
CDR3	SEQ ID NO:11
重鏈：CDR1	SEQ ID NO:12
CDR2	SEQ ID NO:13
CDR3	SEQ ID NO:14。

52. 如請求項51之給藥方案，其中該患者對用免疫調節劑、腫瘤壞死因子- α 拮抗劑中之至少一者或其組合的治療缺乏足夠反應、喪失反應或不耐受。

53. 如請求項51之給藥方案，其中發炎症腸病為克隆氏病或潰瘍性

結腸炎。

54. 如請求項52之給藥方案，其中該發炎性腸病為潰瘍性結腸炎。
55. 如請求項54之給藥方案，其中該發炎性腸病為中度至重度活動性潰瘍性結腸炎。
56. 如請求項55之給藥方案，其中該給藥方案使得罹患中度至重度活動性潰瘍性結腸炎之患者之黏膜癒合。
57. 如請求項51之給藥方案，其中該給藥方案使得該患者之皮質類固醇使用減少、消除，或減少及消除。
58. 如請求項51之給藥方案，其中該患者先前已接受至少一種用於該發炎性腸病之皮質類固醇的治療。
59. 如請求項51之給藥方案，其中以約1.0 mg/mL至約1.4 mg/mL濃度之最終劑型投與該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段。
60. 如請求項59之給藥方案，其中以約1.2 mg/mL之最終劑型投與該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段。
61. 如請求項51之給藥方案，其中在約30分鐘內向該患者投與該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段。
62. 如請求項61之給藥方案，其中該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段係自凍乾調配物復原。
63. 如請求項61之給藥方案，另外其中該人類化免疫球蛋白或其抗原結合片段經復原以包含穩定液體調配物。
64. 如請求項51之給藥方案，其中該給藥方案不改變接受該治療之患者腦脊髓液中CD4與CD8之比率。
65. 如請求項51之給藥方案，其中該患者為65歲或65歲以上之人，且另外其中該患者不需要調整該給藥方案。
66. 如請求項51之給藥方案，其中該患者為65歲或65歲以上之人，且另外其中該患者不需要調整該給藥方案。

67. 如請求項1之調配物，其中該游離胺基酸與抗體之莫耳比為至少250:1。
68. 如請求項13之調配物，其中該游離胺基酸與抗體之莫耳比為至少250:1。

圖式

新LDP02重鏈DNA——含有選殖位點(小寫)、Kozak序列
(大寫)及前導序列(小寫)

gaattctcgagatcgaatCTCACCAatgggatggagctgtatcatcctcttcttggtagcaacagctacaggtgtccactcccag
gtgCAATTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTTAAGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAA
GGTGTCTGCAAGGGTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCATTGGG
TGAGGCAGGCGCCTGGCCAACGTCTAGAGTGGATCGGAGAGATTGATCCTTC
TGAGAGTAATACTAATACTACAATCAAAAAATCAAGGGACGCGTCACATTGACT
GTAGACATTTCCGCTAGCACAGCCTACATGGAGCTCTCCAGCCTGAGATCTG
AGGACACTGCGGTCTACTATTGTGCAAGAGGGGGTTACGACGGATGGGACTA
TGCTATTGACTACTTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCAACCGTCAGCTCAGCCTCCA
CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG
GGCACAGCGGCCCTGGGGTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCTGGAAGTCAAGGCACCCTGACCAGCGCGGTGCACACCTTCCCCGGC
TGTCCTACAGTCTTCAAGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCGTGCCCT
CCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG
CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAATCAC
ACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCACCGTCAGTCTTCC
TCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC
ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACT
GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA'AA'GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCA
GGACTGGCTGAATGGC
AAGGAGTACAAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGA
AAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACACCCT
GCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCC'GACC'IGCCTG
GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC
AGCCGGAGAACAAC'ACAAGACCACGCCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCTC
CTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG
AACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCGA
GAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAtaatctagagca

新LDP02重鏈蛋白(VHL、VH與人類IgG1-FcRmut之間的間隙)

MGWSCILFLVATATGVHS

QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSKGSGYFTSYWMHWVRQAPGQRLEWIGEIDP
SESNTNYNQKFKGRVTI.TVDISASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGYDGWDY
AIDYWGQGTLVTVSS

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PGK

圖 1

新LDP02輕鏈DNA——含有選殖位點(小寫)、Kozak序列(大寫)及前導序列(小寫)

```
gaattcgcgagatcgatCTCACCCatgggatggagctgtatcatcctcttcttgtagcaacagctacaggtgccactccgat
GTAGTGATGACTCAAAGTCCACTCTCCCTGCCTGTCACCCCTGGAGAACCAGC
TTCTATCTCTTGCAGGTCTAGTCAGAGTCTTGCAAAGAGTTATGGGAACACCT
ATTTGTCTTGGTACCTGCAGAAGCCTGGCCAGTCTCCACAGCTCCTCATCTAT
GGGATTTCCAACAGATTTTCTGGGGTGCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGTT
CAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCTCGCGAGTAGAGGCTGAGGACGTGGG
AGTGTATTACTGCTTACAAGGTACACATCAGCCGTACACGTTCCGACAGGGG
ACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC
GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTGTGTGCTTGTGA
ATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCT
CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG
CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAA
CACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA
CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTtagctagagcagc
```

新LDP02輕鏈蛋白(VKL、VK與人類C κ 之間の間隙)

```
MGWSCILFLVATATGVHS
DVVMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLAKSYGNTYLSWYLQKPGQSPQLLIYGI
SNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLOGTHQPYTFGGQGTKVEI
K
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
```

圖 2

成對 新MLN02-沒有信號 LDP-02- 沒有信號 .txt

```

A 1 DVVMTQSP LSLPVT PGEPA SISC RSSQSL AKSYGN TYLSWY LQKPGQ SPQ 50
      |||
B 1 DVVMTQSP LSLPVT PGEPA SISC RSSQSL AKSYGN TYLSWY LQKPGQ SPQ 50

51 LLIYGISNR FSGV PDRF SSGSGT DFTL KISRVE AEDVG VVY CLQGT HQP 100
      |||
51 LLIYGISNR FSGV PDRF SSGSGT DFTL KISRVE AEDVG VVY CLQGT HQP 100

101 YTFGQGT KVEIKR TVAAPS VFIF PPSDE QLKSGT ASVVCL LNNFY PREAK 150
      |||
101 YTFGQGT KVEIKR ADAAPS VFIF PPSDE QLKSGT ASVVCL LNNFY PREAK 150

151 VQWKVDNAL QSGNSQ ESVTEQ DSKDST YSLSS TLTL SKADY EKHKV YACE 200
      |||
151 VQWKVDNAL QSGNSQ ESVTEQ DSKDST YSLSS TLTL SKADY EKHKV YACE 200

201 VTHQGLSS PVTKS FNRGEC 219
      |||
201 VTHQGLSS PVTKS FNRGEC 219

```

圖 3

成對人類κ恆定區

MI:鼠類κ恆定區.txt

```

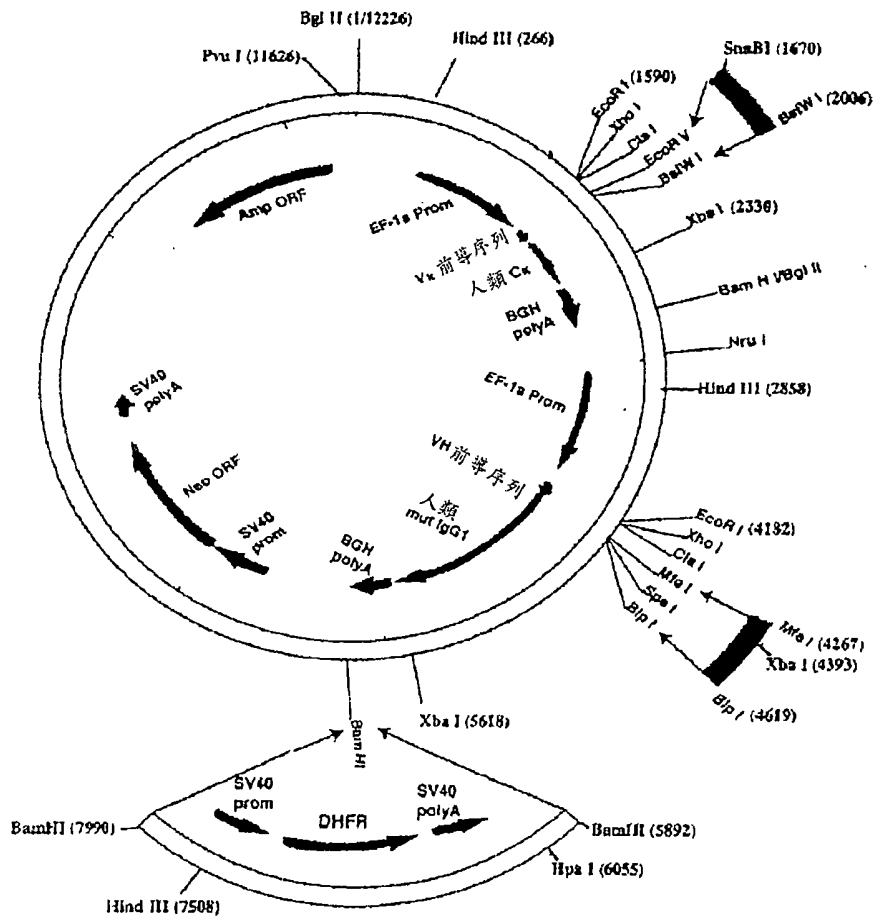
A 1 rtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalqsg 50
    | |||. | |||| | | | |||| | |||||:: |.||:| . .
B 1 radaaptvsifppsseqltsggasvvcflnnfypkdinvkwwkidgserqn 50

51 nsqesvteqdsksdstyslsstltltskadyekkhkvyacevthqglsspvtk 100
    | |:|||||||:|||||. | :||:| | | | | . .||: |
51 gvlnswdqdsksdstysmsstltltkdeyerhnsytceathktstspivk 100

101 sfnrgec 107
    |||| |
101 sfnrnec 107

```

圖 4



pLKTOK38D

圖 5

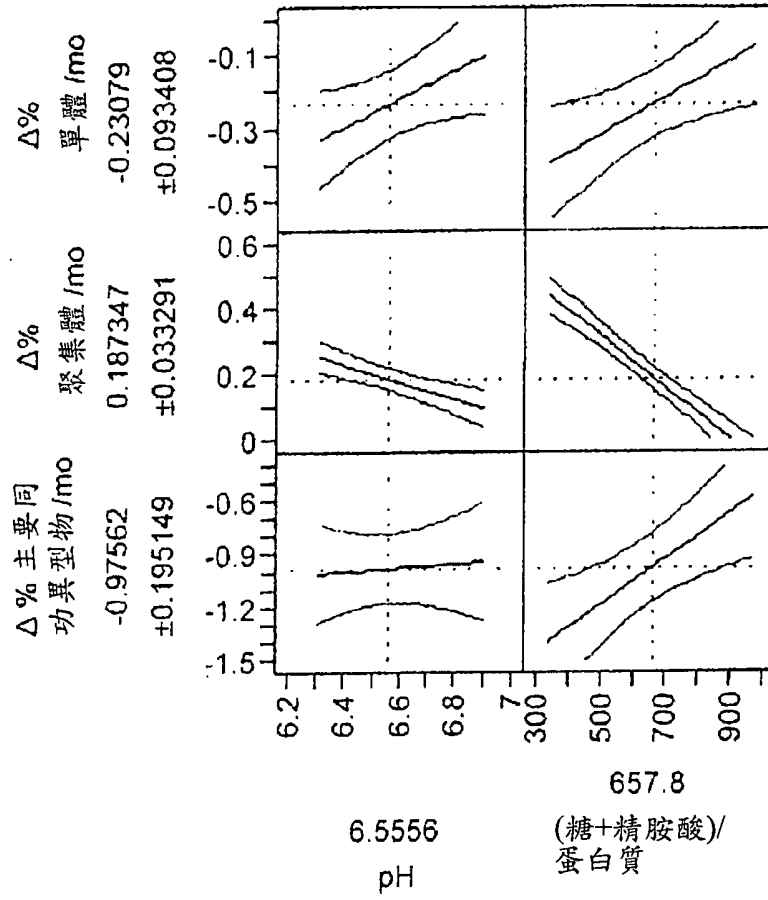


圖 6A

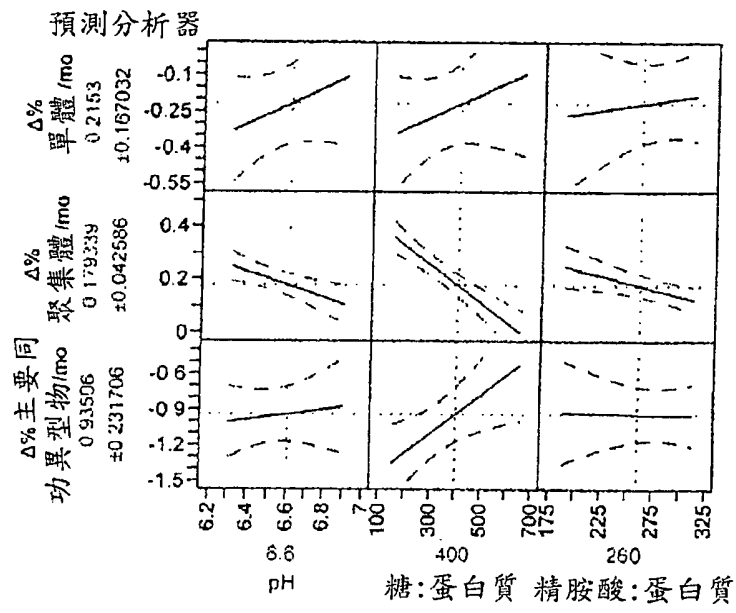


圖 6B

GM607'CL抗體
K輕鏈可變區
SEQ ID NO:14

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

A

21/28'CL抗體
重鏈可變區
SEQ ID NO:15

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

B

圖 7

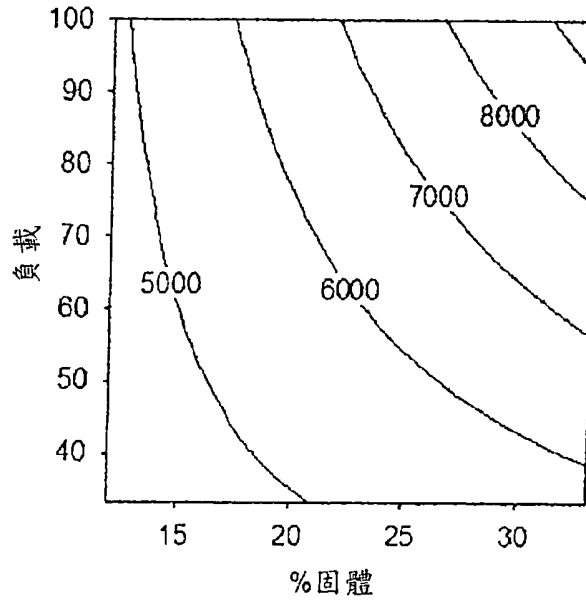


圖 8

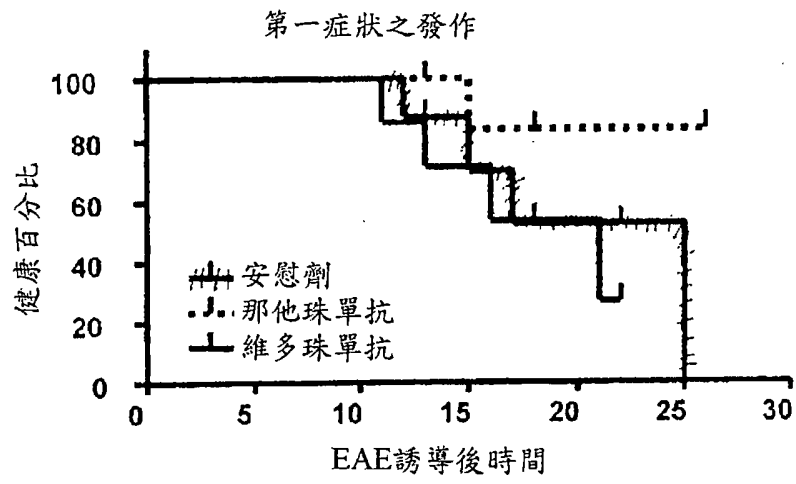


圖 9

申請專利範圍

1. 一種對於人類 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之抗體之用途，其用於製備維持人類患者潰瘍性結腸炎(ulcerative colitis)或克隆氏病(Crohn's disease)之臨床緩解之藥劑，

其中該藥劑包含劑量300 mg之該抗體，且該藥劑係以每四週或每八週投與該人類患者，且

其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含SEQ ID NO:8所示之互補決定區1 (CDR1)、SEQ ID NO:9所示之CDR2及SEQ ID NO:10所示之CDR3；及包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO:11所示之CDR1、SEQ ID NO:12所示之CDR2及SEQ ID NO:13所示之CDR3。

2. 一種對於人類 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之抗體之用途，其用於製備誘導人類患者潰瘍性結腸炎或克隆氏病之臨床緩解之藥劑，

其中該藥劑包含劑量300 mg之該抗體，且該藥劑係依據包含以下之給藥方案投與該人類患者：投與初始劑量之該抗體；於初始劑量之後兩週時投與第二劑量之該抗體；且於初始劑量之後六週時投與第三劑量之該抗體，且

其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含SEQ ID NO:8所示之CDR1、SEQ ID NO:9所示之CDR2及SEQ ID NO:10所示之CDR3；及包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO:11所示之CDR1、SEQ ID NO:12所示之CDR2及SEQ ID NO:13所示之CDR3。

3. 如請求項1或2之用途，其中該潰瘍性結腸炎為中度至重度活動性潰瘍性結腸炎。

4. 如請求項1或2之用途，其中該克隆氏病為中度至重度活動性克隆氏病。
5. 如請求項1或2之用途，其中該人類患者對腫瘤壞死因子- α 拮抗劑缺乏足夠反應、喪失反應或不耐受。
6. 如請求項3之用途，其中該人類患者對腫瘤壞死因子- α 拮抗劑缺乏足夠反應、喪失反應或不耐受。
7. 如請求項4之用途，其中該人類患者對腫瘤壞死因子- α 拮抗劑缺乏足夠反應、喪失反應或不耐受。
8. 一種對於人類 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之抗體之用途，其係用於製備治療人類患者之潰瘍性結腸炎或克隆氏病之藥劑，
其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含SEQ ID NO:8所示之CDR1、SEQ ID NO:9所示之CDR2及SEQ ID NO:10所示之CDR3；及包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO:11所示之CDR1、SEQ ID NO:12所示之CDR2及SEQ ID NO:13所示之CDR3；且
其中該人類患者對腫瘤壞死因子- α 拮抗劑缺乏足夠反應、喪失反應或不耐受。
9. 一種對於人類 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之抗體之用途，其係用於製備治療人類患者之潰瘍性結腸炎或克隆氏病之藥劑，
其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含SEQ ID NO:8所示之CDR1、SEQ ID NO:9所示之CDR2及SEQ ID NO:10所示之CDR3；及包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO:11所示之CDR1、SEQ ID NO:12所示之CDR2及SEQ ID NO:13所示之CDR3；且
其中該人類患者先前已接受至少一種用以治療該發炎性腸病或克隆氏病之皮質類固醇。

10. 如請求項1、2、8及9中任一項之用途，其中該抗體包含SEQ ID NO:2之胺基酸20至140之重鏈可變區序列；及包含SEQ ID NO:4之胺基酸20至131之輕鏈可變區序列。
11. 如請求項1、2、8及9中任一項之用途，其中該抗體為維多珠單抗(vedolizumab)。
12. 如請求項1、2、8及9中任一項之用途，其中該藥劑係以靜脈內投與至該人類患者。
13. 如請求項3之用途，其中該藥劑係以靜脈內投與至該人類患者。
14. 如請求項12之用途，其中該藥劑係作為輸液在約30分鐘內投與至該人類患者。
15. 如請求項3之用途，其中投與該藥劑至該人類患者使黏膜癒合。
16. 如請求項1、2、8及9中任一項之用途，其中投與該藥劑至該人類患者使得該人類患者使用之皮質類固醇減少、消除，或減少及消除。
17. 如請求項1、2、8及9中任一項之用途，其中該藥劑係以約1.0 mg/mL至約1.4 mg/ mL之該抗體之濃度投與。
18. 如請求項1、2、8及9中任一項之用途，其中投與該藥劑至該人類患者不改變該人類患者之腦脊髓液中CD4⁺淋巴細胞與CD8⁺淋巴細胞之比率。
19. 如請求項1、2、8及9中任一項之用途，其中該人類患者為65歲或65歲以上。
20. 一種組合物，其用於維持人類患者潰瘍性結腸炎或克隆氏病之臨床緩解，該組合物包含一種劑量300 mg之對於人類 $\alpha 4\beta 7$ 整合素具有結合特異性之抗體，
其中該組合物係以每四週或每八週投與該人類患者，且
其中該抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含SEQ ID

NO:8 所示之 CDR1、SEQ ID NO:9 所示之 CDR2 及 SEQ ID NO:10 所示之 CDR3；及包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO:11 所示之 CDR1、SEQ ID NO:12 所示之 CDR2 及 SEQ ID NO:13 所示之 CDR3。