(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114340675 A
(43)申请公布日 2022.04.12

(21)申请号 202080062944.5

(22)申请日 2020.09.10

(30)优先权数据
62/899,706 2019.09.12 US
62/930,527 2019.11.04 US
62/931,032 2019.11.05 US
63/005,071 2020.04.03 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.03.08

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/050072 2020.09.10

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/050645 EN 2021.03.18

(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司
地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 M·D·卡西诺

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
A61P 13/12(2006.01)
A61P 37/06(2006.01)

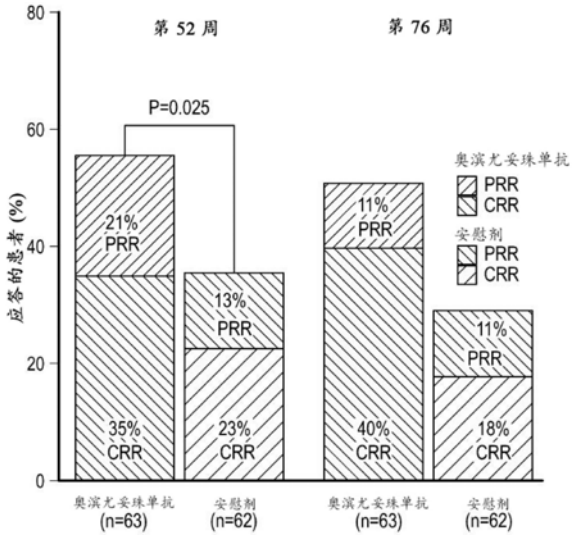
权利要求书14页 说明书81页
序列表22页 附图17页

(54)发明名称

治疗狼疮性肾炎的组合物和方法

(57)摘要

本公开提供了用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎的方法。在一些实施方案中,所述方法包括向所述个体施用有效量的II型抗CD20抗体。在其它方面,本公开提供了用于治疗膜性肾病的方法。



CN 114340675 A

1.一种用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎的方法,所述方法包括向所述个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第三抗体暴露;

其中所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;

其中所述第三抗体暴露直至所述第二抗体暴露后约24周至约32周才提供;

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第二抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;

其中所述第三抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第三抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露;并且

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体。

3.根据权利要求1或权利要求2所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体,并且其中所述第一抗体暴露的所述第二剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。

4.根据权利要求3所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体,并且其中所述第一抗体暴露的所述第二剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约2周才提供。

5.根据权利要求2至4中任一项所述的方法,其中所述第一抗体暴露的所述第一剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

6.根据权利要求2至5中任一项所述的方法,其中所述第一抗体暴露的所述第二剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中所述第二抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述第二抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体,并且其中所述第二抗体暴露的所述第二剂直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。

9.根据权利要求8所述的方法,其中所述第二抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体,并且其中所述第二抗体暴露的所述第二剂直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约2周才提供。

10.根据权利要求7至9中任一项所述的方法,其中所述第二抗体暴露的所述第一剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

11.根据权利要求7至10中任一项所述的方法,其中所述第二抗体暴露的所述第二剂为

约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

12.根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中所述第三抗体暴露包含单剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体。

13.根据权利要求12所述的方法,其中所述第三抗体暴露的所述单剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

14.根据权利要求12或权利要求13所述的方法,其中所述第三抗体暴露的所述单剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约52周或直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约28周才提供。

15.根据权利要求1至14中任一项所述的方法,其中所述个体患有狼疮性肾炎。

16.根据权利要求1至14中任一项所述的方法,其中所述个体患有III型或IV型狼疮性肾炎。

17.根据权利要求1至14中任一项所述的方法,其中所述个体处于发展成III型或IV型狼疮性肾炎的风险。

18.根据权利要求1至14中任一项所述的方法,其中所述个体患有III(C)型或IV(C)型狼疮性肾炎。

19.根据权利要求1至14中任一项所述的方法,其中所述个体患有伴发性V型狼疮性肾炎。

20.根据权利要求1至19中任一项所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的免疫抑制剂。

21.根据权利要求20所述的方法,其中所述免疫抑制剂包括霉酚酸、其衍生物或其盐。

22.根据权利要求21所述的方法,其中所述免疫抑制剂包括霉酚酸酯。

23.根据权利要求1至22中任一项所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的糖皮质激素或皮质类固醇。

24.根据权利要求23所述的方法,其中所述糖皮质激素或皮质类固醇包括甲泼尼龙。

25.根据权利要求23所述的方法,其中所述糖皮质激素或皮质类固醇包括强的松。

26.根据权利要求1至25中任一项所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的抗组胺药。

27.根据权利要求26所述的方法,其中所述抗组胺药包括苯海拉明。

28.根据权利要求1至27中任一项所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的非甾体抗炎药(NSAID)。

29.根据权利要求28所述的方法,其中所述NSAID包括对乙酰氨基酚。

30.根据权利要求1至29中任一项所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的抗高血压剂。

31.根据权利要求30所述的方法,其中所述抗高血压剂为血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂或血管紧张素受体阻断剂。

32.根据权利要求1至31中任一项所述的方法,其进一步包括向所述个体施用标准治疗。

33.根据权利要求32所述的方法,其中所述标准治疗包括用血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素受体阻断剂、环磷酰胺、霉酚酸酯、硫唑嘌呤和糖皮质激素或皮质类固醇

中的一者或多者进行的治疗。

34.根据权利要求1至33中任一项所述的方法,其中所述方法导致所述个体的完全肾脏缓解(CRR)。

35.根据权利要求1至33中任一项所述的方法,其中所述方法导致所述个体的部分肾脏缓解(PRR)。

36.根据权利要求1至35中任一项所述的方法,其中所述方法导致所述个体的循环外周B细胞消耗。

37.根据权利要求36所述的方法,其中所述循环外周B细胞为CD19+B细胞。

38.根据权利要求1至37中任一项所述的方法,其中施用所述II型抗CD20抗体后,B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平。

39.根据权利要求38所述的方法,其中B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约1个细胞/μL或更少的量或以约0.5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平。

40.根据权利要求36至39中任一项所述的方法,其中所述消耗在所述第一抗体暴露后实现。

41.根据权利要求36至40中任一项所述的方法,其中B细胞消耗在所述第一抗体暴露的所述第一剂后持续至少52周。

42.根据权利要求1至41中任一项所述的方法,其中施用所述II型抗CD20抗体后,相较于施用所述II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量,或相较于对未接受II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量,所述个体的循环外周B细胞消耗至少约90%。

43.根据权利要求1至42中任一项所述的方法,其中所述个体为人。

44.一种用于消耗个体的循环外周B细胞的方法,其包括向所述个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第三抗体暴露;

其中所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;

其中所述第三抗体暴露直至所述第二抗体暴露后约24周至约32周才提供;

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第二抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;

其中所述第三抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第三抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露;

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;并且

其中施用所述II型抗CD20抗体后,B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平。

45.根据权利要求44所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗

CD20抗体。

46.根据权利要求44或权利要求45所述的方法，其中所述第一抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第一抗体暴露的所述第二剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。

47.根据权利要求46所述的方法，其中所述第一抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第一抗体暴露的所述第二剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约2周才提供。

48.根据权利要求45至47中任一项所述的方法，其中所述第一抗体暴露的所述第一剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

49.根据权利要求45至48中任一项所述的方法，其中所述第一抗体暴露的所述第二剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

50.根据权利要求44至49中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体。

51.根据权利要求44至50中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第二抗体暴露的所述第二剂直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。

52.根据权利要求51所述的方法，其中所述第二抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第二抗体暴露的所述第二剂直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约2周才提供。

53.根据权利要求50至52中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露的所述第一剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

54.根据权利要求50至53中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露的所述第二剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

55.根据权利要求44至54中任一项所述的方法，其中所述第三抗体暴露包含单剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体。

56.根据权利要求55所述的方法，其中所述第三抗体暴露的所述单剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

57.根据权利要求55或权利要求56所述的方法，其中所述第三抗体暴露的所述单剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约52周或直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约28周才提供。

58.根据权利要求44至57中任一项所述的方法，其中所述个体患有狼疮性肾炎。

59.根据权利要求44至57中任一项所述的方法，其中所述个体患有III型或IV型狼疮性肾炎。

60.根据权利要求44至57中任一项所述的方法，其中所述个体处于发展成III型或IV型狼疮性肾炎的风险。

61.根据权利要求44至57中任一项所述的方法，其中所述个体患有III(C)型或IV(C)型狼疮性肾炎。

62.根据权利要求44至57中任一项所述的方法，其中所述个体患有伴发性V型狼疮性肾

炎。

63.根据权利要求44至62中任一项所述的方法,其中所述循环外周B细胞为CD19+B细胞。

64.根据权利要求44至63中任一项所述的方法,其中B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约1个细胞/μL或更少的量或以约0.5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平。

65.根据权利要求44至64中任一项所述的方法,其中所述消耗在所述第一抗体暴露后实现。

66.根据权利要求44至65中任一项所述的方法,其中B细胞消耗在所述第一抗体暴露的所述第一剂后持续至少52周。

67.根据权利要求44至66中任一项所述的方法,其中施用所述II型抗CD20抗体后,相较于施用所述II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量,或相较于对未接受II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量,所述个体的循环外周B细胞消耗至少约90%。

68.根据权利要求44至67中任一项所述的方法,其中所述个体为人。

69.根据权利要求1至68中任一项所述的方法,其中所述第一抗体暴露和/或所述第二抗体暴露和/或所述第三抗体暴露经由静脉内施用。

70.根据权利要求1至69中任一项所述的方法,其中所述抗体是人源化的。

71.根据权利要求1至70中任一项所述的方法,其中所述抗体是去岩藻糖基化的。

72.根据权利要求1至71中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体的所述重链包含重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

73.根据权利要求1至72中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体的所述轻链包含轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

74.根据权利要求1至73中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体的所述重链可变区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,并且所述II型抗CD20抗体的所述轻链可变区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

75.根据权利要求1至74中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体的所述重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,并且所述II型抗CD20抗体的所述轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

76.根据权利要求1至69中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗。

77.根据权利要求1或权利要求44所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含在治疗的第1天和第15天的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述第二抗体暴露包含在治疗的第168天和第182天的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述第三抗体暴露包含在治疗的第364天的一剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;并且其中所述个体为人。

78.根据权利要求1或权利要求44所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含在治疗的第1天和第15天的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述第二抗体暴露包含在治疗的第168天和第182天的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述第三抗体暴露包含在治疗的第350天和第364天的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述II型抗CD20抗体为

奥滨尤妥珠单抗;并且其中所述个体为人。

79.根据权利要求1或权利要求44所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述第三抗体暴露包含在治疗的第52周的一剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;并且其中所述个体为人。

80.根据权利要求1或权利要求44所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述第三抗体暴露包含在治疗的第50周和第52周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;其中所述II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;并且其中所述个体为人。

81.一种用于消耗个体的循环外周B细胞的方法,所述方法包括向所述个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露;

其中所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第二抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;并且

其中施用所述II型抗CD20抗体后,B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平,所述消耗在所述第一抗体暴露的所述第一剂后持续至少52周。

82.根据权利要求81所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体。

83.根据权利要求81或权利要求82所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体,并且其中所述第一抗体暴露的所述第二剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。

84.根据权利要求83所述的方法,其中所述第一抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体,并且其中所述第一抗体暴露的所述第二剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约2周才提供。

85.根据权利要求82至84中任一项所述的方法,其中所述第一抗体暴露的所述第一剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

86.根据权利要求82至85中任一项所述的方法,其中所述第一抗体暴露的所述第二剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

87.根据权利要求81至86中任一项所述的方法,其中所述第二抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间

的所述II型抗CD20抗体。

88.根据权利要求81至87中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第二抗体暴露的所述第二剂直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。

89.根据权利要求88所述的方法，其中所述第二抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第二抗体暴露的所述第二剂直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约2周才提供。

90.根据权利要求87至89中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露的所述第一剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

91.根据权利要求87至90中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露的所述第二剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

92.根据权利要求81至91中任一项所述的方法，其中所述个体患有狼疮性肾炎。

93.根据权利要求81至91中任一项所述的方法，其中所述个体患有III型或IV型狼疮性肾炎。

94.根据权利要求81至91中任一项所述的方法，其中所述个体处于发展成III型或IV型狼疮性肾炎的风险。

95.根据权利要求81至91中任一项所述的方法，其中所述个体患有III(C)型或IV(C)型狼疮性肾炎。

96.根据权利要求81至91中任一项所述的方法，其中所述个体患有伴发性V型狼疮性肾炎。

97.根据权利要求81至91中任一项所述的方法，其中所述个体患有膜性肾病(MN)。

98.根据权利要求81至91中任一项所述的方法，其中所述个体处于发展成膜性肾病(MN)的风险。

99.根据权利要求97或权利要求98所述的方法，其中所述膜性肾病为原发性膜性肾病(pMN)。

100.根据权利要求81至99中任一项所述的方法，其中所述循环外周B细胞为CD19+B细胞。

101.根据权利要求81至100中任一项所述的方法，其中B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约1个细胞/μL或更少的量或以约0.5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平。

102.根据权利要求81至101中任一项所述的方法，其中所述消耗在所述第一抗体暴露后实现。

103.根据权利要求81至102中任一项所述的方法，其中B细胞消耗在所述第一抗体暴露的所述第一剂后持续至少52周。

104.根据权利要求81至103中任一项所述的方法，其中施用所述II型抗CD20抗体后，相较于施用所述II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量，或相较于对未接受II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量，所述个体的循环外周B细胞消耗至少约90％。

105.根据权利要求81至104中任一项所述的方法，其中所述第一抗体暴露和/或所述第二抗体暴露经由静脉内施用。

106.根据权利要求81至105中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体为人源化抗体。

107.根据权利要求81至106中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体是去岩藻糖基化的。

108.根据权利要求81至107中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体的所述重链可变区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

109.根据权利要求81至108中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体的所述轻链可变区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

110.根据权利要求81至107中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体的所述重链可变区包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,并且所述II型抗CD20抗体的所述轻链可变区包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

111.根据权利要求81至110中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体的所述重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,并且所述II型抗CD20抗体的所述轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

112.根据权利要求81至105中任一项所述的方法,其中所述II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗。

113.根据权利要求81至112中任一项所述的方法,其中所述个体为人。

114.一种用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎的方法,其包括向所述个体静脉内施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、第二抗体暴露和第三抗体暴露;

其中所述第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;

其中所述第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;

其中所述第三抗体暴露包含在治疗的第52周的一剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;并且

其中所述个体为人。

115.一种用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎的方法,所述方法包括向所述个体静脉内施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、第二抗体暴露和第三抗体暴露;

其中所述第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;

其中所述第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;

其中所述第三抗体暴露包含在治疗的第50周和第52周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;并且

其中所述个体为人。

116.一种用于消耗个体的循环外周B细胞的方法，所述方法包括向所述个体静脉内施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、第二抗体暴露和第三抗体暴露；

其中所述第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体；

其中所述第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体；

其中所述第三抗体暴露包含在治疗的第52周的一剂1000mg的所述II型抗CD20抗体；

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链，所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列；并且

其中所述个体为人。

117.一种用于消耗个体的循环外周B细胞的方法，所述方法包括向所述个体静脉内施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、第二抗体暴露和第三抗体暴露；

其中所述第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体；

其中所述第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体；

其中所述第三抗体暴露包含在治疗的第50周和第52周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体；

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链，所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列；并且

其中所述个体为人。

118.根据权利要求114至117中任一项所述的方法，其进一步包括向所述个体施用霉酚酸酯。

119.根据权利要求118所述的方法，其中霉酚酸酯在治疗的第1天以1500mg/天的剂量施用于所述个体。

120.根据权利要求118或权利要求119所述的方法，其中霉酚酸酯在治疗的第1天以1500mg/天的剂量施用于所述个体，到治疗的第4周，以500mg/周滴定到介于2.0g/天与2.5g/天之间的剂量。

121.根据权利要求114至120中任一项所述的方法，其进一步包括向所述个体施用口服强的松。

122.根据权利要求121所述的方法，其中口服强的松在治疗的第2天以0.5mg/kg/天的剂量施用于所述个体。

123.根据权利要求122所述的方法，其中口服强的松在第2天以0.5mg/kg/天的剂量施用于所述个体直至第2周，然后到治疗的第24周，逐渐减少至5mg/天的剂量。

124.根据权利要求114至123中任一项所述的方法，其进一步包括在治疗的第0周、第2周、第24周和第52周通过静脉内(IV)输注向所述个体施用甲泼尼龙。

125.根据权利要求124所述的方法,其进一步包括在治疗的第26周通过静脉内(IV)输注向所述个体施用甲泼尼龙。

126.根据权利要求114至125中任一项所述的方法,其进一步包括在施用一剂或多剂所述II型抗CD20抗体之前以介于650mg与1000mg之间的量向所述个体口服施用对乙酰氨基酚30至60分钟。

127.根据权利要求114至126中任一项所述的方法,其进一步包括在施用一剂或多剂所述II型抗CD20抗体之前以50mg的量向所述个体口服施用苯海拉明30至60分钟。

128.一种用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎的试剂盒,所述试剂盒包含:

(a)容器,其包含II型抗CD20抗体,其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;

(b)包装插页,其具有关于治疗个体的狼疮性肾炎的说明,其中所述说明指示向所述个体施用对所述II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第三抗体暴露,所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供,并且所述第三抗体暴露直至所述第二抗体暴露后约24周至约32周才提供;

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第二抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;并且

其中所述第三抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第三抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露。

129.根据权利要求128所述的试剂盒,其进一步包含容器,所述容器包含:

(c)第二药物,其中所述II型抗CD20抗体为第一药物;和

(d)所述包装插页上关于向受试者施用所述第二药物的说明。

130.根据权利要求128或权利要求129所述的试剂盒,其中所述第三抗体暴露包含单剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体。

131.根据权利要求129或权利要求130所述的试剂盒,其中所述第二药物为免疫抑制剂、糖皮质激素、皮质类固醇、抗疟疾剂、细胞毒性剂、整联蛋白拮抗剂、细胞因子拮抗剂或激素。

132.一种II型抗CD20抗体,其用于治疗个体的狼疮性肾炎的方法中,其中所述方法包括向所述个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第三抗体暴露;

其中所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;

其中所述第三抗体暴露直至所述第二抗体暴露后约24周至约32周才提供;

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第二抗体暴露包含

所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；

其中所述第三抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体，所述第三抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露；并且

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链，所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。

133.一种II型抗CD20抗体，其用于消耗个体的循环外周B细胞的方法中，其中所述方法包括向所述个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第三抗体暴露；

其中所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；

其中所述第三抗体暴露直至所述第二抗体暴露后约24周至约32周才提供；

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体，所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体，所述第二抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；

其中所述第三抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体，所述第三抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露；

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链，所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列；并且

其中施用所述II型抗CD20抗体后，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平。

134.一种II型抗CD20抗体，其用于消耗个体的循环外周B细胞的方法中，其中所述方法包括向所述个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露；

其中所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体，所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体，所述第二抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链，所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列；并且

其中施用所述II型抗CD20抗体后，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平，所述消耗持续至少52周。

135.一种II型抗CD20抗体，其用于根据权利要求1至127中任一项所述的方法中。

136.一种用于治疗膜性肾病(MN)的方法，其包括向有需要的个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露；

其中所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体，所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体，所述第二抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；并且

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链，所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。

137.根据权利要求136所述的方法，其中所述第一抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体。

138.根据权利要求136或权利要求137所述的方法，其中所述第一抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第一抗体暴露的所述第二剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。

139.根据权利要求137所述的方法，其中所述第一抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第一抗体暴露的所述第二剂直至所述第一抗体暴露的所述第一剂后约2周才提供。

140.根据权利要求136至139中任一项所述的方法，其中所述第一抗体暴露的所述第一剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

141.根据权利要求136至140中任一项所述的方法，其中所述第一抗体暴露的所述第二剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

142.根据权利要求136至141中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的所述II型抗CD20抗体。

143.根据权利要求136至142中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第二抗体暴露的所述第二剂直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。

144.根据权利要求143所述的方法，其中所述第二抗体暴露包含第一剂所述II型抗CD20抗体和第二剂所述II型抗CD20抗体，并且其中所述第二抗体暴露的所述第二剂直至所述第二抗体暴露的所述第一剂后约2周才提供。

145.根据权利要求142至144中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露的所述第一剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

146.根据权利要求142至145中任一项所述的方法，其中所述第二抗体暴露的所述第二剂为约1000mg的所述II型抗CD20抗体。

147.根据权利要求136至146中任一项所述的方法，其中所述个体患有原发性膜性肾病(pMN)。

148.根据权利要求136至147中任一项所述的方法，其进一步包括向所述个体施用有效量的糖皮质激素或皮质类固醇。

149.根据权利要求148所述的方法，其中所述糖皮质激素或皮质类固醇包括甲泼尼龙。

150.根据权利要求149所述的方法，其中在施用一剂或多剂所述II型抗CD20抗体之前

向所述个体静脉内施用80mg甲泼尼龙30至60分钟。

151.根据权利要求136至150中任一项所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的抗组胺药。

152.根据权利要求151所述的方法,其中所述抗组胺药包括苯海拉明。

153.根据权利要求152所述的方法,其中在施用一剂或多剂所述II型抗CD20抗体之前向所述个体口服施用50mg苯海拉明30至60分钟。

154.根据权利要求136至153中任一项所述的方法,其进一步包括向所述个体施用有效量的非甾体抗炎药(NSAID)。

155.根据权利要求154所述的方法,其中所述NSAID包括对乙酰氨基酚。

156.根据权利要求155所述的方法,其中在施用一剂或多剂所述II型抗CD20抗体之前向所述个体口服施用650mg至1000mg对乙酰氨基酚30至60分钟。

157.根据权利要求136至156中任一项所述的方法,其中所述方法导致所述个体的完全缓解(CR)。

158.根据权利要求136至156中任一项所述的方法,其中所述方法导致所述个体的部分缓解(PR)。

159.根据权利要求136至158中任一项所述的方法,其中所述方法导致所述个体的循环外周B细胞消耗。

160.根据权利要求159所述的方法,其中所述循环外周B细胞为CD19+B细胞。

161.根据权利要求136至160中任一项所述的方法,其中施用所述II型抗CD20抗体后,B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平。

162.根据权利要求161所述的方法,其中B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约1个细胞/μL或更少的量或以约0.5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平。

163.根据权利要求159至162中任一项所述的方法,其中所述消耗在所述第一抗体暴露后实现。

164.根据权利要求159至163中任一项所述的方法,其中B细胞消耗在所述第一抗体暴露的所述第一剂后持续至少52周。

165.根据权利要求136至164中任一项所述的方法,其中施用所述II型抗CD20抗体后,相较于施用所述II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量,或相较于对未接受II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量,所述个体的循环外周B细胞消耗至少约90%。

166.根据权利要求136至165中任一项所述的方法,其中所述个体为人。

167.一种用于治疗个体的原发性膜性肾病(pMN)的方法,所述方法包括向所述个体静脉内施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和第二抗体暴露;

其中所述第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;

其中所述第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的所述II型抗CD20抗体;

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、

SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;并且

其中所述个体为人。

168.一种用于治疗个体的原发性膜性肾病(pMN)的试剂盒,所述试剂盒包含:

(a)容器,其包含II型抗CD20抗体,其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;

(b)包装插页,其具有关于治疗个体的pMN的说明,其中所述说明指示向所述个体施用对所述II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露,所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;并且

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第二抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露。

169.一种II型抗CD20抗体,其用于治疗个体的原发性膜性肾病(pMN)的方法中,其中所述方法包括向所述个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对所述II型抗CD20抗体的第二抗体暴露;

其中所述第二抗体暴露直至所述第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;

其中所述第一抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第一抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;

其中所述第二抗体暴露包含一剂或两剂所述II型抗CD20抗体,所述第二抗体暴露包含所述II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;并且

其中所述II型抗CD20抗体包含重链和轻链,所述重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,所述轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。

170.一种II型抗CD20抗体,其用于根据权利要求136至167中任一项所述的方法中。

治疗狼疮性肾炎的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请主张2019年9月12日申请的美国临时申请案62/899,706;2019年11月4日申请的62/930,527;2019年11月5日申请的62/931,032;和2020年4月3日申请的63/005,071的优先权;都以引用方式全部并入本文。

[0003] 提交ASCII文本文档的序列表

[0004] 下列ASCII文本文档的提交内容全部以引用方式并入本文:序列表(文件名:146392048341SEQLIST.TXT,记录日期:2020年8月17日,大小:37KB)的电脑可读取形式(CRF)。

技术领域

[0005] 本文提供了用于通过施用II型抗CD20抗体治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎(LN)的方法。在其他方面,本文提供了用于治疗膜性肾病的方法。

背景技术

[0006] 增生性狼疮性肾炎是系统性红斑性狼疮最常见的危及器官的表现。肾小球损伤和肾小管间质发炎导致蛋白尿、血尿、和进行性肾功能损害。治疗目标包括减少蛋白尿、预防肾脏损伤、以及将免疫抑制疗法的毒性降至最低。Hahn等人,Arthritis Care and Research 64:797-808,2012;Fanouriakis等人,Ann.Rheum.Dis.78:736-45,2019。即使进行治疗,许多患者的预后结果也很差,诸如发展为末期肾脏病(ESRD),需要血液透析或肾脏移植或死亡,并且在过去的二十年期间,ESRD的风险并未得到实质性改善。Hanly等人,Rheumatology 55(2):252-62,2016;Tektonidou等人,Arthritis Rheumatol 68(6):1432-1441,2016)。目前,美国没有批准用于治疗狼疮性肾炎的疗法。当前标准治疗尚未经批准与毒性和完全应答率低有关。

[0007] 在临床研究中,已经测试两种抗CD20抗体在治疗狼疮性肾炎方面的功效。在一项临床研究(LUNAR)中,利妥昔单抗(rituximab,一种I型抗CD20抗体)导致72名患者中有71名患者消耗外周CD19+B细胞,并导致更多应答和抗dsDNA和C3/C4量的大幅降低。用于LUNAR研究的剂量方案包括在第1、15、168、和182天(第0、2、24、26周)向患有III型或IV型狼疮性肾炎(LN)的患者施用利妥昔单抗(1,000mg)或安慰剂。但是,利妥昔单抗治疗1年后,临床结果并未改善。

[0008] 奥瑞珠单抗(ocrelizumab)是另一种I型抗CD20抗体,其在临床研究(BELONG)中进行测试。在第1和15天,将患者按1:1:1随机静脉注射安慰剂、400mg奥瑞珠单抗或1,000mg奥瑞珠单抗,然后在第16周以及此后每16周注射一次,并使用背景糖皮质激素加霉酚酸酯(MMF)或欧洲狼疮性肾炎试验(ELNT)方案(环磷酰胺加硫唑嘌呤(azathioprine))。该研究被终止,部分原因是严重传染事件并不平衡(Mysler,E.F.等人,(2013)Arthritis Rheum.65:2368-2379)。

[0009] 因此,仍有需要测试治疗或预防狼疮患者LN功效的其他选择。

[0010] 本文引用的所有参考文献(包括专利申请及公布)全部以引用的方式并入。

发明内容

[0011] 在某些方面,本文提供了一种用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎的方法,其包括向该个体施用至少对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露、和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露;其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;其中该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供;其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;其中该第三次抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第三次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露;其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。本文还提供了一种II型抗CD20抗体,其用于治疗个体的狼疮性肾炎的方法中,其中该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露;其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;其中该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供;其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;其中该第三次抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第三次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露;以及其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。

[0012] 在一些实施例中,该第一抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体,并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体,并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中,该第一抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第一抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0013] 在一些实施例中,该第二抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体,并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些

实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0014] 在一些实施例中，该第三次抗体暴露包含单剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第三次抗体暴露的该单剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第三次抗体暴露的该单剂直至该第一抗体暴露的该第一剂后约52周或直至该第二抗体暴露的该第一剂后约28周才提供。

[0015] 在一些实施例中，该第一抗体暴露、和/或该第二抗体暴露、和/或该第三抗体暴露是静脉内施用。

[0016] 在一些实施例中，该个体患有狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体患有III型或IV型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体处于发展成III型或IV型狼疮性肾炎的风险。在一些实施例中，该个体患有III(C)型或IV(C)型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体患有伴发性V型狼疮性肾炎。

[0017] 在一些实施例中，该方法进一步包括向该个体施用有效量的免疫抑制剂。在一些实施例中，该免疫抑制剂包括霉酚酸、其衍生物或其盐。在一些实施例中，该免疫抑制剂包括霉酚酸酯(mycophenolate mofetil)。在一些实施例中，该方法进一步包括向该个体施用有效量的糖皮质激素或皮质类固醇。在一些实施例中，该糖皮质激素或皮质类固醇包括甲泼尼龙(methylprednisolone)。在一些实施例中，该糖皮质激素或皮质类固醇包括强的松(prednisone)。在一些实施例中，该方法进一步包括向该个体施用有效量的抗组胺药。在一些实施例中，该抗组胺药包括苯海拉明(diphenhydramine)。在一些实施例中，该方法进一步包括向该个体施用有效量的非甾体抗炎药(NSAID)。在一些实施例中，该NSAID包括对乙酰氨基酚(acetaminophen)。在一些实施例中，该方法进一步包括向该个体施用有效量的抗高血压剂。在一些实施例中，该抗高血压剂为血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂或血管紧张素受体阻断剂。在一些实施例中，该方法进一步包括向该个体施用标准治疗。在一些实施例中，该标准治疗包括用血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素受体阻断剂、环磷酰胺、霉酚酸酯、硫唑嘌呤和糖皮质激素或皮质类固醇中的一者或多者进行的治疗。

[0018] 在一些实施例中，该方法导致个体的完全肾脏缓解(CRR)。在一些实施例中，该方法导致个体的部分肾脏缓解(PRR)。在一些实施例中，该方法导致个体的循环外周B细胞缺乏。在一些实施例中，该循环外周B细胞是CD19+B细胞。在一些实施例中，该等B细胞是原态(naïve)B细胞(例如CD19+CD27-B细胞)、记忆性B细胞(例如CD19+CD27+B细胞)、或成浆细胞(例如CD19+CD27+CD38++B细胞)。在一些实施例中，该等B细胞是CD19+CD3-CD14-CD33-CD56-细胞。在一些实施例中，施用该II型抗CD20抗体后，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约1个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约0.5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中，B细胞消耗至使得循环外周B细胞存在于该个体的外周血液为该消耗在该第一抗体暴露后达到的水平。在一些实施例中，B细胞消耗至低于使用HSFC可检测到的极限水平。在一些实施例中，该HSFC对B细胞的定量下限为

(LLOQ)约1.0个细胞/μL或更少、约0.8个细胞/μL或更少、约0.6个细胞/μL或更少、约0.5个细胞/μL或更少、或0.441个细胞/μL或更少。在一些实施例中,B细胞消耗在该第一抗体暴露的第一剂后持续至少52周。在一些实施例中,在施用该II型抗CD20抗体后,相较于施用该II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量,或相较于对未接受用II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量,该个体的循环外周B细胞消耗至少约90%。

[0019] 在一些实施例中,该个体为人。

[0020] 在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第1天和第15天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第168天和第182天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第三次抗体暴露包含在治疗的第364天的一剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗(obinutuzumab);以及其中该个体为人。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第三次抗体暴露包含在治疗的第52周的一剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;其中该II型抗CD20抗体为静脉内施用;以及其中该个体为人。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第1天和第15天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第168天和第182天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第三次抗体暴露包含在治疗的第350天和第364天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;以及其中该个体为人。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第三次抗体暴露包含在治疗的第50周和第52周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;以及其中该个体为人。

[0021] 在某些方面,本文提供了一种用于消耗个体循环外周B细胞的方法,其包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露、和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露;其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;其中该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供;其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;其中该第三次抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第三次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露;其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;并且其中在施用该II型抗CD20抗体后,B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。本文还提供一种II型抗CD20抗体,其用于消耗个体循环外周B细胞的方法中,其中该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露、和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露;其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;其中该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供;

其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第三次抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第三次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露；其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列；并且其中在施用该II型抗CD20抗体后，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。

[0022] 在一些实施例中，该第一抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中，该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中，该第一抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0023] 在一些实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0024] 在一些实施例中，该第三次抗体暴露包含单剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第三次抗体暴露的该单剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第三次抗体暴露的该单剂直至该第一抗体暴露的该第一剂后约52周或直至该第二抗体暴露的该第一剂后约28周才提供。

[0025] 在一些实施例中，该第一抗体暴露、和/或该第二抗体暴露、和/或该第三抗体暴露是静脉内施用。

[0026] 在一些实施例中，该个体患有狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体患有III型或IV型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体处于发展成III型或IV型狼疮性肾炎的风险。在一些实施例中，该个体患有III(C)型或IV(C)型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体患有伴发性V型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体患有膜性肾病(MN)，例如原发性膜性肾病(pMN)。在一些实施例中，该个体是处于发展成膜性肾病(MN)、例如原发性膜性肾病(pMN)的风险。

[0027] 在一些实施例中，该循环外周B细胞为CD19+B细胞。在一些实施例中，该等B细胞是原态(naïve)B细胞(例如CD19+CD27-B细胞)、记忆性B细胞(例如CD19+CD27+B细胞)、和/或

成浆细胞(例如CD19+CD27+CD38++B细胞)。在一些实施例中,该等B细胞是CD19+CD3-CD14-CD33-CD56-细胞。在一些实施例中,该等B细胞包含CD19+CD20+B细胞、CD19+CD20-B细胞、和CD19+CD22+B细胞。在一些实施例中,B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约1个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中,B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约0.5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中,B细胞消耗至低于使用HSFC可检测到的极限水平。在一些实施例中,该HSFC对B细胞的定量下限为(LLOQ)约1.0个细胞/μL或更少、约0.8个细胞/μL或更少、约0.6个细胞/μL或更少、约0.5个细胞/μL或更少、或0.441个细胞/μL或更少。在一些实施例中,该消耗在该第一抗体暴露后达到。在一些实施例中,B细胞消耗在该第一抗体暴露的第一剂后持续至少52周。在一些实施例中,在施用该II型抗CD20抗体后,相较于施用该II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量,或相较于对未接受用II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量,该个体的循环外周B细胞消耗至少约90%。在一些实施例中,在施用该II型抗CD20抗体后,例如相较于施用该II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量,或相较于对未接受用II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量,个体的血清B细胞活化因子(BAFF)量(例如在来自个体的血清样本中的BAFF量)有增加。在一些实施例中,在施用该II型抗CD20抗体后6周或更短时间内、4周或更短时间内、或2周或更短时间内,例如相较于施用该II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量,或相较于对未接受用II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量,个体的血清B细胞活化因子(BAFF)量(例如在来自个体的血清样本中的BAFF量)有增加。在一些实施例中,在施用该II型抗CD20抗体后,例如相较于施用该II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量,或相较于对未接受用II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量,个体的血清B细胞活化因子(BAFF)量(例如在来自个体的血清样本中的BAFF量)增加至少50%、至少75%、至少100%、至少2倍、或至少3倍。

[0028] 在一些实施例中,该个体为人。

[0029] 在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第1天和第15天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第168天和第182天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第三次抗体暴露包含在治疗的第364天的一剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗(obinutuzumab);以及其中该个体为人。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第三次抗体暴露包含在治疗的第52周的一剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;其中该II型抗CD20抗体为静脉内施用;以及其中该个体为人。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第1天和第15天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第168天和第182天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第三次抗体暴露包含在治疗的第350天和第364天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;以及其中该个体为人。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第三次抗体暴露包含在治疗的第50周和第52周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;以及其中该个体为人。

[0030] 在某些方面，本文提供了一种用于消耗个体循环外周B细胞的方法，其包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露；其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列；并且其中在施用该II型抗CD20抗体后，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平，该B细胞消耗在该第一抗体暴露后持续至少52周。本文还提供一种II型抗CD20抗体，其在用于消耗个体循环外周B细胞的方法，其中该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露；其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列；并且其中在施用该II型抗CD20抗体后，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平，该B细胞消耗在该第一抗体暴露后持续至少52周。

[0031] 在一些实施例中，该第一抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中，该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中，该第一抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0032] 在一些实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0033] 在一些实施例中，该第一抗体暴露、和/或该第二抗体暴露为静脉内施用。

[0034] 在一些实施例中，该个体患有狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体患有III型或IV型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体处于发展成III型或IV型狼疮性肾炎的风险。在一些实施例中，该个体患有III(C)型或IV(C)型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体患有伴发性V型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体患有膜性肾病(MN)，例如原发性膜性肾病(pMN)。在一些实施例中，该个体是处于发展成膜性肾病(MN)、例如原发性膜性肾病(pMN)的风险。

[0035] 在一些实施例中，该循环外周B细胞是CD19+B细胞。在一些实施例中，该循环外周B细胞是CD19+B细胞。在一些实施例中，该等B细胞是原态(naïve)B细胞(例如CD19+CD27-B细胞)、记忆性B细胞(例如CD19+CD27+B细胞)、和/或成浆细胞(例如CD19+CD27+CD38++B细胞)。在一些实施例中，该等B细胞是CD19+CD3-CD14-CD33-CD56-细胞。在一些实施例中，该等B细胞包含CD19+CD20+B细胞、CD19+CD20-B细胞、和CD19+CD22+B细胞。在一些实施例中，该等B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约1个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中，该等B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约0.5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中，B细胞消耗至低于使用HSFC可检测到的极限水平。在一些实施例中，该HSFC对B细胞的定量下限为(LLOQ)约1.0个细胞/μL或更少、约0.8个细胞/μL或更少、约0.6个细胞/μL或更少、约0.5个细胞/μL或更少、或0.441个细胞/μL或更少。在一些实施例中，该消耗在该第一抗体暴露后达到。在一些实施例中，B细胞消耗在该第一抗体暴露的第一剂后持续至少52周。在一些实施例中，在施用该II型抗CD20抗体后，相较于施用该II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量，或相较于对未接受用II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量，该个体的循环外周B细胞消耗至少约90％。

[0036] 在某些方面，本文提供了一种用于治疗个体类风湿性关节炎、系统性红斑性狼疮(SLE)、膜性肾病(MN)、或肾外狼疮(ERL)的方法，其包括向个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露、和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露；其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；其中该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第三次抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第三次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露；其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。本文还提供一种II型抗CD20抗体，其用于治疗个体类风湿性关节炎、系统性红斑性狼疮(SLE)、膜性肾病(MN)、或肾外狼疮(ERL)的方法中，其中该方法包括向个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露、和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露；其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；其中该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约

1800mg与约2200mg之间的总暴露;其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;其中该第三次抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第三次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露;以及其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。

[0037] 在一些实施例中,该第一抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体,并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体,并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中,该第一抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第一抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0038] 在一些实施例中,该第二抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体,并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中,该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体,并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中,该第二抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第二抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0039] 在一些实施例中,该第三次抗体暴露包含单剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第三次抗体暴露的该单剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第三次抗体暴露的该单剂直至该第一抗体暴露的该第一剂后约52周或直至该第二抗体暴露的该第一剂后约28周才提供。

[0040] 在一些实施例中,该第一抗体暴露、和/或该第二抗体暴露、和/或该第三抗体暴露是静脉内施用。

[0041] 在某些方面,本文提供一种用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎或消耗个体循环外周B细胞的方法,其包括向该个体静脉内施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、第二抗体暴露、和第三次抗体暴露;其中该第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该第三次抗体暴露包含在治疗的第52周的一剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;并且其中该个体为人。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。

[0042] 在某些方面,本文提供一种用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎或消耗个体循

环外周B细胞的方法,其包括向该个体静脉内施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、第二抗体暴露、和第三次抗体暴露;其中该第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该第三次抗体暴露包含在治疗的第50周和第52周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;且其中该个体为人。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。

[0043] 在本文所述方法的一些实施例中,该II型抗CD20抗体是人源化抗体。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体是去岩藻糖基化的(afucosylated)。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体的该重链包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体的该轻链包含轻链可变区,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体包含该重链可变区,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;以及轻链可变区,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,该轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。

[0044] 在本文所述方法的一些实施例中,该等方法进一步包括向该个体施用霉酚酸酯。在一些实施例中,该等方法进一步包括在治疗的第1天以每天1500mg的剂量施用于该个体。在一些实施例中,霉酚酸酯在治疗的第1天以每天1500mg的剂量施用于该个体,到治疗的第4周,以每周500mg滴定到介于每天2.0g与每天2.5g之间的剂量。在一些实施例中,该等方法进一步包括向所述个体施用口服强的松。在一些实施例中,口服强的松在治疗的第2天以每天0.5mg/kg的剂量施用于该个体。在一些实施例中,口服强的松在第2天至第2周以每天0.5mg/kg的剂量施用于所述个体,然后到治疗的第24周,递减至每天5mg的剂量。在一些实施例中,该等方法进一步包括在治疗的第0周、第2周、第24周和第52周通过静脉(IV)输注向所述个体施用甲泼尼龙。在一些实施例中,该等方法进一步包括在治疗的第0周、第2周、第24周、第26周和第52周通过静脉(IV)输注向所述个体施用甲泼尼龙。在一些实施例中,该等方法进一步包括在施用一剂或多剂II型抗CD20抗体之前向所述个体口服施用介于650mg与1000mg之间的对乙酰氨基酚30至60分钟。在一些实施例中,该等方法进一步包括在施用各剂II型抗CD20抗体之前向所述个体口服施用介于650mg与1000mg之间的对乙酰氨基酚30至60分钟。在一些实施例中,该等方法进一步包括在施用一剂或多剂之II型抗CD20抗体之前向所述个体口服施用50mg的苯海拉明30至60分钟。在一些实施例中,该等方法进一步包括在施用各剂II型抗CD20抗体之前向所述个体口服施用50mg的苯海拉明30至60分钟。

[0045] 在某些方面中,本文提供一种用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎的试剂盒,其包含:容器,其包含II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;包装插页,其具有针对在任何上述和本文所述方法中使用该II型抗CD20的说明。在一些实施例中,该包装插页提供针对治疗个体狼疮性肾炎的说明,其中该等说明指示向该个体施用对该II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露、和

对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露，该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供，并且该第三抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；并且其中该第三抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第三抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露。

[0046] 在一些实施例中，该第三次抗体暴露包含单剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一抗体暴露、和/或该第二抗体暴露、和/或该第三抗体暴露是静脉内施用。

[0047] 在一些实施例中，该试剂盒进一步包含容器，其包含：第二药物，其中该II型抗CD20抗体是第一药物；以及该包装插页上关于向受试者施用该第二药物的说明。在一些实施例中，该第二药物是免疫抑制剂、糖皮质激素、皮质类固醇、抗疟疾剂、细胞毒素剂、整联蛋白拮抗剂、细胞介素拮抗剂或荷尔蒙。

[0048] 在某些方面，本文提供了一种用于治疗膜性肾病(MN)的方法，其包括向有需要的个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露；其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；且其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。本文还提供一种II型抗CD20抗体，其用于治疗个体的原发性膜性肾病(pMN)的方法中，其中该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露；其中该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；且其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。在一些实施例中，该膜性肾病是原发性膜性肾病(pMN)。

[0049] 在一些实施例中，该第一抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中，该第一抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中，该第一抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一

抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0050] 在一些实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中，该第二抗体暴露包含第一剂该II型抗CD20抗体和第二剂该II型抗CD20抗体，并且该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约2周才提供。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第一剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第二剂是约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0051] 在一些实施例中，该第一次和/或该第二抗体暴露是静脉内施用。

[0052] 在一些实施例中，该方法进一步包括向该个体施用有效量的糖皮质激素或皮质类固醇。在一些实施例中，该糖皮质激素或皮质类固醇包括甲泼尼龙(methylprednisolone)。在一些实施例中，在施用一剂或多剂II型抗CD20抗体之前向该个体静脉内施用80mg的甲泼尼龙30至60分钟。在一些实施例中，该方法进一步包括向该个体施用有效量的抗组胺药。在一些实施例中，该抗组胺药包括苯海拉明(diphenhydramine)。在一些实施例中，在施用一剂或多剂II型抗CD20抗体之前向该个体口服施用50mg的苯海拉明30至60分钟。在一些实施例中，该方法进一步包括向该个体施用有效量的非甾体抗炎药(NSAID)。在一些实施例中，该NSAID包括对乙酰氨基酚(acetaminophen)。在一些实施例中，在施用一剂或多剂II型抗CD20抗体之前向该个体口服施用650至1000mg的对乙酰氨基酚30至60分钟。

[0053] 在一些实施例中，该方法导致个体的完全肾脏缓解(CRR)。在一些实施例中，该方法导致个体的部分肾脏缓解(PRR)。在一些实施例中，该方法导致个体的循环外周B细胞缺乏。在一些实施例中，该循环外周B细胞是CD19+B细胞。在一些实施例中，该等B细胞是原态(naïve)B细胞(例如CD19+CD27-B细胞)、记忆性B细胞(例如CD19+CD27+B细胞)、或成浆细胞(例如CD19+CD27+CD38++B细胞)。在一些实施例中，该等B细胞是CD19+CD3-CD14-CD33-CD56-细胞。在一些实施例中，施用该II型抗CD20抗体后，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约1个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中，B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约0.5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平。在一些实施例中，B细胞消耗至使得循环外周B细胞存在于该个体的外周血液为该消耗在该第一抗体暴露后达到的水平。在一些实施例中，B细胞消耗至低于使用HSFC可检测到的极限水平。在一些实施例中，该HSFC对B细胞的定量下限为(LLOQ)约1.0个细胞/μL或更少、约0.8个细胞/μL或更少、约0.6个细胞/μL或更少、约0.5个细胞/μL或更少、或0.441个细胞/μL或更少。在一些实施例中，B细胞消耗在该第一抗体暴露的第一剂后持续至少52周。在一些实施例中，在施用该II型抗CD20抗体后，相较于施用该II型抗CD20抗体前对同一个体进行的对应测量，或相较于对未接受用II型抗CD20抗体治疗的个体进行的对应测量，该个体的循环外周B细胞消耗至少约90％。

[0054] 在一个实施例中，该个体为人。

[0055] 在一些实施例中，该第一抗体暴露包含在治疗的第1天和第15天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体；且该第二抗体暴露包含在治疗的第168天和第182天的两剂1000mg的该

II型抗CD20抗体;该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;并且该个体为人。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;该II型抗CD20抗体为静脉内施用;并且该个体为人。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第1天和第15天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第168天和第182天的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;并且该个体为人。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含在治疗的第0周和第2周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该第二抗体暴露包含在治疗的第24周和第26周的两剂1000mg的该II型抗CD20抗体;该II型抗CD20抗体为奥滨尤妥珠单抗;并且该个体为人。

[0056] 在本文所述方法的一些实施例中,该II型抗CD20抗体是人源化抗体。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体是去岩藻糖基化的(afucosylated)。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体的该重链包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体的该轻链包含轻链可变区,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体包含该重链可变区,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;以及轻链可变区,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,该轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在一些实施例中,该II型抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。

[0057] 在某些方面,本文提供了一种用于治疗个体的膜性肾病(MN)的试剂盒,该试剂盒包含:容器,其包含II型抗CD20抗体,其中该II型抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列,该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列;包装插页,其具有用于使用上文和本文所述方法中的任一种的该II型抗CD20的说明。在一些实施例中,该包装插页提供用于治疗个体的膜性肾病(MN)的说明,其中该等说明指示对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露,该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供;其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露;并且其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体,该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露。在一些实施例中,该膜性肾病是原发性膜性肾病(pMN)。在一个实施例中,该个体为人。

[0058] 应了解,本文所描述的各种实施例的一种、一些或所有特性可组合形成本发明的其它实施例。本发明的这些和其它方面对于本领域技术人员将变得显而易见。通过下面的详细描述进一步描述本发明的这些和其它实施例。

附图说明

[0059] 图1A显示奥滨尤妥珠单抗和安慰剂治疗组在第52和76周达到的肾脏缓解。CRR=完全肾脏缓解;PRR=部分肾脏缓解。

[0060] 图1B显示奥滨尤妥珠单抗和安慰剂治疗组的肾脏缓解动力学。CRR=完全肾脏缓解;PRR=部分肾脏缓解;ORR=总体肾脏缓解。

[0061] 图1C显示患者水平的肾脏缓解的热图。行(row)代表个别患者;列(column)代表访诊。UPCR＝尿液蛋白对肌酸酐之比;SCr＝血清肌酸酐;ULN＝正常值上限。完全肾脏缓解要求尿液蛋白与肌酸酐之比(UPCR)<0.5,血清肌酸酐小于正常值上限且相对基线未增加>15%,且尿红细胞(RBC)<10/hpf,无RBC管型(RBC cast)。经修饰的完全肾脏缓解UPCR<0.5,且血清肌酸酐低于正常值上限。部分肾脏缓解要求UPCR相对基线降低≥50%至<1(若基线≥3,则降低至<3),血清肌酸酐相对基线未增加>15%,尿红细胞(RBC)<10/hpf或相对基线未增加>50%。

[0062] 图1D显示使用高灵敏度流式细胞术检测的CD19+外周B细胞随时间变化的平均值。将<0.441的值算作是0.441,以计算平均值和SEM。SEM＝平均值的标准误差。

[0063] 图2A显示血清学和实验室参数相对基线的变化。计算相对基线的平均变化值,针对缺失数据则用最后观察值补入(last observation carried forward)。如果治疗失败,则使用治疗失败之前的最后一次测量结果。SEM＝平均值的标准误差。

[0064] 图2B显示允许的血清肌酸酐标准内对奥滨尤妥珠单抗及安慰剂组的完全应答率随时间的变化(CRR)。CRR定义为UPCR<0.5,且血清肌酸酐≤正常值上限。

[0065] 图3A显示B细胞消耗动力学,使用习知和高灵敏度流式细胞术,以B细胞消耗患者的比例来表示。

[0066] 图3B显示使用高灵敏度流式细胞术检测的B细胞亚群随时间变化的平均测量值。将<0.441的值算作是0.441,以计算平均值和SEM。SEM＝平均值的标准误差。

[0067] 图4显示按治疗组和外周B细胞状态随时间的应答。如果在第24周和第52周的外周B细胞计数均<0.441,则存在持续消耗。在第24周缺失数据的情况下,如果在第24周奥滨尤妥珠单抗PK的背景下,外周B细胞计数在第12周和第52周<0.441,则存在持续消耗。如果在第24周或52周时外周B细胞计数>0.441,则可检测到B细胞。数据不足以确定状态的奥滨尤妥珠单抗患者被归类为“数据不足”。所有经安慰剂治疗的患者在第24周或第52周都可检测到B细胞。CRR＝完全肾脏缓解;PRR＝部分肾脏缓解;UPCR＝尿液蛋白与肌酸酐之比;SCr＝血清肌酸酐;ULN＝正常值上限。

[0068] 图5显示用于验证实例2中描述的药代动力学(PK)模型的视觉预测检查(VPC)图。实线显示在指定时间(天)观察到的奥滨尤妥珠单抗浓度(μg/mL)的中位数、第5百分位数、和第95百分位数。阴影区域显示基于PK模型的指定时间(天)的模拟中位数、第5百分位数、和第95百分位数的奥滨尤妥珠单抗浓度(μg/mL)的90%置信区间(90%CI)。模拟浓度是来自1000个试验的投药、取样、以及分析数据集的协变量值计算得出(实例2所述)。

[0069] 图6显示基于实例2中所述PK模型对所有遵循实例1中所述给药方案(1000mg奥滨尤妥珠单抗在第0、14、168和182天)的患者随时间的预测奥滨尤妥珠单抗浓度变化曲线。使用协变量因子和患者的个体随机效应来模拟浓度曲线。残余可变性不包括在内。奥滨尤妥珠单抗的中位数、第5百分位数、和第95百分位数如图所示。

[0070] 图7是任何级别的晚发SAE(第2剂后发生的严重不良事件)发生概率相对于累积奥滨尤妥珠单抗暴露(从治疗开始到第52周(AUC_{52}))的逻辑回归分析。圆圈绘示观察到的应答(0＝没有晚发SAE事件;1＝晚发SAE事件)。圆圈垂直分散,以便促进可视化。表示出逻辑回归线。阴影区域是回归线的90%置信(CI)。提供任何级别的晚发SAE概率相对于奥滨尤妥珠单抗暴露之间的关系的p值(p＝0.383)。逻辑回归仅基于来自活动组(Active arm)患者的

晚发SAE数据进行。

[0071] 图8显示实例1所述研究中观察到的B细胞计数相对于个体预测的奥滨尤妥珠单抗浓度(在初始奥滨尤妥珠单抗剂量之后12周)。B细胞计数为0.2的圆圈对应于低于B细胞定量极限(BQL)的观察值。

[0072] 图9显示B细胞计数在第52周反弹到高于BQL(B细胞>BQL)的机率相较于在第0、2、24和26周施用奥滨尤妥珠单抗(1000mg)的患者的奥滨尤妥珠单抗暴露量(AUC_{52})。圆圈表示观察到的B细胞水平(1＝B细胞>BQL;0＝B细胞<BQL)。表示出逻辑回归线。阴影区域是回归线的90％置信(CI)。提供第52周B细胞计数反弹至高于BQL(B细胞>BQL)与奥滨尤妥珠单抗暴露量之间关系的p值(p＝0.045)。

[0073] 图10显示奥滨尤妥珠单抗和对照治疗组中患者的基线特征。奥滨尤妥珠单抗组的患者进一步分为之后对奥滨尤妥珠单抗治疗有应答的持续B细胞消耗的患者,与对奥滨尤妥珠单抗治疗有应答的具有可侦测的B细胞的患者。

[0074] 图11显示用奥滨尤妥珠单抗和MMF或安慰剂和MMF治疗的患者随时间(周)的血清B细胞活化因子(BAFF)水平(pg/mL)。

[0075] 图12显示在第76周通过基线血清肌酸酐水平分层显示对治疗产生应答的患者百分比。

[0076] 图13显示使用替代应答定义在第52和76周时奥滨尤妥珠单抗和安慰剂治疗组之间的应答率。OBI为奥滨尤妥珠单抗;PBO为安慰剂;UPCR为尿液蛋白/肌酸酐比;SCr为血清肌酸酐;ULN为正常值上限。

具体实施方式

[0077] 虽然非临床数据表明使用I型抗CD20抗体(利妥昔单抗(rituximab)和奥瑞珠单抗(ocrelizumab))和II型抗CD20抗体(奥滨尤妥珠单抗)都能治疗狼疮,但与利妥昔单抗和奥瑞珠单抗不同的是,奥滨尤妥珠单抗治疗在一项II期临床研究(NOBILITY)中符合主要和关键的次要疗效终点。在一年时,当加入霉酚酸酯和皮质类固醇类治疗增生性狼疮性肾炎时,相较于安慰剂,奥滨尤妥珠单抗治疗能增加完全和部分肾脏缓解。进一步地,奥滨尤妥珠单抗与严重不良事件或严重感染发生率的增加无关。来自II期临床研究的药代动力学(PK)和药效动力学(PD)分析证实,持续的外周B细胞消耗(B细胞低于0.441个细胞/μL)与达成完全肾脏缓解(CRR)呈正相关,且奥滨尤妥珠单抗浓度高于1μg/mL对于维持B细胞消耗至关重要。基于第0、2、24、26和52周的1000mg奥滨尤妥珠单抗给药方案PK模型的模拟显示,在52周时另外单一剂量1000mg奥滨尤妥珠单抗预计会造成很大一部分患者在第76周的奥滨尤妥珠单抗浓度超过1μg/mL。因此,在第52周另外单一剂量奥滨尤妥珠单抗预计维持奥滨尤妥珠单抗浓度高于1μg/mL的临界量,预期在第76周维持B细胞消耗并转化成更好的疗效。

[0078] 先前的奥滨尤妥珠单抗给药方案仅在第0、2、24和26周给药,以便与利妥昔单抗的临床试验进行方向比较。目前尚不清楚奥滨尤妥珠单抗是否会有效,且在没有有效证据的情况下,也没有明确的理由再给药。实例1和2中呈现的结果出乎意料地显示,通过在第0、2、24、26和52周施用1000mg奥滨尤妥珠单抗的给药方案,预计在第76周B细胞消耗将持续,而没有产生其他不良事件。在第76周维持B细胞消耗预计转化为更好的疗效(例如CRR)。此后每24周需要另外剂量以维持疗效。既然疗效的证据和奥滨尤妥珠单抗的进一步B细胞消耗

与更大的反应有关，据信继续给药可维持B细胞消耗和临床受益。

[0079] 在一个方面，本文提供了用于治疗个体的狼疮性肾炎的方法，其包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露。在一些实施例中，该个体患有狼疮。在一些实施例中，该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供。在一些实施例中，该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供。在一些实施例中，该第一抗体暴露包括一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的含有介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露。在一些实施例中，该第二抗体暴露包括一剂或两剂II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露。在一些实施例中，该第三次抗体暴露包括一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第三次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露。在一些实施例中，该抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。

[0080] 在另一方面，本文提供了用于治疗个体的狼疮性肾炎的方法，其包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露。在一些实施例中，该个体患有狼疮。在一些实施例中，该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供。在一些实施例中，该第一抗体暴露包括一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的含有介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露。在一些实施例中，该第二抗体暴露包括一剂或两剂II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露。在一些实施例中，该抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。

[0081] 在另一方面，本文提供了用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎的方法，其包括向该个体施用有效量的II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。在一些实施例中，该个体患有III型或IV型狼疮性肾炎。

[0082] 在另一方面，本文提供了用于治疗个体类风湿性关节炎、系统性红斑性狼疮(SLE)、膜性肾病(MN)或肾外狼疮(ERL)的方法，其包括向该个体施用有效量的II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该抗体包含重链可变区和轻链可变区，该重链可变区包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链可变区包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。

[0083] I.一般技术

[0084] 本领域技术人员通常容易理解并且通常使用常规方法来使用本文描述或参考的技术和程序，诸如，例如，Sambrook等人，Molecular Cloning:A Laboratory Manual 3d edition(2001)Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.;

Current Protocols in Molecular Biology(F.M.Ausubel等人编辑(2003));Methods in Enzymology系列(Academic Press,Inc.):PCR 2:A Practical Approach(M.J.MacPherson、B.D.Hames及G.R.Taylor编辑(1995)),Harlow和Lane编辑(1988)Antibodies,A Laboratory Manual,and Animal Cell Culture(R.I.Freshney编辑(1987));Oligonucleotide Synthesis(M.J.Gait编辑,1984);Methods in Molecular Biology,Humana Press;Cell Biology:A Laboratory Notebook(J.E.Cellis编辑,1998)Academic Press;Animal Cell Culture(R.I.Freshney编辑,1987);Introduction to Cell and Tissue Culture(J.P.Mather和P.E.Roberts,1998)Plenum Press;Cell and Tissue Culture:Laboratory Procedures(A.Doyle、J.B.Griffiths和D.G.Newell编辑,1993-8)J.Wiley and Sons;Handbook of Experimental Immunology(D.M.Weir和C.C.Blackwell编辑);Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells(J.M.Miller和M.P.Calos编辑,1987);PCR:The Polymerase Chain Reaction,(Mullis等人编辑,1994);Current Protocols in Immunology(J.E.Coligan等人编辑,1991);Short Protocols in Molecular Biology(Wiley and Sons,1999);Immunobiology(C.A.Janeway和P.Travers,1997);Antibodies(P.Finch,1997);Antibodies:A Practical Approach(D.Catty编辑,IRL Press,1988-1989);Monoclonal Antibodies:A Practical Approach(P.Shepherd和C.Dean编辑,Oxford University Press,2000);Using Antibodies:A Laboratory Manual(E.Harlow和D.Lane(Cold Spring Harbor Laboratory Press,1999));The Antibodies(M.Zanetti和J.D.Capra编辑,Harwood Academic Publishers,1995);以及Cancer:Principles and Practice of Oncology(V.T.DeVita等人编辑,J.B.Lippincott Company,1993)。

[0085] II.定义

[0086] 术语“狼疮性肾炎(LN)”是指肾脏中狼疮的表现(例如系统性红斑性狼疮、药物诱发性狼疮、新生儿狼疮、或盘状狼疮)。

[0087] 术语“抗体”包括单克隆抗体(包括具有免疫球蛋白Fc区的全长抗体)、具有多表位特异性的抗体组合物、多特异性抗体(例如双特异性抗体、双抗体和单链分子,以及抗体片段(例如,Fab、F(ab')$_2$和Fv)。术语“免疫球蛋白”(Ig)在本文中与抗体可互换使用。

[0088] 基本的4链抗体单位是由两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链组成的异四聚体糖蛋白。IgM抗体由5个基本异源四聚体单元以及称为J链的额外多肽组成,并包含10个抗原结合位点,而IgA抗体包含2-5个基本4链单元,可联合J链聚合形成多价装配物。在IgG情况下,4链单元通常为约150,000道尔顿。每条L链通过一个共价二硫键连接至H链,而两条H链则根据H链的同种型通过一个或多个二硫键相互连接。每条H链和L链还具有规则间隔的链内二硫键。每条H链在N末端具有可变结构域(V_H),后接三个恒定结构域(C_H)(对于每条α链和γ链)和四个C_H结构域(对于μ和ε同种型)。每条L链在N末端具有可变结构域(V_L),并且另一端具有恒定结构域。V_L与V_H对齐,且C_L与重链的第一恒定结构域(C_H1)对齐。据信特定的氨基酸残基在轻链和重链可变结构域之间形成界面。V_H和V_L的配对形成单个抗原结合位点。有关不同类别抗体的结构和特性,参见例如Basic and Clinical Immunology,第8版,Daniel P.Stites,Abba I.Terr和Tristram G.Parslow(主编),Appleton&Lange,Norwalk,CT,1994年,第71页和第6章。来源于任何脊椎动物的L链基于其恒定结构域的氨基酸序列,可以配属

为两种明显不同的类型中的一种，这两种类型分别称为卡帕(κ)和兰姆达(λ)。免疫球蛋白基于其重链恒定结构域(CH)的氨基酸序列，可以配属为不同的类别或同种型。存在以下五类免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，其重链分别命名为α、δ、ε、γ和μ。γ和α类别基于CH序列和功能的相对较小的差异进一步分为子类，例如，人类表达以下子类：IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。

[0089] 抗体的“可变区”或“可变结构域”是指抗体的重链或轻链的氨基末端结构域。重链和轻链的可变结构域可分别称为“VH”和“VL”。这些结构域通常是抗体中变化最大的部分(相对于同一类别的其他抗体)并包含抗原结合位点。

[0090] 术语“可变”是指可变结构域的某些片段在抗体的序列之间差异很大。V结构域介导抗原结合并且定义特定抗体对其特定抗原的特异性。但是，可变性在可变结构域的整个跨度之间并非均匀分布。相反，它集中在轻链和重链可变结构域中的三个称为高变区(HVR)的区段中。可变结构域中保守性更高的部分称为框架区(FR)。天然重链和轻链的可变结构域各自包含四个FR区，其主要采用β折叠结构，由三个HVR连接，这三个HVR形成连接β折叠结构并且在一些情况下形成β折叠结构的一部分的环。每条链中的HVR通过FR区紧密保持在一起，并且与另一条链中的HVR一起，有助于抗体的抗原结合位点的形成(参见Kabat et al., Sequences of Immunological Interest，第五版，National Institute of Health, Bethesda，MD(1991))。恒定结构域不直接参与抗体与抗原的结合，但显示出多种效应子功能，诸如抗体参与抗体依赖性细胞毒性作用。

[0091] 本文所使用的术语“单克隆抗体”是指从基本上同质的抗体群中获得的抗体，例如，除了可能存在的少量天然存在的突变和/或翻译后修饰(例如，异构化、酰胺化)，该抗体群包含的单个抗体是相同的。单克隆抗体对单个抗原位点具有高特异性。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相反，每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。除特异性以外，单克隆抗体的优势在于它们是由杂交瘤培养物合成的，不受其他免疫球蛋白的污染。修饰语“单克隆”表示抗体的特征是从基本上同质的抗体群体获得的，并且不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如，可通过多种技术制造根据本发明所使用的单克隆抗体，包括例如杂交瘤方法(例如，Kohler和Milstein.，Nature，256:495-97(1975)；Hongo等人，Hybridoma，14(3):253-260(1995)；Harlow等人，Antibodies:A Laboratory Manual，(Cold Spring Harbor Laboratory Press，第二版，1988)；Hammerling等人，在：Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681(Elsevier，N.Y.，1981)、重组DNA方法(参见例如美国专利号4,816,567)、噬菌体展示技术(参见例如Clackson等人，Nature，352:624-628(1991)；Marks等人，J.Mol.Biol.222:581-597(1992)；Sidhu等人，J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004)；Lee等人，J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004)；Fellouse，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004)；和Lee等人，J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004))，及用于在具有部分或所有人免疫球蛋白基因座或编码人免疫球蛋白序列的基因的动物中制造人或类人抗体的技术(参见例如WO 1998/24893；WO 1996/34096；WO 1996/33735；WO 1991/10741；Jakobovits等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:2551(1993)；Jakobovits等人，Nature362:255-258(1993)；Bruggemann等人，Year in Immunol.7:33(1993)；美国专利号5,545,807；5,545,806；5,569,825；5,625,126；5,633,425；和5,661,016；Marks等人Bio/Technology

10:779-783(1992);Lonberg等人,Nature 368:856-859(1994);Morrison,Nature368:812-813(1994);Fishwild等人,Nature Biotechnol.14:845-851(1996);Neuberger,Nature Biotechnol.14:826(1996);以及Lonberg和Huszar,Intern.Rev.Immunol.13:65-93(1995))。

[0092] 术语“裸抗体”是指未与细胞毒性部分或放射性标记缀合的抗体。

[0093] 术语“全长抗体”、“完整抗体”或“全抗体”可互换使用,是指其基本上完整形式的抗体而不是抗体片段。具体而言,全抗体包括具有包括Fc区的重链和轻链的抗体。恒定结构域可为天然序列恒定结构域(例如,人天然序列恒定结构域)或其氨基酸序列变体。在某些情况下,完整抗体可能具有一种或多种效应子功能。

[0094] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,优选地包含完整抗体的抗原结合和/或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、$F(ab')_2$和Fv片段;双体抗体;线性抗体(参见美国专利5,641,870,实例2;Zapata等人,Protein Eng.8(10):1057-1062[1995]);由抗体片段形成的单链抗体分子和多特异性抗体。木瓜蛋白酶消化抗体产生两个相同抗原结合片段(称为“Fab”片段)以及一个残留的“Fc”片段(其名称反映其容易结晶的能力)。Fab片段由完整L链以及H链的可变区结构域(V_H)和一条重链的第一恒定结构域(C_H1)组成。每个Fab片段在抗原结合方面为单价,即,它具有单个抗原结合位点。胃蛋白酶处理抗体产生单个大的$F(ab')_2$片段,其大致相当于两个通过二硫键连接的具有不同抗原结合活性并且仍能够交联抗原的Fab片段。Fab'片段与Fab片段的不同之处在于Fab'片段在C_H1结构域的羧基末端添加了一些另外的残基,这些残基包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH是本文中关于其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离硫醇基的Fab'的命名。$F(ab')_2$抗体片段最初是作为在其间具有铰链半胱氨酸的成对Fab'片段而产生的。抗体片段的其他化学偶合也是已知的。

[0095] Fc片段包含通过二硫键连接在一起的两条H链的羧基末端部分。抗体的效应子功能由Fc区域中的序列决定,该区域也是由某些类型的细胞上存在的Fc受体(FcR)识别的。

[0096] “Fv”是包含完整的抗原识别和结合位点的最小抗体片段。该片段由一个重链可变区结构域和一个轻链可变区结构域紧密、非共价缔合的二聚体组成。由这两个结构域的折叠产生六个高变环(H链和L链各产生3个环),这些环贡献氨基酸残基以实现抗原结合,并且使抗体具有抗原结合特异性。然而,即使单个可变结构域(或仅包含三个对抗原具有特异性的HVR的Fv的一半)也具有识别和结合抗原的能力,尽管其亲和力低于完整结合位点。

[0097] “单链Fv”也缩写为“sFv”或“scFv”,是包含连接至单个多肽链中的V_H和V_L抗体结构域的抗体片段。优选地,sFv多肽在V_H和V_L结构域之间进一步包含多肽连接基,使sFv形成所需的抗原结合结构。有关sFv的综述,参见Pluckthun的The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore主编,Springer-Verlag,New York,第269-315页(1994)。

[0098] 本发明抗体的“功能片段”包含完整抗体的一部分,通常包括完整抗体的抗原结合区或可变区或者保留或具有修饰的FcR结合能力的抗体的Fc区。抗体片段的实例包括线性抗体;单链抗体分子和由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0099] 术语“双抗体”是指通过构建sFv片段(参见前段)而制得的小抗体片段,其中在V_H和V_L结构域之间具有短连接基(约5-10个残基),由此实现了V结构域的链间配对而非链内

配对,得到二价片段,即具有两个抗原结合位点的片段。双特异性双抗体是两个“交叉”sFv片段的异二聚体,其中两种抗体的V_H和V_L结构域位于不同的多肽链上。双体抗体更详细地描述于例如EP 404,097;WO 93/11161;Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)。

[0100] 本文中的单克隆抗体具体地包括“嵌合”抗体(免疫球蛋白),其中重链和/或轻链的一部分与来自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而一条或多条链的其余部分与来自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列以及这些抗体的片段相同或同源,只要它们表现出所需的生物活性即可(美国专利号4,816,567;Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))。本文目的嵌合抗体包括PRIMATIZED®抗体,其中抗体的抗原结合区来源于通过例如用目标抗原免疫猕猴而产生的抗体。。如本文所用,“人源化抗体”用作“嵌合抗体”的子集。

[0101] “人源化”形式的非人类(例如,鼠)抗体为包含来源于非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。在一个实施例中,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体HVR(如后文定义)的残基被来自非人类物种(供体抗体)例如小鼠、大鼠、兔或具有所需特异性、亲和力和/或能力的非人类灵长类动物的HVR的残基替换。在一些情况下,人免疫球蛋白的框架(FR)残基被相应的非人类残基替换。此外,人源化抗体可包含受体抗体或供体抗体中不存在的残基。可以进行这些修饰以进一步改善抗体性能,例如结合亲和力。一般而言,人源化抗体将包含基本上所有的至少一个,通常为两个可变结构域,其中所有或基本上所有的高变环对应于非人免疫球蛋白序列的那些,以及所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白序列的那些,尽管FR区可以包括一个或多个单独的FR残基置换,以提高抗体性能,例如结合亲和力、异构化、免疫原性等。FR中这些氨基酸取代的数量是通常在H链中不超过6个,在L链中不超过3个。人源化抗体还将任选地包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,该免疫球蛋白通常为人类免疫球蛋白。更多详情参见例如,Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);和Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。另请参见例如Vaswani和Hamilton,Ann.Allergy,Asthma&Immunol.1:105-115(1998);Harris,Biochem.Soc.Transactions 23:1035-1038(1995);Hurle及Gross,Curr.Op.Biotech.5:428-433(1994);和美国专利号6,982,321及7,087,409。

[0102] “人抗体”是具有对应于由人产生的抗体的氨基酸序列和/或使用本文所公开的用于制备人抗体的任何技术制得的抗体。人抗体的该定义特别地排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。可以使用本领域已知的各种技术产生人抗体,包括噬菌体展示文库。Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581(1991)。还可用于制备人类单克隆抗体的方法如Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,p.77(1985);Boerner等人,J.Immunol.,147(1):86-95(1991)所述。也可参见van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.,5:368-74(2001)。可以通过向转基因动物施用抗原来制备人抗体,该转基因动物已经被修饰以对抗原攻击产生应答而产生此类抗体,但其内源性基因座已失效,例如,免疫异种小鼠(参见,例如,关于XENOMOUSE™技术的美国专利号6,075,181和6,150,584)。有关通过人B细胞融合瘤技术产生的人抗体,也可参见例如Li等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,103:3557-3562(2006)。

[0103] 如本文所用的术语“高变区”、“HVR”或“HV”是指在序列上高变和/或形成结构上限定的环的抗体可变结构域的区域。通常，抗体包含六个HVR；三个在VH中(H1、H2、H3)，并且三个在VL中(L1、L2、L3)。在天然抗体中，H3和L3在六个HVR中表现出最多的多样性，尤其是H3被认为在赋予抗体精细特异性方面起着独特的作用。参见，例如，Xu等人，Immunity 13:37-45(2000)；Johnson和Wu，Methods in Molecular Biology 248:1-25(Lo编辑，Human Press，Totowa，NJ，2003)。实际上，仅由重链组成的天然存在的骆驼科动物抗体在不存在轻链的情况下是有功能并稳定的。参见例如：Hamers-Casterman等人，Nature 363:446-448(1993)；Sheriff等人，Nature Struct.Biol.3:733-736(1996)。

[0104] 许多HVR描述得到应用，并且包含于本文中。Kabat互补决定区(CDR)基于序列变异性并且是最常用的(Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第五版，Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD.(1991))。相反，Chothia指的是结构环的位置(Chothia和Lesk，J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。AbM HVR表示Kabat HVR和Chothia结构环之间的折衷，并且被牛津分子公司(Oxford Molecular)的AbM抗体建模软件采用。“接触”HVR基于可用的复杂晶体结构的分析结果。这些HVR中的每个的残基如下文所述。

[0105]

环圈	Kabat	AbM	Chothia	接触
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B（Kabat 编号）
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35（Chothia 编号）
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0106] HVR可以包括以下“扩展HVR”：VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)和89-97或89-96(L3)，和VH中的26-35(H1)、50-65或49-65(H2)和93-102、94-102或95-102(H3)。对于这些定义中的每一个，可变结构域残基均根据上述Kabat等人的方法进行编号。

[0107] 表达“Kabat所述的可变结构域残基编号”或“Kabat所述的氨基酸位置编号”及其变型是指在上述Kabat等人的文献中的用于抗体编译的重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。使用该编号系统，实际线性氨基酸序列可能包含较少或附加的氨基酸，其对应于可变结构域的FR或HVR的缩短或插入。例如，重链可变结构域可在H2的残基52之后包括单个氨基酸插入(根据Kabat编号的残基52a)以及重链FR残基82之后的插入残基(例如，根据Kabat编号的残基82a、82b和82c等)。可通过将抗体序列与“标准”Kabat编号序列的同源性区域进行比对来确定给定抗体的残基的Kabat编号。

[0108] “框架”或“FR”残基是除本文定义的HVR残基以外的那些可变结构域残基。

[0109] “人共有框架”或“受体人框架”是表示在人免疫球蛋白VL或VH框架序列的选择中最常存在的氨基酸残基。一般而言，人免疫球蛋白VL或VH序列的选择来自于可变结构域序列的亚组。通常，序列的亚组是如下所述的亚组：Kabat等人，Sequences of Proteins of

Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991)。针对VL实例包括如上文Kabat等人所述的亚组κI、κII、κIII或κIV。另外,对于Vh,亚组可以是亚组I、亚组Ii、或亚组III,如上文Kabat等人所述。替代地,人共有框架可从上述其中特定的残基衍生,例如当人框架残基是基于通过将一系列各种人框架序列与供体框架序列比对出其与供体框架同源性而选择时。"来源于"人免疫球蛋白框架或人共有框架的受体人框架可包含与所述人免疫球蛋白框架或人共有框架相同的氨基酸序列,或者其可包含预先存在的氨基酸序列变化。在一些实施例中,预先存在的氨基酸变化的数量为10个或更少、9个或更少、8个或更少、7个或更少、6个或更少、5个或更少、4个或更少、3个或更少,或2个或更少。

[0110] "VH亚组III共有框架"包含从上文Kabat等人的变异重亚组III中的氨基酸序列获得的共有序列。在一个实施例中,VH亚组III共有框架氨基酸序列包含以下序列中的每个的至少一部分或全部:

[0111] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS(HC-FR1)(SEQ ID NO:35)、WVRQAPGKGLEWV(HC-FR2)(SEQ ID NO:36)、RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR(HC-FR3,SEQ ID NO:37)、WGQGTLVTVSA(HC-FR4)(SEQ ID NO:38)。

[0112] "VLκI共有框架"包含从上文Kabat等人的变异轻κ亚组I中的氨基酸序列获得的共通序列。在一个实施例中,VH亚组I共有框架氨基酸序列包含以下序列中的每个的至少一部分或全部:

[0113] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC(LC-FR1)(SEQ ID NO:39)、WYQQKPGKAPKLLIY(LC-FR2)(SEQ ID NO:40)、GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC(LC-FR3)(SEQ ID NO:41)、FGQGTKVEIKR(LC-FR4)(SEQ ID NO:42)。

[0114] 在特定位置、例如Fc区的"氨基酸修饰",是指指定残基的取代或缺失,或与指定残基相邻的至少一个氨基酸残基的插入。与指定残基"相邻"的插入是指在其一至两个残基内插入。插入可以在指定残基的N端或C端。本文较佳的氨基酸修饰为取代。

[0115] "亲和力成熟"抗体是其中一个或多个HVR发生一种或多种改变的抗体,其导致抗体对抗原的亲和力相比于不具有这些改变的亲本抗体的亲和力得到改善。在一个实施例中,亲和力成熟抗体对靶抗原具有纳摩尔(nanomolar)或甚至皮纳摩尔(picomolar)的亲和力。亲和力成熟抗体通过本领域中已知的方法产生。例如,Marks等人,Bio/Technology10:779-783(1992)描述了通过VH和VL结构域改组进行的亲和力成熟。HVR和/或框架残基的随机诱变如以下文献所述: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);和Hawkins等人,J.Mol.Biol.226:889-896(1992)。

[0116] 如本文所用,术语"特异性结合"或"具有特异性"是指可测量和可再现的相互作用,诸如靶标与抗体之间的结合,在分子(包括生物分子)的异质群体的存在下,其确定靶标的存在。例如,与靶标(其可以是表位)特异性结合的抗体是与其结合其他靶标相比具有更大亲和力、亲合力、更容易和/或持续时间更长的结合该靶标的抗体。在一个实施例中,抗体与无关靶标的结合程度小于该抗体与抗原结合的约10%,例如通过放射免疫分析(RIA)所测定。在某些实施例中,与靶标特异性结合的抗体的解离常数(Kd)为≤1μM、≤100nM、≤

10nM、≤1nM或≤0.1nM。在某些实施例中，抗体与蛋白上的表位特异性结合，该表位在不同物种的蛋白之间具有保守性。在另一实施例中，特异性结合可以包括但不要求排他结合。

[0117] 本文的术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链的C末端区域，该C末端区域包括天然序列Fc区和变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链Fc区的边界可能变化，但是人IgG重链Fc区通常被定义为从位置Cys226处的氨基酸残基或从Pro230延伸至该重链的羧基末端。Fc区的C端赖氨酸(根据EU编号系统的残基447)可在例如抗体的生产或纯化过程中或通过重组设计编码抗体重链的核酸而去除。因此，完整抗体的组合物可包括去除所有K447残基的抗体群体、未去除K447残基的抗体群体以及具有含和不含K447残基的抗体混合物的抗体群体。用于本发明抗体的合适的天然序列Fc区包括人IgG1、IgG2(IgG2A、IgG2B)、IgG3和IgG4。

[0118] “Fc受体”或“FcR”是指与抗体的Fc区结合的受体。优选的FcR为天然序列人FcR。此外，优选的FcR是结合IgG抗体(γ受体)并包括FcγRI、FcγRII和FcγRIII亚类的受体，包括这些受体的等位变体和替代的剪接形式，FcγRII受体包括FcγRIIA(“激活受体”)和FcγRIIB(“抑制性受体”)，它们具有相似的氨基酸序列，主要区别在于其胞质结构域。活化受体FcγRIIA在其胞质结构域中包含基于免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)。抑制受体FcγRIIB在其胞质结构域中包含基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)。(参见M. Daëron, Annu.Rev.Immunol.15:203-234(1997))。FcR如下所综述：Ravetch和Kinet，Kinet，Annu.Rev.Immunol.9:457-92(1991)；Capel等人，Immunomethods 4:25-34(1994)；和de Haas等人，J.Lab.Clin.Med.126:330-41(1995)。本文中的术语“FcR”涵盖其他FcR，其中包括未来有待鉴定的部分。

[0119] 术语“Fc受体”或“FcR”还包括负责将母体IgG转移至胎儿的新生儿受体FcRn。Guyer等人，J.Immunol.117:587(1976)和Kim等人，J.Immunol.24:249(1994)。测量与FcRn结合的方法是已知的(参见例如Ghetie和Ward，Immunol.Today 18:(12):592-8(1997)；Ghetie等人，NatureBiotechnology 15(7):637-40(1997)；Hinton等人，J.Biol.Chem.279(8):6213-6(2004)；WO2004/92219(Hinton等人)。可在例如表达人FcRn的转基因小鼠或转染的人细胞系中或者在给予具有变体Fc区的多肽的灵长类动物中，测定与FcRn的体内结合以及人FcRn高亲和力结合多肽的血清半衰期。WO 2004/42072(Presta)描述了与FcR的结合得到改善或有所减少的抗体变体。另参见例如Shields等人，J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001)。

[0120] 如本文所用，短语“基本上减少”或“基本上不同”表示两个数值之间具有足够高的差异(通常一个数值与分子相关联，而另一个数值与参比/对照分子相关联)，由此使得本领域的技术人员将认为在由所述值(例如，Kd值)衡量的生物学特性的上下文中，两个值之间的差异具有统计学意义。根据参考/对比分子的值，所述两个值之间的差异例如为大于约10％、大于约20％、大于约30％、大于约40％和/或大于约50％。

[0121] 如本文所用，术语“基本上相似”或“基本上相同”表示两个数值之间具有足够高的相似度(例如一个数值与本公开所述的抗体相关联，而另一个数值与参比/对照抗体相关联)，由此使得本领域的技术人员将认为在由所述值(例如，Kd值)衡量的生物学特性的上下文中，两个值之间的差异几乎没有生物学和/或统计学意义。根据参考/对比分子的值，所述两个值之间的差异例如为小于约50％、小于约40％、小于约30％、小于约20％和/或小于约10％。

[0122] 如本文所用，“载体”包括药用载体、赋形剂或稳定剂，这些载体在所采用的剂量和浓度下对暴露于其中的细胞或哺乳动物无毒。生理学上可接受的载体通常是pH缓冲水溶液。生理学上可接受的载体的实例包括：缓冲剂，诸如磷酸盐、柠檬酸盐及其他有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸；低分子量(少于约10个残基)多肽；蛋白质，诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水性聚合物，诸如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸，诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂，诸如EDTA；糖醇，诸如甘露醇或山梨糖醇；成盐抗衡离子，诸如钠；和/或非离子型表面活性剂，诸如TWEEN™、聚乙二醇(PEG)和PLURONICS™。

[0123] “包装插页”是指通常包含在药物商业包装中的说明，其包含通常包含在药物商业包装中的有关适应症的信息(含有适应症、用法、剂量、给药方式、禁忌症、与包装产品联用的其他药物)和/或有关使用此类药物的警告等。

[0124] 如本文所用，术语“治疗”是指被设计为在临床病理过程中改变被治疗的个体或细胞的自然进程的临床干预。理想的治疗效果包括但不限于降低疾病进展速度、减缓或减轻疾病状态、缓解或改善预后以及延缓疾病进展。例如，如果减轻或消除了与狼疮性肾炎有关的一种或多种症状，包括但不限于血清肌酸酐升高、蛋白尿、红细胞管型、肾功能下降、肾病综合征、颗粒管型、显微血尿、肉眼血尿、高血压、肾小管异常、高钾血症、急进性肾小球肾炎(RPGN)和急性肾衰竭(ARF)，则表明个体已成功“治疗”。延缓疾病(例如狼疮性肾炎)的进展意味着延缓、阻碍、减缓、延迟、稳定、和/或推迟疾病的发展。这种延迟可以具有不同的时间长度，这取决于病史和/或待治疗的个体。对于本领域技术人员显而易见的是，充分或显著延迟实际上可以涵盖预防，因为例如处于发展该疾病的风险的个体并未患该病。例如，在LN症状和/或病理发作之前，个体中SLE的进展可能被延迟，使得LN的发展经延迟或预防。

[0125] 如本文所用，“完全肾脏缓解(CRR)”是指对治疗的反应，其包括血清肌酸酐正常化、无活性尿沉渣、和尿蛋白与肌酸酐的比率小于0.5。

[0126] 如本文所用，“部分肾脏缓解(PRR)”是指对治疗的反应，其小于CRR，但仍包括减轻一种或多种症状，包括但不限于血清肌酸酐降低、尿沉渣减少、和蛋白尿减少。

[0127] “有效量”至少是实现可测量的改善或预防特定病症所需的最小量。本文的有效量可以根据诸如患者的疾病状态、年龄、性别和体重以及抗体在个体中引起预期应答的能力等因素而变化。有效量也是治疗有益作用超过治疗的任何毒性或有害作用的量。对于预防用途、有益或预期结果包括诸如消除或降低风险、减轻严重程度或延缓疾病发作，包括疾病的生化、组织学和/或行为症状、其并发症以及在疾病发展过程中出现的中间病理表型。对于治疗用途、有益或预期结果包括临床结果，诸如减少由疾病引起的一种或多种症状、提高患病者的生活质量、减少治疗该疾病所需的其他药物的剂量、增强其他药物的效果(诸如通过靶向、延缓疾病进展和/或延长存活)。在狼疮性肾炎的情况下，有效量的药物可以在某种程度上对与该病症有关的症状具有作用和/或在某种程度上减轻其症状。有效量可以一次或多次施用。出于本发明的目的，药物、化合物或药物组合物的有效量为足以直接或间接地进行预防或治疗的量。如在临床背景中所理解的，与另一药物、化合物或药物组合物结合可以达到或不能达到有效量的药物、化合物或药物组合物。因此，可以在施用一种或多种治疗剂的情况下考虑“有效量”，并且如果与一种或多种其他试剂结合可以获得或实现预期结果，则可以考虑给予有效量的单一药剂。

[0128] 如本文所用,“CD20”是指人B淋巴细胞抗原CD20(也称为CD20,B淋巴细胞表面抗原B1、Leu-16、Bp35、BM5、和LF5;该序列由SwissProt数据库条目P11836表征)是位于前B和成熟B淋巴细胞上的分子量约为35kD的疏水性跨膜蛋白。(Valentine,M.A.等人,J.Biol.Chem.264(19)(1989 11282-11287;Tedder,T.F.,等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.85(1988)208-12;Stamenkovic,I.,等人,J.Exp.Med.167(1988)1975-80;Einfeld,D.A.,等人,EMBO J.7(1988)711-7;Tedder,T.F.,等人,J.Immunol.142(1989)2560-8)。相应的人基因为跨膜4结构域亚家族A成员1,也称为MS4A1。此基因编码跨膜4A基因家族的成员。该新生蛋白家族的成员的特征在于共同的结构特征和相似的内含子/外显子剪接边界,并在造血细胞和非淋巴组织之间显示出独特的表现模式。该基因编码B淋巴细胞表面分子,该分子在B细胞发育和分化为浆细胞中起作用。该家庭成员位于11q12,在一簇家庭成员中。该基因的选择式剪接导致编码相同蛋白质的两个转录变异体。

[0129] 术语“CD20”和“CD20抗原”在本文可互换使用,并且包括人CD20的任何变体、同种型、物种同源物,其由细胞天然表达或在CD20基因转染的细胞上表达。本发明的抗体与CD20抗原的结合通过灭活CD20来介导表达CD20的细胞(例如肿瘤细胞)的杀伤。表达CD20的细胞杀伤可通过以下一种或多种机制发生:细胞死亡/细胞凋亡诱导、ADCC和CDC。

[0130] 如本领域所公认的,CD20的同义词包括B淋巴细胞抗原CD20、B淋巴细胞表面抗原B1、Leu-16、Bp35、BM5、和LF5。

[0131] 根据本发明,术语“抗CD20抗体”是与CD20抗原特异性结合的抗体。根据抗CD20抗体与CD20抗原的结合特性和生物学活性,可以区分两种类型的抗CD20抗体(第I型及II型抗CD20抗体),见Cragg,M.S.等人,Blood103(2004)2738-2743;以及Cragg,M.S.,等人,Blood101(2003)1045-1052,参见下表1。

[0132] 表1.I型和II型抗CD20抗体的特性

[0133]

I型抗CD20抗体	II型抗CD20抗体
I型CD20表位	II型CD20表位
将CD20定位在脂筏	不将CD20定位在脂筏
CDC增加(如果是IgG1同型)	CDC减少(如果是IgG1同型)
ADCC活性(如果是IgG1同型)	ADCC活性(如果是IgG1同型)
完全结合能力	结合能力降低
同型聚集	更强的同型聚集
交联时细胞凋亡诱发	强的细胞死亡诱发,无需交联

[0134] II型抗CD20抗体的实例包括例如人源化B-Ly1抗体IgG1(如WO 2005/044859中所述的嵌合人源化IgG1抗体)、11B8 IgG1(如WO 2004/035607中所揭示)、以及AT80 IgG1。通常,IgG1同型的II型抗CD20抗体显示CDC特性。与IgG1同型的I型抗体相比,II型抗CD20抗体的CDC降低(如果是IgG1同型)。

[0135] I型抗CD20抗体的实例包括例如利妥昔单抗、HI47 IgG3(ECACC,融合瘤)、2C6 IgG1(如WO 2005/103081中所揭示)、2F2 IgG1(如WO 2004/035607和WO 2005/103081中所揭示)和2H7 IgG1(如WO 2004/056312中所揭示)。

[0136] 根据本发明的去岩藻糖基化抗CD20抗体较佳的是II型抗CD20抗体,更佳的是去岩

藻糖基化人源化B-Ly1抗体(如WO 2005/044859和WO 2007/031875中所述)。

[0137] “利妥昔单抗”抗体(参考抗体;I型抗CD20抗体的实例)是基因工程改造嵌合人γ1鼠恒定域,其含有针对人CD20抗原的单克隆抗体。然而,该抗体不是糖基工程化改造的,也不是去岩藻糖基化物,且由此岩藻糖的含量至少为85%。该嵌合抗体含有人γ1恒定域,并在1998年4月17日公告的美国专利5,736,137(Andersen等人)(转让给IDEC Pharmaceuticals Corporation)中以名称“C2B8”来识别。利妥昔单抗被批准用于治疗复发或难治的低度或滤泡性CD20阳性B细胞非霍奇金氏淋巴瘤患者。体外作用机理研究显示,利妥昔单抗表现出人补体依赖性细胞毒性(CDC)(Reff,M.E.等人,Blood83(2)(1994)435-445)。此外,它在测量抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的测定中表现出活性。

[0138] 如本文所用,术语“GA101抗体”是指与人CD20结合的以下抗体中的任何一种:(1)一种抗体,该抗体包含HVR-H1,其包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列、HVR-H2,其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列、HVR-H3,其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列、HVR-L1,其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列、HVR-L2,其包含SEQ ID No:5的氨基酸序列、和HVR-L3,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;(2)一种抗体,该抗体包含VH结构域,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,以及VL结构域,其包含SEQ ID No:8的氨基酸序列,(3)一种抗体,该抗体包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列及SEQ ID NO:10的氨基酸序列;(4)被称为奥滨尤妥珠单抗的抗体,或(5)一种抗体,该抗体包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的氨基酸序列,和与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的氨基酸序列。在一个实施例中,该GA101抗体为IgG1同型抗体。在一些实施例中,该抗CD20抗体为人源化B-Ly1抗体。

[0139] 术语“人源化B-Ly1抗体”是指如WO 2005/044859和WO 2007/031875中所公开的人源化B-Ly1抗体,其获自鼠单克隆抗CD20抗体B-Ly1(鼠重链的可变区(VH)的:SEQ ID NO:11;鼠轻链的可变区(VL):SEQ ID NO:12-参见Poppema,S.及Visser,L.,Biotest Bulletin3(1987)131-139),其与来自IgG1的人恒定区嵌合化且随后人源化(参见WO 2005/044859和WO 2007/031875)。这些“人源化B-Ly1抗体”在WO 2005/044859和WO 2007/031875中详细公开。

[0140] 鼠单克隆抗CD20抗体B-Ly1重链(VH)的可变区(SEQ ID NO:11)

Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys

1 5 10 15

Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp Met Asn Trp Val Lys Leu

20 25 30

Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp

35 40 45

Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr

[0141]

50 55 60

Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Thr Ser Leu Thr

65 70 75 80

Ser Val Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly

85 90 95

Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

100 105 110

[0142] 鼠单克隆抗CD20抗体B-Ly1轻链(VL)的可变区(SEQ ID NO:12)

[0143]

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

[0144] 在一个实施例中,“人源化B-Ly1抗体”具有选自SEQ ID NO:7、8和13至33的组的重链(VH)的可变区(尤其对应于WO 2005/044859和WO 2007/031875的B-HH2至B-HH9和B-HL8至B-HL17)。在一个特定实施例中,这种可变结构域选自包含SEQ ID NO:14、15、7、19、25、27和29的组(对应于WO 2005/044859及WO 2007/031875的B-HH2、BHH-3、B-HH6、B-HH8、B-HL8、B-HL11和B-HL13)。在一个特定实施例中,“人源化B-Ly1抗体”具有SEQ ID NO:8的轻链(VL)可变区(对应于WO 2005/044859和WO 2007/031875的B-KV1)。在一个特定实施例中,“人源化B-Ly1抗体”具有SEQ ID NO:7的重链(VH)的可变区(对应于WO 2005/044859和WO 2007/031875的B-HH6)和SEQ ID NO:8的轻链(VL)可变区域(对应于WO 2005/044859和WO 2007/031875的B-KV1)。此外,在一个实施例中,人源化的B-Ly1抗体是IgG1抗体。根据本发明,此类去岩藻糖基化人源化B-Ly1抗体根据下文所述程序在Fc区中糖基工程化改造(GE):WO 2005/044859、WO 2004/065540、WO 2007/031875、Umana,P.等人,Nature Biotechnol.17(1999)176-180及WO 99/154342。在一个实施例中,去岩藻糖基化的糖基工程化改造的人源化B-Ly1是B-HH6-B-KV1 GE。在一个实施例中,抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗(推荐INN、WHO Drug Information,Vol.26,No.4,2012,p.453)。如本文所用,奥滨尤妥珠单抗是GA101或RO5072759的同义词。该版本取代了所有以前的形式(例如,Vol.25,No.1,2011,p.75-76),并且以前称为阿夫土珠(推荐INN,WHO Drug Information,Vol.23,No.2,2009,p.176;Vol.22,No.2,2008,p.124)。如本文所用,对奥滨尤妥珠单抗的引用是指GAZYVA®及其

生物类似抗体。在一些实施例中，人源化B-Ly1抗体是包含重链和轻链的抗体，该重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列，该轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，或其抗原结合片段。在一些实施例中，该人源化B-Ly1抗体包含重链可变区，其包含SEQ ID NO:9的三个重链CDR，以及轻链可变区，其包含SEQ ID NO:10的三个轻链CDR。

[0145] 重链(SEQ ID NO:9)

QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYAFS YSWINWVRQA PGQGLEWMGR 50

IFPGDGDTDY NGKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARNV 100

FDGYWLVYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD 150

YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY 200

[0146] ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK 250

DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS 300

TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV 350

YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL 400

DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG 449

[0147] 轻链(SEQ ID NO:10)

[0148] DIVMTQTPLS LPVTPGEPAS ISCRSSKSLL HSNGITYLYW YLQKPGQSPQ 50

LLIYQMSNLV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCAQNLELP 100

YTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK 150

[0149] VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE 200

VTHQGLSSPV TKSFNRGEC 219

[0150] 在一些实施例中，人源化B-Ly1抗体是去岩藻糖基化糖基工程化改造的人源化B-Ly1。此类糖基工程化改造的人源化B-Ly1抗体在Fc区的糖基化模式发生了变化，较佳的是降低了岩藻糖残基的水平。较佳地，岩藻糖的量为Asn297处寡糖总量的60％或更少(在一个实施例中，岩藻糖的量在40％至60％之间，在另一实施例中，岩藻糖的量为50％或更少，并且在又一实施例中，岩藻糖的量为30％或更少)。此外，Fc区的寡糖较佳的是二分式(bisected)。这些糖基工程化改造的人源化B-Ly1抗体具有增强的ADCC。

[0151] “抗CD20抗体与利妥昔单抗同Raji细胞(ATCC-No.CCL-86)上CD20的结合能力之比”通过直接免疫萤光测量来测定(测量平均萤光强度(MFI))，如实例2所述，在FACSArray(Becton Dickinson)中使用与Cy5缀合的抗CD20抗体和与Cy5缀合的利妥昔单抗、并用Raji细胞(ATCC-No.CCL-86)，计算方法如下：

[0152] 与Raji细胞(ATCC-No.CCL-86)上CD20的结合能力之比＝

[0153] $$\frac{\text{MFI（Cy5-抗 CD20 抗体）}}{\text{MFI（Cy5-利妥昔单抗）}}\times\frac{\text{Cy5-标记率（Cy5-利妥昔单抗）}}{\text{Cy5-标记率（Cy5-抗 CD20 抗体）}}$$

[0154] MFI为平均萤光强度。如本文所用，“Cy5标记率”是指每分子抗体中Cy5标记分子的数量。

[0155] 通常，该II型抗CD20抗体具有II型抗CD20抗体与利妥昔单抗同Raji细胞(ATCC-No.CCL-86)上CD20的结合能力之比为0.3至0.6，且在一个实施例中为0.35至0.55，且在又

一实施例中为0.4至0.5。

[0156] 在一个实施例中，该II型抗CD20抗体，例如GA101抗体，具有增加的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。

[0157] “具有增加的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的抗体”是指如本文所定义的抗体，其具有通过本领域普通技术人员已知的任何合适方法测定的增加的ADCC。一种可接受的体外ADCC测定如下：

[0158] 1)该测定使用已知表达靶抗原的靶细胞，该靶抗原被抗体的抗原结合区识别；

[0159] 2)该测定使用从随机选择的健康供体的血液中分离的人外周血单核细胞(PBMC)作为效应细胞；

[0160] 3)根据以下操作方案进行测定：

[0161] i)使用标准密度离心程序分离PBMC，并以$5x10^6$个细胞/ml的浓度将其悬浮在RPMI细胞培养基中；

[0162] ii)通过标准组织培养方法生长靶细胞，从指数生长期收获，存活率高于90％，在RPMI细胞培养基中洗涤，用100微居里的^{51}Cr标记，再用细胞培养基洗涤两次，并以10^5个细胞/ml的密度重悬于细胞培养基中；

[0163] iii)将100微升的上述最终靶细胞悬浮液转移至96孔微量滴定板的每个孔中；

[0164] iv)在细胞培养基中将抗体从4000ng/ml连续稀释至0.04ng/ml，并将50微升所得抗体溶液添加到96孔微量滴定板中的靶细胞中，一式三份地测试各抗体浓度覆盖上述整个浓度范围；

[0165] v)对于最大释放(MR)对照，在板中包含标记靶细胞的另外3个孔中，加入50微升2％(VN)非离子型去污剂水溶液(Nonidet,Sigma,St.Louis)，代替抗体溶液(上述第iv点)；

[0166] vi)对于自发释放(SR)对照，在板中包含标记标靶细胞的另外3个孔中，加入50微升RPMI细胞培养基，代替抗体溶液(上述第iv点)；

[0167] vii)然后将96孔微量滴定板以50×g离心1分钟，并在4℃下培育1小时；

[0168] viii)将50微升PBMC悬浮液(上述第i点)添加到每个孔中，以使效应:靶细胞的比率为25:1，并将板置于5％CO2气氛的培养箱中，在37℃下放置4小时；

[0169] ix)收集每个孔的无细胞上清液，并使用伽玛计数器对实验释放的放射性(ER)进行定量；

[0170] x)根据公式(ER-MR)/(MR-SR)x 100计算每种抗体浓度的特异性裂解百分比，其中ER是针对该抗体浓度量化的平均放射性(见上文第ix点)，MR是针对MR对照(见上文第V点)量化的平均放射性(见上文第ix点)，且SR是SR对照(见上文第vi点)量化的平均放射性(见上文第ix点)；

[0171] 4)“增加的ADCC”定义为在上述测试的抗体浓度范围内、观察到的特异性裂解最大百分比的增加，和/或在上述测试的抗体浓度范围内、达到所观察到的特异性裂解最大百分比一半所需抗体浓度的减少。在一个实施例中，ADCC的增加相对于通过上述测定法测量的、由相同抗体介导、由相同类型的宿主细胞产生、使用相同标准产生、纯化、配制和储存方法的ADCC，是本领域技术人员中已知的，除比较抗体(缺少增加的ADCC)未通过经工程改造为过量表现GnTIII和/或工程改造为从岩藻糖基转移酶8(FUT8)基因表现减少的宿主细胞产生的(例如，包括针对FUT8剔除工程改造)。

[0172] 所述“增加的ADCC”可通过例如所述抗体的突变和/或糖基化工程改造来获得。在一个实施例中，抗体经糖基化工程改造以具有双角寡糖经接附至GlcNAc二分式的抗体的Fc区，(例如下文所述：WO 2003/011878(Jean-Mairet等人)；美国专利号6,602,684(Umana等人)；US 2005/0123546(Umana等人)，Umana,P.,等人，Nature Biotechnol.17(1999)176-180)。在另一实施例中，该抗体经糖化工程改造以使其在与Fc区相连的碳水化合物上缺乏岩藻糖，具体通过在缺乏蛋白质岩藻糖化的宿主细胞(例如，Lec13 CHO细胞或α-1,6-岩藻糖基转移酶基因(FUT8)删除或FUT基因表现被减弱(knock down)的细胞)中表达抗体(参见例如Yamane-Ohnuki等人，Biotech.Bioeng.87:614(2004)；Kanda,Y.等人，Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006)；及WO2003/085107)。在又一实施例中，抗体序列已在其Fc区中经工程化改造以增强ADCC(例如，在一个实施例中，此类工程化抗体变体包含在位置298、333和/或334处具有一个或多个氨基酸取代的Fc区(残基的EU编号))。

[0173] 术语“补体依赖性细胞毒性(CDC)”是指在补体存在下通过本发明的抗体裂解人肿瘤靶细胞。CDC可通过在补体存在下用根据本发明的抗CD20抗体处理表达CD20的细胞的制剂来测量。如果在4小时后抗体以100nM的浓度诱导20％或更多的肿瘤细胞裂解(细胞死亡)，则有CDC。在一个实施例中，用^{51}Cr或Eu标记的肿瘤细胞进行测定并测量释放的^{51}Cr或Eu。对照包括将肿瘤标靶细胞与补体一起培育，但不与抗体一起培育。

[0174] 术语“CD20的表达”抗原旨在表示CD20抗原在细胞、例如T细胞或B细胞中的显著表达水平。在一个实施例中，根据本发明方法的待治疗患者B细胞上CD20表达水平显著。B细胞上的CD20表达可通过本领域已知的标准测定来确定。例如，使用免疫组织化学(IHC)检测、FACS或经由基于PCR的检测相应mRNA来检测CD20抗原的表达。

[0175] 如在本说明书和所附权利要求中所用，单数形式“一个”、“一种”、“该”和“所述”包括复数指代物，除非上下文另外明确规定。因此，例如，对“分子”的提及任选地包括两个或更多此类分子的组合等。

[0176] 如本文所用，术语“约”是指本技术领域的技术人员所熟知的各个值的通常误差范围。在本文中提及“约”值或参数包括(且描述)涉及该值或参数本身的实施例。

[0177] 应当理解，本文所述的发明的方面和实施例包括“包含”、“由以下组成”及“基本上由以下组成”所指的方面和实施例。

[0178] III.方法

[0179] 在一个方面，本文提供了用于通过施用有效量的II型抗CD20抗体治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎或消耗个体循环外周B细胞的方法。在一些实施例中，该个体患有狼疮性肾炎或处于发展成狼疮性肾炎的风险。在一些实施例中，该狼疮性肾炎为III型或IV型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体患有III(C)型或IV(C)型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该个体具有伴发性V型狼疮性肾炎。在一些实施例中，该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露，该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供，该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该二次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；并且其中该第三次抗体

暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第三次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露。在一些实施例中，该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露，该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；并且其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露。如本文所述，在一些实施例中，该抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。在一些实施例中，该抗体包含VH结构域，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列；和VL结构域，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施例中，该抗体包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列和SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在一些实施例中，该抗体包含抗体，其包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少95％、96％、97％、98％或99％的序列一致性的氨基酸序列，并且包含与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少95％、96％、97％、98％或99％的序列一致性的氨基酸序列。

[0180] 在另一方面，本文提供了用于通过施用有效量的II型抗CD20抗体治疗膜性肾病(MN)(例如原发性膜性肾病，pMN)的方法。在一些实施例中，该包装插页提供用于治疗个体的膜性肾病(MN)的说明，其中该等说明指示对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露，该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；并且其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露。如本文所述，在一些实施例中，该抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列、和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列、和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。在一些实施例中，该抗体包含VH结构域，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列；和VL结构域，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施例中，该抗体包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列及SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在一些实施例中，该抗体包含抗体，其包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少95％、96％、97％、98％或99％的序列一致性的氨基酸序列，并且包含与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少95％、96％、97％、98％或99％的序列一致性的氨基酸序列。

[0181] 抗CD20抗体

[0182] 本公开的某些方面涉及抗CD20抗体，例如，用于本文所述的方法，例如，用于治疗或预防狼疮性肾炎的进展者，或用于治疗或预防膜性肾病(例如，pMN)的进展。在一些实施例中，该抗CD20抗体为II型抗体。在一些实施例中，该抗CD20抗体是人的或人源化的。在一些实施例中，该抗CD20抗体是去岩藻糖基化的。在一些实施例中，该抗CD20抗体为GA101抗体。

[0183] II型抗CD20抗体的实例包括例如人源化B-Ly1抗体IgG1(如WO 2005/044859中所述的嵌合人源化IgG1抗体)、11B8 IgG1(如WO 2004/035607中所揭示)、以及AT80 IgG1。通

常,IgG1同型的II型抗CD20抗体显示CDC特性。与IgG1同型的I型抗体相比,II型抗CD20抗体的CDC降低(如果是IgG1同型)。

[0184] 在一些实施例中,该抗CD20抗体为如本文所述的GA101抗体。在一些实施例中,该抗CD20抗体是指与人CD20结合的以下抗体中的任何一种:(1)一种抗体,该抗体包含HVR-H1,其包含GYAFSY(SEQ ID NO:1)的氨基酸序列、HVR-H2,其包含(SEQ ID NO:2)的氨基酸序列、HVR-H3,其包含NVFDGYWLVY(SEQ ID NO:3)的氨基酸序列、HVR-L1,其包含RSSKSLLHSNGITYLY(SEQ ID NO:4)的氨基酸序列、HVR-L2,其包含QMSNLVS(SEQ ID NO:5)的氨基酸序列、和HVR-L3,其包含AQNLELPYT(SEQ ID NO:6)的氨基酸序列;(2)一种抗体,该抗体包含VH结构域,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,以及VL结构域,其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,(3)一种抗体,该抗体包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列及SEQ ID NO:10的氨基酸序列;(4)被称为奥滨尤妥珠单抗的抗体,或(5)一种抗体,该抗体包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的氨基酸序列,和与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的氨基酸序列。在一个实施例中,该GA101抗体为IgG1同型抗体。在一些实施例中,该抗CD20抗体包含本文所述抗体任何一种的HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,例如,来自SEQ ID NO:7的3个HVR和来自SEQ ID NO:8的3个HVR、来自SEQ ID NO:9的3个HVR和来自SEQ ID NO:10的3个HVR,或表2中提供的氨基酸序列的任何HVR。

[0185] 在一些实施例中,该抗CD20抗体包含重链可变区(VH),其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,以及该轻链可变区(VL),其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0186] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:7)

[0187] DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIKRTV(SEQ ID NO:8)。

[0188] 在一些实施例中,该抗CD20抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列,该轻链包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(SEQ ID NO:9)

[0189] DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:10)

[0190] 在一些实施例中,该抗CD20抗体为人源化B-Ly1抗体。在一些实施例中,该人源化B-Ly1抗体包含重链可变区,其包含SEQ ID NO:9的三个重链CDR,以及轻链可变区,其包含SEQ ID NO:10的三个轻链CDR。在一些实施例中,该人源化B-Ly1抗体包含重链和轻链,该重链包含SEQ ID NO:9的序列,该轻链包含SEQ ID NO:10的序列。

[0191] 在一些实施例中，该抗CD20抗体包含与下表2中所列多肽序列至少80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％相同的氨基酸序列。

[0192] 表2.多肽序列。

构建体	多肽序列	序列识别号
B-HH1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSYSWMSWV RQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYAQKFQGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	13
B-HH2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWMNWV RQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	14
B-HH3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWMNWV RQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYLCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	15
B-HH4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYAFSYSWMNW VRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQ GTLVTVSS	16
B-HH5	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWMSWV RQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	17
B-HH6	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVR QAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGT LVTVSS	7
B-HH7	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWISWVR QAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGT LVTVSS	18
B-HH8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTYSWMNWV RQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	19
B-HH9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSYSWMNWV RQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	20

[0193]

[0194]

构建体	多肽序列	序列识别号
B-HL1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTYSWMHWV RQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQ GTLVTVSS	21
B-HL2	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTYSWMHWV QQAPGKGLEWMGRIFPGDGDTDYAEKFQGRVTITADTS TDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	22
B-HL3	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTYSWMNWV QQAPGKGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADTS TDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	23
B-HL4	QMQLVQSGAEVKKTGSSVKVSCKASGYTFTYSWMSWV RQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYAQKFQGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	24
B-HL8	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWVR QAPGKGLEWVGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGT LVTVSS	25
B-HL10	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFAFSYSWMNWV RQAPGKGLEWVGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	26
B-HL11	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWV RQAPGKGLEWVGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	27
B-HL12	EVQLVESGAGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWVR QAPGKGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGT LVTVSS	28
B-HL13	EVQLVESGGGVVKPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWV RQAPGKGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	29

[0195]

构建体	多肽序列	序列识别号
B-HL14	EVQLVESGGGLKKPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWVR QAPGKGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGT LVTVSS	30
B-HL15	EVQLVESGGGLVKPGSSLRLSCAASGFTFSYSWMNWVR QAPGKGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGT LVTVSS	31
B-HL16	EVQLVESGGGLVKPGGSLRVSCAASGFTFSYSWMNWV RQAPGKGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQG TLVTVSS	32
B-HL17	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYSWMNWVR QAPGKGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGT LVTVSS	33
VH 信号序列	MDWTWRILFLVAAATGAHS	34
B-KV1	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIKRTV	8
VL 信号序列	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGARC	43

[0196] 在一些实施例中，抗CD20抗体(例如II型抗CD20抗体)为去岩藻糖基化的经糖基工程化改造的抗体。此类糖基工程化改造的抗体在Fc区的糖基化模式发生了变化，较佳的是降低了岩藻糖残基的水平。较佳地，岩藻糖的量为Asn297处寡糖总量的60％或更少(在一个实施例中，岩藻糖的量在40％至60％之间，在另一实施例中，岩藻糖的量为50％或更少，并且在又一实施例中，岩藻糖的量为30％或更少)。此外，Fc区的寡糖较佳的是二分式(bisected)。在一些实施例中，II型抗CD20抗体包含Fc区，其包含被N-乙酰基葡糖胺(GlcNAc)二等分的双角寡糖。这些糖基工程化改造的人源化抗CD20(例如B-Ly1)抗体具有增加的ADCC。

[0197] 寡糖成分可显著影响与治疗性糖蛋白功效相关的性质，包括物理稳定性，对蛋白酶攻击的抵抗力，与免疫系统的交互作用，药代动力学和特定生物学活性。这样的性质不仅取决于寡糖的存在与否，而且还取决于寡糖具体的结构。可以对寡糖结构和糖蛋白功能进行一些概括。例如，某些寡糖结构通过与特定碳水化合物结合蛋白的交互作用介导糖蛋白从血流中的快速清除，而其他寡糖结构则可能被抗体结合并触发不希望的免疫反应。(Jenkins,N.等人,Nature Biotechnol.14(1996)975-81)。

[0198] 哺乳动物细胞是生产治疗性糖蛋白的较佳宿主，因为它们具有以人最相容的形式糖基化蛋白质的能力。(Cumming,D.A.等人,Glycobiology 1(1991)115-30;Jenkins,N.等

人Nature Biotechnol.14(1996)975-81)。细菌极少有糖基化蛋白,并且像其他类型的常见宿主(如酵母、丝状真菌、昆虫和植物细胞)一样,会产生糖基化模式,这与血液中的快速清除、不良的免疫交互作用以及某些特定情况下的生物学活性降低有关。在哺乳动物细胞中,中国仓鼠卵巢(CHO)细胞是近二十年来最常用的细胞。除提供合适的糖基化模式外,这些细胞还可以持续生产遗传稳定的高产克隆细胞系。可以使用无血清培养基在简单的生物反应器中将它们培养到高密度,并允许开发安全且可重复的生物过程。其他常用的动物细胞包括乳仓鼠肾(BHK)细胞、NSO和SP2/0小鼠骨髓瘤细胞。最近,还测试了转基因动物的生产。(Jenkins,N.,等人,Nature Biotechnol.14(1996)975-981).

[0199] 抗体可在重链恒定区的保守位置包含碳水化合物结构,每个同种型均具有一系列不同的氮连接的碳水化合物结构,这些结构可变地影响蛋白质的组装、分泌或功能活性。(Wright,A.,and Morrison,S.L.,Trends Biotech.15(1997)26-32)。附接的氮连接的碳水化合物的结构根据加工程度的不同而有很大差异,并且可以包括高甘露糖、多分支以及双角复合寡糖。(Wright,A.,和Morrison,S.L.,Trends Biotech.15(1997)26-32)。通常,在特定糖基化位点处连接的核心寡糖结构存在异质加工,因此甚至单克隆抗体也以多种糖型存在。同样,已经显示出抗体糖基化的主要差异发生在细胞系之间,对于在不同培养条件下生长的给定细胞系,甚至观察到很小的差异。(Lifely,M.R.等人,Glycobiology5(8)(1995)813-22)。

[0200] 一种获得大幅度提高效力同时保持简单的生产过程并可能避免明显的不良副作用的方法是通过改造单克隆抗体的寡糖组分来增强单克隆抗体的天然、细胞介导的效应子功能,如下列所述:Nature Biotechnol.17(1999)176-180和US 6,602,684。IgG1型抗体是癌症免疫疗法中最常用的抗体,是在每个CH2结构域中的Asn297处具有保守的N-连接的糖基化位点的糖蛋白。附接在Asn297的两种复杂的双角寡糖埋在CH2结构域之间,与多肽主链形成广泛接触,它们的存在对于抗体介导效应子功能诸如抗体依赖性细胞毒性(ADCC)是必不可少的(Lifely,M.R.,et al.,Glycobiology5(1995)813-822;Jefferis,R.,etal.,Immunol.Rev.163(1998)59-76;Wright,A.,and Morrison,S.L.,TrendsBiotechnol.15(1997)26-32)。

[0201] 先前显示,在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中过度表达β(1,4)-N-乙酰葡糖氨基转移酶I11(″GnTII17y)(一种糖苷基转移酶,催化二分式寡糖(bisected oligosaccharide)的形成),显著增加通过经工程改造的CHO细胞所制造的抗神经母细胞瘤嵌合单克隆抗体(chCE7)的体外ADCC活性。(参见Umana,P.等人,Nature Biotechnol.17(1999)176-180;和WO 99/154342,其全部内容通过引用方式并入本文)。抗体chCE7属于一大类未缀合的单克隆抗体,其具有高肿瘤亲和力和特异性,但在缺乏GnTIII酶的标准工业细胞系中制造时,效价太低而无临床可用性(Umana,P.等人,NatureBiotechnol.17(1999)176-180)。该研究首次表明,通过改造抗体产生细胞表达GnTIII可以大大提高ADCC活性,这也导致恒定区(Fc)相关的二分式的寡糖(包括二分式去岩藻糖基化寡糖)的比例增加高于天然抗体中发现的水平。

[0202] 在一些实施例中,抗CD20抗体(例如II型抗CD20抗体)包含人Fc区(例如人IgG1 Fc区)。在一些实施例中,Fc区包含已被修饰的氮连接的寡糖。在一些实施例中,与具有未修饰的氮连接的寡糖的抗体相比,Fc区的氮连接的寡糖具有减少的岩藻糖残基。在一些实施例

中,二分式的寡糖是二分式的复合寡糖。在一些实施例中,氮连接的寡糖已被修饰以具有增加的二分式的、去岩藻糖基化的寡糖。在一些实施例中,二分式、去岩藻糖基化的寡糖是混杂类型。在一些实施例中,二分式、去岩藻糖基化的寡糖是复合物类型。对于更详细的描述,参见例如WO 2003/011878(Jean-Mairet等人);美国专利号6,602,684(Umana等人);US 2005/0123546(Umana等人);及美国专利号8,883,980(Umana等人)。

[0203] 在一些实施例中,该II型抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。

[0204] 抗体制备

[0205] 根据任何上述实施例中的抗体(例如,本揭露的II型抗CD20抗体)可以单独或组合掺入任何特征,如下文第1-7节中所述:

[0206] 1.抗体亲和力

[0207] 在某些实施例中,本文提供的抗体的解离常数(Kd)≤1μM、≤100nM、≤10nM、≤1nM、≤0.1nM、≤0.01nM或≤0.001nM(例如10^{-8}M或更少,例如10^{-8}M至10^{-13},例如10^{-9}M至10^{-13}M)。

[0208] 在一个实施例中,通过放射性标记的抗原结合测定法(RIA)测量Kd。在一个实施例中,用目标抗体的Fab形式及其抗原执行RIA。例如,通过在一系列未标记的抗原滴定存在下用最小浓度(^{125}I)标记的抗原平衡Fab,然后用抗Fab抗体包被的板捕获结合的抗原,来测量Fab对抗原的溶液结合亲和力(参见,例如Chen等人,J.Mol.Biol.293:865-881(1999))。为确定测定条件,用在50mM碳酸钠(pH 9.6)中5μg/ml捕获抗Fab抗体(Cappel Labs)包被MICROTITER®微孔板(Thermo Scientific)过夜,随后在室温(大约23℃)用在PBS中2%(w/v)牛血清白蛋白阻断二至五小时。在非吸附板(Nunc#269620)中,将100pM或26pM[^{125}I]-抗原与目的Fab的连续稀释液(例如,遵循在Presta等人,Cancer Res.57:4593-4599(1997)中抗VEGF抗体(Fab-12)的评定)混合。然后将目的Fab孵育过夜;然而,孵育可以持续更长时间(例如,约65小时)以确保达到平衡。此后,将混合物转移至捕获板以在室温下孵育(例如,一小时)。随后移除溶液并且用在PBS中的0.1%聚山梨醇酯20(TWEEN-20®)洗涤该板八次。当板已干燥时,添加150μl/孔的闪烁体(MICROSCINT-20™;Packard),并且在TOPCOUNT ™γ计数器(Packard)上对板计数十分钟。选择给出小于或等于20%最大结合的各Fab的浓度以用于竞争性结合测定中。

[0209] 根据另一实施例,使用BIACORE®表面等离子体共振测定法测量Kd。例如,使用BIACORE®-2000或BIACORE®-3000(BIAcore,Inc.,Piscataway,NJ)在25℃下用固定的抗原CM5芯片以约10个响应单位(RU)进行测定。在一个实施例中,根据供应商说明书,用N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺盐酸盐(EDC)及N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化羧甲基化的葡聚糖生物感测器芯片(CM5,BIACORE,Inc.)。将抗原用10mM醋酸钠pH 4.8稀释至5μg/ml(约0.2μM),之后以5μl/min的流速进行注射以获得大约10响应单位(RU)的偶联蛋白。注射抗原之后,注射1M乙醇胺以阻断未反应的基团。关于动力学测量,在25℃,以约25μl/min的流速注射在含有0.05%聚山梨醇酯20(TWEEN-20™)表面活性剂(PBST)的PBS中的Fab的两倍连续稀释液(0.78nM至500nM)。通过同时拟合缔合和解离传感图,使用简单的一对一朗缪尔结合模型(BIACORE®评估软件3.2版)计算缔合速率(kon)和解离速率(koff)。平衡解离常数(Kd)计算为比率koff/kon。参见例如Chen等人,J.Mol.Biol.293:

865-881(1999)。如果通过上述表面等离子体共振测定得出缔合速率超过106M-1s-1,则可通过使用荧光淬灭技术测定缔合速率,即如在分光计诸如配备止流装置的分光光度计(Aviv Instruments)或8000系列SLM-AMINCO ™分光光度计(ThermoSpectronic)中用搅拌比色杯所测得的,在浓度渐增的抗原存在下,测量在25℃PBS pH 7.2中的20nM抗抗原抗体(Fab形式)的荧光发射强度(激发波长=295nm;发射波长=340nm,带通=16nm)的增加或减少。

[0210] 2.抗体片段

[0211] 在某些实施例中,本文提供的抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')$_2$、Fv和scFv片段以及下文所述的其他片段。关于某些抗体片段的综述,参见Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003)。关于scFv片段的综述,参见例如,Pluckthün在The harmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore主编,(Springer-Verlag,New York),第269页至第315页(1994)中所述;还可参见WO93/16185;以及美国专利号5,571,894和5,587,458。关于对包含补救受体结合表位残基并具有增加的体内半衰期的Fab片段和F(ab')$_2$片段的讨论,参见美国专利号5,869,046。

[0212] 双体抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价或双特异性的。参见例如EP 404,097;WO 1993/01161;Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003);以及Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)。三体抗体和四体抗体也在Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003)中进行了描述。

[0213] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施例中,单结构域抗体是人单结构域抗体(Domantis,Inc.,Waltham,MA;参见例如美国专利号6,248,516B1)。

[0214] 抗体片段可以通过各种技术制备,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及由重组宿主细胞(例如大肠杆菌(E.coli)或噬菌体)产生,如本文所述。

[0215] 3.嵌合抗体和人源化抗体

[0216] 在某些实施例中,本文提供的抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于例如美国专利号4,816,567;以及Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))。在一个实例中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,衍生自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长动物诸如猴的可变区)和人恒定区。在另一个实例中,嵌合抗体为其中类别或亚类已经与亲本抗体的类别或亚类改变的"类别转换"抗体。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0217] 在某些实施例中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以减少对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。通常,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR,例如CDR(或其部分)源自非人抗体,而FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选地还将包含人恒定区的至少一部分。在一些实施例中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,HVR残基所来源于的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力

[0218] 人源化抗体及其制备方法综述于例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008)中,并且进一步描述于例如:Riechmann等人,,Nature 332:323-329(1988);Queen等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA86:10029-10033(1989);US专利号5,821,337、7,527,791、6,982,321和7,087,409;Kashmiri等人,Methods 36:25-34(2005)(具体描

述了决定区(SDR)接枝);Padlan,Mol.Immunol.28:489-498(1991)(描述了“表面重塑”);Dall'Acqua等人,Methods 36:43-60(2005)(描述了“FR改组”);Osbourn等人,Methods 36:61-68(2005);以及Klimka等人,Br.J.Cancer,83:252-260(2000)(描述了FR改组的“导向选择”法)。

[0219] 可用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳匹配”方法选择的框架区(参见例如Sims等人J.Immunol.151:2296(1993));来源于轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区(参见例如:Carter等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);以及Presta等人J.Immunol.,151:2623(1993));人成熟的(体细胞突变)框架区或人种系框架区(参见例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));以及来源于筛选FR库的框架区(参见例如:Baca等人,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997);以及Rosok等人,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0220] 4.人抗体

[0221] 在某些实施例中,本文提供的抗体是人抗体。可以使用本领域已知的各种技术来产生人抗体。人抗体一般性描述于:van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5,368-74(2001);以及Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)。

[0222] 可以通过以下方式来制备人抗体:将免疫原施用于转基因动物,所述转基因动物已被修饰以响应于抗原激发而产生具有人可变区的完整人抗体或完整抗体。此类动物通常含有全部或部分人免疫球蛋白基因座,所述全部或部分人免疫球蛋白基因座替代内源性免疫球蛋白基因座,或者在动物的染色体外存在或随机整合至动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,内源性免疫球蛋白基因座通常已被灭活。关于从转基因动物获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg,Nat.Biotech.23:1117-1125(2005)。还参见例如描述XENOMOUSE™技术的美国专利号6,075,181和6,150,584;描述HuMab®技术的美国专利号5,770,429;描述K-MMOUSE®技术的美国专利号7,041,870,以及描述VelociMouse®技术的美国专利申请公开号US2007/0061900)。可以进一步修饰来自由此类动物产生的完整抗体的人可变区,例如通过与不同的人恒定区组合。

[0223] 人抗体也可以通过基于杂交瘤的方法制备。已经描述了用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人杂交骨髓瘤细胞系。(参见例如:KozborJ.Immunol.,133:3001(1984);Brodeur等人,Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications,第51-63页(Marcel Dekker,Inc.,New York,1987);以及Boerner等人,J.Immunol.,147:86(1991)。)经由人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体也描述于如Li等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,103:3557-3562(2006)。另外的方法包括例如在美国专利号7,189,826(描述了从杂交瘤细胞系产生单克隆人IgM抗体)和Ni,Xiandai Mianyixue,26(4):265-268(2006)(描述了人-人杂交瘤)中描述的那些方法。人类杂交瘤技术(Trioma技术)也描述于Vollmers和Brandlein,Histology and Histopathology,20(3):927-937(2005)和Vollmers和Brandlein,Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology,27(3):185-91(2005)中。

[0224] 人抗体还可以通过分离选自人源噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列产生。然后可以将此类可变结构域序列与预期的人恒定结构域结合。从抗体文库中选择人抗体的技术描述如下。

[0225] 5.源自文库的抗体

[0226] 可以通过筛选组合文库中具有一种或多种期望活性的抗体来分离可用于本发明的抗体。例如,本领域已知多种方法用于产生噬菌体展示文库并筛选此类文库以获得具有所需结合特征的抗体。此类方法例如在下列中有综述:Hoogenboom等人于Methods in Molecular Biology178:1-37(O'Brien等人编辑,Human Press,Totowa,NJ,2001),且进一步描述于例如下文:McCafferty等人,Nature 348:552-554;Clackson等人,Nature 352:624-628(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Marks和Bradbury,在Methods in Molecular Biology 248:161-175(Lo编辑,Human Press,Totowa,NJ,2003);Sidhu等人,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等人,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004);以及Lee等人,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004)。

[0227] 在某些噬菌体展示方法中,将VH和VL基因的所有组成成分通过聚合酶链式反应(PCR)单独克隆,并在噬菌体文库中随机重组,然后可以从该噬菌体文库中筛选抗原结合噬菌体,如在Winter等人,Ann.Rev.Immunol.,12:433-455(1994)中所描述的。噬菌体通常将抗体片段展示为单链Fv(scFv)片段或Fab片段。来自经免疫的来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体,而无需构建杂交瘤。替代地,可以克隆初始组库(例如,来自人)以提供针对广泛的非自身抗原和自身抗原的抗体的单一来源,而无需任何免疫,如Griffiths等人在EMBO J,12:725-734(1993)中所述。最后,还可通过以下方式来制得初始文库:克隆来自干细胞的未重排的V基因区段;以及使用含有随机序列的PCR引物来编码高度可变的CDR3区域并完成体外重排,如由Hoogenboom和Winter在J.Mol.Biol.,227:381-388(1992)中所述。描述人抗体噬菌体文库的专利出版物包括,例如:美国专利号5,750,373,和美国公开号2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936和2009/0002360。

[0228] 在本文中从人抗体文库分离出的抗体或抗体片段被认为是人抗体或人抗体片段。

[0229] 6.多特异性抗体

[0230] 在某些实施例中,本文提供的抗体是多特异性抗体,例如双特异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体。在某些实施例中,结合特异性中的一种是针对CD20的,并且另一种是针对任何其他抗原的。在某些实施例中,双特异性抗体可结合CD20的两个不同的表位。双特异性抗体也可用于将细胞毒剂定位于表达CD20的细胞。可以将双特异性抗体制成全长抗体或抗体片段。

[0231] 制备多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两个免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(参见Milstein和Cuello,Nature 305:537(1983)),WO 93/08829,和Traunecker等人,EMBO J.10:3655(1991)),和"杵臼(knob-in-hole)"工程化(参见例如,美国专利号5,731,168)。多特异性抗体也可以通过如下方法来制备:工程化静电操纵效应以制备抗体Fc-异二聚体分子(WO 2009/089004A1);交联两个或更多个抗体或片段(参见例如美国专利号4,676,980,以及Brennan等人,Science 229:81(1985));使用亮氨酸拉链产生双特异性抗体(参见例如Kostelny,S.A.等人,JJ.Immunol.,148(5):1547-1553(1992));使用"双抗体"技术制备双特异性抗体片段(参见例如Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:6444-6448(1993));使用单链Fv(sFv)二聚体(参见例如

Gruber等人,J.Immunol.,152:5368(1994));以及如Tutt等人,J.Immunol.147:60(1991)中所述制备三特异性抗体。

[0232] 本文还包括具有三个或更多个功能性抗原结合位点的工程化抗体,包括“章鱼抗体”(参见,例如,US 2006/0025576A1)。

[0233] 本文的抗体或片段还包括“双重作用FAb”或“DAF”,其包括与CD20以及其他不同抗原结合的抗原结合位点(参见,例如,US 2008/0069820)。

[0234] 7.抗体变体

[0235] 在某些实施例中,设想了本文提供的抗体的氨基酸序列变体。例如,可能期望改善抗体的结合亲和力和/或其他生物学特性。抗体的氨基酸序列变体可以通过向编码抗体的核苷酸序列中引入适当的修饰或通过肽合成来制备。此类修饰包括例如抗体氨基酸序列内残基的缺失、和/或插入和/或取代。可以进行缺失、插入和取代的任何组合以实现最终构建体,前提条件是最终构建体具有期望特征,例如,抗原结合。

[0236] a)取代、插入、和删除变体

[0237] 在某些实施例中,提供了具有一或多个氨基酸取代的抗体变体。用于取代突变的目的位点包括HVR和FR。保守置换在表A中的“优选取代”标题下示出。更多实质性改变提供在表A的“示例性取代”标题下,并且在下文参考氨基酸侧链类别进行了进一步描述。可以将氨基酸取代引入目标抗体中,并对产物进行所需活性(例如保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性,或改善的ADCC或CDC)筛选。

[0238] 表A

[0239]

原始 残基	示例性 取代	优选的 取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp、Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser

[0240]

原始 残基	示例性 取代	优选的 取代
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0241] 可根据共同的侧链特性将氨基酸分组：

[0242] (1)疏水性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

[0243] (2)中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

[0244] (3)酸性：Asp、Glu；

[0245] (4)碱性：His、Lys、Arg；

[0246] (5)影响链取向的残基::Gly、Pro；

[0247] (6)芳香族：Trp、Tyr、Phe。

[0248] 非保守性取代将需要用这些类别中的一个的成员交换另一类别。

[0249] 一种类型的置换变体涉及置换亲本抗体(例如，人源化抗体或人抗体)的一个或多个高变区残基。通常，相对于亲本抗体，选为用于进一步研究的一个或多个所得变体将在某些生物学特性方面(例如，亲和力增加、免疫原性降低)有改变(例如，改善)和/或将基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。示例性取代变体是亲和力成熟抗体，其可例如使用诸如

本文所述的那些基于噬菌体展示的亲和力成熟技术方便地生成。简言之，将一个或多个HVR残基突变并且将变体抗体展示在噬菌体上并针对特定生物活性(例如结合亲和力)进行筛选。

[0250] 例如，可改变(例如，取代)HVR，以改善抗体亲和力。可在HVR“热点”中作出此类改变，即，由在体细胞成熟过程期间经历高频突变的密码子编码的残基(参见例如，Chowdhury,Methods Mol.Biol.207:179-196(2008))和/或与抗原接触的残基，其中对所得变体VH或VL进行结合亲和力测试。通过构建并自二级文库重新选择而实现的亲和力成熟已被例如Hoogenboom等人在Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等人编，Human Press,Totowa,NJ,(2001))中进行描述。在亲和力成熟的一些实施例中，利用多种方法(例如，易错PCR、链改组或寡核苷酸定点诱变基因)中的任一种将多样性引入选择用于成熟的可变基因中。接着创建二级文库。随后对该文库进行筛选以鉴别具有所需亲和力的任何抗体变体。引入多样性的另一种方法涉及HVR定向方法，其中将若干HVR残基(例如，每次4-6个残基)随机化。参与抗原结合的HVR残基可例如使用丙氨酸扫描突变或建模来特异性地鉴别。具体而言，常常靶向CDR-H3和CDR-L3。

[0251] 在某些实施例中，取代、插入或缺失可发生在一个或多个HVR内，只要此类改变基本上不降低抗体的抗原结合能力即可。例如，可在HVR中进行基本上不降低结合亲和力的保守性改变(例如，如本文提供的保守性取代)。此类改变可以在HVR的抗原接触残基之外。在上文提供的变体VH和VL序列的某些实施例中，每个HVR保持不变，或包含不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0252] 可用于鉴别可被靶向诱变的抗体残基或区域的方法称作“丙氨酸扫描诱变”，如Cunningham和Wells(1989)Science,244:1081-1085所述。在此方法中，鉴别残基或一组靶残基(例如，带电残基，诸如arg、asp、his、lys和glu)并用中性或带负电的氨基酸(例如，丙氨酸或多丙氨酸)置换以确定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可在对初始取代展示功能敏感性的氨基酸位置引入其他取代。可替代地或另外地，利用抗原-抗体复合物的晶体结构鉴别抗体与抗原之间的接触点。可靶向或消除作为取代的候选的此类接触残基和相邻残基。可筛选变体以确定它们是否具备期望的特性。

[0253] 氨基酸序列插入包括长度范围为一个残基至含有一百个或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基末端融合，以及一个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括具有N末端甲硫氨酰残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括与增加抗体的血清半衰期的酶(例如对于ADEPT)或多肽的抗体的N末端或C末端的融合。

[0254] b)糖基化变体

[0255] 在某些方面，改变本文提供的抗体以增加或降低抗体糖基化的程度。抗体添加或缺失糖基化位点可以通过改变氨基酸序列以产生或去除一个或多个糖基化位点来方便地实现。

[0256] 当抗体包含Fc区时，附接于其上的碳水化合物可以被改变。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含具有支链的双触角寡糖，所述双触角寡糖通常通过N-连接附接于Fc区的CH2结构域的Asn297。参见例如Wright等人TIBTECH15:26-32(1997)。寡糖可包括各种碳水化合物，例如，甘露糖、N-乙酰基葡糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸，以及附接于双触角寡糖结构的“主干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施例中，可以对本发明的抗体中的寡糖进

行修饰,以便产生具有某些改善的特性的抗体变体。

[0257] 在一个实施例中,提供了抗体变体,其具有缺乏与Fc区附接(直接或间接)的岩藻糖的糖类结构。例如,此类抗体中岩藻糖的含量可以为1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。岩藻糖的量为通过计算相对于通过MALDI-TOF质谱测得的与Asn 297附接的所有糖结构(例如,复合、杂合和高甘露糖结构)的总和,糖链中在Asn297处的岩藻糖的平均量,确定,如WO 2008/077546中所述。Asn297是指位于Fc区中约297位的天冬酰胺残基(Fc区残基的EU编号);然而,由于抗体中的微小序列变化,Asn297也可以位于297位上游或下游大约±3个氨基酸,即在294位和300位之间。此类岩藻糖基化变体可以具有改善的ADCC功能。参见例如美国专利公开号US 2003/0157108(Presta,L.);US 2004/0093621(Kyowa Hakko Kogyo Co.,Ltd)。与"去岩藻糖基化"或"岩藻糖缺陷型"抗体变体有关的出版物的实例包括::US 2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US 2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki等人,J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki等人,Biotech.Bioeng.87:614(2004)。能够产生去岩藻糖基化抗体的细胞系的实例包括蛋白岩藻糖基化缺陷的Lec13 CHO细胞(Ripka等人,Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);美国专利申请号US 2003/0157108 A1号,Presta,L;及WO 2004/056312 A1,Adams等人,特别是实例11),以及基因敲除细胞系,诸如α-1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8基因剔除CHO细胞(参见例如Yamane-Ohnuki等人,Biotech.Bioeng.87:614(2004);Kanda,Y.等人Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);以及WO2003/085107)。

[0258] 进一步提供了包含两分型寡糖的抗体变体,例如,其中连接至抗体的Fc区的双角寡糖被GlcNAc两分。此类抗体变体可以具有减少的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体变体的实例描述于例如WO 2003/011878(Jean-Mairet等人)、美国专利号6,602,684(Umana等人)和US 2005/0123546(Umana等人)中。还提供了在附接于Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的CDC功能。此类抗体变体描述于例如WO 1997/30087(Patel等人);WO 1998/58964(Raju,S.);以及WO 1999/22764(Raju,S.)中。

[0259] c)Fc区变体

[0260] 在某些实施例中,一个或多个氨基酸修饰可引入本文提供的抗体的Fc区中,从而生成Fc区变体。Fc区变体可包含人Fc区序列(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区),其在一个或多个氨基酸位置上包含氨基酸修饰(例如置换)。

[0261] 在某些实施例中,本发明设想了具有一些但不是所有效应子功能的抗体变体,这使其成为应用的理想候选物,其中抗体在体内的半衰期很重要,但是某些效应子功能(诸如补体和ADCC)是不必要的或有害的。可实施体外和/或体内细胞毒性测定,以确认CDC和/或ADCC活性的减少/耗竭。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定以确保抗体缺乏FcγR结合(因此可能缺乏ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc(RIII,而单核细胞表达Fc(RI、Fc(RII和Fc(RIII。造血细胞上的FcR表达总结如下:Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-492(1991)的第464页的表3中。用于评估目的分子的

ADCC活性的体外测定的非限制性示例描述于美国专利号5,500,362(参见例如Hellstrom,I.等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 83:7059-7063(1986))及Hellstrom,I等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 82:1499-1502(1985);5,821,337(参见Bruggemann,M.等人,J.Exp.Med.166:1351-1361(1987))。可替代地,可使用非放射性测定方法(参见例如,用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定(CellTechnology,Inc.Mountain View,CA);以及CytoTox96®非放射性细胞毒性测定(Promega,Madison,WI)。用于此类测定的有用效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。可选地或另外地,目的分子的ADCC活性可以在体内评估,例如,在动物模型(诸如在Clynes等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 95:652-656(1998)中所公开的)中评估。也可以进行C1q结合测定以确认抗体不能结合C1q,因此缺乏CDC活性。参见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为评估补体激活,可以执行CDC测定(参见例如Gazzano-Santoro等人,J.Immunol.Methods 202:163(1996);Cragg,M.S.等人,Blood 101:1045-1052(2003);以及Cragg,M.S.和M.J.Glennie,Blood 103:2738-2743(2004))。FcRn结合和体内清除/半衰期测定也可以使用本领域已知的方法执行(参见例如Petkova,S.B.等人,Int'l.Immunol.18(12):1759-1769(2006))。

[0262] 具有降低的效应子功能的抗体包括具有Fc区残基238、265、269、270、297、327和329中一个或多个的取代的那些(美国专利号6,737,056)。此类Fc突变体包括在第265、269、270、297和327位氨基酸的两个或多个处具有取代的Fc突变体,包括所谓的"DANA"Fc突变体,其残基265和297被取代为丙氨酸(美国专利号7,332,581)。

[0263] 在某些实施例中,本文所述的Fc变体还包含一种或多种用于减弱效应子功能的氨基酸修饰(诸如CDC和/或ADCC)。在示例性实施例中,减弱效应子功能的修饰不改变Fc区的糖基化模式。在某些实施例中,减弱效应子功能的修饰减少或消除了与人效应细胞的结合、与一种或多种Fc受体的结合、和/或与表达Fc受体的细胞的结合。在一示例性实施例中,本文所述的Fc变体包含以下修饰:人IgG1 Fc区中的L234A、L235A和P329G,导致效应子功能减弱。先前已经显示出取代基L234A、L235A和P329G(L234A/L235A/P329G三重变体称为LALAPG)可减少与Fc受体和补体的结合(参见例如美国公开号2012/0251531)。

[0264] 在各种实施例中,具有降低的效应子功能的Fc变体是指将效应子功能(例如,CDC、ADCC和/或与FcR的结合等活性)与野生型Fc区(例如,Fc区没有具有降低效应子功能的突变,尽管它可能具有其他突变)所实现的效应子功能相比降低至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、98%、99%或更高的Fc变体。在某些实施例中,具有降低的效应子功能的Fc变体是指与野生型Fc区相比消除所有可检测的效应子功能的Fc变体。用于测量效应子功能的测定法是本领域已知的,并如下文所述。

[0265] 可实施体外和/或体内细胞毒性测定,以确认CDC和/或ADCC活性的减少/耗竭。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定以确保抗体缺乏FcγR结合能力(因此可能缺乏ADCC活性)。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达FcγRIII,而单核细胞表达FcγRI、FcγRII和FcγRIII。在造血细胞上的FcR表现总结如下:Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-492(1991)。用于评估目的分子的ADCC活性的体外测定的非限制性示例描述于美国专利号5,500,362(参见例如Hellstrom,I.等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 83:7059-7063(1986))及Hellstrom,I等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 82:1499-1502(1985);5,821,337(参见

Bruggemann,M.等人,J.Exp.Med.166:1351-1361(1987))。可替代地,可使用非放射性测定方法(参见例如,用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定(CellTechnology,Inc.Mountain View,CA);以及CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定(Promega,Madison,WI))。用于此类测定的有用效应细胞包括外周血单核细胞(PBMC)和自然杀伤(NK)细胞。可选地或另外地,目的分子的ADCC活性可以在体内评估,例如,在动物模型(诸如在Clynes等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 95:652-656(1998)中所公开的)中评估。也可以进行C1q结合测定以确认抗体不能结合C1q,因此缺乏CDC活性。参见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为评估补体激活,可以执行CDC测定(参见例如Gazzano-Santoro等人,J.Immunol.Methods 202:163(1996);Cragg,M.S.等人,Blood 101:1045-1052(2003);以及Cragg,M.S.和M.J.Glennie,Blood 103:2738-2743(2004))。

[0266] 描述了与FcR结合改善或减少的某些抗体变体。(参见例如美国专利号6,737,056;WO 2004/056312、以及Shields等人,,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001).)

[0267] 在某些实施例中,抗体变体包含具有一个或多个氨基酸取代的Fc区,取代改善ADCC,例如,在Fc区的298、333和/或334位(残基的EU编号)处的取代。

[0268] 在一些实施例中,在Fc区中进行改变,导致改变(即,改善或减少)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC),例如,如美国专利号6,194,551、WO 99/51642以及Idusogie等人,J.Immunol.164:4178-4184(2000)中所述。

[0269] 具有延长的半衰期和改善的新生儿Fc受体(FcRn)结合的抗体如US2005/0014934A1(Hinton等人)中所述,该新生儿Fc受体负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等人,J.Immunol.117:587(1976)和Kim等人,J.Immunol.24:249(1994))。那些抗体包含其中具有一个或多个取代的Fc区,该取代改善了Fc区与FcRn的结合。此类Fc变体包括在以下Fc区残基中的一处或多处具有取代的Fc变体:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434,例如对Fc区残基434的取代(美国专利号7,371,826)。

[0270] 有关Fc区变体的其他实例,另外参见:Duncan和Winter,Nature 322:738-40(1988);美国专利号5,648,260;美国专利号5,624,821;以及WO 94/29351。

[0271] d)经半胱氨酸工程化改造的抗体变体

[0272] 在某些实施例中,可期望产生半胱氨酸工程化的抗体,例如,"thioMAb",其中抗体的一个或多个残基被半胱氨酸残基置换。在特定实施例中,取代的残基存在于抗体的可接近位点。通过用半胱氨酸取代那些残基,反应性硫醇基团由此定位于抗体的可接近位点,并且可用于将抗体与其他部分,诸如药物部分或连接基-药物部分缀合,以产生免疫缀合物,如本文进一步所述。在某些实施例中,可用半胱氨酸取代下列残基中的任何一个或多个:轻链的V205(Kabat编号);重链的A118(EU编号);以及重链Fc区的S400(EU编号)。可如例如美国专利号7,521,541中所述生成半胱氨酸工程化的抗体。

[0273] e)抗体衍生物

[0274] 在某些实施例中,本文提供的抗体可以被进一步修饰以包含本领域已知的并且容易获得的另外的非蛋白质部分。适合于抗体衍生化的部分包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性示例包括但不限于聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇的共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二氧戊环、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/

马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或随机共聚物)和葡聚糖或聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇以及它们的混合物。由于其在水中的稳定性,聚乙二醇丙醛在制造中可具有优势。聚合物可具有任何分子量,并且可以具有支链或不具有支链。附接至抗体的聚合物的数目可变,并且如果附接了多于一个聚合物,那么它们可以为相同或不同的分子。通常,可基于以下考虑因素测定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型,包括但不限于抗体待改善的特定特性或功能、抗体衍生物是否将用于限定条件下的疗法等。

[0275] 在另一个实施例中,提供了抗体和可通过暴露于辐射而选择性地加热的非蛋白质部分的缀合物。在一个实施例中,非蛋白质部分是碳纳米管(Kam等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605(2005))。辐射可具有任何波长,并且包括但不限于对普通细胞没有伤害、但是将非蛋白质性部分加热至抗体-非蛋白质性部分近端的细胞被杀死的温度的波长。

[0276] A.重组方法和组合物

[0277] 可以使用重组方法和组合物来产生抗体,例如,如在美国专利号4,816,567中所述。在一个实施例中,提供了编码本文所述的抗CD20抗体的分离的核酸。此类核酸可以编码包括抗体的VL的氨基酸序列和/或包括抗体的VH的氨基酸序列(例如,抗体的轻链和/或重链)。在进一步的实施例中,提供了包括此类核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)。在进一步的实施例中,提供了包括此类核酸的宿主细胞。在一个此类实施例,宿主细胞包括以下项(例如,已被用以下转化):(1)载体,其包括编码包括抗体的VL的氨基酸序列和包括抗体的VH的氨基酸序列的核酸;或(2)第一载体,其包括编码包括抗体的VL的氨基酸序列的核酸,以及第二载体,其包括编码包括抗体的VH的氨基酸序列的核酸。在一个实施例中,宿主细胞是真核细胞,例如,中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞(例如,YO、NSO、Sp20细胞)。在一个实施例中,提供了一种制备抗CD20抗体的方法,其中所述方法包括在适于表达抗体的条件下培养包括如上提供的编码所述抗体的核酸的宿主细胞,以及任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)中回收所述抗体。

[0278] 对于CD20抗体重组生产,将编码抗体的核酸(例如,如上所述)分离并插入至一个或多个载体中以用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。可以使用常规程序来容易地对此类核酸进行分离和测序(例如,通过使用能够与编码抗体的重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)。

[0279] 用于克隆或表达编码抗体的载体的合适宿主细胞包括本文所述的原核或真核细胞。例如,可以在细菌中产生抗体,特别是当不需要糖基化和Fc效应子功能时。关于在细菌中表达抗体片段和多肽,参见例如美国专利No.5,648,237、No.5,789,199和No.5,840,523。(另参见Charlton,Methods in Molecular Biology,Vol.248(B.K.C.Lo,ed.,Humana Press,Totowa,NJ,2003),pp.245-254,描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达。)抗体可在表达后在可溶性级分中从细菌细胞糊中分离,并且可以进一步纯化。

[0280] 除了原核生物外,诸如丝状真菌或酵母等真核微生物也是用于编码抗体的载体的合适克隆或表达宿主,所述真核微生物包括这样的真菌和酵母菌株,其糖基化途径已经“人源化”,从而导致产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体。在表现后,抗体可与细菌细胞糊中的可溶性部分分离,并可经过进一步纯化。参见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-

1414(2004),以及Li等人,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0281] 用于表达糖基化抗体的合适宿主细胞也来源于多细胞生物(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的实例包括植物细胞和昆虫细胞。已经鉴定出了许多可以与昆虫细胞一起使用的杆状病毒株,特别是用于转染草地夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞。

[0282] 植物细胞培养物也可用作宿主。参见例如,美国专利号5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978和6,417,429(描述了用于在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0283] 脊椎动物细胞也可用作宿主。例如,适于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他实例是由SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);人胚肾细胞系(如在例如Graham等人,J.Gen Virol.36:59(1977)中所述的293或293细胞);小仓鼠肾细胞(BHK);小鼠塞尔托利氏细胞(例如在Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)中描述的TM4细胞);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);布法罗大鼠肝细胞(BRL3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562);TRI细胞(如例如在Mather等人Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982));MRC5细胞;以及FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR-CHO细胞(Urlaub等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));以及骨髓瘤细胞系,例如Y0、NS0、和Sp2/0。关于适用于抗体产生的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,参见例如:Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,Vol.248(B.K.C.Lo,ed.,Humana Press,Totowa,NJ),pp.255-268(2003)。

[0284] B.测定

[0285] 本文所提供的抗CD20抗体的物理/化学性质和/或生物学活性可通过本领域中已知的各种测定法进行鉴定、筛选或表征。

[0286] 1.结合测定和其他测定

[0287] 在一个方面,例如通过已知方法例如ELISA、蛋白质印迹法等测试本发明的抗体的抗原结合活性。可使用本领域已知的方法确定CD20结合性,并且本文公开了示例性方法。在一个实施例中,使用放射免疫测定法测量结合性。如下提供示例性放射免疫测定。将CD20抗体碘化,制备竞争反应混合物,其中包含固定浓度的碘化抗体和递减浓度的连续稀释的未标记CD20抗体。将表达CD20的细胞(例如,稳定转染人CD20的BT474细胞)添加到反应混合物中。孵育后,洗涤细胞以将游离的碘化CD20抗体与结合至细胞的CD20抗体分离。结合的碘化CD20抗体的水平例如通过计数与细胞相关的放射性来确定,并使用标准方法确定结合亲和力。在另一实施例中,使用流式细胞术评估CD20抗体结合表面表达的CD20(例如,在B细胞亚群上)的能力。获得外周血白细胞(例如,从人、食蟹猴、大鼠或小鼠),并用血清封阻细胞。将标记的CD20抗体添加至连续稀释液中,并对T细胞也进行染色以鉴定T细胞亚群(使用本领域已知的方法)。培育样品并洗涤后,使用流式细胞仪分选细胞,并使用本领域熟知的方法分析数据。在另一实施例中,可以使用表面等离子体共振法来分析CD20结合性。在实例中概述示例性的表面等离子体共振法。

[0288] 在另一方面,竞争测定法可用于鉴定与本文揭示的任何抗CD20抗体竞争结合CD20的抗体。在某些实施例中,此类竞争性抗体结合与本文揭示的任何抗CD20抗体结合的相同表位(例如,线性或构象表位)。用于定位抗体与之结合的表位的详细示例性方法提供于::

Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols,”inMethods in Molecular Biologyvol.66(Humana Press,Totowa,NJ)。

[0289] 在示例性竞争测定中,将固定的CD20在溶液中孵育,该溶液包含与CD20结合的第一标记抗体(例如利妥昔单抗,GA101抗体等)和正在测试其与第一抗体竞争结合到CD20的能力的第二未标记抗体。第二抗体可以存在于融合瘤上清液中。作为对照,将固定CD20在包含第一标记抗体但不包含第二未标记抗体的溶液中孵育。在容许第一抗体与CD20结合的条件下孵育之后,去除过量未结合的抗体,并且测量与固定的CD20缔合的标记的量。若与固定的CD20缔合的标记的量相对于对照样品在测试样品中基本上减少,则表明第二抗体与第一抗体竞争结合到CD20。参见Harlow and Lane(1988)Antibodies:A Laboratory Manualch.14(Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,NY)。

[0290] 2.活性测定

[0291] 本公开的抗CD20抗体(例如II型抗体)可通过本领域已知的一种或多种活性测定来鉴定和/或表征。例如,如本文所述,可以使用补体依赖性细胞毒性(CDC)和/或抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。

[0292] 应当理解,可以使用本发明的免疫缀合物代替或补充抗CD20抗体进行任何上述测定。

[0293] 应当理解,可以使用抗CD20抗体和另外的治疗剂来进行任何上述测定。

[0294] 施用II型抗CD20抗体的方法

[0295] 本文提供用于治疗患有狼疮的个体的狼疮性肾炎(LN)的方法,其中该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露。本文还提供了用于消耗个体循环外周B细胞的方法,其中该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露,并且其中在施用该II型抗CD20抗体后,B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自所述个体的外周血中的水平。本文还提供了用于消耗个体循环外周B细胞的方法,其中该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对该II型抗CD20抗体的第二抗体暴露,并且其中在施用该II型抗CD20抗体后,B细胞消耗至使得循环外周B细胞以约5个细胞/μL或更少的量存在于来自该个体的外周血中的水平,该B细胞消耗在所述第一抗体暴露的所述第一剂后持续至少52周。在本文方法的一些实施例中,个体或患者是人。

[0296] LN在本技术领域中已知是指肾脏中狼疮的表现(例如系统性红斑性狼疮、药物诱发性狼疮、新生儿狼疮、或盘状狼疮)。肾脏中最常见的狼疮类型是系统性红斑性狼疮(SLE)。据认为,有25-50%的SLE患者在疾病早期会出现尿液和/或肾功能异常,多达60%的成年人和80%的儿童最终会发展为LN(详情请参见Cameron,J.S.(1999)J.Am.Soc.Nephrol.10:413-424)。LN被认为至少占SLE相关发病率和死亡率的50%。

[0297] 另外,在其他类型的狼疮中也注意到了肾脏表现,例如盘状狼疮(Roujeau,J.C.等人,(1984)Acta Derm.Venereol.64:160-163)和药物诱发性狼疮(Smith,P.R.等人,(1999)Rheumatology(Oxford)38:1017-1018)。在一些实施例中,个体患有SLE、盘状狼疮或药物诱发性狼疮。

[0298] SLE的诊断可根据当前的美国风湿病学会(ACR)标准进行。活动性疾病可通过以下

来定义:一个不列颠群岛狼疮活动组(BILAG)“A”标准或两个BILAG“B”标准;SLE疾病活动指数(SLEDAI);或在以下实例中指出并在Furie等人Arthritis Rheum.61(9):1143-51(2009)中描述的系统性红斑性狼疮(SLE)反应者指数(SRI)。用于诊断SLE的一些征象、症状或其他指标来自:Tan等人,“The Revised Criteria for the Classification of SLE”Arth Rheum 25(1982),可能是黄斑疹,例如脸颊上的疹,盘状疹或红色凸起的斑块,光敏性(诸如对阳光的反应),导致了皮疹的发展或增加,口腔溃疡(诸如鼻子或口腔溃疡)(通常无痛),关节炎(诸如涉及两个或多个周边关节的非糜烂性关节炎(关节周围骨骼不被破坏的关节炎)),浆膜炎,胸膜炎或心包炎,肾脏疾病,诸如尿液中蛋白质过多(大于每日0.5gm或测试棒上显示3+)和/或细胞管型(源自尿液和/或白细胞和/或肾小管细胞的异常元素),神经学征象、症状或其他指标,癫痫发作(抽搐)、和/或精神病,而没有已知引起这种作用的药物或代谢紊乱,以及血液学征象、症状或其他指标(如溶血性贫血或白细胞减少症(白细胞计数低于每立方毫米4,000个细胞)或淋巴细胞减少症(每立方毫米少于1,500个淋巴细胞)或血小板减少症(每立方毫米少于100,000个血小板))。白细胞减少症和淋巴细胞减少症必须检测两次或更多次。必须在没有已知诱发血小板减少症的药物的情况下检测血小板减少症。本发明不限于狼疮的这些征象、症状或其他指标。

[0299] 自身抗体的存在可以作为狼疮的指征进行测试。自身抗体可包括但不限于抗dsDNA抗体、抗补体抗体、和抗核抗体(例如ENA组合)。ENA是指可提取的核抗原,即一组核抗原,包括RNP、Ro/SS-A、La/SS-B、Sm、SCL-70、Jo-1,如下列所述:McNeilage等人,J.,Clin.Lab.Immunol.15:1-17(1984);Whittingham,Ann.Acad.Med.17(2):195-200(1988);Wallace and Hahn,dubois'lupus erythematosus,7th^{ed}.Lippincott(2007);Tang等人,Medicine 89(1):62-67(2010)。ENA抗体已与狼疮关联。McNeilage等人,1984;Whittingham 1988;Asherson等人,Medicine 68(6):366-374(1989);以及Tang等人,2010。补体活性降低也可能与狼疮有关,例如通过C3水平、C4水平和/或CH50测定法所测定。

[0300] 如以上参考SLE所述,在本领域中已知LN经常在患有狼疮(例如系统性红斑性狼疮、药物诱发性狼疮、新生儿狼疮、或盘状狼疮)的患者中逐渐显现。也就是说,可以诊断出患者患有狼疮而没有一种或多种LN症状的临床或病理表现。但是,由于狼疮患者最终发展为LN的频率很高,因此仍可能认为该患者有发展LN的风险。因此,在一些实施例中,本发明的方法可用于延迟狼疮患者的LN进展或预防LN。在一些实施例中,本公开的方法可用于延迟或预防狼疮患者(例如,在肾脏中缺乏表现的狼疮形式)的LN发作。

[0301] 可以根据国际肾脏学学会/肾脏病理学会(ISN/RPS)2003年分类系统对LN病理进行分类,如下表所示(请参阅Markowitz GS,D'Agati VD(2007)Kidney Int 71:491噁495和Weening,JJ(2004)Kidney Int 65:521-530的进一步描述和术语定义)。

[0302] 表3.ISN/RPS 2003年狼疮性肾炎分类。

[0303]

I 型	轻微系膜性 LN （通过光学显微镜观察正常肾小球，但通过免疫萤光检查肾小球系膜免疫性沉积物）
II 型	肾小球系膜增生 （光学显微镜下，任何程度的纯粹环间膜细胞过量或系膜基质扩张，伴有肾小球膜免疫性沉积物。免疫萤光或电子显微镜下可观察到一些孤立的上皮下或内皮下沉积物，而光学显微镜下则观察不到）
III 型	局灶性 LN （活动性或非活动性局灶性、节段性或全身性毛细血管内或毛细血管外肾小球肾炎涉及所有肾小球的< 50%，通常伴有局灶性内皮下免疫沉积物，有或无系膜改变）

[0304]

	III (A) 型：活动性病灶（局灶性增生 LN） III (A/C) 型：活动性和慢性病灶（局灶性增生和硬化性 LN） III (C) 型：慢性非活动性病灶伴有肾小球疤痕（局灶性硬化 LN）
IV 型	弥散性 LN （活动性或非活动性弥漫性、节段性或全身性毛细血管内或毛细血管外肾小球肾炎涉及所有肾小球的≥ 50%，通常伴有局灶性内皮下免疫沉积物，有或无系膜改变）。当受累肾小球的 ≥50% 有节段性病灶时，该类别分为弥漫性节段性 (IV-S) Ln；当受累肾小球的 ≥50% 有整体性病灶时，分为弥散性整体 (IV-G) LN。节段性定义为涉及少于一半的肾小球簇的肾小球病灶。此类病例包括弥漫性丝环沉积物，但肾小球增生很少或没有。） IV-S (A) 型：活动性病灶（弥漫性节段性 LN） IV-G (A) 型：活动性病灶（弥漫性整体增生性 LN） IV-S (A/C) 型：活动性和慢性病灶（弥漫性节段性增生和硬化性 LN） IV-G (A/C) 型：活动性和慢性病灶（弥漫性整体增生性和硬化性 LN） IV-S (C) 型：慢性非活动性病灶伴有疤痕（弥漫性段性硬化性 LN） IV-G (C) 型：慢性活动性病灶伴有疤痕（弥漫性整体硬化性 LN）
V 型	膜性 LN （通过光学显微镜、免疫萤光或电子显微镜观察整体或节段上皮下免疫沉积物或它们的形态学并发症，有或无系膜改变。）
VI 型	晚期硬化性 LN （整体≥ 90% 的肾小球硬化，无残余活性）

[0305] LN＝狼疮性肾炎;A＝活动性;C＝慢性;G＝整体(global);S＝节段性。

[0306] 注:V型可能与III型或IV型结合出现,在这种情况下,两者都会被诊断出来。V型LN可显示晚期硬化。

[0307] 在一些实施例中,该患者患有III型或IV型LN。在一些实施例中,患者患有III型LN。例如,在一些实施例中,该患者患有III(A)型或III(A/C)型LN。在一些实施例中,患者患有IV型LN。例如,在一些实施例中,该患者患有IV-S(A)、IV-G(A)、IV-S(A/C)、或IV-G(A/C)型LN。如上表3所示,V型LN也可与III型或IV型LN同时发生。在一些实施例中,本公开的方法用于治疗患有III型或IV型LN和伴发性V型LN的患者。

[0308] 如上所述,患有狼疮(例如SLE)的患者最终发展成LN的频率很高。在一些实施例中,患者处于发展成LN的风险。在一些实施例中,该患者处于发展成III型或IV型LN的风险。在一些实施例中,该患者处于发展成III型或IV型LN伴发性V型LN的风险。

[0309] 在一些实施例中,患者未患有III(C)型LN(例如,如上表3中所述)。在一些实施例中,患者未患有IV(C)型LN,诸如IV-S(C)或IV-G(C)型LN(例如,如上表3中所述)。

[0310] 在一些实施例中,在治疗之前,例如在24小时尿液收集中,患者的尿液蛋白与肌酸酐之比(UPCR)＞1。在一些实施例中,患者在治疗之前已经接受了至少一剂甲基强的松龙(例如500-1000mg IV)。在一些实施例中,患者在治疗前以≥10天的稳定剂量接受了ACE抑制剂或血管紧张素受体阻断剂(ARB)。

[0311] 在一些实施例中,例如在如本文所述的治疗之前,患者没有严重的肾损伤或需要透析或肾移植。在一些实施例中,例如在如本文所述的治疗之前,患者＞50%的肾小球在肾活检中未硬化。在一些实施例中,例如在如本文所述的治疗之前,患者不具有活动的中枢神经系统SLE。在一些实施例中,例如在如本文所述的治疗之前,患者没有进行性多灶性白质脑病(PML)的病史。在一些实施例中,例如在如本文所述的治疗之前,患者不具有C型肝炎血清阳性、血红蛋白＜7g/dL(除非由SLE引起的自身免疫性溶血性贫血导致)、血小板计数＜20,000/uL或血清人绒毛膜促性腺激素阳性。在一些实施例中,例如在如本文所述的治疗之前,患者没有已知的HIV感染的病史。在一些实施例中,例如在如本文所述的治疗之前(例如,如本文所述的治疗之前3个月),患者尚未用以下一种或多种治疗:环磷酰胺、钙调磷酸酶抑制剂、JAK抑制剂、BTK抑制剂、TYK2抑制剂或IV抗生素。

[0312] 可以使用本领域已知的几种实验室测试来诊断和/或监测狼疮性肾炎的存在、进展和/或对治疗的应答。在一些实施例中,可以测量血清肌酸酐。在一些实施例中,血清肌酸酐的正常范围可为约0.6mg/dL至约1.3mg/dL,随年龄、性别以及在实验室之间的差异而变化。在一些实施例中,可以例如通过显微镜检查尿液来测量尿沉渣和/或管型的存在。例如,尿液样品中的红细胞数量可通过显微镜检查来测定。在一些实施例中,尿沉渣的正常值可以是每高倍视野(HPF)约4个红细胞(RBC)或更小。尿液管型可包括但不限于红细胞管型、白细胞管型、肾小管上皮细胞管型、蜡状管型、玻质管型、粒状管型、和脂肪管型。在一些实施例中,可以测量尿蛋白与肌酸酐之比(UPCR)。尿液中蛋白的存在(蛋白尿)也可通过测试进行分析,包括但不限于尿白蛋白与肌酸酐之比(UACR)和试纸尿检。可用于检查肾功能的其他测试和/或措施包括但不限于肾脏检查、肌酸酐清除率、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、磷、钙、白蛋白、血液尿素氮(BUN)、肌酸酐、葡萄糖、估计值肾小球滤过率(eGFR)、BUN/肌酸酐比值、和阴离子间隙,并且在适当的情况下可以包括对血液和/或尿液中上述参数的测量。对于更

详细的描述,参见例如American College of Rheumatology Guidelines for Screening, Case Definition,Treatment and Management of Lupus Nephritis(Hahn,B.等人,(2012)ArthritisCare Res.64:797-808)。

[0313] 本文进一步提供用于治疗膜性肾病(MN)、例如原发性膜性肾病(pMN)的方法,其中该方法包括向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对II型抗CD20抗体的第二抗体暴露。

[0314] 在一些实施例中,例如在用II型抗CD20抗体治疗之前,通过肾活检证实了pMN。例如,在一些实施例中,基于光学、免疫萤光和/或电子显微镜来诊断pMN。

[0315] 在一些实施例中,已经或正在同时用肾素-血管紧张素系统阻断剂治疗个体,例如血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂和/或血管紧张素受体阻断剂(ARB)。在一些实施例中,尽管在用II型抗CD20抗体治疗之前大于或等于3个月用肾素-血管紧张素系统阻断治疗,例如血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂和/或血管紧张素受体阻断剂(ARB),该个体具有大于或等于5g(例如来自24小时尿液采集)的尿蛋白与肌酸酐之比(UPCR),或者尽管在用II型抗CD20抗体治疗之前大于或等于6个月用肾素-血管紧张素系统阻断治疗,例如血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂和/或血管紧张素受体阻断剂(ARB),UPCR大于或等于4g(例如来自24小时尿液采集)。在一些实施例中,个体的预计肾小球滤过率(eGFR)≥40mL/min/1.73m^2或内源性肌酸酐清除率≥40mL/min(例如,基于24小时尿液采集)。在一些实施例中,使用CKD-EPI方程式计算eGFR。

[0316] 在一些实施例中,个体不具有继发性MN。在一些实施例中,个体在例如用II型抗CD20抗体治疗之前至少3个月没有高血压或血压没有失控。在一些实施例中,例如在用II型抗CD20抗体治疗之前,个体具有收缩压≤140mmHg和舒张压≤90mmHg。在一些实施例中,在用II型抗CD20抗体治疗之前至少6个月未对该个体进行钙调磷酸酶抑制剂药物(CNI)(例如,环孢素A或mTOR抑制剂)或烷基化剂的治疗。在一些实施例中,在用II型抗CD20抗体治疗之前至少6个月未对该个体进行利妥昔单抗治疗。在一些实施例中,在用II型抗CD20抗体治疗之前,未对该个体进行肾脏替代疗法(例如,肾移植、慢性透析)。在一些实施例中,个体未患有1型或2型糖尿病。在一些实施例中,个体没有活动性感染、严重复发或慢性感染、HIV感染或TB感染的病史。在一些实施例中,个体没有癌症或PML病史。在一些实施例中,该个体HBV、HCV或血清人绒毛膜促性腺激素均为阴性。在一些实施例中,个体不具备下列任一者或全部(例如,在用II型抗CD20抗体之前):AST或ALT是正常值上限(ULN)的2.5倍以上,淀粉酶或脂肪酶是ULN的2倍以上,中性粒细胞<1.5x10^3/μL,CD19+B细胞<5/μL,血红素<9g/dL或血小板计数75,000/μL。

[0317] 在一些实施例中,本公开的方法包括向该个体施用对本公开II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对公开II型抗CD20抗体的第二抗体暴露、和对本公开II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露。在一些实施例中,该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供。在一些实施例中,该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周、第一抗体暴露后约19周、第一抗体暴露后约20周、第一抗体暴露后约21周、第一抗体暴露后约22周、第一抗体暴露后约23周、第一抗体暴露后约24周、第一抗体暴露后约25周、或第一抗体暴露后约26周才提供。在一些实施例中,该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后少于约下列周数中的任一者后才提供:26周、25周、24周、23周、22周、21周、20周、或19周。在一些实施例中,该第二

抗体暴露直至该第一抗体暴露后大于约下列周数之任一者后才提供:18周、19周、20周、21周、22周、23周、24周、或25周。也就是说,第二抗体暴露直到具有26周、25周、24周、23周、22周、21周、20周或19周的上限和18周、19周、20周、21周、22周、23周、24周或25周的独立选择的下限的周数范围中的任何一个后才提供,其中下限小于上限。在一些实施例中,该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供。在一些实施例中,该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周、第二抗体暴露后约25周、第二抗体暴露后约26周、第二抗体暴露后约27周、第二抗体暴露后约28周、第二抗体暴露后约29周、第二抗体暴露后约30周、第二抗体暴露后约31周、或第二抗体暴露后约32周才提供。在一些实施例中,该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后少于约下列周数的任一者后才提供:32周、31周、30周、29周、28周、27周、26周、或25周。在一些实施例中,该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后大于约下列周数的任一者后才提供:24周、25周、26周、27周、28周、29周、30周、或31周。也就是说,第三次抗体暴露直到具有32周、31周、30周、29周、28周、27周、26周或25周的上限和24周、25周、26周、27周、28周、29周、30周或31周的独立选择的下限的周数范围中的任何一个后才提供,其中下限小于上限。

[0318] 在一些实施例中,本揭露的方法包括向该个体施用对本公开II型抗CD20抗体的第一抗体暴露和对本公开II型抗CD20抗体的第二抗体暴露。在一些实施例中,该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供。在一些实施例中,该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周、第一抗体暴露后约19周、第一抗体暴露后约20周、第一抗体暴露后约21周、第一抗体暴露后约22周、第一抗体暴露后约23周、第一抗体暴露后约24周、第一抗体暴露后约25周、或第一抗体暴露后约26周才提供。在一些实施例中,该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后少于约下列周数中的任一者后才提供:26周、25周、24周、23周、22周、21周、20周、或19周。在一些实施例中,该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后大于约下列周数之任一者后才提供:18周、19周、20周、21周、22周、23周、24周、或25周。也就是说,第二抗体暴露直到具有26周、25周、24周、23周、22周、21周、20周或19周的上限和18周、19周、20周、21周、22周、23周、24周或25周的独立选择的下限的周数范围中的任何一个后才提供,其中下限小于上限。

[0319] 本文所述给药方案使用一致的系统来跟踪剂量之间的时间,由此在第1天或第0周向患者施用第一剂。如本文所述,本公开的抗体暴露可包括一剂或两剂。在抗体暴露包含一个剂量的情况下,提到在第一抗体暴露(如本文所述)之后经过一段时间才提供第二抗体暴露,是指第一抗体暴露的剂量(例如第1天或第0周)与第二抗体暴露的剂量之间的时间量。如果第一抗体暴露包括两次剂量,则在第1天或第0周提供第一抗体暴露的第一剂。在抗体暴露包含两个剂量的情况下,提到在第一抗体暴露(如本文所述)之后经过一段时间才提供第二抗体暴露,是指第一抗体暴露两剂的第一剂(例如第1天或第0周)与第二抗体暴露两剂的第一剂之间的时间量。例如,如果本公开的方法包括两次剂量的第一抗体暴露和两次剂量的第二抗体暴露,并且该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约22周才提供,则第一抗体暴露的第一剂和第二抗体暴露的第一剂为约22周。

[0320] 在一些实施例中,本公开的第一抗体暴露包括一剂或两剂本公开的II型抗CD20抗体。在一些实施例中,该第一抗体暴露含有介于约1800mg与约2200mg之间的该II型抗CD20抗体的单剂。在一些实施例中,该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的约1800mg、约

1900mg、约2000mg、约2100mg、或约2200mg的总暴露。

[0321] 在一些实施例中，第一抗体暴露包括两次剂量。在一些实施例中，该第一抗体暴露包括第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一抗体暴露的该第一剂含有约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一抗体暴露的该第二剂含有约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中，该第一抗体暴露的第二剂直至该第一抗体暴露的第一剂后约2周才提供。

[0322] 在一些实施例中，本公开的第二抗体暴露包括一剂或两剂本公开的II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露包含II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的的总暴露。在一些实施例中，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的约1800mg、约1900mg、约2000mg、约2100mg、或约2200mg的总暴露。

[0323] 在一些实施例中，第二抗体暴露包括两次剂量。在一些实施例中，该第二抗体暴露包括第一剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体和第二剂介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第一剂含有约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露的该第二剂含有约1000mg的该II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约1.5周至约2.5周才提供。在一些实施例中，该第二抗体暴露的第二剂直至该第二抗体暴露的第一剂后约2周才提供。

[0324] 在一些实施例中，本揭露的第三次抗体暴露包括一剂或两剂本公开的II型抗CD20抗体。在一些实施例中，该第三次抗体暴露包含II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露。在一些实施例中，该第三次抗体暴露包含II型抗CD20抗体的约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、或约1200mg的总暴露。

[0325] 在一些实施例中，第三次抗体暴露包括单一剂量。在一些实施例中，该第三次抗体暴露包括介于约900mg与约1100mg之间的该II型抗CD20抗体的单剂。在一些实施例中，该第三次抗体暴露的该单剂含有约1000mg的该II型抗CD20抗体。

[0326] 在一些实施例中，本公开的II型抗CD20抗体经由静脉内施用(例如通过IV输注)。

[0327] 在一些实施例中，本公开的方法进一步包括施用有效量的免疫抑制剂(例如，与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。几类免疫抑制剂在本领域中是已知的，其包括但不限于细胞增殖抑制剂(例如细胞毒素剂，诸如抗生素、烷化剂(例如环磷酰胺，也称为细胞膦(cytophosphane))、肌苷单磷酸脱氢酶抑制剂、抗代谢物，诸如蛋白质合成抑制剂、叶酸类似物、嘌呤类似物，嘧啶类似物及类似者)、免疫抑制抗体、糖皮质激素、靶向免疫亲和素的药物(例如他克莫司、西罗莫司(sirolimus)、雷帕霉素(rapamycin)及其类似物、环孢菌素等)、mTOR活性位点抑制剂、霉酚酸及其衍生物或其盐、TNF结合蛋白、干扰素、鸦片类药剂和其他小分子(例如芬戈莫德(fingolimod))。在一些实施例中，该免疫抑制剂包括霉酚酸、霉酚酸衍生物、或霉酚酸盐类。在一些实施例中，免疫抑制剂包括霉酚酸酯。在一些实施例中，免疫抑制剂包括CellCept®(Roche)。在一些实施例中，免疫抑制剂包括Myfortic®(Novartis)。本公开的免疫抑制剂的有效量在本领域中是已知的，并且可通过标准测定简易确定。例如，可每天用2.0～2.5g的剂量施用霉酚酸酯。在一些实施例中，可每天用1000mg

以分开剂量(每天2次)开始施用霉酚酸酯,并在第4周以分开剂量(每天2次)滴定至每天2.0-2.5g。

[0328] 在一些实施例中,可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用免疫抑制剂,例如作为狼疮的治疗。在一些实施例中,可以在用本公开的II型抗CD20抗体治疗的整个过程中施用免疫抑制剂。在一些实施例中,可以在用II型抗CD20抗体治疗的整个过程中如上所述施用霉酚酸酯。

[0329] 在一些实施例中,本公开的方法进一步包括施用有效量的糖皮质激素或皮质类固醇(例如,与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。多种自然存在的和合成的糖皮质激素/皮质类固醇是本领域已知的,包括但不限于倍氯米松(beclometasone)、曲安西龙(triamcinolone)、地塞米松、倍他米松(betamethasone)、强的松(prednisone)、甲泼尼龙(methylprednisolone)、泼尼松龙(prednisolone)、可的松和皮质醇。在一些实施例中,该糖皮质激素或皮质类固醇包括甲泼尼龙(methylprednisolone)。在一些实施例中,该糖皮质激素或皮质类固醇包括强的松(prednisone)。本公开的糖皮质激素或皮质类固醇的有效量在本领域中是已知的,并且可通过标准测定简易确定。例如,甲泼尼龙可以每天一次通过IV以750-1000mg的剂量施用。作为另一个例子,强的松(prednisone)可以0.5mg/kg口服施用并且任选地逐渐减少至每天7.5mg。

[0330] 在一些实施例中,可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用糖皮质激素,例如以治疗LN临床活性。在一些实施例中,可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前,例如在II型抗CD20抗体之前30-60分钟施用糖皮质激素。在一些实施例中,可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前30-60分钟通过IV施用80mg甲泼尼龙(methylprednisolone)。在一些实施例中,强的松(例如,口服施用)和/或甲泼尼龙(例如,IV施用)可以在治疗时施用,然后进行维持治疗(例如,霉酚酸酯或环磷酰胺)。

[0331] 在一些实施例中,本公开的方法进一步包括施用有效量的抗组胺药(例如,与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。本领域已知并且当前在临床上使用的抗组胺药包括组织胺H_1受体和组织胺H_2受体拮抗剂或反向激动剂。在一些实施例中,该抗组胺药包括苯海拉明(diphenhydramine)。本公开的抗组胺药的有效量在本领域中是已知的,并且可通过标准测定简易确定。例如,苯海拉明可以50mg口服剂量施用。

[0332] 在一些实施例中,可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用抗组胺药,例如作为预防治疗。在一些实施例中,可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前,例如在II型抗CD20抗体之前30-60分钟施用抗组胺药。在一些实施例中,可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前30-60分钟通过口服施用50mg苯海拉明。

[0333] 在一些实施例中,本公开的方法进一步包括施用有效量的非甾体抗炎药或NSAID(例如,与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。本领域已知的NSAID包括乙酸衍生物、丙酸衍生物、水杨酸酯、烯醇酸衍生物、邻氨基苯甲酸衍生物、选择性COX-2抑制剂、磺酰苯胺等。在一些实施例中,该NSAID包括对乙酰氨基酚(acetaminophen)。本公开的NSAID的有效量在本领域中是已知的,并且可通过标准测定简易确定。例如,对乙酰氨基酚可以650-1000mg的口服剂量施用。

[0334] 在一些实施例中,可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用NSAID,例如作为预防治疗。在一些实施例中,可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前,例

如在II型抗CD20抗体之前30-60分钟施用NSAID。在一些实施例中，可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前30-60分钟通过口服施用650-1000mg对乙酰氨基酚。

[0335] 在一些实施例中，本公开的方法进一步包括施用有效量的抗疟疾剂(例如，与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。可以使用的抗疟疾剂的实例包括但不限于羟氯喹、氯喹和奎纳克林(quinacrine)。在一些实施例中，可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用抗疟疾剂，例如作为狼疮的一种或多种症状治疗。

[0336] 在一些实施例中，本公开的方法进一步包括施用有效量的整联蛋白拮抗剂(例如，与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。可以使用的整联蛋白拮抗剂的实例包括但不限于LFA-1抗体，诸如可从Genentech商购的依法利珠单抗(efalizumab)(RAPTΓVA®)，或α4整联蛋白抗体，例如可从Biogen获得的那他珠单抗(natalizumab)(ANTEGREN®)，或二氮环苯丙氨酸衍生物、苯丙氨酸衍生物、苯丙酸衍生物、烯胺衍生物、丙酸衍生物、烷酸衍生物，取代的苯基衍生物、芳胺衍生物、ADAM去整合素结构域多肽(ADAM disintegrin domain polypeptide)、抗αvβ3整联蛋白的抗体、氮杂桥联的双环氨基酸衍生物等。在一些实施例中，可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用整联蛋白拮抗剂，例如作为狼疮的一种或多种症状治疗。

[0337] 在一些实施例中，本公开的方法进一步包括施用有效量的细胞介素拮抗剂(例如，与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。可以使用的细胞介素拮抗剂的实例包括但不限于针对IL-1、IL-1α、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-15的拮抗剂(例如拮抗剂抗体)；肿瘤坏死因子，诸如TNF-α或TNF-β；和其他多肽因子，包括LIF和试剂盒配体(KL)。在一些实施例中，可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用细胞介素拮抗剂，例如作为狼疮的一种或多种症状治疗手段。

[0338] 在一些实施例中，本公开的方法进一步包括施用有效量的荷尔蒙(例如，与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。在一些实施例中，可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用荷尔蒙(例如荷尔蒙取代治疗)，例如作为患有狼疮女性的医疗手段。

[0339] 在一些实施例中，本公开的方法进一步包括施用标准治疗(例如，与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。在一些实施例中，可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用标准治疗，例如用于治疗或预防狼疮的一种或多种症状。在某些实施例中，标准治疗可在本公开的第二抗体暴露后施用。在某些实施例中，标准治疗可在本公开的第三次抗体暴露后施用。例如，可以如本文所述将本公开的II型抗CD20抗体作为诱导疗法施用患者，然后可以根据标准护理作为维持疗法治疗患者。狼疮的标准治疗是本领域众所周知的，包括但不限于血管紧张素转换酶(ACE)抑制剂、血管紧张素受体阻断剂、环磷酰胺、霉酚酸酯(例如，以本文所述剂量，诸如每天2.0-2.5g)、硫唑嘌呤和糖皮质激素或皮质类固醇(例如强的松(prednisone)，如强的松递减)。

[0340] 在一些实施例中，本公开的方法进一步包括施用有效量的抗高血压剂(例如，与本文所述的II型抗CD20抗体联合)。在一些实施例中，可以在施用本公开的II型抗CD20抗体之前、期间或之后施用抗高血压剂，例如用于治疗或预防高血压。在一些实施例中，抗高血压剂包括但不限于ACE抑制剂和血管紧张素受体阻断剂。

[0341] 在一些实施例中，本公开的方法导致个体的完全肾脏缓解(CRR)。在一些实施例

中,CRR包含以下所有各项:血清肌酸酐的正常化、非活动性尿沉渣、和尿蛋白与肌酸酐之比<0.5。在一些实施例中,血清肌酸酐的正常化的特征在于血清肌酸酐小于或等于中心实验室值范围的正常上限(ULN),和/或血清肌酸酐高于基线≤15%且小于或等于中心实验室值范围ULN,如果基线(例如,第1天)血清肌酸酐在中心实验室值的正常范围内。在一些实施例中,非活动性尿沉渣的特征在于<10个RBC/高倍视野(HPF)和/或不存在红细胞管型。有关LN中CRR和部分肾脏缓解(PRR)的更详细讨论,请参阅例如Chen,Y.E.等人,(2008)Clin.J.Am.Soc.Nephrol.3:46-53。

[0342] 在一些实施例中,本公开的方法导致个体的完全肾脏缓解(CRR)或部分肾脏缓解(PRR)。在一些实施例中,PRR包含以下一者或多者:血清肌酸酐的正常化、非活动性尿沉渣和尿蛋白与肌酸酐之比<0.5。在一些实施例中,PRR包括以下一者或多者:减轻一种或多种症状,包括但不限于血清肌酸酐降低、减少尿沉渣、减少蛋白尿、以及肾功能的任何其他改善。在一些实施例中,CRR或PRR包含狼疮活性的一种或多种生物标记物减少,包括但不限于抗dsDNA抗体、抗核抗体/ENA、抗补体抗体、补体C3和/或C4水平降低和补体活性降低(例如通过CH50测定法测量)。

[0343] 在一些实施例中,本公开的方法导致个体的循环外周B细胞消耗。在一些实施例中,该循环外周B细胞是CD19+B细胞。在一些实施例中,该循环外周B细胞为原态(naïve)B细胞。在一些实施例中,该循环外周B细胞为记忆B细胞。在一些实施例中,该循环外周B细胞为成浆细胞或浆细胞。在一些实施例中,在施用本公开的II型抗CD20抗体(例如,根据本文所述方法中的任一者)后,外周血液中循环外周B细胞为约7个细胞/μL或更低、约6个细胞/μL或更低、约5个细胞/μL或更低、约4个细胞/μL或更低、约3个细胞/μL或更低、约2个细胞/μL或更低、约1个细胞/μL或更低、或约0.5个细胞/μL或更低。在一些实施例中,循环外周B细胞的水平使用本文所述的高灵敏度流式细胞术(HSFC)测量。在一些实施例中,B细胞消耗至低于使用HSFC可检测到的极限水平。在一些实施例中,该HSFC对B细胞的定量下限为(LLOQ)约1.0个细胞/μL或更少、约0.8个细胞/μL或更少、约0.6个细胞/μL或更少、约0.5个细胞/μL或更少、或0.441个细胞/μL或更少。在一些实施例中,个体中循环外周B细胞消耗至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或约100%。在一些实施例中,循环外周B细胞消耗在该第一抗体暴露的第一剂后持续至少52周。在一些实施例中,循环外周B细胞消耗在该第一抗体暴露的第一剂后持续至少51周、至少50周、至少49周、至少48周、至少47周、至少46周、至少45周、至少44周、至少43周、至少42周、至少41周、至少40周、至少39周、至少38周、至少37周、至少36周、至少35周、至少34周、至少33周、至少32周、至少31周、至少30周、至少29周、至少28周、至少27周、至少26周、至少25周或至少24周。在一些实施例中,循环外周B细胞消耗指在第一抗体暴露后(例如,包括1剂或2剂如本文所述的抗CD20抗体)、第二抗体暴露后(例如,包括1剂或2剂如本文所述的抗CD20抗体)、第三次抗体暴露后(例如,包括1剂或2剂如本文所述的抗CD20抗体)、治疗(例如,如本文中所述接受第一次、和/或第二次、和/或第三次抗体暴露后)后3个月、治疗(例如,如本文中所述接受第一次、和/或第二次、和/或第三次抗体暴露后)后6个月、治疗(例如,如本文中所述接受第一次、和/或第二次、和/或第三次抗体暴露后)后9个月、或治疗(例如,如本文中所述接受第一次、和/或第二次、和/或第三次抗体暴露后)后12个月取得的循环外周B细胞的测量值,例如相较于治疗前同一个人的相应测量值、或相较于对照个体(例如未接受治疗的个体)的相应测量值。

[0344] 用于测定个体中循环外周B细胞消耗的方法是本领域已知的，例如，使用一种或多种识别B细胞标志物的抗体的流式细胞术。在一些实施例中，高灵敏度流式细胞术(HSFC)可用于测定循环外周B细胞消耗(参见例如Vital,E.M.等人，(2011)Arthritis Rheum.63:3038-3047和实例1)。在一些实施例中，B细胞为CD19+B细胞。在一些实施例中，该等B细胞是原态(naïve)B细胞(例如CD19+CD27-B细胞)、记忆性B细胞(例如CD19+CD27+B细胞)、或成浆细胞(例如CD19+CD27+CD38++B细胞)。在一些实施例中，B细胞为CD19+CD3-CD14-细胞和/或CD19+CD33-CD56-细胞。在一些实施例中，该等B细胞是CD19+CD3-CD14-CD33-CD56-细胞。在一些实施例中，该等B细胞包含CD19+CD20+B细胞、CD19+CD20-B细胞、和CD19+CD22+B细胞。在一些实施例中，B细胞是循环外周B细胞，例如来自外周血液样本。

[0345] 在一些实施例中，如下测量(例如通过HSFC)存在于外周血液样本中的循环外周B细胞的水平。通过流式细胞术(例如，通过绘制CD45相对于侧向散射的关系图并圈选CD45+细胞)来鉴定样本中的淋巴细胞。在一些实施例中，在该步骤之前将双峰从分析中排除(例如通过圈选单一细胞并且排除前向散射和/或侧向散射双峰)。然后通过排除T细胞、NK细胞和单核细胞来鉴定CD19+B细胞。例如，可从亲本CD45+淋巴细胞中鉴定出CD19+CD3-CD14-细胞(例如，通过绘制CD19相对于CD3/CD14的关系图并圈选CD19+CD3-CD14-细胞)，并且可从亲本CD19+CD3-CD14-细胞中鉴定出CD19+CD33-CD56-B细胞(例如，通过绘制CD19相对于CD33/CD56的关系图并圈选CD19+CD33-CD56-细胞)。然后可通过例如将检测到的CD19+B细胞的数量(例如CD19+CD3-CD14-CD33-CD56-细胞)除以样品体积来确定B细胞计数。在一些实施例中，还可以定量珠数或其他QC对照，然后可以例如通过计算(CD19+事件x珠子计数)/(珠子数×样本体积)来确定B细胞计数。

[0346] 在一些实施例中，在施用本公开的II型抗CD20抗体(例如，根据本文所述方法中的任一者)后，外周血液中循环外周B细胞为约7个细胞/μL或更低、约6个细胞/μL或更低、约5个细胞/μL或更低、约4个细胞/μL或更低、约3个细胞/μL或更低、约2个细胞/μL或更低、约1个细胞/μL或更低、或约0.5个细胞/μL或更低，例如5个细胞/μL或更低。在一些实施例中，B细胞消耗至低于使用HSFC可检测到的极限水平。在一些实施例中，该HSFC对B细胞的定量下限为(LLOQ)约1.0个细胞/μL或更少、约0.8个细胞/μL或更少、约0.6个细胞/μL或更少、约0.5个细胞/μL或更少、或0.441个细胞/μL或更少。

[0347] IV.制品或试剂盒

[0348] 在另一方面，提供了包含可用于本文所述的任何方法(例如，用于本文所述疾病的治疗、预防和/或诊断)的本公开的II型抗CD20抗体的制品或试剂盒。制品或试剂盒包括容器和在容器上或与容器相关的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可以由多种材料诸如玻璃或塑胶形成。该容器可容纳组合物，该组合物本身或与另一组合物结合使用以有效治疗、预防和/或诊断疾病或用于消耗循环外周B细胞，并且该容器可能具有无菌入口(例如，容器可为具有可透过皮下注射针头穿孔的塞子的静脉输液袋或小管)。组合物中的至少一种活性剂为本文所述抗体(例如，本公开的II型抗CD20抗体)。标签或包装插页指示该组合物用于根据本文所述方法中的任一者来治疗所选病症或消耗循环外周B细胞。可替代地或另外地，制品或试剂盒可进一步包含第二(或第三)容器，该容器包含药用缓冲剂，诸如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、Ringer溶液和葡萄糖溶液。从商业和使用者的角度来看，它可以进一步包含其他材料，包括其他缓冲剂、稀

释剂、过滤器、针头和注射器。

[0349] 在一些实施例中，本文提供了一种制品或试剂盒，其包含容器，包含本公开的II型抗CD20抗体和任选的药用载体，以及任选地包括用于治疗个体狼疮性肾炎或用于消耗个体循环外周B细胞的说明书的包装插页，例如，其中该说明指示向该个体施用对II型抗CD20抗体的第一抗体暴露、对II型抗CD20抗体的第二抗体暴露和对II型抗CD20抗体的第三次抗体暴露，该第二抗体暴露直至该第一抗体暴露后约18周至约26周才提供，该第三次抗体暴露直至该第二抗体暴露后约24周至约32周才提供；其中该第一抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第一抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；其中该第二抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第二抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约1800mg与约2200mg之间的总暴露；并且其中该第三次抗体暴露包含一剂或两剂该II型抗CD20抗体，该第三次抗体暴露包含该II型抗CD20抗体的介于约800mg与约1200mg之间的总暴露。在一些实施例中，本文提供了一种试剂盒，该试剂盒包含容器，其包含本公开的II型抗CD20抗体和任选的药用载体，以及任选地包装插页，其包含用于治疗个体III型或IV型狼疮性肾炎的说明。在上述任何实施例的一些实施例中，II型抗CD20抗体包含重链和轻链，该重链包含SEQ ID NO:1的HVR-H1序列、SEQ ID NO:2的HVR-H2序列和SEQ ID NO:3的HVR-H3序列，该轻链包含SEQ ID NO:4的HVR-L1序列、SEQ ID NO:5的HVR-L2序列和SEQ ID NO:6的HVR-L3序列。在上述任何实施例的一些实施例中，该II型抗CD20抗体是奥滨尤妥珠单抗。在一个实施例中，该个体为人。

[0350] 制品或试剂盒还可进一步包含第二或第三容器，该第二或第三容器包含第二药物，其中该抗CD20抗体(例如本公开的II型抗CD20抗体)是第一药物，其中该制品进一步包含包装插页上关于用第二药物治疗受试者的的说明。示例性的第二药物包括化学治疗剂、免疫抑制剂、抗疟疾剂、细胞毒素剂、整联蛋白拮抗剂、细胞介素拮抗剂或荷尔蒙，以及任何可与如本文所述的II型抗CD20抗体联合使用的治疗。该等实施例中的制品可进一步包含包装插页，该包装插页指示组合物可用于治疗特定病症。

[0351] 该说明书被认为足以使本领域技术人员能够实施本发明。除了本文中示出和描述的之外，本发明的各种修改对于根据说明书前文的本领域技术人员而言将变得显而易见，并且落入所附权利要求的范围内。本文引用的所有出版物、专利和专利申请出于所有目的通过引用整体并入本文。

[0352] 实例

[0353] 通过参考以下实施例将更全面地理解本发明。但是，它们不应被解释为限制本发明的范围。应当理解，本文描述的实例和实施例仅用于说明目的，并且其各种修改或改变将被建议给本领域技术人员，并且将被包括在本申请的精神和界限内以及所附权利要求的范围内。

[0354] 实例1：奥滨尤妥珠单抗加上霉酚酸酯和皮质类固醇类用于治疗增生性狼疮性肾炎

[0355] B细胞是狼疮性肾炎发病机制的核心，但I型抗CD20抗体的随机化对照试验未能证实优于单独标准护理。奥滨尤妥珠单抗是一种糖基化工程改造的II型抗CD20单克隆抗体，与第I型抗CD20抗体相比，诱发更大的B细胞消耗。在以霉酚酸酯和皮质类固醇治疗的增生性狼疮肾炎患者中，将奥滨尤妥珠单抗与安慰剂治疗进行比较。

[0356] 在一项2期、多中心、随机化、双盲试验(NOBILITY)中比较了用霉酚酸酯和皮质类固醇类治疗的患有增生性狼疮性肾炎患者中奥滨尤妥珠单抗与安慰剂的疗效，其结果如下所述。

[0357] 材料与方法

[0358] 在北美、南美、欧洲和以色列的43个地点招募126名患者。经过为期4周的筛选，患者通过交互式网络应答系统按1:1的比例随机分配到两组中的一组，分别在研究的第1、15、168和182天接受静脉内1000mg奥滨尤妥珠单抗或安慰剂输液。为降低输液相关反应的风险，在研究药物施用之前，随机分配奥滨尤妥珠单抗或安慰剂的患者分别接受盲性80mg的甲泼尼龙IV或安慰剂的治疗。所有患者均接受霉酚酸酯(霉酚酸酯，目标剂量为每天2-2.5克或霉酚酸的等效剂量)和标准化的皮质类固醇递减(开始强的松为每天0.5mg/kg，最高每天60mg，递减至第12周每天7.5mg)。对患者进行盲法跟踪，直到第104周为止，并对持续性B细胞消耗的患者进行安全性跟踪和B细胞评估。另请参见在WO2016/183104中公开的方案。

[0359] 计划在第4、12、24、36、52、76和104周进行试验回诊，以评估安全性、尿蛋白排泄(通过24小时尿液收集的UPCR和/或随机UPCR，优选地来自首次早晨排尿用于测量)、血清肌酸酐、自身抗体和血清补体成分水平以及临床疾病活动。使用高灵敏度流式细胞仪(HSFC)技术，在基线(第0周)和第2、4、12、24、52和104周(从第76周的某些患者中获取的数据作为探索性研究成果)对外周血液B细胞进行定量。在第52周时向所有患者进行可选的重复肾活检，并根据当地临床实践进行检查。

[0360] 患者

[0361] 如果患者年龄在18至75岁之间，患有系统性红斑性狼疮(SLE)(根据美国风湿病学会标准确定)、随机化的六个月内按照国际肾脏学学会/肾脏病理学会2003年标准进行肾活检并诊断出III型或IV型(允许伴发性V型)、在24小时尿液收集中尿蛋白与肌酸酐之比(UPCR)>1、并且估计肾小球滤过率(eGFR)≥30mL/min/1.73m^{2}而肾功能没有快速进行性下降，则患者符合资格。所有患者均提供了书面知情同意书。

[0362] 终点

[0363] 主要终点是达到完全肾脏缓解的患者的比例，定义为UPCR<0.5、血清肌酸酐小于或等于正常值上限且不高于基线值15％、每高倍视野(HPF)少于10个红细胞而在尿沉渣检验中无红细胞管型(第52周时)。重要的次要终点是部分肾脏缓解的实现，定义为:UPCR相对基线降低≥50％至<1(如果基线UPCR≥3则<3)、血清肌酸酐未相对基线升高>15％、和尿红细胞<10或未相对基线增加>50％;总体肾脏缓解，定义为达到完全或部分应答;经修饰的完全肾脏缓解，定义为不包括尿沉渣标准的完全肾脏缓解;第二经修饰的完全肾脏缓解，其允许血清肌酸酐小于或等于正常值上限，或者相对基线未增加>15％;相对基线狼疮性肾炎疾病活动性生物标记的变化，包括dsDNA抗体水平，补体成分3(C3)、补体成分4(C4);和安全性。基线过后通过脉冲剂量甲泼尼龙(≥500mg)、环磷酰胺、利妥昔单抗、或其他新免疫抑制疗法进行抢救或过早退出研究的患者被归为对所有应答终点均无应答。

[0364] 高灵敏度流式细胞仪(HSFC)

[0365] 最小残留B细胞(MRB 1.1)检测组(包括CD19、CD20、和CD22标记物)通过HSFC检定，以提供外周B细胞的绝对计数。CD19出现在B细胞个体发育的早期，并在所有B细胞系细胞中表达，但在浆细胞中下调。除了极早期的祖细胞和终末分化浆细胞之外，所有正常B细胞均

表达CD20。CD22主要存在于成熟的B细胞中。

[0366] HSFC测定使用两个试管，每个用于质量对照(QC)和测试样品：用于圈选的萤光减一(FMO)对照管和一个实验管，两者均通过FACSCanto™ II流式细胞仪进行分析(Becton Dickinson)，其配备405nm、488nm和633nm激光器以及BD FACSDiva™流式细胞仪分析软件(Becton Dickinson)。简而言之，从患者身上收集全血。使用反向移液将300μL的QC或全血移入每个染色管底部。将50μL mAb混合物混合并添加到每个管中。FMO管使用以下各项：5μL抗CD3:FITC、5μL抗CD14:FITC、5μL抗CD33:PerCP-Cy5.5、5μL抗CD56:PerCP-Cy5.5、15μL抗CD45:APC-H7和15μL PBS。实验管使用以下各项：5μL抗CD19:BV421、5μL抗CD3:FITC、5μL抗CD14:FITC、5μL抗CD22:PE、5μL抗CD33:PerCP-Cy5.5、5μL抗CD56:PerCP-Cy5.5、5μL抗CD20:APC和15μL抗CD45:APC-H7。将试管充分混合(震荡)，然后于室温(18-26℃)下在黑暗中孵育15分钟。接下来，将1.5mL的BD FACS裂解溶液添加到每个管中。将试管充分混合(震荡)，然后于室温下在黑暗中放置30分钟。将试管再次震荡，然后进行分析。

[0367] 使用保存的FACSDiva™ MRB Panel-1.1采集模板在FACSCanto™ II流式细胞仪(Becton Dickinson)上采集样品。参数780/60(633)(CD45 APC-H7)的阈值设置为1,000。采集之前，应通过第一样本验证SSC和FSC的电压以及阈值已正确设置。设定淋巴圈选(lymph gate)中至少有20,000个事件为停止圈选(stopping gate)。

[0368] 使用了以下圈选策略。首先，将时间(x轴)相对于CD3/CD14 FITC-A(y轴)的点图用于采集品质监控(图1)。系统中断期间收集的事件通过“时间”圈选分析中负性选择。SSC-A(x轴)相对于SSC-H(Y轴)的双变量点图用于圈选单一细胞并排除侧面散射双峰(图2)。FSC-A(x轴)相对于先前圈选的FSC-H(Y轴)的双变量点图用于圈选单一细胞并排除前散射双峰(图3)。CD45 APC-H7-A(x轴)相对于先前圈选的SSC-A(y轴)的双指数双变量点图用于圈选CD45+淋巴细胞(图4)。FSC-A(x轴)相对于SSC-A(Y轴)的双变量点图用于确认图4的淋巴细胞圈选的放置情况(图5)。来自图4中淋巴细胞圈选的CD19 BV421-A(x轴)相对于CD3/CD14 FITC-A(Y轴)的双变量点图用于排除CD3+T细胞和CD14+单核细胞以及圈选$CD3^{-}CD14^{-}CD19^{+}$细胞(图6).$CD3^{-}CD14^{-}CD19^{+}$圈选的CD19 BV421-A(x轴)相对于CD33/CD56 PerCP-C5.5-A(Y轴)的双变量点图用于排除CD33+单核细胞和表达CD56的T或NK细胞并报告CD19+B细胞($CD33^{-}CD56^{-}CD19^{+}$)(图7)。从图1得出的时间圈选的CD33/CD56 PerCP-Cy5.5-A(x轴)相对于CD22 PE-A(Y轴)的双指数双变量点图用于圈选珠事件，以计算绝对计数(图8)。绝对计数以如下方法确定。CD19 B细胞：细胞/μL＝(CD19+事件x珠计数)/(珠计数x300μL用于染色的血量)。该测定确认定量下限(LLOQ)为0.441个细胞/μL。

[0369] 统计分析

[0370] 估计表明，通过每个治疗组招收60名患者，使用Cochrane-Mantel-Haenzel检验可提供83％的力度以检测出奥滨尤妥珠单抗组(50％的应答率)和对照组(30％的应答率)之间的完全肾脏缓解(CRR)有20％的差异，双边alpha为0.2。假设是基于在最近有关增生性狼疮性肾炎患者的随机临床试验中观察到的应答。为了控制主要分析中的I型错误，从主要终点开始依次对研究终点进行假设检定。

[0371] 安全性分析组由接受过至少一剂奥滨尤妥珠单抗或安慰剂的所有患者组成。描述性统计数据用于评估安全性。

[0372] 结果

[0373] 126名患者经随机分配。一名患者被随机分配，但由于第一次盲性输注之前怀孕而中止了研究；其余的125名患者接受了至少一剂指定的介入措施，并被纳入经修饰的意向治疗组中。115名(92%)完成52周的治疗。奥滨尤妥珠单抗组中有四名患者(6%)和对照组中的七名患者(11%)在第52周之前需要抢救性免疫抑制。

[0374] 大多数(85%)患者为女性，平均年龄为33岁(表4)。73%被确定为西班牙裔或拉丁裔，而43%为白人。共有78%患有IV型狼疮性肾炎；其余的患有III型狼疮性肾炎。伴发性V类狼疮肾炎占29%。基线处的平均(+/-SD)UPCR为3.12±2.56，基线处的平均血清肌酸酐为0.84±0.77，基线处的平均eGFR为102.0±31.7。两个治疗组的患者基线疾病特征相似。如图10所述，奥滨尤妥珠单抗组进一步细分为在奥滨尤妥珠单抗治疗后观察到持续存在B细胞消耗的患者和在奥滨尤妥珠单抗治疗后观察到可检测B细胞的患者。

[0375] 表4.患者的基线特征和人口统计特征

[0376]

	奥滨尤妥珠单抗 (n=63)	安慰剂 (n=62)
年龄–年	33.1±9.8	31.9±10.1
男性-数目 (%)	8 (13)	11 (18)
狼疮性肾炎的先前病史-数目 (%)	32 (51)	32 (52)
IV 型狼疮性肾炎–数目 (%)	49 (78)	44 (71)
伴发性 V 型狼疮性肾炎–数目 (%)	20 (32)	17 (27)
血清肌酸酐 – mg/dL	0.87±0.34	0.80±0.33
eGFR –mL/min/1.73 m^2	102.0±30.1	102.1±32.9
UPCR	3.3±2.7	2.9±2.5
尿液 RBC – RBC/hpf	10.8±16.3	9.1±20.0
抗 dsDNA Ab≥75 IU / mL – 数目 (%)	31 (49)	36 (58)
C3 <90 mg/dL –数目 (%)	43 (68)	37 (60)
C4 <16 mg/dL –数目 (%)	41 (65)	46 (62)

[0377] eGFR＝估算肾小球滤过率；RBC＝红细胞；UPCR＝尿液蛋白与肌酸酐之比

[0378] 临床结果

[0379] 奥滨尤妥珠单抗组22位患者(35%)和对照组14位患者(23%)在第52周(主要终点)达到完全肾脏缓解(风险差异为12个百分点；80%CI，2至22；P＝0.115)(图1A)。奥滨尤妥珠单抗组35位患者(56%)和对照组22位患者(36%)在第52周达到总体应答(风险差异为20个百分点；80%CI，9至31；P＝0.025)。奥滨尤妥珠单抗组25位患者(40%)和对照组16位患者(26%)在第52周达到经修饰的完全肾脏缓解(风险差异为14个百分点；80%CI，3至25；P＝0.09)。主要和次要疗效终点如表5A中所列。

[0380] 在第76周的探索性分析中，奥滨尤妥珠单抗组25位患者(40%)和对照组11位患者(18%)达到完全肾脏缓解(风险差异为22个百分点；80%CI，12至32)。预先指定的替代性完全肾脏缓解定义增加了两组的应答，同时在第76周维持了奥滨尤妥珠单抗的治疗益处。随时间变化的肾脏缓解如图1B所示。表5A和表5B列出了第76周的探索性分析结果。更多功效数据如图1C和图1D所示。

[0381] 至第76周，奥滨尤妥珠单抗组中的六名患者(10％)和安慰剂组中的十二名患者(19％)接受了抢救治疗。其中，奥滨尤妥珠单抗组的两名患者和安慰剂组的六名患者用环磷酰胺进行了抢救。

[0382] 与安慰剂相比，奥滨尤妥珠单抗与C3、C4、抗dsDNA抗体和UPCR的显著改善相关(表5A)。在第52和第76周时，治疗组之间UPCR减少量相对基线的调整后平均差异分别为0.57(80％CI，0.2至1.0)和0.72(80％CI，0.4至1.1)。这些测量中的各者相对基线的变化都如图2A所示。在第76周，奥滨尤妥珠单抗与CRR(40％比18％，P＝0.007)和ORR(51％比29％，P＝0.015)的增加相关。替代性应答定义表明在两个治疗组中反应率都有所增加(表5A和图13)。

[0383] 表5A：第52和第76周的主要和次要终点。

[0384]

	奥滨尤妥珠单抗 (n = 63)	安慰剂 (n = 62)	差值 (80% CI)	*P* 值*
第 52 周				
CRR	22 (35)	14 (23)	12 (2, 22)	0.115

[0385]

CRR 不包括尿沉渣	25 (40)	16 (26)	14 (3, 25)	0.090
经修饰的 CRR	29 (46)	24 (39)	7 (-4, 19)	0.373
PRR**	35 (56)	21 (34)	22 (11, 33)	0.015
ORR（CRR 或 PRR）	35 (56)	22 (36)	20 (9, 31)	0.025
UPCR 相对基线降低 ≥50%	45 (71)	35 (57)	15 (4, 26)	-
抗 dsDNA <30 IU/mL	31 (49)	16 (26)	24 (13, 36)	0.007
C3 > 90 mg/dL	50 (79)	30 (48)	31 (21, 41)	0.0004
C4 > 10 mg/dL	61 (97)	46 (74)	23 (15, 30)	0.0004
第 76 周				
CRR	25 (40)	11 (18)	22 (12, 32)	-
CRR 不包括尿沉渣	30 (48)	14 (23)	25 (15, 36)	-
经修饰的 CRR	36 (57)	23 (37)	20 (9, 31)	-
PRR**	32 (51)	18 (29)	22 (11, 33)	-
ORR（CRR 或 PRR）	32 (51)	18 (29)	22 (11, 33)	-

[0386] P值根据针对I型错误预先指定分析控制而提出

[0387] **包括所有符合PRR标准的患者，无论CRR实现与否

[0388] CRR＝完全肾脏缓解，其要求尿液蛋白与肌酸酐之比率(UPCR)<0.5，血清肌酸酐小于正常值上限且自基线未增加>15％，且尿红细胞(RBC)<10/hpf，无RBC管型(RBC cast)。

[0389] 修饰CRR＝经修饰的完全肾脏缓解，其要求UPCR<0.5，且血清肌酸酐低于正常值上限。

[0390] ORR＝总体肾脏缓解。

[0391] PRR＝部分肾脏缓解，其要求UPCR相对基线降低≥50％至<1(若基线≥3，则降低至<3)，血清肌酸酐相对基线未增加>15％，尿液RBC<10/hpf或相对基线未增加>50％。

[0392] SCr＝血清肌酸酐；ULN＝中央实验室正常值的上限

[0393] 最近的研究表明，血清肌酸酐升高的25％阈值可能适用于血清肌酸酐正常的患者。因此，将新的经修饰的完全肾脏缓解(mCRR)和经修饰的部分肾脏缓解(mPRR)标准应用于数据。根据新标准，mCRR需要满足以下所有条件：UPCR<0.5；血清肌酸酐小于或等于正常值上限；血清肌酸酐相对基线增加不超过25％；且mPRR需要满足以下所有条件：UPCR≥50％降低到<1(如果基线≥3则降低到<3)；血清肌酸酐相对基线增加不超过25％。使用这些标准，相较于安慰剂，奥滨尤妥珠单抗与第52周(43％比29％，相差14％，p<0.2)和第76周(54％比31％，相差23％，p<0.01)的mCRR增加相关，并且奥滨尤妥珠单抗也与第52周(68％比45％，差异23％，p<0.05)和第76周(68％比50％，差异18％，p<0.05)的mPRR增加相关。两个分群中CRR随时间的变化(CRR定义：UPCR＜0.5且血清肌酸酐≤正常值上限)如图2B所示。

[0394] 在第4周时，奥滨尤妥珠单抗组中98％和89％的患者具有低于使用常规流式细胞术(<5细胞/μL)和高灵敏度流式细胞术(<0.441细胞/μL)的定量下限的外周CD19+B细胞消耗。在第24周和第52周，以高灵敏度流式细胞术的消耗患者比例分别为73％和80％。在第4周时，奥滨尤妥珠单抗组中98％和89％的患者具有低于使用常规流式细胞术(<5细胞/μL)和高灵敏度流式细胞术(<0.441细胞/μL)的定量下限的外周CD19+B细胞消耗。在第24周和第52周，以高灵敏度流式细胞术的消耗患者比例分别为73％和80％(图3A)。记忆和原态(naïve)B细胞和成浆细胞也迅速消耗，有证据表明在第三次输注之前，原态B细胞和成浆细胞在第24周再生(图3B)。奥滨尤妥珠单抗组的平均血清B细胞活化因子(BAFF)水平从相对基线的4,585pg/mL增加到第52周的14,601pg/mL(图11，与之相比，安慰剂组从基线值的5,341pg/mL增加到第52周的7,278pg/mL，增加了36％。在奥滨尤妥珠单抗组中，BAFF水平在2周内开始增加。

[0395] 奥滨尤妥珠单抗组中的三十二位患者(51％)在第24周和第52周的消耗均仍低于使用高灵敏度流式细胞术检测的限制。这些患者在第76周的CRR(50％)和ORR(66％)的数值高于在任一时间点均可检测到B细胞的患者，后者的CRR和ORR率分别为35％和45％(图4和表5B)。在接受奥滨尤妥珠单抗治疗的患者中，持续B细胞消耗的实现与第76周的较大肾脏缓解获益相关(表5B)，尽管达成持续B细胞消耗的患者蛋白尿和血清肌酸酐的基线水平较低。在具有完整数据的52名患者中，有32名患者达到了持续的B细胞消耗(62％)。

[0396] 表5B：在第76周依消耗状态的肾脏缓解。

[0397]

	奥滨尤妥珠单抗，持续消耗 (N = 32)	奥滨尤妥珠单抗，可检测到 B 细胞 (N=20)	安慰剂组 (N=62)
CRR	50%**	35%*	18%

[0398]

经修饰的 CRR	72%**	50%	37%
ORR	66%***	45%*	29%

[0399] 奥滨尤妥珠单抗组中有十一名患者资料不足无法确定其消耗状态而予以排除。

[0400] *P<0.2相对于安慰剂组

[0401] **P<0.05相对于安慰剂组

[0402] ***P<0.001相对于安慰剂组

[0403] CRR＝完全肾脏缓解，其要求UPCR<0.5，血清肌酸酐(SCr)≤正常值上限且相对基

线未增加>15％，且<10RBCs/HPF，无RBC管型。

[0404] 经修饰的CRR＝UPCR<0.5，且血清肌酸酐≤正常值上限。

[0405] ORR＝总体肾脏缓解，其要求CRR或部分肾脏缓解：UPCR相对基线降低≥50％至<1(如果基线UPCR≥3，则<3)，血清肌酸酐未相对基线升高>15％，且尿RBC升高≤50％(或<10RBC/HPF)。

[0406] 在基线SCr<0.65mg/dL(n＝45)的患者中，应答率很低，这是因为要求SCr相对基线未增加>15％(图12)。将该阈值提高到25％增加应答率至与其他组类似的水平。

[0407] 将检验奥滨尤妥珠单抗的II期临床研究(NOBILITY)中的B细胞消耗，与先前对I型抗CD20抗体利妥昔单抗的临床研究(LUNAR)中实现的消耗进行了比较。在第0、2、24和26周时，两种抗体均施用1000mg。如表5C和5D所示，奥滨尤妥珠单抗治疗实现优异的B细胞消耗，无论是使用常规方法测量的每μL≤5个细胞(表5C)还是通过本文所述的HSFC测量的消耗至每μL 0个细胞(表5D)。

[0408] 表5C：B细胞消耗至每μL≤5个细胞

[0409]

	奥滨尤妥珠单抗	利妥昔单抗
第2周	96％	52％
第4周	96％	74％
第12周	94％	87％
第24周	93％	52％
第52周	94％	48％

[0410] 表5D：B细胞消耗至每μL≤0个细胞

[0411]

	奥滨尤妥珠单抗	利妥昔单抗
第2周	71％	12％
第4周	71％	17％
第12周	74％	25％
第24周	66％	5％
第52周	81％	13％

[0412] 不良事件

[0413] 安全性数据总结如表6所示。数据截止日期的中位后续追踪时间为78周(范围为5至104周)。一名经随机分配安慰剂的患者在第一周期期间无意中接受两次奥滨尤妥珠单抗输液，并被纳入奥滨尤妥珠单抗组以进行安全性分析。奥滨尤妥珠单抗组的严重不良事件发生率为23％，安慰剂组为30％，奥滨尤妥珠单抗组的严重感染发生率为6％，安慰剂组为18％。奥滨尤妥珠单抗组中的一名患者和安慰剂组中的三名患者因不良事件而中断盲性奥滨尤妥珠单抗输液。奥滨尤妥珠单抗组的十名患者(16％)和安慰剂组的六名患者(10％)发生与输液相关的反应；所有反应都不严重，并通过支持性护理解决。奥滨尤妥珠单抗最常见的不良事件是支气管炎和输液相关的反应。

[0414] 截至截止日期，已发生五起死亡案例，奥滨尤妥珠单抗组一例，安慰剂组四例。安慰剂组中出现了一例致命的进行性多灶性白质脑病，该患者在诊断前大约六个月接受环磷酰胺抢救。

[0415] 表6：在第76周的不良事件。

[0416]

	奥滨尤妥珠单抗 (n=64)	安慰剂 (n=61)
任何不良事件 - 数目 (%)	56 (88)	55 (90)
事件总数	355	314
死亡 - 数目 (%)	1 (2)	4 (7)
严重不良事件 - 数目 (%)	15 (23)	18 (30)
严重感染不良事件 - 数目 (%)	4 (6)	11 (18)
感染不良事件 - 数目 (%)	45 (70)	39 (64)
导致盲性奥滨尤妥珠单抗停药的不良事件 - 数目 (%)	1 (2)	3 (5)
输液相关反应 - 数目 (%)	10 (16)	6 (10)

[0417]

严重的输液相关反应 - 数目 (%)	0	0
进行性多灶性白质脑病 - 数目 (%)	0	1 (2)

[0418] 一位经随机分配安慰剂的患者在第一周期期间无意中接受两次奥滨尤妥珠单抗输液。该患者被纳入奥滨尤妥珠单抗组中以进行安全性分析。

[0419] 如上所述，在第52和76周时，奥滨尤妥珠单抗的CRR高于安慰剂。第104周的结果如下表7所示。

[0420] 表7：第104周的结果。

[0421]

第 104 周终点	OBI (n=63)	PBO (n=62)	差值 (80% CI)	*P* 值
CRR	41%	23%	19% (8, 29)	0.026
ORR	54%	29%	25% (14, 36)	0.005
mCRR	56%	33%	22% (11, 33)	0.015
C3 >90 mg/dL	76%	47%	29% (19, 40)	0.008
C4 >10 mg/dL	95%	74%	21% (13, 29)	0.001
相对基线的 eGFR 平均变化值 (mL/min/1.73 m^2)	+6.5	-3.2	9.7 (1.7, 18)	0.018
相对基线的 UPCR 平均变化值	-2.3	-1.4	-0.96 (-1.4, -0.57)	0.002

[0422] CRR＝UPCR<0.5，血清肌酸酐(SCr)≤正常值上限(ULN)且≤基线的115％，每高倍视野红细胞(RBCs/HPF)<10个，且无RBC管型。

[0423] ORR＝CRR或部分肾脏缓解＝UPCR<1(如果基线UPCR≥3，则<3)且≤基线的50％，SCr≤基线的115％，且尿RBC的增加≤50％(或<10RBC/HPF)。

[0424] mCRR＝UPCR<0.5，SCr≤ULN。

[0425] 同第52和76周的结果一样，奥滨尤妥珠单抗的CRR在第104周时要高于安慰剂(41％对23％，P＝0.026)。在第104周时，接受奥滨尤妥珠单抗治疗的患者的eGFR(+6.5vs.-3.2mL/min/1.73m^2，P＝0.018)、UPCR、抗dsDNA、C3和C4有更大的改善。OBI未增加严重不良事件(OBI 25％对PBO 30％)、严重感染事件(8％对18％)和死亡事件(1对4)。

[0426] 总而言之，这项研究表明，在最后奥滨尤妥珠单抗输注后约18个月，奥滨尤妥珠单抗益处持续至第104周。

[0427] 结论与讨论

[0428] 非临床数据表明可以用抗CD20抗体利妥昔单抗、奥瑞珠单抗和奥滨尤妥珠单抗治疗狼疮。但是，利妥昔单抗和奥瑞珠单抗的临床试验并未达到治疗的主要终点或关键次要终点。与利妥昔单抗和奥瑞珠单抗不同，本文提供的数据证明奥滨尤妥珠单抗的临床试验达到了主要和关键次要疗效终点。在一年时，当加入霉酚酸酯和皮质类固醇类治疗增生性狼疮性肾炎时，相较于接受安慰剂治疗的患者，用奥滨尤妥珠单抗治疗的患者完全和部分肾脏缓解增加。进一步地，奥滨尤妥珠单抗与严重不良事件或严重感染发生率的增加无关。

[0429] 与奥瑞珠单抗治疗相比，接受奥滨尤妥珠单抗治疗的大多数患者中的外周CD19+B细胞、记忆和原态B细胞亚群以及成浆细胞快速并完全消耗，安全事件发生率较低。在第4周时，奥滨尤妥珠单抗组中89％的患者的外周CD19+B细胞消耗低于使用高灵敏度流式细胞术(HSFC)的定量下限(<0.441细胞/μL)。另外，与安慰剂组相比，观察到临床功效经改善。

[0430] 奥滨尤妥珠单抗/霉酚酸酯组的63位患者中，已确认有36位从第28天到第52周持续消耗≤5个细胞/uL，其中6个测量值至少≥5个细胞/uL(无持续消耗)，其中21名不能进行此分析评估(一个或多个缺失的数据点)。因此，该组中的大多数患者B细胞消耗持续至52周。

[0431] 在试验结果中，与霉酚酸酯和皮质类固醇合用时，奥滨尤妥珠单抗相较于安慰剂在第52周时对增生性狼疮性肾炎的完全和总体应答更佳。第76周的探索性分析显示，与对照相比，疗效增加。此外，接受奥滨尤妥珠单抗治疗的患者相比对照组在抗dsDNA抗体水平、C3、C4和UPCR有更大的改善。

[0432] 我们假设，在先前的狼疮性肾炎试验中，外周血液和肾组织中残留的B细胞可解释I型抗CD20单克隆抗体缺乏疗效。我们假设用奥滨尤妥珠单抗增强B细胞消耗相比对照组将显著改善肾脏缓解。本研究的结果表明，B细胞在狼疮性肾炎的发病机制中起关键作用，而完全消耗的实现与临床益处相关。

[0433] 奥滨尤妥珠单抗与在一年的完全和部分肾脏缓解的改善有关，其各与改善狼疮性肾炎的长期结果有关(Chen,YE.等人，(2008)Clin J Am Soc Nephrol3:46-53;Davidson,J.等人，(2018)The Journal of Rheumatology 45:5)。由于在治疗的第一年期间完全应答不常见，因此欧洲抗风湿病联盟(EULAR)指南现在建议在治疗的第一年期间将部分肾脏缓解作为治疗的初始目标(Fanouriakis,A.等人，(2019)Ann Rheum Dis.Jun;78(6):736-745)。第76周的探索性结果表明，与对照组相比，奥滨尤妥珠单抗对一年的总体肾脏缓解的益处优于在18个月时对完全肾脏缓解的相似益处。

[0434] 奥滨尤妥珠单抗治疗的患者中的输液相关反应比对照组更为常见。在CLL中，奥滨尤妥珠单抗与输液相关反应的发生率和严重性似乎比利妥昔单抗所观察到的大，并且与促炎细胞因子特别是IL-6和IL-8的显著释放有关(Freeman,CL.等人，(2015)Blood126:2646-2649)。表达CD20的白血病细胞和带有FcγRIIIA的效应子细胞之间增强的交联作为一种机制(Freeman,CL等人，(2016)Leukemia 30:1763-1766)。我们假设本研究中观察到的与输液相关的反应发生率相对较低，并且未发生严重的输液相关反应，这可能归因于治疗狼疮性肾炎的皮质类固醇疗法以及肿瘤和狼疮性肾炎患者之间CD20表达的差异。与肿瘤一样，输

液相关反应发生率在第一次输注奥滨尤妥珠单抗时最高，并随着连续输注的增加而降低。

[0435] 免疫抑制疗法治疗狼疮性肾炎的出现与短期和长期结果的改善有关。然而，近几十年来，现行的未经批准的护理标准并没有改善与ESRD的发病率，而且在美国仍然没有经批准用于治疗狼疮性肾炎的疗法。

[0436] 实例2：一种用于结合霉酚酸酯和皮质类固醇类治疗增生性狼疮性肾炎的经修饰的奥滨尤妥珠单抗给药方案。

[0437] 实例1中所述的研究显示，将第0、2、24、和26周输注1000mg的奥滨尤妥珠单抗的给药方案与标准照护免疫抑制组合证实在第52周和第76周会对狼疮性肾炎(LN)患者起到疗效和可接受的安全性。本实例描述了在第0、2、24、26和52周结合霉酚酸酯和皮质类固醇类输注1000mg的给药方案后，如何使用模型化方法来预测所预期的奥滨尤妥珠单抗PK。

[0438] 群体药代动力学模型

[0439] 以实例1中所呈现的数据为基础来开发群体药代动力学(PK)模型。用于开发PK模型的分析数据集包括658个奥滨尤妥珠单抗投药后血清浓度值，其来自63位在第0、2、24和26周以1000mg奥滨尤妥珠单抗输注治疗的患者，结合标准照护免疫抑制疗法，如实例1所述。

[0440] 二室线性群体模型完整描述了奥滨尤妥珠单抗的PK，其中廓清率表示两个消除途径的总和：a)随时间变化的清除率(CL_{T0})，随时间衰减系数(k_{des})下降，可能与CD20靶减少和蛋白尿随时间的改善有关；和b)非时间依赖性廓清率(CL_{INF})，与IgG内源性分解代谢过程有关。发现影响奥滨尤妥珠单抗PK参数的协变量是体重(Bw)、基线血清白蛋白(ALB)、和基线血清IgG量。

[0441] 最终模型包括CL_{INF}、CL_{T0}、Q(室间廓清率)对体重的异速依赖性(幂次系数(power coefficient)为0.66)、中心和外周分布量对体重的依赖性(幂次系数为0.600)和外周分布量对体重的依赖性(固定幂次系数为1)。CL_{T0}和CL_{INF}随白蛋白的增加而降低，分别具有2.8和0.685的幂次。CL_{INF}随IgG浓度的增加而降低，幂次为0.4。抗药抗体无明显作用。最终模型的模型参数估计值如表8所示。

[0442] 表8：最终PK模型的参数估计值(SE＝标准误差；RSE＝相对标准误差；%RSE＝100xSE/PE；PE＝参数估计；95％CI＝95％置信区间；SD＝标准偏差；CV＝变异系数，100xSD%；kdes＝时间相关廓清率的衰减系数(第1天)；V_1＝中心分布体积；V_2＝外周分布体积)。

[0443]

固定效果参数		估计	RSE (%)	95%CI
kdes (1/天)	θ_1	0.0144	20.9	0.00848 - 0.0203
CL_{T0}（L/天）	θ_2	0.0642	15.3	0.0449 - 0.0835
CL_{INF}（L/天）	θ_3	0.133	7.43	0.113 - 0.152
V_1 (L)	θ_4	2.33	3.98	2.15 - 2.52
V_2 (L)	θ_5	1.50	13.7	1.10 - 1.90
Q（L/天）	θ_6	0.313	47.2	0.0233 - 0.602
CL_{T0}, CL_{INF}, Q ~ WT	θ_7	0.660	31.8	0.249 - 1.07
V_1, V_2 ~ WT	θ_8	0.600	13.8	0.438 - 0.762
SDL	θ_9	1.36	6.75	1.18 - 1.54
SDH	θ_{10}	0.111	8.21	0.0931 - 0.129
SD_{50} (μg/mL)	θ_{11}	5.58	20.6	3.33 - 7.84
CL_{T0} ~ ALB	θ_{12}	2.80	18.9	1.76 - 3.84
CL_{INF} ~ ALB	θ_{13}	0.685	39.8	0.15 - 1.22
CL_{INF} ~ IgG	θ_{14}	0.400	27.1	0.188 - 0.613

[0444]

方差参数		估计	RSE (%)	95%CI	变化性	收缩率
$\omega^2 CL_{T0}$	Ω(1,1)	0.274	46.1	0.0267 - 0.522	CV=52.4%	19.5%
$\omega^2 CL_{INF}$	Ω(2,2)	0.0699	34.9	0.0221 - 0.118	CV=26.4%	6.3%
$\omega^2 V_1$	Ω(3,3)	0.0299	24.9	0.0153 - 0.0444	CV=17.3%	7.4%
σ^2	Σ(1,1)	1	FIXED			12.1%

[0445] 协变量对模型参数的效应如表9所示。

[0446] 表9:最终PK模型中的协变量效应。[a]连续协变量值代表分析数据集的值的第2.5百分位数及第97.5百分位数。CI＝置信区间。

[0447]

参数	协变量	参考值	协变量值[a]	协变量效应值 [95% CI] (%)
CL_T、CL_{INF}、Q	体重	75 kg	45.1 kg	-28.5 [-42.1; -11.8]
			98.1 kg	19.4 [6.8; 33.4]
CL_T	白蛋白	35 g/L	21.0 g/L	317.5 [147.9; 603.1]
			39.5 g/L	-28.7 [-37; -19.3]
CL_{INF}	白蛋白	35 g/L	21 g/L	41.9 [8.3; 85.9]
			39.5 g/L	-8 [-13.7; -1.9]
CL_{INF}	IgG 量	10 g/L	2.45 g/L	-43.1 [-57.7; -23.3]
			21.5 g/L	35.9 [15.6; 59.7]
V_1、V_2	体重	75 kg	45.1 kg	-26.3 [-32.1; -20]
			98.1 kg	17.5 [12.5; 22.7]

[0448] 使用拟合优度图、随机效应和个体间参数图、以及预测性检查程序诸如视觉预测性检查(VPC)来验证最终模型。

[0449] PK模型验证

[0450] 模型的验证表明，最终的PK模型可用于预测奥滨尤妥珠单抗暴露。例如，视觉预测性检查(VPC)图表明观察到的奥滨尤妥珠单抗浓度与使用最终PK模型模拟的数据之间的良好一致性(图5)。

[0451] 按照实例1中所述的给药方案(在第0、2、24、26和52周为1000mg)，针对所有患者使用经验证的最终PK模型来模拟奥滨尤妥珠单抗浓度随时间的变化曲线。奥滨尤妥珠单抗的预测浓度随时间的变化曲线如图6所示。

[0452] 安全性和功效暴露分析

[0453] 对暴露-安全性关系的探索性图形和逻辑回归分析没有发现与所分析的不良事件(AE)有任何关系。这表明可能存在有利的治疗窗口，并且有可能通过增加施用剂量来改善疗效而不会对安全性数据产生不利影响。针对3种类型的事件(晚发SAE、感染和侵染、以及第一次投药后的输注相关反应)评估了不良事件机率与奥滨尤妥珠单抗暴露的逻辑回归分析，并且显示奥滨尤妥珠单抗暴露与事件机率之间没有相关性。例如，如图7所示，从治疗开始到第52周，晚发SAE发生的可能性与累积暴露之间无统计学显著相关性(AUC_{52}；p＝0.383)。

[0454] 对实例1中所述研究的B细胞功效关系的探索性图形分析表明，与未施用奥滨尤妥珠单抗的患者相比，施用奥滨尤妥珠单抗的患者中达到持续外周B细胞消耗者有更大比例达到完全肾脏缓解(CRR)。例如，如表10所示，达到CRR的患者中有73.7％的B细胞水平低于B细胞定量极限(BQL＝0.441个细胞/μL)，而没有达到CRR的患者中有65.8％的B细胞水平低

于BQL。此外，药代动力学和药效动力学分析表明，与在第24周和第52周时暴露量较低的患者相比，奥滨尤妥珠单抗暴露量较高的患者更有可能持续发生外周B细胞消耗。例如，如表C所示，高奥滨尤妥珠单抗暴露(第52周时的累积AUC超过中位数)患者中有82.8%的B细胞低于定量极限，而低暴露组(第52周时的累积AUC低于中位数)患者中为53.6%。

[0455] 表10：按暴露水平的持续B细胞消耗患者的比例。低暴露＝第52周时的累积AUC低于中位数；高暴露＝第52周时的累积AUC超过中位数；BQL＝低于B细胞定量极限(每0.441个细胞/μL)；CRR＝完全肾脏缓解；PRR＝部分肾脏缓解(0＝未实现应答；1＝已实现应答)。

[0456]

组	N	在第 24 周和第 52 周 B 细胞低于阈值的患者百分比		
		BQL (0.441 细胞/μL)	5 个细胞/μL	10 个细胞/μL
低暴露	28	53.6	85.7	89.3
高暴露	29	82.8	100	100
CRR=0	38	65.8	94.7	94.7
CRR=1	19	73.7	89.5	94.7
CRR / PRR = 0	26	61.5	96.2	96.2
CRR / PRR = 1	31	74.2	90.3	93.5

[0457] 此外，较高暴露的患者中B细胞消耗似乎持续时间更长。例如，如图8所示，在12周及以后，只要奥滨尤妥珠单抗的浓度保持在1μg/mL以上，B细胞计数就会降至低于BQL并保持。此外，如图9所示，随着暴露量增加(AUC_{52})，在第52周B细胞计数反弹至高于BQL(B细胞>BQL)的机率下降(p＝0.045)。

[0458] 第52周计划的1000mg奥滨尤妥珠单抗另外剂量的基于模型的模拟

[0459] 为维持B细胞消耗并可能在第76周增加疗效，计划在第52周再输注1000mg奥滨尤妥珠单抗(在第0、2、24、26和52周输注1000mg奥滨尤妥珠单抗)。通过使用上述群体PK模型进行模拟，评估在第52周给药另外剂量后，第76周奥滨尤妥珠单抗估值谷浓度超过1μg/mL的患者比例。

[0460] 如表11所示，对5种不同的奥滨尤妥珠单抗给药方案的暴露参数模拟显示在第0、2、24、26和52周给药时，预计在第76周有45.9%的受试者的奥滨尤妥珠单抗谷浓度高于1μg/mL。相比之下，在第0、2、24和26周或第0、2、12、24和26周给药的受试者中，预测在第76周只有1.6%的受试者奥滨尤妥珠单抗谷浓度高于1μg/mL。同样，在第0、2、16、18、32和34周给药的受试者中，预测在第76周只有3.3%的受试者奥滨尤妥珠单抗谷浓度高于1μg/mL。

[0461] 表11：模拟5种不同奥滨尤妥珠单抗给药方案的暴露参数。提供在第16周(C_{16})、第24周(C_{24})、第32周(C_{32})、第52周(C_{52})和第76周(C_{76})时奥滨尤妥珠单抗浓度>1μg/mL的患者百分比。

[0462]

案例	给药周	受试者百分比		
		C_{24} >1 μg/mL	C_{52} >1 μg/mL	C_{76} >1 μg/mL
1	0、2、12、24、26	95.1	45.9	1.6
2	0、2、24、26、52	44.3	45.9	45.9
7	0、2、24、26	44.3	45.9	1.6

[0463] 如图8所示，在12周及以后，只要奥滨尤妥珠单抗的浓度保持在高于1μg/mL，B细胞计数就会降至低于BQL并保持。因此，预计在第52周另外剂量可维持B细胞消耗，并在第76周转化为更好的疗效。

[0464] 此外，基于对奥滨尤妥珠单抗安全性的总体了解，缺乏统计学上显著的暴露-安全性关系，以及在实例1中描述的研究中收集的第76周的安全性数据(参见实例1中的表6)，第52周另外剂量仍产生可接受的安全性数据。

[0465] 由于存在输注相关反应的风险，因此在每次奥滨尤妥珠单抗施用前先使用80mg IV甲泼尼龙。

[0466] 综上所述，基于给药方案模拟的估计暴露量和可获得的安全性数据的评估，提议类似于实例1中描述的研究中使用的给药方案(即在第0、2、24和26周IV施用奥滨尤妥珠单抗1000mg)，在第52周开始后每6个月另外IV施用1000mg的剂量。

[0467] 来自实例1的数据以及该实例中提供的建模和模拟结果表明，建议的给药方案(即在第0、2、24、26和52周投药)可诱导B细胞快速且长期消耗，并且对治疗LN有效。该给药方案(包括在w52处的额外剂量)预期提供与实例1中所述研究中观察到的相似安全性数据。

[0468] 实例3：一种用于结合霉酚酸酯和皮质类固醇类治疗增生性狼疮性肾炎的经修饰的奥滨尤妥珠单抗给药方案。

[0469] 实例2中描述的模型化方法用于预测结合霉酚酸酯和皮质类固醇类在第0、2、24、26和52周施用1000mg奥滨尤妥珠单抗给药方案的PK暴露。该实例描述在第0、2、24、26和52周施用1000mg的奥滨尤妥珠单抗给药方案。

[0470] 给药

[0471] 患者被随机分配为两组：奥滨尤妥珠单抗小组和安慰剂小组。奥滨尤妥珠单抗小组的患者在基线及研究第2、24、26和52周接受静脉内(IV)输注1000mg奥滨尤妥珠单抗，并加上预先用药(premedication)。奥滨尤妥珠单抗小组的患者分为两个亚组。两个亚组均通过静脉内(IV)输注接受1000mg奥滨尤妥珠单抗。一个亚组在基线和研究的第2、24、26和52周接受输注加上预先用药；另一组在基线、研究的第2、24、26、50和52周接受输注加上预先用药。霉酚酸酯(MMF)在第1天施用，并在第4周调整至目标剂量，并保持目标剂量直至第80周。MMF的起始剂量为每天1500mg(或同等剂量)，分次给药，到第4周时以每周500mg的剂量调整至每天2.0-2.5g，然后保持目标剂量至第80周。第2天口服强的松开始剂量为每天0.5mg/kg，直到第2周就诊。强的松的减量从第16天开始，到第24周的目标剂量为每天5mg。从第24至80周开始，强的松仍为每天5mg。

[0472] 安慰剂小组的患者在第2、24、26和52周同时接受基线处与奥滨尤妥珠单抗IV输注相匹配的安慰剂和预先用药。MMF在第1天施用，并在第4周调整至目标剂量，并保持目标剂量直至第80周。MMF的起始剂量为每天1500mg(或同等剂量)，分次给药，到第4周时以每周500mg的剂量调整至每天2.0-2.5g，然后保持目标剂量至第80周。第2天口服强的松开始剂量为每天0.5mg/kg，直到第2周就诊。强的松的减量从第16天开始，到第24周的目标剂量为每天5mg。从第24至80周开始，强的松仍为每天5mg。

[0473] 对于预先用药，在第0、2、24、26和52周时通过IV输注施用80mg甲泼尼龙。奥滨尤妥珠单抗或安慰剂输注前30-60分钟内，口服施用650-1000mg对乙酰氨基酚。奥滨尤妥珠单抗或安慰剂输注前30-60分钟内，施用50mg口服苯海拉明。

[0474] 以盲性法后续追踪患者，并对持续性B细胞消耗的患者进行安全性和B细胞评估。另请参见在WO2016/183104中公开的方案。

[0475] 患者

[0476] 如果患者年龄在18至75岁之间，患有系统性红斑性狼疮(SLE)(根据现行美国风湿病学会标准确定)、筛选前6个月或期间按照国际肾脏学学会/肾脏病理学会2003年标准进行肾活检并诊断出III型或IV型(可显示除III型或IV型疾病之外的伴发性V型)、在24小时尿液收集中尿蛋白与肌酸酐之比(UPCR)>1、筛选前6个月或筛选期间接受过至少一剂甲基强的松龙IV(500-1000mg)或当量以治疗近期发作的活动性LN、并且随机化前曾接受稳定剂量ACE抑制剂或血管紧张素受体阻断剂(ARB)≥10天(除非这些疗法有禁忌症)，则患者符合资格。

[0477] 排除标准包括：妊娠，母乳喂养、或打算在研究期间或最终服用研究药物后18个月内怀孕；严重肾功能不全或需要透析或进行肾移植；肾活检中>50％的肾小球硬化；存在快速进行性肾小球肾炎；接受排除疗法(随机分配前12个月内的任何抗CD20治疗，随机分配前2个月内的环磷酰胺、他克莫司、环孢菌素或voclosporin的治疗，随机分配前3个月内除抗CD20以外的任何生物制剂疗法，在随机分配前3个月内Janus激酶(JAK)、Bruton酪胺酸激酶(BTK)或酪胺酸激酶2(TYK2)口服抑制剂，在随机分配前2个月内任何活疫苗)；严重、活跃的中枢神经系统SLE；由于血小板减少症、贫血和/或凝血病或需要血浆清除、静脉内免疫球蛋白或急性输血引起的临床上重大出血或器官功能障碍的高风险；已知的HIV感染；已知的任何形式的主动感染，但甲床真菌感染除外；需要在随机分配前3个月内住院或用IV抗生素或抗感染药治疗或在随机分配前6周内需要用口服抗生素或抗感染药治疗的任何重大感染发作；进行性多灶性白质脑病(PML)的病史；除已治疗或切除并已消退的皮肤非黑素瘤以外的癌症史；和不耐受研究疗法或禁忌症，包括C型肝炎血清学阳性，血红蛋白<7g/dL(除非由SLE引起的自身免疫性溶血性贫血引起)，血小板计数<25,000/uL，首次输注奥滨尤妥珠单抗前血清人绒毛膜促性腺激素阳性，AST或ALT>正常值上限(ULN)的2.5倍，淀粉酶或脂肪酶>ULN的2倍，中性粒细胞<$1.5x10^3$/uL，B型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性。

[0478] 终点

[0479] 如实例1中所述评估外周血液B细胞、安全性、尿蛋白排泄、血清肌酸酐、自身抗体和血清补体成分的水平、以及临床疾病活性。如实例1中所述测量终点，诸如达到CRR的患者比例、达到经修饰的CRR的患者比例、和达到PRR的患者比例。

[0480] 主要结果指标是在第76周完全肾脏缓解(CRR)的参与者的百分比。

[0481] 次要结果测量包括：总体肾脏缓解(ORR)参与者的百分比，定义为达到CRR或部分肾脏缓解(PRR)；抗dsDNA效价变化；补体C3的变化；首次CRR的时间；达到CRR的参与者的百分比，包括尿沉渣(CRR沉积物)；达到ORR的参与者的百分比，包括尿沉渣(ORR沉积物)；系统性红斑性狼疮疾病活动指数2000(SLEDAI-2k)的变化；疲劳量表(FACIT-F)的变化；HRQoL(SF-36)量表的变化；估计的肾小球滤过率(eGFR)的变化；按照eGFR标准达到CRR的参与者的百分比；发生不良事件的参与者的百分比；奥滨尤妥珠单抗的最大血清浓度；基线和抗药抗体(ADA)治疗后具ADA的参与者的百分比；以及总外周B细胞计数相对基线的变化值。

[0482] 实例4：一项III期、随机化、开放性活性药物对照、多中心研究，用于评估奥滨尤妥珠单抗在原发性膜性肾病患者中的疗效和安全性

[0483] 这项研究评估了奥滨尤妥珠单抗与他克莫司相比在原发性膜性肾病(pMN)患者中的疗效、安全性、药效动力学和药代动力学。这是一项III期、随机化、平行组、活性对照、开放性研究,评估了奥滨尤妥珠单抗与他克莫司相比在pMN患者中的疗效和安全性。

[0484] 膜性肾病(MN)根据其病因分为原发性或继发性MN。自发性或原发性MN(pMN)本质上是自身免疫性的,由针对足细胞膜的自身抗体引起。继发性MN可能是由诸如癌症、感染、自身免疫性疾病(例如系统性红斑性狼疮)之类的潜在疾病或某些药物(例如金/青霉胺)治疗引起的。pMN是一种肾脏特异性的自身免疫性肾小球疾病,表现为尿中蛋白质含量增加,与肾小球损伤的病因学模式有关。大多数pMN由抗M型磷脂酶A2受体(抗PLA2R)(70-85%)、包含7A的血小板反应蛋白1型结构域(THSD7A)(3-5%)、或其他(未识别的抗足细胞自身抗体(10%))抗体介导(Couser WG.Clin J Am Soc Nephrol 2017;12(6):983-97)。这些自身抗体靶向足细胞胞膜,导致免疫复合物上皮下沉积和大量足细胞足突消失,从而导致无效的过滤和蛋白尿。这些自身抗体可能由B细胞失调引发,且患有持久性蛋白尿的患者在接受免疫抑制剂治疗后表现出改善(KDIGO肾小球肾炎临床实务指南-第7章:特发性膜性肾病)。

[0485] 在全世界非糖尿病成年人中,pMN是特发性肾病综合征的最常见原因,占病例的20-37%,在60岁以上的成年人中高达40%(Couser WG.Clin J Am Soc Nephrol 2017;12(6):983-97)。肾病综合征的体征和症状为低白蛋白血症、水肿、体重增加、高脂血症、疲劳和食欲不振。血栓栓塞、感染、甲状腺功能减退、高血压、贫血和冠状动脉疾病是常见并发症(de Seigneux S,Martin PY.Swiss Med Wkly 2009;139(29-30):416-22)。pMN的自然过程是可变的,其中三分之一的患者自发性复原,另外三分之一的患者发展成慢性肾功能不全蛋白尿,其余三分之一的患者在5至10年进展为终末期肾脏疾病(ESRD)。临床上,80%的pMN患者出现肾病综合征,20%出现非肾病蛋白尿(Couser WG.ClinJ Am Soc Nephrol 2017;12(6):983-97)。肾病范围蛋白尿的完全复原预示着良好的长期肾脏和患者存活,同时部分缓解次肾病范围蛋白尿,达成也可以大大缓解发展为需要透析或肾脏移植的ESRD的风险(Cattran DC,Brenchley PE.Kidney Int 91 2017;566-574;Troyanov S等人,以及Toronto Glomerulonephritis Registry Group.Kidney Int 2004;66(3):1199-205;Fervenza FC,Sethi S,Specks U.Clin J Am Soc Nephrol 2008;3(3):905-19;Hladunewich MA,等人,及the Metropolitan Toronto Glomerulonephritis Registry.Clin J Am Soc Nephrol 2009;4(9):1417-22;Polanco N,等人,及the Grupo de Estudio de las Enfermedades Glomerulares de la Sociedad Española de Nefrología.J Am Soc Nephrol 2010;21(4):697-704)。

[0486] 尚未有pMN疗法通过美国食品和药物管理局(FDA)批准,并且目前的治疗方法仍存在争议。由于疾病的自然病程变化,KDIGO指南建议针对MN的患者的初始治疗是优化的支持治疗(包括肾素血管紧张素系统[RAS]阻断和血压控制),并建议对持续性肾病综合征的患者进行免疫抑制治疗。交替使用糖皮质激素和烷化剂(诸如氯芥苯丁酸(Italian Ponticelli方案)或环磷酰胺(改良Ponticelli方案))的方案可有效缓解60-70%的患者某种形式的症状,但在临床上具有明显的毒性和不良反应,包括高血糖、骨髓抑制、感染、不育和癌症(Waldman M,Austin HA 3rd.J Am Soc Nephrol 2012;23(10):1617-30)。钙调磷酸酶抑制剂(CNI),包括环孢素是一种有效,并在美国和加拿大是MN的首选治疗方法。然而,这些药物与停药后高复发率和频繁的副作用有关,包括高血压、高脂血症和肾毒性作用

(Rojas-Rivera JE,Carriazo S,Ortiz A.Clin Kidney J 2019;12(5):629-38;Fervenza FC,Appel GB,Barbour SJ,et al.,and the MENTOR Investigators.N Engl J Med 2019,381(1):36-46)。鉴于高复发率和严重的不良反应,对pMN中有效治疗方案的需求未得到满足。

[0487] 由于B细胞在自身抗体的产生中起着关键作用,并且由于pMN的发病机理,I型抗CD20抗体利妥昔单抗被用于多项研究中,产生B细胞消耗导致肾病综合征的缓解(Fervenza FC,et al.,and the MENTOR Investigators.N Engl J Med 2019;381(1):36-46;Dahan K,et al.Kidney Int Rep 2018;3(2):498-501;Ruggenenti P,et al.J Am Soc Nephrol 2015;26(10):2545-58)。最近的一项研究MENTOR是一项在130个pMN患者中比较利妥昔单抗和环孢素A(CsA)的随机对照临床研究,在24个月时,利妥昔单抗显示出优于活性对照CsA的总体肾脏缓解、复发率和严重不良事件减少(Fervenza FC,et al.,and the MENTOR Investigators.N Engl J Med 2019;381(1):36-46)。但是,在使用利妥昔单抗的情况下,约有40%的患者在24个月内治疗失败或没有表现出任何类型的应答(既不是完全应答也不是部分应答),突显了医疗需求仍未得到满足(Fervenza FC,et al.,and the MENTOR Investigators.N EnglJ Med 2019;381(1):36-46)。

[0488] 目标

[0489] 主要疗效目标是根据在第104周时达到完全缓解(CR)的患者比例评估奥滨尤妥珠单抗与他克莫司的疗效。CR定义为尿蛋白与肌酸酐之比(UPCR)≤0.3(24小时采集),具有稳定的估计GFR(eGFR),定义为低于基线≤15%的eGFR且没有发生并发事件(逃逸疗法(escape therapy),治疗失败或早期研究退出)。使用慢性肾脏病流行病学协作(CKD-EPI)公式计算eGFR(Levey,A.S.等人,(2009)Ann.Intern.Med.150:604-12)。

[0490] 次要疗效目标是根据以下终点评估奥滨尤妥珠单抗比较他克莫司的疗效:

[0491] • 在第104周达到总体缓解(OR)(CR和/或部分缓解[PR])的患者比例。PR被定义为UPCR与基线相比降低了50%,且UPCR≤3.5但在稳定eGFR时为>0.3,稳定eGFR定义为低于基线≤15%。使用CKD-EPI公式计算eGFR。

[0492] • 在第76周达到CR的患者比例。

[0493] • 在第104周时复发的患者比例,定义为达到CR或PR后UPCR增加至>3.5。达到PR的患者的复发另需要>50%UPCR增加至>3.5(PR期间从UPCR的最低点增加50%),或者研究者认为需要额外的或改变免疫抑制疗法。

[0494] • 在第104周接受逃逸疗法的患者比例。

[0495] • 在第52周时达到免疫缓解(状态相对基线的抗磷脂酶A2受体[PLA2R]自身抗体阳性变为抗PLA2R阴性)的患者比例。

[0496] • 到第104周相对基线的平均踝围(水肿)变化。

[0497] • 到第104周相对基线,eGFR降低≥30%的患者比例。

[0498] • 第104周时患者报告的结果测量信息系统(PROMIS)全球健康状况量表中相对基线的平均变化。

[0499] • 第104周时PROMIS疲劳量表的相对基线的平均变化。

[0500] • CR的持续时间。

[0501] 探索性疗效目标是根据以下终点评估奥滨尤妥珠单抗比较他克莫司的疗效:

[0502] • 在第52周或第76周达到OR(CR和/或PR)的患者比例。PR被定义为UPCR与基线相比降低了50％，且UPCR≤3.5但在稳定eGFR时为>0.3，稳定eGFR定义为低于基线≤15％。使用CKD-EPI公式计算eGFR。

[0503] • 在第52周、第76周和第104周UPCR≤0.3的患者比例。

[0504] • 第104周内首次CR的时间。

[0505] • 第104周期间CR或PR后复发的时间。

[0506] • 抗PLA2R自身抗体力价自基线的变化(基线时抗PLA2R自身抗体阳性的患者)。

[0507] • 抗THSD7A自身抗体力价自基线的变化(基线时抗THSD7A自身抗体阳性的患者)。

[0508] • 在第4周、第12周、第76周和第104周达到免疫缓解的患者比例。

[0509] • 免疫缓解的时间。

[0510] • 相对基线抗PLA2R自身抗体状态(阳性/阴性)在第104周达到OR的患者比例。

[0511] • 相对基线抗PLA2R自身抗体状态(阳性/阴性)在第104周达到CR的患者比例。

[0512] • 相对基线抗PLA2R自身抗体力价(低/中/高)在第104周达到OR的患者比例。

[0513] • 相对基线抗PLA2R自身抗体力价(低/中/高)在第104周达到CR的患者比例。

[0514] • 根据第24周的免疫缓解状态，在第104周达到OR的患者比例。

[0515] • 根据第24周的免疫缓解状态，在第104周达到CR的患者比例。

[0516] • 到第76周相对基线的平均踝围(水肿)变化。

[0517] • 到第52周相对基线肌酸酐廓清率≥50％降低的患者比例。

[0518] • 在第52周和第76周PROMIS全球健康状况评估量表中相对基线的平均变化

[0519] • 第52周和第76周PROMIS疲劳量表中相对基线的平均变化。

[0520] • 在第52周、第76周和第104周，治愈肾小球肾病网络(CureGN)患者报告水肿量表中相对基线的平均变化。

[0521] • 在第52周、第76周和第104周，PROMIS全球评估心理健康量表中相对基线的平均变化。

[0522] • 在第52周、第76周和第104周，PROMIS焦虑量表中相对基线的平均变化。

[0523] • 在第52周、第76周和第104周，PROMIS睡眠量表中相对基线的平均变化。

[0524] • 在第52周、第76周、和第104周，个体全球评估(SGA)中相对基线的平均变化。

[0525] • 在第24周、第52周、第76周和第104周时，基于EuroQol 5维问卷(5级版本；EQ5D-5L)指数和视觉模拟量表(VAS)得分相对基线的变化。

[0526] • 在逃逸疗法的第52周、第76周和第104周达到肾脏缓解的逃脱患者比例。

[0527] 这项研究的安全性目标是基于以下终点，评估奥滨尤妥珠单抗相较于他克莫司的安全性：

[0528] • 不良事件的发生率和严重度，其严重度根据美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准(NCI CTCAE)第5.0版确定。

[0529] • 特别关注的不良事件的特征。

[0530] • 目标生命体征相对基线的变化。

[0531] • 目标临床实验室检测结果相对基线的变化。

[0532] 这项研究的药效动力学(PD)目的是根据指定时间点的外周B细胞计数来表征奥滨尤妥珠单抗在pMN患者中的PD效应。

[0533] 这项研究的药代动力学(PK)目的是根据在指定时间点的奥滨尤妥珠单抗的血清浓度来表征pMN种群中奥滨尤妥珠单抗的PK。

[0534] 这项研究的免疫原性目标是根据基线时抗药抗体(ADA)的盛行率和研究期间ADA的发生率评估对奥滨尤妥珠单抗的免疫应答。

[0535] 目标群体

[0536] 大约招募140名患者。已接受先前免疫抑制剂治疗的患者比例不超过总群体的30％。经肾活检证实的pMN患者为18至75岁。在招募时，患者必须已经接受和仍在接受最佳支持护理(例如使用血管紧张素转化酶[ACE]抑制剂和/或血管紧张素受体阻断剂[ARB]最大限度地封阻耐受肾素-血管紧张素系统)使用UPCR≥5至少3个月或使用UPCR≥4至少6个月，而在此期间蛋白尿没有减少50％。该研究包括以下研究期：筛选、开放性治疗、长期后续追踪(LTFU)、逃逸治疗(针对一部分符合逃逸标准的患者)和安全性后续追踪(SFU)。

[0537] 患者必须符合以下纳入标准才能进入研究：

[0538] • 签署知情同意书时的年龄为18至75岁

[0539] • 在筛查之前或期间根据肾活检诊断出pMN

[0540] o诊断应基于光学和免疫萤光显微镜，如果可能，还应基于电子显微镜

[0541] • 尽管在筛查前≥3个月进行了最佳支持治疗，但从24小时尿液采集的UPCR≥5g，或在筛查前≥6个月进行了最佳支持治疗的情况下，UPCR≥4g。最佳支持治疗包括使用最大耐受批准剂量的ACE抑制剂和/或ARB阻断肾素-血管紧张素系统。

[0542] • 筛查时收缩压≤140mmHg，舒张压≤90mmHg

[0543] • eGFR≥40mL/min/1.73m^{2}或合格的内源性肌酸酐清除率≥40mL/min，取决于筛查过程中24小时的尿液收集情况。使用CKD-EPI公式计算eGFR。

[0544] • 此前对CNI(CsA或他克莫司)、利妥昔单抗或烷化剂有CR或PR应答且随后复发的患者有资格，但筛查前需停用CNI或烷化剂≥6个月，停用利妥昔单抗≥9个月。

[0545] 符合以下任何排除标准的患者将从研究登录排除：

[0546] • 继发性MN患者(例如B型肝炎、SLE、药物、恶性肿瘤)

[0547] • 筛查前3个月血压失控

[0548] • 证据表明筛选前6个月期间蛋白尿减少≥50％

[0549] • 接受肾脏替代疗法(例如肾移植、慢性透析)

[0550] • 1型或2型糖尿病(排除糖尿病肾病继发性的蛋白尿)。近期有类固醇诱导的糖尿病病史，但在进入研究后6个月内进行的糖尿病肾病肾活检上无复发证据的患者均可参加。

[0551] • 对CNI或B细胞消耗抗体有抗药性(无反应)的病史。因人抗嵌合抗体发展对利妥昔单抗无应答的患者符合条件

[0552] • 接受先前的疗法如下：

[0553] o筛选前1个月内用MMF或口服、肌内或静脉内皮质类固醇类治疗

[0554] o筛查前9个月内所有的B细胞消耗疗法，例如利妥昔单抗、奥瑞珠单抗(ocrelizumab)或奥法木单抗(Ofatumumab)

[0555] o筛选前6个月内用环磷酰胺或CNI治疗

[0556] o筛查前6个月内使用任何生物制剂疗法(B细胞消耗剂除外)进行治疗，例如贝利木单抗、优特克单抗(ustekinumab)或anifrolumab

[0557] o在筛选前3个月内Janus激酶、Bruton酪胺酸激酶或酪胺酸激酶2抑制治疗，其包括但不限于托法替尼(tofacitinib)、巴瑞替尼(baricitinib)、乌帕替尼(upadacitinib)、filgotinib、依鲁替尼(ibrutinib)、或fenebrutinib

[0558] o在筛选前或筛选期间28天内接受活疫苗

[0559] • 血小板减少症、贫血和/或凝血病，存在临床上明显的出血或器官功能障碍或需要血浆清除，IVIg或急性输血的高风险

[0560] • 已知的HIV感染

[0561] • 结核病(TB)感染

[0562] • 已知的任何形式的主动感染，但甲床真菌感染除外

[0563] • 任何筛查前2个月或筛查期间需要住院治疗或在进行IV抗感染治疗或在筛查前2周或筛查期间进行口服抗感染治疗的重大感染事件

[0564] • 严重反复或慢性感染的病史

[0565] • 进行性多灶性白质脑病(PML)的病史

[0566] • 癌症病史，包括实体瘤、血液恶性肿瘤和原位癌，但已治疗或切除并已消退的皮肤非黑素瘤癌除外

[0567] • 实验室参数

[0568] oAST或ALT>2.5倍于正常值上限(ULN)

[0569] o淀粉酶或脂肪酶>2x ULN

[0570] o中性粒细胞<1.5x10^3/μL

[0571] oCD19+B细胞<5/μL

[0572] o筛选时对B型肝炎表面抗原(HBsAg)呈阳性。HBsAg阴性且B肝核心抗体阳性但无可检测的B肝病毒(HBV)DNA的患者允许进入研究，但需要定期进行HBV DNA监测。

[0573] o筛查时呈阳性的C型肝炎病毒(HCV)抗体。在完成抗病毒治疗后至少12个月，C型肝炎抗体检测结果阳性且无可检测到的HCV RNA的患者符合条件，但需要定期进行HCV RNA监测。

[0574] o血红素<9g/dL

[0575] o血小板计数<75,000/μL

[0576] o筛选时测得的血清人绒毛膜促性腺激素阳性

[0577] 治疗

[0578] 招募时，患者以1:1的比例随机分配以接受奥滨尤妥珠单抗或他克莫司的开放性治疗。随机化是按区域和抗PLA2R自身抗体力价(高力价[≥175RU/mL]与非高力价[<175RU/mL])分层。

[0579] 分配给奥滨尤妥珠单抗小组的患者在第0周(第1天)、第2周、第24周和第26周接受1000mg奥滨尤妥珠单抗输注。在奥滨尤妥珠单抗输注之前，先使用甲泼尼龙80mg IV、口服抗组胺药和止痛药，以减少与输注相关的应答(IRR)的可能性。

[0580] 分配给他克莫司的患者开始接受他克莫司的口服剂量，每天口服剂量为0.05mg/kg(患者干重)，每12小时间隔2次相等剂量。每2周评估一次他克莫司的血药浓度，并调整他克莫司的剂量以维持5-7ng/mL的目标谷浓度。他克莫司的最佳剂量维持52周，然后在8周内逐渐减少。所有分配给他克莫司的患者在第60周开始时逐渐减少。

[0581] 开放性治疗期在第104周后或开始逃逸治疗时结束。

[0582] 符合逃逸标准或在第52周后的开放性治疗期期间复发的患者遵循逃逸治疗计划。该患者只能获得一次逃逸治疗的资格。在逃逸治疗期接受过奥滨尤妥珠单抗治疗且对治疗无反应的患者将根据研究者的最佳医学判断接受治疗。研究达到共同结束时间点时，逃逸治疗期结束。对于最初在奥滨尤妥珠单抗小组中的患者，逃逸疗法包括在第0周(第1天)和第2周进行奥滨尤妥珠单抗1000mg Iv、及他克莫司治共26周，然后8周递减。对于最初在他克莫司小组中的患者，逃逸疗法包括在第0周(第1天)和第2周奥滨尤妥珠单抗1000mg IV，并在26周后重复另一疗程(相隔14天进行2次输注)，他克莫司的剂量从第24周开始逐渐减少8个星期。

[0583] 在开放标签治疗期完成第104周评估的患者进入并停留在LTFU期，直到研究达到共同结束时间点。原则上，与既定的临床指导相一致，根据临床评价观察患者并用奥滨尤妥珠单抗治疗。

[0584] 该研究中的所有患者，除那些早期中断治疗的患者外，均接受SFU访诊。SFU期是接受奥滨尤妥珠单抗的患者的监测期，包括分配给他克莫司小组的患者在研究期间任何时间接受任何量的奥滨尤妥珠单抗且其外周CD19+B细胞低于正常下限(LLN)或基线值(以较低者为准)。对SFU期患者进行Q26W评估，直到其外周CD19+B细胞恢复到LLN或基线值，以较低者为准。在LTFU或逃逸治疗期结束后，或在早期治疗中断后，患者可能有资格进入SFU期。如果患者在SFU期间接受任何B细胞消耗疗法(包括但不限于利妥昔单抗、环磷酰胺、奥滨尤妥珠单抗、奥法木单抗或贝利木单抗)，则需要在B细胞消耗疗法最终剂量的28天后进行最终SFU访诊，且患者从SFU期停药。如果患者仅接受他克莫司治疗，则在最终剂量他克莫司后28天需要单次SFU访诊，并且患者不会进入SFU期。在SFU或SFU期间未提供研究药物。

序列表
<110> 豪夫迈·罗氏有限公司
<120> 治疗狼疮性肾炎的组合物和方法
<130> 14639-20483.40
<140> 尚未分配
<141> 与此同时
<150> US 63/005,071
<151> 2020-04-03
<150> US 62/931,032
<151> 2019-11-05
<150> US 62/930,527
<151> 2019-11-04
<150> US 62/899,706
<151> 2019-09-12
<160> 43
<170> 用于 Windows 的 FastSEQ,4.0 版
<210> 1
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 1
Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr
1 5
<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 2
Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp
1 5
<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体
<400> 3
Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr
1 5 10
<210> 4
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 4
Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15
<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 5
Gln Met Ser Asn Leu Val Ser
1 5
<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 6
Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5
<210> 7
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 7

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

<210> 8
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 8

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

<210> 9
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 9

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30
Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 10
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 10

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val 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 Ala Gln Asn
85 90 95
Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 11
<211> 112
<212> PRT
<213> 小鼠
<400> 11

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

<210> 12
<211> 103
<212> PRT
<213> 小鼠
<400> 12

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

<210> 13
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 13

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

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 14
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 14

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

<210> 15
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 15

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

<210> 16
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 16

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 Val Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 17
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体

<400> 17

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

<210> 18

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 18

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30
Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 19
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 19

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 Tyr Ser
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 20
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 20

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 Ser Tyr Ser
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

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

<210> 21
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 21

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 Tyr Ser
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 22

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

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

<210> 23
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 23

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

<210> 24

<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 24

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

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 25

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

<210> 26
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 26

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

<210> 27
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser

20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 28
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 28
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 29
<211> 119
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 29

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

<210> 30
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 30

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

<210> 31
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 31

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

<210> 32
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 32

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

35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 33
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 33
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Ser
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr 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 Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 34
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成构建体
<400> 34
Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15
Ala His Ser
<210> 35
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 35
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25
<210> 36
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 36
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10
<210> 37
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 37
Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30
<210> 38
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 38
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
1 5 10
<210> 39
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 39
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20
<210> 40
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 40
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15
<210> 41
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 41
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30
<210> 42
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 42
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
1 5 10
<210> 43
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 43
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Phe Pro Gly Ala Arg Cys
20

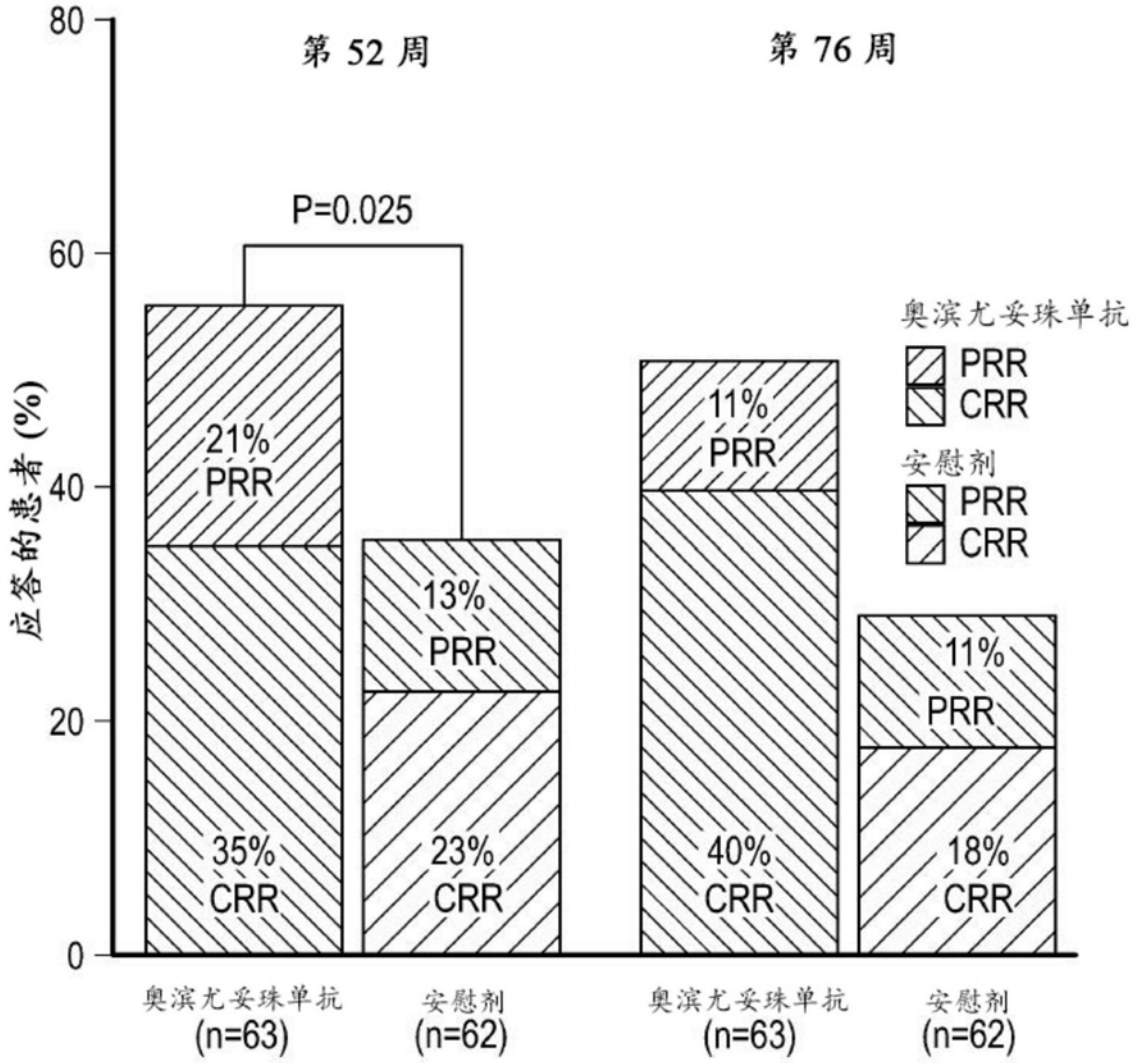

第 52 周
第 76 周
P=0.025
应答的患者 (%)
80
60
40
20
0
奥滨尤妥珠单抗
PRR
CRR
安慰剂
PRR
CRR
21%
PRR
35%
CRR
13%
PRR
23%
CRR
11%
PRR
40%
CRR
11%
PRR
18%
CRR
奥滨尤妥珠单抗
(n=63)
安慰剂
(n=62)
奥滨尤妥珠单抗
(n=63)
安慰剂
(n=62)

图1A

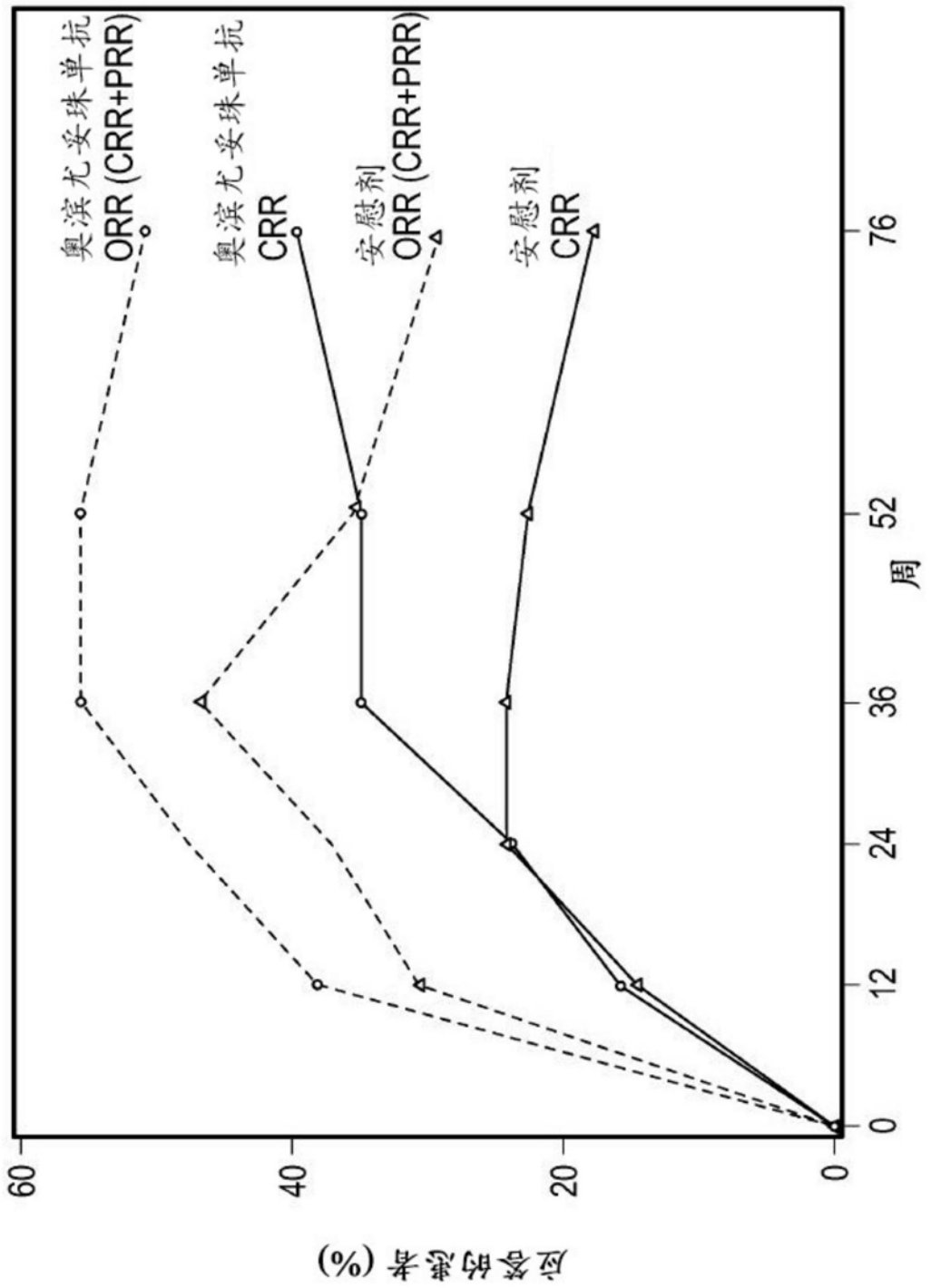

奥滨尤安珠单抗
ORR (CRR+PRR)
奥滨尤安珠单抗
CRR
安慰剂
ORR (CRR+PRR)
安慰剂
CRR
应答的患者 (%)
60
40
20
0
0
12
24
36
52
76
周

图1B

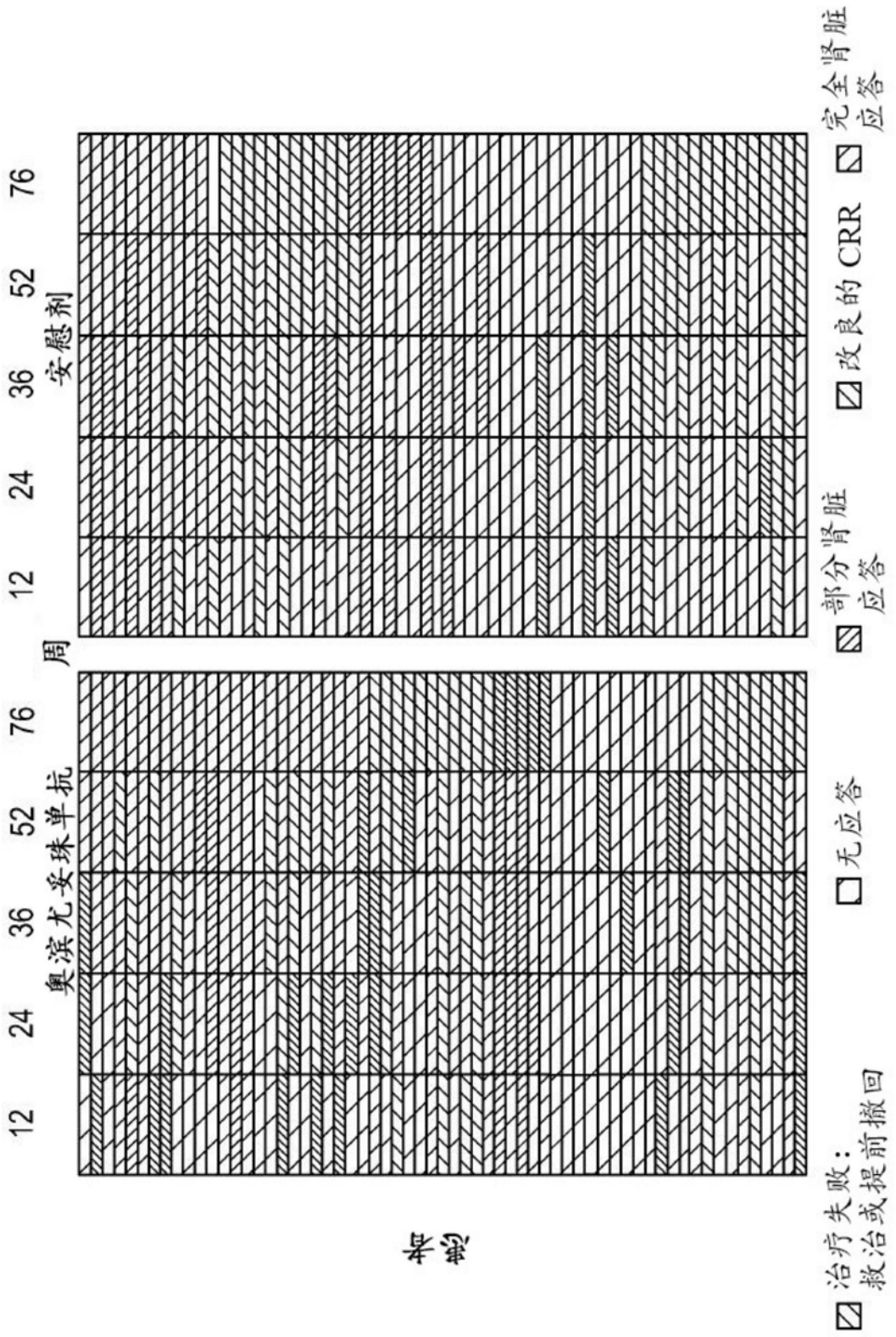

12
24
36
52
76
奥滨尤安珠单抗
周
12
24
36
52
76
安慰剂
治疗失败：
救治或提前撤回
无应答
部分肾脏
应答
改良的 CRR
完全肾脏
应答

图1C

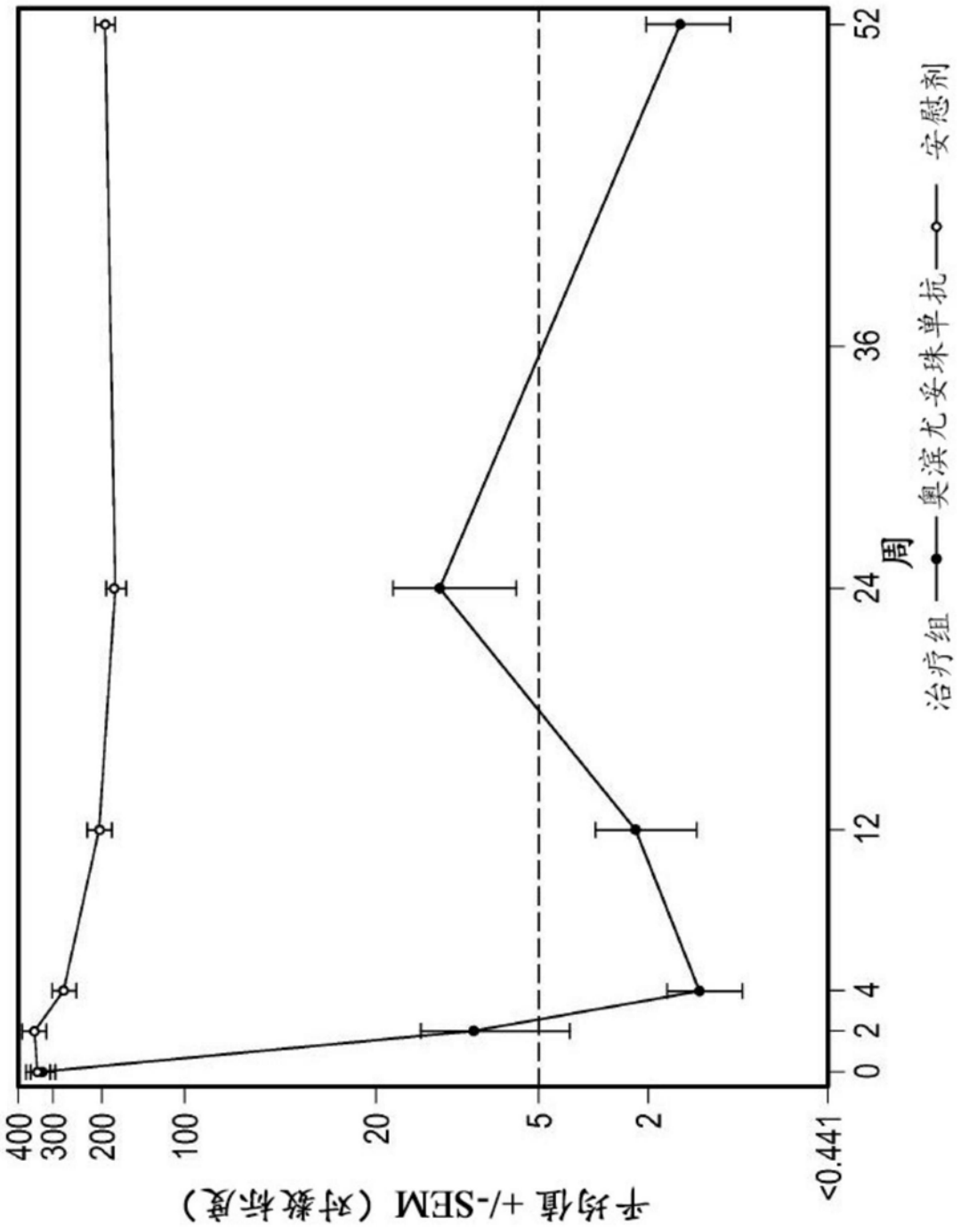

平均值 +/-SEM（对数标度）
400
300
200
100
20
5
2
<0.441
0 2 4 12 24 36 52
周
治疗组 奥滨尤安珠单抗 安慰剂

图1D

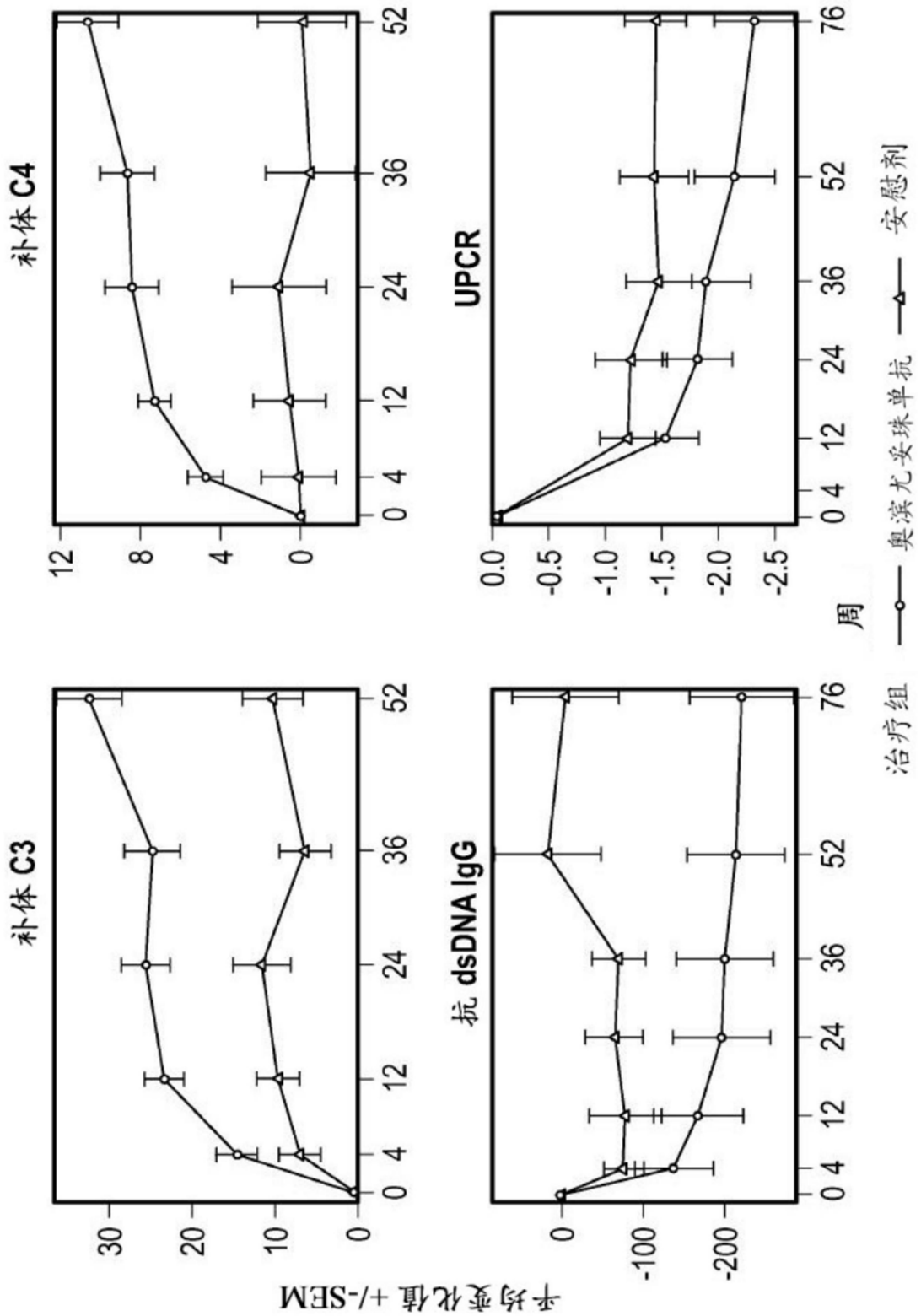


图2A

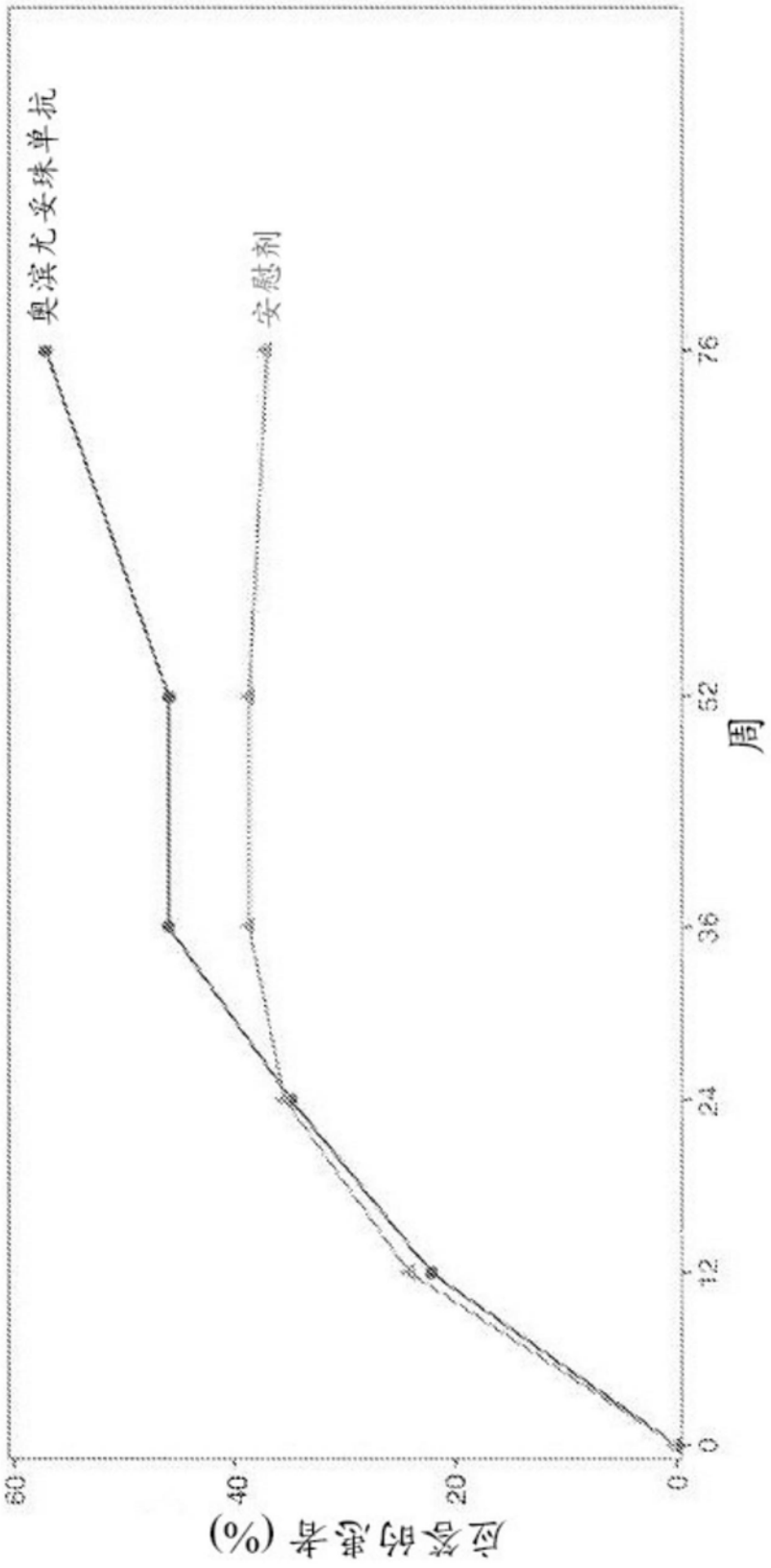


图2B

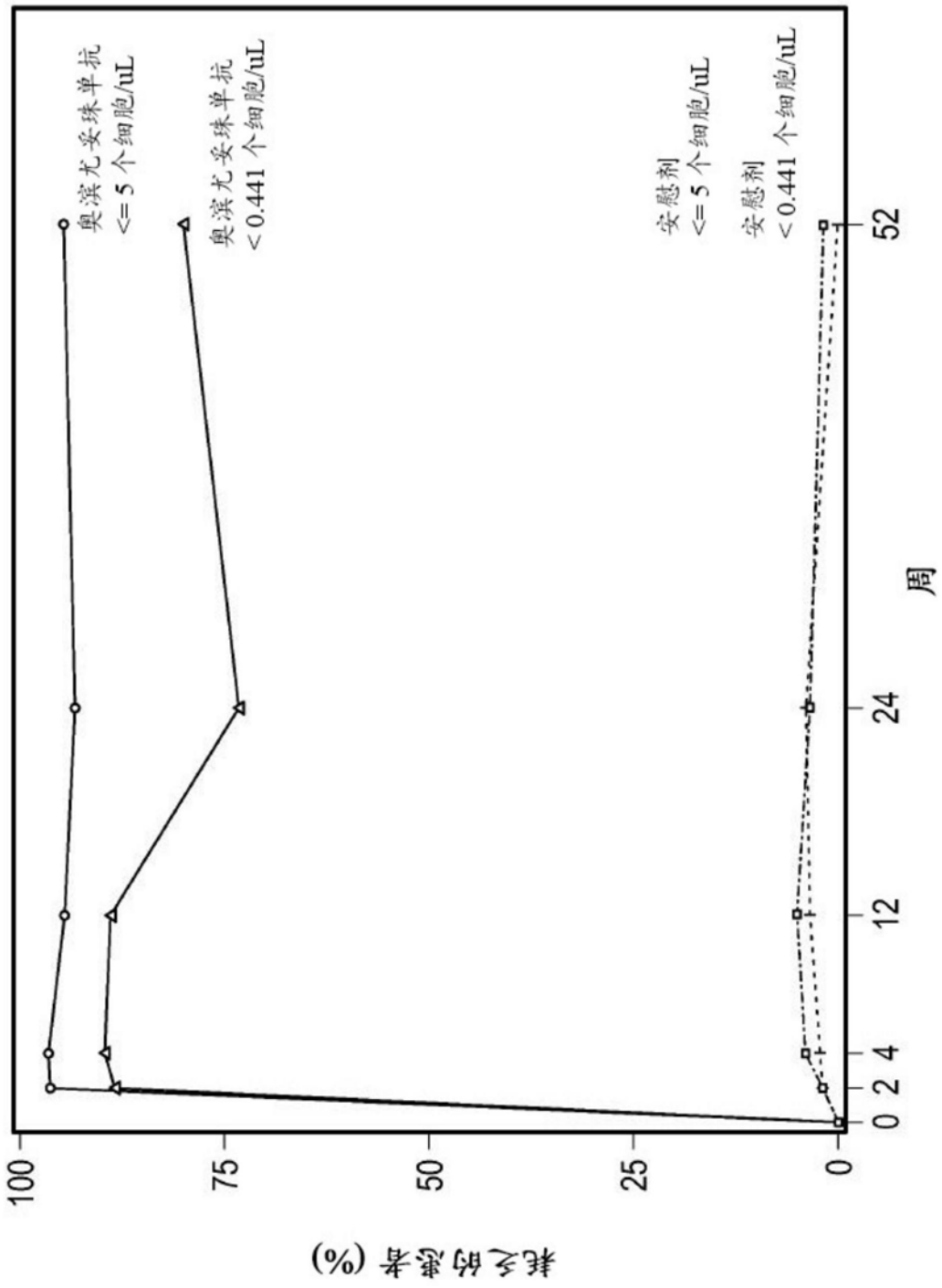

奥滨尤安珠单抗
<= 5 个细胞/uL
奥滨尤安珠单抗
< 0.441 个细胞/uL
安慰剂
<= 5 个细胞/uL
安慰剂
< 0.441 个细胞/uL
耗尽的患者 (%)
100
75
50
25
0
0 2 4 12 24 52
周

图3A

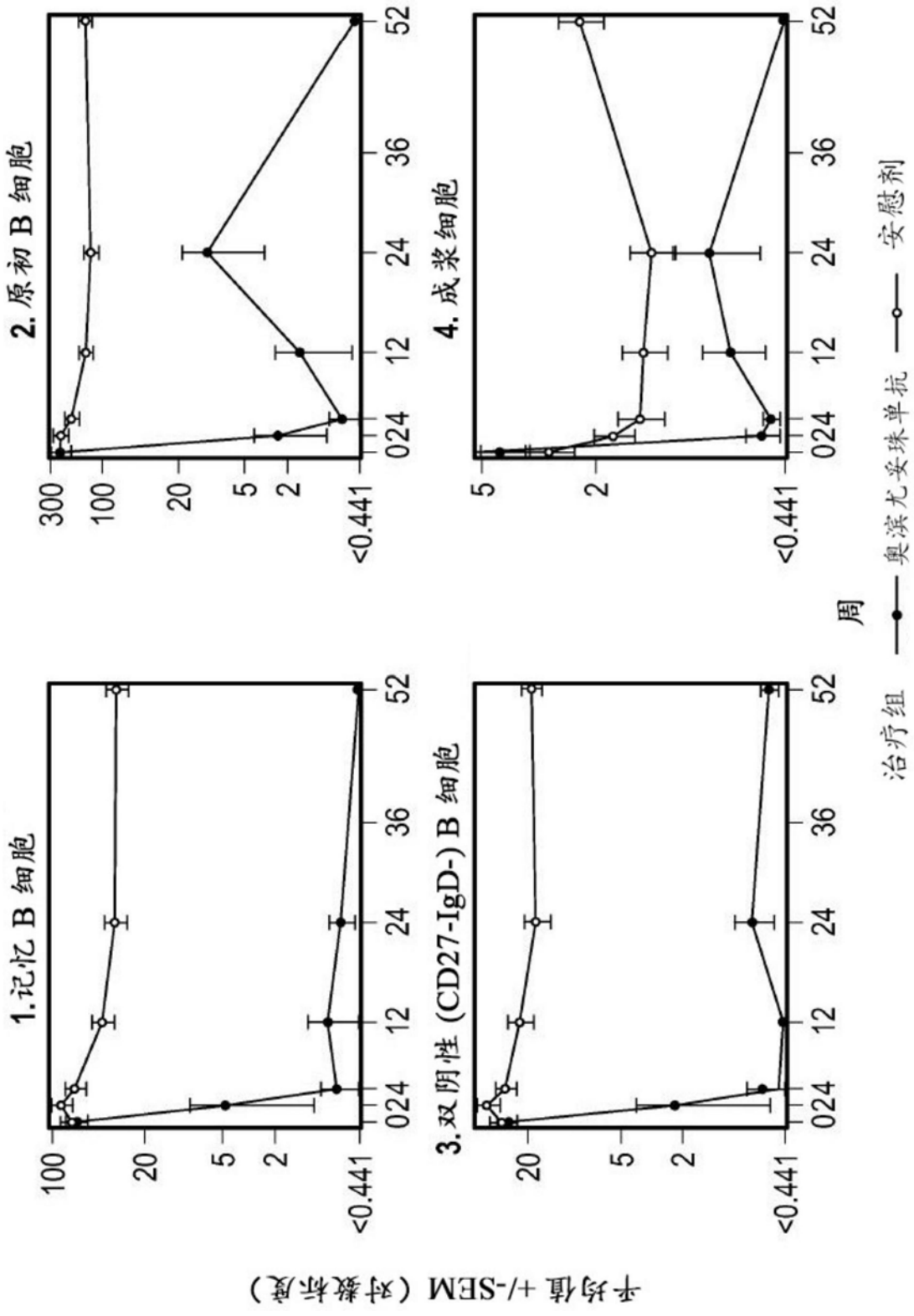

1.记忆 B 细胞
2.原初 B 细胞
3.双阴性 (CD27-IgD-) B 细胞
4.成浆细胞
平均值 +/-SEM (对数标度)
周
治疗组
奥滨尤妥珠单抗
安慰剂

图3B

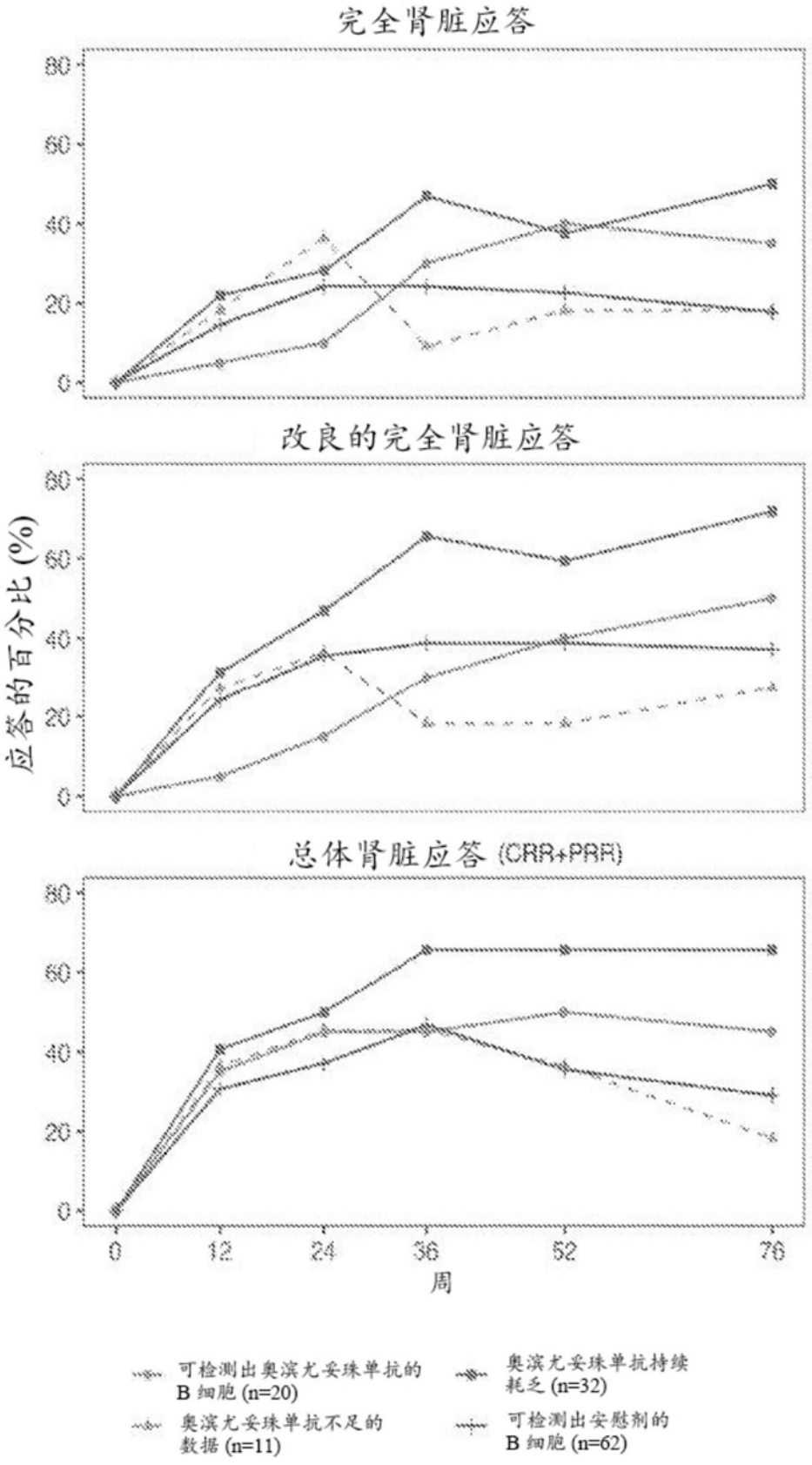

完全肾脏应答
改良的完全肾脏应答
总体肾脏应答 (CRR+PRR)
应答的百分比 (%)
0
20
40
60
80
0
12
24
36
52
76
周
可检测出奥滨尤妥珠单抗的B细胞 (n=20)
奥滨尤妥珠单抗不足的数据 (n=11)
奥滨尤妥珠单抗持续耗乏 (n=32)
可检测出安慰剂的B细胞 (n=62)

图4

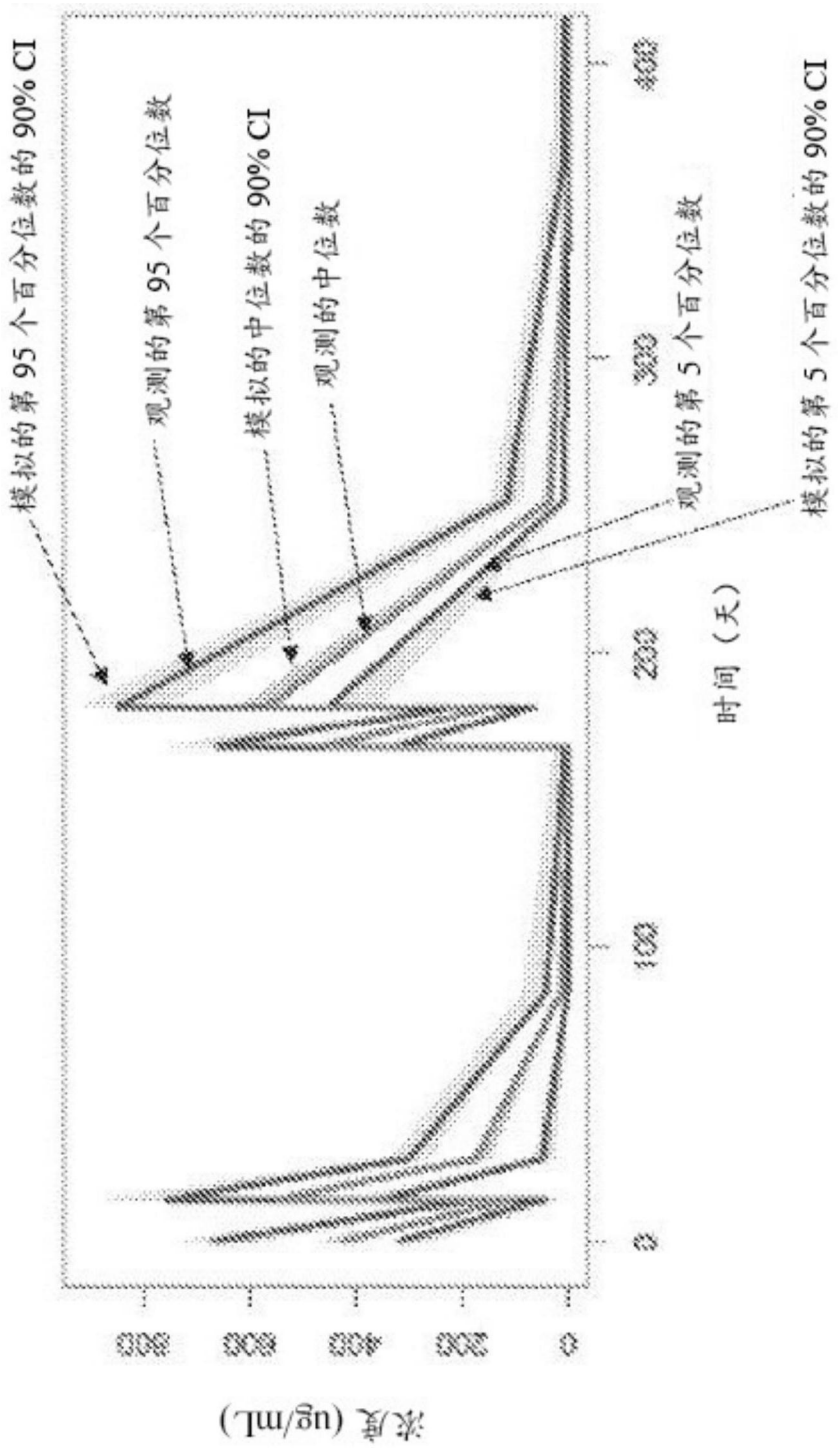

模拟的第 95 个百分位数的 90% CI
观测的第 95 个百分位数
模拟的中位数的 90% CI
观测的中位数
观测的第 5 个百分位数
模拟的第 5 个百分位数的 90% CI
时间（天）
浓度 (ug/mL)

图5

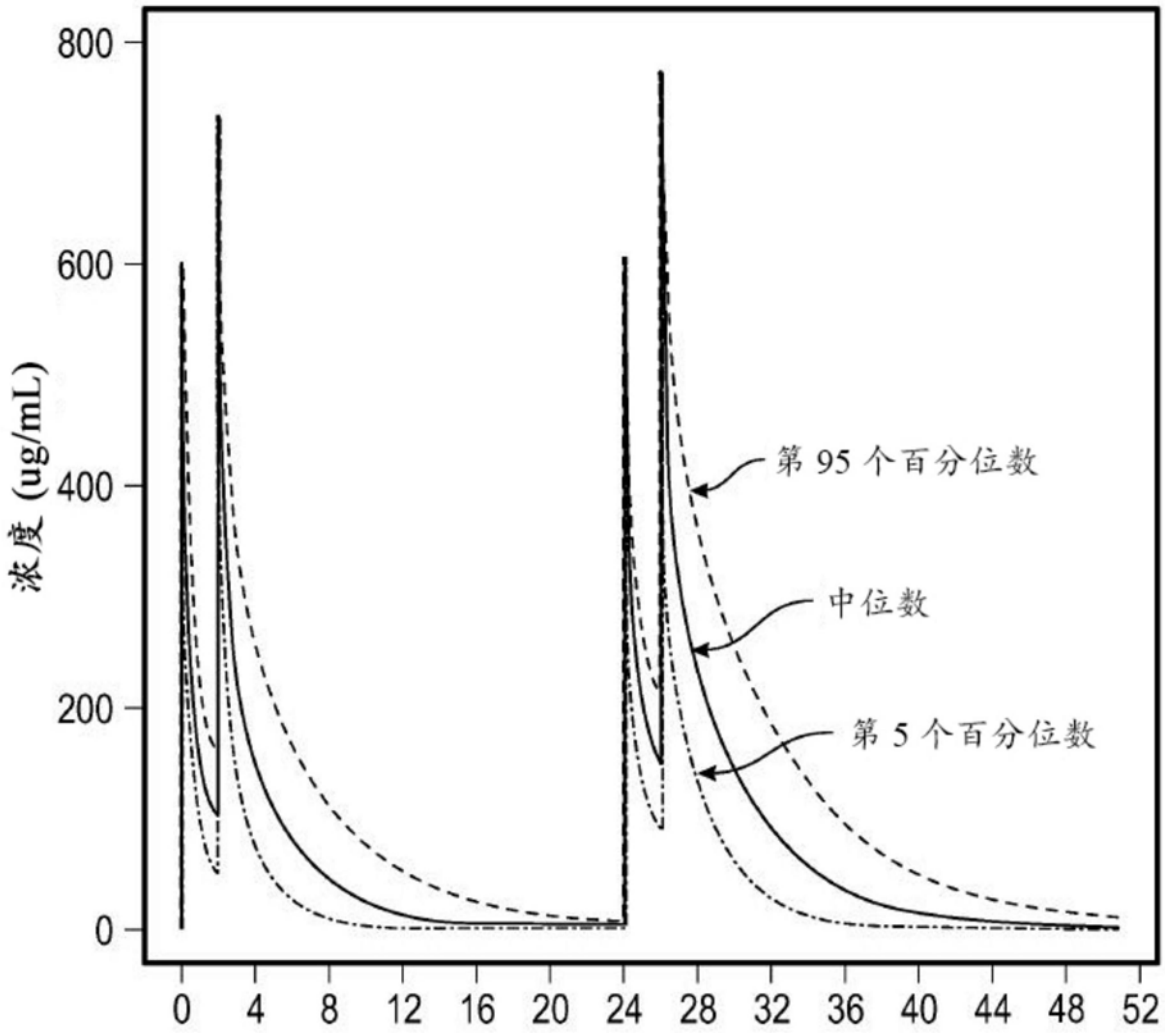

800
600
400
200
0
浓度 (ug/mL)
0
4
8
12
16
20
24
28
32
36
40
44
48
52
第 95 个百分位数
中位数
第 5 个百分位数

图6

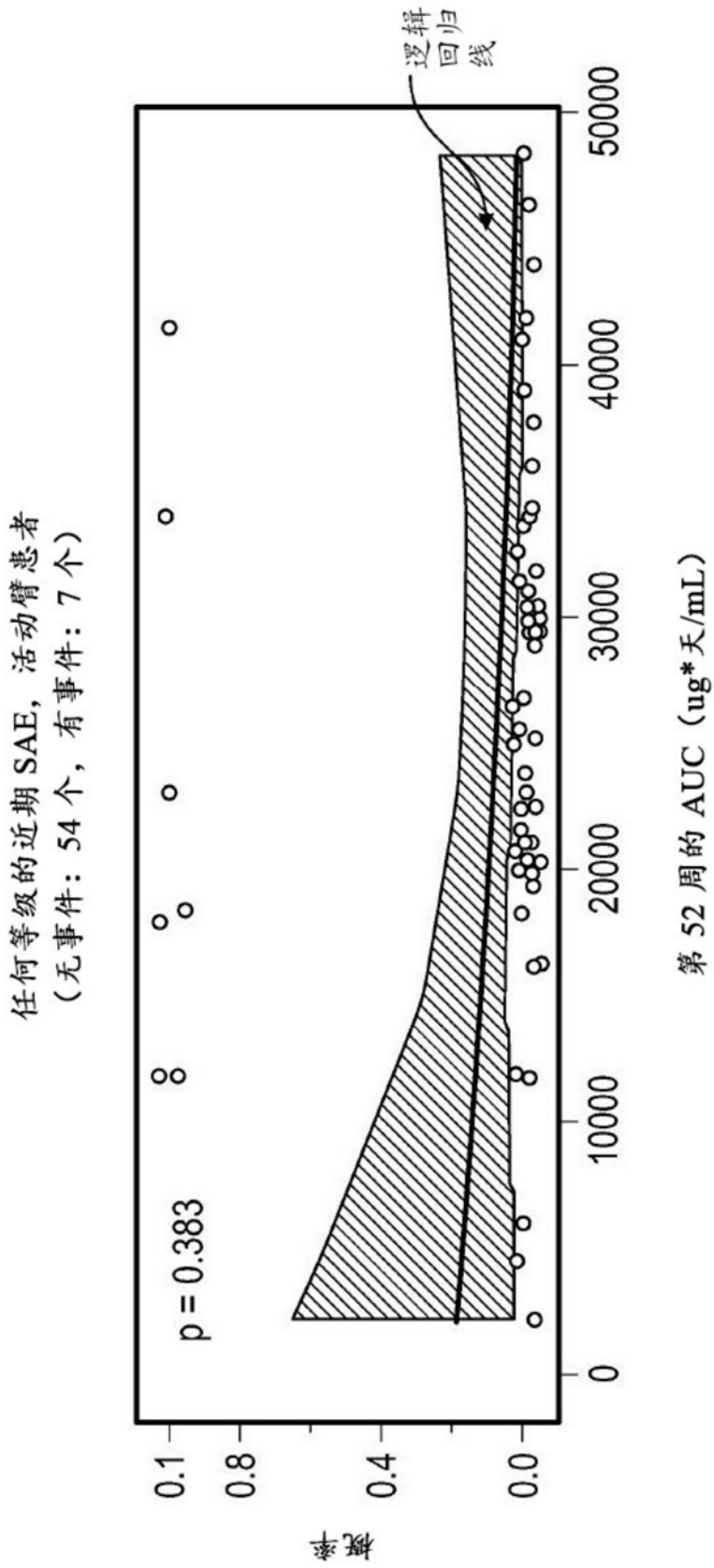

任何等级的近期 SAE，活动臂患者
（无事件：54 个，有事件：7 个）
p = 0.383
逻辑回归线
概率
0.1
0.8
0.4
0.0
0
10000
20000
30000
40000
50000
第 52 周的 AUC（ug*天/mL）

图7

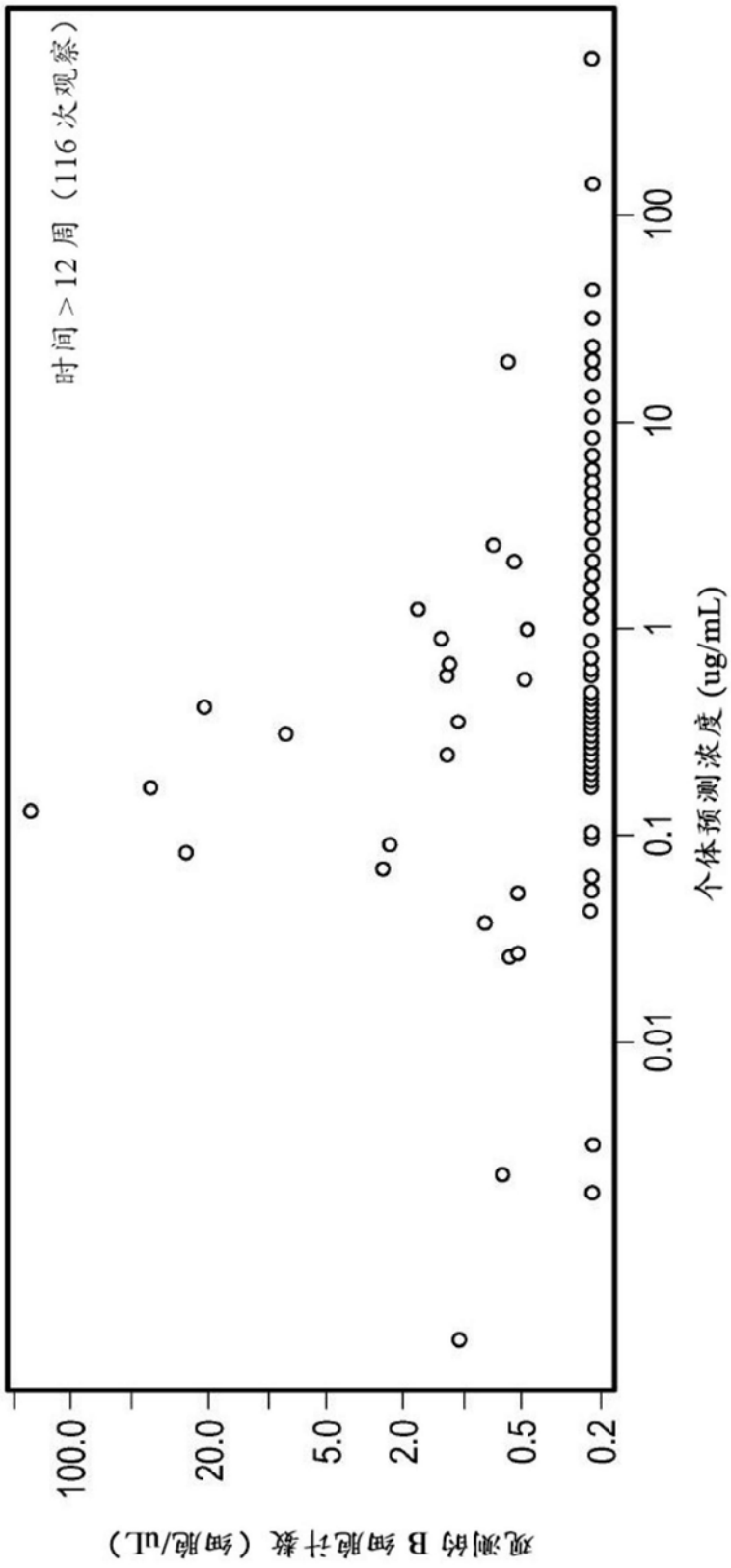

时间 > 12 周（116 次观察）
观测的 B 细胞计数（细胞/uL）
100.0
20.0
5.0
2.0
0.5
0.2
0.01
0.1
1
10
100
个体预测浓度 (ug/mL)

图8

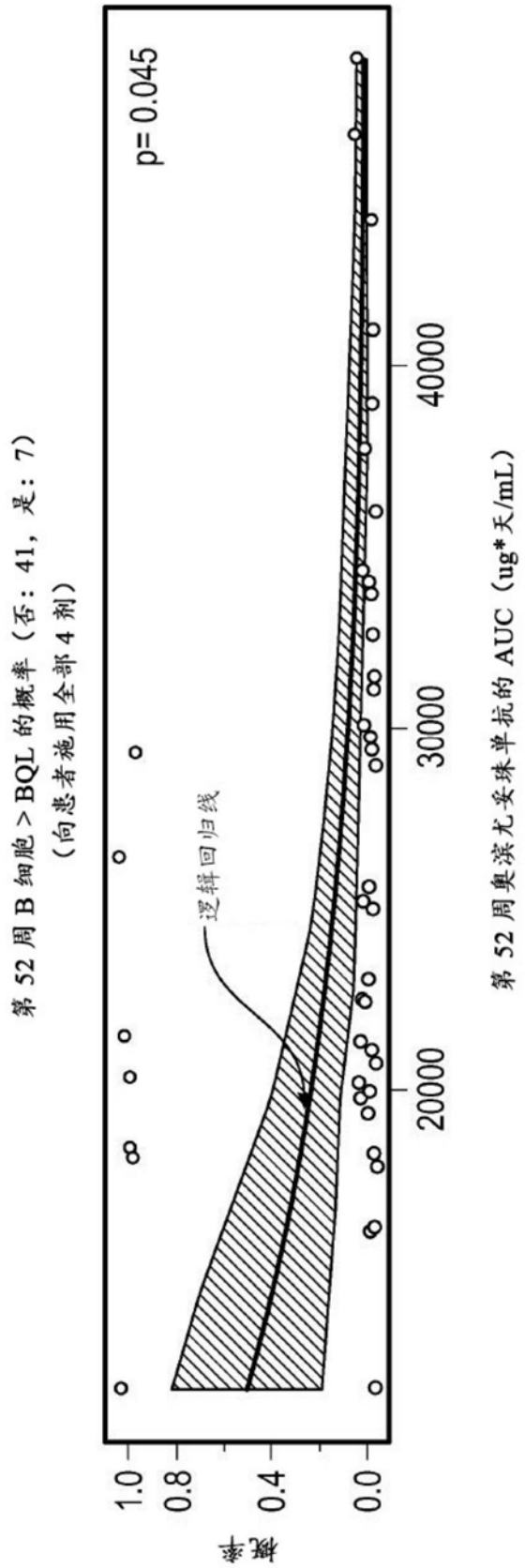

第 52 周 B 细胞 > BQL 的概率（否：41，是：7）
（向患者施用全部 4 剂）
p= 0.045
逻辑回归线
概率
1.0
0.8
0.4
0.0
20000
30000
40000
第 52 周奥滨尤-妥珠单抗的 AUC（ug*天/mL）

图9

	奥滨尤妥珠单抗持续耗乏 (N=32)	可检测出奥滨尤妥珠单抗的B细胞 (N=20)	安慰剂 (N = 62)
年龄，平均值 (SD)，年数	34.6 (9.5)	32.4 (10.3)	31.9 (10.1)
女性，n(%)	29 (91)	15 (75)	51 (82)
体重，平均值 (SD)，kg	64.0 (13)	72.4 (12)	64.0 (14)
血清肌酐，平均值 (SD)，mg/dL	0.81 (0.29)	0.94 (0.39)	0.80 (0.33)
血清肌酐 ≤ULN，n(%)	27 (84)	16 (80)	55 (89)
UPCR，平均值 (SD)	2.98 (2.3)	3.79 (3.2)	3.02 (2.5)
抗 dsDNA 阴性，n(%)	13 (41)	12 (60)	36 (58)
C3 < 90 mg/dL, n (%)	23 (72)	14 (70)	37 (60)
C4 < 16 mg/dL, n (%)	17 (53)	13 (65)	43 (69)
IgG 水平，平均值 (SD)，g/L	8.4 (4.6)	11.1 (3.6)	8.8 (4.3)

dsDNA，双链DNA；ULN：正常上限(ULN)；UPCR，尿蛋白与肌酐的比率。

图10

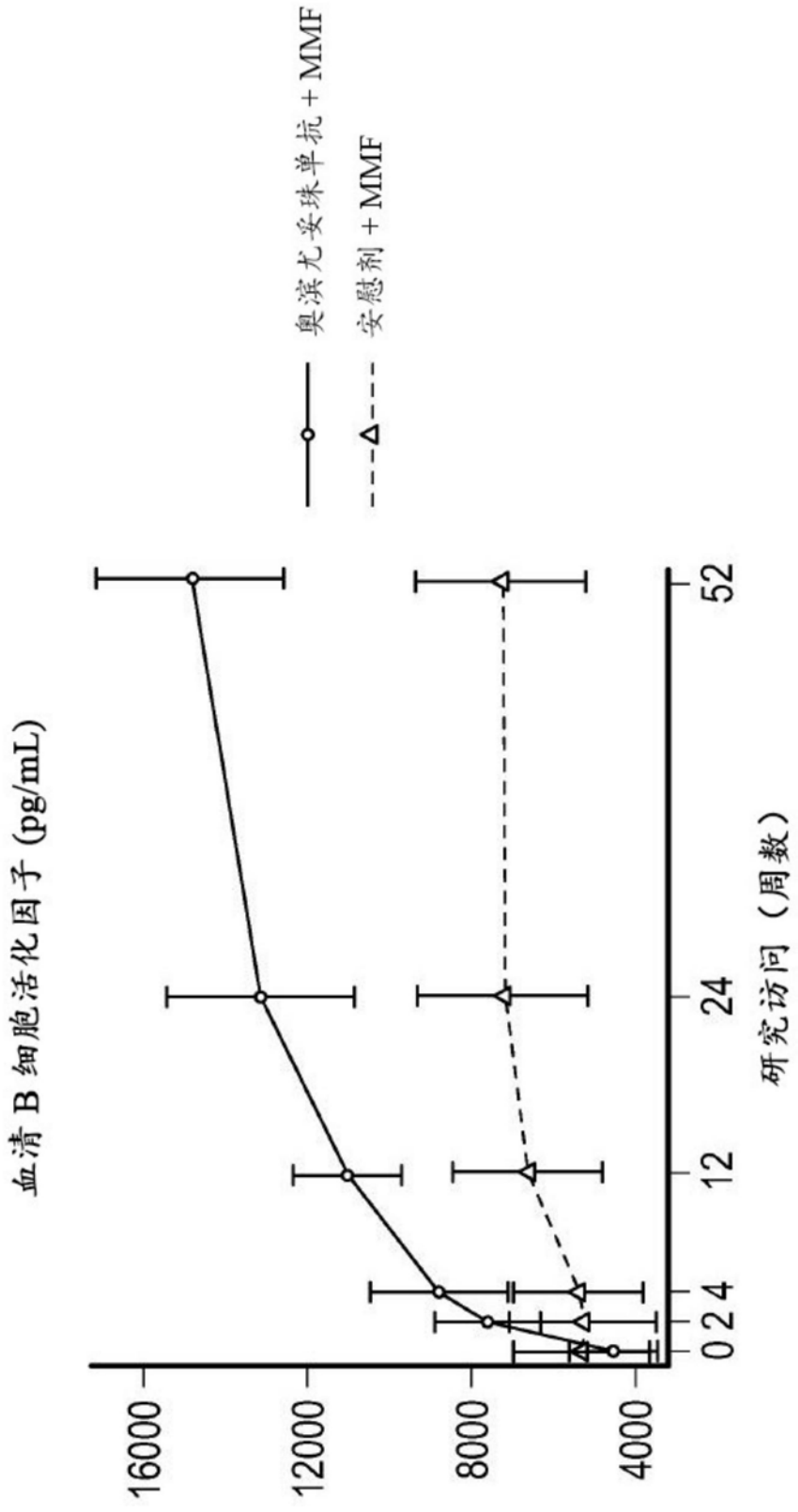
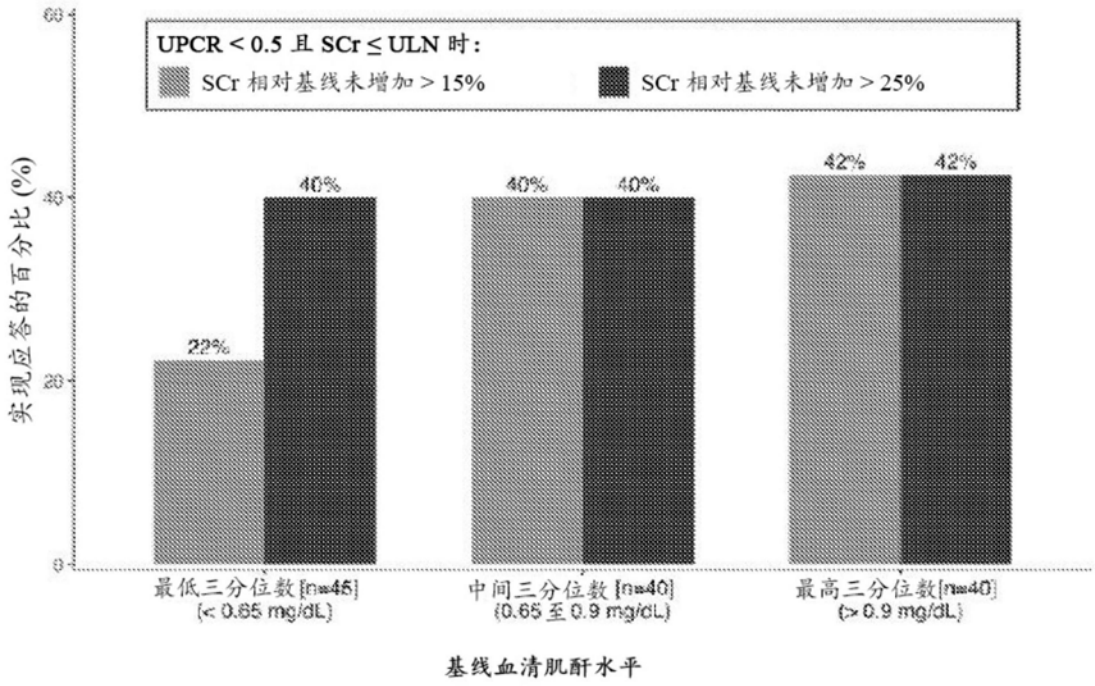

奥滨尤安珠单抗 + MMF
安慰剂 + MMF
血清 B 细胞活化因子 (pg/mL)
16000
12000
8000
4000
0 2 4
12
24
52
研究访问（周数）

图11



UPCR，尿蛋白与肌酐的比率；SCr，血清肌酐；ULN，正常上限。

图12

应答的定义	第 52 周			第 76 周		
	OBI (n = 63)	PBO (n = 62)	差值	OBI (n = 63)	PBO (n = 62)	差值
仅限 UPCR < 0.8	64%	48%	15%*	64%	47%	17%*
UPCR<0.8，且满足 SCr 要求 UPCR < 0.8 且 SCr ≤ ULN 或相对基线 SCr 未增加 > 15%	60%	48%	12%*	64%	45%	18%**

图13