(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116194120 A
(43)申请公布日 2023.05.30

(21)申请号 202180056772.5
(22)申请日 2021.08.05
(30)优先权数据
63/061,384 2020.08.05 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.02.03
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2021/071824 2021.08.05
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/029209 EN 2022.02.10
(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司
地址 瑞士巴塞尔
申请人 迪赛尔纳制药公司
(72)发明人 S·奥特森 H·米勒
H·阿克内克 D·M·范布罗
B·D·布朗
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 黄革生 隋晓平
(51)Int.Cl.
A61K 31/713(2006.01)

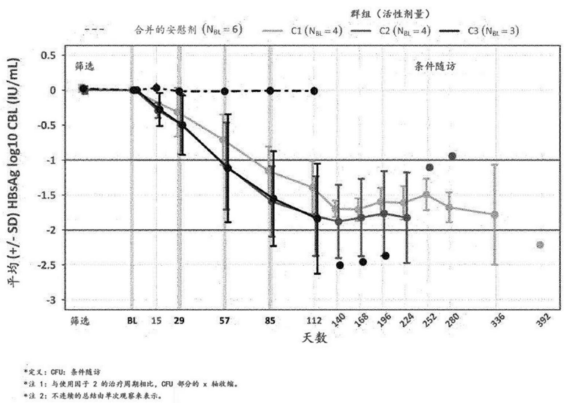
权利要求书16页 说明书83页
序列表37页 附图37页

(54)发明名称

乙型肝炎患者的寡核苷酸治疗

(57)摘要

本发明提供用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒感染的寡核苷酸。



*定义：CFU：条件随访
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
*注 2：不连续的总结由单次观察来表示。

CN 116194120 A

1.一种寡核苷酸,其包含与反义链形成双链体区域的有义链,其中:

所述有义链由如

GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC

(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分;并且

所述反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP);

或其药用盐,

其用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法中

所述方法包括经由皮下途径向所述患者施用约0.1mg/kg至约12mg/kg的初始剂量的所述寡核苷酸。

2.一种寡核苷酸,其包含与反义链形成双链体区域的有义链,其中:

所述有义链由如

GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC

(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分;并且

所述反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP);

或其药用盐,

其用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法中

所述方法包括经由皮下途径向所述患者施用约6mg至约800mg的初始剂量的所述寡核苷酸。

3.根据权利要求1或权利要求2所述使用的寡核苷酸,其中所述乙型肝炎或HBV感染为慢性乙型肝炎或慢性HBV感染。

4.根据权利要求1或权利要求3所述使用的寡核苷酸,其中所述初始剂量为约1.5mg/

kg、约3mg/kg或约6mg/kg。

5.根据权利要求2或权利要求3所述使用的寡核苷酸,其中所述初始剂量为约100mg、约200mg或约400mg。

6.根据权利要求1至5中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述初始剂量为单一剂量或为施用的唯一剂量。

7.根据权利要求1、3、4或6中任一项所述使用的寡核苷酸,其进一步包括以约0.1mg/kg至约12mg/kg的量向所述患者施用一个或多个后续剂量的所述寡核苷酸。

8.根据权利要求7所述使用的寡核苷酸,其中所述后续剂量为约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg。

9.根据权利要求2、3、5或6中任一项所述使用的寡核苷酸,其进一步包括以约6mg至约800mg的量向所述患者施用一个或多个后续剂量的所述寡核苷酸。

10.根据权利要求9所述使用的寡核苷酸,其中所述后续剂量为约100mg、约200mg或约400mg。

11.根据权利要求7至10中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述剂量在时间上彼此间隔至少约四周。

12.根据权利要求7至11中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述剂量在时间上彼此间隔约四周,并且历经约48周、约24周、约三个月或约12周的时段进行施用。

13.根据权利要求7至11中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述剂量中的每个剂量之间的时间段独立地选自由以下项组成的组:约四周、约一个月、约两个月、约三个月或约六个月。

14.根据权利要求7至13中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述剂量中的每个剂量之间的所述时间段如表1中方案中的任一方案所示。

15.根据权利要求1至14中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述方法包括治疗假期,优选约三个月至约六个月。

16.根据权利要求1至15中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述患者未接受过抗病毒治疗或所述患者先前未以抗病毒疗法进行治疗,优选至少约六个月的时段。

17.根据权利要求16所述使用的寡核苷酸,其中所述抗病毒疗法为核苷酸(核苷)类似物(NUC)或含干扰素药剂。

18.根据权利要求1至17中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述患者为:核苷酸(核苷)类似物(NUC)抑制的、免疫活性的、肝硬化的、免疫耐受的、非活动性携带者、HBeAg阳性的、HBeAg阴性的或HBVδ共感染。

19.根据权利要求1至18中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸作为单一疗法进行施用。

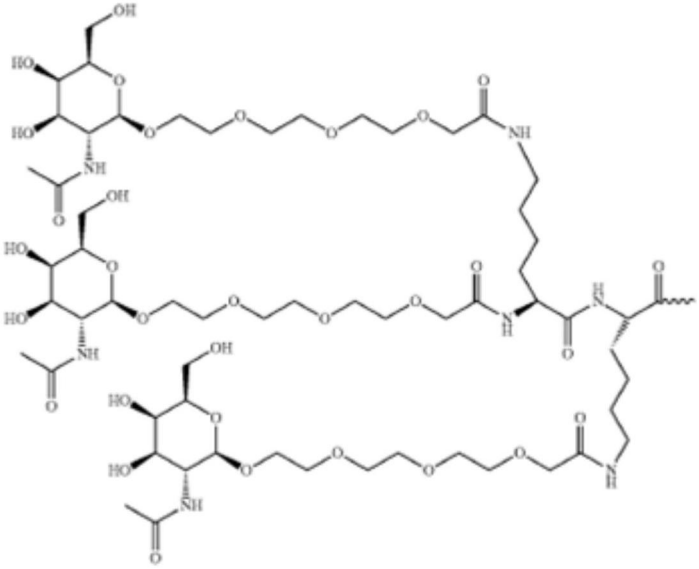
20.根据权利要求1至18中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述方法进一步包括施用有效量的至少一种另外的治疗剂。

21.根据权利要求20所述使用的寡核苷酸,其中所述另外的治疗剂为抗病毒剂。

22.根据权利要求21所述使用的寡核苷酸,其中所述抗病毒剂为以下各项中的一项或多项:干扰素;利巴韦林;HBV RNA复制抑制剂;第二反义寡聚体;HBV治疗性疫苗;HBV预防性疫苗;拉米夫定(3TC);恩替卡韦;替诺福韦;替比夫定(LdT);阿德福韦;HBV抗体疗法(单克

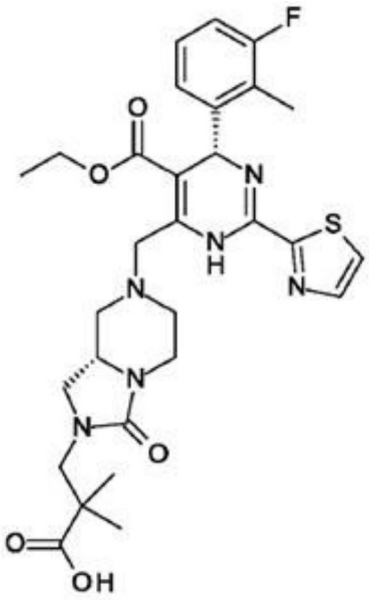
隆或多克隆)；抗PDL1/PD1单克隆抗体；抗PD-L1反义寡核苷酸；TLR7激动剂；TLR8激动剂；以及CpAM。

23.根据权利要求22所述使用的寡核苷酸，其中所述抗PD-L1反义寡核苷酸具有式GN2-C6ocoaoCCtatttaacatcAGAC(化合物I)，其中C6表示具有6个碳的氨基烷基，大写字母表示β-D-氧LNA核苷，小写字母表示DNA核苷，所有LNA C为5-甲基胞嘧啶，下标o表示磷酸二酯核苷键合，并且除非另有说明，否则所有核苷间键合为硫代磷酸酯核苷间键合，并且其中GN2表示以下三价GalNAc簇：



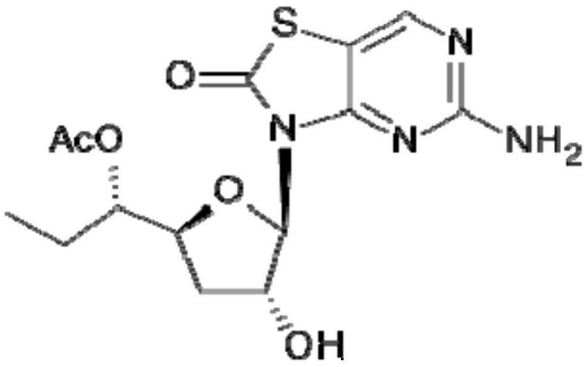
并且进一步地，其中所述三价GalNAc簇的波浪线示出所述三价GalNAc簇与所述C6氨基烷基的缀合位点；或其药用盐。

24.根据权利要求22所述使用的寡核苷酸，其中所述CpAM为化合物II：



或其药用盐、对映体或非对映体。

25.根据权利要求22所述使用的寡核苷酸，其中所述TLR7激动剂为化合物III：



或其药用盐、对映体或非对映体。

26.根据权利要求23至25中任一项所述使用的寡核苷酸，其中所述抗病毒剂为以下各项中的一项或多项，例如以下各项中的所有三项：化合物I或其药用盐；化合物II或其药用盐、对映体或非对映体；

以及化合物III或其药用盐、对映体或非对映体。

27.根据权利要求22所述使用的寡核苷酸，其中所述HBV抗体疗法为与乙型肝炎表面抗原结合(抗-HBsAg)的抗体。

28.根据权利要求27所述使用的寡核苷酸，其中所述抗-HBsAg抗体包含

重链可变结构域(VH)，其包含：(a)CDR-H1，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列；(b)CDR-H2，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列；以及(c)CDR-H3，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，以及

轻链可变结构域(VL)，其包含：(d)CDR-L1，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列；(e)CDR-L2，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列；以及(f)CDR-L3，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

29.根据权利要求28所述使用的寡核苷酸，其中所述抗体包含选自由以下项组成的组的序列：

(a)VH序列，其与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少95％的序列同一性；

(b)VL序列，其与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少95％的序列同一性；以及

(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。

30.根据权利要求28或权利要求29所述使用的寡核苷酸，其中所述抗体包含SEQ ID NO:19的VH序列和SEQ ID NO:18的VL序列。

31.根据权利要求28至30中任一项所述使用的寡核苷酸，其中所述抗体包含SEQ ID NO:21或76的重链和SEQ ID NO:20的轻链。

32.根据权利要求27所述使用的寡核苷酸，其中所述抗-HBsAg抗体包含

重链可变结构域(VH)，其包含：(a)CDR-H1，其包含SEQ ID NO:

22的氨基酸序列；(b)CDR-H2，其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列；以及(c)CDR-H3，其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列，以及

轻链可变结构域(VL)，其包含：(d)CDR-L1，其包含SEQ ID NO:

25的氨基酸序列；(e)CDR-L2，其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列；以及(f)CDR-L3，其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

33.根据权利要求32所述使用的寡核苷酸，其中所述抗体包含选自由以下项组成的组的序列：

(a)VH序列,其与SEQ ID NO:37的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;

(b)VL序列,其与SEQ ID NO:36的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;以及

(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。

34.根据权利要求32或权利要求33所述使用的寡核苷酸,其中所述抗体包含SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:36的VL序列。

35.根据权利要求32至34中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述抗体包含SEQ ID NO:39或77的重链和SEQ ID NO:38的轻链。

36.根据权利要求27所述使用的寡核苷酸,其中所述抗-HBsAg抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含:(a)CDR-H1,其包含SEQ ID NO:

40的氨基酸序列;(b)CDR-H2,其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;以及(c)CDR-H3,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,以及

轻链可变结构域(VL),其包含:(d)CDR-L1,其包含SEQ ID NO:

43的氨基酸序列;(e)CDR-L2,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;以及(f)CDR-L3,其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

37.根据权利要求36所述使用的寡核苷酸,其中所述抗体包含选自由以下项组成的组的序列:

(a)VH序列,其与SEQ ID NO:55的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;

(b)VL序列,其与SEQ ID NO:54的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;以及

(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。

38.根据权利要求36或权利要求37所述使用的寡核苷酸,其中所述抗体包含SEQ ID NO:55的VH序列和SEQ ID NO:54的VL序列。

39.根据权利要求36至38中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述抗体包含SEQ ID NO:57或78的重链和SEQ ID NO:56的轻链。

40.根据权利要求27所述使用的寡核苷酸,其中所述抗-HBsAg抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含:(a)CDR-H1,其包含SEQ ID NO:

58的氨基酸序列;(b)CDR-H2,其包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列;以及(c)CDR-H3,其包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列,以及

轻链可变结构域(VL),其包含:(d)CDR-L1,其包含SEQ ID NO:

61的氨基酸序列;(e)CDR-L2,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列;以及(f)CDR-L3,其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列。

41.根据权利要求40所述使用的寡核苷酸,其中所述抗体包含选自由以下项组成的组的序列:

(a)VH序列,其与SEQ ID NO:73的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;

(b)VL序列,其与SEQ ID NO:72的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;以及

(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。

42.根据权利要求40或权利要求41所述使用的寡核苷酸,其中所述抗体包含SEQ ID NO:73的VH序列和SEQ ID NO:72的VL序列。

43.根据权利要求40至42中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述抗体包含SEQ ID NO:75或79的重链和SEQ ID NO:74的轻链。

44.根据权利要求31、35、39或43中任一项所述使用的寡核苷酸，其中所述抗体包含权利要求中任一项所述的轻链和权利要求31、35、39或43中任一项所述的重链，通过选自由以下各项组成的组的取代进行修饰：

i)M252Y、S254T和T256E；

ii)M428L、N434A和Y436T；

iii)N434A;以及

iv)T307H和N434H。

45.根据权利要求20至44中任一项所述使用的寡核苷酸，其中同时或依次施用所述寡核苷酸和所述另外的治疗剂。

46.根据权利要求45所述使用的寡核苷酸，其中所述另外的治疗剂为治疗性疫苗，进一步地，其中依次施用所述寡核苷酸和所述治疗性疫苗，优选地其中在施用所述寡核苷酸之后，施用1至3剂量之间的所述治疗性疫苗。

47.根据权利要求20至46中任一项所述使用的寡核苷酸，其中所述方法包括单一疗法导入阶段，其中在任何另外的治疗剂的第一剂量之前，施用一个或多个剂量的所述寡核苷酸。

48.根据权利要求1、3、4、7、8或11至47中任一项所述使用的寡核苷酸，其中所述患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向所述患者施用约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的初始剂量的所述寡核苷酸，然后施用各自为约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的三个后续剂量的所述寡核苷酸，其中所述剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

49.根据权利要求1、3、4、6或16至19中任一项所述使用的寡核苷酸，其中所述患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中所述方法由以约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量施用一个剂量的所述寡核苷酸组成。

50.根据权利要求1、3、4、6或16至19中任一项所述使用的寡核苷酸，其中所述患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中所述方法包括以约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量施用单一剂量的所述寡核苷酸。

51.根据权利要求1至50中任一项所述使用的寡核苷酸，其中所述寡核苷酸包含与反义链形成双链体区域的有义链，其中：

所述有义链由如

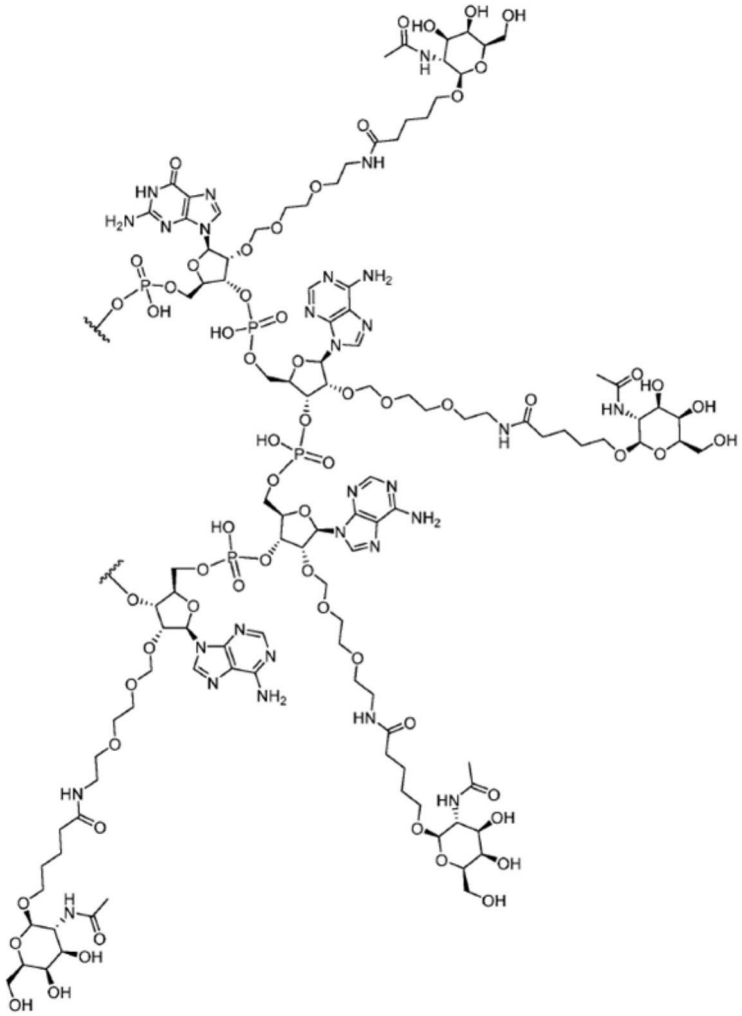
GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC

(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸，

在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的一个硫代磷酸酯键合，

其中所述有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分;其中所述-GAAA-序列包含结构：



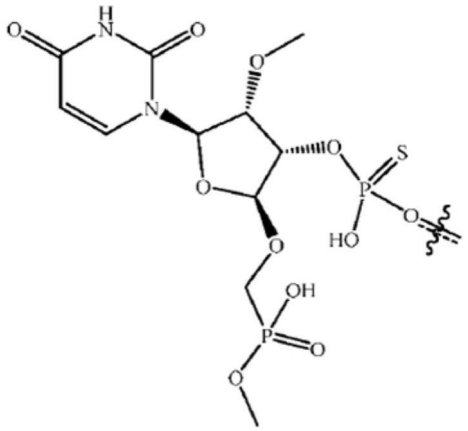
并且

所述反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的五个硫代磷酸酯键合,

其中所述反义链的5'-核苷酸具有以下结构:



或其药用盐。

52.根据权利要求1至51中任一项所述使用的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸是药用盐的形式,优选钠盐或钾盐。

53.根据权利要求52所述使用的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的所述药用盐如图2A或图2B所示。

54.一种药物组合物,其包含根据权利要求1至53中任一项所述的寡核苷酸或其药用盐以及药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂,用于根据权利要求1至53中任一项所述使用。

55.根据权利要求54所述使用的药物组合物,其中所述药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂为磷酸盐缓冲盐水。

56.一种用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法,所述方法包括向所述患者施用包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸,其中:

所述有义链由如

GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC

(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分;并且

所述反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP),

或其药用盐;

所述方法包括经由皮下途径向所述患者施用约0.1mg/kg至约12mg/kg的初始剂量的所述寡核苷酸。

57.一种用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法,所述方法包括向所述患者施用包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸,其中:

所述有义链由如

GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC

(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分;并且

所述反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20

和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP),

或其药用盐;

所述方法包括经由皮下途径向所述患者施用约6mg至约800mg的初始剂量的所述寡核苷酸。

58.根据权利要求56或权利要求57所述的方法,其中所述乙型肝炎或HBV感染为慢性乙型肝炎或慢性HBV感染。

59.根据权利要求3956所述的方法,其中所述初始剂量为约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg。

60.根据权利要求57所述的方法,其中所述初始剂量为约100mg、约200mg或约400mg。

61.根据权利要求56或权利要求57所述的方法,其中所述初始剂量为单一剂量或为施用的唯一剂量。

62.根据权利要求56所述的方法,其进一步包括以约0.1mg/kg至约12mg/kg的量向所述患者施用一个或多个后续剂量的所述寡核苷酸。

63.根据权利要求62所述的方法,其中所述后续剂量为约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg。

64.根据权利要求57所述的方法,其进一步包括以约6mg至约800mg的量向所述患者施用一个或多个后续剂量的所述寡核苷酸。

65.根据权利要求64所述的方法,其中所述后续剂量为约100mg、约200mg或约400mg。

66.根据权利要求62或权利要求64所述的方法,其中所述剂量在时间上彼此间隔至少约四周。

67.根据权利要求62或权利要求64所述的方法,其中所述剂量在时间上彼此间隔约四周,并且历经约48周、约24周、约三个月或约12周的时段进行施用。

68.根据权利要求62或权利要求64所述的方法,其中所述剂量中的每个剂量之间的时间段独立地选自由以下项组成的组:约四周、约一个月、约两个月、约三个月或约六个月。

69.根据权利要求62或权利要求64所述的方法,其中所述剂量中的每个剂量之间的所述时间段如表1中方案中的任一方案所示。

70.根据权利要求56或权利要求57所述的方法,其中所述方法包括治疗假期,优选约三个月至约六个月。

71.根据权利要求56或权利要求57所述的方法,其中所述患者未接受过抗病毒治疗或所述患者先前未以抗病毒疗法进行治疗,优选至少约六个月的时段。

72.根据权利要求71所述的方法,其中所述抗病毒疗法为核苷酸(核苷)类似物(NUC)或含干扰素药剂。

73.根据权利要求56或权利要求57所述的方法,其中所述患者为:核苷酸(核苷)类似物(NUC)抑制的、免疫活性的、肝硬化的、免疫耐受的、非活动性携带者、HBeAg阳性的、HBeAg阴性的或HBVδ共感染。

74.根据权利要求56或权利要求57所述的方法,其中所述寡核苷酸作为单一疗法进行施用。

75.根据权利要求56或权利要求57所述的方法,其中所述方法进一步包括施用有效量

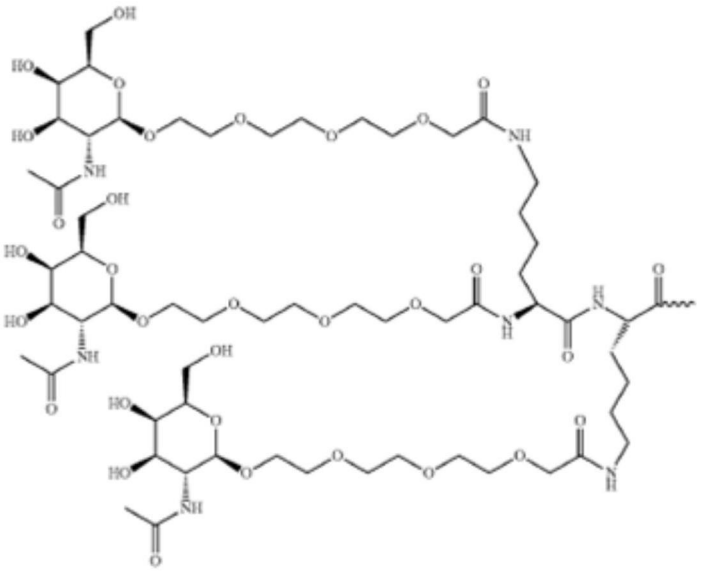
的至少一种另外的治疗剂。

76.根据权利要求75所述的方法,其中所述另外的治疗剂为抗病毒剂。

77.根据权利要求76所述的方法,其中所述抗病毒剂为以下各项中的一项或多项:干扰素;利巴韦林;HBV RNA复制抑制剂;第二反义寡聚体;HBV治疗性疫苗;HBV预防性疫苗;拉米夫定(3TC);恩替卡韦;替诺福韦;替比夫定(LdT);阿德福韦;HBV抗体疗法(单克隆或多克隆);抗PDL1/PD1单克隆抗体;抗PD-L1反义寡核苷酸;TLR7激动剂;TLR8激动剂;以及CpAM。

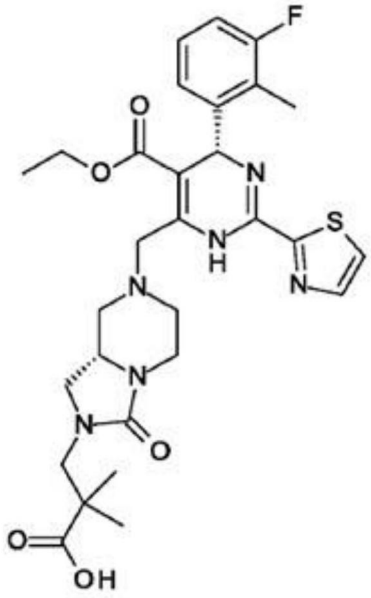
78.根据权利要求77所述的方法,其中所述抗PD-L1反义寡核苷酸为具有式GN2-C6ocoaoCCtatttaacatcAGAC(化合物I)的抗PD-L1反义寡核苷酸,

其中C6表示具有6个碳的氨基烷基,大写字母表示β-D-氧LNA核苷,小写字母表示DNA核苷,所有LNA C为5-甲基胞嘧啶,下标o表示磷酸二酯核苷键合,并且除非另有说明,否则所有核苷间键合为硫代磷酸酯核苷间键合,并且其中GN2表示以下三价GalNAc簇:



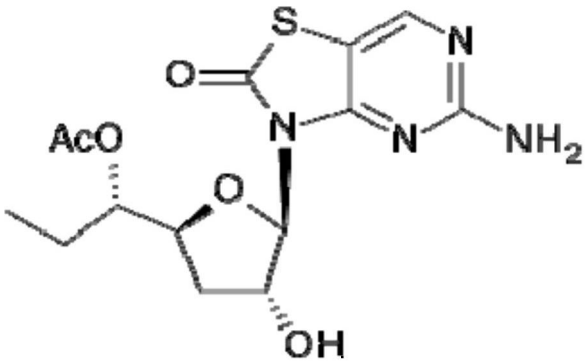
并且进一步地,其中所述三价GalNAc簇的波浪线示出所述三价GalNAc簇与所述C6氨基烷基的缀合位点;或其药用盐。

79.根据权利要求77所述的方法,其中所述CpAM为化合物II:



或其药用盐、对映体或非对映体。

80.根据权利要求77所述的方法，其中所述TLR7激动剂为化合物III：



或其药用盐、对映体或非对映体。

81.根据权利要求78至80中任一项所述的方法，其中所述抗病毒剂为以下各项中的一项或多项，例如以下各项中的所有三项：化合物I或其药用盐；化合物II或其药用盐、对映体或非对映体；以及化合物III或其药用盐、对映体或非对映体。

82.根据权利要求77所述的方法，其中所述HBV抗体疗法为与乙型肝炎表面抗原结合(抗-HBsAg)的抗体。

83.根据权利要求82所述的方法，其中所述抗-HBsAg抗体包含

重链可变结构域(VH)，其包含：(a)CDR-H1，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列；(b)CDR-H2，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列；以及(c)CDR-H3，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列，以及

轻链可变结构域(VL)，其包含：(d)CDR-L1，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列；(e)CDR-L2，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列；以及(f)CDR-L3，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。

84.根据权利要求83所述的方法，其中所述抗体包含选自由以下项组成的组的序列：

(a)VH序列，其与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少95％的序列同一性；

(b)VL序列，其与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少95％的序列同一性；以及

(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。

85.根据权利要求83或权利要求84所述的方法,其中所述抗体包含SEQ ID NO:19的VH序列和SEQ ID NO:18的VL序列。

86.根据权利要求83至85中任一项所述的方法,其中所述抗体包含SEQ ID NO:21或76的重链和SEQ ID NO:20的轻链。

87.根据权利要求82所述的方法,其中所述抗-HBsAg抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含:(a)CDR-H1,其包含SEQ ID NO:

22的氨基酸序列;(b)CDR-H2,其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;以及(c)CDR-H3,其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,以及

轻链可变结构域(VL),其包含:(d)CDR-L1,其包含SEQ ID NO:

25的氨基酸序列;(e)CDR-L2,其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;以及(f)CDR-L3,其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

88.根据权利要求87所述的方法,其中所述抗体包含选自由以下项组成的组的序列:

(a)VH序列,其与SEQ ID NO:37的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;

(b)VL序列,其与SEQ ID NO:36的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;以及

(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。

89.根据权利要求87或权利要求88所述的方法,其中所述抗体包含SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:36的VL序列。

90.根据权利要求87至89中任一项所述的方法,其中所述抗体包含SEQ ID NO:39或77的重链和SEQ ID NO:38的轻链。

91.根据权利要求82所述的方法,其中所述抗-HBsAg抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含:(a)CDR-H1,其包含SEQ ID NO:

40的氨基酸序列;(b)CDR-H2,其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;以及(c)CDR-H3,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,以及

轻链可变结构域(VL),其包含:(d)CDR-L1,其包含SEQ ID NO:

43的氨基酸序列;(e)CDR-L2,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;以及(f)CDR-L3,其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列。

92.根据权利要求91所述的方法,其中所述抗体包含选自由以下项组成的组的序列:

(a)VH序列,其与SEQ ID NO:55的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;

(b)VL序列,其与SEQ ID NO:54的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;以及

(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。

93.根据权利要求91或权利要求92所述的方法,其中所述抗体包含SEQ ID NO:55的VH序列和SEQ ID NO:54的VL序列。

94.根据权利要求91至93中任一项所述的方法,其中所述抗体包含SEQ ID NO:57或78的重链和SEQ ID NO:56的轻链。

95.根据权利要求82所述的方法,其中所述抗-HBsAg抗体包含

重链可变结构域(VH),其包含:(a)CDR-H1,其包含SEQ ID NO:

58的氨基酸序列;(b)CDR-H2,其包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列;以及(c)CDR-H3,其包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列,以及

轻链可变结构域(VL),其包含:(d)CDR-L1,其包含SEQ ID NO:

61的氨基酸序列;(e)CDR-L2,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列;以及(f)CDR-L3,其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列。

96.根据权利要求95所述的方法,其中所述抗体包含选自由以下项组成的组的序列:

(a)VH序列,其与SEQ ID NO:73的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;

(b)VL序列,其与SEQ ID NO:72的氨基酸序列具有至少95%的序列同一性;以及

(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。

97.根据权利要求95或权利要求96所述的方法,其中所述抗体包含SEQ ID NO:73的VH序列和SEQ ID NO:72的VL序列。

98.根据权利要求95至97中任一项所述的方法,其中所述抗体包含SEQ ID NO:75或79的重链和SEQ ID NO:74的轻链。

99.根据权利要求86、90、94或98中任一项所述的方法,其中所述抗体包含权利要求中任一项所述的轻链和权利要求86、90、94或98中任一项所述的重链,通过选自由以下项组成的组的取代进行修饰:

i)M252Y、S254T和T256E;

ii)M428L、N434A和Y436T;

iii)N434A;以及

iv)T307H和N434H。

100.根据权利要求75所述的方法,其中同时或依次施用所述寡核苷酸和所述另外的治疗剂。

101.根据权利要求100所述的方法,其中所述另外的治疗剂为治疗性疫苗,进一步地,其中依次施用所述寡核苷酸和所述治疗性疫苗,优选地其中在施用所述寡核苷酸之后,施用1至3剂量之间的所述治疗性疫苗。

102.根据权利要求75所述的方法,其中所述方法包括单一疗法导入阶段,其中在任何另外的治疗剂的第一剂量之前,施用一个或多个剂量的所述寡核苷酸。

103.根据权利要求56所述的方法,其中所述患者先前未以抗病毒疗法进行治疗,其中向所述患者施用约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的初始剂量的所述寡核苷酸,然后施用各自的约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的三个后续剂量的所述寡核苷酸,其中所述剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

104.根据权利要求65所述的方法,其中所述患者先前未以抗病毒疗法进行治疗,其中所述方法由以约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量施用一个剂量的所述寡核苷酸组成。

105.根据权利要求56所述的方法,其中所述患者先前未以抗病毒疗法进行治疗,其中所述方法包括以约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量施用单一剂量的所述寡核苷酸。

106.根据权利要求56或权利要求57所述的方法,其中所述寡核苷酸包含与反义链形成双链体区域的有义链,其中:

所述有义链由如

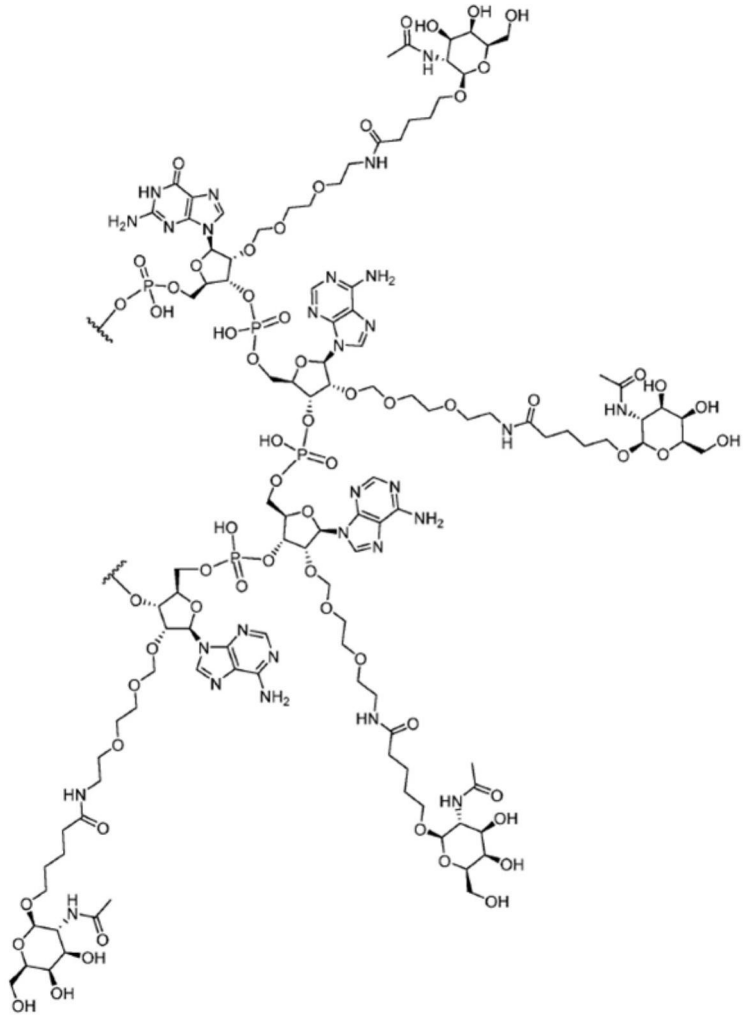
GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC

(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的一个硫代磷酸酯键合，

其中所述有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分；其中所述-GAAA-序列包含结构：



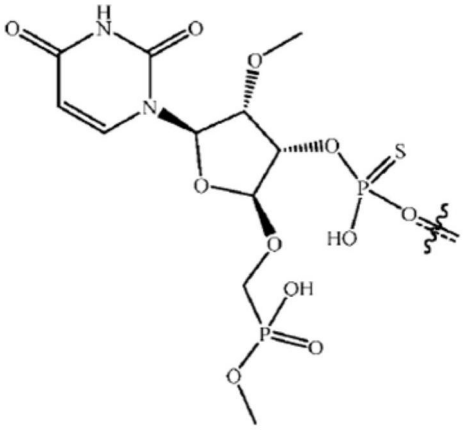
并且

所述反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成，并且包含

在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸，

在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间，以及在位置21和22处的核苷酸之间的五个硫代磷酸酯键合，

其中所述反义链的5'-核苷酸具有以下结构：



或其药用盐。

107.根据权利要求56或权利要求57所述的方法,其中所述寡核苷酸是药用盐的形式,优选钠盐或钾盐。

108.根据权利要求107所述的方法,其中所述寡核苷酸的所述药用盐如图2a或图2b所示。

109.一种治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法,所述方法包括向所述患者施用包含根据权利要求56所定义的寡核苷酸或其药用盐和药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂的药物组合物,所述方法包括经由皮下途径向所述患者施用约0.1mg/kg至约12mg/kg的初始剂量的所述寡核苷酸。

110.根据权利要求109所述的方法,其中所述药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂为磷酸盐缓冲盐水。

111.包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸在制备药物中的用途,其中:

所述有义链由如

GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC

(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分;并且

所述反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP),

或其药用盐;

所述药物用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染所述治疗包括经由皮下途径向所述患者施用约0.1mg/kg至约12mg/kg的初始剂量的所述寡核苷酸。

112.包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸在制备药物中的用途,其中:

所述有义链由如

GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC

(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分;并且

所述反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

其中所述反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP),

或其药用盐;

所述药物用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的药物

所述治疗包括经由皮下途径向所述患者施用约6mg至约800mg的初始剂量的所述寡核苷酸。

乙型肝炎患者的寡核苷酸治疗

技术领域

[0001] 本发明涉及寡核苷酸在用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法中的用途,特别是与治疗未接受NUC的患者(NUC是指核苷(核苷酸)类似物化合物)相关的乙型肝炎感染的用途。

[0002] 对序列表的引用

[0003] 本公开与电子格式的序列表一起提交,该序列表作为2021年8月1日创建的名为P120786PCT_ST25的文件提供。该序列表电子格式的信息全文通过引用并入本文。

背景技术

[0004] 乙型肝炎病毒(HBV)是一种DNA病毒,其感染肝细胞,并在受感染的细胞内建立cccDNA(也称为微型染色体),作为HBV复制和抗原产生的模板。HBV是一种嗜肝、非细胞病变病毒,可引起急性或慢性肝炎、肝硬化和/或肝细胞癌。据世界卫生组织估计,全世界有超过20亿人被感染,每年发生约400万例急性病例。令人遗憾的是,每年导致100万人死亡,且存在3.5亿至4亿慢性携带者。大约25%的携带者死于慢性肝炎,进展为肝硬化的发生率为每年2-5%,并且每年肝功能失代偿的发生率为约3%。对于其他人,肝硬化或肝癌的发生率很高,同时近75%的慢性携带者为亚洲人。在全球范围内,HBV是仅次于烟草的第二大致癌物,占所有原发性肝癌的60%至80%。目前,需要有效的治疗剂来治疗HBV感染者。在这种情况下,在HBV感染者中,有效治疗可包括宿主体内对病毒反应的血清转化事件,其中与治疗前的基线数量相比,观察到的病毒抗原减少90%或更多。此类血清转化可有效治愈或管理病毒。

[0005] 慢性乙型肝炎定义为在HBV急性感染后,血清中乙型肝炎表面抗原(HBsAg)的持续存在时间超过6个月。目前,美国肝病研究协会(AASLD)和欧洲肝病研究协会(EASL)推荐的治疗慢性HBV感染的疗法分别包括干扰素α和聚乙二醇干扰素α-2a、恩替卡韦和替诺福韦(两者都为核苷(核苷酸)类似物化合物,NUC)。慢性HBV感染过程中的关键事件是HBeAg血清转化,其以每年约5-10%的速度自发发生。在接受持续四十八(48)周并导致严重和令人不快的副作用的聚乙二醇干扰素治疗时,治疗停止后二十四(24)周中的实际血清转化(HBeAg血清转化)事件仅处于27-36%的范围内。HBsAg的血清转化甚至更低,在治疗停止后立即观察到的结果仅为3%,5年后增加至12%以上。目前的HBV疗法,诸如使用NUC来抑制疾病,可能需要终生治疗以减少血浆病毒血症,并且它们在长期治疗中通常是无效的。需要改善的治疗方法来治疗乙型肝炎、人类患者的HBV感染和慢性HBV。

[0006] NUC疗法恩替卡韦和替诺福韦可成功降低一些患者的病毒载量,但HBeAg血清转化率和HBsAg损失率甚至低于使用干扰素疗法所获得的HBeAg血清转化率和HBsAg损失率。其他类似的疗法,包括拉米夫定(3TC)、替比夫定(LdT)和阿德福韦也有使用,但一般用于核苷/核苷酸疗法,耐药性的出现限制了治疗效果。在大多数情况下,在未接受过其他药物治疗慢性HBV感染的患者中,尚未考虑或测试RNAi疗法。已发表的少数几项研究在未接受过既往治疗的患者中将RNAi作为第一疗法或单一疗法的一部分进行测试,尚未发现为“阳性发

作”(“PHBV”,即暗示有效的宿主免疫介导的应答并维持正常的肝合成和排泄功能)的发作(在特定时间段内,丙氨酸转氨酶水平显著增加)。先前的研究表明,使用靶向多种不同HBV基因(即S、C、P和X基因)的RNAi寡核苷酸组合,或在一些情况下单独靶向X基因转录本,实现了对HBV复制和基因表达的有效抑制。

[0007] 目前的NUC疗法抑制病毒复制,但无法成功消除HBV共价闭合环状DNA(cccDNA),从而导致HBV复制反弹,并在停止NUC治疗后可导致阴性肝发作的发展(Honer等人)。按照目前对阴性发作或阴性HBV发作(“NHBV”)的了解,这些发作是与无效免疫应答相关的发作,可包括肝功能下降。病毒“突破”时通常会观察到阴性发作,其中病毒DNA正在积累,且病毒本身在宿主组织中变得更加普遍。这一现象可见于NUC治疗、NUC治疗去除或继发于特异药物毒性的背景下与病毒变异体相关的耐药性突破的情况下。治疗期间也可能发生NHBV发作。这些事件由于HBV复制的复发和增加而发生,并且通常在至少1log HBVDNA增加之前发生。NHBV发作被认为是有害事件,很少(如果有的话)导致积极的治疗应答。在NHBV发作的情况下,HBV DNA水平可能增加,或者至少不下降,并且潜在的治疗化合物或方案可能已经失去其疗效。这种阴性发作或NHBV发作可能危及生命。在这些情况下,HBV DNA水平或“病毒载量”为病毒复制的指标。较高的HBV DNA水平通常与肝病和肝细胞癌的风险增加相关。HBV DNA水平通常响应于有效的抗病毒治疗而下降。先前批准的用于治疗慢性HBV的HBV疗法为NUC或宿主免疫应答的增强剂,例如IFN,它们具有与RNAi疗法不同的作用机制,并且在NUC的情况下很少产生有益的发作或在IFN的情况下存在大量潜在的严重副作用。如上所述,考虑到NHBV发作的可能性,NUC疗法可能是终生的,给患者及国家卫生系统带来巨大的经济负担。在这些讨论中,有关潜在药物毒性的担忧以及可能逃避预防性疫苗接种的突变体的选择也是重要考虑因素。

[0008] 在欧洲抗病毒警戒卓越网络(VIRGIL)内的一项由研究者发起的群组研究中,729例患者接受恩替卡韦(entecavir)治疗其慢性乙型肝炎,仅30例患者在第5年发展出累积发生率为6.3%的发作。在这些发作中,仅12次为“宿主诱发的”。作者解释称,“对于宿主诱导的发作,假设发作与可能导致免疫活性恢复的病毒载量下降相关。”(Hepatology Flares during long-term entecavir therapy in chronic hepatitis B,Heng Chi等人,2016)。因此,在接受NUC治疗的患者中,“有益发作”或阳性发作的发生率在每年大约1%的范围内。

[0009] 据文献,现已确定,宿主免疫应答对于HBV感染的结局发挥主要作用。在急性HBV感染期间,针对多种病毒抗原(“Ags”)的强细胞免疫应答的发展与HBV感染之消退及终生抗病毒免疫相关。

[0010] 因此,本领域非常需要发现并开发新的抗病毒疗法。需要具有确定剂量和给药方案的疗法,其能够改善对患者的乙型肝炎或HBV感染的治疗,并在更短和更长的时间内具有有利的治疗效果。更具体地说,需要能够增加HBeAg和/或HBsAg阳性血清转化率的新型抗HBV疗法。这些血清标志物表明相对于病毒的有效免疫系统活性的重新出现以及随后对HBV感染的免疫控制,其可能引起改善的患者结局、阳性发作或PHBV。最有利的是,发现可为HBV患者提供PHBV和/或增加患者组的PHBV数量的单一疗法将是有益的。单一疗法将限制患病时间和对多种作用模式的作用或协同效应的依赖,这些效应可能并非发生于所有患者中。如果这种PHBV发作代表一种有效的宿主免疫应答,导致HBeAg和/或HBsAg降低、病毒载量降低或HBV DNA的血清清除,则这种PHBV发作可能对患者有益,特别是在患者维持肝脏的合成

和排泄功能的情况下。

[0011] 应注意的是,PHBV是一种定义为丙氨酸转氨酶(ALT)水平在慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染期间突然增加的发作类型,其中患者的天然免疫应答已经证实或以细胞毒性T淋巴细胞介导的针对HBV的免疫应答的形式“重新出现”,其中ALT在T细胞攻击过程中从受感染的肝细胞中释放出来。本发明的方面提供了寡核苷酸在治疗人类患者的乙型肝炎或HBV感染的方法中的用途。在一些实施例中,本公开涉及产生持久调降HBV表面抗原(HBsAg)表达的有效寡核苷酸的开发。

发明内容

[0012] 根据本发明的第一方面,提供了一种寡核苷酸,其包含与反义链形成双链体区域的有义链,其中:

[0013] 该有义链由如

[0014] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

[0015] 在位置3、8-10、12、13和17处的2’-氟修饰的核苷酸,

[0016] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2’-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

[0017] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合;并且

[0018] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

[0019] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2’-氟修饰的核苷酸,

[0020] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2’-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

[0021] 其中该反义链的5’-核苷酸的糖的4’-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP);

[0022] 或其药用盐,

[0023] 用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法中,该方法包括经由皮下途径向该患者施用初始剂量约0.1mg/kg至约12mg/kg的该寡核苷酸。

[0024] 根据本发明的第二方面,提供了一种寡核苷酸,其包含与反义链形成双链体区域的有义链,其中:

[0025] 该有义链由如

[0026] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

[0027] 在位置3、8-10、12、13和17处的2’-氟修饰的核苷酸,

[0028] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2’-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

[0029] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合;并且

[0030] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

[0031] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0032] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间，以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0033] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP)；

[0034] 或其药用盐，

[0035] 用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法中，该方法包括经由皮下途径向该患者施用初始剂量约6mg至约800mg的寡核苷酸。

[0036] 根据本发明的第三方面，提供了一种用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法，该方法包括向该患者施用包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸，其中：

[0037] 该有义链由如

[0038] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

[0039] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0040] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0041] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合；并且

[0042] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成，并且包含

[0043] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0044] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间，以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0045] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP)，

[0046] 或其药用盐；

[0047] 该方法包括经由皮下途径向该患者施用约0.1mg/kg至约12mg/kg的初始剂量的该寡核苷酸。

[0048] 根据本发明的第四方面，提供了一种用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法，该方法包括向该患者施用包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸，其中：

[0049] 该有义链由如

[0050] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

[0051] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0052] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0053] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合；并且

[0054] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成，并且包

含

[0055] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0056] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间，以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0057] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP)，

[0058] 或其药用盐；

[0059] 该方法包括经由皮下途径向该患者施用约6mg至约800mg的初始剂量的该寡核苷酸。

[0060] 根据本发明的第五方面，提供寡核苷酸的一种用途，该寡核苷酸包含与反义链形成双链体区域的有义链，其中：

[0061] 该有义链由如

[0062] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

[0063] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0064] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0065] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合；并且

[0066] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成，并且包含

[0067] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0068] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间，以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0069] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP)，

[0070] 或其药用盐；

[0071] 该方法用于制造用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的药物，该治疗包括经由皮下途径向该患者施用初始剂量约0.1mg/kg至约12mg/kg的该寡核苷酸。

[0072] 根据本发明的第六方面，提供寡核苷酸的一种用途，该寡核苷酸包含与反义链形成双链体区域的有义链，其中：

[0073] 该有义链由如

[0074] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

[0075] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0076] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0077] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合；并且

[0078] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成，并且包

含

[0079] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0080] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间，以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0081] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP)，

[0082] 或其药用盐；

[0083] 该方法用于制造用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的药物，该治疗包括经由皮下途径向该患者施用初始剂量约6mg至约800mg的寡核苷酸。

[0084] 本文中使用的寡核苷酸为RNAi寡核苷酸。

[0085] 本发明部分基于以下寡核苷酸及它们的药用盐的发现和开发，这些寡核苷酸及它们的药用盐在患者中可在更长时间内选择性抑制和/或减少HBV的表达并可能引起或引发阳性发作/PHBV。本发明的剂量及给药方案能够改善人类患者组和亚患者组中乙型肝炎及乙型肝炎病毒HBV感染的治疗。

[0086] 本发明提供了一种单一疗法治疗的方法，其可诱导PHBV发作，特别是在HBsAg和HBV DNA减少并维持肝排泄功能的NUC患者中。其反过来表明宿主免疫系统的阳性重新出现，导致更出色的治疗结果(其可以包括免疫)。

[0087] 本文所提供的寡核苷酸经设计为靶向由所有已知基因型的HBV基因组编码的一组广泛的HBsAg转录本。已发现，本文所公开的寡核苷酸能够以高特异性产生HBsAg表达的稳定减少，其在施用于受试者后持续较长时间(例如，长于7周)。

[0088] 根据本发明，证明单独使用靶向HBsAg转录本的单一RNAi寡核苷酸也实现了HBV复制的有效抑制(且优选地，在更长时间内实现)并可诱导PHBV，提供了一种新治疗方法来治疗HBV感染，并可能为有利的治疗剂量和给药方案开启了大门，这些剂量和给药方案对于HBV患者具有增加和持久的积极结果。

[0089] 本发明的寡核苷酸的用途可为用于治疗HBV感染的单一疗法。更进一步，本发明的方法通常还可降低与HBV治疗相关的费用，同时提高总体安全性和耐受性，因为它将消除可能由其他(合并疗法)或联合疗法的需要所引起的潜在不良反应。同样，采用本发明的寡核苷酸的单一疗法，或甚至联合疗法之前的单一疗法导入期，将非常实用，因为它仅需要偶尔施用本发明的RNAi寡核苷酸。

[0090] 此外，单一疗法或联合疗法之前的单一疗法导入期可能比立即采用联合疗法进行治疗更有效地实现患者的功能性或灭菌治愈。单一疗法或单一疗法导入期可能更有效的原因在于，其它可以充分降低宿主HBsAg负担，使宿主免疫系统在不经额外治疗的情况下即可清除乙肝病毒，或者能够在HBsAg水平降低、先天免疫系统变得活跃时添加其他药物以有效清除病毒。

[0091] 根据本发明所使用的寡核苷酸可作为联合疗法提供，其中存在多种作用模式并且当逐步或同时施用时将是有益的。例如，先前批准的用于治疗慢性HBV的疗法包括口服核苷酸(核苷)逆转录酶抑制剂(NUC)或宿主免疫应答的增强剂(例如干扰素)，它们与RNAi疗法相比，各自具有不同的作用机制。

附图说明

[0092] 包含在本说明书中并构成本说明书的一部分的附图与书面说明一起示出某些实施例,用于提供本文所公开的用途和治疗方法中所使用的寡核苷酸的某些方面的非限制性实例。

[0093] 图1示出具有化学修饰且呈双链体形式的靶向HBsAg的寡核苷酸(HBVS-219)的实例。较深的阴影表示2'-O-甲基核糖核苷酸。较浅的阴影表示2'-氟-脱氧核糖核苷酸。

[0094] 图2a至图2b示出HBVS-219和HBVS-219P2的化学结构。图2a示出HBVS-219的化学结构。图2b示出HBVS-219P2的化学结构。

[0095] 图3示出HBV基因体中寡核苷酸靶位点的位置(由大写X表示)。

[0096] 图4示出NUC阳性患者(C组)治疗中HBsAg相对于基线(CBL)的平均变化。在第1、29、57和85天,NUC阳性患者接受4轮HBVS-219的治疗。黑色虚线(n=6)为群组C1、C2和C3的安慰剂对照,浅灰色实线(n=4)为接受1.5mg/kg HBVS-219治疗的群组C1,中等灰色实线(n=4)为接受3mg/kg HBVS-219治疗的群组C2,黑色实线(n=3)为接受6mg/kg HBVS-219治疗的群组C3(所有剂量都为每轮施用的剂量)。

[0097] 图5a示出群组C1中每轮接受1.5mg/kg HBVS-219治疗的HBV患者的HBsAg水平的受试者患者变化(CBL)(平均值如图4中的浅灰色实线所示)及其与群组C1安慰剂对照的比较。

[0098] 图5b示出群组C2中,每轮接受3mg/kg HBVS-219治疗的HBV患者的HBsAg水平的个体患者变化(CBL)(平均值如图4中的中等灰色实线所示)及其与群组C2安慰剂对照的比较。在图5b中,根据测试的群组C2的平均体重对结果进行了调整(每轮接受3mg/kg的四例患者和两例安慰剂对照)。

[0099] 图5c示出群组C3中每轮接受6mg/kg HBVS-219治疗的HBV患者的HBsAg水平的个体患者变化(CBL)(平均值如图4中的黑色实线所示)及其与群组C3安慰剂对照的比较。在图5c中,根据C3中的平均体重对结果进行了调整。

[0100] 图5d示出C1组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBcrAg变化。

[0101] 图5e示出C2组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBcrAg变化。

[0102] 图5f示出C3组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBcrAg变化。

[0103] 图5g示出C1组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBeAg变化。

[0104] 图5h示出C2组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBeAg变化。

[0105] 图5i示出C3组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBeAg变化。

[0106] 图5j示出C1组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBV DNA变化。

[0107] 图5k示出C2组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBV DNA变化。

[0108] 图5l示出C3组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBV DNA变化。

[0109] 图5m示出C1组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBV RNA变化。

[0110] 图5n示出C2组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBV RNA变化。

[0111] 图5o示出C3组(NUC阳性)接受治疗的患者的HBV RNA变化。

[0112] 图6a示出整个群组B1中未接受NUC HBV的患者在接受3mg/kg HBVS-219单一剂量、单一疗法治疗或安慰剂治疗时HBsAg相较于基线的平均变化(CBL)。灰色实线为接受3mg/kg HBVS-219治疗的平均值(n=6)。黑色虚线为接受安慰剂的平均值(n=3)。

[0113] 图6b示出整个群组B1中未接受NUC HBV的患者在接受3mg/kg HBVS-219单一剂量、

单一疗法治疗或安慰剂时HBsAg水平的个体变化(CBL)。接受HBVS-219治疗的患者结果显示为实线(黑色和灰色),接受安慰剂治疗的患者结果则显示为虚线(黑色和灰色)。群组B1中未接受NUC患者先前未接受过乙型肝炎的抗病毒疗法或先前HBV NUC或含干扰素的治疗。

[0114] 图6c示出群组B1中未接受NUC的患者在接受单一疗法时HBV DNA的个体患者变化。接受HBVS-219治疗的患者结果显示为实线(黑色和灰色),接受安慰剂治疗的患者结果则显示为虚线(黑色和灰色)。

[0115] 图6d示出群组B1中未接受NUC的患者在接受单一疗法时HBcrAg水平的个体变化(CBL)。接受HBVS-219治疗的患者结果显示为实线(黑色和灰色),接受安慰剂治疗的患者结果则显示为虚线(黑色和灰色)。

[0116] 图6e示出群组B1中未接受NUC的患者在接受单一疗法时施用HBVS-219后的HBeAg水平的个体变化。示出了群组B1中在基线时HBeAg呈阳性的患者的数据。接受HBVS-219治疗的患者结果显示为实线(黑色和灰色),接受安慰剂治疗的患者结果则显示为虚线(黑色)。

[0117] 图6f示出B组(未接受NUC)中接受治疗的患者的HBV RNA变化。

[0118] 图7示出群组B1患者MS76-467中HBV DNA水平降低(深灰色实线)、HBsAg水平降低(浅灰色实线)和ALT水平的峰值(黑色实线)。

[0119] 图8示出群组B1患者MS76-467的肝功能保存情况,其通过胆红素(浅灰色实线)和白蛋白(深灰色实线,不完全填充的点)来测量。ALT水平变化显示为黑色实线(根据图7)。

[0120] 图9a示出群组B1患者MS93-177的阳性HBV发作-ALT水平升高(黑色实线),HBsAg相应降低(浅灰色实线),并且HBV DNA无升高(深灰色实线)。

[0121] 图9b示出群组B1患者MS93-177的肝功能稳定性。肝合成和排泄功能水平提供为白蛋白(显示为深灰色实线和不完全填充的点)和胆红素(显示为浅灰色实线)。ALT水平显示为黑色实线(右侧刻度)。

[0122] 图10示出B1组和C组患者的注射位点相关不良事件的时间依赖性概述。

具体实施方式

[0123] 根据一些方面,本公开提供了有效的寡核苷酸,其用于有效降低细胞(特别是肝细胞,例如肝细胞(hepatocyte))中HBsAg表达以治疗HBV感染并诱导PHBV的方法中。在某些实施例中,本文提供的靶向HBsAg的寡核苷酸被设计为递送至标靶组织的选定细胞(例如,肝细胞)以治疗那些组织中的HBV感染,实现所需的治疗结果。

[0124] 根据本发明,向有此需要的受试者施用有效量的药物组合物。术语“有效量”是指实现所需的生物学效应的足够的量,该生物学效应为治疗或保护效应(换句话说,免疫保护效应),例如通过诱导阳性血清转化事件和减少HBV病毒载量。应当理解,有效剂量将取决于受治疗的受试者的年龄、性别、健康状况和体重、同时治疗的种类(如果有的话)、治疗频率和预期效果的性质。本文所提供的有效剂量的范围并非旨在限制本发明,而是代表优选的剂量范围。但是,如本领域技术人员所了解及可确定的,无需过度实验,即可针对受试者调整优选的剂量。参见例如:Ebadi,Pharmacology,Little,Brown and Co.,Boston,Mass.Eds.(1985)。

[0125] 因此,在相关方面中,本公开提供了治疗HBV感染的方法,这些方法包括选择性降低细胞(例如,肝脏的细胞)中HBV表面抗原基因的表达,以启动PHBV发作并改善受影响的患

者康复的前景。对于未接受NUC的患者来说尤其如此，在这些患者中，将本发明的当前寡核苷酸用作单一疗法。

[0126] 下文提供了本公开的其他方面，包括对定义的术语的说明。

[0127] I.定义

[0128] 施用：如本文所使用，术语“施用或给药(administering或administration)”是指以药理学上有用的方式(例如，治疗受试者的状况)向受试者提供物质(例如，寡核苷酸)。

[0129] 大约：如本文所使用，术语“大约(approximately)或约(about)”，如应用于一个或多个关注值，是指类似于所述参考值的值。在某些实施例中，除非另有说明或从上下文中可以明显看出(除非其中此类数字会超过可能值的100％)，术语“大约(approximately或about)”是指在所述参考值的任一方向(大于或小于)，值的范围落入25％、20％、19％、18％、17％、16％、15％、14％、13％、12％，11％、10％、9％、8％、7％、6％、5％、4％、3％、2％、1％或更少的范围内。

[0130] 去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)：如本文所使用，术语“去唾液酸糖蛋白受体(Asialoglycoprotein receptor)”或“ASGPR”是指由主要48kDa(ASGPR-1)和次要40kDa亚单位(ASGPR-2)所形成的二分C型凝集素。ASGPR主要在肝细胞的正弦表面表达，并在缀合、内化作用和随后循环糖蛋白(包含末端半乳糖或N-乙酰半乳胺糖残基)(去唾液酸糖蛋白)的清除中具有主要作用。

[0131] 互补：如本文所使用，术语“互补(complementary)”是指两个核苷酸之间的结构关系(例如，在两个相对的核酸上或在单个核酸链的相对区域上)，或在两个核苷酸序列之间，其允许两个核苷酸或两个核苷酸序列彼此形成碱基对。例如，与相对核酸的嘧啶核苷酸互补的核酸的嘌呤核苷酸，可以通过彼此形成氢键将碱基配对在一起。在一些实施例中，互补的核苷酸可以以Watson-Crick方式或以允许形成稳定双链体的任何其他方式将碱基配对。在一些实施例中，两个核酸可具有多个彼此互补的多核苷酸区域，以形成如本文所述的互补区域。

[0132] 脱氧核糖核苷酸：如本文所使用，术语“脱氧核糖核苷酸(deoxyribonucleotide)”是指与核糖核苷酸相比，在其五碳糖的2’位置具有氢代替羟基的核苷酸。经修饰的脱氧核糖核苷酸是在2’位置以外，具有一个或多个原子的修饰或取代的脱氧核糖核苷酸，包括在糖、磷酸基或碱基中的修饰或取代，或者包含糖、磷酸基或碱基的修饰或取代。

[0133] 双链寡核苷酸：如本文所使用，术语“双链寡核苷酸(double-stranded oligonucleotide)”是基本上呈双链体形式的寡核苷酸。在一些实施例中，在共价分离的核酸链的核苷酸的反向平行序列之间，形成双链寡核苷酸的双链体区域的互补碱基配对。在一些实施例中，在共价连接的核酸链的核苷酸的反向平行序列之间，形成双链寡核苷酸的双链体区域的互补碱基配对。在一些实施例中，双链寡核苷酸的双链体区域的互补碱基配对是由单一核酸链形成，该单一核酸链是折叠的(例如，经由发夹)，以提供碱基配对在一起的核苷酸的互补反向平行序列。在一些实施例中，双链寡核苷酸包含彼此完全双链体的两条共价分离的核酸链。然而，在一些实施例中，双链寡核苷酸包含部分双链体的两条共价分离的核酸链，例如，在一个或两个末端具有突出。在一些实施例中，双链寡核苷酸包含部分互补的核苷酸的反向平行序列，因此可以具有一个或多个错配，其可以包括内部错配或末端错配。

[0134] 双链体:如本文所使用,关于核酸(例如,寡核苷酸)的术语“双链体(duplex)”是指通过核苷酸的两个反向平行序列的互补碱基配对形成的结构。

[0135] 赋形剂:如本文所使用,术语“赋形剂(excipient)”是指可以包含在组合物中的非治疗剂,该非治疗剂是医药组合的一部分,例如用以提供或有助于所需的粘稠度或稳定作用。

[0136] 发作:如本文所使用,术语“发作(flare)”或“ALT发作(ALT flare)”被定义为显著的丙氨酸转氨酶(ALT)升高,其高于参与者基线ALT值的3倍以上或高于基线后最低点值的3倍以上(以较低者为准),其中绝对ALT值为正常上限(ULN)的至少7倍,诸如ULN的至少10倍。

[0137] 肝细胞:如本文所使用,术语“肝细胞(hepatocyte或hepatocytes)”是指肝实质组织的细胞。这些细胞约占肝脏质量的70%至85%,并制造血清白蛋白、纤维蛋白原和凝血因子(因子3和4除外)的凝血酶原组。肝细胞谱系细胞的标记可包括但不限于:甲状腺素运载蛋白(Ttr)、谷氨酰胺合成酶(Glul)、肝细胞核因子1a(Hnf1a)和肝细胞核因子4a(Hnf4a)。成熟肝细胞的标记可包括但不限于:细胞色素P450(Cyp3a11)、延胡索酰乙酰乙酸水解酶(Fah)、葡萄糖-6-磷酸(G6p)、白蛋白(Alb)和OC2-2F8。参见例如,Huch等人,2013,Nature,494(7436):247-250,其与肝细胞标记有关的内容通过引用并入本文。

[0138] 乙型肝炎病毒:如本文所使用,术语“乙型肝炎病毒(Hepatitis BVirus)”或“HBV”是属于肝病毒科家族的小DNA病毒,被归类为正肝病毒属的类型物种。HBV病毒颗粒(病毒粒子)包含外部脂质包膜和由蛋白质组成的二十面体核衣壳核心。核衣壳通常包封病毒DNA和DNA聚合酶,其具有与逆转录病毒相似的逆转录酶活性。HBV外膜包含嵌入的蛋白质,这些蛋白质参与易感细胞的病毒缀合并进入易感细胞。攻击肝脏的HBV已基于序列根据至少十种基因型(A-J)进行了分类。一般而言,基因组编码四个基因,这些基因分别称为C、P、S和X。核心蛋白由基因C(HBcAg)编码,其起始密码子之前是上游框内AUG起始密码子,由此产生前核心蛋白。HBeAg是通过蛋白酶处理前核心蛋白而产生的。DNA聚合酶由基因P编码。基因S编码表面抗原(HBsAg)。HBsAg基因是一个长开读框,但包含三个框内的“起始”(ATG)密码子,可将基因分为三个部分,即前S1(pre-S1)、前S2(pre-S2)和S。由于存在多个起始密码子,因此产生了称为大、中和小的三个不同大小的多肽(前S1+前S2+S、前S2+S或S)。它们的比例可以为1:1:4(Heermann等人,1984年)。

[0139] 乙型肝炎病毒蛋白质:乙型肝炎病毒(HBV)蛋白可以分为几种类别和功能。聚合酶具有逆转录酶(RT)的功能,可从前基因组RNA(pgRNA)制备病毒DNA,还具有DNA依赖性聚合酶的功能,可从病毒DNA制备共价闭合环状DNA(cccDNA)。它们共价地连附于负链的5’端。核心蛋白构成病毒衣壳和分泌的E抗原。表面抗原是肝细胞内化作用的配体,也是病毒球形和丝状颗粒的主要成分。产生的病毒颗粒是Dane颗粒(感染性病毒粒子)的1000倍以上,并可以作为免疫诱饵。

[0140] HBeAg血清转化:当感染HBeAg形式的病毒的人产生靶向“e”抗原的抗体时,即发生HBeAg血清转化。当HBeAg已清除、存在抗HBe且HBV DNA检测不到或低于2000IU/ml时,血清转化疾病状态被称为“非活动性HBV携带者状态”

[0141] 乙型肝炎病毒表面抗原:如本文所使用,术语“乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B virus surface antigen)”或“HBsAg”是指由HBV基因组的基因S(例如,ORF S)编码的S结构域蛋白。乙型肝炎病毒颗粒在核心颗粒中带有病毒核酸,该核心颗粒被由基因S编码的三

种蛋白包封，这三种蛋白是大表面、中表面和主要表面蛋白。在这些蛋白中，主要表面蛋白质通常约为226个氨基酸，并仅包含S结构域。表面抗原的存在表明循环中存在完整病毒。

[0142] 乙型肝炎e抗原(HBeAg)：尽管某些病毒的变异形式不表达HBeAg(参见下文“HBeAg阴性慢性乙型肝炎”)，但本文所使用的乙型肝炎e抗原(HBeAg)为病毒复制的指针。根据是否分泌HBeAg，可将活动性感染描述为HBeAg阳性或HBeAg阴性。

[0143] 感染：如本文所使用，术语“感染(infection)”是指受试者中病原的入侵和/或微生物，诸如病毒，的扩展。感染可能是溶原性的，例如病毒DNA在细胞内处于休眠状态。或者，感染可以是裂解性的，例如其中病毒活跃地增殖并引起被感染细胞的破坏。感染可能会或可能不会导致临床上明显的症状。感染可能停留在局部也可能扩散，例如透过受试者的血液或淋巴系统。可以通过测定病毒量、表面抗原(HBsAg)、e抗原(HBeAg)和本领域已知的各种其他检测HBV感染的方法中的一种或多种，来鉴定患有HBV感染的受试者。用于测定HBV感染的检测方法可包括测试血清或血液样本中HBsAg和/或HBeAg的存在，并可选地进一步筛选一种或多种病毒抗体(例如IgM和/或IgG)的存在，以弥补在任何时段中HBV抗原可能处于不可检测的水平。

[0144] 肝脏发炎：如本文所使用，术语“肝脏发炎(liver inflammation)”或“肝炎(hepatitis)”是指其中肝脏变得肿胀、功能障碍和/或疼痛的身体状况，特别是由于受伤或感染所致，这可能是由于暴露于肝毒性介质而引起的。症状可能包括黄疸(皮肤或眼睛发黄)、疲劳、虚弱、恶心、呕吐、食欲下降和体重减轻。如果不加以治疗，肝炎可能会发展为纤维化、肝硬化、肝衰竭或肝癌。

[0145] 肝纤维化：如本文所使用，术语“肝纤维化(liver fibrosis)”或“肝的纤维化(fibrosis of the liver)”是指由发炎和肝细胞死亡引起的细胞外基质蛋白在肝中的过度积累，该细胞外基质蛋白可能包括胶原蛋白(I，III和IV)、纤连蛋白、粗纤维调节素、弹性蛋白、层粘连蛋白、玻尿酸和蛋白多糖。如果不加以治疗，肝纤维化可能会发展为肝硬化，肝衰竭或肝癌。

[0146] 环：如本文所使用，术语“环(loop)”是指核酸(例如，寡核苷酸)的未配对区域，其侧翼为核酸的两个彼此充分互补的反向平行区域，从而在适当的杂交条件下(例如，在磷酸盐缓冲液中、在细胞中)，两个反向平行区域(为未配对区域的侧翼)杂交形成双链体(称为“茎”)。

[0147] 经修饰的核苷酸间键合：如本文所使用，术语“经修饰的核苷酸间键合(modified internucleotide linkage)”是指与包含磷酸二酯键合的参考核苷酸间相比具有一种或多种化学修饰的核苷酸间。在一些实施例中，经修饰的核苷酸是非自然产生的键合。通常，经修饰的核苷酸间键合赋予其中存在经修饰的核苷酸间键合的核酸一种或多种所需的特性。例如，经修饰的核苷酸可以改善热稳定性、抗降解性、核酸酶抗性、溶解性、生物利用度、生物活性、降低的免疫原性等。

[0148] 经修饰的核苷酸：如本文所使用，术语“经修饰的核苷酸(modified nucleotide)”是指与选自以下相应的参考核苷酸相比，具有一种或多种化学修饰的核苷酸：腺嘌呤核糖核苷酸、鸟嘌呤核糖核苷酸、胞嘧啶核糖核苷酸、尿嘧啶核糖核苷酸、腺嘌呤脱氧核糖核苷酸、鸟嘌呤脱氧核糖核苷酸、胞嘧啶脱氧核糖核苷酸和胸苷脱氧核糖核苷酸。在一些实施例中，经修饰的核苷酸是非自然产生的核苷酸。在一些实施例中，经修饰的核苷酸在其糖、核

碱基和/或磷酸基团中具有一个或多个化学修饰。在一些实施例中,经修饰的核苷酸具有一个或多个化学部分缀合至相应的参考核苷酸。通常,经修饰的核苷酸赋予其中存在经修饰的核苷酸的核酸一个或多个所需的特性。例如,经修饰的核苷酸可以改善热稳定性、抗降解性、核酸酶抗性、溶解性、生物利用度、生物活性、降低的免疫原性等。

[0149] 带切口的四碱基环结构:“带切口的四碱基环结构(nicked tetraloop structure)”是RNAi寡核苷酸的结构,其特征在于存在分离的有义(随从)和反义(引导)链,其中有义链具有与反义链互补的区域,且其中至少一链(通常是有义链)具有四碱基环,该四碱基环配置为稳定在该至少一链中所形成的相邻的主干区域。

[0150] 核苷酸(核苷)类似物:如本文所使用,在本文中也缩写为NUC,是指核苷酸和核苷类似物。核苷酸和核苷类似物用作抗病毒药物(抗病毒产品),包括用于治疗HBV感染。可用于治疗HBV感染的核苷类似物的非限制性实例包括恩替卡韦(Entecavir)、拉米夫定(Lamivudine)和替比夫定(Telbivudine)。可用于治疗HBV感染的核苷酸类似物的非限制性实例包括替诺福韦(Tenofovir),例如富马酸替诺福韦二吡呋酯酯(Tenofovir disoproxil fumarate,TDF)、替诺福韦埃拉酚胺(Tenofovir alafenamide)和阿德福韦酯(Adefovir dipivoxil)。

[0151] 未接受NUC:“未接受NUC”的患者被定义为先前未接受过抗病毒疗法治疗乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的患者。

[0152] NUC阳性:“NUC阳性”或“NUC抑制”的患者被定义为先前未接受过连续至少12周的核苷酸(核苷)类似物(NUC)治疗(例如恩替卡韦(entecavir)或替诺福韦(tenofovir))的患者。

[0153] 寡核苷酸:如本文所使用,术语“寡核苷酸(oligonucleotide)”是指短核酸,例如,长度为小于100个核苷酸。寡核苷酸可以是单链或双链。寡核苷酸可以具有或可以不具有双链体区域。举一组非限制性的实例,寡核苷酸可以是但不限于小干扰RNA(siRNA)、微小RNA(miRNA)、小发夹RNA(shRNA)、切丁酶底物干扰RNA(dsiRNA)、反义寡核苷酸、短siRNA或单链siRNA。在一些实施例中,双链寡核苷酸是RNAi寡核苷酸。

[0154] 突出:如本文所使用,术语“突出(overhang)”是指末端非碱基配对核苷酸,其由延伸超过互补链的末端的一链或一个区域所形成,该一链或一个区域与该互补链形成双链体。在一些实施例中,突出包含从双链寡核苷酸的5’末端或3’末端的双链体区域延伸的一个或多个未配对的核苷酸。在某些实施例中,突出是在双链寡核苷酸的反义链或有义链上的3’或5’突出。

[0155] 药用盐:术语“药用盐(pharmaceutically acceptable salt)”是指在合理的医学判断范围内,适用于与人类及低等动物组织接触而无过度毒性、刺激性、过敏反应等并与合理的收益/风险比相称的盐类。药用盐为本领域中所熟知。例如,S.M.Berge等人在以下文献中详细介绍了药用盐:J.Pharmaceutical Sciences,1977,66,1-19,该文献通过引用并入本文。本发明的化合物的药用盐包括衍生自合适的无机和有机酸和碱的那些。药用的无毒酸加成盐的实例为氨基与无机酸(例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸)或与有机酸(例如乙酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸)或通过使用本领域中所使用的其他方法(例如离子交换)所形成的盐类。其他药用盐包括己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬

酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸酯、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙烷磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酯酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。衍生自适当的碱的盐包括碱金属盐、碱土金属盐、铵盐和$N^{+}(C_{1-4}$烷基$)_{4}$盐。代表性碱金属盐或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等。其他药用盐包括(在适当的情况下)使用抗衡离子(例如卤离子、氢氧化物、羧酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、低级烷基磺酸盐和芳基磺酸盐)所形成的无毒的铵、季铵和胺阳离子。

[0156] 磷酸酯类似物:如本文所使用,术语“磷酸酯类似物(phosphate analog)”是指模拟磷酸基的静电和/或立体特性的化学部分。在一些实施例中,磷酸酯类似物位于寡核苷酸的5’末端的核苷酸处替代5’-磷酸盐,其通常易于以酶除去。在一些实施例中,5’磷酸酯类似物含有抗磷酸酶键合。磷酸酯类似物的实例包括5’膦酸酯,例如5’亚甲基膦酸酯(5’-MP)和5’-(E)-乙烯基膦酸酯(5’-VP)。在一些实施例中,寡核苷酸在5’-末端的核苷酸的糖的4’-碳位置上,具有磷酸酯类似物(称为“4’-磷酸酯类似物”)。4′-磷酸酯类似物的一个实例是氧甲基膦酸酯,其中氧甲基的氧原子缀合到糖部分(例如在其4′-碳上)或其类似物。参见例如WO 2018/045317和WO2018/045317,其各自涉及磷酸盐类似物的内容通过引用并入本文。针对寡核苷酸的5’端的其他修饰已被开发(参见例如,WO 2011/133871;美国专利第8,927,513号;及Prakash等人(2015),Nucleic Acids Res.,43(6):2993-3011,其各自涉及磷酸盐类似物的内容通过引用并入本文。

[0157] 降低表现:如本文所使用,术语基因的“降低表达(reduced expression)”是指与适当的参考细胞或受试者相比,在一个细胞或受试者中,由基因编码的RNA转录物或蛋白质的量的减少和/或基因活性的量的减少。例如,用双链寡核苷酸(例如,一个具有与HBsAg mRNA序列互补的反义链)治疗细胞的行为,与未用双链寡核苷酸治疗的细胞相比,可能导致RNA转录本、蛋白质和/或酶活性(例如,由HBV基因组的S基因编码)的减少。类似地,本文所用的“降低表达”是指导致基因(例如,HBV基因组的S基因)表达降低的行为。

[0158] 互补的区域:如本文所使用,术语“互补的区域(region of complementarity)”是指核酸的核苷酸序列(例如,双链寡核苷酸),其与核苷酸的反向平行序列充分互补,以允许两个核苷酸序列之间在适当的杂交条件下(例如在磷酸盐缓冲液、在细胞等中)杂交。

[0159] 核糖核苷酸:如本文所使用,术语“核糖核苷酸(ribonucleotide)”是指具有核糖作为其五碳糖的核苷酸,其在其2’位置含有羟基。经修饰的核糖核苷酸是在2’位置以外,具有一个或多个原子的修饰或取代的核糖核苷酸,包括在核糖、磷酸基或碱基中的修饰或取代,或者包含核糖、磷酸基或碱基的修饰或取代。

[0160] RNAi寡核苷酸:如本文所使用,术语“RNAi寡核苷酸(RNAi oligonucleotide)”是指(a)具有有义链(随从)和反义链(引导)的双链寡核苷酸,其中通过Argonaute 2(Ago2)核酸内切酶使用该反义链或部份的该反义链分切割靶mRNA,或(b)具有单独反义链的单链寡核苷酸,其中通过Ago2核酸内切酶使用该反义链(或部分的该反义链)切割靶mRNA。

[0161] 依次:两种或更多种药剂的施用可间隔例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或一周或多周开始,或第二和/或

更多种药剂的施用可在第一药剂已施用后例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或一周或多周后开始。

[0162] 血清转化:当感染HBeAg形式的病毒的人产生靶向“e”抗原的抗体时,即发生HBeAg血清转化。当HBeAg已清除、存在抗HBe且HBV DNA检测不到或低于2000IU/ml时,血清转化疾病状态被称为“非活动性HBV携带者状态”。

[0163] 链:如本文所使用,术语“链”是指通过核苷酸间键合(例如,磷酸二酯键合、硫代磷酸酯键合)连接在一起的核苷酸的单一连续序列。在一些实施例中,一链具有两个自由端,例如5’端和3’端。

[0164] 受试者:如本文所用,术语“受试者”或“患者”是指人类。术语“个体(individual)”或“患者(patien)”可以与“受试者(subject)”互换使用。

[0165] 合成:如本文所使用,术语“合成物(synthetic)”是指人工合成的核酸或其他分子(例如,使用机器(例如,固相核酸合成仪)),或不是由其他通常产生该分子的天然来源(例如,细胞或生物体)所获得的核酸或其他分子。

[0166] 靶向配体:如本文所使用,术语“靶向配体(targeting ligand)”是指与关注的组织或细胞的同源分子(例如,受体)选择性缀合的一分子(例如,碳水化合物、氨糖、胆固醇、多肽或脂质),且该分子为了将其他物质靶向至关注的组织或细胞,可与另一种物质缀合。例如,在一些实施例中,可以将靶向配体与寡核苷酸缀合,以将寡核苷酸靶向感兴趣的特定组织或细胞。在一些实施例中,靶向配体选择性缀合细胞表面受体。因此,在一些实施例中,靶向配体当缀合至寡核苷酸时,通过选择性缀合至细胞表面表达的受体和复合体细胞的核内体内化作用,从而促进将寡核苷酸递送至特定细胞中,该复合体包含寡核苷酸、靶向配体和受体。在一些实施例中,靶向配体经由连接子与寡核苷酸缀合,该连接子在细胞的内化作用之后或过程中切割,从而在细胞中使靶向配体释放寡核苷酸。

[0167] 四碱基环:如本文所使用,术语“四碱基环(tetraloop)”是指通过核苷酸的两旁序列的杂交,形成增加相邻双链体的稳定性的环。稳定性的增加是可检测到的,由于相邻的主干双链体(adjacent stem duplex)的熔解温度(T_m)的升高,比一组可比长度的环所预期的相邻的主干双链体的平均T_m高,该可比长度的环是由随机选择的核苷酸序列所组成的。例如,在10mM $NaHPO_4$中,四碱基环可以赋予包含至少2个碱基对长度的双链体的发夹至少50℃、至少55℃、至少56℃、至少58℃、至少60℃、至少65℃或至少75℃的熔解温度。在一些实施例中,四碱基环可通过堆叠的相互作用来稳定相邻的主干双链体中的碱基对。另外,四碱基环中核苷酸之间的相互作用包括但不限于非沃森克里克碱基配对(non-Watson-Crick base-pairing)、堆叠的相互作用、氢键和接触相互作用(Cheong等人,Nature1990年8月16日,346(6285):680-82;Heus和Pardi,Science 1991年7月12日,253(5016):191-94)。在一些实施例中,四碱基环包含3至6个核苷酸或由3至6个核苷酸组成,且通常为4至5个核苷酸。在某些实施例中,四碱基环包含三、四、五或六个核苷酸或由三、四、五或六个核苷酸组成,这些核苷酸可以经修饰或可以不经修饰(例如,可以与或可以不与靶向部分缀合)。在一个实施例中,四碱基环由四个核苷酸组成。在四碱基环中可以使用任何核苷酸,此类核苷酸可以使用的标准IUPAC-IUB符号如Cornish-Bowden(1985)Nucl.Acids Res.13:3021-30中所述。例如,字母“N”可以用来表示任何碱基都可以在该位置,字母“R”可以用来表示A(腺嘌呤)或G(鸟嘌呤)可以在该位置,而“B”可用于表示C(胞嘧啶)、G(鸟嘌呤)或T(胸腺嘧啶)可

以在该位置。四碱基环的实例包括四碱基环的UNCG家族(例如,UUCG)、四碱基环的GNRA家族(例如,GAAA)和CUUG四碱基环(Woese等人,Proc Natl Acad Sci USA,1990年11月,87(21),8467-71;Antao等人,Nucleic Acids Res,1991年11月11日,19(21):5901-05)。DNA四碱基环的实例包括四碱基环的d(GNNA)家族(例如d(GTTA))、四碱基环的d(GNRA)家族、四碱基环的d(GNAB)家族、四碱基环的d(CNNG)家族和四碱基环的d(TNCG)家族(例如d(TTCG))。参见,例如:Nakano等人,Biochemistry,41(48),14281-14292,2002。SHINJI等人,Nippon Kagakkai Koen Yokoshu,第78卷,第2期,第731页(2000),其相关公开内容通过引用并入本文。在一些实施例中,四碱基环包含在带切口的四碱基环结构内。

[0168] 治疗:如本文所使用,术语"治疗(treat)"是指例如通过对受试者施用治疗剂(例如,寡核苷酸)向有此需要的受试者提供治疗的行为,其目的在于针对存在的病症(例如,HBV感染)改善受试者的身体和/或健康,或者预防或减少病症发生的可能性(例如,预防肝纤维化、肝炎、肝癌或其他与HBV感染有关的病症)。在一些实施例中,治疗涉及降低受试者经历的病症(例如,HBV感染或相关病症)的至少一种体征、症状或促成因素的频率或严重性。在HBV感染期间,受试者可能表现出诸如皮肤和眼睛发黄(黄疸)、小便黄赤、极度疲劳、恶心、呕吐和腹痛等症状。因此,在一些实施例中,本文所提供的治疗可导致一种或多种此类症状的频率或严重性降低。但是,HBV感染会发展为一种或多种肝病,例如肝硬化、肝纤维化、肝炎或肝癌。因此,在一些实施例中,本文所提供的治疗可导致一种或多种这样的病症的频率或严重性降低,或预防或减轻。

[0169] 病毒载量:术语"病毒载量(viral load)"是指血液中病毒(例如HBV)的浓度。

[0170] II.剂量和给药方案

[0171] 剂量

[0172] 根据本发明的寡核苷酸以限定的剂量施用。术语"剂量(dose)"用于指根据患者体重的质量单位,用mg/kg来表示。当指称固定剂量(或绝对剂量)时,也使用术语"剂量(dose)",用mg来表示。根据本发明的剂量可以是范围和/或单一值。

[0173] 初始剂量范围

[0174] 如本发明所使用的寡核苷酸以约0.1mg/kg至约12mg/kg的初始剂量施用。初始剂量可为约0.5mg/kg至约10mg/kg。初始剂量可为约1.5mg/kg至约6mg/kg。如本发明所使用的寡核苷酸可具有约1.5mg/kg的初始剂量。初始剂量可为约3mg/kg。初始剂量可为约6mg/kg。初始剂量可为0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、7、8、9、10、11、或12mg/kg。

[0175] 用不同方式表示,如本发明所使用的寡核苷酸以约6mg至约800mg的初始剂量施用。初始剂量可为约34mg至约667mg。初始剂量可为约100mg至约400mg。如本发明所使用的寡核苷酸可具有约100mg的初始剂量。初始剂量可为约200mg。初始剂量可为约400mg。初始剂量可为约6、7、30、34、35、50、90、100、105、150、180、200、210、236、250、300、350、400、420、450、500、550、600、650、667、700、720、750或800mg。

[0176] 初始和后续剂量

[0177] 在一些实施例中,本发明涉及施用初始剂量和一个或多个后续剂量。

[0178] 如本发明所使用的寡核苷酸可包含以约0.1mg/kg至约12mg/kg的量向该患者施用一个或多个后续剂量的寡核苷酸。这些一个或多个后续剂量可为约0.5mg/kg至约10mg/kg。这些一个或多个后续剂量可为约1.5mg/kg至约6mg/kg。这些一个或多个后续剂量可为约

1.5mg/kg。这些一个或多个后续剂量可为约3mg/kg。这些一个或多个后续剂量可为约6mg/kg。这些一个或多个后续剂量可为0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、7、8、9、10、11或12mg/kg。

[0179] 初始剂量和后续剂量中的每个的量可以相同或可以不同，并可独立地选自由以下项所组成的组：约1.5mg/kg、约3mg/kg和约6mg/kg。

[0180] 如本发明所使用的寡核苷酸可进一步包含以约6mg至约800mg的量向该患者施用一个或多个后续剂量的寡核苷酸。这些一个或多个后续剂量可为约34mg至约667mg。这些一个或多个后续剂量可为约100mg至约400mg。

[0181] 这些一个或多个后续剂量可为约100mg。这些一个或多个后续剂量可为约200mg。这些一个或多个后续剂量可为约400mg。这些一个或多个后续剂量可为50、100、150、200、250、300、350、400、500、600、700或800mg。

[0182] 初始剂量和后续剂量中的每个的量可以相同或可以不同，并可独立地选自由以下项所组成的组：约100mg、约200mg和约400mg。

[0183] 提供了根据本发明所使用的寡核苷酸，其中这些一个或多个后续剂量可为约6、7、30、34、35、50、90、100、105、150、180、200、210、236、250、300、350、400、420、450、500、550、600、650、667、700、720、750或800mg。

[0184] 给药时间

[0185] 在一些实施例中，本发明涉及在时间上彼此间隔施用初始剂量和一个或多个后续剂量。

[0186] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约四周。这些剂量在时间上可彼此间隔至少约一个月。这些剂量在时间上可彼此间隔至少约两个月。这些剂量在时间上可彼此间隔至少约三个月。这些剂量在时间上可彼此间隔至少约六个月。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0187] 给药方案

[0188] 在一些实施例中，本发明涉及一种给药方案。

[0189] 如本发明所使用的寡核苷酸可根据给药方案施用，该给药方案提供或实现对乙型肝炎或HBV感染的有效治疗、治愈或功能性治愈。

[0190] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约四周，例如约四周，并在约48周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0191] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约一个月，例如约一个月，并在约48周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0192] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约两个月，例如约两个月，并在约48周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0193] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约三个月，例如约三个月，并在约48周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。

这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0194] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约四周，例如约四周，并在约24周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0195] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约一个月，例如约一个月，并在约24周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0196] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约两个月，例如约两个月，并在约24周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0197] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约三个月，例如约三个月，并在约24周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0198] 这些剂量在时间上可彼此间隔约四周，并在约三个月的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0199] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约一个月，例如约一个月，并在约三个月的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0200] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约四周，例如约四周，并在约12周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0201] 这些剂量在时间上可彼此间隔至少约一个月，例如约一个月，并在约12周的时段内施用。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0202] 这些剂量在时间上可彼此间隔约四周至约一个月的时段。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0203] 这些剂量在时间上可彼此间隔约四周至约两个月(例如约一个月至约两个月)的时段。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0204] 这些剂量在时间上可彼此间隔约四周至约三个月的时段，例如约一个月至约三个月，例如约两个月至约三个月。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0205] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中这些剂量在时间上可彼此间隔约四周至约六个月的时段，例如约一个月至约六个月，例如约两个月至约六个月，例如约三个月至约六个月。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同，或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0206] 这些剂量中的每个之间的时间段可独立地选自由以下项所组成的组:约四周、约一个月、约两个月、约三个月或约六个月。这些剂量中的每个可以相同,或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同,或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0207] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸,其中这些剂量中的每个之间的时间段如下表1中的治疗方案A-O中的任何一个所示。在表1的上下文中,这些剂量中的每个可以相同,或者可选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。这些剂量中的每个可以相同,或者可选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0208] 表1.

[0209]

TR	NOD	TD	治疗假期期间(根据TR、NOD和TD施用最后一剂之后的月数)
A	1	NA	1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18
B	2	4W	
C	3	4W	
D	4	4W	
E	5	4W	
F	1	8W	
G	2	8W	
H	3	8W	
I	4	8W	
J	5	8W	
K	1	NA	
L	2	V1	
M	3	V2	
N	4	V2	
O	5	V2	

[0210] TR=治疗方案,NOD=剂量数,NA=不适用,TD=剂量之间的时间,V1-V2=剂量之间的可变时间,V1=4或8或12或16或20或24周,V2=每个剂量之间间隔4或8或12或16或20或24周(例如,在方案M中,施用第一剂,然后在4周后施用第二剂,然后在8周后施用第三剂)。

[0211] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸,其包含向该患者施用至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个或至少十个后续剂量。实际上,可施用任何数量的剂量或后续剂量,例如直至提供有效的治疗、治愈或后续治愈。可重复本文所提供的任何给药方案,例如直至实现或提供有效的治疗、治愈、功能性治愈、终点或替代终点。

[0212] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸,其中该方法包括治疗假期,优选为约三个至约六个月。治疗假期可为表1中方案A-O中的任何一个所公开的长度。

[0213] 初始剂量与一至十个(优选为三个)后续剂量中的每个之间的时间段可为至少约四周,该方法进一步包括约三个月至约六个月的治疗假期,在该治疗假期后,重新开始施用寡核苷酸。

[0214] 重新开始的施用可包括一至十个(优选为三个)后续剂量,优选地,每个重新开始的后续剂量间隔至少约四周的时段。

[0215] “治疗假期”的概念也可由本领域技术人员用“开放期”和“关闭期”来描述,其中在

“开放期”内，患者接受积极的治疗计划，例如本文所述的每四周或每月一次的给药方案。在“关闭期”内，患者出于治疗假期，其中患者不接受积极治疗。治疗假期的关闭期也可描述为治疗中断。在治疗假期或中断期间，可监测患者的HBV症状或生物标记，特别是用于确定是否需要重新开始治疗。合适的生物标记如本文所述。

[0216] 单一疗法

[0217] 在一些实施例中，本发明涉及单一疗法。

[0218] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中初始剂量可为单一剂量或者可为施用的唯一剂量。

[0219] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中方法可包括施用寡核苷酸或者由或基本上由施用寡核苷酸组成。

[0220] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中方法可由或基本上由施用寡核苷酸组成，以排除其他抗病毒剂或抗HBV剂。

[0221] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中方法可包括施用单一剂量的寡核苷酸或者由或基本上由施用单一剂量的寡核苷酸组成。

[0222] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中乙型肝炎或HBV感染的治疗、治愈或功能性治愈通过施用初始剂量、一个剂量或单一剂量的寡核苷酸来提供。

[0223] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中乙型肝炎或HBV感染的治疗作为单一疗法来提供。

[0224] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中寡核苷酸作为单一疗法进行施用。

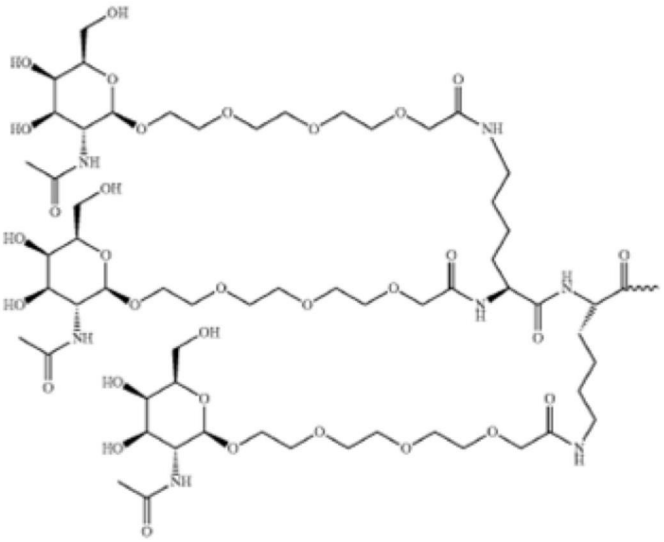
[0225] 联合疗法

[0226] 在一些实施例中，本发明涉及联合疗法。

[0227] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中该方法进一步包括施用有效量的至少一种另外的治疗剂。该另外的治疗剂可为抗病毒剂。抗病毒剂可为另外的抗HBV剂。抗病毒疗法可为以下项中的一项或多项：干扰素；利巴韦林；HBV RNA复制抑制剂；第二反义寡聚体；HBV治疗性疫苗；HBV预防性疫苗；拉米夫定(3TC)；恩替卡韦；替诺福韦；替比夫定(LdT)；阿德福韦；HBV抗体疗法(单克隆或多克隆)；抗PDL1/PD1单克隆抗体；抗PD-L1反义寡核苷酸；TLR7激动剂；TLR8激动剂；和CpAM。

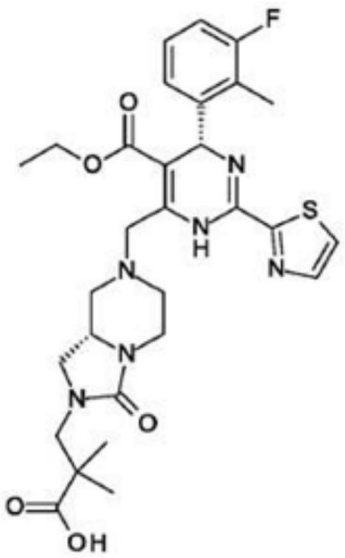
[0228] 干扰素可为干扰素α-2b、干扰素α-2a和干扰素αcon-1(聚乙二醇化和非聚乙二醇化)。IFN-α的实例包括但不限于Pegasys®(Roche)、PEG-Intron®(Merck&Co.,Inc.)和Y聚乙二醇化重组干扰素α-2a(YPEG-IFNα-2a，厦门特宝生物工程股份有限公司)。

[0229] WO2017157899中公开了抗PDL1反义寡核苷酸，其全部内容以引用方式并入本文。优选地，抗PDL1 LNA反义寡核苷酸为WO2017157899中所公开的CMP ID NO:768_2或其药用盐。优选地，PDL1 LNA反义寡核苷酸包含SEQ ID NO:3所示的序列。在一优选的实施例中，抗PD-L1反义寡核苷酸具有式GN2-C6ocoaoCCtatttaacatcAGAC(化合物I)，其中C6表示具有6个碳的氨基烷基，大写字母表示β-D-氧基LNA核苷，小写字母表示DNA核苷，所有LNA C为5-甲基胞嘧啶，下标o表示磷酸二酯核苷键合，且除非另有说明，否则所有核苷间键合为硫代磷酸酯核苷间键合，并且其中GN2表示以下三价GalNAc簇：

[0230] 

[0231] 并且进一步地其中该三价GalNAc簇的波浪线示出该三价GalNAc簇与该C6氨基烷基的缀合位点;或其药用盐。

[0232] WO2015132276中公开了CpAM,其全部内容以引用方式并入本文。优选地,CpAM为化合物II:

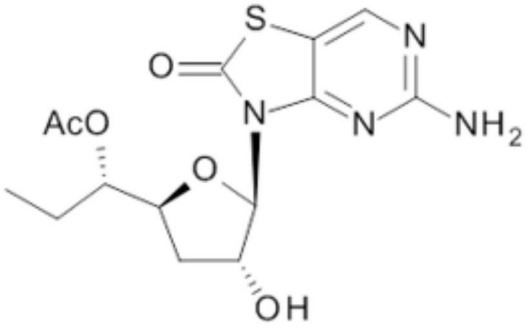
[0233] 

(I)

[0234] 或其药用盐、对映异构体或非对映异构体。

[0235] 术语“CpAM”具体表示诱导异常衣壳随后降解的HBV核心蛋白变构调节剂的I类化合物,包括但不限于GLS4(Sunshine Pharma)、QL-007(齐鲁)、KL060332(四川科伦药业股份有限公司)和化合物(II),其公开于WO2015132276中。

[0236] TLR7激动剂公开于JP2020100637、WO2018127526及US20190169222中的任何一个中,其各自全部内容以引用方式并入本文。优选地,TLR7激动剂为化合物III:

[0237] 

(II)

[0238] 或其药用盐、对映异构体或非对映异构体；

[0239] 抗病毒疗法可为以下各项中的一项或多项，例如全部三种：化合物I；化合物II或其药用盐、对映异构体或非对映异构体；和化合物III或其药用盐、对映异构体或非对映异构体。

[0240] 该另外的治疗剂可为抗病毒剂。抗病毒剂可为另外的抗HBV剂。抗病毒剂可选自干扰素α-2b、干扰素α-2a、干扰素αcon-1(聚乙二醇化和非聚乙二醇化)、利巴韦林；HBV RNA复制抑制剂；第二反义寡聚体；HBV治疗性疫苗；HBV预防性疫苗；拉米夫定(3TC)；恩替卡韦；替诺福韦；替比夫定(LdT)；阿德福韦；和HBV抗体疗法(单克隆或多克隆)。抗病毒剂可为核苷酸(核苷)类似物(NUC)。抗病毒剂可为恩替卡韦或其前驱药或其活性成分、替诺福韦或其前驱药或其活性成分。

[0241] 在一个实施例中，HBV抗体疗法为与乙型肝炎表面抗原结合(抗-HBsAg)的抗体。寡核苷酸与抗-HBsAg抗体的组合可导致患者中HBsAg的血清清除。抗HbsAg抗体可为单克隆抗体。抗-HBsAg抗体可为人抗体。

[0242] 在一个实施例中，抗-HBsAg抗体包含重链可变结构域(VH)和轻链可变结构域(VL)，该重链可变结构域包含(a)CDR-H1，其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列，(b)CDR-H2，其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列，和(c)CDR-H3，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列；该轻链可变结构域包含(d)CDR-L1，其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列，(e)CDR-L2，其包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，和(f)CDR-L3，其包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列。在另一实施例中，抗体包含选自由以下项所组成的组的序列：(a)VH序列，其与SEQ ID NO:19的氨基酸序列具有至少95％序列同一性；(b)VL序列，其与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有至少95％序列同一性；和(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。在另一实施例中，抗体包含SEQ ID NO:19的VH序列和SEQ ID NO:18的VL序列。在另一实施例中，抗体包含SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:76的重链和SEQ ID NO:20的轻链。

[0243] 在一个实施例中，抗-HBsAg抗体包含重链可变结构域(VH)和轻链可变结构域(VL)，该重链可变结构域包含(a)CDR-H1，其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列，(b)CDR-H2，其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列，和(c)CDR-H3，其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列；该轻链可变结构域包含(d)CDR-L1，其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列，(e)CDR-L2，其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列，和(f)CDR-L3，其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。在另一实施例中，抗体包含选自由以下项所组成的组的序列：(a)VH序列，其与SEQ ID NO:37的氨基酸序列具有至少95％序列同一性；(b)VL序列，其与SEQ ID NO:36的氨基酸序列具有至少95％序列同一性；和(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。在另一实施例

中,抗体包含SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:36的VL序列。在另一实施例中,抗体包含SEQ ID NO:39或SEQ ID NO:77的重链和SEQ ID NO:38的轻链。

[0244] 在一个实施例中,抗-HBsAg抗体包含重链可变结构域(VH)和轻链可变结构域(VL),该重链可变结构域包含(a)CDR-H1,其包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,(b)CDR-H2,其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,和(c)CDR-H3,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;该轻链可变结构域包含(d)CDR-L1,其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,(e)CDR-L2,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,和(f)CDR-L3,其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列。在另一实施例中,抗体包含选自由以下项所组成的组的序列:(a)VH序列,其与SEQ ID NO:55的氨基酸序列具有至少95%序列同一性;(b)VL序列,其与SEQ ID NO:54的氨基酸序列具有至少95%序列同一性;和(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。在另一实施例中,抗体包含SEQ ID NO:55的VH序列和SEQ ID NO:54的VL序列。在另一实施例中,抗体包含SEQ ID NO:57或SEQ ID NO:78的重链和SEQ ID NO:56的轻链。

[0245] 在一个实施例中,抗-HBsAg抗体包含重链可变结构域(VH)和轻链可变结构域(VL),该重链可变结构域包含(a)CDR-H1,其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,(b)CDR-H2,其包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列,和(c)CDR-H3,其包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列;该轻链可变结构域包含(d)CDR-L1,其包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列,(e)CDR-L2,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列,和(f)CDR-L3,其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列。在另一实施例中,抗体包含选自由以下项所组成的组的序列:(a)VH序列,其与SEQ ID NO:73的氨基酸序列具有至少95%序列同一性;(b)VL序列,其与SEQ ID NO:72的氨基酸序列具有至少95%序列同一性;和(c)如(a)中所定义的VH序列和如(b)中所定义的VL序列。在另一实施例中,抗体包含SEQ ID NO:73的VH序列和SEQ ID NO:72的VL序列。在另一实施例中,抗体包含SEQ ID NO:75或SEQ ID NO:79的重链和SEQ ID NO:74的轻链。

[0246] 在一个实施例中,抗体包含如本文所述的轻链和如本文所述的重链,其通过选自由以下项所组成的组的取代进行修饰:

[0247] i)M252Y、S254T和T256E;

[0248] ii)M428L、N434A和Y436T;

[0249] iii)N434A;以及

[0250] iv)T307H和N434H。

[0251] 根据本发明的某些抗体的CDR、骨架区域(FW)、VH、VL、重链和轻链如下表2中所述:

[0252] 表2:抗体序列

[0253]

SEQ ID NO:	说明	序列
4	Bc1.187 CDR-H1	NYGMQ
5	Bc1.187 CDR-H2	IIWADGTKQYYGDSVKG
6	Bc1.187 CDR-H3	DGLYASAPNDV
7	Bc1.187 CDR-L1	RASQRISTYLN
8	Bc1.187-CDR-L2	GASSLQS
9	Bc1.187 CDR-L3	QQTYTLPPN
10	Bc1.187 H-FW1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCEASGFTFS
11	Bc1.187 H-FW2	WVRQAPGKGLEWVA
12	Bc1.187 H-FW3	FTISRDNFKNTLYLQMNSLRGEDTAMYFCAR
13	Bc1.187 H-FW4	WGQGTLVTVSS
14	Bc1.187 L-FW1	DIQMTQSPSSLSAYVGDRVTITC
15	Bc1.187 L-FW2	WYHQRPGKSPSLLIY
16	Bc1.187 L-FW3	GVPSRFSASASGTDFTLTISSLRPEDLGTYYC
17	Bc1.187 L-FW4	SGGGTKVEIK
18	Bc1.187 VL	DIQMTQSPSSLSAYVGDRVTITCRASQRISTYLNWYH QRPGKSPSLLIYGASSLQSGVPSRFSASASGTDFTLTIS SLRPEDLGTYYCQQTYTLPPNSGGGTKVEIK
19	Bc1.187 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCEASGFTFSNYGMQW VRQAPGKGLEWVAIIWADGTKQYYGDSVKGRFTISR DNFKNTLYLQMNSLRGEDTAMYFCARDGLYASAPN DVWGQGTLVTVSS

[0254]

SEQ ID NO:	说明	序列
20	Bc1.187 全长轻链	DIQMTQSPSSLSAYVGDRVTITCRASQRISTYLNWYH QRPGKSPSLLIYGASSLQSGVPSRFSASASGTDFTLTIS SLRPEDLGTYYCQQTYTLPPNSGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
21	Bc1.187 全长重链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCEASGFTFSNYGMQW VRQAPGKGLEWVAIIWADGTKQYYGDSVKGRFTISR DNFKNTLYLQMNSLRGEDTAMYFCARDGLYASAPN DVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
22	Bc3.106 CDR-H1	SYAMS
23	Bc3.106 CDR-H2	AFSGTGGSTYYADSVKG
24	Bc3.106 CDR-H3	DPGHTSNWRDNYQYYQMDV
25	Bc3.106 CDR-L1	RASQGIRNDLG
26	Bc3.106-CDR-L2	AASSLQS
27	Bc3.106 CDR-L3	LQHNSYPRT
28	Bc3.106 H-FW1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFG
29	Bc3.106 H-FW2	WVRQAPGKGLKWVS
30	Bc3.106 H-FW3	RFTISRDNSKNTLYLQMNNLRAEDTAVYFCAK
31	Bc3.106 H-FW4	WGQGTTVTVSS
32	Bc3.106 L-FW1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
33	Bc3.106 L-FW2	WYQQKPGKAPKRLIY
34	Bc3.106 L-FW3	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC
35	Bc3.106 L-FW4	FGQGTKVEIK
36	Bc3.106 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQ QKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIK
37	Bc3.106 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFGSYAMSW VRQAPGKGLKWVSAFSGTGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNNLRAEDTAVYFCAKDPGHTSNWR DNYQYYQMDVWGQGTTVTVSS
38	Bc3.106 全长轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQ QKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTIS SLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE

[0255]

SEQ ID NO:	说明	序列
		KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
39	Bc3.106 全长重链	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFGSYAMSW VRQAPGKGLKWVSAFSGTGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNNLRAEDTAVYFCAKDPGHTSNWR DNYQYYQMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
40	Bv4.115 CDR-H1	NYHIH
41	Bv4.115 CDR-H2	IINPRRLSTAYAPKFQG
42	Bv4.115 CDR-H3	DAGDDTSGPFDS
43	Bv4.115 CDR-L1	RASQSINTWLA
44	Bv4.115-CDR-L2	KASSLES
45	Bv4.115 CDR-L3	QQYNTFS
46	Bv4.115 H-FW1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRSSGYRFT
47	Bv4.115 H-FW2	WVRQAPGQGLEWVG
48	Bv4.115 H-FW3	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSDDTAVYYCAR
49	Bv4.115 H-FW4	WGQGTLVTVSS
50	Bv4.115 L-FW1	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC
51	Bv4.115 L-FW2	WYQQKPGKAPKLLIS
52	Bv4.115 L-FW3	GVPSRFSGSGSGTEFTLSISSLQPDDFATYYC
53	Bv4.115 L-FW4	FGQGTKLEIK
54	Bv4.115 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSINTWLAWYQ QKPGKAPKLLISKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLSIS SLQPDDFATYYCQQYNTFSFGQGTKLEIK
55	Bv4.115 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRSSGYRFTNYHIHW VRQAPGQGLEWVGIINPRRLSTAYAPKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSDDTAVYYCARDAGDDTSGPF DSWGQGTLVTVSS
56	Bv4.115 全长轻链	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSINTWLAWYQ QKPGKAPKLLISKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLSIS SLQPDDFATYYCQQYNTFSFGQGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
57	Bv4.115 全长重链	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRSSGYRFTNYHIHW VRQAPGQGLEWVGIINPRRLSTAYAPKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSDDTAVYYCARDAGDDTSGPF DSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA

[0256]

SEQ ID NO:	说明	序列
		LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
58	Bc8.159 CDR-H1	TNNWWS
59	Bc8.159 CDR-H2	EIHHIGSTNYNPSLKS
60	Bc8.159 CDR-H3	GRLGITRDRYYFDS
61	Bc8.159 CDR-L1	QASQDISNYLN
62	Bc8.159-CDR-L2	DTSSLER
63	Bc8.159 CDR-L3	QQYYNLPHT
64	Bc8.159 H-FW1	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGTIR
65	Bc8.159 H-FW2	WVRQPPGKGLEWIG
66	Bc8.159 H-FW3	QVTISVDKSKNQFSLNLSSVTAADTALYYCVR
67	Bc8.159 H-FW4	WGRGTLVTVSS
68	Bc8.159 L-FW1	DIQMTQSPSPLSVSVGDRVTITC
69	Bc8.159 L-FW2	WYQQKPGQAPKLLIY
70	Bc8.159 L-FW3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYHC
71	Bc8.159 L-FW4	FGQGTKLEIK
72	Bc8.159 VL	DIQMTQSPSPLSVSVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQ QKPGQAPKLLIYDTSSLERGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDIATYHCQQYYNLPHTFGQGTKLEIK
73	Bc8.159 VH	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGTIRTNNWWS WVRQPPGKGLEWIGEIHHIGSTNYNPSLKSQVTISVDK SKNQFSLNLSSVTAADTALYYCVRGRLGITRDRYYFD SWGRGTLVTVSS
74	Bc8.159 全长轻链	DIQMTQSPSPLSVSVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQ QKPGQAPKLLIYDTSSLERGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDIATYHCQQYYNLPHTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
75	Bc8.159 全长重链	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGTIRTNNWWS WVRQPPGKGLEWIGEIHHIGSTNYNPSLKSQVTISVDK SKNQFSLNLSSVTAADTALYYCVRGRLGITRDRYYFD SWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS

[0257]

SEQ ID NO:	说明	序列
		NKALPAPIEKTISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
76	Bc1.187 全长重链（含有修饰）	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCEASGFTFSNYGMQW VRQAPGKGLEWVAIIWADGTKQYYGDSVKGRFTISR DNFKNTLYLQMNSLRGEDTAMYFCARDGLYASAPN DVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
77	Bc3.106 全长重链（含有修饰）	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFGSYAMSW VRQAPGKGLKWVSAFSGTGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNNLRAEDTAVYFCAKDPGHTSNWR DNYQYYQMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
78	Bv4.115 全长重链（含有修饰）	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCRSSGYRFTNYHIHW VRQAPGQGLEWVGIINPRRLSTAYAPKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSDDTAVYYCARDAGDDTSGPF DSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
79	Bc8.159 全长重链（含有修饰）	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGTIRTNNWWS WVRQPPGKGLEWIGEIHHIGSTNYNPSLKSQVTISVDK SKNQFSLNLSSVTAADTALYYCVRGRLGITRDRYYFD

[0258]

SEQ ID NO:	说明	序列
		SWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

[0259] 该另外的治疗剂可选自抗病毒剂、逆转录酶抑制剂、免疫刺激剂、治疗性疫苗、病毒进入抑制剂、抑制HBsAg分泌或释放的寡核苷酸、衣壳抑制剂、cccDNA抑制剂及前述任何一种的组合。该另外的治疗剂可为逆转录酶抑制剂和免疫刺激剂。逆转录酶抑制剂可选自由以下项所组成的组:富马酸替诺福韦二吡呋酯酯(Tenofovir disoproxil fumarate, TDF)、替诺福韦埃拉酚胺(Tenofovir alafenamide)、拉米夫定、阿德福韦酯、恩替卡韦、替比夫定和AGX-1009。免疫刺激剂可选自由以下项所组成的组:聚乙二醇干扰素α2a、干扰素α2b、重组人白细胞介素7、Toll样受体7(TLR7)激动剂和Toll样受体8(TLR8)激动剂。

[0260] 该另外的治疗剂可根据与寡核苷酸相同或不同的给药方案施用。该另外的治疗剂可以单一制剂一起施用,或以不同制剂单独施用。可同时施用寡核苷酸和另外的治疗剂。可依次施用寡核苷酸和另外的治疗剂。

[0261] 在一个实施例中,该另外的治疗剂为治疗性疫苗,其中依次施用该寡核苷酸和该治疗性疫苗,优选为其中在施用该寡核苷酸之后施用1至3剂量之间的该治疗性疫苗。

[0262] 施用寡核苷酸和另外的治疗剂之间的时间段可为约四周、约一个月、约两个月、约12周、约三个月、约24周或约6个月,优选地为约12周。

[0263] 该方法可包括单一疗法导入期,其中可在任何另外的治疗剂的第一剂量之前施用一个或多个剂量的寡核苷酸。该方法可包括单一疗法导入期,其中可在另外的治疗剂的第二剂量的之前施用一个或多个剂量的寡核苷酸。

[0264] 当同一天施用时,同时施用寡核苷酸和另外的治疗剂至少一次。当同一天施用时,依次施用寡核苷酸和另外的治疗剂至少一次。

[0265] 寡核苷酸和另外的治疗剂可以单一组合制剂一起施用。寡核苷酸和另外的治疗剂可以不同制剂单独施用。

[0266] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸,其中患者先前尚未以抗病毒疗法进行治疗,其中向患者施用初始剂量约3mg/kg的寡核苷酸,之后是三个后续剂量约3mg/kg的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0267] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸,其中患者先前尚未以抗病毒疗法进行治疗,其中向患者施用初始剂量约6mg/kg的寡核苷酸,之后是三个后续剂量约6mg/kg的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0268] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸,其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗,其中向患者施用初始剂量约100mg的寡核苷酸,之后是三个后续剂量约100mg的寡核苷酸,其

中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0269] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前尚未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约200mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约200mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0270] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前尚未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约400mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约400mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0271] 疾病和患者群体

[0272] 本发明涉及治疗患有乙型肝炎或HBV感染的人类患者所使用的寡核苷酸。疾病可为急性疾病或慢性疾病。本发明的实施例涉及患者亚组的治疗。

[0273] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者发生慢性乙型肝炎或发生慢性HBV感染。慢性乙型肝炎患者可未接受过治疗、核苷酸(核苷)类似物(NUC)抑制的、免疫活性的、肝硬化的、免疫耐受、非活动性携带者或HBVδ合并感染。

[0274] 患者可未接受过治疗。患者先前可未以抗病毒疗法进行治疗。抗病毒疗法可为抗HBV疗法。患者先前可在至少约六个月的时段未以抗病毒疗法进行治疗。抗病毒疗法可为核苷酸(核苷)类似物(NUC)或含干扰素药剂。抗病毒疗法可为以下各项中的一项或多项：干扰素；利巴韦林；HBV RNA复制抑制剂；第二反义寡聚体；HBV治疗性疫苗；HBV预防性疫苗；拉米夫定(3TC)；恩替卡韦；替诺福韦；替比夫定(LdT)；阿德福韦；HBV抗体疗法(单克隆或多克隆)；抗PDL1/PD1单克隆抗体；抗PD-L1反义寡核苷酸；TLR7激动剂；和CpAM。优选地，抗病毒疗法为恩替卡韦或其前驱药或其活性成分、替诺福韦或其前驱药或其活性成分。

[0275] 患者可为免疫活性的。术语“免疫活性的”是本领域所熟知的疾病阶段，其中人类患者免疫系统将HBV识别为外来物并试图根除HBV，但细胞毒性应答被认为是微弱的。免疫活化阶段可通过ALT水平升高或波动、HBV DNA水平超过2000IU/mL(通常超过20,000IU/mL)和活动性肝脏发炎来确认。免疫活性的人类患者可为HBeAg阳性或HBeAg阴性的。免疫活性的患者可为慢性HBV患者。

[0276] 患者可为肝硬化患者。术语“肝硬化的”是本领域所熟知的。肝硬化患者长期受损，使得肝脏功能不正常。长期是指经过一个月或更长时间的发展。人类肝硬化患者可为HBeAg阳性或HBeAg阴性的。肝硬化患者可为慢性HBV患者。

[0277] 患者可为免疫耐受的。患者可为免疫耐受的。人类免疫耐受的患者在本领域中已知为HBeAg阳性的。人类免疫耐受的患者可通过处于或高于20,000IU/mL的HBV DNA水平且对病毒无显著免疫应答来确认。人类免疫耐受的患者可进一步具有持续正常的ALT水平。免疫耐受的患者可为慢性HBV患者。

[0278] 患者可为HBVδ合并感染患者。术语“HBVδ合并感染”在本领域中已知定义了经HBV和丁型肝炎病毒(HDV)合并感染的患者。

[0279] 患者可为核苷酸(核苷)类似物(NUC)抑制的(在本文中也称为NUC阳性)。NUC阳性患者可为HBeAg阳性或HBeAg阴性患者。

[0280] 患者可为非活动性携带者。非活动性携带者患者可为HBeAg患者。非活动性携带者状态可通过抗HBe的存在、基于PCR测定的HBV DNA水平无法检出或偏低、反复正常的ALT水平、极少或无坏死性炎症、轻微纤维化或甚至活检时组织学指针正常来确认。

[0281] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中人类乙型肝炎病毒相关病症选自：黄疸、肝癌、肝炎、肝纤维化、肝硬化、肝功能衰竭、弥漫性肝细胞炎性疾病、噬血细胞综合征或血清性肝炎。

[0282] 皮下施用

[0283] 如本发明所使用的寡核苷酸可经由皮下途径施用于患者。经由皮下途径施用可在大腿或腹部施用。优选地，施用为皮下注射。

[0284] 具体实施例

[0285] 本发明提供了许多具体的非限制性实施例。

[0286] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约1.5mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约1.5mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸(例如，寡核苷酸的第四剂量)与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0287] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约3mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约3mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸(例如，寡核苷酸的第四剂量)与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0288] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约6mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约6mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸(例如，寡核苷酸的第四剂量)与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0289] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法由施用一个剂量的约1.5mg/kg的量的寡核苷酸组成。

[0290] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法由施用一个剂量的约3mg/kg的量的寡核苷酸组成。

[0291] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法由施用一个剂量的约6mg/kg的量的寡核苷酸组成。

[0292] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法包括施用单一剂量的约1.5mg/kg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0293] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法包括施用单一剂量的约3mg/kg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0294] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒

疗法进行治疗，其中该方法包括施用单一剂量的约6mg/kg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0295] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约90mg或约100mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约90mg或约100mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸(例如，寡核苷酸的第四剂量)与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0296] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约200mg或约210mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约200mg或约210mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸(例如，寡核苷酸的第四剂量)与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0297] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约360mg或约400mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约360mg或约400mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸(例如，寡核苷酸的第四剂量)与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0298] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法由施用一个剂量的约90mg或约100mg的量的寡核苷酸组成。

[0299] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法由施用一个剂量的约200mg或约210mg的量的寡核苷酸组成。

[0300] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法由施用一个剂量的约360mg或约400mg的量的寡核苷酸组成。

[0301] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法包括施用单一剂量的约90mg或约100mg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0302] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法包括施用单一剂量的约200mg或约210mg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0303] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中该方法包括施用单一剂量的约360mg或约400mg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0304] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约1.5mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约1.5mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸(例如，寡核苷酸的第四剂量)与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0305] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约3mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约3mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸(例如，寡核苷酸的第四剂量)与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0306] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约6mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约6mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸(例如，寡核苷酸的第四剂量)与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0307] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法由施用一个剂量的约1.5mg/kg的量的寡核苷酸组成。

[0308] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法由施用一个剂量的约3mg/kg的量的寡核苷酸组成。

[0309] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法由施用一个剂量的约6mg/kg的量的寡核苷酸组成。

[0310] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法包括施用单一剂量的约1.5mg/kg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0311] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法包括施用单一剂量的约3mg/kg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0312] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法包括施用单一剂量的约6mg/kg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0313] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中向患者施用初始剂量约90mg或约100mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约90mg或约100mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗

病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0314] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中向患者施用初始剂量约200mg或约210mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约200mg或约210mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0315] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中向患者施用初始剂量约360mg或约400mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约360mg或约400mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0316] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法由施用一个剂量的约90mg或约100mg的量的寡核苷酸组成。

[0317] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法由施用一个剂量的约200mg或约210mg的量的寡核苷酸组成。

[0318] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法由施用一个剂量的约360mg或约400mg的量的寡核苷酸组成。

[0319] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法包括施用单一剂量的约90mg或约100mg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0320] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法包括施用单一剂量的约200mg或约210mg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0321] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中患者为NUC抑制的，其中该方法包括施用单一剂量的约360mg或约400mg的量的寡核苷酸。该方法可进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷(核苷酸)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0322] 乙型肝炎病毒

[0323] 在一个实施例中，提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中乙型肝炎病毒选自人类地理基因型中的任一者:A(西北欧、北美、中美洲);B(印度尼西亚、中国、越南);C(东亚、韩国、中国、日本、波利尼西亚、越南);D(地中海地区、中东、印度);E(非洲);F(美洲土著，波利尼西亚);G(美国、法国);或H(中美洲)。

[0324] 功能

[0325] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中寡核苷酸的施用提供了通过以下一项或多项所测量的临床益处：

[0326] (a)HBsAg水平降低，优选地，降低至少1log；

[0327] (b)初始剂量后至少50天所测定的HBsAg水平降低至少1log；

[0328] (c)HBV DNA水平降低，优选地，降低至少2log；

[0329] (d)初始剂量后至少25天所测定的HBV DNA水平降低至少2log；

[0330] (e)HBV DNA水平降低90％；

[0331] (f)HBcrAg水平降低，优选地，降低至少1log；

[0332] (g)初始剂量后至少25天所测定的HBcrAg水平降低至少1log；

[0333] (h)HBeAg水平降低，优选地，降低至少1log；

[0334] (i)初始剂量后至少50天所测定的HBcrAg水平降低至少1log；

[0335] (j)存在的HBV抗原已充分减少以导致血清转化，定义为不存在血清HBeAg且存在血清HBeAb(如果监测HBeAg作为血清转化的决定因素)，或定义为不存在血清HBsAg(如果监测HBsAg作为血清转化的决定因素)，如通过当前可用的商业化ELISA系统的检测限所确定；

[0336]

[0337] (k)存在的HBV抗原已充分减少以导致PHBV，定义为不存在血清HBeAg且存在血清HBeAb(如果监测HBeAg作为血清转化的决定因素)，或定义为不存在血清HBsAg(如果监测HBsAg作为PHBV的决定因素)，如通过当前可用之商业化ELISA系统的检测限所确定；

[0338] (l)ALT水平至少增加三倍；

[0339] (m)如初始剂量后约20天至约70天之间所测定的ALT水平至少增加

[0340] 三倍；

[0341] (n)诱导宿主介导的、细胞介导的免疫应答，例如T细胞应答；

[0342] (o)如初始剂量后任意时间点所测定的白蛋白和胆红素水平无显著变化；

[0343]

[0344] (p)无患者反弹。

[0345] (a)HBsAg水平的降低可为降低1log、1.5log、2log、2.5log、3log、3.5log、4log、4.5log或至少5log。可在初始剂量后至少25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150或至少200天测定HBsAg水平的对数降低幅度。

[0346] (c)HBV DNA的降低可为降低1log、1.5log、2log、2.5log、3log、3.5log、4log、4.5log或至少5log。可在初始剂量后至少25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150或至少200天测定HBV DNA的对数降低幅度。

[0347] (e)HBV DNA水平的降低可为测定检测限的90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或超过该检测限。

[0348] (f)HBcrAg水平的降低可为降低1log、1.5log、2log、2.5log、3log、3.5log、4log、4.5log或至少5log。可在初始剂量后至少25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150或至少200天测定HBcrAg水平的对数降低幅度。

[0349] (h)HBeAg水平的降低可为降低1log、1.5log、2log、2.5log、3log、3.5log、4log、4.5log或至少5log。可在初始剂量后至少25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150或至少200天测定HBeAg水平的对数降低幅度。

[0350] 本发明的寡核苷酸的使用导致60％的未接受NUC患者接受RNAi寡核苷酸作为单一剂量的单一疗法时发生PHBV发作。在我们的研究中，在接受本发明的寡核苷酸作为单次注射的5例患者中，观察到3例患者发生“发作”。

[0351] 患者反弹是本领域所熟知的术语，与药效消退后阴性症状的产生有关。如果某药物产生反弹效应，那么当停药或失去效力时，该药物所用于治疗的病症可能更严重。患者可表现出实测参数较基线降低1log(例如HBsAg)，且反弹定义为实测参数随后向基线方向增加并通过1log降低点。

[0352] 治疗目标

[0353] 尽管三种主要的HBV蛋白(HBsAg、HBeAg和HBcAg)皆有免疫抑制特性，但在受HBV感染的受试者的循环中，HBsAg占HBV蛋白的绝大多数。此外，虽然HBeAg的去除(经由血清转化)或血清病毒血症的减少与停止治疗后HBV感染的持续控制的发展无关，但在HBV感染中从血液中去除血清HBsAg(和血清转化)是治疗时抗病毒应答的一种公认的预后指标，该治疗导致在停止治疗后HBV感染得到控制(尽管该现象仅发生在接受免疫治疗的患者中的一小部分)。因此，虽然所有三种主要HBV蛋白(HBsAg、HBeAg和HBcAg)的减少可导致抑制效应的最佳去除，但是在发生HBV感染的受试者中，单独去除HBsAg本身可能足以消除大部分病毒对免疫功能的抑制。

[0354] 因此，在目前尚无任何治疗方案可大部分患者中恢复对HBV的免疫控制的情况下，需要一种有效的抗HBV感染的治疗方法，其既可抑制病毒复制，又可恢复大部分患者的免疫控制。因此，本领域需要用于感染HBV和/或患有HBV相关疾病的受试者的替代疗法和联合疗法。

[0355] 本发明可提供一种实用的方法来治疗患有慢性乙型肝炎病毒感染的患者，其总体目标是降低HBsAg水平并增加实现功能性或灭菌治愈的可能性。这可以通过使用HBVS-219作为未接受过治疗的患者的单一疗法或作为未接受过任何其他乙型肝炎治疗的患者中的单一疗法导入期来实现。

[0356] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸，其中治疗可治愈患者或提供功能性治愈。术语“治愈(cure)”被定义为患者不再患有疾病且针对该疾病不再需要另外的治疗，使得该患者不再是患者。术语“功能性治愈(functional cure)”被定义为HBsAg在有限的治疗方案下失去治疗应答。有限治疗方案可按照本文所公开的任何治疗方案，例如在NUC抑制的或未接受NUC的患者中的单一疗法或联合疗法。

[0357] III.基于寡核苷酸的抑制剂

[0358] 活性化合物

[0359] 如本发明所使用的寡核苷酸可为寡核苷酸双链体，其包含与反义链形成双链体区域的有义链，其中：

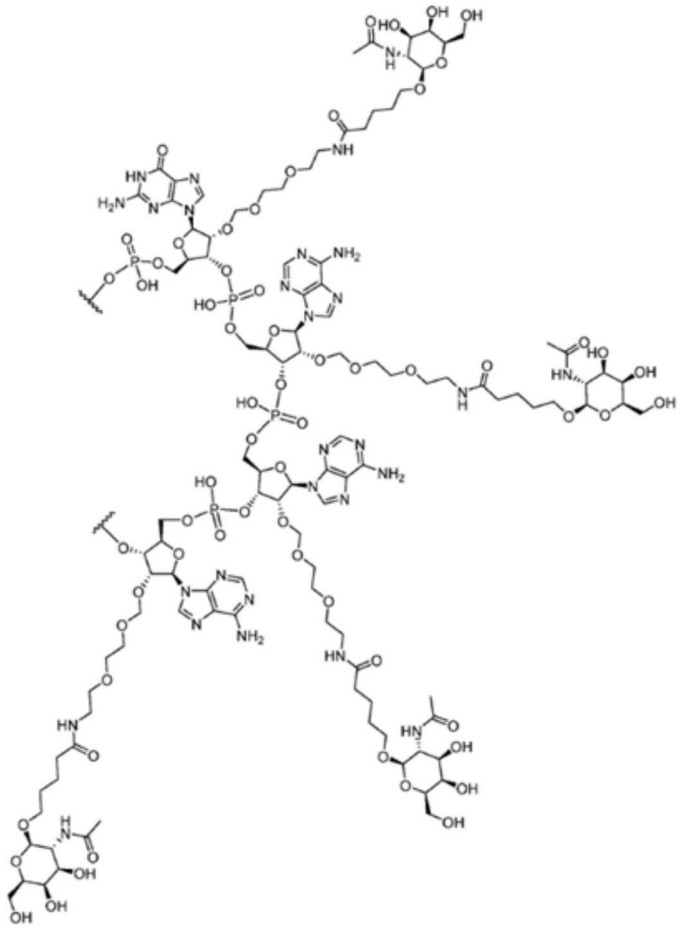
[0360] 该有义链由如

[0361] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

[0362] 在位置3、8-10、12、13和17处的2’-氟修饰的核苷酸，

[0363] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2’-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的一个硫代磷酸酯键合，

[0364] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分；其中该-GAAA-序列包含结构：

[0365] 

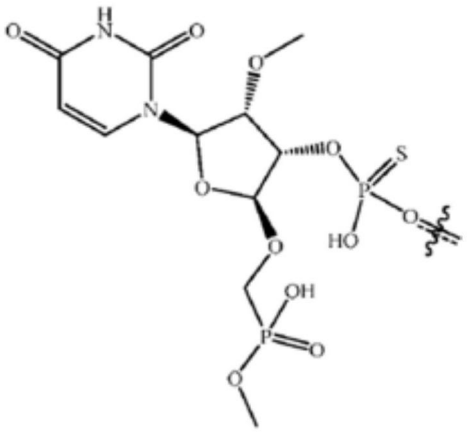
[0366] 并且

[0367] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

[0368] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0369] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的五个硫代磷酸酯键合,

[0370] 其中该反义链的5'-核苷酸具有以下结构:

[0371] 

[0372] 或其药用盐。

[0373] 如本发明所使用的寡核苷酸可如图1或图2A所示。

[0374] HBV表面抗原靶向

[0375] 如本发明所使用的寡核苷酸可用于实现治疗益处,例如PHBV。这些寡核苷酸造成肝脏中的HBV前基因组RNA(pgRNA)和HBsAg mRNA降低超过90%。在单一剂量或治疗方案后,HBsAg表达降低可持续延长一段时间。

[0376] 因此,为了在细胞中靶向转录本并抑制其表达,用于本文所提供的用途的寡核苷酸是被设计为具有与HBsAg mRNA有互补性的区域。

[0377] 双链寡核苷酸

[0378] 有多种寡核苷酸的结构可用于靶向HBsAg mRNA表达,包括RNAi、反义、miRNA等。本文或其他地方所描述的任何结构,都可用作缀合或靶向本文所述的序列的框架。用于靶向HBV抗原表达(例如,经由RNAi途径)的双链寡核苷酸,其通常具有彼此形成双链体的有义链和反义链。

[0379] 根据本发明用于降低HBsAg mRNA表达的双链寡核苷酸可参与RNA干扰(RNAi)。例如,已被开发出的RNAi寡核苷酸每链具有19至25个核苷酸的大小,并具有至少一个1至5个核苷酸的3'突出(参见,例如,美国专利号8,372,968)。更长的寡核苷酸也已被开发出来,其通过切丁进行加工以产生活性RNAi产物(参见,例如,美国专利号8,883,996)。进一步的工作产生出延伸的双链寡核苷酸,其中至少一链的至少一端延伸超出了双链体靶向区域,包括其中一链中含热力学稳定的四碱基环结构的结构(参见,例如,美国专利号8,513,207和8,927,705,以及WO2010033225,其所公开的该些寡核苷酸通过引用并入本文)。这些结构可以包括单链延伸(在分子的一侧或两侧)以及双链延伸。

[0380] 如本发明在本文中所提供的寡核苷酸可通过切丁酶切割。此类寡核苷酸在有义链的3'端可以具有突出(例如,长度为1、2或3个核苷酸)。此类寡核苷酸(例如,siRNA)可包含与靶RNA反义的21个核苷酸引导链以及互补的过客链,其中两条链退火以形成19-bp双链体,且在一个或两个3'端具有2个核苷酸突出。还可以使用更长的寡核苷酸设计,包括具有23个核苷酸的引导链和21个核苷酸的过客链的寡核苷酸,其中分子的右侧(过客链的3'端/引导链5'端)有一个钝端,且在分子的左侧(过客链的5'端/引导链的3'端)有2个核苷酸3'-引导链突出。在这样的分子中,有21个碱基对的双链体区域。参见例如US 9,012,138、US 9,012,621和US 9,193,753,它们各自的相关公开并入本文。

[0381] 本文所公开的其他寡核苷酸包括:16-聚体siRNA(参见,例如,Nucleic Acids in Chemistry and Biology,Blackburn(主编),Royal Society of Chemistry,2006)、shRNA(例如,具有19bp或更短之主干;参见例如,Moore等人,Methods Mol.Biol.2010;629:141-58)、钝siRNA(例如,长度为19bp;参见:例如,Kraynack和Baker,RNA,第12卷,p163-76(2006))、不对称siRNA(aiRNA;参见例如,Sun等人,Nat.Biotechnol,26,1379-82(2008))、不对称短双链体siRNA(参见例如,Chang等人,Mol Ther,2009年4月;17(4):725-32)、叉siRNA(参见例如,Hohjoh,FEBS Letters,第557卷,第1-3期;2004年1月,p 193-98)、单链siRNA(Elsner;Nature Biotechnology 30,1063(2012))、哑铃形环状siRNA(参见例如,Abe等人,J Am Chem Soc 129:15108-09(2007))及小的内部分段干扰RNA(sisiRNA;参见例如,Bramsen等人,Nucleic Acids Res,2007年9月;35(17):5886-97)。前述每个参考文献中相关的公开全文,通过引用并入本文。可用于降低或抑制HBsAg表现的寡核苷酸结构的其他非限制性实例为微小RNA(miRNA)、小发夹RNA(shRNA)和短siRNA(参见例如,Hamilton等人,

Embo J.,2002,21(17):4671-4679;也参见美国申请号20090099115)。

[0382] 反义链

[0383] 寡核苷酸的反义链可被称为“引导链”。例如,如果反义链可以与RNA诱导的缄默化复合体(RISC)接合以及与Argonaute蛋白结合,或者与一种或多种类似的因子接合或结合,并指挥目标基因沉默,则该反义链可以称为引导链。与引导链互补的有义链可以被称为“过客链”。

[0384] 寡核苷酸端

[0385] 通常,用于RNAi的寡核苷酸在反义(引导)链的3’端具有两个核苷酸突出。然而,其他突出也是可能的。

[0386] 错配

[0387] 寡核苷酸可在有义和反义链之间具有一个或多个(例如1、2、3、4、5个)错配。如果正义和反义链之间存在一个以上的错配,则它们可以被置于连续的位置(例如,2、3或更多个接续),或者散布在整个互补的区域中。有义链的3’末端可包含一个或多个错配。在有义链的3’末端可并入两个错配。可能透过促进切丁酶的加工,在寡核苷酸有义链的3’端片段的碱基错配或去稳定作用可改善RNAi中合成双链体的效力。

[0388] 反义链可具有与HBsAg转录本有互性补的区域,与相应的转录本序列相比,其包含一个或多个错配。只要寡核苷酸在适当的杂交条件下,保持与转录物形成互补的碱基对的能力,该寡核苷酸上的互补的区域可具有最多1个、最多2个、最多3个、最多4个、最多5个等的错配。可替代地,只要寡核苷酸在适当的杂交条件下,保持与HBsAg mRNA形成互补的碱基对的能力,该寡核苷酸的互补的区域可以具有不超过1、不超过2、不超过3、不超过4或不超过5个错配。如果在有互补性的区域中具有一个以上的错配,只要寡核苷酸在适当的杂交条件下,保持与HBsAg mRNA形成互补的碱基对的能力,则该些错配可以被置于连续的位置(例如,2、3、4或更多个接续),或者散布在整个互补的区域中。

[0389] 单链寡核苷酸

[0390] 近期的成果已经证明单链RNAi寡核苷酸的活性(参见例如,Matsui等人(2016年5月),Molecular Therapy,第24卷第5期,第946-955页)。此外,数十年来,反义分子已被用于减少特定靶基因的表达(参见例如,Bennett等人;Pharmacology of Antisense Drugs,Annual Review of Pharmacology and Toxicology,第57卷:81-105)。

[0391] 寡核苷酸修饰

[0392] 寡核苷酸可以以各种方式修饰,以改善或控制特异性、稳定性、递送、生物利用度、核酸酶降解的抗性、免疫原性、碱基配对特性、RNA分布和细胞摄入以及与治疗或研究用途相关的其他特征。参见例如,Bramsen等人,Nucleic Acids Res,2009,37,2867-81;Bramsen和Kjems(Frontiers in Genetics,3(2012):1-22)。

[0393] 寡核苷酸上的修饰数量和那些核苷酸修饰的位置可能影响寡核苷酸的性质。例如,寡核苷酸可以通过将它们缀合或包裹在脂质纳米颗粒(LNP)或类似载体中而在体内递送。然而,当寡核苷酸没有LNP或类似载体的保护时,将至少一些核苷酸进行修饰会是有利的。

[0394] 糖修饰

[0395] 经修饰的(本文中也称为糖类似物)可包括非天然替代碳结构,例如存在于锁核酸

(“LNA”)中的那些(参见例如,Koshkin等人(1998),Tetrahedron 54,3607-3630)、非锁核酸(「UNA」)(参见例如,Snead等人(2013),Molecular Therapy-Nucleic Acids,2,e103)及桥连核酸(「BNA」)(参见例如,Imanishi和Obika(2002),The Royal Society of Chemistry,Chem.Commun.,1653-59)。Koshkin等人、Snead等人以及Imanishi和Obika,针对他们涉及糖修饰的公开通过引用并入本文。

[0396] 糖垫中的核苷酸修饰包含2′-修饰。2’-修饰可以是2’-氨基乙基、2’-氟、2’-O-甲基、2’-O-甲氧基乙基和2’-脱氧-2’-氟-β-d-阿糖核酸。通常,该修饰是2’-氟、2’-O-甲基或2’-O-甲氧基乙基。糖中的修饰可包含糖环的修饰,其可以包含糖环的一个或多个碳的修饰。例如,核苷酸的糖的修饰可以包含糖的2’-氧连接至糖的1’-碳或4’-碳,或2’-氧经由乙烯或亚甲基桥连接至1’-碳或4’-碳。经修饰的核苷酸可具有缺乏2’-碳至3’-碳键的无环糖。经修饰的核苷酸可在例如糖的4’位置具有硫醇基团。

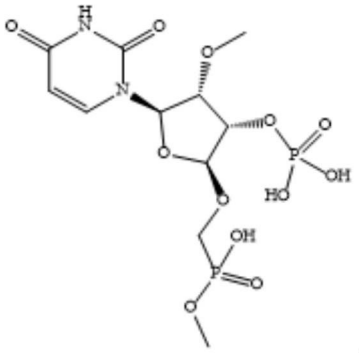
[0397] 末端3’-端基团(例如3’-羟基)是磷酸基团或其他基团,其可用于例如连附接头、转接子或标记,或用于指挥寡核苷酸连接至另一个核酸。

[0398] 5′末端磷酸盐

[0399] 寡核苷酸的5’-末端磷酸基团可增强与Argonaut 2的相互作用。然而,包含5’-磷酸基团的寡核苷酸易于经由磷酸酶或其他酶降解,其可限制它们在或体内的生物利用度。寡核苷酸可包括抗此类降解的5’磷酸酯的类似物。磷酸盐类似物可为氧甲基膦酸酯、乙烯基膦酸酯或丙二酰膦酸酯。在某些实施例中,寡核苷酸链的5’端附接至模拟天然5’-磷酸基团的静电和空间特性的化学部分(“磷酸盐模拟物”)(参见例如,Prakash等人(2015),Nucleic Acids Res.,2015年3月31日,43(6):2993-3011,其与磷酸盐类似物有关的内容,通过引用并入本文)。许多可以连附到5’端的磷酸盐模拟物已被开发出来(参见,例如,美国专利号8,927,513,其与磷酸酯类似物有关的内容,通过引用并入本文)。针对寡核苷酸的5’端已经开发出其他修饰(参见,例如,WO 2011/133871,其与磷酸酯类似物有关的内容,通过引用并入本文)。羟基可附接至寡核苷酸的5’端。

[0400] 寡核苷酸在糖的4’-碳位置可具有磷酸类似物(称为“4’-磷酸盐类似物”)。参见例如WO 2018/045317和WO 2018/045317,其各自涉及磷酸盐类似物的内容通过引用并入本文。寡核苷酸在5’-末端核苷酸可包含4’-磷酸盐类似物。磷酸盐类似物可为氧甲基膦酸酯,其中氧甲基的氧原子与糖部分(例如,在其4’-碳)或其类似物键合。4’-磷酸盐类似物为硫代甲基膦酸酯或氨基甲基膦酸酯,其中硫代甲基的硫原子或基甲基的氮原子与糖部分或其类似物的4’-碳键合。4’-磷酸盐类似物为氧甲基膦酸酯。氧甲基膦酸酯由式$-O-CH_2-PO(OH)_2$或$-O-CH_2-PO(OR)_2$表示,其中R独立地选自H、CH_3、烷基、CH_2CH_2CN、$CH_2OCOC(CH_3)_3$、$CH_2OCH_2CH_2Si(CH_3)_3$或保护基。烷基可为CH_2CH_3。更典型地,R独立地选自H、CH_3或CH_2CH_3。

[0401] 附接至如本发明的寡核苷酸的磷酸盐类似物为5’-单甲基保护的MOP。在一些实施例中,可以在例如引导(反义)链的第一位置使用以下包含磷酸酯类似物的尿苷核苷酸:

[0402] 

,

[0403] 该经修饰的核苷酸称为[MePhosphonate-4O-mU]或5'-甲氧基、膦酸酯-4'氧基-2'-O-甲基尿苷。

[0404] 经修饰的核苷间键合

[0405] 经修饰的核苷酸间键合可以是硫代磷酸酯键合、硫代磷酸酯键合、磷酸三酯键合、硫代烷基膦酸酯键合、硫代烷基磷酸三酯键合、亚磷酰胺键合、膦酸酯键合或硼酸磷酸酯键合。本文所公开的任何一种寡核苷酸的至少一个经修饰的核苷酸间键合为硫代磷酸酯键合。

[0406] 碱基修饰

[0407] 本文所提供之寡核苷酸具有一个或多个经修饰的核碱基。经修饰的核碱基(在本文中也称为碱基类似物)可在核苷酸糖部分的1'位置连接。经修饰的核碱基可为含氮碱基。经修饰的核碱基不含有氮原子。参见,例如,美国专利申请号20080274462。经修饰的核苷酸可包含通用碱基。但是,经修饰的核苷酸不含有核碱基(无碱基)。

[0408] 通用碱基可为位于经修饰的核苷酸中核苷酸糖部分的1'位置上的杂环部分,或核苷酸糖部分取代中的等效位置,当存在于双链体中时,其可位于相对于一种类型以上的碱基,而不会实质上改变双链体的结构。与靶核酸完全互补的参考单链核酸(例如,寡核苷酸)相比,含有通用碱基的单链核酸可与靶核酸形成双链体,该双链体相较于该单链核酸与互补的核酸所形成的双链体,具有较低的T_m。但是,与其中通用碱基已被碱基替代以产生单个错配的参考单链核酸相比,含有通用碱基的单链核酸可与靶核酸形成双链体,该双链体相较于该单链核酸与含错配碱基的核酸所形成的双链体,具有较高的T_m。

[0409] 通用结合核苷酸的非限制性实例包括肌苷、1-β-呋喃核糖基-5-硝基吲哚和/或1-β-D-呋喃核糖基-3-硝基吡咯(Quay等人,美国专利申请公开号20070254362;Van Aerschot等人,An acyclic 5-nitroindazole nucleoside analogue as ambiguous nucleoside, Nucleic Acids Res.,1995年11月11日;23(21):4363-4370;Loakes等人,3-Nitropyrrole and 5-nitroindole as universal bases in primers for DNA sequencing and PCR, Nucleic Acids Res.,1995年7月11日;23(13):2361-2366;Loakes和Brown,5-Nitroindole as an universal base analogue,Nucleic Acids Res.,1994年10月11日;22(20):4039-4043。前述中与碱基修饰有关的公开,各自通过引用并入本文。

[0410] 可逆的修饰

[0411] 尽管可以进行某些修饰以保护寡核苷酸在到达靶细胞之前不受体内环境的影响,但是一旦寡核苷酸到达靶细胞的胞质液,它们可以降低寡核苷酸的效力或活性。可以进行可逆的修饰,使得分子在细胞外保留所期望的特性,然后在进入细胞的胞质环境时将其除

去。可以通过例如细胞内酶的作用或通过细胞内部的化学条件(例如,透过细胞内谷胱甘肽的还原)来去除可逆的修饰。

[0412] 可逆的经修饰的核苷酸可包含谷胱甘肽敏感部分。通常,核酸分子已用环状二硫化物部分进行化学修饰,以掩盖核苷酸间二磷酸键合所产生的负电荷,并改善细胞摄入和核酸酶抗性。参见最初赋予Traversa Therapeutics,Inc.(“Traversa”)的美国公开申请号2011/0294869;Solstice Biologics,Ltd.(“Solstice”)的PCT公开号WO 2015/188197;Meade等人,Nature Biotechnology,2014,32:1256-1263(“Meade”);Merck Sharp&Dohme Corp的PCT公开号WO 2014/088920,其关于此类修饰的公开,各自通过引用并入本文。核苷酸间二磷酸键合的此类可逆的修饰,被设计成通过胞质液的还原环境在细胞内被切割(例如谷胱甘肽)。较早的实例包括中和磷酸三酯修饰,据报道该修饰在细胞内是可切割的(Dellinger等人,J.Am.Chem.Soc.,2003,125:940-950)。

[0413] 可逆的修饰在体内施用期间提供保护(例如,通过血液和/或细胞的溶酶体/内体的腔室转运),其中寡核苷酸将暴露于核酸酶和其他恶劣的环境条件(例如pH)。当将释放到细胞的胞质液中的谷胱甘肽水平比在细胞外空间更高时,修饰被逆转,结果是寡核苷酸被切割。与使用不可逆的化学修饰所能获得的选择相比,使用可逆的谷胱甘肽敏感部分,可以将空间较大的化学基团引入感兴趣的寡核苷酸中。这是因为这些较大的化学基团将在胞质液中被去除,因此不应干扰细胞胞质液内寡核苷酸的生物学活性。结果,这些较大的化学基团可以被设计以赋予核苷酸或寡核苷酸各种优点,例如核酸酶抗性、亲脂性、电荷、热稳定性、特异性和降低的免疫原性。谷胱甘肽敏感部分的结构可被设计以改变其释放的动力学。

[0414] 谷胱甘肽敏感部分可附接至核苷酸的糖。谷胱甘肽敏感部分可附接至经修饰的核苷酸的糖的2’-碳。在一些实施例中,谷胱甘肽敏感部分位于糖的5’-碳上,特别是当经修饰的核苷酸是寡核苷酸的5’-末端核苷酸时。谷胱甘肽敏感部分可位于糖的3’-碳上,特别是当经修饰的核苷酸是寡核苷酸的3’-末端核苷酸时。谷胱甘肽敏感部分可包含磺酰基。参见,例如于2016年8月23日提交的名称为Compositions Comprising Reversibly Modified Oligonucleotides and Uses Thereof的美国临时申请号62/378,635,其相关公开内容通过引用并入本文。

[0415] 靶向配体

[0416] 可能期望将本公开的寡核苷酸靶向一个或多个细胞或一个或多个器官。这些策略可帮助避免在其他器官中的不期望的作用或者可以避免寡核苷酸在不会有益于寡核苷酸的细胞、组织或器官中的不当损失。可修饰本文所公开的寡核苷酸以促进靶向特定组织、细胞或器官,例如促进寡核苷酸向肝脏的递送。本文所公开的寡核苷酸可以被修饰以促进寡核苷酸向肝脏的肝细胞的递送。寡核苷酸可包含与一个或多个靶向配体缀合的核苷酸。

[0417] 靶向配体可以包含碳水化合物、氨基糖、胆固醇、肽、多肽、蛋白或蛋白的部分(例如抗体或抗体片段)或脂质。靶向配体可为适体。例如,靶向配体可以是用于靶向肿瘤血管系统或神经胶质瘤细胞的RGD肽、用于靶向肿瘤血管系统或气孔的CREKA肽、转铁蛋白,乳铁蛋白或靶向CNS血管系统上表达的转铁蛋白受体的适体,或靶向神经胶质瘤细胞上的EGFR的抗EGFR抗体。靶向配体可为一个或多个GalNAc部分。

[0418] 寡核苷酸的1个或更多个(例如1、2、3、4、5或6个)核苷酸各自与单独的靶向配体缀合。寡核苷酸的2至4个核苷酸可各自与单独的靶向配体缀合。靶向配体可在有义链或反义

链的任一端与2至4个核苷酸缀合(例如,配体在有义或反义链的5'或3'端与2至4个核苷酸的突出或延伸缀合),使得靶向配体类似于牙刷的刷毛,而寡核苷酸类似于牙刷。例如,寡核苷酸可在有义链的5'或3'端包含茎环,且茎环的1、2、3或4个核苷酸可分别与靶向配体缀合。

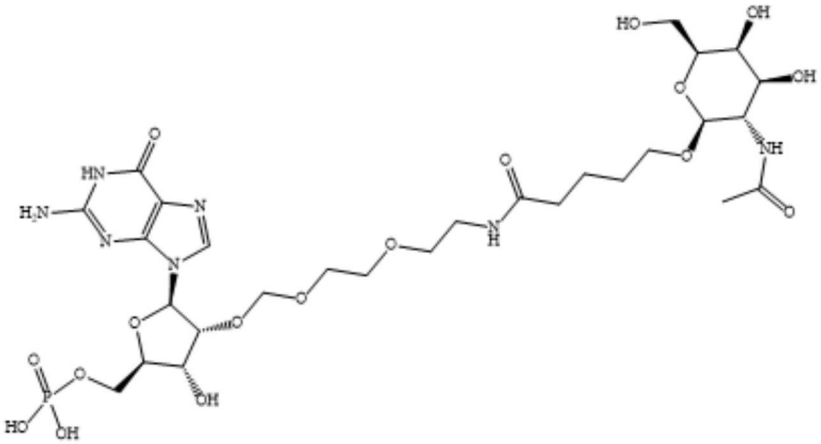
[0419] 可能期望将降低HBV抗原表达的寡核苷酸靶向受试者的肝细胞。任何合适的肝细胞靶向部分均可用于该目的。

[0420] GalNAc是脱唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)的高亲和力配体,其主要在肝细胞的正弦表面表达,并在结合、内化作用和随后循环糖蛋白(包含末端半乳糖或N-乙酰半乳胺糖残基(脱唾液酸糖蛋白))的清除中具有主要作用。GalNAc部分与本公开的寡核苷酸的缀合作用(间接或直接),可用于将这些寡核苷酸靶向到在这些肝细胞上表达的ASGPR。

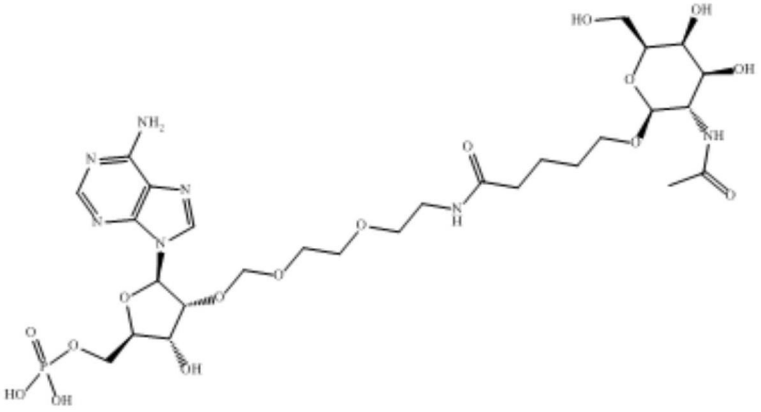
[0421] 本公开的寡核苷酸直接或间接缀合至单价GalNAc。在一些实施例中,寡核苷酸直接或间接缀合至一个以上的单价GalNAc(即,缀合至2、3或4个单价GalNAc部分,且通常缀合至3或4个单价GalNAc部分)。在一些实施例中,本实时公开的寡核苷酸与一个或多个二价GalNAc、三价GalNAc或四价GalNAc部分缀合。

[0422] 在一些实施例中,寡核苷酸的1个或更多个(例如1、2、3、4、5或6个)核苷酸各自与GalNAc部分缀合。在一些实施例中,茎环的环(L)的2至4个核苷酸各自与单独的GalNAc缀合。在一些实施例中,靶向配体在正义或反义链的任一端与2至4个核苷酸缀合(例如,配体在正义或反义链的5'或3'端与2至4个核苷酸的突出或延伸缀合),使得GalNAc部分类似于牙刷的刷毛,而寡核苷酸类似于牙刷。例如,寡核苷酸可在有义链的5'或3'端包含茎环,且茎环的1、2、3或4个核苷酸可分别与GalNAc部分缀合。在一些实施例中,GalNAc部分与有义链的核苷酸缀合。例如,可以将四个GalNAc部分与有义链的四碱基环中的核苷酸缀合,其中每个GalNAc部分都与一个核苷酸缀合。

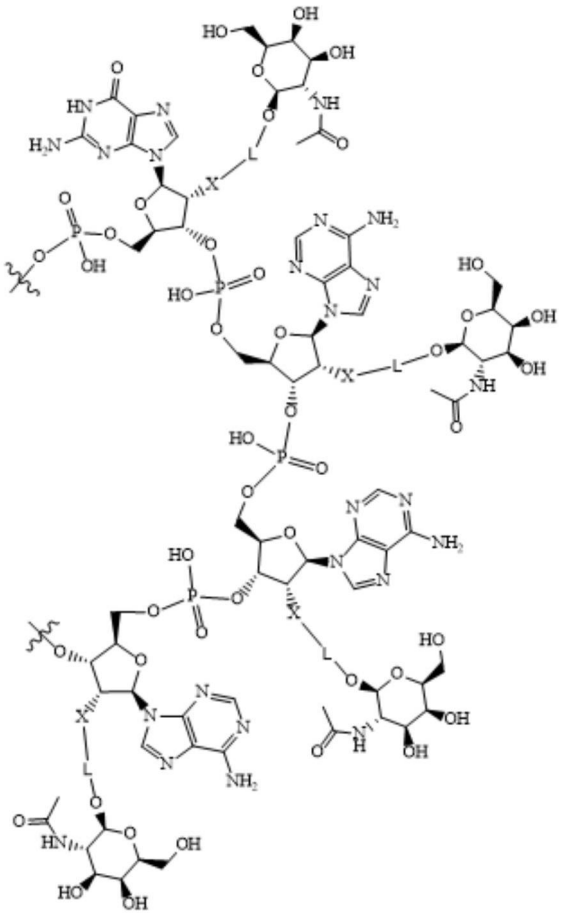
[0423] 在一些实施例中,本文的寡核苷酸包含附接至胍核苷酸的单价GalNAc,称为[ademg-GalNAc]或2'-氨基二乙氧基甲醇-胍-GalNAc,如下所示:

[0424] 

[0425] 如本发明所使用的寡核苷酸包含附接至腺嘌呤核苷酸的单价GalNAc,称为[ademA-GalNAc]或2'-氨基二乙氧基甲醇-腺嘌呤-GalNAc,如下所示。

[0426] 

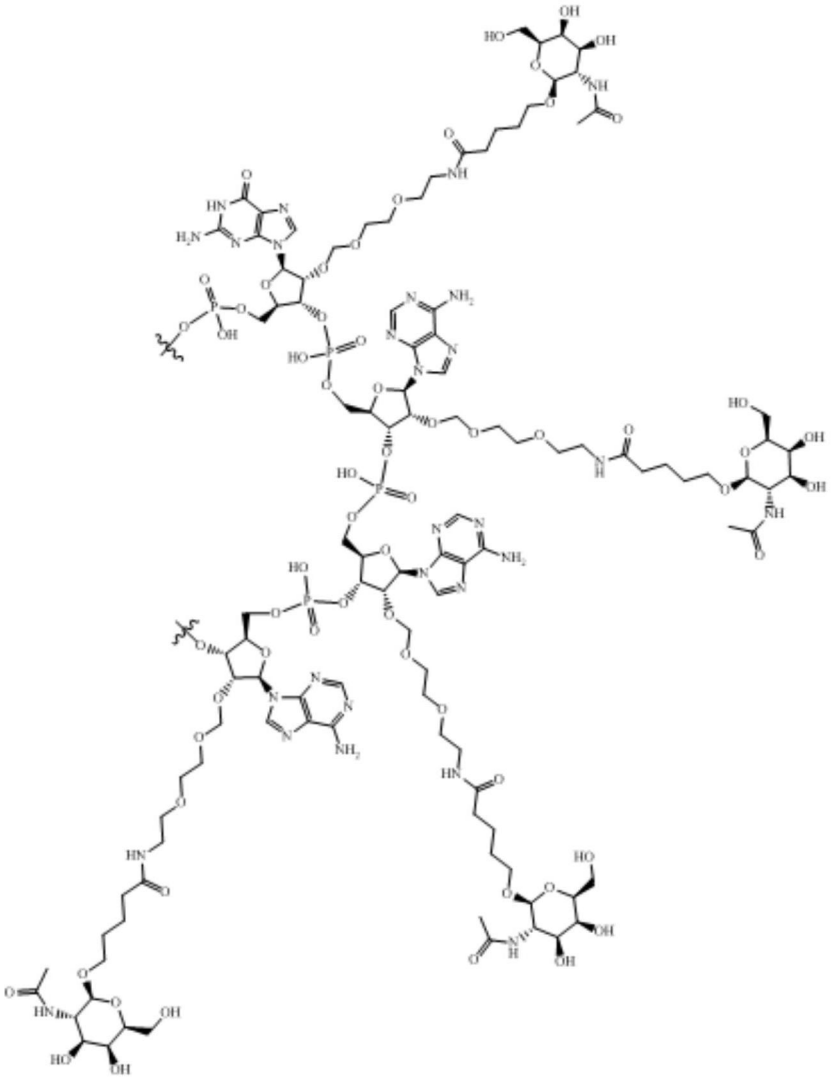
[0427] 例如,以下显示这些缀合作用的实例,其显示了包含5'至3'的核苷酸序列GAAA(L=接头,X=杂原子)茎附着点的环。例如,这样的环可以存在于例如图1所示分子的位置27至30。在化学式中,3' 为寡核苷酸链的附着点。

[0428] 

[0429] 可以使用适当的方法或化学(例如点击化学)将靶向配体连接至核苷酸。靶向配体可使用点击接头与核苷酸缀合。基于缩醛的接头可用于将靶向配体与本文所述的任一寡核苷酸的核苷酸缀合。基于缩醛的接头已被公开,例如公开于2016年6月23日的国际专利申请公开号WO2016100401A1中,且其涉及这种接头的内容,通过引用并入本文。接头可为不稳定的接头。但是,接头可为稳定的。

[0430] 以下显示了一个实例,为包含5'至3'核苷酸GAAA的环,其中GalNAc部分使用缩醛接头连附至环的核苷酸。例如,这样的环可以存在于例如图1所示分子的位置27至30。在化

学式中，为寡核苷酸链的附着点。

[0431] 

[0432] 丙氨酸转氨酶发作的识别和管理

[0433] 对于符合以下发作定义的任何参与者，密切监测患者很重要，并包括根据需要进行计划外并发诊断评估：丙氨酸转氨酶(ALT)大幅升高，高于参与者基线ALT值的3倍以上或高于基线后最低点值的3倍以上(以较低者为准)，其中绝对ALT值为至少7×ULN，例如至少10×ULN。

[0434] 确认参与者的血清ALT升高至高于参与者基线ALT值的3倍以上或高于基线后最低点值的3倍以上(以较低者为准)，其中绝对ALT值为至少7×ULN，例如至少10×ULN。根据研究参与者的ALT升高(发作)的实验室证据，参与者管理应包括及时就诊和根据需要进行进一步随访。

[0435] 应检查或持续监测参与者的血清白蛋白和直接胆红素水平，以确定肝功能(合成和排泄)是否稳定或恶化。

[0436] 可评价参与者的ALT升高的潜在并发原因(例如，甲型肝炎感染(HAV)、戊型肝炎感染(HEV)或其他感染；毒素暴露；肝毒性草药补给品或联合用药)。

[0437] 可检查参与者最近的HBV DNA水平是否发生了水平变化。如果HBV DNA下降，则推测ALT升高(发作)并非由于病毒突破(抗性)NHBV发作；如果未发现干预原因，则可能是“有

益的”或PHBV发作。

[0438] 对于ALT升高(发作)并伴有肝功能失代偿的生化证据,建议中断研究治疗(等待诊断检查)或中止研究。即与以下一项或两项同时发生的实验室发现在时间上相关的ALT升高(发作):

[0439] i.确认直接胆红素升高>基线2倍且>ULN 2倍;或

[0440] ii.确认血清白蛋白水平降低0.5g/dL或更多。

[0441] 生物标记

[0442] 提供了如本发明所使用的寡核苷酸,其中方法进一步包括测定获自患者的样品中生物标记(例如HBsAg、HBeAg、HbcrAg或ALT)的水平的步骤。测定步骤可在治疗假期进行。在测定步骤之后,可执行施用一个或更多个剂量的寡核苷酸的步骤。是否需要重新施用本发明的寡核苷酸或重新开始治疗可能取决于测定的上述生物标记的水平。可停止治疗。可重新开始治疗。

[0443] 在慢性HBV患者的管理中,一个主要的未满足的需求是可预测NUC疗法的安全中止的生物标记的定义。对于考虑停止NUC疗法的最佳时间,目前的治疗指南未达成共识。一些人建议,将HBV的表面抗原(HBsAg)或HBsAg的血清转化值低于100IU/ml(7)作为HBV e抗原阴性(HBeAg阴性)患者的安全停止点;但是,在少数接受NUC治疗的患者中观察到这些值。最近针对HBeAg患者停止NUC治疗的FINITE研究报告称,21例患者中的13例能够保持近3年的停药,但尚未确定区分可安全中止治疗的患者的标准。根据本发明,抗病毒免疫在抑制和控制HBV感染中起到至关重要的作用,因此我们开发出免疫生物标记来预测可安全中止NUC单一疗法的时间。

[0444] 目前,慢性乙型肝炎病毒(HBV)患者的临床管理完全基于病毒学参数,这些参数无法独立确定可安全中止核苷(核苷酸)类似物(NUC)治疗的患者。NUC有效抑制病毒复制,但不能消除HBV。因此,中止治疗可能与病毒学和生化复发相关;因此,大多数治疗是终生的。

[0445] 抗病毒免疫对于HBV控制至关重要,为此开发和识别某些生物标记以确定安全中止NUC或其他HBV治疗方案对于确定何时可以停止或取消治疗至关重要。

[0446] 因此,根据本发明,我们着眼于在慢性病毒感染期间在T细胞上表达耗竭的标记的有益作用,因为PD-1表达与提供对病毒特异性T细胞在人类慢性病毒感染中的长期持久性的正确评估相关。因此,本发明提供了NUC治疗时段患者中存在的残留HBV特异性T细胞的水平,其可用于预测NUC抗病毒疗法的安全中止时间。

[0447] IV.制剂

[0448] 如本发明所使用的寡核苷酸可以呈药用盐或药物组合物的形式。

[0449] 如本发明所使用的寡核苷酸可以是药用盐的形式。药用盐可为钠盐。药用盐可为钾盐。寡核苷酸的药用盐可如图2A或图2B所示,优选地,如图2A所示。

[0450] 提供了一种药物组合物,该药物组合物可包含如本发明的寡核苷酸或其药用盐及如本发明所使用的药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂。药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂可包含盐水。盐水可为磷酸盐缓冲盐水。优选地,寡核苷酸在磷酸盐缓冲生理食盐水中配制。药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂可为水,例如注射用水。

[0451] 已开发出各种制剂以促进寡核苷酸使用。例如,可使用使降解最小化、促进递送和/或摄入、或者为配方中的寡核苷酸提供另一种有益特性的配方,将寡核苷酸递送至受试

者或细胞环境。

[0452] 本文提供了如本发明所使用的寡核苷酸,其可以减少HBV抗原(例如HBsAg)的表达。本发明可提供一种药物组合物,该药物组合物包含如本文所述的寡核苷酸和药用赋形剂。可以适当地调制这样的组合物使得施用于受试者时,在靶细胞的直接环境中或全身性地,能有足够部分的寡核苷酸进入细胞以减少HBV抗原表达。如本文所公开的,多种合适的寡核苷酸配方中的任一种都可用于递送寡核苷酸以降低HBV抗原。如本发明所使用的寡核苷酸可在缓冲溶液(例如磷酸盐缓冲生理食盐水溶液)、脂质体、胶束结构和衣壳中配制。

[0453] 具有阳离子脂质的寡核苷酸制剂可用于促进寡核苷酸转染到细胞中。例如,可以使用阳离子脂质(例如lipofectin)、阳离子甘油衍生物和聚阳离子分子(例如,聚赖氨酸)。合适的脂质包括Oligofectamine,Lipofectamine(美国生命技术公司),NC388(Ribozyme Pharmaceuticals,Inc.,Boulder,Colo.)或FuGene 6(罗氏公司),所有脂质均可根据制造商的说明使用。

[0454] 药用赋形剂可为缓冲溶液(例如磷酸盐缓冲生理食盐水溶液)、脂质体、胶束结构及衣壳。

[0455] 制剂可包含脂质纳米颗粒。药用赋形剂可包含脂质体、脂质、脂质复合体、微球、微粒、纳米球或纳米颗粒、或者其他可以调制用于向有需要的受试者的细胞、组织、器官或身体施用(参见例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第22版,Pharmaceutical Press,2013)。

[0456] 如本文所公开的制剂可包含药用赋形剂。药用赋形剂可赋予组合物的活性成分改善的稳定性、改善的吸收、改善的溶解性和/或治疗性增强。药用赋形剂可为缓冲试剂(例如,柠檬酸钠、磷酸钠、tris碱或氢氧化钠)或载体(例如,缓冲溶液、凡士林、二甲基亚砜或矿物油)。可将所使用的寡核苷酸冻干以延长其保存期限,然后在使用前(例如,施用受试者)制成溶液。因此,包含在本文所述的任何一种寡核苷酸的组合物中的药用赋形剂可为冻干保护剂(例如,甘露醇、乳糖、聚乙二醇或聚乙烯吡咯烷酮)或崩解温度调节剂(例如,葡聚糖、聚蔗糖或明胶)。

[0457] 将药物组合物配制为与其预期的施用途径兼容。施用途径的实例包括肠胃外(例如,静脉、皮内、皮下)、口服(例如,吸入)、经皮(局部)、经粘膜和直肠施用。

[0458] 适用于注射使用的药物组合物包括无菌水溶液(当药物是水溶性时)或分散液,以及用于实时调配无菌注射溶液或分散液的无菌粉剂。对于静脉施用,合适的药用载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL.TM。(BASF,Parsippany,N.J.)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。药用载体可为溶剂或分散介质,其包含(例如)水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液态聚乙二醇等)及其合适的混合物。在许多情况下,优选地在组合物中包括等渗剂(例如,糖)、多元醇(例如,甘露醇、山梨糖醇)和氯化钠。可以通过将所需量的寡核苷酸与所需的一种或上述列举的成分的组合,掺入到选定的溶剂中来制备无菌注射溶液,然后过滤灭菌。

[0459] 尽管活性成分的百分比可以为总组合物的重量或体积的约1%至约80%或更多,但组合物可包含至少约0.1%或更多的治疗剂(例如,用于减少HBV抗原表达的寡核苷酸)。制备此类医药配方领域的技术人员将考虑诸如溶解度、生物利用度、生物学半衰期、施用途径、产品保存期限以及其他药理学条件等因素,因此可能需要各种剂量和治疗方案。

[0460] 即使如本发明所使用的寡核苷酸可针对本文所公开的任何寡核苷酸的肝脏靶向

递送,但也可以考虑靶向其他组织。

[0461] V.使用方法

[0462] 减少HBsAg表达

[0463] 在一些实施例中,提供了用于向细胞递送有效量的如本发明所使用的寡核苷酸的任何一种的方法,其目的在于减少HBsAg的表达。本文所提供的方法可用于任何合适的细胞类型。细胞可为表达HBV抗原的任何细胞(例如,肝细胞、巨噬细胞、单核细胞衍生的细胞、前列腺癌细胞、脑细胞、内分泌组织、骨髓、淋巴结、肺、胆囊、肝脏、十二指肠、小肠、胰脏、肾脏、胃肠道、膀胱、脂肪、软组织和皮肤)。细胞可为已经从受试者获得的原代细胞,且可以经历有限次数的传代,使得该细胞基本上保持其天然表型特性。寡核苷酸被递送至的细胞可为离体的或体外的(即,可被递送至培养中的细胞或该细胞所驻留的生物体)。还可提供用于向细胞递送有效量的本文所公开的寡核苷酸中的任何一种的方法,其目的在于仅减少HBsAg在肝细胞中的表达。

[0464] 如本发明所使用的寡核苷酸可使用适当的核酸递送方法引入,该方法包括注射含有寡核苷酸的溶液、由被寡核苷酸覆盖的颗粒轰击、将细胞或生物体暴露于包含寡核苷酸的溶液中或在存在寡核苷酸中将细胞膜的电穿孔。可以使用其他合适的方法将寡核苷酸递送至细胞,例如脂质介导的载体转运、化学介导的转运和阳离子脂质体转染,例如磷酸钙等。

[0465] 抑制的结果可以通过评估细胞或受试者一种或多种特性的适当测定法,或者解由评估指示HBV抗原表达的分子(例如,RNA、蛋白质)的生化技术来证实。可通过将HBV抗原的表达水平(例如,mRNA或蛋白质水平)与适当的对照(例如,未递送寡核苷酸或递送负调控的细胞或细胞群中的HBV抗原表达水平)进行比较,来评估本文所提供的寡核苷酸减少HBV抗原的表达水平的程度。HBV抗原表达的适当调控水平可为预定的水平或数值,使得不需要每次都测量调控水平。预定的水平或数值可以采取多种形式。预定的水平或数值可为单个截止值,例如中位数或平均值。

[0466] 施用如本发明所使用的寡核苷酸可导致细胞中HBV抗原(例如HBsAg)表达水平的降低。与HBV抗原的适当对照水平相比,HBV抗原表达水平的降低可为降低至1%或更低、5%或更低、10%或更低、15%或更低、20%或更低、25%或更低、30%或更低、35%或更低、40%或更低、45%或更低、50%或更低、55%或更低、60%或更低、70%或更低、80%或更低或者90%或更低。合适的对照水平可为未与包含如本文所述的寡核苷酸接触的细胞或细胞群中HBV抗原表达的水平。可在有限时间段之后,根据如本文所公开的方法评估寡核苷酸递送至细胞的效果。例如,在将寡核苷酸引入细胞后至少8小时、12小时、18小时、24小时;或至少一、二、三、四、五、六、七、十四、二十一、二十八、三十五、四十二、四十九、五十六、六十三、七十、七十七、八十四、九十一、九十八、105、112、119、126、133、140或147天后,可以在细胞中分析HBV抗原的水平。

[0467] HBV抗原(例如,HBsAg)表达水平的下降可在施用后持续一段时间。在施用本文所述的寡核苷酸之后,HBsAg表达的可检出的减少可在7天至70天的时段内持续存在。例如,在施用寡核苷酸之后,可检出的减少可在10天至70天、10天至60天、10天至50天、10天至40天、10天至30天或10天至20天的时段内持续存在。在施用寡核苷酸之后,可检出的减少可在20天至70天、20天至60天、20天至50天、20天至40天或20天至30天的时段内持续存在。在施用

寡核苷酸之后，可检出的减少可在30天至70天、30天至60天、30天至50天或30天至40天的时段内持续存在。在施用寡核苷酸之后，可检出的减少可在40天至70天、40天至60天、40天至50天、50天至70天、50天至60天或60天至70天的时段内持续存在。

[0468] 施用如本文所使用的寡核苷酸之后，HBsAg表达的可检出的减少可在2周至21周的时段内持续存在。例如，在施用寡核苷酸之后，可检出的减少可在2周至20周、4周至20周、6周至20周、8周至20周、10周至20周、12周至20周、14周至20周、16周至20周或18周至20周的时段内持续存在。在施用寡核苷酸之后，可检出的减少可在2周至16周、4周至16周、6周至16周、8周至16周、10周至16周、12周至16周或14周至16周的时段内持续存在。在施用寡核苷酸之后，可检出的减少可在2周至12周、4周至12周、6周至12周、8周至12周或10周至12周的时段内持续存在。在施用寡核苷酸之后，可检出的减少可在2周至10周、4周至10周、6周至10周或8周至10周的时段内持续存在。

[0469] 用于治疗方法中的寡核苷酸可以转基因的形式递送，该转基因经设计以在细胞中表达寡核苷酸(例如，其有义链和反义链)。可使用设计为表达本文所公开的任何寡核苷酸的转基因来递送寡核苷酸。可以使用病毒载体(例如，腺病毒、逆转录病毒、牛痘病毒、痘病毒、腺相关病毒或单纯疱疹病毒)或非病毒载体(例如质体或合成的mRNA)递送转基因。转基因可直接注入受试者中。

[0470] 治疗方法

[0471] HBV治疗的主要目标是永久抑制HBV复制并改善肝病。临床上重要的短期目标是实现HBeAg血清转化、血清ALT和AST正常化、消除肝脏发炎及预防肝脏失代偿。治疗的最终目标是获得持久的反应，以防止肝硬化、肝癌的发展并延长生存期。根据其他治疗方法，由于特定形式的病毒共价闭合环状DNA(ccc HBV DNA)持续存在于受感染的肝细胞的细胞核中，因此无法完全根除HBV感染。然而，治疗诱导的血清HBsAg清除是终止慢性HBV感染的标记，并与最佳长期结果相关。

[0472] 本发明可涉及减少受试者中HBsAg表达(例如，减少HBsAg蛋白质表达)的方法。该方法可包含向有此需要的受试者施用有效量的本文所公开的寡核苷酸中的任何一种。本公开提供了预防和治疗方法，治疗处于HBV感染风险(易于感染)和/或与HBV感染相关的疾病或病症的受试者。

[0473] 本发明可提供一种治疗受试者的乙型肝炎病毒感染或与乙型肝炎病毒感染相关的疾病或疾患的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的如本文所述的寡核苷酸或其药用盐或其药物组合物。

[0474] 本发明可提供一种促进感染乙型肝炎病毒的受试者的血清转化的方法，该方法包括：对受试者施用治疗有效量的如本文所述的寡核苷酸或其药用盐或其药物组合物；及监测哺乳动物血清样品中HBeAg与HbeAb的存在情况和/或HbsAg的存在情况；其中，如通过当前可用的商业化ELISA系统的检测极限所确定，如果监测HBeAg作为血清转化的决定因素，则血清样品中不存在HBeAg且存在HBeAb为哺乳动物中血清转化或发生PHBV的指标，或者如果监测HBsAg作为血清转化的决定因素，则血清样品中不存在HBsAg为哺乳动物中血清转化或发生PHBV的指标。

[0475] 本发明可提供一种减少感染乙型肝炎病毒的受试者的HBV DNA量的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的如本文所述的寡核苷酸或其药用盐或其药物组合物。

[0476] 本发明可提供一种诱导抗HBV的PHBV血清转化事件的方法，该方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的如本文所述的寡核苷酸或其药用盐或其药物组合物。

[0477] 根据本文所述的治疗方法，可减少HBV抗原HBsAg。可减少HBV抗原HBeAg。存在的HBV抗原可充分减少以导致血清转化，定义为不存在血清HBeAg且存在血清HBeAb(如果监测HBeAg作为血清转化的决定因素)，或定义为不存在血清HBsAg(如果监测HBsAg作为血清转化的决定因素)，如通过当前可用的商业化ELISA系统的检测限所确定。

[0478] 根据本文所述的治疗方法，与施用如本文所述的寡核苷酸或其药用盐或其药物组合物前的量相比，HBV DNA的量可减少90％。

[0479] 根据本文所述的治疗方法，可减少受试者的HBV病毒载量。受试者中的HBV病毒载量可能受抑制。

[0480] 根据本文所述的治疗方法，受试者为未接受NUC的患者。

[0481] 根据本文所述的治疗方法，待治疗的受试者为人类。

[0482] VI.编号实施例

[0483] 1.一种寡核苷酸，其包含与反义链形成双链体区域的有义链，其中：

[0484] 该有义链由如

[0485] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

[0486] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0487] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0488] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合；并且

[0489] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成，并且包含

[0490] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0491] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间，以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0492] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP)；

[0493] 或其药用盐，

[0494] 其用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法中，

[0495] 该方法包括经由皮下途径向该患者施用约0.1mg/kg至约12mg/kg的初始剂量的该寡核苷酸。

[0496] 2.一种寡核苷酸，其包含与反义链形成双链体区域的有义链，其中：

[0497] 该有义链由如

[0498] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

[0499] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0500] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0501] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合;并且

[0502] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

[0503] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0504] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

[0505] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP);

[0506] 或其药用盐,

[0507] 其用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法中,

[0508] 该方法包括经由皮下途径向该患者施用约6mg至约800mg的初始剂量的该寡核苷酸。

[0509] 3.根据实施例1或实施例2所使用的寡核苷酸,其中乙型肝炎或HBV感染为慢性乙型肝炎或慢性HBV感染。

[0510] 4.根据实施例1至3中任一项所使用的寡核苷酸,其中寡核苷酸通过皮下注射施用。

[0511] 5.根据实施例1或实施例3至4中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约0.5mg/kg至约10mg/kg。

[0512] 6.根据实施例1或实施例3至5中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约1.5mg/kg至约6mg/kg。

[0513] 7.根据实施例1或实施例3至6中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约1.5mg/kg。

[0514] 8.根据实施例1或实施例3至6中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约3mg/kg。

[0515] 9.根据实施例1或实施例3至6中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约6mg/kg。

[0516] 10.根据实施例2至4中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约34mg至约667mg。

[0517] 11.根据实施例2至4或实施例10中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约100mg至约400mg。

[0518] 12.根据实施例2至4或实施例10至11中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约100mg。

[0519] 13.根据实施例2至4或实施例10至11中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约200mg。

[0520] 14.根据实施例2至4或实施例10至11中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为约400mg。

[0521] 15.根据实施例1至14中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量为单一剂量或为施用的唯一剂量。

[0522] 16.根据实施例1至15中任一项所使用的寡核苷酸,其中方法由或基本上由施用寡

核苷酸组成。

[0523] 17.根据实施例1至16中任一项所使用的寡核苷酸,其中方法包括施用寡核苷酸或由或基本上由施用寡核苷酸组成,以排除其他抗HBV剂。

[0524] 18.根据实施例1至17中任一项所使用的寡核苷酸,其中方法包括施用单一剂量的寡核苷酸。

[0525] 19.根据实施例1至18中任一项所使用的寡核苷酸,其中方法由或基本上由施用单一剂量的寡核苷酸组成。

[0526] 20.根据实施例1至19中任一项所使用的寡核苷酸,其中乙型肝炎或HBV感染的治疗通过该初始剂量、该一个剂量或该单一剂量的寡核苷酸的施用来提供。

[0527] 21.根据实施例1、实施例3至9或实施例15至17中任一项所使用的寡核苷酸,其进一步包含以约0.1mg/kg至约12mg/kg的量向患者施用一个或多个后续剂量的寡核苷酸。

[0528] 22.根据实施例21所使用的寡核苷酸,其中这些一种或多种后续剂量为约0.5mg/kg至约10mg/kg。

[0529] 23.根据实施例21或实施例22所使用的寡核苷酸,其中这些一种或多种后续剂量为约1.5mg/kg至约6mg/kg。

[0530] 24.根据实施例21至23中任一项所使用的寡核苷酸,其中这些一种或多种后续剂量为约1.5mg/kg。

[0531] 25.根据实施例21至23中任一项所使用的寡核苷酸,其中这些一个或多个后续剂量为约3mg/kg。

[0532] 26.根据实施例21至23中任一项所使用的寡核苷酸,其中这些一个或多个后续剂量为约6mg/kg。

[0533] 27.根据实施例21至26中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量及后续剂量中的各自的量相同或不同,且独立地选自由以下项所组成的组:约1.5mg/kg、约3mg/kg和约6mg/kg。

[0534] 28.根据实施例2至4或实施例10至17中任一项所使用的寡核苷酸,其进一步包含以约6mg至约800mg的量向该患者施用一个或多个后续剂量的寡核苷酸。

[0535] 29.根据实施例28所使用的寡核苷酸,其中这些一种或多种后续剂量为约34mg至约667mg。

[0536] 30.根据实施例28或实施例29所使用的寡核苷酸,其中这些一种或多种后续剂量为约100mg至约400mg。

[0537] 31.根据实施例28至30中任一项所使用的寡核苷酸,其中这些一种或多种后续剂量为约100mg。

[0538] 32.根据实施例28至30中任一项所使用的寡核苷酸,其中这些一个或多个后续剂量为约200mg。

[0539] 33.根据实施例28至30中任一项所使用的寡核苷酸,其中这些一个或多个后续剂量为约400mg。

[0540] 34.根据实施例28至33中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量及后续剂量中的各自的量相同或不同,且独立地选自由以下项所组成的组:约100mg、约200mg和约400mg。

[0541] 35.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔

至少约四周。

[0542] 36.根据实施例21至35中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔至少约一个月。

[0543] 37.根据实施例21至36中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔至少约两个月。

[0544] 38.根据实施例21至37中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔至少约三个月。

[0545] 39.根据实施例21至38中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔至少约六个月。

[0546] 40.根据实施例35至39中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量中的每个相同,且选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。

[0547] 41.根据实施例35至39中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量中的每个相同,且选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0548] 42.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约四周并在约48周的时段内施用。

[0549] 43.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约一个月并在约48周的时段内施用。

[0550] 44.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约两个月并在约48周的时段内施用。

[0551] 45.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约三个月并在约48周的时段内施用。

[0552] 46.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约四周并在约24周的时段内施用。

[0553] 47.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约一个月并在约24周的时段内施用。

[0554] 48.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约两个月并在约24周的时段内施用。

[0555] 49.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约三个月并在约24周的时段内施用。

[0556] 50.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约四周并在约三个月的时段内施用。

[0557] 51.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约一个月并在约三个月的时段内施用。

[0558] 52.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约四周并在约12周的时段内施用。

[0559] 53.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量在时间上彼此间隔约一个月并在约12周的时段内施用。

[0560] 54.根据实施例42至53中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量中的每个相同,且选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。

[0561] 55.根据实施例42至53中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量中的每个相同,且选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0562] 56.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量各自在时间上彼此间隔约四周至约一个月的时段。

[0563] 57.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量各自在时间上彼此间隔约四周至约两个月的时段,例如约一个月至约两个月。

[0564] 58.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量各自在时间上彼此间隔约四周至约三个月的时段,例如约一个月至约三个月,例如约两个月至约三个月。

[0565] 59.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量各自在时间上彼此间隔约四周至约六个月的时段,例如约一个月至约六个月,例如约两个月至约六个月,例如约三个月至约六个月。

[0566] 60.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量中的各者之间的时间段独立地选自由以下项所组成的组:约四周、约一个月、约两个月、约三个月或约六个月。

[0567] 61.根据实施例21至34中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量中的各者之间的时间段如表1中方案中的任一方案所示。

[0568] 62.根据实施例56至61中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量中的每个相同,且选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。

[0569] 63.根据实施例56至61中任一项所使用的寡核苷酸,其中剂量中的每个相同,且选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0570] 64.根据实施例21至63中任一项所使用的寡核苷酸,其包含向患者施用至少一个、至少两个、至少三个或至少四个后续剂量。

[0571] 65.根据实施例1至17或实施例21至64中任一项所使用的寡核苷酸,其中方法包括治疗假期,优选为约三个月至约六个月。

[0572] 66.根据实施例21至65中任一项所使用的寡核苷酸,其中初始剂量与一至十个(优选为三个)后续剂量中的各者之间的时间段为至少约四周,该方法进一步包括约三个月至约六个月的治疗假期,在该治疗假期后,重新开始施用寡核苷酸。

[0573] 67.根据实施例66所使用的寡核苷酸,其中重新开始的施用包含一至十个(优选为三个)后续剂量,优选地,每个重新开始的后续剂量间隔至少约四周的时段。

[0574] 68.根据实施例1至67中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者未接受过治疗。

[0575] 69.根据实施例1至67中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者未接受过抗病毒治疗或患者先前未以抗病毒疗法进行治疗。

[0576] 70.根据实施例69所使用的寡核苷酸,其中抗病毒疗法为抗HBV疗法。

[0577] 71.根据实施例68或实施例69所使用的寡核苷酸,其中患者先前在至少约六个月的时段未以抗病毒疗法进行治疗。

[0578] 72.根据实施例69至71中任一项所使用的寡核苷酸,其中抗病毒疗法为核苷酸(核苷)类似物(NUC)或含干扰素药剂。

[0579] 73.根据实施例1至67中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者为核苷酸(核苷)类似物(NUC)抑制的患者。

[0580] 74.根据实施例1至67中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者为免疫活性的患者。

[0581] 75.根据实施例1至67中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者为肝硬化患者。

[0582] 76.根据实施例1至67中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者为免疫耐受患者。

[0583] 77.根据实施例1至67中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者为非活动性携带者。

[0584] 78.根据实施例68至76中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者为HBeAg阳性患者。

[0585] 79.根据实施例68至75或实施例77中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者为HBeAg阴性患者。

[0586] 80.根据实施例1至67中任一项所使用的寡核苷酸,其中患者为HBVδ合并感染者。

[0587] 81.根据实施例68至71中任一项所使用的寡核苷酸,其中抗病毒剂为以下各项中的一项或多项:干扰素;利巴韦林;HBV RNA复制抑制剂;第二反义寡聚体;HBV治疗性疫苗;HBV预防性疫苗;拉米夫定(3TC);恩替卡韦;替诺福韦;替比夫定(LdT);阿德福韦;HBV抗体疗法(单克隆或多克隆);抗PDL1/PD1单克隆抗体;抗PD-L1反义寡核苷酸;TLR7激动剂;和CpAM。

[0588] 82.根据实施例68至72或实施例81中任一项所使用的寡核苷酸,其中抗病毒疗法为恩替卡韦或其前驱药或其活性成分、替诺福韦或其前驱药或其活性成分。

[0589] 83.根据实施例1至82中任一项所使用的寡核苷酸,其中寡核苷酸作为单一疗法进行施用。

[0590] 84.根据实施例1至82中任一项所使用的寡核苷酸,其中方法进一步包括施用有效量的至少一种另外的治疗剂。

[0591] 85.根据实施例84所使用的寡核苷酸,其中另外的治疗剂为抗病毒剂。

[0592] 86.根据实施例85所使用的寡核苷酸,其中抗病毒剂为另外的抗HBV剂。

[0593] 87.根据实施例85所使用的寡核苷酸,其中抗病毒剂为以下各项中的一项或多项:干扰素;利巴韦林;HBV RNA复制抑制剂;第二反义寡聚体;HBV治疗性疫苗;HBV预防性疫苗;拉米夫定(3TC);恩替卡韦;替诺福韦;替比夫定(LdT);阿德福韦;HBV抗体疗法(单克隆或多克隆);抗PDL1/PD1单克隆抗体;抗PD-L1反义寡核苷酸;TLR7激动剂;和CpAM。

[0594] 88.根据实施例85所使用的寡核苷酸,其中抗病毒剂为核苷酸(核苷)类似物(NUC)。

[0595] 89.根据实施例88所使用的寡核苷酸,其中抗病毒剂为恩替卡韦或其前驱药或其活性成分、替诺福韦或其前驱药或其活性成分。

[0596] 90.根据实施例84至89中任一项所使用的寡核苷酸,其中另外的治疗剂与寡核苷酸根据相同或不同的给药方案施用。

[0597] 91.根据实施例84至90中任一项所使用的寡核苷酸,其中寡核苷酸与另外的治疗剂以单一制剂一起施用或以不同制剂单独施用。

[0598] 92.根据实施例84至91中任一项所使用的寡核苷酸,其中同时施用寡核苷酸与另外的治疗剂。

[0599] 93.根据实施例84至91中任一项所使用的寡核苷酸,其中依次施用寡核苷酸与另外的治疗剂。

[0600] 94.根据实施例93所使用的寡核苷酸,其中施用寡核苷酸与另外的治疗剂之间的时间段为约四周、约一个月、约两个月、约12周、约三个月、约24周或约6个月,优选地为约12周。

[0601] 95.根据实施例84至91、实施例93或94中任一项所使用的寡核苷酸，其中方法包括单一疗法导入期，其中在任何另外的治疗剂的第一剂量之前施用一个或多个剂量的寡核苷酸。

[0602] 96.根据实施例84至91、实施例93或94中任一项所使用的寡核苷酸，其中方法包括单一疗法导入期，其中在另外的治疗剂的第二剂量之前施用一个或多个剂量的寡核苷酸或药物组合物。

[0603] 97.根据实施例84至92中任一项所使用的寡核苷酸，其中，当同一天施用时，同时施用寡核苷酸和另外的治疗剂至少一次。

[0604] 98.根据实施例84至91或实施例93至96中任一项所使用的寡核苷酸，其中，当同一天施用时，依次施用寡核苷酸和另外的治疗剂至少一次。

[0605] 99.根据实施例84至92中任一项所使用的寡核苷酸，其中寡核苷酸和另外的治疗剂以单个组合制剂一起施用。

[0606] 100.根据实施例84至99中任一项所使用的寡核苷酸，其中寡核苷酸和另外的治疗剂以不同制剂单独施用。

[0607] 101.根据实施例1至9、实施例15至17和实施例21至27、实施例35至40、实施例42至54、实施例56至62、实施例64至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约1.5mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约1.5mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0608] 102.根据实施例1、实施例3至9、实施例15至17和实施例21至27、实施例35至40、实施例42至54、实施例56至62、实施例64至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约3mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约3mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0609] 103.根据实施例1、实施例3至9、实施例15至17和实施例21至27、实施例35至40、实施例42至54、实施例56至62、实施例64至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约6mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量约6mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0610] 104.根据实施例1、实施例3至9、实施例15至17和实施例21至27、实施例35至40、实施例42至54、实施例56至62、实施例64至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约1.5mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0611] 105.根据实施例1、实施例3至9、实施例15至17和实施例21至27、实施例35至40、实施例42至54、实施例56至62、实施例64至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约3mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0612] 106.根据实施例1、实施例3至9、实施例15至17和实施例21至27、实施例35至40、实施例42至54、实施例56至62、实施例64至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约6mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0613] 107.根据实施例1、实施例3至9、实施例15至17和实施例21至27、实施例35至40、实施例42至54、实施例56至62、实施例64至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约1.5mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0614] 108.根据实施例1、实施例3至9、实施例15至17和实施例21至27、实施例35至40、实

施例42至54、实施例56至62、实施例64至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约3mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0615] 109.根据实施例1、实施例3至9、实施例15至17和实施例21至27、实施例35至40、实施例42至54、实施例56至62、实施例64至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约6mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0616] 110.根据实施例2至4、实施例10至17和实施例28至39、实施例41至53、实施例55至61、实施例63至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约90mg或100mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量为90mg或100mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0617] 111.根据实施例2至4、实施例10至17和实施例28至39、实施例41至53、实施例55至61、实施例63至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约200mg或210mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量为200mg或210mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0618] 112.根据实施例2至4、实施例10至17和实施例28至39、实施例41至53、实施例55至61、实施例63至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量约360mg或400mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量为360mg或400mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0619] 113.根据实施例2至4、实施例10至17和实施例28至39、实施例41至53、实施例55至61、实施例63至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约90mg或100mg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0620] 114.根据实施例2至4、实施例10至17和实施例28至39、实施例41至53、实施例55至61、实施例63至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约200mg或210mg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0621] 115.根据实施例2至4、实施例10至17和实施例28至39、实施例41至53、实施例55至61、实施例63至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约360mg或400mg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0622] 116.根据实施例2至4、实施例10至17和实施例28至39、实施例41至53、实施例55至61、实施例63至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约90mg或100mg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0623] 117.根据实施例2至4、实施例10至17和实施例28至39、实施例41至53、实施例55至61、实施例63至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约200mg或210mg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0624] 118.根据实施例2至4、实施例10至17和实施例28至39、实施例41至53、实施例55至61、实施例63至100中任一项所使用的寡核苷酸，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约360mg或400mg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0625] 119.根据实施例101至118中任一项所使用的寡核苷酸，其中方法进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷酸(核苷)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0626] 120.根据实施例1至119中任一项所使用的寡核苷酸，其中乙型肝炎病毒选自人类

地理基因型中的任一者:A(西北欧、北美、中美洲);B(印度尼西亚、中国、越南);C(东亚、韩国、中国、日本、波利尼西亚、越南);D(地中海地区、中东、印度);E(非洲);F(美洲土著,波利尼西亚);G(美国、法国);或H(中美洲)。

[0627] 121.根据实施例1至120中任一项所使用的寡核苷酸,其中寡核苷酸包含与反义链形成双链体区域的有义链,其中:

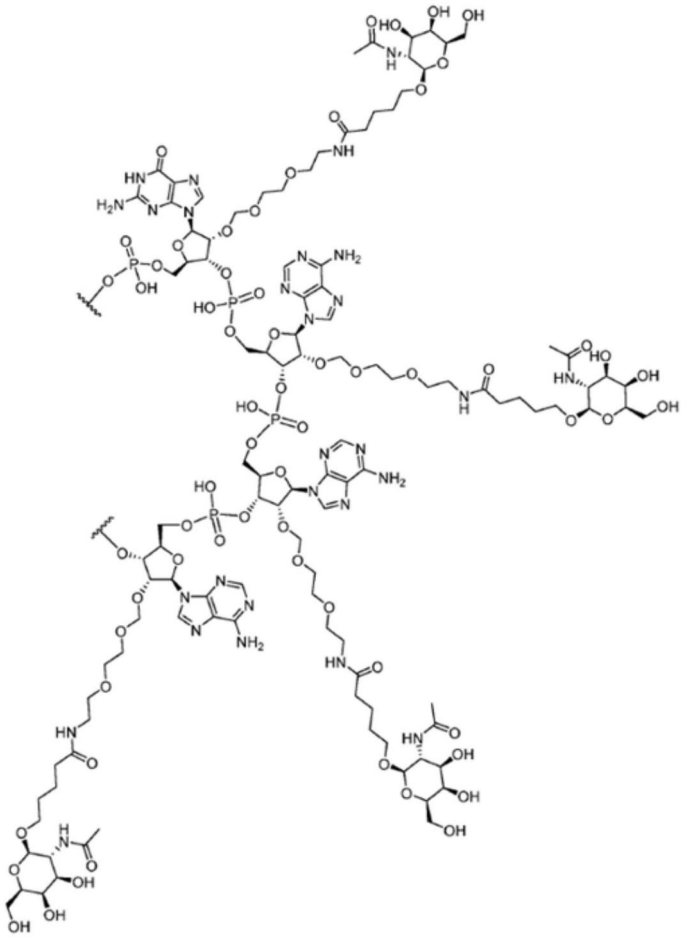
[0628] 该有义链由如

[0629] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

[0630] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0631] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的一个硫代磷酸酯键合,

[0632] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分;其中该-GAAA-序列包含结构:

[0633] 

[0634] 并且

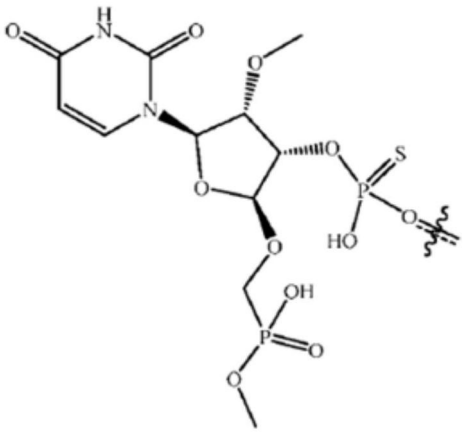
[0635] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

[0636] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0637] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置

20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的五个硫代磷酸酯键合,

[0638] 其中该反义链的5'-核苷酸具有以下结构:

[0639] 

[0640] 或其药用盐。

[0641] 122.根据实施例1至121中任一项所使用的寡核苷酸,其中寡核苷酸是药用盐的形式。

[0642] 123.根据实施例122所使用的寡核苷酸,其中药用盐为钠盐。

[0643] 124.根据实施例122所使用的寡核苷酸,其中药用盐为钾盐。

[0644] 125.根据实施例122所使用的寡核苷酸,其中寡核苷酸的该药用盐如图2A或图2B所示。

[0645] 126.一种药物组合物,其包含实施例1至125中任一项的寡核苷酸或其药用盐及药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂,用于实施例1至125中任一项。

[0646] 127.根据实施例126所使用的药物组合物,其中药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂为盐水。

[0647] 128.根据实施例127所使用的药物组合物,其中盐水为磷酸盐缓冲盐水。

[0648] 129.根据实施例126所使用的药物组合物,其中药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂为水,例如注射用水。

[0649] 130.根据实施例96至99中任一项所使用的寡核苷酸,其中寡核苷酸的施用提供了由以下一项或多项所测量的临床益处:

[0650] (a)HBsAg水平降低,优选地,降低至少1log;

[0651] (b)初始剂量后至少50天所测定的HBsAg水平降低至少1log;

[0652] (c)HBV DNA水平降低,优选地,降低至少2log;

[0653] (d)初始剂量后至少25天所测定的HBV DNA水平降低至少2log;

[0654] (e)HBV DNA水平降低90%;

[0655] (f)HBcrAg水平降低,优选地,降低至少1log;

[0656] (g)初始剂量后至少25天所测定的HBcrAg水平降低至少1log;

[0657] (h)HBeAg水平降低,优选地,降低至少1log;

[0658] (i)初始剂量后至少50天所测定的HBcrAg水平降低至少1log;

[0659] (j)存在的HBV抗原已充分减少以导致血清转化,定义为不存在血清HBeAg且存在血清HBeAb(如果监测HBeAg作为血清转化的决定因素),或定义为不存在血清HBsAg(如果监测HBsAg作为血清转化的决定因素),如通过当前可用的商业化ELISA系统的检测限所确定;

[0660] (k)存在的HBV抗原已充分减少以导致PHBV,定义为不存在血清HBeAg且存在血清HBeAb(如果监测HBeAg作为血清转化的决定因素),或定义为不存在血清HBsAg(如果监测HBsAg作为PHBV的决定因素),如通过当前可用的商业化ELISA系统的检测极限所确定;

[0661] (l)ALT水平至少增加三倍;

[0662] (m)如初始剂量后约20天至约70天之间所测定的ALT水平至少增加三倍;

[0663] (n)诱导宿主介导的、细胞介导的免疫应答,例如T细胞应答;

[0664] (o)如初始剂量后任意时间点所测定的白蛋白和胆红素水平无显著变化;

[0665] (p)无患者反弹。

[0666] 131.根据实施例1至130中任一项所使用的寡核苷酸,其中方法进一步包括测定获自患者的样品中生物标记(例如HBsAg、HBeAg或HbcrAg)的含量的步骤。

[0667] 132.根据实施例131所使用的寡核苷酸,其中测定步骤在治疗假期内进行。

[0668] 133.根据实施例131或132所使用的寡核苷酸,包含在测定步骤后施用一个或多个更多剂量的寡核苷酸的步骤。

[0669] 134.一种治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法,该方法包括向该患者施用包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸,其中:

[0670] 该有义链由如

[0671] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

[0672] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0673] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

[0674] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合;并且

[0675] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

[0676] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0677] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

[0678] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP),

[0679] 或其药用盐;

[0680] 该方法包括经由皮下途径向该患者施用约0.1mg/kg至约12mg/kg的初始剂量的该寡核苷酸。

[0681] 135.一种治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法,该方法包括向该患者施用包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸,其中:

[0682] 该有义链由如

[0683] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

[0684] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0685] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位

置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0686] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合;并且

[0687] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

[0688] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0689] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0690] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP)，

[0691] 或其药用盐；

[0692] 该方法包括经由皮下途径向该患者施用约6mg至约800mg的初始剂量的该寡核苷酸。

[0693] 136.根据实施例134或135的方法,其中乙型肝炎或HBV感染为慢性乙型肝炎或慢性HBV感染。

[0694] 137.根据实施例134至136中任一项的方法,其中寡核苷酸通过皮下注射施用。

[0695] 138.根据实施例134或实施例136至137中任一项的方法,其中初始剂量为约0.5mg/kg至约10mg/kg。

[0696] 139.根据实施例134或实施例136至138中任一项的方法,其中初始剂量为约1.5mg/kg至约6mg/kg。

[0697] 140.根据实施例134或实施例136至139中任一项的方法,其中初始剂量为约1.5mg/kg。

[0698] 141.根据实施例134或实施例136至139中任一项的方法,其中初始剂量为约3mg/kg。

[0699] 142.根据实施例134或实施例136至139中任一项的方法,其中初始剂量为约6mg/kg。

[0700] 143.根据实施例135至137中任一项的方法,其中初始剂量为约34mg至约667mg。

[0701] 144.根据实施例135至137或实施例143中任一项的方法,其中初始剂量为约100mg至约400mg。

[0702] 145.根据实施例135至137或实施例143至144中任一项的方法,其中初始剂量为约100mg。

[0703] 146.根据实施例135至137或实施例143至144中任一项的方法,其中初始剂量为约200mg。

[0704] 147.根据实施例135至137或实施例143至144中任一项的方法,其中初始剂量为约400mg。

[0705] 148.根据实施例134至147中任一项的方法,其中初始剂量为单一剂量或为施用的唯一剂量。

[0706] 149.根据实施例134至148中任一项的方法,其中方法由施用寡核苷酸组成。

[0707] 150.根据实施例134至149中任一项的方法,其中方法包括施用寡核苷酸或由施用寡核苷酸组成,以排除其他抗HBV剂。

[0708] 151.根据实施例134至150中任一项的方法,其中方法包括施用单一剂量的寡核苷酸。

[0709] 152.根据实施例134至151中任一项的方法,其中方法由施用单一剂量的寡核苷酸组成。

[0710] 153.根据实施例134至152中任一项的方法,其中乙型肝炎或HBV感染的治疗通过该初始剂量、该一个剂量或该单一剂量的寡核苷酸的施用来提供。

[0711] 154.根据实施例134、实施例136至142或实施例148至150中任一项的方法,其进一步包括以约0.1mg/kg至约12mg/kg的量向患者施用一个或多个后续剂量的寡核苷酸。

[0712] 155.根据实施例154的方法,其中这些一种或多种后续剂量为约0.5mg/kg至约10mg/kg。

[0713] 156.根据实施例154或实施例155的方法,其中这些一种或多种后续剂量为约1.5mg/kg至约6mg/kg。

[0714] 157.根据实施例154至156中任一项的方法,其中这些一种或多种后续剂量为约1.5mg/kg。

[0715] 158.根据实施例154至156中任一项的方法,其中这些一个或多个后续剂量为约3mg/kg。

[0716] 159.根据实施例154至156中任一项的方法,其中这些一个或多个后续剂量为约6mg/kg。

[0717] 160.根据实施例154至159中任一项的方法,其中初始剂量和后续剂量中的每个的量相同或不同,且独立地选自由以下项所组成的组:约1.5mg/kg、约3mg/kg和约6mg/kg。

[0718] 161.根据实施例135至137或实施例143至150中任一项的方法,其进一步包括以约6mg至约800mg的量向患者施用一个或多个后续剂量的寡核苷酸。

[0719] 162.根据实施例161的方法,其中这些一种或多种后续剂量为约34mg至约667mg。

[0720] 163.根据实施例161或实施例162的方法,其中这些一种或多种后续剂量为约100mg至约400mg。

[0721] 164.根据实施例161至163中任一项的方法,其中这些一种或多种后续剂量为约100mg。

[0722] 165.根据实施例161至163中任一项的方法,其中这些一个或多个后续剂量为约200mg。

[0723] 166.根据实施例161至163中任一项的方法,其中这些一个或多个后续剂量为约400mg。

[0724] 167.根据实施例161至166中任一项的方法,其中初始剂量及后续剂量中的每个的量相同或不同,且独立地选自由以下项所组成的组:约100mg、约200mg和约400mg。

[0725] 168.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔至少约四周。

[0726] 169.根据实施例154至168中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔至少约一个月。

[0727] 170.根据实施例154至169中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔至少约两个月。

[0728] 171.根据实施例154至170中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔至少约三个月。

[0729] 172.根据实施例154至171中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔至少约三个月。

[0730] 173.根据实施例168至172中任一项的方法,其中剂量中的每个相同,且选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。

[0731] 174.根据实施例168至172中任一项的方法,其中剂量中的每个相同,且选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0732] 175.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约四周并在约48周的时段内施用。

[0733] 176.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约一个月并在约48周的时段内施用。

[0734] 177.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约两个月并在约48周的时段内施用。

[0735] 178.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约三个月并在约48周的时段内施用。

[0736] 179.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约四周并在约24周的时段内施用。

[0737] 180.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约一个月并在约24周的时段内施用。

[0738] 181.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约两个月并在约24周的时段内施用。

[0739] 182.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约三个月并在约24周的时段内施用。

[0740] 183.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约四周并在约三个月的时段内施用。

[0741] 184.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约一个月并在约三个月的时段内施用。

[0742] 185.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约四周并在约12周的时段内施用。

[0743] 186.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量在时间上彼此间隔约一个月并在约12周的时段内施用。

[0744] 187.根据实施例175至186中任一项的方法,其中剂量中的每个相同,且选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。

[0745] 188.根据实施例175至186中任一项的方法,其中剂量中的每个相同,且选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0746] 189.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量各自在时间上彼此间隔约四周至约一个月的时段内施用。

[0747] 190.根据实施例154至167中任一项的方法,其中剂量各自在时间上彼此间隔约四

周至约三个月的时段，例如约一个月至约两个月。

[0748] 191.根据实施例154至167中任一项的方法，其中剂量各自在时间上彼此间隔约四周至约三个月的时段，例如约一个月至约三个月，例如约两个月至约三个月。

[0749] 192.根据实施例154至167中任一项的方法，其中剂量各自在时间上彼此间隔约四周至约六个月的时段，例如约一个月至约六个月，例如约两个月至约六个月，例如约三个月至约六个月。

[0750] 193.根据实施例154至167中任一项的方法，其中这些剂量中的每个之间的时间段独立地选自由以下项所组成的组：约四周、约一个月、约两个月、约三个月或约六个月。

[0751] 194.根据实施例154至167中任一项的方法，其中这些剂量中的每个之间的时间段如表1中方案中的任一方案所示。

[0752] 195.根据实施例189至194中任一项的方法，其中剂量中的每个相同，且选自约1.5mg/kg、约3mg/kg或约6mg/kg的量。

[0753] 196.根据实施例189至194中任一项的方法，其中剂量中的每个相同，且选自约100mg、约200mg或约400mg的量。

[0754] 197.根据实施例154至196中任一项的方法，其包括向患者施用至少一个、至少两个、至少三个或至少四个后续剂量。

[0755] 198.根据实施例134至150或实施例154至197中任一项的方法，其中方法包括治疗假期，优选为约三个月至约六个月。

[0756] 199.根据实施例154至198中任一项的方法，其中初始剂量与一至十个(优选为三个)后续剂量中的各者之间的时间段为至少约四周，该方法进一步包括约三个月至约六个月的治疗假期，在该治疗假期后，重新开始施用寡核苷酸。

[0757] 200.根据实施例199的方法，其中重新开始的施用包含一至十个(优选为三个)后续剂量，优选地，每个重新开始的后续剂量间隔至少约四周的时段。

[0758] 201.根据实施例134至200中任一项的方法，其中患者未接受过治疗。

[0759] 202.根据实施例134至200中任一项的方法，其中患者未接受过抗病毒治疗或患者先前未以抗病毒疗法进行治疗。

[0760] 203.根据实施例202的方法，其中抗病毒疗法为抗HBV疗法。

[0761] 204.根据实施例201或实施例202的方法，其中患者先前在至少约六个月的时段未以抗病毒疗法进行治疗。

[0762] 205.根据实施例202至204中任一项的方法，其中抗病毒疗法为核苷酸(核苷)类似物(NUC)或含干扰素药剂。

[0763] 206.根据实施例134至200中任一项的方法，其中患者为核苷酸(核苷)类似物(NUC)抑制的患者。

[0764] 207.根据实施例134至200中任一项的方法，其中患者为免疫活性患者。

[0765] 208.根据实施例134至200中任一项的方法，其中患者为肝硬化患者。

[0766] 209.根据实施例134至200中任一项的方法，其中患者为免疫耐受患者。

[0767] 210.根据实施例134至200中任一项的方法，其中患者为非活动性携带者。

[0768] 211.根据实施例201至209中任一项的方法，其中患者为HBeAg阳性患者。

[0769] 212.根据实施例201至208或实施例210中任一项的方法，其中患者为HBeAg阴性。

[0770] 213.根据实施例134至200中任一项的方法,其中患者为HBVδ合并感染者。

[0771] 214.根据实施例201至204中任一项的方法,其中抗病毒剂为以下各项中的一项或多项:干扰素;利巴韦林;HBV RNA复制抑制剂;第二反义寡聚体;HBV治疗性疫苗;HBV预防性疫苗;拉米夫定(3TC);恩替卡韦;替诺福韦;替比夫定(LdT);阿德福韦;HBV抗体疗法(单克隆或多克隆);抗PDL1/PD1单克隆抗体;抗PD-L1反义寡核苷酸;TLR7激动剂;和CpAM。

[0772] 215.根据实施例201至205或实施例14中任一项的方法,其中抗病毒疗法为恩替卡韦或其前驱药或其活性成分、替诺福韦或其前驱药或其活性成分。

[0773] 216.根据实施例134至215中任一项的方法,其中寡核苷酸作为单一疗法进行施用。

[0774] 217.根据实施例134至215中任一项的方法,其中方法进一步包括施用有效量的至少一种另外的治疗剂。

[0775] 218.根据实施例217的方法,其中该另外的治疗剂为抗病毒剂。

[0776] 219.根据实施例218的方法,其中抗病毒剂为另外的抗HBV剂。

[0777] 220.根据实施例218的方法,其中抗病毒剂为以下各项中的一项或多项:干扰素;利巴韦林;HBV RNA复制抑制剂;第二反义寡聚体;HBV治疗性疫苗;HBV预防性疫苗;拉米夫定(3TC);恩替卡韦;替诺福韦;替比夫定(LdT);阿德福韦;HBV抗体疗法(单克隆或多克隆);抗PDL1/PD1单克隆抗体;抗PD-L1反义寡核苷酸;TLR7激动剂;和CpAM。

[0778] 221.根据实施例218的方法,其中抗病毒剂为核苷酸(核苷)类似物(NUC)。

[0779] 222.根据实施例221的方法,其中抗病毒剂为恩替卡韦或其前驱药或其活性成分、替诺福韦或其前驱药或其活性成分。

[0780] 223.根据实施例217至222中任一项的方法,其中另外的治疗剂与寡核苷酸根据相同或不同的给药方案施用。

[0781] 224.根据实施例217至223中任一项的方法,其中寡核苷酸和另外的治疗剂以单一制剂一起施用或以不同制剂单独施用。

[0782] 225.根据实施例217至224中任一项的方法,其中同时施用寡核苷酸和另外的治疗剂。

[0783] 226.根据实施例217至224中任一项的方法,其中依次施用寡核苷酸和另外的治疗剂。

[0784] 227.根据实施例226的方法,其中施用寡核苷酸和另外的治疗剂之间的时间段为约四周、约一个月、约两个月、约12周、约三个月、约24周或约6个月,优选地为约12周。

[0785] 228.根据实施例217至224、实施例226或227中任一项的方法,其中方法包括单一疗法导入期,其中在任何另外的治疗剂的第一剂量之前施用一个或多个剂量的寡核苷酸。

[0786] 229.根据实施例217至224、实施例226或227中任一项的方法,其中方法包括单一疗法导入期,其中在另外的治疗剂的第二剂量之前施用一个或多个剂量的寡核苷酸或药物组合物。

[0787] 230.根据实施例217至225中任一项的方法,其中,当同一天施用时,同时施用寡核苷酸和另外的治疗剂至少一次。

[0788] 231.根据实施例217至224或实施例226至229中任一项的方法,其中,当同一天施用时,依次施用寡核苷酸和另外的治疗剂至少一次。

[0789] 232.根据实施例217至225中任一项的方法，其中寡核苷酸和另外的治疗剂以单个组合制剂一起施用。

[0790] 233.根据实施例217至232中任一项的方法，其中寡核苷酸和另外的治疗剂以不同制剂单独施用。

[0791] 234.根据实施例134至142、实施例148至150、实施例154至160、实施例168至173、实施例175至187、实施例189至195、实施例197至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量为1.5mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量为1.5mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0792] 235.根据实施例134、实施例136至142、实施例148至150、实施例154至160、实施例168至173、实施例175至187、实施例189至195、实施例197至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量为3mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量为3mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0793] 236.根据实施例134、实施例136至142、实施例148至150、实施例154至160、实施例168至173、实施例175至187、实施例189至195、实施例197至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量为6mg/kg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量为6mg/kg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0794] 237.根据实施例134、实施例136至142、实施例148至150、实施例154至160、实施例168至173、实施例175至187、实施例189至195、实施例197至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约1.5mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0795] 238.根据实施例134、实施例136至142、实施例148至150、实施例154至160、实施例168至173、实施例175至187、实施例189至195、实施例197至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约3mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0796] 239.根据实施例134、实施例136至142、实施例148至150、实施例154至160、实施例168至173、实施例175至187、实施例189至195、实施例197至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约6mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0797] 240.根据实施例134、实施例136至142、实施例148至150、实施例154至160、实施例168至173、实施例175至187、实施例189至195、实施例197至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约1.5mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0798] 241.根据实施例134、实施例136至142、实施例148至150、实施例154至160、实施例168至173、实施例175至187、实施例189至195、实施例197至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约3mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0799] 242.根据实施例134、实施例136至142、实施例148至150、实施例154至160、实施例168至173、实施例175至187、实施例189至195、实施例197至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约6mg/kg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0800] 243.根据实施例135至137、实施例143至150、实施例161至172、实施例174至186、

实施例188至194、实施例196至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量为90mg或100mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量为90mg或100mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0801] 244.根据实施例135至137、实施例143至150、实施例161至172、实施例174至186、实施例188至194、实施例196至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量为200mg或210mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量为200mg或210mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0802] 245.根据实施例135至137、实施例143至150、实施例161至172、实施例174至186、实施例188至194、实施例196至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中向患者施用初始剂量为360mg或400mg的寡核苷酸，之后是三个后续剂量为360mg或400mg的寡核苷酸，其中剂量在时间上彼此间隔约四周的时段。

[0803] 246.根据实施例135至137、实施例143至150、实施例161至172、实施例174至186、实施例188至194、实施例196至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约90mg或100mg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0804] 247.根据实施例135至137、实施例143至150、实施例161至172、实施例174至186、实施例188至194、实施例196至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约200mg或210mg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0805] 248.根据实施例135至137、实施例143至150、实施例161至172、实施例174至186、实施例188至194、实施例196至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法由施用约360mg或400mg的量的一个剂量的寡核苷酸组成。

[0806] 249.根据实施例135至137、实施例143至150、实施例161至172、实施例174至186、实施例188至194、实施例196至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约90mg或100mg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0807] 250.根据实施例135至137、实施例143至150、实施例161至172、实施例174至186、实施例188至194、实施例196至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约200mg或210mg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0808] 251.根据实施例135至137、实施例143至150、实施例161至172、实施例174至186、实施例188至194、实施例196至233中任一项的方法，其中患者先前未以抗病毒疗法进行治疗，其中方法包括施用约360mg或400mg的量的一个剂量的寡核苷酸。

[0809] 252.根据实施例234至251中任一项的方法，其中方法进一步包括施用抗病毒剂，优选地施用核苷酸(核苷)类似物(NUC)，其中依次施用寡核苷酸与抗病毒剂，优选地其中施用寡核苷酸与抗病毒剂之间的时间段为约12周。

[0810] 253.根据实施例134至252中任一项的方法，其中乙型肝炎病毒选自人类地理基因型中的任一者：A(西北欧、北美、中美洲)；B(印度尼西亚、中国、越南)；C(东亚、韩国、中国、日本、波利尼西亚、越南)；D(地中海地区、中东、印度)；E(非洲)；F(美洲土著，波利尼西亚)；G(美国、法国)；或H(中美洲)。

[0811] 254.根据实施例134至253中任一项的方法，其中寡核苷酸双链体包含与反义链形成双链体区域的有义链，其中：

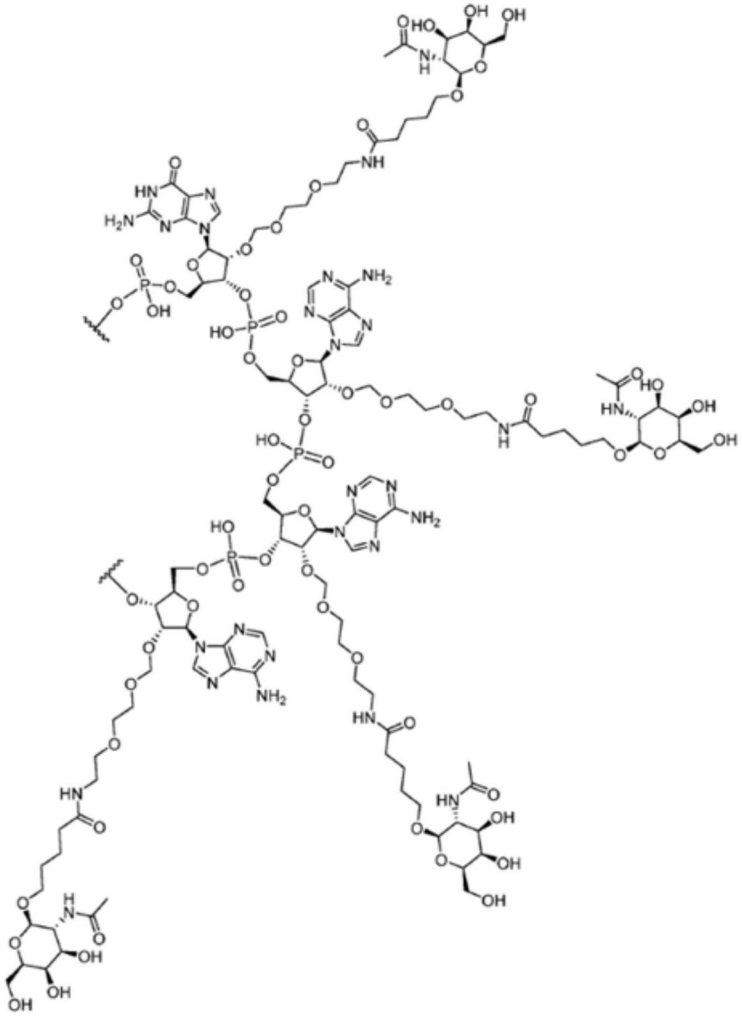
[0812] 该有义链由如

[0813] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成,并且包含

[0814] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0815] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间的一个硫代磷酸酯键合,

[0816] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个缀合至单价GalNAc部分;其中该-GAAA-序列包含结构:

[0817] 

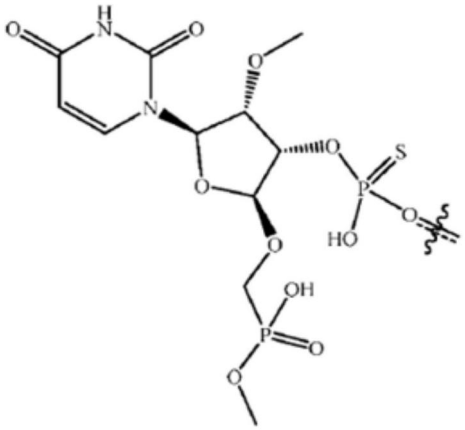
[0818] 并且

[0819] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

[0820] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0821] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的五个硫代磷酸酯键合,

[0822] 其中该反义链的5'-核苷酸具有以下结构:

[0823] 

[0824] 或其药用盐。

[0825] 255.根据实施例134至254中任一项的方法,其中寡核苷酸是药用盐的形式。

[0826] 256.根据实施例255的方法,其中药用盐为钠盐。

[0827] 257.根据实施例255的方法,其中药用盐为钾盐。

[0828] 258.根据实施例255的方法,其中寡核苷酸的该药用盐如图2A或图2B所示。

[0829] 259.一种治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染的方法,该方法包括向该患者施用包含根据实施例1至125中任一项的寡核苷酸或其药用盐及药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂的药物组合物,该方法包括经由皮下途径向该患者施用初始剂量约0.1mg/kg至约12mg/kg的该寡核苷酸。

[0830] 260.根据实施例259的方法,其中该药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂包含盐水。

[0831] 261.根据实施例260的方法,其中盐水为磷酸盐缓冲盐水。

[0832] 262.根据实施例259的方法,其中药用溶剂、载体、赋形剂、稀释剂或佐剂为水,例如注射用水。

[0833] 263.根据实施例229至232中任一项的方法,其中寡核苷酸的施用提供了由以下一项或多项所测量的临床益处:

[0834] (a)HBsAg水平降低,优选地,降低至少1log;

[0835] (b)初始剂量后至少50天所测定的HBsAg水平降低至少1log;

[0836] (c)HBV DNA水平降低,优选地,降低至少2log;

[0837] (d)初始剂量后至少25天所测定的HBV DNA水平降低至少2log;

[0838] (e)HBV DNA水平降低90%;

[0839] (f)HBcrAg水平降低,优选地,降低至少1log;

[0840] (g)初始剂量后至少25天所测定的HBcrAg水平降低至少1log;

[0841] (h)HBeAg水平降低,优选地,降低至少1log;

[0842] (i)初始剂量后至少50天所测定的HBcrAg水平降低至少1log;

[0843] (j)存在的HBV抗原已充分减少以导致血清转化,定义为不存在血清HBeAg且存在血清HBeAb(如果监测HBeAg作为血清转化的决定因素),或定义为不存在血清HBsAg(如果监测HBsAg作为血清转化的决定因素),如通过当前可用的商业化ELISA系统的检测限所确定;

[0844] (k)存在的HBV抗原已充分减少以导致PHBV,定义为不存在血清HBeAg且存在血清HBeAb(如果监测HBeAg作为血清转化的决定因素),或定义为不存在血清HBsAg(如果监测

HBsAg作为PHBV的决定因素)，如通过当前可用的商业化ELISA系统的检测极限所确定；

[0845] (l)ALT水平至少增加三倍；

[0846] (m)如初始剂量后约20天至约70天之间所测定的ALT水平至少增加三倍；

[0847] (n)诱导宿主介导的、细胞介导的免疫应答，例如T细胞应答；

[0848] (o)如初始剂量后任意时间点所测定的白蛋白和胆红素水平无显著变化；

[0849] (p)无患者反弹。

[0850] 264.根据实施例134至263中任一项的方法，其中该方法进一步包括测量获自患者的样品中生物标记(例如HBsAg、HBeAg或HbcrAg)的含量的步骤。

[0851] 265.根据实施例264的方法，其中测量步骤在治疗假期内进行。

[0852] 266.根据实施例264或265的方法，其包括在测量步骤后施用一个或多个更多剂量的寡核苷酸的步骤。

[0853] 267.包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸在制备药物中的用途，其中：

[0854] 该有义链由如

[0855] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

[0856] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0857] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0858] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合；并且

[0859] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成，并且包含

[0860] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0861] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间，以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0862] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP)，

[0863] 或其药用盐；

[0864] 该药物用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染，该治疗包括经由皮下途径向该患者施用约0.1mg/kg至约12mg/kg的初始剂量的该寡核苷酸。

[0865] 268.包含与反义链形成双链体区域的有义链的寡核苷酸在制备药物中的用途，其中：

[0866] 该有义链由如

[0867] GACAAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC(SEQ ID NO:1)所示的序列组成，并且包含

[0868] 在位置3、8-10、12、13和17处的2'-氟修饰的核苷酸，

[0869] 在位置1、2、4-7、11、14-16、18-26和31-36处的2'-O-甲基修饰的核苷酸，以及在位置1和2处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合，

[0870] 其中该有义链上-GAAA-序列的核苷酸中的每一个与缀单价GalNAc部分缀合；并且

[0871] 该反义链由如UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG(SEQ ID NO:2)所示的序列组成,并且包含

[0872] 在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19处的2'-氟修饰的核苷酸,

[0873] 在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20-22处的2'-O-甲基修饰的核苷酸,以及在位置1和2处的核苷酸之间、在位置2和3处的核苷酸之间、在位置3和4处的核苷酸之间、在位置20和21处的核苷酸之间,以及在位置21和22处的核苷酸之间的硫代磷酸酯键合,

[0874] 其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含甲氧基膦酸酯(MOP),

[0875] 或其药用盐;

[0876] 该药物用于治疗人类患者的乙型肝炎或乙型肝炎病毒(HBV)感染,该治疗包含经由皮下途径向该患者施用该寡核苷酸的约6mg至约800mg的初始剂量。

[0877] VII.实例

[0878] 实例1:HBVS-219

[0879] 一种如WO2019/079781(其内容以引用方式全部并入本文)中所鉴定和生产的寡核苷酸。图1对应于WO2019/079781的图10,示出包含掺入的错配的HBVS-219经修饰的双链体结构的一个实例。根据WO2019/079781中的实例2,相对于HBV基因型A-J进行错配。有义链横跨有核苷酸1到36,且反义链横跨有寡核苷酸1到22,后者之链从右到左的方向显示编号。所示的双链体形式在有义链的位置36和反义链的位置1的核苷酸之间具有切口。有义链中的修饰如下:在位置3、8至10、12、13和17的经2′-氟修饰的核苷酸;在位置1、2、4至7、11、14至16、18至26和31至36的经2′-O-甲基修饰的核苷酸;介于在位置1与2的核苷酸之间的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合;在位置27至30的2′-OH核苷酸;在位置27的2′-氨基二乙氧基甲醇-胍-GalNAc;以及分别在位置28、29和30的2′-氨基二乙氧基甲醇-腺嘌呤-GalNAc。反义链中的修饰如下:在位置1的5′-甲氧基、膦酸酯-4′-氧基-2′-O-甲基尿苷硫代磷酸酯;在位置2、3、5、7、8、10、12、14、16和19的经2′-氟修饰的核苷酸:在位置1、4、6、9、11、13、15、17、18和20至22的经2′-O-甲基修饰的核苷酸;及介于在位置1与2、2与3、3与4、20与21以及21与22的核苷酸之间的硫代磷酸酯核苷酸间键合。反义链在位置15包含并入的错配。同样如图所示,双链体的反义链包含横跨位置21至22的"GG"突出。

[0880] 实例2:在健康的人类受试者中评估安全性、耐受性以及在HBV患者中评估HBVS-219的功效

[0881] 本研究旨在在健康受试者(A组)中评估安全性和耐受性以及在HBV患者中评估HBVS-219的功效(B组和C组)。HBVS-219的结构如图1、图2A所示,并在下方显示:

[0882] 有义链:5′mG-S-mA-fC-mA-mA-mA-mA-mA-fU-fC-mC-fU-fC-mA-mC-mA-fA-mU-mA-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-[ademG-GalNAc]-[adcmA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC 3′

[0883] 杂交至:

[0884] 反义链:5′[甲氧基膦酸酯-4O-mU]-S-fU-S-fA-S-mU-fU-mG-fU-fG-mA-fG-mG-fA-mU-fU-mU-fU-mU-mG-fU-mC-S-mG-S-mG 3′

[0885] 图例:

[0886] mX:2′-O-甲基核糖核苷酸

[0887] fX:2′-氟-脱氧核糖核苷酸

[0888] [ademA-GalNAc]:2′-修饰的GalNAc腺苷

[0889] [ademG-GalNAc]:2′-修饰的GalNAc鸟苷

[0890] [甲氧基膦酸酯-4O-mU]:4′-O-单甲基膦酸酯-2′-O-甲基尿苷

[0891] 接头:“-”代表磷酸二酯

[0892] “-S-”代表琉代磷酸酯

[0893] 患者和研究设计

[0894] 数据来自全球多中心随机化安慰剂对照临床试验,该试验分为3个部分:健康志愿者的单个递增剂量(SAD)阶段(HV;A组,n＝30);患有慢性乙型肝炎(CHB)且疾病未经治疗患者的单个剂量(SD)阶段(未接受NUC,B组,包含单个群组B1,n＝8);以及患有CHB且NUC抑制的(NUC阳性)患者的3个群组的多个剂量(MAD)阶段(C组,群组C1、C2、C3,共n＝18,每个群组含6例参与者)。从SAD阶段进展到MAD阶段的第一群组后,安全审查委员会(SRC)审查至少前2个SAD群组中所有健康志愿者(HV)的至少14天的给药后安全性和耐受性数据。将SAD HV群组(A组)中的患者按2:1的比例分配,分别接受单次注射0.1、1.5、3、6或12mg/kg。在SD群组B1中,将未接受NUC的患者按5:3的比例随机化,并接受3mg/kg的单一剂量。在MAD群组(群组C1、C2和C3)中,将NUC抑制的(NUC阳性)患者按2:1的比例分配,4例患者接受活性药物,2例患者接受安慰剂,并且每个剂量分别接受1.5、3或6mg/kg,共包含4个剂量(每4周施用一次,持续3个月)。

[0895] 如果患者的年龄为18岁或以上、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)在至少六个月内呈阳性、在随机化之前8周内发生两次HBeAg阳性并在随机化之前8周内发生两起血清丙氨酸转氨酶(ALT)水平升高事件(至少为正常上限(ULN)的两倍),则他们符合治疗条件。

[0896] 如果患者符合下列标准之一,则将其排除在A组之外:医学病症1.任何可能干扰本研究药物吸收、分布或消除,或干扰本研究中临床和实验室评估的医学病史,包括(但不限于);慢性或复发性肾脏疾病、功能性肠病(例如频繁的腹泻或便秘)、胃肠道(GI tract)疾病、胰腺炎、癫痫、皮肤粘膜或肌肉骨骼疾病、自杀企图或自杀观念历史记录、或临床上显著的抑郁症或其他神经精神病学需要药物介入的疾病2.高血压控制不佳或不稳定;或筛选时持续收缩压>150mmHg或舒张压>95mmHg 3.胰岛素或降血糖剂治疗的糖尿病病史4.过去12个月内需要住院的哮喘病史5.根据中央研究实验室的筛选结果确定的G-6-PD缺乏症的证据6.目前内分泌疾病控制不佳,但甲状腺疾病(甲状腺机能亢进/甲状腺功能低下等)除外,任何经过药理治疗的甲状腺疾病均被排除7.如果参与者的恶性肿瘤在过去3年中通过化疗完全缓解,并且没有其他医学或外科手术介入,则可以接受恶性肿瘤病史8.多种药物过敏史或对寡核苷酸或GalNAc的过敏反应史9.对皮下注射不耐受的历史或明显的腹部疤痕,其可能会阻碍研究性介入的施用或局部耐受性的评估者10.临床上相关的手术史11.过去3年内持续滥用乙醇(每天>40g乙醇)或使用非法药物的历史12.研究性介入施用前7天内有临床上显著的疾病13.在施用研究性介入之前的2个月内捐赠500mL以上的血液,或在筛选之前的7天内捐赠血浆14.筛选时正处于重大感染或已知的发炎过程(研究者认为)15.有慢性或复发性尿路感染(UTI),或筛选前一个月内有UTI 16.计划在研究进行期间进行选择性外科手术。既往/合并疗法:17.在进行研究性介入之前的4周内施用处方药(女性避孕药除外)18.在首次给药后的7天内使用非处方(OTC)药物或草药补给品(常规维生素除外),除非研究者和试验委托者同意不具有临床意义。既往/同步临床研究经历:19.在给药前3个月内已

接受研究药物，或在研究招募前正在进行另一项临床研究追踪。诊断评估：20.筛选时，人免疫缺陷病毒(HIV)或乙型肝炎病毒(HBV)或丙型肝炎病毒(HCV)抗体呈阳性(如果上次检验在筛选前3个月内进行，则可以使用上次检验的结果)21.筛选访视时，丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、γ-谷氨酰基转移酶(GGT)、总胆红素、碱性磷酸酶(ALP)或白蛋白超出参考范围22.研究者认为临床上相关且无法接受的全血细胞计数测试异常；血红蛋白(Hgb)<12.0g/dL(相当于120g/L)；血小板超出正常范围23。血红蛋白A1C(HbA1C)>7％24。研究者认为其临床上显著且无法接受的任何其他安全实验室测试结果。其他排除标准：25.从进入临床研究中心前的48小时到研究结束为止，已经进行或计划进行运动水平的重大改变26。研究者认为的任何条件都可能使参与者不适合招募，或者可能干扰参与或完成研究。

[0897] 对于B组和C组，如果符合以下标准，则将患有乙型肝炎的参与者纳入研究：

[0898] 1.签署知情同意书时，年龄为18岁(或法律准许的年龄，以较大者为准)至65岁(含65岁)2.慢性乙型肝炎感染，如表3和表4所记录：

[0899] 表3：C组(NUC+)

[0900]

C 组 (NUC+)			
	筛选 HBsAg	**ALT**	**血清 IgM 抗 HBc**
HBeAG 阳性	> 1000 IU/mL	-	阴性
HBeAG 阴性	> 500 IU/mL	-	阴性

[0902] 表4：B组(未接受NUC)

[0903]

B 组 （未接受 NUC）				
	筛选 HBsAg	**ALT**	**血清 IgM 抗 HBc**	**血清 HBV DNA**
HBeAG 阳性	> 1000 IU/mL **AND**	≥ 35 U/L（男性） ≥ 30 U/L（女性）	阴性	> 2000 IU/mL
HBeAG 阴性	> 500 IU/mL	≥ 35 U/L（男性） ≥ 30 U/L（女性）	阴性	> 2000 IU/mL

[0904] 3.符合代偿性肝病的临床病史，无肝硬化证据：a.无食管或胃肠静脉曲张引起的出血史b.无腹水史c.无慢性肝病引起的黄疸病史d.无肝性脑病史e.无门静脉高压症的身体标志(蜘蛛状血管瘤等)f.既往无肝活检、肝脏影像学研究或弹性成像结果表明存在肝硬化(即FibroScan>10.5kPa)。如果在过去6个月内进行了Fibroscan，则可以使用该检查的结果。4.在筛选访视前连续接受至少12周的NUC治疗(恩替卡韦或替诺福韦)，耐受性和依从性令人满意(C组)。参与者应在整个研究过程中保持一致的剂量，或者应未接受过针对乙型肝炎的治疗(即，先前未接受针对乙型肝炎的抗病毒疗法或先前未接受过HBV NUC或含干扰素的治疗；B组)5.仅对于未接受NUC(B组)的参与者，筛选时血清ALT≥35U/L(男性)或≥30U/L(女性)。如果在过去6个月内进行了肝活检，则免疫活性CHB的组织学证据即足够。允许接受过NUC(C组)的参与者的ALT值在正常范围内。6.在筛选时和第1天给药前，12导联心电图(ECG)无临床上显著的异常(试验主持人认为)7.允许非酒精性脂肪肝病。无其他已知病因的肝病是可接受的。体重：8.身体质量指数(BMI)在18.0至35.0kg/m2(含)的范围内。性别：9.男性或女性a.男性参与者：男性参与者必须同意在治疗期间及最后一剂研究干预后至少

12周(B组单个剂量施用)或12周(C组多个剂量施用)采取避孕措施且在此期间不捐献精子。b.女性参与者:如果女性参与者未怀孕、未进行母乳喂养且至少满足以下条件之一,则其有资格参加:o并非附录4中定义的具有生育能力的女性(WOCBP),或者根据地区的不同,WOCBP同意在治疗期间和研究干预剂量后至少12周内遵循避孕指南。知情同意书:10.患者必须能够签署知情同意书,包括遵守ICF和本方案中列出的要求和限制。对于B组和C组,如果参与者符合以下任何标准,则将其排除在外:医学病症:1.有任何临床上显著的病史或存在控制不良或失代偿的神经、内分泌、心血管、肺、血液、免疫、精神、代谢或其他不受控制的全身性疾病,可能影响参与研究2.存在任何联合医学或精神病症或社会状况,在试验主持人看来,使其难以遵守方案要求或使参与者面临额外的安全风险3.高血压控制不良或不稳定4.经胰岛素或降糖药治疗控制不良的糖尿病(血清HbA1c>8.0%)5.根据中央研究实验室的筛选结果确定的G-6-PD缺乏症的证据6.肝细胞癌(HCC)的临床病史7.如果恶性肿瘤在过去3年中通过化疗完全缓解,并且没有其他医学或外科手术介入,则可以接受HCC以外的恶性肿瘤病史8.过去3年内持续滥用乙醇(每天>40gm乙醇)或使用非法药物的历史9.对皮下注射不耐受的历史或明显的腹部疤痕,其可能会阻碍研究性介入的施用或局部耐受性的评估者10.在治疗前的最近6周接受输血,或预期在透过试验后随访期间进行输血11.筛选前2个月内捐献或失去血液>500mL,或筛选前7天内捐献血浆。既往/合并疗法:12.筛选的3个月内进行抗病毒治疗抗病毒疗法(C组中的恩替卡韦或替诺福韦除外)或过去3年使用干扰素治疗13.在过去6个月内(或预期需要)使用抗凝血剂、全身性地施用皮质类固醇、全身性地施用免疫调节剂或全身性地施用免疫抑制剂14.在进行研究性介入的施用之前的14天内使用处方药,试验主持人或试验委托者认为会干扰研究执行者15.在研究性介入的施用之前3个月内长效注射或植入任何药物,可注射/可植入的避孕措施除外。既往/同步临床研究经历:16.在给药前3个月内已接受研究药物,或在研究招募前正在进行另一项临床研究追踪。诊断评估:17.筛选时仰卧休息10分钟后收缩压>150mmHg,舒张压>95mmHg 18.筛选时确认肝转氨酶(ALT或天冬氨酸转氨酶,AST)>7×ULN 19.持续性或复发性高胆红素血症的病史,除非已知吉尔伯特病或杜宾-约翰逊综合征20.HIV、HCV或HDV抗体呈血清阳性。在既往接受过直接作用HCV药物治疗且HCV呈血清阳性的C型肝炎患者中,必须检测不到HCV RNA。21.Hgb<12g/dL(男性)或<11g/dL(女性)22.筛选时血清白蛋白<3.5g/dL 23.筛选时白细胞(WBC)总计数<3,000细胞/μL或嗜中性细胞绝对计数(ANC)<1800细胞/μL。24.筛选时血小板计数每μL≤100,00025.筛选时国际标准化比率(INR)或凝血酶原时间(PT)高于正常参考范围(根据检测实验室参考范围)的上限26.血清BUN或肌酐>ULN 27.血清淀粉酶或脂肪酶>1.25×ULN 28.血清甲型胎儿蛋白(AFP)值>100ng/mL。如果筛选时的AFP>ULN但<100ng/mL,如果肝脏成像研究显示无可疑的可能的HCC病灶,则参与者符合条件29.研究者认为其临床上显著且无法接受的任何其他安全实验室测试结果。其他排除标准:30.从进入临床研究中心前的48小时到研究结束为止,已经进行或计划进行运动水平的重大改变31。试验主持人认为的任何条件都可能使参与者不适合招募,或者可能干扰参与或完成研究32.根据恩替卡韦或替诺福韦的当地药品说明书,有任何禁忌症(仅适用于B组)。

[0905] HBVS-219在注射用水中制备为无菌制剂。单位剂量规格为195mg/ml。施用途径为皮下注射(大腿或腹部)。HBVS-219制剂储存于2℃至8℃(含)下,避光并避免达到冰点。施用前,HBVS-219制剂在约1小时(但不超过4小时)内升温至室温。单次皮下注射最大体积不超

过0.8mL。如果单次注射的总体积超过0.8mL,则通过两次或多次皮下注射来施用该剂量。

[0906] 血清HBsAg水平与共价闭合环状DNA(cccDNA)和肝内HBV DNA相关,且越来越多地用于预测和监测对聚乙二醇干扰素治疗的治疗应答。通过定量血清HBsAg、定性血清HBsAg、定量血清HBeAg、定量血清HBV DNA、定量血清HBV RNA、定量血清HBcrAg和血清ALT来评估疗效(药效学,PD)。

[0907] 在治疗期结束后,每28天(±7天)对参与者进行一次随访,直至HBsAg水平低于第1天值<1log10 IU/mL("条件随访")。注意,为实现条件随访,对于那些未恢复至第1天HBsAg的1log10 IU/mL以内的参与者,可在治疗期结束后将治疗分配结果揭盲。对于经过6个月条件随访但仍未达到HBsAg水平低于其第1天值的<1log10 IU/mL的参与者,认为研究已完成。为这些参与者提供一项扩展研究,但他们必须同意参与。

[0908] 使用多种测定来监测患者。

[0909] 定量血清HBsAg(qHBsAg)水平。血清qHBsAg定量由Sonic Clinical Trials(SCT)使用Elecsys HBsAg II(Roche Diagnostics,Indianapolis,USA)装置及其试剂盒来进行。该装置采用电化学发光免疫分析(ECLIA)技术。

[0910] 定性血清HBsAg水平和抗HBs。定性血清HBsAg水平和抗HBs由SCT使用MODULAR®Analytics E170(Roche Diagnostics,Indianapolis,USA)装置及其试剂盒来评估。该装置采用ECLIA技术。对HBsAg水平无法检出的参与者进行抗HBs检测。

[0911] 定量血清HBeAg水平。定量HBeAg水平(在HBeAg阳性参与者中)通过VIDRL(Victorian Infectious Diseases Research Laboratory)测定进行评估,利用LIAISON®(DiaSorin,S.p.A.,Italy)。

[0912] 定性血清HBeAg水平和抗HBe血清定性HBeAg和抗HBe在Rochecobas®分析仪及其试剂盒上进行评估。该装置采用ECLIA技术。对HBeAg水平无法检出的参与者进行抗HBe检测。

[0913] 定量血清HBV DNA水平。定量HBV DNA水平经由cobas®4800HBV DNA聚合酶链反应(PCR)测定2.0版(Roche Diagnostics,Indianapolis,USA)进行评估。

[0914] 定量血清HBV RNA水平。定量HBV RNA水平通过在LC480 II实时PCR仪器(Roche Diagnostics,Indianapolis,USA)上进行的定量实时PCR(qRT-PCR)测定来评估。

[0915] 定量HBcrAg。血液中的定量HBcrAg水平通过LumiPulse®化学发光测定(Fujirebio,USA)来评估。

[0916] 丙氨酸转氨酶水平和发作。治疗早期ALT升高(发作),定义为ALT大幅升高(>3倍基线值且>10ULN),但肝合成功能不下降(白蛋白减少)或排泄功能下降(胆红素增加)可作为针对HBV的免疫应答及其下游机制的证据。较高的ALT水平可能反映HBV的免疫清除能力更强,因此,HBV-DNA损失和HBeAg血清转化的机会更高。ALT水平将作为临床化学检查的一部分在活动时间表中指定的访视时进行测量。进一步随访任何发生ALT升高(发作)的参与者。

[0917] A组、B组和C组的样本量分别为30例参与者、8例参与者和18例参与者,其分别提供了对健康成年人及患有乙型肝炎的参与者中HBVS-219的安全性特征的评估。B组和C组参与者的疗效评估提供了单剂量和多剂量相关疗效的数据,例如定量血清HBsAg和HBV DNA水平的降低。

[0918] 在所有图中,BL都为基线,且BL右侧X轴上的时间天数自HBVS-219或安慰剂首次施

用起计算。

[0919] C组结果(NUC阳性患者)见下文。C组中群组C1、C2和C3中的患者接受多达四个HBVS-219剂量,分别为1.5mg/kg(C1)、3mg/kg(C2)和6mg/kg(C3)。下表5提供了患者接受的相应固定剂量的总结。

[0920] 表5:C组HBVS-219患者固定剂量(mg)总结

[0921]

访视	统计	群组 C1 - 1.5 mg/kg	群组 C2 - 3 mg/kg	群组 C3 - 6 mg/kg
第 1 天	n	4	4	3
	均值	89.8	189.5	403.4
	标准偏差	28.28	35.58	32.66
	中位数	76.3	189.9	391.2
	最小值	74	149	379
	最大值	132	229	440
第 29 天	n	4	4	3
	均值	89.5	190.7	397.2
	标准偏差	28.44	36.54	34.16
	中位数	76.3	191.3	382.8
	最小值	74	150	373
	最大值	132	230	436
第 57 天	n	4	4	2
	均值	89.6	191.5	381.0
	标准偏差	28.55	38.91	13.58
	中位数	76.4	188.7	381.0
	最小值	73	152	371
	最大值	132	237	391
第 85 天	n	4	4	2
	均值	90.0	193.5	381.3
	标准偏差	29.05	36.98	12.30
	中位数	76.3	191.0	381.3
	最小值	74	156	373
	最大值	134	236	390

[0922] 施用的剂量(mg)按给药时体重(kg)×剂量水平(mg/kg)来计算。表中显示了每次访视时参与者的平均施用剂量(或单一剂量)。表及列表中仅包括治疗组中的参与者。

[0923] 图4显示了NUC阳性HBV患者(C组)的HBsAg相较于基线的平均变化CBL(IU/ml)。NUC阳性HBV患者(在访视前至少12周连续接受NUC治疗、恩替卡韦或替诺福韦)在第1、29、57和85天给予最多4轮HBVS-219。黑色虚线为跨群组的安慰剂(n=6),浅灰色线为每剂1.5mg/kg HBVS-219的群组C1(n=4),中等灰色实线为每剂3mg/kg HBVS-219群组C2(n=4),黑色实线为每剂6mg/kg HBVS-219群组C3(n=3)。Y轴显示了HBsAg log10平均值(+/-标准偏差)相较于基线的变化CBL(IU/mL)。患者在治疗后接受条件随访(CFU)。X轴显示时间(天),CFU部分相比于治疗期使用因子2缩小(用于增强可视化)。误差条显示标准偏差。当试验只有一例受试者时,结束随访时的汇总(点)以单次观察结果(因此无误差条)表示。接受HBVS-219治疗

的所有患者组在每次施用HBVS-219后4周内均表现出平均HBsAg降低(随时间的推移而有所增加)。在C2和C3组中监测的患者显示,HBsAg在第112天与第392天之间长期降低高达2log倍以上。显示了C组中HBsAg水平相较于基线的变化。

[0924] 图5a显示了群组C1中每轮接受1.5mg/kg HBVS-219治疗的HBV患者的HBsAg水平较基线读数的个体患者变化(平均值如图4中的浅灰色实线所示)及其与群组C1安慰剂对照的比较。在图5a中,接受HBSV-219治疗的患者用灰色和黑色实线表示(n=4),安慰剂对照用虚线表示(n=2).Y轴为HBsAg水平CBL(IU/mL)。X轴是接受治疗后的条件随访期(CFL)的时间(天),相比于治疗期使用因子2缩小(用于增强可视化)。在112天与392天之间测量的所有接受HBVS-219治疗的患者均表现出HBsAg水平持续降低超过基线1log以下(112天后,由背景阴影区域显示)。在图5a中,点(圆点)上的X表示对于该特定值,总HBsAg绝对水平已达到100IU/ml以下(6例患者中的3例达到)。提供的数据根据群组C1中的平均体重进行了调整。

[0925] 图5b显示了群组C2中每轮接受3mg/kg HBVS-219治疗的HBV患者的HBsAg水平相较于基线的个体患者变化(平均值如图4中的深灰色实线所示)及其与群组C2安慰剂对照的比较。在图5b中,接受HBVS-219治疗的患者用灰色和黑色实线表示(n=4),安慰剂对照用虚线表示(n=2)。Y轴为HBsAg水平CBL(IU/mL)。X轴是接受治疗后的条件随访期(CFL)的时间(天),相比于治疗期使用因子2缩小(用于增强可视化)。点(圆点)上的X表示HBsAg<100IU/mL。6例患者中的2例达到HBsAg<100IU/mL。在所有接受治疗的患者中观察到HBsAg明显降低,所有监测的患者在第85天减少1log,持续进行所有剩余的测量,直至达到第252天。在图5b中,根据测试的群组(群组C2)的平均体重对结果进行了调整。

[0926] 图5c显示了群组C3中每轮接受6mg/kg HBVS-219治疗的HBV患者的HBsAg水平相较于基线的个体患者变化(平均值如图4中的黑色实线所示)及其与群组C3安慰剂对照的比较。在图5c中,接受HBVS-219治疗的患者以灰色及黑色实线(n=3)表示,安慰剂(n=2)用虚线表示。根据C3中的平均体重对结果进行了调整。Y轴为HBsAg水平CBL(IU/mL)。X轴是接受治疗后的条件随访期(CFL)的时间(天),相比于治疗期使用因子2缩小(用于增强可视化)。点(圆点)上的X表示HBsAg<100IU/mL(5例患者中的1例达到)。测量两例患者(MS33-440和MS43-997)直至第112天,表明HBsAg在第85天时降低了1倍以上,并且该降低持续到每例患者的最终测量点。

[0927] 图5d显示了C1组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBcrAg相较于基线的变化(CBL)。数据按重量标准化至零。Y轴为HBcrAg水平CBL(IU/mL)。X轴为时间(天)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n=4)。黑色和灰色虚线为安慰剂。(n=2)。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。

[0928] 图5e显示了C2组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBcrAg相较于基线的变化(CBL)。数据按重量标准化至零。Y轴为HBcrAg水平CBL(IU/mL)。X轴为时间(天)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n=4)。黑色和灰色虚线为安慰剂(n=2)。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。

[0929] 图5f显示了C3组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBcrAg相较于基线的变化

(CBL)。数据按重量标准化至零。Y轴为HBcrAg水平CBL(IU/mL)。X轴为时间(天)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝3)。黑色和灰色虚线为安慰剂(n＝2)。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。

[0930] 图5g显示C1组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBeAg变化CBL。Y轴为HBeAg log10水平(PEI IU/mL)。X轴为时间(天)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝2)。黑色虚线为安慰剂(n＝1)。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。

[0931] 图5h显示了C2组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBeAg变化CBL。Y轴为HBeAg log10水平(PEI IU/mL)。X轴为时间(天)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝2)。黑色虚线为安慰剂(n＝1)。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。

[0932] 图5i显示了C3组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBeAg变化CBL。Y轴为HBeAg log10水平(PEI IU/mL)。X轴为时间(天)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝2)。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。

[0933] 图5j显示了C1组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBV DNA变化CBL。Y轴为HBV DNA水平CBL(IU/mL)。X轴为时间(天)。数据按重量标准化至零。条件随访期第112-392天。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝4)。黑色和灰色虚线为安慰剂(n＝2)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。

[0934] 图5k显示了C2组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBV DNA变化CBL。Y轴为HBV DNA水平CBL(IU/mL)。X轴为时间(天)。数据按重量标准化至零。条件随访期第112-392天。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝4)。黑色和灰色虚线为安慰剂(n＝2)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。

[0935] 图5l显示了C3组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBV DNA变化CBL。Y轴为HBV DNA水平CBL(IU/mL)。X轴为时间(天)。数据按重量标准化至零。条件随访期第112-392天。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝3)。黑色和灰色虚线为安慰剂(n＝2)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。

[0936] 图5m显示了C1组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBV RNA变化CBL。Y轴为HBV

RNA水平CBL(拷贝/mL)。数据按重量标准化至零。X轴为时间(天)。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝4)。黑色和灰色虚线为安慰剂(n＝2)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。

[0937] 图5n显示了C2组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBV RNA变化CBL。Y轴为HBV RNA水平CBL(拷贝/mL)。X轴为时间(天)。数据按重量标准化至零。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝4)。黑色和灰色虚线为安慰剂(n＝2)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。

[0938] 图5o显示了C3组(NUC阳性)各个接受治疗的患者的HBV RNA变化CBL。Y轴为HBV RNA水平CBL(拷贝/mL)。X轴为时间(天)。数据按重量标准化至零。条件随访期第112-392天(相比于治疗期使用因子2缩小)。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n＝3)。黑色和灰色虚线为安慰剂(n＝2)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。

[0939] 图6a至图9b显示了未接受单一疗法NUC治疗的HBV患者(B组,群组B1)的结果。未接受NUC患者先前未接受过乙型肝炎的抗病毒疗法或先前HBV NUC或含干扰素的治疗。在第一天(BL)给予患者单一剂量的3mg/kg HBVS-219(n＝6)或安慰剂(n＝3)。图中对DCR-HBVS的所有引用均指HBVS-219的施用。

[0940] 下表6提供了B组患者接受的相应固定剂量的总结。

[0941] 表6:B组HBVS-219患者固定剂量(mg)总结

[0942]

访视	统计	群组 B1 - 3 mg/kg
第 1 天	n	6
	均值	255.8
	标准偏差	35.43
	中位数	262.4
	最小值	205
	最大值	297

[0943] 施用的剂量(mg)按给药时体重(kg)×剂量水平(mg/kg)来计算。表中显示了每次访视时参与者的平均施用剂量(或单一剂量)。表及列表中仅包括治疗组中的参与者。

[0944] 图6a显示了整个B组中未接受NUC HBV的患者在接受3mg/kg HBVS-219单一剂量、单一疗法治疗或安慰剂治疗时HBsAg相较于基线的平均变化(CBL)。Y轴为HBsAg log10 CBL平均值(+/-SD)(IU/mL)。X轴为施用后的天数。灰色实线为接受3mg/kg HBVS-219治疗的平均值(n＝6)。黑色虚线为接受安慰剂的平均值(n＝3)。结束随访时的汇总由单次观察结果表示(因此无标准偏差)。

[0945] 图6b显示了B组中未接受NUC治疗的HBV个体患者在接受HBVS-219或安慰剂时HBsAg水平的降低,CBL(IU/mL)。Y轴为HBsAg水平CBL(IU/mL)。X轴为条件随访期第85天至第112天内的时间(天)。点(圆点)上的X表示HBsAg<100(IU/mL),9例患者中的1例达到。数据按体重标准化。所有测量的接受HBVS-219治疗的患者均表现出HBsAg水平在57天后降低0.5log。在测量期间,相对于基线的降低得以保持。在接受单一剂量HBVS-219治疗的6例患

者中,全部(100%)发生HBsAg降低。

[0946] 图6c显示了B组中未接受NUC治疗的HBV个体患者在接受HBVS-219(n=6,灰色和黑色实线)或安慰剂(n=3,虚线)时HBV DNA的个体变化。Y轴为HBV DNA水平CBL(IU/mL)。X轴为条件随访期第85天至第168天内的时间(天)。数据按体重标准化。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。在群组B1的大多数接受HBVS-219治疗的患者中观察到HBV DNA降低。接受安慰剂的患者随时间的推移表现出相对稳定的HBV DNA水平。1例患者(MS76-467)令人惊讶地表现出HBV DNA降低5log以上。图6c显示了接受HBVS-219单一疗法治疗后观察到的HBV DNA的总体降低。

[0947] 图6d显示了群组B1中HBcrAg水平CBL(IU/ml)的个体变化。Y轴为HBcrAg CBL(IU/mL)。X轴为条件随访期第85天至第112天内的时间(天)。数据按体重标准化。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。接受HBVS-219治疗的患者以灰色和黑色黑线表示(n=6),安慰剂以虚线表示(n=3)。图6d显示了HBVS-219施用后HBcrAg水平相较于基线的变化。6例接受HBVS-219治疗的患者中的3例(MS07-701、MS39-530和MS76-467)在85天时或之后表现出HBcrAg水平较基线水平降低。

[0948] 图6e显示了群组B1中施用HBVS-219后HBeAg水平的个体变化(仅显示基线时e+的患者)。Y轴为HBeAg水平CBL(PEI IU/mL)。X轴为第85天至第112天后条件随访期内的时间(天)。数据按体重标准化。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。接受HBVS-219治疗的患者以灰色和黑色黑线表示(n=4),安慰剂以虚线表示(n=1)。图6e显示了施用药物后的HBeAg降低。大于100PEI U/ml的患者可能发生降低。至少一例接受HBVS-219治疗的患者(MS76-467)表现出HBeAg降低。

[0949] 图6d及图6e提供了支持单一疗法或导入期单一疗法阶段的疗效(HBcrAg水平和HBeAg水平降低)的额外数据。未接受治疗的患者接受单次注射HBVS-219后,其他患者具有高于定量限的水平(向上三角形)。

[0950] 图6f显示了B组(未接受NUC)各个接受治疗的患者的HBV RNA相较于基线的变化(CBL)。数据按重量标准化至零。Y轴为HBV RNA水平CBL(拷贝/mL)。X轴为时间(天)。条件随访期第85-112天。黑色和灰色实线为接受HBVS-219治疗的患者(n=6)。黑色和灰色虚线为安慰剂(n=3)。相同坐标上的特殊点在Y轴上略有扰动时才可见。特殊点:向下三角形(低于可检测的限值)、向上三角形(高于可检测的限值)、x(未检测到)。

[0951] 图7显示了B组中未接受NUC的患者MS76-467接受3mg/kg HBVS-219治疗后的变化。MS76-467在HBVS-219施用后113天,表现出HBV DNA水平(深灰色实线,左侧Y轴上的刻度-log10 HBV DNA IU/ML)降低5log;施用后113天,表现出HBsAg降低(浅色灰色实线,左侧Y轴上的刻度-log 10HBsAg IU/mL)降低1个log,且施用后第29天和第71天之间,ALT水平升高(指示阳性发作)(黑色实线,右侧Y轴上的刻度-ALT(xULN))。ALT阳性发作在图7中定义为ALT 7x ULN与BL时ALT>3x ALT组合或与最低点ALT>3x ALT的结合。特殊符号:向上三角形(高于检测极限),向下三角形(低于检测极限)。条件随访期第85天至第168天。

[0952] 图8显示了B组患者MS76-467的以胆红素(浅灰色实线-填充点,单位为μmol/L)和

白蛋白(深灰色实线-非填充点,单位为g/L)测量的肝功能,该肝功能在测量期间保持稳定。图8显示肝合成和排泄功能得以保持,表现为胆红素和白蛋白的直接测量结果保持在正常参考范围内(胆红素和白蛋白测量线周围的阴影区域分别代表正常范围),第57天直接胆红素短暂增加除外。ALT变化显示为黑色实线(xULN)(根据图7)。ALT阳性发作在图7和图8中定义为ALT 7xULN与BL时ALT>3x ALT组合或与最低点ALT>3x ALT的结合。条件随访期第85天至第168天。图8显示肝功能得以保持,并与图7相结合,支持患者MS76-467中的发作为阳性发作。

[0953] 图9a显示了B组中未接受NUC的患者MS93-177接受3mg/kg HBVS-219治疗后的变化。MS93-177显示HBV DNA水平未降低(深灰色实线,左侧Y轴上的刻度-log 10HBV DNA(IU/mL))、HBsAg略有降低(浅灰色实线,左侧Y轴上的刻度-log 10HBsAg(IU/mL))及ALT水平升高(黑色实线,右侧轴上的刻度-(xULN))。ALT阳性发作在图9a中定义为ALT 7xULN与BL时ALT>3x ALT组合或与最低点ALT>3x ALT的结合。特殊符号:向上三角形(高于检测极限),向下三角形(低于检测极限)。条件随访期第85天至第168天。

[0954] 图9b显示了群组B1患者MS93-177的基本上稳定的肝功能。白蛋白显示为深灰色实在线的未填充点(左侧Y轴,g/L),胆红素显示为浅灰色实线(左侧Y轴,μmol/L)。在第43天到第71天时,直接胆红素的升高非常小。ALT水平显示为黑色实线(右侧刻度,x ULN)。ALT阳性发作在图9b中定义为ALT 7xULN与BL时ALT>3x ALT组合或与最低点ALT>3x ALT的结合。图9b进一步支持MS93-177发生了阳性发作。图9b显示肝合成及排泄功能得以保持,表现为胆红素和白蛋白的直接测量结果基本保持在正常参考范围内(胆红素和白蛋白测量线周围的阴影区域分别代表正常范围)。

[0955] 图10显示B组和C组患者的注射位点相关不良事件的时间依赖性概述。图10表明HBVS-219是安全的。图10为注射部位相关不良事件(AE)数量的受试者水平图。Y轴为注射部位数量。X轴为给药后的时间(天)。注射部位反应(ISR)定义为施用剂量后4小时内报告的注射部位的体征或症状。1级-压痛伴有或不伴有相关症状(例如发热、红斑、瘙痒)。2级-疼痛、脂肪代谢障碍、水肿、静脉炎。3级-溃疡或坏死,重度组织损伤,需要手术干预。4级-危及生命的后果,需要紧急干预。5级-死亡。根据不良事件通用术语标准(CTCAE)5.0版ISR标准评估给药4小时后注射部位的体征或症状。AE类型:黑色向上三角形(ISR 2级)、灰色向上三角形(ISR 1级)、灰点(圆点)(非ISR轻度-不符合ISR的定义)。每例患者用一条线表示。组别:虚线(B组),实线(C1-C3组,线粗从C1至C3递增)。在线的P和AD符号代表受试者的治疗组(P为安慰剂,AD为HBVS-219的活性剂量)。发生2例2级ISR,未发生3级或更高级别的ISR。

[0956] 在未接受SD NUC的B1组患者中记录的HBV发作百分比为38%。所有发作都发生于未接受NUC群组接受治疗的前3个月内。3次发作都发生于单次注射HBVS-219后。

[0957] B组和C组中无严重不良事件,无DLT,且无安全相关的停药。平均HBsAg降低幅度为:

[0958] 第112天时,群组C1中>1log(1.4,SD为0.39)(图4中的浅灰色实线),及

[0959] 第112天时,群组C2中>1.5log(1.8,SD为0.57)(图4中的深灰色实线)。C1和C2在统计上相似,在C2中由单一受试者推动,得到了更出色的应答,见图4。

[0960] 本文示例性地描述的本公开可在不存在本文未具体公开的任何一个或多个要素、一个或多个限制的情况下适当地实践。因此,例如,在本文的每个实例中,术语“包含

(comprising)”、“基本上由……组成(consisting essentially of)”及“由……组成(consisting of)”中之任一者都可替换为另外两个术语中的任一者。所采用的术语和表达被用作描述性而非限制性的术语,并且非旨在使用这些术语和表达来排除所示出和描述的特征或其部分的任何等同形式,但应当认知到在要求保护的发明范围内可以进行各种修改。因此,应理解,尽管本发明已通过优选实施例具体公开,但是本领域技术人员可以采用本文所公开的概念的视情况的特征、修改和变型,且该等修改及变化被认为处于由说明书及所附权利要求书所限定的本发明的范围内。

[0961] 在描述本发明的上下文中(尤其是在以下权利要求书的上下文中),术语“一(a和an)”及“该/所述(the)”以及类似指代的使用应被解释为涵盖单数和复数两者,除非本文另有指出或与上下文明显矛盾。除非另有说明,否则术语“包含(comprising)”、“具有(having)”、“包括(includin)”和“含有(containing)”应解释为开放式术语(即,意指“包括但不限于(including,but not limited to)”)。除非在本文中另有说明,否则在本文中数值范围的记载仅旨在用以作为分别指代落入该范围内的每个单独值的简写方法,并且每个单独值都被并入说明书中,就如同其在本文中被分别记载一样。除非本文另外指出或与上下文明显矛盾,否则本文描述的所有方法可以任何合适的顺序执行。除非另有说明,否则本文提供的任何和所有实例或示例性语言(例如,“诸如(such as)”)的使用仅旨在更好地阐明本发明,并且不对要求保护的本发明的范围构成限制。说明书中的任何语言都不应解释为指示任何未请求保护的组件为实践本发明所必要的。

[0962] 本文描述了本发明的实施例,包括发明人已知的用于实施本发明的最佳方式。在阅读上述说明后,那些实施例的变型对于本领域普通技术人员来说是显而易见的。

[0963] 根据本发明,在方法中所使用的寡核苷酸的所有实施例也被认为治疗和/或用于制造药物的方法。

[0964] 发明人期望技术人员适当地采用这些变型,并且发明人意图以不同于本文所具体公开的方式来实践本发明。因此,本发明包括在适用的法律允许的范围内对所附权利要求书中所述的主题的所有修改和等同形式。此外,除非本文中另有说明或与上下文明显矛盾,否则上述要素在其所有可能的变型中的任意组合都可包含在本发明内。本领域技术人员将认识到或能够仅使用常规实验来确定本文所述的本发明的具体实施例的许多等同形式。这些等同形式旨在包含在以下权利要求书中。

[0965] 参考文献

[0966] Chang M.and Liam Y.,Hepatitis B Flares in Chronic Hepatitis B:Pathogenesis,Natural Course and Management,J.HEPATOLOGY(2014)(Vol.61)pp.1407-17.

[0967] Chen C.,et al.,Long-term incidence and predictors of hepatitis B surface antigen loss after discontinuing nucleoside analogues in noncirrhotic chronic hepatitis B patients,CLIN.MICRO.INFECTION 24(2018)997-1003.

[0968] Chi H.,et al.,Flares During Long-Term Entecavir Therapy in Chronic Hepatitis B,J.GASTRO.HEPATOL.(2016)31:1882-87.

[0969] Dusheiko G.,Hepatitis B Surface Antigen Loss:Too Little,Too Late and the Challenge for the Future,GASTROENTEROLOGY,156(3)P548-551(Feb.2019).

[0970] Flink HJ,et al.,Flares in chronic hepatitis B patients induced by the host or the virus?Relation to treatment response during Peg-interferon a-2b therapy,GUT2005;54:1604-1609.

[0971] Fontana R.J.et al.,Liver Safety Assessment in Clinical Trials of New Agents for Chronic Hepatitis B,J.VIROL HEPATOLOGY,(2020)27:96-109.

[0972] Ghany M.G.,et al.,Serum Alanine Aminotransferase Flares in Chronic Hepatitis B Infection:The Good and the Bad,LANCET GASTROENTEROLOGY HEPATOLOGY,(2020)(5:406-17).

[0973] Höner Zu Siederdissen C,et al.Viral and host responses after stopping long-term nucleos(t)ide analogue therapy in HBeAg-negative chronic hepatitis B.,J INFECT DIS.2016;214(10):1492-1497.doi:10.1093/infdis/jiw412.

[0974] Marcellin P.et al.,Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B,N Engl J Med 2003;348:808-816.

[0975] Penna A.,et al.,Predominant T-helper 1 cytokine profile of hepatitis B virus nucleocapsid-specific T cells in acute self-limited hepatitis B, HEPATOLOGY25:1022-1027.(1997)。

[0976] Schildgen O,et al.,Variant of Hepatitis B virus with primary resistance to adefovir,N ENGL J MED 2006;354:1807-1812.

[0977] Seeger C,Mason WS.Hepatitis B virus biology,MICROBIOL MOL BIOL REV.2000;64(1):51-68.doi:10.1128/MMBR.64.1.51-68.2000.

[0978] Seto WK,et al.,Treatment cessation of entecavir in Asian patients with hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B:a multicentre prospective study,GUT,2015;64(4):667-672.doi:10.1136/gutjnl-2014-307237.

[0979] Stanaway JD,et al.,The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013:findings from the Global Burden of Disease Study 2013,LANCET.2016;388 (10049):1081-88.doi:10.1016/S0140-6736(16)30579-7.

[0980] Tamaki N.et al.,Hepatitis B surface antigen reduction by switching from long-term

[0981] nucleoside/nucleotide analogue administration to pegylated interferon,J.VIRAL HEPAT.,(2017)4:672-78.

[0982] Thimme R.,et al.,CD8+T Cells Mediate Viral Clearance and Disease Pathogenesis during Acute Hepatitis B Virus Infection,J.VIR.,77(1)68-76 (2003).

[0983] Villeneuve JP.,The natural history of chronic hepatitis B virus infection,J CLIN VIROL.,2005;34(Suppl 1):S139-S142.

[0984] Wong D.,et al.,ALT flares during nucleotide analogue therapy are associated with HBsAg loss in genotype A HBeAg-positive chronic hepatitis B, LIVER INTER.(2018)38:1760-69.

[0985] Zoulim F.,Assessment of treatment efficacy in HBV infection and

disease,J HEPATOL 2006;44:S95-S99.

[0986] 已发表的研究-Dose Response with the RNA Interference Therapy JNJ-3989Combined with Nucleos(t)ide Analogue Treatment in Expanded Cohorts of Patients with Chronic Hepatitis B.

[0987] HBeAg(Fried et al.,2008Hepatology 47:428)

[0988] HbsAg(Moucari et al.,2009Hepatology 49:1151)

序列表

<110> 豪夫迈·罗氏公司 (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG)
豪夫迈·罗氏公司 (Hoffmann-La Roche Inc.)
迪赛尔纳制药公司 (Dicerna Pharmaceuticals, Inc.)
<120> 乙型肝炎患者的寡核苷酸治疗
<130> P120786PCT
<150> US 63/061,384
<151> 2020-08-05
<160> 79
<170> PatentIn 版本3.5
<210> 1
<211> 36
<212> RNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 1
gacaaaaauc cucacaauaa gcagccgaaa ggcugc 36
<210> 2
<211> 22
<212> RNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多核苷酸
<400> 2
uuauugugag gauuuuuguc gg 22
<210> 3
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 寡核苷酸基序
<400> 3
cacctattta acatcagac 19
<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Bc1.187 CDR-H1
<400> 4
Asn Tyr Gly Met Gln
1 5
<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 CDR-H2
<400> 5
Ile Ile Trp Ala Asp Gly Thr Lys Gln Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 6
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 CDR-H3
<400> 6
Asp Gly Leu Tyr Ala Ser Ala Pro Asn Asp Val
1 5 10
<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 CDR-L1
<400> 7
Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Thr Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187-CDR-L2

<400> 8
Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 CDR-L3
<400> 9
Gln Gln Thr Tyr Thr Leu Pro Pro Asn
1 5
<210> 10
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 H-FW1
<400> 10
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
20 25 30
<210> 11
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 H-FW2
<400> 11
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10
<210> 12
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 H-FW3
<400> 12

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

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 H-FW4
<400> 13
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 14
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 L-FW1
<400> 14
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Tyr Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 15
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 L-FW2
<400> 15
Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Lys Ser Pro Ser Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 16
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 L-FW3

<400> 16
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ala Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Leu Gly Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30
<210> 17
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 L-FW4
<400> 17
Ser Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10
<210> 18
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 VL
<400> 18
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Tyr Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Arg Ile Ser Thr Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Lys Ser Pro Ser Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ala
50 55 60
Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Arg Pro
65 70 75 80
Glu Asp Leu Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Asn Ser Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 19
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Bc1.187 VH
<400> 19

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

<210> 20
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 全长重链
<400> 20

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 21

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Bc1.187 全长重链

<400> 21

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Ile Ile Trp Ala Asp Gly Thr Lys Gln Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Leu Tyr Ala Ser Ala Pro Asn Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys 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

Lys
<210> 22
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 CDR-H1
<400> 22
Ser Tyr Ala Met Ser
1 5
<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 CDR-H2
<400> 23
Ala Phe Ser Gly Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 24
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 CDR-H3
<400> 24
Asp Pro Gly His Thr Ser Asn Trp Arg Asp Asn Tyr Gln Tyr Tyr Gln
1 5 10 15
Met Asp Val
<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 CDR-L1
<400> 25
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly
1 5 10

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106-CDR-L2
<400> 26
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 CDR-L3
<400> 27
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5
<210> 28
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 H-FW1
<400> 28
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly
20 25 30
<210> 29
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 H-FW2
<400> 29
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Val Ser
1 5 10
<210> 30

<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 H-FW3
<400> 30
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Lys
20 25 30
<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 H-FW4
<400> 31
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10
<210> 32
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 L-FW1
<400> 32
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> 33
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 L-FW2
<400> 33
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 34
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 L-FW3
<400> 34

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu 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> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 L-FW4
<400> 35

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 VL
<400> 36

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 37
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 VH
<400> 37

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

<210> 38
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 全长轻链
<400> 38

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 39
<211> 457
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 全长重链
<400> 39

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Val
35 40 45

Ser Ala Phe Ser Gly Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95
Ala Lys Asp Pro Gly His Thr Ser Asn Trp Arg Asp Asn Tyr Gln Tyr
100 105 110
Tyr Gln Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
130 135 140
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
195 200 205
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
275 280 285
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gln
340 345 350
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
355 360 365
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
370 375 380
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
405 410 415
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
420 425 430
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
435 440 445
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 40
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 CDR-H1
<400> 40
Asn Tyr His Ile His
1 5

<210> 41
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 CDR-H2
<400> 41
Ile Ile Asn Pro Arg Arg Leu Ser Thr Ala Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 CDR-H3
<400> 42
Asp Ala Gly Asp Asp Thr Ser Gly Pro Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 43
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 CDR-L1
<400> 43
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Thr Trp Leu Ala
1 5 10
<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115-CDR-L2
<400> 44
Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5
<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 CDR-L3
<400> 45
Gln Gln Tyr Asn Thr Phe Ser
1 5
<210> 46
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 H-FW1
<400> 46
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 Arg Ser Ser Gly Tyr Arg Phe Thr
20 25 30
<210> 47
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Bv4.115 H-FW2
<400> 47
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10
<210> 48
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 H-FW3
<400> 48
Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30
<210> 49
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 H-FW4
<400> 49
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10
<210> 50
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 L-FW1
<400> 50
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20
<210> 51
<211> 15
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 L-FW2
<400> 51
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Ser
1 5 10 15
<210> 52
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 L-FW3
<400> 52
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
1 5 10 15
Leu Ser Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30
<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 L-FW4
<400> 53
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10
<210> 54
<211> 105
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 VL
<400> 54
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Thr Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

<210> 55
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 VH
<400> 55

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 Arg Ser Ser Gly Tyr Arg Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Arg Arg Leu Ser Thr Ala Tyr Ala Pro 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 Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ala Gly Asp Asp Thr Ser Gly Pro Phe Asp Ser Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 56
<211> 212
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 全长轻链
<400> 56

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

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Thr Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Ser Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Ser Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Phe Ser Phe
85 90 95
Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
100 105 110
Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
115 120 125
Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
130 135 140
Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
145 150 155 160
Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
165 170 175
Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys
180 185 190
Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
195 200 205
Arg Gly Glu Cys
210

<210> 57
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 全长重链
<400> 57

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 Arg Ser Ser Gly Tyr Arg Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Arg Arg Leu Ser Thr Ala Tyr Ala Pro 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 Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Ala Gly Asp Asp Thr Ser Gly Pro Phe Asp Ser Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 58
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 CDR-H1
<400> 58
Thr Asn Asn Trp Trp Ser
1 5

<210> 59
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 CDR-H2
<400> 59
Glu Ile His His Ile Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 60
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 CDR-H3
<400> 60

Gly Arg Leu Gly Ile Thr Arg Asp Arg Tyr Tyr Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 61
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 CDR-L1
<400> 61
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159-CDR-L2
<400> 62
Asp Thr Ser Ser Leu Glu Arg
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 CDR-L3
<400> 63
Gln Gln Tyr Tyr Asn Leu Pro His Thr
1 5

<210> 64
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 H-FW1
<400> 64
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Thr Ile Arg

20 25 30

<210> 65
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 H-FW2
<400> 65
Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10
<210> 66
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 H-FW3
<400> 66
Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Asn
1 5 10 15
Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Val Arg
20 25 30
<210> 67
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 H-FW4
<400> 67
Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10
<210> 68
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 L-FW1
<400> 68
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Pro Leu Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 69
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 L-FW2
<400> 69
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 70
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 L-FW3
<400> 70
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 Ile Ala Thr Tyr His Cys
20 25 30

<210> 71
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 L-FW4
<400> 71
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 72
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 VL
<400> 72
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Pro Leu Ser Val Ser Val Gly

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

<210> 73
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 VH
<400> 73
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Thr Ile Arg Thr Asn
20 25 30
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Glu Ile His His Ile Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Gly Arg Leu Gly Ile Thr Arg Asp Arg Tyr Tyr Phe Asp Ser
100 105 110
Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 74
<211> 214
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 全长轻链
<400> 74

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Pro Leu Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Thr Ser Ser Leu Glu Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr His Cys Gln Gln Tyr Tyr Asn Leu Pro His
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 75
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 全长重链
<400> 75

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Thr Ile Arg Thr Asn
20 25 30
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Glu Ile His His Ile Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Gly Arg Leu Gly Ile Thr Arg Asp Arg Tyr Tyr Phe Asp Ser
100 105 110
Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
195 200 205
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
210 215 220
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225 230 235 240
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
290 295 300
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

305 310 315 320
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro Gly Lys
450

<210> 76
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc1.187 全长重链(含有修饰)
<400> 76
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Trp Ala Asp Gly Thr Lys Gln Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Phe Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly Leu Tyr Ala Ser Ala Pro Asn Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 77
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc3.106 全长重链(含有修饰)
<400> 77

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Val
35 40 45
Ser Ala Phe Ser Gly Thr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Pro Gly His Thr Ser Asn Trp Arg Asp Asn Tyr Gln Tyr
100 105 110
Tyr Gln Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
130 135 140
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
275 280 285
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
355 360 365
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 78
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bv4.115 全长重链(含有修饰)
<400> 78

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 Arg Ser Ser Gly Tyr Arg Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Arg Arg Leu Ser Thr Ala Tyr Ala Pro 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 Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ala Gly Asp Asp Thr Ser Gly Pro Phe Asp Ser Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 79
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> Bc8.159 全长重链(含有修饰)
<400> 79
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Thr Ile Arg Thr Asn
20 25 30
Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Glu Ile His His Ile Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Asn Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Gly Arg Leu Gly Ile Thr Arg Asp Arg Tyr Tyr Phe Asp Ser

100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val

195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys

210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

260 265 270

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

275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala

325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445
Leu Ser Pro Gly Lys
450

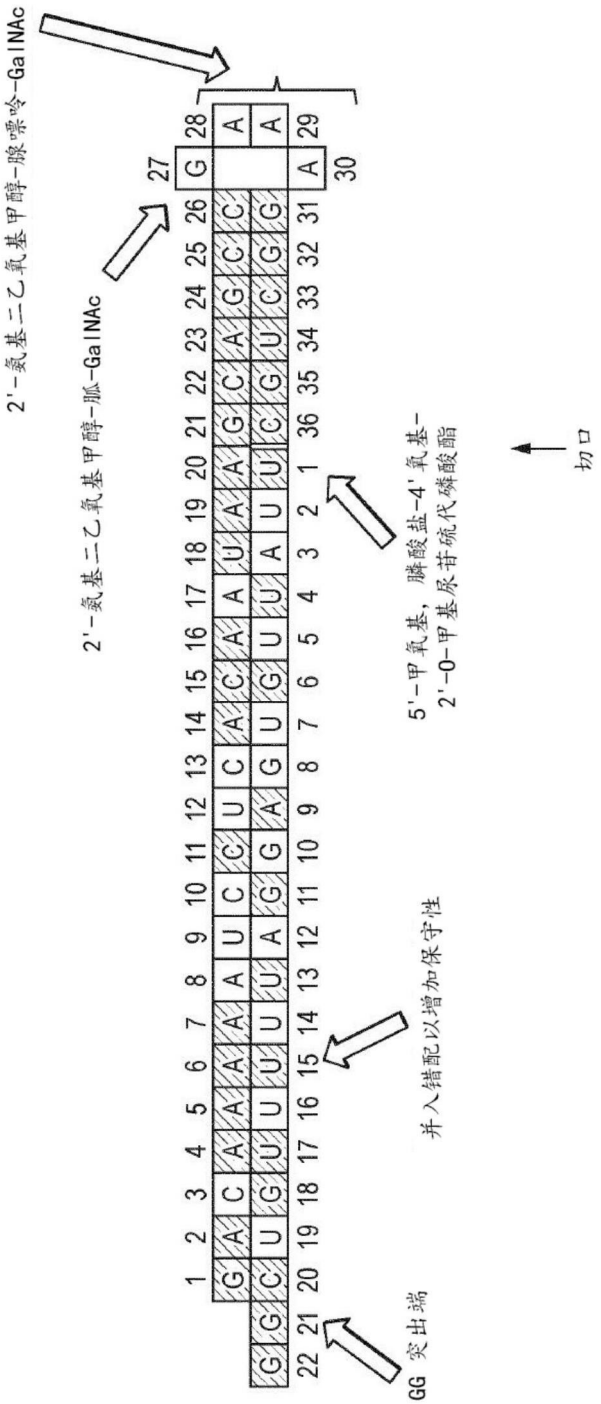

2'-氨基二乙氧基甲醇-腺嘌呤-GalNAc
2'-氨基二乙氧基甲醇-胍-GalNAc
5'-甲氧基，膦酸盐-4'氧基-
2'-O-甲基尿苷硫代磷酸酯
并入错配以增加保守性
GG 突出端
切口

图1

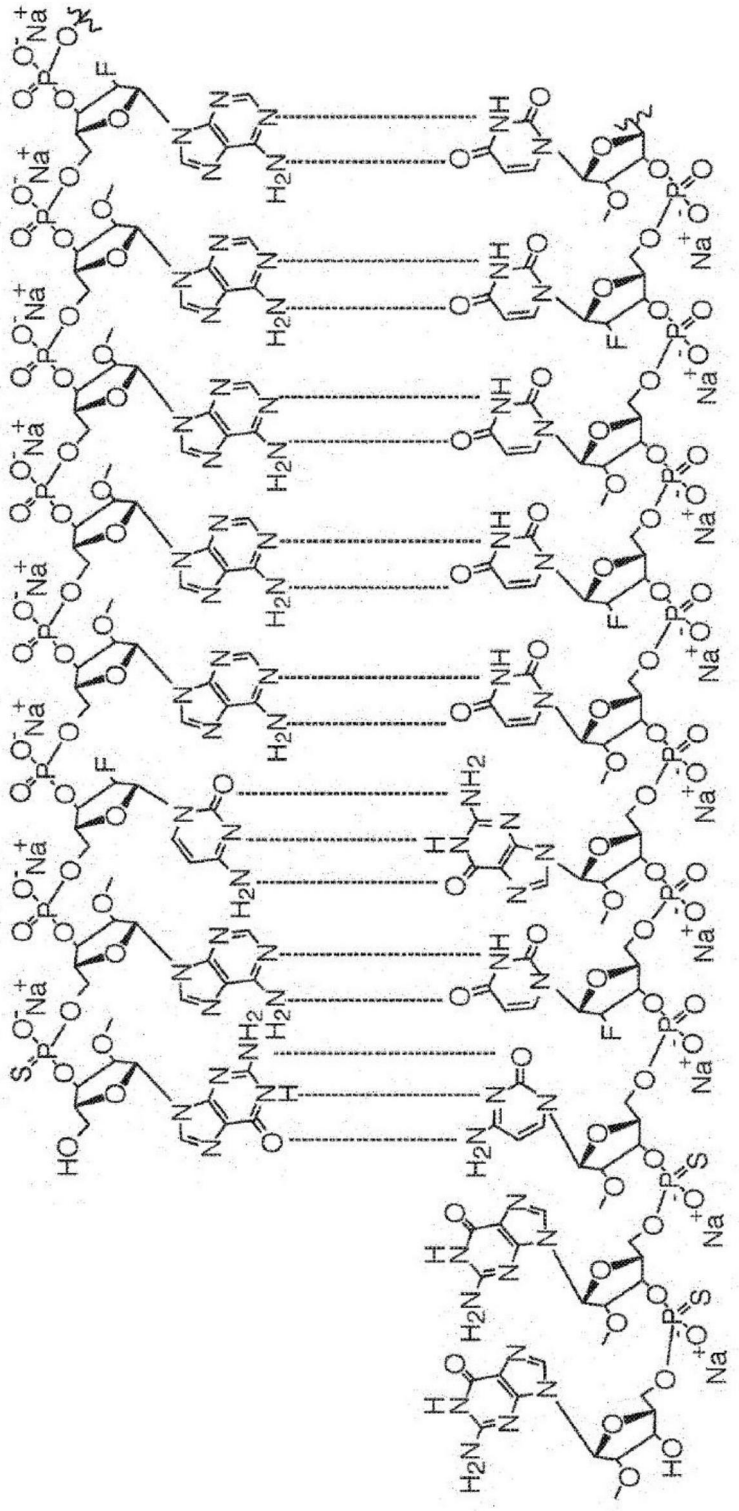


图2a

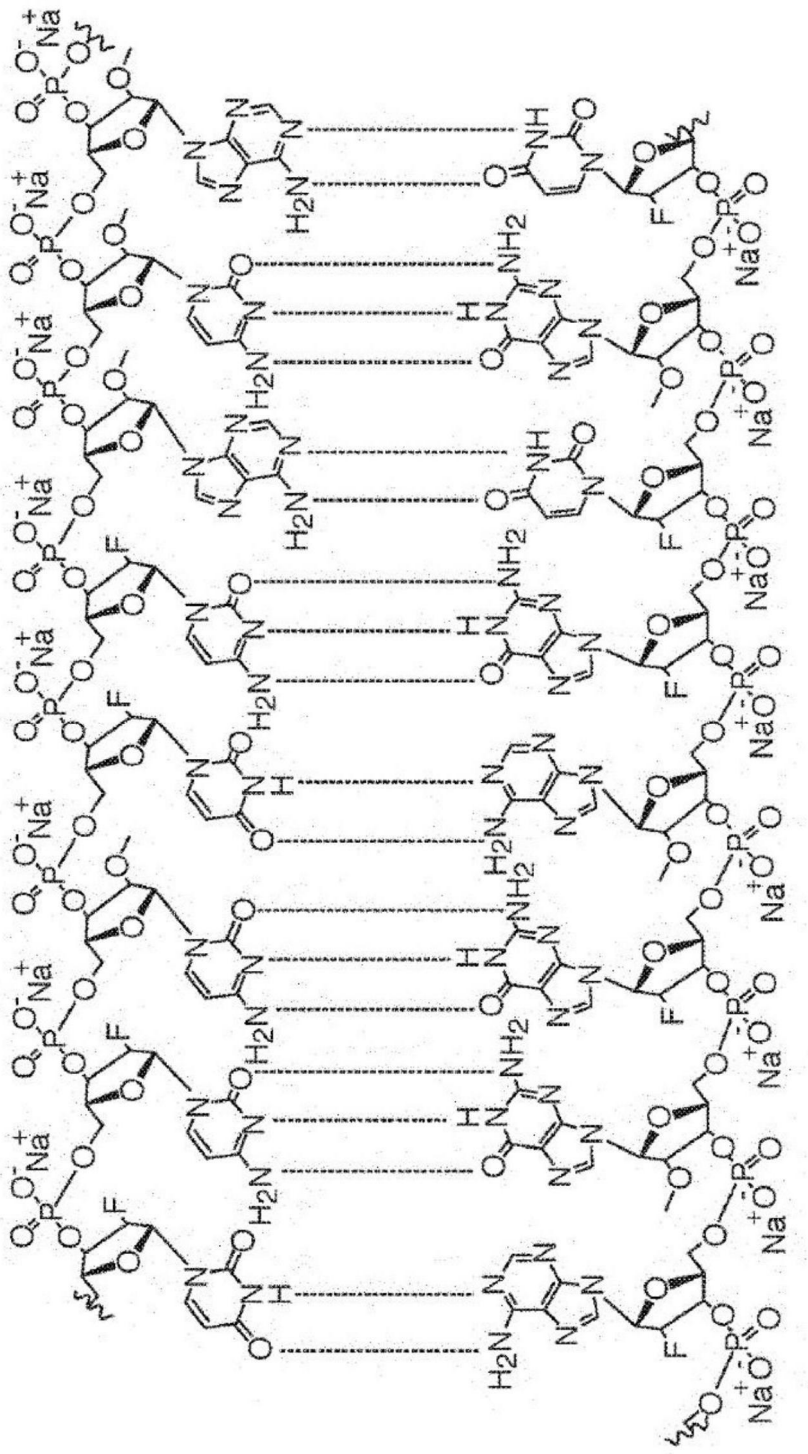


图2a(续)

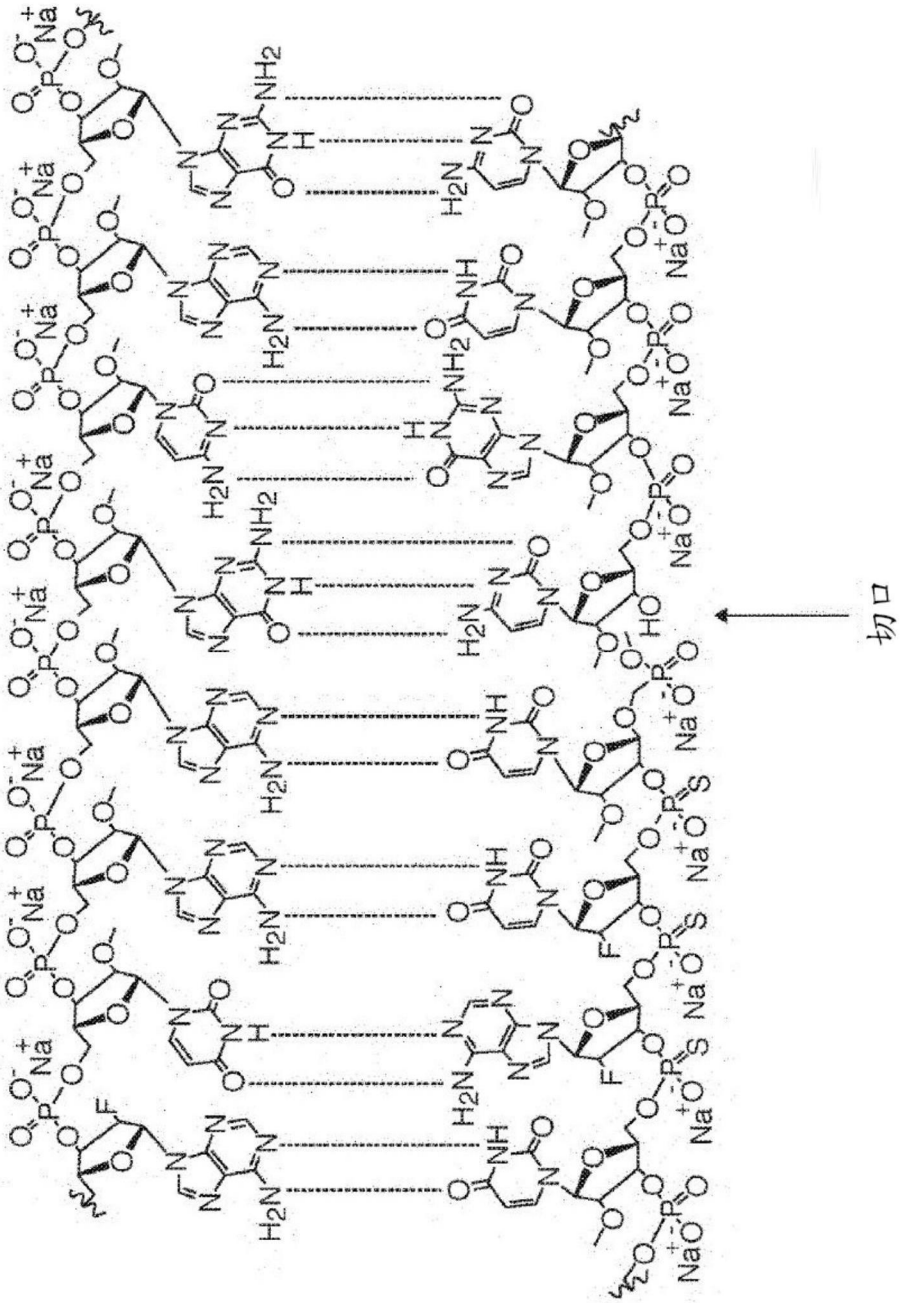


图2a(续)

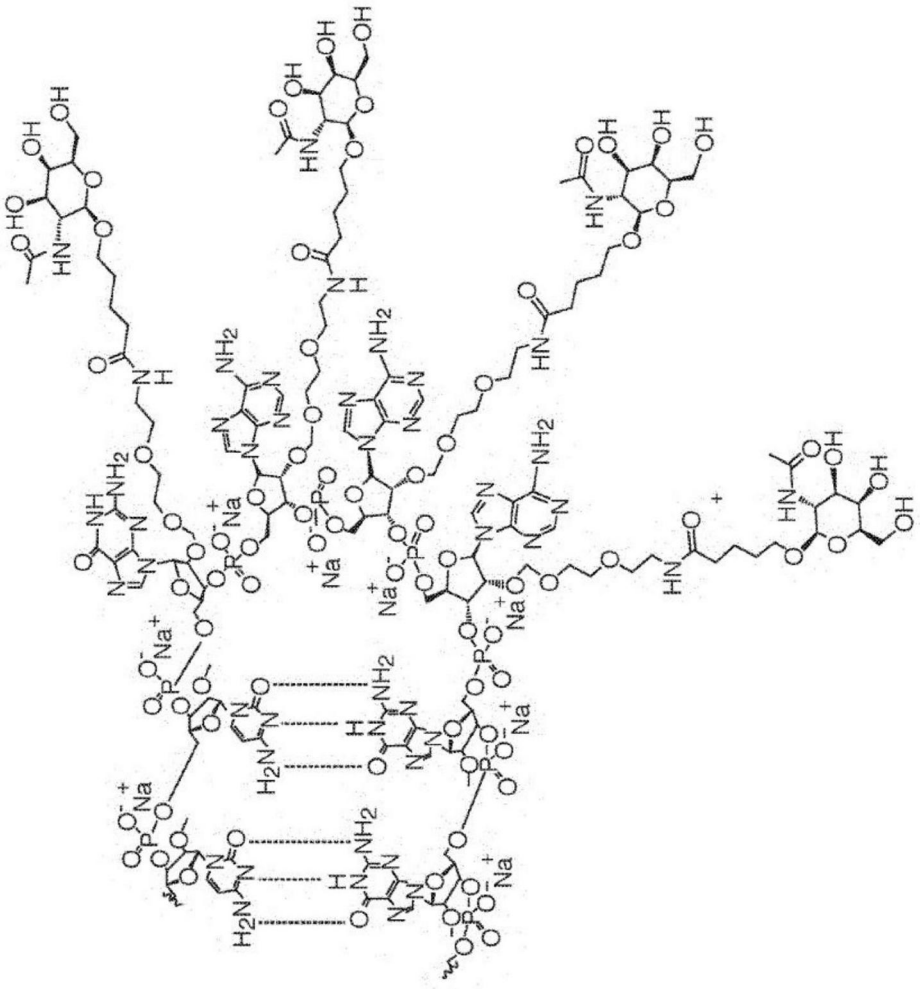


图2a(续)

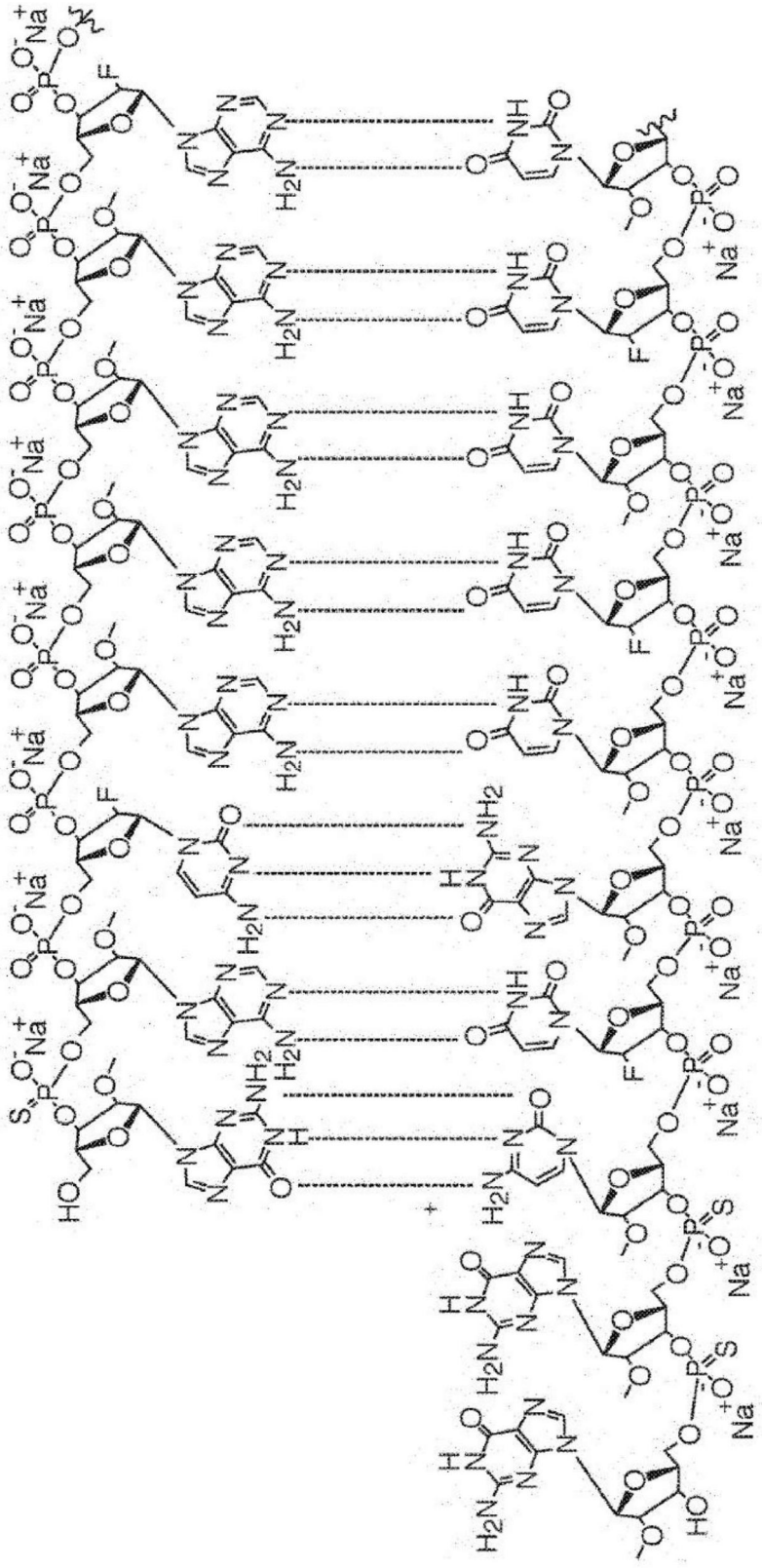


图2b

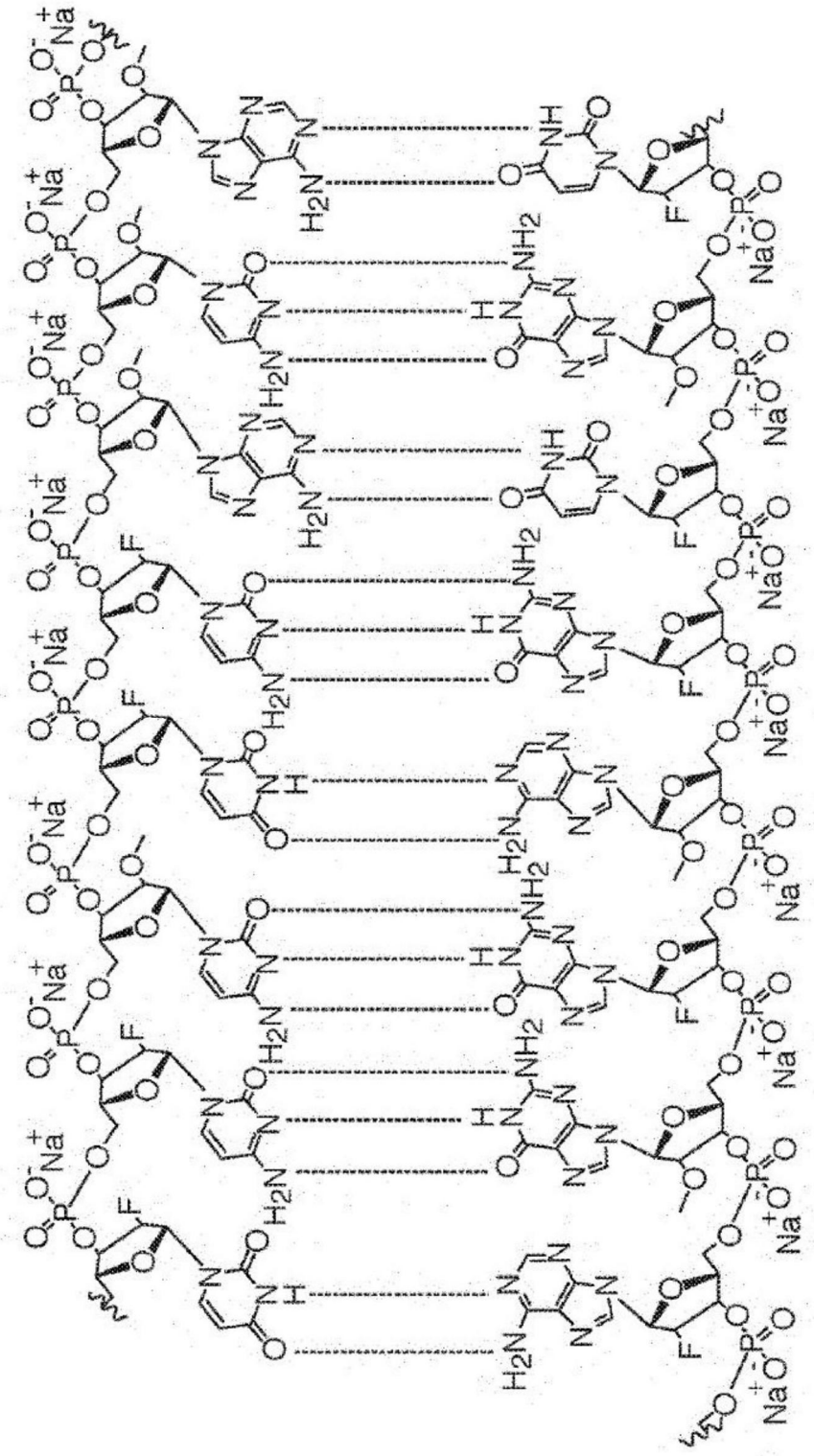


图2b(续)

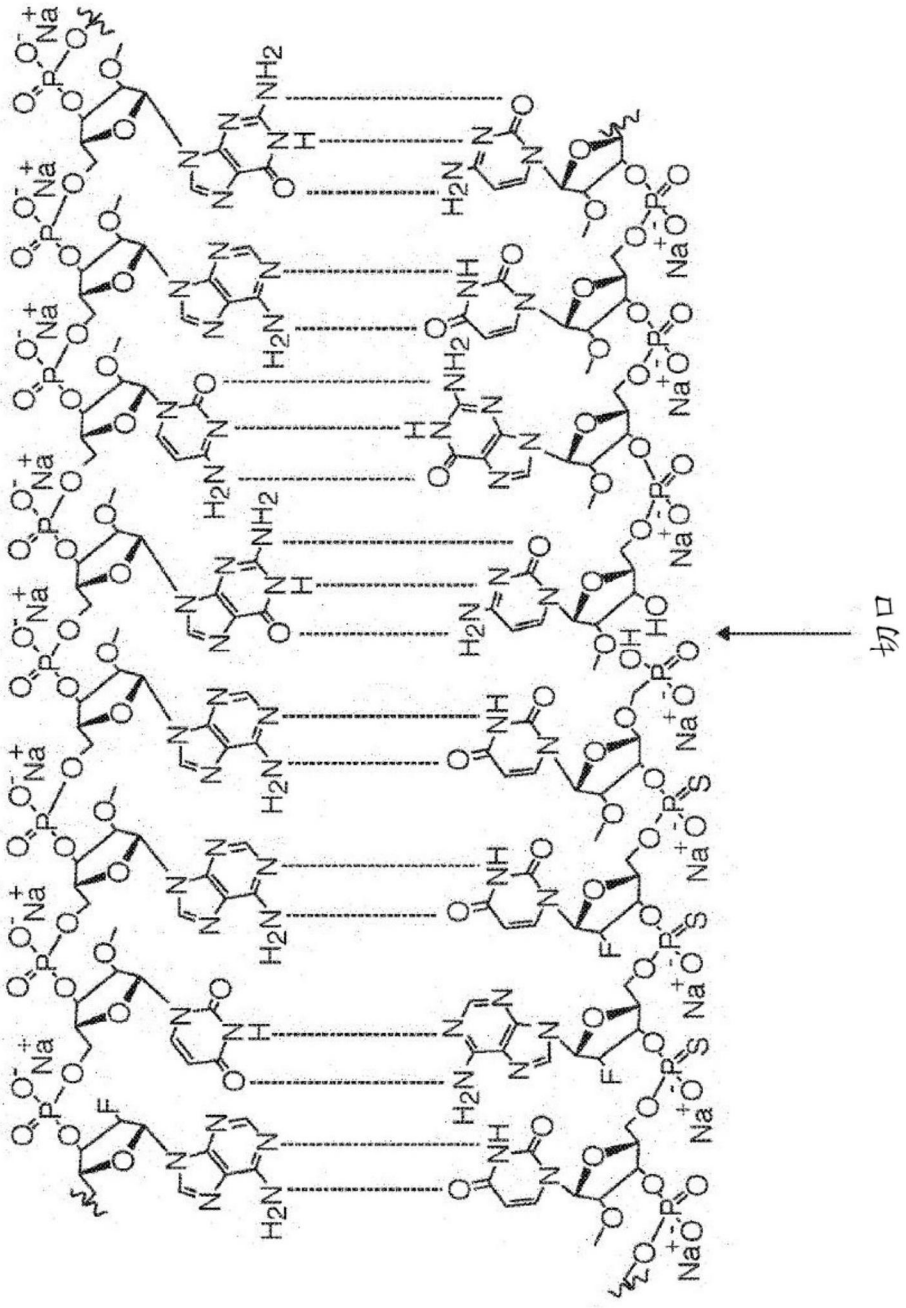


图2b(续)

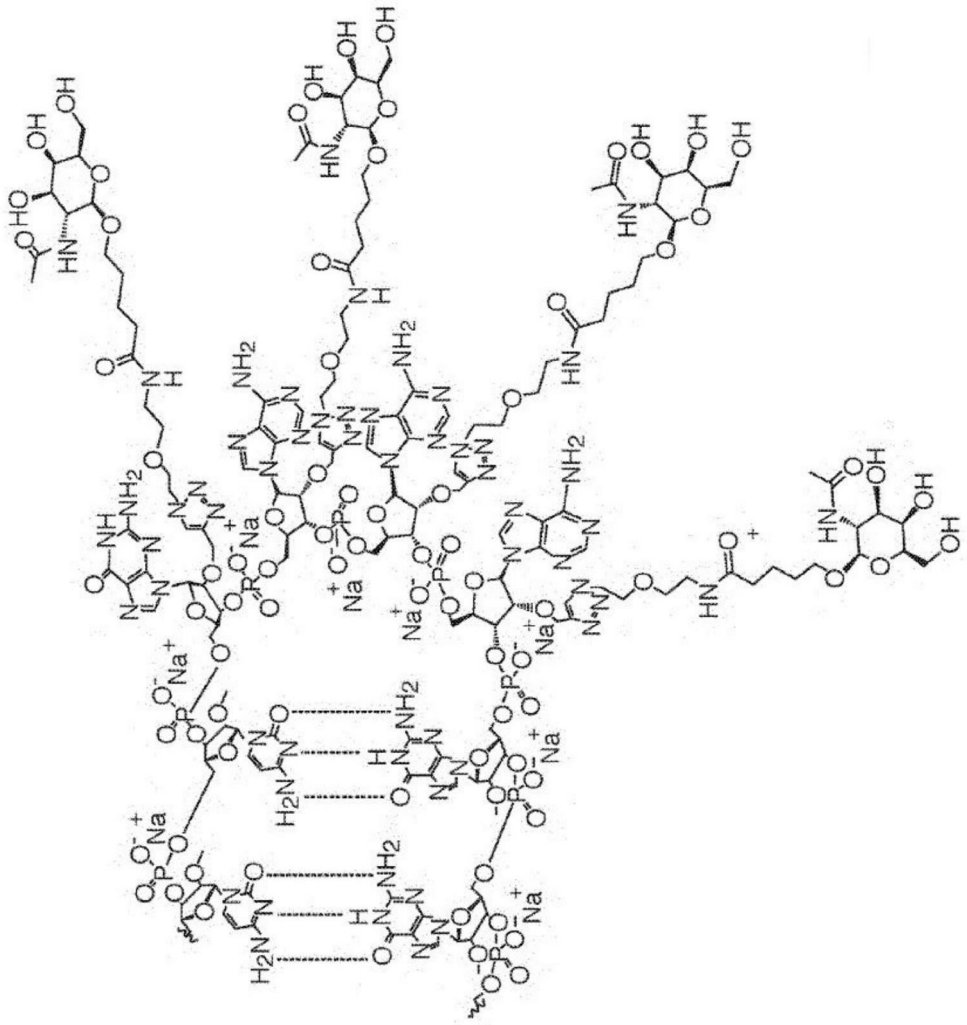


图2b(续)

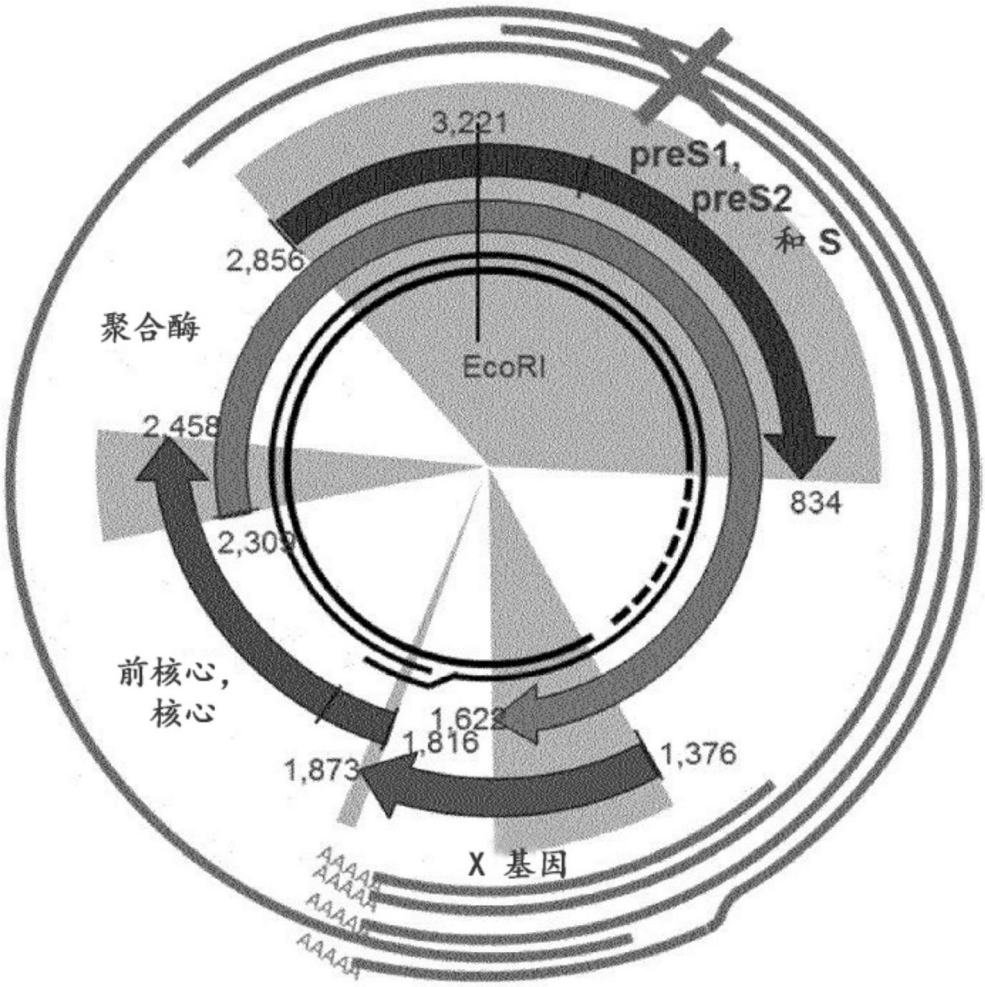

3,221
preS1,
preS2
和 S
2,856
聚合酶
EcoRI
2,458
834
2,309
前核心,
核心
1,623
1,816
1,873
1,376
X 基因
AAAAA
AAAAA
AAAAA
AAAAA

图3

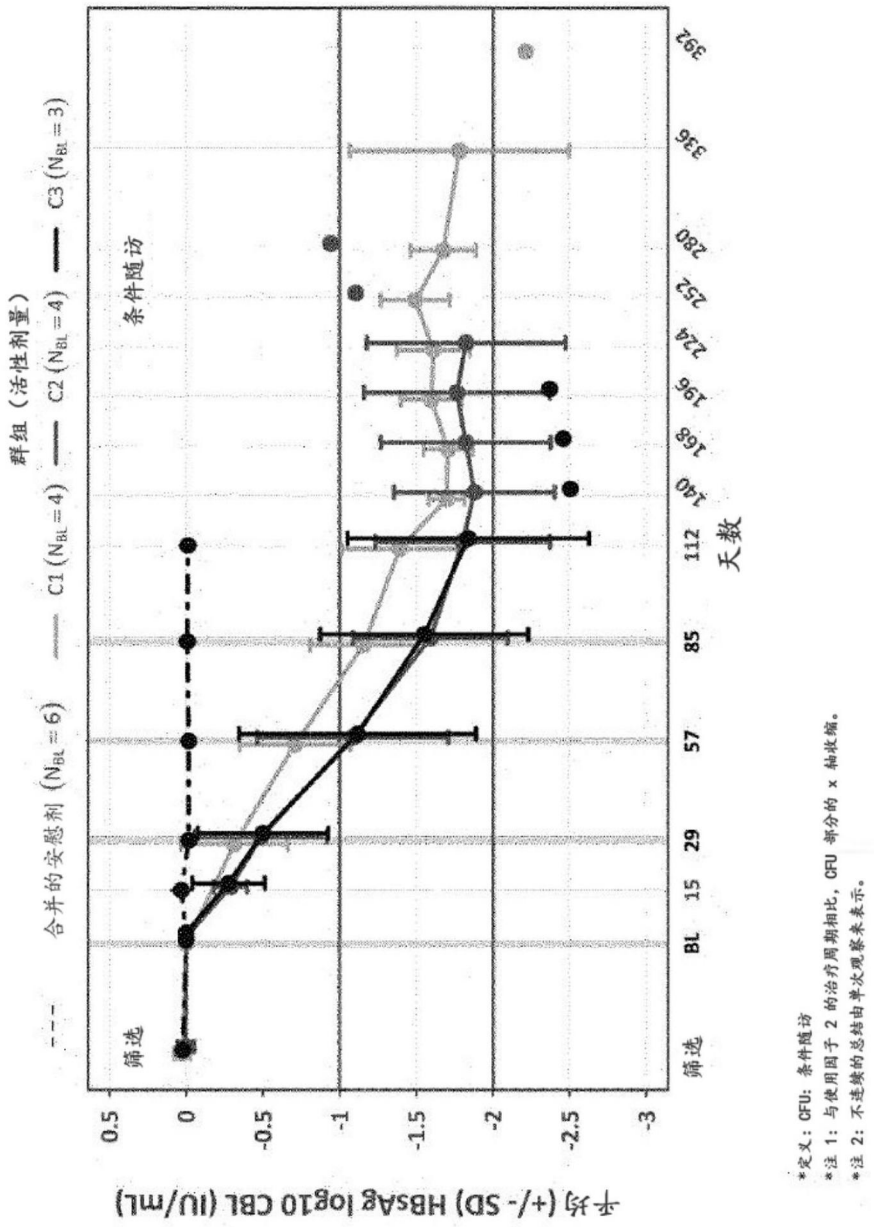
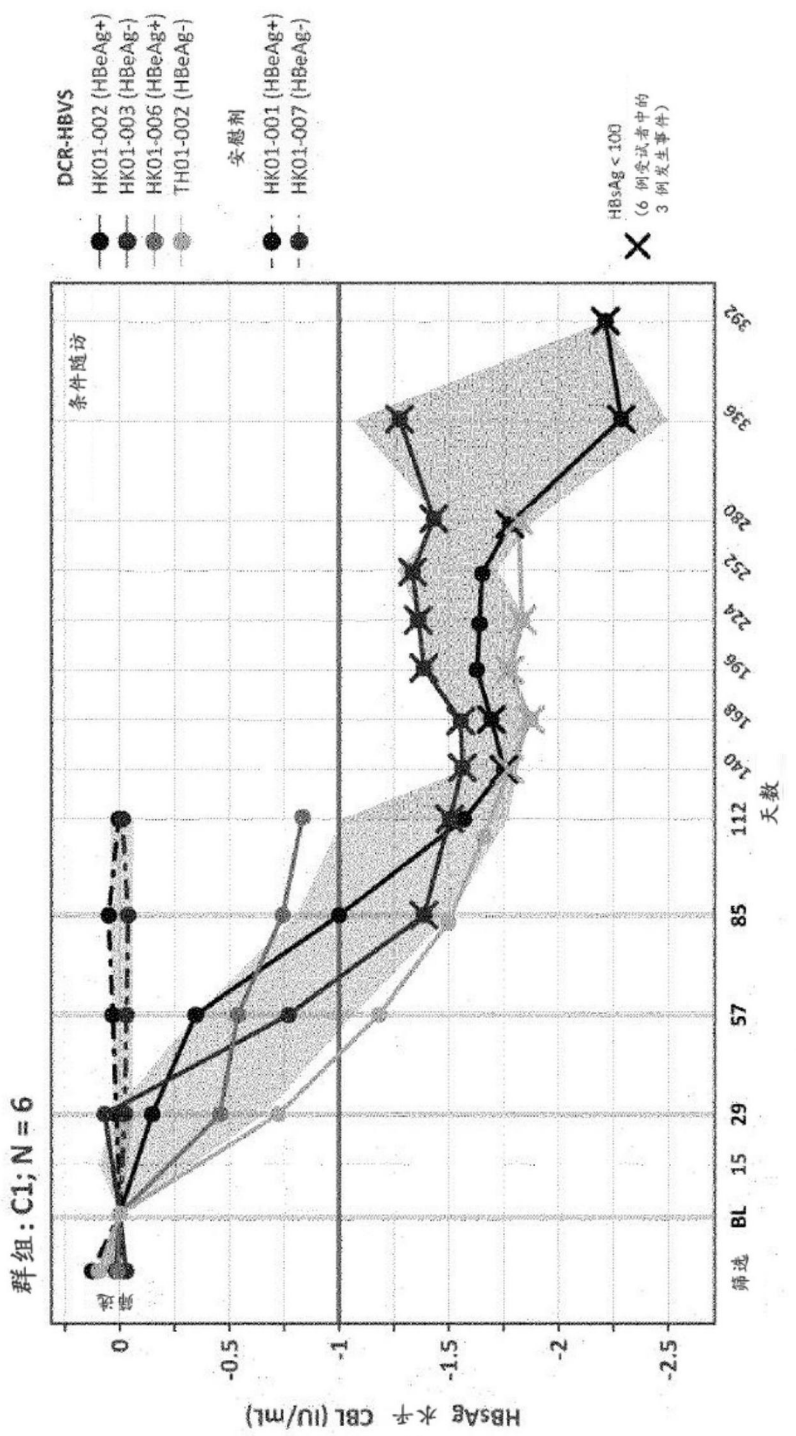

群组（活性剂量）
合并的安慰剂 ($N_{BL}=6$)
C1 ($N_{BL}=4$)
C2 ($N_{BL}=4$)
C3 ($N_{BL}=3$)
条件随访
筛选
平均 (+/- SD) HBsAg log10 CBL (IU/mL)
0.5
0
-0.5
-1
-1.5
-2
-2.5
-3
筛选 BL 15 29 57 85 112 140 168 196 224 252 280 336 392
天数
*定义：CFU：条件随访
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
*注 2：不连续的总结由单次观察表示。

图4



*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴被缩。

图5a

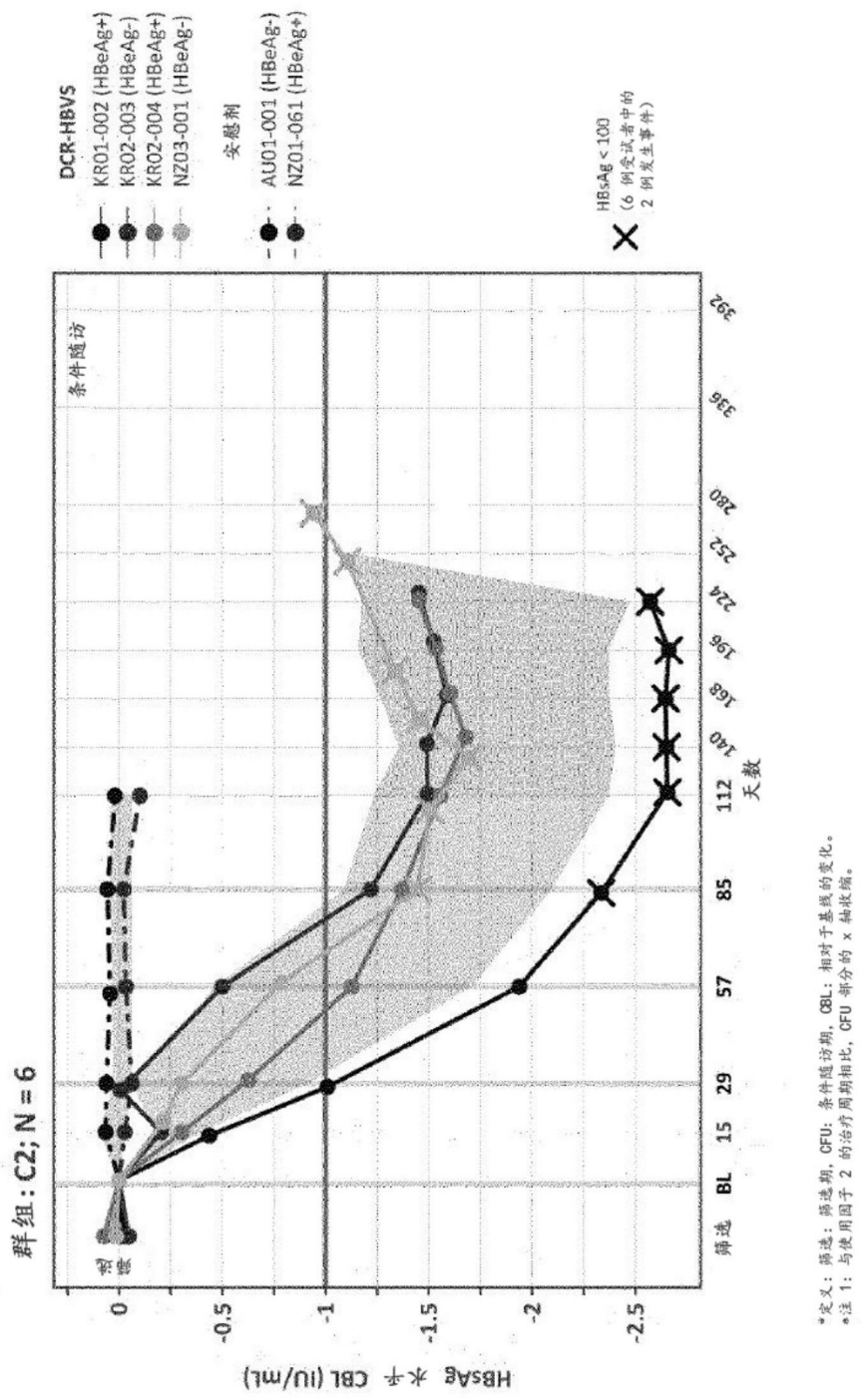

群组：C2; N = 6
DCR-HBVS
KR01-002 (HBeAg+)
KR02-003 (HBeAg-)
KR02-004 (HBeAg+)
NZ03-001 (HBeAg-)
安慰剂
AU01-001 (HBeAg-)
NZ01-061 (HBeAg+)
HBsAg < 100
(6 例受试者中的
2 例发生事件)
条件随访
筛选
HBsAg 求平 CBL (IU/mL)
0
-0.5
-1
-1.5
-2
-2.5
筛选 BL 15 29 57 85 112 140 168 196 224 252 280 336 392
天数
*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
•注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。

图5b

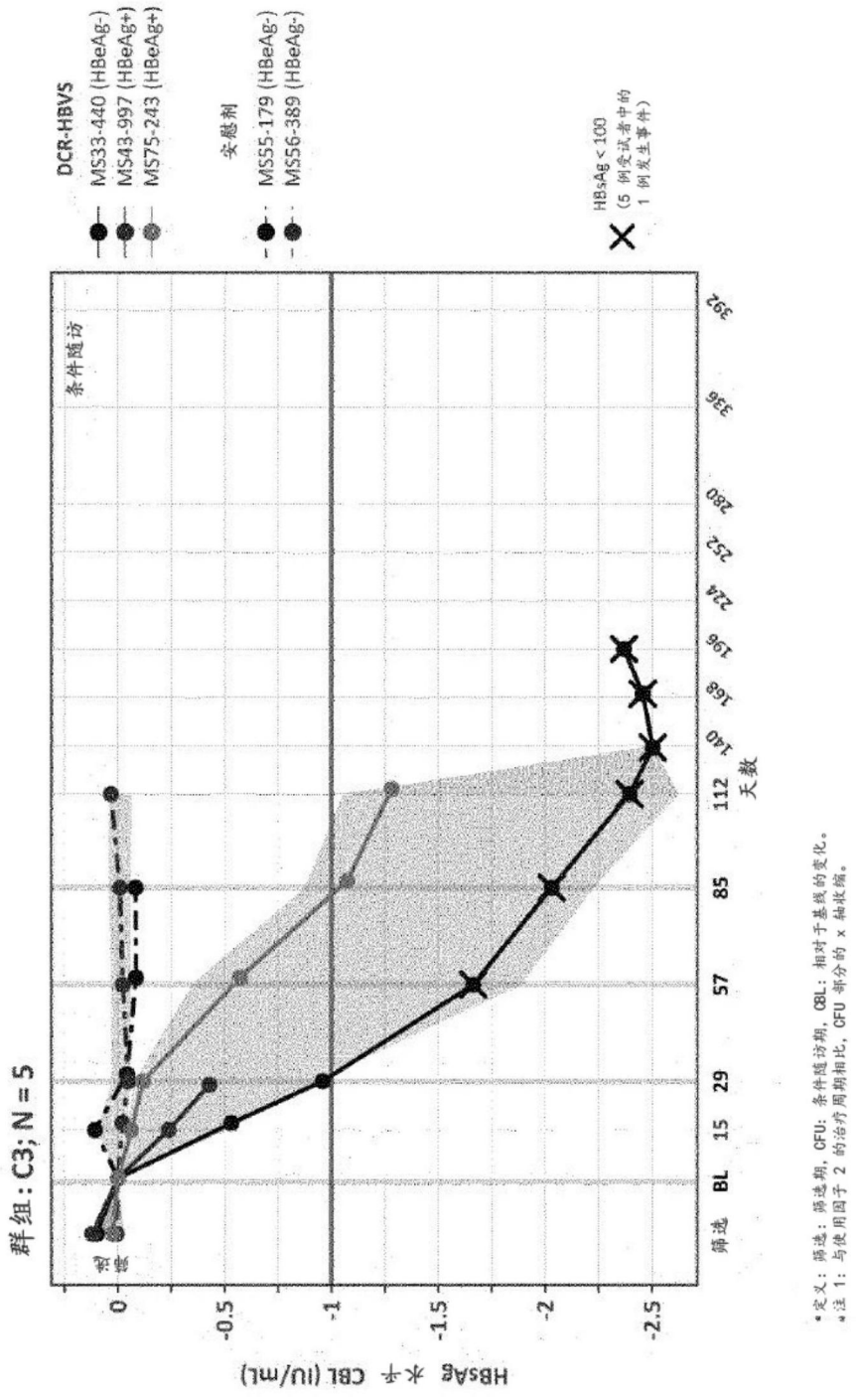

群组：C3; N = 5
DCR-HBV5
MS33-440 (HBeAg-)
MS43-997 (HBeAg+)
MS75-243 (HBeAg+)
安慰剂
MS55-179 (HBeAg-)
MS56-389 (HBeAg-)
HBsAg < 100
(5 例受试者中的
1 例发生事件)
条件随访
HBsAg 平均 CBL (IU/mL)
0
-0.5
-1
-1.5
-2
-2.5
筛选 BL 15 29 57 85 112 140 168 196 224 252 280 336 392
天数
*定义：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴放缩。

图5c

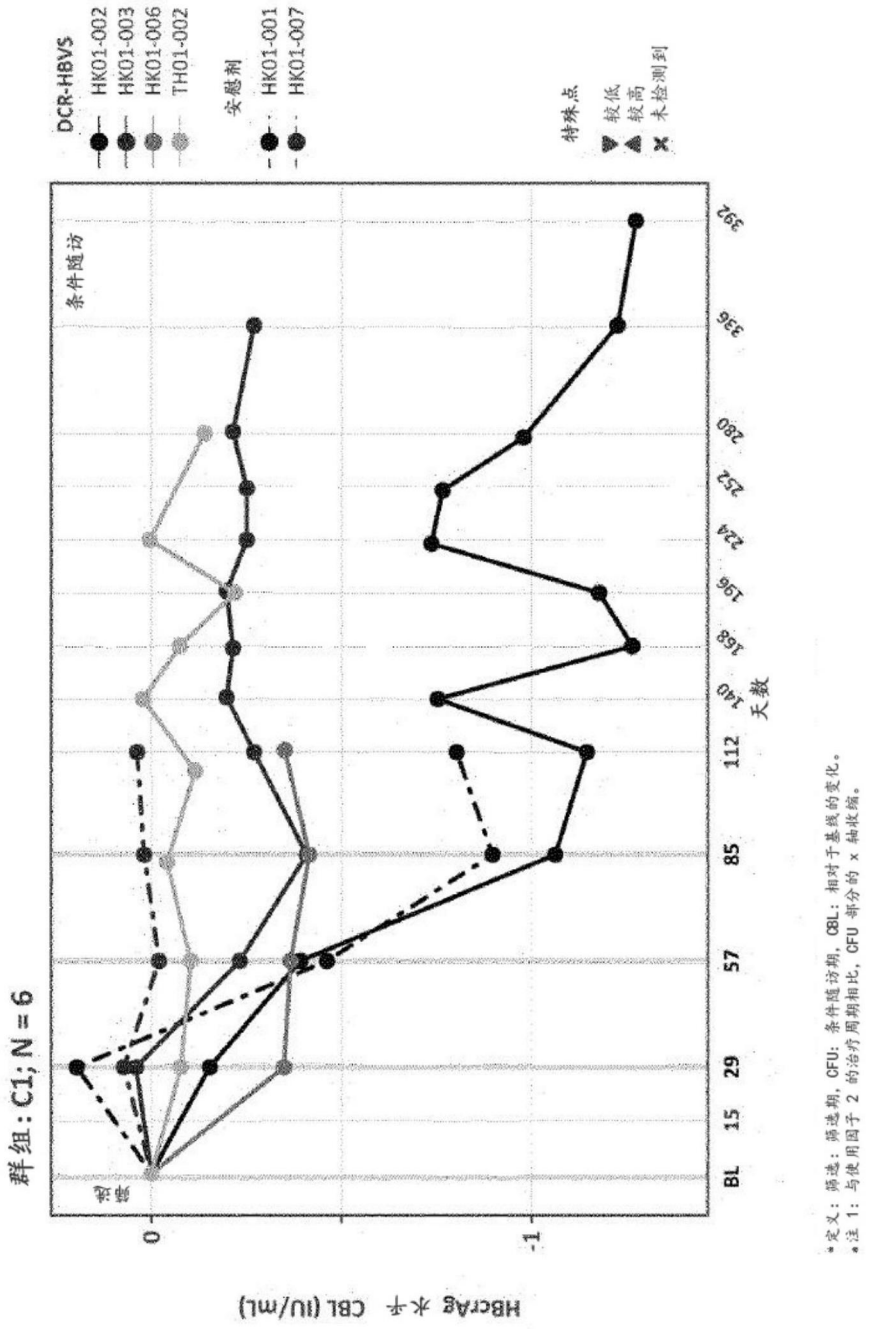

群组：C1; N = 6
条件随访
DCR-HBVS
HK01-002
HK01-003
HK01-006
TH01-002
安慰剂
HK01-001
HK01-007
特殊点
较低
较高
未检测到
HBcrAg ** CBL (IU/mL)
天数
BL
15
29
57
85
112
140
168
196
224
252
280
336
392
0
-1
•定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
•注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴放缩。

图5d

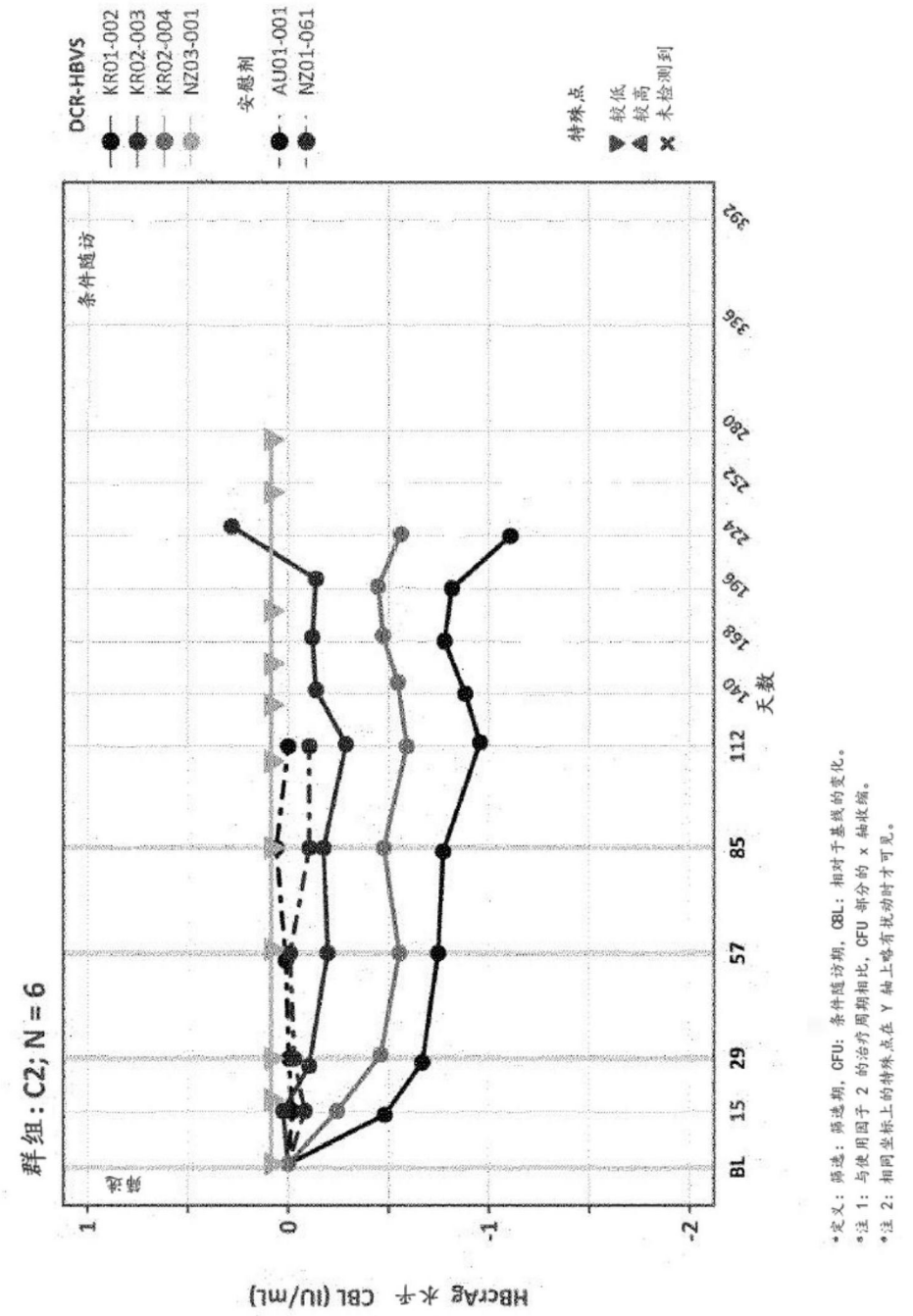
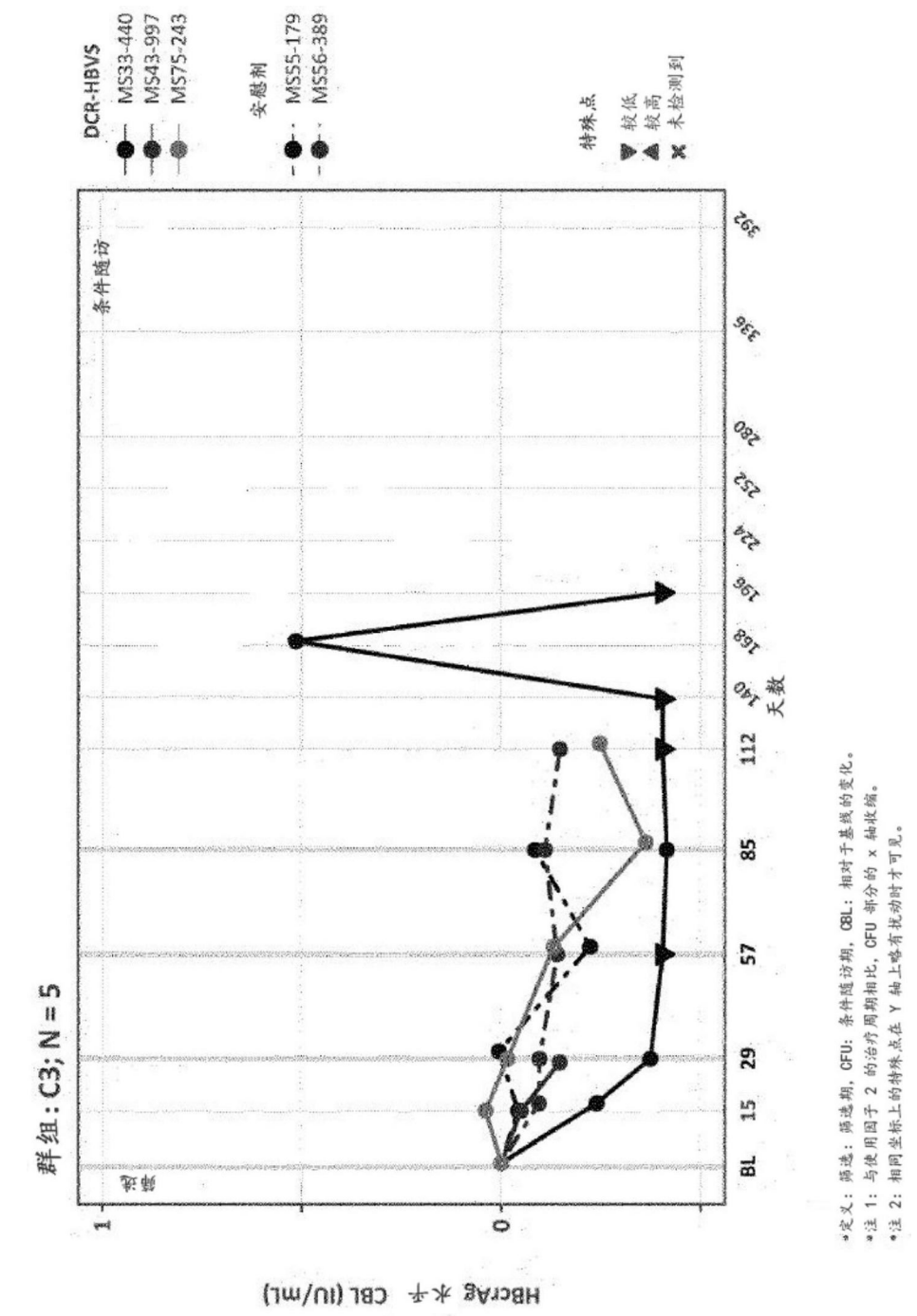

群组：C2; N = 6
DCR-HBVS
KR01-002
KR02-003
KR02-004
NZ03-001
安慰剂
AU01-001
NZ01-061
特殊点
较低
较高
未检测到
条件随访
筛选
HBcrAg 求平 CBL (IU/mL)
1
0
-1
-2
BL
15
29
57
85
112
140
168
196
224
252
280
336
392
天数
•定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
•注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
•注 2：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图5e



•定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
•注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
•注 2：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图5f

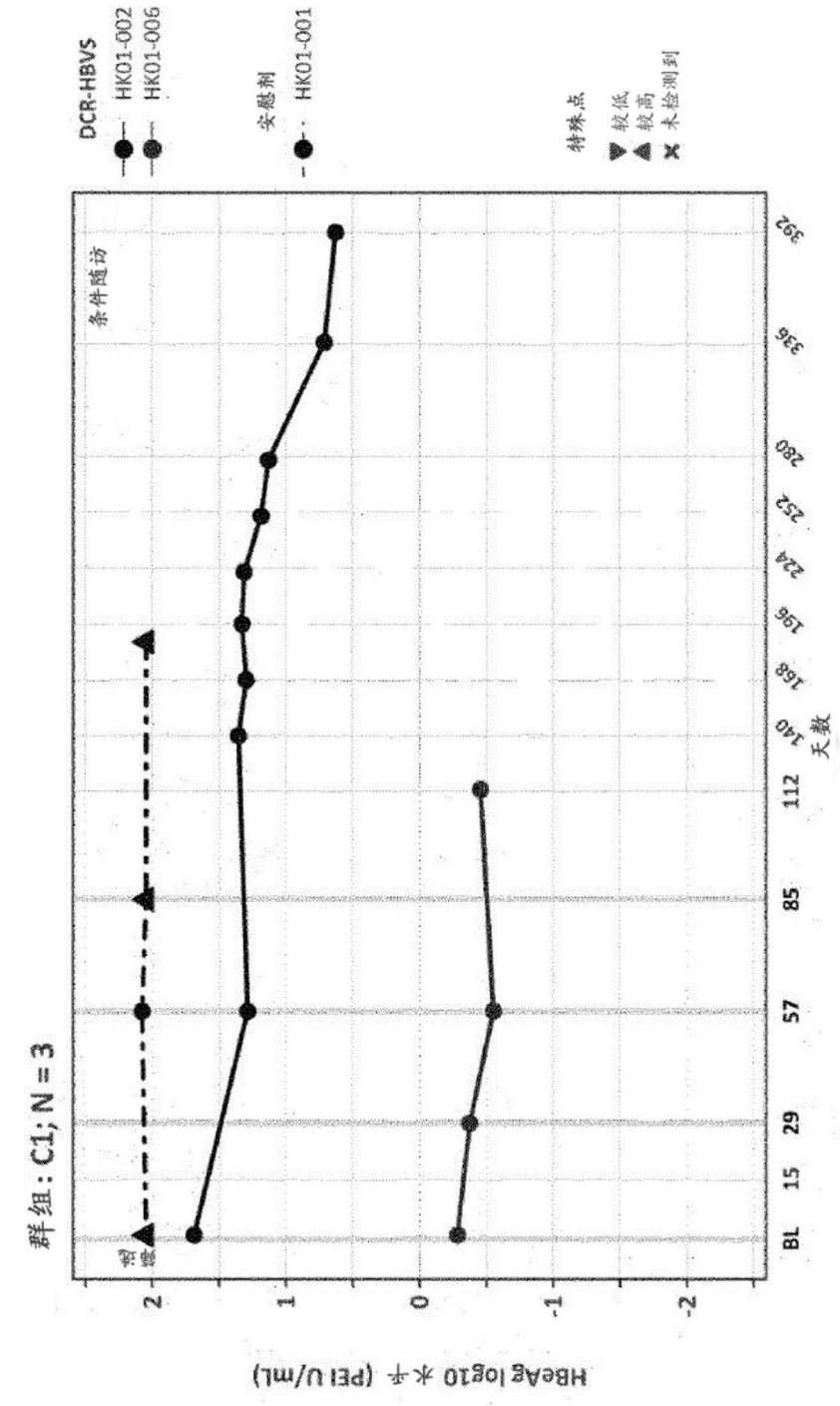

群组：C1; N = 3
DCR-HBVS
HK01-002
HK01-006
安慰剂
HK01-001
特殊点
较低
较高
未检测到
条件随访
筛选
HBeAg log10 ⁎⁎ (PEI U/mL)
2
1
0
-1
-2
BL
15
29
57
85
112
140
168
196
224
252
280
336
392
天数
*定义：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
*注 2：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图5g

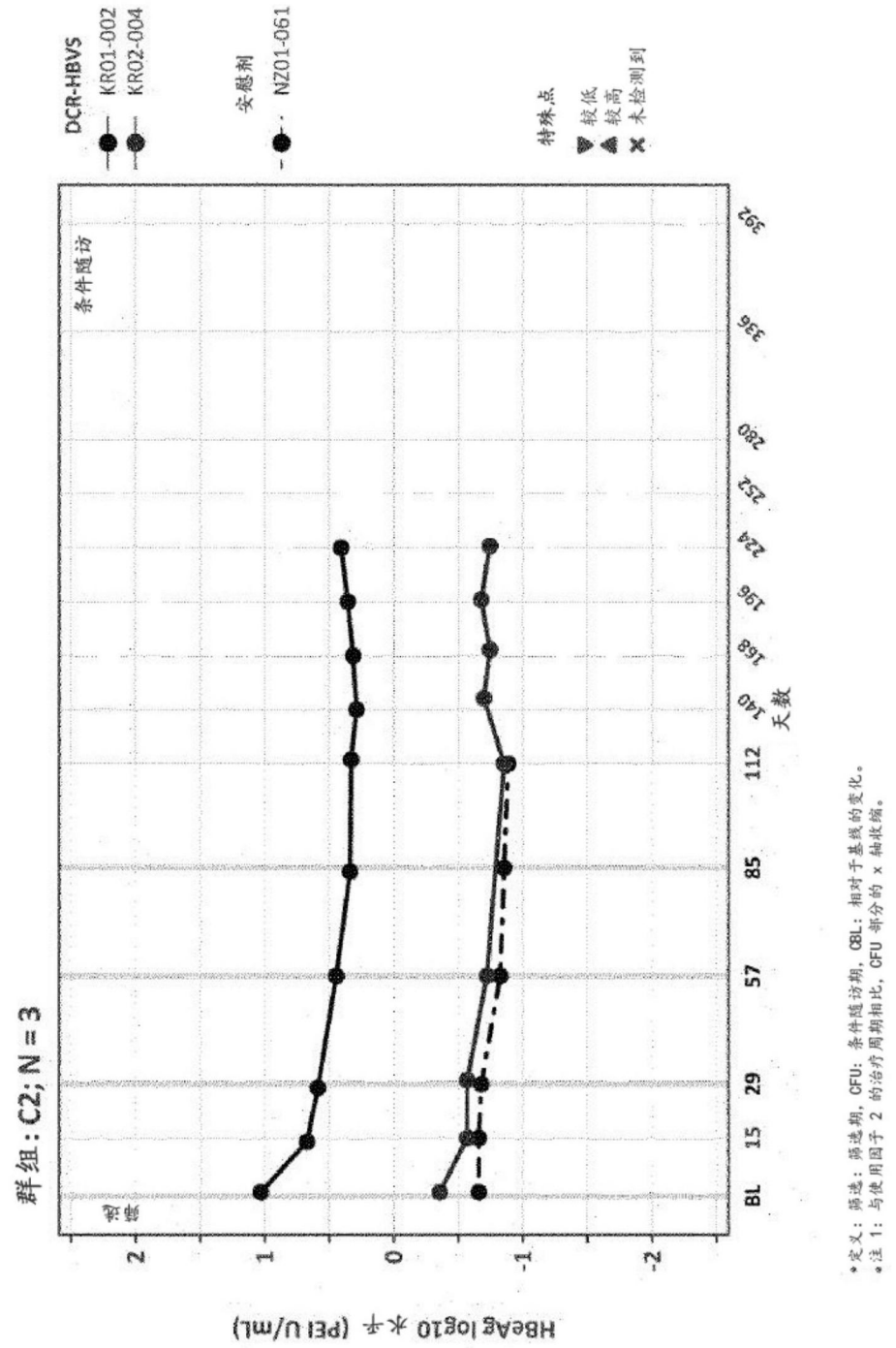

DCR-HBVS
KR01-002
KR02-004
安慰剂
NZ01-061
特殊点
较低
较高
未检测到
条件随访
群组：C2; N = 3
HBeAg log10 ⁎⁎ (PEI U/mL)
天数
BL
15
29
57
85
112
140
168
196
224
252
280
336
392
2
1
0
-1
-2
⁎定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
⁎注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。

图5h

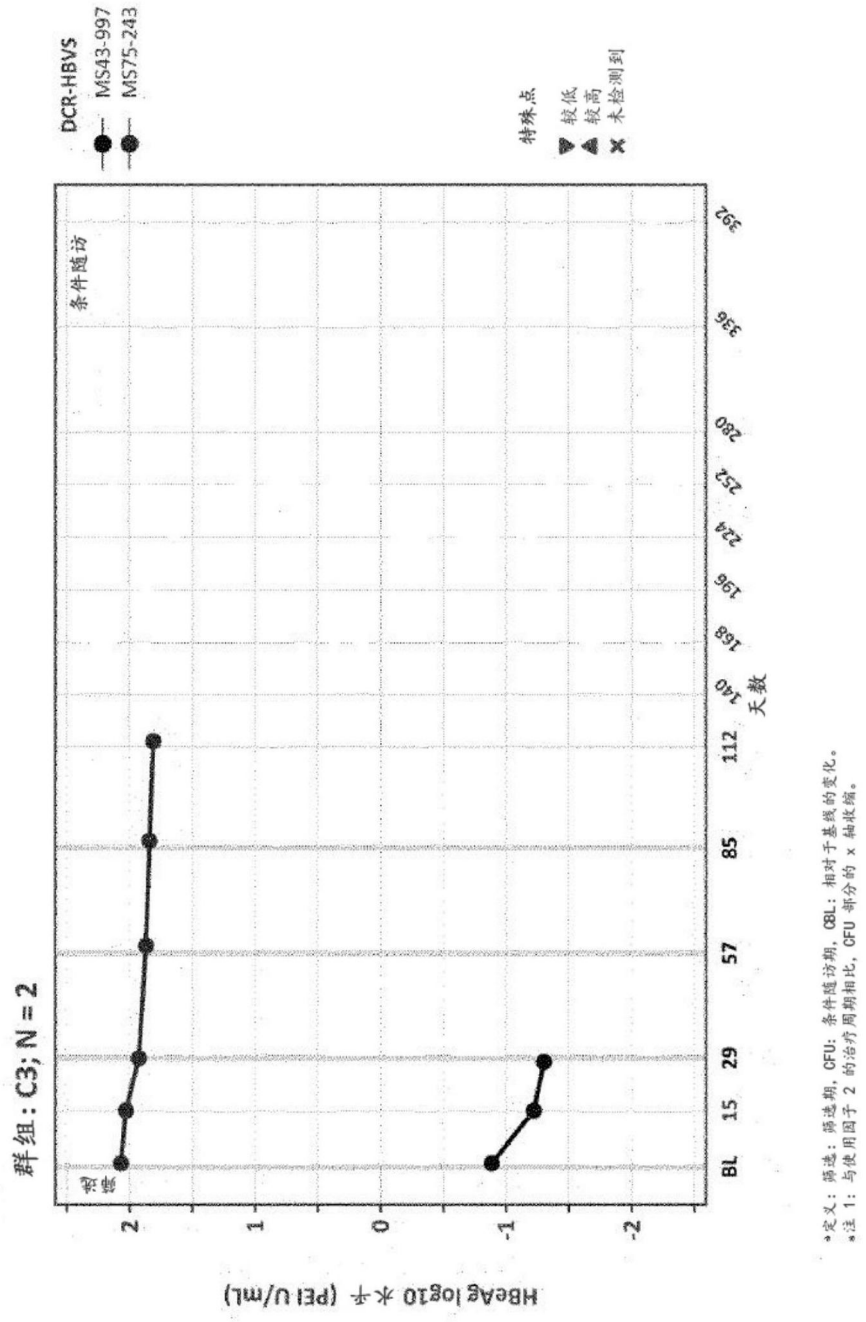

DCR-HBVS
MS43-997
MS75-243
特殊点
▼ 较低
▲ 较高
× 未检测到
群组：C3; N = 2
条件随访
筛选
HBeAg log10 ⁎⁎ (PEI U/mL)
2
1
0
-1
-2
BL
15
29
57
85
112
140
168
196
224
252
280
336
392
天数
•定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
•注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴求缩。

图5i

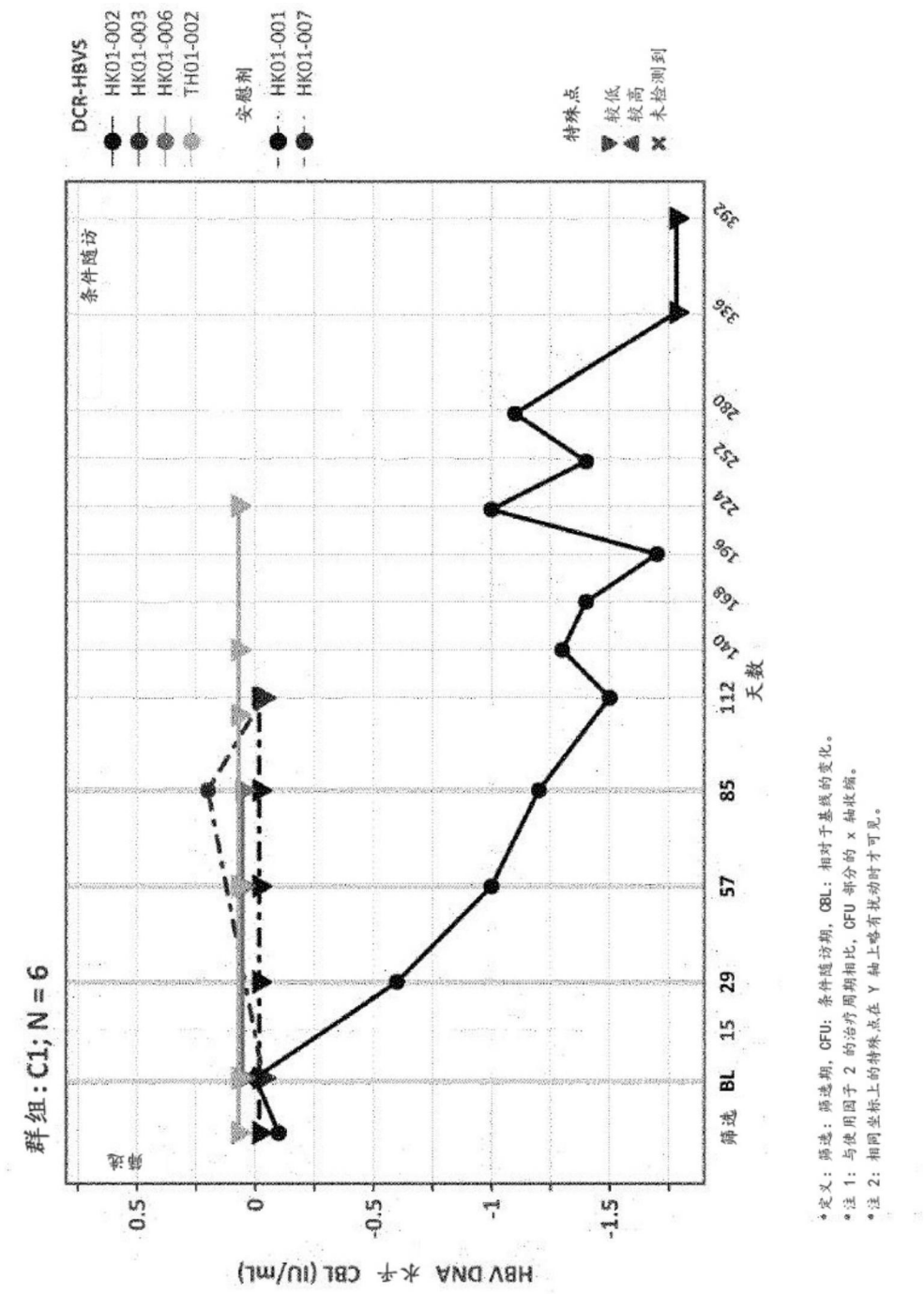

DCR-HBVS
HK01-002
HK01-003
HK01-006
TH01-002
安慰剂
HK01-001
HK01-007
特殊点
较低
较高
未检测到
条件随访
群组：C1; N = 6
HBV DNA ** CBL (IU/mL)
0.5
0
-0.5
-1
-1.5
筛选 BL 15 29 57 85 112 140 168 196 224 252 280 336 392
天数
•定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
•注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
•注 2：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图5j

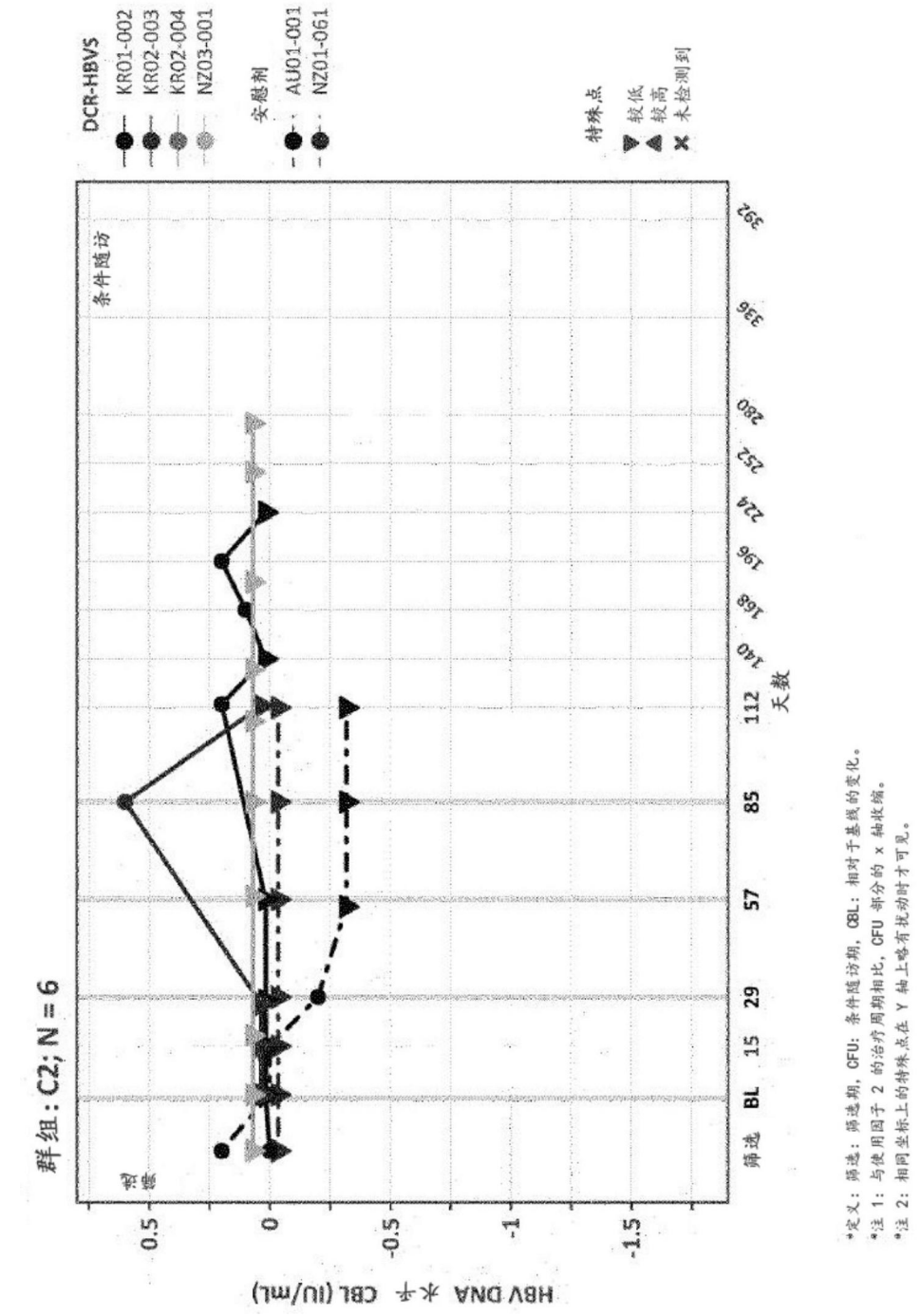
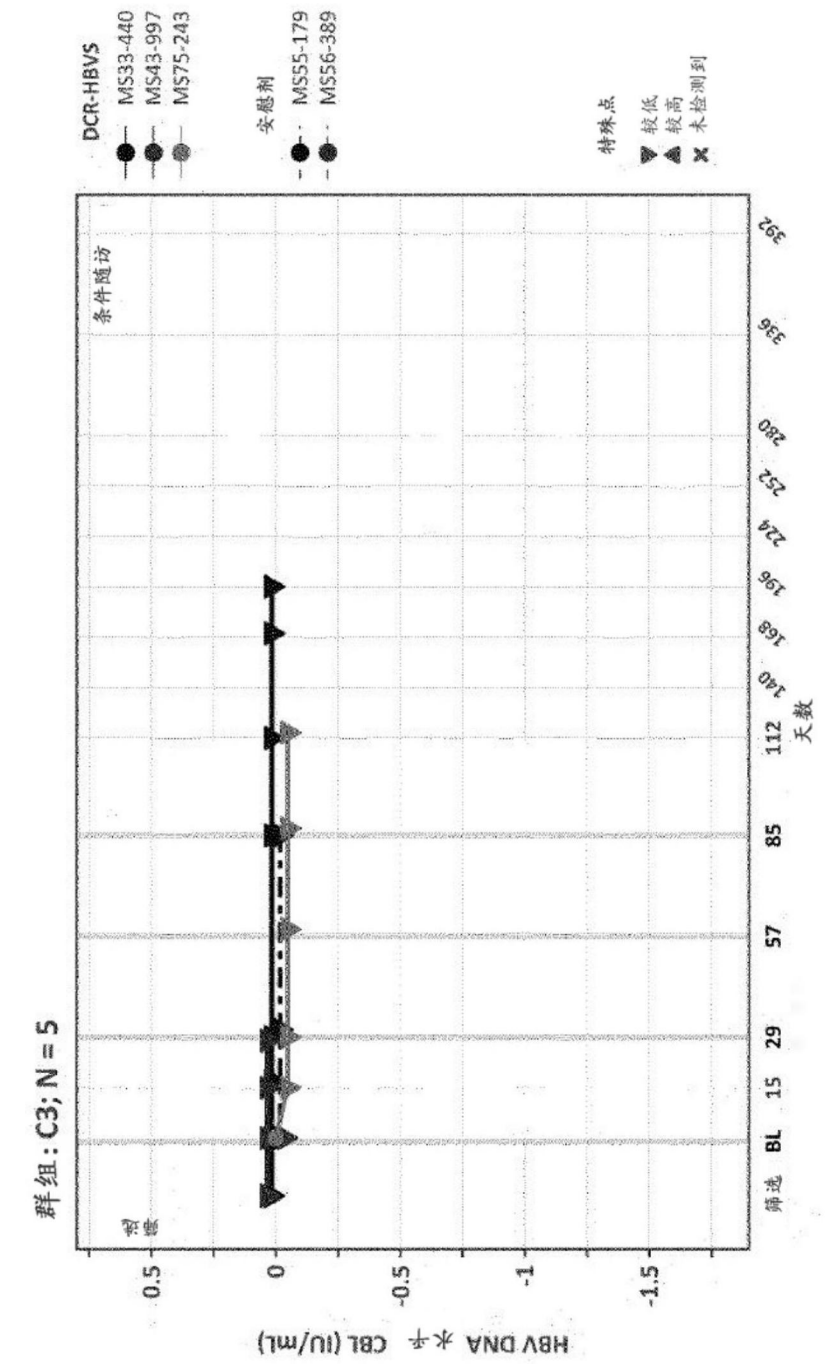

DCR-HBV5
KR01-002
KR02-003
KR02-004
NZ03-001
安慰剂
AU01-001
NZ01-061
特殊点
较低
较高
未检测到
条件随访
群组：C2; N = 6
HBV DNA ** CBL (IU/mL)
0.5
0
-0.5
-1
-1.5
筛选 BL 15 29 57 85 112 140 168 196 224 252 280 336 392
天数
*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
*注 2：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图5k



*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
*注 2：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图51

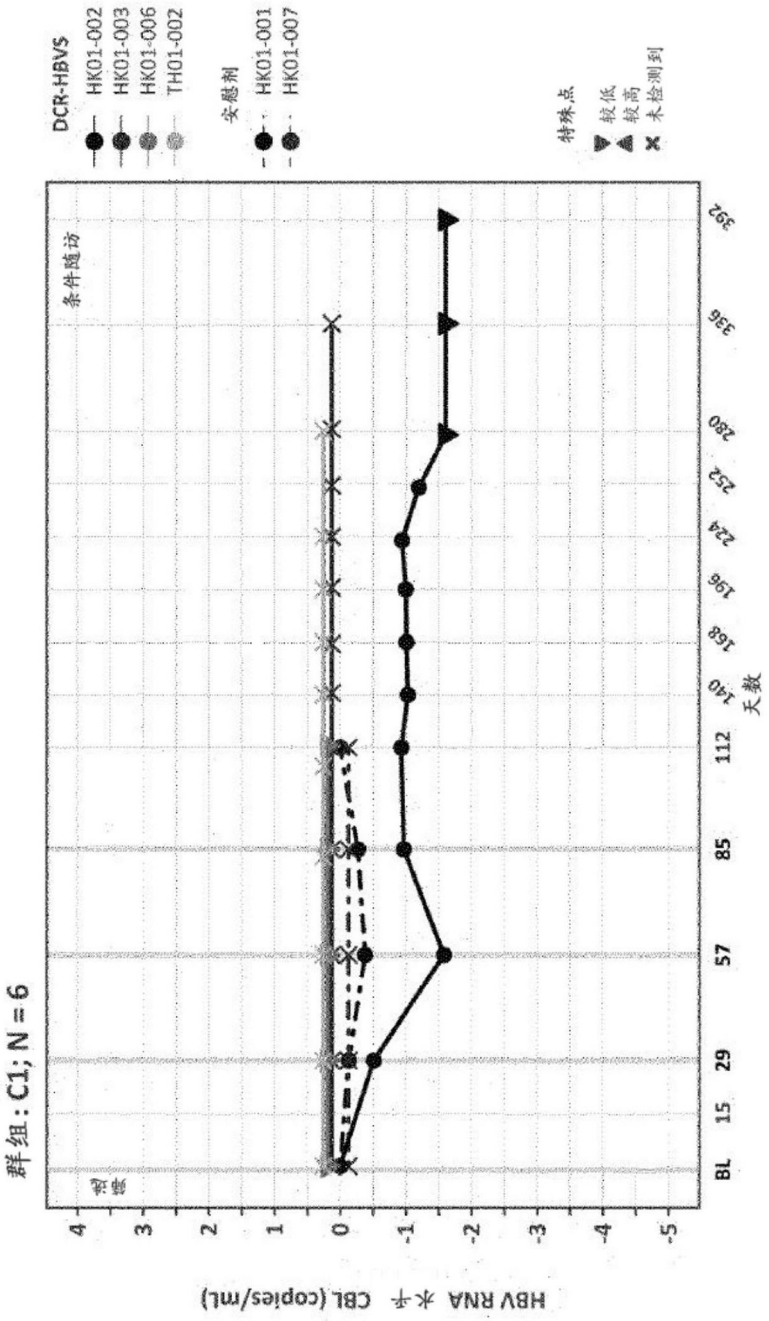

群组：C1; N = 6
DCR-HBVS
HK01-002
HK01-003
HK01-006
TH01-002
安慰剂
HK01-001
HK01-007
特殊点
较低
较高
未检测到
条件随访
筛选
HBV RNA 平均 CBL (copies/mL)
天数
BL
15
29
57
85
112
140
168
196
224
252
280
336
392
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
*注 2：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图5m

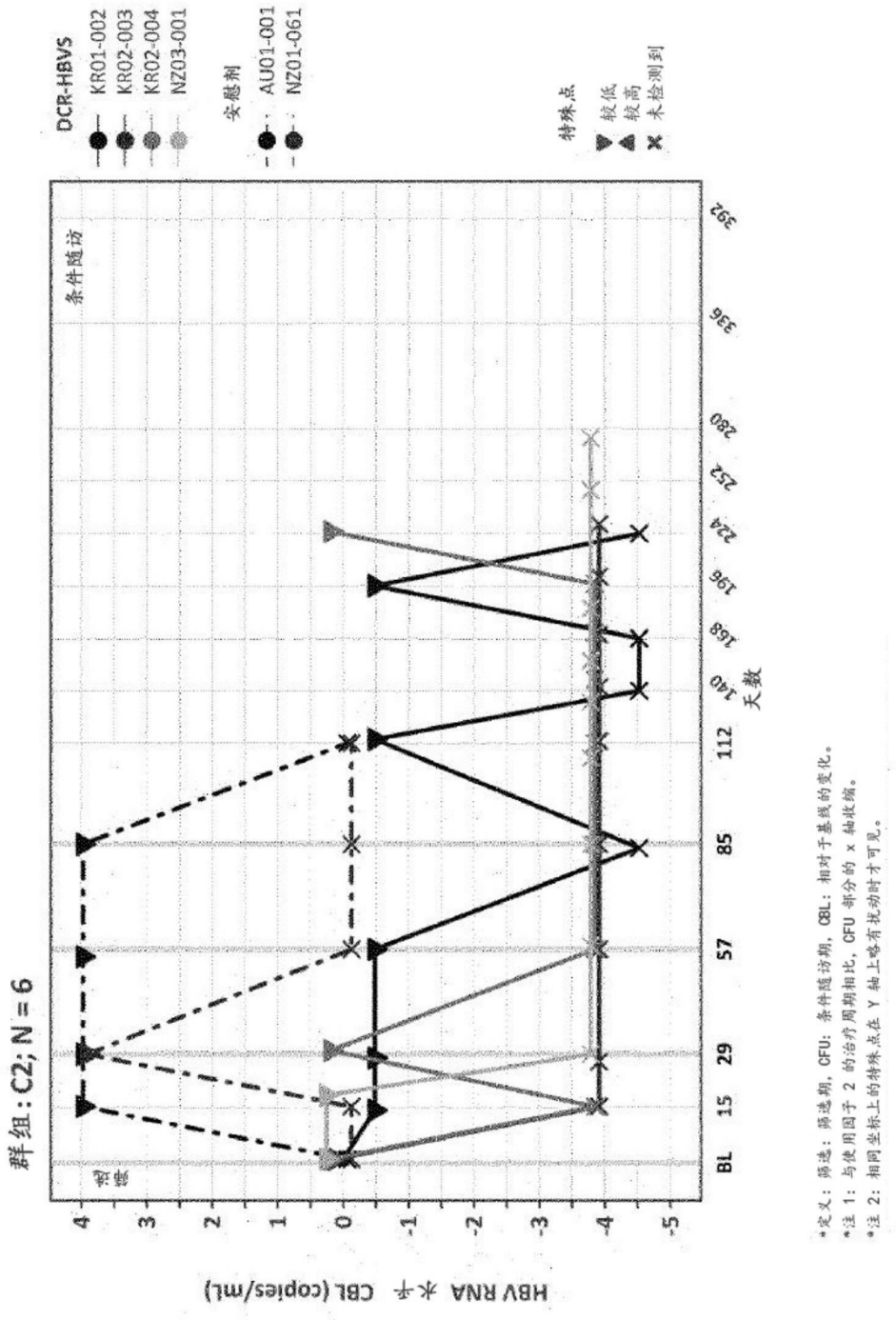

DCR-HBVS
KR01-002
KR02-003
KR02-004
NZ03-001
安慰剂
AU01-001
NZ01-061
特殊点
较低
较高
未检测到
条件随访
群组：C2; N = 6
HBV RNA 中位 CBL (copies/mL)
天数
BL
15
29
57
85
112
140
168
196
224
252
280
336
392
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
*定义：筛选期，CFU：条件随访期，QBL：相对于基线的变化。
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
*注 2：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图5n

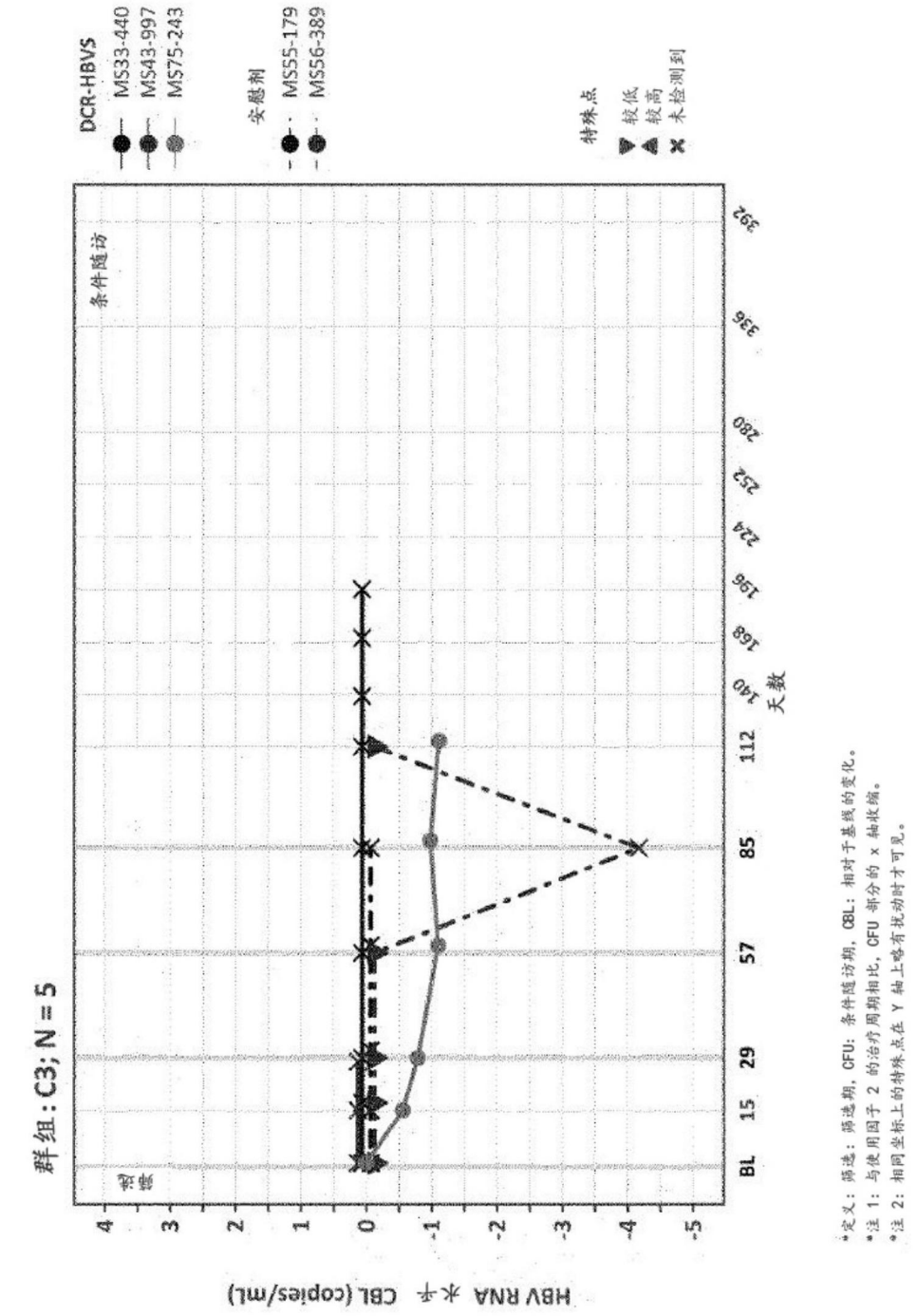

群组：C3; N = 5
DCR-HBVS
MS33-440
MS43-997
MS75-243
安慰剂
MS55-179
MS56-389
特殊点
较低
较高
未检测到
条件随访
筛选
HBV RNA 平均 CBL (copies/mL)
天数
BL
15
29
57
85
112
140
168
196
224
252
280
336
392
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：与使用因子 2 的治疗周期相比，CFU 部分的 x 轴收缩。
*注 2：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图5o

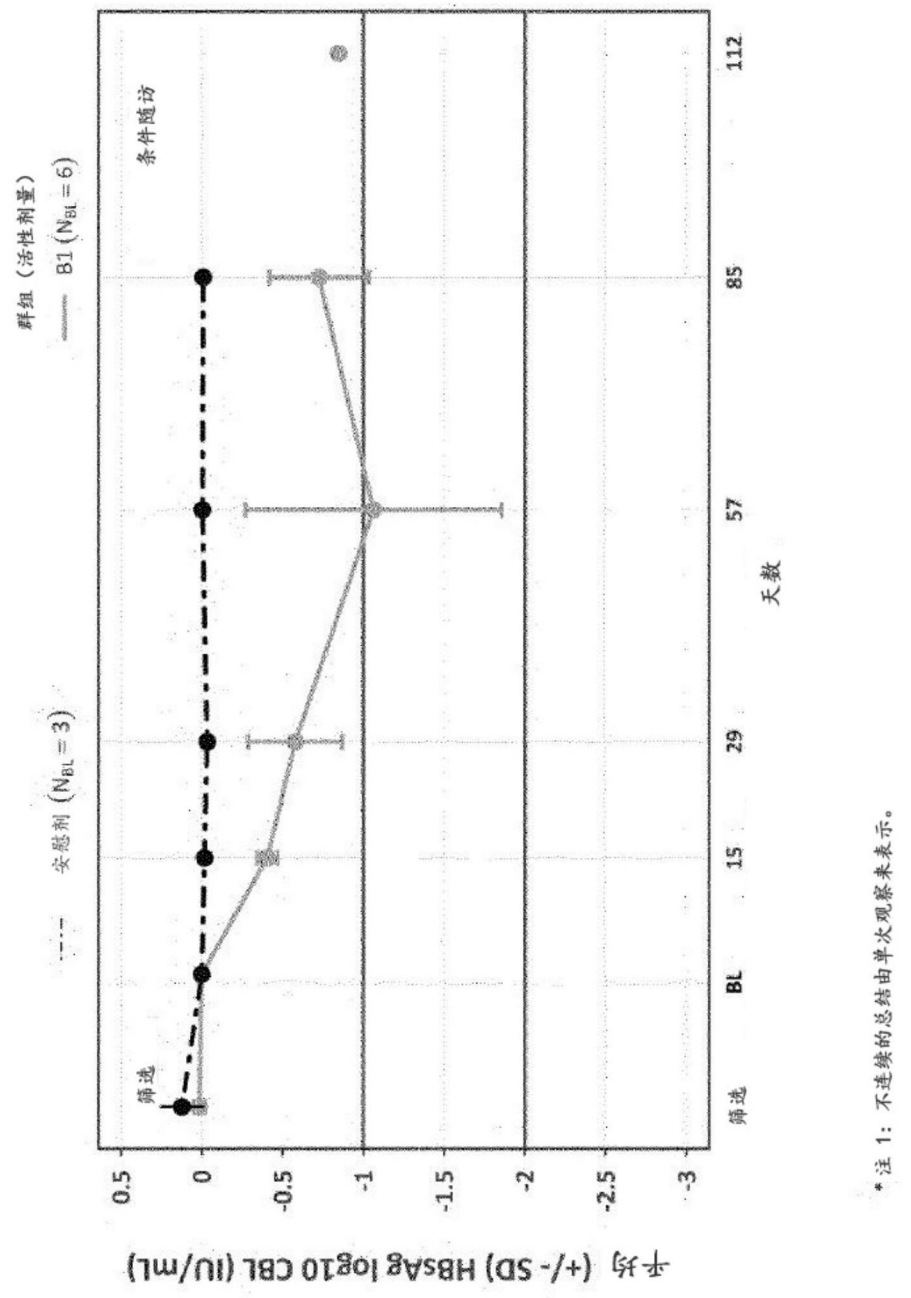

群组（活性剂量）
B1 (N_{BL} = 6)
安慰剂 (N_{BL} = 3)
条件随访
筛选
筛选
BL
15
29
57
85
112
天数
0.5
0
-0.5
-1
-1.5
-2
-2.5
-3
平均 (+/- SD) HBsAg log10 CBL (IU/mL)
*注 1：不连续的总结由单次观察来表示。

图6a

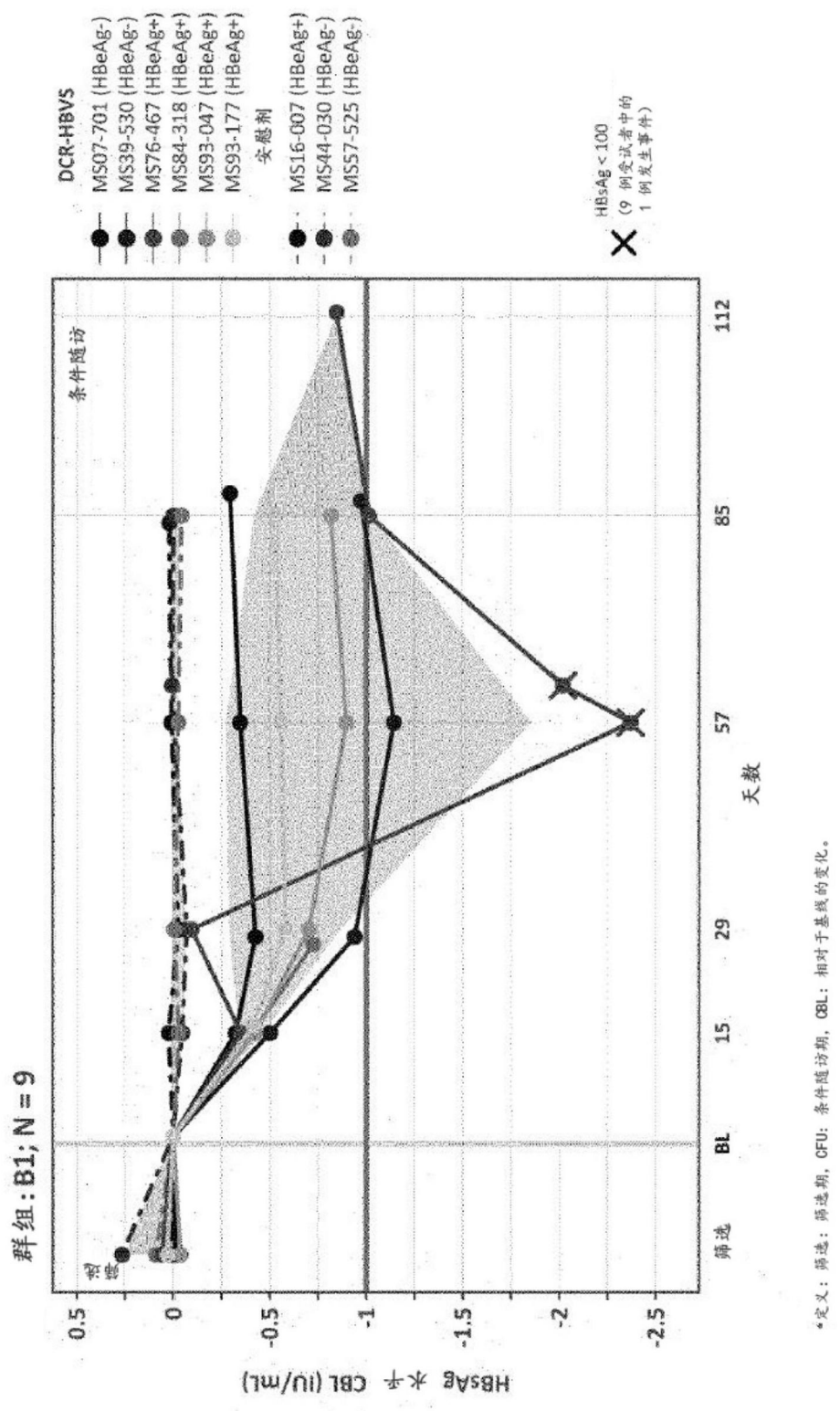

群组：B1; N = 9
DCR-HBVS
MS07-701 (HBeAg-)
MS39-530 (HBeAg-)
MS76-467 (HBeAg+)
MS84-318 (HBeAg+)
MS93-047 (HBeAg+)
MS93-177 (HBeAg+)
安慰剂
MS16-007 (HBeAg+)
MS44-030 (HBeAg-)
MS57-525 (HBeAg-)
HBsAg < 100
(9 例受试者中的
1 例发生事件)
条件随访
筛选
BL
15
29
57
85
112
天数
0.5
0
-0.5
-1
-1.5
-2
-2.5
HBsAg 变化 CBL (IU/mL)
*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。

图6b

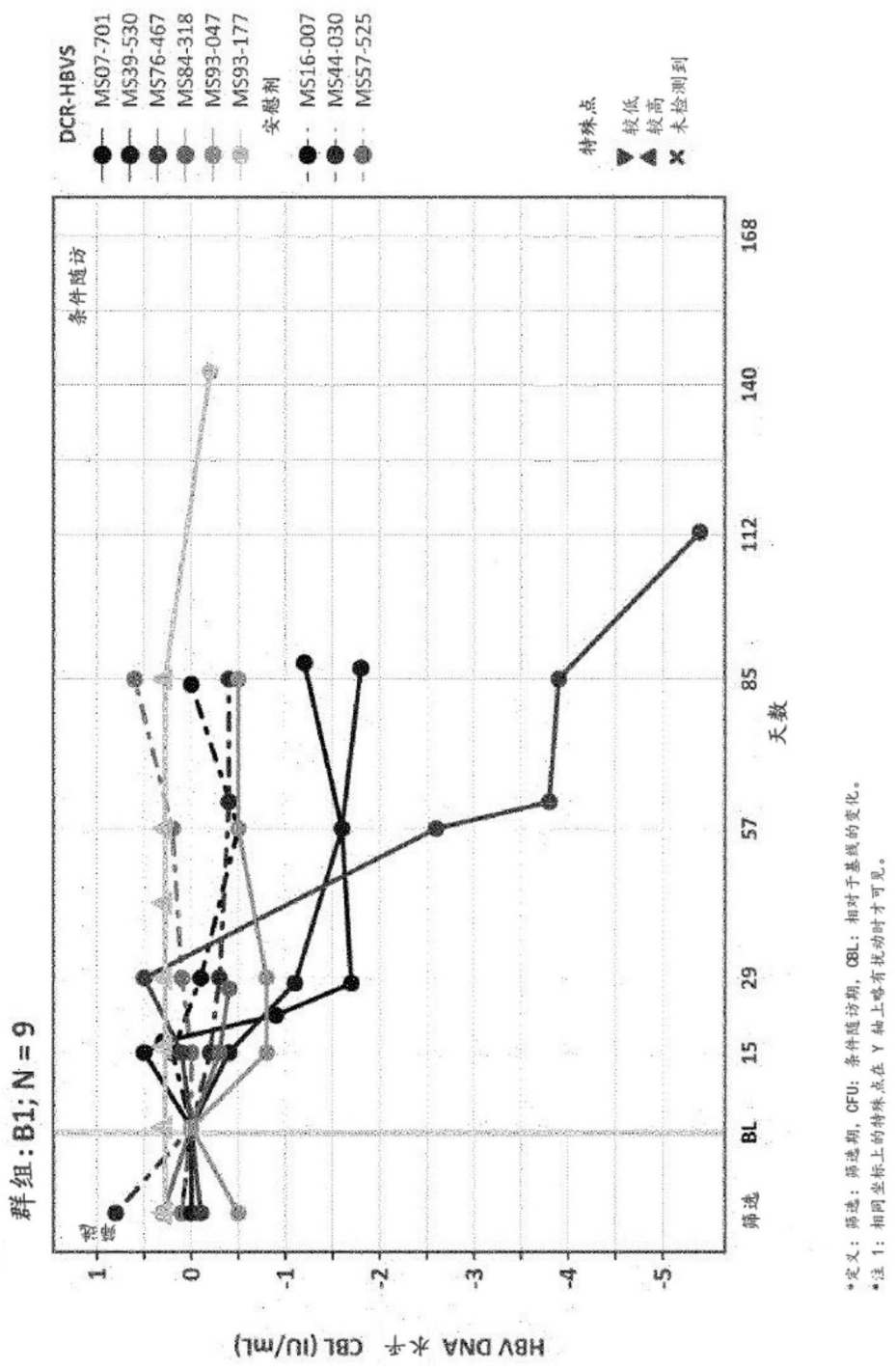

群组：B1; N = 9
DCR-HBVS
MS07-701
MS39-530
MS76-467
MS84-318
MS93-047
MS93-177
安慰剂
MS16-007
MS44-030
MS57-525
特殊点
较低
较高
未检测到
条件随访
筛选
BL
15
29
57
85
112
140
168
天数
HBV DNA 平均 CBL (IU/mL)
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图6c

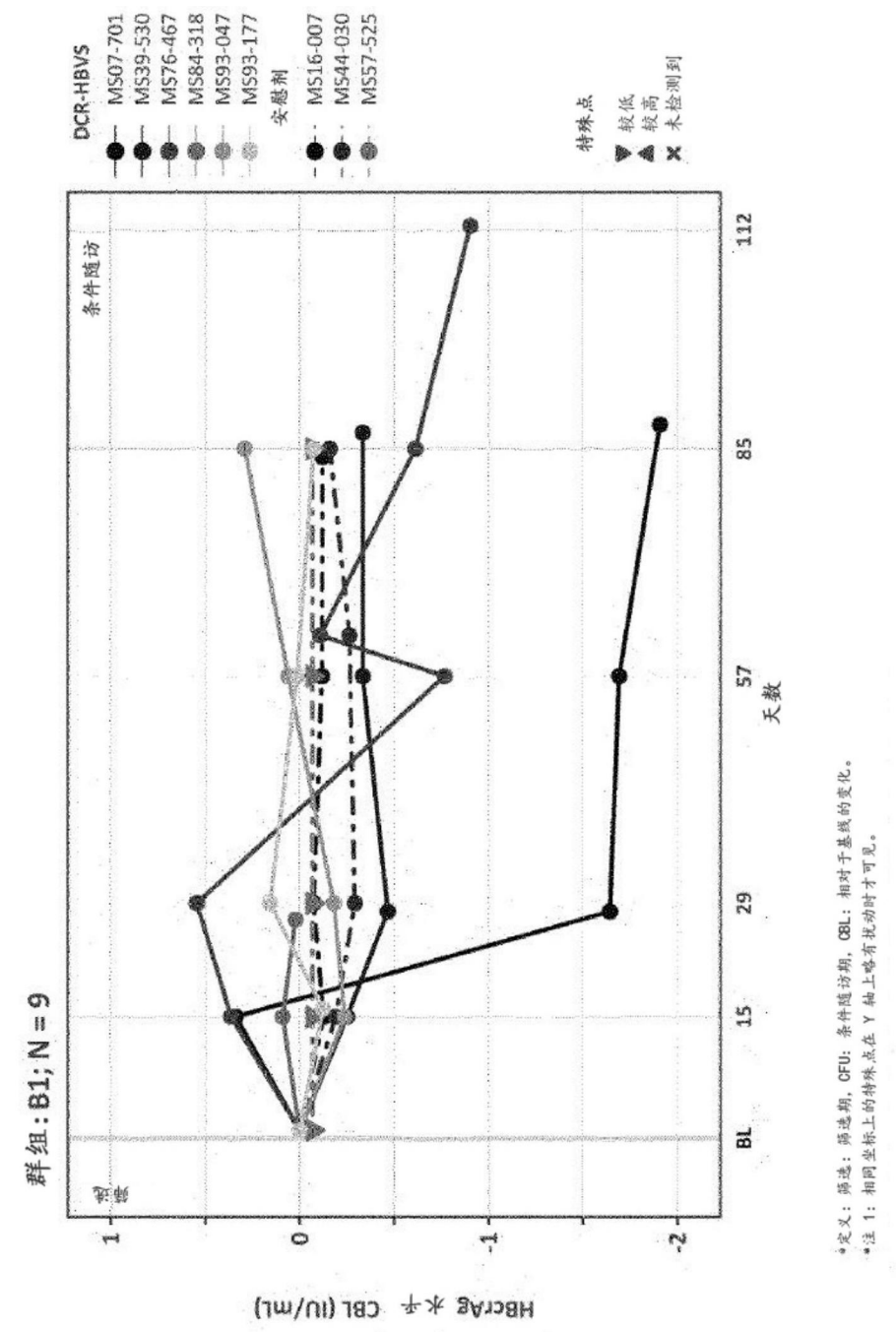

群组：B1; N = 9
条件随访
DCR-HBVS
MS07-701
MS39-530
MS76-467
MS84-318
MS93-047
MS93-177
安慰剂
MS16-007
MS544-030
MS57-525
特殊点
较低
较高
未检测到
HBcrAg 水平 CBL (IU/mL)
1
0
-1
-2
BL
15
29
57
85
112
天数
*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图6d

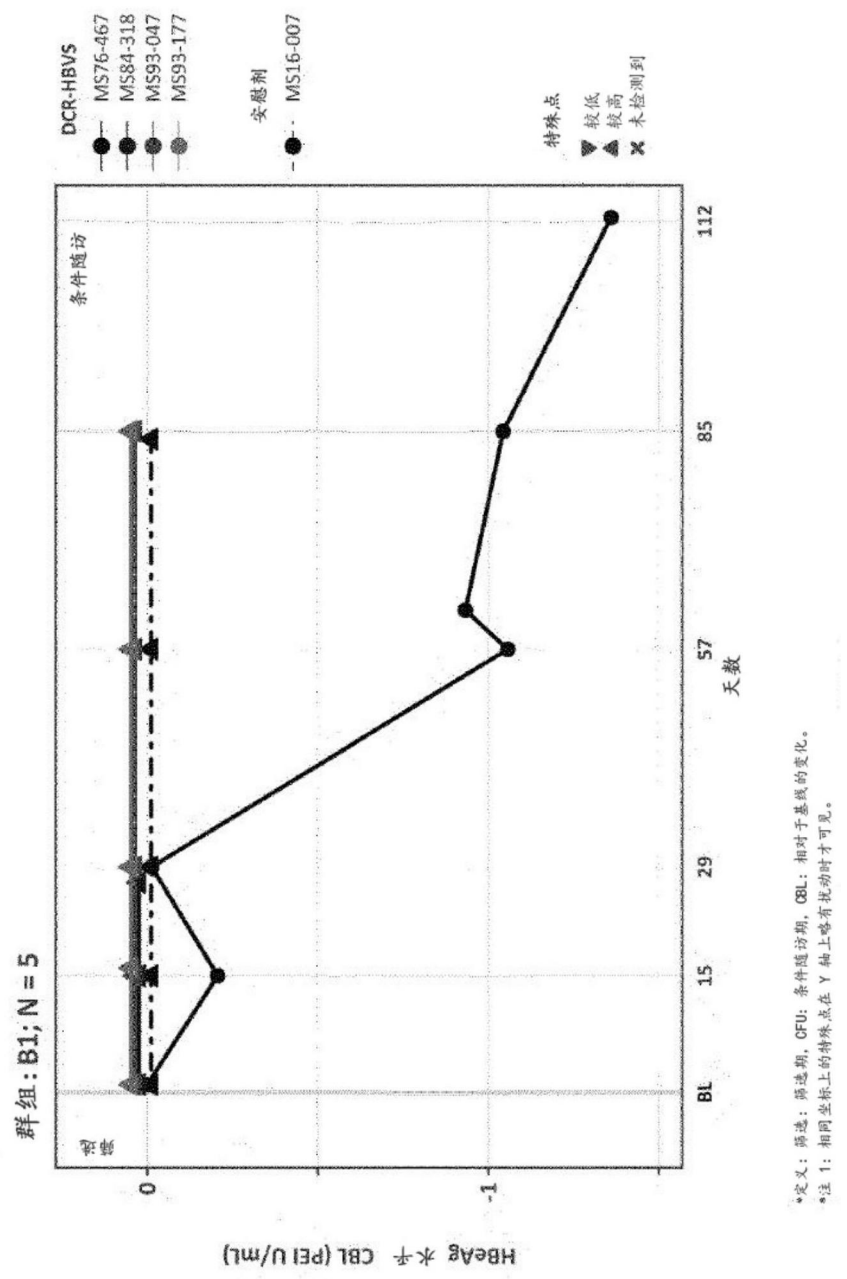

群组:B1; N = 5
HBeAg ⁎⁎⁎ CBL (PEI U/mL)
0
-1
BL
15
29
57
85
112
天数
条件随访
DCR-HBVS
MS76-467
MS84-318
MS93-047
MS93-177
安慰剂
MS16-007
特殊点
较低
较高
未检测到
*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上略有扰动时才可见。

图6e

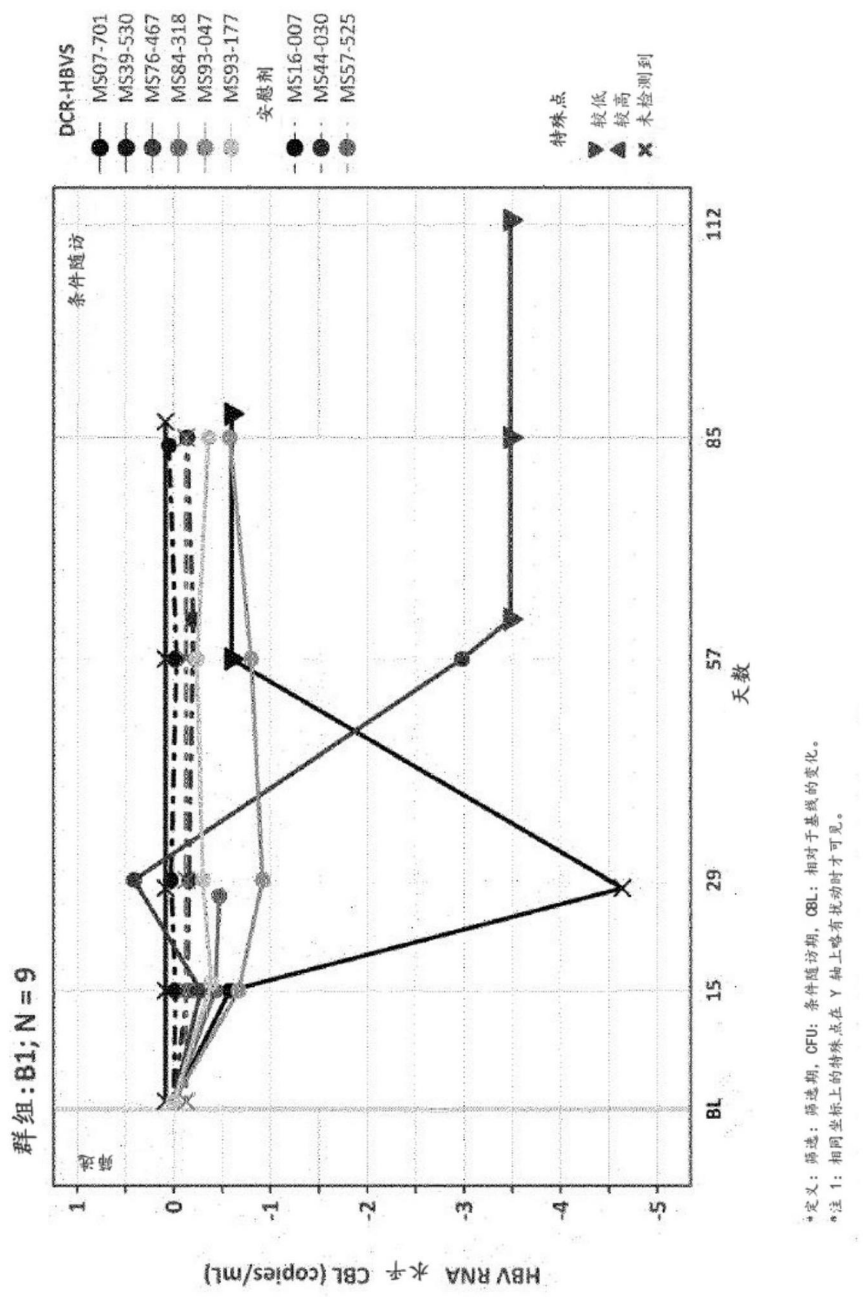

群组:B1; N = 9
筛选
条件随访
DCR-HBVS
MS07-701
MS39-530
MS76-467
MS84-318
MS93-047
MS93-177
安慰剂
MS16-007
MS44-030
MS57-525
特殊点
较低
较高
未检测到
HBV RNA ** CBL (copies/mL)
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
BL
15
29
57
85
112
天数
*定义：筛选：筛选期，CFU：条件随访期，CBL：相对于基线的变化。
*注 1：相同坐标上的特殊点在 Y 轴上被有扰动时才可见。

图6f

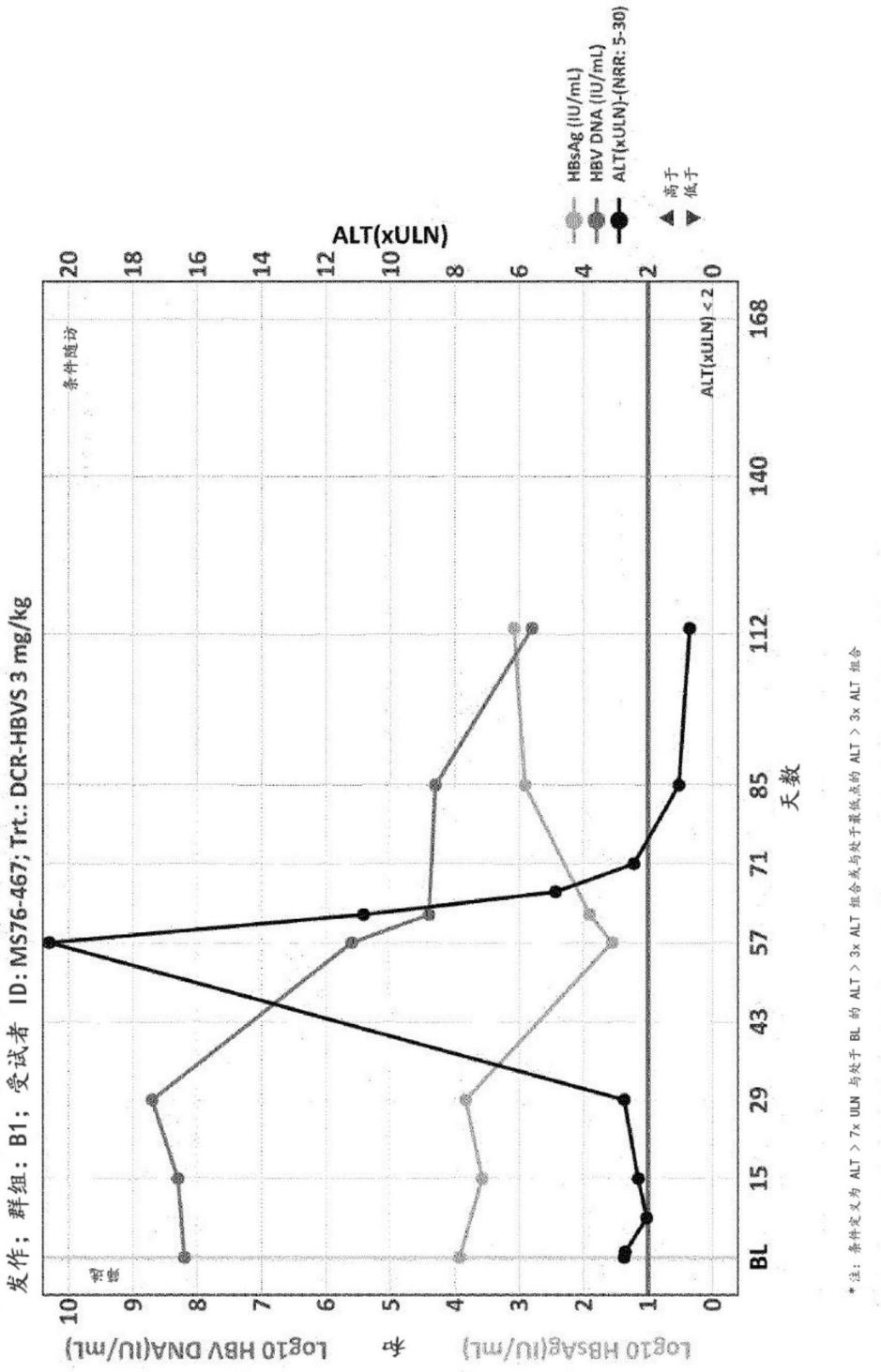

发作；群组：B1；受试者 ID: MS76-467; Trt.: DCR-HBVS 3 mg/kg
HBsAg (IU/mL)
HBV DNA (IU/mL)
ALT(xULN)-(NRR: 5-30)
高于
低于
ALT(xULN)
ALT(xULN) < 2
条件随访
筛查
天数
BL 15 29 43 57 71 85 112 140 168
log10 HBV DNA(IU/mL)
log10 HBsAg(IU/mL)
*注：条件定义为 ALT > 7x ULN 与处于 BL 的 ALT > 3x ALT 组合或与处于最低点的 ALT > 3x ALT 组合

图7

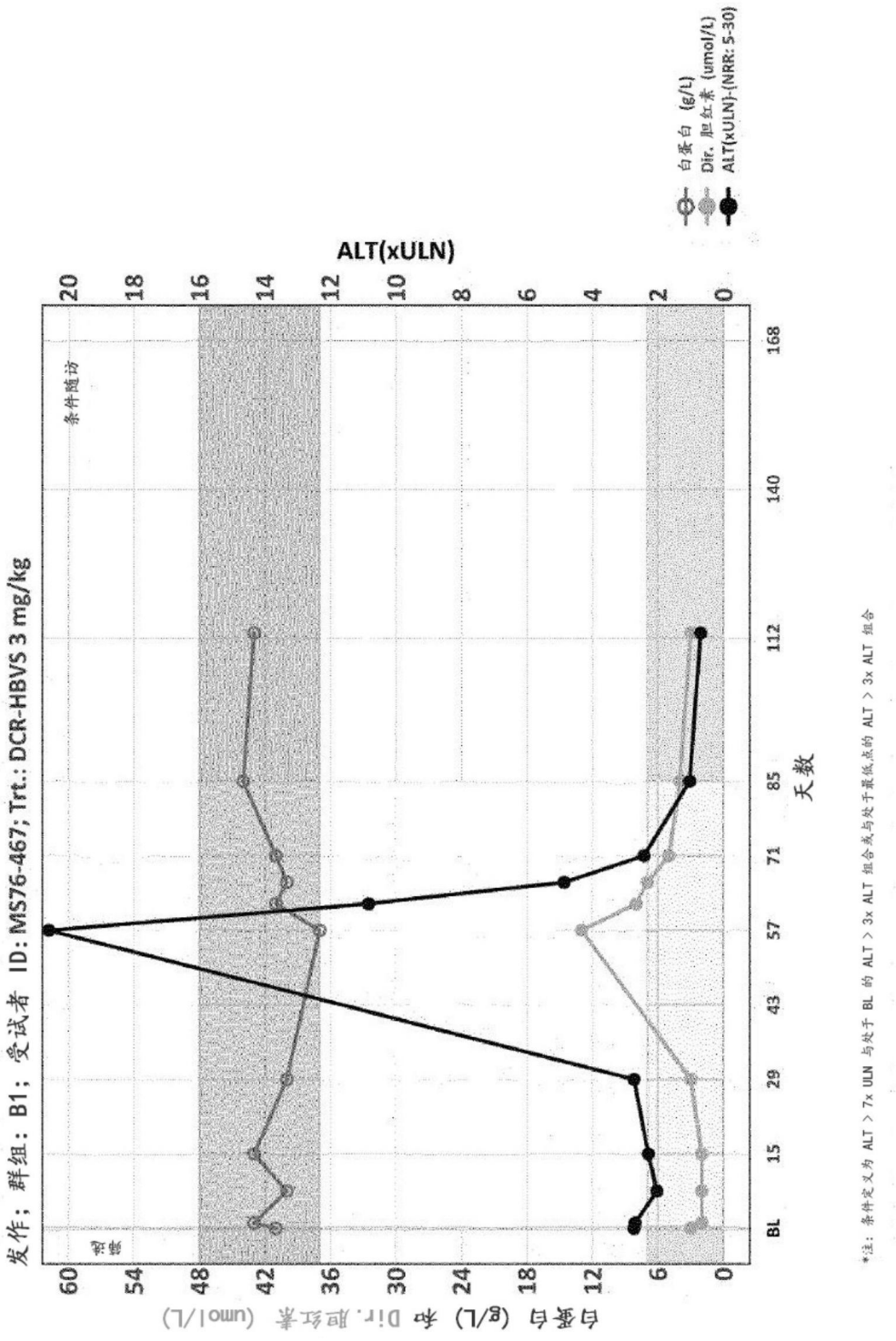

发作；群组：B1；受试者 ID: MS76-467; Trt.: DCR-HBVS 3 mg/kg
ALT(xULN)
白蛋白 (g/L)
Dir. 胆红素 (umol/L)
ALT(xULN)-(NRR: 5-30)
条件随访
筛选
天数
BL
15
29
43
57
71
85
112
140
168
*注：条件定义为 ALT > 7x ULN 与处于 BL 的 ALT > 3x ALT 组合或与处于最低点的 ALT > 3x ALT 组合

图8

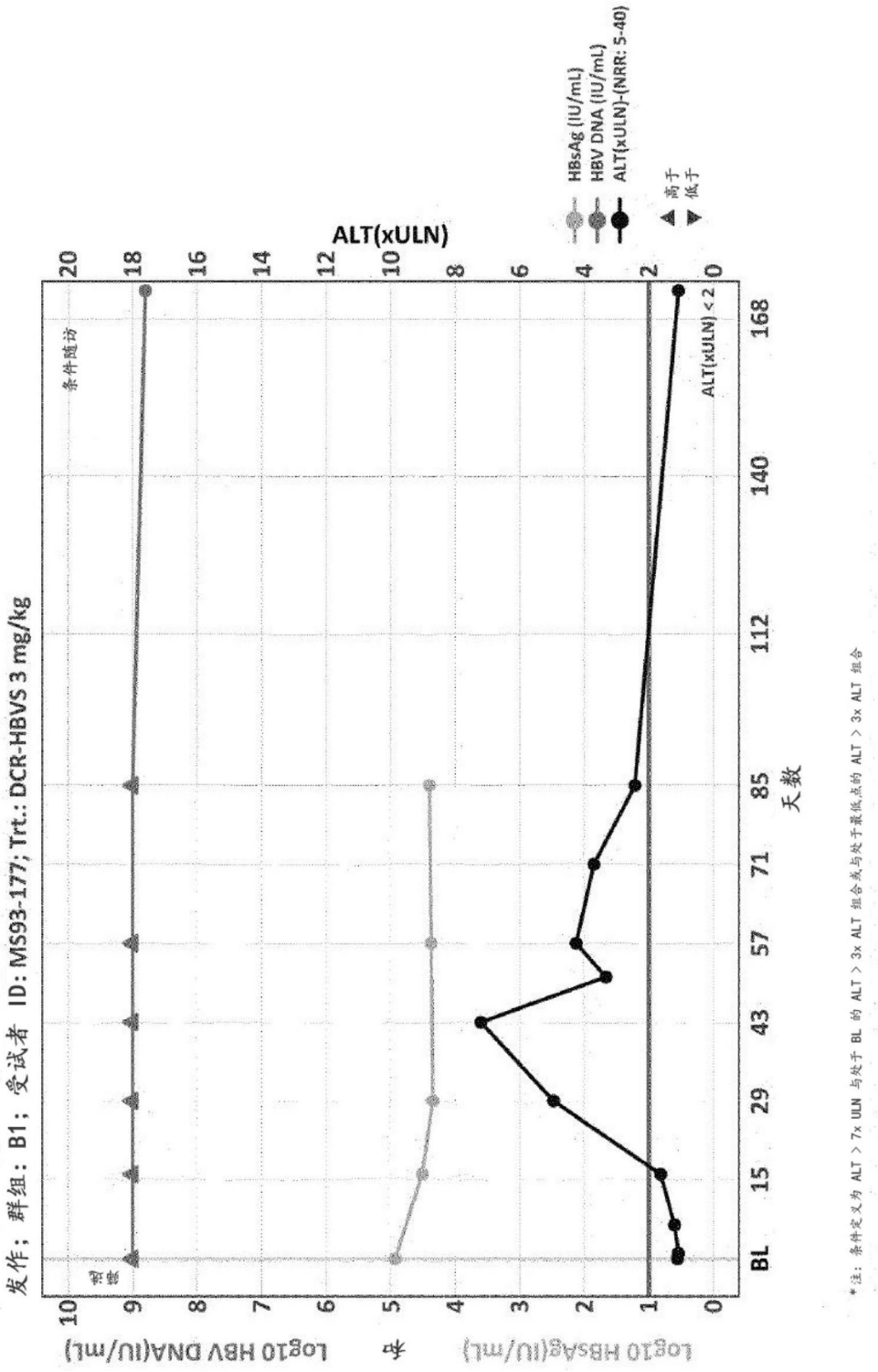

发作；群组：B1；受试者 ID: MS93-177; Trt.: DCR-HBVS 3 mg/kg
ALT(xULN)
HBsAg (IU/mL)
HBV DNA (IU/mL)
ALT(xULN)-(NRR: 5-40)
高于
低于
条件随访
ALT(xULN) < 2
log10 HBV DNA(IU/mL)
log10 HBsAg(IU/mL)
天数
BL 15 29 43 57 71 85 112 140 168
*注：条件定义为 ALT > 7x ULN 与处于 BL 的 ALT > 3x ALT 组合或与处于最低点的 ALT > 3x ALT 组合

图9a

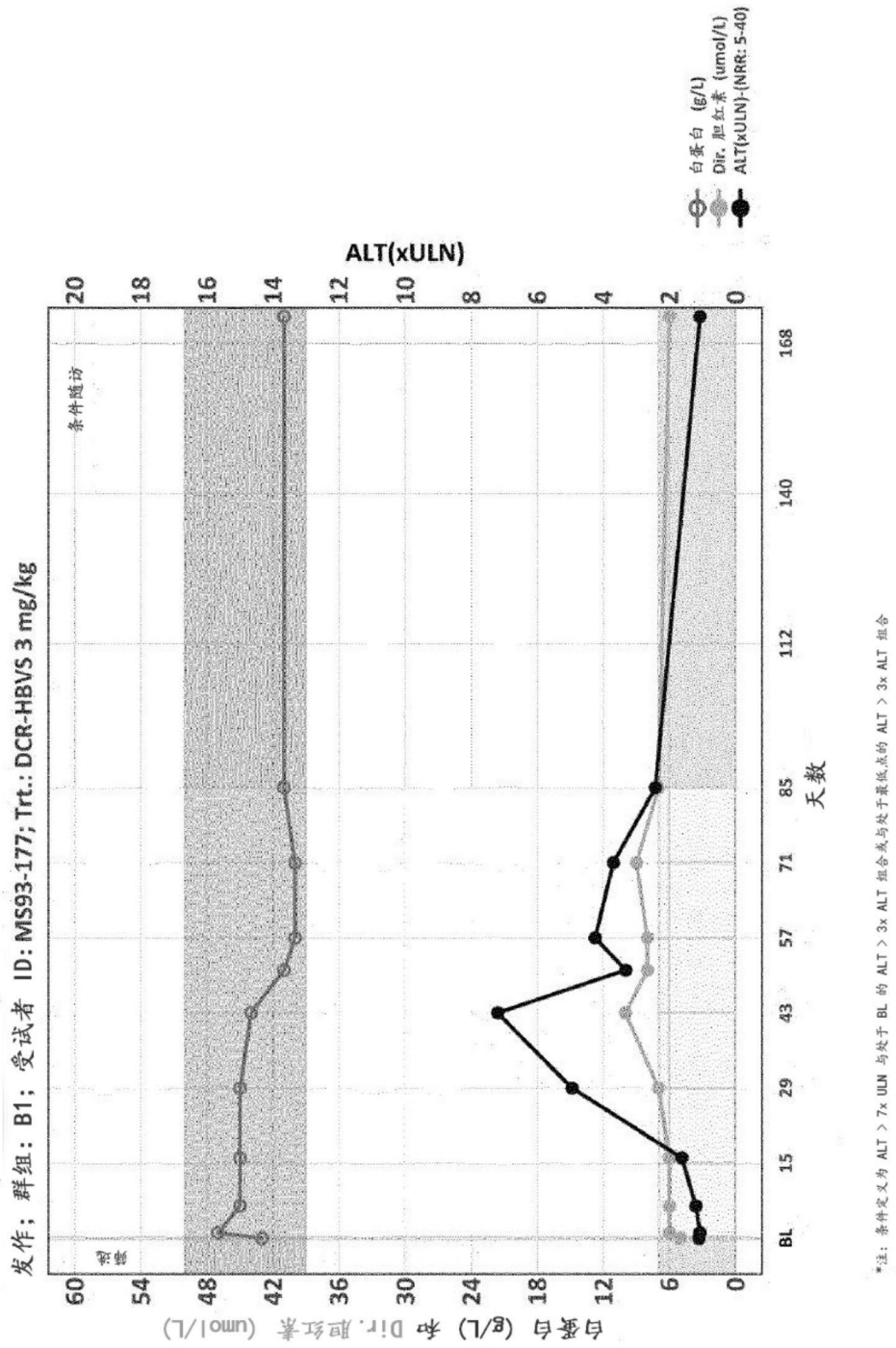

发作；群组：B1；受试者 ID: MS93-177; Trt.: DCR-HBVS 3 mg/kg
条件随访
筛选
白蛋白 (g/L) 和 Dir. 胆红素 (umol/L)
ALT(xULN)
天数
BL
15
29
43
57
71
85
112
140
168
白蛋白 (g/L)
Dir. 胆红素 (umol/L)
ALT(xULN)-(NRR: 5-40)
*注：条件定义为 ALT > 7x ULN 与处于 BL 的 ALT > 3x ALT 组合或与处于最低点的 ALT > 3x ALT 组合

图9b

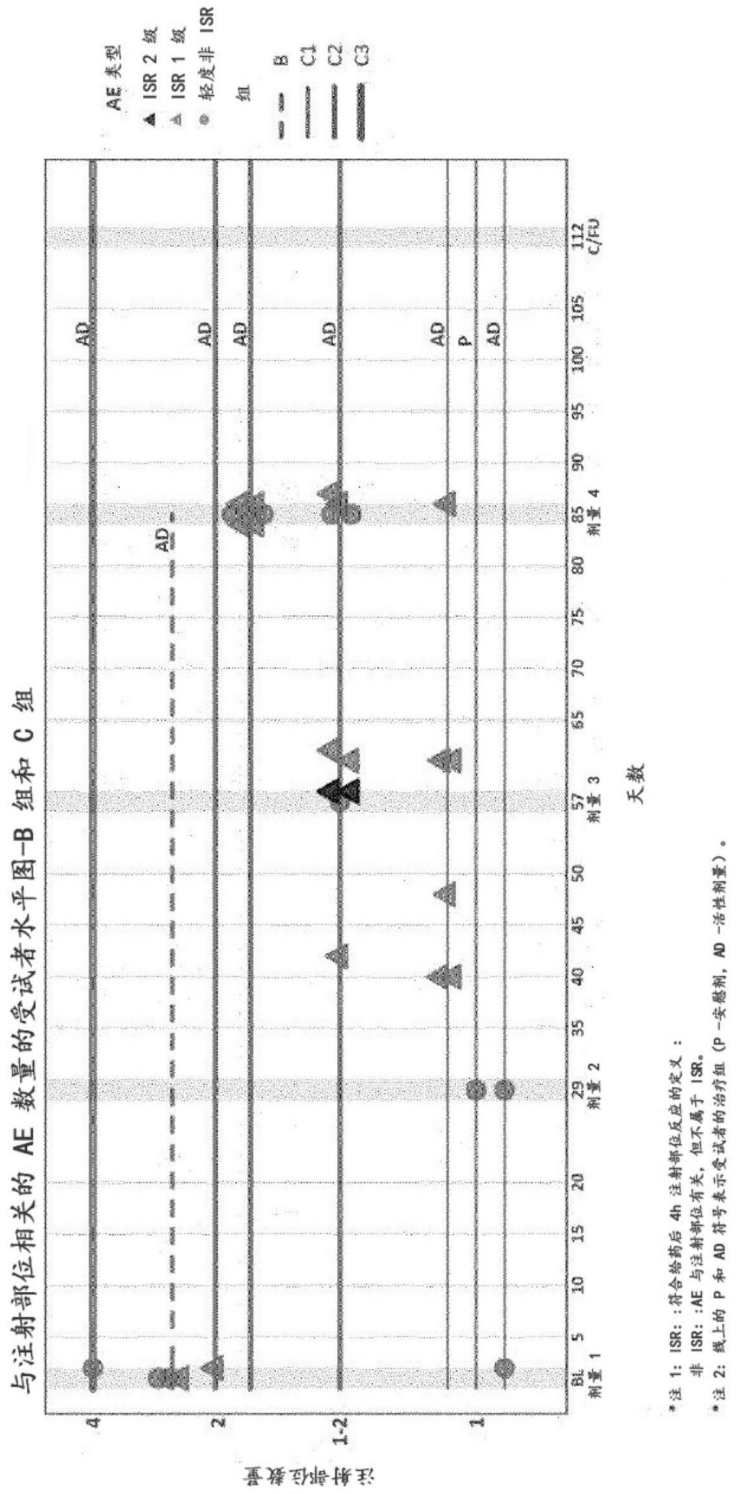

与注射部位相关的 AE 数量的受试者水平图-B 组和 C 组
AE 类型
ISR 2 级
ISR 1 级
轻度非 ISR
组
B
C1
C2
C3
AD
P
注射部位数量
4
2
1-2
1
BL
5
10
15
20
29
35
40
45
50
57
65
70
75
80
85
90
95
100
105
112
剂量 1
剂量 2
剂量 3
剂量 4
C/FU
天数
*注 1：ISR：：符合给药后 4h 注射部位反应的定义：
非 ISR：：AE 与注射部位有关，但不属于 ISR。
*注 2：线上的 P 和 AD 符号表示受试者的治疗组（P -安慰剂，AD -活性剂量）。

图10