



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I749367 B

(45) 公告日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 11 日

- (21) 申請案號：108132514 (22) 申請日：中華民國 108 (2019) 年 09 月 10 日
- (51) Int. Cl. : **C07K16/28 (2006.01)** **A61K39/395 (2006.01)**  
**C12N15/13 (2006.01)** **A61P37/00 (2006.01)**
- (30) 優先權：2018/09/14 美國 62/731,204
- (71) 申請人：美商美國禮來大藥廠 (美國) ELI LILLY AND COMPANY (US)  
美國
- (72) 發明人：迪馬瑞斯 史蒂芬 J DEMAREST, STEPHEN J. (US)；凱斯特 安佳 KOESTER, ANJA (DE)；梅塔 派由 MEHTA, PAYAL (IN)；波特 史考特 查爾斯 POTTER, SCOTT CHARLES (US)；魯伊斯 黛安娜 伊莎貝爾 RUIZ, DIANA ISABEL (US)；威區 德瑞克 雷恩 WITCHER, DERRICK RYAN (US)；吳 秀鳳 WU, XIUFENG (US)
- (74) 代理人：陳長文
- (56) 參考文獻：  
US 2008/267967A1 WO 2008/079352A2
- 審查人員：林佳慧
- 申請專利範圍項數：32 項 圖式數：0 共 68 頁

## (54) 名稱

CD200R 促效劑抗體及其用途

## (57) 摘要

本發明係關於抗人類 CD200R 促效劑抗體，及其於治療疾病(諸如異位性皮膚炎、慢性自發性蕁麻疹、過敏、哮喘、硬皮病、IBD、SLE、MS、RA、GvHD 或牛皮癬)之用途。

The present invention relates to anti-human CD200R agonist antibodies, and uses thereof for treating diseases such as atopic dermatitis, chronic spontaneous urticaria, allergy, asthma, scleroderma, IBD, SLE, MS, RA, GvHD, or psoriasis.



I749367

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

CD200R 促效劑抗體及其用途

### 【英文發明名稱】

CD200R AGONIST ANTIBODIES AND USES THEREOF

### 【中文】

本發明係關於抗人類CD200R促效劑抗體，及其於治療疾病(諸如異位性皮膚炎、慢性自發性蕁麻疹、過敏、哮喘、硬皮病、IBD、SLE、MS、RA、GvHD或牛皮癬)之用途。

### 【英文】

The present invention relates to anti-human CD200R agonist antibodies, and uses thereof for treating diseases such as atopic dermatitis, chronic spontaneous urticaria, allergy, asthma, scleroderma, IBD, SLE, MS, RA, GvHD, or psoriasis.

### 【指定代表圖】

無

### 【代表圖之符號簡單說明】

無

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

CD200R 促效劑抗體及其用途

### 【英文發明名稱】

CD200R AGONIST ANTIBODIES AND USES THEREOF

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於藥物領域。更特定言之，本發明係關於針對 CD200 受體(CD200R)之促效抗體、包含此種 CD200R 促效抗體之組合物、及使用此種 CD200R 促效抗體用於治療病症(諸如自體免疫疾病、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性病)之方法。

### 【先前技術】

【0002】 免疫檢查點途徑可調節自體免疫反應及抗癌免疫反應。在自體免疫疾病療法中，期望促進(亦即促效)免疫抑制途徑之作用，從而抑制免疫反應。相反地，在癌症療法中，期望抑制(亦即拮抗)免疫抑制途徑之作用，從而去抑制(刺激)免疫反應。

【0003】 CD200R 係 Ig 超家族成員且係負調節免疫細胞活化之檢查點受體家族之一部分。CD200R 途徑之活化導致降低之細胞功能，諸如降低之細胞增殖及發炎性細胞介素之抑制。CD200R 主要表現先天系統之細胞表面上，特別是表現在單核細胞系巨噬細胞、肥大細胞、樹突細胞之表面上，但亦表現在活化的 T 細胞亞群(諸如 T 記憶細胞)上。CD200R 之天然配體係 CD200，其更廣泛地表現在多種細胞類型(包括淋巴細胞)上。CD200R 及 CD200 基因敲除小鼠具有正常表型，但更容易誘發自體免疫疾病(參見(例如)，Simelyte 等人，Clin Exp Immunol. 162:163-8 (2010))。

相反地，小鼠中之CD200過度表現提供對同種異體移植及DSS誘導結腸炎之抗性(Chend等人，PLoS One. 2016；11(2): e0146681. doi:10.1371/journal.pone.0146681)。

**【0004】** 因此，增加之CD200R介導之信號傳導構成管理可能導致深刻疾病改變及反應持久性之自體免疫病症以及優於目前免疫調節療法之關鍵安全性益處之潛在方式。例如，CD200R在分化的組織駐留細胞(例如巨噬細胞、肥大細胞、樹突細胞及先天性淋巴樣細胞)中高度表現。此等細胞類型促成諸如異位性皮膚炎之疾病病理，及因此CD200R促效劑抗體可減弱此等細胞在諸如異位性皮膚炎之疾病中之活性。

**【0005】** 該領域一直在努力提供治療有效且安全之CD200R促效抗體。認為該困難至少部分係由於在生理環境中以最小安全性考慮(例如不誘導細胞介素釋放)實現CD200R促效作用所需的複雜細胞相互作用的結果。

**【0006】** 美國專利8,212,008揭示CD200R抗體，諸如Dx182。Dx182係一種人類IgG1抗體，其促效CD200R並阻斷CD200與CD200R之結合。然而，Dx182亦結合至鼠類肥大細胞中表現之食蟹獼猴CD200RLa(食蟹獼猴活化形式)並將其活化，從而藉由食蟹獼猴CD200RLa在此等細胞中誘導肥大細胞去顆粒反應。WO 2015/057906亦揭示CD200R促效劑抗體，諸如H2RM147。H2RM147可能會與人類CD200競爭與人類CD200R1之結合。

**【0007】** 因此，需要替代的CD200R抗體，其1)以理想的締合及解離速率結合人類CD200R以獲得最佳促效劑活性；2)促效人類CD200R以實現免疫抑制反應及體內效力；3)展示作為用於治療及/或預防病症(諸如

自體免疫病症、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性病)之單藥療法之足夠的效力，4)不會引起顯著細胞介素釋放，5)不會阻斷人類CD200及人類CD200R之結合，6)不結合CD200RLa或以低親和力結合CD200RLa，及/或7)證實低的免疫原性(亦即，在食蟹獼猴及/或人類中沒有足夠的免疫原性)及體內穩定性、物理及化學穩定性，包括(但不限於)熱穩定性、溶解性、低自締合、及開發及/或用於治療自體免疫病症、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性病時可接受之藥物動力學特徵。

### 【發明內容】

**【0008】** 因此，本發明提供新穎的抗人類CD200R促效劑抗體。鑑於至少以下性質，本發明之抗體係特別有利的，優於先前技術CD200R促效劑抗體：1)理想的締合及解離速率；2)人類CD200R之促效作用，以實現免疫抑制反應及體內效力，3)作為用於治療及/或預防自體免疫病症、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性病之單藥療法之足夠效力，4)沒有顯著細胞介素釋放，5)沒有阻斷人類CD200與人類CD200R之結合，並與先前技術抗體相比結合至不同抗原決定基，6)與結合至人類CD200R相比，沒有結合或以低親和力結合食蟹獼猴CD200RLa，及/或7)低免疫原性(亦即，在食蟹獼猴及/或人類中足夠的非免疫原性)及體內穩定性、物理及化學穩定性，包括(但不限於)熱穩定性、溶解性、低自締合、及開發及/或用於治療自體免疫病症、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性病可接受之藥物動力學特徵。

**【0009】** 本發明提供優於先前技術之進步，藉由提供透過使用顯著工程化之抗人類CD200R促效劑抗體之免疫檢查點刺激用於預防、下調或改善自體免疫及/或免疫耐受相關病症、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性

病症之組合物及方法。本發明之抗人類CD200R促效劑抗體能夠改善免疫病理或恢復免疫穩態，較佳地，透過抑制免疫反應之先天性組，消除抗原特異性免疫過程，從而直接解決潛在的疾病病理。臨床上使用此種抗體可能導致所治療疾病之長期耐久性。

**【0010】** 因此，本發明提供結合人類CD200R (SEQ ID NO: 15)之抗體，其包含重鏈可變區(HCVR)及輕鏈可變區(LCVR)，其中該HCVR包含HCDR1、HCDR2及HCDR3，及該LCVR包含LCDR1、LCDR2及LCDR3，其中該HCDR1之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 1所載，該HCDR2之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 2所載，及該HCDR3之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 3所載，該LCDR1之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 4所載，該LCDR2之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 5所載，及該LCDR3之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 6所載。

**【0011】** 在一個實施例中，本發明提供結合人類CD200R之抗體，其包含HCVR及LCVR，其中該HCVR之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 7所載及該LCVR之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 8所載。在一些實施例中，在SEQ ID NO: 7之位置1的Xaa係麩醯胺酸。在其他實施例中，在SEQ ID NO: 7之位置1的Xaa係焦麩胺酸。

**【0012】** 在一個實施例中，本發明提供結合人類CD200R之抗體，其包含重鏈(HC)及輕鏈(LC)，其中該HC之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 9所載及該LC之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 10所載。在一些實施例中，在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係麩醯胺酸。在其他實施例中，在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係焦麩胺酸。在一些實施例中，在SEQ ID NO: 9之位置446的Xaa係甘胺酸。在一些實施例中，在SEQ ID NO: 9之位置446

的Xaa係不存在。在一個特定實施例中，在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係麩醯胺酸及在SEQ ID NO: 9之位置446的Xaa係甘胺酸。在另一個特定實施例中，在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係焦麩胺酸及在SEQ ID NO: 9之位置446的Xaa係甘胺酸。在一個特定實施例中，在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係麩醯胺酸及在SEQ ID NO: 9之位置446的Xaa係不存在。在另一個特定實施例中，在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係焦麩胺酸及在SEQ ID NO: 9之位置446的Xaa係不存在。

**【0013】** 在一個實施例中，本發明之抗體不引起顯著細胞介素釋放。在另一個實施例中，該抗體係CD200R促效劑抗體。在一個較佳實施例中，該抗體不會引起顯著細胞介素釋放並該抗體係CD200R促效劑抗體。在一些此種實施例中，該抗體係IgG4亞型，較佳地，係IgG4P。在另一個實施例中，抗體結合人類及食蟹獼猴CD200R。

**【0014】** 本發明亦提供能夠表現抗人類CD200R抗體之哺乳動物細胞，其包含：1) HCVR，其包含具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCDR3；及2) LCVR，其包含具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之LCDR3。在一些實施例中，本發明提供能夠表現抗人類CD200R抗體之哺乳動物細胞，其包含：1) 具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCVR；及2) 具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCVR。在一些實施例中，本發明提供能夠表現CD200R抗體之哺乳動物細胞，其包含：1) 具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之重鏈；及2) 具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之輕鏈。在一些實施例中，本發明提供

CD200R抗體，其由各具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之兩個重鏈、及各具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之兩個輕鏈組成。

**【0015】** 在一個實施例中，本發明之抗體不會引起顯著細胞介素釋放。在另一個實施例中，該抗體為CD200R促效劑抗體。在一個較佳實施例中，該抗體不會引起顯著細胞介素釋放且該抗體係CD200R促效劑抗體。在一些此種實施例中，該抗體係IgG4亞型，較佳地，係IgG4P。在另一個實施例中，抗體結合人類及食蟹獼猴CD200R。

**【0016】** 本發明亦提供一種用於產生抗人類CD200R抗體之方法，其包括：a) 培養能夠表現該抗體之哺乳動物細胞，其中該抗體包含：1) HCVR，其包含具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之HCDR1、具有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之HCDR2、具有SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之HCDR3；及2) LCVR，其包含具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之LCDR1、具有SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之LCDR2及具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之LCDR3；及b)回收該抗體。在一些實施例中，本發明提供一種用於產生CD200R抗體之方法，其包括：a) 培養能夠表現抗體之哺乳動物細胞，其中該抗體包含：1) 具有SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之HCVR；及2) 具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之LCVR；及b)回收該抗體。在一些實施例中，本發明提供一種用於產生抗人類CD200R抗體之方法，其包括：a) 培養能夠表現抗體之哺乳動物細胞，其中該抗體包含：1) 具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之重鏈；及2) 具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之輕鏈；及b)回收該抗體。在一些實施例中，本發明提供一種用於產生抗人類CD200R抗體之方法，其包括：a) 培養能夠表現抗體之哺乳動物細胞，其中該抗體係由具有SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之兩個重

鏈及具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之兩個輕鏈組成；及b)回收該抗體。

**【0017】** 在一個實施例中，本發明之抗體不會引起顯著細胞介素釋放。在另一個實施例中，該抗體為CD200R促效劑抗體。在一個較佳實施例中，該抗體不會引起顯著細胞介素釋放且該抗體係CD200R促效劑抗體。在一些此種實施例中，該抗體係IgG4亞型，較佳地，係IgG4P。在另一個實施例中，抗體結合人類及食蟹獼猴CD200R。

**【0018】** 本發明亦提供藉由前述方法產生的CD200R抗體。本發明亦提供一種醫藥組合物，其包含藉由前述方法產生的CD200R抗體、及可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

**【0019】** 本發明亦提供一種DNA分子，其包含具有SEQ ID NO: 12之序列之聚核苷酸。本發明亦提供一種DNA分子，其包含具有SEQ ID NO: 13之序列之聚核苷酸。本發明亦提供一種DNA分子，其包含具有SEQ ID NO: 12及SEQ ID NO: 13之序列之聚核苷酸。本發明亦提供一種DNA分子，其包含編碼如SEQ ID NO: 9所載胺基酸序列之抗體HC之聚核苷酸。在一個實施例中，編碼抗體HC之DNA分子係如SEQ ID NO: 12所載。本發明亦提供一種DNA分子，其包含編碼如SEQ ID NO: 10所載胺基酸序列之抗體LC之聚核苷酸。在一個實施例中，編碼抗體LC之DNA分子係如SEQ ID NO: 13所載。

**【0020】** 本發明亦提供一種包含DNA分子之哺乳動物細胞，該DNA分子包含具有SEQ ID NO: 12之序列之聚核苷酸。本發明亦提供一種包含DNA分子之哺乳動物細胞，該DNA分子包含具有SEQ ID NO: 13之序列之聚核苷酸。本發明亦提供一種包含DNA分子之哺乳動物細胞，該

DNA分子包含具有SEQ ID NO: 12及SEQ ID NO: 13之序列之聚核苷酸。

【0021】 本發明亦提供包含本發明之抗體之醫藥組合物。

【0022】 本發明亦提供一種治療患有疾病的患者之方法，其中該疾病係自體免疫疾病、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性病徵，該方法包括對有此需要的患者投與有效量之本發明抗體。

【0023】 本發明亦提供用於治療中之本發明抗體。

【0024】 本發明亦提供用於治療疾病之本發明抗體，其中該疾病係自體免疫疾病、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性病徵。

【0025】 本發明亦提供本發明之抗體於製造用於治療疾病的藥物之用途，其中該疾病係自體免疫疾病、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性病徵。

【0026】 在一個實施例中，該疾病係自體免疫疾病。在另一個實施例中，該疾病係過敏性疾病。在另一個實施例中，該疾病係哮喘。在一些實施例中，該疾病係慢性特發性蕁麻疹(本文亦稱為慢性自發性蕁麻疹(CSU))、乳糜瀉(包括(但不限於)II型頑固性乳糜瀉)、過敏、慢性過敏性疾病、食物過敏、嗜酸性食管炎、巨噬細胞活化症候群(MAS)、哮喘、硬皮病、天皰瘡、大腸激躁症(IBD)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、多發性硬化症(MS)、類風濕性關節炎(RA)、移植物抗宿主病(GvHD)、牛皮癬、肥大細胞增多症、發炎性皮膚疾病或異位性皮膚炎。在其他實施例中，該疾病係過敏性接觸性皮膚炎、季節性過敏、過敏性反應治療及預防、大皰性類天皰瘡及其他自體免疫起泡性疾病、自體免疫肝炎、原發性硬化性膽管炎、原發性膽汁性肝硬化、特發性肺纖維化、重症肌無力、血管炎及肌炎。在一個特定實施例中，慢性過敏性疾病係花粉症或過敏性鼻炎。在一

個較佳實施例中，該疾病係異位性皮膚炎。

【0027】 本發明提供結合人類CD200R之抗體，其中該抗體係CD200R促效劑抗體且其中該抗體不會引起顯著細胞介素釋放。在一個實施例中，該抗體證實類似於CD200R促效作用之CD200R促效作用及缺乏顯著細胞介素釋放，及如藉由抗體I-4P所證實缺乏顯著細胞介素釋放。在一個實施例中，與野生型(Fc部分中無突變) IgG1抗體(其確實引起顯著細胞介素釋放，特別係IFN- $\gamma$ 之釋放)相比，CD200R促效劑抗體不會引起顯著細胞介素釋放。在一個特定實施例中，本發明提供CD200R促效劑抗體，其中與具有CD200R促效劑抗體相同的CDRs之野生型IgG1抗體相比，該抗體不會引起顯著細胞介素釋放。在一個實施例中，細胞介素釋放係藉由以下加以偵測：比較存在於與抗體一起培養的血液樣品中之細胞介素的量及存在於不與抗體一起培養的血液樣品中之細胞介素的量並確定在存在於與抗體一起培養的血液樣品中之細胞介素的量比存在於沒有抗體之血液樣品中之細胞介素的量高至少三倍情況下顯著細胞介素釋放之存在。

【0028】 在一個實施例中，該抗體包含HCVR及LCVR，其中該HCVR包含HCDR1、HCDR2及HCDR3，及該LCVR包含LCDR1、LCDR2及LCDR3，其中該HCDR1之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 1所載，該HCDR2之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 2所載，及該HCDR3之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 3所載，該LCDR1之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 4所載，該LCDR2之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 5所載，及該LCDR3之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 6所載。在一個實施例中，該抗體包含HCVR及LCVR，其中該HCVR之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 7所載及該LCVR之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 8所載。

【0029】本發明提供結合Fc $\gamma$  RI、Fc $\gamma$  RIIA<sub>131H</sub>、Fc $\gamma$  RIIA<sub>131R</sub>、Fc $\gamma$  RIIb及Fc $\gamma$  RIIIA<sub>158V</sub>中之至少一者、至少兩者、至少三者、至少四者或全部之本發明抗體。

【0030】在一個實施例中，抗體以約70 pM至約500 pM之結合親和力結合Fc $\gamma$  RI。在另一個實施例中，該抗體以約2  $\mu$ M至約5  $\mu$ M之結合親和力結合Fc $\gamma$  RIIA<sub>131H</sub>。在另一個實施例中，該抗體以約1  $\mu$ M至約5  $\mu$ M之結合親和力結合Fc $\gamma$  RIIA<sub>131R</sub>。在另一個實施例中，該抗體以約1  $\mu$ M至約4  $\mu$ M之結合親和力結合Fc $\gamma$  RIIb。在另一個實施例中，該抗體以約1  $\mu$ M至約6  $\mu$ M之結合親和力結合Fc $\gamma$  RIIIA<sub>158V</sub>。在另一個實施例中，該抗體以大於9  $\mu$ M之結合親和力進一步結合Fc $\gamma$  RIIIA<sub>158F</sub>。

【0031】在一個實施例中，抗體與受體之結合親和力為約70 pM至約500 pM至Fc $\gamma$  RI、約2  $\mu$ M至約5  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIA<sub>131H</sub>、約1  $\mu$ M至約5  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIA<sub>131R</sub>、約1  $\mu$ M至約4  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIb、約1  $\mu$ M至約6  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIIA<sub>158V</sub>、及大於9  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIIA<sub>158F</sub>。在一個更特定的實施例中，抗體與受體之結合親和力為約400 pM至Fc $\gamma$  RI、約4  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIA<sub>131H</sub>、約2  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIA<sub>131R</sub>、約2  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIb、約4  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIIA<sub>158V</sub>、及大於10  $\mu$ M至Fc $\gamma$  RIIIA<sub>158F</sub>。在另一個實施例中，抗體不會結合C1q。在一些實施例中，結合親和力係在25°C下藉由表面電漿共振確定。在其他實施例中，與C1q之結合係藉由ELISA確定。

### 【實施方式】

【0032】本申請案主張2018年9月14日申請之美國臨時申請案序號

62/731,204之優先權，該案之全部內容係以引用的方式併入本文中。

【0033】如本文所用，「CD200R」係指CD200受體。如本文所用，「hCD200R」或「人類CD200R」係指野生型人類CD200R，且較佳地，係指具有SEQ ID NO: 15中描述之胺基酸序列之野生型人類CD200R。

【0034】術語「食蟹獼猴(cyno/cynomolgus/cynomolgus monkey)」在本文中可互換使用。當用於提及CD200R多肽時，除非另有說明，否則該術語意欲係指野生型食蟹獼猴CD200R，且較佳地，具有SEQ ID NO: 16中描述之胺基酸序列之野生型食蟹獼猴CD200R。術語「CD200RLa」或「活化形式」係指具有SEQ ID NO: 17中描述之胺基酸序列之食蟹獼猴CD200R。CD200RLa係人類CD200R但具有相反(活化)活性之緊密同源物。因此，與結合至CD200R之抗體相比，較佳之CD200R促效劑抗體以顯著降低之親和力結合CD200RLa。

【0035】如本文所用，「人類CD200R促效劑抗體」或「抗人類CD200R促效劑抗體」係指結合至人類CD200R之抗體，且當體外或體內投與時，導致獲得的免疫抑制反應，諸如至少一種顯著降低之所需活性，諸如所需的IL-8產生減少。如本文所用，術語「產生」及「分泌」在其涉及細胞介素時可互換使用。

【0036】如本文所用，術語「抗體」係指工程化、非天然生成之多肽複合物，其具有兩個重鏈(HC)及兩個輕鏈(LC)，使得該等重鏈及輕鏈經二硫鍵互連，其中該抗體係IgG同型抗體。每個重鏈包含N端HCVR及重鏈恆定區。每個輕鏈包含N端LCVR及輕鏈恆定區。當在某些生物系統中表現時，抗體在Fc區中經糖基化。通常，糖基化發生在抗體之Fc區中之高度保留之N-糖基化位點。N-聚糖通常附著至天冬醯胺酸。抗體亦可

在其他位置經糖基化。

【0037】 本發明之抗體可係IgG1或IgG4抗體。較佳地，本發明之抗體係IgG4抗體。IgG4抗體可在HC內具有S228P突變(亦即，IgG4P)，已知該突變可消除對於人類IgG4亞類常見的半抗體形成。

【0038】 重鏈之恆定區包含CH1、CH2及CH3域。CH1在HCVR之後；CH1及HCVR形成抗原結合(Fab)片段之重鏈部分，該片段係結合抗原之抗體之一部分。CH2在鉸鏈區之後並在CH3之前。CH3在CH2之後並位於重鏈之羧基末端。輕鏈之恆定區包含一個域CL。CL在LCVR之後；CL及LCVR形成Fab之輕鏈部分。

【0039】 本發明之抗體之HCVR及LCVR區可進一步細分為具有高可變性之區域，稱為互補決定區(「CDRs」)，其間散佈有更保守之區域，稱為框架區(「FR」)。每個HCVR及LCVR包含三個CDRs及四個FR，從胺基端至羧基端按以下順序配置：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。本文中，重鏈之三個CDRs稱為「HCDR1、HCDR2及HCDR3」及輕鏈之三個CDRs稱為「LCDR1、LCDR2及LCDR3」。CDRs包含與抗原形成特異性相互作用之大多數殘基。Kabat CDR定義(Kabat等人，Ann. NY Acad. Sci. 190: 382-93 (1971)；Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第五版，U.S. Department of Health and Human Services，NIH公開案第91-3242號(1991))係基於抗體序列可變性。Chothia CDR定義(Chothia等人，「Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins」，Journal of Molecular Biology，196，901-917 (1987)；Al-Lazikani等人，「Standard conformations for the canonical

structures of immunoglobulins」, Journal of Molecular Biology, 273, 927-948 (1997))係基於抗體之三維結構及CDR環之拓撲。除了HCDR1及HCDR2以外, Chothia CDR定義與Kabat CDR相同。North CDR定義(North等人, 「A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations」, Journal of Molecular Biology, 406, 228-256 (2011))係基於具有大量結晶結構之親和力傳播聚集。為本發明之目的, 將胺基酸分配至本發明抗體之LCVR及HCVR區內的CDR域係基於熟知的Kabat編號約定及North編號約定。在本發明之抗體之輕鏈CDRs之情況下, 使用North CDR定義。在重鏈中, HCDR1及HCDR3亦均使用North定義。HCDR2使用North及Kabat定義之混合。North定義用於識別起始N端位點, 而Kabat用於定義最後的位置。

**【0040】** 本發明預期本發明之抗體係人類或人類化抗體。在單株抗體之情況下, 術語「人類」及「人類化」係熟習此項技術者熟知的(Weiner LJ, J. Immunother. 2006; 29: 1-9; Mallbris L等人, J. Clin. Aesthet. Dermatol. 2016; 9: 13-15)。

**【0041】** 本發明之DNA分子係包含編碼具有本發明抗體中至少一個多肽(例如重鏈、輕鏈、可變重鏈及可變輕鏈)之胺基酸序列之多肽的非天然生成聚核苷酸序列之DNA分子。

**【0042】** 一個編碼HCVR區之分離的DNA可藉由將編碼HCVR之DNA可操作地連接至另一個編碼重鏈恆定區之DNA分子轉化為全長重鏈基因。人類以及其他哺乳動物重鏈恆定區基因之序列在此項技術中已知。涵蓋此等區域之DNA片段可例如藉由標準PCR擴增獲得。

**【0043】** 一個編碼LCVR區之分離的DNA可藉由將編碼LCVR之

DNA可操作地連接至另一個編碼輕鏈恆定區之DNA分子轉化為全長輕鏈基因。人類以及其他哺乳動物輕鏈恆定區基因之序列在此項技術中已知。涵蓋此等區域之DNA片段可藉由標準PCR擴增獲得。輕鏈恆定區可係 $\kappa$ 或 $\lambda$ 恆定區。較佳地，對於本發明之抗體，輕鏈恆定區係 $\kappa$ 恆定區。

**【0044】** 本發明之聚核苷酸可在該等序列已可操作地連接至表現控制序列後在宿主細胞中表現。表現載體通常可作為離合染色小體(episome)或作為宿主染色體DNA之一個整合部分在宿主生物中複製。通常，表現載體將包含選擇標記(例如四環素、新黴素及二氫葉酸還原酶)，以允許偵測經所需DNA序列轉形之細胞。

**【0045】** 本發明之抗體可輕易地在哺乳動物細胞中產生，哺乳動物細胞之非限制性實例包括CHO、NS0、HEK293或COS細胞。宿主細胞係使用此項技術中熟知的技術培養。

**【0046】** 含有所關注聚核苷酸序列(例如編碼抗體之多肽之聚核苷酸及表現控制序列)之載體可藉由熟知方法轉移至宿主細胞中，該等方法根據細胞宿主之類型而變化。

**【0047】** 可採用多種蛋白質純化方法來純化蛋白質，包括(但不限於)抗體，且此等方法係此項技術中已知的。

**【0048】** 本發明之抗體或包含其之醫藥組合物可藉由非經腸途徑投與，非經腸途徑之非限制性實例係皮下投藥及靜脈內投藥。本發明之抗體可以單劑量或多劑量與醫藥上可接受之載體、稀釋劑或賦形劑一起投與患者。本發明之醫藥組合物可藉由此項技術中熟知的方法來製備(例如，Remington: The Science and Practice of Pharmacy，第22版(2012)，A. Loyd等人，Pharmaceutical Press)並包含如本文所揭示的抗體及一或多種

醫藥上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

**【0049】** 如本文所用，術語「自體免疫疾病」或「自體免疫病症」可互換使用且係指由於針對自體細胞及/或組織或移植的細胞及/或組織之不適當或不想要的免疫反應而引起的非所欲病情。術語「自體免疫疾病」或「自體免疫病症」意欲包括此種病情，無論其等係由體液免疫反應或細胞免疫反應介導。「過敏」(或「過敏性疾病」)係輔助性T細胞2(TH2)驅動之疾病，其主要從TH2細胞之活性發展出的。預期藉由本文所述的本發明抗體治療的示例性疾病包括慢性特發性蕁麻疹、乳糜瀉(包括(但不限於)II型難治性乳糜瀉)、過敏、慢性過敏性疾病(諸如花粉症或過敏性鼻炎)、食物過敏、嗜酸性食管炎、MAS、哮喘、硬皮病、亦及天疱瘡、IBD、SLE、MS、RA、GvHD、牛皮癬、肥大細胞增多症、發炎性皮膚疾病及異位性皮膚炎。在其他實施例中，預期藉由本文所述的本發明抗體治療的疾病包括過敏性接觸性皮膚炎、季節性過敏、過敏性反應治療及預防、大疱性類天疱瘡及其他自體免疫起泡性疾病、自體免疫肝炎、原發性硬化性膽管炎、原發性膽汁性肝硬化、特發性肺纖維化、重症肌無力、血管炎及肌炎。

**【0050】** 術語「慢性特發性蕁麻疹」及「慢性自發性蕁麻疹(CSU)」在本文中可互換使用。

**【0051】** 如本文所用，術語「先天性免疫」包括免疫反應組，其與免疫反應之後天免疫組相反，免疫反應組係引發並維持後天免疫反應(抗體及T細胞反應)所必需。

**【0052】** 術語「治療(treating/treat/treatment)」係指減慢、中斷、阻止、減輕、停止、降低或逆轉現有症狀、病症、病情或疾病之進展或嚴

重度。

【0053】 「有效量」意指本發明之抗人類CD200R促效劑抗體或包含此種抗體之醫藥組合物在組織、系統、動物、哺乳動物或人類上引起研究人員、醫生或其他臨床人士所尋求的生物學或醫學反應或所需治療效應時的用量。抗體之有效量可根據諸如：個體的疾病狀態、年齡、性別及體重、及抗體引起個體中所需反應之能力等因素而變化。有效量亦係其中治療有益效應超過抗體之任何毒性或有害效應時的量。此種效益包括以下任何一者或多者：移植器官之免疫耐受性增強；穩定化的自體免疫疾病或病症；或改善自體免疫病症之體徵或症狀，等等。有效量很容易由熟習此項技術者採用已知技術，並藉由觀察在類似情況下獲得的結果即可確定。有效量之本發明之抗人類CD200R促效劑抗體可呈單劑量或多劑量投與。此外，本發明抗體可依多劑量之量投與，此用量將低於若投藥不超過一次時的有效量。在確定患者之有效量時，參與的醫事人員考慮許多因素，包括(但不限於)：患者的體型(例如，重量或質量)、體表面積、年齡及一般健康；所涉及的特定疾病或病症；疾病或病症之程度、涉及程度或嚴重度；個體患者之反應；所投與的特定化合物；投藥模式；所投與製劑之生物可利用性特徵；所選擇的劑量方案；伴隨藥物之使用；及醫事人員已知的其他相關情況。每週、每兩週、每月或每季度非經腸(包括(但不限於)皮下、肌肉內及/或靜脈內)劑量可為(例如)約50 mg至約500 mg、約75 mg至約500 mg、約100 mg至約500 mg、約125 mg至約500 mg、約250 mg至約500 mg、約300 mg至約500 mg、約350 mg至約500 mg、約400 mg至約500 mg、約450 mg至約500 mg、約50 mg至約400 mg、約75 mg至約400 mg、約100 mg至約400 mg、約125 mg至約400 mg、約250 mg至約

400 mg、約300 mg至約400 mg、約350 mg至約400 mg、約50 mg至約300 mg、約75 mg至約300 mg、約100 mg至約300 mg、約125 mg至約300 mg、約150 mg至約300 mg、約175 mg至約300 mg、約200 mg至約300 mg、約250 mg至約300 mg、約50 mg至約250 mg、約75 mg至約250 mg、約100 mg至約250 mg、約125 mg至約250 mg、約150 mg至約250 mg、約175 mg至約250 mg、約200 mg至約250 mg、約75 mg至約250 mg、約50 mg至約200 mg、約75 mg至約200 mg、約100 mg至約200 mg、約125 mg至約200 mg、約150 mg至約200 mg、約175 mg至約200 mg、約50 mg至約175 mg、約75 mg至約175 mg、約100 mg至約175 mg、約125 mg至約175 mg、或約150 mg至約175 mg。每週、每兩週、每月或每季度非經腸(包括(但不限於)皮下、肌肉內及/或靜脈內)劑量可為約0.5 mg/kg至約10 mg/kg、約1 mg/kg至約10 mg/kg、約2 mg/kg至約10 mg/kg、約3 mg/kg至約10 mg/kg、約4 mg/kg至約10 mg/kg、約5 mg/kg至約10 mg/kg、約6 mg/kg至約10 mg/kg、約7 mg/kg至約10 mg/kg、約8 mg/kg至約10 mg/kg、約1 mg/kg至約8 mg/kg、約2 mg/kg至約8 mg/kg、約3 mg/kg至約8 mg/kg、約4 mg/kg至約8 mg/kg、約5 mg/kg至約8 mg/kg、約6 mg/kg至約8 mg/kg、約1 mg/kg至約6 mg/kg、約2 mg/kg至約6 mg/kg、約3 mg/kg至約6 mg/kg、約4 mg/kg至約6 mg/kg、約5 mg/kg至約6 mg/kg、約1 mg/kg至約5 mg/kg、約2 mg/kg至約5 mg/kg、約3 mg/kg至約5 mg/kg、約4 mg/kg至約5 mg/kg、約1 mg/kg至約4 mg/kg、約2 mg/kg至約4 mg/kg、約3 mg/kg至約4 mg/kg、約3.5 mg/kg至約5 mg/kg、或約4 mg/kg至約5 mg/kg。

【0054】 然而，亦設想低於或高於本文所述劑量之劑量，特別是考

慮到熟習此項技術者已知及/或本文所述之劑量考慮。所治療患者之進展可藉由定期評估來監測，並在必要時相應地調整劑量。

**【0055】** 如本文所用，術語患者之「有效反應」或患者對治療之反應性係指投與本發明抗體後賦予患者之臨床或治療益處。此種益處包括以下任何一者或多者：移植器官之免疫耐受增強；經穩定的自體免疫疾病或病症；或改善自體免疫病症等之體徵或症狀。

**【0056】** 如本文所用，「顯著細胞介素釋放」係指可測量之細胞介素(其可藉由此項技術中之一般技術者已知的方法偵測到)之顯著增加。例如，顯著細胞介素釋放可藉由ELISA在人類血液樣品中偵測到，其中將來自未經刺激之血液之細胞介素濃度與經抗體培養之血液之細胞介素濃度進行比較。在一些此類研究中，例如，若經抗體培養之血液中IFN- $\gamma$ 之濃度比未經刺激之血液中之濃度高至少三倍，則可偵測到顯著細胞介素釋放。

**【0057】** 本文所揭示方法之潛在優點係可在罹患自體免疫病症、過敏性疾病、哮喘或其他發炎性病之患者中產生顯著及/或長期緩解，具有可接受之安全性，包括可接受之耐受性、毒性及/或不良事件，使得患者從整體治療方法受益。本發明之治療之效力可藉由通常用於評估各種自體免疫病症之治療之各種終點來衡量，該等終點包括(但不限於)美國風濕病學會(ACR) 20、ACR50、ACR70、牛皮癬面積及嚴重度指數(PASI) 50、PASI75、PASI90、PASI100、全身性紅斑狼瘡疾病活性指數(SLEDAI)。可視需要採用確定本發明之任何特定療法之效力之各種其他方法，包括(例如)免疫細胞活化標記、發炎之測量、細胞週期依賴性生物標記測量可視化、及/或藉由疼痛評估測量反應。

### 實例：抗體表現及純化

【0058】可基本上如下表現並純化本發明之抗人類CD200R促效劑抗體。適宜之宿主細胞(諸如HEK 293或CHO)可經表現系統瞬時或穩定轉染，以使用最佳預定HC:LC載體比(諸如1:3或1:2)或編碼HC及LC二者之單個載體系統來分泌抗體。已分泌抗體之澄清培養基可使用許多常用技術中之任何技術來純化。例如，可將培養基方便地施用於已經相容緩衝液(諸如磷酸鹽緩衝鹽水(pH 7.4))平衡之MabSelect®管柱(GE Healthcare)或用於Fab片段之KappaSelect管柱(GE Healthcare)。管柱可經洗滌以移除非特異性結合組分。

【0059】結合的抗體可(例如)藉由pH梯度(諸如20 mM Tris緩衝液，pH 7.0至10 mM檸檬酸鈉緩衝液pH 3.0、或磷酸鹽緩衝鹽水pH 7.4至100 mM甘胺酸緩衝液pH 3.0)洗脫。抗體部份可諸如藉由SDS-PAGE偵測，並隨後可合併在一起。根據所欲用途，進一步純化係可選的。可使用常用技術濃縮及/或無菌過濾抗體。可溶性聚集物及多聚物可藉由常用技術有效移除，包括尺寸排阻、疏水相互作用、離子交換、多峰或矽磷灰石層析。在此等層析步驟之後，抗體之純度在約95%至約99%之間。

【0060】值得注意的是，抗體I-4P之C端甘胺酸或抗體I-IgG1之C端離胺酸可在轉譯後經截短。另外，抗體I-4P或抗體I-IgG1之N端麩醯胺酸可轉化為焦麩胺酸。

【0061】可將產品保持冷藏，在-70℃下立即冷凍，或可凍乾。下表1中顯示本發明之所列舉人類化抗體之胺基酸SEQ ID NO。

表1.所列舉抗人類CD200R促效劑抗體之胺基酸序列。

抗體SEQ ID NO						
抗體	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
抗體I	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6

抗體	HCVR	LCVR
抗體I	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:8

抗體	HC	LC
抗體I-4P	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:10

**實例：抗體I-4P結合人類及食蟹獼猴CD200R**

【0062】 在37°C下進行表面電漿共振(SPR)以確定抗體I-4P與人類CD200R、食蟹獼猴CD200R及食蟹獼猴CD200RLa(本文中亦稱為食蟹獼猴「活化形式」)之結合動力學及親和力。

【0063】 使用Biacore® T100儀器(GE Healthcare, Piscataway, NJ)、Biacore試劑及Scrubber2 Biacore®評估軟體(Biologics 2008)進行抗體I-4P結合之SPR分析。使用製造商EDC/NHS胺偶聯方法(Biacore P/N BR-1000-50)製備CM4晶片(Biacore P/N BR-1006-68)。簡而言之，藉由以10  $\mu$ L/分鐘注射EDC/NHS之1:1混合物7分鐘來活化所有4個流通容器(FC)之表面。將蛋白A (Calbiochem P/N 539202)在10 mM乙酸鹽緩衝液

pH 4.5中稀釋至100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 並藉由以10  $\mu\text{L}/\text{分鐘}$ 之流速注射7分鐘以約400 RU固定至所有4個流通容器上。藉由以10  $\mu\text{L}/\text{分鐘}$ 注射乙醇胺7分鐘來阻斷未反應之位點。採用2 x 10  $\mu\text{L}$ 甘胺酸pH 1.5之注射以移除任何非共價結合之蛋白質。運轉緩衝液為1x HBS EP+ (Biacore P/N BR-1006-69)。

**【0064】** 使用IMAC及尺寸排阻層析法純化人類、食蟹獼猴(cyno)及食蟹獼猴活化CD200受體。小鼠CD200R係藉由因子Xa從自行製備的小鼠CD200R Fc融合蛋白裂解所產生。小鼠CD200R受體之最終精煉步驟係尺寸排阻層析法。

**【0065】** 對於人類及食蟹獼猴CD200R之結合，將抗體在運轉緩衝液中稀釋至2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，並在流通容器2至4中捕捉150 RU之抗體I-4P(捕捉的RU)。FC1係參考流通容器；因此，FC1中沒有捕捉抗體。將人類及食蟹獼猴CD200R在運轉緩衝液中稀釋至500 nM且隨後在運轉緩衝液中連續稀釋兩倍至3.9 nM。將各濃度之二份注射液以50  $\mu\text{L}/\text{分鐘}$ 注射於所有FC上250秒，隨後進行1200秒解離階段。以30  $\mu\text{L}/\text{分鐘}$ ，在所有FC上注射15  $\mu\text{L}$  10 mM甘胺酸pH 1.5兩次，進行再生。減去參考組數據，收集得到FC2-FC1、FC3-FC1及FC4-FC1。在37°C下獲得測量值。在BIA評估中，親和力( $K_D$ )係使用「1:1 (朗謬(Langmuir))結合」模型計算。

**【0066】** 對於食蟹獼猴活化CD200R之結合，將抗體在運轉緩衝液中稀釋至2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，並在流通容器2至4中捕捉150 RU之抗體I-4P(捕捉的RU)。FC1係參考流通容器。將食蟹獼猴活化CD200R在運轉緩衝液中稀釋至8.1  $\mu\text{M}$ 且隨後在運轉緩衝液中連續稀釋2倍至63.2 nM。將各濃度之二份注射液以50  $\mu\text{L}/\text{分鐘}$ 注射於所有FC上250秒，隨後進行1200秒解離階段。以30  $\mu\text{L}/\text{min}$ ，在所有FC上注射15  $\mu\text{L}$  10 mM甘胺酸pH 1.5兩次，

進行再生。減去參考組數據，收集得到FC2 FC1、FC3 FC1及FC4-FC1。在37°C下獲得測量值。親和力( $K_D$ )係藉由Scrubber 2 Biacore®評估軟體使用穩態平衡分析計算。

【0067】對於小鼠CD200R之結合，將抗體在運轉緩衝液中稀釋至2.5  $\mu\text{g/mL}$ ，並在流通容器2至4中捕捉150 RU之抗體I-4P(捕捉的RU)。FC1係參考流通容器。將小鼠CD200R在運轉緩衝液中稀釋至10  $\mu\text{M}$ 且隨後在運轉緩衝液中連續稀釋2倍至78 nM。將各濃度之二份注射液以50  $\mu\text{L/分鐘}$ 注射於所有FC上250秒，隨後進行1200秒解離階段。以30  $\mu\text{L/min}$ ，在所有FC上注射15  $\mu\text{L}$  10 mM甘胺酸pH 1.5兩次，進行再生。減去參考組數據，收集得到FC2 FC1、FC3 FC1及FC4-FC1。在37°C下獲得測量值。親和力( $K_D$ )係藉由Scrubber 2 Biacore®評估軟體使用穩態平衡分析計算。

【0068】遵循基本上如上所述的程序，獲得以下數據。如表2中所示，抗體I-4P以在nM範圍內的親和力結合人類CD200R及食蟹獼猴CD200R，且抗體I-4P以在 $\mu\text{M}$ 範圍內的親和力結合CD200RLa活化受體。抗體I-4P以 $> 10 \mu\text{M}$ 的親和力結合小鼠CD200R。

表2. 使用表面電漿共振(SPR)在37°C下測量抗體I-4P與人類、食蟹獼猴、食蟹獼猴活化及小鼠CD200受體之親和力。

	受體	平均 $K_D$	標準偏差
抗體I-4P	人類	5.6 nM	1.2
	食蟹獼猴	2.3 nM	0.1
	食蟹獼猴活化	2.5 $\mu\text{M}$	0.4
	*小鼠CD200R	$> 10 \mu\text{M}$	

n=進行檢定三次；\*n=檢定1次

**【0069】** 此等數據證實，與抗體I-4P與人類CD200R及食蟹獼猴CD200R之親和力相比，抗體I-4P以降低的親和力結合CD200RLa活化受體及小鼠CD200R。

**【0070】** 儘管進行大量工程化以克服與人類與食蟹獼猴CD200R之間缺乏交叉反應性、在應力條件下之異構化(主要藉由LCDR1中之天冬胺酸殘基(LC D28)驅動)、及介於HC CDR1與CDR2之間的非天然二硫鍵相關聯之重大問題，但抗體I-4P證實有利的結合特性。例如，使用哺乳動物細胞表現之重鏈及輕鏈CDR殘基飽和誘變程序用於確定封閉介於人類CD200R與食蟹獼猴CD200R之間的親和力間隙之CDR變化。該程序亦用於尋找LC D28之殘基替代而不損及親和力。使用基於噬菌體之製程篩選第二CDR庫，此導致發現非天然二硫鍵之非預測並非種系之替代殘基，而沒有損及抗原結合親和力。

#### **實例：抗體I-4P與表現於細胞中之CD200R之體外結合**

**【0071】** CD200R係「配對受體家族」之成員，其意指存在具有相反活化活性之緊密同源物。此種形式尚未在人類中鑑定出來，但已在食蟹獼猴(本文中稱為食蟹獼猴「活化形式」或「食蟹獼猴CD200RLa」)之全血及睪丸中描述低濃度mRNA轉錄本。因此，食蟹獼猴活化形式可能會在食蟹獼猴之毒理學研究中出現安全性問題。

**【0072】** 為確定抗體I-4P是否結合至食蟹獼猴、人類及活化形式食蟹獼猴CD200RLa之細胞表現之膜結合CD200R，使用流式細胞儀。用人類CD200R (SEQ ID NO: 15)、食蟹獼猴CD200R (SEQ ID NO: 16)或食蟹獼猴活化形式(SEQ ID NO: 17)轉染CHO細胞並選擇用於高表現。對於

每種細胞系，將細胞( $2^5$ )以 $1^6/50$   $\mu\text{L}$ 懸浮於PBS中，並添加FL4染料(MultiCyt® Proliferation and Encoder FL4染料)。對於表現人類及食蟹獼猴CD200R之細胞，將FL4染料1:5000稀釋，對於表現食蟹獼猴活化形式之細胞，將其1:700稀釋，及對於未轉染之細胞，將其1:50稀釋。將染料與細胞混合並在黑暗中在 $4^\circ\text{C}$ 下培養混合物30分鐘。用10 mL PBS洗滌細胞兩次並以1200 RPM離心5分鐘。隨後將該等細胞在FACS緩衝液中以 $8^5$ 個細胞/ $50$   $\mu\text{L}$ /孔混合。

**【0073】** 在室溫下用在FACS緩衝液中製備的抗體滴定培養該等細胞30分鐘。用FACS緩衝液洗滌細胞一次並在黑暗中在 $4^\circ\text{C}$ 下每孔添加1:1000稀釋之100  $\mu\text{L}$  PE共軛抗人類Fc抗體15分鐘。洗滌細胞三次且隨後再懸浮於150  $\mu\text{L}$  FACS緩衝液中。添加Sytox藍(2  $\mu\text{L}$ /孔)，將細胞轉移至FACS板，並在Fortessa LSRII細胞計數儀器(BD Biosciences)上操作。使用FlowJo (FlowJo, LLC)軟體分析數據。

**【0074】** 遵循基本上如上所述的程序，獲得以下數據。抗體I-4P結合至食蟹獼猴CD200R及人類CD200R。抗體I-4P結合至食蟹獼猴活化形式，類似於與未轉染之對照細胞之結合。此等數據證實沒有抗體I-4P結合至食蟹獼猴活化形式；因此，在食蟹獼猴之毒理學研究中，安全性問題可能會減少。

### 實例：抗體I-4P為CD200R促效劑

**【0075】** 為證實抗體I-4P之促效劑活性，用人類CD200R之cDNA轉染人類單核細胞系U937 (ATCC, CRL1539.2)。可藉由結合並活化Fc $\gamma$ 受體之免疫複合物(IC)誘導此等細胞產生細胞介素(包括IL-8)。對於IC刺激，將人類IgG1同型對照抗體塗佈至高結合板過夜。第二天，以不同濃

度之I-4P抗體在冰上培養 $4 \times 10^5$ 個CD200R表現U937細胞/孔1小時，隨後添加至預塗佈之板以進行IC刺激，並在37°C下培養24小時。24小時後，離心該等細胞，移除上清液，並使用MSD套組(Mesoscale Diagnostics)測量IL-8濃度。

【0076】 遵循基本上如上所述的程序，獲得以下數據。如表3中所示，與在對應濃度下之同型對照相比，用抗體I-4P減少的IC誘導IL-8之抑制百分比。相對 $IC_{50}$ 係基於抑制百分比對濃度之斜率之四參數對數擬合。3個獨立實驗之平均 $IC_{50}$ 確定為 $0.2 \mu\text{g/mL} \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$ 。

表3. 表現人類CD200R之細胞中免疫複合物誘導之IL-8分泌之濃度依賴性抑制。

抗體I-4P ( $\mu\text{g/ml}$ )	平均IL-8抑制%	SEM
0.01	-2.0	3.1
0.03	2.3	2.9
0.1	14.0	6.0
0.3	24.0	4.2
1	47.1	2.8
3	55.7	2.9
10	67.8	3.3
30	76.2	4.0

【0077】 此等數據證實抗體I-4P能夠以濃度依賴性方式抑制IC誘導之IL-8產生。

【0078】 亦檢查具有不同同型主鏈之CD200R促效劑抗體促效

CD200R並抑制免疫複合物刺激IL-8從人類CD200R表現U937細胞釋放之能力。對於刺激，將人類IgG1同型對照抗體以10 µg/ml塗佈至高結合板過夜。第二天，將4 x 10<sup>5</sup>個CD200R表現U937細胞/孔與不同濃度之抗體IgG4PAA(已知兩個白胺酸至丙胺酸之取代(SLL228PAA)可破壞與FcγR之疏水相互作用以消除殘留的效應子功能)或抗體I-4P在冰上培養1小時，隨後添加至預塗佈之板以進行IC刺激，隨後在37°C下培養24小時。離心該等細胞，移除上清液，並根據製造商的說明使用MSD套組(Mesoscale Diagnostics)測量IL-8濃度。IL-8濃度轉化為相對於同型對照之抑制百分比。將IL-8濃度對抗體濃度作圖，並使用R統計軟體使用4參數對數模型以擬合抑制百分比對對數濃度。根據基本上如上所述的程序，獲得以下數據(顯示於表4中)。

**表4.IL-8產生之濃度依賴性降低**

抗體µg/ml	IgG4PAA		IgG4SP	
	平均IL-8抑制%	SEM*	平均IL-8抑制%	SEM*
0.01	-3.2	6.0	15.4	3.7
0.03	-5.0	5.6	35.8	3.6
0.1	-10.4	10.1	44.0	3.0
0.3	15.0	5.3	80.0	2.8
1	16.9	3.9	73.8	1.8
3	35.5	4.1	82.0	2.6
10	45.4	1.7	87.1	1.4
30	53.5	3.2	86.4	1.5

\*平均值之標準誤差

【0079】 此等數據證實，與抗體I-4P ( $IC_{50} = 0.07 \mu\text{g/ml}$ )相比，IgG4PAA具有更弱之抑制活性( $IC_{50} = 1.45 \mu\text{g/ml}$ )。

#### 實例：Fc $\gamma$ 受體結合係為體內促效作用所需的

【0080】 透過脂質筏(lipid raft)中之Fc $\gamma$ 受體聚集可增加對發炎性細胞之抑制效價。為鑑定Fc $\gamma$ 受體相互作用是否有益於透過CD200R之促效作用，將兩個小鼠CD200R抗體工程化；一者消除任何Fc $\gamma$ 受體結合(mIgG2aAA)及一者具有功能性Fc $\gamma$ 受體結合(mIgG2a)。兩種分子均在小鼠誘發性發炎疾病之兩個獨立模型；接觸性皮膚炎及CD40誘導之結腸發炎模型中進行測試。

【0081】 **接觸性皮膚炎模型**：抗人類CD200R促效劑抗體治療接觸性皮膚炎之能力可藉由基本上如下所述進行的體內小鼠模型來確定(參見(例如) Tolstrup等人，Anti-inflammatory effect of a retrovirus-derived immunosuppressive peptide in mouse models, BMC Immunology 2013, 14:51)。麻醉12週大的雄性C57Bl/6J小鼠，將其腹部剃毛，並將100  $\mu\text{L}$ 的含在乙醇中之3%噁唑酮(oxazolone)施覆至剃毛區域。致敏後7天，以0.1、1或10 mg/kg皮下(SC)投與CD200R促效劑抗體IgG2a或IgG2aAA，或以10 mg/kg SC投與同型對照mIgG2a，以進行比較。投與抗體四小時後，麻醉小鼠，用游標卡尺測量基線耳朵厚度，並在兩隻耳朵每一側用10  $\mu\text{L}$ 的含在乙醇中之2%噁唑酮攻擊耳朵。攻擊後二十四小時，再次測量耳朵厚度。藉由測量攻擊前及攻擊後24小時耳朵耳厚差來評估過敏反應。與同型對照之統計差異係使用單因子ANOVA及杜納事後檢驗(Dunnett's post post test)(GraphPad Prism)確定的。

【0082】 **CD40誘導之結腸發炎模型**：抗人類CD200R促效劑抗體治

療CD40誘導之結腸發炎模型之能力可藉由基本上如下所述進行的體內小鼠模型來確定。對14週大的雌性RAG2N12 (B6.129S6-Rag2tm1Fwa N12; Taconic)小鼠注射100 µg/小鼠抗CD40抗體(BioXcel純系 FGK4.5)以引起結腸發炎。引起疾病後一小時，以0.1、1或10 mg/kg皮下投與CD200R促效劑抗體IgG2a、IgG2aAA或同型對照抗體。6天後處死動物並藉由測量結腸之長度及重量確定結腸發炎。結腸長度與重量比用於確定結腸發炎。與同型對照之統計差異係使用單因子ANOVA及杜納事後檢驗(GraphPad Prism)確定的。

【0083】 遵循基本上如上所述的程序，獲得以下數據。

表5.如在接觸性皮膚炎模型中以耳朵厚度變化(mm)衡量之耳朵發炎

耳朵厚度(mm)		
	mIgG2a	mIgG2aAA
同型對照	0.200±0.05	0.200±0.05
10 mg/kg	0.118±0.03**	0.160±0.03*
1.0 mg/kg	0.113±0.06**	0.170±0.04
0.1 mg/kg	0.176±0.05	0.178±0.03

\*p<0.05 ; \*\*p<0.001. n=5/組

表6.如在CD40誘導之結腸發炎模型中以重量與長度比(mg/cm)衡量之結腸發炎

結腸長度與重量比(mg/cm)		
	mIgG2a	mIgG2aAA
同型對照	37±1.1	37±1.1
10 mg/kg	26±0.8**	33±0.7

<b>1.0 mg/kg</b>	29±1.6*	36±1.9
<b>0.1 mg/kg</b>	32±2.6	36 (n=1)

n=5/組，\*p<0.05；\*\*p<0.001。

**【0084】** 此等數據證實，與同型對照相比，具有完全效應功能之抗體(mIgG2a)在兩個模型中均展示免疫抑制功能。然而，Fc $\gamma$ 受體無效變體(mIgG2aAA)在接觸性皮膚炎模型中之效價要小得多並在結腸發炎模型中影響很小至沒有影響。活性差異不係由於CD200R表現細胞之耗盡引起的，因為在獨立實驗中證實Fc $\gamma$ 受體勝任型IgG2a抗體不會耗盡小鼠中之CD200R表現細胞(數據未顯示)。

**【0085】** 此等數據證實Fc $\gamma$ 受體結合係對CD200R提供最佳促效作用以介導抗發炎信號所必需的。

#### 實例：抗體I與Fc $\gamma$ 受體之結合

**【0086】** 為確定抗體Fc是否影響抗體I-4P與Fc $\gamma$ 受體之結合特性，在25°C下藉由SPR測量抗體I-4P、抗體I-IgG1及抗體I-4PAA與人類Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RIIa、Fc $\gamma$ RIIb及Fc $\gamma$ RIIIa受體胞外域(ECD)之結合。抗體I-IgG1及抗體I-4PAA具有與抗體I-4P相同的CDRs。抗體I-IgG1具有與抗體I-4P相同之HCVR、LCVR及LC，但抗體I-IgG1具有如SEQ ID NO: 11所載之胺基酸序列之HC。抗體I-4PAA與抗體I-4P之不同之處在於HC中具有SLL228PAA突變。

**【0087】** 使用Biacore®T100儀器及Biacore®3000(GE Healthcare, Piscataway, NJ)、Biacore®試劑及Scrubber2 Biacore®評估軟體(Biologics 2008)用於抗體結合之SPR分析。使用製造商之EDC/NHS胺偶聯方法(Biacore® P/N BR-1000-50)製備CM5晶片

(Biacore® P/N BR-1006 -68)。簡言之，藉由以10  $\mu$ L/分鐘注射EDC/NHS之1:1混合物7分鐘來活化所有4個FC之表面。將蛋白A (Calbiochem P/N 539202)在10 mM乙酸鹽pH 4.5緩衝液中稀釋至100  $\mu$ g/mL，並藉由以10  $\mu$ L/分鐘之流速注射7分鐘以約400 RU固定至所有4個流通容器上。藉由以10  $\mu$ L/分鐘注射乙醇胺7分鐘來阻斷未反應之位點。使用注射2 x 10  $\mu$ L甘胺酸pH 1.5以移除任何非共價結合之蛋白質。

**【0088】** Fc $\gamma$ R ECDs-Fc $\gamma$ RI (CD64)、Fc $\gamma$ RIIA\_131R及Fc $\gamma$ RIIA\_131H (CD32a)、Fc $\gamma$ RIIIA\_158V、Fc $\gamma$ RIIIA\_158F (CD16a)及Fc $\gamma$ RIIb (CD32b；抑制受體)(參見例如Bruhns等人，Blood. 2009年4月16日；113(16):3716-25)係根據此項技術中熟知的方法自穩定CHO細胞表現產生並使用IgG瓊脂糖凝膠及尺寸排阻層析純化。

**【0089】** 對於Fc $\gamma$ RI結合，將抗體在運轉緩衝液(1xHBS-EP+ (Biacore® P/N BR-1006-69)中稀釋至2.5  $\mu$ g/mL，並在流通容器2至4中捕捉約150 RU之各抗體(捕捉的RU)。FC1係參考流通容器，因此FC1中沒有捕捉抗體。將Fc $\gamma$ RI ECD在運轉緩衝液中稀釋至200 nM且隨後在運轉緩衝液中兩倍連續稀釋至0.78 nM。將各濃度之二份注射液以40  $\mu$ L/分鐘注射於所有FC上120秒，隨後進行1200秒解離階段。藉由以30  $\mu$ L/分鐘注射15  $\mu$ L 10 mM甘胺酸pH 1.5於所有FC進行再生。減去參考的數據收集為FC2-FC1、FC3-FC1及FC4-FC1。在25°C獲得測量值。親和力(K<sub>D</sub>)係使用Scrubber 2 Biacore®評估軟體之穩態平衡分析或「1:1 (朗謬)結合」模型於BIA評估中計算。

**【0090】** 對於Fc $\gamma$ RIIa、Fc $\gamma$ RIIb及Fc $\gamma$ RIIIa結合，將抗體在運轉緩衝液中稀釋至5  $\mu$ g/mL，並在流通容器2至4中捕捉約500 RU之各變體(捕

捉的RU)。FC1係參考流通容器。將Fc $\gamma$ 受體ECDs在運轉緩衝液中稀釋至10  $\mu$ M且隨後在運轉緩衝液中連續稀釋2倍至39 nM。將各濃度之二份注射液以40  $\mu$ L/分鐘注射於所有FC上60秒，隨後進行120秒解離階段。藉由以30  $\mu$ L/min注射15  $\mu$ L 10 mM甘胺酸pH 1.5於所有FC進行再生。減去參考的數據收集為FC2-FC1、FC3-FC1及FC4-FC1。在25°C獲得測量值。親和力(K<sub>D</sub>)係藉由Scrubber 2 Biacore®評估軟體使用穩態平衡分析計算。

【0091】 遵循基本上如上所述的程序，獲得如表7中所示的以下數據。

表7：使用SPR在25°C下測量的抗體I-4P、抗體I-IgG1及抗體I-4PAA與人類Fc $\gamma$ 受體ECD之體外結合參數

樣品	人類配體	平均KD	標準偏差*
IgG1對照抗體	Fc $\gamma$ RI	56.1 pM	2.2
IgG4 PAA對照抗體	Fc $\gamma$ RI	229.0 nM	11.5
抗體I-IgG1	Fc $\gamma$ RI	48.9 pM	2.2
抗體I-4PAA	Fc $\gamma$ RI	273.3 nM	12.6
抗體I-4P	Fc $\gamma$ RI	369.3 pM	9.2
IgG1對照抗體	Fc $\gamma$ RIIA_131H	0.5 $\mu$ M	0.0
IgG4 PAA對照抗體	Fc $\gamma$ RIIA_131H	>10 $\mu$ M	
抗體I-IgG1	Fc $\gamma$ RIIA_131H	0.5 $\mu$ M	0.0
抗體I-4PAA	Fc $\gamma$ RIIA_131H	>10 $\mu$ M	
抗體I-4P	Fc $\gamma$ RIIA_131H	3.9 $\mu$ M	0.3
IgG1對照抗體	Fc $\gamma$ RIIA_131R	0.6 $\mu$ M	0.0

IgG4 PAA對照抗體	Fcγ RIIA_131R	>10 μM	
抗體I-IgG1	Fcγ RIIA_131R	0.6 μM	0.0
抗體I-4PAA	Fcγ RIIA_131R	>10 μM	
抗體I-4P	Fcγ RIIA_131R	1.7 μM	0.1
IgG1對照抗體	Fcγ RIIb	2.8 μM	0.1
IgG4 PAA對照抗體	Fcγ RIIb	>10 μM	
抗體I-IgG1	Fcγ RIIb	2.8 μM	0.1
抗體I-4PAA	Fcγ RIIb	>10 μM	
抗體I-4P	Fcγ RIIb	2.2 μM	0.1
IgG1對照抗體	Fcγ RIIIA_158V	0.2 μM	0.0
IgG4 PAA對照抗體	Fcγ RIIIA_158V	8.9 μM	1.1
抗體I-IgG1	Fcγ RIIIA_158V	0.2 μM	0.0
抗體I-4PAA	Fcγ RIIIA_158V	>10 μM	
抗體I-4P	Fcγ RIIIA_158V	4.3 μM	0.4
IgG1對照抗體	Fcγ RIIIA_158F	1.0 μM	0.1
IgG4 PAA對照抗體	Fcγ RIIIA_158F	>10 μM	
抗體I-IgG1	Fcγ RIIIA_158F	0.9 μM	0.1
抗體I-4PAA	Fcγ RIIIA_158F	>10 μM	
抗體I-4P	Fcγ RIIIA_158F	>10 μM	

進行三次獨立的檢定。

\*對於>10 μM的測量值，未確定標準偏差。

【0092】表7概述藉由SPR測量的抗體I-IgG1、抗體I-4PAA及抗體I-4P與人類FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIb及FcγRIIIa受體ECD之親和力(K<sub>D</sub>)。

抗體I-4P之結合特性證實以基本上在IgG1對照/抗體I-IgG1及IgG4 PAA對照/抗體I-4PAA之結合親和力之間的親和力結合至Fc $\gamma$ 受體。例如，數據證實，與抗體I-IgG1相比，抗體I-4P與Fc $\gamma$ RIIIa受體ECD具有減少之結合(此可歸因於全血檢定中之細胞介素釋放)，但與抗體I-4PAA相比，其與Fc $\gamma$ RI及Fc $\gamma$ RIIb受體ECD具有更高之結合親和力。

【0093】 據認為抗體I-4P與Fc $\gamma$ R之結合特性有助於增強體外效力，而不會引起顯著細胞介素釋放。

### 實例：結合至Fc $\gamma$ 受體之IgG1 Fc突變體

【0094】 已知IgG1抗體誘導細胞介素釋放。為確定IgG1誘導之細胞介素釋放之機制，產生IgG1-Fc突變。此等CD200R抗體具有不同於抗體I之CDR。表8中之抗體(IgG1(無突變)、P331S、P331S + S267G、A330S + P331S + S267G、A330S + S267G、K322A、K322A + S267G、及N325S + L328F + S267G)彼此具有相同的CDRs。S267G抗體具有不同於其他抗體突變體及抗體I-4P之CDRs。

【0095】 產生S267G突變以減少Fc $\gamma$ RIII結合(EU編號：參見，例如，Kabat等人，「Sequences of Proteins of Immunological Interest」，National Institutes of Health，Bethesda，Md.(1991)；及Shields RL等人，High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to Fc gamma R. 2001 J. Biol.Chem.276，6591-6604)。

【0096】 S267G突變亦與減少C1q結合而不顯著影響Fc $\gamma$ R結合之突變組合(K322A、A330S及P331S；參見(例如)Oganesyanyan V等人，2008

Structural characterization of a human Fc fragment engineered for lack of effector functions. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 64, 700-704 ; Idusogie, E等人, 2000 Mapping of the C1q Binding Site on Rituxan, a Chimeric Antibody with a Human IgG1 Fc. *J. of Immunology*, 164(8) 4178-4184 ; 及Tao M.H.及Morrison M.L. 1993 Structural features of human immunoglobulin G that determine isotype-specific differences in complement activation. *J. of Exp. Med.*, 178(2), 661-667)。亦產生降低Fc $\gamma$ RIII及C1q結合同時調節與Fc $\gamma$ RIIA及Fc $\gamma$ RIIB之結合之其他突變(N325S+L328F ; 參見(例如)Shang L等人, 2014 Selective antibody intervention of Toll-like receptor 4 activation through Fc $\gamma$ R tethering. *J. Biol. Chem.* 289, 15309-18 ; Monnet E等人, 2017 Evidence of NI-0101 pharmacological activity, an anti-TLR4 antibody, in a randomized phase I dose escalation study in healthy volunteers receiving LPS. *Clin Pharmacol Ther.* 2017 101, 200-208)。

【0097】 Fc $\gamma$ 受體結合係藉由Biacore®確定，且IFN $\gamma$ 係藉由基於Mesoscale平臺之多重檢定確定，兩者均描述於本文中。C1q結合係藉由ELISA確定。對於ELISA，將96孔微板塗佈100  $\mu$ L/孔之經稀釋於DPBS (杜貝卡氏(Dulbecco's) HyClone)中之每種抗體，濃度範圍為10  $\mu$ g/mL至0.19  $\mu$ g/mL。測試係在重複孔中進行。將板密封並在4 $^{\circ}$ C下培養過夜。從每個孔移除塗佈劑，並添加200  $\mu$ L/孔之酪蛋白阻斷劑(Thermo)。將板密封並在室溫(RT)下培養2小時。用洗滌緩衝液(1 x TBE及0.05%吐溫(Tween) 20)洗滌每個孔3次。以10  $\mu$ g/mL稀釋於酪蛋白阻斷劑中之100  $\mu$ L/孔人類C1q (MS Biomedical)並在RT下培養3小時。隨後用洗滌緩衝液

洗滌板3次，隨後添加100  $\mu$ L/孔之羊抗人類C1q-HRP (Abcam #ab46191) 含在酪蛋白阻斷劑中之1:800倍稀釋液並在RT下培養1小時。用洗滌緩衝液洗滌板6次，並將100  $\mu$ L/孔之TMB受質(Pierce)添加至每個孔並培養7分鐘。將100  $\mu$ L 1 N HCl添加至每個孔以停止反應。立即使用設置為450 nm之比色微板讀取器測量光密度。

【0098】 遵循基本上如上所述的程序，獲得以下數據(N=1；表8)。

表8.利用IgG1突變體進行Fc $\gamma$ R及C1q結合及全血細胞介素釋放測量。

突變	Fc $\gamma$ RI , pM	Fc $\gamma$ RIIA_ 131H , $\mu$ M	Fc $\gamma$ RIIA_ 131R , $\mu$ M	Fc $\gamma$ RIIb , $\mu$ M	Fc $\gamma$ RIIIA _158V , $\mu$ M	Fc $\gamma$ RIIIA_ 158F , $\mu$ M	C1q Elisa	全血 IFN $\gamma$ 釋放 <sup>a</sup>
Hu IgG1	55.2	0.71	1.03	4.2	0.28	2.59	++	ND
IgG1 , 無突變	46.4	0.69	1.04	4.23	0.27	2.12	+++	是
P331S	54.3	1.15	1.14	4.64	0.45	3.11	+	是
P331S + S267G	142.4	5.2	0.77	4.38	2.08	>10	-	否
A330S+ P331S+ S267G	511.4	5.1	0.78	4.3	2.48	9.8	-	否
A330S + S267G	167.7	3.31	0.82	4.99	1.66	10.83	-	否

<b>K322A</b>	30.5	0.98	0.82	3.41	0.28	2.58	-	是
<b>K322A + S267G</b>	70.5	5.02	0.66	4.43	1.65	9.99	-	否
<b>N325S + L328F</b>	68.7	2.64	0.06	0.275	7.35	>10	-	否
<b>S267G</b>	130.7	3.13	0.53	3.41	0.73	4.5		是
<b>人類IgG4P 對照抗體</b>	384.7	5.12	2.89	3.31	5.47	>10	-	否

<sup>a</sup>全血中顯著高於基線水平之任何細胞介素釋放記錄為「是」，然而，超出基線之確切水平可改變。

**【0099】** 此等數據證實，減少C1q結合並改變FcγR結合之組合突變會導致缺乏超出基線之IFN $\gamma$ 釋放，此表明在投與患者時具有更理想的安全性。例如，減少C1q結合並減少與FC $\gamma$ RIII(或FC $\gamma$ RI)之結合會導致缺乏超出基線之IFN $\gamma$ 釋放。

#### 實例：體外細胞介素釋放

**【0100】** 臨床毒性(包括細胞介素釋放症候群(CRS))與抗體之投藥相關聯。CRS(與單株抗體相關聯之最嚴重不良事件之一)之特徵在於高程度之免疫細胞活化及促發炎性細胞介素之快速全身性釋放並且可能係致命的。重要的是，臨床前模型不能充分預測CRS之潛在風險。因此，開發一種使用人類血液細胞之體外細胞介素釋放檢定，以減輕抗體投藥後CRS之潛在風險。結合至Fc $\gamma$ 受體之抗體(特別是IgG1抗體)可導致非所欲的細胞介素釋放。

**【0101】** 為確定抗體I-4P或抗體I-IgG1是否誘導從未刺激之人類全血釋放細胞介素，進行體外細胞介素釋放研究。將來自六個健康人之新鮮

收集的全血與100 µg/ml之抗體I-4P、抗體I-IgG1或對照IgG1抗體培養24小時。陽性對照係已知會導致臨床中細胞介素釋放症候群之Campath-1H (抗-CD52) IgG1抗體之同源物。陰性對照係不會導致細胞介素釋放之hIgG1抗體。使用基於Mesoscale平臺之市售多重檢定，在細胞培養上清液中測量十種細胞介素，包括IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-6、IL-13、IL-8、IL-12p70、IL-10及TNF- $\alpha$ 。

【0102】 遵循基本上如上所述的程序，獲得以下數據。如表9中所示，將全血與10 µg/ml陽性對照抗體培養，導致在大多數供體中所分析的10種細胞介素中的9種可靠地產生細胞介素。將全血與抗體I-IgG1培養會誘導顯著釋放IFN- $\gamma$ 。將全血與100 µg/ml抗體I-4P或100 µg/ml陰性對照IgG1培養不會導致顯著濃度之任何所評估細胞介素。

**表9. 相對於基線之倍數變化(PBS對照樣品)；中位數 $\pm$ SEM**

細胞介素	抗體I-IgG1	抗體I-4P	陰性對照	陽性對照
IFN- $\gamma$	10 $\pm$ 19	0.9 $\pm$ 0.08	0.8 $\pm$ 0.06	612 $\pm$ 431
IL-1 $\beta$	1.8 $\pm$ 3	1.19 $\pm$ 2	1.04 $\pm$ 1.4	3 $\pm$ 5
IL-2	0.36 $\pm$ 0.14	1.7 $\pm$ 0.133	1.9 $\pm$ 0.86	1.33 $\pm$ 1.3
IL-4	0.96 $\pm$ 1.4	1.08 $\pm$ 0.42	0.83 $\pm$ 0.73	10 $\pm$ 24
IL-6	1.25 $\pm$ 1.8	1.17 $\pm$ 0.17	1.03 $\pm$ 0.13	15 $\pm$ 18
IL-8	1.1 $\pm$ 0.58	1.2 $\pm$ 0.08	1.25 $\pm$ 0.24	8.8 $\pm$ 5
IL-10	0.88 $\pm$ 0.11	1.25 $\pm$ 0.15	1.26 $\pm$ 0.3	3.9 $\pm$ 2.6
IL-12p70	0.97 $\pm$ 0.37	0.63 $\pm$ 0.19	0.49 $\pm$ 0.5	7 $\pm$ 11
IL-13	1.18 $\pm$ 0.27	1.18 $\pm$ 0.12	1.1 $\pm$ 0.24	5.5 $\pm$ 1.89
TNF- $\alpha$	1.37 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.05	0.96 $\pm$ 0.07	20 $\pm$ 17

【0103】 此等數據證實抗體I-4P不會引起顯著細胞介素釋放，並表  
第 37 頁(發明說明書)

明在投與抗體I-4P後臨床中細胞介素釋放之低風險。

### 實例：抗體I不會阻斷CD200與CD200R之結合

【0104】 CD200及CD200R均係細胞表現之分子並包含兩個Ig樣域。其等透過其之與在髓樣細胞與其他CD200表現細胞之間發生的免疫突觸類似相互作用相容之NH<sub>2</sub>端域相互作用。為確定在配體存在下抗體I-4P是否結合CD200R，藉由流式細胞術對HEL92.7.1細胞(表現CD200R之人類成紅細胞瘤細胞系)進行共結合實驗。為進行研究，將2<sup>e5</sup>個細胞在室溫下與300 nM CD200Fc (RD Systems；免疫球蛋白1 Fc區與CD200之融合蛋白)、抗體I-4P、同型對照抗體或PBS培養(預處理)一小時。洗滌細胞3次並在室溫下與Fc阻斷劑(Miltenyi Biotec)培養20分鐘。在室溫下用各種濃度之AF647標記之抗體I-4P染色該等細胞一小時且隨後洗滌細胞並懸浮在FACS緩衝液中以進行流式細胞術分析。

【0105】 測定AF647標記之抗體I-4P之每種濃度之中位數螢光強度(MFI)，且MFI指示在配體存在下之結合量。遵循基本上如上所述的程序，獲得表10中之數據。

表10. 在CD200存在下之抗體結合。

染色	無預處理		預處理	
	無預處理(MFI)	同型對照(MFI)	抗體I-4P (MFI)	CD200-Fc (MFI)
抗體I-4P-AF647 (ug/mL)				
0	49.1	49.1	49.1	49.1
0.4	416	399	70.4	230
0.8	694	664	76.3	370
1.6	1184	1154	96.9	630

3.125	1979	1914	133	1068
6.25	3097	2987	200	1728
12.5	4216	4105	319	2641
25	5137	4916	496	3421
50	5651	5515	745	3957

**【0106】** 此等數據證實抗體I-4P不會阻斷CD200配體結合人類CD200R(與同型對照相比之人類CD200-Fc數據且沒有預處理數據)。抗體I-4P預處理數據用作對照並證實在用抗體I-4P預處理後標記之抗體I-4P結合減少。

**【0107】** 確定抗體I-4P之抗原決定基接近CD200R之域2上之細胞膜(數據未顯示)。

#### 實例：抗體I-4P抑制人類化小鼠中之接觸性過敏反應

**【0108】** 為證實抗體I-4P之抗發炎效應，從Taconic Biosciences購買20週大的雌性huNOG-EXL小鼠(NOD. Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Sug</sup> Tg(SV40/HTLV-IL3, CSF2)10-7Jic/JicTac)並允許適應超過1週。在22°C下在12 h光照:黑暗週期下每隻籠子四隻小鼠將小鼠圈養並隨意進食及飲水。在第0天，用5%異氟烷麻醉小鼠，將其腹部剃毛，並將100 µL之含在乙醇中之3%噁唑酮施覆至剃毛區域。致敏後五天，以1或10 mg/kg皮下(SC)投與抗體I-4P；以10 mg/kg SC投與IgG4P同型對照，以進行比較。投與抗體四小時後，用5%異氟烷麻醉小鼠，用游標卡尺測量基線耳朵厚度，並在兩隻耳朵每一側用10 µL的含在乙醇中之2%噁唑酮攻擊耳朵。在第10天及第14天重複攻擊程序。藉由測量攻擊前及攻擊後24小時耳朵耳厚差來評估過敏反應。

【0109】 統計：發炎係藉由測量每次攻擊前至攻擊後24小時耳朵厚度差來確定的。抑制百分比係從設置為0%抑制之同型對照之平均耳朵厚度計算得的。與同型對照之統計差異在適宜之情況下係使用單因子或雙因子ANOVA及杜納檢驗(Dunnett's test)(GraphPad Prism)確定的。

【0110】 遵循基本上如上所述的程序，獲得以下數據。如下表中所示，與經同型物治療之小鼠相比，在第一次攻擊前4小時用抗體I-4P以1或10 mg/kg SC 4之單次治療顯著改善第三次攻擊後之發炎反應。

表11.

治療	$\delta$ 耳朵厚度(mm) $\pm$ SEM	同型物之抑制%	p值
同型對照	0.108 $\pm$ 0.005	N/A	
抗體I-4P 10 mg/kg	0.056 $\pm$ 0.008	47.9 $\pm$ 7.8	0.0001
抗體I-4P 1 mg/kg	0.064 $\pm$ 0.007	41.4 $\pm$ 6.4	0.0001

序列

抗體I-4P及抗體I-IgG1之HCDR1 (SEQ ID NO: 1)

KASGFSFSSGYMA

抗體I-4P及抗體I-IgG1之HCDR2 (SEQ ID NO: 2)

LIGVGSGLWYAQKFQG

抗體I-4P及抗體I-IgG1之HCDR3 (SEQ ID NO: 3)

ARHFALSDPFNL

抗體I-4P及抗體I-IgG1之LCDR1 (SEQ ID NO: 4)

QASESIDSYLL

**抗體I-4P及抗體I-IgG1之LCDR2 (SEQ ID NO: 5)**

KQASTLAS

**抗體I-4P及抗體I-IgG1之LCDR3 (SEQ ID NO: 6)**

QNYVDISSND

**抗體I-4P及抗體I-IgG1之抗體HCVR (SEQ ID NO: 7)**

XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFSFSSGYMAWVRQAPGQGLEWMGLI  
GVGSGSLWYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARHFALSDP  
FNLWGQGTLLVTVSS

其中在位置1的Xaa係麩醯胺酸或焦麩胺酸

**抗體I-4P及抗體I-IgG1之抗體LCVR (SEQ ID NO: 8)**

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCQASESIDSYLLWYQQKPDQSPKLLIKQASTLASG  
VPSRFSGSGSGTDFTLITNSLEAEDAATYYCQNYVDISSNDFGGGGTKVEIK

**抗體I-4P之抗體重鏈 (SEQ ID NO: 9)**

XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFSFSSGYMAWVRQAPGQGLEWMGLI  
GVGSGSLWYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARHFALSDP  
FNLWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW  
NSGALTSGVHIIFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDK  
RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPE  
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQINSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV  
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMIKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE  
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN  
HYTQKLSLSLX

其中在位置1的Xaa係麩醯胺酸或焦麩胺酸；及在位置446的Xaa係甘  
胺酸或不存在。

**抗體I-4P及抗體I-IgG1之抗體輕鏈(SEQ ID NO: 10)**

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVITCQASESIDSYLLWYQQKPDQSPKLLIKQASTLASG  
VPSRFSGSGSGTDFTLITNSLEAEDAATYYCQNYVDISSNDFGGGGTKVEIKRTVAA  
PSVFIFFPSDEQLKSGTASVVCILNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD  
SKDSTYSLSSITLTSKADYEKIIKIVYACEVTHIQGLSSPVTKSFNRGEC

**抗體I-IgG1之抗體重鏈(SEQ ID NO: 11)**



gaaattgtctgactcagctccagacttcagtctgtactccaaaggagaaagtcaccatcacctgccaggccagtgagtcgat  
 tgatagctatttactgtggtaccagcagaaaccagatcagctccaaagctcctcatcaagcaggccatecactctggcatctgggg  
 tcccctcagaggttcagtggcagtgatctgggacagattaccctcaccateaatagcctggaagetgaagatgctgcaacgtat  
 tactgtcaaaactattatgatattagtagtaatgatttcggcggaggaccacaaggtggagatcaaacggaccgtggctgcaccate  
 tgttctcatctcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgctgtgaaalaacttctatcccagagagg  
 ccaaaaglacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgteacagagcaggacagcaaggaca  
 gcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcagactacgagaacacaaagtctacgctgcgaagtcacca  
 tcagggcctgagctcgcctcacaagagctcaacaggggagagtgc

### 編碼抗體I-IgG1之重鏈之DNA (SEQ ID NO: 14)

caggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaagttcctgcaaggccatctggattctcc  
 ttcagtagcggctactacatggcatgggtgctggcagggccccctggacaagggcttgagtgatgggactgattgggtgtgtagt  
 ggtagcctatggtacgcgcagaagttcaagggcgggtcaecatgaccagggacacgtccacgagcagctacatggagct  
 gagcagcctgagatctgaggacacggcctgtattactgtgcgagacattttgetctgtctgatecctttaacttgtggggccagg  
 gcacactcgtaccgtctcctcagctagcacaagggccccctggcaccctcctccaagagcaccctctgggg  
 gcacagcggcctgggtgctgtaaggacttccccgaaccgggtgacgggtgctggaactcagggcctgaccag  
 cggcgtgcacacctccccggctgctctacagctcaggaacttacctcctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttg  
 ggcaccagacctacatctgcaacgtgaateacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaagttgagccccaatcttga  
 caaaactcaacatgcccaccgtgcccagcactgaactcctggggggaccgtcagttctcttcccccaaaaccaagga  
 caccctcatgatctcccggaccctgaggtcaatgctggtggtgacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactg  
 gtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagcaaaagccggggaggagcaglacaaacagcagctggtgag  
 cgtctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaaggaglacaaagtcaaggtctcaacaaagccctcccagccccca  
 tegagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggatgagctgac  
 caagaaccaggtcagcctgacctgctgtaaaaggttctatcccagcagcagcctggtgagtgaggagcaatgggcag  
 ccggagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacggctccttctctacagcaagctcaccgtggacaag  
 agcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctcctgtagatgaggtctgcacaaccactacagcagaagagcctctcc  
 ctgtctccggglaag

### 人類CD200R (SEQ ID NO: 15)

MLCPWRTANLGLLIILTIPLVAEAEAGAAQPNNSLMLQTSKENIHALASSSLCMDE  
 KQITQNYSKVLAEVNTSWPVKMATNAVLCPPIALRNI.IITWEILRGQPSTKA  
 YRKEINETKETNCTIDERITWVSRPDQNSDI.QIRPVAITHDGYYRCIMVTPDGNFH  
 RGYHLQVLVTPPELTLFQNRNRTAVCKAVAGKPAAQISWIPEGDCATKQEYWSN  
 GTVTVKSTCHWEVHNVSTVTCHVSIILTGNKSLYIELLPVPGAKKSAKLYIPYIILT  
 IILTIIVGFIWLJ.KVNGCRKYKLNKTESTPVVEEDEMOPYASYTEKNNPLYDTTNK  
 VKASQALQSEVDTDLHTL

**食蟹獼猴CD200R (SEQ ID NO: 16)**

MLCPWRTANLGLLLILAVFLVAEAEGAAQSNNSLMLQTSKENHTLASNSLCMDE  
KQITQNHSKVLAEVNISWPVQMARNAVLCPPPIEFRNLIVITWEIILRGQPSCTKT  
YRKDTNETKETNCTDERITWVSTPDQNSDLQIHPVAITHDGYRCIMATPDGNFH  
RGYHLQVLVTPEVTLFESRNRTAVCKAVAGKPAAQISWIPAGDCAPTEQEYWGN  
GTVTVKSTCHWEGHNVSTVTCHVSHLTGNKSLYIELLPVPGAKKSAKLYMPYVI  
LTIILTIVGFIWLIKISGCRKYNLNKTESTSVVEEDEMOPYASYTEKNNPLYDTTN  
KVKASQALQSEVGTDLHTL

**食蟹獼猴CD200RLa (SEQ ID NO: 17)**

MHTL GKMSASRLLISIIIMVSASSSSCMDGKQMTQNYSKMSAEGNISQPVLMDTN  
AMLCCPPPIEFRNLIVIVWEIIRGQPSCTKAYRKETNETKETNCTDERITWVSTPDQ  
NSDLQIHPVAITHDGYRCIMATPDGNFHARGYHLQVLVTPEVTLFQSRNRTAVCK  
AVAGKPAAQISWIPAGDCAPTEHEYWGNGT VTVESMCHWGDHNA STMTCIIVS  
IILTGNKSLYIKLNSGLRTSGSPALDLLHLYVKLSLFFVVLVTTGFVFFQRINYVRK  
SL

## 【序列表】

<110> 美商美國禮來大藥廠(Eli Lilly and Company)

<120> CD200R促效劑抗體及其用途

<140> 108132514

<141> 2019-09-10

<150> US 62/731204

<151> 2018-09-14

<160> 17

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 1

Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Gly Tyr Tyr Met Ala  
1 5 10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 2

Leu Ile Gly Val Gly Ser Gly Ser Leu Trp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 3

Ala Arg His Phe Ala Leu Ser Asp Pro Phe Asn Leu  
 1 5 10

<210> 4  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成構築體

<400> 4

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Asp Ser Tyr Leu Leu  
 1 5 10

<210> 5  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成構築體

<400> 5

Lys Gln Ala Ser Thr Leu Ala Ser  
 1 5

<210> 6  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成構築體

<400> 6

Gln Asn Tyr Tyr Asp Ile Ser Ser Asn Asp  
 1 5 10

<210> 7  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成構築體

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)

<223> 在位置1之Xaa係麩醯胺酸或焦麩胺酸

<400> 7

Xaa Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

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

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

Met Gly Leu Ile Gly Val Gly Ser Gly Ser Leu Trp Tyr Ala Gln Lys  
50 55 60

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val  
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg His Phe Ala Leu Ser Asp Pro Phe Asn Leu Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 8

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Asp Ser Tyr  
20 25 30

Leu Leu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

Lys Gln Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala  
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Tyr Tyr Asp Ile Ser Ser  
85 90 95

Asn Asp Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 9  
<211> 446  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成構築體

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(1)  
<223> 在位置1之Xaa係麩醯胺酸或焦麩胺酸

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (446)..(446)  
<223> 在位置446之Xaa係甘胺酸或不存在的

<400> 9

Xaa Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

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

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

Met Gly Leu Ile Gly Val Gly Ser Gly Ser Leu Trp Tyr Ala Gln Lys  
50 55 60

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val  
65 70 75 80

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



Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Xaa  
 435 440 445

<210> 10  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 人工序列

<400> 10

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys  
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Asp Ser Tyr  
 20 25 30

Leu Leu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Lys Gln Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala  
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Tyr Tyr Asp Ile Ser Ser  
85 90 95

Asn Asp Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 11  
<211> 450  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成構築體

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(1)  
<223> 在位置1之Xaa係麩醯胺酸或焦麩胺酸

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (450)..(450)

<223> 在位置450之Xaa係離胺酸或不存在

<400> 11

Xaa Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

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

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

Met Gly Leu Ile Gly Val Gly Ser Gly Ser Leu Trp Tyr Ala Gln Lys  
50 55 60

Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val  
65 70 75 80

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

Cys Ala Arg His Phe Ala Leu Ser Asp Pro Phe Asn Leu 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 Gly 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 Xaa  
450

<210> 12  
<211> 1338  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成構築體

<400> 12  
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60  
tcctgcaagg catctggatt ctcccttcagt agcggctact acatggcatg ggtgcggcag 120  
gcccctggac aagggcttga gtggatggga ctgattggtg ttggtagtgg tagcctatgg 180  
tacgcgcaga agttccaagg ccgggtcacc atgaccaggg acacgtccac gagcacagtc 240  
tacatggagc tgagcagcct gagatctgag gacacggccg tgtattactg tgcgagacat 300  
tttgctctgt ctgatccctt taacttgtgg ggccagggca cactcgtcac cgtctcctca 360  
gctagcacca agggcccac ggtcttcccc ctggcacctt gctccaggag cacctccgag 420  
agcacagccg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480  
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540  
ggactctact cctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 600  
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 660  
aaatatggtc ccccatgccc accctgcccga gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc 720  
ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 780  
tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 840  
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 900  
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 960  
tgcaaggtct ccaacaaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020  
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 1080  
aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 1140  
tgggaaagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc 1200  
gacggctcct tcttctctta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 1260  
aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 1320  
ctctccctgt ctctgggt 1338

<210> 13  
 <211> 645  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成構築體

<400> 13  
 gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc 60  
 atcacctgcc aggccagtga gtcgattgat agctatttac tgtggtacca gcagaaacca 120  
 gatcagtctc caaagctcct catcaagcag gcatccactc tggcatctgg ggtcccctcg 180  
 aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcaccctca ccatcaatag cctggaagct 240  
 gaagatgctg caacgtatta ctgtcaaac tattatgata ttagtagtaa tgatttcggc 300  
 ggagggacca aggtggagat caaacggacc gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360  
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420  
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc 480  
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 540  
 acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600  
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 14  
 <211> 1350  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成構築體

<400> 14  
 caggtgcagc tggcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60  
 tctgcaagg catctggatt ctcttcagt agcggctact acatggcatg ggtgcggcag 120  
 gccctggac aagggttga gtggatggga ctgattggtg ttggtagtgg tagcctatgg 180  
 tacgcgaga agttcaagg ccgggtcacc atgaccaggg acacgtccac gagcacagtc 240  
 tacatggagc tgagcagcct gagatctgag gacacggccg tgtattactg tgcgagacat 300  
 tttgctctgt ctgatccctt taacttgtgg ggccagggca cactcgtcac cgtctctca 360  
 gctagacca agggccatc ggtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg 420  
 ggacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgctg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540  
 ggactctact cccfcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 600  
 tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 660  
 aaatcttgtg acaaaaactca cacatgceca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 720  
 ccgtcagtct tctcttccc cccaaaacc aaggacacc tcatgatctc ccggaccct 780  
 gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840  
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900  
 agcacgtacc gtgtggctcag cgtcctcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag 960  
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020  
 aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacacc tgccccatc ccgggatgag 1080  
 ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140  
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200  
 ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260  
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacag 1320  
 cagaagagcc tctcctgtc tccgggtaag 1350

<210> 15  
 <211> 348  
 <212> PRT  
 <213> 現代人

<400> 15

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu  
1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Glu Ala Glu Gly Ala Ala Gln Pro Asn Asn  
20 25 30

Ser Leu Met Leu Gln Thr Ser Lys Glu Asn His Ala Leu Ala Ser Ser  
35 40 45

Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val  
50 55 60

Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala  
65 70 75 80

Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr  
85 90 95

Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg  
100 105 110

Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile  
115 120 125

Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro  
130 135 140

Val Ala Ile Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro  
145 150 155 160

Asp Gly Asn Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro  
165 170 175

Glu Leu Thr Leu Phe Gln Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala  
180 185 190

Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp  
195 200 205

Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys  
210 215 220

Ser Thr Cys His Trp Glu Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His  
225 230 235 240

Val Ser His Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro  
245 250 255

Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile  
260 265 270

Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Lys  
275 280 285

Val Asn Gly Cys Arg Lys Tyr Lys Leu Asn Lys Thr Glu Ser Thr Pro  
290 295 300

Val Val Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys



Asp Gly Asn Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro  
 165 170 175

Glu Val Thr Leu Phe Glu Ser Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala  
 180 185 190

Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Ala Gly Asp  
 195 200 205

Cys Ala Pro Thr Glu Gln Glu Tyr Trp Gly Asn Gly Thr Val Thr Val  
 210 215 220

Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Gly His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys  
 225 230 235 240

His Val Ser His Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu  
 245 250 255

Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser Ala Lys Leu Tyr Met Pro Tyr Val  
 260 265 270

Ile Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu  
 275 280 285

Lys Ile Ser Gly Cys Arg Lys Tyr Asn Leu Asn Lys Thr Glu Ser Thr  
 290 295 300

Ser Val Val Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu  
 305 310 315 320

Lys Asn Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Thr Asn Lys Val Lys Ala Ser Gln  
 325 330 335

Ala Leu Gln Ser Glu Val Gly Thr Asp Leu His Thr Leu  
 340 345

<210> 17  
 <211> 278  
 <212> PRT  
 <213> 食蟹獼猴

<400> 17

Met His Thr Leu Gly Lys Met Ser Ala Ser Arg Leu Leu Ile Ser Ile  
 1 5 10 15

Ile Ile Met Val Ser Ala Ser Ser Ser Ser Cys Met Asp Gly Lys Gln  
20 25 30

Met Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Met Ser Ala Glu Gly Asn Ile Ser Gln  
35 40 45

Pro Val Leu Met Asp Thr Asn Ala Met Leu Cys Cys Pro Pro Ile Glu  
50 55 60

Phe Arg Asn Leu Ile Val Ile Val Trp Glu Ile Ile Ile Arg Gly Gln  
65 70 75 80

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

Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Thr Pro Asp Gln  
100 105 110

Asn Ser Asp Leu Gln Ile His Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly Tyr  
115 120 125

Tyr Arg Cys Ile Met Ala Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly Tyr  
130 135 140

His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Ser Arg  
145 150 155 160

Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln  
165 170 175

Ile Ser Trp Ile Pro Ala Gly Asp Cys Ala Pro Thr Glu His Glu Tyr  
180 185 190

Trp Gly Asn Gly Thr Val Thr Val Glu Ser Met Cys His Trp Gly Asp  
195 200 205

His Asn Ala Ser Thr Met Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn  
210 215 220

Lys Ser Leu Tyr Ile Lys Leu Asn Ser Gly Leu Arg Thr Ser Gly Ser  
225 230 235 240

Pro Ala Leu Asp Leu Leu Ile Ile Leu Tyr Val Lys Leu Ser Leu Phe

245

250

255

Val Val Ile Leu Val Thr Thr Gly Phe Val Phe Phe Gln Arg Ile Asn  
260 265 270

Tyr Val Arg Lys Ser Leu  
275

## 【發明申請專利範圍】

### 【請求項1】

一種結合人類CD200R之抗體，其包含重鏈可變區(HCVR)及輕鏈可變區(LCVR)，其中該HCVR包含HCDR1、HCDR2及HCDR3，及該LCVR包含LCDR1、LCDR2及LCDR3，其中該HCDR1之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 1所載，該HCDR2之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 2所載，及該HCDR3之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 3所載，該LCDR1之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 4所載，該LCDR2之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 5所載，及該LCDR3之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 6所載。

### 【請求項2】

如請求項1之抗體，其包含HCVR及LCVR，其中該HCVR之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 7所載及該LCVR之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 8所載。

### 【請求項3】

如請求項2之抗體，其中在SEQ ID NO: 7之位置1的Xaa係麩醯胺酸。

### 【請求項4】

如請求項2之抗體，其中在SEQ ID NO: 7之位置1的Xaa係焦麩胺酸。

### 【請求項5】

如請求項1至4中任一項之抗體，其中該抗體不會引起顯著細胞介素釋放。

### 【請求項6】

如請求項1至4中任一項之抗體，其中該抗體係CD200R促效劑抗體。

**【請求項7】**

如請求項1至4中任一項之抗體，其中該抗體結合Fc $\gamma$  RI、Fc $\gamma$  RIIA\_131H、Fc $\gamma$  RIIA\_131R、Fc $\gamma$  RIIb及Fc $\gamma$  RIIIA\_158V中之至少一者。

**【請求項8】**

如請求項1至4中任一項之抗體，其中該抗體結合Fc $\gamma$  RI、Fc $\gamma$  RIIA\_131H、Fc $\gamma$  RIIA\_131R、Fc $\gamma$  RIIb及Fc $\gamma$  RIIIA\_158V中之至少二者。

**【請求項9】**

如請求項1至4中任一項之抗體，其中該抗體結合Fc $\gamma$  RI、Fc $\gamma$  RIIA\_131H、Fc $\gamma$  RIIA\_131R、Fc $\gamma$  RIIb及Fc $\gamma$  RIIIA\_158V中之至少三者。

**【請求項10】**

如請求項1至4中任一項之抗體，其中該抗體結合Fc $\gamma$  RI、Fc $\gamma$  RIIA\_131H、Fc $\gamma$  RIIA\_131R、Fc $\gamma$  RIIb及Fc $\gamma$  RIIIA\_158V中之至少四者。

**【請求項11】**

如請求項10之抗體，其中該等結合親和力為：

- (i) 對Fc $\gamma$  RI為約70 pM至約500 pM；
- (ii) 對Fc $\gamma$  RIIA\_131H為約2  $\mu$ M至約5  $\mu$ M；
- (iii) 對Fc $\gamma$  RIIA\_131R為約1  $\mu$ M至約5  $\mu$ M；
- (iv) 對Fc $\gamma$  RIIb為約1  $\mu$ M至約4  $\mu$ M；

(v) 對Fcγ RIIIA<sub>158V</sub>為約1 μM至約6 μM；及

(vi) 對Fcγ RIIIA<sub>158F</sub>為大於9 μM。

**【請求項12】**

如請求項11之抗體，其中該結合親和力為：

(i) 對Fcγ RI為約400 pM；

(ii) 對Fcγ RIIA<sub>131H</sub>為約4 μM；

(iii) 對Fcγ RIIA<sub>131R</sub>為約2 μM；

(iv) 對Fcγ RIIb為約2 μM；

(v) 對Fcγ RIIIA<sub>158V</sub>為約4 μM；及

(vi) 對Fcγ RIIIA<sub>158F</sub>為大於10 μM。

**【請求項13】**

如請求項11之抗體，其中該結合親和力係藉由在25°C之表面電漿共振來確定。

**【請求項14】**

如請求項12之抗體，其中該結合親和力係藉由在25°C之表面電漿共振來確定。

**【請求項15】**

如請求項1至4中任一項之抗體，其中該抗體不結合C1q。

**【請求項16】**

如請求項15之抗體，其中與C1q之結合係藉由ELISA確定。

**【請求項17】**

如請求項1至4中任一項之抗體，其中該抗體係IgG4P。

**【請求項18】**

如請求項1或請求項2之抗體，其包含重鏈(HC)及輕鏈(LC)，其中該HC之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 9所載及該LC之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 10所載。

**【請求項19】**

如請求項18之抗體，其中在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係麩醯胺酸及在SEQ ID NO: 9之位置446的Xaa係甘胺酸。

**【請求項20】**

如請求項18之抗體，其中在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係焦麩胺酸及在SEQ ID NO: 9之位置446的Xaa係甘胺酸。

**【請求項21】**

如請求項18之抗體，其中在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係麩醯胺酸及在SEQ ID NO: 9之位置446的Xaa係不存在。

**【請求項22】**

如請求項18之抗體，其中在SEQ ID NO: 9之位置1的Xaa係焦麩胺酸及在SEQ ID NO: 9之位置446的Xaa係不存在。

**【請求項23】**

一種CD200R促效劑抗體，其包含重鏈可變區(HCVR)及輕鏈可變區(LCVR)，其中該HCVR包含HCDR1、HCDR2及HCDR3，及該LCVR包含LCDR1、LCDR2及LCDR3，其中該HCDR1之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 1所載，該HCDR2之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 2所載，及該HCDR3之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 3所載，該LCDR1之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 4所載，該LCDR2之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 5所載，及該LCDR3之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 6所載，且其中與具有該

CD200R促效劑抗體相同CDR之野生型IgG1抗體相比，該抗體不會引起顯著細胞介素釋放。

**【請求項24】**

如請求項23之抗體，其中與具有該CD200R促效劑抗體相同CDR之野生型IgG1抗體相比，抗體與Fcγ RI、Fcγ RIIA\_131H、Fcγ RIIA\_131R、Fcγ RIIb、及Fcγ RIIIA\_158V、Fcγ RIIIA\_158F或C1q之結合不會引起顯著細胞介素釋放。

**【請求項25】**

如請求項23或24之抗體，其中該抗體不結合Fcγ RIIIA\_158F或C1q。

**【請求項26】**

一種如請求項1至25中任一項之抗體之用途，其用於製造用於治療疾病的藥物，其中該疾病係自體免疫疾病、過敏性疾病、哮喘、異位性皮膚炎或其他發炎病症。

**【請求項27】**

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至25中任一項之抗體及一或多種醫藥上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

**【請求項28】**

一種DNA分子，其包含編碼如SEQ ID NO: 9所載胺基酸序列之HC之聚核苷酸或編碼如SEQ ID NO: 10所載胺基酸序列之LC之聚核苷酸。

**【請求項29】**

如請求項28之DNA分子，其中編碼該HC之聚核苷酸序列係如SEQ ID NO: 12所載或編碼該LC之聚核苷酸序列係如SEQ ID NO: 13所載。

**【請求項30】**

如請求項28之DNA分子，其包含1) 編碼如SEQ ID NO: 9所載胺基酸序列之HC之聚核苷酸，及2) 編碼如SEQ ID NO: 10所載胺基酸序列之LC之聚核苷酸。

**【請求項31】**

如請求項30之DNA分子，其中編碼該HC之聚核苷酸序列係如SEQ ID NO: 12所載，及編碼該LC之聚核苷酸序列係如SEQ ID NO: 13所載。

**【請求項32】**

一種藉由如請求項31之DNA分子轉形之哺乳動物細胞，該經轉形之哺乳動物細胞能夠表現包含兩個HC及兩個LC之抗體，其中每個HC之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 9所載，及每個LC之胺基酸序列係如SEQ ID NO: 10所載。