202117016

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 202117016 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 05 月 01 日

(21)申請案號：109131346　(22)申請日： 中華民國 109 (2020) 年 09 月 11 日

(51)Int. Cl.：　*C12N15/63 (2006.01)*　*C12N15/861 (2006.01)*

C07K14/575 (2006.01)　*C07K19/00 (2006.01)*

A61K38/22 (2006.01)　*A61P27/02 (2006.01)*

(30)優先權：2019/09/11　美國　62/899,070

2019/10/10　美國　62/913,648

2020/01/10　美國　62/959,784

2020/02/07　美國　62/971,835

2020/05/01　美國　63/019,190

2020/05/27　美國　63/030,819

2020/08/07　美國　63/063,203

(71)申請人：美商愛德維仁生物科技公司 (美國) ADVERUM BIOTECHNOLOGIES, INC.　(US)
美國

(72)發明人：賈斯敏　美帝 GASMI, MEHDI (US)；可思　席芝拉 KISS, SZILARD (US)；傲司朋　愛倫 OSBORNE, AARON (GB)；特普可　亞當 TURPCU, ADAM (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：106 項　圖式數：29　共 336 頁

(54)名稱

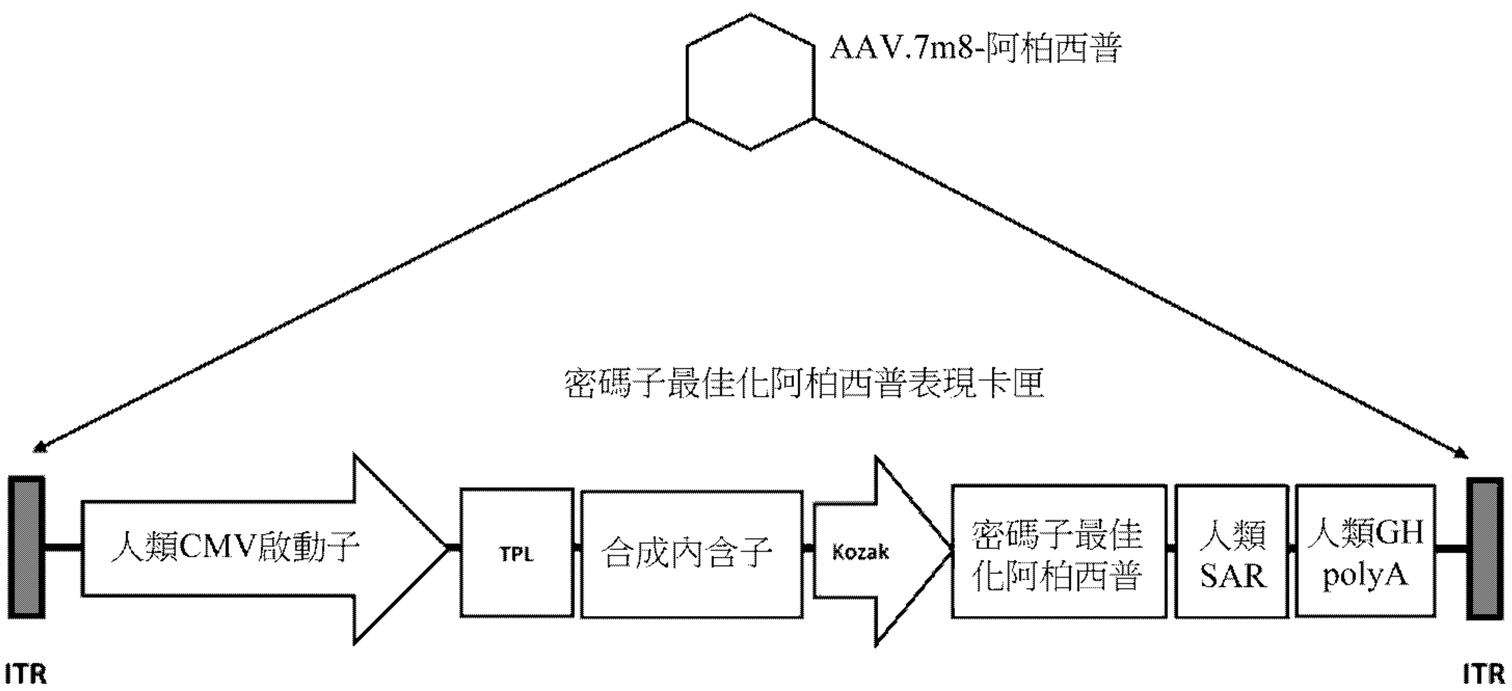
使用編碼阿柏西普(AFLIBERCEPT)之 AAV2 變異體治療眼睛新生血管性疾病的方法

(57)摘要

本發明提供用於治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法，其包含向個體之眼部投與單位劑量之重組腺相關病毒(rAAV)粒子，其中 rAAV 粒子包含：a)編碼多肽且由 AAV2 反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與 SEQ ID NO:35 之胺基酸序列具有至少約 95%一致性之胺基酸序列，及 b)AAV2 衣殼蛋白質，其包含插入衣殼蛋白質之位置 587 與 588 之間的胺基酸序列 LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於 AAV2 VP1 衣殼蛋白質。

Provided are methods for treating an ocular neovascular disease in an individual, comprising administering a unit dose of recombinant adeno-associated virus (rAAV) particles to an eye of the individual, wherein the rAAV particles comprise: a) a nucleic acid encoding a polypeptide comprising an amino acid sequence with at least about 95% identity to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 35 and flanked by AAV2 inverted terminal repeats (ITRs), and b) an AAV2 capsid protein comprising an amino acid sequence LGETTRP (SEQ ID NO: 14) inserted between positions 587 and 588 of the capsid protein, wherein the amino acid residue numbering corresponds to an AAV2 VP1 capsid protein.

指定代表圖：


AAV.7m8-阿柏西普
密碼子最佳化阿柏西普表現卡匣
人類CMV啟動子
TPL
合成內含子
Kozak
密碼子最佳化阿柏西普
人類SAR
人類GH polyA
ITR
ITR

【圖1C】

202117016

【發明摘要】

【中文發明名稱】

使用編碼阿柏西普(AFLIBERCEPT)之AAV2變異體治療眼睛新生血管性疾病的方法

【英文發明名稱】

METHODS OF TREATING OCULAR NEOVASCULAR DISEASES USING AAV2 VARIANTS ENCODING AFLIBERCEPT

【中文】

本發明提供用於治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法，其包含向個體之眼部投與單位劑量之重組腺相關病毒(rAAV)粒子，其中rAAV粒子包含：a)編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及b)AAV2衣殼蛋白質，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【英文】

Provided are methods for treating an ocular neovascular disease in an individual, comprising administering a unit dose of recombinant adeno-associated virus (rAAV) particles to an eye of the individual, wherein the rAAV particles comprise: a) a nucleic acid encoding a polypeptide comprising an amino acid sequence with at least about 95% identity to the amino acid sequence of SEQ ID NO: 35 and flanked by AAV2 inverted terminal repeats (ITRs), and b) an AAV2 capsid protein

comprising an amino acid sequence LGETTRP (SEQ ID NO: 14) inserted between positions 587 and 588 of the capsid protein, wherein the amino acid residue numbering corresponds to an AAV2 VP1 capsid protein.

【指定代表圖】

圖1C

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

使用編碼阿柏西普(AFLIBERCEPT)之AAV2變異體治療眼睛新生血管性疾病的方法

【英文發明名稱】

METHODS OF TREATING OCULAR NEOVASCULAR DISEASES USING AAV2 VARIANTS ENCODING AFLIBERCEPT

【技術領域】

【0001】 本發明係關於用於治療個體中之眼睛新生血管性疾病及病症之方法，其包含向個體之眼部投與單一單位劑量之編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普(aflibercept))之重組腺相關病毒(rAAV)粒子。

【先前技術】

【0002】 年齡相關之黃斑變性(AMD)為一種影響黃斑之退化性眼睛疾病，黃斑為視網膜中心之負責閱讀及精細視力之光敏感性、小型區域。影響黃斑之病狀可降低中心視力，同時保留周邊視力不受損。在若干種情況下，疾病可引起中心失明。在美國人群中，AMD為65週歲及更高年齡之人員之視力損失之主要原因且估計在年齡超過40週歲之人員中，任何AMD之流行率為約6.5% (Klein等人, (2011) Arch Ophthalmol, 129(1):75-80)。新生血管性或滲出性或濕性AMD (nAMD、wAMD或nwAMD)為AMD之晚期形式。wAMD之標誌為脈絡膜新生血管(CNV)，其為視網膜中之來自下伏脈絡膜層之異常血管之浸潤，引起視網膜細胞損傷及中心失明。此異常血管生成過程由生長因子，特定言之，血管內皮生長因子(VEGF)調節。wAMD之護理標準為一種結合且螯合VEGF之分

子，諸如蘭比珠單抗(ranibizumab)(雷珠單抗(Lucentis))及阿柏西普(艾力雅(Eylea))。

【0003】 糖尿病性視網膜病變(DR)為糖尿病之主要併發症且為工作年齡群體中之視力損失之主要原因。DR可為非增生性(NPDR)，即不存在新血管生長，或增生性DR (PDR)，即視網膜或脈絡膜內存在新的異常血管生長。糖尿病性黃斑水腫(DME)為DR之併發症且為影響黃斑之眼睛疾病之另一實例。DME影響10%的患有糖尿病的人且係由黃斑中之液體積聚引起。DME為患有DR的人中最常見的視力損失原因。可用於治療DME之療法包括雷射及抗血管內皮生長因子(抗VEGF)藥物，諸如阿柏西普。

【0004】 阿柏西普為一種重組融合蛋白質，其充當血管內皮生長因子亞型A及B (VEGF-A及VEGF-B)以及胎盤生長因子(PGF)之誘餌受體。藉由與此等配位體結合，阿柏西普能夠阻止其結合於血管內皮生長因子受體(VEGFR)，即VEGFR-1及VEGFR-2，從而抑制新生血管及降低血管滲透性。阿柏西普由與IgG1之Fc片段融合之VEGFR-1之域2及VEGFR-2之域3組成。

【0005】 當前護理標準抗VEGF藥劑(諸如阿柏西普)需要每4至8週經由玻璃體內(IVT)注射來重新投藥，以實現最佳治療結果及保持視力。遵從此類方案對於患者、其照護者及醫療系統而言係繁重的，且大部分患者隨時間推移而不再遵從最佳方案，從而造成視力損失(Khanani AM等人)。此外，存在併發症，包括內眼炎、視網膜剝離、創傷性白內障及眼內壓(IOP)升高；此等併發症之風險可能隨重複IVT注射而升高(Falavarjani等人, (2013) Eye (Lond), 27(7):787-794)。

【0006】 因此，此項技術中需要用於眼睛新生血管性疾病(諸如

wAMD、DR或DME)之療法，其可有效降低副作用之風險且適於良好的長期患者順應性。

【發明內容】

【0007】 在一個態樣中，本文中提供一種用於治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法，該方法包含向個體之一隻眼睛投與約6×10^{11}個載體基因體(vg)或更低的單位劑量之重組腺相關病毒(rAAV)粒子，其中該個體為人類且其中該rAAV粒子包含：(a)編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及(b)AAV2衣殼蛋白質，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)或由該胺基酸序列LGETTRP組成，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，該方法包含減少個體之眼部中之視網膜液體。

【0008】 在另一態樣中，本文中提供一種用於減少患有眼睛新生血管性疾病之個體的眼部中之視網膜液體之方法，該方法包含向個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子，其中個體為人類且其中rAAV粒子包含：(a)編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及(b)AAV2衣殼蛋白質，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)或由該胺基酸序列LGETTRP組成，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，個體在單位劑量之rAAV粒子之給藥之前的約12週內已接受至少一次抗VEGF藥劑之治療。在一些實施例中，個體之一隻眼睛中之視網膜液體之量或存

在對使用抗VEGF藥劑之先前治療具有頑抗性。在一些實施例中，抗VEGF藥劑為阿柏西普。在一些實施例中，一隻眼睛中之視網膜液體減少至少約60%。在一些實施例中，與向個體投與rAAV之前的個體之一隻眼睛中的視網膜液體之含量相比，一隻眼睛中之視網膜液體減少約80%在一些實施例中，視網膜液體為視網膜下液體(SRF)或視網膜內液體(IRF)。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)或更低。

【0009】 在另一態樣中，本文中提供一種用於治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法，該方法包含：(a)向個體之一隻眼睛投與抗VEGF藥劑；及(b)在抗VEGF藥劑之給藥之後，向個體之一隻眼睛投與約6×10^{11}個載體基因體(vg)或更低的單位劑量之重組腺相關病毒(rAAV)粒子，其中個體為人類且其中rAAV粒子包含：(i)編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及(ii)AAV2衣殼蛋白質，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，該方法包含在抗VEGF藥劑之給藥之後約1週或約7天，向個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，該方法包含在抗VEGF藥劑之給藥之後約1週至約2週，向個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，該方法包含在抗VEGF藥劑之給藥之後約1天、約2天、約3天、約4天、約5天、約6天、約7天、約8天、約9天、約10天、約11天、約12天、約13天、約14天或約15天，向個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，該方法包含在第1天向個體之一隻眼睛

投與抗VEGF藥劑，且在第8天向個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，抗VEGF藥劑包含阿柏西普。在一些實施例中，藉由玻璃體內注射以約2 mg之劑量投與阿柏西普。在一些實施例中，該方法進一步包含投與局部類固醇治療。在一些實施例中，局部類固醇治療為二氟潑尼酯(difluprednate)治療。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥持續約四週，接著每天進行約三次局部類固醇投藥持續約一週，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥持續約一週且接著每天進行約一次局部類固醇投藥持續約一週；時序以抗VEGF藥劑之投藥為起始且遵循抗VEGF藥劑之投藥。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥持續約一個月，接著每天進行約三次局部類固醇投藥持續約一個月，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥持續約一個月及接著每天進行約一次局部類固醇投藥持續約一個月；時序以抗VEGF藥劑之投藥為起始且遵循抗VEGF藥劑之投藥。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥持續約一個月，接著每天進行約三次局部類固醇投藥持續約一個月，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥持續約一個月及接著每天進行約一次局部類固醇投藥持續約一個月；時序以rAAV粒子之投藥為起始且遵循rAAV粒子之投藥。在一些實施例中，局部類固醇包含約1 μg至約3 μg之劑量之0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，局部類固醇包含約2.5 μg之劑量之0.05%二氟潑尼酯。

【0010】在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}至約2×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約2×10^{11}或約6×10^{10}個載體基因體/眼

睛(vg/眼睛)。在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量在約6×10^{10}至約6×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)之間。在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量在約6×10^{10}至約2×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)之間。在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量在約2×10^{11}至約6×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)之間。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約2×10^{11}或約6×10^{10}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約2×10^{11}個vg/眼睛。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{11}個vg/眼睛。

【0011】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，個體在對側眼睛中具有眼睛新生血管性疾病之一或多種症狀。

【0012】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，本文中提供之方法進一步包含向個體之對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至多約2週進行。在一些實施例中，向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係與向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子在同一天進行；或向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約1天至約14天進行。在一些實施例中，與向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量相比，向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量包含相同或更少的載體基因體/眼睛(vg/眼睛)。在一些實施例中，向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至少約2週進行。在一些實施例中，與向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量相比，向個體之對側眼睛投與之

rAAV粒子之單位劑量包含更多的載體基因體/眼睛(vg/眼睛)。

【0013】在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，核酸包含SEQ ID NO:40之核酸序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【0014】在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，多肽包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列。在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，多肽包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列。在一些實施例中，多肽為阿柏西普。

【0015】在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，核酸進一步包含第一強化子區域、啟動子區域、5'UTR區域、第二強化子區域及聚腺苷酸化位點。在一些實施例中，以5'至3'順序，核酸包含：(a)第一強化子區域；(b)啟動子區域；(c)5'UTR區域；(d)核酸，其編碼包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列之多肽；(e)第二強化子區域；及(f)聚腺苷酸化位點；且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接。在一些實施例中，第一強化子區域包含CMV序列，該CMV序列包含SEQ ID NO:22之序列或與其具有至少85%一致性之序列。在一些實施例中，啟動子區域包含CMV序列，該CMV序列包含SEQ ID NO:23之序列或與其具有至少85%一致性之序列。在一些實施例中，編碼多肽之核酸包含SEQ ID NO:40之核酸序列或與其具有至少85%一致性之序列。在一些實施例中，多肽包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列或與其具有至少85%一致性之序列。在一些實施例中，多肽包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列或與其具有至少85%一致性之序列。在一些實施例中，多肽為阿柏西普。在一些實施例中，以5'至3'順序，5'UTR區域包含TPL序列及eMLP序列，該TPL序列包含SEQ ID NO:24之序列或與其具有至少85%一致性之序列

且該eMLP序列包含SEQ ID NO:25之序列或與其具有至少85%一致性之序列。在一些實施例中，第二強化子區域包含完全EES序列，該完全EES序列包含SEQ ID NO:26之序列或與其具有至少85%一致性之序列。在一些實施例中，聚腺苷酸化位點包含HGH聚腺苷酸化位點，其包含SEQ ID NO:27之序列或與其具有至少85%一致性之序列。在一些實施例中，核酸進一步包含(a)第一強化子區域，其包含CMV序列，該CMV序列包含SEQ ID NO:22之序列或與其具有至少85%一致性之序列；(b)啟動子區域，其包含CMV序列，該CMV序列包含SEQ ID NO:23之序列或與其具有至少85%一致性之序列；(c)5'UTR區域，以5'至3'順序，其包含TPL序列及eMLP序列，該TPL序列包含SEQ ID NO:24之序列或與其具有至少85%一致性之序列且該eMLP序列包含SEQ ID NO:25之序列或與其具有至少85%一致性之序列；(d)第二強化子區域，其包含完全EES序列，該完全EES序列包含SEQ ID NO:26之序列或與其具有至少85%一致性之序列；及(e)HGH聚腺苷酸化位點，其包含SEQ ID NO:27之序列或與其具有至少85%一致性之序列。在一些實施例中，核酸包含側接各元件之AAV ITR。

【0016】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，核酸包含SEQ ID NO:39之序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【0017】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2 VP1衣殼蛋白質，其包含GH環，該GH環包含SEQ ID NO:38之胺基酸序列或與SEQ ID NO:38具有至少90%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2 VP1衣殼蛋白質，其包含GH環，該GH環包含與SEQ ID NO:38具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少

99%或100%序列一致性中之任一者之胺基酸序列。

【0018】在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2 VP1衣殼蛋白質，其包含SEQ ID NO:37之胺基酸序列或與SEQ ID NO:37具有至少90%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2 VP1衣殼蛋白質，其包含與SEQ ID NO:37具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性中之任一者之胺基酸序列。

【0019】在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，AAV2衣殼蛋白質包含插入AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)或由該胺基酸序列LGETTRP組成，該AAV2 VP1包含SEQ ID NO:13之序列。在一些實施例中，AAV2衣殼蛋白質包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，AAV2衣殼蛋白質包含插入AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，該AAV2 VP1包含SEQ ID NO:13之序列。在一些實施例中，AAV2衣殼蛋白質包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，AAV2衣殼蛋白質包含插入AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，該AAV2 VP1包含SEQ ID NO:13之序列。

【0020】在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，向一隻眼睛

及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係藉由玻璃體內給藥來進行。

【0021】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，單位劑量之rAAV粒子係在醫藥調配物中。在一些實施例中，醫藥調配物包含rAAV粒子、氯化鈉、磷酸鈉及界面活性劑。在一些實施例中，醫藥調配物包含約150至約200 mM氯化鈉、約1至約10 mM磷酸二氫鈉、約1至約10 mM磷酸氫二鈉、約0.0005% (w/v)至約0.005% (w/v)泊洛沙姆(poloxamer)188及約6×10^{13}至約6×10^{10}個載體基因體(vg)/毫升(vg/mL)之rAAV粒子，其中醫藥調配物之pH值為約7.0至約7.5。在一些實施例中，醫藥調配物包含約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉、約6×10^{12}個vg/mL之rAAV粒子及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.3。在一些實施例中，醫藥調配物包含約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉、約2×10^{12}個vg/mL之rAAV粒子及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.3。在一些實施例中，醫藥調配物包含約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉、約6×10^{11}個vg/mL之rAAV粒子及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.3。

【0022】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量包含約25 μL至約250 μL之體積。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量包含約100 μL之體積。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量包含約30 μL之體積。在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，向一隻眼睛及/或對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量包含約25 μL至約250 μL之體積。在一些實施例中，向一隻眼睛及/或對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量包含約100 μL之體積。在一些實施例中，向一隻眼睛及/

或對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量包含約30 μL之體積。

【0023】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，個體接受用抗VEGF藥劑進行之針對眼睛新生血管性疾病之先前治療。在一些實施例中，在一隻眼睛及/或對側眼睛中之rAAV粒子之給藥之前，個體已在一隻眼睛及/或對側眼睛中接受1或2次抗VEGF藥劑之注射。在一些實施例中，個體尚未接受用抗VEGF藥劑進行之針對眼睛新生血管性疾病之先前治療。在一些實施例中，抗VEGF藥劑為阿柏西普。

【0024】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(AMD)、視網膜新生血管、脈絡膜新生血管糖尿病性視網膜病變、增生性糖尿病性視網膜病變、視網膜靜脈阻塞、中央視網膜靜脈阻塞、分支視網膜靜脈阻塞、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性視網膜局部缺血、缺血性視網膜病、糖尿病性視網膜水腫或其任何組合。

【0025】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，單位劑量之rAAV粒子係與類固醇治療組合投與。在一些實施例中，類固醇治療為皮質類固醇治療。在一些實施例中，類固醇治療為全身性類固醇治療。在一些實施例中，類固醇治療為口服類固醇治療。在一些實施例中，類固醇治療為潑尼松(prednisone)治療。在一些實施例中，口服潑尼松治療包含自在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前3天起始，每天投與約60 mg之劑量之潑尼松持續總共6天，接著投與約40毫克/天之劑量之潑尼松持續總共3天，接著投與約20毫克/天之劑量之潑尼松持續總共2天及接著投與約10毫克/天之劑量之潑尼松持續總共2天。在一些實施例中，類固醇治療為局部類固醇治療。在一些實施例中，類固醇治療為二氟

潑尼酯治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前、期間及/或之後投與類固醇。在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前、期間及/或之後投與類固醇。

【0026】在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，類固醇治療為局部類固醇治療且該局部類固醇治療為自投與單位劑量之rAAV粒子開始持續至多約4週、至多約6週或至多約8週之每天類固醇治療。在一些實施例中，局部類固醇治療包含在約第1週進行約四次局部類固醇投藥，在約第2週進行約三次局部類固醇投藥，在約第3週進行約兩次局部類固醇投藥及在約第4週進行約一次局部類固醇投藥；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥為起始且遵循單位劑量之rAAV粒子之投藥。在一些實施例中，局部類固醇治療包含在投與單位劑量之rAAV粒子之後，每天進行約四次局部類固醇投藥持續約3週，接著每天進行約3次局部類固醇投藥持續約1週，接著每天進行約2次局部類固醇投藥持續約1週及接著每天進行約1次局部類固醇投藥持續約1週。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥持續約四週，接著每天進行約三次局部類固醇投藥持續約一週，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥持續約一週且接著每天進行約一次局部類固醇投藥持續約一週；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥之前約一週為起始。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥持續約一個月，接著每天進行約三次局部類固醇投藥持續約一個月，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥持續約一個月及接著每天進行約一次局部類固醇投藥持續約一個月；時序大致以單位劑量之rAAV粒子之投藥為起始。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥持續約一個月，接著每天進行約三次局部類

固醇投藥持續約一個月，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥持續約一個月及接著每天進行約一次局部類固醇投藥持續約一個月；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥之前約一週為起始。在一些實施例中，局部類固醇包含約1 μg至約3 μg之劑量之0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，局部類固醇包含約2.5 μg之劑量之0.05%二氟潑尼酯。

【0027】 在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(wAMD)。

【0028】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起保持或降低視網膜厚度。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比的視網膜厚度之保持或降低係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週、約34週、約44週、約6個月、約1年、約1.5年、約2年、約3年、約5年、約10年或更長時間時呈現。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起視網膜厚度降低。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，視網膜厚度降低至少約10%。在一些實施例中，視網膜厚度為中心子區域厚度(CST)或中心視網膜厚度(CRT)。

【0029】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起保持或減小黃斑體積。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比的黃斑體積之保持或減

小係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週、約34週、約44週、約6個月、約1年、約1.5年、約2年、約3年、約5年、約10年或更長時間時呈現。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起黃斑體積減小。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，黃斑體積減小至少約10%。

【0030】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起保持或改良視力。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比的視力之保持或改良係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週、約34週、約44週、約6個月、約1年、約1.5年、約2年、約3年、約5年、約10年或更長時間時呈現。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起視力之改良。在一些實施例中，視力為最佳矯正視力(BCVA)。

【0031】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子可提供治療益處(例如治療眼睛新生血管性疾病、減少視網膜液體、保持或降低視網膜厚度、保持或減小黃斑體積及/或保持或改良視力)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子可提供治療益處，該治療益處在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週或更長時間、約34週或更長時間、約44週或更長時間、約6個月或更長時間、約1年或更長時間、約1.5年或更長時間或約2年、約3年、

約5年、約10年或更長時間時呈現。

【0032】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約50%的個體無需抗VEGF救援治療。在一些實施例中，該複數名個體中之至少約50%的個體在投與單位劑量之rAAV粒子之後至少約20週、至少約36週、至少約52週、至少約56週或更長時間無需抗VEGF救援治療。

【0033】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約67%的個體無需抗VEGF救援治療。在一些實施例中，該複數名個體中之至少約67%的個體在投與單位劑量之rAAV粒子之後至少約20週、至少約36週、至少約52週、至少約60週、至少約64週或至少約66週無需抗VEGF救援治療。

【0034】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約78%的個體無需抗VEGF救援治療。在一些實施例中，該複數名個體中之至少約78%的個體在投與單位劑量之rAAV粒子之後至少約20週、至少約36週或更長時間無需抗VEGF救援治療。

【0035】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之100%的個體無需抗VEGF救援治療。在一些實施例中，該複數名個體中之100%的個體在投與單位劑量之rAAV粒子之後至少約64週、至少約68週、至少約72週、至少約76週、至少約80週、至少約84週或更長時間

無需抗VEGF救援治療。

【0036】 在可與任何前述實施例組合之一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的按年計算之抗VEGF注射率相比，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起按年計算之抗VEGF注射率降低至少約80%、至少約85%、至少約87%、至少約90%、至少約95%、至少約99%或100%。

【0037】 在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為糖尿病性黃斑水腫(DME)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(Diabetic Retinopathy Severity Scale；DRSS)中之2步驟或3步驟改良。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(DRSS)中之2步驟改良。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(DRSS)中之3步驟改良。

以引用之方式併入

【0038】 本文中所引用之所有參考文獻，包括專利申請案及公開案以全文引用的方式併入本文中。

【圖式簡單說明】

【0039】 本發明之新穎特徵在隨附申請專利範圍中細緻闡述。將參考闡述利用本發明之原理之說明性實施例及其附圖的以下詳細描述來獲得對本發明之特徵及優勢的更好理解：

【0040】 **圖1A-1B**提供實例1及2中所描述之研究性藥品及第I階段研究之示意圖。**圖1A**為AAV2.7m8-阿柏西普之示意圖。AAV2.7m8-阿柏西

普為重組、複製缺陷型腺相關病毒(rAAV)載體，其含有AAV2.7m8蛋白質衣殼及載體基因體，該載體基因體含有處於廣泛嵌合啟動子(C11)控制下之阿柏西普cDNA之經密碼子最佳化之版本之表現卡匣。AAV2.7m8-阿柏西普載體基因體亦含有側接阿柏西普cDNA表現卡匣之兩個AAV2反向末端重複序列(ITR)。**圖1B**為概述實例1及2中所描述之第I階段研究之研究設計之圖表。

【0041】 **圖1C**提供AAV2.7m8-阿柏西普載體基因體(SEQ ID NO:39)之圖。載體基因體包含AAV血清型2之兩個反向末端重複序列(ITR)(在SEQ ID NO:39之位置1-145及3772-3916處)、包含CMV啟動子之表現卡匣(在SEQ ID NO:39之位置180-693處)、包含腺病毒三聯前導序列及合成內含子之5'非轉譯區(UTR)(在SEQ ID NO:39之位置694-1314)、Kozak序列(在SEQ ID NO:39之位置1329-1340處)、經密碼子最佳化之阿柏西普cDNA (在SEQ ID NO:39之位置1338-2714處)、包含人類骨架連接區域之3' UTR(在SEQ ID NO:39之位置2717-3527處)及人類生長激素聚腺苷酸化/轉錄終止信號(在SEQ ID NO:39之位置3546-3748處)。AAV=腺相關病毒；CMV=細胞巨大病毒；GH=生長激素；ITR=反向末端重複序列；polyA=聚腺苷酸化；SAR=骨架連接區域；TPL=三聯前導序列。

【0042】 **圖2A-2L**展示自實例1中所描述之研究之群組1中的個體獲得之光學同調斷層掃描(OCT)影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。在投與AAV2.7m8-阿柏西普(第1天)之前及之後的所指示之時間獲取OCT影像。指示所有個體之抗VEGF IVT治療間隔。**圖2A**提供在篩檢阿柏西普注射之前，在所指示之時間的五次診所訪視時自個體1獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。在即將用阿柏西普護理標準進行治療之前

獲取OCT影像。個體1每5-7週便需要阿柏西普IVT且儘管接受阿柏西普護理標準治療，但仍呈現頑抗性視網膜下液體及色素上皮脫離(PED)。**圖2B**提供在篩檢阿柏西普注射(第-7天)、AAV2.7m8-阿柏西普注射(第1天)及所指示之時間的隨訪時自個體1獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。個體1在AAV2.7m8-阿柏西普注射之後無需任何救援注射。個體1在第4週開始呈現視網膜下液體消退且保持無視網膜下及視網膜內液體(保持乾燥)。**圖2C**提供在篩檢阿柏西普注射之前，在所指示之時間的五次診所訪視時自個體2獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。在即將用阿柏西普護理標準進行治療之前獲取OCT影像。個體2在AAV2.7m8-阿柏西普治療之前的8個月需要六次阿柏西普IVT治療以保持視網膜解剖學。**圖2D**提供在篩檢阿柏西普注射(第-7天)、AAV2.7m8-阿柏西普注射(第1天)及所指示之時間的隨訪時自個體2獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。個體2在AAV2.7m8-阿柏西普注射之後無需任何救援注射。個體2呈現穩定的視網膜解剖學且無視網膜下或視網膜內液體直至第24週。**圖2E**提供在篩檢阿柏西普注射之前，在所指示之時間的四次診所訪視時自個體3獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。未展示在第-27週獲取之OCT影像。在即將用阿柏西普護理標準進行治療之前獲取OCT影像。個體3呈現視網膜下液體，該視網膜下液體在阿柏西普IVT之間的間隔自5週增加至7週時增加。**圖2F**提供在篩檢阿柏西普注射(第-7天)、AAV2.7m8-阿柏西普注射(第1天)及所指示之時間的隨訪時自個體3獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。個體3在AAV2.7m8-阿柏西普注射之後無需任何救援注射。個體3在第8週呈現頑抗性視網膜下液體之消退及穩定的視網膜解剖學直至第24週。**圖2G**提供

在篩檢阿柏西普注射之前，在所指示之時間的五次診所訪視時自個體4獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。在即將用0.5 mg蘭比珠單抗IVT護理標準進行治療之前獲取OCT影像。個體4呈現對蘭比珠單抗IVT注射具有頑抗性之視網膜下液體。**圖2H**提供在篩檢阿柏西普注射(第-14天)、AAV2.7m8-阿柏西普注射(第1天)及所指示之時間的隨訪時自個體4獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。個體4在AAV2.7m8-阿柏西普注射之後無需任何救援注射。個體4在第8週呈現頑抗性視網膜下液體之消退及穩定的視網膜解剖學直至第24週。**圖2I**提供在篩檢阿柏西普注射之前，在所指示之時間的五次診所訪視時自個體5獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。在即將用阿柏西普護理標準進行治療之前獲取OCT影像。**圖2J**提供在篩檢阿柏西普注射(第-14天)、AAV2.7m8-阿柏西普注射(第1天)及所指示之時間的隨訪時自個體5獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。個體5在AAV2.7m8-阿柏西普注射之後無需任何救援注射。在AAV2.7m8-阿柏西普治療時存在之視網膜下液體及PED隨時間而消退，且視網膜解剖學保持穩定且無視網膜下或視網膜內液體直至第24週。**圖2K**提供在篩檢阿柏西普注射之前，在所指示之時間的五次診所訪視時自個體6獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。如所指示，在即將用1.5 mg貝伐珠單抗(bevacizumab)IVT護理標準或0.5 mg蘭比珠單抗IVT護理標準進行治療之前獲取OCT影像。個體6之視網膜之外觀符合瘜肉狀脈絡膜血管病變(PCV)。圖**2L**提供在篩檢阿柏西普注射(第-10天)、AAV2.7m8-阿柏西普注射(第1天)及所指示之時間的隨訪時自個體6獲取之OCT影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。個體6在AAV2.7m8-阿柏西普注射之後無需任

何救援注射。個體6未呈現任何視網膜下液體之增加且實現一些解剖學改良直至第24週。在試驗過程期間，個體6之對側眼睛每4週一次接受護理標準阿柏西普注射且呈現與用AAV2.7m8-阿柏西普治療之眼睛類似的視網膜形態。

【0043】 **圖3**展示在所指示之時間點時，實例1中所描述之研究之群組1中的個體之平均中心視網膜厚度(CST)之變化。誤差條指示90%置信區間，使用T分佈計算。基線(BL)指示在第1天之AAV2.7m8-阿柏西普治療之前的7至15天(例如7-14天)進行之篩檢阿柏西普注射之前獲取之量測結果。在AAV2.7m8-阿柏西普治療後24週，個體之CRT之平均變化為-52.7 μm (90%CI -86.5，-18.8)。BL=基線；D=天；W=週。在基線訪視之後7-14天進行第1天訪視。

【0044】 **圖4**展示在所指示之時間點時，實例1中所描述之研究之群組1中的個體之基於早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)字母評估之平均最佳矯正視力(BCVA)量測結果。誤差條指示90%置信區間，使用T分佈計算。基線(BL)指示在第1天之AAV2.7m8-阿柏西普治療之前的7至15天(例如7-14天)進行之篩檢阿柏西普注射之前獲取之量測結果。在AAV2.7m8-阿柏西普治療後24週，個體之BCVA之平均變化為-2個字母(90%CI -9.1，5.1)。BL=基線；D=天；W=週。在基線訪視之後7-14天進行第1天訪視。

【0045】 **圖5**提供阿柏西普之核酸序列(SEQ ID NO:36)。

【0046】 圖6展示實例1中所描述之研究之個體1-6的在用AAV2.7m8-阿柏西普治療後之前房細胞及玻璃體細胞計數之曲線。在每條曲線下指示向每名患者投與之類固醇治療。房水細胞計數類別係基於葡

葡膜炎命名標準(Standardization of Uveitis Nomenclature；SUN)準則(Jabs, DA等人, J Ophthalmol. 2005;140:509-516)。玻璃體細胞計數類別係基於國立衛生研究院(National Institutes of Health；NIH)指南。對於房水細胞，細胞計數值為0.5+指示1-5個細胞；細胞計數值為1+指示6-15個細胞；細胞計數值為2+指示16-25個細胞；細胞計數值為3+指示26-50個細胞；且細胞計數值為4+指示>50個細胞。對於玻璃體細胞，細胞計數值為0.5+指示1-10個細胞；細胞計數值為1+指示11-20個細胞；細胞計數值為2+指示21-30個細胞；細胞計數值為3+指示31-100個細胞；且細胞計數值為4+指示>100個細胞。對於此圖中展示之分析，所捕獲之稀有細胞為0.5+。

【0047】 **圖7A-7B**展示在34週之中值隨訪時間時，自實例1中所描述之研究之群組1中的個體1-6獲取之光學同調斷層掃描(OCT)影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。此外，亦提供個體1-6中之每一者的BCVA之自基線之變化、在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前8個月內的抗VEGF IVT注射之次數及在研究期間投與之救援抗VEGF IVT注射之次數。指示每名個體之獲得OCT影像及視網膜厚度圖之實際週數(個體1=第44週；個體2=第40週；個體3=第36週；個體4=第32週；個體5=第28週；及個體6=第28週)。所有個體在研究期間皆不需要救援抗VEGF IVT注射且在直至第44週之隨訪期期間的任何點皆不符合再治療準則。所有個體在OCT成像時皆未呈現疾病重新活化之跡象。

【0048】 **圖8**展示直至第44週之中值隨訪時間(40-52週)，實例1中所描述之研究之群組1中的個體1-6之在AAV2.7m8-阿柏西普治療後的房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線。在每條曲線下指示向每名個體投與之類固

醇治療。房水細胞等級類別係基於葡萄膜炎命名標準(SUN)準則(Jabs, DA等人 J Ophthalmol. 2005; 140:509-516)。玻璃體細胞等級類別係基於國立衛生研究院(NIH)指南。對於房水細胞，細胞等級為0.5+指示1-5個細胞；細胞等級為1+指示6-15個細胞；細胞等級為2+指示16-25個細胞；細胞等級為3+指示26-50個細胞；且細胞等級為4+指示>50個細胞。對於玻璃體細胞，細胞等級為0.5+指示1-10個細胞；細胞等級為1+指示11-20個細胞；細胞等級為2+指示21-30個細胞；細胞等級為3+指示31-100個細胞；且細胞等級為4+指示>100個細胞。所捕獲之稀有細胞之細胞等級為0.5+。

【0049】 **圖9A-9B**展示在44週之中值隨訪時間時，自實例1中所描述之研究之群組1中的個體1-6獲取之光學同調斷層掃描(OCT)影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。亦提供BCVA ETDRS字母及CST之自基線之變化。指示每名個體之獲得OCT影像及視網膜厚度圖之實際週數。星號指示個體4經歷用氣泡注射進行之視網膜剝離修復，以修復自發性人工晶狀體性累及下黃斑孔源性視網膜剝離(RRD)(**圖9B**)。個體4保持隨訪；個體4之OCT影像及BCVA值對應於視網膜剝離之前的最後一次觀測結果。

【0050】 **圖10**展示在所指示之時間點時，實例2及3中所描述之研究之群組2中的個體之基於早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)字母評估之平均最佳矯正視力(BCVA)量測結果。誤差條指示使用T分佈計算之平均絕對BCVA之90%置信區間。基線(BL)指示在第1天之AAV2.7m8-阿柏西普治療之前的7至15天(例如7-14天)進行之篩檢阿柏西普注射之前獲取之量測結果。在AAV2.7m8-阿柏西普治療後24週，個體之BCVA之平均變化為-4.8個字母。BL=基線；D=天；W=週。在基線訪視之後7-15天

進行第1天訪視。

【0051】 **圖11**展示在所指示之時間點時，實例2及3中所描述之研究之群組2中的個體之平均中心視網膜厚度(CST)。誤差條指示使用T分佈計算之平均絕對CST之90%置信區間。基線(BL)指示在第1天之AAV2.7m8-阿柏西普治療之前的7至15天(例如7-14天)進行之篩檢阿柏西普注射之前獲取之量測結果。在AAV2.7m8-阿柏西普治療後24週，個體之CST之平均變化為-27.8 μm。BL=基線；D=天；W=週。在基線訪視之後7-15天進行第1天訪視。

【0052】 **圖12**展示直至24週之隨訪時間，實例2及3中所描述之研究之群組2中的個體在AAV2.7m8-阿柏西普治療後的房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線。在每條曲線下指示向每名個體投與之類固醇治療；指示局部類固醇(二氟潑尼酯)滴眼劑投藥頻率(例如1x=每天一次；2x=每天兩次；3x=每天3次；4x=每天4次)。房水細胞等級類別係基於葡萄膜炎命名標準(SUN)準則(Jabs, DA等人 J Ophthalmol. 2005; 140:509-516)。玻璃體細胞等級類別係基於國立衛生研究院(NIH)指南。對於房水細胞，細胞等級為0.5+指示1-5個細胞；細胞等級為1+指示6-15個細胞；細胞等級為2+指示16-25個細胞；細胞等級為3+指示26-50個細胞；且細胞等級為4+指示>50個細胞。對於玻璃體細胞，細胞等級為0.5+指示1-10個細胞；細胞等級為1+指示11-20個細胞；細胞等級為2+指示21-30個細胞；細胞等級為3+指示31-100個細胞；且細胞等級為4+指示>100個細胞。對於此分析，所捕獲之稀有細胞之細胞等級為0.5+。

【0053】 **圖13A-13B**展示直至24週之隨訪時間，自實例2及3中所描述之研究之群組2中的個體1-6獲取之光學同調斷層掃描(OCT)影像及來源

於OCT影像之視網膜厚度圖。亦提供BCVA之自基線之變化、CST之自基線之變化及在24週隨訪週期期間投與之救援抗VEGF注射之次數。在**圖13A**中，星號指示個體3接受3次救援抗VEGF注射，包括在第24週，皆歸因於BCVA之自基線之降低≥10個字母。此係歸因於視網膜內或視網膜下液體。在**圖13B**中，星號指示個體5接受3次救援抗VEGF注射，最後一次注射係在第20週進行，歸因於中心子區域厚度之自基線之增加>75 μm。

【0054】 **圖14**為泳道圖，其展示實例1-3中所描述之研究之群組1及2中的個體之抗VEGF注射之次數。x軸表示與AAV2.7m8-阿柏西普投藥時間相關之時間(週)。y軸展示群組1及2中之每名個體。圓形表示在AAV2.7m8-阿柏西普治療之前及之後投與的抗VEGF IVT注射。星號指示群組2之個體6在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前6.4個月被診斷患有nAMD。將圖等分之豎線指示第1天，此時投與AAV2.7m8-阿柏西普。等分豎線之右側為後續61次研究訪視中之每一者。

【0055】 **圖15A-15C**展示實例1-5中所描述之研究之群組1、2及3中的個體在AAV2.7m8-阿柏西普治療後之房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線，如藉由裂隙燈檢查所量測。**圖15A**展示直至64週之隨訪時間(中值=60週；範圍=52-64週)，群組1中之個體之房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線。**圖15B**展示直至40週之隨訪時間(中值=36週；範圍=32-40週)，群組2中之個體之房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線。**圖15C**展示直至20週之隨訪時間，群組3中之個體之房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線。在**圖15A-15C**中，在每條曲線下指示向每名個體投與之類固醇治療；房水細胞等級類別係基於葡萄膜炎命名標準(SUN)準則：Jabs DA等人, J Ophthalmol 2005;140:509-516；玻璃體細胞等級類別係基於國立衛生研究院(NIH)指

南；房水細胞：0.5+=1-5個細胞；1+=6-15個細胞；2+=16-25個細胞；3+=26-50個細胞；4+=>50個細胞；玻璃體細胞：0.5+=1-10個細胞；1+=11-20個細胞；2+=21-30個細胞；3+=31-100個細胞；4+=>100個細胞；對於此分析，所捕獲之稀有細胞為0.5+。QID=每天四次；TID=每天三次；BID=每天兩次；QD=每天一次；QOD=每隔一天一次；「QD>>」指示個體每天一次繼續接受局部類固醇；「BID>>」指示個體每天兩次繼續接受局部類固醇；且「QID>>」指示個體每天四次繼續接受局部類固醇。

【0056】 **圖16A-16B**提供自基線至第52週，實例1-5中所描述之研究之群組1中的個體(n=6)之平均BCVA及平均CST。**圖16A**展示自基線至第52週之平均BCVA (ETDRS字母)。星號指示一名個體由於視網膜剝離而在第44及48週具有低BCVA評分。**圖16B**展示自基線至第52週之平均CST (μm)。星號指示一名個體由於視網膜剝離而在第44及48週不具有CST資料。在**圖16A-16B**中，誤差條指示使用T分佈之平均絕對BCVA及CST值之90%信賴區間；BL=基線；D=天；W=週。

【0057】 **圖17A-17B**提供自基線至第36週，實例1-5中所描述之研究之群組2中的個體(n=6)之平均BCVA及平均CST。**圖17A**展示自基線至第36週之平均BCVA (ETDRS字母)。**圖17B**展示自基線至第36週之平均CST (μm)。在**圖17A-17B**中，誤差條指示使用T分佈之平均絕對BCVA及CST值之90%信賴區間；BL=基線；D=天；W=週；一名個體未進行第36週訪視。

【0058】 **圖18A-18B**提供自基線至第20週，實例1-5中所描述之研究之群組3中的五名個體之平均BCVA及平均CST。**圖18A**展示自基線至第

20週之平均BCVA (ETDRS字母)。**圖18B**展示自基線至第20週之平均CST (μm)。在**圖18A-18B**中，誤差條指示使用T分佈之平均絕對BCVA及CST值之90%信賴區間；BL=基線；D=天；W=週；一名個體未進行第36週訪視。

【0059】 **圖19**為泳道圖，其展示向實例1-5中所描述之研究之群組1、2及3中的個體投與之抗VEGF注射之次數。x軸表示與AAV2.7m8-阿柏西普投藥時間相關之時間(週)。y軸展示群組1-3中之每名個體。圓形表示在AAV2.7m8-阿柏西普治療之前及之後投與的抗VEGF IVT注射。將圖等分之豎線指示第1天，此時投與AAV2.7m8-阿柏西普。等分豎線之右側為後續研究訪視中之每一者。

【0060】 **圖20A-20B**展示在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前及之後的所指示之時間，自實例1-5中所描述之研究之群組1中的個體4獲取之光學同調斷層掃描(OCT)影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。**圖20A**展示在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前的所指示之時間(週)，群組1中之個體4之OCT影像及視網膜厚度圖，在此期間，向個體投與抗VEGF IVT注射(蘭比珠單抗)。**圖20B**展示在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前及之後的所指示之時間(週)，群組1中之個體4之OCT影像及視網膜厚度圖。指示篩檢抗VEGF IVT注射(「篩檢抗VEGF IVT」)及AAV2.7m8-阿柏西普(「AAV2.7m8-阿柏西普」)之投藥時間。提供在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前及之後的每個所指示之時間的BCVA (ETDRS字母)及CST (μm)。星號指示個體具有與AAV2.7m8-阿柏西普無關的視網膜剝離事件。

【0061】 **圖21A-21B**展示在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前及之後的所指示之時間，自實例1-5中所描述之研究之群組3中的個體5獲取之光學

同調斷層掃描(OCT)影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。**圖21A**展示在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前的所指示之時間(週)，群組3中之個體5之OCT影像及視網膜厚度圖，在此期間，向個體投與抗VEGF IVT注射(阿柏西普)。**圖21B**展示在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前及之後的所指示之時間(週)，群組3中之個體5之OCT影像及視網膜厚度圖。指示篩檢抗VEGF IVT注射(「篩檢抗VEGF IVT」)及AAV2.7m8-阿柏西普(「AAV2.7m8-阿柏西普」)之投藥時間。提供在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前及之後的每個所指示之時間的BCVA (ETDRS字母)及CST (μm)。

【0062】 **圖22A-22D**展示實例1-5及7中所描述之研究之群組1、2、3及4中的個體在AAV2.7m8-阿柏西普治療後的房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線，如藉由裂隙燈檢查所量測。**圖22A**展示直至80週之隨訪時間，群組1中之個體之房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線。**圖22B**展示直至56週之隨訪時間，群組2中之個體之房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線。**圖22C**展示直至36週之隨訪時間，群組3中之個體之房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線。**圖22D**展示直至8週之隨訪時間，群組4中之個體之房水細胞及玻璃體細胞計數之曲線。在**圖22A-22D**中，在每條曲線下指示向每名個體投與之類固醇治療；房水細胞等級類別係基於葡萄膜炎命名標準(SUN)準則：Jabs DA等人, J Ophthalmol 2005;140:509-516；玻璃體細胞等級類別係基於國立衛生研究院(NIH)指南；房水細胞：0.5+=1-5個細胞；1+=6-15個細胞；2+=16-25個細胞；3+=26-50個細胞；4+=>50個細胞；玻璃體細胞：0.5+=1-10個細胞；1+=11-20個細胞；2+=21-30個細胞；3+=31-100個細胞；4+=>100個細胞；對於此分析，所捕獲之稀有細胞為0.5+。QID=每天四次；TID=每天三次；BID=每天兩次；QD=每天一

次；QOD=每隔一天一次；「QD>>」指示個體每天一次繼續接受局部類固醇；「BID>>」指示個體每天兩次繼續接受局部類固醇；「TID>>」指示個體每天三次繼續接受局部類固醇；且「QID>>」指示個體每天四次繼續接受局部類固醇。

【0063】 **圖23A-23B**提供自基線至第72週，實例1-5及7中所描述之研究之群組1中的個體(n=6)之平均BCVA及平均CST。圖**23A**展示自基線至第72週之平均BCVA (ETDRS字母)。一名個體由於視網膜剝離而在第44及48週具有低BCVA評分。*自第56週至第72週，n=5。圖**23B**展示自基線至第72週之平均CST (μm)。一名個體由於視網膜剝離而在第44及48週不具有CST資料。*自第56週至第72週，n=5。在**圖23A-23B**中，誤差條指示使用T分佈之平均絕對BCVA及CST值之90%信賴區間；BL=基線；D=天；W=週。

【0064】 **圖24A-24B**提供自基線至第52週，實例1-5及7中所描述之研究之群組2中的個體(n=6)之平均BCVA及平均CST。**圖24A**展示自基線至第52週之平均BCVA (ETDRS字母)。*對於第36週及第40週，n=5。**圖24B**展示自基線至第52週之平均CST (μm)。*對於第36週及第40週，n=5。在**圖24A-24B**中，誤差條指示使用T分佈之平均絕對BCVA及CST值之90%信賴區間；BL=基線；D=天；W=週。

【0065】 **圖25A-25B**提供自基線至第20週，實例1-5及7中所描述之研究之群組3中的個體(n=9)之平均BCVA及平均CST。**圖25A**展示自基線至第20週之平均BCVA (ETDRS字母)。*對於第4、16及20週，n=8。**圖25B**展示自基線至第20週之平均CST (μm)。*對於第4、16及20週，n=8。在**圖25A-25B**中，誤差條指示使用T分佈之平均絕對BCVA及CST值之

90%信賴區間；BL=基線；D=天；W=週。

【0066】 **圖26**為泳道圖，其展示向實例1-5及7中所描述之研究之群組1、2、3及4中的個體投與之抗VEGF注射之次數。x軸表示與AAV2.7m8-阿柏西普投藥時間相關之時間(週)。y軸展示群組1-4中之每名個體。圓形表示在AAV2.7m8-阿柏西普治療之前及之後投與的抗VEGF IVT注射。將圖等分之豎線指示第1天，此時投與AAV2.7m8-阿柏西普。等分豎線之右側為後續研究訪視中之每一者。五名個體在AAV2.7m8-阿柏西普注射之前<1年被診斷(群組2及3中之每一者中的1名個體，及群組4中之3名個體)。在群組4中，個體2 (由於重新定位)及個體5 (因為該個體在診斷之後參與用未知的藥物進行之臨床試驗)之第1天之前的資料係不完全的。

【0067】 **圖27A-27B**展示實例1-5及7中所描述之研究之群組1-3中的個體之平均按年計算之抗VEGF注射率。**圖27A**提供群組1中之個體(投與「高劑量」之6×10^{11}個vg/眼睛；n=6)與群組2及3中之個體(投與「低劑量」之2×10^{11}個vg/眼睛；n=15)之平均按年計算之抗VEGF注射率之比較。**圖27B**提供群組1 (n=6)、2 (n=6)及3 (n=9)中之每一者中的個體之平均按年計算之抗VEGF注射率之比較。在**圖27A-27B**中，按年計算之注射率(治療前)=(在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前的12個月內的抗VEGF IVT注射之次數)/(自在過去的12個月內的第一次抗VEGF IVT注射至AAV2.7m8-阿柏西普注射之天數/365.25)；及按年計算之注射率(治療後)=(自投與AAV2.7m8-阿柏西普開始之抗VEGF IVT注射之次數)/(自開始投與AAV2.7m8-阿柏西普至最後一次研究隨訪之天數/365.25)。

【0068】 **圖28A-28B**展示在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前及之後的

所指示之時間，自實例1-5及7中所描述之研究之群組3中的個體5獲取之光學同調斷層掃描(OCT)影像及來源於OCT影像之視網膜厚度圖。**圖28A**展示在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前的所指示之時間(週)，群組3中之個體5之OCT影像及視網膜厚度圖，在此期間，向個體投與抗VEGF IVT注射(阿柏西普)。**圖28B**展示在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前及之後的所指示之時間(週)，群組3中之個體5之OCT影像及視網膜厚度圖。指示篩檢抗VEGF IVT注射(「阿柏西普IVT」)及AAV2.7m8-阿柏西普之投藥時間。提供在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前及之後的每個所指示之時間的BCVA (ETDRS字母)及CST (μm)。

【0069】 **圖29**展示實例6中所描述之研究之設計之圖，該研究評估患有糖尿病性黃斑水腫(DME)之個體中AAV2.7m8-阿柏西普之單次玻璃體內(IVT)注射之耐久性。DRSS=糖尿病性視網膜病變嚴重程度評分；OCT=光學同調斷層掃描；CST=中心子區域厚度。*所有個體接受二氟潑尼酯滴眼劑持續7週時間，以QID開始且降低至QD。**PE=主要終點評估。***EOS=研究終止評估。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0070】 本申請案主張2019年9月11日提交之美國臨時專利申請案第62/899,070號、2019年10月10日提交之美國臨時專利申請案第62/913,648號、2020年1月10日提交之美國臨時專利申請案第62/959,784號、2020年2月7日提交之美國臨時專利申請案第62/971,835號、2020年5月1日提交之美國臨時專利申請案第63/019,190號、2020年5月27日提交之美國臨時專利申請案第63/030,819號及2020年8月7日提交之美國臨時專

利申請案第63/063,203號之權利，其揭示內容各自以全文引用之方式併入本文中。

【0071】 下文參考實例應用來描述若干態樣以進行說明。應理解，闡述許多特定細節、關係及方法以提供對本文中所描述之特徵的充分理解。然而，相關領域中之一般熟習此項技術者將易於認識到，可在不存在特定細節中之一或多者的情況下或藉由其他方法來實踐本文中所描述之特徵。本文中所描述之特徵不受所說明之動作或事件之順序限制，因為一些動作可以不同的順序發生及/或與其他動作或事件同時發生。此外，無需所有所說明之動作或事件便可實施根據本文中所描述之特徵的方法。

定義

【0072】 除非另外定義，否則本文中所用之所有技術術語皆具有與一般熟習此項技術者通常所理解相同之含義。

【0073】 本文中所使用之術語僅出於描述特定實例之目的且不意欲為限制性的。如本文中所使用，除非上下文另外清楚地指示，否則單數形式「一」及「所述」意欲亦包括複數形式。此外，就詳細說明及/或申請專利範圍中使用的術語「包括(including)」、「包括(includes)」、「具有(having)」、「具有(has)」、「具有(with)」或其變化形式而言，此類術語意欲以類似於術語「包含」之方式為包括性的。如本文中所使用之術語「包含」與「包括」或「含有」同義，且為包括性或開放性的。

【0074】 除非另外陳述，否則本文中對「或」之任何參考皆意欲涵蓋「及/或」。如本文中所使用，術語「約」某數字係指該數字加上或減去該數字之10%。術語「約」某範圍係指該範圍減去其最低值之10%及加上其最大值之10%。在本文中，對「約」一個值或參數之參考包括(及描述)

針對該值或參數本身之實施例。

【0075】 術語「個體」、「患者」或「受試者」係指靈長類動物，諸如人類及非人類靈長類動物，例如非洲綠猴(African green monkey)及恆河猴(rhesus monkey)。在一些實施例中，個體為人類。

【0076】 如本文中所使用，術語「治療(treat/treating/treatment)」、「改善(ameliorate/ameliorating)」及其他語法等效物係指緩解、緩和或改善眼睛新生血管性疾病或病症或眼睛新生血管性疾病或病症之症狀；預防眼睛新生血管性疾病或病症之其他症狀；改善或預防症狀之潛在代謝起因；抑制眼睛新生血管性疾病或病症，例如遏制眼睛新生血管性疾病或病症之發展；緩解眼睛新生血管性疾病或病症；引起眼睛新生血管性疾病或病症之消退；或終止眼睛新生血管性疾病或病症之症狀，且意欲包括預防。該等術語進一步包括實現治療效益及/或預防效益。術語「治療效益」係指根除或改善所治療之眼睛新生血管性疾病或病症。又，藉由根除或改善與眼睛新生血管性疾病或病症相關聯之一或多種生理學症狀，使得在個體中觀測到改良來實現治療益處，儘管在一些實施例中，個體仍罹患眼睛新生血管性疾病或病症。對於預防效益，即使尚未進行疾病或病症之診斷，但仍向具有產生眼睛新生血管性疾病或病症之風險之個體或報導眼睛新生血管性疾病或病症之一或多種生理學症狀之個體投與醫藥組合物。

【0077】 如本文中所使用，術語「投與(administer/administering)」、「投藥」及其類似術語可指用於使得能夠將治療劑或醫藥組合物遞送至所需生物學作用之位點之方法。此等方法包括對眼睛進行玻璃體內或視網膜下注射。

【0078】 如本文中所使用之術語「有效量」、「治療有效量」或「醫

藥學上有效量」可指足夠量之至少一種所投與之醫藥組合物或化合物，其將在一定程度上緩解所治療之眼睛疾病或病症之一或多種症狀。醫藥組合物之「有效量」、「治療有效量」或「醫藥學上有效量」可以單位劑量向有需要之個體投與(如本文中其他地方進一步詳細描述)。

【0079】 如本文中所使用之術語「醫藥學上可接受」可指不會消除本文中所揭示之化合物之生物活性或特性且相對無毒之材料，諸如載劑或稀釋劑(亦即，將該材料投與個體時不會引起不合需要之生物作用或不會以有害方式與含有其之組合物之組分中之任一者相互作用)。

【0080】 如本文中所使用，術語「醫藥組合物」或簡言之，「組合物」可指生物活性化合物，其視情況與至少一種醫藥學上可接受之化學組分混合，諸如(但不限於)載劑、穩定劑、稀釋劑、分散劑、懸浮劑、增稠劑、賦形劑及其類似物。

【0081】 如本文中所使用之「AAV載體」或「rAAV載體」係指腺相關病毒(AAV)載體或重組AAV (rAAV)載體，該重組AAV (rAAV)載體包含不屬於AAV來源之聚核苷酸序列(例如與AAV異源之聚核苷酸，諸如編碼治療性轉基因(例如阿柏西普(aflibercept))之核酸序列)以轉導至目標細胞或目標組織中。通常，異源聚核苷酸由至少一個且通常兩個AAV反向末端重複序列(ITR)側接。術語rAAV載體涵蓋rAAV載體粒子及rAAV載體質體兩者。rAAV載體可為單股的(ssAAV)或自補的(scAAV)。

【0082】 「AAV病毒」或「AAV病毒粒子」或「rAAV載體粒子」或「rAAV粒子」係指包含至少一個AAV衣殼蛋白質及聚核苷酸rAAV載體之病毒粒子。在一些情況下，至少一個AAV衣殼蛋白質係來自野生型AAV或為變異型AAV衣殼蛋白質(例如具有插入(例如下文所闡述之7m8胺

基序列之插入)之AAV衣殼蛋白質)。若粒子包含異源聚核苷酸(例如除野生型AAV基因體以外的聚核苷酸，諸如待遞送至目標細胞或目標組織之轉基因)，則其稱為「rAAV粒子」、「rAAV載體粒子」或「rAAV載體」。因此，rAAV粒子之產生必須包括rAAV載體(如包含於rAAV粒子內之此類載體)之產生。

【0083】 如本文中所使用之術語「封裝」可指一系列可引起rAAV粒子之組裝及衣殼化之細胞內事件。

【0084】 AAV「rep」及「cap」基因係指編碼腺相關病毒之複製及衣殼化蛋白質之聚核苷酸序列。AAV rep及cap在本文中稱為AAV「封裝基因」。

【0085】 術語「多肽」可涵蓋天然存在及非天然存在之蛋白質(例如融合蛋白質)、肽、片段、突變體、衍生物及其類似物。多肽可為單體、二聚、三聚或聚合的。此外，多肽可包含多個不同的域，其中每一者具有一或多種不同活性。為免生疑問，「多肽」可為任何大於兩個胺基酸之長度。

【0086】 如本文中所使用，「多肽變異體」或簡言之，「變異體」係指具有含有胺基酸修飾之序列之多肽。在一些實施例中，修飾為與參考蛋白質或多肽(諸如原生或野生型蛋白質)之胺基酸序列相比，一或多個胺基酸之插入、複製、缺失、重排或取代。變異體可具有參考蛋白質之序列中之一或多個胺基酸點取代(其中一個位置處之單個胺基酸已變成另一胺基酸)、一或多個插入及/或缺失(其中分別插入或刪除一或多個胺基酸)，及/或具有胺基或羧基端或其兩者處之胺基酸序列之截短。與參考蛋白質或未經修飾之蛋白質相比，變異體可具有相同或不同的生物活性。

【0087】 在一些實施例中，變異體可與其對應參考蛋白質具有例如至少約80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%整體序列同源性。在一些實施例中，變異體可與野生型蛋白質具有至少約90%整體序列同源性。在一些實施例中，變異體呈現至少約95%、至少約98%、至少約99%、至少約99.5%或至少約99.9%整體序列一致性。

【0088】 如本文中所使用，「重組」可指滿足以下條件之生物分子(例如基因或蛋白質)：(1)已自其天然存在之環境中移出，(2)不與自然界中所發現之包含該基因之聚核苷酸之全部或一部分相關聯，(3)以可操作的方式連接至其在自然界中未連接之聚核苷酸，或(4)不存在於自然界中。術語「重組」可參考經選殖之DNA分離物、以化學方式合成之聚核苷酸類似物或藉由異源系統以生物方式合成之聚核苷酸類似物以及由此類核酸編碼之蛋白質及/或mRNA使用。因此，舉例而言，由微生物合成之蛋白質為重組的，例如若其由細胞中所存在之重組基因合成之mRNA合成。

【0089】 術語「抗VEGF藥劑」包括任何可降低、干擾、破壞、阻斷及/或抑制內源性VEGF及/或內源性VEGF受體(VEGFR)之活性或功能或VEGF-VEGFR相互相用或活體內路徑之治療劑，包括蛋白質、多肽、肽、融合蛋白質、多聚蛋白質、基因產物、抗體、人類單株抗體、抗體片段、適體、小分子、激酶抑制劑、受體或受體片段或核酸分子。抗VEGF藥劑可任一種已知的在活體內遞送至細胞、組織或個體時可減少新血管生長或形成及/或水腫或腫脹之治療劑，例如蘭比珠單抗、布羅珠單抗(brolucizumab)或貝伐珠單抗(bevacizumab)。在一些實施例中，抗VEGF

藥劑可為天然存在、非天然存在或合成的。在一些實施例中，抗VEGF藥劑可來源於天然存在之分子，該天然存在之分子接著經修飾或突變以具有抗VEGF活性。在一些實施例中，抗VEGF藥劑為融合或嵌合蛋白質。在此類蛋白質中，功能域或多肽人工地與一個部分或多肽融合以製備可在活體內螯合VEGF或充當VEGFR誘餌之融合或嵌合蛋白質。在一些實施例中，抗VEGF藥劑為阻斷內源性VEGFR與其配位體相互作用之融合或嵌合蛋白質。

【0090】如本文中所使用，「VEGF」可指VEGF之任何同功異型物，除非另有要求，否則包括(但不限於)VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F或其任何組合或任何功能性片段或變異體。除非另有要求，否則「VEGF」可指VEGF家族之任何成員，包括以下成員：VEGF-A、胎盤生長因子(PGF)、VEGF-B、VEGF-C及VEGF-D或其任何組合、功能性片段或變異體。如本文中所使用，「VEGF受體」或「VEGFR」或「VEGF-R」可用於指VEGF之受體中之任一者，包括(但不限於)VEGFR-1（或Flt-1)、VEGFR-2（或Flk-1/KDR)及VEGFR-3(或Flt-4)。VEGFR可為膜結合或可溶形式，或受體之功能性片段或截短形式。抗VEGF藥劑之實例包括(但不限於)蘭比珠單抗、貝伐珠單抗、布羅珠單抗或其任何組合、變異體或功能性片段。

【0091】「以可操作的方式連接」或「可操作地連接」或「偶合」可指遺傳元件之併接，其中該等元件呈允許其以預期方式操作之關係。舉例而言，若啟動子有助於起始編碼序列之轉錄，則該啟動子可以可操作的方式連接至編碼區。在啟動子與編碼區之間可存在介入殘基，只要維持此功能關係即可。

【0092】術語「表現載體」或「表現構築體」或「卡匣」或「質體」或簡言之，「載體」可包括任何類型的含有編碼基因產物之核酸或聚核苷酸之基因構築體，包括AAV或rAAV載體，該基因產物中之一部分或所有核酸編碼序列能夠經轉錄及經調適以用於基因療法。轉錄物可轉譯成蛋白質。在一些實施例中，轉錄物經部分轉譯或未經轉譯。在某些態樣中，表現包括基因之轉錄及mRNA轉譯成基因產物。在其他態樣中，表現僅包括相關核酸編碼基因之轉錄。表現載體亦可包含以可操作的方式連接至編碼區以促進目標細胞中蛋白質之表現之控制元件。控制元件與其可操作地連接以用於表現之基因之組合有時可稱為「表現卡匣」，已知且在此項技術中可獲得多種表現卡匣或可由此項技術中可用的組分容易地構築。

【0093】術語「異源」可指在基因型方面與其所比較之實體之其餘部分不同之實體。舉例而言，藉由基因工程改造技術引入來源於不同物種之質體或載體中的聚核苷酸可為異源聚核苷酸。自原生編碼序列移出且以可操作的方式連接至其未天然連接之編碼序列之啟動子可為異源啟動子。

【0094】如本文中所使用，「7m8」係指胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)。

【0095】「7m8變異體」係指一種rAAV，其可具有任何血清型，其中胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)插入衣殼蛋白質之暴露於溶劑之GH環中。

【0096】當7m8插入rAAV2中時(亦稱為AAV2.7m8)，胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)係插入AAV2衣殼蛋白質之胺基酸570-611內的GH環中，例如在AAV2衣殼蛋白質VP1之位置587與588之間。在一些情況下，當7m8插入rAAV2中時(亦稱為AAV2.7m8)，胺基酸序列

LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)係插入AAV2衣殼蛋白質之GH環中，例如在包含SEQ ID NO:13之序列之AAV2 VP1之位置587與588之間。當7m8插入rAAV1中時(亦稱為AAV1.7m8)，胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)係插入AAV1衣殼蛋白質之胺基酸571-612內之GH環中，例如在AAV1衣殼蛋白質之胺基酸590與591之間。當7m8插入rAAV5中時(亦稱為AAV5.7m8)，胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)係插入AAV5衣殼蛋白質之胺基酸560-601內之GH環中，例如在AAV5衣殼蛋白質之胺基酸575與576之間。當7m8插入rAAV6中時(亦稱為AAV6.7m8)，胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)係插入AAV6衣殼蛋白質之胺基酸571至612內之GH環中，例如在AAV6衣殼蛋白質之胺基酸590與591之間。當7m8插入rAAV7中時(亦稱為AAV7.7m8)，胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)係插入AAV7衣殼蛋白質之胺基酸572至613內之GH環中，例如在AAV7衣殼蛋白質之胺基酸589與590之間。當7m8插入rAAV8中時(亦稱為AAV8.7m8)，胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)係插入AAV8衣殼蛋白質之胺基酸573至614內之GH環中，例如在AAV8衣殼蛋白質之胺基酸590與591之間。當7m8插入rAAV9中時(亦稱為AAV9.7m8)，胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)係插入AAV9衣殼蛋白質之GH環中，例如在AAV9衣殼蛋白質之胺基酸588與589之間。當7m8插入rAAV10中時(亦稱為AAV10.7m8)，胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)係插入AAV10衣殼蛋白質之胺基酸573至614內之GH環中，例如在AAV10衣殼蛋白質之胺基酸589與590之間。

概述

【0097】 當前用於眼睛新生血管性疾病(諸如wAMD)之療法(例如阿

柏西普重組蛋白質、蘭比珠單抗重組蛋白質)需要約每4-8週進行一次之終身IVT投藥。此在一些患者中可增加發炎、感染及其他副作用之風險。此外，由於重複及/或頻繁地造訪診所以進行療法之投藥，當前療法產生順應性挑戰，尤其在受wAMD影響最大之老年患者中。投藥頻率降低與視力損失及眼部疾病或病狀之惡化相關聯。已利用AAV載體在IVT注射後有效轉導目標視網膜細胞之能力將治療性基因成功地轉移至感光器、視網膜色素上皮及內層視網膜中，以治療多種視網膜疾病。因此，投與編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之rAAV粒子可提供活體內抗VEGF藥劑之長期及/或持續釋放。

【0098】 意外的是，向患有眼睛新生血管性疾病之個體之眼睛投與單一低單位劑量之6×10^{11}個載體基因體(vg)/眼睛之編碼阿柏西普之rAAV粒子可在所有經治療之個體中引起疾病穩定及穩定的解剖學反應(參見實例1)。此外，在投與單一低單位劑量之6×10^{11}個vg/眼睛之編碼阿柏西普之rAAV粒子之後，所有經治療之個體之視力穩定且所有個體皆不需要救援抗VEGF治療(例如阿柏西普IVT注射)。此外，向患有眼睛新生血管性疾病之個體之眼睛投與單一單位劑量之編碼阿柏西普之rAAV粒子意外地引起症狀之減少(例如消退)，包括對先前抗VEGF治療(例如阿柏西普、蘭比珠單抗或貝伐珠單抗之長期IVT注射)具有頑抗性之視網膜內及視網膜下液體。

【0099】 因此，本發明提供用於治療個體之眼睛新生血管性疾病之方法，其係藉由投與單一單位劑量之6×10^{11}個vg/眼睛或更少的編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之rAAV粒子來進行。此外，本發明提供用於減少患有眼睛新生血管性疾病之個體之眼睛中的視網膜液體之方法，其係藉

由投與單一單位劑量之編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之rAAV粒子來進行。本文中所揭示之方法減少或消除對重複IVT注射之需求，同時提供長期功效，藉此解決不順應及不依從問題。此外，本文中提供之方法降低與多次IVT注射相關之副作用。

治療方法

【0100】本文中提供用於治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法，該方法包含向個體之眼睛投與單位劑量之重組腺相關病毒(rAAV)粒子。

【0101】本文中亦提供用於減少患有眼睛新生血管性疾病之個體之眼睛中的視網膜液體之方法，該方法包含向個體之眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。

【0102】本文中亦提供用於治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法，該方法包含向個體之眼睛投與抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)且在投與抗VEGF藥劑之後向個體之眼睛投與單位劑量之重組腺相關病毒(rAAV)粒子。

【0103】在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(wAMD)、視網膜新生血管、脈絡膜新生血管糖尿病性視網膜病變、增生性糖尿病性視網膜病變、視網膜靜脈阻塞、中央視網膜靜脈阻塞、分支視網膜靜脈阻塞、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性視網膜局部缺血、缺血性視網膜病、糖尿病性視網膜水腫或其任何組合。

【0104】在一些實施例中，術語眼睛新生血管性疾病亦涵蓋VEGF驅動之新生血管性前期疾病，其若始終未得到治療，則發展成新生血管性形式。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為新生血管性前期疾病，即

非增生性糖尿病性視網膜病變。

【0105】 在一些實施例中，個體為人類。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前的約最近8週、約最近9週、約最近10週、約最近11週、約最近12週、約最近13週、約最近14週、約最近15週或約最近16週，個體接受至少一種用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗(faricimab)、聚乙二醇化阿比西巴(abicipar pegol)、康柏西普(conbercept)、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(sunitinib maleate)(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之用於眼睛新生血管性疾病之先前治療(例如至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種、至少5種或更多種治療)。在一些實施例中，個體對用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療顯示有意義的反應。在一些實施例中，抗VEGF藥劑為阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段。在一些實施例中，抗VEGF藥劑包含多肽，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，個體之眼睛中之視網膜液體為視網膜內液體(IRF)及/或視網膜下液體(SRF)。在一些實施例中，個體之眼睛中的視網膜液體之量或存在對用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療具有頑抗性。在一些實施例中，抗VEGF藥劑為阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段。在一些

實施例中，抗VEGF藥劑包含多肽，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列。

【0106】 在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為糖尿病性黃斑水腫(DME)。在一些實施例中，個體為人類。在一些實施例中，個體患有1型或2型糖尿病。在一些實施例中，個體具有由涉及糖尿病性黃斑水腫之中心引起之視力損傷。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛之視力(BCVA)在約78至50個ETDRS字母之間(例如50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77或78個ETDRS字母中之任一者)。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛之視力(斯奈倫值(Snellen equivalent))在約20/32至約20/100之間。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，使用Heidelberg Spectralis®，個體之被投與rAAV粒子之眼睛之中心子區域厚度(CST)≥325 μm且具有涉及IRF之中心(中心1 mm)。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛具有主要由糖尿病性黃斑水腫引起之視力降低。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前約6個月或更短時間，例如在投與單位劑量之rAAV粒子之前約6個月、約5個月、約4個月、約3個月、約2個月、約1個月中之任一者或更短時間，個體之被投與rAAV粒子之眼睛被診斷患有糖尿病性黃斑水腫。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛接受0、1或2次用於DME之先前治療，例如0、1或2次用抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)進行之玻璃體內注射。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前至少

約60天(亦即，約2個月)，個體之被投與rAAV粒子之眼睛接受用抗VEGF藥劑進行之先前治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛之中心子區域厚度對用抗VEGF藥劑進行之先前治療呈現有意義的反應，例如中心子區域厚度降低至少10%。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體未經歷對用抗VEGF藥劑進行之先前治療之不良反應。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體不具有針對AAV2.7m8之中和抗體。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，例如在投與單位劑量之rAAV粒子之前的約6個月內，個體之抗AAV2.7m8中和抗體效價不大於1:125。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體不具有針對阿柏西普、皮質類固醇或螢光素染料或螢光素鈉(例如在血管攝影術中使用)之過敏史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體具有針對阿柏西普、皮質類固醇或螢光素染料或螢光素鈉(例如在血管攝影術中使用)之輕度過敏史，其中過敏係能夠治療的。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體未患有不受控之糖尿病，例如HbA1C大於10%。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前的約3個月內，個體不具有糖尿病性酮酸中毒歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體尚未開始胰島素強化治療，例如使用胰島素泵或多次每天胰島素注射。在一些實施例中，個體未計劃在投與單位劑量之rAAV粒子之後的約3個月內開始胰島素強化治療，例如使用胰島素泵或多次每天胰島素注射。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體不具有需要全身性類固醇治療或免疫抑制性治療(例如甲胺喋呤(methotrexate)或阿達木單抗(adalimumab))之全身性自體免疫疾病

之歷史。在一些實施例中，投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體未正在被投與已知會引起黃斑水腫之全身性藥物，諸如芬戈莫德(fingolimod)、他莫昔芬(tamoxifen)、氯奎寧(chloroquine)或羥基氯奎寧(hydroxychloroquine)。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體未正在被投與全身性抗VEGF治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有高風險增生性糖尿病性視網膜病變(PDR)。在一些實施例中，PDR定義為任何玻璃體或視網膜前出血；在臨床檢查時，在等效於標準ETDRS 7視野之區域內，在某處的新生血管>1/2個視盤區域；或在臨床檢查時，視盤新生血管>1/3個視盤區域。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛未進行局灶或格柵樣雷射光凝。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛未進行任何先前全視網膜光凝(PRP)。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛未接受抗VEGF療法(例如阿柏西普IVT注射)。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前至少60天，個體之被投與rAAV粒子之眼睛未接受抗VEGF療法(例如阿柏西普IVT注射)。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛未接受超過兩次抗VEGF治療(例如阿柏西普IVT注射)。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有前段新生血管(例如虹膜新生血管[NVI]或新生血管性青光眼[NVG])、明顯的玻璃體出血、維管增生或牽引性視網膜剝離中之任一者之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有促進黃斑水腫或視

覺障礙之中央凹處之結構異常(例如緻密堅硬的滲出物、色彩異常、中央凹萎縮、玻璃體黃斑牽引或視網膜前膜中之任一者)。在一些實施例中，在臨床檢查或OCT時評估中央凹處之結構異常。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有除糖尿病性視網膜病變以外的視網膜疾病(例如年齡相關之黃斑變性(在任一隻眼睛中)、視網膜靜脈阻塞、視網膜動脈阻塞或病理性近視)之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有除糖尿病性黃斑水腫以外的眼睛疾病(例如明顯的白內障或黃斑牽引，或後囊下白內障之跡象)之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前的至少約3個月內，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有白內障摘除或釔鋁石榴石(Yttrium Aluminum Garnet；YAG)囊切開術之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有視網膜剝離(進行或未進行修復)之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有小樑切除術、青光眼分流或微創青光眼手術(MIGS)中之任一者之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有玻璃體切除術或其他濾過性手術之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不存在無晶狀體或不存在前房人工晶狀體。

在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不具有不受控的高眼壓或青光眼，例如儘管用抗青光眼藥物進行治療，但IOP>22 mmHg或當前使用>2種降IOP藥物。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛不

具有用於任何眼睛病狀之眼內或眼周類固醇治療(例如IVT特森西(Triesence)、伊維恩(Iluvien)或傲迪適(Ozurdex))之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前的至少約90天內，個體之被投與rAAV粒子之眼睛未進行屈光手術。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛未進行先前角膜移植、內皮角膜成形術或眼輻射。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之被投與rAAV粒子之眼睛未進行任何先前玻璃體視網膜手術。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體不具有葡萄膜炎或眼內發炎(例如，除已消退的輕度預期手術後發炎以外的輕微或更高等級)之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體不具有與局部類固醇投藥相關之IOP上升之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體不具有眼睛單純疱疹病毒(HSV)、水痘-帶狀疱疹病毒(VZV)或細胞巨大病毒(CMV)(包括病毒性葡萄膜炎、視網膜炎或角膜炎)之歷史。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體不具有外眼感染(包括結膜炎)、瞼板腺囊腫或明顯的瞼炎中之任一者之跡象。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體不具有眼睛弓蟲病之歷史。

【0107】在一些實施例中，單位劑量表示為載體基因體(vg)之數目。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{11}個載體基因體(vg)或更少的rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量表示為每隻眼睛的載體基因體(vg)之數目(vg/眼睛)。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{11}個vg/眼睛或更少的rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}至約2×10^{11}個vg/眼睛。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約

2×10^{11}或約6×10^{10}個vg/眼睛。

【0108】在一些實施例中，向個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為右眼或左眼。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為右眼。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為左眼。在一些實施例中，本文中提供之方法進一步包含向個體之對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為右眼且對側眼睛為左眼。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為左眼且對側眼睛為右眼。

【0109】在一些實施例中，向個體之對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至多約2週(例如約0天、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天或14天)進行。在一些實施例中，與向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量相比，向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量大致相同(例如高或低小於1%、高或低小於5%、高或低小於10%或高或低小於20%)或較低(例如低約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%或約90%)。

【0110】在一些實施例中，向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至少約2週(例如至少約2週、至少約3週、至少約4週、至少約1個月、至少約2個月、至少約3個月、至少約4個月、至少約5個月、至少約6個月、至少約7個月、至少約8個月、至少約9個月、至少約10個月、至少約11個月、至少約12個月、至少約1年、至少約2年、至少約3年、至少約4年、至少約5年或更長時間)進行。在一些實施例中，與向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量

相比，向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量更高(例如高約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約100%、約125%、約150%、約175%、約200%、約225%、約250%、約275%、約300%中之任一者或更多)。

【0111】在一些實施例中，rAAV粒子包含a)編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%、至少約99.99%或100%一致性之胺基酸序列，及b)AAV2衣殼蛋白質，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。SEQ ID NO:35之序列提供於下文中：

SDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNITVTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFIISNATY
KEIGLLTCEATVNGHLYKTNYLTHRQTNTIIDVVLSPSHGIELSVGEKLVLNCTARTELNVGIDFNWEYPS
SKHQHKKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLYTCAASSGLMTKKNSTFVRVHEKDKTHTCPP
CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPG (SEQ ID NO: 35)

【0112】在一些實施例中，rAAV粒子包含a)編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及b)AAV2衣殼蛋白質，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【0113】在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約

96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%、至少約99.99%或100%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，多肽包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列。在一些實施例中，多肽為阿柏西普或其功能性變異體或其功能性片段。

【0114】在一些實施例中，rAAV粒子包含有包含經密碼子最佳化之序列且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該經密碼子最佳化之序列編碼與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%、至少約99.99%或100%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含有包含經密碼子最佳化之序列且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該經密碼子最佳化之序列編碼與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含有包含經密碼子最佳化之序列且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該經密碼子最佳化之序列編碼與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有100%一致性之胺基酸序列。

【0115】在一些實施例中，rAAV粒子包含核酸，該核酸包含阿柏西普或其功能性變異體或其功能性片段之cDNA序列且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接。在一些實施例中，rAAV粒子包含核酸，該核酸包含阿柏西普或其功能性變異體或其功能性片段之經密碼子最佳化之cDNA序列且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接。在一些實施例中，rAAV粒子包含有包含SEQ ID NO:36之核酸序列之核酸。

【0116】在一些實施例中，核酸進一步包含(a)第一強化子區域，其包含CMV序列；(b)啟動子區域，其包含CMV序列；(c)5'UTR區域，以5'至3'順序，其包含TPL序列及eMLP序列；(d)第二強化子區域，其包含完全EES序列；及(e)HGH聚腺苷酸化位點。在一些實施例中，包含CMV序列之強化子區域包含SEQ ID NO:22之序列。在一些實施例中，包含CMV序列之啟動子區域包含SEQ ID NO:23之序列。在一些實施例中，TPL序列包含SEQ ID NO:24之序列。在一些實施例中，eMLP序列包含SEQ ID NO:25之序列。在一些實施例中，包含完全EES序列之第二強化子區域包含SEQ ID NO:26之序列。在一些實施例中，HGH聚腺苷酸化位點包含SEQ ID NO:27之序列。

【0117】在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2衣殼蛋白質，其包含插入包含SEQ ID NO:13之序列之AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)。SEQ ID NO:13之序列提供於下文中：

MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLD
KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ
AKKRVLEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDAD
SVPDPQPLGQPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVI
TTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLI
NNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQG
CLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPF
HSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPG
PCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVL
IFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGNRQAATADVNTQGV
LPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTT
FSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKRWNPEIQYTSNYNKSVNVDFTVDTNGVY
SEPRPIGTRYLTRNL (SEQ ID NO: 13)

【0118】在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2衣殼蛋白質，其包

含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2衣殼蛋白質，其包含插入包含SEQ ID NO:13之序列AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)。

【0119】在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2衣殼蛋白質，其包含以下插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列中之任一者，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質：LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)、LANETITRPA (SEQ ID NO:2)、LAKAGQANNA (SEQ ID NO:3)、LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:4)、KDTDTTR (SEQ ID NO:5)、RAGGSVG (SEQ ID NO:6)、AVDTTKF (SEQ ID NO:7)、STGKVPN (SEQ ID NO:8)、LAKDTDTTRA (SEQ ID NO:9)、LARAGGSVGA (SEQ ID NO:10)、LAAVDTTKFA (SEQ ID NO:11)、LASTGKVPNA (SEQ ID NO:12)、LGETTRP (SEQ ID NO:14)、NETITRP (SEQ ID NO:15)、KAGQANN (SEQ ID NO:16)、KDPKTTN (SEQ ID NO:17)、KDTDTTR (SEQ ID NO:18)、RAGGSVG (SEQ ID NO:19)、AVDTTKF (SEQ ID NO:20)及STGKVPN (SEQ ID NO:21)。在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2衣殼蛋白質，其包含以下插入包含SEQ ID NO:13之序列之AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列中之任一者：LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)、LANETITRPA (SEQ ID NO:2)、LAKAGQANNA (SEQ ID NO:3)、LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:4)、KDTDTTR (SEQ ID NO:5)、RAGGSVG (SEQ ID NO:6)、AVDTTKF (SEQ ID NO:7)、STGKVPN (SEQ ID NO:8)、LAKDTDTTRA (SEQ ID

NO:9)、LARAGGSVGA (SEQ ID NO:10)、LAAVDTTKFA (SEQ ID NO:11)、LASTGKVPNA (SEQ ID NO:12)、LGETTRP (SEQ ID NO:14)、NETITRP (SEQ ID NO:15)、KAGQANN (SEQ ID NO:16)、KDPKTTN (SEQ ID NO:17)、KDTDTTR (SEQ ID NO:18)、RAGGSVG (SEQ ID NO:19)、AVDTTKF (SEQ ID NO:20)及STGKVPN (SEQ ID NO:21)。

【0120】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係藉由玻璃體內(IVT)注射、眼內投藥或視網膜內注射來進行。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係藉由玻璃體內(IVT)注射來進行。

【0121】 在一些實施例中，單位劑量之rAAV粒子係呈醫藥調配物形式。在一些實施例中，醫藥調配物包含rAAV粒子、一或多種滲透或離子增強劑、一或多種緩衝劑、一或多種界面活性劑及一或多種溶劑。在一些實施例中，滲透或離子增強劑為氯化鈉。在一些實施例中，一或多種緩衝劑為磷酸二氫鈉及/或磷酸氫二鈉。在一些實施例中，界面活性劑為泊洛沙姆188。在一些實施例中，溶劑為水。在一些實施例中，醫藥調配物包含rAAV粒子、氯化鈉、磷酸鈉及界面活性劑。在一些實施例中，醫藥調配物包含約1×10^{10}個vg/mL至約1×10^{13}個vg/mL之rAAV粒子。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{11}個vg/mL至約6×10^{12}個vg/mL之rAAV粒子。在一些實施例中，醫藥調配物包含約150 mM至約200 mM氯化鈉(例如約150 mM、約160 mM、約170 mM、約180 mM、約190 mM或約200 mM中之任一者)。在一些實施例中，醫藥調配物包含約1 mM至約10 mM磷酸二氫鈉(例如約1 mM、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6

mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM或約10 mM)。在一些實施例中，醫藥調配物包含約1 mM至約10 mM磷酸氫二鈉(例如約1 mM、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM或約10 mM)。在一些實施例中，醫藥調配物包含約0.0005% (w/v)至約0.005% (w/v)泊洛沙姆188(例如約0.0005% (w/v)、0.0006% (w/v)、0.0007% (w/v)、0.0008% (w/v)、0.0009% (w/v)、0.001% (w/v)、0.002% (w/v)、0.003% (w/v)、0.004% (w/v)或約0.005% (w/v)中之任一者)。在一些實施例中，醫藥調配物之pH值為約7.0至約7.5 (例如約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4或約7.5中之任一者)。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{12}個vg/mL之rAAV粒子、約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.3。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{11}個vg/mL之rAAV粒子、約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.3。

【0122】 在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量包含約25 μL至約250 μL之間的體積(例如約25 μL、約30 μL、約40 μL、約50 μL、約60 μL、約70 μL、約80 μL、約90 μL、約100 μL、約110 μL、約120 μL、約130 μL、約140 μL、約150 μL、約160 μL、約170 μL、約180 μL、約190 μL、約200 μL、約210 μL、約220 μL、約230 μL、約240 μL或約250 μL中之任一者)。在一些實施例中，調節醫藥調配物中之rAAV粒子之濃度，使得投與個體之眼睛之單位劑量之rAAV粒子之體積在約25 μL至約250 μL之間。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量包含約100 μL之體積。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量包含約30 μL之體積。

【0123】在一些實施例中，單位劑量之rAAV粒子係與類固醇治療組合投與。在一些實施例中，類固醇治療為皮質類固醇治療。在一些實施例中，類固醇治療為全身性類固醇治療。在一些實施例中，類固醇治療為口服類固醇治療。在一些實施例中，類固醇治療為潑尼松治療。在一些實施例中，類固醇治療為眼用類固醇治療。在一些實施例中，眼用類固醇治療為局部類固醇治療(例如滴劑)、眼周類固醇治療(例如眼筋膜囊內、結膜下)、玻璃體內類固醇治療或脈絡膜上腔類固醇治療。在一些實施例中，局部類固醇治療為二氟潑尼酯治療、甲羥松(medrysone)治療、氯替潑諾(loteprednol)治療、潑尼松龍(prednisolone)治療、膚輕鬆(fluocinolone)治療、曲安西龍(triamcinolone)治療、利美索龍(rimexolone)治療、地塞米松(dexamethasone)治療、氟米龍(fluorometholone)治療、膚輕鬆治療、利美索龍治療或潑尼松治療。在一些實施例中，局部類固醇治療為二氟潑尼酯治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前、期間及/或之後投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子期間投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之後投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前及期間投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前及之後投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子期間及之後投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前、期間及之後投與類固醇治療。

【0124】在一些實施例中，類固醇治療為眼用類固醇治療(例如二氟

潑尼酯)。在一些實施例中，眼用類固醇治療(例如二氟潑尼酯)為自投與單位劑量之rAAV粒子開始的每天類固醇治療持續至多約4週、約6週或約8週。在一些實施例中，經眼類固醇治療包含在約第1週進行眼用類固醇之約四次投藥，在約第2週進行眼用類固醇之約三次投藥，在約第3週進行眼用類固醇之約兩次投藥及在約第4週進行眼用類固醇之約一次投藥；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥為起始且遵循單位劑量之rAAV粒子之投藥。在一些實施例中，眼用類固醇為約0.005%至約0.5%二氟潑尼酯。在一些實施例中，眼用類固醇為約0.005%、約0.006%、約0.007%、約0.008%、約0.009%、約0.01%、約0.02%、約0.03%、約0.4%、約0.05%、約0.06%、約0.07%、約0.08%、約0.09%或約0.1%二氟潑尼酯中之任一者。在一些實施例中，眼用類固醇為0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，0.05%二氟潑尼酯之劑量為一滴眼用溶液。在一些實施例中，一滴為約50 μl (例如約25 μl至約50 μl、約50 μl至約100 μl)。在一些實施例中，二氟潑尼酯之劑量包含約1 μg至約5 μg，或約2 μg至約3 μg，或約2.5 μg二氟潑尼酯。在一些實施例中，二氟潑尼酯之劑量包含約2.5 μg二氟潑尼酯。

【0125】 在一些實施例中，類固醇治療為眼用類固醇治療(例如二氟潑尼酯)。在一些實施例中，眼用類固醇治療(例如二氟潑尼酯)為自投與單位劑量之rAAV粒子開始的每天局部類固醇治療持續至多約4週、約6週或約8週。在一些實施例中，局部類固醇治療包含在約第1週進行約四次局部類固醇投藥，在約第2週進行約三次局部類固醇投藥，在約第3週進行約兩次局部類固醇投藥及在約第4週進行約一次局部類固醇投藥；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥為起始且遵循單位劑量之rAAV粒子之投藥。在

一些實施例中，局部類固醇治療包含在投與單位劑量之rAAV粒子之後每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約3週，接著每天進行約3次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約1週，接著每天進行約2次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約1週且接著每天進行約1次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約1週。在一些實施例中，局部類固醇包含約1 μg至約3 μg之劑量之0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，局部類固醇包含約2.5 μg之劑量之0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，局部類固醇為約0.005%至約0.5%二氟潑尼酯。在一些實施例中，局部類固醇為約0.005%、約0.006%、約0.007%、約0.008%、約0.009%、約0.01%、約0.02%、約0.03%、約0.04%、約0.05%、約0.06%、約0.07%、約0.08%、約0.09%或約0.1%二氟潑尼酯中之任一者。在一些實施例中，局部類固醇為0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，0.05%二氟潑尼酯之劑量為一滴眼用溶液。在一些實施例中，一滴為約50 μl (例如約25 μl至約50 μl、約50 μl至約100 μl)。在一些實施例中，二氟潑尼酯之劑量包含約1 μg至約5 μg，或約2 μg至約3 μg，或約2.5 μg二氟潑尼酯。在一些實施例中，二氟潑尼酯之劑量包含約2.5 μg二氟潑尼酯。

【0126】 在一些實施例中，在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後，個體之眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)減少超過以下中之任一者：約5%、約10%、約15%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%或約100%。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的個體之眼睛中的視網膜液體之含量相比，在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後，個體之眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)減少超過

以下中之任一者：約5%、約10%、約15%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%或約100%。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的個體之眼睛中的視網膜液體之含量相比，在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後，個體之眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)減少約100%。

【0127】在一些實施例中，本文中提供之方法進一步包含在投與單位劑量之rAAV粒子之後，監測個體之一隻眼睛及/或對側眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之含量。在一些實施例中，在以下中之任一者或更長時間時首次觀測到眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之減少：在投與單位劑量之rAAV粒子之後約1天、約3天、約8天、約2週、約4週、約6週、約8週、約12週、約16週、約20週、約24週、約28週、約32週、約36週、約40週、約44週、約48週、約52週、約56週、約60週、約64週、約68週、約72週、約76週、約80週、約84週、約88週、約92週、約96週、約100週、約104週。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之後，眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之減少持續或保持至少1週、至少2週、至少4週、至少6週、至少8週、至少12週、至少16週、至少20週、至少24週、至少28週、至少32週、至少36週、至少40週、至少44週、至少48週、至少52週、至少56週、至少60週、至少64週、至少68週、至少72週、至少76週、至少80週、至少84週、至少88週、至少92週、至少96週、至少100週、至少104週或更長時間。

【0128】在一些實施例中，眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之減少係藉由此項技術中已知之任何方法測定。在一些實施例中，眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之減少係藉由光學同調斷層掃描

(OCT)、譜域OCT (SD-OCT)、OCT血管攝影術、螢光素血管攝影術或直接視網膜觀測來測定。在一些實施例中，眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之減少係藉由光學同調斷層掃描(OCT)來測定。在一些實施例中，眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之減少係藉由譜域OCT (SD-OCT)來測定。在一些實施例中，眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之減少係藉由OCT血管攝影術來測定。在一些實施例中，眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之減少係藉由螢光素血管攝影術來測定。在一些實施例中，眼睛中之視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之減少係藉由直接視網膜觀測來測定。

【0129】 在一些實施例中，基於與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子(例如上文所描述)之前的視網膜液體(例如SRF及/或IRF)之含量相比的視網膜液體(例如視網膜內液體(IRF)及/或視網膜下液體(SRF))之含量來評估在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後，個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，視網膜液體為視網膜下液體(SRF)或視網膜內液體(IRF)。在一些實施例中，視網膜液體為視網膜下液體(SRF)。在一些實施例中，視網膜液體為視網膜內液體(IRF)。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子(例如上文所描述)之前的視網膜液體(例如IRF及/或SRF)之含量相比，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後觀測到視網膜液體(例如IRF及/或SRF)減少，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後，個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為wAMD。

【0130】 在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視

網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起視網膜厚度之保持或降低。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起視網膜厚度降低。在一些實施例中，視網膜厚度為中心子區域厚度(CST)或中心視網膜厚度(CRT)。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起視網膜厚度降低超過以下中之任一者：約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%或約100%。在一些實施例中，藉由OCT或SD-OCT測定視網膜厚度(例如CST或CRT)。

【0131】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約10 μm至約100 μm (例如超過以下中之任一者：約10 μm、約15 μm、約20 μm、約25 μm、約30 μm、約35 μm、約40 μm、約45 μm、約50 μm、約55 μm、約60 μm、約65 μm、約70 μm、約75 μm、約80 μm、約85 μm、約90 μm、約95 μm、約100 μm或更多)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約5 μm至約50 μm (例如約5 μm、約10 μm、約15 μm、約20 μm、約25 μm、約30 μm、約35 μm、約40 μm、約45 μm或約50 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約5 μm至約40 μm (例如約5 μm、約10

μm、約15 μm、約20 μm、約25 μm、約30 μm、約35 μm或約40 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約5 μm至約30 μm (例如約5 μm、約6 μm、約7 μm、約8 μm、約9 μm、約10 μm、約11 μm、約12 μm、約13 μm、約14 μm、約15 μm、約16 μm、約17 μm、約18 μm、約19 μm、約20 μm、約21 μm、約22 μm、約23 μm、約24 μm、約25 μm、約26 μm、約27 μm、約28 μm、約29 μm或約30 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約5 μm至約25 μm (例如約5 μm、約6 μm、約7 μm、約8 μm、約9 μm、約10 μm、約11 μm、約12 μm、約13 μm、約14 μm、約15 μm、約16 μm、約17 μm、約18 μm、約19 μm、約20 μm、約21 μm、約22 μm、約23 μm、約24 μm或約25 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約5 μm至約20 μm (例如約5 μm、約6 μm、約7 μm、約8 μm、約9 μm、約10 μm、約11 μm、約12 μm、約13 μm、約14 μm、約15 μm、約16 μm、約17 μm、約18 μm、約19 μm或約20 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約18 μm至約75 μm。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約18.5 μm。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度

(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約21.0 μm。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約8.3 μm。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約25.5 μm。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約24.8 μm。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約75 μm。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約100 μm或更多(例如約100 μm或更多、約110 μm或更多、約120 μm或更多、約130 μm或更多、約140 μm或更多、約150 μm或更多、約160 μm或更多、約170 μm或更多、約180 μm或更多、約190 μm或更多或約200 μm或更多中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約10 μm至約200 μm (例如約10 μm、約20 μm、約30 μm、約40 μm、約50 μm、約60 μm、約70 μm、約80 μm、約90 μm、約100 μm、約110 μm、約120 μm、約130 μm、約140 μm、約150 μm、約160 μm、約170 μm、約180 μm、約190 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約50 μm至約200 μm (例如約50 μm、約60 μm、約70 μm、約80 μm、約90 μm、約100 μm、約110 μm、約120 μm、約130

μm、約140 μm、約150 μm、約160 μm、約170 μm、約180 μm、約190 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約60 μm至約200 μm (例如約60 μm、約70 μm、約80 μm、約90 μm、約100 μm、約110 μm、約120 μm、約130 μm、約140 μm、約150 μm、約160 μm、約170 μm、約180 μm、約190 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約70 μm至約200 μm (例如約70 μm、約80 μm、約90 μm、約100 μm、約110 μm、約120 μm、約130 μm、約140 μm、約150 μm、約160 μm、約170 μm、約180 μm、約190 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約80 μm至約200 μm (例如約80 μm、約90 μm、約100 μm、約110 μm、約120 μm、約130 μm、約140 μm、約150 μm、約160 μm、約170 μm、約180 μm、約190 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約90 μm至約200 μm (例如約90 μm、約100 μm、約110 μm、約120 μm、約130 μm、約140 μm、約150 μm、約160 μm、約170 μm、約180 μm、約190 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約100 μm至約200 μm (例如約100 μm、約110 μm、約120 μm、約130 μm、約140 μm、約150

μm、約160 μm、約170 μm、約180 μm、約190 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約110 μm至約200 μm (例如約110 μm、約120 μm、約130 μm、約140 μm、約150 μm、約160 μm、約170 μm、約180 μm、約190 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約115 μm至約200 μm (例如約115 μm、約120 μm、約125 μm、約130 μm、約135 μm、約140 μm、約145 μm、約150 μm、約155 μm、約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約120 μm至約200 μm (例如約120 μm、約125 μm、約130 μm、約135 μm、約140 μm、約145 μm、約150 μm、約155 μm、約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約125 μm至約200 μm (例如約125 μm、約130 μm、約135 μm、約140 μm、約145 μm、約150 μm、約155 μm、約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約130 μm至約

200 μm (例如約130 μm、約135 μm、約140 μm、約145 μm、約150 μm、約155 μm、約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約135 μm至約200 μm (例如約135 μm、約140 μm、約145 μm、約150 μm、約155 μm、約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約140 μm至約200 μm (例如約140 μm、約145 μm、約150 μm、約155 μm、約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約145 μm至約200 μm (例如約145 μm、約150 μm、約155 μm、約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約150 μm至約200 μm (例如約150 μm、約155 μm、約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約155 μm至約200

μm (例如約155 μm、約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約160 μm至約200 μm (例如約160 μm、約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約165 μm至約200 μm (例如約165 μm、約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約170 μm至約200 μm (例如約170 μm、約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約175 μm至約200 μm (例如約175 μm、約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約180 μm至約200 μm (例如約180 μm、約185 μm、約190 μm、約195 μm或約200 μm中之任一者)。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約

21.0 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約8.3 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約26.2 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約24.8 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約40.8 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約30.0 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約118.6 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約119.0 μm。在

一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約137.8 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約152.7 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約153.3 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約149.8 μm。

【0132】 在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)之在約-200 μm至約+40 μm之間的變化(例如約-200 μm、約-180 μm、約-160 μm、約-140 μm、約-120 μm、約-100 μm、約-80 μm、約-60 μm、約-40 μm、約-20 μm、約0 μm、約+5 μm、約+10 μm、約+15 μm、約+20 μm、約+25 μm、約+30 μm、約+35 μm或約+40 μm中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約8 μm、約11 μm、約16 μm、

約29 μm、約33 μm、約38 μm、約55 μm、約61 μm或約117 μm中之任一者。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低約27.8 μm或約30.8 μm中之任一者。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)增加約4 μm、約12 μm或約32 μm中之任一者。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-21.0 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-8.3 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-26.2 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-24.8 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-40.8 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之

前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-30.0 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-118.6 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-119.0 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-137.8 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-152.7 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-153.3 μm。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)改變約-149.8 μm。

【0133】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)之變化(例如降低)係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約1天、約1週、約2週、約4週、約8週、約16週、約24週、約30週、約32週、約34週、約40週、約44週、約48週、約52週中之任一者或更長時間時呈現。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)之變化(例如降低)係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約1天、約1週、約2週、約4週、約8週、約12週、約16週、約20週、約24週、約28週、約32週、約36週、約40週、約44週、約48週、約52週、約56週、約60週、約64週、約68週、約72週、約76週、約80週、約84週、約88週、約92週、約96週、約100週、約104週、約108週中之任一者或更長時間時呈現。

【0134】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低超過約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%或約100%中之任一者。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低至少約10%。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV

粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低至少約15%或更多。

【0135】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)增加小於約40 μm(例如小於約40 μm、小於約35 μm、小於約30 μm、小於約25 μm、小於約20 μm、小於約15 μm、小於約10 μm、小於約5 μm、小於約1 μm中之任一者或更小)。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)增加約32 μm或更小。

【0136】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比的視網膜厚度之保持、降低或增加係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週或更長時間時呈現。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比的視網膜厚度之保持、降低或增加係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週、約34週、約44週、約6個月、約1年、約1.5年、約2年、約3年、約5年、約10年中之任一者或更長時間時呈現。

【0137】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起黃斑體積保持或減小。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量

之rAAV粒子引起黃斑體積減小。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起黃斑體積減小超過約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%或約50%中之任一者。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起黃斑體積減小至少約10%。在一些實施例中，藉由OCT或SD-OCT測定黃斑體積。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起黃斑體積減小至少約10%。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起黃斑體積減小約15%或更多。在一些實施例中，藉由OCT或SD-OCT測定黃斑體積。

【0138】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比的黃斑體積之保持或減小係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週或更長時間時呈現。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比的黃斑體積之保持或減小係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週、約34週、約44週、約6個月、約1年、約1.5年、約2年、約3年、約5年、約10年中之任一者或更長時間時呈現。

【0139】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起視力之保持或改良。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前

的視力相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起視力之改良。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起視力改良超過約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約100%、約125%、約150%、約175%、約200%、約225%、約250%、約275%、約300%中之任一者或更多。在一些實施例中，視力為最佳矯正視力(BCVA)。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之改良。在一些實施例中，BCVA表示為ETDRS評分，其對應於正確閱讀之字母之數目(Vitale等人, (2016) JAMA Opthalmol 134(9):1041:1047)。

【0140】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良至少15個ETDRS字母(Vitale等人, (2016) JAMA Opthalmol 134(9):1041:1047)(例如至少約15、至少約20、至少約30、至少約40、至少約50、至少約60或約70個字母)。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約1至約15個(例如約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約11、約12、約13、約14或約15個中之任一者)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約5個ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛

及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約1、約2、約3、約4、約5、約6或約7個ETDRS字母中之任一者。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約3個ETDRS字母或更多。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約4個ETDRS字母或更多。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約5.1個ETDRS字母或更多。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約6.4個ETDRS字母或更多。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約6.8個ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約8.8個ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改良約2.3個ETDRS字母。

【0141】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失小於15個ETDRS字母(Vitale等人, (2016) JAMA Opthalmol 134(9):1041:1047)(例如15個或更少、14個或更少、13個或更少、12個或更少、11個或更少、10個或更少、9個或更少、8個或

更少、7個或更少、6個或更少、5個或更少、4個或更少、3個或更少、2個或更少、1個或0個字母中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約2個字母。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8或約9個ETDRS字母中之任一者。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失0個字母。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約1個字母。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約2.7個字母。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約2.8個字母。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約2個字母或更少。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約3.2個字母或更少。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保

持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約15至約0個字母(例如約15、約14、約13、約12、約11、約10、約9、約8、約7、約6、約5、約4、約3、約2、約1或0個字母中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約10至約0個字母(例如約10、約9、約8、約7、約6、約5、約4、約3、約2、約1或0個字母中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約5至約0個字母(例如約5、約4、約3、約2、約1或0個字母中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約4至約0個字母(例如約4、約3、約2、約1或0個字母中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約3至約0個字母(例如約3、約2、約1或0個字母中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約2至約0個字母(例如約2、約1或0個字母中之任一者)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA之保持，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失約1至約0個字母。

【0142】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的

BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約-20至+7個或更多的(例如-20、-19、-18、-17、-16、-15、-14、-13、-12、-11、-10、-9、-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA增加約16、7或5個ETDRS字母中之任一者。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA減少約19、14、7、6、5、4、3、2或1個ETDRS字母中之任一者。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA減少約4.8或約0.8個ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA減少約2個ETDRS字母或更少。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA減少約3.2個ETDRS字母或更少。

【0143】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約-15至+7個或更多的(例如-15、-14、-13、-12、-11、-10、-9、-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、

+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約-10至+7個或更多的(例如-10、-9、-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約-5至+7個或更多的(例如-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約-4至+7個或更多的(例如-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約-3至+7個或更多的(例如-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約-2至+7個或更多的(例如-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、

+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個 中 之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約-1至+7個或更多的(例如-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約0至+7個 或 更 多 的 (例 如0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個 中 之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約+1至+7個 或 更 多 的 (例 如+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約+2至+7個 或 更 多 的 (例 如+2、+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約+3至+7個或更多的(例如+3、+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個

中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約+4至+7個或更多的(例如+4、+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約+5至+7個或更多的(例如+5、+6、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+14、+15、+16、+17、+18、+19、+20個中之任一者或更多的)ETDRS字母。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起BCVA改變約+6或約+7個ETDRS字母。

【0144】在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起短暫發炎(例如由房水細胞及/或玻璃體細胞、房水閃光、後黏連、瞳孔散瞳不良引起之發炎)。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起發炎(例如由房水細胞及/或玻璃體細胞、房水閃光、後黏連、瞳孔散瞳不良引起之發炎)，其在投與口服及/或局部類固醇治療及/或散瞳劑之後得到改良。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起發炎(例如由房水細胞及/或玻璃體細胞引起之發炎)，其在投與口服及/或局部類固醇治療之後消退。可使用此項技術中已知之任何方法(諸如裂隙燈檢查)來量測發炎(例如由房水細胞及/或玻璃體細胞、房水閃光、後黏連、瞳孔散瞳不良引起之發炎)。

【0145】在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比的視力(例如BCVA)之保持或改良係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約1天、約1週、約2週、約4週、約8週、約12週、約16週、約20週、約24週、約28週、約32週、約36週、約40週、約44週、約48週、約52週、約56週、約60週、約64週、約68週、約72週、約76週、約80週、約84週、約88週、約92週、約96週、約100週、約104週、約108週中之任一者或更長時間時呈現。在一些實施例中，在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比的視力(例如BCVA)之保持或改良係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週或更長時間時呈現。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比的視力(例如BCVA)之保持或改良係在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後約30週、約34週、約44週、約6個月、約1年、約1.5年、約2年、約3年、約5年、約10年中之任一者或更長時間時呈現。

【0146】在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於一隻眼睛及/或對側眼睛之最佳矯正視力(BCVA)來評估。在一些實施例中，BCVA表示為ETDRS評分，其對應於正確閱讀之字母之數目(Vitale等人, (2016) JAMA Opthalmol 134(9):1041:1047)。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前相比，個體在ETDRS評分中損失小於15個字母(例如15個或更少、14個或更少、13個或更少、12個或更少、11個或更少、10個或更少、9個或更少、8個或更少、7個或更少、6個或更少、5個或更少、4個或更少、3個或更少、2個或更少、1個

或0個字母中之任一者)，則確定個體保持視覺及/或視力。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前相比，個體增加至少15個字母(例如至少約15、至少約20、至少約30、至少約40、至少約50、至少約60或約70個字母中之任一者)，則確定個體具有視覺及/或視力之改良。

【0147】在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於一隻眼睛及/或對側眼睛中之中心子區域厚度(CST)或中心視網膜厚度(CRT)來評估。在一些實施例中，藉由SD-OCT測定CST或CRT。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前相比，藉由SD-OCT評估之CST或CRT在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後降低，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前相比，藉由SD-OCT評估之CST或CRT在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後保持，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。

【0148】在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於一隻眼睛及/或對側眼睛中之黃斑體積來評估。在一些實施例中，藉由SD-OCT測定黃斑體積。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前相比，藉由SD-OCT評估之黃斑體積在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後減小，則確定在向一隻眼睛及/

或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前相比，藉由SD-OCT評估之黃斑體積在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後保持，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。

【0149】 在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於一隻眼睛及/或對側眼睛中之視網膜厚度(例如中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST))及黃斑體積來評估。在一些實施例中，藉由SD-OCT測定CST及黃斑體積。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前相比，藉由SD-OCT評估之CST及黃斑體積在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後降低，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前相比，藉由SD-OCT評估之CST及黃斑體積在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後保持，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。

【0150】 在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後個體所需的救援療法治療(例如阿柏西普注射)之次數來評估。在一些實施例中，若在向一隻眼睛

及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後，個體每4週、每5週、每6週、每7週、每8週、每9週、每10週中之任一者或更長時間需要的救援療法治療(例如阿柏西普注射)小於一次，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。

【0151】 在一些實施例中，若在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後，個體在至少1週、至少2週、至少3週、至少4週、至少5週、至少6週、至少7週、至少8週、至少9週、至少10週、至少15週、至少20週、至少30週、至少40週、至少50週、至少60週、至少70週、至少80週、至少90週、至少100週、至少110週中之任一者或更長時間內不需要任何救援療法治療(例如阿柏西普注射)，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。

【0152】 在一些實施例中，個體在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的至少約24個月、至少約23個月、至少約22個月、至少約21個月、至少約20個月、至少約19個月、至少約18個月、至少約17個月、至少約16個月、至少約15個月、至少約14個月、至少約13個月、至少約12個月、至少約11個月、至少約10個月、至少約9個月、至少約8個月、至少約7個月、至少約6個月、至少約5個月、至少約4個月、至少約3個月、至少約2個月、至少約1個月、至少約3週、至少約2週或至少約1週中之任一者內不需要任何救援療法治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，個體在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的至少約12個月內不需要任何救援療法治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，個體在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV

粒子之後的至少約10個月內不需要任何救援療法治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，個體在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的至少約7個月內不需要任何救援療法治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，個體在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的至少約6個月內不需要任何救援療法治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，個體在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的至少約2個月內不需要任何救援療法治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，個體在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的至少約1個月內不需要任何救援療法治療(例如阿柏西普注射)。

【0153】 在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約50% (例如至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%或100%中之任一者)的個體不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約67% (例如至少約67%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%或100%中之任一者)的個體不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約50%的個體不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑

量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約78%的個體不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約80%的個體不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約82%的個體不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之100%的個體不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。

【0154】 在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約50% (例如至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%或100%中之任一者)的個體在投與rAAV粒子之後至少約4週(例如在投與rAAV粒子之後的至少約4週、至少約8週、至少約12週、至少約16週、至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約68週、至少約72週、至少約76週、至少約80週、至少約84週、至少約88週、至少約92週、至少約96週、至少約100週、至少約104週、至少約108週中之任一者或更長時間)內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約50%的個體在投與rAAV粒子之後約52週或更長時間或約56週

或更長時間內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約67% (例如至少約67%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約99%或100%中之任一者)的個體在投與rAAV粒子之後至少約20週(例如在投與rAAV粒子之後至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約66週中之任一者或更長時間)內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約78%的個體在投與rAAV粒子之後至少約4週(例如在投與rAAV粒子之後至少約4週、至少約8週、至少約12週、至少約16週、至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約68週、至少約72週、至少約76週、至少約80週、至少約84週、至少約88週、至少約92週、至少約96週、至少約100週、至少約104週、至少約108週中之任一者或更長時間)內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約78%的個體在投與rAAV粒子之後約20週或更長時間或約36週或更長時間內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約80%的個體在投與rAAV粒

子之後至少約20週(例如在投與rAAV粒子之後至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約66週中之任一者或更長時間)內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之至少約82%的個體在投與rAAV粒子之後至少約20週(例如在投與rAAV粒子之後至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約66週中之任一者或更長時間)內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之100%的個體在投與rAAV粒子之後至少約20週(例如在投與rAAV粒子之後至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約66週中之任一者或更長時間)內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之100%的個體在投與rAAV粒子之後至少約4週(例如在投與rAAV粒子之後至少約4週、至少約8週、至少約12週、至少約16週、至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約68週、至少約72週、至少約76週、至少約80週、至少約84週、至少約88

週、至少約92週、至少約96週、至少約100週、至少約104週、至少約108週中之任一者或更長時間)內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之100%的個體在投與rAAV粒子之後約64週或更長時間、72週或更長時間或84週或更長時間內不需要抗VEGF救援治療(例如阿柏西普注射)。

【0155】 在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之約78%或更少(例如約78%或更少、約75%或更少、約70%或更少、約65%或更少、約60%或更少、約55%或更少、約50%或更少、約45%或更少、約40%或更少、約35%或更少、約30%或更少、約25%或更少、約20%或更少、約15%或更少、約10%或更少、約5%或更少、約2.5%或更少、約1%或更少或約0.5%或更少中之任一者)的個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之約50%或更少(例如約50%或更少、約45%或更少、約40%或更少、約35%或更少、約30%或更少、約25%或更少、約20%或更少、約15%或更少、約10%或更少、約5%或更少、約2.5%或更少、約1%或更少或約0.5%或更少中之任一者)的個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之小於約30% (例如小於約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、約5%、約2.5%、約1%或約0.5%中之任一者)的個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普

注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之小於約30%的個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之小於約20%的個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之0%的個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。

【0156】 在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之約78%或更少(例如至少約78%或更少、至少約75%或更少、至少約70%或更少、至少約65%或更少、至少約60%或更少、至少約55%或更少、至少約50%或更少、至少約45%或更少、至少約40%或更少、至少約35%或更少、至少約30%或更少、至少約25%或更少、至少約20%或更少、至少約15%或更少、至少約10%或更少、至少約5%或更少、至少約2.5%或更少、至少約1%或更少或至少約0.5%或更少中之任一者)的個體在投與rAAV粒子之後至少約4週(例如在投與rAAV粒子之後至少約4週、至少約8週、至少約12週、至少約16週、至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約68週、至少約72週、至少約76週、至少約80週、至少約84週、至少約88週、至少約92週、至少約96週、至少約100週、至少約104週、至少約108週中之任一者或更長時間)

內需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之小於約30% (例如小於約30%、約25%、約20%、約15%、約10%、約5%、約2.5%、約1%或約0.5%中之任一者)的個體在投與rAAV粒子之後至少約20週(例如在投與rAAV粒子之後至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約66週中之任一者或更長時間)內需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之小於約30%的個體在投與rAAV粒子之後至少約20週(例如在投與rAAV粒子之後至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約66週中之任一者或更長時間)內在該一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之小於約20%的個體在投與rAAV粒子之後至少約20週(例如在投與rAAV粒子之後至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約66週中之任一者或更長時間)內在該一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之0%的個體在投與rAAV粒子之後至少約20週(例如在投與

rAAV粒子之後至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約66週中之任一者或更長時間)內在該一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。在一些實施例中，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起該複數名個體中之0%的個體在投與rAAV粒子之後至少約4週(例如在投與rAAV粒子之後至少約4週、至少約8週、至少約12週、至少約16週、至少約20週、至少約24週、至少約28週、至少約32週、至少約36週、至少約40週、至少約44週、至少約48週、至少約52週、至少約56週、至少約60週、至少約64週、至少約68週、至少約72週、至少約76週、至少約80週、至少約84週、至少約88週、至少約92週、至少約96週、至少約100週、至少約104週、至少約108週中之任一者或更長時間)內在該一隻眼睛及/或對側眼睛中需要任何救援治療(例如阿柏西普注射)。

【0157】 在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的按年計算之平均抗VEGF注射率相比，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起按年計算之平均抗VEGF注射率降低至少約80%、至少約85%、至少約87%、至少約90%、至少約95%、至少約99%或100%中之任一者。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的按年計算之平均抗VEGF注射率相比，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起按年計算之平均抗VEGF注射率降低約87%或更多。在一些實施例中，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的按年計算之平均抗VEGF注射率相比，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子引起按年計算之平均抗VEGF注射率

降低100%。

【0158】在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前的按年計算之平均抗VEGF注射率係根據下式計算：在投與單位劑量之rAAV粒子之前的按年計算之注射率=(在投與單位劑量之rAAV粒子之前的12個月內之抗VEGF注射次數)/(自投與單位劑量之rAAV粒子之前的過去12個月內之第一次抗VEGF注射至投與單位劑量之rAAV粒子之天數/365.25)。

【0159】在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之後的按年計算之平均抗VEGF注射率係根據下式計算：在投與單位劑量之rAAV粒子之後的按年計算之注射率=(自投與單位劑量之rAAV粒子開始的抗VEGF注射之次數)/(自投與單位劑量之rAAV粒子開始之天數/365.25)。

【0160】在一些實施例中，若與投與rAAV粒子之前的被投與rAAV粒子之一隻眼睛及/或對側眼睛之BCVA相比，個體在被投與rAAV粒子之一隻眼睛及/或對側眼睛中呈現由視網膜內或視網膜下液體(例如藉由SD-OCT所測定)引起之BCVA中之10個或更多個字母之損失(例如使用ETDRS方案)，則確定個體在投與rAAV粒子之後需要救援治療(例如抗VEGF玻璃體內注射，諸如阿柏西普注射)。在一些實施例中，若與投與rAAV粒子之前的被投與rAAV粒子之一隻眼睛及/或對側眼睛之中心子區域厚度相比，個體在被投與rAAV粒子之一隻眼睛及/或對側眼睛中呈現中心子區域厚度(例如CST或CRT)增加超過75 μm (例如藉由SD-OCT所測定)，則確定個體在投與rAAV粒子之後需要救援治療(例如抗VEGF玻璃體內注射，諸如阿柏西普注射)。在一些實施例中，若個體在被投與rAAV粒子之一隻眼睛及/或對側眼睛中呈現由AMD引起之對視覺有害的出血，則確定個體在投與rAAV粒子之後需要救援治療(例如抗VEGF玻璃體內注射，諸如阿柏西

普注射)。

【0161】在一些實施例中，救援治療包含投與護理標準抗VEGF療法。這類護理標準抗VEGF療法包含一或多種抗VEGF治療(例如抗VEGF玻璃體內注射)。在一些實施例中，救援治療包含一或多次阿柏西普IVT注射。在一些實施例中，救援治療包含一或多次包含約2 mg阿柏西普之阿柏西普IVT注射。

【0162】在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜液體含量相比的視網膜液體含量來評估。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜液體含量相比，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後觀測到視網膜液體減少，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為wAMD。

【0163】在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的色素上皮脫離(PED)相比之PED之消退來評估。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的PED相比，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後觀測到PED之消退，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為wAMD。

【0164】 在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於脈絡膜新生血管(CNV)病灶生長(如藉由螢光素血管攝影術所測定)來評估。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前存在的CNV病灶相比，CNV病灶在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後縮小(例如超過約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%或100%中之任一者)，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前存在的CNV病灶相比，CNV病灶在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後不生長(例如生長小於約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約15%或約20%中之任一者)，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為wAMD。

【0165】 在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於一隻眼睛及/或對側眼睛之解剖學特徵來評估，該等解剖學特徵係基於此項技術中已知之任何方法(例如SD-OCT、OCT、螢光素血管攝影術、數位彩色眼底攝影等)。在一些實施例中，若在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後觀測到一隻眼睛及/或對側眼睛之解剖學特徵之改良，則確定在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為

wAMD。

【0166】在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後的個體之眼睛新生血管性疾病之治療係基於以下來評估：眼科檢查、眼內壓(例如使用Goldmann壓平眼壓計或Tono筆)、間接眼底鏡檢查法、一隻眼睛及/或對側眼睛及附件之檢查、眼瞼及/或瞳孔反應、眼瞼下垂、瞳孔形狀異常、瞳孔不相等、對光之異常反應、傳入性瞳孔缺陷、裂隙燈檢查(包括眼瞼、結膜、角膜、晶狀體、虹膜及前房)、玻璃體之後段異常、視神經、外周視網膜及視網膜血管、SD-OCT、螢光素血管攝影術、數位彩色眼底攝影(包括視網膜、視神經盤及/或黃斑之影像)、眼房液取樣、玻璃體液取樣、OCT-血管攝影術(OCT-A)、折射及/或視力(BCVA)。在一些實施例中，進行SD-OCT以評估視網膜厚度(例如中心視網膜厚度或中心子區域厚度)、黃斑體積及/或液體(例如視網膜下液體或視網膜內液體)之存在。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為wAMD。

【0167】可藉由此項技術中已知之任何方法向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。舉例而言，可眼內或藉由玻璃體內注射向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛眼內投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，藉由玻璃體內注射(IVT)或視網膜下注射向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，藉由IVT注射向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，使用無菌技術以藉由玻璃體內注射來投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，使用藉由聚維酮-碘進行之無菌技術以藉由

玻璃體內注射來投與單位劑量之rAAV粒子。

【0168】在一些實施例中，個體未接受用於眼睛新生血管性疾病之先前治療。在一些實施例中，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中未接受用於眼睛新生血管性疾病之先前治療。在一些實施例中，個體未接受用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療。在一些實施例中，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中未接受用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療。在一些實施例中，個體未接受先前阿柏西普治療。在一些實施例中，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中未接受先前阿柏西普治療。

類固醇治療

【0169】在一些實施例中，單位劑量之rAAV粒子係與類固醇治療組合投與。在一些實施例中，類固醇治療為皮質類固醇治療。例示性皮質類固醇包括(但不限於)阿氯米松(aclometasone)、安西米德(amcinomide)、倍氯米松(beclometasone)、倍他米松(betamethasone)、布地奈德(budesonide)、環索奈德(ciclesonide)、倍氯松(clobetasol)、可洛貝他松(clobetasone)、氯可托龍(clocortolone)、氯潑尼醇(cloprednol)、可的伐唑(cortivazol)、地夫可特(deflazacort)、去氧皮質固酮(deoxycorticosterone)、地奈德去羥米松(desonide desoximetasone)、地塞米松(dexamethasone)、二氟拉松(diflorasone)、

二氟可龍(diflucortolone)、二氟潑尼酯(difluprednate)、氟氯奈德(fluclorolone)、氟氫可的松(fludrocortisone)、氟氫縮松(fludroxycortide)、氟米松(flumetasone)、氟尼縮松(flunisolide)、丙酮化氟新龍(fluocinolone acetonide)、氟西奈德(fluocinonide)、氟可丁(fluocortin)、氟可龍(fluocortolone)、氟米龍(fluorometholone)、氟培龍(fluperolone)、氟替卡松(fluticasone)、氟潑尼定(fuprednidene)、氟甲醯龍(formocortal)、哈西奈德(halcinonide)、鹵米松(halometasone)、醋丙酸氫化可的松(hydrocortisone aceponate)、丙丁酸氫化可的松(hydrocortisone buteprate)、丁酸氫化可的松(hydrocortisone butyrate)、氯替潑諾(loteprednol)、甲羥松(medrysone)、甲潑尼松(meprednisone)、甲基潑尼松龍(methylprednisolone)、醋丙酸甲基潑尼松龍(methylprednisolone aceponate)、糠酸莫米松(mometasone furoate)、帕拉米松(paramethasone)、潑尼卡酯(prednicarbate)、潑尼松(prednisone)、潑尼松龍(prednisolone)、潑尼立定(prednylidene)、利美索龍(remexolone)、替可的松(tixocortol)、曲安西龍(triamcinolone)及烏倍他索(ulobetasol)。在一些實施例中，類固醇治療為全身性類固醇治療。在一些實施例中，類固醇治療為口服類固醇治療。在一些實施例中，類固醇治療為眼用類固醇治療。在一些實施例中，眼用類固醇治療為局部類固醇治療(例如滴劑)、眼周類固醇治療(例如眼筋膜囊內、結膜下)、玻璃體內類固醇治療或脈絡膜上腔類固醇治療。在一些實施例中，局部類固醇治療為二氟潑尼酯治療、甲羥松治療、氯替潑諾治療、潑尼松龍治療、膚輕鬆治療、曲安西龍治療、利美索龍治療、地塞米松治療、氟米龍治療、膚輕鬆治療、利美索龍治療或潑尼松治療。在一些實施例中，眼用類

固醇治療為二氟潑尼酯治療。在一些實施例中，類固醇治療為潑尼松治療。在一些實施例中，類固醇治療為二氟潑尼酯治療。

【0170】 在一些實施例中，類固醇治療包含全身性類固醇治療及局部類固醇治療。在一些實施例中，全身性類固醇治療為口服類固醇治療。在一些實施例中，全身性類固醇治療為潑尼松治療。在一些實施例中，局部類固醇治療為二氟潑尼酯治療。在一些實施例中，全身性類固醇治療及局部類固醇治療係同時(例如在同一天)投與。在一些實施例中，全身性類固醇治療及局部類固醇治療係分開(例如在不同天)投與。

【0171】 在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前、期間及/或之後投與類固醇。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前、期間及之後投與類固醇。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子期間及之後投與類固醇。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前投與類固醇。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子期間投與類固醇。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前及期間投與類固醇。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之後投與類固醇。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子期間及之後投與類固醇。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前及/或之後投與類固醇。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前及之後投與類固醇。

【0172】 在一些實施例中，類固醇治療為全身性類固醇治療。在一些實施例中，全身性類固醇治療為口服類固醇治療。

【0173】 在一些實施例中，類固醇治療為口服潑尼松治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前開始口服潑尼松治療。在一

些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前約7天、約6天、約5天、約4天、約3天、約2天、約1天或0天中之任一者，以每天約40 mg、約45 mg、約50 mg、約55 mg、約60 mg、約65 mg或約70 mg潑尼松中之任一者之劑量投與初始口服潑尼松治療，且持續約3天、約4天、約5天、約6天、約7天、約8天、約9天或約10天中之任一者或更長時間。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV之前約3天，以每天約60 mg潑尼松之劑量投與初始口服潑尼松治療，且持續約3天。

【0174】 在一些實施例中，在初始口服潑尼松治療之後逐漸減少口服潑尼松治療劑量。在一些實施例中，按以下劑量投與逐漸減少之口服潑尼松治療劑量：每天約20 mg、約25 mg、約30 mg、約35 mg、約40 mg、約45 mg或約50 mg潑尼松中之任一者持續總共約1天、約2天、約3天、約4天、約5天、約6天或約7天中之任一者，接著每天約10 mg、約15 mg、約20 mg或約25 mg潑尼松之劑量持續約1天、約2天、約3天或約4天中之任一者，接著每天約5 mg、約10 mg或約15 mg潑尼松之劑量持續約1天、約2天、約3天或約4天。在一些實施例中，按以下劑量投與逐漸減少之潑尼松劑量：每天約40 mg潑尼松中之任一者持續3天，接著每天約20 mg潑尼松之劑量持續2天，接著每天約10 mg潑尼松之劑量持續2天。

【0175】 在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前3天，按以下方式開始初始口服潑尼松治療：每天60 mg潑尼松之劑量持續總共6天，接著每天40 mg潑尼松之劑量持續總共3天，接著每天20 mg潑尼松之劑量持續2天，接著每天10 mg潑尼松之劑量持續2天。

【0176】 在一些實施例中，類固醇治療為眼用類固醇治療。在一些實施例中，眼用類固醇治療為二氟潑尼酯治療。在一些實施例中，在投與

單位劑量之rAAV粒子之前、期間及/或之後投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子期間投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之後投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前及期間投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前及之後投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子期間及之後投與類固醇治療。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前、期間及之後投與類固醇治療。

【0177】 在一些實施例中，類固醇治療為眼用類固醇治療，例如局部類固醇治療。在一些實施例中，眼用類固醇治療(例如局部類固醇治療)為在投與單位劑量之rAAV粒子之後的持續至多4週、至多6週、至多8週、至多3個月、至多4個月、至多5個月或至多6個月之每天類固醇治療。在一些實施例中，局部類固醇治療包含在約第1週進行約四次局部類固醇投藥，在約第2週進行約三次局部類固醇投藥，在約第3週進行約兩次局部類固醇投藥及在約第4週進行約一次局部類固醇投藥；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥為起始且遵循單位劑量之rAAV粒子之投藥。在一些實施例中，局部類固醇治療包含在投與單位劑量之rAAV粒子之後每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約3週，接著每天進行約3次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約1週，接著每天進行約2次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約1週且接著每天進行約1次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約1週。在一些實施例中，由治療醫師決定延長眼用類固醇治療。

【0178】 在一些實施例中，眼用類固醇為約0.005%至約0.5%二氟

潑尼酯。在一些實施例中，眼用類固醇為約0.005%、約0.006%、約0.007%、約0.008%、約0.009%、約0.01%、約0.02%、約0.03%、約0.4%、約0.05%、約0.06%、約0.07%、約0.08%、約0.09%或約0.1%二氟潑尼酯中之任一者。在一些實施例中，眼用類固醇為0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，0.05%二氟潑尼酯之劑量為一滴眼用溶液。在一些實施例中，一滴為約50 μl (例如約25 μl至約50 μl，或約50 μl至約100 μl)。在一些實施例中，二氟潑尼酯之劑量包含約1 μg至約5 μg，或約2 μg至約3 μg，或約2.5 μg二氟潑尼酯。在一些實施例中，二氟潑尼酯之劑量包含約2.5 μg二氟潑尼酯。

【0179】 在一些實施例中，局部類固醇治療包含7週局部類固醇治療，例如0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約四週，接著每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約一週，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約一週且接著每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約一週；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥之前約一週為起始。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約28天，接著每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約7天，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約7天且接著每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約7天；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥之前約7天為起始。在一些實施例中，局部類固醇治療包含在第1天至約第28天每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)，接著在約第29天至約第35天每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)，接著在約第36天至約第42天每天進行約兩次局部類

固醇投藥(亦即，BID)且接著在約第43天至約第49天每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)；時序以第1天為起始。在一些實施例中，若存在發炎，則繼續局部類固醇治療。

【0180】 在一些實施例中，本文中所提供之治療方法包含在向個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前，向個體之一隻眼睛投與抗VEGF藥劑(例如阿柏西普IVT注射)。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前約7天或約1週投與抗VEGF藥劑。在一些實施例中，在約第1天投與抗VEGF藥劑且在約第8天投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，局部類固醇治療包含7週局部類固醇治療，例如0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約四週，接著每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約一週，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約一週且接著每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約一週；時序以抗VEGF藥劑之投藥為起始且遵循抗VEGF藥劑之投藥。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約28天，接著每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約7天，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約7天且接著每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約7天；時序以抗VEGF藥劑之投藥為起始且遵循抗VEGF藥劑之投藥。在一些實施例中，局部類固醇治療包含在第1天至約第28天每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)，接著在約第29天至約第35天每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)，接著在約第36天至約第42天每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)且接著在約第43天至約第49天每天進行約一次局部類固

醇投藥(亦即，QD)；時序以第1天為起始。在一些實施例中，若存在發炎，則繼續局部類固醇治療。

【0181】在一些實施例中，局部類固醇治療包含4個月局部類固醇治療，例如0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約一個月，接著每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約一個月，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約一個月且接著每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約一個月；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥之前約一週為起始。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約30天，接著每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約30天，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約30天且接著每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約30天；時序以單位劑量之rAAV粒子之投藥之前約7天為起始。在一些實施例中，局部類固醇治療包含在第1天至約第30天每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)，接著在約第31天至約第60天每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)，接著在約第61天至約第90天每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)且接著在約第91天至約第120天每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)；時序以第1天為起始。在一些實施例中，若存在發炎，則繼續局部類固醇治療。

【0182】在一些實施例中，本文中所提供之治療方法包含在向個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前，向個體之一隻眼睛投與抗VEGF藥劑(例如阿柏西普IVT注射)。在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前約7天或約1週投與抗VEGF藥劑。在一些實施例中，在

約第1天投與抗VEGF藥劑且在約第8天投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，局部類固醇治療包含4個月局部類固醇治療，例如0.05%二氟潑尼酯。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約一個月，接著每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約一個月，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約一個月且接著每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約一個月；時序以抗VEGF藥劑之投藥為起始且遵循抗VEGF藥劑之投藥。在一些實施例中，局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)持續約30天，接著每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)持續約30天，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)持續約30天且接著每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)持續約30天；時序以抗VEGF藥劑之投藥為起始且遵循抗VEGF藥劑之投藥。在一些實施例中，局部類固醇治療包含在第1天至約第30天每天進行約四次局部類固醇投藥(亦即，QID)，接著在約第31天至約第60天每天進行約三次局部類固醇投藥(亦即，TID)，接著在約第61天至約第90天每天進行約兩次局部類固醇投藥(亦即，BID)且接著在約第91天至約第120天每天進行約一次局部類固醇投藥(亦即，QD)；時序以第1天為起始。在一些實施例中，若存在發炎，則繼續局部類固醇治療。

用於向目標細胞遞送轉基因之載體

【0183】 在一些實施例中，重組腺相關病毒(rAAV)粒子包含來源於腺相關病毒(AAV)之重組病毒載體，該重組病毒載體已經改變使得其在個體(例如人類或非人類靈長類動物)中為複製缺陷型。在一些實施例中，腺相關病毒(AAV)為重組AAV (rAAV)。

【0184】 AAV或rAAV為小型無包膜單股DNA病毒。rAAV為非病原性人類小病毒且可使其依賴於輔助病毒(包括腺病毒、單純疱疹病毒、痘瘡病毒及CMV)來進行複製。

【0185】 暴露於野生型(wt)AAV不與任何人類病變相關或已知不會引起任何人類病變且常見於一般人群中，使得AAV或rAAV成為適用於基因療法之遞送系統。用於基因療法以遞送抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之AAV及rAAV可具有任何血清型。在一些實施例中，本發明之方法提供任何適合的AAV血清型(包括AAV1、AAV2、AAV2.5、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、rh10、AAV-DJ及其任何雜交或嵌合AAV)之用途。在一些實施例中，所使用之血清型係基於病毒之向性或相關目標細胞之感染性。在一些實施例中，可產生若干AAV載體以允許選擇最佳的血清型，以與抗VEGF藥劑轉基因(例如阿柏西普轉基因)一起使用。

【0186】 在一些實施例中，本發明之方法提供假模式化AAV之用途。假模式化AAV粒子包含由一種AAV血清型之AAV衣殼進行衣殼化之另一種AAV血清型之AAV基因體反向末端重複序列(ITR)。通常，假模式化AAV表示為「AAV#/#」，其中第一個「#」指示AAV ITR血清型且第二個「#」指示衣殼血清型。舉例而言，包含AAV2 ITR及AAV1衣殼之AAV粒子將稱為「AAV2/1」。

【0187】 在一些實施例中，rAAV粒子包含核酸，例如異源核酸。在一些實施例中，核酸編碼轉基因，例如抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)。在一些實施例中，經編碼之轉基因(例如抗VEGF藥劑)受引發核酸轉錄之啟動子之轉錄控制。在一些實施例中，啟動子為「廣泛」啟動子。在一些

實施例中，啟動子為「強」或組成性活化啟動子，例如細胞巨大病毒(CMV)啟動子、延長因子1α (EF1a)啟動子、甘油醛3-磷酸脫氫酶(GAPDH)啟動子或連結蛋白36 (或「Cx36」)啟動子。在一些實施例中，啟動子為組織特異性啟動子，其在特異性組織或細胞(諸如視網膜細胞)中活化以降低對非目標細胞之潛在毒性或不合需要的作用。在一些態樣中，可產生若干AAV載體以允許選擇最佳的血清型及啟動子，以與抗VEGF藥劑轉基因(例如阿柏西普轉基因)一起使用。在一些實施例中，核酸由AAV反向末端重複序列(ITR)側接。在一些實施例中，核酸由AAV2 ITR側接。

【0188】 在一些實施例中，AAV載體包含用於轉基因(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)在目標細胞(例如視網膜細胞)中之增強的表現之聚核苷酸卡匣。在一些實施例中，以5'至3'順序，聚核苷酸卡匣包含：(a)第一強化子區域，其包含CMV序列(SEQ ID NO:22)；(b)啟動子區域，其包含CMV序列(SEQ ID NO:23)；(c)5'UTR區域，以5'至3'順序，其包含TPL及eMLP序列(分別為SEQ ID NO:24及SEQ ID NO:25)；(d)編碼序列，其編碼肽或多肽(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)；(e)第二強化子區域，其包含完全EES序列(SEQ ID NO:26)；及(f)HGH聚腺苷酸化位點(SEQ ID NO:27)。在某些此等實施例中，聚核苷酸卡匣包含一或多個選自SEQ ID NO:28-32之序列，或與其具有至少85%一致性之序列。在某些此等實施例中，聚核苷酸卡匣之5'臂包含或由以下組成：SEQ ID NO:33或與其具有至少85%一致性之序列。在某些此等實施例中，聚核苷酸卡匣之3'臂包含或由以下組成：SEQ ID NO:34或與其具有至少85%一致性之序列。SEQ ID NO:22-34之核酸序列提供於下文中：

ACTTACGGTA AATGGCCCGC CTGGCTGACC GCCCAACGAC CCCCGCCCAT TGACGTCAAT
AATGACGTAT GTTCCCATAG TAACGCCAAT AGGGACTTTC CATTGACGTC AATGGGTGGA
GTATTTACGG TAAACTGCCC ACTTGGCAGT ACATCAAGTG TATCATATGC CAAGTCCGCC
CCCTATTGAC GTCAATGACG GTAAATGGCC CGCCTGGCAT TATGCCCAGT ACATGACCTT
ACGGGACTTT CCTACTTGGC AGTACATCTA CGTATTAGTC ATCGCTATTA CCA (SEQ ID NO:
22)

TGCTGATGCG GTTTTGGCAG TACACCAATG GGCGTGGATA GCGGTTTGAC TCACGGGGAT
TTCCAAGTCT CCACCCCATT GACGTCAATG GGAGTTTGTT TTGGCACCAA AATCAACGGG
ACTTTCCAAA ATGTCGTAAT AACCCCGCCC CGTTGACGCA AATGGGCGGT AGGCGTGTAC
GGTGGGAGGT CTATATAAGC AGAGCTCGTT TAGTGAACCG (SEQ ID NO: 23)

CTCACTCTCT TCCGCATCGC TGTCTGCGAG GGCCAGCTGT TGGGCTCGCG GTTGAGGACA
AACTCTTCGC GGTCTTTCCA GTACTCTTGG ATCGGAAACC CGTCGGCCTC CGAACGGTAC
TCCGCCACCG AGGGACCTGA GCGAGTCCGC ATCGACCGGA TCGGAAAACC TCTCGAGAAA
GGCGTCTAAC CAGTCACAGT CGCAAGGTAG GCTGAGCACC GTGGCGGGCG GCAGCGGGTG
GCGGTCGGGG TTGTTTCTGG CGGAGGTGCT GCTGATGATG TAATTAAAGT AGGCGGTCTT
GAGACGGCGG ATGGTCGA (SEQ ID NO: 24)

CCAGCTGTTG GGGTGAGTAC TCCCTCTCAA AAGCGGGCAT TACTTCTGCG CTAAGATTGT
CAGTTTCCAA AAACGAGGAG GATTTGATAT TCACCTGGCC CG (SEQ ID NO: 25)

CTGTTCTCAT CACATCATAT CAAGGTTATA TACCATCAAT ATTGCCACAG ATGTTACTTA
GCCTTTTAAT ATTTCTCTAA TTTAGTGTAT ATGCAATGAT AGTTCTCTGA TTTCTGAGAT
TGAGTTTCTC ATGTGTAATG ATTATTTAGA GTTTCTCTTT CATCTGTTCA AATTTTTGTC
TAGTTTTATT TTTTACTGAT TTGTAAGACT TCTTTTTATA ATCTGCATAT TACAATTCTC
TTTACTGGGG TGTTGCAAAT ATTTTCTGTC ATTCTATGGC CTGACTTTTC TTAATGGTTT

TTTAATTTTA AAAATAAGTC TTAATATTCA TGCAATCTAA TTAACAATCT TTTCTTTGTG
GTTAGGACTT TGAGTCATAA GAAATTTTTC TCTACACTGA AGTCATGATG GCATGCTTCT
ATATTATTTT CTAAAAGATT TAAAGTTTTG CCTTCTCCAT TTAGACTTAT AATTCACTGG
AATTTTTTTG TGTGTATGGT ATGACATATG GGTTCCCTTT TATTTTTTAC ATATAAATAT
ATTTCCCTGT TTTTCTAAAA AAGAAAAAGA TCATCATTTT CCCATTGTAA AATGCCATAT
TTTTTTCATA GGTCACTTAC ATATATCAAT GGGTCTGTTT CTGAGCTCTA CTCTATTTTA
TCAGCCTCAC TGTCTATCCC CACACATCTC ATGCTTTGCT CTAAATCTTG ATATTTAGTG
GAACATTCTT TCCCATTTTG TTCTACAAGA ATATTTTTGT TATTGTCTTT GGGCTTTCTA
TATACATTTT GAAATGAGGT TGACAAGTTA (SEQ ID NO: 26)

CTGCCCGGGT GGCATCCCTG TGACCCCTCC CCAGTGCCTC TCCTGGCCCT GGAAGTTGCC
ACTCCAGTGC CCACCAGCCT TGTCCTAATA AAATTAAGTT GCATCATTTT GTCTGACTAG
GTGTCCTTCT ATAATATTAT GGGGTGGAGG GGGGTGGTAT GGAGCAAGGG GCCCAAGTTG
GGAAGAAACC TGTAGGGCCT GC (SEQ ID NO: 27)

AGGCGGTCTT GAGACGGCGG ATGGTCGAGG TGAGGTGTGG CAGGCTTGAG ATCCAGCTGT
TGGGGTGA (SEQ ID NO: 28)

CGCTGTTTTG ACCTCCATAG TGGACACCGG GACCGATCCA GCCTCCGCGT CTCAGGGGAG
ATCTCGTTTA GTGAACCGTC AGATCCTCAC TCTCTTCCGC ATCGCTGTCT GCGAGGGCCA
GCTGTTGGG (SEQ ID NO: 29)

TTGATATTCA CCTGGCCCGA TCTGGCCATA CACTTG (SEQ OD NO: 30)

CCCAGGTCCA AGTTTAAACG CC (SEQ ID NO: 31)

TCTTTGGGCT TTCTATATAC ATTTTGAAAT GAGGTTGACA AGTTACCTAG GAAAACTGTC
TTCCTGCCCG GGTGGCA (SEQ ID NO: 32)

CTCTGGAGAC GACTTACGGT AAATGGCCCG CCTGGCTGAC CGCCCAACGA CCCCCGCCCA
TTGACGTCAA TAATGACGTA TGTTCCCATA GTAACGCCAA TAGGGACTTT CCATTGACGT
CAATGGGTGG AGTATTTACG GTAAACTGCC CACTTGGCAG TACATCAAGT GTATCATATG
CCAAGTCCGC CCCCTATTGA CGTCAATGAC GGTAAATGGC CCGCCTGGCA TTATGCCCAG
TACATGACCT TACGGGACTT TCCTACTTGG CAGTACATCT ACGTATTAGT CATCGCTATT
ACCATGCTGA TGCGGTTTTG GCAGTACACC AATGGGCGTG GATAGCGGTT TGACTCACGG
GGATTTCCAA GTCTCCACCC CATTGACGTC AATGGGAGTT TGTTTTGGCA CCAAAATCAA
CGGGACTTTC CAAAATGTCG TAATAACCCC GCCCCGTTGA CGCAAATGGG CGGTAGGCGT
GTACGGTGGG AGGTCTATAT AAGCAGAGCT CGTTTAGTGA ACCGTCAGAT CGCCTGGAGA
GGCCATCCAC GCTGTTTTGA CCTCCATAGT GGACACCGGG ACCGATCCAG CCTCCGCGTC
TCAGGGGAGA TCTCGTTTAG TGAACCGTCA GATCCTCACT CTCTTCCGCA TCGCTGTCTG
CGAGGGCCAG CTGTTGGGCT CGCGGTTGAG GACAAACTCT TCGCGGTCTT TCCAGTACTC
TTGGATCGGA AACCCGTCGG CCTCCGAACG GTACTCCGCC ACCGAGGGAC CTGAGCGAGT
CCGCATCGAC CGGATCGGAA AACCTCTCGA GAAAGGCGTC TAACCAGTCA CAGTCGCAAG
GTAGGCTGAG CACCGTGGCG GGCGGCAGCG GGTGGCGGTC GGGGTTGTTT CTGGCGGAGG
TGCTGCTGAT GATGTAATTA AAGTAGGCGG TCTTGAGACG GCGGATGGTC GAGGTGAGGT
GTGGCAGGCT TGAGATCCAG CTGTTGGGGT GAGTACTCCC TCTCAAAAGC GGGCATTACT
TCTGCGCTAA GATTGTCAGT TTCCAAAAAC GAGGAGGATT TGATATTCAC CTGGCCCGAT
CTGGCCATAC ACTTGAGTGA CAATGACATC CACTTTGCCT TTCTCTCCAC AGGTGTCCAC
TCCCAGGTCC AAGTTTAAAC GCCGCCACCA TG (SEQ ID NO: 33)

ACTGTTCTCA TCACATCATA TCAAGGTTAT ATACCATCAA TATTGCCACA GATGTTACTT
AGCCTTTTAA TATTTCTCTA ATTTAGTGTA TATGCAATGA TAGTTCTCTG ATTTCTGAGA
TTGAGTTTCT CATGTGTAAT GATTATTTAG AGTTTCTCTT TCATCTGTTC AAATTTTTGT
CTAGTTTTAT TTTTTACTGA TTTGTAAGAC TTCTTTTTAT AATCTGCATA TTACAATTCT
CTTTACTGGG GTGTTGCAAA TATTTTCTGT CATTCTATGG CCTGACTTTT CTTAATGGTT
TTTTAATTTT AAAAATAAGT CTTAATATTC ATGCAATCTA ATTAACAATC TTTTCTTTGT
GGTTAGGACT TTGAGTCATA AGAAATTTTT CTCTACACTG AAGTCATGAT GGCATGCTTC

TATATTATTT TCTAAAAGAT TTAAAGTTTT GCCTTCTCCA TTTAGACTTA TAATTCACTG
GAATTTTTTT GTGTGTATGG TATGACATAT GGGTTCCCTT TTATTTTTTA CATATAAATA
TATTTCCCTG TTTTTCTAAA AAAGAAAAAG ATCATCATTT TCCCATTGTA AAATGCCATA
TTTTTTTCAT AGGTCACTTA CATATATCAA TGGGTCTGTT TCTGAGCTCT ACTCTATTTT
ATCAGCCTCA CTGTCTATCC CCACACATCT CATGCTTTGC TCTAAATCTT GATATTTAGT
GGAACATTCT TTCCCATTTT GTTCTACAAG AATATTTTTG TTATTGTCTT TGGGCTTTCT
ATATACATTT TGAAATGAGG TTGACAAGTT ACCTAGGAAA ACTGTCTTCC TGCCCGGGTG
GCATCCCTGT GACCCCTCCC CAGTGCCTCT CCTGGCCCTG GAAGTTGCCA CTCCAGTGCC
CACCAGCCTT GTCCTAATAA AATTAAGTTG CATCATTTTG TCTGACTAGG TGTCCTTCTA
TAATATTATG GGGTGGAGGG GGGTGGTATG GAGCAAGGGG CCCAAGTTGG GAAGAAACCT
GTAGGGCCTG CGAAGACAGT CAG (SEQ ID NO: 34)

【0189】在一些實施例中，聚核苷酸卡匣包含或由以下組成：SEQ ID NO:39或與其具有至少85%一致性之序列。

gcgcgctcgctcgctcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcgtcgggcgacctttggtcgcccggcct
cagtgagcgagcgagcgcgcagagagggagtggccaactccatcactaggggttccttgtagttaatgatt
aacccgccatgctacttatctacgtactctggagacgacttacggtaaatggcccgcctggctgaccgccc
aacgaccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggactttccattg
acgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgccaagtc
cgcccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgcccagtacatgaccttacgggac
tttcctacttggcagtacatctacgtattagtcatcgctattaccatgctgatgcggttttggcagtacac
caatgggcgtggatagcggtttgactcacggggatttccaagtctccaccccattgacgtcaatgggagtt
tgttttggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgtaataaccccgccccgttgacgcaaatgggc
ggtaggcgtgtacggtgggaggtctatataagcagagctcgtttagtgaaccgtcagatcgcctggagagg
ccatccacgctgttttgacctccatagtggacaccgggaccgatccagcctccgcgtctcaggggagatct
cgtttagtgaaccgtcagatcctcactctcttccgcatcgctgtctgcgagggccagctgttgggctcgcg
gttgaggacaaactcttcgcggtctttccagtactcttggatcggaaacccgtcggcctccgaacggtact
ccgccaccgagggacctgagcgagtccgcatcgaccggatcggaaaacctctcgagaaaggcgtctaacca
gtcacagtcgcaaggtaggctgagcaccgtggcgggcggcagcgggtggcggtcggggttgtttctggcgg
aggtgctgctgatgatgtaattaaagtaggcggtcttgagacggcggatggtcgaggtgaggtgtggcagg
cttgagatccagctgttggggtgagtactccctctcaaaagcgggcattacttctgcgctaagattgtcag
tttccaaaaacgaggaggatttgatattcacctggcccgatctggccatacacttgagtgacaatgacatc
cactttgcctttctctccacaggtgtccactcccaggtccaagtttaaacgccgccaccatggtgtcatac
tgggatactggagtcttgctttgtgccctgctgtcctgcctcctcctgactggctccagctcgggctcaga
taccggtcgccccttcgtggagatgtactccgagatcccggaaattatccacatgactgaggggcgcgaac
ttgtgatcccctgccgggtcaccagcccgaacattactgtgactttgaagaagttccccctggacaccctg
attccggatgggaagagaattatctgggattcacggaagggattcatcatcagcaacgcgacctacaagga
aattggcctcctcacttgcgaagccactgtgaacggacacttgtacaagaccaactacctgacccaccgcc
agaccaacaccatcatcgacgtcgtcctgtcccccttcgcacgggatcgagctctcggtgggagagaagttg
gtgcttaactgcaccgcccggacggaactgaatgtgggaatcgacttcaactgggaatacccgtccagcaa
gcatcagcataagaagctggtgaaccgggacctcaagactcagtccggcagcgaaatgaagaagttcctgt
cgaccctcactattgacggagtgaccagatccgaccagggcctctacacttgcgccgcttccagcggactc
atgaccaagaagaacagcactttcgtgagggtgcatgagaaggacaagacccacacgtgtccgccgtgccc
agccccagagctgctgggaggcccttccgtgttcctgtttccgcccaagccaaaggataccctgatgatct
caaggacccctgaggtcacatgcgtcgtggtggatgtgtcgcacgaggaccctgaagtcaaattcaattgg
tatgtggacggagtggaagtccacaacgcgaaaaccaagccgagagaagaacagtacaattccacctaccg
ggtggtgtcggtgctgactgtgctgcaccaggactggctcaacggaaaggagtacaagtgcaaggtgtcca

acaaggctctgcccgcacctattgaaaagaccatctccaaggccaagggtcaacctcgcgagcctcaggtg
tacactctgcctccaagccgggacgaactgactaagaaccaagtctctctgacctgtttggtgaagggctt
ctacccgtcagacatcgcagtggagtgggagtcaaacggtcagccggagaacaactacaaaacaacccccc
ccgtgctggactccgacggctccttcttcctgtactccaagcttaccgtggataagagccgctggcaacag
ggcaacgtgttttcctgctccgtcatgcacgaagccctgcacaaccattatacccagaagtccctgtcgct
gtcccccgggaaatagtgactgttctcatcacatcatatcaaggttatataccatcaatattgccacagat
gttacttagccttttaatatttctctaatttagtgtatatgcaatgatagttctctgatttctgagattga
gtttctcatgtgtaatgattatttagagtttctctttcatctgttcaaatttttgtctagttttatttttt
actgatttgtaagacttctttttataatctgcatattacaattctctttactggggtgttgcaaatatttt
ctgtcattctatggcctgacttttcttaatggtttttttaattttaaaaataagtcttaatattcatgcaat
ctaattaacaatcttttctttgtggttaggactttgagtcataagaaatttttctctacactgaagtcatg
atggcatgcttctatattattttctaaaagatttaaagttttgccttctccatttagacttataattcact
ggaatttttttgtgtgtatggtatgacatatgggttccctttttatttttacatataaatatatttccctg
tttttctaaaaaaagaaaaagatcatcattttcccattgtaaaatgccatatttttttcataggtcacttac
atatatcaatgggtctgtttctgagctctactctattttatcagcctcactgtctatccccacacatctca
tgctttgctctaaatcttgatatttagtggaacattctttcccattttgttctacaagaatatttttgtta
ttgtctttgggctttctatatacattttgaaatgaggttgacaagttacctaggaaaactgtcttcctgcc
cgggtggcatccctgtgacccctccccagtgcctctcctggccctggaagttgccactccagtgcccacca
gccttgtcctaataaaattaagttgcatcattttgtctgactaggtgtccttctataatattatggggtgg
aggggggtggtatggagcaaggggcccaagttgggaagaaacctgtagggcctgcgtacgtagataagtag
catggcgggttaatcattaactacaaggaacccctagtgatggagttggccactccctctctgcgcgctcg
ctcgctcactgaggccgggcgaccaaaggtcgcccgacgcccgggctttgcccgggcggcctcagtgagcg
agcgagcgcgc (SEQ ID NO: 39)

【0190】 以5'至3'方向，以上展示之SEQ ID NO:39包含AAV血清型2之反向末端重複序列(ITR)，其包含SEQ ID NO:39之核苷酸1-145；CMV啟動子，其包含SEQ ID NO:39之核苷酸180-693；5'非轉譯區(UTR)，其包括腺病毒三連前導序列及合成內含子，且包含SEQ ID NO:39之核苷酸694-1314；Kozak序列，其包含SEQ ID NO:39之核苷酸1329-1340；經密碼子最佳化之阿柏西普cDNA序列，其包含SEQ ID NO:39之核苷酸1338-2714；3' UTR，其包括人類骨架連接區且包含SEQ ID NO:39之核苷酸2717-3527；人類生長激素聚腺苷酸化/轉錄終止信號，其包含SEQ ID NO:39之核苷酸3546-3748；及AAV血清型2之反向末端重複序列(ITR)，其包含SEQ ID NO:39之核苷酸3772-3916。參見例如**圖1C**。

【0191】 其他用於轉基因(例如編碼抗VEGF藥劑(諸如阿柏西普)之

轉基因)在目標細胞(諸如視網膜細胞)中之增強的表現之聚核苷酸卡匣揭示於WO2018/170473中，其與用於轉基因在目標細胞中之增強的表現之聚核苷酸卡匣相關的內容以引用之方式併入本文中。

【0192】 在一些實施例中，使用包含具有增加之目標細胞(例如視網膜細胞)之感染性的變異型衣殼蛋白質之rAAV粒子以增加視網膜細胞之轉導或提高對個體中之視網膜細胞之基因遞送之靶向性。在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV衣殼蛋白質之衣殼蛋白質GH環/環IV中之胺基酸修飾。在一些實施例中，修飾位點為AAV衣殼蛋白質之GH環/環IV之溶劑可達部分。關於AAV衣殼之GH環/環IV之說明，參見例如van Vliet等人 (2006) Mol. Ther. 14:809；Padron等人 (2005) J. Virol. 79:5047；及Shen等人 (2007) Mol. Ther. 15:1955。已知若干AAV衣殼變異體，包括7m8變異體。在一些實施例中，rAAV粒子包含變異型AAV衣殼蛋白質，其與相應的親本AAV衣殼蛋白質相比包含衣殼蛋白質之GH環中之5個胺基酸至11個胺基酸(例如7個胺基酸序列)之插入，且其中與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子提供之視網膜細胞之感染性相比，變異型衣殼蛋白質提供增加的視網膜細胞之感染性。在一些實施例中，可將以下胺基酸序列中之任一者插入衣殼蛋白質之GH環中：LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)；LANETITRPA (SEQ ID NO:2)、LAKAGQANNA (SEQ ID NO:3)、LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:4)、KDTDTTR (SEQ ID NO:5)、RAGGSVG (SEQ ID NO:6)、AVDTTKF (SEQ ID NO:7)、STGKVPN (SEQ ID NO:8)、LAKDTDTTRA (SEQ ID NO:9)、LARAGGSVGA (SEQ ID NO:10)、LAAVDTTKFA (SEQ ID NO:11)及LASTGKVPNA (SEQ ID NO:12)、LGETTRP (SEQ ID

NO:14)、NETITRP (SEQ ID NO:15)、KAGQANN (SEQ ID NO:16)、KDPKTTN (SEQ ID NO:17)、KDTDTTR (SEQ ID NO:18)、RAGGSVG (SEQ ID NO:19)、AVDTTKF (SEQ ID NO:20)及STGKVPN (SEQ ID NO:21)。在一些實施例中，將SEQ ID NO:1-12及14-21中所闡述之胺基酸序列中之任一者插入rAAV中之VP1衣殼蛋白質之經溶劑暴露之GH環中。其他關於可插入衣殼蛋白質之GH環中(例如以促進IVT注射後相關核酸轉導至視網膜細胞)之胺基酸序列之詳細說明提供於WO2012145601、US9587282、US10202657及US10214785中，其與可插入衣殼蛋白質之GH環中的胺基酸序列相關之內容以引用之方式併入本文中。

【0193】 在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV衣殼蛋白質，例如AAV2衣殼蛋白質，其包括以下胺基酸序列中之任一者：LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)；LANETITRPA (SEQ ID NO:2)、LAKAGQANNA (SEQ ID NO:3)、LAKDPKTTNA (SEQ ID NO:4)、KDTDTTR (SEQ ID NO:5)、RAGGSVG (SEQ ID NO:6)、AVDTTKF (SEQ ID NO:7)、STGKVPN (SEQ ID NO:8)、LAKDTDTTRA (SEQ ID NO:9)、LARAGGSVGA (SEQ ID NO:10)、LAAVDTTKFA (SEQ ID NO:11)及LASTGKVPNA (SEQ ID NO:12)、LGETTRP (SEQ ID NO:14)、NETITRP (SEQ ID NO:15)、KAGQANN (SEQ ID NO:16)、KDPKTTN (SEQ ID NO:17)、KDTDTTR (SEQ ID NO:18)、RAGGSVG (SEQ ID NO:19)、AVDTTKF (SEQ ID NO:20)及STGKVPN (SEQ ID NO:21)，該等胺基酸序列中之任一者係插入以下位置：AAV2衣殼蛋白質之位置587與588之間；AAV1衣殼蛋白質之胺基酸590與591之間；AAV5衣殼蛋白質之胺基酸575與576之間；AAV6衣殼蛋白質之胺基酸590與591之間；

AAV7衣殼蛋白質之胺基酸589與590之間；AAV8衣殼蛋白質之胺基酸590與591之間；AAV9衣殼蛋白質之胺基酸588與589之間；或AAV10衣殼蛋白質之胺基酸589與590之間。在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2衣殼蛋白質，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2衣殼蛋白質，其包含插入包含SEQ ID NO:13之序列的AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)。

【0194】 在一些實施例中，rAAV粒子包含來自AAV2之7m8變異型衣殼蛋白質，其包含在AAV2 VP1之位置587與588之間插入AAV2 VP1蛋白質之GH環中之胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)。在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2 VP1衣殼蛋白質，其包含GH環，該GH環包含SEQ ID NO:38之胺基酸序列或與SEQ ID NO:38具有至少90%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含AAV2 VP1衣殼蛋白質，其包含GH環，該GH環包含與SEQ ID NO:38具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%序列一致性中之任一者之胺基酸序列。

FSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYLSRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDI
RDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYHLNGRDSLVNPGPAMASHKDDE
EKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNLQRGNLAL
GETTRPARQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLK
HPPPQILIKN (SEQ ID NO: 38)

【0195】 在一些實施例中，rAAV粒子包含來自AAV2之7m8變異型衣殼蛋白質，其包含插入AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列

LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)。來自AAV2之包含插入AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)之7m8變異型衣殼蛋白質之序列提供於下文中：

MAADGYLPDWLEDTLSEGIRQWWKLKPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFNGLDKGE
PVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAEFQERLKEDTSFGGNLGRAVFQAKKRV
LEPLGLVEEPVKTAPGKKRPVEHSPVEPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDADSVPDPQPLG
QPPAAPSGLGTNTMATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWHCDSTWMGDRVITTSTRTWALPT
YNNHLYKQISSQSGASNDNHYFGYSTPWGYFDFNRFHCHFSPRDWQRLINNNWGFRPKRLNFKL
FNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGSAHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTL
NNGSQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSYTFEDVPFHSSYAHSQSLDRLMNPLIDQYLYYL
SRTNTPSGTTTQSRLQFSQAGASDIRDQSRNWLPGPCYRQQRVSKTSADNNNSEYSWTGATKYH
LNGRDSLVNPGPAMASHKDDEEKFFPQSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATE
QYGSVSTNLQRGNLALGETTRPARQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPIWAKIPHTDG
HFHPSPLMGGFGLKHPPPQILIKNTPVPANPSTTFSAAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENSKR
WNPEIQYTSNYNKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL (SEQ ID NO: 37)

【0196】在一些實施例中，rAAV粒子包含衣殼蛋白質VP1，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，rAAV粒子包含衣殼蛋白質VP2，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，rAAV粒子包含衣殼蛋白質VP3，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，rAAV粒子包含衣殼蛋白質VP1、VP2及VP3，其中VP1、VP2及VP3中之每一者包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【0197】在一些實施例中，rAAV粒子包含衣殼蛋白質VP1，其包含

插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，rAAV粒子包含衣殼蛋白質VP2，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，rAAV粒子包含衣殼蛋白質VP3，其包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。在一些實施例中，rAAV粒子包含衣殼蛋白質VP1、VP2及VP3，其中VP1、VP2及VP3中之每一者包含插入衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【0198】 在一些實施例中，用於產生rAAV病毒之重組病毒及/或質體包含其他轉錄或調節元件，諸如poly A (聚腺苷酸化)序列、非轉譯區(UTR)、3' UTR或終止序列。在一些實施例中，使用內部核糖體入口位點(IRES)或類似元件由載體或質體表現超過一種基因，從而實現兩種或更多種蛋白質之共表現或產生多基因，或多順反子mRNA。

【0199】 在一些實施例中，rAAV及/或用於產生rAAV之質體包含以下核酸元件中之一或多者：第一ITR序列；啟動子序列；內含子序列；第一UTR序列；編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之異源核酸；第二UTR序列；polyA序列；及第二ITR序列。在一些實施例中，連接子序列插入兩個或更多個核酸元件之間。在一些實施例中，異源核酸編碼治療性多肽，例如編碼阿柏西普(或其功能性片段或功能性變異體)。

【0200】 在一些實施例中，載體為靶向載體，尤其靶向rAAV (例如

AAV2.7m8)，其展示較高的特異性細胞(諸如視網膜細胞，例如感光器、視網膜神經節細胞、繆氏細胞(Müller cell)、雙極細胞、無軸突神經細胞、水平細胞或視網膜色素上皮細胞)之敏感性。用於本發明之病毒載體可包括在個體中呈現低毒性及/或低免疫原性且在個體(例如人類)中表現治療學上有效量之抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之載體。此項技術中已知的任何適合的方法可用於重組病毒(例如rAAV)之生物化學純化中，例如用於本文中其他地方描述之醫藥組合物之製備。可直接自細胞或自包含細胞之培養基收集重組AAV病毒。可使用各種生物化學手段純化病毒，諸如凝膠過濾、過濾、層析、親和純化、梯度超速離心或尺寸排阻方法。在一些實施例中，病毒被凍乾。

【0201】 在一些實施例中，rAAV粒子包含7m8變異型衣殼蛋白質(例如rAAV2.7m8)及編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普，或其功能性片段或功能性變異體)之核酸序列。在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，rAAV粒子(例如7m8變異體)使視網膜細胞感染性增加至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少100%中之任一者。在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，視網膜細胞之感染性之增加係增加5%至100%、5%至95%、5%至90%、5%至85%、5%至80%、5%至75%、5%至70%、5%至65%、5%至60%、5%至55%、5%至50%、5%至45%、5%至40%、5%至35%、5%至30%、5%至25%、5%至20%、5%至15%或5%至10%中之任一者。

【0202】 在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣

殼蛋白質之AAV粒子相比，rAAV變異體(例如rAAV2.7m8)之視網膜細胞感染性之增加係至少1倍、至少1.1倍、至少1.2倍、至少1.3倍、至少1.4倍、至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍或至少2倍中之任一者。在一些實施例中，與包含相應的親本AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，感染性之增加係至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍中之任一者。在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，感染性之增加係至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少35倍、至少40倍、至少45倍、至少50倍、至少55倍、至少60倍、至少65倍、至少70倍、至少75倍、至少80倍、至少85倍、至少90倍或至少100倍中之任一者。

【0203】 在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，rAAV變異體(例如rAAV2.7m8)之視網膜細胞感染性之增加係10倍至100倍、10倍至95倍、10倍至90倍、10倍至85倍、10倍至80倍、10倍至75倍、10倍至70倍、10倍至65倍、10倍至60倍、10倍至55倍、10倍至50倍、10倍至45倍、10倍至40倍、10倍至35倍、10倍至30倍、10倍至25倍、10倍至20倍或10倍至15倍。

【0204】 在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，視網膜細胞感染性之增加係2倍至20倍、2倍至19倍、2倍至18倍、2倍至17倍、2倍至16倍、2倍至15倍、2倍至14倍、2倍至13倍、2倍至12倍、2倍至11倍、2倍至10倍、2倍至9倍、2倍至8倍、2倍至7倍、2倍至6倍、2倍至5倍、2倍至4倍或2倍至3倍。

【0205】 在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣

殼蛋白質之AAV粒子越過個體之眼睛中之內界膜(ILM)之能力相比，本文中所描述之衣殼蛋白質之胺基酸修飾可使越過個體(例如人類)之眼睛中之ILM之能力提高。在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，rAAV變異體(例如rAAV2.7m8)越過ILM之能力之增加係增加至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少100%中之任一者。在一些實施例中，與親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質相比，越過ILM之能力之增加係增加5%至100%、5%至95%、5%至90%、5%至85%、5%至80%、5%至75%、5%至70%、5%至65%、5%至60%、5%至55%、5%至50%、5%至45%、5%至40%、5%至35%、5%至30%、5%至25%、5%至20%、5%至15%或5%至10%。

【0206】在一些實施例中，與包含相應的親本AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，rAAV變異體(例如rAAV2.7m8)越過ILM之能力之增加係至少1倍、至少1.1倍、至少1.2倍、至少1.3倍、至少1.4倍、至少1.5倍、至少1.6倍、至少1.7倍、至少1.8倍、至少1.9倍或至少2倍中之任一者。在一些實施例中，與包含相應的親本AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，越過ILM之能力之增加係至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍或至少10倍中之任一者。在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，越過ILM之能力之增加係至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少35倍、至少40倍、至少45倍、至少50倍、至少55倍、至少60倍、至少65倍、至少70倍、至少75倍、至少80倍、至少85倍、至少90倍或至少100倍中之任一者。

【0207】在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，rAAV變異體(例如rAAV2.7m8)越過ILM之能力之增加係10倍至100倍、10倍至95倍、10倍至90倍、10倍至85倍、10倍至80倍、10倍至75倍、10倍至70倍、10倍至65倍、10倍至60倍、10倍至55倍、10倍至50倍、10倍至45倍、10倍至40倍、10倍至35倍、10倍至30倍、10倍至25倍、10倍至20倍或10倍至15倍。

【0208】在一些實施例中，與包含相應的親本或未經修飾之AAV衣殼蛋白質之AAV粒子相比，rAAV變異體(例如rAAV2.7m8)越過ILM之能力之增加係2倍至20倍、2倍至19倍、2倍至18倍、2倍至17倍、2倍至16倍、2倍至15倍、2倍至14倍、2倍至13倍、2倍至12倍、2倍至11倍、2倍至10倍、2倍至9倍、2倍至8倍、2倍至7倍、2倍至6倍、2倍至5倍、2倍至4倍或2倍至3倍。

【0209】在一些實施例中，將包含編碼阿柏西普之核酸之rAAV.7m8用於基因療法。在一些實施例中，使用AAV2或rAAV2經由玻璃體內或視網膜下注射將編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之核酸序列遞送至個體之眼睛或視網膜細胞中。在一些實施例中，使用AAV2或rAAV2經由玻璃體內注射將編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之核酸序列遞送至個體之眼睛或視網膜細胞中。在一些實施例中，使用rAAV2.7m8將抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之核酸序列遞送至個體之視網膜細胞中。在一些實施例中，將異源核酸(例如編碼抗VEGF藥劑(諸如阿柏西普)之核酸)整合至目標細胞基因體(例如視網膜細胞基因體)中，引起例如抗VEGF藥劑(諸如阿柏西普)在目標細胞中之長期表現。在一些實施例中，病毒載體將包含異源核酸(例如編碼抗VEGF藥劑(諸如阿柏西普)之核酸)之質體或

其他染色體外遺傳元件遞送至目標細胞(例如視網膜細胞)中。

【0210】在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或至少約100%一致性中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽之核酸，該多肽包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼阿柏西普且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸。SEQ ID NO:35之序列提供於下文中：

SDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNITVTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDSRKGFIISNATY
KEIGLLTCEATVNGHLYKTNYLTHRQTNTIIDVVLSPSHGIELSVGEKLVLNCTARTELNVGIDFNWEYPS
SKHQHKKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLYTCAASSGLMTKKNSTFVRVHEKDKTHTCPP
CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPG (SEQ ID NO: 35)

【0211】在一些實施例中，rAAV粒子包含與SEQ ID NO:36之核酸序列具有至少約75%、至少約80%、至少約81%、至少約82%、至少約83%、至少約84%、至少約85%、至少約86%、至少約87%、至少約88%、至少約89%、至少約90%、至少約91%、至少約92%、至少約93%、至少約94%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%、至少約99.9%或至少約100%序列同源性中之任一者之核酸，且其中核酸由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接。SEQ ID NO:36

之序列提供於**圖5**中。在一些實施例中，rAAV粒子包含與阿柏西普之核酸序列(例如SEQ ID NO:36)具有至少約75%、至少約80%、至少約81%、至少約82%、至少約83%、至少約84%、至少約85%、至少約86%、至少約87%、至少約88%、至少約89%、至少約90%、至少約91%、至少約92%、至少約93%、至少約94%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%、至少約99.9%或至少約100%序列同源性中之任一者之核酸，且其中核酸由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接。在一些實施例中，阿柏西普之核酸序列係來源於其胺基酸序列。在一些實施例中，阿柏西普之核酸序列經密碼子最佳化以改良其在個體中之表現。在一些實施例中，rAAV粒子包含與SEQ ID NO:40之核酸序列具有至少約75%、至少約80%、至少約81%、至少約82%、至少約83%、至少約84%、至少約85%、至少約86%、至少約87%、至少約88%、至少約89%、至少約90%、至少約91%、至少約92%、至少約93%、至少約94%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%、至少約99.9%或至少約100%序列同源性中之任一者之核酸，且其中核酸由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接。在一些實施例中，rAAV粒子包含有包含SEQ ID NO:40之核酸序列之核酸。在一些實施例中，rAAV粒子包含有包含SEQ ID NO 40:之核酸序列之核酸，且其中核酸由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接。

atggtgtcatactgggatactggagtcttgctttgtgccctgctgtcctgcctcctcctgactggctccag
ctcgggctcagataccggtcgccccttcgtggagatgtactccgagatcccggaaattatccacatgactg
aggggcgcgaacttgtgatcccctgccgggtcaccagcccgaacattactgtgactttgaagaagttcccc
ctggacaccctgattccggatgggaagagaattatctgggattcacggaagggattcatcatcagcaacgc
gacctacaaggaaattggcctcctcacttgcgaagccactgtgaacggacacttgtacaagaccaactacc
tgacccaccgccagaccaacaccatcatcgacgtcgtcctgtccccttcgcacgggatcgagctctcggtg
ggagagaagttggtgcttaactgcaccgcccggacggaactgaatgtgggaatcgacttcaactgggaata
cccgtccagcaagcatcagcataagaagctggtgaaccgggacctcaagactcagtccggcagcgaaatga
agaagttcctgtcgaccctcactattgacggagtgaccagatccgaccagggcctctacacttgcgccgct
tccagcggactcatgaccaagaagaacagcactttcgtgagggtgcatgagaaggacaagacccacacgtg
tccgccgtgcccagccccagagctgctgggaggcccttccgtgttcctgtttccgcccaagccaaaggat
accctgatgatctcaaggacccctgaggtcacatgcgtcgtggtggatgtgtcgcacgaggaccctgaagt
caaattcaattggtatgtggacggagtggaagtccacaacgcgaaaaccaagccgagagaagaacagtaca
attccacctaccgggtggtgtcggtgctgactgtgctgcaccaggactggctcaacggaaaggagtacaag
tgcaaggtgtccaacaaggctctgcccgcacctattgaaaagaccatctccaaggccaagggtcaacctcg
cgagcctcaggtgtacactctgcctccaagccgggacgaactgactaagaaccaagtctctctgacctgtt
tggtgaagggcttctacccgtcagacatcgcagtggagtgggagtcaaacggtcagccggagaacaactac
aaaacaacccccccccgtgctggactccgacggctccttcttcctgtactccaagcttaccgtggataagag
ccgctggcaacagggcaacgtgttttcctgctccgtcatgcacgaagccctgcacaaccattatacccaga
agtccctgtcgctgtcccccgggaaatag (SEQ ID NO: 40)

【0212】在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:41之胺基酸序列具有至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或至少約100%一致性中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:41之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列。在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼多肽之核酸，該多肽包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列。

MVSYWDTGVLLCALLSCLLLTGSSSGSDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVIPCRVTSPNITVTLKKFP
LDTLIPDGKRIIWDSRKGFIISNATYKEIGLLTCEATVNGHLYKTNYLTHRQTNTIIDVVLSPSHGIELSV
GEKLVLNCTARTELNVGIDFNWEYPSSKHQHKKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLYTCAA
SSGLMTKKNSTFVRVHEKDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41)

【0213】在一些實施例中，阿柏西普之核酸序列針對在靈長類動物或人類個體中之表現而經密碼子最佳化。對應於阿柏西普胺基酸序列之合成基因之構築已描述於文獻中，例如Kanda A, Noda K, Saito W, Ishida S. Aflibercept Traps Galectin-1, an Angiogenic Factor Associated with Diabetic Retinopathy. Scientific Reports 5:17946 (2015)(描述「藉由IDT (Coralville, IA)產生呈合成基因形式之VEGF-Trap$_{R1R2}$ (對應於阿柏西普)cDNA」)。鑒於可用的阿柏西普之胺基酸序列，可使用此項技術中已知之任何方法產生阿柏西普之cDNA以用於基因療法或本文中所描述之rAAV中。

【0214】可藉由此項技術中已知之任何方法實現密碼子最佳化。密碼子最佳化係指一種修飾核酸序列以實現基因在相關目標或宿主細胞(例如人類視網膜細胞)中之增強之表現之方法，其係藉由用宿主細胞中更頻繁使用或最頻繁使用的密碼子置換原生序列之至少一個密碼子(例如約或超過1、2、3、4、5、10、15、20、25、50、100個或更多個密碼子)同時保持原生胺基酸序列來進行。可容易地獲得密碼子使用表，包括例如www.genscript.com/tools/codon-frequency-table之GenScript Codon Usage Frequency Table Tool；www.kazusa.or.jp/codon/之Codon Usage Database；及Nakamura, Y.等人,「Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases: status for the year 2000」Nucl.

Acids Res. 28:292 (2000)。

【0215】 同源性係指兩個序列(包括(但不限於)功能性片段；包含插入、缺失、取代之序列；假片段；假基因；剪接變異體或人工最佳化序列)之間的比對之殘基保守百分比。

【0216】 在一些實施例中，rAAV粒子包含編碼阿柏西普之核酸。在一些實施例中，多肽為阿柏西普。

【0217】 如本文中所使用，「阿柏西普」係指與上文所鑑別之阿柏西普胺基酸序列(SEQ ID NO:35)具有至少75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高或100%同源性中之任一者之多肽或蛋白質序列，或其功能性片段或變異體或突變體。同源性係指兩個序列(包括(但不限於)功能性片段；包含插入、缺失、取代之序列；假片段；假基因；剪接變異體或人工最佳化序列)之間的比對之殘基保守百分比。

【0218】 在一些實施例中，阿柏西普之胺基酸序列與SEQ ID NO:35之阿柏西普胺基酸序列具有至少75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%或100%同源性中之任一者。在一些實施例中，比較本文中所揭示之編碼阿柏西普之核酸序列與上文所鑑別之相應的阿柏西普胺基酸序列之cDNA序列，且展示阿柏西普之核酸序列(例如SEQ ID NO:36)之間的至少75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%或100%序列同源性中之任一者。在一些

實施例中，阿柏西普與阿柏西普具有至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%或100%空間同源性中之任一者(例如在其二級、三級及四級結構或構形方面)。在一些實施例中，阿柏西普與護理標準中使用之阿柏西普具有至多80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%或100%空間同源性中之任一者(例如二級、三級及四級結構或構形)。

【0219】 在一些實施例中，阿柏西普基因產品或阿柏西普轉基因(如包括於基於rAAV之基因療法中)包含如本文中所揭示之衣殼變異體(例如7m8變異體)，編碼與以上SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或至少100%同源性中之任一者之蛋白質、融合蛋白質或多肽，或在阿柏西普之相應cDNA序列(例如與SEQ ID NO:36相比的基因療法中使用之阿柏西普序列之cDNA)之間。在一些實施例中，本文中所揭示之組合物包含阿柏西普之功能性片段，或其變異體或突變體。在一些實施例中，阿柏西普之核酸序列經修飾或密碼子最佳化以增強其活體內活性、表現、穩定性及/或溶解性。

【0220】 阿柏西普為115 kDa融合蛋白質，其可經糖基化。阿柏西普包含與人類VEGFR-1及VEGFR-2之細胞外VEGF受體序列融合之IgG主鏈，且藉由與其天然或內源性受體相比以更大的親和力結合VEGF-A來發揮與可溶性誘餌受體類似的功能。參見例如Stewart MW. Aflibercept (VEGF Trap-eye): the newest anti-VEGF drug. Br. J. Ophthalmol. 2012

Sep;96(9):1157-8。阿柏西普針對VEGF之高親和力干擾或破壞原生或內源性VEGF受體之後續結合及活化。VEGF活性降低可引起血管生成及血管滲透性降低。阿柏西普對胎盤生長因子PIGF及VEGF-B之抑制亦可促進特徵在於異常(例如過度)血管生成及/或新生血管之眼睛疾病或病症之治療。已將PIGF與血管生成相關聯且某些眼睛疾病或病症(諸如濕性AMD)可與PIGF含量升高相關聯。VEGF-B過表現可與血液-視網膜障壁之分解及視網膜血管生成相關聯。因此，抑制VEGF-A、VEGF-B及PIGF皆可促進阿柏西普之功效。

用於製備用以將轉基因遞送至目標細胞中之載體之方法

【0221】在一些實施例中，使用此項技術中已知之任何方法製造rAAV粒子。在一些實施例中，在Sf9細胞中使用桿狀病毒表現載體系統製造rAAV粒子。Sf9細胞為通常用於使用桿狀病毒進行重組蛋白質製備之昆蟲細胞培養物細胞株。在一些實施例中，在Sf9細胞中使用兩種桿狀病毒製造rAAV粒子。在一些實施例中，在Sf9細胞中使用兩種桿狀病毒製造rAAV粒子，其中第一桿狀病毒編碼AAV2 Rep及AAV2.7m8 Cap蛋白質之基因且第二桿狀病毒編碼抗VEGF藥劑。在一些實施例中，在Sf9細胞中使用兩種桿狀病毒製造rAAV粒子，其中第一桿狀病毒編碼AAV2 Rep及AAV2.7m8 Cap蛋白質之基因且第二桿狀病毒編碼阿柏西普(例如人類阿柏西普)cDNA。在一些實施例中，在Sf9細胞中使用兩種桿狀病毒製造rAAV粒子，其中第一桿狀病毒編碼AAV2 Rep及AAV2.7m8 Cap蛋白質之基因且第二桿狀病毒包含編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，多肽包含SEQ ID NO:35之胺基酸序

列。在一些實施例中，多肽為阿柏西普。

劑量

【0222】在一些實施例中，向個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為右眼或左眼。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為右眼。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為左眼。在一些實施例中，本文中提供之方法進一步包含向個體之對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為右眼且對側眼睛為左眼。在一些實施例中，個體之一隻眼睛為左眼且對側眼睛為右眼。

【0223】在一些實施例中，向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至少約2週(例如至少約2週、至少約3週、至少約4週、至少約1個月、至少約2個月、至少約3個月、至少約4個月、至少約5個月、至少約6個月、至少約7個月、至少約8個月、至少約9個月、至少約10個月、至少約11個月、至少約12個月、至少約1年、至少約2年、至少約3年、至少約4年、至少約5年或更長時間)進行。在一些實施例中，向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至少約2週進行且與向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量相比，向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量更高(例如高約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約100%、約125%、約150%、約175%、約200%、約225%、約250%、約275%、約300%中之任一者或更高)。

【0224】在一些實施例中，向個體之對側眼睛投與單位劑量之

rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至多約1週、至多約2週、至多約3週或至多約4週進行。在一些實施例中，向個體之對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至多約2週(例如約0天、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天或14天)進行。在一些實施例中，向個體之對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至多約2週(例如約0天、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天或14天)進行且與向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量相比，向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量大致相同(例如高或低小於1%、高或低小於5%、高或低小於10%或高或低小於20%)或較低(例如低約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%或約90%)。在一些實施例中，向個體之對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至多約2週進行且向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量與向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量大致相同(例如高或低小於1%、高或低小於5%、高或低小於10%或高或低小於20%)。在一些實施例中，向個體之對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後至多約2週進行且與向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量相比，向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量較低(例如低約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%或約90%)。

【0225】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量表示為載體

基因體(vg)之數目。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{11}個載體基因體(vg)或更少的rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約1×10^{10}至約2×10^{10}、約2×10^{10}至約3×10^{10}、約3×10^{10}至約4×10^{10}、約4×10^{10}至約5×10^{10}、約5×10^{10}至約6×10^{10}、約6×10^{10}至約7×10^{10}、約7×10^{10}至約8×10^{10}、約8×10^{10}至約9×10^{10}、約9×10^{10}至約10×10^{10}、約1×10^{11}至約2×10^{11}、約2×10^{11}至約3×10^{11}、約3×10^{11}至約4×10^{11}、約4×10^{11}至約5×10^{11}或約5×10^{11}至約6×10^{11}個vg之rAAV粒子，包括此等範圍內之任何值的rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個載體基因體(vg)至約2×10^{11}個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg至約2×10^{11}個vg、約7×10^{10}個vg至約2×10^{11}個vg、約8×10^{10}個vg至約2×10^{11}個vg、約9×10^{10}個vg至約2×10^{11}個vg、約10×10^{10}個vg至約2×10^{11}個vg或約1×10^{11}個vg至約2×10^{11}個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg至約2×10^{11}個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg至約7×10^{10}個vg、約7×10^{10}個vg至約8×10^{10}個vg、約8×10^{10}個vg至約9×10^{10}個vg、約9×10^{10}個vg至約10×10^{10}個vg、約10×10^{10}個vg至約1×10^{11}個vg或約1×10^{11}個vg至約2×10^{11}個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg至約7×10^{10}個vg、約7×10^{10}個vg至約8×10^{10}個vg、約8×10^{10}個vg至約9×10^{10}個vg、約9×10^{10}個vg至約10×10^{10}個vg、約10×10^{10}個vg至約1×10^{11}個vg或約1×10^{11}個vg至約2×10^{11}個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg或約2×10^{11}個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg、約2×10^{11}個vg或約6×10^{11}個vg。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg。在一些實施例中，單位劑量為約2×10^{11}個vg。在一些實施例中，單位劑量為約

6×10^{11}個vg。

【0226】在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量表示為每隻眼睛的載體基因體(vg)之數目(vg/眼睛)。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{11}個vg/眼睛或更少的rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約1×10^{10}至約2×10^{10}、約2×10^{10}至約3×10^{10}、約3×10^{10}至約4×10^{10}、約4×10^{10}至約5×10^{10}、約5×10^{10}至約6×10^{10}、約6×10^{10}至約7×10^{10}、約7×10^{10}至約8×10^{10}、約8×10^{10}至約9×10^{10}、約9×10^{10}至約10×10^{10}、約1×10^{11}至約2×10^{11}、約2×10^{11}至約3×10^{11}、約3×10^{11}至約4×10^{11}、約4×10^{11}至約5×10^{11}或約5×10^{11}至約6×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子，包括此等範圍內之任何值的rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛、約7×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛、約8×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛、約9×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛、約10×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛或約1×10^{11}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛至約7×10^{10}個vg/眼睛、約7×10^{10}個vg/眼睛至約8×10^{10}個vg/眼睛、約8×10^{10}個vg/眼睛至約9×10^{10}個vg/眼睛、約9×10^{10}個vg/眼睛至約10×10^{10}個vg/眼睛、約10×10^{10}個vg/眼睛至約1×10^{11}個vg/眼睛或約1×10^{11}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛、約7×10^{10}個vg/眼睛、約8×10^{10}個vg/眼睛、約9×10^{10}個vg/眼睛、約10×10^{10}個vg/眼睛、約1×10^{11}

個vg/眼睛或約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛或約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛、約2×10^{11}個vg/眼睛或約6×10^{11}個vg/眼睛。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛。在一些實施例中，單位劑量為約2×10^{11}個vg/眼睛。在一些實施例中，單位劑量為約6×10^{11}個vg/眼睛。

【0227】在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，E為以10為基數進行取冪之簡寫，且xEy係指x乘以基數10之y次方/次冪。在一些實施例中，單位劑量表示為載體基因體(vg)之數目。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{11}$個載體基因體(vg)或更少的rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$1E^{10}$至約$2E^{10}$、約$2E^{10}$至約$3E^{10}$、約$3E^{10}$至約$4E^{10}$、約$4E^{10}$至約$5E^{10}$、約$5E^{10}$至約$6E^{10}$、約$6E^{10}$至約$7E^{10}$、約$7E^{10}$至約$8E^{10}$、約$8E^{10}$至約$9E^{10}$、約$9E^{10}$至約$10E^{10}$、約$1E^{11}$至約$2E^{11}$、約$2E^{11}$至約$3E^{11}$、約$3E^{11}$至約$4E^{11}$、約$4E^{11}$至約$5E^{11}$或約$5E^{11}$至約$6E^{11}$個vg之rAAV粒子，包括此等範圍內之任何值的rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個載體基因體(vg)至約$2E^{11}$個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg至約$2E^{11}$個vg、約$7E^{10}$個vg至約$2E^{11}$個vg、約$8E^{10}$個vg至約$2E^{11}$個vg、約$9E^{10}$個vg至約$2E^{11}$個vg、約$10E^{10}$個vg至約$2E^{11}$個vg或約$1E^{11}$個vg至約$2E^{11}$個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg至約$2E^{11}$個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg至約$7E^{10}$個vg、約$7E^{10}$個vg至約$8E^{10}$個vg、約$8E^{10}$個vg至約$9E^{10}$個vg、約$9E^{10}$個vg至約

$10E^{10}$個vg、 約$10E^{10}$個vg至 約$1E^{11}$個vg或 約$1E^{11}$個vg至 約$2E^{11}$個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg、約$7E^{10}$個vg、約$8E^{10}$個vg、約$9E^{10}$個vg、約$10E^{10}$個vg、約$1E^{11}$個vg或約$2E^{11}$個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg或約$2E^{11}$個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg、約$2E^{11}$個vg或約$6E^{11}$個vg。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg。在一些實施例中，單位劑量為約$2E^{11}$個vg。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{11}$個vg。

【0228】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量表示為每隻眼睛的載體基因體(vg)之數目(vg/眼睛)。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{11}$個vg/眼睛或更少的rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$1E^{10}$至約$2E^{10}$、約$2E^{10}$至約$3E^{10}$、約$3E^{10}$至約$4E^{10}$、約$4E^{10}$至約$5E^{10}$、約$5E^{10}$至約$6E^{10}$、約$6E^{10}$至約$7E^{10}$、約$7E^{10}$至約$8E^{10}$、約$8E^{10}$至約$9E^{10}$、約$9E^{10}$至約$10E^{10}$、約$1E^{11}$至約$2E^{11}$、約$2E^{11}$至約$3E^{11}$、約$3E^{11}$至約$4E^{11}$、約$4E^{11}$至約$5E^{11}$或約$5E^{11}$至約$6E^{11}$個vg/眼睛之rAAV粒子，包括此等範圍內之任何值的rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg/眼睛至約$2E^{11}$個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg/眼睛至約$2E^{11}$個vg/眼睛、約$7E^{10}$個vg/眼睛至約$2E^{11}$個vg/眼睛、約$8E^{10}$個vg/眼睛至約$2E^{11}$個vg/眼睛、約$9E^{10}$個vg/眼睛至約$2E^{11}$個vg/眼睛、約$10E^{10}$個vg/眼睛至約$2E^{11}$個vg/眼睛或約$1E^{11}$個vg/眼睛至約$2E^{11}$個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg/眼睛至約$2E^{11}$個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約$6E^{10}$個vg/眼睛至約$7E^{10}$個

vg/眼睛、約7E[10]個vg/眼睛至約8E[10]個vg/眼睛、約8E[10]個vg/眼睛至約9E[10]個vg/眼睛、約9E[10]個vg/眼睛至約10E[10]個vg/眼睛、約10E[10]個vg/眼睛至約1E[11]個vg/眼睛或約1E[11]個vg/眼睛至約2E[11]個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6E[10]個vg/眼睛、約7E[10]個vg/眼睛、約8E[10]個vg/眼睛、約9E[10]個vg/眼睛、約10E[10]個vg/眼睛、約1E[11]個vg/眼睛或約2E[11]個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6E[10]個vg/眼睛或約2E[11]個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6E[10]個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，單位劑量為約6E[10]個vg/眼睛、約2E[11]個vg/眼睛或約6E[11]個vg/眼睛。在一些實施例中，單位劑量為約6E[10]個vg/眼睛。在一些實施例中，單位劑量為約2E[11]個vg/眼睛。在一些實施例中，單位劑量為約6E[11]個vg/眼睛。

【0229】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以引起治療性蛋白質(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)在玻璃體液中之表現之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以在玻璃體液中實 現 約3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10 μg/ml中之任一者或更高(包括此等值之間的任何範圍)的治療性蛋白質(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)濃度之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以引起阿柏西普在玻璃體液中之表現之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以在玻璃體液中實現約3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10 μg/ml中之任一者或更高(包括此等值之間的任何範圍)的阿柏西普濃度之單位劑量。

【0230】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量為足以引起治療性蛋白質(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)在房水液中之表現之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以在房水液中實現至少約0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1.0 μg/ml或更高(包括此等值之間的任何範圍)的治療性蛋白質(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)濃度之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以引起阿柏西普在房水液中之表現之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以在房水液中實現至少約0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1.0 μg/ml或更高(包括此等值之間的任何範圍)的阿柏西普濃度之單位劑量。

【0231】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以引起治療性蛋白質(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)在視網膜中之表現之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以在視網膜中實現至少約3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10 μg/g或更高(包括此等值之間的任何範圍)的治療性蛋白質(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)濃度之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以引起視網膜中之阿柏西普之表現之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以在視網膜中實現至少約3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10 μg/g或更高(包括此等值之間的任何範圍)的阿柏西普濃度之單位劑量。

【0232】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單

位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以引起治療性蛋白質(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)在脈絡膜中之表現之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以在脈絡膜中實現約3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10 μg/g中之任一者或更高(包括此等值之間的任何範圍)的治療性蛋白質(例如抗VEGF藥劑，諸如阿柏西普)濃度之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以引起阿柏西普在脈絡膜中之表現之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為足以在脈絡膜中實現約3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10 μg/g中之任一者或更高(包括此等值之間的任何範圍)的阿柏西普濃度之單位劑量。

【0233】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。

【0234】 在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起視網膜厚度與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比得到保持或降低，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起視網膜厚度與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比得到降低，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，視網膜厚度為中心子區域厚度(CST)或中心視網膜厚度(CRT)。在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，視網膜厚度降低超過約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%或

約100%中之任一者，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，藉由OCT或SD-OCT測定視網膜厚度(例如CST或CRT)。

【0235】在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起黃斑體積與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比得到保持或減小，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起黃斑體積與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比得到減小，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起與投與單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，黃斑體積減小超過約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%或約65%中之任一者，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，藉由OCT或SD-OCT測定黃斑體積。

【0236】在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起視力與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比得到保持或改良，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起視力與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比得到改良，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起與投與單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比，視力改良超過約5%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約100%、約125%、約150%、約175%、約200%、約225%、約250%、約275%、約300%中之任一者或更高，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，視力為最佳矯正視力(BCVA)。在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起BCVA與投與單位劑量之rAAV粒子

之前的BCVA相比得到改良，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，BCVA表示為ETDRS評分，其對應於正確閱讀之字母之數目(Vitale等人, (2016) JAMA Opthalmol 134(9):1041:1047)。在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，BCVA改良至少15個ETDRS字母(Vitale等人, (2016) JAMA Opthalmol 134(9):1041:1047)(例如至少約15、至少約20、至少約30、至少約40、至少約50、至少約60或約70個字母)，則該單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若rAAV粒子之單位劑量足以引起BCVA之保持，則該單位劑量為治療有效劑量，其中與投與單位劑量之rAAV粒子之前的BCVA相比，個體損失小於15個ETDRS字母(Vitale等人, (2016) JAMA Opthalmol 134(9):1041:1047)(例如15個或更少、14個或更少、13個或更少、12個或更少、11個或更少、10個或更少、9個或更少、8個或更少、7個或更少、6個或更少、5個或更少、4個或更少、3個或更少、2個或更少、1個或0個字母)。

【0237】 在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，確定個體之視覺得到保持，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，確定個體之視覺得到改良，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，藉由SD-OCT評估之CST或CRT與投與單位劑量之rAAV粒子之前相比得到降低，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，藉由SD-OCT評估之CST或CRT與投與單位劑量之rAAV粒子之前相比得到保持，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。

【0238】在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，黃斑體積與投與單位劑量之rAAV粒子之前相比得到減小，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，黃斑體積與投與單位劑量之rAAV粒子之前相比得到保持，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。

【0239】在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，視網膜厚度(例如中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST))及黃斑體積與投與單位劑量之rAAV粒子之前相比得到降低，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，視網膜厚度(例如中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST))及黃斑體積與投與單位劑量之rAAV粒子之前相比得到保持，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。

【0240】在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中之單位劑量之rAAV粒子之投藥之後約每4週、每5週、每6週、每7週、每8週、每9週、每10週中之任一者或更長時間內需要小於一次救援療法治療(例如阿柏西普注射)，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，個體在至少約1週、至少2週、至少3週、至少4週、至少5週、至少6週、至少7週、至少8週、至少9週、至少10週、至少15週、至少20週、至少30週、至少40週、至少50週、至少60週、至少70週、至少80週、至少90週、至少100週、至少110週中之任一者或更長時間內不需要任何救援療法治療(例如阿柏西普注射)，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。

【0241】在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，確定與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜液體含量相比，個體之視網膜液體減少，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，確定與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜液體含量相比，個體之視網膜液體得到保持，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，確定與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的IRF及/或SRF之含量相比，個體之一隻眼睛及/或對側眼睛中之IRF及/或SRF減少，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。

【0242】在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，確定與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的色素上皮脫離(PED)相比，個體之PED消退，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。

【0243】在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，CNV病灶與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前存在的CNV病灶相比得到縮小，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，與一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前存在的CNV病灶相比，CNV病灶縮小超過約5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%中之任一者，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，CNV病灶與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前存在的CNV病灶相比未

生長，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前存在的CNV病灶相比，CNV病灶大致未生長超過約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%或20%中之任一者，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。

【0244】在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，確定與投與單位劑量之rAAV粒子之前的解剖學特徵相比，個體之一隻眼睛及/或對側眼睛的解剖學特徵得到改良，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。在一些實施例中，若在投與單位劑量之rAAV粒子之後，確定與投與單位劑量之rAAV粒子之前的解剖學特徵相比，個體之一隻眼睛及/或對側眼睛的解剖學特徵得到穩定及/或保持，則該rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。

【0245】在一些實施例中，若向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之劑量可減少、終止或預防眼睛新生血管性疾病或病症之至少一種症狀，則rAAV粒子之單位劑量為治療學上有效的。在特徵在於異常(例如過度)血管生成之眼睛新生血管性疾病或病症之情況下，此類症狀包括(但不限於)例如視覺畸變(諸如色覺受損、視覺模糊、中心視覺退化)及視力損失。在一些實施例中，若向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之單位劑量引起眼睛新生血管性疾病之一或多種臨床特徵之保持、部分消退或完全消退，則向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量為治療有效劑量。舉例而言，若向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之劑量引起眼睛新生血管性疾病之完全消退、部分消退或保持(如藉由此項技術中已知之任何方法所量測)，則向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之

rAAV粒子之單位劑量為治療學上有效的。在一些實施例中，若向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之劑量引起眼睛新生血管性疾病之完全消退、部分消退或保持，則向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量為治療學上有效的，如基於此項技術中已知之任何方法(例如SD-OCT、OCT、螢光素血管攝影術、數位彩色眼底攝影等)藉由最佳矯正視力(BCVA)(例如基於ETDRS評分；Vitale等人, (2016) JAMA Opthalmol 134(9):1041:1047))、中心視網膜厚度(如藉由SD-OCT所測定)、在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之後個體所需的救援療法治療(例如阿柏西普注射)之次數、視網膜內液體(IRF)及/或視網膜下液體(SRF)之存在、色素上皮脫離(PED)之消退、脈絡膜新生血管(CNV)病灶生長、解剖學特徵評估。在一些實施例中，若向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之劑量引起眼睛新生血管性疾病之完全消退、部分消退或保持，則向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量為治療學上有效的，如藉由眼科檢查、眼內壓(例如使用Goldmann壓平眼壓計或Tono筆)、間接眼底鏡檢查法、一隻眼睛及/或對側眼睛及附件之檢查、眼瞼及/或瞳孔反應、眼瞼下垂、瞳孔形狀異常、瞳孔不相等、對光之異常反應、傳入性瞳孔缺陷、裂隙燈檢查(包括眼瞼、結膜、角膜、晶狀體、虹膜及前房)、玻璃體之後段異常、視神經、外周視網膜及視網膜血管、SD-OCT、螢光素血管攝影術、數位彩色眼底攝影(包括視網膜、視神經盤及/或黃斑之影像)、眼房液取樣、玻璃體液取樣、OCT-血管攝影術(OCT-A)、折射及/或視力(BCVA)評估。

【0246】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量與向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量相同。在一些

實施例中，向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量與向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量不同。在一些實施例中，與向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量相比，向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量更高，例如高約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約100%、約125%、約150%、約175%、約200%、約225%、約250%、約275%、約300%中之任一者或更多。在一些實施例中，與向個體之一隻眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量相比，向個體之對側眼睛投與之rAAV粒子之單位劑量更高，例如高約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約100%、約125%、約150%、約175%、約200%、約225%、約250%、約275%、約300%中之任一者或更多。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量表現為每隻眼睛之載體基因體(vg)之數目(vg/眼睛)。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{11}個vg/眼睛或更少的rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約1×10^{10}至約2×10^{10}、約2×10^{10}至 約3×10^{10}、 約3×10^{10}至 約4×10^{10}、 約4×10^{10}至 約5×10^{10}、 約5×10^{10}至 約6×10^{10}、 約6×10^{10}至 約7×10^{10}、 約7×10^{10}至 約8×10^{10}、 約8×10^{10}至 約9×10^{10}、 約9×10^{10}至 約10×10^{10}、 約1×10^{11}至 約2×10^{11}、 約2×10^{11}至 約3×10^{11}、 約3×10^{11}至 約4×10^{11}、 約4×10^{11}至 約5×10^{11}或 約5×10^{11}至約6×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子，包括此等範圍內之任何值的rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛、約7×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛、約8×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛、約9×10^{10}

個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛、約10×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛或約1×10^{11}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛至約7×10^{10}個vg/眼睛、約7×10^{10}個vg/眼睛至約8×10^{10}個vg/眼睛、約8×10^{10}個vg/眼睛至約9×10^{10}個vg/眼睛、約9×10^{10}個vg/眼睛至約10×10^{10}個vg/眼睛、約10×10^{10}個vg/眼睛至約1×10^{11}個vg/眼睛或約1×10^{11}個vg/眼睛至約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛、約7×10^{10}個vg/眼睛、約8×10^{10}個vg/眼睛、約9×10^{10}個vg/眼睛、約10×10^{10}個vg/眼睛、約1×10^{11}個vg/眼睛或約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛或約2×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛、約2×10^{11}個vg/眼睛或約6×10^{11}個vg/眼睛。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{10}個vg/眼睛。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約2×10^{11}個vg/眼睛。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約6×10^{11}個vg/眼睛。

【0247】在一些實施例中，向個體之一隻眼睛投與之單位劑量之rAAV粒子及向個體之對側眼睛投與之單位劑量之rAAV粒子係在相同時間投與。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛投與之單位劑量之rAAV粒子及向個體之對側眼睛投與之單位劑量之rAAV粒子係在不同時間投與。在一些實施例中，向對側眼睛投與之單位劑量係在向一隻眼睛投與單位劑量

之後至少約1小時、至少約2小時、至少約4小時、至少約8小時、至少約12小時、至少約24小時、至少約1天、至少約2天、至少約3天、至少約4天、至少約5天、至少約6天、至少約7天、至少約1週、至少約2週、至少約3週、至少約4週中之任一者或更長時間投與。在一些實施例中，向對側眼睛投與之單位劑量係在向一隻眼睛投與單位劑量之後至少約2週投與。

【0248】在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單一單位劑量之rAAV粒子。在一些實施例中，向一隻眼睛及/或對側眼睛投與之單一單位劑量之rAAV粒子為治療有效劑量。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與超過一個劑量之rAAV粒子(例如超過約2、3、4、5個中之任一者或更多個單位劑量)。在一些實施例中，向一隻眼睛及/或對側投與之超過一個劑量之rAAV粒子為治療有效劑量。

【0249】在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子(例如約2×10^{11}個vg/眼睛至約6×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子之單位劑量)之前至少約一週，例如至少約7天，向被投與rAAV粒子之一隻眼睛及/或對側眼睛投與抗VEGF治療，例如用抗VEGF藥劑(諸如阿柏西普)進行之IVT注射。在一些實施例中，在約第1天向一隻眼睛投與抗VEGF治療，例如用抗VEGF藥劑(諸如阿柏西普)進行之IVT注射，且在約第8天向該眼睛投與單位劑量之rAAV粒子，例如約2×10^{11}個vg/眼睛至約6×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子之單位劑量。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量為約2×10^{11}個vg/眼睛或約6×10^{11}個vg/眼睛之rAAV粒子。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為糖尿病性黃斑水腫。

醫藥調配物

【0250】在一些實施例中，單位劑量之rAAV粒子係呈醫藥調配物

形式。在一些實施例中，醫藥調配物包含rAAV粒子、一或多種滲透或離子增強劑、一或多種緩衝劑、一或多種界面活性劑及一或多種溶劑。在一些實施例中，滲透或離子增強劑為氯化鈉。在一些實施例中，一或多種緩衝劑為磷酸二氫鈉及/或磷酸氫二鈉。在一些實施例中，界面活性劑為泊洛沙姆188。在一些實施例中，溶劑為水。在一些實施例中，醫藥調配物包含rAAV粒子、氯化鈉、磷酸二氫鈉、磷酸氫二鈉及界面活性劑。

【0251】 在一些實施例中，醫藥調配物包含約1×10^{10}個vg/mL至約1×10^{13}個vg/mL之rAAV粒子、約150 mM至約200 mM氯化鈉、約1 mM至約10 mM磷酸二氫鈉、約1 mM至約10 mM磷酸氫二鈉及約0.0005% (w/v)至約0.005% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.0至約7.5。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{11}個vg/mL至約6×10^{12}個vg/mL之rAAV粒子、約150 mM至約200 mM氯化鈉、約1 mM至約10 mM磷酸二氫鈉、約1 mM至約10 mM磷酸氫二鈉及約0.0005% (w/v)至約0.005% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.0至約7.5。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{11}個vg/mL之rAAV粒子、約150 mM至約200 mM氯化鈉、約1 mM至約10 mM磷酸二氫鈉、約1 mM至約10 mM磷酸氫二鈉及約0.0005% (w/v)至約0.005% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.0至約7.5。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{12}個vg/mL之rAAV粒子、約150 mM至約200 mM氯化鈉、約1 mM至約10 mM磷酸二氫鈉、約1 mM至約10 mM磷酸氫二鈉及約0.0005% (w/v)至約0.005% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.0至約7.5。

【0252】 在一些實施例中，醫藥調配物中之rAAV粒子係以約1×10^{10}

個vg/ml至約1×10^{13}個vg/ml之濃度存在。在一些實施例中，醫藥調配物中之rAAV粒子係以約1×10^{09}個vg/ml至約6×10^{14}個vg/ml之濃度存在。在某些實施例中，醫藥調配物中之rAAV粒子係以約1×10^{09}個vg/ml至約2×10^{09}個vg/ml、約2×10^{09}個vg/ml至約3×10^{09}、約3×10^{09}個vg/ml至約4×10^{09}、約4×10^{09}個vg/ml至約5×10^{09}、約5×10^{09}個vg/ml至約6×10^{09}、約6×10^{09}個vg/ml至約7×10^{09}、約7×10^{09}個vg/ml至約8×10^{09}、約8×10^{09}個vg/ml至約9×10^{09}、約9×10^{09}個vg/ml至約10×10^{09}、約10×10^{09}個vg/ml至約1×10^{10}、約1×10^{10}個vg/ml至約2×10^{10}、約2×10^{10}個vg/ml至約3×10^{10}、約3×10^{10}個vg/ml至約4×10^{10}、約4×10^{10}個vg/ml至約5×10^{10}、約5×10^{10}個vg/ml至約6×10^{10}、約6×10^{10}個vg/ml至約7×10^{10}、約7×10^{10}個vg/ml至約8×10^{10}、約8×10^{10}個vg/ml至約9×10^{10}、約9×10^{10}個vg/ml至約10×10^{10}、約10×10^{10}個vg/ml至約1×10^{11}、約1×10^{11}個vg/ml至約2×10^{11}、約2×10^{11}個vg/ml至約3×10^{11}、約3×10^{11}個vg/ml至約4×10^{11}、約4×10^{11}個vg/ml至約5×10^{11}、約5×10^{11}個vg/ml至約6×10^{11}、約6×10^{11}個vg/ml至約7×10^{11}、約7×10^{11}個vg/ml至約8×10^{11}、約8×10^{11}個vg/ml至約9×10^{11}、約9×10^{11}個vg/ml至約10×10^{11}、約1×10^{12}個vg/ml至約2×10^{12}、約2×10^{12}個vg/ml至約3×10^{12}、約3×10^{12}個vg/ml至約4×10^{12}、約4×10^{12}個vg/ml至約5×10^{12}、約5×10^{12}個vg/ml至約6×10^{12}、約6×10^{12}個vg/ml至約7×10^{12}、約7×10^{12}個vg/ml至約8×10^{12}、約8×10^{12}個vg/ml至約9×10^{12}、約9×10^{12}個vg/ml至約10×10^{12}、約1×10^{13}個vg/ml至約2×10^{13}、約2×10^{13}個vg/ml至約3×10^{13}、約3×10^{13}個vg/ml至約4×10^{13}、約4×10^{13}個vg/ml至約5×10^{13}、約5×10^{13}個vg/ml至約6×10^{13}、約6×10^{13}個vg/ml至約7×10^{13}、約7×10^{13}個vg/ml至約8×10^{13}、約8×10^{13}個vg/ml至約9×10^{13}、約9×10^{13}個vg/ml至約10×10^{13}、約1×10^{14}個

vg/ml至約2×10^{14}、約2×10^{14}個vg/ml至約3×10^{14}、約3×10^{14}個vg/ml至約4×10^{14}、約4×10^{14}個vg/ml至約5×10^{14}或約5×10^{14}個vg/ml至約6×10^{14}個vg/mL之濃度存在。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{11}個vg/mL至約6×10^{12}個vg/mL之rAAV粒子。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{12}個vg/ml之rAAV粒子。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{11}個vg/ml之rAAV粒子。

【0253】在一些實施例中，醫藥調配物中之氯化鈉係以約150 mM至約200 mM之濃度存在。在某些實施例中，醫藥調配物中之氯化鈉係以約150 mM、約160 mM、約170 mM、約180 mM、約190 mM或約200 mM之濃度存在。在某些實施例中，醫藥調配物中之氯化鈉係以約180 mM之濃度存在。

【0254】在一些實施例中，磷酸二氫鈉以約1 mM至約10 mM之濃度存在於醫藥調配物中。在一些實施例中，磷酸二氫鈉以約1 mM、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM或約10 mM中之任一者之濃度存在於醫藥調配物中。在某些實施例中，磷酸二氫鈉以約5 mM之濃度存在於醫藥調配物中。

【0255】在一些實施例中，磷酸氫二鈉以約1 mM至約10 mM之濃度存在於醫藥調配物中。在一些實施例中，磷酸氫二鈉以約1 mM、約2 mM、約3 mM、約4 mM、約5 mM、約6 mM、約7 mM、約8 mM、約9 mM或約10 mM中之任一者之濃度存在於醫藥調配物中。在某些實施例中，磷酸氫二鈉以約5 mM之濃度存在於醫藥調配物中。

【0256】在一些實施例中，泊洛沙姆188以約0.0005% (w/v)至約0.005% (w/v)之濃度存在於醫藥調配物中。在一些實施例中，泊洛沙姆

188以 約0.0005% (w/v) 、 約0.0006% (w/v) 、 約0.0007% (w/v) 、 約0.0008% (w/v)、約0.0009% (w/v)、約0.001% (w/v)、約0.002% (w/v)、約0.003% (w/v)、約0.004% (w/v)或約0.005% (w/v)中之任一者之濃度存在於醫藥調配物中。在某些實施例中，泊洛沙姆188以約0.001% (w/v)之濃度存在於醫藥調配物中。

【0257】 在一些實施例中，醫藥調配物之pH值為約7.0至約7.5。在一些實施例中，醫藥調配物之pH值為約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4或約7.5。在某些實施例中，醫藥調配物之pH值為約7.3。在一些實施例中，使用鹽酸及氫氧化鈉調節醫藥調配物之pH值。

【0258】 在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{12}個vg/mL之rAAV粒子、約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.3。在一些實施例中，醫藥調配物包含約6×10^{11}個vg/mL之rAAV粒子、約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中醫藥調配物之pH值為約7.3。

【0259】 在一些實施例中，醫藥學上調配物適用於經由玻璃體內(IVT)注射來投與個體(例如人類患者)之一隻眼睛及/或對側眼睛，以實現所需治療或預防作用。在一些實施例中，醫藥調配物係以經復原之均質溶液形式提供。在一些實施例中，溶液為懸浮液。在一些實施例中，醫藥調配物係以冷凍懸浮液形式提供，且在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之前解凍。在一些實施例中，溶液為等張的。

【0260】 在其他實施例中，包含例如AAV2.7m8載體(包含編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普或其功能性片段或變異體)之核酸序列)之醫藥組

合物係以凍乾形式提供，且在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之前復原。在一些實施例中，本文中提供之方法進一步包含在向個體投與之前，在緩衝液中復原、溶解或增溶凍乾醫藥組合物之步驟，該凍乾醫藥組合物包含rAAV (例如AAV2.7m8)且編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普或其功能性片段或變異體)。在一些實施例中，此類凍乾醫藥組合物包含以下中之一或多者：低溫保護劑、界面活性劑、鹽、穩定劑或其任何組合。

【0261】 在一些實施例中，醫藥調配物為均質溶液。在一些實施例中，在預填充注射器中提供均質溶液。在一些實施例中，醫藥調配物係以懸浮液形式提供。在一些實施例中，懸浮液為溶液。在一些實施例中，將懸浮液冷藏。在一些實施例中，將懸浮液冷凍。在一些實施例中，本文中所提供之方法進一步包含在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與(例如經由IVT注射)之前，將冷藏的懸浮液升溫至室溫及/或攪拌懸浮液以確保活性成分溶解及/或均勻分佈於溶液中之步驟。在一些實施例中，本文中所提供之方法進一步包含在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與(例如經由IVT注射)之前，將冷凍的懸浮液解凍且升溫至室溫及/或攪拌懸浮液以確保活性成分溶解及/或均勻分佈於溶液中之步驟。在一些實施例中，在向個體投與(例如經由IVT注射)之前稀釋懸浮液。在一些實施例中，懸浮液係以預填充注射器形式提供。

【0262】 在一些實施例中，醫藥調配物係以冷凍懸浮液形式提供。在一些實施例中，懸浮液包含醫藥學上可接受之賦形劑，例如界面活性劑、甘油、非離子型界面活性劑、緩衝液、二醇、鹽及其任何組合。

【0263】 在一些實施例中，懸浮液為溶液。在一些實施例中，懸浮液包含微胞。

【0264】 在一些實施例中，出於儲存穩定性及操作便利性，將包含rAAV (例如AAV2.7m8)及編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普或其功能性片段或變異體)之核酸序列之醫藥調配物調配為凍乾、冷凍乾燥或真空乾燥粉末形式，其在向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與之前用生理鹽水、緩衝液或水復原。或者，將醫藥調配物調配為水性溶液，諸如懸浮液或均質溶液。醫藥調配物可含有rAAV粒子，其包含編碼阿柏西普之核酸序列。可使用各種賦形劑(諸如磷酸鹽、PBS或Tris緩衝液、二醇、甘油、生理鹽水、界面活性劑(例如普洛尼克(pluronic)或聚山梨醇酯)或其任何組合)使醫藥調配物穩定。此外，在冷凍或乾燥條件下，可使用低溫保護劑(諸如醇)作為穩定劑。在一些實施例中，基因療法係以懸浮液、冷藏懸浮液或冷凍懸浮液形式提供。

【0265】 在一些實施例中，如本文中所揭示之醫藥調配物之懸浮液之體積為約20 μL、30 μL、40 μL、50 μL、60 μL、70 μL、80 μL、90 μL、100 μL、200 μL、300 μL、400 μL、500 μL、600 μL、700 μL、800 μL、900 μL或1000 μL中之任一者。在一些實施例中，如本文中所揭示之醫藥調配物之懸浮液之體積為約250 μL。在一些實施例中，如本文中所揭示之醫藥調配物之懸浮液之體積為0.1至0.5 mL、0.1至0.2 mL、0.3至0.5 mL、0.5-1.0 mL、0.5-0.7 mL、0.6至0.8 mL、0.8至1 mL、0.9至1.1 mL、1.0至1.2 mL或1.0至1.5 mL。在其他實施例中，該體積不超過0.1 mL、0.2 mL、0.3 mL、0.4 mL、0.5 mL、0.6 mL、0.7 mL、0.8 mL、0.9 mL、1.0 mL、1.1 mL、1.2 mL、1.3 mL、1.4 mL或1.5 mL。在一些實施例中，如本文中所揭示之醫藥調配物之懸浮液之體積為約0.25 mL。

【0266】 在一些實施例中，如本文中所揭示之醫藥調配物之懸浮液係在具有即用型阻塞物(例如由氯丁基製成之阻塞物)且密封(例如用無菌鋁質可撕裂密封器)之無菌、即用型小瓶(例如0.5 mL小瓶；例如Crystal Zenith®小瓶)中以無菌過濾、冷凍懸浮液形式提供。在一些實施例中，如本文中所揭示之醫藥調配物之懸浮液係在具有即用型阻塞物(例如由氯丁基製成之阻塞物)且密封(例如用無菌鋁質可撕裂密封器)之無菌、即用型小瓶(例如0.5 mL小瓶；例如Crystal Zenith®小瓶)中以無菌過濾、冷凍懸浮液形式提供，其中小瓶含有0.1至0.5 mL、0.1至0.2 mL、0.2至0.3 mL、0.3至0.4 mL或0.4 mL至0.5 mL之體積之醫藥調配物之懸浮液。在一些實施例中，如本文中所揭示之醫藥調配物之懸浮液係在具有即用型阻塞物(例如由氯丁基製成之阻塞物)且密封(例如用無菌鋁質可撕裂密封器)之無菌、即用型小瓶(例如0.5 mL小瓶；例如Crystal Zenith®小瓶)中以無菌過濾、冷凍懸浮液形式提供，其中小瓶含有約0.25 mL之體積之醫藥調配物之懸浮液。

【0267】 在一些實施例中，本文中所揭示之醫藥調配物經設計、工程改造或調適以用於經由玻璃體內或視網膜下注射來投與靈長類動物(例如非人類靈長類動物及人類個體)。在一些實施例中，包含rAAV粒子之醫藥調配物經調配以用於玻璃體內注射至個體之眼睛中，其中該等rAAV粒子包含編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之核酸序列。在一些實施例中，將醫藥組合物調配或復原成實現不超過約或不超過25 μL、30 μL、35 μL、40 μL、45 μL、50 μL、55 μL、60 μL、65 μL、70 μL、75 μL、80 μL、85 μL、90 μL、95 μL、100 μL、110 μL、120 μL、130 μL、140 μL、150 μL、160 μL、170 μL、180 μL、190 μL、200 μL、210

μL、220 μL、230 μL、240 μL或250 μL中之任一者之體積的玻璃體內注射之濃度。在一些實施例中，醫藥調配物之單位劑量包含不超過約或不超過25 μL、30 μL、35 μL、40 μL、45 μL、50 μL、55 μL、60 μL、65 μL、70 μL、75 μL、80 μL、85 μL、90 μL、95 μL、100 μL、110 μL、120 μL、130 μL、140 μL、150 μL、160 μL、170 μL、180 μL、190 μL、200 μL、210 μL、220 μL、230 μL、240 μL或250 μL中之任一者之體積。在一些實施例中，本文中所揭示之方法包含約25 μL、30 μL、35 μL、40 μL、45 μL、50 μL、55 μL、60 μL、65 μL、70 μL、75 μL、80 μL、85 μL、90 μL、95 μL、100 μL、110 μL、120 μL、130 μL、140 μL、150 μL、160 μL、170 μL、180 μL、190 μL、200 μL、210 μL、220 μL、230 μL、240 μL或250 μL中之任一者之體積的醫藥調配物之溶液或懸浮液之玻璃體內注射，該醫藥調配物包含rAAV (例如AAV2.7m8)及編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之核酸序列。在一些實施例中，本文中所揭示之方法包含約30 μL或約100 μL之體積的醫藥調配物之溶液或懸浮液之玻璃體內注射，該醫藥調配物包含rAAV (例如AAV2.7m8)及編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之核酸序列。在一些實施例中，本文中所揭示之方法包含約30 μL之體積的醫藥調配物之溶液或懸浮液之玻璃體內注射，該醫藥調配物包含rAAV (例如AAV2.7m8)及編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之核酸序列。在一些實施例中，本文中所揭示之方法包含約100 μL之體積的醫藥調配物之溶液或懸浮液之玻璃體內注射，該醫藥調配物包含rAAV (例如AAV2.7m8)及編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之核酸序列。

【0268】 在一些實施例中，本文中所描述之包含抗VEGF藥劑(例如

阿柏西普)轉基因之核酸序列之AAV2.7m8粒子為基因療法醫藥調配物之組分。在一些實施例中，使用如本文中所描述之包含7m8變異型衣殼蛋白質之任何血清型之rAAV粒子製備冷凍懸浮液或冷凍乾燥或凍乾調配物組合物。在一些實施例中，基因療法係調配為冷藏或冷凍懸浮液。在一些實施例中，rAAV粒子為rAAV2。在一些實施例中，醫藥調配物之凍乾形式或懸浮液包含rAAV2，其包含7m8變異型衣殼蛋白質及編碼抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)之DNA序列。在一些實施例中，將懸浮液冷藏或冷凍。

【0269】 在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係藉由玻璃體內(IVT)注射來進行。對於IVT注射，rAAV粒子可以醫藥調配物之懸浮液形式遞送(例如本文中所描述)。最初，對眼睛之表面施用局部麻醉劑，接著施用眼用消毒溶液。在使用或不使用儀器之情況下保持眼睛睜開且在直接觀測下，用短、窄針(例如30號規格的針)將rAAV粒子經由鞏膜注射至個體該一隻眼睛及/或對側眼睛之玻璃體腔中。通常，可藉由IVT注射將約25 μL至約250 μL (例如約25 μL、約30 μL、約40 μL、約50 μL、約60 μL、約70 μL、約80 μL、約90 μL、約100 μL、約110 μL、約120 μL、約130 μL、約140 μL、約150 μL、約160 μL、約170 μL、約180 μL、約190 μL、約200 μL、約210 μL、約220 μL、約230 μL、約240 μL或約250 μL中之任一者)之體積的rAAV粒子懸浮液遞送至眼睛中。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量包含約100 μL之體積。在一些實施例中，rAAV粒子之單位劑量包含約30 μL之體積。在一些實施例中，IVT注射係與玻璃體液體移除組合進行。在一些實施例中，可進行玻璃體切除術，且藉由輸注rAAV粒子懸浮液(例如約4 mL rAAV粒子懸浮液)來置換全部體積之玻璃體凝膠。使用具有適合

的孔洞尺寸(例如20號規格至27號規格)之插管進行玻璃體切除術，其中藉由自輸注插管輸注液體(例如生理鹽水、等張溶液、rAAV粒子懸浮液)來置換所移除之體積之玻璃體凝膠。IVT投藥通常具有良好耐受性。在程序結束時，有時在注射位點處存在輕微紅色。存在偶發性觸痛，但大部分患者未報導任何疼痛。在此程序之後未必需要眼貼或眼罩且活動不受限制。有時，指定使用抗生素滴眼劑持續若干天以幫助預防感染。

【0270】 在一些實施例中，醫藥調配物為經由IVT注射來向個體(例如人類或非人類靈長類動物)之一隻眼睛及/或對側眼睛投與以用於治療眼睛疾病或病症之單位劑量(例如治療有效劑量)，該眼睛疾病或病症之特徵在於異常(例如過度)血管生成或新生血管。在一些實施例中，醫藥調配物包含單位劑量(例如治療有效劑量)，如本文中其他地方進一步詳細描述。在一些實施例中，向個體投與之單位劑量(例如治療有效劑量)之病毒載體(例如本文中所揭示之rAAV載體)之體積不超過以下中之任一者：約25 μL、30 μL、35 μL、40 μL、45 μL、50 μL、55 μL、60 μL、65 μL、70 μL、75 μL、80 μL、85 μL、90 μL、95 μL、100 μL、110 μL、120 μL、130 μL、140 μL、150 μL、160 μL、170 μL、180 μL、190 μL、200 μL、210 μL、220 μL、230 μL、240 μL或250 μL，包括此等值之間的任何範圍。將投與個體之單位劑量之體積最小化可消除或減少與IVT注射相關之眼壓變化及其他副作用(例如眼內壓升高、發炎、刺激或疼痛)。

【0271】 適於眼睛使用之醫藥調配物包括無菌水性溶液或分散液以及用於臨時製備無菌可注射溶液、懸浮液或分散液之無菌粉末。對於玻璃體內投藥，適合的載劑包括生理鹽水、抑菌水、磷酸鹽緩衝生理鹽水(PBS)及/或等張劑，例如甘油。在一些實施例中，醫藥調配物為無菌的且

流動性達到可實現簡便注射性或注射能力之程度。在某些實施例中，醫藥調配物在製造及儲存條件下為穩定的，且針對微生物(諸如細菌及真菌)之污染作用加以保存。在一些實施例中，醫藥組合物可包括等張劑，諸如鹽或甘油。在一些實施例中，向醫藥組合物中添加界面活性劑或穩定劑以防止聚集。

【0272】在一些實施例中，醫藥調配物含有賦形劑或載劑。載劑為溶劑或分散介質，其含有例如水、生理鹽水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液態聚乙二醇以及其類似物)及其任何組合。可例如在分散液之情況下藉由使用包衣(諸如卵磷脂)保持所需粒度及藉由使用界面活性劑(諸如聚山梨醇酯(例如Tween™、聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80)、十二烷基硫酸鈉(月桂基硫酸鈉)、月桂基二甲基氧化胺、十六烷基三甲基溴化銨(CTAB)、聚乙氧基化醇、聚氧乙烯脫水山梨糖醇、辛苯聚醇(Triton X100™)、N,N-二甲基十二胺-N-氧化物、十六烷基三甲基溴化銨(HTAB)、聚乙二醇10月桂基醚、Brij 721™、膽汁鹽(去氧膽酸鈉、膽酸鈉)、普洛尼克酸(pluronic acid)(F-68、F-127)、聚乙二醇蓖麻油(Cremophor™)、乙氧基化壬基酚(Tergitol™)、環糊精及苄索氯銨(ethylbenzethonium chloride)(Hyamine™))來保持適當的流動性。微生物作用之防止可藉由例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、甲酚、硫柳汞及其類似物之各種抗細菌劑及抗真菌劑來達成。在許多實施例中，醫藥調配物中包括等張劑，例如糖、多元醇(諸如甘露糖醇)、山梨糖醇及/或氯化鈉。內部組合物之延長吸收可藉由在組合物中包含延遲吸收之試劑(例如單硬脂酸鋁及明膠)來達成。在一些實施例中，醫藥載劑包括磷酸鈉、氯化鈉、聚山梨醇酯及蔗糖。在一些實施例中，醫藥調配物包含

界面活性劑，例如非離子型界面活性劑，諸如聚山梨醇酯、泊洛沙姆或普洛尼克。在一些實施例中，添加非離子型界面活性劑可減少醫藥組合物中之聚集。

【0273】本文中亦提供套組，其包含至少一種本文中所描述之醫藥調配物。在一些實施例中，套組包含醫藥調配物之冷凍懸浮液(例如在小瓶中之一個單位劑量)。在一些實施例中，套組包含本文中所揭示之凍乾或冷凍乾燥醫藥調配物(例如在小瓶中之一個單位劑量)及用於溶解、稀釋及/或復原凍乾醫藥組合物之溶液。在一些實施例中，用於復原或稀釋之溶液係以預填充注射器形式提供。在一些實施例中，套組包含冷凍乾燥或凍乾醫藥組合物及用於將醫藥組合物復原成所需濃度或體積之溶液，該冷凍乾燥或凍乾醫藥組合物包含rAAV (例如AAV2.7m8)。在一些實施例中，套組包括有助於在復原本文中所揭示之醫藥組合物時防止聚集之緩衝液。在一些實施例中，在預填充注射器中提供醫藥組合物。在一些實施例中，套組包含雙室注射器或容器，其中一個腔室含有用於溶解或稀釋醫藥組合物之緩衝液。在一些實施例中，套組包含用於注射之注射器。在一些實施例中，在投藥之前過濾經復原之溶液。在一些實施例中，套組包含用於在向患者投藥之前過濾經復原之醫藥組合物之過濾器或過濾注射器。在一些實施例中，套組包含有包含如本文中所揭示之rAAV粒子之醫藥調配物之懸浮液，該懸浮液係在具有即用型阻塞物(例如由氯丁基製成之阻塞物)且密封(例如用無菌鋁質可撕裂密封器)之無菌、即用型小瓶(例如0.5 mL小瓶；例如Crystal Zenith®小瓶)中以無菌過濾、冷凍懸浮液形式提供。在一些實施例中，套組包含有包含如本文中所揭示之rAAV粒子之醫藥調配物之懸浮液，該懸浮液係在具有即用型阻塞物(例如由氯丁基製成

之阻塞物)且密封(例如用無菌鋁質可撕裂密封器)之無菌、即用型小瓶(例如0.5 mL小瓶；例如Crystal Zenith®小瓶)中以無菌過濾、冷凍懸浮液形式提供，其中小瓶含有0.1至0.5 mL、0.1至0.2 mL、0.2至0.3 mL、0.3至0.4 mL或0.4 mL至0.5 mL之體積之醫藥調配物之懸浮液。在一些實施例中，套組包含有包含如本文中所揭示之rAAV粒子之醫藥調配物之懸浮液，該懸浮液係在具有即用型阻塞物(例如由氯丁基製成之阻塞物)且密封(例如用無菌鋁質可撕裂密封器)之無菌、即用型小瓶(例如0.5 mL小瓶；例如Crystal Zenith®小瓶)中以無菌過濾、冷凍懸浮液形式提供，其中小瓶含有約0.25 mL之體積之醫藥調配物之懸浮液。在一些實施例中，套組進一步包含使用說明書，例如用本文中所揭示之rAAV粒子治療眼睛新生血管性疾病之說明。

眼睛新生血管性疾病

【0274】 在一個態樣中，本發明提供用於治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法。在另一態樣中，本發明提供用於減少患有眼睛新生血管性疾病之個體之眼睛中的視網膜液體之方法。

【0275】 在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為年齡相關之黃斑變性(AMD)、濕性AMD、視網膜新生血管、脈絡膜新生血管糖尿病性視網膜病變、增生性糖尿病性視網膜病變、視網膜靜脈阻塞、中央視網膜靜脈阻塞、分支視網膜靜脈阻塞、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性視網膜局部缺血、缺血性視網膜病、糖尿病性視網膜水腫或其任何組合。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為因年齡相關之黃斑變性(AMD)繼發之活動性脈絡膜新生血管(CNV)。

【0276】 在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為復發性及/或持續

性wAMD。在一些實施例中，眼睛新生血管性疾病為因AMD繼發之活動性視網膜中央凹下CNV。在一些實施例中，因AMD繼發之活動性視網膜中央凹下CNV占總病灶尺寸之≥50%。在一些實施例中，因AMD繼發之活動性視網膜中央凹下CNV占總病灶尺寸之≥50%且具有螢光素血管造影(FA)滲漏、在頻譜域光學相干斷層攝影(SD-OCT)中發現液體及/或在彩色眼底攝影中發現視網膜下出血之跡象。在一些實施例中，因AMD繼發之活動性視網膜中央凹下CNV占總病灶尺寸之≥50%且具有螢光素血管造影(FA)滲漏、在頻譜域光學相干斷層攝影(SD-OCT)中發現液體及/或在彩色眼底攝影中發現視網膜下出血之跡象，且整個病灶尺寸不超過12個黃斑光凝研究視盤區域。在一些實施例中，在投與單位劑量之本發明之rAAV粒子之前，基於ETDRS字母評估，個體之一隻眼睛及/或對側眼睛呈現78-25(例如小於約78、約75、約70、約65、約60、約55、約50、約45、約40、約35、約30或約25)之最佳矯正視力(BCVA)。在一些實施例中，在投與單位劑量之本發明之rAAV粒子之前，基於ETDRS字母評估，個體之一隻眼睛及/或對側眼睛呈現超過約5、約10、約15、約20、約25、約30、約35、約40、約45、約50、約55、約60、約65、約70、約75、約80、約85、約90、約95或約100中之任一者之最佳矯正視力(BCVA)。

【0277】在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體之一隻眼睛及/或對側眼睛具有瘜肉狀脈絡膜血管病變(PCV)。

【0278】在一些實施例中，ETDRS字母評估係在約0.5公尺、約1公尺、約2公尺、約3公尺或約4公尺處進行。在一些實施例中，ETDRS字母評估係在約4公尺處進行。

【0279】在一些實施例中，在投與單位劑量之rAAV粒子之前的約

最近12週(例如約3或約4個月)，個體接受至少一次用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療(例如至少一次、至少兩次、至少三次、至少四次、至少5次或更多次治療)。在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的約最近12週(例如約3或約4個月)，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中接受2次或3次用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療。在一些實施例中，在一隻眼睛及/或對側眼睛中接受至少約1次、至少約5次、至少約10次、至少約20次、至少約30次、至少約40次、至少約50次、至少約60次、至少約70次、至少約80次、至少約90次、至少約100次、至少約110次、至少約120次或更多次用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療。在一些實施例中，個體之一隻眼睛及/或對側眼睛之所計算的抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗及/或阿柏西普)注射間隔為約2週、約3週、4週、約5週、約6週、約7週、約8週、約9週、約10週、約11週、約12週或更長時間。在一些實施例中，個體之一隻眼睛及/或對側眼睛之所計算的抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗及/或阿柏西普)注射間隔為約5-7週、約4-10週、約4-7週或約4-6週。在一

些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前至少約5天、至少約6天、至少約7天、至少約8天、至少約9天、至少約10天、至少約11天、至少約12天、至少約13天、至少約14天、至少約15天、至少約16天、至少約17天、至少約18天、至少約19天或至少約20天中之任一者，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中接受用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療。在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前約7天、約10天或約14天，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中接受用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療。在一些實施例中，先前治療包含用抗VEGF藥劑進行之眼內、視網膜下或玻璃體內注射。在一些實施例中，抗VEGF藥劑為貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普。在一些實施例中，抗VEGF藥劑為阿柏西普。在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的約最近12個月期間，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中接受1至20次（例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20次)用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、

KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療。在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前的約最近12個月期間，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中接受約9次或約10次用抗VEGF藥劑(例如貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806 (PanOptica)及/或阿柏西普)進行之先前治療。

【0280】在一些實施例中，個體對用抗VEGF藥劑進行之先前治療顯示有意義的反應。在一些實施例中，抗VEGF藥劑為阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段。在一些實施例中，抗VEGF藥劑包含多肽，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中顯示對用於眼睛新生血管性疾病之先前抗VEGF治療(例如阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段)之有意義的反應。在一些實施例中，若與一隻眼睛及/或對側眼睛中之在初始診斷時之中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，在抗VEGF治療之後至少約5天、至少約6天、至少約7天、至少約8天、至少約9天、至少約10天、至少約11天、至少約12天、至少約13天、至少約14天、至少約15天、至少約16天、至少約17天中之任一者或更長時間時觀測到中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低≥30% (例如至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%中之任一者)，則確定個體對用於眼睛新生血管性疾病之先前抗VEGF治療(例如阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段)具有有意

義的反應。在一些實施例中，若與向一隻眼睛及/或對側眼睛投與先前抗VEGF治療之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，在抗VEGF治療之後超過約7天、約10天或約14天中之任一者時觀測到中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低≥30% (例如至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%中之任一者)，則確定個體對用於眼睛新生血管性疾病之先前抗VEGF治療(例如阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段)具有有意義的反應。

【0281】 在一些實施例中，藉由SD-OCT測定一隻眼睛及/或對側眼睛之中心子區域厚度及/或中心視網膜厚度。中心子區域厚度為跨越ETDRS柵格之中心子區域(以中央凹為中心之1 mm直徑圓形)之視網膜之平均厚度。

【0282】 在一些實施例中，若與投與用抗VEGF藥劑進行之先前治療之前的中心子區域厚度及/或中心視網膜厚度相比，觀測到中心子區域厚度及/或中心視網膜厚度降低≥20% (例如至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%中之任一者)，則確定個體對用於眼睛新生血管性疾病之用抗VEGF藥劑(例如阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段)進行之先前治療具有有意義的反應。在一些實施例中，若與投與用抗VEGF藥劑進行之先前治療之前的中心子區域厚度及/或中心視網膜厚度相比，在投與用抗VEGF藥劑進行之先前治療之後至少約5天、至少約6天、至少約7天、至少約8天、至少約9天、至少約10天、至少約11天、至少約12天、至少約13天、至少約14天、至少約15天、至少約16天、至少約17天中之任一者或更長時間時觀測到中心子區域厚度及/或中心視網膜厚度降低≥20% (例如至少20%、至

少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%中之任一者)，則確定個體對用於眼睛新生血管性疾病之用抗VEGF藥劑(例如阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段)進行之先前治療具有有意義的反應。在一些實施例中，若與投與用抗VEGF藥劑進行之先前治療之前的中心子區域厚度及/或中心視網膜厚度相比，在投與用抗VEGF藥劑進行之先前治療之後約7天、約10天或約14天時觀測到中心子區域厚度及/或中心視網膜厚度降低≥20% (例如至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%中之任一者)，則確定個體對用於眼睛新生血管性疾病之用抗VEGF藥劑(例如阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段)進行之先前治療具有有意義的反應。在一些實施例中，藉由SD-OCT測定一隻眼睛及/或對側眼睛之中心子區域厚度及/或中心視網膜厚度。在一些實施例中，若在一隻眼睛及/或對側眼睛中之抗VEGF治療之後觀測到CST之正常化且不存在可觀測的血管滲出物，則確定個體對用於眼睛新生血管性疾病之用抗VEGF藥劑(例如阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段)進行之先前治療具有有意義的反應。正常化係指CST值為該類別之患者之正常值(例如基於年齡、性別等)。

【0283】 在一些實施例中，若與投與抗VEGF治療(例如阿柏西普)之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，在抗VEGF治療之後至少約5天、至少約6天、至少約7天、至少約8天、至少約9天、至少約10天、至少約11天、至少約12天、至少約13天、至少約14天、至少約15天、至少約16天、至少約17天中之任一者或更長時間時觀測到中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低≥20% (例如至少20%、至

少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%中之任一者)，則確定個體對用於眼睛新生血管性疾病之先前抗VEGF治療(例如阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段)具有有意義的反應，如藉由一隻眼睛及/或對側眼睛中之SD-OCT所測定。在一些實施例中，若與投與抗VEGF治療之前的中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)相比，在抗VEGF治療之後約7天、約10天或約14天時觀測到中心視網膜厚度(CRT)或中心子區域厚度(CST)降低≥20%（例如至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或100%中之任一者)，則確定個體對用於眼睛新生血管性疾病之先前抗VEGF治療(例如阿柏西普、其功能性變異體或其功能性片段)具有有意義的反應，如藉由一隻眼睛及/或對側眼睛中之SD-OCT所測定。

【0284】在一些實施例中，個體未接受用於眼睛新生血管性疾病之先前治療。在一些實施例中，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中未接受用於眼睛新生血管性疾病之先前治療。在一些實施例中，個體未接受先前抗VEGF治療。在一些實施例中，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中未接受先前抗VEGF治療。在一些實施例中，個體未接受先前阿柏西普治療。在一些實施例中，個體在一隻眼睛及/或對側眼睛中未接受先前阿柏西普治療。

【0285】在一些實施例中，根據本文中所描述之方法治療之眼睛疾病或病症為糖尿病性黃斑水腫。糖尿病性黃斑水腫(DME)為由液體自黃斑內之血管滲漏而引起之糖尿病中之視網膜腫脹。黃斑為視網膜之中心部分，其為富含視錐之小型區域，視錐為偵測色彩且實現日間視覺之特殊的

神經末梢。隨著黃斑水腫發展，中心視場之中間或僅側面發生模糊。由糖尿病性黃斑水腫引起之視覺損失可發展若干個月時段且使得不能清楚地聚焦。DME之常見症狀為視覺模糊、飛蚊症、複視且若其始終未得到治療，則最終導致失明。在一些實施例中，如本文中所揭示之方法及醫藥組合物係用於治療DME。在一些實施例中，藉由量測折射或視力(例如使用ETDRS字母之BCVA)來評估DME之治療。在一些實施例中，在散瞳一隻眼睛及/或對側眼睛之前，從約4公尺之距離開始量測視力。在一些實施例中，若與投與單位劑量之rAAV粒子之前相比，個體在投與單位劑量之rAAV粒子之後在ETDRS評分中損失小於15個字母，則認為視力得到保持。在一些實施例中，藉由SD-OCT及/或OCT-A評估DME之治療。在一些實施例中，藉由使用SD-OCT量測中心子區域厚度及/或黃斑體積來評估DME之治療。在一些實施例中，藉由在投與單位劑量之rAAV粒子之後投與的用抗VEGF藥劑(例如阿柏西普)進行之治療(例如阿柏西普救援治療)之次數來評估DME之治療。在一些實施例中，若與在投與單位劑量之rAAV粒子之前(例如在第1天)及在投與單位劑量之rAAV粒子之後約3週(例如在第4週)記錄之兩個CST量測結果中之較低者相比，存在中心子區域厚度(CST)增加>50 μm (藉由SD-OCT評估)，則在投與單位劑量之rAAV粒子之後投與一或多次阿柏西普救援治療。在一些實施例中，若與在投與單位劑量之rAAV粒子之前(例如在第1天)及在投與單位劑量之rAAV粒子之後約3週(例如在第4週)記錄之兩個BCVA量測結果中之較高者相比，由於DME疾病活性惡化而發生BCVA中之損失>5個字母，則在投與單位劑量之rAAV粒子之後投與一或多次阿柏西普救援治療。在一些實施例中，使用糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(DRSS)，例如使用超寬

視野彩色眼底攝影評估DME之治療，與投與單位劑量之rAAV粒子之前的DRSS進行比較。在一些實施例中，藉由出現對視覺有害的併發症(例如前段新生血管、糖尿病性黃斑水腫、高風險PDR發展、玻璃體出血或牽引性視網膜剝離)來評估DME之治療。在一些實施例中，藉由超寬視野成像及臨床檢查來評估對視覺有害的併發症。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子造成糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(DRSS)中之2步驟或3步驟改良。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子造成糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(DRSS)中之2步驟改良。在一些實施例中，向個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子造成糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(DRSS)中之3步驟改良。

【0286】 在一些實施例中，根據本文中所描述之方法治療之眼睛疾病或病症為視網膜靜脈阻塞。視網膜靜脈阻塞為將血液自視網膜運走之小型靜脈之堵塞。視網膜為內眼背部處之組織層，其將光影像轉化成神經信號且將其傳送至腦部。視網膜靜脈阻塞最常由動脈硬化(動脈粥樣硬化)及形成血凝塊引起。視網膜中之較小靜脈(分流靜脈或BRVO)之堵塞通常在跨越視網膜靜脈且對其施加壓力之由於動脈粥樣硬化而增厚或硬化之視網膜動脈之位置處發生。視網膜靜脈阻塞之症狀可包括一隻眼睛之全部或一部分之突發模糊或視覺損失。

【0287】 在一些實施例中，根據本文中所描述之方法治療之眼睛疾病或病症為脈絡膜新生血管(CNV)，亦稱為濕性年齡相關之黃斑變性(wAMD)。脈絡膜新生血管可涉及來源於脈絡膜之新血管之生長破壞布魯赫膜(Bruch membrane)，進入視網膜色素上皮下(RPE下)或視網膜下腔，

其可為視覺損失之主要原因。CNV可引起中心視覺之急劇退化，在若干週內即可顯而易見。其他症狀可包括色彩障礙及視物變形症(其中直線呈現為波浪狀之變形)。新血管之出血可加速CNV之症狀之發作。CNV亦可包括感覺到眼後之壓力。

【0288】 AMD之晚期「濕性」形式(新生血管性或滲出性)通常可引起患者之中心視覺之快速且通常顯著的損失。在AMD之濕性形式中，脈絡膜新生血管形成且發展成血管網，其可在視網膜色素上皮下生長且穿過視網膜色素上皮。因為此伴有進入視網膜下腔之血漿滲漏及/或出血，因此若其在黃斑中發生，則可出現中心視覺之嚴重的急劇損失。本發明涵蓋AMD、濕性AMD之治療或預防。在一些實施例中，如本文中所揭示之方法及醫藥組合物係用於治療AMD。

【0289】 在一些實施例中，本文中所描述之方法係用於預防或治療個體中之眼睛疾病或病症，其中該個體已接受用貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗、氟西匹單抗、聚乙二醇化阿比西巴、康柏西普、OPT-302、KSI-301、可注射順丁烯二酸舒尼替尼(GB-102)、PAN-90806(PanOptica)及/或阿柏西普進行之先前治療。在一些實施例中，本文中所描述之方法係用於預防或治療對用貝伐珠單抗、布羅珠單抗、蘭比珠單抗及/或阿柏西普進行之治療起反應之眼睛疾病或病症。

【0290】 在一些實施例中，個體在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子之前至少1天、至少1週、至少1個月、至少2個月、至少4個月、至少6個月、至少12個月、至少18個月、至少24個月、至少30個月、至少36個月、至少42個月、至少48個月、至少54個月、至少60個月、至少66個月、至少72個月、至少78個月、至少84個月、至少90個

月、96個月、至少102個月、至少108個月、至少114個月、至少120個月、至少126個月、至少132個月或更長時間時被診斷患有眼睛新生血管性疾病。

【0291】 呈現以下說明以使得一般熟習此項技術者能夠製造及使用各種實施例。特定裝置、技術及應用之描述係僅作為實例提供。一般熟習此項技術者將容易地顯而易見對本文中所描述的實例之各種修改，且本文中所定義之一般原理可在不脫離各種實施例的精神及範疇之情況下應用於其他實例及應用。因此，各種實施例不意欲限於本文中所描述及展示之實例，而係符合與申請專利範圍一致的範疇。

實例

實例1：在6×10^{11}個vg/眼睛之劑量下，新生血管性(濕性)年齡相關之黃斑變性中之AAV2.7m8-阿柏西普之開放標記1期研究。

【0292】 此實例描述AAV2.7m8-阿柏西普(一種含有VEGF抑制劑阿柏西普及AAV2.7m8蛋白質衣殼之rAAV載體)用於治療伴有脈絡膜新生血管之年齡相關之黃斑變性(AMD)(濕性AMD；wAMD)之開放標記1期研究。

I. 研究目標

A. 主要目標

【0293】 此研究之主要目標為評估在患有wAMD之個體中，AAV2.7m8-阿柏西普之單次玻璃體內(IVT)注射之安全性及耐受性。

主要終點

【0294】 此研究之主要終點為眼睛及全身性不良事件(AE)之類型、嚴重程度及發生率。

B. 次要目標

【0295】 此研究之次要目標為：

- 評估AAV2.7m8-阿柏西普對最佳矯正視力(BCVA)之作用。
- 評估AAV2.7m8-阿柏西普對中心子區域厚度(CST)，亦稱為中心視網膜厚度(CRT)之作用。
- 評估自第4週至第104週對救援療法之需求。
- 評估AAV2.7m8-阿柏西普對視網膜內液體(IRF)及視網膜下液體(SRF)之存在之作用。
- 評估在基線時患有色素上皮脫離(PED)之患者中，AAV2.7m8-阿柏西普對PED消退之作用。

次要終點

【0296】 此研究之次要終點為：

- 與基線相比，BCVA之隨時間推移之自基線之平均變化，如藉由自第8天至第104週之隨時間推移之ETDRS字母評估。
- 與基線想必，隨時間推移具有≥15個ETDRS字母之自基線之BCVA增加之個體之百分比，如自第8天至第104週評估。
- 與基線想必，隨時間推移具有≤15個ETDRS字母之自基線之BCVA降低之個體之百分比，如自第8天至第104週評估。
- 與基線相比，CST及黃斑體積之隨時間推移之自基線之平均變化，如自第8天至第104週評估。
- 隨時間推移之平均阿柏西普注射次數，如在第4-104週評估。
- 隨時間推移之需要阿柏西普注射之個體之百分比，如在第4-104週評估。

● 隨時間推移之不具有IRF之個體之百分比，如自第8天至第104週評估。

● 隨時間推移之不具有SRF之個體之百分比，如自第8天至第104週評估。

● 在基線時患有PED之個體中，隨時間推移之不具有PED之個體之百分比，如自第8天至第104週評估。

II. 研究個體

【0297】 此研究中之個體被診斷患有因年齡相關之黃斑變性(AMD)繼發之活動性脈絡膜新生血管(CNV)，具有最近對抗VEGF治療起反應之歷史且需要頻繁的抗VEGF療法之注射。

【0298】 僅選擇一隻眼睛作為研究期間之研究眼睛。若兩隻眼睛皆符合所有包涵及排除準則，則選擇在篩檢時具有最差的所評估之BCVA之眼睛作為研究眼睛。若兩隻眼睛皆符合所有包涵及排除準則且兩隻眼睛的BCVA值相同，則由個體進行選定以選擇其非慣用眼睛進行治療，或默認選擇右眼作為研究眼睛。

A. 包涵準則

【0299】 符合以下包涵準則之個體參與此研究：

● 男性或女性個體，年齡≥50歲。

● 研究眼睛具有占總病灶尺寸之≥50%的因AMD繼發之活動性視網膜中央凹下CNV之先前或當前證據：

o 螢光素血管造影(FA)滲漏、在頻譜域光學相干斷層攝影(SD-OCT)中發現液體及/或在彩色眼底攝影中發現視網膜下出血；及

o 病灶之整個尺寸不超過12個黃斑光凝研究視盤區域。

- 個體接受用於wAMD之活性抗VEGF治療且在篩檢之前4個月內接受至少2次注射。
- 在篩檢訪視時(在阿柏西普注射之前)研究眼睛之視力：
  - o BCVA ETDRS為78-25。
- 非研究眼睛之視力：
  - o BCVA ETDRS≥35。
- 顯示有意義的抗VEGF反應，如由研究者確認且定義為：
  - o 與初始診斷時相比，中心子區域厚度降低≥30%，如使用SD-OCT評估；或
  - o 與篩檢時相比，中心子區域厚度降低≥20%，如使用SD-OCT評估；或
  - o CST正常化且不存在可觀測的血管滲出物。

【0300】 出於確認抗VEGF反應之目的，在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前，在第1天訪視時由研究者確認VEGF反應。確定不具有有意義的抗VEGF反應之個體在篩檢時不合格且不參與此研究。

B. 排除準則

【0301】 符合以下排除準則之個體不參與此研究：

中和抗體

- 儘管在中和抗體(NAb)之水準與血清及玻璃體液體中之AAV之間不存在確定的相關性(Lukason等人, (2011) Mol Ther 19(2):260-265)，但作為預防措施，關於針對AAV2.7m8載體之NAb來對個體進行篩檢。將在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前6個月內具有所記錄的抗AAV2.7m8中和抗體效價水準＞1:125之個體排除出此研究。

CNV病灶

- 以下CNV病灶特徵之已知歷史或證據：

o 研究眼睛之中央凹之中心中的纖維化或萎縮、視網膜上皮抗撕，或任何阻止視力改良之病狀。

o 結疤或纖維化占總病灶區域之>50%。

o 病灶尺寸>12個黃斑光凝研究視盤區域(30.5 mm^2)，包括血液、疤痕及新生血管，如藉由螢光素血管攝影術(FA)評估。

o 視網膜下出血占總病灶區域之≥50%，或在研究眼睛之中央凹下存在血液，其尺寸≥1個視盤區域(若血液位於中央凹之下方，則中央凹被可見的CNV以270度包圍)。

眼睛病狀(視網膜/後眼)

- 在投與AAV2.7m8-阿柏西普時在研究眼睛中存在明顯的視網膜前膜或玻璃體黃斑牽引(VMT)症候群，或研究眼睛具有全層黃斑孔(第2及更高的伽斯階段(Gass Stage))之歷史。

- 研究眼睛中之除wAMD以外的視網膜疾病之歷史，包括糖尿病性視網膜病變(在任一隻眼睛中)、視網膜靜脈阻塞、葡萄膜炎、疑似視網膜血管瘤增生、瘜肉狀脈絡膜病變或由其他原因(例如眼睛組織漿菌病、創傷或病理性近視)引起之CNV，或眼睛中之任何其他血管疾病(不排除玻璃體或外周視網膜之良性病狀)。

- 研究眼睛中之視網膜剝離(進行或未進行修復)之歷史。

其他病狀(非視網膜)

- 研究眼睛中之已知的明顯的非視網膜疾病或介質不透明之歷史或證據，其可在研究過程期間損傷視力、需要手術及/或妨礙視網膜之正確

觀測或成像(例如中心角膜結疤、明顯的白內障、角膜營養不良、鞏膜軟化)。

- 在投與AAV2.7m8-阿柏西普時研究眼睛中之不受控的眼睛高血壓或青光眼(定義為儘管用抗青光眼藥物進行治療，但眼內壓[IOP]>22 mmHg)或在篩檢時使用>2種降IOP藥物。
- 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前4週內的任一隻眼睛之眼睛或眼周感染之活性或歷史。

眼睛手術/程序

- 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前6個月內的對研究眼睛之任何先前眼內或眼周手術，或在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前6個月內的任何計劃的重大手術程序。在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前>1個月之眼瞼手術不為排除準則。
- 研究眼睛中之玻璃體切除術、小樑切除術或其他濾過性手術之歷史。
- 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前3個月內的釔鋁石榴石(YAG)後囊切開術。
- 任何用光動力療法或視網膜雷射進行之用於治療wAMD之先前治療及研究眼睛之區域中之任何先前治療性輻射。

一般/全身性病狀

- 除非指定，否則在給藥之前6個月內的以下心血管疾病中之任一者之歷史或證據：

o 具有不穩定絞痛之嚴重心臟疾病(例如紐約心臟協會[New York Heart Association；NYHA]功能類別III或IV)歷史或臨床證據。

o 急性冠狀動脈症候群、心肌梗塞或冠狀動脈血管重建。

o 需要持續性治療之室性心動過速，或不受控的心律不整。

o 儘管在給藥之前的篩檢週期內使用降BP藥物，但仍不受控的高血壓，定義為平均收縮血壓(SBP)≥160 mmHg或平均舒張血壓(DBP)≥100 mmHg。

o 腦血管事故或短暫局部缺血發作之歷史。

● 任何持續性出血障礙或國際標準化比值(INR)>3.0之歷史。使用阿司匹林(aspirin)或其他抗凝劑(例如因子Xa抑制劑)不為排除準則。在篩檢週期期間重複INR以確認符合合格性準則。

● 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前，在篩檢週期內之不受控的糖尿病(HbA1c>7.0%)之證據。

● 在最近5年內之除以下(若充分治療)以外的惡性疾病之歷史：

o 皮膚之局部基細胞或鱗狀細胞癌。

o 子宮頸或乳房之原位癌。

o 乳頭狀、非侵襲性膀胱癌。

o 第1及2階段前列腺癌，其觀測結果在臨床上由持續6個月之穩定的前列腺特異性抗原(PSA)指示。

o 完全姑瘜達至少2年或認為以手術方式治癒之任何其他癌症。

● 陽性HIV、B型肝炎或C型肝炎(除非證明治療痊癒)。

● 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前36小時內，基於臨床檢查及/或溫度>38.5℃，任何類型之全身性活性感染之跡象或懷疑被研究者視為臨床顯著。

● 對以下之已知的嚴重過敏：

o 血管攝影術中使用之螢光素染料或螢光素鈉(可容許能夠治療之輕度過敏性)；或

o 阿柏西普。

● 在研究期間懷孕、哺乳或準備受孕之女性。

● 在研究者看來損害個體之安全性之其他顯著實驗室異常或醫學病狀。

藥物

● 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前的5個半衰期內使用全身性消炎劑類固醇或免疫抑制性藥物(除方案指定之潑尼松以外)。允許使用吸入或局部類固醇及非類固醇消炎藥(NSAID)。

● 接受以下中之任一者：

o 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前的30天或5個半衰期(以較長者為準)內之研究性藥品。

o 先前基因療法。

III. 研究性藥品

【0302】 研究性藥品(IMP)，AAV2.7m8-阿柏西普，為重組、複製缺陷型腺相關病毒(rAAV)載體，其含有由AAV2衣殼上之活體內定向演化而衍生之AAV2.7m8蛋白質衣殼(Dalkara等人, (2013) Sci Transl Med 5(189):189ra76; US2014/0364338)。AAV2.7m8-阿柏西普攜帶受廣泛嵌合啟動子控制之阿柏西普cDNA之經密碼子最佳化之版本之表現卡匣(**圖1A**)(參見WO2018170473A1)。在Sf9細胞中使用桿狀病毒表現載體系統製造AAV2.7m8-阿柏西普，其中使用兩種不同的桿狀病毒，一種編碼AAV2 Rep及AAV2.7m8 Cap蛋白質之基因且另一種編碼人類阿柏西普

cDNA表現卡匣。

【0303】 AAV2.7m8-阿柏西普係在含有0.25 mL IMP之無菌、即用型0.5 mL Crystal Zenith小瓶中以無菌過濾、冷凍懸浮液形式提供，如**表1**中所展示來調配。

表1：用於群組1之AAV2.7m8-阿柏西普研究性藥品之調配物

調配物(pH 7.3)		
化合物	**濃度**	**功能**
AAV2.7m8-阿柏西普	6×10^{12}個vg/mL	活性成分
氯化鈉	180 mM	滲透/離子增強劑
磷酸二氫鈉	5 mM	緩衝劑
磷酸氫二鈉	5 mM	緩衝劑
泊洛沙姆188	0.001% (w/v)	界面活性劑
注射用水	適量(Q.S.)	溶劑
注射體積	100 μL	

IV. 研究設計

A. 劑量及投藥方法

群組1

【0304】 以100 μL之注射體積，以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量1向群組1中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。

【0305】 在≤-60℃下自冷凍儲存器移出AAV2.7m8-阿柏西普小瓶且在室溫下解凍。經由IVT注射來投與AAV2.7m8-阿柏西普。使用藉由聚維酮-碘實現之無菌技術以及局部或結膜下麻醉。基於機構護理標準提供注射後護理及藥物方案。

B. 研究訪視

篩檢(第-15至-7天)

【0306】 如圖**1B**中所示，根據護理標準，個體在第-15至-7天(例如

第-14至-7天)之篩檢期間接受2 mg阿柏西普之單一IVT注射。個體接受常規機構標準注射後護理。

研究第1天

【0307】 在研究第1天(在阿柏西普之IVT注射之後7至15天，例如7至14天)，在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前，研究個體經歷SD-OCT研究以確認其對抗VEGF療法起反應。由研究者確認抗VEGF反應。如上文所描述(參見包涵準則)，僅確認具有有意義的抗VEGF反應之個體符合參與此研究之條件。

【0308】 對抗VEGF療法起反應之個體依序入選至研究群組中且在研究眼睛中接受單一AAV2.7m8-阿柏西普IVT注射。如上文所描述，僅選擇一隻眼睛作為研究期間之研究眼睛。

AAV2.7m8-阿柏西普後投藥

【0309】 個體在第2、4、6及8週期間在第3及8天返回且隨後每4週(亦即，第12、16、20及24週)返回一次以進行臨床評估及治療(視需要)。在第24週進行群組1之安全性及功效分析。

【0310】 自第4週開始，若存在根據再治療準則之疾病活性增加之證據，則個體符合接受2 mg IVT阿柏西普之救援注射之條件(參見下文)。以下中之任一者之存在可確保恢復用2 mg IVT阿柏西普進行之標準抗VEGF治療：

- BCVA (使用ETDRS方案)之自基線之損失≥10個字母且藉由SD-OCT觀測到視網膜內或視網膜下液體且由研究者判定為BCVA損失之起因。
- 中心子區域厚度之自基線之增加>75 μm，如藉由SD-OCT評估。

- 存在由黃斑變性引起之對視覺有害的出血。

【0311】 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後第52週再次針對安全性及功效對個體進行評估。隨訪期持續至投與AAV2.7m8-阿柏西普之後第104週。

C. 皮質類固醇方案

【0312】 為了降低可能的注射後眼睛發炎之風險，向個體投與預防性皮質類固醇方案(例如潑尼松)且密切監測載體之眼睛及全身耐受性。

【0313】 向群組1中之個體投與預防性13天口服皮質類固醇方案，以60毫克/天之潑尼松為起始，自AAV2.7m8-阿柏西普治療之前3天(第-3天)至該治療之後3天持續總共6天。接著使用7天逐漸減少之潑尼松。口服潑尼松方案之概述提供於**表2**中。

表2：口服潑尼松方案

研究天數	總天數	每天之潑尼松劑量
第-3至+3天	6	60 mg
第4-6天	3	40 mg
第7-8天	2	20 mg
第9-10天	2	10 mg
第11天	0	停止

【0314】 設計在AAV2.7m8-阿柏西普IVT注射之前的起始免疫抑制(亦即，潑尼松)以限制在暴露於衣殼抗原時之免疫反應。個體根據13天方案自行投與潑尼松。

【0315】 個體視需要在研究之第2-24週期間接受局部或口服皮質類固醇(潑尼松)。

D. 禁止藥物及治療

【0316】 在研究期間禁止以下藥物：

- 任何全身性抗VEGF藥劑，包括貝伐珠單抗。
- 根據此研究中之救援抗VEGF注射準則，除研究藥物或2 mg阿柏西普注射以外的研究眼睛中之任何抗VEGF藥劑。
- 研究眼睛中之IVT類固醇。
- 免疫抑制藥物。允許使用全身性、吸入或局部類固醇及NSAID。
- 使用及參與任何其他研究性研究。
- 若臨床上指示且計劃在IVT投藥之後>90天及/或在最後一次阿柏西普注射之後>7天進行，則可進行研究眼睛中之白內障手術。
- 在非研究眼睛中出現AMD之個體可在非研究眼睛中接受護理標準療法。

E. 用於群組1之研究設計之概述

【0317】 六名個體入選至群組1中。

【0318】 以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量1向群組1中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。在向群組內之後續5名個體(個體2-6)給藥之前，入選至群組1中之第一名(哨兵)個體接受AAV2.7m8-阿柏西普之IVT注射且進行評估持續29天。

【0319】 用於群組1之研究設計之概述提供於**表3**中。

表3：用於群組1之研究設計之概述

群組	**AAV2.7m8-阿柏西普劑量**	皮質類固醇方案
群組1	6×10^{11}個vg/眼睛	預防性口服潑尼松方案

F. 研究持續時間

【0320】 對於每名個體，個體參與研究之持續時間為約108週。此包括4週篩檢期及額外的104週研究期。

【0321】 在研究完成或中止時，向個體提供參與長期隨訪研究之機會(若適宜)以進一步評估此基因療法之安全性。

V. 研究評估

A. 一般體檢及生命徵象

【0322】 收集及記錄每名個體之相關醫學及眼科歷史。一般體檢係由身高(僅在篩檢時)、體重及生命徵象組成。

【0323】 生命徵象係由血壓、脈搏率量測結果、體溫及呼吸率組成。獲取每名個體之12導聯心電圖(ECG)。進行以下臨床實驗及抗體測試：化學、全血球計數(CBC)、凝血研究、尿分析、HIV或肝炎之血清學證據及妊娠測試。

【0324】 在第104週時，研究終止(EOS)及/或進行提前終止訪視(評估個體之生理條件自篩檢檢查開始是否發生任何變化之體檢)。

B. 免疫反應及阿柏西普表現

【0325】 量測總抗AAV2.7m8抗體。使用藉由割點進行評估之基於報導基因之轉導干擾分析法來測定個體之血清中之中和抗AAV2.7m8抗體。

【0326】 使用基於ELISA之割點抗體分析法，量測血清中之針對抗阿柏西普抗體之體液性免疫反應。

【0327】 收集血清以測定是否存在阿柏西普蛋白質。

【0328】 使用ELISPOT分析法量測針對AAV2.7m8衣殼蛋白質及阿柏西普蛋白質之細胞性免疫。

C. 全面眼科檢查及其他評估方法

【0329】 研究評估包括眼科檢查、眼內壓(IOP)及間接眼底鏡檢查

法。

【0330】 眼科檢查係由眼睛及附件之外部檢查、眼瞼/瞳孔反應之常規篩檢(包括(但不限於)眼瞼下垂、瞳孔形狀異常、瞳孔不相等、對光之異常反應及傳入性瞳孔缺陷)及裂隙燈檢查(眼瞼、結膜、角膜、晶狀體、虹膜、前房)組成。裂隙燈檢查將檢查前眼結構且用於對任何結果進行評級。若在裂隙燈檢查期間注意到任何結果，則在任一次訪視時，由研究者對嚴重程度進行評級且將結果描述為臨床顯著或非臨床顯著。

【0331】 使用Goldmann壓平眼壓計或Tono-pen™進行IOP量測。在任何IVT注射之前及在眼睛散瞳之前進行IOP量測。第1天訪視需要注射前及注射後(在注射之後30分鐘)IOP量測結果。

【0332】 散瞳之間接眼底鏡檢查法檢查包括評估玻璃體、視神經、外周視網膜及視網膜血管之後段異常。若在眼底鏡檢查法期間注意到任何結果，則在任一次訪視時，由研究者對嚴重程度進行評級且將結果描述為臨床顯著或非臨床顯著。第1天訪視需要注射前及注射後間接眼底鏡檢查法評估。

頻譜域光學相干斷層攝影術(SD-OCT)

【0333】 使用SD-OCT，藉由干涉條紋圖案之光譜分析獲得以反向散射光之量值及延遲編碼之深度解析組織結構資訊。

螢光素血管攝影術

【0334】 使用螢光素血管攝影術影像確認患者參與研究之合格性、評估CNV病灶生長之功效及評估與基線相比之滲漏。

數位彩色眼底攝影

【0335】 獲取視網膜、視神經盤及黃斑之彩色眼底影像。

光學同調斷層掃描血管攝影術(OCT-A)

【0336】 使用OCT-A成像(掃頻或頻譜域)來獲得視網膜及脈絡膜之體積、三維圖以及關於血流之資訊。

折射及視力

【0337】 在研究點由經培訓及認證之視力審查員來量測折射及BCVA。在眼睛散瞳之前，在4公尺之起始距離處量測視力。

D. 安全性評估

【0338】 為了減少與AAV2.7m8-阿柏西普之IVT投藥相關之風險，在IVT AAV2.7m8-阿柏西普投藥當天及隨後的後處理時密切監測個體。

【0339】 經由收集AE、生命徵象、生理及眼睛檢查、ECG、妊娠測試及實驗室評估來評估AAV2.7m8-阿柏西普之安全性。

【0340】 在研究之最初8週進行個體之密切監測，接著進行安全性之常規安全性評估且接著評估功效。所有個體在每次研究訪視時藉由早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)字母評估來測試其視力，且使用護理標準阿柏西普IVT注射作為救援治療。

【0341】 根據以下量表對AE之嚴重程度或強度進行評級：

- 輕度：可察覺但不會顯著阻礙個體之日常活動之AE。
- 中度：減少或阻礙正常的日常活動，但不會引起失能之AE。
- 重度：引起失能及引起不能進行正常的日常活動之AE。

【0342】 歷時研究治療之投藥後104週來評估安全性。在完成研究終止(EOS)訪視時，建議個體參與長期擴展研究以進一步評估轉基因表現之安全性及耐久性。

E. 功效評估

【0343】藉由以下量測手段來評估AAV2.7m8-阿柏西普在治療wAMD中之功效。關鍵評估時間點係在第24週。BCVA及SD-OCT之基線值係指在阿柏西普注射之前，在第-15至-7天(例如第-14至-7天)之篩檢訪視期間獲得之值。使用基線值進行比較以用於分析。

【0344】主要經由表示為ETDRS評分(正確閱讀之字母之數目)之BCVA來評估視力(Vitale等人, (2016) JAMA Ophtalmol 134(9):1041-1047)。若與基線相比，個體之ETDRS評分之損失小於15個字母，則分類為視力保持。所計算的終點包括自基線之平均變化、與基線相比增加至少15個字母之百分比及與基線相比損失15個或更多個字母之百分比。

【0345】使用標準技術進行FA以評估CNV病灶，以評估與基線相比之滲漏。

【0346】使用經認可之設備及標準技術進行SD-OCT，以評估與基線值相比之視網膜厚度(例如中心視網膜厚度或中心子區域厚度)、黃斑體積及是否存在液體(例如視網膜下液體及視網膜內液體)。

【0347】測定自第4週至第104週，隨時間推移之每名個體在AAV2.7m8-阿柏西普治療後提供之阿柏西普注射之次數。此外，測定在用AAV2.7m8-阿柏西普進行之治療後進行第一次阿柏西普注射之時間及不需要阿柏西普救援治療之個體之比例。

【0348】測定自第4週至第104週，隨時間推移之不具有IRF之個體之比例。

【0349】測定自第4週至第104週，隨時間推移之不具有SRF之個體之比例。

【0350】測定在基線時具有PED之個體中，自第4週至第104週的隨

時間推移之不具有PED之個體之比例。

F. 統計分析

【0351】 安全性群體包括所有接受AAV2.7m8-阿柏西普之個體且係根據所接受之劑量進行分析。

【0352】 根據群組來概述所有其他安全性參數。使用監管活動醫學詞典(Medical Dictionary for Regulatory Activities；MedDRA，第21版)分類來編碼AE，以得到各事件之較佳術語(PT)及系統器官類別(SOC)。單獨列舉引起退出研究之SAE及AE。

【0353】 功效分析包括所有個體。評估功效分析終點且將根據群組來計算描述性統計。關鍵評估時間點係在第24週。根據所接受及總計之劑量來評估功效。

VI. 結果

A. 個體特徵

【0354】 所有入選至群組1中之六名個體被診斷患有wAMD。在入選時，個體具有高抗VEGF治療需求(例如需要頻繁的抗VEGF治療)、功能性視覺為約20/50、一定程度之中心子區域厚度過量(藉由OCT)，且正在接受抗VEGF治療之常規IVT注射且對療法起反應。所有個體之疾病特徵及治療歷史提供於**表4-5**中。

【0355】 如**表4**中所示，群組1中之個體在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前約一年(個體5)至約十年或更長時間(個體4)被診斷患有wAMD。個體在研究眼睛中接受廣泛範圍之先前抗VEGF IVT注射，即7 (個體5)至109(個體4)次先前注射。所計算之此研究之前的平均抗VEGF IVT注射間隔在每4週一次至每10週一次範圍內。所有個體在針對能否參與此研究之篩檢

之前的四個月接受2或3次抗VEGF注射。在開始研究之前，在篩檢抗VEGF注射之後7天(個體1-3)或14天(個體4-6)向個體投與AAV2.7m8-阿柏西普。

表4：群組1中之個體之基線特徵

特徵	**值**
平均年齡，歲	79.0
自nAMD診斷之平均時間，年	3.3
自初始診斷之平均抗VEGF注射次數(範圍)	35.3 (7-109)
篩檢之前4個月之平均抗VEGF注射次數	2.8
篩檢之前8個月之平均抗VEGF注射次數	6.2
篩檢之前12個月之平均抗VEGF注射次數	9.2
按年計算之平均注射頻率	9.3
研究眼睛中之基線BCVA (ETDRS字母)，平均值 近似斯奈倫值	65.8 20/50
研究眼睛之基線平均CST，μm	369.2

表5：群組1中之研究個體之疾病特徵及治療歷史

	個體1	**個體2**	**個體3**	**個體4**	**個體5**	**個體6**
年齡	76歲	83歲	87歲	62歲	88歲	77歲
性別	男性	男性	男性	男性	男性	女性
新生血管性AMD診斷與AAV2.7m8-阿柏西普IVT注射之間的時間：	2.3年	1.1年	1.2年	11.0年	1.0年	7.0年
研究眼睛中之先前抗VEGF注射之次數：	18	9	29	109	7	8
所計算之研究前的平均抗VEGF注射間隔：	5-7週	4-10週	4-7週	4-6週	4-7週	4-6週
在篩檢之前4個月接受之抗VEGF注射之次數：	3	2	3	3	2	4
在篩檢之前8個月接受之抗VEGF注射之次數：	5	6	6	6	6	8
按年計算之平均注射頻率	7.5	9	9	9	9	12
篩檢阿柏西普IVT注射與AAV2.7m8-阿柏西普IVT注射之間的天數：	7天	7天	7天	14天	14天	10天

B. 安全性

【0356】 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後的24週期間，未發生SAE且不存在任何符合劑量限制性毒性(DLT)準則之AE。未觀測到藥物相關之非眼睛AE。在所有個體中觀測到眼睛發炎且可用局部類固醇管理。此外，未觀測到血管炎、視網膜炎或脈絡膜炎。觀測到十九個眼睛AE，認為其可能與AAV2.7m8-阿柏西普有關；14個為輕度且5個為中度(2個AE為中間葡萄膜炎，1個AE為玻璃體細胞，2個AE為前房細胞)。一名患者具有兩個前房細胞事件(一個輕度事件及一個中度事件)。在早期隨訪期間頻繁地觀測到對局部或口服皮質類固醇起反應之輕度至中度眼內發炎。OCT影像證實大部分個體中之持續性液體之消退，不存在惡化跡象。視力通常為穩定的。直至第24週之所有與AAV2.7m8-阿柏西普有關之安全性事件之概述提供於**表6**中。

表6：所有與AAV2.7m8-阿柏西普有關之安全性事件

與AAV2.7m8-阿柏西普有關之眼睛AE	**患者編號，n**	**事件數目，n**						
		患者1	患者2	患者3	患者4	患者5	患者6	總計
前房細胞	3	0	1	0	1*	0	2‡	4
AC光斑	3	1	0	2	0	1	0	4
玻璃體細胞	3	0	1*	1	0	0	1	3
中間葡萄膜炎	2	0	1*	0	0	0	1*	2
角膜後沈積物	1	0	0	2	0	0	0	2
瞳孔散瞳不良	1	0	0	0	0	1	0	1
眼睛飛蚊症	1	0	1	0	0	0	0	1
玻璃體碎片	1	0	0	0	0	0	1	1
玻璃體混濁	1	0	0	1	0	0	0	1
* 中度事件；所有事件之強度為輕度(14)或中度(5)。‡具有兩個前房細胞事件(一個輕度事件及一個中度事件)之患者。								

【0357】 所有個體自第-3天開始接受60 mg口服潑尼松持續6天，接著進行7天逐漸減少之潑尼松過程。眼睛細胞發炎之臨床評估顯示在使用AAV2.7m8-阿柏西普後之早期未發生臨床顯著發炎。此外，如**圖6**中所示，當個體接受類固醇滴眼劑時，未觀測到惡化或新的發炎。至第24週，前房細胞發炎消退或改良。所觀測到的細胞發炎通常為輕度的。**圖6**中展示之房水細胞計數類別係基於葡萄膜炎命名標準(SUN)準則(Jabs, DA等人, J Ophthalmol. 2005;140:509-516)，而玻璃體細胞計數類別係基於國立衛生研究院(NIH)指南。

【0358】 總體而言，安全性評估表明AAV2.7m8-阿柏西普具有良好耐受性，未報導DLT或SAE。所有安全性事件為輕度至中度的，且大部分為發炎相關的。AE之持續隨訪表明平均視力保持穩定且不需要抗VEGF救援注射。因此，結果表明在先前需要頻繁的抗VEGF注射之wAMD患者中以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量，以單一IVT注射形式投與之AAV2.7m8-阿柏西普具有可接受的安全性概況。

C. 功效

【0359】 在AAV2.7m8-阿柏西普投藥之後，基於OCT評估，所有六名個體展示疾病活性之穩定化。如**圖2A-2L**中所示，在用AAV2.7m8-阿柏西普進行之治療之前及之後獲取之OCT影像表明在群組1中之所有六名個體中顯而易見穩定的解剖學反應。舉例而言，在個體1 (例如比較**圖2A**與**2B**)、個體2 (例如比較**圖2C**與**2D**)、個體3 (例如比較**圖2E與2F**)、個體4 (例如比較**圖2G與2H**)及個體5 (例如比較**圖2I與2J**)中，視網膜下液體在護理標準抗VEGF治療之情況下仍存在，但在投與AAV2.7m8-阿柏西普後消退且保持消退。個體6呈現符合瘜肉狀脈絡膜血管病變(PCV)之視網膜形

態(**圖2K**)，且儘管在用AAV2.7m8-阿柏西普進行之治療之後仍存在一些液體，但不存在疾病發展之跡象(**圖2L**)。此外，如**圖3**中所示，所有個體皆未呈現中心子區域厚度(CST)之增加且觀測到平均降低-52.7 μm (90% CI -86.5，-18.8)。CST增加指示wAMD之疾病發展。重要的是，所有個體皆未投與或需要任何護理標準阿柏西普救援注射(「救援注射」)。

【0360】 在整個研究期間，在所有個體中基於ETDRS字母評估來量測最佳矯正視力(BCVA)。如**圖4**中所示，群組1中之所有個體之BCVA為穩定的，其中平均降低-2個字母(90% CI -9.1，5.1)。

【0361】 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後的第34週之中值隨訪時間，藉由OCT成像，所有個體皆未呈現疾病再活化之跡象(**圖7A-7B**)。此外，在直至第44週之隨訪期期間的任何時間點時，所有個體皆不需要任何救援抗VEGF IVT注射且所有個體皆不符合再治療準則。最終，在超過24週之額外隨訪期期間，BCVA得到保持(亦即，沒有患者損失或增加超過10個ETDRS字母)、在第24週時觀測到的解剖學改良(亦即，視網膜下及視網膜內液體之消退，及CST之降低)得到保持且未出現安全性問題。

【0362】 在34週之中值隨訪時間評估之安全性及功效結果之概述提供於**表7**中。在44週之中值隨訪時間評估之功效結果之概述提供於**表8**中。一名患者經歷與研究治療無關的下黃斑視網膜剝離。對於該患者，使用剝離之前的最後觀測結果計算CST及BCVA平均值且範圍展示於**表8**中。

表7：在34週之中值隨訪時間之安全性及功效結果之概述

	值
中值隨訪，週	34.0
隨訪(最小，最大)，週	28，44
第3級不良事件，n	0
嚴重不良事件，n	0
劑量限制性毒性，n	0
自基線之平均BCVA變化，ETDRS字母	-1.5
自基線之BCVA變化(最小，最大)，ETDRS字母	-9，+5
救援注射之總數，n	0

表8：在44週之中值隨訪時間之功效結果之概述

	值
自基線之平均BCVA變化，ETDRS字母	-1.8
自基線之BCVA變化(最小，最大)，ETDRS字母	-7，+7
自基線之平均CST變化，μm	-18.5
自基線之CST變化(最小，最大)，μm	-75，+32
救援注射之總數，n	0

【0363】在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後，在44週之中值隨訪時間(範圍為40-52週)之功效結果之其他分析之概述提供於**表9**中。

表9：在40-52週(中值44週)之隨訪時間之功效結果之概述

	值
自基線之平均BCVA變化，ETDRS字母	-1.0
自基線之BCVA變化(最小，最大)，ETDRS字母	-7，+7
自基線之平均CST變化，μm	-25.5
自基線之CST變化(最小，最大)，μm	-117，+32
救援注射之總數，n	0

【0364】分析細胞發炎性事件及向每名個體提供之類固醇治療直至第52週之隨訪時間。如**圖8**中所示，除第3天以外，個體1及5不具有細胞反應。兩名個體在研究中之第二個6個月開始使用局部類固醇以用於房水

細胞(AC)光斑及後黏連。兩名個體皆接受局部類固醇及散瞳性滴眼劑，且個體1已停止接受局部類固醇滴眼劑。個體2及6呈現早期發作發炎直至投與AAV2.7m8-阿柏西普之後的第一個月，以及AC反應及對玻璃體細胞之一些溢出。兩名個體中之發炎在用局部類固醇治療後消退。兩名個體繼續接受每天兩次滴眼劑(BID)。在中止使用局部類固醇之後，個體3及4經歷更長期的細胞發炎發作(直至投與AAV2.7m8-阿柏西普之後2-3個月)。此等個體中之發炎對局部類固醇起反應。個體3已停止接受局部類固醇滴眼劑。個體4經歷不相關的視網膜剝離且正在接受BID滴眼劑。

【0365】 總體而言，發炎為低等級的，且未報導早期臨床顯著發炎。所有發炎皆對局部類固醇起反應且具有隨時間推移而消退之趨勢。發炎為房水細胞方法之主要促成因素。

【0366】 **圖9A-9B**展示直至第40至52週隨訪之個體1-6之OCT成像。藉由OCT成像，所有個體皆未呈現疾病再活化之跡象，且BCVA及解剖學改良得到保持。此外，所有個體皆不需要任何救援抗VEGF IVT注射或符合再治療準則。

D. 結論

【0367】 用於wAMD之當前護理標準療法為抗VEGF IVT注射，其通常需要長期進行，約每4-8週一次。患者、照護者及醫療系統難以實現此方案之順應性，引起次最佳給藥及由治療不足引起之視覺損失。

【0368】 此實例中呈現之結果表明AAV2.7m8-阿柏西普提供明顯的用於改良視網膜解剖學及使視覺穩定之益處，同時呈現可接受的安全性概況。特定言之，患者在研究期間保持視覺，且證實AAV2.7m8-阿柏西普為安全的且具有良好耐受性，其中所觀測到的發炎通常為輕度的且對類固

醇滴眼劑起反應。

【0369】 注意到此研究之群組1中之個體先前需要頻繁的抗VEGF注射(**表4**)以減緩或阻止其疾病之發展，然而在投與AAV2.7m8-阿柏西普後，在此研究期間不需要抗VEGF救援注射。

【0370】 注意到在經歷護理標準抗VEGF治療之個體之OCT掃描中存在視網膜下液體持續超過20週，且在篩檢阿柏西普IVT注射之後持續1-2週。儘管個體被反覆治療，但此液體仍存在且因此對抗VEGF蛋白質之護理標準IVT推注具有頑抗性。意外的是，此頑抗性SRF在用AAV2.7m8-阿柏西普進行之治療之後消退，此為臨床前研究未預測到的結果。

【0371】 以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量投與之AAV2.7m8-阿柏西普之所觀測之安全性及功效引起此1期研究之延續部分，以評估以較低劑量及與局部皮質類固醇一起投與之AAV2.7m8-阿柏西普之安全性及功效，如實例2中所描述。

實例2：新生血管性(濕性)年齡相關之黃斑變性中之在低於6×10^{11}個vg/眼睛之劑量下且與局部皮質類固醇一起使用之AAV2.7m8-阿柏西普之開放標記1期研究

【0372】 以下實例描述實例1中所描述之1期研究之延續部分，其係用於評估以低於6×10^{11}個vg/眼睛之劑量且與局部皮質類固醇一起投與之AAV2.7m8-阿柏西普在患有wAMD之個體中之安全性及功效。

I. 研究目標及終點

【0373】 主要目標、次要目標以及主要及次要終點係如實例1之第I部分中所描述。

II. 研究個體

【0374】 此研究中之研究個體係如實例1之第II部分中所描述。

III. 研究性藥品

【0375】 研究性藥品為AAV2.7m8-阿柏西普，如實例1之第III部分中詳細描述且如**圖1A**中所描繪，不同之處在於改變AAV2.7m8-阿柏西普之濃度以保持適合的注射體積，如以下**表10**中所描述。

表10：用於群組2-4之AAV2.7m8-阿柏西普研究性藥品之調配物

	AAV2.7m8-阿柏西普濃度	**注射體積**
群組2	6×10^{12} vg/mL	30 μL
群組3	6×10^{12} vg/mL	30 μL
群組4a	6×10^{12} vg/mL	100 μL
群組4b	6×10^{11} vg/mL	100 μL

IV. 研究設計

A. 劑量及投藥方法

【0376】 如實例1之第IV部分中所描述來投與下文所描述之劑量之AAV2.7m8-阿柏西普。

研究群組2-4

【0377】 **群組2**：六名被診斷患有wAMD之個體入選至群組2中。在預防性口服潑尼松方案下，以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量2向群組2中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。

【0378】 **群組3**：九名被診斷患有wAMD之個體入選至群組3中。在預防性局部皮質類固醇方案下，以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量2向群組3中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。

【0379】 **群組4**：九名被診斷患有wAMD之個體入選至群組4中。若在群組2及3中之大部分個體中觀測到需要救援療法之脈絡膜新生血管滲出之跡象，則在局部皮質類固醇方案下，以6×10^{10}個vg/眼睛之劑量3向群組

4中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射(群組4b)。若在群組2及3中之大部分個體中未觀測到需要救援療法之脈絡膜新生血管滲出之跡象，則在局部皮質類固醇方案下，以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量1向群組4中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射(群組4a)。

B. 研究訪視

【0380】 研究訪視係如實例1之第IV部分及**圖1B**中所描述。

C. 皮質類固醇方案

【0381】 如關於實例1中之群組所詳細描述，向群組2中之個體投與預防性13天口服皮質類固醇方案：

【0382】 **群組2**：在預防性13天口服皮質類固醇方案下，以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量2向群組2中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射，在AAV2.7m8-阿柏西普治療之前3天及之後3天以60 mg潑尼松為起始持續總共6天。接著使用7天逐漸減少之潑尼松。用於群組2之口服潑尼松方案之概述提供於實例1之**表2**中。

【0383】 如下文所描述，向群組3及4中之個體投與逐漸減少之局部皮質類固醇(0.05%二氟潑尼酯滴劑)之預防性方案：

【0384】 **群組3**：在預防性局部4週逐漸減少之皮質類固醇方案下，以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量2向群組3中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。

【0385】 **群組4**：在可由治療醫師決定延長之預防性局部4週逐漸減少之皮質類固醇方案下，以6×10^{10}個vg/眼睛之劑量3向群組4b中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。在可由治療醫師決定延長之預防性局部4週逐漸減少之二氟潑尼酯方案下，以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量3向

群組4a中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。

【0386】 局部二氟潑尼酯方案之概述提供於以下**表11A**中。

表11A：局部二氟潑尼酯方案之概述

研究週數	**每天之二氟潑尼酯投藥**
第1週	4次
第2週	3次
第3週	2次
第4週	1次
可由治療醫師決定延長二氟潑尼酯方案。	

【0387】 亦可向群組3及4中之個體投與可由治療醫師決定延長之6週預防性皮質類固醇方案。6週預防性皮質類固醇方案之概述提供於**表11B**中。

表11B. 6週局部二氟潑尼酯方案之概述

研究天數	**總天數**	**每天之二氟潑尼酯投藥**
第1至21天	21	4次
第22至28天	7	3次
第29至35天	7	2次
第36至42天	7	1次
第43天及以後	0	可由治療醫師決定延長二氟潑尼酯方案。

【0388】 設計在暴露於AAV2.7m8-阿柏西普IVT注射之後立即進行之起始免疫抑制以限制在暴露於衣殼抗原時之免疫反應。自注射AAV2.7m8-阿柏西普之當天(第1天，注射後)開始，個體每天4次向所治療之眼睛之結膜囊自行投與一滴0.05%二氟潑尼酯溶液(2.5 μg二氟潑尼酯)持續第一週。接著每天進行3次持續第二週，每天進行2次持續第三週且每天進行1次持續第四週。可由治療醫師決定延長逐漸減少之皮質類固醇方案。

D. 禁止藥物及治療

【0389】 此研究之禁止藥物及治療係如實例1之第IV部分中所描述。

E. 用於群組2-4之研究設計之概述

【0390】 用於群組2-4之研究設計之概述提供於**表12**中。

表12：用於群組2-4之研究設計之概述

群組	**AAV2.7m8-阿柏西普劑量**	**皮質類固醇方案**
群組2	2×10^{11}個vg/眼睛	預防性口服潑尼松方案
群組3	2×10^{11}個vg/眼睛	預防性局部皮質類固醇
群組4a	6×10^{11}個vg/眼睛	預防性局部皮質類固醇
群組4b	6×10^{10}個vg/眼睛	預防性局部皮質類固醇

F. 研究持續時間

【0391】 此研究中之個體參與之持續時間係如實例1之第IV部分中所描述。

V. 研究評估

【0392】 此研究中進行之評估係如實例1之第V部分中所描述。此外，獲取房水液及玻璃體液之樣品。

眼房液取樣

【0393】 在篩檢時(在阿柏西普注射之前)及在第1天(在AAV2.7m8-阿柏西普注射之前)、第12、24、36、52、76、88、104週以及在任何需要第一次阿柏西普(艾力雅)救援治療之訪視或提前終止時獲得眼房液樣品。針對阿柏西普、VEGF-A及NAb濃度來分析眼房液樣品。

玻璃體液取樣

【0394】 在研究期間之任何進行玻璃體切除術之時間點獲得玻璃體液樣品。主要針對阿柏西普濃度來分析玻璃體液樣品。針對VEGF-A濃度

來分析其餘樣品。

VI. 結果

A. 個體特徵

【0395】記錄所有個體之疾病特徵及治療歷史。特定言之，記錄新生血管性AMD診斷之日期或年份、研究眼睛中之先前抗VEGF注射之次數、所計算的研究前抗VEGF注射間隔平均值、在篩檢之前4個月接受之抗VEGF注射之次數、篩檢阿柏西普IVT給藥之日期及AAV2.7m8-阿柏西普注射之日期。

B. 安全性

【0396】在IVT AAV2.7m8-阿柏西普投藥當天及隨後的後處理時密切監測個體。

【0397】經由收集生命徵象、生理及眼睛檢查、ECG、妊娠測試及實驗室評估來評估AAV2.7m8-阿柏西普之安全性。

【0398】評估所有個體中之AE、SAE及DLT之發生率、嚴重程度及與治療之關係。

【0399】評估所有個體中之眼內發炎之發生率、嚴重程度及與治療之關係。

【0400】經由表示為ETDRS評分(正確閱讀之字母之數目)之BCVA來評估所有個體之視力(Vitale等人, (2016) JAMA Ophtalmol 134(9):1041-1047)。

【0401】監測所有個體中之對抗VEGF救援注射之需求。

【0402】確定個體之血清中之先前存在的抗AAV NAb含量與AE、SAE及DLT之間存在相關性。

【0403】 評估類固醇預防(局部或口服)對AE、SAE、DLT及眼內發炎之發生及消退之作用。

【0404】 使用護理標準阿柏西普IVT注射作為救援治療。

C. 功效評估

【0405】 評估所有個體中之疾病穩定。在投與研究治療之前及之後量測(例如藉由OCT成像)視網膜厚度、中心子區域厚度、液體及其他解剖學特徵。

【0406】 藉由以下量測手段來評估AAV2.7m8-阿柏西普在治療wAMD中之功效。關鍵評估時間點係在第24週。BCVA及SD-OCT之基線值係指在阿柏西普注射之前，在第-15至-7天(例如第-14至-7天)之篩檢訪視期間獲得之值。使用基線值進行比較以用於分析。

【0407】 主要經由表示為ETDRS評分(正確閱讀之字母之數目)之BCVA來評估視力(Vitale等人, (2016) JAMA Ophtalmol 134(9):1041-1047)。若與基線相比，個體之ETDRS評分之損失小於15個字母，則分類為視力保持。所計算的終點包括自基線之平均變化、與基線相比增加至少15個字母之百分比及與基線相比損失15個或更多個字母之百分比。

【0408】 使用標準技術進行FA以評估CNV病灶，以評估與基線相比之滲漏。

【0409】 使用經認可之設備及標準技術進行SD-OCT，以評估與基線值相比之視網膜厚度(例如中心視網膜厚度或中心子區域厚度)、黃斑體積及是否存在液體(例如視網膜下液體及視網膜內液體)。

【0410】 測定自第4週至第104週，隨時間推移之每名個體在AAV2.7m8-阿柏西普治療後提供之阿柏西普注射之次數。此外，測定在

用AAV2.7m8-阿柏西普進行之治療後進行第一次阿柏西普注射之時間及不需要阿柏西普再治療之個體之比例。

【0411】 測定自第4週至第104週，隨時間推移之不具有IRF之個體之比例。

【0412】 測定自第4週至第104週，隨時間推移之不具有SRF之個體之比例。

【0413】 測定在基線時具有PED之個體中，自第4週至第104週的隨時間推移之不具有PED之個體之比例。

實例3：在新生血管性(濕性)年齡相關之黃斑變性中之在低於6×10^{11}個vg/眼睛之劑量下且與局部皮質類固醇一起使用之AAV2.7m8-阿柏西普之開放標記1期研究之結果

【0414】 此實例描述實例2中描述之1期研究之結果，該研究評估在患有wAMD之個體中，以低於6×10^{11}個vg/眼睛之劑量且與局部皮質類固醇一起投與之AAV2.7m8-阿柏西普之安全性及功效。

結果

群組2

【0415】 群組2中之個體之基線特徵提供於**表13**中。

表13. 群組2中之個體之基線特徵

特徵	**值**
平均年齡，歲	79.8
自nAMD診斷之平均時間，年	4.0
自初始診斷之平均抗VEGF注射次數(範圍)	34.0 (4-69)
篩檢之前12個月之平均抗VEGF注射次數	9.2
研究眼睛中之基線BCVA (ETDRS字母)，平均值 近似斯奈倫值	64.7 20/50
研究眼睛之基線平均CST，μm	307.7

【0416】 如實例2中所描述，在預防性13天口服皮質類固醇方案下，以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量2向群組2中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射，在AAV2.7m8-阿柏西普治療之前3天及之後3天以60 mg潑尼松為起始持續總共6天。接著使用7天逐漸減少之潑尼松。用於群組2之口服潑尼松方案之概述提供於實例1之**表2**中。

【0417】 如**圖10**中所示，在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後24週，群組2中之所有個體之BCVA穩定，其中平均降低-4.8個ETDRS字母。此外，如**圖11**中所示，個體在OCT中呈現經改良之中心視網膜厚度，其中CST平均降低27.8 μm。六名個體中之四名(66%)在24週之隨訪時間內未接受救援抗VEGF注射。

【0418】 分析細胞發炎性事件及向每名個體提供之類固醇治療直至24週之隨訪時間。如**圖12**中所示，發炎對局部類固醇起反應。個體4及5不具有臨床相關細胞發炎(個體5在第20週時具有<5個AC細胞)且不需要類固醇治療。個體2及3展示1/2+房水及玻璃體細胞等級，或在房水中觀測到1至5個細胞且在玻璃體中觀測到1至10個細胞，其在短局部類固醇療程後消退。個體1在停止口服類固醇之後具有早期發炎性反應，其對類固醇滴眼劑快速反應；個體保持每天使用四次(QID)類固醇滴眼劑。個體6具有AC細胞反應，其在BID滴劑時惡化且在QID滴劑時消退。房水細胞等級類別係基於葡萄膜炎命名標準(SUN)準則(Jabs, DA等人, J Ophthalmol. 2005;140:509-516)。玻璃體細胞等級類別係基於國立衛生研究院(NIH)指南。

【0419】 總體而言，發炎通常為輕度的。口服類固醇在某些個體中未提供足夠長的覆蓋範圍。然而，所有發炎事件皆對局部類固醇起反應。

【0420】 在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後24週時的OCT影像展示解剖學改良及視力保持(BCVA)。如**圖13A-13B**中所示，個體1、2、4及6呈現液體之消退。個體3接受3次救援阿柏西普注射，皆由可歸因於視網膜液體之10個BCVA字母之損失引起。個體5接受3次救援阿柏西普注射，皆由CST增加75 μm引起。

【0421】 直至投與AAV2.7m8-阿柏西普之後第24週，六名個體中之四名未接受任何抗VEGF救援注射。如**圖14**中之泳道圖所示，個體3及5各自在24週隨訪期期間接受三次抗VEGF IVT注射。

【0422】 總體而言，群組2在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後24週之結果表明AAV2.7m8-阿柏西普具有穩定功效。特定言之，在不需要救援抗VEGF注射之個體中，平均BCVA得到保持且視網膜解剖學及CST得到改良。此外，AAV2.7m8-阿柏西普為安全的且具有良好耐受性，伴有對類固醇滴眼劑起反應之低等級發炎。

實例4：新生血管性(濕性)年齡相關之黃斑變性中AAV2.7m8-阿柏西普之開放標記1期研究之結果之概述

【0423】 此實例提供實例1-3中描述之AAV2.7m8-阿柏西普用於治療伴有脈絡膜新生血管之年齡相關之黃斑變性(AMD)之開放標記1期研究之結果之概述。

安全性

【0424】 可獲得之群組1之直至44週之中值隨訪時間及群組2之直至24週之隨訪時間之結果表明AAV2.7m8-阿柏西普具有良好耐受性。特定言之，未報導AAV2.7m8-阿柏西普或程序相關嚴重不良事件。此外，未報導AAV2.7m8-阿柏西普相關全身性不良事件或符合劑量限制性毒性準

則之不良事件。AAV2.7m8-阿柏西普相關不良事件為輕度(71%)或中度(29%)。通常報導低等級發炎且對類固醇滴眼劑起反應。未報導血管炎、視網膜炎或脈絡膜炎。報導一個自發性嚴重不良事件，即與AAV2.7m8-阿柏西普無關之人工晶狀體視網膜剝離。以手術方式修復視網膜剝離且保持對個體進行隨訪。

功效

【0425】 可獲得之群組1之直至44週之中值隨訪時間及群組2之直至24週之隨訪時間之結果表明AAV2.7m8-阿柏西普具有穩定的功效。在群組1中，未向個體投與抗VEGF救援注射。在群組2中，六名個體中之四名未投與抗VEGF救援注射。總體而言，在群組1及2中之12名個體中之未投與抗VEGF救援注射之10名(83%)中，平均BCVA得到保持且平均CST得到改良。

【0426】 群組1及2之可獲得的安全性及功效結果之概述提供於**表14**中。

表14. 群組1及2中之個體之安全性及功效結果之概述

在單一AAV2.7m8-阿柏西普給藥之後的結果：	**群組1**	**群組2**
個體	6	6
AAV2.7m8-阿柏西普之劑量	較高劑量 6×10^{11}個vg/眼睛	較低劑量 2×10^{11}個vg/眼睛
救援注射：		
隨訪	50週(中值)	24週(中值)
需要抗VEGF救援注射之個體之數目	0/6名個體	2/6名個體
總抗VEGF救援注射	0次注射	6次注射
安全性：		
隨訪	50週(中值)	24週(中值)
全身性不良事件	0	0

劑量限制性毒性(DLT)	0	0	
嚴重不良事件(SAE)[1]	1	0	
與SAE相關之藥物/程序	0	0	
BCVA[2]之變化：		整個群組	未使用救援治療之個體
隨訪	44週(中值)	24週	24週
平均值(ETDRS字母)[3]	-1.0	-4.8	-0.8
範圍(ETDRS字母)	-7/+7	-19/+16	-14/+16
CRT[3]之變化：			
隨訪	44週(中值)	24週	24週
中值(μm)[4]	-25.5	-27.8	-30.8
範圍(μm)[4]	-117/+32	-61/-8	-61/-8

[1] 認為此事件與AAV2.7m8-阿柏西普或任何研究程序無關。

[2] 最佳矯正視力(BCVA)，如藉由早期治療糖尿病性視網膜病變研究(ETDRS)(亦即，視力表)所量測。

[3] 使用光學同調斷層掃描(OCT)成像評估之中心視網膜厚度(CRT)，亦稱為中心子區域厚度(CST)。

[4] 使用脫離之前的最後觀測結果之發生視網膜剝離(與研究治療無關)之個體之BCVA及CST值。

實例5：新生血管性(濕性)年齡相關之黃斑變性中之AAV2.7m8-阿柏西普之開放標記1期研究之其他結果

【0427】 此實例描述實例1-4中描述之1期研究之群組1、2及3之結果，該研究評估在患有wAMD之個體中AAV2.7m8-阿柏西普之單一玻璃體內注射之安全性及功效。提供群組1之在60週之中值隨訪時間下(範圍為52-64週)、群組2之在36週之中值隨訪時間下(範圍為32-40週)及群組3之在直至20週之隨訪時間下之安全性及功效結果。

結果

【0428】 以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量向群組1中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量向群組2中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。亦向群組1及2中之個體投與預防性口服潑尼松方案(參見**表2**)。

【0429】 在6週預防性局部皮質類固醇方案下，以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量向群組3中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射(參見**表11B**)。局部皮質類固醇方案由以下組成：與AAV2.7m8-阿柏西普之投藥在同一天開始(在AAV2.7m8-阿柏西普之IVT注射之後投與)的每天四次投與皮質類固醇滴眼劑(0.05%二氟潑尼酯[2.5 μg])持續3週(QID持續3週)，接著3週逐漸減少之劑量，其由每天三次投與皮質類固醇滴眼劑持續一週(TID持續1週)，接著每天兩次投與皮質類固醇滴眼劑持續一週(BID持續1週)，接著每天一次投與皮質類固醇滴眼劑持續一週(QD持續1週)組成。

個體特徵

【0430】 群組1、2及3中之個體之基線個體特徵提供於**表15**中。

表15. 群組1-3中之個體之基線特徵

基線特徵	**群組1 (N=6)**	**群組2 (N=6)**	**群組3 (N=9)**
平均年齡，歲	79.0	79.8	77.4
自nAMD診斷之平均年份	3.5	4.1	3.3
自初始診斷之平均抗VEGF注射次數(範圍)	35.3 (7-109)	34.0 (4-69)	24.8 (9-70)
AAV2.7m8-阿柏西普之前12個月之平均抗VEGF注射次數	9.2	9.2	9.1
研究眼睛之平均BCVA，ETDRS字母 近似斯奈倫值	65.8 20/50	64.7 20/50	65.9 20/50
研究眼睛之平均CST，μm	369.2	307.7	472.3

【0431】 如**表15**中所示，群組1-3中之個體先前需要頻繁的抗VEGF注射以保持視覺。群組1-3中之個體之基線特徵經良好平衡，具有類似的年齡、類似的先前抗VEGF注射平均值及類似的對用於保持所有群組具有約65個字母之相對高基線視覺之頻繁注射(例如在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前的一年內超過9次注射)之需求。根據平均值，群組3中之個體之年

齡較小且具有較少的自初始診斷之先前抗VEGF注射及更粗的平均基線CST。

安全性結果

【0432】 如**表16**中所示，在所有群組1-3中，未發生AAV2.7m8-阿柏西普或程序相關嚴重不良事件(SAE)。此外，未觀測到AAV2.7m8-阿柏西普相關全身性不良事件(AE)。發生與研究治療無關之視網膜剝離之SAE且以手術方式修復且消退(先前白內障提取及人工晶狀體植入為重要風險因素)。兩名個體具有眼內壓(IOP)上升之不良事件，該等不良事件已消退。一名個體具有兩個輕度IOP上升事件(最高IOP為24 mmHg)，其皆用Combigan®滴眼劑處理。第二名個體使用Combigan®治療眼睛高血壓，且IOP AE在治療無變化之情況下在一個月內自發消退。

【0433】 群組3中之個體(投與類固醇滴眼劑預防)具有低數目之眼睛不良事件。

表16. 群組1、2及3中之不良事件

類別	群組1 (n=6)		群組2 (n=6)		群組3 (n=9)	
	個體	事件	個體	事件	個體	事件
眼睛AE (總計)	6	49	5	32	7	16
嚴重AE	1	1*	0	0	0	0
AAV2.7m8-阿柏西普相關**	6	29	5	21	4	8
非眼睛AE (總計)†	5	17	5	5	4	6
嚴重AE‡	1	1	0	0	2	2

*視網膜剝離(於AAV2.7m8-阿柏西普無關)；**AAV2.7m8-阿柏西普相關眼睛事件為輕度(69%)或中度(31%)；†所有非眼睛AE皆不與AAV2.7m8-阿柏西普相關；‡嚴重非眼睛AE包括群組1中之退化性椎間盤疾病(1)，以及群組3中之COPD惡化(1)及穩定心絞痛(1)。

【0434】 如**圖15A-15C**中所示，在群組1-3中常見主要影響前段且對局部類固醇起反應之輕度及低等級發炎。未觀測到血管炎、視網膜炎或

脈絡膜炎之臨床或螢光素(後極之螢光素血管攝影術)證據。

【0435】 繼續用局部類固醇管理群組1中之三名個體，但僅1名個體具有任何發炎細胞跡象。個體2每天一次使用局部類固醇；個體4每天兩次使用局部類固醇；且個體6每天一次使用局部類固醇。總體而言，群組1中之所有個體皆未具有發炎性細胞計數超過2+。此外，群組1中之個體僅在一個時間點時之發炎性細胞計數為2+。

【0436】 繼續用局部類固醇管理群組2中之兩名個體且具有輕度發炎細胞跡象。個體1每天一次使用局部類固醇及個體6每天一次使用局部類固醇。個體1及6具有高達3+發炎性細胞計數之某種突發性發炎，但兩名個體皆由局部類固醇治療而快速消退。

【0437】 向群組3中之個體投與6週預防性類固醇滴眼劑方案。此方案最小化早期眼睛發炎(**圖15C**)。亦繼續用局部類固醇管理群組3中之某些個體。群組3中之個體3正在每天四次接受局部類固醇。個體5不再接受局部類固醇，但先前以如下方式投與局部類固醇：在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後每天四次持續3週，接著每天兩次持續一週，接著在第5週開始每天四次持續一週且接著自每天三次持續一週降低至每天兩次持續一週，接著降低至每天一次持續一週。群組3之個體7-9繼續使用6週預防性類固醇滴眼劑方案。除所描述之預防性類固醇方案以外，個體6在用AAV2.7m8-阿柏西普治療後住院治療慢性阻塞性肺病(COPD)且指定使用口服類固醇。發現COPD與AAV2.7m8-阿柏西普無關。

功效

【0438】 **圖16A**展示群組1中之個體之自基線至第52週之平均BCVA (ETDRS字母)。在60週之中值隨訪時間下(範圍為52-64週)，群組1中之個

體之自基線之平均BCVA變化為-2.7個字母且100%的個體(6/6)未接受救援抗VEGF注射。第44及48週之平均BCVA之顯著降低係歸因於一名個體經歷視網膜剝離之SAE。**圖16B**展示群組1中之個體之自基線至第52週之平均CST (μm)。在60週之中值隨訪時間下(範圍為52-64週)，群組1中之個體之自基線之平均CST變化為-26.2 μm。

【0439】 **圖17A**展示群組2中之個體之自基線至第36週之平均BCVA (ETDRS字母)。在36週之中值隨訪時間下(範圍為32-40週)，群組2中之個體之自基線之平均BCVA變化為-2.8個字母且67%的個體(4/6)未接受救援抗VEGF注射。未接受救援抗VEGF注射之個體之自基線之平均BCVA變化為+2.3個字母。**圖17B**展示群組2中之個體之自基線至第36週之平均CST (μm)。在36週之中值隨訪時間下(範圍為32-40週)，群組2中之個體之自基線之平均CST變化為-40.8 μm。此外，未接受救援抗VEGF注射之個體之自基線之平均CST變化為-30.0 μm。總體而言，在群組2中，CST改良保持至第36週。

【0440】 **圖18A**展示群組3中之五名個體之自基線至第20週之平均BCVA (ETDRS字母)。在20週之隨訪時間下，來自群組3之五名個體之自基線之平均BCVA變化為+6.8個字母且來自群組3之五名個體中之80% (4/5)的個體未接受救援抗VEGF注射。未接受救援抗VEGF注射之個體之自基線之平均BCVA變化為+8.8個字母。總體而言，在群組3中之五名個體中，BCVA得到改良直至第20週(亦即，群組3中之五名個體之平均改良為6.8個字母)。**圖18B**展示群組3中之五名個體之自基線至第20週之平均CST。在20週之隨訪時間下，來自群組3之五名個體之自基線之平均CST變化為-137.8 μm。此外，未接受救援抗VEGF注射之個體之自基線之平

均CST變化為-149.8 μm。總體而言，在群組3中之五名個體中，平均CST得到改良直至第20週，其中CST顯著降低(亦即，群組3中之五名個體之降低平均值為137.8 μm)。

【0441】 如**圖19**中之泳道圖所示，在60週之中值隨訪時間下(範圍為52-64週)，群組1中之個體皆未接受救援抗VEGF注射。群組2中之個體3及5各自接受4次抗VEGF救援注射(阿柏西普)。群組3中之個體3接受2次抗VEGF救援注射(阿柏西普)。

個體情況研究

【0442】 在基線時，群組1中之個體4 (62歲男性)已接受109次先前抗VEGF注射(在AAV2.7m8-阿柏西普投藥之前的最近12個月內9次)且在頻繁抗VEGF注射下仍具有持續性視網膜下液體(**圖20A**)。如**圖20B**中所示，在個體4中觀測到在篩檢IVT阿柏西普注射之後的視網膜下液體之一些減少。在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後，視網膜下液體繼續消退且視網膜在第12週時為乾燥的。此作用持續且無液體復發跡象直至個體經歷在第44週時診斷的涉及黃斑之不相關視網膜剝離。由於涉及黃斑，視覺降低且個體經歷成功的藉由玻璃體切除術及氣泡進行之視網膜剝離修復手術。然而，歸因於氣泡，在第48週時不能進行OCT成像且個體不能閱讀視力表上之任何字母。隨著氣泡溶解，視覺得到改良且不存在濕性AMD疾病活性或液體復發之跡象。眼底構形由於視網膜剝離而稍微改變且中央凹中心已經人工定位以符合在第44、52及60週時，在**圖20B**中呈現之視網膜厚度圖中之手術前參考掃描。在第60週，視網膜保持乾燥，視覺與基線相差小於10個字母(BCVA)且個體保持不接受救援注射。

【0443】 在基線時，群組3中之個體5 (82歲男性)已接受19次先前抗

VEGF注射(在AAV2.7m8-阿柏西普投藥之前的最近12個月內9次)且在頻繁抗VEGF注射下仍具有持續性視網膜下液體(**圖21A**)。如**圖21B**中所示，個體5呈現對篩檢抗VEGF注射之反應，然而，視網膜下液體在2週內重現。因此，個體5為對抗VEGF治療起反應，但需要頻繁的注射以保持不存在液體之個體之實例。基於個體5之歷史，個體將需要每個月(例如約每4週一次)進行推注抗VEGF注射。然而，在AAV2.7m8-阿柏西普投藥之後一週，視網膜下液體未增加且在AAV2.7m8-阿柏西普投藥之後第12、16及20週未觀測到液體。此等結果表明AAV2.7m8-阿柏西普之單次投藥改變個體5中之疾病之病程。

論述

【0444】 此實例中描述之結果表明AAV2.7m8-阿柏西普在群組1、2及3中皆具有良好耐受性且展示穩定功效。特定言之，此等結果表明單次劑量之AAV2.7m8-阿柏西普降低群組1、2及3中之個體中之抗VEGF注射負擔。

【0445】 群組1中之個體(以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量投與AAV2.7m8-阿柏西普)之結果表明所有個體在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後1年及更長時間內皆不需要抗VEGF救援注射，因此證明AAV2.7m8-阿柏西普之功效之長期耐久性。此外，群組2及3中之大部分個體(以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量(比群組1低3倍之劑量)投與AAV2.7m8-阿柏西普)亦保持不接受抗VEGF救援注射。

【0446】 總體而言，在群組1-3中之17名投與AAV2.7m8-阿柏西普之個體中(包括來自群組3之隨訪20週之5名個體)，14名(82%)保持不接受抗VEGF救援注射，保持平均BCVA且具有平均CST改良。

【0447】 來自群組1-3之結果亦證實所有與AAV2.7m8-阿柏西普相關之不良事件為輕度至中度的，且在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後觀測到的眼睛發炎為低等級的且對類固醇滴眼劑起反應。此外，群組3中之投與6週預防性類固醇滴眼劑方案之個體呈現最少的發炎，因此表明6週預防性類固醇滴眼劑方案在最小化早期眼睛發炎方面為有效的。未觀測到血管炎、視網膜炎或脈絡膜炎事件。

實例6：患有糖尿病性黃斑水腫之個體中之AAV2.7m8-阿柏西普之2期、多中心、隨機化、雙盲、活性控制研究

【0448】 此實例描述2期、多中心、隨機化、雙盲、活性控制研究，其評估患有糖尿病性黃斑水腫之個體中之AAV2.7m8-阿柏西普之單一玻璃體內(IVT)注射之耐久性。

I. 研究目標及終點

A. 主要目標

【0449】 此研究之主要目標為評估AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射之耐久性。

B. 次要目標

【0450】 此研究之次要目標包括：

- 評估AAV2.7m8-阿柏西普之安全性及耐受性。
- 評估AAV2.7m8-阿柏西普對黃斑水腫之作用。
- 評估AAV2.7m8-阿柏西普對最佳矯正視力(BCVA)之作用。
- 評估AAV2.7m8-阿柏西普對糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(DRSS)評分之作用。
- 評估對救援阿柏西普(2 mg IVT)之需求。

● 評估在AAV2.7m8-阿柏西普投藥之前的先前阿柏西普給藥(2 mg IVT)之作用。

● 評估AAV2.7m8-阿柏西普針對對視覺有害之併發症(前段新生血管、玻璃體出血或牽引性視網膜剝離)之發展之作用。

C. 主要終點

【0451】 此研究之主要終點研究眼睛中之糖尿病性黃斑水腫(DME)疾病活性惡化之時間，如由發生以下中之任一者所定義：

● 與在第1天或第4週記錄之兩個CST量測結果中之較低者相比，中心子區域厚度(CST)增加>50 μm，如藉由SD-OCT評估。

● 與在第1天或第4週記錄之兩個BCVA量測結果中之較高者相比，由DME疾病活性惡化引起之BCVA之損失>5個字母。

D. 次要終點

【0452】 (除非另外說明，否則)此研究之次要終點係基於研究眼睛之量測結果且包括：

● 眼睛及非眼睛不良事件(AE)之發生率及嚴重程度。

● 直至第48週之隨時間推移之CST及黃斑體積之自基線之變化。

● 直至第48週之隨時間推移之BCVA之自基線之變化。

● 在研究期間，隨時間推移之研究眼睛中之使用救援阿柏西普(2 mg IVT)之頻率。

● 直至第48週之隨時間推移之DRSS評分之2步驟及3步驟改良之發生率。

● 直至第48週之隨時間推移之DRSS評分之2步驟及3步驟惡化之發生率。

● 直至第48週之隨時間推移之對視覺有害之併發症(前段新生血管、玻璃體出血或任何其他高風險增生性糖尿病性視網膜病變(DR)，或牽引性視網膜剝離)之發生。

● 直至第48週之隨時間推移之CST<300 μm之發生率。

● 直至第48週之隨時間推移之經由體檢、眼睛檢查、成像及實驗室評估而獲得之臨床顯著結果之發生率。

II. 研究群體

A. 包涵準則

【0453】 在研究眼睛中接受至多2次抗VEGF療法之先前注射的最近被診斷患有DME (亦即，在篩檢之前6個月內之DME診斷)之個體在符合以下包涵準則之情況下可參與此研究：

- 年齡≥18歲。
- 1或2型糖尿病。
- 由涉及糖尿病性黃斑水腫之中心引起之視覺受損。
- 篩檢時之視覺：

o 研究眼睛：BCVA 78至50個ETDRS字母且包括端值(近似斯奈倫值為20/32至20/100)。

o 非研究眼睛：BCVA 35個ETDRS字母或更多(近似斯奈倫值為20/200或更好)。

- 使用Heidelberg Spectralis®，在篩檢訪視時之研究眼睛之CST≥325 μm且具有涉及IRF之中心(中心1 mm)。
- 所測定的主要由DME引起之研究眼睛中之視覺之降低。
- 在篩檢之前6個月內之初始DME診斷。

• 研究眼睛中之至多2次抗VEGF之先前注射(0、1或2次)。

o 若已向研究眼睛投與先前抗VEGF，則必須存在有意義的CST反應(例如≥10%降低)且不存在對抗VEGF之不良反應(例如發炎)。

• 研究眼睛中之最後一次抗VEGF注射與第1天之隨機化之間的間隔至少為60天。

B. 排除準則

【0454】 將符合以下準則中之任一者之個體排除出此研究：

• 在隨機化之前6個月內的所記錄之抗AAV2.7m8中和抗體效價>1:125。

• 先前眼睛基因療法。

• 對阿柏西普、皮質類固醇或血管攝影術中使用之螢光素染料或螢光素鈉過敏之歷史(可容許能夠治療之輕度過敏)。

• 在給藥之前6個月內的以下心血管疾病中之任一者之歷史或證據：

o 具有不穩定絞痛之嚴重心臟疾病(例如紐約心臟協會[NYHA]功能類別III或IV)或臨床證據。

o 急性冠狀動脈症候群、心肌梗塞或冠狀動脈血管重建、腦血管事故(CVA)、短暫局部缺血發作(TIA)。

o 需要持續性治療之室性心動過速，或不受控的心律不整。

o 不受控的高血壓，定義為儘管在篩檢期內使用降BP藥物，但收縮血壓(SBP)>160 mmHg或舒張血壓(DBP)>100 mmHg。若需要降BP藥物，則個體在隨機化之前應連續使用穩定劑量的相同藥物30天。

• 任何持續性滲漏病症之歷史。使用阿司匹林或其他抗凝劑(例如因子Xa抑制劑)不為排除準則。

• 不受控糖尿病定義為HbA1C>10%；或在隨機化之前的3個月內之糖尿病性酮酸中毒之歷史；或在最近3個月內開始胰島素強化治療(泵或多次每天注射)或在隨後3個月內計劃開始胰島素強化治療之個體。

• 需要用全身性類固醇進行之治療或免疫抑制性治療(例如甲胺喋呤、阿達木單抗)之全身性自體免疫疾病之歷史。

• 已知會引起黃斑水腫之全身性藥物(例如芬戈莫德(fingolomod)、他莫昔芬、氯奎寧/羥基氯奎寧)或任何先前全身性抗VEGF療法。

• 已知對HIV或活性病毒性肝炎呈陽性(除非在C型肝炎治療之後證明痊癒)；已知的梅毒歷史

• 已知的重度腎損傷，如所估計的CrCl<30 mL/min (藉由科克羅夫特-高爾特計算(Cockcroft-Gault calculation))由指示；在研究週期期間需要或預期需要血液透析。

• 在隨機化之前1週內的任何發熱性疾病。

【0455】 此外，將在研究眼睛中符合以下眼睛排除準則中之任一者之個體排除出此研究：

• 在篩檢時之高風險增生性糖尿病性視網膜病變(PDR)，定義為：任何玻璃體或視網膜前出血；在臨床檢查時，在等效於標準ETDRS 7視野之區域內，在某處的新生血管>1/2個視盤區域；或在臨床檢查時，視盤新生血管>1/3個視盤區域。

• 研究眼睛中之任何先前局灶或格柵樣雷射光凝或任何先前全視網膜光凝(PRP)。

• 隨機化之前60天內之任何抗VEGF療法(允許至多2次先前抗VEGF注射，但其不能在先前60天內進行)。

• 前段新生血管(例如虹膜新生血管[NVI]或新生血管性青光眼[NVG])、明顯的玻璃體出血、維管增生或牽引性視網膜剝離之歷史。

• 在臨床檢查或OCT時，認為促進黃斑水腫或視覺障礙之中央凹處之結構異常(例如緻密堅硬的滲出物、色彩異常、中央凹萎縮、玻璃體黃斑牽引或視網膜前膜)之檢查證據。

• 研究眼睛中之除糖尿病性視網膜病變以外之視網膜疾病之歷史，包括年齡相關之黃斑變性(任一隻眼睛中)、視網膜靜脈阻塞、視網膜動脈阻塞、病理性近視等。

• 除DME以外的任何當前眼睛疾病或其歷史，該眼睛疾病可降低視覺改良之可能性、阻止黃斑之評估或在研究期間需要醫學或手術介入(例如明顯的白內障、黃斑牽引)，或後囊下白內障之任何跡象。

• 在第1天之前的3個月內之白內障提取或釔鋁石榴石(YAG)囊切開術之歷史。

• 研究眼睛中之視網膜剝離(進行或未進行修復)之歷史。

• 小樑切除術、青光眼分流或微創青光眼手術(MIGS)之歷史。

• 玻璃體切除術或其他濾過性手術之歷史。

• 無晶狀體或存在前房人工晶狀體。

• 在隨機化時，研究眼睛中之不受控的眼睛高血壓或青光眼(定義為儘管用抗青光眼藥物進行治療，但IOP>22 mmHg)或在當前使用>2種降IOP藥物。

• 任何用於任何眼睛病狀之眼內或眼周類固醇治療之歷史(例如IVT特森西、伊維恩或傲迪適)。

• 在篩檢之前的90天週期內之折射手術。

- 先前角膜移植、內皮角膜成形術或眼睛輻射。
- 任何先前玻璃體視網膜手術。

【0456】 此外，將在研究眼睛或非研究眼睛(亦即，「對對側眼睛」)中符合以下眼睛排除準則中之任一者之個體排除出此研究：

- 任何除已消退的輕度預期手術後發炎以外的葡萄膜炎或眼內發炎(輕微或更高等級)之歷史。
- 與局部類固醇投藥相關之IOP升高之歷史。
- 已知的眼睛單純疱疹病毒(HSV)、水痘-帶狀疱疹病毒(VZV)或細胞巨大病毒(CMV)(包括病毒性葡萄膜炎、視網膜炎或角膜炎)之歷史。
- 外眼感染(包括結膜炎、瞼板腺囊腫或明顯的瞼炎)之跡象。
- 眼睛弓蟲病之歷史。

III. 研究設計

A. 研究治療

【0457】 此為用於評估AAV2.7m8-阿柏西普之單次0.10 mL IVT注射之功效、安全性及耐受性之多中心、隨機化、雙盲、受控、平行組研究。研究兩種劑量之AAV2.7m8-阿柏西普。

【0458】 在篩檢之前6個月內具有DME之初始診斷且接受至多2次抗VEGF療法之先前注射之個體符合參與條件。

【0459】 將約33名符合條件的個體隨機分組以接受AAV2.7m8-阿柏西普之兩種劑量(6×10^{11}個vg/眼睛或2×10^{11}個vg/眼睛)中之一者，或分配至對照組中以接受用前述阿柏西普注射進行之假眼睛注射。將指定接受AAV2.7m8-阿柏西普之個體進一步隨機分組以接受前述阿柏西普或假眼睛注射。研究組概述如下：

● 第1組(n=6)：個體接受6×10^{11}個vg/眼睛之劑量之AAV2.7m8-阿柏西普及前述阿柏西普給藥。

● 第2組(n=6)：個體接受6×10^{11}個vg/眼睛之劑量之AAV2.7m8-阿柏西普，不接受前述阿柏西普給藥。

● 第3組(n=6)：個體接受2×10^{11}個vg/眼睛之劑量之AAV2.7m8-阿柏西普及前述阿柏西普給藥。

● 第4組(n=6)：個體接受2×10^{11}個vg/眼睛之劑量之AAV2.7m8-阿柏西普，不接受前述阿柏西普給藥。

● 第5組(n=9)：個體僅接受阿柏西普(活性對照)。

【0460】 為了保持掩飾治療分配方案，在第1天分配至無前述阿柏西普之組或在第8天分配至不使用AAV2.7m8-阿柏西普之組之個體在相應的訪視時接受假眼睛注射。每名個體選擇僅一隻眼睛作為研究眼睛。若兩隻眼睛皆符合條件，則選擇具有BCVA惡化之眼睛作為研究眼睛。

【0461】 AAV2.7m8-阿柏西普及阿柏西普皆經由IVT注射來投與。若存在活性發炎，則不進行IVT注射。使用由聚維酮-碘實現之無菌技術及局部或結膜下麻醉。假眼睛注射程序係在相同條件下進行，但用沒有針之空注射器(使用鈍端)壓抵眼睛以模擬注射。

【0462】 此研究中之各組之概述提供於**表17**中。

表17. 研究組

組	N	第1天 IVT阿柏西普或假處理	第8天 AAV2.7m8-阿柏西普劑量(vg/眼睛)
1	6	阿柏西普	6×10^{11}
2	6	假處理	6×10^{11}
3	6	阿柏西普	2×10^{11}
4	6	假處理	2×10^{11}
5	9	阿柏西普	假處理

【0463】 在第1天及第8天指定IVT注射之後，所有個體在第2週、第4週進行隨訪且接著每4週一次直至第1天之後的第48週(例如第8週、第12週、第16週等)。為了保持遮掩，個體及進行評估之人員在整個研究期間皆不知道治療分配方案。

【0464】 在隨機化之後對所有個體進行隨訪持續48週。

【0465】 研究設計之概述提供於**圖29**中。

B. 預防性局部類固醇方案

【0466】 自第1天開始，向所有個體投與二氟潑尼酯之預防性7週局部皮質類固醇方案(0.05%；例如杜瑞左(Durezol))。指示個體每天四次(QID)自行投與二氟潑尼酯持續4週(亦即，第1天至第28天)，接著每天三次(TID)持續1週(亦即，持續7天)，接著每天兩次(BID)持續1週(亦即，持續7天)且最終每天一次(QD)持續1週(亦即，持續7天)。在存在活性發炎之情況下，不開始逐漸減少。若存在發炎跡象，則延長此方案。二氟潑尼酯方案之概述提供於**表18**中。

表18. 二氟潑尼酯方案

研究天數	總天數	每天之二氟潑尼酯投藥
第1至28天	28	4次
第29至35天	7	3次
第36至42天	7	2次
第43至49天	7	1次
第50天	0	終止-若無發炎跡象

C. 救援治療

【0467】 自第8週開始，若個體符合以下中之任一者，則其接受救援阿柏西普(2 mg IVT)：

- 與在第1天或第4週記錄之兩個CST量測結果中之較低者相比，CST

增加>50 μm，如藉由SD-OCT評估。

● 與在第1天或第4週記錄之兩個BCVA量測結果中之較高者相比，由DME疾病活性惡化引起之BCVA之損失>5個字母。

【0468】 不在具有活性發炎之眼睛中注射阿柏西普。各救援阿柏西普注射之間需要間隔至少21天。

D. 藥物及治療

【0469】 在研究期間禁止以下藥物：

● 任何全身性抗VEGF藥劑，包括貝伐珠單抗。

● 已知會引起黃斑水腫之全身性藥物(例如芬戈莫德、他莫昔芬、氯奎寧/羥基氯奎寧)。

● 研究眼睛中之除研究藥物或2 mg阿柏西普IVT以外的任何抗VEGF藥劑。

● 研究眼睛中之IVT類固醇(例如傲迪適或伊維恩特森西(Illuvien Triesence))。

● 全身性免疫抑制性藥物(例如靜脈內類固醇、甲胺喋呤、硫唑嘌呤(azathioprine)、環孢菌素(ciclosporin)、阿達木單抗、英利昔單抗(infliximab)、依那西普(etanercept))。允許吸入或局部類固醇及NSAID。

【0470】 在研究眼睛中發生高風險PDR之個體在接受救援阿柏西普之後接受全視網膜光凝(PRP)。

【0471】 具有視覺上明顯的白內障之個體不參與研究，但若在研究期間產生白內障，則可在臨床指示及計劃在AAV2.7m8-阿柏西普投藥之後>90天及/或在最後一次阿柏西普注射之後>7天之情況下進行研究眼睛中

之白內障手術。

【0472】 在對側(非研究)眼睛中發生DME之個體可接受護理標準療法。

IV. 研究評估

A. 一般體檢及生命徵象

【0473】 在篩檢及研究終止(EOS)或提前終止訪視時進行一般體檢(PE)。其由針對一般外觀、神經、HEENT (頭部、眼睛、耳朵、鼻及咽喉)、頸部、心臟血管、呼吸道、腹部、四肢、皮膚、體重及高度之身體系統檢查組成。在EOS或提前終止訪視時，體檢評估個體之生理條件與篩檢檢查時相比是否發生任何變化。視需要進行靶向體檢以用於AE之評估。

【0474】 生命徵象由血壓、脈搏率、體溫及呼吸率組成。在篩檢及EOS或提前終止訪視時獲取每名個體之12導聯心電圖(ECG)。

B. 實驗室測試、載體表現及免疫反應

【0475】 進行以下臨床實驗室測試以用於研究：化學、全血球計數、HbA1C、尿分析及HLA-B27基因分型。

【0476】 收集個體之樣品(血液及/或眼房液)以量測以下：

- 針對AAV2.7m8之總抗體：在ELISA分析法中量測總抗AAV2.7m8抗體之血清。
- 針對AAV2.7m8之中和抗體：在基於細胞之分析法中量測中和抗AAV2.7m8抗體之血清。
- 抗阿柏西普抗體：在ELISA分析法中量測針對阿柏西普之體液性免疫反應之血清。

● 阿柏西普蛋白質表現：收集血清及眼房液樣品以用於在中尺度探索分析法(MesoScale Discovery assay)中量測阿柏西普蛋白質之存在。

● 細胞介導之免疫反應：在ELISPOT分析法中量測針對AAV2.7m8衣殼及阿柏西普蛋白質之細胞性免疫。

C. 完全眼科檢查

【0477】 研究評估包括眼科檢查、眼內壓(IOP)及間接眼底鏡檢查法。

【0478】 眼科檢查係由眼睛及附件之外部檢查、眼瞼/瞳孔反應之常規篩檢(包括(但不限於)眼瞼下垂、瞳孔形狀異常、瞳孔不相等、對光之異常反應及傳入性瞳孔缺陷)及裂隙燈檢查(眼瞼、結膜、角膜、晶狀體、虹膜、前房)組成。裂隙燈檢查將檢查前眼結構且用於對任何結果進行評級。若在裂隙燈檢查期間注意到任何結果，則在任一次訪視時，對嚴重程度進行評級且將結果描述為臨床顯著或非臨床顯著。

【0479】 使用Goldmann壓平眼壓計或Tono-pen™進行IOP量測。在整個研究期間對每名個體使用相同的IOP量測方法。在整個研究期間使用相同方法，在任何IVT注射之前及眼睛散瞳之前進行IOP量測。第1天及第8天訪視需要注射前及注射後(在注射之後30分鐘)IOP量測結果。

【0480】 散瞳之間接眼底鏡檢查法檢查包括評估玻璃體、視神經、外周視網膜及視網膜血管之後段異常。若在眼底鏡檢查法期間注意到任何結果，則在任一次訪視時，對嚴重程度進行評級且將結果描述為臨床顯著或非臨床顯著。第1天及第8天訪視需要注射前及注射後間接眼底鏡檢查法評估。

D. 折射及視力

【0481】 量測折射及BCVA。在眼睛散瞳之前，在4公尺之起始距離處量測視力量測結果。

E. 成像

【0482】 頻譜域光學相干斷層攝影術(SD-OCT)為一種干涉技術，其干涉條紋圖案之光譜分析來提供以反向散射光之量值及延遲編碼之深度解析組織結構資訊。若個體在研究隨機化之前的訪視時接受抗VEGF注射，則收集來自此等訪視之OCT且遞送至中心讀取中心。

【0483】 光學同調斷層掃描血管攝影術(OCT-A)為一種成像技術，其提供視網膜及脈絡膜之體積、三維圖以及關於血流之資訊。存在二種類型之OCT-A，掃頻及頻譜域。在可用時使用掃頻成像。若掃頻儀器不可用且頻譜域儀器可用，則使用頻譜域儀器。

【0484】 進行用於收集視網膜、視神經盤及黃斑之超寬視野眼底數位攝影影像之標準化程序。此外，在散瞳之前獲取虹膜之照片。

【0485】 進行使用染料追蹤方法進行之用於檢驗視網膜循環及血管滲透性之標準化程序。此涉及將螢光素鈉注射至全身循環中，接著藉由對在用490 nm之波長之藍光照射視網膜之後發射之螢光進行數位攝影來獲得血管造影片。

F. 實驗室、生物標記及其他生物學樣本

【0486】 收集眼房液樣品且分析阿柏西普、VEGF-A、中和抗體(NAb)及其他生物標記之含量。獲得玻璃體液樣品且針對阿柏西普濃度及其他生物標記進行分析。

G. 安全性

【0487】 在研究治療投藥之後，報導所有臨床顯著不良事件(AE)。

對每名個體進行隨訪直至a)在最後一次研究訪視之後30天時的AE報導期終止，或b)針對任何持續研究治療相關AE及/或嚴重AE (SAE)直至消退或穩定。除非判定為比關於個體之病狀所預期更嚴重，否則與DME相關之任何臨床顯著安全性評估不報導為AE或SAE。捕獲所研究之疾病之進程作為功效結果。

【0488】 此研究之特別受關注之不良事件包括：

● 對視力有害之不良事件：若不良事件符合以下準則中之一或多者，則將其視為對視力有害：

o 引起與先前訪視相比，BCVA之降低≥30個字母。

o 需要手術或醫學介入(亦即，習知的手術、玻璃體切除術)以防止永久性視力損失。

o 引起嚴重的眼內發炎(亦即，內眼炎，4+前房細胞/光斑，或4+玻璃體細胞)。

【0489】 所有以上列舉之對視力有害之不良事件皆報導為嚴重不良事件，列舉事件之潛在起因(若已知)作為主要事件術語。

H. 功效

【0490】 藉由以下量測手段來評估AAV2.7m8-阿柏西普在治療DME中之功效。BCVA及SD-OCT終點之基線值係指在第1天訪視時，在投與阿柏西普IVT或假眼睛注射時獲取之治療前量測結果。

● BCVA：主要經由表示為ETDRS評分(正確閱讀之字母之數目)之BCVA來評估視覺。若與基線相比，個體之ETDRS評分之損失小於15個字母，則分類為視力保持。所計算的終點包括自基線之平均變化、與基線相比增加至少15個字母之百分比及與基線相比損失15個或更多個字母之百

分比。

● 中心子區域厚度：使用經認可之設備及標準技術進行SD-OCT，以評估與基線值相比之厚度及液體。終點包括CST及黃斑體積。

● 阿柏西普再治療：在AAV2.7m8-阿柏西普治療後提供之隨時間推移之阿柏西普注射之發生率及時序。

● 對於每個時間點，使用超寬視野彩色眼底攝影來測定糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(DRSS)且與第1天進行比較。

● 對視覺有害之併發症(前段新生血管、糖尿病性黃斑水腫、高風險PDR發展、玻璃體出血或牽引性視網膜剝離)，如藉由超寬視野成像及臨床檢查所測定。

I. 統計分析

【0491】 主要分析群體包括在第8天接受研究治療(AAV2.7m8-阿柏西普IVT或假眼睛注射)之所有隨機化個體。藉由治療組以描述方式概述所有安全性及功效變數。提供連續變數之平均值、標準差(SD)、中值及範圍；且提供類別變數之頻率計數及百分比。平均值及百分比之置信區間係以90%及95%水準提供。使用卡普蘭-邁耶生存期分析(Kaplan-Meier survival analysis)以衍生第一發生DME疾病惡化之中值時間。使用用於復發性事件之統計模型概述在研究期間，每名個體接受之所有救援阿柏西普(2 mg IVT)。標繪平均累積注射次數之隨時間推移之平均累積函數(MCF)曲線。使用用於重複量測之混合作用模型(MMRM)來探索隨時間推移之對BCVA及CST之變化之治療作用。使用用於類別結果之全身性混合模型探索隨時間推移之對DRSS變化之治療作用。在對所有個體隨訪24週之後進行期中分析(IA)。

實例7：新生血管性(濕性)年齡相關之黃斑變性中之AAV2.7m8-阿柏西普之開放標記1期研究之其他結果

【0492】 此實例描述實例1-5中描述之1期研究之群組1、2、3及4之結果，該研究評估在患有wAMD之個體中AAV2.7m8-阿柏西普之單一玻璃體內注射之安全性及功效。提供群組1之在72週之中值隨訪時間下(範圍為64-84週)、群組2之在52週之中值隨訪時間下(範圍為52-56週)、群組3之在36週之中值隨訪時間下(範圍為20-40週)及群組4之在4週之中值隨訪時間下(範圍為2-8週)之安全性及功效結果。

結果

【0493】 以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量向群組1中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量向群組2中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。亦向群組1及2中之個體投與預防性口服潑尼松方案(參見**表2**)。

【0494】 以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量向群組3中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量向群組4中之個體投與AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射。向群組3及4中之個體投與6週預防性局部皮質類固醇方案(參見實例5及**表11B**)。

個體特徵

【0495】 群組1-4中之個體之基線特徵經良好平衡，具有類似的年齡及平均先前抗VEGF注射，及類似的對用於保持所有群組之基線視覺為約65個ETDRS字母之頻繁注射之需求。群組4中之一些個體之診斷時間比其他群組更近，例如在投與AAV2.7m8-阿柏西普之前小於12個月，因此平均先前抗VEGF注射次數較低。總體而言，群組1-4中之個體具有良好

視覺且難以治療，在頻繁的抗VEGF注射治療下具有一些液體。群組1-4中之個體之基線個體特徵提供於**表19**中。

表19. 群組1-4中之個體之基線特徵

基線特徵	**群組1 (N=6)**	**群組2 (N=6)**	**群組3 (N=9)**	**群組4 (N=9)**
平均年齡(範圍)，歲	79.0 (62-88)	79.8 (74-90)	77.4 (65-90)	79.9 (68-88)
自nAMD診斷之平均年份(範圍)	3.5 (0.9-10.6)	4.1 (0.5-6.8)	3.3 (0.7-8.0)	3.2 (0.2-8.0)
自初始診斷之平均抗VEGF注射次數(範圍)*	32.2 (7-109)	34.0 (4-69)	24.8 (9-70)	28.5 (2-58)**
AAV2.7m8-阿柏西普之前12個月之平均抗VEGF注射次數(範圍)	9.2 (8-11)	9.2 (5-11)	9.1 (7-10)	6.8 (3-12)**
平均BCVA (範圍)，ETDRS字母 近似斯奈倫值	65.8 (57-77) 20/50	64.7 (53-72) 20/50	65.9 (53-75) 20/50	65.0 (54-77) 20/50
平均CST(範圍)，μm	369.2 (293-561)	307.7 (235-339)	473.4 (301-857)	398.6 (255-538)
*不包括在篩檢時指定之阿柏西普；**不包括由於重新定位而具有不完全的先前抗VEGF資料之個體2。 BCVA，最佳矯正視力；CST，中心子區域厚度；ETDRS，早期治療糖尿病性視網膜病變研究；nAMD，新生血管性年齡相關之黃斑變性；VEGF，血管內皮生長因子。				

安全性

【0496】未發生死亡、治療中斷或AAV2.7m8-阿柏西普相關非眼睛不良事件。

【0497】在觀測時，發炎對局部類固醇起反應且由局部類固醇管理。未觀測到後部發炎之臨床或螢光素(後極之螢光素血管攝影術)證據。此外，未發生血管炎、視網膜炎、脈絡膜炎、血管阻塞或內眼炎。

【0498】所有AAV2.7m8-阿柏西普相關眼睛不良事件皆為輕度(78%)或中度(22%)的。

【0499】 發生一個特別受關注的不良事件(AESI)，即復發性中度葡萄膜炎，且認為與AAV2.7m8-阿柏西普相關(群組1)。復發性中度葡萄膜炎AESI對類固醇滴眼劑起反應。此外，發生與治療無關之眼睛嚴重不良事件(SAE)，即視網膜剝離且以手術方式修復且消退(群組1)。

【0500】 兩名個體具有眼內壓(IOP)升高之輕度不良事件，該等不良事件已消退。來自群組1之一名個體具有兩次輕度IOP升高(最高達到24 mmHg)，其皆用Combigan®滴眼劑治療。第二名個體使用Combigan®治療眼睛高血壓，且IOP不良事件在治療無變化之情況下，在一個月內自發消退。

【0501】 總體而言，AAV2.7m8-阿柏西普具有良好耐受性且不存在由AAV2.7m8-阿柏西普引起之全身性不良事件。

【0502】 此研究之群組1-4中之安全性結果之概述提供於**表20**中。

表20. 群組1-4中之不良事件

不良時間	**群組1 (N=6)** 6×10^{11}個vg/眼睛 口服類固醇 13天預防		**群組2 (N=6)** 2×10^{11}個vg/眼睛 口服類固醇 13天預防		**群組3 (N=9)** 2×10^{11}個vg/眼睛 類固醇滴眼劑 6週預防		**群組4 (N=9)** 6×10^{11}個vg/眼睛 類固醇滴眼劑 6週預防	
眼睛	個體	事件	個體	事件	個體	事件	個體	事件
嚴重	2	2*	0	0	0	0	0	0
相關**	6	30	5	21	5	14	5	12
總眼睛	6	51	5	32	8	26	7	15
非眼睛†	個體	事件	個體	事件	個體	事件	個體	事件
嚴重‡	1	1	0	0	2	2	0	0
總非	5	18	6	7	4	9	1	1

眼睛†								
*視網膜剝離(與AAV2.7m8-阿柏西普無關)及復發性中度葡萄膜炎(可能與AAV2.7m8-阿柏西普相關)。 **AAV2.7m8-阿柏西普相關眼睛事件為輕度(78%)或中度(22%)的。 †所有非眼睛AE皆與AAV2.7m8-阿柏西普無關。 ‡嚴重非眼睛AE包括群組1中之退化性椎間盤疾病(1)；以及群組3中之COPD惡化(1)及穩定心絞痛(1)。								

【0503】藉由MedDRA較佳術語報導之群組1-4中發生之AAV2.7m8-阿柏西普相關不良事件提供於**表21**中。

表21. 群組1-4中之藉由較佳術語報導之AAV2.7m8-阿柏西普相關AE

MedDRA較佳術語	**群組1 (N=6)**		**群組2 (N=6)**		**群組3 (N=9)**		**群組4 (N=9)**	
	事件	個體	事件	個體	事件	個體	事件	個體
任何事件	30	6	21	5	14	5	12	5
前房細胞	4	3	7	4	2	2	4	4
前房光斑	5	3	3	2	0	0	2	2
玻璃體細胞	4	3	2	2	1	1	2	2
角膜後沈積物	2	1	3	2	2	2	1	1
前房發炎	3	1	0	0	2	1	0	0
虹膜色素過多	2	2	1	1	1	1	0	0
前房色素沉著	0	0	1	1	2	1	0	0
葡萄膜炎	3	2	0	0	0	0	0	0
玻璃體飛蚊症	2	2	0	0	0	0	1	1
虹膜黏連	0	0	0	0	2	2	0	0
虹膜透照缺陷	0	0	0	0	1	1	1	1
玻璃體混濁	1	1	1	1	0	0	0	0
虹膜睫狀體炎	0	0	1	1	0	0	0	0
虹膜膨隆	1	1	0	0	0	0	0	0
虹膜炎	0	0	0	0	1	1	0	0
晶狀體色素沉著	0	0	1	1	0	0	0	0
瞳孔縮小	1	1	0	0	0	0	0	0
瞳孔固定	1	1	0	0	0	0	0	0
視網膜色素沉著	1	1	0	0	0	0	0	0
視力降低	0	0	1	1	0	0	0	0
玻璃體炎	0	0	0	0	0	0	1	1

【0504】 藉由MedDRA較佳術語報導之以≥2個事件之頻率發生之眼睛不良事件提供於**表22**中。

表22. 藉由較佳術語報導之眼睛AE (≥2個事件)

MedDRA較佳術語	**群組1 (N=6)**		**群組2 (N=6)**		**群組3 (N=9)**		**群組4 (N=9)**	
	事件	個體	事件	個體	事件	個體	事件	個體
任何事件*	51	6	32	5	26	8	15	7
前房細胞	5	4	7	4	2	2	4	4
前房光斑	5	3	3	2	0	0	2	2
結膜出血	3	3	2	2	1	1	3	3
玻璃體細胞	4	3	2	2	1	1	2	2
角膜後沈積物	2	1	3	2	2	2	1	1
玻璃體飛蚊症	4	3	0	0	2	2	1	1
前房發炎	3	1	0	0	2	1	0	0
前房色素沉著	0	0	1	1	3	2	0	0
虹膜色素過多	2	2	1	1	1	1	0	0
後囊渾濁	0	0	2	2	2	2	0	0
眼內壓增加	2	1	0	0	1	1	0	0
虹膜黏連	1	1	0	0	2	2	0	0
黃斑水腫	0	0	3	1	0	0	0	0
視網膜出血	2	1	0	0	1	1	0	0
葡萄膜炎	3	2	0	0	0	0	0	0
乾眼	2	2	0	0	0	0	0	0
虹膜透照缺陷	0	0	0	0	1	1	1	1
晶狀體色素沉著	1	1	1	1	0	0	0	0
視網膜色素沉著	1	1	0	0	1	1	0	0
玻璃體混濁	1	1	1	1	0	0	0	0
*包括僅在一個事件中報導之術語。								

【0505】 藉由MedDRA較佳術語報導之以≥2個事件之頻率發生之非眼睛不良事件提供於**表23**中。

表23. 藉由較佳術語報導之非眼睛AE (≥2個事件)

MedDRA較佳術語	群組1 (N=6)		群組2 (N=6)		群組3 (N=9)		群組4 (N=9)	
	事件	個體	事件	個體	事件	個體	事件	個體
任何事件*	18	5	7	6	9	4	1	1
關節炎	1	1	1	1	0	0	0	0
心房微顫	1	1	1	1	0	0	0	0
支氣管炎	0	0	0	0	2	1	0	0
慢性阻塞性肺病	0	0	0	0	2	1	0	0
高血壓	0	0	2	2	0	0	0	0
鼻咽炎	2	1	0	0	0	0	0	0
創傷後疼痛	0	0	0	0	2	1	0	0
*包括僅在一個事件中報導之術語。								

【0506】 此研究之在群組1-4中觀測之眼睛及非眼睛嚴重、輕度及中度不良事件之概述提供於**表24**中。

表24. 群組1-4中之不良事件

不良事件	群組1 (N=6) 6×10[11]個vg/眼睛 口服類固醇 13天預防		群組2 (N=6) 2×10[11]個vg/眼睛 口服類固醇 13天預防		群組3 (N=9) 2×10[11]個vg/眼睛 類固醇滴眼劑 6週預防		群組4 (N=9) 6×10[11]個vg/眼睛 類固醇滴眼劑 6週預防	
眼睛	個體	事件	個體	事件	個體	事件	個體	事件
嚴重	2	2*	0	0	0	0	0	0
相關**	6	30	5	21	5	14	5	12
輕度	6	22	4	14	5	12	5	12
中度	3	8	2	7	2	2	0	0
總眼睛	6	51	5	32	8	26	7	15
非眼睛†	個體	事件	個體	事件	個體	事件	個體	事件
嚴重‡	1	1	0	0	2	2	0	0
總非眼睛†	5	18	6	7	4	9	1	1
*視網膜剝離(與研究治療無關)及復發性中度葡萄膜炎(可能與研究治療相關)。 **研究治療相關眼睛事件為輕度(78%)或中度(22%)的。 †所有非眼睛AE皆與研究治療無關。 ‡嚴重非眼睛AE包括群組1中之退化性椎間盤疾病(1)；以及群組3中之COPD惡化(1)及穩定心絞痛(1)。								

【0507】 如**圖22A-22D**中所示，當觀測時，發炎主要在前段中且對局部類固醇起反應且由局部類固醇管理。未觀測到後部發炎之跡象，且不存在血管炎之情況。

【0508】 如**圖22A**中所示，群組1中之兩名先前使用QD類固醇滴眼劑之個體(個體2及6)在停用滴眼劑之後未發生活性發炎。個體2在停用之後發生復發性中度葡萄膜炎且重新開始使用類固醇滴眼劑。發炎得到改良且個體恢復逐漸減少類固醇滴眼劑。在資料切割時，個體4正在接受類固醇滴眼劑BID且在視網膜剝離手術之後具有輕微發炎。個體6未接受任何類固醇滴眼劑且未發生發炎。總體而言，群組1中之個體中之發炎消退，6名個體中之僅2名在資料切割時繼續使用類固醇滴眼劑治療。群組1之結果表明所有個體皆對局部類固醇起反應且在資料切割時傾向於逐漸減少類固醇。

【0509】 在群組2中，6名個體中之4名未發生發炎且6名個體中之2名在資料切割時繼續接受類固醇滴眼劑(**圖22B**)。個體3在白內障手術之後約第46週接受局部類固醇。在資料切割時，個體1正在接受類固醇滴眼劑QD，且個體6具有低等級發炎且繼續使用類固醇滴眼劑。總體而言，群組2中之個體中之發炎消退，其中所有個體在資料切割時超過52週(1年)里程碑。

【0510】 在群組3中，9名個體中之6名在資料切割時未發生發炎(**圖22C**)，且所有個體皆超過20週里程碑。在資料切割時，個體2、3及4正在接受類固醇滴眼劑。由於可能與亞臨床發炎相關之瞳孔散瞳不良及後黏連，個體4在第24週開始杜瑞左治療BID。9名個體中之3名在資料切割時繼續接受類固醇滴眼劑。

【0511】 如**圖22D**中所示，群組4中之個體在類固醇滴眼劑之情況下展示最少的早期發炎或未發生早期發炎，與關於群組3所觀測之結果一致。個體1、2及3在資料切割時具有前部發炎且繼續接受類固醇滴眼劑。

【0512】 與向群組1及2投與之口服類固醇方案(**圖22A-22B**)相比，向群組3及4投與之6週預防性局部類固醇方案展示更少的活性發炎跡象(**圖22C-22D**)。

功效

【0513】 **圖23A**展示群組1中之個體之自基線至第72週之平均BCVA (ETDRS字母)。在72週之中值隨訪時間下(範圍為64-84週)，群組1中之個體之自基線之平均BCVA變化為-3.2個字母且100%的個體(6/6)未接受救援抗VEGF注射。第44及48週之平均BCVA之顯著降低係歸因於一名個體經歷視網膜剝離之SAE。總體而言，群組1中之個體之BCVA評分保持穩定直至第72週。**圖23B**展示群組1中之個體之自基線至第72週之平均CST (μm)。在72週之中值隨訪時間下(範圍為64-84週)，群組1中之個體之自基線之平均CST變化為-21.0 μm。總體而言，群組1中之CST量測結果表明所有個體之解剖學得到保持直至第72週。在**圖23B**中之第68及72週時所觀測的誤差條之降低及變化係歸因於排除1名始終具有極厚的視網膜之個體。

【0514】 **圖24A**展示群組2中之個體之自基線至第52週之平均BCVA (ETDRS字母)。在52週之中值隨訪時間下(範圍為52-56週)，群組2中之個體之自基線之平均BCVA變化為-2.0個字母且50%的個體(3/6)未接受救援抗VEGF注射。未接受救援抗VEGF注射之個體之自基線之平均BCVA變化為+0個字母。總體而言，群組2中之個體之BCVA評分保持穩定超過52

週。**圖24B**展示群組2中之個體之自基線至第52週之平均CST (μm)。在52週之中值隨訪時間下(範圍為52-56週)，群組2中之個體之自基線之平均CST變化為-24.8 μm。此外，未接受救援抗VEGF注射之個體之自基線之平均CST變化為-8.3 μm。總體而言，群組2中之CST量測結果表明解剖學保持超過第52週。

【0515】 **圖25A**展示群組3中之個體之自基線至第20週之平均BCVA (ETDRS字母)。在36週之中值隨訪時間下(範圍為20-40週)，群組3中之個體之自基線之平均BCVA變化為+4.0個字母且群組3中之78%的個體(7/9)未接受救援抗VEGF注射。未接受救援抗VEGF注射之個體之自基線之平均BCVA變化為+6.4個字母。總體而言，群組3中之個體之BCVA評分得到改良。**圖25B**展示群組3中之個體之自基線至第20週之平均CST (μm)。在36週之中值隨訪時間下(範圍為20-40週)，群組3中之個體之自基線之平均CST變化為-118.6 μm。此外，未接受救援抗VEGF注射之個體之自基線之平均CST變化為-152.7 μm。總體而言，在群組3中之所有9個體中，平均CST持續改良。

【0516】 如**圖26**中之泳道圖所示，在72週之中值隨訪時間下(範圍為64-84週)，群組1中之個體皆未接受救援抗VEGF注射。在群組2中(52週之中值隨訪時間；範圍為52-56週)，個體2接受一次抗VEGF救援注射(阿柏西普)，且個體3及5各自接受六次抗VEGF救援注射(阿柏西普)。在群組3中(36週之中值隨訪時間；範圍為20-40週)，個體2接受一次抗VEGF救援注射(阿柏西普)，且個體3接受四次抗VEGF救援注射(阿柏西普)。總體而言，群組2-3中之15名個體中之10名保持未接受救援注射。總體而言，在某些群組中，即使使用救援注射，但抗VEGF注射負擔顯著降低。

【0517】 在群組1-3中之個體中觀測到按年計算之抗VEGF注射率之實質性降低(**圖27A-27B**)。特定言之，群組1中之個體皆未接受任何救援抗VEGF注射(100%降低)，且群組2及3中之個體之組合之按年計算之平均抗VEGF注射率降低達87% (**圖27A**)。

情況研究

【0518】 在基線時，群組3中之個體5 (82歲男性，右眼患有wAMD)已接受19次先前抗VEGF注射(在AAV2.7m8-阿柏西普投藥之前的最近12個月內9次)。即使在每5週一次之頻繁的抗VEGF注射下，個體5仍具有持續性視網膜下液體(**圖28A**)。**圖28A**中之厚度圖之中心中之白色區域反映極厚的黃斑。

【0519】 如**圖28B**中所示，個體5在計劃的AAV2.7m8-阿柏西普注射之前2週接受篩檢阿柏西普注射。個體5對篩檢阿柏西普注射展示良好的反應，具有IRF之消退及SRF之改良。因此，個體5對抗VEGF治療起反應，但需要極頻繁的注射以保持不存在液體。在AAV2.7m8-阿柏西普注射之後一週，液體得到改良。若此個體僅接受推注阿柏西普注射，則液體將在4-5週內開始重現且OCT影像將類似於基線OCT影像，具有明顯的液體。然而，如**圖28B**中所示，在AAV2.7m8-阿柏西普注射後之第12週、第16週、第20週、第28週及第36週，不存在液體且視覺得到改良。因此，在個體5中，AAV2.7m8-阿柏西普注射藉由消除對注射之需求、改良視覺及控制疾病活性來解決治療負擔。此等結果表明AAV2.7m8-阿柏西普之單次投藥改變個體5中之疾病之病程。

論述

【0520】 此實例中描述之結果表明AAV2.7m8-阿柏西普在所有群組

(n=30)中持續具有良好耐受性且具有有利的安全性概況。所有AAV2.7m8-阿柏西普相關眼睛不良事件皆為輕度(78%)或中度(22%)的，且眼睛發炎(當觀測到時)對類固醇滴眼劑起反應。

【0521】 此外，此實例中描述之結果表明AAV2.7m8-阿柏西普具有穩定及持續功效。

【0522】 觀測到明顯的劑量反應，所有以6×10^{11}個vg/眼睛之劑量投與AAV2.7m8-阿柏西普之個體保持未接受救援抗VEGF注射，且15名以2×10^{11}個vg/眼睛之劑量投與AAV2.7m8-阿柏西普之個體中之10名保持未接受救援抗VEGF注射。在投與AAV2.7m8-阿柏西普之後，群組1中之所有個體(6×10^{11}個vg/眼睛之劑量)保持未接受救援抗VEGF注射超過15個月。

【0523】 此實例中描述之結果亦表明AAV2.7m8-阿柏西普之單一IVT注射引起按年計算之抗VEGF注射率之實質性降低。平均BCVA通常保持得到改良且平均CST通常得到改良。

【0524】 來自群組4之結果表明類固醇滴眼劑之6週預防性方案可有效地最小化早期眼睛發炎，與在群組3中觀測到的結果一致。

【0525】 儘管出於清楚理解之目的，已藉助於說明及實例詳細地描述本發明，但該等描述及實例不應解釋為限制本發明之範疇。本文中所引用之所有專利及科學文獻之揭示內容以全文引用之方式明確併入本文中。

【序列表】

<110> 美商愛德維仁生物科技公司(Adverum Biotechnologies, Inc.)

<120> 使用編碼阿柏西普(AFLIBERCEPT)之AAV2變異體治療眼睛新生血管性疾病的方法

<150> US 62/899,070
<151> 2019-09-11

<150> US 62/913,648
<151> 2019-10-10

<150> US 62/959,784
<151> 2020-01-10

<150> US 62/971,835
<151> 2020-02-07

<150> US 63/019,190
<151> 2020-05-01

<150> US 63/030,819
<151> 2020-05-27

<150> US 63/063,203
<151> 2020-08-07

<160> 41

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 1
Leu Ala Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro Ala
 1   5   10

<210> 2
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 2
Leu Ala Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro Ala
 1   5   10

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 3
Leu Ala Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn Ala
 1   5   10

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4
Leu Ala Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn Ala
 1   5   10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 5
Lys Asp Thr Asp Thr Thr Arg
 1   5

<210> 6
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6
Arg Ala Gly Gly Ser Val Gly
 1   5

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7
Ala Val Asp Thr Thr Lys Phe
 1   5

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8
Ser Thr Gly Lys Val Pro Asn
 1   5

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 9
Leu Ala Lys Asp Thr Asp Thr Thr Arg Ala
 1   5   10

<210> 10

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10
Leu Ala Arg Ala Gly Gly Ser Val Gly Ala
 1   5   10

<210> 11
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11
Leu Ala Ala Val Asp Thr Thr Lys Phe Ala
 1   5   10

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 12
Leu Ala Ser Thr Gly Lys Val Pro Asn Ala
 1   5   10

<210> 13
<211> 735
<212> PRT
<213> 腺相關病毒-2

<400> 13
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser
 1   5   10   15
Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro
            20   25   30
Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro
        35   40   45

Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60
Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80
Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
115 120 125
Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140
Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly
145 150 155 160
Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175
Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro
180 185 190
Ala Ala Pro Ser Gly Leu Gly Thr Asn Thr Met Ala Thr Gly Ser Gly
195 200 205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser
210 215 220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Met Gly Asp Arg Val Ile
225 230 235 240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
245 250 255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr
260 265 270
Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His
275 280 285
Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp
290 295 300
Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
305 310 315 320
Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu
325 330 335
Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr
340 345 350
Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp
355 360 365
Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser
370 375 380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser
385 390 395 400
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu
405 410 415
Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg
420 425 430
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr
435 440 445

Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln
450 455 460
Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly
465 470 475 480
Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Ala Asp Asn Asn
485 490 495
Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly
500 505 510
Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp
515 520 525
Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys
530 535 540
Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr
545 550 555 560
Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr
565 570 575
Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr
580 585 590
Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp
595 600 605
Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr
610 615 620
Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys
625 630 635 640
His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn
645 650 655
Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln
660 665 670
Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys
675 680 685
Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr
690 695 700
Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr
705 710 715 720
Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
725 730 735

<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 14
Leu Gly Glu Thr Thr Arg Pro
1 5

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15
Asn Glu Thr Ile Thr Arg Pro
1 5

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16
Lys Ala Gly Gln Ala Asn Asn
1 5

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17
Lys Asp Pro Lys Thr Thr Asn
1 5

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 18
Lys Asp Thr Asp Thr Thr Arg

1 5

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 19
Arg Ala Gly Gly Ser Val Gly
1 5

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 20
Ala Val Asp Thr Thr Lys Phe
1 5

<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 21
Ser Thr Gly Lys Val Pro Asn
1 5

<210> 22
<211> 293
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 22
acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat 60
aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc aatgggtgga 120
gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc caagtccgcc 180
ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt acatgacctt 240
acgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta cca 293

<210> 23
<211> 220
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 23
tgctgatgcg gttttggcag tacaccaatg ggcgtggata gcggtttgac tcacggggat 60
ttccaagtct ccaccccatt gacgtcaatg ggagtttgtt ttggcaccaa aatcaacggg 120
actttccaaa atgtcgtaat aaccccgccc cgttgacgca aatgggcggt aggcgtgtac 180
ggtgggaggt ctatataagc agagctcgtt tagtgaaccg 220

<210> 24
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 24
ctcactctct tccgcatcgc tgtctgcgag ggccagctgt tgggctcgcg gttgaggaca 60
aactcttcgc ggtctttcca gtactcttgg atcggaaacc cgtcggcctc cgaacggtac 120
tccgccaccg agggacctga gcgagtccgc atcgaccgga tcggaaaacc tctcgagaaa 180
ggcgtctaac cagtcacagt cgcaaggtag gctgagcacc gtggcgggcg gcagcgggtg 240
gcggtcgggg ttgtttctgg cggaggtgct gctgatgatg taattaaagt aggcggtctt 300
gagacggcgg atggtcga 318

<210> 25
<211> 102
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 25
ccagctgttg gggtgagtac tccctctcaa aagcgggcat tacttctgcg ctaagattgt 60
cagtttccaa aaacgaggag gatttgatat tcacctggcc cg 102

<210> 26

<211> 810
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 26
ctgttctcat cacatcatat caaggttata taccatcaat attgccacag atgttactta 60
gccttttaat atttctctaa tttagtgtat atgcaatgat agttctctga tttctgagat 120
tgagtttctc atgtgtaatg attatttaga gtttctcttt catctgttca aatttttgtc 180
tagttttatt ttttactgat ttgtaagact tcttttttata atctgcatat tacaattctc 240
tttactgggg tgttgcaaat attttctgtc attctatggc ctgacttttc ttaatggttt 300
tttaatttta aaaataagtc ttaatattca tgcaatctaa ttaacaatct tttctttgtg 360
gttaggactt tgagtcataa gaaatttttc tctacactga agtcatgatg gcatgcttct 420
atattatttt ctaaaagatt taaagttttg ccttctccat ttagacttat aattcactgg 480
aatttttttg tgtgtatggt atgacatatg ggttcccttt tatttttttac atataaatat 540
atttccctgt ttttctaaaa aagaaaaaga tcatcatttt cccattgtaa aatgccatat 600
ttttttcata ggtcacttac atatatcaat gggtctgttt ctgagctcta ctctatttta 660
tcagcctcac tgtctatccc cacacatctc atgctttgct ctaaatcttg atatttagtg 720
gaacattctt tcccattttg ttctacaaga atatttttgt tattgtcttt gggctttcta 780
tatacatttt gaaatgaggt tgacaagtta 810

<210> 27
<211> 202
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 27
ctgcccgggt ggcatccctg tgacccctcc ccagtgcctc tcctggccct ggaagttgcc 60
actccagtgc ccaccagcct tgtcctaata aaattaagtt gcatcatttt gtctgactag 120
gtgtccttct ataatattat ggggtggagg ggggtggtat ggagcaaggg gcccaagttg 180
ggaagaaacc tgtagggcct gc 202

<210> 28
<211> 68
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 28
aggcggtctt gagacggcgg atggtcgagg tgaggtgtgg caggcttgag atccagctgt 60
tggggtga 68

<210> 29

<211> 129
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 29
cgctgttttg acctccatag tggacaccgg gaccgatcca gcctccgcgt ctcaggggag 60
atctcgttta gtgaaccgtc agatcctcac tctcttccgc atcgctgtct gcgagggcca 120
gctgttggg 129

<210> 30
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 30
ttgatattca cctggcccga tctggccata cacttg 36

<210> 31
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 31
cccaggtcca agtttaaacg cc 22

<210> 32
<211> 77
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 32
tctttgggct ttctatatac attttgaaat gaggttgaca agttacctag gaaaactgtc 60
ttcctgcccg ggtggca 77

<210> 33
<211> 1172
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 33
ctctggagac gacttacggt aaatggcccg cctggctgac cgcccaacga cccccgccca 60
ttgacgtcaa taatgacgta tgttcccata gtaacgccaa tagggacttt ccattgacgt 120
caatgggtgg agtatttacg gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg 180
ccaagtccgc cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc ccgcctggca ttatgcccag 240
tacatgacct tacgggactt tcctacttgg cagtacatct acgtattagt catcgctatt 300
accatgctga tgcggttttg gcagtacacc aatgggcgtg gatagcggtt tgactcacgg 360
ggatttccaa gtctccaccc cattgacgtc aatgggagtt tgttttggca ccaaaatcaa 420
cgggactttc caaaatgtcg taataacccc gccccgttga cgcaaatggg cggtaggcgt 480
gtacggtggg aggtctatat aagcagagct cgtttagtga accgtcagat cgcctggaga 540
ggccatccac gctgttttga cctccatagt ggacaccggg accgatccag cctccgcgtc 600
tcaggggaga tctcgtttag tgaaccgtca gatcctcact ctcttccgca tcgctgtctg 660
cgagggccag ctgttgggct cgcggttgag gacaaactct tcgcggtctt tccagtactc 720
ttggatcgga aacccgtcgg cctccgaacg gtactccgcc accgagggac ctgagcgagt 780
ccgcatcgac cggatcggaa aacctctcga gaaaggcgtc taaccagtca cagtcgcaag 840
gtaggctgag caccgtggcg ggcggcagcg ggtggcggtc ggggttgttt ctggcggagg 900
tgctgctgat gatgtaatta aagtaggcgg tcttgagacg gcggatggtc gaggtgaggt 960
gtggcaggct tgagatccag ctgttggggt gagtactccc tctcaaaagc gggcattact 1020
tctgcgctaa gattgtcagt ttccaaaaac gaggaggatt tgatattcac ctggcccgat 1080
ctggccatac acttgagtga caatgacatc cactttgcct ttctctccac aggtgtccac 1140
tcccaggtcc aagtttaaac gccgccacca tg 1172

<210> 34
<211> 1043
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 34
actgttctca tcacatcata tcaaggttat ataccatcaa tattgccaca gatgttactt 60
agccttttaa tatttctcta atttagtgta tatgcaatga tagttctctg atttctgaga 120
ttgagtttct catgtgtaat gattatttag agtttctctt tcatctgttc aaatttttgt 180
ctagttttat tttttactga tttgtaagac ttctttttat aatctgcata ttacaattct 240
ctttactggg gtgttgcaaa tattttctgt cattctatgg cctgactttt cttaatggtt 300
ttttaatttt aaaaataagt cttaatattc atgcaatcta attaacaatc ttttctttgt 360
ggttaggact ttgagtcata agaaattttt ctctacactg aagtcatgat ggcatgcttc 420
tatattattt tctaaaagat ttaaagtttt gccttctcca tttagactta taattcactg 480
gaatttttt gtgtgtatgg tatgacatat gggttccctt ttatttttta catataaata 540
tatttccctg tttttctaaa aaagaaaaag atcatcattt tcccattgta aaatgccata 600
ttttttcat aggtcactta catatatcaa tgggtctgtt tctgagctct actctatttt 660
atcagcctca ctgtctatcc ccacacatct catgctttgc tctaaatctt gatatttagt 720
ggaacattct ttcccatttt gttctacaag aatatttttg ttattgtctt tgggctttct 780
atatacattt tgaaatgagg ttgacaagtt acctaggaaa actgtcttcc tgcccgggtg 840
gcatccctgt gacccctccc cagtgcctct cctggccctg gaagttgcca ctccagtgcc 900

caccagcctt gtcctaataa aattaagttg catcattttg tctgactagg tgtccttcta 960
taatattatg gggtggaggg gggtggtatg gagcaagggg cccaagttgg gaagaaacct 1020
gtagggcctg cgaagacagt cag 1043

<210> 35
<211> 431
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 35

Ser	Asp	Thr	Gly	Arg	Pro	Phe	Val	Glu	Met	Tyr	Ser	Glu	Ile	Pro	Glu
1				5				10					15		
Ile	Ile	His	Met	Thr	Glu	Gly	Arg	Glu	Leu	Val	Ile	Pro	Cys	Arg	Val
			20					25					30		
Thr	Ser	Pro	Asn	Ile	Thr	Val	Thr	Leu	Lys	Lys	Phe	Pro	Leu	Asp	Thr
		35					40					45			
Leu	Ile	Pro	Asp	Gly	Lys	Arg	Ile	Ile	Trp	Asp	Ser	Arg	Lys	Gly	Phe
	50					55					60				
Ile	Ile	Ser	Asn	Ala	Thr	Tyr	Lys	Glu	Ile	Gly	Leu	Leu	Thr	Cys	Glu
65					70					75					80
Ala	Thr	Val	Asn	Gly	His	Leu	Tyr	Lys	Thr	Asn	Tyr	Leu	Thr	His	Arg
				85					90					95	
Gln	Thr	Asn	Thr	Ile	Ile	Asp	Val	Val	Leu	Ser	Pro	Ser	His	Gly	Ile
			100					105					110		
Glu	Leu	Ser	Val	Gly	Glu	Lys	Leu	Val	Leu	Asn	Cys	Thr	Ala	Arg	Thr
		115					120					125			
Glu	Leu	Asn	Val	Gly	Ile	Asp	Phe	Asn	Trp	Glu	Tyr	Pro	Ser	Ser	Lys
	130					135					140				
His	Gln	His	Lys	Lys	Leu	Val	Asn	Arg	Asp	Leu	Lys	Thr	Gln	Ser	Gly
145					150					155					160
Ser	Glu	Met	Lys	Lys	Phe	Leu	Ser	Thr	Leu	Thr	Ile	Asp	Gly	Val	Thr
				165					170					175	
Arg	Ser	Asp	Gln	Gly	Leu	Tyr	Thr	Cys	Ala	Ala	Ser	Ser	Gly	Leu	Met
			180					185					190		
Thr	Lys	Lys	Asn	Ser	Thr	Phe	Val	Arg	Val	His	Glu	Lys	Asp	Lys	Thr
		195					200					205			
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
	210					215					220				
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
225					230					235					240
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
				245					250					255	
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
			260					265					270		
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
		275					280					285			
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr

290 295 300

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
305 310 315 320
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
325 330 335
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
340 345 350
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
355 360 365
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
370 375 380
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
385 390 395 400
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
405 410 415
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
420 425 430

<210> 36
<211> 1377
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 36
atggtcagct actgggacac cggggtcctg ctgtgcgcgc tgctcagctg tctgcttctc 60
acaggatcta gttccggaag tgataccggt agacctttcg tagagatgta cagtgaaatc 120
cccgaaatta tacacatgac tgaaggaagg gagctcgtca ttccctgccg ggttacgtca 180
cctaacatca ctgttacttt aaaaaagttt ccacttgaca ctttgatccc tgatggaaaa 240
cgcataatct gggacagtag aaagggcttc atcatatcaa atgcaacgta caaagaaata 300
gggcttctga cctgtgaagc aacagtcaat gggcatttgt ataagacaaa ctatctcaca 360
catcgacaaa ccaatacaat catagatgtg gttctgagtc cgtctcatgg aattgaacta 420
tctgttggag aaaagcttgt cttaaattgt acagcaagaa ctgaactaaa tgtggggatt 480
gacttcaact gggaataccc ttcttcgaag catcagcata agaaacttgt aaaccgagac 540
ctaaaaaccc agtctgggag tgagatgaag aaatttttga gcaccttaac tatagatggt 600
gtaacccgga gtgaccaagg attgtacacc tgtgcagcat ccagtgggct gatgaccaag 660
aagaacagca catttgtcag ggtccatgaa aaggacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 720
ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac 780
accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa 840
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 900
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 960
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 1020
gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 1080
accctgcccc catcccggga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 1140
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 1200
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 1260
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1320

gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatga 1377

<210> 37
<211> 745
<212> PRT
<213> 腺相關病毒-2

<400> 37
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser
1 5 10 15
Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro
20 25 30
Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro
35 40 45
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
50 55 60
Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65 70 75 80
Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
85 90 95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
100 105 110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
115 120 125
Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
130 135 140
Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly
145 150 155 160
Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
165 170 175
Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro
180 185 190
Ala Ala Pro Ser Gly Leu Gly Thr Asn Thr Met Ala Thr Gly Ser Gly
195 200 205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser
210 215 220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Met Gly Asp Arg Val Ile
225 230 235 240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
245 250 255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr
260 265 270
Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His
275 280 285
Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp
290 295 300
Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val
305 310 315 320
Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu
325 330 335

Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr
340 345 350
Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp
355 360 365
Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser
370 375 380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser
385 390 395 400
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu
405 410 415
Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg
420 425 430
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr
435 440 445
Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln
450 455 460
Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly
465 470 475 480
Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Ala Asp Asn Asn
485 490 495
Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly
500 505 510
Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp
515 520 525
Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys
530 535 540
Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr
545 550 555 560
Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr
565 570 575
Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Leu Ala Leu Gly Glu
580 585 590
Thr Thr Arg Pro Ala Arg Gln Ala Ala Thr Ala Asp Val Asn Thr Gln
595 600 605
Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln
610 615 620
Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp Gly His Phe His Pro
625 630 635 640
Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile
645 650 655
Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser
660 665 670
Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val
675 680 685
Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp
690 695 700
Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val
705 710 715 720
Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile
725 730 735

Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu
740 745

<210> 38
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 38

Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His
1				5				10					15		
Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu
			20					25					30		
Tyr	Tyr	Leu	Ser	Arg	Thr	Asn	Thr	Pro	Ser	Gly	Thr	Thr	Thr	Gln	Ser
		35					40					45			
Arg	Leu	Gln	Phe	Ser	Gln	Ala	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Arg	Asp	Gln	Ser
	50					55					60				
Arg	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Lys
65					70					75					80
Thr	Ser	Ala	Asp	Asn	Asn	Asn	Ser	Glu	Tyr	Ser	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr
				85					90					95	
Lys	Tyr	His	Leu	Asn	Gly	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Pro	Ala
			100					105					110		
Met	Ala	Ser	His	Lys	Asp	Asp	Glu	Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Gln	Ser	Gly
		115					120					125			
Val	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys	Gln	Gly	Ser	Glu	Lys	Thr	Asn	Val	Asp	Ile
	130					135					140				
Glu	Lys	Val	Met	Ile	Thr	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Thr	Thr	Asn	Pro
145					150					155					160
Val	Ala	Thr	Glu	Gln	Tyr	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Arg	Gly
				165					170					175	
Asn	Leu	Ala	Leu	Gly	Glu	Thr	Thr	Arg	Pro	Ala	Arg	Gln	Ala	Ala	Thr
			180					185					190		
Ala	Asp	Val	Asn	Thr	Gln	Gly	Val	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	Asp
		195					200					205			
Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	Thr
	210					215					220				
Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	Lys
225					230					235					240
His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn						
				245					250						

<210> 39
<211> 3916
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 39
gcgcgctcgc tcgctcactg aggccgcccg ggcaaagccc gggcgtcggg cgacctttgg 60
tcgcccggcc tcagtgagcg agcgagcgcg cagagaggga gtggccaact ccatcactag 120
gggttccttg tagttaatga ttaacccgcc atgctactta tctacgtact ctggagacga 180
cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc cccgcccatt gacgtcaata 240
atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca atgggtggag 300
tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc aagtccgccc 360
cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta catgacctta 420
cgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca tcgctattac catgctgatg 480
cggttttggc agtacaccaa tgggcgtgga tagcggtttg actcacgggg atttccaagt 540
ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc aaaatcaacg ggactttcca 600
aaatgtcgta ataaccccgc cccgttgacg caaatgggcg gtaggcgtgt acggtgggag 660
gtctatataa gcagagctcg tttagtgaac cgtcagatcg cctggagagg ccatccacgc 720
tgttttgacc tccatagtgg acaccgggac cgatccagcc tccgcgtctc aggggagatc 780
tcgtttagtg aaccgtcaga tcctcactct cttccgcatc gctgtctgcg agggccagct 840
gttgggctcg cggttgagga caaactcttc gcggtctttc cagtactctt ggatcggaaa 900
cccgtcggcc tccgaacggt actccgccac cgagggacct gagcgagtcc gcatcgaccg 960
gatcggaaaa cctctcgaga aaggcgtcta accagtcaca gtcgcaaggt aggctgagca 1020
ccgtggcggg cggcagcggg tggcggtcgg ggttgtttct ggcggaggtg ctgctgatga 1080
tgtaattaaa gtaggcggtc ttgagacggc ggatggtcga ggtgaggtgt ggcaggcttg 1140
agatccagct gttggggtga gtactccctc tcaaaagcgg gcattacttc tgcgctaaga 1200
ttgtcagttt ccaaaaacga ggaggatttg atattcacct ggcccgatct ggccatacac 1260
ttgagtgaca atgacatcca ctttgccttt ctctccacag gtgtccactc ccaggtccaa 1320
gtttaaacgc cgccaccatg gtgtcatact gggatactgg agtcttgctt tgtgccctgc 1380
tgtcctgcct cctcctgact ggctccagct cggggctcaga taccggtcgc cccttcgtgg 1440
agatgtactc cgagatcccg gaaattatcc acatgactga gggggcgcgaa cttgtgatcc 1500
cctgccgggt caccagcccg aacattactg tgactttgaa gaagttcccc ctggacaccc 1560
tgattccgga tgggaagaga attatctggg attcacggaa gggattcatc atcagcaacg 1620
cgacctacaa ggaaattggc ctcctcactt gcgaagccac tgtgaacgga cacttgtaca 1680
agaccaacta cctgacccac cgccagacca acaccatcat cgacgtcgtc ctgtcccctt 1740
cgcacgggat cgagctctcg gtgggagaga agttggtgct taactgcacc gcccggacgg 1800
aactgaatgt gggaatcgac ttcaactggg aatacccgtc cagcaagcat cagcataaga 1860
agctggtgaa ccgggacctc aagactcagt ccggcagcga aatgaagaag ttcctgtcga 1920
ccctcactat tgacggagtg accagatccg accagggcct ctacacttgc gccgcttcca 1980
gcggactcat gaccaagaag aacagcactt tcgtgagggt gcatgagaag gacaagaccc 2040
acacgtgtcc gccgtgccca gccccagagc tgctgggagg cccttccgtg ttcctgtttc 2100
cgcccaagcc aaaggatacc ctgatgatct caaggacccc tgaggtcaca tgcgtcgtgg 2160
tggatgtgtc gcacgaggac cctgaagtca aattcaattg gtatgtggac ggagtggaag 2220
tccacaacgc gaaaaccaag ccgagagaag aacagtacaa ttccacctac cgggtggtgt 2280
cggtgctgac tgtgctgcac caggactggc tcaacggaaa ggagtacaag tgcaaggtgt 2340
ccaacaaggc tctgcccgca cctattgaaa agaccatctc caaggccaag ggtcaacctc 2400
gcgagcctca ggtgtacact ctgcctccaa gccgggacga actgactaag aaccaagtct 2460
ctctgacctg tttggtgaag ggcttctacc cgtcagacat cgcagtggag tgggagtcaa 2520
acggtcagcc ggagaacaac tacaaaacaa cccccccgt gctggactcc gacggctcct 2580
tcttcctgta ctccaagctt accgtggata agagccgctg gcaacagggc aacgtgtttt 2640

cctgctccgt catgcacgaa gccctgcaca accattatac ccagaagtcc ctgtcgctgt 2700
cccccgggaa atagtgactg ttctcatcac atcatatcaa ggttatatac catcaatatt 2760
gccacagatg ttacttagcc ttttaatatt tctctaattt agtgtatatg caatgatagt 2820
tctctgattt ctgagattga gtttctcatg tgtaatgatt atttagagtt tctctttcat 2880
ctgttcaaat ttttgtctag ttttatttt tactgatttg taagacttct ttttataatc 2940
tgcatattac aattctcttt actggggtgt tgcaaatatt ttctgtcatt ctatggcctg 3000
acttttctta atggtttttt aattttaaaa ataagtctta atattcatgc aatctaatta 3060
acaatctttt ctttgtggtt aggactttga gtcataagaa atttttctct acactgaagt 3120
catgatggca tgcttctata ttattttcta aaagatttaa agttttgcct tctccattta 3180
gacttataat tcactggaat ttttttgtgt gtatggtatg acatatgggt tccctttat 3240
ttttacata taaatatatt tccctgtttt tctaaaaaag aaaaagatca tcattttccc 3300
attgtaaaat gccatatttt tttcataggt cacttacata tatcaatggg tctgtttctg 3360
agctctactc tattttatca gcctcactgt ctatccccac acatctcatg ctttgctcta 3420
aatcttgata tttagtggaa cattctttcc cattttgttc tacaagaata tttttgttat 3480
tgtctttggg ctttctatat acattttgaa atgaggttga caagttacct aggaaaactg 3540
tcttcctgcc cgggtggcat ccctgtgacc cctccccagt gcctctcctg gccctggaag 3600
ttgccactcc agtgcccacc agccttgtcc taataaaatt aagttgcatc attttgtctg 3660
actaggtgtc cttctataat attatggggt ggaggggggt ggtatggagc aaggggccca 3720
agttgggaag aaacctgtag ggcctgcgta cgtagataag tagcatggcg ggttaatcat 3780
taactacaag gaacccctag tgatggagtt ggccactccc tctctgcgcg ctcgctcgct 3840
cactgaggcc gggcgaccaa aggtcgcccg acgcccgggc tttgcccggg cggcctcagt 3900
gagcgagcga gcgcgc 3916

<210> 40
<211> 1377
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 40
atggtgtcat actgggatac tggagtcttg ctttgtgccc tgctgtcctg cctcctcctg 60
actggctcca gctcgggctc agataccggt cgcccccttcg tggagatgta ctccgagatc 120
ccggaaatta tccacatgac tgaggggcgc gaacttgtga tcccctgccg ggtcaccagc 180
ccgaacatta ctgtgacttt gaagaagttc cccctggaca ccctgattcc ggatgggaag 240
agaattatct gggattcacg gaagggattc atcatcagca acgcgaccta caaggaaatt 300
ggcctcctca cttgcgaagc cactgtgaac ggacacttgt acaagaccaa ctacctgacc 360
caccgccaga ccaacaccat catcgacgtc gtcctgtccc cttcgcacgg gatcgagctc 420
tcggtgggag agaagttggt gcttaactgc accgcccgga cggaactgaa tgtgggaatc 480
gacttcaact gggaataccc gtccagcaag catcagcata agaagctggt gaaccgggac 540
ctcaagactc agtccggcag cgaaatgaag aagttcctgt cgaccctcac tattgacgga 600
gtgaccagat ccgaccaggg cctctacact tgcgccgctt ccagcggact catgaccaag 660
aagaacagca ctttcgtgag ggtgcatgag aaggacaaga cccacacgtg tccgccgtgc 720
ccagccccag agctgctggg aggcccttcc gtgttcctgt ttccgcccaa gccaaaggat 780
accctgatga tctcaaggac ccctgaggtc acatgcgtcg tggtggatgt gtcgcacgag 840
gaccctgaag tcaaattcaa ttggtatgtg gacggagtgg aagtccacaa cgcgaaaacc 900
aagccgagag aagaacagta caattccacc taccgggtgg tgtcggtgct gactgtgctg 960
caccaggact ggctcaacgg aaaggagtac aagtgcaagg tgtccaacaa ggctctgccc 1020
gcacctattg aaaagaccat ctccaaggcc aagggtcaac ctcgcgagcc tcaggtgtac 1080

actctgcctc caagccggga cgaactgact aagaaccaag tctctctgac ctgtttggtg 1140
aagggcttct acccgtcaga catcgcagtg gagtgggagt caaacggtca gccggagaac 1200
aactacaaaa caacccccccc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct gtactccaag 1260
cttaccgtgg ataagagccg ctggcaacag ggcaacgtgt tttcctgctc cgtcatgcac 1320
gaagccctgc acaaccatta tacccagaag tccctgtcgc tgtcccccgg gaaatag 1377

<210> 41
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 41
Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser
1 5 10 15
Cys Leu Leu Leu Thr Gly Ser Ser Ser Gly Ser Asp Thr Gly Arg Pro
20 25 30
Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu
35 40 45
Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr
50 55 60
Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys
65 70 75 80
Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe Ile Ile Ser Asn Ala Thr
85 90 95
Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His
100 105 110
Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Thr Asn Thr Ile Ile
115 120 125
Asp Val Val Leu Ser Pro Ser His Gly Ile Glu Leu Ser Val Gly Glu
130 135 140
Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val Gly Ile
145 150 155 160
Asp Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu
165 170 175
Val Asn Arg Asp Leu Lys Thr Gln Ser Gly Ser Glu Met Lys Lys Phe
180 185 190
Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu
195 200 205
Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr
210 215 220
Phe Val Arg Val His Glu Lys 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 Asp Glu

355 360 365

Leu 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

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法，該方法包含向該個體之一隻眼睛投與約6×10^{11}個載體基因體(vg)或更少的單位劑量之重組腺相關病毒(rAAV)粒子，其中該個體為人類，且其中該等rAAV粒子包含：

a) 編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及

b) AAV2衣殼蛋白質，其包含插入該衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【請求項2】

如請求項1之方法，其中該患有眼睛新生血管性疾病之個體之眼睛中之視網膜液體減少。

【請求項3】

一種減少患有眼睛新生血管性疾病之個體的眼睛中之視網膜液體之方法，該方法包含向該個體之一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子，其中該個體為人類，且其中該等rAAV粒子包含：

a) 編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及

b) AAV2衣殼蛋白質，其包含插入該衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應

於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【請求項4】

如請求項3之方法，其中該個體在投與該單位劑量之rAAV粒子之前約12週內已接受至少一次抗VEGF藥劑之治療。

【請求項5】

如請求項3或請求項4之方法，其中該個體之一隻眼睛中之視網膜液體之量或存在對用抗VEGF藥劑進行之先前治療具有頑抗性。

【請求項6】

如請求項4或請求項5之方法，其中該抗VEGF藥劑為阿柏西普(aflibercept)。

【請求項7】

如請求項2至6中任一項之方法，其中該一隻眼睛中之視網膜液體減少至少約60%。

【請求項8】

如請求項2至7中任一項之方法，其中與向該個體投與rAAV之前的該個體之一隻眼睛中之視網膜液體之含量相比，該一隻眼睛中之視網膜液體減少約80%。

【請求項9】

如請求項2至8中任一項之方法，其中該視網膜液體為視網膜下液體(SRF)或視網膜內液體(IRF)。

【請求項10】

如請求項3至9中任一項之方法，其中該單位劑量之rAAV粒子為約6×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)或更少。

【請求項11】

一種治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法，該方法包含：

(a) 向該個體之一隻眼睛投與抗VEGF藥劑；及

(b) 在投與該抗VEGF藥劑之後，向該個體之一隻眼睛投與約6×10^{11}個載體基因體(vg)或更少的單位劑量之重組腺相關病毒(rAAV)粒子，其中該個體為人類，且其中該等rAAV粒子包含：

(i) 編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及

(ii) AAV2衣殼蛋白質，其包含插入該衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【請求項12】

如請求項11之方法，其包含在投與該抗VEGF藥劑之後約1週或約7天，向該個體之一隻眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子。

【請求項13】

如請求項11或請求項12之方法，其包含在第1天向該個體之一隻眼睛投與該抗VEGF藥劑，及在第8天向該個體之一隻眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子。

【請求項14】

如請求項11至13中任一項之方法，其中該抗VEGF藥劑包含阿柏西普。

【請求項15】

如請求項14之方法，其中該阿柏西普係藉由玻璃體內注射以約2 mg之劑量投與。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之方法，其中該單位劑量之rAAV粒子係在約6×10^{10}至約6×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)之間。

【請求項17】

如請求項1至16中任一項之方法，其中該單位劑量之rAAV粒子係在約6×10^{10}至約2×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)之間。

【請求項18】

如請求項1至16中任一項之方法，其中該單位劑量之rAAV粒子係在約2×10^{11}至約6×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)之間。

【請求項19】

如請求項18之方法，其中該單位劑量之rAAV粒子為約2×10^{11}或約6×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)。

【請求項20】

如請求項19之方法，其中該單位劑量之rAAV粒子為約2×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)。

【請求項21】

如請求項19之方法，其中該單位劑量之rAAV粒子為約6×10^{11}個載體基因體/眼睛(vg/眼睛)。

【請求項22】

如請求項1至21中任一項之方法，其中該個體在對側眼睛中具有眼睛新生血管性疾病之一或多種症狀。

【請求項23】

如請求項1至22中任一項之方法，其進一步包含向該個體之對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子。

【請求項24】

如請求項23之方法，其中該向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向該一隻眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子之後至多約2週進行。

【請求項25】

如請求項24之方法，其中：

(a) 該向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係與該向一隻眼睛投與單位劑量之rAAV粒子在同一天進行；或

(b) 該向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向該一隻眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子之後約1天至約14天進行。

【請求項26】

如請求項24或請求項25之方法，其中與向該個體之一隻眼睛投與之該單位劑量之rAAV粒子相比，向該個體之對側眼睛投與之該單位劑量之rAAV粒子包含相同或更少的載體基因體/眼睛(vg/眼睛)。

【請求項27】

如請求項23之方法，其中該向對側眼睛投與單位劑量之rAAV粒子係在向該一隻眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子之後至少約2週進行。

【請求項28】

如請求項27之方法，其中與向該個體之一隻眼睛投與之該單位劑量之rAAV粒子相比，向該個體之對側眼睛投與之該單位劑量之rAAV粒子包含更多的載體基因體/眼睛(vg/眼睛)。

【請求項29】

如請求項1至28中任一項之方法，其中該核酸包含SEQ ID NO:40之核酸序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【請求項30】

如請求項1至29中任一項之方法，其中該多肽包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列。

【請求項31】

如請求項1至30中任一項之方法，其中該多肽包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列。

【請求項32】

如請求項1至31中任一項之方法，其中該多肽為阿柏西普。

【請求項33】

如請求項1至32中任一項之方法，其中該核酸進一步包含第一強化子區域、啟動子區域、5'UTR區域、第二強化子區域及聚腺苷酸化位點。

【請求項34】

如請求項1至33中任一項之方法，其中以5'至3'順序，該核酸包含：

(a) 第一強化子區域；

(b) 啟動子區域；

(c) 5'UTR區域；

(d) 編碼多肽之核酸，其包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列至少約95%一致性之胺基酸序列；

(e) 第二強化子區域；及

(f) 聚腺苷酸化位點；

且側接AAV2反向末端重複序列(ITR)。

【請求項35】

如請求項33或請求項34之方法，其中該第一強化子區域包含CMV序列，該CMV序列包含SEQ ID NO:22之序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【請求項36】

如請求項33至35中任一項之方法，其中該啟動子區域包含CMV序列，該CMV序列包含SEQ ID NO:23之序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【請求項37】

如請求項34至36中任一項之方法，其中該編碼多肽之核酸包含SEQ ID NO:40之核酸序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【請求項38】

如請求項34至37中任一項之方法，其中該多肽包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列或與其具有至少95%一致性之序列。

【請求項39】

如請求項34至38中任一項之方法，其中該多肽包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列或與其具有至少95%一致性之序列。

【請求項40】

如請求項34至39中任一項之方法，其中該多肽為阿柏西普。

【請求項41】

如請求項33至40中任一項之方法，其中以5'至3'順序，該5'UTR區域包含TPL序列及eMLP序列，其中該TPL序列包含SEQ ID NO:24之序列或

與其具有至少85%一致性之序列且該eMLP序列包含SEQ ID NO:25之序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【請求項42】

如請求項33至41中任一項之方法，其中該第二強化子區域包含完全EES序列，該完全EES序列包含SEQ ID NO:26之序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【請求項43】

如請求項33至42中任一項之方法，其中該聚腺苷酸化位點包含HGH聚腺苷酸化位點，該HGH聚腺苷酸化位點包含SEQ ID NO:27之序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【請求項44】

如請求項1至32中任一項之方法，其中該核酸進一步包含(a)第一強化子區域，其包含CMV序列，該CMV序列包含SEQ ID NO:22之序列或與其具有至少85%一致性之序列；(b)啟動子區域，其包含CMV序列，該CMV序列包含SEQ ID NO:23之序列或與其具有至少85%一致性之序列；(c)5'UTR區域，以5'至3'順序，其包含TPL序列及eMLP序列，該TPL序列包含SEQ ID NO:24之序列或與其具有至少85%一致性之序列且該eMLP序列包含SEQ ID NO:25之序列或與其具有至少85%一致性之序列；(d)第二強化子區域，其包含完全EES序列，該完全EES序列包含SEQ ID NO:26之序列或與其具有至少85%一致性之序列；及(e)HGH聚腺苷酸化位點，其包含SEQ ID NO:27之序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【請求項45】

如請求項1至44中任一項之方法，其中該核酸包含SEQ ID NO:39之

序列或與其具有至少85%一致性之序列。

【請求項46】

如請求項1至45中任一項之方法，其中該AAV2衣殼蛋白質包含插入該衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【請求項47】

如請求項1至46中任一項之方法，其中該AAV2衣殼蛋白質包含插入該AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中該AAV2 VP1包含SEQ ID NO:13之序列。

【請求項48】

如請求項1至47中任一項之方法，其中該AAV2衣殼蛋白質包含插入該AAV2 VP1之位置587與588之間的胺基酸序列LALGETTRPA (SEQ ID NO:1)，其中該AAV2 VP1包含SEQ ID NO:13之序列。

【請求項49】

如請求項1至46中任一項之方法，其中該等rAAV粒子包含有包含GH環之AAV2 VP1衣殼蛋白質，該GH環包含SEQ ID NO:38之胺基酸序列或與SEQ ID NO:38具有至少90%序列一致性之胺基酸序列。

【請求項50】

如請求項1至49中任一項之方法，其中向一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子係藉由玻璃體內投藥來進行。

【請求項51】

如請求項1至50中任一項之方法，其中該單位劑量之rAAV粒子係呈醫藥調配物形式。

【請求項52】

如請求項51之方法，其中該醫藥調配物包含該等rAAV粒子、氯化鈉、磷酸鈉及界面活性劑。

【請求項53】

如請求項52之方法，其中該醫藥調配物包含約150至約200 mM氯化鈉、約1至約10 mM磷酸二氫鈉、約1至約10 mM磷酸氫二鈉、約0.0005% (w/v)至約0.005% (w/v)泊洛沙姆(poloxamer)188及約6×10^{13}至約6×10^{10}個載體基因體(vg)/毫升(vg/mL)之該等rAAV粒子，其中該醫藥調配物之pH值為約7.0至約7.5。

【請求項54】

如請求項53之方法，其中該醫藥調配物包含約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉、約6×10^{12}個vg/mL之該等rAAV粒子及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中該醫藥調配物之pH值為約7.3。

【請求項55】

如請求項53之方法，其中該醫藥調配物包含約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉、約2×10^{12}個vg/mL之該等rAAV粒子及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中該醫藥調配物之pH值為約7.3。

【請求項56】

如請求項53之方法，其中該醫藥調配物包含約180 mM氯化鈉、約5 mM磷酸二氫鈉、約5 mM磷酸氫二鈉、約6×10^{11}個vg/mL之該等rAAV粒子及約0.001% (w/v)泊洛沙姆188，其中該醫藥調配物之pH值為約7.3。

【請求項57】

如請求項1至56中任一項之方法，其中向一隻眼睛及/或對側眼睛投

與之該單位劑量之rAAV粒子之體積為約25 μL至約250 μL。

【請求項58】

如請求項57之方法，其中向一隻眼睛及/或對側眼睛投與之該單位劑量之rAAV粒子之體積為約100 μL。

【請求項59】

如請求項57之方法，其中向一隻眼睛及/或對側眼睛投與之該單位劑量之rAAV粒子之體積為約30 μL。

【請求項60】

如請求項1至59中任一項之方法，其中該個體先前曾接受用抗VEGF藥劑進行眼睛新生血管性疾病治療。

【請求項61】

如請求項60之方法，其中在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與該等rAAV粒子之前，該個體在該一隻眼睛及/或該對側眼睛中已接受1或2次抗VEGF藥劑之注射。

【請求項62】

如請求項1至3或7至59中任一項之方法，其中該個體先前未曾接受用抗VEGF藥劑進行眼睛新生血管性疾病治療。

【請求項63】

如請求項60至62中任一項之方法，其中該抗VEGF藥劑為阿柏西普。

【請求項64】

如請求項1至63中任一項之方法，其中該眼睛新生血管性疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(AMD)、視網膜新生血管、脈絡膜新生血管糖尿病性視網膜病變、增生性糖尿病性視網膜病變、視網膜靜脈阻塞、中央視網

膜靜脈阻塞、分支視網膜靜脈阻塞、糖尿病性黃斑水腫、糖尿病性視網膜局部缺血、缺血性視網膜病、糖尿病性視網膜水腫或其任何組合。

【請求項65】

如請求項1至10或16至64中任一項之方法，其中該單位劑量之rAAV粒子係與類固醇治療組合投與。

【請求項66】

如請求項65之方法，其中該類固醇治療為皮質類固醇治療。

【請求項67】

如請求項65或請求項66之方法，其中該類固醇治療為全身性類固醇治療。

【請求項68】

如請求項65至67中任一項之方法，其中該類固醇治療為口服類固醇治療。

【請求項69】

如請求項65至68中任一項之方法，其中該類固醇治療為潑尼松(prednisone)治療。

【請求項70】

如請求項65或請求項66之方法，其中該類固醇治療為局部類固醇治療。

【請求項71】

如請求項70之方法，其中該類固醇治療為二氟潑尼酯(difluprednate)治療。

【請求項72】

如請求項65至71中任一項之方法，其中該類固醇係在向一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子之前、期間及/或之後投與。

【請求項73】

如請求項70至72中任一項之方法，其中該類固醇治療為局部類固醇治療且該局部類固醇治療為自投與該單位劑量之rAAV粒子開始，每天類固醇治療持續至多約4週、至多約6週或至多約8週。

【請求項74】

如請求項73之方法，其中該局部類固醇治療包含在約第1週每天進行約四次局部類固醇投藥，在約第2週每天進行約三次局部類固醇投藥，在約第3週每天進行約兩次局部類固醇投藥及在約第4週每天進行約一次局部類固醇投藥；時序以該單位劑量之rAAV粒子之投藥為起始且遵循該單位劑量之rAAV粒子之投藥。

【請求項75】

如請求項73之方法，其中該局部類固醇治療包含在投與該單位劑量之rAAV粒子之後每天進行約四次局部類固醇投藥持續約3週，接著每天進行約3次局部類固醇投藥持續約1週，接著每天進行約2次局部類固醇投藥持續約1週且接著每天進行約1次局部類固醇投藥持續約1週。

【請求項76】

如請求項73之方法，其中該局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥持續約四週，接著每天進行約三次局部類固醇投藥持續約一週，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥持續約一週且接著每天進行約一次局部類固醇投藥持續約一週；時序以該單位劑量之rAAV粒子之投藥之前約一週為起始。

【請求項77】

如請求項11至64中任一項之方法，其進一步包含投與局部類固醇治療。

【請求項78】

如請求項77之方法，其中該局部類固醇治療為二氟潑尼酯治療。

【請求項79】

如請求項77或請求項78之方法，其中該局部類固醇治療包含每天進行約四次局部類固醇投藥持續約四週，接著每天進行約三次局部類固醇投藥持續約一週，接著每天進行約兩次局部類固醇投藥持續約一週且接著每天進行約一次局部類固醇投藥持續約一週；時序以該抗VEGF藥劑之投藥為起始且遵循該抗VEGF藥劑之投藥。

【請求項80】

如請求項71至79中任一項之方法，其中該局部類固醇包含約1 μg至約3 μg之劑量之0.05%二氟潑尼酯。

【請求項81】

如請求項71至80中任一項之方法，其中該局部類固醇包含約2.5 μg之劑量之0.05%二氟潑尼酯。

【請求項82】

如請求項1至81中任一項之方法，其中與投與該單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，向該個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子造成該視網膜厚度之保持或降低。

【請求項83】

如請求項82之方法，其中與投與該單位劑量之rAAV粒子之前的視網

膜厚度相比，向該個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子造成該視網膜厚度降低。

【請求項84】

如請求項83之方法，其中與投與該單位劑量之rAAV粒子之前的視網膜厚度相比，該視網膜厚度降低至少約10%。

【請求項85】

如請求項82至84中任一項之方法，其中視網膜厚度為中心子區域厚度(CST)或中心視網膜厚度(CRT)。

【請求項86】

如請求項1至85中任一項之方法，其中與投與該單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向該個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子造成該黃斑體積保持或減小。

【請求項87】

如請求項86之方法，其中與投與該單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，向該個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子造成該黃斑體積減小。

【請求項88】

如請求項87之方法，其中與投與該單位劑量之rAAV粒子之前的黃斑體積相比，該黃斑體積減小至少約10%。

【請求項89】

如請求項1至88中任一項之方法，其中與投與該單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比，向該個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子造成該視力之保持或改良。

【請求項90】

如請求項89之方法，其中與投與該單位劑量之rAAV粒子之前的視力相比，向該個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子造成該視力之改良。

【請求項91】

如請求項89或請求項90之方法，其中視力為最佳矯正視力(BCVA)。

【請求項92】

如請求項1至91中任一項之方法，其中向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量rAAV粒子造成該複數名個體中之至少約50%的個體不需要抗VEGF救援治療。

【請求項93】

如請求項92之方法，其中該複數名個體中之至少約50%的個體在投與該單位劑量之rAAV粒子之後至少約20週、至少約36週、至少約52週、至少約56週或更長時間內不需要抗VEGF救援治療。

【請求項94】

如請求項1至91中任一項之方法，其中向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量rAAV粒子造成該複數名個體中之至少約67%的個體不需要抗VEGF救援治療。

【請求項95】

如請求項94之方法，其中該複數名個體中之至少約67%的個體在投與該單位劑量之rAAV粒子之後至少約20週、至少約36週、至少約52週、至少約60週、至少約64週或至少約66週內不需要抗VEGF救援治療。

【請求項96】

如請求項1至91中任一項之方法，其中向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量rAAV粒子造成該複數名個體中之至少約78%的個體不需要抗VEGF救援治療。

【請求項97】

如請求項96之方法，其中該複數名個體中之至少約78%的個體在投與該單位劑量之rAAV粒子之後至少約20週、至少約36週或更長時間內不需要抗VEGF救援治療。

【請求項98】

如請求項1至91中任一項之方法，其中向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量rAAV粒子造成該複數名個體中之100%的個體不需要抗VEGF救援治療。

【請求項99】

如請求項98之方法，其中該複數名個體中之100%的個體在投與該單位劑量之rAAV粒子之後至少約64週、至少約68週、至少約72週、至少約76週、至少約80週、至少約84週或更長時間內不需要抗VEGF救援治療。

【請求項100】

如請求項1至99中任一項之方法，其中與投與該單位劑量之rAAV粒子之前的按年計算之抗VEGF注射率相比，向複數名個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子造成該按年計算之抗VEGF注射率降低至少約80%、至少約85%、至少約87%、至少約90%、至少約95%、至少約99%或100%。

【請求項101】

如請求項1至10、16至76或80至100中任一項之方法，其中該眼睛新

生血管性疾病為濕性年齡相關之黃斑變性(AMD)。

【請求項102】

如請求項1至3、11至64、77至83、85至87或89至91中任一項之方法，其中該眼睛新生血管性疾病為糖尿病性黃斑水腫(DME)。

【請求項103】

如請求項102之方法，其中向該個體之一隻眼睛及/或對側眼睛投與該單位劑量之rAAV粒子造成糖尿病性視網膜病變嚴重程度量表(Diabetic Retinopathy Severity Scale；DRSS)中之2步驟或3步驟改良。

【請求項104】

一種約6×10^{11}個載體基因體(vg)或更少的單位劑量之重組腺相關病毒(rAAV)粒子，其係用於治療個體中之眼睛新生血管性疾病之方法，該方法包含向該個體之一隻眼睛投與該單位劑量，其中該個體為人類，且其中該等rAAV粒子包含：

a) 編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及

b) AAV2衣殼蛋白質，其包含插入該衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【請求項105】

一種單位劑量之rAAV粒子，其係用於減少患有眼睛新生血管性疾病之個體的眼睛中之視網膜液體之方法中，該方法包含向該個體之一隻眼睛投與該單位劑量，其中該個體為人類，且其中該等rAAV粒子包含：

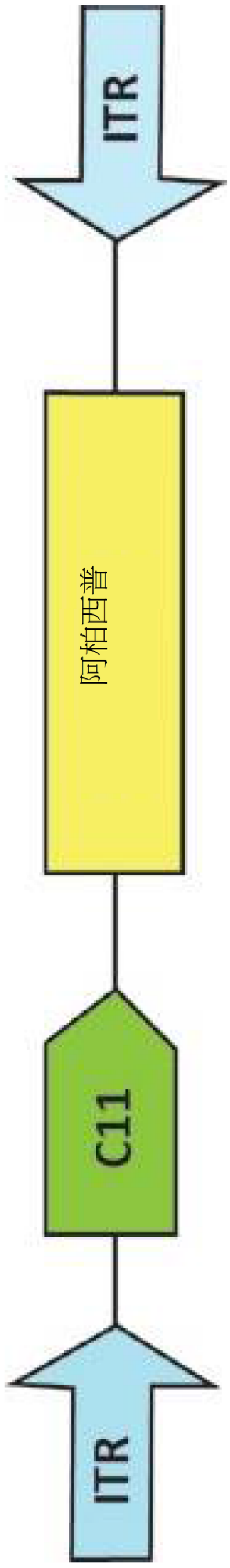
a) 編碼多肽且由AAV2反向末端重複序列(ITR)側接之核酸，該多肽包含與SEQ ID NO:35之胺基酸序列具有至少約95%一致性之胺基酸序列，及

b) AAV2衣殼蛋白質，其包含插入該衣殼蛋白質之位置587與588之間的胺基酸序列LGETTRP (SEQ ID NO:14)，其中胺基酸殘基編號對應於AAV2 VP1衣殼蛋白質。

【請求項106】

如請求項104或請求項105所使用之單位劑量，其中該方法進一步包含在投與該單位劑量之前，向該個體之一隻眼睛投與抗VEGF藥劑。

【發明圖式】



【圖1A】

篩檢(第-14至-7研究日)

- 單一劑量(2 mg)阿柏西普IVT注射

第1研究日(篩檢阿柏西普IVT注射之後7-14天)

- 用於測定抗VEGF反應之SD-OCT
- 對抗VEGF起反應之個體接受單一AAV2.7M8-阿柏西普IVT注射：
  - 群組1：6×10^{11}個vg/眼睛及口服皮質類固醇
  - 群組2：2×10^{11}個vg/眼睛及口服皮質類固醇
  - 群組3：2×10^{11}個vg/眼睛及局部皮質類固醇
  - 群組4：6×10^{10}個vg/眼睛(群組4b)或6×10^{11}個vg/眼睛(群組4a)及局部皮質類固醇

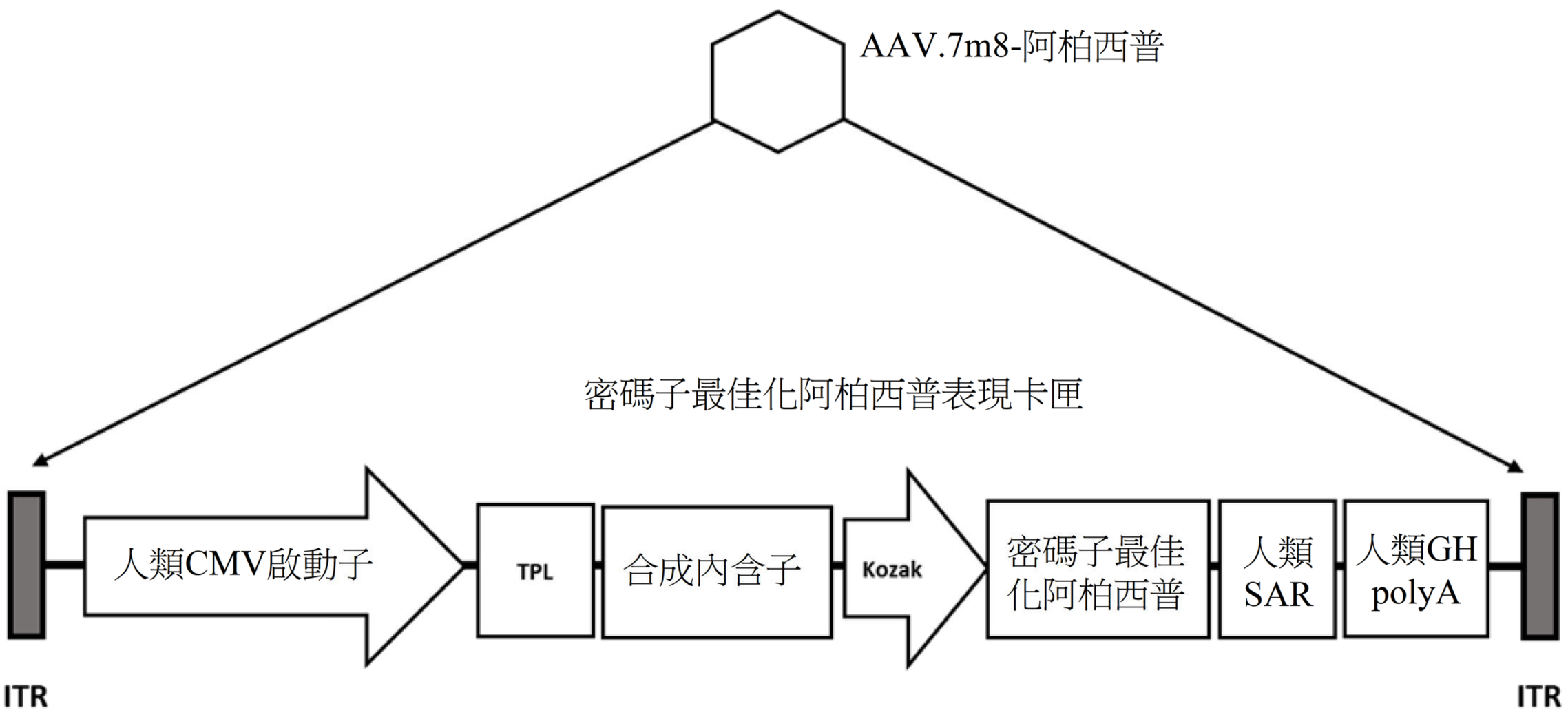
第3、8研究日

第2、4、6、8研究週且隨後每四週

- 安全性及功效評估

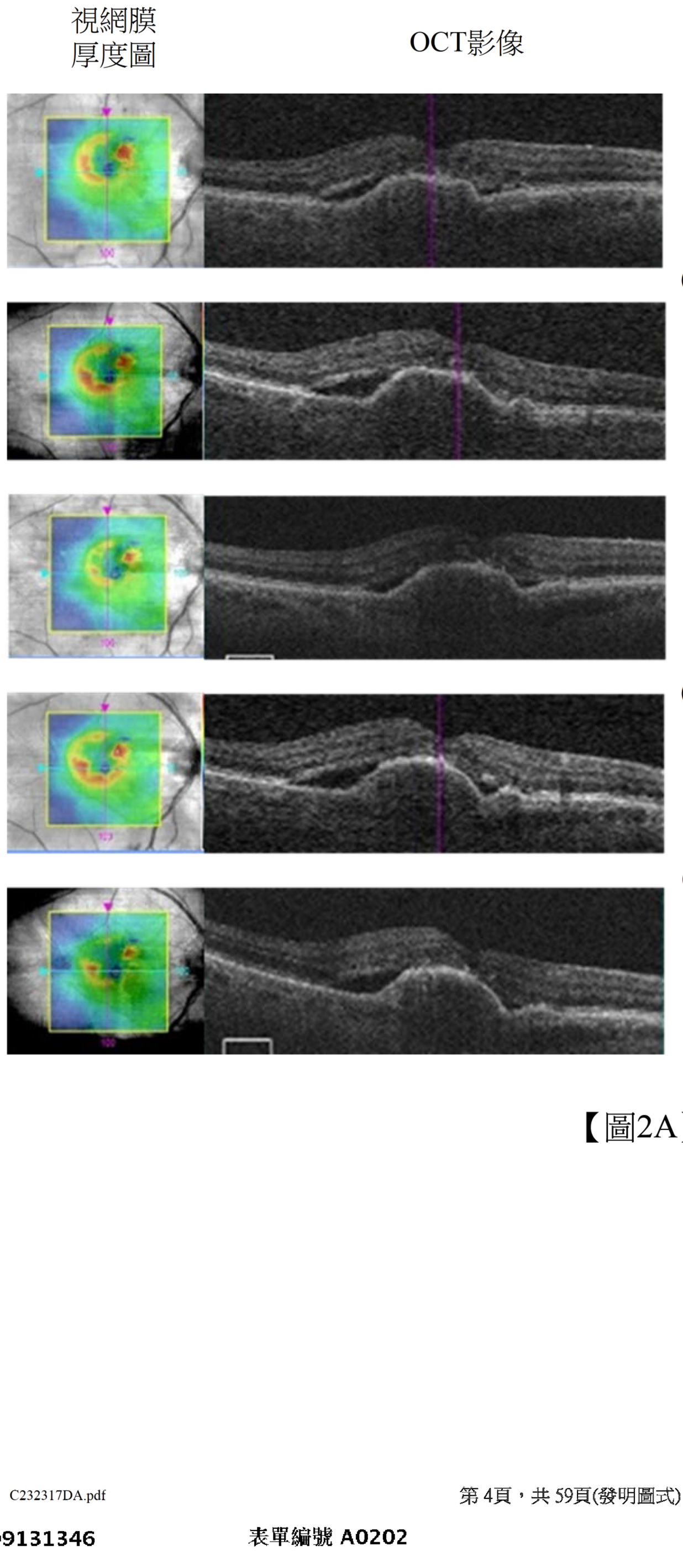
【圖1B】

202117016



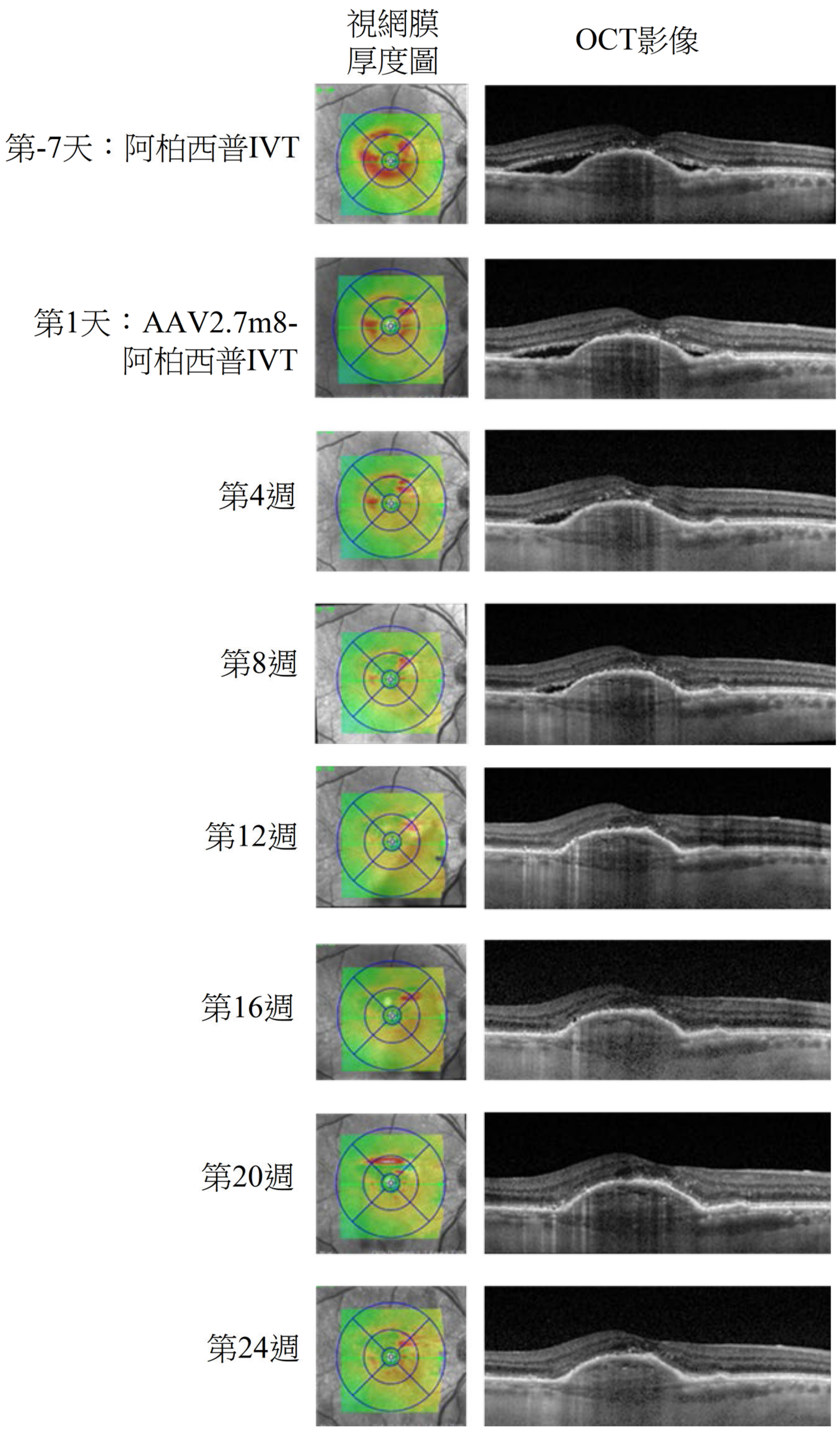
【圖1C】

個體1先前nAMD治療經驗



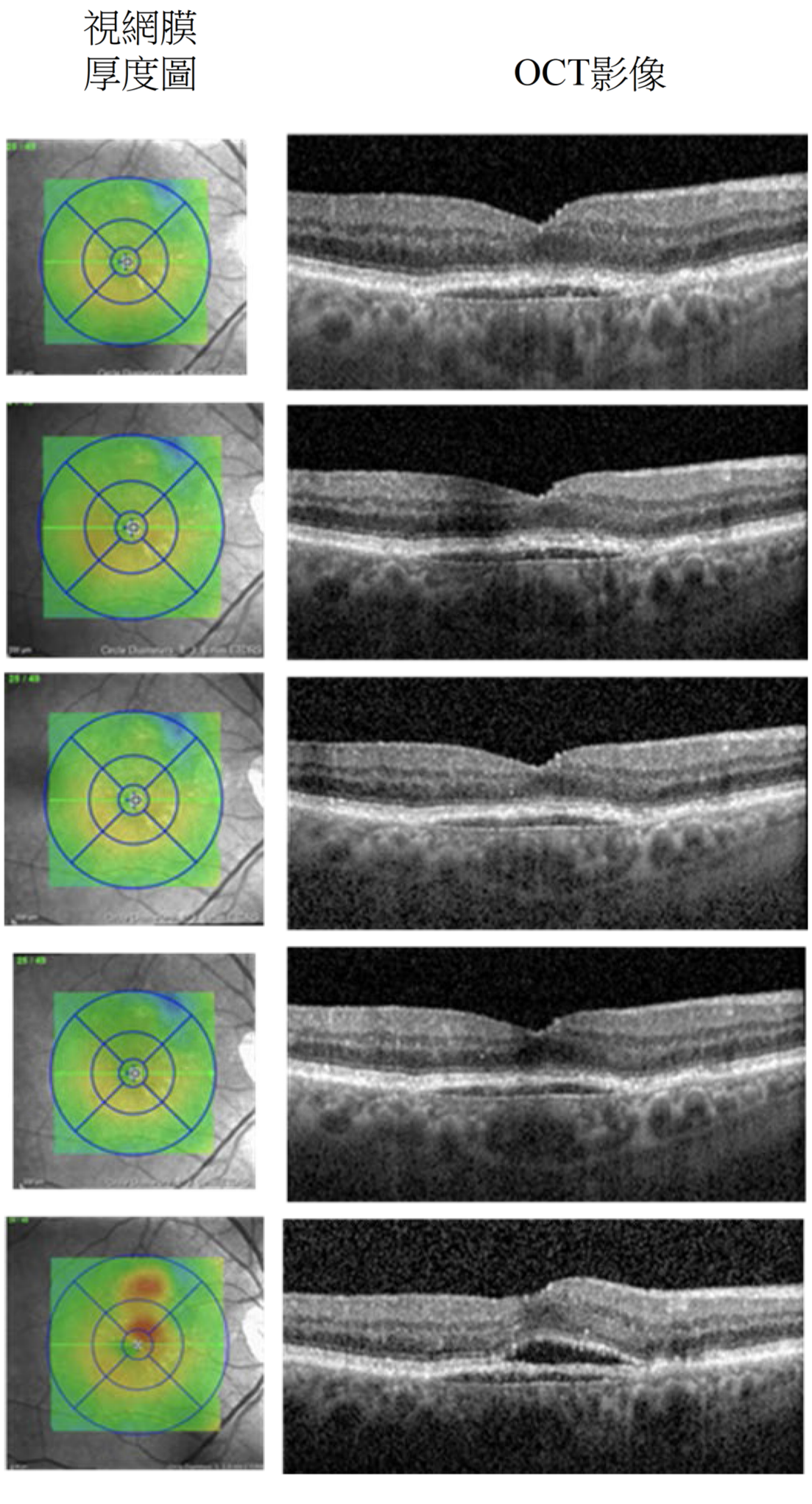
【圖2A】

藉由訪視獲得之個體1之OCT影像



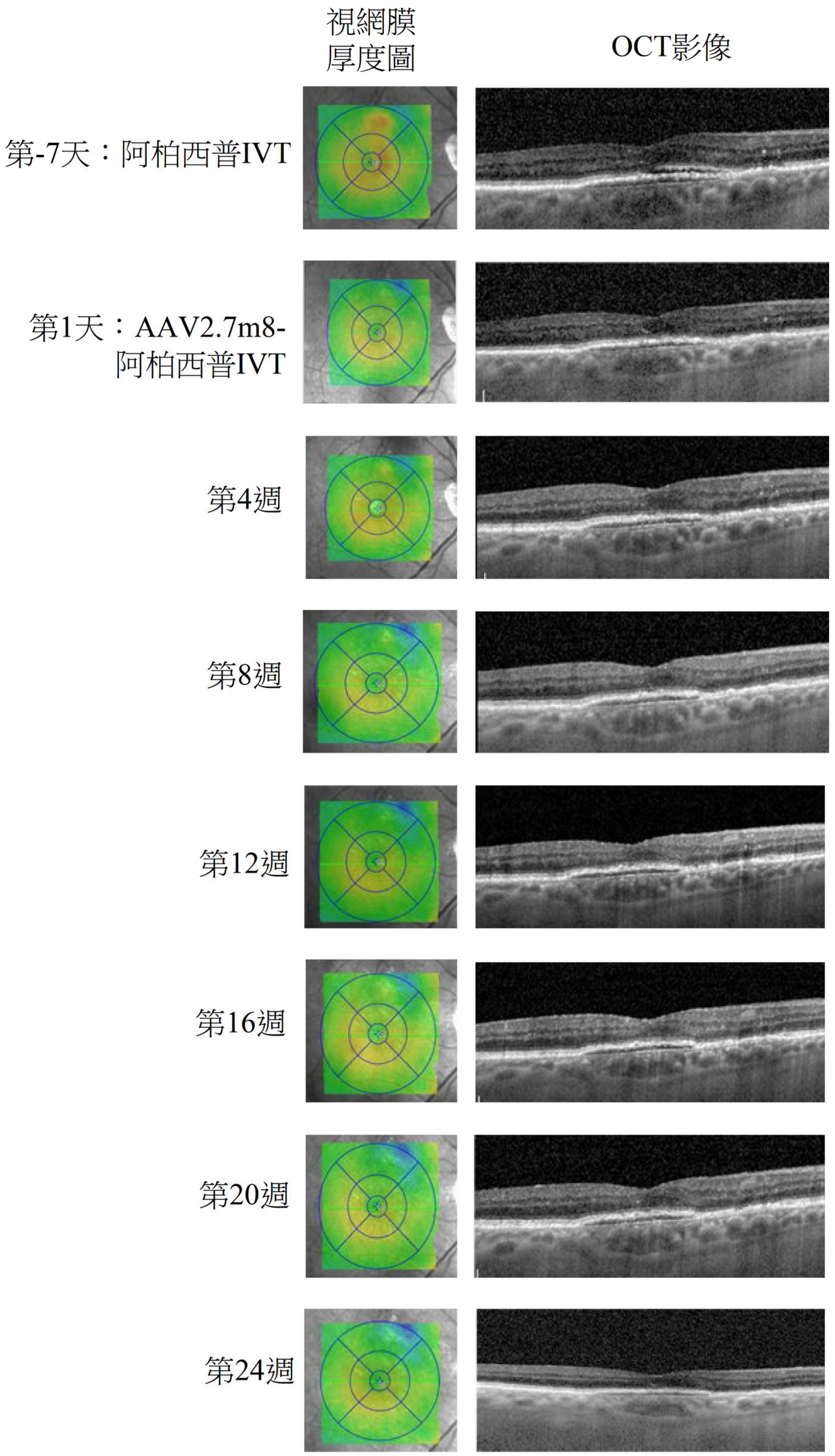
【圖2B】

個體2先前nAMD治療經驗



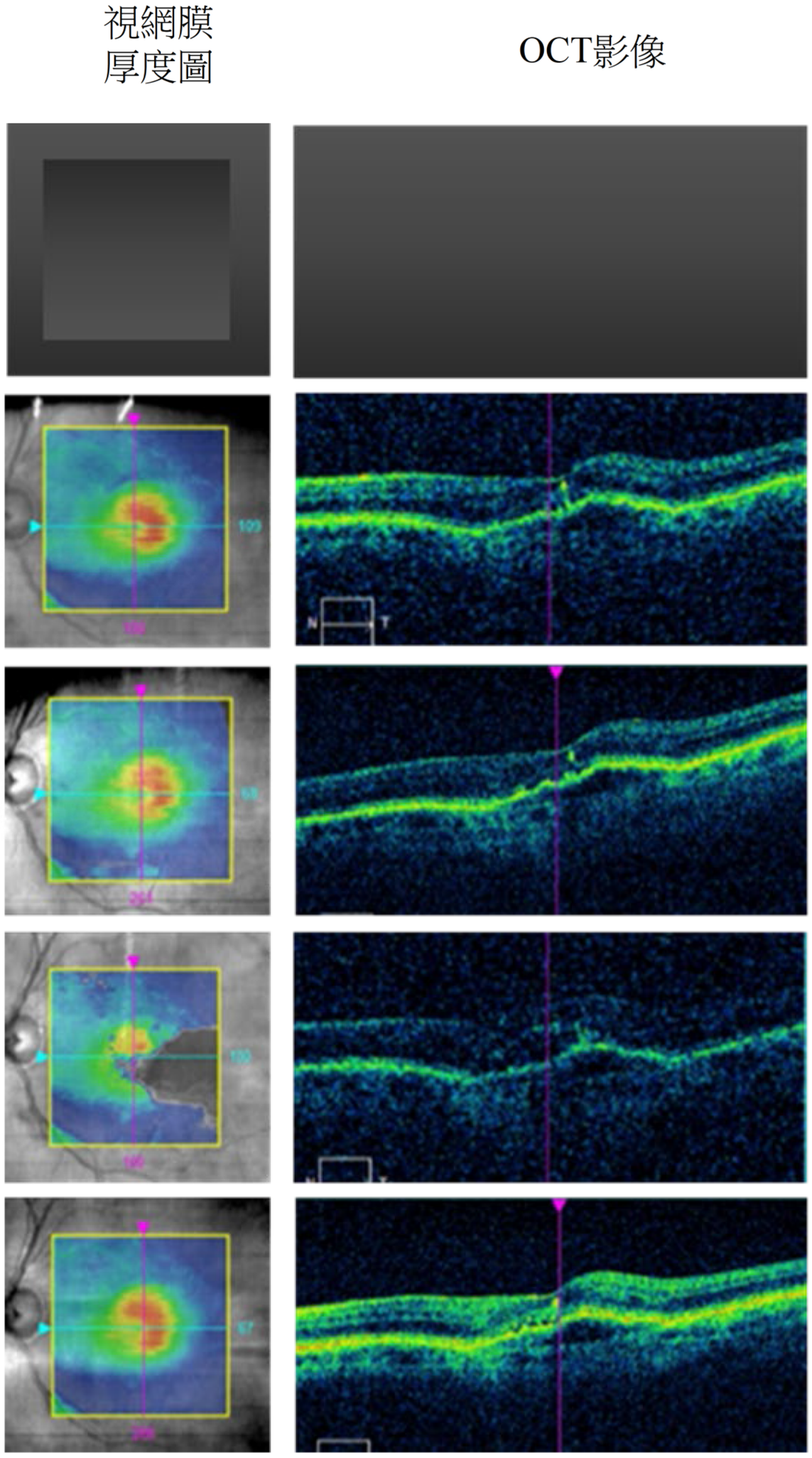
【圖2C】

藉由訪視獲得之個體2之OCT影像



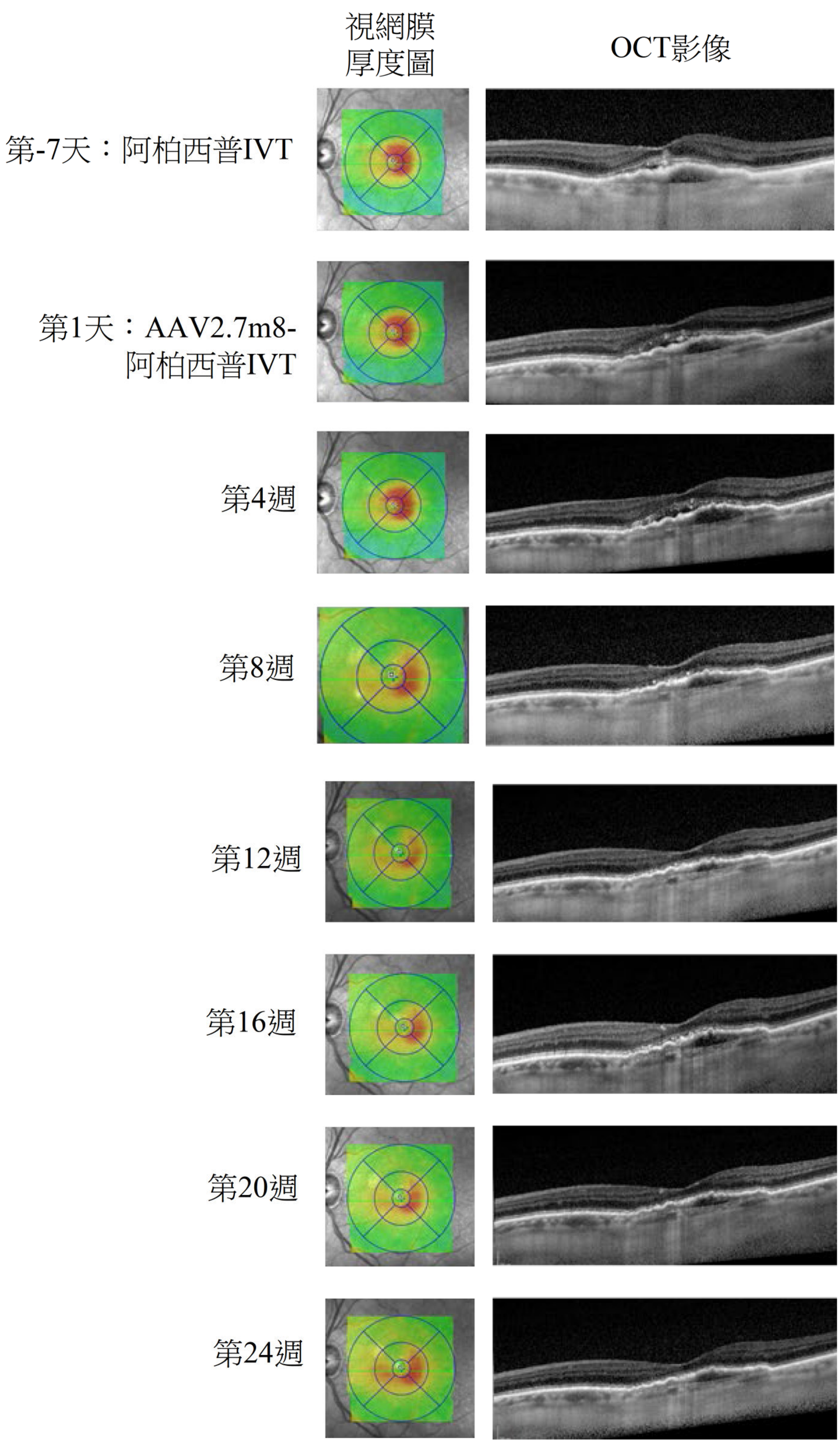
【圖2D】

個體3先前nAMD治療經驗



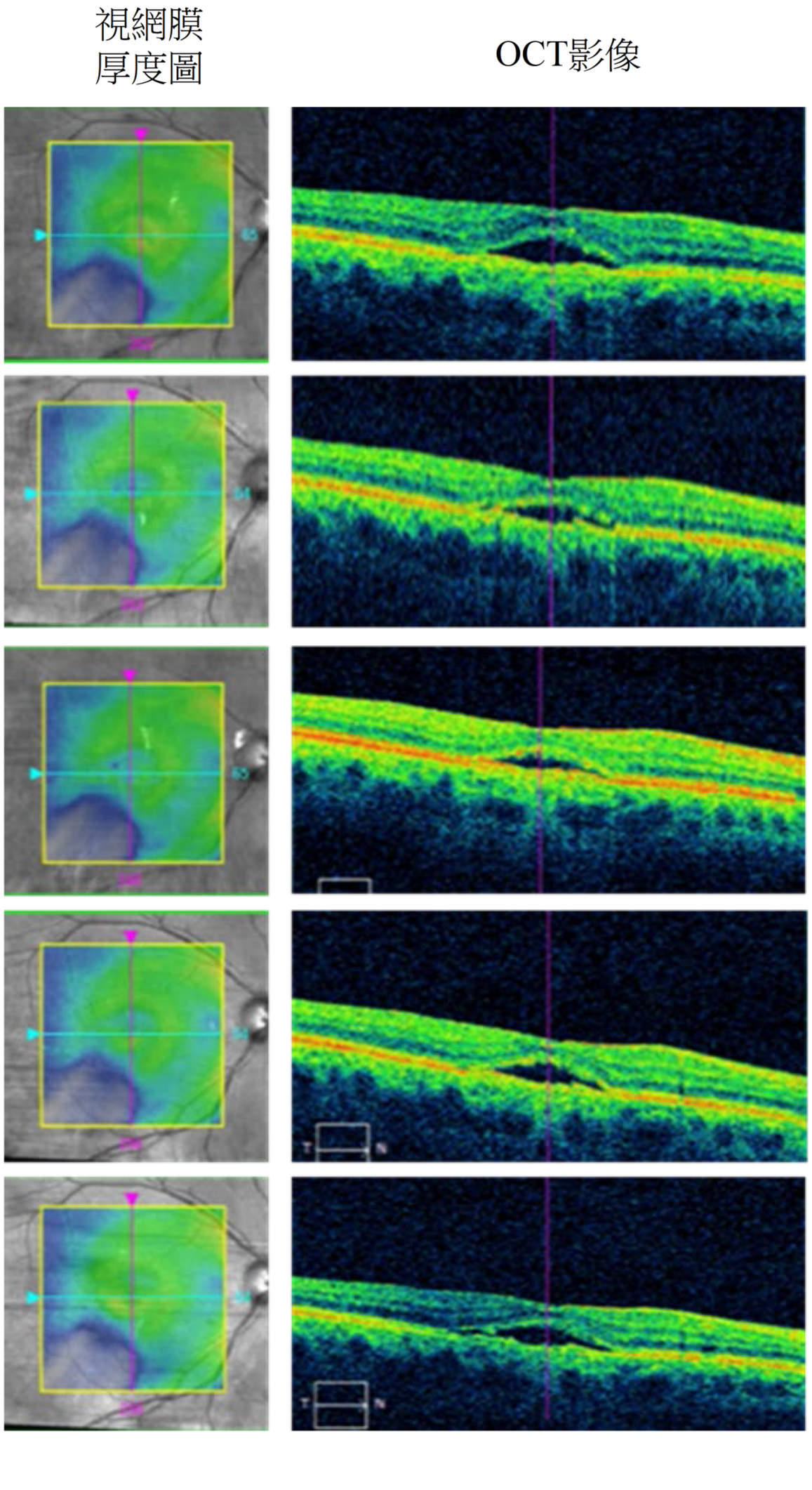
【圖2E】

藉由訪視獲得之個體3之OCT影像



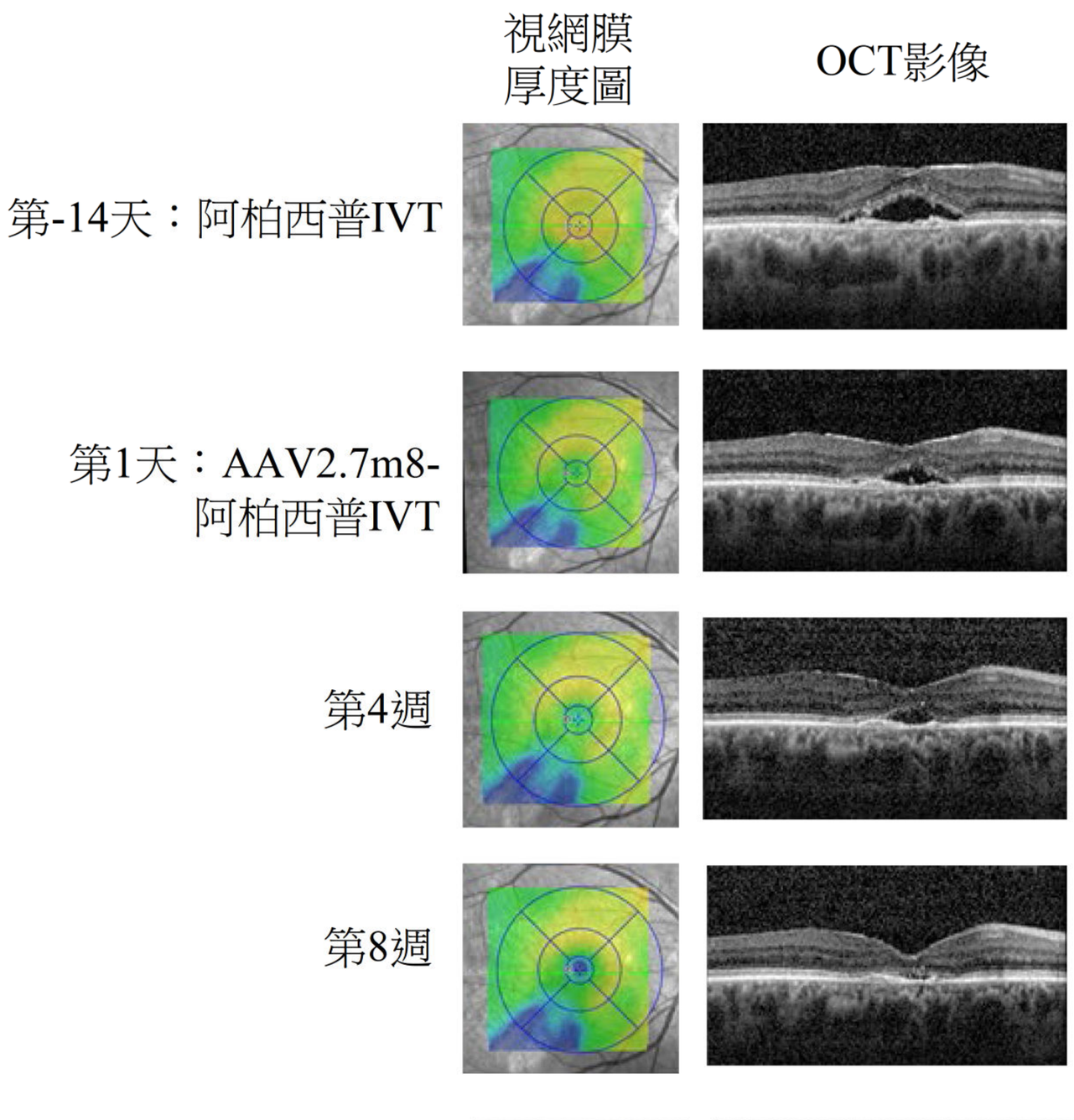
【圖2F】

個體4先前nAMD治療經驗



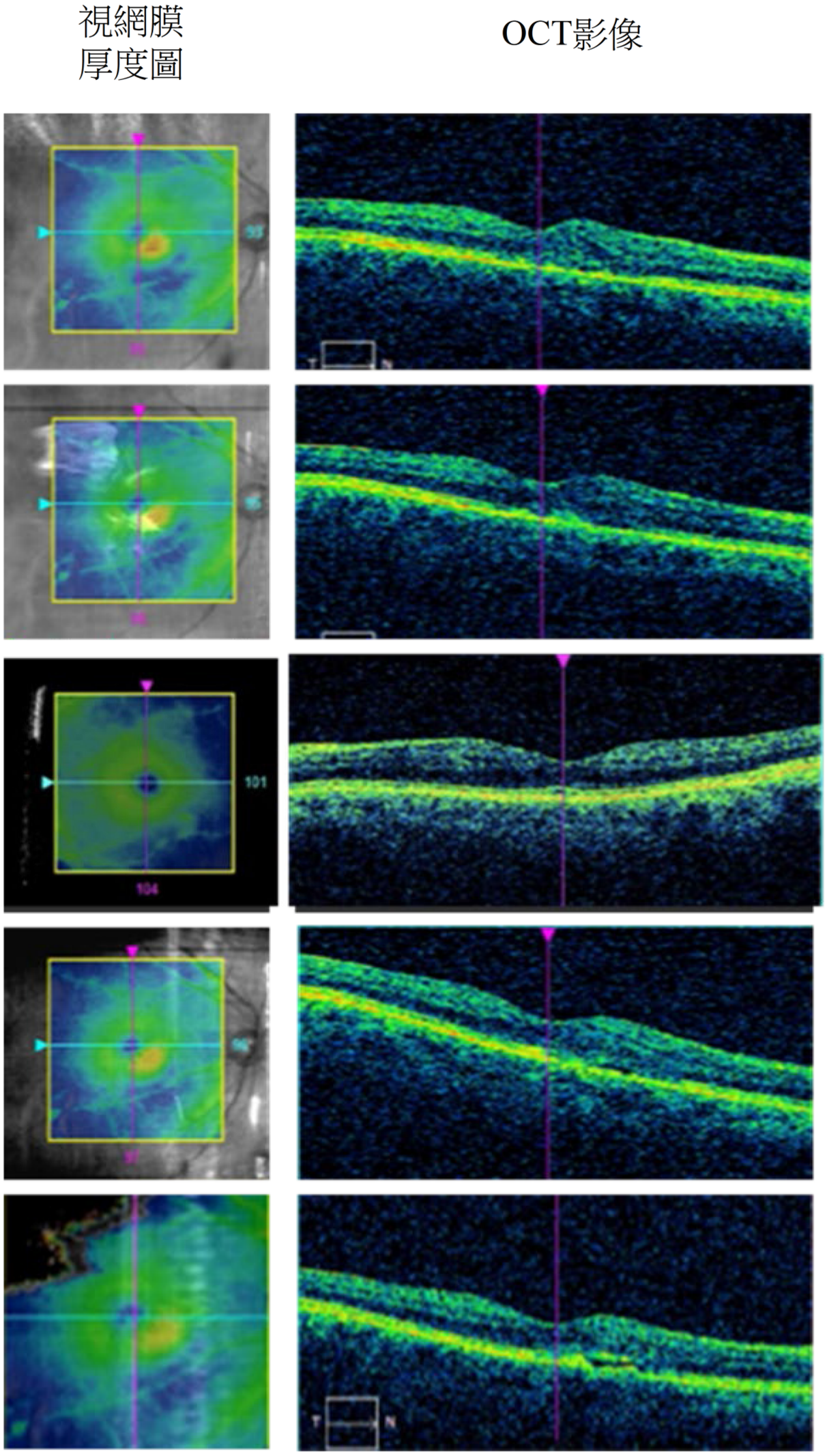
【圖2G】

藉由訪視獲得之個體4之OCT影像



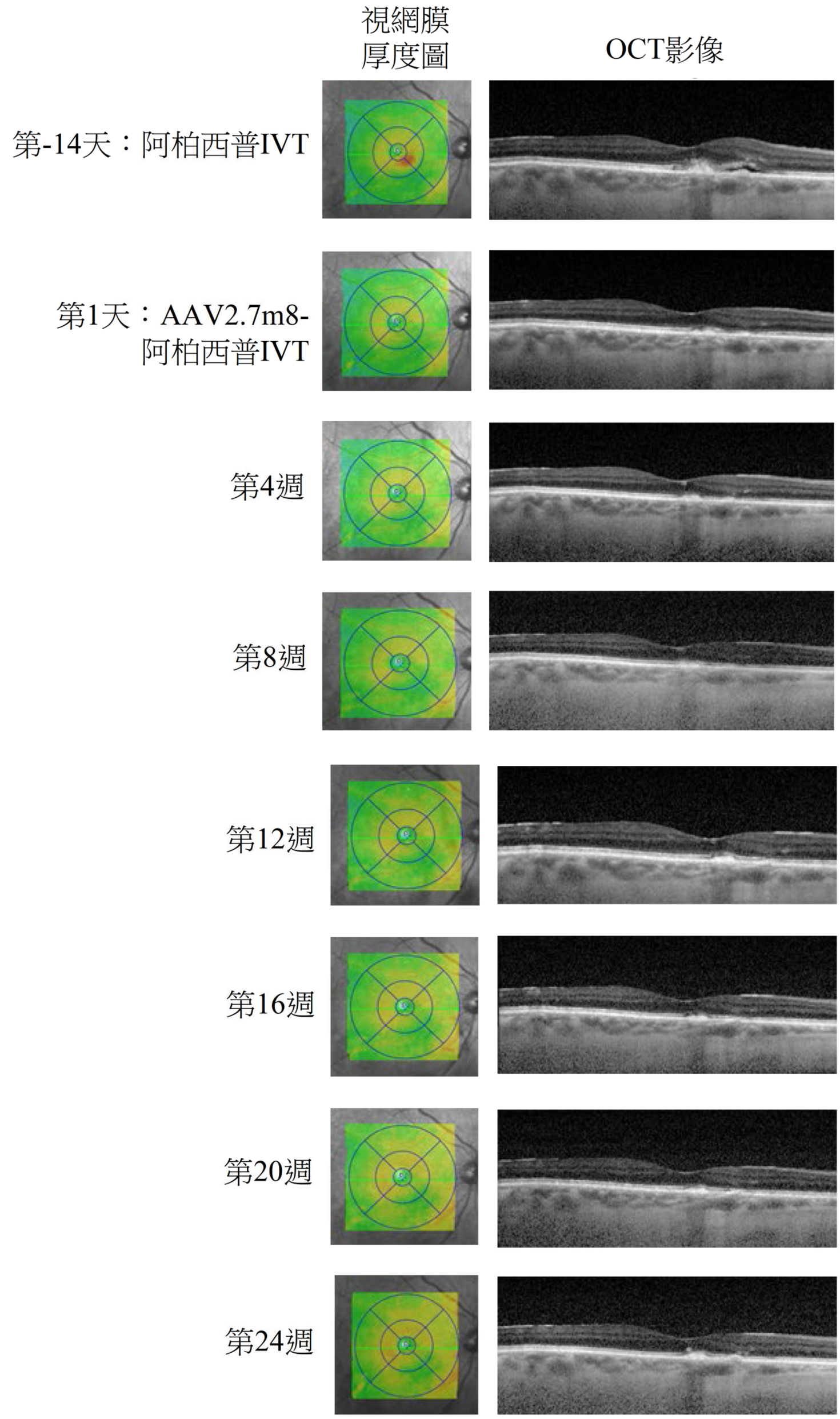
【圖2H】

個體5先前nAMD治療經驗



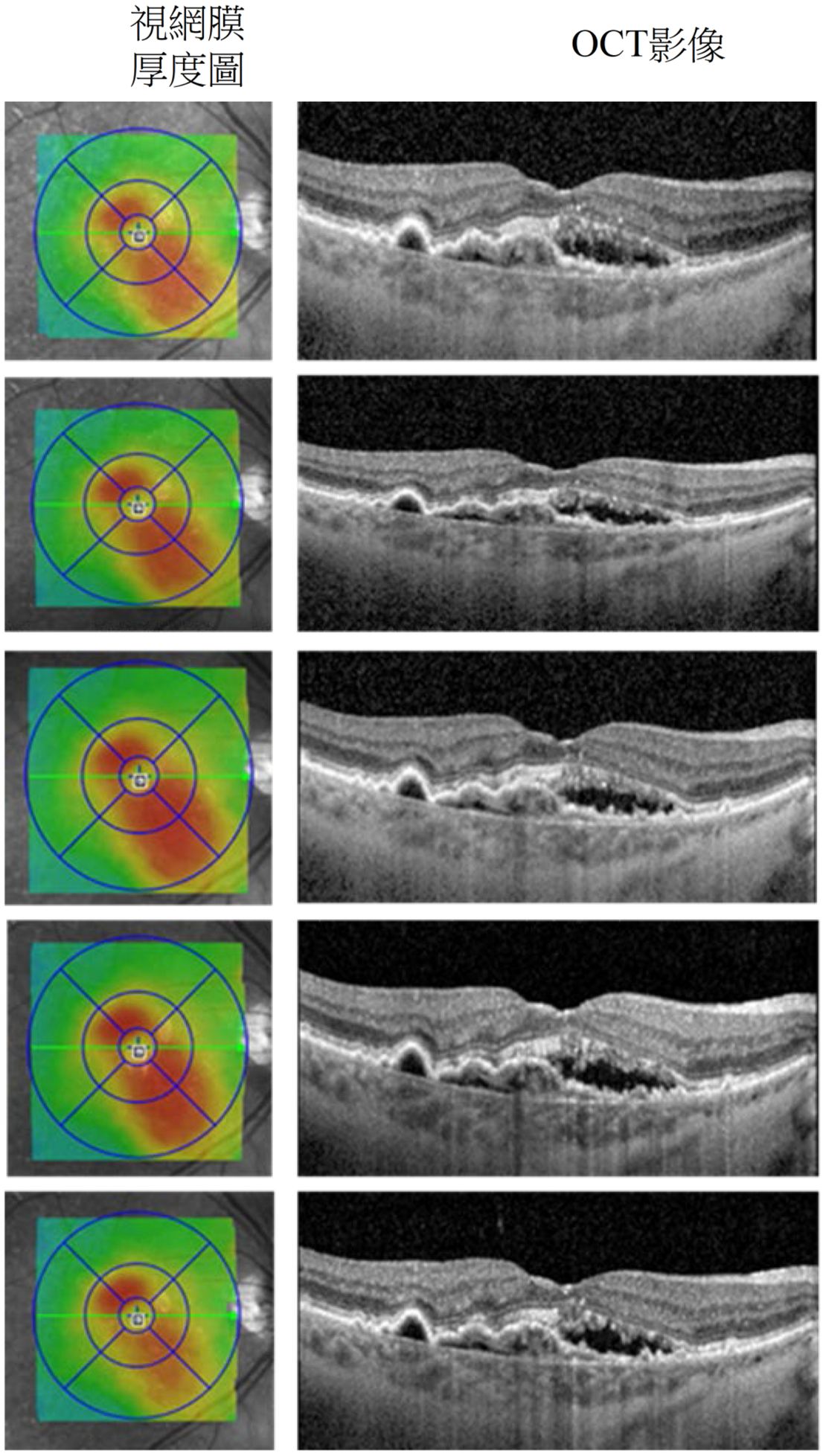
【圖2I】

藉由訪視獲得之個體5之OCT影像



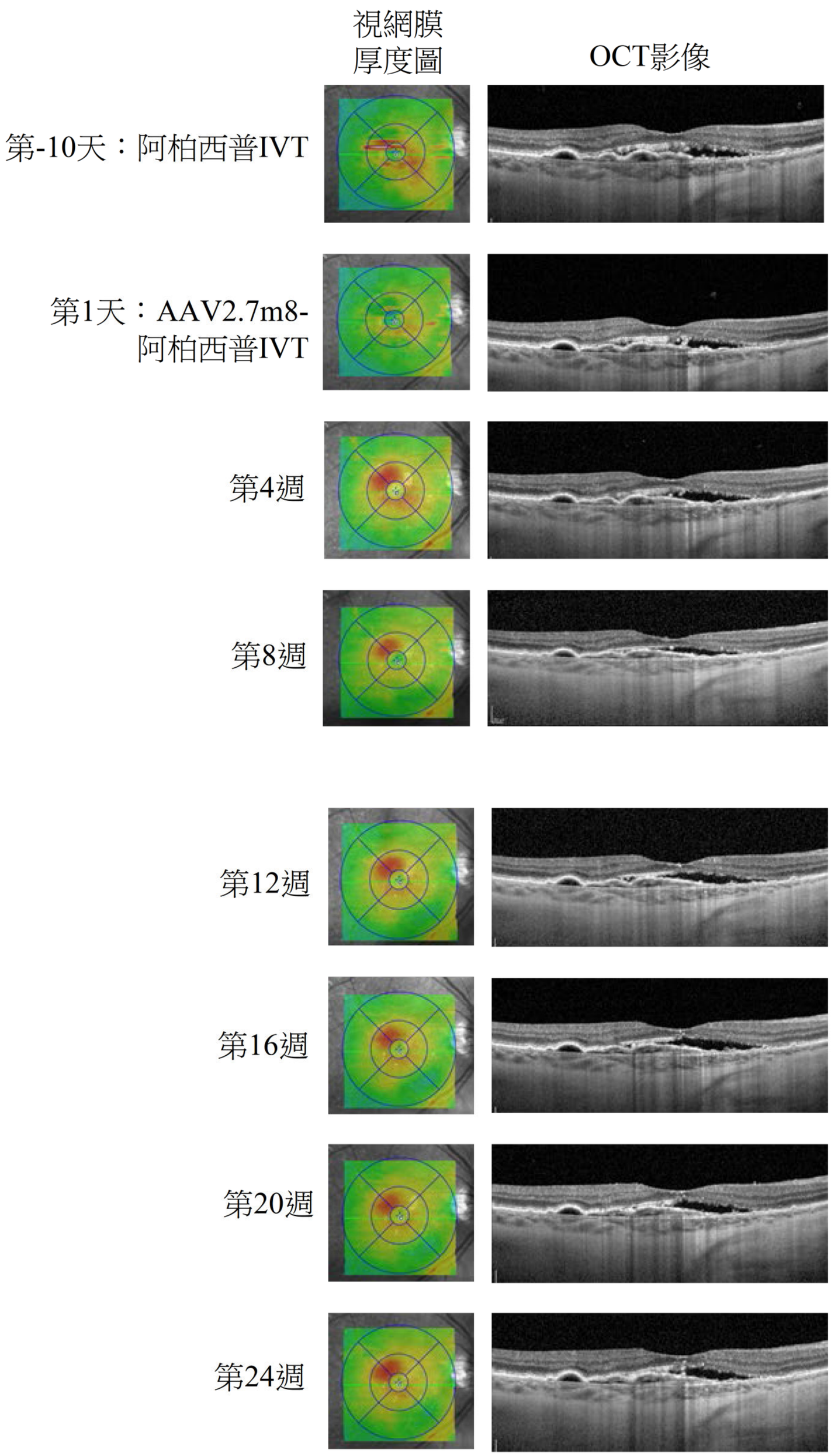
【圖2J】

個體6先前nAMD治療經驗

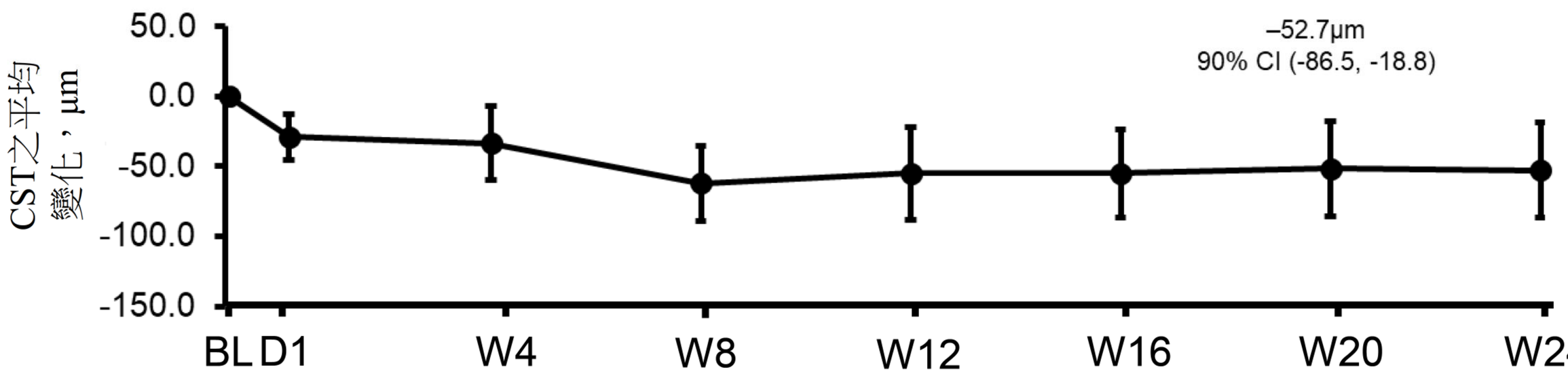


【圖2K】

藉由訪視獲得之個體6之OCT影像

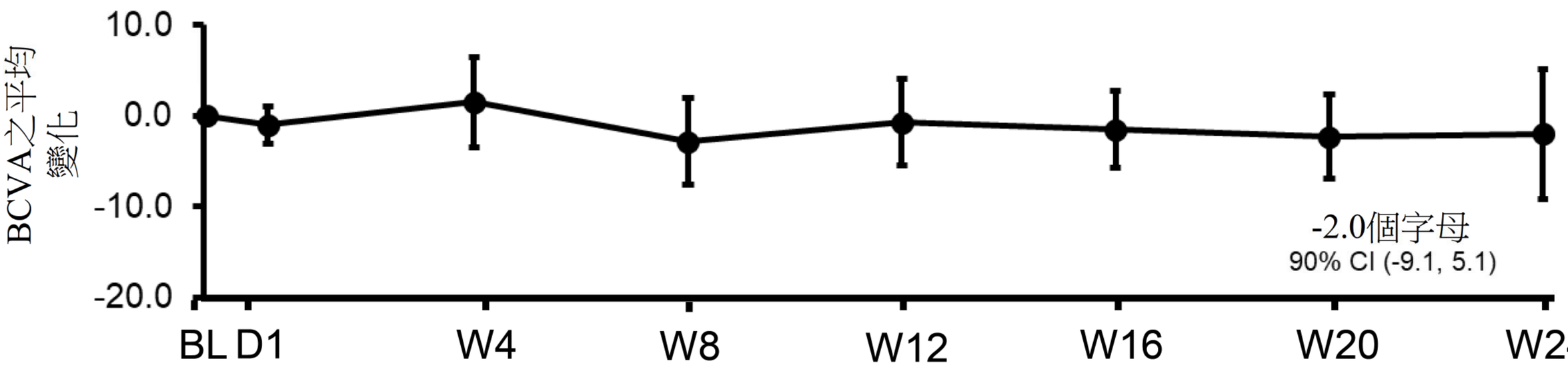


【圖2L】


CST之平均變化，μm
50.0
0.0
-50.0
-100.0
-150.0
–52.7μm
90% CI (-86.5, -18.8)
BL
D1
W4
W8
W12
W16
W20
W24

【圖3】

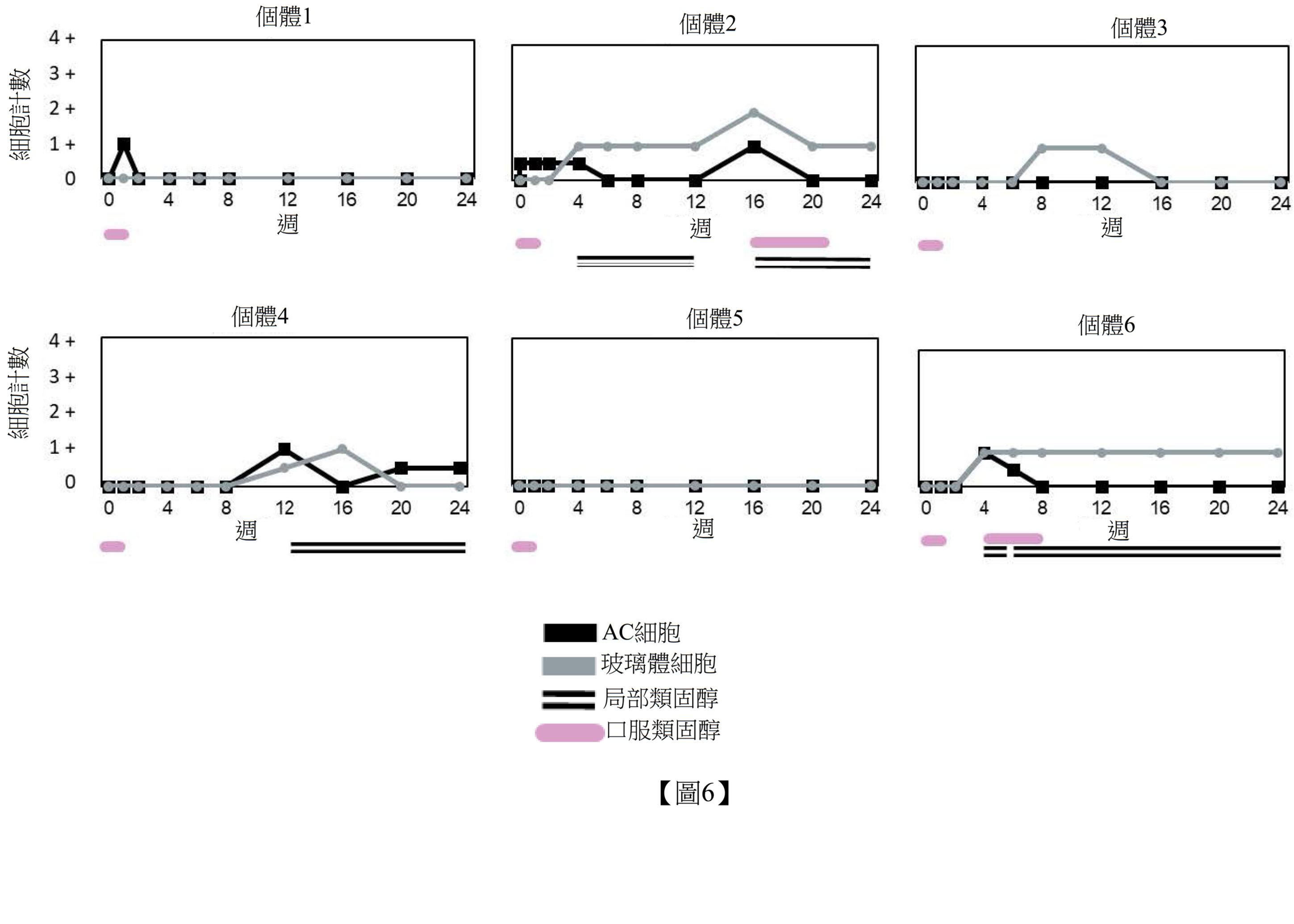
202117016



【圖4】

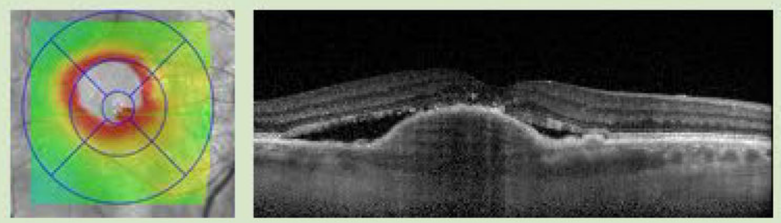
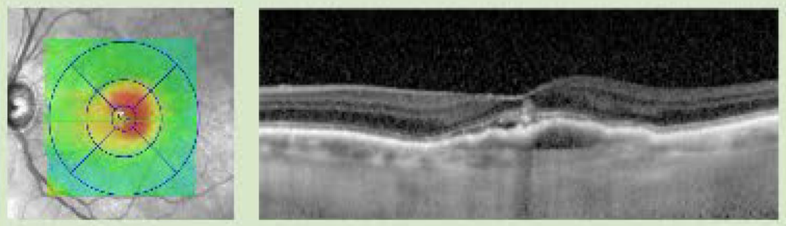
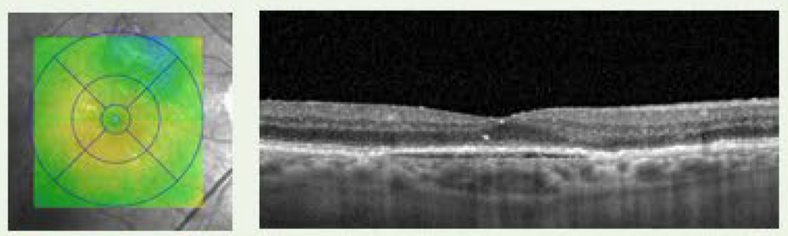
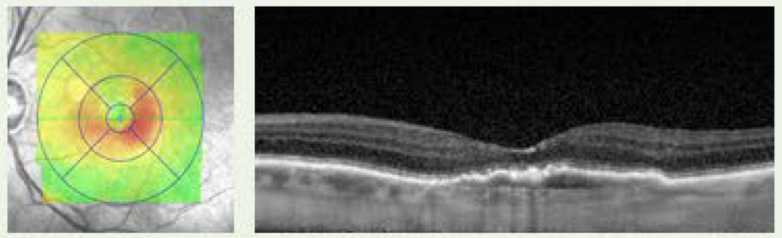
ATGGTCAGCTACCTGTGCTGTGCGGCGCTGCTCAGCTGTCTGC
TTCTCACAGGATACCGGTAGAGATGTACGTAGAGATGTA
CAGTGAAATCCCGAAATTATACACATCGCTCGTCATTCC
CTGCCGGGTTACTTAAAAAAGTTACTTCCACTTGAC
ACTTTGATCCCTGATGGCTTCATCAAGGCTTCATC
ATATCAAATGCATCTGAAAGCAACAGTC
AATGGGCATTTGTAAGACAAACTATCTCACACATCAATC
ATAGATGTGGTTCCGTCTCATCTGAGTCCATGTTACAGGCAAGAACTGAAGTTGTACTTCGAAGCATCAGCATAAGAAACTGGAAGTGAGGAGTTGACCTGAAGGAGTGAGGATGAAGAAGGAGTTGTAGTTCTCAGTGGCAGTTGGTGTGGCTGATGTTGATCTCCTGGGGGACCGTTCAGTCTTCCTCTTGAGGTCACATGCAAGCTGAGGTCAAGTTCAGGTTGAGGCCAGTACAGAGACAAAGCCGCGGCGGGAGGAGGTGCATAATTGAGGACTGGAGTGGCTGATTCTCACCGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGCCCCCATCGTCCAACAAGGTGCAAGCCCTCCTCCAGGGCTCACACCAGAAAACCATCTTCCTGCCCCCATCCAAGAACCAGGTCAGGCTGACCTATCCAGCGTGGAGTGGCTTCCCGTCTACAGCAAGAGCTCACCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC
ATGGTCAGCTACCTGTGCTGTGCGGCGCTGCTCAGCTGTCTGC
TTCTCACAGGATACCGGTAGAGATGTACGTAGAGATGTA
CAGTGAAATCCCGAAATTATACACATCGCTCGTCATTCC
CTGCCGGGTTACTTAAAAAAGTTACTTCCACTTGAC
ACTTTGATCCCTGATGGCTTCATCAAGGCTTCATC
ATATCAAATGCATCTGAAAGCAACAGTC
AATGGGCATTTGTAAGACAAACTATCTCACACATCAATC
ATAGATGTGGTTCCGTCTCATCTGAGTCCATGTTACAGGCAAGAACTGAAGTTGTACTTCGAAGCATCAGCATAAGAAACTGGAAGTGAGGAGTTGACCTGAAGGAGTGAGGATGAAGAAGGAGTTGTAGTTCTCAGTGGCAGTTGGTGTGGCTGATGTTGATCTCCTGGGGGACCGTTCAGTCTTCCTCTTGAGGTCACATGCAAGCTGAGGTCAAGTTCAGGTTGAGGCCAGTACAGAGACAAAGCCGCGGCGGGAGGAGGTGCATAATTGAGGACTGGAGTGGCTGATTCTCACCGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGCCCCCATCGTCCAACAAGGTGCAAGCCCTCCTCCAGGGCTCACACCAGAAAACCATCTTCCTGCCCCCATCCAAGAACCAGGTCAGGCTGACCTATCCAGCGTGGAGTGGCTTCCCGTCTACAGCAAGAGCTCACCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC

【圖5】

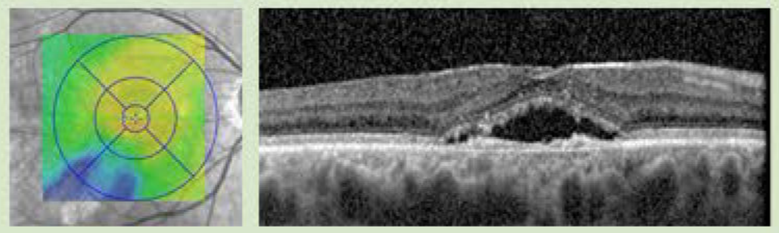
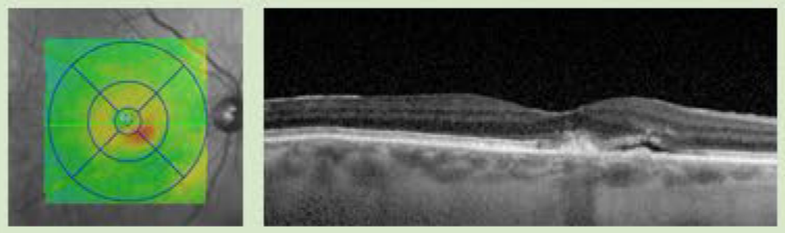
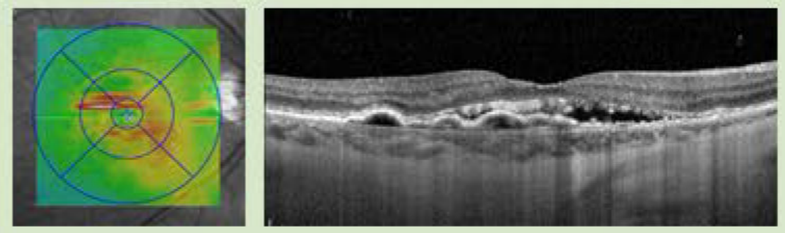
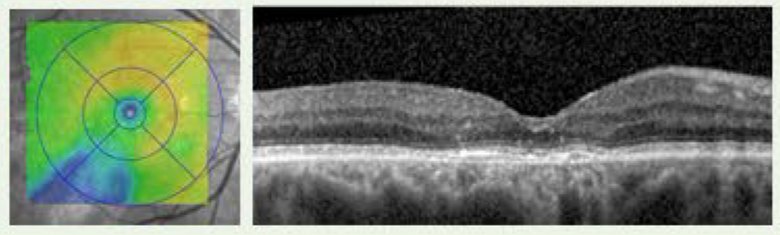
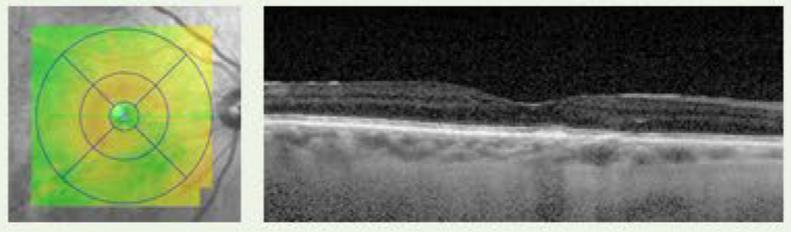
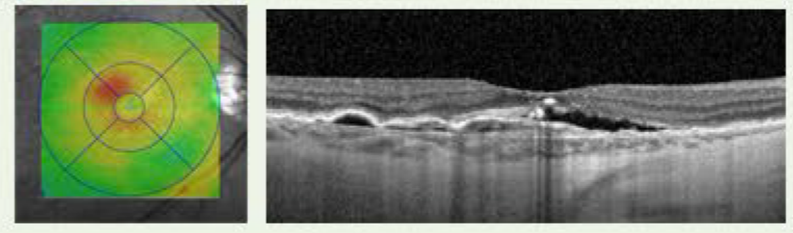


【圖6】

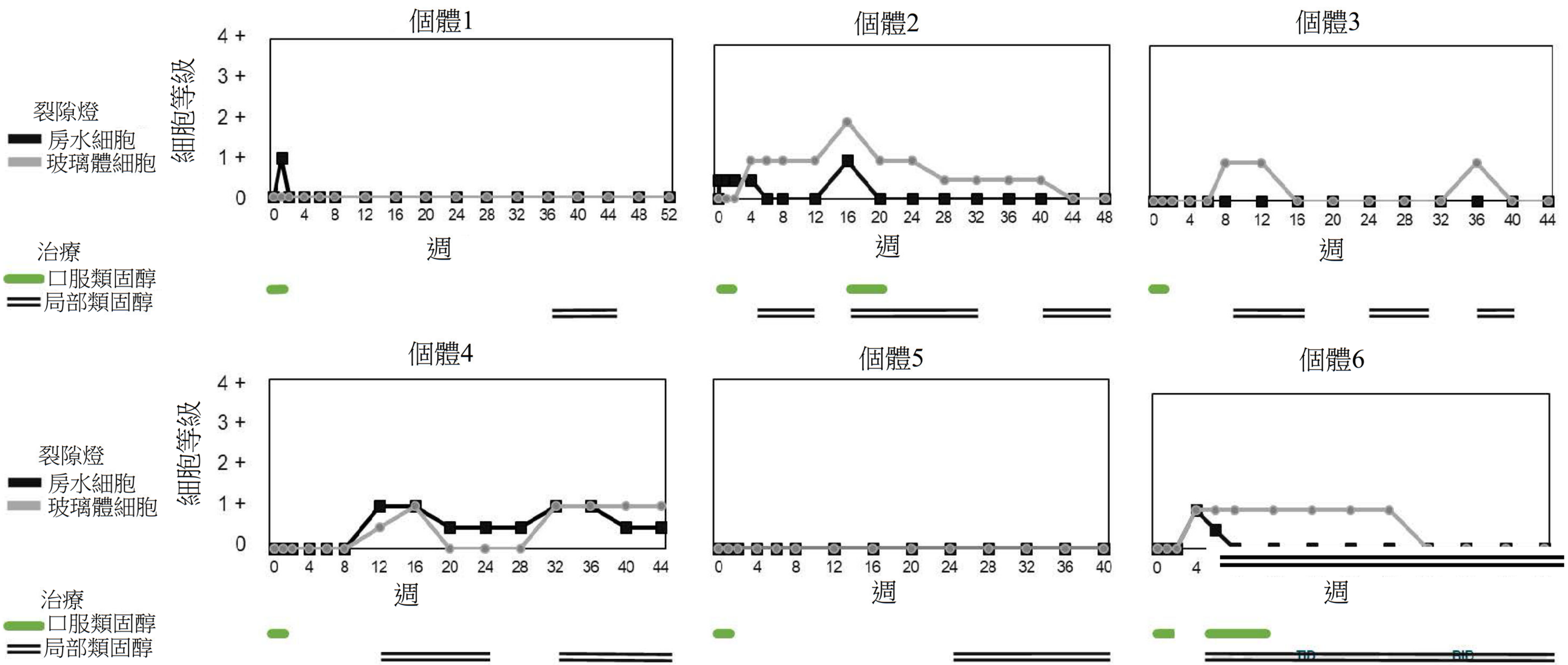
202117016

	個體1：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後44週	個體2：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後40週	個體3：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後36週
基線OCT			
最近一次OCT			
自基線之BCVA變化，ETDRS字母	+3	-9	-6
在此研究之前的8個月內的IVT，n	5	6	6
在此研究期間的救援IVT，n	0	0	0

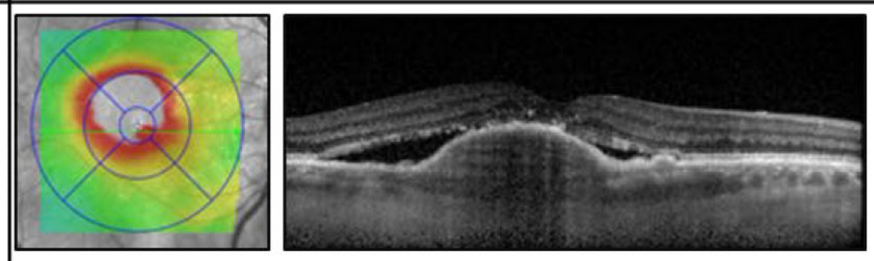
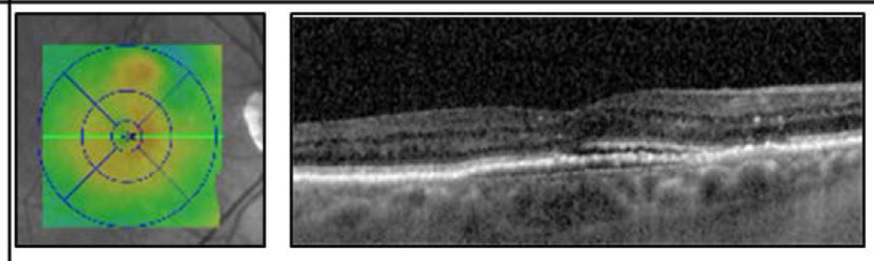
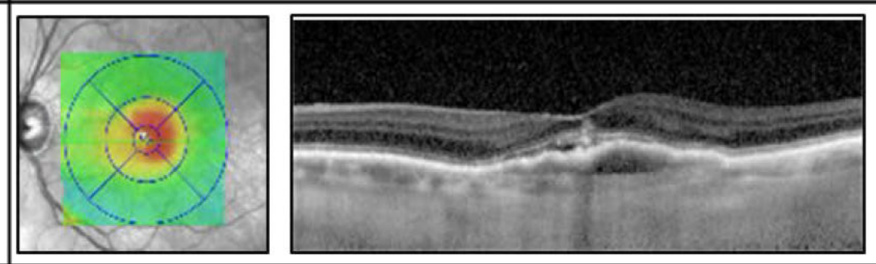
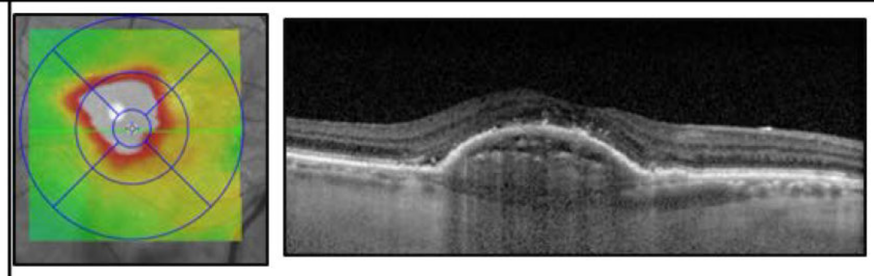
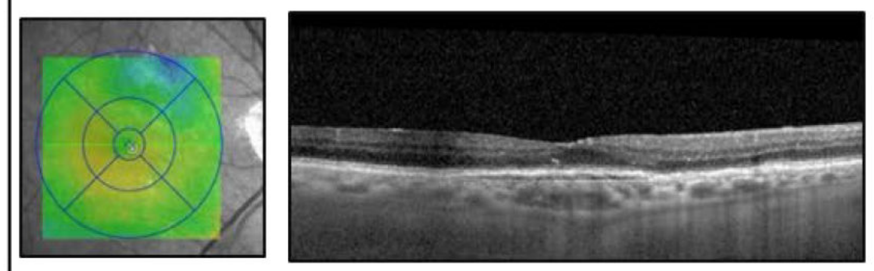
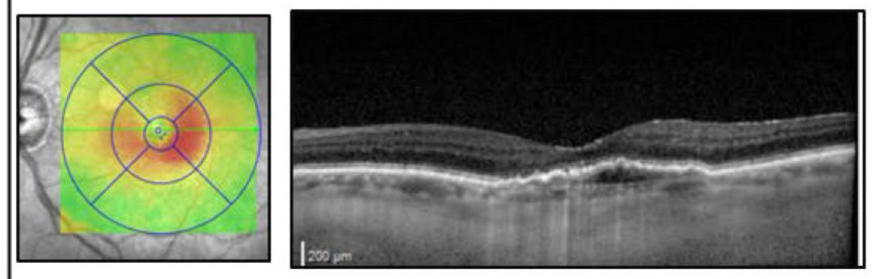
【圖7A】

	個體4：使用AAV2.7m8- 阿柏西普之後32週	個體5：使用AAV2.7m8- 阿柏西普之後28週	個體6：使用AAV2.7m8- 阿柏西普之後28週
基線OCT			
最近一次OCT			
自基線之BCVA變化，ETDRS字母	+5	+1	-3
在此研究之前的8個月內的IVT，n	6	6	8
在此研究期間的救援IVT，n	0	0	0

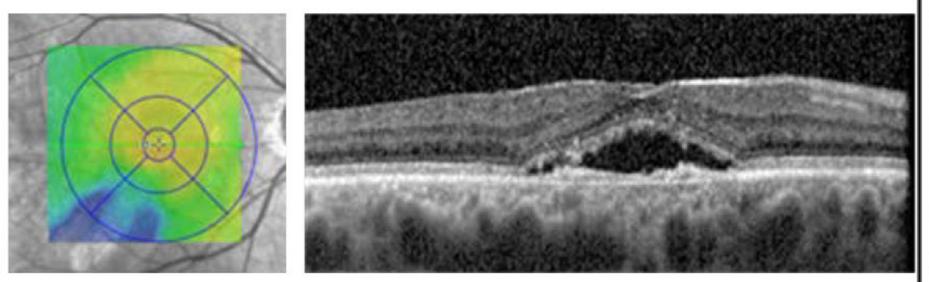
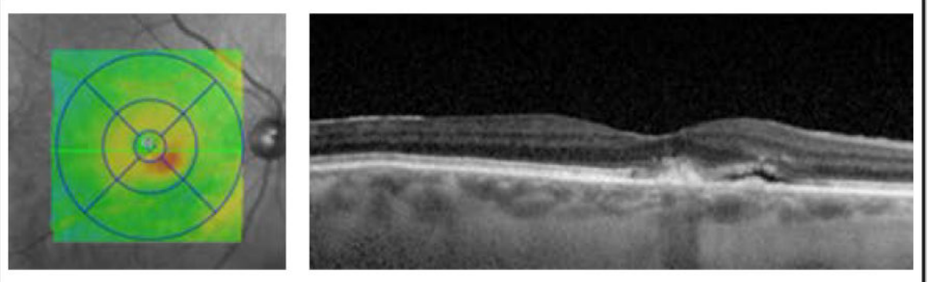
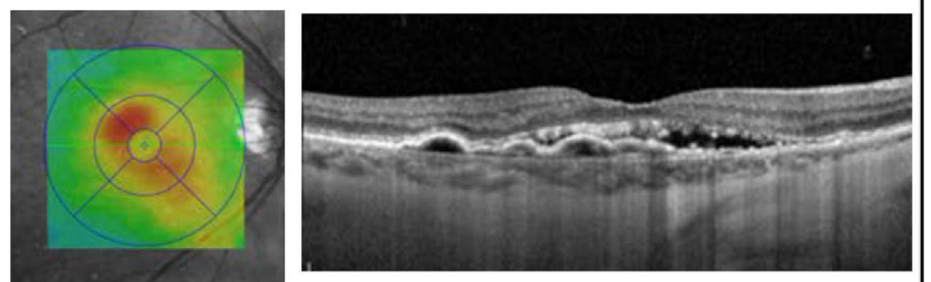
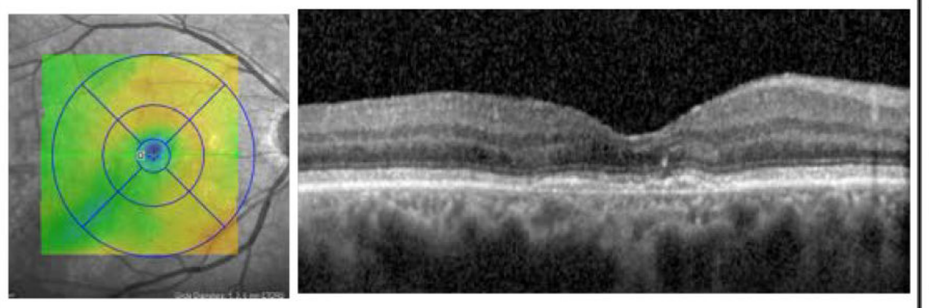
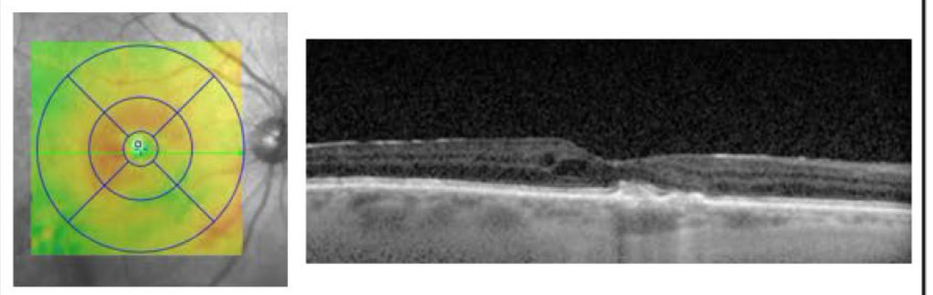
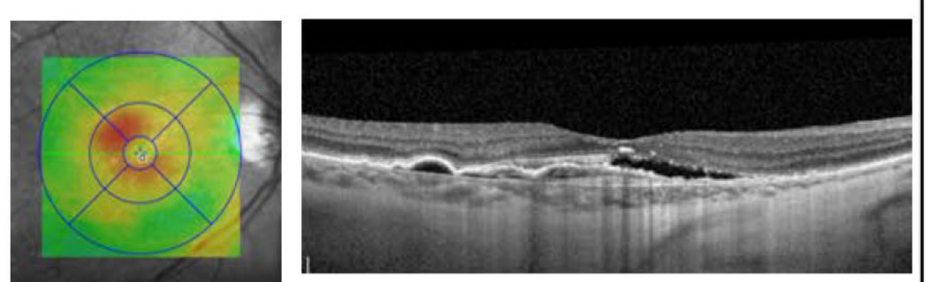
【圖7B】


個體1
個體2
個體3
細胞等級
4 +
3 +
2 +
1 +
0
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40 44 48 52
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40 44 48
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40 44
週
裂隙燈
房水細胞
玻璃體細胞
治療
口服類固醇
局部類固醇
個體4
個體5
個體6
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40 44
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40
0 4
TID
BID

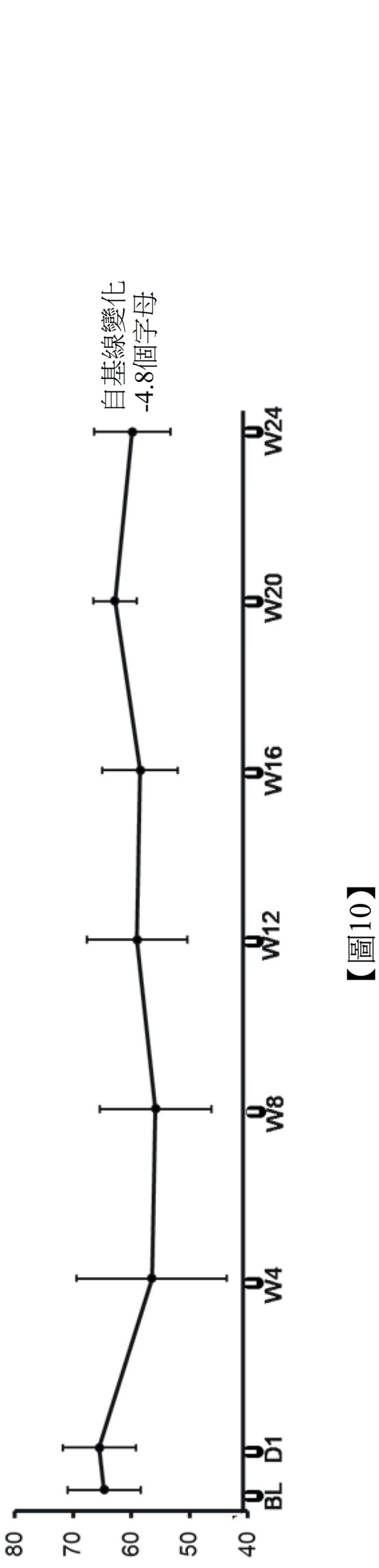
【圖8】

	個體1：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後52週	個體2：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後48週	個體3：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後44週
基線OCT			
最近一次OCT			
自基線之BCVA變化，ETDRS字母	**+7**	**–6**	**–7**
自基線之CST變化，μm	**+32**	**-29**	**-55**

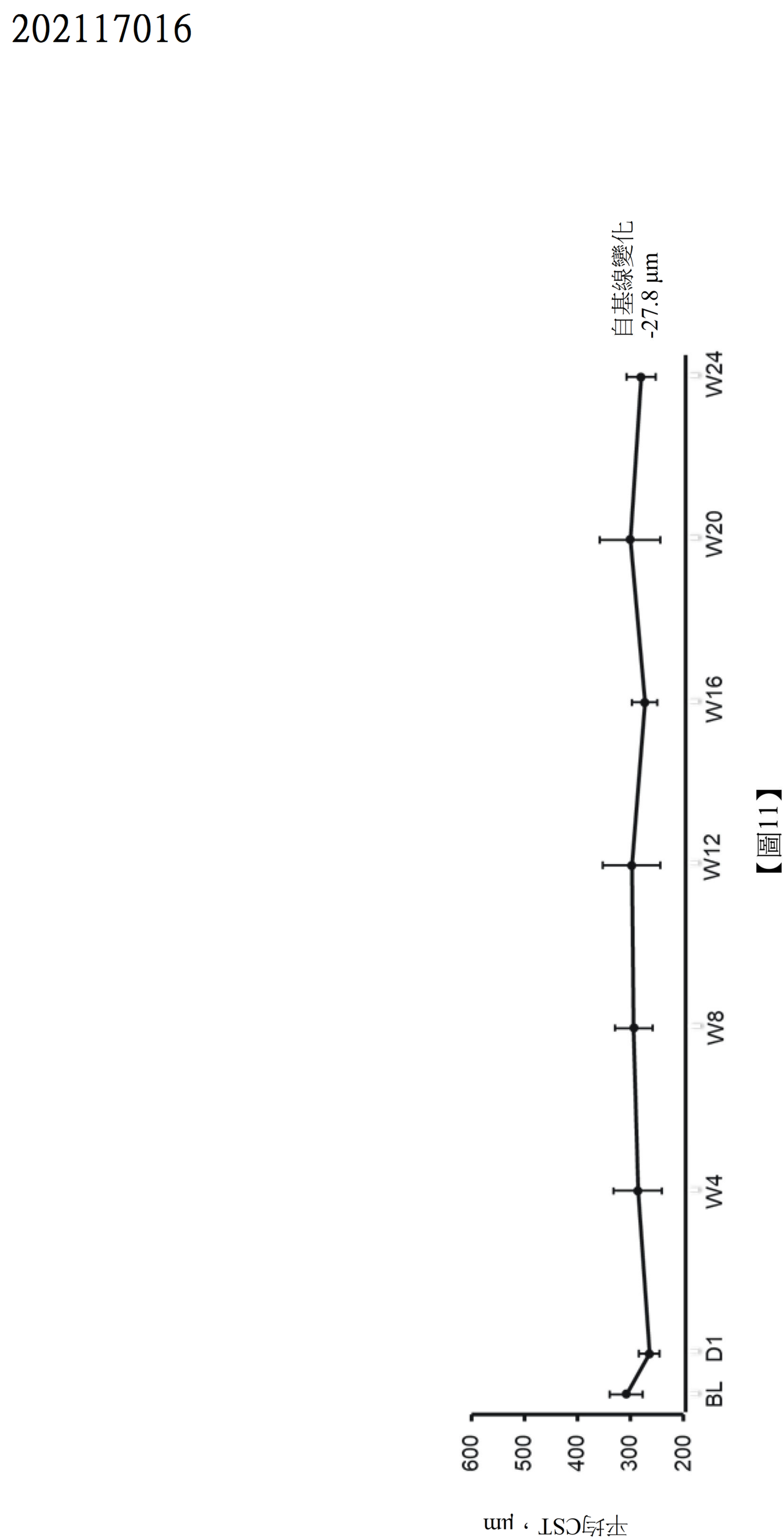
【圖9A】

	個體4：使用AAV2.7m8- 阿柏西普之後44週*	個體5：使用AAV2.7m8- 阿柏西普之後40週	個體6：使用AAV2.7m8- 阿柏西普之後40週
基線OCT			
最近一次 OCT			
自基線之BCVA 變化，ETDRS 字母	**+5***	**-2**	**–3**
自基線之CST 變化，μm	**–117***	**+4**	**+12**

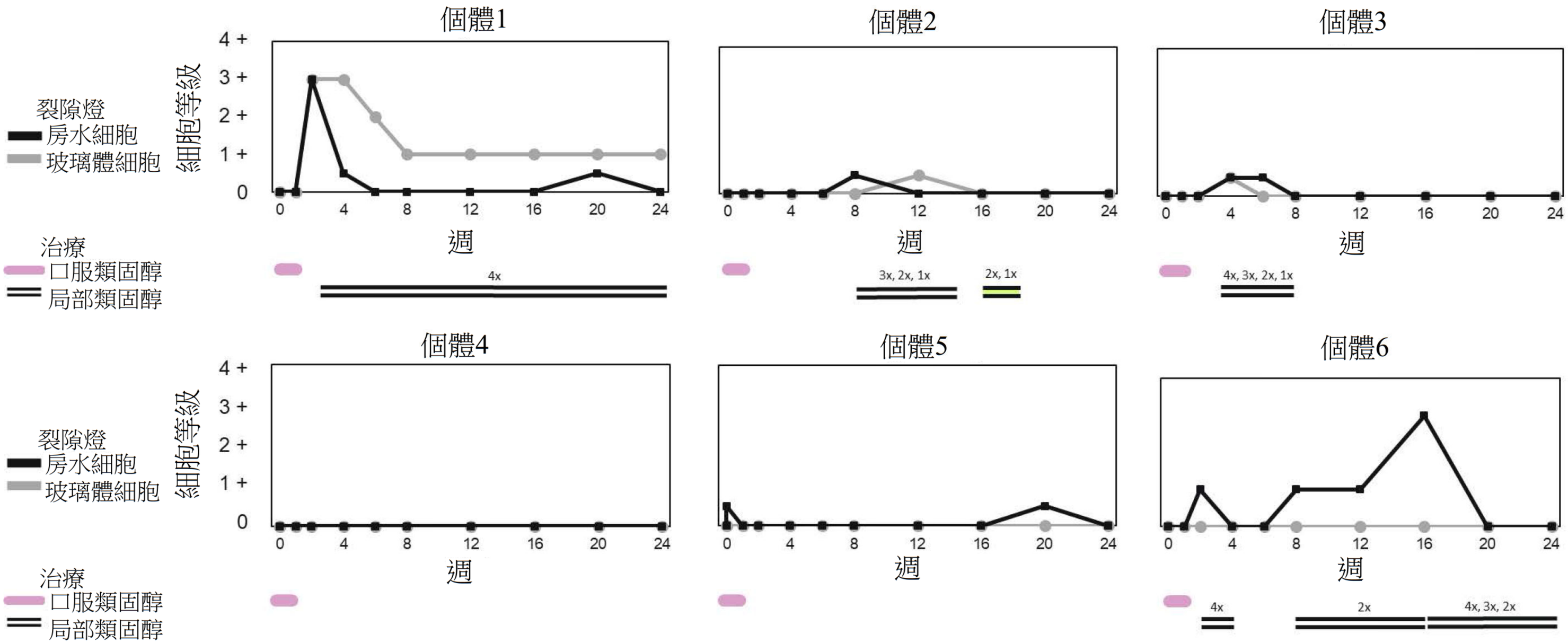
【圖9B】


自基線變化
-4.8個字母
W24
W20
W16
W12
W8
W4
D1
BL
80
70
60
50
40
平均BCVA，
ETDRS字母

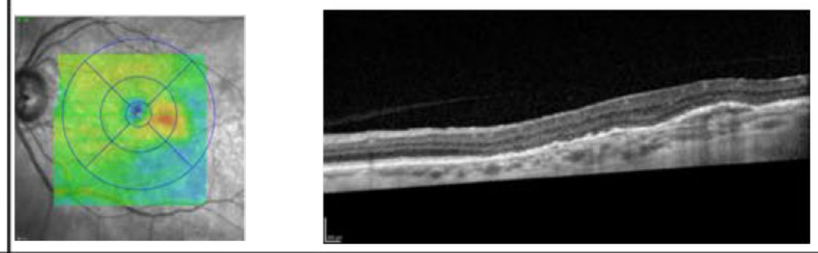
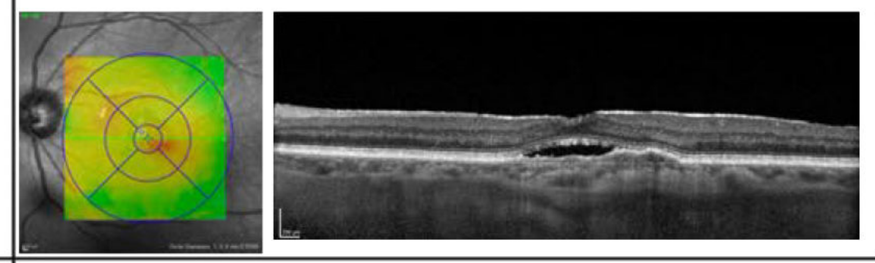
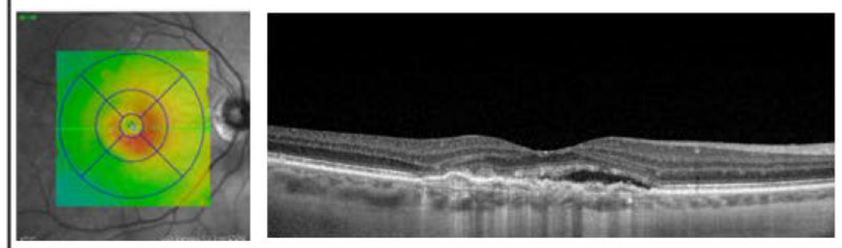
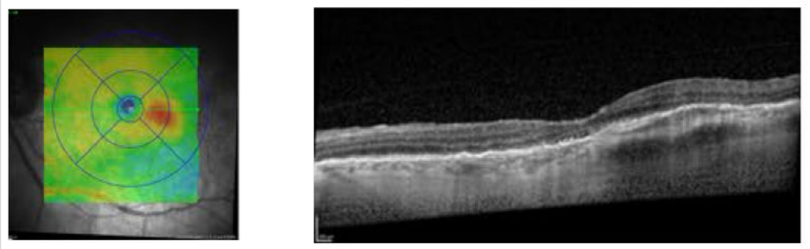
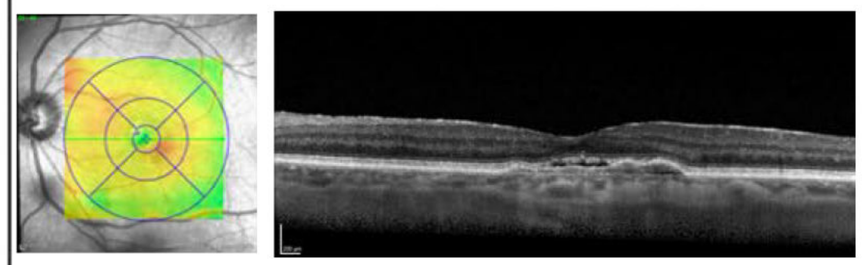
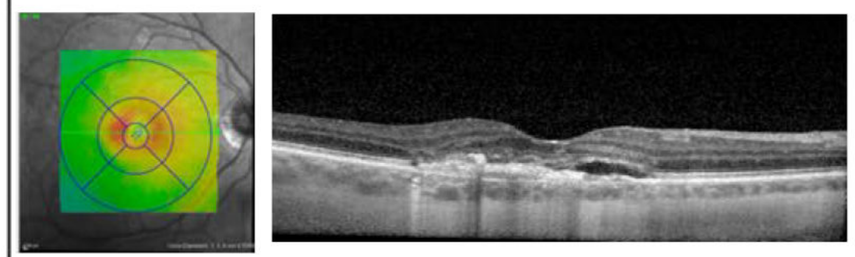
【圖10】


自基線變化
-27.8 μm
W24
W20
W16
W12
W8
W4
D1
BL
600
500
400
300
200
平均CST，μm

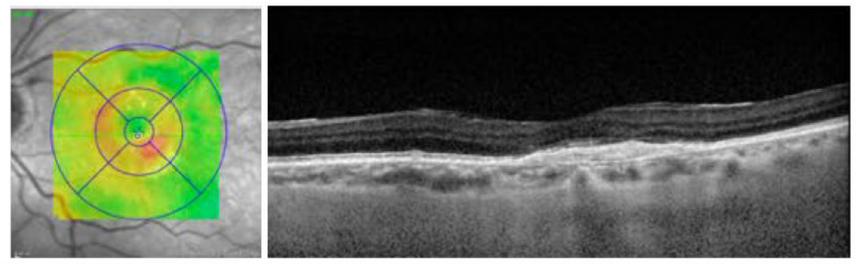
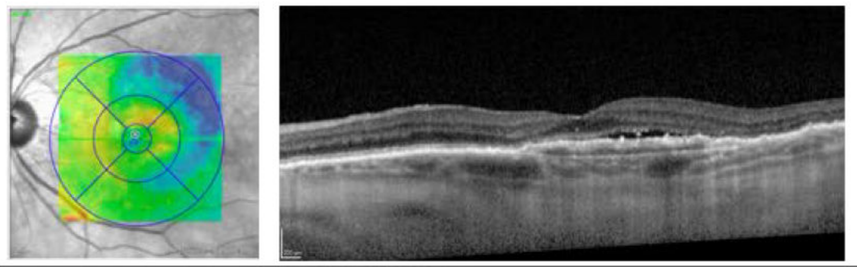
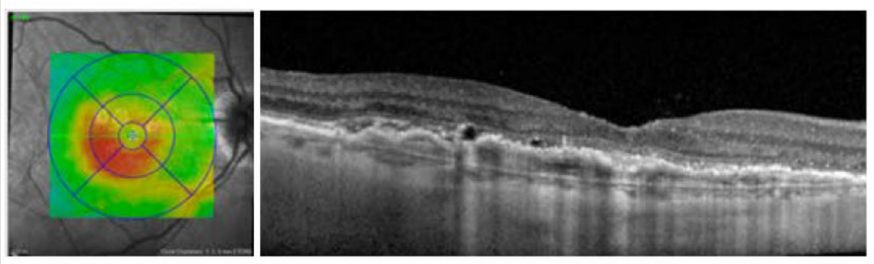
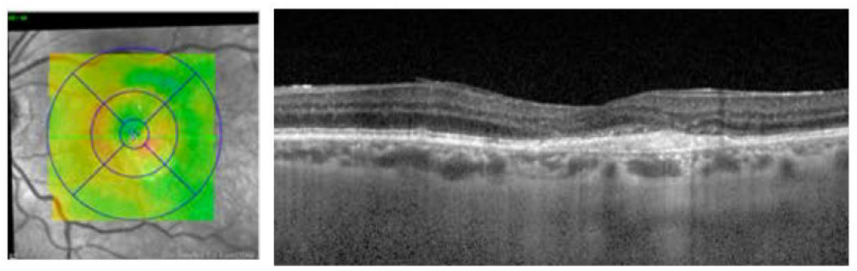
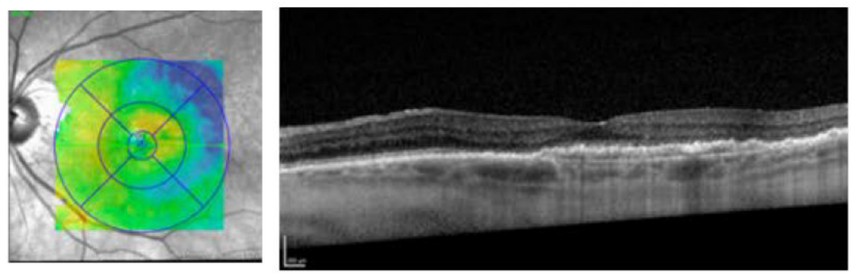
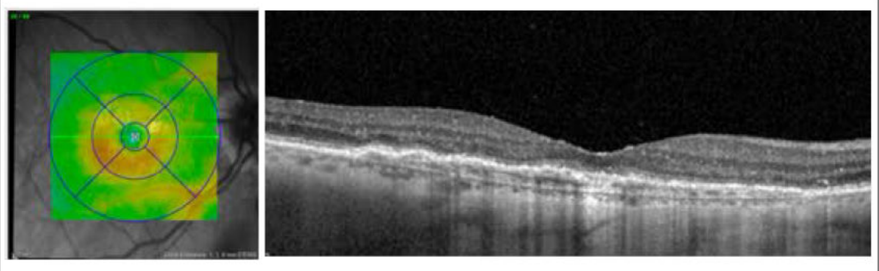
【圖11】


個體1
個體2
個體3
細胞等級
4 +
3 +
2 +
1 +
0
0
4
8
12
16
20
24
週
裂隙燈
房水細胞
玻璃體細胞
治療
口服類固醇
局部類固醇
4x
3x, 2x, 1x
2x, 1x
4x, 3x, 2x, 1x
個體4
個體5
個體6
4x
2x
4x, 3x, 2x

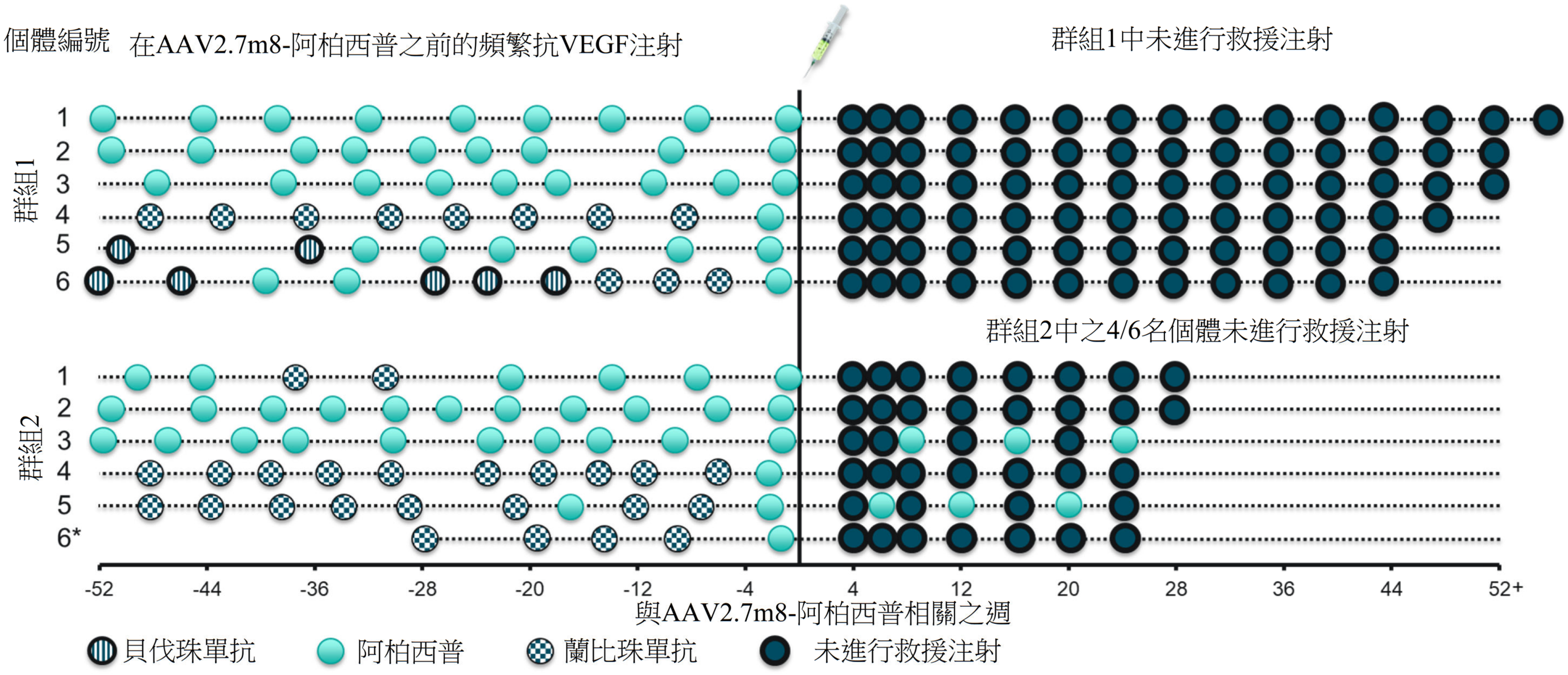
【圖12】

	個體1：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後24週	個體2：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後24週	個體3：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後24週
基線OCT			
最近一次OCT			
自基線之BCVA變化，ETDRS字母	**–4**	**–1**	**–19***
自基線之CST變化，μm	**–8**	**–38**	**–11***
救援IVT注射，n	**0**	**0**	**3***

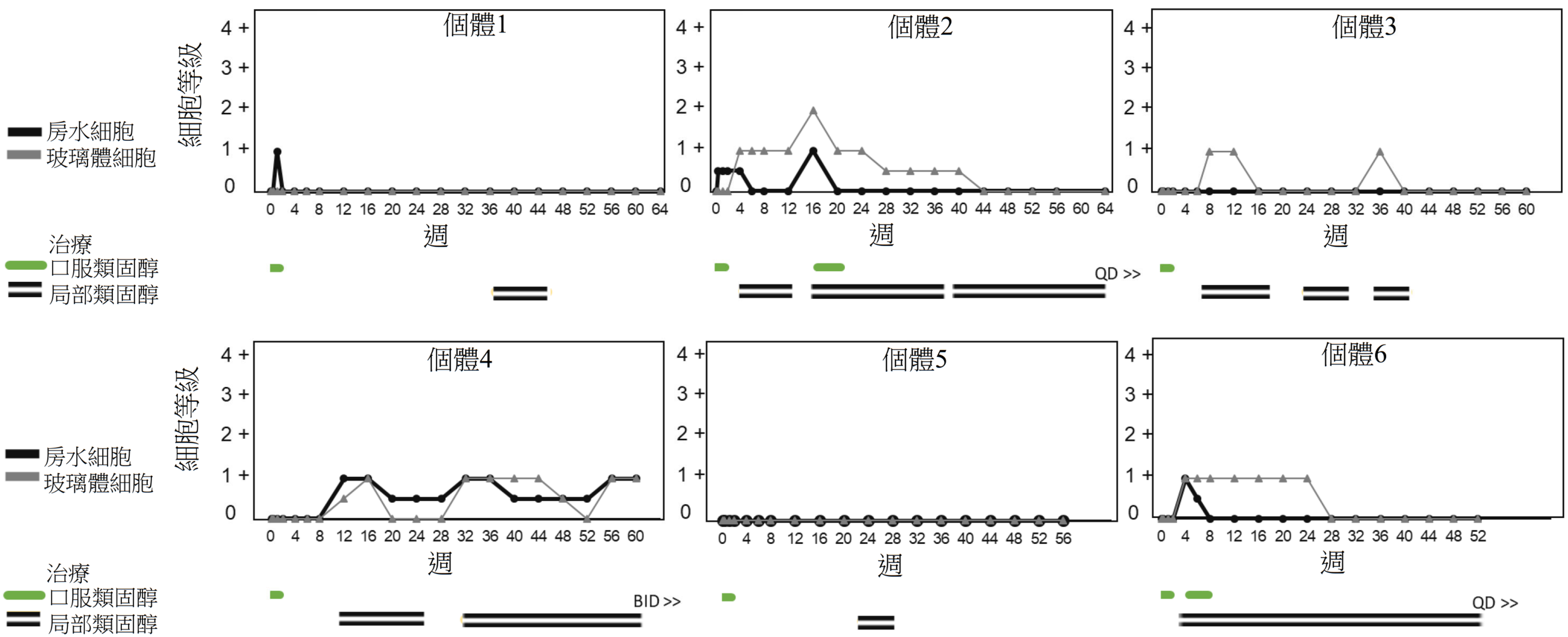
【圖13A】

	個體4：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後24週	個體5：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後24週	個體6：使用AAV2.7m8-阿柏西普之後24週
基線OCT			
最近一次OCT			
自基線之BCVA變化，ETDRS字母	**–14**	**–7***	**+16**
自基線之CST變化，μm	**–16**	**–33***	**–61**
救援IVT注射，n	**0**	**3***	**0**

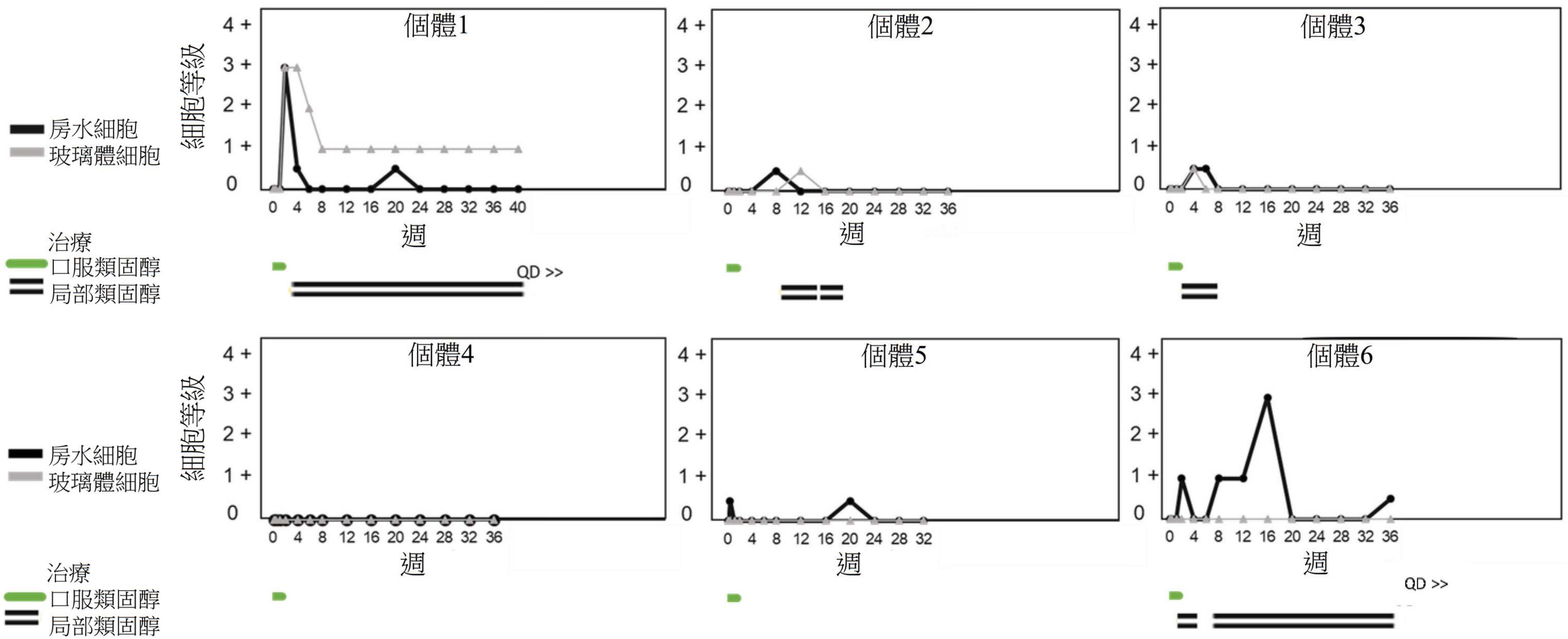
【圖13B】


個體編號
在AAV2.7m8-阿柏西普之前的頻繁抗VEGF注射
群組1中未進行救援注射
群組1
1
2
3
4
5
6
群組2中之4/6名個體未進行救援注射
群組2
1
2
3
4
5
6*
-52
-44
-36
-28
-20
-12
-4
4
12
20
28
36
44
52+
與AAV2.7m8-阿柏西普相關之週
貝伐珠單抗
阿柏西普
蘭比珠單抗
未進行救援注射

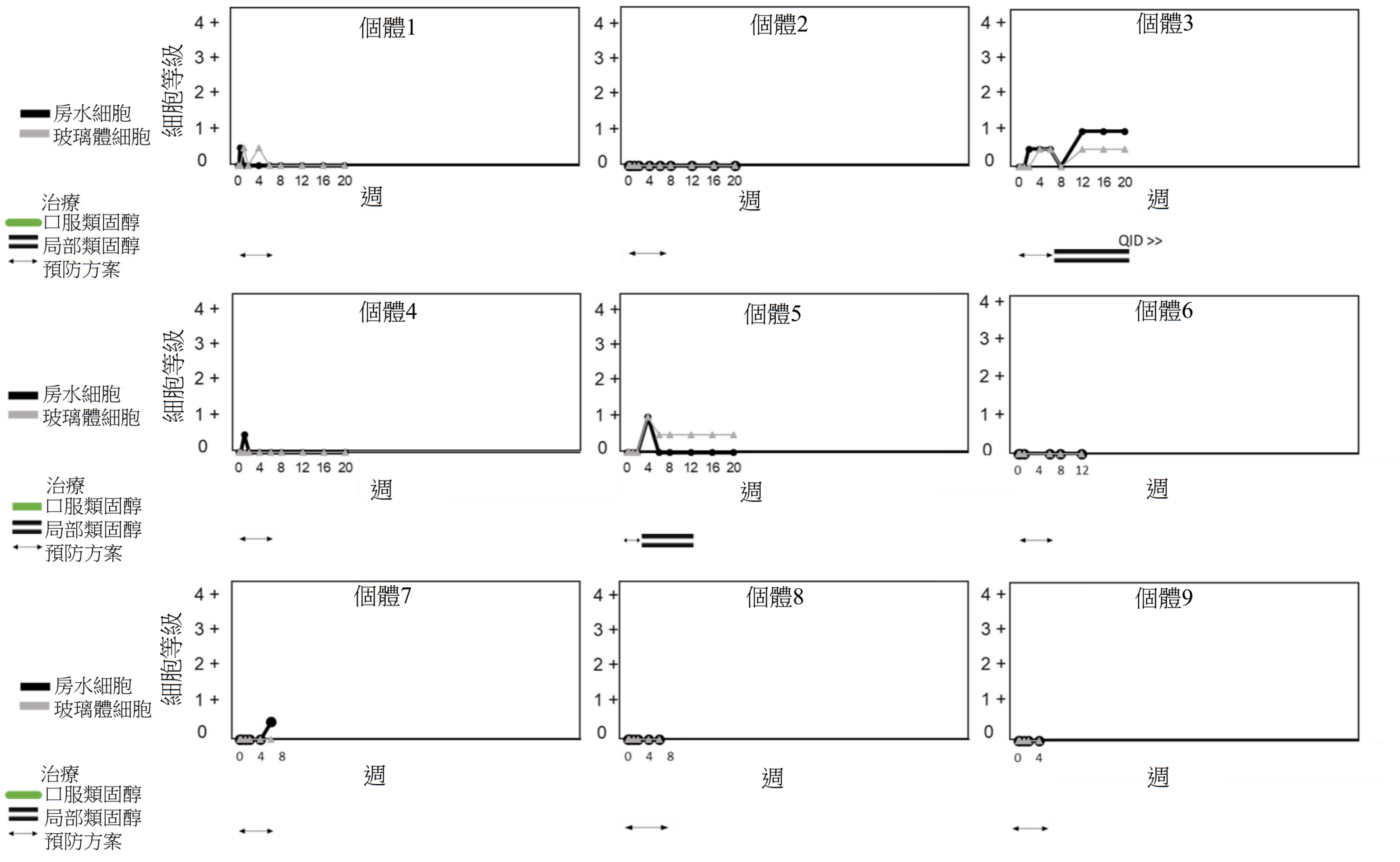
【圖14】


個體1
個體2
個體3
個體4
個體5
個體6
細胞等級
4 +
3 +
2 +
1 +
0
週
房水細胞
玻璃體細胞
治療
口服類固醇
局部類固醇
QD >>
BID >>

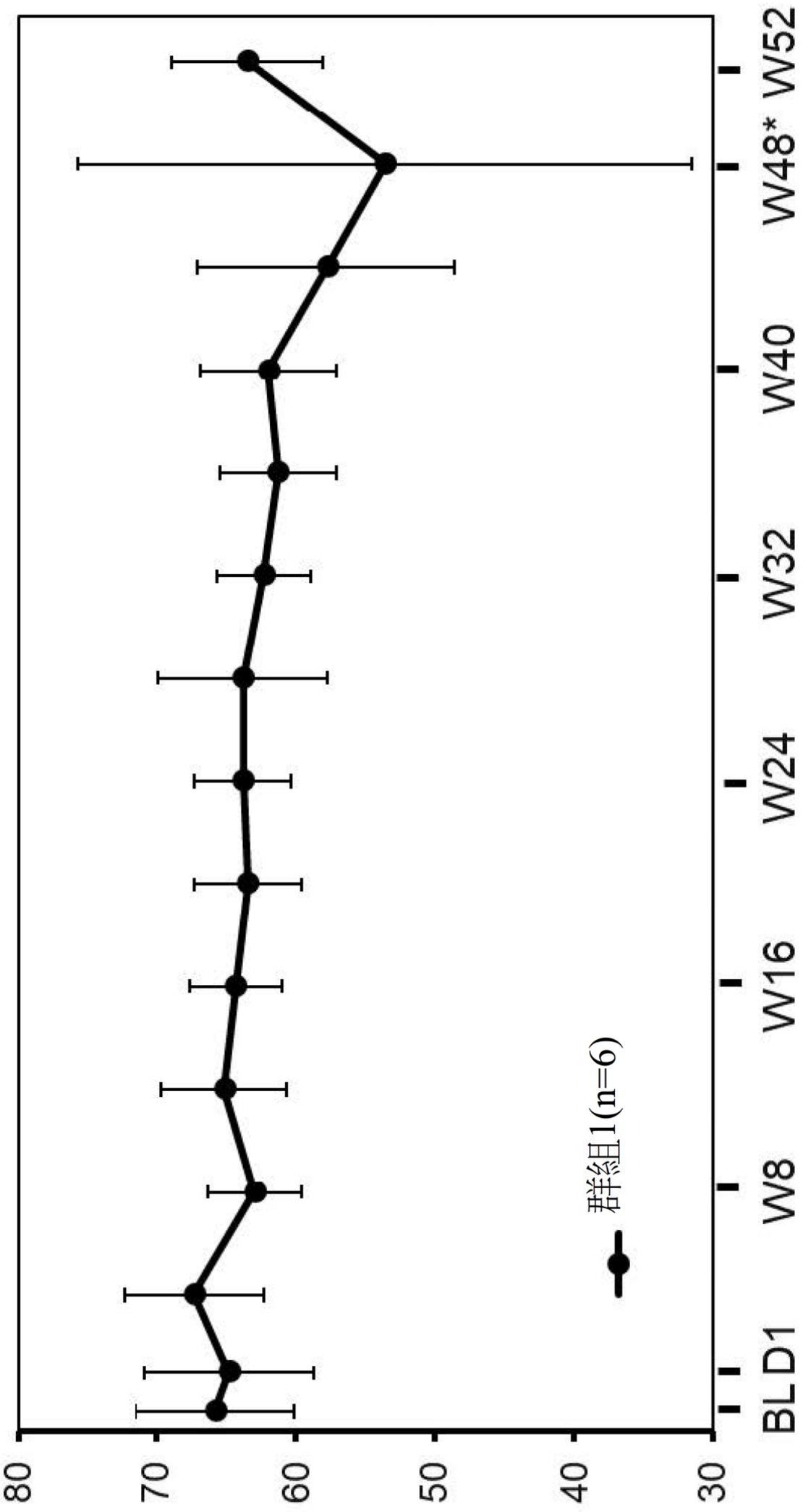
【圖15A】


個體1
個體2
個體3
個體4
個體5
個體6
細胞等級
4 +
3 +
2 +
1 +
0
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36
0 4 8 12 16 20 24 28 32
週
房水細胞
玻璃體細胞
治療
口服類固醇
局部類固醇
QD >>

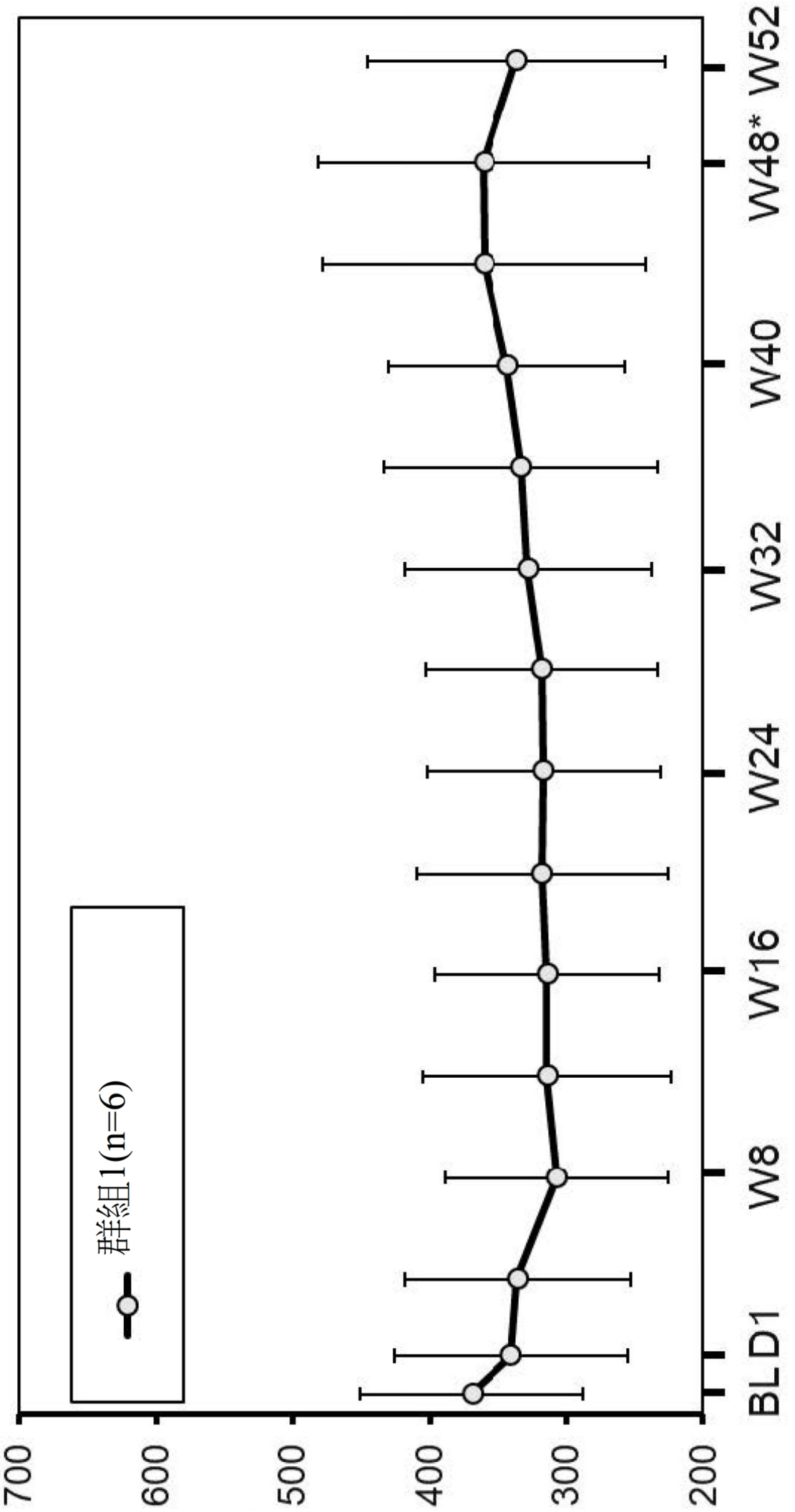
【圖15B】


個體1
個體2
個體3
個體4
個體5
個體6
個體7
個體8
個體9
細胞等級
4 +
3 +
2 +
1 +
0
0 4 8 12 16 20
週
房水細胞
玻璃體細胞
治療
口服類固醇
局部類固醇
預防方案
QID >>

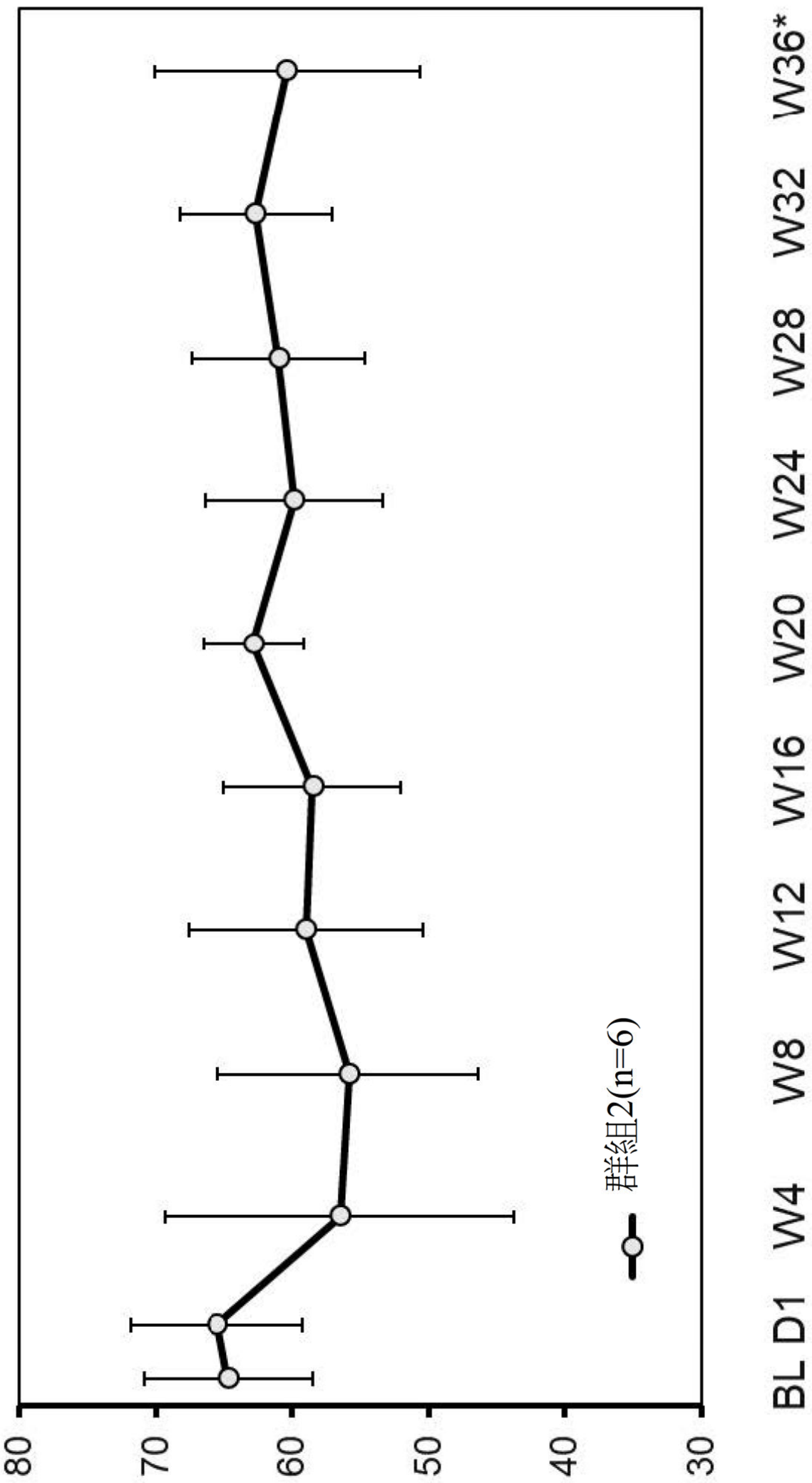
【圖15C】


80
70
60
50
40
30
BL
D1
W8
W16
W24
W32
W40
W48*
W52
群組1(n=6)
平均BCVA，ETDRS字母

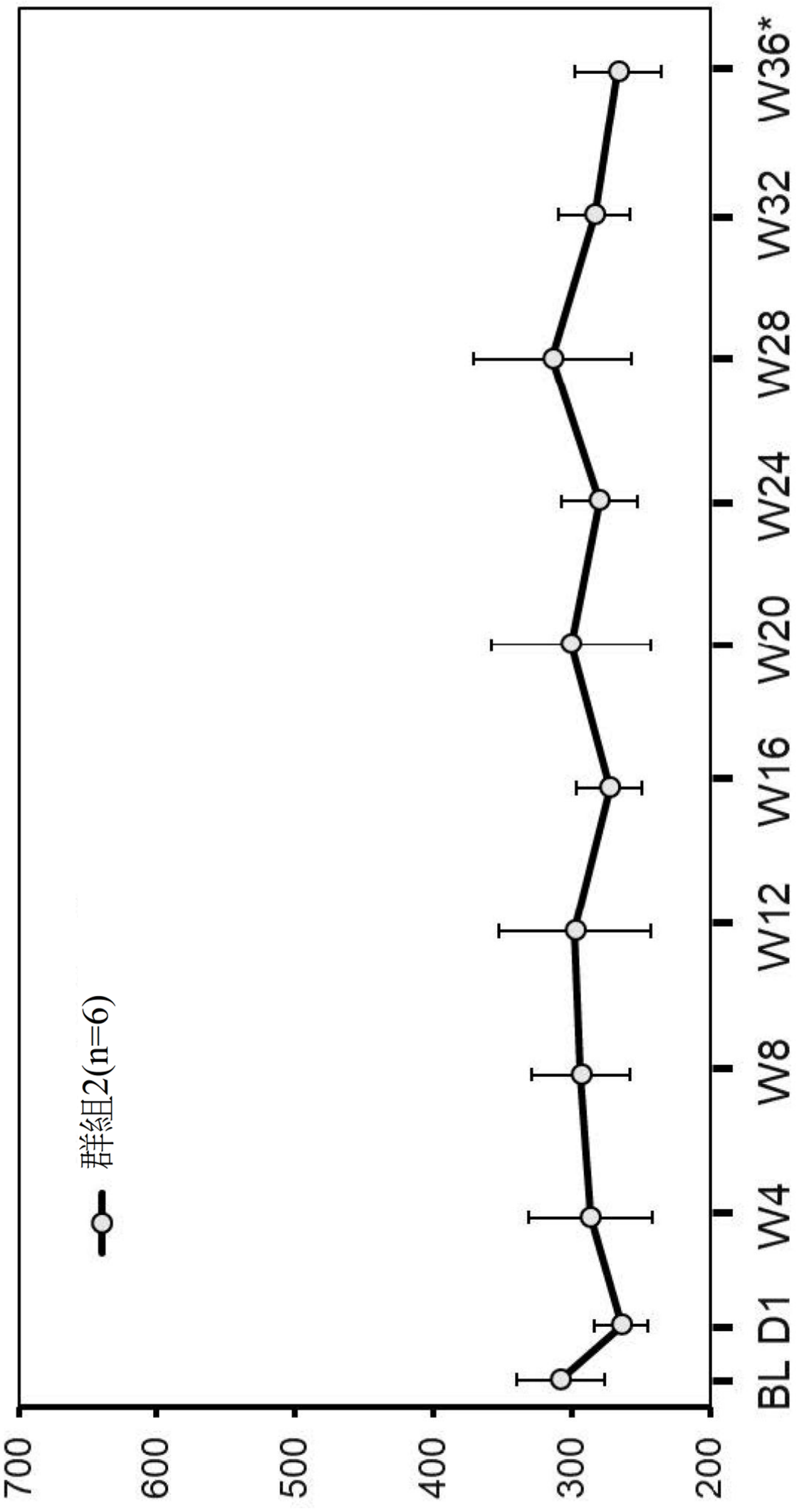
【圖16A】


700
600
500
400
300
200
平均CST，μm
BL
D1
W8
W16
W24
W32
W40
W48*
W52
群組1(n=6)

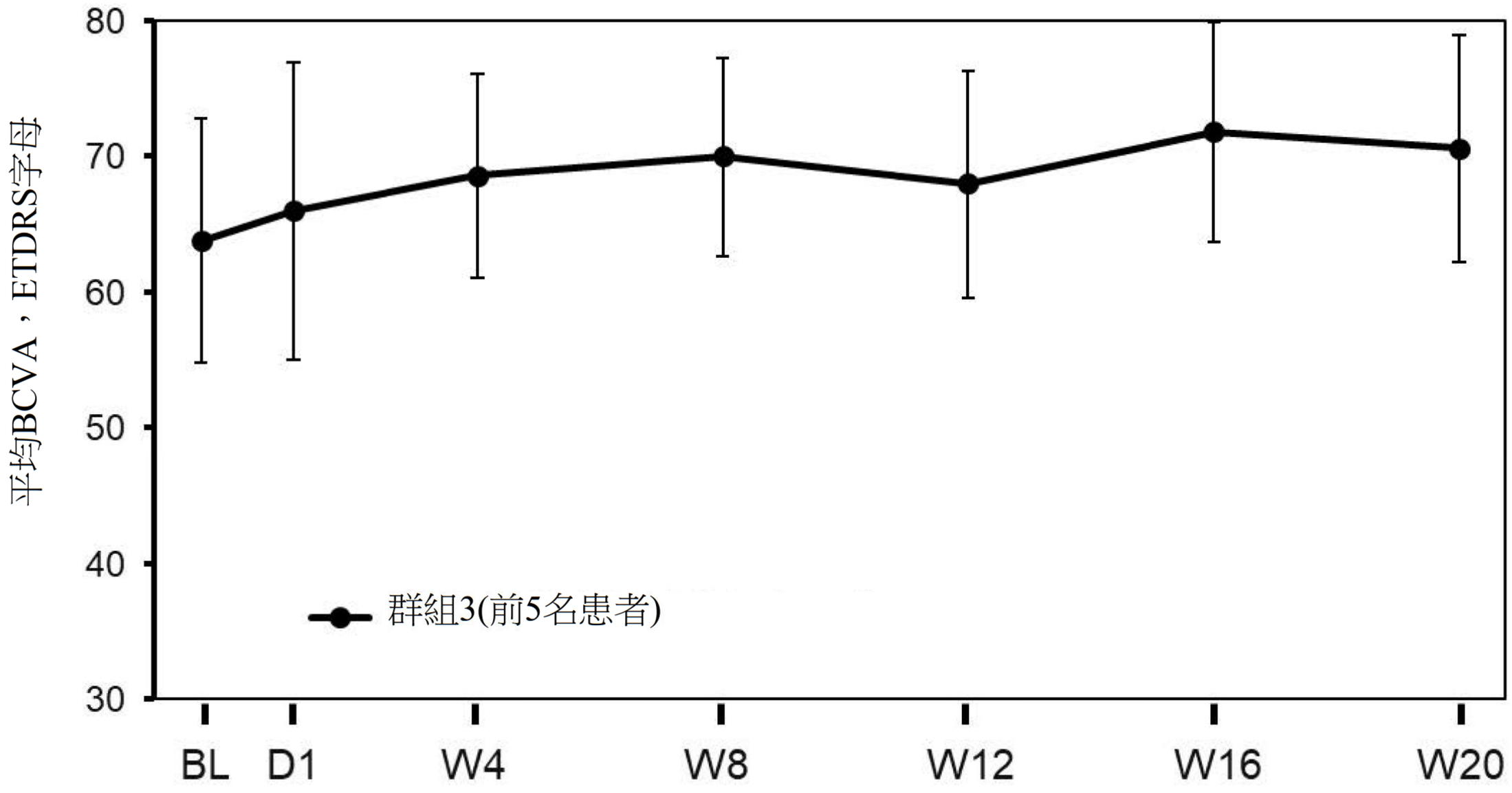
【圖16B】


80
70
60
50
40
30
平均BCVA，ETDRS字母
BL D1 W4 W8 W12 W16 W20 W24 W28 W32 W36*
群組2(n=6)

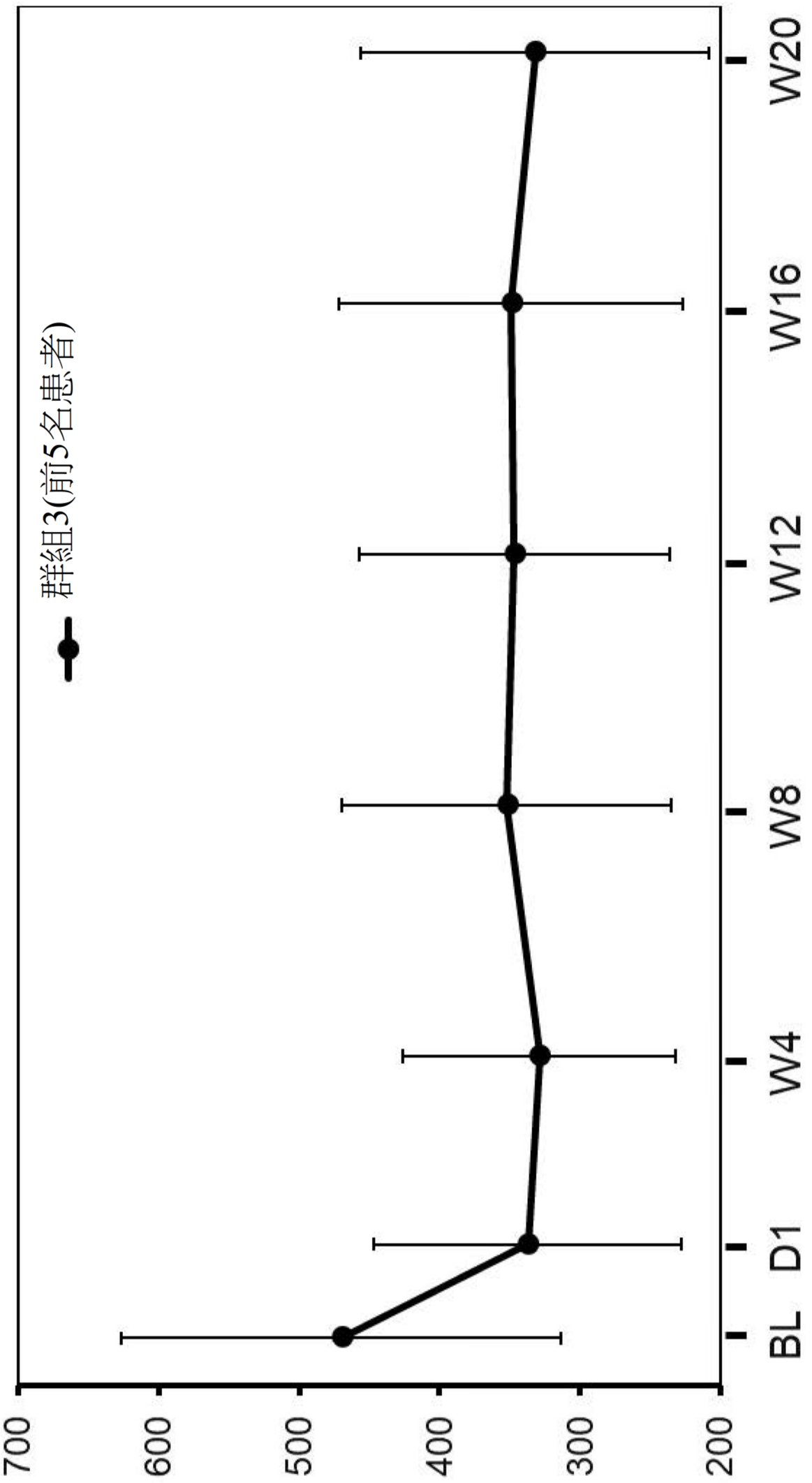
【圖17A】


群組2(n=6)
平均CST，μm
700
600
500
400
300
200
BL
D1
W4
W8
W12
W16
W20
W24
W28
W32
W36*

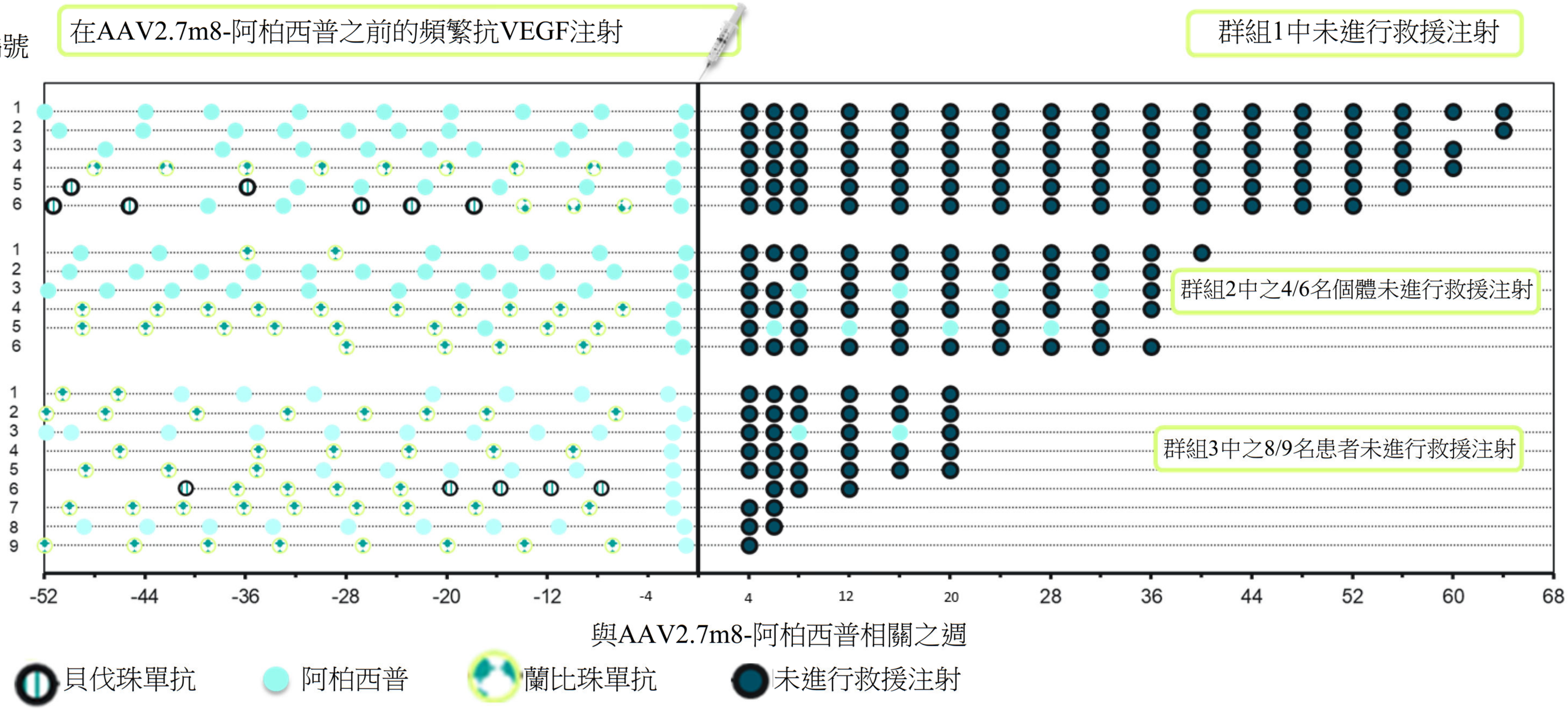
【圖17B】


80
70
60
50
40
30
平均BCVA，ETDRS字母
群組3(前5名患者)
BL
D1
W4
W8
W12
W16
W20

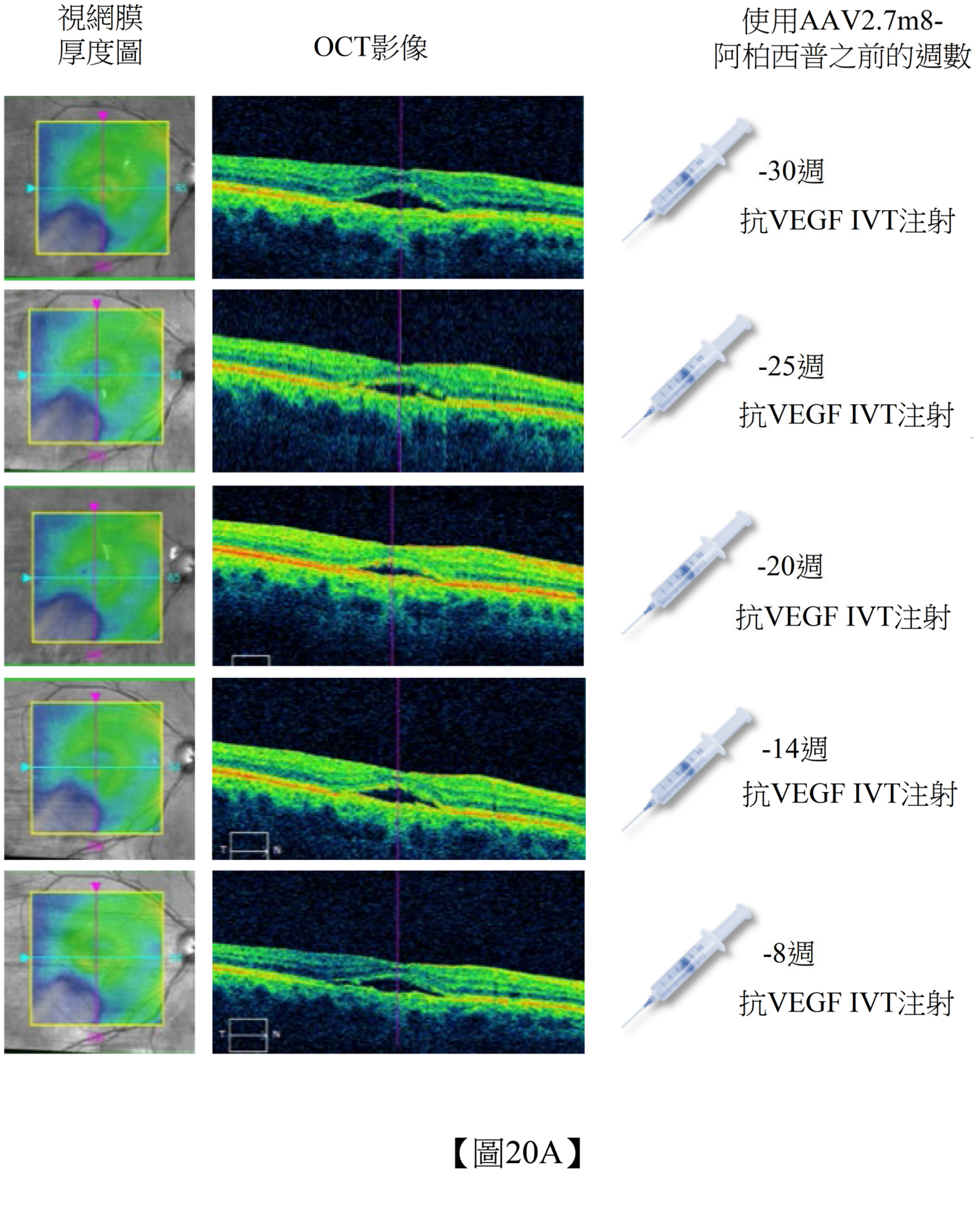
【圖18A】


群組3(前5名患者)
BL
D1
W4
W8
W12
W16
W20
700
600
500
400
300
200
平均CST，μm

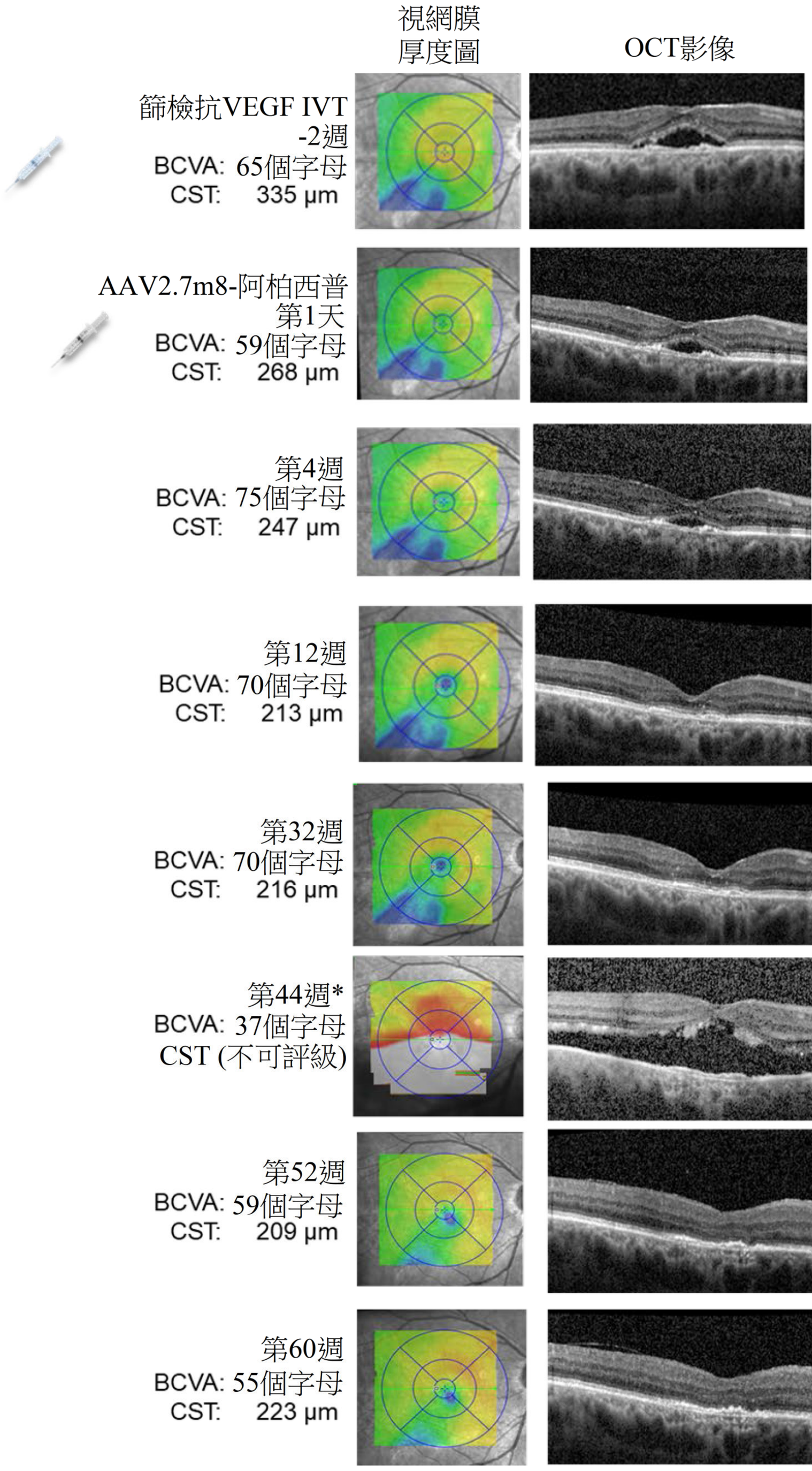
【圖18B】


在AAV2.7m8-阿柏西普之前的頻繁抗VEGF注射
群組1中未進行救援注射
群組2中之4/6名個體未進行救援注射
群組3中之8/9名患者未進行救援注射
個體編號
群組1
群組2
群組3
1
2
3
4
5
6
7
8
9
-52
-44
-36
-28
-20
-12
-4
4
12
20
28
36
44
52
60
68
與AAV2.7m8-阿柏西普相關之週
貝伐珠單抗
阿柏西普
蘭比珠單抗
未進行救援注射

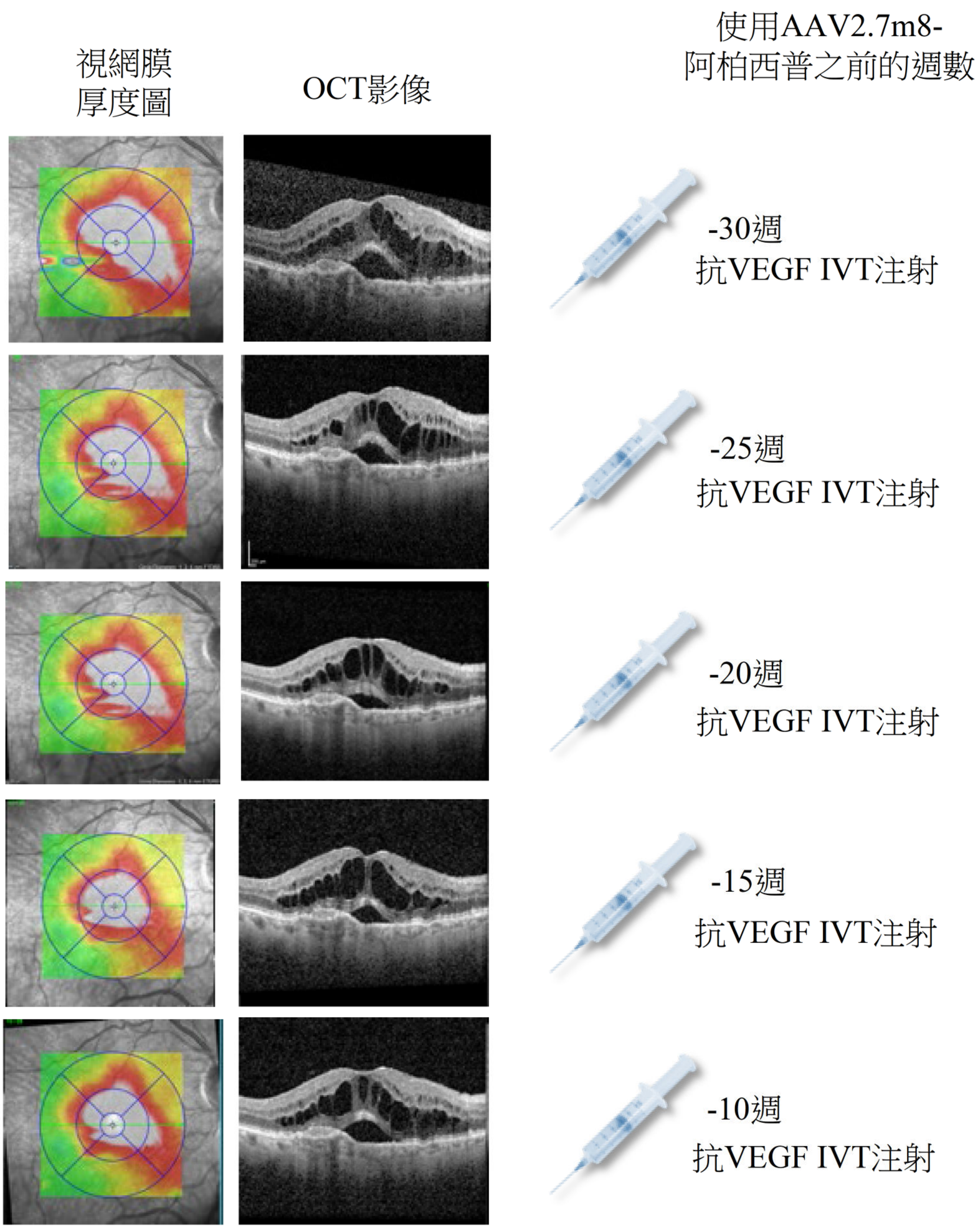
【圖19】


視網膜
厚度圖
OCT影像
使用AAV2.7m8-
阿柏西普之前的週數
-30週
抗VEGF IVT注射
-25週
抗VEGF IVT注射
-20週
抗VEGF IVT注射
-14週
抗VEGF IVT注射
-8週
抗VEGF IVT注射

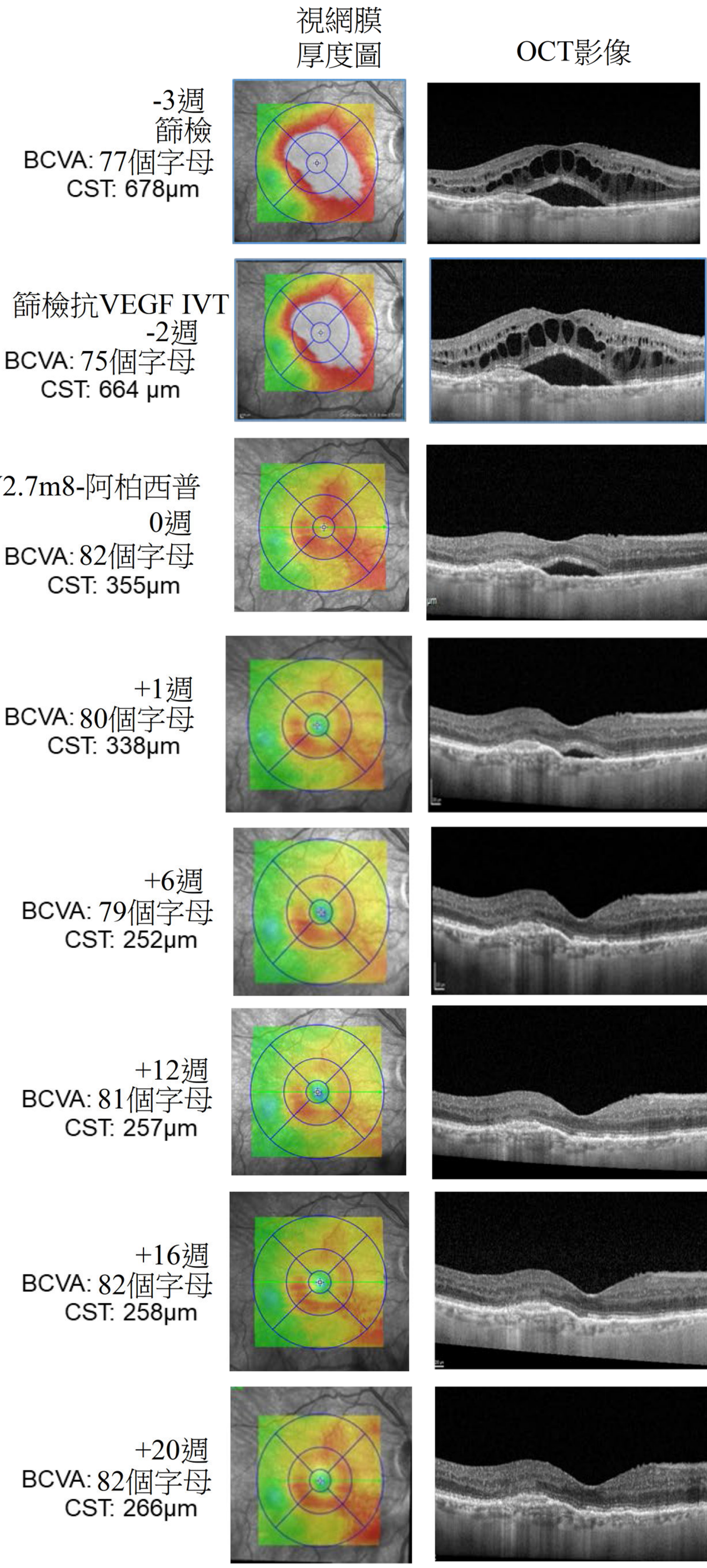
【圖20A】


視網膜
厚度圖
OCT影像
篩檢抗VEGF IVT
-2週
BCVA: 65個字母
CST: 335 μm
AAV2.7m8-阿柏西普
第1天
BCVA: 59個字母
CST: 268 μm
第4週
BCVA: 75個字母
CST: 247 μm
第12週
BCVA: 70個字母
CST: 213 μm
第32週
BCVA: 70個字母
CST: 216 μm
第44週*
BCVA: 37個字母
CST (不可評級)
第52週
BCVA: 59個字母
CST: 209 μm
第60週
BCVA: 55個字母
CST: 223 μm

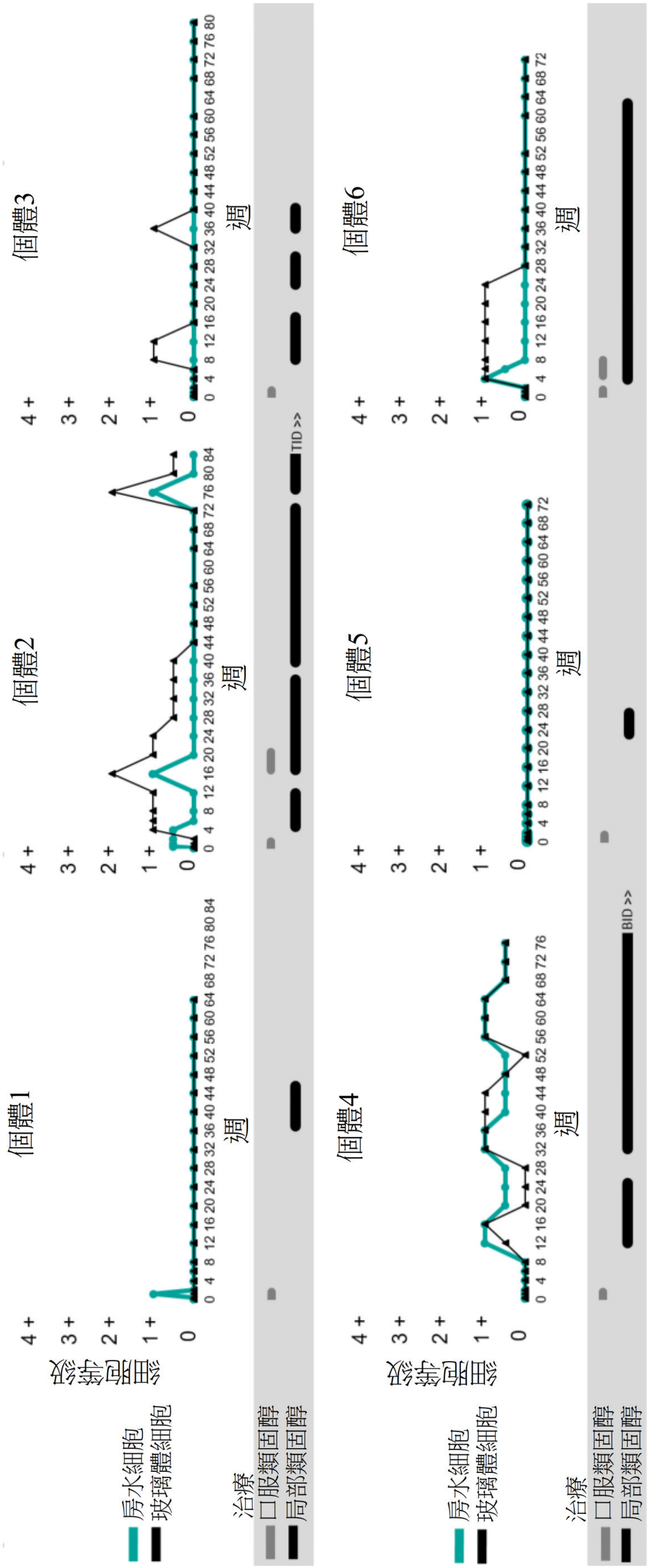
【圖20B】


視網膜
厚度圖
OCT影像
使用AAV2.7m8-
阿柏西普之前的週數
-30週
抗VEGF IVT注射
-25週
抗VEGF IVT注射
-20週
抗VEGF IVT注射
-15週
抗VEGF IVT注射
-10週
抗VEGF IVT注射

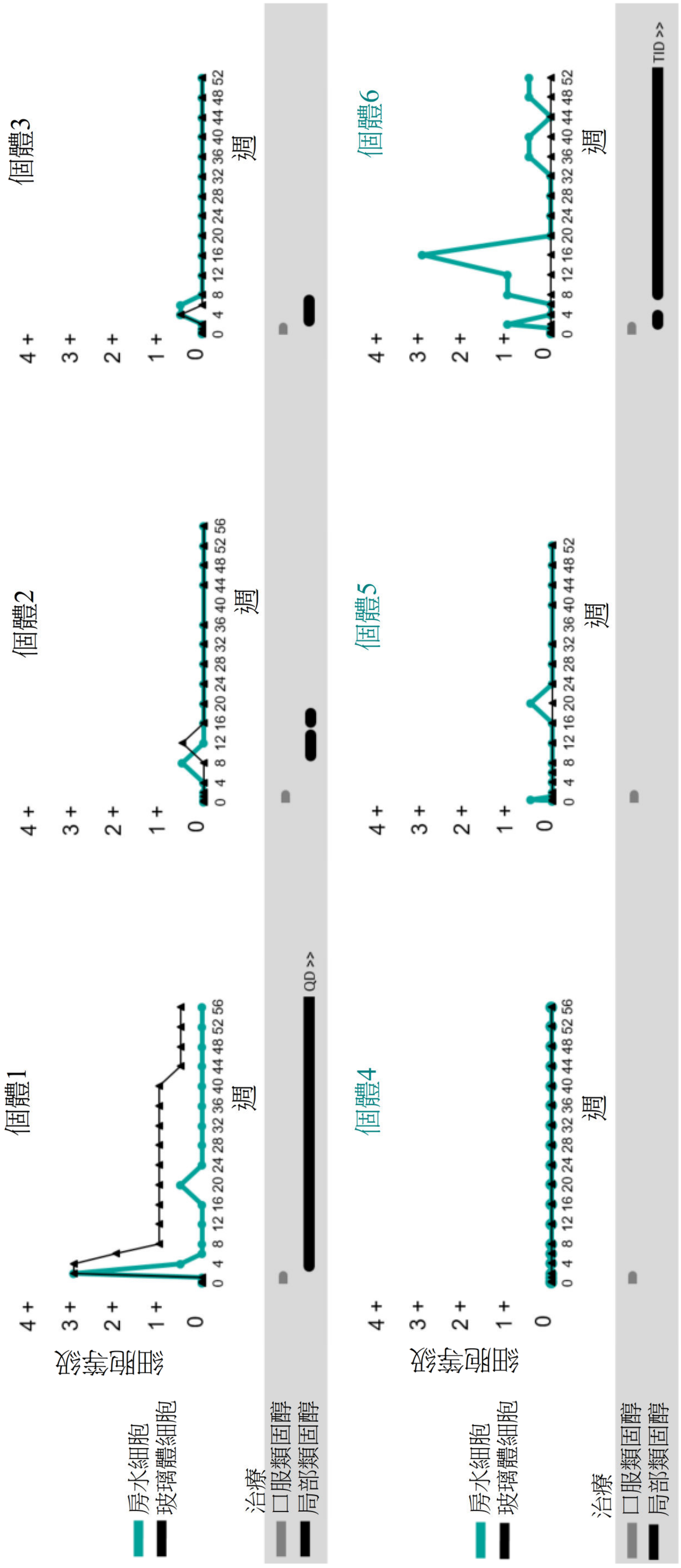
【圖21A】


視網膜
厚度圖
OCT影像
-3週
篩檢
BCVA: 77個字母
CST: 678μm
篩檢抗VEGF IVT
-2週
BCVA: 75個字母
CST: 664 μm
AAV2.7m8-阿柏西普
0週
BCVA: 82個字母
CST: 355μm
+1週
BCVA: 80個字母
CST: 338μm
+6週
BCVA: 79個字母
CST: 252μm
+12週
BCVA: 81個字母
CST: 257μm
+16週
BCVA: 82個字母
CST: 258μm
+20週
BCVA: 82個字母
CST: 266μm

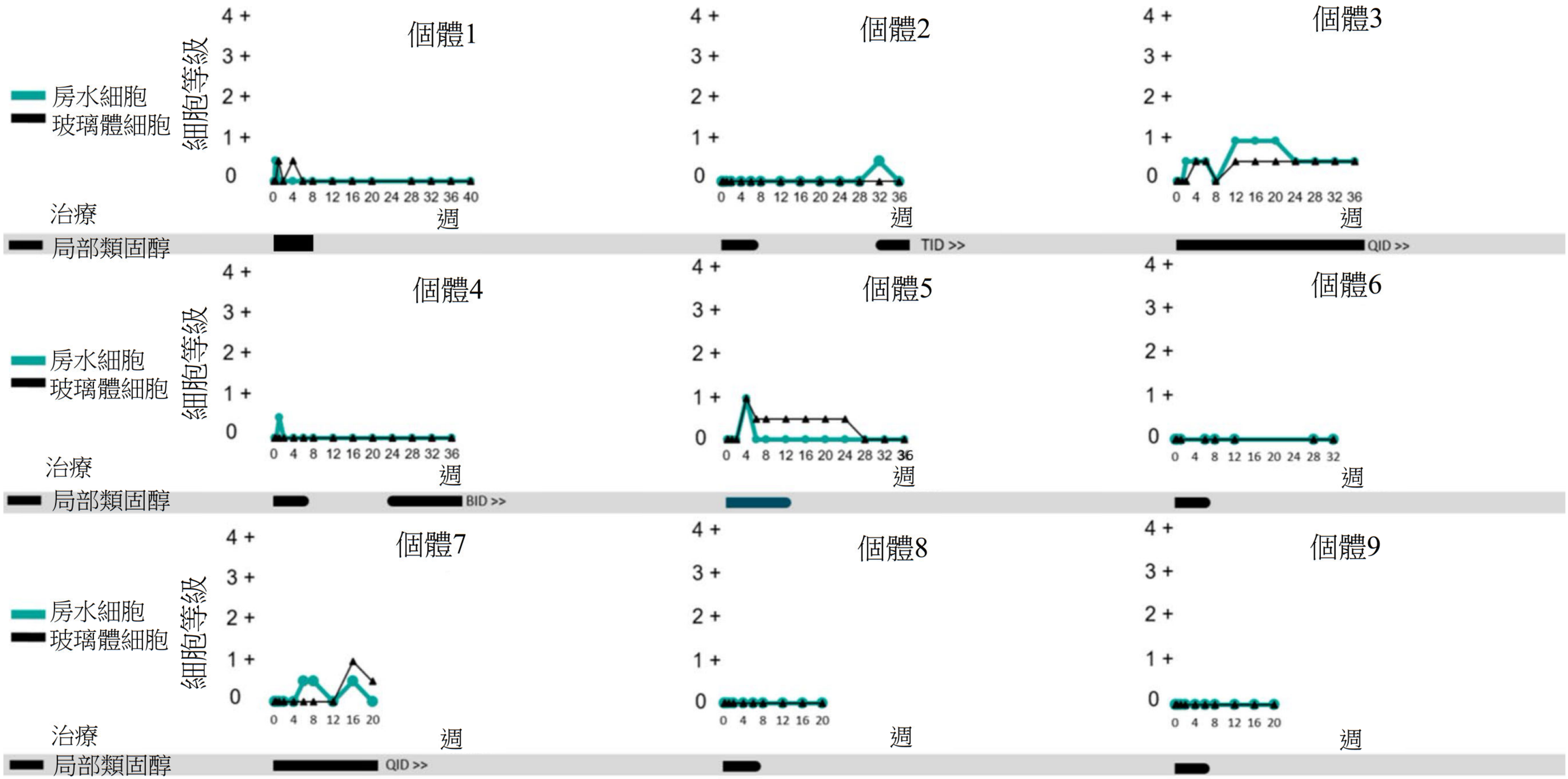
【圖21B】


個體1
個體2
個體3
個體4
個體5
個體6
週
細胞等級
房水細胞
玻璃體細胞
治療
口服類固醇
局部類固醇
TID >>
BID >>

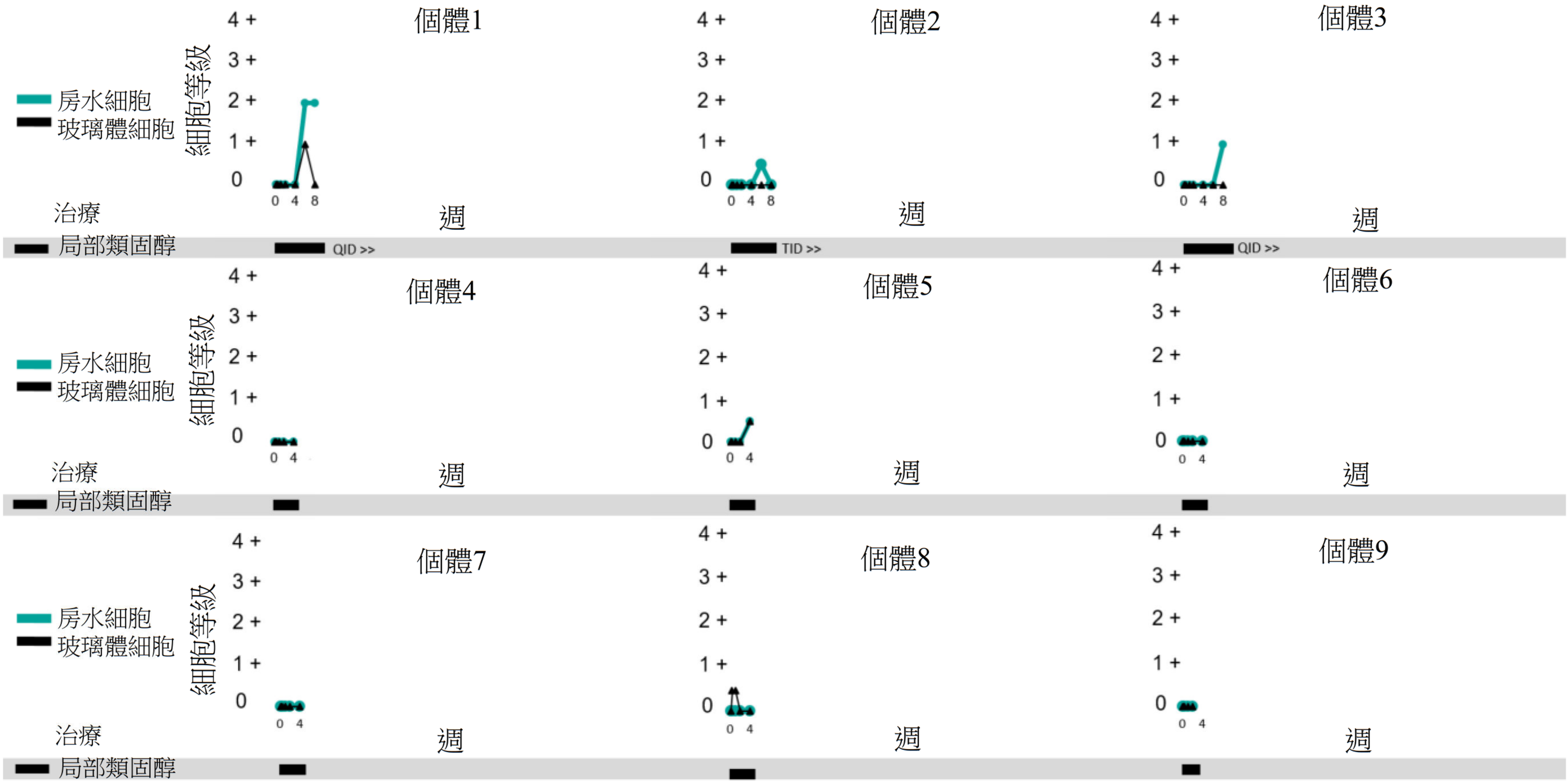
【圖22A】


個體1
個體2
個體3
個體4
個體5
個體6
4 +
3 +
2 +
1 +
0
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40 44 48 52 56
週
QD >>
TID >>
組胞等級
房水細胞
玻璃體細胞
治療
口服類固醇
局部類固醇

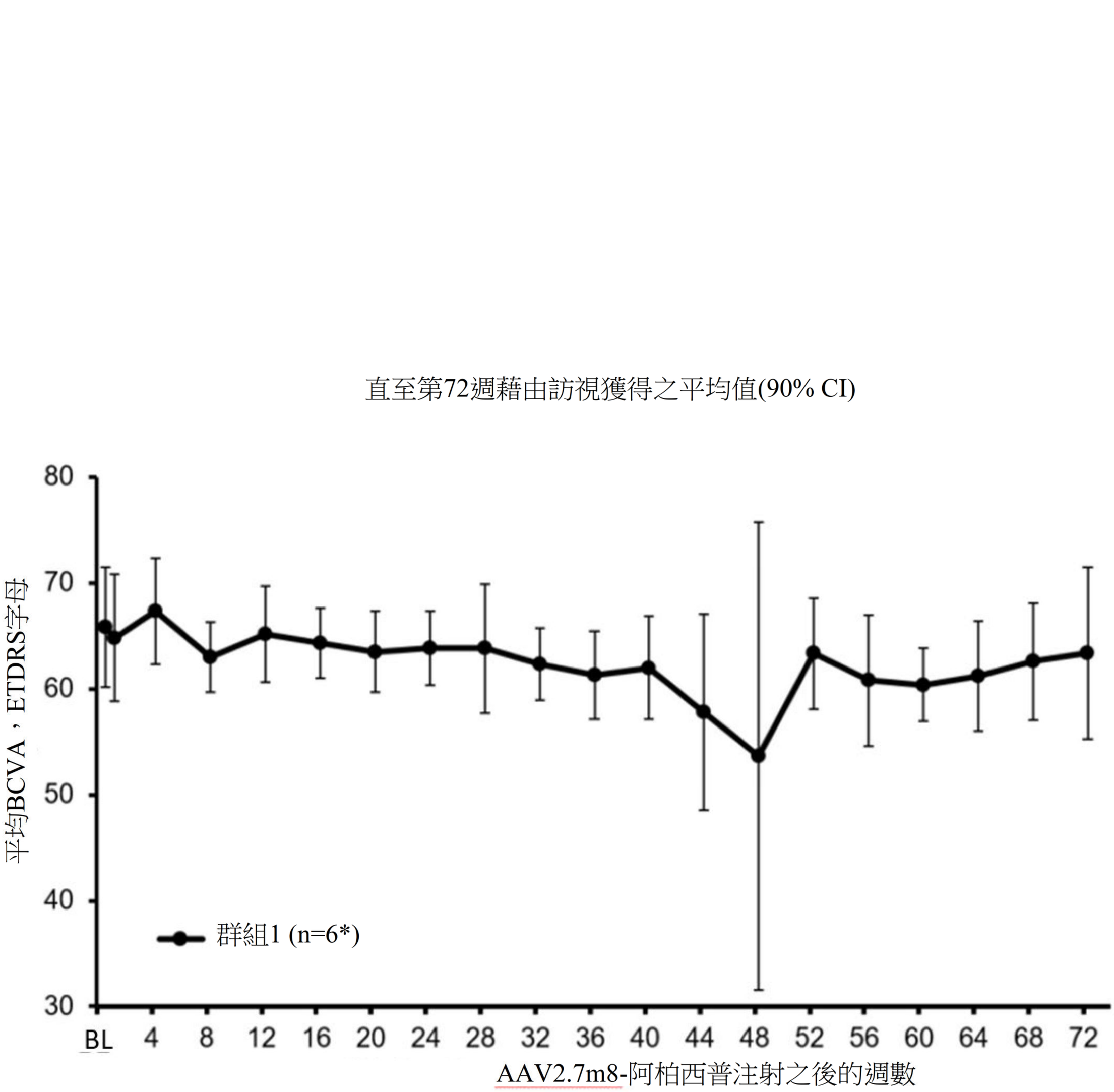
【圖22B】


房水細胞
玻璃體細胞
細胞等級
個體1
個體2
個體3
個體4
個體5
個體6
個體7
個體8
個體9
週
治療
局部類固醇
TID >>
QID >>
BID >>
0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40

【圖22C】

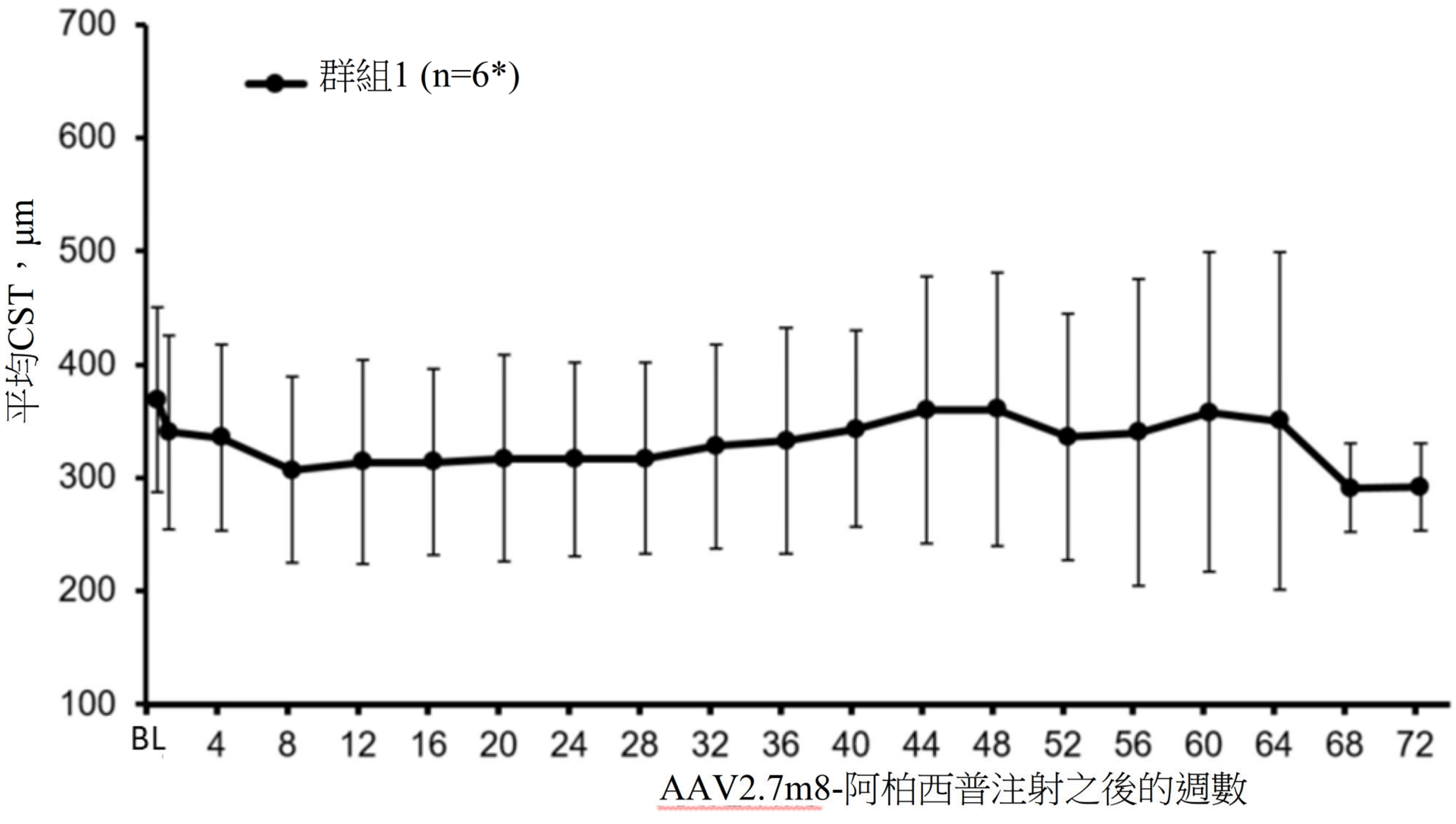

個體1
個體2
個體3
個體4
個體5
個體6
個體7
個體8
個體9
細胞等級
4 +
3 +
2 +
1 +
0
0 4 8
0 4
房水細胞
玻璃體細胞
治療
局部類固醇
QID >>
TID >>
週

【圖22D】

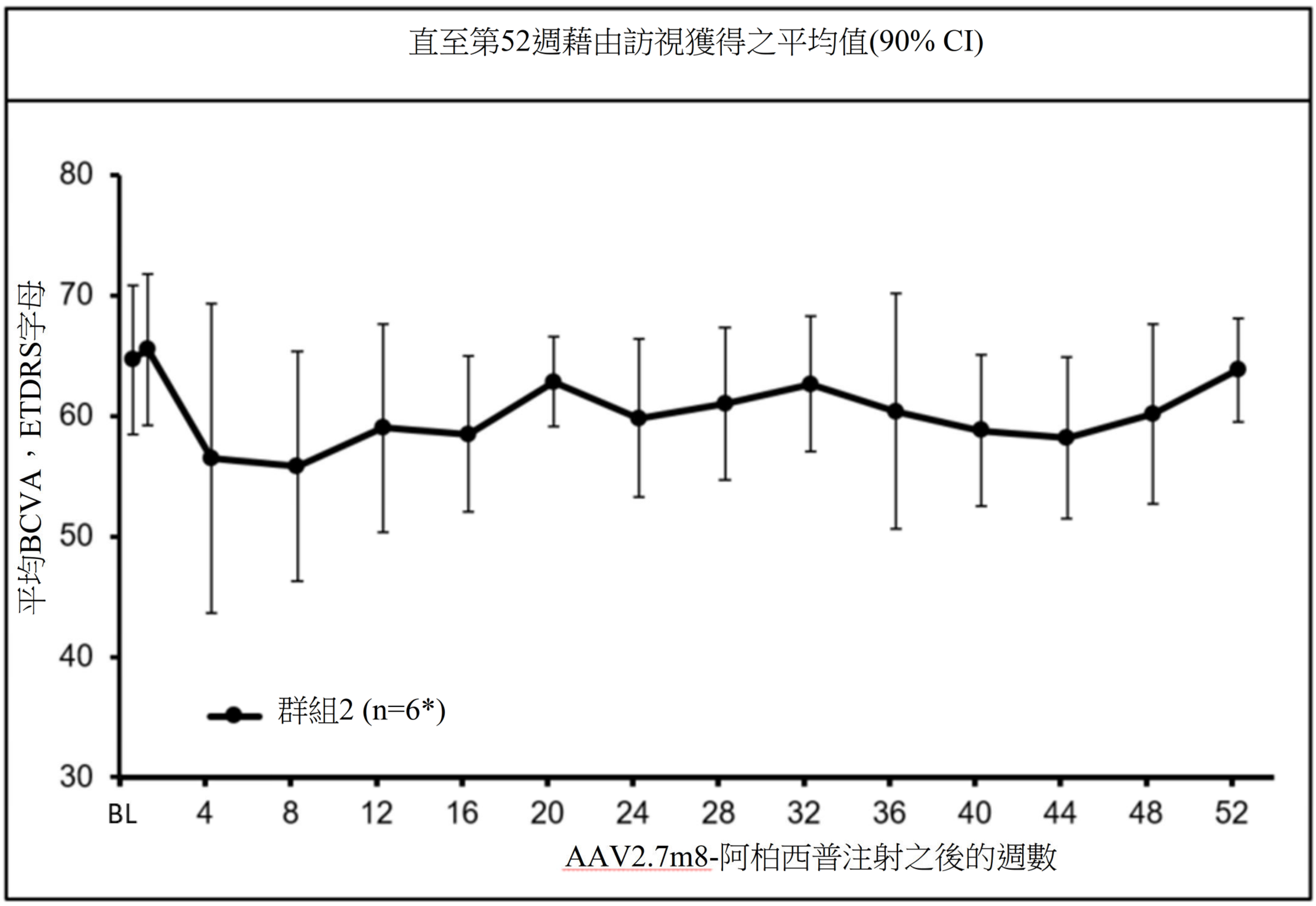

直至第72週藉由訪視獲得之平均值(90% CI)
平均BCVA，ETDRS字母
80
70
60
50
40
30
群組1 (n=6*)
BL
4
8
12
16
20
24
28
32
36
40
44
48
52
56
60
64
68
72
AAV2.7m8-阿柏西普注射之後的週數

【圖23A】

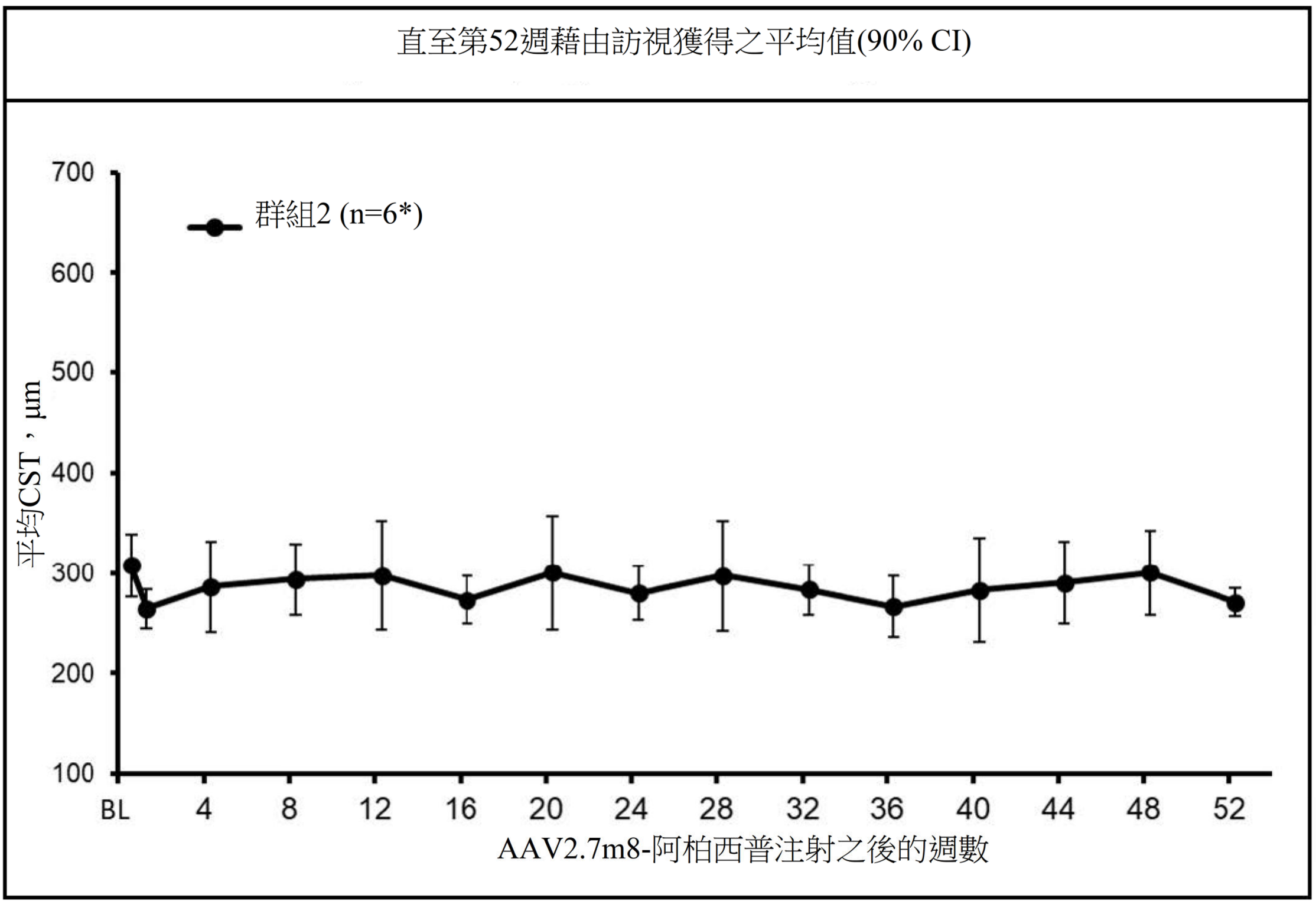
直至第72週藉由訪視獲得之平均值(90% CI)



【圖23B】

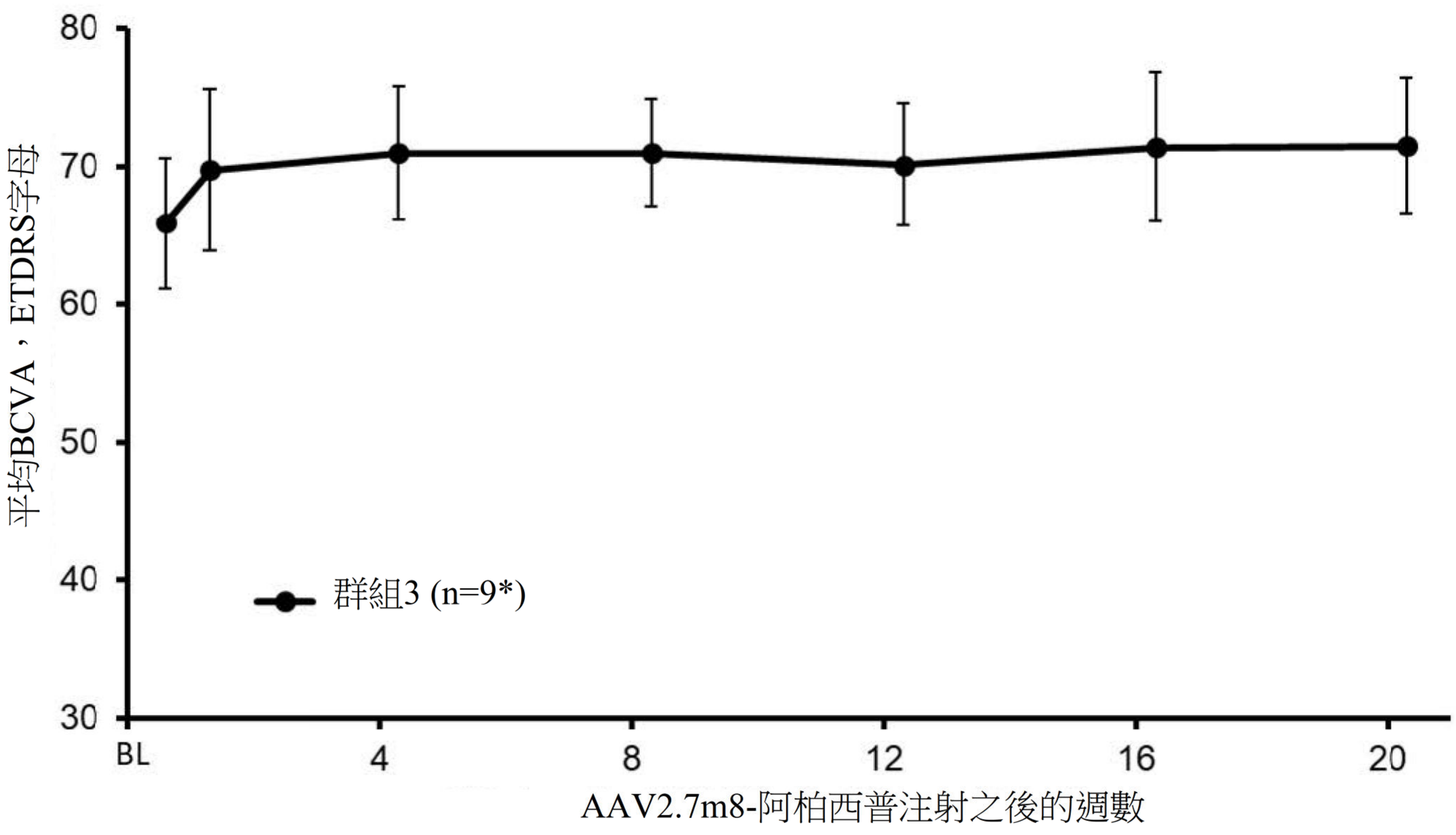

直至第52週藉由訪視獲得之平均值(90% CI)
平均BCVA，ETDRS字母
80
70
60
50
40
30
群組2 (n=6*)
BL
4
8
12
16
20
24
28
32
36
40
44
48
52
AAV2.7m8-阿柏西普注射之後的週數

【圖24A】


直至第52週藉由訪視獲得之平均值(90% CI)
群組2 (n=6*)
平均CST，μm
700
600
500
400
300
200
100
BL
4
8
12
16
20
24
28
32
36
40
44
48
52
AAV2.7m8-阿柏西普注射之後的週數

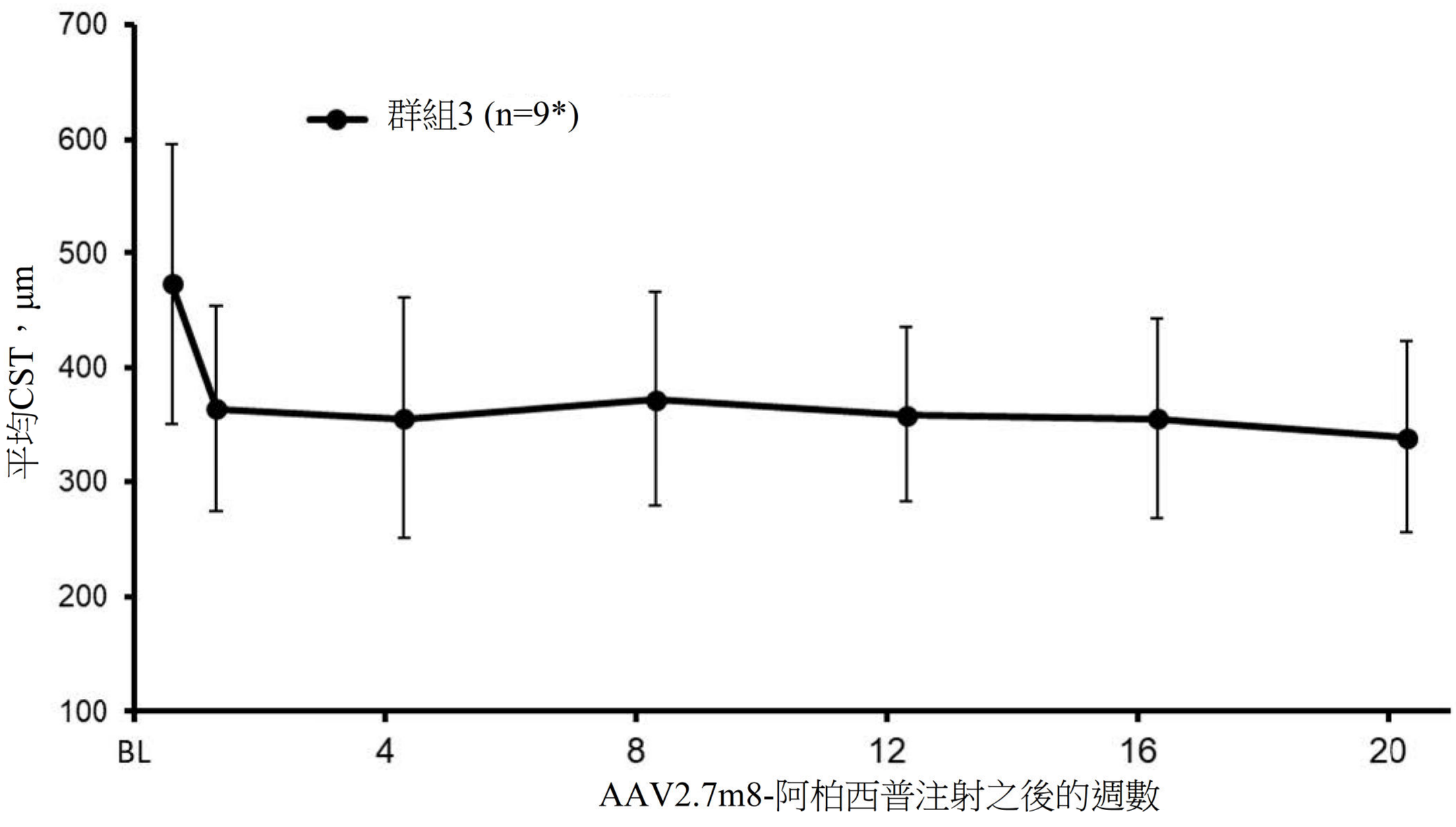
【圖24B】

直至第20週藉由訪視獲得之平均值(90% CI)

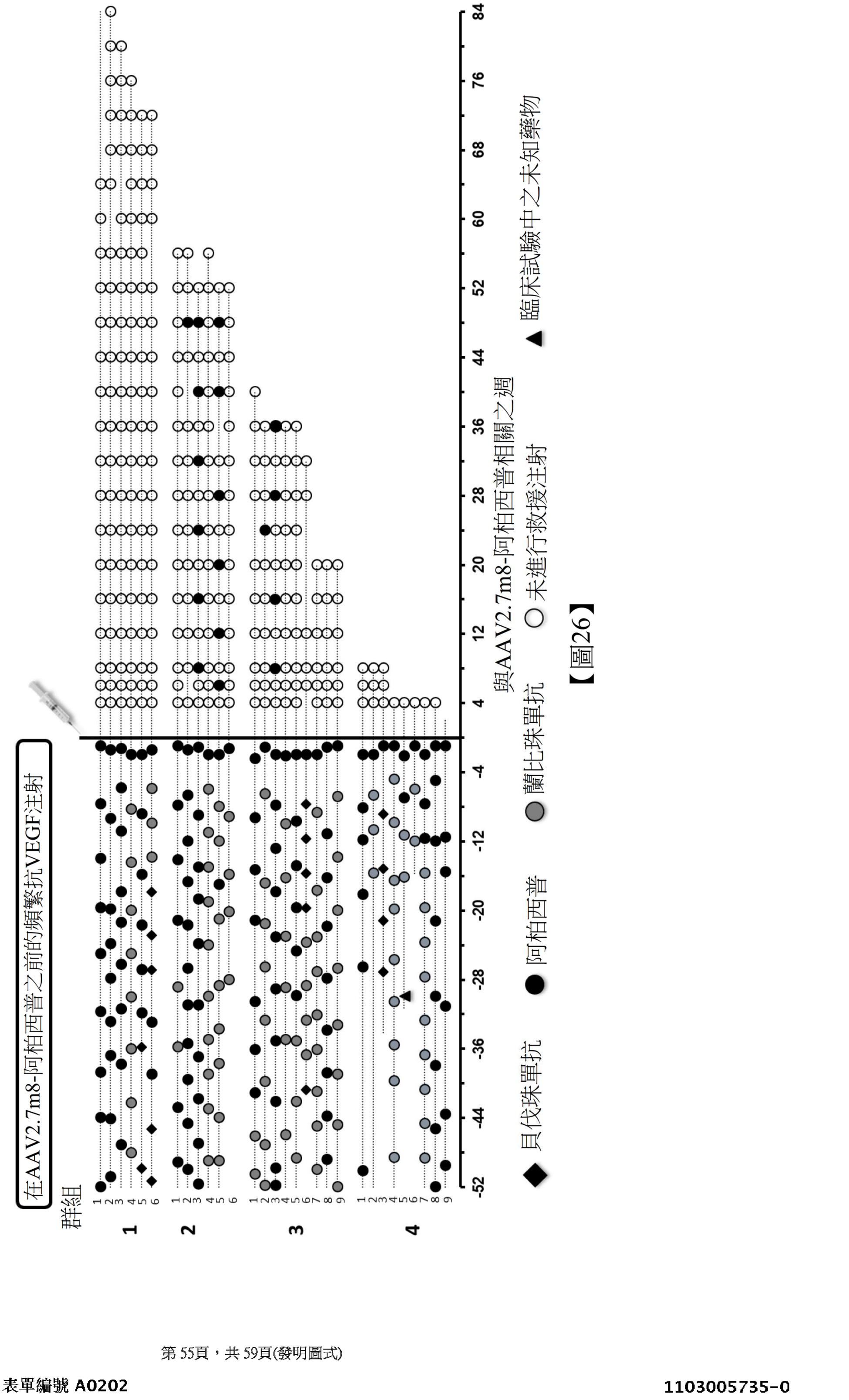


【圖25A】

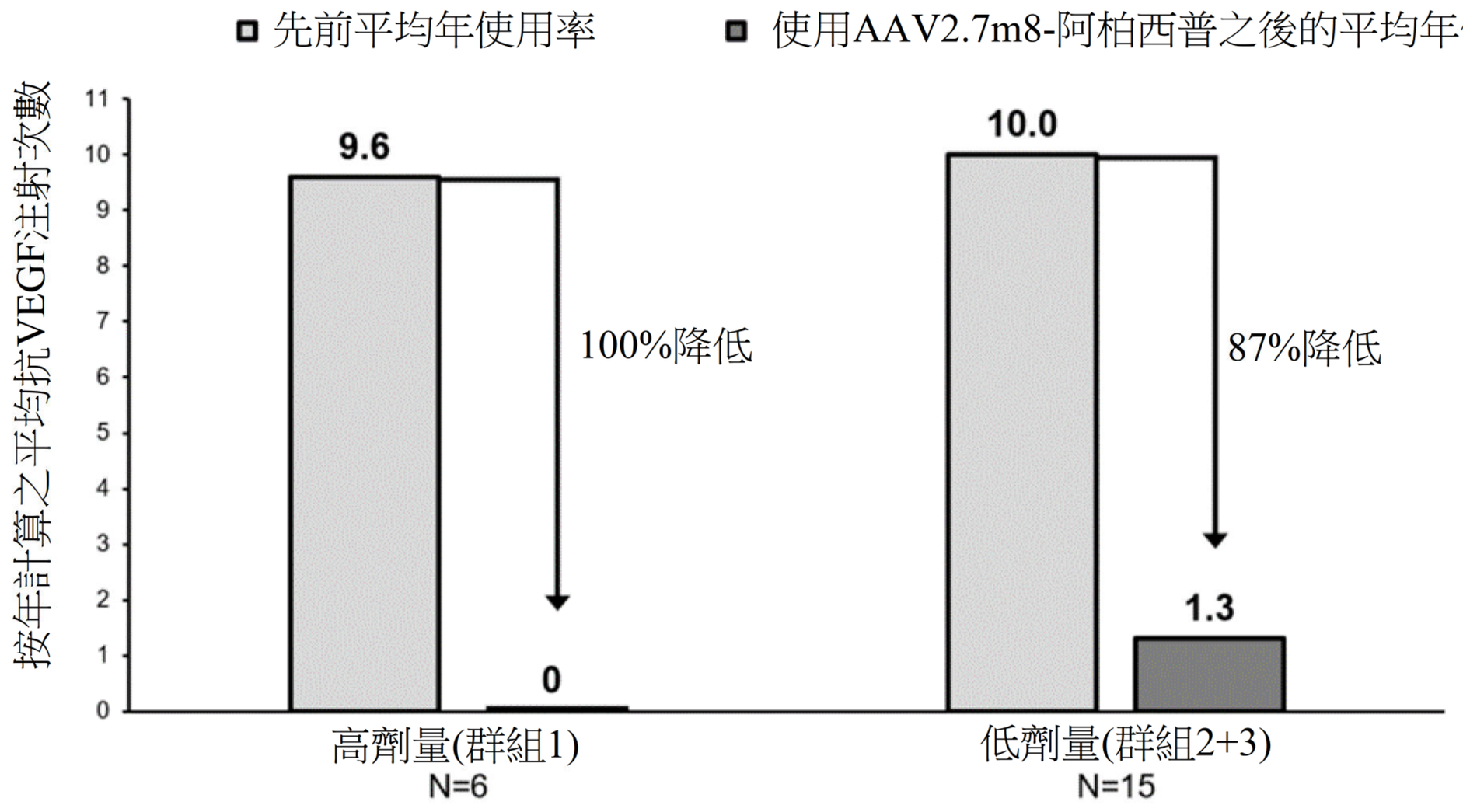
直至第20週藉由訪視獲得之平均值(90% CI)



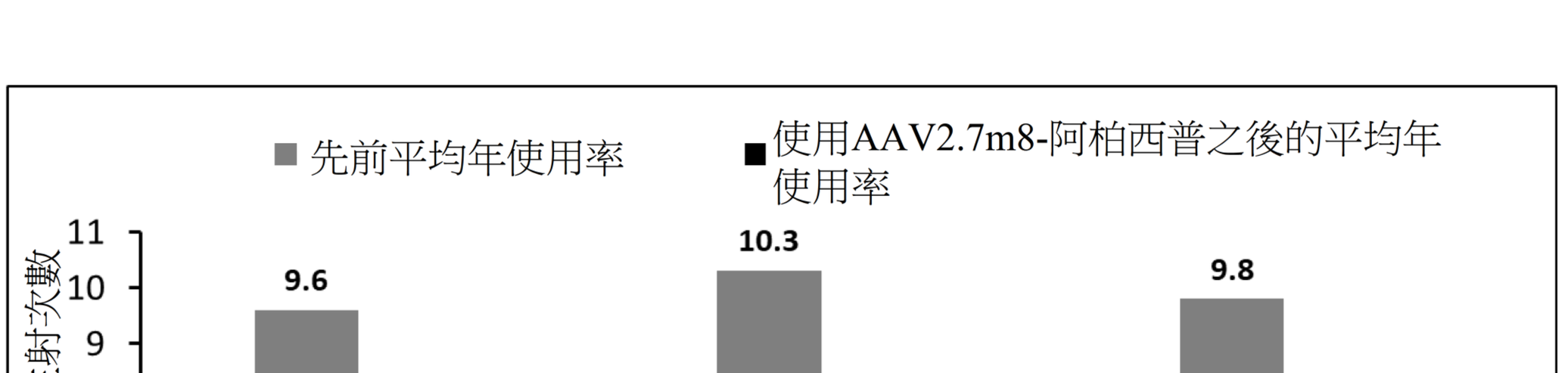
【圖25B】


在AAV2.7m8-阿柏西普之前的頻繁抗VEGF注射
群組
1
2
3
4
1 2 3 4 5 6
1 2 3 4 5 6
1 2 3 4 5 6 7 8 9
1 2 3 4 5 6 7 8 9
84 76 68 60 52 44 36 28 20 12 4 -4 -12 -20 -28 -36 -44 -52
與AAV2.7m8-阿柏西普相關之週
阿柏西普
蘭比珠單抗
貝伐珠單抗
臨床試驗中之未知藥物
未進行救援注射

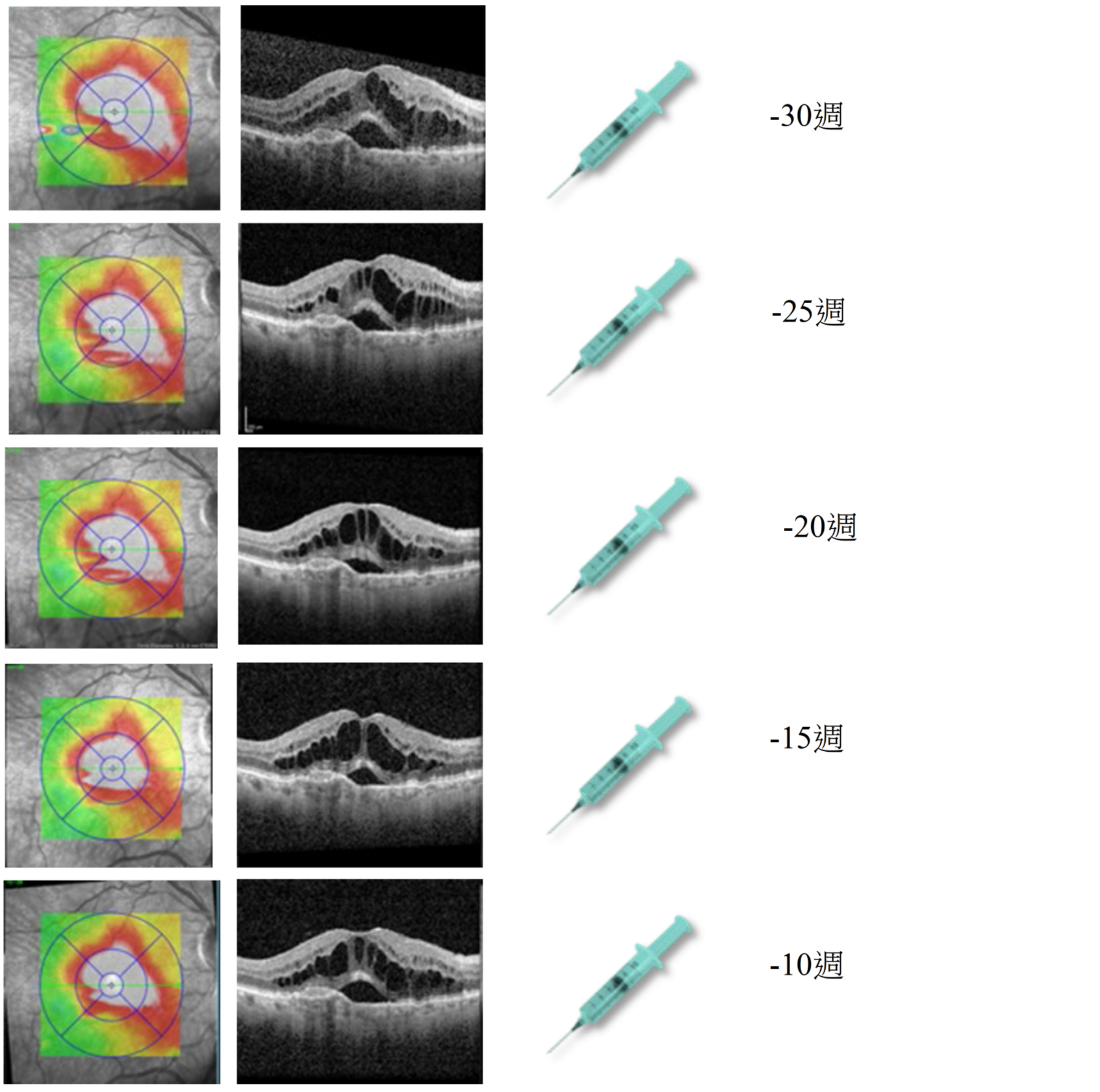
【圖26】


先前平均年使用率
使用AAV2.7m8-阿柏西普之後的平均年使用率
按年計算之平均抗VEGF注射次數
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
9.6
0
100%降低
10.0
1.3
87%降低
高劑量(群組1)
N=6
低劑量(群組2+3)
N=15

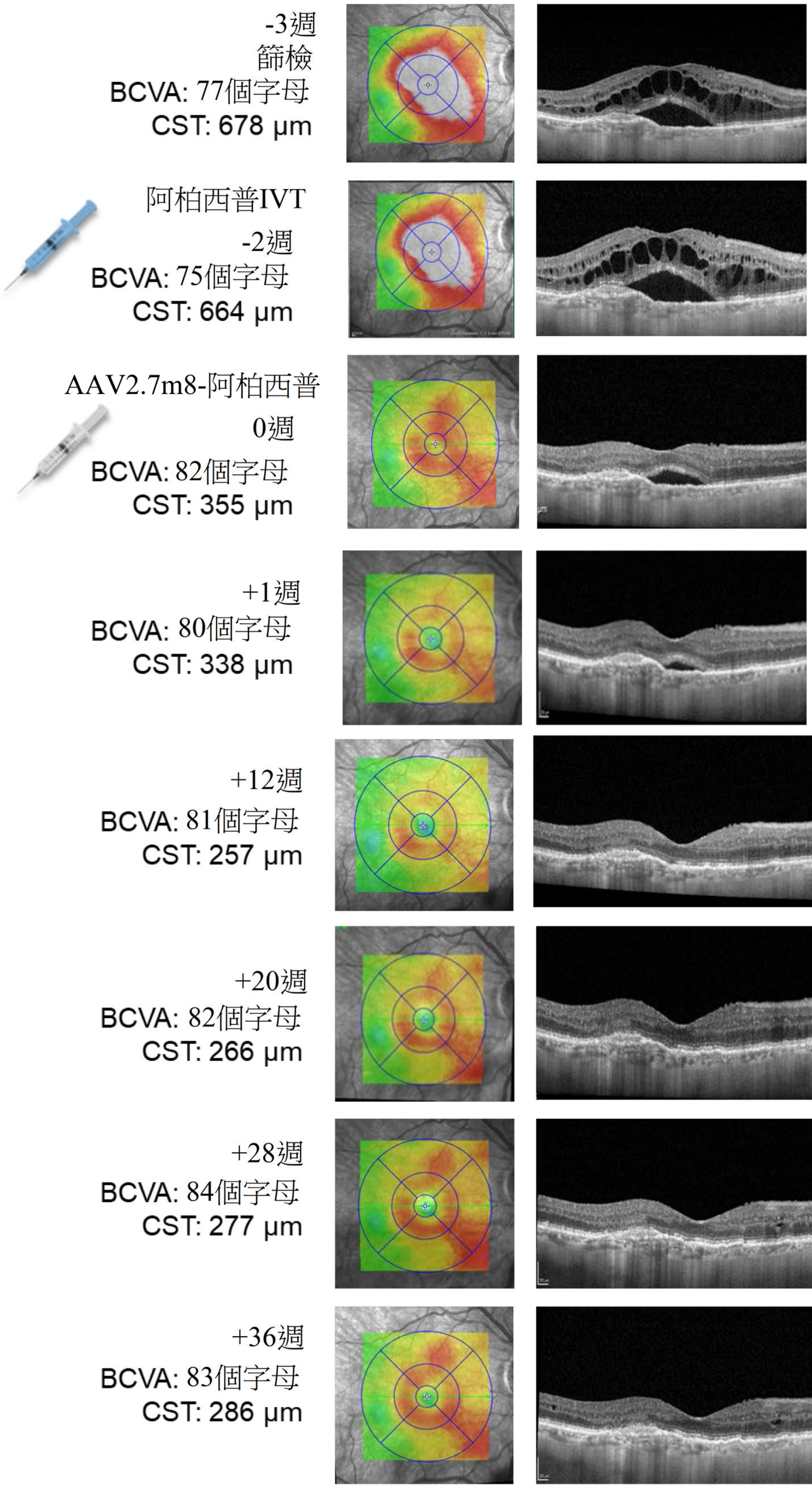
【圖27A】


先前平均年使用率
使用AAV2.7m8-阿柏西普之後的平均年使用率
按年計算之平均抗VEGF注射次數
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
9.6
0
10.3
2.2
9.8
0.8
群組1
N=6
群組2
N=6
群組3
N=9

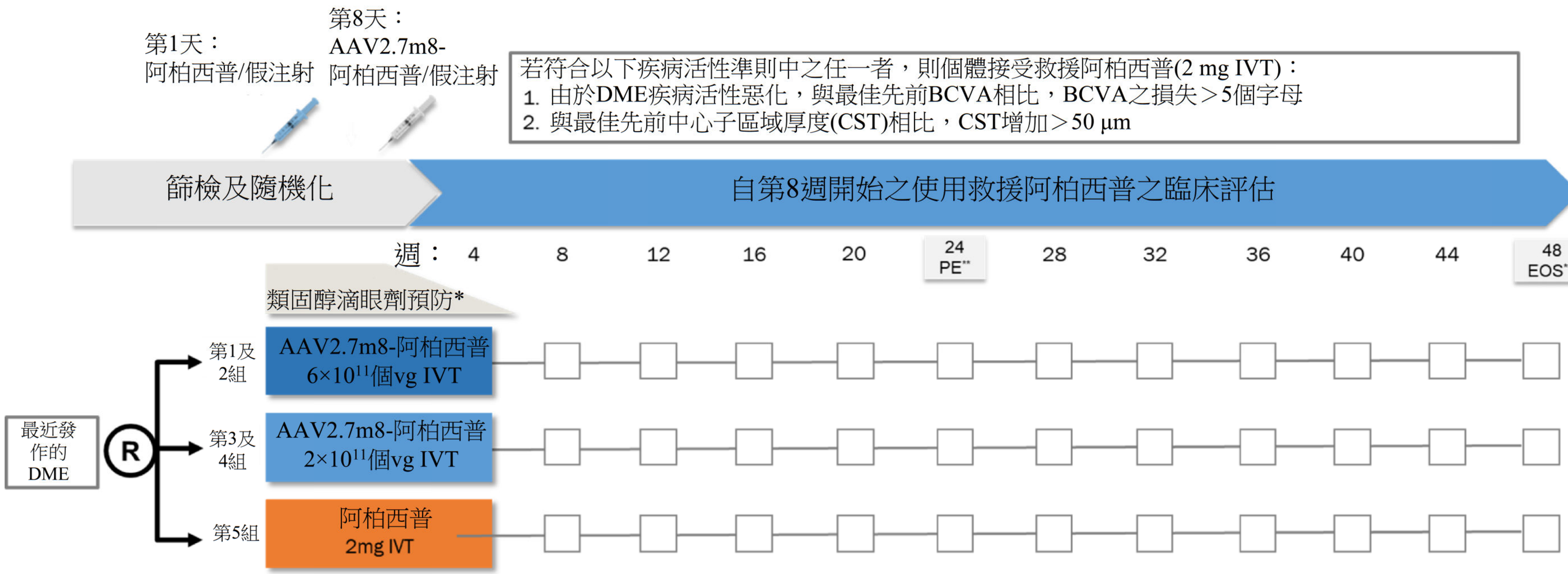
【圖27B】



【圖28A】


-3週
篩檢
BCVA: 77個字母
CST: 678 μm
阿柏西普IVT
-2週
BCVA: 75個字母
CST: 664 μm
AAV2.7m8-阿柏西普
0週
BCVA: 82個字母
CST: 355 μm
+1週
BCVA: 80個字母
CST: 338 μm
+12週
BCVA: 81個字母
CST: 257 μm
+20週
BCVA: 82個字母
CST: 266 μm
+28週
BCVA: 84個字母
CST: 277 μm
+36週
BCVA: 83個字母
CST: 286 μm

【圖28B】


第1天：
阿柏西普/假注射
第8天：
AAV2.7m8-
阿柏西普/假注射
若符合以下疾病活性準則中之任一者，則個體接受救援阿柏西普(2 mg IVT)：
1. 由於DME疾病活性惡化，與最佳先前BCVA相比，BCVA之損失＞5個字母
2. 與最佳先前中心子區域厚度(CST)相比，CST增加＞50 μm
篩檢及隨機化
自第8週開始之使用救援阿柏西普之臨床評估
週：
4
8
12
16
20
24 PE**
28
32
36
40
44
48 EOS***
類固醇滴眼劑預防*
最近發作的DME
R
第1及2組
AAV2.7m8-阿柏西普 6×10^11個vg IVT
第3及4組
AAV2.7m8-阿柏西普 2×10^11個vg IVT
第5組
阿柏西普 2mg IVT

【圖29】