(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 102573893 A
(43)申请公布日 2012.07.11

(21)申请号 201080033031.7

(22)申请日 2010.05.28

(30)优先权数据
61/182,679 2009.05.29 US
61/252,571 2009.10.16 US
61/313,001 2010.03.11 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2012.01.20

(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2010/036761 2010.05.28

(87)PCT申请的公布数据
WO2010/138939 EN 2010.12.02

(71)申请人 爱克索马技术有限公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 P·J·斯加侬 A·M·索林格
J·D·菲尔德施泰因

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 史文静 黄革生

(51)Int.Cl.
A61K 39/00(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/00(2006.01)

权利要求书 5 页 说明书 59 页
序列表 5 页 附图 10 页

(54)发明名称

IL-1β 抗体及其结合片段的心血管相关用途

(57)摘要

本发明公开了使用抗 IL-1β 结合分子（例如，IL-1β 结合抗体及其片段），降低、预防或治疗心血管事件和/或心血管疾病的方法，所述心血管疾病包括急性心血管疾病或慢性心血管疾病。本公开还涉及预防或治疗心血管事件和/或心血管疾病的方法，包括通过降低心血管事件或疾病。

CN 102573893 A

1. 降低个体中的心血管事件的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，其中所述个体是有在先的心血管事件历史或至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。

2. 权利要求 1 的方法，其中所述个体是有在先的心血管事件历史的个体，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。

3. 权利要求 1 或 2 的方法，其中所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。

4. 权利要求 3 的方法，其中所述冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术是经皮冠状动脉介入治疗 (PCI)、植入支架、冠状动脉旁路移植血管 (CABG)、颈动脉内膜切除术、外周血管病旁路手术或外周血管成形术。

5. 权利要求 2 的方法，其中所述个体还具有至少一种心血管疾病的风险因子历史。

6. 权利要求 1 或 5 的方法，其中所述风险因子是明显的冠心病、冠状动脉病、血栓形成、短暂性缺血发作、左心室肥大、动脉硬化、再狭窄、吸烟或外周血管病。

7. 权利要求 1 或 5 的方法，其中所述风险因子是升高的甘油三酯、全身性炎症、高血磷水平、高甲状旁腺激素水平、微量蛋白尿或高同型半胱氨酸水平。

8. 权利要求 1 或 5 的方法，其中所述风险因子是肥胖、高血糖、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病或代谢综合征。

9. 权利要求 1 或 5 的方法，其中所述风险因子是高血压、血脂异常、血脂过多、升高的总胆固醇、升高的 LDL 胆固醇或低 HDL 胆固醇或动脉粥样硬化。

10. 权利要求 1 或 2 的方法，其中所述个体具有升高的 C- 反应蛋白 (CRP) 水平。

11. 权利要求 1 或 2 的方法，其中所述个体大于 55 岁。

12. 权利要求 1 或 2 的方法，其中所述个体是非高血压的。

13. 权利要求 1 或 2 的方法，其中所述个体患糖尿病。

14. 权利要求 13 的方法，其中所述糖尿病是 2 型糖尿病。

15. 权利要求 1 或 2 的方法，其中所述个体具有两种或多种所述风险因子的历史。

16. 权利要求 15 的方法，其中所述个体具有三种或多种所述风险因子的历史。

17. 权利要求 1 或 2 的方法，其中施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

18. 在心血管事件后，降低个体死亡率的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。

19. 权利要求 18 的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞。

20. 权利要求 18 的方法，其中所述心血管事件是中风。

21. 权利要求 18 的方法，其中所述心血管事件是充血性心力衰竭。

22. 权利要求 18 的方法，其中所述心血管事件是急性冠脉综合征。

23. 权利要求 18 的方法，其中所述心血管事件是绞痛。

24. 权利要求 18 的方法，其中所述心血管事件是血管再生术。

25. 权利要求 24 的方法，其中所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。

26. 权利要求 25 的方法，其中所述冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术是经皮冠状动

脉介入治疗 (PCI)、植入支架、冠状动脉旁路移植血管 (CABG)、颈动脉内膜切除术、外周血管病旁路手术或外周血管成形术。

27. 权利要求 18 的方法，其中所述个体未患 2 型糖尿病。

28. 权利要求 18 的方法，其中所述个体是经在先的心肌梗塞或中风的心血管事件后存活的。

29. 权利要求 18 的方法，其中所述心血管事件的发生是心肌梗塞或中风的心血管事件的复发。

30. 权利要求 18 的方法，其中所述个体具有一种或多种的心血管疾病风险因子的历史。

31. 权利要求 30 的方法，其中所述风险因子是明显的冠心病、冠状动脉病、血栓形成、短暂性缺血发作、左心室肥大、动脉硬化、再狭窄、吸烟或外周血管病。

32. 权利要求 30 的方法，其中所述风险因子是升高的甘油三酯、全身性炎症、高血磷水平、高甲状旁腺激素水平、微量蛋白尿或高同型半胱氨酸水平。

33. 权利要求 30 的方法，其中所述风险因子是肥胖、高血糖、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病或代谢综合征。

34. 权利要求 30 的方法，其中所述风险因子是高血压、血脂异常、血脂过多、升高的总胆固醇、升高的 LDL 胆固醇或低 HDL 胆固醇或动脉粥样硬化。

35. 权利要求 18 的方法，其中所述个体是非高血压的。

36. 权利要求 30 的方法，其中所述个体具有两种或多种所述风险因子的历史。

37. 权利要求 36 的方法，其中所述个体具有三种或多种所述风险因子的历史。

38. 权利要求 18 的方法，其中施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

39. 在有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体中降低心血管事件的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述风险因子不是 2 型糖尿病、肥胖、高血糖、血脂异常、血脂过多、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病、高血压、动脉粥样硬化或代谢综合征。

40. 权利要求 39 的方法，其中所述风险因子不是 2 型糖尿病。

41. 权利要求 39 或 40 的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞。

42. 权利要求 39 或 40 的方法，其中所述心血管事件是中风。

43. 权利要求 39 或 40 的方法，其中所述心血管事件是心脏停搏。

44. 权利要求 39 或 40 的方法，其中所述心血管事件是充血性心力衰竭。

45. 权利要求 39 或 40 的方法，其中所述心血管事件是心血管死亡。

46. 权利要求 39 或 40 的方法，其中所述心血管事件是急性冠脉综合征。

47. 权利要求 39 或 40 的方法，其中所述心血管事件是绞痛。

48. 权利要求 39 或 40 的方法，其中所述心血管事件是血管再生术。

49. 权利要求 48 的方法，其中所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。

50. 权利要求 49 的方法，其中所述冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术是经皮冠状动脉介入治疗 (PCI)、植入支架、冠状动脉旁路移植血管 (CABG)、颈动脉内膜切除术、外周血管病旁路手术或外周血管成形术。

51. 权利要求 39 的方法，其中所述风险因子是明显的冠心病、冠状动脉病、血栓形成、短暂性缺血发作、左心室肥大、动脉硬化、再狭窄、吸烟或外周血管病。

52. 权利要求 39 的方法，其中所述风险因子是升高的甘油三酯、全身性炎症、高血磷水平、高甲状旁腺激素水平、微量蛋白尿或高同型半胱氨酸水平。

53. 权利要求 39 的方法，其中所述个体具有升高的 C- 反应蛋白 (CRP) 水平。

54. 权利要求 39 的方法，其中所述个体大于 55 岁。

55. 权利要求 39 的方法，其中所述个体具有两种或多种所述风险因子的历史。

56. 权利要求 55 的方法，其中所述个体具有三种或多种所述风险因子的历史。

57. 权利要求 39 的方法，其中施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

58. 治疗个体中的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和至少一种包括 IL-1β 抗体或片段以外的活性剂的其他药物组合物。

59. 权利要求 58 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是胆固醇降低剂、抑制素、HMG-CoA 还原酶抑制剂、钙通道阻断剂、β 阻断剂、抗高血压剂、利尿剂、阿司匹林、烟酸、血管紧张肽转变酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 受体阻断剂、血管舒张剂、抗凝剂、血小板聚集的抑制剂、溶栓剂或毛地黄。

60. 治疗个体中的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和血管再生术。

61. 权利要求 60 的方法，其中所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。

62. 降低个体在血管再生术后再狭窄的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。

63. 权利要求 62 的方法，其中所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。

64. 权利要求 58、60 或 62 的任一项的方法，其中施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

65. 治疗个体急性高血压的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和一种或多种抗高血压剂。

66. 权利要求 65 的方法，其中所述个体具有高于或等于 180/110mm Hg 的血压。

67. 权利要求 65 的方法，其中所述抗高血压剂是静脉内施用的。

68. 权利要求 65 的方法，其中所述抗高血压剂是拉贝洛尔、美托洛尔、肼苯哒嗪、硝酸甘油、尼卡地平、硝普钠或氯维地平。

69. 权利要求 1、2、18、39、60 或 62 的任一项的方法，还包括施用至少一种包括抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以外的活性剂的其他药物组合物。

70. 权利要求 69 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是胆固醇降低剂。

71. 权利要求 69 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是抑制素或 HMG-CoA 还原酶抑制剂。

72. 权利要求 69 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是钙通道阻断

剂。

73. 权利要求 69 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是抗高血压剂、利尿剂或阿司匹林。

74. 权利要求 69 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是血管紧张肽转变酶 (ACE) 抑制剂或血管紧张素 II 受体阻断剂。

75. 权利要求 69 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是血管舒张剂。

76. 权利要求 69 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是抗凝剂或血小板聚集的抑制剂。

77. 权利要求 69 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是溶栓剂。

78. 权利要求 69 的方法，其中所述至少一种其他药物组合物的活性剂是毛地黄。

79. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以约 500pM 或更低的解离常数结合人 IL-1β。

80. 权利要求 79 的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以约 50pM 或更低的解离常数结合人 IL-1β。

81. 权利要求 80 的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以约 5pM 或更低的解离常数结合人 IL-1β。

82. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是中和抗体。

83. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段结合 IL-1β 表位，使得所述结合的抗体或片段基本允许 IL-1β 与 IL-1 受体 I(IL-1RI) 的结合。

84. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段不与 IL-1α、IL-1R 或 IL-1Ra 可检测的结合。

85. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与具有 SEQ ID NO:1 的轻链可变区和 SEQ ID NO:2 的重链可变区的抗体竞争结合。

86. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与 IL-1β 中包含 Glu64 的表位结合。

87. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与 IL-1β 的 N 末端的氨基酸 1-34 结合。

88. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是人源化的或人的。

89. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 1mg/kg 或更少的抗体或片段进行施用。

90. 权利要求 89 的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 0.3mg/kg 或更少的抗体或片段进行施用。

91. 权利要求 90 的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 0.03mg/kg 或更少的抗体或片段进行施用。

92. 权利要求 89-91 的任一项的方法，其中所述一个或多个剂量是至少 0.01mg/kg 的抗体或片段。

93. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个

或多个剂量的 0.03mg/kg 至 1mg/kg 进行施用。

94. 权利要求 1-78 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以固定剂量施用，不依赖于剂量与个体重量的比例。

95. 权利要求 94 的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 100mg 或更少的抗体或片段进行施用。

96. 权利要求 95 的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 25mg 或更少的抗体或片段进行施用。

97. 权利要求 96 的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 10mg 或更少的抗体或片段进行施用。

98. 权利要求 94-97 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的至少 0.5mg 的抗体或片段进行施用。

99. 权利要求 94 的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 1mg 至 100mg 的抗体或片段进行施用。

100. 权利要求 94-99 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段的固定剂量是使用预装填的注射器或递送装置施用的。

101. 权利要求 1-100 的任一项的方法，其中所述抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是通过皮下、静脉内或肌肉内注射施用的。

102. 权利要求 1-101 的任一项的方法，其中在施用初始剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段后，再施用一次或多次后续剂量。

103. 权利要求 102 的方法，其中所述初始剂量和一次或多次后续剂量是以约每周 1 次至约每 12 个月 1 次的间隔施用的。

104. 权利要求 103 的方法，其中所述初始剂量和一次或多次后续剂量是以约每两周 1 次至约每 6 个月 1 次的间隔施用的。

105. 权利要求 104 的方法，其中所述初始剂量和一次或多次后续剂量是以约每月 1 次至约每 6 个月 1 次的间隔施用的。

106. 权利要求 105 的方法，其中所述初始剂量和一次或多次后续剂量是以约每月 1 次至约每 3 个月 1 次的间隔施用的。

107. 权利要求 105 的方法，其中所述初始剂量和一次或多次后续剂量是以约每 3 个月 1 次至约每 6 个月 1 次的间隔施用的。

IL-1β 抗体及其结合片段的心血管相关用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于 2010 年 3 月 11 日提交的美国临时申请号 61/313,001，于 2009 年 10 月 16 日提交的美国临时申请号 61/252,571，和于 2009 年 5 月 29 日提交的美国临时申请号 61/182,679 的权益，所述专利的公开内容整体引入本文作为参考。

发明领域

[0003] 本公开一般涉及用于降低、预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病（例如，急性心血管疾病或慢性心血管疾病）的 IL-1β 结合分子（例如，IL-1β 结合抗体及其片段）。

[0004] 发明背景

[0005] 在过去十年间，炎症已成为心血管疾病病理发生的中心课题，广泛的心脏病与炎症和细胞因子调控相关联 (Mehra 等人，2005，J. LeukocyteBiol. 78 :805-818)。心肌中的每一种有核的细胞类型（包括心肌细胞）都可以响应各种形式的应激 / 损伤，而分泌促炎细胞因子。它们在多种条件下升高，如炎性心肌炎、同种异体移植排斥、心缺血状态、充血性心力衰竭 (CHF) 和再灌注损伤。

[0006] IL-1β 是由许多不同细胞类型，包括单核细胞和巨噬细胞，分泌的促炎细胞因子。当作为炎症反应的一部分释放时，IL-1β 造成一系列生物效应，这主要通过诱导其他炎症介质来介导，所述其他炎症介质例如促肾上腺皮质激素、血小板因子 -4、前列腺素 E2(PGE2)、IL-6 和 IL-8。IL-1β 通过激活 IL-1 受体（其存在于几乎所有细胞类型上），诱导局部和全身的炎症效应。白介素 -1(IL-1) 细胞因子家族已被提示牵涉许多疾病状态。IL-1 家族成员包括 IL-1α、IL-1β 和 IL-1Ra。尽管通过其与 IL-1 受体 (IL-1R1 和 IL-1R2) 结合的能力而相关联，但这些细胞因子的每一个都是不同的，由不同基因表达且具有不同的一级氨基酸序列。此外，这些细胞因子的生理活性可以彼此区分。

[0007] 发明概述

[0008] 本公开一般涉及用于降低、预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病的 IL-1β 结合分子，包括急性心血管疾病或慢性心血管疾病。本公开还涉及用于预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病的方法，包括通过降低心血管事件或疾病。

[0009] 本公开提供了降低个体中的心血管事件的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，其中所述个体是有在先的心血管事件历史或至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。

[0010] 本公开提供了降低有至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体中的心血管事件的方法（例如，延迟至事件的时间、降低事件的可能性或风险、预防事件、降低事件的严重程度、降低恢复的时间），包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。

[0011] 本公开还提供了降低有在先的心血管事件历史的个体中的心血管事件的方法

（例如，延迟至事件的时间、降低事件的可能性或风险、预防事件、降低事件的严重程度、降低恢复的时间），包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，在先的心血管事件是第一次心血管事件。在一些实施方案中，在先的或第一次心血管事件选自心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征、绞痛和血管再生术。在一些实施方案中，在先的或第一次心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。在一些实施方案中，降低心血管事件的方法是降低第二次或继发性心血管事件的方法。在一些实施方案中，所述心血管事件（例如，第二次或继发性心血管事件）选自心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛和血管再生术。在一些实施方案中，第一次心血管事件和第二次心血管事件是相同类型的心血管事件。在一些实施方案中，第一次心血管事件和第二次心血管事件是不同类型的心血管事件。

[0012] 在一些实施方案中，血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。在一些实施方案中，所述冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术是经皮冠状动脉介入治疗（percutaneous coronary intervention，PCI）、植入支架（stent implant）、冠状动脉旁路移植血管（CABG）、颈动脉内膜切除术、外周血管病旁路手术（peripheral vascular disease bypass surgery）或外周血管成形术。

[0013] 在一些实施方案中，所述个体还具有至少一种心血管疾病的风险因子的历史。在一些实施方案中，所述风险因子是明显的冠心病、冠状动脉病、血栓形成、短暂性缺血发作（transient ischaemic attack）、左心室肥大、动脉硬化（arteriosclerosis）、再狭窄、吸烟或外周血管病。在一些实施方案中，所述风险因子是升高的甘油三酯、全身性炎症、高血磷水平、高甲状旁腺激素水平、微量蛋白尿或高同型半胱氨酸水平。在一些实施方案中，所述风险因子是肥胖、高血糖（hyperglycemia）、慢性肾衰竭、高血葡萄糖（high blood glucose）、慢性肾病或代谢综合征。在一些实施方案中，所述风险因子是末期肾病。在一些实施方案中，所述风险因子是高血压、血脂异常、血脂过多、升高的总胆固醇、升高的 LDL 胆固醇或低 HDL 胆固醇或动脉粥样硬化（atherosclerosis）。在一些实施方案中，高血压表现为血压大于或等于 180/110mm Hg。在一些其它实施方案中，高血压是温和至中度的，伴随收缩压（SBP）为 140 至 180mm Hg，和 / 或舒张压（DBP）为 90 至 110mm Hg。

[0014] 在一些实施方案中，所述个体具有升高的 C- 反应蛋白（CRP）水平。

[0015] 在一些实施方案中，所述个体大于 55 岁。

[0016] 在一些实施方案中，所述个体大于 65 岁。

[0017] 在一些实施方案中，所述个体是非高血压的。

[0018] 在一些实施方案中，所述个体患难以控制的高血压。

[0019] 在一些实施方案中，所述个体有心律不齐。

[0020] 在一些实施方案中，所述个体有“A 型”人格。

[0021] 在一些实施方案中，所述个体有久坐的生活方式。

[0022] 在一些实施方案中，所述个体患糖尿病。在一些实施方案中，所述糖尿病是 2 型糖尿病。

[0023] 在一些实施方案中，所述个体具有两种或多种所述风险因子的历史。

[0024] 在一些实施方案中，所述个体具有三种或多种所述风险因子的历史。

[0025] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

[0026] 本公开还提供了在心血管事件后，降低个体死亡率的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。

[0027] 在一些实施方案中，所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，所述心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。在一些实施方案中，血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。在一些实施方案中，所述冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术是经皮冠状动脉介入治疗 (PCI)、植入支架、冠状动脉旁路移植血管 (CABG)、颈动脉内膜切除术、外周血管病旁路手术或外周血管成形术。

[0028] 在一些实施方案中，所述个体没有 2 型糖尿病。

[0029] 在一些实施方案中，所述个体是经在先的心肌梗塞或中风的心血管事件后存活的。

[0030] 在一些实施方案中，所述心血管事件的发生是心肌梗塞或中风的心血管事件的复发。

[0031] 在一些实施方案中，所述个体具有一种或多种的心血管疾病风险因子的历史。在一些实施方案中，所述风险因子是明显的冠心病、冠状动脉病、血栓形成、短暂性缺血发作、左心室肥大、动脉硬化、再狭窄、吸烟或外周血管病。在一些实施方案中，所述风险因子是升高的甘油三酯、全身性炎症、高血磷水平、高甲状旁腺激素水平、微量蛋白尿或高同型半胱氨酸水平。在一些实施方案中，所述风险因子是肥胖、高血糖、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病或代谢综合征。在一些实施方案中，所述风险因子是末期肾病。在一些实施方案中，所述风险因子是高血压、血脂异常、血脂过多、升高的总胆固醇、升高的 LDL 胆固醇或低 HDL 胆固醇或动脉粥样硬化。在一些实施方案中，高血压表现为血压大于或等于 180/110mmHg。在一些其它实施方案中，高血压是温和至中度的，伴随收缩压 (SBP) 为 140 至 180mm Hg，和 / 或舒张压 (DBP) 为 90 至 110mm Hg。

[0032] 在一些实施方案中，所述个体是非高血压的。

[0033] 在一些实施方案中，所述个体患难以控制的高血压。

[0034] 在一些实施方案中，所述个体有心律不齐。

[0035] 在一些实施方案中，所述个体有“A 型”人格。

[0036] 在一些实施方案中，所述个体有久坐的生活方式。

[0037] 在一些实施方案中，所述个体具有两种或多种所述风险因子的历史。

[0038] 在一些实施方案中，所述个体具有三种或多种所述风险因子的历史。

[0039] 在一些实施方案中，所述个体是有心血管疾病的患者，包括急性心血管疾病（例如，与充血性心力衰竭不相关的）或慢性心血管疾病（例如，与多种动脉粥样硬化型心血管疾病的风险因子相关的）。

[0040] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

[0041] 本公开还提供了在有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体中降低心血管事件的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述风险因子不是 2 型糖尿病、肥胖、高血糖、血脂异常、血脂过多、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病、高血压、动脉粥样硬化或代谢综合征。

[0042] 在一些实施方案中，所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心脏停搏、充血性心力衰竭、心血管死亡、急性冠脉综合征（例如，经诊断的）、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。在一些实施方案中，所述冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术是经皮冠状动脉介入治疗 (PCI)、植入支架、冠状动脉旁路移植血管 (CABG)、颈动脉内膜切除术、外周血管病旁路手术或外周血管成形术。

[0043] 在一些实施方案中，所述风险因子是明显的冠心病、冠状动脉病、血栓形成、短暂性缺血发作、左心室肥大、动脉硬化、再狭窄、吸烟或外周血管病。在一些实施方案中，所述风险因子是升高的甘油三酯、全身性炎症、高血磷水平、高甲状旁腺激素水平、微量蛋白尿或高同型半胱氨酸水平。

[0044] 在一些实施方案中，所述个体具有升高的 C- 反应蛋白 (CRP) 水平。

[0045] 在一些实施方案中，所述个体大于 55 岁。

[0046] 在一些实施方案中，所述个体大于 65 岁。

[0047] 在一些实施方案中，所述个体具有两种或多种所述风险因子的历史。

[0048] 在一些实施方案中，所述个体具有三种或多种所述风险因子的历史。

[0049] 在一些实施方案中，所述个体是患心血管疾病的患者，包括急性心血管疾病（例如，与充血性心力衰竭不相关的）或慢性心血管疾病（例如，与多种动脉粥样硬化型心血管疾病的风险因子相关的）。

[0050] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

[0051] 本公开还提供了治疗个体中的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和至少一种包括 IL-1β 抗体或片段以外的活性剂的其他药物组合物。

[0052] 在一些实施方案中，所述心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。

[0053] 在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是胆固醇降低剂、抑制素、HMG-CoA 还原酶抑制剂、钙通道阻断剂、β 阻断剂、抗高血压剂、利尿剂、阿司匹林、烟酸、血管紧张肽转变酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 受体阻断剂、血管舒张剂、抗凝剂、血小

板聚集的抑制剂、溶栓剂或毛地黄。

[0054] 本公开还提供了治疗个体中的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和（例如，联合）血管再生术。

[0055] 在一些实施方案中，所述心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。

[0056] 在一些实施方案中，所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。

[0057] 本公开还提供了治疗个体的心血管疾病的方法，包括例如急性心血管疾病或慢性心血管疾病，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和（例如，联合）血管再生术。

[0058] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现降低 MACE（主要的消极心脏事件，例如心肌梗塞、中风、死亡，如 CV 死亡，和 / 或其混合）的相关风险（例如，更低的风险、频率、发生、严重程度），包括例如在患心血管疾病例如急性心血管疾病或慢性心血管疾病的患者中，或者在有动脉粥样硬化型心血管疾病的多种风险因子（例如，年龄 55、年龄 65，加一种或多种的 :CABG、NSTEMI、高血压、升高的胆固醇或抑制素、升高的 CRP、不超过 6 个月的在先心肌梗塞 / 中风史、在先的 ACS 或 TIA 史、吸烟、PCI 史、2 型糖尿病）的患者中。

[0059] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以及时对第一次 MACE 事件、血管再生术（例如，CABG），总括性死亡率 (all cause mortality)、外周血管病、首次记录的绞痛终点、充血性心力衰竭 (CHF) 入院，实现减少的入院次数、住院持续时间、因缺血事件（例如，绞痛和 / 或 CHF）而再入院、梗塞面积、舒张期容积、射血分数或利尿剂的使用。

[0060] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现斑块消退、斑块稳定和 / 或抑制斑块破裂。

[0061] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平、BNP 水平、肌钙蛋白水平、C- 肽水平、LDL 水平、血压或血糖 (HbA1C) 的减少。

[0062] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 SAE、恶化、低血糖、严重感染率、感染率、免疫原性或心力衰竭的减少或不再增加。

[0063] 本公开还提供了降低个体在血管再生术后再狭窄的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。

[0064] 在一些实施方案中，所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。

[0065] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

[0066] 本公开还提供了治疗个体急性高血压的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和一种或多种抗高血压剂。在一些实施方案中，所述个体具有高于或等于 180/110mm Hg 的血压。在一些其它实施方案中，个体具有温和至中度

的高血压，伴随收缩压 (SBP) 为 140 至 180mm Hg，和 / 或舒张压 (DBP) 为 90 至 110mm Hg。在一些实施方案中，所述抗高血压剂是静脉内施用的。在一些实施方案中，所述抗高血压剂选自 α / β 肾上腺素能阻断剂、血管紧张肽转变酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、抗肾上腺素能剂、β 肾上腺素能阻断剂、钙通道阻断剂、利尿剂和血管舒张剂。在一些实施方案中，所述抗高血压剂是卡维地洛 (carvedilol)、拉贝洛尔 (labetalol，)、贝那普利 (benazepril)、卡托普利 (captopril)、依那普利 (enalapril)、福辛普利 (fosinopril)、赖诺普利 (lisinopril)、莫昔普利 (moexipril)、培哚普利 (perindopril)、喹那普利 (quinapril)、雷米普利 (ramipril)、群多普利 (trandolapril)、坎地沙坦 (candesartan)、依普罗沙坦 (eprosartan)、厄贝沙坦 (irbesartan)、氯沙坦 (losartan)、替米沙坦 (telmisartan)、缬沙坦 (valsartan)、可乐定 (clonidine)、多沙唑嗪 (doxazosin)、胍那苄 (guanabenz)、胍那决尔 (guanadrel)、胍乙啶 (guanethidine)、胍法辛 (guanfacine)、美卡拉明 (mecamylamine)、甲基多巴 (methyldopa)、哌唑嗪 (prazosin)、利血平 (reserpine)、特拉唑嗪 (terazosin)、醋丁洛尔 (acebutolol)、阿替洛尔 (atenolol)、倍他洛尔 (betaxolol)、比索洛尔 (bisoprolol)、卡替洛尔 (carteolol)、美托洛尔 (metoprolol)、那多洛尔 (nadolol)、喷布洛尔 (penbutolol)、吲哚洛尔 (pindolo)、普萘洛尔 (propranolol)、噻吗洛尔 (timolol)、氨氯地平 (amlodipine)、地尔硫卓 (diltiazem)、非洛地平 (felodipine)、伊拉地平 (isradipine)、尼卡地平 (nicardipine)、硝苯地平 (nifedipine)、尼索地平 (nisoldipine)、维拉帕米 (verapamil)、阿米洛利 (amiloride)、苄噻嗪 (benzthiazide)、氯噻嗪 (chlorothiazide)、氯噻酮 (chlorthalidone)、呋塞米 (furosemide)、氢氯噻嗪 (hydrochlorothiazide)、吲达帕胺 (indapamide)、美托拉宗 (metolazone)、泊利噻嗪 (polythiazide)、螺内酯 (spironolactone)、托拉塞米 (torsemide)、三氯噻嗪 (trichlormethiazide)、肼苯哒嗪 (hydralazine)、硝酸甘油 (nitroglycerin)、硝普钠 (sodium nitroprusside)、氯维地平 (clevidipine) 或米诺地尔 (minoxidil)。在一些实施方案中，所述抗高血压剂是拉贝洛尔 (labetalol)、美托洛尔 (metoprolol)、肼苯哒嗪 (hydralazine)、硝酸甘油 (nitroglycerin)、尼卡地平 (nicardipine)、硝普钠 (sodiumnitroprusside) 或氯维地平 (clevidipine)。

[0067] 本公开还提供了降低、预防或治疗个体中的心血管事件或疾病（例如，急性心血管疾病或慢性心血管疾病）的方法，包括向所述个体施用抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与医学或手术干预的（例如，在之前、过程中或之后的）组合（例如，联合）。此类抗体可以治疗有效量施用。此类干预可以是治疗有效的。在一些实施方案中，医学干预是活性剂，例如药物或生物活性剂，包括例如任何一种或多种本文所述的活性剂。在一些实施方案中，医学干预是门诊病人医学处理或方法。在一些实施方案中，医学干预是住院病人住院。在一些实施方案中，手术干预是血管再生术，包括例如任何一种或多种本文所述的血管再生术。在一些实施方案中，手术干预涉及心脏瓣膜修复或替换、冠状动脉搭桥手术、心脏移植或心脏泵。在一些实施方案中，手术干预涉及双心室心脏起搏器、心内除颤器 (internalcardiac defibrillator，ICD) 或肌切除术。在一些实施方案中，医学干预是戒烟药疗或戒烟咨询服务。

[0068] 本公开还提供了在有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体中降低心血管事件的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体，和 (b)

向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。

[0069] 本公开还提供了在有在先心血管事件历史的个体中降低心血管事件的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有在先心血管事件历史的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，在先的心血管事件是第一次心血管事件。在一些实施方案中，在先的或第一次心血管事件选自心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征、绞痛和血管再生术。在一些实施方案中，在先的或第一次心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。在一些实施方案中，降低心血管事件的方法是降低第二次或继发性心血管事件的方法。在一些实施方案中，所述心血管事件（例如，第二次或继发性心血管事件）选自心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，第一次心血管事件和第二次心血管事件是相同类型的心血管事件。在一些实施方案中，第一次心血管事件和第二次心血管事件是不同类型的心血管事件。

[0070] 本公开还提供了在心血管事件后，降低个体死亡率的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有心血管事件的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，所述心血管事件选自心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征、绞痛和血管再生术。在一些实施方案中，所述心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。

[0071] 本公开还提供了在有至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体中降低心血管事件的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述风险因子不是 2 型糖尿病、肥胖、高血糖、血脂异常、血脂过多、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病、高血压、动脉粥样硬化、或代谢综合征。在一些实施方案中，所述心血管事件选自心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛和血管再生术。

[0072] 本公开还提供了治疗个体中的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有心血管事件的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和至少一种包含 IL-1β 抗体或片段以外的活性剂的其他药物组合物。在一些实施方案中，在先的或第一次心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心

电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。

[0073] 本公开还提供了治疗个体中的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有心血管事件的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和（例如联合）血管再生术。在一些实施方案中，在先的或第一次心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。

[0074] 本公开还提供了降低个体在血管再生术后再狭窄的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有血管再生术的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。

[0075] 本公开还提供了治疗个体的急性高血压的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有急性高血压的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和一种或多种抗高血压剂。在一些实施方案中，高血压表现为血压大于或等于 180/110mm Hg。在一些其它实施方案中，高血压是温和至中度的，伴随收缩压 (SBP) 为 140 至 180mm Hg，和 / 或舒张压 (DBP) 为 90 至 110mm Hg。

[0076] 在任意的和 / 或所有的上述实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

[0077] 本公开还提供了用于任意的和 / 或所有的上述方法中的药物组合物，包括例如用于降低、预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病，包括急性心血管疾病或慢性心血管疾病，这是通过施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。

[0078] 本文提供了各种方法和药物组合物，包括例如如上所述的那些。本公开进一步提供了 IL-1β 结合抗体及其结合片段，以及可用于任意的和 / 或所有的上述方法和药物组合物中的合适剂量和给药方案，或可与任意的和 / 或所有的上述方法和药物组合物一起使用的合适剂量和给药方案。

[0079] 在任意的和 / 或所有的上述方法和药物组合物的一些实施方案中，与人 IL-1β 结合的抗体或片段具有约 1nM 或更低的解离常数。在一些实施方案中，与人 IL-1β 结合的抗体或片段具有约 500pM 或更低的解离常数。在一些实施方案中，与人 IL-1β 结合的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段具有约 250pM 或更低的解离常数。在一些实施方案中，与人 IL-1β 结合的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段具有约 100pM 或更低的解离常数。在任何上述方法的一些实施方案中，与人 IL-1β 结合的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段具有约 50pM 或更低的解离常数。在任何上述方法的一些实施方案中，与人 IL-1β 结合的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段具有约 5pM 或更低的解离常数。在一些实施方案中，与人 IL-1β 结合的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段具有约 1pM 或更低的解离常数。在一些实施方案中，与人 IL-1β 结合的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段具有约 0.3pM 或更低的解离常数。

[0080] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是中和抗体。

[0081] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合

片段结合 IL-1β 表位，使得所述结合抗体或片段基本允许 IL-1β 与 IL-1 受体 I(IL-1RI)的结合。

[0082] 在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段不与 IL-1α、IL-1R 或 IL-1Ra 可检测的结合。

[0083] 在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与具有 SEQ ID NO:1 的轻链可变区和 SEQ ID NO:2 的重链可变区的抗体竞争结合。在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段结合的表位与具有 SEQ ID NO:1 的轻链可变区和 SEQ ID NO:2 的重链可变区的抗体所结合的表位相同或基本相同。在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段包含 SEQ ID NO:1 的轻链可变区和 SEQ ID NO:2 的重链可变区。

[0084] 在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与 IL-1β 中包含 Glu64 的表位结合。

[0085] 在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与 IL-1β 的 N 末端的氨基酸 1-34 结合。

[0086] 在任意的和/或所有的上述方法和药物组合物的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是人源化的或人的。

[0087] 在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 3mg/kg 的抗体或片段进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 1mg/kg 或更少的抗体或片段进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 0.3mg/kg 或更少的抗体或片段进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个的 0.1mg/kg 或更少的抗体或片段进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 0.03mg/kg 或更少的抗体或片段进行施用。在一些实施方案中，一个或多个剂量至少为 0.01mg/kg 的抗体或片段。在任意上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个剂量的 0.03mg/kg 至 1mg/kg 进行施用。

[0088] 在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以固定剂量施用，不依赖于剂量与个体体重的比例。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个的 100mg 或更少的抗体或片段剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个的 25mg 或更少的抗体或片段剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个的 10mg 或更少的抗体或片段剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个的至少 0.5mg 的抗体或片段剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个的 1mg 至 100mg 的抗体或片段剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段的所述固定剂量是使用预装填的注射器或递送装置施用的。

[0089] 在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是通过皮下、静脉内或肌肉内注射施用的。

[0090] 在任意的和/或所有的上述方法的一些实施方案中，在施用初始剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段后，再施用一次或多次后续剂量。在一些实施方案中，所述初始剂量

和一次或多次后续剂量是以约每周 1 次至约每 12 个月 1 次的间隔施用的。在一些实施方案中，所述初始剂量和一次或多次后续剂量是以约每两周 1 次至约每 6 个月 1 次的间隔施用的。在一些实施方案中，所述初始剂量和一次或多次后续剂量是以约每月 1 次至约每 6 个月 1 次的间隔施用的。在一些实施方案中，所述初始剂量和一次或多次后续剂量是以约每月 1 次至约每 3 个月 1 次的间隔施用的。在一些实施方案中，所述初始剂量和一次或多次后续剂量是以约每 3 个月 1 次至约每 6 个月 1 次的间隔施用的。

[0091] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中提供了给药方案，其中所述给药方案包括以一次以上的给药间隔施用 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，给药方案包括以至少两个（例如，2、3、4、5、6）不同的给药间隔施用 IL-1β 抗体或其片段。在一些实施方案中，给药方案包括以两个不同的给药间隔施用 IL-1β 抗体或其片段。在一些实施方案中，给药方案包括以两个不同的给药间隔施用 IL-1β 结合抗体或其结合片段，其中所述第一个给药间隔包括施用一次或多次 IL-1β 抗体或其片段剂量，而第二个给药间隔包括施用一次或多次 IL-1β 抗体或其片段剂量，并且其中第一个给药间隔时间上短于第二个给药间隔。例如，第一个给药间隔可以是天或周，而第二个给药间隔可以是月。在一些实施方案中，第一个给药间隔是约 5 天至约 28 天，约 7 天至约 21 天，约 12 天至约 16 天，或约 14 天。在一些实施方案中，第二个给药间隔是约 1 个月至约 3 个月，约 1 个月至约 2 个月，或约 1 个月。在一些实施方案中，第一个给药间隔是约 7 天，第二个给药间隔是约 1 个月。

[0092] 在一些实施方案中，在施用初始剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段后，再施用一次或多次后续剂量，并且其中在施用初始剂量和第二次剂量之间的给药间隔，和在第二次和第三次剂量之间的给药间隔是约 7 天至约 21 天，并且其中在施用后续剂量之间的给药间隔是约 1 个月至约 3 个月。在一些实施方案中，在施用初始剂量和第二次剂量之间的给药间隔，和在第二次和第三次剂量之间的给药间隔是约 12 天至约 16 天，而在施用后续剂量之间的给药间隔是约 1 个月至约 2 个月。在一些实施方案中，在施用初始剂量和第二次剂量之间的给药间隔，和在第二次和第三次剂量之间的给药间隔是约 14 天，而在施用后续剂量之间的给药间隔是约 1 个月。

[0093] 在任意的和 / 或所有的上述方法、剂量和 / 或给药方案的优选的实施方案中，IL-1β 结合抗体或其结合片段（例如，治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段）是在心血管事件的 1 周内、在心血管事件的 96 小时内、在心血管事件的 72 小时内、在心血管事件的 48 小时内、在心血管事件的 24 小时内，或在心血管事件的 12 小时内第一次施用。

[0094] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，施用初始剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段后，再施用一次或多次后续剂量，并且其中所述一次或多次后续剂量的量与初始剂量几乎相同或较少。

[0095] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，施用初始剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段后，再施用一次或多次后续剂量，并且其中至少一次后续剂量的量比初始剂量多。

[0096] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段在测量 IL-1β 诱导的 IL-8 生产的人全血 IL-1β 抑制测定中，具有比 IL-1β 受体拮抗剂更低的 IC_{50}。在一些实施方案中，所述 IL-1β 受体拮抗剂是阿那白滞素 (anakinra)。

[0097] 在一些实施方案中，任意的和/或所有的上述方法可进一步包括施用至少一种包括抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以外的活性剂的其他药物组合物。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是胆固醇降低剂。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是抑制素或 HMG-CoA 还原酶抑制剂（例如，洛伐他汀 (lovastatin)、普伐他汀 (pravastatin)、辛伐他汀 (simvastatin)、氟伐他汀 (fluvastatin)、阿托伐他汀 (atorvastatin)、西立伐他汀 (cerivastatin)、美伐他汀 (mevastatin)、匹伐他汀 (pitavastatin)、罗苏伐他汀 (rosuvastatin) 或其混合物，或其与依泽替米贝 (Ezetimibe)、烟酸、苯磺酸氨氯地平 (Amlodipine Besylate) 的混合物）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是钙通道阻断剂（例如，氨氯地平、地尔硫卓、硝苯地平、尼卡地平、维拉帕米）或 β 阻断剂（例如，艾司洛尔 (esmolol)、美托洛尔 (metoprolol)、纳多洛尔 (nadolol)、喷布洛尔 (penbutolol)）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是抗高血压剂（例如，拉贝洛尔、美托洛尔、肼苯哒嗪、硝酸甘油、尼卡地平、硝普钠、氯维地平）、利尿剂（例如，噻嗪类利尿剂、氯噻酮 (chlorthalidone)、呋塞米、氢氯噻嗪、吲达帕胺、美托拉宗、盐酸阿米洛利、螺内酯 (spironolactone)、氨苯蝶啶 (triamterene)）或阿司匹林。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是血管紧张肽转变酶 (ACE) 抑制剂（例如，雷米普利、雷米普利拉 (ramiprilat)、卡托普利 (captopril)、赖诺普利 (lisinopril)）或血管紧张素 II 受体阻断剂（例如，氯沙坦、奥美沙坦 (olmesartan)、缬沙坦）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是血管舒张剂。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是抗凝剂（例如，醋硝香豆素 (acenocoumarol)、苯丙香豆素 (phenprocoumon)、华法林 (warfarin)、肝素 (heparin)、低分子量肝素 (low molecular weight heparin)）或血小板聚集的抑制剂（例如，氯吡格雷 (clopidogrel)、噻氯匹定 (ticlopidine)、西洛他唑 (cilostazol)、双嘧达莫 (dipyridamole)、依替巴肽 (eptifibatide)、阿司匹林 (aspirin)、阿昔单抗 (abciximab)、依替巴肽 (eptifibatide)、替罗非班 (tirofiban)）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是溶栓剂（例如，链激酶 (streptokinase)、尿激酶 (urokinase)、阿替普酶 (alteplase)、瑞替普酶 (reteplase)、替奈普酶 (tenecteplase)）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是毛地黄。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是地高辛 (digoxin) 或奈西立肽 (nesiritide)。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是氧。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是凝血酶抑制剂（例如，水蛭素 (hirudin)、比伐卢定 (bivalirudin)）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是硝酸盐（例如，三硝酸甘油酯 (GTN)/硝酸甘油、二硝酸异山梨酯 (isosorbide dinitrate)、单硝酸异山梨酯 (isosorbide mononitrate)）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是止痛剂（例如，硫酸吗啡 (morphine sulfate)）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是肾素抑制剂。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是内皮素 A 受体抑制剂。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是醛固酮抑制剂。

[0098] 本公开还提供了这样的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段用于生产组合物的用途，所述抗体或其结合片段在测量 IL-1β 诱导的 IL-8 生产的人全血 IL-1β 抑制测定中，

具有比 IL-1β 受体拮抗剂更低的 IC_{50}，其中所述组合物用于降低、预防或治疗心脏事件或心血管疾病。

[0099] 本文提供的这些 IL-1β 结合抗体和其结合片段，以及合适的剂量和给药方案和/或包括抗 IL-1β 抗体或其片段以外的活性剂的其他药物组合物，可用于上述方法和/或药物组合物中，或与上述方法和/或药物组合物一起使用，包括例如：

[0100] 用于降低有至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体中的心血管事件（例如，延迟至事件的时间、降低事件的可能性或风险、预防事件、降低事件的严重程度、降低恢复的时间）的方法和/或药物组合物，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术；

[0101] 用于降低有在先的心血管事件历史的个体中的心血管事件（例如，延迟至事件的时间、降低事件的可能性或风险、预防事件、降低事件的严重程度、降低恢复的时间）的方法和/或药物组合物，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术；

[0102] 用于降低个体在心血管事件后的死亡率的方法和/或药物组合物，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段；

[0103] 用于降低有至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体中的心血管事件的方法和/或药物组合物，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述风险因子不是 2 型糖尿病、肥胖、高血糖、血脂异常、血脂过多、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病、高血压、动脉粥样硬化或代谢综合征；

[0104] 用于治疗个体中的心血管事件的方法和/或药物组合物，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和至少一种包括 IL-1β 抗体或片段以外的活性剂的其他药物组合物；

[0105] 用于治疗个体中的心血管事件的方法和/或药物组合物，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和血管再生术；

[0106] 用于治疗个体中的心血管疾病的方法和/或药物组合物，包括例如急性心血管疾病或慢性心血管疾病，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和血管再生术；

[0107] 用于降低个体在血管再生术后再狭窄的方法和/或药物组合物，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段；

[0108] 用于治疗个体的急性高血压的方法和/或药物组合物，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和一种或多种抗高血压剂；

[0109] 用于降低、预防或治疗个体中的心血管事件或疾病（例如急性心血管疾病或慢性心血管疾病）的方法和/或药物组合物，包括向所述个体施用抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与医学或手术干预的组合；

[0110] 用于抑制个体中的血小板活性的方法和/或药物组合物，包括向所述个体施用治

疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段；

[0111] 用于降低有至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体中的心血管事件的方法和 / 或药物组合物，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术；

[0112] 用于降低有在先心血管事件历史的个体中的心血管事件的方法和 / 或药物组合物，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有在先心血管事件历史的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术；

[0113] 用于在心血管事件后，降低个体死亡率的方法和 / 或药物组合物，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有心血管事件的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段；

[0114] 用于在有至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体中降低心血管事件的方法和 / 或药物组合物，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有至少一种心血管疾病的风险因子历史的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述风险因子不是 2 型糖尿病、肥胖、高血糖、血脂异常、血脂过多、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病、高血压、动脉粥样硬化、或代谢综合征；

[0115] 用于治疗个体中的心血管事件的方法和 / 或药物组合物，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有心血管事件的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和至少一种包含 IL-1β 抗体或片段以外的活性剂的其他药物组合物；

[0116] 用于治疗个体中的心血管事件的方法和 / 或药物组合物，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有心血管事件的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和 (例如联合) 血管再生术；

[0117] 用于降低个体在血管再生术后再狭窄的方法和 / 或药物组合物，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有血管再生术的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段；

[0118] 用于治疗个体的急性高血压的方法和 / 或药物组合物，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有急性高血压的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和一种或多种抗高血压剂；

[0119] 应该理解当本说明书提供了使用具有某些性质 (例如 K_d 值或 IC_{50} 值) 的 IL-1β 抗体或其结合片段的方法时，例如，用于降低、预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病，包括急性心血管疾病或慢性心血管疾病时，这也意味着涉及此种抗体或其片段在制备用于这些方法的药物中的用途。此外，本公开还涵盖具有这些性质的 IL-1β 抗体或其结合片段，以及包含这些抗体或其片段的药物组合物，用于在本文提供的方法中，例如用于降低、预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病，包括急性心血管疾病或慢性心血管疾病。

[0120] 附图简述

[0121] 图 1 的图显示在人个体中 IV 施用 0.01、0.03、0.1、0.3 或 1.0mg/kg 抗 IL-1β 抗体后的血清浓度。

[0122] 图 2 的图显示在人个体中 SC 施用 0.03、0.1 或 0.3mg/kg 抗 IL-1β 抗体后的血清浓度。

[0123] 图 3 的图显示在人个体中施用 0.01、0.03、0.1、0.3 或 1.0mg/kg 的抗 IL-1β 抗体后，第 28 天的 CRP 的中位百分数改变。

[0124] 图 4 的图显示在心肌梗塞动物模型中的超声波心动描记值的改变。

[0125] 图 5 的图显示在心肌梗塞动物模型中对无着丝粒区段（代表梗塞面积）、前壁（梗塞）厚度、MPI 或 Tei 指数（联合性收缩和舒张功能障碍的标志物，和心力衰竭相关性死亡率的代表性标志物）和 TAPSE（右心室功能的标志物和 AMI 相关性死亡率的代表性标志物）的测量。

[0126] 图 6 的图显示对内皮细胞释放巨噬细胞诱导的促炎细胞因子的抑制。

[0127] 图 7 的图显示对平滑肌细胞释放巨噬细胞诱导的细胞因子和降解酶的抑制。

[0128] 图 8 的图显示 ApoE 敲除小鼠的主动脉中的动脉粥样硬化损伤形成的降低。

[0129] 图 9 是 en face 分析的照片，显示在 ApoE 敲除小鼠的主动脉中的动脉粥样硬化损伤形成的降低。

[0130] 发明详述

[0131] 本公开涉及用于治疗和 / 或预防心血管疾病的方法和相关制备品 (articles of manufacture)，包括例如急性心血管疾病或慢性心血管疾病。方法可用于降低、治疗或预防个体的心血管事件，例如心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术，包括在有心血管疾病的风险因子历史的个体中。方法还可用于降低个体在心血管事件后的死亡率。本文公开的抗 IL-1β 抗体或结合片段的使用提供了相对于在先可获得的选项的潜在优势，例如更大的安全性（例如，降低的副作用）、更大的疗效、靶向疾病的炎性组分，和 / 或减低频率的给药。

[0132] 细胞因子的白介素 -1(IL-1) 家族已被提示牵涉几种疾病状态，例如类风湿性关节炎 (RA)、骨关节炎、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎 (UC)、脓毒性休克、慢性梗阻性肺部疾病 (COPD)、哮喘、移植物抗宿主病、动脉粥样硬化、成人 T 细胞白血病、多发性骨髓瘤、多发性硬化症、中风和阿尔茨海默氏病。IL-1 家族成员包括 IL-1α、IL-1β 和 IL-1Ra。尽管由其与 IL-1 受体 (IL-1R1 和 IL-1R2) 结合的能力而相关联，但这些细胞因子的每一种都是由不同基因表达且具有不同的一级氨基酸序列。此外，这些细胞因子的生理活性可以彼此区分。

[0133] 破坏 IL-1 受体信号传导的化合物已作为治疗 IL-1 介导的疾病例如某些上述疾病的治疗剂进行研究。这些化合物包括重组 IL-1Ra(Amgen Inc.，Thousand Oaks，CA)、IL-1 受体“陷阱”肽 (Regeneron Inc.，Tarrytown，NY)、以及动物衍生的 IL-1β 抗体和重组 IL-1β 抗体及其片段。直接靶向 IL-1β 配体的化合物被认为提供了较好的策略，特别是当施用具有高亲和力的 IL-1β 抗体时。

[0134] 抗体、人源化抗体和人工程化抗体

[0135] IL-1（例如，IL-1β）结合抗体可以以下述形式提供：多克隆抗体、单克隆抗体 (mAbs)、重组抗体、嵌合抗体、CDR 移植抗体、全人抗体、单链抗体和 / 或双特异性抗体，以及通过已知技术提供的片段，包括其变体和衍生物，所述技术包括但不限于酶促切割、肽合成

或重组技术。

[0136] 抗体一般包含2条重链多肽和2条轻链多肽，但也考虑具有1条重链和1条轻链的单结构域抗体、和缺乏轻链的重链抗体。基于重链恒定结构域的氨基酸序列，存在5种类型的重链，称为 α、δ、ε、γ 和 μ。这些不同类型的重链分别产生5类抗体，IgA（包括 IgA_1 和 IgA_2）、IgD、IgE、IgG 和 IgM，包括4个 IgG 亚类，即 IgG_1、IgG_2、IgG_3 和 IgG_4。基于恒定结构域的氨基酸序列，还存在2种类型的轻链，称为 kappa（κ）或 lambda（λ）。全长抗体包括恒定结构域和可变结构域。恒定结构域无需存在于抗体的抗原结合片段中。本文公开的抗体的抗原结合片段可以包括 Fab、Fab′、$F(ab')_2$ 和 F(v) 抗体片段。如下文更详细地讨论的，IL-1β 结合片段包括可以结合 IL-1β 的抗体片段和抗原结合多肽。

[0137] 抗体的重链和轻链序列，或其抗原结合片段，均包括具有3个互补决定区（CDRs）以及非 CDR 构架区（FRs）的可变区。除非另有说明，如本文所使用的，术语“重链”和“轻链”分别意指重链可变区和轻链可变区。重链 CDRs 在本文中称为 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3。轻链 CDRs 在本文中称为 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3。抗体序列中的可变区和 CDRs 可以通过下述进行鉴定：(i) 根据本领域中已开发的一般法则，或 (ii) 将序列相对已知可变区的数据库进行比对。用于鉴定这些区域的方法在 Kontermann 和 Dubel，编辑，Antibody Engineering，Springer，New York，NY，2001，和 Dinarello 等人，Current Protocols in Immunology，John Wileyand Sons Inc.，Hoboken，NJ，2000 中得到描述。抗体序列数据库在下述中得到描述，并且可以通过下述获得：www.bioinf.org.uk/abs 的″ TheKabatman″数据库（由 A.C.Martin 在 the Department of Biochemistry &Molecular Biology University College London，London，England 维护），和 www.vbase2.org 的 VBASE2，如在 Retter 等人，Nucl.Acids Res.，33(Database issue)：D671-D674(2005) 中描述的。″ Kabatman″数据库网站也包括用于鉴定 CDRs 的一般经验法则。除非另有说明，如本文所使用的，术语“CDR”如 Kabat 等人，Sequences of Immunological Interest，第5版，U.S.Department of Health and Human Services，1991 中进行定义。

[0138] 多克隆抗体优选通过相关抗原和佐剂的多次皮下 (sc) 或腹膜内 (ip) 免疫注射而在动物中产生，使用本领域已知的标准技术。改善的抗体应答可以通过使用双官能剂或衍生剂使相关抗原与蛋白质缀合来获得，所述蛋白质在待免疫的物种中是免疫原性的，例如钥孔血蓝蛋白、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白、或大豆胰蛋白酶抑制剂，所述双官能剂或衍生剂为例如马来酰亚氨基苯甲酰磺基琥珀酰亚胺酯（通过半胱氨酸残基缀合）、N-羟基琥珀酰亚胺（通过赖氨酸残基）、戊二醛、琥珀酸酐或本领域已知的其他物质。

[0139] 单克隆抗体指得自基本上均质的一群抗体的抗体。单克隆抗体一般是高度特异性的，并且可以针对单个抗原位点，与一般包括针对不同决定簇（表位）的不同抗体的常规（多克隆）抗体制品不同。除了其特异性外，单克隆抗体还是有利的，因为它们由均质培养物合成，不被具有不同特异性和特征的其他免疫球蛋白污染。

[0140] 待依照本公开使用的单克隆抗体可以通过首先由 Kohler 等人，(Nature，256：495-7，1975) 描述的杂交瘤方法进行制备，或可以通过重组 DNA 方法（参见例如，美国专利号 4,816,567) 进行制备。单克隆抗体还可以使用例如 Clackson 等人，(Nature 352：624-628，1991) 和 Marks 等人，(J.Mol Biol.222：581-597，1991) 中描述的技术，从噬菌体抗体文库中分离。

[0141] 进一步考虑本公开的抗体可以以本领域众所周知和本文描述的抗体的较小抗原结合片段进行使用。本公开涵盖包括 2 条全长重链和 2 条全长轻链的 IL-1(例如，IL-1β）结合抗体。可替代地，IL-β 结合抗体可以是保留对于 IL-1β 的结合活性的构建体，例如单链抗体或“微型”抗体。此种构建体可以通过本领域已知的方法进行制备，例如 PCR 介导的单链抗体克隆和装配用于在大肠杆菌中表达（如 Antibody Engineering，The practicalapproach series，J.McCafferty，H.R.Hoogenboom，and D.J.Chiswell，编辑，Oxford University Press，1996 中描述的）。在这个类型的构建体中，抗体分子的重和轻链可变部分由 cDNA 进行 PCR 扩增。所得到的扩增子随后可以例如在第二个 PCR 步骤中通过接头 DNA 进行装配，所述接头 DNA 编码由氨基酸 Gly 和 Ser 组成的柔性蛋白质接头。这个接头允许可变重和轻链部分以这样的方式折叠，该方式使得抗体结合袋重新产生，并且以通常与亲本全长二聚免疫球蛋白分子相当的亲和力结合抗原。

[0142] IL-1(例如，IL-1β）结合抗体和片段包括本文公开的示例性抗体、片段和序列的变体。变体包括包含一个或多个氨基酸序列置换、缺失和 / 或添加的肽和多肽，其具有与本文公开的一种或多种示例性抗体、片段和序列相同或基本上相同的表位结合亲和力和特异性。因此，变体包括包含对本文公开的示例性抗体、片段和序列的一个或多个氨基酸序列置换、缺失和 / 或添加的肽和多肽，其中此种置换、缺失和 / 或添加不引起表位结合的亲和力和特异性的实质改变。例如，抗体或片段的变体可由对于抗体或片段的一个或多个改变而引起，其中该改变的抗体或片段具有与起始序列相同或基本上相同的表位结合亲和力和特异性。变体可以是天然存在的，例如等位基因变体或剪接变体，或可以是人工构建的。变体可以由编码所述变体的相应核酸分子进行制备。本发明抗体和 IL-1β 结合片段的变体可以在轻和 / 或重链氨基酸序列中具有变化，所述变化可以是天然发生的或可以通过使用重组 DNA 技术在体外改造天然序列而引入。天然存在的变体包括“体细胞”变体，其在抗外源抗原的抗体应答的产生过程中在体内在相应胚系 (germ line) 核苷酸序列中产生。

[0143] IL-1(例如，IL-1β）结合抗体和结合片段的变体也可以通过诱变技术进行制备。例如，氨基酸改变可以在整个抗体编码区随机地引入，并且所得到的变体可以就对于 IL-1β 的结合亲和力或其它性质进行筛选。可替代地，氨基酸改变可以在 IL-1β 抗体的所选择区域中引入，例如在轻和 / 或重链 CDRs 中，和 / 或在构架区中引入，并且所得到的抗体可以就与 IL-1β 的结合或某些其他活性进行筛选。氨基酸改变包括在 CDR 中的一个或多个氨基酸置换，从单氨基酸差异到在给定 CDR 例如 CDR3 内引入多个氨基酸变更。在另一种方法中，CDR 内的每个残基对 IL-1β 结合的贡献可以通过用丙氨酸置换在该 CDR 内的至少一个残基进行评估。Lewis 等人 (1995)，Mol.Immunol.32 :1065-72。对于与 IL-1β 的结合并非最佳的残基随后可以加以改变，以便确定更优化的序列。本发明也涵盖通过插入氨基酸以增加 CDR 例如 CDR3 的大小而产生的变体。例如，大多数轻链 CDR3 序列长 9 个氨基酸。抗体中短于 9 个残基的轻链序列可以通过插入合适的氨基酸以增加该 CDR 的长度，来优化与 IL-1β 的结合。

[0144] 变体还可以通过轻或重链的“链改组”进行制备。Marks 等人 (1992)，Biotechnology 10 :779-83。单条轻（或重）链可以与具有重（或轻）链库 (repertoire) 的文库组合，并且所得到的群体就所需活性例如与 IL-1β 的结合进行筛选。与使用既包含重链库又包含轻链库的文库时的可能情况相比，这允许筛选与单条轻链（或重链）组合的

更多不同重链（或轻链）样本。

[0145] 本公开的 IL-1（例如，IL-1β）结合抗体和片段涵盖本文公开的示例性抗体、片段和序列的衍生物。衍生物包括已进行化学修饰的多肽或肽、或其变体、片段或衍生物。例子包括一个或多个聚合物，例如水溶性聚合物、N 联或 O 联碳水化合物、糖、磷酸和 / 或其他此种分子的共价附着。在附着的分子的类型或位置方面，衍生物以不同于天然存在的或起始的肽或多肽的方式被修饰。衍生物还包括天然存在于肽或多肽上的一个或多个化学基团的缺失。

[0146] IL-1β 结合抗体和片段可以是双特异性的。双特异性抗体或片段可以具有几种构型。例如，双特异性抗体可以类似单个抗体（或抗体片段），但具有 2 个不同抗原结合位点（可变区）。双特异性抗体可以通过化学技术 (Kranz 等人 (1981)，Proc. Natl. Acad. Sci. USA,78 :5807)、通过“多瘤”(polydoma) 技术（美国专利号 4,474,893) 或通过重组 DNA 技术来产生。本公开的双特异性抗体可以具有对于至少 2 种不同表位的结合特异性，其中至少一种是 IL-1β 的表位。IL-1β 结合抗体和片段也可以是杂抗体 (heteroantibody)。杂抗体是连接在一起的 2 种或更多种抗体或抗体结合片段 (Fab)，每种抗体或片段具有不同特异性。

[0147] 绕过单克隆抗体产生的、用于制备抗体分子的抗原结合区域的重组 DNA 形式的技术可以考虑用于本发明 IL-1（例如，IL-1β）结合抗体和片段。将 DNA 克隆到细菌表达系统内。适合于实践本公开的此种技术的一个例子，使用具有前导序列的噬菌体 λ 载体系统，所述前导序列引起表达的 Fab 蛋白质移动到周质间隙（在细菌细胞膜和细胞壁之间）或分泌。可以快速产生大量功能性 Fab 片段，并就其与 IL-1β 的结合进行筛选。此种 IL-1β 结合剂（对于 IL-1β 多肽具有特异性的 Fab 片段）尤其包括在本公开的 IL-1β 结合抗体和片段内。

[0148] 本发明 IL-1（例如，IL-1β）结合抗体和片段可以是人源化或人工程化抗体。如本文所使用的，人源化抗体或其抗原结合片段是重组多肽，其包含来自非人抗体的抗原结合位点的部分和人抗体的构架和 / 或恒定区的部分。人工程化抗体或抗体片段是已通过在特定位置处修改（例如，缺失、插入或置换）氨基酸而被改造的非人（例如，小鼠）抗体，其中所述氨基酸的修改导致减少或消除该修饰抗体在人中的任何可检测免疫原性。

[0149] 人源化抗体包括嵌合抗体和 CDR 移植抗体。嵌合抗体是包括与人恒定区连接的非人抗体可变区的抗体。因此，在嵌合抗体中，可变区大部分是非人的，并且恒定区是人的。嵌合抗体和用于制备其的方法在 Morrison 等人，Proc. Natl. Acad. Scl USA,81 : 6841-6855(1984)，Boulianne 等人，Nature,312 :643-646(1984)，和 PCT 申请公开 WO 86/01533 中得到描述。尽管，它们可以比小鼠单克隆抗体更少免疫原性，但嵌合抗体的施用已与针对抗体的非人部分的人抗小鼠抗体应答 (HAMA) 关联起来。嵌合抗体也可以通过将来自具有合适抗原结合特异性的小鼠抗体分子的基因与来自具有合适生物活性的人抗体分子的基因剪接在一起来产生，所述生物活性例如激活人补体和介导 ADCC 的能力。Morrison 等人 (1984)，Proc. Natl. Acad. Scl,81 :6851 ;Neuberger 等人 (1984)，Nature, 312 :604。一个例子是将 Fc 区替换为不同同种型的 Fc 区。

[0150] CDR 移植抗体是包括与来自人“受体”抗体的构架区连接的来自非人“供体”抗体的 CDRs 的抗体。一般地，CDR 移植抗体包括比嵌合抗体更多的人抗体序列，因为它们包括

来自人抗体的恒定区序列和可变区（构架）序列。因此，例如，本公开的 CDR 移植人源化抗体可以包含重链，所述重链包含来自人抗体的构架区（例如，人抗体的 FR-1、FR-2 或 FR-3）的连续氨基酸序列（例如，约 5 个或更多、10 个或更多、或甚至 15 个或更多个连续氨基酸残基），或任选地，人抗体的整个构架区的大多数或全部。CDR 移植抗体和用于制备其的方法在 Jones 等人，Nature，321 :522-525(1986)，Riechmann 等人，Nature，332 :323-327(1988)，和 Verhoeyen 等人，Science，239 :1534-1536(1988)）中得到描述。可以用于产生人源化抗体的方法也在美国专利号 4,816,567、5,721,367、5,837,243 和 6,180,377 中得到描述。CDR 移植抗体被认为比嵌合抗体较不可能诱导针对非人抗体部分的免疫反应。然而，已报告来自供体抗体的构架序列是供体抗体的结合亲和力和 / 或特异性所需的，推测这是因为这些构架序列影响供体抗体的抗原结合部分的折叠。因此，当供体非人 CDR 序列被移植到无关人构建序列上时，在某些情况下，相对于最初非人供体抗体，所得到的 CDR 移植抗体可能显示结合亲合力的丧失。参见例如，Riechmann 等人，Nature，332 :323-327(1988)，和 Verhoeyen 等人，Science，239 :1534-1536(1988)。

[0151] 人工程化抗体包括例如“镶嵌”抗体和使用 HUMANENGINEERING™ 技术（美国专利 5,869,619）制备的抗体。HUMANENGINEERING™ 技术是商购可得的，并且涉及改变非人抗体或抗体片段，例如小鼠或嵌合抗体或抗体片段，方式是对抗体的氨基酸序列进行特异改变，以便产生在人中具有减少的免疫原性、然而仍保留原始非人抗体的所需结合性质的修饰抗体。一般地，该技术涉及将非人（例如，小鼠）抗体的氨基酸残基分类为“低风险”、“中等风险”或“高风险”残基。分类使用总体风险 / 回报计算来进行，该计算评估相对于置换将影响所得抗体的折叠和 / 或抗原结合性质的风险，进行该具体置换的预期益处（例如，在人中的免疫原性）。因此，低风险位置是预期在该处的置换是有利的位置，因为预期这将减少免疫原性而不显著影响抗原结合性质。中等风险位置是预期在该处的置换可减少免疫原性但有较大可能影响蛋白质折叠和 / 或抗原结合的位置。高风险位置包含最可能参与正确折叠或抗原结合的残基。一般地，非人抗体中的低风险位置用人残基进行置换，高风险位置很少置换，和有时，但不是不受限制地，在中等风险位置处进行人源化置换。在非人抗体可变区序列中具有脯氨酸的位置通常分类为至少中等风险位置。

[0152] 在非人（例如，小鼠）抗体序列的给定低或中等风险位置处置换的特定人氨基酸残基可以通过下述进行选择 :使来自非人抗体的可变区的氨基酸序列与特定或共有人抗体序列的相应区域比对。根据该比对，在非人抗体序列的低或中等风险位置处的氨基酸残基可以置换为人抗体序列中的相应残基。用于制备人工程化蛋白质的技术在 Studnicka 等人，ProteinEngineering，7 :805-814(1994)，美国专利 5,766,886、5,770,196、5,821,123 和 5,869,619、和 PCT 申请公开 WO 93/11794 中更详细地进行描述。

[0153] “镶嵌”抗体是非人或人源化（例如，嵌合或 CDR 移植抗体）抗体，其已经经过改造以替换某些暴露于溶剂的氨基酸残基，以便进一步减少其免疫原性或增强其功能。因为推测嵌合抗体的表面残基较不可能影响正确的抗体折叠但较可能引发免疫反应，所以嵌合抗体的镶嵌可以包括例如，鉴定嵌合抗体的非人构架区中暴露于溶剂的残基，和用来自人构架区的相应表面残基替换它们中的至少一个。镶嵌可以通过任何合适的工程技术来完成，包括上述 HUMAN ENGINEERING™ 技术的使用。

[0154] 在一个不同方法中，可以通过使 CDR 移植抗体“去人源化”来恢复结合亲合力。去

人源化可以包括使来自供体抗体的构架区的残基回到 CDR 移植抗体，从而恢复正确折叠。类似的“去人源化”可以通过下述来达到：(i) 在“受体”抗体中包括“供体”构架区的部分，或 (ii) 将“供体”抗体构架区的部分（连同移植的供体 CDRs）移植到受体抗体内。

[0155] 关于抗体、人源化抗体、人工程化抗体和用于其制备的方法的进一步讨论，参见 Kontermann and Dubel，编辑，Antibody Engineering，Springer，New York，NY，2001。

[0156] 示例性人源化或人工程化抗体包括 IgG、IgM、IgE、IgA 和 IgD 抗体。本发明抗体可以是任何类型（IgG、IgA、IgM、IgE、IgD 等）或同种型，并且可以包括 κ 或 λ 轻链。例如，人抗体可以包含 IgG 重链或确定的片段，例如至少一种同种型，IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4。作为进一步例子，本发明抗体或片段可以包含 IgG1 重链和 IgG1 轻链。

[0157] 本发明抗体和片段可以是人抗体（例如结合 IL-1β 多肽且由如下核酸序列编码的抗体，所述核酸序列是人胚系免疫球蛋白核酸序列的天然体细胞变体），及其片段、合成变体、衍生物和融合物。此种抗体可以通过本领域已知的任何方法来产生，例如通过使用转基因哺乳动物（例如，转基因小鼠），其中在该哺乳动物染色体中天然的免疫球蛋白库已被人 V 基因替换。此种哺乳动物表现出以正常方式实现人胚系抗体基因的 VDJ 重组和体细胞高变，从而产生具有全人序列的高亲和力抗体。

[0158] 针对靶蛋白质的人抗体也可以使用转基因动物来产生，所述转基因动物不具有内源免疫球蛋白生产，且经改造而包含人免疫球蛋白基因座。例如，WO 98/24893 公开了具有人 Ig 基因座的转基因动物，其中由于内源重和轻链基因座的失活，该动物不产生功能性内源免疫球蛋白。WO 91/00906 还公开了能够产生针对免疫原的免疫应答的转基因非灵长类哺乳动物宿主，其中抗体具有灵长类恒定区和 / 或可变区，且其中内源免疫球蛋白编码基因座被置换或失活。WO 96/30498 和美国专利号 6,091,001 公开了使用 Cre/Lox 系统修饰哺乳动物中的免疫球蛋白基因座，以便例如替换恒定或可变区的全部或部分，从而形成修饰的抗体分子。WO 94/02602 公开了具有灭活的内源 Ig 基因座和功能性人 Ig 基因座的非人哺乳动物宿主。美国专利号 5,939,598 公开了制备转基因小鼠的方法，其中该小鼠缺乏内源重链，且表达包含一个或多个异种恒定区的外源免疫球蛋白基因座。还参见，美国专利号 6,114,598、6,657,103 和 6,833,268。

[0159] 使用上文描述的转基因动物，可以产生针对所选择的抗原分子的免疫应答，可以从动物中取出抗体生产细胞，且用于产生分泌人单克隆抗体的杂交瘤。免疫接种方案、佐剂等是本领域已知的，并且可以在例如转基因小鼠的免疫接种中使用，如 WO 96/33735 中所述的。这个出版物公开了针对各种抗原分子的单克隆抗体，所述抗原分子包括 IL-6、IL-8、TNFa、人 CD4、L 选择蛋白、gp39 和破伤风毒素。单克隆抗体可以就抑制或中和相应蛋白质的生物活性或生理效应的能力进行测试。WO 96/33735 公开了针对 IL-8 的单克隆抗体，其衍生自用 IL-8 免疫的转基因小鼠的免疫细胞、阻断 IL-8 诱导的嗜中性粒细胞功能。对用于免疫转基因动物的抗原具有特异性的人单克隆抗体也公开于 WO 96/34096 和美国专利申请号 20030194404；以及美国专利申请号 20030031667 中。

[0160] 用于制备单克隆抗体的另外转基因动物包括在美国专利号 5,770,429 和 Fishwild 等人 (Nat.Biotechnol.14：845-851，1996) 中描述的 MedarexHuMAb-**MOUSE®**，其包含来自未重排人抗体基因的编码人抗体的重和轻链的基因序列。对 HuMAb-**MOUSE®** 的免疫使得能够产生针对靶蛋白质的全人单克隆抗体。

[0161] 此外，Ishida 等人 (Cloning Stem Cells.4 :91-102,2002) 描述了 TransChromo Mouse(TCMOUSE™)，其包含兆碱基大小的人 DNA 区段，并且掺入完整的人免疫球蛋白 (hIg) 基因座。TCMOUSE™ 具有 hIg 的全多样库，包括 IgGs 的所有亚类 (IgG1-G4)。用各种人抗原免疫接种 TC MOUSE™ 产生包含人抗体的抗体应答。

[0162] 还参见 Jakobovits 等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90 :2551(1993) ;Jakobovits 等人，Nature,362 :255-258(1993) ;Bruggermann 等人，Year in Immunol.,7 :33(1993) ；和美国专利号 5,591,669、美国专利号 5,589,369、美国专利号 5,545,807 ;和美国专利公开号 20020199213。美国专利公开号 20030092125 描述了用于使动物的免疫应答偏向所需表位的方法。人抗体也可以通过体外活化的 B 细胞来产生 (参见美国专利号 5,567,610 和 5,229,275)。

[0163] 人抗体也可以通过抗体展示文库的体外筛选来产生。参见 Hoogenboom 等人 (1991)，J.Mol.Biol.227 :381 ;和 Marks 等人 (1991)，J.Mol.Biol.222 :581。各种包含抗体的噬菌体展示文库已得到描述，并且可以容易地制备。文库可以包含各种各样的人抗体序列，例如人 Fab、Fv 和 scFv 片段，可以针对合适靶筛选这些序列。噬菌体展示文库可以包含非抗体的肽或蛋白质，可以筛选该肽或蛋白质以鉴定 IL-1β 的选择性结合剂。

[0164] 用于制备重组人抗体基因库的技术的发展和用于将所编码抗体片段展示在丝状噬菌体表面上的技术的发展，已提供了直接制备人抗体的手段。通过噬菌体技术产生的抗体以抗原结合片段——通常为 Fv 或 Fab 片段——的形式在细菌中产生，且因此缺乏效应子功能。效应子功能可以通过 2 种策略之一而引入 :这些片段可以被改造成完全抗体用于在哺乳动物细胞中表达，或改造成具有能够触发效应子功能的第二结合位点的双特异性抗体片段。

[0165] 本公开考虑用于产生靶特异性抗体或其抗原结合部分的方法，其包括下述步骤 : 在噬菌体上合成人抗体文库、用靶蛋白质或其部分筛选文库、分离结合靶的噬菌体、且由噬菌体获得抗体。例如，用于制备在噬菌体展示技术中使用的抗体文库的一种方法包括下述步骤 :用靶抗原或其抗原性部分免疫包含人免疫球蛋白基因座的非人动物，以产生免疫应答，从免疫接种的动物中提取抗体生产细胞 ;从提取的细胞中分离 RNA，将 RNA 逆转录以产生 cDNA，使用引物扩增 cDNA，且将 cDNA 插入噬菌体展示载体内，从而使得抗体在噬菌体上表达。本公开的重组靶特异性抗体可以以这种方式获得。

[0166] 噬菌体展示方法通过在丝状噬菌体表面上展示抗体库，且随后通过与所选抗原的结合来选择噬菌体，从而模拟免疫选择。一种此种技术在 WO99/10494 中描述，其描述了使用此种方法分离针对 MPL 和 msk 受体的高亲和力和功能性拮抗性抗体。本公开的抗体可以通过筛选重组组合抗体文库，优选地 scFv 噬菌体展示文库进行分离，其中所述文库可以使用由衍生自人淋巴细胞的 mRNA 制备的人 V_L 和 V_H cDNA 来制备。用于制备和筛选此种文库的方法是本领域已知的。参见例如，美国专利号 5,969,108。存在用于产生噬菌体展示文库的商购可得试剂盒 (例如，PharmaciaRecombinant Phage Antibody System，目录号 27-9400-01 ;和 StratageneSurfZAP.TM.phage display kit，目录号 240612)。还存在其他方法和试剂可以用于产生且筛选抗体展示文库 (参见例如，Ladner 等人美国专利号 5,223,409 ;Kang 等人 PCT 公开号 WO 92/18619 ;Dower 等人 PCT 公开号 WO 91/17271 ; Winter 等人 PCT 公开号 WO 92/20791 ;Markland 等人 PCT 公开号 WO 92/15679 ;Breitling

等人 PCT 公开号 WO 93/01288 ;McCafferty 等人 PCT 公开号 WO 92/01047 ;Garrard 等人 PCT 公开号 WO 92/09690 ;Fuchs 等人 (1991)Bio/Technology 9 :1370-1372 ;Hay 等人 (1992)Hum.Antibod.Hybridomas 3 :81-85 ;Huse 等人 (1989)Science246 :1275-1281 ;McCafferty 等人,Nature(1990)348 :552-554 ;Griffiths 等人 (1993)EMBO J 12 :725-734 ;Hawkins 等人 (1992)J.Mol.Biol.226 :889-896 ;Clackson 等人 (1991)Nature 352 :624-628 ;Gram 等人 (1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89 :3576-3580 ;Garrad 等人 (1991)Bio/Technology 9 :1373-1377 ;Hoogenboom 等人 (1991)Nuc Acid Res 19 :4133-4137 ;和 Barbas 等人 (1991)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88 :7978-7982。

[0167] 在一个实施方案中,为了分离具有所需特征的靶抗原特异性人抗体,筛选人 V_H 和 V_L 文库,以选择具有所需特异性的抗体片段。在这种方法中使用的抗体文库优选是如本文和本领域所述制备且筛选的 scFv 文库 (McCafferty 等人, PCT 公开号 WO 92/01047, McCafferty 等人,(Nature348 :552-554,1990) ;和 Griffiths 等人,(EMBO J 12 :725-734, 1993)。scFv 抗体文库优选使用靶蛋白质作为抗原进行筛选。

[0168] 可替代地,抗体的 Fd 片段 (V_H-C_H1) 和轻链 (V_L-C_L) 通过 PCR 分别进行克隆,并且在组合噬菌体展示文库中随机重组,随后可以就与特定抗原的结合进行选择。这些 Fab 片段在噬菌体表面上表达,即与编码其的基因物理连接。因此,通过抗原结合来选择 Fab 可以导致对 Fab 编码序列的共选择,随后可以扩增该序列。通过数轮抗原结合和再扩增 (称为淘选的程序),可以富集且最终分离对于抗原特异的 Fab。

[0169] 在 1994 年,描述了称为“引导选择”的用于抗体人源化的方法。引导选择将噬菌体展示技术的力量用于小鼠单克隆抗体的人源化 (参见 Jespers,L.S. 等人,Bio/Technology 12,899-903(1994))。为此,小鼠单克隆抗体的 Fd 片段可以与人轻链文库组合展示,并且所得到的杂交 Fab 文库随后可以用抗原进行选择。小鼠 Fd 片段从而提供了引导选择的模板。随后,使所选择的人轻链与人 Fd 片段文库组合。对所得到的文库的选择产生全人 Fab。

[0170] 用于从噬菌体展示文库获得人抗体的多种方法已得到描述 (参见例如, Hoogenboom 等人, J.Mol.Biol.,227 :381(1991) ;Marks 等人, J.Mol.Biol,222 :581-597(1991) ;美国专利号 5,565,332 和 5,573,905 ;Clackson, T., 和 Wells, J.A., TIBTECH 12,173-184(1994))。特别地,对衍生自噬菌体展示文库的抗体的体外选择和进化已成为有力工具 (参见 Burton, D.R., 和 Barbas III, C.F., Adv.Immunol.57, 191-280(1994) ;Winter, G. 等人, Annu.Rev.Immunol.12,433-455(1994) ;美国专利公开号 20020004215 和 WO 92/01047 ;美国专利公开号 20030190317 ;以及美国专利号 6,054,287 和 5,877,293。

[0171] Watkins, " Screening of Phage-Expressed Antibody Libraries byCapture Lift, " Methods in Molecular Biology, Antibody Phage Display :Methods and Protocols 178 :187-193(2002),和 2003 年 3 月 6 日公开的美国专利公开号 20030044772 描述了通过 Capture Lift 用于筛选噬菌体表达的抗体文库或其他结合分子的方法, Capture Lift 是一种涉及将候选结合分子固定在固相载体上的方法。

[0172] Fv 片段通过如下方式展示在噬菌体表面上 :使作为噬菌体蛋白质融合物 (例如,具有 M13 基因 III) 表达的一条链与作为可溶片段表达的互补链结合。考虑噬菌体可以是丝状噬菌体,例如 I 类噬菌体之一 :fd、M13、f1、If1、1ke、ZJ/Z、Ff,和 II 类噬菌体之一 :Xf、

Pf1 和 Pf3。噬菌体可以是 M13 或 fd 或其衍生物。

[0173] 一旦选择了起始人 V_L 和 V_H 区段，可以执行“混合和匹配”实验，以选择优选的 V_L/V_H 对组合，其中就靶的结合来筛选起始选择的 V_L 和 V_H 区段的不同对。此外，为了进一步改善抗体的质量，可以在类似于在天然免疫应答过程中负责抗体的亲和力成熟的体内体细胞突变过程的程序中；随机突变优选的 V_L/V_H 对的 V_L 和 V_H 区段，优选在 V_H 和 / 或 V_L 的 CDR1、CDR2 或 CDR3 区之任何一个中突变，。这种体外亲和力成熟可以通过使用 PCR 引物扩增 V_L 和 V_H 区来完成，所述 PCR 引物分别与 V_H CDR1、CDR2 和 CDR3，或 V_LCDR1、CDR2 和 CDR3 互补，所述引物已在某些位置处掺加了 4 种核苷酸碱基的随机混合物，从而使得所产生的 PCR 产物编码随机突变已引入 V_H 和 / 或 V_L CDR3 区内的 V_L 和 V_H 区段。这些随机突变的 V_L 和 V_H 区段可以就与靶抗原的结合进行再筛选。

[0174] 从重组免疫球蛋白展示文库中筛选和分离靶特异性抗体后，编码所选择抗体的核酸可以从展示包 (display package)(例如，自噬菌体基因组) 中回收，并且通过标准重组 DNA 技术亚克隆到其他表达载体内。需要时，核酸可以进一步处理，以产生本公开的其他抗体形式，如下文所述。为了表达通过筛选组合文库而分离的重组人抗体，将编码抗体的 DNA 克隆到重组表达载体内，且引入哺乳动物宿主细胞内，如本文所述。

[0175] 考虑噬菌体展示方法可以在细菌或宿主细胞的增变株中进行。增变株是具有遗传缺陷的宿主细胞，其造成在其内复制的 DNA 相对于亲本 DNA 发生突变。示例增变菌株是 NR9046mutD5 和 NR9046mut T1。

[0176] 还考虑噬菌体展示方法可以使用辅助噬菌体来进行。这是用于感染包含缺陷噬菌体基因组的细胞且功能在于弥补该缺陷的噬菌体。缺陷噬菌体基因组可以是其中某些功能编码基因序列被去除的噬菌粒或噬菌体。辅助噬菌体的例子是 M13K07、M13K07 基因 III 编号 3；和展示或编码与衣壳蛋白融合的结合分子的噬菌体。

[0177] 抗体也可以经由噬菌体展示筛选方法来产生，其中使用如 WO92/01047 中公开的分层双重组合方法 (hierarchical dual combinatorialapproach)，其中包含 H 或 L 链克隆的单菌落用于感染一个完整的文库，所述文库由编码另一条链 (L 或 H) 的克隆组成，并且所得到的双链特异性结合成员依照噬菌体展示技术例如本文描述的那些进行选择。这种技术也公开于 Marks 等人，(Bio/Technology，10 ：779-783，1992) 中。

[0178] 用于在酵母和微生物细胞表面上展示肽的方法也已用于鉴定抗原特异性抗体。参见例如，美国专利号 6,699,658。抗体文库可以与酵母蛋白质例如凝集素附着，有效地模拟在免疫系统中抗体经由 B 细胞的细胞表面展示。

[0179] 除噬菌体展示方法外，抗体可以使用核糖体 mRNA 展示方法和微生物细胞展示方法进行分离。使用核糖体展示进行的多肽选择在 Hanes 等人，(Proc. Natl Acad Sci USA，94 ：4937-4942，1997) 以及授予 Kawasaki 的美国专利号 5,643,768 和 5,658,754 中得到描述。核糖体展示也用于抗体的快速大规模突变分析。选择性诱变方法也提供了产生具有改善活性的抗体的方法，所述抗体可以使用核糖体展示技术进行选择。

[0180] IL-1(例如 IL-1β) 结合抗体和片段可以包含这样的一个或多个部分，其不结合 IL-1β 而是负责其他功能，例如循环半衰期、直接细胞毒性效应、可检测标记、或激活接受者的内源补体级联或内源细胞毒性。抗体或片段可以包含全部或部分恒定区，并且可以具有任何同种型，包括 IgA(例如，IgA1 或 IgA2)、IgD、IgE、IgG(例如 IgG1、IgG2、IgG3 或

IgG4)、或 IgM。除了或代替包含恒定区，本公开的抗原结合化合物可以包括附加表位、清道夫受体 (salvage receptor) 表位、用于诊断或纯化用途的标签部分、或细胞毒性部分例如放射性核素或毒素。

[0181] 本发明抗体和片段的恒定区（当存在时）可以是 γ1、γ2、γ3、γ4、μ、β2 或 δ 或 ε 类型，优选 γ 类型，更优选 γ 类型，而人轻链的恒定部分可以是 κ 或 λ 类型（其包括 λ_1、λ_2 和 λ_3 亚型），但优选 κ 类型。

[0182] 变体还包括包含经修饰的 Fc 区的抗体或片段，其中经修饰的 Fc 区包含相对于野生型 Fc 区的至少一个氨基酸修饰。变体 Fc 区可以相对于包含野生型 Fc 区的可比较分子进行设计，以便以更多或更小的亲和力结合 Fc 受体。

[0183] 例如，本发明 IL-1β 结合抗体和片段可以包含经修饰的 Fc 区。Fc 区指与如下 IgG C 末端结构域同源的、天然存在的或合成的多肽，所述结构域在 IgG 的木瓜蛋白酶消化后产生。IgG Fc 具有约 50kD 的分子量。在本发明抗体和片段中，可以使用整个 Fc 区，或仅半衰期增强部分。此外，氨基酸序列中的许多修饰是可接受的，因为天然活性并非在所有情况下都是必需或期望的。

[0184] 需要时，Fc 区可以进行突变，以抑制其固定补体和以高亲和力结合 Fc 受体的能力。对于鼠类 IgG Fc，Ala 残基置换 Glu 318、Lys 320 和 Lys322 使得蛋白质无法指导 ADCC。Glu 置换 Leu 235 抑制蛋白质以高亲和力结合 Fc 受体的能力。关于人 IgG 的各种突变是已知的（参见例如，Morrison 等人，1994，The Immunologist 2：119124 和 Brekke 等人，1994，The Immunologist 2：125）。

[0185] 在某些实施方案中，提供了具有经修饰的 Fc 区的本发明抗体或片段，其中天然存在的 Fc 区进行修饰以增加抗体或片段在生物环境中的半衰期，例如血清半衰期或通过体外试验测量的半衰期。用于改变 IgG Fc 区的最初形式的方法在美国专利号 6,998,253 中得到描述。

[0186] 在某些实施方案中，可能希望修饰抗体或片段以便增加其血清半衰期，例如给抗体片段添加分子例如 PEG 或其他水溶性聚合物，包括多糖聚合物，以增加半衰期。这也可以例如通过将清道夫受体结合表位掺入抗体片段内（例如，通过抗体片段中合适区域的突变，或通过将该表位掺入肽标签内（例如借助于 DNA 或肽合成），随后将肽标签融合在抗体片段的任一末端或中间）来达到（参见国际公开号 WO96/32478）。清道夫受体结合表位指负责增加 IgG 分子的体内血清半衰期的 IgG 分子（例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3 或 IgG_4）Fc 区的表位。

[0187] 清道夫受体结合表位可以包括这样的区域，其中来自 Fc 结构域的 1 个或 2 个环的任何一个或多个氨基酸残基被转移至抗体片段的类似位置上。更加优选地，转移来自 Fc 结构域的 1 个或 2 个环的 3 个或更多个氨基酸残基。更加优选地，表位取自 Fc 区（例如，IgG 的 Fc 区）的 CH2 结构域，且转移至抗体的 CH1、CH3 或 V_H 区或超过一个此种区域上。可替代地，表位取自 Fc 区的 CH2 结构域，且转移至抗体片段的 C_L 区或 V_L 区或两者。还参见国际申请 WO 97/34631 和 WO 96/32478，其描述了 Fc 变体及其与清道夫受体的相互作用。

[0188] 在 Fc 受体结合位点内的残基的突变可以导致改变的效应子功能，例如改变的 ADCC 或 CDC 活性，或改变的半衰期。潜在突变包括一个或多个残基的插入、缺失或置换，包括用丙氨酸置换、保守置换、非保守置换、或用来自不同 IgG 亚类的相同位置处的相应氨基

酸残基替换（例如，IgG1 残基用在那个位置处的相应 IgG2 残基替换）。例如，已报告与原始嵌合 IgG4 比较，使 IgG4 中的氨基酸位置 241 的丝氨酸突变成脯氨酸（在 IgG1 和 IgG2 中的该位置处发现的残基）导致同质抗体的产生，以及延长的血清半衰期和改善的组织分布 (Angal 等人，Mol Immunol. 30 :105-8，1993)。

[0189] 抗体片段是完整全长抗体的部分，例如完整抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的例子包括 Fab、Fab′ 、F(ab′)$_2$ 和 Fv 片段 ；双链抗体 (diabody) ；线性抗体 ；单链抗体分子（例如，scFv) ；多特异性抗体片段例如双特异性、三特异性和多特异性抗体（例如，双链抗体、三链抗体 (triabody)、四链抗体 (tetrabody)) ；微型抗体 (minibody) ；螯合重组抗体 (chelatingrecombinant antibody) ；三体 (tribody) 或双体 (bibody) ；胞内抗体 ；纳米抗体 ；小模块免疫药物 (small modular immunopharmaceuticals，SMIP)、adnectins、结合结构域免疫球蛋白融合蛋白 ；驼源化抗体 (camelizedantibody) ；含 V_{HH} 的抗体 ；和由抗体片段形成的任何其他多肽。

[0190] 本公开包括包含任何前述重或轻链序列且结合 IL-1β 的 IL-1β 结合抗体片段。如本文所使用的，术语片段指抗体的任何 3 个或更多个连续氨基酸（例如，4 个或更多、5 个或更多、6 个或更多、8 个或更多、或甚至 10 个或更多个连续氨基酸)，并且涵盖 Fab、Fab′ 、F(ab′)$_2$ 和 F(v) 片段、或单个轻或重链可变区或其部分。IL-1β 结合片段包括例如 Fab、Fab′ 、F(ab′)$_2$、Fv 和 scFv。这些片段缺乏完整抗体的 Fc 片段，从循环中更快速地被清除，并且可以具有比完整抗体更少的非特异性组织结合。参见 Wahl 等人 (1983)，J. Nucl. Med.，24 :316-25。这些片段可以使用众所周知的方法由完整抗体产生，例如通过用酶例如木瓜蛋白酶（以产生 Fab 片段）或胃蛋白酶（以产生 F(ab′)$_2$ 片段）的蛋白酶解切割。

[0191] 用于测定 IL-1β 与 IL-1 受体 I 型 (IL-1R1) 的结合的体外和基于细胞的测定试验是本领域充分描述的，包括在与 IL-1β 或 IL-1R1 结合的分子（例如抗体、拮抗剂或其他抑制剂）存在下进行测定的试验。（参见例如 Evans 等人，(1995)，J. Biol. Chem. 270 :11477-11483 ；Vigers 等人，(2000)，J. Biol. Chem. 275 :36927-36933 ；Yanofsky 等 人，(1996)，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 :7381-7386 ；Fredericks 等 人，(2004)，Protein Eng. Des. Sel. 17 :95-106 ；Slack 等 人，(1993)，J. Biol. Chem. 268 :2513-2524 ；Smith 等人，(2003)，Immunity 18 :87-96 ；Vigers 等人，(1997)，Nature 386 :190-194 ；Ruggiero 等人，(1997)，J. Immunol. 158 :3881-3887 ；Guo 等人，(1995)，J. Biol. Chem. 270 :27562-27568 ；Svenson 等人，(1995)，Eur. J. Immunol. 25 :2842-2850 ；Arend 等人，(1994)，J. Immunol. 153 :4766-4774)。用于此种测定试验的重组 IL-1 受体 I 型（包括人 IL-1 受体 I 型)，可从各种商业来源容易地获得（参见例如 R&D Systems，SIGMA)。IL-1 受体 I 型也可以从使用本领域已知的标准分子生物学和转染技术引入合适宿主细胞内的表达构建体或载体表达。表达的 IL-1 受体 I 型随后可以分离且纯化用于在结合测定中使用，或可替代地直接以细胞结合形式使用。

[0192] 例如，IL-1β 与 IL-1 受体 I 型的结合可以通过下述进行测定 ：固定 IL-1β 结合抗体、使 IL-1β 与固定抗体接触且测定 IL-1β 是否与抗体结合，使可溶形式的 IL-1RI 与结合的 IL-1β / 抗体复合物接触，并且测定可溶 IL-1RI 是否与复合物结合。该方案也可以包括在与 IL-1β 接触前使可溶 IL-1RI 与固定抗体接触，以证实可溶 IL-1RI 不与固定抗体结合。这个方案可以使用用于结合相互作用的动力学分析的**Biacore®**仪器来进行。此种

方案也可以用于测定抗体或其他分子是否允许或阻断 IL-1β 与 IL-1 受体 I 型的结合。

[0193] 对于其他 IL-1β/IL-1RI 结合测定试验，对 IL-1β 与 IL-1 受体 I 型的结合的允许或阻断可以通过下述确定：比较在 IL-1β 抗体或其 IL-1β 结合片段存在或不存在下比较 IL-1β 与 IL-1RI 的结合。在该试验的读出中阻断被鉴定为：与包含相应缓冲剂或稀释剂但不包含 IL-1β 抗体或其 IL-1β 结合片段的对照样品比较，在抗 IL-1β 抗体或其 IL-1β 结合片段存在下 IL-1β 与 IL-1 受体 I 型结合的指定减少。该试验读出可以定性地呈现为指示阻断的存在或不存在，或可以定量地呈现为指示由于抗体或片段的存在所致的结合减少的百分比或倍数。

[0194] 可替代地或另外地，当 IL-1β 结合抗体或 IL-1β 结合片段基本上阻断 IL-1β 与 IL-1RI 结合时，与在不存在抗体或片段的情况下相同浓度的 IL-1β 和 IL-1RI 的结合比较，IL-1β 与 IL-1RI 的结合减少至少 10 倍、可替代地至少约 20 倍、可替代地至少约 50 倍、可替代地至少约 100 倍、可替代地至少约 1000 倍、可替代地至少约 10000 倍或更多。作为另一个例子，当 IL-1β 结合抗体或 IL-1β 结合片段基本上允许 IL-1β 与 IL-1RI 结合时，IL-1β 与 IL-1RI 的结合是在不存在抗体或片段的情况下相同浓度的 IL-1β 和 IL-1RI 的结合的至少约 90％、可替代地至少约 95％、可替代地至少约 99％、可替代地至少约 99.9％、可替代地至少约 99.99％、可替代地至少约 99.999％、可替代地至少约 99.9999％、可替代地基本上相同。

[0195] 在某些实施方案中，本公开可以包括 IL-1β 结合抗体或 IL-1β 结合片段，其与本文公开的一种或多种示例性抗体结合相同的表位或基本上相同的表位。可替代地或另外地，该 IL-1β 结合抗体或 IL-1β 结合片段与具有美国申请号 11/472813 中描述的 AB7 可变区序列（序列在下文显示）的抗体竞争结合。可替代地或另外地，本公开包括 IL-1β 结合抗体和片段，其结合氨基酸序列中包含的表位 ESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIE(SEQID NO:3)。如本文考虑的，可以使用本领域几种已知方法中的任何一种容易地测定 IL-1β 结合抗体或片段是否与一种或多种示例性抗体，例如命名为 AB7 的抗体结合相同的表位或基本上相同的表位。

[0196] 例如，由 IL-1β 结合抗体或片段结合的关键氨基酸残基（表位）可以使用肽阵列进行测定，例如 PepSpot™ 肽阵列 (JPT Peptide Technologies, Berlin, Germany)，其中在膜上直接合成跨越整个 IL-1β 氨基酸序列的一系列 12 个氨基酸的扫描肽，每种肽与前一种肽重叠 11 个氨基酸。携带肽的膜随后用抗体在室温下例如以 2μg/ml 的浓度探测 2 小时，以针对所述抗体获取表位结合信息。抗体与膜结合肽的结合可以使用二级 HRP 缀合的山羊抗人（或适当时，小鼠）抗体，随后使用增强型化学发光 (ECL) 进行检测。对应于成熟 IL-1β 蛋白质的特定氨基酸残基或序列并且对于抗体结合具有正评分的肽点，指示由该特定抗体结合的表位。

[0197] 可替代地或另外地，可以执行抗体竞争实验，并且此种测定试验是本领域众所周知的。例如，为了测定抗体或片段是否与如下肽序列中包含的表位结合，所述肽序列包含对应于成熟 IL-1β 蛋白质的残基 83-105 的氨基酸 ESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIE(SEQ ID NO：3)，可以将未知特异性的抗体与本公开任何示例性抗体（例如，AB7）进行比较。结合竞争测定可以例如使用用于结合相互作用的动力学分析的**Biacore®**仪器或通过 ELISA 来进行。在此种测定中，未知表位特异性的抗体就其与已知比较抗体（例如，AB7）竞争结合的能力

进行评估。与特定表位的竞争结合通过已知抗体（例如，AB7）与该 IL-1β 表位的结合减少至少约 50％，或至少约 70％、或至少约 80％、或至少约 90％、或至少约 95％、或至少约 99％或约 100％来确定，并且可以指示与基本上相同的表位结合。

[0198] 鉴于本公开中鉴定了示例性抗体的 IL-1β 结合区域和 / 或这些公开抗体所识别的表位，可以考虑产生具有相似结合特征和治疗或诊断用途的其它抗体，其是与本公开的实施方案平行的实施方案。

[0199] 抗体的抗原结合片段包括保留与抗原特异性结合的能力（一般通过保留抗体的抗原结合部分）的片段。已经充分确立了抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段来实现。抗原结合部分的例子包括 (i)Fab 片段，其为由 VL、VH、CL 和 CH1 结构域组成的单价片段；(ii)$F(ab')_2$ 片段，其为包含在铰链区处由二硫桥连接的 2 个 Fab 片段的二价片段；(iii)Fd 片段，其为 VH 和 CH1 结构域；(iv)Fv 片段，其为抗体单臂的 VL 和 VH 结构域，(v)dAb 片段 (Ward 等人，(1989)Nature 341 :544-546)，其为 VH 结构域；和 (vi) 分离的互补决定区 (CDR)。单链抗体也包含在术语抗体的抗原结合部分内。本公开的 IL-1β 结合抗体和片段也涵盖单价或多价、或者单体或多聚体（例如，四聚体）、含或不含支架（例如，蛋白质或碳水化合物支架）的 CDR 衍生的结合结构域。

[0200] 本发明的 IL-1β 结合抗体或片段可以是较大免疫粘附分子的部分，通过抗体或抗体部分与一个或多个其他蛋白质或肽的共价或非共价结合而形成。此种免疫粘附分子的例子包括使用链霉亲和素核心区以构成四聚体 scFv 分子 (Kipriyanov，S.M. 等人 (1995)Human Antibodies andHybridomas 6 :93-101)，和使用半胱氨酸残基、标记肽和 C 末端多组氨酸标签以构成二价和生物素化的 scFv 分子 (Kipriyanov，S.M. 等人 (1994)Mol.Immunol.31 :1047-1058)。包含抗体和片段的免疫粘附分子可以使用标准重组 DNA 技术来获得，如本文所述。优选的抗原结合部分是完整结构域或完整结构域对。

[0201] 本公开的 IL-1β 结合抗体和片段也涵盖由 V_H 结构域组成的结构域抗体 (dAb) 片段 (Ward 等人，Nature 341 :544-546，1989)。本公开的 IL-1β 结合抗体和片段也涵盖双链抗体，它是二价抗体，其中 V_H 和 V_L 结构域在单条多肽链上表达，但使用的接头太短而不允许相同链上的 2 个结构域之间发生配对，从而迫使这些结构域与另一条链的互补结构域配对，产生 2 个抗原结合位点（参见例如，EP 404,097 ;WO 93/11161 ;Holliger 等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90 :6444-6448，1993，和 Poljak 等人，Structure 2 :1121-1123，1994)。双链抗体可以是双特异性或单特异性的。

[0202] 本公开的 IL-1β 结合抗体和片段也涵盖与 IL-1β 结合的单链抗体片段 (scFv)。scFv 包含与抗体轻链可变区 (V_L) 可操作地连接的抗体重链可变区 (V_H)，其中重链可变区和轻链可变区一起或各自地形成结合 IL-1β 的结合位点。scFv 可以包含在氨基末端处的 V_H 区和在羧基末端处的 V_L 区。可替代地，scFv 可以包含在氨基末端处的 V_L 区和在羧基末端处的 V_H 区。此外，尽管 Fv 片段的 2 个结构域 V_L 和 V_H 由分开的基因编码，但它们可以使用重组方法通过合成接头而连接，所述合成接头使得它们能够被制备成单条多肽链，其中 V_L 和 V_H 区配对以形成单价分子（称为单链 Fv(scFv) ；参见例如 Bird 等人 (1988)Science 242 :423-426 ；和 Huston 等人 (1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85 :5879-5883)。

[0203] scFv 可以任选地进一步包含在重链可变区和轻链可变区之间的多肽接头。此种多肽接头一般包含 1-50 个氨基酸，可替代地 3-12 个氨基酸，可替代地 2 个氨基酸。用于连接

scFv 中的重和轻链的接头肽的例子包括 5 氨基酸序列 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(SEQ ID NO：6)。其他例子包括这个序列的一个或多个串联重复（例如，包含 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(SEQ ID NO:6) 的 2-4 个重复的多肽），以产生接头。

[0204] 本公开的 IL-1β 结合抗体和片段也涵盖重链抗体 (HCAb)。在驼类动物 (camelids)（骆驼 (camel)、单峰驼 (dromedary) 和美洲驼 (llama)；Hamers-Casterman 等人，1993Nature 363:446；Nguyen 等人，1998J.Mol.Biol.275:413)、毯状鲨 (Nuttall 等人，Mol Immunol.38:313-26,2001)、护士鲨 (Greenberg 等人，Nature 374:168-73,1995；Roux 等人，1998Proc.Nat.Acad.Sci.USA 95:11804) 和科氏兔银鲛 (Nguyen 等人，″ Heavy-chainantibodies in Camelidae;a case of evolutionary innovation，″ 2002Immunogenetics 54(1):39-47) 的某些免疫球蛋白同种型中发现常规抗体 H_2L_2 结构的例外。这些抗体看起来可以仅使用重链可变区形成抗原结合区域，因为这些功能抗体是仅重链的二聚体（称为“重链抗体”或“HCAbs”）。因此，本发明的 IL-1β 结合抗体和片段的某些实施方案可以是与 IL-1β 特异性结合的重链抗体。例如，IgG 类的且缺乏轻链的重链抗体由驼科 (camelidae) 动物产生，所述驼科动物包括骆驼、单峰驼和美洲驼 (Hamers-Casterman 等人，Nature 363:446-448(1993))。HCAbs 具有约 95kDa 而不是常规 IgG 抗体的约 160kDa 的分子量。它们的结合结构域仅由重链可变结构域组成，通常称为 V_{HH} 以使其与常规 V_H 区分。Muyldermans 等人，J.Mol.Recognit.12:131-140(1999)。重链抗体的可变结构域有的称为纳米抗体 (Cortez-Retamozo 等人，Cancer Research64:2853-57,2004)。纳米抗体文库可以如 Conrath 等人，(AntimicrobAgents Chemother 45:2807-12,2001) 中所述由免疫接种的单峰驼产生或使用重组方法来产生。

[0205] 因为不存在第一个恒定结构域 (C_{H1})（由于缺失剪接共有信号故在 mRNA 加工过程中被剪接掉），所以可变结构域 (V_{HH}) 之后紧接为铰链区、C_{H2} 和 C_{H3} 结构域 (Nguyen 等人，Mol.Immunol.36:515-524(1999)；Woolven 等人，Immunogenetics 50:98-101(1999))。驼科 V_{HH} 据报告与 IgG2 和 IgG3 恒定区重组，所述 IgG2 和 IgG3 恒定区包含铰链、CH2 和 CH3 结构域且缺乏 CH1 结构域 (Hamers-Casterman 等人，同上引文）。例如，美洲驼 IgG1 是常规 (H_2L_2) 抗体同种型，其中 V_H 与包含铰链、CH1、CH2 和 CH3 结构域的恒定区重组，而美洲驼 IgG2 和 IgG3 是仅重链的同种型，其缺乏 CH1 结构域且不包含轻链。

[0206] 尽管 HCAbs 缺乏轻链，但它们具有抗原结合库 (repereoire)。HCAbs 的遗传产生机制在 Nguyen 等人 Adv.Immunol 79:261-296(2001) 和 Nguyen 等人，Immunogenetics 54:39-47(2002) 中得到综述。鲨鱼，包括护士鲨，显示相似的含抗原受体的单个单体 V 结构域。Irving 等人，J.Immunol.Methods 248:31-45(2001)；Roux 等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 95:11804(1998)。

[0207] V_{HH} 包含小的完整抗原结合片段（例如，约 15kDa，118-136 个残基的片段）。已发现驼科 V_{HH} 结构域以高亲和力与抗原结合 (Desmyter 等人，J.Biol Chem.276:26285-90,2001)，其中 V_{HH} 亲和力一般在纳摩尔范围内，并且可与 Fab 和 scFv 片段的亲和力相当。V_{HH} 是高度可溶的且比 Fab 和 scFv 片段的相应衍生物更稳定。V_H 片段相对难以以可溶形式产生，但当构架残基改变成更 V_{HH} 样时，可以获得可溶性和特异性结合的改善。（参见例如，Reichman 等人，J Immunol Methods 1999,231:25-38.）。V_{HH} 携带使得其更亲水且阻止与 BiP（免疫球蛋白重链结合蛋白质）长期相互作用的氨基酸置换，正常在折叠和装配过程中

Bip 将在内质网 (ER) 中与 H 链结合，直至它被 L 链替换。因为 V_{HH} 增加的亲水性，所以改善了从 ER 中的分泌。

[0208] 功能性 V_{HH} 可以通过蛋白酶解切割所免疫的驼类动物的 HCAb，通过从所免疫的驼类动物的 B 细胞（导致重组 V_{HH}）、或从天然的或合成的文库中直接克隆 V_{HH} 基因，而获得。具有所需抗原特异性的 V_{HH} 也可以通过噬菌体展示技术来获得。与 Fabs 或 scFvs 比较，在噬菌体展示中使用 V_{HH} 更简单且更有效，因为仅需要克隆且表达 1 个结构域以获得功能抗原结合片段。Muyldermans，Biotechnol. 74 :277-302(2001) ;Ghahroudi 等人，FEBS Lett. 414 :521-526(1997) ;和 van der Linden 等人，J. Biotechnol. 80 :261-270(2000)。用于产生具有驼科重链的抗体的方法也在美国专利申请号 20050136049 和 20050037421 中得到描述。

[0209] 核糖体展示方法可以用于鉴定且分离具有所需结合活性和亲和力的 scFv 和 / 或 V_{HH} 分子。Irving 等人，J. Immunol. Methods 248 :31-45(2001)。核糖体展示和选择具有产生和展示大型文库 (10^{14}) 的潜力。

[0210] 其他实施方案提供通过驼源化过程产生的 V_{HH} 样分子，在该过程中修饰非驼科 V_H，例如人 V_{HH}，以改善其溶解性且阻止非特异性结合。这通过用 V_{HH} 样残基替换 V_H 的 V_L 侧上的残基来达到，从而模拟更可溶的 V_{HH} 片段。当在体内施用于患者时，驼源化 V_H 片段，特别是基于人构架的那些，预期显示出大大减少的免疫应答，并且因此预期具有用于治疗应用的显著优点。Davies 等人，FEBS Lett. 339 :285-290(1994) ;Davies 等人，Protein Eng. 9 :531-537(1996) ;Tanha 等人，J. Biol. Chem. 276 :24774-24780(2001) ;和 Riechmann 等人，Immunol. Methods 231 :25-38(1999)。

[0211] 广泛多样的表达系统可用于产生 IL-1β 片段，包括 Fab 片段、scFv 和 V_{HH}。例如，原核和真核起源的表达系统可以用于大规模生产抗体片段和抗体融合蛋白。特别有利的是允许将大量抗体片段分泌到培养基中的表达系统。

[0212] 双特异性 Fab-scFv（“双体”）和三特异性 Fab-(scFv)(2)（“三体”）的产生在 Schoonjans 等人 (J Immunol. 165 :7050-57，2000) 和 Willems 等人 (J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 786 :161-76，2003) 中得到描述。对于双体或三体，使 scFv 分子与 VL-CL(L) 和 VH-CH_1(Fd) 链中的一个或两个融合，例如为了产生三体，使 2 个 scFvs 与 Fab 的 C 末端融合，而在双体中，使 1 个 scFv 与 Fab 的 C 末端融合。由经由肽接头（无铰链）或经由 IgG 铰链与 CH3 融合 scFv 组成的“微型抗体”已在 Olafsen 等人，Protein Eng Des Sel. 2004Apr ;17(4) :315-23 中得到描述。

[0213] 胞内抗体是显示细胞内表达且可以操作细胞内蛋白质功能的单链抗体 (Biocca 等人，EMBO J. 9 :101-108，1990 ;Colby 等人，Proc Natl AcadSci USA. 101 :17616-21，2004)。包含如下细胞信号序列的胞内抗体可以如 Mhashilkar 等人 (EMBO J 14 :1542-51，1995) 和 Wheeler 等人 (FASEBJ. 17 :1733-5. 2003) 中所述产生，所述细胞信号序列使抗体构建体保留在细胞内区域中。穿膜抗体 (transbody) 是可穿过细胞的抗体，其中蛋白质转导结构域 (PTD) 与单链可变片段 (scFv) 抗体融合。Heng 等人，(MedHypotheses. 64 :1105-8，2005)。

[0214] 本公开的 IL-1β 结合抗体和片段也涵盖这样的抗体，其为 SMIPs 或对于靶蛋白质特异的结合结构域免疫球蛋白融合蛋白。这些构建体是包含与免疫球蛋白结构域融合的抗原结合结构域的单链多肽，所述免疫球蛋白结构域是执行抗体效应子功能所需的。参见例

如，WO03/041600、美国专利申请 20030133939 和美国专利申请 20030118592。

[0215] 本公开的 IL-1β 结合抗体和片段也涵盖免疫粘附素。一个或多个 CDRs 可以共价或非共价地掺入分子内，以使其成为免疫粘附素。免疫粘附素可以掺入 CDR(s) 作为较大多肽链的部分，可以使 CDR(s) 与另一条多肽链共价连接，或可以非共价掺入 CDR(s)。本文公开的 CDRs 允许免疫粘附素与 IL-1β 特异性结合。

[0216] 本公开的 IL-1β 结合抗体和片段也涵盖抗体模拟物，其包含在有机或分子支架（例如蛋白质或碳水化合物支架）上构建的一个或多个 IL-1β 结合部分。具有相对限定的三维结构、通常称为蛋白质支架的蛋白质，可以用作试剂用于设计抗体模拟物。这些支架一般包含一个或多个易接受特异的或随机的序列变异的区域，通常对此类序列随机化以产生蛋白质文库，由其中可以选择出期望的产物。例如，抗体模拟物可以包含具有免疫球蛋白样结构域的嵌合非免疫球蛋白结合多肽，所述多肽包含具有 2 个或更多个溶剂暴露环的支架，所述溶剂暴露环含有插入每个环内的来自亲本抗体的不同 CDR，并对亲本抗体所结合的配体显示出选择性结合活性。已提出非免疫球蛋白的蛋白质支架用于获得具有新结合性质的蛋白质。(Tramontano 等人，J.Mol.Recognit.7 :9,1994 ;McConnell 和 Hoess，J.Mol.Biol.250 :460,1995)。其他蛋白质已作为构架进行测试，并且已用于在 α 螺旋表面上 (Nord 等人，Nat.Biotechnol.15 :772,1997 ;Nord 等人，Protein Eng.8 :601,1995)，在 α 螺旋束的 α 螺旋之间的环上 (Ku 和 Schultz，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 92 :6552,1995)，和在由二硫桥约束的环上，例如小蛋白酶抑制剂的那些环上 (Markland 等人，Biochemistry 35 :8045,1996 ;Markland 等人，Biochemistry 35 :8058,1996 ;Rottgen 和 Collins，Gene 164 :243,1995 ;Wang 等人，J.Biol.Chem.270 :12250,1995) 展示随机化的残基。关于将支架用于抗体模拟物的方法公开于美国专利 5,770,380 以及美国专利申请 2004/0171116、2004/0266993 和 2005/0038229 中。

[0217] 用于本文方法的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段一般以高亲和力与 IL-1β 结合（例如，如用 BIACORE 测定的）。在优选的实施方案中，抗体或其片段结合 IL-1β，具有平衡结合解离常数 (K_D) 为约 10nM 或更少、约 5nM 或更少、约 1nM 或更少、约 500pM 或更少，约 250pM 或更少、约 100pM 或更少、约 50pM 或更少或，约 25pM 或更少。在特别优选的实施方案中，抗体或抗体片段结合人 IL-1β，解离常数为约 100pM 或更少、约 50pM 或更少、约 10pM 或更少、约 5pM 或更少、约 3pM 或更少、约 1pM 或更少、约 0.75pM 或更少、约 0.5pM 或更少、约 0.3pM 或更少、约 0.2pM 或更少，或约 0.1pM 或更少。在特别优选的实施方案中，抗体或抗体片段结合人 IL-1β，解离常数为约 10pM 或更少。

[0218] 如通过酶联免疫吸附测定 (ELISA) 测定的，本公开的抗体或片段可以例如以约 10nM 或更少，约 5nM 或更少、约 2nM 或更少、约 1nM 或更少、约 0.75nM 或更少、约 0.5nM 或更少、约 0.4nM 或更少、约 0.3nM 或更少、或甚至约 0.2nM 或更少的 IC_{50} 与 IL-1β 结合。优选地，本公开的抗体或抗体片段不与除 IL-1 外的任何靶交叉反应。例如，本发明抗体和片段可以与 IL-1β 结合，但不与 IL-1α 可检测地结合，或相对于其与 IL-1α 的结合，其与 IL-1β 的结合具有高至少约 100 倍（例如，至少约 150 倍、至少约 200 倍、或甚至至少约 250 倍）的选择性。在某些实施方案中，与在未施用本公开的抗体或片段的 IL-1β 刺激的动物中的血清 IL-6 水平比较，根据本公开使用的抗体或片段可以使动物中 IL-1β 诱导的血清 IL-6 表达受到至少 50％（例如，至少 60％、至少 70％、或甚至至少 80％）的抑制。抗体可

以结合 IL-1β，但允许或基本上允许结合的 IL-1β 配体与 IL-1 受体 I 型 (IL-RI) 结合。与阻断或基本上干扰 IL-1β 与 IL-1RI 结合的许多已知 IL-1β 结合抗体不同，命名为 AB5 和 AB7（美国申请号 11/472813) 的抗体与 IL-1β 配体选择性结合，但允许结合的 IL-1β 配体与 IL-1RI 结合。例如，命名为 AB7 的抗体与 IL-1β 表位结合，但仍允许结合的 IL-1β 与 IL-1RI 结合。在某些实施方案中，抗体可以减少结合的 IL-1β 与 IL-1RI 的相互作用的亲和力。因此，在一个相关方面，本公开提供了具有至少一个上述特征的 IL-1β 结合抗体或 IL-1β 结合抗体片段的用途。如本文所述，本公开的任何前述抗体、抗体片段或多肽都可以是人源化的或人工程化的。

[0219] 本领域已知的各种 IL-1（例如，IL-1β）抗体和片段可以根据本文提供的方法使用，包括例如下述专利和专利申请中描述的抗体或使用下述专利和专利申请中描述的方法获得的抗体：US 4,935,343；US 2003/0026806；US 2003/0124617（例如，抗体 AAL160)；WO 2006/081139（例如，抗体 9.5.2)；WO 03/034984；WO 95/01997（例如，抗体 SK48-E26VTKY)；U.S.7,446,175（例如，抗体 ACZ 885)；WO 03/010282（例如，抗体 Hu007)；WO 03/073982（例如，抗体 N55S)；U.S.7,541,033（例如，W17、U43、W13、W18、W20)；U.S.7,491,392；WO 2004/072116、WO 2004/067568、EP 0 267 611B1、EP 0 364 778B1 和美国申请号 11/472813。作为非限制性例子，抗体 AB5 和 AB7（美国申请号 11/472813、WO2007/002261) 可以依照本公开来使用。AB5 和 AB7 的可变区序列如下：

[0220] AB7

[0221] 轻链

[0222] DIQMTQSTSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLSWYQQKPGKAVKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQQEDFATYFCLQGKMLPWTFGQGTKLEIK(SEQ IDNO:1)

[0223] 有下划线的序列描述（从左到右）CDR1、2 和 3。

[0224] 重链

[0225] QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDGDESYNPSLKSRLTISKDTSKNQVSLKITSVTAADTAVYFCARNRYDPPWFVDWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:2)

[0226] 有下划线的序列描述（从左到右）CDR1、2 和 3。

[0227] AB5

[0228] 轻链

[0229] DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLSWYQQKPDGTVKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCLQGKMLPWTFGGGTKLEIK(SEQ IDNO:4)

[0230] 有下划线的序列描述（从左到右）CDR1、2 和 3。

[0231] 重链

[0232] QVTLKESGPGILKPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDGDESYNPSLKTQLTISKDTSRNQVFLKITSVDTVDTATYFCARNRYDPPWFVDWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:5)

[0233] 有下划线的序列描述（从左到右）CDR1、2 和 3。

[0234] 在一些实施方案中，用于任何和/或所有的本文公开方法中的 IL-1β 抗体或其片段可以约 1nM 或更少的解离常数与人 IL-1β 结合。在一些实施方案中，抗体或片段结合人 IL-1β 的解离常数为约 500pM 或更少。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段结合人 IL-1β 的解离常数为约 250pM 或更少。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合

抗体或其结合片段结合人 IL-1β 的解离常数为约 100pM 或更少。在一些实施方案中，抗体或片段结合人 IL-1β 的解离常数为约 50pM 或更少。在一些实施方案中，抗体或片段结合人 IL-1β 的解离常数为约 10pM 或更少。在一些实施方案中，抗体或片段结合人 IL-1β 的解离常数为约 5pM 或更少。在一些实施方案中，抗体或片段结合人 IL-1β 的解离常数为约 1pM 或更少。在一些实施方案中，抗体或片段结合人 IL-1β 的解离常数为约 0.3pM 或更少。

[0235] 在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是中和抗体。

[0236] 在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段结合 IL-1β 表位，使得所述结合抗体或片段基本允许 IL-1β 与 IL-1 受体 (IL-1RI) 的结合。

[0237] 在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段不与 IL-1α、IL-1R 或 IL-1Ra 可检测的结合。

[0238] 在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与具有 SEQ IDNO:1 的轻链可变区和 SEQ ID NO:2 的重链可变区的抗体竞争结合。在任何上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段结合的表位与具有 SEQ ID NO:1 的轻链可变区和 SEQ ID NO:2 的重链可变区的抗体结合的表位相同或基本相同。在任何上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段包括 SEQ ID NO:1 的轻链可变区和 SEQ IDNO:2 的重链可变区。

[0239] 在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与 IL-1β 中包含 Glu64 的表位结合。

[0240] 在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与 IL-1β 的 N 末端的氨基酸 1-34 结合。

[0241] 在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是人源化的或人的。

[0242] 本公开还提供了抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段的用途，所述结合抗体或结合片段在测量 IL-1β 诱导的 IL-8 生产的人全血 IL-1β 抑制测定中，具有比 IL-1β 受体拮抗剂更低的 IC_{50}，用于生产用于降低、预防或治疗心血管事件或心血管疾病的组合物。

[0243] 在另一个方面，方法包括施用治疗有效量的抗 IL-1β 抗体或其片段，其中所述抗体或其片段在测量 IL-1β 诱导的 IL-8 生产的人全血 IL-1β 抑制测定中具有比 IL-1β 受体拮抗剂更低的 IC_{50}。在一个实施方案中，在测量 IL-1β 诱导的 IL-8 生产的人全血 IL-1β 抑制测定中，抗体或片段具有的 IC_{50} 低于 IL-1β 受体拮抗剂的 IC_{50} 的约 90%、80%、70%、60%、50%。在另一个实施方案中，在测量 IL-1β 诱导的 IL-8 生产的人全血 IL-1β 抑制测定中，抗体或片段具有的 IC_{50} 低于 IL-1β 受体拮抗剂的 IC_{50} 的约 40%、30%、20%、10%。在优选的实施方案中，在测量 IL-1β 诱导的 IL-8 生产的人全血 IL-1β 抑制测定中，抗体或片段具有的 IC_{50} 低于 IL-1β 受体拮抗剂的 IC_{50} 的约 8%、5%、4%、3%、2%、1%。在一个实施方案中，IL-1β 受体拮抗剂是阿那白滞素（即，**Kineret®**）。

[0244] 在另一个方面，本文提供的方法包括向个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 抗体或其片段，其中相比对照抗体，所述抗体或其片段在小鼠中提供了 IL-1β 刺激的 IL-6 释放的体内抑制，使用 Economides 等人，Nature Med.，9:47-52(2003) 描述的测定，其通过引用整合到本文中。在一个实施方案中，相比对照抗体，抗体或片段在小鼠中提供至少约 10%、20%、30%、40%、50% 的 IL-1β 刺激的 IL-6 释放的体内抑制。在另一实施方案中，相比对照抗体，抗体或片段在小鼠中提供至少约 60%、70%、80%、90%、95% 的 IL-1β 刺激的

IL-6 释放的体内抑制。在一个实施方案中，对照抗体是同种型对照抗体。

[0245] 在另一个方面，本公开提供了这样的方法，包括向人施用治疗有效量的抗 IL-1β 抗体或其片段，其中相比未使用抗体的对照，所述抗体或其片段在人全血中抑制表皮葡萄球菌 (Staphylococcus epidermidis) 诱导的细胞因子生产。在一个实施方案中，相比对照，抗体或片段提供了在人全血中对表皮葡萄球菌诱导的细胞因子生产更高水平的抑制，高至少约 10％、20％、30％、40％、50％。在另一实施方案中，相比对照抗体，抗体或片段提供了在人全血中对表皮葡萄球菌诱导的细胞因子生产更高水平的抑制，高至少约 60％、70％、80％、90％、95％。在一个实施方案中，抑制的细胞因子是 IL-1β、IL-1a、IL-6、IL-8、IL-1Ra、TNFα 或 IFNɣ。

[0246] 本文描述的抗体和抗体片段可以通过任何合适的方法进行制备。用于制备此种抗体和抗体片段的合适方法是本领域已知的。用于制备抗体和抗体片段的其他方法如本文所描述的作为本公开的部分。如本文所描述的，本公开的抗体、抗体片段或多肽可以分离或纯化至任何程度。如本文所使用的，分离的化合物是已从其天然环境中取出的化合物。纯化的化合物是在纯度方面已增加的化合物，从而与其 (i) 在其天然环境中时或 (ii) 当在实验室条件下最初合成和 / 或扩增时比较，该化合物以更纯的形式存在，其中“纯度”是相对术语，不一定指“绝对纯度”。

[0247] 药物组合物

[0248] 根据本公开使用的 IL-1(例如，IL-1β) 结合抗体和抗体片段可以配制在组合物，特别是药物组合物中，用于在本文的方法中使用。此种组合物包含与合适载体混合的治疗或预防有效量的本公开的 IL-1β 结合抗体或抗体片段，所述载体例如药学上可接受的物质。一般地，为了给动物施用，在配制于药物组合物中之前，充分纯化本公开的 IL-1β 结合抗体和抗体片段。

[0249] 药学上可接受的物质包括载体、赋形剂、稀释剂、抗氧化剂、防腐剂、着色剂、调味剂和稀释剂、乳化剂、悬浮剂、溶剂、填充剂、增量剂 (bulkingagent)、缓冲剂、递送媒介物、张力剂、共溶剂、湿润剂、络合剂、缓冲物质、抗微生物剂和表面活性剂。

[0250] 中性缓冲盐水或与白蛋白混合的盐水是示例性合适的载体。药物组合物可以包括抗氧化剂例如抗坏血酸；低分子量多肽；蛋白质，例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水聚合物例如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖和其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂例如 EDTA；糖醇例如甘露糖醇或山梨糖醇；成盐抗衡离子例如钠；和 / 或非离子型表面活性剂例如 Tween、普流尼克 (pluronics) 或聚乙二醇 (PEG)。此外，例如，合适的张力增强剂包括碱金属卤化物 (优选氯化钠或钾)、甘露糖醇、山梨糖醇等。合适的防腐剂包括苯扎氯铵、硫柳汞、苯乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯己定、山梨酸等。过氧化氢也可以用作防腐剂。合适的共溶剂包括甘油、丙二醇和 PEG。合适的络合剂包括咖啡因、聚乙烯吡咯烷酮、β－环糊精或羟丙基－β－环糊精。合适的表面活性剂或湿润剂包括脱水山梨糖醇酯、聚山梨醇酯例如聚山梨醇酯 80、氨基丁三醇、卵磷脂、胆固醇、tyloxapal 等。缓冲剂可以是常规缓冲剂例如乙酸盐、硼酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐、碳酸氢盐或 Tris-HCl。乙酸盐缓冲液可以是约 pH 4-5.5，和 Tris 缓冲液可以是约 pH 7-8.5。另外的药学物质在 Remington′ sPharmaceutical Sciences，第 18 版，A.R.Gennaro，编辑，Mack PublishingCompany，1990 中阐述。

[0251] 组合物可以是液体形式或冻干或冷冻干燥形式，并且可以包括一种或多种冷冻防护剂、赋形剂、表面活性剂、高分子量结构添加剂和/或增量剂（参见例如美国专利6,685,940、6,566,329和6,372,716）。在一个实施方案中，包括冷冻防护剂，其为非还原糖例如蔗糖、乳糖或海藻糖。一般包括的冷冻防护剂的量使得在重构后所得到的制剂将是等渗的，尽管高渗或略微低渗的制剂也可以是合适的。此外，冷冻防护剂的量应足以阻止蛋白质在冻干后不可接受量的降解和/或聚集。在冻干前制剂中对于糖（例如，蔗糖、乳糖、海藻糖）而言示例性冷冻防护剂浓度是约10mM-约400mM。在另一个实施方案中，包括表面活性剂，例如非离子型表面活性剂和离子型表面活性剂，例如聚山梨醇酯（例如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80）；泊洛沙姆（例如泊洛沙姆188）；聚（乙二醇）苯基醚（例如Triton）；十二烷基硫酸钠(SDS)；月桂基硫酸钠；辛基糖苷钠；月桂基-、肉豆蔻基-、亚油基-或硬脂基-磺基甜菜碱；月桂基-、肉豆蔻基-、亚油基-或硬脂基-肌氨酸；亚油基-、肉豆蔻基-或鲸蜡基-甜菜碱；月桂酰氨基丙基-、椰油酰氨基丙基-、亚油酰氨基丙基-、肉豆蔻酰氨基丙基-、棕榈酰氨基丙基-或异硬脂酰氨基丙基-甜菜碱（例如月桂酰氨基丙基）；肉豆蔻酰氨基丙基-、棕榈酰氨基丙基-或异硬脂酰氨基丙基-二甲胺；甲基椰油酰基牛磺酸钠或甲基油基-牛磺酸二钠；和MONAQUAT™系列(Mona Industries,Inc.,Paterson,NJ.)、聚乙二醇、聚丙二醇、以及乙二醇和丙二醇的共聚物（例如普流尼克、PF68等）。可以存在于预冻干制剂中的表面活性剂的示例性量是约0.001-0.5%。高分子量结构添加剂（例如充填剂、粘合剂）可以包括例如阿拉伯树胶、白蛋白、海藻酸、磷酸钙（二代）、纤维素、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、微晶纤维素、葡聚糖、糊精、dextrates、蔗糖、tylose、预糊化淀粉、硫酸钙、直链淀粉、甘氨酸、膨润土、麦芽糖、山梨糖醇、乙基纤维素、磷酸氢二钠、磷酸二钠、焦亚硫酸二钠、聚乙烯醇、明胶、葡萄糖、瓜尔胶、液体葡萄糖、可压缩糖、硅酸镁铝、麦芽糖糊精、聚氧化乙烯、聚甲基丙烯酸酯、聚维酮、海藻酸钠、黄蓍胶微晶纤维素、淀粉和玉米醇溶蛋白。高分子量结构添加剂的示例性浓度为0.1重量%-10重量%。在其他实施方案中，可以包括增量剂（例如，甘露糖醇、甘氨酸）。

[0252] 组合物可以适合于肠胃外施用。示例性组合物适合于通过技术人员可用的任何途径注射或输注到动物体内，例如关节内、皮下、静脉内、肌内、腹膜内、脑内（脑实质内）、脑室内、肌内、眼内、动脉内、损伤内、直肠内、经皮、经口和吸入途径。肠胃外制剂一般将是无菌、无致热原、等渗的水溶液，任选包含药学上可接受的防腐剂。

[0253] 非水溶剂的例子包括丙二醇、聚乙二醇、植物油例如橄榄油、和可注射有机酯例如油酸乙酯。水性载体包括水、醇/水溶液、乳状液或悬浮液，包括盐水和缓冲介质。肠胃外媒介物包括氯化钠溶液、林格氏葡萄糖、葡萄糖和氯化钠、乳酸林格氏液或不挥发性油。静脉内媒介物包括液体和营养补充剂、电解质补充剂，例如基于林格氏葡萄糖的那些，等。也可以存在防腐剂和其他添加剂，例如，抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂、惰性气体等。一般参见，引入本文作为参考的Remington′ s PharmaceuticalScience，第16版，Mack编辑，1980。

[0254] 本文描述的药物组合物可以配制用于以这样的方式控制或持续递送，所述方式在特定局部环境中提供局部浓度的产物（例如，快速浓注(bolus)、贮库(depot)效应）的持续释放和/或增加的稳定性或半衰期。本公开考虑，在某些实施方案中，此种组合物在初始贮存物中可以包括显著更大量的抗体或片段，而依照本公开内容实际上在任何时间点上释

放且可用的抗体或片段的有效量是比初始贮存物低得多的量。组合物可以包括本公开的 IL-1β 结合抗体、抗体片段、核酸或载体与聚合化合物（例如聚乳酸、聚乙醇酸等）颗粒制品、以及物质例如生物可降解基质、可注射微球体、微囊颗粒、微囊、生物可蚀解颗粒珠、脂质体和可植入递送装置（提供活性剂的控制或持续释放）的制剂，随后该制剂可以以贮库型注射剂的形式递送。用于配制此种持续或控制递送手段的技术是已知的，并且各种聚合物已得到开发和用于药物的控制释放和递送。此种聚合物一般是生物可降解和生物相容的。聚合物水凝胶，包括由对映体聚合物或多肽区段的络合而形成的聚合物水凝胶，以及具有温度或 pH 敏感性质的水凝胶，由于在捕获生物活性蛋白质物质（例如抗体）时涉及的温和水性条件，而可能是用于提供药物贮库效应所期望的。参见例如，在 PCT 申请公开 WO 93/15722 中用于递送药物组合物的控制释放多孔聚合物微粒的描述。

[0255] 用于这个用途的合适材料包括聚乳酸（参见例如，美国专利 3,773,919）、聚 (a-羟基羧酸）聚合物，例如聚 -D-(-)-3- 羟丁酸 (EP133,988A)、L- 谷氨酸和 γ 乙基 -L- 谷氨酸酯的共聚物 (Sidman 等人，Biopolymers，22 :547-556(1983))、聚（甲基丙烯酸 2- 羟基乙酯）(Langer 等人，J. Biomed. Mater. Res.，15 :167-277(1981)，和 Langer，Chem. Tech.，12 :98-105(1982))、乙烯乙酸乙烯酯、或聚 -D(-)-3- 羟丁酸。其他生物可降解聚合物包括聚（内酯）、聚（缩醛）、聚（原酸酯）和聚（原碳酸酯）。持续释放组合物还可以包括脂质体，其可以通过本领域已知的数种方法中的任何一种进行制备（参见例如，Eppstein 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA，82 :3688-92(1985))。载体自身或其降解产物在靶组织中应是无毒的，并且不应使病症进一步恶化。这可以通过在靶病症的动物模型中的常规筛选进行测定，或者如果此种模型不可得的话，在正常动物中测定。

[0256] 用于持续释放的重组蛋白质的微囊化已用人生长激素 (rhGH)、干扰素 -(rhIFN-)、白介素 -2 和 MN rgp120 成功地进行。Johnson 等人，Nat. Med.，2 :795-799(1996) ;Yasuda，Biomed. Ther.，27 :1221-1223(1993) ;Hora 等 人，Bio/Technologv. 8 :755-758(1990) ; Cleland， " Design andProduction of Single Immunization Vaccines Using PolylactidePolyglycolide Microsphere Systems，" in Vaccine Design :The Subunit andAdjuvant Approach，Powell and Newman，编辑，(Plenum Press :NewYork，1995)，第 439-462 页 ;WO 97/03692，WO 96/40072，WO 96/07399 ;和美国专利号 5,654,010。这些蛋白质的持续释放制剂使用聚丙交酯共乙交酯 (PLGA) 聚合物（由于其生物相容性和广泛范围的生物可降解性质）进行开发。PLGA 的降解产物——乳酸和乙醇酸可以在人体内被快速清除。此外，这种聚合物的降解度可以取决于其分子量和组成。Lewis， " Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymer，" in :M. Chasin and R. Langer（编辑），Biodegradable Polymers as DrugDelivery Systems(Marcel Dekker : New York，1990)，第 1-41 页。持续释放组合物的另外例子包括例如 EP 58,481A，美国专利号 3,887,699，EP158,277A，加拿大专利号 1176565，U. Sidman 等人，Biopolymers 22，547[1983]，R. Langer 等 人，Chem. Tech. 12,98[1982]，Sinha 等 人，J. Control. Release 90,261[2003]，Zhu 等人，Nat. Biotechnol. 18,24[2000]，和 Dai 等人，Colloids Surf B Biointerfaces 41,117[2005]。

[0257] 生物粘附聚合物也预期用于在本公开的组合物中使用或与本公开的组合物一起使用。生物粘附剂是能够与生物基底长时间粘附的合成和天然存在的材料。例如，卡波姆和

聚卡波非是聚（丙烯酸）的合成交联衍生物。基于天然存在物质的生物粘附递送系统包括例如透明质酸，也称为乙酰透明质酸。透明质酸是由 D- 葡糖醛酸和 N- 乙酰 -D- 葡糖胺残基组成的天然存在的粘多糖。透明质酸存在于脊椎动物的细胞外组织基质中，包括在结缔组织中，以及在滑液以及眼的玻璃体液和房水中。透明质酸的酯化衍生物已用于产生微球体用于在递送中使用，所述微球体是生物相容和生物可降解的（参见例如，Cortivo 等人，Biomaterials(1991)12 :727-730 ;European 公开号 517,565 ;国际公开号 WO 96/29998 ;Ilium 等人，J.Controlled ReI.(1994)29 :133-141）。本公开的示例性含透明质酸组合物以 IL-1β 结合抗体或片段与透明质酸聚合物之比为约 0.1％比约 40％ (w/w) 的量包含透明质酸酯聚合物。

[0258] 生物可降解和生物不可降解聚合基质可以用于依照本公开递送组合物，并且此种聚合基质可以包含天然或合成聚合物。生物可降解基质是优选的。释放发生的时间段取决于聚合物的选择。一般地，历经数小时到 3-12 个月的释放是最希望的。可以用于形成生物可降解递送系统的示例性合成聚合物包括 :乳酸和乙醇酸的聚合物、聚酰胺、聚碳酸酯、聚烯烃、聚亚烷基二醇、聚环氧烷、聚对苯二甲酸烷撑酯、聚乙烯醇、聚乙烯醚、聚乙烯酯、聚乙烯卤化物、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙交酯、聚硅氧烷、聚酐、聚氨基甲酸酯及其共聚物、聚（丁酸）、聚（戊酸）、烷基纤维素、羟烷基纤维素、纤维素醚、纤维素酯、硝基纤维素、丙烯酸和甲基丙烯酸酯的聚合物、甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丁基甲基纤维素、乙酸纤维素、丙酸纤维素、乙酸丁酸纤维素、乙酸邻苯二甲酸纤维素、羧乙基纤维素、三乙酸纤维素、硫酸纤维素钠盐、聚（甲基丙烯酸甲酯）、聚（甲基丙烯酸乙酯）、聚（甲基丙烯酸丁酯）、聚（甲基丙烯酸异丁酯）、聚（甲基丙烯酸己酯）、聚（甲基丙烯酸异癸酯）、聚（甲基丙烯酸月桂酯）、聚（甲基丙烯酸苯酯）、聚（丙烯酸甲酯）、聚（丙烯酸异丙酯）、聚（丙烯酸异丁酯）、聚（丙烯酸十八酯）、聚乙烯、聚丙烯、聚（乙二醇）、聚（环氧乙烷）、聚（对苯二甲酸乙二酯）、聚（乙烯醇）、聚乙酸乙烯酯、聚氯乙烯、聚苯乙烯和聚乙烯吡咯烷酮。示例性天然聚合物包括海藻酸盐和其他多糖，包括葡聚糖和纤维素、胶原、其化学衍生物（化学基团的取代、添加，例如烷基、烯基、羟基化、氧化、和由本领域技术人员常规进行的其他修饰）、白蛋白和其他亲水蛋白质、玉米醇溶蛋白和其他醇溶谷蛋白和疏水蛋白质、共聚物及其混合物。一般而言，这些材料通过在体内的酶促水解或暴露于水，通过表面或骨架溶蚀 (Bulk erosion) 而降解。聚合物任选为水凝胶的形式（参见例如 WO04/009664,WO 05/087201,Sawhney 等人，Macromolecules,1993,26,581-587），其可以吸收高达约 90％其重量的水，并且进一步任选地与多价离子或其他聚合物交联。

[0259] 递送系统还包括如下非聚合物系统，其为脂质，包括固醇例如胆固醇、胆固醇酯和脂肪酸或中性脂肪例如甘油单、二和三酯 ;水凝胶释放系统 ;硅橡胶系统 ;基于肽的系统 ;蜡涂层 ;使用常规粘合剂和赋形剂的压缩片剂 ;部分融合的埋植剂 ;等。具体例子包括但不限于 :(a) 其中产品以在基质内的形式包含在内的溶蚀系统，例如美国专利号 4,452,775、4,675,189 和 5,736,152 中描述的那些，和 (b) 其中产品以控制速率从聚合物中渗透出来的扩散系统，例如在美国专利号 3,854,480、5,133,974 和 5,407,686 中描述的。包含产品的脂质体可以通过已知方法进行制备，例如 (DE3,218,121 ;Epstein 等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA,82 :3688-3692(1985) ;Hwang 等 人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA,77 :4030-4034(1980) ;EP 52,322 ;EP 36,676 ;EP 88,046 ;EP 143,949 ;EP 142,641 ;日本专

利申请 83-118008 ;美国专利号 4,485,045 和 4,544,545 ;和 EP 102,324)。

[0260] 包含 IL-1β 结合抗体或片段的药物组合物可以配制用于吸入,例如,作为干粉。吸入溶液也可以在液化推进剂中进行配制用于气雾剂递送。在另外一个实施方案中,溶液可以进行喷雾化。用于肺施用的另外药物组合物包括例如在 PCT 专利申请 WO 94/20069 中描述的那些,所述专利文献公开了化学修饰蛋白质的肺递送。对于肺递送,粒子大小应适合于递送至远端肺。例如,粒子大小可以是 1μm-5μm ;然而,可以使用较大颗粒,例如如果每个颗粒是很多孔的。

[0261] 包含 IL-1β 结合抗体或括体片段的某些制剂可以进行口服施用。以这种方式施用的制剂可以用或不用如下载体进行配制,所述载体在固体剂型例如片剂和胶囊的配制中常用。例如,胶囊可以设计为在胃肠道中于可使生物利用度最大化且循环前降解最小化的点上释放制剂的活性部分。可以包括另外的物质,以促进选择性结合剂的吸收。还可以采用稀释剂、调味剂、低熔点蜡、植物油、润滑剂、悬浮剂、片剂崩解剂和粘合剂。

[0262] 另一种制剂可以涉及与非毒性赋形剂混合的有效量的 IL-1β 结合抗体或片段,所述赋形剂适合于制造片剂。通过使片剂溶解于无菌水或另一种合适的媒介物中,可以以单位剂型制备溶液剂。合适的赋形剂包括但不限于,惰性稀释剂例如碳酸钙、碳酸钠或碳酸氢钠、乳糖或磷酸钙 ;或结合剂例如淀粉、明胶或阿拉伯树胶 ;或润滑剂例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。

[0263] 合适的和 / 或优选的药物制剂可以基于本公开内容和制剂技术的一般知识进行确定,这依赖于预期施用途径、递送形式和所需剂量。与施用方式无关,有效剂量可以根据患者体重、体表面积或器官大小进行计算。对这些计算作进一步精细化以确定涉及本文所述的每种制剂的合适治疗剂量,在本领域中是常规的,并属于本领域常规实践的范畴。合适的剂量可以通过使用合适的剂量应答数据来确定。

[0264] 根据本公开内容,另外的制剂将是显而易见的,包括涉及与一种或多种其他治疗剂组合的 IL-1β 结合抗体和片段的制剂。例如,在某些制剂中,本公开的 IL-1β 结合抗体、抗体片段、核酸或载体与 IL-1 信号途径的第二抑制剂一起进行配制。代表性第二抑制剂包括但不限于,抗体、抗体片段、肽、多肽、化合物、核酸、载体和药物组合物,例如,US 6899878、US2003022869、US 20060094663、US 20050186615、US 20030166069、WO/04022718、WO/05084696、WO/05019259 中描述的那些。例如,组合物可以包含与 IL-1β 结合抗体、片段或者编码此种抗体或片段的核酸或载体组合的本公开的 IL-1β 结合抗体、抗体片段、核酸或载体。

[0265] 使用方法

[0266] 治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段可以如所公开的通过本文的方法用于治疗和 / 或预防心血管疾病,包括例如急性心血管疾病或慢性心血管疾病。此种方法,以及用于此种方法中的药物组合物可以用于在个体中降低、治疗或预防心血管事件,例如心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术,包括在具有心血管疾病风险因子历史的个体中。方法和药物组合物还可用于降低个体在心血管事件后的死亡率。本公开还考虑了其他 IL-1 通路抑制剂的用途,作为抗 IL-1β 抗体或片段的备选或额外方案。

[0267] 如本文所使用的,术语“预防”、“阻遏”和“抑制”的各种形式在所描述的方法方面

指以暂时地或永久地预防、阻遏或降低临床症状的发生或事件、疾病或病况的表现，例如，心血管事件或疾病（例如，急性或慢性心血管疾病）。此种预防、阻遏或降低不需要是绝对有用的。

[0268] 如本文所使用的，术语“降低”的各种形式在涉及本文所述方法时指延迟至事件或疾病的时间，减少事件或疾病的风险或可能性，减少事件或疾病的发生（例如，在治疗组中），预防事件或疾病的出现（例如，预防心血管事件或疾病），减少事件或疾病的强度或严重程度（除了所述事件是死亡的情况），和/或减少从事件或疾病恢复的时间（除了所述事件是死亡的情况），例如，治疗心血管事件或疾病（例如，急性或慢性心血管疾病）。

[0269] 如本文所使用的，术语“在心血管事件后的死亡率”指在心血管事件后发生的死亡率（即死亡）（例如，在发动心血管事件后），其可以但不必需由心血管事件直接或间接的导致或受心血管事件的影响。之后还指在心血管事件和死亡之间的时间上的接近（例如，可测量的），不论是否可以确定直接或间接的病因联系。在心血管事件和死亡之间的时间上的接近性可以改变，并包括几乎同时达到的时间量。

[0270] 所使用的术语“治疗”的各种形式在涉及本文所述方法时指暂时地或永久地消除、降低、阻遏或改善事件、疾病或病况的临床症状、表现或进程，例如心血管事件或疾病（例如，急性或慢性心血管疾病）。此种治疗不需要是绝对有用的。

[0271] 如本文所使用的，术语“需要治疗”指由护理师（caregiver）作出的患者需要治疗或将从治疗中获益的判断。这种判断基于多种因素来作出，这些因素在护理师的专业知识范围内，但包括有关患者由于可通过本公开的方法或化合物治疗的病况而生病或将要生病的知识。

[0272] 如本文所使用的，术语“需要预防”指由护理师作出的患者需要预防或将从预防中获益的判断。这种判断基于多种因素来作出，这些因素在护理师的专业知识范围内，但包括有关患者由于可通过本公开的方法或化合物预防的病症而将会生病或可能会生病的知识。

[0273] 如本文所使用的，术语“治疗有效量”指化合物（例如抗体）的这样的量，其中所述化合物单独或作为药物组合物的一部分，当施用于个体（例如，以一个或多个剂量）时，该量能够对疾病状态或病况的任何症状、方面或特征具有任何可检测的积极效应，包括例如降低心血管事件或疾病、或降低在心血管事件或疾病之后的死亡率（例如，急性或慢性心血管疾病）。所述效应不需要是绝对有益的。

[0274] 本公开提供了治疗患心血管疾病的个体的方法，包括例如，急性心血管疾病或慢性心血管疾病，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。

[0275] 本公开提供了降低个体中的心血管事件的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，其中所述个体具有在先的心血管事件历史或至少一种心血管疾病风险因子的历史，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。

[0276] 本公开还提供了降低具有至少一种心血管疾病风险因子的历史的个体中的心血管事件的方法（例如，延迟至事件的时间、降低事件的可能性或风险、预防事件、降低事件的严重程度、降低恢复的时间），包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。

[0277] 本公开还提供了降低有在先的心血管事件历史的个体中的心血管事件的方法（例如，延迟至事件的时间、降低事件的可能性或风险、预防事件、降低事件的严重程度、降低恢复的时间），包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，在先的心血管事件是第一次心血管事件。在一些实施方案中，在先的或第一次心血管事件选自心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。

[0278] 在一些实施方案中，在先的或第一次心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。

[0279] 在一些实施方案中，降低心血管事件的方法是降低第二次或继发性心血管事件的方法。在一些实施方案中，所述心血管事件（例如，第二次或继发性心血管事件）选自心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，第一次心血管事件和第二次心血管事件是相同类型的心血管事件。在一些实施方案中，第一次心血管和第二次心血管事件是不同类型的心血管事件。

[0280] 在一些实施方案中，血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。在一些实施方案中，所述冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术是经皮冠状动脉介入治疗 (PCI)、植入支架、冠状动脉旁路移植血管 (CABG)、颈动脉内膜切除术、外周血管病旁路手术或外周血管成形术。

[0281] 在一些优选的实施方案中，治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是在心血管事件的 1 周内、在心血管事件的 96 小时内、在心血管事件的 72 小时内、在心血管事件的 48 小时内、在心血管事件的 24 小时内，或在心血管事件的 12 小时内第一次施用。在一些实施方案中，个体还具有至少一种心血管疾病风险因子的历史。在一些实施方案中，所述风险因子是明显的冠心病、冠状动脉病、血栓形成、短暂性缺血发作、左心室肥大、动脉硬化、再狭窄、吸烟或外周血管病。在一些实施方案中，外周血管病是临床上明显的（例如，Fontaine II 级或更高级的外周动脉病）。在一些实施方案中，所述风险因子是升高的甘油三酯、全身性炎症、高血磷水平、高甲状旁腺激素水平、微量蛋白尿或高同型半胱氨酸水平。在一些实施方案中，所述风险因子是肥胖、高血糖、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病或代谢综合征。在一些实施方案中，所述风险因子是末期肾病。在一些实施方案中，所述风险因子是高血压、血脂异常、血脂过多、升高的总胆固醇、升高的 LDL 胆固醇或低 HDL 胆固醇或动脉粥样硬化。在一些实施方案中，高血压表现为血压大于或等于 180/110mm Hg。在一些其它实施方案中，高血压是温和至中度的，伴随收缩压 (SBP) 为 140 至 180mm Hg，和 / 或舒张压 (DBP) 为 90 至 110mm Hg。在一些实施方案中，所述个体具有升高的 C- 反应蛋白 (CRP) 水平。在一些实施方案中，所述个体大于 55 岁。在一些实施方案中，所述个体大于 65 岁。在一些实施方案中，所述个体是非高血压的。在一些实施方案中，所述个体具有难以控制的高血压。在一些实施方案中，所述个体具有“A 型“人格。在一些实施方案中，所述个体具有久坐的生活方式。在一些实施方案中，所述个体是患糖尿病。在一些实施方案中，所述糖尿

病是 2 型糖尿病。在一些实施方案中，所述个体具有两种或多种所述风险因子的历史。在一些实施方案中，所述个体具有三种或多种所述风险因子的历史。

[0282] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

[0283] 本公开还提供了在心血管事件后，降低个体死亡率的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心脏停搏、充血性心力衰竭、心血管死亡、急性冠脉综合征（例如，已诊断的）、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，所述心血管事件是心肌梗塞或急性冠脉综合征。在一些实施方案中，心肌梗塞是有 ST 升高的心肌梗塞（例如，ST 段升高型心肌梗塞，STEMI）。在一些实施方案中，心肌梗塞是没有 ST 升高的心肌梗塞（例如，无 ST 段升高型心肌梗塞，NSTEMI）。在一些实施方案中，通过心电图（例如，ECG、EKG）确定 ST 升高的存在或缺失。

[0284] 在一些实施方案中，死亡是由心血管原因导致的死亡。在其他实施方案中，死亡是由任何原因导致的死亡。在一些实施方案中，心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。在一些实施方案中，所述冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术是经皮冠状动脉介入治疗 (PCI)、植入支架、冠状动脉旁路移植血管 (CABG)、颈动脉内膜切除术、外周血管病旁路手术或外周血管成形术。

[0285] 在一些优选的实施方案中，在心血管事件的 1 周内、在心血管事件的 96 小时内、在心血管事件的 72 小时内、在心血管事件的 48 小时内、在心血管事件的 24 小时内，或在心血管事件的 12 小时内第一次施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，所述个体没有 2 型糖尿病。在一些实施方案中，所述个体是经在先的心肌梗塞或中风的心血管事件后存活的。在一些实施方案中，所述心血管事件的发生是心肌梗塞或中风的心血管事件的复发。

[0286] 在一些实施方案中，个体具有一种或多种心血管疾病风险因子的历史。在一些实施方案中，所述风险因子是明显的冠心病、冠状动脉病、血栓形成、短暂性缺血发作、左心室肥大、动脉硬化、再狭窄、吸烟或外周血管病。在一些实施方案中，外周血管病是临床上明显的（例如，Fontaine II 级或更高级的外周动脉病）。在一些实施方案中，所述风险因子是升高的甘油三酯、全身性炎症、高血磷水平、高甲状旁腺激素水平、微量蛋白尿或高同型半胱氨酸水平。在一些实施方案中，所述风险因子是肥胖、高血糖、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病或代谢综合征。在一些实施方案中，所述风险因子是高血压、血脂异常、血脂过多、升高的总胆固醇、升高的 LDL 胆固醇或低 HDL 胆固醇或动脉粥样硬化。在一些实施方案中，高血压表现为血压大于或等于 180/110mm Hg。在一些其它实施方案中，高血压是温和至中度的，伴随收缩压 (SBP) 为 140 至 180mm Hg，和 / 或舒张压 (DBP) 为 90 至 110mm Hg。

[0287] 在一些实施方案中，所述个体是非高血压的。在一些实施方案中，所述个体具有难以控制的高血压。在一些实施方案中，所述个体具有“A 型“人格。在一些实施方案中，所述个体具有久坐的生活方式。在一些实施方案中，所述个体具有两种或多种所述风险因子的历史。在一些实施方案中，所述个体具有三种或多种所述风险因子的历史。

[0288] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足

以实现 CRP 水平的减少。

[0289] 本公开还提供了在有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体中降低心血管事件的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述风险因子不是 2 型糖尿病、肥胖、高血糖、血脂异常、血脂过多、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病、高血压、动脉粥样硬化或代谢综合征。

[0290] 在一些实施方案中，所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心脏停搏、充血性心力衰竭、心血管死亡、急性冠脉综合征（例如，已诊断的）、绞痛或血管再生术。在一些实施方案中，血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。在一些实施方案中，所述冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术是经皮冠状动脉介入治疗 (PCI)、植入支架、冠状动脉旁路移植血管 (CABG)、颈动脉内膜切除术、外周血管病旁路手术或外周血管成形术。

[0291] 在一些实施方案中，所述风险因子是明显的冠心病、冠状动脉病、血栓形成、短暂性缺血发作、左心室肥大、动脉硬化、再狭窄、吸烟或外周血管病。在一些实施方案中，所述风险因子是升高的甘油三酯、全身性炎症、高血磷水平、高甲状旁腺激素水平、微量蛋白尿或高同型半胱氨酸水平。

[0292] 在一些实施方案中，所述个体具有升高的 C 反应蛋白 (CRP) 水平。在一些实施方案中，所述个体大于 55 岁。在一些实施方案中，所述个体大于 65 岁。在一些实施方案中，所述个体具有两种或多种所述风险因子的历史。在一些实施方案中，所述个体具有三种或多种所述风险因子的历史。

[0293] 在一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

[0294] 本公开还提供了治疗个体的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和至少一种包括 IL-1β 抗体或片段以外的活性剂的其他药物组合物。

[0295] 在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是胆固醇降低剂、抑制素、HMG-CoA 还原酶抑制剂、钙通道阻断剂、β 阻断剂、抗高血压剂、利尿剂、阿司匹林、烟酸、血管紧张肽转变酶 (ACE) 抑制剂、血管紧张素 II 受体阻断剂、血管舒张剂、抗凝剂、血小板聚集的抑制剂、溶栓剂或毛地黄。

[0296] 本公开还提供了治疗个体的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和血管再生术。在一些实施方案中，所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。

[0297] 本公开还提供了降低个体在血管再生术后再狭窄的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，所述血管再生术是冠脉、颈动脉或外周动脉血管再生术。

[0298] 本公开还提供了治疗个体急性高血压的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和一种或多种抗高血压剂。在一些实施方案中，所述个体具有高于或等于 180/110mm Hg 的血压。在一些其它实施方案中，个体具有温和至中度的高血压，伴随收缩压 (SBP) 为 140 至 180mm Hg，和 / 或舒张压 (DBP) 为 90 至 110mm Hg。

在一些实施方案中，所述抗高血压剂是静脉内施用的。在一些实施方案中，所述抗高血压剂选自 α / β 肾上腺素能阻断剂、血管紧张肽转变酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、抗肾上腺素能剂、β 肾上腺素能阻断剂、钙通道阻断剂、利尿剂和血管舒张剂。在一些实施方案中，所述抗高血压剂是卡维地洛 (carvedilol)、拉贝洛尔 (labetalol，)、贝那普利 (benazepril)、卡托普利 (captopril)、依那普利 (enalapril)、福辛普利 (fosinopril)、赖诺普利 (lisinopril)、莫昔普利 (moexipril)、培哚普利 (perindopril)、喹那普利 (quinapril)、雷米普利 (ramipril)、群多普利 (trandolapril)、坎地沙坦 (candesartan)、依普罗沙坦 (eprosartan)、厄贝沙坦 (irbesartan)、氯沙坦 (losartan)、替米沙坦 (telmisartan)、缬沙坦 (valsartan)、可乐定 (clonidine)、多沙唑嗪 (doxazosin)、胍那苄 (guanabenz)、胍那决尔 (guanadrel)、胍乙啶 (guanethidine)、胍法辛 (guanfacine)、美卡拉明 (mecamylamine)、甲基多巴 (methyldopa)、哌唑嗪 (prazosin)、利血平 (reserpine)、特拉唑嗪 (terazosin)、醋丁洛尔 (acebutolol)、阿替洛尔 (atenolol)、倍他洛尔 (betaxolol)、比索洛尔 (bisoprolol)、卡替洛尔 (carteolol)、美托洛尔 (metoprolol)、那多洛尔 (nadolol)、喷布洛尔 (penbutolol)、吲哚洛尔 (pindolo)、普萘洛尔 (propranolol)、噻吗洛尔 (timolol)、氨氯地平 (amlodipine)、地尔硫卓 (diltiazem)、非洛地平 (felodipine)、伊拉地平 (isradipine)、尼卡地平 (nicardipine)、硝苯地平 (nifedipine)、尼索地平 (nisoldipine)、维拉帕米 (verapamil)、阿米洛利 (amiloride)、苄噻嗪 (benzthiazide)、氯噻嗪 (chlorothiazide)、氯噻酮 (chlorthalidone)、呋塞米 (furosemide)、氢氯噻嗪 (hydrochlorothiazide)、吲达帕胺 (indapamide)、美托拉宗 (metolazone)、泊利噻嗪 (polythiazide)、螺内酯 (spironolactone)、托拉塞米 (torsemide)、三氯噻嗪 (trichlormethiazide)、肼苯哒嗪 (hydralazine)、硝酸甘油 (nitroglycerin)、硝普钠 (sodium nitroprusside)、氯维地平 (clevidipine) 或米诺地尔 (minoxidil)。在一些实施方案中，所述抗高血压剂是拉贝洛尔 (labetalol)、美托洛尔 (metoprolol)、肼苯哒嗪 (hydralazine)、硝酸甘油 (nitroglycerin)、尼卡地平 (nicardipine)、硝普钠 (sodiumnitroprusside) 或氯维地平 (clevidipine)。

[0299] 本公开还提供了降低、预防或治疗个体中的心血管事件或疾病的方法，包括向所述个体施用抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段与医学或手术干预的（例如，在之前、过程中或之后的）组合。此类抗体可以治疗有效量施用。此类干预可以是治疗有效的。在一些实施方案中，医学干预是活性剂，例如药物或生物活性剂，包括例如任何一种或多种本文所述的活性剂。在一些实施方案中，医学干预是门诊病人医学处理或方法。在一些实施方案中，医学干预是住院病人住院。在一些实施方案中，手术干预是血管再生术，包括例如任何一种或多种本文所述的血管再生术。在一些实施方案中，手术干预涉及心脏瓣膜修复或替换、冠状动脉搭桥手术、心脏移植或心脏泵。在一些实施方案中，手术干预涉及双心室心脏起搏器、心内除颤器 (internalcardiac defibrillator，ICD) 或肌切除术。在一些实施方案中，医学干预是戒烟药疗或戒烟咨询服务。

[0300] 本公开还提供了在有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体中降低心血管事件的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、心血管死亡、充血性心力衰竭、心脏停搏、急性冠脉综合征、绞痛或血管

再生术。

[0301] 本公开还提供了在有在先心血管事件历史的个体中降低心血管事件的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有在先心血管事件历史的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、急性冠脉综合征、绞痛或血管再生术。

[0302] 本公开还提供了在心血管事件后降低个体死亡率的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有心血管事件的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。

[0303] 本公开还提供了在有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体中降低心血管事件的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，且其中所述风险因子不是 2 型糖尿病、肥胖、高血糖、血脂异常、血脂过多、慢性肾衰竭、高血葡萄糖、慢性肾病、高血压、动脉粥样硬化、或代谢综合征。

[0304] 本公开还提供了治疗个体中的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有心血管事件的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和至少一种包含 IL-1β 抗体或片段以外的活性剂的其他药物组合物。

[0305] 本公开还提供了治疗个体中的心血管事件的方法，其中所述心血管事件是心肌梗塞、中风、充血性心力衰竭、急性冠脉综合征或绞痛，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有心血管事件的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和血管再生术。

[0306] 本公开还提供了降低个体在血管再生术后再狭窄的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有血管再生术的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。

[0307] 本公开还提供了治疗个体急性高血压的方法，包括 (a) 鉴别、诊断或选择有急性高血压的个体，和 (b) 向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段和一种或多种抗高血压剂。在一些实施方案中，高血压表现为高于或等于 180/110mm Hg 的血压。在一些其他实施方案中，高血压是温和至中度的，伴随收缩压 (SBP) 为 140 至 180mm Hg，和 / 或舒张压 (DBP) 为 90 至 110mm Hg。

[0308] 本公开还提供了在有近期的心肌梗塞 (MI)、近期中风或已建立的外周动脉病的历史的个体中降低新的缺血性中风（致死或不致死）、新 MI（致死或不致死）和其他血管死亡的组合终点率的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，个体具有无 ST 区段升高的急性冠脉综合征（例如，不稳定的绞痛或无 Q 波型心肌梗塞）。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是在最近胸痛发作或与局部缺血一致的症状开始的 12、24、48 或 72 小时内初次施用的。在一些实施方案中，个体具有与新的局部缺血相符合的 ECG 改变（例如，无 ST 区段升高）或比正常上限升高至少 2 倍的心酶或肌钙蛋白 I 或 T。

[0309] 本公开还提供了在有近期的心肌梗塞 (MI)、近期中风或已建立的外周动脉病的历史的个体中降低动脉粥样化血栓形成事件的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗

IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，个体具有无 ST 区段升高的急性冠脉综合征（例如，不稳定的绞痛或无 Q 波型心肌梗塞）。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是在最近胸痛发作或与局部缺血一致的症状开始的 72 小时内，或优选 48 小时，或更优选 24、12、6 或 3 小时内初次施用的。在一些实施方案中，个体具有与新的局部缺血相符合的 ECG 改变（例如，无 ST 区段升高）或比正常上限升高至少 2 倍的心酶或肌钙蛋白 I 或 T。

[0310] 本公开还提供了在有 ST 区段升高型急性心肌梗塞的个体中降低自任何原因的死亡率、以及死亡、再次梗塞或中风的组合终点率的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是在个体呈现出心肌梗塞症状的 72 小时内，或优选 48 小时，或更优选 24、12、6 或 3 小时内初次施用的。

[0311] 在任何上述方法的一些实施方案中，个体是有心血管疾病的患者，包括例如急性心血管疾病或慢性心血管疾病。

[0312] 在任何上述方法的一些实施方案中，施用所述治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段足以实现 CRP 水平的减少。

[0313] 本公开还提供了抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段用于生产组合物的用途，所述抗体或其结合片段在测量 IL-1β 诱导的 IL-8 生产的人全血 IL-1β 抑制测定中，具有比 IL-1β 受体拮抗剂更低的 IC_{50}，其中所述组合物用于降低、预防或治疗心脏事件或心血管疾病。

[0314] 本公开还提供了可以在心血管事件和 / 或初次施用抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段后 2 年或更多年、3 年或更多年、4 年或更多年、或 5 年或更多年的时期评估个体的心血管事件的降低（例如，延迟至事件的时间、降低事件的可能性或风险、预防事件、降低事件的严重程度、降低恢复的时间）。

[0315] 此外，本公开还提供了治疗有效量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段也可足以实现 C 反应蛋白 (CRP) 水平的减少。使用标准测定可方便的测量 CRP 水平的降低（例如，高灵敏 CRP、超灵敏 CRP）。如本文公开的方法所提供的，C 反应蛋白水平的减少可以是例如从处理前水平减少≥ 0.2、≥ 0.4、≥ 0.6、≥ 0.8、≥ 1.0、≥ 1.4、≥ 1.8、≥ 2.2、≥ 2.6、≥ 3.0mg/L。可选的，C 反应蛋白水平的减少可以是例如从处理前水平减少＞ 20％、＞ 30％、＞ 40％、＞ 50％、＞ 60％、＞ 70％、＞ 80％、＞ 90％、＞ 95％。

[0316] 可选的或额外的，如本文公开所治疗的个体可经历脂类组成的可测量的改善（例如，血清脂类减少、HDL 和 LDL 比例的改变）。血清脂类和 / 或脂类组成的此类测量可包括例如胆固醇的减少、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL) 的减少、非常低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL) 的减少、甘油三酯的减少、游离脂肪酸的减少、脱脂载脂蛋白 B(Apo B) 的减少、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL) 增加、相比处理前水平维持高密度脂蛋白胆固醇 (HDL) 的水平，和 / 或脱脂载脂蛋白 A(Apo A) 的增加。可以使用本领域已知的标准技术测量。例如，胆固醇（如，总胆固醇）水平的减少可以是从处理前水平至少 5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％或更多的减少。低密度脂蛋白胆固醇水平的减少可以是从处理前水平至少 5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％或更多的减少。个体血中的甘油三酯水平的减少可以是从处理前水平至少 5％、10％、15％、20％、

25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%或更多的减少。游离脂肪酸水平的减少可以是从处理前水平至少 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%或更多的减少。高密度脂蛋白胆固醇水平的增加可以是从处理前水平至少 1%、2%、3%、4%、5%、6%、8%、10%、12%、14%、16%或更多的增加。

[0317] 可是使用本领域已知的标准医学实践和 / 或任何本领域已知的各种标准测定，进行上述诊断和测量，例如 Chernecky CC, Berger BJ 编著，(2004).Laboratory Tests and Diagnostic Procedures，第 4 版，Philadelphia :Saunders ;Fischbach FT, Dunning MB III 编著，(2004).Manual ofLaboratory and Diagnostic Tests，第 7 版，Philadelphia : LippincottWilliams and Wilkins ;Genest J 等 人，(2003).Recommendations for themanagement of dyslipidemia and the prevention of cardiovascular disease : Summary of the 2003update.Canadian Medical Association Journal，169(9) :921-924 中公开的测定。还可在线获得 :http://www.cmaj.ca/cgi/content/full/169/9/921/DC1 ; Handbook ofDiagnostic Tests(2003)， 第 3 版，Philadelphia :Lippincott Williams andWilkins ； 和 Pagana KD, Pagana TJ(2002).Mosby's Manual of Diagnosticand Laboratory Tests，第 2 版，St.Louis :Mosby。

[0318] 给药

[0319] 可以以一个或多个剂量施用用于任何和 / 或所有的上述方法中的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段（例如，初始剂量和一个或多个后续剂量）。在一些实施方案中，以一个或多个 10mg/kg 或更少，5mg/kg 或更少，3mg/kg 或更少，或 2mg/kg 或更少的抗体或片段的剂量施用抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，以一个或多个 1mg/kg 或更少，一个或多个 0.5mg/kg 或更少，一个或多个 0.3mg/kg 或更少，一个或多个 0.1mg/kg 或更少或者一个或多个 0.03mg/kg 或更少的抗体或片段的剂量施用抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些上述实施方案中，一个或多个剂量是至少 0.01mg/kg 的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个约 0.01mg/kg 至 1mg/kg，约 0.03mg/kg 至 1mg/kg，约 0.01mg/kg 至 0.3mg/kg，或约 0.1mg/kg 至 0.3mg/kg 的剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个约 0.001mg/kg 至 0.3mg/kg，约 0.001mg/kg 至 0.1mg/kg，约 0.001mg/kg 至 0.03mg/kg，或约 0.001mg/kg 至 0.01mg/kg 的剂量进行施用。

[0320] 在其他实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段的初始剂量和一个或多个后续剂量都是从约 0.01mg/kg 至约 10mg/kg 的抗体，从约 0.05mg/kg 至约 5mg/kg 的抗体，从约 0.05mg/kg 至约 3mg/kg 的抗体，从约 0.1mg/kg 至约 3mg/kg 的抗体，从约 0.1mg/kg 至约 1mg/kg 的抗体，从约 0.1mg/kg 至约 0.5mg/kg 的抗体，从约 0.3mg/kg 至约 5mg/kg 的抗体，从约 0.3mg/kg 至约 3mg/kg 的抗体，从约 0.3mg/kg 至约 1mg/kg 的抗体，从约 0.5mg/kg 至约 5mg/kg 的抗体，从约 0.5mg/kg 至约 3mg/kg 的抗体，从约 0.5mg/kg 至约 1mg/kg 的抗体，从约 1mg/kg 至约 5mg/kg 的抗体，从约 1mg/kg 至约 3mg/kg 的抗体。在某些实施方案中，施用两个或多个、三个或多个、四个或多个、五个或多个、六个或多个、七个或多个、八个或多个、九个或多个、十个或多个，或者十一个或多个后续剂量的抗体。上述剂量指 mg（抗体或片段）/kg（治疗个体的体重）。

[0321] 可以以固定的剂量施用用于任何和 / 或所有的上述方法的抗 IL-1β 结合抗体或

其结合片段，不依赖于剂量与个体体重的比例。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个 1000mg 或更少，500mg 或更少，或 250mg 或更少的抗体或片段的固定剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个 100mg 或更少，25mg 或更少，或 10mg 或更少的抗体或片段的固定剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个至少 0.5mg 的抗体或片段的剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个至少 1mg 的抗体或片段剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个至少 10mg 的抗体或片段剂量进行施用。在一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以一个或多个 1mg 至 100mg 的抗体或片段剂量进行施用。

[0322] 在某些实施方案中，固定剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是从约 1mg 至约 10mg、约 1mg 至约 25mg、约 10mg 至约 25mg、约 10mg 至约 50mg、约 10mg 至约 100mg、约 25mg 至约 50mg、约 25mg 至约 100mg、约 50mg 至约 100mg、约 50mg 至约 150mg、约 100mg 至约 150mg、约 100mg 至约 200mg、约 150mg 至约 200mg、约 150mg 至约 250mg、约 200mg 至约 250mg、约 200mg 至约 300mg、约 250mg 至约 300mg、约 250mg 至约 500mg、约 300mg 至约 400mg、约 400mg 至约 500mg、约 400mg 至约 600mg、约 500mg 至约 750mg、约 600mg 至约 750mg、约 700mg 至约 800mg、或约 750mg 至约 1000mg。在其他实施方案中，固定剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是从约 1mg 至约 10mg、约 1mg 至约 25mg、约 10mg 至约 25mg、约 10mg 至约 100mg、约 25mg 至约 50mg、约 50mg 至约 100mg、约 100mg 至约 150mg、约 150mg 至约 200mg、或约 200mg 至约 250mg。

[0323] 在任何和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，固定剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是使用预装填的注射器或递送装置施用的。

[0324] 在任何和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段是皮下、静脉内或肌肉内注射施用的。

[0325] 在任何和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，施用初始剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，之后施用一个或多个后续剂量。在一些实施方案中，初始剂量和一个或多个后续剂量是以约每周 1 次至约每 12 个月 1 次的间隔施用的。在一些实施方案中，初始剂量和一个或多个后续剂量是以约每 2 周 1 次至约每 6 个月 1 次的间隔施用的。在一些实施方案中，初始剂量和一个或多个后续剂量是以约每月 1 次至约每 6 个月 1 次的间隔施用的。在一些实施方案中，初始剂量和一个或多个后续剂量是以约每月 1 次至约每 3 个月 1 次的间隔施用的。在一些实施方案中，初始剂量和一个或多个后续剂量是以约每 3 个月 1 次至约每 6 个月 1 次的间隔施用的。

[0326] 本公开还提供了用于任何和 / 或所有的上述方法中的给药方案，其中上述给药方案包括一个以上的用于施用抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段的给药间隔。在一些实施方案中，给药方案包括以至少两个（例如，2、3、4、5、6）不同的给药间隔施用 IL-1β 抗体或其片段。在一些实施方案中，给药方案包括以两个不同的给药间隔施用 IL-1β 抗体或其片段。在一些实施方案中，给药方案包括以两个不同的给药间隔施用 IL-1β 结合抗体或其结合片段，其中所述第一个给药间隔包括施用一次或多次 IL-1β 抗体或其片段剂量，而第二个给药间隔包括施用一次或多次 IL-1β 抗体或其片段剂量，并且其中第一个给药间隔时间上短于第二个给药间隔。例如，第一个给药间隔可以是天或周，而第二个给药间隔可以是

月。在一些实施方案中，第一个给药间隔是约 5 天至约 28 天，约 7 天至约 21 天，约 12 天至约 16 天，或约 14 天。在一些实施方案中，第二个给药间隔是约 1 个月至约 3 个月，约 1 个月至约 2 个月，或约 1 个月。在一些实施方案中，第一个给药间隔是约 7 天，第二个给药间隔是约 1 个月。

[0327] 在一些实施方案中，在施用初始剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段后，再施用一次或多次后续剂量，其中在施用初始剂量和第二次剂量之间的给药间隔，和在第二次和第三次剂量之间的给药间隔是约 7 天至约 21 天，其中在施用后续剂量之间的给药间隔是约 1 个月至约 3 个月。在一些实施方案中，在施用初始剂量和第二次剂量之间的给药间隔，和在第二次和第三次剂量之间的给药间隔是约 12 天至约 16 天，而在施用后续剂量之间的给药间隔是约 1 个月至约 2 个月。在一些实施方案中，在施用初始剂量和第二次剂量之间的给药间隔，和在第二次和第三次剂量之间的给药间隔是约 14 天，而在施用后续剂量之间的给药间隔是约 1 个月。在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，将抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段施用给个体使得剂量之间的时间间隔足以维持所述抗体或抗体片段在个体中的血浆浓度在至少约 0.1ug/mL 的水平。在一些实施方案中，将抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段施用给个体使得剂量之间的时间间隔足以维持所述抗体或抗体片段在个体中的血浆浓度在至少约 0.3ug/mL 的水平。在一些实施方案中，将抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段施用给个体使得剂量之间的时间间隔足以维持所述抗体或抗体片段在个体中的血浆浓度在至少约 1ug/mL 的水平。在一些实施方案中，这些血浆浓度值指从用根据本文公开内容的抗体或片段治疗的个体获得的值。

[0328] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，施用初始剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段后，再施用一次或多次后续剂量，其中所述一次或多次后续剂量的量与初始剂量几乎相同或较少。

[0329] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，施用初始剂量的抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段后，再施用一次或多次后续剂量，其中至少一次后续剂量的量比初始剂量多。

[0330] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段在测量 IL-1β 诱导的 IL-8 生产的人全血 IL-1β 抑制测定中，具有比 IL-1β 受体拮抗剂更低的 IC_{50}。在一些实施方案中，所述 IL-1β 受体拮抗剂是阿那白滞素。

[0331] 在任意的和 / 或所有的上述方法的一些实施方案中，施用抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段，其中施用初始剂量的抗体或抗体片段后，再施用一次或多次后续剂量，且其中在治疗过程中，在施用所述初始剂量和一个或多个后续剂量之间，允许所述抗体或抗体片段在人中的血浆浓度减少至低于约 0.1ug/mL 的水平一段大于约 1 周和小于约 6 个月的时间。在一些实施方案中，在施用之间允许所述抗体或抗体片段的血浆浓度减少至低于约 0.07ug/mL、约 0.05ug/mL、约 0.03ug/mL 或约 0.01ug/mL 的水平一段大于约 1 周和小于约 5 个月、约 4 个月、约 3 个月、约 2 个月、约 1 个月、约 3 周或约 2 周的时间。在一些实施方案中，所述血浆浓度值指从用根据本文公开内容的抗体或片段治疗的个体获得的值。

[0332] 组合

[0333] 本公开还提供了药物组合物，其包括可以与 IL-1β 结合抗体或片段联合（例如，与之分离的）施用的一种或多种其他活性剂，此类施用可以在相同的时间点或不同的时间

点实施，例如同一天或不同天。其他活性剂的施用可以根据本领域已知的标准医学实践（例如，现有护理标准），或者当与 IL-1β 结合抗体或片段的施用联合使用时，可以修饰所述施用（例如，更长的间隔、更小的剂量、延迟的起始），例如本文公开的。下文提出的活性剂是示例性的，并非意在限制。组合还可以包括一种以上的其他活性剂，例如两种或三种其他活性剂。

[0334] 如本文公开的，施用给个体的抗 IL-1β 抗体或其片段可以与至少一种其他的活性剂治疗一起组合施用，例如本文提供的任何活性剂。在一个实施方案中，维持用至少一种活性剂治疗。在另一个实施方案中，至少一种活性剂治疗是降低或不持续的（例如，当个体稳定时），同时用抗 IL-1β 抗体或片段治疗则维持在恒定的给药方案。在另一个实施方案中，至少一种活性剂治疗是降低或不持续的（例如，当个体稳定时），并且用抗 IL-1β 抗体或片段治疗是降低的（例如，更低的剂量、更低的给药频率、更短的治疗方案）。在另一个实施方案中，用至少一种活性剂治疗是降低或不持续的（例如，当个体稳定时），并且用抗 IL-1β 抗体或片段治疗是增加的（例如，更高的剂量、更高的给药频率、更长的治疗方案）。在另一个实施方案中，维持用至少一种活性剂治疗，并降低或不持续的（例如，更低的剂量、更低的给药频率、更短的治疗方案）用抗 IL-1β 抗体或片段治疗。在另一个实施方案中，降低或不持续的（例如，更低的剂量、更低的给药频率、更短的治疗方案）用至少一种活性剂治疗和用抗 IL-1β 抗体或片段治疗。

[0335] 在一些实施方案中，任意的的上述方法可进一步包括施用至少一种包括抗 IL-1β 结合抗体或其结合片段以外的活性剂的其他药物组合物。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是胆固醇降低剂。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是抑制素或 HMG-CoA 还原酶抑制剂（例如，洛伐他汀 (lovastatin)、普伐他汀 (pravastatin)、辛伐他汀 (simvastatin)、氟伐他汀 (fluvastatin)、阿托伐他汀 (atorvastatin)、西立伐他汀 (cerivastatin)、美伐他汀 (mevastatin)、匹伐他汀 (pitavastatin)、罗苏伐他汀 (rosuvastatin) 或其混合物，或其与依泽替米贝 (Ezetimibe)、烟酸、苯磺酸氨氯地平 (Amlodipine Besylate) 的混合物）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是钙通道阻断剂（例如，氨氯地平、地尔硫卓、硝苯地平、尼卡地平、维拉帕米）或 β 阻断剂（例如，艾司洛尔 (esmolol)、美托洛尔 (metoprolol)、纳多洛尔 (nadolol)、喷布洛尔 (penbutolol)）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是抗高血压剂（例如，拉贝洛尔、美托洛尔、肼苯哒嗪、硝酸甘油、尼卡地平、硝普钠、氯维地平）、利尿剂（例如，噻嗪类利尿剂、氯噻酮 (chlorthalidone)、呋塞米、氢氯噻嗪、吲达帕胺、美托拉宗、盐酸阿米洛利、螺内酯 (spironolactone)、氨苯蝶啶 (triamterene)）或阿司匹林。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是血管紧张肽转变酶 (ACE) 抑制剂（例如，雷米普利、雷米普利拉 (ramiprilat)、卡托普利 (captopril)、赖诺普利 (lisinopril)）或血管紧张素 II 受体阻断剂（例如，氯沙坦、奥美沙坦 (olmesartan)、缬沙坦）。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是血管舒张剂。在一些实施方案中，所述至少一种其他药物组合物的活性剂是抗凝剂（例如，醋硝香豆素 (acenocoumarol)、苯丙香豆素 (phenprocoumon)、华法林 (warfarin)、肝素 (heparin)、低分子量肝素 (low molecular weight heparin)）或血小板聚集的抑制剂（例如，氯吡格雷 (clopidogrel)、

噻氯匹定 (ticlopidine)、西洛他唑 (cilostazol)、双嘧达莫 (dipyridamole)、依替巴肽 (eptifibatide)、阿司匹林 (aspirin)、阿昔单抗 (abciximab)、依替巴肽 (eptifibatide)、替罗非班 (tirofiban))。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是溶栓剂 (例如,链激酶 (streptokinase)、尿激酶 (urokinase)、阿替普酶 (alteplase)、瑞替普酶 (reteplase)、替奈普酶 (tenecteplase))。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是毛地黄。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是地高辛 (digoxin) 或奈西立肽 (nesiritide)。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是氧。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是凝血酶抑制剂 (例如,水蛭素 (hirudin)、比伐卢定 (bivalirudin))。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是硝酸盐 (例如,三硝酸甘油酯 (GTN)/ 硝酸甘油、二硝酸异山梨酯 (isosorbide dinitrate)、单硝酸异山梨酯 (isosorbide mononitrate))。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是止痛剂 (例如,硫酸吗啡 (morphine sulfate))。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是肾素抑制剂。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是内皮素 A 受体抑制剂。在一些实施方案中,所述至少一种其他药物组合物的活性剂是醛固酮抑制剂。

[0336] 在另一个实施方案中,考虑 IL-1β 抗体或结合片段的用途,用于生产治疗或预防本文公开的疾病或病况的药物 (例如,用于降低、预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病) 中。在任何所述用途中,药物可以与使用第二种活性剂的治疗协调。

[0337] 在本公开的另一个方面,提供了制备品,其包含容器、在容器内包含抗 IL-1β 抗体或其片段的组合物、和产品说明书,所述说明书包含有关根据本文公开给个体 (例如,人) 施用抗体或片段的说明 (例如,用于降低、预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病)。在一个实施方案中,容器进一步包含药学上合适的载体、赋形剂或稀释剂。在一个相关实施方案中,容器内的组合物进一步包含第二活性剂。

[0338] 本公开还考虑试剂盒。在一个实施方案中,试剂盒包含包装在容器例如小瓶或瓶中的治疗或预防有效量的抗 IL-1β 抗体或片段,并且进一步包含与容器附着或与容器包装在一起的标签,所述标签描述容器的内容物并且提供关于如本文公开的容器内容物用途的指示和 / 或说明 (例如,用于降低、预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病)。在一个实施方案中,容器进一步包含药学上合适的载体、赋形剂或稀释剂。在一个相关实施方案中,容器进一步包含第二活性剂。

[0339] 在一个实施方案中,制备品、试剂盒或药物用于治疗或预防个体 (例如,人) 的疾病或病况 (例如,用于降低、预防或治疗心血管事件和 / 或心血管疾病)。在另一个实施方案中,制备品的产品说明书和试剂盒的标签上的说明包含根据任何上述剂量和 / 或给药方案来施用抗体或片段的说明。在另外一个实施方案中,试剂盒或制备品的容器是预装注射器。

实施例

[0340] 下述实施例仅旨在用于进一步举例说明本公开的实践,但不应解释为以任何方式限制其范围。其中引用的所有专利和科学文献的公开内容特别在此整体引入作为参考。

[0341] 实施例 1

[0342] 向人类个体施用 IL-1β 抗体

[0343] 可以向个体施用 IL-1β 结合抗体或其结合片段用于上述用途。具体而言，在一个实例中，向人类个体施用名为 AB7 的 IL-1β 抗体（如上所述）以评估安全性、药物动力学和体内的生物学活性。在有 2 型糖尿病的人类个体中实施双盲的、安慰剂对照的临床研究。在一段时间内，通过静脉内 (IV) 或皮下 (SC) 途径向个体组给予单个剂量或多个剂量的抗体。

[0344] 关于 IV 途径施用的单次剂量，下表显示了用于研究的治疗组和个体数。

[0345]

IV 途径	抗体		安慰剂
组	# 个体	剂量	# 个体
1	5	0.01 mg/kg	1
2	5	0.03 mg/kg	1
3	5	0.1 mg/kg	1
4	5	0.3 mg/kg	1
5	5	1.0 mg/kg	1
6	5	3.0 mg/kg	1

[0346] 相似的，关于 SC 途径施用的单次和多次 (3 次，每双周）剂量，下表显示了治疗组和个体数。

[0347]

SC 途径	抗体		安慰剂
组	# 个体	剂量	# 个体
单个剂量			
1	5	0.03 mg/kg	1
2	5	0.1 mg/kg	1
3	5	0.3 mg/kg	1
多个剂量			
4	5	0.03 mg/kg	1
5	5	0.3 mg/kg	1

[0348] 在研究第 1 天时，SC 注射（例如，上腹部、手臂、股）或经由恒定速率 IV 输注施用抗体或安慰剂。使用本领域已知的标准医学实践进行安全性评估，包括不良事件的记录、身体检查、生命体征和临床实验室检测（例如，血液化学、血液学、尿分析）。在剂量施用前和在施用后多个时间段收集血样，以评估多种参数，包括 C 反应蛋白。

[0349] 可选的或额外的，还可以包括研究组以用于评估例如以相同或更长的时间间隔

（例如，月间隔）、备选的剂量和 / 或增加的组大小的额外数量的后续剂量的施用。

[0350] 实施例 2

[0351] IL-1β 抗体在人类个体中的药物动力学

[0352] 在第 0、1、2、3、4、7、9±1、11±1、14±1、21±2、28±2、42±3 和 56±3 天时，获得样品用于药物动力学分析。在 IV 施用 0.01、0.03、0.1、0.3 或 1.0mg/kg 剂量水平的单次抗体剂量后的药物动力学数据中间分析显示血清浓度 - 时间曲线，其具有 22 天的终末半衰期、2.54mL/ 天 /kg 的清除率和 41.3mL/kg 的中央室 (central compartment) 分布体积，非常类似于血清体积（图 1）。

[0353] 相似的，分析了单个剂量的 SC 施用组的样品。如图 2 所示，在 0.03、0.1 和 0.3mg/kg 剂量水平施用抗体产生了这样的曲线，其具有 22.7 天的终末半衰期、2.4mL/ 天 /kg 的清除率和 40.7mL/kg 的中央室分布体积。

[0354] 实施例 3

[0355] 在人类个体中 IL-1β 抗体对 CRP 的影响

[0356] 也在与 PK 样品相同的时间点在血清中测量 C- 反应蛋白。将每个抗体治疗剂量组的单个剂量抗体降低的超敏 C 反应蛋白 (usCRP) 水平与安慰剂相比。如图 3 所示，相比安慰剂的 4%，在单个 IV 剂量抗体后 28 天，0.01、0.03、0.1、0.3 和 1.0mg/kg 剂量组的 usCRP 的中间百分比降低分别是 33、46、47、36 和 26。

[0357] 实施例 4

[0358] 在心血管事件模型（急性心肌梗塞）中评估 IL-1β 抗体

[0359] 为了确定 IL-1β 抗体或其结合片段的心保护效应（例如，抑制不良的心重塑），使用急性心肌梗塞 (MI) 的啮齿类模型（参见例如 Wang 等人，2006，Tex. Heart Inst. J. 33：290-293；Salloum 等人，2009，Cardiovasc. Drugs Ther. 23：129-135）。心功能在例如 MI 模型中的测量的改善与后续心血管事件（例如，充血性心力衰竭）的几率相关。啮齿类 MI 模型使用远系繁殖的小鼠（例如癌症研究中心 (Institute of Cancer Research) 小鼠）和 / 或大鼠（例如 Wistar 大鼠）。在手术前，通过经胸的超声波心动描记法 (TTE) 评估动物，例如使用 Vevo770 成像系统 (VisualSonics，Toronto，Canada) 或 Acuson C256，来获得对下列参数的测量：

[0360] ●左心室心舒张末期直径 (LVEDD)

[0361] ●左心室心收缩末期直径 (LVESD)

[0362] ●前壁心舒张厚度 (AWDT)

[0363] ●后壁心舒张厚度 (PWDT)

[0364] ●前壁心收缩厚度 (AWST)

[0365] ●后壁心收缩厚度 (PWST)

[0366] 左心室缩短分数 (FS) 计算为：

[0367] (LVEDD-LVESD)/LVEDD X 100

[0368] 将麻醉的成年动物进行冠状动脉结扎。在胸廓切开暴露心脏后，使用绕血管放置的丝质绑缚物结扎最接近的左降冠状动脉，诱导 MI。对照动物（假操作）进行相同的手术程序，但没有冠脉结扎（参见下表）。在手术过程中或术后阶段立即死亡的动物未包括在分析内。

[0369]

	TTE	手术	抗体 Txt	重复 TTE
组 1	是	是，MI 诱导	高剂量(t = 0)	24 hr，7d，14d

[0370]

组 2	是	是，MI 诱导	低剂量(t = 0)	24 hr，7d，14d
组 3	是	是，MI 诱导	高剂量(24 hr)	24 hr，7d，14d
组 4	是	是，MI 诱导	低剂量(24 hr)	24 hr，7d，14d
组 3	是	是，MI 诱导	安慰剂	24 hr，7d，14d
组 4	是	是，假操作	N/A	24 hr，7d，14d

[0371] 然后，动物在局部缺血的过程中和 / 或之后的一个或多个预定的时间，接受腹膜内或静脉内施用的治疗抗体或安慰剂（例如，对照抗体）。例如，在一组中，抗体在局部缺血的过程中 (t = 0) 施用，而在另一组中，抗体在局部缺血后 24 小时施用。

[0372] 观察动物和记录在研究过程中死亡的数量。在预定的治疗后天数（例如，24 小时、第 7 天、第 14 天），通过 TTE 再次评估剩余的动物。在有意识的清醒下测量收缩 BP，例如使用非侵入性的计算机尾套 (tail-cuff) 系统 (BP-2000，Visitech Systems)，发现其与 BP 的直接动脉内测量密切相关。处死动物，收集血液的血清，并且确定梗塞面积（大小）。在去除后，将心脏用伊文思蓝染料或 0.5％氮蓝四唑 (NBT) 染色，用盐水润洗，并照相确定梗塞面积。然后，将组织固定在 4％多聚甲醛中，石蜡包埋并切片，用苏木精和伊红染色，用于组织破坏的组织学评估。可选的或额外的，固定组织并切片，定量心肌细胞死亡的水平（例如，TUNEL 来确定凋亡）。

[0373] 可选的，可以在成年的雄性远系繁殖 ICR 小鼠（例如，HarlanLaboratories(Indianapolis,IN)）进行评估 IL-1β 抗体或片段对心脏功能和 / 或不良的心重塑的影响（例如，后续心血管事件的几率，如充血性心力衰竭）的研究。CD-1 小鼠经历如前所述的实验性心肌梗塞 (Abbate 等人，2008，Circulation 117 :2670-2683)。用戊巴比妥 (70mg/kg，IP) 麻醉小鼠，口腔气管插管，在正压呼吸器上呼吸。在第四肋间隙实施左胸廓切开术，剥离心包膜暴露心脏。然后用手术显微镜 (Leica F40) 鉴别左降冠状动脉，用 7.0 丝质绑缚物结扎。如前所述（缩写为 ibid）对一组 4 只小鼠进行假操作。在

手术后，随机分配小鼠进行治疗，术后立即用腹膜内施用 (0.05mg/kg、0.5mg/kg、5mg/kg 剂量）抗 IL-1β 抗体 XMA052MG1K 或用对照 IgG(n ＝ 6 只 / 组）治疗，7 天后再次处理。还测试了在术前 48 小时用额外剂量的抗体 (0.5mg/kg) 预处理的效果。

[0374] 所有小鼠在术前和冠状动脉结扎后 7、14 和 28 天都经历经胸超声心动描记法。用 Vevo770 成像系统 (VisualSonics Inc，Toronto，Ontario，Canada) 和 30-MHz 探针实施多普勒超声心动描记法。心脏首先在胸骨旁和顶面观以 2 维模式成像，并根据美国超声心动描记法协会推荐 (Gardin 等人，2002，J Am Soc Echocardiography 15 :275-290) 实施测量。在 M 模式测量左心室心舒张末期直径 (LVEDD)、左心室心收缩末期直径 (LVESD)、前壁心舒张厚度 (AWDT)、前壁心收缩厚度 (AWST)、后壁心舒张厚度 (PWDT) 和后壁心收缩厚度 (PWST)。如下计算 LV 缩短分数 (LVFS) :FS ＝ (LVEDD-LVESD)/LVEDD X 100。使用 17- 片段图确定无着丝粒区段数（与梗塞面积相关）。使用顶面观测量射血时间 (ET)，在瞬时 A 波结束和之后的 E 波之间 (AE) 的时间间隔。然后计算心肌性能指数 (MPI，或 Tei 指数）(MPI ＝ [AE-ET]/ET)。还测量三尖瓣环收缩期前移 (tricuspidal annular plane systolic excursion) 作为右心室功能的标志物。实施和读取超声心动描记图的研究人员对治疗分配是未知。使用 SPSS 11.0(Chicago，IL) 进行统计学分析，使用 ANOVA 与 post-hoc T 检验进行多重比较，探讨组之间的差异。为了比较多个组之间的间隔改变，使用重复测量的随机效应 ANOVA，来确定时间、组别和时间 - 组别相互作用的主效应。如果 P 值＜ 0.05，则认为统计学差异是显著的。

[0375] 所有的组中的基线超声心动描记值是相似的。如预期，早至术后第 7 天，相比所有组中的基线，观察到了 LV 直径 (LVEDD 和 LVESD) 的显著增加和 LVFS 的显著减少（除假操作小鼠外）。相比对照，接受 XMA052MG1K 抗体的小鼠在 LVEDD、LVESD 具有较小的增加，而在 LVFS 具有较小的减少（图 4)。

[0376] 在盐水治疗的小鼠中，梗塞面积的代表物——无着丝粒区段的数量是 3.9±0.4，其不受治疗的影响（图 5)。因此，在盐水治疗中，前壁（梗塞）厚度）是 0.52±0.05mm，且不受治疗影响（图 5)。MPI 或 Tei 指数是组合型收缩和舒张功能障碍的标志物与心力衰竭相关致死的代表性标志物，在 AMI 后显著增加（反映差功能），并在用 XMA052MG1K 抗体治疗的小鼠中得以保持（图 5)。相似的，TAPSE 是右心室功能的标志物和 AMI 相关致死的代表性标志物，在 AMI 后显著减少（反映差功能），并在用 XMA052MG1K 抗体治疗的小鼠中得以部分保持（图 5)。因而，使用抗体阻断 IL-1β 在小鼠中缓解了 AMI 后的心脏扩大和功能障碍，不依赖于梗塞面积。在该动物模型中，在术前 48 小时用额外剂量的 XMA052MG1K 抗体预处理没有提供相对于术后治疗的任何优势（数据未显示）。

[0377] 实施例 5

[0378] 在心血管事件模型（中风）中评估 IL-1β 抗体

[0379] 使用啮齿类（例如，小鼠、大鼠）中风模型评估 IL-1β 抗体或其结合片段的效应。例如，在一个模型中，使用成年的雄性 Fischer 大鼠（参见例如，Morales 等人，2008，Circulation 118 :1450-1459)。在另一个模型中，使用 C57BL/6 小鼠（参见例如，Royl 等人，2009，Brain Res. 1265 :148-157)。由对治疗组不知情的研究人员以随机模式实施实验。通过中脑动脉闭塞 (MCAO) 诱导永久性局部脑缺血，例如通过烧灼或单纤丝阻塞。MCA 暴露但未闭塞的大鼠 / 小鼠作为假操作对照。

[0380] 然后，对照动物组和 MCAO 组在一个或多个预定的时间，按规程接受腹膜内或静脉内施用的治疗抗体或安慰剂（例如，对照抗体）。例如，在一个组中，按规程立即施用抗体，而在另一个组中，在 24 小时后施用抗体。

[0381]

	MCAO	抗体 Txt	活着测试	MRI	组织学
组 1	假操作	N/A	是	是	是
组 2	是	安慰剂	是	是	是
组 3	是	低剂量 (t = 0)	是	是	是
组 4	是	高剂量 (t = 0)	是	是	是
组 3	是	低剂量 (24hr)	是	是	是
组 4	是	高剂量 (24hr)	是	是	是

[0382] 评估动物的存活和体重改变，以及功能恢复（例如，感觉运动的、行为测试、如杆测试 (pole test)、悬线测试和 / 或神经性缺乏评分），和在活着阶段使用 MRI 测量脑损伤大小（例如 T2- 加权的 MRI），之后是在处死后（例如，第 4 周）的组织学检验（例如，HE 染色和 GFAP 染色的冠状脑恒冷箱切片）后。此外，基于 T2- 加权 MRI 和 HE 染色的冠状脑恒冷箱切片，可以实施计算机辅助的半球容量分析法。可以评估其他的测试组，通过用 MRI（例如，FAIR MRI）测量半球脑血流，确定 MCAO 后对急性再灌注的影响。

[0383] 实施例 6

[0384] 在外周血管病的模型中评估 IL-1β 抗体

[0385] 为了确定 IL-1β 抗体或其结合片段对外周血管病的影响，可以使用肢缺血的动物模型（参见例如，Park 等人，Endocrinology 149 :483-491，2008）。例如，通过在麻醉动物中结扎一条股动脉，在 C57BL/6 雄性小鼠诱导肢缺血。暴露了动脉但未结扎的小鼠作为假操作对照。

[0386] 然后，对照动物组和动脉结扎组在一个或多个预定的时间，按规程接受腹膜内或静脉内施用治疗抗体或安慰剂（例如，对照抗体）。例如，在一个组中，按规程立即施用抗体，而在另一个组中，在 24 小时后施用抗体。

[0387]

	结扎	抗体 Txt	LDPI	组织学
组 1	假操作	N/A	是	是
组 2	是	安慰剂	是	是
组 3	是	低剂量 (t = 0)	是	是

组 4	是	高剂量 (t = 0)	是	是
组 3	是	低剂量 (24hr)	是	是
组 4	是	高剂量 (24hr)	是	是

[0388] 用激光多普勒输注成像 (LDPI) 分析仪 (Moor Instruments, Devon, UK) 评估两侧后腿的血流，并通过缺血肢体与正常肢体血流的比例评估血流恢复。以有规律的间隔观察 LDPI 的梯度血流测量 (例如，持续两周的每天)。无痛致死小鼠，并分离缺血后肢进行组织学分析。

[0389] 在用 4％多聚甲醛固定后，将缺血的小腿包埋在 OCT 化合物中，冷冻进行恒冷箱切片。用大鼠抗小鼠血小板 EC 粘附分子 -1(PECAM-1)(PharMingen)、小鼠抗 α 平滑肌肌动蛋白 (SMA)(Sigma) 和大鼠抗小鼠 CD45(PharMingen)、兔抗 cGKI(Calbiochem) 染色组织切片。为了评估毛细血管密度和炎症，在每只小鼠的 2 个不同切片 (各≈ 3mm) 上拍摄 4 个随机视野，并进行计算机辅助分析，按用 PECAM-1(内皮标志物) 或 α SMA(血管平滑肌标志物) 染色的毛细血管的平均数计算毛细血管密度。计数浸润的 CD45 阳性白细胞的平均数作为炎症的评估。

[0390] 实施例 7

[0391] 在动脉粥样硬化模型中评估 IL-1β 抗体

[0392] 在共培养系统中评估 IL-1β 抗体 (XOMA 052) 对巨噬细胞诱导内皮细胞和平滑肌细胞生产细胞因子的影响。如示意，在该模型中，用 200nMPMA 预激活 THP-1 细胞 12 小时至巨噬细胞样表型，洗涤一次，在存在或缺少 XOMA 052 的条件下，按比例 (10 ： 1 ;10^6THP-1 和 10^5HUVEC 或 CASMC) 添加至预铺板的人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 或人冠状动脉平滑肌细胞 (CASMC)。可选的，如示意，在存在或缺少 XOMA 052 的条件下，用 rhIL-1β (R&D Systems) 孵育细胞。在 48 小时后，去除上清液，通过 ELISA(R&D Systems) 评估细胞因子或酶含量。所有的测定都实施一式三份。数据证实 XOMA 052 抑制 IL-1β 诱导的促炎分子的释放，所述促炎分子例如内皮细胞的 IL-6、IL-8、MCP-1 和 PAI-1($p < 0.05$，图 6，左栏)。此外，数据显示 XOMA 052 抑制平滑肌细胞释放 IL-6 和 IL-8，以及 IL-1β - 驱动的 MMP-3 和 MMP-9($p < 0.05$，图 7，左栏)。重要的是，还观察到 XOMA 052 强力的降低在巨噬细胞 /EC 或巨噬细胞 /SMC 共培养系统背景中这些因子的诱导 ($p < 0.05$，图 6&7，右栏)。

[0393] ApoE 敲除小鼠是动脉粥样硬化的良好验证的模型，遵循与人类的动脉粥样硬化相似的进展模式。自第 6 周开始，用导致动脉粥样硬化的餐喂养 C57BL/6 背景的雄性 $ApoE^{-/-}$ 小鼠 16 周，并在研究的持续期用 IL-1β 抗体 XMA052MG1K(i.p.，如所示每周 2 次)、对照小鼠 IgG(i.p.，每周 2 次，1.0mg/kg ;Jackson ImmunoResearch) 或喹那普利 (subQ，10mg/kg，每天) 治疗。如前后文所述 (Calkin 等人，2007，Atherosclerosis 195 :17-22)，使用苏丹 IV 染色进行 En face 分析。将主动脉分为弓主动脉、胸主动脉和腹主动脉，然后纵向切断。在固定 En face 在蜡上后，照相和分析主动脉。根据苏丹 IV 染色而可见红的区域百分比，定量总的和分区的斑块面积。之后，将主动脉包埋在石蜡中，并切片进行横切面分析。在测试的 3 个剂量下，XOMA 052MG1K 抑制 ApoE 敲除小鼠中的 22-37％的动脉粥样硬化损伤的形成 ($p < 0.05$，图 8、9)。

[0394] 可选的，使用非侵入性的高分辨率超声技术（参见例如，Gronros 等人，Am J Physiol Heart Circ Physiol.295 :H2046-53,2008），评估斑块发展和体内冠状动脉功能。用高脂肪餐喂养 8 周龄的雄性 ApoE 小鼠约 16 周，用或不用抗体治疗。在治疗过程中，测量总胆固醇水平，以及头臂动脉中的损伤进展的滞后程度，如使用超声生物显微镜在体内可视化。还使用组织学分析确定头臂动脉粥样硬化的降低。还通过流量 (volumetric flow) 测量冠状动脉功能，例如同步记录在腺苷输注前和过程中的多普勒速度信号和左冠状动脉形态。

[0395]

	抗体 Txt	胆固醇	超声	组织学
组 1	安慰剂	是	是	是
组 2	低剂量	是	是	是
组 3	中剂量	是	是	是
组 4	高剂量	是	是	是

[0396] 为了进一步表征 IL-1β 抗体对 ApoE 敲除模型中动脉粥样硬化损伤形成的影响，将主动脉窦和 / 或头臂动脉切片，评估损伤横切面面积和含量 (Zhou 等人，2008，Eur. J.Pharmacol.590 :297-302 ;Calkin 等 人，2007，Atherosclerosis 195 :17-22 ;Kirii 等人，2003，Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.23 :656-660)。将系列的 3-μm 石蜡切片脱蜡和再次水合。用 3％过氧化氢孵育，抑制内源性过氧化物酶活性。用 20％ (v/v) 磷酸缓冲盐溶液中的山羊血清封闭切片后，在 4℃用抗 α - 平滑肌肌动蛋白、炎性标志物（例如 IL-6、IL-8、MCP-1、ICAM-1 和 VCAM-1）、降解酶（例如 MMP-3、MMP-9 和组织蛋白酶 S) 或血栓形成因子（例如组织因子或 PAI-1) 的抗体孵育切片过夜。然后用合适的二抗孵育切片。计算阳性区域，表示为整个斑块区域的百分比。包括了阴性对照，其中用相同稀释度的小鼠或大鼠 IgG 替代了一抗。还通过用亲脂性染料油红 O 染色，评估切片的脂类含量，并通过用抗 CD68 的抗体染色免疫组织化学定量巨噬细胞浸润 (Kirii 等人，2003，Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.23 :656-660)。用图像分析程序 (Image Pro Plus,Media Cybernetics) 实施阳性免疫染色切片的盲分析。

[0397] 可选的，通过定量的基因表达分析探讨炎症和基质降解的标志物 (Calkin 等人，2007，Atherosclerosis 195 :17-22)。使用 Trizol 和 DNA 酶处理，通过均质化作用从整个主动脉中提取 RNA。使用 Taqman 系统，在 ABI Prism 7700 序列检测仪上进行定量实时 RT-PCR。将前述基因的基因表达根据 18S RNA 归一化，按相比未处理对照小鼠中的表达水平的比例报道。出于统计学目的，非参数数据处理为其 log 衍生物。使用 Student T- 检验（两组）或单边 ANOVA（三组或多组）比较表达的差异。

[0398] 还通过 ELISA 或使用 Mesoscale Discovery(MSD) 平台评估 IL-1β 抗体对抗体治疗的 ApoE 敲除小鼠的血清中的炎症、降解和血栓形成的上述标志物的影响。如所述，分析在处死时通过心脏穿刺获得的血清的血清脂类 (Warnick,1986，Methods Enzymol.129 :

101-23)。所有的脂类测定都按一式三份测定来实施。每个测定进行具有已知的被分析物浓度的外部对照样品以保证精确度。还确定游离的血浆甘油浓度，用于校正甘油三酯值。

[0399] 为了定量评估动脉粥样硬化损伤的稳定性，选择5μm厚度的切片并定量。从心底横切面直到出现升主动脉处，按每50μm将切片梯度切开。每只小鼠使用约6片系列5μm切片进行形态测定和免疫组化分析。用修饰的Movat pentachrome染色剂，将斑块中的胶原和泡沫细胞染色。检查染色切片的斑块中埋藏的纤维帽(fibrous cap)，也对其计数。用计算机成像分析程序(Image Pro Plus，Media Cybernetics)实施形态测定。按斑块面积的百分比确定斑块组成，包括细胞外脂类、泡沫细胞和胶原。直接测量斑块面积，并从内弹性膜包住的面积中减去，获得通过除以内弹性膜围绕的面积校正的开放管腔面积(patent lumen area)。通过计算易损指数((泡沫细胞+细胞外脂类)/(胶原+平滑肌细胞))和埋藏的纤维帽平均数，评估IL-1β抗体对斑块稳定性的影响。

[0400] 使用尾套系统测量收缩和舒张血压，并计算平均血压(Chamberlain等人，2009，PLoS ONE 4(4):e5073)。为了确保小鼠的压力水平保持最低，在整个实验过程中使用单个处理者，在开始分析前，小鼠进行一周的训练(采集血压和脉搏读数，但数据被放弃)。在相同的时间进行测量，每天1次，避免血压的正常的每日波动。此外，每天在尾巴的相同部分采集血压。在分析过程中，每天进行10次测量，计算每个"数据日"和周的平均血压和标准偏差(总计50个读数/只小鼠/周，10/天)。在每一天，如果血压低于40或高于210mmHg，或者如果它落在均值的2侧标准偏差之外，则抛弃该单个数据点。如果有效读数少于4个，则抛弃当天的所有数据。如果没有测量至少3个有效天数，则抛弃该周的数据。在喂养Western或WHC餐之前，每只小鼠采集一周chow餐的基线读数。通过全局非线性回归分析数据。该统计测试分析了在数据集之间同时共享一个或多个参数的整个数据集家族。对于每个共享的参数，全局非线性回归发现了适用于所有数据集的一个最适值。在此情况下，在对照(chow喂养)和治疗(餐喂养)条件下，确定不同小鼠基因型的血压，而全局非线性回归确定了各血压曲线之间的差异是否是可信的。测试不比较单个时间点，相反全局处理数据以产生每个比较的单个p值。

[0401] 进一步延伸这些研究用于评估IL-1β抗体或其片段对ApoE缺陷鼠动脉粥样硬化模型的颈动脉动脉损伤中的斑块破裂的影响(参见例如Nakamura等人，Atherosclerosis，2009，Feb 21(印刷前的电子出版))。麻醉ApoE缺陷的8周龄小鼠(C57BL/6)，在左颈总动脉正好靠近其分叉处进行结扎。在结扎后4周，在正好靠近结扎位点处应用聚乙烯套。对照组包括在内，其中动脉是暴露但未结扎的，以及结扎但未应用聚乙烯套。

[0402] 然后，动物在一个或多个预定的时间，按程序接受腹膜内或静脉内施用的治疗抗体或安慰剂(例如，对照抗体)。例如，在一个组中，在放置套之前24或48小时，施用抗体。在另一组中，在放置套的时候施用抗体。

[0403]

	结扎	套	抗体Txt	组织学
组1	假操作	N/A	N/A	是
组2	是	否	N/A	是

组 3	是	否	安慰剂	第 0 天
组 4	是	是	安慰剂	第 4 天
组 5	是	否	低剂量 (-24hr)	第 0 天
组 6	是	否	高剂量 (-24hr)	第 0 天
组 7	是	是	低剂量 (-24hr)	第 4 天

[0404]

组 8	是	是	高剂量 (-24hr)	第 4 天
组 9	是	是	低剂量 (第 0 天)	第 4 天
组 10	是	是	高剂量 (第 0 天)	第 4 天

[0405] 刚好在放置套之前 (第 0 天) 和放置套后第 4 天时，在生理压力下，对小鼠通过左心室输注等渗盐水和在 0.01M 磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 中的 4％多聚甲醛。收集颈动脉，加工用于组织学分析。从每个颈动脉的套内区域制备横冷冻切片 (cross-cryosection)(6μm)，并用苏木精和伊红 (H&E) 染色，以及用 picrosirius 红染色胶原。每个单独玻片上的相应切片用于用抗嗜中性粒细胞的抗体进行免疫组化染色。

[0406] 比较抗体组和对照组之间的斑块内出血和伴随壁内血栓的新内膜破裂的比例。通过将损伤分为三组，对颈动脉的套内区域的斑块破裂进行组织学分类，基于每个样品组织中以 60-μm 间隔进行的 30 个切片分析。当在套内区域没有裂缝或没有附壁血栓或闭塞性血栓时，分类为“无破裂”。当检测到斑块内出血，或斑块内有具有裂缝或侵蚀的附壁血栓或闭塞性血栓时，分别分类为“出血”或“破裂”。

[0407] 还确定新内膜中的嗜中性粒细胞浸润和胶原含量。通过 picrosirius 红染色的阳性区域评估胶原含量，所述阳性区域当用偏振光观察时表现为明亮的。通过嗜中性粒细胞阳性区域评估新内膜中的嗜中性粒细胞浸润，所述区域是用抗嗜中性粒细胞抗体染色的 (1 ： 50 ;Serotec,MCA771GA)。

[0408] 实施例 8

[0409] 在有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体中的心血管事件降低

[0410] 为了确定 IL-1β 抗体或其结合片段对降低有至少一种心血管疾病风险因子历史的个体中的心血管事件的影响 (例如，至第一次事件的时间)，实施临床研究。在一个研究中，在有风险的群体中评估 IL-1β 抗体，测量初级结果的降低 (例如，预防)，所述结果包括由心血管原因、心肌梗塞或中风导致的复合型死亡，以及各自独立的结果。测量次级结果的降低 (例如，预防) 可包括由任何原因导致的死亡，对血管再生术的需求、心力衰竭、绞痛 (例如，因绞痛入院、不稳定的绞痛)、充血性心力衰竭和急性冠脉综合征。

[0411] 对于双盲研究，个体被随机招募进两个 IL-1β 抗体治疗剂量组 (例如，0.3mg/kg，0.1mg/kg) 之一，或匹配的安慰剂组。抗体和安慰剂治疗与标准护理联合施用。如果男性和女性具有冠状动脉病 (例如明显的冠状动脉病)、外周血管病、2 型糖尿病、升高的总胆固

醇、高血压、低 HDL 胆固醇水平、吸烟、动脉粥样硬化和 / 或微量蛋白尿的历史，则研究中包括了年龄至少 55 岁的所述男性和女性，。如果已知个体已经历过近期的（例如，在招募的 6 个月内）心血管事件，则排除所述个体。组的大小包括了足量的个体，以检测心血管事件在研究期间的相对风险的降低。所有个体都提供书面通知的同意书。

[0412] 以每月的间隔向个体施用 IL-1β 抗体或安慰剂，并监控整个研究期间的结果（例如，3 年的研究期）。通过医学领域接受的标准临床诊断确定结果。提示 IL-1β 抗体的效应的结果包括心血管事件结果的相对风险的降低（例如，相对风险降低 20％）。

[0413] 实施例 9

[0414] 在有在先的心血管事件历史的个体中的心血管事件的降低

[0415] 为了确定 IL-1β 抗体或其结合片段对降低有在先的心血管事件历史的个体中的心血管事件的影响（例如，至第二次事件的时间），实施临床研究。在一个研究中，在发生第一次记载的心肌梗塞或急性冠脉综合征的心血管事件后的时期，在个体中评估 IL-1β 抗体。研究测量初级心血管事件结果的降低（例如，预防），所述结果包括由心血管原因、心肌梗塞或中风导致的复合型死亡，以及各自独立的结果。测量次级结果的降低（例如，预防）可包括由任何原因导致的死亡，对血管再生术的需求、心力衰竭、绞痛（例如，因绞痛入院、不稳定的绞痛）、充血性心力衰竭和急性冠脉综合征。

[0416] 对于双盲研究，个体被随机招募进两个 IL-1β 抗体剂量组（例如，0.3mg/kg，0.1mg/kg）之一，或匹配的安慰剂组。如上所述，研究招募了在近期发生第一次心血管事件（例如，在 96 小时内）后的男性和女性。组的大小包括了足量的个体，以检测后续心血管事件在研究期间的相对风险的降低。所有个体都提供书面通知的同意书。

[0417] 以每月的间隔向个体施用 IL-1β 抗体或安慰剂，并监控整个研究期间的结果（例如，3 年的研究期）。通过医学领域接受的标准临床诊断确定结果。提示 IL-1β 抗体的效应的结果包括第二次心血管事件结果的相对风险的降低（例如，相对风险降低 20％）。

[0418] 本文引用的所有参考文献，包括出版物、专利申请和专利在此引入作为参考，其程度与每个参考文献个别并特别指出引入作为参考且在本文中整体阐述相同。

[0419] 除非本文另有说明或与上下文明显矛盾，在描述本发明的上下文中（特别是在下述权利要求的上下文中）使用的术语单数形式（“a”和“an”和“the”）和相似指代应解释为涵盖单数和复数。除非另有说明，术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”应解释为开放术语（即，意指“包括但不限于”）。无论何时开放术语用于描述本发明的特征或元件时，都特别考虑可以使用封闭术语代替开放术语，而不背离本发明的精神和范围。除非本文另有说明，本文所述的数值范围仅旨在充当逐个地提及包含在该范围内的每个单独数值的速记方法，并且每个单独数值合并入说明书内，就如同其在本文中单独述及一样。除非本文另有说明或与上下文明显矛盾，本文描述的所有方法可以以任何合适的顺序来进行。除非另有说明，本文提供的任何和所有例子、或示例性语言（例如，“例如”）的使用，仅旨在更好的举例说明本发明并且不对本发明的范围造成限制。说明书中没有任何语言应解释为指示任何未要求保护的元件是本发明实践所必需的。

[0420] 本发明的优选实施方案在本文中得到描述，包括本发明人已知的用于执行本发明的最佳方式。阅读前述说明书后，这些优选实施方案的变化对于本领域技术人员可以是显而易见的。本发明人预期技术人员可以适当时采用此种变化，并且本发明人预期本发明可

以以如本文具体描述外的方式进行实践。因此，如由适用的法律允许的，本发明包括后附权利要求中所述的主题的所有修饰和等价方案。此外，除非本文另有说明或与上下文明显矛盾，上述元件以其所有可能变化方式的任何组合都落入本发明中。

[0001]

序列表

<110> 爱克索马技术有限公司（XOMA Technology Ltd.）

<120> IL-1β抗体及其结合片段的心血管相关用途

<130> 3716368-150PCT

<160> 5

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成的：AB7 轻链

<400> 1

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Gln
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln Gly Lys Met Leu Pro Trp
85 90 95

[0002]

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 2
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成的：AB7 重链

<400> 2

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ile Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe Val Asp Trp Gly Gln
100 105 110

[0003]

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 3
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成的：对应于成熟 IL-1β 蛋白质的残基 83-105 的表位

<400> 3

Glu Ser Val Asp Pro Lys Asn Tyr Pro Lys Lys Lys Met Glu Lys Arg
1 5 10 15

Phe Val Phe Asn Lys Ile Glu
20

<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成的：AB5 轻链

<400> 4

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

[0004]

Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln Gly Lys Met Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 5
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成的: AB5 重链

<400> 5

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Gly Asp Glu Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Thr Gln Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val
65 70 75 80

[0005]

Phe Leu Lys Ile Thr Ser Val Asp Thr Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Arg Asn Arg Tyr Asp Pro Pro Trp Phe Val Asp Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

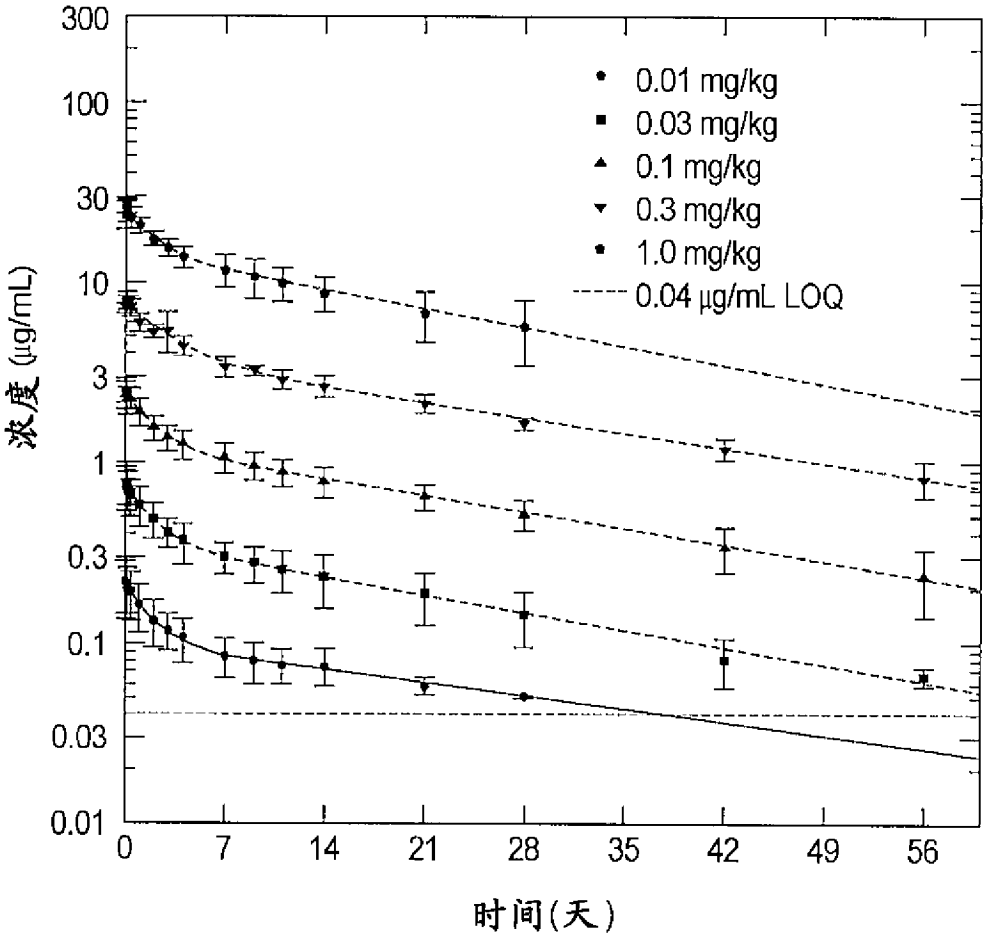

300
100
30
10
3
1
0.3
0.1
0.03
0.01
浓度 (μg/mL)
0
7
14
21
28
35
42
49
56
时间(天)
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
0.04 μg/mL LOQ
Tα = 1.42 天
Tβ = 22.0 天
CL = 2.54 mL/天/kg
Vc = 41.3 mL/kg
Fα = 0.061
LOQ = 定量限制

图 1

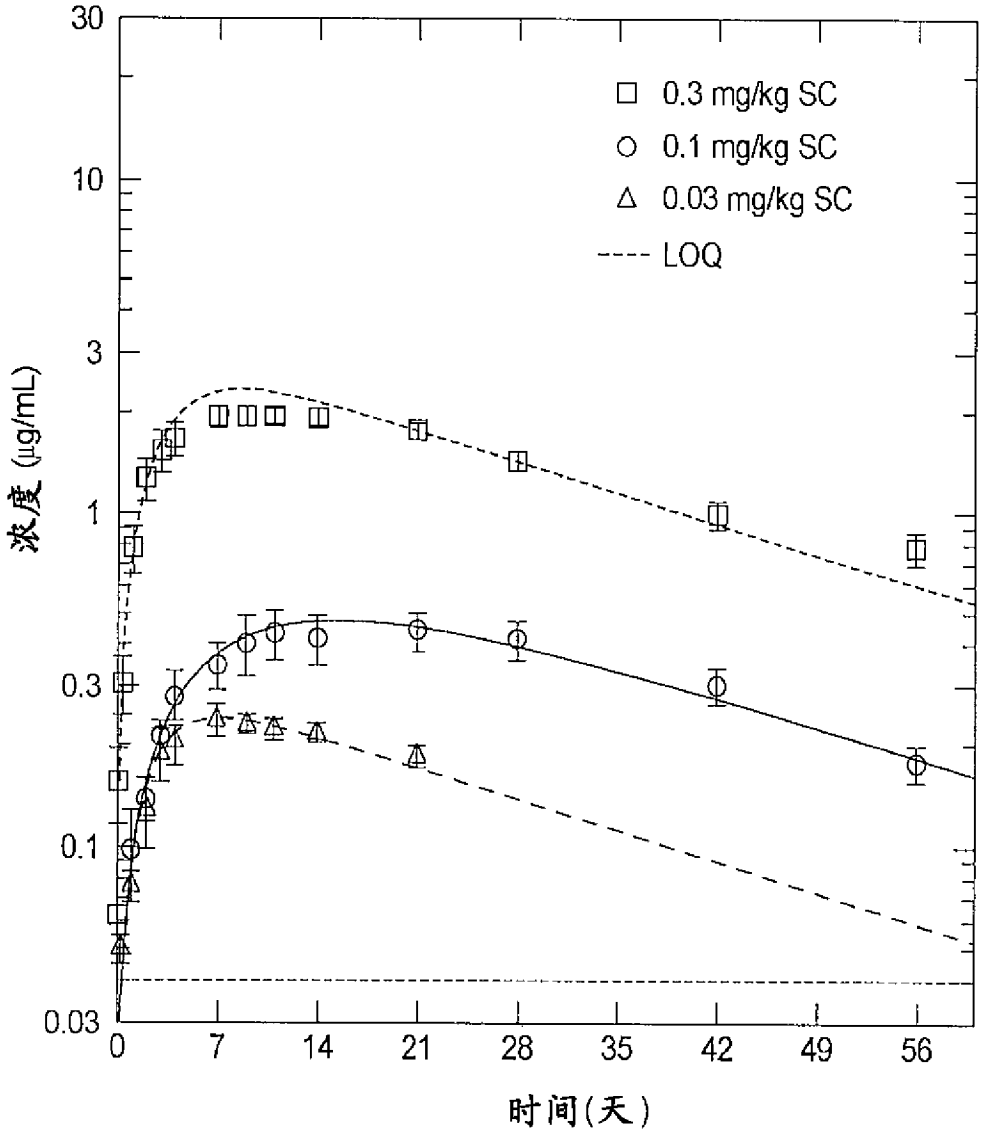

30
10
3
1
0.3
0.1
0.03
浓度 (μg/mL)
0
7
14
21
28
35
42
49
56
时间(天)
0.3 mg/kg SC
0.1 mg/kg SC
0.03 mg/kg SC
LOQ
Tα = 1.6 天
Tβ = 22.7天
CL = 2.4 mL/天/kg
Vc = 40.7 mL/kg
Fα = 0.068
LOQ = 定量限制

图 2

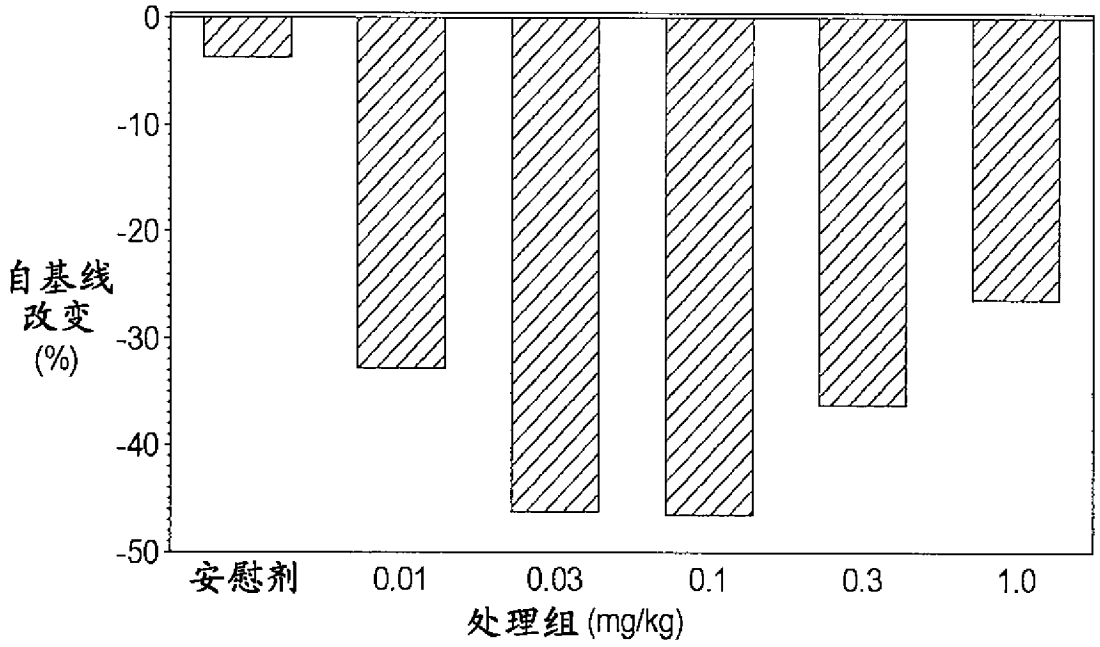


图 3

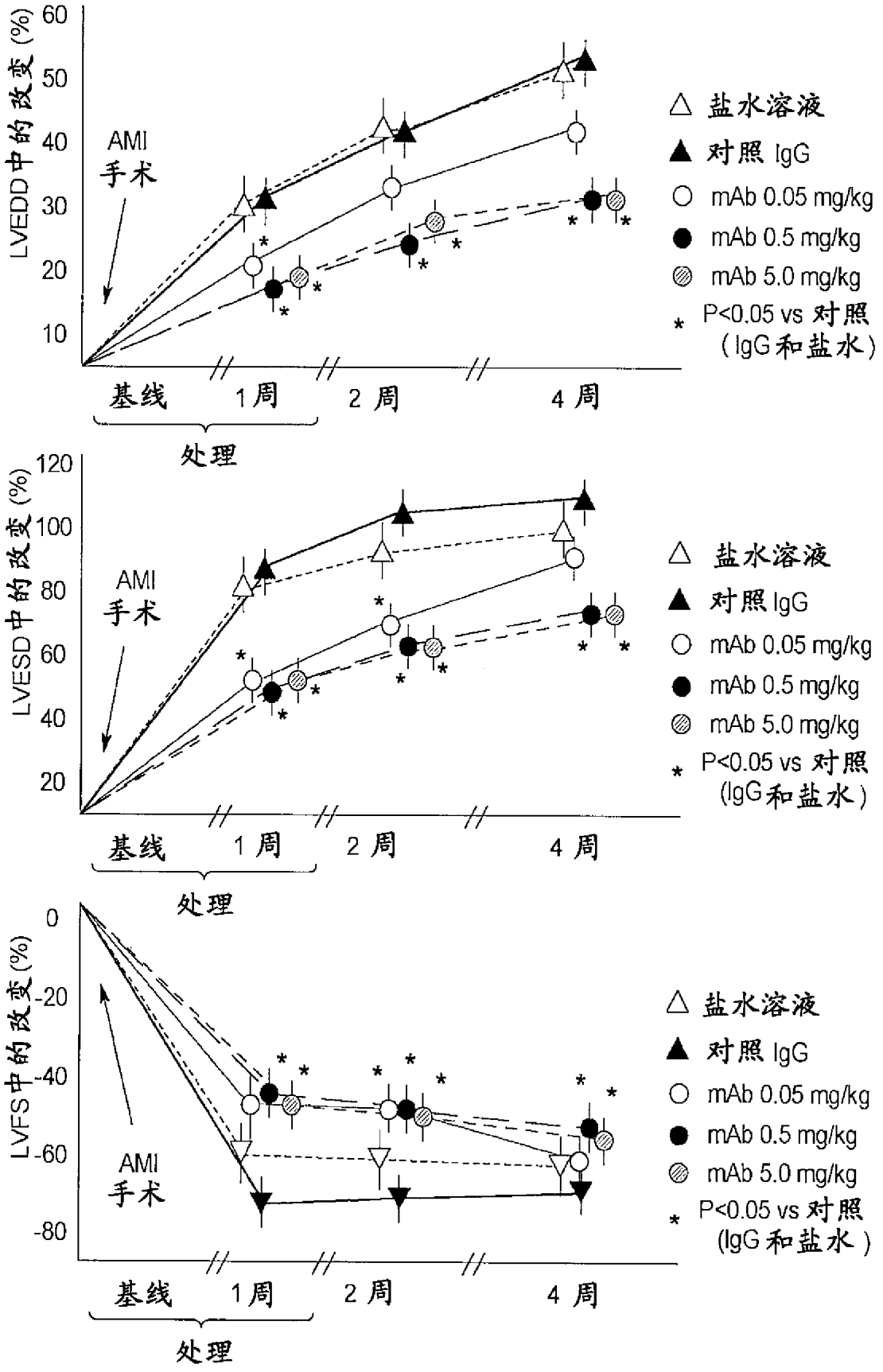

LVEDD中的改变 (%)
60
50
40
30
20
10
AMI
手术
基线
1周
2周
4周
处理
△ 盐水溶液
▲ 对照 IgG
○ mAb 0.05 mg/kg
● mAb 0.5 mg/kg
mAb 5.0 mg/kg
* P<0.05 vs 对照
(IgG和盐水)
LVESD中的改变 (%)
120
100
80
60
40
20
AMI
手术
基线
1周
2周
4周
处理
△ 盐水溶液
▲ 对照 IgG
○ mAb 0.05 mg/kg
● mAb 0.5 mg/kg
mAb 5.0 mg/kg
* P<0.05 vs 对照
(IgG和盐水)
LVFS中的改变 (%)
0
-20
-40
-60
-80
AMI
手术
基线
1周
2周
4周
处理
△ 盐水溶液
▲ 对照 IgG
○ mAb 0.05 mg/kg
● mAb 0.5 mg/kg
mAb 5.0 mg/kg
* P<0.05 vs 对照
(IgG和盐水)

图 4

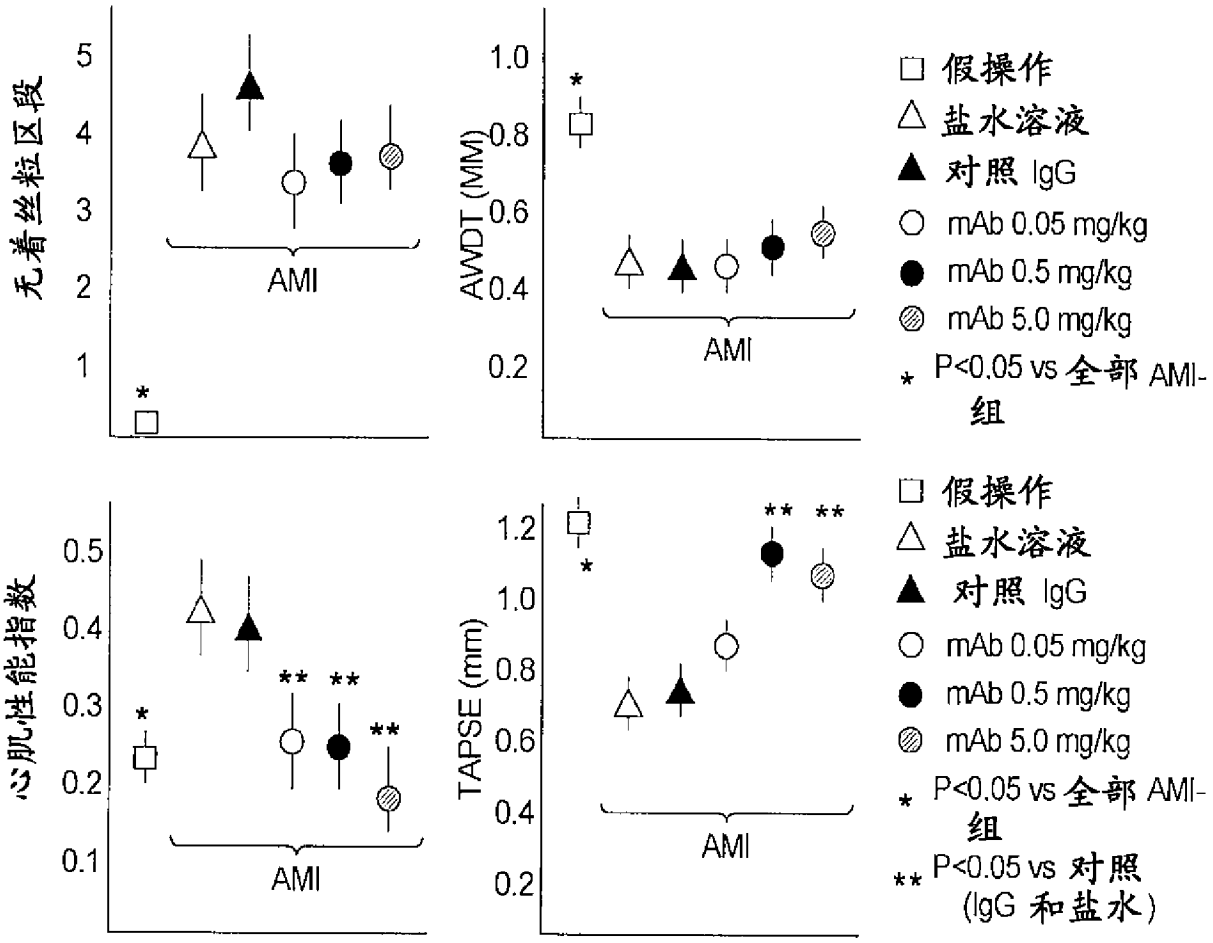

无着丝粒区段
AWDT (MM)
心肌性能指数
TAPSE (mm)
AMI
□ 假操作
△ 盐水溶液
▲ 对照 IgG
○ mAb 0.05 mg/kg
● mAb 0.5 mg/kg
▨ mAb 5.0 mg/kg
* P<0.05 vs 全部 AMI-组
** P<0.05 vs 对照 (IgG 和盐水)

图 5

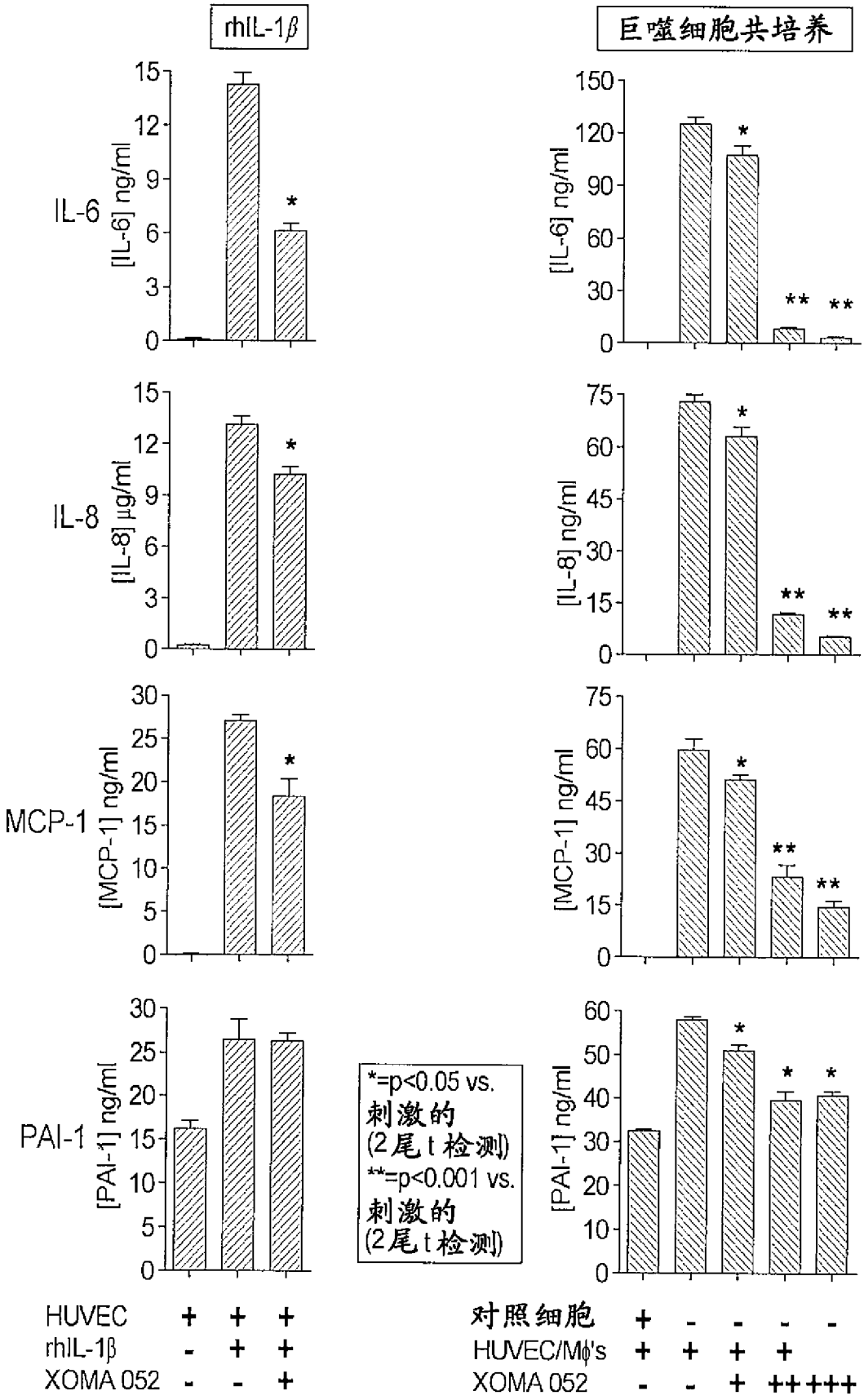

rhIL-1β
巨噬细胞共培养
IL-6
[IL-6] ng/ml
IL-8
[IL-8] µg/ml
[IL-8] ng/ml
MCP-1
[MCP-1] ng/ml
PAI-1
[PAI-1] ng/ml
*=p<0.05 vs. 刺激的 (2尾t检测)
**=p<0.001 vs. 刺激的 (2尾t检测)
HUVEC + + +
rhIL-1β - + +
XOMA 052 - - +
对照细胞 + - - - -
HUVEC/Mϕ's + + + +
XOMA 052 - - + ++ +++

图 6

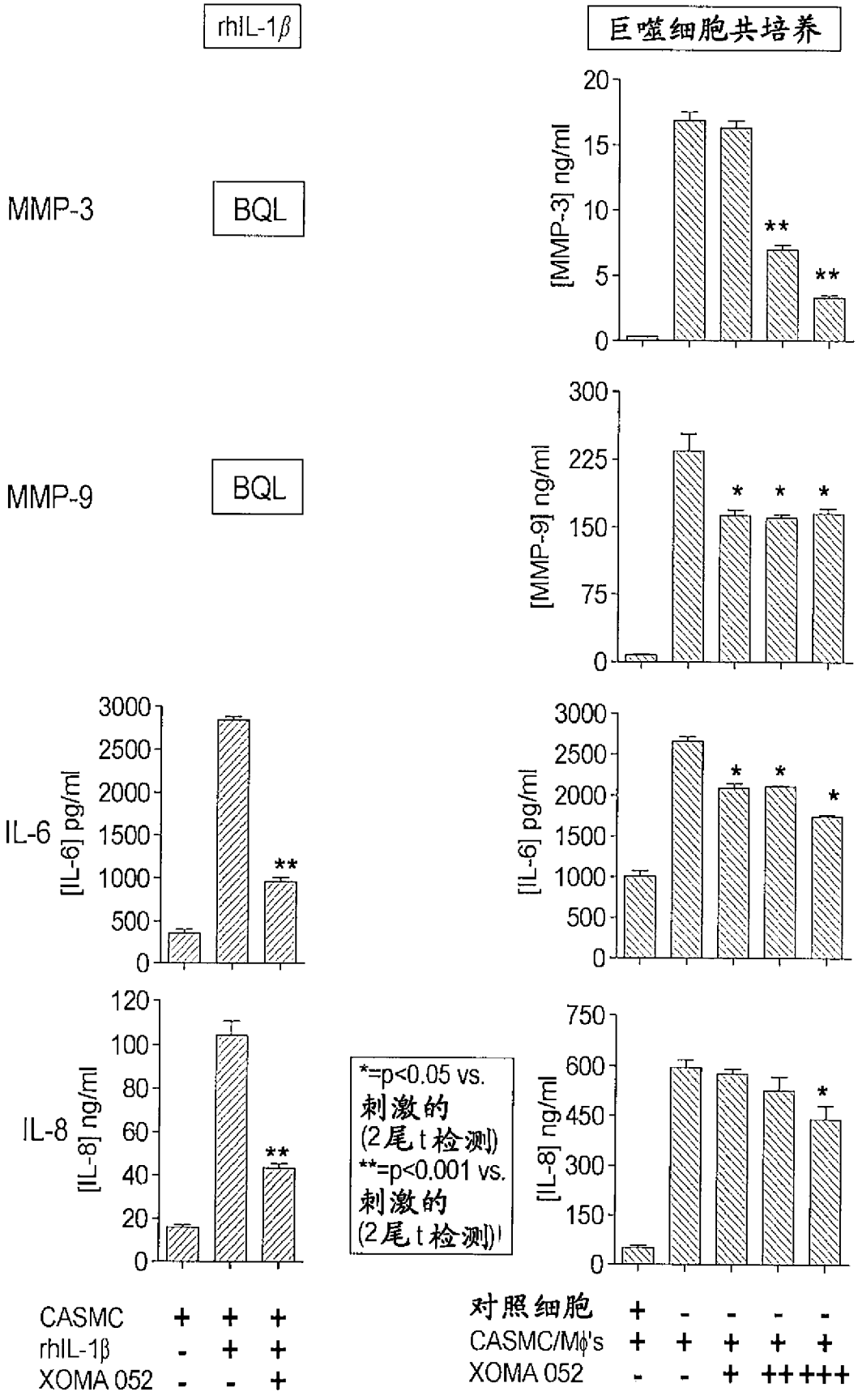

rhIL-1β
巨噬细胞共培养
MMP-3
BQL
[MMP-3] ng/ml
MMP-9
BQL
[MMP-9] ng/ml
IL-6
[IL-6] pg/ml
[IL-6] pg/ml
IL-8
[IL-8] ng/ml
[IL-8] ng/ml
*=p<0.05 vs. 刺激的 (2尾t检测)
**=p<0.001 vs. 刺激的 (2尾t检测)
CASMC + + +
rhIL-1β - + +
XOMA 052 - - +
对照细胞 + - - - -
CASMC/Mφ's + + + + +
XOMA 052 - - + ++ +++

图 7

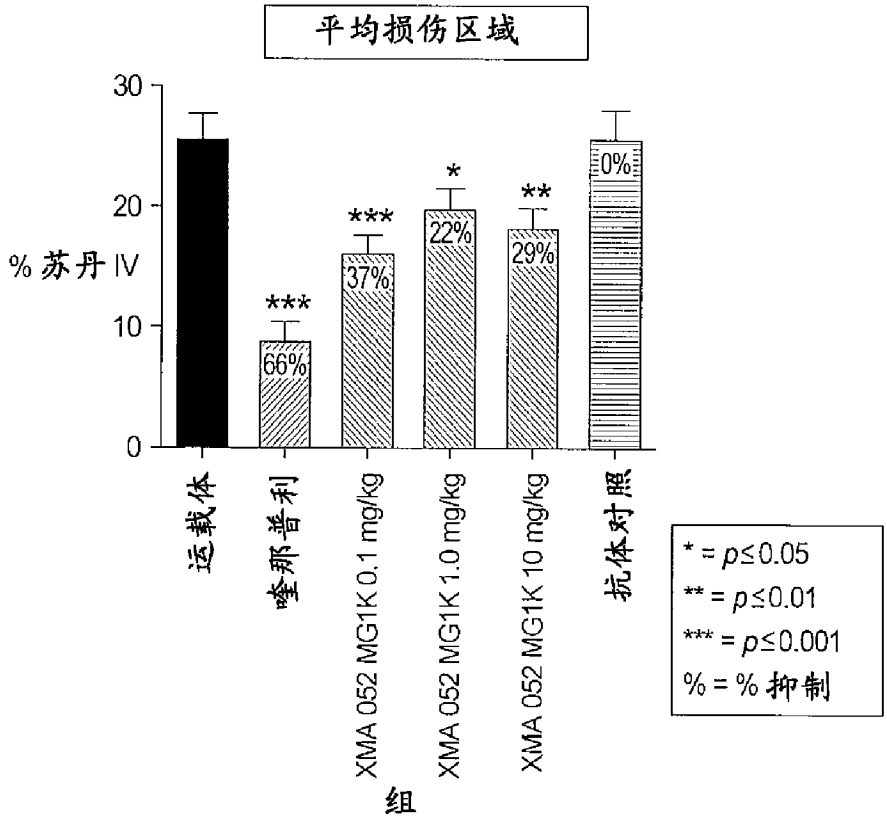

平均损伤区域
30
20
10
0
% 苏丹 IV
66%
37%
22%
29%
0%
***
***
*
**
运载体
喹那普利
XMA 052 MG1K 0.1 mg/kg
XMA 052 MG1K 1.0 mg/kg
XMA 052 MG1K 10 mg/kg
抗体对照
组
* = p≤0.05
** = p≤0.01
*** = p≤0.001
% = % 抑制

图 8A

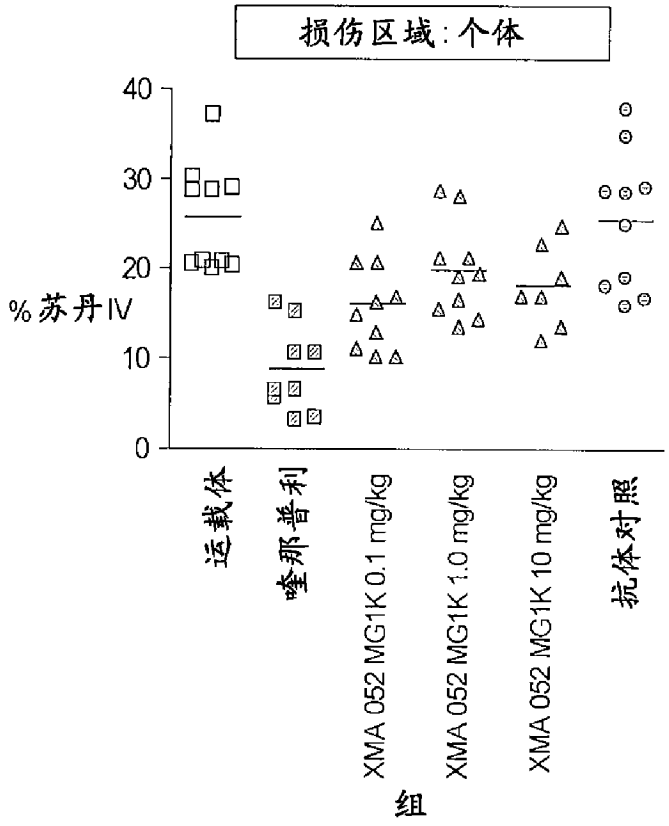

损伤区域：个体
40
30
20
10
0
% 苏丹 IV
运载体
喹那普利
XMA 052 MG1K 0.1 mg/kg
XMA 052 MG1K 1.0 mg/kg
XMA 052 MG1K 10 mg/kg
抗体对照
组

图 8B

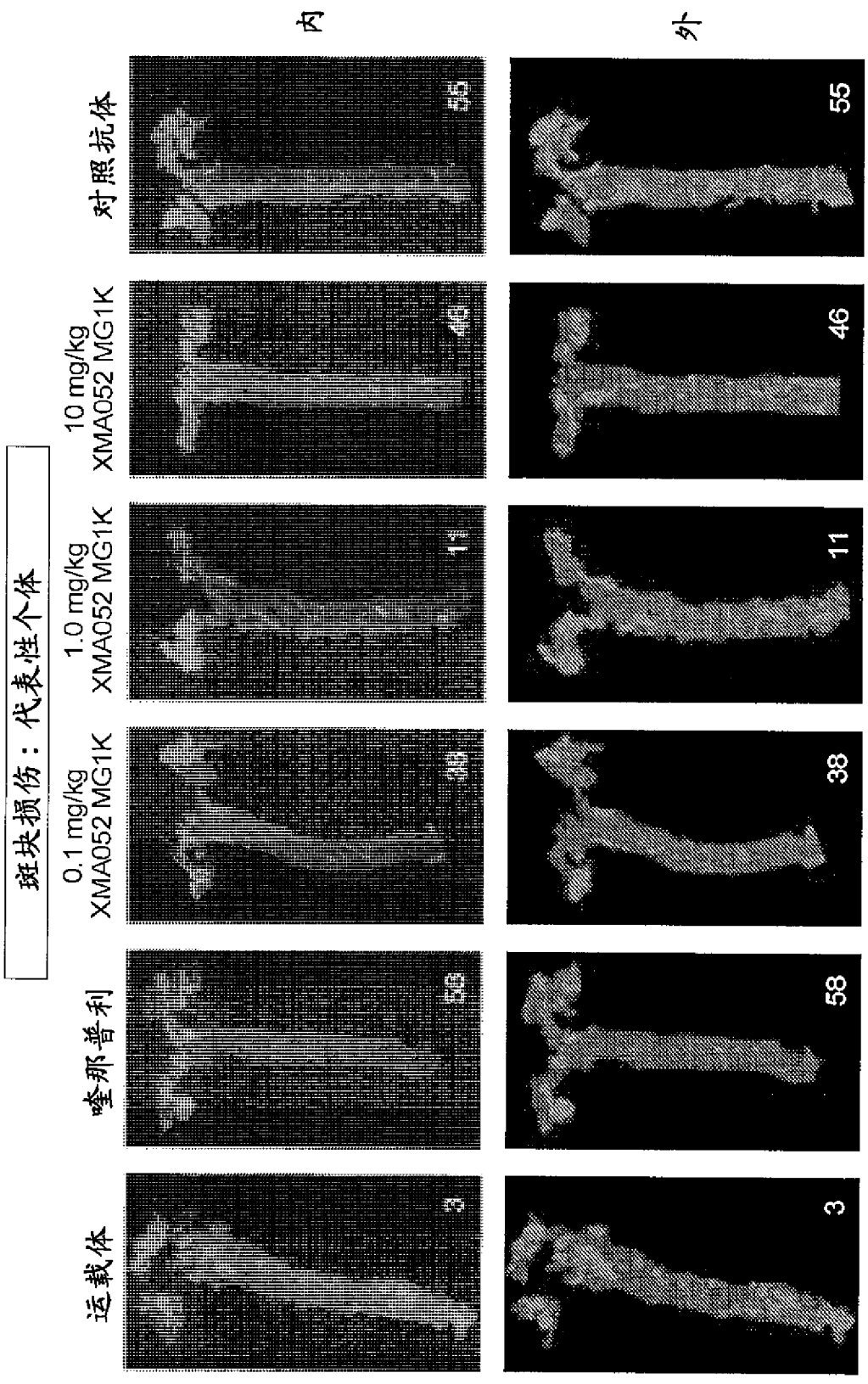

内
外
斑块损伤：代表性个体
运载体
喹那普利
0.1 mg/kg XMA052 MG1K
1.0 mg/kg XMA052 MG1K
10 mg/kg XMA052 MG1K
对照抗体
3
58
38
11
46
55

图 9