



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111939261 B

(45) 授权公告日 2022.10.11

(21) 申请号 202010829276.6

(22) 申请日 2014.07.10

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 111939261 A

(43) 申请公布日 2020.11.17

(30) 优先权数据  
61/844,978 2013.07.11 US

(62) 分案原申请数据  
201480038704.6 2014.07.10

(73) 专利权人 瑞泽恩制药公司  
地址 美国纽约州

(72) 发明人 A·科斯蒂克 L·凯利 X·刘  
B·J·克拉松

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所  
11247  
专利代理师 胡志君 黄革生

(51) Int. Cl.  
A61K 45/00 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)  
A61P 1/04 (2006.01)  
A61P 37/08 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 1829527 A, 2006.09.06  
CN 1922204 A, 2007.02.28  
WO 2012/047954 A1, 2012.04.12  
Tran-Hoai T et al..Immune modulation for treatment of allergic disease.《Immunological Reviews》.2011,第242卷(第1期),第258-271页.  
K. D. Stone et al..Immunomodulatory therapy of eosinophil-associated gastrointestinal diseases.《Clinical and Experimental Allergy》.2008,第38卷第1858-1865页.  
Ana Kostic et al..A Fully Human IL4R α Antibody for Inhibition of IL-4/IL-13-driven Th2 Responses in Allergic Disease.《Clinical immunology》.2010,第135卷第S105-S106页.

(续)

审查员 朱佳彧

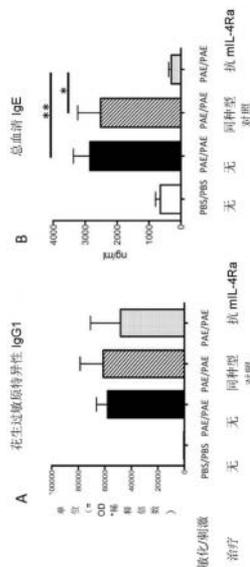
权利要求书2页 说明书15页  
序列表10页 附图4页

(54) 发明名称

以IL-4R抑制剂治疗嗜酸性食管炎的方法

(57) 摘要

本发明提供了一些治疗、预防嗜酸性食道炎或降低其严重程度的方法。本发明之方法包括给有需要的受试者施用含白介素-4受体(IL-4R α)抑制剂(例如抗IL-4R α 抗体)的治疗组合物。



[接上页]

**(56) 对比文件**

Sally Wenzel et al..Dupilumab in Persistent Asthma with Elevated Eosinophil Levels.《The new england journal of medicine》.2013,第368卷(第26期),第2455-2466页.

Brian M Yan et al..Eosinophilic esophagitis: A newly established cause of dysphagia.《World Journal of Gastroenterology》.2006,第12卷(第15期),第2328-2334页.

Peter Mannon et al..Interleukin 13

and its role in gut defence and inflammation.《Recent advances in clinical practice》.2012,第61卷(第12期),第1765-1773页.

Iris M et al..Anti-IL-5 Therapy Reduces Mast Cells and IL-9 Cells in Pediatric Eosinophilic Esophagitis.《J Allergy Clin Immunol》.2013,第131卷(第6期),第1576-1582页.

Edaire Cheng et al..Tissue remodeling in eosinophilic esophagitis.《Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol》.2012,第303卷(第11期),第G1175-G1187页.

1. 特异性结合白介素-4受体 $\alpha$  (IL-4R $\alpha$ ) 的抗体或其抗原结合片段的用途, 用于制备治疗、预防或减轻受试者中嗜酸性食管炎 (EoE) 之至少一种症状或征象的药物组合物, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含3个重链互补决定区, 分别为HCDR1、HCDR2及HCDR3; 以及3个轻链互补决定区, 分别为LCDR1、LCDR2及LCDR3, 其中HCDR1由SEQ ID NO:3氨基酸序列组成, HCDR2由SEQ ID NO:4氨基酸序列组成, HCDR3由SEQ ID NO:5氨基酸序列组成, LCDR1由SEQ ID NO:6氨基酸序列组成, LCDR2由SEQ ID NO:7氨基酸序列组成, LCDR3由SEQ ID NO:8氨基酸序列组成, 其中所述药物组合物制剂为用于皮下或静脉给药。

2. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述受试者具有由有记录的食管组织学活检标本峰值细胞密度均 $\geq 15$ 个嗜酸性粒细胞/高倍视野而确诊EoE的病史。

3. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述受试者具有至少2次吞咽困难发作史。

4. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述受试者对使用吞服局部皮质类固醇治疗的反应不足。

5. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述受试者显示出对食物性过敏原或非食物性过敏原的过敏反应。

6. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述受试者患有选自由食物过敏、特应性皮炎、哮喘、过敏性鼻炎、过敏性结膜炎及遗传性结缔组织疾病组成的一组并发疾病或病症。

7. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述受试者是成人。

8. 根据权利要求1所述的用途, 其中在治疗之前所述受试者具有外周血嗜酸性粒细胞计数 $>300$ 个细胞/ $\mu\text{l}$ 。

9. 根据权利要求1所述的用途, 其中在治疗之前所述受试者具有血清IgE $>150$ kU/L。

10. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1氨基酸序列的重链可变区 (HCVR), 以及含有SEQ ID NO:2氨基酸序列的轻链可变区 (LCVR)。

11. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:13氨基酸序列的重链, 以及含有SEQ ID NO:14氨基酸序列的轻链。

12. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述抗体是dupilumab或其生物等效物。

13. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述药物组合物制剂为用于皮下给药。

14. 根据权利要求1所述的用途, 其中每一剂所述药物组合物包含50-600mg所述抗体或其抗原结合片段。

15. 根据权利要求14所述的用途, 其中每一剂所述药物组合物包含300mg所述抗体或其抗原结合片段。

16. 根据权利要求14所述的用途, 其中所述药物组合物以每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每个月一次给药至所述受试者。

17. 根据权利要求14所述的用途, 其中所述药物组合物以每周一次或每两周一次、300mg所述抗体或其抗原结合片段的剂量给药至所述受试者。

18. 根据权利要求1所述的用途, 其中所述药物组合物以一个起始剂量、然后一个或多个后续剂量给药至所述受试者。

19. 根据权利要求18所述的用途, 其中每一后续剂量在前一剂量之后一周或两周给药。

20. 根据权利要求18所述的用途, 其中所述起始剂量包含600mg所述抗体或其抗原结合

片段,且每一后续剂量包含300mg所述抗体或其抗原结合片段。

21. 根据权利要求20所述的用途,其中每一后续剂量在前一剂量之后一周给药。

22. 根据权利要求20所述的用途,其中每一后续剂量在前一剂量之后两周给药。

23. 根据权利要求1所述的用途,其中所述抗体或其抗原结合片段与第二种治疗剂或疗法结合施用,其中所述第二种治疗剂或疗法选自由下列治疗剂或疗法组成的一组治疗剂或疗法:IL-1 $\beta$ 抑制剂、IL-5抑制剂、IL-9抑制剂、IL-13抑制剂、IL-17抑制剂、IL-25抑制剂、TNF $\alpha$ 抑制剂、嗜酸性粒细胞趋化因子-3抑制剂、IgE抑制剂、前列腺素D2抑制剂、免疫抑制剂、皮质类固醇、糖皮质激素、质子泵抑制剂、NSAID、过敏原消除和饮食管理。

24. 根据权利要求1所述的用途,其中所述药物组合物在注射器容器中。

25. 根据权利要求1所述的用途,其中所述药物组合物在笔型给药装置容器中。

26. 根据权利要求25所述的用途,其中所述笔型给药装置是可重复使用型笔型给药装置,其包含可更换的含所述药物组合物的药筒。

27. 根据权利要求25所述的用途,其中所述笔型给药装置是一次性使用的、预填充有所述药物组合物的笔型给药装置。

## 以IL-4R抑制剂治疗嗜酸性食管炎的方法

[0001] 本申请是中国专利申请201480038704.6的分案申请,原申请的申请日是2014年7月10日,发明名称是“以IL-4R抑制剂治疗嗜酸性食管炎的方法”。

[0002] 相关申请书的对照参考

[0003] 根据美国法规35 U.S.C.§119(e)的规定,本申请书请求以下美国临时专利申请的权益:于2013年7月11日呈交的第61/844,978号美国临时专利申请,其披露内容通过引用以其整体纳入本文。

### 发明领域

[0004] 本发明涉及使用白介素-4受体抑制剂为需要治疗的受试者治疗或预防嗜酸性食管炎。

[0005] 发明背景

[0006] 嗜酸性食管炎(EoE)是一种以食管功能异常和食管异常嗜酸性炎症为特征的新型疾病。EoE的典型症状包括拒食、呕吐、烧心、吞咽困难和食物嵌塞,可能会影响生活质量。人们发现许多患者的EoE与食物过敏相关。某些患者也可能伴有哮喘或特应性疾病,如特应性皮炎或过敏性鼻炎。目前,EoE是通过食管内窥镜检查 and 食管组织活检检查嗜酸性粒细胞来诊断的。目前,治疗选项仅限于消除过敏原、改变饮食和使用皮质类固醇。因此,本领域需要能预防或治疗嗜酸性食管炎以及预防其复发且无不良副作用的有效治疗方法,这种需要尚未得到满足。

[0007] 发明概述

[0008] 依照本发明的一个方面,提供了一些为受试者治疗、预防或减轻嗜酸性食管炎(EoE)之至少一种症状或征象的方法。依照本发明这一方面的方法,包括给有需要的受试者施用治疗有效量的含白介素-4受体(IL-4R)抑制剂的药物组合物。在某些实施方案中,需要治疗的受试者显示出对某种食物性过敏原或非食物性过敏原的过敏反应。

[0009] 依照本发明之另一方面,提供了一些降低受试者体内EoE相关生物标志物水平的方法。在某些实施方案中,所述EoE相关生物标志物选自由下列生物标志物组成的一组生物标志物:例如,循环或食管嗜酸性粒细胞、嗜酸性粒细胞趋化因子-3、骨膜蛋白、血清IgE(总IgE和过敏原特异性IgE)、IL-13、IL-5、血清胸腺和活化调节趋化因子(TARC;CCL17)、胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)、血清嗜酸性阳离子蛋白(ECP)和嗜酸性粒细胞衍生的神经毒素(EDN)。所述方法包括施用治疗有效量的含IL-4R抑制剂的药物组合物。

[0010] 依照本发明之另一方面,提供了一些为需要治疗的受试者减轻食管嗜酸性粒细胞浸润的方法。在某些实施方案中,提供了一些减轻食管炎症的方法。所述方法包括施用治疗有效量的含IL-4R抑制剂的药物组合物。在某些实施方案中,食管嗜酸性粒细胞浸润是以需要治疗的受试者之食管内每个高倍视野中多于或等于15个嗜酸性粒细胞来代表的。在某些实施方案中,在IL-4R抑制剂施用后第10天嗜酸性粒细胞数目减少了约50%。

[0011] 在某些实施方案中,所述IL-4R抑制剂与第二种治疗剂或疗法结合施用。

[0012] 在某些实施方案中,需要治疗的受试者患有并发疾病或病症,其选自由食物过敏、

特应性皮炎、哮喘、过敏性鼻炎、过敏性结膜炎及遗传性结缔组织疾病组成的一组疾病或病症。

[0013] 可用于本发明之方法的典型IL-4R抑制剂包括,例如,IL-4或其配体(IL-4和/或IL-13)的小分子化学抑制剂,或以IL-4R或其配体为靶的生物制剂。依照某些实施方案,该IL-4R抑制剂是与IL-4R $\alpha$ 链结合并阻断IL-4和/或IL-13信号的抗体或抗原结合蛋白。在某些实施方案中,所述之抗IL-4R抗体或抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的重链互补决定区(HCDR)以及含有SEQ ID NO:2氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的轻链CDR。可用于本发明之方法背景下的一类抗原结合蛋白是抗IL-4R $\alpha$ 抗体,如dupilumab。

[0014] 在某些实施方案中,本发明提供了将本发明之抗体或其抗原结合片段用于制造药物的方法,以便为受试者(包括人类)治疗或抑制或预防嗜酸性食管炎。

[0015] 在审阅随后的详细说明过程中,本发明之其他实施方案将变得很明显。

[0016] 附图简要说明

[0017] 图1显示了如本文实施例1所述用流体动力DNA传递(HDD)法注射I125DNA、随后用同种型对照抗体、抗mIL-4R mAb或IL-13Ra2-mFc治疗的小鼠之血清IgE水平。

[0018] 图2显示了如本文实施例1所述用上述HDD法注射I125 DNA、随后用同种型对照抗体、抗mIL-4R mAb或IL-13Ra2-mFc治疗的小鼠之食管组织学评分。

[0019] 图3显示了以磷酸盐缓冲液(PBS)或花生过敏原提取物(PAE)敏化及以PBS或PAE刺激的小鼠之食管组织学评分(如本文中别处所述)。所述小鼠系以抗mIL-4R mAb或同种型对照抗体治疗。

[0020] 图4显示(A)花生过敏原特异性IgG1和(B)以PBS或以花生过敏原提取物(PAE)敏化及以PBS或PAE刺激的小鼠之血清IgE水平。所述小鼠系以抗mIL-4R mAb或同种型对照抗体治疗。

[0021] 详细说明

[0022] 在说明本发明之前先要声明,应该理解,本发明并不局限于所说明的具体方法和实验条件,因为这些方法和条件是可以改变的。还应理解,本文所用的术语仅出于说明具体实施方案之目的,并非意在限制本发明,因为本发明之范围仅受所附权利要求书的限制。

[0023] 除非另有定义,本文所用的所有技术和科学术语均将具有与本发明所属领域中普通技术人员通常理解的含义。本文中所用的术语“大约”,当用于列出的某一具体数值时,意为该数值可在与所列数值相差不大于1%的范围内变化。例如,本文所用的表述“大约100”,包括99和101以及这两者之间的所有数值(例如99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0024] 尽管与本文所述的方法和材料类似或相当的任何方法和材料都可用于本发明之实施,但现在说明的是首选的方法和材料。本文所提及的所有出版物均通过引用而以其整体纳入本文。

[0025] 治疗、预防或减轻嗜酸性食管炎的方法

[0026] 本发明包括一些为受试者治疗、预防或减轻嗜酸性食管炎(EoE)之至少一种症状或征象的方法。依照本发明这一方面的方法包括给有需要的受试者施用治疗有效量的含IL-4R抑制剂的药物组合物。本文中所用的术语“治疗”,无论是动词还是名词,均意为暂时或永久地缓解症状、消除症状的起因,或预防或减缓食管嗜酸性炎症症状的出现。在某些实

施方案中,本发明之方法可用于治疗或减轻EoE之至少一种症状或征象,包括但不限于食管嗜酸性粒细胞浸润、食管壁增厚、食管炎、食管内气管状环或突起的出现、胸腹痛、拒食、呕吐、吞咽困难及食物嵌塞。

[0027] 本文所用的术语“嗜酸性食管炎”(EoE)意为一种以食管内异常嗜酸性炎症和食管功能异常为特征的炎症性疾病。其主要症状包括但不限于胸腹痛、吞咽困难、烧心、拒食、呕吐和食物嵌塞。EoE的临床病理学特征是食管壁上存在突起或气管状环以及食管黏膜的嗜酸性粒细胞浸润。目前,EoE是通过食管内窥镜检查及随后的食管黏膜层显微镜和生化分析诊断的。取决于受试者的状态,EoE可分为过敏性或非过敏性。本发明包括治疗过敏性和非过敏性这两种形式EoE的方法。

[0028] 本文所用的表述“需要治疗的受试者”意为显示出嗜酸性食管炎(EoE)的一种或多种症状或征象和/或已确诊嗜酸性食管炎的人类或非人类哺乳动物。在某些实施方案中,本发明之方法可用于治疗显示出一种或多种EoE相关生物标志物水平上升的患者(在本文中别处说明)。例如,本发明之方法包括将IL-4R抑制剂施予IgE或嗜酸性粒细胞趋化因子-3水平升高的患者。“需要治疗的受试者”这一术语还可包括这样一些受试者,例如,其在治疗之前显示出(或已经显示出)一种或多种EoE征象,例如食管促炎介质如肥大细胞的过度表达、食管嗜酸性粒细胞浸润、食管壁增厚、吞咽困难、食物嵌塞和胸腹痛和/或EoE相关生物标志物水平升高。该术语还包括显示出食管内每个高倍视野中有 $\geq 15$ 个嗜酸性粒细胞的受试者以及外周血嗜酸性粒细胞计数上升( $>300$ 细胞/ $\mu\text{l}$ )或血清IgE上升( $>150\text{kU/L}$ )的受试者。

[0029] 在某些实施方案中,本方法可用于治疗这样一些受试者,其显示出在患有慢性食管炎的受试者身上所观察到的病理和症状,包括胃食管返流病(GERD)。在某些实施方案中,“需要治疗的受试者”这一术语包括对于抗GERD治疗无效或耐药的受试者。例如,本发明之方法可用于治疗对质子泵抑制剂(PPI)耐药的受试者。

[0030] 在本发明之背景下,“需要治疗的受试者”可包括更易患EoE或可能显示出EoE相关生物标志物水平升高的亚群。例如,“需要治疗的受试者”可包括患有特应性疾病或病症如食物过敏、特应性皮炎、哮喘、过敏性鼻炎和过敏性结膜炎的受试者。在某些实施方案中,术语“需要治疗的受试者”包括在IL-4R抑制剂给药之前或给药之时患有或确诊患有某种疾病或病症的受试者,该疾病或病症选自特应性皮炎、哮喘、过敏性鼻炎和过敏性结膜炎组成的一组疾病或病症。在某些实施方案中,术语“需要治疗的受试者”可包括患有遗传性结缔组织疾病的患者。这样的受试者人群可能显示出EoE相关生物标志物例如IgE、嗜酸性粒细胞趋化因子-3、骨膜蛋白、IL-5或IL-13的水平升高。

[0031] 在某些实施方案中,“需要治疗的受试者”可包括易对某种过敏原产生过敏反应的受试者。例如,“需要治疗的受试者”包括可能显示出以下特征之一的受试者:(a)当接触一种或多种过敏原时,易产生过敏反应;(b)先前对一种或多种过敏原显示出过敏反应;(c)有已知的过敏史;及/或(d)显示出过敏反应的症状或征象。在某些实施方案中,受试者对与EoE相关的过敏原过敏或对使受试者易患EoE和/或易发生EoE的过敏原过敏。

[0032] 本文所用的术语“过敏原”包括能在易感者身上引发过敏反应的任何物质、化合物、颗粒或组合物。过敏原可包含于或来源于食物,例如奶制品(如牛奶)、禽蛋、小麦、大豆、玉米、黑麦、鱼类、贝类、花生以及坚果。或者,过敏原可包含于或来源于非食物,例如灰尘(例如含有尘螨的灰尘)、花粉、昆虫毒液(例如蜜蜂、黄蜂、蚊子等的毒液)、霉菌、动物皮屑、

乳胶、医药、药物、猪草、草和桦木。

[0033] 在某些实施方案中,术语“需要治疗的受试者”包括对食物性过敏原显示出过敏反应的亚群。例如,“需要治疗的受试者”可包括对某种食物所包含的过敏原具有过敏反应的受试者,所述食物包括但不限于乳制品、禽蛋、小麦、大豆、玉米、黑麦、鱼类、贝类、花生、坚果、牛肉、鸡肉、燕麦、大麦、猪肉、四季豆及水果(如苹果和菠萝)。

[0034] 在某些实施方案中,该术语包括对非食物性过敏原过敏的受试者,例如来源于灰尘、霉菌、昆虫、植物(包括花粉)及宠物(如猫和犬)的过敏原。非食物性过敏原(又称为环境过敏原或吸入性过敏原)的实例包括但不限于房屋尘螨过敏原、花粉过敏原、动物皮屑过敏原、昆虫毒液、草过敏原及乳胶。

[0035] 本文所用的“过敏性反应”、“过敏反应”、“过敏症状”等术语包括过敏的一种或多种症状或征象,其选自荨麻疹(例如风疹)、血管性水肿、鼻炎、哮喘、呕吐、打喷嚏、流鼻涕、鼻窦炎、流眼泪、气喘、支气管痉挛、呼气流量峰值(PEF)下降、胃肠道不适、面色潮红、嘴唇肿胀、舌头肿胀、血压下降、过敏反应及器官功能障碍/衰竭组成的一组症状或征象。“过敏性反应”、“过敏反应”、“过敏症状”等术语还包括免疫反应,例如IgE产生量增加、过敏原特异性免疫球蛋白的产生量增加和/或嗜酸性粒细胞增多。

[0036] 在某些实施方案中,本发明之方法可用于治疗3岁以下儿童的EoE。例如,本发明之方法可用于治疗不满1个月、不满2个月、不满3个月、不满4个月、不满5个月、不满6个月、不满7个月、不满8个月、不满9个月、不满10个月、不满11个月或不满12个月的婴儿。在另一些实施方案中,本发明之方法可用于治疗3岁以上、4岁以上、5岁以上、6岁以上、7岁以上、8岁以上、9岁以上、10岁以上、11岁以上、12岁以上、13岁以上、14岁以上,或15岁以上的儿童。

[0037] 本发明还包括减轻食管嗜酸性粒细胞浸润的方法。依照本发明这一方面的方法,包括给受试者施用一剂或多剂含IL-4R抑制剂的药物组合物,以减少或消除例如食管黏膜内的嗜酸性粒细胞。

[0038] 本文所用的术语“嗜酸性粒细胞浸润”是指受试者的器官或组织(包括血液、食管、胃、十二指肠以及回肠)内存在嗜酸性粒细胞。在本发明的背景下,术语“嗜酸性粒细胞浸润”是指胃肠道(包括但不限于食管和胃)中某区域的黏膜层中存在嗜酸性粒细胞。嗜酸性粒细胞浸润通过例如EoE受试者的食管组织活检加以分析。依照某些特别的实施方案,“嗜酸性粒细胞浸润”是指食管内每个高倍视野中有 $\geq 15$ 个嗜酸性粒细胞。术语“高倍视野”是指用于观察组织(例如受试者的食管)中嗜酸性粒细胞的显微镜之400倍标准总放大倍数。在某些实施方案中,“嗜酸性粒细胞浸润”包括白细胞(例如淋巴细胞、嗜中性细胞和肥大细胞)的组织浸润。白细胞的组织浸润(例如食管组织浸润)可以用细胞表面标志物来检测,如嗜酸性粒细胞特异性标志物(例如CD11c<sup>Low/Neg</sup>、SiglecF<sup>+</sup>、F4/80<sup>+</sup>、EMR1<sup>+</sup>、Siglec8<sup>+</sup>和MBP2<sup>+</sup>)、巨噬细胞特异性标志物(例如CD11b<sup>+</sup>、F4/80<sup>+</sup>、CD14<sup>+</sup>、EMR1<sup>+</sup>和CD68<sup>+</sup>)、嗜中性细胞特异性标志物(例如CD11b<sup>+</sup>、Ly6G<sup>+</sup>、Ly6C<sup>+</sup>、CD11b<sup>+</sup>和CD66b<sup>+</sup>)、以及T-细胞特异性标志物(例如CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>)。

[0039] 如本文所用的措词,食管嗜酸性粒细胞的减少意味着在患有EoE且已经用IL-4R抑制剂治疗过的受试者之食管中所测得的嗜酸性粒细胞和其他白细胞的数目比在同一或相当的但尚未用IL-4R抑制剂治疗的受试者中所测得的食管嗜酸性粒细胞数目至少要少5%、10%、20%、50%、70%、80%或90%。在某些实施方案中,减轻嗜酸性粒细胞浸润意为食管

黏膜活检检测出每个高倍视野中少于15个嗜酸性粒细胞,更佳的是少于10个嗜酸性粒细胞、少于9个嗜酸性粒细胞、少于8个嗜酸性粒细胞、少于7个嗜酸性粒细胞、少于6个嗜酸性粒细胞或少于5个嗜酸性粒细胞。在某些实施方案中,食管嗜酸性粒细胞的减少意为在受试者的食管黏膜中未检测到嗜酸性粒细胞。

[0040] 本发明包括一些治疗、预防嗜酸性食管炎或减轻嗜酸性食管炎严重程度的方法,其包括给有需要的受试者施用治疗有效量的含IL-4R抑制剂的药物组合物,其中所述药物组合物以多剂例如作为特定治疗给药方案的一部分施予受试者。例如,所述治疗给药方案可包括给受试者施用多剂药物组合物,其频率为约每天一次、每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每六天一次、每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每个月一次、每两个月一次、每三个月一次、每四个月一次,或以较低频率给药。

[0041] 依照某些实施方案,本发明之方法包括与另一种治疗剂结合,给受试者施用治疗有效量的含IL-4R抑制剂的药物组合物。该第二种治疗剂可以选自由下列治疗剂组成的一组治疗剂:例如IL-1 $\beta$ 抑制剂、IL-5抑制剂、IL-9抑制剂、IL-13抑制剂、IL-17抑制剂、IL-25抑制剂、TNF $\alpha$ 抑制剂、嗜酸性粒细胞趋化因子-3抑制剂、IgE抑制剂、前列腺素D2抑制剂、免疫抑制剂、皮质类固醇、糖皮质激素、质子泵抑制剂、减充血剂、抗组胺剂和非类固醇抗炎剂(NSAID)。在某些实施方案中,本发明之IL-4R抑制剂可与包括过敏原消除和饮食管理在内的疗法结合施用。本文所用的术语“与某某结合”意为含IL-4R抑制剂的药物组合物是与另一种治疗剂同时或在其即将施用之前或在其施用之后立即施予受试者。在某些实施方案中,上述另一种治疗剂是作为与该IL-4R抑制剂的共同配制剂给药的。在一个相关的实施方案中,本发明包括一些方法,其包括给正在接受背景抗过敏治疗方案的受试者施用治疗有效量的含IL-4R抑制剂的药物组合物。所述背景抗过敏治疗方案可包括施用例如类固醇、抗组胺、减充血剂、抗IgE剂等治疗剂的给药疗程。所述IL-4R抑制剂可在该背景抗过敏治疗方案的基础上添加。在某些实施方案中,所述IL-4R抑制剂作为“背景递减”方案的一部分添加,其中受试者逐渐(例如以分阶段方式)停用所述背景抗过敏治疗,而IL-4R抑制剂则以稳定剂量或递增或递减剂量施予受试者。

[0042] 嗜酸性食管炎相关生物标志物

[0043] 本发明还包括一些涉及使用、定量和分析EoE相关生物标志物的方法。本文所用的术语“EoE相关生物标志物”是指在EoE患者体内以一定水平或量存在或可检测到的任何生物反应、细胞类型、指标、蛋白质、多肽、酶、酶活性、代谢物、核酸、碳水化合物或其他生物分子,该水平或量不同于(例如大于或小于)非EoE患者体内存在或可检测到的标志物之水平或量。典型的EoE相关生物标志物包括但不限于,例如食管嗜酸性粒细胞、嗜酸性粒细胞趋化因子-3(CCL26)、骨膜蛋白、血清IgE(总IgE和过敏原特异性IgE)、IL-13、IL-5、血清胸腺和活化调节趋化因子(TARC;CCL17)、胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)、血清嗜酸性阳离子蛋白(ECP)和嗜酸性粒细胞衍生的神经毒素(EDN)。“EoE相关生物标志物”这一术语也包括本领域内已知的基因或基因探针,与非EoE受试者相比,该基因或基因探针在EoE受试者体内有差异性表达。例如,EoE受试者体内显著上调的基因包括但不限于T辅助细胞2(Th2)相关趋化因子如CCL8、CCL23和CCL26、骨膜蛋白、钙黏蛋白样26及TNF $\alpha$ -诱导蛋白6(Blanchard et al 2006, J.Clin.Invest.116:536-547)。或者,“EoE相关生物标志物”还包括由于EoE而下调的基因,例如终末分化蛋白(例如丝聚蛋白)(Blanchard et al 2006,

J.Clin.Invest.116:536-547)。本发明的某些实施方案有关施予IL-4R拮抗剂后使用这些生物标志物监测疾病逆转情况。用于检测和/或定量此类EoE相关生物标志物的方法在本领域内是已知的,用于测量此类EoE相关生物标志物的试剂盒可从各种市售来源获得,各种商业性诊断实验室也提供测量此类生物标志物的服务。

[0044] 依照本发明的某些方面,提供了一些治疗EoE的方法,其中包括:(a)在治疗之前或在治疗之时选择显示出反映疾病状态的至少一种EoE相关生物标志物水平的受试者,以及(b)施予受试者含有治疗有效量IL-4R拮抗剂的药物组合物。在本发明这一方面的某些实施方案中,受试者是根据IgE或嗜酸性粒细胞趋化因子-3水平升高而选择的。

[0045] 依照本发明的其他一些方面,提供了一些治疗EoE的方法,其包括给受试者施用含治疗有效量IL-4R拮抗剂的药物组合物;与给药前该受试者的生物标志物水平相比,给受试者施用该药物组合物导致给药后某一时间点至少一种EoE相关生物标志物(例如食管嗜酸性粒细胞、嗜酸性粒细胞趋化因子-3、IgE等)的下降。

[0046] 如本发明所属技术领域普通技术人员所能理解,可通过比较下列两种水平而确定EoE相关生物标志物水平的上升或下降:(i)在含IL-4R拮抗剂的药物组合物给药后特定时间点受试者体内测得的生物标志物水平,(ii)在含IL-4R拮抗剂的药物组合物给药之前在患者体内测得的生物标志物水平(即“基线测量值”)。例如,测量生物标志物水平的特定时间点可以是在含IL-4R拮抗剂的药物组合物给药后约4小时、8小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、15天、20天、35天、40天、50天、55天、60天、65天、70天、75天、80天、85天或以上。

[0047] 依照本发明的某些实施方案,在施予含IL-4R拮抗剂(例如抗IL-4R抗体)的药物组合物之后,受试者可能会显示出一种或多种IgE和/或嗜酸性粒细胞趋化因子-3水平的下降。例如,依照本发明,在施予第一剂、第二剂、第三剂或第四剂含有约75mg至约600mg的抗IL-4R抗体(例如dupilumab)的药物组合物之后大约第1天、第4天、第8天、第15天、第22天、第25天、第29天、第36天、第43天、第50天、第57天、第64天、第71天或第85天,受试者可能会显示出嗜酸性粒细胞趋化因子-3从基线下降约1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或以上(其中“基线”定义为第一次给药之前受试者体内嗜酸性粒细胞趋化因子-3的水平)。同样,依照本发明,在施予第一剂、第二剂、第三剂或第四剂含有约75mg至约600mg的抗IL-4R抗体(例如dupilumab)的药物组合物之后大约第1天、第4天、第8天、第15天、第22天、第25天、第29天、第36天、第43天、第50天、第57天、第64天、第71天或第85天,受试者可能会显示出IgE从基线下降约1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或以上(其中“基线”定义为第一次给药之前受试者体内IgE的水平)。

[0048] 本发明还包括一些方法,用于确定受试者是否是可能受益于接受含IL-4R拮抗剂的药物组合物的合适受试者。例如,如果受试者在接受含IL-4R拮抗剂的药物组合物之前,显示出反映疾病状态的EoE相关生物标志物水平,则可确定该受试者将是受益于接受本发明之药物组合物(含抗IL-4R抗体的组合物)的合适受试者。在一些相关的实施方案中,本发明包括一些用于治疗合适受试者的方法,其中合适的受试者可能由于例如食物过敏或特异性疾病而更易患EoE。例如,本发明包括一些给患有食物过敏、特应性皮炎、哮喘、过敏性鼻炎

炎或过敏性结膜炎的受试者施用IL-4R拮抗剂的方法。在另一个实施方案中,本发明包括给患有孟德尔遗传性结缔组织疾病的受试者,例如马凡氏综合征、Loeys-Dietz综合征、先天性结缔组织发育不全综合征(EDS)或关节结缔组织发育不全综合征(JHS)的患者施用IL-4R拮抗剂的方法。此类受试者人群可能具有较高的EoE相关生物标志物水平。

[0049] 依照某些示范性实施方案,如果受试者显示出下列一种或多种症状,则可确定该受试者为抗IL-4R治疗的合适人选:(i)嗜酸性粒细胞趋化因子-3水平为约30pg/ml以上、约40pg/ml以上、约50pg/ml以上、约100pg/ml以上、约1500pg/ml以上、约200pg/ml以上、约250pg/ml以上、约300pg/ml以上、约350pg/ml以上、约400pg/ml以上、约450pg/ml以上,或约500pg/ml以上;或(ii)血清IgE水平为约114kU/L以上、约150kU/L以上、约500kU/L以上、约1000kU/L以上、约1500kU/L以上、约2000kU/L以上、约2500kU/L以上、约3000kU/L以上、约3500kU/L以上、约4000kU/L以上、约4500kU/L以上,或约5000kU/L以上;或(iii)受试者食管内每个高倍视野中有 $\geq 15$ 个嗜酸性粒细胞。其他标准,例如EoE的其他临床指标(例如反映EoE症状的食管壁增厚和食物过敏),也可与前述任何EoE相关生物标志物结合使用,以确定受试者是否是如本文中别处所述的抗IL-4R治疗的合适人选。

[0050] 白介素-4受体抑制剂

[0051] 本发明之方法包括给有需要的受试者施用含白介素-4受体(IL-4R)抑制剂的治疗组合物。本文所用的术语“IL-4R抑制剂”(本文中亦称为“IL-4R拮抗剂”、“IL-4R $\alpha$ 拮抗剂”、“IL-4R阻断剂”、“IL-4R $\alpha$ 阻断剂”等)是与IL-4R $\alpha$ 或IL-4R配体结合或与其相互作用,抑制或减弱1型和/或2型IL-4受体之正常生物信号传导的任何制剂。人IL-4R $\alpha$ 含有SEQ ID NO:11氨基酸序列。1型IL-4受体是包含IL-4R $\alpha$ 链和 $\gamma$ c链的二聚化受体。2型IL-4受体是包含IL-4R $\alpha$ 链和IL-13R $\alpha 1$ 链的二聚化受体。1型IL-4受体与IL-4相互作用并受IL-4刺激,而2型IL-4受体与IL-4和IL-13两者相互作用并受IL-4和IL-13两者的刺激。因此,可用于本发明之方法的IL-4R抑制剂可通过阻断IL-4介导的信号传导和/或IL-13介导的信号传导而起作用。为此,本发明之IL-4R抑制剂可以防止IL-4和/或IL-13与1型或2型受体相互作用。

[0052] IL-4R抑制剂类型的非限制性实例包括小分子IL-4R抑制剂、抗IL-4R适体、肽基IL-4R抑制剂(例如“肽抗体”分子)、“受体主体”(例如包含IL-4R配体结合域的基因改造分子)及与人IL-4R $\alpha$ 特异性结合的抗体或其抗原结合片段。本文所用的术语“IL-4R抑制剂”还包括与IL-4和/或IL-13特异性结合的抗原结合蛋白。

[0053] 抗IL-4R $\alpha$ 抗体及其抗原结合片段

[0054] 依照本发明之某些示范性实施方案,IL-4R抑制剂是抗IL-4R $\alpha$ 抗体或其抗原结合片段。本文所用的术语“抗体”包括由四条多肽链,即两条重(H)链和两条轻(L)链,以二硫键相互连接而组成的免疫球蛋白分子及其多聚体(例如IgM)。在典型抗体中,每条重链均包含一个重链可变区(本文简称为HCVR或V<sub>H</sub>)和一个重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域,C<sub>H1</sub>、C<sub>H2</sub>和C<sub>H3</sub>。每条轻链均包含一个轻链可变区(本文中缩写为LCVR或V<sub>L</sub>)和一个轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域(C<sub>L1</sub>)。V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>区可进一步分为被称为互补决定区(CDR)的高变区,其中散布着较保守的称为框架区(FR)的区域。每个V<sub>H</sub>和V<sub>L</sub>均由三个CDR和四个FR组成,从氨基端到羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明之另一些实施方案中,抗IL-4R抗体(或其抗原结合部分)的框架区FR可能与人类种系序列相同或可能经过天然或人工的修饰。氨基酸共有序列可根据两个或更多CDR的对比分析而确定。

[0055] 本文所用的术语“抗体”还包括完整抗体分子的抗原结合片段。本文所用的抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等术语包括与抗原特异性结合而形成复合体的任何天然产生的、可以酶促方式获得的、合成的或基因改造的多肽或糖蛋白。抗体的抗原结合片段可以利用任何适宜的标准技术,例如蛋白水解消化或涉及编码抗体可变区和恒定区(可选)的DNA之操纵和表达的重组基因改造技术,从例如完整的抗体分子衍生。此类DNA是已知的及/或很容易从例如市售来源、DNA库(包括例如噬菌体-抗体库)获得,或可以合成。该DNA可以测序且以化学方法或分子生物学技术加以操纵,例如将一个或多个可变区和/或恒定区排列成一种适宜的构型,或引入密码子,产生半胱氨酸残基,修饰、添加或删除氨基酸等。

[0056] 抗原结合片段的非限制性实例包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;及(vii) 由模拟抗体高变区(例如孤立的互补决定区CDR,如CDR3肽)或FR3-CDR3-FR4构型约束肽的氨基酸残基组成的最小识别单位。本文所用的“抗原结合片段”这一表述还包括其他基因改造分子,如结构域特异性抗体、单域抗体、结构域删除的抗体、嵌合抗体、CDR嫁接抗体、双抗体、三聚抗体、四聚抗体、微抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块免疫药物(SMIP)及鲨鱼可变IgNAR域。

[0057] 抗体的抗原结合片段通常会包含至少一个可变区。可变域可以是任何大小或具有任何氨基酸组成,且通常会包含至少一个邻近一个或多个框架序列或位于其中的CDR。在含有与V<sub>L</sub>区相关联之V<sub>H</sub>区的抗原结合片段中,V<sub>H</sub>区和V<sub>L</sub>区的相对位置可为任何适宜的排列。例如,可变区可以是二聚化的且含有V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>、V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub>或V<sub>L</sub>-V<sub>L</sub>二聚体。或者,抗体的抗原结合片段可含有单一V<sub>H</sub>区或V<sub>L</sub>区。

[0058] 在某些实施方案中,抗体的抗原结合片段可含有与至少一个恒定区共价连接的至少一个可变区。在本发明抗体的抗原结合片段内可发现的可变区和恒定区的非限制性典型构型包括:(i) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1;(ii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2;(iii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>3;(iv) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2;(v) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3;(vi) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3;(vii) V<sub>H</sub>-C<sub>L</sub>;(viii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1;(ix) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2;(x) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>3;(xi) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2;(xii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3;(xiii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3;及(xiv) V<sub>L</sub>-C<sub>L</sub>。在可变区和恒定区的任何构型,包括上述任何典型的构型中,可变区和恒定区可直接相互连接或可通过一个完整或部分铰链区或连接区连接。铰链区可含有至少2个(例如5、10、15、20、40、60个或以上)氨基酸,其在单一肽分子中相邻的可变区和/或恒定区之间形成柔性或半柔性连接。此外,本发明之抗体的抗原结合片段可包含上述任何可变区和恒定区构型的同二聚体或异二聚体(或其他多聚体),其中可变区和恒定区以非共价键相互连接和/或与一个或多个单一V<sub>H</sub>区或V<sub>L</sub>区(例如通过二硫键)连接。

[0059] 本文所用的术语“抗体”还包括多特异性(例如双特异性)抗体。多特异性抗体或抗体的抗原结合片段通常包含至少两个不同的可变区,其中每个可变区都能与另一个抗原或同一抗原的不同表位特异性结合。对于任何多特异性抗体形式,均可利用本领域内现有的常规技术,使其适应于涉及本发明之抗体或抗体的抗原结合片段的用途。例如,本发明包括使用双特异性抗体的方法,其中免疫球蛋白的一臂对IL-4Rα或其片段具有特异性,而免疫球蛋白的另一臂则对第二种治疗靶标具有特异性或与一治疗基团缀合。可用于本发明之示范性双特异性形式包括但不限于,例如基于scFv的形式或双体双特异性形式、IgG-scFv融合体、双可变域(DVD)-Ig、四源杂交瘤、knobs-into-holes、共同轻链(例如具有knobs-

into-holes的共同轻链等)、CrossMab、CrossFab、(SEED) body、白氨酸拉炼、Duobody、IgG1/IgG2、双重作用的Fab (DAF) - IgG,以及Mab<sup>2</sup>双特异性形式(关于前述诸形式的综述,请参阅例如Klein et al.2012,mAbs 4:6,1-11及其中引用的参考文献)。双特异性抗体也可籍由肽与核酸的缀合来构建,例如,使用具有正交化学反应性的非天然氨基酸来产生位点特异性抗体与寡核苷酸的缀合物,该缀合物再自行组合成具有特定组成、化合价及几何形状的多聚复合物(参阅例如Kazane et al.,J.Am.Chem.Soc.[Epub:Dec.4,2012])。

[0060] 用于本发明之方法的抗体可以是人源抗体。本文所用的术语“人源抗体”意在包括含有衍生自人类种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。但本发明之人源抗体仍可包括并非由人类种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机诱变或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变所引入的突变),例如可在CDR中尤其是在CDR3中包括这种氨基酸残基。但本文所用的术语“人源抗体”并不意图包括这样的抗体:其中衍生自另一哺乳动物物种如小鼠的CDR序列被移植到人类框架序列上。

[0061] 用于本发明之方法的抗体可以是重组人源抗体。本文所用的术语“重组人源抗体”意在包括所有以重组方法制备、表达、产生或分离的人源抗体,例如用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体(将在下文进一步说明),从重组、组合人抗体库分离的抗体(将在下文进一步说明),从人类免疫球蛋白基因转基因动物(例如小鼠)分离的抗体(参阅例如Taylor et al.(1992)Nucl.Acids Res.20:6287-6295),或者以其他任何涉及将人类免疫球蛋白基因序列剪接到其他DNA序列的方法所制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人源抗体含有衍生自人类种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。但是,在某些实施方案中,此类重组人源抗体经受体外诱变(或者,当使用人类Ig序列转基因动物时,经受体内体细胞诱变),从而使得重组抗体V<sub>H</sub>区和V<sub>L</sub>区的氨基酸序列成为这样的序列:它们虽然衍生自人类种系V<sub>H</sub>序列和V<sub>L</sub>序列并与它们相关,但也许并不天然地在体内存在于人源抗体种系之中。

[0062] 依照某些实施方案,用于本发明之方法的抗体与IL-4R $\alpha$ 特异性结合。“特异性结合”或类似术语意为抗体或抗原结合片段与在生理条件下相对稳定的抗原形成复合体。确定抗体是否与抗原特异性结合的方法是本领域内众所周知的,包括例如平衡透析、表面等离子体共振等方法。例如,如本发明背景下所用之术语,与IL-4R $\alpha$ “特异性结合”的抗体包括与IL-4R $\alpha$ 或其部分结合的抗体,经表面等离子体共振技术测量,其K<sub>D</sub>小于约500nM、小于约300nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约90nM、小于约80nM、小于约70nM、小于约60nM、小于约50nM、小于约40nM、小于约30nM、小于约20nM、小于约10nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM或小于约0.5nM。但与人IL-4R $\alpha$ 特异性结合的分离抗体对于其他抗原,如源自其他(非人类)物种的IL-4R $\alpha$ 分子,可具有交叉反应性。

[0063] 依照本发明之某些示范性实施方案,IL-4R抑制剂是抗IL-4R抗体或其抗原结合片段,其包含一个重链可变区(HCVR)、一个轻链可变区(LCVR)及/或一些含有如美国第7,608,693号专利所述的抗IL-4R抗体的任何氨基酸序列的互补决定区(CDR)。在某些示范性实施方案中,可用于本发明之方法的抗IL-4R $\alpha$ 抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的重链互补决定区(HCDR),以及含有SEQ ID NO:2氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)的轻链互补决定区(LCDR)。依照某些实施方案,抗IL-4R $\alpha$ 抗体或其抗原结合片段含有3个HCDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)及3个LCDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),其中HCDR1含有SEQ ID NO:3氨基酸序列;HCDR2含有SEQ ID NO:4氨基酸序列;HCDR3含有SEQ ID

NO:5氨基酸序列;LCDR1含有SEQ ID NO:6氨基酸序列;LCDR2含有SEQ ID NO:7氨基酸序列;LCDR3含有SEQ ID NO:8氨基酸序列。在其他一些实施方案中,抗IL-4R抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1序列的HCVR及含有SEQ ID NO:2序列的LCVR。在某些实施方案中,本发明的方法包括使用抗IL-4R抗体,该抗体包含含有SEQ ID NO:13氨基酸序列的重链。在一些实施方案中,抗IL-4R抗体包含含有14氨基酸序列的轻链。包含含有SEQ ID NO:13氨基酸序列的重链和SEQ ID NO:14氨基酸序列的轻链的一种示例性抗体是称为dupilumab的完全人源化抗IL-4R抗体。按照某些示范性实施方案,本发明的方法包括使用dupilumab或其生物等效物。本文中所述的术语“生物等效”是指作为药学等效物或药学替代物的抗IL-4R抗体或IL-4R结合蛋白或其片段,当在相似的实验条件下以相同摩尔剂量(单剂或多剂)给药时,其吸收速率和/或程度与dupilumab比较没有显示出显著差异。在本发明的背景下,术语“生物等效”是指与IL-4R结合且在安全性、纯度和/或效力方面与dupilumab没有临床显著差异的抗原结合蛋白。

[0064] 在某些特别的实施方案中,本发明之方法包括使用抗小鼠抗IL-4R抗体或其抗原结合片段,其包含SEQ ID NO:9HCVR序列及SEQ ID NO:10LCVR序列。在一个示范性实施方案中,本发明的方法包括使用抗小鼠抗IL-4R抗体(“抗-mIL-4R $\alpha$ ”)减轻小鼠嗜酸性食管炎模型中嗜酸性粒细胞的食管浸润。

[0065] 其他可在本发明之方法背景下使用的抗IL-4R $\alpha$ 抗体包括,例如在本领域内已知及称为AMG317的抗体(Corren et al., 2010, Am J Respir Crit Care Med., 181(8):788-796)或美国第7,186,809号专利、美国第7,605,237号专利、美国第7,608,693号专利或美国第8,092,804号专利所阐述的任何抗IL-4R $\alpha$ 抗体。

[0066] 在本发明之方法背景下使用的抗IL-4R $\alpha$ 抗体可具有pH依赖性结合特征。例如,与中性pH条件相比,用于本发明之方法的抗IL-4R $\alpha$ 抗体在酸性pH条件下,可显示与IL-4R $\alpha$ 结合减弱。或者说,与中性pH条件相比,本发明之抗IL-4R $\alpha$ 抗体在酸性pH条件下,可显示与其抗原结合增强。“酸性pH”这一表述包括小于约6.2的pH值,例如约6.0、5.95、5.9、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0或更低的pH值。本文所用的表述“中性pH”意为约7.0至约7.4的pH值。“中性pH”这一表述包括约7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35及7.4的pH值。

[0067] 在某些情况下,“与中性pH条件相比,在酸性pH条件下与IL-4R $\alpha$ 结合减弱”是以抗体与IL-4R $\alpha$ 在酸性pH条件下结合的 $K_D$ 值与该抗体与IL-4R $\alpha$ 在中性pH条件下结合的 $K_D$ 值之比表示的(反之亦然)。例如,在本发明中,如果抗体或其抗原结合片段显示出约为3.0或更高的酸性/中性 $K_D$ 比率,则该抗体或其抗原结合片段即可被视为显示出“与中性pH条件相比,在酸性pH条件下与IL-4R $\alpha$ 结合减弱”。在某些示范性实施方案中,本发明之抗体或其抗原片段的酸性/中性 $K_D$ 比率可为约3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5、14.0、14.5、15.0、20.0、25.0、30.0、40.0、50.0、60.0、70.0、100.0或以上。

[0068] 具有pH依赖性结合特征的抗体可通过例如筛选一组与某一特定抗原在酸性pH条件下之结合比中性pH条件下减弱(或增强)的抗体获得。此外,在氨基酸水平上修饰抗原结合域可产生具有pH依赖性特征的抗体。例如,用组氨酸残基替换抗原结合域中(例如CDR中)一个或多个氨基酸,即可获得相对于中性pH条件,在酸性pH条件下与抗原结合减弱的抗体。

本文所用的表述“酸性pH”意为6.0或以下的pH值。

[0069] 药物组合物

[0070] 本发明包括一些方法,其中包括给受试者施用包含于药物组合物中的IL-4R抑制剂。本发明之药物组合物可与适宜的载体、赋形剂及赋予药物各种适宜特性如转移、递送、耐受性等的其他试剂一起配制。在以下这本所有药剂化学师都知道的处方集里可以找到许多适宜的配方:雷明登药学大全(Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA)。这些配方包括,如粉剂、糊剂、油膏、凝胶、蜡剂、油剂、脂类、脂质(阳离子或阴离子)囊泡(如LIPOFECTIN™)、DNA缀合物、无水吸收性糊剂、水包油和油包水乳剂、乳胶状碳蜡(各种分子量的聚乙二醇)、半固态凝胶及含有碳蜡的半固态混合物。还可参阅Powell et al. Compendium of excipients for parenteral formulations, PDA(1998) J Pharm Sci Technol 152:238-311。

[0071] 已知有各种药物递送系统可用于本发明之药物组合物的给药,例如脂质体封装、微颗粒、微胶囊、能表达突变病毒的重组细胞、受体介导的胞吞作用(参阅如Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432)。给药方法包括但不限于皮内、肌内、腹腔内、静脉、皮下、鼻内、硬膜外及经口。组合物可经由任何方便的途径给药,例如,输注或快速注射,经上皮或黏膜(例如口腔黏膜、直肠和肠黏膜等)吸收,并可与其他生物活性剂一起给药。

[0072] 本发明之药物组合物可用标准针头和注射器经皮下或静脉给药。此外,对于皮下给药,笔型给药装置可方便地用于本发明之药物组合物的给药。此类笔型给药装置可以是可重复使用型或一次性使用型。可重复使用的笔型给药装置一般采用可更换的含药物组合物的药筒。一旦药筒内所有药物组合物均已输出,药筒变空,则可方便地丢弃空药筒,并用含有药物组合物的新药筒更换。然后,笔型给药装置即可重复使用。在一次性使用的笔型给药装置中,没有可更换的药筒。而是,一次性使用的笔型给药装置内有一个预填充药物组合物的贮液器。一旦贮液器内药物组合物用完,整个装置则被丢弃。

[0073] 在某些情况下,药物组合物可用控释系统给药。在一个实施方案中,使用一种泵。在另一个实施方案中,可采用聚合材料;参阅Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida。在又一个实施方案中,可将控释系统置于组合物靶标附近,从而只需要使用全身用药剂量的一小部分(参阅例如, Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138)。在Langer, 1990, Science 249:1527-1533的综述中讨论了其他控释系统。

[0074] 注射用制剂可包括静脉注射、皮下、皮内和肌内注射、滴注输液等剂型。这些注射用制剂可以已知的方法制备。例如,可以将上述抗体或其盐溶解、悬浮或乳化在常规用于注射的无菌水性介质或油性介质中,以制备注射用制剂。注射用水性介质有例如生理盐水、含葡萄糖和其他助剂的等渗溶液等,可结合使用适当的增溶剂,如醇(如乙醇)、多元醇(如丙二醇、聚乙二醇)、非离子型表面活性剂[例如聚山梨醇酯80、HCO-50(氢化蓖麻油的聚氧乙烯(50mol)加合物)]等。油性介质可采用例如芝麻油、豆油等,可结合使用增溶剂,如苯甲酸苯甲酯、苯甲醇等。如此制备的注射液最好是装入一种适当的安瓿瓶中。

[0075] 有利的是,上述口服或胃肠外使用的药物组合物是制备成单位剂量的剂型,以容纳一次剂量的有效成分。此类剂型包括例如片剂、丸剂、胶囊、注射液(安瓿)、栓剂等。

[0076] 可用于本发明之背景下的含抗IL-4R抗体的示范性药物组合物已在例如美国第2012/0097565号专利申请公开书中公开。

[0077] 剂量

[0078] 依照本发明之方法施予受试者的IL-4R抑制剂(例如抗IL-4R $\alpha$ 抗体)的量一般都是治疗有效量。本文所用的短语“治疗有效量”是指导致以下一种或多种效应的IL-4R拮抗剂量:(a)嗜酸性食管炎症状的严重程度下降或持续时间缩短;(b)食管内嗜酸性粒细胞数目下降;(c)预防或减轻过敏反应;及(d)减少对常规过敏疗法(例如抗组胺、减充血剂、鼻腔或吸入型类固醇、抗IgE治疗、肾上腺素等)的使用或需求。

[0079] 对于抗IL-4R $\alpha$ 抗体,治疗有效量可以是约0.05mg至约600mg的抗IL-4R抗体,例如约0.05mg、约0.1mg、约1.0mg、约1.5mg、约2.0mg、约10mg、约20mg、约30mg、约40mg、约50mg、约60mg、约70mg、约80mg、约90mg、约100mg、约110mg、约120mg、约130mg、约140mg、约150mg、约160mg、约170mg、约180mg、约190mg、约200mg、约210mg、约220mg、约230mg、约240mg、约250mg、约260mg、约270mg、约280mg、约290mg、约300mg、约310mg、约320mg、约330mg、约340mg、约350mg、约360mg、约370mg、约380mg、约390mg、约400mg、约410mg、约420mg、约430mg、约440mg、约450mg、约460mg、约470mg、约480mg、约490mg、约500mg、约510mg、约520mg、约530mg、约540mg、约550mg、约560mg、约570mg、约580mg、约590mg或约600mg。在某些实施方案中,施用300mg抗IL-4R抗体。

[0080] 单次剂量中所含IL-4R抑制剂的量可表示为毫克抗体/每公斤患者体重(即mg/kg)。例如,以患者体重计,可以约0.0001mg/kg至约100mg/kg的剂量将IL-4R抑制剂施予患者。

## 实施例

[0081] 举出以下实施例是为了向本发明所属领域中普通技术人员就如何利用本发明之方法和组合物提供完整的公开和说明,并非是为了限制本发明人视为其发明的范围。业已作出努力以确保所用数据(例如剂量、温度等)的准确性,但也应考虑到某些实验误差和偏差。除非另有说明,份数是指重量份数,分子量是指平均分子量,温度是指摄氏度,压强是指大气压或接近大气压。

[0082] 实施例1:抗IL-4R抗体减轻IL-25-流体动力DNA传递(HDD)驱动的小鼠模型的嗜酸性食管炎

[0083] 在此实施例中,评估了IL-4R $\alpha$ 阻断作用对I125-流体动力DNA传递(HDD)小鼠模型嗜酸性食管炎的影响。此模型是基于以下观察:诱导IL-25表达导致经由IL-4R $\alpha$ /IL-13R异二聚体受体的IL-13信号传导,从而导致胃肠道嗜酸性粒细胞增多症,包括食管嗜酸性粒细胞浸润和黏液的产生。

[0084] 于第0天,以流体动力DNA传递(HDD)法,以25 $\mu$ g DNA/小鼠的剂量,给Balb/c小鼠注射表达小鼠I125 DNA的质粒(pRG977/mI125, n=17)或空白载体(pRG977, n=4)(参阅例如, Liu et al. 1999, Gene Therapy 6:1258-1266)。质粒在PBS中稀释,以大剂量(体重之10% [mL])并快速注射(每剂注射持续时间为6-8秒)入尾静脉。分别于第1、3、6和9天,皮下(SQ)注射抗小鼠IL-4R抗体(抗-mIL-4R $\alpha$ )或同种型对照抗体或IL-13受体 $\alpha$ 单位与小鼠Fc区的融合蛋白(IL-13Ra2-mFc,作为诱饵受体; Yasunaga et al 2003; Cytokine 24:293-303)治疗

注射了pRG977/mI125 DNA的小鼠。每次剂量均以体重计为50mg/kg。在此实施例中所用的抗mIL-4R $\alpha$ 抗体是包含含有SEQ ID NO:9氨基酸序列的HCVR和含有SEQ ID NO:10氨基酸序列的LCVR的抗体。IL-13Ra2-mFc构建体含有SEQ ID NO:12氨基酸序列。于第12天处死小鼠施以进行食管和血液分析。采集血液,以ELISA法检测总血清IgE水平。

[0085] 将采自每只小鼠的食管固定,以石蜡包埋,并用苏木精/伊红染色。对切片进行病理学评分,对嗜酸性粒细胞浸润水平评分如下:

[0086] 0分:食管壁厚度无变化,无白细胞浸润;

[0087] 1分:在黏膜下层检测到轻度至中度白细胞浸润;

[0088] 2分:在黏膜下层检测到中度至重度白细胞浸润,可检测到食管壁增厚;

[0089] 3分:导致食管壁显著增厚的严重白细胞浸润。

[0090] 对近端、中段和远端食管分别评分,以此三个数值的平均值作为每只动物的最终评分。

[0091] 接受了I125注射及同种型对照抗体或IL-13Ra2-mFc融合蛋白治疗的小鼠显示出血清IgE水平升高。与接受IL-13Ra2-mFc治疗的小鼠相比,接受抗mIL-4R $\alpha$ mAb治疗的小鼠血清IgE水平显著下降(参阅图1)。组织学评分结果显示于图2。抗mIL-4R $\alpha$ mAb和IL-13Ra2-mFc两者均使食管的病理学评分下降约50%(参阅图2)。先进行t检验计算统计学显著性,然后将ANOVA检验(或非参数Kruskall-Wallis检验)用于以后的分析。

[0092] 实施例2:抗IL-4R抗体减轻花生过敏小鼠模型的食管嗜酸性粒细胞浸润

[0093] 在此实施例中,评估了IL-4R $\alpha$ 阻断作用对花生过敏原引起的小鼠嗜酸性食管炎模型的影响。

[0094] 于第0天和第14天,用1mg铝盐(明矾)佐剂中所含的200 $\mu$ g花生过敏原提取物(PAE)敏化Ba1b/c小鼠。三周后,于第21天,用溶于50 $\mu$ L磷酸盐缓冲液(PBS)的100 $\mu$ g PAE经鼻腔刺激小鼠。于第24、27和30天重复上述刺激。从第21天开始,一组被刺激的小鼠不予治疗,给另外两组小鼠注射25mg/kg抗IL-4R抗体(如上所述的“抗mIL-4R mAb”)或同种型对照IgG1抗体。从第21天开始,每周治疗两次。于第31天用PEA进行最后一次刺激后24小时处死小鼠,收集血液样本和食管。

[0095] 将食管固定在福尔马林缓冲液中,石蜡包埋并用H&E给组织切片染色。以设盲方式对白细胞浸润和炎症程度评分,使用以下评分标准:0=食管壁厚度无变化,无白细胞浸润;1=黏膜下层检测到轻度至中度白细胞浸润;2=黏膜下层有中度至重度白细胞浸润,可检测到食管壁增厚;3=导致食管壁显著增厚的严重白细胞浸润。每25%长度的食管各得一个评分(每根食管共4个评分),计算其平均值并以“评分/小鼠”表示。

[0096] 对于细胞分类计数和活性,于37 $^{\circ}$ C用Liberase DL酶消化食管组织30分钟(每组n=5)。Liberase DL酶消化之后,过滤细胞悬液,然后用嗜酸性粒细胞特异性标志物、T细胞特异性标志物、嗜中性粒细胞特异性标志物和巨噬细胞特异性标志物给细胞染色,并以流式细胞仪分析。用抗CD3和抗CD28抗体刺激Liberase DL消化后的食管分离细胞,以激活T细胞,并培养3天。以ELISA法测定组织培养上清液中Th2细胞因子(IL-13、IL-10和IL-4)的水平。

[0097] 未经花生过敏原敏化和刺激的那组小鼠平均评分为0。被敏化和刺激但未经治疗的小鼠评分为 $0.925 \pm 0.497$ (平均值 $\pm$ SD),被敏化和刺激并经同种型对照抗体或抗-mIL-

4R mAb治疗的小鼠评分分别为 $0.975 \pm 0.615$ 和 $0.725 \pm 0.652$ 。单因素ANOVA检验显示,在同种型对照治疗、抗mIL-4R mAb治疗或未经治疗的各组之间无统计学差异(如图3所示)。

[0098] 还在尸体解剖时以心脏穿刺采集血液,以ELISA法分析血清中总IgE水平和花生特异性IgG1 (PAE特异性IgG1) 水平。简言之,对于PAE特异性IgG1检测,PAE涂层培养板与倍增稀释的血清样本一起孵育,然后再与抗小鼠IgG1-HRP缀合抗体一起孵育。相对IgG1血清水平以效价代表(OD450乘以为达到 $OD450 \leq 0.5$ 所需的稀释倍数)。对于总IgE水平检测,将倍增稀释的血清样本与抗IgE捕获抗体在96孔板中一起孵育,并用生物素标记的抗小鼠IgE二抗检测IgE抗体。使用HRP标记的纯化小鼠IgE作为标准。

[0099] 未敏化和未受刺激的小鼠血液中PAE特异性IgG1和总IgE水平分别为 $439 \pm 17.25U$ 和 $644 \pm 337.7ng/ml$ 。在PAE敏化和刺激但未进一步治疗的小鼠中,PAE特异性IgG1和总IgE水平分别上升至 $57822 \pm 8455U$ 和 $2857 \pm 1149ng/ml$ 。用同种型对照抗体治疗的小鼠中,PAE特异性IgG1为 $61304 \pm 17293U$ ,IgE为 $2516 \pm 1613ng/ml$ 。与同种型对照抗体治疗或未治疗的小鼠相比,抗mIL-4R $\alpha$ mAb治疗未显著影响PAE特异性IgG1水平( $48128 \pm 22691U$ ),但显著降低了血清总IgE水平( $300 \pm 187.8ng/ml$ ) (如图4所示)。

[0100] 实施例3:在嗜酸性食管炎(EoE)成年患者中皮下给予dupilumab的临床试验

[0101] 这项为期32周的双盲、随机、安慰剂对照研究观察dupilumab在EoE成人患者中的疗效、安全性、耐受性和免疫原性。Dupilumab是完全人源化抗IL-4R抗体,其包含含有SEQ ID NO:13氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:14氨基酸序列的轻链、含有SEQ ID NOs:1/2氨基酸序列的HCVR/LCVR氨基酸序列对,以及含有SEQ ID NOs:3-8氨基酸序列的重链和轻链CDR序列。

[0102] 给予研究治疗长达12周,安全性随访为16周。提供知情同意后,在第1天基线访视前4周内进行的筛选访视期间评估患者是否有资格参加研究。筛选访视期间以及研究期间每周都收集施特劳曼吞咽困难量表(SDI) (0-9) 症状日记数据(1周回忆期)和EoE活动指数(EoEAI) 症状日记数据(1周回忆期) (Straumann et al 2010, Gastroenterology 139: 1526-1537)。筛选访视和治疗结束访视时收集成人EoE生活质量问卷。符合参加研究标准的患者将进行第1天基线评估。患者以1:1的比例随机分配在为期12周的双盲期每周接受一次皮下注射dupilumab 300mg或安慰剂。

[0103] 符合以下所有标准的患者被纳入研究:18-50岁;由有记录的食管近端和远端组织学活检标本峰值细胞密度均 $\geq 15$ 个嗜酸性粒细胞/高倍视野而确诊EoE的病史;至少2次吞咽困难发作史;有记录的过敏性哮喘、过敏性鼻炎、特应性皮炎或食物过敏史或并发过敏性哮喘、过敏性鼻炎、特应性皮炎或食物过敏;或外周血嗜酸性粒细胞计数升高( $\geq 300$ 个细胞/ $\mu L$ )或血清IgE水平升高( $\geq 150KU/L$ )。

[0104] 研究药物治疗包括第1天给予dupilumab负荷剂量600mg,随后每周给予一次300mg,或第1天给予安慰剂双倍剂量,随后每周给予一次安慰剂。

[0105] 患者在第1天将接受2次注射(包括负荷剂量),随后每周注射一次。在为期12周的双盲治疗期结束后,患者继续随访16周。研究人群按照以前对使用吞服局部皮质类固醇的反应分层。反应不足定义为至少2个月局部治疗后,组织嗜酸性粒细胞水平未恢复正常且症状未消失。在筛选和第12周时进行食管活检。在第12周之前退出研究的患者将在提前退出访视时完成上述程序。程序还包括基于EoE内窥镜参考评级测量炎症和重塑食管特征。

[0106] 所有患者都在继续研究治疗期间根据需要接受合并用药(禁止的药物除外)。必要时会给研究患者提供急救药物(如全身和局部皮质类固醇)或进行紧急食管扩张。接受抢救治疗的患者将停止接受研究治疗。在特定门诊访视时进行安全性、实验室和临床效果测量。在第16、20、24和28周进行治疗后随访。收集参加可选基因组子研究患者的DNA和RNA分析样本。将针对食管活检样本进行RNA转录组测序或微阵列分析。

[0107] 研究的主要目的是与安慰剂比较评估每周重复皮下注射dupilumab(治疗12周)以控制成人患者活动性EoE疾病的潜在疗效。次要目的包括:(a)在有活动性EoE的成人患者中评估重复皮下注射dupilumab的安全性、耐受性和免疫原性;(b)评估dupilumab对食管活检样本峰值嗜酸性粒细胞计数(嗜酸性粒细胞数目/高倍视野)的影响;(c)在EoE成人患者中评估dupilumab的药代动力学特性;(d)评估并优化正在开发的临床终点注册终点方案;及(e)使用组织学和循环标志物(TARC和嗜酸性粒细胞趋化因子-3)等生物标记物评估dupilumab的药效学效应。

[0108] 监测患者以下指标:(a)嗜酸性食管炎活动指数(EoEAI)患者报告的结果从基线到第12周的百分比变化;(b)SDI评分从基线到第12周的变化,及(c)血清TARC和血浆嗜酸性粒细胞趋化因子-3水平从基线到第12周的下降。监测的其他终点包括减轻食管增生、炎症、炎症基因变化和重塑(组织学)及每个高倍视野(400X)食管黏膜嗜酸性粒细胞计数的下降情况。

[0109] 本发明之范围将不受本文所述特定实施方案的限制。的确,除了本文所述之实施方案以外,对于本领域普通技术人员而言,基于上述说明和附图,本发明之各种修改形式也将变得很明显。这些修改形式也属于所附权利要求书的范围。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 瑞泽恩制药公司
- [0003] <120> 以IL-4R抑制剂治疗嗜酸性食管炎的方法
- [0004] <130> 9110-WO
- [0005] <150> 61/844978
- [0006] <151> 2013年7月11日
- [0007] <160> 14
- [0008] <170> 用于Windows 4.0版的FastSEQ软件
- [0009] <210> 1
- [0010] <211> 124
- [0011] <212> PRT
- [0012] <213> 人工序列
- [0013] <220>
- [0014] <223> HCVR
- [0015] <400> 1
- [0016] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
- [0017] 1 5 10 15
- [0018] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
- [0019] 20 25 30
- [0020] Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
- [0021] 35 40 45
- [0022] Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
- [0023] 50 55 60
- [0024] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
- [0025] 65 70 75 80
- [0026] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
- [0027] 85 90 95
- [0028] Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu
- [0029] 100 105 110
- [0030] Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
- [0031] 115 120
- [0032] <210> 2
- [0033] <211> 112
- [0034] <212> PRT
- [0035] <213> 人工序列
- [0036] <220>
- [0037] <223> LCVR
- [0038] <400> 2

[0039] Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 [0040] 1 5 10 15  
 [0041] Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 [0042] 20 25 30  
 [0043] Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser  
 [0044] 35 40 45  
 [0045] Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 [0046] 50 55 60  
 [0047] Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 [0048] 65 70 75 80  
 [0049] Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 [0050] 85 90 95  
 [0051] Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 [0052] 100 105 110  
 [0053] <210> 3  
 [0054] <211> 8  
 [0055] <212> PRT  
 [0056] <213> 人工序列  
 [0057] <220>  
 [0058] <223> HCDR1  
 [0059] <400> 3  
 [0060] Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala  
 [0061] 1 5  
 [0062] <210> 4  
 [0063] <211> 8  
 [0064] <212> PRT  
 [0065] <213> 人工序列  
 [0066] <220>  
 [0067] <223> HCDR2  
 [0068] <400> 4  
 [0069] Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr  
 [0070] 1 5  
 [0071] <210> 5  
 [0072] <211> 18  
 [0073] <212> PRT  
 [0074] <213> 人工序列  
 [0075] <220>  
 [0076] <223> HCDR3  
 [0077] <400> 5



[0117]	Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
[0118]	20 25 30
[0119]	Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
[0120]	35 40 45
[0121]	Gly Tyr Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Asp Asn Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
[0122]	50 55 60
[0123]	Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
[0124]	65 70 75 80
[0125]	Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
[0126]	85 90 95
[0127]	Ala Arg Gly Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr
[0128]	100 105 110
[0129]	Val Thr Val Ser Ser
[0130]	115
[0131]	<210> 10
[0132]	<211> 111
[0133]	<212> PRT
[0134]	<213> 人工序列
[0135]	<220>
[0136]	<223> LCVR小鼠代用抗体
[0137]	<400> 10
[0138]	Asn Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
[0139]	1 5 10 15
[0140]	Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
[0141]	20 25 30
[0142]	Gly His Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
[0143]	35 40 45
[0144]	Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
[0145]	50 55 60
[0146]	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Leu Asp
[0147]	65 70 75 80
[0148]	Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn
[0149]	85 90 95
[0150]	Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0151]	100 105 110
[0152]	<210> 11
[0153]	<211> 207
[0154]	<212> PRT
[0155]	<213> 人





[0234]	305	310	315	320
[0235]	Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly			
[0236]		325	330	335
[0237]	Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met			
[0238]		340	345	350
[0239]	Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu			
[0240]		355	360	365
[0241]	Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val			
[0242]		370	375	380
[0243]	His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu			
[0244]		385	390	400
[0245]	Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly			
[0246]		405	410	415
[0247]	Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile			
[0248]		420	425	430
[0249]	Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val			
[0250]		435	440	445
[0251]	Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr			
[0252]		450	455	460
[0253]	Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu			
[0254]		465	470	475
[0255]	Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro			
[0256]		485	490	495
[0257]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val			
[0258]		500	505	510
[0259]	Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val			
[0260]		515	520	525
[0261]	His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr			
[0262]		530	535	540
[0263]	Pro Gly Lys			
[0264]	545			
[0265]	<210> 13			
[0266]	<211> 451			
[0267]	<212> PRT			
[0268]	<213> 人工序列			
[0269]	<220>			
[0270]	<223> HC			
[0271]	氨基酸 1-124: HCVR			
[0272]	氨基酸125-451: HC恒定区			





[0351]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
[0352]	85 90 95
[0353]	Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
[0354]	100 105 110
[0355]	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
[0356]	115 120 125
[0357]	Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
[0358]	130 135 140
[0359]	Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
[0360]	145 150 155 160
[0361]	Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
[0362]	165 170 175
[0363]	Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
[0364]	180 185 190
[0365]	Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
[0366]	195 200 205
[0367]	Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0368]	210 215

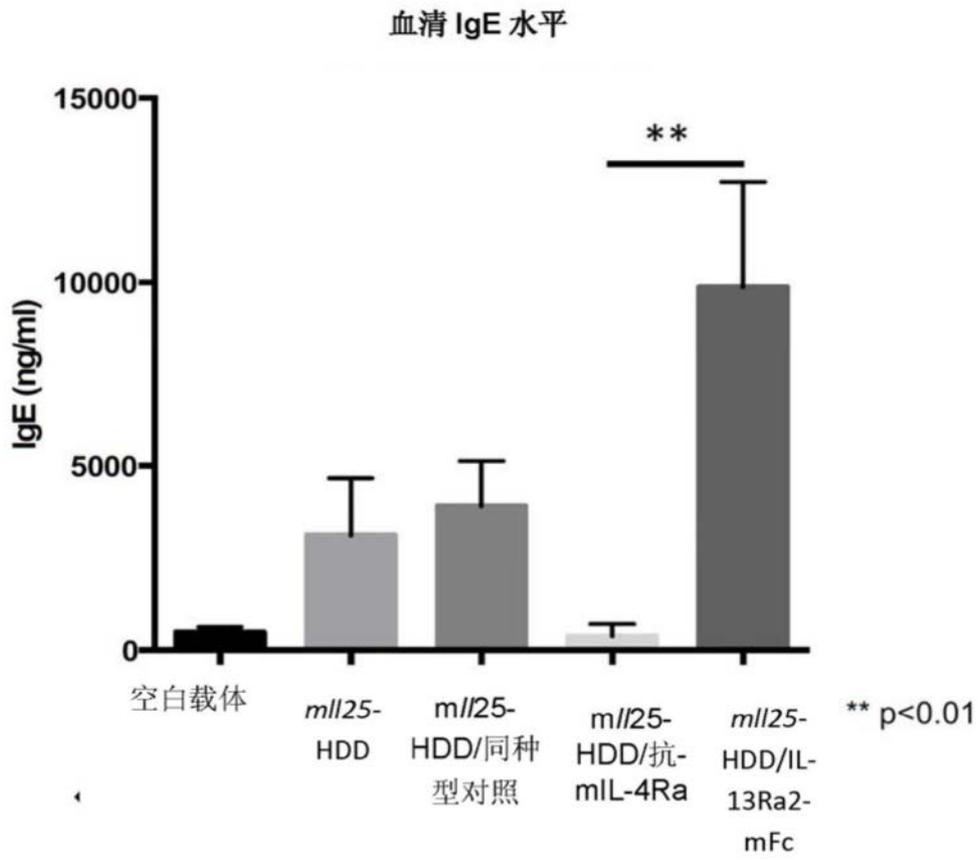


图1

食管病理学评分

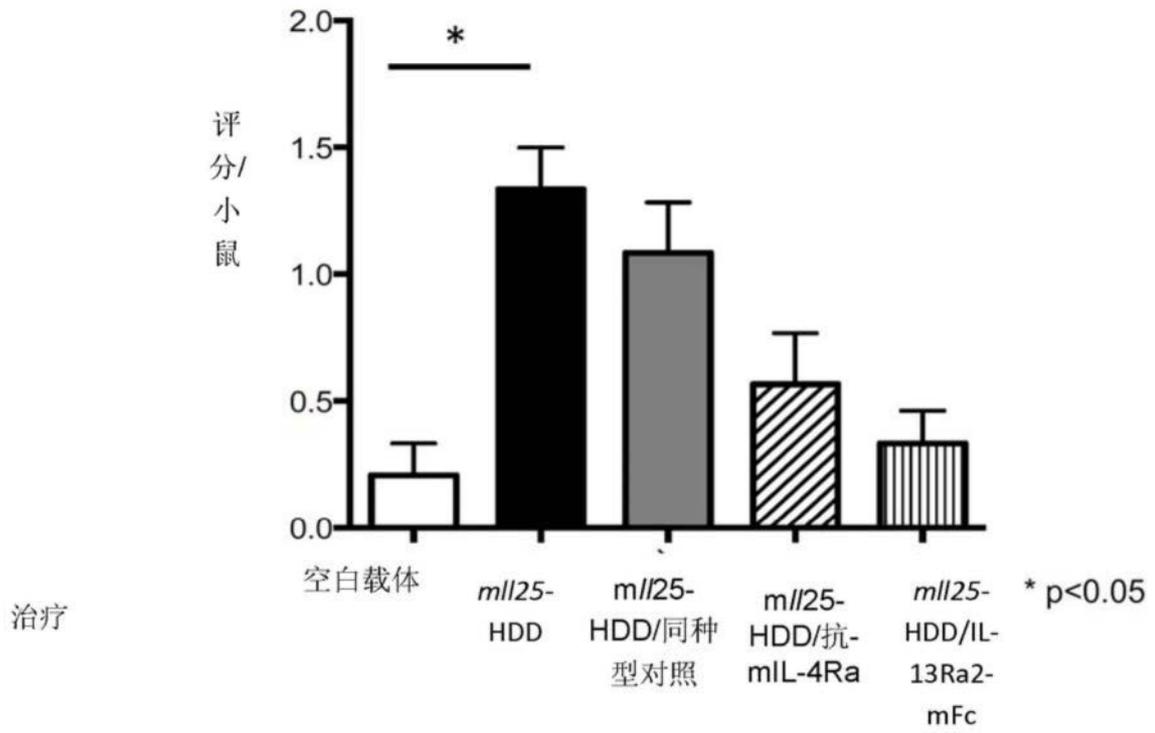


图2

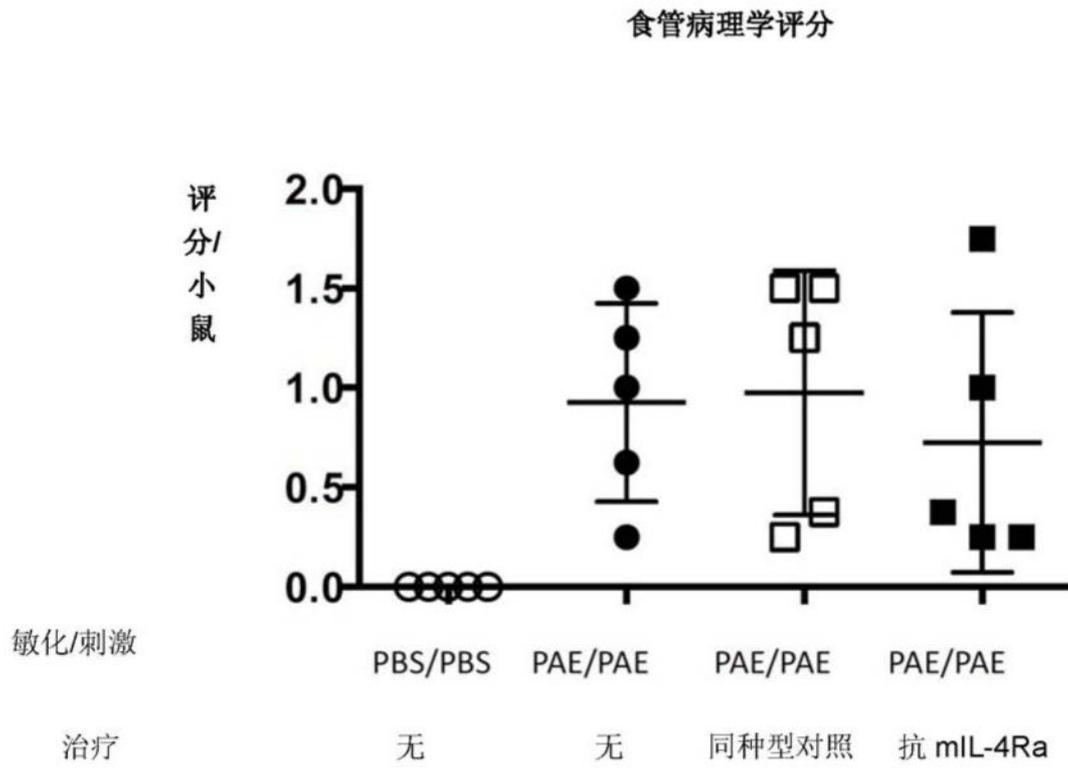


图3

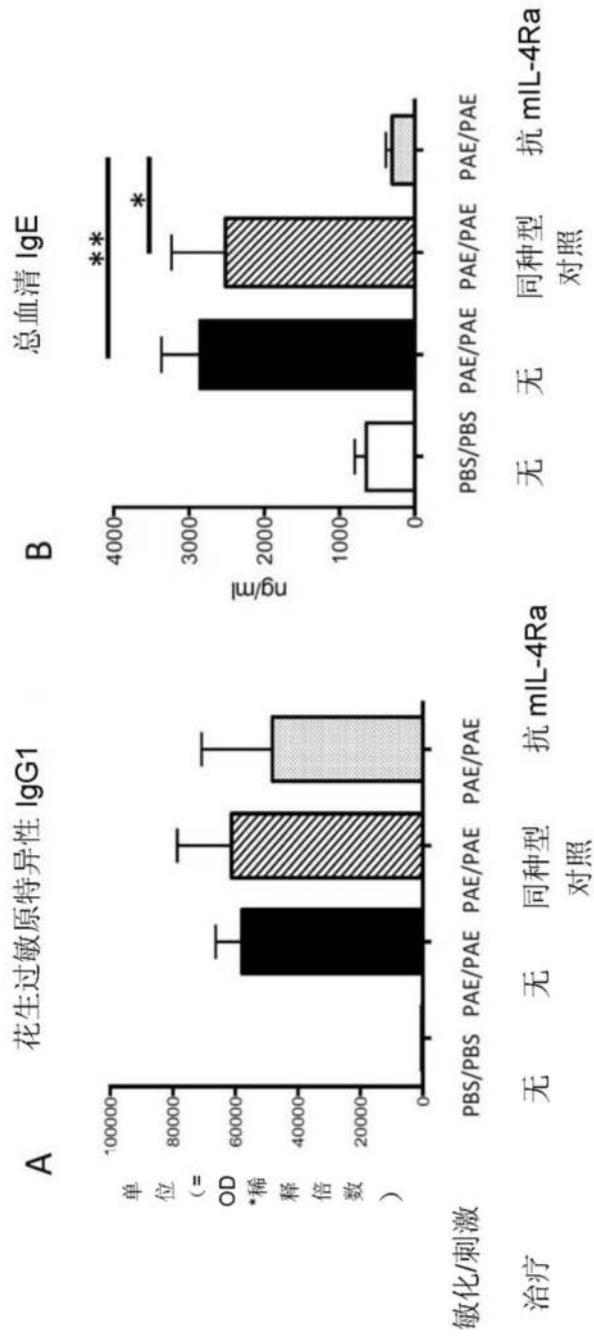


图4