



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113194996 B

(45) 授权公告日 2024.06.28

(21) 申请号 201980084166.7

(22) 申请日 2019.12.20

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113194996 A

(43) 申请公布日 2021.07.30

(30) 优先权数据
62/783,136 2018.12.20 US
62/855,993 2019.06.01 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2021.06.18

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/068103 2019.12.20

(87) PCT国际申请的公布数据
W02020/132600 EN 2020.06.25

(73) 专利权人 西达赛奈医疗中心
地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 S·C·乔丹 A·A·沃
N·阿默曼

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038
专利代理师 李程达

(51) Int.Cl.
A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)

(56) 对比文件
US 2017022280 A1, 2017.01.26
WO 2008144763 A2, 2008.11.27

审查员 刘帅

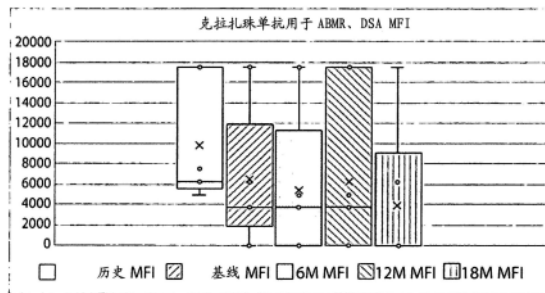
权利要求书2页 说明书34页
序列表6页 附图14页

(54) 发明名称

克拉扎珠单抗用于治疗慢性抗体介导的器官移植排斥反应

(57) 摘要

本文描述了使用克拉扎珠单抗治疗移植器官的抗体介导的排斥反应 (ABMR), 尤其是慢性活动性 ABMR (cABMR) 的方法。患有活检证实的 cABMR、移植肾小球病并且是供体特异性抗体阳性的人肾移植接受者在克拉扎珠单抗治疗后表现出肾功能的稳定和降低的 DSA 水平。由于克拉扎珠单抗治疗, 患者在 6、12 或甚至 18 个月时的估计的肾小球滤过率是稳定的, cABMR 的炎症标志物是降低或稳定的, 并且炎症血液标志物是降低的。



1. 克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段在制备用于治疗受试者的器官移植的抗体介导的排斥反应或降低其严重程度药物中的用途,

其中所述克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段包含重链VH多肽和轻链VL多肽,

所述重链VH多肽包含SEQ ID NO:1的CDR1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的CDR2和SEQ ID NO:4的CDR3,

所述轻链VL多肽包含SEQ ID NO:5的CDR1、SEQ ID NO:6的CDR2和SEQ ID NO:7的CDR3,

其中所述克拉扎珠单抗的IL-6结合片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、单链抗体、嵌合抗体或双抗体。

2. 权利要求1所述的用途,其中所述受试者是在施用前经人白细胞抗原致敏的。

3. 权利要求1所述的用途,其中所述受试者被诊断患有抗体介导的排斥反应或表现出抗体介导的排斥反应的症状。

4. 权利要求1所述的用途,其中所述受试者被诊断患有慢性活动性抗体介导的排斥反应、移植肾小球病或表现出慢性活动性抗体介导的排斥反应、移植肾小球病的症状,并且是供体特异性抗体阳性的。

5. 权利要求1所述的用途,其中与施用前相比,在施用后所述受试者具有降低的C-反应蛋白水平、降低的供体特异性抗体水平、在肾小球炎+管周毛细血管炎、肾小球双轮廓和补体-4d蛋白中的一种或多种中降低的Banff评分或其组合。

6. 权利要求1所述的用途,其中在克拉扎珠单抗施用之前,所述受试者已接受标准护理治疗,或已接受免疫抑制剂。

7. 权利要求6所述的用途,其中所述标准护理治疗包括静脉内免疫球蛋白施用、利妥昔单抗施用、血浆去除术、甲基强的松龙施用或其组合。

8. 权利要求6所述的用途,其中所述免疫抑制剂包括依库珠单抗。

9. 权利要求6-8中任一项所述的用途,其中所述受试者对标准护理治疗或免疫抑制剂的反应是无效的。

10. 权利要求1所述的用途,其中所述器官是肾脏。

11. 权利要求1所述的用途,其中所述器官是心脏、肝脏、肺、胰腺和肠中的一种或多种。

12. 权利要求1所述的用途,其中皮下或静脉内施用克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段。

13. 权利要求1所述的用途,其中以0.1-1mg/月、1-5mg/月、5-10mg/月、10-20mg/月、20-30mg/月或30-40mg/月的平均剂量皮下施用克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段至少6个月。

14. 权利要求1所述的用途,其中克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段以每月间隔施用1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月或更久。

15. 权利要求1所述的用途,其还包括向所述受试者施用一种或多种抗感染剂。

16. 权利要求15所述的用途,其中所述抗感染剂包括更昔洛韦、缙更昔洛韦、氟康唑、甲氧苄啶、磺胺甲噁唑或其组合。

17. 药物组合物在制备用于减少具有抗体介导的同种异体移植物排斥反应的人类受试

者中的C反应蛋白和/或供体特异性抗体的药物中的用途,

其中所述药物组合物包含克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;和一种或多种药学上可接受的赋形剂,

其中所述克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的IL-6结合片段包含重链VH多肽和轻链VL多肽,

所述重链VH多肽包含SEQ ID NO:1的CDR1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的CDR2和SEQ ID NO:4的CDR3,

所述轻链VL多肽包含SEQ ID NO:5的CDR1、SEQ ID NO:6的CDR2和SEQ ID NO:7的CDR3,

其中所述克拉扎珠单抗的IL-6结合片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、单链抗体、嵌合抗体或双抗体。

18. 权利要求17所述的用途,其还包括施用标准护理治疗。

19. 权利要求18所述的用途,其中所述标准护理治疗包括静脉内免疫球蛋白施用、利妥昔单抗施用、血浆去除术或其组合。

20. 权利要求17所述的用途,其还包括施用抗感染剂。

21. 权利要求1所述的用途,其还包括在施用前选择被诊断患有慢性活动性抗体介导的排斥反应、移植肾小球病并且是供体特异性抗体阳性的受试者。

22. 权利要求1所述的用途,其还包括对所述受试者进行一次或多次免疫监测。

23. 权利要求22所述的用途,其中所述免疫监测包括测定所述受试者的血液样品以量化C反应蛋白、调节性T细胞、Tfh、Th17、B细胞、IL-6、浆细胞、浆母细胞IgG或其组合的水平。

24. 权利要求1所述的用途,其还包括在施用后测量肾小球滤过率、供体特异性抗体或两者的量。

克拉扎珠单抗用于治疗慢性抗体介导的器官移植物排斥反应

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35 U.S.C. §119(e) 要求于2018年12月20日提交的美国临时专利申请号62/783,136和于2019年6月1日提交的美国临时专利申请号62/855,993的优先权,其全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本发明涉及克拉扎珠单抗(cclazakizumab) (一种抗白介素6的抗体)及其在治疗抗体介导的器官移植物排斥反应中的用途。

背景技术

[0004] 本文的所有出版物都以相同的程度通过引用并入,就好像每个单独的出版物或专利申请被具体地和单独地指示通过引用并入一样。以下描述包括在理解本发明中可能有用的信息。不承认本文提供的任何信息是现有技术或与当前要求保护的发明有关,或不承认明确或隐含引用的任何出版物是现有技术。

[0005] 扩展肾同种异体移植物的功能完整性是移植医学的主要目标。抗体介导的排斥反应(ABMR)是同种异体移植物排斥反应的一种独特、重要且通常很严重的形式。移植后供体特异性抗体(DSA)的发展导致慢性活动性抗体介导的排斥反应(cABMR)和移植肾小球病(TG),导致发生在美国的大部分移植物丢失。这降低了患者的生活质量和寿命,并增加了成本。

[0006] ABMR的病理生理学表明抗体、B细胞和浆细胞的主要作用。因此,静脉内免疫球蛋白治疗(IVIg)、利妥昔单抗和/或血浆去除术(血浆去除术[PLEX])已被用于治疗急性ABMR。尽管这些疗法取得了一些成功,但移植后ABMR、慢性活动性ABMR(cABMR)和移植肾小球病(TG)仍然是通常对当前疗法无反应的重大问题。来自同种异体肾功能恶化研究的数据表明,当前免疫抑制领域的大多数移植物丢失都有具有阳性补体-4d蛋白(C4d)染色的cABMR的证据。C4d是与内皮共价结合的补体途径的降解产物,其被鉴定为内皮损伤的标志物,因此也是抗体活性的标志物。据估计,美国每年有5000个同种异体移植物丢失,主要来自cABMR和TG。没有批准的用于cABMR的治疗。

[0007] ABMR常见于接受不充分免疫抑制的患者或不依从抗排斥反应药物的患者以及接受人类白细胞抗原(HLA)不相容移植物的患者。此外,TG是持续DSA阳性的已知结果,它会迅速消散同种异体移植物的功能,导致移植失败并返回至透析,伴随着患者的情绪后果和医疗保健系统的经济后果。目前没有FDA批准的疗法,并且患者经常接受联合疗法治疗,这使得疗效分析变得困难。

[0008] 对预防和治疗cABMR和TG的新疗法存在大量未满足的临床需求,因为它们现在是导致慢性同种异体移植失败的主要原因。尽管目前尽了最大努力,但仍预计即使是脱敏患者中的约25-40%的ABMR百分比。根据经验,这些发作中有80%发生在移植后的前1-3个月,并且可显著影响患者和移植物的长期存活率。目前对从头产生的DSA(dnDSA)诱导的ABMR的

估计表明,大约30%的肾移植患者处于发生ABMR、cABMR和TG的风险。移植群体中抗体引起的损伤的范围很广,而且还在不断扩大。最近的数据表明,cABMR和TG患者的长期预后非常差。Redfield等人评估了123名cABMR患者的移植物存活。诊断cABMR后,76名患者失去了其同种异体移植物,中位移植物生存期为1.9年。此外,未经治疗的cABMR患者的2年移植物存活率为约20%。

[0009] 因此,本发明的一个目的是提供一种治疗、减轻或降低已经接受移植并患有移植物的ABMR的患者的ABMR和/或cABMR的严重程度的方法,其中所述患者可以是移植后经高度致敏的。

[0010] 本发明的另一个目的是提供一种方法,其用于在需要或已经接受器官移植的患者中预防或降低发生ABMR的可能性,或在有需要器官移植或已经接受器官移植和任选地表现出对器官移植的急性抗体介导的排斥反应的的症状或体征的患者中预防或降低发生慢性ABMR的可能性。

[0011] 本发明的另一个目的是提供一种减少器官移植后cABMR患者中的供体特异性HLA抗体和/或抗体产生细胞,和/或预防对微循环的免疫损伤的方法。

发明内容

[0012] 以下实施方案及其方面是结合组合物和方法来描述和举例说明的,这些组合物和方法意在是示例性和举例说明性的,而不是限制范围。

[0013] 提供了用于在有此需要的受试者中治疗、抑制和/或降低器官移植的抗体介导的排斥反应(ABMR)的严重程度的方法。所述方法包括在受试者中施用有效量的克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在针对 V_H 的CDR1的SEQ ID NO:1、针对 V_H 的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对 V_H 的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的 V_H 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 V_L 多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体。在一个实施方案中,受试者已经经历了ABMR的标准护理治疗。在另一个实施方案中,受试者对标准护理治疗的反应是无效的。

[0014] 本文还提供了用于治疗、抑制和/或降低肾移植接受者中的慢性ABMR的严重程度的方法。所述方法包括在受试者中施用有效量的克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在针对 V_H 的CDR1的SEQ ID NO:1、针对 V_H 的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对 V_H 的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的 V_H 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 V_L 多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体。

[0015] 本文进一步提供了用于减少和/或消除已经经历器官移植并且被诊断患有慢性ABMR和移植肾小球病(TG)或表现出慢性ABMR和移植肾小球病(TG)的症状的受试者中的供体特异性HLA抗体的方法。所述方法包括在受试者中施用有效量的克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在针对 V_H 的CDR1的SEQ ID NO:1、针对 V_H 的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对 V_H 的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的 V_H 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 V_L 多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体。

[0016] 本文还提供了用于在高度HLA致敏的患者中治疗、抑制和/或降低器官移植后ABMR的严重程度的方法。所述方法包括在受试者中施用有效量的克拉扎珠单抗；克拉扎珠单抗的IL-6结合片段；或具有包含分别包含在针对V_H的CDR1的SEQ ID NO:1、针对V_H的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对V_H的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽；或其保守置换、添加或缺失的变体，以治疗、抑制和/或降低高度HLA致敏的患者中的器官移植后ABMR的严重程度。

[0017] 进一步的实施方案提供了与标准护理治疗顺序或同时施用克拉扎珠单抗治疗。示例性标准护理治疗包括静脉内免疫球蛋白、血浆去除术和/或利妥昔单抗。

[0018] 在示例性实施方案中，器官是心脏、肝脏、肺、胰腺、肠或肾脏中的一种或多种。在一个实施方案中，器官是肾脏。

[0019] 在示例性实施方案中，Banff分类提供了用于选择、诊断和/或识别用于所公开的治疗方法的受试者的标准。诊断ABMR（包括急性ABMR和慢性活动性ABMR）的Banff标准在下文详述。在一个实施方案中，受试者具有在任何公开的方法中由Banff 2015标准定义的ABMR或cABMR。肾同种异体移植物的ABMR的示例性症状是以下任何一种或多种：(i) 通过血清肌酐和估计的肾小球滤过率（eGFR）测量的同种异体移植物功能的恶化；(ii) 供体特异性抗体的存在；(iii) 毛细血管炎、炎症和补体（C4d）沉积的活检证据，或(iv) 它们的组合。

[0020] 在一些实施方案中，克拉扎珠单抗治疗是静脉内或皮下施用的。在示例性实施方案中，如果以约20-25mg的剂量皮下施用克拉扎珠单抗治疗并且每4周或每月重复至少3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月。一个实施方案提供了所公开的方法，其包括以每月间隔施用六个剂量的各15-30mg（或约25mg）的克拉扎珠单抗，随后如果估计的肾小球滤过率（eGFR）和血清肌酐（SCr）与来自没有ABMR症状的健康受试者或移植接受者的索引活检相比有所改善，则以每月间隔施用另外六个剂量的各15-30mg（或约25mg）的克拉扎珠单抗。

[0021] 从以下结合附图的详细描述中，本发明的其他特征和优点将变得明显，附图通过示例举例说明了本发明的实施方案的各种特征。

[0022] 附图简述

[0023] 示例性实施方案在参考附图中示出。本文公开的实施方案和附图旨在被认为是举例说明性的而不是限制性的。

[0024] 图1是显示实例1的治疗方案的示意图，以研究克拉扎珠单抗在治疗患有活检证实的cABMR、移植肾小球病（TG）和DSA+（致敏）的患者中的安全性和有效性。该研究是开放标签、单中心单臂研究，其纳入通过肾活检诊断为cABMR+TG且在诊断时eGFR>30cc/min的患者。入组患者每4周（30天）接受皮下注射25mg克拉扎珠单抗，共6个剂量；随后在6个月的时间点进行活检；并继续每月接受克拉扎珠单抗持续额外6个月。经过12个月的治疗，患者能够进入长期延长期（LTE）以每隔一个月接受皮下注射25mg克拉扎珠单抗。监测患者的DSA相对强度评分（RIS）（当没有DSA时，RIS=0；当DSA水平较弱时，即≤5000MFI时，RIS=2；当存在中等DSA水平时，RIS=5，即5000-10⁴MFI；当存在强DSA水平时，RIS=10，即>10⁴MFI）、肾功能、CRP水平和T调节（Treg）细胞反应。在图1中，*表示cABMR患者在进入研究之前可能已经接受过其他疗法（例如脉冲类固醇、PLEX和抗CD20（例如利妥昔单抗））。所有接受过先前治疗的患者对这些疗法的反应不足，因此将被提供参加这项研究。参加研究的患者必须在

同意克拉扎珠单抗之前至少一个月完成初始标准护理治疗。接受IVIG的患者允许在从最后一次剂量后至少三天内进入研究；¹仅在接受第二轮给药的患者中在第365天进行方案活检；¹如果患者接受第二轮给药,则在第365天收集；²如果患者接受第二轮给药,则在第0、270、330和365天收集。基线被视为第-15天。

[0025] 图2是柱状图,显示了在克拉扎珠单抗给药六个月之前和之后研究中八名患者的计算的Banff得分。

[0026] 图3A是显示研究中所有8名患者在不同时间点(历史基线水平,研究前即刻的基线水平,克拉扎珠单抗给药的三个月,以及克拉扎珠单抗给药的六个月)的DSA水平的相对强度得分的总和和平均的量化的图。图3B是显示在不同时间点(历史基线水平,研究前即刻的基线水平,克拉扎珠单抗给药的三个月,以及克拉扎珠单抗给药的六个月)具有强、中、弱或无DSA的患者数量的图。

[0027] 图4A-4O显示了在移植后不同时间测量的血清细胞因子的关系。图4A-4E显示了因病因活检显示急性排斥反应(AR)的患者(空心圆圈)相对没有急性排斥反应的活检(无AR)的那些患者(实心圆点)的血清细胞因子(分别为sCr、IL-6、IL-10、IL-17A和IFN- γ)。如图所示,具有静止同种异体移植物的患者的IL-6水平非常低。图4F-4J显示了具有抗体介导的排斥反应(“AMR”,实心圆点)相对具有细胞介导的排斥反应(“CMR”,空心圆圈)的患者的血清细胞因子(分别为sCr、IL-6、IL-10、IL-17A和IFN- γ)。X轴显示活检前、活检时、活检后的时间。IL-6水平似乎随着ABMR的治疗而降低。图4K-4O显示了活检未显示同种异体移植排斥反应(“CNI”表示钙调磷酸酶抑制剂)的患者的细胞因子水平(分别为sCr、IL-6、IL-10、IL-17A和IFN- γ)。数据表明血清IL-6水平的升高可用作抗体损伤介导的同种异体移植功能障碍的早期标志物。

[0028] 图5A显示了正常肾组织(天然, n=6)、无排斥反应的移植体(tx, n=9)、来自具有细胞排斥反应的患者的组织(CMR, n=12)以及来自具有抗体介导的排斥反应的患者的活检(ABMR, n=11)的染色的代表性显微图像。与细胞介导的排斥反应和正常组织相比, ABMR的活检中有大量IL-6+细胞。图5B显示了与其他诊断相比,来自ABMR活检的更大分析的数据。形态学扫描分析显示具有ABMR的活检中IL-6表达的显著增加。

[0029] 图6A和6B描绘了在患有活动性/慢性ABMR的患者中在克拉扎珠单抗(CLZ)之前和之后获得的血清中的炎性细胞因子和受体水平。图6A描绘了IL-6、IL-10、干扰素 γ (IFN γ)和IL-17A的水平,以及图6B描绘了可溶性白介素-6受体(sIL-6R)和可溶性gp130(sgp130)的水平。

[0030] 图7描绘了克拉扎珠单抗之前和之后的C反应蛋白。

[0031] 图8描绘了在患有活动性/慢性ABMR的患者中在克拉扎珠单抗(claza)之前和之后获得的血浆中的IgG亚类的水平。通过ELISA测量在克拉扎珠单抗之前患有ABMR的8名患者中在克拉扎珠单抗之前和克拉扎珠单抗之后(克拉扎珠单抗之后0、3和6M)获得的血浆中IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的水平。在8名患者中,一名患者(ShikhaleevD)在第一剂量的克拉扎珠单抗之前接受了IVIG输注,来自该患者的结果被排除在Ig水平分析之外。IgG1和IgG2水平在克拉扎珠单抗之后6个月显著降低,而IgG3和IgG4水平没有显著变化。在克拉扎珠单抗治疗的患者中未观察到IgG3减少。与克拉扎珠单抗后降低的总IgG水平一起,克拉扎珠单抗可能通过阻断IL-6、B细胞生长因子来减少IgG的产生。

[0032] 图9描绘了克拉扎珠单抗之前和之后活检SH2D1B+CCL3+KLRF1的ABMR活检基因评分。

[0033] 图10描绘了cABMR患者中的eGFR克拉扎珠单抗之前和之后治疗。

[0034] 图11描绘了在克拉扎珠单抗(抗IL-6)之前的eGFR和之后12M的eGFR。

[0035] 图12显示了IL-6驱动B细胞活化和分化为产生抗体的浆细胞。

[0036] 图13描绘了患者在不同时间点的DSA的平均荧光密度的水平(历史值,恰好在克拉扎珠单抗研究前的基线值,研究开始6个月、研究开始12个月和研究开始18个月)。

[0037] 图14描绘了患者在不同时间点(在研究的0个月、6个月、12个月和18个月)的eGFR水平。

[0038] 发明详述

[0039] 本文中引用的所有参考文献均如同完全示出通过引用整体并入本文。除非另有定义,否则本文所使用的技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。Singleton等人,Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3rd ed.,Revised,J.Wiley&Sons(New York,NY 2006);March,Advanced Organic Chemistry Reactions,Mechanisms and Structure 7th ed.,J.Wiley&Sons(New York,NY 2013);和Sambrook和Russel,Molecular Cloning:A Laboratory Manual 4th ed.,Cold Spring Harbor Laboratory Press(Cold Spring Harbor,NY 2012)向本领域技术人员提供了本申请中使用的许多术语的一般指南。有关如何制备抗体的参考,参见D.Lane,Antibodies:A Laboratory Manual 2nd ed.(Cold Spring Harbor Press,Cold Spring Harbor NY,2013);Kohler和Milstein,(1976)Eur.J.Immunol.6:511;Queen等人,美国专利号5,585,089;和Riechmann等人,Nature 332:323(1988);美国专利号4,946,778;Bird,Science242:423-42(1988);Huston等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883(1988);Ward等人,Nature 334:544-54(1989);Tomlinson I.和Holliger P.(2000)Methods Enzymol,326,461-479;Holliger P.(2005)Nat.Biotechnol.Sep;23(9):1126-36)。

[0040] 本领域的技术人员将认识到可以与本发明中描述的方法和材料相似或等同的许多方法和材料,其可以用于本发明的实践中。实际上,本发明决不限于所描述的方法和材料。为了本发明的目的,以下术语定义如下。

[0041] “受试者”或在各种实施方案中的“移植接受者”是指人或动物。通常,动物是脊椎动物,例如灵长类动物,啮齿动物,家畜或狩猎动物。灵长类动物包括黑猩猩,食蟹猴,蜘蛛猴和猕猴,例如恒河猴。啮齿动物包括小鼠,大鼠,土拨鼠,雪貂,兔子和仓鼠。家畜和狩猎动物包括牛,马,猪,鹿,野牛,水牛,猫科动物(例如家猫)和犬科物种(例如狗,狐狸,狼)。术语“患者”、“个体”和“受试者”在本文可互换使用。在一个实施方案中,受试者是哺乳动物。哺乳动物可以是人,非人的灵长类动物,小鼠,大鼠,狗,猫,马或牛,但不限于这些示例。在另一个实施方案中,受试者是人。另外,本文描述的方法可以用于治疗家养的动物和/或宠物。

[0042] “HLA致敏(HS)的患者”一般是指其计算的群体反应性抗体(cPRA)或可能交叉匹配不相容供体的百分比 $\geq 50\%$ 的患者,其在各种实施方案中还具有使用LUMINEX珠技术可证实的DSA和致敏事件(先前的移植、输血和/或怀孕)的历史。HLA特异性抗体的存在可以通过测试患者血清中来自一组HLA型供体的细胞或附着在固相支持物上的可溶性HLA抗原来确定。通常,HLA致敏的患者是指cPRA不小于10%、20%、30%、40%或50%的患者。在各个方

面,HLA致敏的患者是指cPRA不低于50%的患者。阳性交叉匹配(+CMX)表明潜在接受者的血清中存在供体特异性同种抗体(DSA)。

[0043] Banff分类系统可用于移植物诊断。移植物可以是肾脏、胰腺、肝脏、心脏、肺或血管化复合同种异体移植物等。例如,对于肾同种异体移植物,关于抗体介导的排斥反应(ABMR)、T细胞介导的排斥反应(TCMR)和混合排斥反应的诊断可能具有不同的方面或特征。在一些方面,具有移植物的ABMR的受试者用从头合成的DSA非高度致敏。在其他方面,具有移植物的ABMR的受试者被高度致敏。在各种实施方案中,非抗HLA DSA可单独地或与抗HLA DSA一起产生同种异体移植物损伤。因此,在某些方面,ABMR是基于ABMR相关病理学(即微循环炎症、C4d沉积和血管炎,伴有或不伴有DSA相关基因集的表达增加)诊断的;在其他方面,基于ABMR相关病理学的ABMR诊断伴随着DSA的记录/证据。

[0044] Banff 2015分类分为六类,其中第1类是正常活检或非特异性变化,第2类是抗体介导的变化-包括急性/活动性ABMR、慢性活动性ABMR和C4d染色,无排斥反应证据,第3类是临界变化,包括疑似的急性TCMR,第4类是TCMR,包括急性TCMR和慢性活动性TCMR,第5类是间质纤维化和肾小管萎缩,和第6类包括其他不被认为是由急性或慢性排斥反应引起的变化。根据更新的Banff 2015分类,慢性活动性ABMR(cABMR)包括所有三个特征(A、B和C):A)慢性组织损伤的组织学证据,包括以下的一项或多项:(a1)TG($cg > 0$),如果没有慢性血栓性微血管病的证据;包括仅通过EM明显的变化($cg1a$);(a2)严重的管周毛细血管基底膜多层化;(a3)新发作的动脉内膜纤维化,不包括其他原因;如果没有具有动脉牵涉(但不是必需的)的活检证实的TCMR的既往史,则硬化内膜内的白细胞有利于慢性ABMR;B)当前/最近的抗体与血管内皮相互作用的证据,包括以下至少一项:(b1)管周毛细血管中的线性C4d染色;(b2)至少中度微血管炎症($[g+ptc] \geq 2$),尽管存在急性TCMR、临界浸润或感染,单独 $ptc \geq 2$ 是不够的,并且 g 必须 ≥ 1 ;(b3)活检组织中基因转录物的表达增加,表明内皮损伤;和C)DSA(HLA或其他抗原)的血清学证据。通常,根据满足标准A和B怀疑ABMR的活检应提示加快DSA测试。根据更新的Banff 2015分类,急性/活动性ABMR具有所有三个特征(D、E和F):D)急性组织损伤的组织学证据,包括以下一项或多项:(d1)微血管炎症(不存在复发性或新发肾小球肾炎的情况下 $g > 0$,和/或 $ptc > 0$);(d2)内膜或透壁动脉炎($v > 0$);(d3)没有任何其他原因的急性血栓性微血管病;(d4)没有任何其他明显原因的急性肾小管损伤;E)当前/最近的抗体与血管内皮相互作用的证据,包括以下至少一项:(e1)管周毛细血管中的线性C4d染色;(e2)至少中度微血管炎症($[g+ptc] \geq 2$),尽管存在急性TCMR、临界浸润或感染,单独 $ptc \geq 2$ 是不够的,并且 g 必须 ≥ 1 ;(e3)活检组织中基因转录物的表达增加,表明内皮损伤;和F)DSA(HLA或其他抗原)的血清学证据。“cg”:肾小球双轮廓;“ci”:间质纤维化;“ct”:肾小管萎缩;“cv”:血管纤维内膜增厚;“g”:肾小球炎;“i”:炎症;“ptc”:管周毛细血管炎;“t”:小管炎;“ti”:总炎症;“v”:内膜动脉炎。诚然,Banff标准可能会逐年更新,但本文中的方法可在根据当代Banff标准诊断ABMR时用于如本文所公开的患者。

[0045] 移植肾小球病(TG)是一种形态学病变,其特征是在没有免疫复合物沉积的情况下,通过光学显微镜或电子显微镜观察到的肾小球基底膜的重复/多层化。移植肾小球病是组织学或超微结构改变的形态学描述。多种病理生理机制导致这种病变的发展,所有都与慢性、反复的内皮细胞损伤有关。

[0046] 术语“治疗”、“医治”、“疗治”或“缓解”是指治疗性治疗,其中目的是逆转、减轻、改

善、抑制、减慢或停止与疾病或病症有关的病况的进展或严重程度。术语“治疗”包括减轻或缓解病况、疾病或病症的至少一种不利影响或症状,例如由于癌症恶病质而导致的体重减轻或肌肉损失。如果减轻一种或多种症状或临床标志,治疗通常是“有效的”。可替代地,如果疾病的进展减少或停止,则治疗是“有效的”。即,“治疗”不仅包括症状或标志物的改善,而且包括症状的进展或恶化(在没有治疗的情况下会预期发生的)的停止或至少减慢。有益或理想的临床结果包括但不限于减轻一种或多种症状,疾病程度的减轻,疾病状态的稳定(即不恶化),疾病进展的延迟或减慢,疾病状态的改善或减轻和缓解(无论是部分还是全部),无论是可检测的还是不可检测的。疾病的术语“治疗”还包括提供疾病的症状或副作用的减轻(包括姑息治疗)。

[0047] 术语“施用”是指通过一种方法或途径将本文公开的药剂放置到受试者中,所述方法或途径导致药剂至少部分定位在所需位点。

[0048] 术语“抗体”是指完整的免疫球蛋白或具有Fc(可结晶片段)区或Fc区的FcRn结合片段的单克隆或多克隆抗原结合片段(在本文中称为“Fc片段”或“Fc结构域”)。抗原结合片段可以通过重组DNA技术或通过完整抗体的酶或化学切割来产生。抗原结合片段尤其包括Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, dAb和互补决定区(CDR)片段,单链抗体(scFv),单结构域抗体,嵌合抗体,双抗体和含有足以使多肽与特异性抗原结合的至少一部分免疫球蛋白的多肽。Fc结构域包括两个重链的部分,其促成抗体的两个或三个类别。Fc结构域可以通过重组DNA技术或通过酶促(例如木瓜蛋白酶切割)或通过完整抗体的化学切割来产生。抗体可以是嵌合抗体,人源化抗体或人抗体。抗体可以是IgG1, IgG2, IgG3或IgG4抗体。在一些方面,本文的抗体具有已被修饰以改变效应子功能、半衰期、蛋白水解或糖基化中的至少一种的Fc区。

[0049] 术语“抗体片段”是指仅包含完整抗体的一部分的蛋白质片段,通常包含完整抗体的抗原结合位点并因此保留结合抗原的能力。本定义涵盖的抗体片段的实例包括:(i)具有V_L-CL-V_H和CH1结构域的Fab片段;(ii)Fab'片段,其是在CH1结构域的C末端具有一个或多个半胱氨酸残基的Fab片段;(iii)具有V_H和CH1结构域的Fd片段;(iv)具有V_H和CH1结构域以及在CH1结构域的C末端的一个或多个半胱氨酸残基的Fd'片段;(v)具有抗体的单臂的V_L和V_H结构域的Fv片段;(vi)由V_H结构域组成的dAb片段;(vii)分离的CDR区;(viii)F(ab')₂片段,其是一个二价片段,包含通过铰链区的二硫键连接的两个Fab'片段;(ix)单链抗体分子(例如,单链Fv; scFv);(x)具有两个抗原结合位点的“双抗体”,其包含与同一条多肽链中的轻链可变结构域(V_L)连接的重链可变结构域(V_H);(xi)“线性抗体”,其包含一对串联的Fd区段(V_H-CH1-V_H-CH1),其与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区。抗体或抗体片段可以是scFv、骆驼抗体、纳米抗体、IgNAR(源自鲨鱼的单链抗体)和Fab、Fab'或F(ab')₂片段。

[0050] 本文公开的方法的各个方面包括抗体或多肽的变体、衍生物或类似物。通常,抗体或多肽的变体包含一个或多个保守置换、添加和缺失。多肽或抗体的保守置换、添加或缺失是指与原始多肽或抗体相比,氨基酸序列发生变化,相对于原始抗体或多肽,其导致保留至少80、85、90、95、96、97、98或99%的同一性,或至少75%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的功能活性或结合亲和力,或多达105%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%或300%或更多的功能活性或结合亲和力。例如,SEQ ID NO:1-7中的任一个的保守置换、添加或缺失的变体可导致小于4、3、2或1个氨基酸的同一性差异,和/或与原始序列相比,导致

至少75%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的功能活性或结合亲和力(或高达105%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%或300%或更多的功能活性或对IL-6的结合亲和力)。

[0051] “选择性结合”或“特异性结合”是指本文所述的抗体或其抗体片段以 K_D $10^{-5}M$ (10000nM)或更小,例如 $10^{-6}M$ 、 $10^{-7}M$ 、 $10^{-8}M$ 、 $10^{-9}M$ 、 $10^{-10}M$ 、 $10^{-11}M$ 、 $10^{-12}M$ 或更小结合靶标(例如,存在于细胞表面上的分子)的能力。特异性结合可以受到例如多肽试剂的亲和力和亲和力以及多肽试剂的浓度的影响。本领域普通技术人员可以使用任何合适的方法,例如在合适的细胞结合测定中多肽试剂的滴定,来确定本文所述的多肽试剂选择性结合靶标的合适条件。

[0052] “无效的”治疗是指当给受试者施用治疗时症状改善小于5%。如果在权利要求书特别提供,则无效的治疗可以指症状改善小于1%、2%、3%、4%、6%、7%、8%、9%或10%。

[0053] “不良事件”,不良事件是与研究性医药产品(IMP)或其他方案施加的干预措施的使用在时间上相关的任何不利和非计划中的体征、症状或疾病,无论其归因如何。不良事件可以是与医药产品的使用在时间上相关的任何不利和非计划中的体征(包括异常实验室发现)、症状或疾病,无论是否考虑与医药产品相关。手术过程不是不良事件;它们是需要手术的病况的治疗措施。但是,如在实例中所示,如果在研究中发生或被检测到,则需要手术的病况是不良事件。如果病况在研究治疗开始之前是已知的,则计划的手术措施和导致这些措施的病况就不是不良事件。在后一种情况下,应将病况报告为病史。不良事件(AE)包括(1)在方案指定的AE报告期内出现的先前未在受试者中观察到的AE,包括在AE报告期之前不存在的与克拉扎珠单抗输注相关的体征或症状;(2)由于方案规定的干预措施(例如,肾方案活检)而发生的并发症;(3)如果适用,在与药物清除、无治疗导入或其他方案规定的干预相关的研究治疗的分配之前发生的AE;(4)研究人员判断在方案指定的AE报告期内在严重程度或频率上恶化或特征发生变化的先前存在的医学病况(正在研究的病况除外)。

[0054] 如果满足以下标准,不良事件应归类为严重不良事件(SAE):(1)它导致死亡(即,AE实际上引起或导致死亡);(2)它是危及生命的(即,在研究者看来,AE将受试者置于死亡的直接风险中。它不包括如果以更严重的形式发生,可能已导致死亡的AE);(3)它需要或者延长患者住院;(4)它导致持续或显著的残疾/无行为能力(即,AE导致受试者进行正常生活功能的能力的实质性破坏);(5)它导致暴露于IMP的母亲所生的新生儿/婴儿出现先天性异常/出生缺陷;或(6)研究者根据医学判断将其视为重大医学事件(例如,可能危及受试者或可能需要医学/外科干预以防止上述结果之一)。

[0055] “先前存在的病况”,先前存在的病况是在研究开始时存在的病况。在研究过程中恶化的先前存在的病况被视为不良事件。如果在研究期间病况的频率、强度或特征恶化,则应将先前存在的病况记录为不良事件。

[0056] “异常测试发现”,满足以下标准中任一项的异常测试发现应视为不良事件:

[0057] 测试结果与伴随的症状有关;

[0058] 测试结果需要其他诊断测试或医学/外科干预;

[0059] 测试结果导致研究治疗剂量的改变(例如剂量调整、中断或永久终止)或伴随药物治疗的变化(例如添加、中断或终止)或伴随药物或疗法的任何其他变化;

[0060] 测试结果导致严重不良事件的定义中包含的任何结果(注意:这将被报告为严重不良事件);

[0061] 测试结果被研究者认为是不良事件。

[0062] 落在参考范围之外并且不满足以上标准之一的实验室结果不应被报告为不良事件。在没有上述条件的情况下重复异常测试不构成不良事件。被确定为是错误的任何异常测试结果都不需要报告为不良事件。

[0063] 术语“统计上显著的”或“显著地”是指存在差异的统计证据。它被定义为当虚假设为真时做出拒绝虚假定的决定的概率。通常使用p值做出决定。

[0064] 克拉扎珠单抗和使用方法

[0065] 提供了在被诊断患有急性ABMR、慢性活动性ABMR或具有TG的慢性活动性ABMR或表现出其体征的患者中用于治疗、降低其严重程度或改善移植结果的方法,其中在一些实施方案中所述患者是高度致敏的并且在其他实施方案中是非致敏的。各种实施方案中的方法包括向受试者施用有效量的克拉扎珠单抗或与克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的互补决定区(CDR)具有至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同源性(同一性)或与克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的互补决定区(CDR)相比保留至少75%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的与IL-6的结合能力或功能活性的抗体或其抗原结合片段。

[0066] 还提供了用于降低被诊断患有急性ABMR、慢性活动性ABMR或具有TG的慢性活动性ABMR或表现出其体征的移植接受者中的供体特异性抗体的方法,所述方法包括向所述受试者施用有效量的克拉扎珠单抗或与克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的互补决定区(CDR)具有至少75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同源性或与克拉扎珠单抗或克拉扎珠单抗的互补决定区(CDR)相比保留至少75%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的与IL-6的结合能力或功能活性的抗体或其抗原结合片段。

[0067] 克拉扎珠单抗是靶向白介素-6的糖基化人源化(来自兔亲本抗体)的单克隆抗体。克拉扎珠单抗的肽序列和结构信息可从IMGT/mAb-db记录号#414获得。BLAST肽序列分析揭示了与美国专利号8,062,864中要求保护的肽的相同匹配,该专利通过引用整体并入本文。美国专利号7,935,340中显示了克拉扎珠单抗及其变体的进一步描述,该专利通过引用整体并入本文,其抗体或抗体片段在一些实施方案中用于本文公开的用于治疗需要或已经接受同种异体移植的受试者的ABMR或cABMR的方法。例如,用于所公开方法的克拉扎珠单抗或抗体或抗体片段具有包含分别包含在SEQ ID NO:1(对于V_H的CDR1)、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3(对于V_H的CDR2)和SEQ ID NO:4(对于V_H的CDR3)中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽。抗人IL-6抗体包括包含在SEQ ID NO:8、9或10中的可变重链,以及包含在SEQ ID NO:11或12中的可变轻链。

[0068] Asn-Tyr-Tyr-Val-Thr(SEQ ID NO:1)

[0069] Ile-Ile-Tyr-Gly-Ser-Asp-Glu-Thr-Ala-Tyr-Ala-Thr-Trp-Ala-Ile-Gly(SEQ ID NO:2)

[0070] Ile-Ile-Tyr-Gly-Ser-Asp-Glu-Thr-Ala-Tyr-Ala-Thr-Ser-Ala-Ile-Gly (SEQ ID NO:3)

[0071] Asp-Asp-Ser-Ser-Asp-Trp-Asp-Ala-Lys-Phe-Asn-Leu (SEQ ID NO:4)

[0072] Gln-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Asn-Asn-Glu-Leu-Ser (SEQ ID NO:5)

[0073] Arg-Ala-Ser-Thr-Leu-Ala-Ser (SEQ ID NO:6)

[0074] Gln-Gln-Gly-Tyr-Ser-Leu-Arg-Asn-Ile-Asp-Asn-Ala (SEQ ID NO:7)。

[0075] 可变重链序列在SEQ ID NO:8中列出-METGLRWLLLVAVLKGVCQSLEESGGRLVTPGTPL
TLTCTASGFSLSNYYVTWVRQAPGKGLEWIGIIYGSDETAYATWAIGRFTISKSTTTVDLKMTSLTAADTATYFCA
RDDSSDWDAKFNLWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVK。

[0076] 置换的可变重链序列在SEQ ID NO:9中列出-

[0077] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYYVTWVRQAPGKGLEWVGIIYGSDETAYATWAIGRFT
ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSSDWDAKFNL。

[0078] 另一个置换的可变重链序列在SEQ ID NO:10中列出-

[0079] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSNYYVTWVRQAPGKGLEWVGIIYGSDETAYATSAIGRFT
ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSSDWDAKFNL。

[0080] 可变轻链序列在SEQ ID NO:11中列出-

[0081] MDTRAPTQLLGLLLLWLPGARCAYDMTQTPASVSAAVGGTVTIKCQASQSINNELSWYQQKPGQRPKL
LIYRASTLASGVSSRFKSGSGTEFTLTISDLECAATYYCQQGYSLRNIDNAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFP
PSDEQL KSGTASVCLLN。

[0082] 置换的可变轻链序列在SEQ ID NO:12中列出-

[0083] IQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQSINNELSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPDFFATYYCQQGYSLRNIDNA。

[0084] 克拉扎珠单抗是基因工程化的人源化免疫球蛋白G1 (IgG1) 抗体,其以4pM的亲合力与人IL-6结合。使用针对响应单独的IL-6 (以测量经典信号传导) 和IL-6和sIL-6R的组合 (以测量反式信号传导) 的信号传导和细胞功能的多种测定,证明克拉扎珠单抗是IL-6诱导的信号传导 (如通过信号转导及转录活化因子3 (STAT3) 的磷酸化测量的) 以及细胞功能 (例如细胞增殖、分化、激活、免疫球蛋白的B细胞产生和急性期蛋白 (C反应蛋白 [CRP] 和纤维蛋白原) 的肝细胞产生) 的有效而完全的拮抗剂。另外,显示克拉扎珠单抗是IL-6诱导的细胞增殖的竞争性拮抗剂。尽管已在类风湿性关节炎患者中对克拉扎珠单抗进行了评估,但尚未获得FDA批准用于任何病况。在申请人的发明之前,没有关于等待不相容 (HLAi) 移植物的HS患者中的克拉扎珠单抗或关于抗体介导的排斥反应的治疗的信息。

[0085] IL-6是调节炎症以及T细胞、B细胞和浆细胞的发育、成熟和活化的关键细胞因子。过量的IL-6产生与许多以不受调控的抗体产生和自身免疫为特征的人类疾病有关。如同种免疫的动物模型所示,IL-6/IL-6R相互作用对于同种抗体的产生很重要。用抗IL-6R单克隆抗体阻断这些相互作用导致同种抗体显著减少、脾脏和骨髓浆细胞的抗体产生、浆细胞抗HLA抗体产生的直接抑制和 T_{reg} 细胞的诱导并抑制T滤泡 (T_{fh}) 细胞。因此,IL-6塑造了T细胞免疫,并且是致病性IgG产生的强大刺激剂。

[0086] 各种实施方案提供了用于减少受试者中的供体特异性抗体 (例如供体特异性HLA抗体) 和治疗器官移植物的慢性ABMR、与TG组合的慢性ABMR或急性ABMR或降低其严重程度

的方法,其中所述方法包括向所述受试者施用有效量的克拉扎珠单抗;其抗原结合片段;或具有包含分别包含在针对 V_H 的CDR1的SEQ ID NO:1、针对 V_H 的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对 V_H 的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的 V_H 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 V_L 多肽的多肽。这些方法的一些实施方案提供了进一步选择高度致敏的受试者,其特征在于具有计算的群体反应性抗体(cPRA)或至少10%、20%、30%、40%、50%、60%或70%的可能交叉匹配不相容供体的百分比。在一个实施方案中,所述方法进一步包括选择高度致敏的受试者,其特征在于具有cPRA或至少50%的可能交叉匹配不相容供体的百分比。本发明的另一个实施方案提供了用于减少受试者中的供体特异性抗体(例如供体特异性HLA抗体)和治疗移植的同种异体移植物的慢性ABMR、与TG组合的慢性ABMR或急性ABMR或降低其严重程度的方法,其涉及施用抗体或多肽,其能够结合至IL-6并且包含一个或多个氨基酸序列,所述氨基酸序列包含对克拉扎珠单抗的一个或多个CDR的氨基酸序列或在SEQ ID NO:1-7中列出的一个或多个氨基酸序列的保守置换、添加和/或缺失。一方面,保守置换、添加和/或缺失导致与克拉扎珠单抗的CDR或与SEQ ID NO:1-7中任一个所示的CDR在同一性上少于4、3、2或1个氨基酸差异。另一方面,保守置换、添加和/或缺失导致与克拉扎珠单抗的CDR或SEQ ID NO:1-7中任一个所示的CDR的80、85、90、95、96、97、98或99%的同一性/同源性。另一方面提供了保守置换、添加和/或缺失导致至少75%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的克拉扎珠单抗的与IL-6的结合能力或克拉扎珠单抗的功能活性。一个方面提供了保守置换、添加和/或缺失赋予105%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%或300%或更多的与克拉扎珠单抗相比的与IL-6的结合能力或克拉扎珠单抗的功能活性。这些方法的进一步实施方案提供了向有此需要的或被诊断患有慢性ABMR、与TG组合的慢性ABMR或急性ABMR或表现出其特征的受试者施用有效量的抗人IL-6抗体或抗体片段,其包括SEQ ID NO:8、9或10中的可变重链和SEQ ID NO:11或12中的可变轻链。

[0087] 各种实施方案提供了一种用于治疗人类受试者的肾移植后ABMR或降低其严重程度,并任选地减少供体特异性HLA抗体的方法,其中所述方法包括施用有效量的IVIG和有效量的克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在针对 V_H 的CDR1的SEQ ID NO:1、针对 V_H 的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对 V_H 的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的 V_H 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 V_L 多肽的多肽。本发明的另一个实施方案提供了用于治疗人类受试者的肾移植后ABMR或降低其严重程度,并任选地减少供体特异性HLA抗体的方法,其涉及施用抗体或多肽,所述抗体或多肽能够结合至IL-6并且包含一个或多个氨基酸序列,所述氨基酸序列包含对克拉扎珠单抗的一个或多个CDR的氨基酸序列或在SEQ ID NO:1-7中列出的一个或多个氨基酸序列的保守置换、添加和/或缺失。一方面,保守置换、添加和/或缺失导致与克拉扎珠单抗的CDR或与SEQ ID NO:1-7中任一个所示的CDR在同一性上少于4、3、2或1个氨基酸差异。另一方面,保守置换、添加和/或缺失导致与克拉扎珠单抗的CDR或SEQ ID NO:1-7中任一个所示的CDR的80、85、90、95、96、97、98或99%的同一性/同源性。另一方面提供了保守置换、添加和/或缺失导致至少75%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的克拉扎珠单抗的与IL-6的结合能力或克拉扎珠单抗的功能活性。一个方面提供了保

守置换、添加和/或缺失赋予105%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%或300%或更多的克拉扎珠单抗的与IL-6的结合能力或克拉扎珠单抗的功能活性。

[0088] 在一个实施方案中,在IVIG施用之后施用克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在针对V_H的CDR1的SEQ ID NO:1、针对V_H的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对V_H的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体。

[0089] 各种实施方案提供了一种用于治疗人类受试者的器官移植后ABMR或降低其严重程度,并任选地减少供体特异性HLA抗体的方法,其中所述方法包括施用有效量的IVIG和克拉扎珠单抗的组合;有效量的IVIG和克拉扎珠单抗的IL-6结合片段的组合;或有效量的IVIG和具有包含分别包含在针对V_H的CDR1的SEQ ID NO:1、针对V_H的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对V_H的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体的组合。在一个实施方案中,在IVIG施用之后或同时施用克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在针对V_H的CDR1的SEQ ID NO:1、针对V_H的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对V_H的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体。

[0090] 还有更多的实施方案提供了一种用于减少表现出慢性ABMR的症状的移植接受者中的供体特异性HLA抗体的方法,其中所述方法包括施用有效量的IVIG、血浆去除术和克拉扎珠单抗的组合;有效量的IVIG、血浆去除术和克拉扎珠单抗的IL-6结合片段的组合;或有效量的IVIG、血浆去除术和具有包含分别包含在针对V_H的CDR1的SEQ ID NO:1、针对V_H的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对V_H的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体的组合。在一个实施方案中,在IVIG和血浆去除术施用之后或同时施用克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或具有包含分别包含在针对V_H的CDR1的SEQ ID NO:1、针对V_H的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对V_H的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体。

[0091] 如以下实施例中所见,被诊断患有cABMR和TG的患者在用克拉扎珠单抗治疗后表现出肾功能的稳定和DSA相对强度评分的改善(例如,与克拉扎珠单抗治疗前相比,DSA的量显著减少)。此外,活检结果显示g+ptc、cg和C4d评分降低的趋势。在这些方法的某些方面,活检前和活检后的分子显微镜分析显示患者中的稳定性和急剧减少。在一些方面,所公开的方法不会在患者中引起严重不良事件。在一些方面,所公开的方法导致患者的IgG3水平降低。在一些方面,所公开的方法包括在给药克拉扎珠单抗或其抗原结合片段约6、7、8、9、10、11、12或更多个月后,受试者具有增加的调节性T细胞水平。所公开的方法的进一步方面包括在用克拉扎珠单抗或其抗原结合片段治疗后受试者的同种异体移植肾的功能得到稳

定,其特征在于在克拉扎珠单抗或其抗原结合片段的初始给药后3个月、6个月、12个月或甚至18个月内估计的肾小球滤过率的相当的水平。

[0092] 患者群体

[0093] 同种异体移植物排斥反应可以是超急性的(在血管吻合术后几分钟内发生)、急性(在移植后数天至数周内发生)、晚期急性(在移植后3个月发生)或慢性(在移植后数月至数年发生)。

[0094] 所述方法的各种实施方案提供了诊断和/或选择患有ABMR(其通常通过Banff分类、活检的电子显微镜检查、基于抗原的珠测定或其组合来测量)的受试者的进一步步骤。其他实施方案提供的方法进一步包括在施用有效量的克拉扎珠单抗之前诊断和/或选择表现出ABMR(例如,慢性活动性ABMR)和移植肾小球病的症状的受试者。所公开的方法的一个方面提供了通过单抗原珠测试诊断或选择被诊断为存在抗HLA抗体的受试者。所公开的方法的另一方面提供了诊断或选择在电子显微镜下检查活检显示同种异体移植物排斥反应的移植接受者。

[0095] 所述方法的各种实施方案包括在施用克拉扎珠单抗或其抗原结合片段之前,受试者被诊断患有同种异体移植物的慢性活动性ABMR或表现出同种异体移植物的慢性活动性ABMR的体征。所述方法的一些实施方案进一步包括鉴定或选择被诊断患有同种异体移植物的慢性活动性ABMR或表现出同种异体移植物的慢性活动性ABMR的体征的受试者,并向所述受试者施用有效量的克拉扎珠单抗、其抗原结合片段或上文公开的抗体或抗体片段。一个实施方案提供了一种治疗移植接受者中的慢性抗体介导的排斥反应或降低其严重程度的方法,所述方法包括向所述接受者施用有效量的克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或所公开的多肽,其中所述接受者被诊断或表现出至少特征A、B和C:(A)慢性组织损伤的组织学证据,由以下至少一种的存在定义:(i)在没有慢性TMA的情况下的移植肾小球病($cg>0$);(ii)电镜鉴定的严重的管周毛细血管基底膜多层化;和(iii)没有其他已知病因的新发动脉内膜纤维化;(B)抗体与血管内皮相互作用的组织学证据,由以下至少一种的存在定义:(i)管周毛细血管中的线性C4d染色;(ii)至少中度微血管炎症($g+ptc>2$);和(iii)指示内皮损伤的组织基因转录物的表达增加;(C)血清中可检测的DSA(HLA或非HLA)。另一个实施方案提供了治疗移植接受者的慢性抗体介导的排斥反应或降低其严重程度的方法,所述方法包括,在选择被诊断或表现出至少特征A、B和C的接受者之后向所述接受者施用有效量的克拉扎珠单抗;克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;或所公开的多肽:(A)慢性组织损伤的组织学证据,由以下至少一种的存在定义:(i)在没有慢性TMA的情况下的移植肾小球病($cg>0$);(ii)电镜鉴定的严重的管周毛细血管基底膜多层化;和(iii)没有其他已知病因的新发动脉内膜纤维化;(B)抗体与血管内皮相互作用的组织学证据,由以下至少一种的存在定义:(i)管周毛细血管中的线性C4d染色;(ii)至少中度微血管炎症($g+ptc>2$);和(iii)指示内皮损伤的组织基因转录物的表达增加;(C)血清中可检测的DSA(HLA或非HLA)。

[0096] 所述方法的各种实施方案包括在施用克拉扎珠单抗或其抗原结合片段之前,受试者被诊断患有同种异体移植物的急性ABMR或表现出同种异体移植物的急性ABMR的体征。一些实施方案包括鉴定或选择被诊断患有同种异体移植物的急性ABMR或表现出同种异体移植物的急性ABMR的体征的受试者,并向所述受试者施用有效量的克拉扎珠单抗、其抗原结合片段或上文公开的抗体或抗体片段。

[0097] 所述方法的一些实施方案包括在施用克拉扎珠单抗或其抗原结合片段之前,受试者被诊断患有慢性活动性ABMR并且表现出TG。所述方法的一些实施方案包括鉴定或选择被诊断患有慢性活动性ABMR并表现出TG的受试者,并向所述受试者施用有效量的克拉扎珠单抗、其抗原结合片段或上文公开的抗体或抗体片段。

[0098] 所述方法的一些实施方案包括在施用克拉扎珠单抗或其抗原结合片段之前,受试者被诊断患有同种异体移植物的慢性活动性ABMR,在同种异体移植物的活检中表现出TG,并且是高度致敏的和/或含有DSA。在各个方面,高度致敏的受试者的特征在于计算的群体反应性抗体(cPRA)或可能交叉匹配不相容供体的百分比 $\geq 50\%$ 。进一步的实施方案包括鉴定或选择被诊断患有同种异体移植物的慢性活动性ABMR、在同种异体移植物的活检中表现出TG并且高度致敏和/或含有DSA,以及向受试者施用有效量的克拉扎珠单抗、其抗原结合片段其或上文公开的抗体或抗体片段。

[0099] 所述方法的又一个实施方案提供了任何上述受试者在施用克拉扎珠单抗或其抗原结合片段之前已接受其他疗法,包括脉冲类固醇、PLEX和/或抗CD20疗法(例如,利妥昔单抗),并且他们对这些其他疗法的反应是无效的。所述方法的一个实施方案包括鉴定或选择被诊断患有ABMR并且已经接受诸如类固醇、PLEX和/或抗CD20疗法的治疗但其反应无效的受试者,并向所述受试者施用有效量的克拉扎珠单抗、其抗原结合片段或上文公开的抗体或抗体片段。

[0100] 所述方法的进一步方面包括受试者没有类风湿性关节炎(RA)、银屑病关节炎(PsA)、克罗恩病、移植物抗宿主病(GVHD)、癌症或其组合。所述方法的其他方面还包括选择没有或曾经没有患有类风湿性关节炎(RA)、银屑病关节炎(PsA)、克罗恩病、移植物抗宿主病(GVHD)或癌症并且是HLA致敏的以及需要或已经接受实体器官(例如,肾)移植的受试者用于减少和/或消除供体特异性抗体的方法。

[0101] 各种实施方案提供用于治疗移植接受者的同种异体移植物的ABMR或降低其严重程度的方法,其包括随时间以一个或多个剂量施用有效量的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段、包含SEQ ID NO:8、9或10的可变重链和SEQ ID NO:12或12的可变轻链的多肽或包含具有SEQ ID NO:1的CDR1、SEQ ID NO:2或3的CDR2和SEQ ID NO:4的CDR3的可变重链和具有SEQ ID NO:5的CDR1、SEQ ID NO:6的CDR2和SEQ ID NO:7的CDR3的可变轻链的多肽,其中(1)受试者已被诊断患有ABMR(例如,根据Banff 2015标准),在一些方面被诊断患有慢性活动性ABMR,(2)受试者在同种异体移植物的活检中表现出TG,(3)受试者是高度致敏的,其特征具有50%或更高的计算的群体反应性抗体,(4)受试者具有高强度的供体特异性抗体,例如通过单一抗原LUMINEX珠测定确定并表示为对于I类或II类的大于9000、10000、11000、12000或更高的平均荧光强度(MFI),或(5)(1)-(4)的组合。一方面,受试者具有上述特征之一。另一方面,受试者具有上述特征中的两个。在又一方面,受试者具有上述特征中的三个。在又一方面,受试者具有上述特征中的四个。

[0102] 本发明的另一个实施方案提供了一种用于减少供体特异性抗体(例如供体特异性HLA抗体)和治疗受试者的器官移植物的慢性ABMR或降低其严重程度的方法,所述方法包括施用抗体或多肽,其能够结合至IL-6并且包含一个或多个氨基酸序列,所述氨基酸序列包含对克拉扎珠单抗的一个或多个CDR的氨基酸序列或在SEQ ID NO:1-7中列出的一个或多个氨基酸序列的保守置换、添加和/或缺失,其中在施用该抗体或多肽之前,受试者被诊断

患有ABMR(例如,慢性活动性ABMR,任选地与TG组合和/或具有DSA)。一方面,保守置换、添加和/或缺失导致与克拉扎珠单抗的CDR或与SEQ ID NO:1-7中任一个所示的CDR在同一性上少于4、3、2或1个氨基酸差异。另一方面,保守置换、添加和/或缺失导致与克拉扎珠单抗的CDR或SEQ ID NO:1-7中任一个所示的CDR的80、85、90、95、96、97、98或99%的同一性/同源性。另一方面提供了保守置换、添加和/或缺失导致至少75%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的克拉扎珠单抗的与IL-6的结合能力或克拉扎珠单抗的功能活性。一个方面提供了保守置换、添加和/或缺失赋予105%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%或300%或更多的与克拉扎珠单抗相比的与IL-6的结合能力或克拉扎珠单抗的功能活性。

[0103] 另外的步骤

[0104] 各种实施方案提供了一种或多种所公开的方法进一步包括在施用克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的抗原结合片段或上文公开的抗体或抗体片段之前、期间和/或之后针对受试者的与巨细胞病毒、爱泼斯坦-巴尔(Epstein-Barr)病毒、多瘤病毒、BK病毒、JC病毒、细小病毒B19或其组合相关的感染的存在或不存在进行一种或多种测定。在其他实施方案中,一种或多种所公开的方法的特征在于受试者在施用克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的抗原结合片段或上文公开的抗体或抗体片段之前和/或之后没有可检测的量的与巨细胞病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒、多瘤病毒、BK病毒、JC病毒、细小病毒B19或其组合相关的感染。

[0105] 本文公开的方法的另外的实施方案包括在施用克拉扎珠单抗或上文公开的抗体或抗体片段之前和/或之后的一个或多个免疫监测步骤。在各个方面,所述方法包括(i)以一个或多个剂量施用有效量的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或上文公开的多肽;(ii)进行(a)受试者的免疫监测,例如测定受试者的血液样品以定量Treg、Tfh、Th17、B细胞、IL-6、CRP、浆细胞、IgG水平或其组合,b)移植物的活检评估,(c)测量肾小球滤过率,和/或(d)测量受试者中DSA的量,分别进行一次或多次,例如,每次在一段时间(例如1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、15个月、18个月、24个月或更长时间)内一个或多个剂量的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽之后;以及任选地(iii)当(a)免疫监测表明免疫反应性的改善,例如通过CRP、Treg、Tfh、Th17、B细胞、IL-6、浆细胞或IgG的与同种异体移植时或之前的先前免疫监测或基线测量值相比降低的水平,或相对于健康受试者或已脱敏的受试者相当水平的CRP、Treg、Tfh、Th17、B细胞、IL-6、浆细胞或IgG水平表征的,当(b)移植物的活检评估表明缺乏细胞介导的和抗体介导的排斥反应,缺乏或减少的同种异体移植功能障碍的证据(例如,使用Banff 2015标准通过C4d染色和移植肾小球病变确定的),和/或根据Banff 2015标准的改善,(c)当肾小球滤过率是稳定的,例如与上次测量或移植前相比相似或降低的水平,或(d)当DSA量是稳定的,例如与上次测量或移植前相比相似或降低的水平,则中断、降低频率或限制克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽的进一步施用;当免疫监测表明免疫反应性(例如上文描述的)未改善或肾小球滤过率或DSA的量未稳定时,则继续施用克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或本公开内容的多肽或以调整的剂量施用;和当移植物的活检评估表明存在细胞介导的和/或抗体介导的排斥反应时,则施用标准护理治疗以治疗排斥反应,例如IVIg、血浆去除术或两者。在一些情况下,将(ii)和(iii)的步骤重复一、二、三、四、五、六、七、八、九或十次,或根据需要进行

施用,或者直到可以观察到改善、稳定或甚至治愈。一些实施方案提供持续向受试者施用克拉扎珠单抗或本文公开的抗体或抗体片段,只要同种异体移植物功能是稳定和/或改善的,尽管可降低克拉扎珠单抗或所述抗体或抗体片段的施用频率。

[0106] 在所公开的方法的一些方面,多剂量或更多剂量的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或所述多肽的施用被暂停一段时间(“中断”),例如1周、2周、3周、4周、2个月和3个月,以及在“中断”期间/之后,监测免疫反应性或评估同种异体移植物的活检,并且根据结果,本领域技术人员将停止或恢复克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或所述多肽的施用,以进一步减少或消除受试者中的DSA。

[0107] 剂量

[0108] 可基于安全性评估研究或限制对受试者的克拉扎珠单抗的有效量。安全评估包括医学访谈,不良事件记录,身体检查,血压和实验室测量。通常评估受试者在其参加研究期间每次研究访视时的不良事件(所有级别)、严重不良事件以及需要研究药物中断或中止的不良事件。

[0109] 一个实施方案提供了约每30天以25mg皮下施用克拉扎珠单抗至诊断患有ABMR或表现出ABMR的体征(例如,cABMR和与TG组合)的受试者,共六个剂量。实施方案的另一方面规定了以约每月间隔以25mg/每次施用克拉扎珠单抗的额外剂量。其他实施方案提供向表现出cABMR症状的移植接受者约每30天皮下施用20-30mg克拉扎珠单抗,共至少六个剂量。

[0110] 在一个实施方案中,用于降低表现出ABMR症状的移植接受者中的供体特异性HLA抗体或治疗移植接受者中的ABMR或降低其严重程度的方法包括在移植前施用血浆交换(或血浆去除术)和/或有效量的IVIG(例如,约2g/kg受试者,最多140g),并在移植期间和/或移植后施用有效量的克拉扎珠单抗(例如,皮下注射约20-25mg,每4周持续至少六个剂量)。

[0111] 另一个实施方案提供了用于降低表现出ABMR症状的移植接受者中的供体特异性HLA抗体或治疗移植接受者中的ABMR或降低其严重程度的方法,所述方法包括以0.01-0.1mg/kg、0.1-0.5mg/kg、0.5-1mg/kg、1-5mg/kg、5-50mg/kg或50-100mg/kg的剂量施用克拉扎珠单抗,如果移植接受者的反应(如通过排斥反应症状的活检所表征的)仍然存在或IL-6的血清水平与健康受试者或没有排斥反应的移植接受者相比保持较高,则可以重复所述施用。该实施方案的一方面提供了以0.05-0.5mg/kg的剂量施用克拉扎珠单抗,任选地基于反应重复,并且移植接受者是人。

[0112] 在另一个实施方案中,用于降低被诊断患有ABMR或表现出ABMR症状的移植接受者中的供体特异性HLA抗体,或治疗移植接受者体内ABMR或降低其严重程度的方法,所述方法包括施用有效量的克拉扎珠单抗(例如,每月皮下注射约20-25mg,持续至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月)。在进一步的实施方案中,所述方法包括停止与克拉扎珠单抗治疗之前相比在克拉扎珠单抗治疗后至少3、6或12个月具有维持的降低的DSA水平的移植接受者中的克拉扎珠单抗治疗。

[0113] 这些方法的一些实施方案提供了测定来自患者的活检,并确认肾小球滤过率(GFR)随时间的稳定的水平(例如,在两次、三次或四次连续活检中小于10%、20%或30%的变化)和与脱敏治疗前相比低水平(例如,少于10%、20%或30%)的DSA。在一些实施方案中,当GFR的水平不稳定或DSA水平高时,所述方法进一步包括重复施用有效量的克拉扎珠单抗,直到与克拉扎珠单抗治疗前相比DSA水平降低,并且任选地保持降低至少1、2、3、4、5

或6个月。

[0114] 另一个实施方案提供了一种用于降低表现出ABMR症状的移植接受者中的供体特异性HLA抗体,或治疗移植接受者中的ABMR或降低其严重程度的方法,所述方法包括在施用有效量的克拉扎珠单抗之前、之后或两者向受试者施用有效量的IVIG,其中受试者具有随时间稳定的肾小球滤过率(GFR)水平(例如,在两次、三次或四次连续活检中小于10%、20%或30%的变化)和与克拉扎珠单抗治疗前相比低水平(例如,少于10%、20%或30%)的DSA。

[0115] 在一些实施方案中,适合于在所公开的方法中施用的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽的有效量可以在约10-50μg/剂量、50-100μg/剂量、100-150μg/剂量、150-200μg/剂量、100-200μg/剂量、200-300μg/剂量、300-400μg/剂量、400-500μg/剂量、500-600μg/剂量、600-700μg/剂量、700-800μg/剂量、800-900μg/剂量、900-1000μg/剂量、1000-1100μg/剂量、1100-1200μg/剂量、1200-1300μg/剂量、1300-1400μg/剂量、1400-1500μg/剂量、1500-1600μg/剂量、1600-1700μg/剂量、1700-1800μg/剂量、1800-1900μg/剂量、1900-2000μg/剂量、2000-2100μg/剂量、2100-2200μg/剂量、2200-2300μg/剂量、2300-2400μg/剂量、2400-2500μg/剂量、2500-2600μg/剂量、2600-2700μg/剂量、2700-2800μg/剂量、2800-2900μg/剂量或2900-3000μg/剂量的范围内,以用于总共1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更多个剂量,或继续维持同种异体移植物的功能(例如,通过维持eGFR的肾移植)和/或继续降低受试者中的DSA量所需要的,并以每天、每周、每两周、每月、每两个月、每季度或其组合的频率施用。

[0116] 在一些实施方案中,适于在所公开的方法中施用的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽在上述方法中每单位重量受试者的有效量包括10-100μg、100-200μg、200-300μg、300-400μg、400-500μg、500-600μg、600-700μg、700-800μg、800-900μg、1-5mg、5-10mg、10-20mg、20-30mg、30-40mg、40-50mg、50-60mg、60-70mg、70-80mg、80-90mg、90-100mg、100-200mg、200-300mg、300-400mg、400mg-500mg、500mg-1g或1g-10g。受试者的单位重量可以是每kg体重或每个受试者。在一个实施方案中,用于在有此需要的人类受试者中治疗ABMR和改善/维持同种异体移植物功能的克拉扎珠单抗的有效量为每剂量约25mg,以约每月一次、每两个月一次或由医学专业人员确定的其他频率施用。在一个实施方案中,在有此需要的人类受试者中治疗ABMR和改善/维持同种异体移植物功能的克拉扎珠单抗的有效量不是以约每月或每两个月一次的频率施用的每剂量25mg。

[0117] 在进一步的实施方案中,适于在所公开的方法中施用的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽的有效量可以在0.01-0.05mg/kg、0.05-0.1mg/kg、0.1-1mg/kg、1-5mg/kg、5-10mg/kg、10-50mg/kg、50-100mg/kg的范围内。在另外的实施方案中,克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的抗原结合片段或公开的多肽的有效量为约1-2mg/kg、2-3mg/kg、3-4mg/kg、4-5mg/kg、5-6mg/kg、6-7mg/kg、7-8mg/kg、8-9mg/kg、9-10mg/kg、10-11mg/kg、11-12mg/kg、12-

13mg/kg、13-15mg、15-20mg/kg或20-25mg/kg。在另外的实施方案中,克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的抗原结合片段或公开的多肽的有效量为约100-125mg、125-150mg、150-175mg、160-170mg、175-200mg、155-165mg、160-165mg、165-170mg、155-170mg或其组合,其可以施用超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18个剂量,其中一些在移植前,而另一些在移植后。

[0118] 在各个实施方案中,适于在所公开的方法中施用的克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽以本文所述的任何一种或多种剂量施用每周至少一次1-7次、每月1-7次或每年1-12次或如所需的一次或多次以持续1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、14个月、16个月、18个月、约24个月、约30个月、约36个月或其组合。

[0119] 在非临床研究中,药代动力学(PK)/药效学(PD)分析显示单剂量的克拉扎珠单抗导致IL-6活性的完全抑制,如通过用IL-6离体处理的全血中的IL-6诱导的磷酸化STAT3(pSTAT3)活性的抑制测量的。该功能性PD测定的结果与药物暴露相关,其中当药物水平超过50ng/mL(约0.3nM)时观察到pSTAT3活性的完全抑制。在组织交叉反应性研究中,在人和食蟹猴的多个组织中观察到克拉扎珠单抗的组织结合,其通常在本质上是细胞质的,并且与细胞和组织中已知的IL-6表达一致。在食蟹猴中进行长达6个月的单剂量和重复剂量非临床毒理学研究的结果表明,克拉扎珠单抗具有可接受的安全性。在食蟹猴中进行的初步增强的产前和产后发育(ePPND)研究中,在3mg/kg(n=2)和30mg/kg(n=3)(相当于计划的50mg的人剂量的11倍和110倍)的克拉扎珠单抗剂量下观察到在分娩时具有胎盘滞留的猴子的数量的增加。没有临床关注的其他安全性发现。

[0120] 已经在健康受试者和以下患者群体中进行了临床研究:RA、PsA、CD、移植物抗宿主病(GVHD)和肿瘤学。这些临床研究总共包括1223名受试者,其中888名受试者暴露于克拉扎珠单抗,剂量范围为1mg至640mg,通过静脉内(IV)或皮下(SC)注射施用长达48周。在作为1小时静脉内输注施用克拉扎珠单抗后,克拉扎珠单抗的PK在健康受试者中在30mg至640mg的剂量范围内和在患有RA的受试者中在80mg至320mg的剂量范围内呈线性,如通过在这些剂量水平下的一致清除率所指示的。在健康男性受试者和患有RA的受试者中,所有剂量的克拉扎珠单抗的半衰期(T_{1/2})非常相似,并且与人源化IgG1抗体的预期一致。在研究的剂量中,健康男性受试者中克拉扎珠单抗的平均半衰期范围为19.5至31.0天,在RA受试者中为26.4至30.9天。在健康男性受试者中在SC施用后克拉扎珠单抗的半衰期与IV施用相似。在比较健康男性受试者中的IV和SC给药的1期研究中,克拉扎珠单抗的平均半衰期为在单次IV剂量后的30.7天和在SC施用后的31.1至33.6天。SC施用后克拉扎珠单抗的生物利用度是IV制剂的60%。相对于IV施用,SC施用的C_{max}较低且T_{max}较长。对来自RA、PsA和健康受试者的临床研究数据的群体PK分析表明,体重影响克拉扎珠单抗的PK,使得清除率和中心分布体积随着体重的增加而增加。因此,与体重较轻的受试者相比,体重较重的受试者将具有较低的药物暴露。

[0121] 在RA和PsA的2期研究中,从每4周一一次的5mg SC(Q4W)到每8周一一次的320mg IV的剂量是显著有效的,其中早在治疗后12周临床反应就很明显。在RA中的一项研究还表明,克

拉扎珠单抗的功效与RA中的标准护理治疗(阿达木单抗(adalimumab)+甲氨蝶呤(MTX))相当或可能更好。在肿瘤学(头颈癌和非小细胞肺癌)的两项2期研究中未显示克拉扎珠单抗的功效。由于安全问题,两项研究提前终止。克罗恩病的2期研究因3名接受克拉扎珠单抗的受试者中的胃肠道穿孔而提前终止,并且不再研究该适应症。尽管这些受试者有多种混杂的医学问题,并且疾病本身具有粘膜穿孔的固有风险,但在RA患者中使用托珠单抗(tocilizumab)的临床研究期间也观察到了胃肠道穿孔。胃肠道穿孔是公认的抗IL-6mAb的风险。在仅招募3名受试者后,在患有GVHD的受试者中的研究也因2名受试者经历导致死亡的类似严重不良事件(SAE)(即急性肾功能衰竭)而提前终止。这两名受试者在死亡时都患有严重的GVHD疾病。

[0122] 总体而言,迄今为止用克拉扎珠单抗进行的临床研究的安全性发现与阻断IL-6途径的已知作用一致(参见ACTEMRA处方信息)。已鉴定的与克拉扎珠单抗施用相关的风险包括以下:感染、肝功能测试(LFT)异常、血液学参数的变化(即中性粒细胞减少症和血小板减少症)、血脂异常(即高胆固醇血症和高甘油三酯血症)和胃肠道穿孔。

[0123] 药物组合物

[0124] 在各种实施方案中,用于治疗移植接受者的ABMR(尤其是cABMR,或与TG组合的cABMR)或降低其严重程度或减少被诊断患有ABMR或表现出ABMR的体征的移植接受者的供体特异性HLA抗体的方法包括施用药物组合物,该药物组合物包含(1)克拉扎珠单抗,克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;具有包含分别包含在针对V_H的CDR1的SEQ ID NO:1、针对VH的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对VH的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的VH多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的VL多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体,和(2)药学上可接受的赋形剂。

[0125] 根据本发明的药物组合物可以包含任何药学上可接受的赋形剂。“药学上可接受的赋形剂”是指可用于制备药物组合物的通常安全、无毒且理想的赋形剂,并且包括兽医学使用以及人药使用可接受的赋形剂。这样的赋形剂可以是固体、液体、半固体,或者在气雾剂组合物的情况下是气体。赋形剂的实例包括但不限于氨基酸、淀粉、糖、微晶纤维素、稀释剂、制粒剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂、湿润剂、乳化剂、着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、调味剂、芳香剂、防腐剂、抗氧化剂、增塑剂、胶凝剂、增稠剂、硬化剂、固化剂、悬浮剂、表面活性剂、湿润剂、载体、稳定剂及其组合。

[0126] 在一个实施方案中,公开的方法包括施用药物组合物,所述药物组合物包含L-组氨酸、L-组氨酸一盐酸盐、山梨糖醇、聚山梨酯-80和注射用水,以及克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段、具有包含分别包含在针对VH的CDR1的SEQ ID NO:1、针对VH的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对VH的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的VH多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的VL多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体。

[0127] 在各种实施方案中,可以配制公开的方法中的药物组合物以用于通过任何施用途径递送。在一个实施方案中,将药物组合物静脉内或皮下施用至受试者。“施用途径”可以指本领域已知的任何施用途径,包括但不限于气雾剂,鼻腔,经口,经粘膜,经皮,肠胃外或肠内。“肠胃外”是指通常与注射相关的施用途径,包括眶内,输注,动脉内,囊内,心内,皮内,肌内,腹膜内,肺内,脊柱内,胸骨内,鞘内,子宫内,静脉内,蛛网膜下,被膜下,皮下,经粘膜

或经气管。经由肠胃外途径,组合物可以为用于输注或注射的溶液或悬浮液的形式,或为冻干粉剂的形式。经由肠胃外途径,组合物可以为用于输注或注射的溶液或悬浮液的形式。经由肠途径,药物组合物可以是允许控释的片剂、凝胶胶囊、糖衣片剂、糖浆、悬浮液、溶液、粉剂、颗粒剂、乳剂、微球或纳米球或脂质囊泡或聚合物囊泡的形式。通常,组合物通过注射施用。

[0128] 根据本发明的药物组合物可以包含任何药学上可接受的载体。如本文所用,“药学上可接受的载体”是指参与将感兴趣的化合物从一个组织、器官或身体的一部分携带或运输到另一组织、器官或身体的一部分的药学上可接受的材料、组合物或媒介物。例如,载体可以是液体或固体填充剂,稀释剂,赋形剂,溶剂或包封材料,或它们的组合。载体的每种组分必须是“药学上可接受的”,因为它必须与制剂的其他成分相容。它也必须适合用于与其可能接触的任何组织或器官接触,这意味着它绝不能携带毒性、刺激性、过敏性反应、免疫原性或过度超过其治疗益处的任何其他并发症的风险。

[0129] 根据本发明的药物组合物也可以被包封、压片或以乳剂制备。可以添加药学上可接受的固体或液体载体以增强或稳定组合物,以促进组合物的制备,或提供组合物的缓释或控释(或增加半衰期)。液体载体包括糖浆,花生油,橄榄油,甘油,盐水,酒精和水。固体载体包括淀粉,乳糖,硫酸钙,二水合物,石膏粉,硬脂酸镁或硬脂酸,滑石粉,果胶,阿拉伯胶,琼脂或明胶。乳剂载体包括脂质体或本领域已知的控释聚合物纳米颗粒。制备脂质体递送系统的方法在Gabizon等人,Cancer Research (1982) 42:4734;Cafiso,Biochem Biophys Acta (1981) 649:129;和Szoka,Ann Rev Biophys Eng (1980) 9:467中讨论。其他药物递送系统是本领域已知的,并且描述于例如Poznansky等人,DRUG DELIVERY SYSTEMS (R.L.Juliano,ed.,Oxford,N.Y.1980),pp.253-315;M.L.Poznansky,Pharm Revs (1984) 36:277。载体还可单独地或与蜡一起包含缓释材料,例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0130] 药物制剂是根据药学的常规技术制备的,所述常规技术包括研磨、混合、制粒和压片(必要时用于片剂形式);或研磨、混合和填充用于硬明胶胶囊形式。当使用液体载体时,制剂将为糖浆剂、酏剂、乳剂或水性或非水性悬浮液的形式。这样的液体制剂可以直接p.o.施用或填入软明胶胶囊中。

[0131] 根据本发明的药物组合物可以以治疗有效量递送。精确的治疗有效量是在治疗功效方面将在给定受试者中产生最有效结果的组合物的量。该量将取决于多种因素而变化,包括但不限于治疗化合物的特征(包括活性,药代动力学,药效动力学和生物利用度)、受试者的生理状况(包括年龄,性别,疾病类型和阶段,一般身体状况,对给定剂量的反应性和药物类型)、制剂中药学上可接受的载体的性质以及施用途径。临床和药理学领域的技术人员将能够通过常规实验确定治疗有效量,例如,通过监测受试者对化合物施用的反应并相应地调整剂量。对于其他指导,参见Remington:The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed.20th edition,Williams&Wilkins PA,USA) (2000)。

[0132] 在施用至患者之前,可以将制剂添加至克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_H多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的V_L多肽的多肽。液体制剂可以是优选的。例如,这些制剂可以包括油、聚合物、维生素、碳水化合物、氨基酸、盐、

缓冲剂、白蛋白、表面活性剂、膨胀剂或其组合。

[0133] 碳水化合物制剂包括糖或糖醇,例如单糖、二糖或多糖,或水溶性葡聚糖。糖或葡聚糖可包括果糖、右旋糖、乳糖、葡萄糖、甘露糖、山梨糖、木糖、麦芽糖、蔗糖、右旋糖酐、普鲁兰多糖、糊精、 α 和 β 环糊精、可溶性淀粉、羟乙基淀粉和羧甲基纤维素或其混合物。“糖醇”定义为具有-OH基团的C4-C8烃,并且包括半乳糖醇、肌醇、甘露醇、木糖醇、山梨糖醇、甘油和阿拉伯糖醇。上述这些糖或糖醇可以单独使用或组合使用。只要糖或糖醇可溶于水性制剂中,对使用的量没有固定的限制。在一个实施方案中,糖或糖醇浓度为1.0w/v%至7.0w/v%,更优选2.0至6.0w/v%。

[0134] 氨基酸制剂包括肉碱、精氨酸和甜菜碱的左旋(L)形式;但是,可以添加其他氨基酸。

[0135] 在一些实施方案中,作为配制物的聚合物包括平均分子量为2,000至3,000的聚乙烯吡咯烷酮(PVP)或平均分子量为3,000至5,000的聚乙二醇(PEG)。

[0136] 还优选在组合物中使用缓冲液以最小化冻干之前或重构之后溶液中的pH变化。可以使用大多数生理缓冲液,包括但不限于柠檬酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐和谷氨酸盐缓冲液或其混合物。在一些实施方案中,浓度为0.01至0.3摩尔。可以添加到制剂中的表面活性剂显示在欧洲专利号270,799和268,110中。

[0137] 在制备液体药物组合物之后,可以将其冻干以防止降解并保持无菌。用于冻干液体组合物的方法是本领域普通技术人员已知的。刚好在使用前,可以用可以包括其他成分的无菌稀释剂(例如,林格氏溶液,蒸馏水或无菌盐水)将组合物重构。重构后,使用本领域技术人员已知的那些方法将组合物施用至受试者。

[0138] 抗感染剂

[0139] 各种实施方案提供用于在被诊断患有cABMR或表现出cABMR的症状的移植接受者中治疗ABMR或降低其严重程度或减少DSA的方法进一步包括施用一种或多种抗感染剂(优选在移植后)作为针对细菌、病毒或真菌感染的预防或治疗剂。

[0140] 适用于所公开的方法的示例性抗感染剂包括抗生素,例如氨基糖苷类(例如,阿米卡星,庆大霉素,卡那霉素,新霉素,奈替米星,链霉素,妥布霉素,巴龙霉素),安沙霉素类(例如,格尔德霉素,除莠霉素),碳头孢烯类(例如氯碳头孢),碳青霉烯类(例如厄他培南,多利培南,亚胺培南,西司他丁,美罗培南),头孢菌素(例如,第一代:头孢羟氨苄,头孢唑啉,头孢洛汀或头孢噻吩,头孢氨苄;第二代:头孢克洛,头孢羟唑,头孢西丁,头孢罗齐,头孢呋辛;第三代:头孢克肟,头孢地尼,头孢托仑,头孢哌酮,头孢噻肟,头孢泊肟,头孢他啶,头孢布烯,头孢唑肟,头孢曲松;第四代:头孢吡肟;第五代:头孢吡普),糖肽(例如替考拉宁,万古霉素),大环内酯类(例如阿奇霉素,克拉霉素,地红霉素,红霉素,罗红霉素,醋竹桃霉素,替利洛霉素,壮观霉素),单内酯环类(例如氨曲南),青霉素(例如阿莫西林,氨苄青霉素,阿洛西林,羧苄青霉素,氯唑西林,双氯西林,氟氯西林,美洛西林,甲氧西林,纳夫西林,苯唑西林,盘尼西林,哌拉西林,替卡西林),抗生素多肽(例如杆菌肽,粘菌素,多粘菌素b),喹诺酮类(例如环丙沙星,依诺沙星,加替沙星,左氧氟沙星,洛美沙星,莫西沙星,诺氟沙星,氧氟沙星,曲伐沙星),利福霉素(例如利福平(rifampicin)或利福平(rifampin),利福布汀,利福喷汀,利福昔明),磺胺类(例如磺胺米隆,百浪多息,磺乙酰胺,磺胺甲二唑,氨苯磺胺,柳氮磺吡啶,磺酰异噁唑,甲氧苄氨嘧啶,甲氧苄氨嘧啶-磺胺甲噁唑(磺胺甲基异噁

唑,“tmp-smx”)和四环素类(例如地美环素,多西环素,米诺环素,土霉素,四环素),以及肿凡纳明,氯霉素,克林霉素,林可霉素,乙胺丁醇,磷霉素,夫西地酸,呋喃唑酮,异烟肼,利奈唑胺,甲硝唑,莫匹罗星,呋喃妥因,平板霉素,吡嗪酰胺,奎奴普丁/达福普汀组合和替硝唑。

[0141] 进一步的实施方案提供用于治疗移植接受者或有此需要的受试者的ABMR或降低其严重程度的方法,所述方法包括施用标准护理方案,包括他克莫司、吗替麦考酚酯(mycophenolate mofetil)和/或类固醇,以及施用有效量的克拉扎珠单抗或其抗体或其抗原结合片段。

[0142] 试剂盒

[0143] 在不同的实施方案中,本发明提供了供被诊断患有ABMR或表现出ABMR的体征的移植接受者使用的试剂盒或制品。试剂盒或制品是材料或组分的集合,包括克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段或具有包含分别包含在针对 V_H 的CDR1的SEQ ID NO:1、针对 V_H 的CDR2的SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3、针对 V_H 的CDR3的SEQ ID NO:4中的CDR1、CDR2或CDR3或其组合的 V_H 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 V_L 多肽的多肽;带有使用说明的标签或包装插页;一个或多个器皿作为容器或包装材料;和任选地一种或多种稀释剂。

[0144] 在试剂盒中配置的组分的确切性质取决于其预期目的。在一个实施方案中,该试剂盒特别地配置用于人类受试者。在进一步的实施方案中,试剂盒被配置用于兽医学应用,以治疗受试者例如但不限于农场动物、家畜和实验动物。

[0145] 使用说明书可以包含在试剂盒中。“使用说明书”通常包括有形表达,其描述了在使用试剂盒的组分以实现期望的结果(例如减少被诊断患有ABMR或表现出ABMR的体征的受试者中的DSA)中所采用的技术。任选地,试剂盒还可包含其他有用的组分,例如,测量工具、稀释剂、缓冲液、药学上可接受的载体、注射器或如本领域技术人员将容易认识到的其他有用的用具。

[0146] 试剂盒中组装的材料或组分可以以保持其可操作性和实用性的任何方便且合适的方式储存而提供给从业者。例如,组分可以是溶解的、脱水的或冻干的形式;它们可以在室温、冷藏或冷冻温度下提供。组分通常包含在合适的一种或多种包装材料中。如本文所用,短语“包装材料”是指用于容纳试剂盒的内容物(例如本发明的组合物等)的一种或多种物理结构。包装材料通过公知的方法构造,优选地以提供无菌的、无污染物的环境。如本文所用,术语“包装”是指能够容纳各个试剂盒组分的合适的固体基质或材料,例如玻璃、塑料、纸、箔等。因此,例如,包装可以是用于容纳适当量的本发明的组合物的瓶,所述组合物包含克拉扎珠单抗、克拉扎珠单抗的IL-6结合片段;具有包含分别包含在SEQ ID NO:1、2或3和4中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 V_H 多肽和具有包含分别包含在SEQ ID NO:5、6和7中的CDR1、CDR2和CDR3多肽的 V_L 多肽的多肽;或其保守置换、添加或缺失的变体。包装材料通常具有外部标签,其指示试剂盒和/或其组分的内容物和/或目的。

实施例

[0147] 提供以下实施例以更好地举例说明要求保护的发明,并且不应将其解释为限制本发明的范围。就提及特定材料的程度而言,其仅出于举例说明的目的,并不旨在限制本发

明。本领域技术人员可以开发等同的手段或反应物,而无需发挥创造能力并且不背离本发明的范围。

[0148] 实施例1.I/II期试验以评估克拉扎珠单抗作为在肾移植后消除cABMR患者的供体特异性HLA抗体(DSA)和改善结局的药剂的安全性和耐受性。

[0149] 简要研究总结

[0150] 这会是一项单中心、I/II期、开放标签单臂探索性研究,重点是招募8-10名经活检证实患有慢性抗体介导的排斥反应(cABMR)、移植肾小球病(TG)和活检时存在供体特异性抗体(DSA+)的患者。符合条件的患者将接受每月x六个剂量的克拉扎珠单抗(抗IL6单克隆抗体)。方案活检将在6个月时进行,并且如果来自活检的cABMR病理学特征与索引活检相比有所改善(例如,估计的肾小球滤过率(eGFR)、血清肌酐(SCr)),患者将继续接受另外的六个剂量持续长达12个月。对于完成12个剂量的患者,将进行第12个月的方案活检。对于仅接受六个剂量的患者,下一次和最后一次研究访问将在入组后12个月进行。总研究时间为12个月。(图1)。

[0151] 该试验将主要检查在对表现出DSA的受试者(15-75岁)中诊断cABMR后施用的克拉扎珠单抗对其供体的安全性和耐受性。入组的患者已基于Banff 2015标准在移植后被诊断为cABMR+TG。如通过MDRD方程(Schwartz方程将用于估计18岁以下患者的CrCl)计算的,患者在入组时需要具有 $eGFR > 30 \text{ mL/min/1.73m}^2$ 。所有患者均来自Cedars-Sinai医疗中心的肾移植项目。一旦诊断cABMR,就评估与cABMR和/或移植物丢失相关的供体特异性抗HLA抗体(DSA)。DSA使用目前在Cedars-Sinai医学中心HLA实验室中使用的固相测定系统进行检测。这些抗HLA抗体可能是自然产生的,或可能来自先前的怀孕、输血或先前的移植。用克拉扎珠单抗治疗cABMR的患者将具有针对DSA的实验室,和其他监测实验室以及所概述的免疫学研究。除了标准的移植后免疫抑制方案外,cABMR患者将接受每4周(30天)给予的25mg SC的克拉扎珠单抗,总共6个剂量。如果在初始剂量后没有观察到安全性/耐受性/有效性问题,患者将继续所概述的方案。将在第6次和第12次克拉扎珠单抗剂量后进行方案活检,以评估同种异体移植物的cABMR/ABMR证据,包括使用Banff 2015标准的C4d染色和TG。停止治疗后,将比较索引和方案活检之间的Banff评分。具有持续存在的同种异体移植物功能障碍的证据的患者可能进行非方案活检以研究病因。完成克拉扎珠单抗治疗后,将对患者进行随访以评估同种异体移植物功能和任何cABMR发作。此外,将在克拉扎珠单抗治疗开始前后的时间点进行几项免疫学测定,包括评估 T_{reg} 细胞($CD4+/CD25+/Fox P3+/CD127^{dim}$)、T辅助17细胞(Th17)、T滤泡辅助细胞(T_{fh} , $CD4+$, $ICOS+$, $CXCR5+$, $IL-21+$)、循环浆母细胞($CD19+/CD38+/CD27+/IL-6+$)、IL-6和C反应蛋白(CRP)水平,以及通过中心协议进行针对爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)、巨细胞病毒(CMV)、BK多瘤病毒BK/JC多瘤病毒和细小病毒B19的病毒PCR监测。该研究包括标准护理维持方案,主要包括他克莫司、吗替麦考酚酯和/或类固醇。考虑参加本研究的患者可能已接受高剂量IVIG+利妥昔单抗和/或血浆去除术的治疗;但他们对这些治疗的反应在减轻cABMR的症状或严重程度方面无效。此外,一些患有早期、严重ABMR的患者可能已经用依库珠单抗(eculizumab)治疗。

[0152] 对受试者进行跟踪以确定在该高风险移植群体中使用克拉扎珠单抗治疗cABMR是否安全且没有感染风险。此外,研究人员还确定了克拉扎珠单抗治疗对在6个月时进行的肾活检评估的影响。在当时评价了肾功能、供体特异性抗体和Banff 2015活检评分的评估。如

果观察到改善或稳定,克拉扎珠单抗将恢复每月x 6个剂量(从第180天开始到第330天),并且最后一次研究访问将在第365天使用活检进行。研究人员将评估移植的患者以确定维持可存活且功能正常的同种异体肾移植的人数。在患者在接受6个剂量的克拉扎珠单抗后没有表现出改善的情况下,不会给予进一步治疗,并且患者将在第365天返回进行最终研究访问。所有受试者都将在意向治疗的基础上进行评估。在最初的三个月中,受试者增加率将限制为每月不超过1-2名受试者,以确保所有受试者的安全。克拉扎珠单抗治疗完成时将进行重复实验室,以确定对水平的影响以及与任何潜在事件的相关性。

[0153] 主要结果测量:基于luminex HLA测试的供体特异性抗体消除[时间范围:12个月];克拉扎珠单抗是否消除或减弱供体特异性抗体强度。通过BANFF活检分级标准的cABMR的临床特征的稳定。[时间范围:12个月]克拉扎珠单抗是否有助于稳定6个月和12个月方案活检时抗体介导的排斥反应的病理特征?

[0154] 次要结果测量:血清肌酐[时间范围:12个月]。将在整个研究的多个时间点收集血清肌酐(mg/dl)以计算eGFR。免疫标志物[时间范围:12个月]。在整个研究的多个时间点收集免疫标志物。治疗相关不良事件的发生率[时间范围:12个月]。不良事件监测、实验室评估、病毒PCR监测。

[0155] 纳入标准:1.筛选时年龄为15-75岁。2.如Banff 2015定义的活检证实的cABMR和活检上的TG,以及活检时DSA阳性。3.受试者/家长/监护人必须能够理解并提供知情同意。4.接种肺炎球菌疫苗。5.阴性结核菌素ppd结果或阴性Quantiferon TB gold。

[0156] 排除标准:1.多器官移植(例如肾和胰腺)。2. eGFR<30mL/min/1.73m²。3.晚期移植肾小球病(CG3)。4.先前对单克隆抗体的过敏反应。5.哺乳期或怀孕女性。6.在研究期间和在最后一次剂量后5个月内不愿意或不能采取FDA批准的避孕方式的育龄妇女。7. HIV阳性受试者。8. 针对通过HBVeAg/DNA的HBV或HCV感染测试为阳性的受试者[阳性抗-HCV(EIA)和确认的HCV RIBA]。9. 患有潜伏性或活动性TB的受试者。受试者必须具有阴性Quantiferon TB gold测试结果。10. 在筛选访问的两个月内任何许可或研究的减毒活疫苗的最近接受者j) 显著异常的一般血清筛选实验室结果定义为WBC<3.0X10³/ml, Hgb<8.0g/dL, 血小板计数<100X 10³/ml, SGOT或SGPT>3X上限正常。11. 被认为无法遵守协议的个体。12. 患有活动性CMV或EBV感染的受试者,由CMV特异性血清学(IgG或IgM)定义并通过定量PCR确认有或没有相容疾病。13. 在参与后4周内使用研究药物。14. 病史或活动性炎症性肠病或憩室病或胃肠道穿孔。15. 近期感染(筛选的前6周之内)需要任何抗生素使用(口服、肠胃外或局部)。16. 现有或既往(5年内)恶性肿瘤,基底细胞癌、完全切除的皮肤鳞状细胞癌或非复发性(5年内)宫颈原位癌除外。

[0157] 为了本研究的目的,ABMR被定义为-

[0158] • 通过eGFR测量的移植接受者中同种异体移植物功能的恶化(定义为eGFR>从基线的30cc/min减少)。

[0159] • 与通过luminex技术测量的DSA(通常强度增加)的存在相关。

[0160] • 根据Banff 2015标准,通过活检的cABMR和TG活检证据。

[0161] 研究期间同种异体移植物排斥反应发作的治疗

[0162] 对于对脉冲类固醇无反应的细胞介导的排斥反应发作,用“脉冲”甲基强的松龙(methylprednisolone)(10mg/kg/天,对于>100kg最大1000mg持续3天)和抗胸腺细胞球蛋

白(每天1.5mg/kg×4)治疗研究期间发生的活检证实的排斥反应发作。在研究药物治疗后经历复发的ABMR发作的患者最初将接受脉冲甲基强的松龙(10mg/kg/天,对于>100kg最大1000mg),每天静脉内×3个剂量,然后,根据严重程度,接受IVIG 10%溶液2gm/kg(对于>70kg最大140g),静脉内×1个剂量,然后是在最后一个IVIG剂量后三到五天的利妥昔单抗(375mg/m²,四舍五入到最接近的100mg),静脉内×1个剂量。在观察到同种异体移植功能的迅速恶化和/或诊断有血栓性微血管病的情况下,患者将接受血浆交换×3-5次,然后是抗C5(依库珠单抗),每周静脉内×4周(第一周1200mg,然后是每周900mg持续3周)。如果需要,将通过确定肾功能改善、监测DSA反应和重复同种异体移植活检来评估治疗效果。

[0163] 在高度致敏的患者中监测移植后的AE/SAE

[0164] 将在用克拉扎珠单抗进行ABMR治疗后监测不良事件(AE)和严重不良事件。这些包括仔细关注可能与克拉扎珠单抗治疗相关的感染并发症。申请人已经评估了与IVIG+利妥昔单抗脱敏和阿仑单抗诱导治疗随后用他克莫司、MMF和强的松维持治疗相关的感染并发症。数据显示,与低风险患者组相比,在阿仑单抗诱导后脱敏方案的使用不增加移植后常见或严重感染的风险。严重感染被定义为需要静脉注射抗生素或住院治疗的任何病毒感染和真菌或细菌感染。因此,治疗后即时研究(克拉扎珠单抗)中的感染风险将可能与非致敏患者相似和相当。参与本研究的所有患者都需要接种疫苗,因为数据表明,与低风险患者组相比,在阿仑单抗诱导后此脱敏方案的使用不增加移植后常见或严重感染的风险。严重感染被定义为需要静脉注射抗生素或住院治疗的任何病毒感染和真菌或细菌感染。因此,ABMR治疗后研究组(克拉扎珠单抗)中的感染风险将可能与非致敏患者相似和相当。参加本研究的所有患者都需要接种肺炎链球菌疫苗。

[0165] 患者和方法

[0166] 自2018年2月以来,8名患有经活检证实的cABMR+移植肾小球病(TG)和DSA+的成年患者参加了I/II期、单中心、开放标签的探索性研究。所有患者每月接受25mg克拉扎珠单抗皮下注射,共6个剂量,然后进行6月方案活检。监测患者的DSA相对强度评分[RIS];0=无DSA;2=<5000MFI(弱);5=5000-10⁴MFI(中等);10=>10⁴MFI(强)、肾功能、C-反应蛋白(CRP)水平和T调节细胞(Treg)反应。

[0167] 所有研究患者,无论其巨细胞病毒(CMV)状态如何,均在肾移植后6个月内在住院期间接受IV更昔洛韦和作为门诊患者时接受缬更昔洛韦,并针对肾功能调整剂量。在移植后1个月内每天使用100mg氟康唑完成真菌预防。在移植后12个月内每天使用甲氧苄啶80mg和磺胺甲噁唑400mg完成耶氏肺孢子菌(*Pneumocystis jirovecii*)肺炎和细菌预防。对于在移植后超过一年参加本试验的患者,不需要额外的预防措施。

[0168] 克拉扎珠单抗小瓶应在≤-20°C(-4°F)下避光储存。药物产品将以25mg/mL的浓度未经稀释施用。准备好的注射器可以在冰箱中在2°-8°C(36°-46°F)储存长达24小时,并且该24小时中的最多4小时可以在室温,15°-25°C(59°-77°F)。准备好的注射器应避光。施用前,克拉扎珠单抗应在使用前通过未冷藏地保存30至60分钟来达到室温。

[0169] 结果

[0170] 所有患者在克拉扎珠单抗后表现出CRP水平的显著降低。100%的患者的DSA为II级(DQ,75%)。6个月后,观察到DSA水平(DSA-RIS)的平均相对强度评分降低(历史的6.50±3.07相对6M时的3.25±4.27,p=0.637),而平均GFR保持稳定(0M时的43.25±7.63ml/min

相对6M时的 $41.35 \pm 8.54 \text{ ml/min}$, $p=0.647$)。6月活检显示Banff评分的以下变化:肾小球炎+管周毛细血管炎(g+ptc)0M时的4.38至6M时的3.38 ($p=0.0097$),肾小球双轮廓(cg)0M时的2.13至6M时的1.88 ($p=0.718$),内膜动脉炎(v)在0M和6M时的0至0,补体-4d蛋白(C4d)0M时的1.50至6M时的1.25 ($p=0.693$),i-IFTA(免疫显性间质纤维化/板状萎缩)0M时的0.563至6M时的1.75 ($p=0.036$)。(图2和3A)。Treg细胞在3M时趋于增加。本专利申请的制备过程中没有发生严重不良事件。在计算DSA总MFI(量表)时,患者MFI>10k被认为是10,5k至10k的MFI被认为是5,弱MFI被认为是2,和没有MFI被认为是0。

[0171] 用克拉扎珠单抗治疗的cABMR+TG患者表现出肾功能的稳定和DSA RIS的改善。活检结果显示降低的g+ptc、cg和C4d评分的趋势。

[0172] 详细的每月SCr eGFR数据显示在表1中。研究中不同时间点的IgG、CRP和Treg水平显示在表2中。表3显示了研究中八名患者的详细的疾病状况、既往治疗史和过去的活检记录。表4提供了对应于图3B的各个时间点的详细DSA水平。

[0173] 实施例2.cABMR患者的克拉扎珠单抗治疗降低总免疫球蛋白(Ig)和抗HLA IgG抗体水平

[0174] 克拉扎珠单抗在体外抑制IL-6/IL-6R信号传导方面的效力是托珠单抗的3-120倍。在使用克拉扎珠单抗改善致敏的肾移植患者中的cABMR的研究中,测量了克拉扎珠单抗治疗前后的IgG、IgM、IgA、IgG亚类、抗HLA IgG的水平和供体特异性抗体(DSA)水平。

[0175] 在克拉扎珠单抗(25mg SQ,每月)之前和之后6个月从7名cABMR患者获得的血浆样品通过ELISA测试总IgG、IgM、IgA和IgG₁₋₄亚类。抗HLA IgG和DSA通过单一珠Luminex测定法测量。抗HLA IgG和DSA(I类和II类)水平表示为相对强度评分;对于MFI>10K、5K-10K、<5K和无HLA抗体分别为10、5、2和0的评分被给予每个检测的抗体,并且这些的总和是具有多个HLA抗体的血浆的最终评分。

[0176] 总IgG、IgG₁和IgG₂在克拉扎珠单抗后显著降低,而在总IgM、IgA、IgG₃和IgG₄中未见降低(表5)。抗HLA IgG也在克拉扎珠单抗后显著降低;7名患者中有4名(57%)显示在克拉扎珠单抗后的降低,其余3名具有低评分(<6)的患者没有变化。2名患者中的DSA在克拉扎珠单抗后降低,3名具有DSA和2名不具有DSA的患者显示没有变化。

[0177] 因此,克拉扎珠单抗通过阻断IL-6的作用抑制了可能由于非特异性B细胞抑制引起的Ig(包括总IgG、IgG₁、IgG₂、抗HLA IgG和DSA)产生。这被认为有助于改善所述患者群体中的cABMR。

[0178] 实施例3. IL-6在ABMR的介导中的作用

[0179] 我们研究了IL-6过表达在ABMR的介导中的作用,并测量了等待肾移植的终末期肾病(ESRD)患者的外周血中的血清细胞因子水平。

[0180] 图4B显示了IL-6水平在具有静止同种异体移植物的患者中相当低。图4G显示了ABMR患者显示与ABMR发作一致的IL-6血清水平的显著升高。该数据表明血清IL-6水平的升高可用作抗体损伤介导的同种异体移植物功能障碍的早期标志物。

[0181] 接下来申请人确定了在经历同种异体移植物排斥反应的患者的活检中IL-6的表达。检查了来自具有正常肾脏的患者、具有细胞排斥反应的患者和具有ABMR的患者的肾活检材料。切片用针对IL-6的抗血清染色,并通过形态测量扫描显微镜进行评估。图5A显示IL-6+细胞的数量在证明ABMR的活检中显著增加。图5B从形态计量学分析中量化了天然肾

脏(天然, n=6, 具有薄基底膜疾病)、无排斥反应的移植物(tx, n=9)、具有细胞介导的排斥反应(CMR, n=12)和抗体介导的排斥反应(ABMR, n=11)的移植物中每个染色的每 mm^2 组织的IL-6+细胞数。这表明IL-6/IL-6R相互作用在介导ABMR和增强的DSA产生中的可能作用。结合关于ABMR患者血清中IL-6的升高的水平的数据, 这些发现被认为表明IL-6在抗体介导的对同种异体移植物的损伤中起重要作用, 和IL-6阻断在ABMR和甚至cABMR和TG的管理中是潜在的重要疗法。

[0182] 实施例4. 克拉扎珠单抗治疗的cABMR+TG患者在治疗18个月后表现出肾功能的稳定和DSA相对强度评分的改善。

[0183] 在实施例1的研究中, 所有患者每月接受克拉扎珠单抗25mg皮下注射, 共6个剂量, 进行6月方案活检, 随后接受6个每月25mg剂量。在12个月的治疗后, 患者能够进入长期延长期(LTE), 以每隔一个月皮下接受25mg克拉扎珠单抗。监测患者的DSA相对强度评分(RIS)、肾功能、CRP水平和T调节(Treg)细胞反应。当没有检测到DSA时, $\text{RIS}=0$; 当DSA平均荧光强度大于0且 ≤ 5000 时, (弱MFI), $\text{RIS}=2$; 当DSA平均荧光强度在5000至 10^4 时, (中等MFI), $\text{RIS}=5$; 当DSA平均荧光强度 $\geq 10^4$ (强MFI)时, $\text{RIS}=10$ 。

[0184] 8名患者继续接受克拉扎珠单抗治疗, 其中7名患者已经转变为LTE给药(N=5已经接受了18个月的治疗)。迄今为止, 两名患者退出研究, 一名患者进展为移植失败并在治疗四个月后退出, 一名患者在7个月后更愿意返回托珠单抗(抗IL6-R)治疗。所有患者在克拉扎珠单抗后显示CRP水平的显著降低(0个月时的 1.11 ± 1.25 相对12个月时的 0.43 ± 0.17 , $p=0.31$)。12个月后, 平均DSA-RIS的降低持续(历史的 6.40 ± 3.31 相对12个月时的 3.43 ± 4.58 , $p=0.14$), 并且在5名患者中, DSA-RIS在18个月时仍然降低(6.40 ± 3.31 相对18个月时的 2.50 ± 4.18 , $p=0.06$); 对于DSA MFI参见图13。100%的患者的DSA为II级(DQ, 80%)。平均eGFR在12个月时保持稳定(0个月时的 $41.90 \pm 12.09 \text{mL/min}$ 相对12个月时的 $38.86 \pm 10.42 \text{mL/min}$, $p=0.60$); 和在5名患者中在18个月时保持稳定(0个月时的 $41.90 \pm 12.09 \text{mL/min}$ 相对18个月时的 $44 \pm 9.51 \text{mL/min}$, $p=0.74$); 参见图14。Treg细胞在12个月时趋于增加(0M时的 $2.39 \pm 1.02\%$ 相对12M时的 $3.30 \pm 1.13\%$, $p=0.12$)。没有严重不良事件被认为与药物直接相关。

[0185] 用克拉扎珠单抗治疗的cABMR+TG患者在治疗18个月后表现出肾功能的稳定和DSA RIS的改善。

[0186] 以上在详细描述中描述了本发明的各种实施方案。尽管这些描述直接描述了上述实施方案, 但是应当理解, 本领域技术人员可以想到对这里示出和描述的特定实施方案的修改和/或变化。落入本说明书范围内的任何这样的修改或变化也意图包括在其中。除非特别指出, 否则发明人的意图是将说明书和权利要求书中的词语和短语赋予适用领域的普通技术人员普通和习惯的含义。

[0187] 已经提出了申请人在提交申请时的本发明的各个实施方案的前述描述, 并且其意图是为了举例说明和描述的目的。本说明书不旨在是详尽的, 也不旨在将本发明限制为所公开的精确形式, 并且根据以上教导, 许多修改和变型是可能的。所描述的实施方案用于解释本发明的原理及其实际应用, 并且使本领域的其他技术人员能够在各种实施方案中以适于预期的特定用途的各种修改来利用本发明。因此, 意图是本发明不限于公开的用于执行本发明的特定实施方案。

[0188] 尽管已经示出和描述了本发明的特定实施方案,但是对于本领域技术人员而言明显的是,基于本文的教导,可以在不脱离本发明及其更广泛的方面和范围的情况下进行改变和修改。因此,所附权利要求书将在本发明的真实精神和范围内的所有这些改变和修改都包含在其范围内。本领域技术人员将理解,通常,本文中使用的术语通常旨在作为“开放”术语(例如,术语“包括”应解释为“包括但不限于”,术语“具有”应该被解释为“至少具有”,术语“包含”应被解释为“包含但不限于”,等等)。

[0189] 如本文所用,术语“包含”或“包括”用于指对实施方案有用的,但对包括未指定的元素(无论是否有用)开放的组合物、方法及其相应的一种或多种组分。本领域技术人员将理解,通常,本文中使用的术语通常旨在作为“开放”术语(例如,术语“包括”应解释为“包括但不限于”,术语“具有”应该被解释为“至少具有”,术语“包含”应被解释为“包含但不限于”,等等)。尽管在本文中使用的开放术语“包括”作为术语诸如包括、包含或具有的同义词来描述和要求保护本发明,但是可替代地可以使用替代术语诸如“由...组成”或“基本上由...组成”来描述。

[0190] 表1.研究中八名患者(均为白种人,01-07男性,08女性)的每月SCr eGFR水平。

患者 ID	年龄	Tx	TX #	Scr 基线	eGFR 基线	SCr 1M	eGFR 1M	SCr 2M	eGFR 2M	SCr 3M	eGFR 3M	SCr 4M	eGFR 4M	SCr 5M	eGFR 5M	SCr 6M	eGFR 6M	平均 SCr	平均 eGFR			
CLAZA BMR01	70	LURT	4	1.5	46	1.4	50	1.3	55	1.56	44	1.43	46	1.53	45	1.4	50	1.4	48			
CLAZA BMR02	67	DD	4	1.76	39	1.5	47	1.71	40	1.65	42	1.64	42	1.6	43	1.52	46	1.6	43			
CLAZA BMR03	40	LRRT	1	2.11	35	2	37	2.19	33	2.27	32	2.19	33	2.22	33	2.2	33	2.2	34			
CLAZA BMR04	57	LURT	1	1.4	52	1.4	52	1.47	49	1.65	43	1.59	45	1.6	45	1.73	41	1.6	46			
CLAZA BMR05	62	LURT	1	1.5	47	1.3	56	1.44	50	1.63	43	1.38	52	1.45	49	1.36	53	1.4	51			
CLAZA BMR06	21	DD	1	2	42	2.1	40	2.55	32	2.39	35	2.57	32	2.48	33	2.3	48	2.4	37			
CLAZA BMR07	51	LRRT	1	1.4	53	1.4	53	1.57	47	1.6	46	1.5	49	1.65	44	1.71	42	1.6	47			
CLAZA BMR08	50	DD	1	1.7	32	1.8	30	2.01	26	1.82	29	2.02	26	2.45	21	2.29	23	2.1	26			
																	平均 SCr	平均 eGFR	6M 平均 SCr	平均 eGFR		
																	1.67	43.25		1.78	41.35	
																	0.27	7.63	标准偏差		0.37	8.54
																	t 检验		0.65			

[0192] 表2.研究中八名患者的在不同时间点的IgG、CRP和Treg水平。

研究ID	Tx	tx 的日期	Tx #	IgG 基线	IgG 3M	IgG 6M	CRP 基线	CRP 1M	CRP 2M	CRP 3M	CRP 4M	CRP 5M	Treg 基线	Treg 3M	Treg 6M
CLAZABMR01	LURT	6/14/2013	4	1030	1029	991	1.1	ND	0.7	0.5	0.3	0.5	1.3	1.3	1.1
CLAZABMR02	DD	1/29/2015	4	669	603	592	1.3	ND	0.2	0.4	0.4	0.2	2.2	1.7	1.8
CLAZABMR03	LRRT	12/21/1995	1	796	nd	741	0.3	0.4	0.4	0.4	0.3	0.2	2.2	3.1	1.9
CLAZABMR04	LURT	8/27/2010	1	725	nd	538	0.3	0.5	0.3	0.7	0.3	0.2	3.9	4.5	1.8
CLAZABMR05	LURT	1/20/2015	1	778	721	679	4.2	0.5	0.5	0.4	0.5	0.3	1.7	2.2	1.9
CLAZABMR06	DD	7/10/2004	1	755	935	332	0.7	0.5	0.6	0.2	0.2	0.4	4.1	4.4	2.1
CLAZABMR07	LRRT	6/24/2008	1	1700	983	860	1.5	0.5	0.2	0.3	0.3	0.3	1.8	1.9	2.1
CLAZABMR08	DD	7/8/2014	1	767	610	待定	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	待定	2.3	1.9	待定
				平均	902.5	814	676	1.2	0.4	0.4	0.4	0.3	2.4	2.6	1.8
							T检验 CRP		0.07						

[0194] 表3.研究中八名患者的简要病史。

[0195]

患者 ID	Dx	Tx	Tx 日期	Tx #	历史 DSA	MFI 评 级	治疗历史	过去的活检	C4D +
CLAZA	慢性肾小	LURT		4	dnDSA	5	在 tx 时 des:	6/2013) 轻	
BMR01	球肾炎和 髓质海绵 肾		06/14/13		DQ1*05	5000-6250	plex+IVIG +ritux 9/2017) ivig +ritux	度急性肾小 管损伤, 无 排斥反应证 据	
								6/6/17, 其显	

								示慢性、活动性 AMR 伴肾小球炎和 TG。只有轻微的 IFTA
	CLAZA BMR02	高血压肾 硬化	DD	4	DP17	2	在 trx 时 actemra x6, 然后在 trx 后 6M 6/2016 gazyva x 1 11/2017) 1 g obi x 1	5/16/16 显示慢性、活动性 AMR、临界炎症浸润和 FSGS(可能是继发性的)。
				01/29/15		弱		
[0196]	CLAZA BMR03	先天性发育不良肾脏	LRRT	1	dnDSA DQ7	1 0	9/2011: IVIG 和利妥昔单抗 11/2017: PLEX x 3, 随后是 IVIG 剂量和 Rituxan.	BX- CMR 2006 年 9 月, Bx 9/2011, TG, CNI 毒性 4/3/15 TG 慢性 ABMR; 局灶性肾小球炎、继发性 FSGS、与 CNI 毒性一致的严重小动脉玻璃样变
				12/21/95		>17500		
	CLAZA BMR04	髓质囊性肾病	LURT	08/27/10	1 DR51 (dnDSA)	5	2/2016: ivig + ritux	2/26/16 显示是急性/活动性
						5000-6250		

)		10/2017:	AMR 和轻度	
						ivig	动脉和小动脉硬化	
							10/2017: 弱	
							C4d 阳性和局灶性管周毛细血管炎和局灶性肾小球炎的特征	
	CLAZA	htn	LURT	1	dnDSA	1	3/2016) ivig	3/16/16 揭示 是
	BMR05				DQ8	0	+ritux	了 Banff 1A
							11/2016)	CMR 和慢性
			01/20/15				plex + ritux	活性 AMR;
[0197]						> 17500	2/2017)	扩散、温和的管周毛细
							ritux	血管 C4d 染色; 继发性
								FSGS
	CLAZA	后尿道瓣	DD	1	dnDSA	1	2011)	2011) Bx 显 是
	BMR06	膜伴反			DQ7	0	RITUX	示
		流、梗阻					+IVIG	CMR+ABM
		性尿路病					7/2015)	R 的证据
		和肾盂肾	07/10/04				IVIG	2/2013 证明
		炎					+ACTEMR	AMR
							A	7/2015) 急
							6/2016	性 cABMR
							GAZYVA	5/2016)慢性
							X1G	活动性

[0198]

								ABMR、 FSGS、轻度 if/ta 1/2018) 慢 性活动性 ABMR, 继发 性 FSGS, 轻 度 if/ta
CLAZA BMR07	肉芽肿伴 多血管炎	LRRT	06/24/08	1	dnDSA DQ2	5	移植前用 IVIG 和利 妥昔单抗治 疗以最小化 ANCA 阳性 肾小球肾炎 的复发 11/2016 plex 4, ritux + ivig 5/2017: PLEX x 5, 随后 IVIG + actemra BEFORE STUDY - PLEX + IVIG	11/1/16 显示 是 轻度至中度 活动性和慢 性 AMR, 最 小 if/ta 3/20/18 表现 出慢性活动 性 AMR, C4d 阳性
CLAZA BMR08	病因不明	DD	07/08/14	1	dnDSA DQ4	5	Dec 2014) IVIG +ritux 8/2016) ivig	12/9/2014 Banff 1B 急 性 CMRb 肾

[0199]

+ gazyva 小球和管状
7/2017) ivig 导管和与
+ actemra x ABMR 一致
6 的微血管炎
症; 7/18/17
与活性
cABMR 一
致。中度/重
度 IFTA

[0200] 表4. 研究中八名患者在不同时间点的DSA水平。(患者CLAZABMR03具有强AT1R,>40IU)。

患者 ID	基线	日期	MFI	评	DSA	日期	MFI	评	DSA	日期	MFI	评
	(研究			级	3M			级	6M			级
	条目)											
CLAZABM R01	DQ1* 05	2/21/2018	5000-6250	5	DQ1* 05	5/23/2018	2500-3750	2	DQ1* 05	9/12/2018	3750-5000	2
CLAZABM R02	无 DSA	2/21/2018	0	0	无 DSA	5/23/2018	0	0	无 DSA	9/26/2018	0	0
CLAZABM R03	DQ7	2/21/2018	>1750	10	DQ7	5/2/2018	>1750	10	DQ7	9/27/2018	>1750	10
CLAZABM R04	无 DSA	2/21/2018	0	0	无 DSA	5/3/2018	0	0	无 DSA	9/27/2018	0	0
CLAZABM R05	DQ8	3/19/2018	2500-3750	2	DQ8	6/27/2018	2500-3750	2	DQ8	6/27/2018	2500-3750	2
CLAZABM R06	DQ7	5/2/2018	>1750	10	DQ7	7/6/2018	>1750	10	DQ7	8/31/2018	>1750	10
CLAZABM R07	DQ2	2/13/2018	5000-6250	5	DQ2	6/21/2018	3750-5000	2	DQ2	9/13/2018	3750-5000	2
CLAZABM R08	DQ4	5/30/2018	2500-3750	2	DQ4	8/2/2018	0	0	DQ4	10/25/2018	0	0

[0201]

[0202]

[0203] 表5. 通过ELISA定量的总IgG、IgM、IgA和IgG₁₋₄亚类的水平。

	克拉扎珠单抗前	克拉扎珠单抗后
总 IgG (mg/ml)	15.3±3.4	13.0±2.6*
IgG1 (mg/ml)	11.4±6.2	10.9±4.0[#]
IgG2 (mg/ml)	2.7±1.5	1.7±1.2*
IgG3 (mg/ml)	0.7±0.6	0.6±0.6
IgG4 (mg/ml)	0.1±0.1	0.1±0.1
总 IgM (mg/ml)	3.2±1.2	3.8±1.1
总 IgA (mg/ml)	4.2±0.9	4.2±0.8
抗-HLA IgG (评分)	47±47	43±44*
DSA (评分)	3.4±3.3	2.7±3.4

[0204] *p<0.05, 0.05<[#]P<0.1相对克拉扎珠单抗前。

[0205]

[0078]	<211>	166
[0079]	<212>	PRT
[0080]	<213>	人工序列
[0081]	<220>	
[0082]	<223>	VH
[0083]	<400>	8
[0084]	Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly	
[0085]	1	5 10 15
[0086]	Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro	
[0087]		20 25 30
[0088]	Gly Thr Pro Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser	
[0089]		35 40 45
[0090]	Asn Tyr Tyr Val Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu	
[0091]		50 55 60
[0092]	Trp Ile Gly Ile Ile Tyr Gly Ser Asp Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Trp	
[0093]		65 70 75 80
[0094]	Ala Ile Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu	
[0095]		85 90 95
[0096]	Lys Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala	
[0097]		100 105 110
[0098]	Arg Asp Asp Ser Ser Asp Trp Asp Ala Lys Phe Asn Leu Trp Gly Gln	
[0099]		115 120 125
[0100]	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val	
[0101]		130 135 140
[0102]	Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala	
[0103]		145 150 155 160
[0104]	Leu Gly Cys Leu Val Lys	
[0105]		165
[0106]	<210>	9
[0107]	<211>	109
[0108]	<212>	PRT
[0109]	<213>	人工序列
[0110]	<220>	
[0111]	<223>	另一个VH
[0112]	<400>	9
[0113]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly	
[0114]		1 5 10 15
[0115]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr	
[0116]		20 25 30

[0117]	Tyr Val Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0118]	35 40 45
[0119]	Gly Ile Ile Tyr Gly Ser Asp Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Trp Ala Ile
[0120]	50 55 60
[0121]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
[0122]	65 70 75 80
[0123]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
[0124]	85 90 95
[0125]	Arg Asp Asp Ser Ser Asp Trp Asp Ala Lys Phe Asn Leu
[0126]	100 105
[0127]	<210> 10
[0128]	<211> 109
[0129]	<212> PRT
[0130]	<213> 人工序列
[0131]	<220>
[0132]	<223> 另一个VH
[0133]	<400> 10
[0134]	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
[0135]	1 5 10 15
[0136]	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr
[0137]	20 25 30
[0138]	Tyr Val Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
[0139]	35 40 45
[0140]	Gly Ile Ile Tyr Gly Ser Asp Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Ser Ala Ile
[0141]	50 55 60
[0142]	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
[0143]	65 70 75 80
[0144]	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
[0145]	85 90 95
[0146]	Arg Asp Asp Ser Ser Asp Trp Asp Ala Lys Phe Asn Leu
[0147]	100 105
[0148]	<210> 11
[0149]	<211> 163
[0150]	<212> PRT
[0151]	<213> 人工序列
[0152]	<220>
[0153]	<223> VL
[0154]	<400> 11
[0155]	Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp

[0156]	1	5	10	15
[0157]	Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser			
[0158]		20	25	30
[0159]	Val Ser Ala Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser			
[0160]		35	40	45
[0161]	Gln Ser Ile Asn Asn Glu Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln			
[0162]		50	55	60
[0163]	Arg Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val			
[0164]		65	70	75
[0165]	Ser Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr			
[0166]		85	90	95
[0167]	Ile Ser Asp Leu Glu Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln			
[0168]		100	105	110
[0169]	Gly Tyr Ser Leu Arg Asn Ile Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu			
[0170]		115	120	125
[0171]	Val Val Val Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro			
[0172]		130	135	140
[0173]	Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu			
[0174]		145	150	155
[0175]	Leu Asn Asn			
[0176]	<210> 12			
[0177]	<211> 99			
[0178]	<212> PRT			
[0179]	<213> 人工序列			
[0180]	<220>			
[0181]	<223> 另一个VL			
[0182]	<400> 12			
[0183]	Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp			
[0184]	1	5	10	15
[0185]	Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Asn Asn Glu Leu			
[0186]		20	25	30
[0187]	Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr			
[0188]		35	40	45
[0189]	Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser			
[0190]		50	55	60
[0191]	Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp			
[0192]		65	70	75
[0193]	Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ser Leu Arg Asn Ile			
[0194]		85	90	95

[0195] Asp Asn Ala

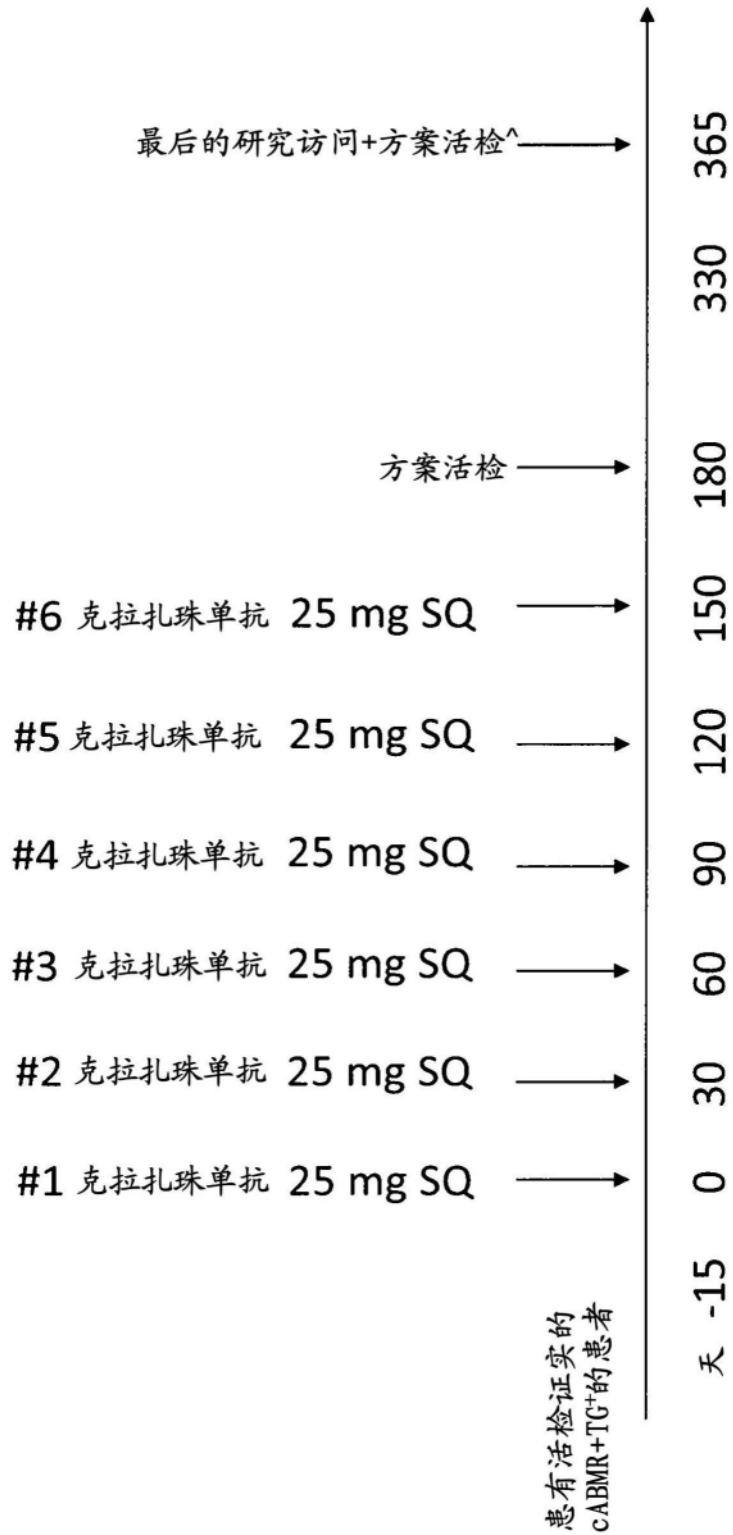


图1

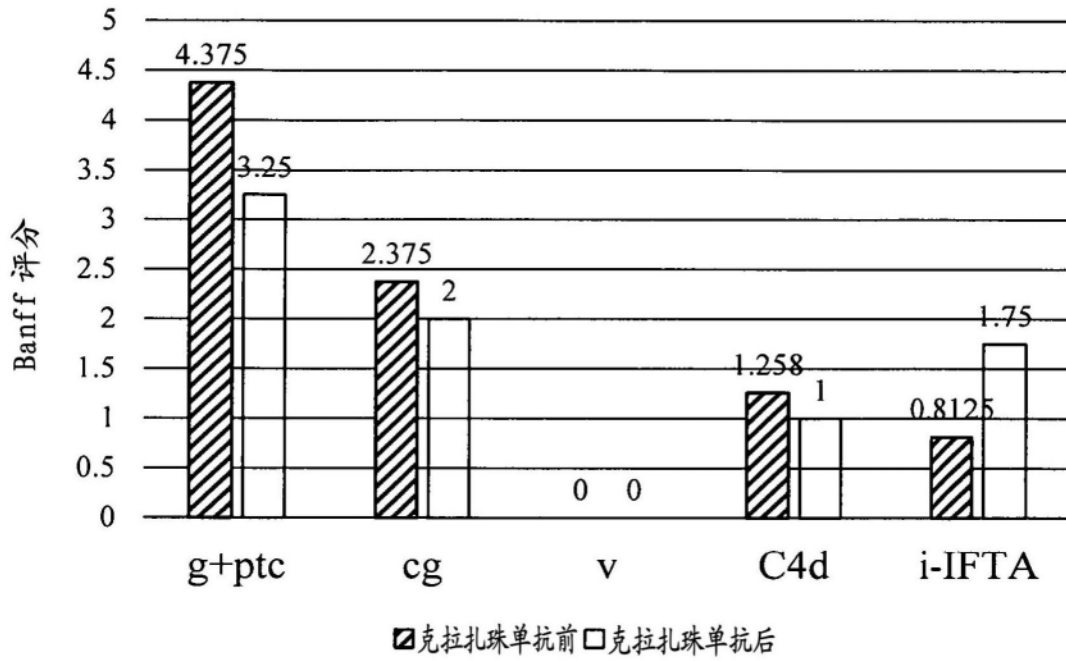


图2

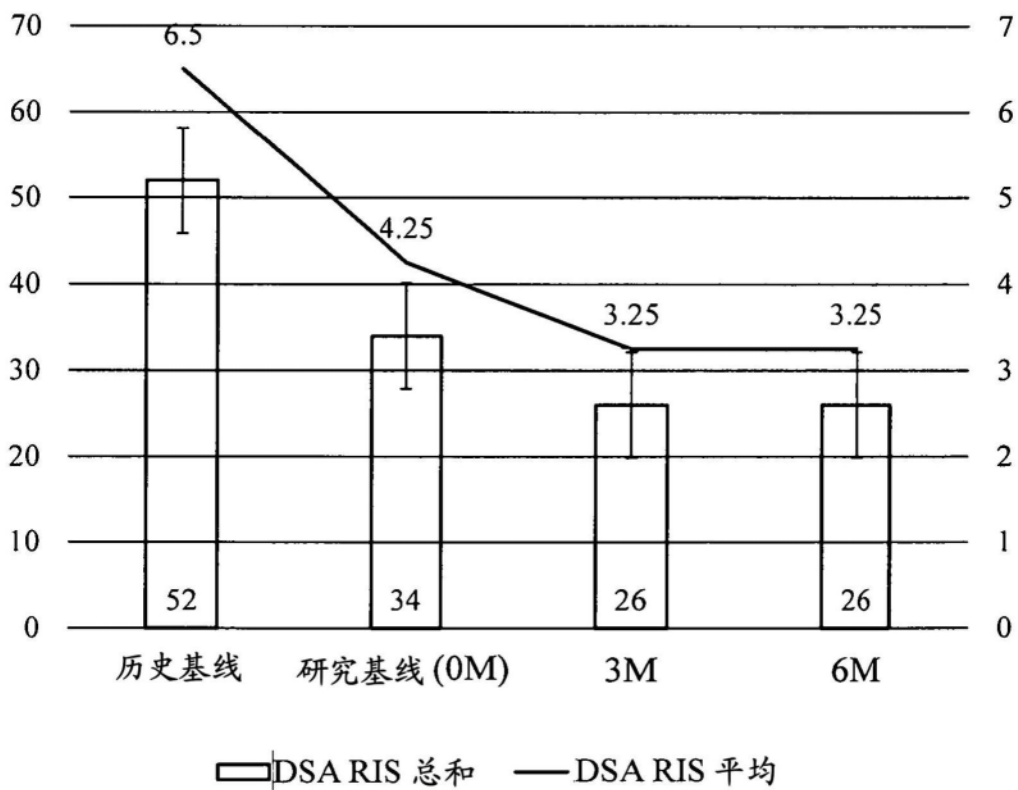


图3A

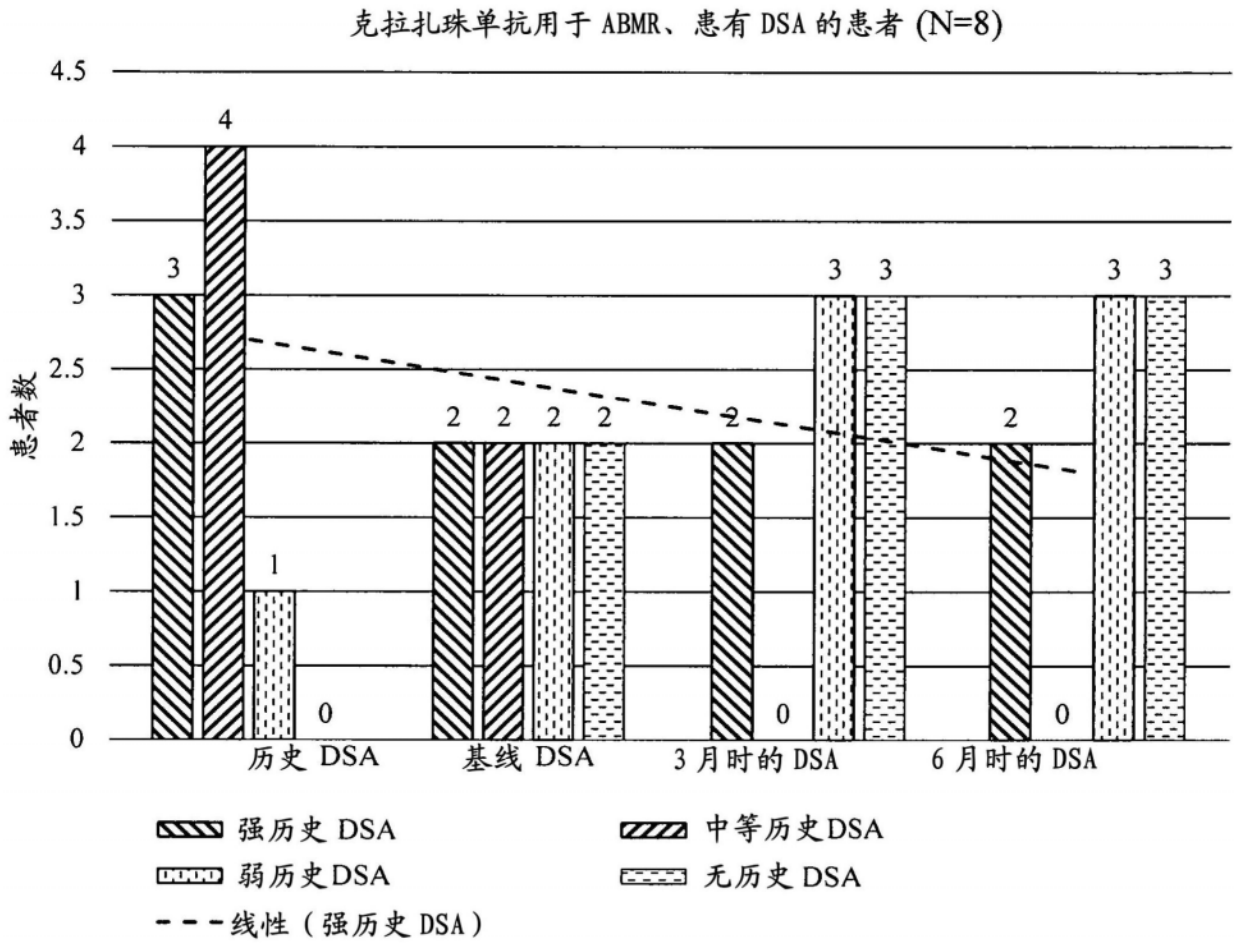


图3B

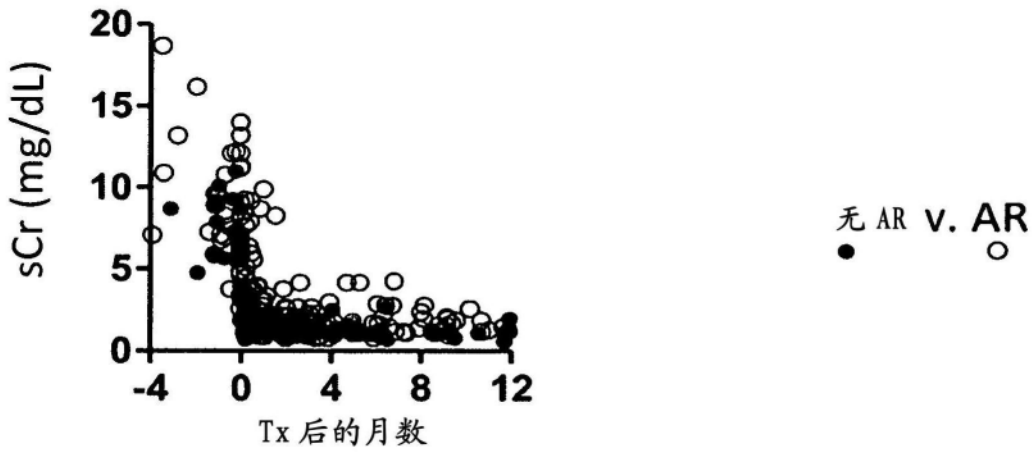


图 4A

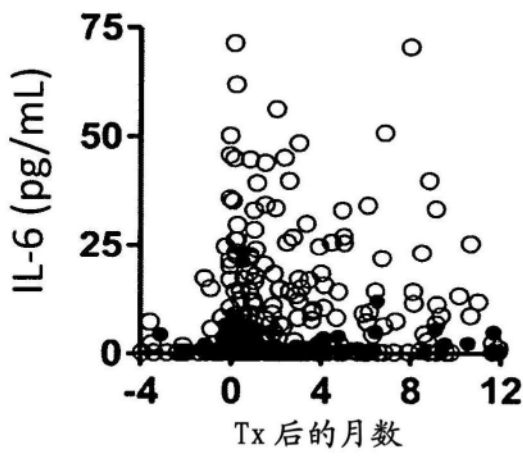


图 4B

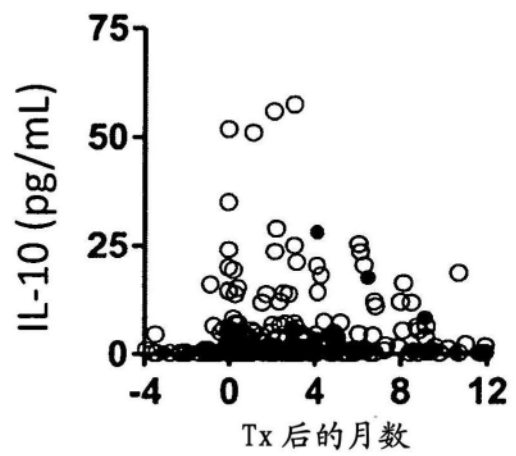


图 4C

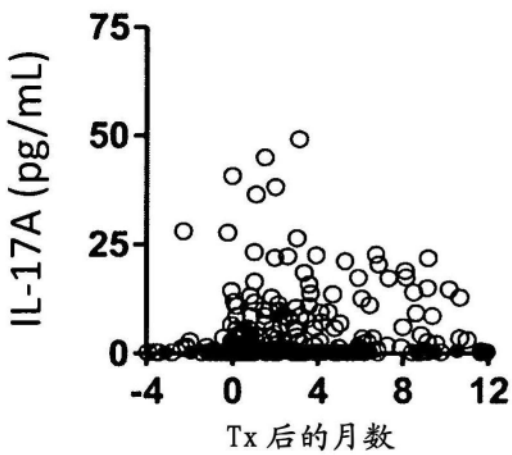


图 4D

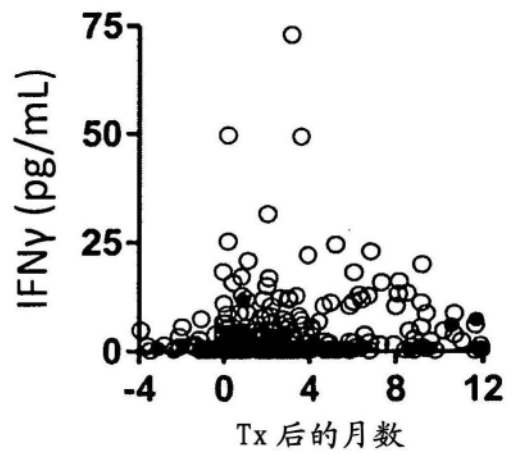


图 4E

排斥反应 (R): AMR CMR CMR/AMR

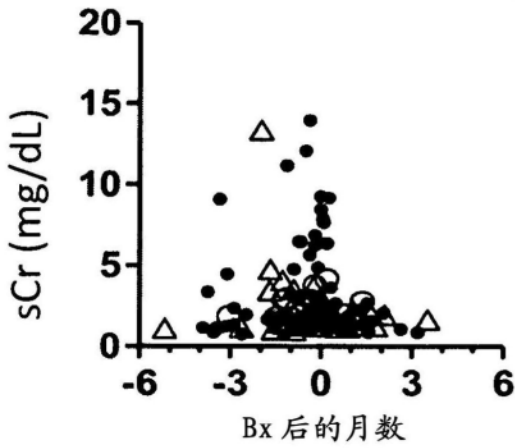


图 4F

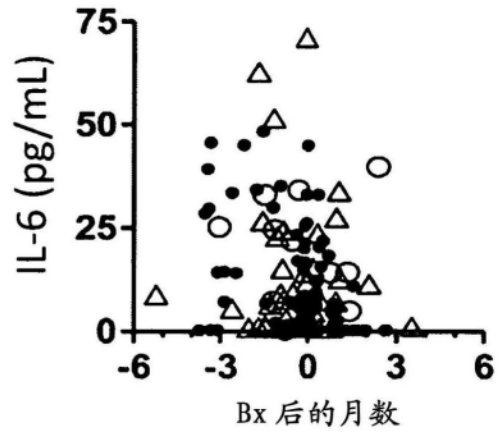


图 4G

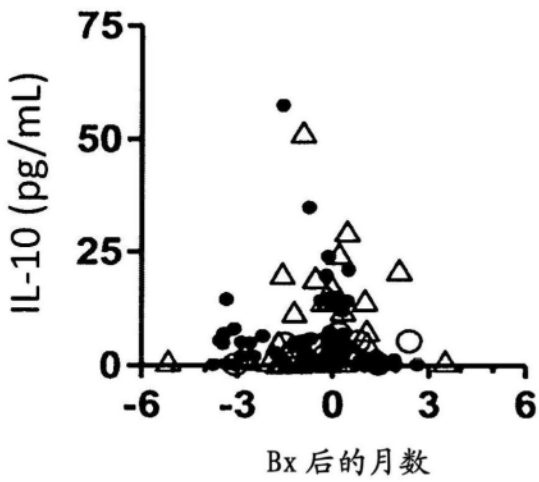


图 4H

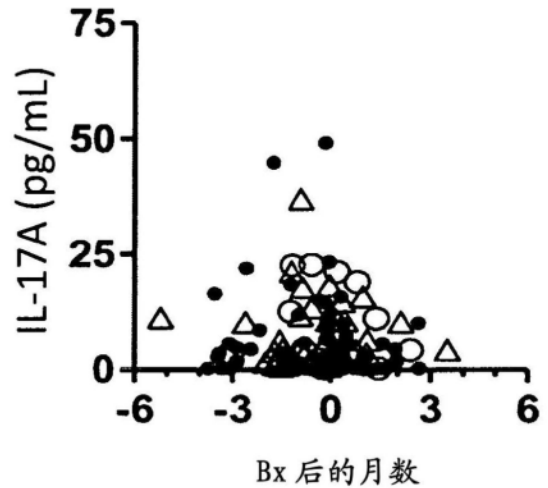


图 4I

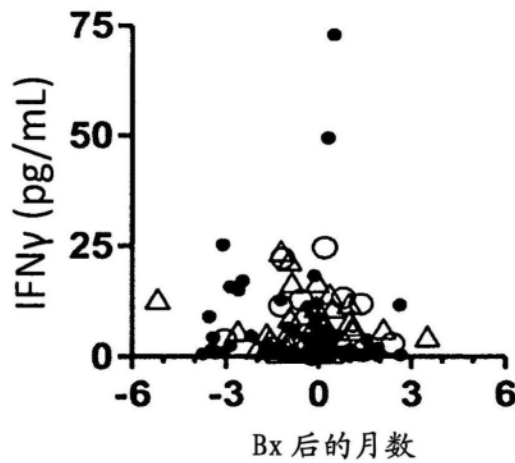


图 4J

无排斥反应 (NR): ATN CNI 其它的
● ○ △

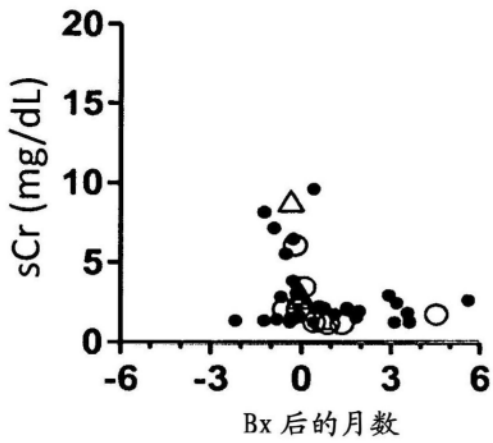


图 4K

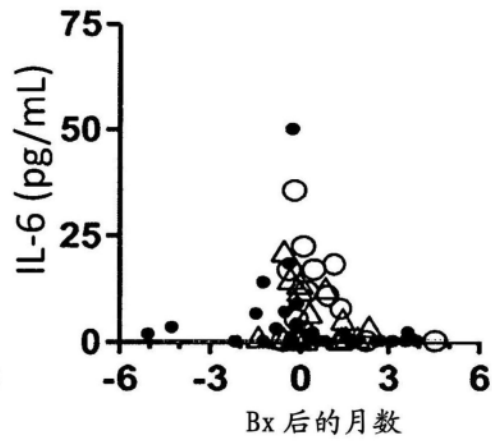


图 4L

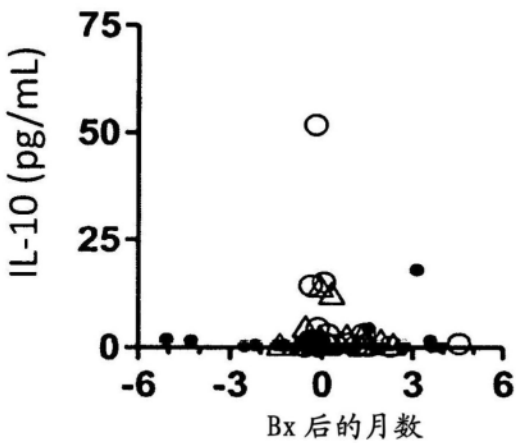


图 4M

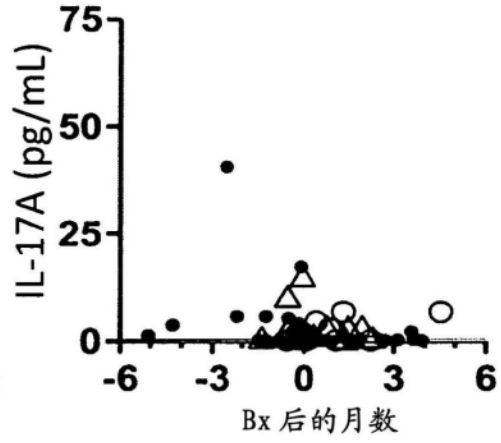


图 4N

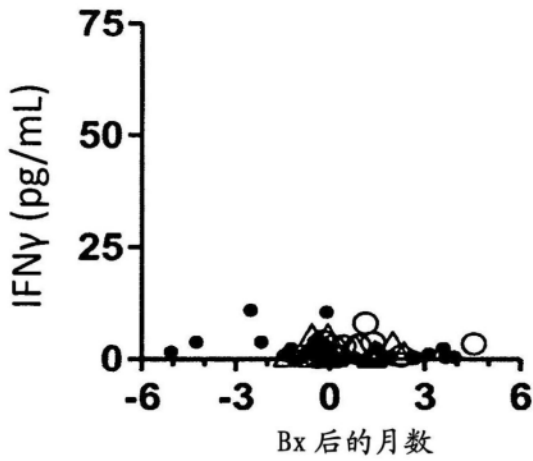


图 4O

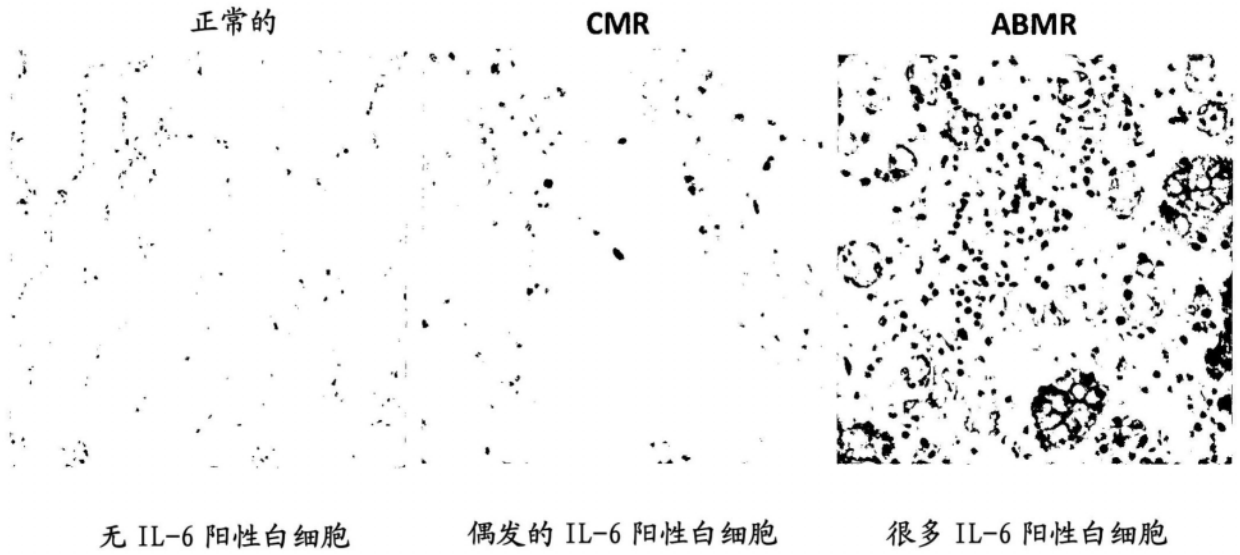


图5A

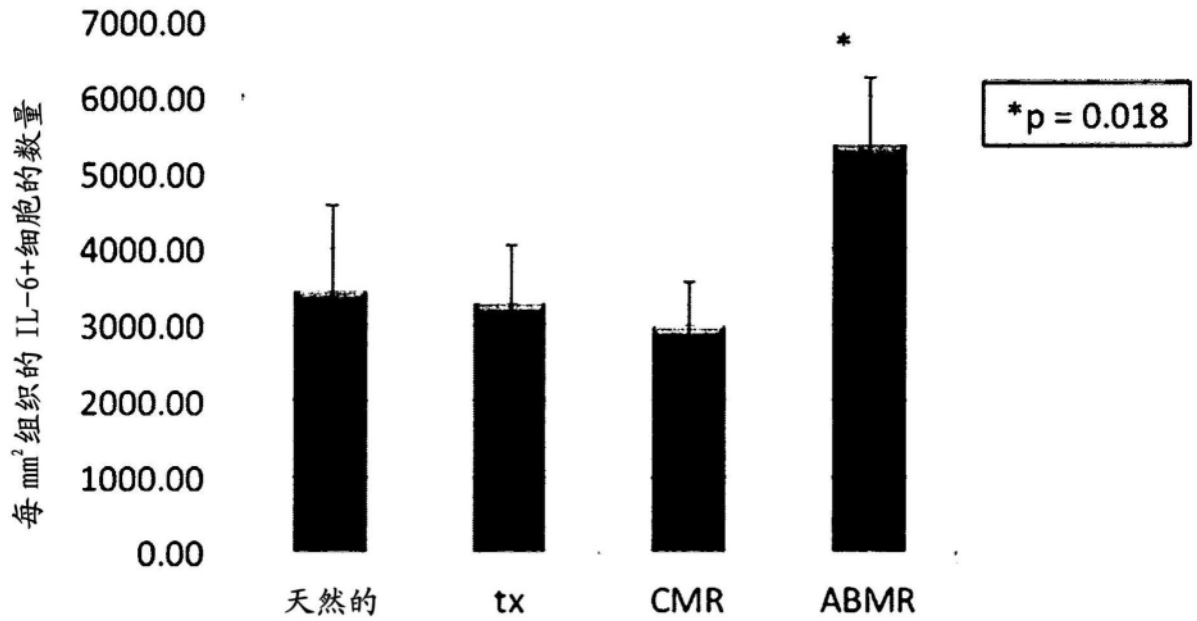


图5B

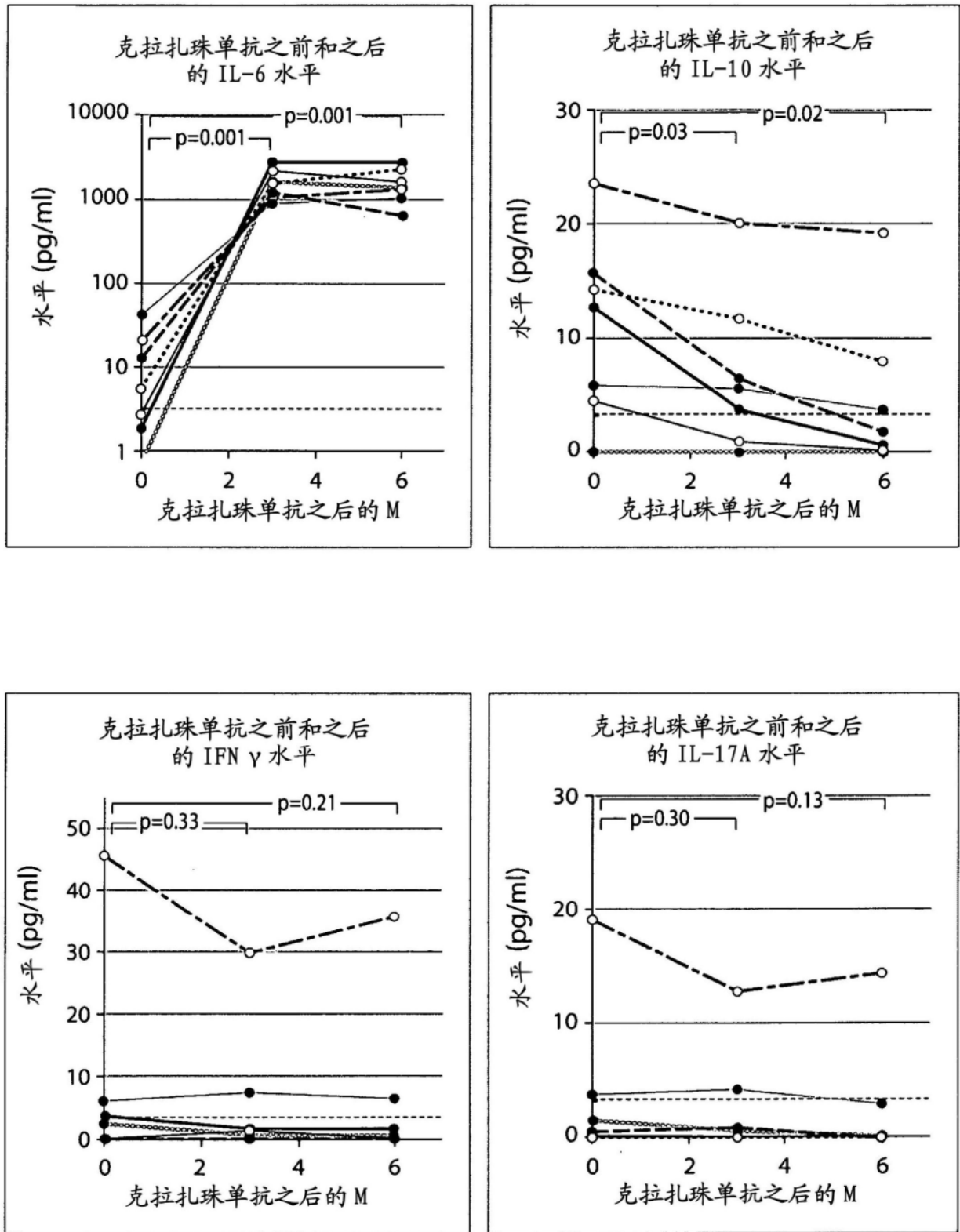


图6A

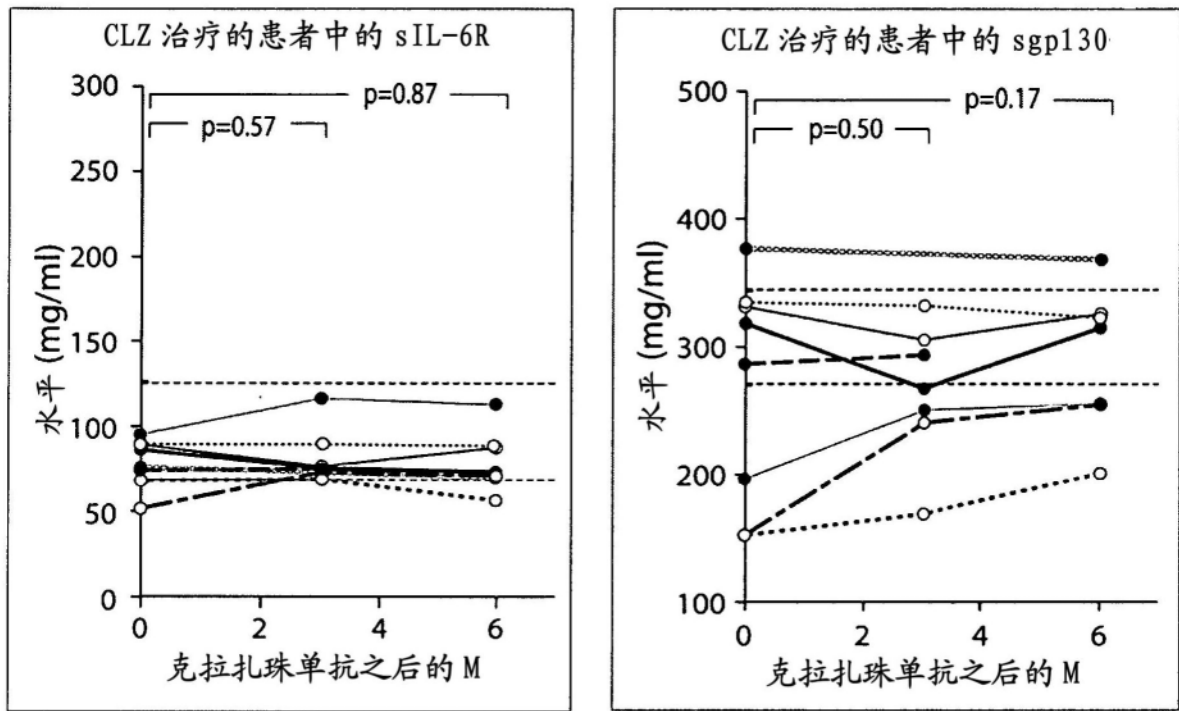


图6B

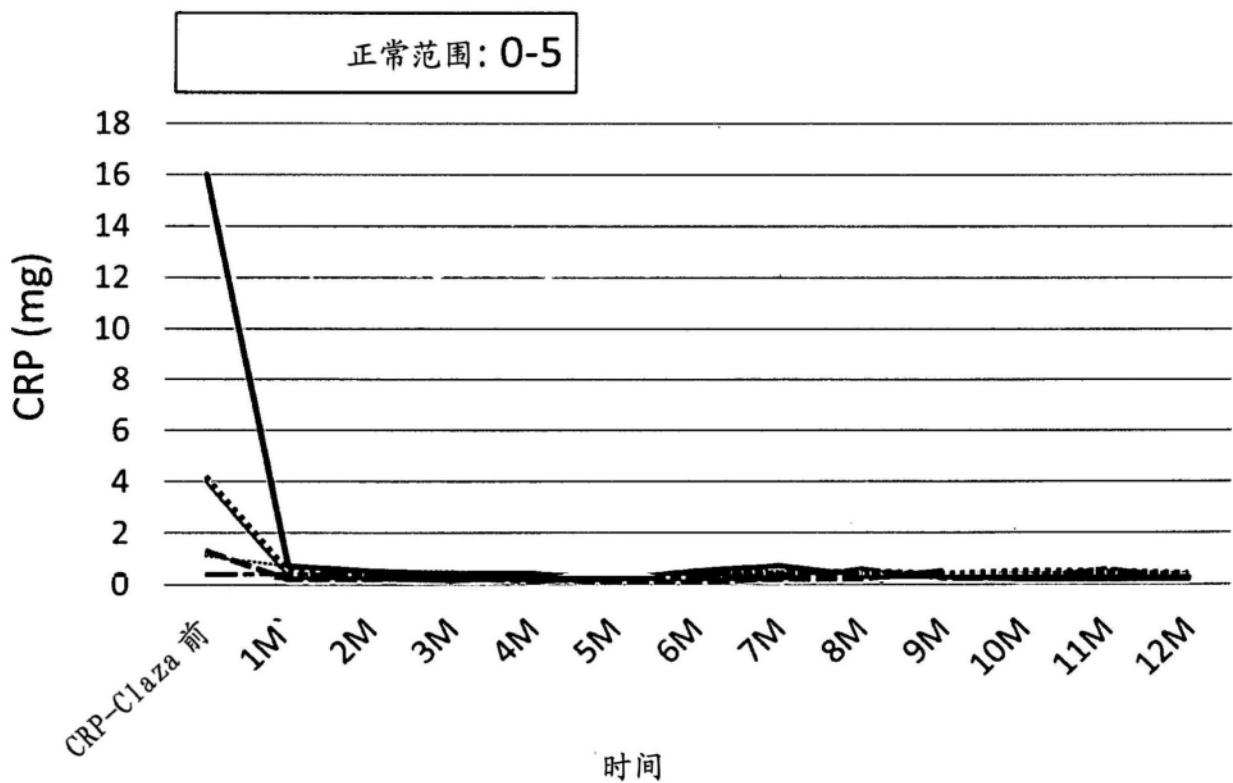
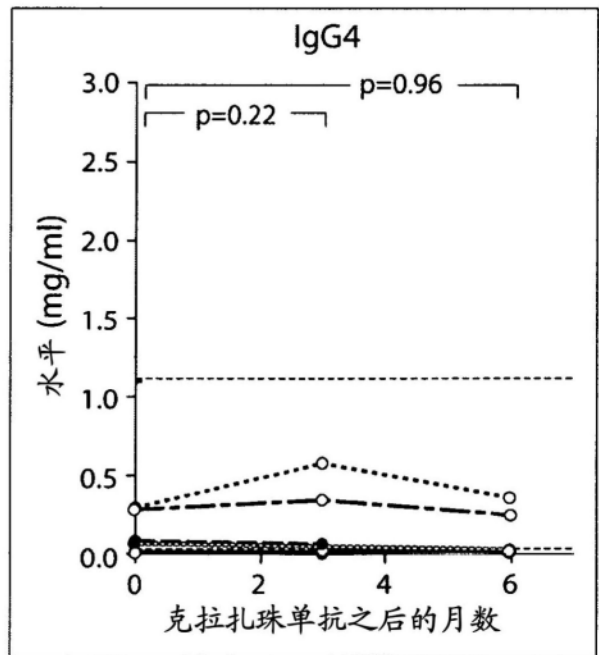
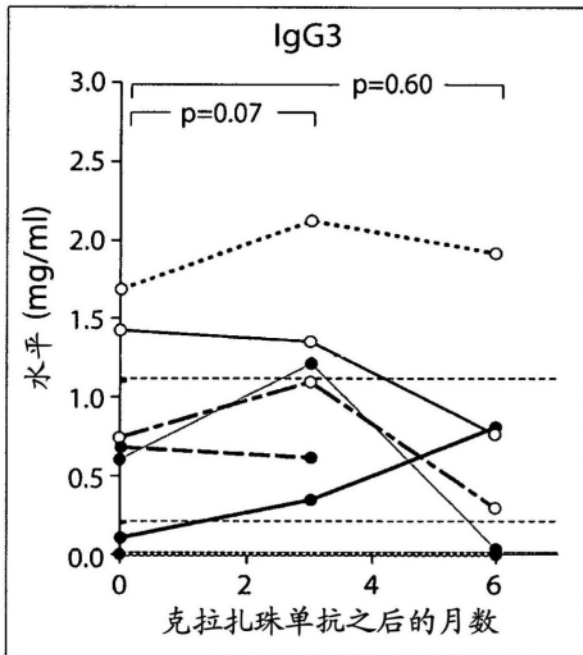
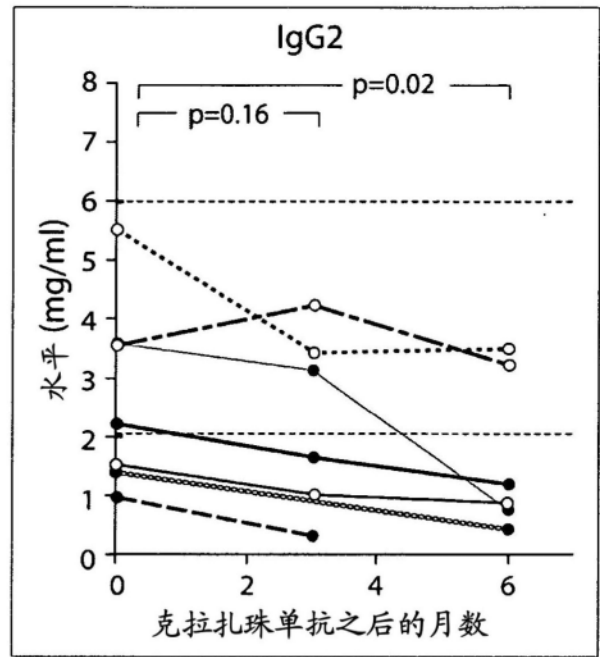
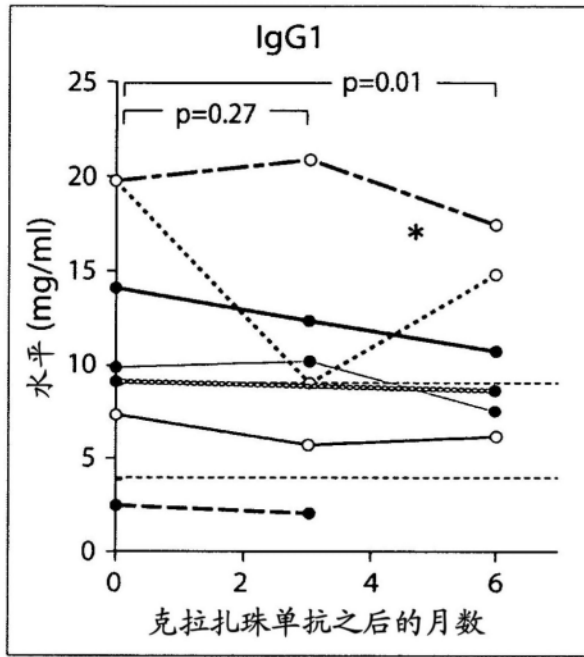


图7



*= IVIg

图8

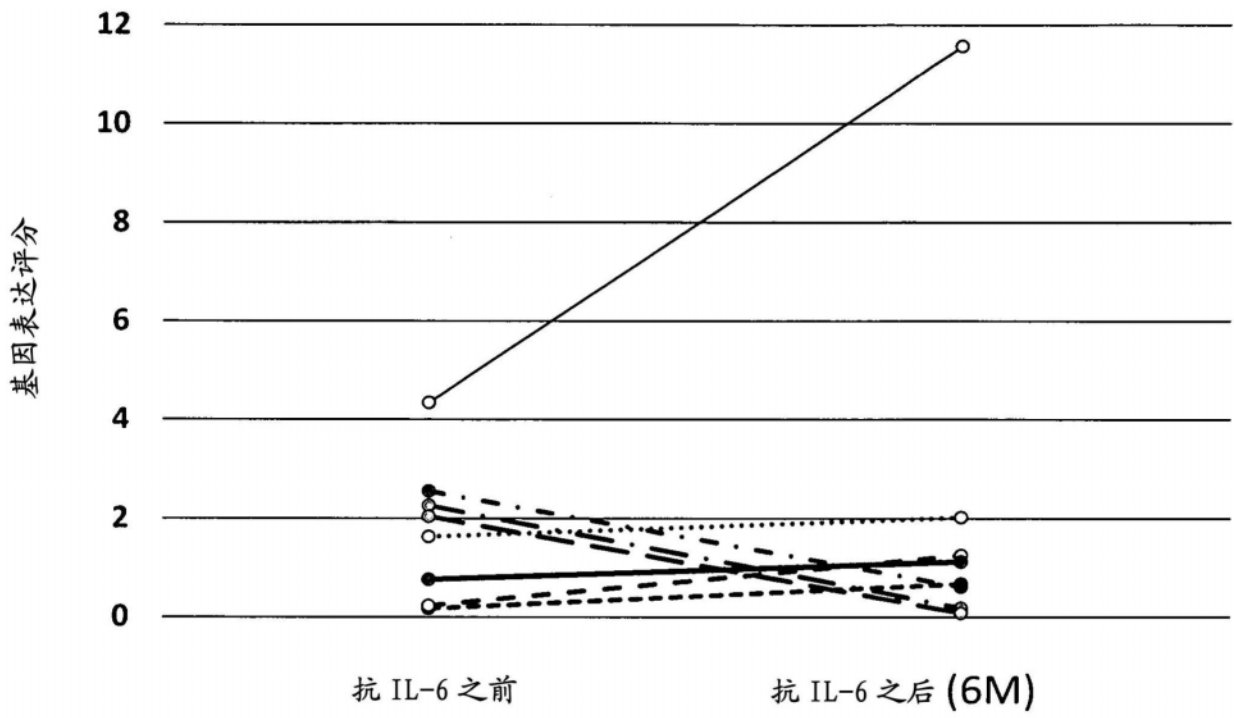


图9

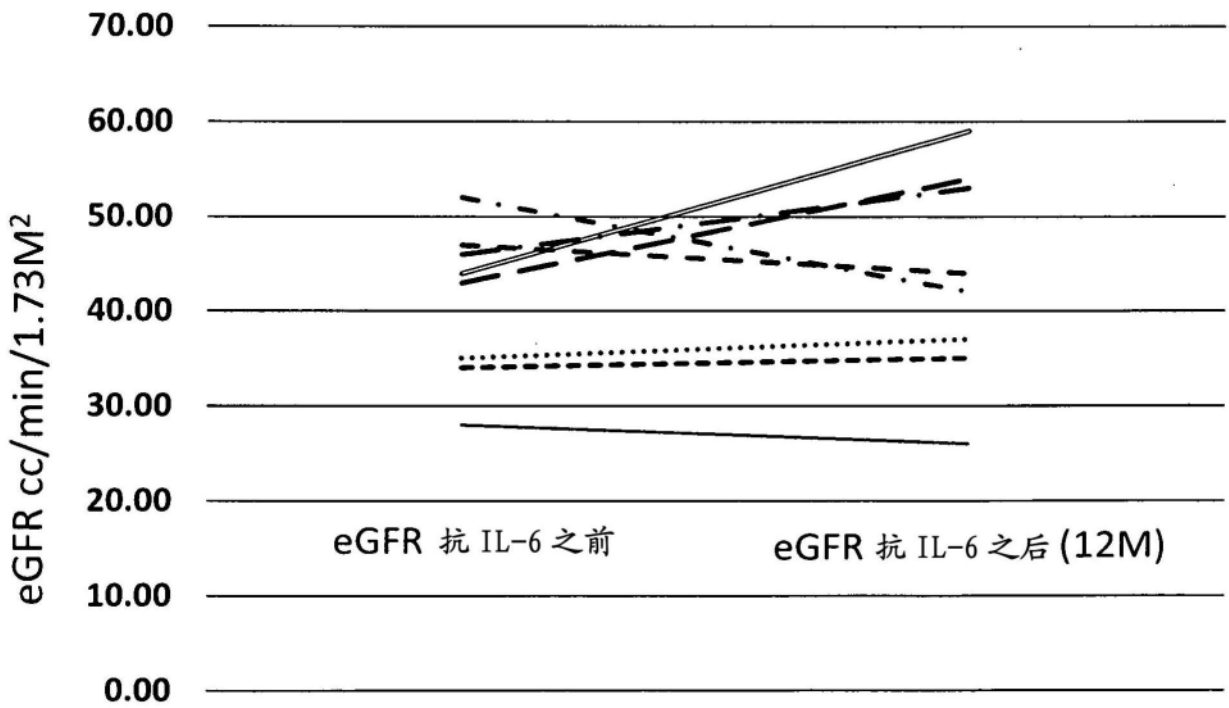


图10

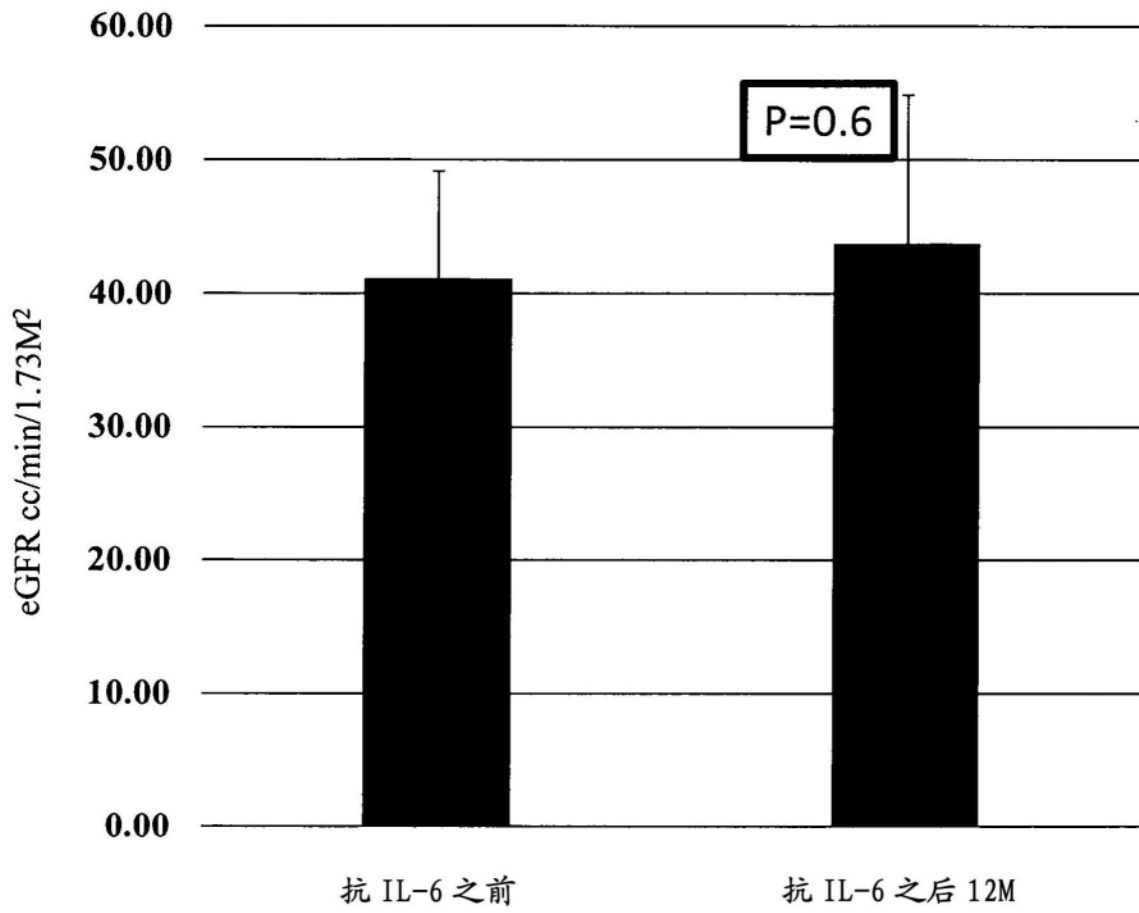


图11

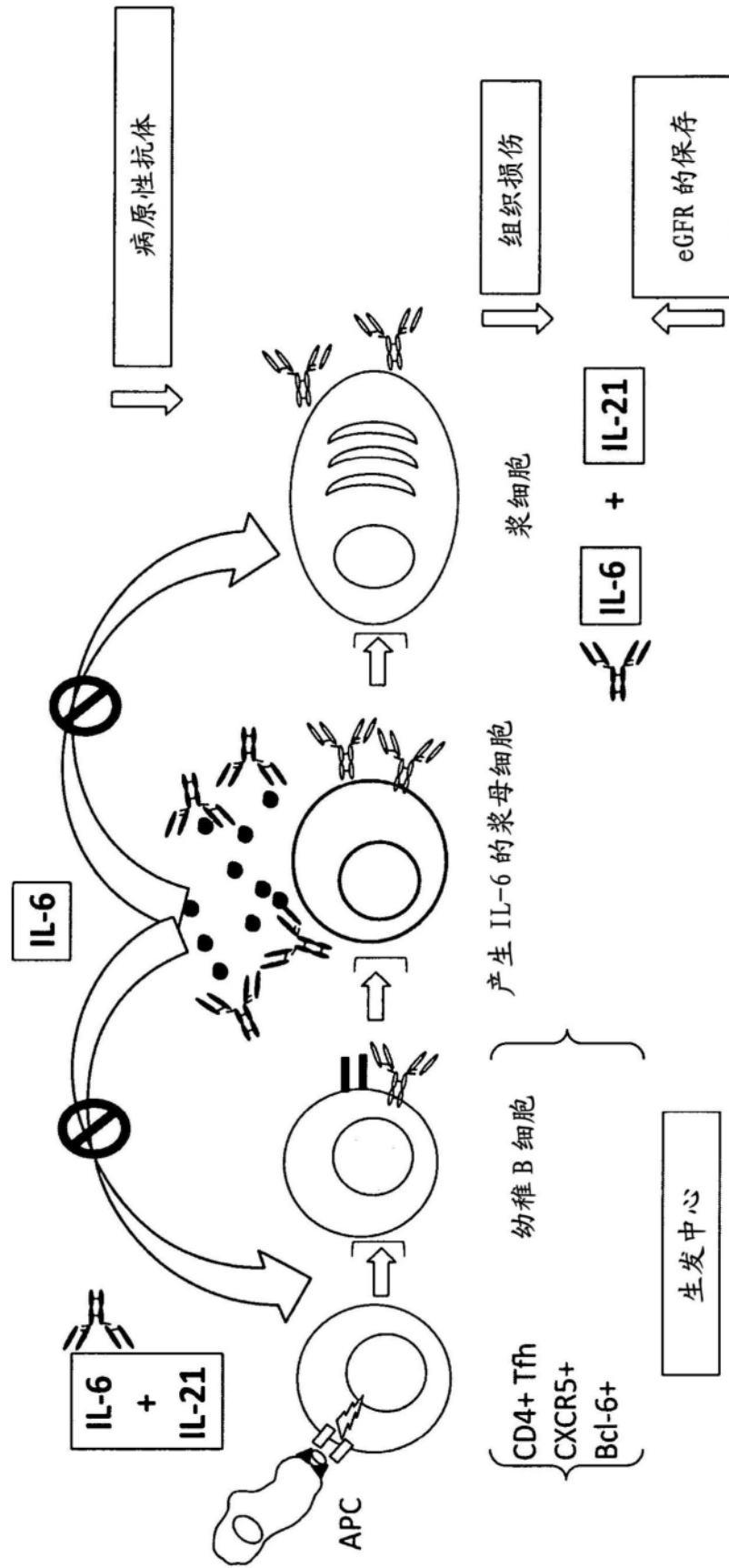


图12

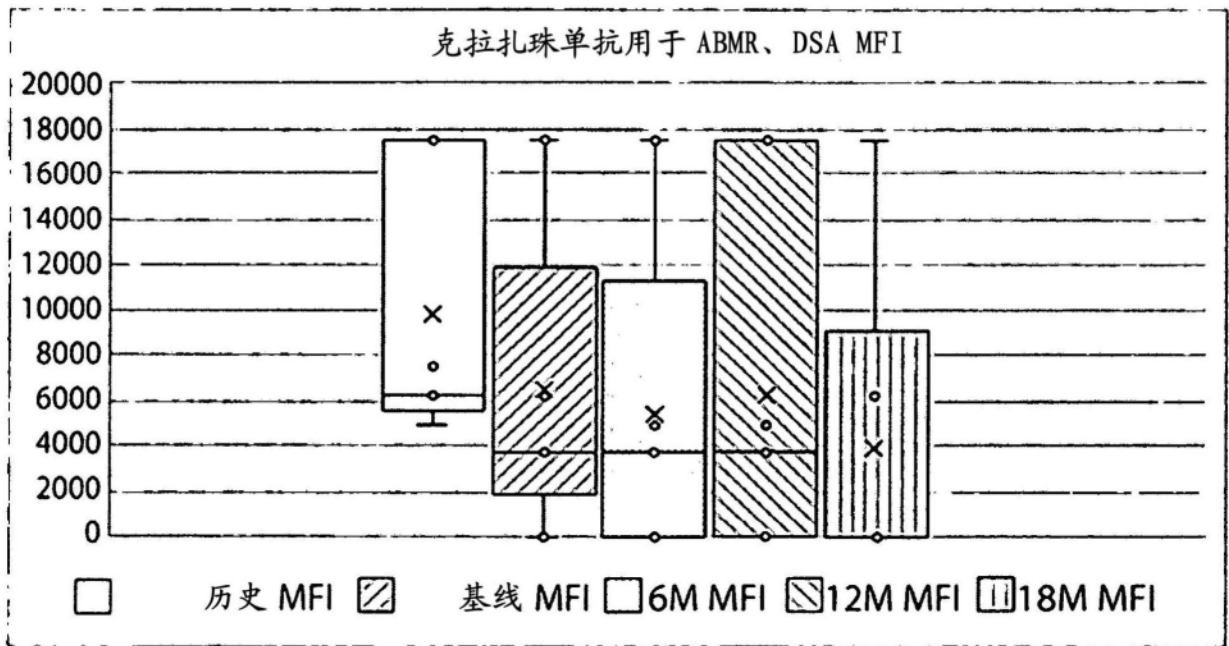


图13

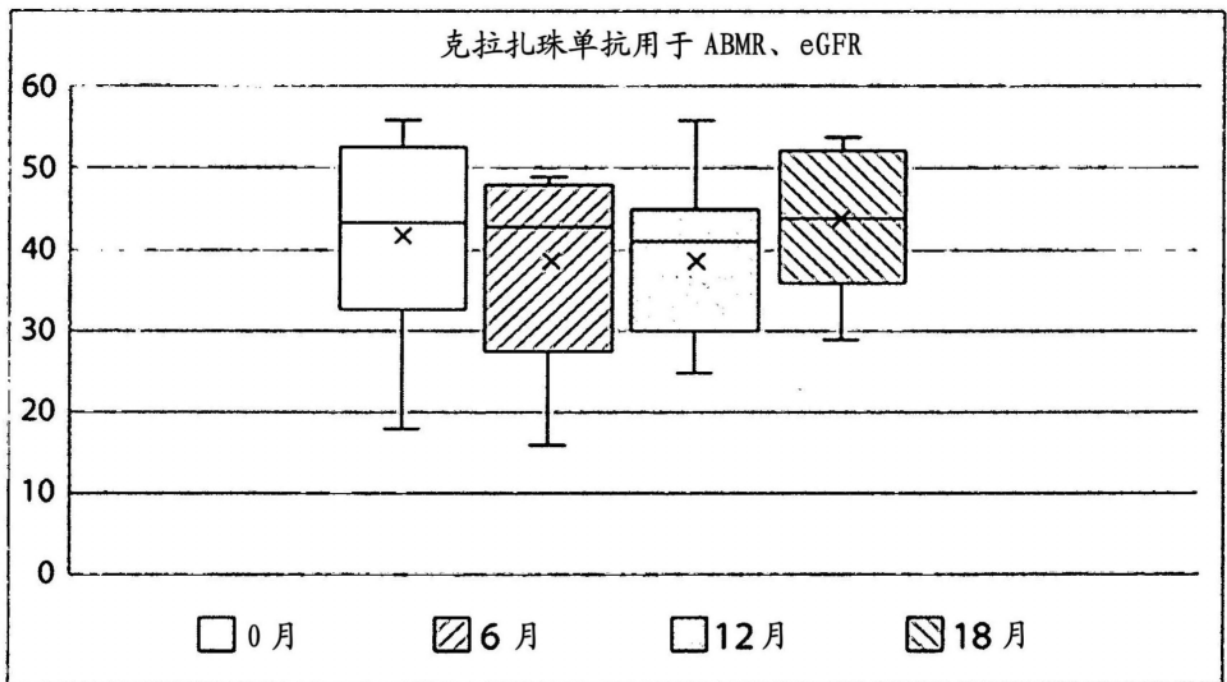


图14