



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113710272 A

(43) 申请公布日 2021. 11. 26

(21) 申请号 202080027376.5

(22) 申请日 2020.04.20

(30) 优先权数据

2019-081452 2019.04.23 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.10.08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2020/017016 2020.04.20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/218232 JA 2020.10.29

(71) 申请人 卫材R&D管理有限公司

地址 日本东京都

(72) 发明人 安田信之 山田知广 田胡文利

北条诚一郎 今井俊夫

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所  
11256

代理人 牛蔚然

(51) Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

G07K 16/24 (2006.01)

G01N 33/49 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

权利要求书4页 说明书25页

序列表12页 附图5页

(54) 发明名称

用于治疗类风湿性关节炎的生物标记物

(57) 摘要

本发明的目的在于提供一种在类风湿性关节炎受试者中对抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂带来的类风湿性关节炎的疗效进行预测的方法、及利用所述方法的新颖且更有效的类风湿性关节炎治疗剂。本发明提供一种方法以实现在类风湿性关节炎受试者中对抑制fractalkine (FKN) -CX3CR1相互作用的药剂带来的疗效进行预测,所述方法包括:基于在开始给药所述药剂之前从所述受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值,对所述药剂给所述受试者带来的疗效进行预测。

1. 一种用于在类风湿性关节炎受试者中对抑制fractalkine (FKN) -CX3CR1相互作用的药剂带来的疗效进行预测的方法,包括:

基于在开始给药所述药剂之前从所述受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值,对所述药剂给所述受试者带来的疗效进行预测。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中

所述预测包括将所述CD16+单核细胞的测定值与对照值进行比较。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中

所述CD16+单核细胞的测定值为对照值以上,表示所述药剂对所述受试者奏效的可能性高。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其中

所述生物样本是血液或滑液。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中

所述生物样本是血液。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中

所述CD16+单核细胞的测定值是根据总单核细胞中的CD16+单核细胞的比率所算出的数值。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中

所述药剂是抗人FKN抗体或其抗体结合片段。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中

抗人FKN抗体是全人源、人源化或嵌合抗体。

9. 根据权利要求7或8所述的方法,其中

所述抗人FKN抗体包括:

(a) 包含序列编号5 (NYYIH) 的氨基酸序列的CDR-H1;

(b) 包含序列编号6 (WIYPGDGSPKFNERFKG) 的氨基酸序列的CDR-H2;

(c) 包含序列编号7 (GPTDGDYFDY) 的氨基酸序列的CDR-H3;

(d) 包含序列编号8 (RASGNIHNFLA) 的氨基酸序列的CDR-L1;

(e) 包含序列编号9 (NEKTLAD) 的氨基酸序列的CDR-L2; 及

(f) 包含序列编号10 (QQFWSTPYT) 的氨基酸序列的CDR-L3。

10. 根据权利要求7至9中任一项所述的方法,其中

所述抗人FKN抗体的重链可变区包含序列编号3 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNERFKGRITLTADKSTNTAYMLLSSLRSEDTAVYFCATGPTDGDYFDYWGQGTITVTVSS) 所表示的氨基酸序列,

轻链可变区包含序列编号4 (DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNFLAWYQQKPGKAPKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK) 所表示的氨基酸序列。

11. 根据权利要求7至10中任一项所述的方法,其中

所述抗人FKN抗体包含人IgG2同种型恒定区,且

所述恒定区的Fc区包含V234A及G237A突变。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的方法,其中

所述类风湿性关节炎受试者是现有治疗的疗效不足的类风湿性关节炎患者。

13. 一种类风湿性关节炎治疗剂, 其以抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂作为有效成分, 特征在于在包括以下步骤的类风湿性关节炎的治疗方法中使用:

特定出如下受试者, 所述受试者是基于在开始给药所述药剂之前从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值, 预测到所述药剂奏效的可能性高的患者; 及

对所述特定出的受试者给药有效治疗剂量的所述药剂。

14. 根据权利要求13所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中

所述特定出受试者的步骤包括: 特定出所述CD16+单核细胞的测定值为对照值以上的受试者。

15. 一种类风湿性关节炎治疗剂, 其以抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂作为有效成分, 特征在于在包括以下步骤的类风湿性关节炎的治疗方法中使用:

对于如下受试者, 给药有效治疗剂量的所述药剂; 所述受试者是在开始给药所述药剂之前从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值为对照值以上的患者。

16. 根据权利要求13至15中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中所述生物样本是血液或滑液。

17. 根据权利要求16所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中所述生物样本是血液。

18. 根据权利要求13至17中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中所述CD16+单核细胞的测定值是根据总单核细胞中的CD16+单核细胞的比率所算出的数值。

19. 根据权利要求13至18中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中所述药剂是抗人FKN抗体或其抗体结合片段。

20. 根据权利要求19所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中所述抗人FKN抗体是全人源、人源化或嵌合抗体。

21. 根据权利要求19或20所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中所述抗人FKN抗体包括:

- (a) 包含序列编号5 (NYYIH) 的氨基酸序列的CDR-H1;
- (b) 包含序列编号6 (WIYPGDGSPKFNERFKG) 的氨基酸序列的CDR-H2;
- (c) 包含序列编号7 (GPTDGDYFDY) 的氨基酸序列的CDR-H3;
- (d) 包含序列编号8 (RASGNIHNFLA) 的氨基酸序列的CDR-L1;
- (e) 包含序列编号9 (NEKTLAD) 的氨基酸序列的CDR-L2; 及
- (f) 包含序列编号10 (QQFWSTPYT) 的氨基酸序列的CDR-L3。

22. 根据权利要求19至21中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中

所述抗人FKN抗体的重链可变区包含序列编号3 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNERFKGRITLTADKSTNTAYMLLSSLRSEDTAVYFCATGPTDGDYFDYWGQGTITVTVSS) 所表示的氨基酸序列,

轻链可变区包含序列编号4 (DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNFLAWYQQKPGKAPKLLI

YNEKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK) 所表示的氨基酸序列。

23. 根据权利要求19至22中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中所述抗人FKN抗体包含人IgG2同种型恒定区, 且所述恒定区的Fc区包含V234A及G237A突变。

24. 根据权利要求13至23中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中所述类风湿性关节炎受试者是现有治疗的疗效不足的类风湿性关节炎患者。

25. 一种类风湿性关节炎的治疗方法, 其包括以下步骤:

特定出如下受试者, 所述受试者是基于从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值, 预测到抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂奏效的可能性高的患者; 及

对所述特定出的受试者给药有效治疗剂量的所述药剂。

26. 根据权利要求25所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中所述特定出受试者的步骤包括: 特定出为对照值以上的受试者。

27. 一种类风湿性关节炎的治疗方法, 其包括以下步骤:

对于如下受试者, 给药有效治疗剂量的所述药剂; 所述受试者是在开始给药抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂之前从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值为对照值以上的患者。

28. 根据权利要求25至27中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中所述生物样本是血液或滑液。

29. 根据权利要求28所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中所述生物样本是血液。

30. 根据权利要求25至29中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中所述CD16+单核细胞的测定值是根据总单核细胞中的CD16+单核细胞的比率所算出的数值。

31. 根据权利要求25至30中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中所述药剂是抗人FKN抗体或其抗体结合片段。

32. 根据权利要求31所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中所述抗人FKN抗体是全人源、人源化或嵌合抗体。

33. 根据权利要求31或32所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中所述抗人FKN抗体包括:

(a) 包含序列编号5 (NYYIH) 的氨基酸序列的CDR-H1;

(b) 包含序列编号6 (WIYPGDGSPKFNERFKG) 的氨基酸序列的CDR-H2;

(c) 包含序列编号7 (GPTDGDYFDY) 的氨基酸序列的CDR-H3;

(d) 包含序列编号8 (RASGNIHNFLA) 的氨基酸序列的CDR-L1;

(e) 包含序列编号9 (NEKTLAD) 的氨基酸序列的CDR-L2; 及

(f) 包含序列编号10 (QQFWSTPYT) 的氨基酸序列的CDR-L3。

34. 根据权利要求31至33中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中所述抗人FKN抗体的重链可变区包含序列编号3 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTFN

YYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNERFKGRTTLTADKSTNTAYMLLSSLRSEDVAVYFCATGPTDGDYFDYWGQGTTVTVSS) 所表示的氨基酸序列,

轻链可变区包含序列编号4 (DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNFLAWYQQKPGKAPKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK) 所表示的氨基酸序列。

35. 根据权利要求31至34中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法,其中所述抗人FKN抗体包含人IgG2同种型恒定区,且所述恒定区的Fc区包含V234A及G237A突变。

36. 根据权利要求25至35中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法,其中所述类风湿性关节炎受试者是现有治疗的疗效不足的类风湿性关节炎患者。

## 用于治疗类风湿性关节炎的生物标记物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种在类风湿性关节炎受试者中对类风湿性关节炎治疗剂、具体来说抑制fractalkine (FKN) -CX3CR1相互作用的药剂带来的疗效进行预测的方法、以及通过所述方法而明确到所述药剂奏效的可能性高的受试者所用的类风湿性关节炎治疗剂。

### 背景技术

[0002] fractalkine (也称为“FKN”)是一种因LPS (Lipopolysaccharide,脂多糖)、TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ,肿瘤坏死因子- $\alpha$ )、IL-1 (interleukin-1,白细胞介素-1)等炎症刺激而在血管内皮细胞的表面进行表达的膜结合型趋化因子。表达FKN受体CX3CR1的细胞会在不存在选择素或整合素的状态下与膜结合型FKN结合,引起强有力的细胞粘附。另外,从膜结合型FKN脱落的分泌型FKN对具有CX3CR1的NK细胞、T细胞、单核细胞表现出细胞趋化性。

[0003] FKN的表达是通过促炎性细胞因子而在血管内皮细胞的表面上得到诱导。对于患有类风湿性关节炎(也称为“RA”)的患者,报告了FKN的表达上升以及CX3CR1+细胞毒性效应淋巴细胞及巨噬细胞的聚集。

[0004] 目前为止,对于作为慢性类风湿性关节炎的模型而为人所知的胶原诱导关节炎模型(CIA),报告了由抑制FKN带来的疗效(非专利文献1)。据CIA中的结果显示,通过抗fractalkine抗体,使得关节炎的临床评分显著降低,关节炎的发生率显著减少,此外,使得滑膜中的炎症细胞及骨侵犯显著减少。另外,提示出抑制FKN与CX3CR1相互作用的抗fractalkine抗体能够对包含类风湿性关节炎在内的炎症性疾病进行治疗(专利文献1)。

[0005] 作为所述抗体,公开了多种小鼠抗人fractalkine (hFKN)单克隆抗体(克隆1F3-1、3A5-2、1F3、1G1、2B2、3D5、3H7、6D1、7F6及5H7-6),特别是克隆3A5-2,为了实现hFKN的高中和活性、高结合亲和力及高种间交叉反应性,而对其进行人源化,并被命名为H3-2L4(专利文献2,以参考形式并入其整体),且在类风湿性关节炎的人类受试者中表现出有效性(专利文献3,以参考形式并入其整体)。

[0006] 现有技术文献

[0007] 非专利文献

[0008] 非专利文献1:J Immunol.2004;173:7010-7016

[0009] 专利文献

[0010] 专利文献1:WO 2006/046739

[0011] 专利文献2:WO 2011/052799

[0012] 专利文献3:日本专利特开2017-193541号

### 发明内容

[0013] 发明所要解决的技术问题

[0014] 如该技术领域中所熟知,即便是已知对某疾病具有优异功效的药剂,是否奏效还

取决于给药受试者,对于药剂无效的受试者而言,结果只有承受副作用的风险以及经济负担。因此,可针对每个治疗受试者来预判某药剂奏效的可能性是否高,这在以下方面来说是非常有用的,即,容易判断是否开始给药该药剂,对于药剂无效的可能性高的治疗受试者,可以提前避免副作用及经济负担的风险。

[0015] 本发明的目的在于提供一种在类风湿性关节炎受试者中对抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂带来的类风湿性关节炎的疗效进行预测的方法、以及利用所述方法的新颖且更有效的类风湿性关节炎治疗剂。

[0016] 用于解决问题的技术手段

[0017] 本发明包含以下实施方式。

[0018] (1) 一种用于在类风湿性关节炎受试者中对抑制fractalkine (FKN) -CX3CR1相互作用的药剂带来的疗效进行预测的方法,包括:

[0019] 基于在开始给药所述药剂之前从所述受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值,对所述药剂给所述受试者带来的疗效进行预测。

[0020] (2) 如(1)所述的方法,其中

[0021] 所述预测包括将所述CD16+单核细胞的测定值与对照值进行比较。

[0022] (3) 如(2)所述的方法,其中

[0023] 所述CD16+单核细胞的测定值为对照值以上,表示所述药剂对所述受试者奏效的可能性高。

[0024] (4) 如(1)至(3)中任一项所述的方法,其中

[0025] 所述生物样本是血液或滑液。

[0026] (5) 如(4)所述的方法,其中

[0027] 所述生物样本是血液。

[0028] (6) 如(1)至(5)中任一项所述的方法,其中

[0029] 所述CD16+单核细胞的测定值是根据总单核细胞中的CD16+单核细胞的比率所算出的数值。

[0030] (7) 如(1)至(6)中任一项所述的方法,其中

[0031] 所述药剂是抗人FKN抗体或其抗体结合片段。

[0032] (8) 如(7)所述的方法,其中

[0033] 抗人FKN抗体是全人源、人源化或嵌合抗体。

[0034] (9) 如(7)或(8)所述的方法,其中

[0035] 所述抗人FKN抗体包括:

[0036] (a) 包含序列编号5(NYYIH)的氨基酸序列的CDR-H1;

[0037] (b) 包含序列编号6(WIYPGDGSPKFNRFKG)的氨基酸序列的CDR-H2;

[0038] (c) 包含序列编号7(GPTDGDYFDY)的氨基酸序列的CDR-H3;

[0039] (d) 包含序列编号8(RASGNIHNFLA)的氨基酸序列的CDR-L1;

[0040] (e) 包含序列编号9(NEKTLAD)的氨基酸序列的CDR-L2;及

[0041] (f) 包含序列编号10(QQFWSTPYT)的氨基酸序列的CDR-L3。

[0042] (10) 如(7)至(9)中任一项所述的方法,其中

[0043] 所述抗人FKN抗体的重链可变区包含序列编号3(QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGY

TFTNYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNRFKGRITLTADKSTNTAYMLLSSLRSEDVAVYFCATGPTDG  
DYFDYWGQGTITVTVSS) 所表示的氨基酸序列,

[0044] 轻链可变区包含序列编号4(DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNFLAWYQQKPGKAP  
KLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK) 所表示的氨基  
酸序列。

[0045] (11) 如(7)至(10)中任一项所述的方法,其中

[0046] 所述抗人FKN抗体包含人IgG2同种型恒定区,且

[0047] 所述恒定区的Fc区包含V234A及G237A突变。

[0048] (12) 如(1)至(11)中任一项所述的方法,其中

[0049] 所述类风湿性关节炎受试者是现有治疗的疗效不足的类风湿性关节炎患者。

[0050] (13) 一种类风湿性关节炎治疗剂,其以抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂作为有效  
成分,特征在于在包括以下步骤的类风湿性关节炎的治疗方法中使用:

[0051] 特定出如下受试者,所述受试者是基于在开始给药所述药剂之前从类风湿性关  
节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值,预测到所述药剂奏效的可能性高  
的患者;及

[0052] 对所述特定出的受试者给药有效治疗剂量的所述药剂。

[0053] (14) 如(13)所述的类风湿性关节炎治疗剂,其中

[0054] 所述特定出受试者的步骤包括:特定出所述CD16+单核细胞的测定值为对照值以  
上的受试者。

[0055] (15) 一种类风湿性关节炎治疗剂,其以抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂作为有效  
成分,特征在于在包括以下步骤的类风湿性关节炎的治疗方法中使用:

[0056] 对于如下受试者,给药有效治疗剂量的所述药剂;所述受试者是在开始给药所述  
药剂之前从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值为对照值  
以上的患者。

[0057] (16) 如(13)至(15)中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂,其中

[0058] 所述生物样本是血液或滑液。

[0059] (17) 如(16)所述的类风湿性关节炎治疗剂,其中

[0060] 所述生物样本是血液。

[0061] (18) 如(13)至(17)中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂,其中

[0062] 所述CD16+单核细胞的测定值是根据总单核细胞中的CD16+单核细胞的比率所算  
出的数值。

[0063] (19) 如(13)至(18)中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂,其中

[0064] 所述药剂是抗人FKN抗体或其抗体结合片段。

[0065] (20) 如(19)所述的类风湿性关节炎治疗剂,其中

[0066] 所述抗人FKN抗体是全人源、人源化或嵌合抗体。

[0067] (21) 如(19)或(20)所述的类风湿性关节炎治疗剂,其中

[0068] 所述抗人FKN抗体包括:

[0069] (a) 包含序列编号5(NYYIH)的氨基酸序列的CDR-H1;

[0070] (b) 包含序列编号6(WIYPGDGSPKFNRFKG)的氨基酸序列的CDR-H2;

- [0071] (c) 包含序列编号7 (GPTDGDYFDY) 的氨基酸序列的CDR-H3;
- [0072] (d) 包含序列编号8 (RASGNIHNFLA) 的氨基酸序列的CDR-L1;
- [0073] (e) 包含序列编号9 (NEKTLAD) 的氨基酸序列的CDR-L2; 及
- [0074] (f) 包含序列编号10 (QQFWSTPYT) 的氨基酸序列的CDR-L3。
- [0075] (22) 如(19)至(21)中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中
- [0076] 所述抗人FKN抗体的重链可变区包含序列编号3 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNRFKGRITLTADKSTNTAYMLLSSLRSEDTAVYFCATGPTDGDYFDYWGQGTITVTVSS) 所表示的氨基酸序列,
- [0077] 轻链可变区包含序列编号4 (DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNFLAWYQQKPGKAPKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK) 所表示的氨基酸序列。
- [0078] (23) 如(19)至(22)中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中
- [0079] 所述抗人FKN抗体包含人IgG2同种型恒定区, 且
- [0080] 所述恒定区的Fc区包含V234A及G237A突变。
- [0081] (24) 如(13)至(23)中任一项所述的类风湿性关节炎治疗剂, 其中
- [0082] 所述类风湿性关节炎受试者是现有治疗的疗效不足的类风湿性关节炎患者。
- [0083] (25) 一种类风湿性关节炎的治疗方法, 包括以下步骤:
- [0084] 基于从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值, 特定出被预测抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂奏效的可能性高的受试者; 及
- [0085] 对所述特定出的受试者给药有效治疗剂量的所述药剂。
- [0086] (26) 如(25)所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0087] 所述特定出受试者的步骤包括: 特定出为对照值以上的受试者。
- [0088] (27) 一种类风湿性关节炎的治疗方法, 包括以下步骤:
- [0089] 对于如下受试者, 给药有效治疗剂量的所述药剂; 所述受试者是在开始给药抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂之前从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值为对照值以上的患者。
- [0090] (28) 如(25)至(27)中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0091] 所述生物样本是血液或滑液。
- [0092] (29) 如(28)所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0093] 所述生物样本是血液。
- [0094] (30) 如(25)至(29)中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0095] 所述CD16+单核细胞的测定值是根据总单核细胞中的CD16+单核细胞的比率所算出的数值。
- [0096] (31) 如(25)至(30)中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0097] 所述药剂是抗人FKN抗体或其抗体结合片段。
- [0098] (32) 如(31)所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0099] 所述抗人FKN抗体是全人源、人源化或嵌合抗体。
- [0100] (33) 如(31)或(32)所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0101] 所述抗人FKN抗体包括:

- [0102] (a) 包含序列编号5 (NYIYH) 的氨基酸序列的CDR-H1;
- [0103] (b) 包含序列编号6 (WIYPGDGSPKFNRFKG) 的氨基酸序列的CDR-H2;
- [0104] (c) 包含序列编号7 (GPTDGDYFDY) 的氨基酸序列的CDR-H3;
- [0105] (d) 包含序列编号8 (RASGNIHNFLA) 的氨基酸序列的CDR-L1;
- [0106] (e) 包含序列编号9 (NEKTLAD) 的氨基酸序列的CDR-L2; 及
- [0107] (f) 包含序列编号10 (QQFWSTPYT) 的氨基酸序列的CDR-L3。
- [0108] (34) 如 (31) 至 (33) 中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0109] 所述抗人FKN抗体的重链可变区包含序列编号3 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNRFKGRITLTADKSTNTAYMLLSSLRSEDTAVYFCATGPTDGDYFDYWGQGTITVTVSS) 所表示的氨基酸序列,
- [0110] 轻链可变区包含序列编号4 (DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNFLAWYQQKPGKAPKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK) 所表示的氨基酸序列。
- [0111] (35) 如 (31) 至 (34) 中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0112] 所述抗人FKN抗体包含人IgG2同种型恒定区, 且
- [0113] 所述恒定区的Fc区包含V234A及G237A突变。
- [0114] (36) 如 (25) 至 (35) 中任一项所述的类风湿性关节炎的治疗方法, 其中
- [0115] 所述类风湿性关节炎受试者是现有治疗的疗效不足的类风湿性关节炎患者。
- [0116] 发明的效果
- [0117] 根据本发明, 提供一种在类风湿性关节炎受试者中对抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂带来的类风湿性关节炎的疗效进行预测的方法、及利用所述方法的新颖且更有效的类风湿性关节炎治疗剂。

## 附图说明

- [0118] 图1表示临床1/2期试验中的各用量组的12周后的ACR缓解率。
- [0119] 图2表示临床1/2期试验中的400mg组的12周后的ACR反应与CD16+单核细胞比率的关系。A为ACR20, B为ACR50, C为ACR70。CD16+Mo表示CD16+单核细胞, Total Mo表示总单核细胞。
- [0120] 图3表示临床2期试验中的各用量组的12周后的ACR缓解率。
- [0121] 图4表示临床2期试验中的各用量组的24周后的ACR缓解率。
- [0122] 图5表示临床2期试验中的CD16+单核细胞比率小于中值的集群的12周后的ACR缓解率。
- [0123] 图6表示临床2期试验中的CD16+单核细胞比率为中值以上的集群的12周后的ACR缓解率。
- [0124] 图7表示临床2期试验中的CD16+单核细胞比率小于中值的集群的24周后的ACR缓解率。
- [0125] 图8表示临床2期试验中的CD16+单核细胞比率为中值以上的集群的24周后的ACR缓解率。

## 具体实施方式

### [0126] 1. 发明的概要及定义

[0127] 本发明的一方面涉及一种在类风湿性关节炎受试者中对抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂带来的疗效进行预测的方法(以下,也称为“本发明的预测方法”)。

[0128] 另外,本发明的另一方面涉及一种以抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂作为有效成分的类风湿性关节炎治疗剂(以下,也称为“本发明的治疗剂”)。

[0129] 在本发明中,用语“类风湿性关节炎”包含可依据1987年ACR分类标准或2010年ACR/EULAR(European League Against Rheumatism,欧洲抗风湿病联盟)分类标准进行诊断的疾病状态。作为类风湿性关节炎的生理指标,可列举对称性关节肿胀、被动运动时的疼痛等,这些是类风湿性关节炎的特征,但并非不变。

[0130] 在本发明中,类风湿性关节炎受试者可以是人类或非人类哺乳动物(猴、小鼠、大鼠、兔子、牛、马、山羊等)。在本发明中,类风湿性关节炎受试者优选为人类。

[0131] 在本发明的一实施方式中,所谓“有效”“发挥药效”,可以指在该领域中所确立的由类风湿性关节炎的评价标准所决定的项目或参数中,有1个以上表现出治疗上的有效改善。作为这种项目或参数,可以列举ACR(American College of Rheumatology,美国风湿病学会)20缓解率(response rate)、ACR50缓解率、ACR70缓解率、红细胞沉降速率(erythrocyte sedimentation rate:ESR)、超敏CRP(high sensitive C-reactive protein(超敏C反应蛋白):hs-CRP)、HAQ(Health Assessment Questionnaire健康调查问卷)、SDAI(simple disease activity index(简化疾病活动性指数);例如使用CRP的疾病活动性评分(Disease Activity Score)(DAS28-CRP)等)、CDAI(clinical disease activity index,临床疾病活动性指数)、及Boolean缓和率等,但并不限于此。

[0132] 在本发明的一实施方式中,治疗上的有效改善的评价时间点是在开始治疗后1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、12周、16周、20周、24周、28周、32周、36周、40周、44周、48周、52周、58周、60周、64周、68周、72周、76周、80周、80周、88周、92周、100周、104周、108周、112周或116周。在另一实施方式中,治疗上的有效改善的评价时间点是4周、8周、12周、16周或24周。在另一实施方式中,治疗上的有效改善的评价时间点是12周或24周。在又一实施方式中,治疗上的有效改善的评价时间点是24周。

[0133] 在本发明的一实施方式中,类风湿性关节炎的治疗上的有效改善可以指至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%的ACR20缓解率。在另一实施方式中,ACR20缓解率是在开始治疗后1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、12周、16周、20周、24周、28周、32周、36周、40周、44周、48周、52周、58周、60周、64周、68周、72周、76周、80周、80周、88周、92周、100周、104周、108周、112周或116周的ACR20缓解率。在另一实施方式中,ACR20缓解率是在开始治疗后4周、8周、12周、16周或24周的ACR20缓解率。在另一实施方式中,ACR20缓解率是在开始治疗后12周或24周的ACR20缓解率。在又一实施方式中,ACR20缓解率是在开始治疗后24周的ACR20缓解率。

[0134] 在本发明的一实施方式中,类风湿性关节炎的治疗上的有效改善可以指至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%的ACR50缓解率。在另一实施方式中,ACR50缓解率是在开始治疗后1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、12周、16周、20周、24周、28周、32周、36周、40周、44周、48周、52周、58

周、60周、64周、68周、72周、76周、80周、80周、88周、92周、100周、104周、108周、112周或116周的ACR50缓解率。在另一实施方式中,ACR20缓解率是在开始治疗后4周、8周、12周、16周或24周的ACR50缓解率。在另一实施方式中,ACR50缓解率是在开始治疗后12周或24周的ACR50缓解率。在又一实施方式中,ACR50缓解率是在开始治疗后24周的ACR50缓解率。

[0135] 在本发明的一实施方式中,类风湿性关节炎的治疗上的有效改善可以指至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%的ACR70缓解率。在另一实施方式中,ACR70缓解率是在开始治疗后1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、12周、16周、20周、24周、28周、32周、36周、40周、44周、48周、52周、58周、60周、64周、68周、72周、76周、80周、80周、88周、92周、100周、104周、108周、112周或116周的ACR70缓解率。在另一实施方式中,ACR20缓解率是在开始治疗后4周、8周、12周、16周或24周的ACR70缓解率。在另一实施方式中,ACR70缓解率是在开始治疗后12周或24周的ACR70缓解率。在又一实施方式中,ACR70缓解率是在开始治疗后24周的ACR70缓解率。

[0136] 在一实施方式中,本发明中的类风湿性关节炎受试者是针对利用现有类风湿性关节炎治疗用药进行的治疗未能获得充分的效果,效果不持续,或者具有不耐受性的人类受试者。作为所述现有类风湿性关节炎治疗用药,可以列举甲氨喋呤、柳氮磺胺吡啶,布西拉明,艾拉莫德或抗TNF制剂(阿达木单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗或依那西普)等,但并不限于此。

[0137] 关于单核细胞,已知基于其表面标记物,存在至少三种子集:CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>(经典型单核细胞)、CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>(中间型单核细胞)及CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>(非经典型单核细胞)。

[0138] 在本发明中,“CD16<sup>+</sup>单核细胞”是指表达CD16的所有单核细胞、即CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>及CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>两者。与此相关联地,本说明书中所使用的所谓“CD16<sup>+</sup>单核细胞的测定值”,是指所提供的生物样本中存在的CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>及CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>的测定量的合计值。

[0139] 在本发明中,作为抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂,包含抑制FKN与CX3CR1相互作用的抗体或编码该抗体的核酸、CX3CR1的拮抗剂、CX3CR1的部分激动剂、CX3CR1的反向激动剂等抑制FKN与CX3CR1相互作用的任意化合物等,但并不限于此。

#### [0140] 2. 对药剂的疗效进行预测的方法

[0141] 本发明的预测方法的特征在于包括:基于在开始给药抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂之前,从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16<sup>+</sup>单核细胞的测定值,对所述药剂给所述受试者带来的疗效进行预测。

[0142] 在本发明中,从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本只要能够采集单核细胞,便无特别限定,例如可以选用组织或体液。作为所述例,例如可以列举全血、外周血单核细胞(PMBC)、去除红细胞后的全血等血液、滑液、骨髓液等,但并不限于此。

[0143] 在本发明的一实施方式中,使用血液或滑液作为所述生物样本。基于获取及处理的方便性、CD16<sup>+</sup>单核细胞的检测感度等原因,优选使用血液作为所述生物样本。

[0144] 从受试者获取的生物样本可以从受试者采集的生物样本本身,也可以是对所采集的生物样本进行通常实施的稀释、浓缩、分离等处理而获得的样本。作为实施过所述处理的样本,可以列举外周血单核细胞(PMBC)、去除红细胞后的全血、通过密度梯度离心法而从滑液单离出的单细胞。

[0145] 此外,关于本发明中所使用的来自类风湿性关节炎受试者的生物样本的采集、所

采集的生物样本的处理、CD16+单核细胞的测定,可由医生或接受医生指示的人(并不限于医生)来进行。

[0146] 本发明中所使用的源自类风湿性关节炎受试者的生物样本可以是在实施本发明时所获取的,也可以是预先获取或处理并保存着的样本。

[0147] 在测定所获取的生物样本中的CD16+单核细胞时,可以使用能够对CD16+单核细胞进行定量测定的标准手法。作为这种手法,可以列举流式细胞分析(例如荧光激活细胞分选(FACS))等,但并不限于此。

[0148] 在本发明的一实施方式中,使用CD16+单核细胞的比率作为CD16+单核细胞的测定值。作为CD16+单核细胞的比率,例如可以列举:总单核细胞中CD16+单核细胞所占的比率、总白细胞中CD16+单核细胞所占的比率、及总单细胞中CD16+单核细胞所占的比率。在测定总单核细胞、总白细胞、总单细胞及CD16+单核细胞时,优选使用流式细胞分析。在所述实施方式中,依据标准手法,基于前向散射光(FSC)及侧向散射光(SSC)测定总单核细胞、总白细胞或总单细胞,然后以CD14及CD16将单核细胞展开,测定单核细胞中的CD16+单核细胞,然后基于它们的数值算出CD16+单核细胞的比率。用于识别CD14及CD16的抗CD14抗体及抗CD16抗体可以使用市售的抗体,可以根据需要使用经荧光标记等标记的抗体。作为使用流式细胞分析来算出CD16+单核细胞于总单核细胞中所占的比率的一具体手法例,已例示在以下实施例例中。

[0149] 在本发明的预测方法中,基于所述CD16+单核细胞的测定值进行的疗效的预测是通过评价所述测定值来进行的。评价例如可以通过以下方式进行:将为了区分奏效和无效而预先设定的标准值(临界值)、针对药剂奏效的受试者及/或药剂无效的受试者所获取的测定值等值、与对照值进行比较。成为评价受试者的CD16+单核细胞的测定值与对照值的CD16+单核细胞的测定值的获取方法优选为同一方法。测定值的评价可以在获取测定值后相继进行,也可以使用已事先获取的测定值在事后进行。

[0150] 对照值可以基于药剂奏效及/或无效的1个或多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35或40个体,或者超过它们)受试者的CD16+单核细胞的测定值进行设定。

[0151] 所述标准值例如可以通过以下方式来设定:对于从评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂发挥了药效的受试者组获得的CD16+单核细胞的测定值、以及从未发挥药效的受试者组获得的CD16+单核细胞的测定值,进行ROC解析(Receiver Operating Characteristic analysis,接受者操作特性解析)等。ROC解析是能够对例如疾病的检查方法的检测能力、诊断能力进行评价的解析方法,例如记载于日本临床检查自动化学会会刊“临床检查的诊断有用性评价手册”Ver.1.3(2004.9.1),Vol.29Suppl.1(通卷第154号)(2004年9月1日发行)中。

[0152] 所述标准值也可以是通过以下方式来设定的最好地区分各个组的CD16+单核细胞的测定值:对于从评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂发挥了作用的受试者组获得的CD16+单核细胞的测定值、以及从未发挥药效的受试者组获得的CD16+单核细胞的测定值,使用各个受试者组的柱状图进行解析。

[0153] 另外,所述标准值可选用以下值:从评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂发挥了作用的受试者获得的CD16+单核细胞的测定值的平均值±标准偏差或分位值;从评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂未发挥药效的受试者获得的CD16+单核细胞

的测定值的平均值±标准偏差或分位值；或者从类风湿性关节炎受试者获得的CD16+单核细胞的测定值的平均值±标准偏差或分位值。作为分位值的示例，可以列举：中值（中值）、第1三分位值、第2三分位值、第1四分位值、第3四分位值。

[0154] 标准值可针对治疗方法或治疗用药、及受试者（组）的背景单独进行设定。标准值的改善可根据所使用的CD16+单核细胞的测定值的测定及算出方法、所使用的统计手法、样本的种类、样本的数量等来决定。因此，所确立的标准值可基于定期性再评价、治疗方法或治疗用药、或者集群的分布变化进行上下调整。

[0155] 在另一实施方式中，标准值也可以是基于模拟模型而预先设定的CD16+单核细胞的测定值。

[0156] 进而，关于评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂发挥了作用的受试者，也可以进一步细分为对于评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂稍微奏效的受试者、中度奏效的受试者、以及明显奏效的受试者等，并设定各自的标准值。

[0157] 评价时，可仅使用从上文所例示的对照值中选择的一种，也可以使用多种。

[0158] 在本发明的一实施方式中，进行以下评价：对从开始给药之前的类风湿性关节炎受试者获取的生物样本所测得的CD16+单核细胞的测定值为基于评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂发挥了作用的受试者所设定的标准值以上，表示所述药剂对所述受试者奏效的可能性高。

[0159] 在本发明的另一实施方式中，进行以下评价：对从开始给药之前的类风湿性关节炎受试者获取的生物样本所测得的CD16+单核细胞的测定值为基于评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂未发挥药效的受试者所设定的标准值以上，表示所述药剂对所述受试者奏效的可能性高。

[0160] 在本发明的又一实施方式中，进行以下评价：对从开始给药之前的类风湿性关节炎受试者获取的生物样本所测得的CD16+单核细胞的测定值为基于类风湿性关节炎受试者所设定的标准值以上，表示所述药剂对所述受试者奏效的可能性高。

[0161] 在本发明的又一实施方式中，进行以下评价：对从开始给药之前的类风湿性关节炎受试者获取的生物样本所测得的CD16+单核细胞的测定值为选自以下标准值中的两种或三种标准值以上，表示所述药剂对所述受试者奏效的可能性高；所述标准值即，从基于评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂发挥了作用的受试者所设定的标准值、基于评价受试者即抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂未发挥药效的受试者所设定的标准值、以及基于类风湿性关节炎受试者所设定的标准值。

[0162] 在本发明的某实施方式中，奏效的评价是基于ACR20、ACR50或ACR70而进行。

[0163] 在CD16+单核细胞的测定值为总单核细胞中的CD16+单核细胞的比率的情况下，标准值例如可以规定在6%~16%的范围内。被评价为表示抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂发挥药效的可能性高的测定值的范围例如为6.0%以上、6.5%以上、7.0%以上、7.5%以上、8.0%以上、8.5%以上、9.0%以上、9.5%以上、10.0%以上、10.5%以上、11.0%以上、11.5%以上、12.0%以上、12.5%以上、13.0%以上、13.5%以上、14.0%以上、14.5%以上、15.0%以上、15.5%以上、及16.0%以上。

[0164] 通过本发明的预测方法，可对评价为抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂发挥药效的可能性高的类风湿性关节炎受试者，给药有效治疗剂量的所述药剂来治疗类风湿性关节

炎。

### [0165] 3. 类风湿性关节炎治疗剂

[0166] 本发明的一方面涉及一种以抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂作为有效成分的类风湿性关节炎治疗剂。

[0167] 本发明的治疗剂的一实施方式的特征在于,在包括以下步骤的类风湿性关节炎的治疗方法中使用:特定出如下受试者,所述受试者是基于在开始给药抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂之前从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值,预测到所述药剂奏效的可能性高的患者;及对所述特定出的受试者给药有效治疗剂量的所述药剂。

[0168] 本发明的治疗剂的另一实施方式的特征在于,在包括以下步骤的类风湿性关节炎的治疗方法中使用:对于如下受试者,给药有效治疗剂量的所述药剂;所述受试者是在开始给药抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂之前从类风湿性关节炎受试者获取的生物样本中的CD16+单核细胞的测定值为对照值以上的患者。

[0169] 关于所述类风湿性关节炎的治疗方法中的生物样本中的CD16+单核细胞的测定、预测或比较,可以依据已说明的本发明的预测方法来进行。

### [0170] 4. 抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂

[0171] 作为本发明的抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂,包含抑制FKN与CX3CR1的相互作用的抗体或编码该抗体的核酸、CX3CR1的拮抗剂、CX3CR1的部分激动剂、CX3CR1的反向激动剂等抑制FKN与CX3CR1的相互作用的任意化合物等,但并不限于此。抑制FKN与CX3CR1的相互作用的抗体例如为抗FKN抗体或抗CX3CR1抗体。关于抑制FKN与CX3CR1的相互作用的药剂,可以使用公知的FKN-CX3CR1的抑制剂的筛选方法、例如日本专利特开2002-345454中所记载的筛选方法来获得。

[0172] 在优选的实施方式中,抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂为抗fractalkine (FKN) 抗体。在本发明中,抗FKN抗体可以是全人源、人源化或嵌合抗体。

[0173] 在最优选的实施方式中,抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂为人源化抗人fractalkine抗体H3-2L4、或在功能上与其同等的抗体。在本发明中,所谓“在功能上同等的抗体”是指在对人FKN的结合亲和性、中和活性、交叉反应性、血中的药物代谢动力中的至少任一方面、或者优选为在所有方面与抗体H3-2L4同等的抗体。在功能上同等的抗体还包含依据世界卫生组织指南(GUIDELINES ON EVALUATION OF SIMILAR BIOTHERAPEUTIC PRODUCTS (SBPs), 类似生物治疗产品的评价指导原则)的有效成分的相关要求所规定的抗体。

[0174] 在本发明中,在提及抗FKN抗体时,也包含其抗原结合性片段。这种抗原结合性片段是抗FKN抗体的功能性、结构性片段,只要该抗体对FKN保持结合性,且血中的药物代谢动力与完全抗体不存在显著差异,便无特别限定。作为抗体的抗原结合性片段的示例,可以列举Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、单链(ScFv)、它们的突变体、包含抗体部分的融合蛋白、以及包含抗原识别部位的免疫球蛋白分子的其他修饰结构体等,但并无特别限定。

[0175] 在一实施方式中,本发明的抗FKN抗体可以是包含以下CDR序列的任意抗体:

[0176] (a) 包含序列编号5(NYYIH)的氨基酸序列的CDR-H1;

[0177] (b) 包含序列编号6(WIYPGDGSPKFNRFKG)的氨基酸序列的CDR-H2;

- [0178] (c) 包含序列编号7 (GPTDGDYFDY) 的氨基酸序列的CDR-H3;  
[0179] (d) 包含序列编号8 (RASGNIHNFLA) 的氨基酸序列的CDR-L1;  
[0180] (e) 包含序列编号9 (NEKTLAD) 的氨基酸序列的CDR-L2; 及  
[0181] (f) 包含序列编号10 (QQFWSTPYT) 的氨基酸序列的CDR-L3。

[0182] 在另一实施方式中, 抗FKN抗体可为, 抗体包含重链及轻链, 所述抗体的重链可变区包含序列编号11 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPK FNERFKGRITTLTADKSTNTAYMLLSSLRSDTAVYFCATGPTDGDYFDYWGQGTITVTVSS)、序列编号3 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNERFKGRITTLTADKSTNTAYMLLSSLRSED TAVYFCATGPTDGDYFDYWGQGTITVTVSS)、序列编号12 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKA SGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNERFKGRITLTRDKSTNTAYMELSSLRSDTAVYFCATGP TDGDYFDYWGQGTITVTVSS)、序列编号13 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYIHWVRQAPGQ GLEWIGWIYPGDGSPKFNERFKGRITMTADTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARGPTDGDYFDYWGQGTITVTVSS)、或序列编号14 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNER FKGRTTLTADKSTNTAYMELSSLRSED TAVYFCARGPTDGDYFDYWGQGTITVTVSS) 的氨基酸序列, 且所述抗体的轻链可变区包含序列编号15 (DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHNFLAWYQQKPKAPK FLVYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTQYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK)、序列编号4 (DI QMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHNFLAWYQQKPKAPKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK)、或序列编号16 (DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHN FLAWYQQKPKAPKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTQYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK) 的氨基酸序列。

[0183] 在优选的实施方式中, 抗FKN抗体可为, 抗体包含重链及轻链, 所述抗体的重链可变区包含序列编号3 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSP KFNERFKGRITTLTADKSTNTAYMLLSSLRSED TAVYFCATGPTDGDYFDYWGQGTITVTVSS) 的氨基酸序列, 且所述抗体的轻链可变区包含序列编号4 (DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHNFLAWYQQKPKG APKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIK) 的氨基酸序 列。

[0184] 在特定实施方式中, 抗FKN抗体是包含人IgG2同种型恒定区的抗体。

[0185] 在特定实施方式中, 抗FKN抗体是所述人IgG2同种型恒定区的Fc区包含V234A及/ 或G237A突变的抗体。

[0186] 在本发明的特别优选的实施方式中, 抗FKN抗体是由以下重链及以下轻链构成的 抗体H3-2L4, 所述重链由序列编号1所表示的氨基酸序列 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGY TFTNYYIHWVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNERFKGRITTLTADKSTNTAYMLLSSLRSED TAVYFCATGPTDG DYFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPEPPAPPAAAPSFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE KTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPGK) 构成, 所述轻链由序列编号2所表示的氨基酸 序列 (DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHNFLAWYQQKPKAPKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGTDY TLTISLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ

WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC) 构成。

[0187] 当然,本发明的抗体还包含将上文所例示的抗FKN抗体,以保持该抗体的功能或对该抗体的功能进行增加、提高的方式进行适当改造(例如抗体的修饰,或抗体的氨基酸序列的部分取代、增加、缺失)而获得的抗体。更具体来说,为了减少由抗体生成细胞所生成的抗体的不均一性而通过基因改造等人为方法使位于重链的羧基末端(C末端)的赖氨酸(Lys)缺失而获得的抗体也包含在本发明的范围内。另外,本发明的类风湿性关节炎治疗剂中所含的抗FKN抗体不必具有完全的均一性,只要能维持本发明的类风湿性关节炎治疗剂的目标功能,例如也可以混合存在位于重链的羧基末端(C末端)的赖氨酸(Lys)缺失的抗体及不缺失的抗体。

[0188] 抗FKN抗体也可以根据需要进行修饰。抗FKN抗体的修饰可以是使(a)例如片层或螺旋构象等在修饰区域中的氨基酸序列的三维结构变化、使(b)靶部位的分子电荷或疏水性的状态变化、或者使(c)针对维持侧链体积的修饰效果变化的修饰,或者也可以是不会明显观察到这些变化的修饰。

[0189] 抗FKN抗体的修饰例如可以通过构成其的氨基酸残基的取代、缺失、增加等来达成。

[0190] 在本说明书中,氨基酸是以其最广泛的含义使用的,不仅包含天然的氨基酸、例如丝氨酸(Ser)、天冬酰胺(Asn)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)、丙氨酸(Ala)、酪氨酸(Tyr)、甘氨酸(Gly)、赖氨酸(Lys)、精氨酸(Arg)、组氨酸(His)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、谷氨酰胺(Gln)、苏氨酸(Thr)、半胱氨酸(Cys)、蛋氨酸(Met)、苯丙氨酸(Phe)、色氨酸(Trp)、脯氨酸(Pro),还包含氨基酸突变体及衍生物等非天然氨基酸。只要是本领域的技术人员,便可考虑到该广泛的定义而理所当然地得出以下理解:作为本说明书中的氨基酸,例如可以列举:L-氨基酸;D-氨基酸;氨基酸突变体、氨基酸衍生物等经化学修饰的氨基酸;正亮氨酸、 $\beta$ -丙氨酸、鸟氨酸等在生物体内不会成为蛋白质的构成材料的氨基酸;以及具有本领域的技术人员所公知的氨基酸的特性且经化学合成的化合物等。作为非天然氨基酸的示例,可以列举: $\alpha$ -甲基氨基酸( $\alpha$ -甲基丙氨酸等)、D-氨基酸(D-天冬氨酸、D-谷氨酸等)、类组氨酸氨基酸(2-氨基-组氨酸、 $\beta$ -羟基-组氨酸、高组氨酸、 $\alpha$ -氟甲基-组氨酸、 $\alpha$ -甲基-组氨酸等)、侧链具有多余的亚甲基的氨基酸(“高”氨基酸)及侧链中的羧酸官能团氨基酸经磺酸基取代的氨基酸(氧化半胱氨酸等)等。

[0191] 天然存在的氨基酸残基例如可以基于一般的侧链特性而分类为以下群:

[0192] (1) 疏水性:Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0193] (2) 中性亲水性:Cys、Ser、Thr;

[0194] (3) 酸性:Asp、Glu;

[0195] (4) 碱性:Asn、Gln、His、Lys、Arg;

[0196] (5) 对链取向产生影响的残基:Gly、Pro;及

[0197] (6) 芳香族:Trp、Tyr、Phe。

[0198] 关于构成抗FKN抗体的氨基酸序列的非保守性取代,可以通过将属于这些群的1个群的氨基酸更换为属于其它群的氨基酸来进行。关于进一步的保守性取代,可以通过将属于这些群的1个群的氨基酸更换为同一群的其它氨基酸来进行。同样地,也可以适当地进行氨基酸序列的缺失或取代。

[0199] 5. 制剂

[0200] 本发明的类风湿性关节炎治疗剂包含治疗上有效量的抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂。抑制FKN-CX3CR1相互作用的药剂带来的量可根据药剂的种类、给药受试者、给药途径、给药间隔等发生变化。

[0201] 以下,例示性地说明以抗FKN抗体作为有效成分的本发明的类风湿性关节炎治疗剂。

[0202] 作为抗FKN抗体(例如H3-2L4)的治疗上有效量,若为皮下给药,则为每次50mg~1000mg、100mg~800mg、或200mg~800mg、400~800mg,但并不限于这些。在本发明的特定实施方式中,抗FKN抗体(例如H3-2L4)按以下量进行给药:至少50mg、至少100mg、至少150mg、至少200mg、至少250mg、至少300mg、至少350mg、至少400mg、至少450mg、至少500mg、至少550mg、至少600mg、至少650mg、至少700mg、至少750mg、或至少800mg。在又一实施方式中,抗FKN抗体(例如H3-2L4)按以下量进行给药:100mg、200mg、400mg、600mg或800mg。

[0203] 本发明的类风湿性关节炎治疗剂的给药剂型并无特别限制,典型来说是为了皮下给药而制备的注射用制剂。关于本发明的类风湿性关节炎治疗剂,例如可将抗FKN抗体非限定地置于注射用水、生理盐水或磷酸盐缓冲生理盐水中,与药学上允许的赋形剂一起制备成注射用制剂。作为本发明中所使用的药学上允许的赋形剂,可无限定地列举:稳定剂、表面活性剂、防腐剂等。

[0204] 作为本发明中所使用的稳定剂,例如为作为药制剂中适当的添加剂或赋形剂而得到美国食品药品监督管理局批准的碳水化合物或者糖类或糖、例如蔗糖。稳定剂的浓度为15至250mM、150至250mM、或者200mM。制剂可包含次级稳定剂。

[0205] 作为本发明中所使用的药学上允许的表面活性剂的适当例,包含聚氧乙烯山梨醇酐脂肪酸酯(Tween)、聚乙烯聚丙二醇、聚氧乙烯硬脂酸酯、聚氧乙烯烷基醚、例如聚氧乙烯单月桂醚、烷基苯基聚氧乙烯醚(Triton-X)、聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物(Poloxamer、Pluronic)、及十二烷基硫酸钠(SDS),但并不限于此。最适当的聚氧乙烯山梨醇酐脂肪酸酯是聚山梨醇酯20(Tween20)及聚山梨醇酯80(Tween80)。表面活性剂的浓度是0.01至0.1% (w/v)、0.01至0.08% (w/v)、或0.025至0.075% (w/v),例如为0.05% (w/v)。

[0206] 作为本发明中所使用的防腐剂,无限定地包含:对羟苯甲酸酯、苄醇、苯甲酸钠、苯酚、苯扎氯铵、硫柳汞、氯丁醇、苯甲酸、亚硫酸氢钠、丙酸钠及其任意组合或混合物等。

[0207] 作为本发明中所使用的缓冲剂的示例,包含组氨酸、柠檬酸盐、磷酸盐、甘氨酸、乙酸盐、及其任意组合或混合物等,但并不限于此。

[0208] 本发明的制剂也可以包含用于控制pH值的缓冲剂或pH值调节剂。在一实施方式中,本发明的制剂具有4.0~9.0范围、5.0~9.0范围、5.0~8.0范围、5.0~7.5范围、5.5~7.0范围、或5.5~6.5范围的pH值。

[0209] 本发明的类风湿性关节炎治疗剂可与人血等渗,即本发明的类风湿性关节炎治疗剂可具有与人血本质上相同的渗透压。这种等渗制剂一般具有250mOsm~350mOsm的渗透压。等渗性例如可通过使用蒸气压渗透压仪或冰点渗透压仪来测定。作为本发明中所使用的等渗剂,可无限定地包含糖类、盐及氨基酸等。

[0210] 除上文所述的赋形剂以外,用来制造皮下给药的注射用制剂的具代表性赋形剂及工艺是本技术领域中公知的,例如可以参考Introduction to Pharmaceutical Dosage

Forms, 1985, Ansel, H.C., Lea and Febiger, Philadelphia, Pa.; Remington's Pharmaceutical Sciences, 1995, Mack Publ. Co., Easton, Pa.。将该文献以参考形式整体并入到本文中。

[0211] 在包含抗FKN抗体(例如H3-2L4)的类风湿性关节炎治疗剂的一实施方式中,可采用日本专利特开2017-193541号中所记载的制剂配方。

[0212] 本发明的一实施方式的特征在于,抗FKN抗体(例如H3-2L4)按如下方式使用:向人每次皮下给药至少100mg的抗FKN抗体。本发明的另一实施方式的特征在于,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药100mg~400mg的抗FKN抗体。在本发明的一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药100mg、200mg或400mg的抗FKN抗体。在本发明的另一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药200mg~400mg的所述抗FKN抗体。

[0213] 本发明的一实施方式的特征在于,抗FKN抗体(例如H3-2L4)按如下方式使用:向人每次皮下给药至少200mg的抗FKN抗体。本发明的另一实施方式的特征在于,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药200mg~600mg的抗FKN抗体。在本发明的一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药200mg、400mg或600mg的抗FKN抗体。在本发明的另一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药400mg~600mg的所述抗FKN抗体。

[0214] 本发明的一实施方式的特征在于,抗FKN抗体(例如H3-2L4)按如下方式使用:向人每次皮下给药至少400mg的抗FKN抗体。本发明的另一实施方式的特征在于,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药400mg~800mg的抗FKN抗体。在本发明的一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药400mg、600mg或800mg的抗FKN抗体。在本发明的另一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药400mg~600mg的所述抗FKN抗体。在本发明的另一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:向人每次皮下给药600mg~800mg的所述抗FKN抗体。

[0215] 本发明的类风湿性关节炎治疗剂的给药次数及给药间隔可根据每次给药的抗FKN抗体的量、及给药途径等发生变化。

[0216] 抗FKN抗体(例如H3-2L4)的给药间隔例如为每周1次到每2个月1次、每周1次到每月1次、每周1次到每2周1次、每周1次、每2周1次,可以将它们加以组合。

[0217] 在本发明的一实施方式中,抗FKN抗体(例如H3-2L4)按如下方式使用:将每次100mg~400mg的抗FKN抗体以每周1次到每2个月1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的另一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:将每次100mg~400mg的抗FKN抗体以每周1次到每月1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的另一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:将每次100mg~400mg的抗FKN抗体以每周1次到每2周1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的特定实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:将每次100mg~400mg的抗FKN抗体以每周1次给药2次后,以每两周一次的给药间隔进行皮下给药。

[0218] 在本发明的一实施方式中,抗FKN抗体(例如H3-2L4)按如下方式使用:将每次

400mg~800mg的抗FKN抗体以每周1次到每2个月1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的另一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:将每次400mg~800mg的抗FKN抗体以每周1次到每月1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的另一实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:将每次400mg~800mg的抗FKN抗体以每周1次到每2周1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的特定实施方式中,本发明的类风湿性关节炎治疗剂按如下方式使用:将每次400mg~800mg的抗FKN抗体以每周1次给药2次后,以每两周一次的给药间隔进行皮下给药。

[0219] 在本发明的另一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次100mg、200mg或400mg且以每周1次到每2个月1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的另一实施方式中,将抗FKN抗体以每次100mg、200mg或400mg且以每周1次到每月1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的另一实施方式中,将抗FKN抗体以每次100mg、200mg或400mg且以每周1次到每2周1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的特定实施方式中,将抗FKN抗体以每次100mg、200mg或400mg且以每周1次给药2次后,以每两周一次的给药间隔进行皮下给药。

[0220] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次400mg、600mg或800mg且以每周1次到每2个月1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的另一实施方式中,将抗FKN抗体以每次400mg、600mg或800mg且以每周1次到每月1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的另一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次400mg、600mg或800mg且以每周1次到每2周1次的给药间隔,对需要该抗体的人进行多次皮下给药。在本发明的特定实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次400mg、600mg或800mg且以每周1次给药2次后,以每两周一次的给药间隔进行皮下给药。

[0221] 每次所给药的FKN-CX3CR1的相互作用抑制药的量可在开始给药经过一定时间后进行增量或减量。增量或减量的时期例如为开始给药后1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、12周、16周、20周、24周、28周、32周、36周、40周、44周、48周、52周、58周、60周、64周、68周、72周、76周、80周、80周、88周、92周、100周、104周、108周、112周或116周。在一实施方式中,增量或减量的时期为开始治疗后12周或24周。在一实施方式中,增量或减量后的给药量为开始给药时的 $1/3\sim 3/4$ 、 $1/3\sim 2/3$ 或 $1/2\sim 2/3$ 。在一实施方式中,增量或减量进行0次、1次或多次。

[0222] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次400mg在0周、1周、2周进行给药后,以每两周一次的给药间隔进行皮下给药,在开始给药后12周的时间点减量为200mg、每两周一次的给药间隔。

[0223] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次400mg在0周、1周、2周进行给药后,以每两周一次的给药间隔进行皮下给药,在开始给药后24周的时间点减量为200mg、每两周一次的给药间隔。

[0224] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次400mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后12周的时间点减量为200mg、每两周一次的给药间隔。

[0225] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次400mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后24周的时间点减量为200mg、每两周一次的给药间隔。

[0226] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次600mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后12周的时间点减量为400mg、每两周一次的给药间隔。

[0227] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次600mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后24周的时间点减量为400mg、每两周一次的给药间隔。

[0228] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次600mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后12周的时间点减量为200mg、每两周一次的给药间隔。

[0229] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次600mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后24周的时间点减量为200mg、每两周一次的给药间隔。

[0230] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次800mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后12周的时间点减量为600mg、每两周一次的给药间隔。

[0231] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次800mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后24周的时间点减量为600mg、每两周一次的给药间隔。

[0232] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次800mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后12周的时间点减量为400mg、每两周一次的给药间隔。

[0233] 在本发明的一实施方式中,将抗FKN抗体(例如H3-2L4)以每次800mg且以每两周一次的给药间隔进行皮下给药直到10周,在开始给药后24周的时间点减量为400mg、每两周一次的给药间隔。

[0234] 本领域的技术人员应理解为:只要在技术方面不矛盾,便可将本说明书中所记载的所有方式的任意一个或多个加以适当组合而实施本发明。进而,本领域的技术人员还应理解为:只要在技术方面不矛盾,便应优选将本说明书中所记载的优选的或具有优势的所有方式加以适当组合而实施本发明。

[0235] 关于本说明书中所引用的文献,应视为以参考形式将文献中所有公开内容明确地引用到本说明书中,本领域的技术人员可理解为:按照本说明书的上下文,在不脱离本发明的精神及范围的情况下将这些文献中的相关公开内容作为本说明书的一部分进行引用。

[0236] 提供本说明书中所引用的文献的目的是仅公开本申请案的申请日期之前的相关技术,鉴于此,任何内容都不可解释为本发明人等承认因现有发明或出于任何其它原因而不具有在所述公开内容的日期之前的权利。这些文献的所有记载内容的展示都是基于本申请人能够获取的信息,对于这些记载内容正确与否不作任何保证。

[0237] 本说明书中所使用的用语是为了说明特定的实施方式而使用的,并不旨在限定发

明。

[0238] 关于本说明书中所使用的“包含 (comprise、include)”这一用语,除了基于上下文明确应有不同理解的情况以外,其含义是存在所记载的事项(部件、步骤、要素或数字等),但不排除存在所记载以外的事项(部件、步骤、要素或数字等)。“由~构成 (consist of)”这一用语包含以“由~构成 (consist of)”及/或“实质上由~构成 (consist essentially of)”这一用语所记载的方式。

[0239] 除非另有指示,否则此处所使用的所有用语(包含技术用语及科学用语)具有与本发明所属技术领域的技术人员普遍理解的含义相同的含义。应理解的是,此处所使用的用语与本说明书及相关技术领域中的含义一致,并且不得以理想化或者过度地形式化进行定义,除非有明确表示不同的定义。

[0240] 第1、第2等用语是为了表现多种要素而使用的,但应理解为这些要素不应受这些用语本身限定。这些用语只用于将一个要素与其它要素加以区分,例如将第1要素记为第2要素,同样地,将第2要素记为第1要素是可在不脱离本发明的范围的情况下进行的。

[0241] 在本说明书及权利要求书中,关于用来表示成分含量或数值范围等的数值,除非另有特别说明,否则应理解为由用语“约”修饰。例如,关于“10 $\mu$ g”,除非另有特别说明,否则理解为指“约10 $\mu$ g”,本领域的技术人员理当可依据技术常识和本说明书的文意合理地理解该程度。

[0242] 除了在上下文中明显表示其它含义的情况以外,在本说明书及权利要求书中进行使用时,以单数形式表示的各方式只要在技术上不矛盾,便理解为也包括复数形式,反之亦然。

[0243] 以下,参考实施例来更详细地说明本发明。然而,本发明可通过各种方式来实现,不应解释为限定于此处所记载的实施例。相关技术领域的技术人员可在不改变本发明的精神或范围的情况下进行各种变更、增加、缺失、取代等来实施本发明。

[0244] 实施例

[0245] 实施例1:人源化抗人fractalkine抗体的制备

[0246] 在以下的针对人的给药试验中,使用人源化抗人fractalkine抗体H3-2L4。包含人源化的H3-2L4的制作是以W0 2011/052799中所记载的方式进行的。实施例2以后所使用的H3-2L4是通过日本专利特开2017-193541号中所记载的方法来制备的。

[0247] H3-2L4的序列如下所述。H3-2L4的恒定区是向人IgG2的恒定区的氨基酸序列插入2处突变(V234A及G237A)而获得的恒定区。

[0248] (1) H3-2L4的重链全长(序列编号1)

[0249] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFITNYYIHVVKQAPGQGLEWIGWIYPGDGSPKFNERFKGRIT  
LTADKSTNTAYMLLSSLRSEDTAVYFCATGPTDGDYFDYWGQTTVTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTS  
ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHK  
PSNTKVDKTVKCCVECPAPPAAAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY  
[0250] VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTKGQPREPQ  
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSSFFLYSKLTVDKSR  
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

- [0251] (2) H3-2L4的轻链全长 (序列编号2)  
 DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNFLAWYQQKPGKAPKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGT  
 DYTLLTISLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
- [0252] FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK  
 SFNRGEC
- [0253] (3) H3-2L4的重链可变区 (序列编号3)  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIHWWKQAPGGLEWIGWIYPGDGSPKFNERFKGRTT
- [0254] LTADKSTNTAYMLLSSLRSEDTAVYFCATGPTDGDYFDYWGQGTTVTVSS
- [0255] (4) H3-2L4的轻链可变区 (序列编号4)  
 DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASGNIHNFLAWYQQKPGKAPKLLIYNEKTLADGVPSRFSGSGSGT
- [0256] DYTLLTISLQPEDFATYFCQQFWSTPYTFGGGKVEIK
- [0257] (5) H3-2L4的CDR-H1~CDR-H3、及CDR-L1~CDR-L3的氨基酸序列:
- [0258] H3-2L4的CDR-H1 (序列编号5)
- [0259] NYIIH
- [0260] H3-2L4的CDR-H2 (序列编号6)
- [0261] WIYPGDGSPKFNERFKG
- [0262] H3-2L4的CDR-H3 (序列编号7)
- [0263] GPTDGDYFDY
- [0264] H3-2L4的CDR-L1 (序列编号8)
- [0265] RASGNIHNFLA
- [0266] H3-2L4的CDR-L2 (序列编号9)
- [0267] NEKTLAD
- [0268] H3-2L4的CDR-L3 (序列编号10)
- [0269] QQFWSTPYT
- [0270] 实施例2:反复皮下给药的临床1/2期试验
- [0271] 以类风湿性关节炎患者作为受试者,进行临床1/2期试验,以评价将H3-2L4反复进行皮下给药时的安全性及耐受性。
- [0272] 2-1. 临床试验设计
- [0273] 本临床试验是如下所述的多中心共同、开放标签、非对照、反复给药用量递增 (multiple ascending dose (多次递增剂量), MAD) 试验:以日本人类风湿性关节炎患者为受试者,主要目标是评价将H3-2L4在12周内反复进行皮下给药时的安全性及耐受性。在本临床试验中,以100mg组编入12例,以200mg组编入15例,以400mg组编入10例,合计编入37例,其中28例转成为期52周的继续给药期。在用量递增时,从低用量开始依次实施,评价安全性后再转为高用量的给药组。
- [0274] 本临床试验由筛选期、观察期、给药期、继续给药期及追踪调查期构成。
- [0275] 在开始给药临床试验新药前42天~2天以内实施筛选检查,在初次给药临床试验新药的前一天或当天给药之前实施观察期的检查,对被确认了合适性的受试者给药H3-2L4。合适性的标准如下所述:

- [0276] (1) 年龄在20岁以上且小于65岁；
- [0277] (2) 满足1987年ACR分类标准或2010年ACR/EULAR分类标准的类风湿性关节炎患者；
- [0278] (3) 在开始筛选之前进行以下治疗的一种或两种，在筛选期及观察期的评价中，确认压痛关节数量为4处以上(68关节中)且肿胀关节数量为4处以上(66关节中)的患者；
- [0279] -利用甲氨喋呤(MTX)进行了3个月以上治疗的患者。但是，因副作用而无法继续给药的患者则不需要3个月以上的治疗记录；
- [0280] -利用抗TNF制剂进行了3个月以上治疗的患者。其中，利用抗TNF制剂进行的治疗仅限于阿达木单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗或依那西普中的任意1剂(包含抗TNF制剂或生物仿制药)；
- [0281] (4) 过去未被给药过抗TNF制剂以外的生物制剂(托珠单抗、阿巴西普等)或2剂以上的抗TNF制剂的患者；
- [0282] (5) 在筛选期为超敏CRP(hs-CRP) 0.6mg/dL以上或红细胞沉降速率(ESR) 28mm/hr以上的患者；
- [0283] (6) 在使用除MTX、布西拉明或柳氮磺胺吡啶以外的抗风湿药(DMARDs)时，可在开始给药临床试验新药的4周以上之前中止给药的患者。其中，关于MTX、布西拉明或柳氮磺胺吡啶，从开始给药临床试验新药的4周前，在临床试验期间，可以使用任意1剂；
- [0284] (7) 在使用以泼尼松龙计超过10mg/天的肾上腺皮质类固醇时，可在开始给药临床试验新药的4周以上之前减量为以泼尼松龙计为10mg/天以下的患者；以及
- [0285] (8) 筛选时的体重为30kg以上100kg以下的患者。

[0286] 2-2: 临床试验新药的给药

[0287] 本临床试验中所使用的临床试验新药的种类及配方如下所述。

[0288] [表1]

[0289] 表1临床试验新药的种类

种类	剂型及含量	制造商
[0290] H3-2L4	1小瓶(1 mL)中含有100 mg的H3-2L4的水溶液	卫材股份有限公司

[0291] [表2]

[0292] 表2配方

成分	浓度
[0293] H3-2L4	100mg/mL
磷酸盐缓冲液(pH值5.8)	25mM
蔗糖	200mM
甘氨酸	50mM
聚山梨醇酯80	0.05%

[0294] 在给药期，将H3-2L4在0周、1周、2周进行给药，以后每2周进行给药直到10周，共计给药7次。

[0295] 100mg给药组是对左右上臂部、左右腹部或左右大腿部的任一部位进行皮下给药，

200mg给药组是以每处1mL分2处进行皮下给药,400mg给药组是以每处1mL分4处进行皮下给药。此外,关于400mg给药组,只要研究者或助理研究者判断为可适当地进行皮下给药,便也可以每处2mL分2处进行皮下给药。临床试验新药的给药是在当天预定的所有调查(给药部位所见除外)结束后实施。

[0296] 对于在第7次的给药结束2周后(12周时)的评价中,安全性无问题,压痛关节数量及肿胀关节数量两者较观察期改善了20%以上,且希望继续给药的受试者,进而每2周以相同用量给药20次(40周)(继续给药期)。关于400mg给药组的继续给药期,由研究者或助理研究者判断为也可减量为200mg给药(也可恢复为400mg给药)。对于转为继续给药期的受试者,在初次给药后进行观察、调查直到52周。临床试验新药的给药间隔设为空开7天以上(间隔6天以上),在因变更观察、调查日而使得给药间隔小于7天的情况下,对临床试验新药的给药进行停药,仅实施观察、调查。

[0297] 2-3:有效性

[0298] 在本临床试验中探索性地评价有效性。作为12周后的ACR20缓解率,在100mg组中为75.0%(9/12例),在200mg组中为80.0%(12/15例),在400mg组中为70.0%(7/10例);作为ACR50缓解率,在100mg组中为33.3%(4/12例),在200mg组中为26.7%(4/15例),在400mg组中为30.0%(3/10例);作为ACR70缓解率,在100mg组中为8.3%(1/12例),在200mg组中为20.0%(3/15例),在400mg组中为20.0%(2/10例)(图1)。此外,关于因早期中止或其它原因导致各评价时间点的有效性数据缺失的案例,通过末次观测值结转(last observation carried forward, LOCF)将数据补全。

[0299] 2-4:利用CD16+单核细胞比率进行的子群解析

[0300] 以给药开始日为起点(1天(0周)),通过流式细胞分析来测定给药前(1天)(基线)所采集的外周血中的总单核细胞中的CD16+单核细胞的比率。

[0301] 将利用Cyto-Chex BCT(Streck, Inc., 213386)所采集的血液与利用裂解(Lysis)缓冲液(大冢蒸馏水(大冢制药工场)稀释10倍所得的BD Pharm Lyse(BD Biosciences, 555899))以1:9(体积比)进行混合后,翻转混合几次,在室温下放置10分钟,使红细胞溶血。将已溶血的样本在室温、290xg及5分钟的条件下进行离心分离,使用FACS缓冲液(使用0.5M EDTA(Invitrogen, 15575-038)及FBS(胎牛血清, HyClone, SH30396.03)及PBS(Santa Cruz Biotechnology, sc-296028)调整为含有1mM EDTA、1%FBS的PBS而成的缓冲液)对残存细胞进行清洗。对于残存细胞,利用与已溶血的血液量等量的FACS缓冲液使其悬浮而制备细胞悬浮液。将细胞悬浮液与FcR阻断试剂(Miltenyi Biotec, 130-059-901)以10:2(体积比)进行混合以实现阻断,在冰上放置30分钟。向96孔盘中加入细胞悬浮液,在4℃、290xg、5分钟的条件下进行离心分离。向废弃上清液后的细胞中加入抗体混合溶液(将荧光标记抗CD14抗体(Alexa Fluor647-CD14, BioLegend公司, 325612)、及荧光标记抗CD16抗体(FITC-CD16, Abcam公司, ab115920)利用FACS缓冲液进行调整),利用盘式振荡器进行搅拌,在冰上,在遮光条件下放置30分钟,使细胞染色。染色后,加入FACS缓冲液,在4℃、290xg、5分钟的条件下进行离心分离,清洗细胞。在FACS缓冲液200μL中使细胞悬浮,使用BD FACSCantoII(Becton, Dickinson and Company, 338962)来获取样本数据。

[0302] 将利用BD FACSCantoII所获取的样本数据输出到fcs文件,利用FlowJo(FlowJo, LLC)来解析该fcs文件。在展开FSC-A及SSC-A时,将源自外周血的单核细胞(PBMC)划分为单

核细胞 (Monocytes)。以CD14及CD16展开单核细胞,划分为CD16+单核细胞,算出总单核细胞中的CD16+单核细胞的比率(百分率)。

[0303] 对所获得的基线的CD16+单核细胞比率、与ACR20、ACR50及ACR70的反应的相关性进行评价。此外,在评价ACR时,与2-3同样地,关于因早期中止或其它原因导致各评价时间点的有效性数据缺失的案例,通过末次观测值结转 (LOCF) 将数据补全。

[0304] 作为12周后的400mg组中的ACR20、ACR50及ACR70的应答组 (Responder) 及无应答组 (Non-responder) 中的基线CD16+单核细胞比率的平均值,在ACR20应答组中为7.6% (N=6),在ACR20无应答组中为4.7% (N=3),在ACR50应答组中为11.8% (N=2),在ACR50无应答组中为5.2% (N=7),在ACR50应答组中为10.3% (N=1),在ACR50无应答组中为6.2% (N=8) (图2)。根据该结果,提示了CD16+单核细胞比率的高度与有效性的相关性。

[0305] 实施例3:以在利用甲氨喋呤进行的治疗中效果不充分的类风湿性关节炎患者作为受试者的H3-2L4的用量反应性试验 (临床2期试验)

[0306] 3-1. 临床试验设计

[0307] 本临床试验是多中心共同、随机分配、双盲试验、安慰剂对照、平行组间比较试验。在本临床试验中,设定H3-2L4 100mg、200mg、400mg、安慰剂组此4组,H3-2L4 100mg、200mg及安慰剂组是在0周、1周、2周、以后每2周进行给药,H3-2L4 400mg组是在0周、1周、2周、4周、6周、8周、10周给药400mg且以后每2周给药200mg。

[0308] 本临床试验由筛选期、观察期、给药期、继续给药期及追踪调查期构成。

[0309] 以在开始给药临床试验新药前42天以内实施筛选检查,且在观察期内被确认了合适性的受试者作为受试者,使用以筛选期的CRP值、病期、生物制剂的给药史作为分配因素的动态分配,对H3-2L4 100mg、200mg、400mg或安慰剂组的任一者按照1:2:2:2进行分配。合适性的标准如下所述。

[0310] (1) 年龄在18岁以上且小于75岁的患者;

[0311] (2) 在取得同意时的12周以上之前满足1987年ACR分类标准或2010年ACR/EULAR分类标准的RA患者;

[0312] (3) 在开始筛选之前,在6mg/周到16mg/周的范围利用MTX进行治疗长达12周以上,且在筛选期及观察期的评价中确认到压痛关节数量6处以上 (68关节中) 且肿胀关节数量6处以上 (66关节中) 的患者;

[0313] (4) 在开始给药临床试验新药的4周以上之前到继续给药期结束时 (或中止时) 为止,可按照一定的用法用量 (6mg/周到16mg/周) 继续使用MTX的患者;

[0314] (5) 在过去有过针对RA的生物制剂给药史 (也包含临床试验中的给药史) 的情况下,满足以下内容的患者;

[0315] - 针对RA的生物制剂治疗记录为阿达木单抗、英夫利昔单抗、戈利木单抗、赛妥珠单抗、依那西普、托珠单抗或阿巴西普中的任意1剂 (包含生物仿制药);

[0316] - 在开始给药临床试验新药前12周以内未使用针对RA的生物制剂;

[0317] (6) 在筛选期为CRP 0.6mg/dL以上或红细胞沉降速率 (ESR) 28mm/hr以上的患者;

[0318] (7) 在筛选期的关节X射线影像上确认到3处以上骨侵蚀的患者、或者类风湿因子 (RF) 或抗环瓜氨酸肽 (cyclic citrullinated peptide, CCP) 抗体为阳性且确认到1处以上骨侵蚀的患者;以及

[0319] (8) 筛选期的体重为30kg以上100kg以下的患者。

[0320] 3-2: 临床试验新药的给药

[0321] 本临床试验中所使用的临床试验新药的种类、配方如下所述。

[0322] [表3]

[0323] 表3临床试验新药的种类

临床试验新药	含量、剂型
[0324] H3-2L4	1 小瓶 (1 mL) 中含有 50 ng 或 100 mg 的 H3-2L4 的水溶液
安慰剂	1 小瓶 (1 mL) 中不含 H3-2L4 的水溶液

[0325] 保存条件: 在2℃~8℃下遮光保存。

[0326] 制造商: 卫材股份有限公司

[0327] [表4]

[0328] 表4配方

成分	浓度		
	H3-2L4 100 mg/mL	H3-2L4 50 mg/mL	安慰剂
H3-2L4	100 mg/mL	50 mg/mL	-
[0329] 磷酸盐缓冲液 (pH 值 5.8)	25 mM	25 mM	25 mM
蔗糖	200 mM	200 mM	200 mM
甘氨酸	50 mM	50 mM	50 mM
聚山梨醇酯 80	0.05%	0.05%	0.05%

[0330] 给药期设为24周, 将H3-2L4或安慰剂在0周、1周、2周在双盲试验下给药, 以后每2周在双盲试验下给药直到22周。

[0331] 24周给药期的评价结束后, 受试者转为继续给药期。继续给药期设为开始给药临床试验新药并经过104周这段时间, 在开放标签下将H3-2L4 200mg每2周地进行给药直到102周。另外, 在继续给药期间, 效果不足或加重时 (在间隔1周以上的连续2次评价中, 压痛关节数量及肿胀关节数量均未发现比观察期有所改善), 也可以一次有限地增量 (每2周给药400mg并给药6次)。临床试验新药的给药是在当天预定的所有调查 (给药部位所见除外) 结束后实施。

[0332] 在本临床试验中, 使用1小瓶 (1mL) 中包含H3-2L4 50mg、100mg或安慰剂的临床试验新药。在给药期0~10周皮下给药4mL, 在12~22周皮下给药2mL。在继续给药期间, 给药H3-2L4 200mg时皮下给药2mL, 在给药H3-2L4 400mg时皮下给药4mL。在给药2mL时对左右上臂部、左右腹部或左右大腿部的任一部位以每处1mL分2处进行皮下给药, 在给药4mL时以每处1mL分4处进行皮下给药。此外, 在给药4mL时, 只要研究者或助理研究者判断为可适当地进行皮下给药, 便也可以每处2mL分2处进行皮下给药。

[0333] 评价时将0周作为基点, 1周~12周是在前后3天内实施, 14周以后是在前后7天内

实施。关于追踪调查期,在规定日期的前后7天内(“最终给药70天后”是“后7天内”)实施。但是,关于临床试验新药的给药间隔,在开始给药第2周之前间隔3天以上,在开始给药第4周以后间隔6天以上。在预定的评价及临床试验新药的给药无法在该范围内实施的情况下,停止给药临床试验新药,但实施各评价。

[0334] 在本临床试验中,以安慰剂组编入54例,以H3-2L4 100mg组编入28例,以200mg组编入54例,以400/200mg组编入54例,合计编入190例,其中169例结束给药期。

[0335] 3-3:有效性

[0336] 针对各个给药量分别进行各评价时期中的ACR20缓解率、ACR50缓解率、ACR70缓解率等的评价。

[0337] 作为12周后的ACR20缓解率,在安慰剂组中为37.0% (20/54例),在100mg组中为39.3% (11/28例),在200mg组中为48.1% (26/54例),在400/200mg组中为46.3% (25/54例)。另外,作为ACR50缓解率,在安慰剂组中为14.8% (8/54例),在100mg组中为10.7% (3/28例),在200mg组中为25.9% (14/54例),在400/200mg组中为18.5% (10/54例);作为ACR70缓解率,在安慰剂组中为3.7% (2/54例),在100mg组中为3.6% (1/28例),在200mg组中为9.3% (5/54例),在400/200mg组中为7.4% (4/54例) (图3)。作为24周后的ACR20缓解率,在安慰剂组中为35.2% (19/54例),在100mg组中为39.3% (11/28例),在200mg组中为53.7% (29/54例),在400/200mg组中为57.4% (31/54例),200mg组、400/200mg组较安慰剂组来说显著高。作为ACR50缓解率,在安慰剂组中为16.7% (9/54例),在100mg组中为17.9% (5/28例),在200mg组中为25.9% (14/54例),在400/200mg组中为27.8% (15/54例);作为ACR70缓解率,在安慰剂组中为5.6% (3/54例),在100mg组中为14.3% (4/28例),在200mg组中为11.1% (6/54例),在400/200mg组中为13.0% (7/54例) (图4)。此外,关于因早期中止或其它原因导致各评价时间点的有效性数据缺失的案例,通过无应答者归因(non-responder imputation,NRI)将数据补全。

[0338] 3-4:利用CD16+单核细胞比率进行的子群解析

[0339] 将荧光标记抗CD14抗体从Alexa Fluor 647-CD14 (BioLegend公司,325612)变更为Brilliant Violet-CD14 (BioLegend公司,325628),除此以外,通过与2-4中所记载的方法相同的方法来算出在给药前(1天)(基线)所采集的外周血中的总单核细胞中的单核细胞中的CD16+单核细胞的比率(百分比)。与3-3同样地,关于有效性中的因早期中止或其它原因导致各评价时间点的有效性数据缺失的案例,通过无应答者归因(NRI)将数据补全。

[0340] 利用基线中的CD16+单核细胞比率的中值(Median:10.35%)将整个集群一分为二,将此时所获得的ACR缓解率示于以下。作为CD16+单核细胞比率小于中值(<10.35%)的集群中的12周后的ACR20缓解率,在安慰剂组中为43.3% (13/30例),在100mg组中为20.0% (2/10例),在200mg组中为45.5% (10/22例),在400mg组中为27.3% (6/22例);作为ACR50缓解率,在安慰剂组中为13.3% (4/30例),在100mg组中为10.0% (1/10例),在200mg组中为22.7% (5/22例),在400/200mg组中为9.1% (2/22例);作为ACR70缓解率,在安慰剂组中为3.3% (1/30例),在100mg组中为0.0% (0/10例),在200mg组中为4.5% (1/22例),在400/200mg组中为4.5% (1/22例) (图5)。另一方面,作为CD16+单核细胞比率为中值以上( $\geq$ 10.35)的集群中的12周后的ACR20缓解率,在安慰剂组中为35.0% (7/20例),在100mg组中为53.3% (8/15例),在200mg组中为53.8% (14/26例),在400/200mg组中为56.5% (13/23

例) ;作为ACR50缓解率,在安慰剂组中为20.0% (4/20例),在100mg组中为13.3% (2/15例),在200mg组中为34.6% (9/26例),在400/200mg组中为26.1% (6/23例);作为ACR70缓解率,在安慰剂组中为5.0% (1/20例),在100mg组中为6.7% (1/15例),在200mg组中为15.4% (4/26例),在400/200mg组中为8.7% (2/23例) (图6);这提示了在CD16+单核细胞比率为中值以上的集群中显著检测出H3-2L4的有效性。

[0341] 关于24周后的ACR缓解率也同样如此,作为CD16+单核细胞比率小于中值的集群中的ACR20缓解率,在安慰剂组中为43.3% (13/30例),在100mg组中为20.0% (2/10例),在200mg组中为54.5% (12/22例),在400/200mg组中为45.5% (10/22例);作为ACR50缓解率,在安慰剂组中为20.0% (6/30例),在100mg组中为10.0% (1/10例),在200mg组中为13.6% (3/22例),在400/200mg组中为13.6% (3/22例);作为ACR70缓解率,在安慰剂组中为6.7% (2/30例),在100mg组中为0.0% (0/10例),在200mg组中为9.1% (2/22例),在400/200mg组中为9.1% (2/22例) (图7);而作为CD16+单核细胞比率为中值以上的集群中的ACR20缓解率,在安慰剂组中为30.0% (6/20例),在100mg组中为46.7% (7/15例),在200mg组中为57.7% (15/26例),在400/200mg组中为69.6% (16/23例);作为ACR50缓解率,在安慰剂组中为15.0% (3/20例),在100mg组中为26.7% (4/15例),在200mg组中为34.6% (9/26例),在400/200mg组中为39.1% (9/23例);作为ACR70缓解率,在安慰剂组中为5.0% (1/20例),在100mg组中为26.7% (4/15例),在200mg组中为7.7% (2/26例),在400/200mg组中为13.0% (3/23例) (图8);这提示了在CD16+单核细胞比率为中值以上的集群中,以更明确的用量反应性检测出H3-2L4的有效性。

[0342] 此外,利用基线中的CD16+单核细胞比率的中值 (Median:10.35%) 将整个集群一分为二,此时两组间的受验者背景未产生偏差,从而认为在对利用CD16+单核细胞比率所获得的患者分层结果进行解释方面,并无应特别注意的干扰因素 (表5)。

[0343] [表5]

[0344] 表5利用基线中的CD16+单核细胞比率被一分为二的集群的受验者背景

CD16 阳性细胞	安慰剂		100 mg		200 mg		400 mg/200 mg	
	低 (n = 30)	高 (n = 20)	低 (n = 10)	高 (n = 15)	低 (n = 22)	高 (n = 26)	低 (n = 22)	高 (n = 23)
年龄 (岁), 平均值 (标准偏差)	57.2 (9.36)	58.2 (10.9)	54.6 (11.6)	57.4 (9.80)	56.7 (11.5)	55.9 (9.79)	55.6 (10.1)	56.0 (8.72)
性别, n (%)								
男性	6 (20)	2 (10)	4 (40)	2 (13)	4 (18)	6 (23)	4 (18)	6 (26)
女性	24 (80)	18 (90)	6 (60)	13 (87)	18 (82)	20 (77)	18 (82)	17 (74)
体重 (kg), 平均值 (标准偏差)	53.58 (8.797)	56.34 (14.806)	58.15 (12.946)	54.71 (8.945)	56.85 (14.646)	60.82 (14.692)	53.82 (11.566)	56.26 (11.822)
RA 病期 (年), 平均值 (标准偏差)	6.2 (6.87)	7.7 (8.18)	6.0 (4.62)	6.6 (5.88)	4.7 (5.94)	8.9 (6.75)	7.8 (6.81)	7.2 (6.40)
生物制剂治疗的事先使用, n (%)	7 (23.3)	4 (20.0)	3 (30.0)	3 (20.0)	4 (18.2)	6 (23.1)	4 (18.2)	4 (17.4)
MTX 剂量 (mg/周), 平均值 (标准偏差)	9.8 (2.06)	9.3 (2.54)	10.4 (3.24)	10.0 (3.38)	9.2 (2.11)	11.0 (3.49)	10.3 (2.71)	10.2 (3.46)
类风湿因子呈阳性	23 (76.7)	18 (90.0)	8 (80.0)	12 (80.0)	20 (90.9)	22 (84.6)	18 (81.8)	18 (78.3)
抗 CCP 抗体呈阳性	27 (90.0)	20 (100.0)	8 (80.0)	15 (100.0)	19 (86.4)	23 (88.5)	20 (90.9)	18 (78.3)
压痛关节数量 (68), 平均值 (标准偏差)	12.9 (5.02)	15.8 (9.00)	11.9 (3.73)	14.4 (7.53)	16.4 (7.94)	16.5 (6.84)	18.8 (11.90)	15.3 (7.66)
肿胀关节数量 (66), 平均值 (标准偏差)	12.0 (5.65)	13.4 (7.86)	10.9 (5.95)	10.4 (3.36)	12.0 (4.46)	12.8 (5.56)	12.6 (7.05)	13.7 (4.45)
基线下的 CRP (mg/dL), 平均值 (标准偏差)	1.557 (1.701)	1.130 (1.521)	1.90 (1.245)	0.767 (0.597)	1.186 (0.903)	1.058 (0.856)	1.564 (1.924)	1.009 (1.589)
基线 DAS28-ESR, 平均值 (标准偏差)	5.66 (0.835)	5.67 (1.095)	5.44 (0.517)	5.67 (0.944)	5.84 (0.765)	5.79 (0.822)	6.06 (1.032)	5.83 (0.672)

[0345]



	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			115					120					125			
	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu
		130					135						140			
	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145					150					155					160
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
					165					170					175	
	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
				180					185						190	
	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro
			195					200					205			
[0002]	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu
		210					215						220			
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Ala	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
	225					230					235					240
	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
				245						250					255	
	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln
				260					265					270		
	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
			275					280					285			
	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
		290					295					300				
	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys

305	310	315	320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys			
	325	330	335
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser			
	340	345	350
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys			
	355	360	365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln			
	370	375	380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly			
	385	390	395
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln			
	405	410	415
[0003]			
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn			
	420	425	430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	435	440	445
<210> 2			
<211> 214			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成多肽			
<400> 2			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Phe			
	20	25	30

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

Tyr Asn Glu Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Phe Trp Ser Thr Pro Tyr  
 85 90 95

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

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

[0004] Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 3







<210> 10  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<400> 10

Gln Gln Phe Trp Ser Thr Pro Tyr Thr  
 1 5

<210> 11  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成多肽

<400> 11

[0008]

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Pro Lys Phe Asn Glu Arg Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Thr Gly Pro Thr Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 12  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成多肽

<400> 12

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
20 25 30

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

[0009]

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Pro Lys Phe Asn Glu Arg Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Thr Thr Leu Thr Arg Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Thr Gly Pro Thr Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 13  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成多肽

&lt;400&gt; 13

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
                   20                    25                    30

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Pro Lys Phe Asn Glu Arg Phe  
                   50                    55                    60

Lys Gly Arg Thr Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65                    70                    75                    80

[0010]

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

Ala Arg Gly Pro Thr Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
                   100                    105                    110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
                   115

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成多肽

&lt;400&gt; 14

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Pro Lys Phe Asn Glu Arg Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Pro Thr Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

[0011]

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 15

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Phe  
 20 25 30

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

Tyr Asn Glu Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Phe Trp Ser Thr Pro Tyr  
85 90 95

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

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<400> 16

[0012]

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Phe  
20 25 30

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

Tyr Asn Glu Lys Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Phe Trp Ser Thr Pro Tyr  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

[0013]

100

105

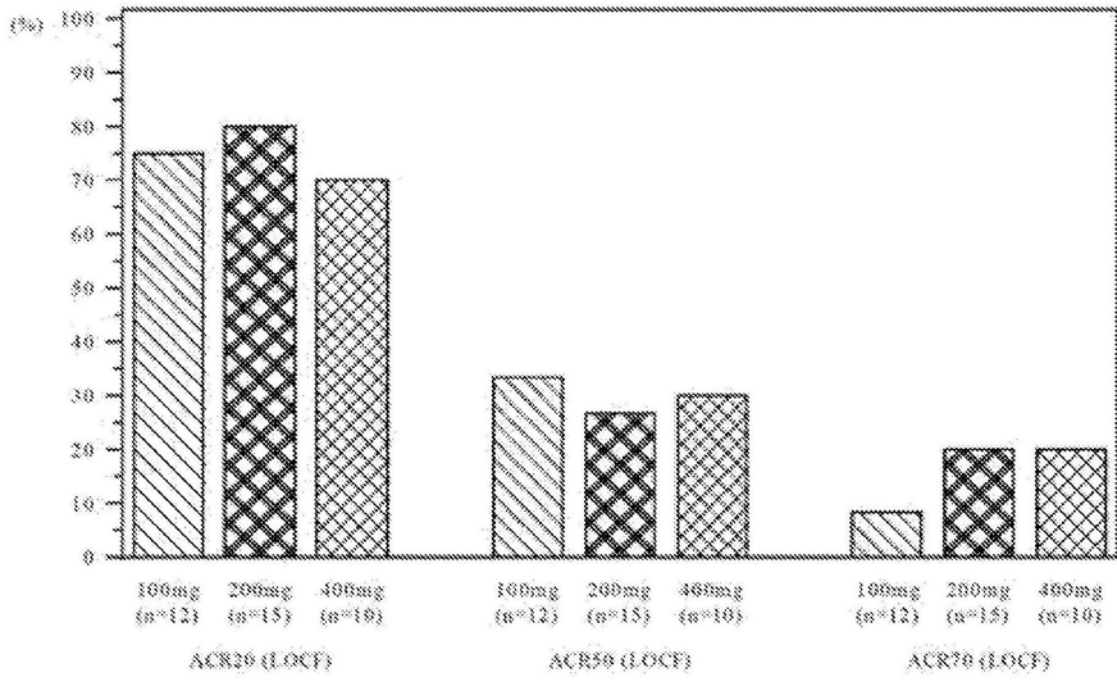


图1

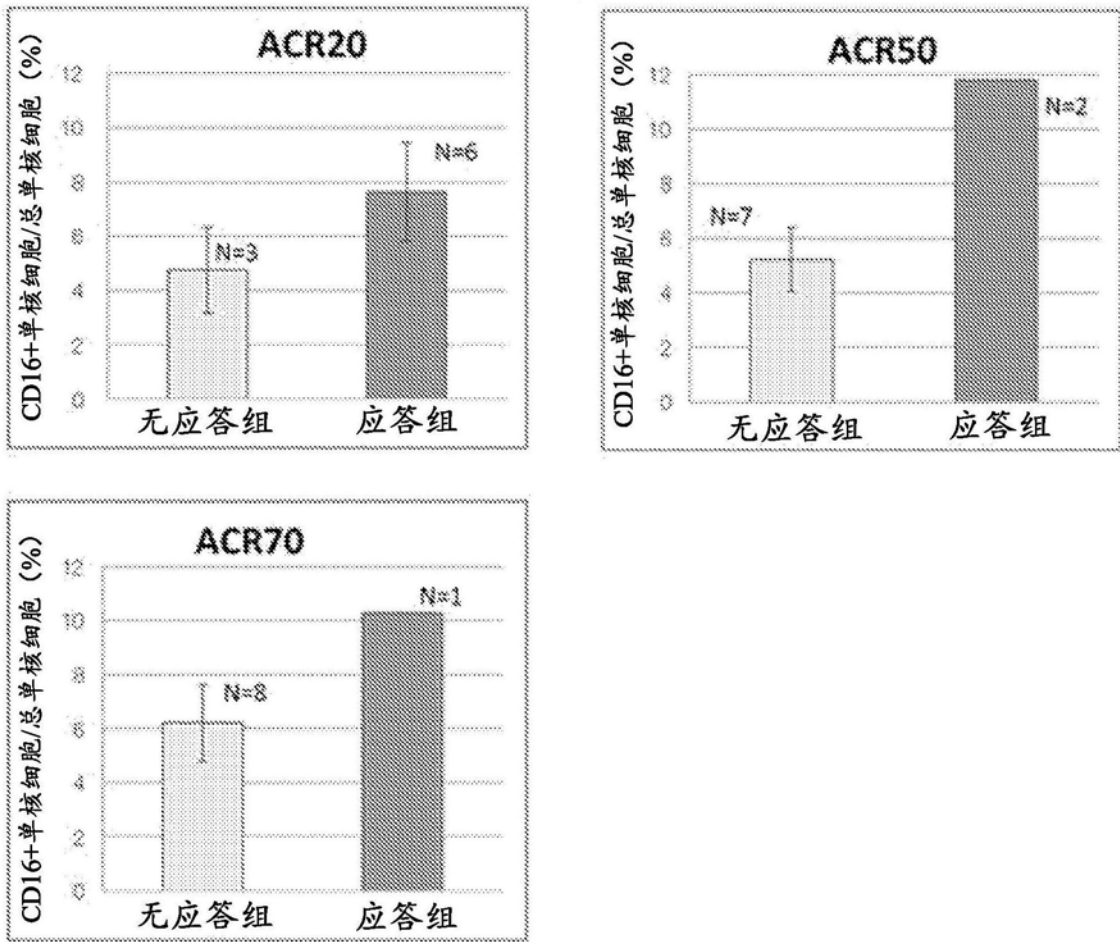


图2

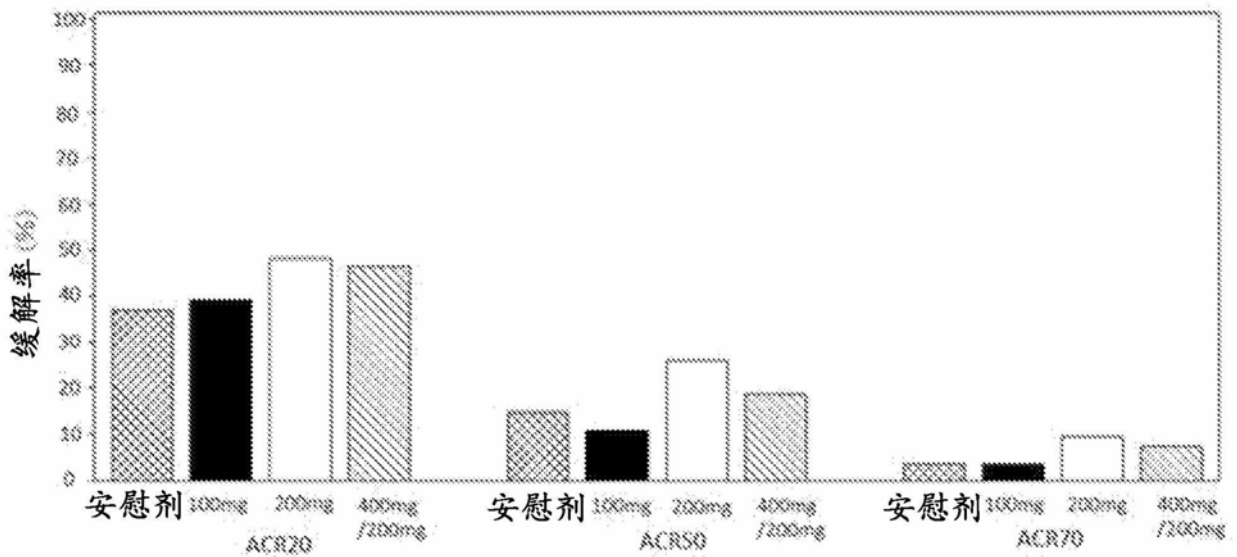


图3

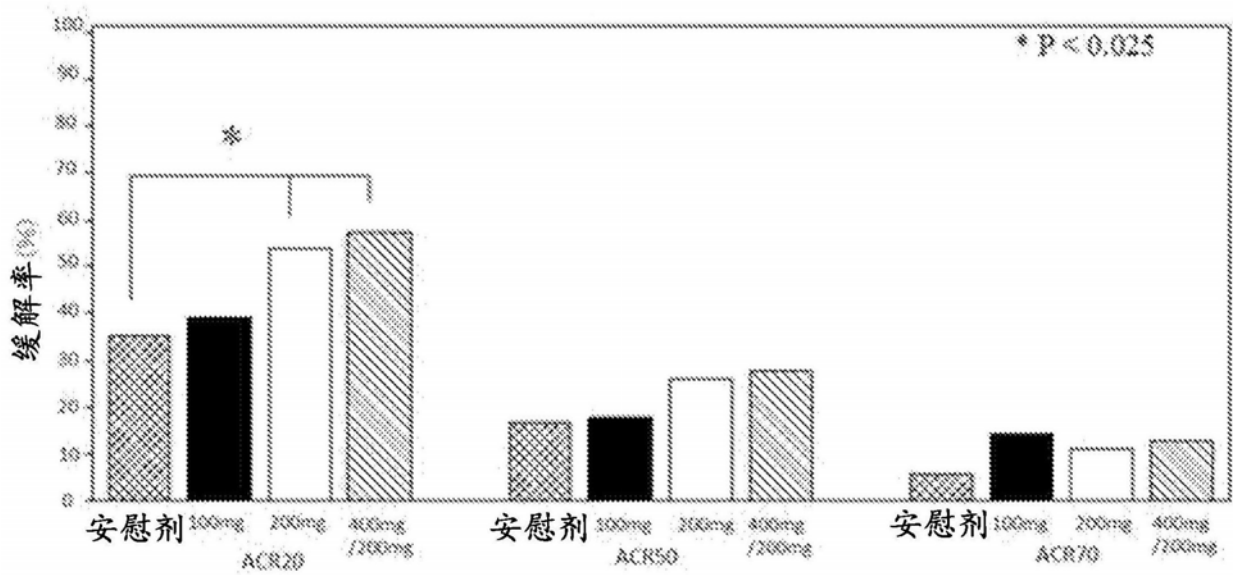


图4

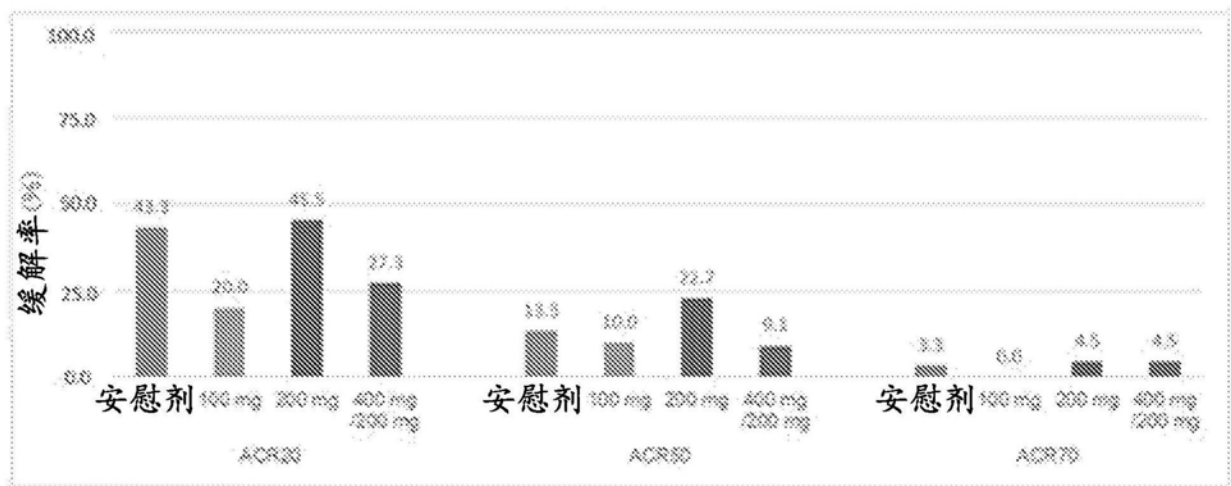


图5

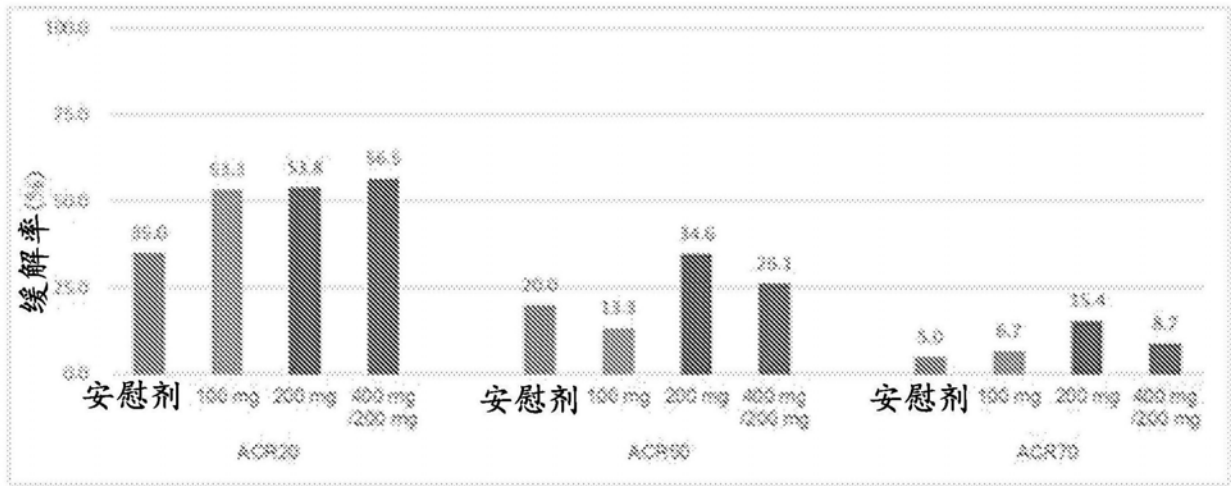


图6

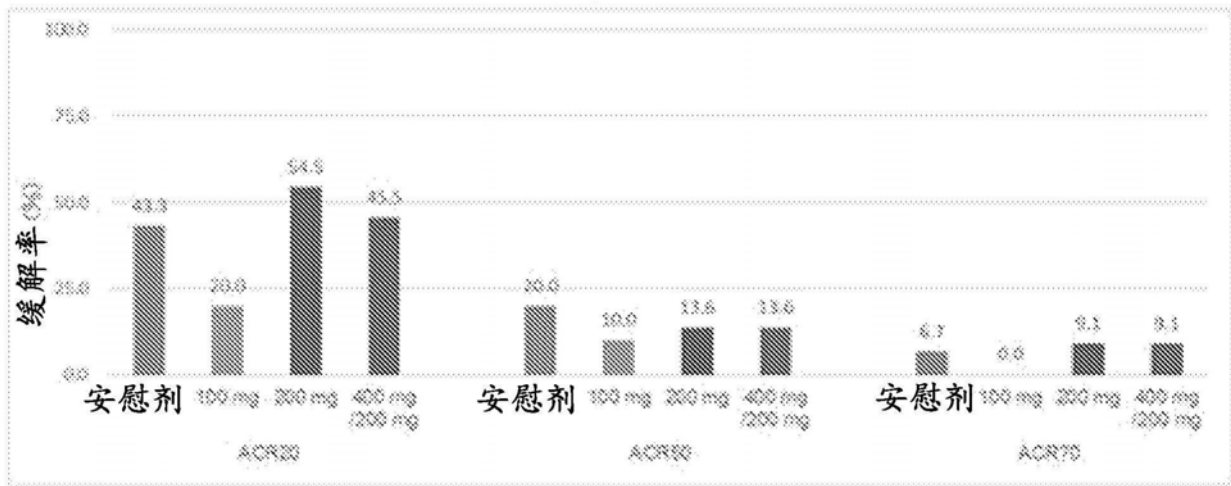


图7

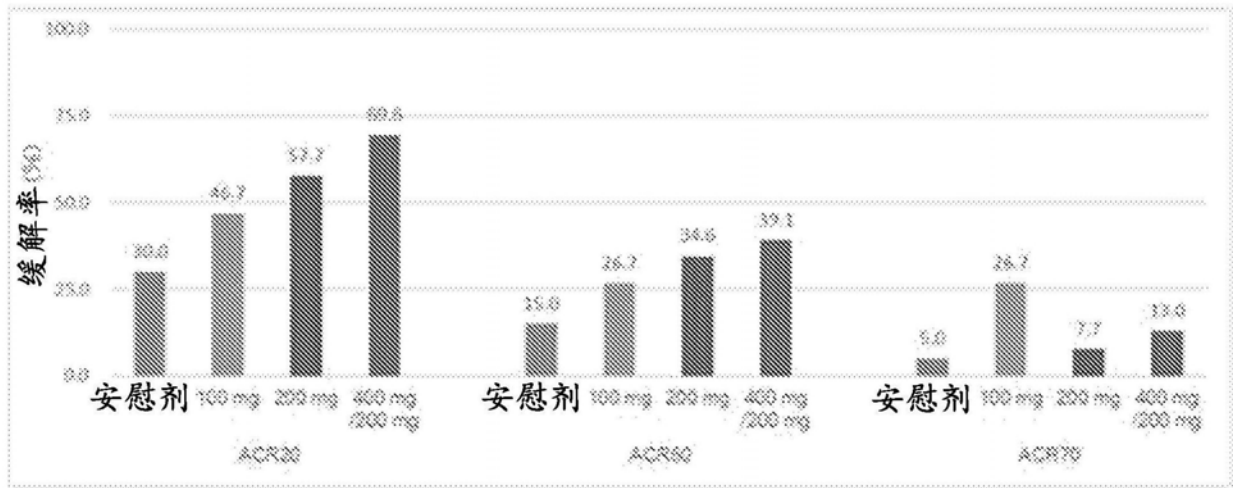


图8