



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111741768 B

(45) 授权公告日 2024. 12. 27

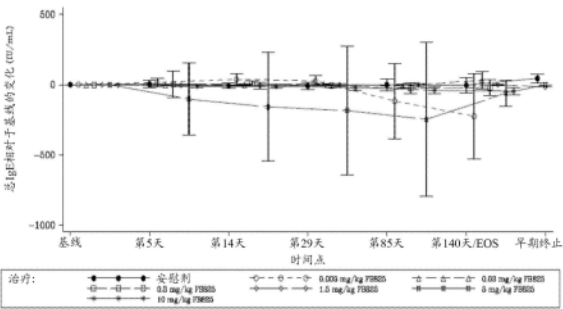
(21) 申请号 201880084604.5	(72) 发明人 路孔明 陈念宜 郑恬恬
(22) 申请日 2018.10.30	(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理 有限责任公司 11204
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 111741768 A	专利代理师 王达佐 洪欣
(43) 申请公布日 2020.10.02	(51) Int.Cl.
(30) 优先权数据 62/579,416 2017.10.31 US	A61K 39/395 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2020.06.29	A61P 37/00 (2006.01)
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/CN2018/112714 2018.10.30	A61P 37/08 (2006.01)
(87) PCT国际申请的公布数据 W02019/085902 EN 2019.05.09	(56) 对比文件
(73) 专利权人 合一生技股份有限公司	CN 102740888 A, 2012.10.17
地址 中国台湾台北市	CN 104995212 A, 2015.10.21
	审查员 谷城橙
	权利要求书2页 说明书40页
	序列表4页 附图8页

(54) 发明名称

治疗IgE介导的过敏性疾病

(57) 摘要

用能够结合至膜结合IgE的Cεmx结构域的抗体治疗受试者中与免疫球蛋白E (IgE) 相关的病症的方法。可以给受试者施用至少两个剂量的抗体,所述两个剂量相隔至少三个月。



1. 与膜结合IgE的C $\epsilon$ m $\alpha$ x结构域结合的抗体在制备用于治疗与免疫球蛋白E(IgE)相关的病症的药物中的用途,所述治疗包括:

(i) 向有需要的人类受试者施用第一剂量的所述药物;和

(ii) 向所述人类受试者施用第二剂量的所述药物;其中所述第二剂量是在所述第一剂量后至少8周且最多6个月施用;

其中所述第一剂量、所述第二剂量或两者为1mg/kg至10mg/kg;

其中所述抗体包括重链可变区(V<sub>H</sub>),所述重链可变区包括重链互补决定区(CDR)1、重链CDR2和重链CDR3,其中所述重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3分别是如SEQ ID NO:2的26-36、51-66和98-106位残基的氨基酸序列所示;以及

其中所述抗体包括轻链可变区(V<sub>L</sub>),所述轻链可变区包括轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3,其中所述轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3分别是如SEQ ID NO:3的24-39、55-61和94-102位残基的氨基酸序列所示;和

其中所述病症是特应性皮炎。

2. 与膜结合IgE的C $\epsilon$ m $\alpha$ x结构域结合的抗体在制备用于治疗特应性皮炎的药物中的用途,所述治疗包括向有需要的人类受试者施用第一剂量的所述药物;其中所述第一剂量为1mg/kg至10mg/kg;

其中所述抗体包括重链可变区(V<sub>H</sub>),所述重链可变区包括重链互补决定区(CDR)1、重链CDR2和重链CDR3,其中所述重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3分别是如SEQ ID NO:2的26-36、51-66和98-106位残基的氨基酸序列所示;以及

其中所述抗体包括轻链可变区(V<sub>L</sub>),所述轻链可变区包括轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3,并且其中所述轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3分别是如SEQ ID NO:3的24-39、55-61和94-102位残基的氨基酸序列所示。

3. 如权利要求1-2中任一项所述的用途,其中所述抗体包含V<sub>H</sub>,所述V<sub>H</sub>是如SEQ ID NO:2的氨基酸序列所示,并且所述抗体包含V<sub>L</sub>,所述V<sub>L</sub>是如SEQ ID NO:3的氨基酸序列所示。

4. 如权利要求1-2中任一项所述的用途,其中所述抗体是人抗体或人源化抗体。

5. 如权利要求1-2中任一项所述的用途,其中所述抗体是全长抗体或其抗原结合片段。

6. 如权利要求1-2中任一项所述的用途,其中将所述抗体配制成包含所述抗体、缓冲液、盐和非离子表面活性剂的药物组合物。

7. 如权利要求6所述的用途,其中所述药物组合物是pH为5至8的水性溶液。

8. 如权利要求7所述的用途,其中所述缓冲液是组氨酸缓冲液、所述盐是氯化钠和/或所述非离子表面活性剂是聚山梨酯80。

9. 如权利要求8所述的用途,其中所述药物组合物中的所述抗体为10mg/ml至30mg/ml,所述组氨酸缓冲液的浓度为10-30mM,所述氯化钠的浓度为120-160mM,并且所述聚山梨酯80的浓度为0.01-0.03%。

10. 水性制剂,其包含浓度为10mg/ml至30mg/ml的结合至膜结合IgE的C $\epsilon$ m $\alpha$ x结构域的抗体,浓度为10-30mM的包含氨基酸的缓冲液,浓度为120-160mM的盐以及浓度为0.01-0.03%的非离子表面活性剂,其中所述水性制剂的pH为5-8;

其中所述抗体包括重链可变区(V<sub>H</sub>),所述重链可变区包括重链互补决定区(CDR)1、重链CDR2和重链CDR3,其中所述重链CDR1、重链CDR2和重链CDR3分别是如SEQ ID NO:2的26-36、

51-66和98-106位残基的氨基酸序列所示;以及

其中所述抗体包括轻链可变区 ( $V_L$ ),所述轻链可变区包括轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3,其中所述轻链CDR1、轻链CDR2和轻链CDR3分别是如SEQ ID NO:3的24-39、55-61和94-102位残基的氨基酸序列所示。

11.如权利要求10所述的水性制剂,其中所述抗体包含 $V_H$ 和 $V_L$ ,所述 $V_H$ 是如SEQ ID NO:2的氨基酸序列所示,并且所述 $V_L$ 是如SEQ ID NO:3的氨基酸序列所示。

12.如权利要求10或权利要求11所述的水性制剂,其中所述抗体是IgG分子。

13.如权利要求10或权利要求11所述的水性制剂,其中所述包含氨基酸的缓冲液是组氨酸缓冲液、所述盐是氯化钠、和/或所述非离子表面活性剂是聚山梨酯80。

14.如权利要求13所述的水性制剂,其中所述抗体的浓度为20mg/ml,所述组氨酸缓冲液的浓度为20mM,所述氯化钠的浓度为140mM,以及所述聚山梨酯80的浓度为0.02%,并且其中所述水性制剂的pH为6.5。

## 治疗IgE介导的过敏性疾病

[0001] 相关申请

[0002] 本申请根据35U.S.C. §119要求2017年10月31日提交的美国临时申请序列第62/579,416号的提交日权益,其全部内容通过引用并入本文。

### 背景技术

[0003] IgE在介导引起过敏性疾病(包括过敏性哮喘、过敏性鼻炎、特应性皮炎等)的I型超敏反应中起着核心作用。过敏反应是免疫系统对无害环境物质(诸如尘螨、树木和草花粉、某些食物和药物以及蜜蜂和火蚁叮咬)的响应。在此类反应中,过敏原与嗜碱性粒细胞和肥大细胞表面上的IgE结合会导致IgE交联,并导致IgE.Fc、I型IgE.Fc受体或FcεRI的潜在受体聚集。该受体聚集随后激活信号传导途径,从而导致颗粒的胞吐和释放药理介质诸如组胺、白三烯、类胰蛋白酶、细胞因子和趋化因子。肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放那些介质会引起过敏的各种病理表现。

[0004] IgE分子有两种类型,游离的(或可溶的)IgE和膜结合IgE(mIgE)。游离的IgE分子在血液和间质液中循环。mIgE在B淋巴母细胞和记忆B细胞的表面上表达。据信靶向mIgE可有效抑制抗原特异性IgE的产生,并因此抑制IgE-介导的免疫应答。

### 发明内容

[0005] 本公开基于意外的发现,即单剂量的FB825(靶向人B淋巴细胞的mIgE的Cεmx结构域的抗体)成功降低了人类受试者中的总IgE水平至少三个月。

[0006] 因此,本公开的一方面提供了用于治疗与IgE相关的病症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用第一剂量的与膜结合IgE的Cεmx结构域结合的抗体;以及向受试者施用第二剂量的抗体。在第一剂量后至少8周(例如,至少10周、12周或3个月)施用第二剂量。

[0007] 在本文所述的任何方法中,第一剂量、第二剂量或两者的范围可以为0.5mg/kg至15mg/kg(如,1mg/kg至15mg/kg)。例如,第一剂量、第二剂量或两者的范围为1mg/kg至8mg/kg(如,1.5mg/kg至10mg/kg)。第一剂量、第二剂量或两者均可通过静脉内注射施用。

[0008] 通过本文所述的方法治疗的受试者可以是患有或疑似患有与IgE相关的病症(如,过敏性哮喘、过敏性鼻炎、高IgE综合征或特应性皮炎)的人类患者。在一些实施方案中,病症是寒冷诱导的荨麻疹、慢性荨麻疹、胆碱能性荨麻疹、慢性鼻窦炎、全身性肥大细胞增多症、皮肤肥大细胞增多症、过敏性支气管肺曲霉病、复发性特发性血管性水肿和间质性膀胱炎、嗜酸性粒细胞相关的胃肠病症、食物过敏或药物过敏。

[0009] 在另一方面,本公开提供了治疗特应性皮炎的方法,该方法包括向有需要的受试者施用第一剂量的与膜结合IgE的Cεmx结构域结合的抗体;其中第一剂量为约1mg/kg至10mg/kg(如,3mg/kg至8mg/kg,如5mg/kg)。如果在第二剂量时,受试者中总IgE水平相对于第一剂量之前的总IgE水平的变化小于50%,该方法还包括在第一剂量后约3个月向受试者施用第二剂量的抗体。在某些情况下,第二剂量可以与第一剂量相同,如5mg/kg。抗体的第一剂量、抗体的第二剂量或两者均可通过静脉内输注施用。

[0010] 在上述任何方法中,在第一剂之前至少连续七天给受试者至少每天两次施加保湿剂。可替代地或另外地,该方法还可包括向受试者施用局部皮质类固醇。在一些情况下,将局部皮质类固醇每天施加至活动性病变。此类局部皮质类固醇可以是0.05%丙酸氟替卡松乳膏、0.1%糠酸莫奈松乳膏、0.06%戊酸倍他米松或1%氢化可的松软膏。在其他情况下,局部皮质类固醇可以是0.05%醋酸氟轻松乳膏、0.25%去羟米松软膏或0.05%丙酸氯倍他索软膏。

[0011] 在一些实施方案中,受试者没有局部他克莫司治疗、局部吡美莫司治疗、全身皮质类固醇治疗、白三烯抑制剂治疗、过敏原免疫疗法、涉及免疫抑制剂或免疫调节剂的治疗、疫苗治疗、涉及传统中药的治疗、手术程序、紫外线程序或晒黑。

[0012] 在本文所述的任何治疗方法中,本文所述的抗CεmX抗体可结合mIgE片段GLAGGSAQSQRAPDRVL(SEQ ID NO:1)或mIgE片段GLAGGSAQSQRA(SEQ ID NO:7)。在一些情况下,抗体与抗体4B12(FB825)结合至相同的表位,或与抗体FB825竞争结合膜结合IgE的Cεmx结构域。在一些实例中,抗体包含与抗体FB825相同的重链互补决定区;和/或与抗体FB825相同的轻链互补决定区。此类抗体可以是4B12(例如FB825)的人源化抗体。抗体可以包含具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链可变区,和/或具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的轻链可变区。本文所述的任何方法中使用的任何抗体可以是全长抗体或其抗原结合片段。抗体可以是人抗体、人源化抗体、嵌合抗体或单链抗体。

[0013] 在本文描述的任何方法中,抗CεmX抗体可以配制成包含抗体、缓冲液(如,包含氨基酸诸如组氨酸的缓冲液)、盐(如,氯化钠)和非离子表面活性剂(如,聚山梨酯80)的药物组合物。在一些实施方案中,药物组合物是pH为5至8的水性溶液。在一些实例中,药物组合物中的抗体为约10mg/ml至30mg/ml(如,约20mg/ml),组氨酸缓冲液的浓度为约10-30mM(如,约20mM),氯化钠的浓度为约120-160mM(如,约140mM),和聚山梨酯80的浓度为约0.01-0.03%(如,约0.02%)。本文所述的任何药物组合物也在本公开的范围內。

[0014] 在另一方面,本文提供了包含以下中任一种的水性制剂:浓度为约10mg/ml至30mg/ml的本文所述的抗CεmX抗体(如,FB825或其功能性变体)、浓度为约10-30mM的包含氨基酸(如,组氨酸)的缓冲液,浓度为约120-160mM的盐(如,氯化钠),以及浓度为约0.01-0.03%的非离子表面活性剂(如,聚山梨酯80),其中水性制剂的pH为约5-8。在一个实例中,包含抗体的水性制剂的浓度为约20mg/ml,组氨酸缓冲液的浓度为约20mM,氯化钠的浓度为约140mM,和聚山梨酯80的浓度为约0.02%,其中水性制剂的pH为约6.5。

[0015] 在本公开的范围內还有(i)用于治疗如本文所述的IgE相关病症的药物组合物,其中药物组合物包含抗CεmX抗体和药学上可接受的载体,并且其中将药物组合物施用给需要治疗的受试者持续至少两个剂量,其为至少8周(如,间隔至少10周、12周或3个月,或者间隔12周至6个月);以及(ii)抗CεmX抗体在制备用于治疗IgE相关病症的药物中的用途,其中可以将药物施用给需要治疗的受试者持续至少两个剂量,其间隔至少三个月。

[0016] 在下面的描述中阐述了本发明的一个或多个实施方案的细节。通过以下附图和数个实施方案的详述,本发明的其他特征或优点将变得显而易见,并且还形成所附权利要求。

[0017] 附图简述

[0018] 图1是显示用单剂量FB825治疗的人类受试者中总IgE随时间推移的平均值(±SD)相对于基线的变化。从血样中确定总IgE。基线被定义为研究药物施用前的最后的非遗漏评

估(包括重复的和计划外的评估)。

[0019] 图2是显示在用单剂量FB825治疗的人类受试者中总IgE随时间推移的平均值( $\pm$ SD)百分比相对于基线的变化的图解。测定从人类受试者获得的血液样品中的总IgE水平。基线被定义为研究药物施用前的最后的非遗漏评估(包括重复的和计划外的评估)。

[0020] 图3是显示在用单剂量FB825治疗的人类受试者中抗药物抗体(ADA)随时间推移的相对于基线的平均值( $\pm$ SD)的变化的图解。测定从受试者获得的血液样品中的ADA。基线被定义为研究药物施用前的最后的非遗漏评估(包括重复的和计划外的评估)。

[0021] 图4显示了单克隆抗体4B12和单克隆抗体FB825(其是人源化4B12抗体)的 $V_H$ 和 $V_L$ 的氨基酸序列比对。突出显示了两种抗体之间的差异。 $V_H$ 和 $V_L$ 互补决定区(CDR)呈黑体字和加下划线。4B12的 $V_H$ :SEQ ID NO:4。4B12的 $V_L$ :SEQ ID NO:5。FB825的 $V_H$ :SEQ ID NO:2。FB825的 $V_L$ :SEQ ID NO:3。

[0022] 图5是显示了在评价特应性皮炎成人中FB825的安全性和功效的开放标签探索性研究中在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天,湿疹面积和严重性指数(EASI)相对于基线的变化的百分比的图解。

[0023] 图6是显示了在评价特应性皮炎成人中FB825的安全性和功效的开放标签探索性研究中在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天,研究者总体评估(IGA)相对于基线的变化的百分比的图解。

[0024] 图7是显示了在评价特应性皮炎成人中FB825的安全性和功效的开放标签探索性研究中在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天,特应性皮炎指数的严重性评分(SCORAD)相对于基线的变化的百分比的图解。

[0025] 图8是显示了在评价特应性皮炎成人中FB825的安全性和功效的开放标签探索性研究中在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天,瘙痒视觉模拟量表(VAS)相对于基线的变化的百分比的图解。

[0026] 发明详述

[0027] 处于发展过敏风险增加的特应性个体中,循环系统中的IgE浓度可达到正常水平的10倍以上。过敏原特异性IgE抗体的浓度与临床症状密切相关,并且在过敏性疾病患者中可以是健康个体的1000倍以上。免疫球蛋白E通过占据于其上表达它们的高亲和力IgE受体Fc $\epsilon$ RI,使效应细胞诸如嗜碱性粒细胞、肥大细胞和激活的嗜酸性粒细胞敏感。在I型超敏反应中,过敏原与由Fc $\epsilon$ RI结合的IgE分子交联,并随后触发效应细胞脱粒,从而释放促炎性介质,诸如组胺和白三烯。产生介质相关的过敏症状的IgE介导的过敏途径局部或全身性启动免疫活动。嗜碱性粒细胞和肥大细胞还释放出广泛的炎性细胞因子和趋化因子,它们不仅直接导致临床症状,而且还激活并募集各种细胞类型以增强炎性状态。因此,抗IgE治疗可以减弱IgE介导的途径和炎性疾患两者。

[0028] 本文所述的是可用于降低总IgE水平并因此治疗Ig-E介导的病症的抗C $\epsilon$ mX抗体。此类抗体可以通过可以间隔至少8周(如,10周、12周或3个月)的至少两个剂量施用给需要治疗的受试者。

[0029] 能够结合膜结合IgE的C $\epsilon$ mX结构域的抗体

[0030] C $\epsilon$ mX是一个52个氨基酸的区段,位于人膜结合的 $\epsilon$ 链(m $\epsilon$ )的CH4结构域和C-末端膜锚定区段之间。下面提供了人mIgE的示例性C $\epsilon$ mX片段的氨基酸序列(SEQ ID NO:6):

[0031] GLAGGSAQSQ RAPDRVLSHS GQQQGLPRAA GGSVPHPRCH CGAGRADWPG PP

[0032] 本文所述的抗体可以结合至mIgE的C $\epsilon$ mX结构域,例如在B细胞表面表达的mIgE。此类抗体可经由例如抗体依赖性细胞的细胞毒性和/或细胞凋亡诱导表达mIgE的B细胞的细胞死亡,从而消除B细胞,这将导致游离IgE的产生减少。因此,本文所述的抗C $\epsilon$ mX抗体可以降低用抗体治疗的受试者(如,人类患者)中的总IgE水平。

[0033] 抗体(以复数形式可互换使用)是能够通过位于免疫球蛋白分子的可变区中的至少一个抗原识别位点与靶标诸如碳水化合物、多核苷酸、脂质、多肽等特异性结合的免疫球蛋白分子。如本文所用,术语“抗体”不仅涵盖完整的(即,全长)多克隆或单克隆抗体,还包括其抗原结合片段(诸如Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv)、单链(scFv)、其突变体、包含抗体部分的融合蛋白、人源化抗体、嵌合抗体、双体抗体、线性抗体、单链抗体、多特异性抗体(如,双特异性抗体)和包含有所需特异性的抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其他修饰构型,包括抗体的糖基化变体、抗体的氨基酸序列变体和共价修饰的抗体。抗体包括任何类别的抗体,诸如IgD、IgE、IgG、IgA或IgM(或其亚类),并且抗体不必是任何特定类别。根据其重链恒定结构域的抗体氨基酸序列,可将免疫球蛋白指定至不同类别。免疫球蛋白有五种主要类别:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且这些中的一些可以进一步分为亚类(同种型),如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 和 $\mu$ 。不同种类的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是众所周知的。

[0034] 本文所述方法中使用的抗体可以是鼠、大鼠、人或任何其他来源的(包括嵌合或人源化抗体)。

[0035] 本文所述的任何抗体可以是单克隆的或多克隆的。“单克隆抗体”是指同源抗体群,并且“多克隆抗体”是指异源抗体群。这两个术语并不限制抗体的来源或其制备方式。

[0036] 在一个实例中,本文所述方法中使用的抗体是人源化抗体。人源化抗体是指非人(如鼠)抗体的形式,其是特异性的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其抗原结合片段,其含有源自非人免疫球蛋白的最小序列。在大多数情况下,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中受体的互补决定区(CDR)的残基被具有所需特异性、亲和力和能力的来自非人类物种(供体抗体)(诸如小鼠、大鼠或兔)的CDR残基替代。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基被相应的非人残基替代。此外,人源化抗体可包含在受体抗体或导入的CDR或框架序列中均未发现但被包括在内以进一步完善和优化抗体性能的残基。通常,人源化抗体将包含至少一个并且通常是两个可变结构域的基本上所有,其中所有或基本上所有的CDR区域对应于非人免疫球蛋白的那些,并且所有或基本上所有的FR结构域是人免疫球蛋白共有序列的那些。人源化抗体最佳地还将包含免疫球蛋白(通常是人免疫球蛋白的)恒定区或结构域(Fc)的至少一部分。抗体可具有如WO 99/58572中所述修饰的Fc区。其他形式的人源化抗体具有相对于原始抗体有所改变的一个或多个CDR(一个、两个、三个、四个、五个、六个),也称为一个或多个“源自”来自原始抗体的一个或多个CDR的CDR。人源化抗体也可涉及亲和力成熟。

[0037] 在另一个实例中,本文所述的抗体是嵌合抗体,其可以包含来自人抗体的重恒定区和轻恒定区。嵌合抗体是指具有来自第一物种的可变区或可变区的一部分和来自第二物种的恒定区的抗体。通常,在这些嵌合抗体中,轻链和重链的可变区都模拟源自一个哺乳动物物种(如,非人类哺乳动物,诸如小鼠、兔和大鼠)的抗体的可变区,而恒定区与源自另一

种哺乳动物诸如人类的抗体中的序列是同源的。在一些实施方案中,可以在可变区和/或恒定区中进行氨基酸修饰。

[0038] 在一些实例中,本文公开的抗体特异性结合可以在B细胞的表面上表达的膜结合IgE的C $\epsilon$ m $\times$ 结构域。与靶标或表位“特异性结合”(本文可互换使用)的抗体是本领域众所周知的术语,并且确定此类特异性结合的方法也是本领域众所周知的。如果分子与特定靶抗原更频繁、更快速、持续时间更长和/或以更大的亲和力反应或缔合,则该分子被认为表现出“特异性结合”。如果抗体比与其他物质结合更大的亲和力、亲合力、更快速和/或更高的持续时间结合,则它“特异性结合至”靶抗原。例如,特异性(或优先)结合至C $\epsilon$ mX结构域表位的抗体是以比其结合至其他C $\epsilon$ mX结构域表位或非C $\epsilon$ mX结构域表位更大的亲和力、亲合力、更快速和/或更高的持续时间结合该C $\epsilon$ mX结构域表位的抗体。通过阅读该定义也可以理解,例如,特异性结合至第一靶抗原的抗体可以或不特异性结合或优先结合至第二靶抗原。这样,“特异性结合”或“优先结合”并不一定需要(尽管可以包括)排他结合。通常,但并非必须,提及结合意指优先结合。

[0039] 本文所述的抗C $\epsilon$ mX抗体的结合亲和力可以小于约100nM,如小于约50nM、约10nM、约1nM、约500pM、约100pM或约50pM至约2pM中任一种。结合亲和力可以表示为K<sub>D</sub>或解离常数,并且增加的结合亲和力对应于降低的K<sub>D</sub>。一种确定抗体与C $\epsilon$ mX的结合亲和力的方法是通过测量抗体的单功能Fab片段的结合亲和力进行的。为了获得单功能Fab片段,可以用木瓜蛋白酶切割抗体(例如,IgG)或重组表达。抗体的抗C $\epsilon$ mX Fab片段的亲和力可通过表面等离子体共振(BIAcore3000™表面等离子体共振(SPR)系统,BIAcore,INC,Piscaway N.J.)确定。得到动力学缔合速率(k<sub>on</sub>)和解离速率(k<sub>off</sub>) (通常在25℃下测量);并且平衡解离常数(K<sub>D</sub>)值按k<sub>off</sub>/k<sub>on</sub>计算。

[0040] 在一些实施方案中,抗体结合人IgE的C $\epsilon$ mX结构域,并且不显著结合来自其他哺乳动物物种的IgE。在一些实施方案中,抗体结合人IgE以及来自另一哺乳动物物种的一种或多种IgE。抗体结合的一个或多个表位可以是连续的或不连续的。

[0041] 在一些实施方案中,本文所述的抗C $\epsilon$ mX抗体结合C $\epsilon$ mX结构域的N-末端部分,如GLAGGSAQSQRAPDRVL (SEQ ID NO:1)或GLAGGSAQSQRA (SEQ ID NO:7)。此类抗体可以具有与如图4中所述的抗体4B12/FB825相同的重链和/或轻链CDR。还参见美国专利No.8,460,664,其中的相关公开内容通过引用并入本文。抗C $\epsilon$ mX抗体可以是4B12的人源化抗体(如,FB825)。在一些实例中,用于本文所述方法中的抗C $\epsilon$ mX抗体是FB825,它是4B12的人源化抗体(图4)或其功能变体。还参见美国专利No.8,460,664,其中的相关公开内容通过引用并入本文。

[0042] FB825的功能变体(等效)具有与FB825基本上相同的表位结合特异性,并且表现出与FB825基本上相似的生物活性,包括消除受试者中表达mIgE的B细胞和降低总IgE水平的活性。在一些实施方案中,FB825的功能变体含有与FB825相同的负责抗原结合的区域/残基,诸如CDR中的相同的特异性确定残基或整个CDR。在其他实施方案中,FB825的功能变体包含V<sub>H</sub>链和V<sub>L</sub>链,所述V<sub>H</sub>链包括与FB825的相应V<sub>H</sub> CDR至少75%(如,80%、85%、90%、95%或98%)同一的V<sub>H</sub> CDR1、V<sub>H</sub> CDR2和V<sub>H</sub> CDR3,所述V<sub>L</sub>链包括与FB825的相应V<sub>H</sub> CDR至少75%(如,80%、85%、90%、95%或98%)同一的V<sub>L</sub> CDR1、V<sub>L</sub> CDR2和V<sub>L</sub> CDR3。例如,FB825的功能变体可以包含V<sub>H</sub>链和/或V<sub>L</sub>链,所述V<sub>H</sub>链与mAb7E的V<sub>H</sub> CDR相比在V<sub>H</sub> CDR区域(总计V<sub>H</sub> CDR1、



CDR2和/或CDR3)中包含多达5个(如,1、2、3、4或5个)氨基酸残基变异,所述 $V_L$ 链与mAb7E的 $V_H$  CDR相比在 $V_L$  CDR区域(总计 $V_L$  CDR1、CDR2和/或CDR3)中包含多达5个(如,1、2、3、4或5个)氨基酸残基变异。

[0043] 可替代地,FB825的功能变体包含与FB825的 $V_H$ 链至少75%(如,80%、85%、90%、95%或98%)同一的 $V_H$ 链和与FB825的 $V_L$ 链至少75%(如,80%、85%、90%、95%或98%)同一的 $V_L$ 链。氨基酸序列变异可只在 $V_H$ 和/或 $V_L$ 框架区的一个或多个中发生。

[0044] 使用以下的算法确定两条氨基酸序列的“同一性百分比”:Karlin和Altschul Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:2264-68,1990,如在Karlin和Altschul Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:5873-77,1993中进行修改。此类算法被并入Altschul等人 J.Mol.Biol.215:403-10,1990的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)中。可以使用XBLAST程序(评分=50,字长=3)进行BLAST蛋白搜索,以获得与目标蛋白分子同源的氨基酸序列。在两条序列之间存在空位的情况下,可以如Altschul等人,Nucleic Acids Res.25(17):3389-3402,1997中所述利用加空位的BLAST。当利用BLAST和Gapped BLAST程序时,可以使用各个程序(如,XBLAST和NBLAST)的默认参数。

[0045] 抗体制备

[0046] 能够结合如本文所述的膜结合IgE的C $\epsilon$ mX结构域的抗体可以通过本领域已知的任何方法来制备。参见,例如,Harlow和Lane,(1988)Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York。

[0047] 在一些实施方案中,对靶抗原(如,mIgE(诸如人mIgE)的C $\epsilon$ mX结构域)具有特异性的抗体可以通过常规杂交瘤技术来制备。任选地偶联至载体蛋白诸如KLH的全长靶抗原或其片段可用于免疫宿主动物以产生与此抗原结合的抗体。如本文进一步所述,宿主动物的免疫途径和时间表通常与建立的和常规的抗体刺激和产生技术一致。用于产生小鼠、人源化和人抗体的通用技术是本领域已知的,并在本文中进行了描述。预期可以操纵包括人类或由此产生抗体的细胞在内的任何哺乳动物受试者,以作为包括人类杂交瘤细胞系在内的哺乳动物产生的基础。通常,用一定量的免疫原对宿主动物进行腹膜内、肌内、经口、皮下、足底和/或皮内接种,包括如本文所述。

[0048] 杂交瘤可以使用Kohler,B.和Milstein,C.(1975)Nature256:495-497或如Buck,D.W.,等人,In Vitro,18:377-381(1982)所修改的常规体细胞杂交技术,从淋巴细胞和永生化的骨髓瘤细胞中制备。可用于杂交的可用的骨髓瘤细胞系,包括但不限于X63-Ag8.653和来自Salk Institute,Cell Distribution Center, San Diego, Calif., USA的那些。通常,该技术涉及使用融合剂诸如聚乙二醇或通过本领域技术人员众所周知的电学方式来融合骨髓瘤细胞和淋巴样细胞。融合后,将细胞与融合培养基分离,并在选择性生长培养基(诸如次黄嘌呤-氨基蝶呤-胸苷(HAT)培养基)中生长,以消除未杂交的亲本细胞。补充有或没有血清的本文所述的任何培养基均可用于培养分泌单克隆抗体的杂交瘤。作为细胞融合技术的另一种替代方案,EBV永生化的B细胞可用于产生本发明的抗C $\epsilon$ mX单克隆抗体。如果需要,则将杂交瘤扩增并亚克隆,并通过常规免疫测定程序(如,放射免疫测定、酶免疫测定或荧光免疫测定)测定上清液的抗免疫原活性。

[0049] 可用作抗体来源的杂交瘤涵盖了产生能够结合C $\epsilon$ mX结构域的单克隆抗体的亲本杂交瘤的所有衍生物、后代细胞。产生此类抗体的杂交瘤可以使用已知的程序在体外或体

内生长。如果需要,可以通过常规的免疫球蛋白纯化方法,诸如硫酸铵沉淀、凝胶电泳、透析、色谱和超滤,从培养基或体液中分离单克隆抗体。如果存在不希望的活性,则可以例如通过使制剂在由附着于固相的免疫原制成的吸附剂上运行,并从免疫原上洗脱或释放所需抗体来去除。使用双功能剂或衍生剂(例如马来酰亚氨基苯甲酰基磺基琥珀酰亚胺酯(通过半胱氨酸残基偶联)、N-羟基琥珀酰亚胺(通过赖氨酸残基)、戊二醛、琥珀酸酐、SOCl<sub>2</sub>或R<sub>1</sub>N=C=NR),用目标抗原或含有与待免疫的物种中具有免疫原性的蛋白(如,匙孔血蓝蛋白、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂)缀合的靶氨基酸序列的片段免疫宿主动物,其中R和R<sub>1</sub>是不同的烷基基团,可以产生抗体(如,单克隆抗体)群。

[0050] 如果需要,可以对目标抗体(单克隆或多克隆)(如,由杂交瘤产生)进行测序,然后将多核苷酸序列克隆至载体中以表达或增殖。可以将编码目标抗体的序列维持在宿主细胞内的载体中,然后可以将宿主细胞扩增并冷冻以备将来使用。在一个替代方案中,多核苷酸序列可用于遗传操纵以“人源化”抗体或改善抗体的亲和力(亲和力成熟)或其他特征。例如,如果抗体用于人类的临床试验和治疗中,则恒定区可以被工程化以更类似于人恒定区以避免免疫应答。可期望对抗体序列进行遗传操纵以获得对靶抗原的更大亲和力以及降低总IgE的更大功效。对于本领域技术人员显而易见的是,可以对抗体进行一种或多种多核苷酸改变,并且仍然保持其与靶抗原的结合特异性。

[0051] 在其他实施方案中,可以通过使用已经被工程化以表达特异性人免疫球蛋白蛋白的可商购获得的小鼠获得完整人抗体。经设计为产生更期望的(如,完整人源抗体)或更稳健的免疫应答的转基因动物也可用于生成人源化或人抗体。此类技术的实例是来自Amgen, Inc. (Fremont, Calif.)的Xenomouse<sup>TM</sup>和来自Medarex, Inc. (Princeton, N.J.)的HuMAb-Mouse<sup>TM</sup>和TC Mouse<sup>TM</sup>。在另一个替代方案中,可以通过噬菌体展示技术重组制备抗体。参见,例如美国专利No. 5,565,332; 5,580,717; 5,733,743; 和6,265,150; 和Winter等人, (1994) Annu. Rev. Immunol. 12:433-455。可替代地,噬菌体展示技术(McCafferty等人, (1990) Nature 348:552-553)可用于在体外从来自未免疫供体的免疫球蛋白可变(V)结构域基因库产生人抗体和抗体片段。

[0052] 可以经由常规方法制备完整抗体(全长抗体)的抗原结合片段。例如,可以通过胃蛋白酶消化抗体分子来产生F(ab')<sub>2</sub>片段,并且可以通过还原F(ab')<sub>2</sub>片段的二硫化物桥来生成Fab片段。

[0053] 经遗传工程化的抗体,诸如人源化抗体、嵌合抗体、单链抗体和双特异性抗体可以经由如常规重组技术来产生。在一个实例中,可以使用常规方法(如,通过使用能够特异性结合至编码单克隆抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)容易地分离编码对靶抗原具有特异性的单克隆抗体的DNA,并对其进行测序。杂交瘤细胞用作此类DNA的优选来源。一旦分离,可将DNA置于一种或多种表达载体中,然后将其转染到宿主细胞中,诸如大肠杆菌细胞、猿猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或不以其他方式产生免疫球蛋白蛋白的骨髓瘤细胞,以在重组宿主细胞中获得单克隆抗体的合成。参见,如PCT公开No. WO 87/04462。然后可以例如通过用人重链和轻链恒定结构域的编码序列替代同源鼠序列来取代, Morrison等人, (1984) Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851, 或通过将免疫球蛋白编码序列共价结合至非免疫球蛋白多肽编码序列的全部或部分来修饰DNA。以这种方式,经遗传工程化的抗体,诸如“嵌合”或“杂交”抗体;可以被制备为具有靶抗原结合特异性。

[0054] 经开发用于产生“嵌合抗体”的技术是本领域众所周知的。参见,如Morrison等人(1984)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81,6851;Neuberger等人(1984)Nature 312,604;和Takeda等人(1984)Nature 314:452。

[0055] 用于构建人源化抗体的方法也是本领域熟知的。参见,如Queen等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,86:10029-10033(1989)。在一个实例中,按照本领域已知的方法使亲本非人抗体的 $V_H$ 和 $V_L$ 的可变区经受三维分子建模分析。接下来,使用相同的分子模型分析来鉴定预测为形成正确的CDR结构重要的框架氨基酸残基。平行地,使用亲本 $V_H$ 和 $V_L$ 序列作为搜索词条,将具有与亲本非人抗体的那些同源的氨基酸序列的亲本 $V_H$ 和 $V_L$ 链从任何抗体基因数据库中鉴定出来。然后选择人 $V_H$ 和 $V_L$ 受体基因。

[0056] 所选择的人受体基因内的CDR区可以被来自亲本非人抗体或其功能变体的CDR区所替代。必要时,可以使用经预测在与CDR区域相互作用中重要的亲本链框架区域内的残基(参见上述)来取代人受体基因中的相应残基。

[0057] 可以通过将编码重链可变区的核苷酸序列和编码轻链可变区的核苷酸序列连接,经由重组技术制备单链抗体。优选地,在两个可变区之间掺入柔性接头。可替代地,经描述用于产生单链抗体的技术(美国专利No.4,946,778和4,704,692)可以适于产生噬菌体scFv文库,并且可以按照常规程序从该文库中鉴定出对IgE有特异性的scFv克隆。

[0058] 可以使用本领域众所周知的方法表征按照本领域已知和本文所述的方法获得的抗体。例如,一种方法是鉴定抗原所结合的表位或“表位作图”。本领域中有许多方法可用于作图和表征蛋白质上表位的位置,包括解析抗体-抗原复合物的晶体结构、竞争测定、基因片段表达测定和基于合成肽的测定,例如Harlow和Lane,Using Antibodies,a Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,1999的第11章中所述。在另一个实例中,表位作图可用于确定抗体所结合的序列。该表位可以是线性表位,即包含在单个氨基酸链段中,或可以不一定包含在单个链段中的氨基酸的三维相互作用形成的构象表位(一级结构线性序列)。可以分离或合成(如,重组)不同长度(如,至少4-6个氨基酸长)的肽并将其用于与抗体的结合测定。在另一个实例中,可以通过使用源自靶抗原序列的重叠肽并确定抗体的结合,在系统筛选中确定与抗体结合的表位。根据基因片段表达测定,编码靶抗原的开放阅读框被随机地或通过特定的遗传构建片段化,并且确定了抗原表达片段与待测抗体的反应性。基因片段可以例如通过PCR产生,然后在存在放射性氨基酸的情况下在体外转录并翻译成蛋白质。然后通过免疫沉淀和凝胶电泳确定抗体与放射性标记的抗原片段的结合。某些表位也可以通过使用噬菌体颗粒表面展示的大型随机肽序列库(噬菌体库)来鉴定。可替代地,可以在简单的结合测定中测试重叠肽片段的限定文库与测试抗体的结合。在另一个实例中,可以进行抗原结合结构域的诱变、结构域交换实验和丙氨酸扫描诱变以鉴定表位结合所需的、足够和/或必需的残基。例如,可以使用靶抗原的突变体进行结构域交换实验,其中IgE多肽的各个片段已被来自密切相关但抗原性不同的蛋白质(诸如免疫球蛋白家族的另一个成员)的序列替换(交换)。通过评估抗体与突变免疫球蛋白的结合,可以评估特定抗原片段对抗体结合的重要性。

[0059] 可替代地,可以使用已知与相同抗原结合的其他抗体进行竞争测定,以确定抗体是否与其他抗体结合至相同的表位。竞争测定是本领域技术人员众所周知的。

[0060] 药物组合物

[0061] 可以将一种或多种上述抗C $\epsilon$ mX抗体与药学上可接受的载体(赋形剂)(包括缓冲液)混合,以形成用于治疗与IgE相关的病症的药物组合物。“可接受的”意指载体必须与组合物的活性成分相容(并且优选地能够稳定活性成分),并且对待治疗的受试者无害。药学上可接受的赋形剂(载体),包括缓冲液,这是本领域众所周知的。参见,如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy第20版(2000)Lippincott Williams和Wilkins,编辑K.E.Hoover。在一个实例中,药物组合物含有多于一种识别靶抗原的不同表位的抗C $\epsilon$ mX抗体。

[0062] 待在本发明方法中使用的药物组合物可以包含药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂,呈冻干制剂或水溶液形式。Remington:The Science and Practice of Pharmacy第20版(2000)Lippincott Williams和Wilkins,编辑K.E.Hoover。可接受的载体、赋形剂或稳定剂在使用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且可以包含缓冲液,诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和蛋氨酸;防腐剂(诸如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲基氯化铵;苯扎氯铵、苄索氯铵;苯酚,丁醇或苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(小于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或右旋糖酐;螯合剂,诸如EDTA;糖,诸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐的抗衡离子,诸如钠;金属络合物(如Zn-蛋白络合物);和/或非离子表面活性剂,诸如TWEEN<sup>TM</sup>、PLURONICS<sup>TM</sup>或聚乙二醇(PEG)。本文中還描述了药学上可接受的赋形剂。

[0063] 在一些实例中,本文所述的药物组合物包含含有抗C $\epsilon$ mX抗体的脂质体,其可以通过本领域已知的方法来制备,诸如在Epstein等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:3688(1985);Hwang等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4030(1980);和美国专利No.4,485,045和4,544,545中所述。具有增强的循环时间的脂质体公开于美国专利No.5,013,556中。特别有用的脂质体可以通过反相蒸发法用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生的磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物产生。脂质体通过限定孔径的过滤器挤出,以产生具有所需直径的脂质体。

[0064] 抗C $\epsilon$ mX抗体也可以被包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中,所述微胶囊例如分别在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或大乳液中的羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊。此类技术是本领域已知的,参见,如Remington,The Science and Practice of Pharmacy第20版Mack Publishing(2000)。

[0065] 在其他实例中,本文所述的药物组合物可以被配制成持续释放形式。持续释放制剂的适合实例包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半透性基质,所述基质呈成型制品的形式,如,薄膜或微胶囊。持续释放基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如,聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇)、聚乳酸(美国专利No.3,773,919)、L-谷氨酸和7-乙基-L-谷氨酸的共聚物、不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物(诸如LUPRON DEPOT<sup>TM</sup>(由乳酸-乙醇酸共聚物共聚物和醋酸亮丙瑞林组成的可注射微球)、醋酸异丁酸蔗糖酯和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。

[0066] 在一些实施方案中,包含本文所述的抗CemX抗体(如,FB825或其功能变体,也如本文所述)的药物组合物可以是液体制剂,其还可以包含缓冲液(其可以包含氨基酸,诸如组氨酸或精氨酸)、盐(如,氯化钠)和/或表面活性剂(诸如非离子表面活性剂)。例如,水性制剂可包含浓度为约10-30mg/ml的抗体,浓度为约10-30mM的包含氨基酸(如,组氨酸或精氨酸)的缓冲液,浓度为约0.01-0.03%的表面活性剂(诸如聚山梨酯80)和/或浓度为约120-160mM的氯化钠。此类水性制剂可以具有约5-8的pH。在一个特定的实例中,水性制剂可以包含浓度为约20mg/ml的FB825抗体、浓度为约20mM的L-组氨酸、浓度为约140mM的氯化钠、浓度为约0.02%的聚山梨酯80并且pH为约6.5。

[0067] 术语“约”或“大约”意指在本领域普通技术人员确定的特定值在可接受的误差范围内,这将部分取决于如何测量或确定该值,即,测量系统的局限性。例如,根据本领域的实践,“约”可以意指在可接受的标准偏差内。可替代地,“约”可以意指给定值的至多±20%、优选地至多±10%、更优选地至多±5%并且还更优选地至多±1%的范围。可替代地,特别是关于生物系统或过程,该术语可以意指在数值的数量级内,优选在数值的两倍内。在本申请和权利要求书中描述了特定值的情况下,除非另有说明,否则术语“约”是隐含的,并且在该上下文中表示该特定值在可接受的误差范围内。

[0068] 用于体内施用的药物组合物必须是无菌的。这通过例如通过无菌过滤膜的过滤来容易地实现。通常将治疗性抗体组合物放入具有无菌进口的容器中,例如,具有可通过皮下注射针刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小瓶。

[0069] 本文所述的药物组合物可以呈单位剂型,诸如片剂、丸剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、溶液剂或混悬剂或栓剂,用于经口、肠胃外或直肠施用,或通过吸入或吹入施用。

[0070] 为了制备固体组合物,诸如片剂,可以将主要活性成分与药物载体(如常规压片成分,诸如玉米淀粉、乳糖、蔗糖、山梨糖醇、滑石粉、硬脂酸、硬脂酸镁、磷酸二钙或树胶)和其他药物稀释剂(如,水)混合以形成固体预配制组合物,其含有本发明化合物或其无毒的药学上可接受的盐的均质混合物。当将这些预配制组合物称为均质时,意指将活性成分均匀地分散在整个组合物中,从而可以容易地将组合物细分为等效单位剂型,诸如片剂、丸剂和胶囊剂。然后将该固体预配制组合物细分为上述类型的单位剂型,其含有0.1至约500mg的本发明的活性成分。可以将新型组合物的片剂或丸剂包衣或以其他方式复合以提供得到延长作用优势的剂型。例如,片剂或丸剂可包含内部剂量和外部剂量组分,后者为前者上的包封形式。这两种组分可以由肠溶层分开,该肠溶层用于抵抗胃中的崩解并允许内部组分完整地进入十二指肠或延迟释放。多种材料可用于此类肠溶层或包衣,此类材料包括多种聚合酸以及聚合酸与诸如虫胶、鲸蜡醇和乙酸纤维素的材料的混合物。

[0071] 适合的表面活性剂特别包括非离子剂,诸如聚氧乙烯脱水山梨糖醇(如,Tween<sup>TM</sup>20、40、60、80或85)和其他脱水山梨糖醇(如,Span<sup>TM</sup>20、40、60、80或85)。具有表面活性剂的组合物将方便地包含0.05至5%的表面活性剂,并且可以为0.1至2.5%。应当理解,如果必需,可以添加其他成分,例如甘露糖醇或其他药学上可接受的媒介物。

[0072] 可以使用可商购获得的脂肪乳液,诸如Intralipid<sup>TM</sup>、Liposyn<sup>TM</sup>、Infonutrol<sup>TM</sup>、Lipofundin<sup>TM</sup>和Lipiphysan<sup>TM</sup>来制备适合的乳液。活性成分可以溶解在预混合的乳液组合物中,或可替代地可以溶解在油(如,大豆油、红花油、棉籽油、芝麻油、玉米油或杏仁油)和与磷脂(如,卵磷脂、大豆磷脂或大豆卵磷脂)和水混合后形成的乳液中。应当理解,可以添

加其他成分,例如甘油或葡萄糖,以调节乳液的张度。适合的乳液通常将含有至多20%的油,例如5至20%。

[0073] 乳液组合物可以是通过将抗CemX抗体与Intralipid<sup>TM</sup>或其组分(大豆油、卵磷脂、甘油和水)混合而制备的那些。

[0074] 用于吸入或吹入的药物组合物包括在药学上可接受的、水性或有机溶剂中的溶液和悬浮液,或其混合物,及粉剂。液体或固体组合物可以含有如上所述的适合的药学上可接受的赋形剂。在一些实施方案中,通过经口或经鼻呼吸途径施用组合物以产生局部或全身作用。

[0075] 可以通过使用气体来雾化优选地无菌的药学上可接受的溶剂中的组合物。雾化的溶液可以直接从雾化设备中呼吸,或者雾化设备可以附接至面罩、帐篷或间歇性正压呼吸机。溶液、混悬液或粉末组合物可以优选从以适当方式递送制剂的装置经口或经鼻施用。

[0076] 抗CemX抗体用于治疗与gE相关的病症的用途

[0077] 为了实施本文公开的方法,可以将有效量的上述药物组合物经由适合的途径(诸如静脉内施用,如作为推注或经一段时间通过持续输注,通过肌内、腹膜内、脊髓内、皮下、关节内、滑膜内、鞘内、经口、吸入或局部途径)施用给需要治疗的受试者(如,人)。用于液体制剂的可商购获得的雾化器,包括喷射雾化器和超声雾化器,可用于施用。复溶后可以直接雾化液体制剂,并可以雾化冻干粉。可替代地,可以将抗CemX抗体使用碳氟化合物制剂和定量吸入器雾化,或作为冻干和研磨的粉末形式吸入。

[0078] 通过本文描述的方法治疗的受试者可以是哺乳动物,更优选人。哺乳动物包括但不限于农场动物、运动动物、宠物、灵长类动物、马、狗、猫、小鼠和大鼠。需要治疗的人类受试者可以是患有与IgE相关的病症(如,过敏性哮喘以及本领域已知和/或本文公开的其他病症)、处于与IgE相关的病症(如,过敏性哮喘以及本领域已知和/或本文公开的其他病症)风险或疑似患有与IgE相关的病症(如,过敏性哮喘以及本领域已知和/或本文公开的其他病症)的人患者。可以通过常规医学检查,如实验室测试来确定患有IgE相关病症(诸如过敏性哮喘)的受试者。疑似患有IgE相关病症的受试者可能会显示一种或多种病症症状,如,升高水平的IgE和/或对过敏原和/或抗原的超反应性。处于病症风险的受试者可以是具有此病症的一种或多种风险因素的受试者。

[0079] 示例性IgE相关病症包括但不限于哮喘、过敏性鼻炎、高IgE综合征、特应性皮炎、寒冷诱导的荨麻疹、慢性荨麻疹、胆碱能性荨麻疹、慢性鼻窦炎、全身性肥大细胞增多症、皮肤肥大细胞增多症、过敏性支气管肺曲霉病、复发性特发性血管性水肿和间质性膀胱炎、嗜酸性粒细胞相关的胃肠病症、食物过敏或药物过敏。

[0080] 如本文所用,“有效量”是指单独或与一种或多种其他活性剂组合以赋予受试者治疗效果所需的每种活性剂的量。如本领域技术人员所认识的,有效量根据所治疗的特定疾患、疾患的严重性、个体患者参数(包括年龄、身体状况、大小、性别和体重)、治疗持续时间、并发疗法的性质(如果有)、特定的施用途径以及卫生从业人员的知识和专长内的类似因素而变化。这些因素是本领域普通技术人员众所周知的,并且仅可通过常规实验即可解决。通常优选使用单个组分或其组合的最大剂量,即根据合理医学判断的最高安全剂量。然而,本领域普通技术人员将理解,患者可能出于医学原因、心理原因或实际上任何其他原因而坚持较低剂量或可耐受剂量。

[0081] 诸如半衰期的经验性考虑因素通常将有助于确定剂量。例如,与人免疫系统兼容的抗体,诸如人源化抗体或完全人抗体,可用于延长抗体的半衰期并防止抗体被宿主的免疫系统攻击。施用频率可以在治疗过程中确定和调整,并且通常但并非必须基于与IgE相关病症的治疗和/或抑制和/或改善和/或延迟。可替代地,抗CεmX抗体的持续连续释放制剂可能是适当的。用于实现持续释放的各种制剂和设备是本领域已知的。

[0082] 在一个实例中,如本文所述的抗CεmX抗体的剂量可以凭经验在已经给予一次或多次施用的抗CεmX抗体的个体中确定。向个体给予递增剂量的抗CεmX抗体。为评估抗CεmX抗体的功效,可以随访与IgE相关的病症的指标(诸如IgE的水平)。

[0083] 出于本公开的目的,抗CεmX抗体的适当剂量将取决于所采用的一种或多种特异性抗CεmX抗体(或其组合物),与IgE相关的病症的类型和严重性,是否为预防或治疗目的而施用抗体,先前疗法,患者的临床史和对抗体的响应,以及主治医师的酌处权。通常,临床医生将施用抗CεmX抗体(诸如FB825),直到达到实现所需结果的剂量。抗CεmX抗体的施用可以是连续的或间歇的,例如,取决于接受者的生理状况、施用是治疗性的或预防性的以及熟练技术人员已知的其他因素。

[0084] 在一些实施方案中,将本文所述的抗CεmX抗体(如,FB825)以足以将总IgE水平降低至少20%(如,30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更高)施用给需要治疗的受试者。

[0085] 如本文所用,术语“治疗”是指将包含一种或多种活性剂的组合物施加或施用给患有与IgE相关的疾病、具有与IgE相关的疾病的症状或有易患疾病的倾向的受试者,目的是治愈、抚平、减轻、缓解、改变、补救、改善、改进或影响病症、疾病症状或易患疾病的倾向。

[0086] 减轻与IgE相关的疾病包括延迟疾病的发展或进展,或降低疾病的严重性。减轻疾病不一定需要治愈结果。如本文所用,“延迟”疾病(诸如与IgE相关的疾病)的发展意指延缓、阻碍、减缓、放缓、稳定和/或推迟疾病的进展。根据所治疗的疾病和/或个人的病史,这种延迟可能有不同的时间长度。“延迟”或减轻疾病发展或延迟疾病发作的方法是当与不使用该方法相比,在给定的时间范围内降低发展一种或多种疾病症状的可能性和/或在给定的时间范围内减少症状程度的方法。此类比较通常基于临床研究,使用足以给出统计学上显著结果的多个受试者来进行。

[0087] 疾病的“发展”或“进展”意指疾病的初始表现和/或后续进展。可以使用本领域众所周知的标准临床技术来检测和评估疾病的发展。然而,发展也以是指可能无法检测到的进展。为了本公开的目的,发展或进展是指症状的生物学过程。“发展”包括发生、复发和发作。如本文所用,与IgE有关的疾病的“发作”或“发生”包括初始发作和/或复发。

[0088] 为执行如本文所述的方法,可将抗Cεmx抗体中的任一种(诸如FB825)通过单剂量或通过多剂量,经由适合的途径(例如静脉内输注或皮下注射),给予需要治疗的受试者(如,人患者)。每次给药的抗Cεmx抗体的剂量范围为约0.5mg/kg至约25mg/kg(如,约1mg/kg至约20mg/kg,约5mg/kg至约15mg/kg或约10mg/kg至约20mg/kg),这取决于各种因素,包括本文所述的那些。对于数天或更长时间内的重复施用,根据情况,持续治疗直至出现所需的症状抑制或直至达到足以减轻与IgE相关的病症或其症状的治疗水平为止。

[0089] 抗CεmX抗体(如,FB825)的施用可在预定时间内基本连续或可在一系列间隔剂量中,如在发展与IgE相关的病症之前、期间或之后。示例性给药方案包括向需要治疗的受试



者施用第一剂量的抗Cemx抗体(如,3mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg或25mg/kg),然后在第一剂量之后至少3个月(如,4个月、5个月或6个月)施用第二剂量的抗体。第二施用的剂量可以比第一施用高、相同或低。根据从业者希望达到的药代动力学衰减的模式,其他剂量方案可能是有用的。

[0090] 在一些实施方案中,可以给需要治疗的受试者以适合的量(如,以3mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg或25mg/kg)。然后定期监测受试者的症状,这些症状指示IgE相关的病症,例如,过敏反应和/或总IgE水平升高。当观察到此类症状时,可以将第二剂量的抗体给予受试者。

[0091] 也在本公开的范围内的的是用抗Cemx抗体中的任一种来预防性治疗IgE相关病症以降低发生此类病症的风险。适用于此类预防性治疗的受试者可以是具有IgE相关病症史和/或IgE相关病症家族史的人患者。

[0092] 根据待治疗疾病的类型或疾病位点,可以使用医学领域普通技术人员已知的常规方法将药物组合物施用给受试者。该组合物还可以经由其他常规途径施用,如经口、肠胃外、通过吸入喷雾、局部、经直肠、经鼻、经颊、经阴道或经由植入的储库施用。如本文所用,术语“肠胃外”包括皮下、皮内、静脉内、肌内、关节内、动脉内、滑膜内、胸骨内、鞘内、病变内和颅内注射或输注技术。另外,它可以经由可注射的贮库施用途径,诸如使用1、3、6个月贮库可注射或可生物降解的材料和方法,施用给受试者。

[0093] 可注射的组合物可含有各种载体,诸如植物油、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、乳酸乙酯、碳酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯、乙醇和多元醇(甘油、丙二醇、液态聚乙二醇等)。对于静脉内注射,可以通过滴注法施用水溶性抗体,由此输注含有抗体和生理学上可接受的赋形剂的药物制剂。生理上可接受的赋形剂可以包括,例如5%葡萄糖、0.9%盐水、林格氏溶液或其他适合的赋形剂。可以将肌内制剂,如抗体的适合的可溶性盐形式的无菌制剂,溶解于药物赋形剂(诸如注射用水、0.9%盐水或5%葡萄糖溶液)中并于其中施用。

[0094] 在一个实施方案中,抗CemX抗体是经由位点特异性或靶向局部递送技术施用的。位点特异性或靶向局部递送技术的实例包括抗CemX抗体的各种可植入贮库来源或局部递送导管,诸如输注导管、留置导管或针导管,合成移植物,外膜包装,分流器和支架或其他可植入设备,位点特异性载体,直接注射或直接施加。参见,例如PCT公开No.WO 00/53211和美国专利No.5,981,568。也可以使用含有反义多核苷酸、表达载体或亚基因组多核苷酸的治疗组合物的靶向递送。受体介导的DNA递送技术描述于例如Findeis等人,Trends Biotechnol. (1993) 11:202;Chiou等人,Gene Therapeutics:Methods And Applications Of Direct Gene Transfer(J.A.Wolff编辑)(1994);Wu等人,J.Biol.Chem. (1988) 263:621;Wu等人,J.Biol.Chem. (1994) 269:542;Zenke等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA(1990) 87:3655;Wu等人,J.Biol.Chem. (1991) 266:338。含有多核苷酸的治疗组合物在基因疗法方案中在约100ng至约200mg DNA的范围下局部施用。在一些实施方案中,还可以在基因疗法方案期间使用约500ng至约50mg、约1μg至约2mg、约5μg至约500μg和约20μg至约100μg或更大的浓度范围的DNA。

[0095] 本文所述的治疗性多核苷酸和多肽可以使用基因递送媒介物来递送。基因递送媒介物可以是病毒或非病毒来源的(通常参见Jolly,Cancer Gene Therapy (1994) 1:51;Kimura,Human Gene Therapy (1994) 5:845;Connelly,Human Gene Therapy (1995) 1:185;



和Kaplitt, Nature Genetics (1994) 6:148)。可以使用内源性哺乳动物或异源启动子和/或增强子来诱导此类编码序列的表达。编码序列的表达可以是组成型的或调控型的。

[0096] 用于递送期望多核苷酸并在期望细胞中表达的基于病毒的载体是本领域众所周知的。示例性的基于病毒的媒介物包括但不限于重组逆转录病毒(参见,例如PCT公开No. WO 90/07936; WO 94/03622; WO 93/25698; WO 93/25234; WO 93/11230; WO 93/10218; WO 91/02805; 美国专利No. 5,219,740和4,777,127; GB专利No. 2,200,651; 和欧洲专利No. 0 345 242), 基于 $\alpha$ 病毒的载体(如, 辛德毕斯病毒载体, 塞姆利基森林病毒(ATCC VR-67; ATCC VR-1247), 罗斯河病毒(ATCC VR-373; ATCC VR-1246)和委内瑞拉马脑炎病毒(ATCC VR-923; ATCC VR-1250; ATCC VR 1249; ATCC VR-532)); 以及腺相关病毒(AAV)载体(参见如PCT公开No. WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984和WO 95/00655)。还可以采用施用连接至杀伤的腺病毒的DNA, 如Curiel, Hum. Gene Ther. (1992) 3:147中所述。也可以使用非病毒递送媒介物和方法, 包括但不限于与单独的杀灭的腺病毒连接或不连接的聚阳离子缩合DNA(参见, 如Curiel, Hum. Gene Ther. (1992) 3:147); 配体-连接的DNA(参见, 如Wu, J. Biol. Chem. (1989) 264:16985); 真核细胞递送媒介物细胞(参见, 如美国专利No. 5,814,482; PCT公开No. WO 95/07994; WO 96/17072; WO 95/30763; 和WO 97/42338)和核酸电荷中和或与细胞膜融合。也可以采用裸露的DNA。示例性裸露的DNA引入方法描述于PCT公开No. WO 90/11092和美国专利No. 5,580,859。可以用作基因传递媒介物的脂质体描述于美国专利5,422,120; PCT公开No. WO 95/13796; WO 94/23697; WO 91/14445; 和欧洲专利No. 0524968。另外的方法描述于Philip, Mol. Cell. Biol. (1994) 14:2411, 和Woffendin, Proc. Natl. Acad. Sci. (1994) 91:1581中。

[0097] 还显著的是, 表达载体可用于指导本文所述的基于蛋白质的抗C $\epsilon$ mX抗体(如, FB825)中的任一种的表达。例如, 其他能够结合C $\epsilon$ mX和/或IgE生物活性的抗C $\epsilon$ mX抗体片段是本领域已知的。

[0098] 本文所述方法中使用的特定剂量方案, 即剂量、时间和重复, 将取决于特定受试者和该受试者的病史。本文所述的任何抗C $\epsilon$ mX抗体可以与用于增强和/或补充所述试剂的有效性的其他试剂(如, 用于治疗IgE相关病症的其他试剂)联合使用。

[0099] 在一些实施方案中, 如下使用如本文所述的抗C $\epsilon$ mX抗体, 例如FB825, 治疗特应性皮炎。特应性皮炎, 也称为湿疹, 是一种慢性皮肤疾患, 特征在于发红和/或瘙痒。它在儿童中很常见, 但可以在任何年龄发生。可以通过常规医学实践将需要治疗的患者鉴定为具有特应性皮炎的一种或多种症状, 包括干皮、瘙痒、红色至棕灰色斑块、细小凸起肿块(当抓挠时, 这可能会漏出液体并结皮)、变厚破裂的鳞片状皮肤, 和/或原始敏感的因抓挠而肿胀的皮肤。在某些情况下, 可以经由常规做法检查候选受试者的总IgE水平和过敏原特异性IgE水平。如果候选受试者的IgE水平(如, 总IgE、过敏原特异性IgE或两者)均高于正常水平(代表相同物种受试者(如没有特应性皮炎或与IgE相关的其他过敏性病症的人类)中的平均IgE水平)。

[0100] 经由如本文所述的常规途径, 可以向需要治疗的人患者给予第一剂量的抗体, 其剂量范围可以为3mg/kg至8mg/kg。在一些情况下, 第一剂量是5mg/kg。第一剂量后, 可以监测患者的总IgE水平。如果第一剂量后3-4周的IgE水平降低小于50%, 则可以在第一剂量后3-4周将第二剂量的抗体给予患者。第二剂量可以与第一剂量相同, 或低于第一剂量。在一

些情况下,第一剂量和第二剂量均为5mg/kg,并在1-2小时时间内经由静脉输注来施用。在治疗过程中,还可以监测其他指示功效和/或安全性的生物标志物。此类生物标志物包括但不限于胸腺和激活调控的趋化因子(TARC)、Eotaxin-3、胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)、骨膜素、IL-1a、IL-4、IL-5、IL-13、IL-16、IL-31、M-CSF或其组合。

[0101] 经过以上所述治疗的人患者可能患有至少3年的慢性特应性皮炎,如由常规医学实践所诊断,例如,由艾森菲尔德(Eishenfield)修订的汉尼芬(Hannifin)和拉杰卡(Rajka)标准定义,并由阳性的过敏原特异性IgE支持。患者可具有以下一项或多项特征:(i)湿疹面积和严重性指数(EASI)评分大于14,(ii)研究者总体评估(IGA)评分大于3(5分制),(iii)体表面积(BSA)大于10%,(iv)在治疗前至少一个月或至少三个月,对局部皮质类固醇或钙调磷酸酶抑制剂的稳定方案响应不足的病史。此外,可以在治疗前至少7天每天两次向人患者给予稳定剂量的润肤剂。

[0102] 在一些情况下,如本文所述的抗CemX抗体(如,FB825)可以是与保湿剂(如,以稳定的剂量,诸如每天至少两次)和/或局部皮质类固醇(TCS)一起使用。可将中效TCS施加至有活动性病变的区域,并且在病变得控制后可转换为低效TCS。如果病变再次发生,可以采用逐步减低法恢复中效TCS治疗。如果使用中效TCS进行每日治疗后病灶持续存在或恶化,则可以使用高效或超高效TCS,除非认为它不安全。低效TCS可以用于皮肤较薄的区域(如,面部、颈部、三尖瓣、生殖器区域或皮肤萎缩区域)上,或用于认为继续使用中效TCS不安全的区域上。

[0103] 具有低效、中效和高效或超高效TCS在本领域中是众所周知的。示例性中效TCS包括0.05%丙酸氟替卡松乳膏、0.1%糠酸莫米松乳膏或0.06%戊酸倍他米松乳膏。示例性低效TCS包括1%氢化可的松软膏。示例性高效TCS可以是0.05%醋酸氟轻松乳膏或0.25%去羟米松软膏。示例性超高效TCS可以是0.05%丙酸氯倍他索软膏。

[0104] 在一些情况下,经受本文所述治疗的患者没有以下疗法中的一种或多种:(i)局部他克莫司和吡美莫司,(ii)皮质类固醇的全身治疗,(iii)白三烯抑制剂,(iv)过敏原免疫疗法,(v)免疫抑制剂或免疫调节剂(如环孢菌素、霉酚酸酯、IFN- $\gamma$ 、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤或生物制剂)的全身治疗,(vi)活(如减毒)疫苗,和/或(vii)传统中药。患者也可以没有任何手术程序和/或紫外线路序。

[0105] 本文所述的任何方法还可包括在第一剂量后评估受试者中减少的血红蛋白、上呼吸道感染、泌尿道感染或其组合的发生。如果观察到一次或多次发生,则可减少第二剂量的抗Cemx抗体(如,FB825)的量。可替代地,可以停止治疗。

[0106] 用于治疗IgE相关病症的试剂盒

[0107] 本公开还提供了用于治疗IgE相关病症的试剂盒。此类试剂盒可包括一个或多个容器,所述容器包含如本文所述的抗Cemx抗体(诸如FB825)。

[0108] 在一些实施方案中,试剂盒可包括根据本文所述的任何方法使用的说明书。所包括的说明书可以包括根据本文所述的任何方法施用抗Cemx抗体的治疗IgE相关病症、延迟IgE相关病症发作或缓解IgE相关病症的说明书。试剂盒还可包括基于鉴定个体是否患有病症、疑似患有病症或处于病症风险中来选择适用于治疗的个体的描述。在其他实施方式中,说明书包括向需要治疗的受试者施用抗Cemx抗体以降低发展IgE相关病症风险的描述。

[0109] 涉及抗Cemx抗体的使用的说明书通常包括有关预期治疗的剂量、给药时间表和施

用途的信息。容器可以是单位剂量、散装(如,多剂量包装)或亚单位剂量。本发明的试剂盒中提供的说明书通常是在标签或包装插页(如,试剂盒中包括的纸张)上的书面说明书,但是机器可读的指令(如,磁或光存储磁盘上携带的指令)也是可接受的。

[0110] 标签或包装插页表明该组合物用于治疗IgE相关病症、延迟IgE相关病症发作和/或减轻IgE相关病症。可以提供用于实践本文描述的任何方法的说明书。

[0111] 本公开的试剂盒在适合的包装中。适合的包装包括但不限于小瓶、瓶子、广口瓶、软包装(如,密封的Mylar或塑料袋)等。还考虑了与特定设备结合使用的包装,诸如吸入器、经鼻施用设备(如,雾化器)或输注设备诸如微型泵。试剂盒可具有无菌进口(例如,容器可以是静脉内溶液袋或具有可通过皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。该容器还可以具有无菌进口(例如,容器可以是静脉内溶液袋或具有可通过皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂是抗Cεmx抗体,诸如FB825。

[0112] 试剂盒可以任选地提供另外组分,诸如缓冲液和解释性信息。通常,试剂盒包括容器和在容器上或与容器相关的标签或一个或多个包装插页。在一些实施方案中,本公开提供了包含上述试剂盒的内容物的制品。

[0113] 通用技术

[0114] 除非另有说明,否则本发明的实践将采用在本领域技术范围内的分子生物学的常规技术(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学。此类技术在文献中得到了充分解释,诸如Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第二版(Sambrook等人,1989) Cold Spring Harbor Press;Oligonucleotide Synthesis(M.J.Gait编辑,1984);Methods in Molecular Biology,Humana Press;Cell Biology:A Laboratory Notebook(J.E.Cellis编辑,1998)Academic Press;Animal Cell Culture(R.I.Freshney编辑,1987);Introduction to Cell and Tissue Culture(J.P.Mather和P.E.Roberts,1998)Plenum Press;Cell and Tissue Culture:Laboratory Procedures(A.Doyle,J.B.Griffiths和D.G.Newell编辑,1993-8)J.Wiley和Sons;Methods in Enzymology(Academic Press,Inc.);Handbook of Experimental Immunology(D.M.Weir和C.C.Blackwell编辑);Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells(J.M.Miller和M.P.Calos编辑,1987);Current Protocols in Molecular Biology(F.M.Ausubel等人,编辑,1987);PCR:The Polymerase Chain Reaction,(Mullis等人,编辑,1994);Current Protocols in Immunology(J.E.Coligan等人,编辑,1991);Short Protocols in Molecular Biology(Wiley和Sons,1999);Immunobiology(C.A.Janeway和P.Travers,1997);Antibodies(P.Finch,1997);Antibodies:a practical approach(D.Catty.,编辑,IRL Press,1988-1989);Monoclonal antibodies:a practical approach(P.Shepherd和C.Dean编辑,Oxford University Press,2000);Using antibodies:a laboratory manual(E.Harlow和D.Lane(Cold Spring Harbor Laboratory Press,1999);The Antibodies(M.Zanetti和J.D.Capra编辑,Harwood Academic Publishers,1995)。

[0115] 无需进一步阐述,据信本领域的技术人员可以基于以上描述,最大程度地利用本发明。因此,以下具体实施方案应被解释为仅仅是说明性的,而不以任何方式限制本公开的其余部分。本文引用的所有出版物出于本文引用的目的或主题通过引用并入。

[0116] 实施例1:食蟹猴中FB825的毒性研究

[0117] 材料和方法

[0118] 实验室测试

[0119] 将用于血液学、凝血、血清化学 (包括肝功能测试)、甲状腺功能测试和尿液分析的血液和尿液样品收集,并按照常规临床实验室测试进行分析。

[0120] 根据每个实验室参数的参考范围,将临床实验室异常值标记为高或低 (或正常或异常)。临床上显著被定义为具有医学相关性并且可导致医学护理 (如,积极观察、诊断措施或治疗措施) 改变的结果的任何变化。如果注意到相对于筛选的临床上显著的变化,则记录临床上显著值和临床上显著的原因。继续对经治疗的食蟹猴进行监测并进行额外的评估,直到该值达到参考范围或筛选时的值,或者直至不再必需医学随访为止。

[0121] 药效动力学评估

[0122] 用于确定总IgE和抗药物抗体 (ADA) 的血样使用由Vince and Associates Clinical Research提供的3.5-mL血液收集管 (BD Vacutainer® SST™ Serum Separation Tubes) 进行收集。收集一个样品,以每个血液收集管尺寸的最小血液体积为目标。在每个时间点最少收集1.0mL血清。获得血液样品后,将收集管倒置5次,并在环境温度 (19°C-24°C) 下使血液凝结30分钟。将样品在室温下在旋转式桶式离心机中以大约2200rpm离心10分钟。使用标准实验室技术将大约相等体积的一式二份血清等分试样 (每个等分试样最少500μL) 转移至2个由Vince and Associates Clinical Research提供的适当标记的储存管 (2-mL聚丙烯冷冻小管) 中。

[0123] 使用经验证的ELISA分析分析用于测量ADA的免疫原性样品。

[0124] 血清天冬氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶

[0125] 通过测量天冬氨酸转氨酶 (AST) 和丙氨酸转氨酶 (ALT) 的水平来监测FB825治疗的食蟹猴的肝功能。这两种酶的活性表示为单位/升 (U/L)。

[0126] 结果

[0127] 食蟹猴中FB825的单剂量研究

[0128] 在食蟹猴中进行的非GLP单剂量毒性研究中评估了FB825的单剂量毒性。在第一项研究中,在施用单次10分钟静脉内FB825输注液的食蟹猴中确定了治疗相关的作用。在第二项研究中,在施用单次皮下FB825注射液的食蟹猴中确定了治疗相关的作用。

[0129] 在静脉内注射-剂量-范围发现研究中,雄性和雌性食蟹猴在30、100和300mg/kg对单次10分钟FB825静脉内输注耐受良好。对临床参数、食物消耗、体重或死亡率无治疗相关影响。FB825相关的作用仅限于ALT和AST的最小增加 (到第57天已恢复) 及白介素-6和白介素-10的最小增加 (在施用至少100mg/kg FB825的动物中给药后6小时之时和/或1小时之时)。根据这些结果,未观察到不良作用水平 (NOAEL) 被认为是300mg/kg。

[0130] 在另一项单剂量毒理学研究中,经由以300mg/kg单次皮下注射施用FB825在食蟹猴中良好耐受。没有观察到FB825相关的临床体征或对体重或临床病理参数 (血液学、凝血和临床化学) 的影响。

[0131] 食蟹猴中FB825的重复剂量研究

[0132] 在食蟹猴中评估了FB825的重复剂量毒性。在每周一次施用单次10分钟静脉内FB825输注液 (共4剂) 的食蟹猴中确定了治疗相关的作用。

[0133] 食蟹猴在30、100和300mg/kg下对通过每周一次10分钟静脉内输注施用的FB825

(共4剂)耐受良好。在该研究中评价了以下参数和终点:临床体征、体重、食物消耗、眼科、心电图、临床病理参数(血液学、凝血和临床化学)、生物分析和毒物动力学评价、抗治疗性抗体分析、流式细胞术、IgE分析、甲状腺激素水平、肉眼尸检发现、器官重量和组织病理学检查。

[0134] 在高达300mg/kg的剂量下,在任一性别中,均未观察到FB825相关的临床体征或观察到对体重、食物消耗、眼科和心电图检查、凝血参数和甲状腺激素水平的影响。此外,在高达且包括300mg/kg的剂量下,没有FB825相关的明显肉眼发现。

[0135] FB825相关的作用仅限于FB825剂量大于或等于100mg/kg时ALT的可逆显著增加,和AST的可逆的轻度升高,白蛋白水平和相应白蛋白:球蛋白比的部分可逆性最小降低,以及在300mg/kg的FB825剂量下可逆的单核细胞计数最小增加。在300mg/kg下ALT和AST水平升高的幅度被认为是不利的。在 $\geq 30$ mg/kg的水平下观察到靶器官效应,并且由甲状腺的非不利滤泡胶体耗竭和较低的甲状腺重量组成。然而,较低的甲状腺重量在历史对照猴中观察到的范围内。因为据报导在食蟹猴中自发发现胶体染色模式的变化、甲状腺滤泡大小的变化和液泡变性(Ishida 2000;Hatakeyama 2011),并且因为对甲状腺素和甲状腺刺激的激素水平没有与试验品相关的影响,因此在这项研究的条件下,甲状腺的发现被认为是非不利的。

[0136] 基于ALT和AST水平在300mg/kg下的增加,NOAEL被认为是100mg/kg ( $C_{\max}$ 为5330 $\mu$ g/mL和AUC<sub>(0-168h)</sub>为520mg $\cdot$ hr/mL,对于男性;以及 $C_{\max}$ 为5220 $\mu$ g/mL和AUC<sub>(0-168h)</sub>为487mg $\cdot$ hr/mL,对于女性)。

[0137] 实施例2:人临床研究

[0138] 这项研究的主要目的是评价正常的健康受试者中单次递增静脉内剂量的FB825的安全性和耐受性。这项研究的次要目的包括确定单次递增静脉内剂量的FB825的PK曲线,以探索单次递增静脉内剂量的FB825之后对总IgE的影响以及探索单次递增静脉内剂量的FB825之后抗FB825抗体的发生。

[0139] 研究设计

[0140] 这是一项1期的首次人体(FIH)、随机、双盲、安慰剂对照研究,以评价单次递增静脉内剂量FB825的安全性、耐受性、药代动力学和免疫原性。表1描述了FB825人类临床研究期间进行的事件时间表的综述。符合研究入组标准的受试者被分配到当前剂量组群,并被随机分配接受FB825或安慰剂(媒介物)。所有剂量的FB825均作为1小时静脉内输注来施用。

[0141] 在进展到次高剂量组群之前,检查了每个剂量组的安全性数据。仅在确认安全性如此后才允许对次高剂量组群进行给药。剂量水平可以根据需要进行调整或重复。设盲PK数据与设盲安全性数据同时进行检查。

[0142] 该研究包括6个组群和总共约54名正常健康受试者(每组群7名受试者[4名活性:3名安慰剂]在群组A和B中,并且每组群10名受试者[7名活性:3名安慰剂]在群组C、D、E和F中)。起始FB825剂量为0.003mg/kg IV,在随后的群组中计划增加至0.03、0.3、1.5、5和10mg/kg IV。该研究由筛选期(第-28至-2天)、签到(第-1天)、治疗/随访期(第1至140天)和研究结束访视(第140天)组成。

[0143] 受试者在第-1天到诊所中签到,并进行了签到程序。当程序重叠并且计划在同一时间点进行时,程序的顺序是生命体征测量、心电图,然后是药代动力学血液收集。

[0144] 受试者在第1天接受了活性药物或安慰剂研究药物。来自2个最低剂量群组(群组A和B)的前两名受试者接受了安慰剂或FB825(即,需要表示安慰剂和活性研究药物两者)。这些群组中的其余受试者在前2名受试者给药后48小时给药。同时向4个最高剂量群组中的所有受试者给药。在群组中最后一名受试者给药之间至少间隔14天,然后才决定继续对下一个群组给药。在进展到次高剂量组群之前,以设盲方式检查了每个剂量组的安全性数据。仅在确认这样做是安全的之后才允许在次高剂量群组中给药。设盲PK数据与设盲安全性数据同时进行检查。

[0145] 在第1天的以下时间点收集用于PK评估的血样:输注开始前30分钟( $\pm 5$ 分钟);输注开始后30分钟( $\pm 2$ 分钟);输注开始后的1、1.25和2小时( $\pm 2$ 分钟);输注开始后的4和8小时( $\pm 5$ 分钟);和输注开始后的24和48小时( $\pm 10$ 分钟)。另外,在输注后第5、14、29、85和140天收集单血样品。在第1天(开始输注前30分钟[ $\pm 5$ 分钟])和第5、14、29、85和140天收集用于免疫原性评估的血样。

[0146] 从第-1天起将受试者限制在诊所内,直到第3天出院(给药后48小时),并在第5、14、29、85和140天返回门诊进行门诊就诊。除筛选外的研究持续时间约为140天。

[0147] 患者群体

[0148] 年龄为18至55岁(含)的健康男性和女性受试者的体重高于或等于50kg和体重指数为18.0至30.0kg/m<sup>2</sup>(含),并提供了书面知情同意书。共招募了54名受试者,41名受试者(75.9%)完成了研究,并且13名受试者(24.1%)被停止。七名受试者(13.0%)因受试者选择而停止,并且在0.3、1.5、5和10mg/kg FB825治疗组中包括各1名受试者,并在安慰剂治疗组中包括3名受试者。6名受试者(11.1%)失去随访,并且在0.003、0.3和1.5mg/kg FB825和安慰剂治疗组包括各1名受试者,并且在10mg/kg FB825治疗组中包括2名受试者。

[0149] 表1.事件时间表

[0150]

程序	筛选	签到	限制			门诊就诊				
研究日	-28 至-2	-1	1	2 (给药后 24 小时)	3 (给药后 48 小时)	5	14 (+/- 1 天)	29 (+/- 1 天)	85 (+/- 1 天)	140 (EOS) (+/- 1 天)
知情同意书	X									
纳入/排除标准	X	X								
病史	X	X								
体检	X	X			X	X	X	X	X	X
生命体征测量	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
12-导联 ECG	X	X	X	X	X	X	X			X
心脏遥测			X							
血清学	X									
临床实验室测试	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
甲状腺功能测试	X	X					X	X	X	X
尿液、药物、可替 宁和酒精筛选	X	X								
血清妊娠测试 (女性受试者)	X	X			X					X
血清 FSH	X									
收入诊所		X								
随机化			X							
研究药物施用			X							
药代动力学血液采 样			X	X	X	X	X	X	X	X
总 IgE 和 ADA 采样			X			X	X	X	X	X
不良事件评估			X	X	X	X	X	X	X	X
既往和伴随用药	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
从诊所出院					X					
研究出院										X

[0151] 缩写语:ADA,抗药物抗体;ECG,心电图;EOS,研究结束;FSH,促卵泡激素;Ig,免疫球蛋白。

[0152] FB825施用

[0153] 在第1天,受试者在约1小时内接受FB825(0.003、0.03、0.3、1.5、5或10mg/kg)或安慰剂的单次静脉内输注。

[0154] 在预定给药日(第1天)的早晨,在禁食约2小时后,以单次、约1小时的静脉内输注液施用所有剂量。给药前2小时或更久,允许享用便餐。除给药前1小时和给药后1小时外,任何时候均允许饮水。施用前将FB825溶液稀释。

[0155] 在第1天的0小时施用FB825或安慰剂的单次约1小时的静脉输注液。下一剂量水平的进展取决于安全审查小组批准。来自2个最低剂量群组(群组A和B)的前2名受试者接受安慰剂或FB825(即,需要代表安慰剂和活性剂两者)。这些群组中的其余受试者在前2名受试者给药后48小时给药。4个最高剂量群组中的所有受试者均同时给药。

[0156] 药代动力学(PK)评估

[0157] 在以下时间点从所有受试者中收集用于FB825的PK分析的血样:在第1天,在开始

输注前30分钟(±5分钟);在开始输注后30分钟(±2分钟);在开始输注后1、1.25和2小时(±2分钟,给药后持续30分钟至2小时);在开始输注后4和8个小时(±5分钟,给药后持续4至8个小时);和在开始输注后24和48小时(±10分钟,给药后持续24至48小时)。此外,在输注后第5、14(±1天)、29(±2天)、85(±3天)和140(±5天)时收集了单血样品。

[0158] 使用非房室方法从每个受试者的血清浓度数据计算出FB825的以下单剂量PK参数:

[0159]  $AUC_{0-t}$  从时间0到最后可量化浓度的血清浓度-时间曲线(AUC)下面积,使用线性梯形法则计算

[0160]  $AUC_{0-inf}$  从时间0外推到无穷大的AUC,使用以下公式计算: $AUC_{0-inf} = AUC_{0-t} + C_t/K_{el}$ , 其中 $C_t$ 是最后可测量的血清浓度,并且 $K_{el}$ 是终末消除速率常数。如果外推面积( $C_t/K_{el}$ )大于 $AUC_{0-inf}$ 的20%,则将 $AUC_{0-inf}$ 及其相关参数(CL和 $V_d$ )设置为缺失。

[0161]  $\%AUC_{ex}$  用于计算 $AUC_{0-inf}$ 的外推面积百分比

[0162]  $C_{max}$  最大观察血清浓度

[0163]  $T_{max}$  最大观察血清浓度的时间

[0164]  $K_{el}$  终末消除速率常数,其中 $K_{el}$ 是终末期期间对数浓度对比时间曲线的线性回归斜率的大小。仅如果 $R^2 \geq 0.80$ 并且终末期中的3分不包括 $C_{max}$ ,保留 $K_{el}$ 。

[0165]  $t_{1/2}$  终末半衰期(只要可能),按 $(\ln)2/K_{el}$ 计算

[0166] MRT平均停留时间,按AUMC/AUC计算

[0167] CL表观清除率,按剂量/ $AUC_{0-inf}$ 计算

[0168]  $V_d$ 表观分布体积,如下计算:剂量/( $AUC_{0-inf} \times K_{el}$ )

[0169] 药代动力学血样

[0170] 使用由Vince and Associates Clinical Research提供的3.5mL血液收集管(BD Vacutainer® SST™ serum separation tubes)收集血样以分析FB825。收集一个样品,以每个血液收集管尺寸的最小血液体积为目标。在每个时间点最少收集1.0mL血清。获得血样后,将收集管倒置5次,并在环境温度(19°C-24°C)下使血液凝结30分钟。将样品在室温下在旋转式桶式离心机中以大约2200rpm离心10分钟。使用标准实验室技术,将大约相等体积的一式两份血清等分试样(每等分试样最少500μL)转移到由Vince and Associates Clinical Research提供的2个经适当标记的储存管(2-mL聚丙烯冷冻小管)中。标签被固定至每个储存管,并含有以下信息:

[0171] 样品类型:人血清

[0172] 测定类型:PK

[0173] 方案:FB825CLCT01

[0174] 受试者编号:随机编号

[0175] 时间点:参考方案

[0176] 血清等分试样:1或2

[0177] 在收集的90分钟内,将两份等分试样样品均垂直储存在-70°C±10°C下。FB825的药代动力学血清测定是使用经验证的ELISA进行的。

[0178] 药效动力学评估

[0179] 在第1天在输注开始前30分钟(±5分钟),和在输注后第5天、第14(±1天)、29(±2



天)、85(±3天)和140(±5天)天或在早期终止时,收集用于确定总IgE和抗药物抗体(ADA)的血样。

[0180] 使用由Vince and Associates Clinical Research提供的3.5mL血液收集管(BD Vacutainer®SST™Serum Separation Tubes)收集用于分析ADA水平的血样。收集一个样品,以每个血液收集管尺寸的最小血液体积为目标。在每个时间点最少收集1.0mL血清。获得血液样品后,将收集管倒置5次,并在环境温度(19°C-24°C)下使血液凝结30分钟。将样品在室温下在旋转式桶式离心机中以大约2200rpm离心10分钟。使用标准实验室技术,将大约相等体积的一式两份血清等分试样(每等分试样最少500μL)转移至2个经适当标记的储存管(2-mL聚丙烯冷冻小管)中。使用经验证的ELISA分析用于ADA测量的免疫原性样品。

[0181] 安全评估

[0182] 通过监测和记录AE、临床实验室测试结果(血液学、凝血、血清化学,包括肝功能测试、甲状腺功能测试和尿液分析)、生命体征测量、12导联心电图结果、心脏遥测数据和体检结果,来评估安全性和耐受性。

[0183] 临床实验室测试

[0184] 在禁食条件下(禁食约2小时或更多小时),在事件时间表(表1)中指示的时间点收集血样和尿样,以进行血液学、凝血、血清化学(包括肝功能测试)、甲状腺功能测试、尿液分析和药物筛选测试。在筛选;签到;在开始输注前的第1天以及开始输注后的第1(输注结束)、8和24小时(±15分钟);和在第3(±15分钟,给药后持续高达48小时)、5、14、29、85和140天的单个时间点时,进行临床实验室测试(血液学、凝血、血清化学[包括肝功能测试]和尿液分析)。

[0185] 样品用于临床实验室测试,包括血液学、凝血、血清化学、甲状腺功能测试和尿液分析。

[0186] 在筛选、签到、第3天(给药后48小时)和研究结束访视(第140天)时对所有女性受试者进行血清妊娠测试( $\beta$ -人绒毛膜促性腺激素)。绝经后的女性受试者在筛选时进行了血清FSH测试。

[0187] 筛选时评估了乙型肝炎表面抗原、丙型肝炎病毒抗体和人免疫缺陷病毒(1型或2型)抗体。

[0188] 在筛选时和第-1天对酒精、苯丙胺、巴比妥酸盐、苯二氮<sub>草</sub>、可卡因代谢物、可替宁、亚甲二氧基甲基苯丙胺、阿片剂、苯环利定、丙氧芬和四氢大麻酚进行尿液药物筛选。

[0189] 根据每个实验室参数的参考范围,将异常的临床实验室值标记为高或低(或正常或异常)。临床上显著被定义为具有医学相关性并且可导致医学护理(如,积极观察、诊断措施或治疗措施)改变的结果的任何变化。如果注意到相对于筛选的临床上显著的变化,则在eCRF的AE页面上记录临床上显著值和临床上显著的原因。用额外的评估持续监测受试者,直到该值达到参考范围或筛选时的值,或直到不再必需医学随访为止。

[0190] 生命体征测量

[0191] 生命体征测量包括收缩压和舒张压、心率、呼吸率和口腔体温。在进行所有测量之前,受试者要坐至少5分钟,直立性评估除外。在进行直立性评估的时间点,在对坐着的受试者进行所有测量之后,使受试者仰卧5分钟,然后再获得其血压和心率;然后使受试者站立1分钟,然后再获得其血压和心率。在事件时间表中指示的时间点测量生命体征(表1)。

[0192] 在筛选;签到;在输注开始前的第1天,和在开始输注后的第1(输注结束)、2和4小

时(±15分钟)以及8和24小时(±30分钟);和在第3天(±15分钟,给药后持续高达48小时)、5、14、29、85和140天时,获得生命体征测量值(收缩压和舒张压、心率、呼吸频率和口腔体温)。输注期间,每15分钟(±5分钟)进行生命体征测量。在签到;在输注开始前第1天以及输注开始后的第2、4、8和24小时(±15分钟);和在第5天时进行直立性评估。

[0193] 临床上显著被定义为具有医学相关性并且可导致医学护理改变(如,积极观察、诊断措施或治疗措施)的结果的任何变化。如果注意到相对于筛选的临床上显著的变化,则在受试者的eCRF的AE页上记录临床上显著值和临床上显著的原因。可以通过额外的评估持续监测受试者,直到该值达到参考范围或筛选时的值,或直到不再必需医学随访为止。

[0194] 十二导联心电图

[0195] 在事件时间表(表1)中指示的时间点,使患者仰卧至少5分钟后,获得单个12导联心电图(表1)。在筛选;签到;在第1天在输注开始前2小时内和在输注开始后1(输注结束)、8和24小时(±15分钟);在第3(±15分钟,给药后持续高达48小时)、5、14和140天时,获得十二导联心电图。

[0196] 心电图评估包括对迹线是正常还是异常以及节律,存在心律不齐或传导缺陷,形态,心肌梗死证据以及ST段、T波和U波异常的评论。此外,测量并报告了以下间隔的测量值:RR间隔,PR间隔,QRS宽度,QT间隔和QTcF。

[0197] 临床上显著被定义为具有医学相关性并且可导致医学护理(如,积极观察、诊断措施或治疗措施)改变的结果的任何变化。如果注意到相对于筛选的临床上显著的变化,则在受试者的eCRF的AE页上记录临床上显著值和临床上显著的原因。用额外的评估持续监测受试者,直到任何值达到参考范围或筛选时的值,或直到不再必需医学随访为止。

[0198] 心脏遥测

[0199] 在事件时间表(表1)中指定的时间点进行心脏遥测。心脏遥测监测从第1天开始(从输注开始前约30分钟开始),并在输注结束后持续4个小时。

[0200] 临床上显著被定义为具有医学相关性并且可导致医学护理(如,积极观察、诊断措施或治疗措施)改变的结果的任何变化。如果注意到相对于第1天(输注开始前约30分钟)的最初遥测发现有临床上显著的变化,则在受试者的eCRF的AE页上记录临床上显著值和临床上显著的原因。用额外的评估持续监测受试者,直到不再必需医学上的随访为止。

[0201] 体检

[0202] 在事件时间表(表1)中指定的时间点进行了全面体检和简略体检。在筛选以及第3、14和140天进行了全面体检(包括对皮肤红斑的评估)。在签到(第-1天)以及第5、29和85天进行了简略体检(包括对皮肤红斑的评估)。体检包括筛选时的身高和体重以及仅在其他数天的体重。

[0203] 全面体检包括对皮肤(包括皮肤红斑的任何体征)、头部、耳朵、眼睛、鼻子、喉咙、颈部、甲状腺、肺、心脏、心血管系统、腹部、淋巴结和肌肉骨骼系统/四肢的评估。进行中期体检以评价AE或临床实验室异常。

[0204] 简略体检包括对皮肤(包括皮肤红斑的任何体征)、肺、心血管系统和腹部(肝、脾)的评估。

[0205] 测量身高和体重,并且仅在筛选时计算体质指数。在事件时间表中指示的所有其他体检时间点测量体重。

[0206] 人类研究的剂量选择

[0207] 该1期FIH研究中的起始剂量为0.003mg/kg,其在非人类灵长类动物(与人类最接近且最相关的模型)中使用来自4周的重复剂量毒理学研究的NOAEL并应用适当的安全因子以及基于体外和体内药理学数据和毒物代谢动力学数据从计算FB825的最小预期生物效应水平(MABEL)来确定。

[0208] 在食蟹猴4周重复剂量毒理学研究中,FB825的NOAEL被认为是100mg/kg。根据美国食品和药品管理局(FDA)行业指南:在成人健康志愿者治疗的初始临床试验中估计的最大安全起始剂量(2005年7月),所计算的等效人类剂量为38.8mg/kg;在对此应用适当的安全系数(即,100倍)后,人受试者中的最大建议起始剂量为约0.39mg/kg。

[0209] FB825的MABEL估计为0.1μg/mL。据估计,在人受试者中单次静脉内剂量为0.003mg/kg会导致于FB825的全身暴露范围为0.06μg/mL至0.09μg/mL;因此,在研究期间不得超过MABEL。取该范围的较高数字,在施用单次静脉内剂量的FB825的食蟹猴中(研究20031008),在该起始剂量下的FB825的预期最大循环浓度将比在NOAEL(100mg/kg/天)的剂量水平下的FB825的 $C_{max}$ 低约 $4.4 \times 10^4$ 倍。以毫克/千克计,这提供了 $3.7 \times 10^4$ 倍的安全裕度,超过并高于NOAEL(300mg/kg)下的人等效剂量111.6mg/kg。

[0210] 结果

[0211] 这项研究在健康成人受试者的随机、安慰剂对照、双盲研究中,评价了经由静脉内注射单次递增剂量的FB825的安全性、耐受性、药代动力学和免疫原性。计划的首次人类(FIH)临床1期研究的研究群体的设计和选择基于获得FB825的初始安全性、耐受性、PK药理学结果的需要,以用于进一步的临床研究。根据表1中显示的事件时间表获得数据。

[0212] FB825安全施用至人类受试者

[0213] 以0.003的剂量单次1小时静脉内输注FB825。0.03、0.3、1.5、5和10mg/kg在临床试验中是安全且健康受试者良好耐受的。没有死亡,并且没有受试者因治疗紧急不良事件(TEAE)而中断。除减少的血红蛋白、上呼吸道感染、尿路感染和枪伤外,所有TEAE均到研究结束时消退。

[0214] 临床实验室测试结果、生命体征测量、12导联ECG结果或体检发现无明显的治疗或剂量相关趋势。

[0215] 通过施用FB825降低总IgE

[0216] 在1.5和10mg/kg治疗组中在所有给药后时间点,总IgE均降低。在其他剂量(0.003、0.03、0.3和5mg/kg FB825)和安慰剂治疗组中,总IgE在给药后的某些时间点减少,但没有总体趋势(图1和图2)。

[0217] 仅4名受试者(0.03、0.3和5mg/kg FB825和安慰剂治疗组中各1名)具有可检测的ADA,其中0.03mg/kg FB825治疗组中仅1名受试者具有反应性ADA(图3)。

[0218] 实施例3:在特应性皮炎的成人中评价FB825安全性和有效性的开放标签探索性研究

[0219] 本研究经设计以评价静脉内施用FB825后患有特应性皮炎的患者中总IgE和过敏原特异性IgE相对于基线的变化,并评价这些患者的临床功效。这项研究还旨在评价由此治疗的患者中FB825的安全性,监测静脉内施用FB825后临床血液学的变化,并探索静脉内施用FB825后生物标志物相对于基线的变化,包括胸腺和激活调控趋化因子(TARC)、Eotaxin-

3、胸腺基质淋巴细胞生成素 (TSLP)、骨膜素、IL-1a、IL-4、IL-5、IL-13、IL-16、IL-31和M-CSF。

[0220] FB825是一种人源化单克隆免疫球蛋白G1 (IgG1), 靶向表达膜结合IgE (mIgE) 的人B淋巴细胞上的CεmX结构域。FB825可以阻断IgE合成的生物学途径, 从而有益于治疗IgE介导的过敏性疾病。FB825被配制成水溶液, 并经由1小时静脉内输注以5mg/kg给予患者。

#### [0221] 研究程序

[0222] 这是一项开放标签的探索性研究, 以评价FB825在特应性皮炎 (AD) 成人中的安全性和功效。符合研究入组标准的约12名患有特应性皮炎 (AD) 的人患者被招募至研究。所有符合条件的患者在第1天和第85天通过1小时的静脉内输注接受5mg/kg FB825 (表2)。受试者在第1天和第85天接受FB825后住院, 并于第二天出院以进行安全性观察 (至少12小时)。患者在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天返回研究现场, 以进行安全性和功效以及生物标志物评价 (表2)。

[0223] 在一些情况下, 可要求患者在第78天进行现场访视以进行血液采样。血液采样的目的是测量总IgE, 以确定受试者是否需要第二剂量的FB825。在第78天总IgE相对于基线变化小于50%的受试者可以接受第二剂量的FB825 (5mg/kg)。在第78天总IgE相对于基线变化50%的受试者可以在第85天结束研究访视, 然后完成研究。对于接受第二剂量的FB825的患者, 可以与针对第一剂量收集的那些相同地分析和总结针对第二剂量收集的数据。在一些情况下, 患者在第85天通过1小时静脉内输注接受第二剂量的FB825 (5mg/kg)。此类患者在第85天接受FB825之前已住院, 并于第二天出院以进行安全性观察 (至少12小时)。患者在第92、99、113、141和169天返回研究现场, 以进行安全性和功效评价。

[0224] 在计划的访视时测量血清总IgE和抗原特异性IgE, 并进行评价, 以探索静脉内施用5mg/kg FB825后相对于基线的变化。

[0225] 在计划的访视时检查患者的临床疗效评价活动, 包括瘙痒视觉模拟量表 (VAS)、湿疹面积和严重性指数 (EASI)、特应性皮炎指数严重性评分 (SCORAD)、AD和体表面积的研究者全球评估 (IGA) 涉及AD症状的区域 (BSA)。

[0226] PI审查了包括AE和实验室测试在内的安全数据。受试者参与研究的持续时间约为24周。

#### [0227] 研究群体的选择

[0228] 患有特应性皮炎的男性或女性受试者被招募至单个研究现场中。总共招募了约15名受试者, 以达到至少12名可评价的受试者。

#### [0229] 选择标准

##### [0230] (i) 主要纳入标准

[0231] • 20至65岁 (含) 的男性或女性受试者。

[0232] • 该受试者根据由艾森菲尔德修订的汉尼芬和拉杰卡标准定义并在筛选访视时得到了阳性过敏原特异性IgE的支持的3年症状史, 已获得医师确认的慢性特应性皮炎诊断。

[0233] • 筛选和基线访视时湿疹面积和严重性指数 (EASI) 评分  $\geq 14$ 。

[0234] • 筛选和基线访视时研究者总体评估 (IGA) 评分  $\geq 3$  (5分制)。

[0235] • 筛选和基线访视时AD涉及  $\geq 10\%$  体表面积 (BSA)。

[0236] • 对局部皮质类固醇稳定 (1个月) 治疗响应不足的病史或钙调神经磷酸酶抑制剂在筛选访视之前的3个月内作为AD的治疗药物。(局部皮质类固醇方案意指中效至高效,施加持续至少28天或产品处方信息建议的最长持续时间。)

[0237] • 在基线访视之前,患者必须每天两次施加稳定剂量的经提供用于特应性皮炎的润肤剂,持续至少7天。

[0238] • 有生育能力的女性受试者必须使用至少两种形式的节育措施。在整个研究过程中,一种必须是屏障保护 (即避孕套或女性避孕套), 并且另一种是可接受的节育方法 (即隔膜、子宫内避孕器、激素避孕药或禁欲药) 之一。手术不育 (即子宫切除术、双侧输卵管结扎或双侧卵巢切除术) 或绝经后 (定义为连续12个月闭经且记录的卵泡刺激激素水平 $>40\text{mU/mL}$ ) 的受试者将被视为无生育潜力。所有女性受试者在给药前必须进行血清妊娠测试阴性。在研究期间以及最后一次FB825给药后的16周或5个半衰期中,受试者必须使用以上提及的避孕方法。

[0239] • 受试者的体重在筛选时为 $\geq 40\text{kg}$ , 并且体质指数为 $18.0$ 至 $30.0\text{kg/m}^2$  (含)。

[0240] • 受试者具有如由研究者确定的正常的12导联心电图 (ECG), 其正常心脏传导参数为:

[0241] -心率为45至100bpm;

[0242] -经Fricricia校正的QT间隔 (QTcF)  $\leq 450$ 毫秒 (男性) 或 $\leq 470$ 毫秒 (女性)

[0243] -QRS间隔小于120毫秒。

[0244] • 如研究人员确定,基于在筛选时进行的临床实验室测试结果,除特应性疾病外,该受试者是健康的。如果结果超出正常参考范围,则只有在研究者判断异常或偏离正常水平不具有临床显著性时,才可以纳入受试者。该确定必须记录在受试者的原始文件中,并由研究者进行初始化。这不适用于排除标准中列出的实验室异常 (使用微生物学和传染病科标准)。

[0245] • 受试者能够提供书面知情同意书。

[0246] • 受试者同意遵守所有方案要求。

[0247] (ii) 主要排除标准

[0248] • 怀孕或哺乳的女性受试者。

[0249] • 受试者正在节食或摄入不足。

[0250] • 受试者有心律不齐的病史 (任何临床相关的)。

[0251] • 受试者在筛选时对乙型肝炎表面抗原、丙型肝炎病毒抗体或人免疫缺陷病毒抗体具有阳性测试结果。

[0252] • 研究人员认为,该受试者有酗酒或吸毒的病史,这会损害或危及患者完全参与研究。

[0253] • 受试者受司法监督或监管。

[0254] • 受试者具有临床相关的、当前活跃的或潜在的胃肠道心血管疾病、神经系统疾病、精神病、代谢疾病、肾病、肝病、呼吸道病 (无并发症的过敏鼻炎除外)、炎症性疾病、免疫学疾病、内分泌疾病、糖尿病或传染病且没有参加研究者判断的研究的资格。

[0255] • 受试者有任何先前的过敏反应史。

[0256] • 受试者具有任何疾患,研究者认为所述疾患会损害受试者的研究或健康或阻止

受试者满足或执行研究要求。

[0257] • 受试者在给药前的三个月内已接收到任何免疫球蛋白产品或血液产品。

[0258] • 受试者已接收到生物制品：

[0259] -受试者在给药前6个月内或淋巴细胞计数恢复正常之前(以时间较长者为准)接受了任何细胞耗竭剂,不仅限于利妥昔单抗。

[0260] -受试者在给药前5个半衰期(如果已知)或16周(以时间较长者为准)内接受了其他生物制剂。

[0261] • 如微生物学和传染病学部成人毒性表,2007的定义,受试者在筛选时具有一种或多种以下实验室异常[实验室值可以转换为等效的标准单位。允许重新测试可能导致排除的异常实验室值一次(未经发起人事先批准)。重新测试将在筛选期内的非计划访视(基线之前)期间进行]：

[0262] -天冬氨酸转氨酶或丙氨酸转氨酶(>2x正常上限值[ULN])或更高；

[0263] -总胆红素 $\geq 1.5 \times$  ULN

[0264] -血清肌酐 $\geq 1.6 \times$  ULN

[0265] -除IgE水平、嗜酸性粒细胞计数、嗜酸性粒细胞阳离子蛋白(ECP)和以上提及的实验室值外,任何其他高于或等于2级的实验室异常。

[0266] 实验室值可以转换为等效的标准单位。可允许重新测试可能导致排除的异常实验室值一次(未经发起人事先批准)。重新测试可在筛选期内的非计划访视(基线之前)期间进行。

[0267] • 受试者在过去3个月内接受了任何批准的或未批准的(即研究性)免疫疗法治疗。

[0268] • 受试者已使用任何以下类别的药物(处方药或非处方药)：

[0269] -给药前30天内鼻内皮质类固醇(如丙酸氟替卡松)。

[0270] -给药前30天内全身性皮质类固醇(如强的松)。

[0271] -给药前30天内白三烯修饰剂(如孟鲁司特)。

[0272] -给药前30天内的免疫抑制剂(如,金盐、甲氨蝶呤、硫唑嘌呤、环孢霉素)。

[0273] -给药前30天内免疫调节药物(如IFN- $\gamma$ )。

[0274] -给药前过去1年内的抗IgE(如奥马珠单抗)。

[0275] -给药前过去1年内的过敏原免疫疗法。

[0276] -给药前过去30天内经口吸入皮质类固醇(如布地奈德)。

[0277] • 受试者在给药前4周内接受了光疗。

[0278] • 受试者在给药前12周内接受了活疫苗。

[0279] • 根据研究者的判断,受试者具有已知或疑似的免疫抑制史,包括机会感染史(如TB)。

[0280] • 受试者在筛选期之前的5年内有恶性病史。

[0281] • 高寄生虫感染风险。寄生虫病的危险因素(生活在地方性流行地区,慢性胃肠道症状,在过去6个月内旅行到地蠕虫感染为地方性流行的地区,和/或慢性免疫抑制)以及在虫卵和寄生虫粪便评价时有寄生虫定植或感染的证据。粪便虫卵和寄生虫评价仅在在有危险因素且嗜酸性粒细胞计数超过正常受试者上限值两倍的患者中进行。

[0282] 研究治疗

[0283] (i) 研究治疗的剂量和静脉内施用

[0284] 对特应性皮炎的受试者给予两剂的5mg/kg FB825。在第1天和第85天的早晨,受试者通过1小时的静脉内输注接受了FB825。在一些情况下,需要禁食至少2小时。给药给药前1小时内和给药后1小时内不允许进水。可以根据受试者的体重调节FB825的施用量,将适当量的药品用250mL 0.9%氯化钠溶液稀释。借助可编程的体积输注设备,经由静脉内途径在1小时内施用FB825。复溶后,含有0.9%氯化钠的最终稀释产品必须尽快使用,并且必须使用8小时。经复溶的FB825可以在使用前在2°C至25°C的温度下保存最多8小时。

[0285] (ii) 既往、伴随和禁用药物

[0286] • 既往药物和疗法

[0287] 受试者的CRF中记录了他或她在提供知情同意书之前的30天内由受试者服用过的先前药物的相关信息。

[0288] • 预处理/伴随药物和程序

[0289] 从签署ICF时到研究访视结束之间施用的任何治疗(包括营养补充剂)或程序均被视为伴随的并记录在CRF中。这包括在同意时正在进行的许可药物。

[0290] 研究期间的AD基础疗法描述如下:

[0291] -所有患者在给药前至少连续7天每天至少两次施加保湿剂,并在整个研究过程中继续治疗。允许使用所有类型的保湿剂,但是在筛选期间或研究期间,患者不得使用处方保湿剂或含有添加剂的保湿剂开始治疗。

[0292] -如果在筛选访视之前开始,患者可以继续使用稳定剂量的处方保湿剂或含有添加剂的保湿剂。从第1天/基线开始,所有患者均需按照以下指南使用标准化方案开始局部皮质类固醇(TCS)治疗:

[0293] -每天对有活动性病变的区域施加中效的TCS。低效TCS应该用于薄皮肤区域(面部、颈部、三尖瓣和生殖器区域,皮肤萎缩等),或其中认为中效TCS继续治疗不安全的区域。

[0294] -在病变得得到控制(清除或几乎清除)后,从中效TCS转换至中效TCS,并且每天治疗持续7天,然后停止。

[0295] -如果病变复发,则在病变消退后采用上述逐步减低法重新建立用中效TCS进行治疗。

[0296] -对于在中效TCS日常治疗下持续存在或恶化的病变,可以将患者用高效或超高效TCS进行治疗(抢救),除非认为高效TCS不安全。

[0297] -监测患者局部或全身TCS毒性的体征,并根据需要逐步减低或停止治疗。

[0298] -记录研究期间使用的局部用产品的类型和数量。通过每次访视时对管称重来确定所使用的TCS量(有关详细信息,请参阅研究参考手册)。

[0299] -建议患者使用丙酸氟替卡松0.05%乳膏、糠酸莫米他松0.1%乳膏或戊酸倍他米松0.06%乳膏作为中效TCS,并且对于低效TCS使用氢化可的松1%软膏。

[0300] -如果需要通过TCS进行挽救,建议患者使用醋酸氟轻松0.05%乳膏、去羟米松0.25%软膏作为高效TCS,和丙酸氯倍他索0.05%软膏用于超高效TCS。

[0301] -日间请勿在同一区域上同时使用保湿剂和TCS。在未经TCS处理的区域,每天两次(早晨和晚上)施加保湿剂。

- [0302] 治疗前药物/程序:给药前服用的药物或进行的程序。
- [0303] 伴随药物/程序:在通过EOS访视进行静脉内施用研究药物后服用的药物或进行的程序。
- [0304] • 禁止伴随药物:
- [0305] -局部他克莫司和吡美莫司
- [0306] -全身性皮质类固醇,除非受试者正在接受急救药物治疗。
- [0307] -白三烯抑制剂
- [0308] -过敏原免疫疗法
- [0309] -使用免疫抑制/免疫调节物质(包括但不限于环孢霉素、霉酚酸酯、IFN- $\gamma$ 、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤或生物制剂)对AD进行全身治疗
- [0310] -用活(减毒)疫苗治疗
- [0311] -传统中药
- [0312] • 禁止的伴随程序:
- [0313] -手术程序
- [0314] -伴随的紫外线(UV)程序(光疗[NBUBV、UVB、UVA1或PUVA])
- [0315] -研究期间不允许在床上/小室中晒黑
- [0316] -在研究参与期间,每周不允许患者超过2次漂白浴。
- [0317] (iii) 输液相关或过敏反应的处理
- [0318] 研究药物的静脉内施用必须在训练有素的医务人员的监督下并且在处理过敏反应可用的设施中进行。如果受试者经历了输注相关的反应,则必须在支持治疗、进一步监测和适当的药物疗法中对症治疗,必要时可能包括抗组胺药和/或皮质类固醇。可以停止研究输注,并且将跟踪受试者直至研究结束。记录输注量。如果受试者经历典型的过敏反应症状(如呼吸急促、过敏性反应、荨麻疹、血管性水肿),则应立即且永久性停用研究药物静脉内施用。
- [0319] 疑似过敏性反应应根据附录12-2中提供的美国国家过敏和传染病研究所概述的临床诊断标准进行评估。
- [0320] 对于这些和其他情况,可以根据研究人员的判定,受试者可以接受适当的医学治疗。
- [0321] 如果发生过敏反应,可以使用禁用药物或程序治疗不可忍受的AD症状来挽救患者。
- [0322] -如果有医学需要(即为了控制无法忍受的AD症状),则可在第2周后将以小于1mg/kg/天泼尼松龙的剂量和持续不超过3天用全身性皮质类固醇针对AD进行的挽救提供给研究受试者。
- [0323] -在施用任何挽救治疗之前,立即对患者进行功效和安全性评估(如,疾病严重性评分,安全实验室)。
- [0324] 研究程序和评估方法
- [0325] 以下各节描述了研究程序和要收集的数据。尽可能由同一位研究人员或现场人员对受试者进行评估。时间表和评估提供于表2中。基线特征提供于表3中。
- [0326] (i) 终点:



- [0327] • 主要终点:
- [0328] -在第85天和第169天/研究结束(EOS)时,总IgE相对于基线的变化。
- [0329] • 在第85天和第169天/EOS时过敏原特异性IgE相对于基线的变化。
- [0330] • 生物标志物的终点:
- [0331] -第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天的总IgE相对于基线的变化。
- [0332] -在第8、15、29和57、85、92、99、113、141和169天时,过敏原特异性IgE相对于基线的变化。在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天静脉内施用FB825之后,包括胸腺和激活调控趋化因子(TARC)、Eotaxin-3、胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)、骨膜素、IL-1a、IL-4、IL-5、IL-13、IL-16、IL-31和M-CSF在内的生物标志物相对于基线的变化。
- [0333] • 功效终点:
- [0334] -在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天时瘙痒视觉模拟量表(VAS)相对于基线的变化。
- [0335] -在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天时湿疹面积和严重性指数(EASI)相对于基线的变化。
- [0336] -在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天时特应性皮炎指数(SCORAD)的严重程度评分相对于基线的变化。
- [0337] -在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天时特应性皮炎的研究者总体评估(IGA)相对于基线的变化。
- [0338] -在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天参与特应性皮炎的身体表面积(BSA)相对于基线的变化。
- [0339] -在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天静脉内施用FB825之后,包括胸腺和激活调控趋化因子(TARC)、Eotaxin-3、胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)、骨膜素、IL-1a、IL-4、IL-5、IL-13、IL-16、IL-31和M-CSF在内的生物标志物相对于基线的变化。
- [0340] -安全性通过监测和记录不良事件(AE)和严重不良事件(SAE);体检发现和生命体征测量(收缩压和舒张压、心率、呼吸频率和体温)、临床实验室测试结果(血液学、凝血、血清化学[包括肝功能测试、血糖水平]和尿液分析);12导联ECG结果来评估。
- [0341] (ii) 生物标志物评估
- [0342] 根据单独报告中所述的方法,分析用于测量总过敏原特异性IgE、胸腺和激活调控趋化因子(TARC)、Eotaxin-3、胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)、骨膜素、IL-1a、IL-4、IL-5、IL-13、IL-16、IL-31和M-CSF的血样。
- [0343] 收集血样。实际样品采集时间和采样问题(如果有)记录在CRF上。在以下时间点从每个样品抽取约5mL静脉血:
- [0344] • 总免疫球蛋白/过敏原特异性IgE:
- [0345] -筛选期:在任何时间
- [0346] -第1天和第85天:(输注开始前2小时内)
- [0347] -在一天中的任何时间静脉施用FB825后的第8、15、29、57、92、99、113和141和169天。
- [0348] • TARC、Eotaxin-3、TSLP、骨膜素、IL-1a、IL-4、IL-5、IL-13、IL-16、IL-31和M-CSF:

[0349] -在第1天和第85天在输注开始前2个小时内,以及在第8、15、29、57、92、99、113、141和169天的任何时间。

[0350] (iii) 临床功效评估

[0351] • 瘙痒视觉模拟量表 (VAS)。

[0352] 应用SCORAD的瘙痒视觉模拟量表 (VAS) 来测量瘙痒。要求患者按从0至10的量表来分配代表其症状强度的数字评分,其中0表示没有症状,而10表示具有最严重的症状。要求受试者在筛选时、给药前第1天和第85天、出院前第2天和第86天以及第8、15、29、57、92、99、113、141和169天的任何时间进行测量。

[0353] • 特应性皮炎指数的严重性评分 (SCORAD)

[0354] SCORAD (指数) 是在特应性皮炎 (AD) 中经验证的评分系统。为了测量AD的程度,将九分法 (nines) 应用在患者炎性病变的前/后图上。范围可以从0至100分级。SCORAD的强度部分由6项组成:红斑、水肿/丘疹、表皮脱落、苔藓样变、渗出/结皮和干燥。每项可以根据0 (不存在) 至3 (严重) 的量表进行分级。主观项包括每日瘙痒和失眠。SCORAD指数式为:  $A/5 + 7B/2 + C$ 。在该式中,A被定义为程度 (0-100), B被定义为强度 (0-18), 并且C被定义为主观症状 (0-20)。SCORAD指数的最大评分是103。要求受试者在筛选时、给药前第1天和第85天、出院前第2天和第86天以及第8、15、29、57、92、99、113、141和169天的任何时间进行测量。

[0355] • 湿疹面积和严重性指数 (EASI)

[0356] EASI评分系统使用定义的过程对湿疹体征的严重性和受影响程度进行分级。在四个身体区域评价了湿疹体征的程度和严重性,并且总评分是通过乘数调整的四个区域评分之和。EASI评分的范围为0-72。要求受试者在筛选时,给药前第1天和第85天,出院前第2天和第86天以及第8、15、29、57、92、99、113、141和169天的任何时间进行测量。

[0357] • AD的研究者总体评估 (IGA)

[0358] IGA允许研究人员在一个给定的时间点评估总体疾病严重性,并且它由从清除到非常严重的疾病的5点严重性量表组成 (0=清除,1=几乎清除,2=轻度疾病,3=中度疾病,和4=严重疾病)。要求受试者在筛选时,给药前第1天和第85天,出院前第2天和第86天以及第8、15、29、57、92、99、113、141和169天的任何时间进行测量。

[0359] • 涉及AD症状的BSA

[0360] 将其作为SCORAD的A部分 (范围) 进行测量。要求受试者在筛选时,给药前第1天和第85天,出院前第2天和第86天以及第8、15、29、57、92、99、113、141和169天的任何时间进行测量。

[0361] (iv) 安全性评估

[0362] 安全性通过监测和记录不良事件 (AE) 和严重不良事件 (SAE)、体检发现和生命体征测量 (收缩压和舒张压、心率、呼吸频率和口腔体温)、临床实验室测试结果 (血液学、凝血、血清化学 [包括肝功能测试] 和尿液分析) 和12导联ECG结果来评估。表4中提供了在整个15-168天治疗期中发生不良事件-SAF的患者总数。

[0363] • 不良事件

[0364] 不良事件部分 (第7部分) 描述了在研究期间收集不良事件 (SAE)、严重不良事件 (SAE) 和特别感兴趣的不良事件。

[0365] • 体检

[0366] 在事件时间表中指定的时间点进行了全面体检。

[0367] 全面体检包括对皮肤(包括皮肤红斑的任何体征)、头部、耳朵、眼睛、鼻子、喉咙、颈部、甲状腺、肺、心脏、心血管系统、腹部、淋巴结和肌肉骨骼系统/四肢的评估。必要时,由研究者酌情进行中期体检,以评价AE或临床实验室异常。测量身高和体重,并仅在筛选时计算体质指数。如研究事件时间表中所示,还在所有其他体检时间点测量体重。在室内着装(不穿外套和鞋子)中,体重以千克(kg)记录到小数点后一位,并在不带小数位的情况下,以厘米(cm)为单位测量身高(不穿鞋子)。

[0368] • 生命体征测量

[0369] 生命体征测量包括收缩压和舒张压、心率、呼吸率和体温。在进行所有测量之前,受试者要静坐至少5分钟。在事件时间表中指示的时间点测量生命体征。

[0370] 当程序重叠并且在同一时间点发生时,程序的顺序应该是生命体征测量,然后是ECG。

[0371] 研究者可以确定任何生命体征测量值是临床上显著的或不是临床上显著的。临床上显著被定义为具有医学相关性并且可导致医学护理(如,积极观察、诊断措施或治疗措施)改变的结果的任何变化。如果注意到相对于筛选值的临床上显著的变化,则在受试者的CRF的AE页上记录临床上显著值和临床上显著的原因。研究者可以继续用额外的评估来监测受试者,直到该值达到参考范围或筛选时的值,或者直到研究者确定不再必需医学随访为止。

[0372] • 临床实验室测试

[0373] 临床实验室测试是在当地站点进行的。在禁食(禁食约2个小时或更多小时)情况下在事件时间表中指示的时间点收集血液和尿液。

[0374] 进行了以下血液学、凝血、血清化学(包括肝功能和甲状腺功能测试)、尿液分析评估:

[0375] -血液学:血细胞比容(Hct)、血红蛋白(Hb)、平均血球血红蛋白(MCH)、-平均血球血红蛋白浓度(MCHC)、平均血球体积(MCV)、血小板计数、红细胞(RBC)计数及WBC和分类计数(绝对值和百分比)。

[0376] -凝结:国际标准化比率(INR)、部分促凝血酶原激酶时间(PTT)和-凝血酶原时间(PT)。

[0377] -血清化学:ALT、白蛋白、碱性磷酸酶、淀粉酶、阴离子间隙、AST、碳酸氢盐、胆红素(总的和直接的)、血尿素氮(BUN)、钙、二氧化碳、氯化物、胆固醇(总的、高密度脂蛋白和计算出的低密度脂蛋白)、肌酸磷酸激酶、肌酐、 $\gamma$ -谷氨酰转移酶( $\gamma$ -GT)、球蛋白、葡萄糖、乳酸脱氢酶(LDH)、脂肪酶、镁、磷、钾、钠、总蛋白、甘油三酯、肌钙蛋白I或T、以及尿酸。

[0378] -甲状腺功能:游离T4和促甲状腺激素

[0379] -尿液分析:外观、胆红素、颜色、葡萄糖、酮类、白血球酯酶、显微术(如果试纸为阳性,则进行;包括细菌、管型、晶体、上皮细胞、红细胞和白细胞)、亚硝酸盐、潜血、pH、蛋白质、比重、浊度和尿胆素原

[0380] 在筛选时,将对所有有生育潜力的女性受试者进行血清妊娠测试( $\beta$ -人绒毛膜促性腺激素),并在给药前确认结果。在第8、15、29、57、85、92、99、113、141和169天进行尿液妊娠测试。对于绝经后的女性受试者,在筛选时进行血清卵泡刺激激素测试。

[0381] 筛选时将评估乙型肝炎表面抗原、丙型肝炎病毒抗体和人免疫缺陷病毒抗体。

[0382] 根据每个实验室参数的参考范围,将异常的临床实验室值标记为高或低(或正常或异常)。研究者可以确定任何异常高或低的结果是临床上显著的或不是临床上显著的。临床上显著被定义为具有医学相关性并且可导致医学护理(如,积极观察、诊断措施或治疗措施)改变的结果的任何变化。如果注意到相对于筛选值的临床上显著的变化,则可在CRF的AE页上记录临床上显著值和临床上显著的原因。研究者可以继续用额外的评估来监测受试者,直到该值达到参考范围或筛选时的值,或者直到研究者确定不再必需医学随访为止。

[0383] 列出了个体受试者的临床上显著的实验室值。呈现了在任何时间具有临床上显著的实验室值的受试者的数量和百分比的概述。

[0384] • 心电图

[0385] 在事件时间表中指示的时间点,使患者仰卧至少5分钟后,获得单个12导联心电图。心电图评估包括对迹线是正常还是异常、节律、存在心律不齐或传导缺陷、形态、任何心肌梗死证据或者ST段、T波和U波异常的评论。此外,还将测量并报告以下间隔的测量值:RR间隔、PR间隔、QRS宽度、QT间隔和QTcF。

[0386] 不良事件

[0387] 表4中提供了在整个15-168天治疗期中发生不良事件-SAF的患者总数。

[0388] (i) 定义

[0389] • 不良事件(AE)

[0390] AE被定义为与人体内使用药物相关的任何不良医学发生,无论考虑是否与药物相关。如果出现任何症状,将指示受试者在研究期间的任何时间与研究者联系。

[0391] TEAE被定义为:暴露于研究药物之前不存在的任何事件,或者在暴露后强度或频率恶化的任何已经存在的事件。

[0392] 不良反应是由药物引起的任何AE。不良反应是所有疑似不良反应的一个子集,因此有理由推断该药物引起了该事件。

[0393] 疑似不良反应是存在由研究药物引起AE的合理可能性的任何AE。出于研究性新药安全性报告的目的,“合理可能性”意指有证据表明研究药物与AE之间存在因果关系。疑似不良反应意味着对因果关系的确定性要比不良反应低,这意味着由研究药物引起的任何AE。

[0394] 如果未列于IB中或未在用测试研究药物观察到的特异性或严重性处,则将AE或疑似不良反应视为“意外”;或者,如果不需要或不提供IB,则与一般研究计划或当前申请中其他地方所述的风险信息不一致。例如,根据该定义,如果IB仅指肝酶升高或肝炎,则肝坏死是不可预料的(由于严重性更高)。类似地,如果IB仅列出脑血管意外,则脑血栓栓塞和脑血管炎将是意料之外的(由于更高的特异性)。如在该定义中使用的“意外”也是指在IB中提到的与一类药物一起发生或从该药物的药理学性质预期的AE或疑似不良反应,但并未具体提及与正在研究的特定药物一起发生。

[0395] • 严重不良事件(SAE)

[0396] 如果研究者或发起人认为,AE或疑似不良反应导致以下任何结果,则它被认为是SAE:

[0397] -死亡

[0398] -威胁生命的AE

[0399] -住院病人住院或延长现有住院时间

[0400] -进行正常生活功能的能力的永久或严重失能或严重破坏

[0401] -先天性异常或出生缺陷

[0402] 当根据适当的医学判断,可能不会导致死亡、危及生命或需要住院的重要医学事件可能会危及受试者并可能需要进行医学或手术干预以预防本定义中所列结果之一时,它们可能被认为是严重的。此类医学事件的实例包括需要在急诊室或家中进行深入治疗的过敏性支气管痉挛,不导致住院病人住院的血质不调或抽搐,或者发展出药物依赖性药物滥用。

[0403] 如果研究者或发起人认为,AE或疑似不良反应的发生使受试者立即面临死亡的风险,则其被视为“危及生命”。它不包括如果以更严重的形式发生则可能导致死亡的AE或疑似不良反应。

[0404] • 特别关注的不良事件

[0405] 特别关注的不良事件包括以下事件:

[0406] -任何受试者都经历了过敏性反应的治疗突发AE (TEAE)

[0407] -任何受试者都经历了SAE (7.1.2部分)

[0408] -任何受试者都经历至少30分钟的持续QT延长 (>500毫秒或相对于基线变化 $\geq 60$ 毫秒)或缺血变化(在重复ECG时),或持续症状性心律不齐

[0409] -过敏症,包括过敏性反应、甲状腺异常、皮肤红斑、血小板减少、贫血、溶血、中性粒细胞减少、肝毒性和肾毒性。

[0410] -在任何单个受试者中都会遇到以下实验室参数:

[0411] ✓ ALT或AST $\geq 5 \times \text{ULN}$

[0412] ✓ 胆红素 $\geq 2 \times \text{ULN}$

[0413] ✓ 血小板计数等级 $1 \leq 99.999 \times 10^9/\text{L}$

[0414] ✓ 血红蛋白 $\leq 105 \text{g/L}$

[0415] ✓ 绝对中性粒细胞计数等级 $1 \leq 1.5 \times 10^9/\text{L}$

[0416] ✓ 血尿素氮或肌酐升高至 $> 2 \times \text{ULN}$

[0417] (ii) 诱发不良事件

[0418] 研究人员负责确保所有AE和SAE都记录在CRF中并报告给Fountain。从筛选期时间直至所有研究程序完成并退出研究,评估不良事件。

[0419] 在每次研究访视或评估中,均会向受试者询问一个标准问题,以诱发其健康方面的任何医学相关变化。还询问了他们是否已住院,是否发生过事故,是否使用过任何新药或是否改变过伴随用药方案(处方药和非处方药)。

[0420] 除受试者观察外,还从CRF的AE页中收集的任何数据(如,实验室值、体检发现和ECG改变)或与受试者安全性相关的其他文件中记录了AE。

[0421] 严重性评估使用不良事件通用术语标准 (CTCAE) 确定的AE的严重性(或强度)用于输注反应严重性分级。

[0422] -1级轻度:短暂或轻度不适(<48小时);无需医学干预/疗法。

[0423] -2级中度:活动受到轻度至中度限制-可能需要一些帮助;不需要或需要最少的医

学干预/疗法。

[0424] -3级重度:活动明显受限,通常需要一些帮助;需要医学干预/治疗,可能住院。

[0425] -4级危及生命:活动极端受限,需要大量帮助;需要大量的医学干预/疗法,可能的住院或临终关怀。

[0426] 应当记录AE严重性的变化,以便可以在每个强度水平上进行事件的持续时间的评估。特征为间歇性的AE需要记录每次发作的发生和持续时间。

[0427] • 7.3.2因果关系评估

[0428] 研究人员对AE与研究药物的关系进行的评估是记录过程的一部分,但不是确定研究报告或未报告什么的因素。

[0429] 研究者评估了所有AE和SAE的因果关系(即,是否存在研究药物引起了该事件的合理可能性)。该关系使用以下分类来表征:

[0430] -无关:这种关系表明研究药物与报告的事件之间没有关联。

[0431] -可能:这种关系是基于表明研究药物与AE之间有因果关系的证据,即存在该药物引起事件的合理可能性。该事件遵循从药物静脉内施用开始的合理时间顺序,或遵循对研究药物的已知响应模式,但也可能是由其他因素引起的。

[0432] -很可能:这种关系表明存在与药物静脉内施用有关的事件的合理时间顺序,并且基于该药物的已知药理作用、已知或先前报告的对该药物或该类药物的不良反应或者根据研究者的临床经验进行判断,事件与研究药物的关联似乎很可能。

[0433] -明确:这种关系表明,在药物静脉内施用和AE之间存在明确的因果关系,并且其他情况(并发疾病,疾病状态的进展/表达或并发药物反应)似乎不能解释该事件。

[0434] 统计分析

[0435] (i) 总体统计

[0436] 在统计分析计划中描述了所有统计分析的细节。收集的所有数据都显示在数据列表中。从分析群体中排除的受试者的数据显示在数据列表中,但不包括在汇总统计数据的计算中。

[0437] 对于分类变量,给出了频率和百分比。使用描述性统计数据(受试者数、平均值、中位数、SD、最小值和最大值)对连续变量进行概述。

[0438] 基线人口统计学和背景变量对于所有受试者按剂量和总体进行概述。呈现了参与研究的受试者的数目以及完成研究的受试者数和百分比。还概述了退出或中止研究的受试者的频率和百分比,以及退出或中止的原因。该研究的分析通过每个时期和每个组的描述性统计数据进行了证明。没有应用显著性检验。

[0439] 编写了统计分析计划(SAP)来详细处理统计分析工作。在最后一位患者完成研究后,对所有数据进行核对(即“清除”)后,可能会发生临床数据库锁定。

[0440] (ii) 样本量计算

[0441] 该研究计划共计约12名可评价的受试者。这项研究的样本量基于临床和实践考虑,而不是基于正式的统计功效计算。

[0442] (iii) 分析集

[0443] 完整分析集(FAS)被定义为接受至少1剂研究药物的受试者。所有功效评价将在FAS群体中进行。

[0444] 安全群体被定义为接受至少1剂研究药物的受试者。所有安全评价将在安全群体中进行。

[0445] (iv) 统计分析

[0446] • 生物标志物分析

[0447] 作为终点列出的总的和过敏原特异性IgE和生物标志物的浓度和相对于基线的变化通过访视进行汇总并以图形方式显示。通过基线总IgE浓度(血清IgE>1500IU/mL或血清IgE≤1500IU/mL)和给予的FB825剂量(1个剂量或2个剂量)来概述总的和过敏原特异性IgE相对于基线的变化。

[0448] 在接受第二剂量FB825的受试者中,与第一剂量收集的数据相同的方式对第二剂量收集的数据进行分析和概述。

[0449] • 临床功效分析

[0450] 在每名受试者的每次访视期间,通过PI或联合PI评估评价指数。使用描述性统计量(EASI、SCORAD、IGA、VAS和BSA的平均值;SD、CV、受试者数)通过访视时间点和给予的FB825剂量(1个剂量或2个剂量)来分析临床终点。

[0451] 平均指数相对于预定访问时间的变化以图形方式呈现,

[0452] 在接受第二剂量的FB825的受试者中,与第一剂量收集的数据相同的方式对第二剂量收集的数据进行分析并概述。

[0453] • 安全性分析

[0454] 不良事件使用最新版本的《监管活动医学词典》按优选术语和系统器官分类进行编码,并按治疗、剂量水平和总体进行汇总。还通过严重性、与研究药物的关系、导致研究药物终止的SAE和AE汇总不良事件。

[0455] 使用描述性统计数据(受试者数、平均值、SD、中位数、最小值和最大值),通过每个时间点的治疗和剂量汇总了临床实验室测试结果、生命体征测量和12导联ECG结果的实际值和相对于基线的变化)。产生移动表以用于临床实验室测试结果。数据列表中呈现了临床实验室数据、生命体征测量、12导联ECG结果和体检发现。

[0456] (v) 丢失数据的处理

[0457] 对于描述性统计数据,将低于定量限(BLQ)的浓度视为零。平均BLQ浓度将以BLQ表示,并且SD和CV被报告为不适用。丢失的浓度将从计算中排除。

[0458] 最后观察结转(LOCF)用于处理丢失的数据。没有归因于安全性数据。

[0459] (vi) 数据质量保证

[0460] 监测研究的所有方面,以确保其符合当前国际协调会议(ICH)协调的三方指南E6(R1)的适用政府法规:良好的临床实践和当前的标准操作程序。可能需要对数据进行内部质量审核审核,并由临床监护人员进行其他审核。

[0461] 表2. 事件时间表和评估

[0462]

程序	筛选	第 1 剂量 FB825							第 2 剂量 FB825					
研究日	-28 至-1	第 1 <sup>a</sup> 天	第 2 天	第 8 天 (±1)	第 15 天 (±1)	第 29 天 (±2)	第 57 天 (±2)	第 85 <sup>a</sup> 天 (±3)	第 86 天	第 92 天 (±1)	第 99 天 (±1)	第 113 天 (±2)	第 141 天 (±2)	第 169/ EOS <sup>b</sup> 天 (+3)
知情同意书	X													
纳入/排除标准	X	X												
病史	X													
体检	X	X		X	X	X	X	X		X	X	X	X	X
生命迹象测量 <sup>c,d</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
12 导联心电图	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X		X
AD 症状评价 <sup>f</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
血清学 <sup>g</sup>	X													
临床实验室测试 <sup>h</sup>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
甲状腺功能测试	X	X			X	X		X			X	X		X
尿液药物和血醇测试	X	xm						X						X
妊娠测试(女性受试者) <sup>i</sup>	X	X		X	X	X	X	X		X	X	X	X	X
血清 FSH <sup>j</sup>	X													
临床收治入院		X						X						
研究药物静脉内施用		X						X						
总免疫球蛋白/过敏原特异性 IgE <sup>k</sup>	X	X		X	X	X	X	X		X	X	X	X	X
生物标志物评估 <sup>l</sup>		X		X	X	X	X	X		X	X	X	X	X
不良事件评估	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
既往/伴随药物	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
出院			X						X					

[0463] 表3.基线特征



	评分 范围	FB825 5 mg/Kg q12w + TCS (n = 12)	
		中位数(IQR) / n (%)	平均
年龄, 岁, 中位数(IQR)	--	31.5(25, 34.5)	30.8
男性, n (%)	--	6(50)	
EASI, 中位数(IQR)	0-72	27.4(17.9, 31)	25.8
SCORAD, 中位数(IQR)	0-103	60.5(48.4, 64.8)	57.9
IGA = 4 的患者, n (%)	0-4	8(67)	3.7
SCORAD VAS 瘙痒域, 中位数(IQR)	0-10	4.95(3.95, 6.1)	5.0
SCORAD VAS 睡眠域, 中位数(IQR)	0-10	4.5(1.0, 5.9)	3.9
BSA%, 中位数(IQR)	0-100	42.5(27.5, 55.8)	43.8
IgE, 中位数(IQR)	--	2828.9(1534.95, 4029.4)	3379.7

[0465] 表4. 在15-168天的治疗期-SAF内发生不良事件的患者数的总体概述

	FB825 5 mg/Kg q12w + TCS (n = 12)	
	患有以下的患者, n (%):	
任何 TEAE	6(50)	
任何药物相关的 TEAE(可能的)	3(25)	
导致研究药物的永久停止的任何 TEAE	0	
结膜炎	1(8)	
疱疹病毒感染	2(20)	
上呼吸道感染	5(42)	
鼻漏	1(8)	
哮喘发作	1(8)	
发烧	1(8)	
咳嗽	1(8)	
延长的 QTC	1(8)	
任何死亡	0	
任何 TE SAE	0	
任何药物相关的 TE SAE	0	
导致研究药物的永久停止的任何 TE SAE	0	
任何重度 TEAE	0	

[0467] 结果

[0468] 这是一项开放标签的探索性研究,以评价FB825在特应性皮炎(AD)成人中的安全性和功效。在第1天和第85天,通过1小时的静脉内输注,12名合格的患有AD的人类患者被招募在研究中,并接受了5mg/kg FB825。根据表2中呈现的事件时间表,安排患者返回研究地点,以进行安全性和功效评价。

[0469] FB825安全地施用于患有AD的人类受试者

[0470] 在第1天和第85天,经1小时以5mg/kg经由静脉内输注向患者施用FB825。没有死亡,并且没有因治疗突发不良事件(TEAE)或治疗突发严重不良事件(TE SAE)而中断受试者。六名受试者发生了TEAE,其中三名可能与药物有关。五名受试者发生上呼吸道感染,并且两名受试者感染了疱疹病毒感染。据报道,只有一名受试者发生以下之一:结膜炎、鼻漏、哮喘发作、发烧、咳嗽或延长QTC。(表4)

[0471] 临床实验室测试结果、生命体征测量、12导联ECG结果或体检发现无明显的治疗或剂量相关趋势。

[0472] 功效

[0473] 通过在给药前第1天和第85天,出院前第2天和第86天以及在第8、15、29、57、92、99、113、141和169天的任何时间记录湿疹面积和严重性指数(EASI)、研究者总体评估(IGA)、特应性皮炎指数严重性评分(SCORAD)和瘙痒视觉模拟量表(VAS)相对于基线的变化来确定FB825的功效。基线人口统计学和背景变量将对于所有受试者按剂量和总体来汇总于表3中。

[0474] (i) 与基线相比,FB825使EASI降低

[0475] 在FB825施用后第1天至约第55天,受试者显示出EASI逐渐降低(降低约65%)。EASI评分在第55天后开始上升,直到第85天进行第二次FB825施用,但与基线相比仍降低了约40%。在第113天,受试者显示出进一步的EASI降低至约70%降低,并保持该水平直至研究结束(EOS)。(图5)。

[0476] (ii) 与基线相比,FB825使IGA降低

[0477] 在FB825施用后第1天至第55天,受试者显示出IGA逐渐降低(降低约30%)。IGA评分在第55天后开始上升,直到第85天进行第二次FB825施用,但与基线相比仍降低了约15%。在第113天,受试者显示出进一步IGA降低至大约45%降低(在最低时),并且直到研究结束(EOS)为止,与基线相比均保持35%的降低水平。(图6)。

[0478] (iii) 与基线相比,FB825使SCORAD降低

[0479] 在FB825施用后第1天至约第55天,受试者显示出SCORAD逐渐降低(降低约45%)。SCORAD评分在第55天后开始上升,直到第85天进行第二次FB825施用,但与基线相比仍降低了约30%。在第113天,受试者显示出进一步的SCORAD降低至约55%降低,并保持该水平直至研究结束(EOS)。(图7)。

[0480] (iv) 与基线相比,FB825使VAS降低

[0481] 在FB825施用后第1天至约第15天,受试者显示出VAS逐渐降低(降低约45%)。VAS评分在第15天后开始上升,并且直到第85天进行第二次FB825施用,与基线相比维持约25%降低。在第113天,受试者显示出进一步的VAS降低至约55%降低,并保持该水平直至研究结束(EOS)。(图8)。

[0482] 其他实施方案

[0483] 本说明书中公开的所有特征可以任何组合方式组合。本说明书中公开的每个特征可以由用于相同、等同或相似目的的替代特征代替。因此,除非另有明确说明,否则所公开的每个特征仅是一系列等同或相似特征的实例。

[0484] 根据以上描述,本领域技术人员可以容易地确定本发明的基本特征,并且在不脱

离其精神和范围的情况下,可以对本发明进行各种改变和修改以使其适应各种用途和条件。因此,其他实施方案也在权利要求之内。

[0001]	序列表			
[0002]	<110> 泉盛生物科技股份有限公司( Fountain Biopharma Inc.)			
[0003]	<120> 治疗IgE介导的过敏性疾病			
[0004]	<130> F0720.70004W000			
[0005]	<140> 尚未分配			
[0006]	<141> 与此同时			
[0007]	<150> US 62/579,416			
[0008]	<151> 2017-10-31			
[0009]	<160> 7			
[0010]	<170> PatentIn版本3.5			
[0011]	<210> 1			
[0012]	<211> 17			
[0013]	<212> PRT			
[0014]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
[0015]	<220>			
[0016]	<223> 合成的多肽			
[0017]	<400> 1			
[0018]	Gly Leu Ala Gly Gly Ser Ala Gln Ser Gln Arg Ala Pro Asp Arg Val			
[0019]	1	5	10	15
[0020]	Leu			
[0021]	<210> 2			
[0022]	<211> 117			
[0023]	<212> PRT			
[0024]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
[0025]	<220>			
[0026]	<223> 合成的多肽			
[0027]	<400> 2			
[0028]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu			
[0029]	1	5	10	15
[0030]	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp			
[0031]	20	25	30	
[0032]	Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp			
[0033]	35	40	45	
[0034]	Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu			
[0035]	50	55	60	
[0036]	Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser			
[0037]	65	70	75	80
[0038]	Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			

[0039]	85	90	95
[0040]	Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
[0041]	100	105	110
[0042]	Val Thr Val Ser Ser		
[0043]	115		
[0044]	<210> 3		
[0045]	<211> 113		
[0046]	<212> PRT		
[0047]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
[0048]	<220>		
[0049]	<223> 合成的多肽		
[0050]	<400> 3		
[0051]	Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly		
[0052]	1 5 10 15		
[0053]	Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser		
[0054]	20 25 30		
[0055]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
[0056]	35 40 45		
[0057]	Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
[0058]	50 55 60		
[0059]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Lys Ile		
[0060]	65 70 75 80		
[0061]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly		
[0062]	85 90 95		
[0063]	Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[0064]	100 105 110		
[0065]	Arg		
[0066]	<210> 4		
[0067]	<211> 117		
[0068]	<212> PRT		
[0069]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
[0070]	<220>		
[0071]	<223> 合成的多肽		
[0072]	<400> 4		
[0073]	Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln		
[0074]	1 5 10 15		
[0075]	Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp		
[0076]	20 25 30		
[0077]	Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp		

[0078]	35	40	45
[0079]	Met Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu		
[0080]	50	55	60
[0081]	Lys Ser Arg Ile Ser Val Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe		
[0082]	65	70	75
[0083]	Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys		
[0084]	85	90	95
[0085]	Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly His Gly Thr Thr		
[0086]	100	105	110
[0087]	Val Thr Val Ser Ala		
[0088]	115		
[0089]	<210> 5		
[0090]	<211> 113		
[0091]	<212> PRT		
[0092]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
[0093]	<220>		
[0094]	<223> 合成的多肽		
[0095]	<400> 5		
[0096]	Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly		
[0097]	1	5	10
[0098]	Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser		
[0099]	20	25	30
[0100]	Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser		
[0101]	35	40	45
[0102]	Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
[0103]	50	55	60
[0104]	Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Phe Lys Ile		
[0105]	65	70	75
[0106]	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly		
[0107]	85	90	95
[0108]	Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[0109]	100	105	110
[0110]	Arg		
[0111]	<210> 6		
[0112]	<211> 52		
[0113]	<212> PRT		
[0114]	<213> 智人 (Homo sapiens)		
[0115]	<400> 6		
[0116]	Gly Leu Ala Gly Gly Ser Ala Gln Ser Gln Arg Ala Pro Asp Arg Val		

---

[0117]	1	5	10	15
[0118]	Leu Cys His Ser Gly Gln Gln Gln Gly Leu Pro Arg Ala Ala Gly Gly			
[0119]	20	25	30	
[0120]	Ser Val Pro His Pro Arg Cys His Cys Gly Ala Gly Arg Ala Asp Trp			
[0121]	35	40	45	
[0122]	Pro Gly Pro Pro			
[0123]	50			
[0124]	<210> 7			
[0125]	<211> 12			
[0126]	<212> PRT			
[0127]	<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
[0128]	<220>			
[0129]	<223> 合成的多肽			
[0130]	<400> 7			
[0131]	Gly Leu Ala Gly Gly Ser Ala Gln Ser Gln Arg Ala			
[0132]	1	5	10	

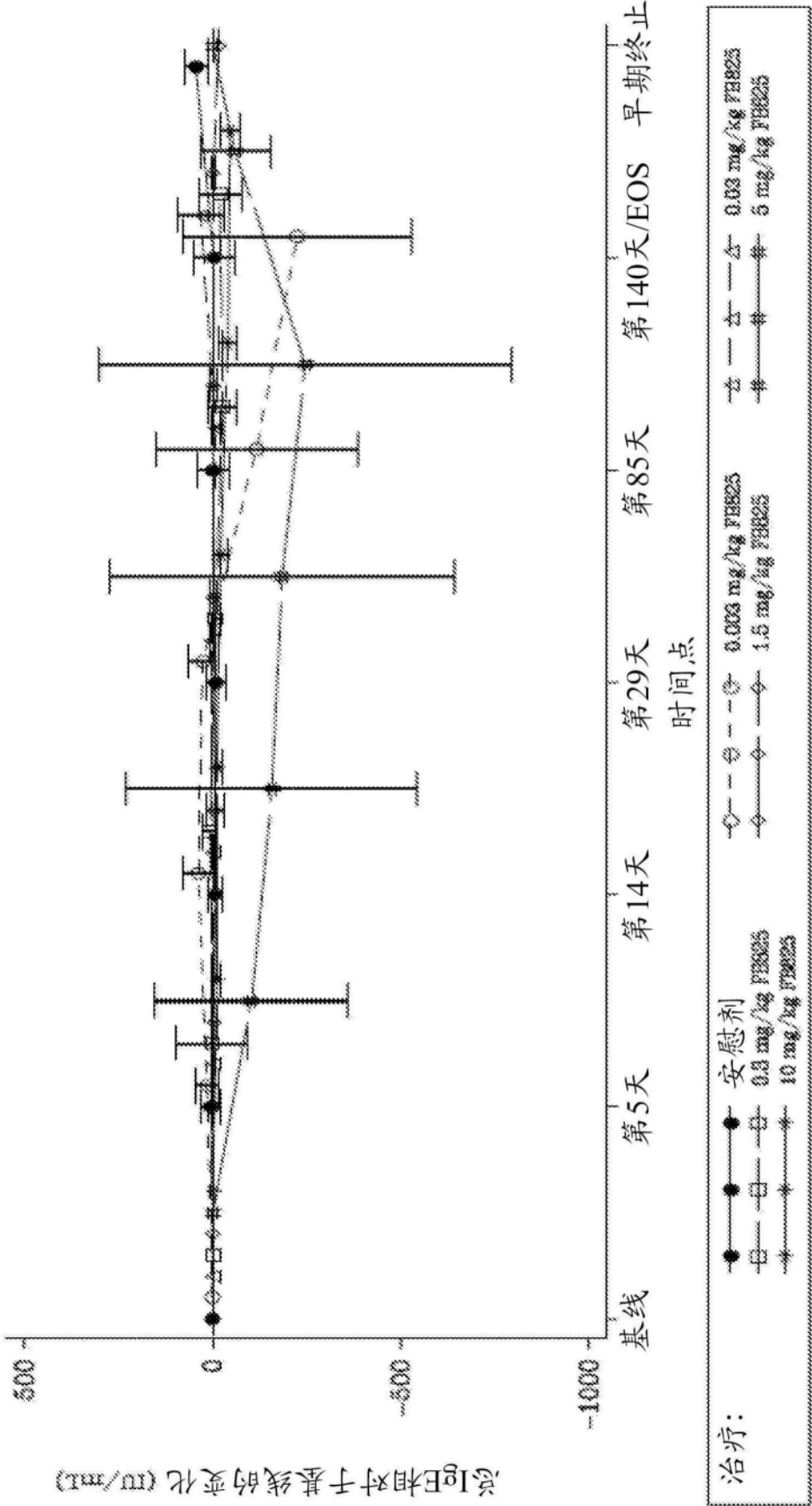


图1



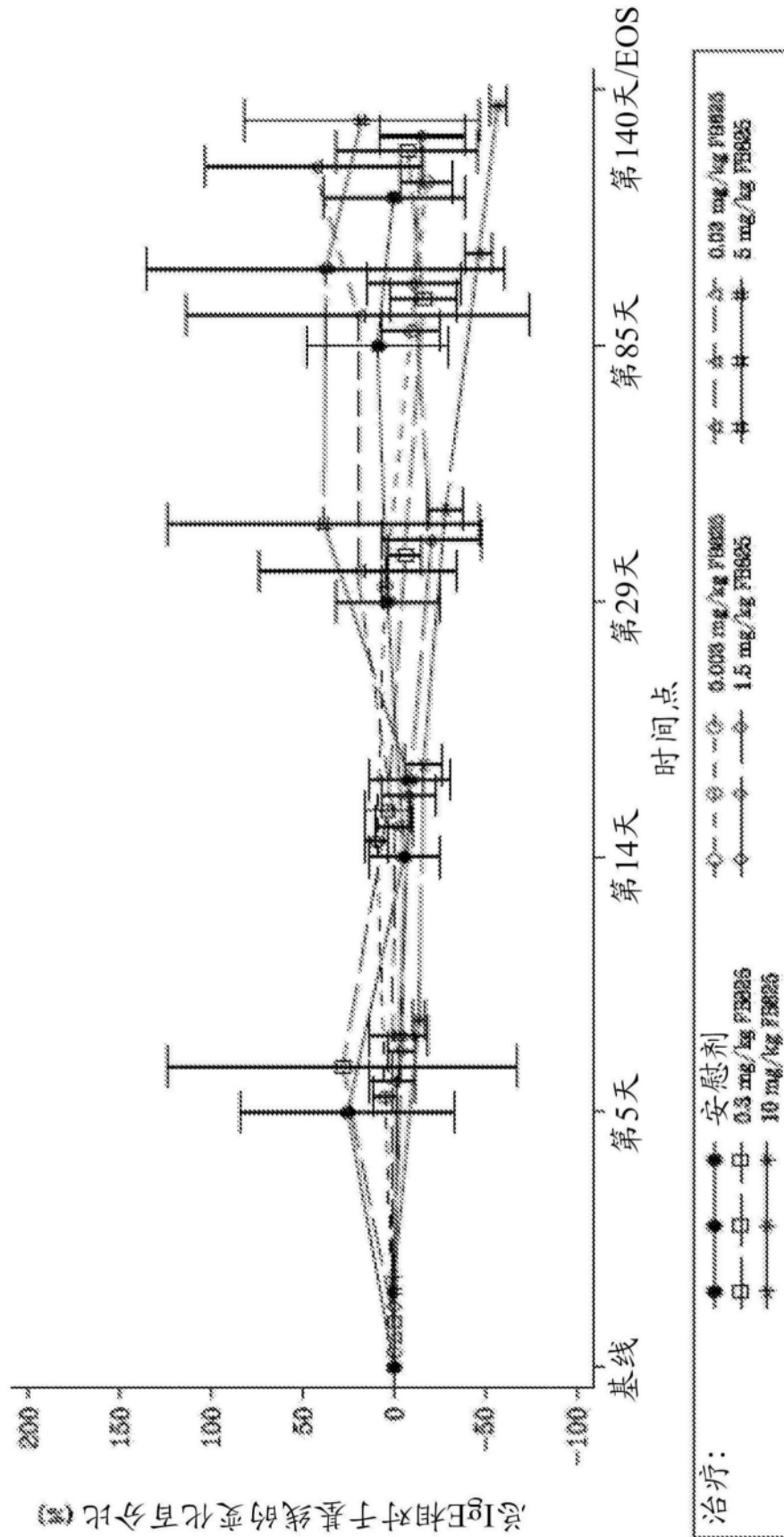


图2

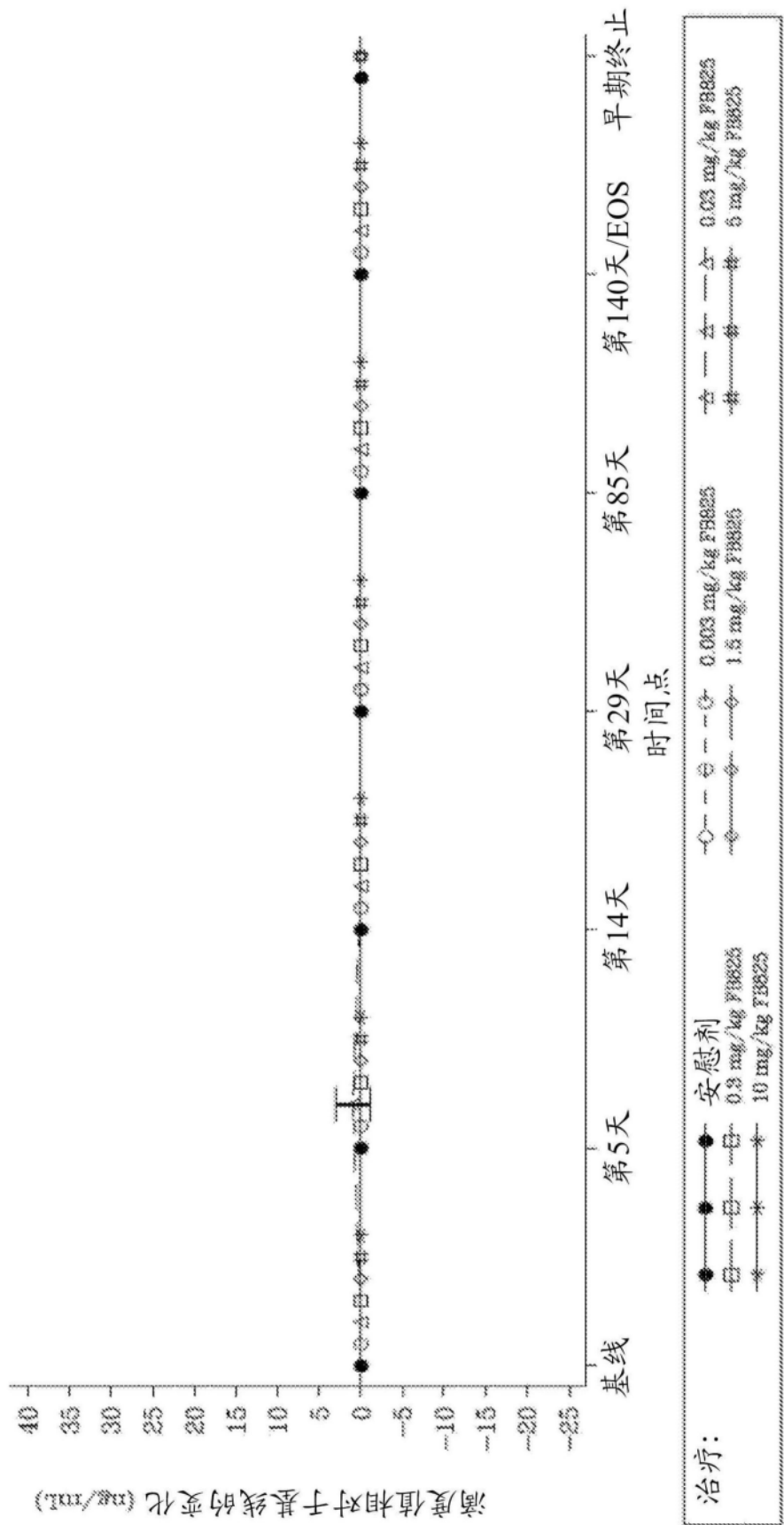


图3



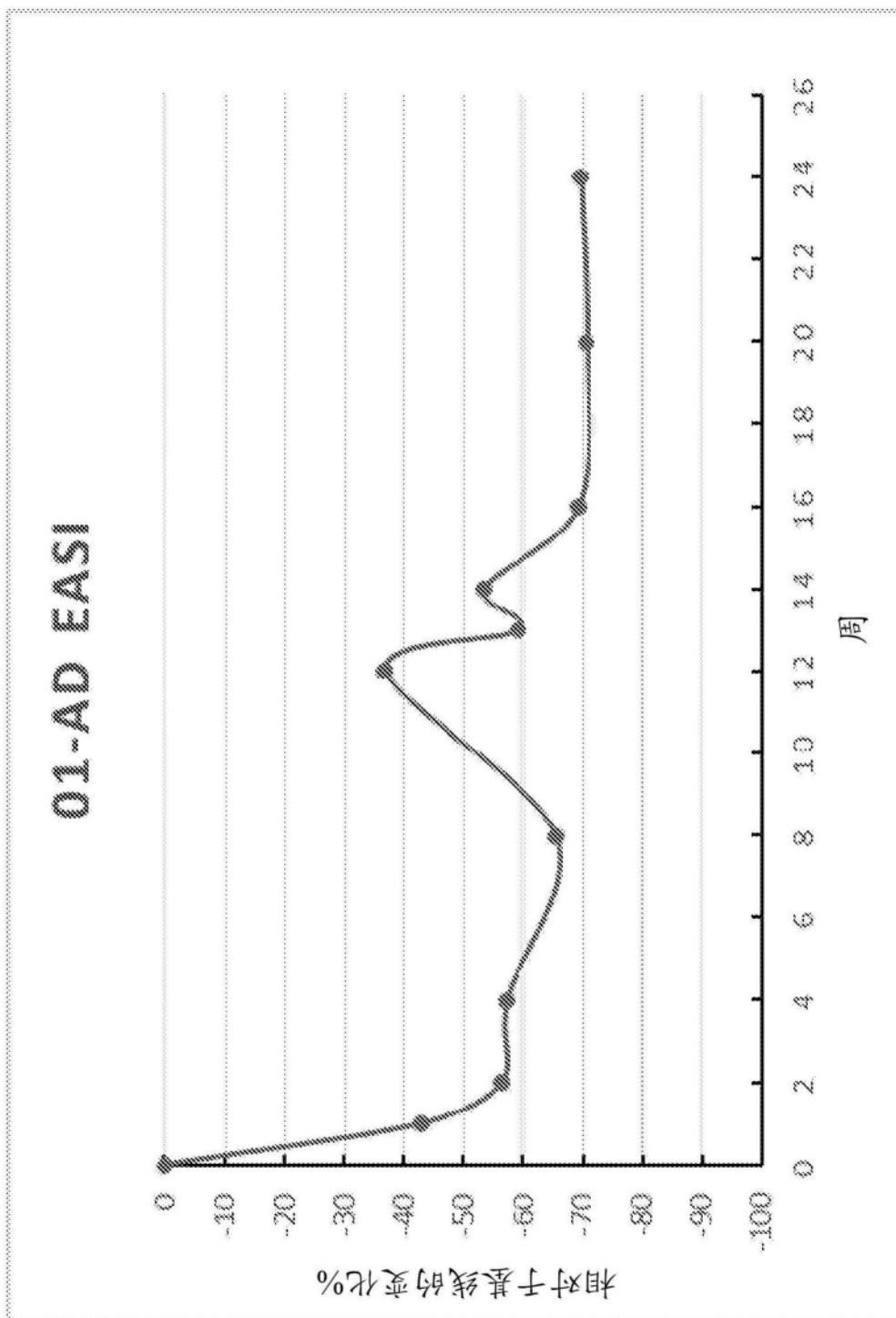


图5

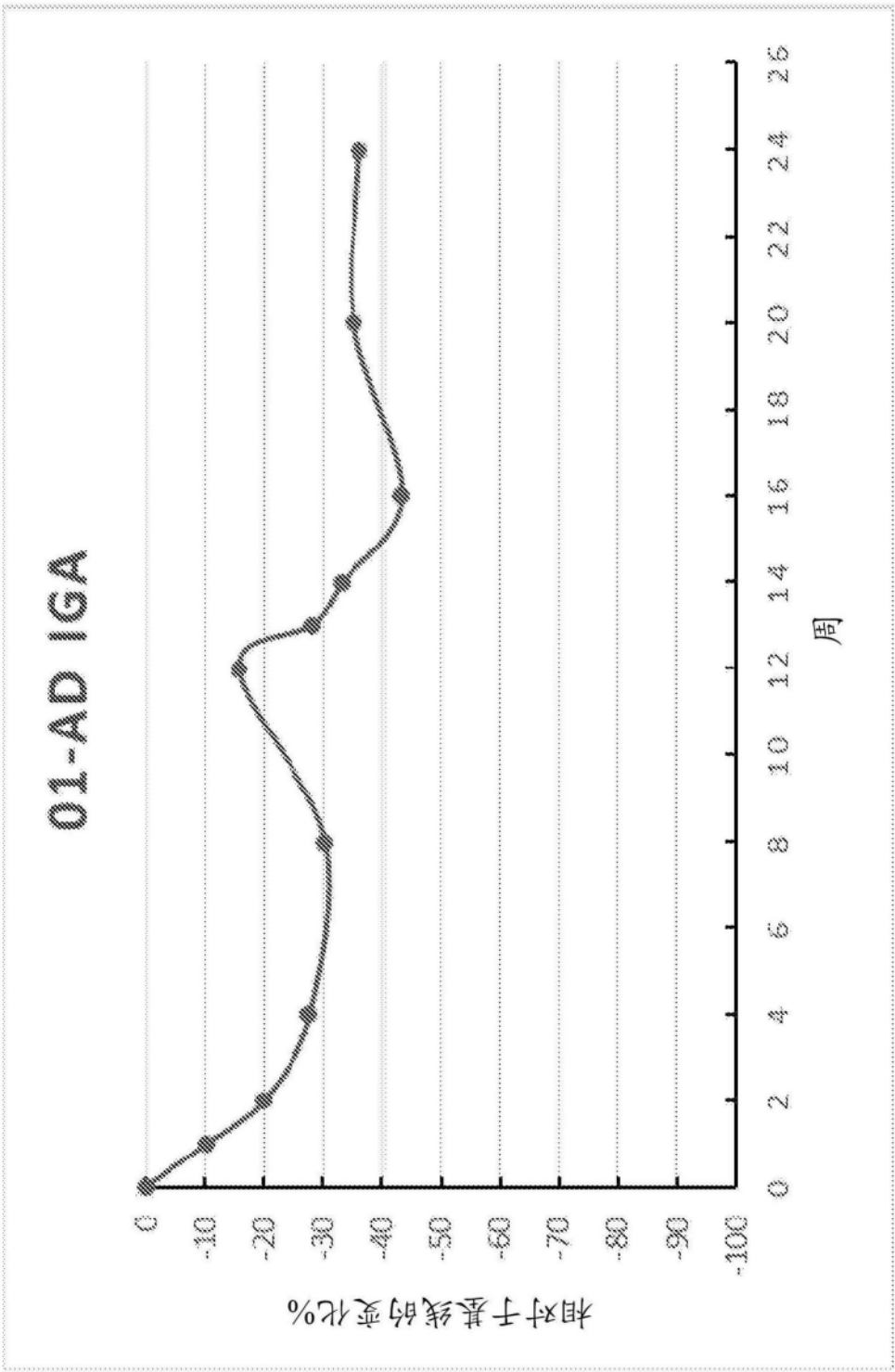


图6

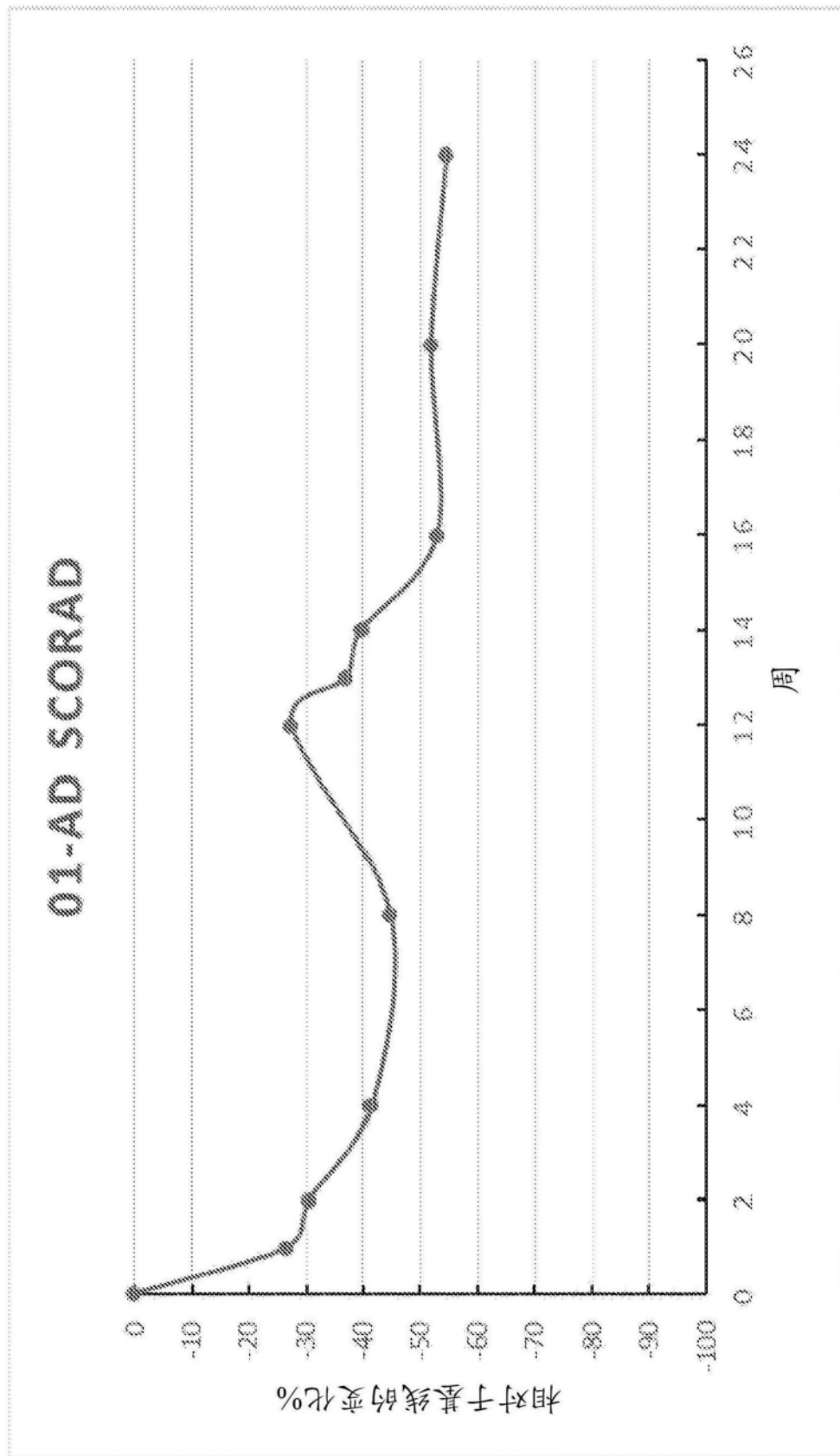


图7

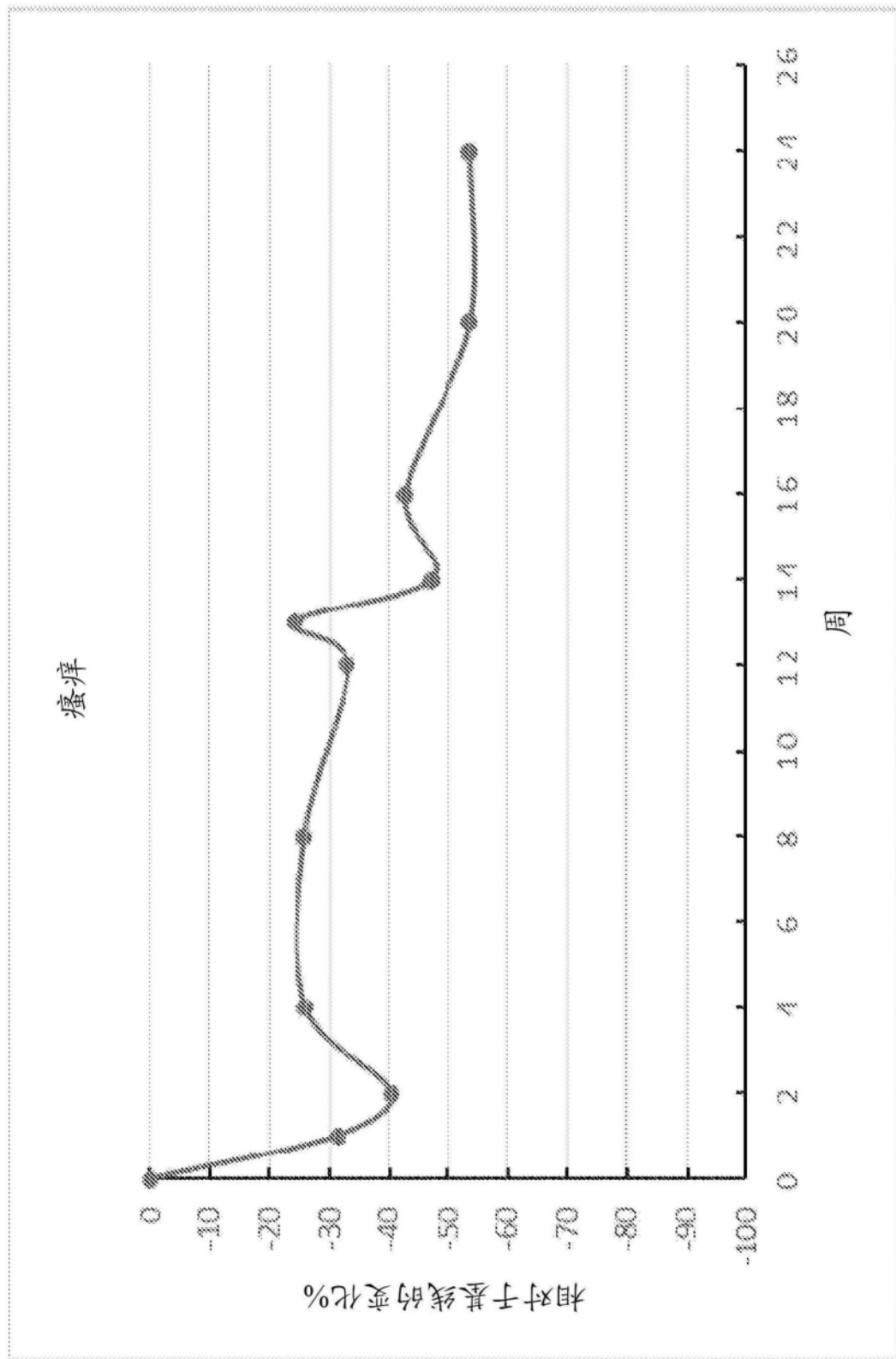


图8