



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111388655 A

(43)申请公布日 2020.07.10

(21)申请号 202010018792.0

A61K 38/57(2006.01)

(22)申请日 2014.11.21

A61K 35/16(2015.01)

(30)优先权数据

A61K 39/395(2006.01)

61/907,550 2013.11.22 US

A61K 31/69(2006.01)

62/029,086 2014.07.25 US

A61K 38/05(2006.01)

A61K 45/06(2006.01)

(62)分案原申请数据

A61P 37/06(2006.01)

201480063697.5 2014.11.21

(71)申请人 夏尔维洛药品公司

地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 C·布鲁姆 M·E·尤克尼斯

(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

代理人 张怡 孙倩

(51)Int.Cl.

A61K 38/55(2006.01)

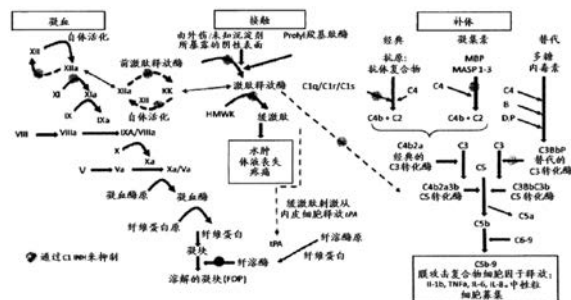
权利要求书1页 说明书17页 附图13页

(54)发明名称

用C1-酯酶抑制剂治疗器官移植患者中的抗体介导的排斥的方法

(57)摘要

本发明提供一种用于治疗或预防移植器官的抗体介导的排斥(AMR)的方法和组合物。



1. 一种C1酯酶抑制剂(C1-INH), 供在治疗有需要的患者的器官同种异体移植物的抗体介导的排斥(AMR)的方法中使用。
2. 根据权利要求1所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法包括早期和/或短期持续施用所述抑制剂。
3. 根据权利要求1或2所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法包括施用足以提供持久治疗效果的量的抑制剂。
4. 根据前述权利要求中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述患者已经历血浆除去或当前正经历血浆除去。
5. 根据前述权利要求中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法还包括使患者经历血浆除去。
6. 根据前述权利要求中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法还包括施用新鲜冰冻血浆。
7. 根据前述权利要求中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法还包括施用静脉内免疫球蛋白。
8. 根据前述权利要求中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法还包括施用抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、硼替佐米、依库珠单抗或其组合。
9. 根据前述权利要求中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述器官是实质器官。
10. 根据权利要求9所述的供使用的C1-INH, 其中所述实质器官选自由以下组成的组: 肾脏、胰脏、肠、心脏、肺脏、肝脏及其组合。

## 用C1-酯酶抑制剂治疗器官移植患者中的抗体介导的排斥的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请是专利申请号为201480063697.5的中国专利申请的分案申请。原申请要求2013年11月22日提交的美国临时申请号61/907,550和2014年7月25日提交的美国临时申请号62/029,086的权益,这些申请以引用的方式整体并入本文。

### 发明领域

[0003] 本发明一般涉及用于治疗患者中的器官移植排斥的方法、化合物和组合物,且更具体地但不排他地涉及使用C1-酯酶抑制剂治疗或预防器官移植患者中的抗体介导的排斥的方法和药物组合物。

[0004] 发明背景

[0005] 每年,都有患者因为预先存在针对供体的细胞表面人白细胞抗原(HLA)的抗体而不能接受可能挽救生命的器官移植。这类患者被认为对其供体器官“敏感”,这可能是先前的移植、怀孕和/或输血的结果。某些供体特异性抗体(DSA)的存在是移植的禁忌症,不管可能指示供体匹配的其他因素如何。DSA存在可引起移植后供体器官的超急性(立即)抗体介导的排斥(AMR)及捐献器官的可能损失。具有DSA的患者(即致敏患者)因此要耗费显著更长的时间来等待可接受的供体器官。因此,致敏患者对于器官捐献面临的并非一个而是至少两个障碍:(1)血型相容性,和(2)致敏性。此外,一些患者可在移植之后产生针对其供体器官的抗体,且这类DSA被称为“从头(de novo)”。现在知道大部分患者因慢性排斥而丧失其移植是从头DSA的结果。

[0006] 目前,几乎不存在具有抗体介导的排斥的致敏患者可利用的治疗选择。可利用的治疗包括例如利妥昔单抗和用或不用静脉内免疫球蛋白(IVIg)的血浆除去。

[0007] 虽然可利用的治疗显示对于最初治疗AMR不同的有效性,但其效果变弱且在几乎一半患者中不能维持。因此,目前可用治疗的长期效果不良并且在AMR的有效治疗以及改善接受交叉匹配阳性器官移植的患者的总体移植存活率的治疗和组合物的领域中存在未满足的巨大需要。

### 发明内容

[0008] 本发明通过提供向经历或处于经历移植器官抗体介导的排斥(AMR)的风险中的器官移植患者有利地施用C1-酯酶抑制剂(C1-INH)蛋白的方法和组合物满足本领域中的需要。

[0009] 一方面,本发明提供一种治疗有需要的患者中的器官同种异体移植物的AMR的方法。使用治疗有效量的C1-INH。所述方法包括早期和/或短期持续施用治疗有效量的C1-INH。所述方法包括使用足以提供持久治疗效果的治疗有效量的C1-INH。所述方法包括早期和/或短期持续施用治疗有效量的C1-INH,其中治疗有效量的C1-INH足以提供持久的治疗效果。还包括一种C1酯酶抑制剂(C1-INH),供在治疗有需要的患者的器官同种异体移植物

的抗体介导的排斥 (AMR) 的方法中使用。

[0010] C1-INH可以是源自人血浆的C1-INH,如**Cinryze®**。任选地,本发明方法可包括使患者经历血浆除去以便除去DSA。早先,C1-INH的短期治疗(这可以是血浆除去的辅助治疗)与血浆除去单独相比可降低慢性器官同种异体移植物排斥的速率。在其他实施方案中,本发明方法可包括施用静脉内免疫球蛋白 (IV Ig) 和/或新鲜冰冻血浆。可另外或替代地施用压积红细胞。在又一实施方案中,本发明方法可包括施用抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、依库珠单抗、硼替佐米或其组合。在本发明方法的某些实施方案中,所述患者正在或已经用一种或多种用于治疗超急性和/或急性AMR(例如,血浆除去、IV Ig治疗;用一种或多种抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、依库珠单抗、硼替佐米或其组合治疗;且优选是血浆除去和IVIg治疗)的其他已知疗法治疗。

[0011] 还包括一种C1-INH和选自由以下组成的组的另外的生物活性剂作为供在治疗有需要的患者中的器官同种异体移植物的抗体介导的排斥 (AMR) 的方法中同时或依次使用的组合制剂:抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、硼替佐米、依库珠单抗和免疫球蛋白 (Ig) 或其组合。优选的另外的生物活性剂是免疫球蛋白,例如静脉内免疫球蛋白。

[0012] 另外,在本发明方法中,有待治疗的器官(即,有待或已经移植到患者中的器官)可以是实质器官。此外,所述实质器官可选自由以下组成的组:肾脏、胰脏、肠、心脏、肺脏及肝脏。在某些实施方案中,所述器官是肾脏。

[0013] 另一方面,本发明提供一种用于治疗或延迟有需要的患者中的器官同种异体移植物的AMR的进展的药物组合物。所述药物组合物可包括C1-INH;另外的生物活性剂,如抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、依库珠单抗、免疫球蛋白 (Ig) 及其组合;以及药学上可接受的载体介质。

[0014] 还包括一种试剂盒,其包含:(i) C1-INH;以及(ii) 选自由以下组成的组的另外的生物活性剂:抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、硼替佐米、依库珠单抗及免疫球蛋白 (Ig) 或其组合,其中所述组分(i)和(ii)经包装以同时或依次施用于患者,任选地供在治疗患者的器官同种异体移植物的抗体介导的排斥 (AMR) 的方法中使用。优选的另外的生物活性剂是免疫球蛋白,例如静脉内免疫球蛋白。

[0015] 相比于在本领域中目前可用的治疗,本发明提供有效的早期和/或短期持续疗法用于治疗移植受体以及等待或经历器官移植的患者中的AMR,所述疗法提供持久的治疗效果。

[0016] 附图简述

[0017] 通过结合附图进行阅读,前面的概述以及后面对于本发明示例性实施方案的详细描述将得到进一步理解,其中:

[0018] 图1示意性地示出了C1-酯酶抑制剂(C1-INH)对凝血、接触和补系统的作用。如在此所提及:激肽释放酶(KK);高分子量激肽原(HMWK);甘露糖结合蛋白(MBP);MBP相关丝氨酸蛋白酶(MASP);组织纤溶酶原激活物(tPA);以及纤维蛋白降解产物(FDP)。

[0019] 图2图解地示出了使用**Cinryze®**作为C1-INH给予C1-INH抑制剂的示例性设计。如在此所提及:(a)在移植之后12个月内经活组织检查证实的AMR;(b)在合格的活组织检查之后72小时内第一剂量的**Cinryze®**或安慰剂;(c)在第一剂量的**Cinryze®**或安慰剂之后第

20天(±24小时);以及(d)在第一剂量的Cinryze®或安慰剂之后第90天(±24小时)。

[0020] 图3是显示在图2的过程之后向示例性研究中的受试者提供的标准护理的表格,其中14个受试者中有7个用安慰剂治疗且有7个用C1-INH治疗。如在此所提及:新鲜冰冻血浆(FFP)和压积红细胞输血(PRBC)。

[0021] 图4A和4B是示出了在用Cinryze®或安慰剂输注之后所治疗的患者中的功能性C1-INH血浆浓度水平(同组平均值)的曲线图。图4A图解表示了示例性研究中经13天的过程在用Cinryze®或安慰剂输注之后功能性C1-INH的平均血浆浓度。图4B图解表示了示例性研究第13天在用Cinryze®或安慰剂输注之后功能性C1-INH的平均血浆浓度。图4A和4B是每个组的校正平均值,以使得功能性C1-INH的基线水平被减去。

[0022] 图5图解表示了在用Cinryze®或安慰剂治疗的患者中肾功能(即,肌酐清除率)的平均变化。肌酐清除率在AMR患者中极大地降低。与安慰剂相比,通过施用Cinryze®,肌酐清除率在大约7天之后稳定并且不与用安慰剂治疗的患者降低相同的程度。然而,注意到在示例性研究中的患者是用血浆除去(和/或IVIg)治疗并用Cinryze®或安慰剂治疗。

[0023] 图6A和6B展示了用苏木精和曙红(H&E)染色的肾组织切片,其示出并对比了慢性肾小球病(CG)的存在。图6A示出了在用Cinryze®治疗的不展示CG的患者(6/7患者中的一个)中移植后6个月的正常肾组织切片。图6B示出了在用安慰剂治疗的展示CG的患者(3/7患者中的一个)中移植后6个月的肾组织切片。

[0024] 图7A和7B提供了管周毛细血管(PTC)的电子显微术(EM)图像。图7A表示了PTC的示例性正常EM图像。图7B表示在用安慰剂治疗的显示肾小球病的患者(3/7患者中的一个)中移植后6个月获得的PTC的EM图像。在图7A中,CL=毛细血管管腔,E=上皮,且BS=基底膜。

[0025] 图8包括在示例性研究第13天受试者中所测量的C1-INH抗原和功能性C1-INH水平的表格,其中受试者除标准护理(血浆除去和/或IVIg)之外还用安慰剂或C1-INH治疗。所报道的C1-INH抗原水平是基于蛋白质重量浓度的测量,其中使用 $0.067\text{U/ml} = 1\text{mg/1dL}$ 的换算系数将其转换成U/mL。

[0026] 图9A至9H图解地关联了在示例性研究第13天(图8)于患者中所测量的C1-INH抗原和功能性C1-INH的水平与其6个月临床结果。如在此所用:CG表示具有不良结果的那些患者(例如,在安慰剂组中的3/7患者,在Cinryze®组中的1/7患者);抗原(AG);及功能性(Fnct)。另外,展现CG的Cinryze(R)组中的一个患者在接受抗凝血药品的同时在活组织检查之后具有不良的出血性休克事件。图9A和9B图解地关联了在接受安慰剂(图9A)和Cinryze(R)(图9B)的患者中经基线校正的C1-INH抗原水平与CG。图9C和9D图解地关联了在接受安慰剂(图9C)和Cinryze(R)(图9D)的患者中经基线校正的功能性C1-INH水平与CG。图9E和9F图解地关联了在接受安慰剂(图9E)和Cinryze(R)(图9F)的患者中未经调整的C1-INH抗原水平与CG。图9G和9H图解地关联了在接受安慰剂(图9G)和Cinryze(R)(图9H)的患者中未经调整的功能性C1-INH水平与CG。所报道的C1-INH抗原水平是基于蛋白质重量浓度的测量,其中使用 $0.067\text{U/ml} = 1\text{mg/1dL}$ 的换算系数将其转换成U/mL。

[0027] 图10A和10B图解示出了血浆除去对血清C1-INH抗原性(图10A)和功能性(图10B)水平的作用。如图10A和10B中所示,血浆除去耗尽血清C1-INH抗原性和功能性水平。

[0028] 发明详述

[0029] 在阻挠患者中例如心脏、肺脏、肝脏、胰脏、肠及肾脏同种异体移植物的移植中涉及抗体介导的排斥(AMR)。因为对于抗体介导的排斥(AMR)几乎不存在实验性疗法且不存在已批准的疗法并且移植的结果是由医疗保险与医疗补助中心(CMS)严格监控,所以具有DSA的等待器官移植的患者一般被大多数移植中心禁止接受对其致敏的供体器官。例如,每年有数千例晚期肾脏疾病(ESRD)患者由于预先存在针对供体的细胞表面人白细胞抗原(HLA)的抗体(DSA)而被禁止接受性命攸关的肾移植。

[0030] 这些循环DSA的存在是移植的禁忌症,所述循环DSA是通过移植前交叉匹配筛选(补体依赖性细胞毒性测定或流式细胞术)而被鉴别。DSA可引起立即或“超急性”抗体介导的排斥(AMR),导致补体介导的破坏并最终丧失了移植器官。

[0031] 在美国(US)有接近三分之一的肾移植等待名单中的个体具有针对 $\geq 10\%$ 人群HLA的循环抗体。这些致敏患者同非致敏患者相比对于对其不致敏的可接受的肾脏(即,“交叉匹配阴性的”)耗费显著更长的等待时间。在美国,据估计每年有6,000个ESRD(等待名单)患者和另外3,500个新的等待名单登记者具有愿意的活供体,但都因为致敏性或血型不相容性而不能移植。致敏患者不能从愿意的活供体移植肾脏将进一步提高对于死亡的供体肾脏的需要,且由此增加所有登记患者的等待时间。

[0032] 由美国医疗补助与医疗保险服务中心(CMS)对肾移植程序的鉴定主要是基于满足或超过肾移植的国家基准( $\sim 95\%$ 的1年移植物存活率)的特定中心的结果。当程序的死亡或移植物失败率超过预期失败率的150%时,该程序被认为是不符合的并且可能丧失进行肾移植的CMS证明(参见42CFR部分482,§482.80和§482.82[2007])。因此,高度致敏或交叉匹配阳性患者不愿意进行肾移植。这些患者(其中许多都具有愿意的活供体)过度负担死亡的供体等待名单并且许多将在等待移植时死亡。然而,作为对脱敏患者在预防或治疗急性AMR中用的疗法和/或辅助剂的试剂可帮助改变移植中的范例,不仅容许利用性命攸关的移植,而且减少不具有潜在的活供体的那些的等待名单竞争。

[0033] 通过使用静脉内免疫球蛋白(IVIg)或血浆除去与IVIg的组合降低交叉匹配阳性或否则致敏患者中的DSA滴度已经允许“脱敏”并且转化成阴性交叉匹配以便在一些患者中进行成功的肾移植。然而,尽管有这种方案,但超过10%的患者在移植之后立即或很早就因超急性排斥或侵袭性急性AMR而丧失其移植物。此外,30%-50%的患者仍将经历急性AMR,大多数在移植后的头1至3个月内。实际上,1年移植物存活率在具有DSA和AMR的患者中是60%-70%,相比之下,在没有DSA的患者中是大约95%。尽管如此,对于一些患者,与透析有关的发病率和死亡率担保了交叉匹配阳性肾移植的风险。改善这些高风险(交叉匹配阳性)移植患者的总体结果的需要仍未被满足。

[0034] 急性AMR常规用另外的IVIg和血浆除去治疗。然而,大约一半被诊断为早期急性AMR的患者的肾同种异体移植物遭受了不可逆性损伤,如由移植肾小球病(TG)所证实,这常常与间质性纤维化、肾小球硬化症及血管内膜增厚有关。TG是CG的亚群,因为TG是指特别是在移植器官中出现的肾小球病。如IVIg和/或血浆除去的治疗提供与持久治疗效果相对比短暂的活性,因为这种治疗最终将失去其效力。如本文所用的术语“短暂活性”是指例如针

对AMR的治疗类型的活性,其仅在接受介入疗法时保持有效。相比之下,术语“持久治疗效果”是指例如针对AMR的治疗类型的活性,其在疗法停止之后保持有效超过约3至6个月(例如,在疗法停止之后超过约3、4、5、6个月,或在疗法停止之后约6个月或约1年)。

[0035] 具有上述TG特点的患者与在活组织检查上不具有TG迹象的患者相比极大地削弱了移植物存活率。具有严重的急性AMR的一些患者可能需要包括利妥昔单抗(抗CD20抗体)和/或硼替佐米(蛋白酶体抑制剂)在内的补救疗法伴有或不伴有脾切除术作为最后的治疗选择。对于有效地治疗急性AMR(减轻对极端措施如脾切除术的需要)和改善总体移植物存活率以使得致敏的ESRD患者可在脱敏之后因阳性交叉匹配而准许移植的试剂的需要仍未得到极大满足。

[0036] 转而开发可克服本领域中的缺点的疗法,当前AMR疗法的改善需要解决导致DSA介导的TG并最终丧失同种异体移植物的潜在的宿主免疫应答。血浆除去和IVIg可降低DSA滴度。然而,其使用不能解决作为补体激活的结果而出现的组织破坏。HLA-DSA复合物激活补体级联的经典途径,最终导致膜攻击复合物的形成和炎性细胞因子的连续释放。作为补体在移植物破坏中的作用的证据,第4补体蛋白降解产物(C4d)沿管周毛细血管网(PTC)的积聚是AMR的前兆并且与不良的同种异体移植物存活率有关。在针对通常与移植物失败有关的风险因素进行调整之后,因降低的肾功能而需要肾同种异体移植物活组织检查且在其血清中具有DSA(其中在活组织检查中具有C4d染色)的患者具有比没有DSA或活组织检查中的C4d染色的患者高三倍的移植物丧失风险。因此,补体抑制剂被证明是治疗AMR的有用疗法和/或辅助剂。

[0037] 血管化同种异体移植物的移植涉及将受体暴露于供体HLA。供体HLA的加工和呈递决定了受体对移植的同种异体移植物的免疫应答。如果呈递可溶性供体抗原并由受体的CD4 T-淋巴细胞识别,那么细胞因子释放(例如IL-2)将传播细胞毒性T细胞应答,产生急性细胞排斥。供体HLA的B-淋巴细胞识别造成记忆B细胞应答的传播和DSA的产生。HLA-DSA复合物刺激补体系统的经典途径,产生抗体介导的排斥(图1)。

[0038] DSA可与经典补体途径(C1)的第一组分复合,产生激活的C1q/r/s和C4,最终导致膜攻击复合物(C5b-9)的形成和炎性细胞因子释放。这些细胞因子(例如,IL-2、IL-6等)召集嗜中性白细胞及其他介体(例如,血小板衍生生长因子)以引发局部炎性应答,这可能导致组织纤维化(不可逆性结疤)、内皮应答、以及造成移植物内的毛细血管和较大血管的凝血和血栓形成的损伤。损伤的程度和即时性取决于DSA是否(且以何种程度)预先存在。

[0039] 由预先存在的DSA(伴有经典补体途径的激活)对供体HLA的识别造成移植的同种异体移植物的立即(超急性)或早期(1-3个月内-加速的)丧失。这种病理状况可通过旨在改善DSA的移植前脱敏方案(例如,血浆除去和/或IVIg)得到暂时缓解,但仅在大约50%这类患者中提供短暂的活性。

[0040] 另外,临床证据表明因降低的肾功能而需要肾同种异体移植物活组织检查且在其血清中具有DSA(其中在肾同种异体移植物活组织检查中具有C4d染色(补体激活的证据))的患者具有比没有DSA或活组织检查中的C4d染色的患者高三倍的移植物丧失风险。来自动物模型的数据也支持补体在同种异体移植排斥中的作用。在猕猴的同种异体移植研究中,在具有已知DSA的动物中,54%在组织病理学上表现出C4d的猴子产生TG,相比之下,在活组织检查上没有C4d证据的移植猴子中仅有4%的TG率。

[0041] 末端补体 (C5b-9) 蛋白 (抗体介导的经典补体途径激活的产物) 可引发内皮细胞产生纤维细胞和血小板衍生生长因子, 造成内膜纤维化, 这是不可逆性肾移植排斥的标志。致敏的肾移植的临床前小鼠模型显示在接受C5抑制剂作为辅助免疫抑制的动物中有改善的移植物存活率。在16个在移植之后给予抗C5单克隆抗体依库珠单抗的致敏的人肾移植受体的研究中, 仅有1/16 (6%) 在移植之后的第一个月内发生了急性AMR, 相比于~40%的历史对照。然而, 所有都具有持久的C4d染色并且4/16 (25%) 具有与TG/内皮细胞激活一致的显著变化。长期随访显示几乎50%的这些患者在疗法停止之后具有TG, 这与历史对照不存在差异。

[0042] 经典补体级联的更近端信号传导组分可在同种免疫中具有更大的作用。例如, 缺乏补体蛋白C3或C4的小鼠对主要组织相容性复合物不同的皮肤移植物具有削弱的T细胞和B细胞同种免疫应答, 而缺乏C5的小鼠则不展现削弱的同种免疫应答。因此, C1-INH比C5抑制剂在预防或治疗AMR上存在更大的理论功效。本发明提供这样一种疗法, 所述疗法利用C1-INH治疗以便提供满足本领域中的需要的持久治疗效果。

[0043] 本发明涉及用于治疗有需要的患者中器官同种异体移植物的抗体介导的排斥 (AMR) 的方法, 其中所述方法包括施用治疗有效量的C1-酯酶抑制剂 (C1-INH); 并且涉及一种供所述方法之用的C1-酯酶抑制剂 (C1-INH)。可通过本文所述的方法保护以免于排斥的器官同种异体移植物包括实质器官。实质器官的代表性实例包括心脏、肝脏、肺脏、胰脏、肠以及肾脏。在某些实施方案中, 所述实质器官可以是肾脏。在本发明方法中, 器官移植包括同种异体移植。作为说明, 同种异体移植基本上不同于异种移植。同种异体移植涉及来自相同物种的器官移植 (人到移植)。相比之下, 异种移植涉及来自不同物种的器官移植 (例如, 猪到人的器官移植)。相关领域的技术人员将认识到C1-INH治疗的停止将造成异种移植中的立即AMR。然而, 这在人同种异体移植中是不相关的, 因为不存在交叉物种致敏性。

[0044] 如本文所用, 术语“治疗”等等是指用于获得例如所需的药理或生理效应的手段。该效应根据完全或部分地预防病状、出现、疾病或症状来说可以是预防性的, 和/或根据病状和/或可归因于病状或疾病的副作用的部分或完全治愈来说可以是治疗性的。不限于任何一个操作理论, 据信本发明方法通过抑制补体系统的组分预防和/或治疗器官移植中的AMR。

[0045] 从上文了解到, 通过施用如本文所述和定义的C1-酯酶抑制剂 (C1-INH), 单独或与也如本文所述和定义的其他生物活性剂组合且任选地与也如本文所述和定义的其他治疗步骤组合, 可以实现器官同种异体移植物的AMR的治疗和/或预防。以下效应可通过本发明实现。

[0046] 在接受交叉匹配阳性器官移植的患者 (例如, 患者具有循环DSA的器官, 这可通过移植前交叉匹配筛选 (补体依赖性细胞毒性测定或流式细胞术) 得到鉴别) 中移植存活率是改善或提高的。这可与未根据本发明治疗的患者或根据本发明治疗之前的同一患者相比较。

[0047] 本发明方法可因此可选地被描述为改善或提高接受交叉匹配阳性器官 (例如肾脏) 移植的患者中的移植存活率的方法。

[0048] 由于移植后供体器官的AMR可导致慢性肾小球病 (CG) 和/或移植肾小球病 (TG)、捐献器官的丧失、或降低的移植物存活率 (或降低1年移植物存活率), 所以本发明方法因此可

选地被表示为治疗或预防慢性肾小球病 (CG) 和/或移植肾小球病 (TG) 的方法、治疗或预防移植器官丧失的方法、或改善例如同种异体移植患者中的移植存活率 (或提高1年移植存活率) 的方法。

[0049] 在肾移植的情形下, 本发明方法可造成当与未根据本发明治疗的患者或根据本发明治疗之前的同一患者相比时移植肾脏的提高和/或维持的肾功能。因而, 本发明方法可表示为提高和/或维持患者中的移植肾脏的肾功能的方法。

[0050] 因为据信本发明方法通过抑制补体系统的组分预防和/或治疗器官移植中的AMR, 所以本发明方法也可被描述为治疗或预防例如在同种异体移植患者中由补体激活引起的组织破坏的方法。

[0051] 因而, 对治疗或预防AMR的方法或供所述方法之用的C1-INH的任何提及可被理解为对上述方法中的一种或多种或供所述方法之用的C1-INH的提及。

[0052] 另外, 如关于治疗使用的术语“短期持续”是指药物治疗活性的持续时间 (例如, 施用期), 其可有利地出现约1至30天。在某些方面, 治疗的短期持续可以是约10至20天。在一个优选方面中, 治疗的短期持续可以是约13天 (例如约11至18、12至15天)。

[0053] 如本文关于治疗所用的术语“早期”是指可有利地在以下的1至90天内出现或引发的治疗的时机: (1) 器官移植, (2) 用标准护理的治疗 (血浆除去和/或IVIg), 和/或 (3) AMR的诊断。在优选方面中, 治疗可在少于约5至10天内出现或被启动。治疗可因此在少于以下的约5至10天内出现或被启动: (1) 器官移植, (2) 用标准护理的治疗 (血浆除去和/或IVIg), 和/或 (3) AMR的诊断并且可持续约10至30天。

[0054] “慢性肾小球病”或“CG”是器官移植患者中的AMR的临床标记并且如本文所用, 是指见于肾组织中的有害表现, 包括例如肾小球硬化症、肾小球基底膜增厚和分层、和/或正在发生的肾小球炎症。还可存在管周血管炎。本发明方法或可造成当与未根据本发明治疗的患者或根据本发明治疗之前的同一患者相比时治疗患者中的CG的较小或降低的发病率。此作用可例如通过例如使用组织或EM检查 (如在实施例中所提及) 观察适当样品中的组织而被观察到。

[0055] 如本文所用的术语“移植肾小球病”或“TG”是指在移植背景中发生的慢性肾小球病 (CG)。TG和CG可互换地用于描述本发明。

[0056] 应了解, 患者一般是器官移植患者 (例如, 肾移植或同种异体移植患者, 例如, 已经接受或将要接受移植或同种异体移植的人)。患者可能正在经历或可处于AMR的风险中。AMR可作为预先存在的供体特异性抗体 (DSA) 的结果而出现, 例如, 在移植之前存在的供体特异性抗体或从头DSA。患者可用针对AMR的一种或多种其他疗法 (例如, 静脉内免疫球蛋白 (IVIg)、或血浆除去与IVIg的组合、或血浆除去) 来治疗或者可能已经用针对AMR的一种或多种其他疗法进行治疗。该治疗优选用于降低DSA滴度, 其中抗体是针对有待移植或已经移植的器官的HLA。

[0057] 处于AMR风险中的患者因此包括具有某些供体特异性抗体 (DSA) 的患者。这一般是移植的禁忌症, 不管可指示供体匹配的其他因素如何。这些患者还可被描述为“致敏的”。

[0058] 该患者可以是晚期肾病 (ESRD) 患者。ESRD患者可具有针对供体的细胞表面人白细胞抗原 (HLA) 的预先存在的抗体 (DSA) (例如, 致敏的ESRD患者)。

[0059] 如果患者被致敏, 那么其可任选地经受治疗以使其脱敏或者可在本发明治疗 (例

如,降低DSA滴度的治疗,例如静脉内免疫球蛋白(IVIg)、或血浆除去与IVIg的组合、或血浆除去)之时经受所述治疗。该患者可因此已经受治疗,或可经受所述治疗以降低DSA滴度,例如,经受静脉内免疫球蛋白(IVIg)或血浆除去的组合、或血浆除去)。脱敏治疗优选是用于降低DSA滴度的脱敏治疗,其中抗体是针对有待移植或已经移植的器官的HLA。

[0060] 当患者已经受降低DSA滴度的治疗时,例如经受静脉内免疫球蛋白(IVIg)或血浆除去的组合、或血浆除去,其优选在例如启动本发明治疗的前1周、2周、4周、1个月、6周、2个月或6个月内或在前1年内。

[0061] C1酯酶抑制剂(C1-INH)是丝氨酸蛋白酶抑制剂(SERPIN)家族中的一种内源性血浆蛋白并且在补体、接触、及凝血途径中具有宽的抑制剂活性。C1-INH通过结合C1r和C1s抑制补体系统的经典途径并且抑制凝集素途径中的甘露糖结合凝集素相关丝氨酸蛋白酶。本发明的C1-INH可以是血浆衍生的C1-INH或者可以是重组产生的C1-INH,并且在两种情况下都是可分离的。优选地,本发明的C1-INH是血浆衍生的C1-INH。优选地,本发明的C1-INH是纳米过滤的。

[0062] 如本文所用的术语“单位”或“U”是指针对人中的生理水平(即,1U/mL的血清是生理的)标准化的蛋白(C1 INH)材料的量度。在另一选择中,除非另有陈述,一个(1)单位表示240 $\mu$ g蛋白材料。

[0063] 纳米过滤的血浆衍生的C1-INH(**Cinryze<sup>®</sup>**;Viropharma)是FDA批准用于针对患有遗传性血管性水肿(HAE)的青少年和成人患者中的血管性水肿发作的常规预防,HAE是一种特征为内源性C1酯酶抑制剂的组成缺陷或功能障碍的疾病。

[0064] 已知**Cinryze<sup>®</sup>**经由在随机化试验以及延伸试验中研究的患有HAE的患者中的经历而在人中被良好耐受。在用于HAE的剂量下所报道的最常见的不良事件是头疼和鼻咽炎。C1-INH是用于牵涉例如经典补体途径(例如,抗体介导的疾病)和凝集素途径(例如,局部缺血再灌注损伤)的理想治疗剂,不管是单独抑或作为组合疗法或组合物的一部分,并且在本发明中是优选的。还提及conestata $\alpha$ ;人C1酯酶抑制剂的重组类似物(rhC1-INH)(其是通过转基因兔的乳汁中的重组DNA技术而产生)。如本文所用的术语“有效量”是指当向患者施用化合物或组合物时实现有利临床结果的化合物或组合物的量。例如,当向具有例如AMR的患者施用本发明组合物时,“有利的临床结果”包括提高的和/或维持的肾功能和/或患者同种异体移植(例如,移植肾脏)存活力的增加。如本文所用,术语“肾功能”是根据患者的肾脏从体内清除肌酐的能力来定义。因此,例如,显示提高的肾功能的患者将表现出某些肌酐清除率能力(mL/min)(即基线)并且所述肌酐清除率能力或肾功能将在治疗期间和治疗之后增加距离基线的量级。任何增加可例如在统计上是显著的,并且包括至少10%、20%、50%、100%的增加。可与未根据本发明治疗的患者或在根据本发明治疗之前的同一患者进行任何比较。

[0065] 有利的结果还可例如通过确定CG和/或TG的存在或程度(CG和/或TG的存在或程度的减轻是有利的结果)来评定。在这可被量化的程度上,任何这种减少可例如是统计上显著的,并且包括至少10%、20%、50%、100%的减少。可与未根据本发明治疗的患者或在根据本发明治疗之前的同一患者进行任何比较。

[0066] 有利的临床结果可在任何时间点实现并进行评定或测定。与本发明提供持久治疗

效果的观察一致,有利的临床结果可在疗法停止之后超过约3至6个月(例如,疗法停止之后超过约3、4、5、6个月,或疗法停止之后约6个月或约1年)实现并进行评定或测定。作为本发明的结果,肾脏可展示(i)提高的和/或维持的功能,和/或(ii)CG和/或TG的存在和/或程度的减轻,在疗法停止之后约3至6个月(例如,疗法停止之后超过约3、4、5、6个月,或疗法停止之后约6个月或约1年)。可与未根据本发明治疗的患者或在根据本发明治疗之前的同一患者进行任何比较。

[0067] 如本文中在例如描述物质时所用的术语“分离”是指从其原始环境(例如,如果该物质是天然存在的,则指天然环境)中被取出的物质。例如,存在于活的动物中的天然存在的多肽(即蛋白质)不被分离,但与天然系统中的一些或所有共存物质分离的相同多肽是分离的。

[0068] 此外,用于实践本发明的“多肽”或“蛋白质”可以是天然蛋白质、合成蛋白质,或可以是优选重组的蛋白质。此外,本文所述的蛋白质可以是天然纯化产物、或化学合成产物、或来自原核或真核宿主(例如细菌、酵母、高等植物、昆虫或哺乳动物细胞)的重组产物。根据所用的不同宿主,这种蛋白质可以是糖基化或非糖基化的。

[0069] 转到用于实践本发明的重组蛋白质,重组C1-INH(rC1-INH)蛋白质可通过常规的重组DNA技术,使用如本领域中已知对C1-INH有特异性的多核苷酸序列来表达或产生。一般来说,这类重组方法包括以下步骤:

[0070] (1)用编码本发明的C1-INH蛋白的多核苷酸或其变体或含有所述多核苷酸的载体转染或转化适当的宿主细胞;

[0071] (2)在适当的培养基中培养宿主细胞;以及

[0072] (3)从培养基或细胞中分离或纯化蛋白质。

[0073] 实际上,根据本领域技术人员所熟知的方法,本发明试剂可作为分开的剂量单位施用或被配制以便一起施用。参见,例如Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第20版,A.Genaro等人,Lippencot,Williams&Wilkins,Baltimore,MD(2000)。

[0074] 当通过共同施用(其中使用分开的剂量制剂)应用本发明的方法、化合物、组合物及试剂盒时,C1-INH和生物活性剂可同时或在错开的时间下单独地(即依次地)施用。本发明的组合物、制剂及试剂盒可包含C1-INH和如本文所述的另一种生物活性剂用于同时或依次使用。

[0075] 同时施用可包括两种或更多种本发明的试剂、组合物或组分(例如,本发明的组合物和试剂盒的组分)的同时施用和/或彼此相隔12小时内、6小时内、3小时内、2小时内或1小时内的施用,通常在临床中心的同一次就诊内。依次施用可包括两种或更多种本发明的试剂、组合物或组分(例如,本发明的组合物和试剂盒的组分)彼此相隔1个月内、2周内(例如,14±2天内)、1周内、3天内、2天内或24小时内的施用。

[0076] 向患者引入本发明组合物的合适的方法包括但不限于皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、眼内、硬膜外及口服途径。此外,本发明组合物可通过输注或弹丸注射,通过经由上皮或粘膜皮肤内层(例如,口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)的吸收来施用。施用可进一步是全身的或局部的。并且施用可以是急性的或慢性的(例如,每天、每周、每月等)。静脉内途径是例示的和优选的。

[0077] 经口施用的剂量单位可以是片剂、囊片、糖衣剂、丸剂、半固体、软或硬明胶胶囊、

水性或油性溶液、乳液、混悬液或糖浆剂形式。用于胃肠外施用的剂型的代表性实例包括可注射溶液或混悬液、栓剂、粉末制剂如微晶或气溶胶喷雾。所述组合物还可并入常规的经皮递送系统中。

[0078] 本发明方法是指施用化合物,包括C1-INH。所述化合物可存在于组合物例如药物组合物中。

[0079] 在本文所公开的方法中,本发明组合物可在例如每天或优选治疗每隔一天约10个单位(U)组合物或化合物/kg体重(U/kg)至约250U/kg范围内的剂量下施用。每天或优选地治疗每隔一天约25至150U/kg且优选约50至125U/kg的剂量应有效产生所需结果。举例来说,IV施用的合适剂量将包括在第1天约100U/kg的初始静脉内输注,接着约50U/kg,例如在第3天50U/kg(且任选地约50U/kg,例如在后续治疗中50U/kg,例如经总共10至30天,例如10至20天或优选13天(例如约11至18天、12至15天))。本发明方法中使用的化合物可通常每天或每隔一天施用1-4次,以便递送以上所提及的给药方案。

[0080] 另外,本发明组合物的剂量可表示为在治疗过程中均分或不均分的化合物或组合物的量。例如,治疗过程可持续约1至30天(例如,10至20天或优选地13天(例如约11至18天、12至15天))并且约1,000至25,000个单位(U)的组合物可在那个治疗过程中以分次剂量施用。在某些方面,约5,000至20,000个单位的组合物可通过IV经10至20天或优选13天(或约6,000-25,000U、8,000至22,000U、10,000-20,000U、12,000-18000U、14,000-16,000U、20,000U,经例如10至20天或优选13天(例如约11至18天、12至15天))以分次剂量施用,经13天的20,000U已被证明是有效的。

[0081] 在一些实施方案中,组合物的剂量被定义为足以实现至少100%超过正常值(例如,在施用后1小时所测定)的化合物或组合物的量的化合物或组合物的量。在一些实施方案中,至少100%超过正常值的水平在治疗过程例如约1至30天(例如10至20天或优选13天(例如约11至18天、12至15天))中被维持。

[0082] 然而,用于施用本文所述的化合物的确切方案将必须取决于所治疗的个别受试者的需要、所施用的治疗类型以及主治医学专家的判断。如本文所用,术语“受试者”和“患者”包括人和动物两者。如本领域技术人员将理解,实际上施用的剂量将取决于所治疗的病状、受体的年龄、健康状态和重量、同时治疗(如果有的话)的类型、以及治疗的频率。此外,有效剂量可由本领域技术人员根据在生物测定中测量化合物的生物活性的常规经验活性试验来确定,且由此建立有待施用的适当剂量。

[0083] 另外,在本发明的方法中,组合物可作为血浆除去疗法和/或IVIg的辅助来施用。例如,在本发明的示例性方法中,包括C1-INH(例如Cinryze®)的组合物可经10至20天作为血浆除去和/或IVIg的辅助以分次剂量(每剂量不超过约100U/kg)形式提供的20,000个单位向患者施用。所述治疗可在疗法停止之后3-6个月时降低慢性AMR的发生率。

[0084] 在某些情况下,实践本发明所用的化合物(例如C1-INH)可作为包含药学上可接受的载体介质的药物组合物来递送。例如,本发明包括一种用于治疗或延迟有需要的患者中的器官同种异体移植物抗体介导的排斥(AMR)的进展的药物组合物,所述组合物包括C1-酯酶抑制剂(C1-INH);另外的生物活性剂,如抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、硼替佐米、依库珠单抗、免疫球蛋白(Ig)或其组合;以及药学上可接受的载体介质。

[0085] 如本文所用,表达“药学上可接受的载体介质”包括任何及所有溶剂、稀释剂或其

他液体媒介物、分散体或混悬液助剂、表面活性剂、等渗试剂、增稠或乳化剂、防腐剂、固体粘合剂、润滑剂、填充剂及适用于所需的特定剂型的类似物。Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第20版, A.R. Genaro等人, 第5部分, Pharmaceutical Manufacturing, 第669-1015页 (Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD/Philadelphia, PA) (2000) 公开了在配制药剂组合中使用的各种载体以及用于其制备的已知技术。除非任何常规的药物载体介质与本文所述的组合不相容, 如通过产生不合需要的生物效应或另外以有害的方式与包含活性剂的制剂的任何其他组分互相作用, 否则其使用预期在本发明的范围内。

[0086] 更具体地说, 在固体剂型的生产中, 药物组合可药与药上惰性的、无机或有机赋形剂混合, 如乳糖、蔗糖、葡萄糖、明胶、麦芽、硅胶、淀粉或其衍生物、滑石、硬脂酸或其盐、脱脂奶粉、植物油、石油、动物或合成油、蜡、脂肪、多元醇等等。液体溶液、乳液或混悬液或糖浆剂可使用以下赋形剂, 如水、醇、水性盐水、水性葡萄糖、多元醇、甘油、脂质、磷脂、环糊精、植物油、石油、动物或合成油。栓剂可包括赋形剂, 如植物油、石油、动物或合成油、蜡、脂肪以及多元醇。气溶胶制剂可包括适用于此目的的压缩气体, 如氧气、氮气及二氧化碳。药物组合或制剂还可含有一种或多种添加剂, 包括但不限于防腐剂、稳定剂(例如紫外线稳定剂)、乳化剂、甜味剂、调节渗透压的盐、缓冲剂、包衣材料及抗氧化剂。

[0087] 本发明还提供所述药物组合物的控制释放、持续释放、或延长释放治疗剂型, 其中组合物并入递送系统中。此剂型以一种方式控制活性剂的释放以使得活性剂在血流中的有效浓度可维持延长的时期, 其中血液中的浓度保持相对恒定, 以便改善治疗结果和/或使副作用减到最少。另外, 控制释放系统将在本发明活性剂的血浆水平中提供最少的峰谷波动。

[0088] 另外, 各种递送系统是已知的并且可用于施用包含C1-INH或C1-INH与生物活性剂的组合的组合, 生物活性剂例如像免疫球蛋白(Ig)、利妥昔单抗、硼替佐米和/或依库珠单抗。另外, 所述组合物可例如包裹在例如脂质体、微粒及微胶囊中。

[0089] 本发明方法一般将包括医学随访以确定在经历本文所述的化合物和/或组合物治疗的患者中产生的治疗或预防作用。

[0090] 本发明还包括以下所述的一些实施方式:

[0091] 实施方式1. 一种C1酯酶抑制剂(C1-INH), 供在治疗有需要的患者的器官同种异体移植物的抗体介导的排斥(AMR)的方法中使用。

[0092] 实施方式2. 根据实施方式1所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法包括早期和/或短期持续施用所述抑制剂。

[0093] 实施方式3. 根据实施方式1或2所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法包括施用足以提供持久治疗效果的量的抑制剂。

[0094] 实施方式4. 根据前述实施方式中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述患者已经历血浆除去或当前正经历血浆除去。

[0095] 实施方式5. 根据前述实施方式中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法还包括使患者经历血浆除去。

[0096] 实施方式6. 根据前述实施方式中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法还包括施用新鲜冰冻血浆。

[0097] 实施方式7. 根据前述实施方式中任一项所述的供使用的C1-INH, 其中所述方法还

包括施用静脉内免疫球蛋白。

[0098] 实施方式8.根据前述实施方式中任一项所述的供使用的C1-INH,其中所述方法还包括施用抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、硼替佐米、依库珠单抗或其组合。

[0099] 实施方式9.根据前述实施方式中任一项所述的供使用的C1-INH,其中所述器官是实质器官。

[0100] 实施方式10.根据实施方式9所述的供使用的C1-INH,其中所述实质器官选自由以下组成的组:肾脏、胰脏、肠、心脏、肺脏、肝脏及其组合。

[0101] 实施方式11.根据前述实施方式中任一项所述的供使用的C1-INH,其中所述器官是肾脏。

[0102] 实施方式12.根据实施方式11所述的供使用的C1-INH,其中所述方法还包括施用静脉内免疫球蛋白并且所述患者已经历血浆除去或当前正在经历血浆除去。

[0103] 实施方式13.一种C1-INH和选自由抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、硼替佐米、依库珠单抗、免疫球蛋白(Ig)及其组合组成的组的另外的生物活性剂,其作为组合制剂以供在治疗有需要的患者中的器官同种异体移植物的抗体介导的排斥(AMR)方法中同时或依次使用。

[0104] 实施方式14.根据实施方式13所述的供使用的C1-INH和另外的生物活性剂,其中所述另外的生物活性剂是免疫球蛋白,优选是静脉内免疫球蛋白。

[0105] 实施方式15.根据实施方式13或14所述的供使用的C1-INH和另外的生物活性剂,其中所述器官如实施方式9至11中任一项所定义,优选是肾脏。

[0106] 实施方式16.根据实施方式13至15中任一项所述的供使用的C1-INH和另外的生物活性剂,其中所述患者已经历血浆除去或当前正在经历血浆除去。

[0107] 实施方式17.根据实施方式13至16中任一项所述的供使用的C1-INH和另外的生物活性剂,所述方法还包括使患者经历血浆除去。

[0108] 实施方式18.根据实施方式13至15中任一项所述的供使用的C1-INH和另外的生物活性剂,其中所述器官是肾脏,所述另外的生物活性剂是静脉内免疫球蛋白并且所述患者已经历血浆除去或当前正在经历血浆除去。

[0109] 实施方式19.一种试剂盒,其包含:

[0110] (i) C1-INH; 和

[0111] (ii) 选自由以下组成的组的另外的生物活性剂:抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、硼替佐米、依库珠单抗、免疫球蛋白(Ig)及其组合,其中所述组分(i)和(ii)经包装以同时或依次施用于患者,

[0112] 任选地供在治疗患者的器官同种异体移植物的抗体介导的排斥(AMR)方法中使用。

[0113] 20.如实施方式19所述的试剂盒,其中所述方法还包括使患者经历血浆除去。

[0114] 实施方式21.一种治疗有需要的患者中器官同种异体移植物的抗体介导的排斥(AMR)的方法,所述方法包括早期和/或短期持续施用治疗有效量的C1酯酶抑制剂(C1-INH),其中所述治疗有效量的C1-INH足以提供持久的治疗效果。

[0115] 实施方式22.如实施方式21所述的方法,其还包括使患者经历血浆除去。

[0116] 实施方式23.根据实施方式21或22所述的方法,其还包括施用新鲜冰冻血浆。

[0117] 实施方式24. 根据实施方式21至23中任一项所述的方法, 其还包括施用静脉内免疫球蛋白。

[0118] 实施方式25. 根据实施方式21至24中任一项所述的方法, 其还包括施用抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、硼替佐米、依库珠单抗或其组合。

[0119] 实施方式26. 根据实施方式21至25中任一项所述的方法, 其中所述器官是实质器官。

[0120] 实施方式27. 根据实施方式26所述的方法, 其中所述实质器官选自由以下组成的组: 肾脏、胰脏、肠、心脏、肺脏、肝脏及其组合。

[0121] 实施方式28. 根据实施方式21至27中任一项所述的方法, 其中所述器官是肾脏。

[0122] 实施方式29. 一种药物组合物, 其包含C1酯酶抑制剂 (C1-INH); 另外的生物活性剂; 以及药学上可接受的载体介质。

[0123] 实施方式30. 如实施方式29所述的药物组合物, 其中所述生物活性剂选自由以下组成的组: 抗淋巴细胞制剂、利妥昔单抗、硼替佐米、依库珠单抗、免疫球蛋白 (Ig) 及其组合。

[0124] 实施方式31. 一种治疗正在接受或已经接受肾移植的患者中的抗体介导的排斥 (AMR) 的方法, 所述方法包括向已经历或当前正在经历血浆除去的患者施用足够治疗量的静脉内免疫球蛋白和C1-INH抑制剂。

[0125] 在以下实施例中描述的实验结果显示可商购获得的血浆衍生的C1-INH可治疗或预防展现AMR的患者中的器官移植排斥。此实施例仅出于说明性目的而提供并且不希望以任何方式限制本发明。

## 实施例

[0126] 随机化、双盲、安慰剂对照试点研究被用于评估Cinryze® (C1酯酶抑制剂[人]) 用于治疗供体致敏的肾移植受体中的急性抗体介导的排斥的安全性和效果。研究的目的是: (a) 评定Cinryze®在具有急性抗体介导的排斥 (AMR) 的肾移植患者中的安全性和耐受性; (b) 评定Cinryze®用于治疗肾移植患者中的急性AMR的作用; 以及 (c) 检查Cinryze®在具有急性AMR的肾移植患者中的药代动力学和药效学。

[0127] 在本研究中, 不存在治疗中止, 没有死亡, 且没有研究药物相关的严重不良事件。

[0128] Cinryze®是作为500U (C1-INH) /小瓶的冻干粉未来供应。利用被批准用于商业销售的Cinryze®产品和灭菌注射用水。Cinryze®的每个小瓶用灭菌注射用水复原。安慰剂由输注用的0.9%氯化钠组成。

[0129] 给药。受试者经2周时间 (图2) 接受总共7个剂量的研究药物 (Cinryze®或安慰剂): 在第1天初始静脉内 (IV) 输注5000U Cinryze® (不超过100U/kg) 或安慰剂, 接着在第3、5、7、9、11及13天IV输注2500U Cinryze® (不超过50U/kg) 或安慰剂。如果血浆除去疗法在与研究药物给药同一天发生, 那么在血浆除去阶段完成之后施用研究药物。

[0130] 研究设计。该研究评定了Cinryze®在HLA供体致敏的肾移植受体中治疗急性AMR

的安全性和作用(图2)。为了使可变性减至最小,仅在必要时使用血浆除去和/或静脉内免疫球蛋白(IVIg)以实现DSA阳性的脱敏和急性AMR的治疗的机构中进行该项研究。研究的受试者具有实现足够的移植后功能及活组织检查证明的AMR的首次(“甄别性”)发病的肾移植,在大多数当前的肾同种异体移植之前或之后同时鉴别到DSA。

[0131] 如图2所示,治疗后评价在第20天和第90天进行。研究的结束被定义为最后一名受试者完成90天评价的日期。补体和C1-INH水平是在截至第20天的特定时间点评定以用于PK/PD测定。另外,在第25天纳入任选的PK/PD采样时间点。另外,在治疗后6个月,由在单移植中心类似地治疗的14个相等随机化的受试者(n=7个安慰剂;n=7个Cinryze)提供另外的评价以确定临床结果。

[0132] 研究药物施用。基于可获得的临床前和临床数据,对于由抗原抗体复合物引发的补体途径抑制足够的C1-INH的生理水平超过正常值至少100%。在健康的受试者中静脉内施用2000UCinryze®之后,功能性C1-INH活性距离基线的平均变化是大约50-60%。假设1UC1-INH活性见于1mL血浆中,为了在患有急性AMR的患者中提高C1-INH的功能活性至少100%,普通成人可能需要约5000U的一个剂量。假设Cinryze®在HAE患者中具有约60个小时的半衰期,每隔一天给予2500U的后续剂量可在整个给药期维持足够的功能性C1-INH水平。因此,随机化到此项研究中的Cinryze®组中的受试者将接受5000U(不超过100U/kg)的负荷剂量,接着是2500U(不超过50U/kg),每隔一天,总共7个剂量。此方案平衡了由抗原抗体复合物引出的抑制补体激活的显而易见的剂量依赖性质,同时使在用剂量≥200U/kg的其他C1-INH化合物的临床前和临床研究中观察到的潜在的凝血风险减至最小。

[0133] 如上所述,总共7个剂量的Cinryze®或安慰剂(0.9%氯化钠溶液供输注用)施用如下:(a)在第1天5000U初始剂量的Cinryze®(不超过100U/kg)或安慰剂作为单静脉内输注;然后(b)静脉内注射2500U的Cinryze®(不超过50U/kg)或安慰剂,每隔一天,持续2周(第3、5、7、9、11及13天)。每个剂量的研究药物是如所耐受以大约1mL(对应于100U的Cinryze®)/分钟的速率静脉内施用。因此,在第1天5000U(50mL)输注的持续时间是大约50分钟且在第3、5、7、9、11及13天2500U(25mL)输注的持续时间是大约25分钟。记录下每次研究药物输注的‘开始’和‘停止’时间和日期。

[0134] 血浆除去、新鲜冰冻血浆、以及IVIg。有待进行血浆除去疗法用于甄别AMR的发病。不管血浆除去方案,研究药物将要在第1、3、5、7、9、11及13天施用。此外,如图3所示,根据需要向某些患者提供标准护理,包括血浆除去、以新鲜冰冻血浆(FFP)、血液和/或IVIg(例如cytogam、gamunex等)形式的血浆置换。

[0135] 药代动力学/药效学。在本研究中,相对于安慰剂进行Cinryze®的药代动力学和药效学分析。就药代动力学分析而论,测定个别受试者的C1-INH抗原和功能性水平。视情况使用最后一次剂量(第13天)之后的基线校正浓度对比时间数据和非区室技术计算主要PK参数。在整个治疗时程中在接受C1-INH或安慰剂的患者中分析C1-INH功能性水平(图4A)。如所预期,针对基线水平校正的C1-INH功能性同组平均量在第3、5、7、9、11及13天接受C1-INH(Cinryze®)的患者中更大。另外,C1-INH功能性的平均基线校正的血浆浓度的差异在

第13天当在较短的时程内测量浓度时是显而易见的(图4B)。因此,在用Cinryze®和血浆除去(和/或IVIg)治疗的患者中,当与安慰剂(即血浆除去(和/或IVIg)单独)相比时存在更大的C1-INH功能性(即,活性经典补体途径抑制剂蛋白酶)浓度。

[0136] 就药效学分析而论,评估个别受试者的补体C1q、C4及C4a水平。收集血样用于测定C1-INH功能性和抗原性以及补体组分C1q、C4及C4a的血浆浓度(表1)。如果血浆除去将要在给药日进行,那么在血浆除去之前以及在研究药物施用之前(即血浆除去后)并且在相对于研究药物输注开始的时间点获得血样用于PK/PD试验。

[0137] 表1. Cinryze®相对于安慰剂的药代动力学和药效学作用的研究

	Cinryze®	安慰剂
抗原(U/mL)	0.477	0.118
功能(U/mL)	0.994	0.309
C1q (µg/mL)	37.9	17.2
C4 (ng/mL)	113	70
C4a (ng/mL)	55	400

[0138] 关于表1, Cinryze®患者展现增强的C1-INH功能性和经典补体系统抑制,其中基线水平被减去用于计算平均值以显示在每个组中研究药物疗法的总体作用。与安慰剂相比, Cinryze®患者显示在血浆中C1-INH抗原性和功能性两者水平的提高(超过基线入门水平),表明更大浓度的活性和总C1-INH,超过患者开始其研究给药的水平。所报道的C1-INH抗原水平是基于蛋白质重量浓度的测量,其中使用 $0.067\text{U/ml} = 1\text{mg/1dL}$ 的换算系数将其转换成U/mL(除非另有陈述)。实际上,C1-INH功能性的未调整的范围(其中不减去基线水平)在Cinryze®疗法结束时是1.59-2.02U/mL。然而,这在统计上并非不同于安慰剂治疗患者的未调整的范围。尽管如此,当检查C1-INH超过其入门水平时,存在显著的同组差异。

[0140] Cinryze®患者展现在液相中补体系统的全身性抑制的证据。用Cinryze®治疗的患者展现C1q和C4的增加了的血浆浓度(针对基线入门水平来校正),C1q和C4是经典的补体途径蛋白,如果经典补体途径没有受到抑制的话,这些蛋白将在血浆中展现减小的浓度。然而,因为C1q和C4的浓度增加,所以这指示一定水平的全身性抑制。

[0141] 最终,经典的补体途径抑制通过与安慰剂相比C4a血浆浓度的减小得到证实。通常,一旦补体系统激活C4被转化为C4a,C4的血浆浓度便减小。本分析表明用另外的外源性C1-INH(Cinryze®)治疗的患者展现增加的C1-INH功能蛋白,这明显导致全身补体系统抑制。在检查C1-INH治疗的生理作用时,图5公开了经13天时程用Cinryze®或安慰剂与血浆除去(和/或IVIg)组合治疗的患者组之间的平均肾功能(即肌酐清除率)的差异。

[0142] 慢性肾小球病(CG)是移植患者中AMR的临床标记。图6A显示了在六个月时的正常肾组织。图6B显示了作为持续的AMR的结果的CG。在用安慰剂治疗的那些患者中,7个中有3个显示CG,而在用Cinryze®治疗的那些患者中,7个中仅有1个显示CG。这些组织研究是通

过所获得的肾组织的电子显微镜检查(EM)得到证实(图7)。图7A显示肾组织的正常EM图像,而图7B显示具有CG的肾组织的电子显微照片。检查了所述电子显微照片,已确定在用安慰剂作为标准护理(血浆除去和/或IVIg)的辅助剂治疗的那些患者中,7个中有3个展现与CG一致的病理,而在用Cinryze®作为标准疗法的辅助剂治疗的那些患者中,7个中有1个展现与CG一致的病理。

[0143] 另外,在用安慰剂或Cinryze(R)治疗的患者中第13天C1-INH抗原水平和功能性C1-INH水平与患者的6个月临床结果相关联。首次测量第13天基线调整(即校正)和未调整的C1-INH抗原和功能性水平(图8)。然后将来自这些测量的数据与同一患者的6个月临床结果以图形方式相关联(图9A至9H)。如图9A和9B所示,与用安慰剂(图9A)治疗的相比在用Cinryze(R)(图9B)治疗的那些患者中存在较小的CG发病率,其中Cinryze(R)患者展现14%CG而接受安慰剂的患者展现43%CG。

[0144] 在治疗后6个月时还确定,在第13天显示超过其基线入门水平的低C1-INH抗原性水平的那些患者还展现存在CG。因此,在经基线校正的C1-INH抗原与肾组织中CG的存在之间存在观测到的相关性。

[0145] 此外,如图10A和10B中所示,通过血浆除去耗尽血清C1-INH抗原性和功能性水平。例如,如图10所示,血浆除去使平均C1-INH抗原性和功能性水平分别降低了17.6%(图10A)和43.3%(图10B)。

[0146] 本发明包括使用C1-INH(例如Cinryze®)作为疗法和/或标准护理(即,血浆除去和IVIg:两者都解决了供体特异性抗体)的附加疗法来治疗和/或预防移植患者的AMR的方法。本发明出乎意料的方面是在移植患者中用C1-INH的早期和/或短期持续治疗在C1-INH治疗给药已经停止之后还产生较长期的益处。

[0147] 此外,给药方案提供出乎意料的益处。目前不知道肾移植患者是否曾实现足以有效地减少全身或移植同种异体移植植物内的补体激活的C1-INH功能蛋白水平。实际上,选择20,000个单位的剂量,经13天以分次剂量给予。此剂量是令人满意的,不仅在临床上,而且是在增加血清C1-INH功能性水平超过基线上。

[0148] 因此,本研究显示当肾移植患者用20,000个单位的Cinryze®经13天治疗时:(a)剂量方案受到肾移植患者的良好耐受;(b)所述患者维持C1-INH的超生理水平作为Cinryze®治疗的结果;(c)所述患者显示肾功能的早期改善;以及(d)所述患者显示相对于安慰剂在6个月时的较轻肾小球病。因此,所测试的治疗方法与本领域中目前的治疗相比提供针对AMR的持久治疗效果。

[0149] 虽然在以上已经描述和/或举例说明了本发明的某些实施方案,但根据前面的公开,各种其他实施方案对于本领域的那些技术人员来说是显而易见的。本发明因此不限于所述和/或所例示的特定实施方案,而是在不偏离所附实施方式书的范围和精神的情况下能够进行大量变动和修改。

[0150] 此外,当在所附实施方式书中以原始和修改形式使用时,过渡性术语“包括”、“基本上由...组成”和“由...组成”关于哪种未指出的另外的实施方式要素或步骤(如果有的话)是排除在实施方式范围之外来限定实施方式范围。术语“包括”是包含性的或开放式的并且不排除任何另外的未指出的要素、方法、步骤或物质。术语“由...组成”排除在实施方

式书中指定的那些之外的任何要素、步骤或物质并且在后一情况中,通常与指定物质有关的杂质。术语“基本上由...组成”将实施方式书的范围限制为指定的要素、步骤或物质以及实质上不影响要求保护的专利的基本和新颖特性的那些。体现本发明的本文所述的所有组合和方法可在替代实施方案由过渡性术语“包括”、“基本上由...组成”和“由...组成”中的任一个更具体地限定。

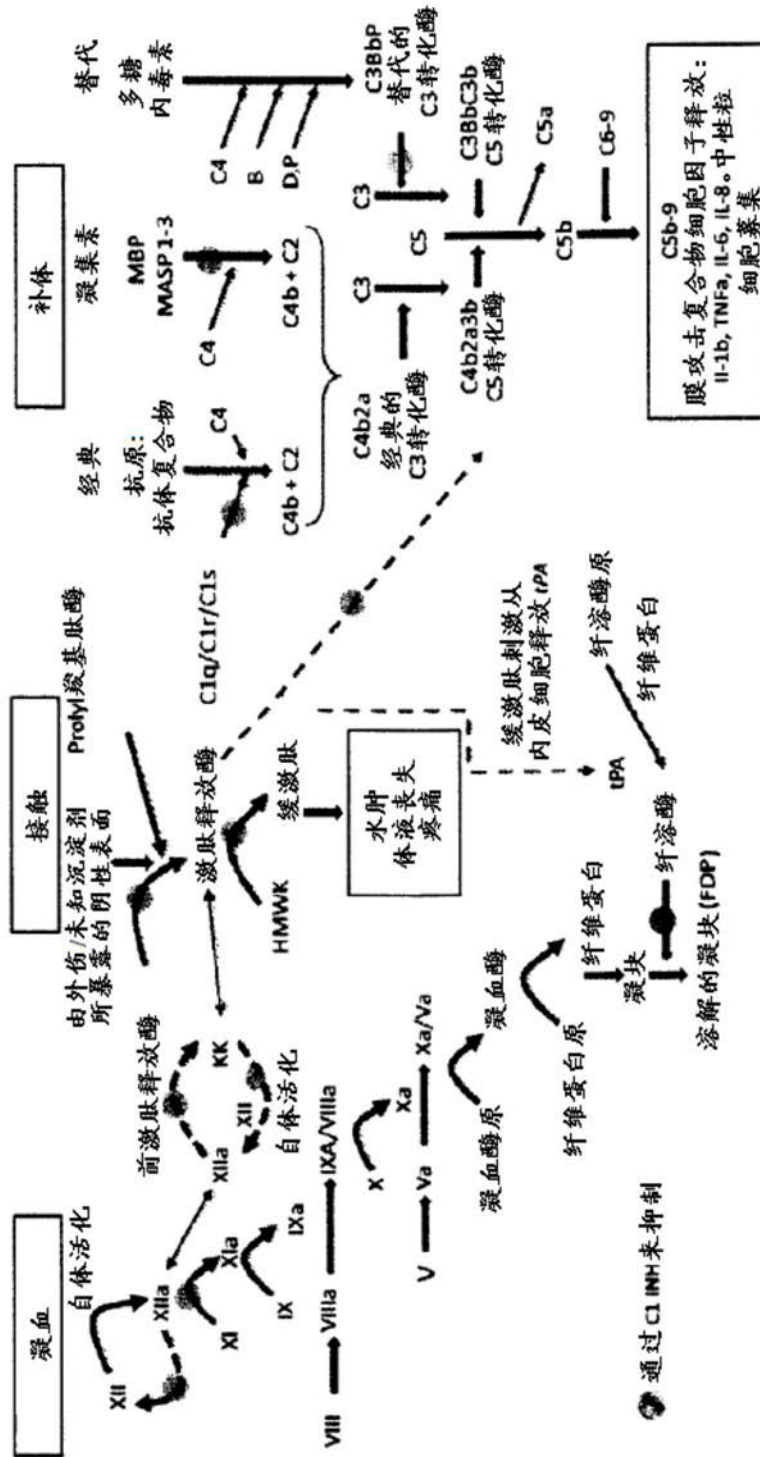


图1

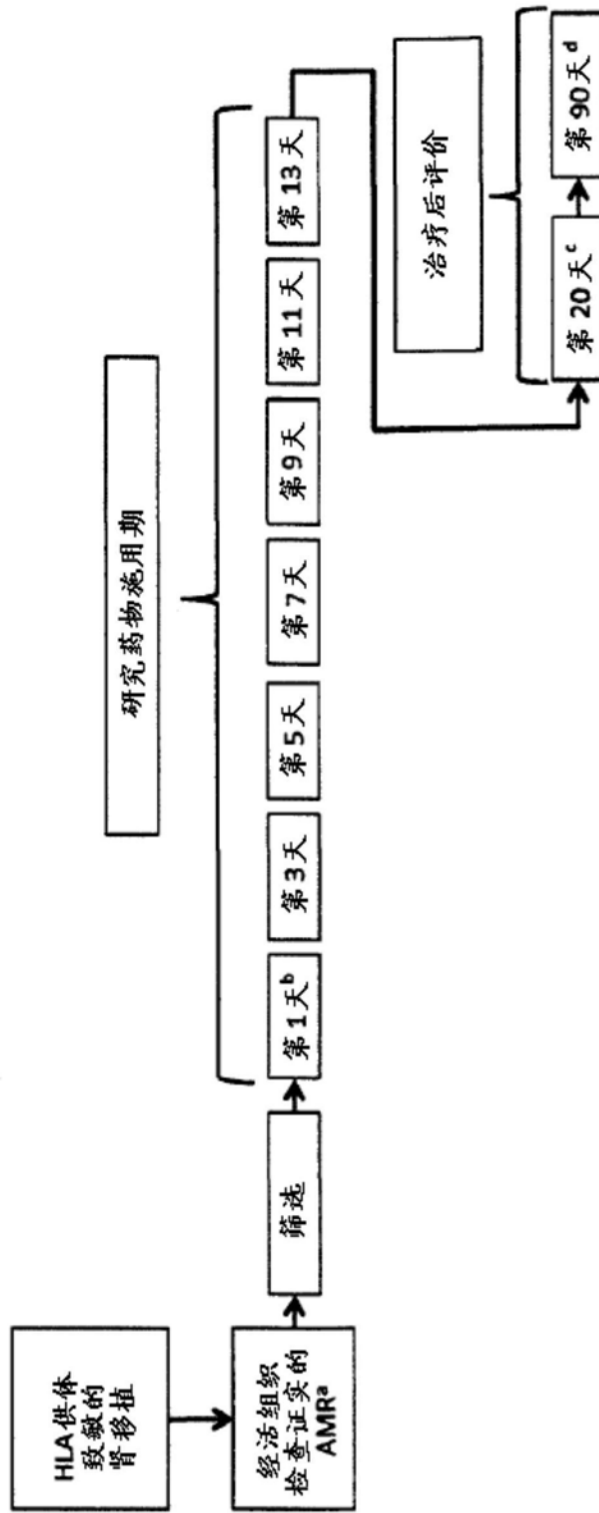


图2

受试者 编号	血浆除去日	血浆除去次数第1-20天	血浆置换(第1-20天)	血液(第1-20天)	IVig(第1-20天)	IVig产物
2010102	2, 4, 6, 8, 10, 11, 12, 13-19	14	在第1和13天, 2个单位FFP	无	无	n/a
2010104	2, 4, 6, 8, 9, 15	11	在第10天, 2个单位PRBC 在第2和3天, 2个单位FFP	在第13天, 2个单位PRBC	无	n/a
2010105	1, 2, 3, 5, 7	5	在第2和3天, 2个单位FFP	无	无	n/a
2010106	2, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 12	8	在第2, 3, 4, 5天, 2个单位PRBC	无	无	n/a
2010107	1, 2, 4, 6, 8, 12	6	无	无	无	n/a
2010108	2, 4, 6, 8, 11	5	无	无	在第4, 6, 8, 11天, 在7000mg	cytogram
2010109	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12	8	无	在第5天, 1个单位PRBC	在第1, 3, 4, 5, 6, 7, 9和12天, 5000mg	cytogram
2010110	1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 13, 15, 18, 20	12	在第1, 2, 3, 4, 9天, 2个单位PRBC	在第12天, 2个单位PRBC	在第6, 11, 13, 15天, 7000mg	cytogram
2010111	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 17, 19	16	在第1至12天每天 2个单位FFP	在第2, 8, 9天, 1个单位PRBC	在第14, 16, 17, 19和21天, 7000mg	cytogram
2010112	1, 2, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 15	9	在第3和5天, 2个单位PRBC	无	在第1, 2, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13, 15天, 9, 10, 000mg	cytogram
2010113	2, 3, 5, 6, 8, 10, 11, 13, 15, 17	10	在第2, 3, 5, 6天, 2个单位FFP	无	在第1至11天, 4000mg	cytogram
2010114	1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 14	11	在第1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 第13天, 2个单位PRBC	在第2, 3, 8, 9, 13天, 1个单位PRBC	在第5, 6, 7, 9, 13, 15, 1, 000mg 和在第11, 16, 17, 18和19天, 50, 000mg	>0,000个单位的cytogram, 1,000mg cytogram
2010115	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14	12	在第5, 6, 7, 8, 9, 10, 11天, 2个单位FFP	在第1和10天, 1个单位PRBC	在第2至12和15天, 6000mg	cytogram
2010116	1, 2, 4, 6, 7, 9, 11, 13	8	无	在第3和5天, 2个单位PRBC	在第1, 7, 9, 11和13天, 6000mg	cytogram
2010201	n/a	0	无	无	无	n/a
2010202	n/a	0	无	无	在第3和5天, 70mg	未指定
2010401	1, 3, 5, 7, 9, 11, 13	7	无	无	无	n/a
2010501	4, 6, 8, 12, 14, 16	6	无	无	无	n/a

AVG 血浆除去  
天数组  
CHRYZE 7天  
安慰剂 7.44天

图3

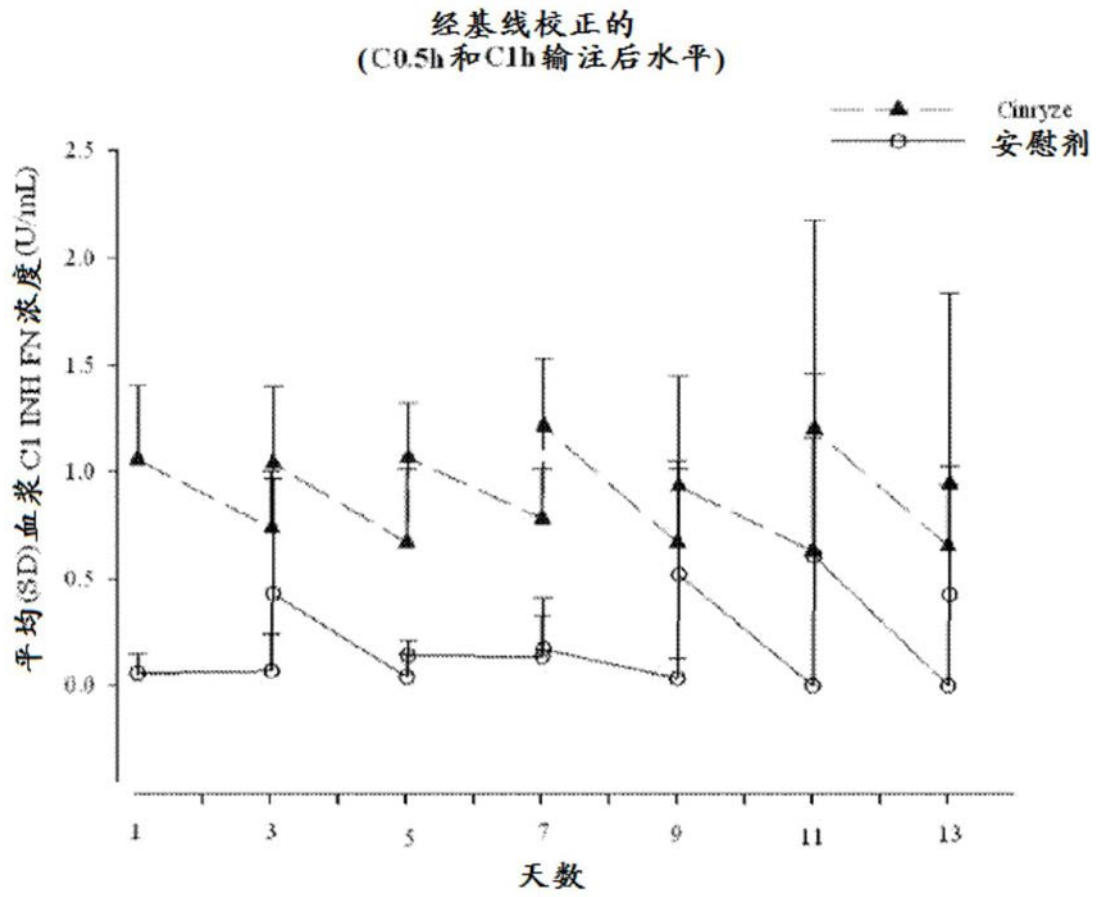


图4A

第13天  
经基线校正的

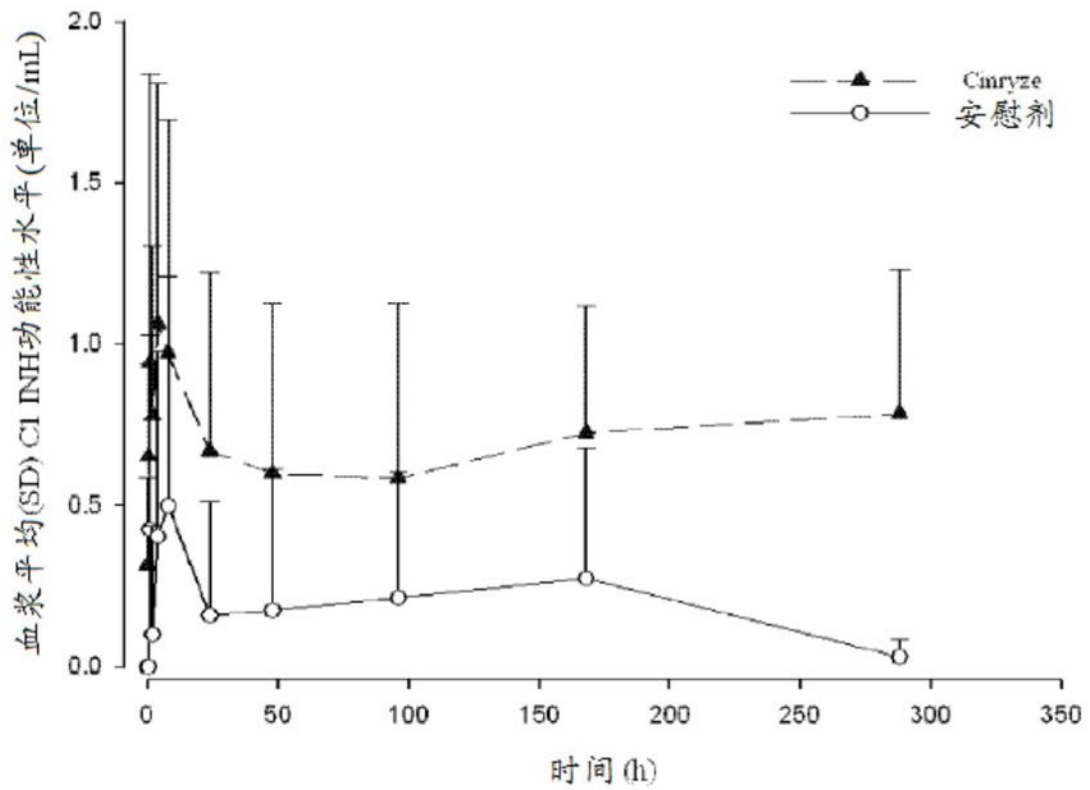


图4B

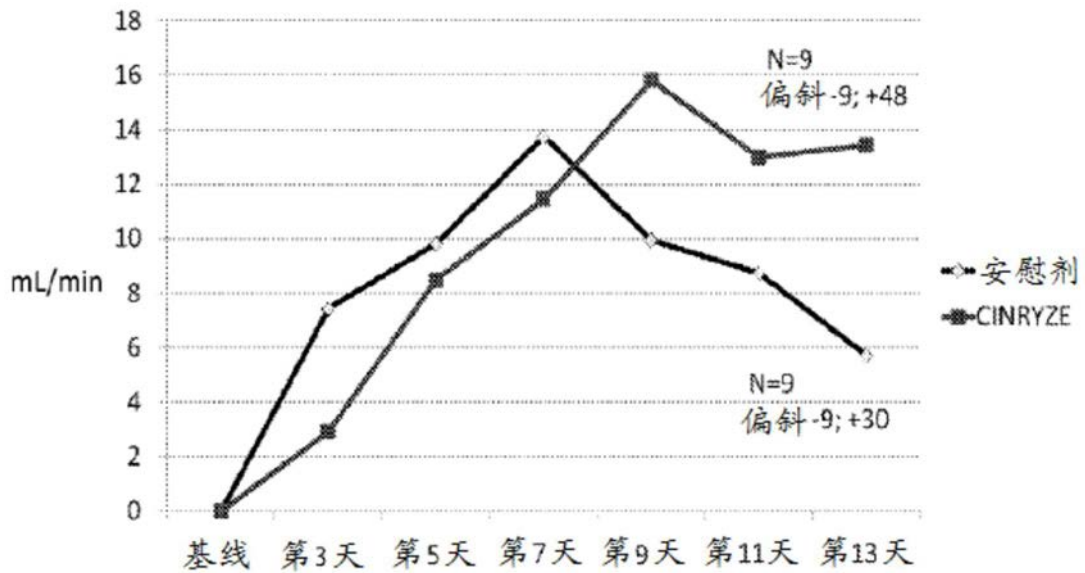


图5

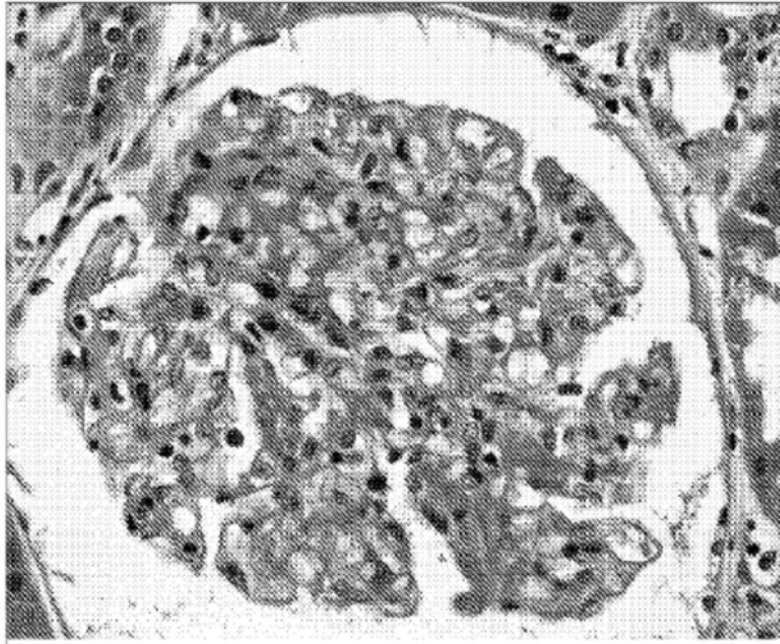


图6A

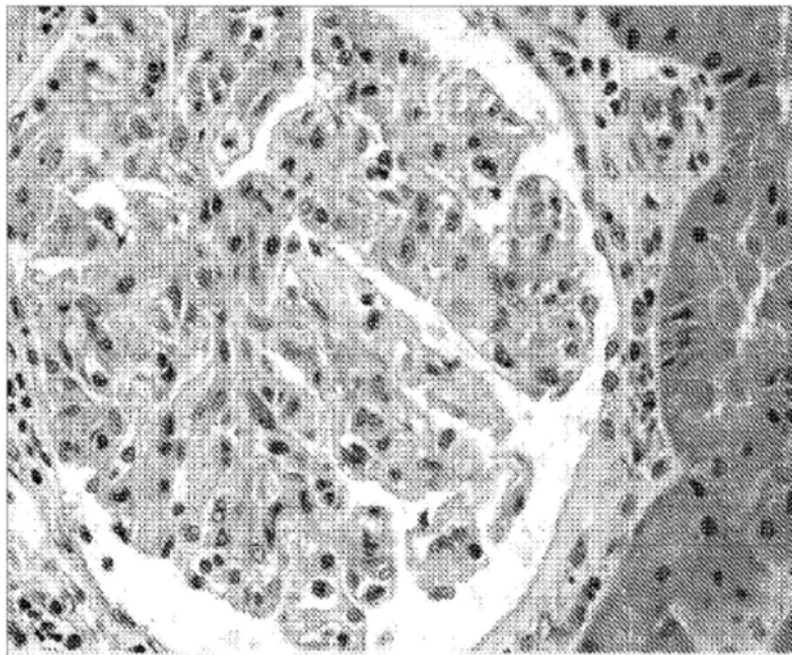


图6B



图7A



图7B

用安慰剂治疗的受试者

	经基线调整的		未被调整的	
	C1 INH 抗原 (U/mL)	C1 INH 功能 (U/mL)	C1 INH 抗原 (U/mL)	C1 INH 功能 (U/mL)
2010102	0	23	10.1	169
2010105	6	127	15	181
2010108	0	0	15	197
2010110	1.6	49	17	134
2010112	0	42	13.8	115
2010113	2.5	24	16.9	105
2010115	7	13	21.2	127

用 Cinryze® 治疗的受试者

	经基线调整的		未被调整的	
	C1 INH 抗原 (U/mL)	C1 INH 功能 (U/mL)	C1 INH 抗原 (U/mL)	C1 INH 功能 (U/mL)
2010104	7	78	17	164
2010106	8	129	16	185
2010107	9	180	14	202
2010109	15	105	27	191
2010111	6.8	87	22.5	173
2010114	3.9	73	20.7	169
2010116	6.6	44	22.9	166

图8

### C1 INH Ag (经基线校正的)

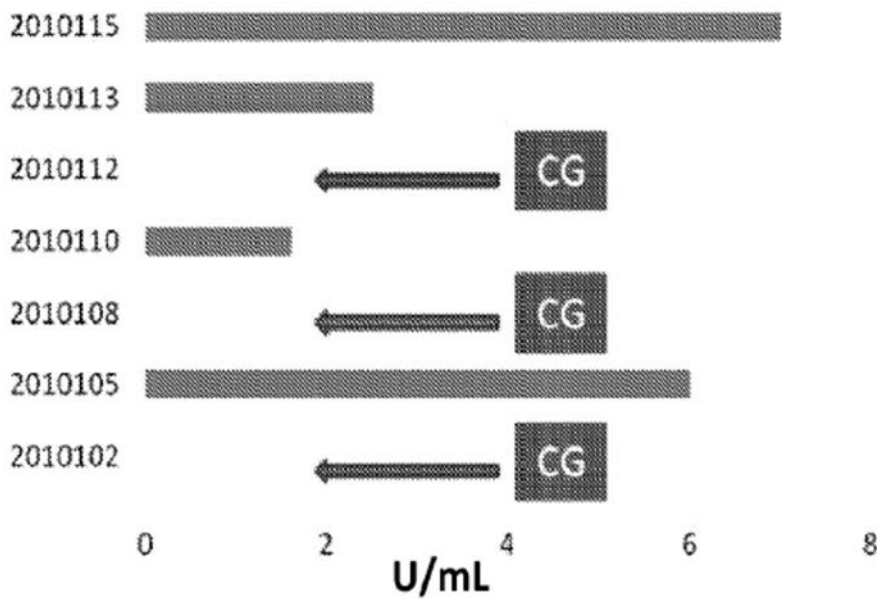


图9A

### C1 INH Ag (经基线校正的)

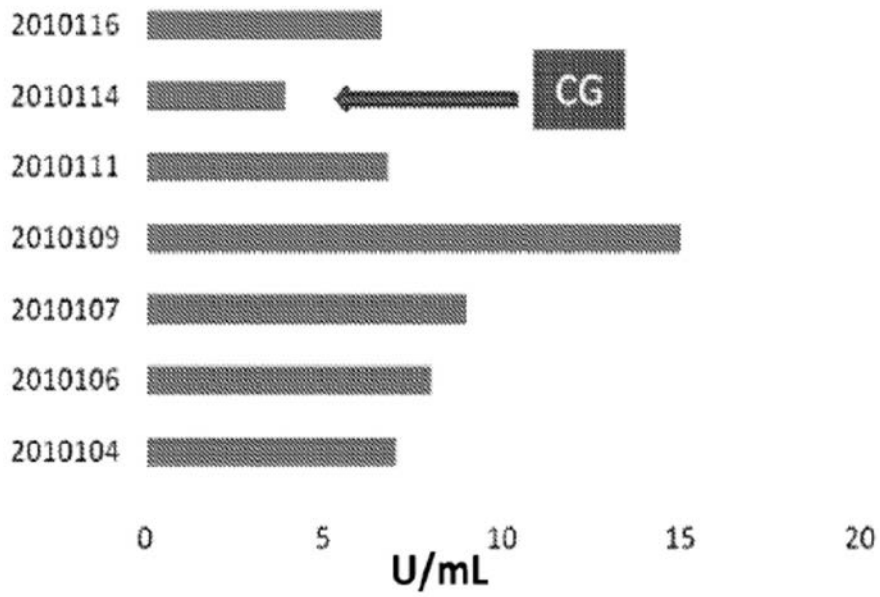


图9B

### C1 INH Fncf (经基线校正的)

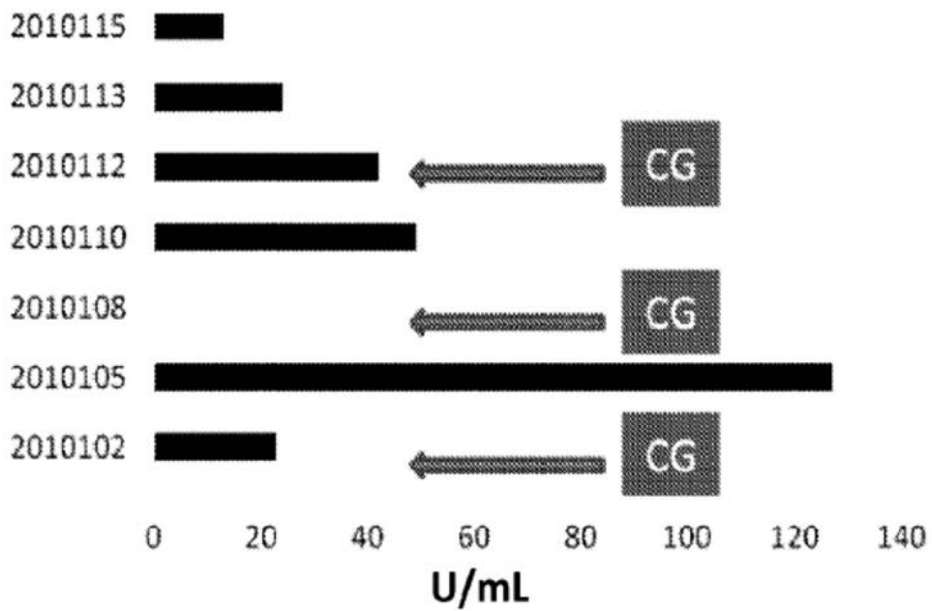


图9C

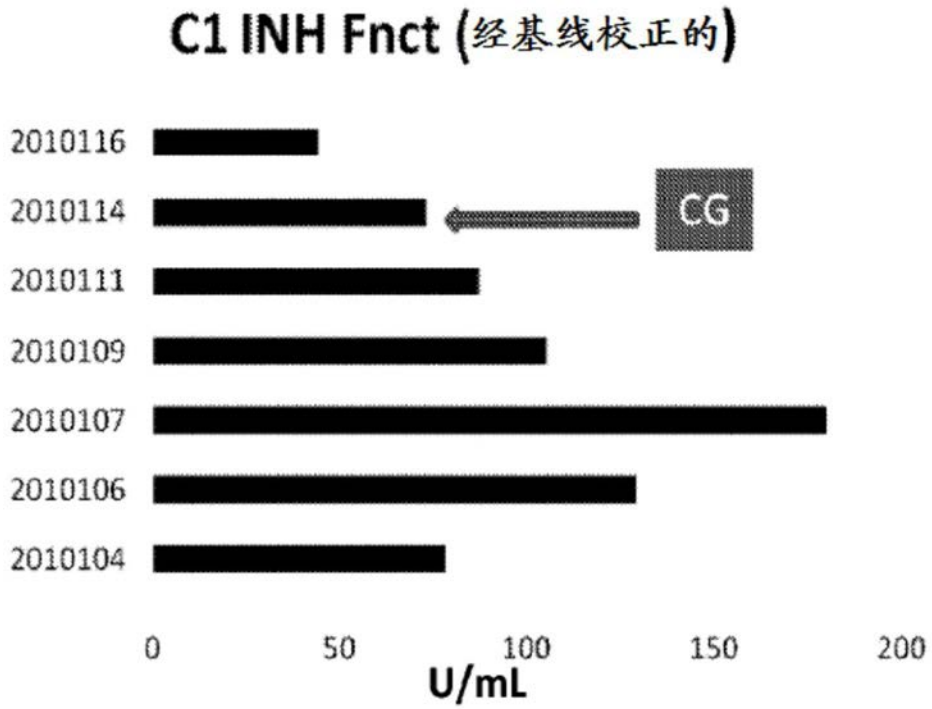


图9D

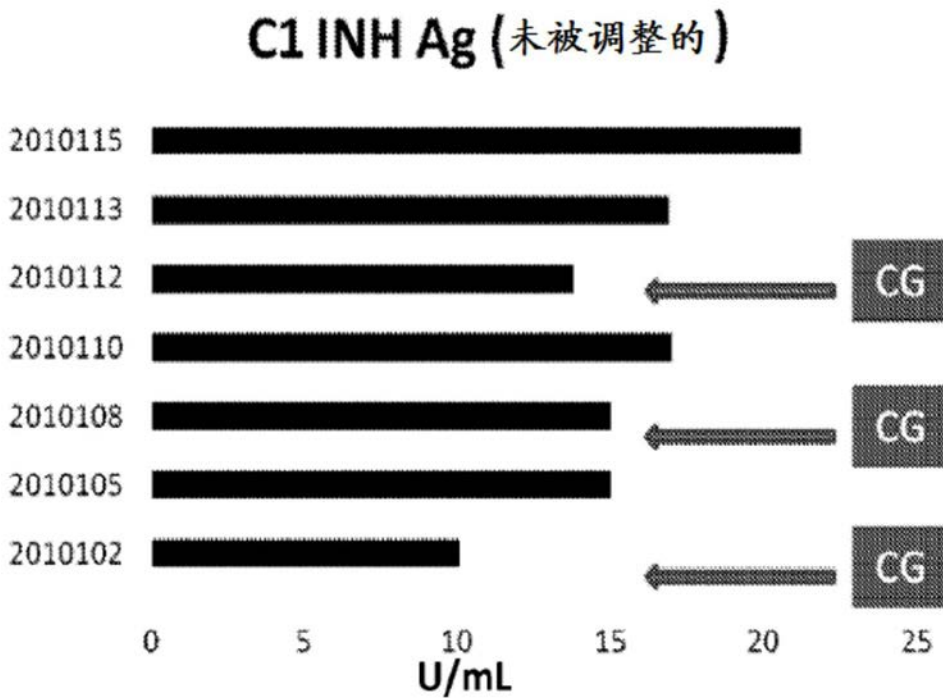


图9E

### C1 INH ag (未被调整的)

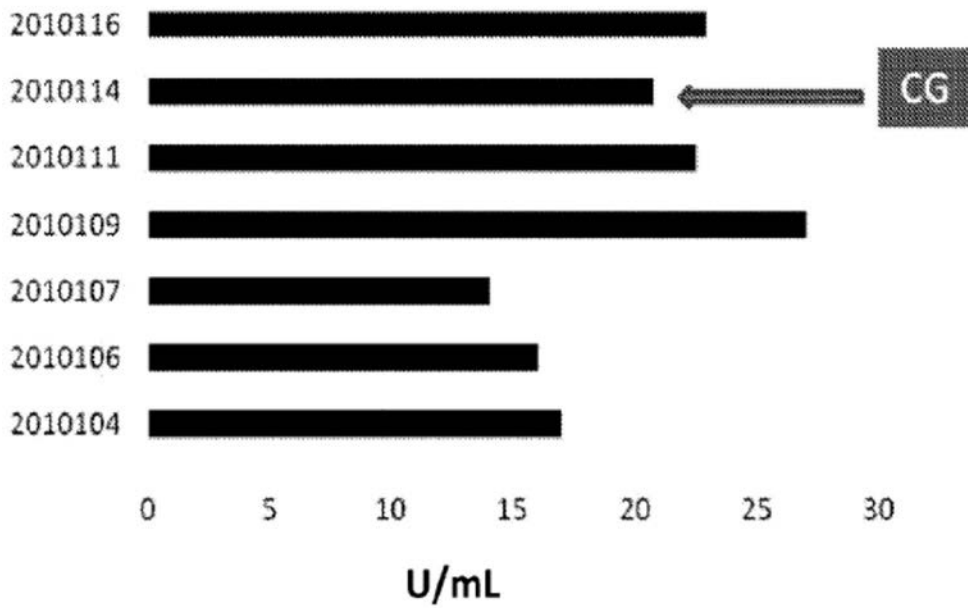


图9F

### C1 INH 功能 (未被调整的)

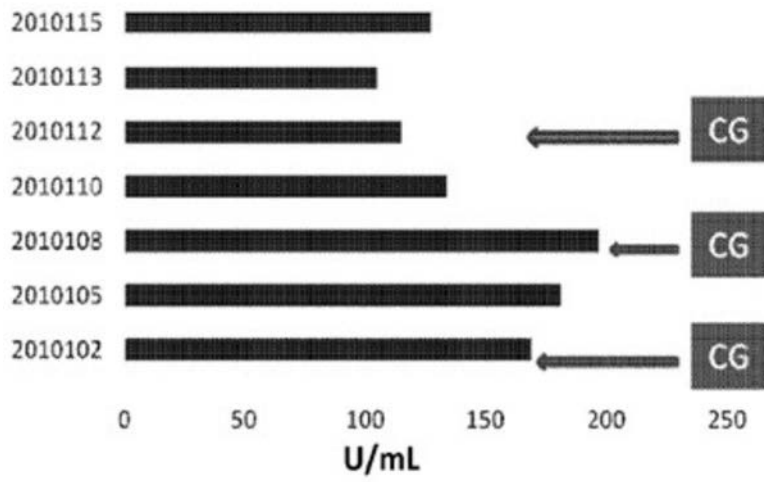


图9G

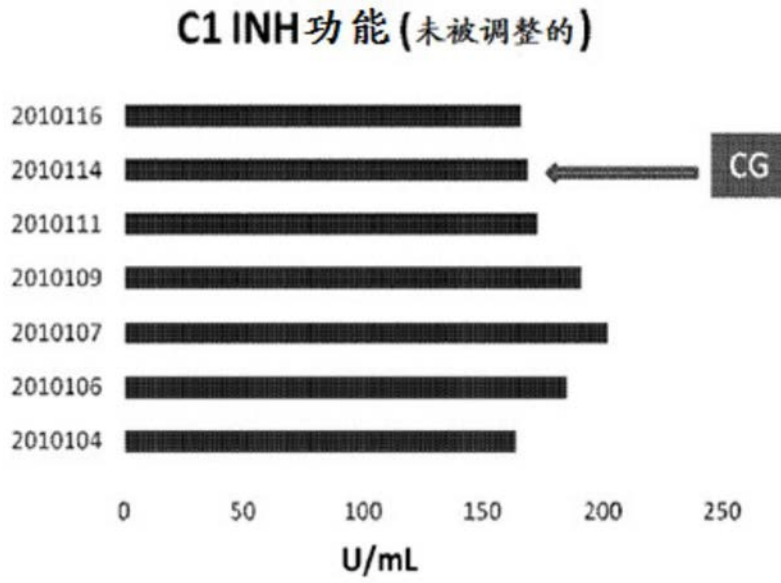


图9H

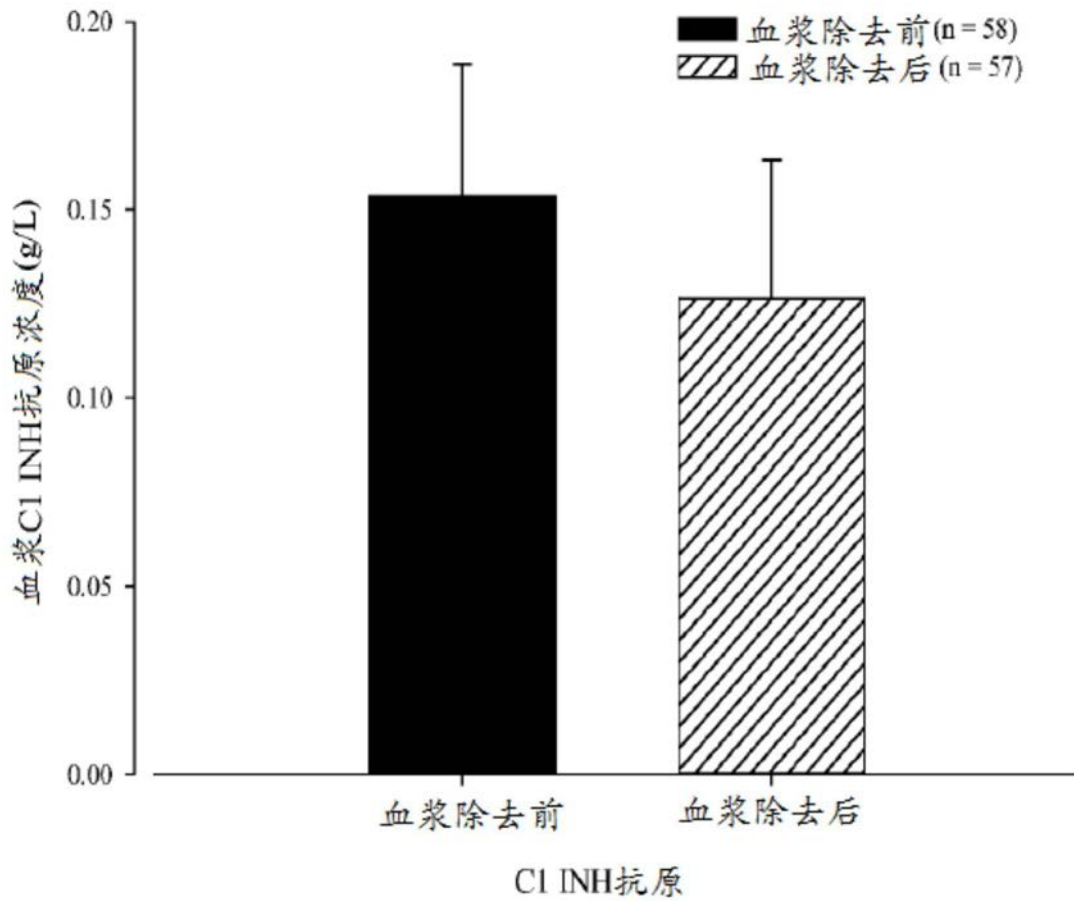


图10A

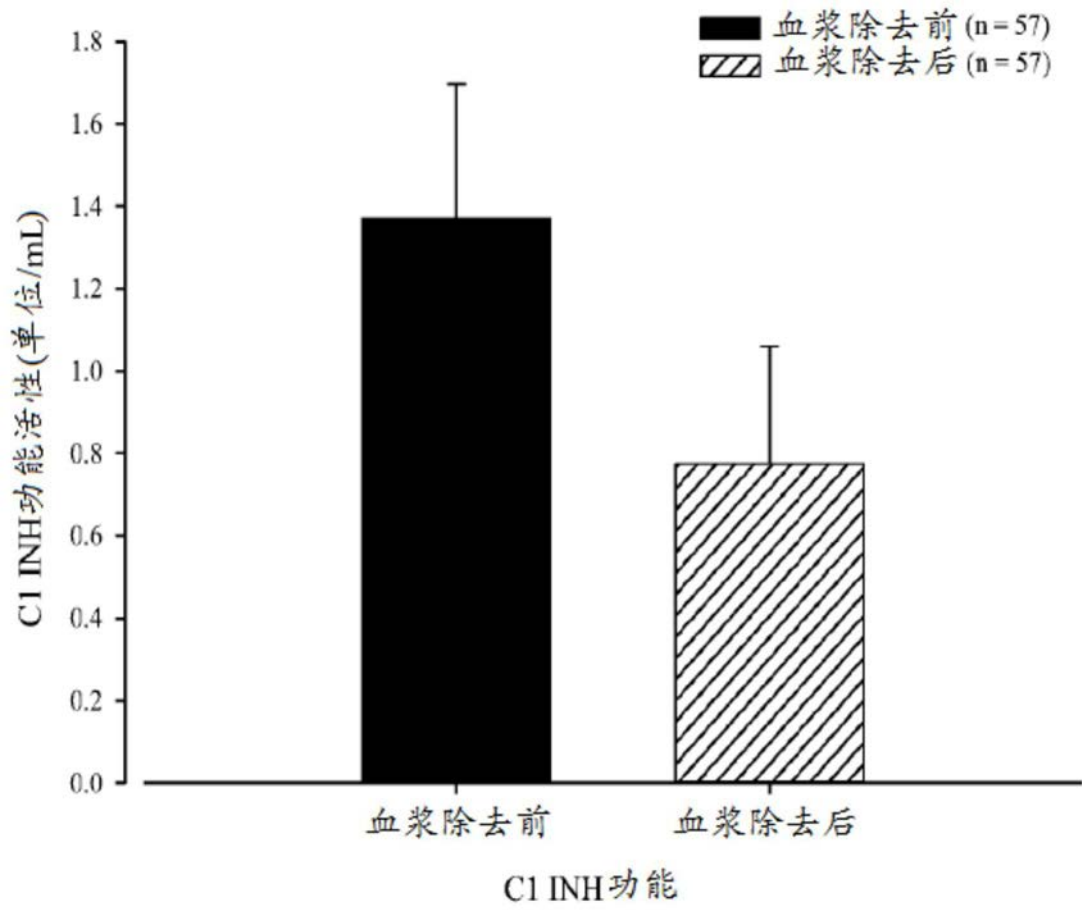


图10B