



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119733046 A

(43) 申请公布日 2025.04.01

(21) 申请号 202411925146.7

(51) Int.Cl.

(22) 申请日 2019.02.05

A61K 39/395 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 27/02 (2006.01)

62/627,103 2018.02.06 US

A61P 9/10 (2006.01)

62/729,333 2018.09.10 US

(62) 分案原申请数据

201980011416.4 2019.02.05

(71) 申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

申请人 健泰科生物技术公司

(72) 发明人 亚伦·奥斯本 贾亚什里·萨尼

罗伯特·詹姆斯·威克特

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理人 郁红 刘小冬

权利要求书2页 说明书52页

序列表（电子公布） 附图7页

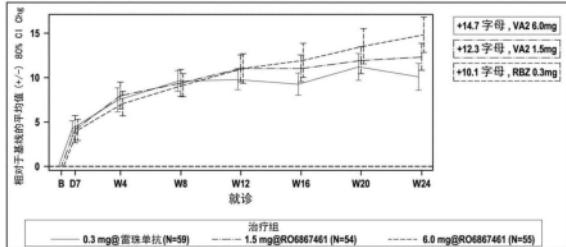
(54) 发明名称

眼科疾病的治疗

(57) 摘要

本发明涉及与VEGF和ANG2结合的抗体用于治疗眼科疾病中的用途。

随着时间的推移到第24周, BCVA相对于基线的变化 (研究眼)
在未经治疗的患者中的主要终点



1. 与人血管内皮生长因子 (VEGF) 和人血管生成素2 (ANG-2) 结合的双特异性抗体在制备用于治疗眼血管疾病或患有眼血管疾病的患者的药物中的用途，

其中所述眼血管疾病是新血管性年龄相关的黄斑变性 (nAMD) ,且所述双特异性抗体以每12周或更低频率玻璃体内施用,以及

所述与人血管内皮生长因子 (VEGF) 和人血管生成素2 (ANG-2) 结合的双特异性抗体是法西单抗 (faricimab) 。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中与所述双特异性抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA) 字母评分相比,所述患者获得12个或更多个使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究 (ETDRS) 样图表测量的BCVA字母。

3. 根据权利要求1所述的用途,其中所述患者在施用所述双特异性抗体之后经历了视力的改善,所述改善是如通过以下测量的:与双特异性抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA) 字母评分相比,获得12个或更多个使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究 (ETDRS) 样图表测量的BCVA字母。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中在所述BCVA BCVA/ETDRS中字母的获得是在治疗开始后,分别在4周,和/或在8周,和/或在12周,和/或在16周,和/或在20周,和/或在24周测量的。

5. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中在所述BCVA BCVA/ETDRS中字母的获得是在治疗开始后,分别在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周,和/或在54周,和/或在55周,和/或在56周,和/或在57周,和/或在58周,和/或在59周,和/或在60周测量的。

6. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述双特异性抗体用于延长再治疗时间和/或延长到达视力丧失的时间 (例如,最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA) BCVA/ETDRS) ,并且其中在疾病活动性被确定为是以下情况时,再治疗被认为是有必要的:

中央子域厚度 (CST) 增加 $\geq 50\mu\text{m}$ (在使用频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 的一项权利要求中) ;和/或最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA/ETDRS) 减少 ≥ 5 个字母。

7. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途),其中所述双特异性抗体在3至7个每月一次施用的治疗起始后施用。

8. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中每12周施用所述双特异性抗体。

9. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中每12至13周施用所述双特异性抗体。

10. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中每12至14周施用所述双特异性抗体。

11. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中每13至15周施用所述双特异性抗体。

12. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中每14至16周施用所述双特异性抗体。

13. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述双特异性抗体以每次治疗约5至7mg的剂量施用。

14. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述双特异性抗体以每次治疗约6mg的剂量施用。

15. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述双特异性抗体以约30mg/ml的浓度施用。

16. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述双特异性抗体以约120mg/ml的

浓度施用。

17. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中患有眼血管疾病的患者先前未用抗VEGF治疗(例如单一疗法)治疗。

18. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中患有眼血管疾病的患者先前已经用抗VEGF治疗(例如单一疗法)治疗。

19. 根据权利要求1至3所述的用途,其中对患有AMD的患者的治疗包括在治疗起始之后的给药时间表,该给药时间表在稳定地不存在疾病时延长施用间隔,或者在存在疾病活动性时缩短施用间隔。

20. 根据权利要求25所述的用途,其中所述给药时间表包括患者根据其疾病状态接受Q12W或Q16W给药。

21. 根据权利要求25所述的用途,其中所述稳定地不存在疾病在被确定为-中央子域厚度(CST)增加了<50 μm ;和/或

-最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了<5个字母
且疾病活动性确定为-中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50\mu\text{m}$;和/或
-最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了 ≥ 5 个字母。

22. 根据权利要求25所述的用途,其中所述稳定地不存在疾病在被确定为-中央子域厚度(CST)低于约300 μm ,
且疾病活动性确定为-中央子域厚度(CST)高于约300 μm 。

眼科疾病的治疗

[0001] 本申请是申请日为2019年2月5日、申请号为201980011416.4、发明名称为“眼科疾病的治疗”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 本发明涉及与VEGF和ANG2结合的抗体用于治疗眼科疾病中的用途。

发明背景

[0004] 血管发生牵涉多种病症的发病机制,所述病症包括实体瘤、眼内新生血管性综合征诸如增殖性视网膜病变或年龄相关的黄斑变性、类风湿性关节炎、和银屑病(Folkman, J. 等, J. Biol. Chem. 267 (1992) 10931-10934; Klagsbrun, M. 等, Annu. Rev. Physiol. 53 (1991) 217-239; 和Garner, A., Vascular diseases, 于: Pathobiology of ocular disease, A dynamic approach, Garner, A. 和Klintworth, G.K. (编), 第二版, Marcel Dekker, New York (1994), 第1625页-第1710页)

[0005] 雷珠单抗(ranibizumab) (商品名Lucentis®) 是与贝伐单抗(Avastin®)源自同一亲本鼠抗体的单克隆抗体片段。然而,已经使其亲和力成熟以提供与VEGF-A的更强结合(WO 98/45331)。已知VEGF-A的全身性阻断与某些不良事件的风险增加有关,因此雷珠单抗缺少Fc部分以减少全身性暴露和全身毒性的风险。它是一种抗血管生成剂,已被批准用于治疗“湿性”型的年龄相关性黄斑变性(新生血管性AMD),这是一种与年龄相关的视力丧失的常见形式。

[0006] 角膜血管生成测定法已经显示了ANG-1和ANG-2两者都具有类似的效果,与VEGF协同作用以促进新血管的生长。Asahara, T., 等, Circ. Res. 83 (1998) 233-40。由于观察到在体外于高浓度下,ANG-2也能是促血管生成,从而提出了存在剂量依赖性内皮反应的可能性(Kim, I., 等, Oncogene 19 (2000) 4549-52)。在高浓度时,ANG-2在血清剥夺凋亡期间经由PI-3激酶和Akt途径经由激活Tie2充当内皮细胞的细胞凋亡存活因子(Kim, I., 等, Oncogene 19 (2000) 4549-52)。

[0007] 眼血管疾病,例如“湿性”年龄相关性黄斑变性(AMD)和增生性糖尿病视网膜病变(PDR),分别是由于脉络膜或视网膜新生血管形成异常所致。这些血管的出血和渗漏能够导致视网膜功能障碍和视力(cision)丧失。其他视网膜血管疾病,例如糖尿病性黄斑水肿(DME)和继发于视网膜静脉阻塞(RVO)的黄斑水肿是由于异常的视网膜渗漏导致视网膜肿胀和损害视力功能。这些条件是工业化国家中视力丧失的主要原因。由于视网膜由神经元的、神经胶质的和血管的元素的明确定义的层组成,因此相对小的障碍(例如在血管增生或水肿中见到的障碍)会导致视觉功能的严重丧失。遗传性视网膜变性,例如色素性视网膜炎(RP),也与血管异常例如小动脉变窄和血管萎缩有关。它们影响3500个个体中的多达1个个体,并且特征在于进行性夜盲症、视野丧失、视神经萎缩、小动脉衰减和中枢性视力丧失,这些疾病常常发展为完全失明。

[0008] 缺血性视网膜病的特征在于视网膜血管系统的丧失或功能障碍,其导致血流量减少和缺氧。视网膜通过生成信号以生长新血管来对缺氧作出响应,但这些新血管通常是脆弱和紊乱的。这些异常的新血管的生长对视力构成了最大的威胁,因为它们可能渗漏,出血

或导致瘢痕形成,这些最终可能导致视网膜脱落。目前对缺血性视网膜病的治疗试图阻止病理性血管的生长,但并不解决驱动其生长的潜在的局部缺血。此外,糖尿病性视网膜病(一种影响数以百万计的缺血性视网膜病)的标准治疗包括用激光破坏部分视网膜,以试图破坏缺血性组织,以阻止新血管的生长并保持中心视力。已采用策略来阻断血管内皮生长因子(VEGF)的功能,VEGF是异常血管生长和渗漏的主要促进剂。在短期内,抗VEGF疗法可以改善视力,但并不解决潜在的局部缺血,实际上可能加剧这种状况,因为它抑制了所有血管的生长,包括有益的脉络。在老年人和/或糖尿病患者中也存在这些药物全身暴露的严重关切的问题,在这些患者中,在缺血性脑,心脏或四肢中可能需要新的血管生长。

发明内容

[0009] 根据本发明的一个方面,提供了用于治疗患有眼血管疾病的患者的方法,用途,双特异性抗体(的应用),药物或药物制剂,该方法包括向所述患者施用有效量的与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,

[0010] 其中所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率;在一个实施方案中,每16周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0011] 本发明的一方面是用于治疗患有眼血管疾病的患者的这样的方法、用途、双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂(的应用),所述方法、用途、双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂(使用)包括向患者(玻璃体内)施用有效量的与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,其中与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,所述患者获得12个或更多个使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母(在一个实施方案中13或更多个字母,在一个实施方案中14个或更多个字母,在一个实施方案中15个或更多个字母)。在一个实施方案中,所述双特异性抗体每8周或更不频繁地玻璃体内施用。本发明的一个实施方案是治疗患有眼血管疾病的患者的方法,所述方法包括向所述患者(玻璃体内)施用有效量的与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素结合的双特异性抗体,其中所述患者在施用双特异性VEGF/ANG2抗体之后经历了视力的改善,所述改善是如通过以下测量的:与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,获得12个或更多个使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母(在一个实施方案中13或更多个字母,在一个实施方案中14个或更多个字母,在一个实施方案中15个或更多个字母)。在一个实施方案中,所述双特异性抗体每8周或更不频繁地玻璃体内施用。

[0012] 在本发明的一个实施方案中,在所述BCVA/ETDRS字母评分中字母的获得是在治疗开始后,分别在4周,和/或在8周,和/或在12周,和/或在16周,和/或在20周,和/或在24周测量的。

[0013] 在本发明的一个实施方案中,在所述BCVA/ETDRS字母评分中字母的获得是在治疗开始后,分别在24周,和/或在25周,和/或在26周,和/或在27周,和/或在28周,和/或在29

周,和/或在30周,和/或在31周,和/或在32周,和/或在33周,和/或在34周,和/或在35周,和/或在36周,和/或在37周,和/或在38周,和/或在39周,和/或在40周,和/或在41周,和/或在42周,和/或在43周,和/或在44周,和/或在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周,和/或在54周,和/或在55周,和/或在56周,和/或在57周,和/或在58周,和/或在59周,和/或在60周测量的。在本发明的一个实施方案中,所述眼血管疾病选自下组:与年龄相关的湿性黄斑变性(湿性AMD)、新生血管性AMD、糖尿病性黄斑水肿(DME)、囊样黄斑水肿(CME)、非增殖型糖尿病视网膜病变(NPDR)、增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)、视网膜中央静脉阻塞继发的黄斑水肿、视网膜半静脉阻塞继发的黄斑水肿或分支静脉阻塞继发的黄斑水肿、视网膜炎、结膜炎、葡萄膜炎、脉络膜炎、眼炎症(包括眼组织胞浆菌病或假定的组织胞浆菌病或脉络膜炎)继发的脉络膜新生血管形成(CNV);近视性脉络膜新生血管形成(mCNV)。和外伤、早产儿视网膜病变和虹膜发红/虹膜红变性青光眼继发的脉络膜新生血管形成。

[0014] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是糖尿病性黄斑水肿(DME)。

[0015] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是糖尿病性黄斑水肿(DME),并且BCVA/ETDRS字母评分中字母的获得是在治疗开始后约9至15个月时测量的(在一个实施方案中在9至14个月时,在一个实施方案中在9至12个月时)。

[0016] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是糖尿病性黄斑水肿(DME),并且在所述BCVA/ETDRS中字母的获得是在治疗开始后,分别在36周,和/或在37周,和/或在38周,和/或在39周,和/或在40周,和/或在41周,和/或在42周,和/或在43周,和/或在44周,和/或在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周,和/或在54周,和/或在55周,和/或在56周,和/或在57周,和/或在58周,和/或在59周,和/或在60周测量的。

[0017] 这些时间点很早,通常最大获得直到nAMD的约第6-9个月和DME的第9-12个月才达到。

[0018] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)(,或新血管性年龄相关性黄斑变性(nAMD))。

[0019] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)(,或新血管性年龄相关性黄斑变性(nAMD)),并且BCVA/ETDRS字母评分中字母的获得是在治疗开始后约9至15个月时测量的(在一个实施方案中在6至9个月时,在一个实施方案中在6至12个月时)。

[0020] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)(,或新血管性年龄相关性黄斑变性(nAMD)),并且BCVA/ETDRS字母得分中字母的获得是在治疗开始后,分别在24周,和/或在25周,和/或在26周,和/或在27周,和/或在28周,和/或在29周,和/或在30周,和/或在31周,和/或在32周,和/或在33周,和/或在34周,和/或在35周,和/或在36周,和/或在37周,和/或在38周,和/或在39周,和/或在40周,和/或在41周,和/或在42周,和/或在43周,和/或在44周,和/或在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周测量的。

[0021] 在本发明的一个实施方案中,所述与人VEGF和人ANG2结合的双特异性抗体是双特异性的二价抗VEGF/ANG2抗体,其包含与人VEGF特异性地结合的第一抗原结合位点和与人

ANG-2特异性结合的第二个抗原结合位点,其中

[0022] i) 与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:1的CDR3H区,SEQ ID NO:2的CDR2H区,和SEQ ID NO:3的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:4的CDR3L区,SEQ ID NO:5的CDR2L区,和SEQ ID NO:6的CDR1L区;和

[0023] ii) 与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:9的CDR3H区,SEQ ID NO:10的CDR2H区和SEQ ID NO:11的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:12的CDR3L区,SEQ ID NO:13的CDR2L区和SEQ ID NO:14的CDR1L区,

[0024] 并且其中

[0025] iii) 所述双特异性抗体包含人IgG1亚类的恒定重链区,其包含突变I253A、H310A和H435A以及突变L234A、L235A和P329G(根据Kabat的EU索引编号)。

[0026] 在本发明的一个实施方案中,患有眼血管疾病的患者先前未接受过抗VEGF治疗(例如,单一疗法)(是未经治疗的)。

[0027] 在本发明的一个实施方案中,患有眼血管疾病的患者先前已经用抗VEGF治疗(例如,单一疗法)治疗。

[0028] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是DME,并且患有DME的患者的治疗包括在治疗起始后固定每个第8个周(Q8W)的给药时间表。

[0029] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是DME,并且患有DME的患者的治疗包括在治疗起始后固定的Q12W给药时间表。在本发明的一个实施方案中,治疗起始后,在固定的Q12W给药方案之前进行Q8W的第一个剂量循环。

[0030] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是DME,并且对患有DME的患者的治疗包括在治疗起始之后的给药时间表,该给药时间表在稳定地不存在疾病时延长施用间隔,或者在存在疾病活动性时缩短施用间隔。在本发明的一个实施方案中,这种给药时间表包括患者根据其疾病状态接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W给药。在本发明的一个实施方案中,稳定地不存在疾病被确定为

[0031] -中央子域厚度(CST)增加了<50 μ m;和/或

[0032] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了<5个字母

[0033] 且疾病活动性确定为

[0034] -中央子域厚度(CST)增加了 \geq 50 μ m;和/或

[0035] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了 \geq 5个字母。

[0036] 在本发明的一个实施方案中,眼血管疾病是AMD,并且对患有AMD的患者的治疗包括在治疗起始之后的给药时间表,该给药时间表在稳定地不存在疾病时延长施用间隔,或者在存在疾病活动性时缩短施用间隔。在本发明的一个实施方案中,这种给药时间表包括患者根据其疾病状态接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W给药。在本发明的一个实施方案中,稳定地不存在疾病被确定为

[0037] -中央子域厚度(CST)增加了<50 μ m;和/或

[0038] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了<5个字母

[0039] 且疾病活动性确定为

[0040] -中央子域厚度(CST)增加了 \geq 50 μ m;和/或

[0041] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了 \geq 5个字母。

附图说明

[0042] 图1:从基线到第24周的时间治疗的DME患者的BCVA变化(首次治疗的患者)。VA2是指双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461,其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,SEQ ID NO:18的氨基酸序列,SEQ ID NO:19的氨基酸序列和SEQ ID NO:20的氨基酸序列(玻璃体内施用6.0mg或1.5mg剂量),RBZ是指雷珠单抗(Lucentis®)((以0.3mg剂量玻璃体内施用))。

[0043] 图2:CST,由SD OCT测量的中央子域厚度。从基线到第24周的时间治疗的DME患者的CST变化(首次治疗的患者)。将双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461(玻璃体内施用6.0mg或1.5mg剂量)与雷珠单抗(Lucentis®)((以0.3mg剂量玻璃体内施用))相比,所述双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,SEQ ID NO:18的氨基酸序列,SEQ ID NO:19的氨基酸序列和SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0044] 图3:根据以下两者评估的疾病活动性,进行必要的再次治疗的时间:BCVA减少了≥5个字母且CST增加了≥50 μ m(中断给药后(20周或6个每月一次剂量后=上一次玻璃体内(IVT)施用后的时间)。将双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461(玻璃体内施用6.0mg或1.5mg剂量)与雷珠单抗(Lucentis®)((以0.3mg剂量玻璃体内施用))相比,所述双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,SEQ ID NO:18的氨基酸序列,SEQ ID NO:19的氨基酸序列和SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0045] 图4:根据已发表的结果,DME与其他治疗选项的示意图比较(比较药物Lucentis®(雷珠单抗),Eylea®(阿柏西普),溴利珠单抗(brolucizumab)和VA2(R06867461/RG7716))。

[0046] 图5:评价在患有新生血管性年龄相关性黄斑变性(nAMD)的患者中以12周和16周的间隔施用的双特异性抗体R06867461的研究设计概述。

[0047] 图6:比较双特异性抗体R06867461(包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,SEQ ID NO:18的氨基酸序列,SEQ ID NO:19的氨基酸序列,和SEQ ID NO:20的氨基酸序列(以6.0mg玻璃体内施用)以12周和16周间隔施用和雷珠单抗(Lucentis®)(以0.3mg剂量玻璃体内施用))以4周的间隔施用,患有新生血管性年龄相关性黄斑变性(nAMD)的患者的基线BCVA获得。

[0048] 图7:比较双特异性抗体R06867461(包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,SEQ ID NO:18的氨基酸序列,SEQ ID NO:19的氨基酸序列,和SEQ ID NO:20的氨基酸序列(以6.0mg玻璃体内施用)以12周和16周间隔施用和雷珠单抗(Lucentis®)(以0.3mg剂量玻璃体内施用))以4周的间隔施用,患有新生血管性年龄相关性黄斑变性(nAMD)的患者的基线CST的变化(经由OCT测量)。

发明详述

[0050] 根据本发明的一个方面,提供了用于治疗患有眼血管疾病的患者的方法,该方法包括向所述患者施用有效量的与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,

[0051] 其中所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14

周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0052] 本发明的一个实施方案是治疗患有眼血管疾病的患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素-2(ANG-2)结合的双特异性抗体,其中与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,所述患者获得12个或更多个使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母(在一个实施方案中13或更多个字母,在一个实施方案中14个或更多个字母,在一个实施方案中15个或更多个字母)。在一个实施方案中,所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0053] 本发明的一个实施方案是治疗患有眼血管疾病的患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素-2(ANG-2)结合的双特异性抗体,其中所述患者在施用双特异性VEGF/ANG2抗体之后经历了视力的改善,所述改善是如通过以下测量的:与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,获得12个或更多个使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母(在一个实施方案中13或更多个字母,在一个实施方案中14个或更多个字母,在一个实施方案中15个或更多个字母)。在一个实施方案中,所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0054] 在本发明的一个实施方案中,在所述BCVA/ETDRS字母评分中字母的获得是在治疗开始后,分别在4周,和/或在8周,和/或在12周,和/或在16周,和/或在20周,和/或在24周测量的。

[0055] 在本发明的一个实施方案中,BCVA/ETDRS字母得分中字母的获得是在治疗开始后,分别在24周,和/或在25周,和/或在26周,和/或在27周,和/或在28周,和/或在29周,和/或在30周,和/或在31周,和/或在32周,和/或在33周,和/或在34周,和/或在35周,和/或在36周,和/或在37周,和/或在38周,和/或在39周,和/或在40周,和/或在41周,和/或在42周,和/或在43周,和/或在44周,和/或在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周,和/或在54周,和/或在55周,和/或在56周,和/或在57周,和/或在58周,和/或在59周,和/或在60周测量的。在本发明的实施方案中,BCVA/ETDRS字母得分中字母的获得是在治疗开始后,分别在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周,和/或在54周,和/或在55周,和/或在56周,和/或在57周,和/或在58周,和/或在59周,和/或在60周测量的。

[0056] 在本发明的一个实施方案中,所述方法用于延长再治疗的时间和/或延长视力丧失的时间并且,其中在疾病活动性确定为以下的情况下,施用用双特异性抗体的再治疗:

[0057] 中央子域厚度(CST)增加 $\geq 50\mu\text{m}$ (在使用频域光学相干层析成像(spectral

domain optical coherence tomography) (SD-OCT) 的一个实施方案中);和/或

[0058] 最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少 ≥ 5 个字母。

[0059] 本发明的一个实施方案是与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,其用于治疗眼血管疾病,

[0060] 其中所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0061] 本发明的一个实施方案是与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,其用于治疗患有眼血管疾病的患者,其中与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,所述患者获得12个或更多个(在一个实施方案中13个或更多个,在一个实施方案中14个或更多个,在一个实施方案中15个或更多个)使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母。在一个实施方案中,所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0062] 本发明的一个实施方案是与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,其用于治疗患有眼血管疾病的患者,其中所述患者在(玻璃体内)施用双特异性VEGF/ANG2抗体之后经历了视力的改善,所述改善是如通过以下测量的:与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,获得12个或更多个(在一个实施方案中13个或更多个,在一个实施方案中14个或更多个,在一个实施方案中15个或更多个)使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母。在一个实施方案中,所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0063] 在本发明的一个实施方案中,在所述BCVA/ETDRS字母评分中字母的获得是在治疗开始后,分别在4周,和/或在8周,和/或在12周,和/或在16周,和/或在20周,和/或在24周测量的。

[0064] 在本发明的实施方案中,BCVA/ETDRS字母得分中字母的获得是在治疗开始后,分别在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周,和/或在54周,和/或在55周,和/或在56周,和/或在57周,和/或在58周,和/或在59周,和/或在60周测量的。

[0065] 在本发明的一个实施方案中,这样的双特异性抗体(的应用)用于延长再治疗的时间和/或延长视力丧失的时间并且,其中在疾病活动性确定为以下的情况下,施用用双特异性抗体的再治疗:

[0066] 中央子域厚度(CST)增加 $\geq 50\mu\text{m}$ (在使用频域光学相干层析成像(SD-OCT)的一个

实施方案中) ;和/或

[0067] 最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少 ≥ 5 个字母。

[0068] 本发明的一个实施方案是药物或药物制剂,其包含与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,所述药物或药物制剂用于治疗眼血管疾病,

[0069] 其中所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0070] 本发明的一个实施方案是药物或药物制剂,其包含与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,所述药物或药物制剂用于治疗患有眼血管疾病的患者,其中与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,所述患者获得12个或更多个(在一个实施方案中13个或更多个,在一个实施方案中14个或更多个,在一个实施方案中15个或更多个)使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母。在一个实施方案中,所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0071] 本发明的一个实施方案是药物或药物制剂,其包含与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,所述药物或药物制剂用于治疗患有眼血管疾病的患者,其中所述患者在(玻璃体内)施用双特异性VEGF/ANG2抗体之后经历了视力的改善,所述改善是如通过以下测量的:与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,获得12个或更多个(在一个实施方案中13个或更多个,在一个实施方案中14个或更多个,在一个实施方案中15个或更多个)使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母。在一个实施方案中,所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0072] 在本发明的一个实施方案中,在所述BCVA/ETDRS字母评分中字母的获得是在治疗开始后,分别在4周,和/或在8周,和/或在12周,和/或在16周,和/或在20周,和/或在24周测量的。

[0073] 在本发明的一个实施方案中,BCVA/ETDRS字母得分中字母的获得是在治疗开始后,分别在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周,和/或在54周,和/或在55周,和/或在56周,和/或在57周,和/或在58周,和/或在59周,和/或在60周测量的。

[0074] 在本发明的一个实施方案中,这种药物或药物制剂用于延长再治疗的时间和/或延长视力丧失的时间并且,其中在疾病活动性确定为以下的情况下,施用用双特异性抗体

的再治疗：

[0075] 中央子域厚度 (CST) 增加 $\geq 50\mu\text{m}$ (在使用频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 的一个实施方案中)；和/或

[0076] 最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA/ETDRS) 减少 ≥ 5 个字母。

[0077] 本发明的一个实施方案是与人血管内皮生长因子 (VEGF) 和人血管生成素-2 (ANG-2) 结合的双特异性抗体在制备用于治疗眼血管疾病的药物中的用途，

[0078] 其中所述双特异性抗体每8周或更短频率 (在一个实施方案中每9周或更短频率；在一个实施方案中每10周或更短频率；在一个实施方案中每11周或更短频率；在一个实施方案中每12周或更短频率；在一个实施方案中每13周或更短频率；在一个实施方案中每14周或更短频率；在一个实施方案中每15周或更短频率) 玻璃体内施用 (待施用)。

[0079] 本发明的一个实施方案是与人血管内皮生长因子 (VEGF) 和人血管生成素2 (ANG-2) 结合的双特异性抗体在制备用于治疗眼血管疾病的药物中的用途，其中与双特异性 VEGF/ANG2 抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA) 字母评分相比，所述患者获得12个或更多个 (在一个实施方案中13个或更多个，在一个实施方案中14个或更多个，在一个实施方案中15个或更多个) 使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究 (ETDRS) 样图表测量的 BCVA 字母。在一个实施方案中，所述双特异性抗体每8周或更短频率 (在一个实施方案中每9周或更短频率；在一个实施方案中每10周或更短频率；在一个实施方案中每11周或更短频率；在一个实施方案中每12周或更短频率；在一个实施方案中每13周或更短频率；在一个实施方案中每14周或更短频率；在一个实施方案中每15周或更短频率) 玻璃体内施用 (待施用)。

[0080] 本发明的一个实施方案是与人血管内皮生长因子 (VEGF) 和人血管生成素2 (ANG-2) 结合的双特异性抗体在制备用于治疗眼血管疾病的药物中的用途，其中所述患者在 (玻璃体内) 施用双特异性 VEGF/ANG2 抗体之后经历了视力的改善，所述改善是如通过以下测量的：与双特异性 VEGF/ANG2 抗体给药之前的患者的最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA) 字母评分相比，获得12个或更多个 (在一个实施方案中13个或更多个，在一个实施方案中14个或更多个，在一个实施方案中15个或更多个) 使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究 (ETDRS) 样图表测量的 BCVA 字母。在一个实施方案中，所述双特异性抗体每8周或更短频率 (在一个实施方案中每9周或更短频率；在一个实施方案中每10周或更短频率；在一个实施方案中每11周或更短频率；在一个实施方案中每12周或更短频率；在一个实施方案中每13周或更短频率；在一个实施方案中每14周或更短频率；在一个实施方案中每15周或更短频率) 玻璃体内施用 (待施用)。

[0081] 在本发明的一个实施方案中，在所述BCVA/ETDRS字母评分中字母的获得是在治疗开始后，分别在4周，和/或在8周，和/或在12周，和/或在16周，和/或在20周，和/或在24周测量的。

[0082] 在本发明的实施方案中，BCVA/ETDRS字母得分中字母的获得是在治疗开始后，分别在45周，和/或在46周，和/或在47周，和/或在48周，和/或在49周，和/或在50周，和/或在51周，和/或在52周，和/或在53周，和/或在54周，和/或在55周，和/或在56周，和/或在57周，和/或在58周，和/或在59周，和/或在60周测量的。

[0083] 在本发明的一个实施方案中，药物用于延长再治疗的时间和/或延长视力丧失的

时间并且,其中在疾病活动性确定为以下的情况下,施用用双特异性抗体的再治疗:

[0084] 中央子域厚度 (CST) 增加 $\geq 50\mu\text{m}$ (在使用频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 的一个实施方案中);和/或

[0085] 最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA/ETDRS) 减少 ≥ 5 个字母。

[0086] 在一个实施方案中,在这种方法、用途、双特异性抗体 (的应用)、药物或药物制剂中的BCVA测定是基于糖尿病性视网膜病的早期治疗研究 (ETDRS) 方案适配的视力表,并且在4米的起始距离处进行评估。

[0087] 这种方法、用途、双特异性抗体 (的应用)、药物或药物制剂可包括依次施用初始剂量 (“治疗起始”) (例如3至7个每月一次施用;在一个实施方案中,治疗起始包括3至4个每月一次施用,在一个实施方案中,治疗起始包括4至5个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括4至6个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括至少4个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括5至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括6个每月一次施用),然后是一次或更多次第二剂量的治疗有效量的双特异性抗体、药物或药物制剂。

[0088] 在本发明的一个实施方案中,每10至12周 (治疗起始后) 施用双特异性抗体、药物或药物制剂。

[0089] 在本发明的一个实施方案中,每11至13周 (治疗起始后) 施用双特异性抗体、药物或药物制剂。

[0090] 在本发明的一个实施方案中,每12至14周 (治疗起始后) 施用双特异性抗体、药物或药物制剂。

[0091] 在本发明的一个实施方案中,每13至15周 (治疗起始后) 施用双特异性抗体、药物或药物制剂。

[0092] 在本发明的一个实施方案中,每14至16周 (治疗起始后) 施用双特异性抗体、药物或药物制剂。

[0093] 在本发明的一个实施方案中,每10至11周,或每11至12周,或每12至13周,或每13至14周,或每14至15周,或每15到16周 (分别在治疗起始后) 施用双特异性抗体、药物或药物制剂。

[0094] 在本发明的一个实施方案中,每10周,或每11周,或每12周,或每13周,或每14周,或每15周,或每16周 (分别在治疗起始后) 施用双特异性抗体、药物或药物制剂。

[0095] 在本发明的一个实施方案中,双特异性抗体、药物或药物制剂以约5至7mg的剂量施用 (在每次治疗中)。在一个实施方案中,双特异性抗体以 $6\text{mg} \pm 10\%$ 的剂量施用 (在每次治疗中)。在一个实施方案中,双特异性抗体以约6mg的剂量施用 (在每次治疗中)。(在一个实施方案中,以6mg的剂量 (在每次治疗中))。

[0096] 在本发明的一个实施方案中,以约30mg/ml的双特异性抗体的浓度施用双特异性抗体、药物或药物制剂。在本发明的一个实施方案中,以约120mg/ml的双特异性抗体的浓度施用双特异性抗体、药物或药物制剂。

[0097] 术语“眼血管疾病”和“血管眼部疾病”在本文可互换使用,包括但不限于眼内新血管综合症,诸如糖尿病性视网膜病,糖尿病性黄斑水肿,早产儿视网膜病变,新生血管性青光眼,(分支)视网膜静脉阻塞,视网膜中央静脉阻塞,黄斑变性,年龄相关性黄斑变性,色素

性视网膜炎,视网膜血管瘤增生,黄斑性毛细血管扩张,缺血性视网膜病变,虹膜新生血管形成,眼内新生血管形成,角膜新生血管形成,视网膜新生血管形成,脉络膜新生血管形成和视网膜变性。(Garner, A., Vascular diseases, In: Pathobiology of ocular disease, A dynamic approach, Garner, A., and Klintworth, G.K., (编), 第二版, Marcel Dekker, New York (1994), pp. 1625-1710)。如本文所用,眼血管病症是指以新血管的改变或不受调节的增殖和侵袭到诸如视网膜或角膜的眼组织的结构中为特征的任何病理状况。在一个实施方案中,所述眼血管疾病选自由以下组成的组:湿性年龄相关的黄斑变性(湿性AMD)、新生血管性AMD(nAMD)、糖尿病性黄斑水肿(DME)、囊样黄斑水肿(CME)、非增殖型糖尿病性视网膜病变(NPDR)、增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)、视网膜中央静脉阻塞继发的黄斑水肿、视网膜半静脉阻塞继发的黄斑水肿或分支静脉阻塞继发的黄斑水肿、视网膜炎、结膜炎、葡萄膜炎、脉络膜炎、眼炎症(包括眼组织胞浆菌病或假定的组织胞浆菌病或脉络膜炎)继发的脉络膜新生血管形成(CNV);近视性脉络膜新生血管形成(mCNV)。和外伤、早产儿视网膜病变和虹膜发红/虹膜红变性青光眼继发的脉络膜新生血管形成以及其他眼科疾病,其中眼部疾病或病症与眼新生血管形成、血管渗漏和/或视网膜水肿有关。因此,用于使用的抗VEGF/ANG2双特异性抗体和本文所述的方法可用于预防和治疗湿性AMD, nAMD CME, DME, NPDR, PDR 和葡萄膜炎,还优选湿性AMD, nAMD, 也优选DME, CME, NPDR和PDR, 尤其是湿性AMD。在一些实施方案中,眼血管疾病选自由以下组成的组:湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD),新生血管性年龄相关性黄斑变性(nAMD), (糖尿病性)黄斑水肿,视网膜静脉阻塞,早产儿视网膜病变,和糖尿病性视网膜病变。

[0098] 与角膜新生血管形成相关的其他疾病/病况(或可能是角膜新生血管的病因)包括但不限于流行性角结膜炎,维生素A缺乏症,隐形眼镜过渡佩戴(contact lens overwear),过敏性角膜炎(atopic keratitis),上缘性角膜炎,干燥性翼状胬肉角膜炎(pterygium keratitis sicca),干燥综合征,酒糟鼻,葡萄膜菌病,梅毒,分枝杆菌感染,脂质变性,化学灼伤,细菌性溃疡,真菌性溃疡,单纯疱疹感染,带状疱疹感染,原生动物感染,卡波西肉瘤,蚕食性角膜溃疡,特里恩边缘性角膜变性,边缘性角质层分离,类风湿性关节炎,系统性红斑狼疮,多动脉炎,外伤,韦格纳氏结节病,巩膜炎,史蒂芬·约翰逊病,类周膜瓣径向角膜切开术(periphigoid radial keratotomy)和角膜移植排斥反应(corneal graft rejection)。

[0099] 与视网膜/脉络膜新生血管形成相关的疾病/病况(或其可能是视网膜/脉络膜新生血管形成的原因)包括但不限于糖尿病性视网膜病变、黄斑变性、镰状细胞性贫血、结节病、梅毒、弹性假性黄瘤、佩吉特病、静脉阻塞、动脉阻塞、颈动脉阻塞性疾病、慢性葡萄膜炎/玻璃体炎、分枝杆菌感染、莱姆病、系统性红斑狼疮、早产儿视网膜病变、色素性视网膜炎、视网膜水肿(包括黄斑水肿)、伊尔斯病、贝切特病(Bechets)病、引起视网膜炎或脉络膜炎的感染、假定的眼组织胞浆菌病、贝斯病、近视、视(盘)窝、斯塔加特病、睫状体平坦部炎、慢性视网膜脱离、高粘滞综合症、弓形体病、创伤和激光后并发症。其他疾病包括但不限于与虹膜发红(角的新生血管形成)有关的疾病和由纤维血管或纤维组织异常增生引起的疾病,包括所有形式的增生性玻璃体视网膜病变。

[0100] 早产儿视网膜病变(ROP)是一种眼病,会影响早产婴儿。据认为,这是由于视网膜血管生长紊乱引起的,可能导致瘢痕形成和视网膜脱离。ROP可能很轻微,可能会自发消退,

但在严重的情况下可能导致(完全)失明。因此,所有早产儿都有发生ROP的危险,而极低的出生体重是另一个危险因素。氧中毒和相对低氧均可促进ROP的发展。

[0101] 黄斑变性是主要在老年人中发现的一种医学病况,在该疾病中,眼睛内层的中心(称为视网膜的黄斑区域)经历变薄,萎缩,和在一些情况下,出血。这能够会导致失去中心视觉,其导致无法看到精细的细节,无法阅读或无法识别面部。根据美国眼科学会,它是当今美国五十岁以上人群中中枢视力丧失(失明)的主要原因。尽管影响年轻个体的一些黄斑营养不良有时被称为黄斑变性,但该术语一般是指年龄相关性黄斑变性(AMD或ARMD)。

[0102] 如本文所用,“年龄相关性黄斑变性(AMD)”是指当视网膜的小中央部分(称为黄斑)恶化时的严重眼病。AMD包括湿性AMD和新血管性AMD。湿性形式的AMD(湿性AMD,wAMD或也称为新生血管性AMD,nAMD)的特征是来自黄斑下方脉络膜的异常血管的生长。这称为脉络膜新生血管形成。这些血管将血液和液体(下方和)泄漏到视网膜中,从而导致(视网膜升高)视觉扭曲,使直线看起来呈波浪形,以及盲点和中心视力丧失。这些异常的血管最终会留下疤痕,导致永久丧失中央视觉。AMD的症状包括视觉中心的黑暗模糊区域;以及减弱的或改变了颜色感知。AMD能够在常规眼科检查中检测到。黄斑变性的最常见早期迹象之一是玻璃疣的存在,它是视网膜下的微小黄色沉淀物和色素团块。

[0103] 导致严重视力下降的晚期AMD有两种形式:干性和湿性。中央地图状萎缩,其是干性形式的晚期AMD,是由视网膜下方是视网膜色素上皮层的萎缩引起的,其通过眼中央部感光细胞(视杆细胞和视锥细胞)的缺失而导致视力丧失。尽管没有针对这种情况的治疗方法,但国立眼科研究所(National Eye Institute)和其他机构已证明,维生素补充剂连同高剂量的抗氧化剂、叶黄素和玉米黄质可以减缓干性黄斑变性的进展,并在某些患者中改善视力。

[0104] 色素性视网膜炎(RP)是一组遗传性眼部病况。在RP症状的发展过程中,夜盲症通常会先于隧道视力出现数年甚至数十年。许多患有RP的人直到40多岁或50多岁才成为法定盲人,并且终生保持某种视力。其他人因RP而完全看不见,在某些情况下甚至早在儿童时期就完全看不见了。RP的进展在每种情况下是不同的。RP是一种遗传性视网膜营养不良,是一组遗传性病症,其中视网膜的感光细胞(视杆细胞和视锥细胞)或视网膜色素上皮(RPE)的异常导致进行性视力丧失。受影响的个体首先会经历有缺陷的暗适应或夜盲症(nyctalopia)(夜盲症(night blindness)),其次是周围视野(称为隧道视力)降低且,有时,在病程后期失去中心视力。

[0105] 当流体和蛋白质沉积物积聚在眼睛的黄斑(负责精细视力的视网膜的中央区域)上方或下方时,就会发生黄斑水肿,导致其增厚和肿胀。由于黄斑位于眼球后部视网膜中央附近,因此肿胀可能会扭曲人的中央视力。该区域拥有紧密包装的视锥,其提供清晰、清楚的中心视觉,以使人能够看到直接在视线中的形状、颜色和细节。黄斑囊样水肿是一种包括囊肿形成的黄斑水肿。

[0106] 如本文所用,“糖尿病性黄斑水肿”(DME)是指影响糖尿病人(1型或2型)的严重眼部病况。黄斑水肿发生在视网膜中的血管泄漏到黄斑中,并且流体和蛋白质沉积物积聚在眼的黄斑上或下并引起其增厚和肿胀(水肿)时。由于黄斑位于眼球后部视网膜中央附近,因此肿胀可能会扭曲人的中央视力。DME的主要症状包括但不限于视力模糊、漂浮物、对比度损失、复视和最终视力丧失。DME的病理的特征是内部血液-视网膜屏障(通常阻止视网膜

中的流体运动)的破裂,从而使流体在视网膜组织中积聚,并且存在视网膜增厚。DME目前是在由视力测试组成的眼睛检查过程中诊断出来的,该检查方法确定人能够在标准图表上阅读的最小字母,进行散瞳检查以检查疾病的征兆,成像检查(例如光学相干断层扫描(OCT))或荧光素血管造影(FA)和眼压计(一种测量眼内压力的仪器)。还进行了以下研究以确定治疗:光学相干断层扫描(OCT),荧光素血管造影和彩色立体眼底照相。DME可以大致分为两个主要类别-局限性(Focal)和弥漫性(Diffuse)。局限性DME的特征是黄斑中具有足够黄斑血流的分开和明显渗漏的特定区域。弥漫性DME是由黄斑周围的整个毛细血管床渗漏引起的,而此渗漏是由于眼睛的内部血液-视网膜屏障破裂而引起的。除了局限性和弥漫性外,DME还根据临床检查发现分为具有临床意义上明显的黄斑水肿(CSME)、非CSME和具有中央参与的CSME(CSME-CI),其涉及中央凹。本发明包括治疗上文提及的DME类别的方法。

[0107] 最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)使用从4米早期治疗糖尿病视网膜病变研究[ETDRS]方案(使用早期治疗糖尿病视网膜病变研究(ETDRS)类似图表)改编的方法确定,并产生各自的字母得分。

[0108] 疾病活动性通过以下确定,例如经由降低BCVA/ETDR字母得分和/或例如经由通过频域光学相干层析成像(SD-OCT)的黄斑增厚,所述SD-OCT涉及将黄斑的中心作为中央子域厚度(CST)(也称为中心视网膜中央凹下(subfoveal)厚度)。在一个优选的实施方案中,中央子域厚度(CST)是使用频域光学相干层析成像(SD-OCT)确定的:在一个优选的实施方案中,CST是通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像(spectral domain optical coherence tomography)(SD-OCT)测量的;在一个优选的实施方案中,CST是通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量的;在一个优选的实施方案中,CST是通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量的;在一个优选的实施方案中,CST是通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量的。如本文所用,术语“患有...的患者”是指展示出如本文所述的眼血管疾病的一种或多种症状或指征和/或已被诊断为如本文所述的眼血管疾病的人。术语“患有...的患者”的患者还可以包括,例如,在治疗之前,展示出(或已经展示出)一种或多种血管眼部疾病的指征的患者诸如,例如,视网膜血管生成,新生血管形成,血管渗漏,中央凹的中央的视网膜增厚,具有邻近的视网膜增厚的中央凹的中央的硬质黄色渗出液,和至少1个视网膜增厚的视盘区域,其中任何部分均在中央凹的中央的1个视盘直径内,视力模糊、漂浮物,对比度损失、复视和最终视力丧失。

[0109] 如本文所用,术语“患有..的患者”可包括对DME或AMD更敏感的人群的子集,或者可显示升高水平的DME相关或AMD相关的生物标志物。例如,“需要其的受试者”可以包括患有糖尿病超过10年,具有频繁的高血糖水平或高空腹血糖水平的受试者。在某些实施方案中,术语“患有”的患者包括在施用双特异性抗VEGF/ANG2抗体之前或之时患有或被诊断患有糖尿病的受试者。在某些实施方案中,术语“患有...的患者”包括在施用抗VEGF/ANG2抗体之前或之时大于50岁的受试者。在一些实施方案中,术语“患有...的患者”包括吸烟者的受试者,或患有高血压或高胆固醇的受试者。

[0110] 本发明包括用于治疗、预防或降低眼血管疾病的严重程度的方法或双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂,包括将治疗有效量的双特异性抗VEGF/ANG2抗体(或包含双特异性抗-VEGF/ANG2抗体的药物或药物制剂)施用至有需要的受试者,其中将包含这种双特

异性抗-VEGF/ANG2抗体的双特异性抗体、药物或药物制剂以多剂量(玻璃体内)施用至所述受试者,例如,作为具体治疗剂量方案的一部分。

[0111] 本发明的一个实施方案是如本文所述的治疗方法、用途、双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂,其中患有眼血管疾病的患者先前未接受过抗VEGF治疗(例如单一疗法)(是首次治疗)。

[0112] 本发明的一个实施方案是如本文所述的治疗方法、用途、双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂,其中患有眼血管疾病的患者先前已经用抗VEGF治疗(例如单一疗法)治疗。

[0113] 本发明的一个实施方案是如本文所述的治疗方法、用途、双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂,其中所述眼血管疾病是DME,并且对患有DME的患者的治疗包括在治疗起始后固定的每8周(Q8W)的给药时间表(在一个实施方案中,治疗起始包括5至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括6个每月一次的施用)。

[0114] 本发明的一个实施方案是如本文所述的治疗方法、用途、双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂,其中所述眼血管疾病是DME,并且对患有DME的患者的治疗包括在治疗起始后固定的Q12W的给药时间表(在一个实施方案中,治疗起始包括5至7个每月一次施用;在一个实施方案中,治疗起始包括6个每月一次的施用)。在一个实施方案中,治疗起始后,在固定的Q12W给药方案之前进行Q8W的第一个剂量循环。

[0115] 本发明的一个实施方案是如本文所述的治疗方法、用途、双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂,其中所述眼血管疾病是DME,并且患有DME的患者的治疗包括在治疗起始之后的给药时间表,该给药时间表如下:在稳定地不存在疾病时延长施用间隔,或者在存在疾病活动性时缩短施用间隔(在一个实施方案中,治疗起始包括3至7个每月一次施用;在一个实施方案中,治疗起始包括3至5个每月一次施用;在一个实施方案中,治疗起始包括至少4个每月一次施用;在一个实施方案中,治疗起始包括4至6个每月一次施用。在一个实施方案中,这种给药时间表包括患者根据其疾病状态接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W给药。在一个实施方案中,稳定地不存在疾病被确定为

[0116] -中央子域厚度(CST)增加了<50 μ m

[0117] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了<5个字母

[0118] 且疾病活动性确定为

[0119] -中央子域厚度(CST)增加了 \geq 50 μ m

[0120] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了 \geq 5个字母

[0121] 在一个实施方案中,稳定地不存在疾病被确定为

[0122] -中央子域厚度(CST)低于约300 μ m(在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于325 μ m;在一个实施方案中,通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于315 μ m;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于315 μ m;在一个实施方案中,通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于295 μ m),

[0123] 且疾病活动性确定为

[0124] -中央子域厚度(CST)高于约300 μ m(在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量高于325 μ m;在一个实施方案中,通过带有

CirrusTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于295 μm ,

[0125] 本发明的一个实施方案是如本文所述的治疗方法、用途,双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂,其中眼血管疾病是AMD(在一个实施方案中是湿性AMD)且患有AMD的患者的治疗(在一个实施方案是湿性AMD)包括在治疗起始后的给药时间表,该给药时间表在稳定地不存在疾病时延长施用间隔,或者在存在疾病活动性时缩短施用间隔(在一个实施方案中,治疗起始包括3至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括3至5个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括至少4个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括4至6个每月一次的施用)。在一个实施方案中,这种给药时间表包括患者根据其疾病状态接受Q4W或Q8W或Q12W或Q16W给药。在一个实施方案中,稳定地不存在疾病被确定为

[0126] -中央子域厚度 (CST) 增加了<50 μm ;和/或

[0127] -最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA/ETDRS) 减少了<5个字母

[0128] 且疾病活动性确定为

[0129] -中央子域厚度 (CST) 增加了 $\geq 50\mu\text{m}$;和/或

[0130] -最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA/ETDRS) 减少了 ≥ 5 个字母。

[0131] 在一个实施方案中,稳定地不存在疾病被确定为

[0132] -中央子域厚度 (CST) 低于约300 μm (在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于325 μm ;在一个实施方案中,通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于295 μm),

[0133] 且疾病活动性确定为

[0134] -中央子域厚度 (CST) 高于约300 μm (在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于325 μm ;在一个实施方案中,通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于295 μm)。

[0135] 在一个实施方案中,在这种方法、用途、双特异性抗体(的应用)、药物或药物制剂中的血管性眼病是湿性AMD(nAMD)。

[0136] 如本文所用,“抗体”是指包含抗原结合位点的结合蛋白。如本文所用,术语“结合位点”或“抗原结合位点”表示配体实际结合的抗体分子的区域。术语“抗原结合位点”包括抗体重链可变结构域 (VH) 和抗体轻链可变结构域 (VL) (VH/VL对)。

[0137] 抗体特异性是指针对抗原的特定表位的抗体的选择性识别。例如,天然抗体是单特异性的。

[0138] 根据本发明的“双特异性抗体”是具有两种不同的抗原结合特异性的抗体。本发明的抗体对两种不同的抗原具有特异性,VEGF作为第一抗原,ANG-2作为第二抗原。

[0139] 如本文所用,术语“单特异性”抗体表示具有一个或多个结合位点的抗体,每个结

合位点结合相同抗原的相同表位。

[0140] 如本申请中所使用的术语“价”表示抗体分子中存在指定数目的结合位点。这样，术语“二价的”、“四价的”和“六价的”分别表示抗体分子中存在两个结合位点、四个结合位点和六个结合位点。根据本发明的双特异性抗体优选为“二价的”。

[0141] 如本文所用，术语“与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素-2(ANG-2)结合的双特异性抗体”，“双特异性抗VEGF/ANG2抗体”和“双特异性<VEGF/ANG2>抗体”是可互换的且是指具有至少两个不同的抗原结合位点(第一个与VEGF结合，而第二个与ANG2结合)的抗体。

[0142] 双特异性抗VEGF/ANG2抗体是例如描述于WO2010040508、WO2011/117329、WO2012/131078、WO2015/083978、WO2017/197199和WO2014/009465。WO2014/009465描述了特别设计用于治疗眼血管疾病的双特异性抗VEGF/ANG2抗体。WO2014/009465的双特异性抗VEGF/ANG2抗体(以其整体并入本文)在如本文所述眼血管疾病的治疗和治疗方案中特别有用。

[0143] 在一个实施方案中，与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素-2(ANG-2)结合的双特异性抗体是双特异性抗VEGF/ANG2抗体，其包含与人VEGF特异性地结合的第一抗原结合位点和与人ANG-2特异性结合的第二个抗原结合位点，其中

[0144] i) 与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:1的CDR3H区，SEQ ID NO:2的CDR2H区和SEQ ID NO:3的CDR1H区，和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:4的CDR3L区，SEQ ID NO:5的CDR2L区和SEQ ID NO:6的CDR1L区；和

[0145] ii) 与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:9的CDR3H区，SEQ ID NO:10的CDR2H区和SEQ ID NO:11的CDR1H区，和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:12的CDR3L区，SEQ ID NO:13的CDR2L区和SEQ ID NO:14的CDR1L区，

[0146] 并且其中

[0147] iii) 所述双特异性抗体包含人IgG1亚类的恒定重链区，其包含突变I253A、H310A和H435A以及突变L234A、L235A和P329G(根据Kabat的EU索引编号)。

[0148] 在一个实施方案中，这种双特异性抗VEGF/ANG2抗体是二价的。

[0149] 在一个实施方案中，这种双特异性抗VEGF/ANG2抗体的特征在于

[0150] i) 与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列作为重链可变结构域VH，以及SEQ ID NO:8的氨基酸序列作为轻链可变结构域VL，和

[0151] ii) 与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列作为重链可变结构域VH，以及SEQ ID NO:16的氨基酸序列作为轻链可变结构域VL。

[0152] 在本发明的一方面，这种根据本发明的双特异性二价抗体的特征在于包括

[0153] a) 与VEGF特异性结合的第一全长抗体的重链和轻链；

[0154] b) 与ANG-2特异性结合的第二全长抗体的经修饰的重链和经修饰的轻链，其中恒定结构域CL和CH1彼此替换。

[0155] 在WO 2009/080253中描述了与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素-2(ANG-2)特异性结合的双特异性抗体的这种双特异性二价抗体形式(包括旋钮-入-孔修饰的CH3结构域)。基于这种双特异性，二价抗体形式的抗体被称为CrossMAb。

[0156] 在一个实施方案中，这种双特异性、二价抗VEGF/ANG2抗体的特征在于包括

[0157] a) SEQ ID NO:17的氨基酸序列作为第一全长抗体的重链，和SEQ ID NO:18的氨基

酸序列作为第一全长抗体的轻链,和

[0158] b) SEQ ID NO:19的氨基酸序列作为第二全长抗体的经修饰的重链,和SEQ ID NO:20的氨基酸序列作为第二全长抗体的经修饰的轻链。

[0159] 在一个实施方案中,这种双特异性、二价抗VEGF/ANG2抗体的特征在于包含SEQ ID NO:17的、SEQ ID NO:18的、SEQ ID NO:19的和SEQ ID NO:20的氨基酸序列。在一个优选的实施方案中,双特异性、二价抗VEGF/ANG2抗体是法西单抗(faricimab)。

[0160] 因此,本发明的一个实施方案是一种双特异性的,二价抗体,其包含与人VEGF特异性结合的第一抗原结合位点和与人ANG-2特异性结合的第二抗原结合位点,其特征在于包含SEQ ID NO:17的、SEQ ID NO:18的、SEQ ID NO:19的和SEQ ID NO:20的氨基酸序列。在一个优选的实施方案中,双特异性、二价抗VEGF/ANG2抗体是法西单抗(faricimab)。

[0161] 在一个实施方案中,通过“旋钮-入-孔”技术改变根据本发明的双特异性二价抗体的CH3结构域,所述“旋钮-入-孔”技术以几个例子更为详细地记载于例如WO 96/027011, Ridgway J.B.等,Protein Eng 9(1996) 617-621;和Merchant,A.M.等,Nat Biotechnol 16 (1998) 677-681。在此方法中,改变两个CH3结构域的相互作用表面以提高含有这两个CH3结构域的两条重链的异二聚化。(两条重链的)这两个CH3结构域的每个都可以是“旋钮”,而另一个是“孔”。二硫桥的引入使异二聚体稳定化(Merchant,A.M等,Nature Biotech 16 (1998) 677-681;Atwell,S.,等.J.Mol.Biol.270(1997) 26-35)并增加产量。

[0162] 在本发明的一个优选方面,根据本发明的双特异性抗VEGF/ANG2抗体的特征在于

[0163] 一条重链的CH3结构域和另一条重链的CH3结构域各在包含抗体CH3结构域之间的初始界面的界面处相遇;

[0164] 其中改变所述界面以促进双特异性抗体的形成,其中所述改变的特征在于:

[0165] a)改变一条重链的CH3结构域,

[0166] 从而在一条重链的CH3结构域中与双特异性抗体内另一条重链的CH3结构域的初始界面相遇的初始界面内,

[0167] 氨基酸残基用具有较大侧链体积的氨基酸残基替换,由此在一条重链的CH3结构域的界面内产生突起,该突起可位于另一条重链的CH3结构域的界面内的腔中,

[0168] 且

[0169] b)改变另一条重链的CH3结构域,

[0170] 从而在第二CH3结构域中与双特异性抗体内的第一CH3结构域的初始界面相遇的初始界面内,

[0171] 氨基酸残基被具有较小侧链体积的氨基酸残基替换,由此在第二CH3结构域的界面内产生腔,第一CH3结构域的界面内的突起可位于该腔内。

[0172] 因此,优选地,本文所述的双特异性抗VEGF/ANG2抗体的特征在于:

[0173] a)的全长抗体的重链的CH3结构域和b)的全长抗体的重链的CH3结构域各在抗体CH3结构域之间的初始界面中包含改变的界面处相遇;

[0174] 其中i)在一条重链的CH3结构域中

[0175] 氨基酸残基用具有较大侧链体积的氨基酸残基替换,由此在一条重链的CH3结构域的界面内产生突起,该突起可位于另一条重链的CH3结构域的界面内的腔中,

[0176] 并且其中

[0177] ii) 在另一条重链的CH3结构域中

[0178] 氨基酸残基被具有较小侧链体积的氨基酸残基替换,由此在第二CH3结构域的界面内产生腔,第一CH3结构域的界面内的突起可位于该腔内。

[0179] 优选地,所述具有较大侧链体积的氨基酸残基选自下组:精氨酸(R)、苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W)。

[0180] 优选地,所述具有较小侧链体积的氨基酸残基选自下组:丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)、缬氨酸(V)。

[0181] 在本发明的一个方面,通过引入半胱氨酸(C)作为每个CH3结构域的相应位置中的氨基酸,使得能够在这两个CH3结构域间形成二硫桥来进一步改变这两个CH3结构域。

[0182] 在一个实施方案中,双特异性抗体包含“旋钮链”的CH3结构域中的T366W突变和“孔链”的CH3结构域中的T366S、L368A、Y407V突变。也可以使用CH3域之间的额外的链间二硫桥(Merchant, A. M 等, Nature Biotech 16 (1998) 677-681),例如,通过将S354C突变引入一个CH3结构域中和将Y349C突变引入另一个CH3结构域中来进行。

[0183] 在另一个优选的实施方案中,所述双特异性抗体包含在两个CH3结构域之一中的S354C和T366W突变和在两个CH3结构域的另一个中的Y349C、T366S、L368A、Y407V突变。在另一个优选的实施方案中,双特异性抗体包含在两个CH3结构域之一中的Y349C、T366W突变和在两个CH3结构域的另一个中的S354C、T366S、L368A、Y407V突变(一个CH3结构域中的额外的Y349C或S354C突变和另一个CH3结构域中的额外的S354C或Y349C突变,形成链间二硫桥)(总是依照Kabat的EU索引编号(Kabat, E. A. 等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))。

[0184] 设想将用于CH3修饰以强制异二聚化的其他技术作为本发明的替代方案,并且描述于例如WO 96/27011、WO 98/050431、EP 1870459、WO 2007/110205、WO 2007/147901、WO 2009/089004、WO 2010/129304、WO 2011/90754、WO 2011/143545、WO 2012/058768、WO 2013/157954和WO 2013/096291。

[0185] 在一个实施方案中,可替代地使用在EP 1 870 459A1中描述的异二聚方法。该方法基于在两个重链之间的CH3/CH3结构域界面的特定氨基酸位置引入具有相反电荷的带电荷氨基酸的取代/突变。所述多特异性抗体的一个优选实施方案是该多特异性抗体的一个重链的CH3结构域中的氨基酸R409D和K370E突变以及该多特异性抗体的另一重链的CH3结构域中的氨基酸D399K和E357K突变(根据Kabat EU索引编号)。

[0186] 在另一个实施方案中,所述多特异性抗体在“旋钮链”的CH3结构域中包含氨基酸T366W突变,在“孔链”的CH3结构域中包含氨基酸T366S、L368A和Y407V突变;并且另外包含“旋钮链”的CH3结构域中的氨基酸R409D和K370E突变以及“孔链”的CH3结构域中的氨基酸D399K和E357K突变。

[0187] 在一个实施方案中,可替代地使用WO2013/157953中描述的异二聚方法。在一个实施方案中,一个重链的CH3结构域包含氨基酸T366K突变,且另一条重链的CH3结构域包含氨基酸L351D突变。在另一个实施方案中,一个重链的CH3结构域还包含氨基酸L351K突变。在另一个实施方案中,另一个重链的CH3结构域还包含选自Y349E、Y349D和L368E(在一个实施方案中为L368E)的氨基酸突变。

[0188] 在一个实施方案中,可替代地使用W02012/058768中描述的异二聚方法。在一个实施方案中,一个重链的CH3结构域包含氨基酸L351Y和Y407A突变,且另一条重链的CH3结构域包含氨基酸T366A和K409F突变。在另一个实施方案中,另一个重链的CH3结构域在位置T411、D399、S400、F405、N390或K392处进一步包含氨基酸突变。在一个实施方案中,所述氨基酸突变选自由以下各项组成的组:

- [0189] a) T411N、T411R、T411Q、T411K、T411D、T411E和T411W,
- [0190] b) D399R、D399W、D399Y和D399K,
- [0191] c) S400E、S400D、S400R和S400K,
- [0192] d) F405I、F405M、F405T、F405S、F405V和F405W,
- [0193] e) N390R、N390K和N390D,
- [0194] f) K392V、K392M、K392R、K392L、K392F和K392E。

[0195] 在另一个实施方案中,一个重链的CH3结构域包含氨基酸L351Y和Y407A突变,且另一条重链的CH3结构域包含氨基酸T366V和K409F突变。在另一个实施方案中,一个重链的CH3结构域包含氨基酸Y407A突变,且另一条重链的CH3结构域包含氨基酸T366A和K409F突变。在另一个实施方案中,另一个重链的CH3结构域还包含氨基酸K392E、T411E、D399R和S400R突变。

[0196] 在一个实施方案中,可替代地使用W02011/143545中描述的异二聚方法。在一个实施方案中,将根据W02011/143545的氨基酸修饰引入重链的CH3结构域中的选自由368和409组成的组的位置。

[0197] 在一个实施方案中,可替代地使用也使用上述旋钮-入-孔技术的W02011/090762中描述的异二聚方法。在一个实施方案中,一个重链的CH3结构域包含氨基酸T366W突变,且另一条重链的CH3结构域包含氨基酸Y407A突变。在一个实施方案中,一个重链的CH3结构域包含氨基酸T366Y突变,且另一条重链的CH3结构域包含氨基酸Y407T突变。

[0198] 在一个实施方案中,多特异性抗体是IgG2同种型,并且可替代地使用在W02010/129304中描述的异二聚化方法。

[0199] 在一个实施方案中,可替代地使用W02009/089004中描述的异二聚方法。在一个实施方案中,一个重链的CH3结构域包含用带负电荷的氨基酸(在一个实施方案中,谷氨酸(E)或天冬氨酸(D))对K392或N392的氨基酸取代(在另一个实施方案中,K392D或N392D突变),且另一条重链的CH3结构域包含用带正电荷的氨基酸(在一个实施方案中赖氨酸(K)或精氨酸(R))对D399、E356、D356或E357取代(在另一实施方案中D399K、E356K、D356K或E357K取代;且在另一个实施方案中D399K或E356K突变)。在另一个实施方案中,一个重链的CH3结构域进一步包含用带负电荷的氨基酸对K409或R409的氨基酸取代((在一个实施方案中谷氨酸(E)或天冬氨酸(D);在另一个实施方案中K409D或R409D突变)。在另一个实施方案中,一个重链的CH3结构域进一步或备选地包含用带负电荷的氨基酸(在一个实施方案中谷氨酸(E)或天冬氨酸(D))对K439和/或K370的氨基酸取代。

[0200] 在一个实施方案中,可替代地使用W02007/147901中描述的异二聚方法。在一个实施方案中,一条重链的CH3结构域包含氨基酸K253E、D282K和K322D突变,且另一条重链的CH3结构域包含氨基酸D239K、E240K和K292D突变。

[0201] 在一个实施方案中,可替代地使用W02007/110205中描述的异二聚化方法。

[0202] 在一个实施方案中,与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素-2(ANG-2)结合的双特异性抗体是双特异性抗VEGF/ANG2抗体,其包含与人VEGF特异性地结合的第一抗原结合位点和与人ANG-2特异性结合的第二抗原结合位点,其中

[0203] i) 与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:1的CDR3H区,SEQ ID NO:2的CDR2H区,和SEQ ID NO:3的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:4的CDR3L区,SEQ ID NO:5的CDR2L区,和SEQ ID NO:6的CDR1L区;和

[0204] ii) 与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:9的CDR3H区,SEQ ID NO:10的CDR2H区和SEQ ID NO:11的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:12的CDR3L区,SEQ ID NO:13的CDR2L区和SEQ ID NO:14的CDR1L区,

[0205] 并且其中

[0206] iii) 所述双特异性抗体包含人IgG1亚类的恒定重链区,其包含突变I253A、H310A和H435A以及突变L234A、L235A和P329G(根据Kabat的EU索引编号;且其中

[0207] iv) 在恒定重链区中,一个CH3结构域包含T366W突变,且另一个CH3结构域包含T366S、L368A、Y407V突变(根据Kabat的EU索引编号)。

[0208] 在一个实施方案中,与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素-2(ANG-2)结合的双特异性抗体是双特异性抗VEGF/ANG2抗体,其包含与人VEGF特异性地结合的第一抗原结合位点和与人ANG-2特异性结合的第二抗原结合位点,其中

[0209] i) 与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:1的CDR3H区,SEQ ID NO:2的CDR2H区,和SEQ ID NO:3的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:4的CDR3L区,SEQ ID NO:5的CDR2L区,和SEQ ID NO:6的CDR1L区;和

[0210] ii) 与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:9的CDR3H区,SEQ ID NO:10的CDR2H区和SEQ ID NO:11的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:12的CDR3L区,SEQ ID NO:13的CDR2L区和SEQ ID NO:14的CDR1L区,

[0211] 并且其中

[0212] iii) 所述双特异性抗体包含人IgG1亚类的恒定重链区,其包含突变I253A、H310A和H435A以及突变L234A、L235A和P329G(根据Kabat的EU索引编号;且其中

[0213] iv) 在恒定重链区中,一个CH3结构域包含S354C和T366W突变,且另一个CH3结构域包含Y349C、T366S、L368A和Y407V突变(根据Kabat的EU索引编号)。

[0214] 在一个实施方案中,这种双特异性抗VEGF/ANG2抗体是二价的。

[0215] 在一个实施方案中,这种双特异性抗VEGF/ANG2抗体的特征在于

[0216] i) 与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列作为重链可变结构域VH,以及SEQ ID NO:8的氨基酸序列作为轻链可变结构域VL,和

[0217] ii) 与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列作为重链可变结构域VH,以及SEQ ID NO:16的氨基酸序列作为轻链可变结构域VL。

[0218] 在本发明的一方面,这种根据本发明的双特异性二价抗体的特征在于包括

[0219] a) 与VEGF特异性结合的第一全长抗体的重链和轻链;

[0220] b) 与ANG-2特异性结合的第二全长抗体的经修饰的重链和经修饰的轻链,其中恒定结构域CL和CH1彼此替换。

[0221] 如本文所用,术语“VEGF”是指人血管内皮生长因子(VEGF/VEGF-A),165个氨基酸

的人血管内皮细胞生长因子(人VEGF165的前体序列的氨基酸27-191:SEQ ID NO:24,氨基酸1-26代表信号肽),且相关的121、189和206血管内皮细胞生长因子同种型,如描述于如Leung,D.W.,等,Science 246(1989)1306-9;Houck等,Mol.Endocrin.5(1991)1806 -1814;Keck,P.J.,等,Science 246(1989)1309-12和Connolly,D.T.,等,J.Biol.Chem.264(1989)20017-24的;以及这些生长因子的天然存在的等位基因和加工形式。VEGF参与正常和异常血管生成以及与肿瘤和眼内疾病相关的新生血管形成的调节(Ferrara,N.,等,Endocr.Rev.18(1997)4-25;Berkman,R.A.,等,J.Clin.Invest.91(1993)153-159;Brown,L.F.,等,Human Pathol.26(1995)86-91;Brown,L.F.,等,Cancer Res.53(1993)4727-4735;Mattern,J.,等,Brit.J.Cancer.73(1996)931-934;和Dvorak,H.F.,等,Am.J.Pathol.146(1995)1029-1039)。VEGF是一种已从多种来源分离出来并包含多种同种型的同型二聚体糖蛋白。VEGF对内皮细胞显示高度特异性的有丝分裂促进活性。VEGF拮抗剂/抑制剂抑制VEGF与其受体VEGFR的结合。已知的VEGF拮抗剂/抑制剂包括如W02014/009465中所述的双特异性抗VEGF/ANG2抗体。

[0222] 如本文所用,术语“ANG-2”是指人血管生成素-2(ANG-2)(可替代地缩写为ANGPT2或ANG2)(SEQ ID NO:25),其例如描述于Maisonpierre,P.C.,等,Science 277(1997)55-60以及Cheung,A.H.,等,Genomics 48(1998)389-91。发现血管生成素-1(SEQ ID NO:26)和-2是Ties的配体,Ties是在血管内皮中选择性表达的酪氨酸激酶家族(Yancopoulos,G.D.,等,Nature407(2000)242-48)。现在,血管生成素家族有四个明确的成员。血管生成素-3和-4(Ang-3和Ang-4)可以代表小鼠和人中相同基因基因座的广泛分歧的对应物(widely diverged counterpart)(Kim,I.,等,FEBS Let,443(1999)353-56;Kim,I.,等,J Biol Chem 274(1999)26523-28)。ANG-1和ANG-2最初在组织培养实验中分别被确定为激动剂和拮抗剂(参见,针对ANG-1:Davis,S.,等,Cell 87(1996)1161-69;且针对ANG-2:Maisonpierre,P.C.,等,Science 277(1997)55-60)。所有已知的血管生成素都主要与其受体TIE2(SEQ ID NO:27)结合,而Ang-1和-2都以3nM(Kd)的亲和力与TIE2结合(Maisonpierre,P.C.,等,Science 277(1997)55-60)。ANG2拮抗剂/抑制剂抑制ANG2与其受体TIE2的结合。已知的ANG2拮抗剂/抑制剂包括如W02014/009465中所述的双特异性抗VEGF/ANG2抗体。

[0223] 本发明的双特异性抗体的抗原结合位点包含六个互补决定区(CDR),其在不同程度上促进结合位点对抗原的亲和力。存在三个重链可变结构域CDR(CDRH1、CDRH2和CDRH3)和三个轻链可变结构域CDR(CDRL1,CDRL2和CDRL3)。CDR和构架区(FRs)的范围是通过与氨基酸序列的汇编数据库比较来确定的,在该数据库中,这些区域已根据序列之间的变异性定义。

[0224] 本发明的抗体包含源自人源的一种或多种免疫球蛋白类别的免疫球蛋白恒定区,其中此类免疫球蛋白类别包括IgG、IgM、IgA、IgD和IgE类,并且在IgG和IgA的情况下,其亚类,尤其是IgG1和IgG4。

[0225] 如本文所用,术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”是指单一氨基酸组成的抗体分子的制备物。

[0226] 术语“嵌合抗体”指包含来自一种来源或物种的可变区,即结合区和自不同来源或物种衍生的恒定区的至少一部分的抗体,其通常通过重组DNA技术来制备。包含鼠可变区和

人恒定区的嵌合抗体是优选的。本发明涵盖的“嵌合抗体”的其它优选形式是那些其中的恒定区已经自初始抗体的恒定区修饰或改变以生成根据本发明的特性(特别地关于C1q结合/或Fc受体(FcR)结合)的。此类嵌合抗体又称为“类转换抗体”。嵌合抗体是包含编码免疫球蛋白可变区的DNA区段和编码免疫球蛋白恒定区的DNA区段的免疫球蛋白基因的表达产物。用于产生嵌合抗体的方法牵涉常规的重组DNA和基因转染技术,其是本领域中公知的。参见,例如,Morrison,S.L.,等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81(1984) 6851-6855;US 5,202,238和US 5,204,244.

[0227] 术语“人源化抗体”指抗体,其中的构架或“互补决定区”(CDR)已经进行过修饰以包含与亲本免疫球蛋白的特异性相比不同特异性的免疫球蛋白CDR。在一个优选的实施方案中,将鼠CDR嫁接入人抗体的构架区中以制备“人源化抗体”。参见,例如,Riechmann,L.,等,Nature 332(1988) 323-327;和Neuberger,M.S.,等,Nature 314(1985) 268-270。特别优选的CDR对应于那些代表识别上文关于嵌合抗体所记录的抗原的序列。本发明涵盖的“人源化抗体”的其它形式是那些其中的恒定区已经自初始抗体的恒定区进行过额外地修饰或改变以生成依照本发明的特性(特别地关于C1q结合/或Fc受体(FcR)结合)的抗体。

[0228] 如本文中所使用的,术语“人抗体”意图包括具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变和恒定区的抗体。人抗体是现有技术中公知的(van Dijk,M.A.和van de Winkel,J.G.,Curr.Opin.Chem.Biol.5(2001) 368-374)。还可以在转基因动物(例如小鼠)中生成人抗体,所述转基因动物在免疫后能够在没有内源免疫球蛋白生成的情况下生成人抗体的完整所有组成成分或部分。在此类种系突变体小鼠中转移人种系免疫球蛋白基因阵列会导致抗原攻击后人抗体的生成(参见例如Jakobovits,A.等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90(1993) 2551-2555;Jakobovits,A.等,Nature 362(1993) 255-258;Brueggemann,M.等,Year Immunol.7(1993) 33-40)。还可以在噬菌体展示文库中生成人抗体(Hoogenboom,H.R.,和Winter,G.J.,Mol.Biol.227(1992) 381-388;Marks,J.D.等,J.Mol.Biol.222(1991) 581-597)。Cole,A.等及Boerner,P等的技术还可用于制备人单克隆抗体(Cole,A.等,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Liss,A.L.,第77页(1985);及Boerner,P.等,J.Immunol.147(1991) 86-95)。如已经关于根据本发明的嵌合的和人源化的抗体所提及的,如本文中所使用的,术语“人抗体”还包含此类如下的抗体,其在恒定区中进行修饰以生成根据本发明的特性(特别地关于C1q结合/或FcR结合),例如通过“类转换”,即Fc部分的变化或突变(例如自IgG1至IgG4和/或IgG1/IgG4突变)来进行。

[0229] 如本文中所使用的,术语“重组抗体”意图包括通过重组手段制备、表达、创建或分离的所有人抗体,诸如自宿主细胞诸如NS0或CHO细胞或自人免疫球蛋白基因的转基因动物(例如小鼠)分离的抗体或使用转染入宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体。此类重组抗体具有重排形式的可变区和恒定区。根据本发明的重组抗体已经进行过体内体细胞高突变。因此,重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是如下的序列,其尽管源自人种系VH和VL序列且与之相关,但是可以不在体内的人抗体种系所有组成成分内天然存在。

[0230] 如本文中所使用的,“可变结构域”(轻链可变结构域(VL)、重链可变结构域(VH))表示直接牵涉抗体对抗原结合的每对轻链和重链。人轻链和重链可变结构域具有相同的一般结构,并且每个结构域包含通过3个“高变区”(或互补决定区,CDR)连接的4个序列广泛保守的构架(FR)区。构架区采用 β -片层构象,而CDR可以形成连接 β -片层结构的环。每条链中

的CDR通过构架区保持其三维结构,并且与来自另一条链的CDR一起形成抗原结合位点。抗体重链和轻链CDR3区在根据本发明的抗体的结合特异性/亲和力中发挥特别重要的作用,并且因此提供本发明的又一个目的。

[0231] 术语“抗体的抗原结合部分”或“高变区”在本文中使用时指抗体中负责抗原结合的氨基酸残基。高变区包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基。“构架”或“FR”区是那些与如本文中定义的高变区残基不同的可变结构域区。因此,抗体的轻链和重链从N末端至C末端包含结构域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、和FR4。每条链上的CDR被此类构架氨基酸分开。特别地,重链的CDR3是最有助于抗原结合的区域。依照Kabat, E.A. 等, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) 的标准定义来确定CDR和FR区。

[0232] 术语“全长抗体”指由两条“全长抗体重链”和两条“全长抗体轻链”组成的抗体。“全长抗体重链”是以N末端至C末端方向由抗体重链可变结构域(VH)、抗体重链恒定结构域1(CH1)、抗体铰链区(HR)、抗体重链恒定结构域2(CH2)、和抗体重链恒定结构域3(CH3) (缩写为VH-CH1-HR-CH2-CH3) ; 和任选地,抗体重链恒定结构域4(CH4) (在亚类IgE的抗体的情况下) 组成的多肽。优选地,“全长抗体重链”是以N末端至C末端方向由VH、CH1、HR、CH2和CH3组成的多肽。“全长抗体轻链”是以N末端至C末端方向由抗体轻链可变结构域(VL) 和抗体轻链恒定结构域(CL) (缩写为VL-CL) 组成的多肽。抗体轻链恒定结构域(CL) 可以是κ(卡帕) 或λ(拉姆达)。两条全长抗体链经由CL结构域和CH1结构域之间的以及全长抗体重链铰链区之间的多肽间二硫键连接在一起。典型的全长抗体的例子是天然抗体,如IgG (例如IgG 1和IgG2)、IgM、IgA、IgD和IgE。依照本发明的全长抗体可以来自单一物种,例如人,或者它们可以是嵌合的或人源化的抗体。根据本发明的全长抗体包含各由一对VH和VL形成的两个抗原结合位点,它们都特异性结合相同抗原。所述全长抗体的重链或轻链的C末端指所述重链或轻链的C末端的最后一个氨基酸。所述全长抗体的重链或轻链的N末端指所述重链或轻链的N末端的最后一个氨基酸。

[0233] 如本申请内所使用的,术语“恒定区”表示抗体中与可变区不同的结构域的总和。恒定区不直接牵涉抗原的结合,但是展现出多种效应功能。根据其重链恒定区的氨基酸序列,抗体分成类别:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且这些中的数种可以进一步分成亚类,诸如IgG1、IgG2、IgG3、和IgG4、IgA1和IgA2。与不同类别的抗体对应的重链恒定区分别称作 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、和 μ 。在所有5种抗体类别中都能够找到的轻链恒定区称作κ(卡帕) 和λ(拉姆达)。

[0234] 如本申请中所使用的,术语“源自人起源的恒定区”或“人恒定区”表示亚类IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4的人抗体的重链恒定区和/或轻链κ或λ恒定区。此类恒定区是现有技术中公知的,例如描述于Kabat, E.A., 等, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) (也参见例如Johnson, G., 和Wu, T.T., *Nucleic Acids Res.* 28 (2000) 214-218; Kabat, E.A., 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72 (1975) 2785-2788)。在本申请中,针对位置和突变的编号,使用根据Kabat, E.A., 等, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) 并称为“根据Kabat的EU索引编号”。

[0235] 在一个实施方案中,根据本发明的双特异性抗体具有人IgG1亚类的恒定区(源自

人IgG1亚类)。然而,Fc区的C末端赖氨酸(Lys447)或C末端甘氨酸(Gly446)和C末端赖氨酸(Lys447)可以存在或不存在。

[0236] 在一个实施方案中,本文所述的双特异性抗体是IgG1同种型/亚类,并且包含SEQ ID NO:23的恒定重链结构域或SEQ ID NO:17的重链氨基酸序列和SEQ ID NO:18的氨基酸序列的恒定部分。在一个实施方案中,另外存在C末端甘氨酸(Gly446)。在一个实施方案中,另外存在C末端甘氨酸(Gly446)和C末端赖氨酸(Lys447)。

[0237] 除非本文另有规定,否则恒定区中氨基酸残基的编号依照EU编号系统,也称为Kabat的EU索引,如Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991),NIH Publication 91-3242。

[0238] 在一个实施方案中,根据本发明的双特异性抗体是,具有突变L234A(Leu235A1a)、L235A(Leu234A1a)和P329G(Pro329Gly)的人IgG1亚类。此类抗体具有减少的FcR结合(尤其是它们不再显示与FcR γ I,FcR γ II和FcR γ III的结合)。这对于减少潜在的副作用(例如,血栓形成(Meyer,T.,等,J.Thromb.Haemost.7(2009)171-81)特别有用。

[0239] 尽管已经描述的Pro329A1a突变已经仅去除了三分之二的Fc γ RIIIa夹心相互作用,但是根据本发明的抗体中的Pro329Gly完全给予Fc部分与Fc γ RIII的结合。这特别有用,因为与Fc γ RIII的结合参与ADCC(抗体依赖性细胞毒性),ADCC导致细胞死亡,这可能有助于治疗癌症疾病,但在以抗体为基础的其他血管或免疫疾病治疗中可能导致严重的副作用。因此,本发明的具有突变L234A、L235A和P329G的IgG1亚类的抗体和具有突变S228P、L235E和P329G的IgG4亚类的本发明的抗体特别有用,因为它们都显示不再与FcR γ I,FcR γ II和FcR γ III的结合。

[0240] 试剂的“有效量”,例如,药物制剂或双特异性抗VEGF/ANG2抗体,是指在必要的剂量和时间段上有效实现期望治疗或预防结果的量。

[0241] 在本发明的一个实施方案中,本文所述的双特异性抗体、药物或药物制剂是通过玻璃体内应用而施用,例如经由玻璃体内注射(“玻璃体内”施用)。这可以根据本领域已知的标准程序来执行。参见,例如,Ritter等,J.Clin.Invest.116(2006)3266-76;Russelakis-Carneiro et al.,Neuropathol.Appl.Neurobiol.25(1999)196-206;和Wray等,Arch.Neurol.33(1976)183-5。

[0242] 在一些实施方案中,本发明的治疗试剂盒可以包含一种或更多种剂量的存在于药物或药物制剂的双特异性抗体,用于玻璃体内注射药物或药物制剂的合适装置,以及详细说明用于执行该注射的受试者和方案的说明书。在这些实施方案中,药物或药物制剂通常通过玻璃体内注射施用至需要治疗的受试者。这可以根据本领域已知的标准程序来执行。参见,例如,Ritter等,J.Clin.Invest.116(2006)3266-76;Russelakis-Carneiro等,Neuropathol.Appl.Neurobiol.25(1999)196-206;和Wray等,Arch.Neurol.33(1976)183-5。

[0243] 不管选择的施用的途径如何,通过本领域技术人员已知的常规方法将本文所述的双特异性抗体配制成药学上可接受的剂型。

[0244] 氨基酸序列说明

[0245]

SEQ ID NO:	1	重链 CDR3H, <VEGF>雷珠单抗
SEQ ID NO:	2	重链 CDR2H, <VEGF>雷珠单抗
SEQ ID NO:	3	重链 CDR1H, <VEGF>雷珠单抗
SEQ ID NO:	4	轻链 CDR3L, <VEGF>雷珠单抗
SEQ ID NO:	5	轻链 CDR2L, <VEGF>雷珠单抗
SEQ ID NO:	6	轻链 CDR1L, <VEGF>雷珠单抗
SEQ ID NO:	7	重链可变结构域 VH, <VEGF>雷珠单抗
SEQ ID NO:	8	轻链可变结构域 VVL, <VEGF>雷珠单抗
SEQ ID NO:	9	重链 CDR3H, <ANG-2> Ang2i_LC10 变体
SEQ ID NO:	10	重链 CDR2H, <ANG-2> Ang2i_LC10 变体
SEQ ID NO:	11	重链 CDR1H, <ANG-2> Ang2i_LC10 变体
SEQ ID NO:	12	轻链 CDR3L, <ANG-2> Ang2i_LC10 变体
SEQ ID NO:	13	轻链 CDR2L, <ANG-2> Ang2i_LC10 变体
SEQ ID NO:	14	轻链 CDR1L, <ANG-2> Ang2i_LC10 变体
SEQ ID NO:	15	重链可变结构域 VH, <ANG-2> Ang2i_LC10 变体
SEQ ID NO:	16	轻链可变结构域 VL, <ANG-2> Ang2i_LC10 变体

[0246]	SEQ ID NO:	17	具有 AAA 突变和 P329G LALA 突变的<VEGF-ANG-2> CrossMAb IgG1(VEGFang2-0016)的重链 1
	SEQ ID NO:	18	具有 AAA 突变和 P329G LALA 突变的<VEGF-ANG-2> CrossMAb IgG1(VEGFang2-0016)的重链 2
	SEQ ID NO:	19	具有 AAA 突变和 P329G LALA 突变的<VEGF-ANG-2> CrossMAb IgG1(VEGFang2-0016)的轻链 1
	SEQ ID NO:	20	具有 AAA 突变和 P329G LALA 突变的<VEGF-ANG-2> CrossMAb IgG1(VEGFang2-0016)的轻链 2
	SEQ ID NO:	21	κ 轻链恒定区
	SEQ ID NO:	22	λ 轻链恒定区
	SEQ ID NO:	23	源自人 IgG1 的重链恒定区
	SEQ ID NO:	24	人血管内皮生长因子(VEGF): 人 VEGF165 的前体序列
	SEQ ID NO:	25	人血管生成素 2 (ANG-2)
	SEQ ID NO:	26	人血管生成素-1 (ANG-1)
	SEQ ID NO:	27	人 Tie-2 受体

[0247] 在下文中,列出了本发明的实施方案:

[0248] 1.与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,其用于治疗眼血管疾病,

[0249] 其中所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0250] 2A.与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,其用于治疗患有眼血管疾病的患者,其中与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,所述患者获得12个或更多个(在一个实施方案中13个或更多个,在一个实施方案中14个或更多个,15个或更多个)使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母。

[0251] 2B.与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素2(ANG-2)结合的双特异性抗体,其用于治疗患有眼血管疾病的患者,其中所述患者在施用双特异性VEGF/ANG2抗体之后经历了视力的改善,所述改善是如通过以下测量的:与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,获得12个或更多个(在一个实施方案中13个或更多个,在一个实施方案中14个或更多个,在一个实施方案中15个或更多个)使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母。

[0252] 3.根据实施方案2A至2B中任一项所述的双特异性抗体(的应用) ,

[0253] 其中所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0254] 4.根据实施方案1-3中任一项的双特异性抗体(使用的) ,其中BCVA/ETDRS中字母的获得是分别在治疗开始后的4周,和/或8周,和/或12周,和/或第16周,和/或第20周,和/或第24周测量的。

[0255] 5,根据实施方案1至3中任一项所述的双特异性抗体(的应用) ,其中在BCVA/ETDRS中的字母的获得是分别在治疗开始后在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周,和/或在54周,和/或在55周,和/或在56周,和/或在57周,和/或在58周,和/或在59周,和/或在60周测量的。

[0256] 6.根据实施方案1至5中任一项所述的双特异性抗体(使用) ,其中所述双特异性抗体用于延长再治疗时间和/或延长到达视力丧失的时间(例如,最佳矫正视觉敏锐度(BCVA))BCVA/ETDRS) ,其中在疾病活动性被确定为是以下情况时,再治疗被认为是必要的:

[0257] 中央子域厚度(CST)增加 $\geq 50\mu\text{m}$ (在使用频域光学相干层析成像(SD-OCT)的一个实施方案中);和/或

[0258] 最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了 ≥ 5 个字母。

[0259] 7.根据实施方案1至6中任一项所述的双特异性抗体(的应用) ,其中所述双特异性抗体是在3至7个每月一次施用的治疗起始后施用(在一个实施方案中,所述治疗起始包括3至5个每月一次的施用;在一个实施方案中,所述治疗起始包括4个每月一次的施用;在一个实施方案中,所述治疗起始包括5至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,所述治疗起始包括6个每月一次的施用)。

[0260] 8.根据实施方案1至7中任一项所述的双特异性抗体(的应用) ,其中所述眼血管疾病选自下组:湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)、新生血管性AMD、糖尿病性黄斑水肿(DME)、囊样黄斑水肿(CME)、非增殖型糖尿病性视网膜病变(NPDR)、增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)、视网膜中央静脉阻塞继发的黄斑水肿、视网膜半静脉阻塞继发的黄斑水肿或分支静脉阻塞继发的黄斑水肿、视网膜炎、结膜炎、葡萄膜炎、脉络膜炎、眼炎症(包括眼组织胞浆菌病或假定的组织胞浆菌病或脉络膜炎)继发的脉络膜新生血管形成(CNV);近视性脉络膜新生血管形成(mCNV),和外伤、早产儿视网膜病变和虹膜发红/虹膜红变性青光眼继发的脉络膜新生血管形成。

[0261] 9.根据实施方案1至7中任一项所述的双特异性抗体(的应用) ,其中所述眼血管疾病是糖尿病性黄斑水肿(DME)。

[0262] 10.根据实施方案1至7中任一项所述的双特异性抗体(的应用) ,其中所述眼血管疾病为湿性年龄相关的黄斑变性(湿性AMD)或新血管性年龄相关的黄斑变性(nAMD)。

[0263] 11.根据实施方案1至10中任一项所述的双特异性抗体(的应用) ,其中所述与VEGF和人ANG-2结合的双特异性抗体是VEGF拮抗剂/抑制剂和ANG2拮抗剂/抑制剂或抑制VEGF与其受体VEGFR的结合,并抑制ANG2与其受体TIE2的结合。

[0264] 12.根据实施方案1至11中任一项所述的双特异性抗体(的应用) ,其中每10至12周

施用所述双特异性抗体。

[0265] 13.根据实施方案1至11中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中每11至13周施用所述双特异性抗体。

[0266] 14.根据实施方案1至11中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中每12至14周施用所述双特异性抗体。

[0267] 15.根据实施方案1至11中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中每13至15周施用所述双特异性抗体。

[0268] 16.根据实施方案1至11中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中每14至16周施用所述双特异性抗体。

[0269] 17.根据实施方案1至16中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中所述与人VEGF和人ANG2结合的双特异性抗体是双特异性的二价抗VEGF/ANG2抗体,其包含与人VEGF特异性地结合的第一抗原结合位点和与人ANG-2特异性结合的第二个抗原结合位点,其中

[0270] i)与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:1的CDR3H区,SEQ ID NO:2的CDR2H区,和SEQ ID NO:3的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:4的CDR3L区,SEQ ID NO:5的CDR2L区,和SEQ ID NO:6的CDR1L区;和

[0271] ii)与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:9的CDR3H区,SEQ ID NO:10的CDR2H区和SEQ ID NO:11的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:12的CDR3L区,SEQ ID NO:13的CDR2L区和SEQ ID NO:14的CDR1L区,

[0272] 并且其中

[0273] iii)所述双特异性抗体包含人IgG1亚类的恒定重链区,其包含突变I253A、H310A和H435A以及突变L234A、L235A和P329G(根据Kabat的EU索引编号)。

[0274] 18.根据实施方案17所述的双特异性抗体(的应用),其中

[0275] i)与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列作为重链可变结构域VH,以及SEQ ID NO:8的氨基酸序列作为轻链可变结构域VL,和

[0276] ii)与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列作为重链可变结构域VH,以及SEQ ID NO:16的氨基酸序列作为轻链可变结构域VL。

[0277] 19.根据实施方案18所述的双特异性抗体(的应用),其中与人VEGF和人ANG2结合的双特异性抗体包含SEQ ID NO:17的、SEQ ID NO:18的、SEQ ID NO:19的和SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0278] 20.根据实施方案17至19中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中所述双特异性抗体以(每次治疗)约5至7mg的剂量施用。

[0279] 21.实施方案17至19中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中所述双特异性抗体以(每次治疗)约6mg的剂量施用(在一个实施方案中以(每次治疗)6mg+/-10%的剂量(在一个实施方案中,以(每次治疗)6mg的剂量)。

[0280] 22.根据实施方案20至21中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中所述双特异性抗体以约30mg/ml的浓度施用。

[0281] 23.根据实施方案20至21中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中所述双特异性抗体以约120mg/ml的浓度施用。

[0282] 24.根据前述实施方案中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中患有眼血管

疾病的患者先前未经抗VEGF治疗(例如单一疗法)治疗(是首次治疗的)。

[0283] 25.根据前述实施方案中任一项所述的双特异性抗体(的应用),其中患有眼血管疾病的患者先前已经用抗VEGF治疗(例如单一疗法)治疗。

[0284] 26.根据前述实施方案的双特异性抗体(的应用),其中所述眼血管疾病是DME,并且对患有DME的患者的治疗包括在治疗起始后固定的每8周(Q8W)的给药时间表(在一个实施方案中,治疗起始包括5至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括6个每月一次的施用)。

[0285] 27.根据前述实施方案的双特异性抗体(的应用),其中所述眼血管疾病是DME,并且对患有DME的患者的治疗包括在治疗起始后固定的Q12W的给药时间表(在一个实施方案中,治疗起始包括5至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括6个每月一次的施用)。

[0286] 28.根据实施方案27所述的双特异性抗体(的应用),其中,在治疗起始之后,在固定的Q12W给药方案之前进行Q8W的第一个剂量周期。

[0287] 29.根据前述实施方案所述的双特异性抗体(的应用),其中所述眼血管疾病是DME,并且对患有DME的患者的治疗包括在治疗起始之后的给药时间表,该给药时间表在稳定地不存在疾病时延长施用间隔,或者在存在疾病活动性时缩短施用间隔(在一个实施方案中,治疗起始包括3至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括4至6个每月一次的施用)。

[0288] 30.根据实施方案29所述的双特异性抗体(的应用),其中所述给药时间表包括患者根据其疾病状态接受Q8W或Q12W或Q16W给药(在一个实施方案中,根据其疾病状态Q4W或Q8W或Q12W或Q16W给药)。

[0289] 31.根据实施方案29或30所述的双特异性抗体(的应用),其中所述稳定地不存在疾病在被确定为

[0290] -中央子域厚度(CST)增加了<50 μm ;和/或

[0291] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了<5个字母

[0292] 且疾病活动性确定为

[0293] -中央子域厚度(CST)增加了 $\geq 50\mu\text{m}$;和/或

[0294] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了 ≥ 5 个字母

[0295] 32.根据实施方案29或30所述方法,其中所述稳定地不存在疾病在被确定为

[0296] -中央子域厚度(CST)低于约300 μm (在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于325 μm ;在一个实施方案中,通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于295 μm) ,

[0297] 且疾病活动性确定为

[0298] -中央子域厚度(CST)高于约300 μm (在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量高于325 μm ;在一个实施方案中,通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量高于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量高于315 μm ;在一个实施方案中,

通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于 295 μm 。

[0299] 33. 根据前述实施方案的双特异性抗体 (的应用), 其中眼血管疾病是AMD (在一个实施方案中是湿性AMD), 且对患有AMD的患者 (在一个实施方案中是湿性AMD) 的治疗包括治疗起始 (在一个实施方案中, 治疗起始包括3至7个每月一次的施用; 在一个实施方案中, 治疗起始包括4至6个每月一次的施用) 后的给药时间表, 该给药时间表在稳定地不存在疾病时延长施用间隔, 或者在存在疾病活动性时缩短施用间隔。

[0300] 34. 根据实施方案33所述的双特异性抗体 (的应用), 其中, 所述给药时间表包括患者根据其疾病状态接受Q8W或Q12W或Q16W给药 (在一个实施方案中, 根据其疾病状态Q4W或Q8W或Q12W或Q16W给药)。

[0301] 35. 根据实施方案33或34所述的双特异性抗体 (的应用), 其中所述稳定地不存在疾病在被确定为

[0302] -中央子域厚度 (CST) 增加了<50 μm ; 和/或

[0303] -最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA/ETDRS) 减少了<5个字母

[0304] 且疾病活动性确定为

[0305] -中央子域厚度 (CST) 增加了 $\geq 50\mu\text{m}$; 和/或

[0306] -最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA/ETDRS) 减少了 ≥ 5 个字母。

[0307] 36. 根据实施方案33或34所述的双特异性抗体 (的应用), 其中所述稳定地不存在疾病在被确定为

[0308] -中央子域厚度 (CST) 低于约300 μm (在一个实施方案中, 通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于 325 μm ; 在一个实施方案中, 通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于 315 μm ; 在一个实施方案中, 通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于 315 μm ; 在一个实施方案中, 通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于 295 μm),

[0309] 且疾病活动性确定为

[0310] -中央子域厚度 (CST) 高于约300 μm (在一个实施方案中, 通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于 325 μm ; 在一个实施方案中, 通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于 315 μm ; 在一个实施方案中, 通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于 315 μm ; 在一个实施方案中, 通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于 295 μm)。

[0311] 在下文中, 列出了本发明的实施方案:

[0312] 1. 用于治疗患有眼血管疾病的患者的方法, 该方法包括向所述患者施用有效量的与人血管内皮生长因子 (VEGF) 和人血管生成素2 (ANG-2) 结合的双特异性抗体,

[0313] 其中所述双特异性抗体每8周或更短频率 (在一个实施方案中每9周或更短频率; 在一个实施方案中每10周或更短频率; 在一个实施方案中每11周或更短频率; 在一个实施方案中每12周或更短频率; 在一个实施方案中每13周或更短频率; 在一个实施方案中每14周或更短频率; 在一个实施方案中每15周或更短频率) 玻璃体内施用。

[0314] 2A. 治疗患有眼血管疾病的患者的方法, 所述方法包括向所述患者施用有效量的与人血管内皮生长因子 (VEGF) 和人血管生成素结合的双特异性抗体, 其中与双特异性 VEGF/ANG2抗体给药之前患者的最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA) 字母评分相比, 所述患者获得

12个或更多个(在一个实施方案中13个或更多个,在一个实施方案中14个或更多个,在一个实施方案中15个或更多个)使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母。

[0315] 2B.治疗患有眼血管疾病的患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的与人血管内皮生长因子(VEGF)和人血管生成素结合的双特异性抗体,其中所述患者在施用双特异性VEGF/ANG2抗体之后经历了视力的改善,所述改善是如通过以下测量的:与双特异性VEGF/ANG2抗体给药之前患者的最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)字母评分相比,获得12个或更多个(在一个实施方案中13个或更多个,在一个实施方案中14个或更多个,在一个实施方案中15个或更多个)使用早期治疗糖尿病性视网膜病研究(ETDRS)样图表测量的BCVA字母。

[0316] 3.根据实施方案2A至2B中任一项所述的方法,

[0317] 其中所述双特异性抗体每8周或更短频率(在一个实施方案中每9周或更短频率;在一个实施方案中每10周或更短频率;在一个实施方案中每11周或更短频率;在一个实施方案中每12周或更短频率;在一个实施方案中每13周或更短频率;在一个实施方案中每14周或更短频率;在一个实施方案中每15周或更短频率)玻璃体内施用(待施用)。

[0318] 4.根据实施方案1至3中任一项所述的方法,其中在所述BCVA/ETDRS字母得分中字母的获得是分别在治疗开始后的4周,和/或8周,和/或12周,和/或第16周,和/或第20周,和/或第24周测量的。

[0319] 5.根据实施方案1至3中任一项所述的方法,其中在所述BCVA/ETDRS字母得分中字母的获得是分别在治疗开始后在45周,和/或在46周,和/或在47周,和/或在48周,和/或在49周,和/或在50周,和/或在51周,和/或在52周,和/或在53周,和/或在54周,和/或在55周,和/或在56周,和/或在57周,和/或在58周,和/或在59周,和/或在60周测量的。

[0320] 6.根据实施方案1至5中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体用于延长再治疗的时间和/或延长视力丧失的时间并且,其中在疾病活动性确定为以下的情况下,施用用双特异性抗体的再治疗:

[0321] 中央子域厚度(CST)增加 $\geq 50\mu\text{m}$ (在使用频域光学相干层析成像(SD-OCT)的一个实施方案中);和/或

[0322] 最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了 ≥ 5 个字母。

[0323] 7.根据实施方案1至6中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体是在3至7个每月一次施用的治疗起始后施用(在一个实施方案中,所述治疗起始包括3至5个每月一次的施用;在一个实施方案中,所述治疗起始包括4个每月一次的施用;在一个实施方案中,所述治疗起始包括5至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,所述治疗起始包括6个每月一次的施用)。

[0324] 8.根据实施方案1至7中任一项所述的方法,其中所述眼血管疾病选自下组:湿性年龄相关性黄斑变性(湿性AMD)、新生血管性AMD、糖尿病性黄斑水肿(DME)、囊样黄斑水肿(CME)、非增殖型糖尿病性视网膜病变(NPDR)、增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)、视网膜中央静脉阻塞继发的黄斑水肿、视网膜半静脉阻塞继发的黄斑水肿或分支静脉阻塞继发的黄斑水肿、视网膜炎、结膜炎、葡萄膜炎、脉络膜炎、眼炎症(包括眼组织胞浆菌病或假定的组织胞浆菌病或脉络膜炎)继发的脉络膜新生血管形成(CNV);近视性脉络膜新生血管形成(mCNV),和外伤、早产儿视网膜病变和虹膜发红/虹膜红变性青光眼继发的脉络膜新生血管

形成。

[0325] 9. 根据实施方案1至7中任一项所述的方法,其中所述眼血管疾病是糖尿病性黄斑水肿(DME)。

[0326] 10. 根据实施方案1至7中任一项所述的方法,其中所述眼血管疾病为湿性年龄相关的黄斑变性(湿性AMD)或新血管性年龄相关的黄斑变性(nAMD)。

[0327] 11. 根据实施方案1至10中任一项所述的方法,其中所述与VEGF和人ANG-2结合的双特异性抗体是VEGF拮抗剂/抑制剂和ANG2拮抗剂/抑制剂或抑制VEGF与其受体VEGFR的结合,并抑制ANG2与其受体TIE2的结合。

[0328] 12. 根据实施方案1至11中任一项所述的方法,其中每10至12周施用所述双特异性抗体。

[0329] 13. 根据实施方案1至11中任一项所述的方法,其中每11至13周施用所述双特异性抗体。

[0330] 14. 根据实施方案1至11中任一项所述的方法,其中每12至14周施用所述双特异性抗体。

[0331] 15. 根据实施方案1至11中任一项所述的方法,其中每13至15周施用所述双特异性抗体。

[0332] 16. 根据实施方案1至11中任一项所述的方法,其中每14至16周施用所述双特异性抗体。

[0333] 17. 根据实施方案1至16中任一项所述的方法,其中所述与人VEGF和人ANG2结合的双特异性抗体是双特异性的二价抗VEGF/ANG2抗体,其包含与人VEGF特异性地结合的第一抗原结合位点和与人ANG-2特异性结合的第二个抗原结合位点,其中

[0334] i) 与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:1的CDR3H区,SEQ ID NO:2的CDR2H区,和SEQ ID NO:3的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:4的CDR3L区,SEQ ID NO:5的CDR2L区,和SEQ ID NO:6的CDR1L区;和

[0335] ii) 与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含在重链可变结构域中的SEQ ID NO:9的CDR3H区,SEQ ID NO:10的CDR2H区和SEQ ID NO:11的CDR1H区,和在轻链可变结构域中的SEQ ID NO:12的CDR3L区,SEQ ID NO:13的CDR2L区和SEQ ID NO:14的CDR1L区,

[0336] 并且其中

[0337] iii) 所述双特异性抗体包含人IgG1亚类的恒定重链区,其包含突变I253A、H310A和H435A以及突变L234A、L235A和P329G(根据Kabat的EU索引编号)。

[0338] 18. 根据实施方案17所述的方法,其中

[0339] i) 与VEGF特异性结合的所述第一抗原结合位点包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列作为重链可变结构域VH,以及SEQ ID NO:8的氨基酸序列作为轻链可变结构域VL,和

[0340] ii) 与ANG-2特异性结合的所述第二抗原结合位点包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列作为重链可变结构域VH,以及SEQ ID NO:16的氨基酸序列作为轻链可变结构域VL。

[0341] 19. 根据实施方案18所述的方法,其中与人VEGF和人ANG2结合的双特异性抗体包含SEQ ID NO:17的、SEQ ID NO:18的、SEQ ID NO:19的和SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0342] 20. 根据实施方案17至19中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体以(每次治疗)约5至7mg的剂量施用。

[0343] 21. 实施方案17至19中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体以(每次治疗)约6mg的剂量施用(在一个实施方案中以(每次治疗)6mg+/-10%的剂量(在一个实施方案中,以(每次治疗)6mg的剂量)。

[0344] 22. 根据实施方案20至21中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体以约30mg/ml的浓度施用。

[0345] 23. 根据实施方案20至21中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体以约120mg/ml的浓度施用。

[0346] 24. 根据前述实施方案中任一项所述的方法,其中患有眼血管疾病的患者先前未经抗VEGF治疗(例如单一疗法)治疗(是首次治疗的)。

[0347] 25. 根据前述实施方案中任一项所述的方法,其中患有眼血管疾病的患者先前已经用抗VEGF治疗(例如单一疗法)治疗。

[0348] 26. 根据前述实施方案的方法,其中所述眼血管疾病是DME,并且对患有DME的患者的治疗包括在治疗起始后固定的每8周(Q8W)的给药时间表(在一个实施方案中,治疗起始包括5至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括6个每月一次的施用)。

[0349] 27. 根据前述实施方案的方法,其中所述眼血管疾病是DME,并且对患有DME的患者的治疗包括在治疗起始后固定的Q12W的给药时间表(在一个实施方案中,治疗起始包括5至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括6个每月一次的施用)。

[0350] 28. 根据实施方案27所述的方法,其中,在治疗起始之后,在固定的Q12W给药时间表之前进行Q8W的第一个剂量周期。

[0351] 29. 根据前述实施方案所述的方法,其中所述眼血管疾病是DME,并且对患有DME的患者的治疗包括在治疗起始之后的给药时间表,该给药时间表在稳定地不存在疾病时延长施用间隔,或者在存在疾病活动性时缩短施用间隔(在一个实施方案中,治疗起始包括3至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括4至6个每月一次的施用)。

[0352] 30. 根据实施方案29所述的方法,其中所述给药时间表包括患者根据其疾病状态接受Q8W或Q12W或Q16W给药(在一个实施方案中,根据其疾病状态Q4W或Q8W或Q12W或Q16W给药)。

[0353] 31. 根据实施方案28或29所述方法,其中所述稳定地不存在疾病在被确定为

[0354] -中央子域厚度(CST)增加了<50 μ m;和/或

[0355] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了<5个字母

[0356] 且疾病活动性确定为

[0357] -中央子域厚度(CST)增加了 \geq 50 μ m;和/或

[0358] -最佳矫正视觉敏锐度(BCVA/ETDRS)减少了 \geq 5个字母。

[0359] 32. 根据实施方案28或29所述方法,其中所述稳定地不存在疾病在被确定为

[0360] -中央子域厚度(CST)低于约300 μ m(在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于325 μ m;在一个实施方案中,通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于315 μ m;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于315 μ m;在一个实施方案中,通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像(SD-OCT)测量低于295 μ m),

[0361] 且疾病活动性确定为

[0362] -中央子域厚度 (CST) 高于约300 μm (在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于325 μm ;在一个实施方案中,通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于295 μm)。

[0363] 33.根据前述实施方案的方法,其中对患有AMD的患者 (在一个实施方案中是湿性AMD) 的治疗包括治疗起始 (在一个实施方案中,治疗起始包括3至7个每月一次的施用;在一个实施方案中,治疗起始包括4至6个每月一次的施用) 后的给药时间表,该给药时间表在稳定地不存在疾病时延长施用间隔,或者在存在疾病活动性时缩短施用间隔。

[0364] 34.根据实施方案33所述的方法,其中,所述给药时间表包括患者根据其疾病状态接受Q8W或Q12W或Q16W给药 (在一个实施方案中,根据其疾病状态Q4W或Q8W或Q12W或Q16W给药)。

[0365] 35.根据实施方案33或34所述方法,其中所述稳定地不存在疾病在被确定为

[0366] -中央子域厚度 (CST) 增加了<50 μm ;和/或

[0367] -最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA/ETDRS) 减少了<5个字母

[0368] 且疾病活动性确定为

[0369] -中央子域厚度 (CST) 增加了 $\geq 50\mu\text{m}$;和/或

[0370] -最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA/ETDRS) 减少了 ≥ 5 个字母。

[0371] 36.根据实施方案33或34所述方法,其中所述稳定地不存在疾病在被确定为

[0372] -中央子域厚度 (CST) 低于约300 μm (在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于325 μm ;在一个实施方案中,通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量低于295 μm) ,

[0373] 且疾病活动性确定为

[0374] -中央子域厚度 (CST) 高于约300 μm (在一个实施方案中,通过带有SpectralisTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于325 μm ;在一个实施方案中,通过带有CirrusTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有TopconTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于315 μm ;在一个实施方案中,通过带有OptovueTM设备的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 测量高于295 μm)。

实施例

[0375] 用与人VEGF和人ANG2结合的双特异性抗体治疗患有血管眼部疾病的患者

[0376] 实施例1A:治疗患有糖尿病性黄斑水肿 (DME) 的患者的功效和持久性

[0377] 目的

[0378] 主要目的

[0379] 这项研究的主要目的是:

[0380] 为了评价结合人VEGF和人ANG2的双特异性抗体的功效,所述双特异性抗体包含SEQ ID NO:17的,SEQ ID NO:18的、SEQ ID NO:19的和SEQ ID NO:20的氨基酸序列 (此抗体

VEGFang2-0016和其产生也详细描述于W02014/009465中,其通过引用并入本文)与在首次治疗的患有累及中心的糖尿病性黄斑水肿(center-involving diabetic macular edema)(CI-DME)的患者中的有效的比较器相比。本文中此双特异性抗VEGF/ANG2抗体的命名为R06867461或RG7716或VEGFang2-0016或法西单抗。使用每4周以1.5mg或6mg剂量IVT施用的R06867461的无菌,无色至褐色,无防腐剂溶液的小瓶。双特异性抗体的浓度为约120mg/ml。

[0381] 次要目的

[0382] 此研究的次要目的如下:

[0383] 为了调查药效学和解剖结果,告知R06867461作用机理。

[0384] 为了研究血浆抗R06867461抗体的形成。

[0385] 为了探索R06867461的作用持续时间。

[0386] 探索目的

[0387] 此研究的探索性目标如下:

[0388] 为了探索先前的IVT抗VEGF治疗对R06867461疗效的预测性作用。

[0389] 为了评价R06867461与在具有先前IVT抗VEGF治疗的CIDME患者中有效的比较器相比的疗效和安全性。

[0390] 为了评价R06867461对血浆中血管生成和炎症的标志物水平的影响。

[0391] 为了研究房水样品(可选)和玻璃体样品(可选)中R06867461的浓度以及在样品量允许的情况下血管生成和炎症的生物标志物。

[0392] 为了评价糖尿病性视网膜病变(DR)严重程度评分的改善。

[0393] 研究设计

[0394] 这是一项针对CI-DME患者的多中心,多剂量,随机化,有效的比较器对照的,双盲,三个平行组的36周的研究。

[0395] 这项研究的三个组如下:

[0396] A组:0.3mg雷珠单抗IVT

[0397] B组:1.5mg R06867461 IVT

[0398] C组:6mg R06867461 IVT

[0399] 只选择一只眼睛作为研究眼睛。如果两只眼睛都符合所有合格标准,则将BCVA较差的眼睛定义为研究眼睛。如果两只眼睛都符合所有合格标准,并且在第1天的BCVA字母得分相同,则由研究者自行决定选择研究用眼。

[0400] 患者数

[0401] 多达210名患者被随机分组。

[0402] 约150名首次治疗的患者和约60名先前应用IVT抗VEGF治疗的患者参加了该研究。

[0403] 每组约有50名首次治疗的患者被随机分组(1:1:1随机方案),先前用IVT抗VEGF治疗的约30名患者被随机分为A组和C组。

[0404] 目标人群

[0405] 具有CI-DME的≥18岁的男性和女性患者。

[0406] 入选/排除标准

[0407] 入选标准

[0408] 患者必须满足以下条件才能进入研究:

[0409] 研究眼的眼标准:

[0410] 与DR相关的黄斑水肿定义为通过涉及黄斑中心的频域光学相干层析成像 (SD-OCT) 的黄斑增厚:筛查时使用SpectralisTM (海德堡) 的中央子域厚度 (CST) $\geq 325\mu\text{m}$ (其中 Spectralis不可用,以下装置和CST阈值是可接受的:对于CirrusTM CST $\geq 315\mu\text{m}$,对于Topcon CST $\geq 315\mu\text{m}$,对于OptovueTM CST $\geq 295\mu\text{m}$)。

[0411] 视力下降主要归因于DME,具有在第1天早期治疗糖尿病性视网膜病研究 (ETDRS) - 样图表 (20/40-20/320Snellen等价物) 中最佳矫正视敏度 (BCVA) 字母得分73-24个字母 (包括端值)。

[0412] 透明的眼介质和足够的瞳孔散大以允许获得高质量的视网膜图像来确认诊断

[0413] 一般标准:

[0414] 如由世界卫生组织和/或美国糖尿病协会定义的,对糖尿病 (DM; 1型或2型) 的诊断

[0415] 能够并愿意提供书面知情同意书,并遵守根据国际协调会议 (ICH) 和当地法规的研究方案。或者,合法授权的代表必须能够根据ICH和地方条例同意患者。

[0416] 年龄 ≥ 18 岁

[0417] 对于非绝经后妇女 (即,如果不进行激素替代,则经FSH确认 ≥ 12 个月的非治疗诱导的闭经) 或经手术不育 (无卵巢和/或无子宫) 同意保持禁欲或使用联合避孕方法的妇女,所述联合避孕方法导致在治疗期间和最后给药后至少4周内每年 $<1\%$ 的失败率。

[0418] 禁欲只有在与患者偏爱和惯常生活方式相一致的情况下才可以接受。定期禁欲 (例如日历 (calendar), 排卵, 安全期避孕 (sympothermal) 或排卵后的方法) 和戒断是不可接受的避孕方法;

[0419] 预期每年失败率 $<1\%$ 的避孕方法的例子包括男性绝育,荷尔蒙植入物,正确组合使用口服或注射激素避孕药以及某些宫内避孕器。或者,可以组合使用两种方法 (例如,两种屏障避孕法,诸如避孕套和宫颈帽) 以达到每年 $<1\%$ 的失败率,必须始终使用杀精子剂来补充屏障避孕法。

[0420] 对于男性:同意在研究药物的最后一次给药后至少4周的治疗期内使用避孕的屏障避孕法

[0421] 患者必须愿意不参与任何其它临床试验,包括研究医学产品 (IMP) 或装置,直到完成当前研究。

[0422] 排除标准

[0423] 符合以下任何标准的患者均不参加研究:

[0424] 研究眼的眼标准:

[0425] 高风险PDR的任一迹象定义为:

[0426] 任何玻璃体或视网膜前出血

[0427] 在临床检查中相当于标准散瞳ETDRS 7视野的区域内NVE $\geq 1/2$ 视盘区域

[0428] 临床检查NVD $\geq 1/3$ 视盘区域

[0429] 在第1天之前的3个月内进行的任何IVT抗VEGF治疗

[0430] 在第1天之前的任一全视网膜光凝 (PRP) 治疗

[0431] 在第1天之前的3个月内进行任何黄斑激光光凝固术

[0432] 玻璃体视网膜手术史

- [0433] 在第1天之前的3个月内进行的任何IVT或眼周皮质类固醇治疗。在第1天之前的Iluvien®或Ozurdex®植入物的任何历史均不会被允许
- [0434] 在第1天之前的3个月内使用类固醇进行任何白内障手术或白内障手术的并发症的治疗
- [0435] 切口青光眼手术史
- [0436] 不受控制的青光眼(例如,视野的进行性丧失或定义为尽管用抗青光眼药物治疗,但眼内压[IOP] $\geq 25\text{mmHg}$)
- [0437] 研究眼中的并发的眼睛病况:
- [0438] 发红(rubeosis)的历史
- [0439] DME以外的任何眼病的当前或病史,可能会混淆黄斑的评估或影响中心视力(例如,年龄相关性黄斑变性,视网膜静脉阻塞,葡萄膜炎,血管样条纹,组织胞浆菌病,活跃的或不活跃的巨细胞病毒,病理性近视,视网膜脱离,黄斑牵引,黄斑裂孔,严重白内障)
- [0440] 任何目前的眼睛病况,在研究者看来,其视力损失不会由于黄斑水肿消退而改善(例如中央凹萎缩、色素异常、致密的中央凹下硬性渗出物、非视网膜病症)
- [0441] 第1天发生任何活动性眼部感染
- [0442] 第1天发生任何活动性眼内炎症(等级痕量或以上)
- [0443] 对侧眼的特征:
- [0444] 在第1天之前的7天内的任何抗VEGF治疗
- [0445] 研究人员认为,从第1天起7天内可能需要抗VEGF治疗的任何视网膜病况
- [0446] 一般标准:
- [0447] 在第1天之前的6个月内,任何全身性抗VEGF
- [0448] 在第1天之前的1个月内的任何重大疾病或重大外科手术
- [0449] 在第1天之前的1周内出现任何高热病
- [0450] 在第1天之前的12个月内发生任何中风或心肌梗塞
- [0451] 不受控制的血压(BP;定义为患者休息时收缩压 $>180\text{mmHg}$ 和/或舒张压 $>100\text{mmHg}$)。如果患者的初始读数超过了这些值,则可能在筛选期间的同一天或另一天的30分钟或更晚之后获取第二个读数。如果需要通过降压药物控制患者的血压,则患者应在第1天之前的至少1个月连续服用相同的药物。
- [0452] 筛选时糖化血红蛋白HbA1c $>12\%$ 的患者
- [0453] 在第1天之前的4个月内未治疗的糖尿病或开始口服抗糖尿病药物或胰岛素,或者在研究期间抗糖尿病药物的预期变化
- [0454] 在第1天之前的6个月内需要进行肾移植、血液透析或腹膜透析的肾功能衰竭,或者预期在研究期间的任何时间都需要进行血液透析或腹膜透析
- [0455] 其他疾病的病史,代谢功能障碍,体检发现或临床实验室发现,对禁忌使用IMP的病症或可能影响研究结果的解释或以研究者的意见使患者处于治疗并发症的高风险中的病况的合理怀疑
- [0456] 对于有生育能力的女性,阳性血液妊娠试验
- [0457] 哺乳期女性
- [0458] 第1天之前的1个月内使用全身性皮质类固醇

- [0459] 对有效的比较器、荧光素,所用的制剂的任何成分,散大眼药水或所用的任何麻醉药和微生物滴剂的任何已知超敏反应
- [0460] 使用有效的比较器的任何其他限制
- [0461] 在第1天之前的3个月内使用IMP进行的任何治疗
- [0462] 研究的时长
- [0463] 每个参加的患者的研究总持续时间长达40周(从筛选到研究完成),如下所示:
- [0464] 筛选:长达4周
- [0465] 基线:第1天
- [0466] 研究治疗施用期:从第1天到第20周
- [0467] 观察期:从第20周到第36周
- [0468] 安全性随访电话:在观察期和雷珠单抗给药后7天
- [0469] 研究的结束
- [0470] 研究的结束定义为最后一名患者最后一次观察(LPL0)发生的日期。预期在最后一名患者参加后36周发生LPL0。
- [0471] 功效和药效学结果量度
- [0472] 主要分析人群为首次治疗的患者。可以对总体人群和先前用IVT抗VEGF治疗的患者进行额外的分析。
- [0473] 这项研究的主要功效结果量度是在首次治疗的患者中在第24周相对于基线的BCVA(ETDRS字母)的平均变化。
- [0474] 通过SD-OCT的解剖结果测量:
- [0475] 第24周中央凹中心点厚度相对于基线的平均变化
- [0476] 第24周的平均CST(直径1毫米)相对于基线的平均变化
- [0477] 第24周视网膜下和视网膜内的流体消退的患者比例
- [0478] 通过眼底荧光血管造影(FFA)的解剖结果测量
- [0479] 在第24周黄斑区渗出消退的患者比例
- [0480] 第24周中央凹无血管区域的大小相对于基线的变化
- [0481] 探索性结果测量
- [0482] 这项研究的探索性结果测量包括但不限于以下各项:
- [0483] BCVA:
- [0484] 首次治疗的患者与先前用IVT抗VEGF治疗的患者之间相对于基线的平均BCVA变化之间的差异(R06867461的差异作用)
- [0485] 与持久性有关的探索性结果测量:
- [0486] 与第20周的值相比,由于DME而使CST增加 $\geq 50\mu\text{m}$ 和/或损失BCVA ≥ 5 个字母的时间
- [0487] 第20周后用0.3mg雷珠单抗重新治疗的时间
- [0488] 结果
- [0489] 主要疗效分析包括所有随机分组的患者,并根据随机分组的治疗分组患者。
- [0490] 主要功效变量是从基线到第24周的BCVA变化。使用重复测量的混合模型(MMRM)模型进行主要功效分析。
- [0491] 最佳矫正视觉敏锐度

[0492] 在散瞳之前,由经训练且认证的VA检查者在4米的开始测试距离处测量BCVA,该检查者被设盲以研究药物组任务。

[0493] BCVA是通过使用三个Precision VisionTM或Lighthouse距离视力表(经修改的ETDRS表1、2和R)的集合进行测量的。VA手册已提供给研究人员。在进行任何VA检查之前,已获得VA检查者和VA检查室证书。

[0494] 对BCVA检查员设盲以研究眼睛和治疗任务,并且将仅执行屈光度和BCVA评估(例如,视力规范手册)。BCVA检查者也已经针对患者以前的就诊的BCVA字母分数而被设盲,并且只知道患者以前的就诊屈光度数据。不允许BCVA检查者执行任何其他直接患者护理的任务。

[0495] 表:研究眼的基线眼部特征

研究眼中目的基线眼特征的小结,所有患者,未经治疗的患者 程序:BP30099				
	0.3 mg 雷珠单抗 (N=59)	1.5 mg R06867461 (N=54)	6 mg R06867461 (N=55)	All Patients (N=168)
最佳矫正视觉敏锐度结果				
n	58	54	53	165
平均值 (SD)	61.24 (9.87)	60.94 (11.11)	60.15 (10.80)	60.79 (10.53)
中值	64.00	63.50	63.00	63.00
最小 - 最大	33.0 - 73.0	35.0 - 85.0	25.0 - 73.0	25.0 - 85.0
最佳矫正视觉敏锐度分类				
n	58	54	53	165
20/40 或更好	13 (22.4%)	15 (27.8%)	11 (20.8%)	39 (23.6%)
20/200 或更差	4 (6.9%)	3 (5.6%)	3 (5.7%)	10 (6.1%)
比 20/200 更好但比 20/40 更差	41 (70.7%)	36 (66.7%)	39 (73.6%)	116 (70.3%)
基线 BCVA 20/40 或更好 / 比 20/40 更差				
n	58	54	53	165
比 20/40 更差	45 (77.6%)	39 (72.2%)	42 (79.2%)	126 (76.4%)
20/40 或更好	13 (22.4%)	15 (27.8%)	11 (20.8%)	39 (23.6%)
基线 BCVA 20/200 或更差 / 比 20/200 更好				
n	58	54	53	165
比 20/200 更好	54 (93.1%)	51 (94.4%)	50 (94.3%)	155 (93.9%)
20/200 或更差	4 (6.9%)	3 (5.6%)	3 (5.7%)	10 (6.1%)
中央子域厚度				
n	58	54	53	165
平均值 (SD)	490.88 (139.01)	535.44 (163.13)	495.57 (132.70)	506.97 (145.95)
中值	476.00	489.00	466.00	478.00
最小 - 最大	316.0 - 999.0	302.0 - 1000.0	234.0 - 825.0	234.0 - 1000.0

[0497] 主要疗效结果测量如图1所示。图1显示了主要功效终点:到目前为止,对于首次治疗的患者,随着时间的推移到第24周,BCVA相对于基线的变化。VA2是指双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461,其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列,SEQ ID NO:18的氨基酸序列,SEQ ID NO:19的氨基酸序列和SEQ ID NO:20的氨基酸序列(玻璃体内施用6.0mg或1.5mg剂量),RBZ是指雷珠单抗(Lucentis[®])(以0.3mg剂量玻璃体内施用))。

[0498] 中央子域厚度(CST)相对于基线的变化(研究眼)

[0499] 一个关键的次要终点是CST(中央子域厚度)相对于基线的变化。结果如图2所示。将包含SEQ ID NO:17,SEQ ID NO:18,SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的氨基酸序列的双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461(玻璃体内以6.0mg或1.5mg剂量施用)与雷珠单抗(Lucentis[®])(玻璃体内以0.3mg剂量施用)进行比较。该次要解剖终点定向支持BCVA主要结果。

[0500] 持久性/再次治疗时间

[0501] 观察期使用雷珠单抗治疗的标准

[0502] 在研究治疗的最后一次给药后(第20周就诊)每次就诊时,评估BCVA并进行SD-OCT

成像(第26周就诊除外)。

[0503] 将第24周获得的BCVA和CST值与就诊第20周获得的值进行比较。将第28、32和36周的BCVA和CST值与第24周的BCVA和CST值进行比较。

[0504] 如果患者符合以下两个标准,则患者将接受0.3mg雷珠单抗的单次剂量的治疗并退出研究:

[0505] ●CST增加了 $\geq 50\mu\text{m}$,

[0506] ●由于DME,BCVA减少了 ≥ 5 个字母

[0507] 结果如图3所示:图3显示了中断给药后重新治疗的时间(20周或6个每月一次给药后=最后一次玻璃体内(IVT)施用后的时间),基于以下两者评估的疾病活动性:BCVA降低了 ≥ 5 个字母和CST增加了 $\geq 50\mu\text{m}$ 。将包含SEQ ID NO:17,SEQ ID NO:18,SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的氨基酸序列的双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461(玻璃体内以6.0mg或1.5mg剂量施用)与雷珠单抗(Lucentis®)(玻璃体内以0.3mg剂量施用)进行比较。

[0508] 作为概述,图4表示了基于已公开结果与DME其他治疗选项的示意图比较(将以下药物进行比较:Lucentis®(雷珠单抗),Eylea®(阿柏西普),溴利珠单抗(brolucizumab)和VA2(R06867461/RG7716)。

[0509] 实施例1B:治疗患有糖尿病性黄斑水肿(DME)的患者的功效和持久性

[0510] 在类似于上述实施例1A的研究的进一步研究中,患有DME(例如,累及中心的糖尿病性黄斑水肿(CI-DME))的患者用与人VEGF和人ANG2结合的双特异性抗体治疗,所述双特异性抗体包含SEQ ID NO:17,SEQ ID NO:18,SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的氨基酸序列。作为治疗中的有效比较者,例如阿柏西普和/或雷珠单抗和/或溴利珠单抗(brolucizumab)将被使用。患者包括首次抗VEGF治疗的患者(先前未经用例如阿柏西普和/或雷珠单抗和/或溴利珠单抗的抗VEGF单一疗法治疗的),以及一组先前已经用抗VEGF单一疗法治疗的患者。与人VEGF和人ANG2结合的各自双特异性抗体的命名为R06867461或RG7716。使用以1.5mg或6mg剂量IVT施用的R06867461的无菌,无色至褐色,无防腐剂溶液的小瓶。

[0511] 使用以下一种或更多种给药时间表:

[0512] a) 患有DME的患者将在治疗起始(例如,6次初始的每月一次注射)后用固定的Q8W给药时间表治疗

[0513] b) 患有DME的患者将在治疗起始(例如,初始的6个月注射)后用固定的Q12W给药(在一个时间表中首先用一个周期的Q8W)治疗

[0514] c) 患有DME的患者将在治疗起始(例如用3-7个每月一次的初次注射)用以下给药方案治疗:在稳定地不存在疾病时延长注射间隔,或者在存在疾病活动性时缩短注射间隔。这样的方案包括例如根据患者的病情,该患者接受Q4W/Q8W/Q12W/Q16W给药。

[0515] 疾病稳定性评估将基于最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)和CST,以及基于光学相干层析成像(OCT)的视网膜厚度。结果测量和结果将按照描述于例如实施例1中的评价。主要终点将在45至60周之间。

[0516] 在一个实施方案中,患有DME的患者是首次治疗的(先前未经用例如阿柏西普和/或雷珠单抗和/或溴利珠单抗的抗VEGF单一疗法治疗的)。

[0517] 在一个实施方案中,患有DME的患者是先前经用例如阿柏西普和/或雷珠单抗和/或溴利珠单抗的抗VEGF单一疗法治疗的)。

[0518] 在一个实施方案中,患有DME的患者将在治疗起始(例如,初始的6个每月一次注射)后用固定的Q8W给药时间表治疗。

[0519] 在一个实施方案中,患有DME的患者将在治疗起始(例如,初始的6个每月一次注射)后用固定的Q12W给药(在一个实施方案中首先用一个周期的Q8W)治疗。

[0520] 在一个实施方案中,患有DME的患者将在治疗起始(例如用3-7个初始的每月一次的注射)用以下给药方案治疗:在稳定地不存在疾病时延长注射间隔,或者在存在疾病活动性时缩短注射间隔。在一个实施方案中,这样的方案包括根据患者的病情,患者接受Q4w/Q8w/Q12w/Q16w给药。

[0521] 在一个实施方案中,患有AMD的患者将在治疗起始(例如用3-4个的初始的每月一次的注射)用以下给药方案治疗:在稳定地不存在疾病时延长注射间隔,或者在存在疾病活动性时缩短注射间隔。在一个实施方案中,这样的方案包括根据患者的病情,患者接受Q4W/Q8W/Q12W/Q16W给药。

[0522] 实施例2A:治疗患有年龄相关性黄斑变性(AMD)的患者的功效和持久性

[0523] 目的和终点

[0524] 这项研究已经评价了以在患有新血管性年龄相关性黄斑变性(nAMD)患者中以12周和16周的间隔施用的R06867461疗效、安全性和药代动力学。R06867461是结合人VEGF和人ANG2的双特异性抗体,所述双特异性抗体包含SEQ ID NO:17的,SEQ ID NO:18的,SEQ ID NO:19的和SEQ ID NO:20的氨基酸序列(此抗体VEGFang2-0016及其产生也详细描述于W02014/009465中,其通过引用并入本文)。本文中此双特异性抗VEGF/ANG2抗体的命名为R06867461或RG7716或VEGFang2-0016或法西单抗(faricimab)。

[0525] 研究的具体目的和相应的终点概述如下。

[0526] 目的和相应的终点

[0527] 主要功效目的

[0528] • 为了评估以2周和16周的间隔施用的R06867461对视力的功效

[0529] 对应的终点

[0530] • 使用类似ETDRS的图表在第40周的相对于基线BCVA的平均变化次要疗效目的:

[0531] 1) 为了评价R06867461对额外视力结果的疗效

[0532] 对应的终点

[0533] • 使用类似ETDRS的图表随时间的推移相对于基线BCVA的平均变化

[0534] • 随着时间的推移相对于基线BCVA获得 ≥ 15 , ≥ 10 , ≥ 5 或 ≥ 0 个字母的患者比例

[0535] • 随着时间的推移避免相对于基线BCVA丢失 ≥ 15 , ≥ 10 , ≥ 5 或 ≥ 0 个字母的患者比例

[0536] • 随着时间的推移,BCVA为20/40或更高的患者比例

[0537] • 随着时间的推移,BCVA为20/200或更差的患者比例

[0538] 2) 为了使用SD-OCT评价R06867461在解剖结果测量中的功效

[0539] 对应的终点

[0540] • CFT随时间的推移相对于基线的平均变化

[0541] • 随着时间的推移,平均CST(直径1毫米)相对于基线的平均变化

[0542] • 随着时间的推移,视网膜内流体,视网膜下流体,囊肿或色素上皮脱离的患者比

例

[0543] 3) 为了使用FFA评价R06867461在解剖结果测量中的功效

[0544] 对应的终点

[0545] • 第40周和52周CNV总面积相对于基线的平均变化

[0546] • 第40周和52周CNV成分总面积相对于基线的平均变化

[0547] • 第40周和52周泄漏的总面积相对于基线的平均变化

[0548] 探索性功效目的

[0549] • 调查在第24周疾病活动性的发生率

[0550] 对应的终点

[0551] • 在第24周有疾病活动性的患者比例

[0552] 安全性目的

[0553] • 为了评估以12周和16周的间隔的R06867461的多个IVT剂量的安全性

[0554] 对应的终点

[0555] • 眼不良事件的发生率和严重程度

[0556] • 非眼部不良事件的发生率和严重程度

[0557] • 其他安全性数据,包括但不限于退出研究的原因,实验室数据,伴随药物,生命体征和体检结果,将被列出和描述性地总结

[0558] 探索性的药代动力学/药效学目的

[0559] 1) 为了评估R06867461的全身PK曲线

[0560] 对应的终点

[0561] • R06867461在指定时间的血浆浓度

[0562] 2) 评价房水中的R06867461、雷珠单抗、游离VEGF-A和Ang-2概况。

[0563] • 房水R06867461浓度或PK参数与游离VEGF-A和Ang-2浓度之间的关系

[0564] 对应的终点

[0565] • 房水雷珠单抗浓度或PK参数与游离VEGF-A和Ang-2浓度之间的关系

[0566] • 房水中游离VEGF-A和Ang-2浓度的时程

[0567] 免疫原性目的

[0568] • 为了研究血浆抗R06867461抗体的形成

[0569] 对应的终点

[0570] • 研究期间ADA的发生率

[0571] 探索性生物标志物目的

[0572] • 在基线和额外时间点探索房水中血管生成和炎症的潜在生物标志物水平,以评估其对R06867461的反应

[0573] 对应的终点

[0574] • 潜在生物标志物的房水浓度与主要和次要终点之间的关系

[0575] 上面使用的缩写:

[0576] ADA=抗药物抗体;Ang-2=血管生成素2;BCVA=最佳矫正视觉敏锐度;CFT=中央凹厚度;CNV=脉络膜新生血管形成;CST=中央子域厚度;ETDRS=早期治疗糖尿病视网膜病变研究;FFA=眼底荧光素血管造影;IVT=玻璃体内;PK=药代动力学;SD-OCT=频域光

学相干层析成像;VEGF-A=血管内皮生长因子A。

[0577] 研究设计(图5给出了研究设计的概述)

[0578] 研究描述

[0579] 这是一项II期,多中心,随机的,有效的比较者对照、受试者和结果评估员设盲的,平行组,52周研究,以研究在用nAMD首次治疗的患者中以12周和16周间隔施用的R06867461的功效、安全性和药代动力学。

[0580] 约有75名患者参加并按2:2:1的比例随机分配到三个治疗组之一:

[0581] • A组 (Q12W):每4周玻璃体内 (IVT) 6mg R06867461直到第12周(4次注射),然后每12周IVT 6mg R06867461直至第48周(在第24、36和48周注射;3次注射)

[0582] • B组 (Q16W):每4周IVT 6mg R06867461直到第12周(4次注射),然后每16周IVT 6mg R06867461直到第48周(在第28和44周注射;2次注射)。方案限定的第24周疾病活动性评估要求在剩余研究中,患有活动性疾病组B患者(请参阅以下标准)转换为12周一次6mg R06867461的给药方案,在第24周开始注射,并在第36周和第48周重复。

[0583] • C组(比较者组):每4周IVT 0.5毫克雷珠单抗,持续48周(13次注射),只选择一只眼睛作为研究用眼。每位患者的研究总持续时间将长达56周,划分如下:

[0584] • 筛查:随机分组之前或当天最多4周

[0585] • 随机分组:第1天

[0586] • 研究治疗施用:从第1天到第48周

[0587] • 最终就诊:第52周

[0588] 患者在研究治疗施用后的4周内已经接受了筛选检查。如果所有评估(除了知情同意之外)均在48小时内完成,则筛选和第1周/第1天(随机)访问可能是作为合并访问而发生。在筛选(或联合筛选/第1天就诊)期间,评估了患者的资格,包括对眼底摄影(FP),频域光学相干层析成像(SD-OCT)和眼底荧光素血管造影(FFA)的主要评述,以确保AMD继发的CNV符合研究中的预定的眼标准。由于以下任何原因而被视为基于筛选结果不合格的患者,可以重新筛选:

[0589] • 不受控制的血压

[0590] • 管理原因(例如,无法在筛选访问后的28天内安排第1天)

[0591] • 不符合研究眼的资格标准(如果患者可能有资格在初始筛选期后参加第二只眼)

[0592] 在重新筛选时,所有筛选就诊评估均已执行(FFA影像采集除外),前提是符合中央阅读中心要求的FFA图像是在新的第1天访视(随机化)之前的4周内拍摄的。

[0593] 在第1天,符合条件的患者根据上述随机时间表并遵循既定的标准施用程序,首次接受R06867461或雷珠单抗的IVT施用。患者在首次IVT施用后7天返回眼科诊所,然后每4周返回一次,以按照方案中的活动时间表概述进行研究治疗施用和评估。将假IVT施用分配递送至随机分配到A组和B组的患者,以在整个研究期间维持设盲。

[0594] 在第24周评估所有患者的疾病活动性。随机分至第B组的在第24周患有活动性疾病的患者(参见以下标准)在本研究的其余时间切换至6mg R06867461的Q12W给药方案,在第24周开始注射并在第36和48周重复。

[0595] 如果满足以下任何标准,则确定为活动性疾病:

[0596] • 中央子域厚度的增加 (Spectralis®OCT的CST>50 μm , 与最近两次就诊 (第16周和第20周) 的平均CST相比)

[0597] 或者

[0598] • 与第16周或第20周记录的最低CST相比, CST增加 $\geq 75\mu\text{m}$

[0599] 或者

[0600] • 由于nAMD疾病活动性, 与最近两次就诊 (第16周和第20周) 的平均BCVA相比, 最佳矫正视觉敏锐度 (BCVA) 至少减少了5个字母

[0601] 或者

[0602] • 由于nAMD疾病活动性, 与第16周或第20周记录的最高BCVA相比, 减少了 ≥ 10 个字母的BCVA或

[0603] • 由于nAMD活性而存在新的黄斑出血

[0604] 患者将在第52周返回最后一次就诊。在最后一次就诊之后, 应按照方案中概述的对不良事件进行随访。如果计划外就诊, 则应由研究者酌情进行评估。

[0605] 患者人数: 在美国, 这项研究预期将有约75名首次治疗的nAMD患者参加并随机分组。

[0606] 目标人群

[0607] 入选标准

[0608] 患者符合以下进入研究的标准: 眼部研究标准

[0609] • 继发于AMD的首次治疗的CNV (nAMD)

[0610] • 视网膜中央凹下CNV或视网膜中央凹旁CNV (juxtafoveal CNV), 其与通过FFA或SD-OCT的CNV活动性相关的视网膜中央凹下成分 (如视网膜下流体, 视网膜下超反射材料, 渗漏的证据或出血)

[0611] • 所有类型的CNV损伤 (主要是经典的、最低限度地经典的或潜隐的CNV损伤), 其具有: 总损伤大小 (包括血液、萎缩、纤维化和新生血管形成) (通过FFA) ≤ 6 个视盘区域, 且CNV组成区域占总损伤大小 (通过FFA) 的 $\geq 50\%$ 和通过FFA证实的有效CNV (渗漏的证据) 和由SD-OCT证实的CNV渗出 (流体的存在)

[0612] • 透明的眼介质和足够的瞳孔散大以允许获得高质量的视网膜图像来确认诊断一般性标准

[0613] • 签署知情同意书

[0614] • 第一天的年龄 ≥ 50 岁

[0615] • 根据研究者的判断, 能够遵守研究方案

[0616] • 对于有生育能力的妇女: 同意在治疗期间以及在研究治疗的最后一次用药后至少28天保持禁欲 (避免异性性交) 或使用具有每年失败率 $<1\%$ 的避孕方法

[0617] • 患者必须愿意不参与任何其它临床试验, 包括研究医学产品 (IMP) 或装置, 直到完成当前研究。

[0618] 排除标准

[0619] 符合以下任何标准的患者均不参加研究:

[0620] 研究眼的眼标准

[0621] • CNV是由AMD以外的原因引起的, 例如眼组织胞浆菌病, 创伤, 病理性近视, 血管

样条纹,脉络膜破裂或葡萄膜炎

[0622] • 筛选中枢性浆液性脉络膜视网膜病

[0623] • 涉及黄斑的视网膜色素上皮撕裂

[0624] • FFA时,大于总损伤面积的50%的FFA视网膜下出血和/或涉及总损伤面积的大于50%的中央凹纤维化或萎缩和/或涉及中央凹

[0625] • CNV的任何先前的或伴随治疗,包括(但不限于)IVT治疗(类固醇,抗血管内皮生长因子[VEGF],组织纤溶酶原激活物,ocriplasmin,C3F8气体,空气),眼周药物干预,氩激光器光凝固,Verteporfin光动力疗法,二极管激光,经瞳孔温热疗法或手术干预 • 在基线评估(第1天)的3个月内进行白内障手术

[0626] • 其他任何眼内手术(平坦部玻璃体切除术,青光眼手术,角膜移植,放疗)

[0627] • 除用类固醇IVT治疗控制白内障并发症外的先前的IVT治疗(包括抗VEGF药物治疗) • 其它视网膜疾病并发的眼睛病况的先前的眼周药理学干预

[0628] • 研究眼睛中任何同时发生的眼内病况(例如,弱视、无晶状体、视网膜脱离、白内障、糖尿病性视网膜病或黄斑病,或具有牵引的视网膜前膜),在研究者看来,所述病况可以降低视觉改善的可能性或在研究过程中需要医学或外科干预

[0629] • 第1天(随机分组之前)研究眼的活动性眼内炎症(等级痕量或以上) • 第一天早期治疗糖尿病性视网膜病变研究(ETDRS) - 类图上的73至24个字母(含)的BCVA字母评分(20/40至20/320Snellen当量(Snellen equivalent))

[0630] • 研究眼中目前的玻璃体出血

[0631] • 研究眼中不受控制的青光眼(例如,视野的进行性丧失或定义为尽管用抗青光眼药物治疗,但眼内压[IOP] $\geq 25\text{mmHg}$)

[0632] • 屈光不正的球面镜片等值,表明研究眼睛的近视超过8屈光度

[0633] • 在两只眼中的任一只的原发性的或自身免疫性相关的葡萄膜炎病史

[0634] • 第1天(随机化之前)任何一只眼睛的活动性传染性结膜炎,角膜炎,巩膜炎或眼内炎

[0635] 一般标准

[0636] • 筛选前1个月内的任何重大疾病或重大外科手术

[0637] • 不受控制的血压([BP]定义为患者休息时收缩压 $>180\text{mmHg}$ 和/或舒张压 $>100\text{mmHg}$)。如果患者的初始读数超过这些值,则可能会在筛选期间的同一天或另一天稍后再进行第二次读数。如果患者的血压是由降压药控制的,则患者应在第1天之前至少连续30天连续服用相同的药物。

[0638] • 在第1天之前的3个月内发生中风或心肌梗塞

[0639] • 其他疾病的病史,代谢功能障碍,体检发现或临床实验室发现,对禁忌使用试验药的病症或可能影响研究结果的解释或以研究者的意见使患者处于治疗并发症的高风险中的病况的合理怀疑

[0640] • 怀孕或母乳喂养,或打算在研究期间怀孕有生育能力的妇女必须在研究治疗的起始之前28天内尿液妊娠试验结果阴性。如果尿液妊娠试验呈阳性,则必须通过血清妊娠试验进行确认。

[0641] • 对雷珠单抗,荧光素,所用制剂的任何成分,散瞳药水或所用的任何麻醉药和抗

微生物药水的已知的超敏反应

[0642] • 在研究治疗的起始之前的3个月内采用调查研究疗法的治疗

[0643] 研究结束

[0644] 研究的结束定义为最后一名患者最后一次就诊 (LPLV) 的日期。LPLV预计在最后一名患者参加后52周发生。

[0645] 研究的时长

[0646] 从筛选第一位患者到研究结束,研究的总时长预计为约18-19个月。

[0647] 调查研究的医药产品测试产品

[0648] R06867461药物产品 (120mg/mL) 以无菌,无色至褐色液体提供,不含防腐剂。使用以6mg剂量IVT施用的R06867461的无菌,无色至褐色,无防腐剂溶液的小瓶。双特异性抗体的浓度为约120mg/ml。

[0649] 剂量和施用,

[0650] R06867461,雷珠单抗和假品

[0651] 根据如下所述的随机时间表,给患者50μL的R06867461或雷珠单抗的IVT注射入研究眼,或进行假品施用

[0652] • A组 (Q12W) :每4周IVT 6mg R06867461直到第12周 (4次注射),然后每12周IVT 6mg R06867461直至第48周 (在第24、36和48周注射;3次注射)

[0653] • B组 (Q16W) :每4周IVT 6mg R06867461直到第12周 (4次注射)),然后每16周IVT 6mg R06867461直至第48周 (在第28和44周注射;2次注射)

[0654] • 组C (比较组) :每4周0.5mg雷珠单抗IVT,持续48周 (13次注射)

[0655] 只选择一只眼睛作为研究眼睛。

[0656] 学习评估

[0657] 在几个评估一致的时间点,研究者酌情建议以下顺序。可以对顺序进行调整,以优化现场人员和患者的时间管理,除非明确说明是强制性的 (即,斜体文字) :

[0658] • 生命体征

[0659] • 血液采样:在进行FFA的就诊时,可以从同一静脉套管进行血液采样和血管造影。血样必须在血管造影前收集。

[0660] • 眼睛评估和成像

[0661] BCVA:必须在瞳孔散大之前进行BCVA。在筛选和第1天就诊时,可以在生命体征和血液采样之前进行BCVA,以避免对那些因BCVA字母得分的结果而导致筛查失败的患者进行不必要的科学评估。

[0662] 裂隙灯检查

[0663] 瞳孔散大

[0664] SD-OCT

[0665] FP (+红外反射率)

[0666] FFA

[0667] 散大的双目间接高倍检眼镜检查

[0668] IOP:必须在所有影像学评估后执行,并且在整个研究期间应使用相同的方法

[0669] • 房水取样 (可选的)

[0670] 疾病特异性评估

[0671] 除非在活动性时间表(附录1)中另有说明,否则均对两只眼睛进行所有眼睛评估。

[0672] 最佳矫正视觉敏锐度

[0673] 在散大眼睛之前,由经训练且认证的视力(VA)检查者在4米的开始测试距离处测量BCVA,该检查者被设盲以研究眼睛治疗任务。

[0674] BCVA是使用三个Precision Vision TM或Lighthouse距离视力表(经修改的ETDRS表1、2和R)的集合进行测量的。VA操作手册已提供给研究人员。在进行任何VA检查之前,已获得VA检查者和VA检查室证书。

[0675] BCVA检查者被设盲以研究眼睛和治疗任务,并且将执行屈光度和BCVA评估(例如,VA规范手册)。BCVA检查者也针对患者以前的就诊的BCVA字母分数而被设盲,并且可能只知道患者以前的就诊屈光度数据。

[0676] 额外的眼睛评估

[0677] 在研究期间进行的其他眼睛评估包括如下:

[0678] • 裂隙灯检查(附录2中详细描述了用于分级爆发(flare)/细胞和玻璃体出血密度的标度)

[0679] • 散大的双目间接高倍检眼镜检查

[0680] • IOP

[0681] 在整个研究中,用于患者的IOP测量方法保持一致。所有成像后均进行两只眼睛的IOP测量。

[0682] 在研究治疗就诊时,在研究治疗施用之前和治疗施用之后的30(±15)分钟对研究眼进行IOP压力测定;如果IOP≥30mmHg,则应在30(±15)分钟后重新评估IOP。如果眼压继续升高,则由研究者酌情进行治疗。

[0683] • 手指计数视觉评估

[0684] 在研究眼中,酌情通过测试手指计数视力、手运动或光感,在研究治疗施用后立即(治疗施用后最大15分钟内)对每个患者评估治疗后视神经头灌注。

[0685] 眼成像

[0686] 中央阅读中心为现场提供了中央阅读中心手册和用于研究命令的眼成像的培训材料。在获得研究图像之前,应按照中央阅读中心手册中的规定,通过阅读中心对现场人员和成像系统(如果适用)进行认证。所有研究受试者的眼睛图像仅由经训练的且经过中央阅读中心认证的人员在研究现场在认证/注册的设备上获得。将所有研究受试者的眼睛图像的拷贝转移到中央阅读中心进行存储和独立分析,包括确认已定义图像相关标准的资格。

[0687] 第24周疾病活动性评估

[0688] 在第24周评估所有患者的疾病活动性。随机分至第B组的在第24周患有活动性疾病患者(参见以下标准)在本研究的其余时间切换至6mg R06867461的Q12W给药方案,在第24周开始注射并在第36和48周重复。

[0689] 如果满足以下任何标准,则确定为活动性疾病:

[0690] • 与最近两次就诊(第16周和第20周)的平均CST相比,在Spectralis®OCT上CST的增加CST>50μm,

[0691] 或者

- [0692] • 与第16周或第20周记录的最低CST相比, CST增加 $\geq 75\mu\text{m}$
- [0693] 或者
- [0694] • 由于nAMD疾病活动性, 与最近两次就诊(第16周和第20周)的平均BCVA相比, BCVA至少减少了5个字母
- [0695] 或者
- [0696] • 由于nAMD疾病活动性, 与第16周或第20周记录的最高BCVA相比, 减少了 ≥ 10 个字母的BCVA

[0697] 或者

[0698] • 由于nAMD活性而出现新的黄斑出血

[0699] 结果

[0700] 最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)和BCVA获得的持久性(再治疗以维持BCVA获得的时间)

[0701] 主要疗效结果测量如图6所示。图6显示了主要功效终点:从基线随时间到第40周的BCVA变化。R06867461是指包含SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的氨基酸序列的双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461(玻璃体内以6.0mg剂量Q12W或Q16W施用), 雷珠单抗(Lucentis®)玻璃体内以0.3mg剂量Q4W施用。R06867461Q12W或Q16W组的初始BCVA获得完全保持不变, 与雷珠单抗(Lucentis®)Q4W组的范围相似。

[0702] 中央子域厚度(CST)相对于基线的变化(研究眼)

[0703] 一个关键的次要终点是CST(中央子域厚度)相对于基线的变化。结果如图7所示。将包含SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的氨基酸序列的双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461(玻璃体内以6.0mg剂量Q12W或Q16W施用)与雷珠单抗(Lucentis®)(玻璃体内以0.3mg剂量Q4W施用)进行比较。该次要解剖学终点直接支持BCVA主要结果。在治疗开始时使用双特异性抗VEGF/ANG2抗体R06867461在CST中比雷珠单抗存在更大的减少。

[0704] 实施例2B:治疗患有年龄相关性黄斑变性(AMD)的患者的功效和持久性

[0705] 在类似于上述实施例2A的研究的进一步研究中, 患有AMD(例如, 湿性年龄相关性黄斑变性(wAMD), 特别是新生血管性AMD))的患者用与人VEGF和人ANG2结合的双特异性抗体治疗, 所述双特异性抗体包含SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的氨基酸序列。作为治疗中的有效比较者, 例如阿柏西普和/或雷珠单抗和/或溴利珠单抗将被使用。患者包括首次抗VEGF治疗的患者(先前未经用例如阿柏西普和/或雷珠单抗和/或溴利珠单抗的抗VEGF单一疗法治疗的), 以及一组先前已经用例如阿柏西普和/或雷珠单抗和/或溴利珠单抗抗VEGF单一疗法治疗的患者。与人VEGF和人ANG2结合的各自双特异性抗体的命名为R06867461或RG7716。使用以1.5mg或6mg剂量IVT施用的R06867461的无菌, 无色至褐色, 无防腐剂溶液的小瓶。

[0706] 例如使用以下给药时间表:

[0707] 患有ADM的患者将在治疗起始(例如用2-7个初次每月一次的注射)后用以下给药方案治疗:在稳定地不存在疾病时延长注射间隔, 或者在存在疾病活动性时缩短注射间隔。这样的方案包括例如根据患者的病情, 该患者接受Q4W/Q8W/Q12W/Q16W给药。

[0708] 疾病稳定性评估将基于最佳矫正视觉敏锐度(BCVA)和CST, 以及基于光学相干层

析成像(OCT)的视网膜厚度。结果测量和结果将按照描述于例如实施例1中的评价。主要终点将在45至60周之间。

[0709] 实施例3

[0710] 抗VEGF/ANG2抗体与VEGF, Ang2, Fc γ R和FcRn的结合

[0711] VEGF同种型动力学亲和力,包括物种交叉反应性评估

[0712] 通过使用由GE Healthcare供应的胺偶联试剂盒,在pH 5.0下将约12000共振单位(RU)的捕获系统(10 μ g/ml山羊抗人F(ab')₂;订货号:28958325;GE Healthcare Bio-Sciences AB,瑞典)偶联在CM5芯片(GE Healthcare BR-1005-30)上。样品和系统缓冲液是PBS-T(10mM磷酸盐缓冲盐水,包括0.05% Tween[®]20) pH 7.4。流动池设定为25°C-样品区组设定为12°C,并用运行缓冲液引发两次。通过以5 μ l/min的流速注射50nM溶液30秒钟来捕获双特异性抗体。通过以30 μ l/min的流速从300nM(以1:3稀释)开始,以在溶液中的不同浓度注射人hVEGF121,小鼠mVEGF120或大鼠rVEGF164溶液300秒,来测量缔合。监测解离阶段长达1200秒,并通过从样品溶液切换到运行缓冲液来触发。通过用甘氨酸pH 2.1溶液以30 μ l/min的流速洗涤60秒来再生表面。通过减去从山羊抗人F(ab')₂表面获得的响应来校正整体折射率差异。也减去空白注射(=双重参考)。为了计算表观K_D和其他动力学参数,使用了Langmuir 1:1模型。结果示于表5。

[0713] Ang2方案亲和力,包括物种交叉反应性评估

[0714] 溶液亲和力通过确定平衡混合物中游离的相互作用配偶体的浓度来确定相互作用的亲和力。溶液亲和力测定法涉及将保持在恒定浓度的<VEGF-ANG-2>双特异性抗体与变化浓度的配体(=Ang2)混合。使用GE Healthcare供应的胺偶联试剂盒,在pH 5.0,将抗体的最大可能共振单位(例如17000个共振单位(RU))固定在CM5芯片(GE Healthcare BR-1005-30)表面上。样品和系统缓冲液为HBS-P pH 7.4。流动池设定为25°C且样品区组设定为12°C,并用运行缓冲液引发两次。为了产生校准曲线,将增加浓度的Ang2注射到含有固定的VEGF-ANG-2>双特异性抗体的BIAcoreTM流动池中。确定结合的Ang2的量作为共振单位(RU),并相对于浓度作图。将每种配体的溶液(VEGF-ANG-2>双特异性抗体的从0至200nM的11个浓度)与10nM Ang2一起温育,并使其在室温下达到平衡。根据在测量具有已知量的Ang2的溶液的响应之前和之后生成的校准曲线确定游离的Ang2浓度。使用模型201,使用游离Ang2浓度作为y轴,使用用于抑制的抗体浓度作为x轴,用XLfit4(IDBS软件)设定4-参数拟合。通过确定该曲线的拐点来计算亲和力。通过用0.85% H₃PO₄溶液以30 μ l/min的流速洗涤一次30秒来再生表面。通过减去从空白偶联表面获得的响应来校正整体折射率差异。结果示于表6。

[0715] FcRn稳态亲和力

[0716] 对于FcRn测量,使用稳态亲和力将双特异性抗体相互比较。将人FcRn稀释到偶联缓冲液(10 μ g/ml,乙酸钠pH 5.0)中,并使用BIAcoreTM向导通过靶向固定程序至200RU的最终反应将其固定至C1-Chip(GE Healthcare BR-1005-35)上。流动池设定为25°C且样品区组设定为12°C,并用运行缓冲液引发两次。样品和系统缓冲液是PBS-T(10mM磷酸盐缓冲盐水,包括0.05% Tween[®]20) pH 6.0。为了评估每种抗体的不同IgG浓度,制备了62.5nM,125nM和250nM,500nM的浓度。将流速设置为30 μ l/min,并选择180秒的缔合时间将不同样品连续注入到芯片表面上。通过以30 μ l/min的流速注入PBS-T pH 8 60秒来再生表面。通过减去从

空白表面获得的响应来校正整体折射率差异。也减去缓冲液注射(=双重参考)。为了计算稳态亲和力,使用了来自Bia-Evaluation软件的方法。简而言之,将RU值(RU max)相对于分析的浓度作图,得出剂量反应曲线。基于2-参数拟合,计算上渐近线,从而可以确定半最大RU值,从而确定亲和力。结果如图5和表7所示。类似地,可以确定对食蟹猴、小鼠和兔FcRn的亲和力。

[0717] Fc γ RIIIa测量

[0718] 对于Fc γ RIIIa的测量,使用直接结合测定法。通过使用由GE Healthcare供应的胺偶联试剂盒,在pH5.0下将约3000共振单位(RU)的捕获系统(1 μ g/ml Penta-His;Qiagen)偶联在CM5芯片(GE Healthcare BR-1005-30)上。样品和系统缓冲液为HBS-P+pH 7.4。流动池设定为25°C-且样品区组设定为12°C-并用运行缓冲液引发两次。通过以5 μ l/min的流速注射100nM溶液60秒钟来捕获Fc γ RIIIa-His-受体。通过以30 μ l/min的流量注射100nM双特异性抗体或单特异性对照抗体(IgG1亚类的抗Dig和IgG4亚类的抗体)180秒来测量结合。通过用甘氨酸pH 2.5溶液以30 μ l/min的流速洗涤120秒来再生表面。因为Fc γ RIIIa的结合不同于Langmuir 1:1模型,所以此测定仅确定结合/不结合。可以类似Fc γ RIIa的方式确定Fc γ RIIIa的结合。结果显示在图6中,由此得出,通过引入突变P329G LALA,不再能检测到与Fc γ RIIIa的结合。

[0719] 评估独立VEGF和Ang2与<VEGF-ANG-2>双特异性抗体的结合

[0720] 通过使用由GE Healthcare供应的胺偶联试剂盒,在pH5.0下将约3500共振单位(RU)的捕获系统(10 μ g/ml山羊抗人IgG;GE Healthcare Bio-Sciences AB,瑞典)偶联在CM4芯片(GE Healthcare BR-1005-34)上。样品和系统缓冲液是PBS-T(10mM磷酸盐缓冲盐水,包括0.05% Tween®20) pH7.4。流动池的温度设置为25°C,样品区组的温度设置为12°C。捕获之前,流动池用运行缓冲液引发了两次。

[0721] 通过以5 μ l/min的流速注射10nM溶液60秒钟来捕获双特异性抗体。通过确定每种配体的活性结合能力来分析每种配体与双特异性抗体的独立结合,所述每种配体顺序或同时添加(流速为30 μ l/min):

[0722] 1. 以200nM的浓度注射人VEGF,持续180秒(确定抗原的单次结合)。

[0723] 2. 以100nM的浓度注射人Ang2,持续180秒(确定抗原的单次结合)。

[0724] 3. 以200nM的浓度注射人VEGF,持续180秒,然后以100nM的浓度额外注射人Ang2,持续180秒(确定在VEGF的存在下Ang2的结合)。

[0725] 4. 以100nM的浓度注射人Ang2,持续180秒,然后以200nM的浓度额外注射人VEGF(确定在Ang2的存在下VEGF的结合)。

[0726] 5. 共同注射浓度为200nM的人VEGF和浓度为100nM的人Ang2,持续180秒(同时确定VEGF和Ang2的结合)。

[0727] 通过用3mM MgCl₂溶液以30 μ l/min的流速洗涤60秒来再生表面。通过减去从山羊抗人IgG表面获得的响应来校正整体折射率差异。

[0728] 如果方法3、4和5的所得最终信号等于或类似于方法1和2的各个最终信号的总和,则双特异性抗体能够相互独立地结合两种抗原。结果显示在下表中,其中VEGFang2-0016(=R06867461)显示能够相互独立地结合VEGF和ANG2。

[0729] 评估同时的VEGF和Ang2与<VEGF-ANG-2>双特异性抗体的结合

[0730] 首先通过使用由GE Healthcare供应的胺偶联试剂盒,在pH5.0下将约1600共振单位(RU)的VEGF(20 μ g/ml)偶联在CM4芯片(GE Healthcare BR-1005-34)上。样品和系统缓冲液是PBS-T(10mM磷酸盐缓冲盐水,包括0.05% Tween®20) pH 7.4。流动池设定为25°C且样品区组设定为12°C,并用运行缓冲液引发两次。其次,以30 μ l/min的流速注入50nM双特异性抗体的溶液,持续180秒。第三,以30 μ l/min的流速注射hAng-2,持续180秒。hAng-2的结合反应取决于与VEGF结合的双特异性抗体的量,并显示出同时结合。通过用0.85% H3PO4溶液以30 μ l/min的流速洗涤60秒来再生表面。同时的结合通过hAng2与先前的VEGF结合的<VEGF-ANG-2>双特异性抗体的另外的特异性结合信号显示。

[0731] 表:结果:来自不同物种的VEGF同种型的动力学亲和力

[0732]

	VEGFang2-0016-表观亲和力
人VEGF 121	\leq 1pM(超出Biacore说明书)
小鼠VEGF 120	不结合
大鼠VEGF 164	14nM

[0733]

表:结果对Ang2的溶液亲和力

[0734]

	VEGFang2-0016 KD [nM]
人Ang2	20
食蟹猴Ang2	13
小鼠Ang2	13
大鼠Ang2	11

[0735]

表:结果:<VEGF-ANG-2>双特异性抗体对FcRn的亲和力

[0736]

	VEGFang2-0016 [亲和力]
人类 FcRn	不结合
食蟹猴 FcRn	不结合

[0737]

小鼠 FcRn 不结合

[0738]

表:结合Fc γ RI-IIIa的结果

[0739]

	VEGFang2-0016
Fc γ RIa	不结合
Fc γ RIIa	不结合
Fc γ RIIIa	不结合

[0740]

表:结果:VEGF-和Ang2与<VEGF-ANG-2>双特异性抗体的独立结合

[0741]

	1)Ang2 [RUmax]	2)VEGF [RUmax]	3)首先 是 VEGF, 然 后是 Ang2 [RUmax]	4)首先 是 Ang2, 然后 是 VEGF [RUmax]	5)共同注射 Ang2 + VEGF [RUmax]
VEGFang2- 0016	174	50	211	211	211

随着时间的推移到第 24 周, BCVA 相对于基线的变化 (研究眼)
在未经治疗的患者中的主要终点

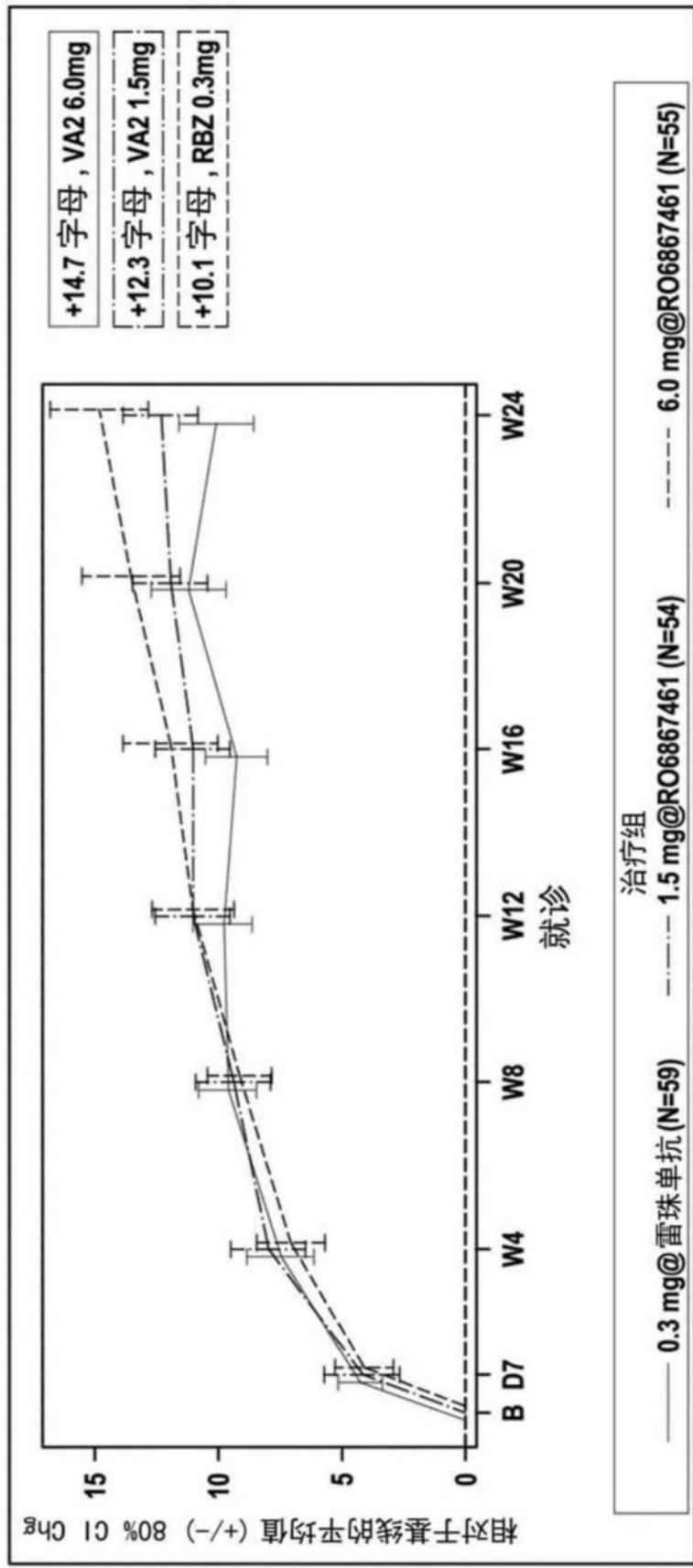


图1

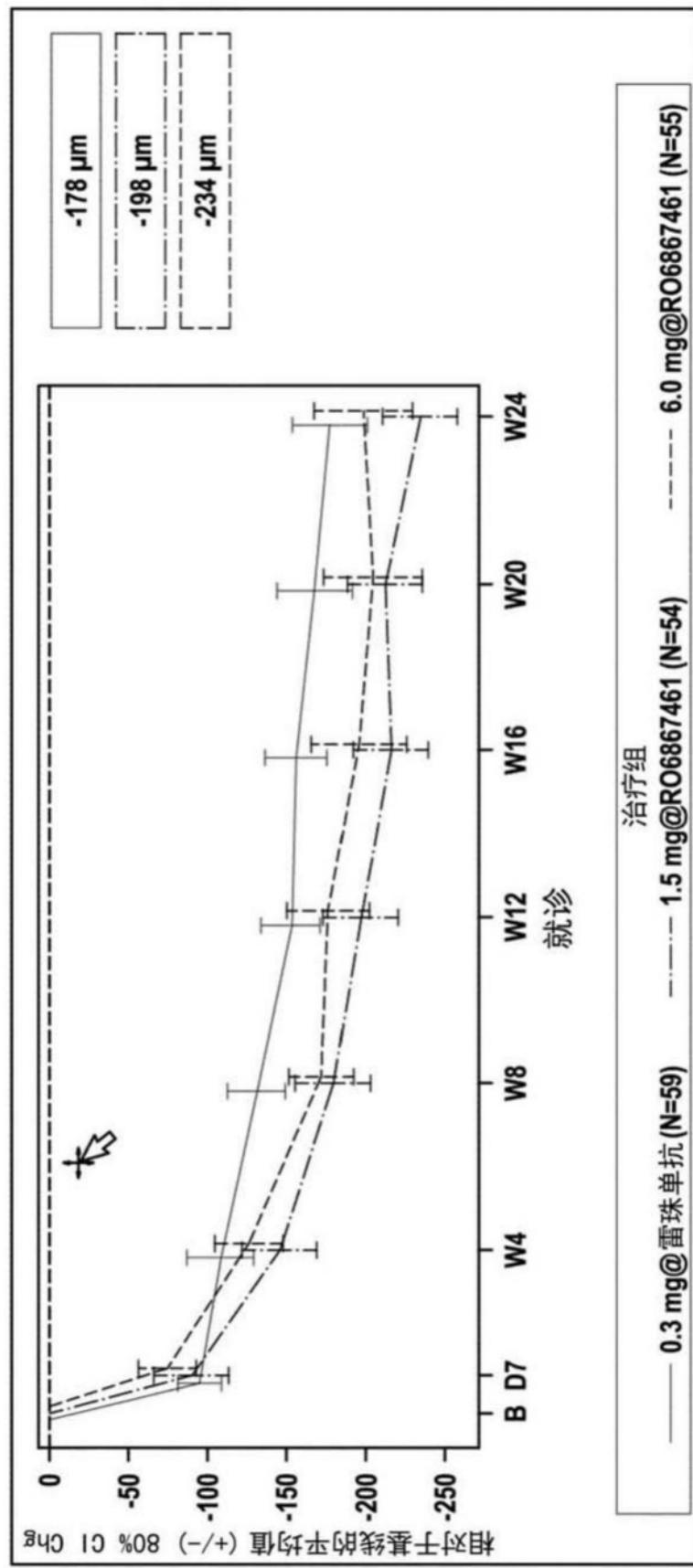


图2

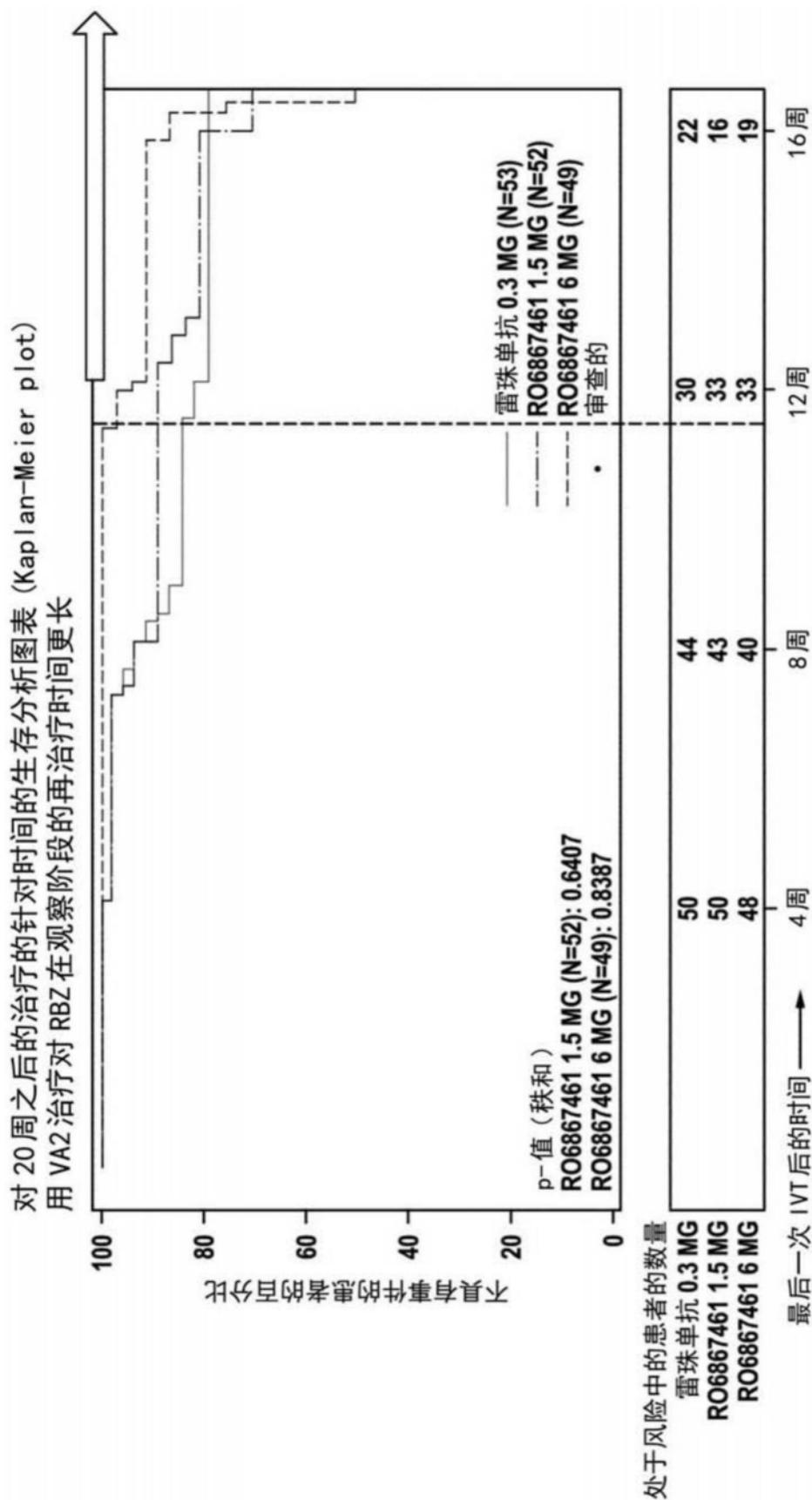
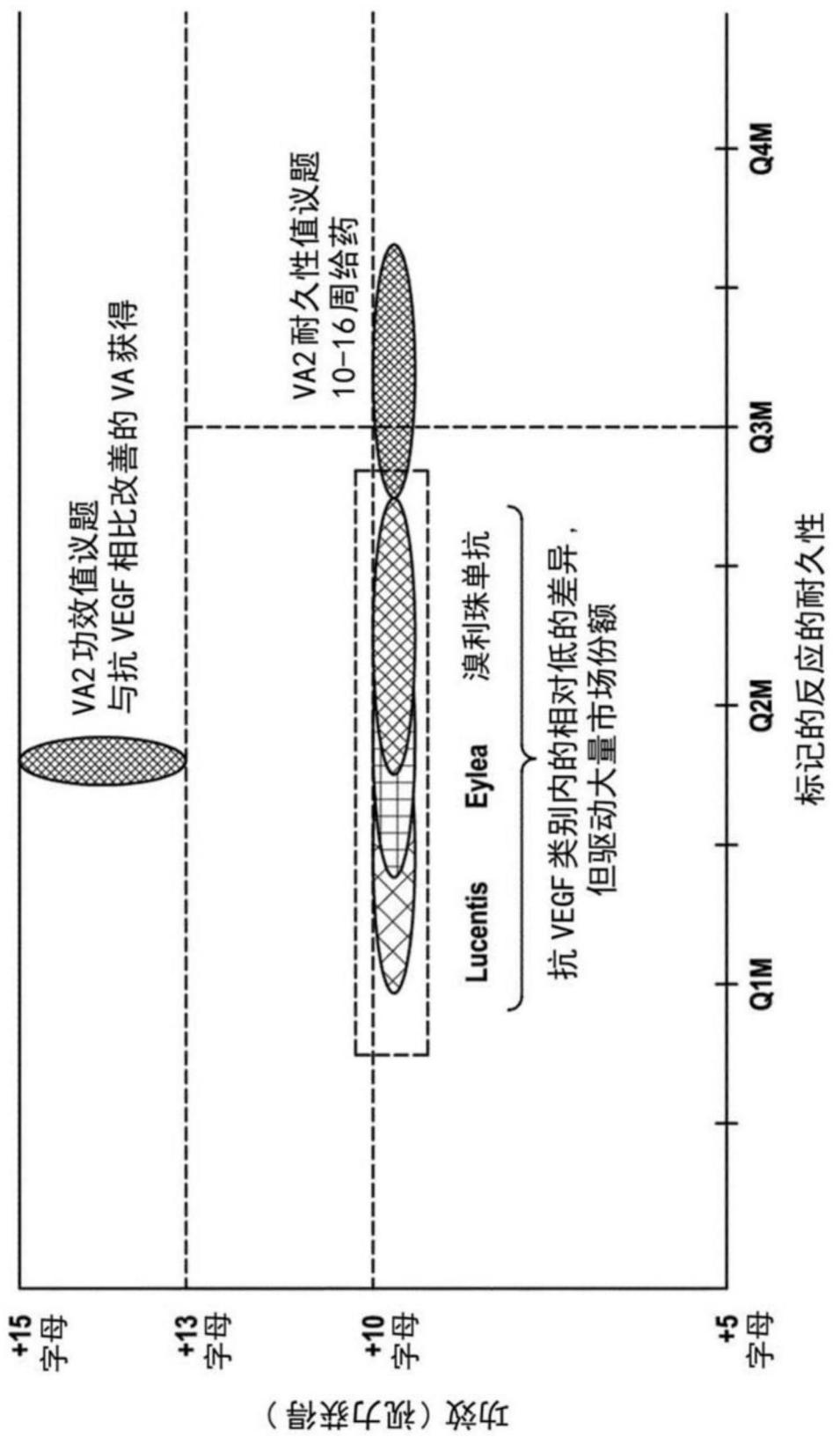


图3



免责声明：基于交叉研究比较和现实世界数据的概念网格，用于方便讨论

图4

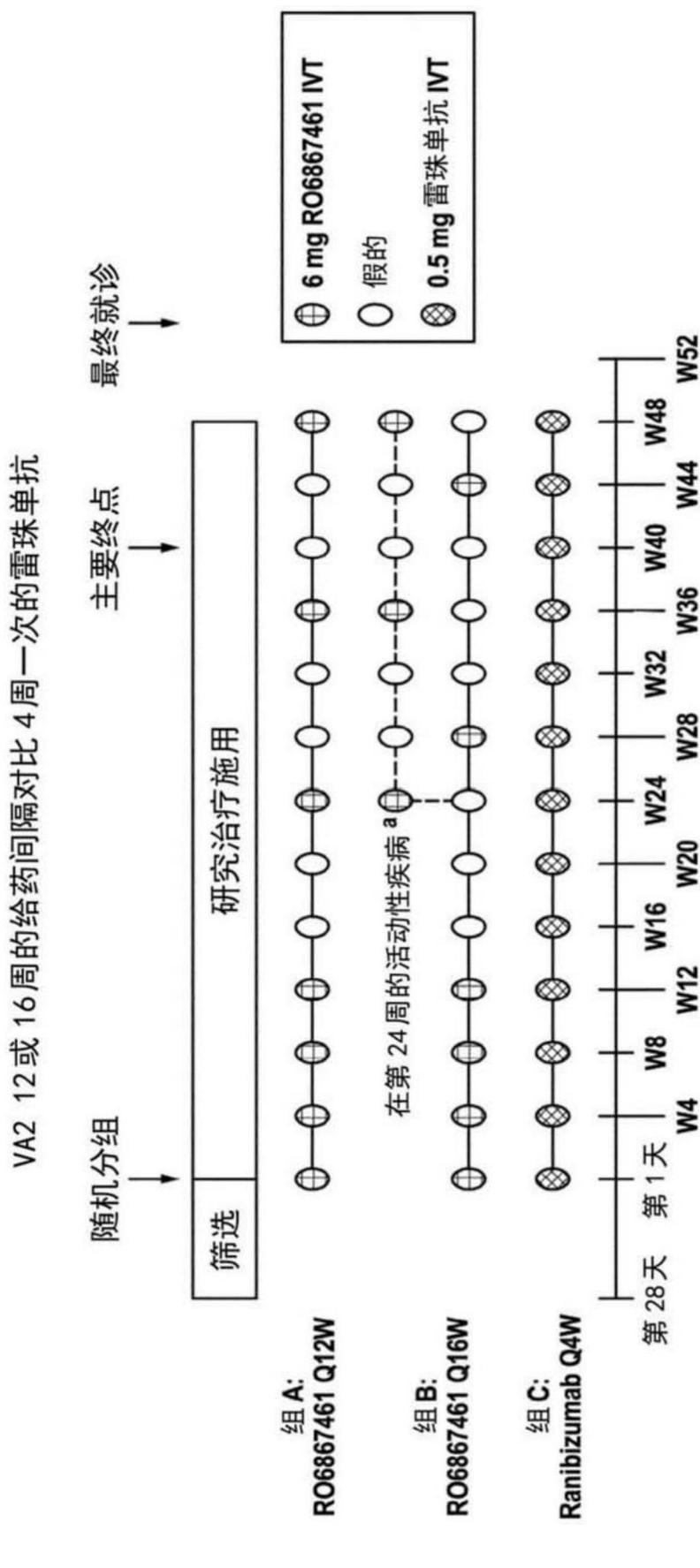
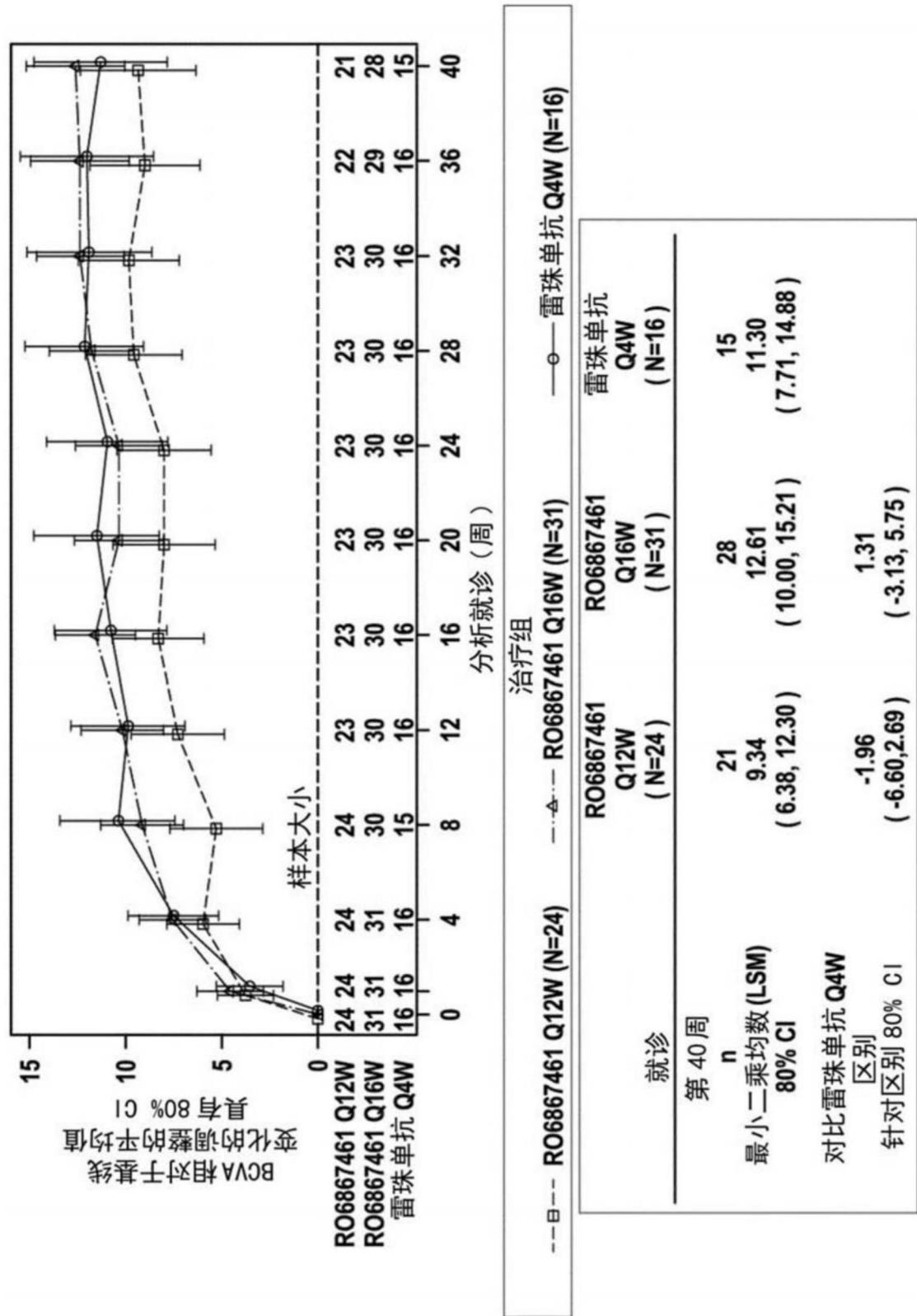
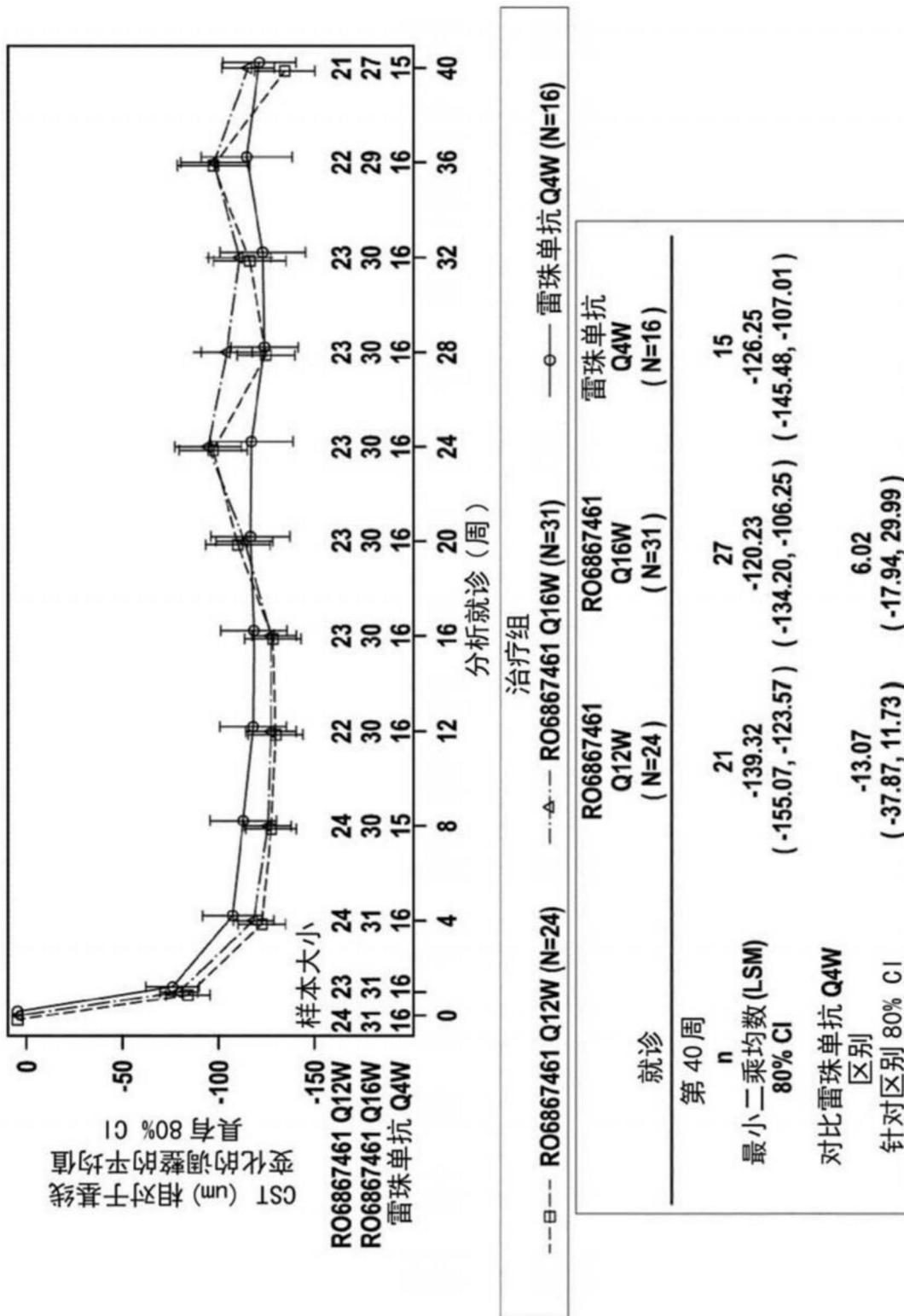


图5



BCVA = 最佳矫正视力；**MMRM** = 用于重复测量的混合模型。就诊被时间窗口化。模型包括治疗组的分类协变量、就诊、通过治疗组相互作用的就诊和基线 BCVA 的连续协变量。使用非结构化协方差。



CFT = 中央凹厚度；MMRM=用于重复测量的混合模型。就诊被时间窗口化。模型包括治疗组的分类协变量、就诊、通过治疗组相互作用的就诊和基线 CST 的连续协变量。使用非结构化协方差。