(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118818053 A
(43)申请公布日 2024.10.22

(21)申请号 202410576655.7

(22)申请日 2021.03.31

(30)优先权数据
63/003,826 2020.04.01 US
63/027,127 2020.05.19 US
63/133,636 2021.01.04 US

(62)分案原申请数据
202180025379.X 2021.03.31

(71)申请人 阿瓦洛治疗公司
地址 美国马里兰州

(72)发明人 G·A·尼尔 I·扎菲尔-拉维

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51)Int.Cl.
G01N 33/68(2006.01)

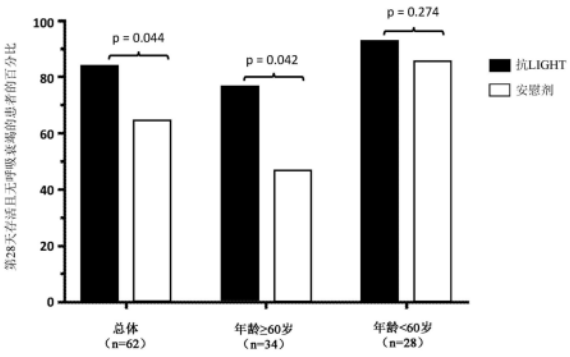
权利要求书2页 说明书82页
序列表（电子公布） 附图13页

(54)发明名称

涉及过量游离LIGHT的方法和治疗

(57)摘要

本公开涉及检测生物样品中的游离(活性)LIGHT以诊断与升高的游离LIGHT相关的病状以及预测抗LIGHT疗法的有效性的方法。本公开还涉及用抗LIGHT抗体治疗此类病状。病状包含急性肺损伤(ALI)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)，任选地其中所述ALI和ARDS与病毒感染相关，包含冠状病毒感染。病状还包含克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状。



CN 118818053 A

1.一种检测受试者生物样品中是否存在游离LIGHT的方法,所述方法包括以下步骤:

(a)使所述生物样品与至少一种抗LIGHT抗体接触;

(b)温育所述生物样品以使所述抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;以及

(c)检测所述生物样品中所述抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在。

2.一种诊断受试者中与升高的游离LIGHT相关的病状的方法,所述方法包括以下步骤:

(a)使生物样品与至少一种抗LIGHT抗体接触;

(b)温育所述生物样品以使所述抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;

(c)检测所述生物样品中所述抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在;以及

(d)如果与对照相比检测到更高水平的游离LIGHT,则将所述受试者诊断为患有与升高的游离LIGHT相关的病状。

3.一种治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的抗LIGHT抗体。

4.一种在有需要的受试者中治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的方法,所述方法包括以下步骤:

(a)使分离自所述受试者的生物样品与第一抗LIGHT抗体接触;

(b)温育所述生物样品以使所述第一抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;

(c)检测所述生物样品中所述第一抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在;以及

(d)向所述受试者施用有效量的第二抗LIGHT抗体,其中所述第一抗体和所述第二抗体不同,从而治疗所述与升高的游离LIGHT相关的病状。

5.根据权利要求2至4中任一项所述的方法,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状包括以下任何一项或多项:

(a)炎症,任选地其中所述炎症是过度炎症;

(b)导致多系统器官衰竭的免疫失调;

(c)急性肺损伤(ALI),任选地其中所述ALI与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

(d)急性呼吸窘迫综合征(ARDS),任选地其中所述ARDS与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

(e)驱动组织损伤和血管通透性的细胞因子风暴;

(f)感染后肺纤维化;以及

(g)肺炎,任选地其中所述肺炎与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染。

6.根据权利要求2、4和5中任一项所述的方法,其中游离LIGHT的检测表明用抗LIGHT抗体治疗与升高的游离LIGHT相关的病状将是有效的。

7.根据权利要求3至6中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体抑制T细胞活化。

8.根据权利要求3至7中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体抑制细胞因子的表达增加。

9.根据权利要求3至8中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体降低了所述受试者的死亡或发病风险。

10.根据权利要求3至9中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体防止进展为ARDS。

涉及过量游离LIGHT的方法和治疗

[0001] 本申请是申请日为2021年3月31日、申请号为202180025379X、发明名称为“涉及过量游离LIGHT的方法和治疗”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2020年4月1日提交的美国临时申请第63/003,826号、于2020年5月19日提交的美国临时申请第63/027,127号和于2021年1月4日提交的美国临时申请第63/133,636号的优先权权益,所述美国临时申请中的每一个申请的内容均出于所有目的通过引用并入本文。

[0004] 本申请含有序列表,所述序列表已经以ASCII格式电子提交,并且在此通过引用整体并入。创建于2021年3月26日的所述ASCII副本命名为01118-0047-00PCT_US_ST25.txt并且大小为27,637字节。

技术领域

[0005] 本公开涉及诊断和治疗患有与升高的游离LIGHT水平相关的病状的受试者的方法,所述受试者包含患有克罗恩氏病(CD)或与克罗恩氏病相关的炎性病状的受试者、患有可能导致多系统器官衰竭的免疫失调的受试者或患有急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的受试者,所述病状包含与冠状病毒感染相关的那些,包含COVID-19。例如,在一些实施例中,所述受试者可以用抗LIGHT抗体治疗。本公开还涉及一种用于检测游离LIGHT的新型测定法。

背景技术

[0006] COVID-19是一种由SARS-CoV-2引起的疾病。COVID-19感染的最初表现包含发烧,伴有或不伴有呼吸道症状,所述呼吸道症状包含咳嗽、呼吸急促和肺炎。在大多数受试者中,疾病是轻微的和自限性的,然而15%至20%的人患有严重的呼吸系统疾病,需要住院和氧疗。(Huang,C.等人《柳叶刀(Lancet)》395,497-506(2020))。由于出现急性呼吸窘迫综合征(ARDS),这些受试者中的许多人需要重症监护和通气(同上;Graham,R.L.,Donaldson,E.F.和Baric,R.S.《自然微生物学评论(Nature reviews.Microbiology)》11,836-848(2013)),所述急性呼吸窘迫综合征是其它病毒性呼吸系统综合征(即,SARS、MERS和H1N1)的一种已充分描述且可能致命的并发症。COVID-19的其它并发症包含心律失常、休克、急性肾损伤、急性心脏损伤、肝功能障碍和继发感染。(Huang C等人,《柳叶刀》(2020);Wang,D.等人,《美国医学学会杂志(JAMA)》(2020))。

[0007] 越来越多的证据表明,死亡的主要原因是释放的免疫响应导致细胞因子风暴、急性肺损伤和导致致命性呼吸衰竭的急性呼吸系统疾病综合征(ARDS)。即使在康复的受试者中,也可能存在长期且使人衰弱的后遗症。迫切需要中和细胞因子的治疗剂,其将控制COVID-19相关的过度炎症和ARDS。

[0008] 在COVID-19和其它人类冠状呼吸道病毒(hCoV)感染中,ARDS似乎是由过量的促炎细胞因子和趋化因子的释放所表现出的过度炎症响应失调引起的,其被称为“细胞因子风

暴”。(Channappanavar,R.和Perlman,S.S.《免疫病理学研讨会(Seminars in immunopathology)》39,529-539,(2017);Mehta,P.《柳叶刀》(2020))。长期以来,细胞因子和趋化因子一直被认为在病毒感染期间的免疫和免疫病理学中起重要作用。快速且协调良好的先天免疫响应是抵御病毒感染的第一道防线,但失调和过量的免疫响应可能会导致免疫病理学。(Fehr,A.R.,Channappanavar,R.和Perlman,S.《医学年鉴(Annual review of medicine)》68,387-399(2017);Channappanavar,R.等人《细胞宿主与微生物(Cell host&microbe)》19,181-193(2016))。尽管没有直接证据表明促炎细胞因子和趋化因子在SARS和MERS期间参与肺部病理学,但来自患有严重疾病的受试者的相关证据表明了过度炎症响应在hCoV发病机制中的作用。(Channappanavar,《免疫病理学研讨会》39,529-539(2017);Mehta(2020);Sandoval-Montes,C.和Santos-Argumedo,L.《白细胞生物学杂志(Journal of leukocyte biology)》77,513-521(2005);Xu等人,《微生物学(Microbiol)》6(10):130(2019))。

[0009] COVID-19感染中的细胞因子风暴被认为是由最初的快速病毒复制引起的,这在免疫功能低下的受试者中更可能发生。如SARS-CoV和MERS-CoV等致病性人类冠状病毒的一个显著特征是,这两种病毒在体外和体内感染后很早就复制到高滴度(Gralinski,L.E.和Baric,R.S.《病理学杂志(The Journal of pathology)》235,185-195(2015))。这种高复制可能导致增强的细胞病变效应和受感染的上皮细胞产生更高水平的促炎细胞因子和趋化因子。(Xiao,F.等人《肠胃病学(Gastroenterology)》(2020))。这些细胞因子和趋化因子进而协调炎症细胞大量浸润到肺部。(Gralinski,L.E.和Baric,R.S.《病理学杂志》235,185-195(2015))。对人类和实验动物中hCoV感染的研究表明,高SARS-CoV和MERS-CoV滴度与疾病严重程度之间存在很强的相关性。感染似乎也增加了细胞因子(例如,IL4和IL10)的分泌,这进而可以增加T细胞的活化。(Sandoval-Montes(2005);Xu,Z.等人《柳叶刀》《自然医学(Nature medicine)》(2020))。因此,驱动肺部组织损伤和血管通透性的细胞因子风暴可能是由T细胞活化和细胞因子表达增加所介导的。

[0010] 此外,报告表明,已知为ARDS的结果的肺(肺部)纤维化是已知的COVID-19感染并发症。(Huang,C.等人《柳叶刀》395,497-506(2020))。

[0011] 人类和动物研究都证明了,在hCoV感染后,炎症性单核细胞-巨噬细胞和嗜中性粒细胞在肺中的积累。这些细胞是人类和动物模型中观察到的与hCoV致死性疾病相关的细胞因子和趋化因子的主要来源。(Channappanavar,《免疫病理学研讨会》.(2017))。

[0012] 虽然COVID-19治疗的主要重点是开发适当的抗病毒和疫苗接种方法,但目前尚无治疗与COVID-19相关的ARDS的既定疗法。针对细胞因子风暴的药剂包含细胞因子导向疗法,包含IL-1β和IL-6拮抗剂;然而,目前还没有确定的单一疗法可用于治疗和/或预防与细胞因子风暴相关的ALI。为COVID-19相关的急性肺损伤(ALI)和ARDS开发一种安全有效的疗法可以显著降低这一全球大流行病的死亡率和感染后发病率,并减轻医疗保健系统的严重压力。

[0013] 此外,允许病例检测的COVID-19的初始临床症状是肺炎(Chan,JF等人,《柳叶刀》(2020))。COVID-19引起的肺炎的并发症包含急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、心律失常、休克、急性肾损伤、急性心脏损伤、肝功能障碍和继发感染(Huang C等人,《柳叶刀》(2020);Wang,D.等人,《美国医学学会杂志》(2020))。COVID-19死亡的主要原因似乎是导致细胞因子风

暴、急性肺损伤和ARDS的超免疫响应失调。15％至20％的COVID-19患者患有严重的呼吸系统疾病,需要住院和氧疗(Huang C等人,《柳叶刀》(2020))。目前没有治疗方法可以预防COVID-19患者的COVID-19引起的肺炎进展为ARDS。

[0014] 克罗恩氏病(CD)是一种特发性、慢性、胃肠道炎性病状,并发症风险高,并且需要手术干预。克罗恩氏病是一种终生病症,从儿童早期到成年晚期几乎任何时候都可能出现临床症状。(Freeman,克罗恩氏病的自然史和长期临床过程,《世界胃肠病学杂志(World J.Gastroenterol.)》,2014:20(1);31-36)。发现或诊断该疾病的典型年龄通常在十几岁和二十出头,在过去的二十至三十年中,超过80％的克罗恩氏病患者在40岁之前被诊断出来。(Freeman 2014)。

[0015] 克罗恩氏病可能影响整个胃肠道。(Shi和Ng,克罗恩氏病治疗的最新技术(The state of the art on treatment of Crohn's disease),《胃肠病学杂志(J.Gastroenterol.)》,2018:53;989-998)。大多数患者在诊断后10年内有慢性间歇性病程。该疾病似乎是进行性的,尽管使用药物或手术干预可能会改变或减缓进展速度。(Freeman 2014)。常见症状包含腹泻、腹痛、直肠出血、发烧、体重减轻和疲劳。(Veauthier和Hornecker,克罗恩氏病:诊断与管理(Crohn's Disease:Diagnosis and Management),《美国家庭医生(Am.Fam.Physician)》,2018:98(11);661-669)。

[0016] 皮质类固醇和硫嘌呤仍然是主要的治疗方法,而抗TNF药剂越来越多地在病程早期被开具处方。(Shi和Ng 2018)。对于预后不良的高风险患者,建议使用抗TNF疗法。(Shi和Ng 2018)。然而,大部分患者会出现对抗TNF疗法的原发性无响应或继发性响应丢失。(Shi和Ng 2018)。因此,需要新的和改进的疗法。

[0017] 一种重要的免疫调节细胞因子,LIGHT("与淋巴毒素同源,表现出诱导型表达并与HSV糖蛋白D竞争结合HVEM(疱疹病毒进入介质),一种在T淋巴细胞上表达的受体"的首字母缩写),也被称为TNFSF14(肿瘤坏死因子超家族成员14),在病毒感染期间高水平分泌,这支持ARDS相关的肺纤维化和细胞因子风暴。(Xu,W.等人《微生物学前沿(Frontiers in Microbiology)》10,130(2019))。中性粒细胞和巨噬细胞表达高水平的LIGHT和TNF,并且是这些炎性细胞因子的主要来源。(Kwon,B.S.等人《生物化学杂志(The Journal of Biological Chemistry)》272,14272-14276(1997))。

[0018] LIGHT(TNFSF 14)属于肿瘤坏死因子超家族并且由活化的T细胞、单核细胞-巨噬细胞和其它类型的抗原呈递细胞表达。LIGHT被认为是免疫系统的"主要调节器"之一,并且在控制免疫响应的通讯系统中起着关键作用。LIGHT具有双重作用机制;通过活化T细胞和B细胞以及上调其它炎性细胞因子来发挥其作用。

[0019] LIGHT活化两种关键受体,疱疹病毒进入介质(HVEM)和淋巴毒素β受体(LTβR),两者均在肺上皮细胞上表达。在感染早期,中性粒细胞和巨噬细胞释放的LIGHT与细胞受体结合,导致炎症细胞浸润,从而释放高水平的TNF和额外的促炎细胞因子。LIGHT在T细胞活化驱动促炎和组织损伤效应中也具有共刺激作用。(Ware,C.F.《实验医学与生物学进展(Advances in experimental medicine and biology)》647,146-155(2009);Ware,C.F.《免疫学评论(Immunological Reviews)》.223,186-201(2008))。因此,LIGHT在许多免疫介导的疾病中发挥作用,如克罗恩氏病、IBD、类风湿性关节炎和纤维化。LIGHT的另一个受体是诱饵受体(被称为DCR3),其与LIGHT结合并通过与受体结合竞争干扰其活性。

(Steinberg,M.W.等人,M.《免疫病理学研讨会》31,207-221(2009);Wroblewski,V.J.等人《生化药理学杂志(Biochemical pharmacology)》65,657-667(2003))。在过度炎症和细胞因子风暴条件下,DcR3可能会被淹没,从而产生高无DCR3(活性)LIGHT。

[0020] LIGHT已被证明在病毒性肺炎中起关键作用。据报道,与健康对照相比,在呈现由病毒感染引起的严重肺炎的受试者的PBMC中,LIGHT蛋白升高,作为TNF家族和IL-1基因家族的一部分,并且这些受试者中的同源蛋白升高。(Xu(2019))。LIGHT水平与疾病严重程度相关——随着疾病从轻微进展到严重,LIGHT水平升高。

[0021] 肺中的高LIGHT水平可能是肺纤维化的驱动因素。肺泡和间质纤维化是ARDS的标志(Marshall,R.,Bellingan,G.和Laurent,G.《胸腔(Thorax)》53,815-817(1998))并且是进一步肺损伤和需要支持性机械通气的原因。过度活化的成纤维细胞是肺纤维化的主要原因。感染后,成纤维细胞增殖,分化成肌成纤维细胞并迁移到肺泡空域。过度活化的肌成纤维细胞分泌细胞外基质并形成附着在基底膜上。因此,该过程导致不规则细胞外基质的肺泡空间消失。(Quesnel,C.等人《欧洲呼吸杂志(The European respiratory journal)》35,1312-1321(2010))。LIGHT以多种机制支持肺纤维化。最近,da Silva等人(da Silva Antunes,R.,Mehta,A.K.,Madge,L.,Tocker,J.和Croft,M.《免疫学前沿(Front Immunol)》9,576(2018))描述了LIGHT通过其受体LTβR在肺纤维化过程中促进成纤维细胞增殖的作用。

[0022] 在严重哮喘模型和特发性肺纤维化模型中,LIGHT的遗传缺陷以及阻断LIGHT与其两种受体的结合显著降低了过敏原刺激的小鼠肺中的组织重塑和纤维化。(Doherty,T.A.等人《自然医学(Nature medicine)》17,596-603,(2011))。中和LIGHT显示纤维化表型减少。(Da Silva(2018);Herro,R.和Croft,M.《药理学研究(Pharmacol Res)》104,151-155(2016))。这种中和LIGHT作为纤维化治疗的策略应该与ARDS衍生的纤维化相关。高LIGHT水平通过LTβR和HVEM(TNFRSF14)在体外诱导支气管和肺泡上皮细胞分泌高细胞因子,从而支持类固醇抵抗性肺部炎症。(da Silva Antunes,R.,Madge,L.,Soroosh,P.,Tocker,J.和Croft,M.《免疫学杂志(Journal of immunology)》(马里兰州巴尔的摩(Baltimore,Md.):1950)195,2429-2441(2015);Herro,R.,Da Silva Antunes,R.,Aguilera,A.R.,Tamada,K.和Croft,M.《过敏与临床免疫学杂志(The Journal of allergy and clinical immunology)》136,757-768(2015))。

[0023] LIGHT在黏膜炎症和炎症性肠病(IBD)发病机制中具有作为重要介质的作用(Cohavy等人,黏膜T细胞的LIGHT表达可以调节肠道中的IFN-γ表达(LIGHT expression by mucosal T cells may regulate IFN-gamma expression in the intestine),《免疫学杂志》,2004;173(1):251-8;Ware,CF,网络通讯:淋巴毒素、LIGHT和TNF(Network Communications:Lymphotoxins,LIGHT and TNF),《免疫学年度评论(Annual Rev.Immunol.)》,2005:23:787-819;Cohavy等人,LIGHT在人肠道中的T细胞和NK细胞上组成型表达并且可以通过CD2介导的信号传导来诱导(LIGHT is constitutively expressed on T and NK cells in the human gut and can be induced by CD2-mediated signaling),《免疫学杂志》,2005:174:646-53;Wang等人,LIGHT在促进肠道炎症和克罗恩氏病中的关键作用(The critical role of LIGHT in promoting intestinal inflammation and Crohn'sdisease),《免疫学杂志》,2005:174;8173-82)。人类LIGHT基因

映射到染色体19p13.3,该区域与CD的发病机制有关(Granger等人,light的基因组表征揭示了与染色体19p13.3上的免疫响应基因座的联系以及由交替剪接或蛋白水解产生的不同同种型(Genomic characterization of light reveals linkage to an immune response locus on chromosome19p13.3 and distinct isoforms generated by alternate splicing or proteolysis),《免疫学杂志》,2001:167:5122-28;Rioux等人,加拿大炎症性肠病家庭的基因组广泛搜索揭示了两个新的易感基因座(Genome wide search in Canadian families with inflammatory bowel disease reveals two novel susceptibility loci),《美国人类遗传学杂志(Am.J.Hum.Genet.)》,2000:66:1863-70)。对IBD患者的研究强化了LIGHT在细胞免疫响应期间提供关键促炎信号的概念。LIGHT信使核糖核酸(RNA)在来自小肠发炎区域的活组织检查中上调(Cohavy等人,LIGHT在人肠道中的T细胞和NK细胞上组成型表达并且可以通过CD2介导的信号传导来诱导,《免疫学杂志》,2005:174:646-53)。

[0024] 诱饵受体3属于TNF超家族(TNFRSF6B)(Yu等人,肿瘤坏死因子受体超家族(TR6)的一个新成员可抑制LIGHT介导的细胞凋亡(A new identify member of tumour necrosis factor receptor superfamily(TR6)suppresses LIGHT-mediated apoptosis),《生物化学杂志》,1999:274(20):13733-6)。其充当诱饵受体,与死亡受体竞争配体结合,并假定在抑制Fas配体(FasL)和LIGHT介导的细胞死亡和T细胞活化以及通过中和TNF样配体1A(TL1A)诱导血管生成方面发挥调节作用(Yu等人1999)。诱饵受体3在CD患者的回肠样本的上皮层中过度表达,无论是在活跃发炎的部位还是非活跃部位。与健康对照组相比,活跃和非活跃CD患者的诱饵受体3血清水平显著升高。DcR3在肠上皮细胞中的表达是由TNFα诱导的。DcR3表达增加与核因子kappa B(NF-κB)的活化相关,并导致保护肠上皮细胞和固有层T细胞免于CD95L诱导的细胞凋亡(Funke等人,克罗恩氏病中诱饵受体3的功能表征(Functional characterisation of decoy receptor3in Crohn's disease.)《肠道(Gut)》,2009:4月;58(4):483-91)。最近在儿童发病的IBD患者中观察到DcR3的缺陷变体,这进一步表明DcR3具有重要的保护作用(Cardinale等人,靶向重测序可鉴定小儿炎症性肠病中诱饵受体3的缺陷变体(Targeted resequencing identifies defective variants of decoy receptor 3in pediatric-onset inflammatory bowel disease),《基因与免疫(Genes Immun.)》2013:10月;14(7):447-52),可能通过缓和TNF和LIGHT的影响。

[0025] 如上所述,LIGHT和DcR3在IBD发病机制中的作用为在具有或不具有DcR3功能丧失突变的CD患者中研究抗LIGHT单克隆抗体提供了基本原理。

[0026] 目前大多数可用的测定法仅测量总LIGHT,其包含与其受体结合的LIGHT,包含DcR3。总LIGHT可能无法准确描述导致疾病的LIGHT的水平,其可能是游离的、未结合的LIGHT。因此,需要单独测量游离LIGHT的改进的LIGHT测定法。

发明内容

[0027] 本公开包含例如以下任一实施例或其组合:

[0028] 实施例1.一种检测受试者生物样品中是否存在游离LIGHT的方法,所述方法包括以下步骤:

[0029] (a)使所述生物样品与至少一种抗LIGHT抗体接触;

[0030] (b)温育所述生物样品以使所述抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;以及

[0031] (c)检测所述生物样品中所述抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在。

[0032] 实施例2.一种诊断受试者中与升高的游离LIGHT相关的病状的方法,所述方法包括以下步骤:

[0033] (a)使生物样品与至少一种抗LIGHT抗体接触;

[0034] (b)温育所述生物样品以使所述抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;

[0035] (c)检测所述生物样品中所述抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在;以及

[0036] (d)如果与对照相比检测到更高水平的游离LIGHT,则将所述受试者诊断为患有与升高的游离LIGHT相关的病状。

[0037] 实施例3.一种治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的抗LIGHT抗体。

[0038] 实施例4.一种在有需要的受试者中治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的方法,所述方法包括以下步骤:

[0039] (a)使分离自所述受试者的生物样品与第一抗LIGHT抗体接触;

[0040] (b)温育所述生物样品以使所述第一抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;

[0041] (c)检测所述生物样品中所述第一抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在;以及

[0042] (d)向所述受试者施用有效量的第二抗LIGHT抗体,其中所述第一抗体和所述第二抗体不同,从而治疗所述与升高的游离LIGHT相关的病状。

[0043] 实施例5.根据实施例2至4中任一项所述的方法,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状包括以下任何一项或多项:

[0044] (a)炎症,任选地其中所述炎症是过度炎症;

[0045] (b)导致多系统器官衰竭的免疫失调;

[0046] (c)急性肺损伤(ALI),任选地其中所述ALI与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[0047] (d)急性呼吸窘迫综合征(ARDS),任选地其中所述ARDS与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[0048] (e)驱动组织损伤和血管通透性的细胞因子风暴;

[0049] (f)感染后肺纤维化;以及

[0050] (g)肺炎,任选地其中所述肺炎与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染。

[0051] 实施例6.根据实施例2、4和5中任一项所述的方法,其中游离LIGHT的检测表明用抗LIGHT抗体治疗与升高的游离LIGHT相关的病状将是有效的。

[0052] 实施例7.根据实施例3至6中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体抑制T细胞活化。

[0053] 实施例8.根据实施例3至7中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体抑制细胞因子的表达增加。

[0054] 实施例9.根据实施例3至8中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗

LIGHT抗体降低了所述受试者的死亡或发病风险。

[0055] 实施例10.根据实施例3至9中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体防止进展为ARDS。

[0056] 实施例11.根据实施例3至10中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体防止所述受试者对通气/插管的需要。

[0057] 实施例12.一种治疗重度COVID-19引起的肺炎的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[0058] 实施例13.一种治疗与COVID-19引起的肺炎相关的急性炎性疾病的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[0059] 实施例14.一种治疗与COVID-19引起的肺炎相关的呼吸衰竭的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[0060] 实施例15.一种治疗细胞因子风暴的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[0061] 实施例16.一种治疗超免疫响应失调(有时被称为“细胞因子风暴”)的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[0062] 实施例17.一种治疗急性呼吸系统疾病综合征(ARDS)的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[0063] 实施例18.根据实施例1和2中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[0064] (a)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[0065] (b)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[0066] (c)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[0067] (d)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[0068] (e)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[0069] (f)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[0070] (g)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[0071] (h)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。

[0072] 实施例19.根据实施例4所述的方法,其中所述第一抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[0073] (a)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[0074] (b)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[0075] (c)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[0076] (d)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[0077] (e)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[0078] (f)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[0079] (g)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[0080] (h)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57,

[0081] 并且其中所述第二抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括上述(a)-(h)的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3集合中的任何一个或SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7。

[0082] 实施例20.根据实施例3和5至17中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[0083] (a)SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7;

[0084] (b)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[0085] (c)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[0086] (d)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[0087] (e)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[0088] (f)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[0089] (g)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[0090] (h)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[0091] (i)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。

[0092] 实施例21.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述抗体包括WO 2015/107331中描述的抗体1C02、13H04、31A10、1C06、98C07、18E04、42A02、29C09、14B09、117C06、114F05或62C01中任一项的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列。

[0093] 实施例22.根据实施例2至21中任一项所述的方法,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状是冠状病毒感染。

[0094] 实施例23.根据实施例22所述的方法,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状是COVID-19感染。

[0095] 实施例24.根据实施例23所述的方法,其中所述冠状病毒感染是MERS-CoV或SARS-CoV感染。

[0096] 实施例25.根据实施例2至24中任一项所述的方法,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状是克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状。

[0097] 实施例26.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中施用的所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链分别包括SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的氨基酸序列。

[0098] 实施例27.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述抗-LIGHT抗体以约16mg/kg的单剂量施用。

[0099] 实施例28.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者已经接受或目前正在接受抗COVID-19疗法,任选地其中所述疗法是皮质类固醇、羟氯喹和/或瑞德西韦。

[0100] 实施例29.根据实施例28所述的方法,其中所述皮质类固醇的所述剂量被认为是高剂量。

[0101] 实施例30.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

[0102] 实施例31.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者患有任选地由冠状病毒感染引起的呼吸道疾病。

[0103] 实施例32.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者患有肺炎。

[0104] 实施例33.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者患有急性肺损伤(ALI)。

[0105] 实施例34.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者患有急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。

[0106] 实施例35.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者患有轻度冠状病毒感染。

[0107] 实施例36.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者患有中度冠状病毒感染。

[0108] 实施例37.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者患有重度冠状病毒感染。

[0109] 实施例38.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者处于冠状病毒感染的早期感染(阶段I)。

[0110] 实施例39.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者处于冠状病毒感染的肺期(阶段II)。

[0111] 实施例40.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者处于冠状病毒感染的过度炎症期(阶段III)。

[0112] 实施例41.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者是儿童受试者。

[0113] 实施例42.根据前述实施例中任一项所述的方法,其中所述受试者是成人。

[0114] 实施例43.一种用于根据实施例1至3、5至18和20至42中任一项所述的方法的试剂盒,其包括抗LIGHT抗体和用于执行所述方法的试剂。

[0115] 实施例44.一种用于根据实施例4和19中任一项所述的方法的试剂盒,其包括第一抗LIGHT抗体和第二LIGHT抗体,其中所述第一抗体和所述第二抗体不同,以及用于执行所述方法的试剂。

[0116] 实施例45.根据实施例43所述的试剂盒,其进一步包括固相,所述抗LIGHT抗体附着于所述固相。

[0117] 实施例46.根据实施例44所述的试剂盒,其进一步包括固相,所述第一抗LIGHT抗体附着于所述固相。

[0118] 实施例47.根据实施例43或44所述的试剂盒,其进一步包括固相,衍生自所述生物样品的游离LIGHT附着于所述固相。

[0119] 实施例48.一种确定来自受试者的疑似含有游离LIGHT的样品中游离/非结合的肿瘤坏死因子超家族成员14(TNFSF14或LIGHT)的量的方法,所述方法包括:

[0120] (a)使样品与游离LIGHT的捕获分子接触,所述捕获分子与游离LIGHT特异性结合但不与结合的LIGHT结合;

[0121] (b)温育所述样品以使所述捕获分子与游离LIGHT结合;

[0122] (c)检测游离LIGHT与所述捕获分子的结合并确定所述样品中游离LIGHT的量。

[0123] 实施例49.根据实施例48所述的方法,其中所述捕获分子是抗体,任选地其中所述抗体包括抗LIGHT抗体,所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[0124] (a)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[0125] (b)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[0126] (c)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[0127] (d)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[0128] (e)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[0129] (f)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[0130] (g)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[0131] (h)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。

[0132] 实施例50.根据实施例48至49中任一项所述的方法,其中所述捕获分子与游离LIGHT特异性结合,但不与LIGHT/DcR3复合物、或LIGHT/HVEM复合物、或LIGHT/LTβR复合物结合。

[0133] 实施例51.根据实施例48至50中任一项所述的方法,其中所述捕获分子在LIGHT与DcR3结合的位点处或在LIGHT与DcR3结合的位点附近与游离LIGHT特异性结合。

[0134] 实施例52.根据实施例51所述的方法,其中所述捕获分子在LIGHT与DcR3结合的位点处与游离LIGHT特异性结合。

[0135] 实施例53.根据实施例48至52中任一项所述的方法,其中提供了检测分子,其中所述检测分子在与所述捕获分子结合的位点不同的位点处与LIGHT结合。

[0136] 实施例54.根据实施例48至53中任一项所述的方法,其进一步包括比较所述样品中游离LIGHT和总LIGHT的量。

[0137] 实施例55.根据实施例48至54中任一项所述的方法,其中所述捕获分子是抗体。

[0138] 实施例56.根据实施例48至55中任一项所述的方法,其中所述捕获分子是选自单克隆抗体、多克隆抗体、嵌合抗体、单链抗体、双特异性或双效抗体、猿化抗体、人抗体和人源化抗体的抗体。

[0139] 实施例57.根据实施例48至56中任一项所述的方法,其中所述捕获抗体是单克隆抗体。

[0140] 实施例58.根据实施例48至57中任一项所述的方法,其中所述捕获抗体与支持物(例如,Simoa平台中的纳米颗粒)结合。

[0141] 实施例59.根据实施例48至58中任一项所述的方法,其中所述捕获抗体是Enzo ALX-804-841-C100。

[0142] 实施例60.根据实施例48至59中任一项所述的方法,其中所述检测分子是抗体。

[0143] 实施例61.根据实施例48至60中任一项所述的方法,其中所述检测分子是单克隆抗体。

[0144] 实施例62.根据实施例48至61中任一项所述的方法,其中所述捕获抗体是Enzo ALX-804-841-C100并且所述检测抗体是ProSci RF16062。

[0145] 实施例63.根据实施例48至62中任一项所述的方法,其中所述样品是血清、血浆、唾液或粪便。

[0146] 实施例64.根据实施例48至63中任一项所述的方法,其中所述样品是血清样品。

[0147] 实施例65.一种治疗克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体,其中所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集

合中的一者：

[0148] (a)SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7；

[0149] (b)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15；

[0150] (c)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21；

[0151] (d)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27；

[0152] (e)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33；

[0153] (f)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39；

[0154] (g)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45；

[0155] (h)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51；以及

[0156] (i)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。

[0157] 实施例66.根据实施例25或65所述的方法，其中每14天施用1.0mg/kg剂量的抗LIGHT抗体。

[0158] 实施例67.根据实施例25或65所述的方法，其中每14天施用3.0mg/kg剂量的抗LIGHT抗体。

[0159] 实施例68.根据实施例65至67中任一项所述的方法，其中所述受试者是人。

[0160] 实施例69.根据实施例65至68中任一项所述的方法，其中所述受试者是成人。

[0161] 实施例70.根据实施例65至69中任一项所述的方法，其中所述受试者已经用经批准的治疗剂量的抗TNFα单克隆抗体治疗失败，对诱导没有初始响应或对诱导具有初始响应随后失去响应。

[0162] 实施例71.根据实施例65至70中任一项所述的方法，其中所述抗LIGHT抗体的施用降低受试者的CDAI评分。

[0163] 实施例72.根据实施例65至71中任一项所述的方法，其中所述抗LIGHT抗体的施用增加受试者的SES-CD评分。

[0164] 实施例73.根据实施例65至72中任一项所述的方法，其中所述抗LIGHT抗体的施用增加受试者的IBD-Q评分。

[0165] 实施例74.根据实施例3至24和26至42中任一项所述的方法，其中所述抗LIGHT抗体的施用将所述受试者中的血清游离LIGHT水平降低85％或更多。

[0166] 实施例75.根据实施例74所述的方法，其中所述血清游离LIGHT水平的降低发生在施用所述抗LIGHT抗体后不到5天。

[0167] 实施例76.根据实施例74所述的方法，其中所述血清游离LIGHT水平的降低发生在施用所述抗LIGHT抗体后约1天。

[0168] 实施例77.根据实施例3至24、26至42和74至76中任一项所述的方法，其中所述抗LIGHT抗体的施用在施用后60天将所述受试者的死亡风险降低50％或以上。

[0169] 实施例78.根据实施例3至24、26至42和74至76中任一项所述的方法，其中所述抗LIGHT抗体的施用在施用后28天将所述受试者的死亡风险降低50％或以上。

[0170] 实施例79.根据实施例3至24、26至42和74至78中任一项所述的方法，其中所述受试者为60岁或以上。

[0171] 实施例80.根据实施例79所述的方法，其中与接受护理标准治疗的受试者相比，所述抗LIGHT抗体的施用缩短所述受试者的住院时间。

[0172] 实施例81.根据实施例3至24、26至42和74至80中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用降低所述受试者呼吸衰竭的风险。

[0173] 实施例82.根据实施例3至42、65至73和77至81中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用降低所述受试者中的血清游离LIGHT水平。

[0174] 实施例83.一种抗LIGHT抗体在制备用于治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的药物中的用途。

[0175] 实施例84.一种包括抗LIGHT抗体的组合物,其用作治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的药物。

[0176] 实施例85.一种包括抗LIGHT抗体的组合物,其用于治疗与升高的游离LIGHT相关的病状。

[0177] 实施例86.根据实施例81至83中任一项所述的供使用的用途或组合物,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状是以下一项或多项:

[0178] a.炎症,任选地其中所述炎症是过度炎症;

[0179] b.导致多系统器官衰竭的免疫失调;

[0180] c.急性肺损伤(ALI),任选地其中所述ALI与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[0181] d.急性呼吸窘迫综合征(ARDS),任选地其中所述ARDS与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[0182] e.驱动组织损伤和血管通透性的细胞因子风暴;

[0183] f.感染后肺纤维化;

[0184] g.肺炎,任选地其中所述肺炎与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[0185] h.克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状;或

[0186] i.COVID-19感染。

[0187] 实施例87.根据实施例83至86中任一项所述的供使用的用途或组合物,其中所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[0188] (a)SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7;

[0189] (b)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[0190] (c)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[0191] (d)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[0192] (e)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[0193] (f)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[0194] (g)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[0195] (h)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[0196] (i)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。

附图说明

[0197] 图1示出了用候选抗体对(捕获抗体:Enzo ALX-804-841-C100,检测抗体:ProSci RF16062;未详细说明这些抗体的特定表位)捕获游离LIGHT(即DCR-游离LIGHT,活性

LIGHT),在1:10、1:20和1:40稀释度下进行线性。使用Quanterix的全自动免疫分析平台:Simoa HD-1分析仪和单分子阵列(Simoa)技术,使用Simoa™超高灵敏度测定法(Myriad RBM)以高灵敏度检测和测量游离LIGHT。所有温育均在Simoa HD-1分析仪内在室温下进行。将捕获抗体缀合的顺磁珠与标准品、样品或对照以及生物素化检测抗体一起温育。然后将珠子洗涤并与链霉亲和素-β-半乳糖苷酶(SβG)一起温育。最后一次洗涤后,将珠子与酶底物试卤灵β-吡喃半乳糖苷(RGP)一起装入Simoa圆盘中。将荧光信号与标准曲线进行比较,并确定每个样品的游离LIGHT的量。在筛选成对的抗LIGHT抗体用于基于夹心免疫测定法检测游离LIGHT后,使用一个候选对进行测定以测试线性和特异性。

[0198] 图2A-B示出了用候选对捕获游离LIGHT,在1:10、1:20、1:40、1:80稀释度下进行线性,如图2A中的表格和图2B中的图所示。图1中描述的相同测定法在不同稀释度下进行。

[0199] 图3示出了在游离LIGHT检测候选对(Enzo ALX-804-841-C100-ProSci RF16062(捕获-检测))上测试了对捕获游离LIGHT的DcR3干扰。使用含有游离LIGHT的稀释剂,而不是血清或血浆样品中的天然游离LIGHT。DcR3加标浓度为10,000ng/ml和另外11个较低浓度。将信号抑制值计算为Enzo/ProSci对的信号减少(MFI)。

[0200] 图4A-C示出了加标和未加标样品中游离LIGHT检测抗体对的DcR3干扰比较。图4A:进行了加标和恢复实验以评估DcR3(10μg/mL)对候选对(Enzo ALX-804-841-C100-ProSci RF16062(捕获-检测))的干扰。将血清和血浆样品与(加标)和不与(未加标)150pg/mL游离LIGHT(呈LIGHT标准重组抗原的形式)一起温育。将所述加标和未加标样品与DcR3一起温育。基于MFI,计算了与没有干扰的对照相比的信号恢复百分比。将有干扰情况下的信号恢复百分比除以对照信号。计算未加标血清1的信号抑制值(其具有最显著的降低)。计算未加标血清1的信号抑制值(其具有最显著的降低)。78%表示信号降低,这是相关的(100%-恢复百分比)。即血清1的DcR3恢复率为22%,这表示信号降低78%,并且抗LIGHT抗体恢复率为15%,即信号降低85%。此外,在LIGHT(150pg/ml)加标样品组(下方图片)中,样品血清1显示出92%的抑制(8%恢复)。图4B:使用相同参数进行了另一个加标和恢复实验,以评估DcR3对不同的游离LIGHT检测候选对(ProSci RF16062-LSBio LS-C133566-100(捕获-检测))的干扰。图4C:表征DcR3干扰以及天然游离LIGHT和加标游离LIGHT样品中每个候选对的恢复率的图。对于Enzo ALX-804-841-C100-ProSci RF16062候选对,天然游离LIGHT样品中相对较低的信号恢复百分比表明该对结合天然游离LIGHT。相反,对于ProSci RF16062-LSBio LS-C133566-100候选对,DcR3对信号恢复百分的干扰相对较小,这表明该对不能有效结合天然游离LIGHT,即使两个候选对与非天然LIGHT标准重组抗原的结合程度大致相同。

[0201] 图5示出了来自89名克罗恩氏病(CD)受试者的血清样品中的游离LIGHT水平,这些受试者被选择并根据发病时间分组。89名受试者和10名健康对照(性别和年龄匹配)使用本文所述的游离LIGHT测定法使用候选抗体对进行测量。排除异常值后,分析了62个样品和7个对照。克罗恩氏病受试者的血清游离LIGHT水平(527.93pg/ml,发病后0-1个月受试者的平均值)显著高于健康对照组(40.43pg/ml;$P<0.0021$)。游离LIGHT血清水平也与疾病程序相关。这表明游离LIGHT代表了治疗CD的潜在目标,并且游离LIGHT测定法可以充当抗LIGHT疗法的伴随诊断。

[0202] 图6示出了住院的COVID-19患者与健康对照的血清游离LIGHT水平。使用Kruskal-

Wallis检验(非参数单向ANOVA)分析血清中的游离LIGHT水平。P值<0.0001,这表明COVID-19患者的游离LIGHT水平高于对照组。

[0203] 图7示出了非通气和插管的COVID-19患者与健康对照的血清游离LIGHT水平。使用非参数Kruskal-Wallis检验分析血清中的游离LIGHT水平。进行了单独的测试以比较非通气和插管患者与对照组。两项测试的P值均<0.0001。

[0204] 图8示出了使用Kruskal-Wallis检验比较60岁以上的健康对照(N=14)、60岁以上最终恢复的受试者(N=5)和60岁以上最终死亡的受试者(N=23)之间的血清游离LIGHT水平。

[0205] 图9示出了在实例2和3中描述的研究中比较受试者的血清游离LIGHT水平。方框是用安慰剂治疗的受试者(n=34),圆圈是用抗LIGHT单克隆抗体治疗的受试者(n=36)。平均游离LIGHT水平在基线时跨队列具有可比性。在用抗LIGHT抗体治疗后的第1天,平均游离LIGHT水平显著降低,但在安慰剂治疗组中增加。≥60岁患者的平均游离LIGHT水平高出约100pg/mL。在大约90%的患者接受全身性皮质类固醇治疗的情况下,药效学效果高于护理标准。

[0206] 图10示出了实例2和3中描述的研究的主要终点:与安慰剂治疗组相比,抗LIGHT单克隆抗体治疗组中在第28天存活且无呼吸衰竭的患者的百分比。

[0207] 图11示出了由使用本文描述的游离LIGHT测定法对来自ARDS患者的样品进行的LIGHT测试的数据生成的箱线图,并与健康供体LIGHT水平进行比较。存在79个健康对照数据点。

具体实施方式

[0208] 提供以下定义以促进对本发明的理解。这些定义并不旨在以任何方式限制本发明。

[0209] 定义

[0210] 出于本发明的目的,“一个/种(a或an)”实体是指该实体中的一个或多个;例如,“cDNA”是指一个或多个cDNA或至少一个cDNA。因此,术语“一个/种(a或an)”、“一个或多个”和“至少一个”在本文中可互换使用。还应当注意,术语“包括(comprising)”、“包含(including)”和“具有(having)”可以可互换地使用。此外,“选自由一项组成的组”的化合物是指以下列表中的一种或多种化合物,包含两种或多种化合物的混合物(即组合)。根据本发明,“分离的”或“生物学上纯的”分子是已经从其天然环境中去除的化合物。因此,术语“分离的”和“生物学上纯的”不一定反映化合物的纯化程度。本发明的分离的化合物可以从其天然来源获得,可以使用实验室合成技术生产或可以通过任何此类化学合成途径生产。

[0211] “冠状病毒”、“冠状呼吸道病毒”或“CoV”在本文中可互换使用以指代属于冠状病毒科的病毒。冠状病毒是大约31Kb的有包膜的正义RNA病毒,这使得这些病毒成为已知最大的RNA病毒。冠状病毒感染多种宿主物种,包含人类和其它几种脊椎动物。这些病毒主要引起呼吸道和肠道感染,并引起广泛的临床表现。一般来说,冠状病毒可分为低致病性CoV(包含人CoV(hCoV))和高致病性CoV,如严重急性呼吸综合征CoV(SARS-CoV)和中东呼吸综合征CoV(MERS-CoV)。低致病性hCoV感染上呼吸道并在健康个体中引起季节性轻度至中度感冒样呼吸道疾病。相比之下,高致病性hCoV(致病性hCoV)感染下呼吸道并引起严重肺炎,有时

会导致致命的急性肺损伤(ALI)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS),从而导致高发病率和死亡率。SARS-CoV2是一种冠状病毒。如本文所使用的,冠状病毒感染包含上述任何一种,如果与冠状病毒相关的话。如本文所使用的,“COVID-19感染”也可以指由SARS-CoV2引起的病状或疾病。

[0212] 本文中的“急性肺损伤”或“ALI”是指在胸片中具有双侧肺浸润的急性肺病,与水肿的存在一致并且没有左心房高血压的临床证据;或(如果测量的话)肺楔压为18mmHg或更低。此外,无论呼气末正压(PEEP)水平如何,动脉氧与吸入氧分数的比率)PaO2/FiO2)必须为300mmHg或更低。

[0213] 本文中的“急性呼吸窘迫综合征”或“ARDS”是指最严重的ALI形式,其由200mmHg或更低的动脉氧与吸入氧分数的比率定义。术语ARDS通常与ALI非正式地互换使用,但根据严格的标准,ARDS应保留用于最严重的疾病形式。

[0214] 本文中的“LIGHT”或“TNFSF 14”是指由活化的T细胞、单核细胞-巨噬细胞和其它类型的抗原呈递细胞表达的肿瘤坏死因子超家族的特定成员蛋白。“LIGHT”是“与淋巴毒素同源,表现出诱导型表达并与HSV糖蛋白D竞争结合HVEM(疱疹病毒进入介质),一种在T淋巴细胞上表达的受体”的首字母缩写。

[0215] 本文中的“游离LIGHT”或“游离(活性)LIGHT”是指非结合形式的LIGHT(例如,与DcR3结合的LIGHT),其是LIGHT的活性形式。在人类中,游离LIGHT被DcR3中和(灭活),DcR3是TNFR超家族的独特可溶性成员,其以高亲和力结合LIGHT并抑制其与两种TNF受体HVEM和LTβR的相互作用。“结合的LIGHT”等是指与天然配体结合的LIGHT,任选地其中所述天然配体是HVEM、LTβR或DcR3。“总LIGHT”等是指游离LIGHT和结合的LIGHT的总量。

[0216] 如本文所使用的,“升高的游离LIGHT”是指在受试者中检测到的游离LIGHT水平高于正常对照。正常对照可由本领域技术人员确定为适用于特定情况。在一些情况下,正常对照是技术人员同意的行业标准,作为没有LIGHT相关病状的个体的典型水平或水平范围。在一些情况下,正常对照是来自同一个体在某个时间点采集的LIGHT的参考水平,并且受试者是否具有升高的LIGHT是基于在不同时间点(通常是较晚的时间点)采集的同一个体的样品确定的。

[0217] 本文中的术语“抗体”以最广泛的含义使用并且涵盖各种抗体结构,包含但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)和抗体片段,只要它们表现出所需的抗原结合活性即可。如本文所使用的,该术语是指包括至少重链的互补决定区(CDR)1、CDR2和CDR3和至少轻链的CDR1、CDR2和CDR3的分子,其中该分子能够与抗原结合。术语抗体包含但不限于能够与抗原结合的片段,如Fv、单链Fv(scFv)、Fab、Fab’和$(Fab')_2$。术语抗体还包含但不限于嵌合抗体、人源化抗体、人抗体以及各种物种(如小鼠、食蟹猴等)的抗体。

[0218] 术语“重链”是指包括至少一个重链可变区的多肽,具有或不具有前导序列。在一些实施例中,重链包括重链恒定区的至少一部分。术语“全长重链”是指包括重链可变区和重链恒定区的多肽,具有或不具有前导序列。

[0219] 术语“重链可变区”是指包括重链的重链互补决定区(CDR)1、框架区(FR)2、CDR2、FR3和CDR3的区域。在一些实施例中,重链可变区还包括FR1的至少一部分和/或FR4的至少一部分。在一些实施例中,重链CDR1对应于Kabat残基31至35;重链CDR2对应于Kabat残基50

至65;并且重链CDR3对应于Kabat残基95至102。参见例如,《具有免疫学意义的蛋白质的Kabat序列(Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest)》(1987和1991,马里兰州贝塞斯达的美国国立卫生研究院(NIH,Bethesda,Md.))。

[0220] 术语“轻链”是指包括至少一个轻链可变区的多肽,具有或不具有前导序列。在一些实施例中,轻链包括轻链恒定区的至少一部分。术语“全长轻链”是指包括轻链可变区和轻链恒定区的多肽,具有或不具有前导序列。术语“轻链可变区”是指包括轻链CDR1、FR2、HVR2、FR3和HVR3的区域。在一些实施例中,轻链可变区还包括FR1和/或FR4。在一些实施例中,轻链CDR1对应于Kabat残基24至34;轻链CDR2对应于Kabat残基50至56;并且轻链CDR3对应于Kabat残基89至97。参见例如,《具有免疫学意义的蛋白质的Kabat序列》(1987和1991,马里兰州贝塞斯达的美国国立卫生研究院(NIH,Bethesda,Md.))。

[0221] 嵌合抗体是指其中重链和/或轻链的一部分衍生自特定的来源或物种,而重链和/或轻链的其余部分衍生自不同的来源或物种的抗体。在一些实施例中,嵌合抗体是指包括来自第一物种(如小鼠、大鼠、食蟹猴等)的至少一个可变区和来自第二物种(如人、食蟹猴等)的至少一个恒定区的抗体。在一些实施例中,嵌合抗体包括至少一个小鼠可变区和至少一个人恒定区。在一些实施例中,嵌合抗体包括至少一个食蟹猴可变区和至少一个人恒定区。在一些实施例中,嵌合抗体的所有可变区均来自第一物种,并且嵌合抗体的所有恒定区均来自第二物种。

[0222] “人源化抗体”是指其中非人可变区的框架区中的至少一个氨基酸已被来自人可变区的对应氨基酸取代的抗体。在一些实施例中,人源化抗体包括至少一个人恒定区或其片段。在一些实施例中,人源化抗体是Fab、scFv、$(Fab')_2$等。

[0223] 如本文所使用的,“人抗体”是指在人中产生的抗体、在包括人免疫球蛋白基因的非人动物中产生的抗体,如XenoMouse®,以及使用体外方法(如噬菌体展示)选择的抗体,其中抗体库基于人免疫球蛋白序列。

[0224] 术语“前导序列”是指位于多肽N末端的氨基酸残基序列,其促进多肽从哺乳动物细胞分泌。前导序列可以在多肽从哺乳动物细胞输出时被切割,从而形成成熟蛋白质。前导序列可以是天然的或合成的,并且它们可以与它们所连接的蛋白质异源或同源。

[0225] 相对于肽、多肽或抗体序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”和“同源性”被定义为在将序列比对并在需要时引入缺口以实现最大序列同一性百分比之后并且在不将任何保守取代视为序列同一性的一部分的情况下,候选序列中的与特定肽或多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比目的的比对可以以本领域技术范围内的各种方式实现,例如,使用如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGNTM(DNASTAR)软件等公开可用的计算机软件。本领域的技术人员可以确定用于测量比对的适当参数,包含在进行比较的序列的全长内实现最大比对所需的任何算法。

[0226] 术语“抑制(inhibition或inhibit)”是指任何事件(如蛋白质配体结合)的降低或停止,或任何表型特征的降低或停止,或发生率、程度或该特征的可能性的降低或停止。“减少(reduce)”或“抑制(inhibit)”是与参考相比降低、减少或阻止活性、功能和/或量。抑制或减少不必是完全的。例如,在某些实施例中,“减少”或“抑制”是指导致整体降低20%或更大的能力。在另一个实施例中,“减少”或“抑制”是指导致整体降低50%或更大的能力。在又一个实施例中,“减少”或“抑制”是指导致整体降低75%、85%、90%、95%或更大的能力。

[0227] “样品”或“受试者样品”或“生物样品”通常是指可以测试特定分子的样品。样品可以包含但不限于细胞、体液,包含血液、血清、血浆、尿液、唾液、粪便、泪液、胸膜液等。

[0228] 术语“药剂”和“测试化合物”在本文中可互换使用,并且表示化合物、化合物的混合物、生物大分子或由如细菌、植物、真菌或动物(特别是哺乳动物)细胞或组织等生物材料制成的提取物。生物大分子包含siRNA、shRNA、反义寡核苷酸、肽、肽/DNA复合物和任何基于核酸的分子,其表现出调节本文所述的含有SNP的核酸或其编码的蛋白质的活性的能力。通过包含在下文描述的筛选测定中来评估药剂的潜在生物活性。

[0229] “受试者”可以是哺乳动物。在涉及受试者的任何实施例中,所述受试者可以是人。在涉及受试者的任何实施例中,所述受试者可以是牛、猪、猴、羊、狗、猫、鱼或家禽。

[0230] 本文中的“儿童”受试者是小于18岁的人,而“成人”受试者是18岁或以上。

[0231] 治疗“(Treatment或treat)”是指治疗性治疗和防治性或预防性措施两者。需要治疗的受试者包含已经患有所述病症的受试者以及易于患所述病症的受试者或要预防所述病症的受试者。出于本发明的目的,有益的或所期望的临床结果包含但不限于症状的减轻、疾病程度的减轻、疾病的稳定状态(即,不恶化)、疾病进展的延迟或减慢、疾病状态的改善或减缓、以及缓和(不论是部分还是总体),不论这些结果是可检测的还是不可检测的。“治疗”还可以意味着与未接受治疗的情况下的预期生存期相比,生存期延长。需要治疗的受试者包含已患有所述病状或病症的受试者以及易于患所述病状或病症的受试者或要预防所述病状或病症的受试者。

[0232] 术语“有效量”或“治疗有效量”是指有效治疗受试者的疾病或病症(如部分或完全缓解一种或多种症状)的药物的量。在一些实施例中,有效量是指在必要的剂量和时间段内有效达到所需治疗或预防结果的量。

[0233] 生物标志物LIGHT的鉴定

[0234] LIGHT(TNFSF14)是一种重要的调节细胞因子,其在协调与病原体介导的感染(包含病毒和细菌感染,包含冠状病毒(例如,COVID-19))相关的细胞因子风暴和肺衰竭中充当关键因素。

[0235] 在一些实施例中,提供了用于检测人类受试者中的游离(活性)LIGHT的方法。在一些实施例中,分析受试者的生物样品(例如,血清)的游离LIGHT。在一些实施例中,结果为了解是否可以提供抗LIGHT疗法以及其是否有效提供了基础。例如,如果游离LIGHT水平升高(例如,游离LIGHT水平高于预期,例如,使用正常对照),则可以将受试者诊断为患有与升高的游离LIGHT相关的病状和/或将受试者视为适于使用抗LIGHT抗体治疗的合适候选者。在一些实施例中,抗LIGHT抗体是中和LIGHT的抗体。在一些实施例中,提供了用于检测受试者的生物样品(例如,血清)中的游离(活性)LIGHT的方法,其中结果为了解是否可以提供抗LIGHT疗法以及其是否有效提供了基础。在一些实施例中,检测到高于正常对照的游离LIGHT表明可以提供抗LIGHT疗法并且其是有效的。

[0236] 在一些实施例中,受试者可被诊断为患有的与升高的游离LIGHT相关的病状是克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状。在一些实施例中,受试者可被诊断为患有的与升高的游离LIGHT相关的病状是冠状病毒感染。在一些实施例中,所述冠状病毒感染是中度或重度冠状病毒感染。在一些实施例中,与升高的游离LIGHT相关的病状包含任何一种或多种炎症,任选地其中所述炎症是过度炎症;导致多系统器官衰竭的免疫失调;急性肺损伤

(ALI),任选地其中所述ALI与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;急性呼吸窘迫综合征(ARDS),任选地其中所述ARDS与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;驱动组织损伤和血管通透性的细胞因子风暴;感染后肺纤维化;以及肺炎,任选地其中所述肺炎与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染。在一些实施例中,与升高的游离LIGHT相关的病状是轻度、中度或重度冠状病毒感染,任选地其中所述冠状病毒感染是COVID-19感染。在一些实施例中,COVID-19感染与受试者的ALI或ARDS相关。在一些实施例中,COVID-19感染与驱动组织损伤和肺部血管通透性的细胞因子风暴以及感染后肺纤维化相关。在一些实施例中,冠状病毒感染是MERS-CoV、SARS-CoV或SARS-CoV2/COVID-19。

[0237] 在一些实施例中,提供了用于诊断与受试者中升高的游离LIGHT相关的病状的方法,其中检测生物样品中游离(活性)LIGHT的水平。如果所述水平高于正常对照,则将所述受试者诊断为患有与升高的游离LIGHT相关的病状。在一些实施例中,待检测的与升高的游离LIGHT相关的病状是克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状。在一些实施例中,待检测的与升高的游离LIGHT相关的病状是病毒感染。在一些实施例中,与升高的游离LIGHT相关的病状是冠状病毒感染。在一些实施例中,待检测的与升高的游离LIGHT相关的病状是中度或重度冠状病毒感染。在一些实施例中,待检测的与升高的游离LIGHT相关的病状是轻度、中度或重度COVID-19感染。在一些实施例中,COVID-19感染与受试者的ALI或ARDS相关。在一些实施例中,冠状病毒感染是MERS-CoV或SARS-CoV。

[0238] 在一些实施例中,用于检测来自受试者的生物样品中的游离LIGHT的方法可以用生物样品进行,所述生物样品包括血液、尿液、血清、血浆、粪便或洗胃体液样品,或用细胞样品(如白血细胞或单核细胞)进行。

[0239] 在一些实施例中,检测受试者中游离(活性)LIGHT的方法通过以下方式进行:

[0240] (a)使所述生物样品与至少一种抗LIGHT抗体接触;

[0241] (b)温育所述生物样品以使所述抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;以及

[0242] (c)确定所述生物样品中所述抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在。

[0243] 这种方法可以进一步包括将受试者诊断为患有与升高的游离LIGHT相关的病状和/或施用抗LIGHT抗体的步骤。

[0244] 可以使用本领域已知的用于检测特异性抗体-抗原结合的各种方法。可以进行的示例性免疫测定法包含荧光偏振免疫测定法(FPIA)、荧光免疫测定法(FIA)、酶免疫测定法(EIA)、比浊抑制免疫测定法(NIA)、酶联免疫吸附测定法(ELISA)和放射免疫测定法(RIA)、竞争测定法和夹心法。

[0245] 指示剂部分或标记基团可以连接至主题抗体并被选择以符合该方法的各种用途的需要,这些用途通常由测定设备的可用性和兼容的免疫测定程序决定。合适的标记包含但不限于放射性核素(例如125I、131I、35S、3H或32P)、酶(例如,碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、萤光素酶或β-半乳糖苷酶)、荧光部分或蛋白质(例如,荧光素、罗丹明、藻红蛋白、GFP或BFP)或发光部分(例如,由加利福尼亚州帕洛阿尔托的量子点公司(Quantum Dot Corporation,Palo Alto,Calif.)提供的Qdot™纳米颗粒)。

[0246] 用于进行上述各种免疫测定法的一般技术是本领域普通技术人员已知的。

[0247] ELISA测定法是本领域技术人员通常已知的并且可以被设计成确定血清LIGHT水

平。在一个示例性实施例中,收集血液并分离血清。如果没有可用的试剂盒,则可以使用预先涂有对正在测量的LIGHT具有特异性的捕获抗体的板来开发ELISA。接下来将板在室温下温育一段时间,之后进行洗涤。添加酶-抗LIGHT抗体缀合物并温育。去除未结合的抗体缀合物并洗涤板,之后添加与酶反应的显色底物溶液。在对所使用的酶和底物具有特异性的吸光度下在适当的读板仪上读取所述板。

[0248] 竞争方法比较样品中的抗原和已知量的标记抗原与本发明的单克隆抗体的竞争性结合。为了进行基于竞争法的免疫学测定,将含有未知量的靶抗原的样品添加到固体底物中,通过已知的方法将本发明的单克隆抗体物理地或化学地涂覆在该固体基质上,并且允许反应进行。同时,添加预定量的预标记靶抗原,使反应继续进行。温育后,洗涤固体底物并测量结合到固体底物上的标记剂的活性。

[0249] 在夹心法中,将样品中的靶抗原夹在固定化的单克隆抗体和标记的单克隆抗体之间,然后添加酶等标记底物,检测底物颜色的变化,从而检测是否存在抗原。为了进行基于夹心法的免疫学测定,例如,将含有未知量的靶抗原的样品添加到固体底物中,通过已知的方法将本发明的单克隆抗体物理地或化学地涂覆在该固体基质上,并且允许反应进行。之后,添加本发明的标记的单克隆抗体,并且允许反应进行。温育后,洗涤固体底物并测量结合到固体底物上的标记剂的活性。

[0250] 在一些实施例中,第一抗体用于诊断并且第二抗体用作治疗剂。在一些实施例中,第一和第二抗体是不同的。在一些实施例中,第一和第二抗体可以通过与不同的表位结合而同时与抗原结合。

[0251] 用抗LIGHT抗体治疗的方法

[0252] 本发明提供了用抗LIGHT抗体治疗具有升高的游离LIGHT的受试者,包含患有与升高的游离LIGHT相关的病状的受试者的方法。在一些实施例中,抗LIGHT抗体是中和LIGHT的抗体。在一些实施例中,与升高的游离LIGHT相关的病状是冠状病毒感染,包含COVID-19。在一些实施例中,与升高的游离LIGHT相关的病状是克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状。可以在有或没有用于检测受试者样品中升高的游离LIGHT的诊断测试的情况下进行治疗。

[0253] 在一些实施例中,在对受试者进行治疗之前,首先在阈值步骤中测试来自受试者的生物样品中游离LIGHT的存在和水平。在此类实施例中,治疗方法包括:使来自受试者的生物样品与至少一种第一抗LIGHT抗体接触;温育所述生物样品以使所述抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;确定所述生物样品中所述抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在;以及最后,基于检测步骤的阳性结果和游离LIGHT升高的发现,向所述受试者施用有效量的第二抗LIGHT抗体,其中所述第一抗体和第二抗体不同。

[0254] 在一些实施例中,在没有阈值测试步骤的情况下治疗受试者。在这种情况下,可能已经预先确定受试者可以从抗LIGHT疗法中受益,或者正在施用抗LIGHT抗体进行预防。在此类实施例中,治疗方法包括向患有与升高的游离LIGHT相关的病状的受试者施用有效量的抗LIGHT抗体。

[0255] 在治疗方法的一些实施例中,与升高的游离LIGHT相关的病状是克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状。

[0256] 在治疗方法的一些实施例中,与升高的游离LIGHT相关的病状是冠状病毒感染。在

一些实施例中,冠状病毒感染是COVID-19感染。在一些实施例中,受试者患有任选地由病毒、细菌或真菌引起的呼吸道疾病。在一些实施例中,受试者患有由冠状病毒感染引起的呼吸道疾病。在一些实施例中,受试者患有由COVID-19引起的呼吸道疾病。在一些实施例中,受试者患有肺炎。在一些实施例中,受试者患有急性肺损伤(ALI)。在一些实施例中,受试者患有急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。在一些实施例中,肺炎与冠状病毒感染相关。在一些实施例中,ALI或ARDS与冠状病毒感染相关。在一些实施例中,肺炎与COVID-19相关。在一些实施例中,受试者患有与COVID-19相关的急性肺损伤(ALI)。在一些实施例中,受试者患有与COVID-19相关的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。在一些实施例中,受试者患有轻度冠状病毒感染。在一些实施例中,受试者患有中度冠状病毒感染。在一些实施例中,受试者患有重度冠状病毒感染。在一些实施例中,提供了一种治疗重度COVID-19引起的肺炎的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,提供了一种治疗与COVID-19引起的肺炎相关的急性炎性疾病的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,提供了一种治疗与COVID-19引起的肺炎相关的呼吸衰竭的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,提供了一种治疗细胞因子风暴的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,提供了一种治疗超免疫响应失调(有时被称为“细胞因子风暴”)的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,提供了一种治疗急性呼吸系统疾病综合征(ARDS)的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[0257] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用抑制T细胞活化。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用抑制细胞因子表达增加(例如,细胞因子风暴)。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用抑制由病毒和/或细菌感染(例如,冠状病毒感染)引起的细胞因子表达增加(例如,细胞因子风暴)。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用预防或治疗由病毒和/或细菌感染,如由冠状病毒感染引起的细胞因子风暴。在一些实施例中,细胞因子风暴可以驱动肺中的组织损伤和血管通透性。细胞因子风暴可导致与冠状病毒(例如,COVID-19)感染相关的ARDS和ALI。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用预防或治疗感染后肺纤维化,其任选地与冠状病毒感染相关。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用降低受试者死亡或发病的风险。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用防止患有与冠状病毒感染(例如,COVID-19感染)相关的肺炎的受试者进展为ARDS。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用防止与冠状病毒感染相关的ALI进展,包含(例如,COVID-19感染)进展为ARDS。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用预防或治疗ARDS。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用防止受试者对通气/插管的需要。

[0258] 本发明中的治疗方法可以通过常规施用途径进行,包含但不限于口服、口腔、舌下、眼部、局部、肠胃外、直肠、脑池内、阴道内、腹膜内、膀胱内、局部(例如、粉剂、软膏或滴剂)或经鼻途径。术语“肠胃外”包含皮下、静脉内、肌内或输注。在某些实施例中,每天、每两天或几天、或每周一次、或每几周、或每月一次、或每几个月一次或按上述任意两个间期所定义的范围内的时间间期以连续输注或皮下注射的形式施用药剂可能是合适的。

[0259] 在一些实施例中,将抗LIGHT抗体施用于已经接受另一种疗法的受试者。在患有COVID-19的受试者的情况下,其它疗法可以是任何已批准或正在测试以治疗或改善COVID-19症状的疗法。此类疗法包含但不限于瑞德西韦、皮质类固醇和羟氯喹。在一些实施例中,在用抗LIGHT抗体治疗期间(在其正常过程中)继续其它疗法。在一些实施例中,在用抗

LIGHT抗体治疗期间中止其它疗法。在一些实施例中,受试者患有COVID-19并且正在接受高剂量的皮质类固醇和抗LIGHT抗体。在一些实施例中,接受高剂量皮质类固醇和抗LIGHT抗体组合的受试者比未接受所述组合的受试者具有更好的结果。

[0260] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体的剂量为约16mg/kg,最大剂量为1,200mg。在一些实施例中,剂量是单次施用。在一些实施例中,剂量多于单次施用。

[0261] 在一些实施例中,例如,与施用抗LIGHT抗体之前受试者中的游离LIGHT水平相比或与未施用抗LIGHT抗体的受试者相比,抗LIGHT抗体的施用将受试者中的血清游离LIGHT水平降低85%或更多。在一些实施例中,受试者中血清游离LIGHT水平降低85%或更多发生在施用抗LIGHT抗体后不到5天或不到1天。在一些实施例中,向受试者施用的抗LIGHT抗体在施用后60天将受试者的死亡风险降低50%或以上。在一些实施例中,向受试者施用的抗LIGHT抗体在施用后28天将受试者的死亡风险降低50%或以上。在一些实施例中,受试者为60岁或以上。在一些实施例中,与接受护理标准治疗的受试者相比,向受试者施用的抗LIGHT抗体缩短了所述受试者的住院时间。在一些实施例中,向受试者施用的抗LIGHT抗体降低受试者呼吸衰竭的风险。

[0262] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体以约1.0mg/kg至约3.0mg/kg的剂量施用。在一些实施例中,抗LIGHT抗体以约1.0、约1.1、约1.2、约1.3、约1.4、约1.5、约1.6、约1.7、约1.8、约1.9、约2.0、约2.1、约2.2、约2.3、约2.4、约2.5、约2.6、约2.7、约2.8、约2.9或约3.0mg/kg的剂量施用。在一些实施例中,每天、每2天、每3天、每4天、每5天、每6天、每周、每两周、每三周或每四周施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,抗LIGHT抗体以约1.0mg/kg至约3.0mg/kg的剂量每14天施用。在一些实施例中,抗LIGHT抗体以1.0mg/kg的剂量每14天施用。在一些实施例中,抗LIGHT抗体以3.0mg/kg的剂量每14天施用。

[0263] 在一些实施例中,将抗LIGHT抗体施用于已经用经批准的治疗剂量的抗TNFα单克隆抗体治疗失败且对诱导没有初始响应或对诱导具有初始响应随后失去响应的受试者。

[0264] 克罗恩氏病的治疗

[0265] CD治疗的主要临床目标是症状的消退。(Shi和Ng,克罗恩氏病治疗的最新技术,《胃肠病学杂志》,2018:53;989-998)。评估症状的标准指标是克罗恩氏病活动指数(CDAI),其包含八个变量:便液次数、腹痛程度、一般健康状况、肠外症状的发生、止泻药的需要、腹部肿块的存在、血细胞比容和体重。(Shi和Ng 2018)。症状的控制似乎不会显著改变疾病的自然进程。(Shi和Ng 2018)。

[0266] 粘膜愈合正在成为临床实践中的另一个目标。克罗恩氏病简单内镜评分(SES-CD)是最常见的CD内镜评分系统之一。SES-CD基于相同五个部分中的四个内窥镜变量(溃疡的存在和大小、溃疡表面的范围、受影响的表面的范围以及狭窄的存在和类型)进行评分。SES-CD评分低于2被认为是内镜缓解。SES-CD评分从基线下降至少50%已被用作内窥镜响应的定义。目前对于黏膜愈合没有固定的、通用的定义,但回结肠镜检查无溃疡已被采纳为CD的内镜终点。(Shi和Ng 2018)。

[0267] 患者报告的结果是直接从患者获得的关于其健康状况的任何方面的测量结果,并且有可能成为CD的治疗终点。已使用多种量表来评估患者对疾病的看法,包含炎症性肠病问卷(IBD-Q)。(Shi和Ng 2018)。

[0268] 在一些实施例中,例如,与施用抗LIGHT抗体之前受试者的CDAI评分相比或与未施

用抗LIGHT抗体的受试者相比,抗LIGHT抗体的施用降低受试者的CDAI评分。在一些实施例中,例如,与施用抗LIGHT抗体之前受试者的SES-CD评分相比或与未施用抗LIGHT抗体的受试者相比,抗LIGHT抗体的施用降低受试者的SES-CD评分。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用导致受试者的SES-CD评分低于2。在一些实施例中,例如,与施用抗LIGHT抗体之前受试者的IBD-Q评分相比或与未施用抗LIGHT抗体的受试者相比,抗LIGHT抗体的施用增加受试者的IBD-Q评分。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用导致受试者的IBD-Q评分为170或更高。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用导致受试者的IBD-Q评分增加至少16分。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用导致受试者的IBD-Q评分增加至少32分。

[0269] COVID-19疾病进展的阶段

[0270] COVID-19疾病进展的阶段显示在以下文献的图1中:Siddiqi,H.K.等人天然和免疫抑制状态下的COVID-19疾病:临床治疗分期建议(COVID-19illness in native and immunosuppressed states:A clinical-therapeutic staging proposal.)《心肺移植杂志(J Heart Lung Transplant)》39(5),405-407(2020)。该疾病大致可分为三个阶段:早期感染、肺期和过度炎症期。阶段I是病毒响应期,阶段III宿主炎症响应期,并且阶段II是两者的组合。随着患者从早期感染(阶段I)进展到出现肺部症状的肺期(阶段II),出现宿主炎症响应。正是在这一点上,一些患者会出现炎症响应的失调。这种炎症响应的失调可能伴随着生物体液(如血清)中游离LIGHT水平的升高。这个阶段,即肺期,是施用抗LIGHT抗体以纠正这种失调并避免细胞因子风暴和进展为ARDS的最佳阶段,所述ARDS发生在过度炎症期(阶段III)。

[0271] COVID-19阶段I患者被认为患有轻度疾病。COVID-19阶段II患者被认为患有轻度至中度疾病。COVID-19阶段III患者被认为患有重度疾病。

[0272] 在一些实施例中,将抗LIGHT抗体施用于患有轻度冠状病毒(例如,COVID-19)的受试者。在一些实施例中,在冠状病毒的早期感染阶段施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,在冠状病毒的阶段I期间施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,当有需要的受试者具有轻度全身症状、发烧>99.6℉、干咳、腹泻或头痛时施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,有需要的受试者患有淋巴细胞减少、凝血酶原时间增加、D-二聚体和LDH增加(轻度)。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用治疗冠状病毒的阶段I。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用防止冠状病毒进展至阶段II。分期参考Siddiqi,H.K.等人(2020)的图1,所述文献整体并入本文。

[0273] 在一些实施例中,将所述方法的抗LIGHT抗体施用于患有中度冠状病毒(例如,COVID-19)的受试者。在一些实施例中,在冠状病毒的肺期期间施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,在冠状病毒的阶段II期间施用抗LIGHT抗体。在本发明的一些实施例中,在冠状病毒的阶段IIA或阶段IIB期间施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,当有需要的受试者表现出呼吸急促或缺氧时施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,当有需要的受试者符合ALI的临床标准时施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,有需要的受试者具有异常的胸部成像、转氨酶或低正常的降钙素原。在一些实施例中,患者未进行通气/插管。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用治疗冠状病毒的阶段II。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用防止冠状病毒进展至阶段III。

[0274] 在一些实施例中,将抗LIGHT抗体施用于患有重度冠状病毒(例如,COVID-19)的受试者。在一些实施例中,在冠状病毒的过度炎症期期间施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,

在冠状病毒的阶段III期间施用抗LIGHT抗体。在一些实施例中,当有需要的受试者患有ARDS、全身炎症响应综合征(SIRS)/休克或心力衰竭时施用抗LIGHT抗体。SIRS是一种复杂的免疫响应,以身体内广泛的炎症为特征。已鉴定出SIRS的感染性和非感染性原因。在一些实施例中,患者被通气/插管。在一些实施例中,抗LIGHT抗体的施用治疗冠状病毒的阶段III。

[0275] 抗LIGHT抗体

[0276] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体用于检测/诊断和治疗目的,以及用于本文所述的测定法。用于检测或诊断目的的抗LIGHT抗体不同于用于治疗目的的抗体(即使在同一受试者中)。

[0277] 用于治疗目的的抗LIGHT抗体可以包括E1、E13、E63、F19或F23抗体的CDR序列,其在WO 2008/027338和US 8,058,402 B2、US 8,461,307 B2和US 8,974,787 B2中提供,所述文献中的每一个均通过引用并入本文。用于检测/诊断目的的抗LIGHT抗体与用于治疗目的的抗LIGHT抗体不同。

[0278] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:2、3和4中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:5、6和7中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:2、3和4中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:5、6和7中的每一个。

[0279] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链可变区序列,所述重链可变区序列包括SEQ ID NO:8或与SEQ ID NO:8至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链可变区序列,所述轻链可变区序列包括SEQ ID NO:9与SEQ ID NO:9至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:8或与SEQ ID NO:8至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:9与SEQ ID NO:9至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链和轻链两者,所述重链包括SEQ ID NO:8或与SEQ ID NO:8至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列,所述轻链包括SEQ ID NO:9与SEQ ID NO:9至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。

[0280] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:10、11和12中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:13、14和15中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:10、11和12中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:13、14和15中的每一个。

[0281] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:16、17和18中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:19、20和21中的每一

个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:16、17和18中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:19、20和21中的每一个。

[0282] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:22、23和24中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:25、26和27中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:22、23和24中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:25、26和27中的每一个。

[0283] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:28、29和30中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:31、32和33中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:28、29和30中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:31、32和33中的每一个。

[0284] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:34、35和36中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:37、38和39中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:34、35和36中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:37、38和39中的每一个。

[0285] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:40、41和42中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:43、44和45中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:40、41和42中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:43、44和45中的每一个。

[0286] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:46、47和48中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:49、50和51中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:46、47和48中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:49、50和51中的每一个。

[0287] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体可以包括抗体的CDR序列,其描述于US2013/0323240和US 8,524,869 B2中,所述文献通过引用并入本文。例如,在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:52、53和54中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:55、56和57中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:52、53和

54中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:55、56和57中的每一个。

[0288] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链可变区序列,所述重链可变区序列包括SEQ ID NO:58与SEQ ID NO:58至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链可变区序列,所述轻链可变区序列包括SEQ ID NO:59与SEQ ID NO:59至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:58与SEQ ID NO:58至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:59与SEQ ID NO:59至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链和轻链两者,所述重链包括SEQ ID NO:58或与SEQ ID NO:58至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列,所述轻链包括SEQ ID NO:59与SEQ ID NO:59至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的序列。

[0289] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体可以包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括描述于来自US2013/0323240的序列表中的以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:US2013/0323240的SEQ ID NO:18、19、20和SEQ ID NO:38、41、42;US2013/0323240的SEQ ID NO:18、19、21和SEQ ID NO:39、41、42;US2013/0323240的SEQ ID NO:18、19、22和SEQ ID NO:40、41、42;US2013/0323240的SEQ ID NO:23、24、25和SEQ ID NO:43、44、45;US2013/0323240的SEQ ID NO:26、27、28和SEQ ID NO:46、47、48;US2013/0323240的SEQ ID NO:29、30、31和SEQ ID NO:49、50、51;US2013/0323240的SEQ ID NO:32、33、34和SEQ ID NO:52、53、54;以及US2013/0323240的SEQ ID NO:35、36、37和SEQ ID NO:55、50、51。

[0290] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括WO 2015/107331中描述的18E04、98C07、1C02、1C06、13H04、31A10、98C07、42A02、29C02、14B09、117C06、114F05和62C01抗体的CDR序列,所述文献也通过引用并入本文。

[0291] 例如,在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:60、61和62中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:63、64和65中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:60、61和62中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:63、64和65中的每一个。

[0292] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:66、67和68中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:69、70和71中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:66、67和68中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:69、70和71中的每一个。

[0293] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:72、73和74中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻

链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:75、76和77中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:72、73和74中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:75、76和77中的每一个。

[0294] 在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括重链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:78、79和80中的每一个。在一些实施例中,抗LIGHT抗体包括轻链,所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:81、82和83中的每一个。在一些实施例中,抗体包括重链和轻链,所述重链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:78、79和80中的每一个,并且所述轻链包括三个CDR序列,所述三个CDR序列分别包括SEQ ID NO:81、82和83中的每一个。

[0295] 试剂盒和制品

[0296] 任何上述方法都可以通过试剂盒实施,以用于检测游离LIGHT和/或诊断和/或治疗与升高的游离LIGHT相关的病状,包含病毒和/或细菌感染,如冠状病毒,包含COVID-19。试剂盒可以含有抗体、一种或多种非天然存在的可检测标记、标志物或报告物、药学上可接受的载体、生理学上可接受的载体、使用说明、容器、施用器皿、测定底物或其任何组合。

[0297] 在一些实施例中,所述试剂盒用于检测生物样品中的游离LIGHT(相对于总LIGHT或结合的LIGHT)的方法。

[0298] 在一些实施例中,所述试剂盒用于检测来自患有或疑似患有冠状病毒感染、ALI、ARDS或肺纤维化的受试者的生物样品中的游离LIGHT的方法。

[0299] 在一些实施例中,所述试剂盒用于检测来自患有或疑似患有克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状的受试者的生物样品中的游离LIGHT的方法。

[0300] 在一些实施例中,所述试剂盒用于检测来自受试者的生物样品中升高的游离LIGHT的方法,任选地其中所述受试者疑似患有冠状病毒感染,并且还用于在诊断后通过施用有效量的抗LIGHT抗体来治疗所述受试者。

[0301] 在一些实施例中,用于上述方法之一的试剂盒适用于患有轻度、中度或重度克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的轻度、中度或重度炎性病状的受试者。

[0302] 在一些实施例中,用于上述方法之一的试剂盒适用于患有轻度、中度或重度冠状病毒感染的受试者。在一些实施例中,轻度、中度或重度冠状病毒感染是COVID-19感染。在一些实施例中,冠状病毒(包含COVID-19)感染与呼吸道疾病相关。在一些实施例中,冠状病毒(包含COVID-19)感染与ALI或ARDS相关。

[0303] 在一些实施例中,用于检测和/或治疗方法的试剂盒包括固相,抗LIGHT抗体试剂附着到该固相上。在一些实施例中,用于检测和/或治疗方法的试剂盒包括固相,衍生自生物样品的游离LIGHT将附着于所述固相。

[0304] 用于本发明试剂盒的固相包含但不限于微孔板、磁性颗粒、免疫层析滤纸、聚合物(如聚苯乙烯)、玻璃珠、玻璃过滤器和其它不溶性载体。在一个实施例中,含有许多隔室或区域的固体底物具有至少一个用本发明的抗体涂覆的隔室。

[0305] 本发明的试剂盒还可以包含诊断剂抗LIGHT抗体的另外的组分。另外的组分可以包含但不限于用于标记的酶、其底物、放射性同位素、光反射物质、荧光物质、有色物质、缓冲溶液和板,以及上文提及的那些。

[0306] 游离LIGHT检测测定

[0307] 公开了测定法,其是用于检测和测量疑似含有来自受试者的游离LIGHT的样品中的游离LIGHT的方法。此类方法可以使用抗体对进行夹心免疫测定,在所述夹心免疫测定中,来自样品的游离LIGHT被捕获抗体涂层(例如,顺磁珠)捕获并且检测抗体进一步与捕获的游离LIGHT结合。然后添加标记酶缀合物,如链霉亲和素-β-半乳糖苷酶(SβG),并与检测抗体结合。最后,添加酶底物以产生与样品中游离LIGHT的存在和数量相关的荧光强度。

[0308] 在一些实施例中,使疑似含有游离LIGHT的样品与游离LIGHT的捕获分子接触,所述捕获分子与游离LIGHT特异性结合但不与结合的LIGHT结合,并温育所述样品以使捕获分子与游离LIGHT结合。此类实施例进一步需要检测游离LIGHT与所述捕获分子的结合并确定所述样品中游离LIGHT的量。捕获分子可以是但不必是抗体。在一些实施例中,结合的LIGHT是指与复合物结合的LIGHT。在一些实施例中,结合的LIGHT是与带有DcR3的复合物结合的LIGHT。在一些实施例中,结合的LIGHT是被DcR3中和或失活的LIGHT。在一些实施例中,结合的LIGHT是与其TNF受体HVEM和LTβR中的任一个结合的LIGHT。在一些实施例中,与复合物结合的LIGHT包括与DcR3或抗LIGHT抗体结合的LIGHT。

[0309] 在一些实施例中,捕获分子与游离LIGHT特异性结合,但不与LIGHT/DcR3复合物结合。在一些实施例中,捕获分子在游离LIGHT与DcR3结合的位点处或在游离LIGHT与DcR3结合的位点附近与游离LIGHT特异性结合,使得例如LIGHT不能同时与捕获分子和DcR3结合。在一些实施例中,捕获分子在LIGHT与DcR3结合的位点处与游离LIGHT特异性结合。在一些实施例中,捕获分子在游离LIGHT与其TNF受体HVEM和LTβR结合的位点处或附近与游离LIGHT特异性结合。在一些实施例中,捕获分子在游离LIGHT与其TNF受体HVEM和LTβR中的任一个结合的位点处与游离LIGHT特异性结合。

[0310] 在用于检测和测量来自受试者的疑似含有游离LIGHT的样品中的游离LIGHT的方法的一些实施例中,样品不仅与捕获分子接触,而且与检测分子接触。此类实施例进一步需要温育样品以允许捕获分子和检测分子与游离LIGHT结合。此类实施例进一步需要检测游离LIGHT与所述捕获分子的结合并确定所述样品中游离LIGHT的量。在一些实施例中,还检测到游离LIGHT与检测分子的结合。在一些实施例中,检测分子结合到与捕获分子不同的游离LIGHT的位点。

[0311] 在用于检测和测量来自受试者的疑似含有游离LIGHT的样品中的游离LIGHT的方法的一些实施例中,所述方法进一步需要比较样品中游离LIGHT的量和总LIGHT的量。

[0312] 在一些实施例中,捕获分子是抗体。在一些实施例中,捕获分子是选自单克隆抗体、多克隆抗体、嵌合抗体、单链抗体、双特异性或双效抗体、猿化抗体、人抗体和人源化抗体的抗体。在一些实施例中,捕获抗体是单克隆抗体。在一些实施例中,捕获抗体与支持物(例如,Simoa平台中的纳米颗粒)结合。在一些实施例中,捕获抗体是ProSci RF16062。

[0313] 在一些实施例中,检测分子是抗体。在一些实施例中,检测分子是单克隆抗体。在一些实施例中,捕获抗体是ProSci RF16062。在一些实施例中,捕获抗体是Enzo ALX-804-841-C100。在一些实施例中,检测抗体是DCABH-13797。在一些实施例中,检测抗体是ProSci RF16062。在一些实施例中,捕获抗体是ProSci RF16062并且检测抗体是DCABH-13797。在一些实施例中,捕获抗体是Enzo ALX-804-841-C100并且所述检测抗体是ProSci RF16062。

[0314] 在一些实施例中,样品是血清、血浆、唾液或粪便。在一些实施例中,样品是血清样

品。

[0315] 实例1

[0316] 进行了一项研究,其中测试了来自患有急性COVID-19感染的受试者的血清,以确定疾病急性期期间游离LIGHT和其它细胞因子/炎症标志物的水平。确定了健康对照组与患有轻度至重度ALI/ARDS疾病的受试者的LIGHT水平和其它炎症标志物是否存在差异。与健康对照组或无ARDS的轻度或中度冠状病毒感染受试者相比,预计重度COVID-19感染受试者的血清游离LIGHT和其它炎症标志物水平更高,此外,这些标志物可用于鉴定可能从抗LIGHT疗法治疗中受益的受试者。鉴于LIGHT在介导免疫响应中的作用,特别是其在炎症细胞浸润和T细胞活化中的作用,这些受试者有望从抗LIGHT抗体疗法中受益。因此,预计测定结果将为临床医生提供关于哪些治疗剂是合适的指导。

[0317] 该研究包含30名健康对照、28名插管且患有重度COVID-19感染的受试者和20名非通气且患有轻度至中度COVID-19感染的受试者。在单个时间点从受试者抽取血液。使用本文实例4中描述的游离LIGHT测定法,确定血清中游离(活性)LIGHT的存在和水平;所述确定是在对插管患者进行插管时进行的。

[0318] 与健康对照(N=30)相比,COVID-19受试者(N=47)中的游离LIGHT显著升高($p<0.0001$)。参见图6。

[0319] 与健康对照(N=30)相比,非通气COVID-19患者(N=20)和插管COVID-19患者(N=27)的血清中游离LIGHT也显著升高($p<0.0001$)。参见图7。

[0320] 另外的证据表明,在需要呼吸机支持的患者中发现最高的游离LIGHT水平,特别是在60岁以上的患者中,并且升高的游离LIGHT水平与这些患者的致命结果相关,在60岁以上的患者中,较高的血清LIGHT水平与死亡率之间存在统计学显著关联($p=0.0209$)。参见图8。观察到的60岁以上患者的死亡率(82%)高于<60岁的患者(32%)。

[0321] 实例2

[0322] 根据实例2中描述的方法进行了一项随机、双盲、安慰剂对照、多中心、2期临床试验,以评估抗LIGHT抗体在患有COVID-19引起的肺炎和急性肺损伤的成人中的疗效和安全性。抗LIGHT抗体具有SEQ ID NO:8的VH和SEQ ID NO:9的VL。

[0323] 实例2.1-研究目标和终点

[0324] 该研究的主要目标是评估抗LIGHT单克隆抗体与安慰剂相比,除了护理标准外,在预防患有COVID-19引起的肺炎和急性肺损伤的成人中的ARDS方面的效果。施用的人抗LIGHT单克隆抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3氨基酸序列:SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7。

[0325] 该研究的次要目标是:评估抗LIGHT单克隆抗体与安慰剂相比,除了护理标准外,在患有COVID-19引起的肺炎和急性肺损伤的成人中的安全性和耐受性;以及评估抗LIGHT单克隆抗体与安慰剂相比,除了护理标准外,对患有COVID-19引起的肺炎和急性肺损伤的成人的死亡率的影响。

[0326] 探索性目标是:评估抗LIGHT单克隆抗体与安慰剂相比,除了护理标准外,对患有COVID-19引起的肺炎和急性肺损伤的成人的病毒载量的影响;以及评估抗LIGHT单克隆抗体在患有COVID-19引起的肺炎和急性肺损伤的成人中的PK、药效学(PD)和免疫原性。

[0327] 该研究的主要终点是:在28天内存活且没有呼吸衰竭的受试者的比例。呼吸衰竭

是根据资源利用情况定义的,包含以下之一:气管插管和机械通气;通过高流量鼻导管输送氧气(加热、加湿、通过强化鼻导管输送氧气,流速>20升/分钟,输送氧气分数≥0.5);无创正压通气;或体外膜肺氧合(ECMO)。

[0328] 该研究的次要终点是:1个月死亡率定义为在第28天/提前终止(ET)时存活的受试者的比例;动脉氧分压/吸入氧百分比(PaO2/FiO2)比率;有创通气的时间;通气支持的持续时间;重症监护病房(ICU)研究时间;住院时间;静息脉搏血氧仪>93%时返回室内空气的时间;峰值PaO2/FiO2比率;氧分压(PO2);序贯器官衰竭评估(SOFA)评分的变化;体温变化;以及不良事件(AE)监测和安全性实验室确定。

[0329] 该研究的探索性终点是鼻咽抽吸物中的病毒载量、LIGHT水平和炎症生物标志物模式(InflammationMAP)、抗LIGHT单克隆抗体随时间变化的血浆浓度以及抗药抗体(ADA)的测量结果。

[0330] 实例2.2-研究设计

[0331] 该研究旨在确定除了护理标准外,在患有COVID-19引起的肺炎和急性肺损伤的受试者中SC施用的抗LIGHT单克隆抗体与安慰剂相比的疗效和安全性。该研究的主要目标是评估抗LIGHT单克隆抗体在预防患有COVID-19引起的肺炎和急性肺损伤的成人中的ARDS方面的效果。抗LIGHT单克隆抗体的疗效是通过测量以下各项来确定的:PaO2/FiO2;活着、呼吸衰竭的天数;活着且无呼吸机的天数;ICU和住院时间;返回室内空气或基线氧气需求;SOFA评分;体温;鼻咽抽吸物中的病毒载量;有创通气的时间;以及通气支持的持续时间。这些是评估呼吸功能的常规使用和公认的方法。除其它参数外,该研究还评估了1个月的死亡率。

[0332] 该研究在美国的大约10个研究站点进行。

[0333] 83名患者入选该研究。研究候选人的筛选日志保存在每个研究站点。

[0334] 纳入标准

[0335] 受试者满足以下要求以随机进入研究:

[0336] 1.受试者/法定授权代表(LAR)能够理解并提供书面知情同意书和赞成(如适用)参与本研究。

[0337] 2.受试者在知情同意和赞成(如适用)时≥18岁。

[0338] 3.受试者是男性或未怀孕、未哺乳的女性,如果在完成研究之前出院,有生育能力的人要同意遵守任何适用的避孕要求。

[0339] 4.受试者通过经批准的测试方法被诊断为COVID-19感染。

[0340] 5.受试者因临床诊断为急性肺损伤的肺炎住院,所述急性肺损伤被定义为弥漫性双侧放射学浸润,其中PaO2/FiO2>100且<300。

[0341] 6.如果有的话,受试者在环境空气中休息时的氧饱和度<93%。

[0342] 排除标准

[0343] 任何以下标准的存在将受试者排除在研究之外:

[0344] 1.受试者被插管。

[0345] 2.受试者正在服用免疫调节剂或抗排斥药物。当有临床指征并与医疗监测员讨论时,允许使用皮质类固醇作为重度COVID-19患者护理标准措施的一部分。

[0346] 3.受试者在基线后60天内服用了免疫调节生物药物。

[0347] 4.受试者处于感染性休克,其被定义为持续性低血压,尽管进行了充分的容量复苏,但需要使用血管加压药将平均动脉压(MAP)维持在65mm Hg或更高,并且血清乳酸水平大于2mmol/L(18mg/dL)。

[0348] 5.受试者的ALT/AST>5×ULN或肌酐>2.5mg/dl

[0349] 6.受试者的中性粒细胞<500/ml3

[0350] 7.受试者的血小板<50,000/ml3

[0351] 8.受试者已知对抗LIGHT单克隆抗体的任何成分过敏

[0352] 9.受试者在基线就诊前3个月内接受过任何减毒活疫苗,如水痘-带状疱疹、口服脊髓灰质炎或风疹。

[0353] 筛选失败

[0354] 不符合纳入和/或排除标准的受试者不被该研究重新筛选。

[0355] 过早的受试者退出

[0356] 所有受试者都被告知他们可以在任何时间、出于任何原因且不带偏见地自由退出该研究。指示研究者尽一切合理努力将受试者留在研究中;但是,如果受试者撤回参与同意,则必须退出研究。

[0357] 发起人保留因方案偏差或其它原因而要求受试者退出的权利。

[0358] 研究者也有权在任何时候出于任何原因使受试者从研究中退出。如果受试者在完成研究之前退出,则应按照评估计划表(表1)中的指示对受试者进行随访。退出的原因必须由研究者确定,并记录在受试者的病历和病例报告表(CRF)中。如果受试者因超过1个原因退出,则每个原因都应记录在源文件中,并且与临床最相关的原因应被输入CRF。

[0359] 可能的停药原因包含但不限于:

[0360] ●不良事件

[0361] ●重大方案偏差

[0362] ●受试者退出研究评估

[0363] ●受试者退出研究药物

[0364] ●失访

[0365] ●其它。如果选择“其它”,则研究者需要在CRF上说明原因。

[0366] 受试者替换标准

[0367] 允许替换退出或中止研究的受试者。

[0368] 表1:评估计划表

[0369]

程序	基线（第1天）	第2天	第5天	第8天	第9天	第14天	第28天/ET[1]	第60天安全性随访电话[2]
知情同意书和赞成（如适用）	X							
随机化	X							
伴随药物[3]	X	X	X	X	X	X	X	X
不良事件[4]	X	X	X	X	X	X	X	X
鼻咽抽吸物中的病毒载量[9]	X		X					
ECG[7]	X	X	X	X	X	X	X	
妊娠测试[10]	X							
PK		X6		X		X	X	
LIGHT 和 InflammationMAP	X5	X6	X	X	X	X	X	
ADA[8]				X		X	X	
研究用产品施用	X							

[0370] 缩写:ADA＝抗药抗体;EC＝心电图;ET＝提前终止;InflammationMAP＝炎症生物标志物模式;LIGHT＝淋巴毒素样,表现出诱导型表达,并与疱疹病毒糖蛋白D竞争疱疹病毒进入介质,一种由T淋巴细胞表达的受体;PK＝药代动力学。

[0371] 1.执行第28天作为对中止研究的受试者和在第28天就诊之前出院的受试者的随访电话。此外,如果受试者在第28天之前中止研究或出院,则将执行第28天/ET就诊程序。除了第28天和第60天的随访电话外,不需要进行进一步的就诊。

[0372] 2.在研究用产品施用后约59天(±7天)进行安全性随访。

[0373] 3.在整个研究期间收集伴随的药物。

[0374] 4.在整个研究期间收集不良事件。

[0375] 5.在研究用产品施用之前收集样品。

[0376] 6.第1天给药后24小时(±2小时)收集样品。

[0377] 7.当受试者没有通过心脏监测进行评估时,每天收集ECG。

[0378] 8.在美国东部时间第8天、第14天、第28天/ET收集ADA样品。此外,当报告了与免疫学相关的不良事件(例如,皮肤反应、狼疮样综合征、不明原因的血小板减少症)时,收集样品。

[0379] 9.如果站点无法进行定量测试以获得病毒载量,则无需收集第1天和第5天要收集的病毒载量样品。

[0380] 10.对于有生育能力的女性。如果受试者处于绝经后(连续12个月自发性闭经和≥51岁,和/或手术绝育(经历过以下手术行为之一:子宫切除术、双侧输卵管结扎术、双侧卵巢切除术或双侧输卵管切除术)和绝育后至少6周,则受试者不被认为具有生育能力。

[0381] 表2:护理标准程序

[0382]

程序
ABG
胸部 CT/CXR

[0383]

格拉斯哥昏迷量表（Glasgow Coma Scale）
实验室程序，包含 CBC、化学和尿液分析
CRP
身体检查
脉搏血氧仪
SOFA
温度
生命体征

[0384] 缩写:ABG＝动脉血气;CBC＝全血细胞计数;CRP＝C反应蛋白;CT＝计算机断层扫描;

[0385] CXR＝胸部X光片;SOFA＝序贯器官衰竭评估。

[0386] 除非另有定义,否则这些程序是按照站点惯例执行的。

[0387] 实例2.3-治疗

[0388] 研究用产品、剂量和施用方式的鉴定

[0389] 抗LIGHT单克隆抗体是本研究中使用的研究用产品。它以小瓶的形式提供。安慰剂在当地采购,并以体积匹配的生理盐水形式提供,用于注射。通过在腹部距肚脐4至10 cm的区域进行SC注射施用抗LIGHT单克隆抗体或安慰剂,根据使用的注射器数量旋转注射部位。在基线(第1天)施用抗LIGHT单克隆抗体或安慰剂。抗LIGHT单克隆抗体的施用剂量为16 mg/kg(最大剂量为1200 mg)。

[0390] 标记和包装

[0391] 所有包装和标记操作均按发起人或指定人员按照良好生产规范和良好临床实践(GCP)规则执行。研究用产品由发起人或指定人员送到研究站点。标记使用当地语言并取决于当地法规。

[0392] 施用的治疗

[0393] 除护理标准外,符合条件的受试者在第1天接受抗LIGHT单克隆抗体或安慰剂。护理标准将在整个研究过程中保持不变,并允许包含在标签外使用其它用于治疗COVID-19的药物、装置或干预措施。

[0394] 分发和储存

[0395] 发起人提供的抗LIGHT单克隆抗体按照方案的说明专门用于该临床研究。安慰剂在当地采购,并以体积匹配的生理盐水注射液形式提供。研究者负责根据剂量方案分发研究用产品并确保研究用产品的正确储存。

[0396] 非盲药剂师将用他/她的签名确认收到研究用产品。该收据的副本由非盲药剂师保存,另一份副本存储在发起人和/或指定人员处。在将研究用产品分发给受试者之前,将其储存在2℃至8℃(35.6℉至46.4℉)并避光。研究者或其它授权人员(例如,药剂师)负责根据当地法规、标记规范、机构政策和程序将发起人提供的研究用产品储存在安全的地方。

[0397] 发起人提供的研究用产品的储存条件控制,特别是温度控制(例如冷藏储存)和日常温度监测,以及使用稳定性信息和研究用产品的处理说明将根据由赞助商提供的规则进行管理。

[0398] 盲法和揭盲治疗任务

[0399] 这是一项双盲研究。参与研究实施(包含数据管理)的所有受试者、研究者和研究

人员对治疗分配不知情,但以下个人除外:来自合同研究组织(CRO)的指定非盲统计学家,其可以访问随机化代码;和来自医院的指定非盲药剂师,其可以访问随机化代码以准备研究用产品。

[0400] 在研究揭盲之前,非盲药剂师和非盲统计学家不参与研究或数据分析。

[0401] 如果治疗分配的知识不会实质性地改变医疗紧急情况的计划管理,则不鼓励治疗揭盲。在需要立即了解受试者的治疗分配的医疗紧急情况下允许揭盲。尽可能与发起人医疗监测员讨论揭盲。对于紧急揭盲,研究者将联系非盲药剂师。如果研究者无法提前讨论治疗揭盲,那么他们将尽快将揭盲事件通知发起人医疗监测员,而不会透露受试者的治疗分配。研究者或指定人员将在该受试者的适当eCRF上记录研究中止的日期和原因。在所有不属于紧急情况的情况下,研究者将在揭盲受试者的治疗分配之前与发起人医疗监测员讨论该事件。

[0402] 如果对个体受试者的治疗分配揭盲,则将通知研究者该受试者的治疗分配,而不对研究中的其余受试者的治疗分配进行揭盲。研究者将在与发起人医疗监测员协商后做出此决定。

[0403] 研究中剂量的选择

[0404] 选择16mg/kg(最大剂量1200mg)的剂量是为了在确保患者安全性的同时最大限度地实现阻断LIGHT的能力。在一项稳健的毒理学计划中,抗LIGHT单克隆抗体在猴子中的剂量高达100mg/kg,并且耐受性良好,而NOAEL被确定为60mg/kg。在人体给药中,抗LIGHT单克隆抗体在健康志愿者中以高达1200mg的单次递增剂量是安全且耐受良好的。存在没有临床意义的治疗出现的不良事件或ECG参数或实验室值的变化。安全性审查委员会分析了来自个体受试者和所有受试者的数据,这些受试者以每天的方式接受治疗,以评估任何与给药有关的安全性信号。

[0405] 剂量调整标准

[0406] 不允许进行剂量调整。

[0407] 药物责任

[0408] 显示研究用产品的接收、分发或其它处置的记录,包含日期、批次标识符、剂量、施用给每个受试者的体积以及接受研究用产品的受试者的身份(受试者编号和首字母缩写),由非盲药剂师维护。研究者不向任何人提供研究用产品,但美国食品和药物管理局(FDA)表格FDA 1572中指定的子研究者和指定研究人员以及本研究中的受试者除外。研究者不会从除表格FDA 1572所列地点以外的任何研究地点分发研究用产品。如果任何研究用产品未分发、丢失、被盗、溢出、无法使用或被接收到损坏的容器中,则该信息将根据需要记录并报告给申办方和适当的监管机构。

[0409] 研究完成后,未使用的研究用产品可以留在原始包装中,由发起人或按照研究中心的标准做法进行最终处置。任何部分使用的研究用产品和所有空包装(例如,小瓶)可以保存以供发起人最终处置,返回给发起人的指定人员进行销毁,或按照站点的标准惯例。

[0410] 允许和禁止的疗法

[0411] 所有非研究疗法,包含但不限于在基线前7天内和直至研究结束时接受的非处方药和非药物治疗,都记录在适当的电子病例报告表(eCRF)页面上。

[0412] 先前的疗法

[0413] 先前的治疗包含在研究用产品首次给药之日起7天内接受的所有治疗。先前的治疗信息记录在适当的eCRF页面上。

[0414] 伴随疗法

[0415] 伴随疗法是指在研究用产品的第一剂日期和随访期结束之间(包含端点)采取的所有疗法。伴随的治疗信息记录在适当的CRF页面上。

[0416] 允许的疗法

[0417] 被认为对受试者健康必要的药物由研究者酌情施用。在站点处于需要进一步澄清的情况下,可以联系发起人医疗监测员。

[0418] 可接受的节育方法是植入物、注射剂、联合口服避孕药、宫内节育器、性禁欲或输精管结扎的伴侣。

[0419] 禁止的疗法

[0420] 受试者可能在基线就诊前60天内未被施用免疫调节生物药物,或在基线就诊前3个月内未接受任何减毒活疫苗,如水痘-带状疱疹、口服脊髓灰质炎或风疹。在研究期间,可能会禁止新的研究用化合物的启用,但皮质类固醇除外,当有临床指征并与医学监测员讨论时,所述皮质类固醇被允许作为重度COVID-19患者护理标准措施的一部分施用。可能禁止使用免疫调节或抗排斥药物。

[0421] 研究结束后的治疗

[0422] 在整个研究过程中,根据标准临床实践对受试者进行治疗。

[0423] 实例2.4-研究程序

[0424] 受试者/LAR在研究相关程序开始之前提供书面知情同意书和赞成(如适用)。

[0425] 对于整个研究中评估和程序的时间安排,请参阅事件计划表(表1和表2)。表2中列出的程序被认为是护理标准,并且除非另有定义,否则按照站点的惯例执行。在整个研究过程中,研究人员尽一切合理努力来遵循每个受试者的事件计划表中的评估和程序的时间安排。

[0426] 研究持续时间

[0427] 在第1天施用抗LIGHT单克隆抗体和安慰剂治疗,并且研究期的持续时间为60天。

[0428] 疗效评估

[0429] 疗效响应通过以下程序在评估计划表(表1和表2)中提到的时间点进行评估:动脉血气(ABG)测试,用于测量PaO2/FiO2;脉搏血氧仪;SOFA评分测量结果(SOFA评分是一种简单而客观的工具,用于计算以下6个器官系统中器官功能障碍的数量和严重程度:呼吸、凝血、肝脏、心血管、肾脏和神经系统[表3],并且该评分可以测量个体或总体器官功能障碍(Vincent JL,Moreno R,Takala J等人SOFA(脓毒症相关器官衰竭评估)评分,用于描述器官功能障碍/衰竭(The SOFA(Sepsis-related Organ Failure Assessment)score to describe organ dysfunction/failure.)代表欧洲重症监护医学会脓毒症相关问题工作组(On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine.)《重症监护医学(Intensive Care Med.)》1996;22(7):707-710]);体温;鼻咽抽吸物中的病毒载量。除了这些测试,有创通气的时间和通气支持的持续时间也被记录下来。

[0430] 表3:序贯器官衰竭评估(SOFA)评分

[0431]

SOFA 评分	1	2	3	4
呼吸				
PaO2/FiO2（mmHg）	<400	<300	<200（有呼吸支持）	<100（有呼吸支持）
凝血				
血小板×10^3/mm^3	<150	<100	<50	<20
肝脏				
胆红素（mg/dL）	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	>12,0
心血管 [a]				

[0432]

低血压	MAP <70 mmHg	多巴胺≤5 或多巴酚丁胺（任何剂量）	多巴胺>5 或肾上腺素≤0.1 或去甲肾上腺素≤0.1	多巴胺>15 或肾上腺素>0.1 或去甲肾上腺素>0.1
中枢神经系统				
格拉斯哥昏迷量表	13-14	10-12	6-9	<6
肾脏				
肌酐（mg/dL）或尿量（mL/天）	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9 或<500	>5.0 或<200

[0433] MAP:平均动脉压;PaO2/FiO2:动脉氧分压/吸入氧百分比。a施用肾上腺素能药物,持续至少1小时(给药剂量单位为微克/千克-分钟)。

[0434] 参考文献:Vincent JL,Moreno R,Takala J等人SOFA(脓毒症相关器官衰竭评估)评分,用于描述器官功能障碍/衰竭。代表欧洲重症监护医学会脓毒症相关问题工作组。《重症监护医学》1996;22(7):707-710。

[0435] 安全性评估

[0436] 安全性和耐受性评估包含AE的频率和严重程度以及对临床实验室值、生命体征、ECG记录和身体检查发现的变化的评估。

[0437] 待进行的临床实验室测试

[0438] 在评估计划表(表1)中指定的时间点收集C反应蛋白的样品。除PK、LIGHT和InflammationMAP样品外,所有其它实验室样品均被视为护理标准,并且可根据站点惯例进行。

[0439] 实验室样本在医院实验室根据其收集和处理要求进行分析。

[0440] 采血量

[0441] 本研究的采血量如表4所示。

[0442] 表4:每个受试者的采血量

[0443]

评估	样品体积（mL）	样品数	总体积（mL）
抗 LIGHT 单克隆抗体浓度和 PK 分析	2.0	4	8.0
抗药抗体	2.0	3	6.0
LIGHT / InflammationMAP	2.5	7	17.5
总 mL	--	--	**27.5**

[0444] InflammationMAP＝炎症生物标志物模式;LIGHT＝淋巴毒素样,表现出诱导型表达,并与疱疹病毒糖蛋白D竞争疱疹病毒进入介质,一种由T淋巴细胞表达的受体

[0445] 抗LIGHT单克隆抗体浓度、药代动力学和抗药抗体评估

[0446] 药代动力学和ADA评估通过抗LIGHT单克隆抗体的血浆浓度计算。

[0447] 样本处理要求

[0448] 传染原的传播可能通过接触受污染的针头和血液或血液制品而发生。因此,在诊所和实验室环境中参与血液采集和样本处理的所有研究人员都可以采取适当的血液和体液预防措施。请参阅有关当局的当前建议。

[0449] 除了对受试者样品进行适当处理外,还存在关于生物/病原学样品运输的具体规定。站点和/或研究实验室手册中概述了感染性样品的包装和运输程序和规定。研究者负责确保所有运输到另一个地点的研究样品都按照适用的法规进行适当的包装和运输。

[0450] 实验室值评估

[0451] 本研究中实验室评估的正常值范围由每家医院的当地实验室提供。它们被视为针对特定站点做出决定的参考范围。

[0452] 如果实验室值超出参考范围,则不一定是临床相关的。研究者可以评估超出范围的值,并在受试者的原始文件中记录其对临床相关性的评估。

[0453] 在研究者看来,在治疗终止期间或之后显示临床相关或病理变化的所有实验室值都应在必要时与医学监测员讨论,并作为AE报告并进行跟踪。

[0454] 本节中描述的所有测量都是公认的标准方法。

[0455] 临床检查:血压、脉搏、呼吸频率、体温、身高和体重

[0456] 血压、脉搏、呼吸频率、体温、身高和体重被认为是护理标准,并根据站点的惯例进行。允许进行额外的血压和脉搏率测量,由研究者确定,以确保对受试者安全性的适当监测和生命体征测量结果的准确记录。研究者认为具有临床意义的基线的任何变化都被记录为AE。

[0457] 临床检查:心电图

[0458] 标准的12导联ECG被认为是护理标准,并且每天对那些没有被心脏监测器评估的人进行。除非在表2中另有定义,否则它们是按照站点的惯例进行的。所有ECG记录都标有受试者编号、受试者姓名首字母、记录的日期和时间,并且副本包含在受试者的源文档中。所有ECG都可以使用研究中心提供的设备进行。

[0459] 电子ECG跟踪根据站点的惯例进行分析。此外,记录研究者对ECG跟踪正常或异常的评估,如果异常,则可以将研究者对异常是否具有临床意义的判断记录在跟踪中。

[0460] 在研究者看来,在治疗终止期间或之后显示临床相关或病理变化的所有ECG值可以与发起人医学监测员讨论,并作为AE报告并进行跟踪。

[0461] 临床检查:身体检查

[0462] 除非在表2中另有定义,否则完整的身体检查被认为是护理标准,并按照站点的惯例进行。任何临床上显著的身体检查发现都报告为AE并进行跟踪。

[0463] 临床检查:不良事件

[0464] 研究者负责检测和记录符合先前描述的AE或SAE的标准和定义的事件。在住院期间进行的任何临床相关观察均被视为AE。

[0465] 药代动力学和免疫原性分析

[0466] 在第2天在给药后24小时(±2小时)和第8天、第14天和第28天的任何时间收集用于PK分析的血液样品。在第8天、第14天和第28天的任何时间收集用于ADA分析的血液样品。此外,当报告免疫相关的不良事件时,收集样品。将样品处理成血浆。将PK样品的时间记录在eCRF中。从每个受试者收集每个PK和ADA样品总共1.0mL血浆,以测量抗LIGHT单克隆抗体

和ADA的血浆浓度。药代动力学和ADA样品将根据实验室手册和指南中规定的方法和指导进行处理。药代动力学和ADA血浆样品分析由实验室手册和指南中定义的实验室根据其标准操作程序(SOP)使用经过验证的酶联免疫吸附测定法(ELISA)进行。方法验证和生物分析信息中描述了测定和分析的详细信息。

[0467] 药效学

[0468] 收集血液样品用于探索性分析。探索性分析包含不限于表1中指定的LIGHT水平和InflammationMAP。探索性生物标志物分析在实验室手册和指南中指定的实验室进行。

[0469] 实例2.5-不良事件

[0470] 不良事件收集

[0471] AE被定义为在施用了不一定与产品具有因果关系的药物产品的患者或临床研究受试者中的任何不幸的医疗情况。因此,AE可能是与产品在时间上相关联的任何不利和意外迹象(包含新的、临床上重要的异常实验室发现)、症状或疾病,无论其是否与产品相关。如果AE发生在第一剂研究用产品之后和受试者最后一剂研究用产品的30天内,则该AE被认为是治疗中出现的。

[0472] 从签署知情同意书到研究结束(第60天)收集所有AE。这包含无论是否使用研究用产品都会发生的事件。在可能的情况下,记录诊断而不是症状列表。如果尚未做出诊断,则单独列出每个症状。所有AE都在eCRF和源文档中的适当AE页面上捕获。此外,对于不幸的AE,研究用产品适应症之外的意外益处捕获在源文件和AE eCRF中。

[0473] 无论受试者是否仍在参与研究,跟踪所有AE直至结束(受试者的健康已恢复到他/她的基线状态或所有变量已恢复正常)。结束表示已达到结果,已达到稳定(研究者预计事件不会有任何进一步的改善或恶化),或事件以其它方式得到解释。在适当的时候,进行医学测试和检查,以便记录事件的解决。

[0474] 不良事件的严重程度

[0475] 在事件过程中记录AE的严重程度,包含每个严重程度变化的开始和停止日期。严重程度发生变化的事件被捕获为新事件。在启用研究用产品后,治疗前事件的恶化被记录为新的AE。例如,如果受试者在服用研究用产品之前经历了轻微的间歇性头痛;然而,在研究用产品首次给药后,头痛强度增加至中度,则将中度间歇性头痛的新AE记录在源文件和eCRF中。

[0476] 使用不良事件通用术语标准(CTCAE)第5.0版(2017年11月27日由美国卫生与公众服务部、美国国立卫生研究院、美国国家癌症研究所公开)确定AE临床严重程度的医学评估。1级被定义为轻度;无症状或轻微症状;或仅临床或诊断观察;或未指明干预。2级被定义为中度;或指示最小、局部或非侵入性干预;限制与年龄相适应的日常生活工具活动(ADL)。3级被定义为严重或具有医学意义但不会立即危及生命;或需要住院或延长住院时间;或禁用;或限制自护理ADL。4级被定义为危及生命的后果;或指示紧急干预。5级被定义为与AE相关的死亡。

[0477] 可以参考上文引用的CTCAE文档以完整描述CTCAE术语以及工具和自护理ADL。严重程度是强度的分类,而SAE是符合严重标准的AE。

[0478] 关系分类

[0479] 医师研究者对每个AE与研究用产品的关系进行评估。研究者根据他或她的医学判

断,决定事件是否有合理的可能性是由研究用产品引起的。如果没有正当理由表面关系,则AE可能被归类为“不相关”。

[0480] 否则,AE按照以下指南分类。因果关系评估可以记录在源文件和eCRF(表5)中。

[0481] 表5:评估与研究用产品的关系

[0482]

关系	描述
不相关	未发生对研究用产品的暴露。 *或* 研究用产品的施用与 AE 的发生在时间上没有合理的关联 *或* AE 被认为可能与使用研究用产品以外的病因有关,即没有事实/证据或论据表明 与研究用产品的因果关系。
可能相关	研究用产品的施用与 AE 的发生在时间上有合理的关联。 *并且* 除了暴露于研究用产品之外,其它因素或原因无法同样很好地解释 AE
可能相关	研究用产品的施用与 AE 的发生在时间上有合理的关联。 并且 与其它因素或原因相比,AE 更可能由暴露于研究用产品来解释。

[0483] 最后一次观察时的结果

[0484] 最后一次观察时的结果被分类为:恢复/解决;后遗症恢复/解决;恢复中/解决中;未恢复/未解决;致命的;或未知。

[0485] 严重不良事件的报告

[0486] 初始和后续SAE报告由研究者或指定人员完成,并在首次获悉SAE后24小时内发送给CRO。研究者或指定人员填写、签署并注明适当的SAE表格并根据对应的源文件验证信息的准确性。此信息将被发送至CRO药物警戒部门。

[0487] 严重不良事件定义

[0488] SAE被定义为任何不利的医学事件,无论是否被认为与研究用产品有关,其在任何剂量下:导致死亡;有生命危险;需要住院治疗或延长现有住院时间;导致持续或严重的残疾/丧失能力;是先天性异常;或者是重要的医疗事件。

[0489] 注意,“严重”定义中的术语“危及生命”是指受试者在事件发生时有死亡风险的事件;其不是指如果更严重的话假设可能导致死亡的事件。

[0490] 注意,术语“住院病人住院”定义为在医院24小时或过夜。为治疗暴露于测试药物之前存在的病状而选择住院,或为对AE进行诊断评估而住院,不将该病状或事件定性为SAE。此外,仅因交通、组织或住宿问题而在医院过夜且没有医疗背景的情况不需要被视为SAE。

[0491] 注意,术语“先天性异常”是指在怀孕期间暴露于研究用产品的母亲所生的婴儿是SAE。然而,除非怀疑研究用产品与避孕方法相互作用并导致妊娠,否则接受研究用产品的受试者中新诊断的妊娠不应被视为SAE。

[0492] 注意,在决定是否适合考虑其它严重情况时,可以进行医学和科学判断,如不会立即威胁生命或不会导致死亡或住院但可能危及受试者或可能需要干预以防止以上定义中列出的其它结果之一的重要医疗事件。这种事件的实例是在急诊室或家中对过敏性支气管痉挛、血质不调或抽搐进行强化治疗,它们不会导致住院或发展为药物依赖性或药物滥用。

[0493] 严重不良事件收集时间框架

[0494] 所有SAE,无论与研究的关系如何,都是从受试者/LAR签署知情同意书和赞成[如适用]到最后一次联系受试者的时间收集的。研究者或指定人员应在首次获悉事件后24小时内立即向CRO报告所有SAE。

[0495] 研究者在研究完成后的任何时间间期发现的任何SAE,无论与研究的关系如何,都将在第一次获悉该事件的24小时内向CRO报告。

[0496] 严重不良事件的发作和解决日期

[0497] SAE的发作日期被定义为事件符合严重标准的日期。解决日期是事件不再符合严重标准、症状消失或事件被视为慢性的日期。在住院的情况下,分别将入院和出院日期视为SAE的发作和解决日期。

[0498] 受试者在签署知情同意书和赞成(如适用)之后,或在SAE发作日期之前或在SAE解决日期之后所经历的任何体征或症状被记录为AE。

[0499] 致命结果

[0500] 仅当AE导致死亡时才选择致命作为结果。如果超过1个AE可能与受试者的死亡有关,则应针对每个此类AE指示死亡结果。

[0501] 导致受试者死亡的任何AE已作为结果进行致命检查,死亡日期被记录为解决日期。导致死亡的AE必须在24小时内作为SAE报告,如果尚未如此报告的话。在受试者死亡的情况下,将收集有关死亡是否发生在停止护理后的数据,如果是,则收集停止护理的原因。

[0502] 对于在死亡时持续且未导致受试者死亡的其它AE,结果将被视为未解决,没有记录解决日期。

[0503] 特别关注的不良事件

[0504] 迄今为止,研究中没有任何事件符合特别关注的AE。

[0505] 在抗LIGHT单克隆抗体临床前观察中观察到的药物不良反应包含注射部位反应。

[0506] 与其它生物药剂反应的观察结果包含:感染增加的可能性(包含机会性感染,如结核病);超敏反应(包含过敏反应);免疫原性;恶性肿瘤;和免疫受损。

[0507] 无论感染剂(即病毒或非病毒)如何,研究中发生的任何新感染都将被捕获。此外,还要捕获感染部位和培养来源(支气管肺泡灌洗液、气管抽吸物、痰液、血液、尿液等)。

[0508] 怀孕

[0509] 参与研究的所有具有生育能力的女性被告知实施适当节育的必要性以及在研究参与期间避免怀孕的重要性。如果发生或疑似怀孕,则指示女性立即联系研究者或研究人员。

[0510] 在基线时对有生育能力的女性进行妊娠测试。任何在基线时被发现怀孕的女性都被排除在研究之外,并被认为是筛选失败。任何在给药后发现怀孕的女性都必须中止研究,并在得知怀孕后尽快进行研究结束就诊评估。

[0511] 研究者报告在研究用产品治疗期间或在被随机化并接受研究用产品的60天内怀孕的任何女性(研究参与者或男性研究参与者的女性伴侣)的怀孕。在得知怀孕后24小时内,使用怀孕数据收集表通过与SAE报告相同的传真和电子邮件地址向CRO报告怀孕情况。研究者联系接收SAE通知的指定个人,并在发起人或其指定人员提供的子宫内暴露表格/其它指定表格上记录与怀孕有关的信息。

[0512] 研究者还负责跟踪妊娠直至分娩或终止。在妊娠数据收集表上报告这些发现并转发给指定的个人。该事件仅在导致自然流产或先天性异常时才符合SAE标准。

[0513] 过敏反应

[0514] 使用以下文献中提供的定义对代表过敏反应的任何AE进行分类:Sampson HA,Munoz-Furlong A,Campbell RL等人关于过敏反应的定义和管理的第二次研讨会:总结报告——第二次国家过敏和传染病研究所/食物过敏和过敏反应网络研讨会(Second symposium on the definition and management of anaphylaxis:Summary Report-Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network Symposium.)《过敏症与临床免疫学杂志(J Allergy Clin Immunol)》2006;117(2):391-97,并示于表6中。

[0515] 表6:用于诊断过敏反应的临床标准

[0516]

当满足以下 3 个标准中的任何一个时，极有可能发生过敏反应：
1. 皮肤、黏膜组织或两者均受累的疾病急性发作（数分钟至数小时）（例如，全身性荨麻疹、瘙痒或潮红、嘴唇-舌头-悬雍垂肿胀） *以及以下至少一项* a. 呼吸功能受损（例如，呼吸困难、喘息-支气管痉挛、喘鸣、PEF 降低、低氧血症） b. BP 降低或终末器官功能障碍的相关症状（例如，张力减退[塌陷]、晕厥、失禁）
2. 该患者在接触可能的过敏原后（几分钟至几小时）迅速发生以下两种或多种情况： a. 皮肤-黏膜组织受累（例如，全身性荨麻疹、潮红、嘴唇-舌头-悬雍垂肿胀） b. 呼吸功能受损（例如，呼吸困难、喘息-支气管痉挛、喘鸣、PEF 降低、低氧血症） c. BP 降低或相关症状（例如，张力减退[塌陷]、晕厥、失禁）
3. 该患者暴露于已知过敏原后 BP 降低（几分钟至几小时）： a. 婴儿和儿童：收缩压低（特定年龄）或收缩压降低 30%以上* b. 成人：收缩压低于 90 mm Hg 或与人的基线相比下降 30%以上

[0517] *儿童的低收缩压被定义为1个月至1岁低于70mm Hg,1岁至10岁低于(70mm Hg+[2x年龄]),以及11岁至17岁低于90mm Hg。

[0518] 缩写:峰值呼气流量;BP=血压

[0519] 参考文献:Sampson HA,Munoz-Furlong A,Campbell RL等人关于过敏反应的定义和管理的第二次研讨会:总结报告——第二次国家过敏和传染病研究所/食物过敏和过敏反应网络研讨会《过敏症与临床免疫学杂志》2006;117(2):391-97)。

[0520] 实例2.6-统计

[0521] 样品大小确定

[0522] 将总共83名受试者以1:1的比率随机分配至两个治疗组之一(抗LIGHT单克隆抗体或安慰剂,以及护理标准)。一名受试者退出,留下82名受试者。82名受试者的样品大小提供了大于80%的疗效,以使用单边显著性水平为0.05的卡方精确测试(Chi-square exact test)检测存活且无呼吸衰竭的受试者比例的0.25(25%)差异。该计算假设安慰剂组中存活且无呼吸衰竭的比例为0.60,并且抗LIGHT单克隆抗体组中的该比例为0.85。

[0523] 分析群体

[0524] 该研究具有几个所关注的群体。随机分析集包含在研究中随机分配的所有受试者。受试者根据他们的随机治疗组进行分类。随机分析集用于所有处置、方案偏差以及人口统计学和其它基线特性分析。安全性分析集包含在研究中随机分配并接受至少一剂研究用产品的所有受试者。受试者根据他们的实际治疗组进行分类。安全性分析集用于所有暴露

和安全性分析。完整分析集包含接受至少一剂研究用产品并具有基线和至少一项基线后疗效评估的所有受试者。受试者根据他们的随机治疗组进行分类。完整分析集用于所有疗效和药效学分析。PK分析集包含接受至少一剂研究用产品并具有至少一份给药后可测量血浆样品的所有受试者。受试者根据他们的实际治疗组进行分类。PK分析集用于所有PK分析。

[0525] 统计分析

[0526] 使用描述性统计总结所有疗效和安全性变量。连续数据的描述性统计包含受试者数量(n)、平均值、标准差(SD)、中位数、最小值和最大值。基线变量的变化总结仅包含在所关注的时间点同时具有基线值和对应值的受试者。分类数据的描述性统计包含频率和百分比。

[0527] 为所有收集的研究数据提供列表。

[0528] 在本研究中随机分配的所有受试者的处置按治疗组和完成/中止状态进行汇总。过早中止研究的受试者按治疗组和中止原因进行汇总。每个分析集中的受试者数量按治疗组进行汇总。

[0529] 审查所有受试者数据是否出现方案偏差。在数据库锁定之前,所有方案偏差都会根据影响实验结果的可能性进行审查和分类。方案偏差按治疗组进行汇总。

[0530] 人口统计学和其它基线特性使用描述性统计按治疗组进行汇总。

[0531] 使用WHO药物词典对所有先前的和伴随的药物进行编码。先前的和伴随的药物使用描述性统计按治疗组进行汇总。

[0532] 对研究用产品的暴露使用描述性统计按治疗组进行汇总。

[0533] 使用来自安全性分析集的数据进行安全性分析。安全性变量包含TEAE、临床实验室值、生命体征和ECG结果。除非另有说明,否则不对任何安全性变量进行正式的推论分析。

[0534] 不良事件逐字记录术语使用监管活动医学词典(MedDRA)进行编码。具有至少一种AE的受试者的总体发生率按治疗组进行汇总。TEAE的发生率按治疗组、系统器官类别(SOC)和首选术语(PT)进行汇总。每个受试者在每个SOC和首选术语中只计数一次。如果AE发生在第一剂研究用产品之后和受试者最后一剂研究用产品后30天内,则该AE被认为是治疗中出现的。

[0535] 对于所有连续的实验室测试变量,所有报告值的描述性统计和相对于基线值的变化按治疗组和时间点进行汇总。

[0536] 对于所有连续生命体征和ECG变量,所有报告值的描述性统计和相对于基线值的变化按治疗组和时间点进行汇总。此外,总结了具有异常ECG发现的受试者的频率和百分比。

[0537] 现在呈现具有90％置信区间的存活且无呼吸衰竭的受试者的比例。此外,已使用卡方测试或类似方法将抗LIGHT单克隆抗体组中存活且无呼吸衰竭的受试者比例与安慰剂组中的该比例进行了比较。类似地分析其它二分疗效变量。使用描述性统计总结了所有疗效变量。

[0538] 对于所有PK变量,描述性统计数据按使用PK分析集的收集时间点(如果适用的话)呈现。血浆浓度的描述性统计包含n,即浓度低于量化水平(BLQ)的受试者的数量、平均值、SD、变异系数、中值、最小值和最大值。对于描述性总结,将报告为BLQ的血浆浓度设置为零。

[0539] 对于所有PD变量,描述性统计按治疗组和时间点呈现。

[0540] 对于所有免疫原性变量,描述性统计按治疗组和时间点呈现。

[0541] 实例3

[0542] 本文在实例3中呈现的是根据实例2中描述的方法进行的研究的某些结果。

[0543] 筛选涉及鉴定患有COVID-19相关肺炎和轻度至中度ARD的患者。然后,将符合这些标准的患者(n=83)以1:1随机分配,以接受护理标准治疗加抗LIGHT单克隆抗体或护理标准治疗加安慰剂。83名患者中有一名撤回了知情同意书。共有82名患者接受了护理标准治疗加抗LIGHT单克隆抗体或护理标准治疗加安慰剂。对这些患者的次要终点和安全性进行了全面分析。在62名无高流量02或正压02的患者中完成了主要终点的ITT分析,并进行了28天的随访。

[0544] 研究中超过90%的患者接受了皮质类固醇,并且超过60%的患者接受了瑞德西韦。患者人口统计学数据如下表7所示:

[0545] 表7-患者人口统计学

[0546]

特性	抗 LIGHT 单克隆抗体（n=41）	安慰剂（n=42）
年龄，岁		
平均值（SD）	59.2（14.5）	58.1（14.2）
年龄组		
<60 岁（n，%）	20（48.8%）	21（50.0%）
≥60 岁（n，%）	21（51.2%）	21（50.0%）
性别		
男性	25（61%）	32（76.2%）
女性	16（39%）	10（23.8%）
种族		
白人	31（75.1%）	37（88.1%）
黑人或非裔美国人	7（17.1%）	3（7.1%）
亚洲人	2（4.9%）	0（0%）
其它	1（2.4%）	2（4.8%）
基线处的游离 LIGHT 水平		
平均值（范围）pg/mL	348（63 - 1050）	273（37 - 843）
基线处的伴随药物使用*		
全身性皮质类固醇	38（95.0%）	37（88.1%）
瑞德西韦	26（65.0%）	28（66.7%）

[0547] *根据给药的患者计算(n=40,抗LIGHT单克隆抗体;n=42,安慰剂)。

[0548] 该研究表明,在接受单剂量16mg/kg(最大1,200mg)抗LIGHT单克隆抗体治疗的患ARDS的COVID-19患者中(n=62),与安慰剂相比,主要终点(在28天研究期间存活且无呼吸衰竭的患者比例)有显著改善,如图10所示。预先指定的大于或等于60岁的患者亚群在主要终点方面表现出类似的改善(n=34);该亚群的疗效最高,该群体最容易因COVID-19感染而出现严重并发症和死亡。与安慰剂治疗的患者相比,在该亚群中接受抗LIGHT单克隆抗体治疗的患者住院时间也更短。

[0549] 此外,由于方案允许患者在随机化之前接受高流量氧气,62名患者被包含在主要终点的意向治疗(ITT)分析中。存在有利于抗LIGHT单克隆抗体的数字死亡率益处,其中截至数据检索之日,4名患者死于活性药物,并且9名患者死于安慰剂。

[0550] 在研究中,在28天和60天时间点都观察到,单剂量的抗LIGHT单克隆抗体使死亡率降低了约50%。用抗LIGHT单克隆抗体(3名患者)安慰剂(6名患者)治疗的患者28天死亡率

显著降低。接受抗LIGHT单克隆抗体治疗的患者28天死亡率为7.7％,并且接受安慰剂治疗的患者为14.3％。接受抗LIGHT单克隆抗体治疗的患者60天死亡率为10.8％,并且接受安慰剂治疗的患者为22.5％。

[0551] 研究中>90％的患者接受了皮质类固醇,并且>65％的患者接受了瑞德西韦。因此,抗LIGHT单克隆抗体在COVID-19ARDS的皮质类固醇和护理标准之上显示出统计学上显著的疗效。

[0552] 抗LIGHT单克隆抗体显著和迅速降低这些患者的血清游离LIGHT水平(一天内游离LIGHT降低约85％)。参见图9,其中方框是用安慰剂治疗的受试者,圆圈是用抗LIGHT单克隆抗体治疗的受试者。表8示出了研究中接受安慰剂的患者的LIGHT水平(n、平均值、SD、最小值和最大值),并且表9示出了研究中接受抗LIGHT单克隆抗体的患者的LIGHT水平(n、平均值、SD、最小值和最大值)。

[0553] 表8-接受安慰剂治疗的患者的LIGHT水平

[0554]

第几天	n	平均值	SD	最小值	最大值
1	39	276.025641	204.181741	37	843
2	38	303.421053	195.424366	73	760
5	22	349.045455	187.021129	130	897
8	12	427.25	285.03688	98	932
9	13	459.307692	346.335672	86	1240
14	8	685.625	1131.91884	95	3420
28	19	408.157895	309.366425	71	1160

[0555] 表9-接受抗LIGHT Mab治疗的患者的LIGHT水平

[0556]

第几天	n	平均值	SD	最小值	最大值
1	40	329.425	241.33271931	22	1050
2	39	51.728205128	59.143349267	5.7	360
5	31	42.64516129	51.900898121	5	251
8	15	57.2	60.74678122	13	239
9	10	51.9	34.326698388	12	123
14	4	59.75	23.514180119	27	80
28	25	24.988	13.674255617	5.3	63

[0557] 表10示出了研究中接受安慰剂的患者的IL-6水平(n、平均值、SD、最小值和最大值),并且表11示出了研究中接受抗LIGHT单克隆抗体的患者的IL-6水平(n、平均值、SD、最小值和最大值)。

[0558] 表10-接受安慰剂治疗的患者的IL-6水平

[0559]

第几天	n	平均值	SD	最小值	最大值
1	39	18.015384615	40.223090308	2.85	190
2	38	10.071052632	15.096422664	2.85	64
5	22	17.904545455	26.750664919	2.85	110
8	12	28.508333333	36.723827002	2.85	100

9	13	59.473076923	152.07703313	2.85	557
14	8	35.8	42.056042542	2.85	106
28	19	26.507894737	54.277297953	2.85	187

[0560] 表11-接受抗LIGHT Mab治疗的患者的IL-6水平

[0561]

第几天	n	平均值	SD	最小值	最大值
1	40	11.855	19.83956097	2.85	117
2	39	9.341025641	17.152109245	2.85	84
5	31	12.191935484	21.311671672	2.85	93
8	15	11.123333333	10.204968444	2.85	36
9	10	12.84	9.7115852923	2.85	29
14	4	358.225	707.85297026	2.85	1420
28	25	4.992	4.6357011336	2.85	24

[0562] 抗LIGHT单克隆抗体安全且耐受性良好,抗LIGHT单克隆抗体和安慰剂在免疫抑制或其它SAE方面没有明显差异。具体而言,抗LIGHT单克隆抗体在16mg/kg的单剂量下具有良好的耐受性;没有严重的不良事件可归因于抗LIGHT单克隆抗体;大多数AE被判定为轻度或中度;并且没有证据表明与免疫抑制相关的感染或不良事件增加(见下表12)。

[0563] 表12-不良事件

[0564]

	抗 LIGHT 单克隆抗体 (n=40)	安慰剂 (n=42)
AE≥1 的受试者（%）	16（40%）	21（50%）
药物相关 AE≥1 受试者	8（20%）	6（14.3%）
AEs > 5%	6（15%）	4（9.5%）
白细胞增多症	4（10%）	3（7.1%）
贫血	4（10%）	2（4.8%）
肝酶增加	3（7.5%）	2（4.8%）
急性肾损伤	3（7.5%）	3（7.1%）
呼吸衰竭		

[0565] 实例4

[0566] 游离LIGHT检测测定

[0567] 用候选对捕获游离LIGHT

[0568] 使用Quanterix的全自动免疫分析平台:Simoa HD-1分析仪和单分子阵列(Simoa)技术,使用SimoaTM超高灵敏度测定法(Myriad RBM)以高灵敏度检测和测量游离LIGHT。所有温育均在Simoa HD-1分析仪内在室温下进行。将捕获抗体缀合的顺磁珠与标准品、样品或对照以及生物素化检测抗体一起温育。然后将珠子洗涤并与链霉亲和素-β-半乳糖苷酶(SβG)一起温育。最后一次洗涤后,将珠子与酶底物试卤灵β-吡喃半乳糖苷(RGP)一起装入Simoa圆盘中。将荧光信号与标准曲线进行比较,并确定每个样品的游离LIGHT的量。在筛选用于夹心免疫测定的成对抗LIGHT抗体后,使用一个候选对(捕获抗体:Enzo ALX-804-841-C100,检测抗体:ProSci RF16062;未详细说明这些抗体的特定表位)进行测定以测试线性和特异性。

[0569] 线性是分析物可接受的样品稀释度的量度,并且通过在连续稀释时获得与样品中的分析物浓度成比例的结果的能力来测量。结果表明,稀释度为2倍、4倍、5倍、10倍、20倍、

40倍、80倍的样品保持线性。在1:10、1:20和1:40下进行的线性显示在图1中。在1:10、1:20、1:40、1:80下进行的线性显示在图2中。

[0570] 游离LIGHT检测抗体对,DCR3干扰

[0571] 在候选对ALX-804-841-C100-ProSci RF16062(捕获-检测)上测试了DcR3干扰。使用含有游离LIGHT的稀释剂,而不是血清或血浆样品中的天然游离LIGHT。DcR3加标浓度为10,000ng/ml和另外11个较低浓度。将信号抑制值计算为Enzo/ProSci对的信号减少(平均荧光强度(MFI)),如图3所示。DcR3针对候选对表现出96.3%的信号抑制(=(9938-361)/9938)。这表明所检查对的游离LIGHT表位与DcR3的游离LIGHT表位重叠。因此,其表明候选对结合游离LIGHT。

[0572] 游离LIGHT检测抗体对,DcR3干扰比较

[0573] 进行了加标和恢复实验以评估DcR3(10μg/mL)对候选对Enzo ALX-804-841-C100-ProSci RF16062(捕获-检测)的干扰。将含有天然游离LIGHT的血清和血浆样品与(加标)和不与(未加标)150pg/mL游离LIGHT(LIGHT标准重组抗原)一起温育。然后,将所述加标和未加标样品与DcR3一起温育。

[0574] 基于MFI,计算了与没有干扰物的对照相比的信号恢复百分比,如图4A所示。将有干扰情况下的信号恢复百分比除以对照信号。计算未加标血清1的信号抑制值(其具有最显著的降低)。在图4A所示的集合中,78%表示信号降低,这是相关的(100%-恢复百分比)。也就是说,血清1的DcR3恢复率为22%,这表示信号减少了78%。此外,在LIGHT(150pg/ml)加标样品组(下方图片)中,样品血清1显示出92%的抑制(8%恢复)。

[0575] 用于相同实验但使用ProSci RF16062-LSBio LS-C133566-100(捕获-检测)的另一组数据显示在图4B中。

[0576] 表征DcR3干扰以及天然游离LIGHT和加标游离LIGHT样品中每个候选对的恢复率的图显示在图4C中。候选对Enzo ALX-804-841-C100-ProSci RF16062(捕获-检测)被确定为天然游离LIGHT结合剂,因为它与DcR3和抗LIGHT抗体的竞争程度超过60%。对于这对,与血浆相比,血清是检测游离LIGHT的优选样品。灵敏度虽然尚未完全表征,但暗示样品稀释度可以是10倍,从而降低了背景。相反,对于候选对ProSci RF16062-LSBio LS-C133566-100(捕获-检测),DcR3对信号恢复百分的干扰相对较小,这表明该对不能有效结合天然游离LIGHT,即使两个候选对与非天然LIGHT标准重组抗原的结合程度大致相同。

[0577] 测定验证

[0578] 使用游离LIGHT结合剂对的游离LIGHT分析针对最低可检测剂量、定量下限、定量上限、动态范围、精密度、加标恢复率、线性、基质干扰、冷冻-解冻稳定性和短期分析物稳定性进行了测试,并符合上述参数的验收标准,并可重现地定量血清/血浆样品中的游离LIGHT水平。

[0579] 进行抗体竞争以评估是否发生任何非特异性结合。在使用Quanterix HD-1仪器进行分析之前,将血清和血浆样品与50μg/mL的捕获抗体一起在室温下温育35分钟。将恢复百分比计算为捕获抗体处理的(竞争性)样品浓度对比未处理的(对照)样品浓度。恢复百分比均为0%,完全在≤20%的可接受标准内。

[0580] 实例5

[0581] 克罗恩氏病样品中的游离LIGHT水平

[0582] 图5示出了来自89名克罗恩氏病(CD)受试者的血清样品中的游离LIGHT水平,这些受试者被选择并根据发病时间分组。89名受试者和10名健康对照(性别和年龄匹配)使用本文所述的游离LIGHT测定法使用候选抗体对进行测量。排除异常值后,分析了62个样品和7个对照。克罗恩氏病受试者的血清游离LIGHT水平(527.93pg/ml,发病后0-1个月受试者的平均值)显著高于健康对照组(40.43pg/ml;P<0.0021)。游离LIGHT血清水平也与疾病程序相关。这表明游离LIGHT代表了治疗CD的潜在目标,并且游离LIGHT测定法可以充当抗LIGHT疗法的伴随诊断。

[0583] 实例6

[0584] 本研究是一项递增剂量、开放标签、信号发现研究,用于评估抗LIGHT单克隆抗体在患有中度至重度活动性克罗恩氏病的成人中的安全性、耐受性和短期疗效,所述成人先前使用抗TNFα药物治疗失败,丧失或不丧失诱饵受体3(DcR3)功能突变。抗LIGHT抗体具有SEQ ID NO:8的VH和SEQ ID NO:9的VL。

[0585] 实例6.1-研究目标和终点

[0586] 本研究的主要目的是评估通过SQ注射施用于患有中度至重度活动性CD且先前用抗肿瘤坏死因子α(抗TNFα)药剂治疗失败的成人的抗LIGHT单克隆抗体的安全性和耐受性。

[0587] 本研究的次要目标是:估计通过SQ注射施用于患有中度至重度活动性CD的成人的抗LIGHT单克隆抗体的血浆浓度;并评估对用通过SQ注射施用于患有中度至重度活动性CD的成人的抗LIGHT单克隆抗体进行的治疗的响应。

[0588] 实例6.2-研究设计

[0589] 这是一项1b期、多中心、开放标签、剂量递增、信号发现研究,用于评估抗LIGHT单克隆抗体在患有中度至重度活动性CD且先前用抗TNFα治疗失败的成人中的安全性、耐受性、PK和短期疗效。

[0590] 满足所有资格标准的四名患有克罗恩氏病的受试者入选2个剂量队列中的每一个。第一个队列每14(q14)天接受1.0mg/kg SQ的抗LIGHT单克隆抗体。

[0591] 在根据数据监测委员会对累积安全性、耐受性、药代动力学和疗效数据的审查完成第一队列后,以及在决定进入第二队列后,进行剂量递增。如果安全性数据审查允许,第二队列的估计剂量增加为3.0mg/kg SQ q14天。

[0592] 每个受试者的参与包含筛选期,如果需要,该筛选期包含接受生物治疗或在筛选就诊后12周内接受过生物治疗的受试者的12周清除期。对于需要清除的受试者,在筛选就诊和清除期开始之间任选地存在1至14天的时间段,如果需要的话。除了需要清除生物赛妥珠单抗(certolizumab pegol)(希敏佳(Cimzia))的受试者外,只有那些在清除8周后没有可检测到生物水平的受试者在确认不可检测水平后才允许进入研究;所有其它受试者(包含接受赛妥珠单抗[希敏佳]的受试者)都需要完成完整的12周清除期。清除期包含从筛选就诊之前接受的最后一次给药开始的时间段。不需要生物清除期的受试者在审查和筛选资格确认后允许进入研究。筛选之后是8周的开放标签治疗期,并且最后一次给药后约4周进行安全性随访。最长研究时间为26周。

[0593] 研究就诊发生在筛选时和第0天、第7天、第14天、第21天、第28天、第35天、第42天、第49天和第56天。安全性随访就诊发生在第84天。评估计划表显示在表13中。

[0594] 表13评估计划表

[0595]

评估或程序	筛选期				开放标签治疗期										安全性随访
	第 1 次就诊，第-14 周至第-12 周	初始电话联系[a]	就诊，用于测试以前的生物制品（如果需要）	清除电话联系[b]	第 2 次就诊[c] 给药前第 0 天	第 2 次就诊[c] 给药时和给药后第 0 天	第 3 次就诊，第 7 天	第 4 次就诊，第 14 天	第 5 次就诊，第 21 天	第 6 次就诊，第 28 天	第 7 次就诊，第 35 天	第 8 次就诊，第 42 天	第 9 次就诊，第 49 天	第 10 次/ET 就诊，第 56 天	第 11 次就诊 第 84 天或 ET 就诊后 28 天
知情同意书	X														
纳入/排除标准审查	X	X			X										
测试以前的生物制品			Xq												

[0596]

DcR3 基因的基因分型	X														
人口统计学/病史[d]	X														
身体检查，包含体重[e]	X				X			X		X		X		X	
生命体征(BP、脉搏、RR、T)[f]	X				X	X		X		X		X		X	
TB 测试[g]	X														
12 导联 ECG	X									X				X	
临床实验室评估[h]	X				X			X		X		X		X	

[0597]

PK 采血[i]					X		X	X	X	X	X	X	X	X	X
抽血用于探索性分析[j]					X					X				X	
抗药抗体评估					X			X		X				X	X
尿液分析	X				X					X				X	
妊娠测试(女性生育能力)[k]	X				X					X				X	
尿药筛选[l]	X														
粪便样品[m]	X									X				X	
CDAI	X				X			X		X		X		X	
IBD-Q	X				X									X	
内窥镜检查活检和组织学	X													X	
不良事件监测[o]	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

[0598]

评估或程序	筛选期				开放标签治疗期										安全性随访
	第1次就诊，第-14周至第-12周	初始电话联系[a]	就诊，用于测试以前的生物制品（如果需要）	清除电话联系[b]	第2次就诊[c] 给药前第0天	第2次就诊[c] 给药时和给药后第0天	第3次就诊，第7天	第4次就诊，第14天	第5次就诊，第21天	第6次就诊，第28天	第7次就诊，第35天	第8次就诊，第42天	第9次就诊，第49天	第10次/ET就诊，第56天	第11次就诊 第84天或ET就诊后28天
伴随药物	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
提供/重新确认对受试者日记的访问（美国站点）	X				X		X	X	X	X	X	X	X	X	
提供日记（美国以外的站点）	X				X		X	X	X	X	X	X	X	X	
受试者日记完整性审查					X		X	X	X	X	X	X	X	X	
评估个体受试者停止标准						X	X	X	X	X	X	X	X	X	

[0599]

抗LIGHT单克隆抗体施用(现场)[p]						X		X		X		X			

[0600] a进行电话就诊以确认资格，并根据需要开始当前抗TNFα治疗的清除。如果受试者未接受生物治疗，则他们开始填写受试者日记，并在初始电话联系后>7天计划第2次就诊。日记在就诊时完成。

[0601] b进行电话就诊以确认在收到和审查实验室结果后是否需要额外的清除时间。如果无法检测到浓度水平，则受试者开始完成受试者日记，并在清除电话联系结束后>7天计划第2次就诊。如果可检测到浓度水平，则受试者完成整个12周的清除。清除期结束后，受试者开始完成日记，并在清除结束后>7天计划第2次就诊。日记在就诊时完成。

[0602] c在第0天(第2次就诊)之后，每14±3天进行一次抗LIGHT单克隆抗体施用就诊。这些就诊是相对于第0天(第2次就诊)计划的，其是基线就诊。

[0603] d病史包含所有与CD相关的外科手术和住院的详细信息。

[0604] e在第1次、第2次、第6次和第10次/ET就诊时进行完整的身体检查。在第4次和第8次就诊时进行了简短的身体检查。仅在V2时测量身高。

[0605] f在第2次、第4次、第6次和第8次就诊时在给药前和给药后采集体征。在给药后至少60分钟，即临出院前采集给药后体征。

[0606] g TB测试包含QuantiFERON-TB Gold(QFT)血液测试或PPD皮肤测试。如果受试者的PPD齿皮试≥5mm，则还使用胸部X光片进行TB评估。

[0607] h第1次、第6次和第10次/ET就诊时的临床实验室评估包含:CBC与分类、血液学、血清白蛋白、CRP、肝组、GGT。在第2次、第6次和第10次就诊时测量抗药抗体。第2次、第4次和第8次就诊时的临床实验室评估包含血液学和血清白蛋白。

[0608] i在第2次、第4次、第6次和第8次就诊时，在给药前60分钟内获得给药前PK血液样品。j探索性分析检查了LIGHT、细胞因子、RNA测序和流式细胞术。

[0609] k在第1次就诊时进行血清β-hCG，并在第2次、第6次和第10次就诊时进行尿液β-hCG测试。

[0610] l必要时筛选安非他命、巴比妥类药物、苯二氮卓类药物、可卡因、鸦片制剂、苯环

利定、大麻素、丙氧芬和美沙酮。

[0611] m在第1次、第6次和第10次/ET就诊时获得粪便样品。艰难梭菌测试仅在第1次就诊时进行。在所有指定的就诊时测量粪便钙卫蛋白。

[0612] n疾病的组织学确认仅在第1次就诊时进行。文件提供给站点进行确认。对于提供给研究中心实验室提供者的样品,完成了探索性生物标志物组织学。

[0613] o不良事件监测从签署知情同意书时开始。

[0614] p在施用抗LIGHT单克隆抗体后,受试者必须在诊所停留至少60分钟以监测不良事件。

[0615] q需要清除的受试者在清除期开始后8周进行血液测试,以确认之前的生物疗法是检测不到的。如果没有检测到先前的生物疗法,则受试者继续第2次就诊并且不需要完成完整的12周清除。如果存在可检测到的先前生物疗法水平,则受试者在进行第2次就诊之前完成完整的12周清除。对于接受赛妥珠单抗(希敏佳)的受试者,需要12周清除。

[0616] BP=血压;CBC=全血细胞计数;CDAI=克罗恩氏病活动指数;CRP=C反应蛋白;DcR3=诱饵受体3;GGT=γ-谷氨酰转移酶;ECG=心电图;ET=提前终止;hCG=人绒毛膜促性腺激素;LIGHT=淋巴毒素样,表现出诱导型表达,并与疱疹病毒糖蛋白D竞争疱疹病毒进入介质,一种由T淋巴细胞表达的受体;PK=药代动力学;PPD=纯化的蛋白质衍生物;RR=呼吸频率;T=温度;TB=结核病;TNFα=肿瘤坏死因子α

[0617] 研究期

[0618] 该研究包含筛选期、开放标签治疗期和安全性随访。1.0mg/kg剂量队列完成下述研究期。在审查安全性数据后,做出决定。

[0619] 筛选期

[0620] 在筛选期(第-14周至第0天),评估所有受试者参加研究的资格。在第1次就诊中,受试者在进行任何与研究相关的程序或评估之前签署知情同意书。

[0621] 人口统计学信息与病史一起获得,包含CD诊断信息、CD相关程序/手术和药物使用历史。筛选就诊时报告的任何现有病状都记录在电子病例报告表(eCRF)中;当前的药物也记录在eCRF上。之前的CD疗法(终生回忆)记录在eCRF中,日期反映之前的使用情况。进行所有安全性评估,包含身体检查(体重测量)、生命体征(血压、脉搏、呼吸频率和体温)、12导联ECG、临床实验室测试、粪便样品和尿液分析。尿液药物筛选测试(根据需要)和结核病(TB)测试被定义为纯化蛋白衍生物(PPD)皮肤反应测试或QuantiFERON-TB Gold(QFT)血液测试,并根据方案要求,对所有受试者进行胸部X光检查。将对有生育能力的女性进行血清β-人绒毛膜促性腺激素(β-hCG)测试。使用CDAI和炎症性肠病问卷(IBD-Q)。受试者在筛选期间接受内窥镜检查并进行活检和组织学检查。向受试者提供研究日记(电子版或纸质版)的访问权限,以记录他们对健康、腹痛和粪便频率(包含稀便和水样便)的日常评估。如表13中所述,在开始开放标签治疗之前至少7天完成该日记。受试者记录稀便或水样便的频率并评估每天的总体腹痛。最后,监测不良事件(AE)。

[0622] 正在接受生物治疗或在筛选就诊后12周内接受了生物治疗但基于对所有筛选评估和结果的审查有资格参加研究的受试者开始这些药物的清除期。除了需要清除生物赛妥珠单抗(希敏佳)的受试者外,在最后一剂生物治疗后8周对接受清除的受试者进行血液测试,以确保任何先前生物治疗的血清水平低于检测水平。如果确认之前的生物治疗的水平

不可检测,则受试者继续第2次就诊。如果测试结果表明之前的生物治疗是可检测的,则受试者需要在进行第2次就诊之前完成完整的12周清除期。对于接受生物赛妥珠单抗(希敏佳)的受试者,需要12周清除。

[0623] 开放标签治疗期

[0624] 符合条件的受试者在第2次就诊的筛选期(和清除期,如果适用的话)之后返回诊所,所述第2次就诊是8周的开放标签治疗期的第0天。进行身体检查(包含体重和生命体征评估)、临床实验室测试、尿液分析和CDAI。对有生育能力的女性进行尿液β-hCG测试。记录任何AE和伴随药物。抽取血液用于PK、ADA和探索性分析(包含LIGHT、细胞因子、RNA测序和流式细胞术)。受试者在他们的研究日记中记录他们对健康、腹痛和粪便频率的日常评估,包含稀便和水样便。每次就诊期间都会审查日记数据的完整性。重新评估受试者以确定他们是否符合所有纳入标准且不满足任何排除标准。

[0625] 合格的受试者然后将入选研究并在诊所接受他们的第一剂抗LIGHT单克隆抗体。受试者通过在腹部距肚脐4至10cm的区域内进行SQ注射接受抗LIGHT单克隆抗体,注射部位随每个后续剂量旋转。抗LIGHT单克隆抗体的剂量每14天(±3天)施用一次,持续8周。在每次给药期间和给药后60分钟监测受试者的AE。

[0626] 队列内的受试者入选错开至少一天,以便评估任何延迟的不良事件。

[0627] 受试者在第一次抗LIGHT单克隆抗体剂量后每14(±3)天返回诊所(第4次、第6次、第8次和第10次就诊),以评估安全性、PK和疗效,并接受下一剂研究用产品,如表13所示。在给药就诊之间进行额外的每周就诊(第3次、第5次、第7次和第9次就诊),此时抽血进行PK分析,向受试者提供对研究日记(电子版或纸质版)的访问,用于日记数据收集,并记录AE和伴随药物。

[0628] 在受试者入选第二剂量队列之前,第一队列中的所有受试者完成他们对研究的参与,并且来自这些受试者的安全性数据由数据监测委员会审查。DMC提供建议,并且发起人决定受试者是否可以入选下一个剂量队列。

[0629] 安全性随访就诊

[0630] 在最终剂量后大约28天,对受试者进行安全性随访。安全性随访就诊是在诊所与受试者一起进行的。记录自受试者最后一次抗LIGHT单克隆抗体剂量以来发生的任何AE,以及任何伴随的药物使用。

[0631] 安全性数据审查

[0632] 每位研究者每周对在其站点收集的所有可用安全性数据进行审查,并将任何安全性问题传达给发起人医疗监测员。发起人医疗监测员根据需要与协调的主要研究者和DMC一起审查所有相关的安全性发现。

[0633] 特别注意在抗LIGHT单克隆抗体临床前研究中观察到的药物不良反应以及在其它生物治疗中观察到的其它常见不良反应,包含在临床前观察期间抗LIGHT单克隆抗体的注射部位反应。特别注意在其它生物治疗中观察到的不良反应,包含:感染增加的可能性(包含机会性感染,如结核病);超敏反应(包含过敏反应);免疫原性;恶性肿瘤;免疫受损;和CD恶化。

[0634] 数据监察委员会

[0635] 包括医生、科学家和生物统计学家的外部独立数据监测委员会(DMC)在研究期间

定期审查研究数据,其包含在每个队列完成后的会议和评估克罗恩氏病的个体恶化符合不良事件通用术语标准(CTCAE)3级或更高级别的临时会议。DMC的作用是通过审查累积的安全性、耐受性、药代动力学和疗效数据来保护研究中受试者和仍将进入研究的受试者的利益。DMC的会议计划可能会根据DMC提出的建议、增量安全性数据的数量和其它实际考虑进行调整。提供给DMC的数据可能不会被监测,并且在研究完成时数据库被锁定之前不会被认为是"干净的"。

[0636] DMC审查的可能结果可以包含以下建议之一:研究可以继续;研究可以继续修改;以及研究将被终止。

[0637] 会议记录中记录了数据监测委员会的建议,其至少包含:会议参与者名单;会议期间审议的数据摘要;以及DMC关于进一步剂量队列的建议摘要,包含提出的任何担忧。

[0638] 发起人负责决定继续、修改或终止研究。DMC会议建议和发起人决定的副本在完成后和下一次受试者剂量施用或下一个队列开始之前发送到研究站点。

[0639] 个体受试者停止标准

[0640] 在研究期间使用以下个体受试者停止标准,并在第2次就诊时开始给药后评估。如果个体发生以下CTCAE 3级或更高级别,则个体受试者停止研究:注射部位反应;机会性感染(即,结核病);超敏反应(例如过敏反应、过敏反应或细胞因子释放综合征);恶性肿瘤;白细胞计数减少;中性粒细胞计数减少;血小板减少;结肠或回肠出血;结肠、回肠或小肠梗阻;结肠、回肠或小肠穿孔;以及结肠、回肠或小肠狭窄。

[0641] 如果肝酶是以下情况,则受试者也将停止:ALT或AST>8x ULN;ALT或AST>5xULN,连续2周以上,或;单个受试者的ALT或AST>3x ULN,出现疲劳、恶心、呕吐、右上腹疼痛或压痛、发热、皮疹和/或嗜酸性粒细胞增多(>5%)。注意,表现出ALT或AST>3x ULN而没有出现上述任何症状的受试者需要在48-72小时内进行重复测试,以确认异常并确定原始值的方向(增加或减少)。如果检测到Hy定律(即ALT或AST>3xULN且总胆红素>2x ULN,并且无法找到其它原因来解释AT和TBL增加的组合,如病毒性肝炎A、B或C;预先存在的或急性肝病;或其它能够引起观察到的伤害的药物),则停止受试者。

[0642] 研究停止标准

[0643] 在研究期间使用以下研究停止标准。如果两名或更多受试者出现相同的CTCAE 3级或如果一名受试者出现以下CTCAE 4级,则停止研究:注射部位反应;机会性感染(即结核病);超敏反应(例如过敏反应、过敏反应或细胞因子释放综合征);恶性肿瘤;白细胞计数减少;减少中性粒细胞计数;或血小板减少。如果两名个体受试者出现以下任何肝毒性,则停止研究:ALT或AST>8x ULN;ALT或AST>5x ULN,连续2周以上;或ALT或AST>3x ULN,出现疲劳、恶心、呕吐、右上腹疼痛或压痛、发热、皮疹和/或嗜酸性粒细胞增多(>5%)。

[0644] 如果检测到一名受试者符合Hy定律(即ALT或AST>3x ULN且总胆红素>2x ULN,并且无法找到其它原因来解释AT和TBL增加的组合,如病毒性肝炎A、B或C;预先存在的或急性肝病;或其它能够引起观察到的伤害的药物),则停止研究。

[0645] 克罗恩氏病CTCAE 3级或更高级别恶化的个体报告,如:结肠或回肠出血;结肠、回肠或小肠梗阻;结肠、回肠或小肠穿孔;或结肠、回肠或小肠狭窄,在报告后的第一个可用日期由DMC进行审查,以确定是否建议修改研究或停止研究。

[0646] 研究设计原理

[0647] 这是将抗LIGHT单克隆抗体施用于人类受试者的第二项研究,也是对患有治疗抵抗性CD的受试者进行的第一项研究。该研究是一项试点研究,使用剂量递增设计来表征目标群体中2种不同剂量的抗LIGHT单克隆抗体(1.0mg/kg和3.0mg/kg)的安全性和耐受性。剂量递增设计允许在进入下一个剂量水平之前评估少数受试者的安全性和耐受性。向所有入选受试者进行抗LIGHT单克隆抗体开放标签施用可最大限度地减少暴露于研究程序的受试者的数量。包含PK抽血和疗效评估分别允许对血浆水平和疗效进行初步评估。

[0648] 在该初步研究中没有测试特定假设。所有数据都将酌情使用描述性统计数据进行汇总。

[0649] 受试者的数量

[0650] 2个计划的剂量队列中的每一个队列中入选四名受试者,最多8名研究受试者。允许替换在第三次给药之前提前退出研究的受试者。

[0651] 治疗分配

[0652] 向第一队列的受试者分配1.0mg/kg剂量的抗LIGHT单克隆抗体。在DMC审查来自第一队列的安全性数据并且如果不符合研究停止标准后,受试者被分配至第二个剂量队列。

[0653] 受试者纳入标准

[0654] 符合以下所有纳入标准的受试者有资格入选研究:

[0655] 1.受试者能够流利地说英语,并为本研究提供了书面知情同意书。

[0656] 2.受试者为男性或女性,≥18岁至≤75岁。

[0657] 3.受试者通过内窥镜检查/结肠镜检查和组织学确认记录了CD诊断。

[0658] 4.受试者患有中度至重度活动性CD,如通过克罗恩氏病的简单内窥镜评分(SES-CD)评分为≥7和组织学确认所证实的。

[0659] 5.受试者使用经批准的治疗剂量的抗TNFα单克隆抗体治疗失败,对诱导没有初始响应(原发性无反应者)或对诱导有初始响应但随后失去响应(继发性无反应者),如下定义。

[0660] 6.允许受试者同时接受口服皮质类固醇和/或硫唑嘌呤或6-巯基嘌呤(6-MP)或甲氨蝶呤(MTX)的治疗。

[0661] 7.受试者同意在DcR3基因座进行基因分型。

[0662] 原发性无反应者被定义为用英夫利昔单抗、阿达木单抗或赛妥珠单抗治疗时产生不充分的初始响应的受试者。在最后一剂诱导疗法后≥2周出现不充分的初始响应症状细节。定义不充分初始响应的算法如下所示。被归类为原发性无反应者的受试者符合算法的两个部分。所需文件包含诱导疗法失败的日期和剂量,以及缺乏由治疗临床医生记录的有关疾病活动的响应细节。

[0663] 以下算法用于对当前或先前使用英夫利昔单抗、阿达木单抗或赛妥珠单抗的疗法的不充分初始响应。受试者已接受诱导剂量的英夫利昔单抗(2或3剂,>5mg/kg)、阿达木单抗(160mg剂量后>80mg剂量,或80mg剂量后>40mg剂量)或赛妥珠单抗(2或3剂,>400mg);并且受试者最初对这些诱导剂量没有响应,如存在以下与克罗恩氏病活动相关的至少一种体征或症状所证明的那样:粪便频率没有改善或恶化;日常腹痛没有改善或恶化;与克罗恩氏病相关的发热的发生、缺乏改善或恶化;以前未引流的瘘管反复引流或发展为新的引流瘘管;直肠出血没有改善或恶化;或开始或增加止泻药。

[0664] 继发性无反应者被定义为用英夫利昔单抗、阿达木单抗或赛妥珠单抗治疗时产生初始响应随后失去响应的受试者。在最后一剂维持疗法后>2周出现响应丢失细节。定义响应丢失的算法如下所示。被归类为继发性无反应者的受试者符合算法的两个部分。所需文件包含诱导和维持的日期和剂量、初始响应和随后的响应丢失,包含由治疗临床医生记录的有关疾病活动的细节。以下是用于对先前使用英夫利昔单抗、阿达木单抗或赛妥珠单抗的疗法失去响应的算法。受试者对上述剂量的诱导疗法有响应并接受了至少2次维持剂量的:英夫利昔单抗(>5mg/kg)、阿达木单抗(剂量>40mg,或如果儿童剂量>20mg则失败)或赛妥珠单抗(>400mg);并且受试者对这些维持剂量没有响应,如存在以下与克罗恩氏病活动相关的至少一种体征或症状所证明的那样:粪便频率恶化;日常腹痛恶化;与克罗恩氏病相关的发热的发生或恶化;以前未引流的瘘管反复引流或发展为新的引流瘘管;直肠出血恶化;或开始或增加止泻药。

[0665] 受试者排除标准

[0666] 符合以下任何排除标准的受试者没有资格入选研究:

[0667] 1.受试者被诊断为溃疡性结肠炎(UC)或不确定性结肠炎。

[0668] 2.受试者在研究期间不能忍受或不愿意接受包含内窥镜检查和活检在内的研究程序。

[0669] 3.受试者有肠梗阻的体征或症状,其中小肠影像学支持梗阻。

[0670] 4.受试者患有由研究者确定的短肠综合征。

[0671] 5.受试者目前正在进行功能性结肠造口术或回肠造口术。

[0672] 6.受试者在筛选前的过去6个月内进行过手术肠切除术或计划在研究期间进行任何切除术。

[0673] 7.研究者认为存在腹腔内脓肿的临床怀疑。

[0674] 8.受试者在筛选前5年内有并发肠发育不良或肠发育不良病史。

[0675] 9.受试者对艰难梭菌感染进行了已知的、积极的和/或阳性的测试。

[0676] 10.受试者有任何癌症的病史或目前诊断出任何癌症,但已通过手术切除治愈的癌症除外(例如,非黑色素瘤皮肤癌)。

[0677] 11.受试者有淋巴增生性病症病史,包含淋巴瘤,或任何时候都有提示淋巴组织增生性疾病的体征和症状。

[0678] 12.受试者有活动性TB感染史或筛选时TB测试呈阳性。

[0679] 13.受试者患有已知的并发病毒性肝炎,或获得性免疫缺陷综合征(AIDS)或已知的人免疫缺陷病毒(HIV)感染。

[0680] 14.受试者用那他珠单抗(TYSABRI®)治疗过。

[0681] 15.除非用血液滴度记录免疫,否则受试者尚未完成他/她的主要疫苗接种系列(具体地说,B型肝炎、水痘、麻疹/腮腺炎/风疹)。

[0682] 16.受试者在基线就诊前3个月内接受过任何减毒活疫苗,如水痘-带状疱疹、口服脊髓灰质炎或风疹。

[0683] 17.受试者有以下异常筛选实验室测试结果:有临床意义的ECG异常;天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)或总胆红素>ULN;血红蛋白<10g/dL;中性粒细胞绝对计数<1500个细胞/mm^3,或;估计的肾小球滤过率<60毫升/分钟/1.73平方米。

[0684] 18.受试者在筛选期间(第1次就诊)或在基线就诊(第2次就诊)入选之前有异常的生命体征。

[0685] 19.受试者怀孕或是哺乳中的母亲。

[0686] 20.受试者性活跃且未采取有效避孕措施。

[0687] 21.受试者有可能抑制参与临床研究的药物滥用史。

[0688] 22.受试者当前或近期(在筛选前6个月内)有显著和严重的肾脏、肝脏、血液、胃肠道(CD或上述病状除外)、内分泌、肺部、心脏或神经系统疾病。

[0689] 23.受试者有任何其它临床上显著的精神或身体疾病或感染,在研究者看来,可能会混淆研究结果,通过他们的参与给受试者带来额外的风险,或者阻止或阻碍受试者完成研究学习。

[0690] 24.研究者对受试者参与研究的安全性、依从性或适用性有任何担忧。

[0691] 筛选失败

[0692] 未通过纳入和/或排除标准的受试者允许在发起人的医学监测员事先批准的情况下针对研究重新筛选。在重新筛选的情况下,将第一次筛选就诊作为筛选就诊(第1次就诊)输入eCRF,并将重复评估作为计划外就诊输入eCRF。

[0693] 受试者退出标准

[0694] 所有受试者都被告知他们可以在任何时间、出于任何原因且不带偏见地自由退出该研究。研究者尽一切合理努力将受试者留在研究中;但是,如果受试者撤回参与同意,则受试者将退出研究。对于未能参加计划好的就诊的受试者,研究者尝试通过电话或其它方式与他们联系,以排除AE成为退出原因的可能性。如果这是原因,则记录、报告和遵循AE。

[0695] 发起人保留因违反方案或其它原因而要求受试者退出的权利。

[0696] 研究者还有权在任何时间使受试者从研究中退出,原因是缺乏受试者无法忍受或以其它方式无法接受的治疗效果、无法忍受或无法接受的AE、并发疾病、符合个体受试者停止标准、不遵守研究程序、行政原因或研究者认为保护受试者最大利益。

[0697] 如果受试者在完成研究之前退出,则将退出原因和中止日期记录在适当的eCRF上。在可能且合理的情况下,在开放标签治疗期(即第10次就诊)结束时进行的评估将在提前终止时进行。

[0698] 允许替换在接受第三剂研究用药物(如果有的话)之前退出的受试者。

[0699] 根据适用的规则和规定保留所有样品。将血液和活检样品储存起来并用于与本研究相关的进一步分析。允许将唾液样品用于与本研究相关的目的。样品被赋予一个唯一的代码,其中不包含命名受试者的信息。将任何剩余的DNA样品储存起来以供将来的生物标志物研究。

[0700] 实例6.3-受试者的治疗

[0701] 研究用产品的描述

[0702] 每个剂量队列中的受试者通过在腹部距肚脐4至10cm的区域内进行单次SQ注射接受研究用产品,注射部位随每个后续剂量旋转。在第0天、第14天、第28天和第42天施用抗LIGHT单克隆抗体的剂量。第0天后,在计划的14天间期的±3天内进行注射。

[0703] 第一剂量队列中的受试者在整个8周的开放标签治疗期间接受1.0mg/kg的抗LIGHT单克隆抗体。在所有受试者完成治疗期及其相关评估之后以及在入选第二个队列之

前,审查来自该队列的数据。预计受试者最后一次就诊与累积安全性、耐受性、药代动力学和疗效数据的审查之间至少有2周的时间。

[0704] 第二剂量队列中的合格受试者在整个8周的开放标签治疗期间接受3.0mg/kg的抗LIGHT单克隆抗体。在所有受试者完成治疗期及其相关评估之后,审查来自第二队列的数据。

[0705] 在接收或使用由发起人提供的研究用产品时发现的任何质量问题(条件、包装、外观、相关文件、标签、有效期等方面的缺陷)会立即传达给进行调查的发起人。

[0706] 由发起人提供的研究用产品的质量的潜在缺陷可能会开始发起人发起的召回程序。在这种情况下,研究者负责及时处理发起人提出的任何要求,以召回研究用产品并消除潜在危害。

[0707] 允许和禁止的疗法

[0708] 所有以前的终生CD疗法以及使用的伴随药物(包含非处方药和草药补充剂)都记录在源文件和适当的eCRF中。

[0709] 允许的疗法

[0710] 允许受试者同时接受口服皮质类固醇和/或硫唑嘌呤、6-MP或MTX的治疗。在研究期间不允许受试者增加这些药物的剂量。如果需要增加允许的伴随疗法的剂量,则使用提前终止就诊程序中止受试者的研究。口服皮质类固醇和/或硫唑嘌呤、6-MP或MTX的同时治疗定义如下:口服皮质类固醇-泼尼松剂量不超过40mg/天,其中在基线前至少2周稳定剂量;硫唑嘌呤或6-MP-至少2mg/kg/天的硫唑嘌呤剂量或1至1.5mg/kg/天的6-MP剂量四舍五入到最接近的可用片剂调配物,或根据研究者的意见,对于基线前至少8周,受试者耐受的最高剂量,其中在基线前至少4周稳定剂量;或研究期间MTX剂量为25mg/周,对于基线前至少8周,通过SQ、肌肉注射或口服,其中在基线前至少4周稳定剂量。

[0711] 在研究期间允许减少这些疗法的剂量;然而,所有剂量均在上述组合和剂量范围内。这些变化记录在伴随药物的eCRF上。

[0712] 对于在研究入选时使用皮质类固醇的受试者,研究期间的戒断(weaning)是根据以下规则进行的:皮质类固醇剂量>20mg并且每周最大减量10mg;10至<20mg,每周最大减量5mg;或<10mg,每周最大减量2.5mg。如果需要偏离允许的伴随疗法组合、剂量范围或戒断计划表,则受试者退出研究参与。

[0713] 禁止的疗法

[0714] 禁止在研究期间同时使用生物治疗,包含使用阿那白滞素(KINERET®,安进公司(Amgen))、阿巴西普(ORENCIA®,百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb))或托珠单抗(ACTEMRA®,基因泰克公司(Genentech))。在研究入选(第2次就诊)之前以及在第1次就诊执行的筛选程序中确认筛选就诊后12周内接受的所有生物治疗的资格后,需要长达12周的清除期。使用那他珠单抗(TYSABRI®,Biogen)的先前治疗将受试者排除在参与之外。

[0715] 禁止在筛选前3个月和研究期间的任何时间接种活病毒或减毒病毒。

[0716] 避孕方法

[0717] 性活跃的研究参与者同意在研究期间和研究就诊结束后的规定时间内使用有效的避孕方法。根据以下算法,经批准的方法需要双重屏障:避孕套加宫内节育器或避孕套加激素避孕药。如果对任何受试者进行绝育,绝育程序需要在研究筛选就诊前3个月以上完

成。

[0718] 性活跃的男性参与者需要在研究期间和研究就诊结束后的3个月内使用上述双重屏障避孕方法之一。性活跃的女性参与者需要在研究期间和研究就诊结束后的1个月内使用上述双重屏障避孕方法之一。

[0719] 男性受试者还同意在研究期间和研究就诊结束后至多3个月内不捐献精子。

[0720] 在进入研究时禁欲的研究参与者同意使用本节中描述的批准的方法,如果他们在研究期间变得性活跃。

[0721] 治疗依从性

[0722] 使用抗LIGHT单克隆抗体的治疗由研究中心人员在直接医疗监督下进行,并且由研究者或其代表在源数据中进行适当的记录。研究者或指定人员在适当的eCRF页面上记录给药信息。研究者有责任确保保持研究用产品施用的准确记录。

[0723] 随机化和盲化

[0724] 所有受试者以开放标记方式接受抗LIGHT单克隆抗体。

[0725] 研究结束后的治疗

[0726] 在成功入选和随后完成研究或提前终止研究后,根据标准临床实践对每个受试者进行治疗。为了支持受试者从临床研究过渡,护理后的医疗费用(如共同支付和自付费用医疗/治疗相关费用)的总额为5,000.00美元,最多可在接受研究结束后6个月内使用。护理后付款由与发起人签约的第三方供应商施用。

[0727] 实例6.4-研究用产品材料和管理

[0728] 研究用产品

[0729] 抗LIGHT单克隆抗体是本研究中使用的研究用产品。其以150mg/mL溶液的剂型施用。单位剂量为1.0mg/kg或3.0mg/kg。施用途径是在腹部距肚脐4至10cm的区域内进行SQ注射,注射部位随每个后续剂量旋转。所述抗体呈无色至微黄棕色溶液。所述抗体由赛诺菲-安万特集团(sanofi-aventis group)制造。

[0730] 包装

[0731] 所有包装和标记操作均根据发起人或指定人员按照良好生产规范和良好临床实践(GCP)规则执行。研究用产品由发起人或指定人员送到研究站点。标记使用当地语言并取决于当地法规。

[0732] 标记

[0733] 小瓶和纸盒已贴有符合适用法规要求的标签。

[0734] 研究者保存所有未使用或部分使用的药物小瓶和所有空包装,以在当地(哥伦比亚和以色列的站点)或由发起人(美国的站点)进行最终处置。用于给药的注射器被视为生物废物并被妥善处理。

[0735] 储存

[0736] 所有研究用产品都储存在2℃和8℃之间并避光。研究者或其它授权人员(例如,药剂师)负责根据当地法规、标记规范、机构政策和程序将发起人提供的研究用产品储存在安全的地方。

[0737] 发起人提供的研究用产品的储存条件控制,特别是温度控制(例如冷藏储存)和日常温度监测,以及使用稳定性信息和研究用产品的处理说明根据由赞助商提供的规则进行

管理。

[0738] 施用

[0739] 通过在腹部距肚脐4至10cm的区域内进行SQ注射施用抗LIGHT单克隆抗体,注射部位随每个后续剂量旋转。

[0740] 责任

[0741] 研究者保持充分的记录,所述记录显示研究用产品的接收、施用或其它处置,包含日期、批次标识符、剂量、施用给每个受试者的体积以及接受研究用产品的受试者的身份(受试者编号和首字母缩写)。研究者不得向任何其它地点或人员提供研究用产品,但表格FDA 1572中被指定为副研究者的人员、指定研究人员和本研究受试者除外。不允许研究者从除表格FDA 1572所列站点以外的任何研究站点分发研究用产品。如果任何研究用产品未分发、丢失、被盗、溢出、无法使用或被接收到损坏的容器中,则将该信息根据需要记录并报告给申办方和适当的监管机构。

[0742] 研究完成后,未使用的研究用产品留在原始包装中,用于在当地(哥伦比亚和以色列的站点)或由发起人(美国的站点)进行最终处置。任何部分使用的研究用产品和所有空包装(例如,小瓶)都保存在当地(哥伦比亚和以色列的站点)或由发起人(美国的站点)进行最终处置,并返回给发起人的指定人员进行销毁。

[0743] 处理和处置

[0744] 研究用产品核对由研究者和监测团队使用治疗日志表格在站点进行,并记录在研究者和监测团队会签的站点的研究用产品库存中。

[0745] 在发起人的核对授权之后,所有使用过的、部分使用过的和未使用的小瓶和所有原始包装在当地(哥伦比亚和以色列的站点)或由发起人(美国的站点)处置。此过程由发起人的指定人员提供给站点。

[0746] 实例6.5-研究程序和评估

[0747] 受试者在开始任何研究相关程序之前提供书面知情同意书,包含停止禁止的伴随疗法。

[0748] 对于整个研究中评估和程序的时间安排,请参阅评估计划表(参见表13)。在整个研究过程中,研究人员尽一切合理努力来遵循每个受试者的事件计划表中的评估和程序的时间安排。在第2次就诊(基线就诊)之后进行的就诊是相对于第2次就诊计划的,以保持56天的开放标签治疗和施用,每14天±3天)。如果受试者因任何原因错过研究就诊,则将尽快重新计划就诊。第2次就诊后的每个研究就诊窗口为±3天。就诊程序按所示顺序执行,但允许对顺序进行调整以适应特定站点的要求。

[0749] 研究期和就诊:筛选(第1次就诊,第-14周至第0天)

[0750] 在入选研究之前的14周内对受试者进行筛选。在筛选时执行以下程序:

[0751] 1.获得书面知情同意

[0752] 2.审查纳入/排除标准

[0753] 3.对DcR3基因进行基因分型

[0754] 4.收集人口统计学信息

[0755] 5.记录病史和用药史

[0756] 6.进行完整的身体检查,包含体重测量

[0757] 7.收集生命体征,包含收缩压和舒张压、脉搏、呼吸频率和体温

[0758] 8.执行12导联ECG

[0759] 9.收集血液样品进行临床实验室测试

[0760] 10.进行QuantiFERON-TB Gold(QFT)血液测试,或PPD结核病皮肤测试。如果受试者的PPD齿皮试≥5mm,则需要进行确认性胸部X光检查。

[0761] 11.收集血液样品进行β-hCG测试(仅限育龄女性)

[0762] 12.收集粪便样品进行艰难梭菌和粪便钙卫蛋白分析

[0763] 13.收集尿液样品进行尿液分析

[0764] 14.根据需要收集尿液样品进行药物测试

[0765] 15.施用CDAI

[0766] 16.施用IBD-Q问卷

[0767] 17.通过活检进行内窥镜检查

[0768] 18.评估和记录任何不良事件和伴随药物

[0769] 19.提供患者日记(电子版或纸质版)以记录对腹痛、一般健康状况和粪便次数,包含稀便或水样便(例如,布里斯托尔粪便形式量表上的6或7),和每日腹痛严重程度(0至10级)的每日评估。

[0770] 注意,允许在就诊期间的任何时间获得粪便样品。作为筛选期的一部分,允许不符合临床实验室进入要求的受试者重新测试一次。允许延长筛选窗口以适应临床实验室重新测试的时间范围(不包括内窥镜活检和活检),但总筛选时间(包含内窥镜检查和清除)不得超过16周。

[0771] 研究期和就诊:资格检查/清除期(第-12周至第0天)

[0772] 每个受试者在不迟于第-12周(即,在治疗开始的计划日期前12周)收到电话。这个电话确认了持续的受试者资格。对于在此电话期间审查和确认适合性后不需要清除期的受试者,指示受试者在第2次就诊之前至少7天开始在日记中记录他们的每日腹痛评级、一般健康评估和粪便频率,包含稀便、水样便频率。一旦完成,受试者从第2次就诊的初始电话呼叫返回>7天。记录自上次评估以来伴随药物使用的任何变化和任何新发生的AE。

[0773] 对于需要清除的受试者,如果符合条件,则要求受试者根据需要开始清除任何当前的生物治疗。除了需要清除生物赛妥珠单抗(希敏佳)的受试者外,在最后一剂生物治疗后8周对接受清除的受试者进行血液测试,以确保任何先前生物治疗的血清水平低于检测水平。如果确认之前的生物治疗水平不可检测,则指示受试者在给药前至少7天开始在日记中记录他们的每日腹痛评级、一般健康评估和粪便频率,包含稀便、水样便频率。一旦完成,受试者从他们的第2次就诊的清除电话呼叫返回>7天。如果测试结果表明之前的生物治疗是可检测的,则受试者需要在完成完整的12周清除期。对于接受生物赛妥珠单抗(希敏佳)的受试者,需要12周清除。清除期结束后,受试者开始完成日记,并在清除结束后>7天计划第2次就诊。日记在就诊时完成。记录自上次评估以来伴随药物使用的任何变化和任何新发生的AE。

[0774] 如果受试者不符合条件,则受试者自上次记录的评估以来可能具有伴随药物使用方面的任何变化和任何新发生的AE,并且可能被从筛选中移除。

[0775] 研究期和就诊:开放标签治疗期,基线就诊(第2次就诊,第0天)

[0776] 在第0天施用第一剂研究用产品之前,进行以下程序:

[0777] 1.审查纳入/排除标准,以确认持续符合资格或筛选失败状态。

[0778] 如果受试者仍然有资格参加研究,则执行后续程序。如果受试者不符合条件,则记录自上次评估以来的伴随药物使用方面的任何变化和任何新发生的AE,并将受试者从筛选中移除。

[0779] 2.进行完整的身体检查,包含测量身高和体重

[0780] 3.收集生命体征,包含收缩压和舒张压、脉搏、呼吸频率和体温

[0781] 4.收集血液样品进行临床实验室测试

[0782] 5.收集血液样品进行血浆抗LIGHT单克隆抗体浓度和PK分析

[0783] 6.收集血液样品进行血浆ADA分析

[0784] 7.收集血液样品进行表13中定义的探索性分析

[0785] 8.收集尿液样品进行尿液分析

[0786] 9.收集尿液样品进行尿液β-hCG测试(仅限育龄女性)

[0787] 10.施用CDAI和IBD-Q

[0788] 11.审查日记完成

[0789] 12.评估和记录自上次评估以来的伴随药物和新发生的AE

[0790] 此外,评估来自先前就诊的正在进行的AE,并记录其状态的任何变化。

[0791] 完成评估后,受试者通过在腹部距肚脐4至10cm的区域内进行SQ注射接受抗LIGHT单克隆抗体,注射部位随每个后续剂量旋转。生命体征评估在给药后60分钟内进行。

[0792] 在研究用产品已被施用后,受试者在诊所停留60分钟。在此期间,将记录以下详细信息:

[0793] 1.给药后发生的任何AE

[0794] 2.给药后施用的任何伴随药物

[0795] 3.根据个体停止规则标准评估受试者的响应和可用结果。

[0796] 在完成给药后评估后,允许受试者离开诊所。

[0797] 研究期和就诊:开放标签治疗期,第3次就诊(第7天[±3天])

[0798] 受试者在第7天(±3天)返回诊所,此时执行以下程序:

[0799] 1.收集血液样品进行血浆抗LIGHT单克隆抗体浓度和PK分析

[0800] 2.评估和记录任何不良事件和伴随药物

[0801] 3.审查日记完成

[0802] 4.根据个体停止规则标准评估受试者的响应和可用结果。此外,评估来自先前就诊的任何正在进行的AE,并将记录其状态的任何变化。

[0803] 研究期和就诊:第4次就诊(第14天[±3天])

[0804] 受试者在第14天(±3天)返回诊所,此时在给药前执行以下程序:

[0805] 1.进行简短的身体检查,包含体重测量

[0806] 2.收集生命体征,包含收缩压和舒张压、脉搏、呼吸频率和体温

[0807] 3.收集血液样品进行临床实验室测试

[0808] 4.收集血液样品进行血浆抗LIGHT单克隆抗体浓度、PK和ADA分析

[0809] 5.施用CDAI

[0810] 6.审查日记完成

[0811] 7.评估和记录自上次评估以来的伴随药物使用和任何新发生的AE

[0812] 此外,评估来自先前就诊的正在进行的AE,并记录其状态的任何变化。

[0813] 完成这些评估后,受试者通过在腹部距肚脐4至10cm的区域内进行SQ注射接受抗LIGHT单克隆抗体,注射部位随每个后续剂量旋转。生命体征评估在给药后60分钟内进行。

[0814] 在研究用产品已被施用后,受试者在诊所停留60分钟。在此期间,将记录以下详细信息:

[0815] 1.给药后发生的任何AE

[0816] 2.给药后施用的任何伴随药物。

[0817] 在完成给药后评估后,允许受试者离开诊所。

[0818] 研究期和就诊:第5次就诊(第21天[±3天])

[0819] 受试者在第21天(±3天)返回诊所,此时执行以下程序:

[0820] 1.收集血液样品进行血浆抗LIGHT单克隆抗体浓度和PK分析

[0821] 2.评估和记录任何不良事件和伴随药物

[0822] 3.审查日记完成

[0823] 4.根据个体停止规则标准评估受试者的响应和可用结果。

[0824] 此外,评估来自先前就诊的任何正在进行的AE,并记录其状态的任何变化。

[0825] 研究期和就诊:第6次就诊(第28天[±3天])

[0826] 受试者在第28天(±3天)返回诊所,此时在给药前执行以下程序:

[0827] 1.进行完整的身体检查,包含生命体征评估和测量体重

[0828] 2.收集生命体征,包含收缩压和舒张压、脉搏、呼吸频率和体温

[0829] 3.执行12导联ECG

[0830] 4.收集血液样品进行临床实验室测试

[0831] 5.收集血液样品进行血浆抗LIGHT单克隆抗体浓度、PK和ADA分析

[0832] 6.收集血液样品进行表13中定义的探索性分析

[0833] 7.收集粪便进行粪便钙卫蛋白分析

[0834] 8.收集尿液样品进行尿液分析

[0835] 9.收集尿液样品进行尿液β-hCG测试(仅限育龄女性)

[0836] 10.施用CDAI

[0837] 11.审查日记完成

[0838] 12.评估和记录自上次评估以来的伴随药物使用和任何新发生的AE

[0839] 此外,评估来自先前就诊的任何正在进行的AE,并记录其状态的任何变化。

[0840] 完成这些评估后,受试者通过在腹部距肚脐4至10cm的区域内进行SQ注射接受抗LIGHT单克隆抗体,注射部位随每个后续剂量旋转。生命体征评估在给药后60分钟内进行。

[0841] 在研究用产品已被施用后,受试者在诊所停留60分钟。在此期间,将记录以下详细信息:

[0842] 1.给药后发生的任何AE

[0843] 2.给药后施用的任何伴随药物。注意:就诊期间可随时获得粪便样品

[0844] 3.根据个体停止规则标准评估受试者的响应和可用结果。

[0845] 在完成给药后评估后,允许受试者离开诊所。

[0846] 研究期和就诊:第7次就诊(第35天[±3天])

[0847] 受试者在第35天(±3天)返回诊所,此时执行以下程序:

[0848] 1.收集血液样品进行药代动力学分析

[0849] 2.评估和记录任何不良事件和伴随药物

[0850] 3.审查日记完成

[0851] 4.根据个体停止规则标准评估受试者的响应和可用结果。

[0852] 此外,评估来自先前就诊的任何正在进行的AE,并记录其状态的任何变化。

[0853] 研究期和就诊:第8次就诊(第42天[±3天])

[0854] 受试者在第42天(±3天)返回诊所,此时在给药前执行以下程序:

[0855] 1.进行简短的身体检查,包含测量体重

[0856] 2.收集生命体征,包含收缩压和舒张压、脉搏、呼吸频率和体温

[0857] 3.收集血液样品进行临床实验室测试

[0858] 4.收集血液样品进行血浆抗LIGHT单克隆抗体浓度和PK分析

[0859] 5.施用CDAI

[0860] 6.审查日记完成

[0861] 7.评估和记录任何不良事件和伴随药物

[0862] 此外,评估来自先前就诊的任何正在进行的AE,并记录其状态的任何变化。

[0863] 完成这些评估后,受试者通过在腹部距肚脐4至10cm的区域内进行SQ注射接受抗LIGHT单克隆抗体,注射部位随每个后续剂量旋转。生命体征评估在给药后60分钟内进行。

[0864] 在研究用产品施用后,受试者在诊所停留60分钟。在此期间,将记录以下详细信息:

[0865] 1.给药后发生的任何AE

[0866] 2.给药后施用的任何伴随药物。

[0867] 3.根据个体停止规则标准评估受试者的响应和可用结果。

[0868] 在完成给药后评估后,允许受试者离开诊所。

[0869] 研究期和就诊:第9次就诊(第42天[±3天])

[0870] 受试者在第49天(±3天)返回诊所,此时执行以下程序:

[0871] 1.收集血液样品进行血浆抗LIGHT单克隆抗体浓度和PK分析

[0872] 2.评估和记录任何不良事件和伴随药物

[0873] 3.审查日记完成

[0874] 此外,评估来自先前就诊的任何正在进行的AE,并记录其状态的任何变化

[0875] 研究期和就诊:第10次就诊(第56天[±3天])

[0876] 受试者在第56天(±3天)返回诊所,此时执行以下程序:

[0877] 1.进行完整的身体检查,包含体重测量

[0878] 2.收集生命体征,包含收缩压和舒张压、脉搏、呼吸频率和体温

[0879] 3.执行12导联ECG

[0880] 4.收集血液样品进行临床实验室测试

[0881] 5.收集血液样品进行血浆抗LIGHT单克隆抗体浓度、PK和ADA分析

[0882] 6.收集血液样品进行表13中定义的探索性分析

[0883] 7.收集粪便进行粪便钙卫蛋白分析

[0884] 8.收集尿液样品进行尿液分析

[0885] 9.收集尿液样品进行尿液β-hCG测试(仅限育龄女性)

[0886] 10.施用CDAI

[0887] 11.审查日记完成

[0888] 12.施用IBD-Q问卷

[0889] 13.进行内窥镜检查和活检

[0890] 14.评估和记录任何不良事件和伴随药物

[0891] 15.根据个体停止规则标准评估受试者的响应和可用结果。

[0892] 此外,评估来自先前就诊的任何正在进行的AE,并记录其状态的任何变化。

[0893] 注意,允许在就诊期间的任何时间获得粪便样品。

[0894] 提前终止

[0895] 如果受试者出于任何原因退出研究,则尽一切努力进行所有第56天(第10次就诊)程序和评估。

[0896] 研究期和就诊:安全性随访,第11次就诊(第84天[±3天])

[0897] 受试者在第10次就诊或提前终止就诊后28天(±3天)返回诊所进行安全性随访就诊,视情况而定。收集受试者的血液样品进行血浆抗LIGHT单克隆抗体浓度、PK和ADA分析。记录自上次就诊以来的任何伴随药物和新发生的AE。此外,评估来自先前就诊的正在进行的AE,并记录其状态的任何变化。

[0898] 研究持续时间

[0899] 总体研究持续时间约为26周(包含长达14周的筛选[包括长达12周的清除,如果需要的话]、56天的开放标签治疗和研究用产品最终剂量后约28天的随访就诊)。

[0900] 研究期的计划顺序和最长持续时间如下:

[0901] 1.筛选期:约14周

[0902] 2.清除期(如果适用):自受试者最后一次生物治疗剂量起至多12周

[0903] 3.开放标签治疗期:56天(从第0天开始,q14天施用一次)

[0904] 4.随访:最后一剂研究用产品后28天。每个受试者的最长研究持续时间为约26周。

[0905] 每个受试者的最长治疗持续时间为约56天,其中SQ注射从第0天开始,每14(±3)天持续一次,直至第42天。

[0906] 注意:允许延长筛选窗口以适应临床实验室重新测试的时间范围(不包括内窥镜活检和活检),但不允许超过16周的总筛选时间。

[0907] 安全性评估

[0908] 安全性评估包含监测AE、临床实验室测试、生命体征测量、身体检查(包含体重测量)和12导联ECG参数。在筛选就诊时获得人口统计学信息以及医疗和药物史。

[0909] 所有安全性评估都记录在适当的eCRF上。

[0910] 人口统计学/病史

[0911] 人口统计学信息、完整的病史(包含手术史)和用药史由PI委托的适当站点工作人员在筛选就诊时收集,并由合格的执业医师、医师助理或执业护士审查和验证。审查和记录

病史,包含:

[0912] • 出生日期

[0913] • 性别

[0914] • 种族和民族

[0915] • 最近使用的药物(非克罗恩氏相关适应症入选前30天和所有克罗恩氏相关药物的终生回忆)

[0916] • CD过去和正在进行的治疗(回忆过去的一年)

[0917] • 与CD相关的外科手术和住院

[0918] • 呼吸、心血管、肾脏、胃肠道、肝脏、内分泌、血液、神经、精神和其它疾病的病史;外科手术史

[0919] 生命体征

[0920] 如评估计划表中所示收集生命体征,包含收缩压和舒张压、脉搏和呼吸频率(参见表13)。筛选期间(第1次就诊)和第2次就诊登记之前的生命体征在以下列出的范围内:

[0921] • 血压:80/50至140/90mm/Hg

[0922] • 呼吸频率:每分钟8-20次呼吸

[0923] • 脉搏:每分钟50-120次跳动

[0924] • 温度:97.8°F至99.1°F(36.5℃至37.3℃)/平均98.6°F(37℃)

[0925] 在第2次、第4次、第6次和第8次就诊时在给药前和给药后采集生命体征。在给药前60分钟内采集给药前生命体征。在给药后至少60分钟、出院前采集给药后生命体征。任选地进行额外的血压和脉搏测量,由研究者确定,以确保对受试者安全性的适当监测和生命体征测量结果的准确记录。研究者认为具有临床意义的基线的任何变化都被记录为AE。

[0926] 在所有受试者的整个研究中使用并记录了相同的血压测量方法(听诊法或示波法)。此外,控制生命体征测量的条件并尽可能保持一致,以尽量减少读数的可变性。可以在舒适的室温下(几乎没有背景噪音)使用放置在同一手臂上相同位置的相同(适当尺寸)袖带(cuff)收集测量结果。袖带的气囊长度为80%,宽度至少为臂围的40%(长宽比为2:1)。

[0927] 要求受试者脱去覆盖袖带放置位置的所有衣服。受试者在收集后30分钟内可能没有锻炼或消耗咖啡因、酒精或尼古丁。受试者可以舒适地坐着,双腿不交叉,双脚平放在地板上,背部和手臂支撑,使得上臂袖带的中间部位于右心房的水平(胸骨中点)。指示受试者在收集前尽可能放松至少5分钟。在这段时间和整个测量过程中,受试者可能会保持安静。

[0928] 在至少5分钟的休息后,膀胱以2-3毫米汞柱/秒(以及记录为收缩压和舒张压的第一个和最后一个可听声音)的速率放气(针对示波法校准或通过听诊法手动校准)。

[0929] 使用用于测量脉搏的自动化装置被认为是可接受的,尽管当手动完成时,脉搏可以在肱动脉/桡动脉中测量至少30秒。当这些测量的时间与采血一致时,可以在采血的标称时间之前获得血压和脉搏。

[0930] 身体检查

[0931] 在筛选就诊和第2次(第0天)、第6次(第28天)和第10次(第56天)就诊时,由合格的执业医师、医师助理或执业护士进行完整的身体检查,包含体重测量。在第4次(第14天)和第8次(第42天)就诊时进行简短的身体检查,包含体重测量(参见表13)。

[0932] 完整的身体检查包含对以下身体系统的审查:

[0933] • 总体外观

[0934] • 皮肤

[0935] • 头部、眼睛、耳朵、鼻子和喉咙

[0936] • 脊柱/颈部/甲状腺

[0937] • 肌肉骨骼

[0938] • 呼吸

[0939] • 心血管

[0940] • 神经学

[0941] • 腹部(包含肝脏和肾脏)

[0942] 在检查身体系统期间注意到的与基线相比的任何异常或强度变化可以记录在病历中并报告在适当的eCRF上。如果在基线检查后报告了新的临床显著异常发现,则需要将其作为AE捕获并记录在适当的AE eCRF中。此外,如果有临床意义,研究期间任何异常发现的解决都会记录在病历和eCRF中。

[0943] 简短的身体检查将至少包含对总体外观、皮肤、头部、眼睛、耳朵、鼻子和喉咙、腹部、关节和肛周区域的检查,并根据医学需要检查其它系统。还收集重量的测量结果。

[0944] 受试者在测量重量(以kg为单位)之前脱掉鞋子。

[0945] 心电图

[0946] 标准的12导联ECG由PI委派的适当站点工作人员进行,结果由PI或PI委派的合格执业医师审查和验证,如评估计划表所示(参见表13)。

[0947] 在受试者已经仰卧大约5分钟后进行12导联ECG。所有ECG记录都标有受试者编号、受试者姓名首字母、记录的日期和时间,并包含在受试者的研究文件中。

[0948] 要求受试者脱去覆盖导线放置位置的所有衣服。受试者在收集前30分钟内可能没有锻炼或消耗咖啡因、酒精或尼古丁。

[0949] 在某些情况下,可能适当的是,重复异常ECG以排除会导致ECG异常的不正确的导线放置。每次都将导线放置在相同的位置,以实现精确的ECG记录。可以在每个时间点进行完整的记录,包含10秒的节奏条。可以立即将其评估为有效记录,如果无效,则可以重复。将所有收集的ECG都输入到eCRF中。

[0950] 所有ECG均使用站点提供的设备进行。收集ECG记录并将副本提供给研究发起人。

[0951] 在适当的eCRF上记录以下参数:心率、PR、呼吸率(RR)、QRS和QT间期;还记录了使用Bazett(QTcB)和Fridericia(QTcF)公式校正的QT间期。需要记录研究者对ECG跟踪正常或异常的评估,如果异常,则将研究者对异常是否具有临床意义的判断记录在跟踪中并记录在eCRF中。

[0952] 在研究者看来,在研究用产品终止期间或之后显示临床相关或病理变化的所有ECG值与医学监测员讨论,并作为AE报告并进行跟踪。

[0953] 临床实验室测试

[0954] 在评估计划表中指定的时间点收集用于以下临床实验室测试的样品(参见表13)。

[0955] 表14-临床实验室测试

[0956]

测试类型	描述
血液学	血红蛋白、血细胞比容、红细胞计数、红细胞指数、平均红细胞血红蛋白、平均红细胞血红蛋白浓度、平均红细胞体积、血小板计数（或估计值）和白细胞计数，包含分类
血清化学	白蛋白、总胆红素、总蛋白、钙、碱性磷酸酶、丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、γ-谷氨酰转移酶、血尿素氮、肌酐、肌酸激酶、葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、乳酸脱氢酶、尿酸、eGFR 和 C 反应蛋白
其它	ADA；LIGHT、细胞因子（例如 IL-1 β、IL-6、IL-8 和 TNF-α 以及其它探索性细胞因子）、外周血白细胞的流式细胞术分析和 RNA 测序
粪便化学	粪便钙卫蛋白，艰难梭菌
尿液分析	pH、比重、血红蛋白、白细胞、红细胞、葡萄糖、管型、蛋白质、酮、上皮细胞、晶体、粘液线、细菌、酵母、颜色和外观
血清和尿液 β-hCG 测试	仅适用于有生育能力的女性
尿液药物筛选（仅在必要时进行筛选）	安非他命、巴比妥类药物、苯二氮卓类药物、可卡因、阿片类药物、苯环利定、大麻素、丙氧芬和美沙酮
测试以前的生物制品（针对需要清除的受试者）	商业测试用于检测四种常见生物药物和生物仿制药（英夫利昔单抗[Remicade]、英夫利昔单抗[Renflexis]、英夫利昔单抗-dyyb[Inflectra]、阿达木单抗[Humira]、阿达木单抗-adbm[Cyltezo]、阿达木单抗-atto[Amjevita]、维得利珠单抗[Entyvio]和优特克单抗[Stelara]）的血清浓度。注意：赛妥珠单抗（希敏佳）不需要测试，因为没有商业上可用的测试来确定血清浓度。

[0957] 采血量

[0958] 从每个受试者采集的采血量如表15所示。

[0959] 表15取自每个受试者的血液样品

[0960]

评估		样品体积（mL）	样品数	总体积（mL）
安全性	血液学	2.0	6	12.0
	临床化学	3.5	6	21.0
抗 LIGHT 单克隆抗体浓度和 PK 分析（给药前第 0 天）		2.0	2	4.0
抗 LIGHT 单克隆抗体浓度和 PK 分析		2.0	9	18.0
抗药抗体（ADA）		2.0	5	10.0

[0961]

流式细胞术	3.0	3	9.0
RNA 测序	2.5	3	7.5
细胞因子	3.5	3	10.5
LIGHT	2.0	3	6.0
测试以前的生物制品	6.0	1	6.0
总 mL	--	--	104.0

[0962] 结核病(TB)测试

[0963] 在筛选时使用QuantiFERON-TB Gold(QFT)血液测试或结核菌素皮肤反应测试(PPD皮肤测试)对所有受试者进行结核病筛选。如果受试者的PPD齿皮试≥5mm,则进行胸部

X光检查以排除活动性或潜伏性肺部TB感染。如果受试者患有如以下任何一项所示的活动性或潜伏性TB,则将受试者从研究中排除:

[0964] ●QFT测试结果阳性或PPD皮肤测试反应阳性≥10mm。

[0965] ●不能排除活动性或潜伏性TB的胸部X光片。

[0966] 诱饵受体3的基因分型

[0967] 根据制造商的说明,将两毫升用于基因分型的唾液收集在指定的收集媒剂中。

[0968] 从每个研究受试者的唾液样品中分离脱氧核糖核酸(DNA),然后评估编码DcR3蛋白的TNFRSF6B的遗传改变或至少一个DcR3网络基因的改变。所有基因分型均在实验室手册和指南中指定的CLIA认证实验室进行。将任何剩余的DNA样品储存起来以供将来的生物标志物研究。

[0969] LIGHT、细胞因子、RNA测序和流式细胞术探索性分析

[0970] 收集血液样品用于探索性分析。探索性分析包含但不限于LIGHT生物标志物、细胞因子(例如IL-1β、IL-6、IL-8、TNF-α和其它探索性细胞因子)、核糖核酸(RNA)测序;表13中指定的就诊时外周血白细胞的流式细胞术。

[0971] 测试以前的生物制品

[0972] 需要足够的清除期以避免在之前使用其它生物制品之后混淆与使用抗LIGHT单克隆抗体给药相关的效果的可能性。为了允许更短的清除期,使用可用于鉴定生物制品血清浓度的商业测试。除希敏佳外,在最后一剂生物治疗后8周对接受清除的受试者进行血液测试,以确保任何先前生物治疗的血清水平低于检测水平。如果根据相应的CLIA验证的商业测试无法检测到生物治疗的血清浓度(即低于量化水平),则认为受试者已完成清除期并允许继续第2次就诊。如果检测到生物治疗,则受试者在进行第2次就诊之前完成完整的12周清除期。对于接受生物赛妥珠单抗(希敏佳)的受试者,需要12周清除。

[0973] 样本处理要求

[0974] 传染原的传播可能通过接触受污染的针头、血液或血液产品和/或实验室样本而发生。因此,在诊所和实验室环境中,所有参与样本收集和处理的研究人员都应采取适当的血液、体液和样本预防措施。请参阅有关当局的当前建议。

[0975] 除了对受试者样品进行适当处理外,还存在关于生物样品运输的具体规定。研究实验室手册中概述了传染性样品的包装和运输的程序和规定。研究者负责确保所有将被运输到另一个地点的研究样品都根据适用的法规进行适当的包装和运输。

[0976] 实验室值评估

[0977] 临床安全性实验室评估的正常值范围由负责的实验室提供,并在研究开始前提交给发起人。它们被视为做出临床决定的参考范围。

[0978] 如果实验室值超出参考范围,则其不一定是临床相关的,但有一些例外。研究者需要评估超出范围的值,并在适当的eCRF中记录其对临床相关性的评估。

[0979] 在研究者看来,在治疗终止期间或之后显示临床相关或病理变化的所有实验室值都与医学监测员讨论,并作为AE报告并进行跟踪。

[0980] 实例6.6-不良事件

[0981] 不良事件收集

[0982] 研究者负责检测和记录符合下述AE或SAE的标准和定义的事件。在每次就诊时,允

许受试者有时间自发地报告自上次就诊或评估以来的任何问题。在每次就诊时,研究者使用非引导性问题来监测、询问和/或评估任何AE,如

[0983] ●“您感觉怎么样?”

[0984] ●“自上次就诊以来,您是否遇到过任何问题?”

[0985] ●“自上次就诊以来,您是否服用过任何新的药物?”

[0986] 在每次就诊期间进行的任何临床相关观察也被视为AE。

[0987] 不良事件的定义、观察期和不良事件的记录

[0988] AE被定义为在施用了不一定与产品具有因果关系的药物产品的临床研究受试者中的任何不幸的医疗情况。因此,AE可以是与产品在时间上相关联的任何不利和意外迹象(包含新的、临床上重要的异常实验室发现)、症状或疾病,无论其是否与产品相关。

[0989] 从签署知情同意书到最后的安全性随访就诊期间收集所有AE。这包含在研究的筛选期发生的事件,无论是否施用了研究用产品。在可能的情况下,记录诊断而不是症状列表。如果尚未做出诊断,则单独列出每个症状。所有AE都在适当的AE eCRF和源文档中捕获。除AE外,研究用产品适应症之外的意外益处也捕获在源文件和AE eCRF中。

[0990] 无论受试者是否仍在参与研究,跟踪所有AE直至结束(即,受试者的健康已恢复到他/她的基线状态或所有变量已恢复正常)。结束表示达到结果,达到稳定(研究者预计事件不会有任何进一步的改善或恶化),或事件以其它方式得到解释。在适当的时候,进行医学测试和检查,以便可以记录事件的解决。

[0991] 不良事件的严重程度

[0992] 在事件过程中记录AE的严重程度,包含每个严重程度变化的开始和停止日期。严重程度发生变化的事件被捕获为新事件。在启用研究用产品后,治疗前事件的恶化被记录为新的AE。例如,如果受试者在服用研究用产品之前经历了轻微的间歇性头痛,并且在研究用产品首次给药后,头痛强度增加至中度,则将中度间歇性头痛的新AE记录在源文件和eCRF中。

[0993] 使用不良事件通用术语标准(CTCAE)第4.0版(2009年5月28日由美国卫生与公众服务部、美国国立卫生研究院、美国国家癌症研究所公开,第4.0.3版公开于2010年6月14日)确定AE临床严重程度的医学评估。1级被定义为轻度;无症状或轻微症状;或仅临床或诊断观察;或未指明干预。2级被定义为中度;或指示最小、局部或非侵入性干预;限制与年龄相适应的日常生活工具活动(ADL)。3级被定义为严重或具有医学意义但不会立即危及生命;或需要住院或延长住院时间;或禁用;或限制自护理ADL。4级被定义为危及生命的后果;或指示紧急干预。5级为与AE相关的死亡。

[0994] 严重程度是强度的分类,而SAE是符合严重标准的AE。可以参考上文引用的CTCAE文档以完整描述CTCAE术语以及工具和自护理ADL。

[0995] 关系分类

[0996] 医师/研究者对每个AE与研究用产品的关系进行评估。研究者根据他或她的医学判断,决定事件是否有合理的可能性是由研究用产品引起的。如果没有正当理由表面关系,则将AE归类为“不相关”。否则,AE根据以下指南分类。因果关系评估记录在源文件和eCRF(表16)中。

[0997] 表16:评估与研究用产品的关系

[0998]

关系	描述
不相关	未发生对研究用产品（IP）的暴露。 *或* IP 的施用与 AE 的发生在时间上没有合理的关联。 *或* AE 被认为可能与使用 IP 以外的病因有关，即没有事实/证据或论据表明与 IP 的因果关系。

[0999]

可能相关	IP 的施用与 AE 的发生在时间上有合理的关联。 *并且* 除了暴露于 IP 之外，其它因素或原因无法同样很好地解释 AE。
可能相关	IP 的施用与 AE 的发生在时间上有合理的关联。 *并且* 与其它因素或原因相比，AE 更可能由暴露于 IP 来解释。

[1000] 最后一次观察时的结果

[1001] 最后一次观察时的AE结果被分类为:恢复/解决;后遗症恢复/解决;恢复中/解决中;未恢复/未解决;致命的;或未知。

[1002] 严重不良事件的报告

[1003] 初始和后续SAE报告可以由研究者或指定人员完成,并在首次获悉SAE后24小时内发送给发起人和CRO。研究者填写、签署并注明适当的SAE表格并根据对应的源文件验证信息的准确性。源文件不随SAE表格一起发送。此SAE信息(表格)将通过电子邮件或传真发送至CRO药物警戒部门,并通过电子邮件或传真将副本发送至发起人的医疗监测员。

[1004] 严重不良事件的定义

[1005] SAE是任何不利的医学事件,无论是否被认为与研究用产品有关,其在任何剂量下:导致死亡;有生命危险;需要住院治疗或延长现有住院时间;导致持续或严重的残疾/丧失能力;是先天性异常;或者是重要的医疗事件。

[1006] 注意,“严重”定义中的术语“危及生命”是指受试者在事件发生时有死亡风险的事件;其不是指如果更严重的话假设可能导致死亡的事件。

[1007] 注意,住院病人住院定义为在医院24小时或过夜。为治疗暴露于测试药物之前存在的病状而选择住院,或为对AE进行诊断评估而住院,不将该病状或事件定性为SAE。此外,仅因交通、组织或住宿问题而在医院过夜且没有医疗背景的情况不需要被视为SAE。

[1008] 注意,在怀孕期间暴露于研究用产品的母亲所生的婴儿的先天性异常是SAE。然而,除非怀疑研究用产品与避孕方法相互作用并导致妊娠,否则已经接受研究用产品的受试者中新诊断的妊娠不被视为SAE。

[1009] 注意,在决定是否适合考虑其它严重情况时,可以进行医学和科学判断,如可能不会立即威胁生命或导致死亡或住院但可能危及受试者或可能需要干预以防止以上定义中列出的其它结果之一的重要医疗事件。这种事件的实例是在急诊室或家中对过敏性支气管痉挛、血质不调或抽搐进行强化治疗,它们不会导致住院或发展为药物依赖性或药物滥用。

[1010] 严重不良事件收集时间框架

[1011] 所有SAE,无论与研究的关系如何,都是从受试者签署知情同意书到受试者最后一次就诊(办公室或电话联系)的时间收集的。研究者或指定人员在首次获悉事件后24小时内立即向CRO和发起人的医疗监测员报告所有SAE。

[1012] 研究者在研究已经完成后的任何时间间期发现的任何SAE,无论与IP的关系如何,都将在第一次获悉该事件的24小时内向CRO和发起人的医学监测员报告。

[1013] 严重不良事件的发作和解决日期

[1014] SAE的发作日期被定义为事件符合严重标准的日期。解决日期是事件不再符合严重标准、症状消失或事件被视为慢性的日期。在住院的情况下,分别将入院和出院日期视为SAE的发作和解决日期。

[1015] 受试者在签署知情同意书之后,或在SAE发作日期之前或在SAE解决日期之后所经历的任何体征或症状被记录为AE。

[1016] 致命结果

[1017] 仅当AE导致死亡时才可以选择“致命”的结果。如果超过1个AE可能与受试者的死亡有关,则每个此类AE都显示为“致命”结果。

[1018] 导致受试者死亡的任何AE都需要作为结果进行“致命”检查,死亡日期被记录为解决日期。导致死亡的不良事件可能会在24小时内作为SAE报告,如果尚未如此报告的话。

[1019] 对于在死亡时持续且未导致受试者死亡的其它AE,结果被视为“未解决”,没有记录解决日期。

[1020] 特别关注的不良事件和药物不良反应

[1021] 迄今为止,研究中没有任何事件符合特别关注的不良事件。在抗LIGHT单克隆抗体临床前研究中观察到的药物不良反应包含注射部位反应。

[1022] 与其它生物药剂的药物不良反应包含:感染增加的可能性(包含机会性感染,如结核病);超敏反应(包含过敏反应);免疫原性;恶性肿瘤;免疫受损;或CD恶化。

[1023] 怀孕

[1024] 参与研究的所有具有生育能力的女性被告知实施适当节育的必要性以及在研究参与期间避免怀孕的重要性。如果发生或疑似怀孕,则指示研究参与者立即联系研究者或研究人员。

[1025] 在对每个有生育能力的女性施用研究用产品之前也进行妊娠测试。任何在筛选就诊时被发现怀孕的女性都被排除在研究之外,并被认为是筛选失败。

[1026] 研究者报告在研究用产品治疗期间或在中止研究用产品的7天内怀孕的任何女性(研究参与者或男性研究参与者的女性伴侣)的怀孕。在24小时内向CRO报告怀孕。研究者联系接收SAE通知的指定个人,并在发起人或其指定人员提供的指定表格上记录与怀孕有关的信息。

[1027] 在得知怀孕后尽快进行提前终止就诊评估。研究者还负责跟踪妊娠直至分娩或终止。在子宫内暴露表格/其它指定表格上报告这些发现并转发给指定的个人。该事件仅在导致自然流产或先天性异常时才符合SAE标准。

[1028] 实例6.7-滥用、误用、过量和用药错误

[1029] 使用SAE报告程序向发起人报告涉及如下定义的研究用产品的滥用、误用、过量或用药错误,无论它们是否导致AE或SAE。自首次获悉时起的24小时报告期不适用于滥用、误用、过量或用药错误事件,除非滥用、误用、过量或用药错误事件导致SAE。

[1030] 表17-滥用、误用、过量和用药错误的定义

[1031]

类别	定义
滥用	以对个人和/或社会有害的方式用于非医疗目的（例如，为了获得潜在的精神影响）而持续或零星地故意摄入 IP
误用	以任何剂量故意使用 IP，而不是按照指导或指示使用。这包含未按照方案规定的剂量使用 IP 的情况。
过量	有意或无意摄入的 IP 剂量超过了作为研究的一部分给受试者规定的剂量。
用药错误	开处方、分发、施用和/或使用 IP 时的错误。如果药物错误涉及以下各项，则将药物错误应报告给发起人或其指定人员： 施用和/或使用未指定的治疗（例如，受试者使用了不正确的 IP 试剂盒） 施用和/或使用过期的 IP。

[1032] IP＝研究用产品

[1033] 注意,滥用、误用、过量或用药错误事件可以符合1个以上的类别。漏服不被视为用药错误事件,无需报告。

[1034] 实例6.8-抗LIGHT单克隆抗体浓度、药代动力学和抗药抗体评估

[1035] 药代动力学通过抗LIGHT单克隆抗体的血浆浓度计算。

[1036] 血液样品收集和分析

[1037] 在第0天、第14天、第28天和第42天(分别为第2次、第4次、第6次和第8次就诊)施用抗LIGHT单克隆抗体之前的60分钟内和第7天、第21天、第35天、第49天、第56天和第84天(第3次、第5次、第7次、第9次、第10次和第11次就诊)的任何时间收集血液样品,并处理成血浆。将PK样品的时间记录在电子CRF中。从每个受试者收集总共1.0mL血浆(每个PK和ADA样品0.5mL),以测量抗LIGHT单克隆抗体或ADA样品的血浆浓度。将药代动力学和ADA样品根据实验室手册和指南中规定的方法和指导进行处理。

[1038] 药代动力学和ADA血浆样品分析由指定实验室根据其SOP使用经验证的酶联免疫吸附测定法(ELISA)进行。

[1039] 实例6.9-疗效评估

[1040] 克罗恩氏病活动指数

[1041] CDAI由合格的执业医师、医师助理或执业护士在评估计划表中所示的时间完成(参见表13)。执行CDAI的站点工作人员得出个体评分和总评分,标准体重计算如下:男性标准体重＝(身高,米)2x 22.1;女性标准体重＝(身高米)2x 20.8。

[1042] 关于腹痛和稀便和水样便的频率的信息取自受试者日记信息。在可能的情况下,同一个人在整个研究过程中完成给定受试者的CDAI。

[1043] CDAI由国家合作克罗恩氏病研究小组开发并由Best等人于1976年公开(1976)(Best等人,克罗恩氏病活动指数的制定(Development of a Crohn's disease activity index),国家合作克罗恩氏病研究(National Cooperative Crohn's disease Study),《胃肠病学(Gastroenterol.)》,1976:70;439-44)以确定最能预测疾病活动的变量。共确定了8个项目(腹痛、便液次数、一般健康状况、肠外并发症、止泻药的使用、腹部肿块、血细胞比容和体重)。每个项目都根据单独的参数标准进行评分。CDAI总评分可以为0至大约600分,分数越高表明疾病越活跃。CDAI一直是CD介入研究中最常用的疗效量表(Sostegni等人,评论:克罗恩氏病:监测疾病活动(Review:Crohn's disease:monitoring disease activity),《消化药理学和治疗学(Aliment Pharmacolo Ther.)》,2003:17(增刊2)11-17)。

[1044] 内窥镜生物学和组织学

[1045] 入选研究的所有受试者在筛选时和在第56天(第10次就诊)或提前终止时再次接受内窥镜检查和活检。筛选内窥镜检查可选择作为独立内窥镜检查用于本方案的目的,或作为临床要求的内窥镜检查,前提是在内窥镜检查之前完成本研究的同意程序。

[1046] 内窥镜评估使用SES-CD。SES-CD是专为CD开发的简单易用的内窥镜评分系统。其评估4个变量:溃疡的大小、溃疡表面的百分比、受影响表面的百分比以及每个变量4个类别的缩小范围,等级为0至3(Daperno M,D'Haens G,Van Assche G等人克罗恩氏病新的简化内窥镜活动评分的开发和验证:SES-CD(Development and validation of anew, simplified endoscopic activity score for Crohn's disease:the SES-CD.)《消化内镜(Gastroinest Endosc.)》2004年10月;60(4):505-12)。针对筛选时获取的活检评估疾病的组织学确认。每个受试者都保留了筛选和第10次/ET就诊活检样品,用于评估探索性参数(可能包含但不限于DcR3、LIGHT、HVEM和LTβR),这些参数可能任选地在研究完成后进行。

[1047] 患者报告的健康、腹痛和粪便频率评估

[1048] 入选研究的所有受试者通过日记(电子版或纸质版)报告他们对健康、腹痛和粪便频率(包含稀便和/或水样便)的日常评估。腹痛以0至3的等级进行评估,数值越高表明疼痛严重程度越高。记录粪便频率,包含每天稀便和/或水样便的次数,相当于布里斯托粪便量表上的6或7分。

[1049] 稀便被描述为具有参差不齐的边缘的蓬松块,糊状的粪便。水样便被描述为水样的,没有固体块(O'Donnell等人,通过简单的肠道转运率临床评估检测假性腹泻(Detection of pseudodiarrhoea by simple clinical assessment of intestinal transit rate),《英国医学杂志(Br.Med.J.)》1990;300:439-40)。

[1050] 生活质量评估-炎症性肠病问卷

[1051] IBD-Q是经过验证以测量克罗恩氏病的生活质量的32项问卷。IBD-Q评估肠功能、情绪状态、全身症状和社会功能的维度(Guyatt等人,炎症性肠病临床试验的健康状态新测量(A new measure of health status for clinical trials in inflammatory bowel disease),《胃肠病学》,1989:96;804-10)。IBD-Q由所有受试者在筛选时(第1次就诊)、给药前(第2次就诊)和开放标签治疗期结束或提前终止(第10次/ET就诊)时完成(参见表13)。

[1052] 实例6.10-统计

[1053] 药代动力学、疗效和生活质量数据用传统的描述性统计来概括。连续变量用N、平均值、标准差和范围进行汇总。分类变量按频率和百分比进行汇总。

[1054] 没有计划正式的推断分析。

[1055] 安全性群体包含入选研究并接受任何数量的研究用产品的所有受试者。药代动力学群体包含接受指定剂量的抗LIGHT单克隆抗体和可获得抗LIGHT单克隆抗体血浆浓度数据的所有受试者。疗效群体包含具有基线和至少1个基线后疗效评分的所有受试者。

[1056] 疗效分析集中于疗效群体。通过就诊对每个队列的终点的结果(例如,CDAI、SES-CD、腹痛和稀便/水样便频率,以及IBD-Q)进行汇总,包含原始分数和相对于基线值的变化。CDAI个体评分和总评分是使用来自患者日记的记录数据、对CDAI问题的回答、实验室测试和身体检查结果以编程方式得出的。

[1057] 还总结了基线和研究结束就诊的定量内窥镜检查和活检结果。

[1058] 安全性数据的分析集中于安全性群体。

[1059] 安全性变量包含治疗出现的AE(TEAE)、临床实验室结果、生命体征测量结果、ECG结果和身体检查发现。

[1060] 使用法规事务医学词典(MedDRA)第20版对不良事件进行编码。TEAE被定义为在首次施用IP后首次发作或严重程度恶化的任何AE。TEAE按系统器官类别(SOC)和首选术语分类,并按报告每个队列和整体的每个事件的受试者的数量进行汇总。对于SAE、导致停药的AE以及与研究用产品至少可能存在关系的AE,也产生了类似的摘要。还针对每个SOC和首选术语总结了AE的强度和与研究用产品的关系。

[1061] 对于临床实验室测试,每次研究就诊的实际(绝对)值和相对于基线值的变化的描述性总结按队列呈现。每次研究就诊时临床实验室值低于正常范围、在正常范围内或高于正常范围的受试者的数量按队列针对每个临床实验室测试制成表格(移位表)。

[1062] 生命体征(收缩压和舒张压、脉搏和呼吸频率)和ECG结果按就诊和队列使用适当的描述性统计进行汇总。每次研究就诊的具有异常ECG发现的受试者的数量和百分比按队列进行汇总。

[1063] 持续监测该开放标签研究中的数据。

[1064] 这是抗LIGHT单克隆抗体在对抗TNFα单克隆抗体具有抗性的CD患者的预期群体中的首次使用。研究的样品大小基于可行性。

[1065] 实例7

[1066] 本文在实例7中呈现的是根据实例6中描述的方法进行的研究的某些结果。

[1067] 从在实例6所述的研究中完成抗LIGHT抗体治疗的两名患者获得三个时间点血清样品。健康成人供体(n＝30对照)具有202pg/mL的平均治疗前游离LIGHT水平。第一个患者具有升高的血浆治疗前游离LIGHT水平,为455pg/mL。在每(q)2周用抗LIGHT抗体(具有SEQ ID NO:8的VH和SEQ ID NO:9的VL)皮下(SQ)治疗后,发现受试者的血浆游离LIGHT水平在正常范围内;第28天和第56天的游离LIGHT水平分别为15和24pg/mL。第二个患者具有升高的血浆治疗前游离LIGHT水平,为193pg/mL。每(q)2周用抗LIGHT抗体皮下(SQ)治疗后,发现受试者的血浆游离LIGHT水平在正常范围内;第28天和第56天的游离LIGHT水平分别为42和29pg/mL。这些数据表明,在门诊环境中,即使是相对低剂量的抗LIGHT抗体也可以降低血浆游离LIGHT水平,并且游离LIGHT水平可以保持降低。

[1068] 此外,第一个患者的临床改善被认为与这种减少相关。克罗恩氏病的简单内窥镜评分(SES-CD)第一个患者的评分随着治疗而降低。SES-CD评分:0-2表示缓解;3-6表示轻度;7-15表示中度;>15表示重度。第一个患者的SES-CD评分在筛选时为11,并且在第56天为4。

[1069] 实例8

[1070] 使用本文描述的游离LIGHT测定法对来自ARDS患者的样品进行LIGHT测试,并与健康供体LIGHT水平进行比较。初步数据显示,与健康供体水平相比,ARDS群体的LIGHT水平升高。在此数据上生成的箱线图如图11所示。

[1071] 下表18提供了本申请中提到的序列。

[1072] 表18-序列的表

[1073]

SEQ ID NO	描述	序列
1	人 DcR3 氨基酸序列	MRALEGPGLS LLCLVLALPA LLPVPAVRGV AETPTYPWRD AETGERLVCA QCPPGTFVQR PCRRDSPTTC GPCPPRHYTQ FWNYLERCRY CNVLCGEREE EARACHATHN RACRCRTGFF AHAGFCLEHA SCPPGAGVIA PGTPSQNTQC QPCPPGTFSA SSSSSEQCQP HRNCTALGLA LNVPGSSSHD TLCTSCTGFP LSTRVPGAEE CERAVIDFVA FQDISIKRLQ RLLQALEAPE GWGPTPRAGR AALQLKLRRR LTELLGAQDG ALLVRLLQAL RVARMPGLER SVRERFLPVH
2	重链（HC）CDR1 抗体 F19	GYNWH
3	HC CDR2 抗体 F19	EITHSGSTNYNPSLKS
4	HC CDR3 抗体 F19	EIAVAGTGYYGMDV
5	LC CDR1 抗体 F19	RASQGINSAFA
6	LC CDR2 抗体 F19	DASSLES
7	LC CDR3 抗体 F19	QQFNSYPLT
8	重链可变区抗体 F19	QVQLQQWGAG LLKPSETLSL TCAVYGGSFS GYNWHWIRQP PGKGLEWIGE ITHSGSTNYN PSLKSRVTIS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCVREIA VAGTGYYGMD VWGQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT KTYTCNVDHK PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFEGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLG

[1074]

SEQ ID NO	描述	序列
9	轻链可变区抗体 F19	AIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIN SAFAWYQQKP GKAPKLLIYD ASSLESGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ FNSYPLTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
10	替代性 LC CDR1 抗体 F19	RASRGINSAFA
11	替代性 LC CDR2 抗体 F19	DASSLES
12	替代性 LC CDR3 抗体 F19	QQFNSYPLT
13	替代性 LC CDR1 抗体 F19	RVSQGISSYLN
14	替代性 LC CDR2 抗体 F19	SASNLQS
15	替代性 LC CDR3 抗体 F19	ARTNAPPT
16	替代性 LC CDR1 抗体 F19	RMSQGISSYLA
17	替代性 LC CDR2 抗体 F19	AASTLQS
18	替代性 LC CDR3 抗体 F19	QQYYSFPYT
19	替代性 LC CDR1 抗体 F19	RASQGVSSYLA
20	替代性 LC CDR2 抗体 F19	DASNRAT
21	替代性 LC CDR3 抗体 F19	QQRSNWHP
22	HC CDR1 抗体 E1	RFNMN
23	HC CDR2 抗体 E1	YISSSSYTIYYADSVKG
24	HC CDR3 抗体 E1	SIAAFDY
25	LC CDR1 抗体 E1	RASQGISSALA
26	LC CDR2 抗体 E1	DASSLES
27	LC CDR3 抗体 E1	QQFNSYRT
28	替代性 LC CDR1 抗体 E1	RASQSVSSSYLT
29	替代性 LC CDR2 抗体 E1	GASSRAT
30	替代性 LC CDR3 抗体 E1	QQYGSSMYT
31	替代性 LC CDR1 抗体 E1	RASQSVSSSYLA
32	替代性 LC CDR2 抗体 E1	GASNRAT

[1075]

SEQ ID NO	描述	序列
33	替代性 LC CDR3 抗体 E1	QQYGSSPWT
34	HC CDR1 抗体 E13	NAWMS
35	HC CDR2 抗体 E13	RIKSKIDGGTTDYAAPVKG
36	HC CDR3 抗体 E13	AMAGAFGF
37	LC CDR1 抗体 E13	RASQSVSSSYLA
38	LC CDR2 抗体 E13	GASSRAT
39	LC CDR3 抗体 E13	QQYGSSPMYT
40	HC CDR1 抗体 E63	SGGYYWS
41	HC CDR2 抗体 E63	YIYYSGSTNYNPSLKS
42	HC CDR3 抗体 E63	WITMFRGVGFDP
43	LC CDR1 抗体 E63	RASQSIGSSLH
44	LC CDR2 抗体 E63	YASQSFS
45	LC CDR3 抗体 E63	RQSSSLPLT
46	HC CDR1 抗体 F23	GYYWN
47	HC CDR2 抗体 F23	EINQYNPSLKS
48	HC CDR3 抗体 F23	EIAIADKGYYGLDV
49	LC CDR1 抗体 F23	RASQGISSALA
50	LC CDR2 抗体 F23	DASSLES
51	LC CDR3 抗体 F23	QQFNSYPLT
52	HC CDR1	SYYIH
53	HC CDR2	PGSDITKYNEKFKG
54	HC CDR3	GISTYSAMDF
55	LC CDR1	KASQDVGTAVA
56	LC CDR2	WASTRHT
57	LC CDR3	QQYSSYPLT
58	HC 可变区	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYYIHWVRQA PGQRLEWMGW IFPGSDITKY NEKFKGRVTI TRDTSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARED YGISTYSAMD FWGQGTLVTV SS
59	LC 可变区	DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQDVG TAVAWYQQKP GKAPKLLIYW ASTRHTGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSSYPLTFGQ GTKVEIKR
60	18E04 的 HC CDR1	HFDIN
61	18E04 的 HC CDR2	WMNPDSDNTDYAQEFQG
62	18E04 的 HC CDR3	GGTTLDY
63	18E04 的 LC CDR1	SGDALPKKYAY
64	18E04 的 LC CDR2	EDSKRPS
65	18E04 的 LC CDR3	YSTDSSDNHVI
66	98C07 的 HC CDR1	DYYMS
67	98C07 的 HC CDR2	YISRSSFIYYSESVKG
68	98C07 的 HC CDR3	WELSPFDY
69	98C07 的 LC CDR1	RASQGISNYLA
70	98C07 的 LC CDR2	AASSLQS

[1076]

SEQ ID NO	描述	序列
71	98C07 的 LC CDR3	QQYNTYPFT
72	1C02 的 HC CDR1	YYGIS
73	1C02 的 HC CDR2	WISANSGNTNYAQKFQG
74	1C02 的 HC CDR3	GGVAVLEY
75	1C02 的 LC CDR1	WASQGISSYLA
76	1C02 的 LC CDR2	VASTLQS
77	1C02 的 LC CDR3	QQLKIYPLT
78	1C06 的 HC CDR1	DYYMN
79	1C06 的 HC CDR2	DISSRDNTIYYADSVKG
80	1C06 的 HC CDR3	ARERGFGDYFGMDV
81	1C06 的 LC CDR1	RASQDISSALA
82	1C06 的 LC CDR2	DASSLES
83	1C06 的 LC CDR3	QQFNTYPLT

[1077] 更具体地,本申请提供下列各项:

[1078] 1.一种检测受试者生物样品中是否存在游离LIGHT的方法,所述方法包括以下步骤:

[1079] (a)使所述生物样品与至少一种抗LIGHT抗体接触;

[1080] (b)温育所述生物样品以使所述抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;以及

[1081] (c)检测所述生物样品中所述抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在。

[1082] 2.一种诊断受试者中与升高的游离LIGHT相关的病状的方法,所述方法包括以下步骤:

[1083] (a)使生物样品与至少一种抗LIGHT抗体接触;

[1084] (b)温育所述生物样品以使所述抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;

[1085] (c)检测所述生物样品中所述抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在;以及

[1086] (d)如果与对照相比检测到更高水平的游离LIGHT,则将所述受试者诊断为患有与升高的游离LIGHT相关的病状。

[1087] 3.一种治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的抗LIGHT抗体。

[1088] 4.一种在有需要的受试者中治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的方法,所述方法包括以下步骤:

[1089] (a)使分离自所述受试者的生物样品与第一抗LIGHT抗体接触;

[1090] (b)温育所述生物样品以使所述第一抗LIGHT抗体与游离LIGHT结合;

[1091] (c)检测所述生物样品中所述第一抗LIGHT抗体和所述游离LIGHT之间形成的复合物的存在;以及

[1092] (d)向所述受试者施用有效量的第二抗LIGHT抗体,其中所述第一抗体和所述第二抗体不同,从而治疗所述与升高的游离LIGHT相关的病状。

[1093] 5.根据项2至4中任一项所述的方法,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状包括以下任何一项或多项:

[1094] (a)炎症,任选地其中所述炎症是过度炎症;

[1095] (b)导致多系统器官衰竭的免疫失调;

[1096] (c)急性肺损伤(ALI),任选地其中所述ALI与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[1097] (d)急性呼吸窘迫综合征(ARDS),任选地其中所述ARDS与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[1098] (e)驱动组织损伤和血管通透性的细胞因子风暴;

[1099] (f)感染后肺纤维化;以及

[1100] (g)肺炎,任选地其中所述肺炎与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染。

[1101] 6.根据项2、4和5中任一项所述的方法,其中游离LIGHT的检测表明用抗LIGHT抗体治疗与升高的游离LIGHT相关的病状将是有效的。

[1102] 7.根据项3至6中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体抑制T细胞活化。

[1103] 8.根据项3至7中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体抑制细胞因子的表达增加。

[1104] 9.根据项3至8中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体降低了所述受试者的死亡或发病风险。

[1105] 10.根据项3至9中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体防止进展为ARDS。

[1106] 11.根据项3至10中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体防止所述受试者对通气/插管的需要。

[1107] 12.一种治疗重度COVID-19引起的肺炎的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[1108] 13.一种治疗与COVID-19引起的肺炎相关的急性炎性疾病的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[1109] 14.一种治疗与COVID-19引起的肺炎相关的呼吸衰竭的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[1110] 15.一种治疗细胞因子风暴的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[1111] 16.一种治疗超免疫响应失调(有时被称为“细胞因子风暴”)的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[1112] 17.一种治疗急性呼吸系统疾病综合征(ARDS)的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体。

[1113] 18.根据项1和2中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[1114] (a)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[1115] (b)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[1116] (c)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[1117] (d)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[1118] (e)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[1119] (f)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[1120] (g)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[1121] (h)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。

[1122] 19.根据项4所述的方法,其中所述第一抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[1123] (a)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[1124] (b)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[1125] (c)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[1126] (d)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[1127] (e)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[1128] (f)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[1129] (g)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[1130] (h)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57,

[1131] 并且其中所述第二抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括上述(a)-(h)的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3集合中的任何一个或SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7。

[1132] 20.根据项3和5至17中任一项所述的方法,其中向所述受试者施用的所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[1133] (a)SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7;

[1134] (b)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[1135] (c)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[1136] (d)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[1137] (e)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[1138] (f)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[1139] (g)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[1140] (h)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[1141] (i)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。

[1142] 21.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述抗体包括WO 2015/107331中描述的抗体1C02、13H04、31A10、1C06、98C07、18E04、42A02、29C09、14B09、117C06、114F05或62C01中任一项的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列。

[1143] 22.根据项2至21中任一项所述的方法,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状是冠状病毒感染。

[1144] 23.根据项22所述的方法,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状是COVID-19感染。

[1145] 24.根据项23所述的方法,其中所述冠状病毒感染是MERS-CoV或SARS-CoV感染。

[1146] 25.根据项2至24中任一项所述的方法,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状

是克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状。

[1147] 26.根据前述项中任一项所述的方法,其中施用的所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链分别包括SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的氨基酸序列。

[1148] 27.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述抗-LIGHT抗体以约16mg/kg的单剂量施用。

[1149] 28.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者已经接受或目前正在接受抗COVID-19疗法,任选地其中所述疗法是皮质类固醇、羟氯喹和/或瑞德西韦。

[1150] 29.根据项28所述的方法,其中所述皮质类固醇的所述剂量被认为是高剂量。

[1151] 30.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

[1152] 31.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者患有任选地由冠状病毒感染引起的呼吸道疾病。

[1153] 32.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者患有肺炎。

[1154] 33.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者患有急性肺损伤(ALI)。

[1155] 34.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者患有急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。

[1156] 35.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者患有轻度冠状病毒感染。

[1157] 36.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者患有中度冠状病毒感染。

[1158] 37.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者患有重度冠状病毒感染。

[1159] 38.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者处于冠状病毒感染的早期感染(阶段I)。

[1160] 39.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者处于冠状病毒感染的肺期(阶段II)。

[1161] 40.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者处于冠状病毒感染的过度炎症期(阶段III)。

[1162] 41.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者是儿童受试者。

[1163] 42.根据前述项中任一项所述的方法,其中所述受试者是成人。

[1164] 43.一种用于根据项1至3、5至18和20至42中任一项所述的方法的试剂盒,其包括抗LIGHT抗体和用于执行所述方法的试剂。

[1165] 44.一种用于根据项4和19中任一项所述的方法的试剂盒,其包括第一抗LIGHT抗体和第二LIGHT抗体,其中所述第一抗体和所述第二抗体不同,以及用于执行所述方法的试剂。

[1166] 45.根据项43所述的试剂盒,其进一步包括固相,所述抗LIGHT抗体附着于所述固相。

[1167] 46.根据项44所述的试剂盒,其进一步包括固相,所述第一抗LIGHT抗体附着于所述固相。

[1168] 47.根据项43或44所述的试剂盒,其进一步包括固相,衍生自所述生物样品的游离LIGHT附着于所述固相。

[1169] 48.一种确定来自受试者的疑似含有游离LIGHT的样品中游离/非结合的肿瘤坏死

因子超家族成员14(TNFSF14或LIGHT)的量的方法,所述方法包括:

[1170] (a)使样品与游离LIGHT的捕获分子接触,所述捕获分子与游离LIGHT特异性结合但不与结合的LIGHT结合;

[1171] (b)温育所述样品以使所述捕获分子与游离LIGHT结合;

[1172] (c)检测游离LIGHT与所述捕获分子的结合并确定所述样品中游离LIGHT的量。

[1173] 49.根据项48所述的方法,其中所述捕获分子是抗体,任选地其中所述抗体包括抗LIGHT抗体,所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[1174] (a)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[1175] (b)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[1176] (c)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[1177] (d)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[1178] (e)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[1179] (f)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[1180] (g)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[1181] (h)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。

[1182] 50.根据项48至49中任一项所述的方法,其中所述捕获分子与游离LIGHT特异性结合,但不与LIGHT/DcR3复合物、或LIGHT/HVEM复合物、或LIGHT/LTβR复合物结合。

[1183] 51.根据项48至50中任一项所述的方法,其中所述捕获分子在LIGHT与DcR3结合的位点处或在LIGHT与DcR3结合的位点附近与游离LIGHT特异性结合。

[1184] 52.根据项51所述的方法,其中所述捕获分子在LIGHT与DcR3结合的位点处与游离LIGHT特异性结合。

[1185] 53.根据项48至52中任一项所述的方法,其中提供了检测分子,其中所述检测分子在与所述捕获分子结合的位点不同的位点处与LIGHT结合。

[1186] 54.根据项48至53中任一项所述的方法,其进一步包括比较所述样品中游离LIGHT和总LIGHT的量。

[1187] 55.根据项48至54中任一项所述的方法,其中所述捕获分子是抗体。

[1188] 56.根据项48至55中任一项所述的方法,其中所述捕获分子是选自单克隆抗体、多克隆抗体、嵌合抗体、单链抗体、双特异性或双效抗体、猿化抗体、人抗体和人源化抗体的抗体。

[1189] 57.根据项48至56中任一项所述的方法,其中所述捕获抗体是单克隆抗体。

[1190] 58.根据项48至57中任一项所述的方法,其中所述捕获抗体与支持物(例如,Simoa平台中的纳米颗粒)结合。

[1191] 59.根据项48至58中任一项所述的方法,其中所述捕获抗体是Enzo ALX-804-841-C100。

[1192] 60.根据项48至59中任一项所述的方法,其中所述检测分子是抗体。

[1193] 61.根据项48至60中任一项所述的方法,其中所述检测分子是单克隆抗体。

[1194] 62.根据项48至61中任一项所述的方法,其中所述捕获抗体是Enzo ALX-804-841-C100并且所述检测抗体是ProSci RF16062。

[1195] 63.根据项48至62中任一项所述的方法,其中所述样品是血清、血浆、唾液或粪便。

[1196] 64.根据项48至63中任一项所述的方法,其中所述样品是血清样品。

[1197] 65.一种治疗克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用抗LIGHT抗体,其中所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[1198] (a)SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7;

[1199] (b)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[1200] (c)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[1201] (d)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

[1202] (e)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[1203] (f)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[1204] (g)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[1205] (h)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[1206] (i)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。

[1207] 66.根据项25或65所述的方法,其中每14天施用1.0mg/kg剂量的抗LIGHT抗体。

[1208] 67.根据项25或65所述的方法,其中每14天施用3.0mg/kg剂量的抗LIGHT抗体。

[1209] 68.根据项65至67中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

[1210] 69.根据项65至68中任一项所述的方法,其中所述受试者是成人。

[1211] 70.根据项65至69中任一项所述的方法,其中所述受试者已经用经批准的治疗剂量的抗TNFα单克隆抗体治疗失败,对诱导没有初始响应或对诱导具有初始响应随后失去响应。

[1212] 71.根据项65至70中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用降低受试者的CDAI评分。

[1213] 72.根据项65至71中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用增加受试者的SES-CD评分。

[1214] 73.根据项65至72中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用增加受试者的IBD-Q评分。

[1215] 74.根据项3至24和26至42中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用将所述受试者中的血清游离LIGHT水平降低85%或更多。

[1216] 75.根据项74所述的方法,其中所述血清游离LIGHT水平的降低发生在施用所述抗LIGHT抗体后不到5天。

[1217] 76.根据项74所述的方法,其中所述血清游离LIGHT水平的降低发生在施用所述抗LIGHT抗体后约1天。

[1218] 77.根据项3至24、26至42和74至76中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用在施用后60天将所述受试者的死亡风险降低50%或以上。

[1219] 78.根据项3至24、26至42和74至76中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用在施用后28天将所述受试者的死亡风险降低50%或以上。

[1220] 79.根据项3至24、26至42和74至78中任一项所述的方法,其中所述受试者为60岁

或以上。

[1221] 80.根据项79所述的方法,其中与接受护理标准治疗的受试者相比,所述抗LIGHT抗体的施用缩短所述受试者的住院时间。

[1222] 81.根据项3至24、26至42和74至80中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用降低所述受试者呼吸衰竭的风险。

[1223] 82.根据项3至42、65至73和77至81中任一项所述的方法,其中所述抗LIGHT抗体的施用降低所述受试者中的血清游离LIGHT水平。

[1224] 83.一种抗LIGHT抗体在制备用于治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的药物中的用途。

[1225] 84.一种包括抗LIGHT抗体的组合物,其用作治疗与升高的游离LIGHT相关的病状的药物。

[1226] 85.一种包括抗LIGHT抗体的组合物,其用于治疗与升高的游离LIGHT相关的病状。

[1227] 86.根据项81至83中任一项所述的供使用的用途或组合物,其中所述与升高的游离LIGHT相关的病状是以下一项或多项:

[1228] a.炎症,任选地其中所述炎症是过度炎症;

[1229] b.导致多系统器官衰竭的免疫失调;

[1230] c.急性肺损伤(ALI),任选地其中所述ALI与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[1231] d.急性呼吸窘迫综合征(ARDS),任选地其中所述ARDS与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[1232] e.驱动组织损伤和血管通透性的细胞因子风暴;

[1233] f.感染后肺纤维化;

[1234] g.肺炎,任选地其中所述肺炎与细菌或病毒感染相关,包含冠状病毒感染;

[1235] h.克罗恩氏病或与克罗恩氏病相关的炎性病状;或

[1236] i.COVID-19感染。

[1237] 87.根据项83至86中任一项所述的供使用的用途或组合物,其中所述抗LIGHT抗体包括重链和轻链,所述重链和轻链一起包括以下CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列集合中的一者:

[1238] (a)SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7;

[1239] (b)SEQ ID NO:10、11、12、13、14和15;

[1240] (c)SEQ ID NO:16、17、18、19、20和21;

[1241] (d)SEQ ID NO:22、23、24、25、26和27;

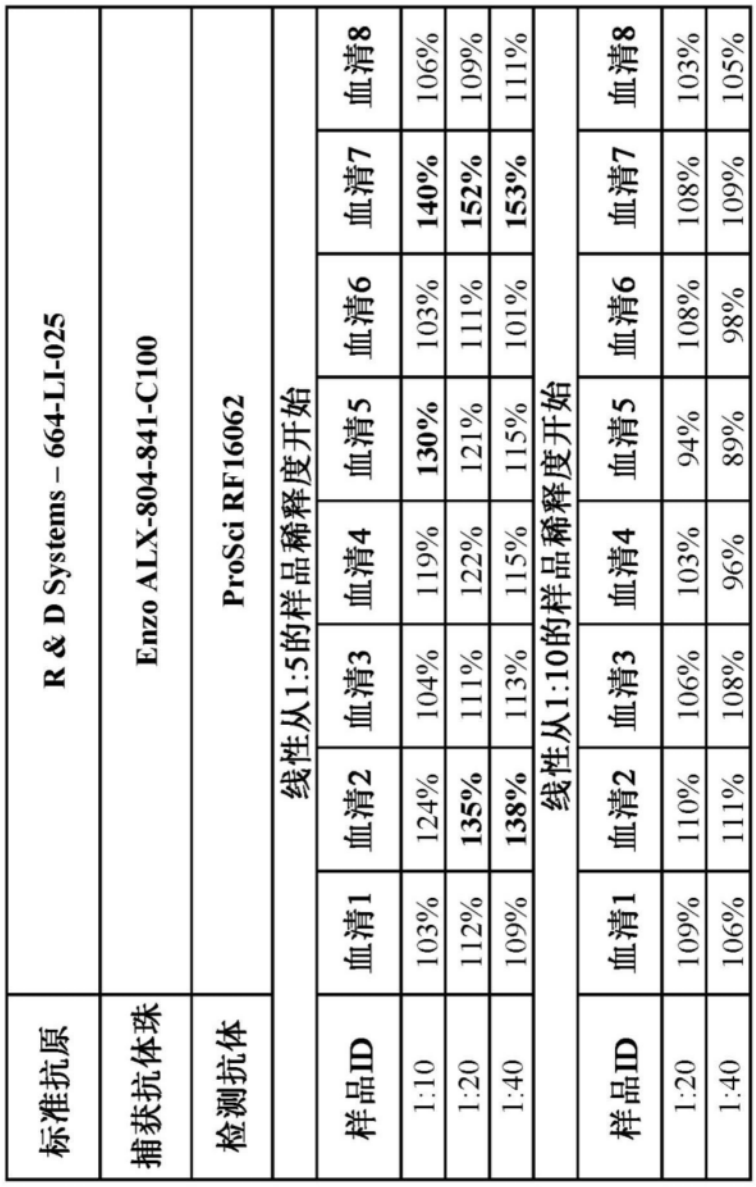
[1242] (e)SEQ ID NO:28、29、30、31、32和33;

[1243] (f)SEQ ID NO:34、35、36、37、38和39;

[1244] (g)SEQ ID NO:40、41、42、43、44和45;

[1245] (h)SEQ ID NO:46、47、48、49、50和51;以及

[1246] (i)SEQ ID NO:52、53、54、55、56和57。



标准抗原	R & D Systems – 664-LI-025							
捕获抗体珠	Enzo ALX-804-841-C100							
检测抗体	ProSci RF16062							
线性从1:5的样品稀释度开始								
样品ID	血清1	血清2	血清3	血清4	血清5	血清6	血清7	血清8
1:10	103%	124%	104%	119%	**130%**	103%	**140%**	106%
1:20	112%	**135%**	111%	122%	121%	111%	**152%**	109%
1:40	109%	**138%**	113%	115%	115%	101%	**153%**	111%
线性从1:10的样品稀释度开始								
样品ID	血清1	血清2	血清3	血清4	血清5	血清6	血清7	血清8
1:20	109%	110%	106%	103%	94%	108%	108%	103%
1:40	106%	111%	108%	96%	89%	98%	109%	105%

图1

Enzo/ProSci线性

稀释度	样品ID	MFI	结果（pg/mL）	线性
1:10	血浆1	910	46	
	血浆2	397	20	
	血浆3	971	49	
	血浆4	735	37	
	血清1	577	29	
	血清2	934	47	
	血清3	682	34	
	血清4	676	34	
1:20	血浆1	445	22	**98%**
	血浆2	201	9.8	**98%**
	血浆3	545	28	**112%**
	血浆4	399	20	**108%**
	血清1	-	-	-
	血清2	-	-	-
	血清3	333	17	**97%**
	血清4	377	19	**111%**
1:40	血浆1	210	10	**89%**
	血浆2	104	4.5	**91%**
	血浆3	257	13	**104%**
	血浆4	203	9.9	**106%**
	血清1	173	8.3	**113%**
	血清2	267	13	**112%**
	血清3	186	9.0	**104%**
	血清4	193	9.3	**109%**
1:80	血浆1	109	4.8	**84%**
	血浆2	59	2.0	**81%**
	血浆3	142	6.6	**107%**
	血浆4	101	4.3	**94%**
	血清1	89	3.7	**101%**
	血清2	140	6.5	**110%**
	血清3	104	4.5	**106%**
	血清4	99	4.2	**99%**

图2A

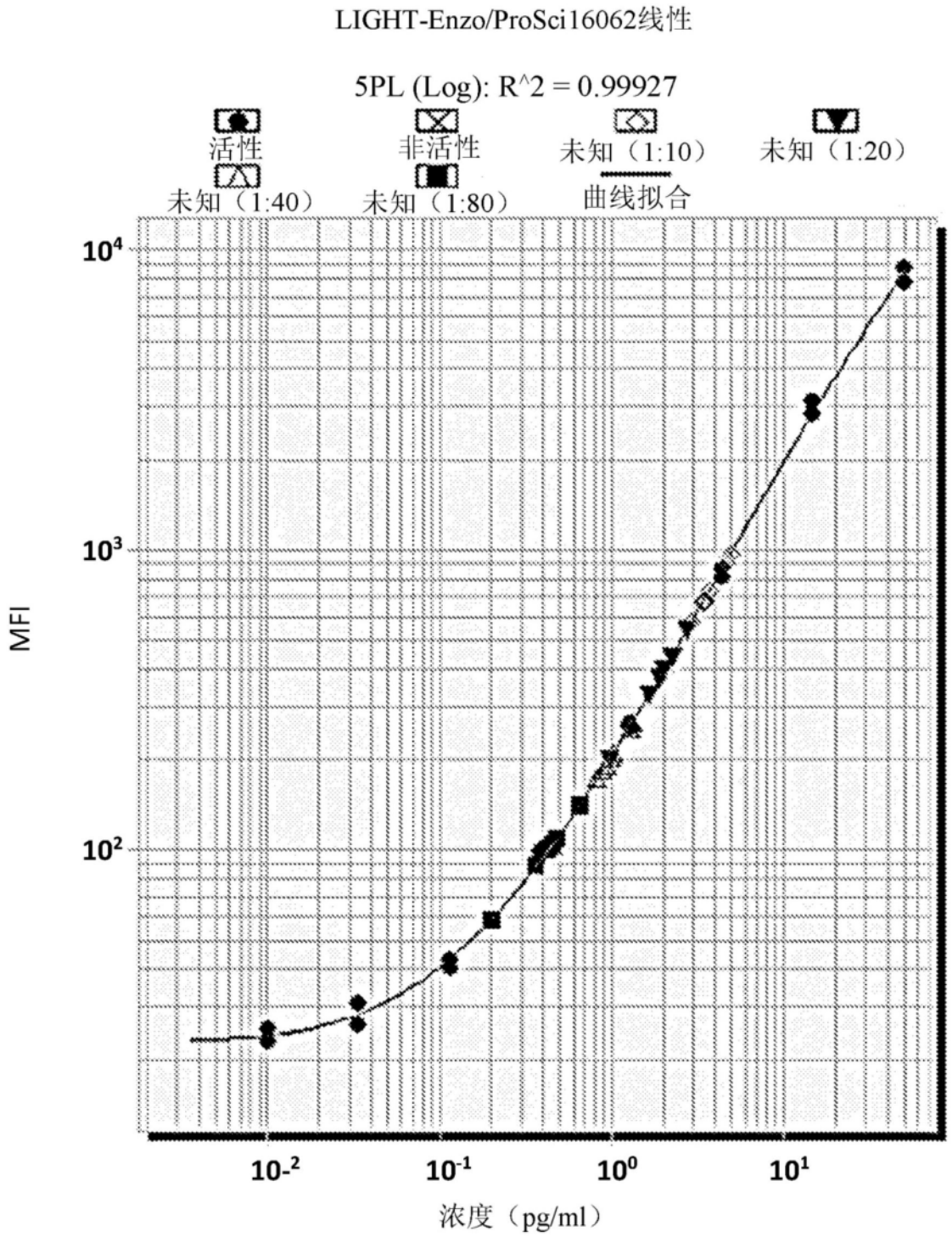
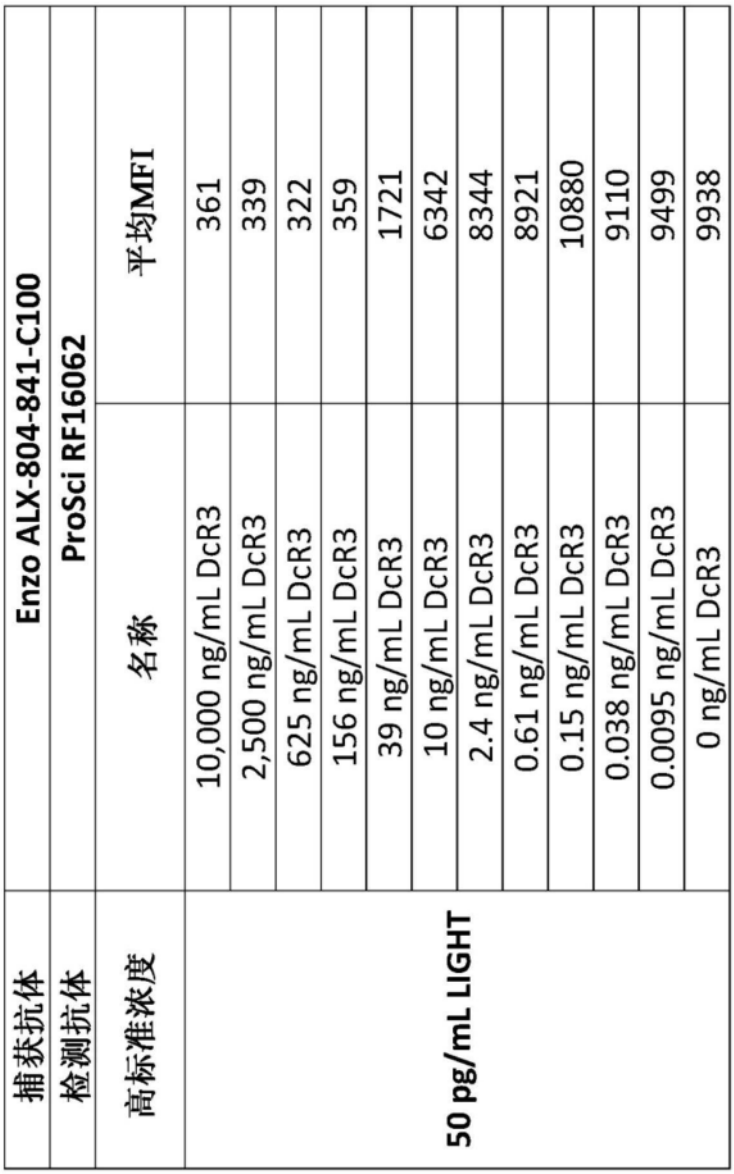

LIGHT-Enzo/ProSci16062线性
5PL (Log): R^2 = 0.99927
活性
非活性
未知（1:10）
未知（1:20）
未知（1:40）
未知（1:80）
曲线拟合
MFI
10^4
10^3
10^2
10^{-2}
10^{-1}
10^0
10^1
浓度（pg/ml）

图2B



捕获抗体	Enzo ALX-804-841-C100	
检测抗体	ProSci RF16062	
高标准浓度	名称	平均MFI
50 pg/mL LIGHT	10,000 ng/mL DcR3	361
	2,500 ng/mL DcR3	339
	625 ng/mL DcR3	322
	156 ng/mL DcR3	359
	39 ng/mL DcR3	1721
	10 ng/mL DcR3	6342
	2.4 ng/mL DcR3	8344
	0.61 ng/mL DcR3	8921
	0.15 ng/mL DcR3	10880
	0.038 ng/mL DcR3	9110
	0.0095 ng/mL DcR3	9499
	0 ng/mL DcR3	9938

图3

捕获抗体	Enzo ALX-804-841-C100		
检测抗体	ProSci RF16062		
未加标样品的MFI	DcR3（10 μg/mL）干扰	参考样品（对照）	恢复百分比-DcR3
血浆1（1:10）	625	832	75%
血浆2（1:10）	156	318	49%
血浆3（1:10）	412	837	49%
血浆4（1:10）	342	543	63%
血清1（1:10）	114	513	**22%**
血清2（1:10）	313	834	**38%**
血清3（1:10）	182	560	**32%**
血清4（1:10）	191	604	**32%**
加标样品（40 pg/mL LIGHT）的MFI	DcR3（10 μg/mL）干扰	参考样品（对照）	恢复百分比-DcR3
血浆1（1:10）	536	1563	34%
血浆2（1:10）	178	1065	17%
血浆3（1:10）	338	1521	22%
血浆4（1:10）	297	1437	21%
血清1（1:10）	108	1358	8%
血清2（1:10）	289	1467	20%
血清3（1:10）	165	1522	11%
血清4（1:10）	200	1627	12%

图4A

捕获抗体	ProSci RF16062		
检测抗体	LSBio LS-C133566-100		
未加标样品的MFI	DcR3（10 μg/mL）干扰	参考样品（对照）	恢复百分比-DcR3
血浆1（1:4）	364	421	86%
血浆2（1:4）	92	103	89%
血浆3（1:4）	226	277	82%
血浆4（1:4）	189	208	91%
血清1（1:4）	81	88	92%
血清2（1:4）	181	219	83%
血清3（1:4）	128	149	86%
血清4（1:4）	145	154	95%
加标样品（150 pg/mL LIGHT）的MFI	DcR3（10 μg/mL）干扰	参考样品（对照）	恢复百分比-DcR3
血浆1（1:4）	299	1170	26%
血浆2（1:4）	95	1508	6%
血浆3（1:4）	197	1400	14%
血浆4（1:4）	173	1284	13%
血清1（1:4）	73	1139	6%
血清2（1:4）	137	1183	12%
血清3（1:4）	124	1484	8%
血清4（1:4）	130	1371	10%

图4B

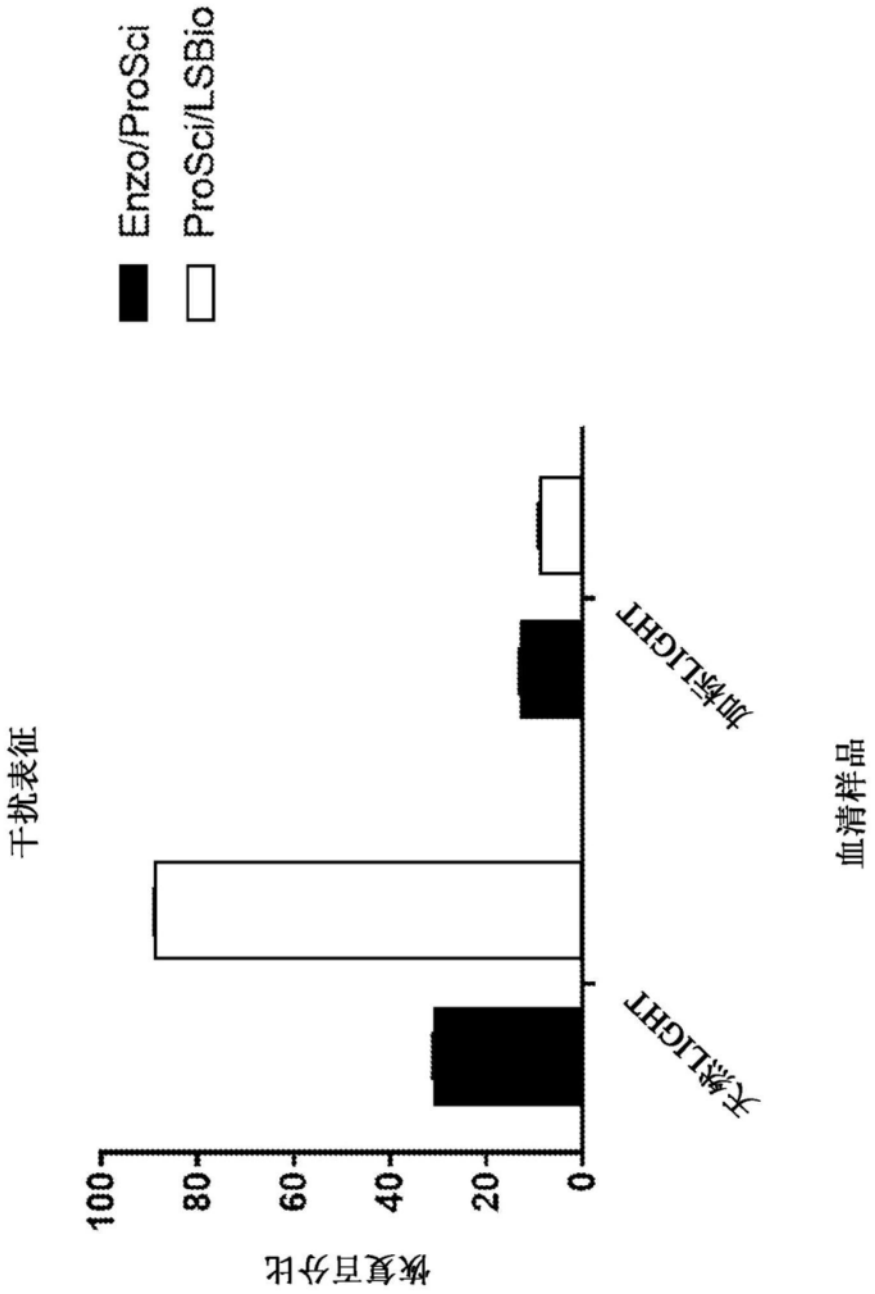

Enzo/ProSci
ProSci/LSBio
干扰表征
100
80
60
40
20
0
恢复百分比
无标LIGHT
加标LIGHT
血清样品

图4C

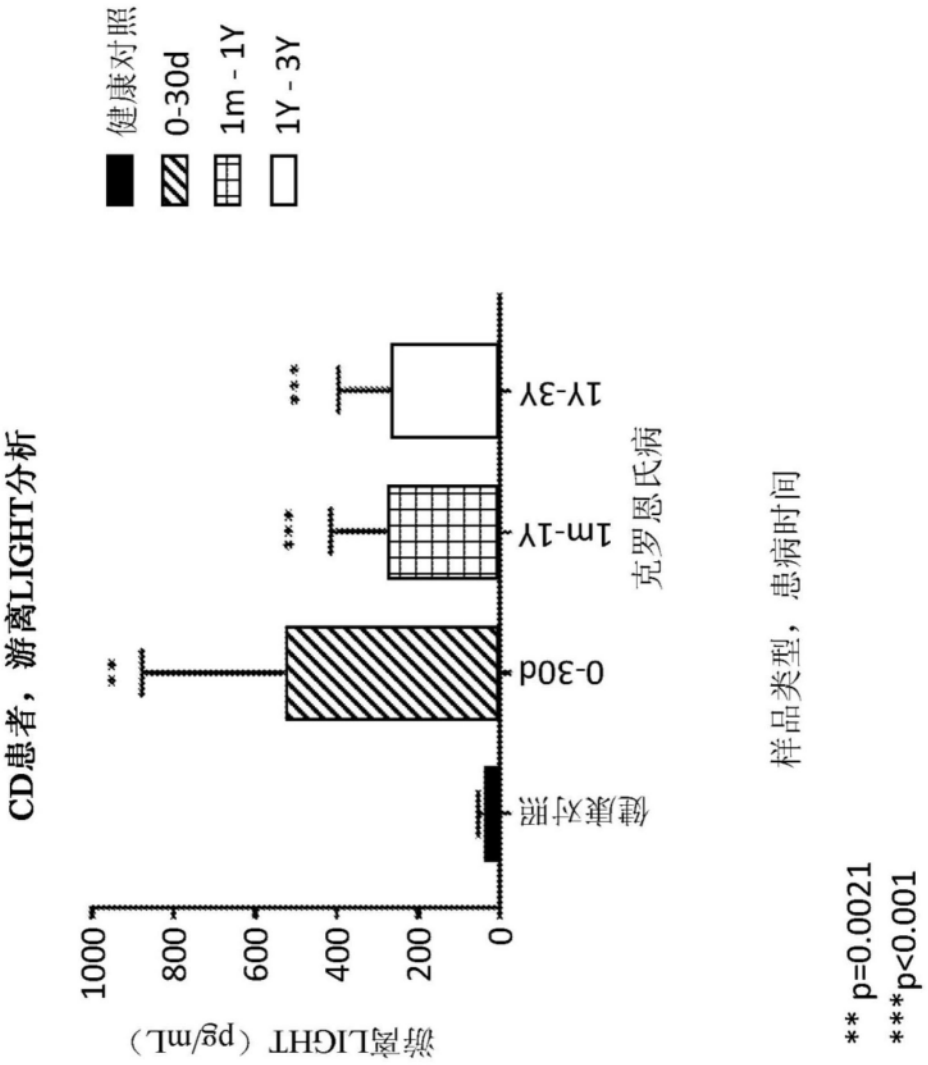

健康对照
0-30d
1m - 1Y
1Y - 3Y
CD患者，游离LIGHT分析
游离LIGHT（pg/mL）
1000
800
600
400
200
0
**
***
***
健康对照
0-30d
1m-1Y
1Y-3Y
克罗恩氏病
样品类型，患病时间
** p=0.0021
***p<0.001

图5

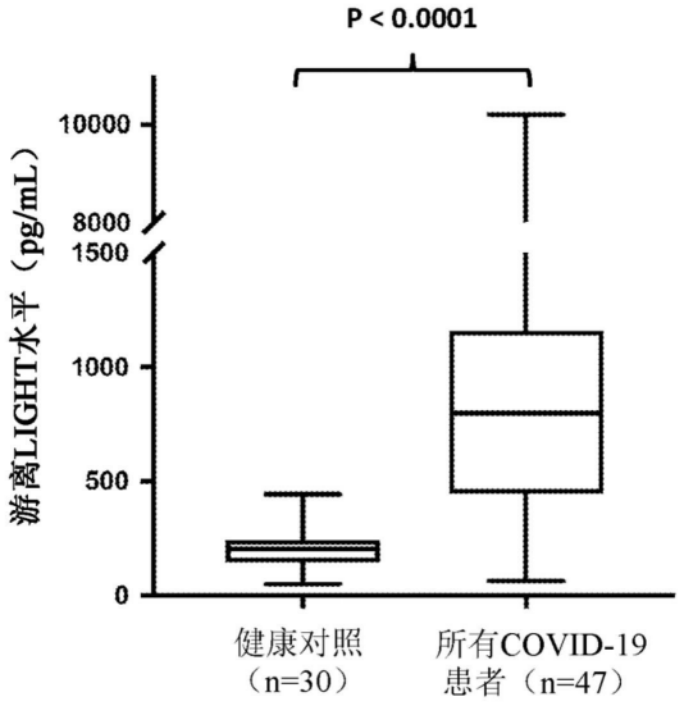

P < 0.0001
游离LIGHT水平（pg/mL）
10000
8000
1500
1000
500
0
健康对照
（n=30）
所有COVID-19
患者（n=47）

图6

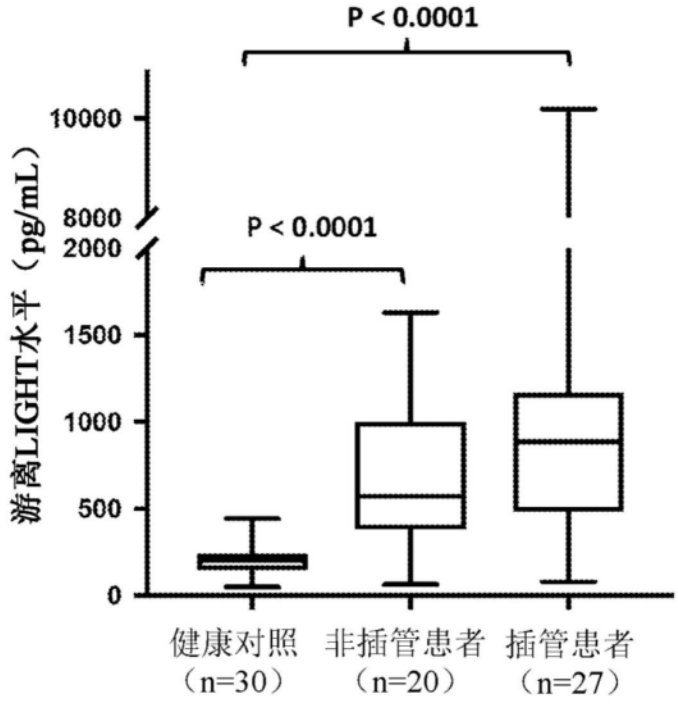

P < 0.0001
P < 0.0001
游离LIGHT水平（pg/mL）
10000
8000
2000
1500
1000
500
0
健康对照
（n=30）
非插管患者
（n=20）
插管患者
（n=27）

图7

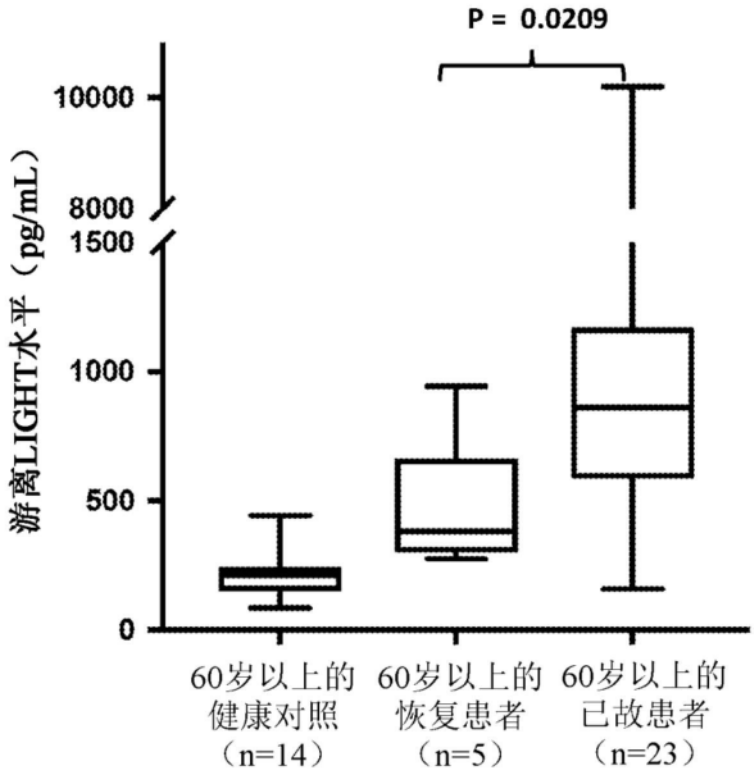

P = 0.0209
游离LIGHT水平（pg/mL）
10000
8000
1500
1000
500
0
60岁以上的健康对照（n=14）
60岁以上的恢复患者（n=5）
60岁以上的已故患者（n=23）

图8

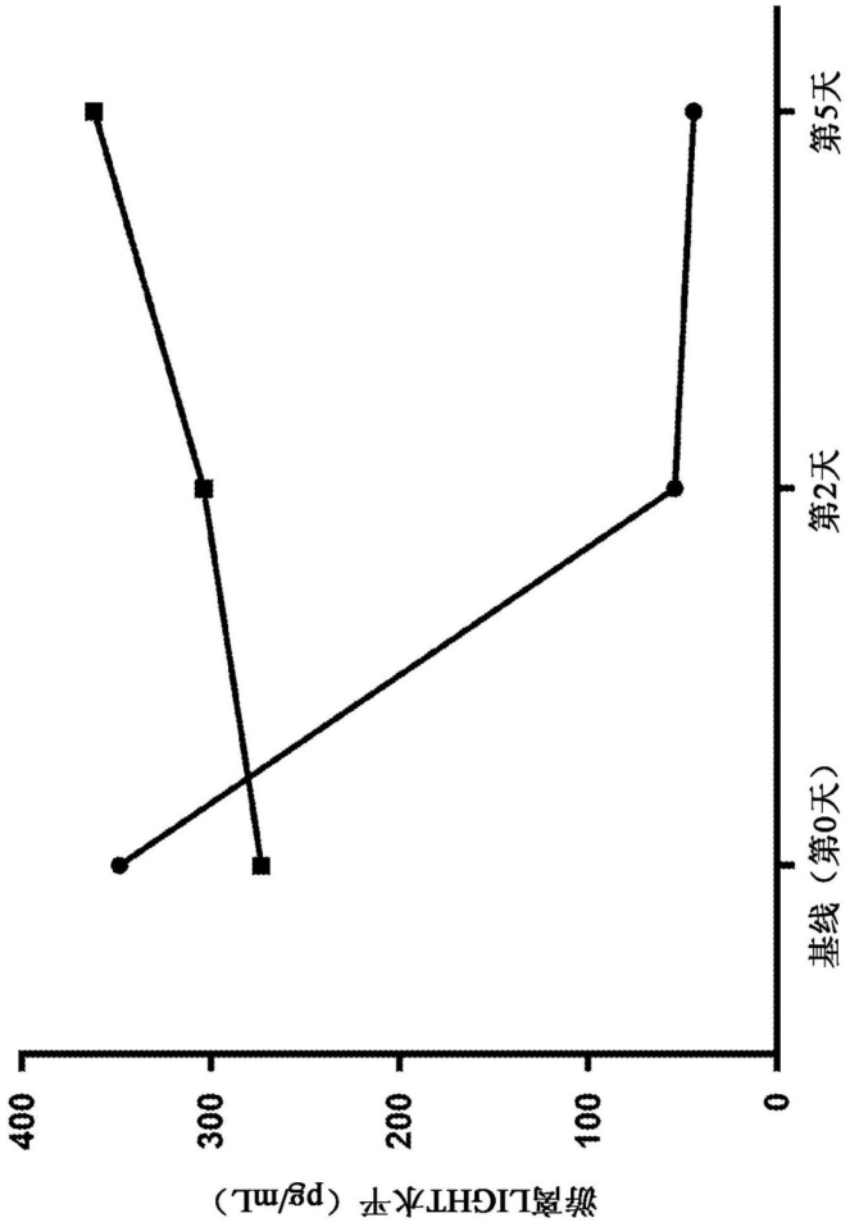


图9

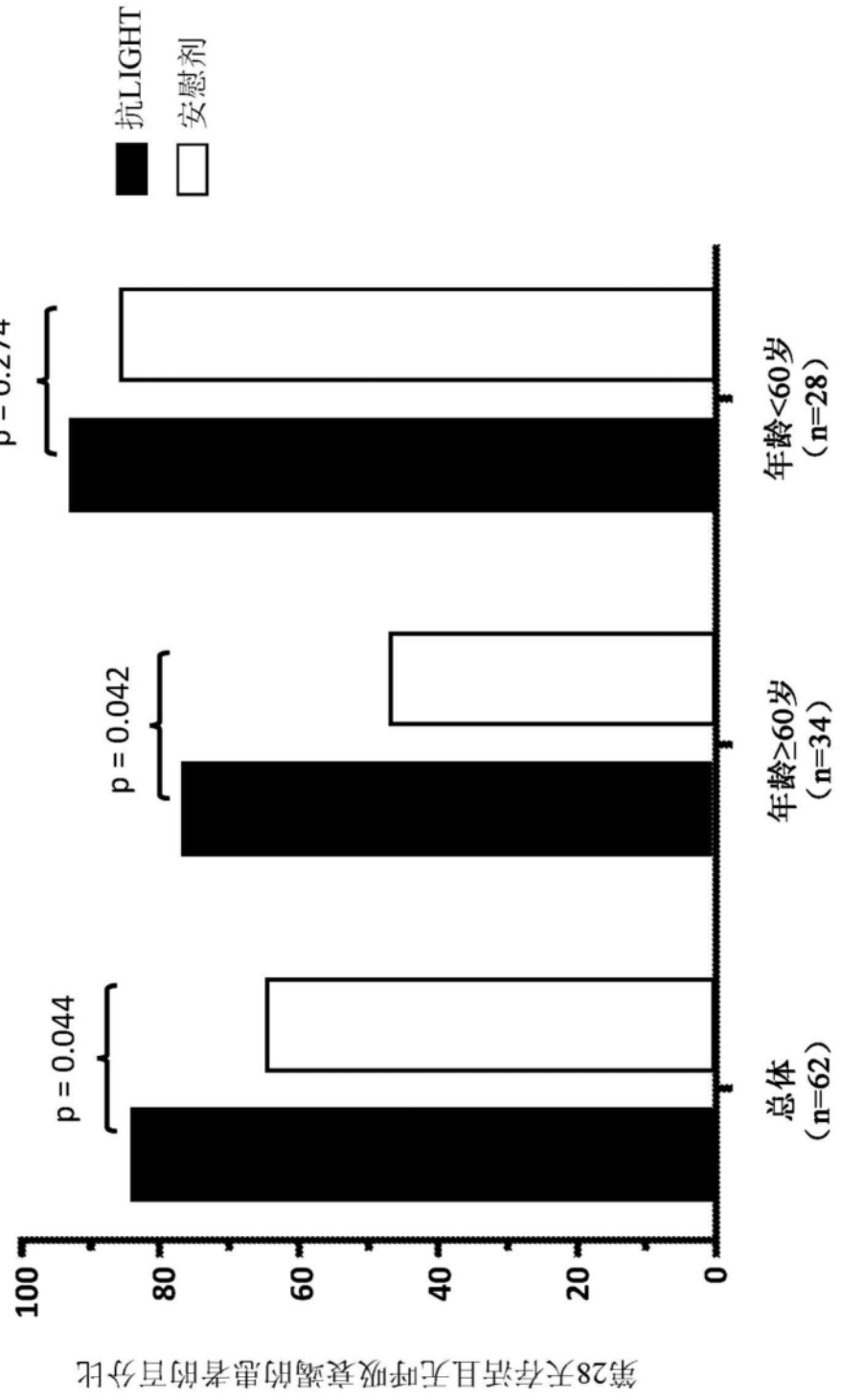

抗LIGHT
安慰剂
p = 0.274
p = 0.042
p = 0.044
年龄<60岁
（n=28）
年龄≥60岁
（n=34）
总体
（n=62）
0
20
40
60
80
100
第28天存活且无呼吸衰竭的患者的百分比

图10

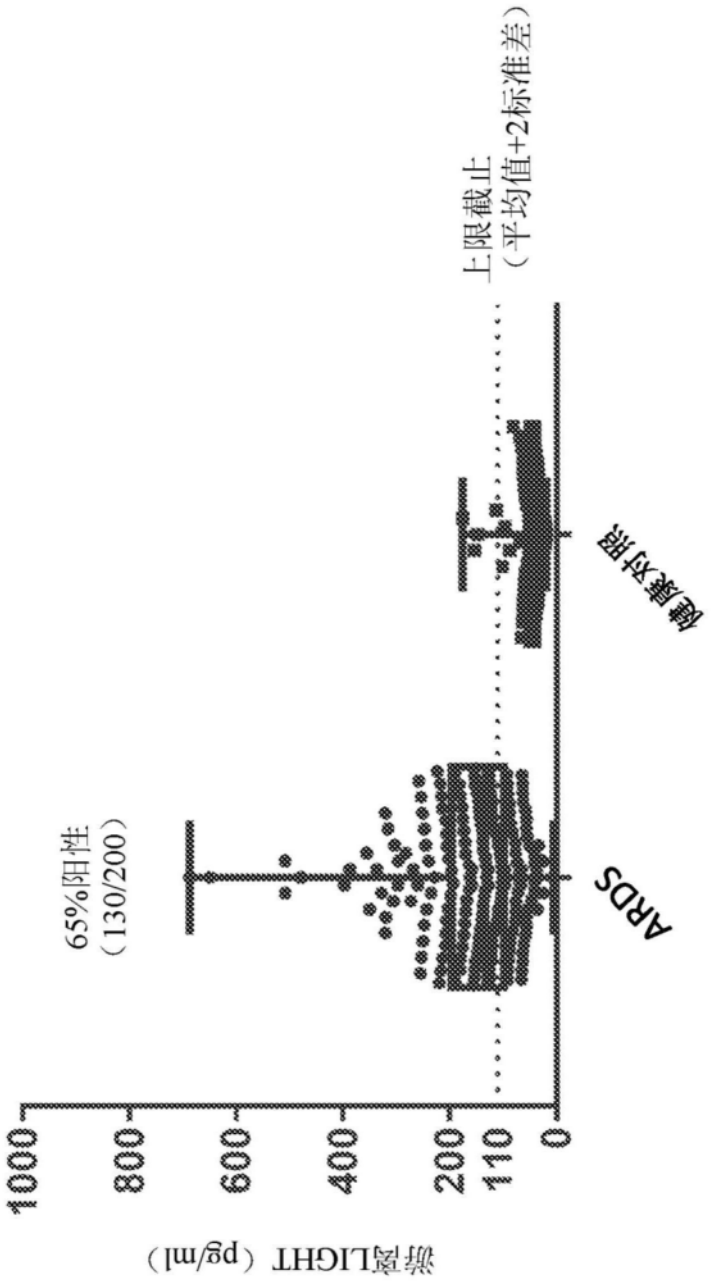

游离LIGHT（pg/ml）
1000
800
600
400
200
110
0
65%阳性
（130/200）
上限截止
（平均值+2标准差）
ARDS
健康对照

图11