



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109475623 B

(45) 授权公告日 2023.05.26

(21) 申请号 201780032450.0

(22) 申请日 2017.04.27

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109475623 A

(43) 申请公布日 2019.03.15

(30) 优先权数据
62/328,959 2016.04.28 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.11.26

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/029802 2017.04.27

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/189827 EN 2017.11.02

(73) 专利权人 比奥根MA公司
地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 M.R.H.克雷布斯 D.戴 S.苏尔
D.拉巴 D.马丁

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105
专利代理师 易方方

(51) Int.Cl.
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 105452295 A, 2016.03.30
CN 105452295 A, 2016.03.30
CN 1798575 A, 2006.07.05

审查员 李紫嘉

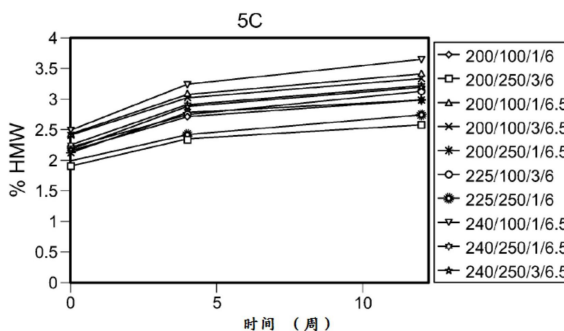
权利要求书5页 说明书35页
序列表10页 附图15页

(54) 发明名称

用于临床使用抗血树突细胞抗原2抗体的药物组合物和给药方案

(57) 摘要

提供了抗血树突细胞抗原2 (BDCA2) 抗体的制剂和给药方案。这些制剂和给药方案可用于治疗BDCA2相关病症,例如全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮和盘状红斑狼疮,以及细胞因子释放综合征。



1. 一种药物组合物,其包含:

浓度为125 mg/ml至175 mg/ml的抗血树突细胞抗原2 (BDCA2) 抗体;

浓度为1%-5%的蔗糖;

浓度为0.02 mM至2 mM的含巯基的抗氧化剂,其中所述含巯基的抗氧化剂是GSH和GSSG的组合;

浓度为15 mM至25 mM的组氨酸;

浓度为0.03%至0.08%的聚山梨醇酯-80 (PS80);和

浓度为75 mM至125 mM的精氨酸盐酸盐 (Arg.HCl),其中所述抗BDCA2抗体包含免疫球蛋白重链可变结构域 (VH) 和免疫球蛋白轻链可变结构域 (VL),所述VH包含VH互补决定区 CDR1、CDR2和CDR3,所述VL包含VL CDR1、CDR2和CDR3,其中:

(i) (a) 所述VH-CDR1由SEQ ID NO: 1或17所示的氨基酸序列组成;

所述VH-CDR2由SEQ ID NO: 2所示的氨基酸序列组成;和

所述VH-CDR3由SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列组成;并且其中

(b) 所述VL-CDR1由SEQ ID NO: 4所示的氨基酸序列组成;

所述VL-CDR2由SEQ ID NO: 5所示的氨基酸序列组成;和

所述VL-CDR3由SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列组成;或者

(ii) (a) 所述VH-CDR1由SEQ ID NO: 11所示的氨基酸序列组成;

所述VH-CDR2由SEQ ID NO: 12所示的氨基酸序列组成;和

所述VH-CDR3由SEQ ID NO: 13所示的氨基酸序列组成;并且其中

(b) 所述VL-CDR1由SEQ ID NO: 14所示的氨基酸序列组成;

所述VL-CDR2由SEQ ID NO: 15所示的氨基酸序列组成;和

所述VL-CDR3由SEQ ID NO: 16所示的氨基酸序列组成;或者

(iii) (a) 所述VH-CDR1由SEQ ID NO: 17所示的氨基酸序列组成;

所述VH-CDR2由SEQ ID NO: 18所示的氨基酸序列组成;和

所述VH-CDR3由SEQ ID NO: 19所示的氨基酸序列组成;并且其中

(b) 所述VL-CDR1由SEQ ID NO: 20所示的氨基酸序列组成;

所述VL-CDR2由SEQ ID NO: 21所示的氨基酸序列组成;和

所述VL-CDR3由SEQ ID NO: 22所示的氨基酸序列组成;或者

(iv) (a) 所述VH-CDR1由SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列组成;

所述VH-CDR2由SEQ ID NO: 24所示的氨基酸序列组成;和

所述VH-CDR3由SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列组成;并且其中

(b) 所述VL-CDR1由SEQ ID NO: 26所示的氨基酸序列组成;

所述VL-CDR2由SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列组成;和

所述VL-CDR3由SEQ ID NO: 28所示的氨基酸序列组成,并且

其中所述药物组合物的pH为5.0至6.0。

2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中:

(a) 所述VH-CDR1由SEQ ID NO: 1或17所示的氨基酸序列组成;

所述VH-CDR2由SEQ ID NO: 2所示的氨基酸序列组成;和

所述VH-CDR3由SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列组成;并且其中

- (b) 所述VL-CDR1由SEQ ID NO: 4所示的氨基酸序列组成；
所述VL-CDR2由SEQ ID NO: 5所示的氨基酸序列组成；和
所述VL-CDR3由SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列组成。
3. 根据权利要求1或2所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为5.3至5.7。
4. 根据权利要求1或2所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为5.7。
5. 根据权利要求1所述的药物组合物,其包含:
浓度为150 mg/ml的所述抗BDCA2抗体;
浓度为3%的蔗糖;
浓度为20 mM的组氨酸;
浓度为0.4 mM的含巯基的抗氧化剂;
浓度为100 mM的Arg.HCl;和
浓度为0.05%的PS80,
其中所述药物组合物的pH为5.7。
6. 根据权利要求1、2或5中任一项所述的药物组合物,其中:
(i) 所述VH由与SEQ ID NO: 7具有至少80%同一性的序列组成,并且所述VL由与SEQ ID NO: 8具有至少80%同一性的序列组成;
(ii) 所述VH由与SEQ ID NO: 7具有至少90%同一性的序列组成,并且所述VL由与SEQ ID NO: 8具有至少90%同一性的序列组成;或
(iii) 所述VH由SEQ ID NO: 7所示的氨基酸序列组成,并且所述VL由SEQ ID NO: 8所示的氨基酸序列组成。
7. 根据权利要求1、2或5中任一项所述的药物组合物,其中所述VH由SEQ ID NO: 7所示的氨基酸序列组成,所述VL由SEQ ID NO: 8所示的氨基酸序列组成。
8. 根据权利要求1、2或5中任一项所述的药物组合物,其中所述抗BDCA2抗体包含免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,其中:
(i) 所述重链由与SEQ ID NO: 9具有至少80%同一性的序列组成,并且所述轻链由与SEQ ID NO: 10具有至少80%同一性的序列组成;
(ii) 所述重链由与SEQ ID NO: 9具有至少90%同一性的序列组成,并且所述轻链由与SEQ ID NO: 10具有至少90%同一性的序列组成;或
(iii) 所述重链由SEQ ID NO: 9所示的氨基酸序列组成,并且所述轻链由SEQ ID NO: 10所示的氨基酸序列组成。
9. 根据权利要求1、2或5中任一项所述的药物组合物,其中所述抗BDCA2抗体包含免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,其中所述重链由SEQ ID NO: 9所示的氨基酸序列组成,并且所述轻链由SEQ ID NO: 10所示的氨基酸序列组成。
10. 权利要求1、2或5中任一项所述的药物组合物在制备用于在有需要的人受试者中治疗选自全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、狼疮性肾炎、干燥综合征、皮炎、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的药物中的用途,包括向所述人受试者施用权利要求1、2或5中任一项所述的药物组合物。
11. 根据权利要求10所述的用途,其中所述药物被制备成适于皮下施用的剂型。
12. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述

抗BDCA2抗体以每四周50 mg的剂量向所述人受试者施用。

13. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周150 mg的剂量向所述人受试者施用。

14. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周450 mg的剂量向所述人受试者施用。

15. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每两周450 mg的剂量向所述人受试者施用。

16. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周450 mg的剂量向所述人受试者施用,其中在施用所述抗BDCA2抗体的第一个剂量后2周,向所述人受试者施用450 mg的另一剂量的所述BDCA2抗体。

17. 根据权利要求11至16中任一项所述的用途,其中所述病症是全身性红斑狼疮。

18. 根据权利要求11至16中任一项所述的用途,其中所述病症是皮肤红斑狼疮。

19. 根据权利要求11至16中任一项所述的用途,其中所述病症是盘状红斑狼疮。

20. 根据权利要求11至16中任一项所述的用途,其中所述病症是狼疮性肾炎。

21. 根据权利要求15所述的用途,其中所述病症是狼疮性肾炎。

22. 根据权利要求11至16中任一项所述的用途,其中所述病症是硬皮病。

23. 根据权利要求18所述的用途,其中所述人受试者还患有全身性红斑狼疮。

24. 根据权利要求18所述的用途,其中所述人受试者未患有全身性红斑狼疮。

25. 根据权利要求19所述的用途,其中所述人受试者还患有全身性红斑狼疮。

26. 根据权利要求19所述的用途,其中所述人受试者未患有全身性红斑狼疮。

27. 根据权利要求11至16中任一项所述的用途,其中所述病症是细胞因子释放综合征。

28. 根据权利要求11至16中任一项所述的用途,其中所述病症是干燥综合征。

29. 根据权利要求11至16中任一项所述的用途,其中所述病症是皮炎。

30. 一种注射器、注入器或泵,其包含权利要求1、2或5中任一项所述的药物组合物的无菌制剂,其适于以50 mg、150 mg或450 mg的固定剂量皮下施用所述抗BDCA2抗体。

31. 根据权利要求30所述的注射器、注入器或泵,其适用于以450 mg的固定剂量皮下施用所述抗BDCA2抗体。

32. 根据权利要求30所述的注射器、注入器或泵,其中所述注入器是自动注入器或皮下大容量注入器。

33. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以如下所述对应于所述人受试者的体重的剂量向所述人受试者施用:

体重	剂量
10至18 kg	每四周18 mg
18.1至25 kg	每四周22 mg
25.1至48 kg	每四周28 mg
大于48 kg	每四周50 mg。

34. 根据权利要求11所述的用途,其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以如下所述对应于所述人受试者的体重的剂量向所述人受试者施用:

体重	剂量
----	----

10至18 kg	每四周40 mg
18.1至25 kg	每四周56 mg
25.1至48 kg	每四周80 mg
大于48 kg	每四周150 mg。

35. 权利要求7所述的药物组合物在制备用于在有需要的人受试者中治疗选自由全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、狼疮性肾炎、干燥综合征、皮炎、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的药物中的用途, 包括向所述人受试者施用权利要求7所述的药物组合物。

36. 根据权利要求35所述的用途, 其中所述药物被制备成适于皮下施用的剂型。

37. 根据权利要求36所述的用途, 其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周50 mg的剂量向所述人受试者施用。

38. 根据权利要求36所述的用途, 其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周150 mg的剂量向所述人受试者施用。

39. 根据权利要求36所述的用途, 其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周450 mg的剂量向所述人受试者施用。

40. 根据权利要求36所述的用途, 其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每两周450 mg的剂量向所述人受试者施用。

41. 根据权利要求36所述的用途, 其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周450 mg的剂量向所述人受试者施用, 其中在施用所述抗BDCA2抗体的第一个剂量后2周, 向所述人受试者施用450 mg的另一剂量的所述BDCA2抗体。

42. 根据权利要求36至41中任一项所述的用途, 其中所述病症是全身性红斑狼疮。

43. 根据权利要求36至41中任一项所述的用途, 其中所述病症是皮肤红斑狼疮。

44. 根据权利要求36至41中任一项所述的用途, 其中所述病症是盘状红斑狼疮。

45. 根据权利要求36至41中任一项所述的用途, 其中所述病症是狼疮性肾炎。

46. 根据权利要求40所述的用途, 其中所述病症是狼疮性肾炎。

47. 根据权利要求36至41中任一项所述的用途, 其中所述病症是硬皮病。

48. 根据权利要求36至41中任一项所述的用途, 其中所述病症是细胞因子释放综合征。

49. 根据权利要求36至41中任一项所述的用途, 其中所述病症是干燥综合征。

50. 根据权利要求36至41中任一项所述的用途, 其中所述病症是皮炎。

51. 权利要求9所述的药物组合物在制备用于在有需要的人受试者中治疗选自由全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、狼疮性肾炎、干燥综合征、皮炎、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的药物中的用途, 包括向所述人受试者施用权利要求9所述的药物组合物。

52. 根据权利要求51所述的用途, 其中所述药物被制备成适于皮下施用的剂型。

53. 根据权利要求52所述的用途, 其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周50 mg的剂量向所述人受试者施用。

54. 根据权利要求52所述的用途, 其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周150 mg的剂量向所述人受试者施用。

55. 根据权利要求52所述的用途, 其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述

抗BDCA2抗体以每四周450 mg的剂量向所述人受试者施用。

56. 根据权利要求52所述的用途,其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每两周450 mg的剂量向所述人受试者施用。

57. 根据权利要求52所述的用途,其中所述药物被制备成使得所述药物组合物的所述抗BDCA2抗体以每四周450 mg的剂量向所述人受试者施用,其中在施用所述抗BDCA2抗体的第一个剂量后2周,向所述人受试者施用450 mg的另一剂量的所述BDCA2抗体。

58. 根据权利要求52至57中任一项所述的用途,其中所述病症是全身性红斑狼疮。

59. 根据权利要求52至57中任一项所述的用途,其中所述病症是皮肤红斑狼疮。

60. 根据权利要求52至57中任一项所述的用途,其中所述病症是盘状红斑狼疮。

61. 根据权利要求52至57中任一项所述的用途,其中所述病症是狼疮性肾炎。

62. 根据权利要求56所述的用途,其中所述病症是狼疮性肾炎。

63. 根据权利要求52至57中任一项所述的用途,其中所述病症是硬皮病。

64. 根据权利要求52至57中任一项所述的用途,其中所述病症是细胞因子释放综合征。

65. 根据权利要求52至57中任一项所述的用途,其中所述病症是干燥综合征。

66. 一种注射器、注入器或泵,其包含权利要求7所述的药物组合物的无菌制剂,其适于以50 mg、150 mg或450 mg的固定剂量皮下施用所述抗BDCA2抗体。

67. 根据权利要求66所述的注射器、注入器或泵,其适用于以450 mg的固定剂量皮下施用所述抗BDCA2抗体。

68. 根据权利要求67所述的注射器、注入器或泵,其中所述注入器是自动注入器或皮下大容量注入器。

69. 一种注射器、注入器或泵,其包含权利要求9所述的药物组合物的无菌制剂,其适于以50 mg、150 mg或450 mg的固定剂量皮下施用所述抗BDCA2抗体。

70. 根据权利要求69所述的注射器、注入器或泵,其适用于以450 mg的固定剂量皮下施用所述抗BDCA2抗体。

71. 根据权利要求70所述的注射器、注入器或泵,其中所述注入器是自动注入器或皮下大容量注入器。

用于临床使用抗血树突细胞抗原2抗体的药物组合物和给药方案

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2016年4月28日提交的美国专利申请No.62/328,959的优先权,其内容通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 本申请一般涉及用于临床使用抗血树突细胞抗原2抗体的药物组合物和给药方案。

背景技术

[0004] 血树突细胞抗原2 (BDCA2) 是在人浆细胞样树突细胞 (pDC) 上表达的C型凝集素 (Dzionic等, J. Immunol., 165:6037-6046 (2000)), 人浆细胞样树突细胞 (pDC) 是响应于 toll样受体 (TLR) 配体而分泌I型干扰素 (IFN) 的特化骨髓衍生细胞群体。BDCA2由其C末端的属于II型C型凝集素组的单个胞外碳水化合物识别结构域 (CRD)、跨膜区域和其N末端的不含信号传导基序的短胞质尾部组成。BDCA2通过相关的跨膜衔接子FcεRI γ 传递细胞内信号,并诱导B细胞受体 (BCR) 样信号传导级联。

发明内容

[0005] 本公开部分涉及抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的组合物和给药方案,及其在治疗BDCA2相关病症如全身性红斑狼疮 (SLE)、皮肤红斑狼疮 (CLE) 和盘状红斑狼疮 (DLE) 中的用途。

[0006] 在一个方面,本公开的特征在于包含抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段、蔗糖和精氨酸盐酸盐 (Arg.HCl) 的药物组合物。

[0007] 在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域 (VH) 和免疫球蛋白轻链可变结构域 (VL), 所述VH和VL包含BIIB059的CDR。在一些情况下, BIIB059的六个CDR包含以下所示的氨基酸序列或由其组成: SEQ ID NO:1或17; SEQ ID NO:2; SEQ ID NO:3; SEQ ID NO:4; SEQ ID NO:5; 和SEQ ID NO:6。

[0008] 在一些实施方案中,组合物包含浓度为50mg/ml至225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一些实施方案中,组合物包含浓度为125mg/ml至175mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些实施方案中,组合物包含浓度为150mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。

[0009] 在一些实施方案中,组合物包含浓度为0.05%至10%的蔗糖。在另一些实施方案中,组合物包含浓度为1%至5%的蔗糖。在某些实施方案中,组合物包含浓度为3%的蔗糖。

[0010] 在一些实施方案中,组合物包含浓度为50mM至250mM的Arg.HCl。在另一些实施方案中,组合物包含浓度为75mM至125mM的Arg.HCl。在某些实施方案中,组合物包含浓度为100mM的Arg.HCl。

[0011] 在一些实施方案中,组合物还包含聚山梨醇酯-80 (PS80)。在一些实施方案中,组合物包含浓度为0.01%至0.1%的PS80。在另一些实施方案中,组合物包含浓度为0.03%至0.08%的PS80。在某些实施方案中,组合物包含浓度为0.05%的PS80。

[0012] 在一些实施方案中,组合物还包含组氨酸。在一些实施方案中,组合物包含浓度为5mM至50mM的组氨酸。在另一些实施方案中,组合物包含浓度为15mM至25mM的组氨酸。在某些实施方案中,组合物包含浓度为20mM的组氨酸。

[0013] 在一些实施方案中,组合物的pH为5.3至5.7。在另一些实施方案中,组合物的pH为5.5。

[0014] 在一些实施方案中,组合物还包含甲硫氨酸。在一些实施方案中,组合物包含浓度为1mM至20mM的甲硫氨酸。在另一些实施方案中,组合物包含浓度为5mM至15mM的甲硫氨酸。在某些实施方案中,组合物包含浓度为10mM的甲硫氨酸。

[0015] 在一些实施方案中,组合物还包含谷氨酸。在一些实施方案中,组合物包含浓度为50mM至100mM的谷氨酸。在另一些实施方案中,组合物包含浓度为50mM至80mM的谷氨酸。在某些实施方案中,组合物包含浓度为70mM的谷氨酸。

[0016] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为125mg/ml至175mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段;浓度为1%至5%的蔗糖;浓度为15mM至25mM的组氨酸;浓度为75mM至125mM的Arg.HCl;和浓度为0.03%至0.08%的PS80。组合物的pH为5.3至5.7。在某些实施方案中,组合物还包含浓度为5mM至15mM的甲硫氨酸。在某些实施方案中,组合物还包含浓度为60mM至80mM的谷氨酸。

[0017] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为150mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段;浓度为3%的蔗糖;浓度为20mM的组氨酸;浓度为100mM的Arg.HCl;和浓度为0.05%的PS80。组合物的pH为5.5。在某些实施方案中,组合物还包含浓度为10mM的甲硫氨酸。在某些实施方案中,组合物还包含浓度为70mM的谷氨酸。

[0018] 在一些实施方案中,VH包含与SEQ ID NO:7具有至少80%同一性的序列或由其组成,并且VL包含与SEQ ID NO:8具有至少80%同一性的序列或由其组成。在一些实施方案中,VH包含与SEQ ID NO:7具有至少90%同一性的序列或由其组成,并且VL包含与SEQ ID NO:8具有至少90%同一性的序列或由其组成。在某些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:7的序列或由其组成,并且VL包含SEQ ID NO:8的序列或由其组成。

[0019] 在一些实施方案中,抗BDCA2抗体包含免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链。在某些情况下,重链包含与SEQ ID NO:9具有至少80%同一性的序列或由其组成,并且轻链包含与SEQ ID NO:10具有至少80%同一性的序列或由其组成。在另一些情况下,重链包含与SEQ ID NO:9具有至少90%同一性的序列或由其组成,并且轻链包含与SEQ ID NO:10具有至少90%同一性的序列或由其组成。在另一些情况下,重链包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,并且轻链包含SEQ ID NO:10的序列或由其组成。

[0020] 另一方面,本公开的特征在于在有需要的人受试者中治疗选自由全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、干燥综合征、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的方法。该方法包括向人受试者施用本文所述的药物组合物。

[0021] 在一些实施方案中,向人受试者皮下施用药物组合物。

[0022] 在某些实施方案中,药物组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以每四周50mg

的剂量向人受试者施用。

[0023] 在某些实施方案中,药物组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以每四周150mg的剂量向人受试者施用。

[0024] 在另一些实施方案中,药物组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以每四周450mg的剂量向人受试者施用。

[0025] 另一方面,本公开提供了在有需要的人受试者中治疗选自由全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、干燥综合征、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的方法。所述方法包括以每四周50mg的剂量向所述人受试者皮下施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。所述抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL)。所述VH和VL分别包含:

[0026] VH互补决定区(CDR),其中H-CDR1由SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列组成;H-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和H-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及

[0027] VL CDR,其中L-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;L-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和L-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。

[0028] 在一些实施方案中,在抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的第一次施用后两周,向人受试者施用负荷剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些情况下,负荷剂量为50mg。

[0029] 另一方面,本公开提供了在有需要的人受试者中治疗选自由全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、干燥综合征、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的方法。所述方法包括以每四周150mg的剂量向所述人受试者皮下施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。所述抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL)。所述VH和VL分别包含:

[0030] VH互补决定区(CDR),其中H-CDR1由SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列组成;H-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和H-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及

[0031] VL CDR,其中L-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;L-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和L-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。

[0032] 在一些实施方案中,在抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的第一次施用后两周,向人受试者施用负荷剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些情况下,负荷剂量为150mg。

[0033] 另一方面,本公开提供了在有需要的人受试者中治疗选自由全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、干燥综合征、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的方法。所述方法包括以每四周450mg的剂量向所述人受试者皮下施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。所述抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL)。所述VH和VL分别包含:VH互补决定区(CDR),其中H-CDR1由SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列组成;H-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和H-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中L-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;L CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和

L-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。

[0034] 在一些实施方案中,在抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的第一次施用后两周,向人受试者施用负荷剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些情况下,负荷剂量为450mg。

[0035] 这些实施方案适用于所有上述方法。在一些实施方案中,向人受试者施用抗BDCA2抗体或其抗原结合片段的至少4个剂量。在一些实施方案中,向人受试者施用抗BDCA2抗体或其抗原结合片段的至少7个剂量。在某些实施方案中,向人受试者施用抗BDCA2抗体或其抗原结合片段的至少10个剂量。在一些实施方案中,VH包含与SEQ ID NO:7具有至少80%同一性的序列或由其组成,并且VL包含与SEQ ID NO:8具有至少80%同一性的序列或由其组成。在一些实施方案中,VH包含与SEQ ID NO:7具有至少90%同一性的序列或由其组成,并且VL包含与SEQ ID NO:8具有至少90%同一性的序列或由其组成。在一些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:7的序列或由其组成,并且VL包含SEQ ID NO:8的序列或由其组成。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体包含免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链。在某些情况下,重链包含与SEQ ID NO:9具有至少80%同一性的序列或由其组成,并且轻链包含与SEQ ID NO:10具有至少80%同一性的序列或由其组成。在另一些情况下,重链包含与SEQ ID NO:9具有至少90%同一性的序列或由其组成,并且轻链包含与SEQ ID NO:10具有至少90%同一性的序列或由其组成。在另一些情况下,重链包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,并且轻链包含SEQ ID NO:10的序列或由其组成。在某些实施方案中,所述病症是全身性红斑狼疮。在另一些实施方案中,所述病症是皮肤红斑狼疮(有或没有SLE)。在一些实施方案中,所述病症是盘状红斑狼疮(有或没有SLE)。在某些实施方案中,所述病症是细胞因子释放综合征。

[0036] 在另一方面,本公开的特征在于包含本文所述的药物组合物的无菌制剂的注射器(syringe)、注入器(injector)(例如,自动注入器、皮下大容量注入器)或泵,其适于以50mg、150mg或450mg的固定剂量皮下施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。

[0037] 在另一个方面,本公开提供了包含抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的无菌制剂的注射器、注入器或泵。所述注射器或泵适于以50mg、150mg或450mg的固定剂量皮下施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。所述抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL)。所述VH和VL分别包含:VH互补决定区(CDR),其中H-CDR1由SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列组成;H-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和H-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中L-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;L-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和L-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。

[0038] 在一些实施方案中,VH包含与SEQ ID NO:7具有至少80%同一性的序列或由其组成,并且VL包含与SEQ ID NO:8具有至少80%同一性的序列或由其组成。在一些实施方案中,VH包含与SEQ ID NO:7具有至少90%同一性的序列或由其组成,并且VL包含与SEQ ID NO:8具有至少90%同一性的序列或由其组成。在一些实施方案中,VH包含SEQ ID NO:7的序列或由其组成,并且VL包含SEQ ID NO:8的序列或由其组成。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体包含免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链。在某些情况下,重链包含与SEQ ID NO:9具有至少80%同一性的序列或由其组成,并且轻链包含与SEQ ID NO:10具有至少80%同一性的序列或由其组成。在另一些情况下,重链包含与SEQ ID NO:9具有至少90%同一性的序列或由其组成。

其组成,并且轻链包含与SEQ ID NO:10具有至少90%同一性的序列或由其组成。在另一些情况下,重链包含SEQ ID NO:9的序列或由其组成,并且轻链包含SEQ ID NO:10的序列或由其组成。

[0039] 另一方面,本公开提供了包含抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段、蔗糖和精氨酸盐酸盐(Arg.HCl)的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为5.0至6.5。在该方面的某些实施方案中,蔗糖不是药物组合物的一部分。

[0040] 在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL),VH和VL包含BIIIB059的CDR。在一些情况下,BIIIB059的六个CDR包含以下所示的氨基酸序列或由其组成:SEQ ID NO:1或17;SEQ ID NO:2;SEQ ID NO:3;SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5;和SEQ ID NO:6。

[0041] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为50mg/ml至225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为125mg/ml至175mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一些实施方案中,药物组合物包含浓度为150mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些实施方案中,药物组合物包含浓度为200mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些实施方案中,药物组合物包含浓度为225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。

[0042] 在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为1%至10%的蔗糖。在一些实施方案中,药物组合物包含浓度为1%至5%的蔗糖。在某些实施方案中,药物组合物包含浓度为1%的蔗糖。在某些实施方案中,药物组合物包含浓度为3%的蔗糖。

[0043] 在一些实施方案中,组合物包含浓度为50mM至250mM的Arg.HCl。在一些实施方案中,组合物包含浓度为50mM至200mM的Arg.HCl。在另一些实施方案中,组合物包含浓度为75mM至150mM的Arg.HCl。在另一些实施方案中,组合物包含浓度为75mM至125mM的Arg.HCl。在一些实施方案中,组合物包含浓度为100mM至250mM的Arg.HCl。在一些实施方案中,组合物包含浓度为100mM至200mM的Arg.HCl。在某些实施方案中,组合物包含浓度为100mM的Arg.HCl。在某些实施方案中,组合物包含浓度为250mM的Arg.HCl。

[0044] 在一些实施方案中,药物组合物包含聚山梨醇酯-80。在某些情况下,组合物包含浓度为0.02%至0.08%的PS80。在另一些情况下,组合物包含浓度为0.03%至0.08%的PS80。在另一些情况下,组合物包含浓度为0.05%的PS80。

[0045] 在一些实施方案中,药物组合物包含组氨酸。在某些情况下,组合物包含浓度为10mM至30mM的组氨酸。在另一些情况下,组合物包含浓度为15mM至25mM的组氨酸。在另一些情况下,组合物包含浓度为20mM的组氨酸。

[0046] 在一些实施方案中,药物组合物的pH为5.3至6.5。在某些情况下,组合物的pH为5.3至6.0。在某些情况下,组合物的pH为5.5。在某些情况下,组合物的pH为6.0。

[0047] 在一些实施方案中,药物组合物包含含巯基的抗氧化剂。在某些情况下,含巯基的抗氧化剂是GSH、GSSG、GSH和GSSG的组合、胱氨酸、半胱氨酸、或半胱氨酸和胱氨酸的组合。在一种情况下,含巯基的抗氧化剂是GSH。在一种情况下,含巯基的抗氧化剂是GSSG。在另一种情况下,含巯基的抗氧化剂是GSH和GSSG的组合。在一种情况下,含巯基的抗氧化剂是半胱氨酸。在另一种情况下,含巯基的抗氧化剂是半胱氨酸和胱氨酸的组合。在一些情况下,含巯基的抗氧化剂以0.02mM至2mM的浓度存在于药物组合物中。在一些情况下,含巯基的抗

氧化剂以0.2mM的浓度存在于药物组合物中。在另一些情况下,含巯基的抗氧化剂以0.4mM的浓度存在于药物组合物中。在一些情况下,含巯基的抗氧化剂以1.0mM的浓度存在于药物组合物中。在某些情况下,GSH和GSSG分别以0.4mM和0.2mM的浓度存在于药物组合物中。在另一些情况下,半胱氨酸和胱氨酸分别以0.4mM和0.2mM的浓度存在于药物组合物中。

[0048] 另一方面,本公开提供了药物组合物,其包含抗血树突细胞抗原2 (BDCA2) 抗体或其BDCA2结合片段,以及浓度为10mM至30mM的组氨酸,浓度为50mM至250mM的Arg.HCl,和浓度为0.02%至0.08%的PS80,其中组合物的pH为5.0至6.5。

[0049] 在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL),所述VH和VL分别包含:VH互补决定区(CDR),其中VH-CDR1由SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列组成;VH-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和VH-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中VL-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;VL-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和VL-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。

[0050] 在某些实施方案中,药物组合物具有浓度为50mg/ml至225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。

[0051] 在某些实施方案中,药物组合物包含浓度为1%至10%的蔗糖。

[0052] 在某些实施方案中,药物组合物包含含巯基的抗氧化剂。在某些情况下,含巯基的抗氧化剂是GSH、GSSG、GSH和GSSG的组合、胱氨酸、半胱氨酸、或半胱氨酸和胱氨酸的组合。在一种情况下,含巯基的抗氧化剂是GSH。在一种情况下,含巯基的抗氧化剂是GSSG。在另一种情况下,含巯基的抗氧化剂是GSH和GSSG的组合。在一种情况下,含巯基的抗氧化剂是半胱氨酸。在另一种情况下,含巯基的抗氧化剂是半胱氨酸和胱氨酸的组合。在一些情况下,含巯基的抗氧化剂以0.02mM至2mM的浓度存在于药物组合物中。在一些情况下,含巯基的抗氧化剂以0.2mM的浓度存在于药物组合物中。在另一些情况下,含巯基的抗氧化剂以0.4mM的浓度存在于药物组合物中。在一些情况下,含巯基的抗氧化剂以1.0mM的浓度存在于药物组合物中。在某些情况下,GSH和GSSG分别以0.4mM和0.2mM的浓度存在于药物组合物中。在另一些情况下,半胱氨酸和胱氨酸分别以0.4mM和0.2mM的浓度存在于药物组合物中。

[0053] 在一个实施方案中,药物组合物包含浓度为150mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段,浓度为3%的蔗糖,浓度为20mM的组氨酸,浓度为100mM的Arg.HCl,浓度为0.05%的PS80,以及浓度为0.4mM的GSH或半胱氨酸。组合物的pH为5.5。在某些情况下,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL),所述VH和VL分别包含:VH互补决定区(CDR),其中VH-CDR1由SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列组成;VH-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和VH-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中VL-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;VL-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和VL-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。在某些情况下,蔗糖不是该组合物的一部分。

[0054] 在另一个实施方案中,药物组合物包含浓度为150mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段,浓度为3%的蔗糖,浓度为20mM的组氨酸,浓度为100mM的Arg.HCl,浓度为0.05%的PS80,以及浓度为0.2mM的GSSG或胱氨酸。组合物的pH为5.5。在某些情况下,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域

(VL),所述VH和VL分别包含:VH互补决定区(CDR),其中VH-CDR1由SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列组成;VH-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和VH-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中VL-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;VL-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和VL-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。在某些情况下,蔗糖不是该组合物的一部分。

[0055] 在另一个实施方案中,药物组合物包含浓度为150mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段,浓度为3%的蔗糖,浓度为20mM的组氨酸,浓度为100mM的Arg.HCl,浓度为0.05%的PS80,以及浓度为0.4mM的GSH(或半胱氨酸)和浓度为0.2mM的GSSG(或胱氨酸)。组合物的pH为5.5。在某些情况下,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL),所述VH和VL分别包含:VH互补决定区(CDR),其中VH-CDR1由SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列组成;VH-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和VH-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中VL-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;VL-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和VL-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。在某些情况下,蔗糖不是该组合物的一部分。

[0056] 另一方面,本公开的特征在于一种药物组合物,其包含浓度为200mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段,浓度为3%的蔗糖;浓度为20mM的组氨酸,浓度为250mM的Arg.HCl,以及浓度为0.05%的PS80。组合物的pH为6.0。该药物组合物特别适用于向有需要的受试者皮下施用。在某些情况下,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL),所述VH和VL分别包含:VH互补决定区(CDR),其中VH-CDR1由SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列组成;VH-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和VH-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中VL-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;VL-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和VL-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。在某些情况下,蔗糖不是该组合物的一部分。

[0057] 在另一方面,本公开的特征在于一种药物组合物,其包含浓度为225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段,浓度为1%的蔗糖;浓度为20mM的组氨酸,浓度为250mM的Arg.HCl以及浓度为0.05%的PS80。组合物的pH为6.0。该药物组合物特别适用于向有需要的受试者皮下施用。在某些情况下,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL),所述VH和VL分别包含:VH互补决定区(CDR),其中VH-CDR1由SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列组成;VH-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和VH-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中VL-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;VL-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和VL-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。在某些情况下,蔗糖不是该组合物的一部分。

[0058] 在上述两个方面的某些实施方案中,药物组合物包含含巯基的抗氧化剂。在某些情况下,含巯基的抗氧化剂是GSH、GSSG、GSH和GSSG的组合、胱氨酸、半胱氨酸、或半胱氨酸和胱氨酸的组合。在一种情况下,含巯基的抗氧化剂是GSH。在一种情况下,含巯基的抗氧化剂是GSSG。在另一种情况下,含巯基的抗氧化剂是GSH和GSSG的组合。在一种情况下,含巯基

的抗氧化剂是半胱氨酸。在另一种情况下,含巯基的抗氧化剂是半胱氨酸和胱氨酸的组合。在一些情况下,含巯基的抗氧化剂以0.02mM至2mM的浓度存在于药物组合物中。在一些情况下,含巯基的抗氧化剂以0.2mM的浓度存在于药物组合物中。在另一些情况下,含巯基的抗氧化剂以0.4mM的浓度存在于药物组合物中。在一些情况下,含巯基的抗氧化剂以1.0mM的浓度存在于药物组合物中。在某些情况下,GSH和GSSG分别以0.4mM和0.2mM的浓度存在于药物组合物中。在另一些情况下,半胱氨酸和胱氨酸分别以0.4mM和0.2mM的浓度存在于药物组合物中。

[0059] 这些实施方案适用于所有上述方面。在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含VH和VL,其中VH由与SEQ ID NO:7具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成;并且VL由与SEQ ID NO:8具有至少80%同一性、至少90%同一性、或至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成。在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,其中重链由与SEQ ID NO:9具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成;并且轻链由与SEQ ID NO:10具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成。

[0060] 另一方面,本公开的特征在于一种在有需要的人受试者中治疗选自由全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、干燥综合征、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的方法。所述方法包括向人受试者施用包含本文所述的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的药物组合物。

[0061] 在某些实施方案中,向人受试者皮下施用药物组合物。在某些实施方案中,药物组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以每四周25mg的剂量向人受试者施用。在某些实施方案中,药物组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以每四周50mg的剂量向人受试者施用。在某些实施方案中,药物组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以每四周150mg的剂量向人受试者施用。在某些实施方案中,药物组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以每四周450mg的剂量向人受试者施用。在某些情况下,药物组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以如下所述对应于人受试者体重的剂量向人受试者施用:

体重	剂量
10 至 18 kg	每四周 18 mg
[0062] 18.1 至 25 kg	每四周 22 mg
25.1 至 48 kg	每四周 28 mg
大于 48 kg	每四周 50 mg。

[0063] 在某些情况下,药物组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以如下所述对应于人受试者体重的剂量向人受试者施用:

	体重	剂量
	10 至 18 kg	每四周 40 mg
[0064]	18.1 至 25 kg	每四周 56 mg
	25.1 至 48 kg	每四周 80 mg
	大于 48 kg	每四周 150 mg。

[0065] 另一方面,本公开提供了在有需要的人受试者中治疗选自由全身性红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、干燥综合征、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的方法。所述方法包括以如下所述对应于人受试者的体重的剂量向人受试者皮下施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段:

	体重	剂量
	10 至 18 kg	每四周 18 mg
[0066]	18.1 至 25 kg	每四周 22 mg
	25.1 至 48 kg	每四周 28 mg
	大于 48 kg	每四周 50 mg。

[0067] 在某些情况下,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL),所述VH和VL分别包含:VH互补决定区(CDR),其中VH-CDR1由SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列组成;VH-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和VH-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中VL-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;VL-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和VL-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含VH和VL,其中VH由与SEQ ID NO:7具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成;并且VL由与SEQ ID NO:8具有至少80%同一性、至少90%同一性、或至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成。在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,其中重链由与SEQ ID NO:9具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成;并且轻链由与SEQ ID NO:10具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成。在某些实施方案中,人受试者为20岁或更小。在某些实施方案中,人受试者为18岁或更小。在某些实施方案中,人受试者为16岁或更小。在某些实施方案中,人受试者为14岁或更小。在某些实施方案中,人受试者为12岁或更小。在某些实施方案中,人受试者为10岁或更小。在某些实施方案中,人受试者为8岁或更小。在某些实施方案中,人受试者为6岁或更小。在某些实施方案中,人受试者为4岁或更小。在某些实施方案中,人受试者为2岁或更小。

[0068] 在另一个方面,本公开的特征在于一种在有需要的人受试者中治疗选自由全身性

红斑狼疮、皮肤红斑狼疮、盘状红斑狼疮、干燥综合征、皮肤多发性肌炎、硬皮病和细胞因子释放综合征组成的组的病症的方法。所述方法包括以如下所述对应于人受试者的体重的剂量向人受试者皮下施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段：

体重	剂量
10 至 18 kg	每四周 40 mg
[0069] 18.1 至 25 kg	每四周 56 mg
25.1 至 48 kg	每四周 80 mg
大于 48 kg	每四周 150 mg。

[0070] 在某些情况下，抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域 (VH) 和免疫球蛋白轻链可变结构域 (VL)，所述VH和VL分别包含：VH互补决定区 (CDR)，其中VH-CDR1由SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列组成；VH-CDR2由SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成；和VH-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成；以及VL CDR，其中VL-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成；VL-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成；和VL-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。在某些实施方案中，抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含VH和VL，其中VH由与SEQ ID NO:7具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成；并且VL由与SEQ ID NO:8具有至少80%同一性、至少90%同一性、或至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成。在某些实施方案中，抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链，其中重链由与SEQ ID NO:9具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成；并且轻链由与SEQ ID NO:10具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成。在某些实施方案中，人受试者为20岁或更小。在某些实施方案中，人受试者为18岁或更小。在某些实施方案中，人受试者为16岁或更小。在某些实施方案中，人受试者为14岁或更小。在某些实施方案中，人受试者为12岁或更小。在某些实施方案中，人受试者为10岁或更小。在某些实施方案中，人受试者为8岁或更小。在某些实施方案中，人受试者为6岁或更小。在某些实施方案中，人受试者为4岁或更小。在某些实施方案中，人受试者为2岁或更小。

[0071] 另一方面，本公开的特征在于包含本文所述的药物组合物的无菌制剂的注射器或泵，其适于以18mg、22mg、25mg、28mg、40mg、50mg、56mg、80mg、150mg或450mg的固定剂量皮下施用所述抗BDCA2抗体或其BDCA2-结合片段。

[0072] 另一方面，本公开的特征在于包含本文所述的药物组合物的无菌制剂的注射器或泵，其适于以18mg、22mg、25mg、28mg、40mg、50mg、56mg、80mg、150mg或450mg的固定剂量皮下施用所述抗BDCA2抗体或其BDCA2-结合片段，其中抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域 (VH) 和免疫球蛋白轻链可变结构域 (VL)，所述VH和VL分别包含：VH互补决定区 (CDR)，其中VH-CDR1由SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列组成；VH-CDR2由

SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列组成;和VH-CDR3由SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列组成;以及VL CDR,其中VL-CDR1由SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列组成;VL-CDR2由SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列组成;和VL-CDR3由SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列组成。在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含VH和VL,其中VH由与SEQ ID NO:7具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成;并且VL由与SEQ ID NO:8具有至少80%同一性、至少90%同一性、或至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成。在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链和免疫球蛋白轻链,其中重链由与SEQ ID NO:9具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成;并且轻链由与SEQ ID NO:10具有至少80%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性、至少99%同一性、或100%同一性的序列组成。

[0073] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。尽管与本文描述的那些类似或等同的方法和材料可用于本发明的实践或测试,但下文描述了示例性方法和材料。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献都通过引用整体并入。如有冲突,以本申请(包括定义)为准。材料、方法和实例仅是说明性的而非限制性的。

[0074] 从以下详细说明和权利要求中,本发明的其他特征和优点将变得显而易见。

附图说明

[0075] 图1是描绘抗体制剂的粘度的图。

[0076] 图2A是显示在40°C孵育0-4周后,在含有20mM所示的缓冲剂、140mM Arg.HCl和0.05%PS80的制剂中以150mg/ml的浓度配制的抗BDCA2抗体聚集的图。缓冲剂由图中所示的符号标识。

[0077] 图2B是显示在5°C孵育0-3个月后,在含有20mM所示的缓冲剂、140mM Arg.HCl和0.05%PS80的制剂中以150mg/ml的浓度配制的抗BDCA2抗体聚集的图。缓冲剂由与图2A中所示相同的符号标识。

[0078] 图2C是显示在5°C孵育0-3个月后,在含有20mM所示的缓冲剂、140mM Arg.HCl和0.05%PS80的制剂中以200mg/ml的浓度配制的抗BDCA2抗体聚集的图。缓冲剂由与图2A中所示相同的符号标识。

[0079] 图2D是显示在5°C孵育0-3个月后,在含有20mM所示的缓冲剂、140mM Arg.HCl和0.05%PS80的制剂中以225mg/ml的浓度配制的抗BDCA2抗体聚集的图。缓冲剂由与图2A中所示相同的符号标识。

[0080] 图3是描绘了在不同pH(5.5、6或6.5)、浓度(150mg/ml、225mg/ml或250mg/ml)和不同缓冲剂(柠檬酸盐或组氨酸)中抗BDCA2抗体的粘度的柱状图。

[0081] 图4是描绘所示制剂中225ng/ml的BDCA2的聚集的图。

[0082] 图5A是显示在零时(第一个柱)、在25°C下2周后(第二个柱)或在5°C下2周后(第三个柱)的亚可见(sub-visible)颗粒形成(颗粒 $\geq 2\mu\text{m}$)的柱状图。颗粒浓度以对数标度描绘。

制剂含有所示的赋形剂,以及20mM柠檬酸盐(pH 6.0)、0.05%PS80。

[0083] 图5B是显示在零时(第一个柱)、在25℃下2周后(第二个柱)或在5℃下2周后(第三个柱)的亚可见颗粒形成(颗粒 $\geq 10\mu\text{m}$)的柱状图。颗粒浓度以对数标度描绘。制剂含有所示的赋形剂,以及20mM柠檬酸盐(pH 6.0)和0.05%PS80。

[0084] 图6是描绘在零时(第一个柱)、在25℃下2周后(第二个柱)或在5℃下2周后(第三个柱)的聚集的柱状图。制剂含有所示的赋形剂,以及20mM柠檬酸盐(pH 6.0)和0.05%PS80。

[0085] 图7是比较制剂2(20mM His、100mM Arg.HCl、3%蔗糖、0.05%PS80,pH 5.5)和制剂1(20mM柠檬酸盐、140mM Arg.HCl、0.05%PS80,pH 6.0)中配制的150mg/mL抗BDCA2抗体的聚集的图。左图显示5℃下0至3个月的聚集;右图显示25℃下0至3个月的聚集。在图中制剂1表示为“Cit 150”,制剂2表示为“His 150”。

[0086] 图8是描绘制剂2中抗BDCA2抗体的粘度的图。

[0087] 图9是显示在10种测试制剂中在5℃下随时间形成的高分子量物质的百分比的图。图例文本对应于:蛋白质浓度(mg/mL)/精氨酸.HCl(mM)/蔗糖(%) /pH。

[0088] 图10是显示在10种测试制剂中在25℃下随时间形成的高分子量物质的百分比的图。图例文本对应于:蛋白质浓度(mg/mL)/精氨酸.HCl(mM)/蔗糖(%) /pH。

[0089] 图11是显示在10种测试制剂中在30℃下随时间形成的高分子量物质的百分比的图。图例文本对应于:蛋白质浓度(mg/mL)/精氨酸.HCl(mM)/蔗糖(%) /pH。

[0090] 图12是显示在10种测试制剂中在40℃下随时间形成的高分子量物质的百分比的图。图例文本对应于:蛋白质浓度(mg/mL)/精氨酸.HCl(mM)/蔗糖(%) /pH。

[0091] 图13是显示在10种测试制剂中在25℃下随时间形成的碱性同种型(basic isoform)的百分比的图。图例文本对应于:蛋白质浓度(mg/mL)/精氨酸.HCl(mM)/蔗糖(%) /pH。

[0092] 图14是显示在10种测试制剂中在30℃下随时间形成的碱性同种型的百分比的图。图例文本对应于:蛋白质浓度(mg/mL)/精氨酸.HCl(mM)/蔗糖(%) /pH。

[0093] 图15是显示在10种测试制剂中在40℃下随时间形成的碱性同种型的百分比的图。图例文本对应于:蛋白质浓度(mg/mL)/精氨酸.HCl(mM)/蔗糖(%) /pH。

[0094] 图16是显示在10种测试制剂中在5℃下随时间形成的碱性同种型的百分比的图。图例文本对应于:蛋白质浓度(mg/mL)/精氨酸.HCl(mM)/蔗糖(%) /pH。

[0095] 图17提供了描绘25℃和40℃下有或没有GSH(0.4mM)的包含蔗糖的抗BDCA2抗体制剂(150mg/ml抗体;20mM组氨酸;100mM Arg.HCl;3%蔗糖;0.05%PS80,pH 5.5)的HMW物质的百分比的图。

[0096] 图18提供了图17的图与描绘25℃和40℃下有或没有GSH(0.4mM)的不含蔗糖的抗BDCA2抗体制剂(150mg/ml抗体;20mM组氨酸;100mM Arg.HCl;0.05%PS80,pH 5.5)的HMW物质的百分比的图的重叠图。

[0097] 图19提供了描绘25℃和40℃下有或没有GSH(0.4mM)的BENEPALI®(依那西普生物仿制药,参考Enbrel®)制剂(50mg/ml SB4;10mM磷酸钠;140mM NaCl;1%蔗糖,pH 6.2)的HMW物质的百分比的图。

[0098] 图20提供了描绘25℃和40℃下有或没有GSH(0.4mM)的抗 $\alpha\text{v}\beta 5$ 整联蛋白抗体

(STX200) 制剂 (50mg/ml 抗体; 20mM 组氨酸; 5% 山梨糖醇; 0.05% PS80, pH6.5) 的 HMW 物质的百分比的图。

具体实施方式

[0099] 本申请提供了抗 BDCA2 抗体及其 BDCA2 结合片段的药物组合物和给药方案, 以及它们在治疗 BDCA2 相关病症 (例如, SLE、CLE 和 DLE) 中的用途。

[0100] BDCA2

[0101] BDCA2 是在浆细胞样树突细胞 (pDC) 上特异性表达的 II 型 C 型凝集素。BDCA2 由其 C 末端的单个胞外碳水化合物识别结构域 (CRD)、跨膜区及其 N-末端的不具有信号传导基序的短胞质尾部组成。BDCA2 通过相关的跨膜衔接子 Fc ϵ RI γ 传递细胞内信号。抗体介导的 BDCA2 连接导致脾酪氨酸激酶 (SYK) 募集至 Fc ϵ RI γ 的磷酸化的基于免疫受体酪氨酸的活化基序 (immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)。Syk 活化导致 B 细胞接头 (Blnk)、布鲁顿酪氨酸激酶 (BTK) 和磷脂酶 C γ 2 (PLC γ 2) 的活化, 导致 Ca $^{2+}$ 动员。

[0102] 人 BDCA2 蛋白的氨基酸序列 (Genbank® 登录号 NP_569708.1) 如下所示 (跨膜结构域用斜体表示; 胞外域加下划线)。

```

1  MVPEEPEQDR EKGLWVWFQLK VWSMAVVSIL LLSVCFTVSS VVPHNFMYSK
51  TVKRLSKLRE YQOYHPSLTC VMEGKDIEDW SCCPTPWTSF QSSCYFISTG
[0103] 101  MOSWTKSOKN CSVMGADLVV INTREEQDFI IONLKRNSSY FLGLSDPFGGR
151  RHWQWVDQTP YNENVTFWHS GEPNNLDERC AIINFRSSEE WGWNDIHCNV
201  PQKSICKMKK IYI* (SEQ ID NO:29)

```

[0104] 人 Fc ϵ RI γ 的氨基酸序列 (Genbank® 登录号 NP_004097.1) 如下所示。

```

1  MIPAVVLLLL LLVEQAAALG EPQLCYILDA ILFLYGIVLT LLYCRLKIQV
[0105] 51  RKAAITSYEK SDGVYTGSLT RNQETVETLK HEKPPQ* (SEQ ID NO:30)

```

[0106] 抗 BDCA2 抗体

[0107] 在一些实施方案中, 本文所述的组合物和方法中使用的抗 BDCA2 抗体或其 BDCA2 结合片段包含被称为“BIIB059”的抗体的三个重链可变结构域互补决定区 (CDR)。在一些实施方案中, 抗 BDCA2 抗体或其 BDCA2 结合片段包含 BIIB059 的三个轻链可变结构域 CDR。在另一些实施方案中, 抗 BDCA2 抗体或其 BDCA2 结合片段包含 BIIB059 的三个重链可变结构域 CDR 和三个轻链可变结构域 CDR。CDR 可以基于本领域的任何 CDR 定义, 例如 Kabat、Chothia、来自 Abysis 的 Chothia、增强的 Chothia/AbM 的定义或基于 contact 定义。根据这些示例性 CDR 定义的 BIIB059 的 CDR 序列提供于下表 1 中。

[0108] 表 1: BIIB059 的 CDR 序列

结构域	Kabat	Chothia, 来自 Abysis	增强的 Chothia/AbM	Contact
VH CDR	TYTMS (SEQ ID NO:1)	GFTFSTY (SEQ ID NO:11)	GFTFSTYTMS (SEQ ID NO:17)	STYTMS (SEQ ID NO:23)
VH CDR	TISPGDSFGYYYPDSVQG (SEQ ID NO:2)	SPGDSFG (SEQ ID NO:12)	TISPGDSFGYY (SEQ ID NO:18)	WVATISPGDSFGYY (SEQ ID NO:24)
VH CDR	DIYNYGAWFAY (SEQ ID NO:3)	DIYNYGAWFAY (SEQ ID NO:13)	DIYNYGAWFAY (SEQ ID NO:19)	TRDIYNYGAWFA (SEQ ID NO:25)
VL CDR	KASQSVVDYDGDSYMN (SEQ ID NO:4)	KASQSVVDYDGDSYMN (SEQ ID NO:14)	KASQSVVDYDGDSYMN (SEQ ID NO:20)	DYDGDSYMNWY (SEQ ID NO:26)
VL CDR	AASTLES (SEQ ID NO:5)	AASTLES (SEQ ID NO:15)	AASTLES (SEQ ID NO:21)	LLIYAASTLE (SEQ ID NO:27)
VL CDR	QQANEDPRT (SEQ ID NO:6)	QQANEDPRT (SEQ ID NO:16)	QQANEDPRT (SEQ ID NO:22)	QQANEDPR (SEQ ID NO:28)

[0110] 在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含:包含SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列或由其组成的VH CDR1,包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列或由其组成的VH CDR2,和包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列或由其组成的VH CDR3。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含:包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列或由其组成的VL CDR1,包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列或由其组成的VL CDR2,和包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列或由其组成的VL CDR3。

[0111] 在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含含有SEQ ID NO:1至6所示的氨基酸序列或由其组成的CDR。在另一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含含有SEQ ID NO:11至16所示的氨基酸序列或由其组成的CDR。在另一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含含有SEQ ID NO:17至22所示的氨基酸序列或由其组成的CDR。在另一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含含有SEQ ID NO:23至28所示的氨基酸序列或由其组成的CDR。在一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含:包含SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列或由其组成的VH CDR1,包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列或由其组成的VH CDR2,和包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列或由其组成的VH CDR3;以及包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列或由其组成的VL CDR1,包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列或由其组成的VL CDR2,和包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列或由其组成的VL CDR3。

[0112] BIIB059是可用于本文所述的组合物和方法中的示例性抗BDCA2抗体。BIIB059是与浆细胞样树突细胞表面上的BDCA2特异性结合的具有两个糖基化的人IgG1重链和两个人κ轻链的人源化抗体。该野生型IgG1序列包含单个N-连接的糖基化位点,并以这类分子典型的亲和力与Fc受体结合。该Fc功能感受态IgG1单克隆抗体对BDCA2表现出高亲和力,并且同样好地与天然人和食蟹猴BDCA2结合。BIIB059是pDC的所有TLR9诱导的I型干扰素(IFN)以及其他细胞因子和趋化因子的有效抑制剂。BIIB059同样有效地抑制来自健康人供体和SLE患者的pDC的TLR9诱导的I型干扰素。BIIB059特异性抑制pDC的TLR9诱导的I型IFN,并且不影响用不同TLR配体触发的其他细胞类型的IFN产生。BIIB059还导致BDCA2从细胞表面快速内化。在刺激后,BDCA2与TLR9共定位在内体/溶酶体区室中,这似乎是其抑制TLR9信号传导所必需的。还发现BIIB059引起CD62L从人pDC表面脱落。体外抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)研究表明在过表达BDCA2的细胞系中BIIB059可具有细胞消耗活性。

[0113] BIIB059的可变重链(VH)包含以下氨基酸序列或由其组成:

DVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS TYTMSWVRQA PGKGLEWVAT ISPGDSFGYY

[0114] YFDSVQGRFT ISRDNAKNSL YLQMNSLRAE DTAVYYCTRD IYINYGAWFA YWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:7)

[0115] BIIB059的可变轻链(VL)包含以下氨基酸序列或由其组成:

DIQLTQSPSS LSASVGRVT ITCKASQSVY YDGSYMNWY QOKPGKAPKL LIYAASTLES

[0116] GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLQPEDEATY YCQQANEDPR TFGQGTKVEI K (SEQ ID NO:8)

[0117] 在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的VH。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其抗原结合片段选择性地与人BDCA2的胞外域结合,并包含与BIIB059的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:7)具有至少70%、

75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的VH结构域,或者与SEQ ID NO:7至少在1至5个氨基酸残基处,但少于40、30、20、15或10个残基处不同。在某些情况下,这些抗体 (i) 结合人或食蟹猴BDCA2,但不会显著地结合灵长类动物以下的系统发育物种的BDCA2;和/或(ii) 抑制人pDC的TLR7/TLR9诱导的I型干扰素和其他细胞因子或趋化因子产生;和/或(iii) 介导BDCA2从pDC表面内化;和/或(iv) 下调pDC表面的CD32a和/或CD62L;和/或(v) 通过ADCC或CDC在体外消耗pDC。

[0118] 在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含具有SEQ ID NO:8所示氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其抗原结合片段选择性地与人BDCA2的胞外域结合,并包含与BIIB059的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:8)具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的VL结构域,或者与SEQ ID NO:8至少在1至5个氨基酸残基处,但少于40、30、20、15或10个残基处不同。在某些情况下,这些抗体 (i) 结合人或食蟹猴BDCA2,但不会显著地结合灵长类动物以下的系统发育物种的BDCA2;和/或(ii) 抑制人pDC的TLR7/TLR9诱导的I型干扰素和其他细胞因子或趋化因子产生;和/或(iii) 介导BDCA2从pDC表面内化;和/或(iv) 下调pDC表面的CD32a和/或CD62L;和/或(v) 通过ADCC或CDC在体外消耗pDC。

[0119] 在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含具有SEQ ID NO:7所示氨基酸序列的VH和具有SEQ ID NO:8所示氨基酸序列的VL。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其抗原结合片段选择性地与人BDCA2的胞外域结合,并且包含(i) 与BIIB059的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:7)具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的VH结构域,和(ii) 与BIIB059的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:8)具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的VL结构域;或者与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:8至少在1至5个氨基酸残基处,但少于40、30、20、15或10个残基处不同。在某些情况下,这些抗体 (i) 结合人或食蟹猴BDCA2,但不会显著地结合灵长类动物以下的系统发育物种的BDCA2;和/或(ii) 抑制人pDC的TLR7/TLR9诱导的I型干扰素和其他细胞因子或趋化因子产生;和/或(iii) 介导BDCA2从pDC表面内化;和/或(iv) 下调pDC表面的CD32a和/或CD62L;和/或(v) 通过ADCC或CDC在体外消耗pDC。

[0120] 由下面列出的成熟重链(SEQ ID NO:9)和成熟轻链(SEQ ID NO:10)组成的抗体在本文中称为“BIIB059”。

[0121] 成熟BIIB059重链(HC)

[0122] DVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS TYTMSWVRQA PGKGLEWVAT ISPGDSFGYY
YPSVQGRFT ISRDNKNSL YMQNSLRAE DTAVYYCTRD IYYNYGAWFA YWGQGLVTV
SSASTKGPSV FPLAFSSKST SGGTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSV VTFPSSSLGT QTYICNVNHNK PSNTKVDKVK EPKSCDKTHT CPPCPAPELL
GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NARTKPREEQ
YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR
DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTP PVLDSGSEFF LYSKLTVDKS
RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP G (SEQ ID NO:9)

[0123] 成熟BIIB059轻链(LC)

[0124] DIQLTQSPSS LSASVGRVTV ITCKASQSV YDGD SYMNWY QQKPGKAPKL LIYAASTLES
GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLQPEDFATY YQQANEDPR TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF
IFPPSDEQLK SGTASVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS
STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC (SEQ ID NO:10)

[0125] 在上述VH、VL、HC和LC序列中,基于Kabat定义的CDR1、2和3加下划线且黑体。VH和HC中的斜体且黑体序列是基于增强的Chothia/AbM定义在CDR1中发现的额外的N-末端序列。

[0126] 在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含具有SEQ ID NO:9所示氨基酸序列的HC。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其抗原结合片段选择性地与人BDCA2的胞外域结合,并包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的HC,或者与SEQ ID NO:9至少在1至5个氨基酸残基处,但少于40、30、20、15或10个残基处不同。

[0127] 在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的LC。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其抗原结合片段选择性地与人BDCA2的胞外域结合,并包含与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的LC,或者与SEQ ID NO:10至少在1至5个氨基酸残基处,但少于40、30、20、15或10个残基处不同。

[0128] 在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含具有SEQ ID NO:9所示氨基酸序列的HC和具有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的LC。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体或其抗原结合片段选择性地与人BDCA2的胞外域结合,并包含(i)与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的HC,和(ii)与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的LC,或者与SEQ ID NO:9和/或SEQ ID NO:10至少在1至5个氨基酸残基处,但少于40、30、20、15或10个残基处不同。

[0129] 在某些实施方案中,抗BDCA2抗体是IgG抗体。在一些具体的实施方案中,抗BDCA2抗体具有选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE的重链恒定区。在一个实施方案中,抗BDCA2抗体属于IgG1同种型。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体属于IgG2同种型。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体属于IgG3同种型。在另一些实施方案中,抗体具有选自例如人 κ 或人 λ 轻链的轻链恒定区。在某个实施方案中,抗BDCA2抗体是IgG1/ κ 抗体。在某些实施方案中,抗BDCA2抗体包含以7至15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 EC_{50} 结合Fc γ RIIa(CD32a)的人Fc区。在某些实施方案中,抗体包含以10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 EC_{50} 结合Fc γ RIIa(CD32a)的人Fc区。在某些实施方案中,抗体包含以11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 EC_{50} 结合Fc γ RIIa(CD32a)的人Fc区。在某些实施方案中,抗体包含以12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 EC_{50} 结合Fc γ RIIa(CD32a)的人Fc区。在一些情况下,重链恒定区是人的或人恒定区的经修饰形式。在某些情况下,人恒定区可包含至少1个且至多2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个替换。在一个特定实施方案中,经修饰的人Fc区是经修饰的人IgG1Fc区。在一些情况下,抗BDCA2抗体的恒定区可以通过一个或多个氨基酸残基的突变来修饰,以赋予所需的功能特性(例如,改变的效应子功能或半衰期,降低的糖基化)。例如,可以替换N-连接的糖基化位点以防止或减少Fc区(例如,人IgG1Fc区)的N-连接糖基化。

[0130] 在一些实施方案中,抗BDCA2抗体是全长(完整)抗体或基本上全长的。该蛋白质可包含至少一个、优选两个完整的重链,和至少一个、优选两个完整的轻链。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体是BDCA2结合片段。在一些情况下,BDCA2结合片段是Fab、Fab'、F(ab')₂、

Facb、Fv、单链Fv(scFv)、sc(Fv) 2或双抗体。

[0131] 诸如BIIB059或其BDCA2结合片段的抗体可以例如通过制备和表达编码所述的氨基酸序列的合成基因或通过使人种系基因突变以提供编码所述的氨基酸序列的基因来制备。此外,该抗体和其他抗BDCA2抗体可以例如使用以下方法中的一种或更多种产生。

[0132] 产生抗体的方法

[0133] 抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段可以在细菌或真核细胞中产生。一些抗体如Fab可以在细菌细胞如大肠杆菌(*E. coli*)细胞中产生。抗体也可以在真核细胞如转化细胞系(例如CHO、293E、COS)中产生。另外,抗体(例如scFv)可以在酵母细胞如毕赤酵母属(*Pichia*) (参见,例如,Powers等,*J Immunol Methods*.251:123-35(2001))、汉森酵母属(*Hansenula*)或酵母属(*Saccharomyces*)中产生。为了产生目的抗体,构建编码抗体的多核苷酸,将其引入表达载体,然后在合适的宿主细胞中表达。本领域普通技术人员可以容易地设想编码包含本文所述BDCA2抗体的VH和/或VL、HC和/或LC的抗BDCA2抗体的多核苷酸。使用标准分子生物学技术制备重组表达载体,转染宿主细胞,选择转化子,培养宿主细胞以及回收抗体。

[0134] 如果要在细菌细胞(例如大肠杆菌)中表达抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段,则表达载体应具有允许在细菌细胞中扩增载体的特征。此外,当使用大肠杆菌如JM109、DH5 α 、HB101或XL1-Blue作为宿主时,载体必须具有可允许大肠杆菌中的有效表达的启动子,例如lacZ启动子(Ward等,341:544-546(1989))、araB启动子(Better等,*Science*,240:1041-1043(1988))或T7启动子。这样的载体的实例包括,例如,M13系列载体、pUC系列载体、pBR322、pBluescript、pCR-Script、pGEX-5X-1(Pharmacia)、“QIAexpress system”(QIAGEN)、pEGFP和pET(当使用该表达载体时,宿主优选表达T7RNA聚合酶的BL21)。表达载体可包含用于抗体分泌的信号序列。为了产生到大肠杆菌的周质中,可以使用pelB信号序列(Lei等,*J. Bacteriol.*,169:4379(1987))作为用于抗体分泌的信号序列。对于细菌表达,可以使用氯化钙法或电穿孔法将表达载体引入细菌细胞。

[0135] 如果要在动物细胞如CHO、COS和NIH3T3细胞中表达抗体,则表达载体包含在这些细胞中表达所必需的启动子,例如SV40启动子(Mulligan等,*Nature*,277:108(1979))、MMLV-LTR启动子、EF1 α 启动子(Mizushima等,*Nucleic Acids Res.*,18:5322(1990))或CMV启动子。除了编码免疫球蛋白或其结构域的核酸序列之外,重组表达载体还可以携带额外的序列,例如调节载体在宿主细胞中的复制的序列(例如,复制起点)和选择标记基因。选择标记基因有助于选择已引入载体的宿主细胞(参见例如美国专利No.4,399,216、4,634,665和5,179,017)。例如,通常选择标记基因向已引入载体的宿主细胞赋予对药物(例如G418、潮霉素或甲氨蝶呤)的抗性。具有选择标记的载体的实例包括pMAM、pDR2、pBK-RSV、pBK-CMV、pOPRSV和pOP13。

[0136] 在一个实施方案中,在哺乳动物细胞中产生抗体。用于表达抗体的示例性哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO细胞)(包括描述于Urlaub和Chasin(1980)*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220中的dhfr-CHO细胞,其与例如描述于Kaufman和Sharp(1982)*Mol. Biol.*159:601-621中的DHFR选择标记一起使用),人胚肾293细胞(例如,293、293E、293T),COS细胞,NIH3T3细胞,淋巴细胞系,例如NS0骨髓瘤细胞和SP2细胞,以及来自转基因动物(例如转基因哺乳动物)的细胞。例如,细胞是乳腺上皮细胞。

[0137] 在用于抗体表达的示例性系统中,通过磷酸钙介导的转染将编码抗BDCA2抗体(例

如, BIIB059) 的抗体重链和抗体轻链的重组表达载体引入dhfr-CHO细胞中。在重组表达载体内, 抗体重链和轻链基因各自与增强子/启动子调节元件(例如, 来自SV40、CMV、腺病毒等, 例如CMV增强子/AdMLP启动子调节元件或SV40增强子/AdMLP启动子调节元件)可操作地连接, 以驱动基因的高水平转录。重组表达载体还携带DHFR基因, 其允许使用甲氨蝶呤选择/扩增来选择已经用载体转染的CHO细胞。培养选择的转化体宿主细胞以允许抗体重链和轻链的表达, 并从培养基中回收抗体。

[0138] 抗体也可以由转基因动物产生。例如, 美国专利No. 5, 849, 992描述了在转基因哺乳动物的乳腺中表达抗体的方法。构建转基因, 其包括乳特异性启动子和编码目的抗体的核酸和用于分泌的信号序列。由这样的转基因哺乳动物的雌性产生的乳包含分泌于其中的目的抗体。抗体可以从乳中纯化, 或者对于某些应用, 可以直接使用。还提供了包含一种或多种本文所述核酸的动物。

[0139] 可以从宿主细胞的内部或外部(例如培养基)分离本公开的抗体, 并将其纯化为基本上纯的和同源的抗体。通常用于抗体纯化的分离和纯化方法可用于分离和纯化抗体, 并且不限于任何特定方法。可以通过适当地选择和组合例如柱色谱、过滤、超滤、盐析、溶剂沉淀、溶剂萃取、蒸馏、免疫沉淀、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳、等电聚焦、透析和重结晶来分离和纯化抗体。色谱包括例如亲和色谱、离子交换色谱、疏水色谱、凝胶过滤、反相色谱和吸附色谱(Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak等, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996)。色谱可以使用液相色谱如HPLC和FPLC进行。用于亲和色谱的柱包括蛋白A柱和蛋白G柱。使用蛋白A柱的柱的实例包括Hyper D、POROS和Sepharose FF(GE Healthcare Biosciences)。本公开还包括使用这些纯化方法高度纯化的抗体。

[0140] 抗BDCA2抗体组合物

[0141] 本公开还提供了包含本文所述的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的组合物(例如, 药物组合物)。例如, 抗BDCA2抗体组合物包含抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段, 所述抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含免疫球蛋白重链可变结构域(VH)和免疫球蛋白轻链可变结构域(VL), 其中VH包含H-CDR, 并且VL包含BIIB059的L-CDR。在某些情况下, H-CDR包含SEQ ID NO: 1或17、SEQ ID NO: 2和SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列或由其组成; 并且L-CDR包含SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5和SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中, 抗BDCA2抗体组合物包含抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段, 所述抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含: (i) 包含与SEQ ID NO: 7所示氨基酸序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列或由其组成的VH; 和(ii) 包含与SEQ ID NO: 8所示氨基酸序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列或由其组成的VL。在某些实施方案中, 抗BDCA2抗体组合物包含抗BDCA2抗体, 所述抗BDCA2抗体包含: (i) 包含与SEQ ID NO: 9所示氨基酸序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列或由其组成的重链; 和(ii) 包含与SEQ ID NO: 10所示氨基酸序列具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列或由其组成的轻链。

[0142] 在某些实施方案中, 这些组合物是高浓度抗BDCA2抗体组合物。“高浓度抗BDCA2抗

体组合物”是指包含浓度大于50mg/ml且小于300mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的组合物。在某些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为50mg/ml至240mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为50mg/ml至225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为75mg/ml至225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为100mg/ml至225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为125mg/ml至225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为125mg/ml至175mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为240mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为200mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为175mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为150mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为125mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些情况下,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为100mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。

[0143] 包含本文所述的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的组合物(例如,药物组合物)可以是多种形式中的任何一种。这些包括例如液体溶液(例如,可注射和可输注溶液)、分散体或悬浮液。优选的形式可取决于预期的施用方式和治疗应用。在某些实施方案中,本文所述的药物组合物是无菌可注射或可输注溶液的形式。

[0144] 无菌可注射溶液可以通过并入所需量的本文所述的抗体和一种成分或成分的组合,然后过滤灭菌来制备。通常,分散体通过将本文所述的抗体并入含有基础分散介质和所需的其他成分的无菌媒介物中来制备。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,示范性制备方法是真空干燥和冷冻干燥,其产生本文所述抗体加上来自其先前无菌过滤溶液的任何其他所需成分的粉末。可以例如通过使用涂层如卵磷脂,在分散体的情况下通过保持所需的粒度,以及通过使用表面活性剂来维持溶液的适当流动性。

[0145] 抗BDCA2抗体组合物(例如,药物组合物)可另外包含一种或多种赋形剂。

[0146] 在一个实施方案中,与不含赋形剂的药物组合物中抗体的聚集和/或粘度相比,赋形剂减少/降低组合物中抗体的聚集和/或粘度。在某些实施方案中,这样的赋形剂是精氨酸。在一种情况下,赋形剂是精氨酸盐酸盐。精氨酸(例如,精氨酸盐酸盐)可以以50mM至250mM、50mM至200mM、50mM至150mM、50mM至125mM、50mM至100mM、75mM至250mM、75mM至200mM、75mM至150mM、或75mM至100mM的浓度包含在组合物中。在某些实施方案中,精氨酸(例如,Arg.HCl)以50mM至250mM的浓度存在于组合物中。在另一些实施方案中,精氨酸(例如,Arg.HCl)以50mM至200mM的浓度存在于组合物中。在某些情况下,精氨酸(例如,精氨酸盐酸盐)可以以100mM、120mM、125mM、130mM、135mM、140mM、145mM或150mM的浓度包含在组合物中。在一个具体实例中,精氨酸(例如,精氨酸盐酸盐)可以以100mM的浓度包含在组合物中。在另一具体实例中,精氨酸(例如,精氨酸盐酸盐)可以以250mM的浓度包含在组合物中。

[0147] 有时,含有精氨酸的溶液在室温或更高温度(例如40°C)孵育后产生可见颗粒。令人惊讶的是,发现添加蔗糖可以减少或防止可见颗粒的形成。此外,还意外地发现蔗糖降低

了亚可见颗粒的计数。在一些实施方案中,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为0.05%至15%、0.05%至10%、0.05%至5%、1%至15%、1%至10%、1%至5%、2%至8%、2%至6%、或2%至4%的蔗糖。在某些实施方案中,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%或10%的蔗糖。在一个具体实施方案中,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为3%的蔗糖。在另一个具体实施方案中,抗BDCA2抗体组合物包含浓度为1%的蔗糖。

[0148] 抗体产品制造是一个复杂的过程,其可能涉及多个步骤,例如药物物质和自体配制、过滤、运输、汇集、填充、冻干、检查、包装和储存。在这些步骤中,抗体可能经受许多不同形式的应激,例如搅拌、温度、光暴露和氧化。这些类型的应激可导致抗体的变性和聚集,这会损害产品质量并甚至可能导致生产批次的损失。搅拌是抗体治疗剂在制造过程中经受的常见物理应激之一。例如,在混合、超滤/渗滤、泵送、运输和填充期间,发生搅动。为了保护抗体组合物免受搅拌诱导的应激,组合物可包括聚山梨醇酯。在某些实施方案中,组合物包含浓度为0.01%至0.5%、0.01%至0.1%、0.01%至0.09%、0.01%至0.08%、0.01%至0.07%、0.01%至0.06%、0.01%至0.05%、0.01%至0.04%、或0.01%至0.03%的聚山梨醇酯-80。在某些实施方案中,组合物包含浓度为0.02%至0.08%的聚山梨醇酯-80。在一些实施方案中,组合物包含浓度为0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%或0.1%的聚山梨醇酯-80。在一个具体实施方案中,组合物包含浓度为0.05%的聚山梨醇酯-80。

[0149] 任何抗体组合物都受益于提供良好缓冲能力的缓冲剂。在某些实施方案中,抗体组合物包含组氨酸作为缓冲剂。在某些实施方案中,组合物包含浓度为5mM至50mM、5mM至40mM、5mM至30mM、5mM至25mM、10mM至50mM、10mM至40mM、10mM至30mM、10mM至25mM、15mM至50mM、15mM至40mM、15mM至30mM、或15mM至25mM的组氨酸。在某些实施方案中,组合物包含浓度为10mM至30mM的组氨酸。在一些实施方案中,组合物包含浓度为5mM、10mM、15mM、20mM、25mM或30mM的组氨酸。在一个具体实施方案中,组合物包含浓度为20mM的组氨酸。

[0150] 抗体组合物的pH可以为5.0至6.5。在某些情况下,抗体组合物的pH可以为5.0至6.0。在某些情况下,抗体组合物的pH为5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4或6.5。在一个具体实施方案中,抗体组合物的pH为5.5。在另一个具体实施方案中,抗体组合物的pH为6.0。在另一个具体实施方案中,抗体组合物的pH为6.5。

[0151] 在某些实施方案中,所述组合物包含浓度为0.02mM至2mM(例如,0.02、0.03、0.05、0.06、0.08、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9或2.0mM)的含巯基的抗氧化剂(例如,还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、GSH+GSSG、半胱氨酸、胱氨酸、半胱氨酸+胱氨酸)。这样的含巯基的抗氧化剂可切割不利的或错误桥接的二硫键并促进有利的或适当桥接的二硫键的形成。这将导致抗体或其片段的天然构象的稳定化并减慢聚集速率。这些分子的抗氧化特性可减慢导致聚集的氧化过程。在一些情况下,组合物包含浓度为0.4mM的GSH。在一些情况下,组合物包含浓度为0.2mM的GSSG。在一些情况下,组合物包含浓度为0.4mM的GSH和浓度为0.2mM的GSSG。在一些情况下,组合物包含浓度为0.4mM的半胱氨酸。在一些情况下,组合物包含浓度为0.2mM的胱氨酸。在一些情况下,该组合物包含浓度为0.4mM的半胱氨酸和浓度为0.2mM的胱氨酸。在某些实施方案中,组合物包含浓度为5mM至15mM(例如10mM)的甲硫氨酸。在某些实施方案中,

组合物包含浓度为50mM至80mM(例如70mM)的谷氨酸。

[0152] 在某些实施方案中,组合物(例如,药物组合物)包含浓度为50mg/ml至225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段,浓度为0.05%至10%的蔗糖,浓度为50mM至250mM的精氨酸(例如,精氨酸盐酸盐),浓度为0.01%至0.1%的聚山梨醇酯-80,和浓度为10mM至30mM的组氨酸浓度。组合物的pH为5.0至6.0。在某些实施方案中,组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含含有BIIB059的CDR的(例如,SEQ ID NO:1或17、2、3、4、5和6)的VH和VL。在某些实施方案中,组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含分别含有SEQ ID NO:7和8的VH和VL。在一些实施方案中,组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含分别含有SEQ ID NO:9和10的重链和轻链。在一个实施方案中,组合物的pH为5.5,并且包含浓度为150mg/ml的BIIB059或其BIIB059结合片段,浓度为3%的蔗糖,浓度为100mM的精氨酸盐酸盐,浓度为0.05%的聚山梨醇酯-80,和浓度为20mM组氨酸。该实施方案可以通过例如在1833.50mg 无菌水(例如,反渗透去离子水(RODI))中溶解285mg BIIB059、6.69mg组氨酸盐酸盐一水合物、0.94mg组氨酸游离碱、40.03mg盐酸精氨酸、57.0mg蔗糖和0.95mg聚山梨醇酯-80来制备。在某些实施方案中,组合物还包含浓度为0.02mM至2mM的含巯基的抗氧化剂(例如,GSH、GSSG、GSH+GSSG、半胱氨酸、胱氨酸、半胱氨酸+胱氨酸)。

[0153] 在某些实施方案中,组合物(例如,药物组合物)包含抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段,浓度为50mM至250mM的精氨酸(例如,精氨酸盐酸盐),浓度为0.02%至0.08%的聚山梨醇酯-80,和浓度为10mM至30mM组氨酸。组合物的pH为5.0至6.5。在某些实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段以50mg/ml至225mg/ml的浓度存在于组合物中。在某些实施方案中,组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含含有BIIB059的CDR的(例如,SEQ ID NO:1或17、2、3、4、5和6)的VH和VL。在某些实施方案中,组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含分别含有SEQ ID NO:7和8的VH和VL。在一些实施方案中,组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含分别含有SEQ ID NO:9和10的重链和轻链。在某些实施方案中,组合物包含浓度为1%至10%的蔗糖。在某些实施方案中,组合物包含浓度为0.02mM至2mM的含巯基的抗氧化剂(例如,GSH、GSSG、GSH+GSSG、半胱氨酸、胱氨酸、或半胱氨酸+胱氨酸)。在一个实施方案中,组合物的pH为5.5,并且包含浓度为150mg/ml的BIIB059或其BIIB059结合片段,浓度为3%的蔗糖,浓度为100mM的精氨酸盐酸盐,浓度为0.05%的聚山梨醇酯-80,和浓度为20mM组氨酸。在另一个实施方案中,上面列出的组合物还包含浓度为0.02mM至2mM的含巯基的抗氧化剂(例如,GSH、GSSG、GSH+GSSG、半胱氨酸、胱氨酸、或半胱氨酸+胱氨酸)。在一个具体实施方案中,含巯基的抗氧化剂是浓度为0.4mM的GSH。

[0154] 对于皮下施用,组合物(例如,药物组合物)可包含更高浓度的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一个实施方案中,这种组合物包含浓度为200mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段;浓度为250mM的精氨酸(例如精氨酸盐酸盐);浓度为3%的蔗糖;浓度为0.05%的聚山梨醇酯-80;和浓度为20mM的组氨酸。在一些情况下,组合物的pH为6.0。在一些情况下,组合物还包含浓度为0.02mM至2mM的含巯基的抗氧化剂(例如,GSH、GSSG、GSH+GSSG、半胱氨酸、胱氨酸、或半胱氨酸+胱氨酸)。在一个具体的实例中,含巯基的抗氧化剂是浓度为0.4mM的GSH。在另一具体实例中,含巯基的抗氧化剂是浓度为0.2mM的GSSG。在另一个具体实例中,含巯基的抗氧化剂是浓度为0.4mM的GSH和浓度为0.2mM的GSSG。在另一个实施方案中,这种高浓度组合物包含浓度为225mg/ml的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段;浓

度为250mM的精氨酸(例如精氨酸盐酸盐);浓度为1%的蔗糖;浓度为0.05%的聚山梨醇酯-80,和浓度为20mM的组氨酸。在一些情况下,组合物的pH为6.0。在一些情况下,组合物还包含浓度为0.02mM至2mM的含巯基的抗氧化剂(例如,GSH、GSSG、GSH+GSSG、半胱氨酸、胱氨酸、或半胱氨酸+胱氨酸)。在一个具体实例中,含巯基的抗氧化剂是浓度为0.4mM的GSH。在另一具体实例中,含巯基的抗氧化剂是浓度为0.2mM的GSSG。在另一个具体实例中,含巯基的抗氧化剂是浓度为0.4mM的GSH和浓度为0.2mM的GSSG。在另一具体实例中,含巯基的抗氧化剂是浓度为0.4mM的半胱氨酸。在某些实施方案中,组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含含有BIIB059的CDR的(例如,SEQ ID NO:1或17、2、3、4、5和6)的VH和VL。在某些实施方案中,组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含分别含有SEQ ID NO:7和8的VH和VL。在一些实施方案中,组合物的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含分别含有SEQ ID NO:9和10的重链和轻链。

[0155] 给药

[0156] 上述抗BDCA2抗体(例如,BIIB059)或其BDCA2结合片段可以以不同剂量向受试者,例如人受试者施用。抗BDCA2抗体(例如,BIIB059)或其BDCA2结合片段可以以固定剂量(即,不依赖于患者的体重)或以mg/kg剂量(即,基于受试者的体重而变化的剂量)施用。本文所用的剂量单位形式或“固定剂量”是指适合作为待治疗受试者的单位剂量的物理上离散的单位;每个单位包含与所需的药物载体结合并且任选地与其他药剂结合的经计算产生期望治疗效果的预定量的活性化合物。可以给予单剂量或多剂量。治疗可持续数天、数周、数月或甚至数年。

[0157] 在一个实施方案中,为了在成年人受试者中治疗本文所述的适应症,抗BDCA2抗体(例如,BIIB059)或其BDCA2结合片段的剂量为25mg的固定剂量。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的剂量为50mg的固定剂量。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的剂量为150mg的固定剂量。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的剂量为450mg的固定剂量。

[0158] 在一个实施方案中,为了在儿科人受试者中治疗本文所述的适应症,抗BDCA2抗体(例如,BIIB059)或其BDCA2结合片段的剂量为18mg的固定剂量,其中儿童的体重为10至18kg。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的剂量为22mg的固定剂量,其中儿童的体重为18.1kg至25kg。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的剂量为28mg的固定剂量,其中儿童的体重为25.1kg至48kg。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的剂量为50mg的固定剂量,其中儿童的体重大于48kg。这些剂量相当于50mg的成人剂量。

[0159] 在一个实施方案中,为了在儿科人受试者中治疗本文所述的适应症,抗BDCA2抗体(例如,BIIB059)或其BDCA2结合片段的剂量为40mg的固定剂量,其中儿童的体重为10至18kg。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的剂量为56mg的固定剂量,其中儿童的体重为18.1kg至25kg。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的剂量为80mg的固定剂量,其中儿童的体重为25.1kg至48kg。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的剂量为150mg的固定剂量,其中儿童的体重大于48kg。这些剂量相当于150mg的成人剂量。

[0160] 上述固定剂量各自可以在一段时间内视情况每天、每周、每2周、每4周、每6周、每8

周、每月、每两周、每周或每天施用,以包括至少2个剂量、3个剂量、4个剂量、5个剂量、6个剂量、7个剂量、8个剂量、9个剂量、10个剂量、12个剂量、14个剂量、16个剂量、18个剂量、20个剂量、22个剂量、24个或更多个剂量。

[0161] 在某些实施方案中,在由健康护理提供者确定对于受试者有益的一段时间内,每2周或每4周向人受试者施用25mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些情况下,每4周向人受试者施用25mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些实施方案中,在向受试者施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的第一个剂量后两周,还向受试者施用25mg、50mg、150mg或450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一个实施方案中,负荷剂量为25mg抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,负荷剂量为50mg抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些实施方案中,向受试者施用25mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、或至少10个剂量。在一些实施方案中,向受试者施用25mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的4、5、6、7、8、9或10个剂量。在一些情况下,向受试者施用25mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的2至24、2至20、2至18、2至16、2至14、2至12、2至10、或2至8个剂量。

[0162] 在某些实施方案中,在由健康护理提供者确定对于受试者有益的一段时间内,每2周或每4周向人受试者施用50mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些情况下,每4周向人受试者施用50mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些实施方案中,在向受试者施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的第一个剂量后两周,还向受试者施用25mg、50mg、150mg或450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一个实施方案中,负荷剂量为50mg抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些实施方案中,向受试者施用50mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、或至少10个剂量。在一些实施方案中,向受试者施用50mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的4、5、6、7、8、9或10个剂量。在一些情况下,向受试者施用50mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的2至24、2至20、2至18、2至16、2至14、2至12、2至10、或2至8个剂量。

[0163] 在某些实施方案中,在由健康护理提供者确定对于受试者有益的一段时间内,每2周或每4周向人受试者施用150mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些情况下,每4周向人受试者施用150mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些实施方案中,在向受试者施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的第一个剂量后两周,还向受试者施用50mg、150mg或450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一个实施方案中,负荷剂量为150mg抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些实施方案中,向受试者施用150mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、或至少10个剂量。在一些实施方案中,向受试者施用150mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的4、5、6、7、8、9或10个剂量。在一些情况下,向受试者施用150mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的2至24、2至20、2至18、2至16、2至14、2至12、2至10、或2至8个剂量。

[0164] 在某些实施方案中,在由健康护理提供者确定对于受试者有益的一段时间内,每2周或每4周向人受试者施用450mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些情况下,每4周向人受试者施用450mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在某些实施

方案中,在向受试者施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的第一个剂量后两周,还向受试者施用50mg、150mg或450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一个实施方案中,负荷剂量为450mg抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些实施方案中,向受试者施用450mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、或至少10个剂量。在一些实施方案中,向受试者施用450mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的4、5、6、7、8、9或10个剂量。在一些情况下,向受试者施用450mg固定剂量的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的2至24、2至20、2至18、2至16、2至14、2至12、2至10、或2至8个剂量。

[0165] 药物组合物可包含“治疗有效量”的本文所述药剂。这样的有效量可基于所施用药剂的效果或药剂的组合效果(如果施用多于一种药剂的话)来确定。药剂的治疗有效量也可根据因素如个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及化合物在个体中引起期望响应的能力而变化。治疗有效量也是其中治疗有益效果超过组合物的任何毒性或有害作用的量。在一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的治疗有效量为25mg。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的治疗有效量为50mg。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的治疗有效量为150mg。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的治疗有效量为450mg。在一个实施方案中,用于儿科人受试者(例如,21岁或更小的受试者,18岁或更小的受试者,或16岁或更小的受试者)的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的治疗有效量为18mg、22mg、28mg、40mg、50mg、56mg、80mg、或150mg。

[0166] 在一些情况下,以25mg的剂量向受试者施用上述抗BDCA2抗体或BDCA2结合组合物。在另一些情况下,以50mg的剂量向受试者施用上述抗BDCA2抗体或BDCA2结合组合物。在另一些情况下,以150mg的剂量向受试者施用上述抗BDCA2抗体或BDCA2结合组合物。在另一些情况下,以450mg的剂量向受试者施用上述抗BDCA2抗体或BDCA2结合组合物。

[0167] 对于儿科人受试者(例如,21岁或更小的受试者,18岁或更小的受试者,或16岁或更少的受试者),为了达到相当于50mg成人剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段,剂量根据儿童的体重确定如下:

<u>体重</u>	<u>待施用的剂量</u>
10 至 18 kg	每四周 18 mg
[0168] 18.1 至 25 kg	每四周 22 mg
25.1 至 48 kg	每四周 28 mg
大于 48 kg	每四周 50 mg

[0169] 对于儿科人受试者,为了达到相当于150mg成人剂量的上述抗BDCA2抗体或BDCA2结合组合物,剂量根据儿童的体重确定如下:

<u>体重</u>	<u>待施用的剂量</u>
10 至 18 kg	每四周 40 mg
[0170] 18.1 至 25 kg	每四周 56 mg
25.1 至 48 kg	每四周 80 mg
大于 48 kg	每四周 150 mg

[0171] 可以针对个体受试者调整抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的施用途径和/或模式。对于许多应用,施用途径是以下之一:皮下注射(SC)、静脉内注射或输注(IV)、腹膜内施用(IP)或肌内注射。在一个实施方案中,施用途径是皮下。在另一个实施方案中,施用途径是静脉内。

[0172] 包含单独的或与非BDCA2抗体药剂组合的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的药物组合物可用医疗装置施用。该装置可以设计具有特点如便携性,室温存储,以及易用性,以便其可以在紧急情况下例如由未经训练的受试者或现场的应急人员使用,移至医疗设施和其他医疗设备。该装置可以包括,例如,用于储存包含抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的药物制剂的一个或多个外壳,并且可以配置为递送一个或多个单位剂量的阻断剂。

[0173] 例如,药物组合物可以用无针皮下注射装置施用,例如US5,399,163;5,383,851;5,312,335;5,064,413;4,941,880;4,790,824;或4,596,556中公开的装置。众所周知的植入物和模块的实例包括:US4,487,603,其公开了一种用于以受控速率分配药物的可植入微输注泵;US4,486,194,其公开了一种用于通过皮肤施用药物的治疗装置;US4,447,233,其公开了一种用于以精确输注速率递送药物的药物输注泵;US4,447,224,其公开了一种用于连续药物递送的可变流可植入输注装置;US4,439,196,其公开了一种具有多室隔室的渗透药物递送系统;和US 4,475,196,其公开了一种渗透药物递送系统。许多其他装置、植入物、递送系统和模块也是已知的。

[0174] 在一个实施方案中,用注射器向人受试者施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,用皮下递送泵向人受试者施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些实施方案中,用自动注入器向人受试者施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在另一些实施方案中,用皮下大容量注入器向人受试者施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。

[0175] 本公开提供了包含抗BDCA2抗体(例如,BIIB059)或其BDCA2结合片段的无菌制剂的泵或注射器。注射器或泵可适于皮下施用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。在一些情况下,注射器或泵递送固定剂量(例如,18mg、22mg、28mg、40mg、50mg、56mg、80mg、150mg、450mg)的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。

[0176] 本公开还提供了包含上述药物组合物的无菌制剂的泵、注射器或注入器(例如,自动注入器、皮下大容量注入器)。注射器或泵可适于皮下施用包含抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段的药物组合物。在一些情况下,注射器或泵递送固定剂量(例如,18mg、22mg、28mg、40mg、50mg、56mg、80mg、150mg、450mg)的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段。

[0177] 治疗方法

[0178] 本文所述的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段可用于治疗或预防多种免疫疾病,例如炎性和自身免疫疾病。抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段可以使pDC失去能力或消耗pDC,

和/或抑制由pDC产生的炎性细胞因子和趋化因子,和/或下调CD32a,和/或抑制pDC的免疫复合物刺激,和/或下调CD62L或引起CD62L脱落。本公开的抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段可以与抗疟药(例如HCQ)组合,以改善治疗炎性和自身免疫性疾病的治疗效果。抗BDCA2抗体可用于降低例如以下的细胞因子和趋化因子的水平:I型干扰素、III型干扰素、IL-6、TNF- α 、MIP1- α 和MIP1- β 、CCL5和IP-10。I型IFN构成包括13种IFN- α 亚型、IFN- β 、- ϵ 、- κ 、- ω 、- δ 和- τ 的多成员细胞因子家族。(Theofilopoulos, Annu. Rev. Immunol., 23:307-36 (2005))。III型干扰素由被称为IFN- λ 1、IFN- λ 2和IFN- λ 3(也分别称为IL29、IL28A和IL28B)的三种IFN- λ 分子组成。通过消耗和/或抑制pDC功能,本文所述的抗BDCA2抗体提供了比试图用中和抗体减少特异性IFN亚型的治疗更稳健的治疗方法。此外,抗BDCA2抗体的pDC聚焦治疗方法比IFN响应的全局阻断更具选择性并且可能更安全。例如,本文所述的抗BDCA2抗体有效地消除了pDC衍生的I型IFN,同时维持了在病毒感染的情况下可能必需的其他IFN来源。

[0179] 本公开提供了使用本文所述的抗体和组合物治疗BDCA2相关病症的方法。BDCA2相关病症的非限制性实例包括SLE、CLE、DLE、狼疮性肾炎、全身性硬化症(硬皮病)、硬斑病、银屑病、类风湿性关节炎、炎性肠病(IBD)、皮炎、多发性肌炎、I型糖尿病和细胞因子释放综合征。在一些实施方案中,本文所述的抗BDCA2抗体和组合物可用于治疗狼疮病症(例如,SLE、CLE和DLE)。

[0180] 在一个实施方案中,本公开的特征在于在有需要的人受试者中治疗SLE(例如,中度或重度狼疮)的方法。该方法包括向有需要的人受试者施用治疗有效量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在某些情况下,向受试者施用本文所述的药物组合物以提供50mg、150mg或450mg剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在某些情况下,当受试者是儿科受试者(例如,21岁或更小的受试者,18岁或更小的受试者,或16岁或更小的受试者)时,向受试者施用本文所述的药物组合物以提供18mg、22mg、28mg、40mg、50mg、56mg、80mg、或150mg剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。如上所述,基于儿童的体重选择剂量。在一些情况下,向受试者施用至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个剂量、至少11个剂量、至少12个剂量,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12个剂量。在某些情况下,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后约2周,还向受试者施用50mg、150mg或450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有SLE的受试者施用50mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和50mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有SLE的受试者施用150mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和150mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有SLE的受试者施用450mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。

[0181] 本公开的特征还在于在有需要的人受试者中治疗皮肤红斑狼疮(有或没有SLE)的方法。该方法包括向有需要的人受试者施用治疗有效量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在某些情况下,向受试者施用本文所述的药物组合物以提供50mg、150mg或450mg剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在某些情况下,当受试者是儿科受试者(例如,21岁或更小的

受试者,18岁或更小的受试者,或16岁或更小的受试者)时,向受试者施用本文所述的药物组合物以提供18mg、22mg、28mg、40mg、50mg、56mg、80mg、或150mg剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。如上所述,基于儿童的体重选择剂量。在一些情况下,向受试者施用至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个剂量、至少11个剂量、至少12个剂量,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12个剂量。在某些情况下,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后约2周,还向受试者施用50mg、150mg或450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有CLE(有或没有SLE)的受试者施用50mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和50mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有CLE(有或没有SLE)的受试者施用150mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和150mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有CLE(有或没有SLE)的受试者施用450mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。

[0182] 本公开还提供了在有需要的人受试者中治疗盘状红斑狼疮(有或没有SLE)的方法。该方法包括向有需要的人受试者施用治疗有效量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在某些情况下,向受试者施用本文所述的药物组合物以提供50mg、150mg或450mg剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在某些情况下,当受试者是儿科受试者(例如,21岁或更小的受试者,18岁或更小的受试者,或16岁或更小的受试者)时,向受试者施用本文所述的药物组合物以提供18mg、22mg、28mg、40mg、50mg、56mg、80mg、或150mg剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。如上所述,基于儿童的体重选择剂量。在一些情况下,向受试者施用至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个剂量、至少11个剂量、至少12个剂量,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12个剂量。在某些情况下,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后约2周,还向受试者施用50mg、150mg或450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有盘状狼疮(有或没有SLE)的受试者施用50mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和50mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有盘状狼疮(有或没有SLE)的受试者施用150mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和150mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有盘状狼疮(有或没有SLE)的受试者施用450mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。

[0183] 在一个实施方案中,本公开的特征在于在有需要的人受试者中治疗细胞因子释放综合征和/或细胞因子风暴(cytokine storm)的方法。细胞因子释放综合征(CRS)是使用T细胞结合治疗(T cell-engaging therapy)(例如,嵌合抗原受体修饰的T细胞(CART)治疗)时发生的常见立即并发症。这种疾病的严重病例被称为细胞因子风暴。CRS是与使用许多单克隆抗体相关的症候群。通常称为输注反应,CRS由来自抗体靶向的细胞的细胞因子释放以及募集到该区域的免疫效应细胞产生。抗体与T细胞受体结合,在T细胞被破坏前激活它们。

由活化的T细胞释放的细胞因子产生一种类似于严重感染中发现的全身性炎症反应。当细胞因子释放到循环中时,受试者可能出现全身症状,例如发烧、恶心、寒战、低血压、心动过速、虚弱、头痛、皮疹、喉咙发痒和呼吸困难。在大多数情况下,症状在严重性方面是轻微至中等,并且可以相对容易地进行管理。然而,一些患者可能会经历严重的危及生命的反应,这些反应是由细胞因子的大量释放引起的。在未接受过化学治疗的恶性血液病患者的第一次输注期间,更常见的是严重反应。严重反应的特点是它们的快速发作和相关症状的敏锐度。大量细胞因子释放是一种肿瘤急症,并且可导致危及生命的并发症。治疗CRS的方法包括向有需要的人受试者施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在某些情况下,向受试者施用本文所述的药物组合物以提供50mg、150mg或450mg剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在某些情况下,当受试者是儿科受试者(例如,21岁或更小的受试者,18岁或更小的受试者,或16岁或更小的受试者)时,向受试者施用本文所述的药物组合物以提供18mg、22mg、28mg、40mg、50mg、56mg、80mg、或150mg剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。如上所述,基于儿童的体重选择剂量。在一些情况下,向受试者施用至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个剂量、至少11个剂量、至少12个剂量,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、或12个剂量。在某些情况下,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后约2周,还向受试者施用50mg、150mg或450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有CRS的受试者施用50mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和50mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有CRS的受试者施用150mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和150mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在另一个实施方案中,在施用抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段的第一个剂量后2周,向患有CRS的受试者施用450mg固定剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段和450mg负荷剂量的抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段。在某些情况下,人受试者已经经历、预计经历或正在经历CART治疗(例如,CART-19治疗)。在某些情况下,人受试者已经经历、预计经历或正在经历抗T细胞抗体(例如,ATG、OKT3、TGN1412)或双特异性抗体(例如博纳吐单抗(blinatumomab))的治疗。在某些情况下,受试者已经经历、预计经历或正在经历抗CD20抗体(例如利妥昔单抗)的治疗。在某些情况下,在用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段治疗期间,还向接受CRS治疗的人受试者同时、分开或依次施用皮质类固醇(例如氢化可的松)和/或抗组胺(例如氯苯那敏)。在一些情况下,在用抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段治疗期间,还向受试者同时、分开或依次施用抑制IL-6的药剂。抑制IL-6的药剂可以是抗IL-6抗体或其IL6结合片段、IL6受体(IL6R)拮抗剂(例如托珠单抗(tocilizumab)或可溶性IL6R)。

[0184] 在一个实施方案中,在所有上述治疗方法中,抗BDCA2抗体或其BDCA2结合片段包含BIIB059的三个重链可变结构域CDR和三个轻链可变结构域CDR。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含SEQ ID NO:1-6所示的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含SEQ ID NO:12-16所示的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含SEQ ID NO:18-22所示的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含SEQ ID NO:24-28所示的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段包含:包含SEQ ID NO:1或17所示的氨基酸序列

或由其组成的VH CDR1,包含SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列或由其组成的VH CDR2;和包含SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列或由其组成的VH CDR3;以及包含SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列或由其组成的VL CDR1,包含SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列或由其组成的VL CDR2;和包含SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列或由其组成的VL CDR3。

[0185] 在一些实施方案中,在所有上述治疗方法中,抗BDCA2抗体或其抗原结合片段选择性地与人BDCA2的胞外域结合,并包含(i)与BIIB059的VH结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:7)具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的VH结构域,和/或(ii)与BIIB059的VL结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:8)具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的VL结构域,或者与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:8至少在1至5个氨基酸残基处,但少于40、30、20、15或10个残基处不同。在某些情况下,这些抗BDCA2抗体或BDCA2结合片段(i)结合人或食蟹猴BDCA2,但不会显著地结合灵长类动物以下的系统发育物种的BDCA2;和/或(ii)抑制人pDC的TLR7/TLR9诱导的I型干扰素和其他细胞因子或趋化因子产生;和/或(iii)介导BDCA2从pDC表面内化;和/或(iv)下调pDC表面的CD32a和/或CD62L;和/或(v)通过ADCC或CDC在体外消耗pDC。

[0186] 在某些实施方案中,在所有上述治疗方法中,抗BDCA2抗体或其抗原结合片段选择性地与人BDCA2的胞外域结合,并包含(i)与SEQ ID NO:9的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的HC,和/或(ii)与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的LC,或者与SEQ ID NO:9和/或SEQ ID NO:10至少在1至5个氨基酸残基处,但少于40、30、20、15或10个残基处不同。

[0187] 以下是本发明实践的实施例。它们不应被解释为以任何方式限制本发明的范围。

[0188] 实施例

[0189] 实施例1:评估抗BDCA2抗体制剂的粘度

[0190] 为了开发高浓度抗BDCA2抗体制剂,测定了可以使用的抗体的最高浓度。在这些研究中使用的抗体制剂包含BIIB059、10mM柠檬酸盐缓冲剂、140mM Arg.HCl和0.05%PS80。制剂的pH为6.0。这些研究中的最高浓度将受到粘度和大容量皮下泵所施加的极限(50cP)的限制。在低浓度制剂中测量粘度(图1)。发现在225和250mg/mL之间达到阈值粘度,并且选择225mg/mL作为抗BDCA2抗体制剂的最高浓度。

[0191] 实施例2:测试抗体制剂的不同赋形剂和条件

[0192] 最初,在实施例1的抗体制剂中,在40°C下观察到非常高的聚集速率,以及可见颗粒和显著的亚可见颗粒负荷。鉴定了多个诱发因素:

[0193] 1. 在40°C时的行为显然不能预测5°C时的行为

[0194] 2. 与工艺相关的应激(例如在UF/DF期间)可能导致形成聚集物。在赋形剂的存在下的加工防止了这种情况的发生

[0195] 3. 使用的不同药物物质批次具有不同的起始HMW水平,这可能影响随后的聚集

[0196] 4. 蛋白质似乎至少中度光敏感。

[0197] 5. 可能存在与氧化发生的联系。

[0198] 因此,在掺加任何其他赋形剂之前,材料在至少最少赋形剂的存在下制备。测试稳

定性的制剂如表2所示。

[0199] 表2:初始制剂研究

研究	蛋白质浓度 (mg/mL)	缓冲剂	pH	赋形剂
1	150、200 和 225	His, 柠檬酸盐	5.5、6.0、6.5	140 mM Arg.HCl
[0200] 2	225	柠檬酸盐	6.0	70 mM Arg 300 mM Arg 7%蔗糖 300 mM Pro 150 mM Arg, 10 mM Met 70 mM Arg, 70 mM Glu 140 mM NaCl 1%羟丙基 β-环糊精 1%琥珀酰 β-环糊精

[0201] 研究1

[0202] 在研究1中,尽管在40℃下观察到高聚集,但在5℃下观察到优异的稳定性,在高至225mg/mL的浓度下经过3个月高分子量物质(HMW)没有显著增加。对数据的进一步分析表明,较低的pH导致较低的聚集,并且组氨酸优于柠檬酸盐(图2)。

[0203] 在较高pH下在40℃孵育后可以观察到可见颗粒,而通过微流成像(micro-flow imaging, MFI)的亚可见颗粒计数仍然是可接受的。在5℃下3个月后观察到类似的趋势,但是可以看到更少的颗粒。这些制剂中的粘度随浓度而增加。虽然这种影响很小,但也可以观察到对缓冲剂和pH的弱依赖性(图3)。

[0204] 还进行实验以确定在高浓度的抗BDCA2抗体中使用的吐温水平0.05%PS80是否仍然足够。外观、MFI和尺寸排阻色谱(SEC)均显示在0.02%PS80及以上的水平下,没有获得额外的抗搅拌保护。因此确定将目标浓度保持在0.05%PS80是足够的。

[0205] 研究2

[0206] 第二项研究着眼于不同的赋形剂和一些赋形剂组合(参见表2)。

[0207] 在40℃时,再次观察到高聚集,尽管一些赋形剂(特别是Arg.HCl)以浓度依赖性方式提供了明显的优势(图4)。

[0208] 在考虑这些制剂的粘度时,再次看到Arg.HCl是有利的,因为其以浓度依赖性方式降低粘度。含有Arg的溶液在40℃孵育后确实具有形成可见颗粒的倾向。令人惊讶的是,蔗糖阻止了可见颗粒的形成(表3)。蔗糖还降低了亚可见颗粒的计数(图5)。

[0209] 表3:粘度(在时间零时)和在40℃下孵育1个月后的可见颗粒。制剂是20mM柠檬酸盐(pH 6.0)、0.05%PS80和所示的额外赋形剂。

	赋形剂	225 mg/mL 下的粘度	40°C下 1个月后的可见颗粒
	70 mM Arg.HCl	47.4	通过涡旋产生的粗白色/不透明可见颗粒
	300 mM Arg.HCl	26.1	通过涡旋产生的粗可见颗粒
	7%蔗糖	168	无可见颗粒
[0210]	1%羟丙基 β-环糊精	167	无可见颗粒
	1%琥珀酰 β-环糊精	202	无可见颗粒
	300 mM 脯氨酸	104	无可见颗粒
	140 mM NaCl	59.1	无可见颗粒
	70 mM Arg.HCl / 70 mM Glu	45.9	无可见颗粒
	150 mM Arg.HCl / 10 mM Met	33.5	通过涡旋产生的粗可见颗粒

[0211] 基于这些结果,开始使用蔗糖和Arg.HCl的组合的发展稳定性研究,以观察该组合是否会导致较低的聚集、良好的粘度和无颗粒形成。在40°C孵育后没有观察到可见颗粒。有趣的是,蔗糖和Arg.HCl的组合也显著降低了亚可见颗粒计数(图5)。尽管70mM Arg.HCl中的颗粒数量非常少,但令人惊讶的是,添加蔗糖进一步降低了颗粒计数(图5)。蔗糖的存在不会显著地影响聚集物的形成(图6)。在5°C下进行6周的额外数据延续了这一趋势,并且在Arg.HCl/蔗糖组合制剂中显示出可接受的稳定性。在200mg/mL下,具有3.5%蔗糖的70mM Arg.HCl的粘度为22.5cP;具有7%蔗糖的粘度为23.5cP。

[0212] 将研究1和研究2的结果结合,一些观察结果导致提出了一种新的“最佳”高浓度制剂(表4)。该“最佳”制剂在实施例3和4中称为制剂2。

[0213] 表4:将研究1和研究2的数据结合,提出的“最佳”制剂的详细信息

	原始 50 mg/mL 制剂	提出的新制剂	原理	
	缓冲剂	10 mM 柠檬酸盐	20 mM His	提高缓冲能力 His 中更好稳定性
	pH	pH 6.0	pH 5.5	较低 pH 下的较低聚集
[0214]	[Arg.HCl]	140 mM	100 mM	平衡渗透压 vs. 较低粘度和聚集
	[蔗糖]	--	3%	减少可见颗粒和亚可见颗粒形成
	PS80 浓度	0.05%	0.05%	无需改变

[0215] 由于在抗BDCA2制剂中存在聚集、亚可见颗粒和可见颗粒的历史,所以决定将抗BDCA2抗体配制为150mg/mL。

[0216] 实施例3:比较抗BDCA2抗体制剂中的聚集

[0217] 将配制在10mM柠檬酸盐、150mM Arg.HCl、0.05%PS80,pH6.0中的50mg/ml抗BDCA2抗体(BIIB059)制剂通过超滤/渗滤进行浓缩。产生了两种不同的浓缩制剂:制剂1:150mg/ml BIIB059、20mM柠檬酸盐、140mM Arg.HCl、0.05%PS80,pH6.0;和制剂2:150mg/ml BIIB059、20mM组氨酸、100mM Arg.HCl、3%蔗糖、0.05%PS80,pH5.5。使用这种形式,可以研

究这两种不同制剂中的高浓度。

[0218] 有趣的是,尽管制剂2材料从柠檬酸盐/Arg缓冲剂中浓缩和再处理,但制剂2(具有His/蔗糖/Arg赋形剂)显示更低水平的起始聚集物(图7)。该材料的聚集速率也较低(表5)。

[0219] 表5:比较制剂1和2的聚集速率(每月HMW增加%)

	制剂2	制剂1
制剂	150mg/mL,His/Arg/蔗糖	150mg/mL,Cit/Arg
5°C聚集速率	0.10	0.20
25°C聚集速率	0.40	0.50
40°C聚集速率	2.53	2.00

[0221] 基于观察到的起始%HMW(图7),5°C下的聚集的速率(表5)和25°C下1个月后HMW的增加(图7),可以预测每种产品的保质期:即达到5%HMW所需的时间,这是早期产品的典型规格阈值。制剂1的预测的保质期为9.5个月,而制剂2的保质期为26个月(这可能甚至是低估的,因为5°C聚集速率是基于前三个月数据,此时的聚集是最快的,而1个月的室温可能远超过产品实际可能经受的)。总之,数据显示,与制剂1相比,制剂2提供显著提高的抗聚集稳定性。

[0222] 实施例4:抗BDCA2抗体制剂2的粘度

[0223] 然后测量制剂2的粘度。从图8中可以看出,粘度谱适于将该制剂并入到装置中。直到~155mg/mL才达到自动注入器的10cP阈值,表明多至~140mg/mL的物质可进入该装置。在浓度高达200mg/mL时未超过50cP阈值,表明如果需要皮下大容量注入器,可能达到此浓度。

[0224] 实施例5:给药方案的基本原理

[0225] 基于安全性、药代动力学(PK)、PK-BDCA2内化关系和pDC IFN α 产生的外推抑制效力(导致90%响应抑制的浓度[IC₉₀])来选择给药方案。

[0226] 在健康受试者中直至并包括20mg/kg的单次IV剂量的BIIB059已被证实是可接受的耐受性。在0.3mg/kg至20mg/kg的剂量范围观察到了剂量依赖性方式的通过BDCA2内化和再现测量的BDCA2靶标接合。BDCA2内化的EC₉₀值来自基于群体的PK和PD建模,平均值为1.5 μ g/mL。从BDCA2内化和IFN α 抑制的体外至体内外推估计IFN α 抑制的IC₉₀。

[0227] 每4周(Q4W)50mg、150mg和450mg固定剂量BIIB059的皮下(SC)施用以及施用第一剂量后2周(第2周)的额外剂量(“负荷剂量”)由以下支持:

[0228] (1)选择50mg SC Q4W的低剂量以维持大部分给药间隔的BDCA2内化。

[0229] (2)选择150mg SC Q4W的中剂量以达到类似于IFN α 的计算的IC₉₀的最小观察浓度(C_{min})水平。

[0230] (3)选择450mg SC Q4W的最高剂量以达到类似于IFN α 抑制的计算的IC₉₀的3倍的C_{min}水平。此外,与对于65kg人的20mg/kg IV的单剂量(健康志愿者中测试的最高剂量)达到的相比,具有在第2周时450mg额外剂量和0.45的生物利用度(F)的该给药方案预计导致3个月累积暴露。

[0231] 为了确保SC施用后1个月内足够的药物暴露和浓度水平高于目标稳态值,将包括在第2周(第15天-即施用第一剂量后15天)的SC负荷剂量。

[0232] 使用体重调整剂量(weight-adjusted dosing)的PK数据显示体重不是BIIB059暴

露的有影响的协变量。此外,群体PK模拟显示,体重调整剂量和固定剂量两者导致可比较的BIIB059暴露。因此,固定给药方案是合理的。

[0233] 450mg SC Q4W的高剂量(持续12周)和第2周时的负荷剂量基于使用SC和IV Q2W方案的数据的PK模拟,并且预期450mg剂量水平将具有足够的靶标(BDCA2)覆盖以在12周内抑制pDC功能,包括I型IFN的产生。

[0234] 实施例6:抗BDCA2高浓度制剂研究

[0235] 在20mM组氨酸、100mM Arg.HCl、3%蔗糖、0.05%聚山梨醇酯-80 (pH5.5)中以150mg/mL的浓度配制抗BDCA2抗体药物产品。为了能够以高剂量皮下施用抗BDCA2抗体,进行制剂研究以检查浓度高于150mg/mL的抗BDCA2抗体液体制剂的稳定性。在该研究中检查了200、225和240mg/mL的浓度。还改变精氨酸和蔗糖水平以理解这些赋形剂在高浓度制剂的稳定性中的作用。另外,将制剂的pH增加至6.0或6.5以减少碱性物质的形成。测试总共十个制剂(关于制剂组成参见表6)。

[0236] 表6:测试的制剂

制剂	[抗BDCA2抗体] (mg/mL)	Arg.H Cl (mM)	蔗糖 (%)	pH	His (mM)	PS 80 (%)
1	200	250	3	6	20	0.05
2	200	100	3	6.5	20	0.05
3	200	250	3	6.5	20	0.05
4	225	100	3	6	20	0.05
5	225	250	1	6	20	0.05
6	225	250	1	6.5	20	0.05
7	240	100	1	6	20	0.05
8	240	250	1	6	20	0.05
9	240	100	1	6.5	20	0.05
10	240	250	1	6.5	20	0.05

[0238] 所有制剂在四种条件下孵育:(i) 5°C, (ii) 25°C/60%RH, (iii) 30°C/70%RH, 和 (iv) 40°C/75%RH。在预定时间点,抽取样品用于分析,其包括用于定量聚集物的尺寸排阻色谱(SEC)和用于定量碱性同种型的成像毛细管等电聚焦(icIEF)。

[0239] 在5°C下,分别标记为200/250/3/6和225/250/1/6的制剂1和5在所有测试时间点(0、4和12周)具有最低的聚集(图9)。在25°C(图10)、30°C(图11)和40°C(图12)下,与其他制剂相比,制剂1始终表现出最低的聚集物形成。因此,制剂1被鉴定为本研究中表现最佳的制剂。来自该研究的聚集数据的线性建模表明,蛋白质浓度、精氨酸浓度和制剂的pH显著影响聚集。

[0240] 碱性物质形成高度依赖于pH:与pH 6.5的制剂相比,在pH 6.0的制剂中观察到增加的水平。这种趋势在25°C(图13)、30°C(图14)和40°C(图15)下特别明显。pH6.0的制剂还倾向于在25°C(图13)、30°C(图14)和40°C(图15)下随时间显示碱性同种型的增加。在5°C下,在任何制剂中没有碱性同种型的一致增加(图16),这不同于先前在示例性BDCA2制剂中的发现(即,其中抗BDCA2药物制剂以150mg/mL的浓度在20mM组氨酸、100mM Arg.HCl,3%蔗糖、0.05%聚山梨醇酯-80 (pH 5.5)中配制)。

[0241] 实施例7:评估抗BDCA2抗体制剂中含巯基的氧化剂的影响

[0242] 材料和方法:

[0243] 蛋白质和试剂

[0244] 将抗BDCA2抗体 (BIIB059)、SB4(BENEPALI®)和抗 $\alpha_v\beta_5$ 抗体 (STX200) 根据下表配制:

	分子	浓度 (mg/ml)	缓冲剂	pH
[0245]	BDCA2	150	20 mM His, 100 mM Arg.HCl, 3%蔗糖, 0.05% PS80	5.5
	SB4	50	10 mM 磷酸钠, 140 mM NaCl, 1%蔗糖	6.2
	STX 200	50	20 mM 组氨酸, 5%山梨醇, 0.05% PS80	6.5

[0246] 还原和氧化形式的L-谷胱甘肽 (GSH和GSSG) 获自Sigma Aldrich (St.Louis,MO)。

[0247] 尺寸排阻HPLC

[0248] 尺寸排阻HPLC (SEC) 实验在配备有与保护柱偶联的Acquity UPLC BEH200SEC分析柱的Waters Acquity UPLC仪器上进行。UV检测在280nm下进行。通过0.35mL/min流动相的恒定流速将20 μ g的样品量注入柱中。每个样品运行10分钟。

[0249] 稳定性研究

[0250] 在10K离心过滤器中将SB4和STX 200浓缩至150mg/ml。将在相应制剂缓冲剂中制备的20mM GSH和10mM GSSG的储备溶液掺入蛋白质溶液中,以分别达到0.4mM和0.2mM的终浓度。将制备的溶液涂布在具有玻璃插入物的WebSeal板中,密封,并在25°C/60%RH和40°C/75%RH下孵育3个月。在预定时间点通过SEC进行%HMW的分析。

[0251] 结果和讨论

[0252] 谷胱甘肽(三肽(γ -Glu-Cys-Gly))调节二硫键形成。还原形式(GSH)切割错误桥接的二硫键,而氧化形式(GSSG)促进其形成。因此,与氧化还原对(即GSH+GSSG)一起孵育的聚集蛋白质将重新折叠成正确的天然构象并影响聚集动力学。

[0253] 在谷胱甘肽存在下的抗BDCA2抗体显示出初始可逆聚集,随后聚集速率比在25°C没有谷胱甘肽的制剂更慢(图17,左图)。较高的温度(40°C)提高了聚集机制的多样性,构象稳定性也具有作用(图17,右图)。因此单独的谷胱甘肽不能达到与25°C时相似的降低。

[0254] 蔗糖是一种广泛用于蛋白质稳定的赋形剂。其优先从蛋白质表面排除,因此有利于其天然构象。抗BDCA2抗体制剂中不存在蔗糖不影响聚集谱(图18),进一步强调二硫键干扰控制BDCA2中聚集的作用。

[0255] 谷胱甘肽的添加对STX200产生不利影响,其中观察到聚集增加(图20)。STX 200是非糖基化分子,在较高温度下表现出差的构象稳定性。因此,分子的解折叠暴露了巯基,使其更容易与谷胱甘肽中的巯基交联并促进进一步聚集。谷胱甘肽对25°C下的融合蛋白SB4的聚集动力学也没有任何影响,但在40°C促进更快的聚集(图19)。

[0256] 其他实施方案

[0257] 虽然已经结合本发明的详细描述描述了本发明,但是前面的描述旨在说明而不是限制本发明的范围,本发明的范围由所附权利要求的范围限定。其他方面、优点和修改在所

附权利要求的范围内。

序列表

<110> BIOGEN MA I NC

<120> 用于临床使用抗血树突细胞抗原 2 抗体的药物组合物和给药方案

<130> 13751-0255VD1

<140> PCT/US2017/029802

<141> 2017-04-27

<150> 62/328,959

<151> 2016-04-28

<160> 30

<170> Patent In 3.5 版

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 1

Thr Tyr Thr Met Ser
1 5

<210> 2

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 2

Thr Ile Ser Pro Gly Asp Ser Phe Gly Tyr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
1 5 10 15

G n Gly

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

<400> 3

Asp Ile Tyr Tyr Asn Tyr Gly Ala Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述:合成肽"

[0001]

<400> 4
Lys Ala Ser G n Ser Val Asp Tyr Asp G y Asp Ser Tyr Met Asn
1 5 10 15

<210> 5
<211> 7
<212> FRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 5
Ala Ala Ser Thr Leu G u Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> FRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 6
G n G n Ala Asn G u Asp Pro Arg Thr
1 5

[0002]

<210> 7
<211> 122
<212> FRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 7
Asp Val G n Leu Val G u Ser G y G y G y Leu Val Lys Pro G y G y
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser G y Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Thr Met Ser Trp Val Arg G n Ala Pro G y Lys G y Leu G u Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Pro G y Asp Ser Phe G y Tyr Tyr Tyr Pro Asp Ser
50 55 60

Val G n G y Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu
65 70 75 80

Tyr Leu G n Met Asn Ser Leu Arg Ala G u Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Asp Ile Tyr Tyr Asn Tyr G y Ala Trp Phe Ala Tyr Trp
100 105 110

G y G n G y Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 111
<212> FRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 8
Asp Ile G n Leu Thr G n Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val G y
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser G n Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

G y Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr G n G n Lys Pro G y Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gu Ser G y Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser G y Ser G y Ser G y Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

[0003] Ser Leu G n Pro Gu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys G n G n Ala Asn
85 90 95

Gu Asp Pro Arg Thr Phe G y G n G y Thr Lys Val Gu Ile Lys
100 105 110

<210> 9
<211> 451
<212> FRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 9
Asp Val G n Leu Val Gu Ser G y G y G y Leu Val Lys Pro G y G y
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser G y Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Thr Met Ser Trp Val Arg G n Ala Pro G y Lys G y Leu Gu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Pro G y Asp Ser Phe G y Tyr Tyr Tyr Pro Asp Ser
50 55 60

Val G n G y Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu
65 70 75 80

Tyr Leu G n Met Asn Ser Leu Arg Al a G u Asp Thr Al a Val Tyr Tyr
 85 90
 Cys Thr Arg Asp Ile Tyr Tyr Asn Tyr G y Al a Trp Phe Al a Tyr Trp
 100 105 110
 G y G n G y Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Al a Ser Thr Lys G y Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Al a Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser G y G y Thr
 130 135 140
 Al a Al a Leu G y Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro G u Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser G y Al a Leu Thr Ser G y Val H s Thr Phe Pro
 165 170 175
 Al a Val Leu G n Ser Ser G y Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu G y Thr G n Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 H s Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val G u Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr H s Thr Cys Pro Pro Cys Pro Al a Pro G u Leu Leu
 225 230 235 240
 G y G y Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro G u Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 H s G u Asp Pro G u Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp G y Val G u
 275 280 285
 Val H s Asn Al a Lys Thr Lys Pro Arg G u G u G n Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu H s G n Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 G y Lys G u Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Al a Leu Pro Al a Pro
 325 330 335
 Ile G u Lys Thr Ile Ser Lys Al a Lys G y G n Pro Arg G u Pro G n
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp G u Leu Thr Lys Asn G n Val
 355 360 365

[0004]

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys G y Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380

G u Trp G u Ser Asn G y G n Pro G u Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp G y Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp G n G n G y Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430

Met H s G u Ala Leu H s Asn H s Tyr Thr G n Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445

Ser Pro G y
 450

<210> 10
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 10
 Asp Ile G n Leu Thr G n Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val G y
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser G n Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30

G y Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr G n G n Lys Pro G y Lys Ala Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu G u Ser G y Val Pro Ser
 50 55 60

Arg Phe Ser G y Ser G y Ser G y Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu G n Pro G u Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys G n G n Ala Asn
 85 90 95

G u Asp Pro Arg Thr Phe G y G n G y Thr Lys Val G u Ile Lys Arg
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp G u G n
 115 120 125

Leu Lys Ser G y Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140

Pro Arg G u Ala Lys Val G n Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu G n Ser
 145 150 155 160

[0005]

G y Asn Ser G n G u Ser Val Thr G u G n Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Al a Asp Tyr G u Lys
 180 185 190

H s Lys Val Tyr Al a Cys G u Val Thr H s G n G y Leu Ser Ser Pro
 195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg G y G u Cys
 210 215

<210> 11
 <211> 7
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 11
 G y Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 1 5

<210> 12
 <211> 7
 <212> FRT
 <213> 人工序列

[0006]

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 12
 Ser Pro G y Asp Ser Phe G y
 1 5

<210> 13
 <211> 12
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 13
 Asp Ile Tyr Tyr Asn Tyr G y Al a Trp Phe Al a Tyr
 1 5 10

<210> 14
 <211> 15
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 14
 Lys Al a Ser G n Ser Val Asp Tyr Asp G y Asp Ser Tyr Met Asn
 1 5 10 15

<210> 15
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 15
 A l a A l a S e r T h r L e u G u S e r
 1 5

<210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 16
 G n G n A l a A s n G u A s p P r o A r g T h r
 1 5

<210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0007] <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 17
 G y P h e T h r P h e S e r T h r T y r T h r M e t S e r
 1 5 10

<210> 18
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 18
 T h r I l e S e r P r o G y A s p S e r P h e G y T y r T y r
 1 5 10

<210> 19
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 19
 A s p I l e T y r T y r A s n T y r G y A l a T r p P h e A l a T y r
 1 5 10

<210> 20
 <211> 15
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 20
 Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn
 1 5 10 15

<210> 21
 <211> 7
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 21
 Ala Ala Ser Thr Leu Glu Ser
 1 5

<210> 22
 <211> 9
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

[0008]

<400> 22
 Gln Gln Ala Asn Glu Asp Pro Arg Thr
 1 5

<210> 23
 <211> 6
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 23
 Ser Thr Tyr Thr Met Ser
 1 5

<210> 24
 <211> 14
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 24
 Trp Val Ala Thr Ile Ser Pro Gly Asp Ser Phe Gly Tyr Tyr
 1 5 10

<210> 25
 <211> 13

<212> FRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

 <400> 25
 Thr Arg Asp Ile Tyr Tyr Asn Tyr Gly Ala Trp Phe Ala
 1 5 10

<210> 26
 <211> 11
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 26
 Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr
 1 5 10

<210> 27
 <211> 10
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

[0009]

<400> 27
 Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gu
 1 5 10

<210> 28
 <211> 8
 <212> FRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成肽"

<400> 28
 Gn Gn Ala Asn Gu Asp Pro Arg
 1 5

<210> 29
 <211> 213
 <212> FRT
 <213> 智人

<400> 29
 Met Val Pro Gu Gu Gu Pro Gn Asp Arg Gu Lys Gly Leu Trp Trp
 1 5 10 15

Phe Gn Leu Lys Val Trp Ser Met Ala Val Val Ser Ile Leu Leu Leu
 20 25 30

Ser Val Cys Phe Thr Val Ser Ser Val Val Pro His Asn Phe Met Tyr
 35 40 45

Ser Lys Thr Val Lys Arg Leu Ser Lys Leu Arg G u Tyr G n G n Tyr
50 55 60

H s Pro Ser Leu Thr Cys Val Met G u G y Lys Asp Ile G u Asp Trp
65 70 75 80

Ser Cys Cys Pro Thr Pro Trp Thr Ser Phe G n Ser Ser Cys Tyr Phe
85 90 95

Ile Ser Thr G y Met G n Ser Trp Thr Lys Ser G n Lys Asn Cys Ser
100 105 110

Val Met G y Ala Asp Leu Val Val Ile Asn Thr Arg G u G u G n Asp
115 120 125

Phe Ile Ile G n Asn Leu Lys Arg Asn Ser Ser Tyr Phe Leu G y Leu
130 135 140

Ser Asp Pro G y G y Arg Arg H s Trp G n Trp Val Asp G n Thr Pro
145 150 155 160

Tyr Asn G u Asn Val Thr Phe Trp H s Ser G y G u Pro Asn Asn Leu
165 170 175

Asp G u Arg Cys Ala Ile Ile Asn Phe Arg Ser Ser G u G u Trp G y
180 185 190

[0010]

Trp Asn Asp Ile H s Cys H s Val Pro G n Lys Ser Ile Cys Lys Met
195 200 205

Lys Lys Ile Tyr Ile
210

<210> 30
<211> 86
<212> FRT
<213> 智人

<400> 30
Met Ile Pro Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Val G u G n Ala
1 5 10 15

Ala Ala Leu G y G u Pro G n Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu
20 25 30

Phe Leu Tyr G y Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile
35 40 45

G n Val Arg Lys Ala Ala Ile Thr Ser Tyr G u Lys Ser Asp G y Val
50 55 60

Tyr Thr G y Leu Ser Thr Arg Asn G n G u Thr Tyr G u Thr Leu Lys
65 70 75 80

H s G u Lys Pro Pro G n
85

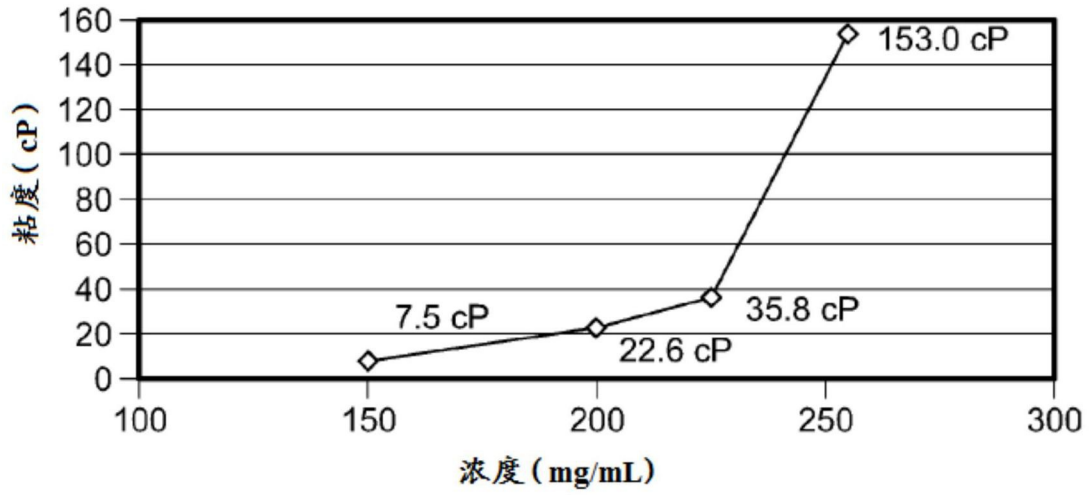


图1

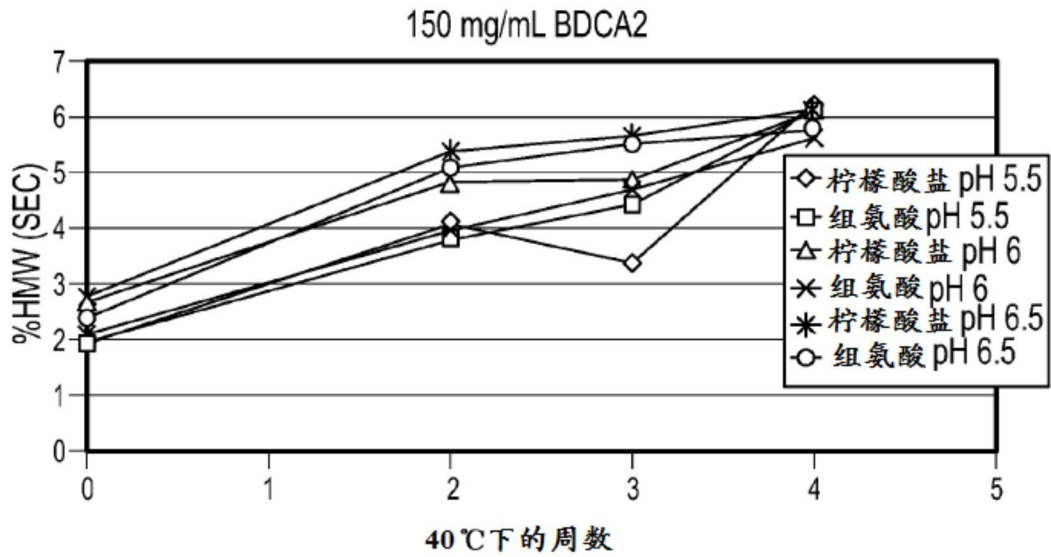


图2A

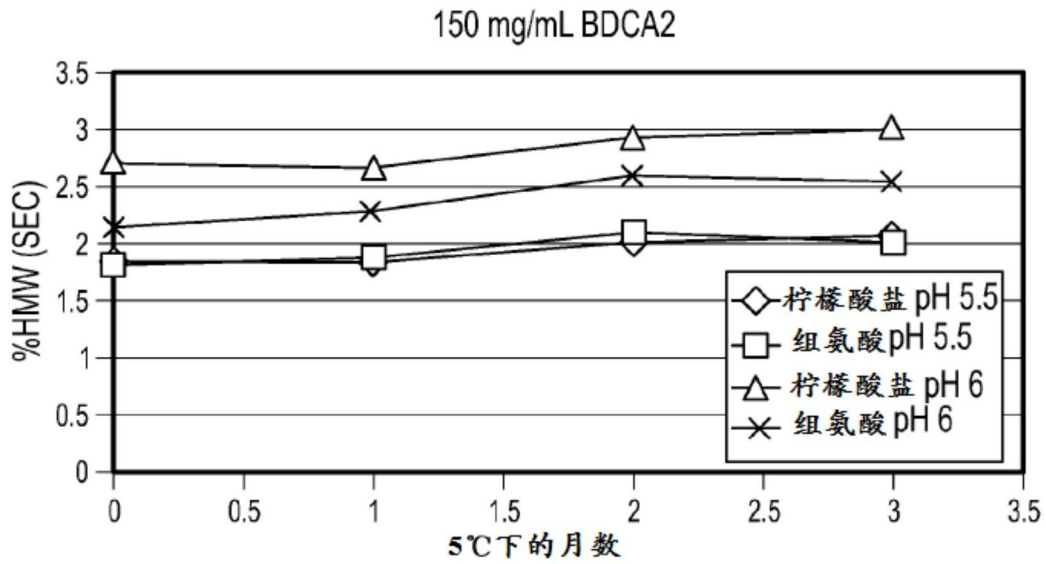


图2B

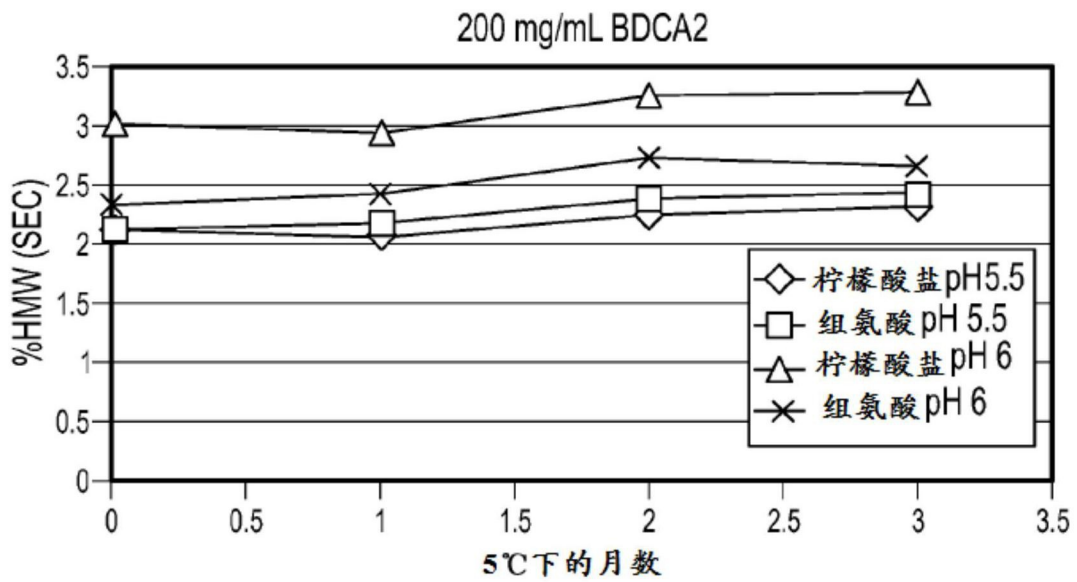


图2C

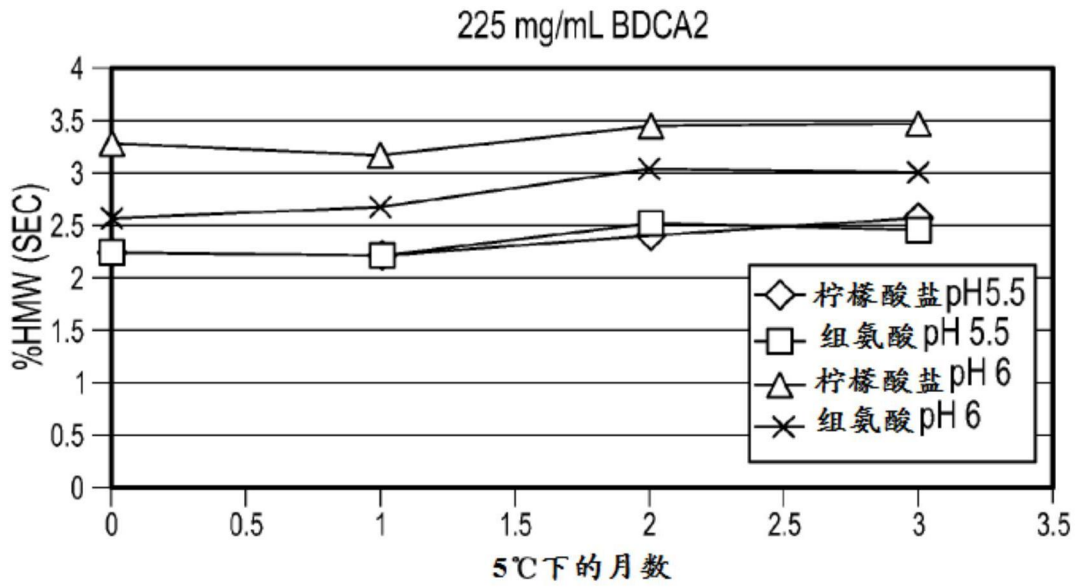


图2D

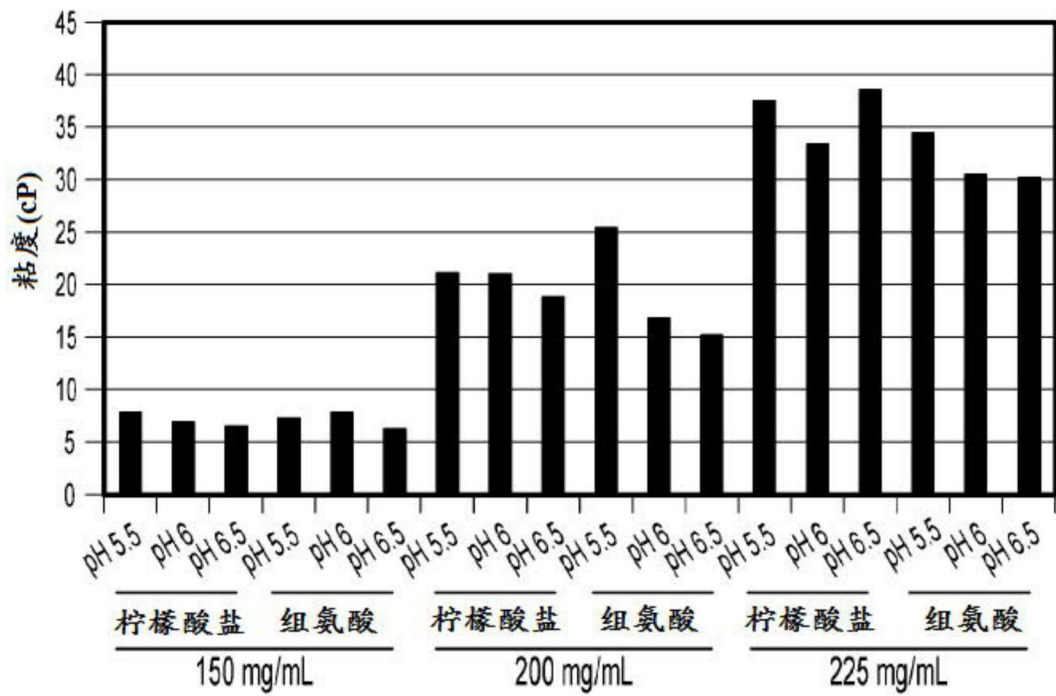


图3

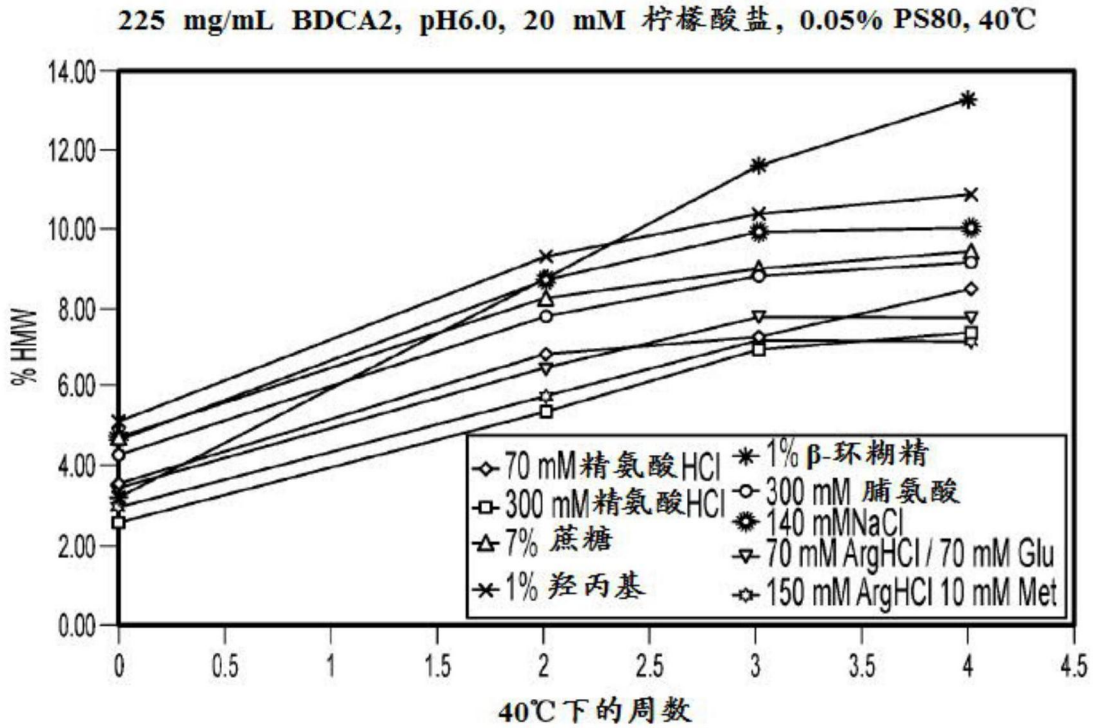


图4

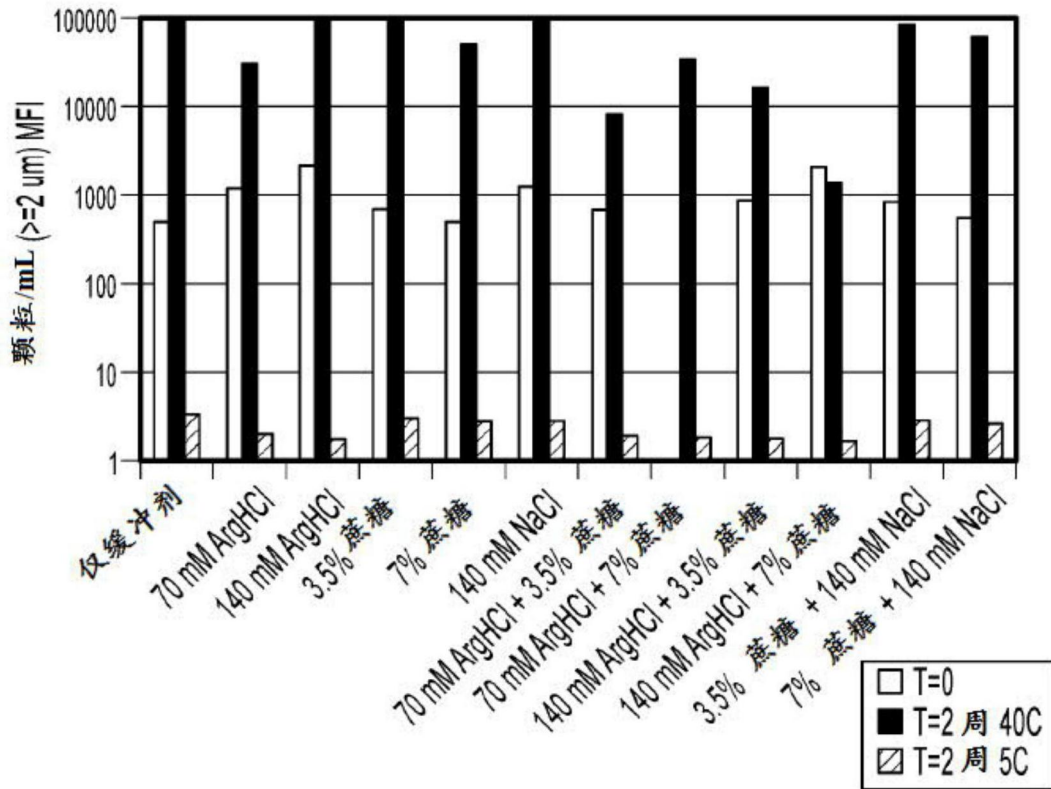


图5A

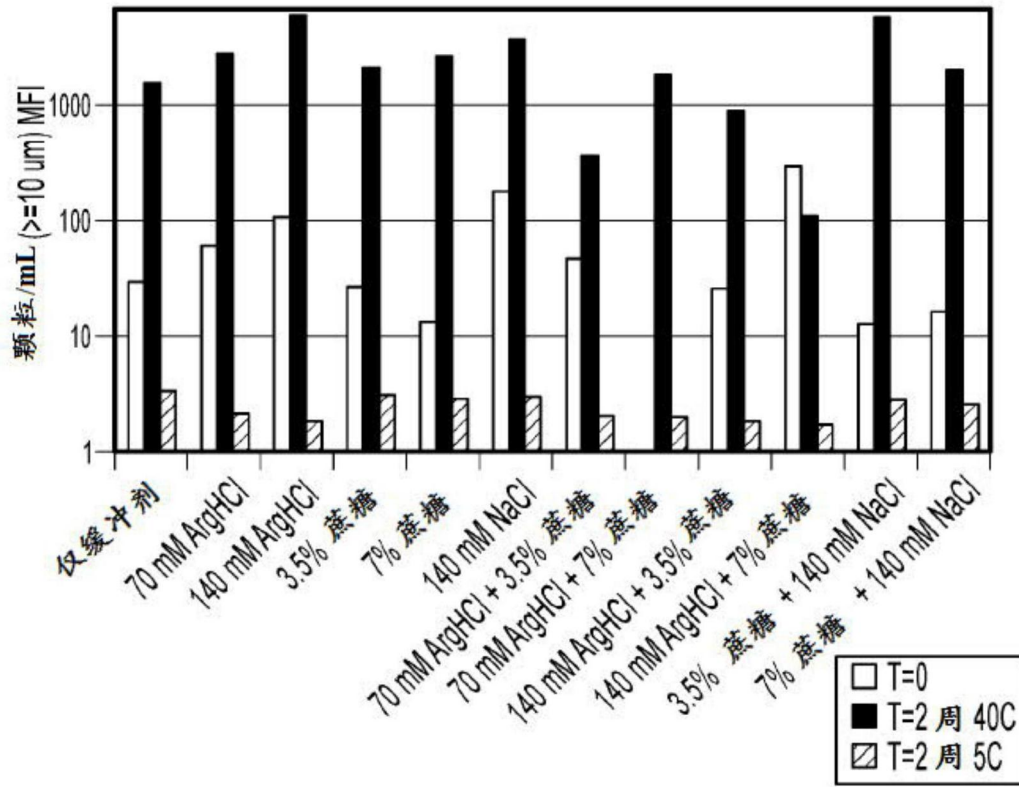


图5B

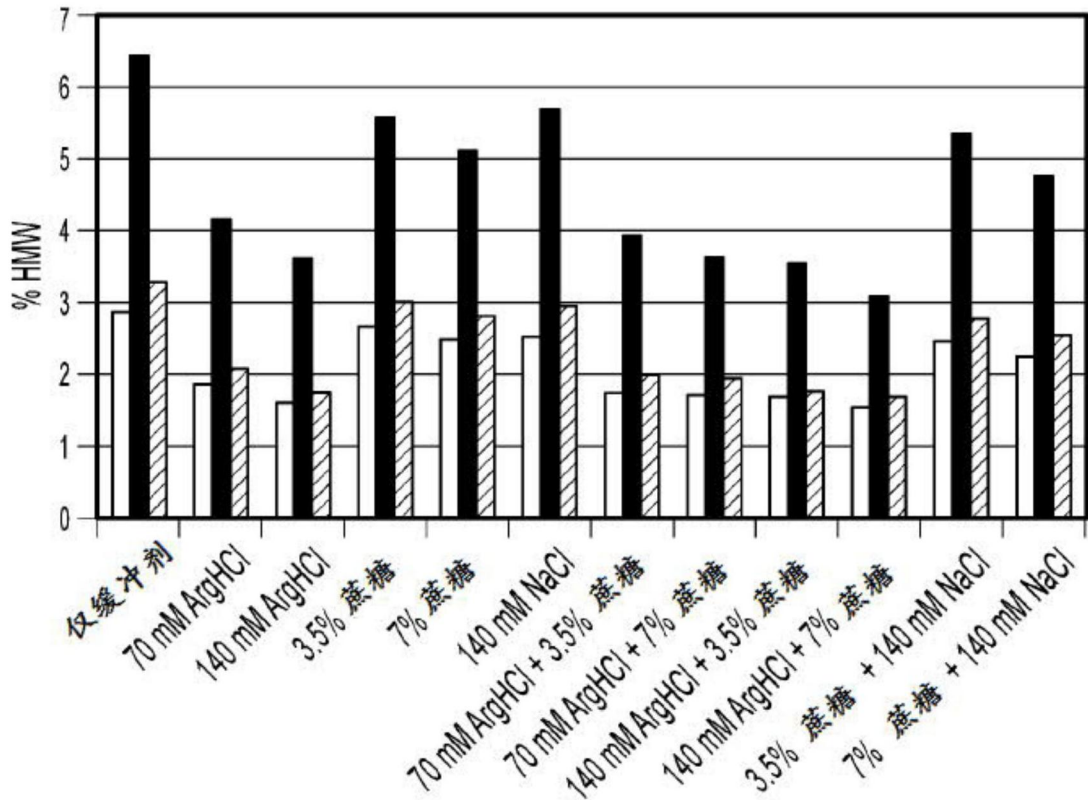


图6

150 mg/mL和5°C的BDCA2

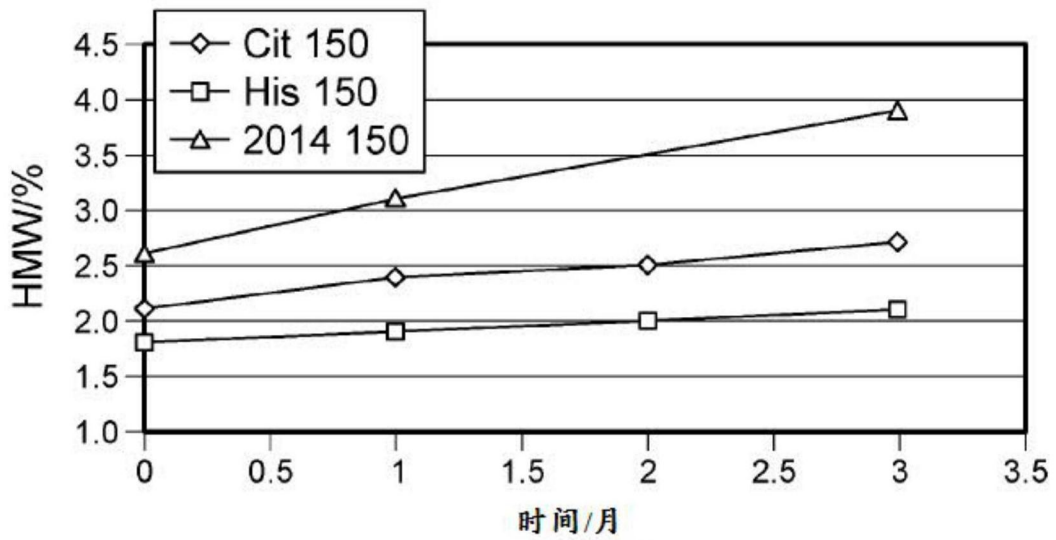


图7A

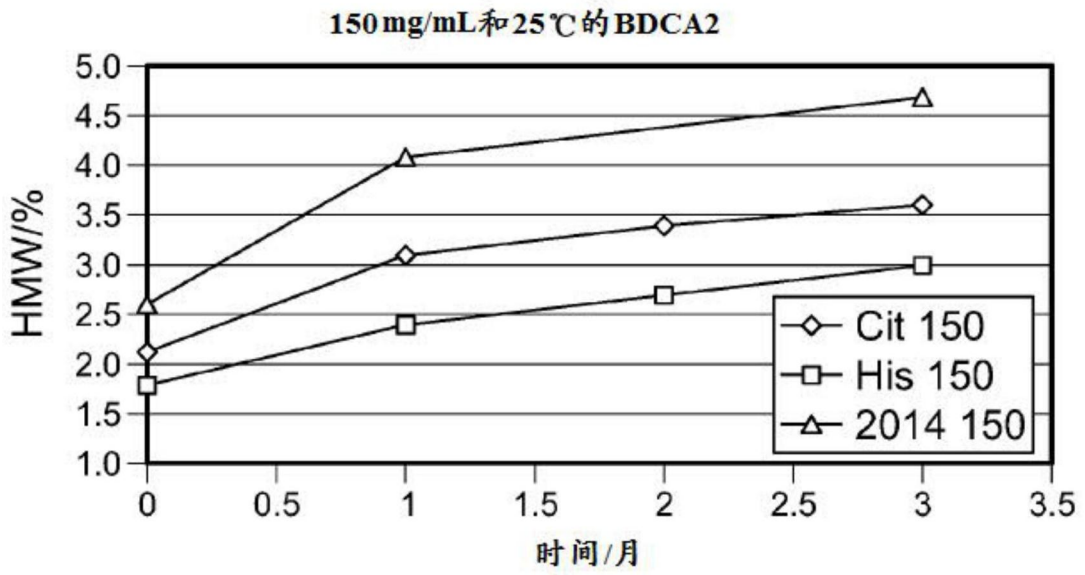


图7B

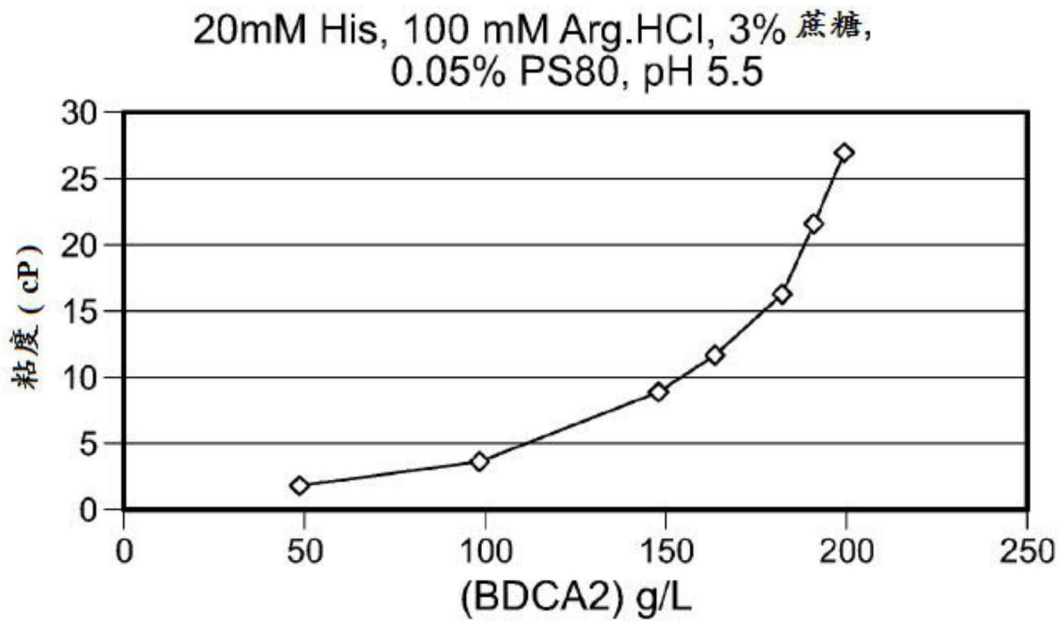


图8

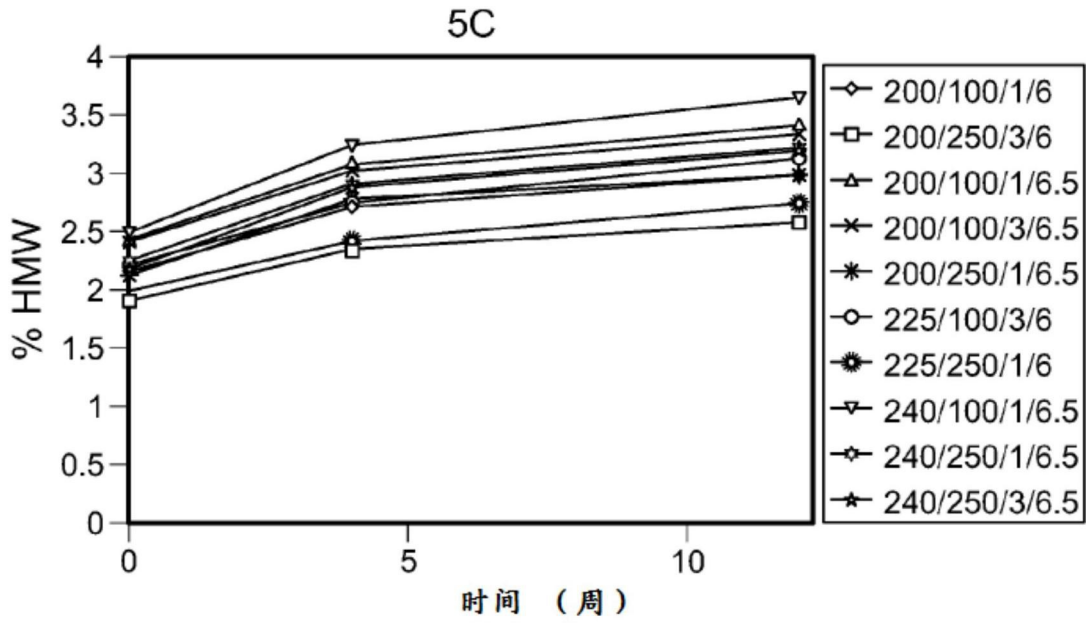


图9

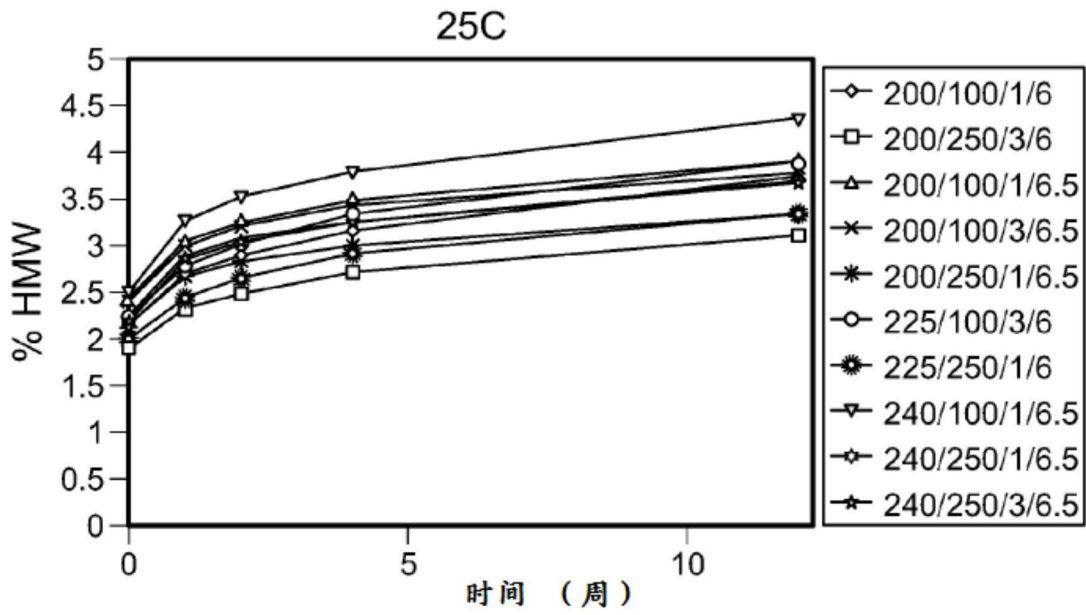


图10

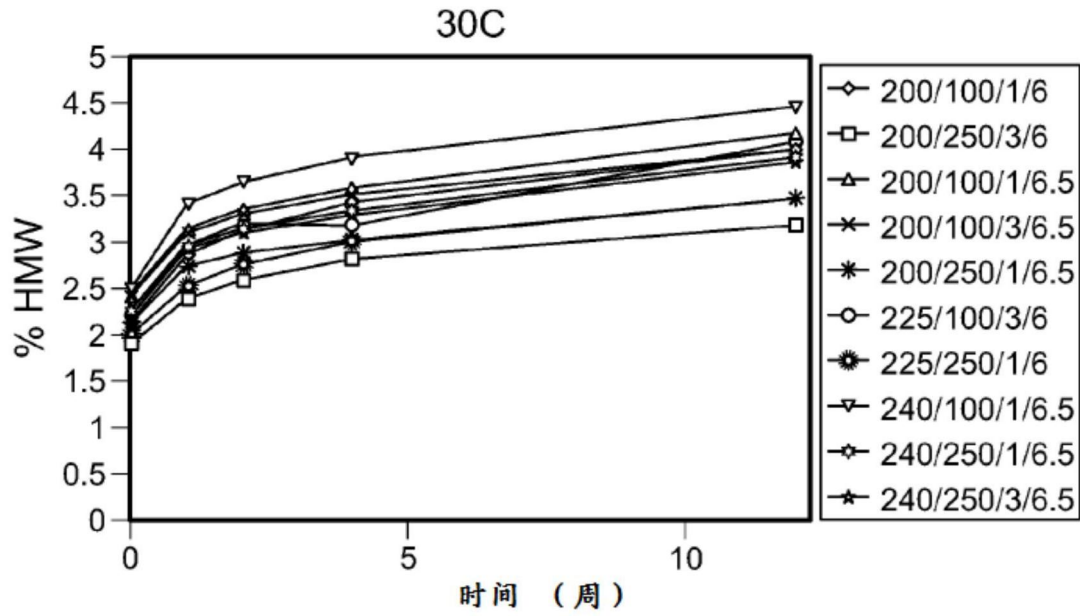


图11

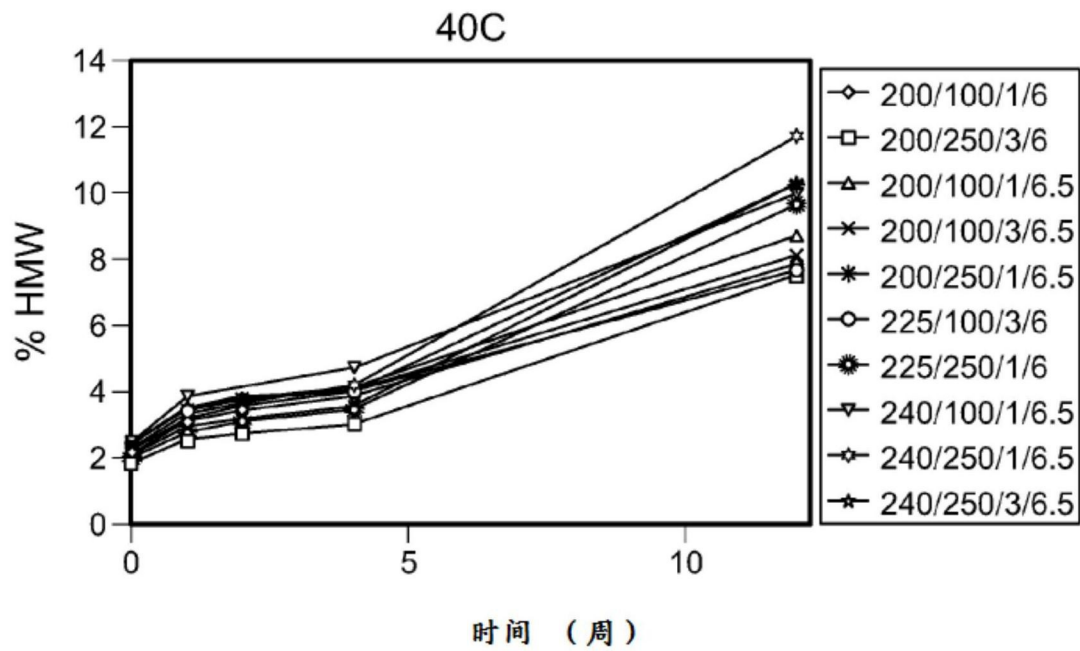


图12

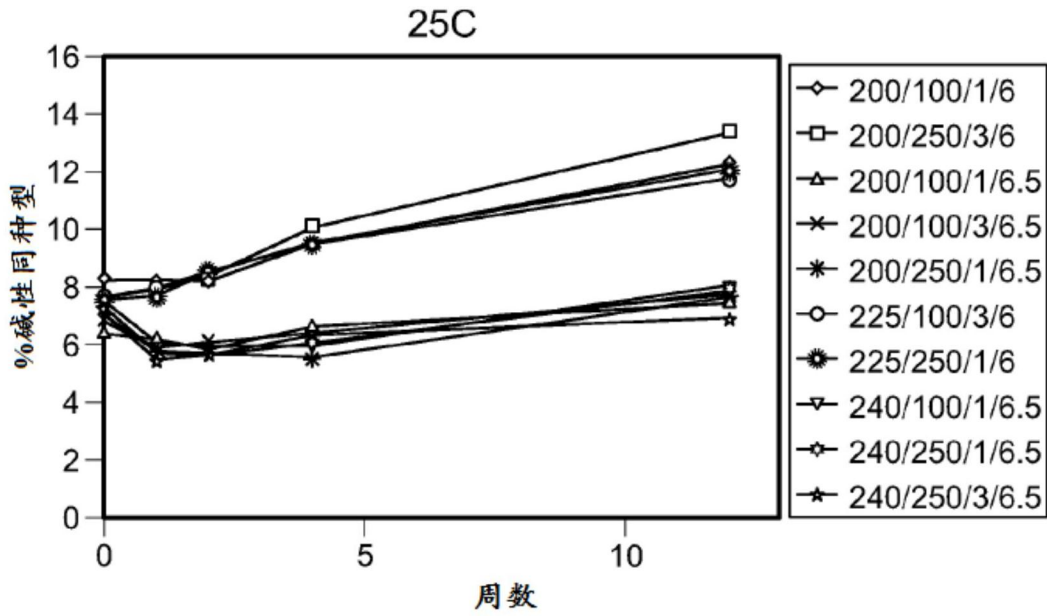


图13

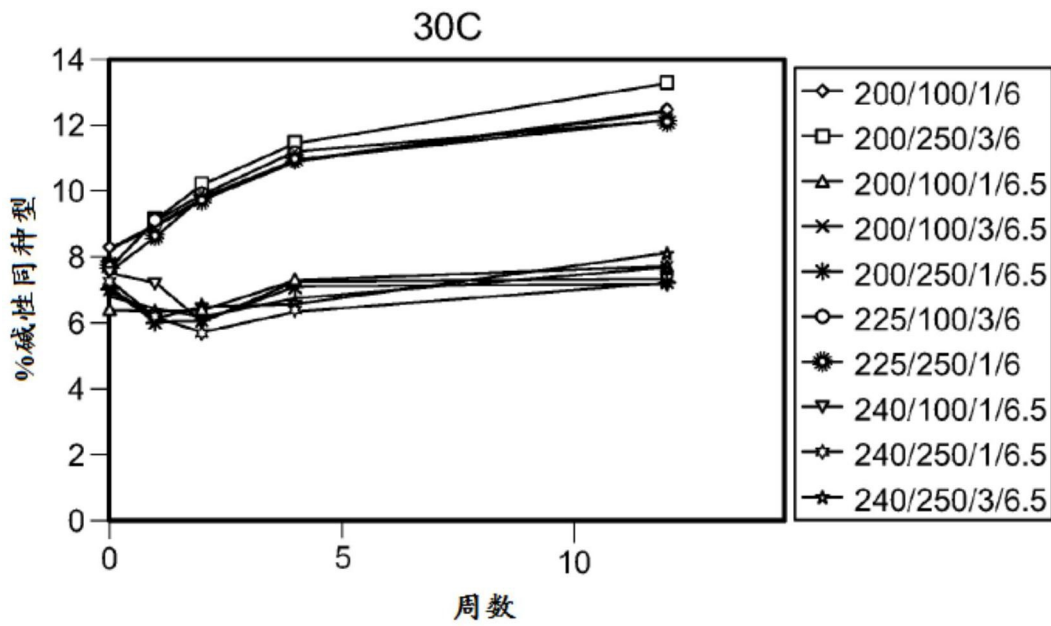


图14

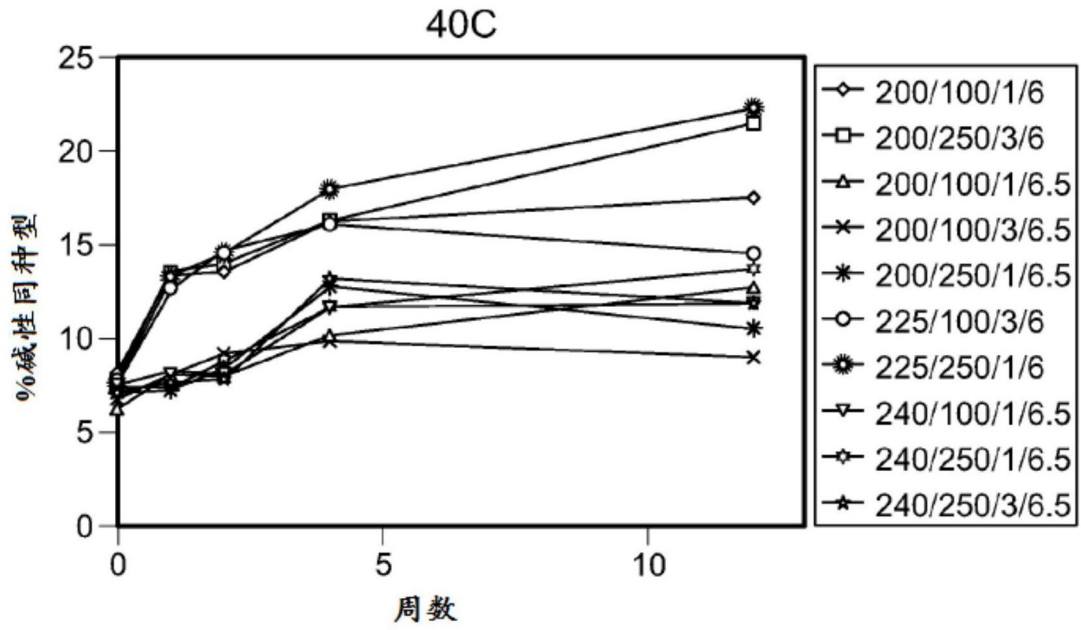


图15

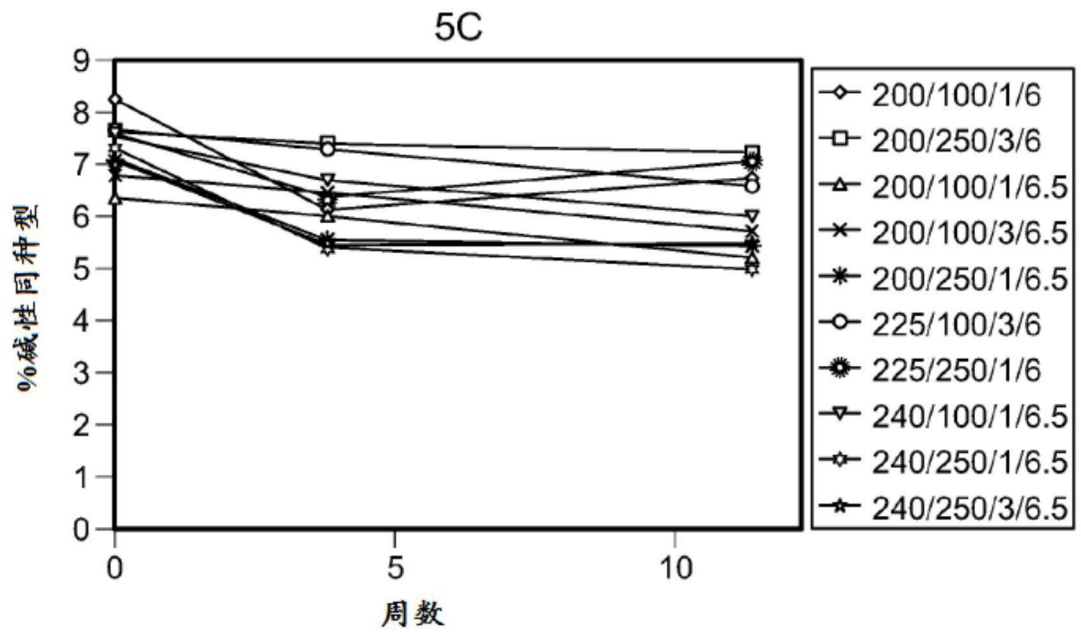


图16

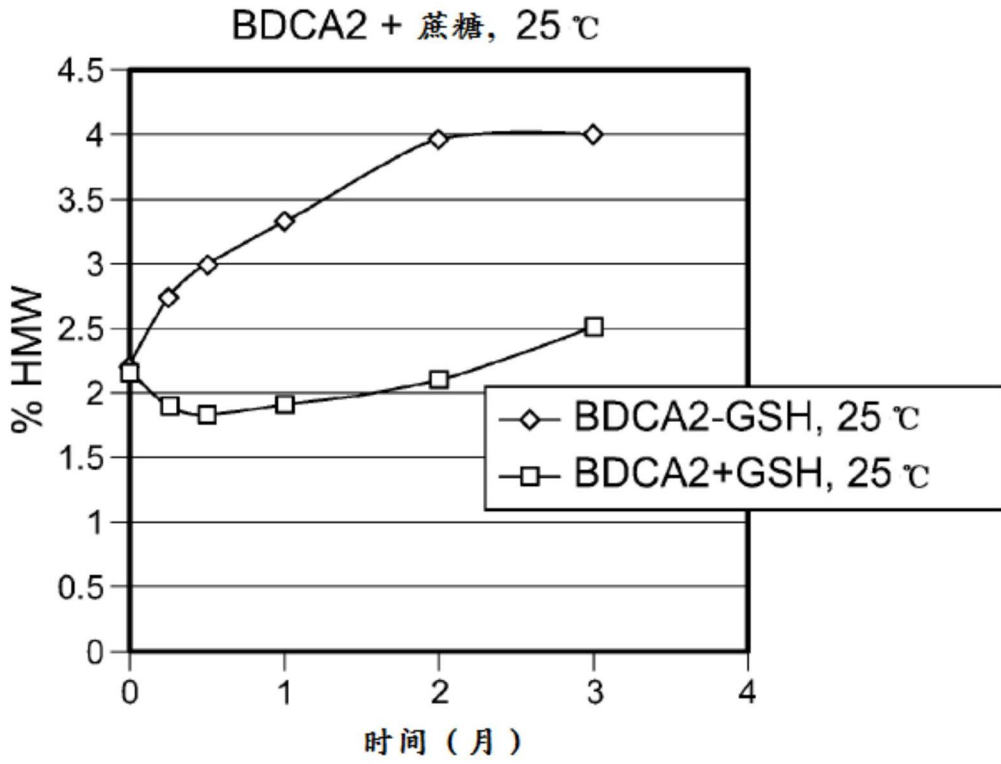


图17A

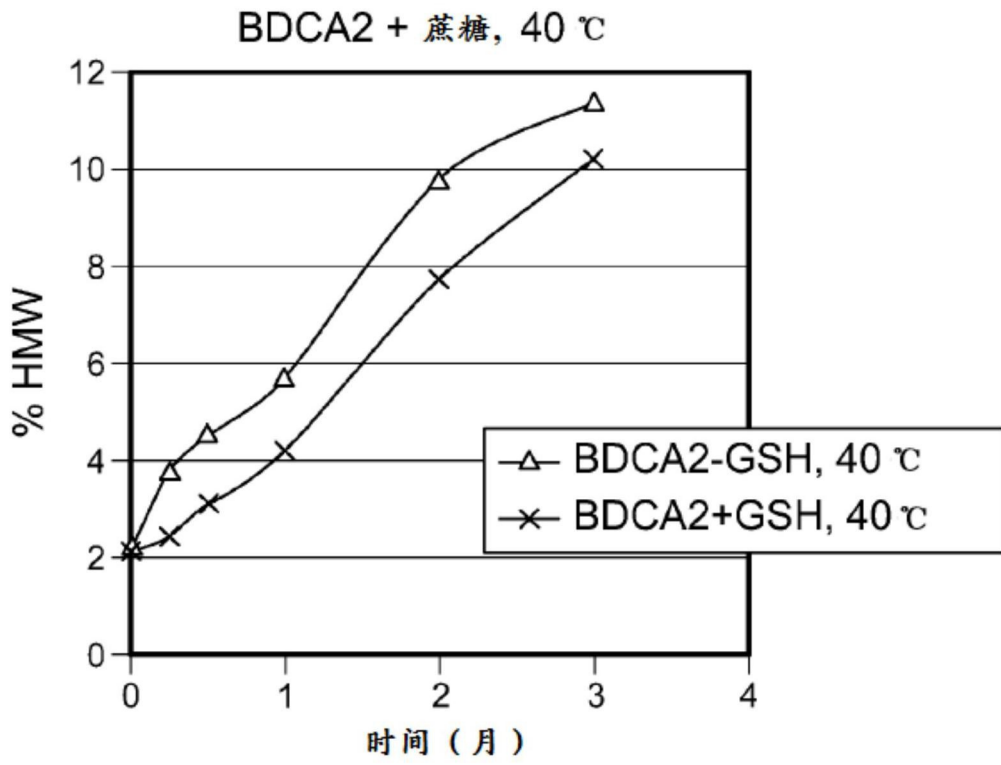


图17B

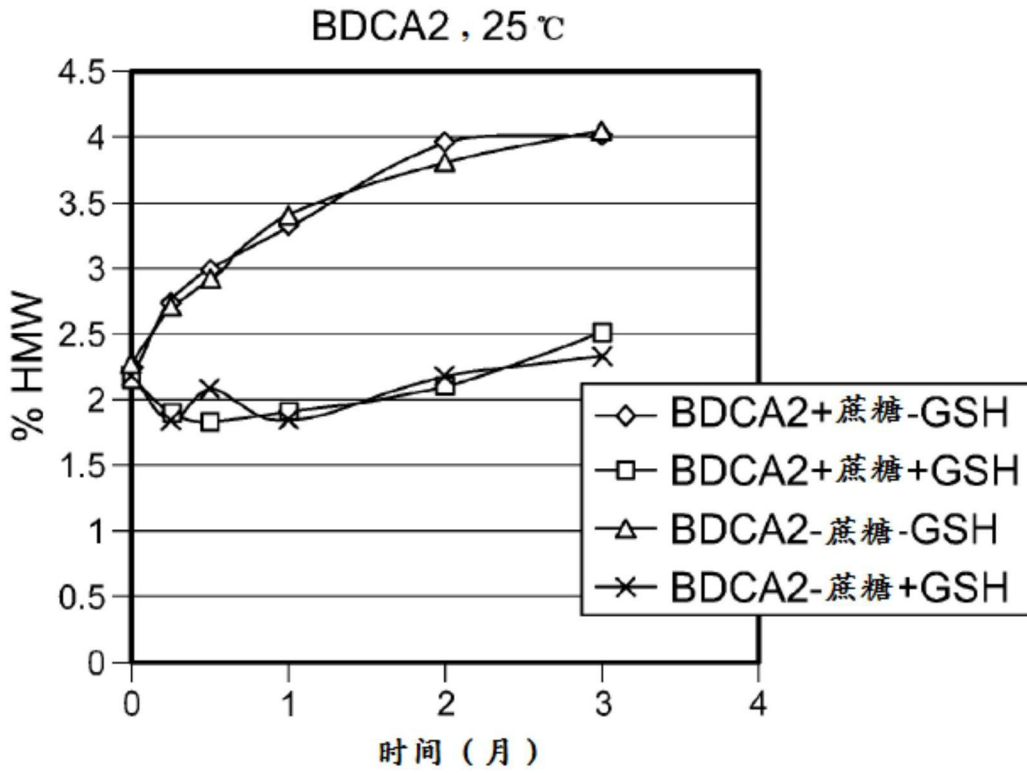


图18A

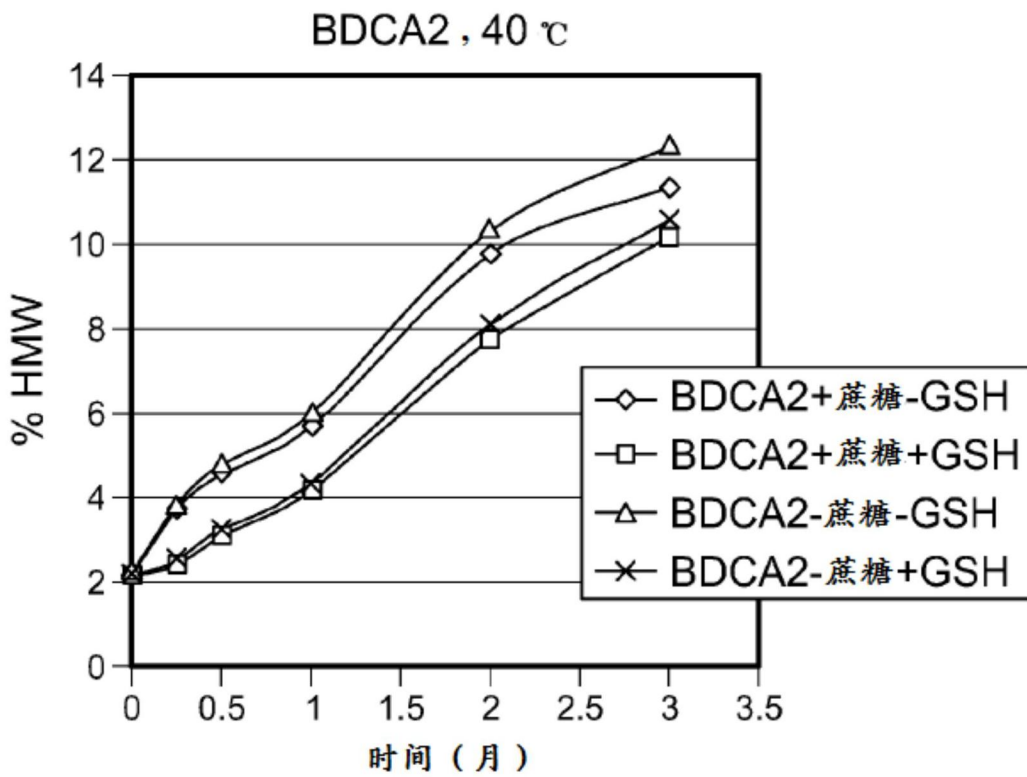


图18B

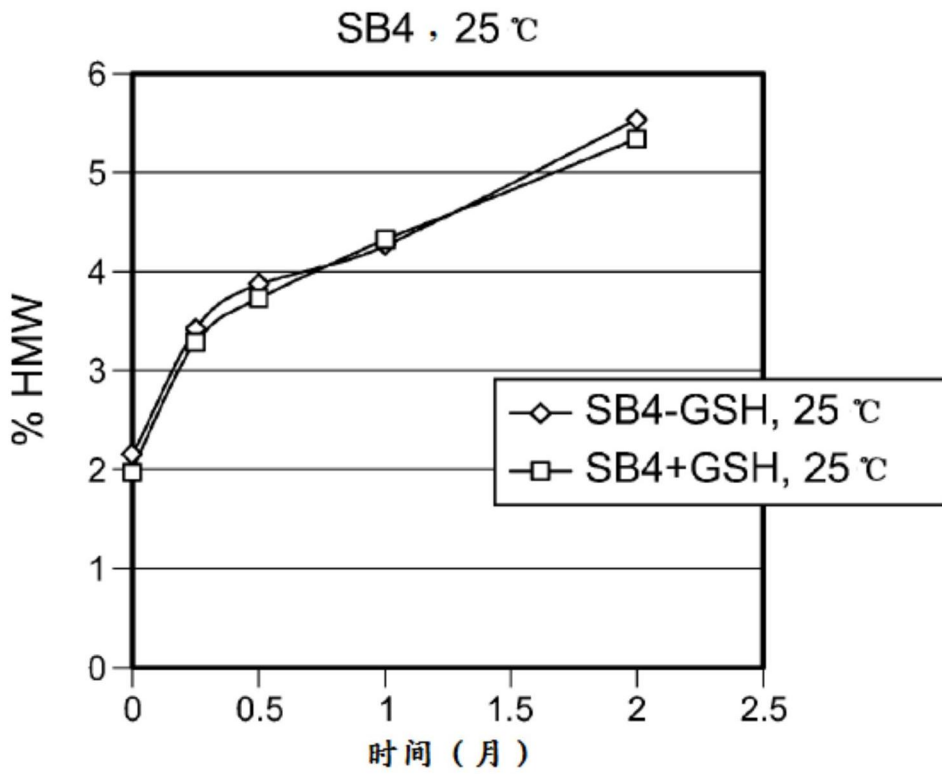


图19A

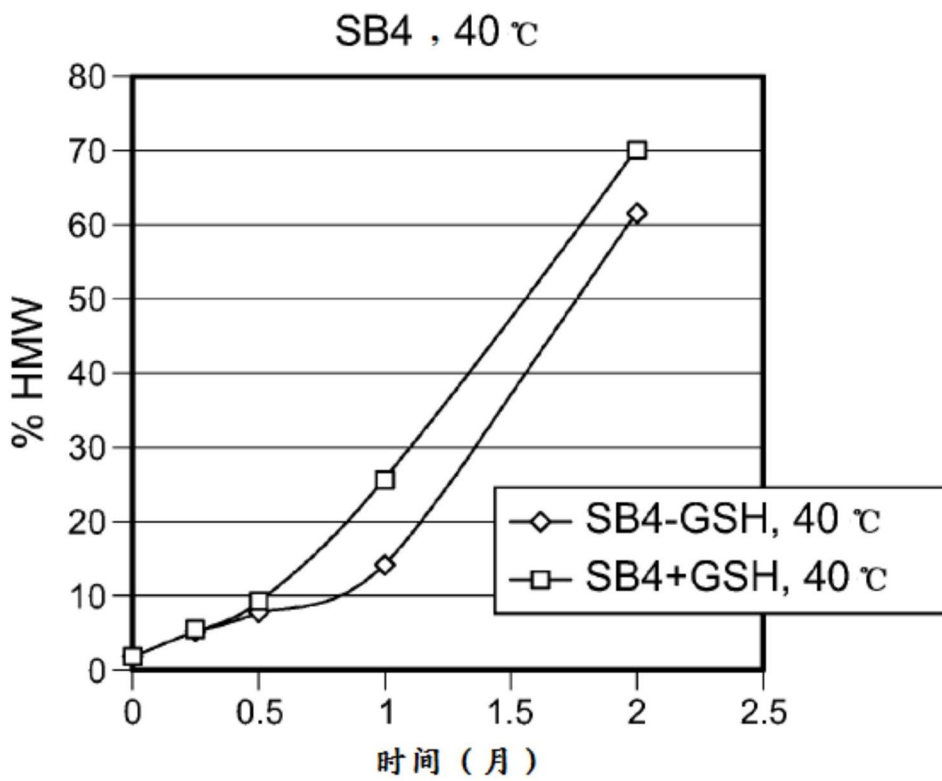


图19B

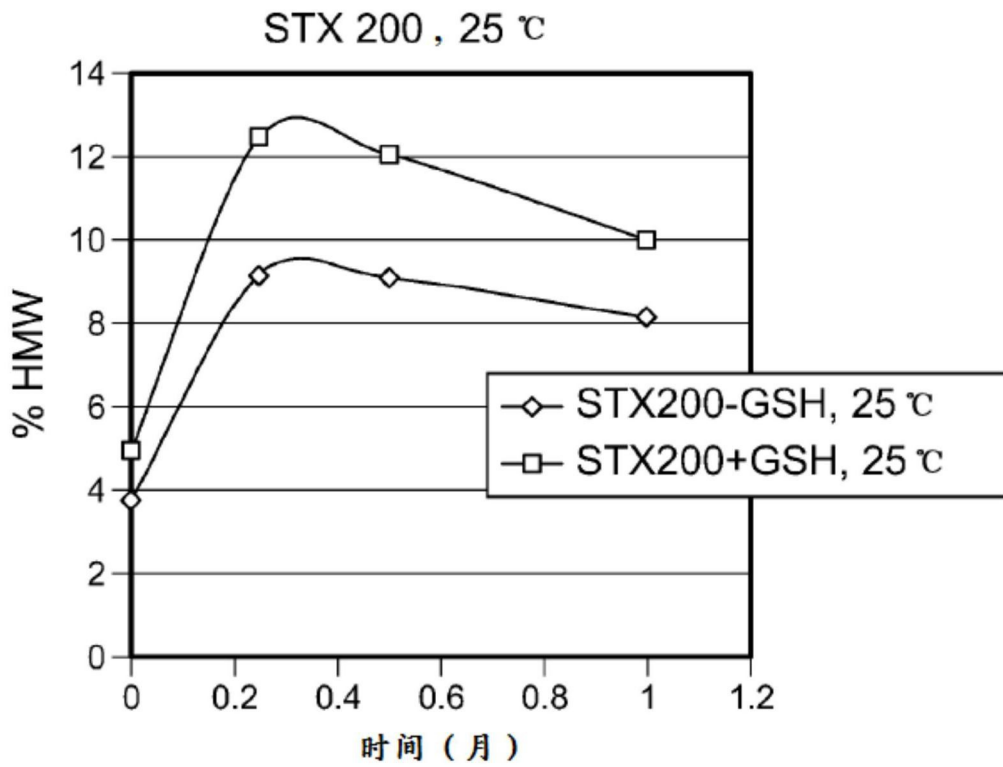


图20A

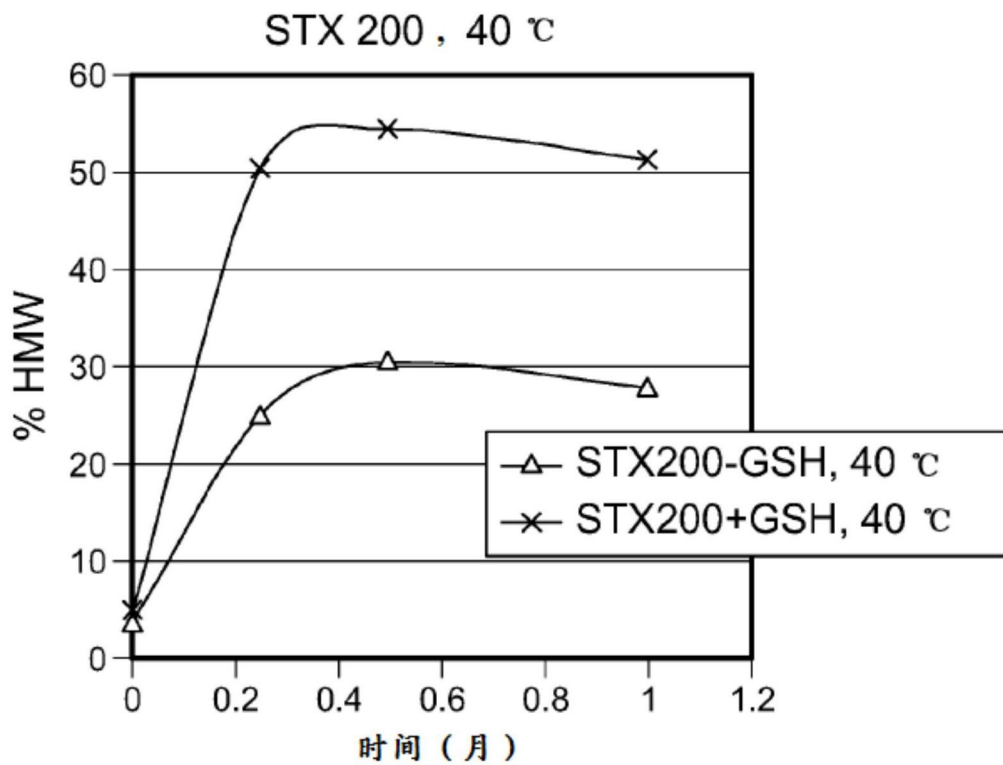


图20B