



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102573895 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 11

(21) 申请号 201080046826. 1

(22) 申请日 2010. 09. 23

(30) 优先权数据

61/245, 305 2009. 09. 24 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 04. 17

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/049924 2010. 09. 23

(87) PCT申请的公布数据

W02011/038069 EN 2011. 03. 31

(71) 申请人 埃克斯生物科技公司

地址 加拿大温哥华

(72) 发明人 J·西马德

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 申基成 武晶晶

(51) Int. Cl.

A61K 39/00 (2006. 01)

权利要求书 3 页 说明书 16 页

(54) 发明名称

减少抗 - 抗体反应的方法、组合物和试剂盒

(57) 摘要

涉及选择一种预防性或治疗性抗体的方法、组合物和试剂盒,这些抗体不太可能诱导或加剧使用抗体的受试者的抗 - 抗体反应的。可以选择用于受试者的抗体来匹配,或者至少更加紧密地类似,受试者的内源抗体的同种异型表型。

1. 一组含单克隆抗体的药物组合物,该组包括至少一个第一药物组合物,包括 (a) 一种第一人类或人源化单克隆抗体和一种药学上可接受的载体以及 (b) 一种第二人类或人源化单克隆抗体和一种药学上可接受的载体,其中该第一单克隆抗体是一个第一同种型并且包括一个第一可变区,并且该第二单克隆抗体是该第一同种型并且包括该第一可变区,并且其中该第一单克隆抗体包括一个第一重链同种异型表型并且该第二单克隆抗体包括不同于该第一重链同种异型表型的一个第二重链同种异型表型。

2. 如权利要求 1 所述的含单克隆抗体的药物组合物的组,其中该组进一步包括 (c) 一种第三人类或人源化单克隆抗体和一种药学上可接受的载体,其中该第三单克隆抗体是该第一同种型,包括该第一可变区,并且包括不同于该第一和第二重链同种异型表型的一个第三重链同种异型表型。

3. 如权利要求 2 所述的含单克隆抗体的药物组合物的组,其中该组进一步包括 (d) 一种第四人类或人源化单克隆抗体和一种药学上可接受的载体,其中该第四单克隆抗体是该第一同种型,包括该第一可变区,并且包括不同于该第一、第二和第三重链同种异型表型的一个第四重链同种异型表型。

4. 如权利要求 1 所述的单克隆抗体的组,其中该第一同种型是 $\gamma 1$ 。

5. 如权利要求 4 所述的单克隆抗体的组,其中该第一重链同种异型表型包括人 G1m3 同种异型,并且该第二重链同种异型表型包括人 G1m17 同种异型。

6. 如权利要求 1 所述的单克隆抗体的组,其中该第一同种型是 $\gamma 3$ 。

7. 如权利要求 6 所述的单克隆抗体的组,其中该第一重链同种异型表型包括人 G3m5 同种异型,并且该第二重链同种异型表型包括人 G3m21 同种异型。

8. 如权利要求 6 所述的单克隆抗体的组,其中该第一重链同种异型表型和该第二重链包括不同的同种异型表型,这些表型选自下组,其构成为:G3m5、10、11、13、14、26、27; G3m21、26、27、28;G3m10、11、13、15、27;G3m10、11、13、15、16、27;

G3m5、6、10、11、14、26、27;和 G3m5、6、11、24、26。

9. 一种修改人类或人源化单克隆抗体的方法,该方法包括修改该单克隆抗体的重链恒定区氨基酸序列的步骤,以便将其表型从一个第一自然发生的同种异型表型变为一个第二自然发生的同种异型表型,其中该单克隆抗体中不编码同种异型表型的氨基酸序列没有被修改。

10. 如权利要求 9 所述的方法,其中该单克隆抗体是从 G1m1 同种异型被变为 nG1m1 同种异型的一种 IgG1。

11. 如权利要求 9 所述的方法,其中该单克隆抗体是从 G1m3 同种异型被变为 G1m17 同种异型的一种 IgG1。

12. 如权利要求 9 所述的方法,其中该第二自然发生的同种异型表型是一种同族同种异型或非标记物。

13. 如权利要求 9 所述的方法,其中该单克隆抗体是从 G2m23 同种异型被变为 nG2m23 同种异型的一种 IgG2。

14. 一种选择人类或人源化单克隆抗体用于给予人类受试者的方法,该方法包括以下步骤:

(a) 确定该受试者内一种第一抗体同种异型表型的存在;并且

(b) 从一组人类或人源化单克隆抗体中选择一种有待给予至该受试者的单克隆抗体, 该组单克隆抗体包括至少含有该第一同种异型表型的一种第一单克隆抗体、以及含有一种并非内源性存在于该受试者体内的第二同种异型表型的一种第二单克隆抗体; 并且

(c) 将该第一单克隆抗体给予该受试者。

15. 如权利要求 14 所述的方法, 其中该第一单克隆抗体不包含一种并非内源性存在于该受试者体内的同种异型表型。

16. 如权利要求 14 所述的方法, 其中该第一单克隆抗体是一种第一同种型并且包含一个第一可变区, 并且该第二单克隆抗体是该第一表型并且包含该第一可变区。

17. 如权利要求 14 所述的方法, 其中该受试者患有风湿性关节炎。

18. 如权利要求 14 所述的方法, 其中该受试者之前已进行过异源输血。

19. 如权利要求 14 所述的方法, 其中该受试者是一位已经怀孕的女性。

20. 如权利要求 14 所述的方法, 其中该受试者是一位小于一岁的儿童。

21. 如权利要求 14 所述的方法, 其中该受试者之前已被给予一种包含该第二同种异型表型的抗体。

22. 一种选择单克隆抗体用于给予至属于特定人群的人类受试者的方法, 该方法包括以下步骤:

(a) 确定包括该受试者的一个特定人群;

(b) 从一组人类或人源化单克隆抗体中选择一种单克隆抗体用于给予至该受试者, 该组单克隆抗体包括至少含有在该特定人群中更加普遍的第一同种异型表型的一个第一单克隆抗体、以及在该特定人群中不如该第一同种异型表型普遍的第二同种异型表型的一个第二单克隆抗体; 并且

(c) 将该第一单克隆抗体给予至该受试者。

23. 如权利要求 22 所述的方法, 其中该第一单克隆抗体包含在该特定人群中更加普遍的一个第一单倍型, 并且该第二单克隆抗体包含在该特定人群中不如该第一单倍型普遍的一个第二单倍型。

24. 如权利要求 22 所述的方法, 其中该特定人群是白人人群。

25. 如权利要求 22 所述的方法, 其中该特定人群是黑人人群。

26. 如权利要求 22 所述的方法, 其中该特定人群是亚洲人群。

27. 如权利要求 22 所述的方法, 其中该受试者患有风湿性关节炎; 之前已进行过异源输血; 是一位已经怀孕的女性; 或者是一位小于一岁的儿童。

28. 如权利要求 22 所述的方法, 其中该受试者之前已被给予一种包含该第二同种异型表型的抗体。

29. 治疗已发展为针对一种第一人类或人源化单克隆抗体的抗-抗体反应的受试者的方法, 该方法包括给予该受试者一种第二人类或人源化单克隆抗体, 该单克隆抗体具有与该第一单克隆抗体相同的一个可变区、但是不同于该第一单克隆抗体的同种异型表型。

30. 如权利要求 29 所述的方法, 其中该抗-抗体反应的特征是在该受试者体内存在抗体, 这些抗体特异性地结合至该第一单克隆抗体的同种异型决定簇上。

31. 如权利要求 29 所述的方法, 其中该第二单克隆抗体不包含并非内源性存在于该受试者体内的同种异型表型。

32. 一种对受试者筛选存在抗体的方法,这些抗体特异性地结合至并非由该受试者内源性表达的一种同种异型决定簇上,该方法包括以下步骤:

(a) 从该受试者获得一个生物样本;

(b) 用一个对该抗-同种异型决定簇具有特异性的探针接触该生物样本;并且

(c) 检测该探针与可能包含在该生物样本中的抗体的结合,作为该受试者含有特异性地结合并非由该受试者内源性表达的同种异型决定簇的抗体的指示。

33. 如权利要求 32 所述的方法,其中该探针是包含并被由该受试者内源性表达的同种异型决定簇的一种抗体。

34. 一种用于表征受试者同种异型表型的试剂盒,该试剂盒包括:

至少一种第一探针,该探针特异性地识别一个第一抗体同种异型决定簇,以及一个第二探针,该探针特异性地识别不同于该第一抗体同种异型决定簇的一个第二抗体同种异型决定簇;

至少一个第一正控制,该正控制包括含有或编码该第一同种异型决定簇的一个第一分子,以及一个第二正控制,该正控制包括含有或编码该第二同种异型决定簇的一个第二分子;

至少一个第一负控制,该负控制包括不含有或编码该第一同种异型决定簇的一个第三分子,以及一个第二正控制,该正控制包括不含有或编码该第二同种异型决定簇的一个第四分子;以及打印出的指示用于是用该试剂盒。

35. 如权利要求 34 所述的试剂盒,其中该第一和第二探针是特异性地结合一个不同的同种异型决定簇的抗体,这些抗体选自下组,其构成为:G1m1、G1m2、G1m3、G1m17、G3m5、G3m6、G3m10、G3m11、G3m13、G3m14、G3m15、G3m16、G3m21、G3m24、G3m26、G3m27、和 G3m28。

36. 如权利要求 35 所述的试剂盒,其中该试剂盒进一步包括多个聚合酶链反应引物,这些引物特异性地扩增不同的同种异型决定簇,这些不同的同种异型决定簇选自下组,其构成为:G1m1、G1m2、G1m3、G1m17、G3m5、G3m6、G3m10、G3m11、G3m13、G3m14、G3m15、G3m16、G3m21、G3m24、G3m26、G3m27、和 G3m28。

减少抗 - 抗体反应的方法、组合物和试剂盒

技术领域

[0001] 本发明总体上涉及免疫学、抗体 (Ab) 和医学领域。更特别地,本发明涉及基于同种异型表型来选择预防性或治疗性的抗体,以减少与抗 - 抗体反应相关的不良反应。

背景技术

[0002] 治疗性单克隆抗体 (mAb) 是医药行业发展最快的部分。至今,有超过 20 种 mAb 已经被 FDA 批准用作药物,还有很多在开发中。尽管现已有方法可创造完全人类 mAb,但是几乎全部 FDA 批准的治疗性 mAb 都来源于啮齿类动物。

[0003] 不幸的是,使用非人类 mAb 可能引起严重的,有时是致命的反应。

[0004] 人们对将非人类抗体给予人类受试者而引起的超敏反应已了解几十年。与对抗某种产生微生物的疾病的疫苗非常相似,给予非人类抗体可将人体免疫来对抗这些外源糖蛋白。尽管使用一次非人类抗体通常不会产生强烈的抗 - 抗体反应,但是重复使用非人类抗体治疗慢性疾病可能导致由于随之发生的抗 - 抗体反应而引起严重副作用 (包括死亡)。

[0005] 这个问题在早期基于抗体的治疗中特别严重,这些治疗使用马抗血清或鼠类 mAb。近年来,人们已经尝试通过改变非人类抗体来减少抗 - 抗体反应,以便使它们显得更像人类来源物质。例如,“人源化”鼠类抗体的常见操作包括将一个单克隆抗体的互补性决定区 (CDR) 以外的鼠类序列替换成实际的人类序列。尽管此类 CDR- 移植技术已帮助减少人 - 抗 - 鼠抗体 (HAMA) 反应,但是由于它们没有消除所有鼠序列,所以它们还没有消除这个问题。

[0006] 人们已使用多种方法来开发所谓的“人类”抗体。这些方法包括使用经遗传工程处理的小鼠来产生来自人类基因序列的抗体,以及使用采用 DNA 文库的体外组合方法。临床研究清楚地显示,衍生自与人类抗体更相似的序列的治疗性抗体会使抗 - 抗体相关副作用的发作时间或强度延迟。使用完全人类抗体在未来将几乎可以成为标准性的实践。尽管如此,由于人类大量的遗传变异,人 - 抗 - 人抗体 (HAHA) 反应将很难被消除。

发明内容

[0007] 总结

[0008] 本发明涉及发展可减少受试者对所给予的抗体形成抗 - 抗体反应可能性的方法和组合物。人类有五种不同的抗体 (或免疫球蛋白 ;Ig),称为 IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM。单一种类内的不同抗体具有不同的可变区、而结构相似的恒定区。在一类 Ig 内,还可以有亚类。例如, IgG 类的人 Ig 可以是以下四种 IgG 亚类之一 :IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4。任何给定亚类的恒定区具有几乎相同的氨基酸序列,而那些不同的亚类具有较少相似的氨基酸序列。尽管所有正常的人类都具有全部 Ig 类和亚类,但相同种类和亚类的 Ig 可能存在两种或多种等位基因形式 (同种异型),其中一些等位基因形式存在于一些人的体内而不再其他人的体内。例如,在 IgG1 亚类中,有四个重链等位基因 (或同种异型) :G1m1、G1m2、G1m3 和 G1m17 ;以及三个轻 (κ) 链等位基因 :Km1、Km1,2 和 Km3。不同的 IgG1 等位基因根

据恒定区内小氨基酸序列的变化而定义。例如,序列中其他都相等,G1m3 和 G1m2 同种异型的恒定区之间的差异总计四个氨基酸。

[0009] 常规治疗性抗体方法的主要缺点在于它们没有考虑受试者内源性抗体的同种异型表型。因此,如果给定的单克隆抗体具有未在特定受试者体内表达的同种异型决定簇,该受试者的免疫系统很可能产生了对抗该治疗性单克隆抗体的抗-同种异型抗体(AAAb)反应,这个反应可能导致副作用,例如超敏反应,或者中和单克隆抗体的治疗效果。即使该受试者之前未被给予该治疗性单克隆抗体,AAAAb 反应也可能发生,例如当该受试者具有(i)自然发生的 AAAAb,(ii)与高效价抗 Ab 相关的病况(例如风湿性关节炎),(iii)由于输血而产生的 AAAAb,(iv)母源衍生的 AAAAb,(v)由于怀孕而产生的 AAAAb,和/或(vi)由于另一种治疗性单克隆抗体而产生的 AAAAb。

[0010] 本发明涉及选择一种有待给予受试者的抗体以匹配、或至少更像该受试者内源性抗体的同种异型表型,以减少抗体诱导的副作用以及中和作用。因为免疫系统不断适应而不产生自身抗原反应,所以给予从免疫系统角度更像自身抗体的抗体不太可能引起抗-抗体反应。因此,本发明使用某种特定抗体的时间会比其他可能的抗体时间更长、和/或不伴随使用免疫抑制药物(例如,甲氨蝶呤或甾类)更长。

[0011] 因此,本发明的特征在于一组含单克隆抗体的药物组合物。该组包括至少一种第一药物组合物,包括(a)一种第一人类或人源化单克隆抗体和一种药学上可接受的载体,以及(b)一种第二人类或人源化单克隆抗体和一种药学上可接受的载体,其中该第一单克隆抗体是一个第一同种型并且包括一个第一可变区,并且该第二单克隆抗体是该第一同种型并且包括该第一可变区,并且其中该第一单克隆抗体包括一个第一重链同种异型表型,该第二单克隆抗体包括不同于该第一重链同种异型表型的一个第二重链同种异型表型。

[0012] 该组可能进一步包括(c)一种第三人类或人源化单克隆抗体和一种药学上可接受的载体,其中该第三单克隆抗体是该第一同种型,包括该第一可变区,并且包括不同于该第一和第二重链同种异型表型的一个第三重链同种异型表型;以及在一些情况下,(d)一种第四人类或人源化单克隆抗体和一种药学上可接受的载体,其中该第四单克隆抗体是该第一同种型,包括该第一可变区,并且包括不同于该第一、第二和第三重链同种异型表型的一个第四重链同种异型表型。

[0013] 该组中,该第一同种型可以是 $\gamma 1$,并且例如该第一重链同种异型表型可能包括人 G1m3 同种异型,并且该第二重链同种异型表型可能包括人 G1m17 同种异型。该第一同种型还可能包括 $\gamma 3$,并且例如该第一重链同种异型表型可能包括人 G3m5 同种异型,并且该第二重链同种异型表型可能包括人 G3m21 同种异型。该第一重链同种异型表型和该第二重链可能还包括不同的同种异型表型,这些表型选自下组,其构成为:G3m5、10、11、13、14、26、27;G3m21、26、27、28;G3m10、11、13、15、27;G3m10、11、13、15、16、27;G3m5、6、10、11、14、26、27;和 G3m5、6、11、24、26

[0014] 另一方面,本发明的特征是一种修改人类或人源化单克隆抗体的方法。这个方法可能包括修改该单克隆抗体的重链恒定区氨基酸序列的步骤,以便将其表型从一个第一自然发生的同种异型表型改变至一个第二自然发生的同种异型表型,其中该单克隆抗体中不编码同种异型表型的氨基酸序列没有被修改。在这个方法中,该单克隆抗体可以是从小 G1m1 同种异型被变至 nG1m1 同种异型的一个 IgG1;和/或从小 G1m3 同种异型被变至 G1m17 同

种异型的一个 IgG1。在此方法中,该第二自然发生的同种异型表型可能是同族同种异型(isoallotype)或非标记物。例如,如果该单克隆抗体是 IgG2,它可以从 G2m23 同种异型被变至 nG2m23 异同种异型。

[0015] 本发明还包括一种选择人类或人源化单克隆抗体用于给予人类受试者的方法。这个方法可能包括以下步骤:(a) 确定该受试者体内存在一个第一抗体同种异型表型;以及(b) 从一组人类或人源化的单克隆抗体中选择一种有待给予该受试者的单克隆抗体,这组单克隆抗体包括至少具有该第一同种异型表型的一种第一单克隆抗体以及含有并未内源性存在于该受试者体内的一个第二同种异型表型的一种第二单克隆抗体;以及(c) 将该第一单克隆抗体给予该受试者。在此方法中,该第一单克隆抗体可能是不包括非内源性存在于该受试者体内的同种异型表型的任何抗体。该第一单克隆抗体可能具有一个第一同种型并且包括一个第一可变区,并且该第二单克隆抗体可能具有该第一同种型并且包括该第一可变区。这个方法中的受试者可能患有风湿性关节炎;之前已进行过异源输血;可能是已怀孕的女性;小于 1 岁的儿童;和/或之前给予过具有该第二同种异型表型的抗体。

[0016] 本发明进一步的特征是选择一种单克隆抗体用于给予属于某种特定人群(例如,白人,黑人,或亚洲人群)的人类受试者的方法。这个方法可能包括以下步骤:(a) 确定包括该受试者的一个特定人群;(b) 从一组人类或人源化单克隆抗体选择一种单克隆抗体用于给予该受试者,这组单克隆抗体包括至少具有在该特定人群中更为普遍的一个第一同种异型表型的一个第一单克隆抗体、以及具有在该特定人群中不如该第一同种异型表型普遍的一个第二同种异型表型的一种第二单克隆抗体;并且(c) 将该第一单克隆抗体给予该受试者。在这个方法中,该第一单克隆抗体可能包括在该特定人群中更加普遍的一个第一单倍型,并且该第二单克隆抗体可能包括在该特定人群中不如该第一单倍型普遍的一个第二单倍型。该特定人群是白人人群。在这个方法中,该受试者可能患有风湿性关节炎;之前已进行过异源输血;可能是已怀孕的女性;小于 1 岁的儿童;和/或之前给予了包括该第二同种异型表型的抗体。

[0017] 另一方面,本发明的特征是治疗已发展为对抗一种第一人类或人源化单克隆抗体的抗-抗体反应的受试者的方法。这个方法可能包括将一种第二人类或人源化单克隆抗体给予该受试者的步骤,该单克隆抗体具有与该第一单克隆抗体相同的可变区、而不同于该第一单克隆抗体的同种异型表型。该抗-抗体反应可能是一种特征为受试者体内存在一些抗体,这些抗体特异性地结合至该第一单克隆抗体的同种异型决定簇上。该第二单克隆抗体可以是不包括非内源性存在于受试者体内的同种异型表型的单克隆抗体。

[0018] 本发明中还包括一种筛选存在抗体的受试者的方法,这些抗体特异性地结合至并非由该受试者内源性表达的同种异型决定簇。这个方法可能包括以下步骤:(a) 从该受试者获得一个生物样本;(b) 用一个对该同种异型决定簇特异的探针接触该生物样本;并且(c) 检测该探针与该生物样本可能含有的抗体的结合,作为该受试者含有特异性地结合并非受试者内源性表达的同种异型决定簇的抗体的指示。这个探针可以是包含并非由该受试者内源性表达的同种异型决定簇的一种抗体。

[0019] 本发明还进一步包括一种用于表征受试者的同种异型表型的试剂盒。该试剂盒可能包括:至少一种第一探针,该探针特异性地识别一个第一抗体同种异型决定簇,以及一个第二探针,该探针特异性地识别不同于该第一抗体同种异型决定簇的一个第二抗体同种异

型决定簇；至少一个第一正控制，该正控制包括含有或编码该第一同种异型决定簇的一个第一分子，以及一个第二正控制，该正控制包括含有或编码该第二同种异型决定簇的一个第二分子；至少一个第一负控制，该负控制包括不含有或编码该第一同种异型决定簇的一个第三分子，以及一个第二正控制，该正控制包括不含有或编码该第二同种异型决定簇的一个第四分子；以及打印出的指示用于使用该试剂盒。该第一和第二探针可能是特异性地结合一个不同的同种异型决定簇的抗体，这些抗体选自下组，其构成为：G1m1、G1m2、G1m3、G1m17、G3m5、G3m6、G3m10、G3m11、G3m13、G3m14、G3m15、G3m16、G3m21、G3m24、G3m26、G3m27 和 G3m28。该试剂盒可以进一步包括多个聚合酶链反应引物，这些引物特异性地扩增不同的同种异型决定簇，这些同种异型决定簇选自下组，其构成为：G1m1、G1m2、G1m3、G1m17、G3m5、G3m6、G3m10、G3m11、G3m13、G3m14、G3m15、G3m16、G3m21、G3m24、G3m26、G3m27 和 G3m28。

[0020] 除非另外定义，此处所用的全部技术术语与本发明所属领域的一般技术人员通常理解的含义相同。通常所理解的生物学术语定义可见于 Rieger 等人的《遗传学词典：标准和分子》第 5 版本，Springer-Verlag；纽约，1991；以及 Lewin, Genes V, 牛津大学出版社：纽约，1994。

[0021] 如在此所用，“抗体”或“Ab”是一个 Ig，一种由相同或不同的 Ig 所组成的溶液，或 Ig 的混合物。工程化处理的 Ig，例如包含至少一个 Ig 同种异型决定簇的双体和免疫粘附素，也被称为“Ab”。“单克隆抗体”或“mAb”是由一种克隆 B 细胞系所表达的 Ab。如此处所用，该术语指一类 Ab 分子，该类型包含唯一一种能够与一种特定抗原的特定表位发生免疫反应的抗原结合位点。“多克隆抗体”或“多克隆 Ab”是不同 Ab 的混合物。典型地，多克隆 Ab 可包括大量不同的 Ab 分子，它们将一种特定抗原或特定有机体与这些不同 Ab 中的至少一些相结合，这些 Ab 与该抗原或有机体的一个不同的表位发生免疫反应。如此处所用，多克隆 Ab 可以是两种或多种 mAb 的混合物。

[0022] 提及短语“同种异型决定簇”，是指位于一个 Ig 位置上的内源性氨基酸序列，该 Ig 位置对应于定义一个同种异型的位置。0}

[0023] 如此处所用，短语“同种异型表型”是指定义一个同种异型的 Ab 的氨基酸序列、或者与定义一个 Ab 同种异型的氨基酸序列处于相同位置上的氨基酸序列。短语“同种异型表型”可以包括一种抗体，该抗体具有一个单一同种异型、异同种异型或非标记物；或者超过一种（例如 2、3、4、5、6 或更多）的同种异型、异同种异型或非标记物。

[0024] Ab 的“抗原结合部分”包含在一个 Ab 的 Fab 部分的可变区内，并且是将抗原特异性地赋予 Ab 的 Ab 部分（即典型地是由 Ab 的重链和轻链的 CDR 形成的三维口袋）。“Fab 部分”或“Fab 区域”是木瓜蛋白酶消化的 Ig 的蛋白分解片段，该片段包括该 Ig 的抗原结合部分。“F(ab')₂ 部分是胃蛋白酶消化的 Ig 的蛋白分解片段。“Fab' 部分”“是从减少 F(ab')₂ 部分的二硫键得到的产品。“非 Fab 部分”是不在 Fab 部分内的 Ab 的部分，例如“Fc 部分”或“Fc 区域”。Ab 的“恒定区”是可变区以外的 Ab 部分。通常涵盖于恒定区内的是指 Ab 的“效应物部分”，它是负责结合促进免疫反应的其他免疫系统组分的 Ab 部分。因此，例如在 Ab 上结合补体组分或 Fc 受体的位置（并未通过它的抗原结合部分）通常是该 Ab 的效应物部分。

[0025] 当提及一个蛋白质分子，例如 Ab 时，“纯化的”是指从自发伴随物例如分子的组分中分离。典型地，一个 Ab 或蛋白质被分离，条件是当是至少大约 10%（例如 9%、10%、

20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、99.9%和100%)(按重量)不含有非Ab蛋白质、或其他自然发生的与该Ab或蛋白质自然结合的有机分子。纯度可以通过任何合适的方法来测量,例如柱色谱法、聚丙烯凝胶电泳法、或HPLC分析。在不同于自然发生的细胞类型的一个细胞类型中产生的化学合成的蛋白质或其他重组蛋白是“纯化”的。当Ab的治疗产生所希望的Ig与不希望的Ig的比例在治疗后比治疗前高时,含有一个所希望的Ig类型和一个不希望的Ig类型的Ab被“富集”得到所希望的Ig类型。例如,含有同种异型为G1m3和G1m17的IgG的Ab溶液被富集稍后使用,条件是当同种异型为G1m3的一些或全部IgG从该溶液中被移除。

[0026] 提及“结合”、“结合”或“与之反应”是指一个分子识别并粘附至一个样本中的一个特定第二分子,而并不实质地识别或粘附该样本中的其他分子。一般而言,“特异性结合”另一个分子的Ab具有的Kd高于其他分子的大约105、106、107、108、109、1010、1011或1012升/摩尔。

[0027] 如在此所用,术语“多肽”包括天然或人工的蛋白质、蛋白质片段和蛋白质序列的多肽类似物。多肽可以是单体或聚合物。

[0028] “人类Ab”是具有衍生自人种系Ig序列的可变区和恒定区的Ab。人类抗体可以包括未被人种系Ig序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或定点诱变或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR并且特别在CDR3中。然而,“人类Ab”不包括具有衍生自非人种的种系并且移植到人类框架序列上的CDR序列的Ab(它是“人源化Ab”)。

[0029] 术语“重组Ab”旨在包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有Ab,例如使用感染至一个宿主细胞内的重组表达载体而表达的Ab、从一个重组体分离的Ab、组合型Ab文库、从对于人类Ig基因而言为转基因的动物(例如小鼠)中分离的Ab(请见例如Taylor, L. D. 等人, (1992)Nucl. Acids Res. 20 :6287-6295)请见例如 Taylor, L. D. 等人, (1992)Nucl. Acids Res. 20 :6287-6295),或通过任何其他方式制备、表达、产生或分离的Ab,这些方式涉及将Ig基因序列剪接至其他DNA序列。

[0030] 术语“表位”包括能够特异性结合一个Ig的任何抗原决定簇。0}

[0031] “治疗有效量”是一个量值,它能够在接受治疗的动物或人体内产生医学上希望的效果(例如改善或预防一种疾病)。

[0032] 如此处所用,术语“受试者”是指任何含有抗体的动物,包括哺乳动物,例如人、狗、牛、马、猪、绵羊、山羊、猫、小鼠、兔子、大鼠和转基因非人动物。

[0033] 术语“药学组合物”或“药剂”是指处于某种形式的制剂,该形式可允许活性成分的生物活性有效。“药学上可接受的辅剂”或“药学上可接受的载体”是一些物质,这些物质可以与一种或多种活性成分混合以形成一种药物,这种药物可以合理地(即安全地)给予受试者以提供所用活性成分的有效剂量。

[0034] 当提及特定人群时,术语“白人”指具有欧洲、中东或北非原住民血统的人;术语“黑人”指具有非洲黑人种族血统的人;术语“美洲印第安人和阿拉斯加本地人”指具有北美和南美(包括中美)原住民血统的人;并且术语“亚洲人”指具有远东、东南亚或印度次大陆原住民血统的人。

[0035] 尽管与此处所描述的方法和材料相似或等同的方法和材料可以用于实践或测试本发明,以下描述了合适的方法和材料。所有在此提及的公开、专利申请、专利和其他参考

文献的全部内容通过引用结合在此。当出现矛盾时,本说明书,包括定义,将起主导作用。另外,材料、方法和实例仅是说明行动,并且并不旨在限制于此。

[0036] 本发明的其他特征和优点从以下详细描述中以及从权利要求中非常明显。

附图说明

具体实施方式

[0037] 详细描述

[0038] 本发明涵盖多种方法、组合物和试剂盒,这些方法、组合物和试剂盒涉及选择一种预防性或治疗性 Ab,这种 Ab 不太可能诱导或加重给予该 Ab 的受试者体内的抗-抗体反应。可以选择用于给予受试者的 Ab 来匹配、或者至少更像该受试者内源性 Ab 的同种异型表型。以下描述的优选的实施方式说明了这些组合物和方法的改写。尽管如此,从这些实施方式的描述中,可以基于以下提供的描述做出和 / 或实践本发明的其他方面。

[0039] 生物学方法

[0040] 在此说明了涉及常规免疫学和分子生物技术的方法。免疫学方法(例如,检测和定位抗原-Ab 复合物的测定、免疫沉淀法、蛋白质印迹法等等)通常是本领域所已知的,并且在方法学论文中已有说明,例如《现代免疫学方案》(Current Protocols in Immunology),Coligan 等人编辑,John Wiley & Sons,纽约。分子生物技术在一些论文中进行了说明,例如,《分子克隆:实验室手册》,第 2 版,第 1-3 卷,Sambrook 等人编辑,冷泉港实验室出版社,冷泉港,纽约,2001;以及《当代分子生物方案》,Ansubel 等人编辑,Greenhouse 出版社和 Wiley-Interscience,纽约。Ab 方法在《治疗性抗体手册》Dubel, S. 编辑,Wiley-VCH,2007 中有所说明。细胞培养技术是通常本领域所已知的,并且在方法学论文中进行了说明,例如《动物细胞培养:基础技术手册》,第 4 版,R Ian Freshney、Wiley-Liss, Hoboken, N. J., 2000;以及《细胞培养的综合技术》,Maureen A Harrison 和 Ian F Rae,剑桥大学出版社,英国剑桥,1994。蛋白质纯化方法在《蛋白质纯化指南:酶学方法》,第 182 卷,Deutscher M P 编辑,学术出版社,加州圣地亚哥,1990,进行了讨论。

[0041] 受试者

[0042] 本发明的方法、组合物和试剂盒用于动物受试者,包括人和其他哺乳动物,例如猫、狗、小鼠、大鼠、兔子、绵羊、牛、马、山羊、猪、猴子和猿类。本发明对于以下受试者尤其有用,这些受试者具有可测量效价的 AAAb(例如,大于每 ml 血清 0.001、0.01、0.05、0.1、0.2、0.5 或 1 μ g 的 Ab)或具有发展成 AAAb 的高风险的受试者,例如受试者患有 HAMA、HAHA、或与高效价的抗-抗体相关的病况(例如自身免疫性疾病,例如风湿性关节炎);是怀孕的受试者;具有母源 Ab 的儿童(例如小于 1 岁的儿童);已进行过输血的受试者;具有自然发生的 AAAb 的受试者;以及患有由于另一种治疗性 Ab 而产生的 AAAb 的受试者。

[0043] 抗体

[0044] 在此所说明的方法、组合物和试剂盒可以使用或包括各种不同类型的 Ab,包括 mAb、多克隆 Ab、以及各种 Ab 片段(例如 Fab 片段、Fab' 片段、和 F(ab')₂ 片段)、或者工程化处理的 Ab(例如单链抗体、和使用 Fab 表达文库产生的分子),这些 Ab(i) 在至少一个(例如 2、3、4、5 或更多)同种异型决定簇的位置保留了一个内源性氨基酸序列,(ii) 包括

来自不具有同种异型变体的重链和 / 或轻链 Ig 的氨基酸序列,和 / 或 (iii) 包括来自定义一个同族同种异型或非标记物的重链和 / 或轻链 Ig 的氨基酸序列。

[0045] [0040]MAb 是对抗一种特定抗原的同一种抗体,可以使用标准杂交瘤技术制备(参见例如 Kohler et al., Nature 256 :495,1975 ;Kohler et al. ;Eur. J. Immunol. 6 :511,1976 ;Kohle et al.,Eur. J. Immunol. 6 :292,1976 ;Hammerling et al., " Monoclonal Antibodies and T Cell Hybridomas, " Elsevier, N. Y., 1981 ;Ausubel 等人,同上)。尤其是,MAb 可以通过以下技术来获得:由培养连续细胞系生产抗体分子的任何技术,例如在以下文献中所说明:Kohler et al., Nature 256 :495,1975,以及美国专利号 4,376,110 ;人 B-细胞杂交瘤技术(Kosbor et al., Immunology Today 4 :72,1983 ;Cole et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80 :2026,1983),以及 EBV-杂交瘤技术(Cole et al., " Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, " Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96,1983)。MAb 还可以使用 Clackson, et al., Nature 352 :624-628 (1991) 以及 Marks, et al., J. Mol. Biol. 222 :581-597 (1991) 中说明的技术从噬菌体抗体文库分离得到。产生 mAb 的细胞系可以在体外或在体内培养以产生大量 mAb。

[0046] 多克隆 Ab 是经免疫的受试者的血清中所含有的不同 Ab 分子的群体、或不同 mAb 的组合。多克隆抗体可以根据常规方法从经免疫的宿主动物收集血清来分离。从血清收集的多克隆抗体在同种异型方面通常是不同的,但是可用来制备具有同一同种异型决定簇的多克隆抗体,例如通过使用对同种异型决定簇具有特异性的已固定的 Ab 进行免疫亲和纯化。

[0047] 对抗一种目标抗原的单链 Ab 可以通过常规方法制备(例如美国专利号 4,946,778、4,946,778 和 4,704,692),例如通过将一个 Fv 区域的重链和轻链片段经一个氨基酸桥而连接,得到一种单链多肽(scFv)。特异性地结合一个目标抗原的 Ab 片段还可以通过常规技术制备。例如,Fab 片段可以通过木瓜蛋白酶消化一种全长 Ig 产生,F(ab')₂ 片段可以通过胃蛋白酶消化一种全长 Ig 分子产生,并且 Fab' 片段可以通过减少 F(ab')₂ 片段的二硫键产生。Fab 表达文库可以通过已知的方法构建和筛选(例如 Huse et al., Science 246 :1275,1989)以产生具有所希望的特异性的单克隆 Fab 片段。双体(即二价 Ab,其中 VH 和 VL 结构域在一个单一多肽链上)可以通过已知的方法制备(例如 Holliger P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 :6444-6448 (1993) 和 Poljak R. J. et al., Structure 2 :1121-1123 (1994))。包含与一个非抗体分子(例如一个细胞因子或细胞因子受体)融合的抗体部分(例如 Ig 重链部分)的免疫粘附素也可以在本发明中使用。

[0048] Ab 可以通过常规技术纯化,这些技术包括:盐切(例如饱和硫酸铵沉淀法)、冷乙醇分馏(例如 Cohn-Oncley 冷乙醇分馏方法)、尺寸排阻色谱法、离子交换色谱法、免疫亲和层析法(例如,偶合了抗人 Ig 抗体的色谱珠可以用来分离人 Ig)、蛋白 A 或蛋白 G 色谱法、以及抗原亲和层析法。参见,例如 Coligan 等人,同上。

[0049] 免疫学和蛋白质化学的标准技术可以用于分析和处理 Ab。例如,透析可以用来改变溶解 Ab 的媒介。Ab 还可以被冻干用于保存。还可以使用几种标准方法中的任何一个来测试 Ab 结合特异性抗原的能力,这些方法例如蛋白质印迹法、免疫沉淀分析、酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射性免疫测定(RIA)。参见例如 Coligan 等人,同上。

[0050] 在此说明的各种 Ab 可以与另一种分子(例如可检测的标签、细胞毒素剂或放射性

同位素)偶联。可检测的标签的实例可以包括生色酶(例如过氧化物酶和碱性磷酸酶)、放射性同位素(例如¹²⁴I、¹²⁵I、¹¹¹In、^{99m}Tc、³²P和³⁵S)、生色团、生物素和发光或荧光染料(例如FITC、RITC、罗丹明、德克萨斯红、荧光素、藻红蛋白、掺杂染料的纳米微粒、以及量子点),MR造影剂(例如超顺磁三氧化二铁(SPIO)和过超顺磁三氧化二铁(USPIO)。细胞毒素剂的实例包括并不限于:放射性同位素(例如,³⁵S、¹⁴C、³²P、¹²⁵I;¹³¹I、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、²⁰¹Tl、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、⁵⁷Cu、²¹³Bi和²¹¹At),已偶联的放射性同位素,抗代谢药(例如5-氟尿嘧啶(5-FU),甲氨蝶呤(MTX)、氟达拉滨等),抗微管制剂(例如长春新碱、长春碱、秋水仙碱和紫杉烷类(例如紫杉醇和多西紫杉醇)),烷化剂(例如环磷酰胺、美法仑,和卡氮芥(BCNU)),铂制剂(例如顺铂(也被称为cDDP)、卡铂、以及奥沙利铂),蒽环类(例如多柔比星和柔红霉素),抗生素制剂(例如丝裂霉素-C),拓扑异构酶抑制剂(例如依托泊甙、替尼泊苷和喜树碱),或其他细胞毒素剂,例如蓖麻蛋白、白喉毒素(DT)、假细胞菌外毒素(PE)A、PE40、相思豆毒蛋白、皂草素、美洲商陆病毒蛋白、溴化乙锭、糖皮质激素、炭疽毒素和其他物质。参见例如美国专利号5,932,188。

[0051] 靶抗原

[0052] 在此说明的Ab通常被选择来特异性地结合一种靶抗原,尽管非抗原特异性抗体,例如所制备的静脉免疫球蛋白组合物匹配、或至少更像受试者内源抗体的同种异型表型,也是在本发明的范围内。靶抗原的实例包括在一个细胞表面表达的分子;在一个细胞内表达的分子;存在于体液或组织内的分子;通过细菌、病毒或寄生虫表达的分子;药物;和毒物。这些包括但不限于:粘附分子、CD抗原,受体,细胞因子类,细胞因子受体,酶类,酶辅因素,或DNA结合蛋白,例如ApoE、Apo-SAA、BDNF、 β 淀粉样蛋白、CA125、心肌肌凝蛋白、心脏营养素-1、癌症相关抗原、CD1(a-c、1A、1D、1E)、CD2、CD3(γ 、 δ 、 ϵ)、CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD9、CD10、CD11(a、b、c)、CD13、CD14、CD15、CD16(A、B)、CD18、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD25、CD26、CD27、CD28、CD29、CD30、CD31、CD32(A、B)、CD33、CD34、CD35、CD36、CD37、CD38、CD39、CD40、CD41、CD42(a、b、c、d)、CD43、CD44、CD45、CD46、CD47、CD48、CD49(a、b、c、d、e、f)、CD50、CD51、CD52、CD53、CD54、CD55、CD56、CD57、CD58、CD59、CD61、CD62(E、L、P)、CD63、CD64(A、B、C)、CD66(a、b、c、d、e、f)、CD68、CD69、CD70、CD71、CD72、CD73、CD74、CD78、CD79(a、b)、CD80、CD81、CD82、CD83、CD84、CD85(a、d、e、h、j、k)、CD86、CD87、CD88、CD89、CD90、CD91、CD92、CD93、CD94、CD95、CD97、CD98、CD99、CD100、CD101、CD102、CD103、CD104、CD105、CD106、CD107(a、b)、CD108、CD109、CD110、CD111、CD112、CD113、CD114、CD115、CD116、CD117、CD118、CD119、CD120(a、b)、CD121(a、b)、CD122、CD123、CD124、CD125、CD126、CD127、CD129、CD130、CD131、CD132、CD133、CD134、CD135、CD136、CD137、CD138、CD140b、CD141、CD142、CD143、CD144、CD146、CD147、CD148、CD150、CD151、CD152、CD153、CD154、CD155、CD156(a、b、c)、CD157、CD158(a、d、e、i、k)、CD159(a、c)、CD160、CD161、CD162、CD163、CD164、CD166、CD167(a、b)、CD168、CD169、CD170、CD171、CD172(a、b、g)、CD174、CD177、CD178、CD179(a、b)、CD181、CD182、CD183、CD184、CD185、CD186、CD191、CD192、CD193、CD194、CD195、CD196、CD197、CDw198、CDw199、CD200、CD201、CD202b、CD204、CD205、CD206、CD207、CD208、CD209、CDw210(a、b)、CD212、CD213a(1、2)、CD217、CD218(a、b)、CD220、CD221、CD222、CD222、CD224、CD225、CD226、CD227、CD228、CD229、CD230、CD233、CD234、CD235(a、b)、CD236、CD238、CD239、CD240CE、CD241、CD243、CD244、CD246、CD247、

CD248、CD249、CD252、CD253、CD254、CD256、CD257、CD258、CD261、CD262、CD264、CD265、CD266、CD267、CD268、CD269、CD27、CD272、CD273、CD274、CD275、CD276、CD278、CD279、CD280、CD281、CD282、CD283、CD284、CD286、CD288、CD289、CD290、CD292、CDw293、CD294、CD295、CD297、CD298、CD299、CD300A、CD301、CD302、CD303、CD304、CD305、CD306、CD30、CD309、CD312、CD314、CD315、CD316、CD317、CD318、CD320、CD321、CD322、CD324、CD325、CD326、CD328、CD329、CD331、CD332、CD333、CD334、CD335、CD336、CD337、CD338、CD339、CD340、CD344、CD349、CD350、CEACAM3、CGM1、CMV 抗原、补体（例如 C5）、CTLA4、地高辛、EGF、EGF 受体、ENA-78、内毒素、嗜酸细胞活化趋化因子、嗜酸细胞活化趋化因子-2、重组人次级非淋巴组织趋化因子（Exodus-2）、VII 因子、FGF- 酸性、FGF- 碱性、纤维蛋白、成纤维细胞生长因子-10、FLT3 配体、FOLR1、趋化因子 CX3（CX3C）、GCP-2、GD2 神经节苷脂、GDNF、G-CSF、GM-CSF、GF- β 1、GRO/MGSA、GRO- β 、GRO- γ 、HBV 抗原、HCV 抗原、HCC1、1-309、热激蛋白质、HER1、HER2、HER3、HER4、疱疹病毒抗原、HIV 抗原、HLA、HMW-MAA、HSV 抗原、胰岛素、IFN- γ 、IgE、IGF-I、IGF-II、IGF-1R、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8（72a. a.）、IL-8（77a. a.）、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18（IGIF）、抑制素 α 、抑制素 β 、IP-10、IRP-2、角化蛋白生长因子-2（KGF-2）、KGF、Lewis Y、脂磷壁酸、瘦素、LIF、淋巴细胞趋化蛋白、溶菌酶、穆勒抑制物、单核细胞集落抑制因子、单核细胞吸引剂蛋白、M-CSF、MDC（67a. a.）、MDC（69a. a.）、MCP-1（MCAF）、MCP-2、MCP-3、MCP-4、MDC（67a. a.）、MDC（69a. a.）、MIG、MIP-1 α 、MIP-1 β 、MIP-3 α 、MIP-3 β 、MIP-4、MUC1、骨髓祖代抑制因子-1（MPIF-1）、NAP-2、NCA 90、神经生长因子（Neurturin）、神经生长因子、 β -NGF、NT-3、NT-4、制癌蛋白 M、PDGF-AA、PDGF-AB、PDGF-BB、PF-4、磷脂酰丝氨酸、PSA、PSCA、PSMA、狂犬病病毒抗原、RANTES、RSV、SDF1 α 、SDF1 β 、SCF、SCGF、干细胞因子（SCF）、TACSTD1、TAG 72、TARC、TACE 识别位点、TGF- α 、TGF- β 、TGF- β 2、TGF- β 3、肿瘤坏死因子（TNF）、TNF- α 、TNF- β 、TNF 受体 I（p55）、TNF 受体 II、TNIL-1、TP0、TRAIL-R1、VEGF、VEGF-A、VEGF 受体 1、VEGF 受体 2、VEGF 受体 3、以及前述的受体。莫罗单抗-CD3、依决洛单抗、托西莫单抗、阿昔单抗、利妥昔单抗、巴利昔单抗、英夫利昔单抗、西妥昔单抗、达珠单抗、帕利珠单抗、曲妥珠单抗、吉姆单抗、阿仑珠单抗、奥马佐单抗、依法珠单抗、贝伐单抗、那他珠单抗、雷珠单抗、艾库组单抗、赛妥珠单抗、阿达木单抗、帕尼单抗、依那西普、阿来法塞、阿巴他塞、以及列洛西普也限定了本发明中有用的 Ab 的表位。

[0053] Ig 同种异型

[0054] 本发明的方法和组合物涉及特异性地匹配、或至少部分匹配（例如至少超过 50%、60%、70%、80%、90%、95% 匹配）治疗性 mAb 的同种异型表型与受试者的同种异型表型。各种同种异型在本领域是已知的。表 1（下面）列出了不同的人 Ig 等位基因。

[0055] 表 1

[0056]

Ig 族	等位基因
κ 轻链	Km1; Km1, 2; Km3
λ 轻链	无
G1	G1m1, nGm1 G1m2, nGm2 Gm3, Gm17
G2	G2m23, nG2m23
G3	G3m21, nG3m21 G3m5, nGm5 G3m11, nGm11 G3m6, G3m10, G3M13 G3m14, G3m15, G3m16 G3m21, G3m24, G3m26 G3m27, G3m28
G4	无
A1	无
A2	A2m1, A2m2
D	无
E	无
M	无

[0057]

[0058] Abs 组

[0059] 本发明的组合物、方法和试剂盒的特征是或使用一组 Ab, 该组 Ab 包括至少 (i) 一种第一 Ab, 包括一个第一同种异型表型的一个第一重链可变区和一个第一重链恒定区, 以及 (ii) 一种第二 Ab, 包括等同于 (或者至少具有相同的抗原结合特异性, 例如如果是一种多克隆 Ab) 该第一 Ab 的重链可变区的一个重链可变区以及不同于该第一同种异型表型的一个第二同种异型表型的一个第二重链恒定区。在优选的实施方式中, 该组 Ab 包括几种

不同的人类或人源化 mAb (3、4、5、6、7、8、9、10 或更多不同的 mAb), 每个具有相同的可变区 (或抗原结合部分), 以及不同的恒定区, 这些恒定区是同一种同种型但是在同种异型表型上不同。例如, 一组人类或人源化 mAb 可以包括两个或三个 Ig, 这些 Ig 具有相同的可变区 (以及任选的相同重链恒定区) 以及不同的 κ 轻链恒定区, κ 轻链恒定区内的差异对应于 Km1 ; Km1,2 ; 和 / 或 Km3 同种异型。

[0060] 作为另一个实例, 一组人类或人源化 mAb 可以包括至少两个 (例如 2、3 或 4) IgG1, 它们具有相同的轻链和重链可变区, 以及不同的重链恒定区, 重链恒定区内的差异对应于 G1m1、G1m2、G1m3 和 / 或 G1m17 同种异型。因为许多组同种异型通常一起遗传, 一组人类或人源化 Ab 可以包括系列 IgG1, 它们具有相同的轻链和重链可变区, 以及不同却普遍的重链恒定区单倍型, 例如两个或三个 G1m3 ; Gm1,17 ; 和 Gm1,2,17。一组优选的人类或人源化 IgG1mAb 可以包括相同的 λ 轻链和重链可变区以及 (a) nG1m1、nG1m2、和 G1m3 同种异型的重链恒定区, 和 (b) nG1m1、nG1m2、和 G1m17 同种异型的重链恒定区, 因为这可能包括仅有两个不同的可能的抗原位点 (即 G1m3 和 G1m17)。

[0061] 相似地, 一组人类或人源化 IgG3mAb 可以包括至少两个 (例如 2、3、4、5、6、7、8、9、10, 或更多) IgG3S, 它们具有相同的轻链和重链可变区、以及不同的重链恒定区, 重链恒定区内的差异对应于一个或多个 (例如 2、3、4、5、6、7、8、9、10, 或更多) G3m21、nG3m21、G3m5、nGm5、G3m11、nGm11、G3m6、G3m10、G3m13、G3m14、G3m15、G3m16、G3m21、G3m24、G3m26、G3m27、和 G3m28 表型。因为许多组同种异型通常一起遗传, 一组人类或人源化 Ab 可以包括系列 IgG3S, 它们具有相同的轻链和重链可变区, 以及不同却普遍的重链恒定区单倍型, 例如两个或多个 (例如 2、3、4、5 或 6) G3m5、10、11、13、14、26、27 ; G3m21、26、27、28 ; G3m10、11、13、15、27 ; G3m5、6、10、11、14、26、27 ; 和 G3m5、6、11、24、26。一组 mAb 可以包括两种人类或人源化 IgA2S, 它们具有相同的轻链和重链可变区, 以及不同的重链恒定区, 重链恒定区内的差异对应于 Am1 和 Am2 同种异型。

[0062] 在之前重链恒定区组中的 Ab 可以包括 κ 和 / 或 λ 轻链。因为人类 λ 轻链不包含等位基因变体, 所以优选仅使用这个轻链来减少组复杂性。对于包含 κ 链的组, 每个重链同种异型可以与 Km1 ; Km1,2 ; 和 / 或 Km3 同种异型中任意一个的 κ 链相组合。当不同的 κ 链同种异型不包含在一组内时, Km3 是最优选使用的轻链, 因为它最普遍, 并且 Km1 是最不优选的, 因为它最不普遍。本发明的 Ab 组可以按照一系列含 Ab 的容器或小瓶排列。

[0063] 具有降低的免疫原性的抗体

[0064] 本发明内还包括具有降低的免疫原性的 Ab。基于同种异型表型选择了全部种类中通常显示出降低的免疫原性的预防性或治疗性 Ab。优选与同种异型决定簇相关、不具有或具有很少潜在的抗原决定簇的那些 Ab。例如, 优选使用轻链 (与 κ 轻链相对) 的人类或人源化 Ab, 因为它们不具有同种异型决定簇。在 κ 链中, 优选群内频率最高的那些 (Km3 > Km1,2 > Km1) 来避免 AAAb 反应。对于人类重链, 优选使用 1、 μ 、 ϵ 、 γ 4 (没有同种异型) 或具有 nG2m23 同族同种异型的 γ 2, 因为对这些链不会产生 AAAb 反应。但是, γ 1 和 γ 3 显示出最大的同种异型变异, 优选用于多种应用 (例如当希望出现好的补体激活或 ADCC 时)。在这种情况下, 优选具有 nG1m1、nG1m2 和 G1m3 ; 或 nG1m1、nG1m2 和 G1m17 的 γ 1。这些重链中的氨基酸序列还可以进行工程化处理以便将定义 G1m3 或 G1m17 的残基替换为定义一个异同种异型决定簇的氨基酸。这些工程化处理的重链可以用于 Ab, 以及对所希望的

活性进行测试的 Ab (例如补体激活和 ADCC 活性)。

[0065] 选择用于使用的单克隆抗体的方法

[0066] 一个方面,本发明的特征是从一组不同 Ab 中选择一种 Ab 的方法,每种 Ab 具有相同的可变区(或至少具有相同的抗原结合特异性),是相同的同种型,但是各自的同种异型表型不同。这个方法包括以下步骤:(a) 从受试者获得一个生物样本;(b) 分析该生物样本来确定由受试者表达的一个或多个(例如 1、2、3、4、5、6 或更多)Ab 同种异型表型;(c) 提供一组 Ab,包括至少(i) 一种第一 Ab,它具有对预先确定的抗原特异的抗原结合部分的一个第一可变区以及并非由受试者表达的第一同种异型表型的一个第一恒定区和(ii) 一种第二 Ab,它具有对该预先确定的抗原具有特异性的抗原结合部分的一个第一可变区(可能与该第一 Ab 的可变区相同)以及一个不同于该第一同种异型表型、并且由受试者表达的第二同种异型表型的一个第二恒定区;并且(d) 将该第二 Ab 给予人类受试者。这个方法中,该第二恒定区还可以具有多个(例如至少 2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多)由受试者表达的同种异型表型和/或没有并非由受试者表达的同种异型。

[0067] 用于获得生物样本的任何合适的方法都可以使用。所获得的生物样本包括含有一种 Ab 或细胞的任何样本,该 Ab 或细胞具有编码来自受试者的 Ab 的核酸,这些样品例如血液、血浆、血清、白细胞、B 淋巴细胞、脑脊髓液、滑液、脾、淋巴结、骨髓和胎盘。例如,外周血样可以通过静脉穿刺获得。全血可以根据已知的技术分离成细胞部分(例如血沉棕黄层)、血浆、或血清。骨髓可以通过针穿刺获得。脾和淋巴结的样本可以通过活组织检查获得。在这些情况下,从受试者得到的生物样本可以进一步处理以便富集含 Ab 的部分或具有编码 Ab 的核酸序列细胞。

[0068] 为了将一种 Ab 的同种异型表型匹配至受试者,可以测定受试者体内至少一种(例如 1、2、3、4、5 或更多)内源性 Ab 的一个或多个(例如至少 2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多)同种异型表型。Ab 的同种异型表型可以通过任何合适的方法测定,例如通过识别一个 Ab 的氨基酸序列变异,它对应于来自受试者的生物样本中的一个同种异型表型,或通过确定一个编码 Ab 的基因的核酸序列,它对应于受试者的生物样本中所含有的 DNA 或 RNA 的同种异型表型。例如,可以将对与一个同种异型表型相关的氨基酸变异具有特异性的一个探针接触含 Ab 的样本,并且可以评估该探针与 Ab 的结合,其中该探针与 Ab 的结合表明样本包含具有特异性同种异型表型的 Ab。作为另一个实例,可以将对与一个同种异型表型相关的编码氨基酸变异的核酸具有特异性的一个探针接触从受试者取得的一个核酸样本,并且可以检测该探针与一个同种异型表型相关的编码氨基酸变异的核酸的结合(例如通过 Southern 印迹法),其中该探针和与一个同种异型表型相关的编码氨基酸变异的核酸的结合表明该受试者带有具有该特异性同种异型表型的 Ab。

[0069] 在一个典型方法中,从即将进行 Ab 表型分析的受试者分离出一个生物样本,例如血、血清、或血浆。分离的样本可以进行进一步处理以便在样本中富集 Ab,例如通过盐切、尺寸排阻色谱法、离子交换色谱法、免疫亲和层析法(例如偶合了抗人 Ig 抗体的层析珠可以用来分离人 Ig)、和/或蛋白 A 或蛋白 G 层析法。免疫测定,例如酶联免疫吸附测定(ELISA)或放射性免疫测定(RIA)可以用来测定在含有未知同种异型表型的 Ab 的样本中特定同种异型表型的 Ab 的存在。这些免疫测定典型地使用 Ab 来选择性地仅结合具有特定同种异型表型的 Ab 以及一张可检测的标签。例如,对一种选定的同种异型表型具有特异性的捕获 Ab

可以被固定在一个微量滴定板的孔内。含 Ab 的生物样本,例如经稀释的血清,被加入这些孔内并且清洗这些孔。然后,被评估的、对 Ab 的同种型具有特异性的酶标记的 Ab(例如,过氧化物酶标记的抗人 IgG1)被加入到孔内。然后将孔清洗,并且加入这些酶的底物,这样可以在一些孔内检测到显色反应,在这些孔中含 Ab 的生物样本包含具有被评估的特殊同种异型表型的 Ab。

[0070] 可选择的,可以使用血凝抑制试验。在一个示例性的血凝试验中,0+ 红细胞被对一种单一已知的同种型具有特异性的 Ig 包被,这样被包被的细胞当暴露于该单一已知同种型的 Ab 时会凝结。已知包含该单一已知同种型的 Ab 的抗血清与一种即将分析血型的未知血清混合,并且该混合物被添加到该包被的红细胞中。如果红细胞凝集被抑制,可以得出结论该同种型存在于该未知血清中。

[0071] 在其他技术中,可以检测与一个同种异型表型相关的编码氨基酸变异的核酸的生物样本的存在。例如,基于聚合酶链反应 (PCR) 的测定还可以用来测定受试者的一个 Ab 同种异型表型的表达量,使用选择性地扩增一些核酸区域的引物集合,那些核酸区域编码了位于对一个特定同种异型表型具有特异性的 Ab 中的氨基酸序列。另外,可以使用限制性片段长度多态分析来确定由特定受试者表达的同种型。尽管目前存在着比免疫测定或基于核酸的检测技术更复杂的技术,Ab 或它的一部分还可以进行直接测序以测定它的同种异型表型。

[0072] 修改 Ab 的方法

[0073] 本发明进一步包括修改 Ab 的一种方法,以便改变其同种异型表型同时保持其抗原结合的可变区。这个方法可以用来制作如以上说明的一组 Ab。修改 Ab 的方法在本领域内是众所周知的。参见例如 Lo, B. K. C., 《抗体工程学 - 方法和方案》, Humana 出版社, 2004。修改 Ab 通常使用常规的分子生物技术进行,其中例如,编码全 Ig 轻链或重链的核酸被首先分离并且克隆至一个载体中。然后使用限制性酶来切开编码这些氨基酸序列的核酸序列,它们对应于一个或多个(例如 1、2、3、4、5 或更多)的 Ab 的同种异型表型。然后将检测到的核酸用新的核酸序列替代,这些新的核酸序列编码了一种或多种(例如 1、2、3、4、5 或更多)不同的同种异型表型的氨基酸序列。可以重复这个过程以产生一个核酸文库,这些核酸编码了具有一个相同可变区但是不同的恒定区,它们对应于 Ab 的不同同种异型表型。可选择地,可以使用 CDR 移植,其中来自具有已知抗原特异性的 Ab 的 CDR 被移植到具有不同同种异型表型的 Ab 的框架区上。使用这些方法,例如,可以将具有同种异型 G1m(1) 的 Ab 改变成 G1m(3) 同种异型。

[0074] 选择一种单克隆抗体用于属于特定人群的人类受试者的方法

[0075] 本发明进一步的特征是选择一种单克隆抗体给予属于某一特定人群的人类受试者的方法,其中某些 Ab 同种异型表型或单倍型占主导地位。在本方法的一个实例中,受试者根据表型或基因型被指定为一个特定人群。这个特定人群可以是基于人种或祖先背景的群体,例如白人、黑人或亚洲人。一旦受试者被指定为一个特定人群,则从一组 Ab 中选择一种 Ab 用于该受试者,该组 Ab 包括至少具有在该特定人群中更加普遍的第一同种异型表型或单倍型的一种第一 Ab、以及在该特定人群中不太普遍的一个第二同种异型表型或单倍型的一种第二 Ab。然后选择该第一 Ab 给予该受试者,依据是与该第二同种异型表型或单倍型相比,该受试者更可能表达该第一同种异型表型或单倍型。例如,在黑人人群中,很少使用

具有 G1m3 同种异型的 Ab, 然而 G1m1、G1m17 的使用很普遍。因此使用具有 G1m3 同种异型的 Ab 比具有 G1m1, G1m17 同种异型的 Ab 更加不受优选。

[0076] 治疗已经发展成抗 - 抗体反应的受试者的方法

[0077] 另一方面, 本发明涉及治疗已经发展成对抗之前给予的 Ab 的抗 - 抗体反应 (例如 HAHA 或 HAMA 反应) 的受试者的一种方法。在这个方法中, 中断了使用之前的 Ab, 而相反该受试者被给予一种第二 Ab, 该 Ab 具有与之前所用 Ab 相同的可变区、但是与之前所用 Ab 不同的同种异型表型 (优选有受试者表达的同种异型表型)。因此, 在该抗 - 抗体反应中任何抗 - 同种异型反应被消除或减少。因此, 当抗 - 抗体反应的特征是在受试者体内存在着特异性地结合至之前所用 Ab 的同种异型决定簇上的 Ab 时, 这个方法特别有用。

[0078] 选择不太可能诱导抗 - 抗体反应的单克隆抗体的方法

[0079] 同时, 本发明还包括选择不太可能在受试者体内诱导抗 - 抗体反应的一种方法。这个方法可以包括首先测定该受试者的一种或多种 (例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多) Ab 同种异型表型。然后, 可以从一组不同的 Ab 中选择以下 Ab: (a) 具有该受试者的一种或多种同种异型表型和 / 或 (b) 没有任何并非由该受试者表达的同种异型表型, 该组 Ab 具有不同的同种异型表型 (和任选地具有相同的可变区)。然后, 将所选的 Ab 给予该受试者。

[0080] 药物组合物和方法

[0081] 本发明的 Ab 组合物可以在药学上可接受的载体 (例如无菌盐水) 内给予动物或人, 这些载体是根据给药的方式和途径以及标准药学实践来选择的。药学上可接受的载体的目录, 以及药物配方, 可以在本领域的标准文本《雷明顿药学大全》以及 USP/NF 中找到。其他物质可以被添加到该组合物中, 并且可以采取其他步骤来稳定和 / 或保存这些组合物, 和 / 或便于将它们给予受试者。

[0082] 例如, Ab 组合物可以被冻干 (见 Draber et al., J. Immunol. Methods. 181 :37, 1995 ; 以及 PCT/US90/01383) ; 溶解在含有钠和氯离子的溶液中 ; 溶解在包括一种或多种稳定剂的溶液中, 该稳定剂例如白蛋白、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、山梨醇、聚乙二醇、和甘氨酸 ; 过滤 (例如, 使用 0.45 和 / 或 0.2 微米的过滤器) ; 和 / 或溶解在包括一种杀微生物剂 (例如, 清洁剂、有机溶剂、以及清洁剂与有机溶剂的混合物) 的溶液中。

[0083] 本发明的组合物可以通过任何合适的技术给予动物或人。典型地, 这种给药可以是胃肠外 (例如, 静脉注射、皮下注射、肌肉注射、胸骨内注射、或腹膜内注射)。这些组合物还可以直接给予至靶位点, 通过例如外科手术传递至一个内部或外部的靶位点, 或者通过导管传递至血管可接近的位点。其他传递方法, 例如脂质体传递或从浸渍了该组合物的一个设备分散, 是本领域已知的。该组合物可以按照单一推注、多次注射、或通过连续输注 (例如静脉注射或通过腹膜透析) 来给药。

[0084] 治疗有效量是能够在经治疗的动物或人体内产生医学上所希望的结果的量值。正如医学领域所熟知, 任何动物或人的药物用量取决于很多因素, 包括受试者的尺寸、身体表面积、年龄、所给予的特定组合物、性别、给药时间和途径、总体健康状况以及同时给予的其他药物。所期望的是用于静脉注射给药的适宜抗体剂量会在大约 0.01 至 100mg/kg 体重的范围内。

[0085] 试剂盒

[0086] 本发明的另一个特征用于测定受试者的 Ab 同种异型表型的试剂盒, 这样该

受试者可以被给予与有该受试者表达的 Ab 同种异型表型匹配或紧密类似的 Ab。示例性的试剂盒可以包括多个探针,这些探针特异性地识别从受试者分离的生物样本内的 Ab 同种异型表型;其他试剂,例如缓冲剂;容器,例如试管或微孔滴定板;阳性和阴性对照(例如,表达正在进行筛选的特定同种异型表型的 Ab,以及没有表达并非正在进行筛选的同种异型表型的 Ab;或者编码正在进行筛选的同种异型表型的 Ab 的核酸,以及编码不包括正在进行筛选的同种异型表型的 Ab 的核酸),以及打印出的指示用于使用。这些探针可以是聚合酶链反应引物,这些引物用于特异性地扩增编码一个氨基酸序列的核酸,该序列对应于正在进行筛选的同种异型表型,或者可以是特异性地结合一个氨基酸序列的 Ab,该序列对应于正在进行筛选的 Ab 同种异型表型,正如以上详细说明。

[0087] 基于 Ab 的探针可以用来检测特定同种异型表型的 Ab 的存在,其中使用了免疫测定,例如 ELISA、RIA、沉淀素分析、或 Ouchterlony 双向扩散分析。优选地,这些免疫测定被安排在一个单一测定中检测几种(3、4、5、6、或更多)不同的 Ab 同种异型表型。例如,微孔滴定板的不同孔可以用不同的(例如 2、3、4、5、6、7、或更多)、对不同同种异型表型具有特异性的捕获性 Ab 涂覆,这样可以在一个单一 ELISA 或 RIA 中同时筛选单一生物样本的不同同种异型表型。类似地,在一个 Ouchterlony 测定中,该生物样本可以添加至中心孔中,并且几个不同的各自均对一个不同的同种异型表型具有特异性的 Ab 可以分别添加至不同的环绕该中心孔的孔内。可选择地,如以上所说明的血细胞凝集抑制分析可以包括在一个试剂盒中,以便检测具有一个特定同种异型表型的 Ab 的存在。

[0088] 用于测定受试者 Ab 同种异型表型的试剂盒还可以包括一些试剂,这些试剂用于测定来自受试者的生物样本是否包括编码一种或多种(例如 1、2、3、4、5、6、或更多)Ab 同种异型表型的核酸。例如,该试剂盒可以包括可检测的经标记的核酸,这些核酸是与编码具有特定同种异型表型的 Ab 的核酸互补;PCR 引物集合,它们选择性地扩增在一个特定同种异型表型特异的 Ab 中编码氨基酸序列的核酸区域;或限制性核酸内切酶,它们在同种异型表型特异的基础上剪切核酸序列(用于 RFLP 分析)。

[0089] 筛选存在 AAAb 的受试者的方法

[0090] 匹配或紧密类似受试者的 Ab 同种异型表型的 Ab 的用途对于已经具有 AAAb 的受试者特别重要。因此,一方面,本发明涉及用于筛选存在 AAAb 的受试者的方法。在这些方法中,可以从受试者得到一个生物样本,然后筛选 AAAb 的存在。生物样本可以包括可能含有 AAAb 的任何样本,例如血、血浆、血清、淋巴、唾液、尿液、脑脊髓液和滑液。可以使用用于获得生物样本的任何合适的方法。例如,外周血可以通过静脉穿刺得到。全血可以根据已知的技术分离成细胞部分(例如血沉棕黄层)、血浆、或血清。一些情况下,从受试者获得的生物样本可以进一步进行处理以便纯化含 Ab 的部分或具有编码 Ab 的核酸序列的细胞。

[0091] 生物样本中 AAAb 的存在可以通过任何合适的方法测定。例如,AAAb 特异性的同种异型的 Ab 可以被用作接触生物样本的探针。Ab 探针与该 AAAb 的结合可以被检测为受试者具有特异 AAAb 的指示。这些探针 Ab 可以用来检测生物样本中的特异性 AAAb,其中使用了多种免疫测定方法,例如聚集体形成、沉淀素分析、Ouchterlony 双向扩散分析、ELISA(例如,使用探针 Ab 作为一种捕获性 Ab),以及 RIA(例如,使用探针 Ab 作为一种捕获性 Ab)。

[0092] 在一个典型的方法中,从受试者分离生物样本,例如血液、血清、或血浆。分离的样本可以直接用来或进行进一步处理,以便富集样本中的 Ab,例如通过盐切、尺寸排阻色谱

法、离子交换色谱法、免疫亲和层析法（例如耦合了抗人 Ig 抗体的层析珠可以用来分离人 Ig）、和 / 或蛋白 A 或蛋白 G 层析法。正在进行筛选的 AAAb 可以结合的同种异型的捕获 Ab 可以被固定在微孔滴定板的孔内。可能包含该 AAAb 的生物样本被添加至孔内，并且清洗这些孔。对于该受试者的 Ab 具有特异性的经标记 Ab（但是并非捕获性 Ab）被添加至孔内。然后，清洗这些孔，评估孔内标签的存在。孔内标签的存在表明添加至孔内的生物样本包含 AAAb。可选择地，可以使用红血球凝聚测定。例如，0+ 红细胞被一种单一已知同种型的 Ig 包被。如果添加生物样本引起包被的细胞出现凝集，那么该生物样本包括所筛选的 AAAb。

[0093] 其他的实施方案

[0094] 应当理解的是，尽管本发明已经用详细说明详细地进行了本发明，但是之前的说明旨在是说明性的，并不限制本发明的范围，本发明的范围通过所附的权利要求的范围来限定。其他方面、优势和修订都在以下权利要求的范围内。