



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106132442 A

(43)申请公布日 2016. 11. 16

(21)申请号 201580010172.X

(22)申请日 2015.01.21

(30)优先权数据

61/929,716 2014.01.21 US

61/944,361 2014.02.25 US

62/021,397 2014.07.07 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.08.24

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/012212 2015.01.21

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/112578 EN 2015.07.30

(71)申请人 戴埃克斯有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 容强 丹尼尔·J·塞克斯顿

克里斯托弗·滕霍尔

乔恩·A·肯尼森 莱恩·福赛特

莱恩·拉罗比诺

约瑟夫·比登卡普

伯特·阿德尔曼

(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

代理人 郝文博 王建秀

(51)Int.Cl.

A61K 49/00(2006.01)

A61K 39/395(2006.01)

C07K 16/00(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书4页 说明书29页

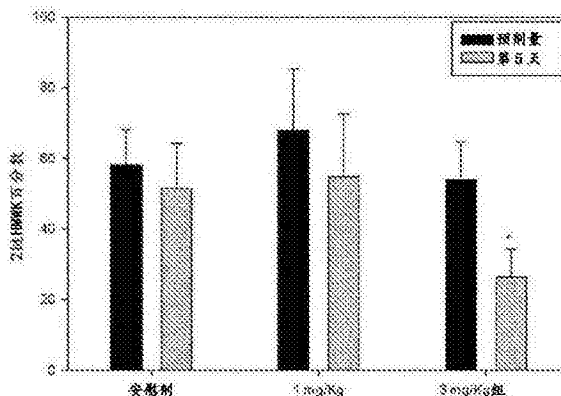
序列表7页 附图12页

(54)发明名称

血浆激肽释放酶结合蛋白和其在治疗遗传性血管性水肿中的用途

(57)摘要

本文提供了血浆激肽释放酶结合蛋白,比如结合活性血浆激肽释放酶的抗体,以及这种蛋白质用于治疗遗传性血管性水肿的方法。



1. 一种治疗遗传性血管性水肿(HAE)的方法,所述方法包括:
向需要其的受试者施用有效量的抗体,使得受试者中抗体的血浆浓度在约80nM以上,其中所述抗体结合活性血浆激肽释放酶。
2. 权利要求1所述的方法,其中所述抗体不结合前激肽释放酶。
3. 权利要求1或权利要求2所述的方法,其中所述抗体结合与DX-2930相同的表位或与DX-2930竞争结合所述活性血浆激肽释放酶。
4. 权利要求3所述的方法,其中所述抗体包括与DX-2930相同的CDR。
5. 权利要求1-4任一项所述的方法,其中所述抗体是全长抗体或其抗原结合片段。
6. 权利要求5所述的方法,其中所述抗体是DX-2930。
7. 权利要求1-6任一项所述的方法,其中所述有效量的抗体是约100mg至400mg。
8. 权利要求7所述的方法,其中所述有效量的抗体是约100mg至300mg。
9. 权利要求1-8任一项所述的方法,其中所述抗体每两周施用100mg。
10. 权利要求1-8任一项所述的方法,其中所述抗体每两周施用300mg。
11. 权利要求1-8任一项所述的方法,其中所述抗体每四周施用300mg。
12. 权利要求1-11任一项所述的方法,其中所述抗体被皮下施用。
13. 权利要求1-12任一项所述的方法,其中所述受试者是患有HAE、怀疑患有HAE或处在HAE风险的人患者。
14. 权利要求1-13任一项所述的方法,其中所述抗体被施用用于预防性治疗。
15. 权利要求1-14任一项所述的方法,进一步包括监测治疗之前和治疗之后或治疗过程期间,所述受试者中肌酸磷酸激酶的水平。
16. 权利要求15所述的方法,进一步包括如果观察到肌酸磷酸激酶升高,则减少所述抗体的剂量或终止治疗。
17. 一种治疗遗传性血管性水肿(HAE)的方法,所述方法包括:
向需要其的受试者施用单剂量分离的抗体,其中所述抗体结合活性血浆激肽释放酶。
18. 权利要求17所述的方法,其中所述抗体是不结合前激肽释放酶的抗体。
19. 权利要求17或18所述的方法,其中所述抗体结合与DX-2930相同的表位或与DX-2930竞争结合活性血浆激肽释放酶。
20. 权利要求19所述的方法,其中所述抗体包括与DX-2930相同的CDR。
21. 权利要求17-20任一项所述的方法,其中所述抗体是全长抗体或其抗原结合片段。
22. 权利要求21所述的方法,其中所述抗体是DX-2930。
23. 权利要求17-22任一项所述的方法,其中所述抗体的单剂量是0.1-3mg/kg。
24. 权利要求23所述的方法,其中单剂量是0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg。
25. 权利要求17-24任一项所述的方法,进一步包括监测治疗之前和治疗之后,所述受试者中肌酸磷酸激酶的水平。
26. 一种治疗遗传性血管性水肿(HAE)的方法,所述方法包括:
向需要其的受试者施用多个剂量分离的结合活性血浆激肽释放酶的抗体,其中两个连续剂量的每一个间隔至少2周。
27. 权利要求26所述的方法,其中所述抗体是不结合前激肽释放酶的抗体。
28. 权利要求26或权利要求27所述的方法,其中所述抗体结合与DX-2930相同的表位或

与DX-2930竞争结合活性血浆激肽释放酶。

29. 权利要求28所述的方法,其中所述抗体包括与DX-2930相同的CDR。

30. 权利要求26-29任一项所述的方法,其中所述抗体是全长抗体或其抗原结合片段。

31. 权利要求30所述的方法,其中所述抗体是DX-2930。

32. 权利要求26-31任一项所述的方法,其中所述多个剂量的至少一个剂量是0.1-3mg/kg。

33. 权利要求26-32任一项所述的方法,其中所述多个剂量的每一个是3mg/kg。

34. 权利要求26-33任一项所述的方法,其中所述抗体每月施用一次。

35. 权利要求26-34任一项所述的方法,进一步包括监测治疗之前和治疗之后或治疗过程期间,所述受试者中肌酸磷酸激酶的水平。

36. 权利要求35所述的方法,进一步包括如果观察到肌酸磷酸激酶升高,则减少所述抗体的剂量或终止治疗。

37. 一种治疗遗传性血管性水肿(HAE)的方法,所述方法包括:

向需要其的受试者施用第一剂量的结合活性血浆激肽释放酶的抗体;

测量所述受试者中所述抗体的血浆浓度;和

如果抗体的血浆浓度小于约80nM向受试者施用第二剂量的所述抗体。

38. 权利要求37所述的方法,其中所述抗体不结合前激肽释放酶。

39. 权利要求37或权利要求38所述的方法,其中所述抗体结合与DX-2930相同的表位或与DX-2930竞争结合活性血浆激肽释放酶。

40. 权利要求39所述的方法,其中所述抗体包括与DX-2930相同的CDR。

41. 权利要求37-40任一项所述的方法,其中所述抗体是全长抗体或其抗原结合片段。

42. 权利要求41所述的方法,其中所述抗体是DX-2930。

43. 权利要求37-42任一项所述的方法,其中所述第一剂量、所述第二剂量或两个剂量都是约100mg至400mg。

44. 权利要求43所述的方法,其中所述第一剂量、所述第二剂量或两个剂量都是约100mg至300mg。

45. 权利要求37-44任一项所述的方法,其中所述第二剂量大于所述第一剂量。

46. 权利要求36-45任一项所述的方法,进一步包括监测治疗之前和治疗之后或治疗过程期间,所述受试者中肌酸磷酸激酶的水平。

47. 权利要求46所述的方法,进一步包括如果观察到肌酸磷酸激酶升高,则减少抗体的剂量或终止治疗。

48. 权利要求37-47任一项所述的方法,其中所述施用是皮下施用。

49. 权利要求37-48任一项所述的方法,其中所述受试者是患有HAE、怀疑患有HAE或处在HAE风险的人患者。

50. 一种确定治疗受试者中遗传性血管性水肿(HAE)的最佳剂量的方法,所述方法包括:

向需要其的受试者施用初始剂量的结合活性血浆激肽释放酶的抗体,

测量所述受试者中所述抗体的血浆浓度;和

如果抗体的血浆浓度小于约80nM,则增加所述抗体的剂量;

其中选择保持抗体的血浆浓度在约80nM以上的抗体的剂量作为所述受试者的最佳剂量。

51. 权利要求50所述的方法,其中所述抗体不结合前激肽释放酶。

52. 权利要求50或权利要求51所述的方法,其中所述抗体结合与DX-2930相同的表位或与DX-2930竞争结合活性血浆激肽释放酶。

53. 权利要求52所述的方法,其中所述抗体包括与DX-2930相同的CDR。

54. 权利要求50-53任一项所述的方法,其中所述抗体是全长抗体或其抗原结合片段。

55. 权利要求54所述的方法,其中所述抗体是DX-2930。

56. 权利要求50-55任一项所述的方法,其中所述抗体的初始剂量是约100mg至400mg。

57. 权利要求56所述的方法,其中所述抗体的初始剂量是约100mg至300mg。

58. 权利要求50-57任一项所述的方法,其中通过血浆激肽释放酶活性试验或免疫试验测量所述抗体的血浆浓度。

59. 权利要求50-58任一项所述的方法,进一步包括监测治疗之前和治疗之后或治疗过程期间,所述受试者中肌酸磷酸激酶的水平。

60. 权利要求59所述的方法,进一步包括如果观察到肌酸磷酸激酶升高,则减少所述抗体的剂量或终止治疗。

61. 权利要求50-60任一项所述的方法,其中所述施用是皮下施用。

62. 权利要求50-61任一项所述的方法,其中所述受试者是在施用抗体时不显示HAE症状的人患者。

63. 权利要求50-62任一项所述的方法,其中所述最佳剂量是最佳预防性剂量。

64. 一种治疗遗传性血管性水肿(HAE)的方法,所述方法包括:

向需要其的受试者施用一个或多个剂量的结合活性血浆激肽释放酶的分离的抗体,在最后剂量之后,测量所述受试者中由于所述抗体而引起的血浆激肽释放酶的抑制水平,和

如果所述抑制水平小于最小治疗性水平,则向所述受试者施用另外剂量的抗体。

65. 权利要求64所述的方法,其中所述抗体是不结合前激肽释放酶的抗体。

66. 权利要求64或权利要求65所述的方法,其中所述抗体结合与DX-2930相同的表位或与DX-2930竞争结合活性血浆激肽释放酶。

67. 权利要求66所述的方法,其中所述抗体包括与DX-2930相同的CDR。

68. 权利要求64-67任一项所述的方法,其中所述抗体是全长抗体或其抗原结合片段。

69. 权利要求68所述的方法,其中所述抗体是DX-2930。

70. 权利要求64-69任一项所述的方法,其中所述一个或多个剂量是0.1-3mg/kg。

71. 权利要求64-70任一项所述的方法,其中所述一个或多个剂量是0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg。

72. 权利要求64-71任一项所述的方法,其中所述最小治疗性水平表示小于约80nM的抗体的血清浓度。

73. 权利要求64-72任一项所述的方法,进一步包括监测治疗之前和治疗之后或治疗过程期间,所述受试者中肌酸磷酸激酶的水平。

74. 权利要求73所述的方法,进一步包括如果观察到肌酸磷酸激酶升高,则减少所述抗

体的剂量或终止治疗。

血浆激肽释放酶结合蛋白和其在治疗遗传性血管性水肿中的用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年1月21日提交的美国临时申请号61/929,716、2014年2月25日提交的美国临时申请号61/944,361和2014年7月7日提交的美国临时申请号62/021,397的申请日的权益。这些参考的申请的每一篇的全部内容通过引用并入本文。

[0003] 发明背景

[0004] 血浆激肽释放酶是接触系统的丝氨酸蛋白酶组分并且是用于不同炎症、心血管、感染(脓毒)和肿瘤学疾病的潜在的药物靶标(Sainz I.M.等人, *Thromb Haemost* 98,77-83,2007)。接触系统当暴露于外源或带负电的表面时被因子XIIa激活,或在内皮细胞表面上时被脯氨酸羧肽酶激活(Sainz I.M.等人, *Thromb Haemost* 98,77-83,2007)。血浆激肽释放酶的激活经其反馈激活因子XII而放大了固有的凝固并且经产生促炎九肽缓激肽而加剧了炎症。作为循环中的主要激肽原酶,血浆激肽释放酶主要负责产生脉管系统中的缓激肽。C1-抑制剂蛋白质(C1-INH)——血浆激肽释放酶的主要的天然抑制剂——的遗传缺陷导致遗传性血管性水肿(HAE)。患HAE的患者遭受通常由未知触发促成的疼痛水肿的急性发作(Zuraw B.L.等人, *N Engl J Med* 359,1027-1036,2008)。

发明内容

[0005] 本公开部分基于源自药物代谢动力学研究和药物代谢动力学建模的出人意料的结果,其显示使抗体的血浆浓度保持在80nM以上的结合活性形式的人血浆激肽释放酶的抗体的剂量(例如,100mg至300mg)将足以在治疗遗传性血管性水肿中显示有益的(例如,预防性)效果。此外,每2周施用100mg量的DX-2930或每4周施用300mg量的DX-2930将维持在80nM以上的稳态的血浆药物浓度,和每2周施用300mg量的DX-2930将维持在200nM以上的稳定的血浆药物浓度。

[0006] 本公开也部分基于以下出人意料地发现:结合活性形式的人血浆激肽释放酶的抗体在各种剂量(0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg)下在治疗遗传性血管性水肿(HAE)展示卓越的疗效,而在高达3.0mg/kg的单个剂量下没有剂量限制性毒性的迹象。药物代谢动力学结果表明DX-2930在单次注射至健康的受试者之后,具有线性剂量依赖性暴露以及跨剂量组的17至20天的平均消除半衰期。来自两个不同研究生物标记试验的药效学结果确认了以剂量和时间依赖性方式离体血浆激肽释放酶抑制。

[0007] 因此,本公开的一个方面叙述了治疗HAE(例如,I、II或III型)的方法,该方法包括向需要其的受试者施用有效量(例如,100mg至400mg或100至300mg)的结合活性形式的pKaI的抗体,使得受试者中抗体的血浆浓度在约80nM以上。在一些实施方式中,抗体(例如,DX-2930)每两周施用100mg。在一些实施方式中,抗体(例如,DX-2930)每2周或每4周施用300mg。

[0008] 本公开的另一方面叙述了治疗HAE(例如,I、II或III型)的方法,该方法包括(a)向需要其的受试者施用第一剂量的结合活性血浆激肽释放酶的抗体(例如,全长抗体或其抗

原结合片段);(b)测量受试者中抗体的血浆浓度;和(c)如果抗体的血浆浓度小于约80nM,则向受试者施用第二剂量的抗体。在一些实施方式中,第一剂量、第二剂量或两个剂量都是100mg至400mg或100mg至300mg(例如,100mg或300mg的DX-2930)。在一些实施方式中,第二剂量大于第一剂量。

[0009] 因此,本公开的一个方面叙述了治疗HAE(例如,I、II或III型)的方法,该方法包括:向需要其的受试者施用单剂量分离的抗体,其中抗体(例如,全长抗体或其抗原结合片段)结合活性血浆激肽释放酶(例如,不结合前激肽释放酶)。任选地,该方法进一步包括监测治疗之前和之后受试者中肌酸磷酸激酶的水平。在一些实施方式中,本文所述的任何抗体的单剂量是0.1-3mg/kg(例如,0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg)。

[0010] 在另一方面中,本公开提供了治疗遗传性HAE的方法,该方法包括:向需要其的受试者施用多个剂量的结合活性血浆激肽释放酶的分离的抗体(例如,全长抗体或其抗原结合片段)(例如,结合活性人血浆激肽释放酶但是不结合人前激肽释放酶的抗体),其中两个连续的剂量的每一个间隔至少2周(例如,间隔3周、4周、5周或6周)。在一些实施方式中,多个剂量的至少一个剂量是0.1-3mg/kg。例如,多个剂量的每个剂量是3mg/kg。在以下例子中,抗体每月施用一次(例如,每28天),持续例如6个月。

[0011] 在另一方面中,本公开叙述了治疗HAE的方法,该方法包括:(i)向需要其的受试者施用一个或多个剂量的结合活性血浆激肽释放酶的分离的抗体(例如,全长抗体或其抗原结合片段)(例如,结合人活性血浆激肽释放酶但是不结合人前激肽释放酶的抗体),(ii)最后一次剂量之后测量受试者中由于抗体的血浆激肽释放酶的抑制水平,和(iii)如果抑制水平小于最小治疗性水平,则向受试者施用另外剂量的抗体。在一些实施方式中,一个或多个剂量是0.1-3mg/kg(例如,对于每个剂量,0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg)。在一个实施例中,最小治疗性水平表示抗体的血清或血浆浓度小于约80nM。

[0012] 在本文所述的任何方法中,抗激肽释放酶抗体可以是全长抗体或其抗原结合片段。在一些实施方式中,抗体结合活性血浆激肽释放酶并且不结合前激肽释放酶。

[0013] 在本文所述的任何一种方法的一些实施方式中,抗体结合与DX-2930相同的表位或与DX-2930竞争结合活性血浆激肽释放酶。在一些实施方式中,抗体包括与DX-2930相同的重链CDR、与DX-2930相同的轻链CDR或二者。在一些实施方式中,抗体是DX-2930,其是如本文所描述全长IgG抗体或其抗原结合片段。

[0014] 在本文所述的任何一种方法的一些实施方式中,抗体可通过皮下施用而施用。在一些实施方式中,受试者是遭受、怀疑患有或具有HAE发作风险的人患者。例如,本文所述的方法用于预防性治疗HAE。

[0015] 在本文所述的任何一种方法的一些实施方式中,该方法进一步包括监测治疗之前和之后或治疗过程期间,受试者中肌酸磷酸激酶的水平。如果观察到肌酸磷酸激酶升高,则可减少抗体(例如,DX-2930)的剂量或可终止治疗。

[0016] 在仍另一方面中,本公开提供了确定治疗受试者中遗传性血管性水肿(HAE)的最佳剂量(例如,最佳预防性剂量)的方法,该方法包括(a)向需要其的受试者(例如,皮下)施用初始剂量的本文所述的结合活性血浆激肽释放酶的任何抗体(例如,DX-2930或其抗原结合片段);(b)测量受试者中抗体的血浆浓度;和(c)如果抗体的血浆浓度小于约80nM,则增加所述抗体的剂量;其中选择保持抗体的血浆浓度在约80nM以上的剂量作为用于受试者的

最佳预防剂量。在一些实施方式中,受试者是在施用抗体时不显示HAE症状的人患者。在一些实施方式中,初始剂量是约100mg至400mg或100mg至300mg(例如,100mg或300mg的DX-2930)。

[0017] 上述方法可进一步包括监测治疗之前和之后或治疗过程期间受试者中肌酸磷酸激酶的水平。另外,方法可进一步包括如果观察到肌酸磷酸激酶升高,则减少抗体的剂量或终止治疗。

[0018] 在本文所述的任何方法中,可通过血浆激肽释放酶活性试验或免疫试验测量抗体的血浆浓度。

[0019] 也在本公开的范围内的:(a)用于治疗HAE或确定用于治疗HAE的试剂的最佳剂量的药物组合物,药物组合物包括本文所述的任何抗激肽释放酶抗体和药学上可接受的载体,和(b)药物组合物用于制造用于治疗HAE的药物的用途。抗体用于预期目的的用途可在如本文所描述的给药条件下实施。

[0020] 在下面的说明书中,阐释了本发明的一个或多个实施方式的细节。本发明的其他特征或优势将从下述附图和数个实施方式的详细描述中,并且也从所附的权利要求中显而易见。

附图说明

[0021] 图1是显示向健康的受试者皮下(SC)施用之后平均DX-2930浓度的图。以对数标度显示每个剂量组的浓度-时间图。误差棒是标准偏差。图表明了线性剂量依赖性暴露。跨剂量组的平行消除阶段与具有非剂量依赖性动力学的良好表现的抗体一致,因为所有的剂量以均匀方式表现。

[0022] 图2是描绘在健康的受试者中每28天经皮下施用重复给药3mg/kgDX-2930之后预测的血浆浓度的图。

[0023] 图3是描绘使用药物用于预防疾病病况的一般原理的图。

[0024] 图4是描绘使用DX-2930用于预防HAE的一般原理的图。

[0025] 图5是描绘比较体外DX-2930和艾卡拉肽针对pKaI的抑制活性的图。

[0026] 图6是描绘有关对于治疗和/或预防HAE,要求持续保持DX-2930血浆浓度处在或大于80nM的可选假设的图。可选地,对于治疗和/或预防HAE,需要的DX-2930血浆浓度可小于或大于80nM。

[0027] 图7是表明施用单剂量3mg/kg的DX-2930之后实现血浆药物水平处在或大于80nM的图。

[0028] 图8是描绘在健康的受试者中每28天以3mg/kg长期皮下递送给药DX-2930的药物代谢动力学(PK)建模的图。

[0029] 图9是描绘在健康的受试者中每28天以3mg/kg皮下给药DX-2930的药效学(PD)作用的图。

[0030] 图10是描绘单剂量(3mg/kg)的DX-2930后的药效学(PD)和药物代谢动力学(PK)数据的图。PD数据绘制为随着时间的推移pKaI活性的相对%抑制。PK数据绘制为随着时间的推移血浆DX-2930浓度(nM)。*:对于3mg/kg在第5天相对于安慰剂,P值<0.05。

[0031] 图11是描绘DX-2930针对天然生物底物(当2-链HMWK产生时测量的HMWK切割)的药

效学(PD)活性的图。

[0032] 图12是描绘在单次施用3mg/kg的DX-2930之后,随着时间的推移持续的DX-2930生物活性的图。*:对于3mg/kg和第28天相对于预剂量的P值<0.05。

[0033] 发明详述

[0034] 定义

[0035] 为了方便,在进一步描述本发明之前,这里定义在本说明书、实施例和所附权利要求中所使用的某些术语。其他术语在它们出现时定义。

[0036] 单数形式“一个(a)”、“一个(an)”和“所述(the)”包括复数提及物,除非上下文明确另外指出。

[0037] 术语“抗体”指包括至少一种免疫球蛋白可变结构域(可变区)或免疫球蛋白可变结构域(可变区)序列的蛋白质。例如,抗体可包括重(H)链可变区(本文简称为VH或HV),和轻(L)链可变区(本文简称为VL或LV)。在另一实施例中,抗体包括两个重(H)链可变区和两个轻(L)链可变区。术语“抗体”包括抗体的结合抗原的片段(例如,单链抗体、Fab和sFab片段、F(ab')₂、Fd片段、Fv片段、scFv和结构域抗体(dAb)片段(de Wiidt等, Eur J Immunol. 1996; 26(3):629-39))以及完整的抗体。抗体可具有IgA、IgG、IgE、IgD、IgM(以及其亚型)的结构特征。抗体可来自任何来源,但是优选灵长类(人和非人灵长类)和灵长类源化的。

[0038] VH和VL区域可进一步细分为称为“互补决定区”(“CDR”)的超可变性的区域,其与更保守的称为“框架区”(“FR”)的区域间插。框架区和CDR的范围已经被定义(见, E.A., 等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, U.S. Department of Health and Human Services, NIH公开号91-3242, 和 Chothia, C. 等人(1987) J. Mol. Biol. 196:901-917)。本文使用Kabat定义。每个VH和VL通常包括三个CDR和四个FR, 其从氨基-末端至羧基-末端以下述顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

[0039] 如本文所使用,“免疫球蛋白可变结构域序列”指可形成免疫球蛋白可变结构域的结构,使得一个或多个CDR区呈适合抗原结合位点的构象定位的氨基酸序列。例如,序列可包括天然存在的可变结构域的所有或部分氨基酸序列。例如,序列可省略一个、两个或更多个N-或C-末端氨基酸、内部氨基酸,可包括一个或多个插入或另外的末端氨基酸或可包括其他改变。在一个实施方式中,包括免疫球蛋白可变结构域序列的多肽可与另一免疫球蛋白可变结构域序列缔合,以形成抗原结合位点,例如,优选与血浆激肽释放酶相互作用的结

[0040] 抗体的VH或VL链可进一步包括所有的或一部分重链或轻链恒定区,从而分别形成重或轻免疫球蛋白链。在一个实施方式中,抗体是两个重免疫球蛋白链和两个轻免疫球蛋白链的四聚物,其中重和轻免疫球蛋白链通过例如二硫键相互连接。在IgG中,重链恒定区包括三个免疫球蛋白结构域CH1、CH2和CH3。轻链恒定区包括CL结构域。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区通常介导抗体与宿主组织或因子,包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)的结合。免疫球蛋白的轻链可以是κ或λ型。在一个实施方式中,抗体被糖基化。抗体可用于依赖抗体的细胞毒性和/或补体介导的细胞毒性。

[0041] 抗体的一个或多个区域可以是人的或实际上是人的。例如,一个或多个可变区可

以是人的或实际上是人的。例如,一个或多个CDR可以是人的,例如,HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、LC CDR1、LC CDR2和/或LC CDR3。每条轻链(LC)和/或重链(HC)CDR可以是人的。HC CDR3可以是人的。一个或多个框架区可以是人的,例如,HC和/或LC的FR1、FR2、FR3,和/或FR4。例如,Fc区域可以是人的。在一个实施方式中,所有框架区是人的,例如,源自人体细胞,例如,产生免疫球蛋白的造血细胞或非造血细胞。在一个实施方式中,人序列是生殖细胞系序列,例如,由生殖细胞系核酸编码。在一个实施方式中,选择的Fab的框架(FR)残基可转化成最类似灵长类生殖细胞系基因,尤其人生殖细胞系基因中相应残基的氨基酸类型。一个或多个恒定区可以是人的或实际上是人的。例如,至少70、75、80、85、90、92、95、98或100%的免疫球蛋白可变区、恒定区、恒定结构域(CH1、CH2、CH3、CL1),或整个抗体可以是人的或实际上是人的。

[0042] 所有的或部分抗体可由免疫球蛋白基因或其区段编码。示例性人免疫球蛋白基因包括 κ 、 λ 、 α (IgA1和IgA2)、 γ (IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、 δ 、 ϵ 和 μ 恒定区基因,以及许多免疫球蛋白可变区基因。全长免疫球蛋白“轻链”(约25KDa或约214个氨基酸)由在NH2端的可变区基因(约110个氨基酸)和在COOH-端的 κ 或 λ 恒定区基因编码。全长免疫球蛋白“重链”(约50KDa或约446个氨基酸)类似地由可变区基因(约116个氨基酸)和一个其他上述的恒定区基因,例如, γ (编码约330个氨基酸)编码。人HC的长度不同,主要因为HC CDR3从约3个氨基酸残基甚至超过35个氨基酸残基的变化。

[0043] 术语全长抗体的“抗原结合片段”指保持特异性结合感兴趣的靶标能力的全长抗体的一个或多个片段。术语全长抗体的“抗原结合片段”中包括的结合片段的例子包括(i) Fab片段,其是由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;(ii) F(ab')₂片段,其是包括通过在铰链区的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)由VH和CH1结构域组成的Fd片段;(iv)由抗体单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段,(v) dAb片段(Ward等,(1989)Nature 341:544-546),其由VH结构域组成;和(vi)保持功能的分离的互补决定区(CDR)。此外,尽管Fv片段的两个结构域,VL和VH,由各自基因编码,但是它们可使用重组方法通过使得它们能够作为单蛋白质链被制备的合成接头被接合,在所述单蛋白质链中,VL和VH区配对形成称为单链Fv(scFv)的单价分子。见例如,美国专利5,260,203、4,946,778和4,881,175;Bird等(1988)Science 242:423-426;和Huston等(1988)Proc.NatI.Acad.Sci.USA 85:5879-5883。

[0044] 可使用任何适当的技术,包括本领域技术人员已知的常规的技术,获得抗体片段。术语“单特异性抗体”指对特定的靶标,例如表位,显示单一结合特异性和亲和性的抗体。该术语包括“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”,如本文所使用的,其指具有单分子组分的抗体或其片段的制备物,无论抗体是如何产生的。

[0045] 通过将框架区中的一个或多个非生殖细胞系氨基酸逆转成抗体相应的生殖细胞系氨基酸,抗体被“种系化”,前提是基本上保持结合特性。

[0046] 抑制常数(K_i)提供了对抑制剂效力的测量;其是使酶活性降低一半所需要的抑制剂的浓度,并且不依赖于酶或底物浓度。通过测量不同浓度的抑制剂(例如,抑制性结合蛋白)对反应程度的抑制作用(例如,酶活性)获得在不同底物浓度的表观K_i(K_{i,app});将作为抑制剂浓度函数的准一级速率常数的变化拟合至莫里森(Morrison)方程(方程1),产生对表观K_i值的评估。K_i获得自从K_{i,app}与底物浓度的图的线性回归分析推出的y-截距。

$$[0047] \quad v = v_0 - v_0 \left(\frac{(K_{i,app} + I + E) - \sqrt{(K_{i,app} + I + E)^2 - 4 \cdot I \cdot E}}{2 \cdot E} \right)$$

[0048] 方程1

[0049] 其中 v = 测量速率; v_0 = 在没有抑制剂的情况下的速率; $K_{i,app}$ = 表观抑制常数; I = 总抑制剂浓度; 和 E = 总酶浓度。

[0050] 如本文所使用,“结合亲和力”指表观缔合常数或 K_A 。 K_A 是解离常数(K_D)的倒数。结合抗体对于具体靶分子例如血浆激肽释放酶,可例如,具有的结合亲和力是至少 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 和 $10^{11}M^{-1}$ 。相对于第二靶标,结合抗体对第一靶标较高的亲和性结合可由相对结合第二靶标的 K_A (或数值 K_D)更高的对结合第一靶标的 K_A (或较小数值 K_D)指示。在这些情况下,结合抗体相对于第二靶标(例如,以第二构象的相同蛋白质或其模拟物;或第二蛋白质)具有对第一靶标(例如,以第一构象的蛋白质或其模拟物)特异性。结合亲和力的差异(例如,对于特异性或其他比较)可以是至少1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、100、500、1000、10,000或 10^5 倍。

[0051] 可通过各种方法测定结合亲和力,包括平衡透析、平衡结合、凝胶过滤、ELISA、表面等离子共振或光谱(例如,使用荧光试验)。评估结合亲和力的示例性条件是在HBS-P缓冲液(10mM HEPES pH7.4, 150mM NaCl, 0.005% (v/v)表面活性剂P20)中。这些技术可用于测量作为结合蛋白(或靶标)浓度的函数的结合的和游离的结合蛋白的浓度。结合的结合蛋白的浓度([结合的])与游离的结合蛋白的浓度([游离的])和靶标上的结合蛋白的结合位点的浓度相关,其中,根据下述方程,(N)是每个靶标分子的结合位点的数量:

[0052] [结合的] = $N \cdot$ [游离的] / (($1/K_A$) + [游离的])。

[0053] 但是,不必总是精确测量 K_A ,因为有时足以获得对亲和力的定量测量,例如使用比如ELISA或FACS分析测定的,其与 K_A 成比例,因此可用于比较,比如确定较高的亲和力是否是例如2倍高,以获得亲和力的定性测量,或获得对亲和力的推导,例如通过功能试验例如体外或体内试验中的活性。

[0054] 术语“结合抗体”(或本文替换使用的“结合蛋白质”)指可与靶标分子相互作用的抗体。该术语与“配体”替换使用。“血浆激肽释放酶结合抗体”指可与血浆激肽释放酶相互作用(例如,结合)的抗体,并且尤其包括优选地或特异性与血浆激肽释放酶相互作用和/或抑制血浆激肽释放酶的抗体。与在没有抗体的情况下和在相同条件下血浆激肽释放酶的活性相比,如果抗体使得血浆激肽释放酶的活性下降,抗体抑制血浆激肽释放酶。

[0055] “保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基替换的氨基酸取代。本领域已经定义了具有类似侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有下述的氨基酸:碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、不带电的极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸), β -支链侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0056] 相对于本文所述的结合蛋白质,结合蛋白质的一个或多个框架和/或CDR氨基酸残基可能包括一个或多个突变(例如,替换(例如,保守替换或非必需氨基酸的替换)、插入或

缺失)。相对于本文所述的结合蛋白质,血浆激肽释放酶结合蛋白可具有突变(例如,替换(例如,保守替换或非必需氨基酸的替换)、插入或缺失)(例如,至少一个、两个、三个或四个和/或小于15、12、10、9、8、7、6、5、4、3或2个突变),例如,对蛋白质功能没有实质性影响的突变。突变可出现在框架区、CDR和/或恒定区中。在一些实施方式中,突变出现在框架区中。在一些实施方式中,突变出现在CDR中。在一些实施方式中,突变出现在恒定区中。可通过例如评估突变是否是保守的或通过Bowie,等人(1990)Science 247:1306-1310的方法预测具体的替换是否是可容忍的,即,不会不利影响生物特性,比如结合活性。

[0057] “实际上人的”免疫球蛋白可变区是包括足够数量的人框架氨基酸位置使得免疫球蛋白可变区在正常人中不引起免疫原性反应的免疫球蛋白可变区。“实际上人的”抗体是包括足够数量的人氨基酸位置使得抗体在正常人中不引起免疫原性反应的抗体。

[0058] “表位(epitope)”指被结合蛋白(例如,抗体,比如Fab或全长抗体)结合的靶标化合物上的位点。在靶标化合物是蛋白质的情况下,位点可全部由氨基酸组分组成、全部由蛋白质的氨基酸的化学修饰(例如,糖基部分)组成、或其组合组成。重叠表位包括至少一个共同的氨基酸残基、糖基基团、磷酸基团、硫酸基团或其他分子特征。

[0059] 如果第一结合抗体结合靶标化合物上第二结合抗体结合的共同位点或结合与第二结合抗体结合的位点重叠(例如,50%、60%、70%、80%、90%或100%重叠,例如,根据氨基酸序列或其他分子特征(例如,糖基、磷酸基团或硫酸基团))的位点,则第一结合抗体与第二结合抗体“结合相同表位”。

[0060] 如果第一结合抗体与其表位的结合减少(例如,10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%或更低)与其表位结合的第二结合抗体的量,则第一结合抗体与第二结合抗体“竞争结合”。竞争可以是直接的(例如,第一结合抗体结合与第二结合抗体结合的表位相同或重叠的表位)或间接的(例如,第一结合抗体结合其表位使得靶标化合物的空间改变,降低了第二结合抗体结合其表位的能力)。

[0061] 如下进行两个序列之间“同源性(homology)”或“序列同一性(sequence identity)”(术语在本文中可互换使用)的计算。为了最佳比较目的,比对序列(例如,缺口可引入第一和第二氨基酸或核酸序列之一或二者中,以进行最佳比对,并且为了比较目的可忽略非同源的序列)。使用具有BIossum 62评分矩阵的GCG软件包中的GAP程序确定最佳比对为最佳分数,缺口罚分为12、缺口延伸罚分为4,和移码缺口罚分为5。然后,比较在相应氨基酸位置或核苷酸位置处的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的位置被与第二序列中相应位置的氨基酸残基或核苷酸相同氨基酸残基或核苷酸占据时,则分子在该位置是相同的(如本文使用的氨基酸或核酸“同一性”相当于氨基酸或核酸“同源性”)。两条序列之间的同一性百分数是序列共有的相同位置的数量函数的函数。

[0062] 在优选的实施方式中,用于比较目的被比对的参考序列的长度是参考序列长度的至少30%,优选地至少40%,更优选地至少50%,甚至更优选地至少60%,和甚至更优选地至少70%、80%、90%、92%、95%、97%、98%或100%。例如,参考序列可以是免疫球蛋白可变结构域序列的长度。

[0063] “人源化的”免疫球蛋白可变区是被修饰以包括足够数量的人框架氨基酸位置使得免疫球蛋白可变区在正常人中不引起免疫原性反应的免疫球蛋白可变区。“人源化的”免疫球蛋白的描述包括例如,美国6,407,213和美国5,693,762。

[0064] “分离的”抗体指从可获得分离的抗体的天然样品的至少一种组分的至少90%去除的抗体。如果感兴趣的种类或种类的群体按重量-重量计,是至少5%、10%、25%、50%、75%、80%、90%、92%、95%、98%或99%纯的,则抗体可以是“具有至少一定程度的纯度的组合物”。

[0065] 由主题方法待治疗的“患者”、“受试者”或“宿主”(这些术语替换使用)可指人或非人动物。

[0066] 术语“前激肽释放酶”和“前血浆激肽释放酶”在本文替换使用并且指酶原形式的活性血浆激肽释放酶,其也称为前激肽释放酶。

[0067] 如本文所使用,术语“基本上同一的(substantially identical)”(或“基本上同源的(substantially homologous)”)在本文用于指第一氨基酸或核酸序列包含足够数量的、与第二氨基酸或核酸序列相同或等同的(例如,具有类似的侧链,例如,保守的氨基酸取代)氨基酸残基或核苷酸,以便第一和第二氨基酸或核酸序列具有(或编码的蛋白具有)类似的活性,例如,结合活性,结合偏好或生物学活性。在抗体的情况下,第二抗体具有相同的特异性,并且相对于相同的抗原具有至少50%,至少25%,或至少10%的亲合力。

[0068] 与本文公开的序列类似或同源的(例如,至少约85%序列同一性)的序列也是本申请的一部分。在一些实施方式中,序列同一性可以是约85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高。在一些实施方式中,血浆激肽释放酶结合抗体与本文所述的抗体可具有约85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性。在一些实施方式中,血浆激肽释放酶结合抗体在HC和/或LC框架区(例如,HC和/或LC FR1,2,3,和/或4)与本文所述的抗体(例如,DX-2930)可具有约85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性。在一些实施方式中,结合血浆激肽释放酶的抗体在HC和/或LC CDR(例如,HC和/或LC CDR1,2和/或3)中与本文所述的抗体(例如,DX-2930)可具有约85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性。在一些实施方式中,结合血浆激肽释放酶的抗体在恒定区(例如,CH1、CH2、CH3和/或CL1)与本文所述的抗体(例如,DX-2930)可具有约85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性。

[0069] 另外,当核酸区段在选择性杂交条件(例如,高度严格杂交条件)下与链的补体杂交时,存在实质上的同一性。核酸可存在于全细胞中、细胞裂解物中或以部分纯化或基本上纯的形式。

[0070] 统计学显著性可通过任何现有技术已知的方法确定。示例性统计学检验包括:学生T检验、Mann Whitney U非参数检验,和Wilcoxon非参数统计学检验。一些统计学上显著的关系的P值小于0.05或0.02。具体的结合蛋白质可显示例如统计学上显著的特异性或结合的差异(例如,P值<0.05或0.02)。统计学显著性可通过任何现有技术已知的方法确定。示例性统计学检验包括:学生T检验、Mann Whitney U非参数检验,和Wilcoxon非参数统计学检验。一些统计学上显著的关系的P值小于0.05或0.02。

[0071] 相对于未治疗的受试者,“治疗有效的剂量”优选地调整可测量的参数,例如,血浆激肽释放酶活性,统计学上显著的程度或至少约20%,更优选地至少约40%,甚至更优选地至少约60%,和仍更优选地至少约80%。化合物调整可测量的参数,例如,疾病相关的参数的能力可在预测人疾病或病况效力的动物模型系统中评估。可选地,组合物的该性质可通

过检查化合物在体外调整参数的能力评估。

[0072] 如本文使用的术语“治疗”指向具有过敏疾病、过敏疾病的症状或对过敏疾病易患病体质的受试者施加或施用包括一种或多种活性试剂的组合物，目的是治愈、愈合、缓解、解除、改变、补救、减轻、改善或影响疾病、疾病的症状或对疾病的易患病体质。“预防性治疗”也称为“预防治疗”指目的是使人避免或减少他或她已经或可能暴露的疾病的风险的治理。

[0073] 术语“预防”受试者中的疾病指使受试者进行药物治疗，例如，施用药物，使得预防疾病的至少一种症状，即，在有害病况（例如，宿主动物的疾病或其他有害状况）的临床表现之前施用，从而预防宿主发展有害的病况。“预防”疾病也可称为“预防”或“预防性治疗”。

[0074] “预防性有效量”指以必要的剂量和时间段内有效实现期望的预防性结果的量。典型地，因为在疾病之前或在早期阶段预防性剂量用于受试者，预防性有效量小于治疗有效量。

[0075] 血浆激肽释放酶结合抗体

[0076] 本文所述方法中使用的血浆激肽释放酶结合抗体可以是全长的（例如，IgG（例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）、IgM、IgA（例如，IgA1、IgA2）、IgD和IgE）或可仅仅包括抗原结合片段（例如，Fab、F(ab')₂或scFv片段。结合抗体可包括两个重链免疫球蛋白和两个轻链免疫球蛋白或可以是单链抗体。血浆激肽释放酶结合抗体可以是重组蛋白比如人源化的、CDR移植的、嵌合的、去免疫化的或体外产生的抗体，并且可任选地包括源自人生殖细胞系免疫球蛋白序列的恒定区。在一个实施方式中，血浆激肽释放酶结合抗体是单克隆抗体。

[0077] 在一个方面中，本公开描述了结合血浆激肽释放酶（例如，人血浆激肽释放酶和/或鼠激肽释放酶）并且包括至少一个免疫球蛋白可变区的抗体（例如，分离的抗体）。例如，抗体包括重链（HC）免疫球蛋白可变结构域序列和/或轻链（LC）免疫球蛋白可变结构域序列。在一个实施方式中，抗体结合和抑制血浆激肽释放酶，例如，人血浆激肽释放酶和/或鼠激肽释放酶。

[0078] 抗体可包括一个或多个下述的特征：(a)人CDR或人框架区；(b)HC免疫球蛋白可变结构域序列包括一个或多个（例如，1、2或3个）与本文所述的HC可变结构域的CDR至少85、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或100%同一性的CDR；(c)LC免疫球蛋白可变结构域序列包括一个或多个（例如，1、2或3）与本文所述的LC可变结构域的CDR至少85、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或100%同一性的CDR；(d)LC免疫球蛋白可变结构域序列与本文所述的LC可变结构域是至少85、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或100%同一性（例如，总体上或在框架区或CDR中）；(e)HC免疫球蛋白可变结构域序列与本文所述的HC可变结构域是至少85、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或100%同一性（例如，总体上或在框架区或CDR中）；(f)抗体结合本文所述的抗体结合的表位或竞争结合本文所述的抗体；(g)灵长类CDR或灵长类框架区；(h)HC免疫球蛋白可变结构域序列包括与本文所述的HC可变结构域的CDR1差别是至少一个氨基酸但是不大于2或3个氨基酸的CDR1；(i)HC免疫球蛋白可变结构域序列包括与本文所述的HC可变结构域的CDR2差别是至少一个氨基酸但是不大于2、3、4、5、6、7或8个氨基酸的CDR2；(j)HC免疫球蛋白可变结构域序列包括与本文所述的HC可变结构域的CDR3差别是至少一个氨基酸但是不大于2、3、4、5或6个氨基酸的CDR3；(k)LC免疫球蛋白可变结构域序列包括与本文所述的LC可变结构域的CDR1差别是至

少一个氨基酸但是不大于2、3、4或5个氨基酸的CDR1；(l)LC免疫球蛋白可变结构域序列包括与本文所述的LC可变结构域的CDR2差别是至少一个氨基酸但是不大于2、3或4个氨基酸的CDR2；(m)LC免疫球蛋白可变结构域序列包括与本文所述的LC可变结构域的CDR3差别是至少一个氨基酸但是不大于2、3、4或5个氨基酸的CDR3；(n)LC免疫球蛋白可变结构域序列与本文所述的LC可变结构域的差别是至少一个氨基酸但是不大于2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸(例如,总体上或在框架区或CDR中)；和(o)HC免疫球蛋白可变结构域序列与本文所述的HC可变结构域的差别是至少一个氨基酸但是不大于2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸(例如,总体上或在框架区或CDR中)。

[0079] 血浆激肽释放酶结合蛋白可以是分离的抗体(例如,至少70、80、90、95或99%不含其他蛋白质)。在一些实施方式中,血浆激肽释放酶结合抗体或其组合物与抗体切割片段(例如,DX-2930)分离,所述抗体切割片段与血浆激肽释放酶结合抗体相比,是无活性的或部分活性的(例如,以约5000nM或更大的 K_i 结合血浆激肽释放酶)。例如,血浆激肽释放酶结合抗体是至少70%不含这种抗体切割片段;在其他实施方式中,结合抗体是至少80%、至少90%、至少95%、至少99%或甚至100%不含无活性的或部分活性的抗体切割片段。

[0080] 血浆激肽释放酶结合抗体可另外抑制血浆激肽释放酶,例如,人血浆激肽释放酶。

[0081] 在一些实施方式中,血浆激肽释放酶结合抗体不结合前激肽释放酶(例如,人前激肽释放酶和/或鼠前激肽释放酶),但是结合活性形式的血浆激肽释放酶(例如,人血浆激肽释放酶和/或鼠激肽释放酶)。

[0082] 在某些实施方式中,抗体在血浆激肽释放酶或其片段的催化结构域的活性位点处或附近结合或结合与血浆激肽释放酶的活性位点重叠的表位。

[0083] 在一些方面中,抗体结合相同表位或竞争结合本文所述的抗体。

[0084] 抗体可结合血浆激肽释放酶,例如,人血浆激肽释放酶,结合亲和力是至少 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 和 $10^{11}M^{-1}$ 。在一个实施方式中,抗体结合人血浆激肽释放酶, K_{off} 小于慢于 1×10^{-3} 、 $5 \times 10^{-4}s^{-1}$ 或 $1 \times 10^{-4}s^{-1}$ 。在一个实施方式中,抗体结合人血浆激肽释放酶, K_{on} 快于 1×10^2 、 1×10^3 或 $5 \times 10^3M^{-1}s^{-1}$ 。在一个实施方式中,抗体结合血浆激肽释放酶,但是不结合组织激肽释放酶和/或血浆前激肽释放酶(例如,与抗体结合血浆激肽释放酶相比,抗体不能有效结合组织激肽释放酶和/或血浆前激肽释放酶(例如,与阴性对照相比,例如,少5倍、10倍、50倍、100倍或1000倍或根本不结合)。

[0085] 在一个实施方式中,抗体抑制人血浆激肽释放酶活性,例如, K_i 小于 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 和 $10^{-10}M$ 。抗体的 IC_{50} 可例如小于100nM、10nM、1、0.5或0.2nM。例如,抗体可调节血浆激肽释放酶活性,以及因子XIIa(例如,来自因子XII)和/或缓激肽(例如,来自高分子量激肽原(HMWK))的产生。抗体可抑制血浆激肽释放酶活性,和/或因子XIIa(例如,来自因子XII)和/或缓激肽(例如,来自高分子量激肽原(HMWK))的产生。抗体对人血浆激肽释放酶的亲和性的特征可在于 K_D 小于100nm、小于10nM、小于5nM、小于1nM、小于0.5nM。在一个实施方式中,抗体抑制血浆激肽释放酶,但是不抑制组织激肽释放酶(例如,与抗体抑制血浆激肽释放酶相比,抗体不能有效抑制组织激肽释放酶(例如,与阴性对照相比,例如,少5倍、10倍、50倍、100倍或1000倍或根本不抑制)。

[0086] 在一些实施方式中,抗体的表观抑制常数($K_{i,app}$)小于1000、500、100、5、1、0.5或0.2nM。

[0087] 血浆激肽释放酶结合抗体可使得它们的HC和LC可变结构域序列包括在单个多肽(例如,scFv)或在不同多肽(例如,IgG或Fab)中。

[0088] 在一个实施方式中,HC和LC可变结构域序列是相同多肽链的组分。在另一实施方式中,HC和LC可变结构域序列是不同多肽链的组分。例如,抗体是IgG,例如,IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。抗体可以是可溶性Fab。在其他实施中,抗体包括Fab2'、scFv、微抗体、scFv::Fc融合、Fab::HSA融合、HSA::Fab融合、Fab::HSA::Fab融合或包括本文结合蛋白质之一的抗原结合位点的其他分子。这些Fab的VH和VL区可提供为IgG、Fab、Fab2、Fab2'、scFv、聚乙二醇化的Fab、聚乙二醇化的scFv、聚乙二醇化的Fab2、VH::CH1::HSA+LC、HSA::VH::CH1+LC、LC::HSA+VH::CH1、HSA::LC+VH::CH1或其他适当的构建体。

[0089] 在一个实施方式中,抗体是人抗体或人源化抗体或在人中是非免疫原性的。例如,抗体包括一个或多个抗体框架区,例如,所有的人框架区或与人框架区是至少85、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99%同一性的框架区。在一个实施方式中,抗体包括人Fc结构域或与人Fc结构域至少95、96、97、98或99%同一性的Fc结构域。

[0090] 在一个实施方式中,抗体是灵长类抗体或灵长类源化抗体或在人中是非免疫原性的。例如,抗体包括一个或多个灵长类抗体框架区,例如,所有的灵长类框架区或与灵长类框架区至少85、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99%同一性的框架区。在一个实施方式中,抗体包括灵长类Fc结构域或与灵长类Fc结构域至少95、96、97、98或99%同一性的Fc结构域。“灵长类”包括人(智人)、黑猩猩(*Pan troglodytes*和*Pan paniscus*(倭黑猩猩))、大猩猩(*Gorilla gorilla*)、长臂猿、猴子、狐猴、狐猿(指猴)和眼镜猴。

[0091] 在一些实施方式中,灵长类抗体对人血浆激肽释放酶的亲和性特征在于 K_D 小于1000、500、100、10、5、1、0.5nM,例如,小于10nM、小于1nM或小于0.5nM。

[0092] 在某些实施方式中,抗体不包括来自小鼠或兔子的序列(例如,不是鼠抗体或兔子抗体)。

[0093] 在一些实施方式中,在本文所述的方法中使用的抗体可以是如本文所描述的DX-2930或其功能变体或结合与DX-2930相同的表位或与DX-2930竞争结合活性血浆激肽释放酶的抗体。

[0094] 在一个实施例中,DX-2930的功能变体包括与DX-2930相同的互补决定区(CDR)。在另一实施例中,与DX-2930的V_H和V_L中的那些相比,DX-2930的功能变体可包含V_H或V_L的FR中的一个或多个突变(例如,保守替换)。优选地,这种突变不出现在预测与一个或多个CDR相互作用的残基处,这可通过常规技术确定。在其他实施方式中,本文所述的功能变体在DX-2930的一个或多个CDR区中包含一个或多个突变(例如,1、2或3个)。优选地,这种功能变体保留了如亲本相同的抗原结合的共同区域/残基。在仍其他实施方式中,DX-2930的功能变体可包括V_H链,其包括与DX-2930的V_H是至少85%(例如,90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)的同一性的氨基酸序列;和/或V_L链,其具有与DX-2930的V_L是至少85%(例如,90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)同一性的氨基酸序列。这些变体能够结合活性形式的血浆激肽释放酶和优选地不结合前激肽释放酶。

[0095] 使用Karlin和Aitschul *Proc.NatI.Acad.Sci.USA* 87:2264-68,1990的算法、Karlin和Aitschul *Proc.NatI.Acad.Sci.USA* 90:5873-77,1993改进的算法测定两条氨基酸序列的“同一性百分数”。这种算法并入Aitschul,等*J.Mol.Biol.*215:403-10,1990的

NBLAST和XBLAST程序(2.0版本)。可用XBLAST程序进行BLAST蛋白质搜索,分数=50,字长=3,以获得与感兴趣的蛋白质分子同源的氨基酸序列。在两条序列之间存在空隙时,可使用GappedBLAST,如Altschul等,Nucleic Acids Res.25(17):3389-3402,1997描述。当利用BLAST和Gapped BLAST程序时,可使用各自程序(例如,XBLAST和NBLAST)的缺省参数。

[0096] 抗体制备

[0097] 可通过本领域已知的任何方法制备如本文所描述的能够结合PKa1的抗体。见,例如,Harlow和Lane,(1988)Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York。

[0098] 在一些实施方式中,可通过常规的杂交瘤技术制备对靶抗原(例如,人PKa1或其催化结构域)特异性的抗体。全长靶抗原或其片段,任选地结合载体蛋白比如KLH,可用于免疫宿主动物,用于产生结合该抗原的抗体。免疫宿主动物的路线和方案一般按照抗体刺激和生产的既定的和常规的技术,如本文进一步描述。用于产生小鼠抗体、人源化抗体和人抗体的一般技术是本领域已知的和本文所述的技术。考虑任何哺乳受试者,包括人或来自其的抗体产生细胞可被操作,以用作产生哺乳细胞系,包括人杂交瘤细胞系的基础。典型地,宿主动物腹膜内、肌内、口服、皮下、足底内和/或皮内接种一定量的免疫原,包括如本文所描述的免疫原。

[0099] 可从淋巴细胞和永生化的骨髓瘤细胞,使用Kohler,B.和Milstein,C.(1975)Nature 256:495-497或如Buck,D.W.等,In Vitro,18:377-381(1982)改良的一般体细胞杂交技术制备杂交瘤。可用的骨髓瘤系,包括但不限于X63-Ag8.653和来自Salk Institute,Cell Distribution Center,San Diego,Calif.,USA的那些,可用于杂交。一般而言,该技术涉及使用融合剂比如聚乙二醇,或通过本领域技术人员熟知的的电学技术,使骨髓瘤细胞和淋巴细胞融合。融合之后,从融合培养基分离细胞并且在选择性生长培养基比如次黄嘌呤-氨蝶呤-胸苷(HAT)培养基上生长,以消除未杂交的亲本细胞。本文所述的任何补充有血清或没有血清的培养基可用于培养分泌单克隆抗体的杂交瘤。作为细胞融合技术的另一可选方案,EBV永生化的B细胞可用于产生本文所述的抗PKa1单克隆抗体。如果需要,则扩展和亚克隆杂交瘤,并且通过常规的免疫试验程序(例如,放射免疫分析、酶免疫试验或荧光免疫试验)分析上清液的抗免疫原活性。

[0100] 可用作抗体来源的杂交瘤包括产生能够干扰PKa1活性的单克隆抗体的亲本杂交瘤的所有衍生物、子代细胞。产生这样的抗体的杂交瘤可在体外或体内使用已知的程序生长。如果需要,单克隆抗体可通过常规的免疫球蛋白纯化程序比如硫酸铵沉淀、凝胶电泳、透析、色谱和超滤从培养基或体液中分离。如果存在非期望的活性,可例如通过使制品在连接至固相的由免疫原制备的吸附剂上运行并且从免疫原洗脱或释放期望的抗体,而去除非期望的活性。使用双功能或衍生化试剂,例如马来酰亚胺苯甲酰磺基琥珀酰亚胺酯(maleimidobenzoyl sulfosuccinimide ester)(通过半胱氨酸残基缀合)、N-羟基琥珀酰亚胺(通过赖氨酸残基)、戊二醛、琥珀酸酐、SOCl₂或R₁N=C=NR,其中R和R₁是不同的烷基基团,用靶抗原或包含缀合至在待免疫的物种中是免疫原性的蛋白质的靶氨基酸序列的片段免疫宿主动物可产生大量的抗体(例如,单克隆抗体),所述免疫原性的蛋白质是例如钥孔血蓝蛋白、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂。

[0101] 如果需要,可对感兴趣的抗体(单克隆或多克隆)(例如,通过杂交瘤产生的)测

序并且然后多核苷酸序列可克隆至载体,用于表达或增殖。编码感兴趣的抗体的序列可保持在宿主细胞的载体中并且可然后扩展宿主细胞并且冷冻用于进一步使用。可选的,多核苷酸序列可用于遗传操作以“人源化”抗体或改善抗体的亲和性(亲和性成熟),或其他特征。例如,恒定区可被工程化为更类似的人恒定区,以避免如果抗体用于人类的临床试验和治疗的免疫应答。可期望基因操作抗体序列,以获得对靶抗原更大的亲和性和抑制PKa1活性更大的效力。对本领域技术人员显而易见,可对抗体进行一个或多个多核苷酸改变并且仍维持其对靶抗原的结合特异性。

[0102] 在其他实施方式中,可通过使用商业上可得的小鼠获得全人抗体,所述小鼠已经被工程化以表达特定的人免疫球蛋白。设计为产生更期望的(例如,全人抗体)或更强健的免疫应答的转基因动物也可用于产生人源化的或人抗体。这样的技术的例子是来自Amgen, Inc.的Xenomouse^{RTM}(Fremont, Calif.)和来自Medarex, Inc.的HuMAb-Mouse^{RTM}和TC MouseTM(Princeton, N.J.)。另外可选的,抗体可通过噬菌体展示或酵母技术进行重组。见,例如,美国专利号5,565,332、5,580,717、5,733,743和6,265,150;以及Winter等,(1994) *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-455。可选地,噬菌体展示技术(McCafferty等,(1990) *Nature* 348:552-553)可用于从来自未免疫供体的免疫球蛋白可变(V)结构域基因谱系(gene repertoires)在体外产生人抗体和抗体片段。

[0103] 可经常规方法制备完整抗体(全长抗体)的抗原结合片段。例如,可通过胃蛋白酶消化抗体分子产生F(ab')₂片段,和可通过还原F(ab')₂片段的二硫键产生Fab片段。

[0104] 可经例如常规的重组技术产生基因工程化的抗体,比如人源化的抗体、嵌合抗体、单链抗体和双特异性抗体。在一个实例中,编码对靶抗原特异性的单克隆抗体的DNA可容易地使用常规的程序(例如,通过使用能够特异性结合编码单克隆抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸探针)分离和测序。杂交瘤细胞用作这样的DNA的优选来源。一旦分离,DNA可置入一个或多个表达载体中,其然后转染至宿主细胞比如大肠杆菌细胞、猴COS细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或骨髓瘤细胞——否则不能产生免疫球蛋白蛋白质,以在重组宿主细胞中获得单克隆抗体的合成。见,例如,PCT公开号WO 87/04462。然后,可例如通过代替同源的鼠序列取代人重链和轻链恒定结构域的编码序列来修饰DNA, Morrison等,(1984) *Proc. Nat. Acad. Sci.* 81:6851,或通过共价结合至免疫球蛋白编码序列,所有或部分编码序列用于非免疫球蛋白多肽,来修饰DNA。以该方式,基因工程化的抗体,比如“嵌合”或“杂交”抗体,可被制备为具有靶抗原的结合特异性。

[0105] 开发的用于产生“嵌合抗体”的技术是本领域熟知的。见,例如, Morrison等(1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81,6851; Neuberger等(1984) *Nature* 312,604; 和 Takeda等(1984) *Nature* 314:452。

[0106] 构建人源化的抗体的方法也是本领域熟知的。见,例如, Queen等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:10029-10033(1989)。在一个实例中,亲本非人抗体的VH和VL的可变结构域根据本领域已知的方法进行三维分子模拟分析。接下来,使用相同分子模拟分析鉴定被预测为对于形成正确的CDR结构是重要的框架氨基酸残基。平行地,从任何抗体基因数据库使用亲本VH和VL序列作为搜索查询鉴定具有与亲本非人抗体同源的那些氨基酸序列的人VH和VL链。然后选择人VH和VL受体基因。

[0107] 可来自亲本非人抗体或其功能变体的CDR区域替换所选择的人受体基因内的

CDR区域。当必要时,预测对于和CDR区域相互作用是重要的亲本链的框架区中的残基(见上面说明书)可用于取代人受体基因中相应的残基。

[0108] 可经重组技术通过连接编码重链可变区的核苷酸序列和编码轻链可变区的核苷酸序列来制备单链抗体。优选地,柔性接头并入在两个可变区之间。可选地,可采用描述用于产生单链抗体的技术(美国专利号4,946,778和4,704,692),以产生噬菌体或酵母scFv文库,并且可根据常规程序从库中鉴定对PKa1特异的scFv克隆。阳性克隆可进行进一步筛选,以鉴定抑制PKa1活性的那些。

[0109] 可使用本领域熟知的方法表征根据本领域已知的和本文所描述的方法获得的抗体。例如,一个方法是鉴定抗原所结合的表位,或“表位绘图”。有许多本领域已知的方法用于绘图和表征蛋白质上表位的位置,包括解析抗体-抗原复合物的晶体结构、竞争试验、基因片段表达试验和基于合成肽的试验,如例如在Harlow和Lane的Using Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1999中11章描述。在另外的实例中,表位绘图可用于确定抗体所结合的序列。表位可以是线性表位,即,包含在单个的氨基酸段中,或由氨基酸的三维相互作用形成的构型表位,其可能没必要包含在单个段(初级结构线性序列)中。可分离或合成(例如,重组)不同长度(例如,至少4-6个氨基酸长)的肽并用于抗体的结合试验。在另一实例中,可在系统筛选中,通过使用源自靶抗原序列的重叠肽和通过抗体测定结合,测定抗体所结合的表位。根据基因片段表达试验,使编码靶抗原的开放阅读框随机或通过特异性基因构建片段化,并且测定与待测试抗体的抗原的表达片段的反应性。可例如通过PCR产生基因片段,并且然后在存在放射性氨基酸的情况下体外转录和翻译成蛋白质。然后通过免疫沉淀和凝胶电泳测定抗体与放射性标记的抗原片段的结合。也可通过使用展示在噬菌体颗粒表面上的随机肽序列文库(噬菌体文库)鉴定某些表位。可选地,定义的重叠肽片段的文库可在简单的结合试验中用于测试抗体的结合而被测试。在另外的实例中,可进行抗原结合结构域的诱变、结构域交换实验和丙氨酸扫描诱变,以鉴定对于表位结合必要的、足够的和/或必须的残基。例如,可使用其中PKa1多肽的各种片段已经用来自密切相关、但是抗原性不同的蛋白质(比如神经营养蛋白家族的另一成员)的序列替换(交换)的靶抗原的突变体进行结构域交换实验。通过评估抗体与突变体PKa1(例如,下面实施例2中描述的那些突变体)的结合,可评估具体的抗原片段对抗体结合的重要性。

[0110] 可选地,可使用结合相同抗原的已知其他抗体进行竞争试验,以测定抗体是否如其他抗体一样结合相同表位。竞争试验是本领域技术人员熟知的。

[0111] 可应用本领域已知的任何适当的方法,例如,如本文所描述的表位绘图方法,以确定抗PKa1抗体是否结合如本文所描述的PKa1中的一个或多个特异性残基/区段。此外,可通过常规技术测定抗体与PKa1中一个或多个那些限定的残基的相互作用。例如,可根据下面实施例1中公开的方法测定晶体结构,并且相应地可测定PKa1中的残基和抗体中一个或多个残基之间的距离。基于这样的距离,可测定PKa1中的特定残基是否与抗体中的一个或多个残基相互作用。此外,可应用适当的方法,比如竞争试验和靶诱变试验,以测定候选抗PKa1抗体相比另一靶标比如突变体PKa1与PKa1的优先结合。

[0112] 可选地,可从抗体文库,比如根据本领域已知的方法的展示文库,鉴定抗PKa1抗体。

[0113] 在使用本领域已知的任何方法鉴定了抗PKa1抗体并且确认是适于用于本文所述的疗法的抗体后,可经标准重组体核酸方法产生这种抗体。

[0114] 一般而言,将编码蛋白质的核酸序列克隆至核酸表达载体。当然,如果蛋白质包括多个多肽链,可将每条链克隆至在相同的或不同的细胞中表达的载体,例如,相同的或不同的载体。

[0115] 可在细菌细胞,例如,大肠杆菌细胞中产生一些抗体,例如,Fabs(见例如,Nadkarni,A.等,2007Protein Expr Purif 52(1):219-29)。例如,如果Fab由在展示实体和噬菌体蛋白质(或其片段)之间包括可抑制的终止密码子的噬菌体展示载体中的序列编码,可将载体核酸转移至不能抑制终止密码子的细菌细胞。在该情况下,Fab不与基因111蛋白质融合并且分泌至外周胞质和/或媒介(media)。

[0116] 也可在真核细胞中产生抗体。在一个实施方式中,在酵母细胞比如毕赤酵母(见例如,Powers等,2001,J.Immunol.Methods.251:123-35;Schoonooghe S.等,2009BMC Biotechnol.9:70;Abdel-Salam,HA.等,2001Appl Microbiol Biotechnol 56(1-2):157-64;Takahashi K.等,2000Biosci Biotechnol Biochem 64(10):2138-44;Edqvist,J.等,1991J Biotechnol 20(3):291-300)、汉逊酵母或酵母中表达抗体(例如,scFv's)。本领域技术人员可通过优化例如氧条件(见例如,Baumann K.,等2010BMC Syst.Biol.4:141)、渗透性(见例如,Dragosits,M.等,2010BMC Genomics 11:207)、温度(见例如,Dragosits,M.等,2009J Proteome Res.8(3):1380-92)、发酵条件(见例如,Ning,D.等2005J.Biochem.and Mol.Biol.38(3):294-299)、酵母的菌株(见例如,Kozyr,AV等2004Mol Biol(Mosk)38(6):1067-75;Horwitz,AH.等,1988Proc Natl Acad Sci U S A 85(22):8678-82;Bowdish,K.等1991J Biol Chem 266(18):11901-8)、蛋白质过表达以增强抗体产生(见例如,Gasser,B.等,2006Biotechnol.Bioeng.94(2):353-61)、培养基酸度的水平(见例如,Kobayashi H.,等,1997FEMS Microbiol Lett 152(2):235-42)、底物和/或离子的浓度(见例如,Ko JH.等,2996Appl Biochem Biotechnol 60(1):41-8),优化酵母中产生的抗体。另外,酵母系统可用于产生具有延长半衰期的抗体(见例如,Smith,BJ.等2001Bioconjug Chem 12(5):750-756),

[0117] 在一个优选的实施方式中,在哺乳动物细胞中产生抗体。用于表达克隆抗体或其抗原结合片段的优选的哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO细胞)(包括dhfr-CHO细胞,描述在Urlaub和Chasin,1980,Proc.Natl.cad.Sci.USA 77:4216-4220中,与DHFR选择标记一起使用,例如,如描述在Kaufman和Sharp,1982,Mol.Biol.159:601-621中)、淋巴细胞系,例如,NS0骨髓瘤细胞和SP2细胞、COS细胞、HEK293T细胞(J.Immunol.Methods (2004)289(1-2):65-80),和来自转基因动物,例如,转基因哺乳动物的细胞。例如,细胞是乳腺的上皮细胞。

[0118] 在一些实施方式中,在植物或基于无细胞的系统中产生血浆激肽释放酶结合抗体(见例如,Galeffi,P.,等,2006J Transl Med 4:39)。

[0119] 除了编码各种免疫球蛋白结构域的核酸序列,重组表达载体可携带另外的序列,比如调节载体在宿主细胞中复制的序列(例如,复制起点)和选择标记基因。选择标记基因促进引入载体的宿主细胞的选择(见例如,美国专利号4,399,216、4,634,665和5,179,017)。例如,通常选择标记基因赋予已经引入载体的宿主细胞对药物,比如G418、潮霉素或

氨甲喋呤的抗性。优选的选择标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于具有氨甲喋呤选择/扩增的dhfr⁻宿主细胞)和neo基因(用于G418选择)。

[0120] 在用于重组表达抗体或其抗原结合部分的示例性系统中,通过磷酸钙-介导的转染,将编码抗体重链和抗体轻链二者的重组表达载体引入dhfr⁻CHO细胞。在重组表达载体中,抗体重链和轻链基因各自可操作地连接至增强子/启动子调节元素(例如,源自SV40、CMV、腺病毒等,比如CMV增强子/AdMLP启动子调节元素或SV40增强子/AdMLP启动子调节元素),以驱动高水平的基因转录。重组表达载体也携带DHFR基因,其使得使用氨甲喋呤选择/扩增选择已经以载体转染的CHO细胞。培养选择的转化宿主细胞,以使得表达抗体重链和轻链并且从培养基回收完整的抗体。标准分子生物学技术用于制备重组表达载体、转染宿主细胞、选择转化株、培养宿主细胞和从培养基回收抗体。例如,可通过亲和性色谱用蛋白质A或蛋白质G耦联的基质分离一些抗体。

[0121] 对于包括Fc结构域的抗体,抗体生产系统可产生其中Fc区域被糖基化的抗体。例如,lgG分子的Fc结构域在CH2结构域中的天冬酰胺297处被糖基化。该天冬酰胺是用于用双触角型寡糖修饰的位点。已经表明该糖基化对于Fcγ受体和补体C1q介导的效应子功能是必要的(Burton和Woof,1992,Adv.Immunol.51:1-84;Jefferis等,1998,Immunol.Rev.163:59-76)。在一个实施方式中,在适当地使对应天冬酰胺297的残基糖基化的哺乳动物表达系统中,产生Fc结构域。Fc结构域也可包括其他真核翻译后修饰。

[0122] 可也通过转基因动物产生抗体。例如,美国专利号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,其包括乳汁特异性启动子和编码感兴趣的抗体和用于分泌的信号序列的核酸。这种转基因哺乳动物的雌性产生的乳汁包括,其中分泌的感兴趣的抗体。可从乳汁纯化抗体或用于一些应用、直接使用。

[0123] 药物组合物

[0124] 本文所述的一个或多个抗体可出现在组合物,例如,药学上可接受的组合物或药物组合物中。血浆激肽释放酶结合抗体可与药学上可接受的载体配制在一起。在一些实施方式中,100mg至300mg的本文所述的抗体(例如,剂量为100mg或300mg的DX-2930),任选地和药学上可接受的载体出现在组合物中,例如,药学上可接受的组合物或药物组合物中。

[0125] 药学上可接受的载体包括任何和所有生理学上相容的的溶剂、分散介质、涂层、抗菌剂和抗真菌剂、等渗和吸收延迟剂等。优选地,载体适于静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊髓或表皮施用(例如,通过注射或注入),但是也考虑适于吸入和鼻内施用的载体。

[0126] 药学上可接受的盐是保持化合物的期望的生物活性并且不赋予任何非期望的毒理效应的盐(见例如,Berge,S.M.,等,1977,J.Pharm.Sci.66:1-19)。这种盐的例子包括酸加成盐和碱加成盐。酸加成盐包括源自非毒性无机酸,比如盐酸、硝酸、磷酸、硫酸、溴化氢、氢碘酸、亚磷酸等的那些盐,以及来自非毒性有机酸,比如脂肪族单羧酸和二羧酸、苯基取代的链烷酸、羟基链烷酸、芳族酸、脂肪族和芳族磺酸等的那些盐。碱加成盐包括源自碱土金属,比如钠、钾、镁、钙等的那些盐,以及来自非毒性有机胺,比如N,N'-二苄乙烯二胺、N-甲基葡萄糖胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、1,2-乙二胺、普鲁卡因等的那些。

[0127] 组合物可为各种形式。这些包括例如液体、半固体和固体给药形式,比如液体溶液(例如,可注射的和可注入的溶液)、分散体或悬液、片剂、丸剂、粉末、脂质体和栓剂。形式可取决于施用的期望模式和治疗性应用。许多组合物为可注射的或可注入的溶液的形式,比

如与用于为人施用抗体的那些类似的组合物。施用的示例性模式是肠胃外(例如,静脉内、皮下、腹膜内、肌内)。在一个实施方式中,通过静脉内输注或注射而施用血浆激肽释放酶结合蛋白。在另一优选的实施方式中,通过肌内或皮下注射来施用血浆激肽释放酶结合蛋白。在另一优选的实施方式中,通过腹膜内注射来施用血浆激肽释放酶结合蛋白。

[0128] 如本文使用的短语“肠胃外施用”和“肠胃外施用的”意思是肠和局部施用之外的施用模式,通常通过注射,并且包括但不限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和注入。

[0129] 组合物可配制为溶液、微乳液、分散体、脂质体或其他适于高药物浓度的有序结构。可通过将以需要量的在合适溶剂中的结合蛋白质与需要时上述列举的一种成分或成分的组合合并,随后过滤消毒,制备无菌可注射的溶液。一般而言,通过将活性化合物并入包含基本分散媒介和必要的上面列举的其他成分的无菌载体中来制备分散体。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况,制备的优选的方法是真空干燥和冷冻干燥,其产生活性成分加上来自其先前无菌过滤溶液的任何另外期望的成分的粉末。例如,通过使用比如卵磷脂的涂层、通过在分散体的情况下保持所需的颗粒大小和通过使用表面活性剂,可保持溶液适当的流动性。可通过在组合物中包括延迟吸收的试剂,例如,单硬脂酸盐和明胶,使得可注射的组合物吸收延长。

[0130] 可通过各种方法施用血浆激肽释放酶结合抗体,包括静脉内注射或注入。例如,对于一些治疗性应用,可通过静脉内注入以小于30、20、10、5或1mg/min的速率施用血浆激肽释放酶结合蛋白,以达到约1至100mg/m²或7至25mg/m²的剂量。施用的途径和/或模式将取决于期望的结果而改变。在某些实施方式中,可用使化合物避免快速释放的载体制备活性化合物,比如控制释放制剂,包括植入物,和微胶囊化的递送系统。可使用生物可降解的、生物相容的聚合物,比如乙烯乙酸乙烯酯、聚酞、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。制备这种制剂的许多方法是可用的。见,例如,Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,J.R.Robinson,ed.,1978,Marcel Dekker,Inc.,New York。

[0131] 可用医学设备施用药物组合物。例如,在一个实施方式中,可用设备,例如,无针皮下注射设备、泵或植入物来施用本文公开的药物组合物。

[0132] 在某些实施方式中,可配制血浆激肽释放酶结合蛋白,以确保体内适当的分布。例如,血脑屏障(BBB)排除了许多高度亲水的化合物。为了确保本文公开的治疗性化合物穿过BBB(如果需要),它们可在例如脂质体中配制。对于制造脂质体的方法,见,例如,美国专利号4,522,811、5,374,548和5,399,331。脂质体可包括选择性运输至特定细胞或器官的一个或多个部分,因此增强了靶向药物递送(见,例如,V.V.Ranade,1989,J.Clin.Pharmacol.29:685)。

[0133] 调整剂量方案,以提供最佳期望的应答(例如,治疗性应答)。例如,可施用单个丸剂,随着时间的推移可施用数个分开的剂量或可根据治疗性条件的紧急情况的指示按比例减小或增加剂量。尤其有利地,以剂量单位形式配制肠胃外组合物,易于剂量的施用和均匀性。如本文使用的剂量单位形式指适合作为用于待治疗受试者的单一剂量的物理上分开的单位;每个单位包含计算为结合必要的药学载体产生期望的疗效的预定量的活性化合物。剂量单位形式的规格可有下列规定并且直接取决于下述:(a)活性化合物的独特的特征和

待实现的具体疗效,和(b)在混合这种用于治疗个体敏感性的活性化合物的领域中固有的局限。

[0134] 本文所述的抗体的治疗或预防性有效量的示例性、非限制范围是0.1-20mg/kg,更优选地1-10mg/kg。可通过例如静脉内输注施用抗血浆激肽释放酶抗体,例如,速率小于30、20、10、5或1mg/min,以实现约1至100mg/m²或约5至30mg/m²的剂量。剂量值可根据待缓解病况的类型和严重程度而改变。对于具体的受试者,随着时间的推移,根据个体需要和施用或监督施用组合物的人员的专业判断可调整特定剂量方案。

[0135] 在一些实施方式中,本文所述的抗体(例如,DX-2930)的治疗或预防性有效量是30至400mg、30至300mg、30至250mg、30至200mg、30至150mg、30至100mg、30至50mg、50至400mg、50至300mg、50至250mg、50至200mg、50至150mg、50至100mg、100至400mg、100至300mg、100至250mg、100至200mg、100至150mg、150至400mg、150至300mg、150至250mg、150至200mg、200至400mg、200至300mg、200至250mg、250至400mg、250至300mg或300至400mg或之间的任何整数。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是30至300mg。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是300mg或更多。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是400mg或更多。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是100至300mg(100mg、150mg、200mg、250mg或300mg)。

[0136] 在一些实施方式中,本文所述的抗体(例如,DX-2930)的治疗或预防性有效量是30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、110mg、120mg、130mg、140mg、150mg、160mg、170mg、180mg、190mg、200mg、210mg、220mg、230mg、240mg、250mg、260mg、270mg、280mg、290mg、300mg、310mg、320mg、330mg、340mg、350mg、360mg、370mg、380mg、390mg或400mg。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是30mg、100mg或300mg。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是100mg或300mg。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是100mg。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是300mg。

[0137] 在一些实施方式中,施用治疗或预防性有效量至少两次、至少三次、至少四次、至少五次、至少六次、至少七次、至少八次、至少九次、至少十次或更多次。在一些实施方式中,每天、每隔一天、每三天、每四天、每五天、每六天、每周、每隔一周、每三周、每四周、每五周、每六周、每七周、每八周或更长时间施用治疗或预防性有效量。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是100mg或300mg,并且每两周或每四周施用该量。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是100mg并且每两周施用该量的抗体。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是300mg并且每两周或每四周施用该量的抗体。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是300mg,并且每两周施用该量的抗体。在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是300mg并且每四周施用该量。

[0138] 在一些实施方式中,治疗或预防性有效量是保持抗体的血浆或血清浓度在约80nM以上(例如,在100nM以上、在150nM或约200nM以上)的量。在一些实施方式中,抗体的量有效保持抗体的血浆或血清浓度的范围是约80-300nM,例如,80-100nM、80-120nM、80-150nM、100-150nM、100-200nM、150-200nM或200-300nM。可使用适当的试验,例如,比如那些本文所述的血浆激肽释放酶活性试验、基于免疫的试验比如ELISA试验或用于确定如本文所描述的切割激肽原的蛋白质印记试验或通过质谱测量血浆或血清浓度。

[0139] 本文公开的药物组合物可包括“治疗有效量”或“预防性有效量”的本文公开的血浆激肽释放酶结合蛋白。

[0140] 试剂盒

[0141] 一种或多种本文所述的血浆激肽释放酶结合抗体可提供在试剂盒中,例如,作为试剂盒的组分。例如,试剂盒包括(a)血浆激肽释放酶结合抗体,例如,包括血浆激肽释放酶结合抗体的组合物(例如,药物组合物),和,任选地(b)信息材料。信息材料可以是涉及本文所述的方法和/或血浆激肽释放酶结合抗体用于例如本文所述的方法的描述性、介绍性、市场或其他材料。在一些实施方式中,试剂盒包括一个或多个剂量的血浆激肽释放酶结合抗体,例如,DX-2930。在一些实施方式中,一个或多个剂量是100mg或300mg。

[0142] 不限制试剂盒的信息材料的形式。在一个实施方式中,信息材料可包括有关化合物产生、化合物的分子量、浓度、过期日期、批次或生产地点信息等的信息。在一个实施方式中,信息材料涉及使用抗体治疗、预防或诊断疾病和病况,例如,血浆激肽释放酶相关的疾病或病况。

[0143] 在一个实施方式中,信息材料可包括以适当的方式施用血浆激肽释放酶结合抗体以实施本文所述的方法的说明,例如,以适当的剂量、给药形式、施用模式或给药方案(例如,本文所述的剂量、给药形式、给药方案或施用模式)。在另一实施方式中,信息材料可包括施用血浆激肽释放酶结合抗体至适当的受试者,例如,人,例如,患有或处在血浆激肽释放酶相关疾病或病况风险中人的说明。例如,材料可包括施用血浆激肽释放酶结合蛋白至患本文所述的不适或病况,例如,血浆激肽释放酶相关的疾病的患者说明,例如,根据本文所述的给药方案。不限制试剂盒的信息材料的形式。在许多情况下,信息材料,例如,说明提供为打印形式但是也可以是其他形式,比如计算机可读的材料。

[0144] 血浆激肽释放酶结合抗体可提供为任何形式,例如,液体、干燥或冷冻干燥形式。优选地,血浆激肽释放酶结合抗体是基本上纯的和/或无菌的。当血浆激肽释放酶结合抗体提供为液体溶液时,液体溶液优选地是水溶液,无菌水溶液是优选的。当血浆激肽释放酶结合抗体提供为干燥形式时,一般通过添加适当的溶剂重构。溶剂,例如,无菌水或缓冲液,可任选地提供在试剂盒中。

[0145] 试剂盒可包括用于包含血浆激肽释放酶结合抗体的组合物的一个或多个容器。在一些实施方式中,试剂盒包含用于组合物和信息材料的分开的容器、分隔器或隔间。例如,组合物可包含在瓶子、小瓶或注射器中,并且信息材料可结合容器被包括在内。在其他实施方式中,试剂盒的分开要素包含在单个未分隔的容器中。例如,组合物包含在以标签形式附着信息材料的瓶子、小瓶或注射器中。在一些实施方式中,试剂盒包括多个(例如,一盒)单个容器,每个包含血浆激肽释放酶结合抗体的一个或多个单位剂量形式(例如,本文所述的剂量形式)。例如,试剂盒包括多个注射器、安瓿、箔包装或薄膜包装,每个包含单个单位剂量的血浆激肽释放酶结合抗体。试剂盒的容器可以是气密的、防水的(例如,对于水分或蒸发的改变不可渗透),和/或避光的。

[0146] 试剂盒任选地包括适于施用组合物的设备,例如,注射器或任何这种递送设备。在一个实施方式中,设备是可植入设备,其分散计量的抗体的剂量。本公开也叙述了通过例如结合本文所述的组分提供试剂盒的方法。

[0147] 治疗

[0148] 在一些方面中,本公开提供了结合活性血浆激肽释放酶(例如,人活性血浆激肽释放酶)的抗体在治疗HAE中的用途。用于本文所述的治疗的适当的抗体包括如本文所描述的

DX-2930或其功能变体,结合与DX-2930相同的表位的抗体或与DX-2930竞争结合人活性血浆激肽释放酶的抗体。

[0149] 遗传性血管性水肿

[0150] 遗传性血管性水肿(HAE)也称为“Quincke水肿”、C1酯酶抑制剂缺陷、C1抑制剂缺陷和遗传性血管神经性水肿(HANE)。HAE的特征在于严重肿胀的复发性发作(血管性水肿),其可影响,例如,四肢、面部、生殖器、胃肠道和气管。HAE的症状包括,例如,臂、腿、嘴唇、眼睛、舌头和/或喉咙的肿胀;可涉及喉咙肿胀和突然嘶哑的气管阻塞;没有明显原因的腹部绞痛的重复发作;和/或肠道的肿胀,其可能是严重的并且可导致腹部绞痛、呕吐、脱水、腹泻、疼痛和/或休克。患有该HAE的约三分之一的个体在发作期间显示称为边缘性红斑的非痒皮疹。

[0151] 气管的肿胀可能是威胁生命的并且造成一些患者的死亡。估计死亡率是15-33%。HAE每年导致约15,000-30,000次急诊室访问量。

[0152] 创伤或紧张,例如,牙科手术、疾病(例如,病毒性疾病比如感冒和流感)、月经和外科手术可触发血管性水肿的发作。为了防止HAE的急性发作,患者可尝试避免先前造成发作的特定刺激。但是,在许多情况下,在没有已知触发的情况下发生发作。典型地,HAE症状第一次出现在童年并且在青春期加重。平均而言,未治疗的个体每1至2周发作,并且大部分发作持续约3至4天(ghr.nlm.nih.gov/condition/hereditary-angioedema)。发作的频率和持续时间在患有遗传性血管性水肿的人中间,甚至在相同家族的人中间非常不同。

[0153] 有三种类型的HAE,称为1、11和111型,其全部可通过本文所述的方法治疗。据评估,HAE影响1/50,000的人,1型占约85%的病例,11型占约15%的病例,和111型非常稀少。111型是最近描述的形式并且最初认为仅仅出现在女人中,但是已经鉴定出了受影响的男性的家族。

[0154] HAE是以常染色体显性模式遗传,使得受影响的人可从一个受影响的亲代继承突变。也可出现基因的新突变,并且因此HAE也可出现在他们家族中没有该疾病历史的人中。据评估,20-25%的病例来自新的自发突变。

[0155] SERP1NG1基因的突变造成1型和11型遗传性血管性水肿。SERP1NG1基因提供了制备对于控制炎症重要的C1抑制剂蛋白质的指导。C1抑制剂阻碍了促进炎症的某些蛋白质的活性。引起遗传性血管性水肿1型的突变导致了血液中下降水平的C1抑制剂。相反,引起11型的突变使得产生功能异常的C1抑制剂。在没有适当水平的功能C1抑制剂的情况下,产生过量的缓激肽。通过增加经过血管壁进入身体组织的流体的渗漏,缓激肽促进炎症。流体在身体组织中的过多积聚引起患有1型和11型遗传性血管性水肿的个体中见到的肿胀的发作。

[0156] F12基因中的突变与一些111型遗传性血管性水肿病例相关。F12基因提供了制备凝固因子X11的指导。除了在血液凝结(凝聚)中起到关键作用,因子X11也是重要的炎症的刺激剂并且参与缓激肽的产生。F12基因中的某些突变使得产生具有增加活性的因子X11。结果,产生更多的缓激肽并且血管壁变得更加渗漏,其引起肿胀的发作。111型遗传性血管性水肿的其他病例的原因仍是未知的。一个或多个仍未鉴定的基因的突变可造成这些病例中的疾病。

[0157] HAE可与源自变态反应或其他医学病况的其他形式的血管性水肿类似地存在,但

是明显的不同是病因和治疗。当遗传性血管性水肿误诊为过敏时,其最通常用一般对HAE无效的抗组胺剂、类固醇类和/或肾上腺素治疗,但是肾上腺素可用于威胁生命的反应。误诊也已经导致患腹部肿胀的患者不必要的试探性外科手术,并且在一些HAE患者中腹部疼痛已经被错误地诊断为身心失调。

[0158] C1抑制剂疗法,以及用于HAE的其他疗法描述在Kaplan,A.P.,J Allergy Clin Immunol,2010,126(5):918-925中。

[0159] 提供HAE发作的应急治疗,以尽可能快速停止水肿的发展。来自供体血液静脉内施用的C1抑制剂浓缩物是一种应急治疗;但是,该治疗是在许多国家中不可用。在C1抑制剂浓缩物不可用的紧急情况下,新鲜冷冻的血浆(FFP)可用作替代物,因为其也包含C1抑制剂。

[0160] 自从1979年源自人血液的纯化的C1抑制剂已经在欧洲使用。数个C1抑制剂治疗现可在美国使用并且两个C1抑制剂产品现可在加拿大使用。巴氏消毒的Berinert P(CSL Behring)于2009年被F.D.A.批准用于急性发作。纳米过滤的Cinryze(ViroPharma)于2008年被F.D.A.批准用于预防。Rhucin(Pharming)是处在开发阶段的重组C1抑制剂,其不具有由于人血液传播的病原体的传染病传染的风险。

[0161] 急性HAE发作的治疗也可包括用于疼痛缓解的药物和/或IV流体。

[0162] 其他治疗形式可刺激C1抑制剂的合成,或降低C1抑制剂消耗。雄激素药物,比如达那唑(danazol),可通过刺激C1抑制剂的产生而降低发作的频率和严重程度。

[0163] 幽门螺旋杆菌可触发腹部发作。治疗幽门螺杆菌的抗生素将减少腹部发作。

[0164] 更新的治疗攻击接触级联。艾卡拉肽(Ecallantide)(**KALBITOR®**,DX-88,Dyax)抑制血浆激肽释放酶并且已经在美国被批准。艾替班特(icatibant)(**FIRAZYR®**,Shire)抑制缓激肽B2受体,并且已经在欧洲和美国被批准。

[0165] HAE的诊断可依赖于,例如,家族历史和/或血液测试。与I、II和III型HAE相关的实验室发现描述在,例如,Kaplan,A.P.,J Allergy Clin Immunol,2010,126(5):918-925中。在I型HAE中,如C4的水平,C1抑制剂的水平下降,而C1q水平是正常的。在II型HAE中,C1抑制剂的水平是正常的或增加;但是,C1抑制剂功能异常。C4水平下降和C1q水平是正常的。在III型中,C1抑制剂、C4和C1q的水平都可是正常的。

[0166] 可例如使用问卷,例如,通常由患者、临床医生或家庭成员完成的问卷,评估HAE的症状。这样的问卷是本领域已知的并且包括,例如,视觉上模拟评分。见,例如,McMillan,C.V.等Pateint.2012;5(2):113-26。

[0167] 用抗PKa1抗体治疗HAE

[0168] 本公开提供了例如根据本文所述的给药方案通过向患有或怀疑患有HAE的受试者施用本文所述的抗体(例如,治疗有效量的本文所述的抗体)治疗(例如,减轻、稳定或消除一个或多个症状)遗传性血管性水肿(HAE)的方法。另外提供了通过例如,根据本文所述的给药方案或结合第二疗法,例如,本文所述的一种其他试剂施用本文所述的抗体(例如,治疗有效量的本文所述的抗体)治疗HAE的方法。本公开也提供了通过向处于发展HAE风险的受试者(例如,具有患HAE的家族成员的受试者或具有遗传易患病体质的受试者),例如,根据本文所述的给药方案,施用本文所述的抗体(例如,本文所述的预防性有效量的抗体)预防HAE或其症状的方法。在一些例子中,受试者可以是在治疗时没有HAE症状的人患者。

[0169] 结合例如,如本文所描述的血浆激肽释放酶的抗体具有治疗性和预防性用途,尤

其在人受试者中。这些抗体被施用至受试者以治疗、预防和/或诊断各种疾病和病况,包括例如,血浆激肽释放酶相关的疾病或甚至例如,体外或离体施用至培养中的细胞。例如,这些结合蛋白质可用于修饰从培养基中的细胞释放的血浆激肽释放酶的作用(Lilla等, J. Biol. Chem. 284(20):13792-13803(2009))。治疗包括施用有效缓解、缓和、改变、修复、减轻、改善或影响不适、不适的症状或对不适的易患病体质的量。治疗也可延迟疾病或病况的出现,例如,预防出现或防止劣化。

[0170] 施用激肽释放酶结合抗体和其他试剂的方法也描述在“药物组合物”中。使用的分子的适当剂量可取决于受试者的年龄和体重和使用的具体药物。抗体可用作竞争性试剂,以抑制、减少例如,血浆激肽释放酶和其底物(例如,因子X11或HMWK)之间的非期望相互作用。抗体的剂量可以是足以阻断患者中血浆激肽酶的90%、95%、99%或99.9%的活性的量,尤其在疾病的位点处。这可能需要0.1、1.0、3.0、6.0或10.0mg/Kg。对于具有分子量为150,000g/摩尔(两个结合位点)的IgG,这些剂量对应于对于5L血液体积约18nM、180nM、540nM、1.08 μ M和1.8 μ M的结合位点。

[0171] 在一个实施方式中,抗体用于,例如体内,抑制血浆激肽释放酶活性(例如,抑制血浆激肽释放酶的至少一种活性,例如,减少因子X11a和/或缓激肽产生)。可通过它们本身或缀合至试剂,例如,细胞毒素药物、细胞毒素酶或放射性同位素,使用结合蛋白质。

[0172] 经天然补体依赖性细胞毒性(CDC)或抗体依赖性细胞毒性(ADCC),抗体可直接体内用于消除抗原表达细胞。本文所述的抗体可包括补体结合效应子结构域,比如来自IgG1、-2或-3的Fc部分或结合补体的IgM相应部分。在一个实施方式中,用本文所述的抗体和适当的效应细胞离体处理靶细胞的群体。可通过添加补体或包含补体的血清补充治疗。此外,可通过补体蛋白质的结合来改善包被本文所述的抗体的靶细胞的吞噬。在另一实施方式靶标中,通过补体裂解包被有包括补体结合效应子结构域的抗体的细胞。

[0173] 施用血浆激肽释放酶结合抗体的方法描述在“药物组合物”中。使用的分子的适当剂量将取决于受试者的年龄和体重以及使用的具体药物。抗体可用作竞争性试剂,以抑制或减少例如天然或病理学试剂和血浆激肽释放酶之间的非期望相互作用。

[0174] 如本文所描述的治疗有效量的抗体,可施用至患有、怀疑患有或处在HAE风险的受试者,从而治疗(例如,减轻或改善不适的症状或特征、延缓、稳定和/或停止疾病进展)不适。

[0175] 本文所述的抗体可以以治疗有效量施用。抗体的治疗有效量是当单个或多个剂量施用至受试者时有效治疗受试者——例如治愈、缓解、缓解或改善受试者不适的至少一种症状——以达到超过在没有这种治疗的情况下预期的程度的量。

[0176] 可调整剂量方案,以提供最佳的期望应答(例如,治疗性应答)。例如,可施用单个丸剂,随着时间的推移可施用数个分开的剂量或可根据治疗性条件的紧急情况的指示按比例减小或增加剂量。尤其有利地,以剂量单位形式配制肠胃外组合物,易于剂量的施用和均匀性。如本文使用的剂量单位形式指适合作为用于待治疗受试者的单一剂量的物理上分开的单位;每个单位包含计算为结合需要的药学载体产生期望的疗效的预定量的活性化合物。

[0177] 在一些实施方式中,抗体(例如,DX-2930)施用为单剂量,例如,以0.1至3mg/kg。在其他实施方式中,其被施用多个剂量,比如每1-4周施用一次,例如,每两周或每月(例如,每

28天)施用一次。多个剂量的每一个的范围可以是0.1至3mg/kg。在一些情况下,患者可每1-4周,例如,每两周或每月给予多个剂量一次,持续适当的时间段,并且然后跟着以相同或更低的剂量每月或每两个月保持治疗。

[0178] 在一些实施方式中,在治疗之前或之后或治疗疗程期间,可监测患者经由抗体引起的副作用(例如,肌酸磷酸酶水平的升高)和/或pKa1的抑制水平(例如,抗体的血清或血浆浓度或pKa1活性水平)。如果观察到副作用,可减少抗体的剂量或可能终止治疗。如果抑制水平在最小治疗性水平以下,则可向患者施用进一步抗体的剂量。

[0179] 在一些实施方式中,可在治疗疗程期间(例如,初始剂量之后)测量抗体(例如,DX-2930)的血浆或血清浓度,用于评估治疗的效力。如果抗体的血浆或血清浓度小于约80nM,可能需要随访剂量(follow-up dosage),其可以与初始剂量相同或大于初始剂量。可通过确定获得自受试者的血浆或血清样品中抗体的蛋白质水平,测量抗体的血浆或血清浓度,例如,通过免疫试验或MS试验。也可通过确定在获得自用抗体治疗的受试者的血浆或血清样品中pKa1的抑制水平,测量抗体的血浆或血清浓度。这种实验可包括合成底物试验或蛋白质印记试验,用于测量如本文所描述的切割激肽原。

[0180] 可选地或另外,可在治疗疗程期间监测肌酸激酶的血浆或血清水平。如果发现肌酸激酶的血浆或血清水平在治疗期间升高,则可降低抗体的剂量或可终止治疗。

[0181] 在一些实施方式中,可如下测定如本文所描述的抗pKa1抗体(例如,DX-2930或其抗原结合片段)的最佳剂量(例如,最佳预防性剂量或最佳治疗性剂量)。以初始剂量向需要治疗的受试者施用抗体。测量受试者中抗体的血浆浓度。如果血浆浓度小于80nM,则在随后施用中增加抗体的剂量。保持抗体血浆浓度在约80nM以上抗体的剂量可选择为用于受试者的最佳剂量。可在治疗期间监测受试者的肌酸磷酸激酶水平,并且基于肌酸磷酸激酶水平可进一步调整受试者的最佳剂量,例如,如果治疗期间观察到肌酸磷酸激酶升高,则降低抗体的剂量。

[0182] 组合疗法

[0183] 可结合用于治疗与血浆激肽释放酶活性相关的疾病或病况——例如本文所述的疾病或病况——的一个或多个其他疗法施用本文所述的抗血浆激肽释放酶抗体。例如,可与外科手术、另一抗血浆激肽释放酶Fab或IgG(例如,本文所述的另一Fab或IgG)、另一血浆激肽释放酶抑制剂、肽抑制剂或小分子抑制剂,治疗或预防性使用血浆激肽释放酶结合抗体。可用于和本文所述的血浆激肽释放酶结合抗体组合疗法的血浆激肽释放酶抑制剂的例子包括例如,WO 95/21601或WO 2003/103475中描述的血浆激肽释放酶抑制剂。

[0184] 一个或多个血浆激肽释放酶抑制剂可与本文所述的一个或多个血浆激肽释放酶结合抗体结合使用。例如,组合可使得需要更低剂量的抑制剂,使得减少副作用。

[0185] 本文所述的血浆激肽释放酶结合抗体可结合一个或多个用于治疗HAE的目前疗法施用。例如,如本文所描述的抗体DX-2930或其功能变体可与第二抗HAE治疗剂,比如艾卡拉肽、C1酯酶抑制剂(例如,C1NRYZE™)、牛胰蛋白酶抑制剂(TRASLYOL®)和/或缓激肽B2受体抑制剂(例如,艾替班特(FIRAZYR®))一起使用。

[0186] 术语“组合”指使用两种或更多种试剂或疗法治疗相同的患者,其中试剂或疗法的使用或用途在时间上重叠。试剂或疗法可同时施用(例如,作为施用至患者的单个制剂或作为同时施用的两个分开的制剂)或以任何顺序相继施用。相继施用是在不同时间给予的施

用。施用一种试剂和另一试剂之间的时间可以是数分钟、数小时、数天或数周。使用本文所述的血浆激肽释放酶结合抗体也可用于减少另一疗法的剂量,例如,以减少与施用的另一试剂相关的副作用。因此,组合可包括,以比在没有血浆激肽释放酶结合抗体的情况下使用的低至少10、20、30或50%的剂量施用第二试剂。

[0187] 组合疗法可包括施用减少其他疗法的副作用的试剂。试剂可以是减少血浆激肽释放酶相关的疾病治疗的副作用的试剂。

[0188] 不必进一步阐释,相信本领域技术人员基于上面的说明可充分使用本发明。所以,下述具体的实施方式仅仅解释为示意性的,并且决不以任何方式限制本公开的剩余部分。本文引用的所有出版物为了本文提及的目的或主题通过参考并入本文。

实施例

[0189] 实施例1:健康志愿者中DX-2930的单个递增剂量研究

[0190] 使用下述剂量的DX-2930进行健康的志愿者中单个递增剂量研究:0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg和3mg/kg。获得每个志愿者的数据并且分析,以确定每个剂量的安全性。下面提供DX-2930的重链和轻链全长和可变序列,信号序列为斜体。CDR是粗体的和加下划线的。

[0191] DX-2930重链氨基酸序列(451个氨基酸,49439.02Da)

[0192] *MGWSCILFLVATATGAHSEVQLLES*GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS **HYIMM**
WVRQAPGKGLEWVS **GIYSSGGITVYADSVKG**RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAY
RRIGVPRRDEFDI

WGQGTMTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(SEQ ID NO:1)

[0193] DX-2930轻链氨基酸序列(213个氨基酸,23419.08Da)

[0194] *MGWSCILFLVATATGAHSDIQMTQSPSTLSASV*GDRVTITC **RASQSISS WLA**
WYQQKPGKAPKLLIY **KASTLES**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFATYYC **QQYNTYWT**
FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:2)

[0195] DX-2930重链可变结构域氨基酸序列

[0196] *EVQLLES*GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS **HYIMM**WVRQAPGKGLEWVS
GIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAY
RRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSS(SEQ ID NO:3)

[0197] DX-2930轻链可变结构域氨基酸序列

[0198] DIQMTQSPSTLSASVDRVTITC **RASQSISSWLA**WYQQKPGKAPKLLIY **KASTLES**
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFATYYC **QQYNTYWT**FGQGTKVEIK(SEQ ID NO:4)

[0199] 表1.DX-2930的CDR。

[0200]

CDR	氨基酸序列
重链CDR1	HY1MM(SEQ ID NO:5)
重链CDR2	G1YSSGG1TVYADSVKG(SEQ ID NO:6)
重链CDR3	RR1GVPRRDEFD1(SEQ ID NO:7)
轻链CDR1	RASQS1SSWLA(SEQ ID NO:8)
轻链CDR2	KASTLES(SEQ ID NO:9)
轻链CDR3	QQYNTYWT(SEQ ID NO:10)

[0201] 1a期研究设计

[0202] 该研究是随机、双盲和安慰剂对照的。向健康的受试者皮下施用单个和递增剂量DX-2930。参与者被随机分配至四个受试者组中的一组,每个组对应单剂量(0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg)。每个组包含六个活性药物治疗的受试者和两个安慰剂治疗的受试者。在完成给药方案之后,监测所有的受试者16周。

[0203] 安全性结果

[0204] DX-2930是被良好耐受的,在高达3.0mg/kg的单个剂量没有剂量限制性毒性的迹象。因此,该研究没有产生任何临床上显著的与DX-2930相关的安全性信号的迹象。

[0205] 临床实验室结果表明DX-2930和安慰剂之间对于任何不利事件,没有临床上显著的不平衡。大部分通常报道的不利事件包括头痛(25%DX-2930治疗的受试者和25%安慰剂治疗的受试者)。没有不利事件是严重的并且所有的不利事件已解决。

[0206] 重要信号、身体检查和心电图(ECG)的分析表明接受0.1mg/kg剂量的一个受试者中上呼吸道感染,但是,研究人员报告了感染是缓和的并且与治疗无关。另外,对于研究的受试者的重要信号、身体检查和心电图(ECG)未观察到异常。

[0207] 抗药物抗体测试未产生血清转化的迹象。

[0208] 不知情的研究人员仅仅报道了两个具有严重AE的受试者是治疗相关的。在一个给药0.1mg/kg DX-2930的受试者中观察到了902U/L的肌酸磷酸激酶升高[参考范围:21-215U/L](所有DX-2930治疗的受试者的4.2%)。在给药安慰剂的一个受试者中观察到1967U/L的肌酸磷酸激酶升高[参考范围:32-294U/L](所有安慰剂治疗的受试者的12.5%)。结果表明没有与任何其他AE相关的实验室异常或可能指示临床意义的发现。在任何受试者中没有注射位点反应。

[0209] 表2:来自1a期研究的安全性数据的概述

[0210]

	0.1 mg/k g (n = 6)	0.3 mg/k g (n = 6)	1.0 mg/k g (n = 6)	3.0 mg/k g (n = 6)	所有 DX-2930 治 疗的受试者 (n = 24)	安慰剂 (n = 8)
具有 AE 的受 试者	5	3	4	4	16 (66.7%)	6 (75.0%)
死亡	0	0	0	0	0	0
SAEs	0	0	0	0	0	0

[0211]

由于 AE 停止	0	0	0	0	0	0
与治疗相关的 AE 的受试者*	2	1	1	2	6 (25.0%)	4 (50.0%)

[0212] *治疗相关的AE:通过不知情的研究人员评估AE与研究药物的相关性

[0213] 注意:术语“不利事件”(AE)在这里具体指治疗出现的不利事件。如果出现时间是在施用研究药物之后至给药最后随访后第112天,或如果出现时间在研究药物施用之前,但是AE严重程度在112天给药随访期间增加,则不利事件被视为是治疗出现的。

[0214] 药效学(PD)和药物代谢动力学(PK)结果

[0215] 表3提供了每个剂量组的药物代谢动力学参数评估。平均C_{最大}和AUC_{最后}值展示了与良好表现的抗体一致的严格的线性剂量依赖性。具有长半衰期的药物能不用频繁给药方案,以实现稳定、稳态的血液水平。DX-2930在所有剂量组之间,表现出几乎三周一致的延长半衰期。

[0216] 用于预防HAE的治疗性候选物应具有长的半衰期和可预测的药物代谢动力学特征,以确保不频繁的给药以及合理的技术上的给药。DX-2930提供了一致的药物代谢动力学特征,从而确保确定给药方案为患HAE的患者提供显著的治疗益处。

[0217] 表3

[0218]

剂量组 (mg/kg)	C _{最大} (ng/mL)	T _{最大} (天)	AUC _{最后} (天 *ng/mL)	Vz/F (mL/kg)	CL/F (mL/天 /kg)	T _{1/2} (天)
0.1	555 ± 124	7 ± 3.85	15506 ± 5088	154 ± 22	5.5 ± 1.8	20.5 ± 4.4
0.3	1452 ± 664	8.4 ± 3.1	39070 ± 13528	182 ± 70	7.7 ± 3.4	16.7 ± 2.0
1.0	5612 ± 2422	8.5 ± 6.25	167570 ± 55562	170 ± 73	6.5 ± 2.5	18.9 ± 6.3
3.0	14548 ± 5224	6.67 ± 0.82	512746 ± 208384	187 ± 79	6.6 ± 2.7	20.4 ± 4.6

[0219] 在健康的受试者中评估单剂量之后DX-2930的药物代谢动力学(PK)参数。在单个3mg/kg剂量之后,获得了超过80nM靶标水平的血浆药物浓度。大约或大于80nM的药物水平保持了约10天(图7)。当重复施用药物时,药物水平将继续积聚,直到实现稳态。即使在仅仅单剂量DX-2930之后,也获得了超过了80nM的目标的药物水平并且保持延长的时间段。来自该研究的PK数据支持了给药策略的可行性,以获得在目标80nM水平的血浆药物浓度并且持续维持它们。此外,如果必要,可实现超过80nM的更高药物水平,以实现与HAE预防相关的足够的血浆激肽释放酶抑制。

[0220] 进行DX-2930的药效学(PD)评估。为了进一步表征DX-2930,对受试者的血浆样品离体进行探索生物标记试验,以评估分子的药效学特征。进行两个独立试验——使用人工荧光底物的血浆激肽释放酶活性试验和测量激肽原切割的蛋白质印迹试验,所述激肽原为由其产生缓激肽的血浆激肽释放酶的天然底物。

[0221] 这些试验是半定量的。所以,数据点应相对于该实验中的其他数据点解释,而在试验之间或与其他试验系统不能比较。这些试验在正常的受试者血浆中用正常水平的C1-抑制剂进行。从而,在这些生物标记试验中使用的健康的受试者不发展HAE发作。这些生物标记评估的目标是确认来自剂给药受试者的血浆中的DX-2930具有针对血浆激肽释放酶的抑制活性。同样重要地,进行这些研究,以评估药效学结果是否证实了观察的PK特征。

[0222] 图9描绘了DX-2930的药效学作用。来自研究药物治疗的受试者的血浆被离体激活,以诱导接触系统途径并且从而刺激血浆激肽释放酶产生和活性。经荧光试验测量pKa1活性。显示了来自1和3mg/kg组的数据。血浆激肽释放酶抑制非常明显,尤其在1和3mg/kg剂量组中。在0.1mg/kg或安慰剂组中,没有观察到可感知的抑制。观察到的抑制是剂量和时间依赖性的,并且确认了DX-2930的抑制活性。DX-2930的PD作用证实了DX-2930的PK数据。

[0223] DX-2930的治疗性用途

[0224] 为了有效的预防,对于效力的要求是相关的药物靶标在最小需要量以上的水平被持续抑制。抑制覆盖范围的空隙被最小化或完全避免。当抑制水平下降在最小需要水平以下时,个体对于激活病理学过程是生物上易受伤害的并且可处在临床上疾病事件的风险。

[0225] HAE不从广泛确立的预防原则免除。在HAE中,血浆激肽释放酶表示确认的药物靶

标,其对于血管性水肿发作的发病机理是关键的。预防HAE发作可要求血浆激肽释放酶抑制被持续保持在最小治疗性水平以上。覆盖范围的空隙随着时间的推移被最小化,以避免易受伤的周期。该需要进一步被正向反馈循环的现象强调,假定其在HAE发作中起到重要的作用。当启动该级联时,血浆激肽释放酶的激活导致因子XII激活,其接着驱动更多的血浆激肽释放酶产生。

[0226] 在体外试验中,比较血浆激肽释放酶被DX-2930和在美国被批准用于急性治疗HAE发作的已知治疗剂艾卡拉肽的抑制。在该系统中,人血浆暴露于启动接触系统并且将前激肽释放酶转化成活性血浆激肽释放酶的试剂。

[0227] 给药之后,患者的血浆中艾卡拉肽的峰浓度80nM仅提供血浆激肽释放酶活性的部分抑制。关于80nM的该浓度范围,这些试验结果显示DX-2930具有与艾卡拉肽相当的能力(图5)。考虑到80nM好像是与HAE发作相关的血浆激肽释放酶水平并且给予DX-2930与艾卡拉肽在该浓度范围下抑制血浆激肽释放酶相当的能力,其假设保持DX-2930持续在80nM以上的血浆药物浓度将预防HAE发作(图6)。基于目前可用的数据和疾病生物学的理解,用于DX-2930血浆药物水平的80nM靶标似乎是强劲的。尽管80nM是初始靶标,但是可能更低的或更高的DX-2930药物水平可对于实现治疗性剂量是必要的。

[0228] 实施例2:HAE患者中DX-2930的多个递增剂量研究

[0229] 将多个剂量的DX-2930以下述剂量施用至HAE患者:0.1mg/kg、0.3mg/kg、1mg/kg或3mg/kg。图2提供了预测的血浆浓度,其在重复给药3mg/kg剂量的DX-2930后实现。初始浓度特征与当在健康的受试者中施用单剂量时观察到的特征一致。

[0230] 可进行PK建模,以预测长期给药之后,DX-2930的药效学和药物代谢动力学特征。图8表示假设的方案,其中在健康的受试者中,DX-2930以每28天3mg/kg给药。该建模的结果提示在实现稳态之后,重复给药将持续维持药物浓度为约初始目标的80nM水平或在初始目标的80nM水平以上(对于该阈值的讨论见实施例2)。

[0231] 以一周间隔给予两次施用DX-2930之后评估HAE患者中DX-2930的安全性和效力。评估生物标记数据(以及药物动力学),以确定为随访研究使用哪种剂量,以评估DX-2930(以不同剂量)预防HAE发作的效力。

[0232] 实施例3.长期预防遗传性血管性水肿的给药方案的药理学建模

[0233] 方法

[0234] 使用合成底物试验评估通过艾卡拉肽和DX-2930的pKaI体外抑制。使用来自在健康的受试者中皮下DX-2930的单个递增剂量研究的药物代谢动力学(PK)数据进行建模。

[0235] 结果

[0236] 在体外pKaI试验中,DX-2930和艾卡拉肽在80nM浓度显示相当的药效学(PD)活性。小于80nM的pKaI抑制剂的血浆浓度可能仅提供部分预防性作用,进一步佐证了中等剂量和高剂量假设对低剂量假设。因此,持续保持DX-2930药物水平在80nM以上应实现中等剂量假设所述的pKaI抑制水平。PK建模指示长期DX-2930给药,以每2周100mg(或每4周300mg)将产生在80nM以上的稳态血浆药物浓度,和以每2周300mg将产生在200nM以上的稳态血浆药物浓度。

[0237] 其他实施方式

[0238] 本说明书中公开的所有特征可以任何组合结合。本说明书中公开的每个特征可被

用于相同、等价或类似目的的可选的特征替换。因此,除非另外明确指出,公开的每个特征仅仅是一般系列等同或类似特征的例子。

[0239] 从上面的说明书,本领域技术人员可容易确定本发明的本质特征,并且在不背离其精神和范围的情况下,可对本发明作出各种改变和改进,以使其适应各种适用和条件。因此,其他实施方式也权利要求范围内。

序列表

- <110> 戴埃克斯有限公司
- <120> 血浆激肽释放酶结合蛋白和其在治疗遗传性血管性水肿中的用途
- <130> D0617.70056W000
- <140> 还未指定
- <141> 2015-01-21
- <150> US 62/021,397
- <151> 2014-07-07
- <150> US 61/944,361
- <151> 2014-02-25
- <150> US 61/929,716
- <151> 2014-01-21
- <160> 10
- <170> PatentIn 3.5版
- <210> 1
- <211> 469
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 合成多肽
- <400> 1

[0001]

Met Gly Trp Ser Cys Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Ala
 1 5 10 15

His Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
 20 25 30

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
 35 40 45

His Tyr Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 50 55 60

Trp Val Ser Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp
 65 70 75 80

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
 85 90 95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
100 105 110

Tyr Cys Ala Tyr Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp
115 120 125

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

[0002]

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
225 230 235 240

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
245 250 255

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
260 265 270

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
275 280 285

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
290 295 300

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
305 310 315 320

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
420 425 430

[0003]

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly
465

<210> 2
<211> 231
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 2

Met Gly Trp Ser Cys Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Ala
1 5 10 15

His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser
20 25 30

Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser
35 40 45

Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
50 55 60

Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
85 90 95

Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr
100 105 110

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
115 120 125

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
130 135 140

[0004]

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
145 150 155 160

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
165 170 175

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
180 185 190

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
195 200 205

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
210 215 220

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 3

<211> 122

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

[0005]

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Tyr Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 4
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 4

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 5
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0006]

<220>
 <223> 合成多肽
 <400> 5

His Tyr Ile Met Met
 1 5

<210> 6
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽
 <400> 6

Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 7
 <211> 13

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 7

Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 8
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 8

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

[0007]

<210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 9

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser
 1 5

<210> 10
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成多肽

<400> 10

Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr
 1 5

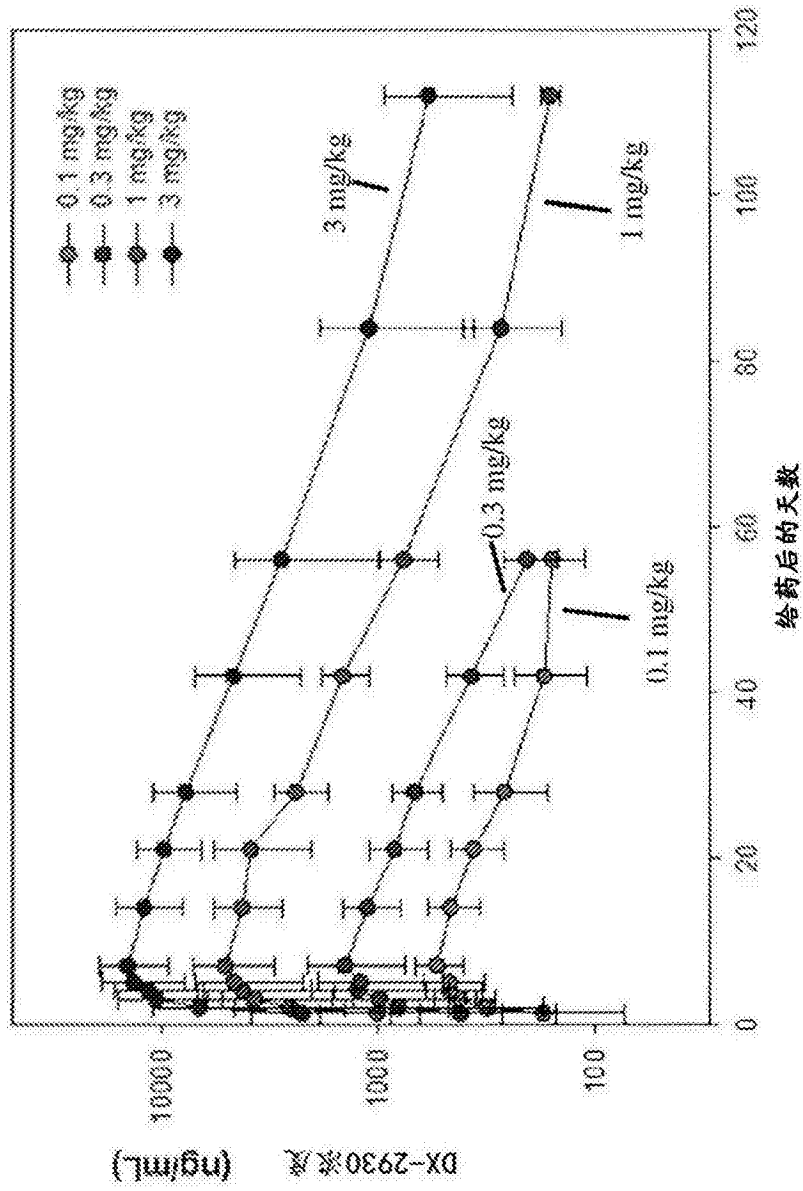


图1

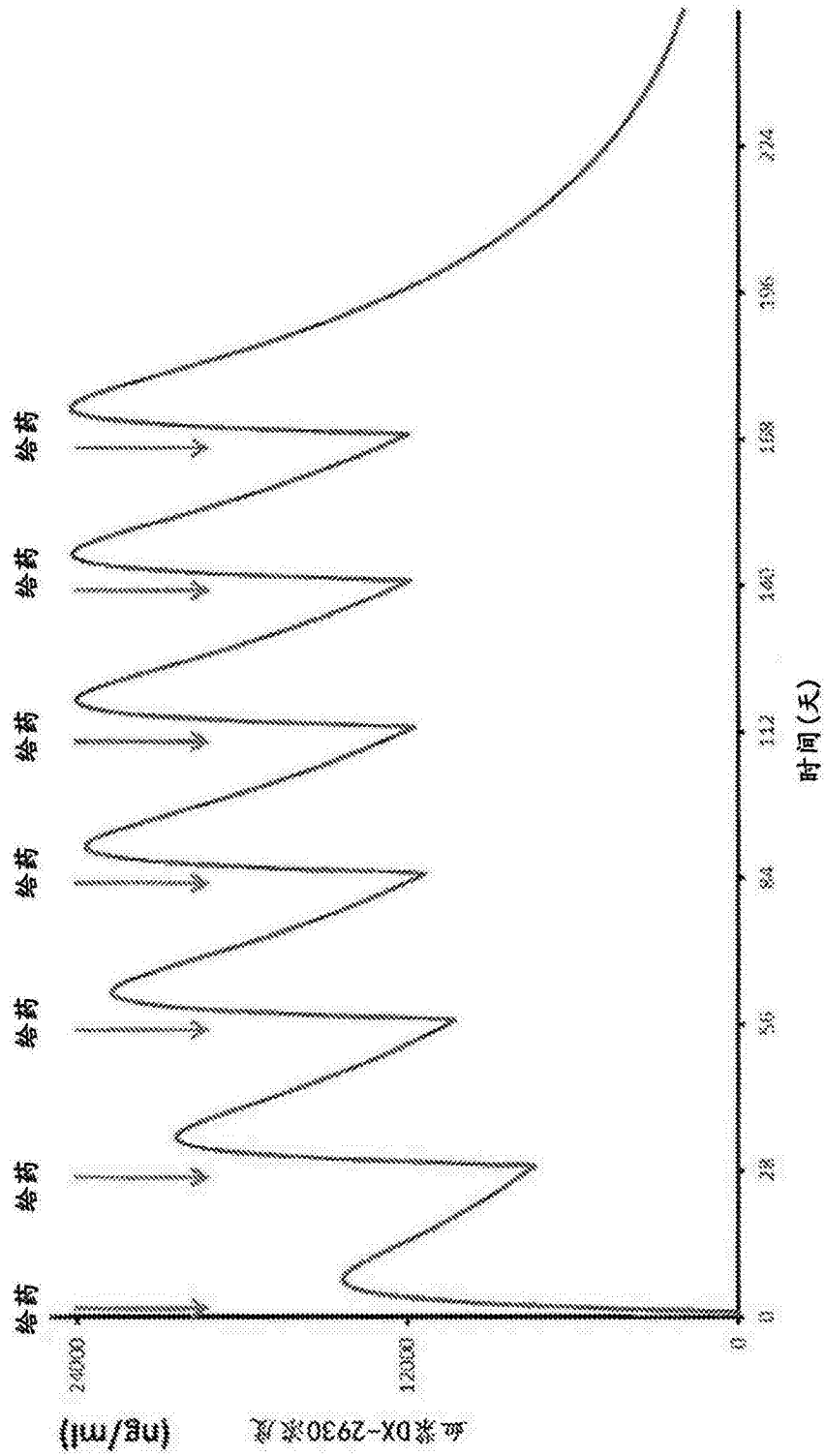


图2

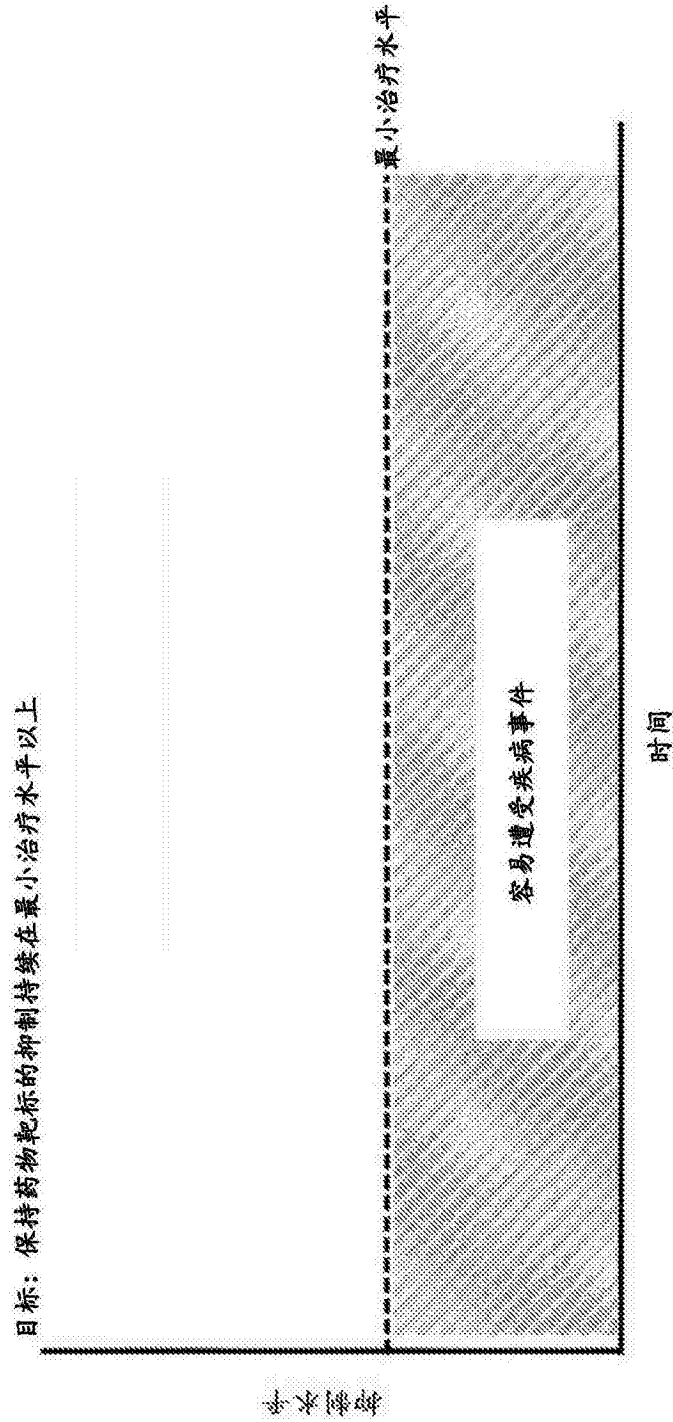


图3

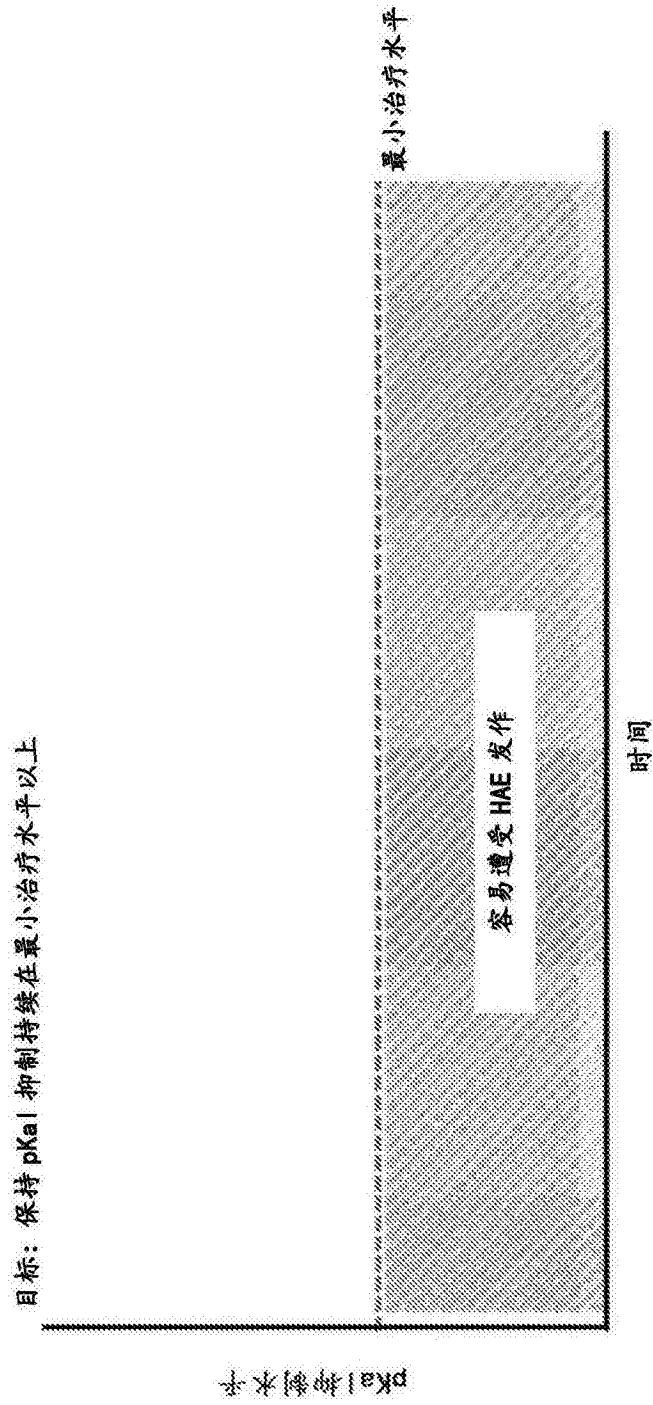


图4

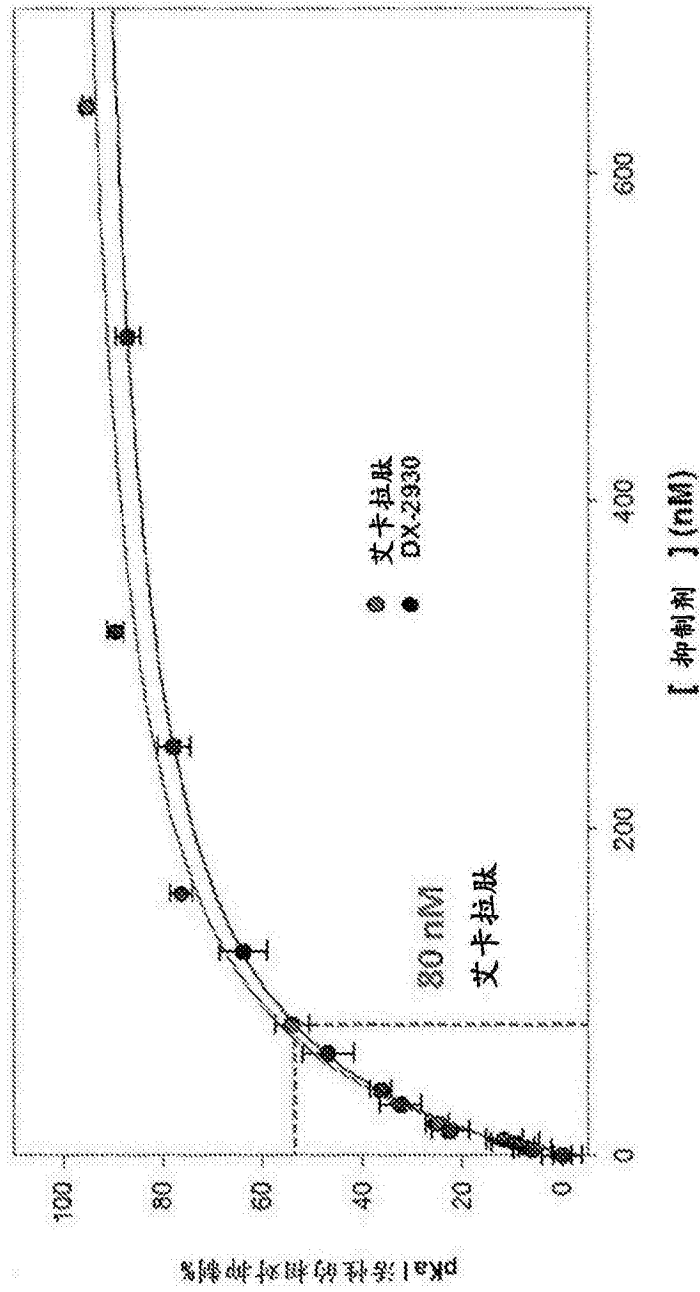


图5

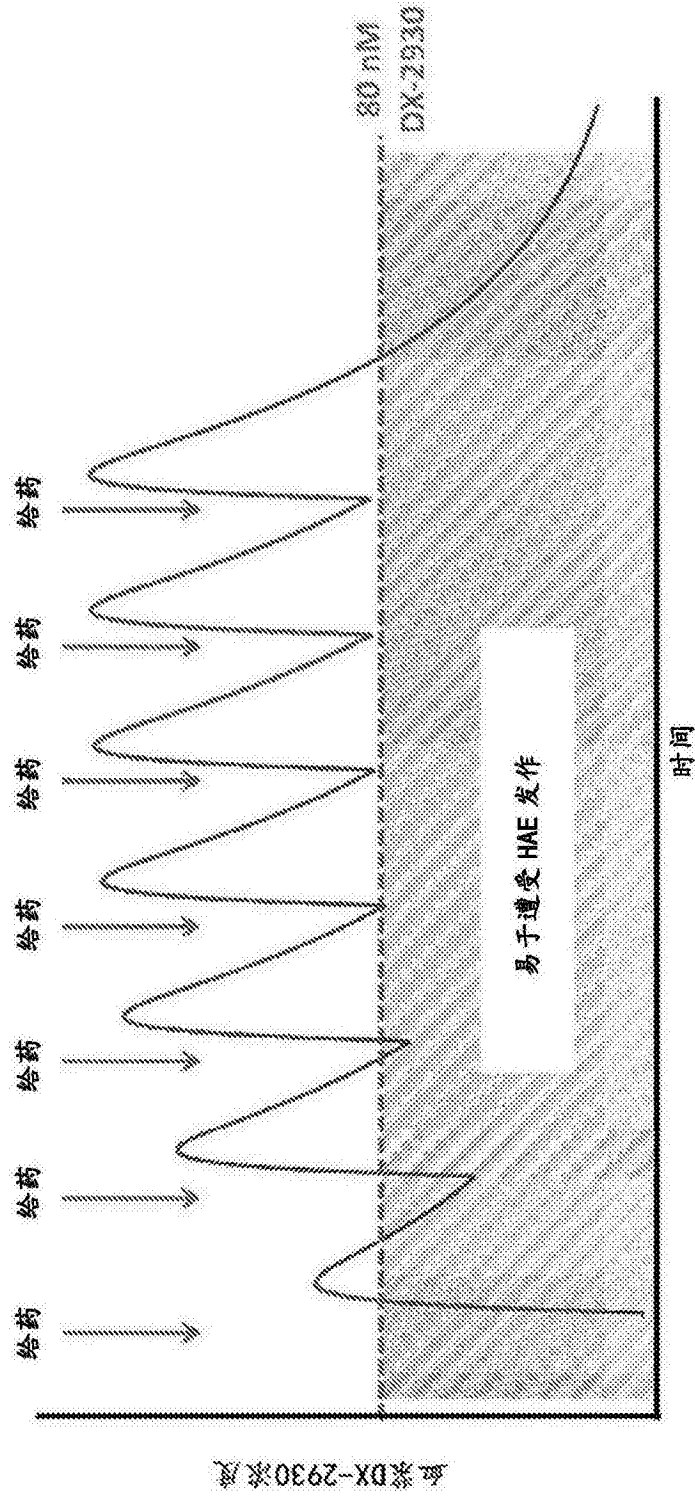


图6

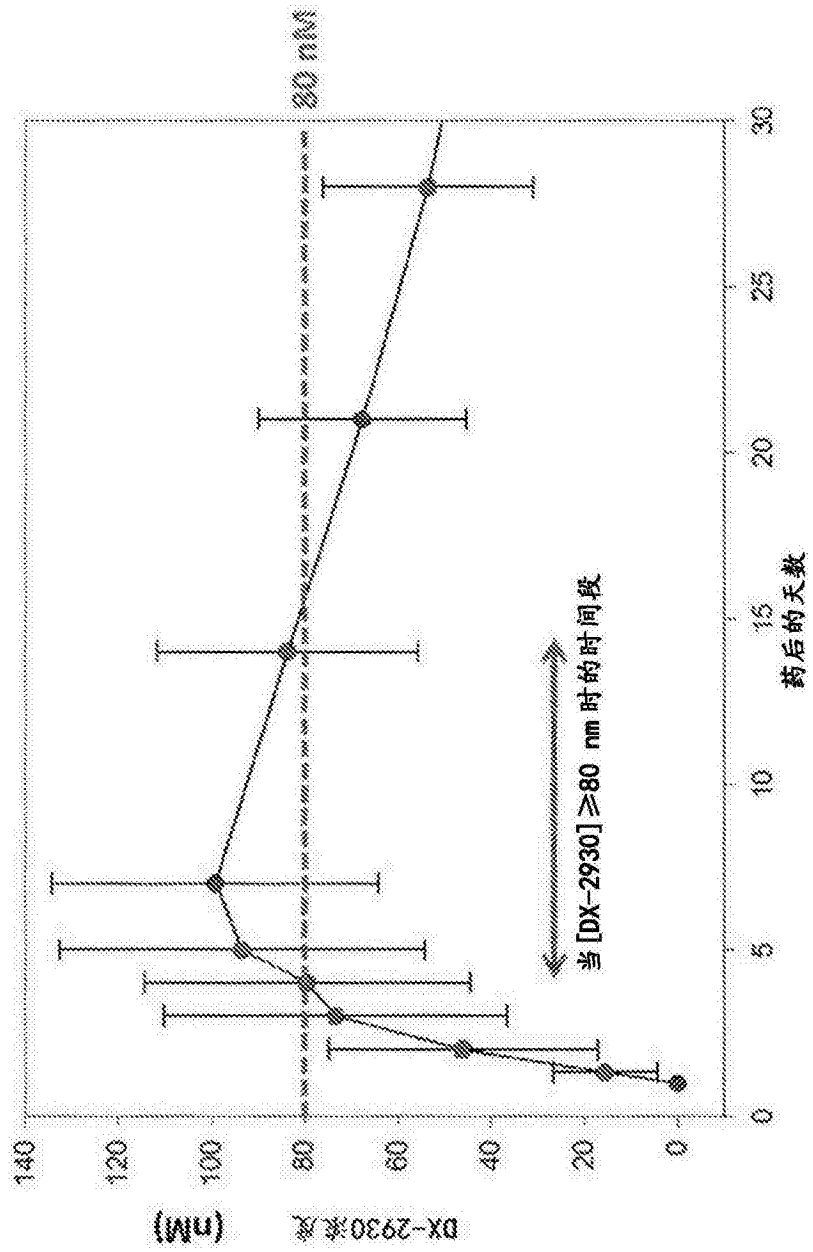


图7

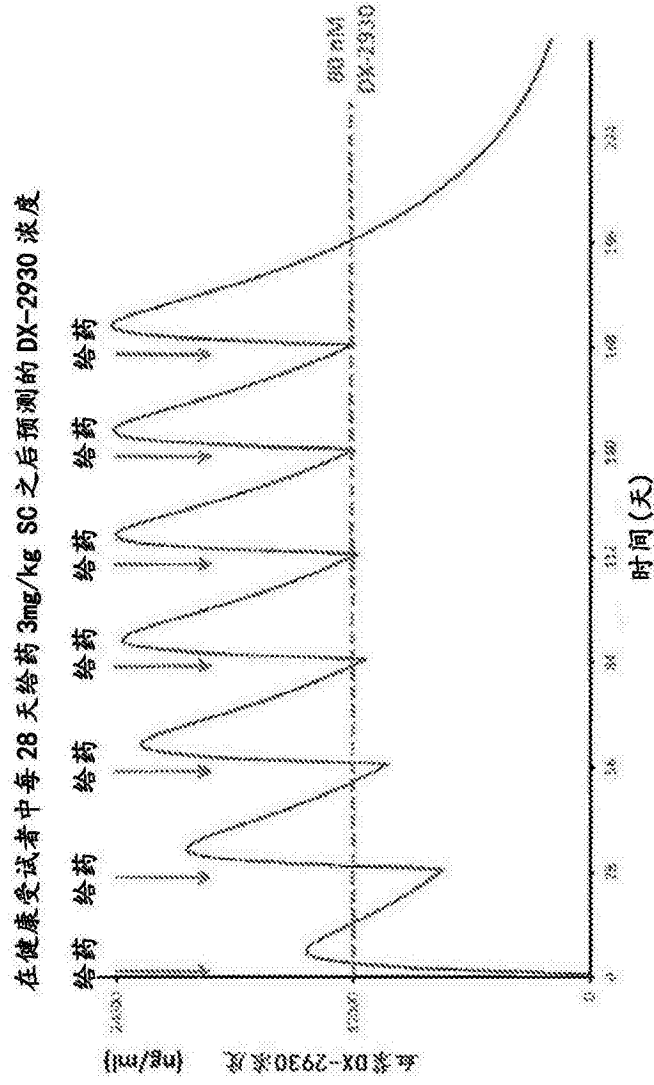


图 8

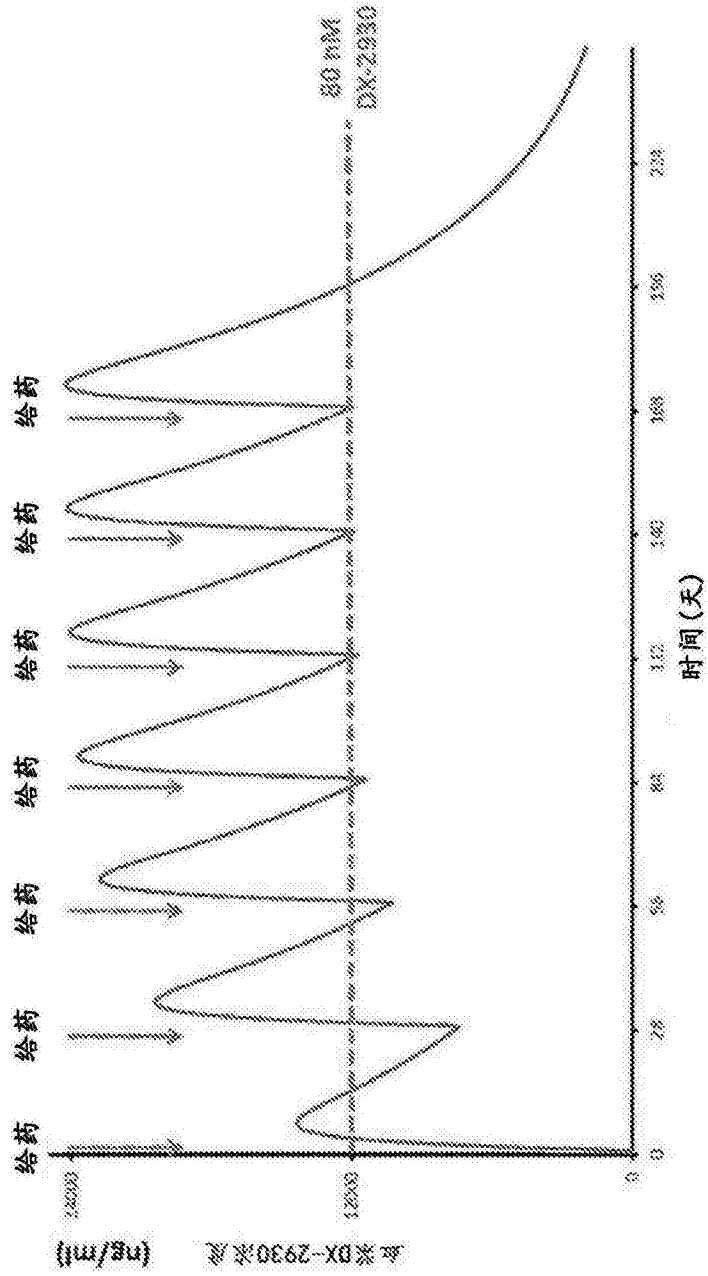


图9

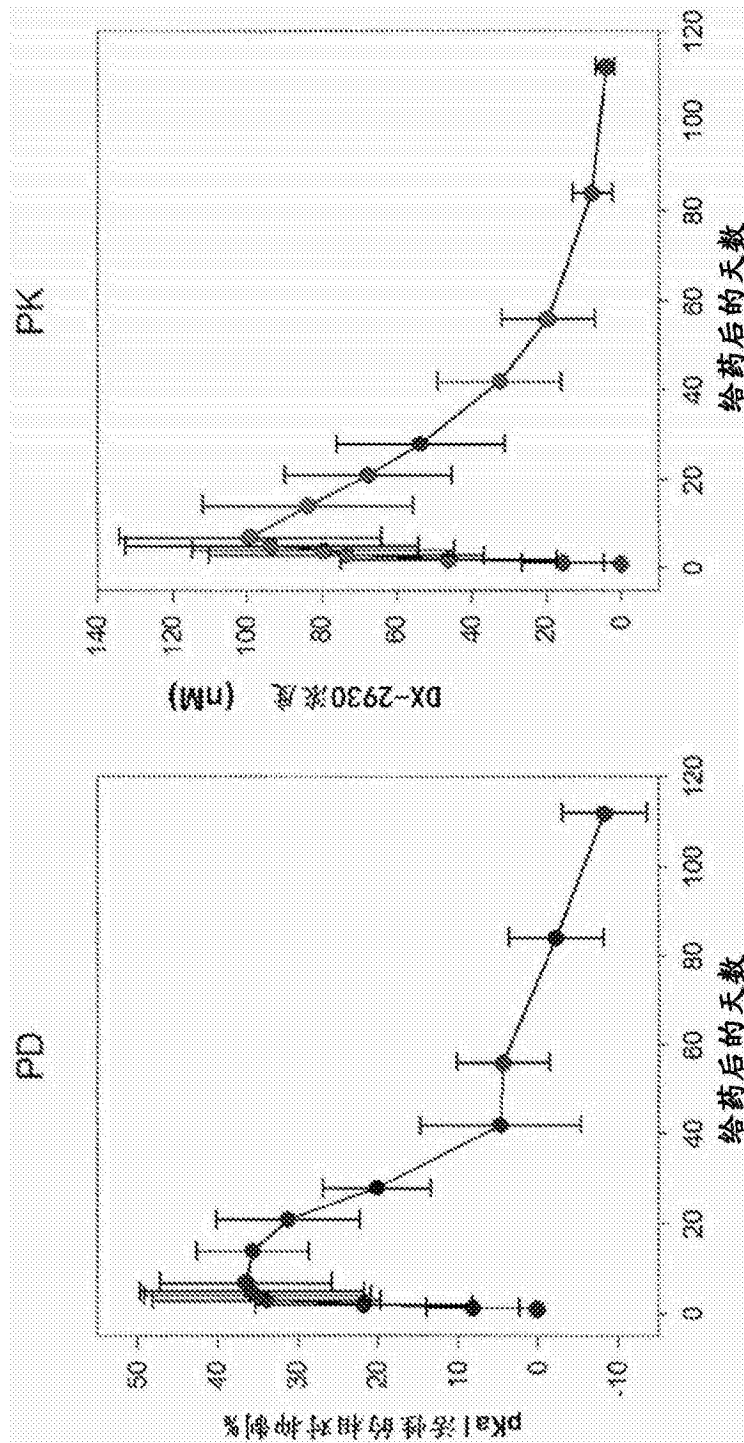


图10

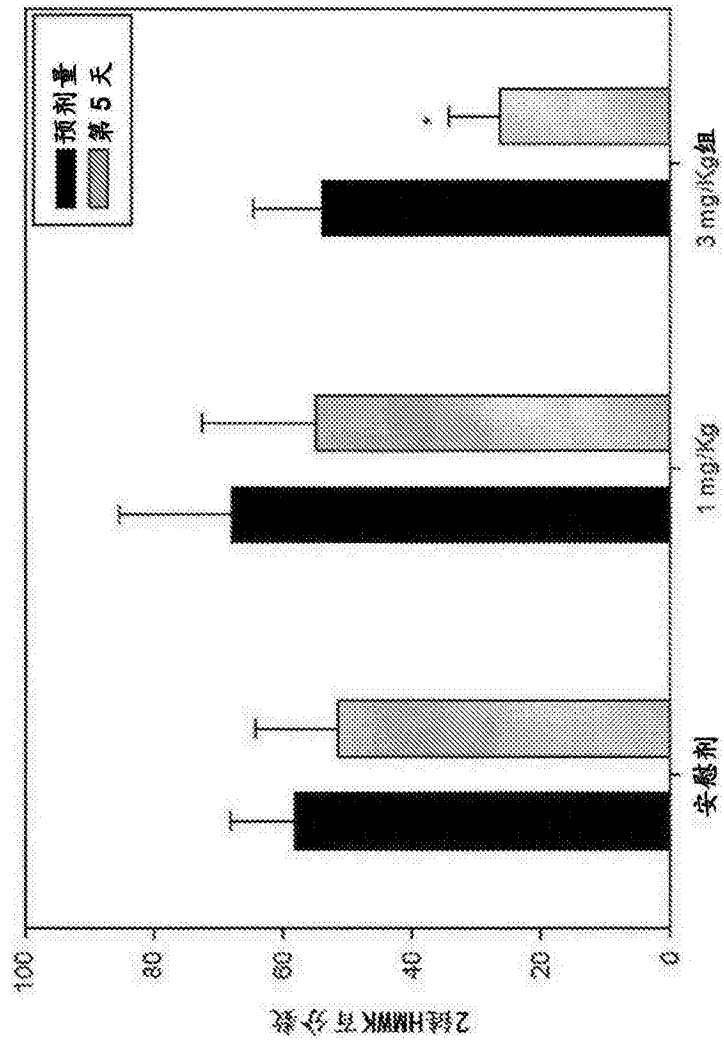


图11

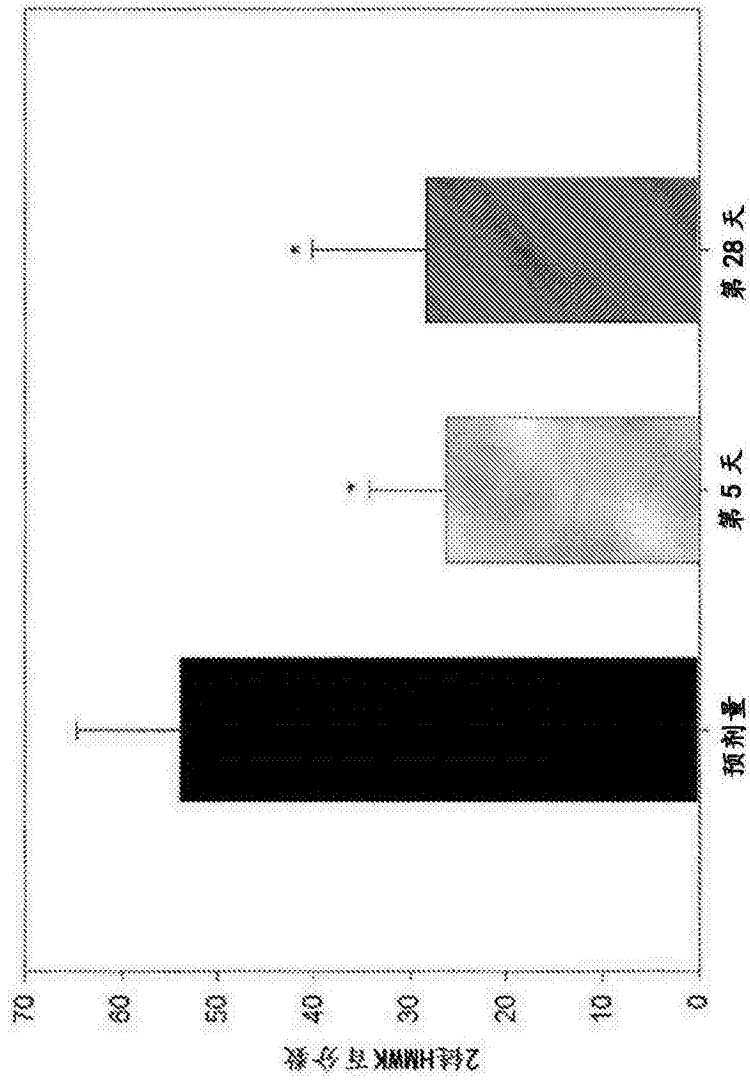


图12

专利名称(译)	血浆激肽释放酶结合蛋白和其在治疗遗传性血管性水肿中的用途		
公开(公告)号	CN106132442A	公开(公告)日	2016-11-16
申请号	CN201580010172.X	申请日	2015-01-21
[标]申请(专利权)人(译)	戴埃克斯有限公司		
申请(专利权)人(译)	戴埃克斯有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	戴埃克斯有限公司		
[标]发明人	容强 丹尼尔·J·塞克斯顿 克里斯托弗·滕霍尔 乔恩·A·肯尼森 莱恩·福赛特 莱恩·拉罗比诺 约瑟夫·比登卡普 伯特·阿德尔曼		
发明人	容强 丹尼尔·J·塞克斯顿 克里斯托弗·滕霍尔 乔恩·A·肯尼森 莱恩·福赛特 莱恩·拉罗比诺 约瑟夫·比登卡普 伯特·阿德尔曼		
IPC分类号	A61K49/00 A61K39/395 C07K16/00 G01N33/53		
CPC分类号	A61K2039/505 A61K2039/545 C07K16/40 C07K2317/76 A61K39/395 C12Y207/03002 C12Y304/21034 C07K2317/565 C07K2317/92		
代理人(译)	郝文博 王建秀		
优先权	61/929716 2014-01-21 US 61/944361 2014-02-25 US 62/021397 2014-07-07 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本文提供了血浆激肽释放酶结合蛋白，比如结合活性血浆激肽释放酶的抗体，以及这种蛋白质用于治疗遗传性血管性水肿的方法。

