



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113891729 A

(43) 申请公布日 2022.01.04

(21) 申请号 202080037823.5

C·埃斯普雷 F·马拉切

(22) 申请日 2020.05.22

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(30) 优先权数据

19306309.6 2019.10.08 EP

62/852,941 2019.05.24 US

62/979,875 2020.02.21 US

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.11.19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/034342 2020.05.22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/242989 EN 2020.12.03

(71) 申请人 赛诺菲

地址 法国巴黎

权利要求书3页 说明书68页

序列表10页 附图7页

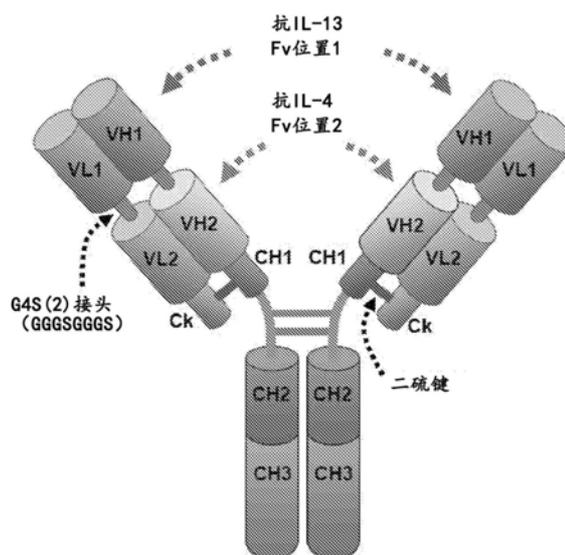
(72) 发明人 P·王 C·苏布拉纳

(54) 发明名称

治疗系统性硬化症的方法

(57) 摘要

本发明提供了用于通过给予特异性结合IL-4和IL-13的双重V区双特异性抗体来治疗系统性硬化症的方法。



1. 一种用于在患有系统性硬化症 (SSc) 的人受试者中治疗SSc的方法,所述方法包括向所述受试者皮下给予约200mg的特异性结合IL-4和IL-13的双重V区双特异性抗体或抗原结合片段。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中向所述受试者给予200mg的所述双特异性抗体,约每周一次或约每5至9天一次。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中将所述治疗给予至少约24周。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体是在药物配制品中。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中所述药物配制品包含约100mg/ml双特异性抗体、约6.3mM磷酸二氢钠、约37mM Tris、约5% (w/v) 蔗糖、约3% (w/v) 脯氨酸、和约0.2% (w/v) 聚山梨醇酯80,其中所述配制品的pH为约7.0。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述配制品由冻干配制品重构。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体与另一种药剂组合给予。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中所述另一种药剂在所述双特异性抗体之前、与其同时、或在其之后给予。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述系统性硬化症是弥漫性皮肤系统性硬化症。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含含有轻链可变结构域VL_{hB-B13}和轻链可变结构域

VL_{hBD4-8}的轻链多肽以及含有重链可变结构域VH_{hB-B13}和重链可变结构域VH_{hBD4-8}的重链多肽;其中:

VL_{hB-B13}包含含有氨基酸序列RASESVDSYGQSYM (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10) 的三个CDR;

VL_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG (SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16) 的三个CDR,

VH_{hB-B13}包含含有氨基酸序列GFSLTDSSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、和DGYFPYAMDF (SEQ ID NO:13) 的三个CDR,

VH_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18)、和LKEYGNYDSFYFDV (SEQ ID NO:19) 的三个CDR。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中:

VL_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

VL_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

VH_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

VH_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。

12. 根据权利要求10或11所述的方法,其中:

VL_{hB-B13}包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,

VL_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,

VH_{hB-B13}包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列,

VH_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

13. 根据权利要求9-11中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含结构N-VL_{hBD4-8}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链多肽包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-C。

14. 根据权利要求9-13中任一项所述的方法,其中所述轻链包含结构N-VL_{hBD4-8}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-CH2-CH3-C。

15. 根据权利要求13或14所述的方法,其中所述接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

16. 根据权利要求10-15中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含两个相同的轻链多肽和两个相同的重链多肽。

17. 根据权利要求10-16中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含具有与SEQ ID NO:22的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列并且所述重链多肽包含具有与SEQ ID NO:23的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列。

18. 根据权利要求10-17中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列并且所述重链多肽包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列。

19. 一种在患有SSc的人受试者中减少硬化斑块的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的抗IL4/抗-IL13双特异性抗体;其中在初始给予所述双特异性抗体后约24周时,与基线相比,所述硬化斑块减少至少约20%、40%、60%、80%或100%。

20. 根据权利要求19所述的方法,其中一部分的所述经治疗的患有SSC的人受试者在初始给予所述双特异性抗体后约24周时与基线相比具有至少约20%、40%、和60%的改善的改良Rodnan皮肤得分(mRSS)。

21. 根据权利要求20所述的方法,其中所述改善的mRSS测量为自基线的最小二乘均值变化。

22. 根据权利要求20或21所述的方法,其中所述自基线的最小二乘均值变化超过约-3.00、-3.5、-4.0、-4.5、-5.0、-5.5、或-6.0中的任一值。

23. 根据权利要求19-22中任一项所述的方法,其中所述抗IL4/抗IL13抗体是RKB。

24. 根据权利要求19-23中任一项所述的方法,其中向所述受试者皮下给予约200mg的抗IL4/抗IL13抗体。

25. 根据权利要求24所述的方法,其中向所述受试者给予200mg的所述双特异性抗体,约每周一次或约每5至9天一次。

26. 根据权利要求24或25所述的方法,其中将所述治疗给予至少约24周。

27. 根据权利要求19-26中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体是在药物配制品中。

28. 根据权利要求27所述的方法,其中所述药物配制品包含约100mg/ml双特异性抗体、约6.3mM磷酸二氢钠、约37mM Tris、约5% (w/v) 蔗糖、约3% (w/v) 脯氨酸、和约0.2% (w/v) 聚山梨醇酯80,其中所述配制品的pH为约7.0。

29. 根据权利要求27或28所述的方法,其中所述配制品由冻干配制品重构。

30. 根据权利要求19-29中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体与另一种药剂组合给予。

31. 根据权利要求30所述的方法,其中所述另一种药剂在所述双特异性抗体之前、与其同时、或在其之后给予。

32. 根据权利要求19-31中任一项所述的方法,其中所述系统性硬化症是弥漫性皮肤系

统性硬化症。

33. 根据权利要求19-32中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含含有轻链可变结构域VL_{hB-B13}和轻链可变结构域

VL_{hBD4-8}的轻链多肽以及含有重链可变结构域VH_{hB-B13}和重链可变结构域VH_{hBD4-8}的重链多肽;其中:

VL_{hB-B13}包含含有氨基酸序列RASESVDSYGQSYM (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10)的三个CDR;

VL_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG (SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16)的三个CDR,

VH_{hB-B13}包含含有氨基酸序列GFSLTDSSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、和DGYFPYAMDF (SEQ ID NO:13)的三个CDR,

VH_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18)、和LKEYGNYDSFYFDV (SEQ ID NO:19)的三个CDR。

34. 根据权利要求33所述的方法,其中:

VL_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

VL_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

VH_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

VH_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。

35. 根据权利要求33或34所述的方法,其中:

VL_{hB-B13}包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,

VL_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,

VH_{hB-B13}包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列,

VH_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

36. 根据权利要求33-35中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含结构N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链多肽包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-C。

37. 根据权利要求33-36中任一项所述的方法,其中所述轻链包含结构N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-CH2-CH3-C。

38. 根据权利要求36或37所述的方法,其中所述接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

39. 根据权利要求33-38中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含两个相同的轻链多肽和两个相同的重链多肽。

40. 根据权利要求33-39中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含具有与SEQ ID NO:22的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列并且所述重链多肽包含具有与SEQ ID NO:23的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列。

41. 根据权利要求33-40中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列并且所述重链多肽包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列。

治疗系统性硬化症的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年5月24日提交的美国临时申请号62/852,941、2019年10月8日提交的欧洲专利申请号EP19306309.6、以及2020年2月21日提交的美国临时申请号62/979,875的优先权权益,所述申请各自通过引用以其整体并入本文。

[0003] ASCII文本文件序列列表的提交

[0004] 将以下提交的ASCII文本文件的内容通过引用以其整体并入本文:序列列表的计算机可读形式(CRF)(文件名称:183952031841SEQLIST.TXT,记录日期:2020年5月21日,大小:16KB)。

技术领域

[0005] 本发明涉及用于治疗系统性硬化症(也称为硬皮病)的双特异性抗IL-4-抗IL-13抗体。

背景技术

[0006] 系统性硬化症(也称为硬皮病)是一种慢性致残性病症,其特征在于三个关键特征:免疫失调、小血管血管病变和纤维化。在系统性硬化症(SSc)的公认分类中有两个主要的亚组:局限性皮肤SSc(lcSSc)和弥漫性皮肤SSc(dcSSc)(LeRoy E.C.等人,J.Rheumatol.1988,15(2):202-5)。在lcSSc中,纤维化仅限于远端上肢和下肢,可能伴有面部受累。虽然纤维化在发展的最初几年内趋于稳定,但这种病症可能会继续在内脏器官中、特别是在肺中进展,从而导致肺动脉高压(PAH)的发展,这是lcSSc后期中与lcSSc相关的死亡的主要原因。相比之下,dcSSc是一种超出局限性形式的快速进行性障碍,其影响皮肤的较大区域,很可能伴有躯干表现。这些患者常常患有早期的内脏器官受累和更明显的全身性症状,如关节痛、腱摩擦磨损(tendon friction rubs)和体重减轻。尽管皮肤纤维化是区别标志,但肺、胃肠道、肾脏和心脏的病理变化最终决定了临床结果。然而,皮肤受累的程度及其进展速率可能反映了内脏器官并发症的严重程度、结果和存活率(Domsic R.T.等人,Ann.Rheum.Dis.2011,70(1):104-9;Cottrell T.R.等人Ann.Rheum.Dis.2014,73(6):1060-6)。在过去的几十年中,dcSSc患者的存活率已经有所改善;目前,据估计平均10年存活率为大约70%至80%。在最近几十年期间,通过使用血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂,与肾危象相关的死亡率显著下降,而肺部受累是这些患者死亡的主要原因(Elhai M.等人,Rheumatology(Oxford)2012,51(6):1017-26;Nikpour M.和Baron M.,Curr.Opin.Rheumatol 2014,26(2):131-7;Nihtyanova S.I.等人,QJM 2010,103(2):109-15;Winstone T.A.等人,Chest 2014,146(2):422-36)。

[0007] 在2014年,据估计SSc的患病率在美国和欧盟五国(即法国、德国、意大利、西班牙和英国)中为约120,000人,总计超过60%的病例为弥漫型。使用新的美国风湿病学会/欧洲风湿病联盟(ACR/EULAR)2013分类标准(其比先前ACR 1980标准更灵敏),未来的患病率可能增加多达20%(van den Hoogen F.等人,Ann.Rheum.Dis.2013,72(11):1747-55)。总体

而言,所述疾病在女性(3-6:1)和某些种族(例如黑色人种)中更为频繁。

[0008] 目前,尚无批准的SSc疗法。一般的治疗策略是在使用有效免疫抑制疗法(例如环磷酰胺、吗替麦考酚酯、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、利妥昔单抗(rituximab))控制皮肤或内脏器官的任何潜在炎症过程的同时,解决特定的SSc表现(例如雷诺现象、指端溃疡、胃肠道受累、PAH等)。因为这些免疫抑制疗法并不靶向与纤维化过程相关的特定途径,所以它们并不是特别有效,并且常常伴有严重副作用。因此,寻找用于该疾病群体的具有有限副作用概况的有效靶向疗法是未满足的需求。

[0009] 本文引用的所有参考文献(包括专利申请和出版物)均通过引用以其整体并入。

发明内容

[0010] 在一些方面,本发明提供了用于在患有系统性硬化症(SSc)的人受试者中治疗SSc的方法,所述方法包括向所述受试者皮下给予约200mg的特异性结合IL-4和IL-13的双重V区双特异性抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,向所述受试者给予200mg的所述双特异性抗体,约每周一次或约每5至9天一次。在一些实施方案中,将所述治疗给予至少约24周。在一些实施方案中,所述双特异性抗体是在药物配制品中。在一些实施方案中,所述药物配制品包含约100mg/ml双特异性抗体、约6.3mM磷酸二氢钠、约37mM Tris、约5% (w/v)蔗糖、约3% (w/v)脯氨酸、和约0.2% (w/v)聚山梨醇酯80,其中所述配制品的pH为约7.0。在一些实施方案中,所述配制品由冻干配制品重构。在一些实施方案中,所述双特异性抗体与另一种药剂组合给予。在一些实施方案中,所述另一种药剂在所述双特异性抗体之前、与其同时、或在其之后给予。在一些实施方案中,所述系统性硬化症是弥漫性皮肤系统性硬化症。

[0011] 在本发明的一些实施方案中,所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含含有轻链可变结构域VL_{hB-B13}和轻链可变结构域VL_{hBD4-8}的轻链多肽,和含有重链可变结构域VH_{hB-B13}和重链可变结构域VH_{hBD4-8}的重链多肽;其中:VL_{hB-B13}包含含有氨基酸序列RASEVDSYGQSYMH (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10)的三个CDR;VL_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG (SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16)的三个CDR;VH_{hB-B13}包含含有氨基酸序列GFSLTDSSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、和DGYPYAMDF (SEQ ID NO:13)的三个CDR;VH_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18)和LKEYGNYSFYFDV (SEQ ID NO:19)的三个CDR。在一些实施方案中,VL_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;VL_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;VH_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;VH_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL_{hB-B13}包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;VL_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;VH_{hB-B13}包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;VH_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述轻链多肽包含结构N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链多肽包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-C。在一些实施方案中,所述轻链包含结构N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-CH2-CH3-C。在一些实施方案中,所述接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含两个相同的轻链多肽和两个相同的重链多肽。在一些实施方案

中,所述轻链多肽包含具有与SEQ ID NO:22的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列并且所述重链多肽包含具有与SEQ ID NO:23的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述轻链多肽包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列并且所述重链多肽包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列。

[0012] 在一些方面,本发明提供了在患有SSc的人受试者中减少硬化斑块的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的抗IL4/抗-IL13双特异性抗体;其中在初始给予所述双特异性抗体后约24周时,与基线相比,所述硬化斑块减少至少约20%、40%、60%、80%或100%。在一些实施方案中,所述基线在治疗之前确定。在一些实施方案中,所述基线是来自未患硬皮病的个体的正常对照。在一些实施方案中,所述基线是历史对照。在一些实施方案中,一部分的所述经治疗的患有SSc的人受试者在初始给予所述双特异性抗体后约24周时与基线相比具有至少约20%、40%、和60%的改善的改良Rodnan皮肤得分(mRSS)。在一些实施方案中,所述改善的mRSS测量为自基线的最小二乘均值变化。在一些实施方案中,所述自基线的最小二乘均值变化超过约-3.00、-3.5、-4.0、-4.5、-5.0、-5.5、或-6.0中的任一值。

[0013] 在患有SSc的人受试者中减少硬化斑块的方法的一些实施方案中,所述抗IL4/抗IL13抗体是RKB。在一些实施方案中,向所述受试者皮下给予约200mg的抗IL4/抗IL13抗体。在一些实施方案中,向所述受试者给予200mg的所述双特异性抗体,约每周一次或约每5至9天一次。在一些实施方案中,将所述治疗给予至少约24周。在一些实施方案中,所述双特异性抗体是在药物配制品中。在一些实施方案中,所述药物配制品包含约100mg/ml双特异性抗体、约6.3mM磷酸二氢钠、约37mM Tris、约5% (w/v) 蔗糖、约3% (w/v) 脯氨酸、和约0.2% (w/v) 聚山梨醇酯80,其中所述配制品的pH为约7.0。在一些实施方案中,所述配制品由冻干配制品重构。在一些实施方案中,所述双特异性抗体与另一种药剂组合给予。在一些实施方案中,所述另一种药剂在所述双特异性抗体之前、与其同时、或在其之后给予。在一些实施方案中,所述系统性硬化症是弥漫性皮肤系统性硬化症。

[0014] 在患有SSc的人受试者中减少硬化斑块的方法的一些实施方案中,所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含含有轻链可变结构域VL_{hB-B13}和轻链可变结构域VL_{hBD4-8}的轻链多肽,和含有重链可变结构域VH_{hB-B13}和重链可变结构域VH_{hBD4-8}的重链多肽;其中: VL_{hB-B13}包含含有氨基酸序列RASESVDSYGQSYM (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10) 的三个CDR; VL_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG (SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16) 的三个CDR; VH_{hB-B13}包含含有氨基酸序列GFSLTSSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、和DGYPYAMDF (SEQ ID NO:13) 的三个CDR; VH_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18) 和LKEYGNYSFYFDV (SEQ ID NO:19) 的三个CDR。在一些实施方案中,VL_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列; VL_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列; VH_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列; VH_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,VL_{hB-B13}包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列; VL_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列; VH_{hB-B13}包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列; VH_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述轻链多肽包含结构N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链多肽包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-C。在一些实施方案中,所述轻链包含结构N-

VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-CH2-CH3-C。在一些实施方案中,所述接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含两个相同的轻链多肽和两个相同的重链多肽。在一些实施方案中,所述轻链多肽包含具有与SEQ ID NO:22的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列并且所述重链多肽包含具有与SEQ ID NO:23的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述轻链多肽包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列并且所述重链多肽包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列。

附图说明

[0015] 图1是包含两个轻链多肽和两个重链多肽的示例性双特异性抗IL-4/抗IL-13抗体的图。两个轻链包含部分N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且两个重链多肽包含部分N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-CH2-CH3-C。接头序列包含(G₄S)₂;即GGGGSGGGGS(SEQ ID NO:6)。

[0016] 图2是在患有系统性硬化症的患者中的临床试验研究的图。将患者随机化(R)到治疗组(顶部)或安慰剂组(底部)中,所述治疗组每周接受200mg下的罗密基单抗(Romilkimab)(RKB;也称为SAR156597)的皮下注射,持续24周,所述安慰剂组每周接受安慰剂的皮下注射,持续24周。包括治疗期之前的筛选期和治疗期之后的随访期。在筛选期期间,在D1(第1天)、W2(第2周)、W4、W8、W12、W24、和W35时进行访视。在W6、W16、W18、和W30时拨打电话(通过括号指示)。

[0017] 图3是显示每次访视时mRSS的最小二乘均值变化的图。对于每个估计值给予90%置信区间。实线表示接受安慰剂的患者,虚线表示接受200mg qwRKB的患者。

[0018] 图4是显示每次访视时HAQ-DI综合得分的最小二乘均值变化的图。对于每个估计值给予90%置信区间。实线表示接受安慰剂的患者,虚线表示接受200mg qw RKB的患者。

[0019] 图5是显示每次访视时FVC(L)的最小二乘均值变化的图。对于每个估计值给予90%置信区间。实线表示接受安慰剂的患者,虚线表示接受200mgqw RKB的患者。

[0020] 图6是显示每次访视时DLco(mm³/min/kPa)[针对血红蛋白校正]的最小二乘均值变化的图。对于每个估计值给予90%置信区间。实线表示接受安慰剂的患者,虚线表示接受200mg qw RKB的患者。

[0021] 图7是显示罗密基单抗和安慰剂组中反映进展的至第一事件的时间的卡普兰-迈耶(Kaplan-Meier)曲线的图。QW,每日一次。*审查的=事件发生之前离开研究或事件发生之前结束研究的患者。

[0022] 图8A和图8B是显示在用罗密基单抗与安慰剂治疗的患者中,对于(图8A)TARC和(图8B)骨膜蛋白自基线至第24周的均值变化的图。QW,每周一次;SE,标准误差;TARC,胸腺和激活调节趋化因子。

具体实施方式

[0023] 本文所引用的每个出版物、专利申请、专利和其他参考文献均通过引用以其整体明确地并入,至其不与本公开文本矛盾的程度。

[0024] 在此应注意,如在本说明书和所附权利要求书中所用的,单数形式“一个/一种(a)”、“一个/一种(an)”和“所述”包括复数指示物,除非上下文清楚地另外指明。

[0025] 出于描述和定义本发明的目的,应注意,术语“基本上”在本文中用来表示固有的不确定性程度,其可归因于任何定量比较、值、测量或其他表示。术语“基本上”在本文中还可用于表示,在不导致所讨论的主题的基础功能变化的情况下,定量表示可以相对于所述参考变化的程度。

[0026] 此外,根据本发明,可以采用本领域技术范围内的常规分子生物学、微生物学和重组DNA技术。此类技术在文献中有充分说明。参见例如,Sambrook,Fritsch和Maniatis, *Molecular Cloning:A Laboratory Manual*,第二版(1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 纽约(本文中“Sambrook等人,1989”); DNA Cloning:A Practical Approach, 第I卷和第II卷(D.N.Glover编1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J.Gait编1984); *Nucleic Acid Hybridization* [B.D.Hames和S.J.Higgins编(1985)]; *Transcription And Translation* [B.D.Hames和S.J.Higgins编(1984)]; *Animal Cell Culture* [R.I.Freshney编(1986)]; *Immobilized Cells And Enzymes* [IRL Press, (1986)]; B.Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); F.M.Ausubel等人(编), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. (1994)。

[0027] 提供一些术语和短语的以下非限制性定义以指导技术人员。

[0028] 术语“多肽”和“蛋白质”可互换使用以指代氨基酸残基的聚合物,并且不限于最小长度。氨基酸残基的此类聚合物可含有天然或非天然氨基酸残基,并且包括但不限于氨基酸残基的肽、寡肽、二聚体、三聚体和多聚体。所述定义涵盖了全长蛋白质及其片段两者。所述术语还包括多肽的表达后修饰,例如糖基化、唾液酸化、乙酰化、磷酸化等。此外,出于本发明的目的,“多肽”是指包括对天然序列的修饰(如缺失、添加和取代,通常性质是保守的)的蛋白质,只要所述蛋白质维持所需活性。这些修饰可能是故意的(如通过定点诱变),或者可能是偶然的(如通过产生蛋白质的宿主的突变或由于PCR扩增引起的错误)。

[0029] 如本文所用,术语“多核苷酸”或“核酸”是指任何长度的核苷酸(核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸)的聚合形式。因此,该术语包括但不限于单链、双链或多链DNA或RNA;基因组DNA;cDNA;DNA-RNA杂合体;或者包括嘌呤和嘧啶碱基或其他天然的、化学修饰的或生化修饰的核苷酸碱基、非天然的或衍生的核苷酸碱基的聚合物。多核苷酸的骨架可包含糖和磷酸基团(如通常可在RNA或DNA中发现的)、或经修饰或取代的糖或磷酸基团。可替代地,多核苷酸的骨架可包含合成亚基(如氨基磷酸酯)的聚合物,并因此可以是寡脱氧核苷氨基磷酸酯(P-NH₂)或混合的氨基磷酸酯-磷酸二酯寡聚物。此外,双链多核苷酸可以从化学合成的单链多核苷酸产物获得,通过合成互补链并在适当的条件下使所述链退火,或者通过使用DNA聚合酶用适当的引物从头合成互补链来获得。

[0030] “白介素4”(IL-4)涉及天然存在或内源性的哺乳动物IL-4蛋白,并且涉及具有与天然存在或内源性的相应哺乳动物IL-4蛋白的氨基酸序列相同的氨基酸序列的蛋白;例如重组蛋白、合成蛋白(即,使用合成有机化学方法产生的)。因此,如本文所定义,所述术语包括成熟的IL-4蛋白、多态性或等位基因变体、以及IL-4的其他同种型和前述项的修饰或未修饰形式(例如,脂化、糖基化)。天然存在或内源性的IL-4包括野生型蛋白,如成熟的IL-4、多态性或等位基因变体以及天然存在于哺乳动物(例如人、非人灵长类动物)中的其他同种型和突变体形式。此类蛋白质可以从例如天然产生IL-4的来源中回收或分离。这些蛋白质和具有与天然存在或内源性的相应IL-4相同的氨基酸序列的蛋白质是通过相应哺乳动物

的名称来提及。例如,在相应哺乳动物是人的情况下,所述蛋白质被称为人IL-4。若干种突变体IL-4蛋白是本领域已知的,如WO 03/038041中披露的那些。

[0031] “白介素13”(IL-13)是指天然存在或内源性的哺乳动物IL-13蛋白,并且涉及具有与天然存在或内源性的相应哺乳动物IL-13蛋白的氨基酸序列相同的氨基酸序列的蛋白(例如,重组蛋白、合成蛋白(即,使用合成有机化学方法产生的))。因此,如本文所定义,所述术语包括成熟的IL-13蛋白、多态性或等位基因变体、以及IL-13的其他同种型(例如,通过选择性剪接或其他细胞过程产生的)和前述项的修饰或未修饰形式(例如,脂化、糖基化)。天然存在或内源性的IL-13包括野生型蛋白,如成熟的IL-13、多态性或等位基因变体以及天然存在于哺乳动物(例如人、非人灵长类动物)中的其他同种型和突变体形式。例如,如本文所用,IL-13涵盖人IL-13变体,其中成熟人IL-13的110位的Arg被Gln替代(成熟IL-13的110位对应于前体蛋白的130位),所述变体与哮喘(特应性和非特应性哮喘)和IL-13的其他变体相关。(Heinzmann等人, *Hum Mol Genet.* (2000) 9:549-559)。此类蛋白质可以从例如天然产生IL-13的来源中回收或分离。这些蛋白质和具有与天然存在或内源性的相应IL-13相同的氨基酸序列的蛋白质是通过相应哺乳动物的名称来提及。例如,在相应哺乳动物是人的情况下,所述蛋白质被称为人IL-13。若干种突变体IL-13蛋白是本领域已知的,如WO 03/035847中披露的那些。

[0032] 在一些方面,本发明涉及系统性硬化症(SSc)的治疗。在一些实施方案中,本发明涉及弥漫性皮肤系统性硬化症(dcSSc)的治疗。在一些实施方案中,本发明涉及局限性皮肤SSc(lcSSc)的治疗。IL-4和IL-13基于其生物学功能是治疗上重要的细胞因子,并且在包括哮喘在内的许多疾病中起着关键作用(*Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005,第5卷,161-166)。已经显示IL-4能够抑制自身免疫性疾病,并且IL-4和IL-13都显示出增强抗肿瘤免疫应答的潜力。由于两种细胞因子均参与变应性疾病或纤维化疾病的发病机理,因此这些细胞因子的抑制剂可提供治疗益处。

[0033] 关于抗体链多肽序列的短语“基本上相同”可以解释为抗体链展现出与参考多肽序列至少70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性。关于核酸序列的术语可以解释为展现出与参考核酸序列至少约85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性的核苷酸序列。身份可以通过使用本领域技术人员可用的任何生物信息学工具来确定。例如,通常采用基本局部比对搜索工具(BLAST)确定序列同一性(Altschul等人, *J.Mol.Biol.* (1990) 215:403-410)。

[0034] 术语“同一性”或“同源性”可以意指在比对序列并引入空位(如果需要)以实现整个序列的最大同一性百分比后,并且在不考虑将任何保守取代作为序列同一性的一部分的情况下,候选序列中与其所比较的相应序列的残基相同的核苷酸碱基或氨基酸残基的百分比。N末端或C末端的延伸或插入均不应解释为减少同一性或同源性。用于比对的方法和计算机程序在本领域中是可得和熟知的。序列同一性可以使用序列分析软件来测量。

[0035] “取代”变体是去除天然序列中的至少一个氨基酸残基并在相同位置被插入其位置的不同氨基酸替代的那些变体。取代可以是单一取代,其中分子中仅一个氨基酸被取代,或者可以是多取代,其中同一分子中两个或更多个氨基酸被取代。多个取代可以位于连续的位点处。同样,一个氨基酸可以被多个残基替代,在这种情况下,这种变体包括取代和插入两者。“插入”变体是紧邻天然序列中的特定位置的氨基酸插入一个或多个氨基酸的那些

变体。紧邻氨基酸意指连接至所述氨基酸的 α -羧基或 α -氨基官能团。“缺失”变体是去除天然氨基酸序列中的一个或多个氨基酸的那些变体。通常，缺失变体将在分子的特定区域中缺失一个或两个氨基酸。

[0036] 术语“抗体”以最广泛的含义使用，并且具体涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、多特异性抗体(例如，双特异性抗体)、抗原结合抗体片段或携带一个或多个CDR或源自CDR的序列的合成多肽，只要所述多肽展现出所需的生物学活性。抗体(Ab)和免疫球蛋白(Ig)是具有相同结构特征的糖蛋白。一般来讲，抗体被认为是具有确定或公认的特异性的Ig。因此，虽然抗体展现出对特定靶标的结合特异性，但免疫球蛋白包括抗体以及缺乏靶标特异性的其他抗体样分子。本发明的抗体可以属于任何种类(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA等)、或亚类(例如，IgG1、IgG2、IgG2a、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2等) (“类型”和“种类”以及“亚型”和“亚类”在本文可互换使用)。天然或野生型(即从群体的非人工操纵的成员获得)抗体和免疫球蛋白通常是约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白，由两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链构成。每条重链具有在一个末端的可变结构域(VH)和之后的多个恒定结构域。每条轻链具有在一个末端的可变结构域(VL)和在另一个末端的恒定结构域。“非人工操纵的”意指未经处理以含有或表达外来抗原结合分子。与等位基因或多态性、或通过某种形式的操纵(如诱变、使用重组方法来改变抗原结合分子的氨基酸)获得的变体或衍生物相比，野生型可以是指指在群体中发现的最普遍的等位基因或物种，或者是指指从非操纵动物获得的抗体。

[0037] 如本文所用，“抗IL-4抗体”意指如本文定义的特异性结合至IL-4的抗体或由其衍生的多肽(衍生物)，包括但不限于抑制或大幅减少IL-4与其受体的结合或抑制IL-4活性的分子。

[0038] 如本文所用，“抗IL-13抗体”意指如本文定义的特异性结合至IL-13的抗体或由其衍生的多肽(衍生物)，包括但不限于抑制或大幅减少IL-13与其受体的结合或抑制IL-13活性的分子。

[0039] 如本文所用，“抗IL-4/抗IL-13双特异性抗体”意指如本文定义的特异性结合至IL-4和/或IL-13的双特异性抗体或由其衍生的多肽(衍生物)，包括但不限于抑制或大幅减少IL-4与其受体的结合或抑制IL-4活性和/或大幅减少IL-13与其受体的结合或抑制IL-13活性的分子。

[0040] 在抗体的可变结构域的上下文中，术语“可变的”是指相关分子的某些部分，所述部分在两种或更多种抗体之间序列广泛不同并且用于特定抗体对其特定靶标的特异性识别和结合。然而，可变性在抗体的整个可变结构域上不是均匀分布的。可变性集中在轻链和重链可变结构域两者中的被称为互补决定区(CDR；即CDR1、CDR2和CDR3，也称为高变区)的三个区段中。可变结构域的更高度保守的部分被称为框架(FR)区或序列。天然重链和轻链的可变结构域各自包含通过三个CDR连接的四个FR区，所述FR区主要采用 β -折叠构型，所述CDR形成连接 β -折叠结构并且在一些情况下形成 β -折叠结构的一部分的环。每条链中的CDR常常在FR区附近保持在一起，并且与来自另一条链的CDR一起促进形成抗体的靶标(表位或决定簇)结合位点(参见Kabat等人Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institute of Health, 贝塞斯达, 马里兰州(1987))。如本文所用，除非另有说明，否则根据Kabat等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统进行免疫球蛋白氨基酸残基的

编号。一个CDR可以具有与同源表位特异性地结合的能力。

[0041] 如本发明中所用,术语“铰链”或“铰链区”是指包含在抗体的第一与第二恒定结构域之间的氨基酸的柔性多肽。

[0042] 抗体、抗原或抗原结合蛋白的短语和术语“片段”、“功能片段”、“变体”、“衍生物”或“类似物”等以及其形式是具有与全长抗体或目的抗原共同的定性生物学活性的化合物或分子。例如,抗IL-4抗体的功能片段或类似物是可以结合IL-4分子,或者可以阻碍或大幅降低配体或激动性或拮抗性抗体结合IL-4的能力的功能片段或类似物。在另一个例子中,抗IL-13抗体的功能片段或类似物是可以结合IL-13分子,或者可以阻碍或大幅降低配体或激动性或拮抗性抗体结合IL-13的能力的功能片段或类似物。在又一个例子中,抗IL-4/抗IL-13双特异性抗体的功能片段或类似物是可以结合IL-4分子和/或IL-13分子,或者可以阻碍或大幅降低配体或激动性或拮抗性抗体结合IL-4和/或IL-13的能力的功能片段或类似物。

[0043] 此外,术语“片段”和“抗体片段”是指完整或全长链或抗体的一部分,通常是靶结合或可变区。在一些例子中,抗体样结合分子的抗体片段的片段包含抗原结合结构域。关于双特异性抗体样结合分子,所述分子包含两个或更多个抗原结合结构域。例如,抗IL-4和/或IL-13抗体的片段或类似物是可以阻碍或大幅降低受体结合配体或启动信号传导的能力的片段或类似物。如本文所用,“片段”、“功能片段”和“抗体片段”通常是指可以阻碍或大幅降低受体结合配体或启动信号传导的能力的抗体。

[0044] 本文的单克隆抗体具体地包括“嵌合”抗体,其中重链和/或轻链的一部分与源自特定物种或属于特定抗体类别或亚类(类型或亚型)的抗体中的对应序列相同或同源,其中一条或多条链的其余部分与源自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体以及此类抗体的片段中的对应序列相同或同源,只要它们展现出结合IL-4和/或IL-13或影响IL-4和/或IL-13活性或代谢的所需生物活性(美国专利号4,816,567;和Morrison等人(1984),*Proc Natl Acad Sci USA* 81:6851)。因此,可以将来自一类抗体的CDR移植到不同类别或亚类的抗体的FR中。

[0045] 单克隆抗体针对特定靶位点、表位或决定簇具有高度特异性。此外,与通常包括针对抗原的不同决定簇(表位)的不同抗体的常规(多克隆)抗体制剂相比,每种单克隆抗体是针对靶标上的特定决定簇。除了其特异性之外,单克隆抗体的有利之处在于由宿主细胞合成,未被其他免疫球蛋白污染,并且为克隆提供编码其链的抗体的相关基因和mRNA。修饰语“单克隆的”指示抗体的特征是从基本上同质的抗体群体获得,并且不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。根据本发明使用的亲本单克隆抗体可以通过由Kohler等人(1975),*Nature* 256:495描述的杂交瘤方法来制备,或可以通过本领域众所周知的重组方法来制备。

[0046] 如本发明中所用,术语“多价抗体”是指包含两个或更多个抗原结合位点,因此能够同时结合可能具有相同或不同结构的两种或更多种抗原的抗体。术语“二价”意指抗体包含两个抗原结合位点。术语“四价”意指抗体包含四个抗原结合位点。

[0047] 如本发明中所用,术语“抗原结合位点”是指包含与抗原的部分或全部特异性地结合并与其互补的区域的抗体部分。在抗原很大的情况下,抗体可能仅与抗原的特定部分结合,该部分被称为表位。抗原结合结构域可以通过一个或多个抗体可变结构域提供。优选

地,抗原结合结构域由抗体轻链可变结构域(VL)和抗体重链可变结构域(VH)的缔合构成。

[0048] 如本发明中所用,术语“抗原”是指能够被本发明的抗体结合的分子或分子的一部分。抗原可具有一个或多个表位。被本发明的抗体识别的抗原的例子包括但不限于血清蛋白,例如细胞因子(如IL-4、IL-5、IL-9和IL-13)、生物活性肽、细胞表面分子(例如受体)、转运蛋白、离子通道、病毒和细菌蛋白。

[0049] 如本发明中所用,术语“单特异性”意指本发明的多价抗体仅识别一种抗原,所有抗原结合位点是相同的。

[0050] 如本发明中所用,术语“双特异性”意指本发明的多价抗体识别相同抗原上或两种不同抗原上的两种不同表位。

[0051] 术语“双特异性抗体(BsAb)”是指在单一分子内合并两种抗体的抗原结合位点的分子。因此,双特异性抗体能够同时结合两种不同的抗原。除了用于诊断目的的应用外,BsAb还通过将有效的效应子系统重定向到患病区域或通过增加抗体的中和或刺激活性,为新的治疗应用铺平道路。

[0052] 人们一直有兴趣产生双特异性抗体(BsAb),其在单一分子内合并两种抗体的抗原结合位点。因此,这种分子将能够同时结合两种不同的抗原。除了用于诊断目的的应用外,它们还例如通过将有效的效应子系统重定向到患病区域(其中癌细胞常常发展出抑制单克隆抗体触发的正常免疫应答(像抗体依赖性细胞毒性(ADCC)或补体依赖性细胞毒性(CDC))的机制),或通过增加抗体的中和或刺激活性,为新的治疗应用铺平道路。最初出于治疗目的的偶联两种完整抗体针对不同靶抗原的结合特异性的尝试利用了化学融合的异缀合物分子(Staerz等人(1985),Nature 314:628-631)。

[0053] 双特异性抗体最初是通过融合两个杂交瘤制备的,每个杂交瘤都能够产生不同的免疫球蛋白(Milstein和Cuello,1983,1984),但是细胞培养中产生的物种的复杂性(多达十个不同物种)使得难以纯化且昂贵(George和Huston,1997)。尽管如上所引用使用由细胞融合物产生的异缀合物或双特异性抗体获得了有希望的结果,但若干个因素使它们对于大规模治疗应用不实用。此类因素包括:异缀合物在体内被快速清除,产生任一类型分子都需要实验室密集技术,需要从同缀合物或单特异性抗体中广泛纯化异缀合物,以及产量通常较低。

[0054] 人们越来越频繁地使用基因工程化来设计、修饰和产生具有所需的一组结合特性和效应子功能的抗体或抗体衍生物。已开发出多种重组方法来高效产生BsAb,所述BsAb作为抗体片段(Carter等人(1995),J.Hematotherapy 4:463-470;Pluckthun等人(1997) Immunotechnology 3:83-105;Todorovska等人(2001) J.Immunol.Methods 248:47-66)和全长IgG形式(Carter(2001) J.Immunol.Methods 248:7-15)两者。

[0055] Abbott在专利US7612181中描述了鼠类双重可变结构域IgG(DVD-IgG)双特异性抗体,其是基于Unilever专利(US5989830)中描述的双重Fv形式。在W02009/052081(TBTI)(其通过引用以其整体并入本文)中描述了人源化双特异性形式。将恒定结构域添加至双重Fv的对应链(将CHI-Fc添加至重链并且将 κ 或 λ 恒定结构域添加至轻链)导致功能性双特异性双重V区抗体样结合蛋白。

[0056] 如本发明中所用,术语“多特异性”意指本发明的多价抗体识别相同抗原上或多种不同抗原上的多种不同表位。

[0057] 如本发明中所用,术语“接头”是指适于连接本发明的抗体构建体的可变结构域的肽。肽接头可含有任何氨基酸,氨基酸甘氨酸(G)和丝氨酸(S)是优选。在重链多肽与轻链多肽之间以及在重链多肽和轻链多肽内,接头可以彼此相同或不同。此外,接头的长度可以为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个氨基酸。在一些实施方案中,用于重链结构域和用于轻链结构域的肽接头单元是GGGGS。重链和轻链的接头单元的数量可以彼此相等(对称顺序)或不同(不对称顺序)。在一些实施方案中,肽接头包含用于重链结构域和用于轻链结构域的两个单元(例如,GGGSGGGGS;SEQ ID NO:6)。

[0058] 肽接头优选足够长,以提供足够的柔性度以防止抗体部分例如因空间位阻而干扰彼此的活性,以允许适当的蛋白质折叠,并且(如果需要)以允许抗体分子与相同细胞上两种或更多种(可能间隔较宽)的受体相互作用;然而,所述肽接头优选足够短以允许抗体部分在细胞中保持稳定。因此,肽接头的长度、组成和/或构象可由本领域的技术人员轻易选择,以便优化多价抗体的所需特性。

[0059] 如与人抗体相比,非人(例如,鼠类)抗体的“人源化”形式是含有源自非人免疫球蛋白的序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段。通常,人源化抗体将包含一个(且通常两个)可变结构域的基本上全部,其中全部或基本上全部CDR区对应于非人免疫球蛋白的那些,并且全部或基本上全部FR区是人免疫球蛋白模板序列的那些。人源化抗体还可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc),通常是所选择的人免疫球蛋白模板的该免疫球蛋白恒定区的至少一部分。通常,目标是使抗体分子在人体内具有最低免疫原性。因此,可能也可以在基本上不使一个或多个CDR对IL-4和/或IL-13的特异性结合功能最小化的情况下,将一个或多个CDR中的一个或多个氨基酸改变为对人宿主免疫原性较低的氨基酸。可替代地,FR可以是非人的,但用免疫原性较低的氨基酸替代免疫原性最高的那些氨基酸。然而,如上所论述的CDR移植不是获得人源化抗体的唯一方式。例如,仅修饰CDR区可能是不够的,因为框架残基通常在决定CDR环的三维结构和抗体对其配体的总体亲和力中起作用。因此,可以实施任何手段以使得将非人亲本抗体分子修饰为对人具有较低免疫原性的抗体分子,并且与人抗体的全面序列同一性并非总是必需的。因此,人源化也可以通过例如仅取代几个残基,特别是暴露在抗体分子上且并非被掩埋在分子内,且因此宿主免疫系统不易接近的那些残基来实现。这种方法在本文中关于取代抗体分子上的“运动性”或“柔性”残基来传授,目标是在不损害抗体对其表位或决定簇的特异性的情况下减少或减弱所得分子的免疫原性。参见例如,Studnicka等人,Prot Eng 7(6)805-814,1994;Mol Imm 44:1986-1988,2007;Sims等人,J Immunol 151:2296(1993);Chothia等人,J Mol Biol 196:901(1987);Carter等人,Proc Natl Acad Sci USA 89:4285(1992);Presta等人,J Immunol 151:2623(1993);WO 2006/042333和美国专利号5,869,619。

[0060] 当关于IL-4和/或IL-13使用时,“抗体同源物”或“同源物”是指如本文所传授的特异性结合IL-4和/或IL-13的任何分子。因此,抗体同源物包括天然抗体或重组抗体(修饰的或未经修饰的)、保留目的生物学特性(如结合IL-4或IL-13)的抗体部分(如Fab或Fv分子)、单链抗体、携带一个或多个CDR区的多肽等。同源物的氨基酸序列不必与天然存在的抗体的氨基酸序列相同,而是可以经改变或修饰以携带取代的氨基酸、插入的氨基酸、缺失的氨基酸、除了通常在蛋白质中发现的二十种氨基酸以外的氨基酸等,以获得具有增强的特性或其他有益特性的多肽。

[0061] 具有同源序列的抗体是氨基酸序列与本发明的IL-4抗体、IL-13抗体或双特异性IL-4/IL-13抗体的氨基酸序列具有序列同源性的那些抗体。优选地, 同源性是与本发明抗体的可变区的氨基酸序列的同源性。应用于本文的氨基酸序列的“序列同源性”定义为一种序列与另一种氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同源性, 例如根据Pearson和Lipman, Proc Natl Acad Sci USA 85, 2444-2448 (1988) 通过FASTA搜索方法确定的。

[0062] 嵌合抗体是具有源自不同来源(如不同的抗体、不同抗体种类、不同的动物物种)的抗体的不同部分的抗体, 例如, 具有与人免疫球蛋白恒定区配对的源自鼠类单克隆抗体的可变区的抗体等。因此, 人源化抗体是一种嵌合抗体。用于产生嵌合抗体的方法是本领域中已知的, 参见例如, Morrison, 1985, Science 229:1202; Oi等人, 1986, BioTechniques 4: 214; Gillies等人, 1989, J Immunol Methods 125:191-202; 以及美国专利号5,807,715、4,816,567和4,816,397。

[0063] 在本发明的范围内还包括目的抗体的功能等同物。术语“功能等同物”包括具有同源序列的抗体、抗体同源物、嵌合抗体、人工抗体和经修饰的抗体, 例如, 其中每种功能等同物通过结合IL-4和/或IL-13、抑制IL-4和/或IL-13信号传导能力或功能、或抑制IL-4和/或IL-13与其受体的结合的能力来定义。技术人员将理解, 称为“抗体片段”的分子组与称为“功能等同物”的组存在重叠。产生保留IL-4和/或IL-13结合能力的功能等同物的方法对于本领域的技术人员是已知的并且例如披露于WO 93/21319、EPO序列号239,400、WO 89/09622、EPO序列号338,745和EPO序列号332,424中。

[0064] 本申请的功能等同物还包括经修饰的抗体, 例如通过将任何类型的分子共价附接至抗体来修饰的抗体。例如, 经修饰的抗体包括已例如通过以下方式修饰的抗体: 糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、脱酰胺化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/阻断基团衍生、蛋白水解裂解、连接到细胞配体、连接到毒素或细胞毒性部分或其他蛋白等。共价附接无需产生免于生成抗独特型反应的抗体。所述修饰可通过已知技术实现, 所述已知技术包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、代谢合成等。另外, 经修饰的抗体可含有一个或多个非经典氨基酸。

[0065] 如本文所用, “治疗”是用于获得有益或期望临床结果的方法。出于本发明的目的, 有益的或期望的临床结果包括但不限于以下: 缓解症状、减小疾病的程度、疾病状态稳定(例如不恶化)、防止疾病扩散(例如, 转移)、延迟或减缓疾病进展、改善或缓和疾病状态、以及缓解(无论是部分或是全部), 无论是可检测的还是不可检测的。“治疗”还可以意指与不接受治疗的情况下的预期存活期相比, 延长存活期。

[0066] 如本文所用, 术语“预防性治疗”是指这样的治疗, 其中已知或怀疑个体患有障碍或具有患上障碍的风险, 但尚未展示出所述障碍的症状或展示出所述障碍的最小症状。可以在症状发作之前治疗经历预防性治疗的个体。

[0067] “分离的”或“纯化的”抗体基本上不含来自衍生出所述蛋白质的细胞或组织来源或培养基的细胞材料或其他污染蛋白, 或当化学合成时, 基本上不含化学前体或其他化学品。例如, 语言“基本上不含细胞材料”包括抗体制剂, 其中所述多肽/蛋白质与分离出或重组产生所述多肽/蛋白质的细胞的细胞组分分开。因此, 基本上不含细胞材料的抗体包括具有少于约30%、20%、10%、5%、2.5%或1%(按干重计)污染蛋白的抗体制剂。当重组产生

抗体时,所述抗体也优选地基本上不含培养基,即培养基占蛋白制剂体积的少于约20%、10%、5%、2.5%或1%。当通过化学合成产生抗体时,所述抗体优选地基本上不含化学前体或其他化学品和试剂,即目的抗体与参与合成所述蛋白质的化学前体或其他化学品分开。相应地,此类抗体制剂具有少于约30%、20%、10%、5%或1% (按干重计) 的化学前体或除目的抗体之外的化合物。在本发明的一些实施方案中,抗体是分离的或纯化的。在一些实施方案中,本发明提供了包含抗IL-4/抗IL-13双特异性抗体的组合物,其中所述组合物中大于约95%、96%、97%、98%、99%中的任一值的多肽是抗IL-4/抗IL-13双特异性抗体。

[0068] 如本文所用,术语“治疗剂(therapeutic agent)”和“多种治疗剂(therapeutic agents)”是指可用于与异常IL-4和/或IL-13代谢和活性相关的疾病、障碍、病症等的治疗、管理或改善的任何一种或多种药剂。

[0069] 如本文所用,“剂量”是指可用于与异常IL-4和/或IL-13代谢和活性相关的疾病、障碍、病症等的治疗、管理或改善的任何一种或多种药剂的量。

[0070] 如本文所用,“安全剂量”是指可用于与异常IL-4和/或IL-13代谢和活性相关的疾病、障碍、病症等的治疗、管理或改善,同时维持临床可接受的益处/风险曲线的任何一种或多种药剂或任何一种或多种药剂的剂量。本文公开的双重V区抗体样结合蛋白或其片段的安全剂量选自10mg、20mg、40mg、50mg、80mg、100mg、150mg、200mg、和300mg。安全剂量的实施方案是约10mg至约300mg。安全剂量的另一实施方案是为200mg、约200mg、最高200mg、或不大于约200mg的任何剂量。在其他实施方案中,安全剂量是约50mg、或约100mg、或约200mg。在一些实施方案中,每周给予一次安全剂量。在一些实施方案中,每 7 ± 2 天(即,每5-9天)给予一次安全剂量。在一些实施方案中,每隔一周(即每两周)给予安全剂量。在一些实施方案中,皮下(SC)给予安全剂量。在一些实施方案中,在至少约24周的时段内皮下(SC)给予安全剂量。在一些实施方案中,每周给予一次200mg的双特异性抗体。在一些实施方案中,每 7 ± 2 天(即,每5-9天)给予一次200mg的双特异性抗体。在一些实施方案中,每隔一周(即每两周)给予200mg的双特异性抗体。在一些实施方案中,皮下给予(SC)200mg的双特异性抗体。在一些实施方案中,在至少约24周的时段内,每周皮下(SC)给予一次200mg的双特异性抗体。

[0071] 本文提及“约”一值或参数时包括(并描述)涉及该值或参数本身的实施方案。例如,提及“约X”的描述包括对“X”的描述。当与数值结合使用时,术语“约”意在涵盖如下范围内的数值,所述范围具有比所指示的数值小5%、10%或15%的下限,并且具有比所指示的数值大5%、10%或15%的上限,并且所述术语包括该指示的数值。

[0072] 抗IL4-抗IL13双特异性抗体

[0073] 在一些方面,本发明提供了用于通过给予结合IL-4和IL-13的双特异性抗体来治疗SSc的方法。在WO 2009/052081、WO 2012/125775、WO 2015/121318、WO 2014/177568和WO 2015/198146(所述专利各自通过引用以其整体并入本文)中报道了具有四个特异性结合IL-4和IL-13的结合位点的双特异性双重可变区(双重V区)抗体样结合蛋白。

[0074] 本发明的实施方案是用于使用双特异性抗体治疗SSc的方法,所述双特异性抗体已被工程化以包含特异性结合相同抗原上或两个不同抗原上的两个不同表位的双重V区抗体样蛋白或其片段。

[0075] 在一些实施方案中,双重V区抗体样结合分子的轻链可变区(VL)和重链可变区(VH)具有以下序列(CDR序列以粗体显示)。

- [0076] VL_{hB-B13}
DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD **SYGQSYMHWY** QQKAGQPPKL
- [0077] **LIYLASNLES** GVPARFSGSG SRTDFTLTID PVQAEDAATY YC**QQNAEDSR**
TFGGGTKLEI K (SEQ ID NO:1)
- [0078] VH_{hB-B13}
EVQLKESGPG LVAPGGSLSI TCTVSG**FSLT** **DSSINWVRQP** PGKGLEWLGM
- [0079] **IWGDGRIDYA** DALKSRLSIS KDSSKSQVFL EMTSLRTDDT ATYYCARD**GY**
FPYAMDFWQ GTSVTVSS (SEQ ID NO:2)
- [0080] VL_{hBD4-8}
DIQMTQSPAS LSVSVGDTIT LT**CHASQNID** **VWLSWFQQK** GNIPKLLIY**K**
- [0081] **ASNLHTGVPS** RFSGSGSGTG FTLTISSLQP EDIATYYC**QQ** **AHSYPFTFGG**
GTKLEIKR (SEQ ID NO:3)
- [0082] VH_{hBD4-8}
QVQLQQSGPE LVKPGASVKI SCKAS**GYSFT** **SYWIHWIKQR** PGQGLEWIGM
- [0083] **IDPSDGETRL** NQRFQGRATL TVDESTSTAY MQLRSPTSED SAVYY**CTRLK**
EYGNYSFYF **DVWGAGTLVT** VSSA (SEQ ID NO:4)
- [0084] 或
QVQLQQSGPE LVKPGASVKI SCKAS**GYSFT** **SYWIHWIKQR** PGQGLEWIGM
- [0085] **IDASDGETRL** NQRFQGRATL TVDESTSTAY MQLRSPTSED SAVYY**CTRLK**
EYGNYSFYF **DVWGAGTLVT** VSSA (SEQ ID NO:5)

[0086] 在一些方面,本发明提供了用于通过向受试者给予特异性结合IL-13和IL-4的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段来治疗SSc的方法,其中双特异性抗体或双特异性抗原结合抗体片段包含含有轻链可变结构域 VL_{hB-B13} 和轻链可变结构域 VL_{hBD4-8} 的轻链多肽;含有重链可变结构域 VH_{hB-B13} 和重链可变结构域 VH_{hBD4-8} 的重链多肽;其中:

[0087] VL_{hB-B13} 包含含有氨基酸序列RASESVDSYGQSYMH (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10)的三个CDR;

[0088] VL_{hBD4-8} 包含含有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG (SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16)的三个CDR;

[0089] VH_{hB-B13} 包含含有氨基酸序列GFSLTDSSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、和DGYFPYAMDF (SEQ ID NO:13)的三个CDR;并且

[0090] VH_{hBD4-8} 包含含有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18)和LKEYGNYSFYFDV (SEQ ID NO:19)或氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDASDGETR (SEQ ID NO:21)、和LKEYGNYSFYFDV (SEQ ID NO:19)的三个CDR。

[0091] 在一些实施方案中,本发明提供了用于通过向受试者给予特异性结合IL-13和IL-4的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段来治疗SSc的方法,其中双特异性抗体或双特异性抗原结合抗体片段包含含有轻链可变结构域 VL_{hB-B13} 和轻链可变结构域 VL_{hBD4-8} 的轻链多肽以及含有重链可变结构域 VH_{hB-B13} 和重链可变结构域 VH_{hBD4-8} 的重链多肽;其中:

[0092] VL_{hB-B13}包含含有氨基酸序列RASESVDSYGQSYM (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10)的CDR并且VL_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;

[0093] VL_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG (SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16)的CDR并且VL_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;

[0094] VH_{hB-B13}包含含有氨基酸序列GFSLTDSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、和DGYFPYAMDF (SEQ ID NO:13)的CDR并且VH_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;并且

[0095] VH_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18)、和LKEYGNYDSFYFDV (SEQ ID NO:19)的CDR并且VH_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列;或者

[0096] VH_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDASDGETR (SEQ ID NO:21)、和LKEYGNYDSFYFDV (SEQ ID NO:19)的CDR并且VH_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。

[0097] 在一些实施方案中,本发明提供了用于通过向受试者给予特异性结合IL-13和IL-4的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段来治疗SSc的方法,其中双特异性抗体或双特异性抗原结合抗体片段包含含有轻链可变结构域VL_{hB-B13}和轻链可变结构域VL_{hBD4-8}的轻链多肽以及含有重链可变结构域VH_{hB-B13}和重链可变结构域VH_{hBD4-8}的重链多肽;其中:

[0098] VL_{hB-B13}包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,

[0099] VL_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,

[0100] VH_{hB-B13}包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列,

[0101] VH_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的氨基酸序列。

[0102] 在上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的一些实施方案中,轻链多肽包含结构N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链多肽包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-C。在上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的一些实施方案中,轻链多肽包含结构N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且重链多肽包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-CH2-CH3-C。在一些实施方案中,接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0103] 在上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的一些实施方案中,轻链多肽包含以下序列:

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD SYGQSYMHWY QQKAGQPPKL
LIYLASNLES GVPARFSGSG SRTDFTLTID PVQAEDAATY YCQQNAEDSR
TFGGGTKLEI KGGGGSGGGG SDIQMTQSPA SLSVSVGDTI TLTCHASQNI

[0104] DVWLSWFQQK PGNIPKLLIY KASNLHTGVP SRFSGSGSGT GFTLTISLQ
PEDIATYYCQ QAHSYPFTFG GGTKLEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT
ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYLSSTL
TLISKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC (SEQ ID NO:22)

[0105] 在上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的一些实施方案中，重链多肽包含以下序列：

EVQLKESGPG LVAPGGSLSI TCTVSGFSLT DSSINWVRQP PGKGLEWLGM
 IWGDGRIDYA DALKSRLSIS KDSSKSQVFL EMTSLRTDDT ATYYCARDGY
 FPYAMDFWQ GTSVTVSSGG GSGGGGSQV QLQQSGPELV KPGASVKISC
 KASGYSFTSY WIHWIKQRPQ QGLEWIGMID PSDGETRLNQ RFQGRATLTV
 DESTSTAYMQ LRSPTSEDSA VYYCTRLKEY GNYDSFYFDV WGAGTLVTVS
 SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG
 [0106] VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDPKPKV SNTKVDKRVK
 SKYGPPCPPC PAPEFEGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQEQ
 DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY
 KCKVSNKGLP SSIIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV
 KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE
 GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLG (SEQ ID NO:23)

[0107] 在上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的一些实施方案中，轻链多肽包含结构N-VL_{hBD4-8}-接头-VL_{hB-B13}-CL-C并且重链多肽包含结构N-VH_{hBD4-8}-接头-VH_{hB-B13}-CH1-C。在上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的一些实施方案中，轻链多肽包含结构N-VL_{hBD4-8}-接头-VL_{hB-B13}-CL-C并且重链多肽包含结构N-VH_{hBD4-8}-接头-VH_{hB-B13}-CH1-CH2-CH3-C。在一些实施方案中，接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0108] 在上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的一些实施方案中，双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段包含两个轻链和两个重链。在一些实施方案中，双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段源自IgG4抗体。

[0109] 在一些实施方案中，本发明提供了用于通过向受试者给予特异性结合IL-13的抗体或其抗原结合抗体片段来治疗SSc的方法，其中所述抗体或其抗体片段包含含有具有氨基酸序列RASESVDSYGQSYM (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10)的CDR的轻链可变结构域和含有具有氨基酸序列GFSLTDSSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、和DGYFPYAMDF (SEQ ID NO:13)的CDR的重链可变结构域。在一些实施方案中，轻链可变结构域包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列并且重链可变结构域包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中，轻链可变结构域包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列并且重链可变结构域包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述抗体与上文所述的抗体或抗体片段竞争结合IL-13。在一些实施方案中，所述抗体与上文所述的抗体或抗体片段结合相同表位。在一些实施方案中，所述抗体为双特异性抗体或其双特异性抗体片段。在一些实施方案中，所述抗体特异性结合IL-13和IL-4。

[0110] 在一些实施方案中，本发明提供了用于通过向受试者给予特异性结合IL-4的抗体或其抗原结合片段来治疗SSc的方法，其中所述抗体或其抗体片段包含含有具有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG (SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16)

的CDR的轻链可变结构域和含有具有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18)和LKEYGNYDSFYFDV (SEQ ID NO:19)或氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDASDGETR (SEQ ID NO:21)、和LKEYGNYDSFYFDV (SEQ ID NO:19)的CDR的重链可变结构域。在一些实施方案中,轻链可变结构域包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列并且重链可变结构域包含与SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,轻链可变结构域包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列并且重链可变结构域包含SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:5的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体与上文所述的抗体或抗体片段竞争结合IL-4。在一些实施方案中,所述抗体与上文所述的抗体或抗体片段结合相同表位。在一些实施方案中,所述抗体为双特异性抗体或其双特异性抗体片段。在一些实施方案中,所述抗体特异性结合IL-4和IL-13。

[0111] 在上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的一些实施方案中,所述双特异性抗体或双特异性抗原结合抗体片段与上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段竞争结合IL-13和/或IL-4。在上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的一些实施方案中,所述双特异性抗体或双特异性抗原结合抗体片段与上文所述的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段结合相同表位。

[0112] 在一些方面,本发明提供了用于通过向受试者给予药物组合物来治疗SSc的方法,所述药物组合物包含如上所述的特异性结合IL-13和IL-4的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段。在一些实施方案中,所述药物组合物包含如上所述的特异性结合IL-13和IL-4的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段和药学上可接受的载体。

[0113] 在一些方面,本发明提供了用于治疗SSc的组合物,其中所述组合物包含如上所述的特异性结合IL-13和IL-4的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段。在一些实施方案中,所述组合物被配制以向受试者提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量。在一些实施方案中,所述组合物被配制以向受试者提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每周一次。在一些实施方案中,所述组合物被配制以向受试者提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每隔一周一次。在一些实施方案中,所述组合物被配制以向受试者提供200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每7天±2天一次。在一些实施方案中,所述组合物被配制以向受试者提供200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每5-9天一次。在一些实施方案中,所述组合物被配制以向受试者提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每周一次。在一些实施方案中,所述组合物被配制以向受试者皮下提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每周一次,持续至少约24周。

[0114] 在一些实施方案中,本发明提供了如上所述的特异性结合IL-13和IL-4的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段在制造用于治疗受试者的SSc的药物中的用途。在一些实施方案中,所述组合物被配制以向受试者提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量。在一些实施方案中,所述药物被配制以向受试者提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每周一次。在一些实施方案中,所述药物被配制以向受试者提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每隔一周一次。在一些实施方案中,所述药物被配制以向受试者提供约200mg的双特

异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每隔一周一次。在一些实施方案中,所述药物被配制以向受试者提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每周一次,持续至少约24周。在一些实施方案中,所述药物被配制以向受试者提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每周一次。在一些实施方案中,所述药物被配制以向受试者皮下提供约200mg的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的剂量,每周一次,持续至少约24周。

[0115] 在一些实施方案中,本发明提供了用于通过向患有SSc的受试者给予包含特异性结合IL-13和IL-4的双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段的huTBTI3_2_1或SAR156597或罗密基单抗(RKB)来治疗SSc的方法,所述双特异性抗体或其双特异性抗原结合抗体片段包含(a)含有两个可变轻链结构域的轻链多肽,其中一个可变轻链结构域包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列并且一个可变轻链结构域包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;(b)含有两个可变重链结构域的重链多肽,其中一个可变重链结构域包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列并且一个可变重链结构域包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;(c)将SEQ ID NO:1连接至SEQ ID NO:3的肽接头、和将SEQ ID NO:2连接至SEQ ID NO:4的肽接头,其中肽接头具有由SEQ ID NO:6组成的氨基酸序列;以及(d)恒定区结构域。

[0116] 为了延长抗体在体内的血清循环,可以使用各种技术。例如,可使用或不使用多功能接头,通过PEG与抗体N末端或与抗体C末端的位点特异性缀合,或经由赖氨酸残基上存在的 ϵ 氨基,将惰性聚合分子如高分子量聚乙二醇(PEG)附接到抗体上。可以使用导致生物活性损失最小的线性或分支聚合物衍生。可通过SDS-PAGE和质谱密切监测缀合的程度,以确保PEG分子与抗体的正确缀合。可通过尺寸排阻或通过离子交换色谱法将未反应PEG与抗体-PEG缀合物分离。可使用本领域技术人员已知的方法,例如通过本文描述的免疫测定法测试PEG衍生抗体的结合活性以及体内功效。

[0117] 具有增加的体内半衰期的抗体也可通过将个或多个氨基酸修饰(即取代、插入或缺失)引入IgG恒定结构域或其FCR结合片段(如Fc或铰链Fc结构域片段)中来产生,参见例如,WO 98/23289;WO 97/34631;以及美国专利号6,277,375。

[0118] 此外,抗体可缀合到白蛋白上,以使抗体在体内更稳定或具有更长的体内半衰期。所述技术是本领域已知的,参见例如,WO 93/15199、WO 93/15200和WO 01/77137;和EPO 413,622。抗体也可例如通过以下方式来修饰:糖基化、乙酰化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/阻断基团衍生、蛋白水解裂解、连接到细胞配体或其他蛋白等。

[0119] 本发明的抗体还可以根据与IL-4和/或IL-13的结合亲和力来描述或指定。抗IL-4和/或抗IL-13抗体可以小于约 10^{-7} M、小于约 10^{-6} M、或小于约 10^{-5} M的 K_D 结合。目的抗体中更高的结合亲和力可以是有益的,如具有约 10^{-8} 至约 10^{-15} M、约 10^{-8} 至约 10^{-12} M、约 10^{-9} 至约 10^{-11} M、或约 10^{-8} 至约 10^{-10} M的平衡解离常数或 K_D 的那些。本发明还提供了竞争性地抑制抗体与本发明的表位的结合的抗体,如通过本领域中已知的用于确定竞争性结合的任何方法(例如本文所述的免疫测定)所确定的。在优选的实施方案中,所述抗体将与所述表位的结合竞争性抑制至少约95%、至少约90%、至少约85%、至少约80%、至少约75%、至少约70%、至少约60%或至少约50%。

[0120] 本发明的抗体可以与一种或多种另外的治疗剂或活性剂一起给予和/或配制。当配体与另外的治疗剂一起给予时,配体可以在另外的药剂的给予之前、与其同时或在其之

后给予。一般来讲,所述配体和另外的药剂以提供治疗效果重叠的方式给予。可以与本发明的配体一起给予或配制的另外的药剂包括,例如,各种免疫治疗药物,如环孢霉素、甲氨蝶呤、阿霉素或顺铂、抗生素、抗真菌药、抗病毒剂和免疫毒素。例如,当给予拮抗剂以预防、抑制或治疗肺部炎症或呼吸系统疾病(例如哮喘)时,可以将它与以下联合给予:磷酸二酯酶抑制剂(例如磷酸二酯酶4的抑制剂)、支气管扩张剂(例如 β_2 -激动剂、抗胆碱能药、茶碱)、短效 β -激动剂(例如沙丁胺醇(albuterol)、柳丁氨醇(salbutamol)、班布特罗、非诺特罗(fenoterol)、异醚胺(isoetherine)、异丙肾上腺素、左旋阿布特罗(levambuterol)、奥西那林(metaproterenol)、吡布特罗(pirbuterol)、特布他林(terbutaline)和托恩莱特(tornlate))、长效 β 激动剂(例如福莫特罗和沙美特罗)、短效抗胆碱能药(例如异丙托溴铵和氧托溴铵)、长效抗胆碱能药(例如噻托溴铵)、茶碱(例如短效配制品、长效配制品)、吸入式类固醇(例如倍氯米松(beclomethasone)、倍氯米松(beclometasone)、布地奈德、氟尼缩松、丙酸氟替卡松和曲安西龙)、口服类固醇(例如甲泼尼龙、泼尼松龙(prednisolone)、泼尼松龙(prednisolon)和泼尼松)、短效 β 激动剂与抗胆碱能药组合(例如沙丁胺醇/柳丁氨醇/异丙托铵以及非诺特罗/异丙托铵)、长效 β 激动剂与吸入式类固醇组合(例如沙美特罗/氟替卡松以及福莫特罗(formoterol)/布地奈德),以及溶粘蛋白剂(例如厄多司坦、乙酰半胱氨酸、布罗克新(bromhexin)、卡波赛新(carbocysteine)、桂亚芬新(guiafencsin)和碘化甘油)。

[0121] 可以与本发明的抗体一起给予以预防、抑制或治疗哮喘(例如,过敏性哮喘)的其他合适的共治疗剂包括皮质类固醇(例如倍氯米松、布地奈德、氟替卡松)、色昔酸盐、奈多罗米、 β 激动剂(例如柳丁氨醇、特布他林、班布特罗、非诺特罗、茶丙特罗、特布特罗(tolubuterol)、沙美特罗、福莫特罗(fomtero))、扎鲁司特、沙美特罗、泼尼松、泼尼松龙、茶碱、齐留通(zileuton)、孟鲁司特以及白三稀改性剂。可以将本发明的配体与适合于治疗疾病(例如SSc、Th-2介导的疾病、YL-A介导的疾病、IL-13介导的疾病和IL-4介导的疾病)的多种共治疗剂(包括细胞因子、止痛药/退烧药、止吐药和化学治疗药)共同给予。

[0122] 如本领域中已知或如本文所述的,本发明的抗体可以药学上可接受的组合物形式提供。术语“生理上可接受的”、“药理学上可接受的”等意指由联邦政府或州政府的监管机构批准的或在美国药典或其他普遍认可的药典中列出的用于在动物体内、更特别地在人体内使用。

[0123] 双特异性抗IL-4/IL-13抗体可以任何可接受的方式给予至哺乳动物并且特别是人以治疗SSc。引入方法包括但不限于肠胃外、皮下、腹膜内、肺内、鼻内、硬膜外、吸入和口服途径;并且如果需要免疫抑制治疗,则病灶内给予。肠胃外输注包括肌内、皮内、静脉内、动脉内或腹膜内给予。所述抗体或组合物可以通过任何方便的途径给予,例如通过输注或推注,通过经上皮或粘膜内层(例如,口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收,并且可以与其他生物活性剂一起给予。给予可以是全身或局部的。此外,可能希望通过任何适合途径(包括脑室内和鞘内注射)将本发明的治疗性抗体或组合物引入中枢神经系统中;可以通过例如附接至贮存器(如Ommaya贮存器)的脑室内导管来促进脑室内注射。此外,所述抗体通过脉冲输注,尤其是以递减的抗体剂量以合适的方式来给予。在一些实施方案中,向人受试者皮下给予所述双特异性抗IL-4/IL-13抗体。

[0124] 可以将多肽或抗体的治疗性配制品制备成冻干配制品或水溶液以供储存,通过混

合具有所需纯度的多肽与本领域中通常采用的任选的“药学上可接受的”载体、稀释剂、赋形剂或稳定剂(即缓冲剂、稳定剂、防腐剂、等渗剂、非离子型洗涤剂、抗氧化剂以及其他多种添加剂)来制备,参见Remington's Pharmaceutical Sciences,第16版,Osol编(1980)。此类添加剂在所用剂量和浓度下对接受者通常都没有毒性,因此,赋形剂、稀释剂、载体等是药学上可接受的。

[0125] 结合IL-4和IL-13的双V区双特异性抗体样分子的配制品的例子提供于WO 2014/177568(其通过引用以其整体并入本文)中。令人惊讶地发现高度稳定的抗IL-4/抗IL-13双特异性抗体配制品呈包含抗IL-4/抗IL-13双特异性抗体和缓冲体系的液体和冻干粉剂的形式,其中配制品的pH为约pH 7,并且其中配制品具有低盐浓度以便降低配制品的离子强度。配制品可以任选地进一步包含非离子表面活性剂、糖和/或非离子稳定剂。这些配制品改进了常规配制品,所述常规配制品常常在增加配制品中的抗体浓度时导致抗体发生分子聚集(HMW),并导致形成可见和不可见的颗粒。具体地,本发明的配制品就可见颗粒、不可见颗粒、低分子量蛋白和高分子量蛋白而言展现出良好的稳定性。

[0126] 在一些实施方案中,本发明提供了稳定的抗体配制品,其包含:含有式VL1-接头-VL2的轻链和式VH1-接头-VH2的重链的双特异性抗IL-4/抗IL-13抗体或其抗原结合片段,其中VL1和VH1形成IL-13抗原结合结构域且VL2和VH2形成IL-4抗原结合结构域;和适于将所述配制品的pH维持在约pH 7的缓冲体系;并且其中所述配制品具有低盐浓度以便降低所述配制品的离子强度。在一些实施方案中,VL1包含SEQ ID NO:1的三个CDR序列;VH1包含SEQ ID NO:2的三个CDR序列;VL2包含SEQ ID NO:3的三个CDR序列;并且VH2包含SEQ ID NO:4或5的CDR序列。在替代性具体实施方案中,VL1包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列;VH1包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列;VL2包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;并且VH2包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述轻链包含式N-VL1-接头-VL2-CL,其中CL是抗体的轻链恒定结构域,并且其中所述重链包含式N-VH1-接头-VH2-CH1-CH2-CH3,其中CH2-CH3对应于抗体的Fc结构域。在具体的实施方案中,所述接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段进一步包含恒定区结构域。在一些实施方案中,所述恒定区结构域选自CHI、CH2、CH3、和CL。在一些实施方案中,所述双特异性抗体或其抗原结合片段是人源化IgG4双特异性抗体或其抗原结合片段。

[0127] 在一些实施方案中,上文所述的任一种配制品中的抗体或其抗原结合片段的浓度为约100mg/mL。

[0128] 在本发明的一些实施方案中,上文所述的任一种配制品中的缓冲体系包含至少两种缓冲剂。在具体的实施方案中,所述缓冲体系浓度为约10mM。在具体的实施方案中,所述缓冲体系包含Tris缓冲剂和磷酸盐缓冲剂。在具体的实施方案中,所述Tris缓冲液浓度为约3.7mM。在具体的实施方案中,所述磷酸盐缓冲液浓度为约6.3mM。在具体的实施方案中,所述Tris缓冲液浓度为约3.7mM并且所述磷酸盐缓冲液浓度为约6.3mM。

[0129] 在本发明的一些实施方案中,上文所述的任一种配制品进一步包含非离子表面活性剂。在具体的实施方案中,非离子表面活性剂浓度为约0.05%至约0.2%(w/v)。在具体的实施方案中,所述非离子表面活性剂是聚山梨醇酯。在具体的实施方案中,所述聚山梨醇酯是聚山梨醇酯80。在具体的实施方案中,聚山梨醇酯80浓度为约0.05%至约0.2%(w/v)。在具体的实施方案中,聚山梨醇酯80浓度为约0.2%(w/v)。

[0130] 在本发明的一些实施方案中,上文所述的任一种配制品进一步包含糖。在具体的实施方案中,糖浓度为约5% (w/v)。在具体的实施方案中,所述糖是二糖。在具体的实施方案中,所述二糖是蔗糖。在具体的实施方案中,蔗糖浓度为约5% (w/v)。

[0131] 在本发明的一些实施方案中,所述配制品进一步包含非离子稳定剂。在具体的实施方案中,非离子稳定剂浓度为约1%至约3% (w/v)。在具体的实施方案中,所述非离子稳定剂是氨基酸或糖。在具体的实施方案中,所述氨基酸是脯氨酸。在具体的实施方案中,所述糖是甘露糖醇。在具体的实施方案中,脯氨酸浓度为约1%至约3% (w/v)。在具体的实施方案中,脯氨酸浓度为约3% (w/v)。在具体的实施方案中,甘露糖醇浓度为约3% (w/v)。

[0132] 在本发明的一些实施方案中,所述配制品是冻干配制品。在本发明的一些实施方案中,所述配制品是重构的冻干配制品。

[0133] 在本发明的一些实施方案中,所述配制品就可见颗粒、不可见颗粒、低分子量蛋白和高分子量蛋白而言展现出良好的稳定性。

[0134] 本发明的一个实施方案提供了治疗受试者的SSc的方法,所述方法包括给予双特异性抗IL-4/抗IL-13抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是在稳定的抗体配制品中,所述抗体配制品包含:约100mg/mL的双特异性抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含重链多肽和轻链多肽,所述重链多肽包含含有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的可变区和含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的可变区,所述轻链多肽包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的可变区和含有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的可变区;约10mM的缓冲体系,其中所述缓冲体系包含浓度为约3.7mM的Tris缓冲剂和浓度为约6.3mM的磷酸盐缓冲剂;约0.2% (w/v) 聚山梨醇酯80;约5% (w/v) 蔗糖;和约3% (w/v) 脯氨酸;其中所述配制品的pH为约pH 7。

[0135] 本发明的一个实施方案提供了治疗受试者的SSc的方法,所述方法包括给予双特异性抗IL-4/抗IL-13抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是在稳定的冻干抗体配制品中,所述冻干抗体配制品包含:约100mg/mL的如本文所述的双特异性抗体或其抗原结合片段;约10mM的缓冲体系,其中所述缓冲体系包含浓度为约3.7mM的Tris缓冲剂和浓度为约6.3mM的磷酸盐缓冲剂;约0.2% (w/v) 聚山梨醇酯80;约5% (w/v) 蔗糖;和约3% (w/v) 甘露糖醇;其中所述配制品的pH为约pH 7。

[0136] 在一些实施方案中,本发明的抗体可以与各种效应分子(如异源多肽、药物、放射性核苷酸或毒素)缀合,参见例如,WO 92/08495;WO 91/14438;WO 89/12624;美国专利号5,314,995;和EPO 396,387。抗体或其片段可以与治疗性部分如细胞毒素(例如细胞抑制剂或杀细胞剂)、治疗剂或放射性金属离子(例如 α 发射体例如像²¹³Bi)缀合。细胞毒素或细胞毒性剂包括对细胞有害的任何药剂。例子包括紫杉醇、细胞松弛素B、短杆菌肽D、溴化乙锭、依米丁、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷、长春新碱、长春碱、秋水仙碱、多柔比星、柔红霉素、二羟基蒽二酮(dihydroxy anthracindione)、米托蒽醌、光辉霉素、放线菌素D、1-脱氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔和嘌呤霉素及其类似物或同系物。治疗剂包括但不限于抗代谢物(例如,甲氨蝶呤、6-巯嘌呤、6-巯鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶和氨烯咪胺)、烷基化剂(例如,氮芥、苯丁酸氮芥、美法仑(melphalan)、卡莫司汀(carmustine)(BSNU)和洛莫司汀(lomustine)(CCNU)、环磷酰胺、白消安(busulfan)、二溴甘露醇、链脲霉素、丝裂霉素C和顺式-二氯二胺合铂(II)(DDP)顺铂)、蒽环类抗生素(例如,

柔红霉素、道诺霉素和多柔比星)、抗生素(例如,放线菌素D、放线菌素、博来霉素、光辉霉素和安曲霉素(AMC))和抗有丝分裂剂(例如,长春新碱和长春碱)。

[0137] 使这种治疗性部分与抗体缀合的技术是熟知的,参见例如Arnon等人, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*; Reisfeld等人(编), 第243-56页 Alan R. Liss (1985); Hellstrom等人, *Controlled Drug Delivery*, 第2版; Robinson等人编, 第623-53页, Marcel Dekker (1987); Thorpe, *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*; Pinchera等人编, 第475-506页 (1985); *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection and Therapy*, Baldwin等人编, 第303-16页, Academic Press (1985); 以及Thorpe等人, *Immunol Rev* 62:119 (1982)。可替代地, 抗体可以与第二抗体缀合, 以形成抗体异缀合物, 如双功能抗体, 参见例如美国专利号4,676,980。

[0138] 本发明的缀合物可用于改良给定的生物反应, 认为治疗剂或药物部分不限于经典化学治疗剂。例如, 药物部分可以是具有所需生物活性的蛋白质或多肽。此类蛋白质可以包括, 例如毒素, 如相思豆毒蛋白、蓖麻毒蛋白A、假单胞菌外毒素, 或白喉毒素; 蛋白质, 如肿瘤坏死因子、 α -干扰素、 β -干扰素、神经生长因子、源自血小板的生长因子、组织纤溶酶原激活剂; 凋亡剂, 例如TNF- α 、TNF- β 、AIM I (WO 97/33899)、AIM II (WO 97/34911)、Fas配体 (Takahashi等人, *Int Immunol*, 6:1567 (1994))、VEGF (WO 99/23105); 血栓形成剂; 抗血管生成剂, 例如血管他丁或内皮他丁; 或生物反应改良剂, 例如像淋巴因子、白介素-1 (IL-1)、白介素-2 (IL-2)、白介素-6 (IL-6)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (GCSF) 或其他生长因子。

[0139] 用于体内给予的配制品必须是无菌的。这可以例如通过经无菌滤膜过滤来实现。例如, 本发明的液体配制品可通过使用0.2 μ m或0.22 μ m过滤器过滤而灭菌。

[0140] 治疗方法

[0141] 在一些方面, 本发明提供了用于在患有SSc的人受试者中治疗SSc的方法, 所述方法包括向所述受试者皮下给予约200mg的如本文所述的特异性结合IL-4和IL-13的双重V区双特异性抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中, 所述SSc是弥漫性皮肤系统性硬化症(dcSSc)。在一些实施方案中, 所述SSc是局限性皮肤系统性硬化症(lcSSc)。在一些实施方案中, 向所述受试者给予约200mg的所述双特异性抗体, 约每周一次或约每5至9天一次。在一些实施方案中, 每7 \pm 2天(即, 每5-9天)给予一次所述双特异性抗体。在一些实施方案中, 每隔一周(即每两周)给予所述双特异性抗体。在一些实施方案中, 皮下给予(SC)所述双特异性抗体。在一些实施方案中, 在至少约24周的时段内皮下(SC)给予所述双特异性抗体。

[0142] 在一些实施方案中, 所述双特异性抗体是在药物配制品中。在一些实施方案中, 所述药物配制品包含约100mg/ml双特异性抗体、约6.3mM磷酸二氢钠、约37mM Tris、约5% (w/v) 蔗糖、约3% (w/v) 脯氨酸、和约0.2% (w/v) 聚山梨醇酯80, 其中所述配制品的pH为约7.0。在一些实施方案中, 所述配制品由冻干配制品重构。

[0143] 在本文所述的任一种治疗方法的一些实施方案中, 所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含含有轻链可变结构域VL_{hB-B13}和轻链可变结构域VL_{hBD4-8}的轻链多肽, 和含有重链可变结构域VH_{hB-B13}和重链可变结构域VH_{hBD4-8}的重链多肽; 其中: VL_{hB-B13}包含含有氨基酸序列RASESVDSYGQSYM (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10) 的三个CDR; VL_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG

(SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16) 的三个CDR, VH_{hB-B13} 包含含有氨基酸序列 GFSLTDSSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、和DGYFPYAMDF (SEQ ID NO:13) 的三个CDR, VH_{hBD4-8} 包含含有氨基酸序列 GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18) 和LKEYGNYDSFYFDV (SEQ ID NO:19) 的三个CDR。在一些实施方案中, VL_{hB-B13} 包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列, VL_{hBD4-8} 包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列, VH_{hB-B13} 包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列, VH_{hBD4-8} 包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中, VL_{hB-B13} 包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列, VL_{hBD4-8} 包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列, VH_{hB-B13} 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列; VH_{hBD4-8} 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一些实施方案中, 所述轻链多肽包含结构 $N-VL_{hB-B13}$ -接头- VL_{hBD4-8} -CL-C 并且所述重链多肽包含结构 $N-VH_{hB-B13}$ -接头- VH_{hBD4-8} -CH1-C。在一些实施方案中, 所述轻链包含结构 $N-VL_{hB-B13}$ -接头- VL_{hBD4-8} -CL-C 并且所述重链包含结构 $N-VH_{hB-B13}$ -接头- VH_{hBD4-8} -CH1-CH2-CH3-C。在一些实施方案中, 所述接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。在一些实施方案中, 所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含两个相同的轻链多肽和两个相同的重链多肽。在一些实施方案中, 所述轻链多肽包含具有与SEQ ID NO:22的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列并且所述重链多肽包含具有与SEQ ID NO:23的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中, 所述轻链多肽包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列并且所述重链多肽包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列。在一些实施方案中, 所述抗IL4/抗IL13双特异性抗体是RKB。

[0144] 在一些实施方案中, 如本文所述的用特异性抗体或其双特异性抗体片段治疗硬皮病的方法与背景疗法累加。

[0145] 在一些方面, 本发明提供了在患有SSc的人受试者中减少硬化斑块的方法, 所述方法包括向所述受试者给予有效量的抗IL4/抗-IL13双特异性抗体; 其中在初始给予所述双特异性抗体后约4、8、12、24、36、48周或大于48周中的任一者时, 与基线相比, 所述硬化斑块减少至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%。在一些实施方案中, 在初始给予所述双特异性抗体后约24周时, 与基线相比, 所述硬化斑块减少至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%。在一些实施方案中, 在初始给予所述双特异性抗体后约12周时, 与基线相比, 所述硬化斑块减少至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%。在一些实施方案中, 在初始给予所述双特异性抗体后约8周时, 与基线相比, 所述硬化斑块减少至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%。在一些实施方案中, 在初始给予所述双特异性抗体后约4周时, 与基线相比, 所述硬化斑块减少至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%。在一些实施方案中, 所述基线是在所述双特异性抗体的治疗给予之前对于患有SSc的人受试者确定的。在一些实施方案中, 所述基线是未患有SSc的人受试者中的水平。在一些实施方案中, 一部分的所述经治疗的患有SSC的人受试者在初始给予所述双特异性抗体后约4、8、12、24、36、48周或大于48周中的任一者时与基线相比具有至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%的改善的改良Rodnan皮肤得分 (mRSS)。在一些实施方案中, 一部分的所述经治疗的患有SSC的人受试者在初始给予所述双特异性抗体后约24周时与基线相比具有至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%的改善的mRSS。在一些实施方案中, 一部分的所述经治疗

的患有SSC的人受试者在初始给予所述双特异性抗体后约12周时与基线相比具有至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%的改善的mRSS。在一些实施方案中，一部分的所述经治疗的患有SSC的人受试者在初始给予所述双特异性抗体后约8周时与基线相比具有至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%的改善的mRSS。在一些实施方案中，一部分的所述经治疗的患有SSC的人受试者在初始给予所述双特异性抗体后约4周时与基线相比具有至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%的改善的mRSS。mRSS通过在身体的17个区域(手指、手、前臂、手臂、脚、腿和大腿、脸、胸部和腹部)中触诊皮肤来进行,使用0-3量表,其中0=正常,1=轻度厚度,2=中度厚度并且3=重度厚度。皮肤总得分范围可以为从0(无增厚)至51(在所有17个区域中均重度增厚)。

[0146] 在一些实施方案中,本发明提供了用于在患有硬皮病的人受试者中改善健康评估问卷失能指数(HAQ-DI)的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的抗IL4/抗-IL13双特异性抗体;其中在初始给予所述双特异性抗体后约4、8、12、24、36、45周或大于45周中的任一者时,与基线相比,HAQ-DI的改善得到改善。在一些实施方案中,通过硬皮病健康评估问卷(SHAQ)来测量HAQ-DI。患者在基线时和治疗期间完成SHAQ,其包括用于测量功能失能的标准HAQ-DI和5项SSc专用VAS评估。SHAQ是SSc患者的标准、经验证且公认的健康评估问卷,用于评估与皮肤和系统性纤维化相关的身体/功能失能。

[0147] HAQ-DI含有8个活动领域(穿衣、站起、进食、行走、卫生、伸手、抓握和普通日常活动),每个领域具有至少有2个问题,共20个项目。对于每个项目,患者报告执行活动所经历的困难程度。每个项目有4种可能的响应,范围为从0(无困难)到3(不能进行)。对于HAQ-DI中包含的8个领域中的每个领域,得分是领域内得分最高的单一响应。如果使用了辅助或装置,并且如果最高得分是0或1,则将得分提高到2;如果最高得分是2或3,则得分保持原样。然后将HAQ-DI综合得分计算为8个领域的得分的平均值。如果缺失1个或2个领域,则通过将领域之和除以已回答领域的数量来获得HAQ-DI综合得分。如果缺失三个或更多个领域,则缺失HAQ-DI综合得分。报告综合得分,其落入顺序量表上的0与3之间。将得分解释为0(无功能损伤)至3(最大功能损伤)。

[0148] HAQ-DI还含有患者用于报告在过去一周中所经历的疼痛程度的VAS。VAS是一条10cm的线,将其转换为从0至3的连续量表,其中1cm等同于0.3分。VAS的锚点为0(无疼痛)至100(非常重度的疼痛)。为了获得患者得分,使用米尺来测量从左锚点到患者标记的距离(以厘米计),然后乘以0.3。VAS疼痛得分未纳入HAQ-DI综合得分。

[0149] 在一些实施方案中,本发明提供了在患有SSc的人受试者中改善呼吸功能的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的抗IL4/抗-IL13双特异性抗体;其中通过在初始给予所述双特异性抗体后约4、8、12、24、36、48周或超过48周时与基线相比的用力肺活量(FVC)预测值和/或一氧化碳肺弥散量(DLco)预测值测量呼吸功能的改善。在一些实施方案中,所述基线是在所述双特异性抗体的治疗给予之前对于患有SSc的人受试者确定的。在一些实施方案中,所述基线是未患有SSc的人受试者中的水平。

[0150] 肺功能测试是次要终点,其评估呼吸功能自基线至采样时间的变化,所述变化如通过FVC实测值和DLco实测值(针对血红蛋白校正)测量的。评估FVC和DLco自基线至采样时间的实测值绝对变化和预测值%变化。除非在测量过程中自动校正,否则DLco针对血红蛋白的手动校正是基于以下公式:1)对于男性患者: $DLco_{\text{实测值}} / (\text{因子})$, 其中因子 = $(1.7 \times Hb) /$

($10.22+Hb$) ; 2) 对于女性患者: $DLco_{\text{实测值/因子}}$, 其中因子 = $(1.7 \times Hb) / (9.38 + Hb)$ 。Hb是指血红蛋白, 并且所述值取自进行DLco的同一次访视。

[0151] 在一些实施方案中, 本发明提供了用于在患有SSc的人受试者中减少疼痛、改善血管功能、改善胃肠功能、减少雷诺现象和/或减少指端溃疡的方法, 所述方法包括向所述受试者给予有效量的抗IL4/抗IL13双特异性抗体。

[0152] 在一些实施方案中, 改善胃肠功能是通过在初始给予所述双特异性抗体后约4、8、12、24、36、48周或大于48周中的任一者时与基线相比的UCLA硬皮病临床试验协会胃肠道2.0得分来测量。在一些实施方案中, 在初始给予所述双特异性抗体后约24周时的UCLA硬皮病临床试验协会胃肠道2.0得分与基线相比得到改善。UCLA SCTC GIT 2.0工具是经验证的自我报告问卷, 用于评估SSc患者中与胃肠功能有关的生活质量(QOL) (Khanna D. 等人, *Arthritis Rheum.* 2009, 61:1257-63)。它采用7项式多项量表, 其具有反流、腹胀/胃气胀、腹泻、大便失禁(fecal soilage)、便秘、情绪健康和社交功能的领域。

[0153] 在一些实施方案中, 减轻疼痛是通过在初始给予所述双特异性抗体后约24周时关节压痛数28 (TJC28) 的变化来测量的。TJC28是基于28个关键关节的检查对整体关节疼痛的评估。它是评估一般关节疼痛的可靠且经验证的方法。作为评估的部分的28个关节包括: 肩(2个关节)、肘(2个关节)、腕(2个关节)、掌指(10个关节)、近端指间(10个关节)和膝(2个关节)。

[0154] 在一些实施方案中, 减轻指端溃疡通过在初始给予所述双特异性抗体后约4、8、12、24、36、48或大于48周中的任一者时的指端溃疡的数量来测量。在一些实施方案中, 减轻指端溃疡通过在初始给予所述双特异性抗体后约2448周时的指端溃疡的数量来测量。指端溃疡计数捕获指尖上继发于SSc(而非继发于局部创伤或损伤)的活动性疮口(或指端溃疡)的数量。在一些实施方案中, 不包括与钙质沉着有关的裂口、裂隙或甚至皮肤破裂。

[0155] 在一些实施方案中, 本发明提供了用于在患有SSc的人受试者中改善弥漫性皮肤系统性硬化症(CRISS)的综合反应指数的方法, 所述方法包括向所述受试者给予有效量的抗IL4/抗-IL13双特异性抗体; 其中在初始给予所述双特异性抗体后约4、8、12、24、36、48周或大于48周中的任一者时, 与基线相比, CRISS的改善得到改善。在一些实施方案中, 在初始给予所述双特异性抗体后约24周时, 与基线相比, CRISS的改善得到改善。CRISS工具使用单一综合得分总结了临床和患者报告结果的变化, 所述综合得分反映了dcSSc患者得到改善的概率(Khanna D. 等人, *Arthritis Care Res. (Hoboken)* 2016, 68(2):167-78)。对于dcSSc的有效治疗剂, CRISS能够总结出, 相对于无效药剂或背景, 用抗IL4/抗IL13双特异性抗体(例如RKB)治疗的受试者的改善概率更高。CRISS是如下所述的2步式过程。

[0156] 步骤1: 发展新的或恶化的由于SSc所致的心肺和/或肾受累的患者被认为没有改善(与其他核心项目的改善无关), 并且被分配为改善概率等于0.0。具体地, 如果受试者发展以下中的任一种: 新的硬皮病肾危象; FVC预测值%的下降 $\geq 15\%$ (相对), 通过一个月内的另一FVC%所确认, 高分辨率计算机断层摄影术(HRCT)确认ILD(如果胸部的先前HRCT未显示出ILD)并且FVC预测值%低于80%预测值; 需要治疗的左心室衰竭(定义为左心室射血分数 $\leq 45\%$)的新发作; 或需要治疗的关于右心导管插入术的PAH的新发作(归因于SSc)(PAH定义为静息时平均肺动脉压力 $\geq 25\text{mm Hg}$ 和呼气末肺动脉楔压 $\leq 15\text{mm Hg}$ 和肺血管阻力 $> 3\text{Wood}$ 单位)。

[0157] 步骤2:对于其余患者,步骤2涉及使用以下公式计算每名受试者的改善的预测概率(来自逻辑回归模型的公式推导的预测概率):

$$[0158] \quad \frac{\exp(-5.54-0.81*\Delta MRSS+0.21*\Delta FVC\%-0.40*\Delta Pt-glob-0.44*\Delta MD-glob-3.41*\Delta HAQ-DI)}{1+\exp(-5.54-0.81*\Delta MRSS+0.21*\Delta FVC\%-0.40*\Delta Pt-glob-0.44*\Delta MD-glob-3.41*\Delta HAQ-DI)}$$

[0159] 其中 $\Delta mRSS$ 指示 $mRSS$ 自基线的变化, ΔFVC 表示 FVC 预测值 % 自基线的变化, $\Delta Pt-glob$ 指示患者整体评估的变化, $\Delta MD-glob$ 表示医师整体评估的变化, 并且 $\Delta HAQ-DI$ 为 $HAQ-DI$ 的变化。所有变化都是绝对变化 (时间₂-时间_{基线})。

[0160] 在 $CRISS$ 的步骤2计算中使用总体健康状态的患者和医师整体评估。这两种评估是基于范围为从0 (优异的) 至10 (极差) 的李克特量表 (Likert scale, Khanna D. 等人, Arthritis Care Res. 2016, 68 (2): 167-78)。

[0161] 在一些实施方案中, 本发明提供了用于在患有硬皮病的人受试者中改善欧洲生活质量5维5级 (EQ-5D-5L) 指数的综合反应指数的方法, 所述方法包括向所述受试者给予有效量的抗 $IL4$ /抗- $IL13$ 双特异性抗体; 其中在初始给予所述双特异性抗体后约4、8、12、24、36、48周或大于48周中的任一者时, 与基线相比, $EQ-5D-5L$ 的改善得到改善。在一些实施方案中, 在初始给予所述双特异性抗体后约24周时, 与基线相比, $EQ-5D-5L$ 的改善得到改善。 $EQ-5D-5L$ 问卷是由 EuroQol Group 开发的标准化健康状态量度, 以便提供用于临床和经济评价的简单、通用健康量度。 $EQ-5D-5L$ 被设计用于由患者自我完成。

[0162] $EQ-5D$ 包括2个离散量表: $EQ-5D$ 描述性系统和 $EQ VAS$ 。 $EQ-5D$ 描述性系统具有5个项目, 每个项目测量一个健康维度: 运动性、自我护理、日常活动、疼痛/不适和焦虑/抑郁。每个维度/项目具有5级李克特型响应量表: 没有问题、轻微问题、中等问题、重度问题和极端问题。所述5个维度的响应可以组合成描述响应者的健康概况的单一5位数字, 并且可以转换为用于计算质量调整生命年 (QALY) 的单一指数值, 从而告知卫生保健干预措施的经济评价。 $EQ VAS$ 提供了如由单独响应者在立式视觉模拟量表上判断的定量的健康量度。 $EQ VAS$ ‘温度计’ 具有顶部的100 (“您能想象的最佳健康状况”) 和底部的0 (“您能想象的最差健康状况”) 的端点。

[0163] $IL-4$ 和 $IL-13$ 与它们的细胞表面受体连接后的细胞内信号传导部分通过信号传导分子信号转导子和转录激活子6 (Stat6) 的磷酸化介导。

[0164] 趋化因子 (C-C基序) 配体17 (CCL17) 是属于CC趋化因子家族的小细胞因子。CCL17 也被称为胸腺和激活调节趋化因子 (TARC)。 $IL-4$ 和/或 $IL-13$ 通过状态磷酸化诱导 TARC (Wirnsberger 等人, (2006) Eur J Immunol. 36:1882-91; Liddiard 等人, (2006) BMC Mol Biol. 29:7:45; Monick 等人, (2007) J Immunol. 179:1648-58)。因此, 例如通过 $IL-4/IL-13$ 结合抗体样蛋白对 $IL-4$ 和/或 $IL-13$ 介导的信号传导的抑制与对 TARC 诱导的抑制相关联。在一些实施方案中, 本文公开的方法包括检测已经给予至受试者的抗体或抗体样结合蛋白或其片段与 $IL-4$ 和/或 $IL-13$ 的结合的方法, 所述方法包括 (a) 向所述受试者给予所述抗体或抗体样结合蛋白或其片段; 和 (b) 确定从所述受试者抽取的血液、血清或血浆样品内 CCL17/TARC 的量, 其中所述样品中 CCL17/TARC 的量相对于在给予所述抗体或抗体样结合蛋白或其片段之前从所述受试者抽取的样品的降低表示所述抗体或抗体样结合蛋白或其片段与 $IL-4$ 和/或 $IL-13$ 的结合。在一些实施方案中, 所述受试者是人受试者。在一些实施方案中, 所述抗体或抗体样结合蛋白或其片段是双重V区抗体样结合蛋白或其片段。在一些实施方案中,

双重V区抗体样结合蛋白或其片段对IL-4或IL-13是特异性的,或对IL-4和IL-13是双特异性的。在一些实施方案中,步骤(c)进一步包括:如果在步骤(b)中测量的TARC/CCL17的降低低于阈值(即,如果TARC/CCL17水平的降低不足),则增加剂量;或者如果在步骤(b)中测量的TARC/CCL17的降低高于阈值(即,如果TARC/CCL17降低过多),则降低剂量。在一些实施方案中,步骤(c)的所述阈值为相对于给予所述剂量之前测量的所述受试者中TARC/CCL17的量,TARC/CCL17的量的约10%降低、或约15%降低、或约20%降低、或约25%降低、或约30%降低、或约35%降低、或约40%降低、或约45%降低、或约50%降低、或约55%降低、或约60%降低、或约65%降低。在一些实施方案中,所述阈值为相对于给予所述剂量之前测量的所述受试者中TARC/CCL17的量,TARC/CCL17的量的约20%至约60%降低、或约40%至约50%降低。在一些实施方案中,所述阈值为相对于给予所述剂量之前测量的所述受试者中TARC/CCL17的量,TARC/CCL17的量的约43%降低。例如,对于200mg剂量的43%降低表示200mg剂量的双特异性抗IL-4/IL-13双重V区抗体样结合蛋白与IL-4/IL-13的结合。

[0165] 在一些实施方案中,测量与疾病的活性(软骨寡聚基质蛋白[COMP]、趋化因子C-C基序配体2[CCL2])和IL-4/IL-13途径(TARC,骨膜蛋白和嗜酸性粒细胞趋化因子-3)相关的蛋白质生物标记以监测治疗。在一些实施方案中,使用抗药物抗体(ADA)的存在来监测治疗。

[0166] 在某些实施方案中,本发明的配制品可以与一种或多种疗法(例如目前进行给予以预防、治疗、管理和/或改善IL-4和/或IL-13介导的疾病(例如SSc)的并非本发明配制品的疗法)组合给予。术语“组合”的使用不限制对受试者给予疗法的顺序。第一疗法可以在向已经患有、患有或易患IL-4和/或IL-13介导的疾病(例如SSc)的受试者给予第二疗法之前(例如1分钟、45分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周、或12周)、与其同时、或在其之后(例如1分钟、45分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周、或12周)给予。在一些实施方案中,将抗IL-4/抗IL13抗体与用于治疗SSc的疗法组合给予。在一些实施方案中,将抗IL-4/抗IL13抗体与吡非尼酮或尼达尼布(nintedanib)组合给予。任何另外的疗法可以与其他另外的疗法以任何顺序一起给予。可以与本发明的抗体组合给予的疗法的非限制性例子包括在美国药典和/或医师桌上参考手册(Physician's Desk Reference)中列出的已批准的抗炎剂。

[0167] 示例性实施方案

[0168] 1. 一种用于在患有系统性硬化症(SSc)的人受试者中治疗SSc的方法,所述方法包括向所述受试者皮下给予约200mg的特异性结合IL-4和IL-13的双重V区双特异性抗体或抗原结合片段。

[0169] 2. 根据实施方案1所述的方法,其中向所述受试者给予200mg的所述双特异性抗体,约每周一次或约每5至9天一次。

[0170] 3. 根据实施方案1或2所述的方法,其中将所述治疗给予至少约24周。

[0171] 4. 根据实施方案1-3中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体是在药物配制品中。

[0172] 5. 根据实施方案4所述的方法,其中所述药物配制品包含约100mg/ml双特异性抗体、约6.3mM磷酸二氢钠、约37mM Tris、约5% (w/v) 蔗糖、约3% (w/v) 脯氨酸、和约0.2% (w/

v) 聚山梨醇酯80,其中所述配制品的pH为约7.0。

[0173] 6. 根据实施方案5所述的方法,其中所述配制品由冻干配制品重构。

[0174] 7. 根据实施方案1-6中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体与另一种药剂组合给予。

[0175] 8. 根据实施方案7所述的方法,其中所述另一种药剂在所述双特异性抗体之前、与其同时、或在其之后给予。

[0176] 9. 根据实施方案1-8中任一项所述的方法,其中所述系统性硬化症是弥漫性皮肤系统性硬化症。

[0177] 10. 根据实施方案1-9中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含含有轻链可变结构域VL_{hB-B13}和轻链可变结构域VL_{hBD4-8}的轻链多肽以及含有重链可变结构域VH_{hB-B13}和重链可变结构域VH_{hBD4-8}的重链多肽;其中:

[0178] VL_{hB-B13}包含含有氨基酸序列RASESVDSYGQSYM (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10)的三个CDR;

[0179] VL_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG (SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16)的三个CDR,

[0180] VH_{hB-B13}包含含有氨基酸序列GFSLTDSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、和DGYFPYAMDF (SEQ ID NO:13)的三个CDR,

[0181] VH_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18)、和LKEYGNYDSFYFDV (SEQ ID NO:19)的三个CDR。

[0182] 11. 根据实施方案10所述的方法,其中:

[0183] VL_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

[0184] VL_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

[0185] VH_{hB-B13}包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

[0186] VH_{hBD4-8}包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。

[0187] 12. 根据实施方案10或11所述的方法,其中:

[0188] VL_{hB-B13}包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,

[0189] VL_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,

[0190] VH_{hB-B13}包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列,

[0191] VH_{hBD4-8}包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

[0192] 13. 根据实施方案9-11中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含结构N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链多肽包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-C。

[0193] 14. 根据实施方案10-13中任一项所述的方法,其中所述轻链包含结构N-VL_{hB-B13}-接头-VL_{hBD4-8}-CL-C并且所述重链包含结构N-VH_{hB-B13}-接头-VH_{hBD4-8}-CH1-CH2-CH3-C。

[0194] 15. 根据实施方案13或14所述的方法,其中所述接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0195] 16. 根据实施方案10-15中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含两个相同的轻链多肽和两个相同的重链多肽。

[0196] 17. 根据实施方案10-16中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含具有与SEQ ID NO:22的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列并且所述重链多肽包含具有与

SEQ ID NO:23的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列。

[0197] 18. 根据实施方案10-17中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列并且所述重链多肽包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列。

[0198] 19. 一种在患有SSc的人受试者中减少硬化斑块的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的抗IL4/抗-IL13双特异性抗体;其中在初始给予所述双特异性抗体后约24周时,与基线相比,所述硬化斑块减少至少约20%、40%、60%、80%或100%。

[0199] 20. 根据实施方案19所述的方法,其中一部分的所述经治疗的患有SSc的人受试者在初始给予所述双特异性抗体后约24周时与基线相比具有至少约20%、40%、和60%的改善的改良Rodnan皮肤得分(mRSS)。

[0200] 21. 根据实施方案20所述的方法,其中所述改善的mRSS测量为自基线的最小二乘均值变化。

[0201] 22. 根据实施方案20或21所述的方法,其中所述自基线的最小二乘均值变化超过约-3.00、-3.5、-4.0、-4.5、-5.0、-5.5、或-6.0中的任一值。

[0202] 23. 根据实施方案19-22中任一项所述的方法,其中所述抗IL4/抗IL13抗体是RKB。

[0203] 24. 根据实施方案19-23中任一项所述的方法,其中向所述受试者皮下给予约200mg的抗IL4/抗IL13抗体。

[0204] 25. 根据实施方案24所述的方法,其中向所述受试者给予200mg的所述双特异性抗体,约每周一次或约每5至9天一次。

[0205] 26. 根据实施方案24或25所述的方法,其中将所述治疗给予至少约24周。

[0206] 27. 根据实施方案19-26中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体是在药物配制品中。

[0207] 28. 根据实施方案27所述的方法,其中所述药物配制品包含约100mg/ml双特异性抗体、约6.3mM磷酸二氢钠、约37mM Tris、约5% (w/v) 蔗糖、约3% (w/v) 脯氨酸、和约0.2% (w/v) 聚山梨醇酯80,其中所述配制品的pH为约7.0。

[0208] 29. 根据实施方案27所述的方法,其中所述配制品由冻干配制品重构。

[0209] 30. 根据实施方案19-29中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体与另一种药剂组合给予。

[0210] 31. 根据实施方案30所述的方法,其中所述另一种药剂在所述双特异性抗体之前、与其同时、或在其之后给予。

[0211] 32. 根据实施方案19-31中任一项所述的方法,其中所述系统性硬化症是弥漫性皮肤系统性硬化症。

[0212] 33. 根据实施方案19-32中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含含有轻链可变结构域VL_{hB-B13}和轻链可变结构域VL_{hBD4-8}的轻链多肽以及含有重链可变结构域VH_{hB-B13}和重链可变结构域VH_{hBD4-8}的重链多肽;其中:

[0213] VL_{hB-B13}包含含有氨基酸序列RASESVDSYGQSYM (SEQ ID NO:8)、LASNLES (SEQ ID NO:9)、和QQNAEDSRT (SEQ ID NO:10) 的三个CDR;

[0214] VL_{hBD4-8}包含含有氨基酸序列HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:14)、KASNLHTG (SEQ ID NO:15)、和QQAHSYPFT (SEQ ID NO:16) 的三个CDR,

[0215] VH_{hB-B13}包含含有氨基酸序列GFSLTDSSIN (SEQ ID NO:11)、DGRID (SEQ ID NO:12)、

和DGYPYAMDY (SEQ ID NO:13)的三个CDR,

[0216] VH_{hBD4-8} 包含含有氨基酸序列GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:17)、IDPSDGETR (SEQ ID NO:18)、和LKEYGNYSFYFDV (SEQ ID NO:19)的三个CDR。

[0217] 34. 根据实施方案33所述的方法,其中:

[0218] VL_{hB-B13} 包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

[0219] VL_{hBD4-8} 包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

[0220] VH_{hB-B13} 包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列,

[0221] VH_{hBD4-8} 包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列至少95%相同的氨基酸序列。

[0222] 35. 根据实施方案32或33所述的方法,其中:

[0223] VL_{hB-B13} 包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,

[0224] VL_{hBD4-8} 包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,

[0225] VH_{hB-B13} 包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列,

[0226] VH_{hBD4-8} 包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

[0227] 36. 根据实施方案33-35中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含结构 $N-VL_{hB-B13}$ -接头- VL_{hBD4-8} -CL-C并且所述重链多肽包含结构 $N-VH_{hB-B13}$ -接头- VH_{hBD4-8} -CH1-C。

[0228] 37. 根据实施方案33-36中任一项所述的方法,其中所述轻链包含结构 $N-VL_{hB-B13}$ -接头- VL_{hBD4-8} -CL-C并且所述重链包含结构 $N-VH_{hB-B13}$ -接头- VH_{hBD4-8} -CH1-CH2-CH3-C。

[0229] 38. 根据实施方案36或37所述的方法,其中所述接头包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列。

[0230] 39. 根据实施方案33-38中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体或其双特异性抗体片段包含两个相同的轻链多肽和两个相同的重链多肽。

[0231] 40. 根据实施方案33-39中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含具有与SEQ ID NO:22的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列并且所述重链多肽包含具有与SEQ ID NO:23的氨基酸序列的至少约90%同一性的氨基酸序列。

[0232] 41. 根据实施方案33-40中任一项所述的方法,其中所述轻链多肽包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列并且所述重链多肽包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列。

[0233] 实施例

[0234] 以下实施例说明本公开文本的具体实施方案,以及它们的各种用途。所述实施例仅出于解释性目的来陈述,并且不应被视为以任何方式限制本发明的范围。

[0235] 实施例1:人源化抗IL-4/IL-13双特异性抗体RKB在治疗患有弥漫性系统性硬化症的受试者中的功效和安全性。

[0236] 在一项2期研究(NCT02921971)中评价与安慰剂相比,RKB在皮下给予24周治疗时对患有弥漫性系统性硬化症(dcSSc)的受试者的皮肤纤维化的功效。

[0237] 方法

[0238] 一项多国、随机、双盲、安慰剂对照、2个平行组的概念验证2期研究研究了在24周时段内每周一次皮下给予的RKB 200mg对患有弥漫性SSc的受试者的功效和安全性。将大约94名患者1:1随机化至以下两个治疗组:1) RKB组(N=47),其每周接受200mg皮下给予的RKB;和2) 安慰剂组(N=47),其每周接受皮下给予的安慰剂。基于患者的SSc间质性肺病的病史(SSc-ILD;是或否)将随机化分层。研究设计如图2所示。

[0239] 研究群体

[0240] 在随机化至群组中之前,在第1天之前的28天(D-28,图2)内筛选受试者以评估其进入研究的合格性。

[0241] 合格受试者的纳入标准为:根据ACR/EULAR 2013标准的系统性硬化症(van den Hoogen F.等人,Ann.Rheum.Dis.2013,72(11):1747-55);和根据Leroy标准的SSc的弥漫性皮肤形式。

[0242] 排除标准包括:年龄<18岁;从首次非雷诺现象表现的时间起,疾病持续时间>36个月;在筛选和基线访视时改良Rodnan皮肤得分(mRSS)<10或>35;血管炎史(活动性或缓解);结缔组织疾病(除SSc外)或重叠综合征(例如多发性肌炎/SSc)的诊断;阳性人免疫缺陷病毒(HIV)血清学或已知的HIV感染史(活动性或缓解中);指示活动性或慢性感染的异常乙型肝炎和/或丙型肝炎测试;在筛选时阳性或两次确认的不确定的Quantiferon-TB金测试(与先前治疗状态无关);在筛选4周内的严重感染(例如肺炎、肾盂肾炎)、在筛选4周内的需要住院或静脉内注射抗生素的感染、或慢性细菌感染(例如骨髓炎);对任何生物疗法的过敏反应史;任何临床显著的、重度、或不稳定、急性、或慢性进行性、不受控制的感染或医学病症(例如,SSc或SSc-ILD以外的脑、心脏、肺、肾、肝、胃肠或神经病学病症)或先前的、活动性或即将发生的外科障碍、或根据研究人员的判断可能影响患者安全性的任何病症的迹象;在筛选时,用力肺活量(FVC)预测值% \leq 75%,并且血红蛋白校正后的一氧化碳肺弥散量(DLCO)预测值% \leq 40%;心力衰竭史(包括在正常射血分数背景下的急性失代偿)、左心室射血分数(LVEF) \leq 45%、冠状动脉疾病、心绞痛、心肌梗塞、缺血性心肌病和/或肥厚性心肌病;基线前5年内的恶性肿瘤或活动性恶性肿瘤的任何先前病史,包括淋巴增生性疾病(除了成功治疗的子宫颈原位癌、皮肤的非转移性鳞状细胞癌或基底细胞癌以外);筛选时的缺血性ECG变化(除了筛选内最后一年进行的左心导管插入术的发现不支持的那些以外)和/或其他临床显著的ECG发现(包括但不限于二度心传导阻滞、三度心传导阻滞、QT延长(症状性)、病态窦房结综合征、左束支传导阻滞(完全性)、右束支传导阻滞(完全性)、心房颤动(不受控制)、心房扑动(不受控制)、Wolff-Parkinson-White综合征、房室结折返性心动过速、和室性心律失常(包括室性心动过速、心室纤颤、尖端扭转性室速(Torsades de Pointes)和缓慢心律失常));在随机化(或基线访视)之前4周内的高剂量类固醇(>10mg/天泼尼松或等同物)或类固醇剂量的变化,或在研究过程期间的预期变化;筛选前12个月内用鲁替单抗(rutixumab)进行的先前治疗;使用骨髓移植、总淋巴辐照或消融性超高剂量环磷酰胺进行的先前治疗;在筛选的三个月内使用高剂量免疫抑制药物(例如环磷酰胺>1mg/kg口服/天或>750mg静脉内/月;硫唑嘌呤>100mg/天;甲氨蝶呤>15mg/周;吗替麦考酚酯>2g/天)的治疗,或在随机化(或基线访视)之前4周内的剂量变化,或在研究过程期间剂量的预期变化;在筛选的4周内使用依那西普、环孢素A、静脉内免疫球蛋白(IVIG)、雷帕霉素、D-青霉胺、酪氨酸激酶抑制剂的治疗,或在筛选的6个月内使用抗胸腺细胞球蛋白的治疗;在筛选的8周内使用英夫利昔单抗、赛妥珠单抗、戈利木单抗、阿巴西普或阿达木单抗、托珠单抗的治疗,或在筛选的1周内使用阿那白滞素的治疗;在筛选的一个月或5个半衰期(如果已知)(以较长者为准)内使用任何研究药物的治疗;在筛选时来自以下任一项的一种或多种异常实验室测试:丙氨酸转氨酶(ALT)或天冬氨酸转氨酶(AST)>正常范围上限(ULN)的2倍,对于男性血红蛋白<11g/100mL并且对于女性血红蛋白<10g/100mL,中性粒细胞<1500个/

mm^3 (除了对于非裔 <1000 个/ mm^3 以外), 血小板 $<100,000$ 个/ mm^3 , C-反应蛋白 $\geq 150\mu\text{mol/L}$; 物质和/或酒精滥用的当前史; 孕妇或哺乳期妇女; 以及有生育能力但未通过生育控制的一种或多种高效避孕方法进行保护和/或不愿或无法进行妊娠测试的女性。

[0243] 剂量方案

[0244] 在筛选期之后, 在第1天(D1, 图2), 将每名合格受试者随机分配至接受以下两个臂之一: (1) 每周一次(qw)皮下给予200mg RKB; 和(2) 每周一次(qw)皮下给予安慰剂(图2)。在D1开始用RKB或安慰剂治疗, 并且治疗的持续时间为24周。研究包括8次现场访视和5次电话。用于筛选的访视1在D-28与D-1之间; 用于基线测量的访视2是在D1, 其中受试者接受了第一剂量; 访视3-6是在治疗期的第2周、第4周、第8周和第12周; 访视7是在给药的最后一周(第24周)期间; 并且访视8是研究访视的结束, 用于在第35周的随访。在现场访视期间, 在临床程序和血液采集后给予RKB或安慰剂。出于安全性考虑, 在治疗期期间的第6周、第16周、第18周和第20周以及在随访期期间的第30周给受试者拨打电话。给药后实施随访期(图2)以评估不良事件(AE)和药代动力学分析。

[0245] 针对 $C_{\text{平均}}$ 使用群体PK方法估计药代动力学参数。

[0246] 配制和给予途径

[0247] 由作为玻璃小瓶中的无菌冷冻干燥粉末提供的RKB制备100mg/mL的RKB注射溶液。每个小瓶填充有125mg RKB冷冻干燥干粉, 并且通过用1.1mL无菌注射用水重构全部小瓶内容物来获得最终的注射溶液, 从而使125mg量的RKB原料药在1.25mL的总体积中, 相当于浓度为100mg/mL的RKB溶液。然后取出1mL的此100mg/mL RKB溶液进行剂量给予。因此需要两个药品小瓶以达到200mg剂量并制备2mL RKB溶液注射器。

[0248] 对于安慰剂制剂, 将含有赋形剂的小瓶用1.1mL无菌水重构, 使总体积为1.25mL。需要两个安慰剂产品小瓶, 从每个小瓶中取出1mL, 以制备2mL安慰剂溶液注射器。

[0249] 给予途径是在腹部皮下给予。皮下注射部位在腹部的四个象限之间交替(避开肚脐和腰部区域), 使得不会连续两周注射相同部位。所述部位优选没有SSc受累。

[0250] 从初始给予起, 每7天 \pm 2天给予RKB或安慰剂。根据方案允许此窗口以适应各种情况(例如, 待定的实验室结果、不良事件的管理、访视时间安排困难)。

[0251] 功效终点

[0252] 评价RKB对dcSSc患者的皮肤纤维化的功效的主要功效终点是评估改良Rodnan皮肤得分(mRSS)自基线至第24周的变化。评价RKB对dcSSc其他方面的功效的两个次要终点是: 1) 用SHAQ评估的HAQ-DI自基线至第24周的变化; 和2) 如通过FVC实测值和DLco实测值(针对血红蛋白校正)测量的呼吸功能自基线至第24周的变化。探索性终点将包括: 视觉模拟量表(VAS)中的疼痛、呼吸功能、血管功能(雷诺现象)、胃肠功能、指端溃疡以及来自SHAQ的整体评估自基线至第24周的变化; 如通过FVC预测值%和DLco预测值%(针对血红蛋白校正)测量的呼吸功能自基线至第24周的变化; UCLA硬皮病临床协会胃肠道2.0(UCLA SCTC GIT 2.0)得分自基线至第24周的变化; TJC28自基线至第24周的变化; 指端溃疡计数自基线至第24周的变化; 自基线至第24周的CRISS; EQ-5D-5L指数自基线至第24周的变化; 功效终点(mRSS、HAQ-DI、来自SHAQ的VAS、FVC实测值、FVC预测值%、DLco实测值[针对血红蛋白校正]、DLco预测值% [针对血红蛋白校正]、UCLA SCTC GIT 2.0、TJC28、指端溃疡计数、CRISS和EQ-5D-5L)自基线至第35周(直至随访期结束)的变化以及自基线至第35周具有

至少20%、40%和60%的mRSS改善的患者的比例;以及基于第24周的MIC具有SHAQ (HAS-DI和VAS) 和EQ-5D-5L (指数值和VAS) 改善的患者的比例。

[0253] 改良Rodnan皮肤得分

[0254] 使用mRSS评估皮肤的纤维化,所述mRSS通过在身体的17个区域(手指、手、前臂、手臂、脚、腿和大腿、脸、胸部和腹部)中触诊皮肤来进行,使用0-3量表,其中0=正常,1=轻度厚度,2=中度厚度并且3=重度厚度。皮肤总得分范围可以为从0(无增厚)至51(在所有17个区域中均重度增厚)。仅允许接受过标准化培训的那些医师或有资格的医务人员评价皮肤增厚。对于同一医务人员作出努力来评价从基线至EOS参与的给定患者,以便使任何评定者之间的差异最小化。基线和第24周/访视7mRSS评估必须由同一医务人员进行。

[0255] 呼吸功能

[0256] 肺功能测试是次要终点,其将评估呼吸功能自基线至第24周的变化,所述变化如通过FVC实测值和DLco实测值(针对血红蛋白校正)测量的。评估FVC和DLco自基线至第24周和/或第35周的实测值绝对变化和预测值%变化作为探索性终点。除非在测量过程中自动校正,否则DLco针对血红蛋白的手动校正是基于以下公式:1)对于男性患者:DLco_{实测值}/(因子),其中因子=(1.7xHb)/(10.22+Hb);2)对于女性患者:DLco_{实测值}/(因子),其中因子=(1.7xHb)/(9.38+Hb)。Hb是指血红蛋白,并且所述值取自进行DLco的同一次访视。按照2005ATS/ERS指南进行肺量测定法(Miller M.R.等人,Eur.Respir.J.2005,26:319-38),同时按照标准指南进行DLco(MacIntyre N.等人,Eur.Respir.J.2005,26:720-35)。

[0257] 胃肠表现

[0258] UCLASCTC GIT 2.0工具是经验证的自我报告问卷,用于评估SSc患者中与胃肠功能有关的生活质量(QOL)(Khanna D.等人,Arthritis Rheum.2009,61:1257-63)。它采用7项式多项量表,其具有反流、腹胀/胃气胀、腹泻、大便失禁、便秘、情绪健康和社交功能的领域。这是在除了访视1和访视3以外的所有访视时捕获。

[0259] 肾功能

[0260] 通过在除了V3以外的所有访视时测量血尿素氮、肌酐和尿分析(浸渍片)评估肾功能。尿分析(浸渍片)捕获比重、pH、葡萄糖、酮、血液、蛋白质、硝酸盐、白细胞酯酶、尿胆素原和胆红素。如果浸渍片上的任何参数异常,则将尿样送到中心实验室进行测试。如果浸渍片对于蛋白质和/或红细胞是阳性的,则由中心实验室进行显微镜分析。

[0261] 心脏表现

[0262] 通过体格检查和ECG评估与心脏表现相关的系统性硬化症,ECG是监测心脏传导以及潜在的冠心病和心肌病的已确立的方法。心电图在除了访视3以外的所有预定访视时捕获。心血管事件报告为不良事件。

[0263] 关节疼痛评估

[0264] TJC28是基于28个关键关节的检查对整体关节疼痛的评估。它是评估一般关节疼痛的可靠且经验证的方法并且在除了访视1和访视3以外的所有访视时捕获。作为评估的部分的28个关节包括:肩(2个关节)、肘(2个关节)、腕(2个关节)、掌指(10个关节)、近端指间(10个关节)和膝(2个关节)。

[0265] 指端溃疡计数

[0266] 指端溃疡计数捕获指尖上继发于SSc(而非继发于局部创伤或损伤)的活动性疮口

(或指端溃疡)的数量。不包括与钙质沉着有关的裂口、裂隙或甚至皮肤破裂。指端溃疡计数在除了访视1和访视3以外的所有访视时进行。

[0267] 硬皮病健康评估问卷

[0268] 患者在基线时和整个研究中(除了访视1和访视3以外)完成SHAQ,其包括用于测量功能失能的标准HAQ-DI和5项SSc专用VAS评估(Steen V.D.和Medsger T.A.,*Arthritis Rheum.*1997,40:1984-91)。SHAQ是SSc患者的标准、经验证且公认的健康评估问卷,用于评估与皮肤和系统性纤维化相关的身体/功能失能。

[0269] HAQ DI含有8个活动领域(穿衣、站起、进食、行走、卫生、伸手、抓握和普通日常活动),每个领域具有至少有2个问题,共20个项目。对于每个项目,患者报告执行活动所经历的困难程度。每个项目有4种可能的响应,范围为从0(无困难)到3(不能进行)。对于HAQ-DI中包含的8个领域中的每个领域,得分是领域内得分最高的单一响应。如果使用了辅助或装置,并且如果最高得分是0或1,则将得分提高到2;如果最高得分是2或3,则得分保持原样。然后将HAQ-DI综合得分计算为8个领域的得分的平均值。如果缺失1个或2个领域,则通过将领域之和除以已回答领域的数量来获得HAQ-DI综合得分。如果缺失三个或更多个领域,则缺失HAQ-DI综合得分。报告综合得分,其落入顺序量表上的0与3之间。将得分解释为0(无功能损伤)至3(最大功能损伤)。

[0270] HAQ-DI还含有患者用于报告在过去一周中所经历的疼痛程度的VAS。VAS是一条10cm的线,将其转换为从0至3的连续量表,其中1cm等同于0.3分。VAS的锚点为0(无疼痛)至100(非常重度的疼痛)。为了获得患者得分,使用米尺来测量从左锚点到患者标记的距离(以厘米计),然后乘以0.3。VAS疼痛得分未纳入HAQ DI综合得分。

[0271] 对于其他5项VAS,患者评定呼吸、血管(雷诺现象)、胃肠功能、指端溃疡和整体评估。患者被要求在10cm线上做标记,以指示从0至100的严重程度,其中0指示无严重程度,而100指示最坏的严重程度。

[0272] 欧洲-QOL-5D-5L

[0273] EQ-5D-5L问卷是由EuroQol Group开发的标准化健康状态量度,以便提供用于临床和经济评价的简单、通用健康量度。EQ-5D-5L被设计用于由患者自我完成。

[0274] EQ-5D包括2个离散量表:EQ-5D描述性系统和EQ VAS。EQ-5D描述性系统具有5个项目,每个项目测量一个健康维度:运动性、自我护理、日常活动、疼痛/不适和焦虑/抑郁。每个维度/项目具有5级李克特型响应量表:没有问题、轻微问题、中等问题、重度问题和极端问题。所述5个维度的响应可以组合成描述响应者的健康概况的单一5位数字,并且可以转换为用于计算质量调整生命年(QALY)的单一指数值,从而告知卫生保健干预措施的经济评价。EQ VAS提供了如由单独响应者在立式视觉模拟量表上判断的定量的健康量度。EQ VAS‘温度计’具有顶部的100(“您能想象的最佳健康状况”)和底部的0(“您能想象的最差健康状况”)的端点。

[0275] 在分析中,指数值被认为是连续变量。

[0276] 弥漫性皮肤系统性硬化症的综合反应指数

[0277] CRISS工具使用单一综合得分总结了临床和患者报告结果的变化,所述综合得分反映了dcSSc患者得到改善的概率(Khanna D.等人,*Arthritis Care Res. (Hoboken)*2016,68(2):167-78)。对于dcSSc的有效治疗剂,CRISS将能够总结出,相对于无效药剂(如安慰

剂),用RKB治疗的受试者的改善概率更高。CRISS是如下所述的2步式过程。

[0278] 步骤1:发展新的或恶化的由于SSc所致的心肺和/或肾受累的患者被认为没有改善(与其他核心项目的改善无关),并且被分配为改善概率等于0.0。具体地,如果受试者发展以下中的任一种:新的硬皮病肾危象;FVC预测值%的下降 $\geq 15\%$ (相对),通过一个月内的另一FVC%所确认,高分辨率计算机断层摄影术(HRCT)确认ILD(如果胸部的先前HRCT未显示出ILD)并且FVC预测值%低于80%预测值;需要治疗的左心室衰竭(定义为左心室射血分数 $\leq 45\%$)的新发作;或需要治疗的关于右心导管插入术的PAH的新发作(归因于SSc)(PAH定义为静息时平均肺动脉压力 $\geq 25\text{mm Hg}$ 和呼气末肺动脉楔压 $\leq 15\text{mm Hg}$ 和肺血管阻力 $> 3\text{Wood}$ 单位)。

[0279] 步骤2:对于其余患者,步骤2涉及使用以下公式计算每名受试者的改善的预测概率(来自逻辑回归模型的公式推导的预测概率):

$$[0280] \quad \frac{\exp(-5.54 - 0.81 \cdot \Delta \text{mRSS} + 0.21 \cdot \Delta \text{FVC}\% - 0.40 \cdot \Delta \text{Pt-glob} - 0.44 \cdot \Delta \text{MD-glob} - 3.41 \cdot \Delta \text{HAQ-DI})}{1 + \exp(-5.54 - 0.81 \cdot \Delta \text{mRSS} + 0.21 \cdot \Delta \text{FVC}\% - 0.40 \cdot \Delta \text{Pt-glob} - 0.44 \cdot \Delta \text{MD-glob} - 3.41 \cdot \Delta \text{HAQ-DI})}$$

[0281] 其中 ΔmRSS 指示mRSS自基线的变化, ΔFVC 表示FVC预测值%自基线的变化, $\Delta \text{Pt-glob}$ 指示患者整体评估的变化, $\Delta \text{MD-glob}$ 表示医师整体评估的变化,并且 $\Delta \text{HAQ-DI}$ 为HAQ-DI的变化。所有变化都是绝对变化(时间₂-时间_{基线})。

[0282] 在CRISS的步骤2计算中使用总体健康状态的患者和医师整体评估。这两种评估是基于范围为从0(优异的)至10(极差)的李克特量表(Khanna D.等人,Arthritis Care Res. 2016, 68 (2):167-78)。

[0283] 统计学

[0284] 主要功效分析

[0285] 使用MMRM方法分析了ITT群体中mRSS自基线至第24周的变化。无论是否坚持治疗,可从第4周至第24周分析窗口获得的所有基线后数据都包括在所述分析中。模型包括治疗组(安慰剂、RKB)的固定分类效应、随机化层(根据IRT,SSc-ILD:是/否)、时间点(第4周、第8周、第12周、第24周)、随机化层-时间点相互作用和治疗-时间点相互作用、以及基线mRSS值和基线值-时间点相互作用的连续固定协变量。

[0286] 结果

[0287] 研究患者

[0288] 总共筛选了143名患者,导致97名患者的随机化:49名患者在安慰剂组中,48名患者在SAR15697组中。所有随机化的患者均暴露于研究药物产品(IMP),这导致所有97名患者均被纳入安全性群体中。所有97名患者都包括在ITT群体中(表1)。

[0289] 表1. 关键分析群体的汇总

	安慰剂qw	RKB 200mg qw	全部
随机化群体	49 (100)	48 (100)	97 (100)
[0290] 安全性群体	49	48	97
意向性治疗群体 (ITT)	49	48	97

[0291] 注意：在安全性群体中，根据实际接受的治疗（如治疗的）将患者列表。对于其他群体，根据患者的随机化治疗将患者列表。将意向性治疗定义为所有随机化患者。将根据通过随机化分配的治疗组对ITT群体中的患者进行分析。

[0292] 患者处置

[0293] 表2-治疗结束的患者处置-随机化群体

	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)	全部 (N=97)
随机化且未经治疗的	0	0	0
随机化且经治疗的	49 (100)	48 (100)	97 (100)
完成研究治疗期	43 (87.8)	44 (91.7)	87 (89.7)
在研究期中继续进行	0	0	0
未完成研究治疗期	6 (12.2)	4 (8.3)	10 (10.3)
[0294] 受试者决定治疗中止	3 (6.1)	0	3 (3.1)
治疗期中止的原因			
不良事件	1 (2.0)	2 (4.2)	3 (3.1)
缺乏功效	3 (6.1)	1 (2.1)	4 (4.1)
对方案的依从性差	0	0	0
进展性疾病	0	0	0
其他	2 (4.1)	1 (2.1)	3 (3.1)

[0295] 注意：百分比是使用被随机化的患者数量作为分母来计算的

[0296] 人口统计学和基线特征

[0297] 在两个治疗组之间，基线时的总体人口统计学和患者特征是类似的，但是RKB组中的患者年龄略大(表3)。

[0298] 表3.基线时的人口统计学和患者特征-随机化群体。

	安慰剂qw (N = 49)	RKB 200mg qw (N=48)	全部 (N=97)
[0299]			

[0300]

年龄(岁)			
数量	49	48	97
均值 (SD)	47.2 (12.1)	52.3 (10.8)	49.7 (11.7)
中值	45.0	53.0	51.0
最小值 ; 最大值	27 ; 72	20 ; 78	20 ; 78
年龄组 (岁) [n(%)]			
数量	49	48	97
<45	23 (46.9)	10 (20.8)	33 (34.0)
[45-65[22 (44.9)	33 (68.8)	55 (56.7)
[65-75[4 (8.2)	4 (8.3)	8 (8.2)
≥75	0	1 (2.1)	1 (1.0)
性别[n (%)]			
数量	49	48	97
男性	11 (22.4)	9 (18.8)	20 (20.6)
女性	38 (77.6)	39 (81.3)	77 (79.4)
人种[n(%)]			
数量	49	48	97
美洲印第安人或阿拉斯加土著人	0	1 (2.1)	1 (1.0)
亚洲人种	1 (2.0)	0	1 (1.0)
黑色人种或非裔美国人	2 (4.1)	2 (4.2)	4 (4.1)
夏威夷土著或其他太平洋岛人	1 (2.0)	0	1 (1.0)
白色人种	45 (91.8)	45 (93.8)	90 (92.8)
未报告 _a	0	0	0
未知 _b	0	0	0
种族[n(%)]			
数量	49	48	97

[0301]	西班牙裔或拉丁裔	12 (24.5)	10 (20.8)	22 (22.7)
	不是西班牙裔或拉丁裔	37 (75.5)	38 (79.2)	75 (77.3)
	未报告 ^a	0	0	0
	未知 ^b	0	0	0
	BMI (kg/m ²)			
	数量	49	48	97
	均值 (SD)	24.9 (5.3)	24.3 (4.4)	24.6 (4.9)
	中值	23.2	24.4	23.9
	最小值 ; 最大值	18 ; 41	16 ; 33	16 ; 41
	体重 (kg)			
	数量	49	48	97
	均值 (SD)	68.1 (18.0)	67.1 (15.3)	67.6 (16.6)
	中值	61.5	64.5	62.4
	最小值 ; 最大值	46 ; 118	36 ; 105	36 ; 118

[0302] ^a如果受试者选择不报告其种族/人种或者如果收集所述信息受到国家限制,则应将其输入为未报告。

[0303] ^b受试者不知道其人种/种族

[0304] 在两个治疗组之间,基线时的总体疾病特征和病史是相似的,但是与安慰剂组相比,RKB组中的患者的从首次非雷诺现象的时间起的平均疾病持续时间略短,并且基线时的FVC和DLco略高(表4)。

[0305] 表4. SSc史和相关基线特征-随机化群体

	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)	全部 (N=97)
[0306] 从首次非雷诺现象表现的时间起的疾病持续时间 (月)			
数量	49	48	97

	均值 (SD)	21.8 (10.7)	19.3 (9.2)	20.6 (10.0)
	中值	25.4	19.4	20.0
	Q1 ; Q3	10.2 ; 32.1	11.7 ; 25.9	10.7 ; 29.1
	最小值 ; 最大值	5 ; 36	6 ; 36	5 ; 36
	基线时的mRSS			
	数量	49	48	97
	均值 (SD)	20.6 (7.0)	20.5 (6.1)	20.6 (6.5)
	中值	18.0	19.5	19.0
	最小值 ; 最大值	10 ; 35	11 ; 35	10 ; 35
	基线时的FVC预测值 (%)			
[0307]	数量	49	48	97
	均值 (SD)	89.5 (15.8)	96.1 (17.4)	92.8 (16.9)
	中值	91.9	97.3	93.0
	Q1 ; Q3	77.0 ; 98.0	83.7 ; 108.8	83.0 ; 105.7
	最小值 ; 最大值	48 ; 127	54 ; 127	48 ; 127
	基线时的HGB校正 DLCO预测值 (%)			
	数量	49	48	97
	均值 (SD)	66.5 (14.6)	72.4 (14.2)	69.4 (14.7)
	中值	67.3	72.7	70.0
	Q1 ; Q3	56.1 ; 74.1	60.6 ; 82.7	58.9 ; 77.9
	最小值 ; 最大值	38 ; 102	39 ; 102	38 ; 102

[0308] MedDRA 21.1

[0309] 注意:可以在若干个硬皮病史类别中对患者进行计数

[0310] 如果缺失非雷诺现象表现当天的日期,则将按当月的第一天输入所述日期;

[0311] 如果缺失月份,则将按第一个一月输入日期

[0312] 描述了基线数据,即,第一次双盲IMP给予的日期时间之前或等于所述日期时间

[0313] (或在患者被随机化且未经治疗时的随机化日期时间之前或等于所述日期时间)的最后一可得值

[0314] 安慰剂组中的29名患者(59.2%)与RKB组中的25名患者(52.1%)在基线前3个月

内以及在研究过程期间接受了背景疗法(表5)。

[0315] 表5. 在基线前3个月内进行的先前和并行背景疗法-随机化群体

[0316]	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
	任何先前和并行背景药物	29 (59.2) 25 (52.1)

[0317] ATC:解剖学治疗性化学品,IMP:研究药物产品

[0318] WHO-DDE 2018MARCH 1

[0319] 注意:药物可以在若干种ATC种类中进行计数

[0320] 先前和并行药物是受试者在首次IMP摄入前3个月内服用并且在TEAE期期间继续服用的那些药物。

[0321] 在整个治疗组中,通过降低频率对解剖学种类进行分选。

[0322] 在每个解剖学种类内,通过在总体治疗组中降低频率来对标准化药物名称进行分选。

[0323] 接受背景疗法的患者被定义为在基线之前和基线时服用来自以下列表的药物的所有患者:甲氨蝶呤_单成分_和_多成分、吗替麦考酚酯_单_成分和_多_成分、硫唑嘌呤_单_成分和_多_成分、环孢素_单_成分和_多_成分或环磷酰胺_单_成分和_多_成分。

[0324] 基于对患者病史的检查,有10名(10.3%)患者在IVRS中误分层(表6)。更具体地,有6名在IVRS中分层为患有SSc-ILD的患者在临床数据库中未记录的SSc-ILD病史,而4名在IVRS中未分层为患有SSc-ILD的患者确实在临床数据库中有记录的SSc-ILD病史。

[0325] 表6. 在临床与IVRS数据库之间具有分层因素差异的患者的汇总-随机化群体

[0326]	层 (根据IVRS) 实际层 (根据临床数据库)	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)	全部 (N=97)
	随机化时分层的层	49/49 (100)	48/48 (100)	97/97 (100)

	具有SSc-ILD的病史 ^a	18/49 (36.7)	18/48 (37.5)	36/97 (37.1)
	具有SSc-ILD的病史 ^b	14/49 (28.6)	16/48 (33.3)	30/97 (30.9)
[0327]	不具有SSc-ILD的病史 ^b	4/49 (8.2)	2/48 (4.2)	6/97 (6.2)
	不具有SSc-ILD的病史 ^a	31/49 (63.3)	30/48 (62.5)	61/97 (62.9)
	具有SSc-ILD的病史 ^b	4/49 (8.2)	0/48	4/97 (4.1)
	不具有SSc-ILD的病史 ^b	27/49 (55.1)	30/48 (62.5)	57/97 (58.8)

[0328] SSC-ILD:SSc-间质性肺病

[0329] ^a:根据IVRS

[0330] ^b:根据临床数据库

[0331] 历史抗体谱(表7)在两个治疗组之间相对均匀地分布,并且这可以通过查看基线时获得的ANA染色模式(表8)间接确认,特别是对于着丝粒阳性组。

[0332] 表7.基线时特定系统硬化症自身抗体的描述性汇总表-随机化群体。

实验室参数	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)	全部 (N=97)
着丝粒抗体[n (%)]			
数量	35	43	78
阴性	31 (88.6)	33 (76.7)	64 (82.1)
阳性	4 (11.4)	10 (23.3)	14 (17.9)
RNA 聚合酶 III 抗体 [n (%)]			
数量	23	28	51
阴性	14 (60.9)	22 (78.6)	36 (70.6)
阳性	9 (39.1)	6 (21.4)	15 (29.4)
Scl-70抗体[n (%)]			
数量	36	46	82
阴性	15 (41.7)	30 (65.2)	45 (54.9)
阳性	21 (58.3)	16 (34.8)	37 (45.1)

[0333] 注意:百分比是使用被随机化的患者数量作为分母来计算的

[0335] 表8.基线时ANA和ANAPATT的描述性汇总表-随机化群体

	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)	全部 (N=97)
ANAPATT – ANA			
数量	49	48	97
阳性	49 (100)	48 (100)	97 (100)
着丝粒			
数量	6	8	14
> 1 : 1280	6 (100)	8 (100)	14 (100)
同源的			
数量	20	14	34
1 : 1280	6 (31.6)	8 (57.1)	14 (42.4)
1 : 320	1 (5.3)	4 (28.6)	5 (15.2)
1 : 640	4 (21.1)	0	4 (12.1)
> 1 : 1280	9 (47.4)	2 (14.3)	11 (33.3)
核仁型			
数量	12	10	22
1 : 1280	3 (25.0)	2 (20.0)	5 (22.7)
1 : 640	2 (16.7)	1 (10.0)	3 (13.6)
> 1 : 1280	7 (58.3)	7 (70.0)	14 (63.6)
混杂型			
数量	13	14	27
1 : 1280	2 (16.7)	7 (50.0)	9 (34.6)
1 : 160	0	1 (7.1)	1 (3.8)
1 : 320	1 (8.3)	0	1 (3.8)
1 : 640	5 (41.7)	1 (7.1)	6 (23.1)
> 1 : 1280	5 (41.7)	5 (35.7)	10 (38.5)

[0336]

[0337] 表9. 暴露程度的汇总-安全性群体

[0338]

	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
对治疗的累积暴露 (患者年数)	20.8	21.1
IMP注射暴露的持续时间 (周)		
数量	49	48
均值 (SD)	22.2 (5.3)	22.9 (4.1)
中值	24.0	24.0
最小值 ; 最大值	4 ; 24	1 ; 25
按类别的IMP注射暴露的持续时间[n (%)]		
[1天 ; 1周[0	0
[1周 ; 2周[0	1 (2.1)
[2周 ; 4周[0	0
[4周 ; 6周[3 (6.1)	0
[6周 ; 8周[0	0
[8周 ; 12周[0	1 (2.1)
[12周 ; 16周[2 (4.1)	1 (2.1)
[16周 ; 20周[1 (2.0)	1 (2.1)
[20周 ; 24周[9 (18.4)	6 (12.5)
≥24周	34 (69.4)	38 (79.2)
按IMP注射暴露的持续时间的患者数量[n (%)]		
≥1天	49 (100)	48 (100)
≥1周	49 (100)	48 (100)
≥2周	49 (100)	47 (97.9)

	≥4周	49 (100)	47 (97.9)
	≥6周	46 (93.9)	47 (97.9)
	≥8周	46 (93.9)	47 (97.9)
[0339]	≥12周	46 (93.9)	46 (95.8)
	≥16周	44 (93.9)	45 (93.8)
	≥20周	43 (87.8)	44 (91.7)
	≥24周	34 (69.4)	38 (79.2)

[0340] IMP:研究药物产品

[0341] 注意:患者被认为在他们实际接受的治疗组中(如治疗的)

[0342] IMP注射暴露的持续时间(以周计)定义为:

[0343] 对于治疗页末尾已填写的患者,(最后剂量日期+7-日期的第一剂量)/7,不管间歇性中止;

[0344] 否则,((min(《数据库提取日期》,第24周计划的治疗访视结束日期(第169天))-首次IMP注射日期)/7

[0345] 功效

[0346] 主要功效终点

[0347] 主要分析

[0348] 如表10和图3中所示,在RKB组与安慰剂之间存在显著差异。对于安慰剂组和RKB组,在第24周mRSS自基线的均值变化分别为-2.45(0.85)和-4.76(0.86),从而产生2.31(1.21)的减少,其中相关的单侧p值=0.0291。

[0349] 表10.mRSS自基线至第24周的绝对变化-MMRM-ITT群体

	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
自基线至第4周的变化		
[0350] 数量	48	48
LS均值 (SE) ^a	-1.01 (0.38)	-1.21 (0.38)
自基线至第8周的变化		
数量	48	47

	LS均值 (SE) ^a	-1.60 (0.49)	-2.54 (0.50)
	自基线至第12周的变化		
	数量	47	47
	LS均值 (SE) ^a	-2.91 (0.58)	-3.84 (0.58)
	自基线至第24周 (EOT) 的变化	48	47
[0351]	LS均值 (SE) ^a	-2.45 (0.85)	-4.76 (0.86)
	95% CI	(-4.14 ; -0.76)	(-6.46 ; -3.06)
	相对于安慰剂的LS均值差 ^a (SE)		2.31 (1.21)
	90% CI		(0.31 ; 4.32)
	95% CI		(-0.08 ; 4.71)
	相对于安慰剂的单侧p值 ^a		0.0291

[0352] 注意:CI:置信区间;MMRM:重复测量的混合模型;mRSS:改良Rodnan皮肤得分;LS均值:使用混合模型计算的最小二乘均值;SE:标准误差;EOT:治疗结束;

[0353] ^aLS均值、SE和p值是由MMRM分析估算的。模型包括治疗组的固定分类效应、根据IVRS的随机化层、时间点、治疗-时间点和层-时间点相互作用、以及基线和基线-时间点相互作用的连续固定效应。

[0354] 在至少一个分析窗口中,对具有基线和基线后值的患者运行模型和数据描述(基于观测到的数据)

[0355] 亚组分析

[0356] 基于随机化层和背景疗法进行亚组分析。

[0357] 在基于根据IVRS的SSc-ILD病史检查分层数据时(表11),对于安慰剂组和RKB组,对于没有SSc-ILD病史的那些,在第24周mRSS自基线的均值变化分别为-1.48(1.09)和-4.09(1.08)。对于有SSc-ILD病史的那些,在第24周mRSS自基线的均值变化分别为-4.08(1.41)和-5.82(1.42)。各层之间的均值差不显著。

[0358] 表11

[0359]

	不具有SSc-ILD的病史 (N=61)		具有SSc-ILD的病史 (N=36)		相互作用 p值
	安慰剂qw (N = 31)	RKB 200mg qw (N=30)	安慰剂qw (N = 18)	RKB 200mg qw (N=18)	
自基线至第4周的变化					
数量	30	30	18	18	
LS均值 (SE) ^a	-0.72 (0.49)	-1.03 (0.49)	-1.49 (0.63)	-1.52 (0.63)	
自基线至第8周的变化					
数量	30	29	18	18	
LS均值 (SE) ^a	-1.66 (0.62)	-1.73 (0.63)	-1.51 (0.81)	-3.86 (0.80)	
自基线至第12周的变化					
数量	29	29	18	18	
LS均值 (SE) ^a	-2.45 (0.73)	-2.45 (0.73)	-3.73 (0.94)	-6.13 (0.93)	
自基线至第24周 (EOT) 的变化					
LS均值 (SE) ^a	30	30	18	17	
95% CI	-1.48 (1.09)	-4.09 (1.08)	-4.08 (1.41)	-5.82 (1.42)	
相对于安慰剂的LS 均值差 ^a (SE)	2.61 (1.53)		1.74 (2.00)		0.7305
90% CI	(0.06 ; 5.15)		(-1.59 ; 5.06)		
95% CI	(-0.44 ; 5.65)		(-2.24 ; 5.71)		

[0360] 注意:CI:置信区间;MMRM:重复测量的混合模型;mRSS:改良Rodnan皮肤得分;SSc:系统性硬化症;ILD:间质性肺病;LS均值:使用混合模型计算的最小二乘均值;EOT:治疗结束;SE:标准误差;

[0361] ^aLS均值、SE和p值是由MMRM分析估算的。模型包括治疗组的固定分类效应、根据IVRS的随机化层、时间点、治疗-时间点和层-时间点相互作用、以及基线和基线-时间点相互作用的连续固定效应。

[0362] 在至少一个分析窗口中,对具有基线和基线后值的患者运行模型和数据描述(基于观测到的数据)根据IVRS选择随机化层。

[0363] 在基于背景疗法的亚组分析中(表12),对于安慰剂组和RKB组,对于没有背景疗法的那些,在第24周mRSS自基线的均值变化分别为-0.95(1.34)和-3.64(1.24)。对于有背景疗法的那些,在第24周mRSS自基线的均值变化分别为-3.43(1.08)和-5.81(1.17)。相似地,各亚组之间的均值差不显著。

[0364] 表12.按背景疗法mRSS自基线至第24周的绝对变化-MMRM-ITT群体

	没有背景疗法 (N=43)		有背景疗法 (N=54)		相互作用 p值
	安慰剂qw (N = 20)	RKB 200mg qw (N=23)	安慰剂qw (N = 29)	RKB 200mg qw (N=25)	
自基线至第4周的变化					
数量	19	23	29	25	
LS均值 (SE) ^a	-0.87 (0.62)	-1.09 (0.56)	-1.10 (0.50)	-1.32 (0.54)	
自基线至第8周的变化					
数量	19	22	29	25	
LS均值 (SE) ^a	-1.02 (0.78)	-1.65 (0.72)	-1.98 (0.63)	-3.33 (0.68)	
自基线至第12周的变化					
数量	19	22	28	25	
LS均值 (SE) ^a	-2.20 (0.90)	-2.44 (0.82)	-3.38 (0.73)	-5.09 (0.78)	
自基线至第24周 (EOT) 的变化					
数量	19	22	29	25	
LS均值 (SE) ^a	-0.95 (1.34)	-3.64 (1.24)	-3.43 (1.08)	-5.81 (1.17)	
95% CI	(-3.61 ; 1.71)	(-6.10 ; -1.17)	(-5.59 ; -1.28)	(-8.14 ; -3.49)	
相对于安慰剂的LS均 值差 ^a (SE)	2.69 (1.83)		2.38 (1.59)		0.9001
90% CI	(-0.35 ; 5.72)		(-0.27 ; 5.03)		
95% CI	(-0.94 ; 6.31)		(-0.79 ; 5.55)		

[0367] 注意:CI:置信区间;MMRM:重复测量的混合模型;mRSS:改良Rodnan皮肤得分;LS均值:使用混合模型计算的最小二乘均值;EOT:治疗结束;SE:标准误差;

[0368] 接受背景疗法的患者被定义为在基线之前和基线时服用来自以下列表的药物的所有患者：甲氨蝶呤_单成分_和_多成分、吗替麦考酚酯_单_成分和_多_成分、硫唑嘌呤_单_成分和_多_成分、环孢素_单_成分和_多_成分或环磷酰胺_单_成分和_多_成分。

[0369] ^aLS均值、SE和p值是由MMRM分析估算的。模型包括治疗组的固定分类效应、根据IVRS的随机化层、时间点、治疗-时间点和层-时间点相互作用、以及基线和基线-时间点相互作用的连续固定效应。

[0370] 在至少一个分析窗口中，对具有基线和基线后值的患者运行模型和数据描述（基于观测到的数据）

[0371] 主要的次要关键功效终点

[0372] HAQ-DI

[0373] 对于HAQ-DI，治疗组之间未观察到明显差异。如表13和图4中所示，对于安慰剂组和RKB组，在第24周HAQ-DI自基线的均值变化分别为-0.12 (0.08) 和-0.09 (0.08)，从而产生-0.03 (0.11) 的差异，其中相关的单侧p值=0.3975。

[0374] 表13.HAQ-DI综合得分自基线至第24周的绝对变化-MMRM-ITT群体

	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
自基线至第4周的变化		
数量	48	48
LS均值 (SE)^a	-0.02 (0.05)	0.02 (0.05)
自基线至第8周的变化		
数量	48	47
LS均值 (SE)^a	-0.08 (0.06)	-0.02 (0.06)
自基线至第12周的变化		
数量	47	47

[0375]

	LS均值 (SE) ^a	-0.15 (0.07)	-0.05 (0.07)
	自基线至第24周 (EOT) 的变化	48	47
	LS均值 (SE) ^a	-0.12 (0.08)	-0.09 (0.08)
	95% CI	(-0.27 ; 0.03)	(-0.24 ; 0.06)
[0376]			
	相对于安慰剂的LS均值差 ^a (SE)		-0.03 (0.11)
	90% CI		(-0.21 ; 0.15)
	95% CI		(-0.24 ; 0.19)
	相对于安慰剂的单侧p值 ^a		0.3975

[0377] 注意:CI:置信区间;MMRM:重复测量的混合模型;LS均值:使用混合模型计算的最小二乘均值;HAQ-DI:健康评估问卷失能指数;SE:标准误差;EOT:治疗结束;

[0378] ^aLS均值、SE和p值是由MMRM分析估算的。模型包括治疗组的固定分类效应、根据IVRS的随机化层、时间点、治疗-时间点和层-时间点相互作用、以及基线和基线-时间点相互作用的连续固定效应。

[0379] 最小二乘 (LS) 均值、标准误差 (SE) 和p值由MMRM (使用重复测量的混合效应模型) 分析估计。模型包括治疗组的固定分类效应、根据IVRS的随机化层、时间点、治疗-时间点和层-时间点相互作用、以及连续固定在至少一个分析窗口中,对具有基线和基线后值的患者运行模型和数据描述 (基于观测到的数据)

[0380] FVC

[0381] 对于FVC,治疗组之间未观察到明显差异 (表14和图5)。对于安慰剂组和RKB组,在第24周绝对FVC (L) 自基线的均值变化分别为-0.08 (0.04) 和-0.01 (0.04),从而产生-0.07 (0.06) 的差异,其中相关的单侧p值=0.0964。

[0382] 表14.FVC (L) 自基线至第24周的绝对变化-MMRM-ITT群体

	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
自基线至第12周的变化		
数量	46	46
LS均值 (SE) ^a	-0.05 (0.04)	0.04 (0.04)
自基线至第24周 (EOT) 的变化	47	47
LS均值 (SE) ^a	-0.08 (0.04)	-0.01 (0.04)
95% CI	(-0.16 ; -0.00)	(-0.09 ; 0.07)
相对于安慰剂的LS均值 差 ^a (SE)		-0.07 (0.06)
90% CI		(-0.17 ; 0.02)
95% CI		(-0.19 ; 0.04)
相对于安慰剂的单侧p值 ^a		0.0964

[0384] 注意:CI:置信区间;MMRM:重复测量的混合模型;LS均值:使用混合模型计算的最小二乘均值;FVC:用力肺活量;SE:标准误差;EOT:治疗结束;

[0385] LS均值、SE和p值是由MMRM分析估算的。模型包括治疗组的固定分类效应、根据IVRS的随机化层、时间点、治疗-时间点和层-时间点相互作用、以及基线和基线-时间点相互作用的连续固定效应。

[0386] 在至少一个分析窗口中,对具有基线和基线后值的患者运行模型和数据描述(基于观测到的数据)

[0387] DLco实测值(针对血红蛋白校正)

[0388] 对于DLco,治疗组之间未观察到明显差异(表15和图6)。对于安慰剂组和RKB组,在第24周绝对DLco (mmol/min/kPa)自基线的均值变化分别为-0.27 (0.10)和-0.12 (0.10),从而产生-0.15 (0.14)的差异,其中相关的单侧p值=0.1352。

[0389] 表15.DLco[针对血红蛋白校正] (mmol/min/kPa)自基线至第24周的绝对变化-MMRM-ITT群体。

	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
自基线至第12周的变化		
数量	46	46
LS均值 (SE) ^a	-0.21 (0.09)	0.05 (0.09)
自基线至第24周 (EOT) 的变化	46	47
[0390] LS均值 (SE) ^a	-0.27 (0.10)	-0.12 (0.10)
95% CI	(-0.46 ; -0.08)	(-0.31 ; 0.07)
相对于安慰剂的LS均值 差 ^a (SE)		-0.15 (0.14)
90% CI		(-0.38 ; 0.08)
95% CI		(-0.42 ; 0.12)
相对于安慰剂的单侧p值 ^a		0.1352

[0391] 注意:CI:置信区间;MMRM:重复测量的混合模型;LS均值:使用混合模型计算的最小二乘均值;DLCO:一氧化碳肺弥散量;SE:标准误差;EOT:治疗结束;

[0392] ^aLS均值、SE和p值是由MMRM分析估算的。模型包括治疗组的固定分类效应、根据IVRS的随机化层、时间点、治疗-时间点和层-时间点相互作用、以及基线和基线-时间点相互作用的连续固定效应。

[0393] 在至少一个分析窗口中,对具有基线和基线后值的患者运行模型和数据描述(基于观测到的数据)

[0394] 探索性功效终点的结果显示在表16中。探索性终点表明RKB对总体疼痛、雷诺现象和指端溃疡的可能作用。

[0395] 与安慰剂相比,罗密基单抗导致EQ-5D-5L指数的统计学上显著的改善;罗密基单抗自基线至第24周的LS均值(SE)变化为0.07(0.03),而安慰剂为0.00(0.03),从而产生0.07的差异[95%CI:-0.01,0.15;p=0.04](表2)。对于罗密基单抗相对于安慰剂,自基线至第24周,对于总体疾病严重程度、疼痛严重程度、血管功能和指端溃疡对活动的影响,在SHAQ VAS量表之间存在数值改善(即降低),并且对于GI功能和呼吸功能存在较小恶化,但是这些没有达到统计学显著性(表2)。

[0396] 另外的探索性功效终点汇总在增补4中。在第24周,对于罗密基单抗相对于安慰剂,UCLA SCTC GIT 2.0总得分存在数值改善(即更大的减少),从而产生-0.02的LS均值差

[95%CI: -0.14, 0.10; p=0.39], 并且关节压痛数28存在数值改善, 从而产生-1.08的差异 [95%CI: -2.74, 0.58; p=0.10], 但是指端溃疡计数没有数值改善 (LS均值差: 0.10 [95% CI: -0.37, 0.57; p=0.33])。在罗密基单抗的情况下CRISS改善的平均 (SD) 预测概率比安慰剂略高: 分别为0.4245 (0.4266) 与0.3811 (0.4372)。

[0397] 表16. 探索性终点

[0398]

	安慰剂 QW (n=49)	罗密基单抗 200 mg QW (n=48)
针对总体疾病严重程度的SHAQ - VAS		
基线均值 (SD)	54.00 (27.62)	42.71 (30.95)
自基线的LS均值 (SE) 变化	-7.30 (3.12) [n=48]	-12.72 (3.16) [n=47]
在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	-5.42 [-14.32, 3.48] (0.11)	
针对疼痛严重程度的SHAQ - VAS		
基线均值 (SD)	36.82 (26.72)	28.65 (28.28)
自基线的LS均值 (SE) 变化	1.18 (3.44) [n=48]	-6.94 (3.46) [n=47]
在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	-8.12 [-17.87, 1.63] (0.05)	
针对胃肠功能的SHAQ - VAS		

	基线均值 (SD)	15.39 (22.25)	7.54 (17.84)
	自基线的LS均值 (SE) 变化	5.40 (3.06) [n=48]	3.21 (3.08) [n=47]
	在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	-2.20 [-10.90, 6.51] (0.31)	
	针对呼吸功能的SHAQ – VAS		
	基线均值 (SD)	18.80 (23.96)	10.38 (18.13)
	自基线的LS均值 (SE) 变化	2.32 (2.63) [n=48]	0.14 (2.66) [n=47]
	在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	-2.18 [-9.70, 5.33] (0.28)	
	针对血管功能 (雷诺现象) 的SHAQ – VAS		
	基线均值 (SD)	39.90 (28.82)	29.98 (32.07)
[0399]	自基线的LS均值 (SE) 变化	-4.26 (3.24) [n=48]	-8.46 (3.27) [n=47]
	在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	-4.20 [-13.43, 5.02] (0.18)	
	针对指端溃疡对活动的影响的SHAQ – VAS		
	基线均值 (SD)	23.44 (32.78) [n=48]	15.00 (29.25) [n=47]
	自基线的LS均值 (SE) 变化	0.08 (3.38) [n=48]	-6.10 (3.41) [n=46]
	在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	-6.18 [-15.74, 3.38] (0.10)	
	EQ-5D-5L		
	基线均值 (SD)	0.58 (0.24)	0.64 (0.18)
	自基线的LS均值 (SE) 变化	0.00 (0.03) [n=48]	0.07 (0.03) [n=47]
	在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	0.07 [-0.01, 0.15] (0.04)	

[0400] CRISS概率

[0401] 对于CRISS事件的第1步分析(表17)和CRISS改善的预测概率(表18),在治疗组之间未观察到显著差异。总共发生了两个符合CRISS标准的事件,其中两个事件(FVC下降)均发生在安慰剂组中。在第35周从RKB组中报告了另一个CRISS事件(硬皮病肾危象)并且将其反映在CSR的CRISS分析中。

[0402] 表17.按分析时间点对随时间的CRISS事件的描述-ITT群体。

[0403]		安慰剂qw	RKB 200mg qw
--------	--	--------------	---------------------

	(N=49)	(N=48)
第12周		
CRISS-FVC下降	1 (2.0)	0
CRISS-硬皮病肾危象	0	0
CRISS-左心室衰竭的新发作	0	0
CRISS-右臂上PAH的新发作	0	0
总计	1 (2.0)	0
第24周 (EOT)		
CRISS-FVC下降	2 (4.1)	0
CRISS-硬皮病肾危象	0	0
CRISS-左心室衰竭的新发作	0	0
CRISS-右臂上PAH的新发作	0	0
总计	2 (4.1)	0

[0405] 注意:CRISS=弥漫性皮肤系统硬化症 (dcSSc) 的综合反应指数;FVC:用力肺活量;PAH:肺动脉高压;EOT:治疗结束;EOS:研究结束。

[0406] 表18.对在第12周和第24周的预测CRISS概率的分布的描述-ITT群体

	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
第12周		
数量	45	44
均值 (SD)	0.2994 (0.3557)	0.3694 (0.4092)
中值	0.1598	0.0709
Q1 ; Q3	0.0202 ; 0.4803	0.0083 ; 0.8506
最小值 ; 最大值	0.000 ; 1.000	0.000 ; 1.000
第24周 (EOT)		
数量	47	46

[0408]	均值 (SD)	0.3811 (0.4372)	0.4337 (0.4266)
	中值	0.0578	0.1795
	Q1 ; Q3	0.0040 ; 0.8745	0.0194 ; 0.9307
	最小值 ; 最大值	0.000 ; 1.000	0.000 ; 1.000
	在第24周来自两个组之间的比较的P值 ^a		0.1966

[0409] CRISS=弥漫性皮肤系统硬化症(dcSSc)的综合反应指数

[0410] CRISS反映患者改善其dcSSc的概率

[0411] CRISS是2步式过程。步骤1:如果患者发展新的或恶化的由于SSc所致的心肺和/或肾受累,则概率等于0。

[0412] 步骤2: $\exp(-5.54-0.81x \Delta MRSS+0.21x \Delta FVCP-0.40x \Delta PT_glob-0.44x \Delta MD_glob-3.41x \Delta HAQDI) / (1+\exp(-5.54-0.81x \Delta MRSS+0.21x \Delta FVCP-0.40x \Delta PT_glob-0.44x \Delta MD_glob-3.41x \Delta HAQDI))$

[0413] _a 使用在随机化层上分层的Van Elteren检验提供的未输入数据

[0414] 预先指定的亚组分析

[0415] 在皮肤受影响更严重的患者中,相对于安慰剂,mRSS的LS均值差在统计学上显著有利于罗密基单抗(即基线mRSS ≥ 15 (-3.42[95%CI: -6.21, -0.64; p=0.01])。响应率分析表明,罗密基单抗的mRSS自基线至第24周的20%、40%和60%改善高于安慰剂;mRSS的40%改善的组间差异在统计学上显著(p=0.02)。不管基线疾病持续时间(<20个月和 ≥ 20 个月)、背景疗法的使用或SSc-ILD的病史,相对于安慰剂,在第24周时mRSS的LS均值差在数值上有利于罗密基单抗(表19)。

[0416] 表19:对于用罗密基单抗与安慰剂治疗的预先指定的ITT群体,绝对mRSS自基线至第24周的均值变化。

[0417]		安慰剂	罗密基单抗
		QW	200 mg QW

	(n=49)	(n=48)
疾病持续时间 < 20个月 , n	23	25
自基线的LS均值 (SE) 变化	-1.75 (1.24)	-5.09 (1.19)
在第24周的LS均值差[95% CI]	-3.34 [-6.74, 0.07]	
疾病持续时间 ≥ 20个月 , n	25	22
自基线的LS均值 (SE) 变化	-3.09 (1.19)	-4.40 (1.26)
在第24周的LS均值差[95% CI]	-1.31 [-4.74, 2.12]	
针对疾病持续时间的相互作用p值	0.41	
使用背景药物^a , n	29	25
自基线的LS均值 (SE) 变化	-3.43 (1.08)	-5.81 (1.17)
在第24周的LS均值差[95% CI]	-2.38 [-5.55, 0.79]	
不使用背景药物^a , n	19	22
自基线的LS均值 (SE) 变化	-0.95 (1.34)	-3.64 (1.24)
在第24周的LS均值差[95% CI]	-2.69 [-6.31, 0.94]	
针对背景药物的相互作用p值	0.90	
具有SSc-ILD的病史 , n	18	17
自基线的LS均值 (SE) 变化	-4.08 (1.41)	-5.82 (1.42)
在第24周的LS均值差[95% CI]	-1.74 [-5.71, 2.24]	
不具有SSc-ILD的病史 , n	30	30
自基线的LS均值 (SE) 变化	-1.48 (1.09)	-4.09 (1.08)
在第24周的LS均值差[95% CI]	-2.61 [-5.65, 0.44]	
针对SSc-ILD的病史的相互作用p值	0.73	

[0419] ^a包括甲氨蝶呤、吗替麦考酚酯、硫唑嘌呤和环磷酰胺。

[0420] CI, 置信区间; ITT, 意向性治疗; LS, 最小二乘; mRSS, 改良Rodnan皮肤得分; QW, 每周一次; SE, 标准误差; SSc-ILD, 系统性硬化症间质性肺病。

[0421] 事后分析

[0422] 相对于安慰剂, 在罗密基单抗的情况下至首次事件的时间更长 (图7)。对于至反映

疾病恶化的事件的时间,存在对罗密基单抗相比于安慰剂有益的趋势:分别为9(18.8%)与15(30.6%) [危险比:0.47[95%CI:0.20,1.11;p=0.09,两侧] (表20)。这对于罗密基单抗由肺和皮肤事件驱使,并且对于安慰剂由肺、皮肤和其他CRISS事件驱使。

[0423] 药代动力学、免疫原性和生物标记终点

[0424] 药代动力学分析显示,罗密基单抗在第4周达到稳态。算术均值(SD) C_{24} 在第4周和第24周分别为38.23(17.96) $\mu\text{g/mL}$ 和47.45(30.23) $\mu\text{g/mL}$ 。免疫原性测试显示,在任一治疗组中的患者在基线时都没有预先存在的阳性ADA。罗密基单抗组中有3名患者并且安慰剂组中有0名患者截至第24周发展出阳性ADA;所有都被认为是低滴度的。所有ADA阳性都与TEAE无关。相对于安慰剂,罗密基单抗与TARC的统计学显著的减少相关;在第24周的LS均值差为-115.56ng/L[95%CI;-216.87,-14.26;p=0.03] (图8A)。相对于安慰剂,在罗密基单抗的情况下骨膜蛋白显示出更大下降的强趋势;在第24周的LS均值差为-16.92 $\mu\text{g/L}$ [-35.19,1.35;p=0.07] (图8B)。其他生物标记在罗密基单抗与安慰剂之间没有显著差异(表21)。

[0425] 表20:反映疾病进展的事件的分布

	安慰剂 QW (n=49)	罗密基单抗 200 mg QW (n=48)
[0426] 至进展的时间分析中使用的反映疾病进展的事件, n(%)		
FVC预测值%自基线的降低> 10%的患者	4 (8.2)	3 (6.3)
DL _{CO} 的预测值% (血红蛋白校正的) 自基线的降低> 15%的患者	3 (6.1)	3 (6.3)
mRSS自基线的增加> 20%或> +5的患者	5 (10.2)	3 (6.3)
具有CRISS事件的患者	1 (2.0)	0
死亡事件	0	0
[0427] FVC预测值%自基线的降低>10%且DL _{CO} 的预测值% (血红蛋白校正的) 自基线的降低> 15%的患者	1 (2.0)	0
FVC预测值%自基线的降低>10%且DL _{CO} 的预测值% (血红蛋白校正的) 自基线的降低> 15%并且具有CRISS事件的患者	1 (2.0)	0

[0428] CRISS,弥漫性皮肤系统性硬化症的综合反应指数;DL_{CO},一氧化碳肺弥散量;FVC,用力肺活量;mRSS,改良Rodnan皮肤得分;QW,每周一次。

[0429] 表21:在用罗密基单抗与安慰剂治疗的ITT群体中,蛋白质生物标记自基线至第24周的均值变化。

[0430]

	安慰剂 QW (n=49)	罗密基单抗 200 mg QW (n=48)
TARC (ng/L)		
基线均值 (SD)	576.07 (330.29) [n=46]	583.00 (406.42) [n=46]
自基线的LS均值 (SE) 变化	-20.38 (36.03) [n=45]	-135.94 (36.04) [n=45]
在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	-115.56 [-216.87, -14.26] (0.03)	
骨膜蛋白 (μg/L)		
基线均值 (SD)	138.82 (91.81) [n=45]	156.22 (96.14) [n=46]
自基线的LS均值 (SE) 变化	-7.39 (6.49) [n=45]	-24.31 (6.49) [n=45]
在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	-16.92 [-35.19, 1.35] (0.07)	
嗜酸性粒细胞趋化因子-3 (ng/L)		
基线均值 (SD)	29.11 (16.60) [n=45]	30.44 (24.92) [n=46]

[0431]	自基线的LS均值 (SE) 变化	-2.05 (10.91) [n=45]	12.49 (10.80) [n=45]
	在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	14.55 (-16.01, 45.10) (0.35)	
	COMP (μg/L)		
	基线均值 (SD)	377.39 (200.09) [n=46]	406.31 (230.56) [n=45]
	自基线的LS均值 (SE) 变化	-29.59 (15.62) [n=46]	-24.62 (15.90) [n=44]
	在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	4.97 [-39.38, 49.33] (0.82)	
	CCL2 (ng/L)		
	基线均值 (SD)	360.27 (160.55) [n=44]	394.89 (647.82) [n=46]
	自基线的LS均值 (SE) 变化	-15.28 (28.78) [n=44]	47.13 (28.97) [n=43]
	在第24周的LS均值差[95% CI] (p值)	62.40 [-18.81, 143.62] (0.13)	

[0432] CCL2, 趋化因子 (C-C基序) 配体2; CI, 置信区间; COMP, 软骨寡聚基质蛋白; ITT, 意向性治疗; LS, 最小二乘; QW, 每周一次; SD, 标准差; SE, 标准误差; TARC, 胸腺和激活调节趋化因子。

[0433] 安全性

[0434] 治疗紧急不良事件

[0435] 感染是最频繁报告的TEAE, 与安慰剂组 (46.9%) 相比, RKB组 (54.2%) 中发生更多。最常见的感染是在上呼吸道内。与安慰剂组 (2.0%) 相比, 在RKB组 (10.4%) 中发生了更多的口腔疱疹事件。

[0436] 与RKB组 (31.3%) 相比, 安慰剂组 (36.7%) 中报告皮肤和皮下组织障碍的频率略高。最常报告的事件是皮肤溃疡 (或指端溃疡), 在安慰剂组和RKB组中分别有30.6%和16.7%的患者报告。

[0437] 与安慰剂组 (14.3%) 相比, RKB组 (25.0%) 中报告胃肠障碍的频率更高。最常报告的事件是腹泻, 其在安慰剂组和SAR156507组中分别在8.2%和14.6%的患者中发生。

[0438] 与安慰剂组 (14.3%) 相比, RKB组 (22.9%) 中报告肌肉骨骼和结缔组织障碍的频率更高。与RKB组 (12.5%) 相比, 安慰剂组 (16.3%) 中报告呼吸、胸部及纵膈障碍的频率略高。与安慰剂组 (6.1%) 相比, RKB组 (18.8%) 中报告神经系统障碍的频率更高。从这后三个SOC中, 在安慰剂组和RKB组中PT水平的一些显著失衡分别包括以下事件: 头痛 (2.0%与8.3%)、咳嗽 (0%与6.3%) 和关节痛 (2.0%与8.3%)。

[0439] 表22.不良事件概况的概述:按治疗组在主要TEAE期期间的治疗紧急不良事件-安全性群体。

n (%)	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
具有任何TEAE的患者	41 (83.7)	40 (83.3)
具有任何治疗紧急SAE的患者	5 (10.2)	4 (8.3)
具有任何导致死亡的TEAE的患者	0	1 (2.1)
具有任何导致永久性治疗中止的TEAE的患者	1 (2.0)	2 (4.2)

[0441] TEAE:治疗紧急不良事件,SAE:严重不良事件

[0442] n(%) =具有至少一种TEAE的患者的数量和百分比

[0443] 表23.在TEAE期期间按主要SOC和PT在任何治疗组中具有以PT \geq 5%发生的一种或多种TEAE的患者的数量(%) -安全性群体

主要系统器官种类首选项n (%)	安慰剂qw (N = 49)	RKB 200mg qw (N=48)
任何种类	41 (83.7)	40 (83.3)
感染与侵染	23 (46.9)	26 (54.2)
鼻咽炎	6 (12.2)	6 (12.5)
口腔疱疹	1 (2.0)	5 (10.4)

[0445]	上呼吸道感染	2 (4.1)	5 (10.4)
	膀胱炎	2 (4.1)	3 (6.3)
	咽炎	0	3 (6.3)
	神经系统障碍	3 (6.1)	9 (18.8)
	头痛	1 (2.0)	4 (8.3)
	呼吸、胸部及纵膈障碍	8 (16.3)	6 (12.5)
	咳嗽	0	3 (6.3)
	胃肠障碍	7 (14.3)	12 (25.0)
	腹泻	4 (8.2)	7 (14.6)
	胃食管反流性疾病	0	3 (6.3)
	皮肤及皮下组织障碍	18 (36.7)	15 (31.3)
	皮肤溃疡	15 (30.6)	8 (16.7)
	瘙痒症	1 (2.0)	3 (6.3)
	肌肉骨骼和结缔组织障碍	7 (14.3)	11 (22.9)
	关节痛	1 (2.0)	4 (8.3)

[0446] TEAE: 治疗紧急不良事件, SOC: 系统器官种类, PT: 首选项MedDRA 21.1

[0447] n(%) = 具有至少一种TEAE的患者的数量和百分比

[0448] 注意: 表按SOC国际认可的顺序和PT的降低频率分选

[0449] 仅呈现出在至少一个组中具有至少一个PT \geq 5%的SOC。

[0450] *报告项未编码

[0451] 严重治疗紧急不良事件

[0452] 9名患者(9.2%)经历了至少一种TESAE, 分别是安慰剂组和RKB组中的5名(10.2%)和4名(8.3%)患者(表24)。最频繁报告的TESAE在感染与侵染障碍以及心脏障碍的SOC下。与安慰剂组(2.0%)相比, RKB组(4.2%)中报告的与感染相关的TESAE略高。与RKB组(0.0%)相比, 安慰剂组(4.1%)中报告的与心脏障碍事件相关的TESAE更高。在两个治疗组之间, 每个SOC的其余TESAE没有差异。

[0453] 表24. 按主要SOC和PT具有治疗紧急SAE的患者的数量(%) - 安全性群体

主要系统器官种类 首选项, n (%)	安慰剂qw (N = 49)	RKB 200mg qw (N=48)
任何种类	5 (10.2)	4 (8.3)
感染与侵染	1 (2.0)	2 (4.2)
肺炎细菌	0	1 (2.1)
毛细支气管炎	0	1 (2.1)
肺炎	0	1 (2.1)
急性肾盂肾炎	1 (2.0)	0
心脏障碍	2 (4.1)	0
心脏衰竭	1 (2.0)	0
心肌病	1 (2.0)	0
[0454] 呼吸、胸部及纵膈障碍	1 (2.0)	0
呼吸困难	1 (2.0)	0
胃肠障碍	1 (2.0)	0
肠假性梗阻	1 (2.0)	0
肝胆障碍	0	1 (2.1)
急性胆囊炎	0	1 (2.1)
肾脏及泌尿系统障碍	0	1 (2.1)
硬皮病肾危象	0	1 (2.1)
全身性障碍和给药部位病症	0	1 (2.1)
胸痛	0	1 (2.1)
研究	1 (2.0)	0
超声心动图异常	1 (2.0)	0

[0455] SAE:严重不良事件, SOC:系统器官种类, PT:首选项MedDRA 21.1

[0456] n(%) = 具有至少一种治疗紧急SAE的患者的数量和百分比

[0457] 注意:表按SOC国际认可的顺序和根据所有TEAE汇总的PT的降低频率分类

[0458] *报告项未编码

[0459] 导致死亡的治疗紧急不良事件

[0460] 两名患者在研究中发展导致死亡的TEAE, 其中两个治疗组中各发生一种事件(表25)。对于RKB组中导致死亡的TEAE, 在开始治疗后大约三个月, 自2016年8月以来诊断为SSc(基线mRSS为35)且自筛选(2017年1月26日)前不久的2016年12月以来诊断为SSc-ILD且具

有许多其他一般医学病症的78岁女性患者发展肾功能不全的恶化,这最终被诊断为硬皮病肾危象,导致治疗中止(表26)。值得注意的是,患者具有慢性肾功能不全的基线病史,并且在随机化之前肾功能已经在衰退中(在2016年12月肌酐=94.1 $\mu\text{mol/L}$,筛选肌酐=103 $\mu\text{mol/L}$,并且基线肌酐=122 $\mu\text{mol/L}$),这归因于根据肾脏病学会诊指导的年龄相关过程。她在第6周被诊断出患有急性肾衰竭(肌酐为172.6 $\mu\text{mol/L}$),用呋塞米和泼尼松龙治疗。IMP中止后数周,然后患者因诊断出双侧肺炎而住院。此住院并发呼吸衰竭、高血压和肾衰竭的快速进展,从而导致血液透析和死亡。

[0461] 对于在安慰剂组中导致死亡的TEAE,在随机化到研究之前在接受甲氨蝶呤和低剂量泼尼松的背景疗法的31岁男性患者发展出心肌病(原发性SSc心肌病),用高剂量皮质类固醇治疗并导致研究治疗中止(表27)。最终,在研究治疗中止后大约九个月,患者由于此事件而死亡。

[0462] 表25.按主要SOC和PT具有导致死亡的一种或多种TEAE的患者的数量(%)-安全性群体

主要系统器官种类 首选项, n (%)	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
任何种类	1 (2.0)	1 (2.1)
[0463] 心脏障碍	1 (2.0)	0
心肌病	1 (2.0)	0
肾脏及泌尿系统障碍	0	1 (2.1)
硬皮病肾危象	0	1 (2.1)

[0464] TEAE:治疗紧急不良事件,SOC:系统器官种类,PT:首选项MedDRA 21.1

[0465] n(%)=具有至少一种导致死亡的TEAE的患者的数量和百分比

[0466] 注意:表按SOC国际认可的顺序和根据所有TEAE汇总的PT的降低频率分类

[0467] *报告项未编码

[0468] 导致永久性中止的不良事件

[0469] 表26.按主要SOC和PT具有导致永久性治疗中止的一种或多种TEAE的患者的数量(%)-安全性群体

主要系统器官种类 首选项，n (%)	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
任何种类	1 (2.0)	2 (4.2)
心脏障碍	1 (2.0)	0
[0470] 心肌病	1 (2.0)	0
胃肠障碍	0	1 (2.1)
食管狭窄	0	1 (2.1)
肾脏及泌尿系统障碍	0	1 (2.1)
硬皮病肾危象	0	1 (2.1)

[0471] TEAE: 治疗紧急不良事件, SOC: 系统器官种类, PT: 首选项MedDRA21.1

[0472] n (%) = 具有至少一种导致永久性治疗中止的TEAE的患者的数量和百分比

[0473] 注意: 表按SOC国际认可的顺序和根据所有TEAE汇总的PT的降低频率分类

[0474] *报告项未编码

[0475] 其他显著不良事件 (包括AESI、labs)

[0476] 如表27中所见, 根据方案, 共有2名患者经历了被视为AESI的TEAE。在两个治疗组之间, 没有观察到生命体征 (表28) 或ECG特征 (表29) 的差异。没有报告血管炎、结核病或过敏反应的病例。

[0477] 特别关注的不良事件

[0478] 表27. 具有至少一种AESI的患者的数量 (%) - 安全性群体

AESI类别 首选项, n (%)	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
任何种类	1 (2.0)	1 (2.1)
妊娠 ^a	0	0
服药过量 ^a	0	0
ALT的增加 ^b	1 (2.0)	0
[0479] ALT > 3 ULN	1 (2.0)	0
确认的血管炎 ^c	0	0
过敏性反应 ^c	0	0
严重的注射部位反应 ^d	0	0
结核病 ^e	0	0
急性肾衰竭 ^f	0	1 (2.1)
硬皮病肾危象	0	1 (2.1)

[0480] MedDRA 21.1;AESI:特别关注的不良事件,PT:首选项

[0481] ^a 使用AE上的e-CRF复选框的AESI类别。

[0482] ^b 使用实验室数据选择的ALT的增加>3ULN。^c AESI定义使用CMQ编码列表进行标识。^d AESI定义通过AEHLT=“注入部位反应”和AESEV=“重度的”进行标识。

[0483] ^e AESI定义使用CMQ编码列表或用于可疑结核病的用药起始进行标识,所述用药起始是使用WHODD CDG00737“用于可疑结核病的用药起始”进行选择。

[0484] ^f 急性肾衰竭使用CMQ编码列表或使用AE页上的e-CRF“急性肾衰竭”复选框进行选择。

[0485] n(%) = 具有至少一种TEAE的患者的数量和百分比

[0486] 生命体征和ECG观察结果

[0487] 表28. 生命体征-在TEAE期间具有异常(PCSA)的患者的数量-安全性群体

生命体征参数 PCSA标准n/N1 (%)	安慰剂qw (N=49)	RKB 200mg qw (N=48)
	收缩压	
≤ 95 mmHg且自基线的降低≥ 20 mmHg	1/49 (2.0)	4/48 (8.3)
≥ 160 mmHg且自基线的增加≥ 20 mmHg	2/49 (4.1)	1/48 (2.1)
舒张压		
≤ 45 mmHg且自基线的降低≥ 10 mmHg	1/49 (2.0)	0/48
≥ 110 mmHg且自基线的增加≥ 10 mmHg	0/49	1/48 (2.1)
心率		
≤ 50次心跳/min且自基线的降低≥ 20次心跳/min	0/49	0/48
≥ 120次心跳/min且自基线的增加≥ 20次心跳/min	0/49	0/48
体重		
≥ 5%的自基线的降低	10/49 (20.4)	5/48 (10.4)
≥ 5%的自基线的增加	10/49 (20.4)	6/48 (12.5)

[0488] PCSA:潜在的临床显著异常(2014-05-24v1.0版本)

[0489] 注意:数字(n)表示在TEAE期期间至少一次符合标准的患者的总数量的子集。

[0490] 治疗组内每个参数的分母(/N1)是在TEAE期期间在基线后评估该参数(未缺失)的患者的数量。

[0491] 对于包括仅基于自基线的变化的病症的PCSA,分母仅限于在TEAE期期间具有(未缺失)基线和基线后值的患者。

[0492] 表29.ECG-在TEAE期期间具有异常(PCSA)的患者的数量-安全性群体

ECG参数PCSA标准n/N1 (%)	安慰剂qw (N = 49)	RKB 200mg qw (N=48)
心率		

[0495]

< 50次心跳/min	1/48 (2.1)	1/48 (2.1)
< 50次心跳/min且自基线的降低 \geq 20次心跳/min	0/48	0/48
< 40次心跳/min	0/48	0/48
< 40次心跳/min且自基线的降低 \geq 20次心跳/min	0/48	0/48
< 30次心跳/min	0/48	0/48
< 30次心跳/min且自基线的降低 \geq 20次心跳/min	0/48	0/48
> 90次心跳/min	10/48 (20.8)	6/48 (12.5)
> 90次心跳/min且自基线的增加 \geq 20次心跳/min	2/48 (4.2)	3/48 (6.3)
> 100次心跳/min	2/48 (4.2)	3/48 (6.3)
> 100次心跳/min且自基线的增加 \geq 20次心跳/min	1/48 (2.1)	3/48 (6.3)
> 120次心跳/min	1/48 (2.1)	0/48
> 120次心跳/min且自基线的增加 \geq 20次心跳/min	1/48 (2.1)	0/48
PR间隔		
> 200 ms	2/48 (4.2)	4/48 (8.3)
> 200 ms且自基线的增加 \geq 25%	0/48	1/48 (2.1)
> 220 ms	1/48 (2.1)	1/48 (2.1)
> 220 ms且自基线的增加 \geq 25%	0/48	0/48
> 240 ms	0/48	0/48
> 240 ms且自基线的增加 \geq 25%	0/48	0/48
QRS间隔		

	> 110 ms	4/48 (8.3)	5/48 (10.4)
	> 110 ms且自基线的增加 \geq 25%	0/48	1/48 (2.1)
	> 120 ms	1/48 (2.1)	3/48 (6.3)
	> 120 ms且自基线的增加 \geq 25%	0/48	1/48 (2.1)
	QT间隔		
	> 500 ms	0/48	0/48
	QTc Bazett		
	> 450 ms	15/48 (31.3)	11/48 (22.9)
	> 480 ms	3/48 (6.3)	4/48 (8.3)
	> 500 ms	2/48 (4.2)	1/48 (2.1)
[0496]	QTc Bazett - 自基线的变化 ^a		
	自基线的增加> 30且 \leq 60 ms	9/48 (18.8)	4/46 (8.7)
	自基线的增加> 60 ms	3/48 (6.3)	1/46 (2.2)
	QTc Fridericia		
	> 450 ms	6/48 (12.5)	5/48 (10.4)
	> 480 ms	1/48 (2.1)	2/48 (4.2)
	> 500 ms	1/48 (2.1)	0/48
	QTc Fridericia - 自基线的变化 ^a		
	自基线的增加> 30且 \leq 60 ms	9/48 (18.8)	2/46 (4.3)
	自基线的增加> 60 ms	3/48 (6.3)	1/46 (2.2)

[0497] PCSA:潜在的临床显著异常(2014-05-24v1.0版本)注意:数字(n)表示在TEAE期期间至少一次符合标准的患者的总数量的子集。

[0498] 治疗组内每个参数的分母(/N1)是在TEAE期期间在基线后评估该参数(未缺失)的患者的数量。

[0499] 对于包括仅基于自基线的变化的病症的PCSA,分母仅限于在TEAE期期间具有(未缺失)基线和基线后值的患者。^a仅在最差的类别中计数经历若干个类别中的一种PCSA的患者总结

[0500] 如通过第24周mRSS自基线的绝对变化测量的主要功效终点显示出RKB与安慰剂之间的统计学上显著的差异:对于安慰剂组和RKB组,在第24周mRSS自基线的绝对变化分别为-2.45 (0.85) 和-4.76 (0.86),从而产生2.31 (1.21) 的减少,其中相关的单侧p值=0.0291。

[0501] 如通过HAQ-DI测量的次要功效终点未显示RKB与安慰剂之间的差异。FVC和DLco的次要功效终点在两组之间也未显示出差异,但与安慰剂组相比,RKB组对于两个参数在24周内的下降均较小。

[0502] 对于安慰剂组和RKB组,在第24周绝对FVC (L) 自基线的均值变化分别为-0.08 (0.04) 和-0.01 (0.04),从而产生-0.07 (0.06) 的差异,其中相关的单侧p值=0.0964。

[0503] 对于安慰剂组和RKB组,在第24周绝对DLco (mmol/min/kPa) 自基线的均值变化分别为-0.27 (0.10) 和-0.12 (0.10),从而产生-0.15 (0.14) 的差异,其中相关的单侧p值=0.1352。

[0504] 在两个治疗组之间,治疗紧急不良反应 (TEAE)、治疗紧急严重不良反应 (TESAE)、导致死亡的TEAE和导致治疗中止的TEAE的发生率相似;对于RKB组,更多的TEAE发生在感染与侵袭和胃肠障碍的系统器官种类 (SOC) 内,而对于安慰剂组,更多的TEAE发生在皮肤及皮下组织障碍的SOC内。

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 4

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 4

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Ile His Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Met Ile Asp Pro Ser Asp Gly Glu Thr Arg Leu Asn Gln Arg Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Arg Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Leu Lys Glu Tyr Gly Asn Tyr Asp Ser Phe Tyr Phe Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Ala Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120

<210> 5

<211> 124

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 5

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Ile His Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Met Ile Asp Ala Ser Asp Gly Glu Thr Arg Leu Asn Gln Arg Phe

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 10
Gln Gln Asn Ala Glu Asp Ser Arg Thr
1 5
<210> 11
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 11
Gly Phe Ser Leu Thr Asp Ser Ser Ile Asn
1 5 10
<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 12
Asp Gly Arg Ile Asp
1 5
<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 13
Asp Gly Tyr Phe Pro Tyr Ala Met Asp Phe
1 5 10
<210> 14
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 14
His Ala Ser Gln Asn Ile Asp Val Trp Leu Ser
1 5 10
<210> 15
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 15
Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly
1 5
<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 16
Gln Gln Ala His Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5
<210> 17
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
<400> 17
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile His
1 5 10
<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体

<400> 18
 Ile Asp Pro Ser Asp Gly Glu Thr Arg
 1 5
 <210> 19
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 19
 Leu Lys Glu Tyr Gly Asn Tyr Asp Ser Phe Tyr Phe Asp Val
 1 5 10
 <210> 20
 <400> 20
 000
 <210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 21
 Ile Asp Ala Ser Asp Gly Glu Thr Arg
 1 5
 <210> 22
 <211> 335
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 22
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Gln Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp																			
65					70					75									80
Pro Val Gln Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Ala																			
					85					90									95
Glu Asp Ser Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly																			
					100					105									110
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser																			
					115					120									125
Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly Asp Thr Ile Thr Leu Thr Cys																			
					130					135									140
His Ala Ser Gln Asn Ile Asp Val Trp Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys																			
					145					150									155
Pro Gly Asn Ile Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His																			
					165					170									175
Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe																			
					180					185									190
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr																			
					195					200									205
Cys Gln Gln Ala His Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys																			
					210					215									220
Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro																			
					225					230									235
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu																			
					245					250									255
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp																			
					260					265									270
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp																			
					275					280									285
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys																			
					290					295									300
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln																			
					305					310									315
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys																			
					325					330									335

<210> 23

<211> 577

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

290	295	300
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val		
305	310	315
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val		
	325	330
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys		
	340	345
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly		
	355	360
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
370	375	380
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu		
385	390	395
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
	405	410
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg		
	420	425
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
435	440	445
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu		
450	455	460
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
465	470	475
Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
	485	490
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
	500	505
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
	515	520
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp		
530	535	540
Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
545	550	555
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu		
	565	570
		575
Gly		

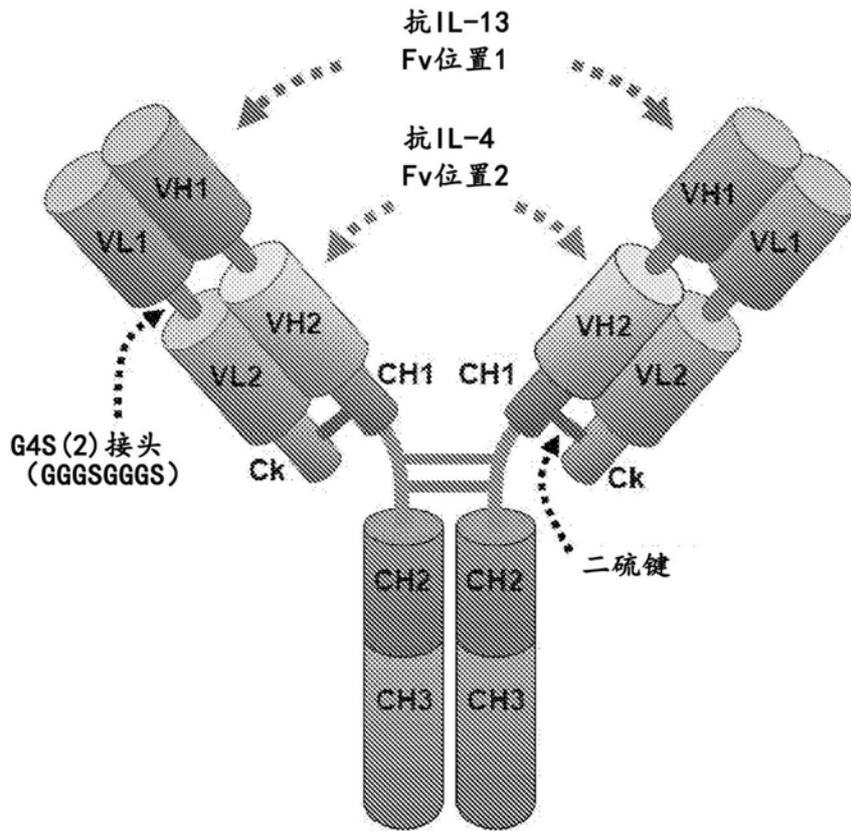


FIG.1

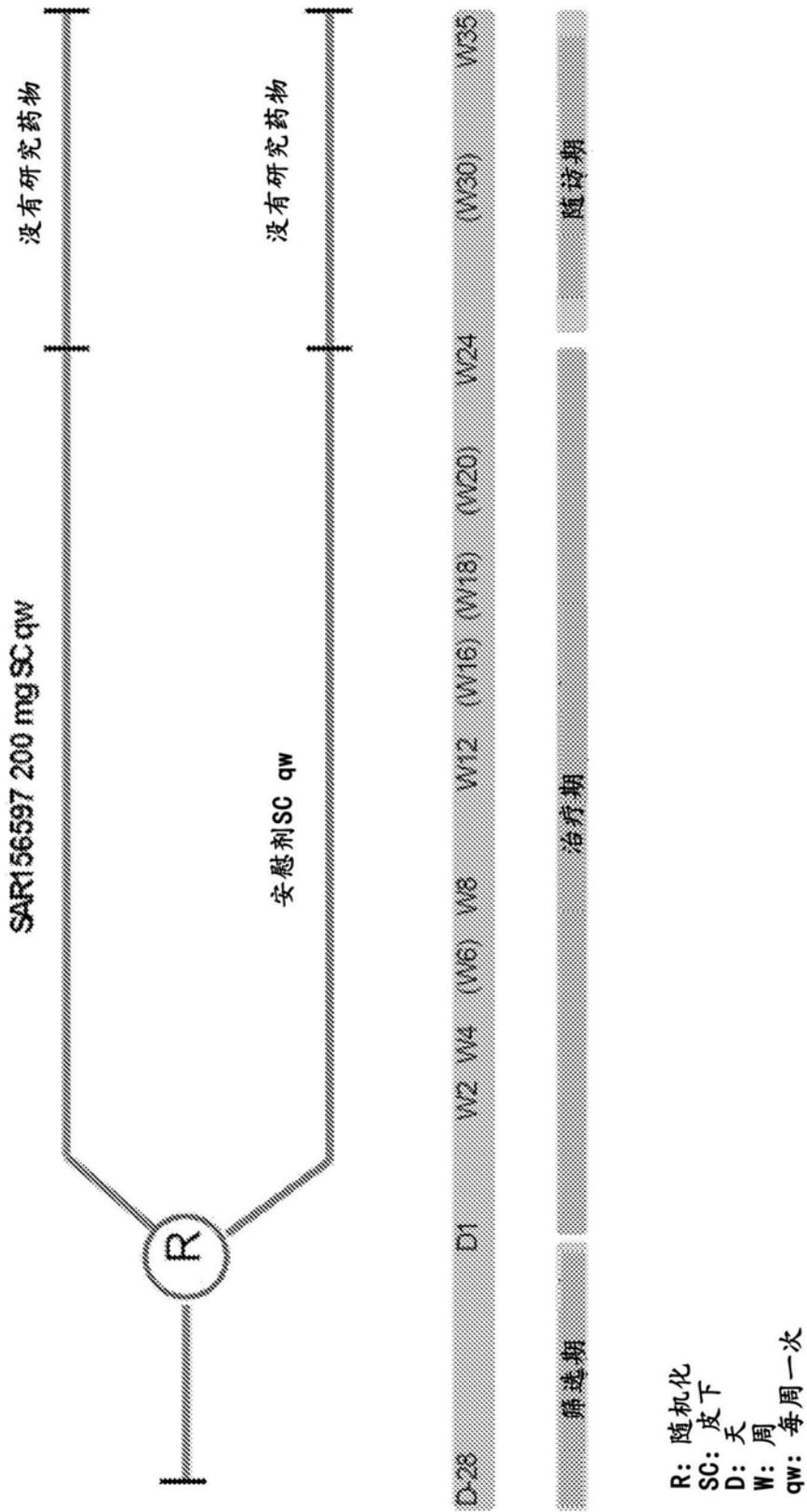


FIG.2

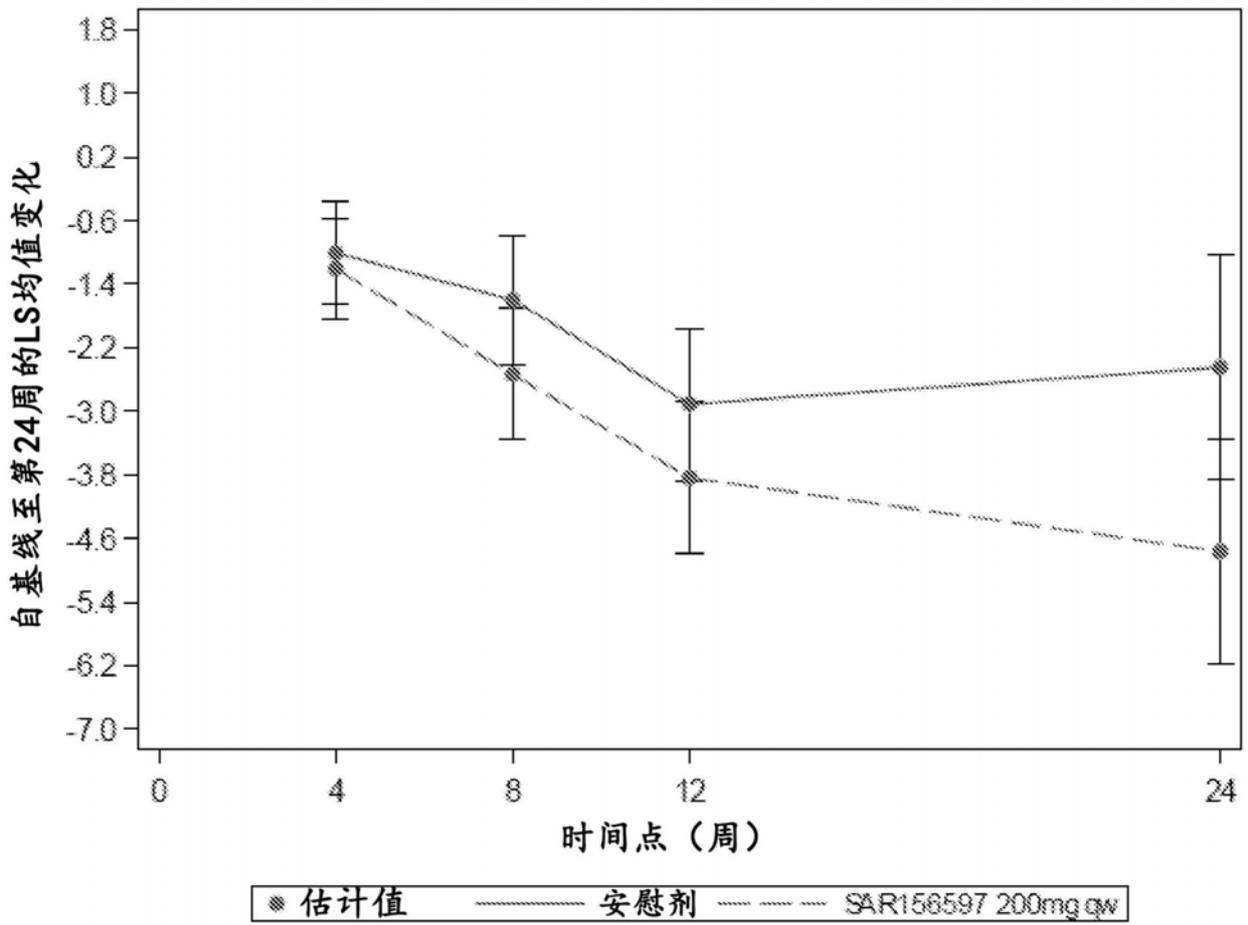


FIG.3

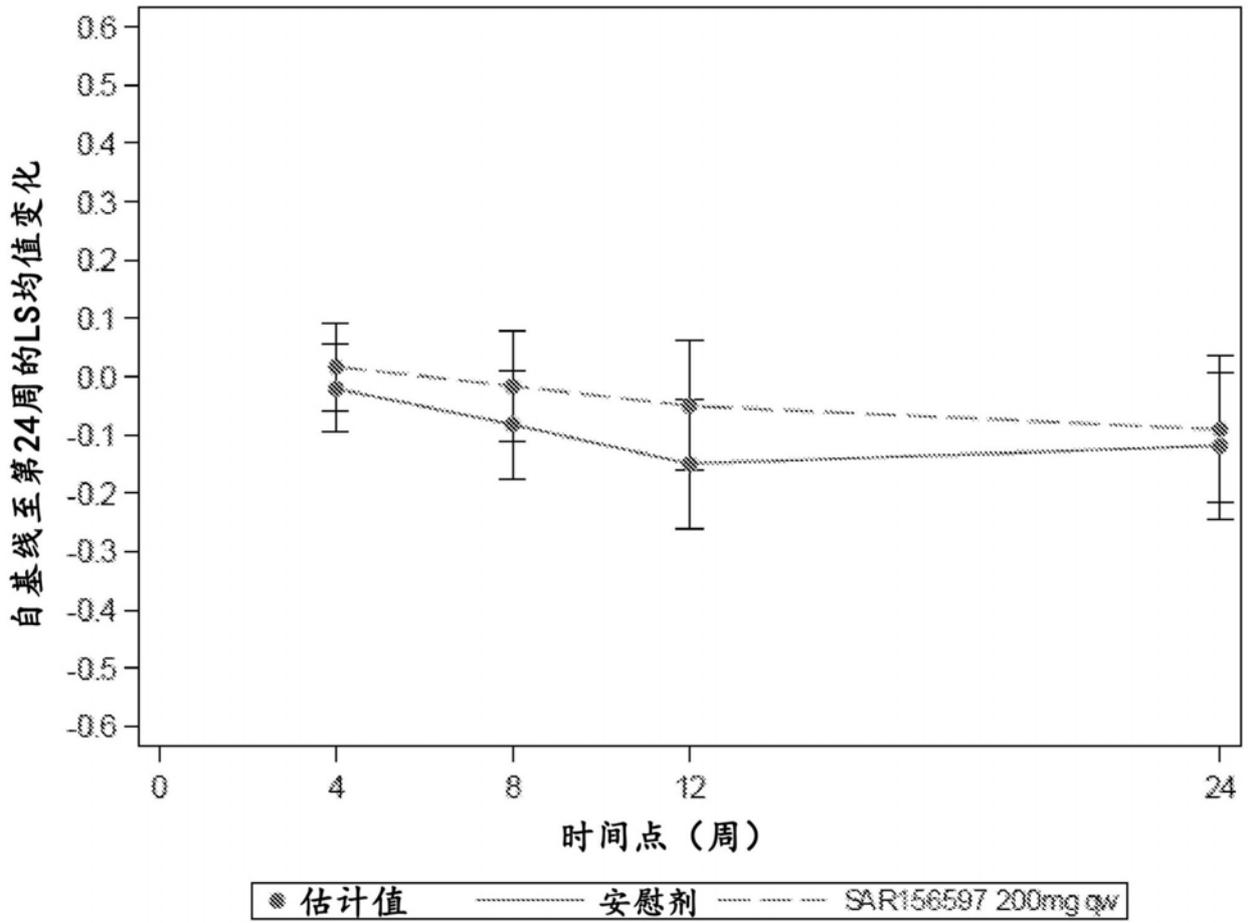


FIG.4

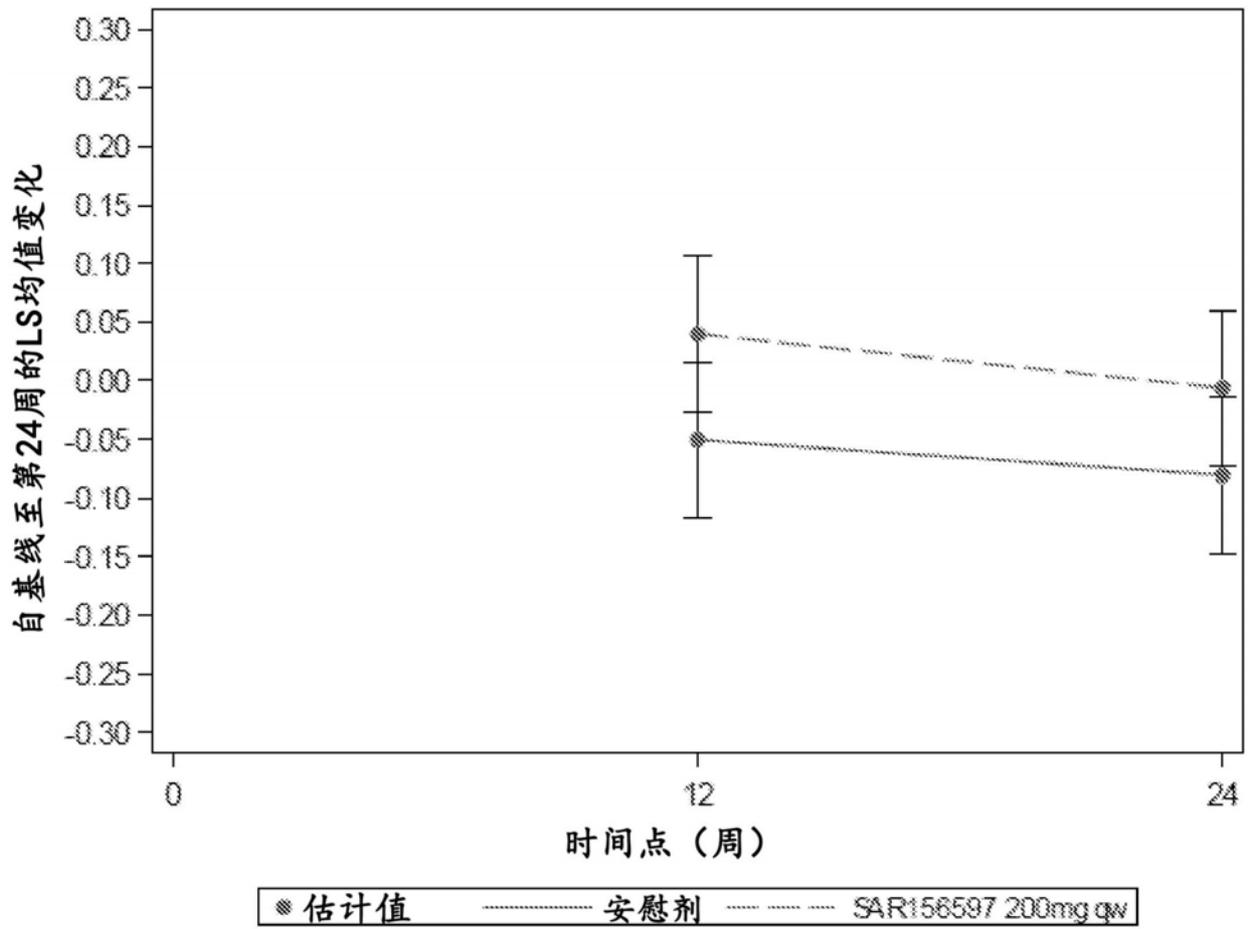


FIG.5

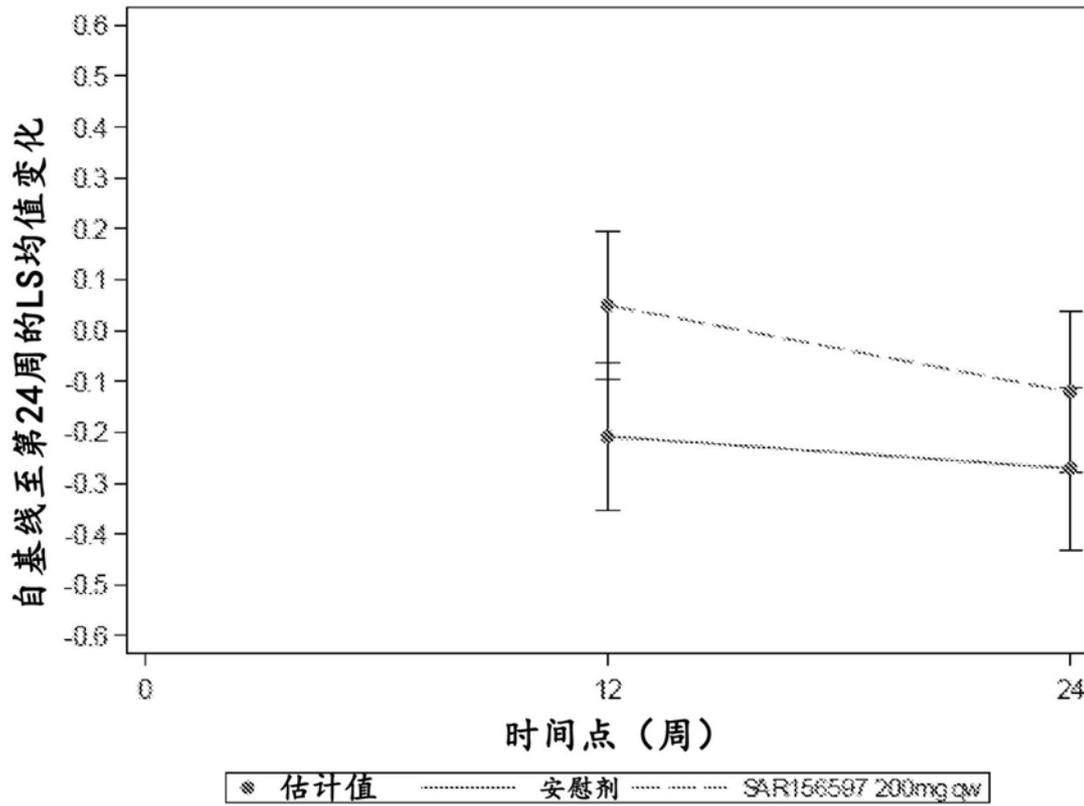


FIG.6

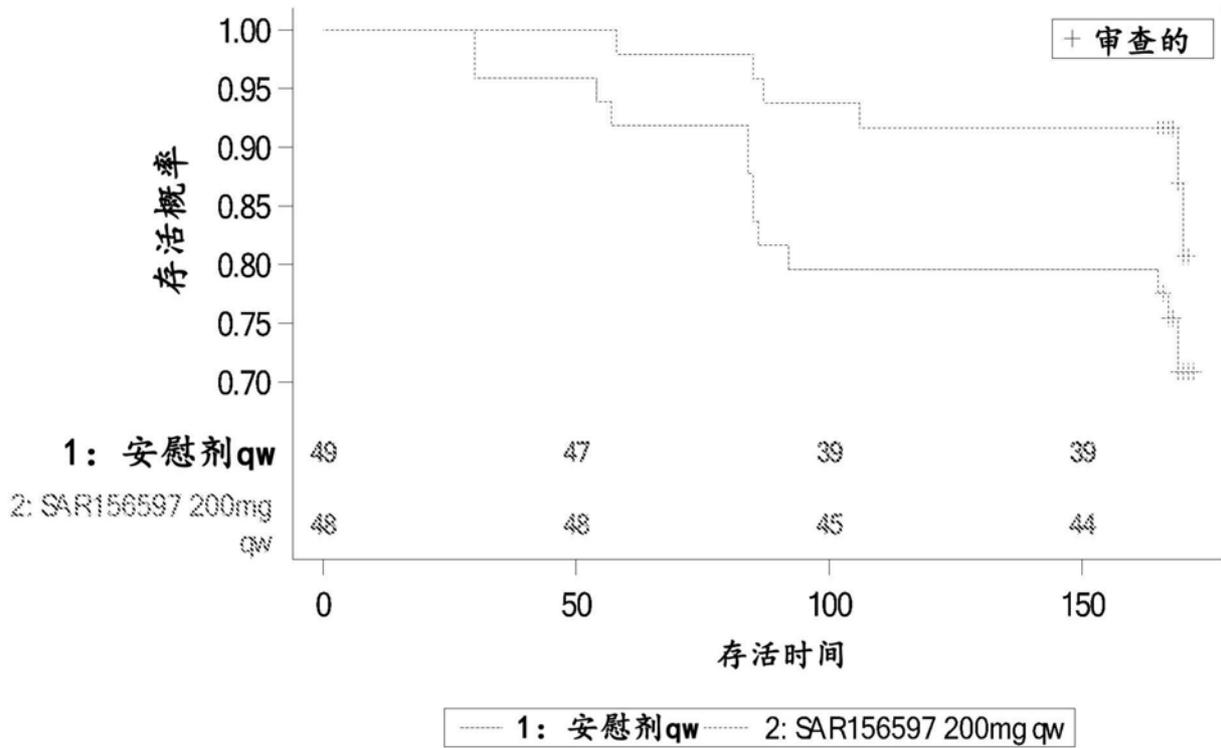


FIG.7

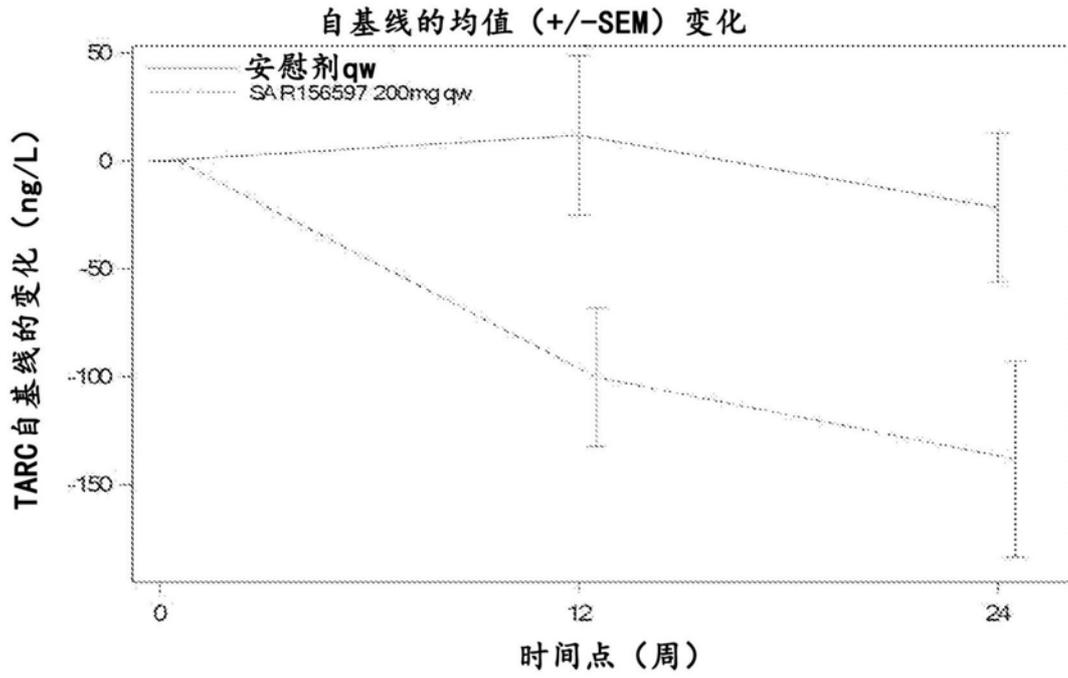


FIG. 8A

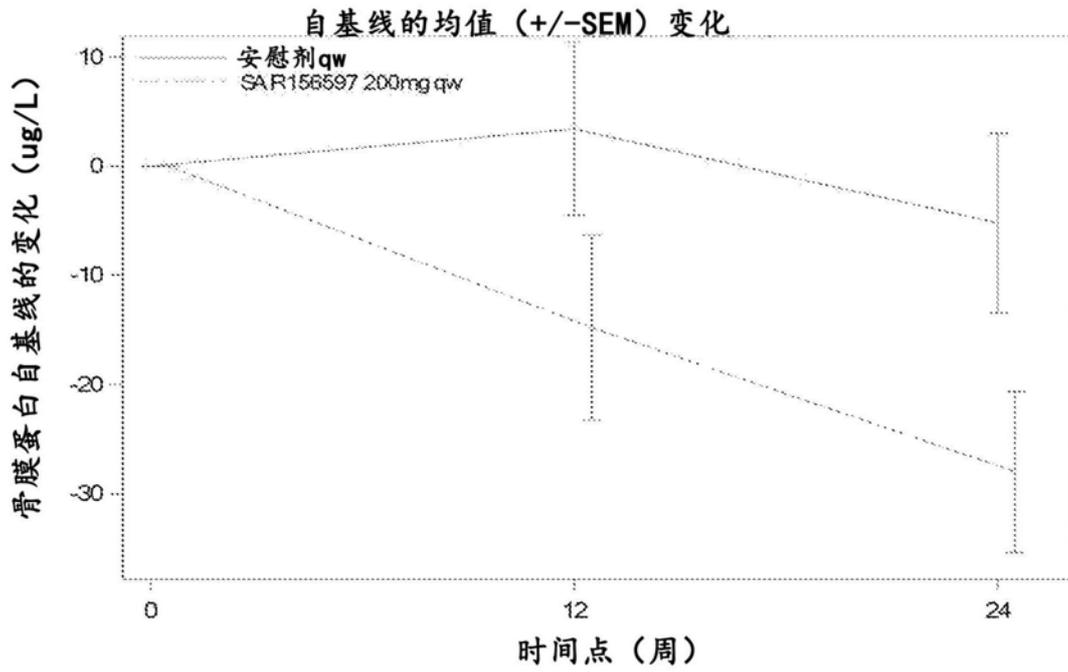


FIG. 8B