



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101291693 B

(45) 授权公告日 2012. 10. 03

(21) 申请号 200680039395. X

代理人 黄革生 林柏楠

(22) 申请日 2006. 10. 24

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

60/730, 435 2005. 10. 26 US

60/742, 125 2005. 12. 02 US

A61K 39/395(2006. 01)

A61P 37/00(2006. 01)

A61P 19/02(2006. 01)

C07K 16/24(2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 04. 22

(56) 对比文件

W0 2002016436 A2, 2002. 02. 28, 说明书第  
15 页第 3 段 - 第 16 页最后一段 ; 权利要求 1-6.

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/041479 2006. 10. 24

审查员 吴希哲

(87) PCT申请的公布数据

W02007/050607 EN 2007. 05. 03

(73) 专利权人 诺瓦提斯公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 P·洛厄尔 H·格拉姆 T·容

T·怀特 T·明德尔

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

权利要求书 1 页 说明书 11 页

(54) 发明名称

IL-1 $\beta$  化合物的新用途

(57) 摘要

本发明涉及 IL-1 $\beta$  - 配体 /IL-1 受体的阻断性化合物 (文中称作“IL-1 $\beta$  化合物”) 在治疗和 / 或预防自身炎症综合征如幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征中的用途, 所述化合物例如阻断 IL-1 $\beta$  配体与 IL-1 受体相互作用的小分子化合物、IL-1 $\beta$  的抗体或 IL-1 受体的抗体, 例如本文所述的 IL-1 $\beta$  结合分子, 例如本文所公开的抗体, 例如结合 IL-1 $\beta$  的化合物或结合 IL-1 受体化合物, 和 / 或降低 IL-1 $\beta$  配体或 IL-1 受体的蛋白水平的 RNA 化合物; 本发明还涉及治疗和 / 或预防哺乳动物尤其是人类的自身炎症综合征如幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征的方法。

1. IL-1 $\beta$  结合抗体或其片段在制备治疗 Muckle-Wells 综合征、家族性寒冷性自身炎症综合征、新生儿多系统炎症综合征的药物中的用途,该抗体含有重链 ( $V_H$ ) 和轻链 ( $V_L$ ) 可变结构域,其中所述 IL-1 $\beta$  结合抗体或其片段包括至少一个抗原结合位点,所述抗原结合位点包括:

a) 依次含有高度可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3 的免疫球蛋白重链的可变结构域 ( $V_H$ ),其中所述 CDR1 的氨基酸序列为 Val-Tyr-Gly-Met-Asn,所述 CDR2 的氨基酸序列为 Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,所述 CDR3 的氨基酸序列为 Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro,以及

b) 依次含有高度可变区 CDR1'、CDR2' 和 CDR3' 的免疫球蛋白轻链的可变结构域 ( $V_L$ ),其中所述 CDR1' 的氨基酸序列为 Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His,所述 CDR2' 的氨基酸序列为 Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser,而所述 CDR3' 的氨基酸序列为 His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro。

2. 如权利要求 1 所述的用途,其中 IL-1 $\beta$  结合抗体含有至少一个抗原结合位点,所述抗原结合位点包括其氨基酸序列与 SEQ ID NO :1 所示序列相同的第一结构域,以及其氨基酸序列与 SEQ ID NO :2 所示序列相同的第二结构域。

## IL-1 $\beta$ 化合物的新用途

[0001] 本发明涉及 IL-1 $\beta$  - 配体 /IL-1 受体的阻断性化合物（文中称作“IL-1 $\beta$  化合物”）在治疗和 / 或预防自身炎症综合征如幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征中的新用途,所述化合物例如阻断 IL-1 $\beta$  配体 -IL-1 受体相互作用的小分子化合物、IL-1 $\beta$  的抗体或 IL-1 受体的抗体,例如本文所述的 IL-1 $\beta$  结合分子,例如本文所公开的抗体,例如结合 IL-1 $\beta$  的化合物或结合 IL-1 受体的化合物,和 / 或降低 IL-1 $\beta$  配体或 IL-1 受体的蛋白水平的 RNA 化合物;本发明还涉及治疗和 / 或预防哺乳动物尤其是人类的自身炎症综合征如幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征的方法。

[0002] 白介素 -1 $\beta$  (IL-1 $\beta$  与白介素 -1 $\beta$  在本文中具有相同的含义) 是介导多种免疫与炎症应答的有效免疫调节物。IL-1 $\beta$  的产生不当或过多与多种疾病和病症的病理相关,例如败血症、感染性或内毒素性休克、过敏、哮喘、骨质丢失、缺血、中风、类风湿关节炎及其它炎症性疾病。已经提出将 IL-1 $\beta$  抗体用于治疗 IL-1 介导的疾病和紊乱;参见如 WO 95/01997 及其前言中的讨论以及 WO 02/16436,其内容引入本文用作参考。

[0003] 根据本发明,令人惊异地发现 IL-1 $\beta$  化合物在预防和治疗例如哺乳动物特别是人类的自身炎症综合征中有效。本发明所述的自身炎症综合征是指,例如但不限于一组遗传性疾病,其特征在于反复发作的炎症反应;其与自身免疫性疾病的不同之处在于没有高效价的自身抗体或抗原特异性的 T 细胞。此外,本发明所述的自身炎症综合征表现出 IL-1 $\beta$  分泌增加(热蛋白(Pyrin)负调控作用丧失,其似乎在所述疾病中发生了突变)、NF $\kappa$ B 的活化及白细胞的凋亡受损。本发明所述的自身炎症综合征是指 Muckle-Well's 综合征(MWS)、家族性寒冷性自身炎症综合征(FCAS)、新生儿多系统炎症综合征(NOMID)、慢性幼儿神经皮肤关节综合征(CINCA)、家族性地中海热(FMF)和 / 或某种类型的幼年型类风湿关节炎如全身型特发性幼年型类风湿关节炎(SOIJIA)和 / 或某种类型的成人类风湿关节炎。IL-1 $\beta$  化合物优选用于预防和/或治疗幼年型类风湿关节炎和成人类风湿关节炎和 / 或 Muckle-Well's 综合征。

[0004] 根据本发明的特别发现,提供了以下的实施方案:

[0005] 本发明涉及用于预防和/或治疗哺乳动物包括人类的自身炎症综合征的组合物及方法。因此,IL-1 $\beta$  化合物也可用于制备治疗自身炎症综合征的药物和药剂。在具体方面,此类药物和药剂包括治疗有效剂量的 IL-1 $\beta$  化合物和药学上可接受的载体。

[0006] 本发明的另一个实施方案,提供了抗体在预防和 / 或治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征和 / 或其他自身炎症综合征和 / 或 Muckle-Well's 综合征中的用途,所述抗体特异性地结合于任何上述或下述的多肽,例如 IL-1 $\beta$  配体或 IL-1 $\beta$  受体,优选 IL-1 $\beta$  配体。该抗体任选地为单克隆抗体、人源化抗体、抗体片段或单链抗体。本发明的某一方面涉及结合 IL-1 $\beta$  配体的分离的抗体。另一方面,所述抗体抑制或中和 IL-1 $\beta$  配体的活性(拮抗性抗体)。另一方面,所述抗体为单克隆抗体,其具有人源或非人源的互补性决定区(CDR)残基和人的骨架区(FR)残基。可以标记抗体,并将其固定于固体支持物上。另一方面,所述抗体为抗体片段、单克隆抗体、单链抗体或抗独特型抗体。在另一个实施方案中,本发明提供了包含抗 IL-1 $\beta$  配体或 IL-1 $\beta$  受体的抗体、优选抗 IL-1 $\beta$  配体抗

体与药学上可接受的载体的组合物。该组合物一方面包括治疗有效量的抗体。该组合物优选为无菌。可以以液体药物制剂的形式施用该组合物,所述液体制剂可以进行防腐以增加其贮存稳定性。或者该抗体为单克隆抗体、抗体片段、人源化抗体或单链抗体。

[0007] 本发明的另一个实施方案,提供了 IL-1 $\beta$  化合物,如 IL-1 $\beta$  抗体在预防和/或治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎和/或其他自身炎症综合征和/或 Muckle-Wells 综合征中的用途,所述 IL-1 $\beta$  化合物能够阻断体内的 IL-1 $\beta$  正反馈环路。该正反馈在体内引起这些病人自身维持 IL-1 $\beta$  的过量产生。

[0008] 本发明的另一个实施方案提供了 IL-1 $\beta$  化合物如 IL-1 $\beta$  抗体在 MEFV 基因突变的疾病中的用途,所述 MEFV 基因定位于染色体 16p13 上,并编码热蛋白(也称作 marenostriin)。热蛋白在粒细胞、单核细胞及滑膜成纤维细胞中表达。热蛋白参与 IL-1 $\beta$  的加工。

[0009] 本发明的另一个实施方案涉及一种制品,包括:(a) 含有抗 IL-1 $\beta$  配体或 IL-1 $\beta$  受体抗体、优选抗 IL-1 $\beta$  配体抗体的组合物;(b) 包含所述组合物的容器;以及(c) 粘附于所述容器的标签或所述容器内的包装插页,其涉及所述抗 IL-1 $\beta$  配体或 IL-1 $\beta$  受体的抗体(优选抗 IL-1 $\beta$  配体的抗体)在治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎和/或其他自身炎症综合征和/或 Muckle Wells 综合征中的用途。该组合物可以包括治疗有效量的抗 IL-1 $\beta$  配体或 IL-1 $\beta$  受体的抗体,优选抗 IL-1 $\beta$  配体的抗体。

[0010] 本发明的另一个实施方案中提供了如上所定义的方法或用途,包括联合施用治疗有效量的游离形式或盐形式的 IL-1 $\beta$  化合物和一种第二药物,其中所述 IL-1 $\beta$  化合物优选以药学上可接受的递送形式如静脉内或皮下进行施用,所述第二药物为游离形式或盐形式的抗炎化合物。

[0011] 本发明另一个实施方案中所用的 IL-1 $\beta$  化合物为 IL-1 $\beta$  结合分子,其包括含有至少一个免疫球蛋白重链的可变结构域( $V_H$ )的抗原结合位点,所述重链可变结构域依次包含高度可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3,其中所述 CDR1 具有氨基酸序列 Val-Tyr-Gly-Met-Asn, CDR2 具有氨基酸序列 Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly,而 CDR3 具有氨基酸序列 Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro;及其直接的等价物。

[0012] 在另一个实施方案中,本发明所用的 IL-1 $\beta$  化合物为含有至少一个免疫球蛋白轻链可变结构域( $V_L$ )的 IL-1 $\beta$  结合分子,所述轻链可变结构域依次含有高度可变区 CDR1'、CDR2' 和 CDR3',其中所述 CDR1' 具有氨基酸序列 Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His,所述 CDR2' 具有氨基酸序列 Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser,而所述 CDR3' 具有氨基酸序列 His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro,及其直接的等价物。

[0013] 在另一个实施方案中,本发明所用的 IL-1 $\beta$  化合物为单结构域的 IL-1 $\beta$  结合分子,其包括含有如上所定义的重链可变结构域( $V_H$ )的分离的免疫球蛋白重链,所述化合物用于例如制备治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征和/或其他自身炎症综合征的药物,优选用于制备治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征和/或 Muckle Wells 综合征的药物。

[0014] 在另一个实施方案中,本发明所用的 IL-1 $\beta$  化合物为含有重链( $V_H$ )和轻链( $V_L$ )可变结构域的 IL-1 $\beta$  结合分子,其中所述 IL-1 $\beta$  结合分子包含至少一个抗原结合位点,其包括:

[0015] a) 依次含有高度可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3 的免疫球蛋白重链可变结构域 ( $V_H$ ), 其中所述 CDR1 具有氨基酸序列 Val-Tyr-Gly-Met-Asn, 所述 CDR2 具有氨基酸序列 Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly, 所述 CDR3 具有氨基酸序列 Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro, 以及

[0016] b) 依次含有高度可变区 CDR1'、CDR2' 和 CDR3' 的免疫球蛋白轻链可变结构域 ( $V_L$ ), 其中所述 CDR1' 具有氨基酸序列 Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His, 所述 CDR2' 具有氨基酸序列 Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser, 而所述 CDR3' 具有氨基酸序列 His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro;

[0017] 以及其直接的等价物。

[0018] 除非另有说明, 本文所述的任何多肽链所具有的氨基酸序列均描述为起始于 N 末端而结束于 C 末端。

[0019] 若抗原结合位点同时含有  $V_H$  和  $V_L$  结构域, 它们可以位于同一多肽分子中, 或优选每一结构域位于不同的链上,  $V_H$  结构域为免疫球蛋白重链或其片段的一部分, 而  $V_L$  为免疫球蛋白轻链或其片段的一部分。

[0020] “IL-1 $\beta$  结合分子”是指能单独或与其它分子一同结合 IL-1 $\beta$  配体的任何分子。可通过标准方法(定性测定)显示结合反应, 包括例如用于测定抑制 IL-1 $\beta$  与其受体结合的生物检定或任意类型的结合测定, 其中使用没有相关特异性但是同种型的抗体, 如抗-CD25 抗体作为阴性对照进行测试。有利的是, 可通过竞争性结合试验来显示本发明的 IL-1 $\beta$  结合分子与 IL-1 $\beta$  的结合。

[0021] 抗原结合分子的实例包括由 B 细胞或杂交瘤产生的抗体, 以及嵌合抗体、CDR 移植或人抗体或其任意片段, 如 F(ab')<sub>2</sub> 和 Fab 片段, 以及单链或单结构域的抗体。

[0022] 单链抗体包括抗体的重链和轻链可变区, 其间由 10 至 30 个氨基酸(优选 15 至 25 个氨基酸)组成的肽连接体共价相连。因此, 该结构不包括重链和轻链的恒定区, 并且认为所述小肽间隔区的抗原性弱于完整的恒定区。“嵌合抗体”是指抗体中重链或轻链或两者的恒定区均来自人, 而重链和轻链的可变结构域均为非人源性(例如来源于鼠)、或为人源但来自不同的人抗体。“CDR-移植抗体”是指抗体的高度可变区(CDR)来自于供体抗体, 例如非人(如鼠)抗体或不同的人抗体, 而该免疫球蛋白的其他部分如恒定区及可变结构域的高度保守区(即骨架区)完全或基本上来自受体抗体, 例如人源抗体。然而, CDR-移植抗体的骨架区可能含有若干供体序列的氨基酸, 例如在毗邻高度可变区的骨架区部分。“人抗体”是指抗体中重链和轻链的恒定区和可变区均来自人, 或与人源序列基本一致, 但不必来自同一抗体; 并且包括由鼠产生的抗体, 其中鼠免疫球蛋白的可变和恒定区基因已经替换为人中的其相应部分, 如 EP 0546073B1、USP 5545806、USP 5569825、USP 5625126、USP 5633425、USP 5661016、USP 5770429、EP 0 438474 B1 和 EP 0 463151 B1 中的通用术语所述。

[0023] 特别优选本发明的 IL-1 $\beta$  结合分子为人抗体, 特别是如下文实施例及 WO 02/16436 中所述的 ACZ 885 抗体。

[0024] 因此, 在本发明优选的抗体中, 重链和轻链的可变结构域均为来自人, 例如 ACZ 885 抗体中显示为 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 的序列。恒定区结构域优选也包括合适的人恒定区结构域, 例如“Sequences of Proteins of Immunological Interest”, Kabat

E. A. 等人（美国卫生和人类服务部，公共卫生服务处，国立卫生研究院）所述的序列。

[0025] 高度可变区可与任意种类的骨架区相连，但优选为人源。合适的骨架区描述于 Kabat E. A. 等人，同上。优选的重链骨架为人的重链骨架，例如 SEQ ID NO :1 所示的 ACZ 885 抗体重链骨架区。它依次由 FR1、FR2、FR3 和 FR4 区域组成。与之相似，SEQ ID NO :2 显示了优选的 ACZ 885 轻链骨架，其依次由 FR1'、FR2'、FR3' 和 FR4' 区域组成。

[0026] 因此，本发明也提供包含至少一个抗原结合位点的 IL-1 $\beta$  结合分子，所述抗原结合位点含有与 SEQ ID NO :1 所示基本相同的氨基酸序列的第一结构域，其起始于 1 位氨基酸而结束于 118 位氨基酸，或该抗原结合位点含有如上所述的第一结构域以及第二结构域，后者含有的氨基酸序列与 SEQ ID NO :1 所示的基本相同，其起始于 1 位氨基酸而结束于 107 位氨基酸。

[0027] 通常在非人体系如鼠体系中产生针对天然存在于所有人的蛋白质的单克隆抗体，所产生的抗体通常为非人源蛋白质。其直接后果是，当由杂交瘤产生的异种抗体施用于人时，会引发主要由异种免疫球蛋白的恒定部分介导的不良免疫应答。这显然限制了此类抗体的应用，因为它们无法长期施用。因此特别优选使用在施用于人时不易引发大规模异种应答的单链、单结构域、嵌合、CDR 移植或特别是人抗体。

[0028] 鉴于以上所述，更优选的本发明 IL-1 $\beta$  结合分子选自人抗 IL-1 $\beta$  抗体，其至少包括

[0029] a) 免疫球蛋白重链或其片段，包括 (i) 依次含有高度可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3 的可变结构域，以及 (ii) 人重链的恒定区部分或其片段；所述 CDR1 具有氨基酸序列 Val-Tyr-Gly-Met-Asn，CDR2 具有氨基酸序列 Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly，而所述 CDR3 具有氨基酸序列 Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro，以及

[0030] b) 免疫球蛋白轻链或其片段，包括 (i) 依次含有高度可变区及任选的 CDR1'、CDR2' 和 CDR3' 高度可变区的可变结构域，以及 (ii) 人轻链的恒定区部分或其片段；所述 CDR1' 具有氨基酸序列 Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His，所述 CDR2' 具有氨基酸序列 Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser，而所述 CDR3' 具有氨基酸序列 His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro；

[0031] 及其直接的等价物。

[0032] 或者，本发明的 IL-1 $\beta$  结合分子可以选自包含抗原结合位点的单链结合分子，所述抗原结合位点包括

[0033] a) 依次含有高度可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3 的第一结构域，所述 CDR1 具有氨基酸序列 Val-Tyr-Gly-Met-Asn，CDR2 具有氨基酸序列 Ile-Ile-Trp-Tyr-Asp-Gly-Asp-Asn-Gln-Tyr-Tyr-Ala-Asp-Ser-Val-Lys-Gly，而所述 CDR3 具有氨基酸序列 Asp-Leu-Arg-Thr-Gly-Pro，

[0034] b) 含有高度可变区 CDR1'、CDR2' 和 CDR3' 的第二结构域，所述 CDR1' 具有氨基酸序列 Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Ile-Gly-Ser-Ser-Leu-His，所述 CDR2' 具有氨基酸序列 Ala-Ser-Gln-Ser-Phe-Ser，而所述 CDR3' 具有氨基酸序列 His-Gln-Ser-Ser-Ser-Leu-Pro，以及

[0035] c) 与第一结构域的 N 末端和第二结构域的 C 末端相连、或与第一结构域的 C 末端

和第二结构域的 N 末端相连的肽连接体；

[0036] 及其直接的等价物。

[0037] 众所周知,对氨基酸序列的微小改变如一个、几个或甚至多个氨基酸的缺失、添加或替换,均可能导致形成性质基本相同的原有蛋白质的等位形式。

[0038] 因此,术语“其直接的等价物”是指以下任何单结构域的 IL-1 $\beta$  结合分子(分子 X),

[0039] (i) 其中高度可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3 整体而言与上述高度可变区的同源性至少为 80%,优选至少 90%,更优选至少 95%,且,

[0040] (ii) 其对 IL-1 $\beta$  与其受体结合的抑制程度基本上与参照分子相当,所述参照分子具有与分子 X 相同的骨架区,但其高度可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3 与上述一致,

[0041] 或每个结合位点具有至少两个结构域的任何 IL-1 $\beta$  结合分子(分子 X')

[0042] (i) 其中高度可变区 CDR1、CDR2、CDR3、CDR1'、CDR2' 和 CDR3' 整体而言与上述高度可变区的同源性至少为 80%,优选至少 90%,更优选至少 95%,且

[0043] (ii) 其对 IL-1 $\beta$  与其受体结合的抑制程度基本与参照分子相当,所述参照分子具有与分子 X' 相同的骨架区和恒定区,但其高度可变区 CDR1、CDR2、CDR3、CDR1'、CDR2' 和 CDR3' 与上述一致。

[0044] 本发明的另一方面也提供含有重链( $V_H$ )和轻链( $V_L$ )可变结构域的 IL-1 $\beta$  结合分子,其中所述 IL-1 $\beta$  结合分子包括至少一个抗原结合位点,其包括:

[0045] a) 依次含有高度可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3 的免疫球蛋白重链可变结构域( $V_H$ ),所述 CDR1 具有氨基酸序列 Ser-Tyr-Trp-Ile-Gly, CDR2 具有氨基酸序列 Ile-Ile-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ser-Asp-Thr-Arg-Tyr-Ser-Pro-Ser-Phe-Gln-Gly,而所述 CDR3 具有氨基酸序列 Tyr-Thr-Asn-Trp-Asp-Ala-Phe-Asp-Ile,且

[0046] b) 含有 CDR3' 高度可变区的免疫球蛋白轻链可变结构域( $V_L$ ),所述 CDR3' 具有氨基酸序列 Gln-Gln-Arg-Ser-Asn-Trp-Met-Phe-Pro;

[0047] 及其直接的等价物。

[0048] 本发明的另一方面提供含有重链( $V_H$ )和轻链( $V_L$ )可变结构域的 IL-1 $\beta$  结合分子,其中所述 IL-1 $\beta$  结合分子包括至少一个抗原结合位点,包括:

[0049] a) 依次含有高度可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3 的免疫球蛋白重链可变结构域( $V_H$ ),所述 CDR1 具有氨基酸序列 Ser-Tyr-Trp-Ile-Gly,所述 CDR2 具有氨基酸序列 Ile-Ile-Tyr-Pro-Ser-Asp-Ser-Asp-Thr-Arg-Tyr-Ser-Pro-Ser-Phe-Gln-Gly,而所述 CDR3 具有氨基酸序列 Tyr-Thr-Asn-Trp-Asp-Ala-Phe-Asp-Ile,且

[0050] b) 依次含有高度可变区 CDR1'、CDR2' 和 CDR3' 的免疫球蛋白轻链可变结构域( $V_L$ ),所述 CDR1' 具有氨基酸序列 Arg-Ala-Ser-Gln-Ser-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Ala,所述 CDR2' 具有氨基酸序列 Asp-Ala-Ser-Asn-Arg-Ala-Thr,而所述 CDR3' 具有氨基酸序列 Gln-Gln-Arg-Ser-Asn-Trp-Met-Phe-Pro;

[0051] 及其直接的等价物。

[0052] 在本说明书中,若当最优排列时,氨基酸序列之间类似位点上的氨基酸残基至少有 80%相同(将氨基酸序列中的缺口或插入计作不同残基),则氨基酸序列彼此的同源性为至少 80%。

[0053] 可以利用多种试验,例如 WO 02/16436 所述的试验,方便地测试 IL-1 $\beta$  与其受体间结合的抑制情况。术语“程度相当”是指参照分子和等效分子在上述的某个测定试验中,在统计学基础上具有基本相同的 IL-1 $\beta$  结合抑制曲线。例如,当进行上述测定时,本发明的 IL-1 $\beta$  结合分子对 IL-1 $\beta$  与其受体的结合抑制所具有的 IC<sub>50</sub> 通常为相应参照分子 IC<sub>50</sub> 的  $\pm$ 5 之内,优选与参照分子的 IC<sub>50</sub> 基本相同。

[0054] 例如,所采用的试验可以是可溶性 IL-1 受体与本发明的 IL-1 $\beta$  结合分子对 IL-1 $\beta$  结合的竞争性抑制试验。

[0055] 最优选用于本发明的 IL-1 $\beta$  结合分子为人 IL-1 抗体,其至少包括

[0056] a) 包含可变结构域和人重链恒定区的重链,所述可变结构域具有与 SEQ ID NO :1 所示基本相同的氨基酸序列,起始于 1 位氨基酸而终止于 118 位氨基酸;且

[0057] b) 包含可变结构域和人轻链恒定区的轻链,所述可变结构域具有与 SEQ ID NO :2 所示基本相同的氨基酸序列,起始于 1 位氨基酸而终止于 107 位氨基酸。

[0058] 最优选用于本发明的 IL-1 $\beta$  结合分子为 ACZ885(参见实施例)。

[0059] 人重链恒定区可为  $\gamma$ 1、 $\gamma$ 2、 $\gamma$ 3、 $\gamma$ 4、 $\mu$ 、 $\alpha$ 1、 $\alpha$ 2、 $\delta$  或  $\epsilon$  型,优选为  $\gamma$  型,更优选为  $\gamma$ 1 型,而人轻链恒定区可为  $\kappa$  或  $\lambda$  型(其中包括  $\lambda$ 1、 $\lambda$ 2 和  $\lambda$ 3 亚型),但优选为  $\kappa$  型。所有这些恒定区的氨基酸序列见于 Kabat 等人,同上。

[0060] 可通过重组 DNA 技术产生本发明的 IL-1 $\beta$  结合分子,如 WO 02/16436 中所述。

[0061] 在本发明的另一个实施方案中,IL-1 $\beta$  化合物可以是对人 IL-1 $\beta$  抗原表位具有结合特异性的抗体,所述抗原表位包括含有成熟的人 IL-1 $\beta$  的 Glu64 残基的环(成熟的人 IL-1 $\beta$  的残基 Glu 64 相当于人 IL-1 $\beta$  前体的残基 180)。该表位在 IL-1 $\beta$  受体的识别位点以外,因此该表位的抗体如 ACZ885 抗体能够抑制 IL-1 $\beta$  与其受体间的结合很出人意料。因此使用此类抗体治疗幼年型类风湿关节炎和成人类风湿关节炎和/或自身炎症综合征和/或 MuckleWells 综合征具有新颖性,并且涵盖于本发明的范围之内。

[0062] 因此,本发明另一方面包括对人 IL-1 $\beta$  的抗原表位具有结合特异性的 IL-1 $\beta$  抗体在治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎和/或自身炎症综合征和/或 Muckle Wells 综合征中的用途,其中所述抗原表位包括含有成熟的人 IL-1 $\beta$  中 Glu64 残基的环,并且所述抗体能够抑制 IL-1 $\beta$  与其受体的结合。

[0063] 本发明另一方面包括:

[0064] i) 对成熟的人 IL-1 $\beta$  的抗原表位具有结合特异性的 IL-1 $\beta$  抗体在预防和/或治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎和/或自身炎症综合征和/或 Muckle Wells 综合征中的用途,所述表位包括含有 Glu64 的环,且所述抗体能够抑制 IL-1 $\beta$  与其受体的结合;

[0065] ii) 用于在病人中预防和/或治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎和/或自身炎症综合征和/或 Muckle Wells 综合征的方法,所述方法包括向病人施用有效量的 IL-1 $\beta$  抗体,所述抗体对成熟的人 IL-1 $\beta$  的抗原表位(包括含有 Glu64 的环)具有结合特异性并且能够抑制 IL-1 $\beta$  与其受体的结合;

[0066] iii) 用于治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎和/或自身炎症综合征和/或 Muckle Wells 综合征的药物组合物,其包括对成熟的人 IL-1 $\beta$  的抗原表位(包括含有 Glu64 的环)具有结合特异性的 IL-1 $\beta$  抗体(其中所述抗体能够抑制 IL-1 $\beta$  与其受



体的结合),以及药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体;

[0067] iv) 对成熟人 IL-1 $\beta$  的抗原表位(包括含有 Glu64 的环)具有结合特异性的 IL-1 $\beta$  抗体在制备治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎和/或自身炎症综合征和/或 Muckle Wells 综合征药物中的用途,其中所述抗体能够抑制 IL-1 $\beta$  与其受体的结合。

[0068] 本说明书中,若抗体对 IL-1 $\beta$  与其受体结合的抑制程度能够与 ACZ885 抗体基本相同,即按照实施例公开的的标准 BIAcore 分析而测量的该抗体解离平衡常数( $K_D$ )为 10nM 或更低,例如 1nM 或更低,优选 100pM 或更低,更优选 50pM 或更低,则该抗体为“能够抑制 IL-1 $\beta$  的结合”。

[0069] 因此,本发明的另一方面提供了 IL-1 $\beta$  抗体在治疗幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征和/或自身炎症综合征中的用途,其中所述抗体结合 IL-1 $\beta$  的  $K_D$  为约 10nM、1nM、优选 100pM、更优选 50pM 或更少。本发明的这方面也包括这类高亲和性抗体,即如上所述对成熟的人 IL-1 $\beta$  的抗原决定簇(包括含有 Glu64 的环)具有结合特异性的 IL-1 $\beta$  抗体的使用方法和组合物。

[0070] 在本说明书中,短语“幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征和/或自身炎症综合征”包括所有直接或间接作为幼年型类风湿关节炎或成人类风湿关节炎综合征和/或自身炎症综合征的一部分的疾病及医学病症,所述疾病及医学病症包括该疾病或病症的引起、发展、演进、持续或病理。

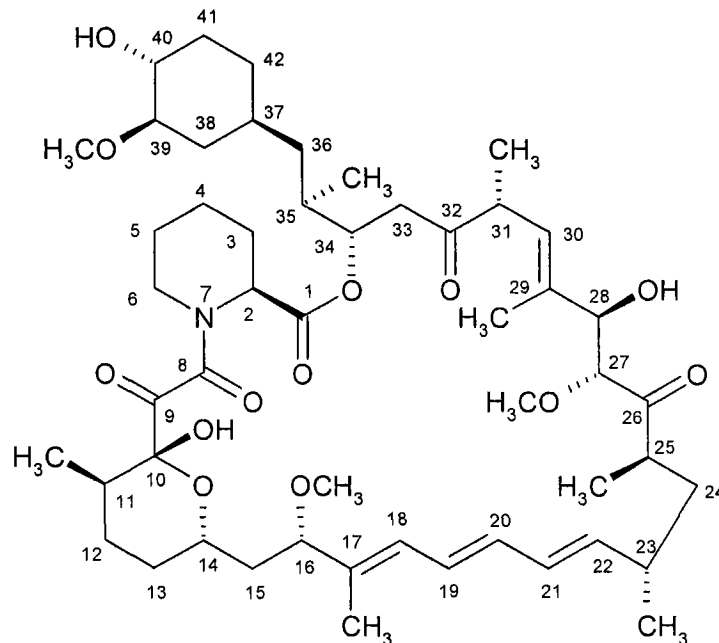
[0071] 在本说明书中,短语“Muckle Wells 综合征”(也称为“MWS”)包括所有直接或间接作为 Muckle Wells 综合征一部分的疾病及医学病症,所述疾病及医学病症包括该疾病或病症的引起、发展、演进、持续或病理。

[0072] 式 I 的化合物可作为唯一的活性成分施用,或者作为辅剂与其他药物如免疫抑制剂或免疫调节剂或其他抗炎症药物联合施用,例如用于治疗或预防急性或慢性同种或异种移植物排斥反应或炎症或自身免疫疾病;也可与化疗药物如抗恶性细胞增殖药物联合施用。例如,本发明的抗体可与以下药物联合使用:钙调神经磷酸酶抑制剂如环孢素 A 或 FK 506; mTOR 抑制剂如雷帕霉素、40-O-(2-羟乙基)-雷帕霉素、CCI779、ABT578、AP23573、AP23464、AP23675、AP23841、TAFA-93、biolimus-7 或 biolimus-9;具有免疫抑制性质的子囊霉素,如 ABT-281、ASM981 等;皮质类固醇;环磷酰胺;硫唑嘌呤;甲氨蝶呤;来氟米特;咪唑立宾;霉酚酸或盐;霉酚酸酯;15-去氧精脒菌素或其免疫抑制性同源物、类似物或衍生物;PKC 抑制剂,如 WO 02/38561 或 WO 03/82859 中所公开的化合物,例如实施例 56 或 70 的化合物;JAK3 激酶抑制剂如 N-苄基-3,4-二羟基-亚苄基-氰基乙酰胺-氰基-(3,4-二羟基)-N-苄基肉桂酰胺(酪氨酸磷酸化抑制剂 AG 490)、灵菌红素 25-C(PNU156804)、[4-(4'-羟基苯基)-氨基-6,7-二甲氧基喹唑啉](WHI-P131)、[4-(3'-溴-4'-羟基苯基)-氨基-6,7-二甲氧基喹唑啉](WHI-P154)、[4-(3',5'-二溴-4'-羟基苯基)-氨基-6,7-二甲氧基喹唑啉]WHI-P97、KRX-211、3-{(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-氨基]-哌啶-1-基}-3-氧代-丙腈的游离形式或可药用盐形式,如单柠檬酸盐(也称为 CP-690,550),或如 WO 04/052359 或 WO 05/066156 中公开的化合物;免疫抑制性的单克隆抗体,如针对白细胞受体如 MHC、CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD25、CD28、CD40、CD45、CD52、CD58、CD80、CD86 或其配体的单克隆抗体;其他免疫调节化合物如

含有至少一部分 CTLA4 或其突变体的胞外结构域的重组结合分子,例如连接了非 CTLA4 蛋白质序列的至少 CTLA 或其突变体的胞外部分,如 CTLA4Ig (例如被命名为 ATCC 68629 的免疫球蛋白) 或其突变体如 LEA29Y ;粘附分子抑制剂如 LFA-1 拮抗剂、ICAM-1 或 -3 拮抗剂、VCAM-4 拮抗剂或 VLA-4 拮抗剂 ;或化疗药物如紫杉醇、吉西他滨、顺铂、多柔比星或 5- 氟尿嘧啶 ;或抗感染药物。容易与本发明化合物联合使用的免疫调节药物包括例如

[0073] -mTOR 活性的调节剂如抑制剂,包括下式的雷帕霉素

[0074]



[0075] 以及雷帕霉素衍生物,例如包括

[0076] 40-O- 烷基 - 雷帕霉素衍生物,如 40-O- 羟基烷基 - 雷帕霉素衍生物,如 40-O-(2- 羟基) - 乙基 - 雷帕霉素 (依维莫司) ;32- 脱氧 - 雷帕霉素衍生物和 32- 羟基 - 雷帕霉素衍生物,例如 32- 脱氧雷帕霉素 ;16-O- 取代的雷帕霉素衍生物如 16- 戊 -2- 炔基氧基 -32- 脱氧雷帕霉素、16- 戊 -2- 炔基氧基 -32(S 或 R)- 二氢 - 雷帕霉素、16- 戊 -2- 炔基氧基 -32(S 或 R)- 二氢 -40-O-(2- 羟乙基) - 雷帕霉素 ;在 40 位氧基团上被酰基化的雷帕霉素衍生物,如 40-[3- 羟基 -2-( 羟基 - 甲基) -2- 甲基丙酸酯] - 雷帕霉素 (也称为 CCI779) ;40 位上由杂环取代的雷帕霉素衍生物,如 40- 表 -( 四唑基) - 雷帕霉素 (也称为 ABT578) ;所谓的雷帕霉素类似物,如 W09802441、W00114387 及 W00364383 中公开的化合物,如 AP23573, 以及名称为 TAF A-93 的公开化合物和雷帕霉素衍生物 biolimus(biolimus A9)。

[0077] 本说明书中的术语“治疗”既指预防性治疗也指治愈性或疾病改善性的治疗,包括治疗有患病风险的或疑似患病的病人,以及患病或已被诊断为患有疾病或某种医学病症的病人,还包括对临床复发的抑制。根据本发明,成功的治疗也包括各种可恢复症状的消退,但不可恢复的症状无法消退。例如,Muckle-Wells 的症状之一为进行性的神经性耳聋,其通常不可恢复,因此不应对该症状的治愈寄予期望。然而,根据本发明,成功的治疗可使 Muckle-Wells 的其他可恢复症状如皮疹、肌肉疼痛、发热、疲劳及结膜炎完全消失。另一项衡量成功治疗的标准是自身炎症综合征如 Muckle-Wells 中相关生物指标的下降,即病人的血清淀粉样蛋白 (SAA) 和 c 反应蛋白 (CRP) 降至正常范围,即每升血清 < 10mg。

[0078] 在本说明书中,根据其临床症状来确定疾病“Muckle-Wells”(分子病理学),所述临床症状为急性发热性炎症性的关节炎和荨麻疹发作、进行性神经性耳聋以及任选地长期多脏器淀粉样变(约25%的病例)。分子病理是由位于染色体16p13的MEFV基因的一个或多个突变所致,所述基因编码称为热蛋白(pyrin)的蛋白质。

[0079] 上文定义的IL-1 $\beta$ 结合分子,具体而言为本发明第一及第二方面中的IL-1 $\beta$ 结合分子,如对成熟的人IL-1 $\beta$ 抗原表位(包括含有Glu64的环)具有结合特异性的抗体,具体而言为能够抑制IL-1 $\beta$ 与其受体结合的抗体;以及结合IL-1 $\beta$ 的K<sub>D</sub>为约10nM、1nM、优选100pM、更优选50pM或更低的IL-1 $\beta$ 抗体,在文中均被视为本发明的抗体。

[0080] 在本发明的另一个实施方案中,IL-1 $\beta$ 化合物如本发明的抗体的其他用途如下:

[0081] 预防和治疗炎症性肠病(IBD)、幼年型关节炎、反应性关节炎、强直性脊柱炎、冠状综合征、动脉再狭窄、囊性纤维化、阿尔茨海默病、多发性骨髓瘤、动脉粥样硬化、肺纤维化、Muckle-Wells综合征及慢性阻塞性肺病(COPD)。

[0082] 对于本说明书此处公开的所有适应症(本发明的适应症)而言,适宜剂量当然根据以下因素而不同,例如所用的具体IL-1 $\beta$ 化合物如本发明的抗体、宿主、给药方式以及所治疗疾病的性质和严重程度。然而,在预防性使用中,推荐采用每千克体重约0.05mg至约10mg的剂量通常能取得令人满意的效果,更常用剂量为每千克体重约0.1mg至约5mg。可以通过胃肠外、静脉内(例如经肘前静脉或其他外周静脉)、肌内或皮下方便地施用本发明的抗体。

[0083] 本发明的另一个实施方案涉及令人惊异的治疗所用的给药频率,即采用IL-1 $\beta$ 化合物、优选IL-1 $\beta$ 抗体,更优选ACZ885(通常剂量为如每kg病人体重约0.1mg至约50mg,更优选为0.5mg至20mg,甚至更优选1mg-10mg的ACZ885)的治疗日程可以为每周一次或更少,更优选每2周一次或更少,更优选每3周一次或更少,更优选每月一次或更少,更优选每2月一次或更少,更优选每3月一次或更少,甚至更优选每4月一次或更少,甚至更优选每5月一次或更少,或甚至更优选每6月一次或更少。最优选每月一次。

[0084] 可以通过常规方法生产本发明的药物组合物。本发明的组合物优选以冻干粉的形式提供。需要立刻使用时,将其溶于合适的水性载体中,例如无菌注射用水或无菌生理盐水缓冲液。如果需要制备用于输注而非静推注射给药的较大体积的溶液,则最好在制备时向盐水中加入人血清白蛋白或病人自己的肝素化血液。过量的此类生理惰性蛋白质的存在能避免由于输注溶液所用的容器及管道壁吸收而造成的抗体损失。如果使用白蛋白,则合适的浓度为生理盐水重量的0.5-4.5%。

[0085] 通过以下实施例进一步举例描述本发明。

[0086] 实施例

[0087] 实施例1:ACZ885

[0088] ACZ885的结构和制备公开于例如WO 02/16436中。简而言之,重链和轻链可变结构域的氨基末端序列以及相应的DNA序列如下面SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2所示,其中CDR以斜体和下划线表示。

[0089] ACZ885重链可变区 SEQ ID NO:1

[0090]

TCAG

Q - 1

GTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCC  
V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S - 21

TGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTGTATTATGGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCA  
C A A S G F T F S V Y G M N W V R Q A P - 41

GGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATTTGGTATGATGGAGATAATCAATACTATGCA  
G K G L E W V A I I W Y D G D N Q Y Y A - 61

GACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCAGAACACGCTGTATCTG.  
D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L - 81

CAAATGAACGGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGAGAGATCTTAGG  
Q M N G L R A E D T A V Y Y C A R D L R - 101

ACTGGGCCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC  
T G P F D Y W G Q G T L V T V S S 118

[0091] ACZ885 轻链可变区 SEQ ID NO :2

[0092]

TGAA

E - 1

ATTGTGCTGACTCAGTCTCCAGACTTTCAGTCTGTGACTCCAAAGGAGAAAGTCACCATC  
I V L T Q S P D F Q S V T P K E K V T I - 21

ACCTGCCGGGCCAGTCAGAGCATTGGTAGTAGCTTACACTGGTACCAGCAGAAACCAGAT  
T C R A S Q S I G S S L H W Y Q Q K P D - 41

CAGTCTCCAAAGCTCCTCATCAAGTATGCTTCCCAGTCCTTCTCAGGGGTCCCCTCGAGG  
Q S P K L L I K Y A S Q S F S G V P S R - 61

TTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTACCCTCACCATCAATAGCCTGGAAGCTGAA  
F S G S G S G T D F T L T I N S L E A E - 81

GATGCTGCAGCGTATTACTGTCATCAGAGTAGTAGTTTACCATTCACTTTCGGCCCTGGG  
D A A A Y Y C H Q S S S L P F T F G P G - 101

ACCAAAGTGGATATCAAA - 107

T K V D I K

[0093] 实施例 2 :ACZ885 的生物化学和生物学数据

[0094] 发现单克隆抗体 ACZ 885 具有体外中和白介素 -1 $\beta$  的活性。通过表面等离子共振分析对该单克隆抗体与重组人 IL-1 $\beta$  间的结合进行进一步的表征。利用可溶性 IL-1 受体通过竞争性结合试验来评估其中和模式。在对 IL-1 $\beta$  刺激有应答的原代人细胞中,测定抗体 ACZ885 对重组和天然产生的 IL-1 $\beta$  的生物活性。

[0095] 确定解离平衡常数

[0096] 通过表面等离子共振分析确定重组人 IL-1 $\beta$  与 ACZ885 间结合的结合和解离速率常数。将 ACZ885 固定,通过表面等离子共振测量浓度范围为 1 至 4nM 的重组人 IL-1 $\beta$  的结合。所选公式表示单价相互作用,因而可按照 1 : 1 的化学计量处理 IL-1 $\beta$  与 ACZ885 间的结合事件。利用 BIA 评估软件进行数据分析。

[0097]

	$k_{on}$ [ $10^5/MS$ ]	$k_{off}$ [ $10^{-5}/s$ ]	$K_D$ [pM]	
ACZ885	11.0+/-0.23	3.3+/-0.27	30.5+/-2.6	n = 22

[0098] 结论 :ACZ885 与重组人 IL-1 $\beta$  的结合具有高亲和性。

[0099] 实施例 3 :ACZ885 的临床试验

[0100] 为评估 IL-1 $\beta$  化合物如 ACZ885 的适应性,进行了开放标记的、单中心的 ACZ885(人抗 IL-1 $\beta$  单克隆抗体)的剂量效价研究,以评估其在 MW 综合征患者中的临床效能、安全性、药代动力学和药效学,所述病人的特征在于具有 NALP3 突变。

[0101] 病人接受单次剂量的 ACZ885 输注(10mg/kg i. v.) 的处理。通过症状(如皮疹、肌肉疼痛、发热、疲劳)改善以及急性期蛋白血清淀粉样蛋白(SAA)和 c 反应蛋白(CRP)的降低,来测量临床应答。此外,分析外周血细胞中得到的 mRNA 来评估治疗应答。当临床症状复发时给予二次治疗(1mg/kg i. v.)。

[0102] 结果 :3 天内病人临床症状(发热、皮疹、结膜炎)消退,并且 CRP 和 SAA 降至正常范围(< 10mg/L)。首次输注后症状的临床消退持续了至少 134 天,通常为 160 至 200 天。用较低剂量进行二次治疗时,病人应答表现为症状的改善和急性期蛋白恢复正常。

[0103] 对外周血细胞中得到的 mRNA 分析显示,在 ACZ885 治疗的 24h 内 IL-1 $\beta$  及 IL-1 $\beta$  诱导的基因的转录均有下调。这提示 ACZ885 能够阻断体内正反馈环路,而后者会导致病人体内 IL-1 $\beta$  过量产生的自我维持。对 ACZ885 的 PK/PD 效应的初步定性也支持该论点,其证明 ACZ885 的治疗阻断了这些病人中 IL-1 $\beta$  的产生。ACZ885 的独特能力可能(作为其原因)有助于维持其长期临床疗效。