



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 118525032 A

(43) 申请公布日 2024.08.20

(21) 申请号 202280086947.1

(22) 申请日 2022.10.28

(30) 优先权数据

63/273195 2021.10.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.06.28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/078837 2022.10.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/077042 EN 2023.05.04

(71) 申请人 伊莱利利公司

地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 M·切德 A·S·弗莱舍

M·B·兰南 A·罗 M·敏通

V·H·奥本古 S·E·雷恩斯

J·R·西姆斯二世 A·D·斯科拉

R·E·沃尔什 E·A·韦斯特

M·叶

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001

专利代理师 任晓华 彭昶

(51) Int.Cl.

C07K 16/24 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

权利要求书9页 说明书42页

序列表(电子公布) 附图1页

(54) 发明名称

靶向白细胞介素34的化合物和方法

(57) 摘要

本公开涉及IL-34抗体、包含该抗体的组合物以及使用该抗体和或其组合物用于治疗免疫介导的疾病例如神经退行性疾病,例如阿尔茨海默氏病或tau蛋白病的方法。

1. 一种结合人IL-34的抗体,其中所述抗体包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),其中所述VH包含重链互补决定区(HCDR)HCDR1、HCDR2和HCDR3,并且所述VL包含轻链互补决定区(LCDR)LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中

所述HCDR1包含SEQ ID NO:5,

所述HCDR2包含SEQ ID NO:6,

所述HCDR3包含SEQ ID NO:7,

所述LCDR1包含SEQ ID NO:8,

所述LCDR2包含SEQ ID NO:9,和

所述LCDR3包含SEQ ID NO:10。

2. 根据权利要求1所述的抗体,其中所述VH包含SEQ ID NO:3并且所述VL包含SEQ ID NO:4。

3. 根据权利要求1或2所述的抗体,其中所述抗体包括包含SEQ ID NO:1的重链(HC)和包含SEQ ID NO:2的轻链(LC)。

4. 一种核酸,其包含编码选自SEQ ID NO:11或12的SEQ IDNO的序列。

5. 一种载体,其包含根据权利要求4所述的核酸。

6. 根据权利要求5所述的载体,其中所述载体包含编码SEQ ID NO:11的第一核酸序列和编码SEQ ID NO:12的第二核酸序列。

7. 一种组合物,其包括包含编码SEQ ID NO:11的核酸序列的第一载体和包含编码SEQ ID NO:12的核酸序列的第二载体。

8. 一种细胞,其包含根据权利要求5或6所述的载体。

9. 一种细胞,其包括包含编码SEQ ID NO:11的核酸序列的第一载体和包含编码SEQ ID NO:12的核酸序列的第二载体。

10. 根据权利要求8或9所述的细胞,其中所述细胞是哺乳动物细胞。

11. 一种产生抗体的方法,其包括在使得所述抗体表达的条件下培养根据权利要求8-10中任一项所述的细胞,并且从培养基中回收所表达的抗体。

12. 一种抗体,其通过根据权利要求11所述的方法产生。

13. 一种药物组合物,其包含根据根据权利要求1-3或12中任一项所述的抗体和药学上可接受的赋形剂、稀释剂或载体。

14. 一种治疗有此需要的受试者中的免疫介导的疾病的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求1-3或12中任一项所述的抗体或者根据权利要求13所述的药物组合物。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中所述免疫介导的疾病选自阿尔茨海默氏病;tau蛋白病;干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中所述免疫介导的疾病是阿尔茨海默氏病。

17. 根据权利要求1-3或12中任一项所述的抗体,其用于治疗中。

18. 根据权利要求1-3或12中任一项所述的抗体或者根据权利要求13所述的药物组合物,其用于治疗免疫介导的疾病。

19. 根据权利要求18所述的抗体或药物组合物,其中所述免疫介导的疾病选自阿尔茨

海默氏病; tau蛋白病; 干燥综合征 (SS); 类风湿性关节炎 (RA); 炎性肠病 (IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症、肌萎缩侧索硬化 (ALS) 和/或非酒精性脂肪肝病 (NAFLD)。

20. 根据权利要求18所述的抗体或药物组合物, 其中所述免疫介导的疾病是阿尔茨海默氏病。

21. 根据权利要求1-3或12中任一项所述的抗体在制造用于治疗免疫介导的疾病的药剂中的用途。

22. 根据权利要求21所述的用途, 其中所述免疫介导的疾病选自阿尔茨海默氏病; tau蛋白病; 干燥综合征 (SS); 类风湿性关节炎 (RA); 炎性肠病 (IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病 (NAFLD)。

23. 根据权利要求21所述的用途, 其中所述免疫介导的疾病是阿尔茨海默氏病。

24. 一种确定体液中的IL-34水平的方法, 其包括:

(a) 使体液与抗人IL-34诊断性单克隆抗体或其抗原结合片段接触, 所述抗人IL-34诊断性单克隆抗体或其抗原结合片段特异性结合由如SEQ ID NO: 49中的氨基酸序列组成的人IL-34, 所述抗体或其抗原结合片段包括: 分别包含氨基酸序列 (SEQ ID NO: 8)、(SEQ ID NO: 9) 和 (SEQ ID NO: 10) 的轻链互补决定区LCDR1、LCDR2和LCDR3, 以及分别包含氨基酸序列 (SEQ ID NO: 5)、(SEQ ID NO: 6) 和 (SEQ ID NO: 7) 的重链互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3;

(b) 任选地, 去除任何非特异性结合的单克隆抗体或其抗原结合片段; 和

(c) 检测和/或定量与人IL-34特异性结合的单克隆抗体或其抗原结合片段的量。

25. 根据权利要求24所述的方法, 其中所述体液是血液、血清或血浆、或脑脊液, 并且所述接触离体发生。

26. 一种治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病的方法, 其包括向有此需要的人受试者施用与有效量的根据权利要求1-3或12中任一项所述的抗体同时、分开或序贯组合的有效量的抗N3pG A $\beta$ 抗体。

27. 根据权利要求26所述的方法, 其中所述抗N3pG A $\beta$ 抗体是多聚单抗并且根据权利要求1-3或12中任一项所述的抗体是抗体1。

28. 根据权利要求26所述的方法, 其中所述疾病是阿尔茨海默氏病。

29. 根据权利要求26所述的方法, 其中所述抗N3pG A $\beta$ 抗体是多聚单抗并且所述疾病是阿尔茨海默氏病。

30. 根据权利要求29所述的方法, 其中在用多聚单抗的疗程后序贯地施用抗体1。

31. 一种治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病的方法, 其包括:

i) 向所述人受试者施用约100mg至约700mg抗N3pG A $\beta$ 抗体的一个或多个第一剂量, 其中每个第一剂量约每四周施用一次; 和

ii) 在施用一个或多个第一剂量后约四周, 向所述人受试者施用大于700mg至约1400mg抗N3pGA $\beta$ 抗体的一个或多个第二剂量, 其中每个第二剂量约每4周施用一次,

其中所述抗N3pG1u A $\beta$ 抗体是多聚单抗, 和

iii) 同时、分开或序贯地向所述人受试者施用有效量的抗体1。

32. 根据权利要求31所述的方法, 其中在施用第二剂量之前, 向所述人受试者施用一

次、两次或三次多奈单抗的第一剂量。

33. 根据权利要求31或32所述的方法,其中向所述人受试者施用约700mg多奈单抗的第一剂量。

34. 根据权利要求31至33中任一项所述的方法,其中向所述人受试者施用约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg或约1400mg多奈单抗的一个或多个第二剂量。

35. 根据权利要求31至34中任一项所述的方法,其中向所述人受试者施用约1400mg多奈单抗的一个或多个第二剂量。

36. 根据权利要求31至35中任一项所述的方法,其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者至多72周的疗程持续时间,或直到达到淀粉样蛋白的正常水平。

37. 根据权利要求31至36中任一项所述的方法,其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者,直到患者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

38. 根据权利要求31至36中任一项所述的方法,其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者一个疗程,直到所述人受试者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低,任选地,其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月,或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

39. 根据权利要求31至36中任一项所述的方法,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量,至多72周的疗程持续时间。

40. 根据权利要求31至36中任一项所述的方法,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量,直到所述受试者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

41. 根据权利要求31至36中任一项所述的方法,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量,直到所述受试者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低,任选地,其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月,或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

42. 根据权利要求31至41中任一项所述的方法,其中向所述人受试者施用多奈单抗的第二剂量足以治疗或预防疾病的疗程持续时间。

43. 根据权利要求31至42中任一项所述的方法,其中所述疾病的治疗或预防引起i) 人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少,和/或ii) 减缓人受试者中的认知或功能衰退。

44. 根据权利要求43所述的方法,其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少通过淀粉样蛋白PET脑成像或检测关于A $\beta$ 的生物标记物的诊断来确定。

45. 根据权利要求43或44所述的方法,其中将所述第二剂量施用于人受试者,直到存在所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的约20-100%减少。

46. 根据权利要求45所述的方法,其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约75%或约100%。

47. 根据权利要求31至44中任一项所述的方法,其中将所述多奈单抗的第二剂量施用于人受试者,直到所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了i) 约25centiloids至约

100centiloids的大致平均值、ii) 约50centiloids至约100centiloids的大致平均值、iii) 约100centiloids、或iv) 约84centiloids。

48. 根据权利要求31至47中任一项所述的方法, 其中特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病选自临床前阿尔茨海默氏病(AD)、临床AD、前驱AD、轻度AD、中度AD、重度AD、唐氏综合症、临床脑淀粉样血管病、或临床前脑淀粉样血管病。

49. 根据权利要求31至48中任一项所述的方法, 其中所述人受试者是早期症状性AD患者。

50. 根据权利要求49所述的方法, 其中所述人受试者患有前驱AD以及由于AD的轻度痴呆。

51. 根据权利要求26-50中任一项所述的方法, 其中所述人受试者具有: i) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷, ii) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷, iii) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷以及APOE e4的一个或两个等位基因, iv) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷以及APOE e4的一个或两个等位基因, 或v) APOE e4的一个或两个等位基因。

52. 根据权利要求51所述的方法, 其中i) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $\leq 1.46\text{SUVr}$ , 则所述人受试者具有极低至中等tau负荷, 或ii) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $1.10\text{SUVr}$ 至 $1.46\text{SUVr}$ , 则所述人受试者具有低至中等tau负荷。

53. 根据权利要求26-50中任一项所述的方法, 其中所述人受试者i) 不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷, 或ii) 携带APOE e4的一个或两个等位基因, 并且不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷。

54. 根据权利要求53所述的方法, 其中如果通过如PET脑成像所测量的tau负荷高于 $1.46\text{SUVr}$ , 则所述人受试者具有高tau负荷。

55. 根据权利要求51或53所述的方法, 其中使用PET脑成像或检测关于tau的生物标记物的诊断来确定所述人受试者的tau负荷。

56. 与抗体1同时、分开或序贯组合的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体在制造用于治疗或预防特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病的药剂中的用途,

其中施用约100mg至约700mg抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的一个或多个第一剂量, 其中每个第一剂量约每4周施用一次, 随后为在施用一个或多个第一剂量后四周施用大于700mg至约1400mg的一个或多个第二剂量, 其中抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的每个第二剂量约每4周施用一次, 和

其中所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体是多奈单抗。

57. 根据权利要求56所述的用途, 其中在施用多奈单抗的第二剂量之前, 向所述人受试者施用一次、两次或三次多奈单抗的第一剂量。

58. 根据权利要求56或57所述的用途, 其中向所述人受试者施用约700mg多奈单抗的三个第一剂量。

59. 根据权利要求56-58中任一项所述的用途, 其中向所述人受试者施用约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg或约1400mg多奈单抗的一个或多个第二剂量。

60. 根据权利要求56-59中任一项所述的用途, 其中向所述人受试者施用约1400mg多奈

单抗的一个或多个第二剂量。

61. 根据权利要求56-60中任一项所述的用途, 其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者至多72周的疗程持续时间或直到达到淀粉样蛋白的正常水平。

62. 根据权利要求56-61中任一项所述的用途, 其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者, 直到患者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

63. 根据权利要求56-61中任一项所述的用途, 其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者, 直到患者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低, 任选地, 其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月, 或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

64. 根据权利要求56-61中任一项所述的用途, 其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量, 并且然后为每四周一次的1400mg多奈单抗的第二剂量, 至多72周的持续时间。

65. 根据权利要求56-61中任一项所述的用途, 其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量, 并且然后为每四周一次的1400mg多奈单抗的第二剂量, 直到患者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

66. 根据权利要求56-61中任一项所述的用途, 其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量, 并且然后为每四周一次的1400mg多奈单抗的第二剂量, 直到患者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低, 任选地, 其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月, 或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

67. 根据权利要求56-66中任一项所述的用途, 其中向所述人受试者施用多奈单抗的第二剂量足以治疗或预防疾病的疗程持续时间。

68. 根据权利要求56-67中任一项所述的用途, 其中所述疾病的治疗或预防引起i) 人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少, 和/或ii) 减缓人受试者中的认知或功能衰退。

69. 根据权利要求68所述的用途, 其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少通过淀粉样蛋白PET脑成像或检测关于A $\beta$ 的生物标记物的诊断来确定。

70. 根据权利要求68或69所述的用途, 其中将所述多奈单抗的第二剂量施用于人受试者, 直到存在所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的约20-100%减少。

71. 根据权利要求70所述的用途, 其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约75%或约100%。

72. 根据权利要求70或71所述的用途, 其中患者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了100%。

73. 根据权利要求56至72中任一项所述的用途, 其中将所述多奈单抗的第二剂量施用于人受试者, 直到所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了i) 约25centiloids至约100centiloids的大致平均值、ii) 约50centiloids至约100centiloids的大致平均值、iii) 约100centiloids、或iv) 约84centiloids。

74. 根据权利要求56至73中任一项所述的用途, 其中特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病选自临床前阿尔茨海默氏病、临床AD、前驱AD、轻度AD、中度AD、重度AD、唐氏综合症、临床脑淀粉样血管病、或临床前脑淀粉样血管病。

75. 根据权利要求56至74中任一项所述的用途, 其中所述人受试者是早期症状性AD患

者,或其中所述人受试者患有前驱AD或由于AD的轻度痴呆。

76. 根据权利要求56至75中任一项所述的用途,其中所述人受试者具有:i) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷,ii) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷,iii) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷以及APOE e4的一个或两个等位基因,iv) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷以及APOE e4的一个或两个等位基因,或v) APOE e4的一个或两个等位基因。

77. 根据权利要求76所述的用途,其中i) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $\leq 1.46\text{SUVr}$ ,则所述人受试者具有极低至中等tau负荷,或ii) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $1.10\text{SUVr}$ 至 $1.46\text{SUVr}$ ,则所述人受试者具有低至中等tau负荷。

78. 根据权利要求56-75中任一项所述的用途,其中所述人受试者i) 不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷,或ii) 携带APOE e4的一个或两个等位基因,并且不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷。

79. 根据权利要求78所述的用途,其中如果通过如PET脑成像所测量的tau负荷高于 $1.46\text{SUVr}$ ,则所述人受试者具有高tau负荷。

80. 根据权利要求76或78所述的用途,其中使用tauPET脑成像或检测关于tau的生物标记物的诊断来确定所述人受试者的tau负荷。

81. 一种治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病的方法,所述人受试者已确定为具有i) 极低至中等tau负荷或低至中等tau负荷,或ii) 极低至中等tau负荷或低至中等tau负荷、以及APOE e4的一个或两个等位基因,所述方法包括与有效量的抗体1同时、分开或序贯组合地:

i) 向所述人受试者施用约100mg至约700mg多奈单抗的一个或多个第一剂量,其中多奈单抗的每个第一剂量约每4周施用一次;和

ii) 在施用一个或多个第一剂量后4周,向所述人受试者施用大于700mg至约1400mg多奈单抗的一个或多个第二剂量,其中每个第二剂量约每4周施用一次。

82. 一种治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病的方法,其包括:

确定所述人受试者是否具有在脑的颞叶、枕叶、顶叶或额叶中的tau负荷,并且如果所述人受试者具有在脑的颞叶、枕叶、顶叶或额叶中的tau负荷,则与有效量的抗体1同时、分开或序贯组合地:

i) 向所述人受试者施用约100mg至约700mg抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的一个或多个第一剂量,其中每个第一剂量约每四周施用一次;和

ii) 在施用一个或多个第一剂量后约四周,向所述人受试者施用大于700mg至约1400mg抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的一个或多个第二剂量,其中每个第二剂量约每4周施用一次。

83. 根据权利要求82所述的方法,其中所述人受试者具有在脑的后外侧颞叶或颞叶中的tau负荷。

84. 根据权利要求82中任一项所述的方法,其中所述人受试者具有在脑的枕叶中的tau负荷。

85. 根据权利要求82所述的方法,其中所述人受试者具有在脑的顶叶中的tau负荷。

86. 根据权利要求82所述的方法,其中所述人受试者具有在脑的额叶中的tau负荷。

87. 根据权利要求82所述的方法, 其中所述人受试者具有在脑的后外侧颞叶 (PLT) 和/或枕叶中的tau负荷。

88. 根据权利要求82-87中任一项所述的方法, 其中所述人受试者具有i) 在顶区或楔前叶区中的tau负荷, 或ii) 在额区中的tau负荷连同在脑的PLT或枕区中的tau负荷。

89. 根据权利要求82-86中任一项所述的方法, 其中所述人受试者具有i) 隔离至额叶的tau负荷, 或ii) 在不包括脑的后外侧颞区 (PLT) 的颞叶区中的tau负荷。

90. 根据权利要求82-88中任一项所述的方法, 其中所述人受试者具有在脑的后外侧颞叶、枕叶和顶叶中的tau负荷。

91. 根据权利要求82-88中任一项所述的方法, 其中所述人受试者具有在脑的后外侧颞叶、枕叶、顶叶和额叶中的tau负荷。

92. 根据权利要求82-88中任一项所述的方法, 其中所述人受试者具有在脑的后外侧颞叶、枕叶、顶叶和/或额叶中的tau负荷。

93. 根据权利要求82-92中任一项所述的方法, 其中在施用第二剂量之前, 向所述人受试者施用一次、两次或三次第一剂量。

94. 根据权利要求82-93中任一项所述的方法, 其中向所述人受试者施用药700mg的第一剂量。

95. 根据权利要求82至94中任一项所述的方法, 其中向所述人受试者施用药800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg或约1400mg的一个或多个第二剂量。

96. 根据权利要求82至95中任一项所述的方法, 其中向所述人受试者施用药1400mg的一个或多个第二剂量。

97. 根据权利要求82至96中任一项所述的方法, 其中将所述抗N3pG1u A $\beta$ 抗体施用于人受试者至多72周的持续时间, 或直到达到淀粉样蛋白的正常水平。

98. 根据权利要求82至97中任一项所述的方法, 其中将所述抗N3pG1u A $\beta$ 抗体施用于人受试者, 直到患者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

99. 根据权利要求82至98中任一项所述的方法, 其中将所述抗N3pG1u A $\beta$ 抗体施用于人受试者, 直到所述人受试者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低, 任选地, 其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月, 或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

100. 根据权利要求82至99中任一项所述的方法, 其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg的三个第一剂量, 并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量, 至多72周的持续时间。

101. 根据权利要求82至100中任一项所述的方法, 其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg的三个第一剂量, 并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量, 直到所述受试者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

102. 根据权利要求82至101中任一项所述的方法, 其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg的三个第一剂量, 并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量, 直到所述受试者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低, 任选地, 其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月, 或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。



103. 根据权利要求82至102中任一项所述的方法,其中向所述人受试者施用第二剂量足以治疗或预防疾病的持续时间。

104. 根据权利要求82至103中任一项所述的方法,其中所述疾病的治疗或预防引起i) 人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少,和/或ii) 减缓人受试者中的认知或功能衰退。

105. 根据权利要求97所述的方法,其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少通过淀粉样蛋白PET脑成像或检测关于A $\beta$ 的生物标记物的诊断来确定。

106. 根据权利要求97或98所述的方法,其中将所述第二剂量施用于人受试者,直到存在所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的约20-100%减少。

107. 根据权利要求106所述的方法,其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约75%或约100%。

108. 根据权利要求82至107中任一项所述的方法,其中将所述第二剂量施用于人受试者,直到所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了i) 约25centiloids至约100centiloids的大致平均值、ii) 约50centiloids至约100centiloids的大致平均值、iii) 约100centiloids、或iv) 约84centiloids。

109. 根据权利要求82至108中任一项所述的方法,其中特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病选自临床前阿尔茨海默氏病(AD)、临床AD、前驱AD、轻度AD、中度AD、重度AD、唐氏综合症、临床脑淀粉样血管病、或临床前脑淀粉样血管病。

110. 根据权利要求82至109中任一项所述的方法,其中所述人受试者是早期症状性AD患者。

111. 根据权利要求109所述的方法,其中所述人受试者患有前驱AD以及由于AD的轻度痴呆。

112. 根据权利要求82-111中任一项所述的方法,其中所述人受试者具有:i) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷,或ii) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷。

113. 根据权利要求112所述的方法,其中i) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $\leq 1.46\text{SUVr}$ ,则所述人受试者具有极低至中等tau负荷,或ii) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $1.10\text{SUVr}$ 至 $1.46\text{SUVr}$ ,则所述人受试者具有低至中等tau负荷。

114. 根据权利要求82至113中任一项所述的方法,其中所述人受试者不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷。

115. 根据权利要求114所述的方法,其中如果通过如PET脑成像所测量的tau负荷高于 $1.46\text{SUVr}$ ,则所述人受试者具有高tau负荷。

116. 根据权利要求114或115所述的方法,其中使用PET脑成像或检测关于tau的生物标记物的诊断来确定所述人受试者的tau负荷。

117. 根据权利要求82至116中任一项所述的方法,其中所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体包含多肽单抗。

118. 根据权利要求82-117中任一项所述的方法,其中患者具有APOE e4的一个或两个等位基因。

119. 一种降低/预防人脑的颞叶、枕叶、顶叶或额叶中的tau负荷的进一步增加,或减缓tau累积速率的方法,其包括将与有效量的抗体1同时、分开或序贯组合的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体

施用于所述人受试者。

## 靶向白细胞介素34的化合物和方法

[0001] 本公开涉及包括针对人白细胞介素34 (IL-34) 的抗体的化合物、药物组合和方法,所述抗体预计可用于神经炎症和急性或慢性炎性疾病领域中。特别地,实施方案预计可用于与阿尔茨海默氏病以及其它tau蛋白病相关的治疗和/或诊断应用中。

[0002] 阿尔茨海默氏病 (AD), 痴呆的主要原因, 在65至69岁之间1%的群体中发展, 并且在95岁及以上的群体中增加至40-50%。AD患者显示出明显的临床症状, 其包括认知损害和记忆功能缺陷。在这些患者中, 通过死后组织病理学检查在大脑皮层中发现的严重的老年斑负荷和神经原纤维缠结 (NFT), 确认了AD的存在。成熟的老年斑由衍生自淀粉样前体蛋白的酶促加工的细胞外 $\beta$ -淀粉样肽和衍生自过度磷酸化tau蛋白细丝的细胞内神经原纤维缠结 (NFT) 组成。过度磷酸化的tau的聚集体, 例如神经原纤维缠结, 与阿尔茨海默氏病中的认知损害程度相联系。在AD和各种其它tau蛋白病中, tau聚集体在与疾病风险、发作和或进展相联系的特异性脑区域和模式中出现, 并且这些区域和模式是技术人员已知的。

[0003] 细胞因子调控正常的稳态组织功能, 并且这些细胞因子网络的失调与病理状况相关。少数血液携带的免疫细胞在其中循环的中枢神经系统 (CNS) 似乎特别易受失调的细胞因子网络的影响。在神经退行性疾病中, CNS驻留细胞是促炎细胞因子的占优势生产者, 并且可以促成失调的细胞因子网络和神经炎症。CNS的损伤可能涉及循环免疫细胞的募集, 导致由驻留小胶质细胞、外周衍生的单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞组成的先天免疫应答。小胶质细胞和巨噬细胞的激活状态并非严格地是促炎的或抗炎的, 而是可能具有一系列功能状态。小胶质细胞和/或外周衍生的单核细胞和巨噬细胞可能获得抗炎表型, 其中它们去除碎片并促进再生和稳态。神经元功能障碍或损伤也可以激活小胶质细胞, 以产生促炎细胞因子并从血流中募集白细胞。在神经退行性状况例如阿尔茨海默氏病 (AD) 中, 小胶质细胞激活是一种频繁的发现, 并且反映了对细胞外 $\beta$ -淀粉样斑块和过度磷酸化的tau聚集体累积的组织应答。神经炎症是神经退行性疾病的重要组分, 并且特征在于促炎细胞因子通过CNS细胞的增加产生 (Becher, B., Spath, S. & Goverman, J. Cytokine networks in neuroinflammation. *Nat Rev Immunol* 17, 49-59 (2017))。神经炎症和小胶质细胞增生被认为是神经退行性疾病的潜在机制, 例如阿尔茨海默氏病中的斑块累积、以及帕金森氏病和亨廷顿氏病中的神经元死亡和功能障碍。

[0004] 小胶质细胞增生涉及小胶质细胞响应炎症信号的异常增殖和/或肥大。在广义上, IL-34在炎症和免疫过程的调控中充当有力和多效的细胞因子, 并且是正常组织稳态中的CNS驻留小胶质细胞生长的关键调控细胞因子。IL-34由皮层、嗅前核和海马中的神经元表达。IL-34展示与CSF-1的低序列同源性, 但具有相似的一般结构, 并且两种细胞因子均与共同受体CSF-1R结合, 并触发受体自磷酸化和二聚化, 伴随多重信号传导途径的后续激活 (A. Freuchet等人, *J Leukoc Biol* 2021 Oct; 110(4): 771-796)。IL-34是一种分泌型同二聚体细胞因子, 其充当CSF1R的两个激活配体之一, 并且触发受体自磷酸化和二聚化, 伴随多重信号传导途径的后续激活 (参见例如, Structural basis for the dual recognition of helical cytokines IL-34 and CSF-1 by CSF-1R. *Structure* 20, 676-687, 以及 Felix J, De Munck S, Verstraete K, Meuris L, Callewaert N, Elegheert J等人)。人IL-34多肽公开

于例如美国专利号9,770,486中,并且由具有前导序列的242个氨基酸和以成熟形式的222个氨基酸(SEQ ID NO:49)组成。

[0005] 抗IL-34抗体已在本领域中进行描述,并且例如WO 2016/196679叙述了各种抗IL-34抗体及其潜在用途。然而,迄今为止,还没有靶向IL-34的抗体已被批准用于治疗用途。

[0006] 因此,对于替代的和/或改善的抗IL-34抗体、其药物组合物以及使用其用于治疗 and/或诊断应用的方法仍然存在未满足的需要,所述治疗和/或诊断应用与涉及IL-34的免疫介导的疾病,和/或可用抗IL-34抗体治疗的疾病,例如神经炎性病症和/或阿尔茨海默氏病相关。

## 发明内容

[0007] 本公开的实施方案提供了新型抗人IL-34抗体。根据一些实施方案,本公开提供了包含轻链可变区(LCVR)和重链可变区(HCVR)的抗体,其中所述LCVR包含互补决定区(CDR)LCDR1、LCDR2和LCDR3,并且所述HCVR包含CDR HCDR1、HCDR2和HCDR3,选自表1中提供的CDR组合的分组。本文中使用的序列标识符在表1和整个说明书中列出,并且序列在本文中提供的氨基酸和核苷酸序列表中提供。

[0008] 表1:氨基酸序列和核苷酸序列

序列	抗体1
HC	SEQ ID NO:1
LC	SEQ ID NO:2
HCVR	SEQ ID NO:3
LCVR	SEQ ID NO:4
HCDR1	SEQ ID NO:5
HCDR2	SEQ ID NO:6
HCDR3	SEQ ID NO:7
LCDR1	SEQ ID NO:8
LCDR2	SEQ ID NO:9
LCDR3	SEQ ID NO:10
DNAHC	SEQ ID NO:11
DNALC	SEQ ID NO:12

[0010] 相应地,本公开的实施方案提供了结合人IL-34的抗体,其中所述抗体包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),其中所述VH包含重链互补决定区(HCDR)HCDR1、HCDR2和HCDR3,并且所述VL包含轻链互补决定区(LCDR)LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:5,所述HCDR2包含SEQ ID NO:6,所述HCDR3包含SEQ ID NO:7,所述LCDR1包含SEQ ID NO:8,所述LCDR2包含SEQ ID NO:9,且所述LCDR3包含SEQ ID NO:10。

[0011] 相应地,本公开的实施方案还提供了包含具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCVR和具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCVR的抗体。

[0012] 相应地,本公开的实施方案进一步提供了结合人IL-34的抗体,其中所述抗体包括包含SEQ ID NO:1的重链(HC)和包含SEQ ID NO:2的轻链(LC)。

[0013] 根据其它实施方案,本发明还提供了包含具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的LCVR

和具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCVR的抗体,其中铰链区和Fc区选自SEQ ID NO:51和SEQ ID NO:52。

[0014] 如本文所用,“抗体1”是指这样的抗体,其具有SEQ ID NO:5的HCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列、SEQ ID NO:7的HCDR3氨基酸序列、SEQ ID NO:8的LCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:9的LCDR2氨基酸序列、SEQ ID NO:10的LCDR3氨基酸序列、SEQ ID NO:3的HCVR氨基酸序列、SEQ ID NO:4的LCVR氨基酸序列、SEQ ID NO:1的HC氨基酸序列、SEQ ID NO:2的LC氨基酸序列。抗体1可以由SEQ ID NO:11的HC DNA序列和SEQ ID NO:12的LC DNA序列编码。除非另有说明,否则使用与North等人,J.Mol.Biol.2011:406:228-256的方法一致的注释规则,来注释关于其的序列在本文中阐述的每种抗体中的框架和CDR序列。

[0015] 根据其它实施方案,本公开还提供了包含LC和HC的抗体,所述LC具有与SEQ ID NO:2具有至少95%序列同源性的氨基酸序列,所述HC具有与SEQ ID NO:1具有至少95%序列同源性的氨基酸序列。

[0016] 根据其它实施方案,本公开还提供了在本文中进一步被称为抗体2,包含具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LC和具有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HC的抗体。

[0017] 根据其它实施方案,本公开还提供了在本文中进一步被称为抗体3,包含具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LC和具有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HC的抗体。

[0018] 根据其它实施方案,本公开还提供了在本文中进一步被称为抗体4,包含具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的LC和具有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HC的抗体。

[0019] 每个HC的羧基末端部分限定了主要负责效应子功能的恒定区,并且在本公开的一些实施方案中,抗体在每个HC的恒定区中具有减少效应子功能的一种或多种修饰。优选地,本公开的实施方案是IgG4抗体,并且因此含有IgG4Fc区,或衍生自人IgG4的Fc区,例如修饰的IgG4 Fc区。

[0020] 根据一些实施方案,将减少效应子功能的两个HC的恒定区中的修饰和氨基酸取代引入IgG4铰链和Fc区中。因此,一些实施方案具有在两个HC的恒定区中的修饰,其包括在残基230和231两者处的氨基酸丙氨酸(分别在抗体1的HC以及SEQ ID NO:52中例示),以及在两个HC的恒定区中促进稳定性的进一步修饰,包括在残基224处的氨基酸脯氨酸(在抗体1的HC以及例如SEQ ID NO:51中例示),以及在残基443处的氨基酸赖氨酸的缺失(在SEQ ID NO:1的HC中例示)。

[0021] 本公开的抗体被认为具有超过现有技术抗IL-34抗体的特别有利的性质的组合,包括但不限于以下性质中的一种或多种:1)期望的结合速率和解离速率,2)中和人IL-34以实现抗神经炎症应答和体内功效的效力,3)作为用于治疗和/或预防免疫介导的病症和/或炎症性病症的单一疗法足够有力;4)持续的作用持续时间;5)不期望的细胞因子释放的充分限制诱导,6)可接受的低免疫原性(即,在人中足够无免疫原性);7)避免不适当的免疫妥协;和/或8)期望的体内稳定性、物理和化学稳定性,包括但不限于热稳定性、溶解度、低自结合、以及对于在炎症性病症或神经炎性病症例如AD的治疗中的开发和/或使用可接受的药代动力学特性。

## 具体实施方式

[0022] 本公开的实施方案使用如本文描述的实施方案中提供的药理学上有利的抗人IL-

34抗体,通过提供可用于通过IL-34中和来预防、下调或改善炎症和/或神经炎症相关病症的组合物和方法,提供了超过现有技术的显著进步。本公开的抗人IL-34抗体优选地通过抑制免疫应答的先天臂和/或消除小胶质细胞增生或其它单核细胞/巨噬细胞谱系细胞激活和或增殖,能够改善免疫和/或炎症病理学,或恢复免疫稳态,从而直接修改潜在的疾病病理学。此类抗体在临床上的使用可能导致待治疗的疾病的持久的长期改善。

[0023] 进一步地,存在关于诊断性抗人IL-34抗体的需要,所述抗人IL-34抗体对于人IL-34是特异性的,并且具有改善的结合亲和力,并且在人IL-34测定中证实了增强的灵敏度,以及改善的酶联免疫吸附测定(ELISA)测定条件,其导致最小的干扰和广泛稀释线性。根据本公开的一些方面,提供了抗人IL-34抗体,包括人IL-34中和抗体,其结合由SEQ ID N0:49给出的人IL-34。白细胞介素34(IL-34;也称为未表征蛋白C16orf77)作为由39kDa单体组成的同二聚体分泌。它不属于已知的细胞因子家族。人IL-34作为242氨基酸(AA)前体合成,所述前体含有20AA信号序列,并且导致222AA成熟链。如本文所用,IL-34是指成熟链。成熟链含有一个潜在的N联糖基化位点。IL-34在各种组织中表达,所述组织包括心脏、脑、肝、肾、脾、胸腺、睾丸、卵巢、小肠、前列腺和结肠,并且在脾中最丰富。当在本文中提及IL-34多肽使用时,除非另有说明,否则“h IL-34”或“人IL-34”是指野生型人IL-34,并且优选地具有SEQ ID N0:49中所示的氨基酸序列,其是去除前导序列的成熟IL-34。(参见例如,Lin等人,Science(2008)第320卷,第5877期,第807-811页)。

[0024] 示例性人IL-34(SEQ ID N0:49)具有氨基酸序列:

NEPLEMWPLTQNEECTVTGFLRDKLQYRSRLQYMKHYFPINYKISVPYEGVFRIA  
NVTRLQRAQVSERELRYLWVLVLSLATESVQDVLLEGHPSWKYLQEVETLLLN

[0025] QQGLTDVEVSPKVESVLSLLNAPGNLKLVRPKALLDNCFRVMELLYCSCCKQS  
SVLNWQDCEVPSQSCSPEPSLQYAATQLYPPPPWSPSSPPHSTGSRPVRAQGE  
GLLP.

[0026] 如本文所用,“人抗IL34抗体”或“抗人IL-34抗体”是指与人IL-34结合的抗体。优选地,体外或体内施用的“人抗IL34抗体”或“抗人IL-34抗体”导致IL-34活性中和和/或阻断应答,例如至少一种显著减弱的所需活性,例如,IL-34信号传导中的所需减少,如通过IL-34响应性分子或细胞终点的变化所证明的。例如,CNS中的小胶质细胞数目、密度或表型是可能的IL-34响应性分子或细胞效应的实例。如本文所用,术语“信号传导”和“信号转导”和“IL-34介导的”,当它们涉及IL-34时,是指起由于IL-34的活性的细胞和/或细胞间应答。

[0027] 如本文所用,术语“抗体”是指结合抗原的免疫球蛋白分子。抗体的实施方案包括单克隆抗体、多克隆抗体、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体或缀合抗体。抗体可以属于任何类别(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA)和任何亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)。示例性抗体是由四条多肽链构成的免疫球蛋白G(IgG)型抗体:经由链间二硫键交联的两条重链(HC)和两条轻链(LC)。LC分类为 $\kappa$ 或 $\lambda$ ,其各自的特征在于特异性恒定区。本发明的实施方案可以包含IgG1、IgG2或IgG4抗体,并且进一步包含 $\kappa$ 轻链或 $\lambda$ 轻链。优选地,本公开的抗体包含轻链恒定区,其是 $\kappa$ 恒定区。

[0028] HC分类为 $\gamma$ 、 $\mu$ 、 $\alpha$ 、 $\delta$ 或 $\epsilon$ ,并且将抗体的同种型分别定义为IgG、IgM、IgA、IgD或IgE。四条多肽链各自的氨基末端部分包括主要负责抗原识别的约100-125个或更多个氨基酸的

可变区。四条多肽链各自的羧基末端部分含有主要负责效应子功能的恒定区。每条重链由重链可变区 (VH) 和重链恒定区构成。重链的恒定区含有CH1、CH2和CH3结构域。CH1位于HCVR之后；CH1和HCVR形成抗原结合 (Fab) 片段的重链部分，所述片段是抗体结合抗原的部分。CH2位于铰链区之后且位于CH3之前。CH3位于CH2之后，并且处于重链的羧基末端处。轻链的恒定区含有一个结构域CL。CL位于LCVR之后；CL和LCVR形成Fab的轻链部分。

[0029] 本公开的抗体包括IgG HC，其可以进一步分成亚类，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4，并且本公开的实施方案可以包括在每个HC的恒定区中例如增强或减少效应子功能的一个或多个修饰。如本文所用，术语“Fc区”是指抗体的区域，其包含抗体重链的CH2和CH3结构域。任选地，Fc区可以包括抗体重链的铰链区的一部分或整个铰链区。已知IgG1诱导抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 和补体依赖性细胞毒性 (CDC)，并且本文所述的Fc突变可以减少聚集，减少或增强ADCC或CDC活性 (或其它功能)，和/或修饰抗体的药代动力学。本文所述的抗人IL-34抗体的实施方案具有与Fc  $\gamma$  R和C1q受体减少的结合，从而减少或消除可能由具有野生型IgG Fc区的抗体诱导的细胞毒性。因此，根据一些实施方案，突变在Fc区中如本文所述的位置处引入。患者安全性可以伴随包含修饰的Fc区的此类抗人IL-34抗体的充分减少或消除的效应子功能得到改善，并且与本文描述的其它性质组合，提供了具有改善的有用活性概况的治疗剂，同时避免不期望的活性。

[0030] 当在某些生物系统中表达时，抗体在Fc区被糖基化。通常，糖基化在抗体的Fc区中高度保守的N-糖基化位点处发生。N-聚糖通常附着至天冬酰胺。抗体也可以在其它位置被糖基化。本公开的抗体是单克隆抗体。单克隆抗体是衍生自单个拷贝或克隆的抗体，包括例如任何真核、原核或噬菌体克隆，并且不由它通过其产生的方法限定。单克隆抗体可以例如通过杂交瘤技术、重组技术、噬菌体展示技术、合成技术例如CDR移植、或者本领域已知的此类或其它技术的组合来产生。本公开考虑了本公开的抗体是人抗体或人源化抗体。在单克隆抗体的上下文中，术语“人”和“人源化”是本领域普通技术人员众所周知的 (Weiner LJ, J. Immunother. 2006; 29:1-9; Mallbris L等人, J. Clin. Aesthet. Dermatol. 2016; 9:13-15)。本公开的抗体的示例性实施方案还包括抗体片段或抗原结合片段，其包含保留与抗原特异性相互作用的能力的抗体的至少一部分，例如Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv片段、scFv抗体片段、二硫键连接的Fv (sdFv)、Fd片段和线性抗体。

[0031] 每个LC和HC的氨基末端部分包括约100-120个氨基酸的可变区，主要经由其中所含的CDR负责抗原识别。VH和VL区可以进一步细分成高变异性区域，称为互补决定区 (CDR)，其间散布有称为框架区 (FR) 的更保守区域。CDR暴露于蛋白质的表面上，并且是抗体关于抗原结合特异性的重要区域。每个VH和VL由3个CDR和4个FR构成，其从氨基末端到羧基末端按以下次序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本文中，重链的三个CDR被称为“HCDR1、HCDR2和HCDR3”，且轻链的三个CDR被称为“LCDR1、LCDR2和LCDR3”。CDR含有与抗原形成特异性相互作用的大部分残基。抗体结合特异性抗原的功能能力在很大程度上受六个CDR的影响。将氨基酸残基分配给CDR可以根据众所周知的方案来完成，所述方案包括以下中描述的那些方案：Kabat (Kabat等人, “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))、Chothia (Chothia等人, “Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins”, Journal of Molecular Biology, 196, 901-917 (1987))；Al-Lazikani等人, “Standard

conformations for the canonical structures of immunoglobulins”, Journal of Molecular Biology, 273, 927-948 (1997))、North (North 等人, “A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations”, Journal of Molecular Biology, 406, 228-256 (2011))、或 IMGT (在 www.imgt.org 处可获得的国际 Immunogenetics 数据库; 参见 Lefranc 等人, Nucleic Acids Res. 1999; 27: 209-212)。

[0032] 为了本公开的目的, 并且除非另有说明, 否则 North CDR 定义用于本文描述的抗 IL-34 抗体, 以及氨基酸对 LCVR 和 HCVR 区内的 CDR 结构域的分配。下表 2 提供了使用 Benchling 信息学软件生成的, 分别基于 North、Kabat、Chothia 和/或 IMGT 的惯例, 关于抗体 1 和/或本公开的抗体的 CDR 序列。

[0033] 表 2:

[0034] 抗体 1 (或本公开的抗体) 的示例性 CDR

[0035]

	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
North	AASGFTF SSYAMS (SEQ ID NO: 5)	AISGSGGKT Y (SEQ ID NO: 6)	AKRGYLW HAFDH (SEQ ID NO: 7)	RASQSVSSL YLA (SEQ ID NO: 8)	YGASSRAT (SEQ ID NO: 9)	QVVGSSP PFT (SEQ ID NO: 10)
Kabat	SYAMS (SEQ ID NO: 13)	AISGSGGK TYYADSVK G (SEQ ID NO: 14)	RGYLWHA FDH (SEQ ID NO: 15)	RASQSVSS LYLA (SEQ ID NO: 16)	GASSRAT (SEQ ID NO: 16)	QVVGSS PPFT (SEQ ID NO: 17)
Chothia	GFTFSSY (SEQ ID NO: 18)	SGSGGK (SEQ ID NO: 19)	RGYLWHA FDH (SEQ ID NO: 20)	RASQSVSS LYLA (SEQ ID NO: 21)	GASSRAT (SEQ ID NO: 22)	QVVGSS PPFT (SEQ ID NO: 23)
IMGT	GFTFSSY A (SEQ ID NO: 24)	ISGSGGKT (SEQ ID NO: 25)	AKRGYLW HAFDH (SEQ ID NO: 26)	QSVSSLY (SEQ ID NO: 27)	GAS (SEQ ID NO: 28)	QVVGSS PPFT (SEQ ID NO: 29)

[0036] 本公开的抗体实施方案具有药理学上有用且重要的活性和性质的组合, 并且在—个方面能够以高亲和力和高特异性结合人 IL-34, 以及其它有用的性质。除非另有说明, 否则如本文所用, 术语“结合 (bind)”和“结合 (binds)”预期意指蛋白质或分子与另一种蛋白质或分子形成吸引相互作用的能力, 其导致两种蛋白质或分子的接近, 如通过本领域已知的常见方法所确定的。除非另有说明, 否则如本文提及抗 IL-34 抗体对于人 IL-34 的亲合力所用的, 短语“特异性结合”预期意指优选小于约  $1 \times 10^{-10} \text{M}$ , 甚至更优选约  $1 \times 10^{-10} \text{M}$  至约  $1 \times 10^{-12} \text{M}$  的 KD, 如通过本领域已知的常见方法确定的, 包括通过使用 SPR (表面等离子体共振) 生物传感器和/或通过 MSD (Meso Scale Discovery) 仪器测量的溶液平衡滴定 (SET), 基本上如本文所述的。短语“特异性结合”还指示与其它抗原相比, 抗 IL-34 抗体对于人 IL-34 的相对亲合力, 其中对于人 IL-34 的亲合力导致人 IL-34 的特异性识别。

[0037] 本公开的抗体实施方案可以通过本领域已知的各种技术, 从包含本实施方案的序列的构建体表达且产生。如本文可互换使用的, 术语“核酸”或“多核苷酸”是指核苷酸聚合



物,包括含有单链和/或双链核苷酸的分子,例如DNA、cDNA和RNA分子,其掺入天然的、修饰的核苷酸和/或核苷酸的类似物。本公开的多核苷酸还可以包括例如通过DNA或RNA聚合酶或者合成反应掺入其中的底物。本公开的DNA分子是包含编码多肽的非天然存在的多核苷酸序列的DNA分子,所述多肽具有本公开的抗体中的至少一种多肽的氨基酸序列(例如,重链、轻链、可变重链和可变轻链)。

[0038] 通过将分别的编码HCVR或LCVR的DNA可操作地连接至编码重链恒定区或轻链恒定区的另一个DNA分子,可以将编码HCVR或LCVR区的分离的DNA转换为全长重链基因,以分别形成重链或轻链。人以及其它哺乳动物的重链恒定区基因的序列是本领域已知的。涵盖这些区域的DNA片段可以例如通过标准PCR扩增来获得。

[0039] 在序列已可操作地连接至表达控制序列后,可以在宿主细胞中表达本公开的多核苷酸。表达载体通常可作为附加体或作为宿主染色体DNA的整合部分在宿主生物中复制。通常,表达载体将含有选择标记物,例如四环素、新霉素和二氢叶酸还原酶,以允许检测用所需DNA序列转化的那些细胞。含有目的多核苷酸序列(例如,编码抗体多肽和表达控制序列的多核苷酸)的载体可以通过众所周知的方法转移到宿主细胞内,所述方法取决于细胞宿主的类型而变。

[0040] 本公开的抗体可以容易地在哺乳动物细胞中产生,所述哺乳动物细胞的非限制性实例包括CHO、NS0、HEK293或COS细胞。宿主细胞使用本领域众所周知的技术进行培养。抗体的哺乳动物表达通常导致糖基化。抗体的糖基化通常是N联或O联的。N联糖基化是指碳水化合物部分与天冬酰胺残基的侧链的附着。O联糖基化是指糖例如N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖与羟基氨基酸的附着。通常,糖基化在抗体的Fc区中高度保守的N-糖基化位点(例如,根据IMGT或EU索引编号,在IgG1中的位置297)处发生。可以修饰糖基化位点,以改变糖基化(例如,阻断或减少糖基化或者改变氨基酸序列,以产生另外的或不同的糖基化)。

[0041] 来自IgG亚类的抗体的哺乳动物表达可以导致来自一条或两条重链的C末端氨基酸的剪切;例如,对于IgG1抗体,可以去除一个或两个C末端氨基酸。对于IgG1抗体,如果存在C末端赖氨酸,则它可能在表达过程中从重链中截断或剪掉。另外,倒数第二个甘氨酸也可能从重链中截断或剪掉。

[0042] 抗体的哺乳动物表达也可以导致N末端氨基酸的修饰。例如,当重链或轻链的最N末端氨基酸是谷氨酰胺时,它可以被修饰成焦谷氨酸。

[0043] 本公开的抗体或包含其的药物组合物可以通过肠胃外途径进行施用,所述肠胃外途径的非限制性实例是皮下施用和静脉内施用。本公开的抗体可以与药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂一起以单剂量或多剂量施用于患者。本公开的药物组合物可以通过本领域众所周知的方法(例如,Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第22版(2012), A. Loyd等人, Pharmaceutical Press)进行制备,并且包含如本文所公开的抗体以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0044] 本发明的抗体实施方案的用途:

[0045] 根据一些实施方案,本公开的抗IL-34抗体可用于治疗免疫介导的疾病。如本文所用,术语“免疫介导的疾病”或“炎性疾病或病症”可互换使用,并且是指起于不适当的或过度的免疫应答的不期望的状况,其中IL-34抑制导致更多的稳态和更少的病理应答。术语“免疫介导的疾病”或“炎性病症”意欲包括此类状况,无论它们是由小胶质细胞或巨噬细胞

细胞免疫应答介导的,还是由类似组织驻留细胞类型(例如组织细胞、枯否细胞、肺泡巨噬细胞、肠道巨噬细胞、巨噬细胞样滑膜细胞或朗格汉斯细胞)介导的。考虑通过本文所述的本公开的抗体治疗的示例性疾病包括阿尔茨海默氏病;Tau蛋白病;干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症、肌萎缩侧索硬化(ALS)和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。

[0046] 在一些更具体的实施方案中,免疫介导的疾病是阿尔茨海默氏病(AD)。根据本公开的其它实施方案,抗IL-34抗体可用于免疫介导的疾病的诊断应用中。在一些实施方案中,免疫介导的疾病是AD、干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)中的至少一种。

[0047] 本公开进一步提供了药物组合物,其包含本公开的抗IL-34抗体和一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。进一步地,本公开提供了治疗免疫介导的疾病例如AD;干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)的方法,其包括向有此需要的患者施用本公开的药物组合物。

[0048] 另外,本公开提供了治疗免疫介导的疾病的方法。更具体地,本公开提供了治疗免疫介导的疾病,包括AD;干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)的方法,其包括向有此需要的患者施用有效量的本公开的抗IL-34抗体。

[0049] 本公开还提供了用于治疗中的本公开的抗IL-34抗体。更具体地,本公开提供了本公开的抗IL-34抗体,其用于治疗免疫介导的疾病,包括AD;干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。

[0050] 在某些实施方案中,本公开提供了本公开的抗IL-34抗体在制造用于治疗一种或多种免疫介导的疾病的药剂中的用途,所述疾病包括AD;干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。

[0051] 本公开的抗体可用于鉴定免疫介导的病症,其中IL-34可能促成该病症的发病机制。在进一步的实施方案中,本公开提供了治疗患者中的免疫介导的疾病的方法。此类方法包括以下步骤:使患者样品与抗IL-34抗体接触,并且检测患者样品中的人IL-34与抗体之间的结合;并且当患者样品中IL-34的存在检测为高于非患病个体中观察到的参考值时,将患者诊断为患有免疫介导的疾病;处于免疫介导的疾病的风险中;需要用于免疫介导的疾病的治疗;和/或处于与免疫介导的疾病相关的症状的风险中(参见例如Xie,H.H.等人, Elevated Serum Interleukin-34 Level in Patients with Systemic Lupus Erythematosus Is Associated with Disease Activity. Sci Rep 8,3462(2018)。根据本文提供的治疗方法的一些更具体的实施方案,此类方法进一步包括确定参考值的步骤,其包括以下的进一步步骤:使对照标准与第一抗体接触,所述第一抗体结合与接触患者样品中使用的IL-34的相同的第一表位区域;使对照标准与第二抗体接触,所述第二抗体具有可检测标记且结合与接触患者样品中使用的IL-34的相同的第二表位区域;并且检测由可检测信号提供的信号。在一些具体实施方案中,抗IL-34抗体包含表1中提供的LC和HC CDR的组合。在进一步的实施方案中,第二抗体包含表1中提供的LCVR和HCVR的组合。根据一些实施方案,参考值是大约10-30pg/mL,例如来自CNS组织裂解物。在某些实施方案中,免疫介导

的疾病是以下之一:AD;干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。在一些实施方案中,患者样品是CSF、血液、血清、组织裂解物或血浆之一。根据一些实施方案,该方法进一步包括以下步骤:使患者样品与第二抗IL-34抗体接触,所述第二抗IL-34抗体结合IL-34的第二表位区域且具有可检测标记,并且检测由可检测信号提供的信号。在进一步的实施方案中,第二抗体包含表1中提供的LC和HC CDR的组合。在进一步的实施方案中,第二抗体包含表1中提供的LCVR和HCVR的组合。根据某些实施方案,第一抗IL-34抗体和第二抗IL-34抗体并不结合在一起。

[0052] 根据一些实施方案,本公开提供了检测患者样品中的IL-34的方法,其包括以下步骤:使患者样品与第一抗体接触,所述第一抗体结合IL-34的第一表位区域;使患者样品与第二抗体接触,所述第二抗体结合IL-34的第二表位区域且具有可检测标记;并且检测由所述可检测标记提供的信号。在一些实施方案中,患者样品是血液、血清、组织裂解物或血浆之一。根据一些更具体的实施方案,IL-34的第一表位区域与IL-34的第二表位区域部分重叠。进一步地,在一些实施方案中,与第一抗体和第二抗体接触的所述步骤同时发生。在一些具体实施方案中,第一抗体包含表1中提供的LC和HC CDR的组合。在进一步的实施方案中,第一抗体包含表1中提供的LCVR和HCVR的组合。

[0053] 根据本公开的一些实施方案,提供了定量患者样品中的IL-34的方法。此类方法包括以下步骤:使患者样品与第一抗体接触,所述第一抗体结合IL-34的第一表位区域;使患者样品与第二抗体接触,所述第二抗体结合IL-34的第二表位区域且具有可检测标记;并且检测由所述可检测标记提供的信号;使对照标准与第一抗体接触,所述第一抗体结合IL-34的相同的第一表位区域(如在接触患者样品中使用的);使对照标准与第二抗体接触,所述第二抗体结合IL-34的相同的第二表位区域(如在接触患者样品中使用的)且具有可检测标记;并且检测由所述可检测信号提供的信号。在一些实施方案中,患者样品是血液、血清或血浆或组织裂解物之一。根据一些更具体的实施方案,IL-34的第一表位区域与IL-34的第二表位区域部分重叠。进一步地,在一些实施方案中,与第一抗体和第二抗体接触的所述步骤同时发生。在一些具体实施方案中,第一抗体包含表1中提供的LC和HC CDR的组合。在进一步的实施方案中,第一抗体包含表1中提供的LCVR和HCVR的组合。在一些具体实施方案中,第二抗体包含表1或本文中提供的LC和HC CDR的组合。在进一步的实施方案中,第二抗体包含表1中提供的LCVR和HCVR的组合。

[0054] 根据一些实施方案,提供了诊断免疫介导的疾病的方法。此类方法包括使患者样品与抗IL-34抗体接触,并且检测患者样品中的IL-34与抗体之间的结合的步骤。根据一些具体实施方案,诊断方法包括当患者样品中IL-34的存在检测为高于参考值时,将患者诊断为患有免疫介导的疾病;处于免疫介导的疾病的风险中;需要用于免疫介导的疾病的治疗;和/或处于与免疫介导的疾病相关的症状的风险中。根据一些更具体的实施方案,此类方法进一步包括确定参考值的步骤,其包括以下步骤:使对照标准与第一抗体接触,所述第一抗体结合与接触患者样品中使用的IL-34的相同的第一表位区域;使对照标准与第二抗体接触,所述第二抗体具有可检测标记且结合与接触患者样品中使用的IL-34的相同的第二表位区域;并且检测由可检测信号提供的信号。在一些实施方案中,第一抗体包含表1中提供的LC和HC CDR的组合。本文提供的诊断免疫介导的疾病的方法的一些实施方案进一步包括以下步骤:使患者样品与第二抗IL-34抗体接触,所述第二抗IL-34抗体结合IL-34的第二表

位区域且具有可检测标记;并且检测由可检测标记提供的信号。在一些具体实施方案中,抗IL-34抗体包含表1中提供的LC和HC CDR的组合。在进一步的实施方案中,抗体包含表1中提供的LCVR和HCVR的组合。根据具体实施方案,IL-34的第一表位区域与IL-34的第二表位区域部分重叠。根据某些实施方案,第一抗体和第二抗体并不结合在一起。根据进一步的实施方案,参考值是来自CNS组织裂解物的大约10-30pg/mL的范围,和/或如通过技术人员对于适当的参考组和样品源确定的。在进一步的实施方案中,免疫介导的疾病是以下之一:AD; tau蛋白病;干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD)。

[0055] 在一个实施方案中,本公开提供了确定体液中的IL-34水平的方法,其包括:(a)使体液与抗人IL-34诊断性单克隆抗体或其抗原结合片段(其特异性结合由如SEQ ID NO:49中的氨基酸序列组成的人IL-34)接触,所述抗体或其抗原结合片段包括:分别包含氨基酸序列(SEQ ID NO:8)、(SEQ ID NO:9)和(SEQ ID NO:10)的轻链互补决定区LCDR1、LCDR2和LCDR3,以及分别包含氨基酸序列(SEQ ID NO:5)、(SEQ ID NO:6)和(SEQ ID NO:7)的重链互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3;(b)任选地,去除任何非特异性结合的单克隆抗体或其抗原结合片段;并且(c)检测和/或定量与人IL-34特异性结合的单克隆抗体或其抗原结合片段的量。优选地,其中所述体液是血液、血清或血浆、或脑脊液,并且所述接触离体发生。

[0056] tau蛋白病包括但不限于阿尔茨海默氏病(AD)、皮克氏病(PiD)、进行性核上性麻痹(PSP)、皮质基底节变性(CBD)、嗜银颗粒病、唐氏综合症、慢性创伤性脑病(CTE)、创伤性脑损伤(TBI)、17号染色体相关的额颞叶痴呆合并帕金森综合征(FTDP-17)、关岛型帕金森-痴呆综合征、C型尼曼-匹克二氏病、强直性肌营养不良(参见Li, C., Götz, J. Tau-based therapies in neurodegeneration: opportunities and challenges. Nat Rev Drug Discov 16, 863-883 (2017))。

[0057] 在本公开的实施方案中,患者是已诊断为具有需要用本文描述的抗体治疗的医学风险、状况或病症(例如本文描述的疾病或病症之一)的人。在其中可以通过本公开的方法治疗的病症通过已建立和公认的分类已知的那些情况下,例如阿尔茨海默氏病; tau蛋白病;干燥综合征(SS);类风湿性关节炎(RA);炎性肠病(IBD)、特应性皮炎、肾疾病、败血症和/或非酒精性脂肪肝病(NAFLD),它们的分类可以在各种众所周知的医学文献中找到。例如,目前,Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders的第5版(DSM-5)提供了用于鉴定本文所述的某些病症的诊断工具。另外,国际疾病分类第十次修订版(International Classification of Diseases, Tenth Revision) (ICD-10)提供了关于本文所述的某些病症的分类。技术人员将认识到,存在用于本文描述的疾病和病症的替代命名法、疾病分类学和分类系统,包括如DSM-5和ICD-10中描述的那些,并且术语和分类系统随着医学科学进步而发展。

[0058] 术语“治疗(treating)”(或“治疗(treat)”或“治疗(treatment)”)是指减缓、中断、阻止、减轻、停止、减少或逆转受试者中的现有症状、病症、状况或疾病的进展或严重性。术语“受试者”是指人。术语“人受试者”和“患者”在本公开中可互换使用。

[0059] 如本文所用,“治疗方法”同样适用于用于治疗本文所述的疾病或病症的组合物的用途和/或用于治疗本文所述的疾病或病症的组合物和/或在制造用于治疗本文所述的疾病或病症的药剂中的用途。

[0060] 术语“预防 (preventing)”或“预防 (prevention)”意指本发明的抗体预防性施用于无症状受试者或患有临床前阿尔茨海默氏病的受试者,以预防疾病的发作或进展。

[0061] 如本文所用,术语“延缓.....的进展”意指延迟或阻止受试者中的疾病或其症状的进展。

[0062] 术语“特征在于A $\beta$ 沉积的疾病 (disease characterized by deposition of A $\beta$ )”或“特征在于A $\beta$ 沉积的疾病 (disease characterized by A $\beta$  deposits)”可互换使用,并且是指病理学特征在于脑或脑血管系统中的A $\beta$ 沉积的疾病。这包括疾病如阿尔茨海默氏病、唐氏综合症和脑淀粉样血管病。阿尔茨海默氏病的临床诊断、分期或进展可以通过作为本领域技术人员的主治诊断医生或保健专业人员,通过使用已知技术并通过观察结果容易地确定。这一般包括脑斑块成像、心理或认知评价(例如,临床痴呆评定-总和(CDR-SB)、简易精神状态检查表(MMSE)或阿尔茨海默氏病评价量表-认知(ADAS-Cog)或功能评价(例如,阿尔茨海默氏病合作研究-日常生活活动(Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living)(ADCS-ADL)。认知和功能评价可以用于确定患者的认知(例如,认知下降)和功能(例如,功能衰退)变化。相应地,根据如本文所述的技术,受试者可以确定为具有“缓慢进展的”认知下降。在示例性实施方案中,“缓慢进展的”认知下降可以通过iADRS进行鉴定,其中受试者的iADR例如在给定的时间段(例如,6、12、18或24个月)内已下降了小于约20。在另一个示例性实施方案中,“缓慢进展的”认知下降可以通过APOE-4基因分型进行鉴定,其中受试者是APOE-4纯合阴性的或APOE-4杂合的。在另一个示例性实施方案中,“缓慢进展的”认知下降可以通过MMSE进行鉴定,其中受试者已确定为在给定的时间段(例如,6、12、18或24个月)内具有约27的MMSE或小于约3的MMSE下降。如本文所用,“临床阿尔茨海默氏病”是阿尔茨海默氏病的诊断阶段。它包括诊断为前驱阿尔茨海默氏病、轻度阿尔茨海默氏病、中度阿尔茨海默氏病和重度阿尔茨海默氏病的状况。术语“临床前阿尔茨海默氏病”是先于临床阿尔茨海默氏病的阶段,其中生物标记物(例如CSF A $\beta$ 42水平或通过淀粉样蛋白PET的沉积的脑斑块)的可测量变化指示了具有阿尔茨海默氏病理学的患者进展至临床阿尔茨海默氏病的最早体征。这通常在症状如记忆丧失和意识模糊引人注目之前。临床前阿尔茨海默氏病还包括症状前的常染色体显性遗传携带者,以及由于携带一个或两个APOE e4等位基因而具有发展AD的较高风险的患者。

[0063] 认知下降的减少或减缓可以通过认知评价进行测量,所述认知评价例如临床痴呆评定-总和、简易精神状态检查表或阿尔茨海默氏病评价量表-认知。功能衰退的减少或减缓可以通过功能评价例如ADCS-ADL进行测量。

[0064] 如本文所用,“mg/kg”意指基于他或她的以千克计的体重施用于受试者的抗体或药物以mg计的量。一次给予一个剂量。例如,对于体重70kg的受试者,10mg/kg剂量的抗体将是在单次施用中给予的单次700mg剂量的抗体。类似地,对于体重70kg的受试者,20mg/kg剂量的抗体将是在单次施用给予的1400mg剂量的抗体。

[0065] 如本文所用,如果使用基于<sup>18</sup>F-氟妥西吡的定量分析,tau负荷小于1.10SUVr (< 1.10SUVr),则人受试者具有“极低tau”负荷,其中定量分析是指SUVr的计算,而SUVr表示当与参考区域进行比较(参考信号强度的参数估计或PERSI,参见Southeikal等人,“Flortaucipir F 18Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,”J.Nucl.Med.59:944-951(2018))时,在脑中的特定目的靶区域内的计数(多块

重心判别分析或MUBADA,参见Devous等人,“Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18,”*J.Nucl.Med.*59:937-943(2018))。如本文所用,如果使用基于<sup>18</sup>F-氟妥西吡的定量分析,tau负荷小于或等于1.46SUVr(即, $\leq 1.46\text{SUVr}$ ),则人受试者具有“极低tau至中等tau”负荷,其中定量分析是指SUVr的计算,而SUVr表示当与参考区域进行比较(PERSI,参见Southeastal等人,“Flortaucipir F 18Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,”*J.Nucl.Med.*59:944-951(2018))时,在脑中的特定目的靶区域内的计数(MUBADA,参见Devous等人,“Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18,”*J.Nucl.Med.*59:937-943(2018))。

[0066] 如本文所用,如果使用基于<sup>18</sup>F-氟妥西吡的定量分析,tau负荷从大于或等于1.10到小于或等于1.46(即, $\leq 1.10\text{SUVr}$ 至 $\leq 1.46\text{SUVr}$ ),则人受试者具有“低tau至中等tau”负荷,其中定量分析是指SUVr的计算,而SUVr表示当与参考区域进行比较(PERSI,参见Southeastal等人,“Flortaucipir F 18Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,”*J.Nucl.Med.*59:944-951(2018))时,在脑中的特定目的靶区域内的计数(MUBADA,参见Devous等人,“Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18,”*J.Nucl.Med.*59:937-943(2018))。具有“低tau至中等tau”负荷的人受试者也可以被称为具有“中等”tau负荷。

[0067] 如本文所用,如果使用基于<sup>18</sup>F-氟妥西吡的定量分析,tau负荷大于1.46SUVr(即, $> 1.46\text{SUVr}$ ),则人受试者具有“高tau”负荷,其中定量分析是指SUVr的计算,而SUVr表示当与参考区域进行比较(PERSI,参见Southeastal等人,“Flortaucipir F 18Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,”*J.Nucl.Med.*59:944-951(2018))时,在脑中的特定目的靶区域内的计数(MUBADA,参见Devous等人,“Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18,”*J.Nucl.Med.*59:937-943(2018))。

[0068] 如本文所用,术语“约”意指至多 $\pm 10\%$ 。

[0069] 如本文所用,术语“先天免疫”包括这样的免疫应答的臂,与免疫反应的适应性臂形成对比,需要其以启动且维持适应性免疫应答(抗体和T细胞应答)。

[0070] “有效量”意指本公开的抗人IL-34抗体或包含此类抗体的药物组合物的量,其将引发对组织、系统或人的生物或医学应答或所需的疗效,这是治疗健康专业人员所寻求的。如本文所用,术语患者的“有效应答”或患者对治疗的响应性是指在施用本公开的抗体后,赋予患者的临床或治疗益处。抗体的有效量可以根据因素例如个体的疾病状态、年龄、性别和重量以及抗体在个体中引发所需应答的能力而变。有效量也是其中抗体的任何毒性或有害效应被治疗有益效应超过的量。此类益处包括以下任何一种或多种:炎症或免疫激活的水平降低、稳定的免疫介导的疾病或病症;或者改善免疫介导的病症的体征或症状。可替代地,此类益处包括以下任何一种或多种:移植器官的免疫耐受性增加;稳定的自身免疫性疾病或病症;或者改善自身免疫性病症的体征或症状。

[0071] 本文公开的方法的潜在优点是在患有免疫介导的病症或神经炎性病症的患者中产生显著和/或长期缓解的可能性,伴随可接受的安全性概况,包括可接受的耐受性、毒性和/或不良事件,使得患者总体上受益于治疗方法。本公开的治疗的功效可以通过各种终点

进行测量,所述终点通常用于评估各种免疫介导病症的治疗。可以任选地采用确定本公开的任何特定疗法的功效的其它方法,包括例如免疫细胞激活标记物、炎症的测量、细胞周期依赖性生物标记物测量和可视化、和/或通过各种炎症或免疫或组织特异性生物标记物评价的应答测量。

[0072] 有效量可以通过本领域技术人员使用已知技术并通过观察在类似情况下获得的结果而容易地确定。本公开的抗人IL-34抗体的有效量可以以单剂量或多剂量进行施用。此外,本公开的抗体的有效量可以以多剂量的量进行施用,如果施用不超过一次,则所述量将低于有效量。在确定用于患者的有效量时,许多因素通过主治医师加以考虑,所述因素包括但不限于:患者的体型(例如重量或质量)、体表面积、年龄和一般健康;所涉及的具体疾病或病症;疾病或病症的程度、牵涉或严重性;各个患者的应答;施用的特定化合物;施用模式;所施用制剂的生物利用度特性;选择的剂量方案;伴随用药的使用;以及医学从业者已知的其它有关情况。

[0073] 每周、每两周、每月或每季度的肠胃外(包括但不限于皮下、肌肉和/或静脉内)剂量可以为约0.5mg/kg至约50mg/kg。如本文所用,术语‘月’或其派生词是指包括28至31个连续日的时间段。

[0074] 本文公开的方法的潜在优点是在患有免疫介导的病症或神经炎性病症的患者中产生显著和/或长期缓解的可能性,伴随可接受的安全性概况,包括可接受的耐受性、毒性和/或不良事件,使得患者总体上受益于治疗方法,并且更具体地,本公开的抗体将提供有效的治疗,同时避免临床上不期望的免疫压制和/或免疫相关的不良事件,例如“细胞因子风暴”或显著的细胞因子释放。本公开的抗体可以用于治疗细胞因子风暴或在其它方面不利的细胞因子释放。如本文所用,“显著的细胞因子释放”是指可以通过普通技术人员已知的方法检测到的可测量的细胞因子的显著增加。例如,显著的细胞因子释放可以通过ELISA在入血液样品中检测到,其中将来自未受刺激的血液的细胞因子水平与和抗体一起温育的血液的细胞因子水平进行比较。在一些此类研究中,例如,如果与未受刺激的血液中的水平相比,IL-6、IL-8或IFN- $\gamma$ 的水平在与抗体一起温育的血液中高至少三倍,则可以检测到显著的细胞因子释放。优选地,将发生如本文实施方案中所述的免疫介导的病症的治疗,其中患者并不经历显著的细胞因子释放。

[0075] 抗体1、2、3或4的组合使用:

[0076] 本公开进一步提供了本公开的抗体,特别是抗体1和抗N3pG1uA $\beta$ 抗体的同时、分开或序贯组合,以及使用这些组合来治疗特征在于淀粉状蛋白 $\beta$ (A $\beta$ )沉积的疾病例如AD的方法。可用于本文组合的一些已知的抗A $\beta$ 抗体包括多奈单抗(donanemab)、巴匹珠单抗(bapineuzumab)、更汀芦单抗(gantenerumab)、阿杜那单抗(aducanumab)、GSK933776、苏兰珠单抗(solanezumab)、克瑞组单抗(crenezumab)、泊奈组单抗(ponezumab)和仑卡奈单抗(lecanemab)(BAN2401)。本公开进一步提供了抗体1和多奈单抗(CAS编号1931944-80-7, SEQ ID NO:57和58)的同时、分开或序贯组合,以及使用这些组合来治疗特征在于淀粉状蛋白 $\beta$ (A $\beta$ )沉积的疾病例如AD的方法(Donanemab in early Alzheimer's disease, Mintun, M.A.等人, New England Journal of Medicine (2021), 384(18), 1691-1704)。优选地,该组合提供了在用多奈单抗的疗程之后序贯地使用抗体1。

[0077] 如本文所用,可互换使用的“抗N3pG1uA $\beta$ 抗体”、“抗N3pG抗体”或“抗N3pE抗体”是

指优先结合N3pGlu A $\beta$ 超过A $\beta$ 1-40或A $\beta$ 1-42的抗体。本领域普通技术人员应了解并认识到“抗N3pGlu A $\beta$ 抗体”和几种特异性抗体,包括“hE8L”、“B12L”和“R17L”在美国专利号8,679,498B2(其在此通过引用以其整体并入)中得到鉴定且公开(连同此类抗体的制备和使用方法)。参见例如,美国专利号8,679,498B2的表1。美国专利号8,679,498B2中公开的每种抗体,包括“hE8L”、“B12L”和“R17L”抗体,可以用作本发明的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体或代替本发明的各个方面描述的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体。本文组合方法的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体是分别包含SEQ ID NO:59和60的HC和LC的抗体。抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的其它代表性种类包括但不限于以下公开的抗体:美国专利号8,961,972;美国专利号10,647,759;美国专利号9,944,696;WO 2010/009987A2;WO 2011/151076A2;WO 2012/136552A1及其例如根据35U.S.C 112(f)的等价物。

[0078] 本领域普通技术人员应了解并认识到“抗N3pGlu A $\beta$ 抗体”和几种特异性抗体在以下中得到鉴定且公开(连同此类抗体的制备和使用方法):美国专利号8,961,972(其在此通过引用以其整体并入);美国专利号10,647,759(其在此通过引用以其整体并入);以及美国专利号9,944,696(其在此通过引用以其整体并入)。美国专利号8,961,972;9,944,696;和10,647,759中公开的任何抗N3pGlu A $\beta$ 抗体可以用作本发明的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体或代替本发明的各个方面描述的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体。

[0079] 本领域普通技术人员应了解并认识到“抗N3pGlu A $\beta$ 抗体”和几种特异性抗体,包括“抗体VI”、“抗体VII”、“抗体VIII”和“抗体IX”在WO2010/009987A2(其在此通过引用以其整体并入)中得到鉴定且公开(连同此类抗体的制备和使用方法)。这四种抗体(例如,“抗体VI”、“抗体VII”、“抗体VIII”和“抗体IX”)各自可以用作本发明的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体或代替本发明的各个方面描述的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体。

[0080] 本领域普通技术人员应了解并认识到“抗N3pGlu A $\beta$ 抗体”和几种特异性抗体,包括“抗体X”和“抗体XI”在WO 2011/151076A2(其在此通过引用以其整体并入)中得到鉴定且公开(连同此类抗体的制备和使用方法)。这两种抗体(例如“抗体X”和“抗体XI”)各自可以用作本发明的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体或代替本发明的各个方面描述的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体。

[0081] 本领域普通技术人员应了解并认识到“抗N3pGlu A $\beta$ 抗体”和几种特异性抗体,包括“抗体XII”和“抗体XIII”在WO 2012/136552A1(其在此通过引用以其整体并入)中得到鉴定且公开(连同所述抗体的制备和使用方法)。这两种抗体(例如“抗体XII”和“抗体XIII”)各自可以用作本发明的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体或代替本公开的各个方面描述的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体。

[0082] 本公开的方面提供了本公开的抗体,特别是抗体1和抗N3pGluA $\beta$ 抗体,特别是多奈单抗的组合用于治疗特征在于受试者中的A $\beta$ 沉积的疾病的用途,其中所述受试者基于以下进行选择:i)其在全脑中的tau水平/负荷(总体tau),ii)其在脑的各区域中(例如,在脑的不同叶中)的tau水平/负荷,和/或受试者的基因组中APOE e4的一个或两个等位基因的存在。可以使用本文公开的组合方法来治疗或预防的疾病包括例如阿尔茨海默氏病(AD)、唐氏综合症和脑淀粉样血管病(CAA)。本公开还涉及在中等脑tau负荷的存在下,本文提供的组合方法减缓患有早期症状性阿尔茨海默氏病(AD)的受试者中的疾病进展的用途。

[0083] 针对N3pGlu A $\beta$ 的抗体是本领域已知的并且在本文中进行描述。例如,美国专利号8,679,498(其在此通过引用以其整体并入,包括其中公开的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体)公开了抗N3pGlu A $\beta$ 抗体以及使用该抗体治疗疾病例如阿尔茨海默氏病的方法。通过针对沉积中发



现的A $\beta$ 包括N3pGlu A $\beta$ 的抗体的长期慢性施用的被动免疫,已在各种动物模型中显示了破坏A $\beta$ 聚集物并促进脑中的斑块清除。多奈单抗(公开于美国专利号8,679,498中,还参见CAS编号1931944-80-7)是一种针对仅存在于脑淀粉样蛋白斑块中的淀粉样蛋白 $\beta$ (N3pGlu A $\beta$ )表位的第三个氨基酸的焦谷氨酸修饰的抗体。多奈单抗的作用机制是靶向和去除现有的淀粉样蛋白斑块,其为AD的关键病理学标志。AD的第二个神经病理学标志是含有过度磷酸化的tau蛋白的细胞内神经原纤维缠结的存在。A $\beta$ 触发tau病理学是可能的,其中在A $\beta$ 和tau之间更复杂和协同的相互作用在后期体现并驱动疾病进展(Busche等人,“Synergy Between Amyloid- $\beta$  and Tau in Alzheimer’s disease,”*Nature Neuroscience* 23:1183-93 (2020))。

[0084] A $\beta$ 抗体的施用已导致人中的不良事件,例如淀粉样蛋白相关影像异常(ARIA)、血管源性水肿和脑沟积液的暗示(ARIA-E)、微出血和含铁血黄素沉积(ARIA-H)、输注部位反应和免疫原性的风险。参见例如,Piazza和Winblad,“Amyloid-Related Imaging Abnormalities (ARIA) in Immunotherapy Trials for Alzheimer’s Disease: Need for Prognostic Biomarkers?”*Journal of Alzheimer’s Disease*,52:417-420 (2016); Sperling等人,“Amyloid-related Imaging Abnormalities in Patients with Alzheimer’s Disease Treated with Bapineuzumab: A Retrospective Analysis,”*The Lancet Neurology* 11.3:241-249 (2012); Brashear等人,“Clinical Evaluation of Amyloid-related Imaging Abnormalities in Bapineuzumab Phase III Studies,”*J. of Alzheimer’s Disease* 66.4:1409-1424 (2018); Budd等人,“Clinical Development of Aducanumab, an Anti-A $\beta$  Human Monoclonal Antibody Being Investigated for the Treatment of Early Alzheimer’s Disease,”*The Journal of Prevention of Alzheimer’s Disease* 4.4:255 (2017)。

[0085] 本公开关于多奈单抗和抗体1的组合治疗策略包括靶向对于具有现有脑淀粉样蛋白负载的早期症状性AD患者群体中的淀粉样蛋白斑块特异性的N3pGlu A $\beta$ 并靶向这些患者中的神经炎症。这一基本原理基于AD的淀粉样蛋白假设,其陈述了A $\beta$ 的产生和沉积是AD发病机制中的早期和必要事件。参见例如,Selkoe,“The Origins of Alzheimer Disease: A is for Amyloid,”*JAMA* 283:1615-1617 (2000)。关于这一假设的临床支持来自实质A $\beta$ 水平在AD症状出现之前升高的证实,并且通过过度产生脑A $\beta$ 的AD遗传变体和保护免于A $\beta$ 产生的遗传变体得到支持。参见例如,Jonsson等人,“A Mutation in APP Protects Against Alzheimer’s Disease and Age-related Cognitive Decline,”*Nature* 488(7409):96-99 (2012),以及Fleisher等人,“Associations Between Biomarkers and Age in the Presenilin 1E280A Autosomal Dominant Alzheimer Disease Kindred: A Cross-sectional Study,”*JAMA Neurol.*72:316-24 (2015)。因此,需要用于治疗受试者而不引起或增加成问题的不良事件的改善的药剂组合。神经炎症是神经退行性疾病的重要组成部分,并且特征在于促炎细胞因子通过CNS细胞的增加产生。神经炎症和小胶质细胞增生被认为是阿尔茨海默氏病和/或神经元细胞死亡和功能障碍的潜在机制。小胶质细胞增生涉及小胶质细胞响应炎症信号的异常增殖和/或肥大。IL-34在炎症和免疫过程的调控中充当有力和多效的细胞因子,并且由皮层、嗅前核和海马中的神经元表达。在用N3pGluA $\beta$ 抗体,特别是多奈单抗治疗之后,同时、分开或优选序贯地用抗体1的治疗被视为改善神经炎症和/或小

胶质细胞增生对AD发病机制的贡献,并且减缓或预防这些患者中的神经退行性过程的进展。

[0086] 本公开的一个方面基于以下概念:具有低或中等tau、极低至中等tau、或不具有高tau的阿尔茨海默氏病患者响应用抗N3pGlu A $\beta$ 抗体例如多奈单抗和本公开的抗体例如抗体1的组合治疗。本公开的另一个方面基于以下概念:具有APOE e4的一个或两个等位基因的阿尔茨海默氏病患者响应用抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的治疗。本公开的又一个方面基于以下概念:具有APOE e4的一个或两个等位基因以及低或中等tau、极低至中等tau、或不具有高tau的阿尔茨海默氏病患者响应用抗N3pGlu A $\beta$ 抗体例如多奈单抗和本公开的抗体例如抗体1的组合治疗。本公开的一些方面针对基于其脑病理学来诊断且治疗患者。基于其脑病理学来选择患者不仅提供了在临床试验中更同质的群体,而且还确保了AD阶段及其进展的正确鉴定。AD阶段的正确鉴定还允许例如及时转诊到记忆诊所、正确和早期的AD诊断、对症治疗的启动、未来计划和启动用抗N3pGlu A $\beta$ 抗体例如多奈单抗和本公开的抗体例如抗体1的组合治疗的疾病修正治疗。

[0087] 本公开的一些方面提供了用于治疗患有特征在于其脑中的A $\beta$ 沉积的疾病的人受试者的组合实施方案,其中分两步首先向受试者施用与用本公开的抗体例如抗体1的同时、分开或序贯治疗组合的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体例如多奈单抗。在第一步中,向人受试者施用约100mg至约700mg抗N3pGluA $\beta$ 抗体的一个或多个第一剂量,其中每个第一剂量约每4周施用一次。在施用一个或多个第一剂量后约4周,在第二步中向人受试者施用大于700mg至约1400mg的一个或多个第二剂量,其中每个第二剂量每四周施用一次。优选地,抗N3pGlu A $\beta$ 抗体是多奈单抗。抗体1在用多奈单抗的疗程之后,同时、分开或序贯地施用。优选地,抗体1在用多奈单抗的疗程之后序贯地施用。

[0088] 组合治疗方法的一些方面涉及基于以下鉴定患者中的AD阶段/进展:i) 人受试者的脑中的整体或总体tau负荷,或ii) 受试者的脑或者其各区域或部分中的tau扩散。

[0089] 在一些实施方案中,可以基于受试者的脑中(例如,在全脑中或脑的各部分中)存在的tau量,对患者进行分层/鉴定/选择/治疗。在一些实施方案中,可以基于受试者的脑中(例如,在全脑中或脑的各部分中)存在的tau量以及APOE e4的一个或两个等位基因的存在,对患者进行分层/鉴定/选择/治疗。

[0090] 在其它实施方案中,基于AD的进展阶段(例如,基于脑中的tau扩散),对患者进行分层/鉴定/选择/治疗。例如,在一些阶段期间,AD患者中的tau负荷被隔离至不包括后外侧颞区(PLT)的额叶或颞叶区。AD的另一个阶段是其中AD患者中的tau负荷限于后外侧颞区(PLT)或枕区。AD的又一个阶段是当AD患者中的tau负荷存在于顶区或楔前叶区或者额区中连同PLT或枕区的tau负荷一起时。在一些实施方案中,可以基于AD的进展阶段(例如,基于脑中的tau扩散)以及APOE e4的一个或两个等位基因的存在,对患者进行分层/鉴定/选择/治疗。

[0091] 基于脑中的tau量、脑的各部分中的AD进展和/或APOE e4的一个或两个等位基因的存在患者分层可以用于确定,例如,患者是否响应用抗N3pGlu A $\beta$ 抗体例如多奈单抗和本公开的抗体例如抗体1的组合治疗。基于脑中的tau量、脑的各部分中的AD进展和/或APOE e4的一个或两个等位基因的存在患者群体分层/选择也有助于解决在除治疗之外的临床试验的设计和/或执行过程中面临的患者异质性和复制性问题。

[0092] 本公开的其它方面提供了这样的人受试者,其应用于特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病,用抗N3pG1u A $\beta$ 抗体例如多奈单抗和本公开的抗体例如抗体1的组合治疗或预防。在本公开的该方面的一些实施方案中,响应的人受试者包括具有低至中等tau负荷、极低至中等tau负荷、和/或APOE e4的一个或两个等位基因的人受试者。在本公开的这个方面的一些实施方案中,响应的人受试者排除具有高tau负荷的人受试者。在本公开的这个方面的一些实施方案中,响应的人受试者排除具有高tau负荷和/或具有APOE e4的一个或两个等位基因的人受试者。在一些实施方案中,将抗N3pG1u A $\beta$ 抗体例如多奈单抗和本公开的抗体例如抗体1的组合施用于响应的人受试者,用于治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病。

[0093] 在一个方面,本公开涉及对于特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病,使用抗N3pG1u A $\beta$ 抗体特别是多奈单抗和本公开的抗体特别是抗体1的同时、分开或序贯组合治疗或预防,其包括:i) 向人受试者施用约100mg至约700mg抗N3pG1uA $\beta$ 抗体的一个或多个第一剂量,其中每个第一剂量约每4周施用一次,并且ii) 在施用一个或多个第一剂量后约四周,向人受试者施用大于700mg至约1400mg抗N3pG1u A $\beta$ 抗体的一个或多个第二剂量,其中每个第二剂量约每4周施用一次,其中所述抗N3pG1u A $\beta$ 抗体包含多奈单抗,并且向人受试者施用本公开的抗体,特别是抗体1。优选地,在用多奈单抗治疗的疗程之后序贯地施用抗体1。

[0094] 迄今为止,关于用多奈单抗治疗的临床重点一直特异性针对具有现有脑淀粉样蛋白负载的早期症状性AD患者。然而,AD的第二个神经病理学标志是含有过度磷酸化的tau蛋白的细胞内神经原纤维缠结的存在。目前的疾病模型提示了A $\beta$ 触发tau病理学,其中在A $\beta$ 和tau之间更复杂和协同的相互作用在后期体现并驱动疾病进展 (Busche等人,“Synergy Between Amyloid- $\beta$  and Tau in Alzheimer’s disease,”*Nature Neuroscience* 23:1183-93 (2020))。

[0095] 目前尚不存在用于AD的疾病修正治疗。因此,需要治疗特征在于人受试者中的A $\beta$ 沉积的疾病,包括AD的改善方法。此类方法应该有助于基于此类患者是否有可能具有来自此类治疗的治疗益处来鉴定患者。此类治疗和方法不应进一步伴随增加的细胞毒性或其它已知的不良事件。本发明满足了这些需要中的一个或多个。

[0096] Doody等人,“Phase 3 Trials of Solanezumab for Mild-to-Moderate Alzheimer’s Disease,”*NEJM*,370;4,311-321 (2014) 指示了“在APOE $\epsilon$ 4携带者和非携带者之间并未观察到对功效测量的明显差异治疗效应”。当与APOE e4等位基因中的一个或多个的非携带者相比较时,将与本公开的抗体组合的抗N3pG1u A $\beta$ 抗体施用于具有APOE e4的一个或两个等位基因的人受试者(例如,APOE e4的携带者)被认为提供了出乎意料的功效。因此,本文实施方案包括向具有一个或两个APOE e4等位基因的患者施用与本公开的抗体,特别是抗体1组合的抗N3pG1u A $\beta$ 抗体,特别是多奈单抗的同时、分开或序贯剂量,作为减缓这些患者的认知下降的手段。

[0097] 根据特定实施方案,本发明提供了治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病的方法,所述人受试者已确定为具有高神经学tau负荷,所述方法包括施用治疗有效量的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗和治疗有效量的本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯剂量。另外,根据特定实施方案,本发明提供了治疗或预防特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病的组合方法,所述人受试者已确定为具有后外侧颞叶

tau负荷,所述方法包括施用治疗有效量的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗和治疗有效量的本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯剂量。

[0098] 根据特定实施方案,本发明提供了治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病的组合方法,所述人受试者已确定为具有高神经学tau负荷,并且具有载脂蛋白E的 $\epsilon$ -4等位基因(在本文中被称为APOE e4或APOE4)的一个或两个等位基因,所述方法包括施用治疗有效量的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗和治疗有效量的本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯剂量。另外,根据特定实施方案,本发明提供了治疗或预防特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病的方法,所述人受试者已确定为具有后外侧颞叶tau负荷,所述方法包括施用治疗有效量的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗和治疗有效量的本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯剂量。

[0099] 根据一些实施方案,本发明提供了用于与本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯使用的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗,其用于治疗或预防特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病,所述人受试者已确定为具有高神经学tau负荷,所述方法包括施用治疗有效量的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗和治疗有效量的本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯剂量。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有高神经学tau负荷以及具有APOE e4的一个或两个等位基因。

[0100] 在一些实施方案中,本发明提供了用于与本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯使用的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗,其用于治疗或预防特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病,所述人受试者已确定为具有后外侧颞叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有后外侧颞叶tau负荷以及具有APOE e4的一个或两个等位基因。

[0101] 另外,在一些实施方案中,本发明提供了用于与本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯使用的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗,其用于治疗、预防或延缓阿尔茨海默氏病(AD)的进展。另外,在一些实施方案中,本发明提供了用于与本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯使用的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗,其用于治疗、预防或延缓人受试者中的阿尔茨海默氏病(AD)进展,所述受试者已确定为患有缓慢进展的AD认知下降。本发明的一些实施方案提供了用于与本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯使用的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗,其用于治疗、预防或延缓人受试者中的阿尔茨海默氏病(AD)进展,所述受试者已确定为患有缓慢进展的AD认知下降和APOE e4的一个或两个等位基因。

[0102] 进一步地,根据一些实施方案,本公开提供了与本公开的抗体且特别是抗体1同时、分开或序贯组合的抗A $\beta$ 抗体,特别是多奈单抗在制造用于治疗或预防阿尔茨海默氏病的药剂中的用途。进一步地,根据一些实施方案,本公开提供了与本公开的抗体且特别是抗体1同时、分开或序贯组合的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗在制造用于治疗或预防特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病的药剂中的用途,所述人受试者已确定为具有i) 高神经学tau负荷,或ii) 高神经学tau负荷和APOE e4的一个或两个等位基因。

[0103] 在一些实施方案中,本公开提供了与本公开的抗体且特别是抗体1同时、分开或序贯组合的抗A $\beta$ 抗体,特别是多奈单抗在制造用于治疗或预防特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病的药剂中的用途,所述人受试者已确定为具有i) 后外侧颞叶tau负荷,或ii) 后外侧颞叶tau负荷和APOE e4的一个或两个等位基因。并且在进一步的实施方案中,本发明提供了与本公开的抗体且特别是抗体1同时、分开或序贯组合的抗A $\beta$ 抗体,特别是多奈单抗

在制造用于治疗、预防或延缓人受试者中的阿尔茨海默氏病 (AD) 进展的药剂中的用途,所述人受试者已确定为患有i) 缓慢进展的AD认知下降,或ii) APOE e4的一个或两个等位基因和缓慢进展的AD认知下降。

[0104] 根据本文提供的一些实施方案,人受试者已确定为具有后外侧颞叶和枕叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有后外侧颞叶、枕叶和顶叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有后外侧颞叶、枕叶、顶叶和额叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已通过神经学PET成像确定为具有后外侧颞叶、枕叶、顶叶和/或额叶tau负荷中的一种或多种。在一些实施方案中,后外侧颞叶、枕叶、顶叶和/或额叶tau负荷中的一种或多种对应于大于1.46SUVr的神经学tau负荷。

[0105] 根据本文提供的一些实施方案,人受试者已确定为具有APOE e4的一个或两个等位基因以及后外侧颞叶和枕叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有APOE e4的一个或两个等位基因以及后外侧颞叶、枕叶和顶叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有APOE e4的一个或两个等位基因以及后外侧颞叶、枕叶、顶叶和额叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已通过神经学PET成像确定为具有后外侧颞叶、枕叶、顶叶和/或额叶tau负荷中的一种或多种,以及APOE e4的一个或两个等位基因。在一些实施方案中,后外侧颞叶、枕叶、顶叶和/或额叶tau负荷中的一种或多种对应于大于1.46SUVr的神经学tau负荷。

[0106] 根据另外的实施方案,本发明提供了治疗、预防或延缓已确定为患有缓慢进展的AD认知下降的人受试者中的阿尔茨海默氏病 (AD) 进展的方法,其包括施用治疗有效量的抗A $\beta$ 抗体且特别是多奈单抗和治疗有效量的本公开的抗体且特别是抗体1的同时、分开或序贯剂量。根据一些实施方案,人受试者已确定为具有高神经学tau蛋白负荷。根据一些实施方案,人受试者已确定为具有APOE e4的一个或两个等位基因。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有后外侧颞叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有后外侧颞叶和枕叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有后外侧颞叶、枕叶和顶叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有后外侧颞叶、枕叶、顶叶和额叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有后外侧颞叶tau负荷和APOE e4的一个或两个等位基因。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有APOE e4的一个或两个等位基因以及后外侧颞叶和枕叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有APOE e4的一个或两个等位基因以及后外侧颞叶、枕叶和顶叶tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有APOE e4的一个或两个等位基因以及后外侧颞叶、枕叶、顶叶和额叶tau负荷。

[0107] 根据本文提供的本发明的实施方案,人受试者已通过ADAS-Cog、iADL、CDR-SB、MMSE、APOE-4基因分型和/或iADRS中的一种或多种确定为患有缓慢进展的AD认知下降。在一些实施方案中,人受试者已通过iADRS确定为患有缓慢进展的AD认知下降。在一些实施方案中,iADRS已下降了小于20。在一些实施方案中,iADRS在6个月期间内已下降了小于20。在一些实施方案中,iADRS在12个月期间内已下降了小于20。在一些实施方案中,iADRS在18个月期间内已下降了小于20。在一些实施方案中,iADRS在24个月期间内已下降了小于20。在一些实施方案中,人受试者已通过APOE-4基因分型确定为患有缓慢进展的AD认知下降。在一些实施方案中,人受试者已确定为APOE-4杂合的。在一些实施方案中,人受试者已确定为APOE-4纯合阴性的。在一些实施方案中,人受试者已通过MMSE确定为患有缓慢进展的AD认

知下降。在一些实施方案中,人受试者已确定为具有高于27的MMSE。在一些实施方案中,MMSE已下降了小于3。在一些实施方案中,MMSE在6个月期间内已下降了小于3。在一些实施方案中,MMSE在12个月期间内已下降了小于3。在一些实施方案中,MMSE在18个月期间内已下降了小于3。在一些实施方案中,MMSE在24个月期间内已下降了小于3。

[0108] 根据本文提供的本发明的实施方案,人受试者已通过神经学PET成像确定为具有高神经学tau负荷。在一些实施方案中,人受试者已通过神经学PET成像确定为具有高于1.46SUVr的高神经学tau负荷。在一些实施方案中,通过在残基217处的苏氨酸磷酸化的人tau(“hTau-pT217”)的定量,人受试者已确定为具有高神经学tau负荷。在一些实施方案中,hTau-pT217在人受试者的生物样品中进行定量。在一些实施方案中,生物样品是脑脊液。在一些实施方案中,生物样品是血液、血浆或血清之一。

[0109] 出于本发明的目的,可以使用例如检测或定量i)神经学或脑tau沉积,ii)血液、血清和/或血浆中的tau,或iii)脑脊液中的tau的技术或方法,来确定人受试者的tau水平或负荷(如本文中可互换使用的)。在一些实施方案中,神经学tau负荷(无论是经由PET还是经由血液、血清、血浆或脑脊液测定所确定的)可以用于基于神经学tau负荷(例如,低、中等或高神经学tau负荷)对受试者进行分层。

[0110] 神经学tau负荷可以使用方法例如用放射性标记的PET化合物,包括其为PET配体的 $[^{18}\text{F}]$ -氟妥西吡的tau成像来确定(Leuzy等人,“Diagnostic Performance of R0948 F18 Tau Positron Emission Tomography in the Differentiation of Alzheimer Disease from Other Neurodegenerative Disorders,”JAMA Neurology 77.8:955-965(2020); Ossenkoppelle等人,“Discriminative Accuracy of $[^{18}\text{F}]$ -flortaucipirPositron Emission Tomography for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders,”JAMA 320,1151-1162,doi:10.1001/jama.2018.12917(2018),其在此通过引用以其整体并入)。例如,可以通过公开的方法(Pontecorvo等人,“A Multicentre Longitudinal Study of Flortaucipir( $^{18}\text{F}$ ) in Normal Ageing,Mild Cognitive Impairment and Alzheimer’s Disease Dementia,”Brain 142:1723-35(2019); Devous等人,“Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent FlortaucipirF18,”Journal of Nuclear Medicine59:937-43(2018); Southekal等人,“Flortaucipir F18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,”J.Nucl.Med.59:944-51(2018),其在此通过引用以其整体并入),和/或在视觉上评估患者,例如以确定患者是否有AD模式(Fleisher等人,“Positron Emission Tomography Imaging With $[^{18}\text{F}]$ -flortaucipir and Postmortem Assessment of Alzheimer Disease Neuropathologic Changes,”JAMA Neurology 77:829-39(2020),其在此通过引用以其整体并入),对PET tau图像进行定量评估,以估计SUVr(标准化摄取值比率)。较低SUVr值指示较少的tau负荷,而较高的SUVr值指示较高的tau负荷。在一个实施方案中,通过flortaucipir扫描的定量评价通过如Southekal等人,“Flortaucipir F18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,”J.Nucl.Med.59:944-951(2018)中所述的自动化图像处理管道来完成,所述参考文献在此通过引用以其整体并入。在一些实施方案中,在脑中的特定目的靶区域内的计数(例如,多块重心判别分析或MUBADA,参见Devous等人,“Test-Retest Reproducibility for the

Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18,”*J.Nucl.Med.*59:937-943(2018),其在此通过引用以其整体并入)与参考区域进行比较,其中所述参考区域是例如整个小脑(wholeCere)、小脑GM(cereCrus)、基于图谱的白质(atlasWM)、受试者特异性WM(ssWM,例如,使用参考信号强度的参数估计(PERSI),参见Southehal等人,“Flortaucipir F18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity,”*J.Nucl.Med.*59:944-951(2018),其在此通过引用以其整体并入)。确定tau负荷的示例性方法是报告为标准化摄取值比率(SUVr)的定量分析,其表示当与参考区域进行比较(例如,使用PERSI)时,在脑中的特定目的靶区域内的计数(例如,MUBADA)。

[0111] 在一些实施方案中,为了本发明的目的,磷酸化的tau(P-tau;在苏氨酸181或217或其组合处磷酸化的)可以用于测量tau负载/负荷(Barthelemy等人,“Cerebrospinal Fluid Phospho-tau T217 Outperforms T181 as a Biomarker for the Differential Diagnosis of Alzheimer’s Disease and PET Amyloid-positive Patient Identification,”*Alzheimer’s Res.Ther.*12,26,doi:10.1186/s13195-020-00596-4(2020);Mattsson等人,“A $\beta$ Deposition is Associated with Increases in Soluble and Phosphorylated Tau that Precede a Positive Tau PET in Alzheimer’s Disease,”*Science Advances*6,eaaz2387(2020),其在此通过引用以其整体并入)。在一个特定实施方案中,针对在残基217处的苏氨酸处磷酸化的人tau的抗体可以用于测量受试者中的tau负载/负荷(参见通过引用以其整体并入的国际专利申请公开号WO 2020/242963)。在一些实施方案中,本公开包括使用WO 2020/242963中公开的抗tau抗体来测量受试者中的tau负载/负荷。WO 2020/242963中公开的抗tau抗体针对在CNS中表达的人tau的同种型(例如,识别在CNS中表达的同种型而不识别专一地在CNS外表达的人tau的同种型)。

[0112] 当通过例如用放射性标记的PET化合物的淀粉样蛋白成像或者使用检测A $\beta$ 或A $\beta$ 的生物标记物的诊断在脑中检测到淀粉样蛋白时,受试者对于淀粉样蛋白沉积呈阳性。可以用于测量脑淀粉样蛋白负载/负荷的示例性方法包括,例如,氟洛贝平(Carpenter等人,“The Use of the Exploratory IND in the Evaluation and Development of  $^{18}\text{F}$ -PET Radiopharmaceuticals for Amyloid Imaging in the Brain:A Review of One Company’s Experience,”*The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 53.4:387(2009),其在此通过引用以其整体并入;氟比他班(Syed等人,“ $^{18}\text{F}$ Florbetaben:A Review in $\beta$ -Amyloid PET Imaging in Cognitive Impairment,”*CNSDrugs* 29,605-613(2015),其在此通过引用以其整体并入;以及氟美他酚(Heurling等人,“Imaging $\beta$ -amyloid Using $^{18}\text{F}$ Flutemetamol Positron Emission Tomography:From Dosimetry to Clinical Diagnosis,”*European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 43.2:362-373(2016),其在此通过引用以其整体并入)。 $^{18}\text{F}$ -氟洛贝平可以提供患者中的脑斑块负载的定性和定量测量,所述患者包括患有前驱AD或轻度AD痴呆的患者,并且也可以用于评价来自脑的淀粉样蛋白斑块减少。

[0113] 另外,基于脑脊液或血浆的 $\beta$ -淀粉样蛋白分析还可以用于测量淀粉样蛋白负载/负荷。例如,A $\beta$ 42可以用于测量脑淀粉样蛋白(Palmqvist,S.等人,“Accuracy of Brain Amyloid Detection in Clinical Practice Using Cerebrospinal Fluid Beta-amyloid 42:a Cross-validation Study Against Amyloid Positron Emission Tomography.”*JAMA*

Neurol 71,1282-1289(2014),其在此通过引用以其整体并入)。在一些实施方案中,A $\beta$ 42/A $\beta$ 40或A $\beta$ 42/A $\beta$ 38的比率可以用作淀粉样蛋白 $\beta$ 的生物标记物(Janelidze等人,“CSF Abeta42/Abeta40 and Abeta42/Abeta38 Ratios:Better Diagnostic Markers of Alzheimer Disease,”Ann Clin Transl Neurol3,154-165(2016),其在此通过引用以其整体并入)。在一些实施方案中,CSF或血浆中沉积的脑淀粉样蛋白斑块或A $\beta$ 可以用于基于淀粉样蛋白负载/负荷将受试者分层为组。

[0114] 下文提供了使用本公开的抗体的组合用途和方法的另外实施方案。组合实施方案可能是指抗体1,然而实施方案进一步包含本文对于如本文描述的本公开的抗体2、3和4描述的类似方法、用途和所有限制。组合实施方案可能是指“抗N3pG A $\beta$ 抗体”,其是指本文描述的每种抗N3pG A $\beta$ 抗体,然而为了清楚起见,这些实施方案进一步包含本文对于每种抗N3pG A $\beta$ 抗体个别地描述的类似方法、用途和所有限制,并且例如优选多奈单抗的组合用途。下文提供了本公开的另外实施方案,其被编号并且包括对其它编号实施方案的内部提及。为了清楚起见,这些实施方案连同它们个别地和/或共同地与其提及的编号实施方案一起阅读。下文描述的实施方案从编号26开始。术语“疗程”是指特定的患者或受试者、所述的抗体、所述的剂量、所引用的频率和或持续时间、所述的次序以及任何其它限制,至在每种情况下描述的程度。

[0115] 本公开的进一步的组合实施方案包括:

[0116] 26.一种治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$ (A $\beta$ )沉积的疾病的方法,其包括向有此需要的人受试者施用与有效量的抗体1同时、分开或序贯组合的有效量的抗N3pG A $\beta$ 抗体。

[0117] 27.实施方案26的方法,其中所述抗N3pG A $\beta$ 抗体是多奈单抗。

[0118] 28.实施方案26的方法,其中所述疾病是阿尔茨海默氏病。

[0119] 29.实施方案26的方法,其中所述抗N3pGA $\beta$ 抗体是多奈单抗并且所述疾病是阿尔茨海默氏病。

[0120] 30.实施方案29的方法,其中在用多奈单抗的疗程后序贯地施用抗体1。

[0121] 31.一种治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$ (A $\beta$ )沉积的疾病的方法,其包括:

[0122] i)向所述人受试者施用约100mg至约700mg抗N3pG A $\beta$ 抗体的一个或多个第一剂量,其中每个第一剂量约每四周施用一次;和

[0123] ii)在施用一个或多个第一剂量后约四周,向所述人受试者施用大于700mg至约1400mg抗N3pGA $\beta$ 抗体的一个或多个第二剂量,其中每个第二剂量约每4周施用一次,

[0124] 其中所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体是多奈单抗,和

[0125] iii)向所述人受试者同时、分开或序贯地施用有效量的抗体1。

[0126] 32.实施方案31的方法,其中在施用第二剂量之前,向所述人受试者施用一次、两次或三次多奈单抗的第一剂量。

[0127] 33.实施方案31或32的方法,其中向所述人受试者施用约700mg多奈单抗的第一剂量。

[0128] 34.实施方案31至33中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg或约1400mg多奈单抗的一个或多个第二剂



量。

[0129] 35. 实施方案31至34中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用约1400mg多奈单抗的一个或多个第二剂量。

[0130] 36. 实施方案31至35中任何一个的方法,其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者至多72周的疗程持续时间,或直到达到淀粉样蛋白的正常水平。

[0131] 37. 实施方案31至36中任何一个的方法,其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者,直到所述患者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

[0132] 38. 实施方案31至36中任何一个的方法,其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者一个疗程,直到所述人受试者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低,任选地,其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月,或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

[0133] 39. 实施方案31至36中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量,至多72周的疗程持续时间。

[0134] 40. 实施方案31至36中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量,直到所述受试者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

[0135] 41. 实施方案31至36中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量,直到所述受试者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低,任选地,其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月,或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

[0136] 42. 实施方案31至41中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用多奈单抗的第二剂量足以治疗或预防疾病的疗程持续时间。

[0137] 43. 实施方案31至42中任何一个的方法,其中所述疾病的治疗或预防引起i) 人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少,和/或ii) 减缓人受试者中的认知或功能衰退。

[0138] 44. 实施方案43的方法,其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少通过淀粉样蛋白PET脑成像或检测关于A $\beta$ 的生物标记物的诊断来确定。

[0139] 45. 实施方案43或44的方法,其中将所述第二剂量施用于人受试者,直到存在所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的约20-100%减少。

[0140] 46. 实施方案45的方法,其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约75%或约100%。

[0141] 47. 实施方案31至44中任何一个的方法,其中将所述多奈单抗的第二剂量施用于人受试者,直到所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了i) 约25centiloids至约100centiloids的大致平均值、ii) 约50centiloids至约100centiloids的大致平均值、iii) 约100centiloids、或iv) 约84centiloids。

[0142] 48. 实施方案31至47中任何一个的方法,其中特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病选自临床前阿尔茨海默氏病(AD)、临床AD、前驱AD、轻度AD、中度AD、重度AD、唐氏综合症、临床脑淀粉样血管病、或临床前脑淀粉样血管病。

- [0143] 49. 实施方案31至48中任何一个的方法,其中所述人受试者是早期症状性AD患者。
- [0144] 50. 实施方案49的方法,其中所述人受试者患有前驱AD以及由于AD的轻度痴呆。
- [0145] 51. 实施方案26-50中任何一个的方法,其中所述人受试者具有:i) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷,ii) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷,iii) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷以及APOE e4的一个或两个等位基因,iv) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷以及APOE e4的一个或两个等位基因,或v) APOE e4的一个或两个等位基因。
- [0146] 52. 实施方案51的方法,其中i) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $\leq 1.46\text{SUVr}$ ,则所述人受试者具有极低至中等tau负荷,或ii) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $1.10\text{SUVr}$ 至 $1.46\text{SUVr}$ ,则所述人受试者具有低至中等tau负荷。
- [0147] 53. 实施方案26-50中任何一个的方法,其中所述人受试者i) 不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷,或ii) 携带APOE e4的一个或两个等位基因,并且不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷。
- [0148] 54. 实施方案53的方法,其中如果通过如PET脑成像所测量的tau负荷高于 $1.46\text{SUVr}$ ,则所述人受试者具有高tau负荷。
- [0149] 55. 实施方案51或53的方法,其中使用PET脑成像或检测关于tau的生物标记物的诊断来确定所述人受试者的tau负荷。
- [0150] 56. 与抗体1同时、分开或序贯组合的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体在制造用于治疗或预防特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病的药剂中的用途,
- [0151] 其中施用约100mg至约700mg抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的一个或多个第一剂量,其中每个第一剂量约每4周施用一次,随后为在施用一个或多个第一剂量后四周施用大于700mg至约1400mg的一个或多个第二剂量,其中抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的每个第二剂量约每4周施用一次,和
- [0152] 其中所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体是多奈单抗。
- [0153] 57. 实施方案56的用途,其中在施用多奈单抗的第二剂量之前,向所述人受试者施用一次、两次或三次多奈单抗的第一剂量。
- [0154] 58. 实施方案56或57的用途,其中向所述人受试者施用约700mg多奈单抗的三个第一剂量。
- [0155] 59. 实施方案56-58中任何一个的用途,其中向所述人受试者施用约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg或约1400mg多奈单抗的一个或多个第二剂量。
- [0156] 60. 实施方案56-59中任何一个的用途,其中向所述人受试者施用约1400mg多奈单抗的一个或多个第二剂量。
- [0157] 61. 实施方案56-60中任何一个的用途,其中将所述抗N3pGluA $\beta$ 抗体施用于人受试者至多72周的疗程持续时间或直到达到淀粉样蛋白的正常水平。
- [0158] 62. 实施方案56-61中任何一个的用途,其中将所述抗N3pGluA $\beta$ 抗体施用于人受试者,直到所述患者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。
- [0159] 63. 实施方案56-61中任何一个的用途,其中将所述抗N3pGluA $\beta$ 抗体施用于人受试者,直到所述患者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids

或更低,任选地,其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月,或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

[0160] 64. 实施方案56-61中任何一个的用途,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg多奈单抗的第二剂量,至多72周的持续时间。

[0161] 65. 实施方案56-61中任何一个的用途,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg多奈单抗的第二剂量,直到所述患者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

[0162] 66. 实施方案56-61中任何一个的用途,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg多奈单抗的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg多奈单抗的第二剂量,直到所述患者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低,任选地,其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月,或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

[0163] 67. 实施方案56-66中任何一个的用途,其中向所述人受试者施用多奈单抗的第二剂量足以治疗或预防疾病的疗程持续时间。

[0164] 68. 实施方案56-67中任何一个的用途,其中所述疾病的治疗或预防引起i) 人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少,和/或ii) 减缓人受试者中的认知或功能衰退。

[0165] 69. 实施方案68的用途,其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少通过淀粉样蛋白PET脑成像或检测关于A $\beta$ 的生物标记物的诊断来确定。

[0166] 70. 实施方案68或69的用途,其中将所述多奈单抗的第二剂量施用于人受试者,直到存在所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的约20-100%减少。

[0167] 71. 实施方案70的用途,其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约75%或约100%。

[0168] 72. 实施方案70或71的用途,其中所述患者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了100%。

[0169] 73. 实施方案56至72中任何一个的用途,其中将所述多奈单抗的第二剂量施用于人受试者,直到所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了i) 约25centiloids至约100centiloids的大致平均值、ii) 约50centiloids至约100centiloids的大致平均值、iii) 约100centiloids、或iv) 约84centiloids。

[0170] 74. 实施方案56至73中任何一个的用途,其中特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病选自临床前阿尔茨海默氏病、临床AD、前驱AD、轻度AD、中度AD、重度AD、唐氏综合症、临床脑淀粉样血管病、或临床前脑淀粉样血管病。

[0171] 75. 实施方案56至74中任何一个的用途,其中所述人受试者是早期症状性AD患者,或其中所述人受试者患有前驱AD或由于AD的轻度痴呆。

[0172] 76. 实施方案56至75中任何一个的用途,其中所述人受试者具有:i) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷,ii) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷,iii) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷以及APOE e4的一个或两个等位基因,iv) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷以及APOE e4的一个或两个等位基因,或v) APOE e4的一个或两个等位基因。

[0173] 77. 实施方案76的用途,其中i) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $\leq$

1.46SUVr,则所述人受试者具有极低至中等tau负荷,或ii)如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为1.10SUVr至1.46SUVr,则所述人受试者具有低至中等tau负荷。

[0174] 78.实施方案56-75中任何一个的用途,其中所述人受试者i)不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷,或ii)携带APOE e4的一个或两个等位基因,并且不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷。

[0175] 79.实施方案78的用途,其中如果通过如PET脑成像所测量的tau负荷高于1.46SUVr,则所述人受试者具有高tau负荷。

[0176] 80.实施方案76或78的用途,其中使用tauPET脑成像或检测关于tau的生物标记物的诊断来确定所述人受试者的tau负荷。

[0177] 81.一种治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病的方法,所述人受试者已确定为具有i)极低至中等tau负荷或低至中等tau负荷,或ii)极低至中等tau负荷或低至中等tau负荷、以及APOE e4的一个或两个等位基因,所述方法包括与有效量的抗体1同时、分开或序贯组合地:

[0178] i)向所述人受试者施用约100mg至约700mg多奈单抗的一个或多个第一剂量,其中多奈单抗的每个第一剂量约每4周施用一次;和

[0179] ii)在施用一个或多个第一剂量后4周,向所述人受试者施用大于700mg至约1400mg多奈单抗的一个或多个第二剂量,其中每个第二剂量约每4周施用一次。

[0180] 82.一种治疗或预防特征在于人受试者的脑中的淀粉样蛋白 $\beta$  (A $\beta$ ) 沉积的疾病的方法,其包括:

[0181] 确定所述人受试者是否具有在脑的颞叶、枕叶、顶叶或额叶中的tau负荷,并且如果所述人受试者具有在脑的颞叶、枕叶、顶叶或额叶中的tau负荷,则与有效量的抗体1同时、分开或序贯组合地:

[0182] i)向所述人受试者施用约100mg至约700mg抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的一个或多个第一剂量,其中每个第一剂量约每四周施用一次;和

[0183] ii)在施用一个或多个第一剂量后约四周,向所述人受试者施用大于700mg至约1400mg抗N3pGlu A $\beta$ 抗体的一个或多个第二剂量,其中每个第二剂量约每4周施用一次。

[0184] 83.根据实施方案82的方法,其中所述人受试者具有在脑的后外侧颞叶或颞叶中的tau负荷。

[0185] 84.根据实施方案82中任何一个的方法,其中所述人受试者具有在脑的枕叶中的tau负荷。

[0186] 85.根据实施方案82的方法,其中所述人受试者具有在脑的顶叶中的tau负荷。

[0187] 86.根据实施方案82的方法,其中所述人受试者具有在脑的额叶中的tau负荷。

[0188] 87.根据实施方案82的方法,其中所述人受试者具有在脑的后外侧颞叶 (PLT) 和/或枕叶中的tau负荷。

[0189] 88.根据实施方案82-87中任何一个的方法,其中所述人受试者具有i)在顶区或楔前叶区中的tau负荷,或ii)在额区中的tau负荷连同在脑的PLT或枕区中的tau负荷。

[0190] 89.根据实施方案82-86中任何一个的方法,其中所述人受试者具有i)隔离至额叶的tau负荷,或ii)在不包括脑的后外侧颞区 (PLT) 的颞叶区中的tau负荷。

[0191] 90.根据实施方案82-88中任何一个的方法,其中所述人受试者具有在脑的后外侧

颞叶、枕叶和顶叶中的tau负荷。

[0192] 91. 根据实施方案82-88中任何一个的方法,其中所述人受试者具有在脑的后外侧颞叶、枕叶、顶叶和额叶中的tau负荷。

[0193] 92. 根据实施方案82-88中任何一个的方法,其中所述人受试者具有在脑的后外侧颞叶、枕叶、顶叶和/或额叶中的tau负荷。

[0194] 93. 根据实施方案82-92中任何一个的方法,其中在施用第二剂量之前,向所述人受试者施用一次、两次或三次第一剂量。

[0195] 94. 根据实施方案82-93中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用药700mg的第一剂量。

[0196] 95. 实施方案82至94中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用药800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg或约1400mg的一个或多个第二剂量。

[0197] 96. 实施方案82至95中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用药1400mg的一个或多个第二剂量。

[0198] 97. 实施方案82至96中任何一个的方法,其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者至多72周的持续时间,或直到达到淀粉样蛋白的正常水平。

[0199] 98. 实施方案82至97中任何一个的方法,其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者,直到所述患者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

[0200] 99. 实施方案82至98中任何一个的方法,其中将所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于人受试者,直到所述人受试者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低,任选地,其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月,或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

[0201] 100. 实施方案82至99中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量,至多72周的持续时间。

[0202] 101. 实施方案82至100中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量,直到所述受试者中的淀粉样蛋白斑块水平为约25centiloids或更低。

[0203] 102. 实施方案82至101中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用每四周一次的700mg的三个第一剂量,并且然后为每四周一次的1400mg的第二剂量,直到所述受试者中的淀粉样蛋白斑块水平对于两次连续PET成像扫描为约25centiloids或更低,任选地,其中所述两次连续PET成像扫描间隔至少6个月,或者对于一次PET成像扫描为约11centiloids或更低。

[0204] 103. 实施方案82至102中任何一个的方法,其中向所述人受试者施用第二剂量足以治疗或预防疾病的持续时间。

[0205] 104. 实施方案82至103中任何一个的方法,其中所述疾病的治疗或预防引起i) 人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少,和/或ii) 减缓人受试者中的认知或功能衰退。

[0206] 105. 实施方案97的方法,其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少通过淀粉样蛋白PET脑成像或检测关于A $\beta$ 的生物标记物的诊断来确定。

[0207] 106. 实施方案97或98的方法,其中将所述第二剂量施用于人受试者,直到存在所

述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的约20-100%减少。

[0208] 107. 实施方案106的方法, 其中所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约75%或约100%。

[0209] 108. 实施方案82至107中任何一个的方法, 其中将所述第二剂量施用于人受试者, 直到所述人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积减少了i) 约25centiloids至约100centiloids的大致平均值、ii) 约50centiloids至约100centiloids的大致平均值、iii) 约100centiloids、或iv) 约84centiloids。

[0210] 109. 实施方案82至108中任何一个的方法, 其中特征在于人受试者的脑中的A $\beta$ 沉积的疾病选自临床前阿尔茨海默氏病(AD)、临床AD、前驱AD、轻度AD、中度AD、重度AD、唐氏综合症、临床脑淀粉样血管病、或临床前脑淀粉样血管病。

[0211] 110. 实施方案82至109中任何一个的方法, 其中所述人受试者是早期症状性AD患者。

[0212] 111. 实施方案109的方法, 其中所述人受试者患有前驱AD以及由于AD的轻度痴呆。

[0213] 112. 实施方案82-111中任何一个的方法, 其中所述人受试者具有:i) 极低至中等tau负荷或已确定为具有极低至中等tau负荷, 或ii) 低至中等tau负荷或已确定为具有低至中等tau负荷。

[0214] 113. 实施方案112的方法, 其中i) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $\leq 1.46\text{SUVr}$ , 则所述人受试者具有极低至中等tau负荷, 或ii) 如果如通过PET脑成像所测量的tau负荷为 $1.10\text{SUVr}$ 至 $1.46\text{SUVr}$ , 则所述人受试者具有低至中等tau负荷。

[0215] 114. 实施方案82至113中任何一个的方法, 其中所述人受试者不具有高tau负荷或已确定为不具有高tau负荷。

[0216] 115. 实施方案114的方法, 其中如果通过如PET脑成像所测量的tau负荷高于 $1.46\text{SUVr}$ , 则所述人受试者具有高tau负荷。

[0217] 116. 实施方案114或115的方法, 其中使用PET脑成像或检测关于tau的生物标记物的诊断来确定所述人受试者的tau负荷。

[0218] 117. 实施方案82至116中任何一个的方法, 其中所述抗N3pGlu A $\beta$ 抗体包含多奈单抗。

[0219] 118. 实施方案82-117中任何一个的方法, 其中所述患者具有APOE e4的一个或两个等位基因。

[0220] 119. 一种降低/预防人脑的颞叶、枕叶、顶叶或额叶中的tau负荷的进一步增加, 或减缓tau累积速率的方法, 其包括将与有效量的抗体1同时、分开或序贯组合的抗N3pGlu A $\beta$ 抗体施用于所述人受试者。

## 附图说明

[0221] 图1显示了在表达hCSF1R的293SRE细胞中, 人IL-34诱导的萤光素酶报告活性的抗体1中和。

[0222] 实施例

[0223] 提供以下实施例以说明而不是限制本发明。以下测定的结果证实了, 本公开的例示性单克隆抗体例如抗体1结合和/或中和IL-34, 并且因此可以用于治疗本文所述的免疫

介导的疾病和炎性疾病。

#### [0224] 实施例1:抗体生成、表达和纯化

[0225] 人抗IL-34抗体实验对象组使用全人酵母展示文库获得,并且进行筛选以鉴定可能是有效的人IL-34中和抗体的试剂。将突变系统地引入每种抗体的各个互补决定区(CDR)内,并且使所得到的文库经受使用具有渐减抗原浓度和/或渐增解离周期的多轮选择,以便分离具有改善亲和力的克隆。确定各个变体的序列并用于构建组合文库,使所述组合文库经受另外一轮具有增加严格性的选择,以鉴定各个CDR区域之间的加性或协同突变配对。对各个组合克隆进行测序,并且确定结合特性。为了进一步增加对IL-34的亲和力,可以使这些组合克隆经受另外几轮的单一和组合诱变。这种筛选可以针对人或食蟹猴IL-34进行,以增加针对选定物种的亲和力。选定的抗体还可以进行诱变,以固定翻译后修饰,例如异构化,同时保留与IL-34的结合亲和力。另外,可以对抗体制备框架(FW)或CDR取代,以将序列恢复至其种系状态,以便减少潜在的免疫原性风险。

[0226] 获得了例如在本文中被称为抗体1的改造的和/或优化的抗IL-34抗体,其具有重链和轻链的可变区的氨基酸序列以及完整的重链和轻链氨基酸序列,以及编码其的核苷酸序列,如下文标题为“氨基酸序列和核苷酸序列列表”的节段中列出的。与这些序列相对应的SEQ ID NO以及轻链和重链CDR氨基酸序列显示于表1中。

[0227] 本公开的例示性抗IL-34抗体可以基本上如下进行表达且纯化。适当的宿主细胞,例如HEK 293、NS0或CHO,可以使用最佳的预定HC:LC载体比率(例如1:3或1:2或1:1)或编码HC和LC两者的单一载体系统,用表达系统进行瞬时或稳定转染用于分泌抗体。

[0228] 表达质粒含有例如编码抗体1的LC和HC的DNA(编码例示性抗体1的HC的SEQ ID NO:11的DNA序列,以及编码例示性抗体1的LC氨基酸序列的SEQ ID NO:12的DNA序列);并且由用于此目的的常用且合适的构建体进行表达。将克隆衍生的细胞系扩增并就抗体1产生进行筛选,并且选择并建立克隆衍生的细胞系。该细胞系不含任何含有动物组分的材料生成并用于生产。

[0229] 抗体分泌到其中的澄清培养基可以通过常规技术进行纯化,所述常规技术例如离子交换和疏水相互作用层析的混合模式方法。例如,培养基可以使用常规方法施加于蛋白A或G柱并从其中洗脱;也可以使用离子交换和疏水相互作用层析的混合模式方法。可溶性聚集物和多聚体可以通过常见技术有效地去除,所述常见技术包括尺寸排阻、疏水相互作用、离子交换或羟磷灰石层析。本公开的例示性抗IL-34抗体使用常见技术进行浓缩和/或无菌过滤。在这些层析步骤后的例示性抗体的纯度大于95%。本公开的例示性抗IL-34抗体可以立即在-70°C下冷冻或在4°C下贮存几个月。

#### [0230] 实施例2:抗IL-34抗体的表征

[0231] 与人和食蟹猴IL-34的结合亲和力

[0232] 本公开的抗IL-34单克隆抗体与人和/或食蟹猴(*cynomolgus monkey*) (食蟹猴(*cyno*)) IL-34的结合亲和力可以通过本领域已知的方法进行确定。简言之,使用BIAcore™8K(Cytiva)在37°C下通过表面等离子体共振评估抗体的结合亲和力和动力学。通过将抗IL-34抗体固定在BIAcore™Sensor Chip Protein A(Cytiva)上,并且流动人或食蟹猴IL-34(从25nM或12.5nM开始,在HBS-EP+缓冲液(Teknova)中的2倍连续稀释),来测量结合亲和力。对于每个循环,200μL IL-34以100μL/分钟流过固定的抗体,然后解离20分钟。芯

片表面用50 $\mu$ L以pH1.5的甘氨酸缓冲液以100 $\mu$ L/分钟的流速进行再生。数据对1:1Langmuir结合模式进行拟合,以导出kon、koff并计算KD。表3显示了关于例示性抗体1的人和食蟹猴IL-34的至少三个实验的平均值。

[0233] 表3:抗体-人和食蟹猴IL-34复合物在37 $^{\circ}$ C下的结合亲和力 ( $K_D$ )

		结合亲和力和动力学			
	抗体	抗原	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)	$K_D$ (pM)
[0234]	例示性抗体 1	人	8.4E+06 $\pm$ 4.4E+05	2.6E-04 $\pm$ 2.9E- 05	31.2 $\pm$ 4.8
	例示性抗体 1	食蟹猴	7.9E+06 $\pm$ 2.0E+06	3.0E-04 $\pm$ 5.3E- 05	40.9 $\pm$ 16.2

[0235] 实施例3:抗人IL-34抗体的体外功能表征

[0236] 本公开的抗体就中和IL-34结合和/或活性的能力进行测试。IL-34结合和/或活性通过本公开的抗体的中和可以通过一种或多种IL-34/CSF1R受体结合测定形式以及例如如下文所述的基于IL-34细胞的活性测定进行评价。

[0237] 抗体1从CSF1R中置换IL-34的能力

[0238] 可以使用酶促测定来完成关于IL-34/CSF1R结合的中和抗体的测定。此类测定可以使用能够结合IL-34的重组表达的CSF1R细胞外结构域蛋白。这些蛋白质可以与ELISA板结合,以便捕获可溶性IL-34。然后通过抗原的生物素化和经由链霉抗生物素蛋白/中性抗生物素蛋白缀合的过氧化物酶或磷酸酶的检测来检测IL-34。此类中和测定涉及在加入结合测定(以及其中不涉及靶向IL-34的抗体的对照样品)之前,待评价的抗体与标记的IL-34的预温育(例如,1小时)。

[0239] CSF1R细胞外结构域蛋白(从R&D目录#329-MR商购可得hCSF1R\_Fc,食蟹猴CSF1R ECD-Fc(AAA是CSF1R细胞外结构域和Fc之间的接头)(SEQ ID NO:53))可以以30nM的浓度结合ELISA板,以便捕获可溶性生物素化的IL-34并允许结合一小时。在洗涤并封闭板后,可以添加生物素化的IL-34,然后经由链霉抗生物素蛋白缀合的过氧化物酶进行检测。接近80%结合水平( $EC_{80}$ )的标记IL-34的浓度(3.7nM)可以与一系列抗体浓度(0-100nM)结合使用,以确定从CSF1R中置换IL-34所需的抗体浓度。在1小时温育后,经由链霉抗生物素蛋白缀合的过氧化物酶检测与CSF1R结合的IL-34。测定抗体( $n=2$ )并计算在每个浓度下的平均值和标准差。抗体从CSF1R中置换IL-34的效力报告为 $IC_{50}$ (nM),伴随在表4和表5中的计算的置信区间(CI)。

[0240] 表4:从人CSF1R中置换人IL-34



抗体 1	与人 CSF1R 结合的人 IL-34	
	nM	平均值
100	0.1295	0.001
33	0.1387	0.006
11.1	0.4983	0.458
3.7	0.2964	0.050
1.2	0.5050	0.025
0.4	0.9008	0.005
0.14	1.6104	0.110
0.05	2.6296	0.070
0.02	3.0247	0.005
0.005	2.8993	0.137
0.002	2.9698	0.316
0.001	2.8883	0.124
IC <sub>50</sub> (nM)	0.1537	
置信区间	0.1117 至 0.2114	

[0241]

[0242] 表5:从食蟹猴CSF1R中置换食蟹猴IL-34

抗体 1	与食蟹猴 CSF1R 结合的食蟹猴 IL-34	
	nM	平均值
100	0.1517	0.002
33	0.2317	0.017
11.1	0.3757	0.045
3.7	0.5103	0.068
1.2	0.6442	0.087
0.4	1.0248	0.134
0.14	1.3899	0.167
0.05	1.5975	0.227
0.02	1.7635	0.091
0.005	1.4193	0.228
0.002	1.5329	0.111

[0243]

	0.001	1.6040	0.091
[0244]	IC <sub>50</sub> (nM)	0.6439	
	置信区间	0.3344 至 1.240	

[0245] IL-34以大约50-100pM的亲合力与人CSF1R结合,需要高亲和力抗体用于CNS中的这种细胞因子的有效中和。表4中的结果显示了,抗体1对于人IL-34具有高亲和力,并且可以以0.1537nM的IC<sub>50</sub>从人CSF1R中置换IL-34。表4中的结果显示了,抗体1对于人IL-34具有高亲和力,并且特别地,抗体1显示了对于人IL-34与hCSF1R可比较的亲合力,并且因此具有使其能够在体内有效中和IL-34的结合特性。阻断IL-34被认为提供了用于疾病缓解的有用手段,同时避免与一些现有免疫调节疗法相关的安全关注。因此,中和IL-34介导的信号传导代表了用于管理神经炎症、小胶质细胞增生和神经退行性疾病例如阿尔茨海默氏病及其它tau蛋白病和炎症疾病的治疗方法。(参见例如,Lelios,I.等人Emerging roles of IL-34in health and disease,J Exp Med (2020) 217 (3) :e20190290)。

[0246] IL-34诱导的应答的体外抑制

[0247] IL-34活性通过本公开的抗体的中和可以通过例如如下所述的一种或多种基于IL-34细胞的测定进行评价。

[0248] 本公开的抗体中和人IL-34诱导的萤光素酶报道活性的能力可以在用cDNA转染以表达人CSF1R的293hCSF1R SRE细胞(登录号:NP\_001275634.1)中进行评价。例如,稳定过表达人CSF1R(hCSF1R)的293/SRE细胞在0.05%胰蛋白酶-PBS中进行解离,并且以70,000个细胞/100u1在组织培养处理的96孔板中铺平板。第二天,去除生长培养基,并且用补充有热灭活的1%FBS(胎牛血清)的DMEM-F12(达尔贝科改良伊格尔培养基:营养混合物F-12)使细胞饥饿。饥饿后24小时,细胞用100ng/ml人IL-34和多重浓度的hCSF1R-Fc或抗体1处理6小时。在温育之后,细胞用50u1 Promega™ Glo™ Lysis Buffer(Promega™ E266A)伴随轻轻搅动裂解5分钟。添加50ml BrightGlo™发光试剂(Promega™ E2620),并且在裂解的细胞上温育2分钟。在Perkin Elmer Wallac 1420Victor2™ Microplate Reader上读取发光。表7和图1中显示的以相对荧光单位(RFU)的减少反映了抗体1中和人IL-34诱导的萤光素酶活性的能力。对于hIL-34的中和,关于抗体1的半数最大抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值为0.04582ug/ml。人CSF1R-Fc在此测定中用作阳性对照,并且以0.09603ug/ml的IC<sub>50</sub>抑制萤光素酶活性。

[0249] 表7:表达hCSF1R的293SRE细胞中人IL-34诱导的萤光素酶报道活性的中和

浓度[ug/ml]	hCSF1R		抗体 1	
	平均 LU	标准差	平均 LU	标准差
20	1691	77.782	2499.5	777.110
4.000	1737	180.312	2812	813.173
0.800	2244	154.856	3163.5	897.319
0.160	4819	53.033	3976.5	826.608
0.032	14728.5	1003.385	10389	898.026
0.006	16495	544.472	12842.5	79.903
0.001	17608.5	478.711	13171.5	637.103
<b>IC<sub>50</sub> (ug/ml)</b>	0.09603		0.04582	
<b>CI (ug/ml)</b>	0.06301 至 0.1464		0.03503 至 0.05993	
阳性对照 (+) IL34	16903.33	2169.549		
阴性对照 (-) IL34	3502	344.114		

[0251] 通过流式细胞术抗IL34抗体抑制人单核细胞中IL-34诱导的CD163表达的能力:

[0252] IL-34中和也可以通过经由流式细胞术测量用IL-34处理后人单核细胞中的细胞表面抗原CD163的表达进行评价(参见例如,Boulakirba,S.等人,IL-34and CSF-1displayan equivalentmacrophage differentiation ability buta differentpolarizationpotential.SciRep 8,256(2018)。CD14阳性单核细胞用IL-34处理6天,并且在用关于CD163的抗体染色后通过流式细胞术评价CD163表达。在实验中,表达CD163的细胞数目的变化指示了IL-34处理增加了单核细胞中的该抗原的表达。CD163表达的增加通过抗体1的添加得到抑制。使用同种型匹配的IgG4抗体作为该实验中的阴性对照。

[0253] 伴随IL-34(100ng/ml)的添加,CD14+人单核细胞可能分化成巨噬细胞。巨噬细胞标记物CD163可以用于监测分化程度。向巨噬细胞的这种分化可以通过抗IL-34抗体的添加得到抑制。CD14+人单核细胞在含有或不含IL-34的6孔板中铺平板。细胞用抗IL-34抗体例如抗体1或以15ug/ml的IgG4 PAA处理总共6天,伴随在第3天时更新的处理。在第6天时,细胞从含有非酶促细胞解离缓冲液的平板中取出,收集并在FACS缓冲液(PBS+2%FBS+0.1%叠氮化钠+2%EDTA)中洗涤。根据制造商的建议,细胞用TruStainFcX(目录#422302)封闭30分钟。在封闭之后,细胞在FACS缓冲液中进行洗涤,并且用抗CD163-PE或IgGk同种型对照-PE在4°C下染色1小时。在温育结束时,将细胞洗涤,并且使用最少10,000个事件在Accuri上执行流式分析。对于每次处理收集中值PE-A水平。结果显示于表10中。

[0254] 表10:通过流式细胞术人单核细胞中IL-34诱导的CD163表达的抑制

	处理	IgG 染剂 (平均 PE-A)	CD163 染剂 (平均 PE-A)
[0255]	(-) IL-34	7,750.56	130,783.14
	(+) IL-34	5,204.62	1,245,847.72
	(+)IL-34 和 抗体 1 (15ug/ml)	5,693.60	101,350.07
	(+)IL-34 和 IgG4 PAA (15ug/ml)	6,011.43	715,201.30
	未染色的细胞	2,622.87	

[0256] 响应IL-34,人单核细胞中的CD163表达通过抗体1的抑制证实了本公开的抗体调节单核细胞/巨噬细胞数目和/或对IL-34的表型分化应答的能力,并且支持本文抗体治疗免疫介导的疾病,例如神经炎症和其它炎性状况的用途(参见例如,Lelios,I.等人 Emerging roles of IL-34 in health and disease, J Exp Med (2020) 217 (3) :e20190290)。

[0257] 实施例4:抗体1免疫原性潜力的表征

[0258] 树突状细胞(DC)内化测定

[0259] 单核细胞衍生的DC培养(MDDC)

[0260] CD14+单核细胞从外周血单核细胞(PBMC)中进行分离,并且遵循标准方案进行培养且分化成DC。简言之,使用来自LRS-WBC的Ficoll (#17-1440-02, GE Healthcare)和 Sepmate 50 (#15450, STEMCELL Technologies),使用密度梯度离心来分离PBMC。遵循制造商的手册,使用CD14+微珠试剂盒(#130-050-201, Miltenyi Biotec),使用阳性选择来分离CD14+单核细胞。然后将细胞以100万/ml与1000单位/ml GM-CSF和600单位/ml IL-4一起培养6天,以在含有L-谷氨酰胺和25mM HEPES的RPMI培养基中形成未成熟的树突状细胞(MDDC),所述培养基补充有10%FBS、1mM丙酮酸钠、1×青霉素-链霉素、1×非必需氨基酸和55μM 2-巯基乙醇(下文被称为完全RPMI培养基或培养基,购自Life Technologies)。培养基在第2天和第5天时更换两次。在第6天时,用细胞刮刀轻轻收集细胞并用于实验。MDDC通过显微镜目视表征树突形态,并且通过流式细胞术表征CD14、CD11c和HLA-DR的表达。通过使用流式细胞术测量CD80、CD83和CD86的上调,来确认它们响应LPS处理的能力。

[0261] Fab-TAMRA-QSY7的缀合

[0262] F(ab')<sub>2</sub>片段山羊抗人IgG(Jackson ImmunoResearch)用QSY7-NHS和TAMRA-SE(Molecular Probes)进行双重标记,以获得用作跟踪测试物品内化的通用探针的Fab-TAMRA-QSY7。使用Amico Ultra-0.5离心过滤装置(#UFC501096, Millipore),通过以14,000rcf离心2分钟,将每个小瓶的F(ab')<sub>2</sub>(大约1ml,以1.3mg/ml)浓缩至约2mg/ml。pH用10%(v/v)1M碳酸氢钠调整至碱性(>pH 8),并且添加6.8μl以10mM在DMSO中的QSY-NHS储备溶液并混合。反应小瓶在室温下避光保存30分钟。中间产物Fab-QSY7使用Zeba Spin脱盐柱(#89890, Thermo Scientific)通过以1000相对离心力(RCF)离心2分钟进行纯化。通过在NanoDrop(ThermoFisher)上测量在280nm和560nm处的吸光度来计算标记(DOL)的浓度和程度。然后再次通过用Amico Ultra-0.5离心过滤装置以14,000rcf离心2分钟,将Fab-QSY7浓缩至约2mg/ml。在用10%(v/v)1M碳酸氢钠的pH调整后,添加4.3μl 15mM在DMSO中的TAMRA-SEDMSO储备溶液并混合。在室温下在黑暗中30分钟后,通过以1000rcf离心2分钟,使用Zeba

Spin脱盐柱纯化并收集最终产物Fab-TAMRA-QSY7。通过在NanoDrop Spectrophotometer上读取在280nm、555nm和560nm处的吸光度再次定量浓度和DOL。使用该方案,获得约300 $\mu$ l以1.5mg/ml左右的Fab-TAMRA-QSY7,伴随大约两个QSY7和两个TAMRA/F(ab')<sub>2</sub>。

[0263] 通过FACS的标准化内化研究

[0264] 用PBS将各个测试分子标准化至1mg/ml,然后在完全RPMI培养基中进一步稀释至8 $\mu$ g/ml。Fab-TAMRA-QSY7在完全RPMI培养基中稀释至5.33 $\mu$ g/ml。将抗体和Fab-TAMRA-QSY7以等体积混合,并且在4 $^{\circ}$ C下在黑暗中温育30分钟用于复合物形成。MDDC以400万/ml重悬浮于完全RPMI培养基中,并且以50 $\mu$ l/孔在96孔圆底板中接种,并且向其中添加50 $\mu$ l抗体/探针复合物。细胞在CO<sub>2</sub>培养箱中在37 $^{\circ}$ C下温育24小时。细胞用2%FBS PBS进行洗涤,并且用Cyttox Green活/死染料重悬浮于100 $\mu$ l 2%FBS PBS中。数据在BD LSRFortessa X-20上进行收集,并且在FlowJo中进行分析。对活的单细胞进行门控,并且将TAMRA荧光阳性细胞的百分比记录为读出。

[0265] 数据呈现和统计分析

[0266] 分子以一式两份或一式三份对三个或更多个供体进行测试。对于每个供体考虑了TAMRA阳性群体的百分比。为了允许分子与由不同供体生成的数据的比较,使用了标准化的内化指数(NII)。内化信号使用下式针对IgG1同种型(NII=0)和内部阳性对照PC(NII=100)进行标准化:

$$[0267] \quad 100 \times \frac{X_{TAMRA - IgG1 \text{ 同种型 TAMRA}}}{PC_{TAMRA - IgG1 \text{ 同种型 TAMRA}}}$$

[0268] 其中X<sub>TAMRA</sub>、IgG1同种型<sub>TAMRA</sub>和PC<sub>TAMRA</sub>分别是关于测试分子X、IgG1同种型和PC的TAMRA阳性群体的百分比。数据在JMP® 14.1.0或Graphpad Prism 8.1.2中进行分析。计算并报告TAMRA阳性群体的百分比的平均值和NII。抗原呈递细胞例如DC中增加的内化与免疫原性风险的增加相关。关于抗体1的一式两份实验的几何平均值显示于表11中。

[0269] 表11.DC内化结果

测试抗体	标准化的内化指数
抗体1	53.0

[0271] (参见例如Wen,Y.,Cahya,S.,Zeng,W.等人Development of a FRET-Based Assay for Analysis of mAbs Internalization and Processing by Dendritic Cells in Preclinical Immunogenicity Risk Assessment.AAPS J22,68(2020))

[0272] MAPP测定(MHC相关肽蛋白质组学)方法:

[0273] 通过分离CD-14阳性细胞,从血沉棕黄层中制备来自10个正常人供体的原代人树突状细胞,并且通过在含有5%Serum Replacement(Thermo Fisher Scientific,目录#A2596101)的完全RPMI培养基中,在37 $^{\circ}$ C和5%CO<sub>2</sub>下与20ng/ml IL-4和40ng/ml GM-CSF一起温育3天,来分化为未成熟的树突状细胞,如所述的(Knierman等人,“The Human Leukocyte Antigen Class II Immunopeptidome of the SARS-CoV-2Spike Glycoprotein”,Cell Reports,33,108454(2020))。在第4天时,将3微摩尔的测试抗体加入大约5x10<sup>6</sup>个细胞中,并且在5小时温育后,更换含有5 $\mu$ g/ml LPS的新鲜培养基,以将细胞转化为成熟的树突状细胞。第二天,使成熟细胞在1ml含有蛋白酶抑制剂和DNA酶的RIPA缓冲

液中裂解。将裂解物贮存于-80°C下直至样品分析。

[0274] 自动化液体处理系统用于使用生物素化的抗泛HLA II类抗体(克隆Tu39)从解冻的裂解物中分离HLA-II分子。结合的受体-肽复合物用5%乙酸、0.1%TFA进行洗脱。洗脱的MHC-II肽通过预洗的10kMWC0过滤器,以去除高分子量蛋白质。使用具有Thermo LUMOS质谱仪的Thermo easy 1200nLC-HPLC系统,通过纳米LC/MS来分析分离的MHC-II肽。分离使用75  $\mu\text{m}$  x 7cm YMC-ODS C18柱用于65分钟梯度,使用250nL/分钟流速以及0.1%甲酸的水溶液作为A溶剂以及具有0.1%甲酸的80%乙腈作为B溶剂。质谱法以240,000分辨率的全扫描模式运行,随后为3秒数据依赖性MS/MS循环,该循环由具有HCD和ETcD碎片的离子阱快速扫描构成。

[0275] 肽鉴定通过内部蛋白质组学流程(Higgs等人,“Label-free LC-MS method for the identification of biomarkers”,Methods in Molecular Biology,428,209-230(2008))使用多重搜索算法生成,无需针对含有测试抗体序列的牛/人数据库的酶搜索参数。KNIME工作流用于处理样品的标识文件。从测试物品中鉴定的肽针对亲本序列进行比对。对于所有供体创建概要,其注释展示非种系残基的供体的百分比、展示具有非种系残基的肽的不同区域的数目、以及具有非种系残基在每个区域处的肽展示的深度。非种系肽的展示程度的增加与免疫原性的风险增加相关。关于抗体1的结果显示于表12中。

[0276] 表12:MAPP结果

测试抗体	具有非种系簇的%供体	具有非种系残基的#簇
抗体1	55% (5/9)	1

[0278] T细胞增殖测定

[0279] 该测定评价测试候选物或测试候选物的MAPP衍生肽簇通过诱导细胞增殖来激活CD4+T细胞的能力,如所述的(Walsh等人,“Post-hoc assessment of the immunogenicity of three antibodies reveals distinct immune stimulatory mechanisms”,mAbs,12,1764829(2020))。使用来自10个健康供体的冷冻保存的PBMC,并且从PBMC中耗尽CD8+T细胞,并且用1 $\mu\text{M}$ 羧基二乙酸荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE)进行标记。PBMC以4x 10<sup>6</sup>个细胞/ml/孔接种到含有5%CTS<sup>TM</sup> Immune Cell SR(Gibco,目录#A2596101)的AIM-V培养基(Life Technologies,目录#12055-083)中,并且在2.0mL含有不同的测试物品、DMSO对照、培养基对照和匙孔血蓝蛋白(KLH;阳性对照)中一式三份地进行测试。将细胞在37°C与5%CO<sub>2</sub>下培养并温育7天。在第7天时,样品用以下细胞表面标记物进行染色:抗CD3、抗CD4、抗CD14、抗CD19和DAPI,用于使用配备High Throughput Sampler(HTS)的BD LSRFortessa<sup>TM</sup>通过流式细胞术的活力检测。使用lowJo<sup>®</sup>Software(FlowJo,LLC,TreeStar)分析数据并计算细胞分裂指数(CDI)。简言之,通过将受刺激的孔中增殖的CFSE<sup>dim</sup>CD4+T细胞的百分比除以未刺激的孔中增殖的CFSE<sup>dim</sup>CD4+T细胞的百分比,来计算关于每种测试分子的CDI。 $\geq 2.5$ 的CDI被视为代表积极应答。评估了跨越所有供体的百分比供体频率。关于抗体1的结果显示于表13中。

[0280] 表13.CD4+T细胞应答的频率

[0281]	测试的分子	%阳性供体	中值 CDI (阳性供体)	中值 CDI (所有供体)	范围		供体数目
					高	低	
	抗体 1	0.0	NA	0.8	2.4	0.5	0/10

[0282] 实施例5:食蟹猴中的抗体药代动力学

[0283] 向食蟹猴施用以1mL/kg体积的单次3mg/kg静脉内(IV)剂量的抗体1的PBS(pH 7.4)溶液。对于药代动力学表征,在剂量后1、3、6、24、48、72、96、120、168、240、336、408、504和672小时,从2只动物/时间点收集血液并加工成血清。抗体1的血清浓度通过合格的免疫亲和液相层析质谱法进行确定。使用生物素化的山羊抗人IgG抗体,从100%食蟹猴血清中提取抗体1和人抗体内部标准(稳定同位素标记的人IgG),随后为使用Q-Exactiv<sup>TM</sup> Orbitrap<sup>®</sup>质谱仪来定量胰蛋白酶替代肽。对于每只动物(N=2)使用非房室分析(NCA)计算药代动力学参数,并且通过平均值来概括参数。NCA和概括统计计算使用Phoenix执行。如表14中所示的,抗体I在食蟹猴中证实了延长的药代动力学概况。

[0284] 表14:在对食蟹猴的单次3mg/kg IV剂量之后,关于抗体1的血浆药代动力学参数。

[0285]	途径	剂量 (mg/kg)	C <sub>0</sub> (mg/mL)	AUC <sub>0-inf</sub> (hr*mg/mL)	CL (mL/hr/kg)	V <sub>ss</sub> (mL/kg)	t <sub>1/2</sub> (hr)
	IV	3	109	26800	0.112	53.6	352

[0286] 氨基酸序列和核苷酸序列列表

[0287] 抗体1的重链(SEQ ID N0:1)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS  
GGKTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLWHAFD  
HWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS  
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV  
[0288] ESKYGPCCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQ  
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK  
GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE  
SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY  
TQKSLSLSLG

[0289] 抗体1的轻链;抗体2的LC(SEQ ID N0:2)

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSLYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA  
TGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQVVGSSPPFTFGGGTKVEIKRTVA  
[0290] APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ  
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0291] 抗体1的HCVR(SEQ ID N0:3)

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS  
 [0292] GSKTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLWHAFD  
 H

[0293] 抗体1的LCVR;抗体2的LCVR (SEQ ID NO:4)  
 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSLYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRA

[0294] TGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQVVGSSPPFT

[0295] 抗体1的HCDR1 (SEQ ID NO:5)

[0296] AASGFTFSSYAMS

[0297] 抗体1的HCDR2 (SEQ ID NO:6)

[0298] AISGSGGKTY

[0299] 抗体1的HCDR3 (SEQ ID NO:7)

[0300] AKRGYLWHAFDH

[0301] 抗体1和抗体2的LCDR1 (SEQ ID NO:8)

[0302] RASQSVSSLYLA

[0303] 抗体1和抗体2的LCDR2 (SEQ ID NO:9)

[0304] YGASSRAT

[0305] 抗体1和抗体2的LCDR3 (SEQ ID NO:10)

[0306] QVVGSSPPFT

[0307] 编码抗体1的重链的DNA (SEQ ID NO:11)

gaagtcaactgcttgagagcggaggcggctctgtacagccaggcgggagttgagactcagttgtgcagcctctggctttacctt  
 ttctcttatgctatgtcctgggtacgacaggccccggaaaaggcctggaatgggttccgctattagcggcagtggggtaaa  
 acatactatgccgactcagttaaaggcagattacaataagccgggacaattctaagaacacactgtatcttcagatgaatagttg  
 cgagcagaggacaccgctgtttactctgcgctaaaaggggttaccttggcacgcatttgaccactggggccagggaacactc  
 gtaactgtctcatcagcctccaccaagggccatcggctctccgctagcgcctgctccaggagcacctccgagagcacagcc  
 gccctgggctgctgtaaggactactccccgaaccggtagcgggtgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgca  
 cacttcccggctgtctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagctgggcacgaag  
 acctacactgcaacgtagatcacaagcccagcaaccaagggtggacaagagagttgagcctcaaatatggtccccatgccc  
 acctgcccagcactgaggccgcccggggaccatcagttctctgtcccccaaaaccaaggacactctcatgatctcccg  
 gaccctgaggtcacgtgctggtggtgagcgtgagccaggaagaccccagggtccagttcaactggtacgtggtggtg  
 gaggtgcataatgccaagacaaagccgaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgca  
 ccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcctcatcgagaaaaccatctcca  
 aagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacacctgccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagc  
 ctgacctgctggtcaaggcttctaccccagcgcacatgccgtggagtgggaaagcaatgggcagccggagaacaactaca  
 agaccacgcctcccgtgctgactccgacggctcttctctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggag  
 gggaatgtctctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggt

[0309] 编码抗体1的轻链的DNA (SEQ ID NO:12)



- gaaatagttctcactcagtcacctgggacactctccctgagtcaggagaacgtgcaacactcagttgccgtgcaagccagtcg  
tctcatccttgatcttgcttggtaccaaaaaacctggacaggccccctctcttatctatgggtgcctccagtcgcgcaactgg  
tattcccgaccgggtcagcggcagtggtccggcactgacttcacctgactataagtcggttgagccagaggactttgccgtg  
tactattgccaagtggtgggaagctccccctccttcactttcggcggaggaccaaggtagaaatcaaaagaactgtggcggcg  
[0310] ccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatccggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccag  
agaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaa  
ggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaagctctacgctgccaagtc  
acctcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtg
- [0311] 抗体1的HCDR1 (Kabat) (SEQ ID NO:13)
- [0312] SYAMS
- [0313] 抗体1的HCDR2 (Kabat) (SEQ ID NO:14)
- [0314] AISGSGGKTYADSVKG
- [0315] 抗体1的HCDR3 (Kabat) (SEQ ID NO:15)
- [0316] RGYLWHAFDH
- [0317] 抗体1的LCDR1 (Kabat) (SEQ ID NO:16)
- [0318] RASQSVSSLYLA
- [0319] 抗体1的LCDR2 (Kabat) (SEQ ID NO:17)
- [0320] GASSRAT
- [0321] 抗体1的LCDR3 (Kabat) (SEQ ID NO:18)
- [0322] QVVGSSPPFT
- [0323] 抗体1的HCDR1 (Chothia) (SEQ ID NO:19)
- [0324] GFTFSSY
- [0325] 抗体1的HCDR2 (Chothia) (SEQ ID NO:20)
- [0326] SGSGGK
- [0327] 抗体1的HCDR3 (Chothia) (SEQ ID NO:21)
- [0328] RGYLWHAFDH
- [0329] 抗体1的LCDR1 (Chothia) (SEQ ID NO:22)
- [0330] RASQSVSSLYLA
- [0331] 抗体1的LCDR2 (Chothia) (SEQ ID NO:23)
- [0332] GASSRAT
- [0333] 抗体1的LCDR3 (Chothia) (SEQ ID NO:24)
- [0334] QVVGSSPPFT
- [0335] 抗体1的HCDR1 (IMGT) (SEQ ID NO:25)
- [0336] GFTFSSYA
- [0337] 抗体1的HCDR2 (IMGT) (SEQ ID NO:26)
- [0338] ISGSGGKT
- [0339] 抗体1的HCDR3 (IMGT) (SEQ ID NO:27)
- [0340] AKRGYLWHAFDH

- [0341] 抗体1的LCDR1 (IMGT) (SEQ ID NO:28)
- [0342] QSVSSLY
- [0343] 抗体1的LCDR2 (IMGT) (SEQ ID NO:29)
- [0344] GAS
- [0345] 抗体1的LCDR3 (IMGT) (SEQ ID NO:30)
- [0346] QVVGSSPPFT
- [0347] 人IL-34 (SEQ ID NO:31)  
NEPLEMWPLTQNEECTVTGFLRDKLQYRSRLQYMKHYFPINYKISVPYEGVFRIA  
NVTRLQRAQVSERELRYLWVLVSLSATSVQDVLLEGHPHWKYLQEVETLLLNV
- [0348] QQGLTDVEVSPKVESVLSLLNAPGNLKLVRPKALLDNCFRVMELLYCSCCKQS  
SVLNWQDCEVPSQSCSPEPSLQYAATQLYPPPPWSPSSPPHSTGSRPVRAQGE  
GLLP
- [0349] IgG4PAA铰链区 (SEQ ID NO:32)
- [0350] ESKYGPPCPPCP
- [0351] IgG4PAA Fc区 (SEQ ID NO:33)  
APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV  
HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK
- [0352] AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK  
TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSP
- [0353] 食蟹猴CSF1R ECD-Fc的序列 (SEQ ID NO:34)  
IPVIEPSGPELVVKPGETVTLRCVGNQSVVWDGPIPHWTLYSDGPSSVLTTNNAT  
FQNTRTYRCTEPGDPLGGSAIHLVVKDPAWPVNLAKEVVVFEDQDALLPCLL
- [0354] TDPVLEAGVSLVRLRGRPLLRTNYSFSPWHGFIIHRAKFIQGQDYQCSALMGGR  
KVMSISIRLKVQKVIPGPPALTLVPAELVRIRGEAAQIVCSASNIDVDFDVFLQHNT  
TKLAIPQRSDFHDNRYQKVLTLSLGQVDFQHAGNYSCVASNVQGKHSTSMFFRV  
VESAYLDLSSEQNLIQEVTVGEGNLKVMVEAYPGLQGFNWTYLGPFSDHQPEP  
KLANATTKDITYRHTFTLSLPRPKPSEAGRYSLARNPGGWRALTFELTLRYPPEV  
SVIWTSSINGSGTLLCAASGYQPNTWLQCAGHTDRCDEAQLVQVWVDPHPEVL  
SQEPFQKVTVQSLLTAETLEHNQTYECRAHNSVSGSGSWAFIPISAGARTHPPDEA
- [0355] AAEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE  
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI  
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHE  
ALHNHYTQKSLSLSP
- [0356] 抗体2的重链 (SEQ ID NO:35)

- EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS  
GGKTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLWHAFD  
HWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS  
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV  
[0357] EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP  
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV  
SNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV  
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH  
NHYTQKSLSLSPGK
- [0358] 抗体3的重链 (SEQ ID NO:36)  
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS  
GGKTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLWHAFD  
HWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS  
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV  
[0359] EPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP  
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV  
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV  
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH  
NHYTQKSLSLSPG
- [0360] 抗体4的重链 (SEQ ID NO:37)  
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS  
GGKTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRGYLWHAFD  
[0361] HWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS  
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVNHDHKPSNTKVDKTV  
ERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF  
NWXVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGL  
[0362] LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES  
NGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY  
TQKSLSLSPG
- [0363] 多肽单抗的重链 (SEQ ID NO:38)

- QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYDFTRYINWVRQAPGQGLEWMGWINP  
GSGNTKYNEKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGITVYWGQ  
GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT  
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS  
[0364] CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF  
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA  
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES  
NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY  
TQKSLSLSPG
- [0365] 多奈单抗的轻链 (SEQ ID NO:39)  
DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLLIYAV  
SKLD SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEI
- [0366] KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  
ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0367] 抗N3pG抗体的重链 (SEQ ID NO:40)  
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS  
GGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYYN  
GFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS  
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
- [0368] KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH  
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK  
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD  
IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE  
ALHNHYTQKSLSLSPG
- [0369] 抗N3pG抗体的轻链 (SEQ ID NO:41)  
DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLE  
SGVPSRFSGSGGTFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIKRTVA
- [0370] APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ  
DSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

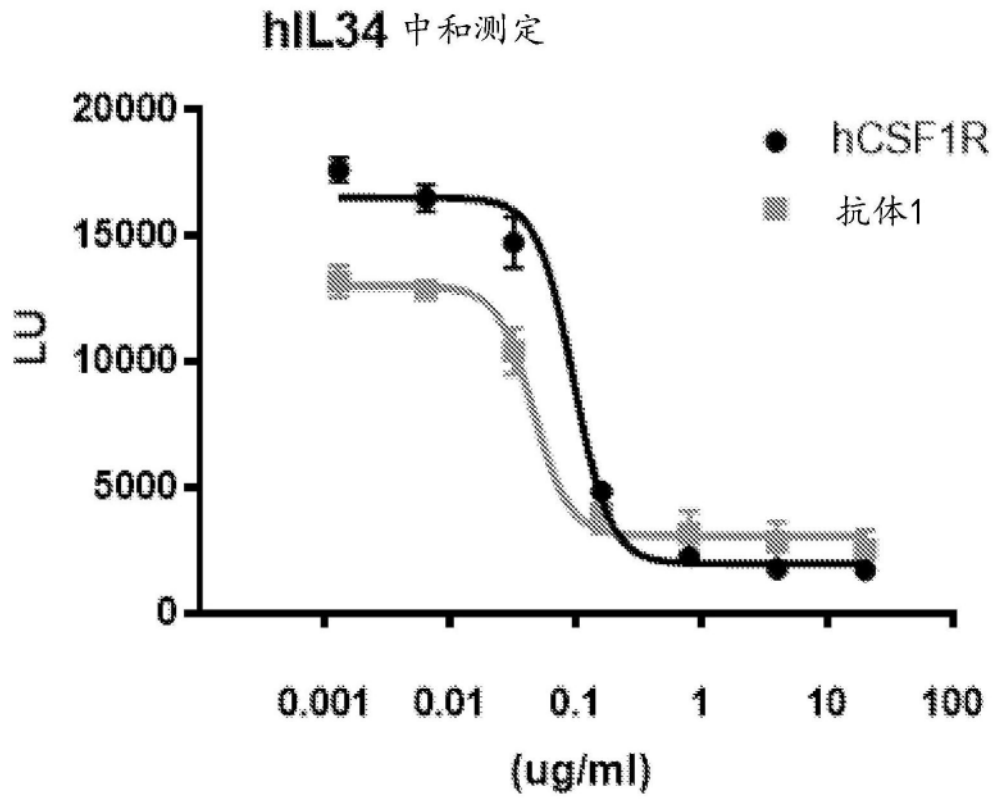


图1