【19】中華民國　　【12】專利公報　（B）

【11】證書號數：I940753
【45】公告日： 中華民國 115 (2026) 年 10 月 01 日
【51】Int. Cl.：　*C07K16/10　(2026.01)*　*A61K39/42　(2006.01)*
A61P31/16　(2006.01)

發明　　全 11 頁

【54】名　　稱：中和性抗流感 A 抗體及其用途

【21】申請案號：112102506　　【22】申請日： 中華民國 103 (2014) 年 10 月 02 日
【11】公開編號：202342512　　【43】公開日期： 中華民國 112 (2023) 年 11 月 01 日
【30】優 先 權：　2013/10/02　美國　61/885,808
2014/05/23　美國　62/002,414

【72】發 明 人：　班傑明　伊伯尼 (US) BENJAMIN, EBONY；卡利瓦德　利來　妮可 (US) KALLEWAARD-LELAY, NICOLE；麥卡里福　喬瑟芬　瑪莉 (US) MCAULIFFE, JOSEPHINE MARY；寶馬希爾　法蘭 (US) PALMER-HILL, FRAN；瓦洽特　萊斯里 (US) WACHTER, LESLIE；元　安迪 (US) YUAN, ANDY；朱　慶 (US) ZHU, QING；蔻迪　大衛 (IT) CORTI, DAVIDE；藍瑞福齊亞　安東尼 (IT) LANZAVECCHIA, ANTONIO；古拉諾　芭芭拉 (CH) GUARINO, BARBARA；狄馬可　安那 (IT) DEMARCO, ANNA
【71】申 請 人：　美商麥迪紐有限責任公司　MEDIMMUNE, LLC
美國
瑞士商漢貝斯生物醫藥公司　HUMABS BIOMED SA
瑞士
【74】代 理 人：　陳長文；朱淑尹

【56】參考文獻：
US　2010/0080813A1

審查人員：劉芷綺

【57】申請專利範圍

1. 一種經分離抗體或其結合片段，其具有變異 Fc 區，其中該經分離抗體或其結合片段能夠結合至流感 A 病毒血球凝集素且中和流感 A 病毒之至少一個第 1 群亞型及至少 1 個第 2 群亞型且相對於天然 Fc 抗體具有增加的血清半衰期，其中具有該變異 Fc 區之該經分離抗體或其結合片段對 FcRn 具有增加的結合親和力，且其中該經分離抗體或其結合片段包含 SEQ ID NO.: 103 之 HCDR1、SEQ ID NO.: 104 之 HCDR2、SEQ ID NO.: 105 之 HCDR3、SEQ ID NO.: 108 之 LCDR1、SEQ ID NO.: 109 之 LCDR2 及 SEQ ID NO.: 110 之 LCDR3。
2. 如請求項 1 之經分離抗體或其結合片段，其中該變異 Fc 區包含在選自以下之藉由 Kabat 中所闡述之 EU 指數編號之一或多個位置處的修飾：221、225、228、234、235、236、237、238、239、240、241、243、244、245、247、250、251、252、254、255、256、257、262、263、264、265、266、267、268、269、279、280、284、292、296、297、298、299、305、308、313、316、318、320、322、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、339、341、343、370、373、378、392、416、419、421、428、433、434、435、436、440 及 443。
3. 如請求項 2 之經分離抗體或其結合片段，其中該修飾係選自取代、插入及缺失。

4. 如請求項 2 之經分離抗體或其結合片段，其中該變異 Fc 區包含選自以下之藉由 Kabat 中所闡述之 EU 指數編號之至少一個取代：221K、221Y、225E、225K、225W、228P、234D、234E、234N、234Q、234T、234H、234Y、234I、234V、234F、235A、235D、235R、235W、235P、235S、235N、235Q、235T、235H、235Y、235I、235V、235E、235F、236E、237L、237M、237P、239D、239E、239N、239Q、239F、239T、239H、239Y、240I、240A、240T、240M、241W、241L、241Y、241E、241R、243W、243L、243Y、243R、243Q、244H、245A、247L、247V、247G、250E、250Q、251F、252L、252Y、254S、254T、255L、256E、256F、256M、257C、257M、257N、262I、262A、262T、262E、263I、263A、263T、263M、264L、264I、264W、264T、264R、264F、264M、264Y、264E、265A、265G、265N、265Q、265Y、265F、265V、265I、265L、265H、265T、266I、266A、266T、266M、267Q、267L、268E、269H、269Y、269F、269R、270E、280A、284M、292P、292L、296E、296Q、296D、296N、296S、296T、296L、296I、296H、296G、297S、297D、297E、298A、298H、298I、298T、298F、299I、299L、299A、299S、299V、299H、299F、299E、305I、308F、313F、316D、318A、318S、320A、320S、322A、322S、325Q、325L、3251、325D、325E、325A、325T、325V、325H、326A、326D、326E、326G、326M、326V、327G、327W、327N、327L、328S、328M、328D、328E、328N、328Q、328F、3281、328V、328T、328H、328A、329F、329H、329Q、330K、330G、330T、330C、330L、330Y、330V、3301、330F、330R、330H、331G、331A、331L、331M、331F、331W、331K、331Q、331E、331S、331V、3311、331C、331Y、331H、331R、331N、331D、331T、332D、332S、332W、332F、332E、332N、332Q、332T、332H、332Y、332A、333A、333D、333G、333Q、333S、333V、334A、334E、334H、334L、334M、334Q、334V、334Y、339T、370E、370N、378D、392T、396L、416G、419H、421K、428L、428F、433K、433L、434A、434W、434Y、436H、440Y 及 443W。
5. 如請求項 2 之經分離抗體或其結合片段，其中該變異 Fc 區包含在選自 428 及 434 之藉由 Kabat 中所闡述之 EU 指數編號之位置處的一或多個修飾。
6. 如請求項 2 之經分離抗體或其結合片段，其中該變異 Fc 區包含在選自 428 及 434 之藉由 Kabat 中所闡述之 EU 指數編號之位置處的一或多個胺基酸取代。
7. 如請求項 4 之經分離抗體或其結合片段，其中該變異 Fc 區包含選自 428L、428F、434A、434W 及 434Y 之一或多個胺基酸取代。
8. 如請求項 2 之經分離抗體或其結合片段，其中該變異 Fc 區包含在選自 252、254、256 之藉由 Kabat 中所闡述之 EU 指數編號之位置處的一或多個修飾。
9. 如請求項 8 之經分離抗體或其結合片段，其中該變異 Fc 區包含在選自 252Y、254T 及 256E 的一或多個胺基酸取代。
10. 如請求項 9 之經分離抗體或其結合片段，其中該變異 Fc 區包含胺基酸取代 252Y、254T 及 256E。
11. 如請求項 1 之經分離抗體或其結合片段，其中該變異 Fc 區為野生型人類 IgG4 Fc 區之變體。
12. 如請求項 1 之經分離抗體或其結合片段，其包含 SEQ ID NO.: 102 之 VH 及 SEQ ID NO.: 107 之 VL，其中該變異 Fc 區包含選自 428L、428F、434A、434W 及 434Y 之一或多個胺基酸取代。

13. 如請求項 1 至 11 中任一項之經分離抗體或其結合片段，其包含 SEQ ID NO.: 102 之 VH 及 SEQ ID NO.: 107 之 VL。
14. 一種經分離核酸，其編碼如請求項 1 至 13 中任一項之經分離抗體或其結合片段。
15. 一種載體，其包含如請求項 14 之經分離核酸。
16. 一種宿主細胞，其包含如請求項 14 之經分離核酸。
17. 一種製造如請求項 1 至 13 中任一項之經分離抗體或其結合片段的方法，其包含在適合於表現該經分離抗體或其結合片段之條件下培養如請求項 16 之宿主細胞。
18. 如請求項 17 之方法，其另外包含自該宿主細胞培養物分離該經分離抗體或其結合片段。
19. 一種組合物，其包含如請求項 1 至 13 中任一項之經分離抗體或其結合片段，及醫藥學上可接受之載劑。
20. 一種組合物，其包含在 pH 6.0 下之如請求項 1 至 13 中任一項之經分離抗體或其結合片段、25 mM His 及 0.15 M NaCl。
21. 如請求項 1 之經分離抗體或其結合片段，其用於預防或治療個體之流感 A 感染。
22. 一種如請求項 1 至 13 中任一項之經分離抗體或其結合片段之用途，其用於製造用於預防或治療個體之流感 A 感染的藥劑。
23. 一種如請求項 1 至 13 中任一項之經分離抗體或其結合片段與小分子抗病毒組合物之組合的用途，其係用於製備預防或治療個體之流感 A 感染的藥物。
24. 如請求項 23 之用途，其中該小分子抗病毒組合物為神經醯胺酶抑制劑或金剛烷(adamantane)。
25. 如請求項 23 之用途，其中該小分子抗病毒組合物係選自奧司他韋(oseltamivir)、紮那米韋(zanamivir)、金剛胺(amantadine)、金剛乙胺(rimantadine)及其組合。
26. 一種如請求項 1 至 13 中任一項之抗體或其結合片段之用途，其用活體外診斷個體之流感 A 感染。

圖式簡單說明

圖 1：圖 1A 展示抗體 3 及抗體 12 與表面表現之 HA 蛋白質之亞型 H11、H12、H13、H16、H17、H4、H10、H14 及 H15 之結合。直方圖描繪細胞數目對比結合至以白色表示之 HA 轉染細胞或以灰色表示之模擬物轉染細胞之抗體的螢光強度。圖 1B 展示在抗體 3、抗體 12 或 MPE8v3(非相關病毒融合蛋白質抗體)存在下低 pH 值誘發之雞紅血球與 A/Puerto Rico/8/34 融合之抑制百分比(Corti D 等人, 2013, Nature 501)。圖 1C 及 1D 展示在用胰蛋白酶分解 5、10 或 20 分鐘後未裂解(HA0)、重組 H1 HA 之免疫墨點。1C 中之分解反應物含有僅 HA (輸入物)、或用 FI6v4 預處理之 HA(揭示於 WO2013/011347A1 中)、抗體 3、FE17.23(球狀頭特異性 mAb)(Corti D 等人, 2010, J Clin Invest 120)或非相關對照抗體(對照 IgG)，且 1D 中之分解反應物含有僅 HA (輸入物)、或用抗體 3 預處理之 HA、抗體 12、抗體 14 或非相關對照抗體(對照 IgG)。

圖 2 展示在增加量之抗體 3、抗體 11、抗體 12 及抗體 14 存在下 NK 細胞介導之殺死感染 A/HK/8/68 之 MDCK 細胞的百分比。

圖 3 展示在增加量之抗體 3、抗體 11、抗體 12 及抗體 14 或非相關同型對照(對照 IgG)存在下吞噬表現 A/HK/8/68 HA 之 MDCK 目標細胞之巨噬細胞的百分比。

圖 4 展示在增加量之抗體 3、抗體 11、抗體 12 及抗體 14 存在下補體依賴性殺死 A/PR/8/34 感染之 MDCK 細胞的百分比。

圖 5 展示當在感染致死性劑量之 H1N1 流感病毒前 4 小時向小鼠投與不同濃度之抗體 3 或非相關對照抗體(對照 IgG)時，研究之各群中存活動物之百分比。

圖 6 展示當在感染致死性劑量之 H3 流感病毒前 4 小時向小鼠投與不同濃度之抗體 3 或非相關對照抗體(對照 IgG)時，研究之各群中存活動物之百分比。

圖 7 展示當小鼠感染致死性劑量之 H1N1 流感病毒且在不同時間點(感染後 1 天及 2 天)用 30 mg/kg 抗體 3 或非相關對照抗體(對照 IgG)處理時，各群中存活動物之百分比。

圖 8 展示小鼠感染致死性劑量之 H3 流感病毒且在不同時間點(感染後 3、4 及 5 天)用 30 mg/kg 抗體 3 或非相關對照抗體(對照 IgG)處理之研究之各群中存活動物的百分比。

圖 9 展示小鼠感染致死性劑量之 H1N1 流感病毒且在感染後 1 天用 2 mg/kg 抗體 3、抗體 11、抗體 12、抗體 14 或非相關對照抗體(對照 IgG)處理之研究之各群中存活動物的百分比。

圖 10 展示小鼠感染致死性劑量之 H3 流感病毒且在感染後 2 天用 3 mg/kg 抗體 3、抗體 11、抗體 12、抗體 14 或非相關對照抗體(對照 IgG)處理之研究之各群中存活動物的百分比。

圖 11 展示小鼠感染致死性劑量之 H1N1 流感病毒且在不同時間點(感染前 4 小時、感染後 1 天或感染後 2 天)開始 25 mg/kg BID 奧司他韋持續 5 天、10 mg/kg 抗體 12 或 10 mg/kg 非相關對照抗體(對照 IgG)處理之研究之各群中存活動物的百分比。

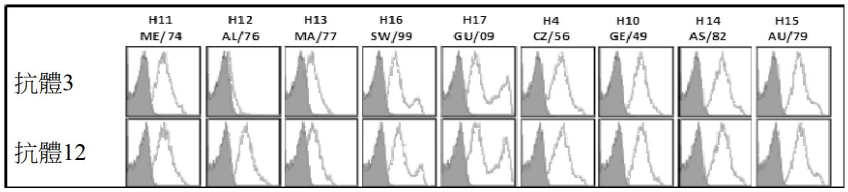
圖 12 展示小鼠感染致死性劑量之 H3 流感病毒且在不同時間點(感染後 1、2、3 或 4 天)開始 25 mg/kg 口服奧司他韋每日兩次(BID)持續 5 天、或單次劑量 10 mg/kg 抗體 12、或 10 mg/kg 非相關對照抗體(對照 IgG)處理之研究之各群中存活動物的百分比。

圖 13 展示小鼠感染致死性劑量之 H3 流感病毒且在感染後 2 天用 2.5 mg/kg 或 0.3 mg/kg 單次劑量之抗體 12、25 mg/kg BID 奧司他韋持續 5 天、或 2.5 mg/kg 或 0.3 mg/kg 抗體 12 與 25 mg/kg BID 奧司他韋持續 5 天之組合處理之研究中各群之存活動物的百分比。

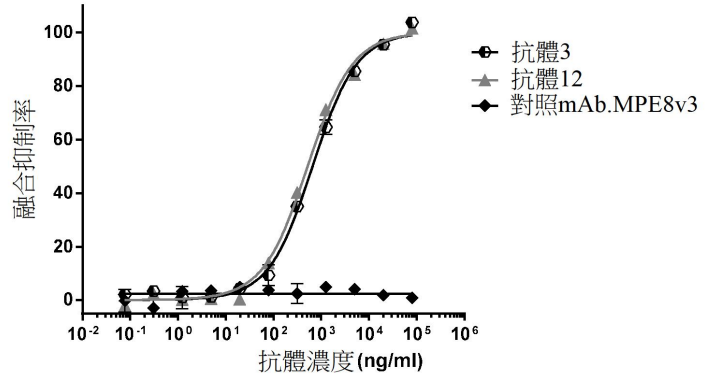
圖 14 展示在感染致死性劑量之 H5N1 流感病毒且在感染後 1、2 或 3 天用 25 mg/kg 單次劑量抗體 12、25 mg/kg BID 奧司他韋持續 5 天或非相關對照抗體(對照 IgG)處理後之研究之各群中存活白鼬的百分比。

圖 15 展示用於 MARM 選擇之流感 A 病毒株之 HA2 蛋白質的比對(依序分別為 SEQ ID NO: 169 至 172)。

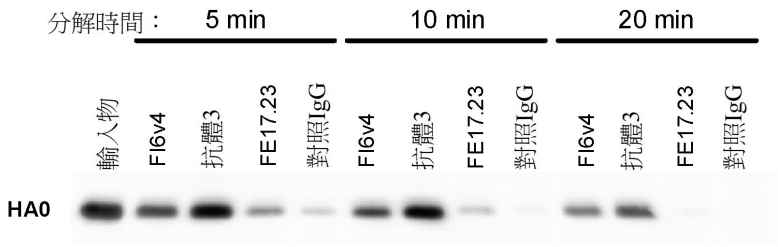
A.


H11 ME/74
H12 AL/76
H13 MA/77
H16 SW/99
H17 GU/09
H4 CZ/56
H10 GE/49
H14 AS/82
H15 AU/79
抗體3
抗體12

B.

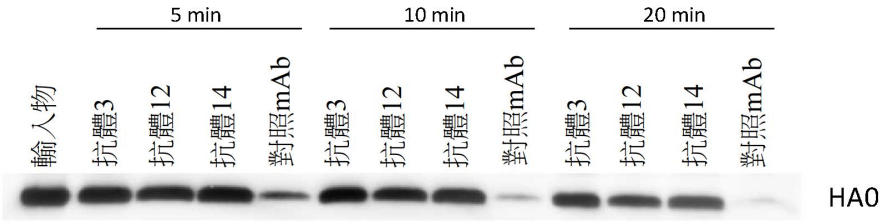

融合抑制率
抗體濃度 (ng/ml)
抗體3
抗體12
對照mAb.MPE8v3

C.

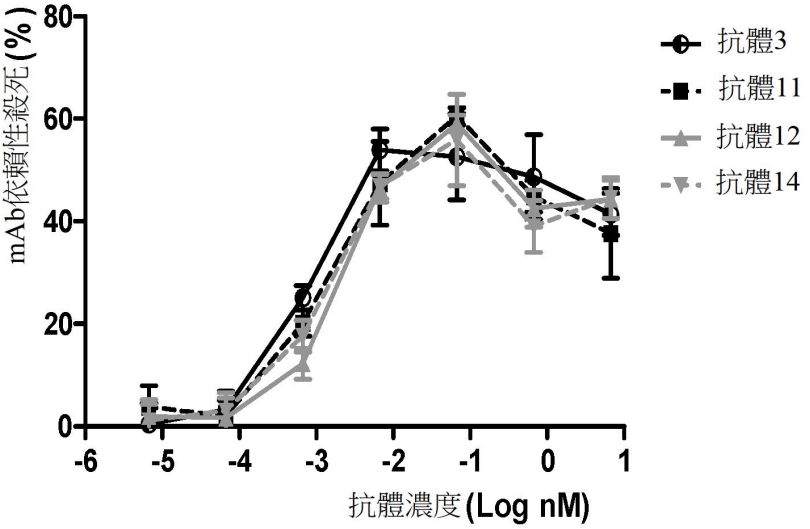

分解時間：
5 min
10 min
20 min
輸入物
FI6v4
抗體3
FE17.23
對照IgG
HA0

【圖1】

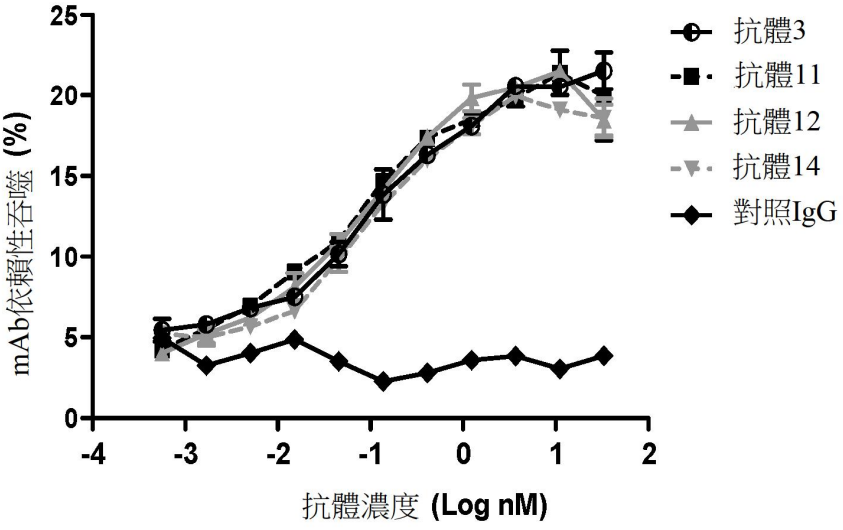
D.


5 min
10 min
20 min
輸入物
抗體3
抗體12
抗體14
對照mAb
HA0

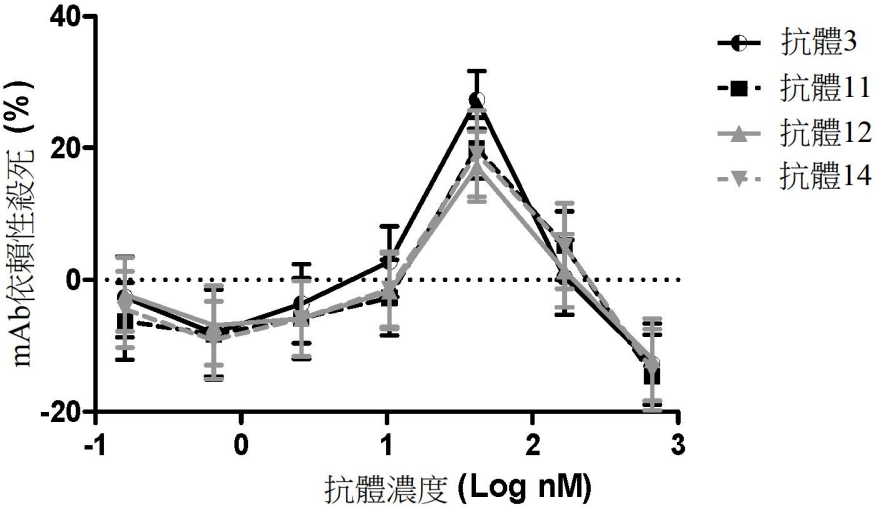
【圖1】(續)


mAb依賴性殺死 (%)
80
60
40
20
0
-6
-5
-4
-3
-2
-1
0
1
抗體濃度 (Log nM)
抗體3
抗體11
抗體12
抗體14

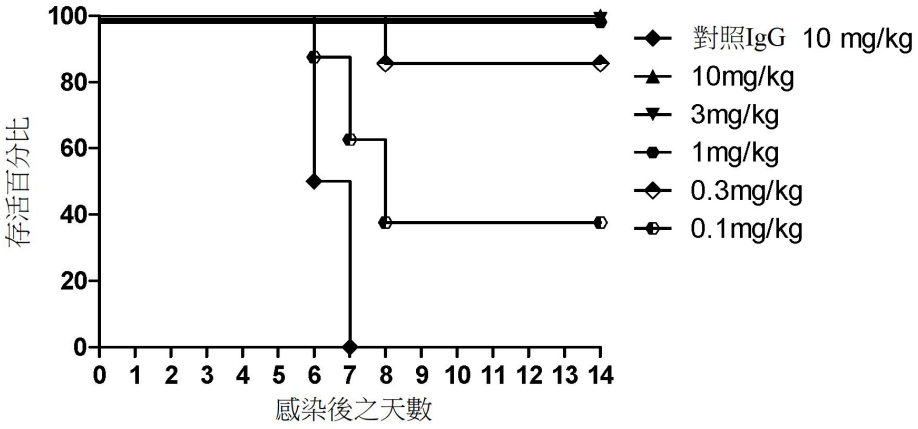
【圖2】


mAb依賴性吞噬 (%)
25
20
15
10
5
0
-4
-3
-2
-1
0
1
2
抗體濃度 (Log nM)
抗體3
抗體11
抗體12
抗體14
對照IgG

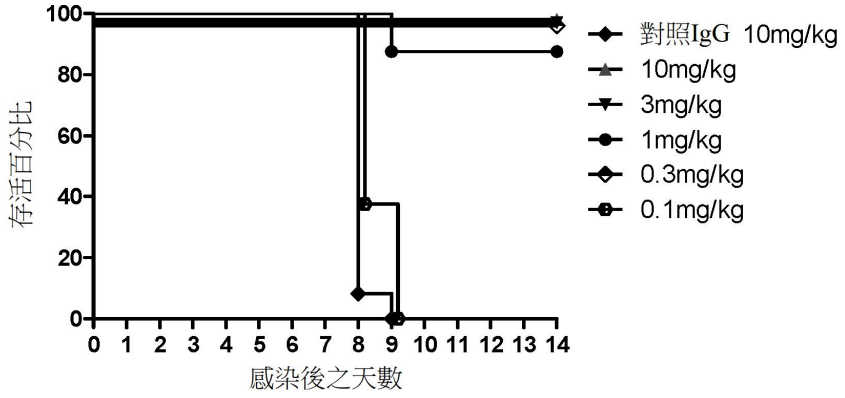
【圖3】


40
20
0
-20
-1
0
1
2
3
mAb依賴性殺死 (%)
抗體濃度 (Log nM)
抗體3
抗體11
抗體12
抗體14

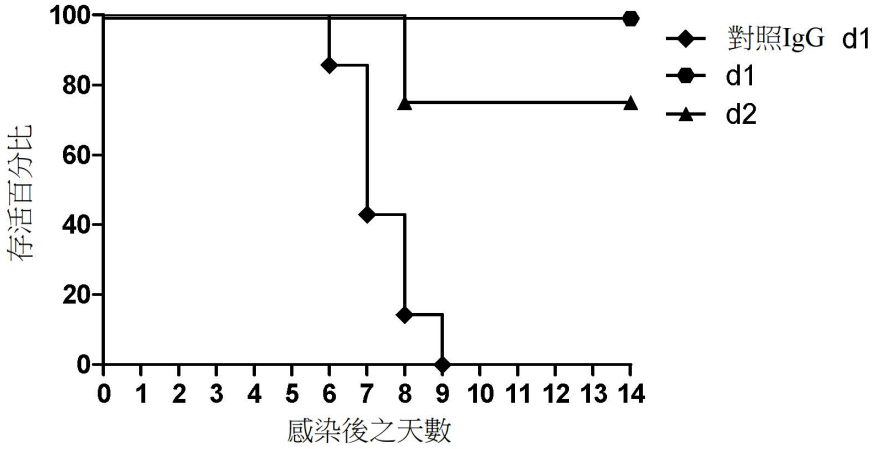
【圖4】


100
80
60
40
20
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
存活百分比
感染後之天數
對照IgG 10 mg/kg
10mg/kg
3mg/kg
1mg/kg
0.3mg/kg
0.1mg/kg

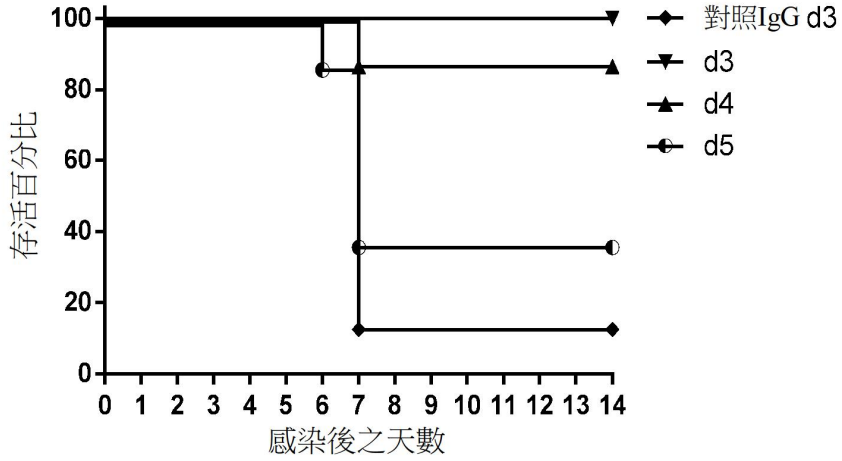
【圖5】


100
80
60
40
20
0
存活百分比
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
感染後之天數
對照IgG 10mg/kg
10mg/kg
3mg/kg
1mg/kg
0.3mg/kg
0.1mg/kg

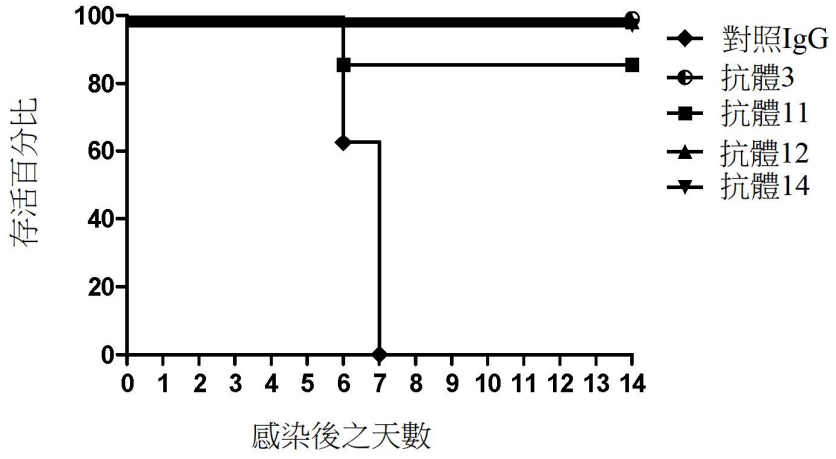
【圖6】


100
80
60
40
20
0
存活百分比
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
感染後之天數
對照IgG d1
d1
d2

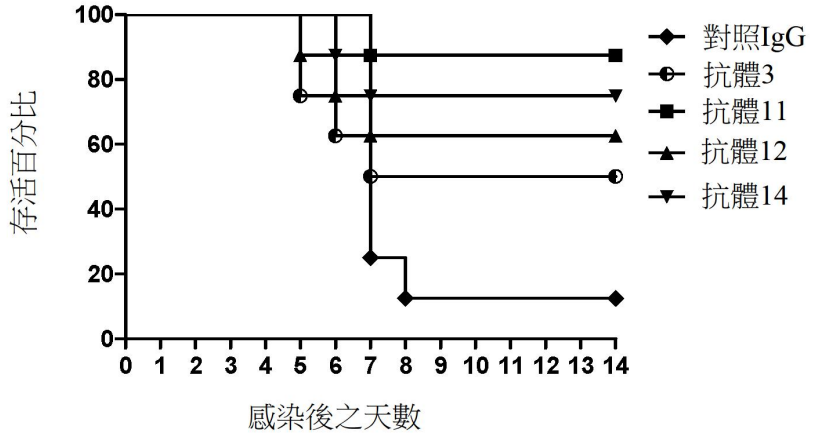
【圖7】


100
80
60
40
20
0
存活百分比
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
感染後之天數
對照IgG d3
d3
d4
d5

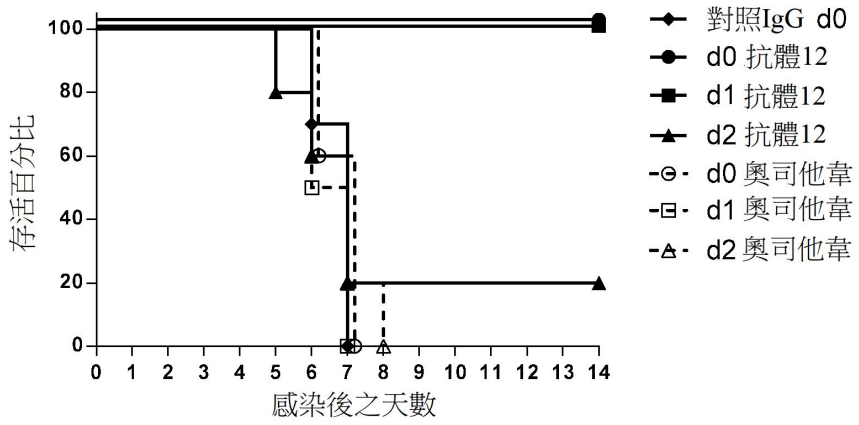
【圖8】


100
80
60
40
20
0
存活百分比
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
感染後之天數
對照IgG
抗體3
抗體11
抗體12
抗體14

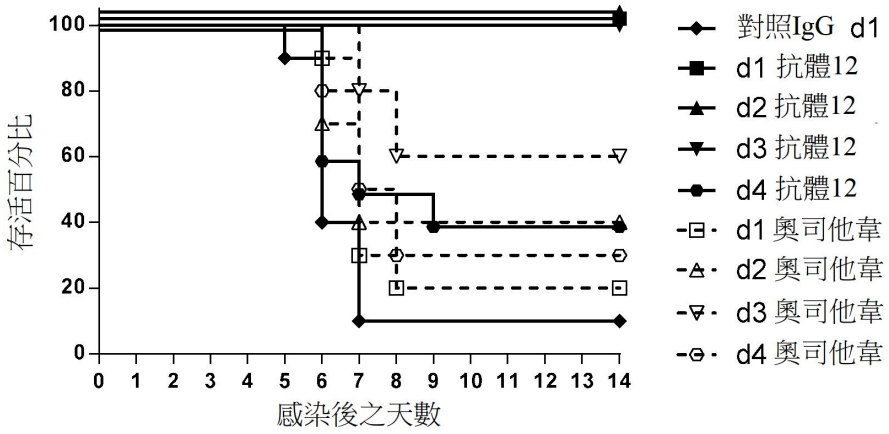
【圖9】


100
80
60
40
20
0
存活百分比
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
感染後之天數
對照IgG
抗體3
抗體11
抗體12
抗體14

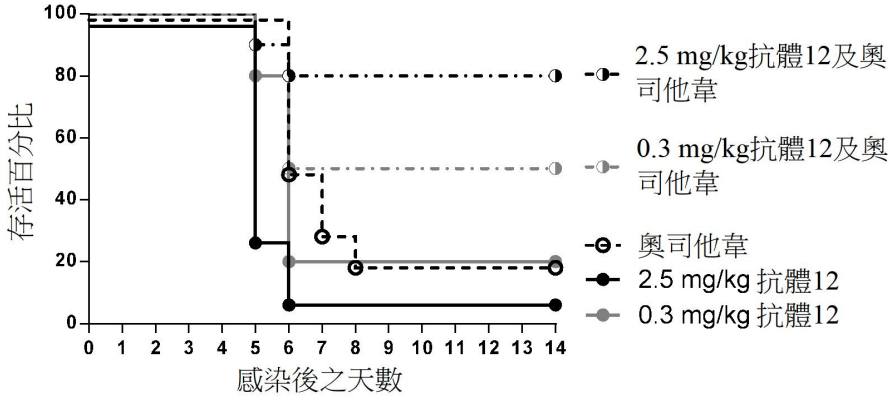
【圖10】


存活百分比
感染後之天數
對照IgG d0
d0 抗體12
d1 抗體12
d2 抗體12
d0 奧司他韋
d1 奧司他韋
d2 奧司他韋

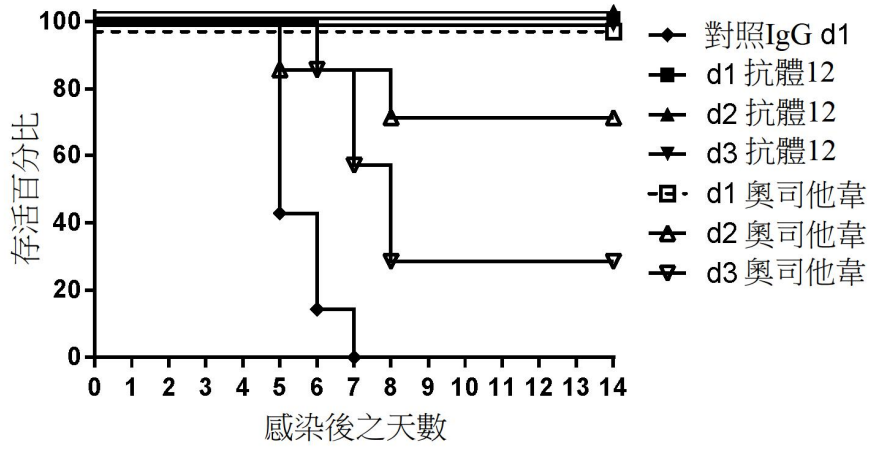
【圖11】


存活百分比
感染後之天數
對照IgG d1
d1 抗體12
d2 抗體12
d3 抗體12
d4 抗體12
d1 奧司他韋
d2 奧司他韋
d3 奧司他韋
d4 奧司他韋

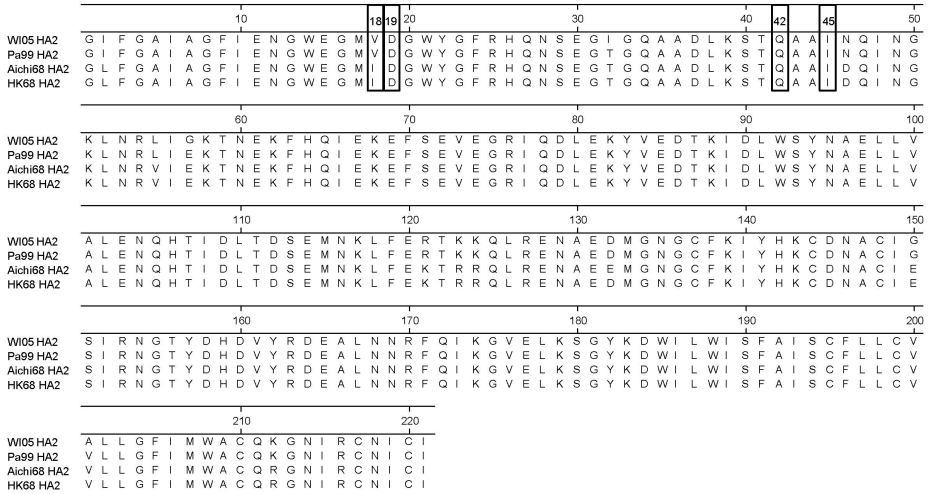
【圖12】


存活百分比
感染後之天數
2.5 mg/kg抗體12及奧司他韋
0.3 mg/kg抗體12及奧司他韋
奧司他韋
2.5 mg/kg 抗體12
0.3 mg/kg 抗體12

【圖13】


100
80
60
40
20
0
存活百分比
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
感染後之天數
對照IgG d1
d1 抗體12
d2 抗體12
d3 抗體12
d1 奧司他韋
d2 奧司他韋
d3 奧司他韋

【圖14】


WI05 HA2
Pa99 HA2
Aichi68 HA2
HK68 HA2

【圖15】