



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115698075 A

(43) 申请公布日 2023. 02. 03

(21) 申请号 202180041103.0

S. 希尔施费尔德

(22) 申请日 2021.04.12

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

(30) 优先权数据

11105

63/009,555 2020.04.14 US

专利代理师 涂滔

63/110,094 2020.11.05 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int.Cl.

2022.12.07

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61P 35/00 (2006.01)

PCT/EP2021/059377 2021.04.12

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/209357 EN 2021.10.21

(71) 申请人 葛兰素史密斯克莱知识产权发展有限公司  
地址 英国米德尔塞克斯

权利要求书6页 说明书131页

(72) 发明人 M.S.巴拉斯 C.E.埃利斯

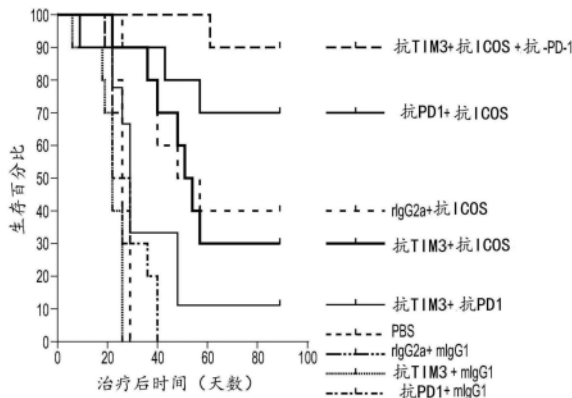
序列表31页 附图8页

## (54) 发明名称

涉及抗ICOS和抗PD1抗体,任选地进一步涉及抗TIM3抗体的癌症的组合治疗

## (57) 摘要

本发明涉及治疗癌症如头颈癌(例如头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、肺癌(例如非小细胞肺癌)、尿路上皮癌、黑素瘤或宫颈癌的方法,该方法涉及ICOS结合蛋白(例如抗ICOS抗体)和PD-1结合蛋白(例如抗PD-1抗体)以及任选地TIM-3结合蛋白(例如抗TIM-3抗体)的组合。



1. 用于治疗癌症的组合,其包含:ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

2. 根据权利要求1所定义的使用的组合,其进一步包含TIM-3结合蛋白,所述TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:30的CDRH1、SEQ ID NO:31的CDRH2和SEQ ID NO:32的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:33的CDRL1、SEQ ID NO:34的CDRL2和SEQ ID NO:35的CDRL3的轻链氨基酸序列。

3. 根据权利要求1或权利要求2所定义的使用的组合,其中所述ICOS结合蛋白包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区( $V_H$ )和/或与SEQ ID NO:8的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区( $V_L$ )。

4. 根据权利要求3所定义的使用的组合,其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的 $V_H$ 以及含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的 $V_L$ 。

5. 根据权利要求1至4中任一项所定义的使用的组合,其中所述ICOS结合蛋白包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

6. 根据权利要求5所定义的使用的组合,其中所述ICOS结合蛋白包含SEQ ID NO:9的重链氨基酸序列以及SEQ ID NO:10的轻链氨基酸序列。

7. 根据权利要求1至6中任一项所定义的使用的组合,其中所述PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区( $V_H$ )和/或与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区( $V_L$ )。

8. 根据权利要求7所定义的使用的组合,其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的 $V_H$ 以及含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的 $V_L$ 。

9. 根据权利要求1至8中任一项所定义的使用的组合,其中所述PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

10. 根据权利要求9所定义的使用的组合,其中所述PD-1结合蛋白包含SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列以及SEQ ID NO:22的轻链氨基酸序列。

11. 根据权利要求2至10中任一项所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白包含与SEQ ID NO:36的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区( $V_H$ )和/或与SEQ ID NO:37的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区( $V_L$ )。

12. 根据权利要求11所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的 $V_H$ 以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的 $V_L$ 。

13. 根据权利要求2至12中任一项所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白包含与SEQ ID NO:38的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

14. 根据权利要求13所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白包含SEQ ID NO:38

的重链氨基酸序列以及SEQ ID NO:39的轻链氨基酸序列。

15. 用于治疗癌症的组合,其包含:ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,所述ICOS结合蛋白包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列以及与SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列;所述PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列以及与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

16. 根据权利要求15所定义的使用的组合,其进一步包含TIM-3结合蛋白,所述TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:30的CDRH1、SEQ ID NO:31的CDRH2和SEQ ID NO:32的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:33的CDRL1、SEQ ID NO:34的CDRL2和SEQ ID NO:35的CDRL3的轻链氨基酸序列。

17. 根据权利要求1至16中任一项所定义的使用的组合,其中所述ICOS结合蛋白是单克隆抗体或其抗原结合片段。

18. 根据权利要求1至17中任一项所定义的使用的组合,其中所述ICOS结合蛋白是IgG4单克隆抗体。

19. 根据权利要求1至18中任一项所定义的使用的组合,其中所述PD-1结合蛋白是单克隆抗体或其抗原结合片段。

20. 根据权利要求1至19中任一项所定义的使用的组合,其中所述PD-1结合蛋白是IgG4单克隆抗体。

21. 根据权利要求2至20中任一项所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白是单克隆抗体或其抗原结合片段。

22. 根据权利要求2至21中任一项所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白是IgG4单克隆抗体。

23. 根据权利要求1至22中任一项所定义的使用的组合,其用于治疗人中的癌症。

24. 根据权利要求1至23中任一项所定义的使用的组合,其中所述癌症选自阑尾癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、食管癌、输卵管癌、胃癌、胶质瘤(如弥漫性内生性脑桥胶质瘤)、头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、白血病(特别是急性成淋巴细胞性白血病、急性髓性白血病)、肺癌(特别是非小细胞肺癌)、淋巴瘤(特别是霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤)、黑素瘤、间皮瘤(特别是恶性胸膜间皮瘤)、梅克尔细胞癌、成神经细胞瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、前列腺癌、肾癌、涎腺肿瘤、肉瘤(特别是尤因氏肉瘤或横纹肌肉瘤)、鳞状细胞癌、软组织肉瘤、胸腺瘤、甲状腺癌、尿路上皮癌、子宫癌、阴道癌、外阴癌或维尔姆斯瘤。

25. 根据权利要求24所定义的使用的组合,其中所述癌症选自宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、肺癌(特别是非小细胞肺癌)、淋巴瘤(特别是非霍奇金淋巴瘤)、间皮瘤、黑素瘤、口腔癌、甲状腺癌、尿路上皮癌或子宫癌。

26. 根据权利要求25所定义的使用的组合,其中所述癌症选自头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、肺癌(特别是非小细胞肺癌)、尿路上皮癌、黑素瘤或宫颈癌。

27. 根据权利要求1至26中任一项所定义的使用的组合,其用于并行或序贯使用。

28. 用于治疗人中的癌症的ICOS结合蛋白,其包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、

SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中所述ICOS结合蛋白待与PD-1结合蛋白组合施用,所述PD-1结合蛋白包含SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

29. 用于治疗癌症的PD-1结合蛋白,其包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中所述PD-1结合蛋白待与ICOS结合蛋白组合施用,所述ICOS结合蛋白包含SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列。

30. 根据权利要求28或29使用的ICOS结合蛋白或PD-1结合蛋白,其中所述ICOS结合蛋白或PD-1结合蛋白待进一步与TIM-3结合蛋白组合施用,所述TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:30的CDRH1、SEQ ID NO:31的CDRH2和SEQ ID NO:32的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:33的CDRL1、SEQ ID NO:34的CDRL2和SEQ ID NO:35的CDRL3的轻链氨基酸序列。

31. 用于治疗有此需要的受试者中的癌症的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的组合,所述组合包含:ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

32. 根据权利要求31所定义的方法,其进一步包括施用治疗有效量的TIM-3结合蛋白,所述TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:30的CDRH1、SEQ ID NO:31的CDRH2和SEQ ID NO:32的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:33的CDRL1、SEQ ID NO:34的CDRL2和SEQ ID NO:35的CDRL3的轻链氨基酸序列。

33. 根据权利要求31或权利要求32所定义的方法,其中所述ICOS结合蛋白包含与SEQ ID NO:7的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区( $V_H$ )和/或与SEQ ID NO:8的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区( $V_L$ )。

34. 根据权利要求33所定义的方法,其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的 $V_H$ 以及含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的 $V_L$ 。

35. 根据权利要求31至34中任一项所定义的方法,其中所述ICOS结合蛋白包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

36. 根据权利要求35所定义的方法,其中所述ICOS结合蛋白包含SEQ ID NO:9的重链氨基酸序列以及SEQ ID NO:10的轻链氨基酸序列。

37. 根据权利要求31至36中任一项所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区( $V_H$ )和/或与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区( $V_L$ )。

38. 根据权利要求37所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的 $V_H$ 以及含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的 $V_L$ 。

39. 根据权利要求31至38中任一项所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

40. 根据权利要求39所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白包含SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列以及SEQ ID NO:22的轻链氨基酸序列。

41. 根据权利要求32至40中任一项所定义的方法,其中所述TIM-3结合蛋白包含与SEQ ID NO:36的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区( $V_H$ )和/或与SEQ ID NO:37的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区( $V_L$ )。

42. 根据权利要求41所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的 $V_H$ 以及含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的 $V_L$ 。

43. 根据权利要求32至42中任一项所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白包含与SEQ ID NO:38的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:39的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

44. 根据权利要求43所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白包含SEQ ID NO:38的重链氨基酸序列以及SEQ ID NO:39的轻链氨基酸序列。

45. 根据权利要求31至44中任一项所定义的方法,其中所述ICOS结合蛋白是单克隆抗体或其抗原结合片段。

46. 根据权利要求31至45中任一项所定义的方法,其中所述ICOS结合蛋白是IgG4单克隆抗体。

47. 根据权利要求31至46中任一项所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白是单克隆抗体或其抗原结合片段。

48. 根据权利要求31至47中任一项所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白是IgG4单克隆抗体。

49. 根据权利要求32至48中任一项所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白是单克隆抗体或其抗原结合片段。

50. 根据权利要求32至49中任一项所定义的使用的组合,其中所述TIM-3结合蛋白是IgG4单克隆抗体。

51. 根据权利要求31至50中任一项所定义的方法,其中所述受试者是人。

52. 根据权利要求31至51中任一项所定义的方法,其中所述癌症选自阑尾癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、食管癌、输卵管癌、胃癌、胶质瘤(如弥漫性内生性脑桥胶质瘤)、头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、白血病(特别是急性成淋巴细胞性白血病、急性髓性白血病)、肺癌(特别是非小细胞肺癌)、淋巴瘤(特别是霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤)、间皮瘤(特别是恶性胸膜间皮瘤)、黑素瘤、梅克尔细胞癌、成神经细胞瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、前列腺癌、肾癌、涎腺肿瘤、肉瘤(特别是尤因氏肉瘤或横纹肌肉瘤)、鳞状细胞癌、软组织肉瘤、胸腺瘤、甲状腺癌、尿路上皮癌、子宫癌、阴道癌、外阴癌或维尔姆斯瘤。

53. 根据权利要求52所定义的方法,其中所述癌症选自宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、

头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、肺癌(特别是非小细胞肺癌)、淋巴瘤(特别是非霍奇金淋巴瘤)、间皮瘤、黑素瘤、口腔癌、甲状腺癌、尿路上皮癌或子宫癌。

54. 根据权利要求53所定义的方法,其中所述癌症选自头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、肺癌(特别是非小细胞肺癌)、尿路上皮癌、黑素瘤或宫颈癌。

55. 根据权利要求31至54中任一项所定义的方法,其中所述结合蛋白同时施用。

56. 根据权利要求31至54中任一项所定义的方法,其中所述结合蛋白序贯施用。

57. 根据权利要求31至56中任一项所定义的方法,其中所述ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用。

58. 根据权利要求31至57中任一项所定义的方法,其中所述ICOS结合蛋白以8mg、24mg、48mg、80mg、160mg或240mg的剂量施用。

59. 根据权利要求31至58中任一项所定义的方法,其中所述ICOS结合蛋白以每三周约24mg或约80mg的剂量或者每六周约48mg或约160mg的剂量施用。

60. 根据权利要求31至59中任一项所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用。

61. 根据权利要求31至60中任一项所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。

62. 根据权利要求31至61中任一项所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白以每三周约500mg的剂量或每六周约1000mg的剂量施用。

63. 根据权利要求31至61中任一项所定义的方法,其中所述PD-1结合蛋白以约500mg的第一剂量每三周一次(Q3W)施用达4个周期,继之以约1000mg的第二剂量每六周一次(Q6W)施用。

64. 根据权利要求32至63中任一项所定义的方法,其中所述TIM-3结合蛋白以约5mg至约5000mg的剂量施用。

65. 根据权利要求32至64中任一项所定义的方法,其中所述TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。

66. 根据权利要求32至65中任一项所定义的方法,其中所述TIM-3结合蛋白以300mg的剂量施用。

67. 根据权利要求32至66中任一项所定义的方法,其中所述TIM-3结合蛋白以每3周100mg、300mg或900mg的剂量或每六周100mg、300mg或900mg的剂量施用。

68. 根据权利要求32至66中任一项所定义的方法,其中所述TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量每三周一次(Q3W)施用达4个周期,继之以100mg、300mg或900mg的第二剂量每六周一次(Q6W)施用。

69. ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中所述药物待与PD-1结合蛋白组合施用,所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

70. PD-1结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,所述PD-1结合蛋白包含含有

SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中所述药物待与ICOS结合蛋白组合施用,所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列。

71. 根据权利要求69或权利要求70所定义的ICOS结合蛋白或PD-1结合蛋白的用途,其中所述药物待进一步与TIM-3结合蛋白一起施用,所述TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:30的CDRH1、SEQ ID NO:31的CDRH2和SEQ ID NO:32的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:33的CDRL1、SEQ ID NO:34的CDRL2和SEQ ID NO:35的CDRL3的轻链氨基酸序列。

72. 试剂盒,其包含:

(i) ICOS结合蛋白,所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;

(ii) PD-1结合蛋白,所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列;

(iii) 用于在人的癌症的治疗中组合使用(i)和(ii)的说明书。

73. 试剂盒,其包含:

(i) ICOS结合蛋白,所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;

(ii) PD-1结合蛋白,所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列;

(iii) TIM-3结合蛋白,所述TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:30的CDRH1、SEQ ID NO:31的CDRH2和SEQ ID NO:32的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:33的CDRL1、SEQ ID NO:34的CDRL2和SEQ ID NO:35的CDRL3的轻链氨基酸序列;以及

(iv) 用于在人的癌症的治疗中组合使用(i)和(ii)的说明书。

74. 根据权利要求72或权利要求73所定义的试剂盒,其中所述ICOS结合蛋白处于10mg/mL的浓度;并且所述PD-1结合蛋白处于约20mg/mL至约125mg/mL,如约20mg/mL至约50mg/mL,特别是20mg/mL或50mg/mL的浓度。

75. 根据权利要求73或权利要求74所定义的试剂盒,其中所述TIM-3结合蛋白处于约5mg/mL至约100mg/mL,如约10mg/mL至约40mg/mL,特别是20mg/mL的浓度。

## 涉及抗ICOS和抗PD1抗体,任选地进一步涉及抗TIM3抗体的癌症的组治疗

### [0001] 序列表

[0002] 本即时申请含有已以ASCII格式电子提交的序列表,并且据此通过引用整体并入本文。所述ASCII副本创建于2020年11月5日,名称为PB66867P1\_US\_Seqlist.txt,并且大小为59千字节。

### 发明领域

[0003] 本发明涉及在哺乳动物中治疗癌症的方法以及在此类治疗中有用的组合。特别地,本发明涉及与程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)结合蛋白组合的诱导性T细胞共刺激分子(Inducible T-cell COStimulator,ICOS)结合蛋白。

### [0004] 发明背景

[0005] 有效治疗过度增殖性病症,包括癌症,是肿瘤学领域持续的目标。通常,癌症是由控制细胞分裂、分化和凋亡细胞死亡的正常过程的失调引起的,并且其特征在于具有无限生长、局部扩增和全身转移潜能的恶性细胞的增殖。正常过程的失调包括信号转导途径的异常以及对在正常细胞中存在的因子不同的因子的响应。

[0006] 免疫疗法是治疗过度增殖性病症的一种方法。科学家和临床医师在开发各种类型的癌症免疫疗法时遇到的主要障碍是打破对自体抗原(癌症)的耐受性,以便增强导致肿瘤消退的强有力的抗肿瘤应答。与靶向肿瘤的小分子和大分子药剂的传统开发不同,除其他方面以外,癌症免疫疗法可以靶向具有产生效应细胞记忆库的潜能的免疫系统的细胞,以诱导更持久的效应并使复发最小化。

[0007] 虽然在癌症治疗方面已经存在许多最新进展,但仍然需要对遭受癌症影响的个体更有效和/或增强的治疗。本文的方法解决了这一需求,该方法涉及将用于增强抗肿瘤免疫的治疗方法组合。

### [0008] 发明概述

[0009] 根据本发明的第一方面,提供了用于治疗癌症的组合,该组合包含:ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0010] 根据本发明的进一步的方面,提供了用于治疗癌症的组合,该组合包含:ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,该ICOS结合蛋白包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列以及 SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列;该PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列以及 SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

[0011] 根据本发明的进一步的方面,提供了用于在人中治疗癌症的ICOS结合蛋白,该

ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中该ICOS结合蛋白待与PD-1结合蛋白组合施用,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0012] 根据本发明的进一步的方面,提供了用于治疗癌症的PD-1结合蛋白,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中该PD-1结合蛋白待与ICOS结合蛋白组合施用,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0013] 根据本发明的进一步的方面,提供了用于在有此需要的受试者中治疗癌症的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的组合,该组合包含:ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0014] 根据本发明的进一步的方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中该药物待与PD-1结合蛋白组合施用,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0015] 根据本发明的进一步的方面,提供了PD-1结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中该药物待与ICOS结合蛋白组合施用,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0016] 根据本发明的进一步的方面,提供了试剂盒,其包含:

[0017] (i) ICOS结合蛋白,其包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;

[0018] (ii) PD-1结合蛋白,其包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列;并且可替代地包含

[0019] (iii) 用于在人的癌症的治疗中组合使用(i)和(ii)的说明书。

## 附图说明

[0020] 图1A-1B鼠同系肿瘤模型(EMT-6)中的体内功效研究的结果,其显示出图1A)肿瘤体积生长和图1B)生存曲线。

[0021] 图2实施例2中描述的研究设计的汇总。

[0022] 图3改良毒性概率区间(mTPI)剂量决策规则。列提供了以一定剂量水平治疗的受试者的数量,且行提供了经历DLT(剂量限制性毒性)的相应受试者的数量。表中的条目是分别表示递增剂量、保持于相同剂量以及递减剂量的剂量探索决策(即E、S和D)。此外,决策U指示,当前的剂量水平由于高毒性是不可接受的,并且应当从研究的进一步探索中排除。

[0023] 图4A-4B如实施例2中所述的安全性、实验室、功效、研究治疗程序的时间和事件表。图4A和图4B的表汇总了评估窗口以及评估和程序的排序。

[0024] 图5A-5C如实施例2中所述的药代动力学、免疫原性、生物标志物评估的时间和事件表。图5A、图5B和图5C的表汇总了评估窗口以及评估和程序的排序。

[0025] 图6如实施例2中所述的患者报告的结果评估的时间和事件表。该表汇总了评估窗口以及评估和程序的排序。

[0026] 发明详述

[0027] 定义

[0028] “抗原结合蛋白”(ABP)意指结合抗原的蛋白,包括抗体或以与抗体类似的方式起作用的工程化分子。此类替代的抗体形式包括三链抗体、四链抗体、微型抗体和微抗体。ABP还包括此类抗体或其他分子的抗原结合片段。另外,ABP可包含本发明的 $V_H$ 区,该 $V_H$ 区在与适当的轻链配对时形式化为全长抗体、 $(Fab')_2$ 片段、Fab片段、双特异性或双互补位(biparatopic)的分子或它们的等同物(如scFv、双-、三-或四-链抗体、TANDABS等)。ABP可以包含IgG1、IgG2、IgG3或IgG4;或IgM;IgA、IgE或IgD抗体或它们的修饰变体。可以相应地选择抗体重链的恒定结构域。轻链恒定结构域可以是 $\kappa$ 或 $\lambda$ 恒定结构域。ABP也可以是W086/01533中所述类型的嵌合抗体,其包含抗原结合区和非免疫球蛋白区。术语“ABP”、“抗原结合蛋白”、“结合蛋白”、“抗原结合剂”和“结合剂”在本文中可互换使用。例如,本文公开了ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白。

[0029] “抗原结合位点”是指抗原结合蛋白上能够特异性结合抗原的位点,这可以是单可变结构域,或者其可以是如可见于标准抗体上的成对 $V_H/V_L$ 结构域。单链Fv(scFv)结构域也可以提供抗原结合位点。

[0030] 术语“抗体”在本文中以最广泛的含义用于指包含免疫球蛋白样结构域分子(例如IgG、IgM、IgA、IgD或IgE),并且包括单克隆、重组、多克隆、嵌合、人、人源化、多特异性抗体,包括双特异性抗体和异源缀合抗体;单可变结构域(例如 $V_H$ 、 $V_{HH}$ 、 $V_L$ 、结构域抗体(DAB))、抗原结合抗体片段、Fab、 $F(ab')_2$ 、Fv、二硫键连接的Fv、单链Fv、二硫键连接的scFv、双抗体、TANDABS等,以及任何前述物质的修饰型式(对于替代“抗体”形式的概述,参见例如Holliger和Hudson,Nature Biotechnology,2005,第23卷,第9期,1126-1136)。

[0031] “嵌合抗体”是指一类工程化的抗体,其含有衍生自供体抗体的天然存在的可变区(轻链和重链)联合衍生自受体抗体的轻链和重链恒定区。

[0032] “人源化抗体”是指一类工程化的抗体,其CDR衍生自非人供体免疫球蛋白,分子的剩余免疫球蛋白衍生部分衍生自一种或多种人免疫球蛋白。此外,可以改变框架支持残基以保持结合亲和力(参见例如Queen et al.Proc.Natl Acad Sci USA,86:10029-10032 (1989),Hodgson et al.Bio/Technology,9:421 (1991))。通过与供体抗体的核苷酸和氨基酸序列的同源性,合适的人接受体抗体可以是选自常规数据库例如Kabat数据库、Los Alamos数据库和Swiss Protein数据库的抗体。与供体抗体的框架区具有同源性(基于氨基酸)的人抗体可适合于提供重链恒定区和/或重链可变框架区用于插入供体CDR。可以以类似的方式选择能够供给轻链恒定区或可变框架区的合适的接受体抗体。应当注意,接受体抗体重链和轻链不需要源自相同的接受体抗体。现有技术描述了产生此类人源化抗体的几种方法—参见例如EP-A-0239400和EP-A-054951。

[0033] 术语“全人抗体”包括具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区(如果存在)的抗体。本发明的人序列抗体可以包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机诱变或定点诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。全人抗体包含仅由最终来源于人的多核苷酸编码的氨基酸序列或与此类序列相同的氨基酸序列。如本文所述,由插入转基因小鼠中产生的小鼠基因组中的编码人免疫球蛋白的DNA编码的抗体是全人抗体,因为它们由最终来源于人的DNA编码。在这种情况下,编码人免疫球蛋白的DNA可以在小鼠内重排(以编码抗体),并且也可以发生体细胞突变。由在小鼠中经历此类变化的原始的人DNA编码的抗体是如本文所意指的全人抗体。使用此类转基因小鼠使得可以选择针对人抗原的全人抗体。如本领域所理解的,可以使用噬菌体展示技术制备全人抗体,其中将人DNA文库插入噬菌体中以产生包含人种系DNA序列的抗体。

[0034] 本文可互换使用的术语全、整个或完整抗体是指分子量约为150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白。完整抗体由通过共价二硫键连接的两条相同的重链(HC)和两条相同的轻链(LC)组成。该H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>结构折叠形成三个功能结构域,其包含两个抗原结合片段(称为“Fab”片段)和“Fc”可结晶片段。Fab片段由氨基末端的可变结构域可变重链(V<sub>H</sub>)或可变轻链(V<sub>L</sub>),以及羧基末端的恒定结构域CH1(重链)和CL(轻链)组成。Fc片段由通过配对的CH2和CH3区的二聚化形成的两个结构域组成。Fc可以通过结合免疫细胞上的受体或通过结合C1q(经典补体途径的第一组分)来引发效应器功能。五类抗体IgM、IgA、IgG、IgE和IgD由不同的重链氨基酸序列定义,其分别称为 $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ 和 $\delta$ ,每条重链可以与K或 $\lambda$ 轻链配对。血清中的大多数抗体属于IgG类,存在人IgG的四种同种型,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,其序列主要在它们的铰链区上有所不同。

[0035] 可以使用多种方法获得全人抗体,例如使用能够产生人抗体库的基于酵母的文库或转基因动物(例如小鼠)。可以使用基于FACS(荧光激活细胞分选)的方法或通过使用标记的抗原在珠上捕获来选择在其表面上呈现与感兴趣的抗原结合的人抗体的酵母。可以用感兴趣的抗原和使用B细胞分选技术分离的抗原特异性人抗体免疫已经被修饰以表达人免疫球蛋白基因的转基因动物。然后可以表征使用这些技术产生的人抗体的所期望的特性,如亲和力、可开发性和选择性。

[0036] 替代的抗体形式包括替代的支架,其中抗原结合蛋白的一个或多个CDR可以排列在合适的非免疫球蛋白支架或骨架上,如亲和体(affibody)、SpA支架、LDL受体A类结构域、avimer(参见例如美国专利申请公开号2005/0053973,2005/0089932,2005/0164301)或EGF

结构域。

[0037] 术语“结构域”是指折叠的多肽结构,其独立于多肽的其余部分保留其三级结构。通常,结构域负责多肽的离散功能特性,并且在许多情况下可以被添加、去除或转移至其他多肽而不丧失蛋白质的其余部分和/或结构域的功能。

[0038] 术语“单可变结构域”是指包含抗体可变结构域的序列特征的折叠多肽结构域。因此,它包括完整的抗体可变结构域,如 $V_H$ 、 $V_{HH}$ 和 $V_L$ ,和修饰的抗体可变结构域,例如其中一个或多个环已经被不是抗体可变结构域特征的序列替代,或已经截短或包含N-或C端延伸的抗体可变结构域,以及至少保留全长结构域的结合活性和特异性的可变结构域的折叠片段。单可变结构域能够独立于不同的可变区或结构域而结合抗原或表位。“结构域抗体”或“DAB”可以被认为与“单可变结构域”相同。单可变结构域可以是人单可变结构域,但也包括来自其他物种如啮齿类、铰口鲨和骆驼科 $V_{HH}$  DAB的单可变结构域。骆驼科 $V_{HH}$ 是衍生自包括骆驼、美洲驼、羊驼、单峰骆驼和原驼的物种的免疫球蛋白单可变结构域多肽,其产生天然缺乏轻链的重链抗体。此类 $V_{HH}$ 结构域可以根据本领域可用的标准技术人源化,并且此类结构域被认为是“单可变结构域”。如本文所用, $V_H$ 包括骆驼科 $V_{HH}$ 结构域。

[0039] 术语“ $V_H$ ”和“ $V_L$ ”在本文中分别用于指抗原结合蛋白的重链可变区和轻链可变区。

[0040] “CDR”被定义为抗原结合蛋白的互补决定区氨基酸序列。这些是免疫球蛋白重链和轻链的高变区。在免疫球蛋白的可变部分中存在三个重链CDR和三个轻链CDR(或CDR区)。因此,如本文所用的“CDR”是指所有三个重链CDR、所有三个轻链CDR、所有重链和轻链CDR、或至少两个CDR。

[0041] 在整个说明书中,全长抗原结合序列内(例如,抗体重链序列或抗体轻链序列内)的可变结构域序列和可变结构域区中的氨基酸残基根据Kabat编号惯例编号。类似地,实施例中使用的术语“CDR”、“CDRL1”、“CDRL2”、“CDRL3”、“CDRH1”、“CDRH2”、“CDRH3”遵循Kabat编号惯例。对于进一步的信息,参见Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health(1991)。

[0042] 对于本领域技术人员显而易见的是,对于可变结构域序列和全长抗体序列中的氨基酸残基存在替代的编号惯例。还存在CDR序列的替代编号惯例,例如Chothia et al. (1989) Nature 342:877-883中所述的那些。抗原结合蛋白的结构和蛋白质折叠可意味着其他残基被认为是CDR序列的一部分,并且本领域技术人员将理解是这样的。

[0043] 本领域技术人员可获得的CDR序列的其他编号惯例包括“AbM”(巴斯大学)和“contact”(伦敦大学学院)方法。可以使用Kabat、Chothia、AbM和contact方法中的至少两种确定最小重叠区以提供“最小结合单元”。最小结合单元可以是CDR的子部分。

[0044] 可以通过至少一个氨基酸置换、缺失或添加对CDR或最小结合单元进行修饰,其中变体抗原结合蛋白基本上保留未修饰蛋白(如包含SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的抗体)的生物学特征。

[0045] 可以通过至少一个氨基酸置换、缺失或添加对CDR或最小结合单元进行修饰,其中变体抗原结合蛋白基本上保留未修饰蛋白(如包含SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的抗体)的生物学特征。应当理解,CDR H1、H2、H3、L1、L2、L3中的每一个可以单独修饰或以任何排列或组合与任何其他CDR组合修饰。在一个实施方案中,通过取代、缺失或添加至多3个氨基酸,

例如1或2个氨基酸,例如1个氨基酸来修饰CDR。通常,修饰是取代,特别是保守取代(在本文中也称为直接等同物),例如如下表1所示。

[0046] 表1

侧链	成员
疏水性	Met,Ala,Val,Leu,Ile
中性亲水性	Cys,Ser,Thr
酸性	Asp,Glu
碱性	Asn,Gln,His,Lys,Arg
影响链取向的残基	Gly,Pro
芳香族	Trp,Tyr,Phe

[0048] 查询氨基酸序列与主题氨基酸序列之间的“百分比同一性”是表示为百分比的“同一性”值,在使用合适的算法/软件如BLASTP、FASTA、ClustalW、MUSCLE、MAFFT、EMBOSS Needle、T-Coffee和DNASTAR Lasergene进行成对全局序列比对后,在查询序列的整个长度上使用合适的算法或软件如BLASTP、FASTA、DNASTAR Lasergene、GeneDoc、Bioedit、EMBOSS needle或EMBOSS infoalign计算该百分比。重要的是,查询氨基酸序列可以用本文一项或多项权利要求中鉴定的氨基酸序列来描述。

[0049] 查询序列可以与主题序列100%相同,或者与主题序列相比,它可以包括至多一定整数数量的氨基酸或核苷酸改变,使得%同一性小于100%。例如,查询序列与主题序列至少50、60、70、75、80、85、90、95、96、97、98或99%相同。此类改变包括至少一个氨基酸缺失、取代(包括保守和非保守取代)或插入,并且其中所述改变可以发生在查询序列的氨基或羧基末端位置或这些末端位置之间的任何位置,单独散布在查询序列中的氨基酸或核苷酸之间或以一个或多个连续组散布在查询序列内。

[0050] 同一性%可以在查询序列的整个长度上确定,包括CDR。或者,%同一性可以排除一个或多个或所有CDR,例如所有CDR与主题序列100%相同,并且同一性%变化在查询序列的剩余部分中,例如框架序列,使得CDR序列是固定的和完整的。

[0051] 变体序列基本上保留未修饰的蛋白质(如ICOS的激动剂)的生物学特征。

[0052] 可以通过在非抗体蛋白质支架上排列一个或多个CDR来提供抗原结合片段。如本文所用的“蛋白质支架”包括但不限于免疫球蛋白(Ig)支架,例如IgG支架,其可以是四链或双链抗体,或者其可以仅包含抗体的Fc区,或者其可以包含来自抗体的一个或多个恒定区,所述恒定区可以是人或灵长类动物来源的或者可以是人和灵长类动物恒定区的人工嵌合体。

[0053] 蛋白质支架可以是Ig支架,例如IgG或IgA支架。IgG支架可以包含抗体的一些或所有结构域(即CH1、CH2、CH3、V<sub>H</sub>、V<sub>L</sub>)。抗原结合蛋白可以包含选自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或IgG4PE的IgG支架。例如,支架可以是IgG1。支架可以由抗体的Fc区组成或包含抗体的Fc区,或者是其一部分。

[0054] 抗体的亚类部分地决定次级效应器功能,如补体活化或Fc受体(FcR)结合和抗体依赖性细胞毒性(ADCC)(Huber et al.Nature 229(5284):419-20(1971);Brunhouse et al.Mol Immunol 16(11):907-17(1979))。在鉴定用于特定应用的最佳抗体类型时,可以考虑抗体的效应器功能。例如,hIgG1抗体具有相对长的半衰期,在固定补体方面非常有效,并

且它们结合Fc $\gamma$ RI和Fc $\gamma$ RII两者。相反,人IgG4抗体具有较短的半衰期,不固定补体并且对FcR具有较低的亲和力。在IgG4的Fc区中用脯氨酸替换丝氨酸228(S228P)降低了用hIgG4观察到的异质性并延长了血清半衰期(Kabat et al. "Sequences of proteins of immunological interest" 5. sup. th Edition(1991); Angal et al. Mol Immunol 30(1): 105-8(1993))。用谷氨酸替换亮氨酸235(L235E)的第二突变消除了残留的FcR结合和补体结合活性(Alegre et al. J Immunol 148(11):3461-8(1992))。hIgG4氨基酸的编号衍生自EU编号参考文献:Edelman et al. Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85(1969)。PMID:5257969。

[0055] 术语“供体抗体”是指将其可变区、CDR或其他功能片段或其类似物的氨基酸序列贡献给第一免疫球蛋白同伴的抗体。因此,供体提供改变的免疫球蛋白编码区,并产生表达的改变的具有供体抗体的抗原特异性和中和活性特征的抗体。

[0056] 术语“接受体抗体”是指与供体抗体异源的抗体,其将编码其重链和/或轻链框架区和/或其重链和/或轻链恒定区的所有(或任何部分)氨基酸序列贡献给第一免疫球蛋白同伴。人抗体可以是接受体抗体。

[0057] 亲和力,也称为“结合亲和力”,是单个相互作用位点处的结合强度,即一个分子(例如本发明的抗原结合蛋白)与另一个分子(例如其靶抗原)在单个结合位点处的结合强度。抗原结合蛋白与其靶标的结合亲和力可以通过平衡方法(例如酶联免疫吸附测定(ELISA)或放射免疫测定(RIA))或动力学(例如BIACORE分析)确定。

[0058] 亲合力,也称为功能亲和力,是在多个相互作用位点处的结合的累积强度,例如两个分子(或更多个,例如在双特异性或多特异性分子的情况下)在多个位点处彼此结合强度的总和,例如考虑到相互作用的价(valency)。

[0059] 如本文所用,“免疫调节剂(immuno-modulator)”或“免疫调节剂(immuno-modulatory agent)”是指影响免疫系统的任何物质,包括单克隆抗体。在一些实施方案中,免疫调节剂(immuno-modulator)或免疫调节剂(immuno-modulatory agent)上调免疫系统的方面。免疫调节剂可用作治疗癌症的抗赘生剂。例如,免疫调节剂包括但不限于抗PD-1抗体(例如多塔利单抗(dostarlimab)、OPDIVO/纳武单抗(nivolumab)、KEYTRUDA/派姆单抗(pembrolizumab)和LIBTAYO/西米普利单抗(cemiplimab))和抗ICOS抗体。

[0060] 如本文所用,术语“激动剂”是指抗原结合蛋白,包括但不限于抗体,其在与共信号传导受体接触时引起以下中的一种或多种:(1)刺激或激活受体,(2)增强、增加或促进、诱导或延长受体的活性、功能或存在和/或(3)增强、增加、促进或诱导受体的表达。激动剂活性可以通过本领域已知的各种测定法在体外测量,如但不限于细胞信号传导、细胞增殖、免疫细胞活化标志物、细胞因子产生的测量。激动剂活性也可以通过测量替代终点的各种测定法体内测量,如但不限于T细胞增殖或细胞因子产生的测量。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是激动剂ICOS结合蛋白。

[0061] 如本文所用,术语“拮抗剂”是指抗原结合蛋白,包括但不限于在与共信号传导受体接触时引起以下中的一者或多者的抗体:(1)减弱、阻断或失活受体和/或阻断受体被其天然配体活化,(2)降低、减小或缩短受体的活性、功能或存在,和/或(3)降低、减小、消除受体的表达。拮抗剂活性可以通过本领域已知的各种测定法在体外进行测量,如但不限于细胞信号传导、细胞增殖、免疫细胞活化标志物、细胞因子产生的增加或减少的测量。还可以通过测量替代终点的各种测定法在体内测量拮抗剂活性,如但不限于T细胞增殖或细胞因

子产生的测量。在一个实施方案中，PD-1结合蛋白是拮抗剂PD-1结合蛋白。

[0062] “分离的”是指将分子，如抗原结合蛋白或核酸，从其天然存在的环境中取出。例如，可以将分子从物质中纯化出来，所述物质与该分子在自然界中通常共同存在。例如，样品中该分子的质量可以是总质量的95%。

[0063] 本文所用的术语“表达载体”是指分离的核酸，其可用于将感兴趣的核酸引入细胞，如真核细胞或原核细胞，或者无细胞表达系统，其中感兴趣的核酸序列表达为肽链，如蛋白质。此类表达载体可以是例如包含感兴趣的核酸的粘粒、质粒、病毒序列、转座子和线性核酸。一旦将表达载体引入细胞或无细胞表达系统（例如网织红细胞裂解物）中，由感兴趣的核酸编码的蛋白质就通过转录/翻译机制产生。本公开范围内的表达载体可以提供真核或原核表达所必需的元件，并且包括病毒启动子驱动的载体，如CMV启动子驱动的载体，例如pCDNA3.1、pCEP4及它们的衍生物，杆状病毒表达载体，果蝇表达载体和由哺乳动物基因启动子（如人Ig基因启动子）驱动的表达载体。其他实例包括原核表达载体，如T7启动子驱动的载体，例如pET41，乳糖启动子驱动的载体和阿拉伯糖基因启动子驱动的载体。本领域普通技术人员将认识到许多其他合适的表达载体和表达系统。

[0064] 如本文所用的术语“重组宿主细胞”意指包含在引入细胞之前分离的感兴趣的核酸序列的细胞。例如，感兴趣的核酸序列可以在表达载体中，而细胞可以是原核或真核的。示例性真核细胞是哺乳动物细胞，如但不限于COS-1、COS-7、HEK293、BHK21、CHO、BSC-1、HepG2、653、SP2/0、NS0、293、HeLa、骨髓瘤、淋巴瘤细胞或其任何衍生物。最优选地，真核细胞是HEK293、NS0、Sp2/0或CHO细胞。大肠杆菌是示例性原核细胞。根据本公开的重组细胞可以通过转染、细胞融合、永生化或本领域熟知的其他程序产生。转染到细胞中的感兴趣的核酸序列（如表达载体）可以是染色体外的或被稳定整合到细胞的染色体中。

[0065] 如本文所用，术语“有效剂量”意指将引起例如研究人员或临床医师正在寻求的组织、系统、动物或人的生物学或医学反应的药物或药剂的剂量。此外，术语“治疗有效量”意指与未接受此类剂量的相应受试者相比，导致疾病、病症或副作用的改善治疗、愈合、预防或改善，或疾病或病症的进展速率降低的任何剂量。该术语在其范围内还包括有效增强正常生理功能的剂量。治疗有效量和治疗方案通常根据经验确定，并且可以取决于如患者的年龄、体重和健康状况以及待治疗的疾病或病症的因素。这些因素在主治医师的权限范围内。

[0066] 本文提供的任何类型的范围包括所述特定范围内的所有值和特定范围的端点附近的值。

[0067] 组合

[0068] 本发明涉及用于治疗癌症（特别是治疗人的癌症）的组合，该组合包含ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白。

[0069] 因此，根据本发明的第一方面，提供了用于治疗癌症的组合，该组合包含：ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白，该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列，以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列；该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列，以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序

列。

[0070] 在另一方面,提供了用于治疗癌症的组合,该组合包含:ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,该ICOS结合蛋白包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列以及与SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列;该PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列以及与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

[0071] 在另一方面,提供了用于在人中治疗癌症的ICOS结合蛋白,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中该ICOS结合蛋白待与PD-1结合蛋白组合施用,该PD-1结合蛋白包含SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0072] 在另一方面,提供了用于治疗癌症的PD-1结合蛋白,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列,其中该PD-1结合蛋白待与ICOS结合蛋白组合施用,该ICOS结合蛋白包含SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0073] 本文所述的本发明的术语“组合”是指至少两种治疗剂(即抗原结合蛋白)。应当理解,提及到的“组合”包括其中两种治疗剂并行(即同时)或序贯施用的实施方案。因此,本发明的组合的各个治疗剂以及包含此类治疗剂的药物组合物可一起或分开施用。当分开施用时,这可以同时或以任何次序序贯发生(通过相同或不同的施用途径)。此类序贯施用可以在时间上接近或者在时间上远离。本发明的治疗剂或其药学上可接受的盐和其他治疗活性剂的剂量以及施用的相对时间将被选择成实现期望的组合治疗效果。

[0074] 本发明的组合的施用可以优于单独的治疗剂,因为当与单独的单一治疗剂的单独施用相比时,组合可以提供以下改进的特性中的一种或多种:i) 与最具活性的单一药剂相比较大的抗癌效应,ii) 协同或高度协同的抗癌活性,iii) 提供增强的抗癌活性和降低的副作用特性的给药方案,iv) 毒性作用特性降低,v) 治疗窗增大,和/或vi) 一种或两种治疗剂的生物利用度增加。

[0075] 在一个实施方案中,将组合中的各抗原结合蛋白单独配制成其自身的药物组合物,并且施用各药物组合物以治疗癌症。在该实施方案中,药物组合物各自可以具有相同或不同的载体、稀释剂或赋形剂。例如,在一个实施方案中,第一药物组合物含有ICOS结合蛋白,第二药物组合物含有PD-1结合蛋白,并且施用第一和第二药物组合物两者以治疗癌症。

[0076] 在一个实施方案中,将组合中的各结合蛋白一起配制到单一药物组合物中并且施用以治疗癌症。例如,在一个实施方案中,单一药物组合物含有ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白两者,并且作为单一药物组合物施用以治疗癌症。

[0077] 本发明的组合可以另外地包含T细胞免疫球蛋白和粘蛋白结构域-3(TIM-3)结合蛋白。如前文所述,该结合蛋白可以与组合的其他结合剂并行(即同时)或以任何次序序贯施用或组合施用。例如,在一个实施方案中,施用可以包括ICOS结合蛋白,继之以TIM-3结合

蛋白,继之以PD-1结合蛋白。在一个可替代的实施方案中,施用可以包括ICOS结合蛋白,继之以PD-1结合蛋白,继之以TIM-3结合蛋白。在又一个实施方案中,施用可以包括PD-1结合蛋白,继之以ICOS结合蛋白,继之以TIM-3结合蛋白。在另一个实施方案中,施用可以包括TIM-3结合蛋白,继之以ICOS结合蛋白,继之以PD-1结合蛋白。在又一个实施方案中,施用可以包括TIM-3结合蛋白,继之以PD-1结合蛋白,继之以ICOS结合蛋白。本文所述的所有方面和实施方案,还可以应用于另外地包含TIM-3结合剂的组合。

[0078] 结合ICOS的抗原结合蛋白和抗体

[0079] 本发明的任何方面和实施方案中针对ICOS的药剂包括特异性结合ICOS的单克隆抗体(mAb)或其抗原结合片段。在一些实施方案中,针对ICOS的mAb特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是单克隆抗体或其抗原结合片段。mAb可以是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体,并且可包括人恒定区。人恒定区选自由IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区组成的组,并且在优选的实施方案中,人恒定区是IgG1或IgG4恒定区。抗原结合片段可选自由Fab、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、scFv和Fv片段组成的组。

[0080] 如本文所用,“ICOS”意指任何诱导性T细胞共刺激分子蛋白。ICOS(诱导性T细胞共刺激分子)的假名包括AILIM;CD278;CVID1、JTT-1或JTT-2、MGC39850或8F4。ICOS是在活化T细胞上表达的CD28超家族共刺激分子。由该基因编码的蛋白质属于CD28和CTLA-4细胞表面受体家族。它形成同源二聚体并在细胞-细胞信号传导、免疫应答和细胞增殖的调节中发挥重要作用。人ICOS(同等型2)的氨基酸序列(登录号:UniProtKB-Q9Y6W8-2)如下显示为SEQ ID NO:11。

[0081] MKSGLWYFFLFCLRIKVLGTGEINGSANYEMFIFHNGGVQILCKYPDIVQQFKMQLLKGQILCDLTKTKGSGNTVSIKSLKFCHSQLSNNSVSFFLYNLHSHANYFCNLSIFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQLKFWLP  
IGCAAFVVVCILGCILICWLTKKM(SEQ ID NO:11)

[0082] 人ICOS(同等型1)的氨基酸序列(登录号:UniProtKB-Q9Y6W8-1)如下显示为SEQ ID NO:12。

[0083] MKSGLWYFFLFCLRIKVLGTGEINGSANYEMFIFHNGGVQILCKYPDIVQQFKMQLLKGQILCDLTKTKGSGNTVSIKSLKFCHSQLSNNSVSFFLYNLHSHANYFCNLSIFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQLKFWLP  
IGCAAFVVVCILGCILICWLTKKYSVSSVHDPNGEYFMRAVNTAKKSRLTDVTL(SEQ ID NO:12)

[0084] ICOS的活化通过ICOS-L(B7RP-1/B7-H2)的结合而发生。B7-1或B7-2(CD28和CTLA4的配体)都不结合或活化ICOS。然而,已显示ICOS-L与CD28和CTLA-4两者弱结合(Yao et al. “B7-H2 is a costimulatory ligand for CD28 in human”, *Immunity*, 34(5); 729-40 (2011))。ICOS的表达似乎限于T细胞。ICOS表达水平在不同T细胞亚群之间以及随T细胞活化状态而变化。ICOS表达显示于静息TH17、T滤泡辅助(TFH)和调节性T(Treg)细胞上;然而,与CD28不同;它不在初始T<sub>H</sub>1和T<sub>H</sub>2效应T细胞群上高度表达(Poulos et al. “The inducible costimulator(ICOS) is critical for the development of human Th17 cells”, *Sci Transl Med*, 2(55); 55ra78 (2010))。在通过TCR接合而活化后,在CD4+和CD8+效应T细胞上高度地诱导ICOS表达(Wakamatsu et al. “Convergent and divergent effects of costimulatory molecules in conventional and regulatory CD4+T cells”, *Proc Natl Acad Sci USA*, 110(3); 1023-8 (2013))。通过ICOS受体的共刺激信号传导仅在接受并行的

TCR活化信号的T细胞中发生(Sharpe AH and Freeman GJ. "The B7-CD28 Superfamily", Nat.Rev Immunol, 2 (2); 116-26 (2002))。在活化抗原特异性T细胞中, ICOS调节 $T_H1$ 和 $T_H2$ 细胞因子两者(包括IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-10、IL-4、IL-13等)的产生。ICOS还刺激效应T细胞增殖, 尽管程度低于CD28(Sharpe AH and Freeman GJ. "The B7-CD28 Superfamily", Nat.Rev Immunol, 2 (2); 116-26 (2002))。

[0085] “针对ICOS的药剂”意指能够结合ICOS的任何化合物或生物分子。在一些实施方案中, 针对ICOS的药剂是ICOS结合蛋白。在一些其他实施方案中, 针对ICOS的药剂是ICOS激动剂。在一些实施方案中, ICOS结合蛋白是激动剂ICOS结合蛋白。

[0086] 如本文所用, 术语“ICOS结合蛋白”是指结合ICOS的蛋白, 包括抗体或其抗原结合片段, 或以与能够结合ICOS的抗体类似的方式起作用的工程化的分子。在一个实施方案中, 抗体是单克隆抗体。在某些情况下, ICOS是人ICOS。术语“ICOS结合蛋白”可以与“ICOS结合剂”、“ICOS抗原结合蛋白”或“ICOS抗原结合剂”互换使用。因此, 如本领域所理解, 抗ICOS抗体和/或ICOS抗原结合蛋白将视为ICOS结合蛋白。该定义不包括天然同源配体或受体。提及到的ICOS结合蛋白, 特别是抗ICOS抗体, 包括其抗原结合部分或片段。如本文所用, ICOS结合蛋白的“抗原结合部分”将包括能够结合ICOS的ICOS结合蛋白的任何部分, 包括但不限于抗原结合抗体片段。

[0087] 在一个实施方案中, 本发明的ICOS结合蛋白包含以下CDR中的任一者或组合:

[0088] CDRH1: DYAMH (SEQ ID NO:1)

[0089] CDRH2: LISIYSDHTNYNQKFQG (SEQ ID NO:2)

[0090] CDRH3: NNYGNYGWYFDV (SEQ ID NO:3)

[0091] CDRL1: SASSSVSYMH (SEQ ID NO:4)

[0092] CDRL2: DTSKLAS (SEQ ID NO:5)

[0093] CDRL3: FQGSQYPYT (SEQ ID NO:6)

[0094] 在一个实施方案中, ICOS结合蛋白包含重链可变区CDR1 (“CDRH1”), 该重链可变区CDR1包含相对于SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0095] 在一个实施方案中, ICOS结合蛋白包含重链可变区CDR2 (“CDRH2”), 该重链可变区CDR2包含相对于SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列具有五个或更少个, 如四个或更少个、三个或更少个、两个或更少个、或一个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。在另一个实施方案中, CDRH2包含相对于SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0096] 在一个实施方案中, ICOS结合蛋白包含重链可变区CDR3 (“CDRH3”), 该重链可变区CDR3包含相对于SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0097] 在一个实施方案中, ICOS结合蛋白包含轻链可变区CDR1 (“CDRL1”), 该轻链可变区CDR1包含相对于SEQ ID NO:4中所示的氨基酸序列具有三个或更少个, 如一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0098] 在一个实施方案中, ICOS结合蛋白包含轻链可变区CDR2 (“CDRL2”), 该轻链可变区CDR2包含相对于SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序

列(“CDR变体”)。

[0099] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含轻链可变区CDR3(“CDRL3”),该轻链可变区CDR3包含相对于SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列具有三个或更少个,如一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列(“CDR变体”)。

[0100] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含:CDRH1,其包含相对于SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列具有至多一个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRH2,其包含相对于SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列具有至多五个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRH3,其包含相对于SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列具有至多一个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRL1,其包含相对于SEQ ID NO:4中所示的氨基酸序列具有至多三个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRL2,其包含相对于SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列具有至多一个氨基酸变异的氨基酸序列;和/或CDRL3,其包含相对于SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列具有至多三个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0101] 在本发明的一个实施方案中,ICOS结合蛋白在具有SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列的重链可变区中包含CDRH1(SEQ ID NO:1)、CDRH2(SEQ ID NO:2)和CDRH3(SEQ ID NO:3)。包含SEQ ID NO:7中所示的人源化重链可变区的本发明的ICOS结合蛋白称为“H2”。在一些实施方案中,本发明的抗ICOS抗体包含与SEQ ID NO:7具有至少90%序列同一性的重链可变区。合适地,本发明的ICOS结合蛋白可以包含与SEQ ID NO:7具有约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的重链可变区。

[0102] 人源化重链( $V_H$ )可变区(H2):

[0103] QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQGLEW MGLISIIYSDHTNYNQKFQGR VTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCGR NNYGNYGWYFDVWGQGTTVTVSS(SEQ ID NO:7;加下划线的氨基酸残基对应于CDR的位置)。

[0104] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的重链可变区(“ $V_H$ ”)。在一个实施方案中, $V_H$ 包含相对于SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列具有1至5个,如1至3个,特别是至多2个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0105] 在本发明的一个实施方案中,ICOS结合蛋白在具有SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的轻链可变区中包含CDRL1(SEQ ID NO:4)、CDRL2(SEQ ID NO:5)和CDRL3(SEQ ID NO:6)。包含SEQ ID NO:8中所示的人源化轻链可变区的本发明的ICOS结合蛋白称为“L5”。因此,包含SEQ ID NO:7的重链可变区和SEQ ID NO:8的轻链可变区的本发明的ICOS结合蛋白可在本文中称为H2L5。

[0106] 在一些实施方案中,本发明的ICOS结合蛋白包含与SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区。合适地,本发明的ICOS结合蛋白可以包含与SEQ ID NO:8具有约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的轻链可变区。

[0107] 人源化轻链( $V_L$ )可变区(L5):

[0108] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGT

DYTLTISSLEPEDFAVYYCFQGSGYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:8;加下划线的氨基酸残基对应于CDR的位置)。

[0109] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变区(“V<sub>L</sub>”)。在一个实施方案中,V<sub>L</sub>包含相对于SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列具有1至5个,如1至3个,特别是至多2个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0110] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含具有SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>;以及具有SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>。

[0111] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的V<sub>H</sub>以及含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的V<sub>L</sub>。

[0112] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的V<sub>H</sub>;以及含有与SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的V<sub>L</sub>。

[0113] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是包含与SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链(HC)氨基酸序列的人源化单克隆抗体。QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQGLEWMGLISIIYSDHTNYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCGRNNYGNYGWYFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGK (SEQ ID NO:9)

[0114] 在一个实施方案中,HC包含相对于SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列具有1至10个,如1至7个,特别是至多6个氨基酸变异的氨基酸序列。在另一个实施方案中,HC包含相对于SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列而言一、二、三、四、五、六或七个氨基酸变异。

[0115] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是包含与SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链(LC)氨基酸序列的人源化单克隆抗体。EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLAGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCFQGSGYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:10)

[0116] 在一个实施方案中,LC包含相对于SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列具有1至10个,如1至5个,特别

是至多3个氨基酸变异的氨基酸序列。在另一个实施方案中,LC包含相对于SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列而言一、二或三个氨基酸变异。

[0117] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的HC;以及含有与SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的LC。因此,抗体是具有与SEQ ID NO:9的重链氨基酸序列至少约90%相同的重链和/或具有与SEQ ID NO:10的轻链氨基酸序列至少约90%相同的轻链的抗体。

[0118] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

[0119] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含SEQ ID NO:9的重链序列和SEQ ID NO:10的轻链序列。

[0120] 在一个实施方案中,提供了包含重链恒定区的ICOS结合蛋白,使得具有降低的ADCC和/或补体活化或效应器功能。在一个此类实施方案中,重链恒定区可以包含IgG2或IgG4同种型的天然失能恒定区或突变的IgG1恒定区。

[0121] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有氨基酸取代S228P和L235E或其功能等同物的IgG4 Fc区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有氨基酸取代S229P和L236E的IgG4 Fc区。此类实施方案可以具有命名IgG4PE。因此,具有重链可变区H2和轻链可变区L5以及IgG4PE Fc区的ICOS结合蛋白将称为H2L5 IgG4PE,或同义地称为H2L5 hIgG4PE。

[0122] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是菲阿迪利单抗(feladilimab)。

[0123] 针对ICOS的抗体和用于治疗疾病的方法描述于例如W02012131004、US20110243929和US20160215059中。US20160215059以引用方式并入本文。具有激动剂活性的针对人ICOS的鼠抗体的CDR显示于PCT/EP2012/055735(W02012131004)中。针对ICOS的抗体也公开于W02008137915、W02010056804、EP1374902、EP1374901和EP1125585中。针对ICOS的激动剂抗体或ICOS结合蛋白公开于W02012/13004、W02014033327、W02016120789、US20160215059和US20160304610中。US20160304610中的示例性抗体包括37A10S713。37A10S713的序列在以下再现为SEQ ID NO:41-48。

[0124] 37A10S713 V<sub>H</sub> CDR1:GFTFSDYWMD (SEQ ID NO:41)

[0125] 37A10S713 V<sub>H</sub> CDR2:NIDEDGSITEYSPFVKG (SEQ ID NO:42)

[0126] 37A10S713 V<sub>H</sub> CDR3:WGRFGFDS (SEQ ID NO:43)

[0127] 37A10S713 V<sub>L</sub> CDR1:KSSQSLLSGSFNYLT (SEQ ID NO:44)

[0128] 37A10S713 V<sub>L</sub> CDR2:YASTRHT (SEQ ID NO:45)

[0129] 37A10S713 V<sub>L</sub> CDR3:HHHYNAPPT (SEQ ID NO:46)

[0130] 37A10S713重链可变区:

[0131] EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMDWVRQAPGKGLVWVSNIDEDGSITEYSPFVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWGRFGFDSWQGTLVTVSS (SEQ ID NO:47;加下划线的氨基酸残基对应于CDR的位置)

[0132] 37A10S713轻链可变区:

[0133] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLSGSFNLYLTWYQQKPGQPPKLLIFYASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFLT<sup>1</sup>TISSLQAEDVAVYYCHHHYNAPPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:48;加下划线的氨基酸残基对应于CDR的位置)

[0134] 在实施方案中,ICOS结合蛋白是伏派利单抗(vopratelimab)。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是JTX-2011。

[0135] US2018/0289790中的示例性抗体包括ICOS.33IgG1f S267E。ICOS.33IgG1f S267E的序列在以下再现为SEQ ID NO:49-50:

[0136] ICOS.33IgG1f S267E重链可变结构域:

[0137] EVQLVESGGGLV<sup>1</sup>KPGGSLRLS<sup>1</sup>CAASGFTFSDYFMHWVRQAPGKGLEWVGV<sup>1</sup>IDTKSFNYATYYSDLVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTATIAVPYYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:49)

[0138] ICOS.33IgG1f S267E轻链可变结构域:

[0139] DIQMTQSPSSLSASVGD<sup>1</sup>RVTITCQASQDISNYLSWYQQKPGKAPKLLIYYTNLLAEGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPED<sup>1</sup>IATYYCQQYYNYRTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:50)

[0140] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是BMS-986226。

[0141] W02018/029474中的示例性抗体包括STIM003。STIM003的序列在以下再现为SEQ ID NO:51-52。

[0142] STIM003重链可变结构域:

[0143] EVQLVESGGGVV<sup>1</sup>RPGGSLRLSCV<sup>1</sup>ASGVTFD<sup>1</sup>DYGM<sup>1</sup>SWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGDTDYSDSVKGRFTISRDN<sup>1</sup>AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARD<sup>1</sup>FYGS<sup>1</sup>SY<sup>1</sup>HVPFDYWGQILVTVSS (SEQ ID NO:51)

[0144] STIM003轻链可变结构域:

[0145] EIVLTQSPGTL<sup>1</sup>SLSPGERATL<sup>1</sup>SCRASQSV<sup>1</sup>SRSY<sup>1</sup>LAWYQQKRGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGDGS<sup>1</sup>GTDFTL<sup>1</sup>SISRLEPEDFAVYYCHQYD<sup>1</sup>MSPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:52)

[0146] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是KY1044。

[0147] W02018/045110中的示例性抗体包括XENP23104。XENP23104的ICOS结合Fab侧([ICOS]<sub>H0.66\_L0</sub>)的序列在以下再现为SEQ ID NO:53-60。

[0148] XENP23104[ICOS]<sub>H0.66\_L0</sub>重链可变结构域:

[0149] QVQLVQSGAEVKKPGASVKV<sup>1</sup>SCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPHSGETIYAQKFQGRV<sup>1</sup>TMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARTYY<sup>1</sup>YDTS<sup>1</sup>SGYYHDAFDVWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:53;加下划线的氨基酸残基对应于CDR的位置)。

[0150] XENP23104[ICOS]<sub>H0.66\_L0</sub> V<sub>H</sub> CDR1:GYYMH (SEQ ID NO:54)

[0151] XENP23104[ICOS]<sub>H0.66\_L0</sub> V<sub>H</sub> CDR2:WINPHSGETIYAQKFQG (SEQ ID NO:55)

[0152] XENP23104[ICOS]<sub>H0.66\_L0</sub> V<sub>H</sub> CDR3:TYYYDTS<sup>1</sup>SGYYHDAFDV (SEQ ID NO:56)

[0153] XENP23104[ICOS]<sub>H0.66\_L0</sub>轻链可变结构域:

[0154] DIQMTQSPSSVSASVGD<sup>1</sup>RVTITCRASQGISRLLAWYQQKPGKAPKLLIYVASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT<sup>1</sup>ISSLQPEDFATYYCQQANSFPWTFGQGT<sup>1</sup>KVEIK (SEQ ID NO:57;加下划线的氨基酸残基对应于CDR的位置)。

[0155] XENP23104[ICOS]<sub>H0.66\_L0</sub> V<sub>L</sub> CDR1:RASQGISRLLA (SEQ ID NO:58)

[0156] XENP23104[ICOS]<sub>H0.66\_L0</sub> V<sub>L</sub> CDR2:VASSLQS (SEQ ID NO:59)

[0157] XENP23104[ICOS]<sub>H0.66\_L0</sub> V<sub>L</sub> CDR3:QQANSFPWT (SEQ ID NO:60)

[0158] 如本文所用,“ICOS-L”和“ICOS配体”可互换使用,并且是指人ICOS的膜结合天然配体。ICOS配体是人中由ICOSLG基因编码的蛋白质。ICOSLG也被称为CD275(分化簇275)。ICOS-L的假名包括B7RP-1和B7-H2。结合PD-1的抗原结合蛋白和抗体

[0159] 在本发明的任何方面或实施方案中针对PD-1的药剂包括特异性结合PD-1的单克隆抗体(mAb)或其抗原结合片段。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是单克隆抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,针对PD-1的mAb特异性结合人PD-1。mAb可以是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体,并且可以包括人恒定区。人恒定区选自自由IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区组成的组,并且在优选的实施方案中,人恒定区是IgG1或IgG4恒定区。在另一个实施方案中,PD-1结合剂是免疫球蛋白G4(IgG4)单克隆抗体,特别是IgG4人源化单克隆抗体。抗原结合片段可以选自自由Fab、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、scFv和Fv片段组成的组。

[0160] 蛋白质程序性死亡1(PD-1)是CD28受体家族的抑制性成员,该家族还包括CD28、CTLA-4、ICOS和BTLA。PD-1在活化的B细胞、T细胞和髓样细胞上表达(Okazaki et al. (2002) Curr. Opin. Immunol 14:391779-82; Bennett et al. (2003) J Immunol 170:711-8)。该家族的初始成员CD28和ICOS是通过在添加单克隆抗体后加强T细胞增殖的功能效应而发现的(Hutloff et al. (1999) Nature 397:263-266; Hansen et al. (1980) Immunogenics 10:247-260)。PD-1通过筛选凋亡细胞中的差异表达而发现(Ishida et al. (1992) EMBO J 11:3887-95)。该家族的其他成员CTLA-4和BTLA通过分别筛选细胞毒性T淋巴细胞和TH1细胞中的差异表达而发现。CD28、ICOS和CTLA-4都具有允许同源二聚化的未配对半胱氨酸残基。相比之下,PD-1被提出作为单体存在,缺乏其他CD28家族成员中的未配对半胱氨酸残基特征。PD-1抗体和用于治疗疾病的方法描述于US专利号:US 7,595,048;US 8,168,179;US 8,728,474;US 7,722,868;US 8,008,449;US 7,488,802;US 7,521,051;US 8,088,905;US 8,168,757和US 8,354,509;以及US公开号:US20110171220;US20110171215和US20110271358。CTLA-4和PD-1抗体的组合描述于US专利号9,084,776中。

[0161] 针对PD-1的药剂是PD-1拮抗剂,并且阻断癌细胞上表达的PD-L1与免疫细胞(T细胞、B细胞或NKT细胞)上表达的PD-1的结合,并且还可以阻断癌细胞上表达的PD-L2与免疫细胞表达的PD-1的结合。PD-1及其配体的替代名称或同义词包括:对于PD-1为PDCD1、PD1、CD279和SLEB2;对于PD-L1为PDCD1L1、PDL1、B7H1、B7-4、CD274和B7-H;并且对于PD-L2为PDCD1L2、PDL2、B7-DC、B7-1和CD273。人PD-1氨基酸序列可见于NCBI基因座号:NP\_005009。NCBI基因座号:NP\_005009中的氨基酸序列在以下再现:

[0162] MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESVLNWY  
RMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCFRVTVLPLNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCAISLAPKAQIKESLRAELRV  
TERRAEVPTAHSPSPRPAGQFQTLVGVVGGLLGSLVLLVWVLAIVCSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFS  
VDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSMGMTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL (SEQ ID  
NO:27)

[0163] 人PD-L1和PD-L2氨基酸序列分别可见于NCBI基因座号:NP\_054862和NP\_079515。

[0164] NCBI基因座号:NP\_054862中的氨基酸序列在以下再现:

[0165] MRIFAVFIFMTYWHLNNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVWEMEDKNI IQFV  
HGEEDLKVQHSSYRQRARLLKQDLSLGNALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILV  
DPVTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENH

TAELVIPELPLAHPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET (SEQ ID NO:28)

[0166] NCBI基因座号:NP\_079515中的氨基酸序列在以下再现:

[0167] MIFLLLMLSLELQLHQIAALFTVTVPKELYIIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSP HRERATLLEEQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCII IYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPETDEVELTCQ ATGYPLAEVSWPNVSPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSCVFNTHVRELTASIDLQSQMEPRTHPT WLLHIFIPFCIIAFIFIATVIALRKQLCQKLYSSKDTTKRPVTTTKREVNSAI (SEQ ID NO:29)

[0168] 如本文所用,“针对PD-1的药剂”或“针对PD1的药剂”意指能够结合PD-1的任何化学化合物或生物分子。在一些实施方案中,针对PD-1的药剂是PD-1结合蛋白。在一些实施方案中,针对PD-1的药剂是PD-1拮抗剂。在一些实施方案中,PD-1结合蛋白是拮抗剂PD-1结合蛋白。

[0169] 如本文所用,术语“PD-1结合蛋白”或“PD1结合蛋白”是指能够结合PD-1的抗体和其他蛋白构建体,如结构域。在某些情况下,PD-1是人PD-1。术语“PD-1结合蛋白”可以与“PD-1结合剂”、“PD-1抗原结合蛋白”或“PD-1抗原结合剂”互换使用。因此,如本领域所理解,抗PD-1抗体和/或PD-1抗原结合蛋白将被视为PD-1结合蛋白。该定义不包括天然同源配体或受体。提及到的PD-1结合蛋白包括其抗原结合部分或片段。如本文所用,PD-1结合蛋白的“抗原结合部分”将包括能够结合PD-1的PD-1结合蛋白的任何部分,包括但不限于抗原结合抗体片段。

[0170] 在一个实施方案中,本发明的PD-1结合蛋白包含以下CDR中的任一者或组合:

[0171] CDRH1:SYDMS (SEQ ID NO:13)

[0172] CDRH2:TISGGGSYTYQQDSVKG (SEQ ID NO:14)

[0173] CDRH3:PYYAMDY (SEQ ID NO:15)

[0174] CDRL1:KASQDVGTAVA (SEQ ID NO:16)

[0175] CDRL2:WASTLHT (SEQ ID NO:17)

[0176] CDRL3:QHYSSYPWT (SEQ ID NO:18)

[0177] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含重链可变区CDR1 (“CDRH1”),该重链可变区CDR1包含相对于SEQ ID NO:13中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0178] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含重链可变区CDR2 (“CDRH2”),该重链可变区CDR2包含相对于SEQ ID NO:14中所示的氨基酸序列具有五个或更少个,如四个或更少个、三个或更少个、两个或更少个、或一个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。在另一个实施方案中,CDRH2包含相对于SEQ ID NO:14中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0179] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含重链可变区CDR3 (“CDRH3”),该重链可变区CDR3包含相对于SEQ ID NO:15中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0180] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含轻链可变区CDR1 (“CDRL1”),该轻链可变区CDR1包含相对于SEQ ID NO:16中所示的氨基酸序列具有三个或更少个,如一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0181] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含轻链可变区CDR2(“CDRL2”),该轻链可变区CDR2包含相对于SEQ ID NO:17中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列(“CDR变体”)。

[0182] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含轻链可变区CDR3(“CDRL3”),该轻链可变区CDR3包含相对于SEQ ID NO:18中所示的氨基酸序列具有三个或更少个,如一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列(“CDR变体”)。在一个特定实施方案中,CDRL3包含相对于SEQ ID NO:18中所示的氨基酸序列具有一个氨基酸变异的氨基酸序列。在另一个实施方案中,变体CDRL3包含SEQ ID NO:26中所示的氨基酸序列。

[0183] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含:CDRH1,其包含相对于SEQ ID NO:13中所示的氨基酸序列具有至多一个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRH2,其包含相对于SEQ ID NO:14中所示的氨基酸序列具有至多五个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRH3,其包含相对于SEQ ID NO:15中所示的氨基酸序列具有至多一个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRL1,其包含相对于SEQ ID NO:16中所示的氨基酸序列具有至多三个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRL2,其包含相对于SEQ ID NO:17中所示的氨基酸序列具有至多一个氨基酸变异的氨基酸序列;和/或CDRL3,其包含相对于SEQ ID NO:18中所示的氨基酸序列具有至多三个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0184] 在本发明的一个实施方案中,PD-1结合蛋白在具有SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列的重链可变区中包含CDRH1(SEQ ID NO:13)、CDRH2(SEQ ID NO:14)和CDRH3(SEQ ID NO:15)。在一些实施方案中,本发明的抗PD-1抗体包含与SEQ ID NO:19具有至少90%序列同一性的重链可变区。合适地,本发明的PD-1结合蛋白可以包含与SEQ ID NO:19具有约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的重链可变区。

[0185] PD-1重链( $V_H$ )可变区:

[0186] EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSTISGGGSYTTYQDSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCASPYYAMDYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO:19)

[0187] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的重链可变区(“ $V_H$ ”)。在一个实施方案中, $V_H$ 包含相对于SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列具有1至5个,如1至3个,特别是至多2个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0188] 在本发明的一个实施方案中,PD-1结合蛋白在具有SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列的轻链可变区中包含CDRL1(SEQ ID NO:16)、CDRL2(SEQ ID NO:17)和CDRL3(SEQ ID NO:18)。在一个实施方案中,本发明的PD-1结合蛋白包含SEQ ID NO:19的重链可变区和SEQ ID NO:20的轻链可变区。

[0189] 在一些实施方案中,本发明的PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区。合适地,本发明的PD-1结合蛋白可以包含与SEQ ID NO:20具有约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性的轻链可变区。

[0190] PD-1轻链( $V_L$ )可变区:

[0191] DIQLTQSPSFLSAYVGDRVTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPSRFSGSGSG TEFTLTISSLPEDFATYYCQHYSSYPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:20)

[0192] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变区(“V<sub>L</sub>”)。在一个实施方案中,V<sub>L</sub>包含相对于SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列具有1至5个,如1至3个,特别是至多2个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0193] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的V<sub>H</sub>;以及含有与SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的V<sub>L</sub>。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约90%相同的V<sub>H</sub>和/或与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约90%相同的V<sub>L</sub>。

[0194] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含具有SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>,以及具有SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>。

[0195] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是包含与SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链(HC)氨基酸序列的单克隆抗体。

[0196] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSTISGGGSYTYQDSVKGRF TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYAMDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:21)

[0197] 在一个实施方案中,HC包含相对于SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列具有1至10个,如1至7个,特别是至多6个氨基酸变异的氨基酸序列。在另一个实施方案中,HC包含相对于SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列而言一、二、三、四、五、六或七个氨基酸变异。

[0198] 在一个实施方案中,HC链包含SEQ ID NO:21的位置380和/或385处的变异。这些位置处的天冬酰胺残基可以经修饰,例如通过脱酰胺(天冬酰胺(N)残基转化为天冬氨酸(D)残基)。因此,在一个实施方案中,HC包含SEQ ID NO:23(N380D)、SEQ ID NO:24(N385D)或SEQ ID NO:25(N380D和N385D)的氨基酸序列。

[0199] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是包含与SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链(LC)氨基酸序列的单克隆抗体。

[0200] DIQLTQSPSFLSAYVGDRVTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPSRFSGSGSG TEFTLTISSLPEDFATYYCQHYSSYPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID

NO:22)

[0201] 在一个实施方案中,LC包含相对于SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列具有1至10个,如1至5个,特别是至多3个氨基酸变异的氨基酸序列。在另一个实施方案中,LC包含相对于SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列而言一、二或三个氨基酸变异。

[0202] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的HC;以及含有与SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的LC。因此,抗体是具有与SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列至少约90%相同的重链和/或具有与SEQ ID NO:22的轻链氨基酸序列至少约90%相同的轻链的抗体。

[0203] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链氨基酸序列和/或与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链氨基酸序列。

[0204] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列。在一个实施方案中,抗体是包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的多塔利单抗。

[0205] 技术人员将理解,在产生如抗体的结合蛋白时,会发生产生翻译后修饰产物的翻译后修饰。翻译后修饰是结合蛋白的化学修饰,可能是由于在宿主细胞中抗体的产生、上游和/或下游制备过程和/或储存长度和储存条件(例如暴露于光、温度、pH、水的影响,或通过赋形剂和/或直接容器封闭系统反应)。因此,本发明的结合蛋白可以由所述结合蛋白的制备或储存形成。示例性翻译后修饰包括结合蛋白序列改变(如上文所述的“结合蛋白变体”)、某些前导序列的切割、以包括非酶促糖基化或糖化的各种糖基化模式添加各种糖部分;脱酰胺;氧化;二硫键扰乱和其他半胱氨酸变体,如游离巯基、外消旋二硫化物、硫醚和三硫键;异构化;C端赖氨酸切割或剪切;和/或N端谷氨酰胺环化。

[0206] 在一个实例中,翻译后修饰产物包含含有导致功能和/或活性降低的化学改变的“产物相关的杂质”。在另一个实例中,翻译后修饰产物包含含有不导致功能和/或活性降低的化学改变的“产物相关物质”。本文所述的PD-1结合蛋白的产物相关的杂质包括氧化变体和聚集变体。本文所述的PD-1结合蛋白的产物相关物质包括脱酰胺变体、异构化变体、C端经切割的变体和N端焦谷氨酸化的变体。

[0207] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白具有SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列的重链,以及具有SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列的轻链,包含其所有功能性翻译后修饰。

[0208] 本文提供的百分比变体表达为结合蛋白的总量(例如结合蛋白的“群体”)的百分比。例如,65%或更少的氧化变体是在总结合蛋白为100%的情况下,其中65%或更少的氧化;它不包括任何其他的可能是或可能不是氧化的非结合蛋白质物质。

[0209] 当通过基于电荷的分离技术如等电聚焦(IEF)凝胶电泳、毛细管等电聚焦(cIEF)凝胶电泳、阳离子交换色谱(CEX)和阴离子交换色谱(AEX)分析结合蛋白的组成时,通常会观察到结合蛋白变体。

[0210] 翻译后修饰可以导致结合蛋白的净电荷增加或减少,并导致pI值减少或增加,从

而导致相对于主要同等型的酸性变体和碱性变体(统称为“带电荷的变体”)。“主要同等型”是在色谱图上作为主峰洗脱的结合蛋白群体。当使用基于IEF的方法分析结合蛋白时,酸性种类是具有较低表观pI的变体,且碱性种类是具有较高表观pI的变体。当通过基于色谱的方法分析时,酸性种类和碱性种类是根据它们相对于主峰的保留时间来定义的。酸性种类是早于主峰从CEX洗脱或晚于主峰从AEX洗脱的变体,而碱性种类是晚于主峰从CEX洗脱或早于主峰从AEX洗脱的变体。这些方法将结合蛋白的主要同等型与酸性同等型(酸性变体)和碱性同等型(碱性变体)分开。

[0211] 可以通过各种方法检测带电荷的变体,如离子交换色谱,例如WCX-10HPLC(弱阳离子交换色谱)或IEF(等电聚焦)。可以使用毛细管等电聚焦(cIEF)确定百分比带电荷的变体。

[0212] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的酸性变体的量 $\leq 100\%$ ,其中该酸性变体包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0213] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的酸性变体的量 $\leq 100\%$ ,其中该酸性变体包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区和/或与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区。

[0214] 在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的酸性变体的量 $\leq 100\%$ ,其中该酸性变体包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链和/或与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区。在又一些另外的实施方案中,PD-1结合蛋白的酸性变体的量 $\leq 100\%$ ,其中该酸性变体包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列。

[0215] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的碱性变体的量 $\leq 35\%$ ,其中该碱性变体包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0216] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的碱性变体的量 $\leq 35\%$ ,其中该碱性变体包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区和/或与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区。

[0217] 在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的碱性变体的量 $\leq 35\%$ ,其中该碱性变体包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链和/或与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链。在又一些另外的实施方案中,PD-1结合蛋白的碱性变体的量 $\leq 35\%$ ,其中该碱性变体包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列。

[0218] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的主要同等型的量 $\geq 1\%$ ,其中该主要同等型包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0219] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的主要同等型的量 $\geq 1\%$ ,其中该主要同等型包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区和/或与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区。

[0220] 在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的主要同等型的量 $\geq 1\%$ ,其中该主要同等型包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链和/或与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区。在又一些另外的实施方案中,PD-1结合蛋白的主要同等型的量 $\geq 1\%$ ,其中该主要同等型包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列。

[0221] 可以使用毛细管等电聚焦(cIEF)确定百分比酸性变体、百分比碱性变体和百分比主要同等型。应当理解,这些同等型/带电荷的变体实施方案可以与本文所述的结合蛋白变体中的任一种或组合相组合。

[0222] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的带电荷的变体的量为 $\leq 100\%$ 酸性变体;和/或 $\leq 35\%$ 碱性变体;和/或 $\geq 1\%$ 主要同等型,其中该带电荷的变体包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0223] 在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的带电荷的变体的量为10-97%酸性变体;和/或0.1-35%碱性变体;和/或2-80%主要同等型,其中该带电荷的变体包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0224] 在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的带电荷的变体的量为 $\leq 35\%$ 酸性变体;和/或 $\leq 5\%$ 碱性变体;和/或 $\geq 55\%$ 主要同等型,其中该带电荷的变体包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0225] 在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的带电荷的变体的量为10-30%酸性变体;和/或0.1-10%碱性变体;和/或60-80%主要同等型,其中该带电荷的变体包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0226] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的带电荷的变体的量为 $\leq 100\%$ 酸性变体;和/或 $\leq 35\%$ 碱性变体;和/或 $\geq 1\%$ 主要同等型,其中该带电荷的变体包含含有SEQ ID NO:19的VH的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:20的VL的轻链氨基酸序列。在一个实施方案中,该量为:10-97%酸性变体;和/或0.1-35%碱性变体;和/或2-80%主要同等型。在替代的实施方案中,该量为:10-30%酸性变体;和/或0.1-10%碱性变体;和/或60-80%主要同等型。在进一步的实施方案中,该量为: $\leq 35\%$ 酸性变体;和/或 $\leq 5\%$ 碱性变体;和/或 $\geq 55\%$ 主要同等型。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的带电荷的变体的量为: $\leq 100\%$ 酸性变体;和/或 $\leq 35\%$ 碱性变体;和/或 $\geq 1\%$ 主要同等型,其中该带电荷的变体包含SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列,以及SEQ ID NO:22的轻链氨基酸序列。在一个实施方案中,该量为:10-97%酸性变体;和/或0.1-35%碱性变体;和/或2-80%主要同等型。在替代的实施方案中,该量为:10-30%酸性变体;和/或0.1-10%碱性变体;和/或60-80%主要同等型。在进一步的实施方案中,该量为: $\leq 35\%$ 酸性变体;和/或 $\leq 5\%$ 碱性变体;和/或 $\geq 55\%$ 主要同等型。

[0227] 氧化可以在生产和/或储存过程中发生(即在氧化条件存在下)并导致蛋白质的共价修饰,通过活性氧种类直接诱导或通过氧化应激的次级副产物反应间接诱导。氧化可以主要发生在甲硫氨酸残基上,但也可以发生在色氨酸和游离的半胱氨酸残基上。氧化可发生在CDR、Fab(非CDR)区或Fc区。

[0228] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含氧化翻译后修饰(“氧化”或“氧化的”),在本文中也称为“氧化变体”。该变体可以在重链序列和/或轻链序列(如重链序列的CDR和/或轻链序列的CDR)中包含氧化的氨基酸残基。氧化变体可以存在于重链或轻链之一或两者。

[0229] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的氧化变体的量 $\leq 65\%$ ,其中该氧化变体包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0230] 在一个实施方案中,氧化变体包含在重链序列的CDR和/或轻链序列的CDR中的甲硫氨酸和/或色氨酸残基处的氧化。在一个实施方案中,氧化变体包含在SEQ ID NO:13-18中任一项的甲硫氨酸和/或色氨酸残基处的氧化。在进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白包含在重链序列的CDR如CDRH1和/或CDRH3中的甲硫氨酸残基处的氧化。在进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白包含在轻链序列的CDR如CDRL2中的色氨酸残基处的氧化。在一些实施方案中,氧化变体包含在以下位置处的氧化中的一种或组合:CDRH1的M34、CDRH3的M103和/或CDRL2的W50。

[0231] 应当理解,提及CDR中的位置(例如M34、M103或W50)提供了关于整个PD-1结合蛋白序列(顺序编号)的位置编号。因此,应当理解,CDRH1的M34是指SEQ ID NO:13的第四个残基,即如加下划线所示:SYDMS(SEQ ID NO:13)。同样地,CDRH3的M103是指SEQ ID NO:15的第四个残基,即如加下划线所示:PYYAMDY(SEQ ID NO:15),并且CDRL2的W50是指SEQ ID NO:17的第一个残基,即如加下划线所示:WASTLHT(SEQ ID NO:17)。

[0232] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含在重链序列的Fc区和/或轻链序列的Fc区中的甲硫氨酸和/或色氨酸残基处的氧化。在一些实施方案中,氧化变体包含在以下位置处的氧化中的一种或组合:重链序列的Fc区的M248、M354和/或M424。

[0233] 在一个实施方案中,与SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列至少约90%相同和/或与SEQ ID NO:22的轻链序列至少约90%相同的PD-1结合蛋白的量,包含重链序列中的氧化,例如在CDRH1的氨基酸M34、CDRH3的氨基酸M103、Fc区的氨基酸M248、Fc区的氨基酸M354和/或Fc区的氨基酸M424处的氧化。在一个实施方案中,与SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列至少约90%相同和/或与SEQ ID NO:22的轻链序列至少约90%相同的PD-1结合蛋白的量,包含轻链序列中的氧化,例如在CDRL2的氨基酸W50处的氧化。

[0234] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区和/或与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区。在进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白与SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列至少约90%相同和/或与SEQ ID NO:22的轻链氨基酸序列至少约90%相同。在又进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列。

[0235] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的氧化变体的量 $\leq 65\%$ ,该氧化变体具有包含含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDRH1、含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDRH2和含有

SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDRH3的重链序列,以及包含含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDRL1、含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDRL2和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDRL3的轻链序列。

[0236] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的氧化变体的量 $\leq 65\%$ ,该氧化变体具有与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区和/或与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区。在进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白的氧化变体的量 $\leq 65\%$ ,该氧化变体具有SEQ ID NO:19的重链可变区和/或SEQ ID NO:20的轻链可变区。

[0237] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的氧化变体的量 $\leq 65\%$ ,该氧化变体包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链序列和/或与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链序列。在进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白的氧化变体的量 $\leq 65\%$ ,该氧化变体包含SEQ ID NO:21的重链序列和/或SEQ ID NO:22的轻链序列。

[0238] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含 $\leq 65\%$ 的氧化变体。在一个实施方案中,该量包含 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、 $\leq 4\%$ 或 $\leq 3\%$ 的氧化变体。在一个实施方案中,该量包含0.01-65%、0.01-60%、0.01-50%、0.01-40%、0.01-30%、0.01-20%、0.01-15%、0.01-10%、0.01-5%、0.01-4%或0.01-3%的氧化变体。替代地,该量包含0.5-65%、0.5-60%、0.5-50%、0.5-40%、0.5-30%、0.5-20%、0.5-15%、0.5-10%、0.5-5%、0.5-4%或0.5-3%的氧化变体。替代地,该量包含1-65%、1-60%、1-50%、1-40%、1-30%、1-20%、1-15%、1-10%、1-5%、1-4%、1-3%、2-4%或2-3%的氧化变体。替代地,该量包含约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%的氧化变体。应当理解,这些氧化变体实施方案可以与本文所述的结合蛋白变体中的任何一种组合。

[0239] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含在轻链序列的W50处 $\leq 34\%$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在轻链序列的W50处 $\leq 34\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 25\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 7.5\%$ 、 $\leq 5\%$ 、 $\leq 4\%$ 、 $\leq 3\%$ 、 $\leq 2\%$ 或 $\leq 1\%$ 的氧化。替代地,该量包含在轻链序列的W50处0-34%、0-30%、0-25%、0-20%、0-15%、0-10%、0-7.5%、0-5%、0-4%、0-3%、0-2%或0-1%的氧化。在一个实施方案中,该量包含在轻链序列的W50处0.01-34%、0.01-30%、0.01-25%、0.01-20%、0.01-15%、0.01-10%、0.01-7.5%、0.01-5%、0.01-4%、0.01-3%、0.01-2%或0.01-1%的氧化。替代地,该量包含在轻链序列的W50处0.5-34%、0.5-30%、0.5-25%、0.5-20%、0.5-15%、0.5-10%、0.5-7.5%、0.5-5%、0.5-4%或0.5-3%、0.5-2%或0.5-1%的氧化。替代地,该量包含在轻链序列的W50处0.1%或更多且34%或更少的氧化。替代地,该量包含在轻链序列的W50处约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%的氧化。

[0240] 在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的PD-1结合蛋白的氧化变体在轻链序列的W50处包含 $\leq 34\%$ 的氧化。

[0241] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含在重链序列的M34处 $\leq 21\%$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M34处 $\leq 21\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 16\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 12.5\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 7.5\%$ 、 $\leq 5\%$ 、 $\leq 4\%$ 、 $\leq 3\%$ 、 $\leq 2\%$ 或 $\leq 1\%$ 的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M34处0-21%、0-20%、0-16%、0-15%、0-12.5%、0-10%、0-7.5%、0-5%、0-4%、0-3%、0-2%或0-1%的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M34处0.01-21%、0.01-

20%、0.01-16%、0.01-15%、0.01-12.5%、0.01-10%、0.01-7.5%、0.01-5%、0.01-4%、0.01-3%、0.01-2%或0.01-1%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M34处0.5-21%、0.5-20%、0.5-16%、0.5-15%、0.5-12.5%、0.5-10%、0.5-7.5%、0.5-5%、0.5-4%、0.5-3%、0.5-2%或0.5-1%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M34处0.1%或更多且21%或更少的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M34处约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%的氧化。

[0242] 在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的PD-1结合蛋白的氧化变体在重链序列的M34处包含 $\leq 21\%$ 的氧化。

[0243] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含在重链序列的M103处 $\leq 64\%$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M103处 $\leq 64\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 47\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、 $\leq 2\%$ 或 $\leq 1\%$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M103处0-64%、0-60%、0-50%、0-47%、0-40%、0-30%、0-20%、0-15%、0-10%、0-5%、0-4%、0-3%、0-2%或0-1%的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M103处0.01-64%、0.01-60%、0.01-50%、0.01-47%、0.01-40%、0.01-30%、0.01-20%、0.01-15%、0.01-10%、0.01-5%、0.01-4%、0.01-3%、0.01-2%或0.01-1%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M103处0.5-64%、0.5-60%、0.5-50%、0.5-47%、0.5-40%、0.5-30%、0.5-20%、0.5-15%、0.5-10%、0.5-5%、0.5-4%、0.5-3%、0.5-2%或0.5-1%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M103处0.1%或更多64%或更少的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M103处约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%的氧化。

[0244] 在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的PD-1结合蛋白的氧化变体在重链序列的M103处包含 $\leq 64\%$ 的氧化。

[0245] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含在重链序列的M248处 $\leq 65\%$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M248处 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 45\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 35\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、 $\leq 4\%$ 或 $\leq 3\%$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M248处0.01-65%、0.01-60%、0.01-50%、0.01-40%、0.01-30%、0.01-20%、0.01-15%、0.01-10%、0.01-5%、0.01-4%、0.01-3%、0.01-2%或0.01-1%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M248处0.5-65%、0.5-60%、0.5-50%、0.5-40%、0.5-30%、0.5-20%、0.5-15%、0.5-10%、0.5-5%、0.5-4%或0.5-3%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M248处1-65%、1-60%、1-50%、1-40%、1-30%、1-20%、1-15%、1-10%、1-5%、1-4%、1-3%、2-4%或2-3%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M248处1%或更多且65%或更少的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M248处约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%的氧化。

[0246] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含在重链序列的M354处 $\leq 65\%$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M354处 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、 $\leq 2\%$ 或 $\leq 1\%$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M354处0.01-65%、0.01-60%、0.01-50%、0.01-40%、0.01-30%、0.01-20%、0.01-15%、0.01-10%、0.01-5%、0.01-4%、0.01-3%、0.01-2%或0.01-1%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M354处0.5-65%、0.5-60%、0.5-50%、0.5-40%、0.5-30%、0.5-20%、0.5-15%、0.5-10%、0.5-5%、0.5-4%或0.5-3%的氧化。替代地,该量包

含在重链序列的M354处1%或更多且65%或更少的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M354处约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%的氧化。

[0247] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含在重链序列的M424处 $\leq 65\%$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M424处 $\leq 65\%$ 、 $\leq 60\%$ 、 $\leq 50\%$ 、 $\leq 40\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 15\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、 $\leq 2\%$ 或 $\leq 1$ 的氧化。在一个实施方案中,该量包含在重链序列的M424处0.01-65%、0.01-60%、0.01-50%、0.01-40%、0.01-30%、0.01-20%、0.01-15%、0.01-10%、0.01-5%、0.01-4%、0.01-3%、0.01-2%或0.01-1%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M424处0-65%、0-60%、0-50%、0-40%、0-30%、0-20%、0-15%、0-10%、0-5%、0-4%或0-3%的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M424处0.1%或更多且65%或更少的氧化。替代地,该量包含在重链序列的M424处约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%的氧化。

[0248] 在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的PD-1结合蛋白的量包含在重链序列的M248和/或M354和/或M424处 $\leq 65\%$ 的氧化。

[0249] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含 $\leq 100\%$ 的酸性变体;和/或 $\leq 35\%$ 的碱性变体;和/或 $\geq 1\%$ 的主要同等型;和/或 $\leq 65\%$ 的氧化变体,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0250] 在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含5-60%的酸性变体;和/或0.1-35%的碱性变体;和/或20-90%的主要同等型;和/或 $\leq 65\%$ 的氧化变体,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0251] 在一个实例中,可以使用胰蛋白酶肽图谱串联质谱(肽图谱LC-MS/MS)来确定氧化。在一个实例中,包含本文所述的组合物的样品可以用盐酸胍变性,用二硫苏糖醇(DTT)还原,用碘乙酰胺烷基化,并用内切蛋白酶Lys-C(Lys-C)或胰蛋白酶消化。可以用Lys-C或胰蛋白酶在37°C下持续4小时完成酶消化。可以在液相色谱与串联质谱(LC-MS/MS)分析之前用三氟乙酸淬灭样品消化。LC-MS/MS分析系统可以采用具有C18柱的反相超高效液相色谱(UHPLC)、214nm的UV检测和电喷雾电离质谱(ESI-MS)。然后可以用UV检测器和质谱仪(例如Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL)检测肽。使用未修饰的和经修饰的肽的提取离子色谱图通过将经修饰的肽的曲线下面积除以经修饰的和未修饰的肽的曲线下总面积来计算氧化水平。

[0252] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含聚集的结合蛋白(高分子量(HMW)种类),在本文中也称为“聚集变体”。聚集的结合蛋白可以包含由结合蛋白单体及其亚基形成的二聚体或更高级的结构。因此,高分子量(HMW)种类可以由二聚化的结合蛋白和具有额外的亚基的单体(如具有两个轻链亚基的单体,或具有非共价结合至单体的LC-LC二聚体的单体)组成。聚集变体可以是例如本文公开的结合蛋白的共价或非共价、可还原或不可还原以及可见或亚可见的聚集物。聚集或片段化变体可以基于它们的尺寸来表征和区别于结合蛋白。例如,可以使用尺寸排阻色谱(SEC),如SE-HPLC,来检测结合蛋白组合物的尺寸分布。在一

个实施方案中,PD-1结合蛋白包含 $\leq 36\%$ 的聚集变体,该PD-1结合蛋白具有包含含有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDRH1、含有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDRH2和含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDRH3的重链序列,以及包含含有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDRL1、含有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDRL2和含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDRL3的轻链序列。应当理解,这些聚集变体实施方案可以与本文所述的任何结合蛋白变体组合。

[0253] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含 $\leq 36\%$ 的聚集变体,该PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:19的氨基酸序列至少约90%相同的重链可变区和/或与SEQ ID NO:20的氨基酸序列至少约90%相同的轻链可变区。在进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白是包含SEQ ID NO:19的重链可变区和/或SEQ ID NO:20的轻链可变区的聚集变体,该PD-1结合蛋白包含 $\leq 36\%$ 的聚集变体。

[0254] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含 $\leq 36\%$ 的聚集变体,该PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的氨基酸序列至少约90%相同的重链序列和/或与SEQ ID NO:22的氨基酸序列至少约90%相同的轻链序列。在进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白包含 $\leq 36\%$ 的聚集变体,该PD-1结合蛋白包含SEQ ID NO:21的重链序列和/或SEQ ID NO:22的轻链序列。

[0255] PD-1结合蛋白的量可以包含 $\leq 36\%$ 的聚集变体,如 $\leq 35\%$ 、 $\leq 30\%$ 、 $\leq 26\%$ 、 $\leq 25\%$ 、 $\leq 20\%$ 、 $\leq 10\%$ 、 $\leq 5\%$ 、 $\leq 4\%$ 、 $\leq 3\%$ 、 $\leq 2\%$ 或 $\leq 1\%$ 的聚集变体。在另一个实施方案中,该量可以包含0.01-36%、0.01-35%、0.01-30%、0.01-26%、0.01-25%、0.01-20%、0.01-10%、0.01-5%、0.01-4%、0.01-3%、0.01-2%或0.01-1%的聚集变体。替代地,该量包含多于1%且少于36%的聚集变体。替代地,该量可以包含约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%的聚集变体。

[0256] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含: $\leq 100\%$ 的酸性变体;和/或 $\leq 35\%$ 的碱性变体;和/或 $\geq 1\%$ 的主要同等型;和/或 $\leq 65\%$ 的氧化变体;和/或 $\leq 36\%$ 的聚集变体,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0257] 在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含:5-60%的酸性变体;和/或0.1-35%的碱性变体;和/或20-90%的主要同等型;和/或 $\leq 65\%$ 的氧化变体;和/或 $\leq 36\%$ 的聚集变体,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列。

[0258] 片段化变体(“片段变体”)是包含全长结合蛋白的部分的变体。例如,此类片段包括Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和Fv片段、双抗体、线性抗体、单链抗体分子和免疫球蛋白单可变结构域。结合蛋白的量可以包含 $\leq 10\%$ 的片段化结合蛋白,如 $\leq 5\%$ 、 $\leq 4.6\%$ 、 $\leq 4.5\%$ 、 $\leq 4.4\%$ 、 $\leq 4.3\%$ 、 $\leq 4.2\%$ 、 $\leq 4.1\%$ 、 $\leq 4\%$ 、 $\leq 3.5\%$ 、 $\leq 3\%$ 、 $\leq 2.5\%$ 、 $\leq 2\%$ 、 $\leq 1.5\%$ 、 $\leq 1\%$ 、 $\leq 0.5\%$ 或 $\leq 0.05\%$ 的片段化结合蛋白。在另一个实施方案中,该量可以包含0.01-10%、0.01-5%、0.01-4.6%、0.01-4.5%、0.01-4%、0.01-3.5%、0.01-3%、0.01-2.5%、0.01-2%、0.01-1.5%、0.01-1%、0.01-0.5%、0.01-0.1%或0.01-0.05%的片段化抗体。在另一个实施方案中,该量可以包含0.5-10%、0.5-5%、0.5-4.6%、0.5-4.5%、0.5-4%、

0.5-3.5%、0.5-3%、0.5-2.5%、0.5-2%、0.5-1.5%、0.5-1%、0.6-1.5%或0.6-1.0%的片段化抗体。替代地,该量可以包含约10%、约5%、约4%、约3%、约2%、约1%或约0.5%的片段化抗体。应当理解,这些片段化变体实施方案可以与本文所述的结合蛋白变体的任何一种组合。

[0259] 可以在例如生产和/或储存期间发生的脱酰胺可以是酶促反应或化学反应。脱酰胺可以经由分子内环化的简单化学反应发生,其中链中下一个氨基酸的酰胺氮亲核攻击酰胺(N+1攻击N);形成琥珀酰亚胺中间体。脱酰胺可以主要以约3:1的比率将天冬酰胺(N)转化为异天冬氨酸(iso-aspartate)和天冬氨酸(aspartate)(D)。因此,该脱酰胺反应可以与天冬氨酸(D)异构化为异天冬氨酸有关。天冬酰胺的脱酰胺和天冬氨酸的异构化都可以涉及中间体琥珀酰亚胺。在较小程度上,谷氨酰胺残基可以以类似的方式发生脱酰胺。脱酰胺可以发生在CDR、Fab(非CDR区)或Fc区。异构化是将天冬氨酸(D)转化为异天冬氨酸,其涉及中间体琥珀酰亚胺(琥珀酰亚胺-天冬氨酸残基)。

[0260] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白可以包含脱酰胺翻译后修饰(“脱酰胺”或“脱酰胺的”),本文也称为“脱酰胺变体”。

[0261] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含重链序列的CDR和/或轻链序列的CDR中天冬酰胺残基的脱酰胺。在进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白包含重链序列的CDR中天冬酰胺残基的脱酰胺。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含重链序列的Fc区和/或轻链序列的Fc区中天冬酰胺残基的脱酰胺。脱酰胺变体可以存在于重链或轻链的一条或两条链中。应当理解,这些脱酰胺变体实施方案可以与本文所述的结合蛋白变体中的任何一种组合。在一些实施方案中,脱酰胺变体在重链序列的Fc区的N380和/或N385处包含一种脱酰胺或脱酰胺组合。

[0262] 在一个实施方案中,脱酰胺变体包含选自以下的脱酰胺的残基:天冬氨酸残基、琥珀酰亚胺-天冬氨酸残基或异天冬氨酸残基。

[0263] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列至少约90%相同的序列(并且任选地包含与SEQ ID NO:22的轻链序列至少约90%相同的序列),并且在重链序列中包含脱酰胺,例如在Fc区的氨基酸残基N380和/或N385处脱酰胺。在一些实施方案中,脱酰胺变体在SEQ ID NO:21的N380和/或N385处包含至多100%的脱酰胺。

[0264] 脱酰胺可以导致天冬酰胺残基(N)转化为天冬氨酸残基(D)的序列改变。因此,在一个实施方案中,脱酰胺变体包含SEQ ID NO:23的重链序列(即具有N380D的重链序列)。在另一个实施方案中,脱酰胺变体包含SEQ ID NO:24的重链序列(即具有N385D的重链序列)。在又一些进一步的替代实施方案中,脱酰胺变体包含SEQ ID NO:25的重链序列(即具有N380D和N385D的重链序列)。

[0265] PD-1结合蛋白的量可以包含至多100%的脱酰胺变体。在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的PD-1结合蛋白的量包含至多100%的脱酰胺变体。

[0266] 在一个实施方案中,该量包含在重链序列的N380和/或N385处至多100%的脱酰胺。在一个实施方案中,该量包含在N380处0-100%、0-90%、0-80%、0-70%、0-60%、0-50%、0-40%、0-30%、0-20%或0-10%的脱酰胺。替代地,该量包含在N380处0.1-100%、0.1-90%、0.1-80%、0.1-70%、0.1-60%、0.1-50%、0.1-40%、0.1-30%、0.1-20%或0.1-

10%的脱酰胺。替代地,该量包含在N380处1-100%、1-90%、1-80%、1-70%、1-60%、1-50%、1-40%、1-30%、1-20%或1-10%的脱酰胺。替代地,该量包含在N380处2-100%、3-100%、4-100%、5-100%、6-100%、7-100%、8-100%、9-100%、2-30%、3-30%、4-30%、5-30%、2-40%、3-40%、4-40%、5-40%、2-10%、3-10%、4-10%或5-9%的脱酰胺。替代地,该量包含在N380处1%或更多、2%或更多、3%或更多、4%或更多、或5%或更多、6%或更多、7%或更多、8%或更多、9%或更多、或10%或更多的脱酰胺。

[0267] 在一个实施方案中,该量包含在N385处0-100%、0-90%、0-80%、0-70%、0-60%、0-50%、0-40%、0-30%、0-20%或0-10%的脱酰胺。替代地,该量包含在N385处0.1-100%、0.1-90%、0.1-80%、0.1-70%、0.1-60%、0.1-50%、0.1-40%、0.1-30%、0.1-20%或0.1-10%的脱酰胺。替代地,该量包含在N385处1-100%、1-90%、1-80%、1-70%、1-60%、1-50%、1-40%、1-30%、1-20%或1-10%的脱酰胺。替代地,该量包括在N385处0.5%或更多、1%或更多、或2%或更多的脱酰胺。

[0268] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的PD-1结合蛋白的量包含在重链的N380和/或N385处至多100%的脱酰胺。

[0269] 在一些实施方案中,该量包含在SEQ ID NO:21的N84处约0.5-2%、约0.5%、约1%、约1.5%或约2%的脱酰胺。在一些实施方案中,该量包含在SEQ ID NO:21的N137处约0.5-2%、约0.5%、约1%、约1.5%或约2%的脱酰胺。在一些实施方案中,该量包含在SEQ ID NO:21的N311处约5-8%、约5%、约6%、约7%或约8%的脱酰胺。在一些实施方案中,该量包含在SEQ ID NO:21的N430处约0.5-3%、约0.5%、约1%、约1.5%、约2%、约2.5%或约3%的脱酰胺。

[0270] 在一个实例中,可以使用Lys-C和/或胰蛋白酶肽图谱串联质谱(肽图谱LC-MS/MS)确定脱酰胺。

[0271] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含异构化翻译后修饰(“异构化”或“异构化的”),在本文中也称为“异构化变体”。变体可以在重链序列和/或轻链序列中包含异构化的氨基酸残基,如重链序列的CDR和/或轻链序列的CDR。异构化变体可以存在于重链和/或轻链的一条或两条链中。异构化翻译后修饰可以导致异天冬氨酸和/或琥珀酰亚胺-天冬氨酸残基。在一个实例中,可以使用如上文所述的Lys-C和/或胰蛋白酶肽图谱串联质谱(肽图谱LC-MS/MS)来确定天冬氨酸(Asp)异构化。应当理解,这些异构化变体实施方案可以与本文所述的结合蛋白变体的任何一种组合。

[0272] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的PD-1结合蛋白的量包含至多100%的异构化变体。

[0273] 在一些实施方案中,该量包含至多100%的异构化变体。该量可以包含0-100%、0-90%、0-80%、0-70%、0-60%、0-50%、0-40%、0-30%、0-15%、0-20%或0-10%的异构化变体。替代地,该量可以包含0.1-100%、0.1-90%、0.1-80%、0.1-70%、0.1-60%、0.1-50%、0.1-40%、0.1-30%、0.1-20%、0.1-15%或0.1-10%的异构化变体。替代地,该量可以包含1-100%、1-90%、1-80%、1-70%、1-60%、1-50%、1-40%、1-30%、1-20%、1-15%或1-10%的异构化变体。

[0274] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含在SEQ ID NO:21的D147处至多100%的异构化。该量可以包含在重链序列的D147处0-100%、0-90%、0-80%、0-70%、0-60%、0-

50%、0-40%、0-30%、0-20%、0-15%或0-10%的异构化。替代地,该量可以包含在重链序列的D147处0.1-100%、0.1-90%、0.1-80%、0.1-70%、0.1-60%、0.1-50%、0.1-40%、0.1-30%、0.1-20%、0-15%或0.1-10%的异构化。在一些实施方案中,该量包含在重链序列的D147处1%或更多的异构化。

[0275] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的PD-1结合蛋白的量包含在重链的D147处至多100%的异构化。

[0276] 在一些实施方案中,该量包含在SEQ ID NO:21的D151、D167、D261、D266、D276、D395、D397和/或409处0-15%、0.1-15%、1-15%、1%或更多、1.5%或更多、或2%或更多的异构化。例如,该量包含在SEQ ID NO:21的D62处约2.3%的异构化。例如,该量包含在SEQ ID NO:21的D261/266/276处约13.1%的异构化。例如,该量包含在SEQ ID NO:21的D151/167处约3.1%的异构化。例如,该量包含在SEQ ID NO:21的D395/397/409处约2.7%的异构化。

[0277] 在另一个实施方案中,包含变体的PD-1结合蛋白具有至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的参考标准的效力,该参考标准具有100%的效力。在一个方面,PD-1结合蛋白的变体(其中该变体包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列)具有至少60%的PD-1结合蛋白的效力,该PD-1结合蛋白包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列、10-97%的酸性变体、0.1-35%的碱性变体、2-80%的主要同等型、4.8%或更少的LC W50氧化变体、1%或更少的HC M34氧化变体、1.2%或更少的HC M103氧化变体、15.2%或更少的聚集变体、16.7%或更少的HC M354氧化变体、29.0%或更少的HC M424氧化变体、47.1%或更少的HC M248氧化变体、20.8%或更少的HC D147异构化变体、13.1%或更少的HC D151或D167异构化变体、3.1%或更少的HC D261、D266或D276异构化变体、4.6%或更少的片段化变体、27.8%或更少的HC N380脱酰胺变体、27.2%或更少的HC N385脱酰胺变体、约7.4%或更少的HC N311脱酰胺变体、约2.0%或更少的N430脱酰胺变体、90%或更多的重链(HC)C端赖氨酸缺失的变体( $\Delta$ K443)和1%或更少的HC N端焦谷氨酸化的变体。

[0278] 糖化是包括还原糖(如葡萄糖)和蛋白质中的游离胺基团之间的非酶化学反应的翻译后修饰,并且通常在赖氨酸侧链的 $\epsilon$ 胺或在蛋白质的N端观察到。在还原糖的存在下,糖化可以在生产和/或储存过程中发生。

[0279] 在生产和/或储存条件下可以发生二硫键扰乱。在某些情况下,二硫键会断裂或不正确地形成,导致未配对的半胱氨酸残基(-SH)。这些游离的(未配对的)巯基(-SH)可以促进改组。

[0280] 在生产或储存过程中,可以在碱性条件下通过经由脱氢丙氨酸和过硫化物中间体将二硫桥 $\beta$ 消除回半胱氨酸残基,发生硫醚的形成和二硫键的外消旋。脱氢丙氨酸和半胱氨酸的后续交联可以导致硫醚键的形成,或者游离的半胱氨酸残基可以与D-和L-半胱氨酸的混合物重新形成二硫键。

[0281] 三硫化物可以由硫原子插入二硫键(Cys-SS-S-Cys)中产生,并且可以由于生产细胞培养物中硫化氢的存在而形成。

[0282] 重链和/或轻链中的N端谷氨酰胺(Q,Gln)和谷氨酸盐(glutamate)(谷氨酸(glutamic acid))(E,Glu)可以经由环化形成焦谷氨酸(pGlu)。pGlu的形成可以在生产生物反应器中形成,但它也可以例如非酶地形成,这取决于加工和储存条件的pH值和温度。在天然人抗体中通常观察到N端Q或E的环化。

[0283] C端赖氨酸剪切(也称为C端赖氨酸切割)是由羧肽酶催化的酶促反应,并且通常在重组和天然人抗体中观察到。该过程的变体包括由于来自重组宿主细胞的细胞酶从重链之一或两者中去除赖氨酸。对人受试者/患者施用可能会导致去除任何剩余的C端赖氨酸。

[0284] 在一个实施方案中,翻译后修饰是结合蛋白变体(例如序列变体)。示例性的翻译后修饰结合蛋白变体包括天冬酰胺(N,Asn)到天冬氨酸(D,Asp)的转换(“脱酰胺”)、N端焦谷氨酸化和/或C端赖氨酸切割。在一个实例中,可以使用如上文所述的Lys-C和/或胰蛋白酶肽图谱串联质谱(肽图谱LC-MS/MS)来确定结合蛋白变体,例如重链序列中的N380D或N385D。使用未修饰的和经修饰的肽的提取离子色谱图通过将经修饰的肽的曲线下面积除以经修饰的和未修饰的肽的曲线下总面积来计算结合蛋白变体(例如N380D或N385D)的水平。

[0285] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白在重链氨基酸序列中包含N端焦谷氨酸(“焦谷氨酸”)翻译后修饰(“N端焦谷氨酸化变体”)。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列至少约90%相同的序列(并且任选地包含与SEQ ID NO:22的轻链序列至少约90%相同的序列),并且在重链的N端包含焦谷氨酸。

[0286] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含至多100%的重链N端焦谷氨酸化变体。该量可以包含0-100%、0-90%、0-80%、0-70%、0-60%、0-50%、0-40%、0-30%、0-20%或0-10%的重链N端焦谷氨酸化变体。替代地,该量可以包含0.1-100%、0.1-90%、0.1-80%、0.1-70%、0.1-60%、0.1-50%、0.1-40%、0.1-30%、0.1-20%或0.1-10%的重链N端焦谷氨酸化变体。替代地,该量可以包含1-100%、1-90%、1-80%、1-70%、1-60%、1-50%、1-40%、1-30%、1-20%或1-10%的重链N端焦谷氨酸化变体。替代地,该量可以包含 $\leq 10\%$ 、 $\leq 9\%$ 、 $\leq 8\%$ 、 $\leq 7\%$ 、 $\leq 6\%$ 、 $\leq 5\%$ 、 $\leq 2\%$ 或 $\leq 1\%$ 的重链N端焦谷氨酸化变体。

[0287] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含重链氨基酸序列中C端赖氨酸(K443)的缺失。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含与SEQ ID NO:21的重链氨基酸序列至少约90%相同的序列(并且任选地包含与SEQ ID NO:22的轻链序列至少约90%相同的序列),并且在重链的C端包含赖氨酸残基(K443)的缺失。

[0288] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含至多100%的重链C端赖氨酸经切割的变体。在另一个实施方案中,该量包含10%或更多的重链C端赖氨酸经切割的变体。在另一个实施方案中,该量包含 $\geq 10\%$ 、 $\geq 20\%$ 、 $\geq 30\%$ 、 $\geq 40\%$ 、 $\geq 50\%$ 、 $\geq 60\%$ 、 $\geq 70\%$ 、 $\geq 80\%$ 、 $\geq 90\%$ 或 $\geq 95\%$ 的重链C端赖氨酸经切割的变体。该量可以包含1-100%、10-100%、20-100%、30-100%、40-100%、50-100%、60-100%、70-100%、80-100%或90-100%的重链C端赖氨酸经切割的变体。替代地,该量可以包含约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约95-99%、约96-99%或约97-99%的重链C端赖氨酸经切割的变体。

[0289] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的量包含至多100%的重链N端焦谷氨酸化变体和至多100%的重链C端赖氨酸经切割的变体。

[0290] 在一个实施方案中,具有SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列的

PD-1结合蛋白包含至多100%的重链N端焦谷氨酸化变体,和/或至多100%的重链C端赖氨酸经切割的变体。

[0291] 在一个实例中,可以使用Lys-C和/或胰蛋白酶肽图谱串联质谱(肽图谱LC-MS/MS)来确定N端焦谷氨酸和C端赖氨酸切割。

[0292] 可以使用表面等离子共振(SPR)测量新生儿Fc受体(FcRn)与PD-1结合蛋白的结合。结合蛋白可以被固定化在次氨基三乙酸(NTA)传感器芯片上的FcRn捕获。可以通过在校准曲线上插入结合响应来确定样品的FcRn结合浓度。通过将FcRn结合浓度除以总蛋白质浓度来计算特异性结合活性(%)。

[0293] 包含上述结合蛋白和结合蛋白变体的PD-1结合蛋白保留特异性抗原结合和/或FcRn结合和/或效力。例如,包含上述结合蛋白和结合蛋白变体和翻译后修饰变体的PD-1结合蛋白具有>0.70的PD-1特异性抗原结合;和/或>70%的FcRn结合和/或>70%的效力。因此,可以耐受这些变体的水平(%)而不会显著影响功能(即不会导致降低的活性)。在一个实施方案中,“降低的功能”或“降低的活性”意指与参考标准相比,与PD-1的结合、或与FcRn的结合或效力以百分比形式降低,并且相对于测定变异性显著。例如,降低的功能或活性或效力可以描述为 $\geq 5\%$ 、 $\geq 10\%$ 、 $\geq 15\%$ 、 $\geq 20\%$ 、 $\geq 25\%$ 、 $\geq 30\%$ 、 $\geq 35\%$ 、 $\geq 40\%$ 、 $\geq 45\%$ 或 $\geq 50\%$ 的降低。

[0294] 例如,参考标准(或参考材料或对照或非应激对照)是SEQ ID NO:21的PD-1结合蛋白重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列。在一个实施方案中,参考标准包含10-97%的酸性变体、和/或0.1-35%的碱性变体、和/或2-80%的主要同等型。在一个实施方案中,参考标准包含4.8%或更少的LC W50氧化变体。在另一个实施方案中,参考标准包含1%或更少的HC M34氧化变体。在另一个实施方案中,参考标准包含1.2%或更少的HC M103氧化变体。在另一个实施方案中,参考标准包含10-97%的酸性变体、和/或0.1-35%的碱性变体、和/或2-80%的主要同等型、和/或4.8%或更少的LC W50氧化变体、和/或1%或更少的HC M34氧化变体、和/或1.2%或更少的HC M103氧化变体。在另一个实施方案中,参考标准包含15.2%或更少的聚集变体。在另一个实施方案中,参考标准包含SEQ ID NO:9的重链序列和SEQ ID NO:10的轻链序列、10-97%的酸性变体和/或0.1-35%的碱性变体、和/或2-80%的主要同等型、和/或4.8%或更少的LC W50氧化变体、和/或1%或更少的HC M34氧化变体、和/或1.2%或更少的HC M103氧化变体、和/或15.2%或更少的聚集变体。

[0295] 在另一个实施方案中,参考标准进一步包含16.7%或更少的HC M354氧化变体。在另一个实施方案中,参考标准进一步包含29.0%或更少的M424氧化变体。在另一个实施方案中,参考标准进一步包含47.1%或更少的HC M248氧化变体。在另一个实施方案中,参考标准进一步包含20.8%或更少的HC D147异构化变体。在另一个实施方案中,参考标准进一步包含13.1%或更少的HC D151或D167异构化变体。在另一个实施方案中,参考标准进一步包含3.1%或更少的HC D261、D266或D276异构化变体。在另一个实施方案中,参考标准进一步包含4.6%或更少的片段化变体。在另一个实施方案中,参考标准进一步包含27.8%或更少的HC N380脱酰胺变体和/或27.2%或更少的HC N385脱酰胺变体。在进一步的实施方案中,参考标准进一步包含约7.4%或更少的HC N311脱酰胺变体和/或约2.0%或更少的N430脱酰胺变体。在另一个实施方案中,参考标准进一步包含90%或更多的重链(HC)C端赖氨酸缺失变体( $\Delta$ K443),和1%或更少的HC N端焦谷氨酸化变体。在另一个实施方案中,参考标

准包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列、10-97%的酸性变体、和/或0.1-35%的碱性变体、和/或2-80%的主要同等型、和/或4.81%或更少的LC W50氧化变体、和/或1%或更少的HC M34氧化变体、和/或1.2%或更少的HC M103氧化变体、和/或15.2%或更少的聚集变体、16.7%或更少的HC M354氧化变体、和/或29.0%或更少的HC M424氧化变体、和/或47.1%或更少的HC M248氧化变体、和/或20.8%或更少的HC D147异构化变体、和/或13.1%或更少的HC D151或D167异构化变体、和/或3.1%或更少的HC D261、D266或D276异构化变体、和/或4.6%或更少的片段化变体、和/或27.8%或更少的HC N380脱酰胺变体、和/或27.2%或更少的HC N385脱酰胺变体、和/或约7.4%或更少的HC N311脱酰胺变体、和/或约2.0%或更少的N430脱酰胺变体、和/或90%或更多的重链(HC)C端赖氨酸缺失变体( $\Delta$ K443)、和/或1%或更少的HC N端焦谷氨酸化变体。

[0296] 在一个实施方案中,参考标准包含SEQ ID NO:21的重链序列和SEQ ID NO:22的轻链序列、10-30%的酸性变体;和/或0.1-10%的碱性变体;和/或60-80%的主要同等型、和/或约1%或更少的LC W50氧化变体、和/或约1%或更少的HC M34氧化变体、和/或约1%或更少的HC M103氧化变体、和/或约1%的聚集变体、约1%或更少的HC M354氧化变体、和/或约1%或更少的HC M424氧化变体、和/或约2-3%的HC M248氧化变体、和/或约1%或更少的HC D147异构化变体、和/或约1%的HC D151或D167异构化变体、和/或约0.6-1%的片段化变体、和/或5-9%的HC N380脱酰胺变体、和/或约1%或更少的HC N385脱酰胺变体、和/或约5.8%的HC N311脱酰胺变体、和/或约1.2%的N430脱酰胺变体、和/或约97-99%的重链(HC)C端赖氨酸缺失变体( $\Delta$ K443)、和/或约1%或更少的HC N端焦谷氨酸变体。

[0297] 在一个实施方案中,本文所定义的参考标准是抗PD-1抗体。

[0298] 本发明可以涵盖可能已经经受或经历本文所述的翻译后修饰的一种或多种的PD-1结合蛋白。例如,PD-1结合蛋白可以包含结合蛋白的混合物或调合物:1)具有和不具有本文所述的翻译后修饰(1个或多个、或2个或多个)。因此,PD-1结合蛋白可以包含具有翻译后修饰的群体和不具有翻译后修饰的群体。

[0299] 所描述的PD-1结合蛋白可能已经经受或经历一种或多种翻译后修饰。修饰可以发生在CDR、可变框架区或恒定区。修饰可以导致分子的电荷的改变。

[0300] 在一个实施方案中,本文所述的翻译后修饰不会导致抗原结合亲和力、生物学活性、药代动力学(PK)/药效学(PD)、聚集、免疫原性和/或与Fc受体的结合的显著改变,除非指定和描述为产物相关的杂质。

[0301] 与人PD-1结合的mAb的实例描述于US专利号:US 8,552,154;US8,008,449;US 7,521,051;US 7,488,802;以及W02004072286、W02004056875和W02004004771。

[0302] 其他PD-1结合蛋白包括与PD-1特异性结合并且优选地与人PD-1特异性结合的免疫粘附素,例如,含有与恒定区(如免疫球蛋白分子的Fc区)融合的PD-L1或PD-L2的细胞外或PD-1结合部分的融合蛋白。与PD-1特异性结合的免疫粘附素分子的实例描述于W02010027827和W02011066342中。在本发明的治疗方法、药物和用途中可用作PD-1拮抗剂的特异性融合蛋白包括AMP-224(也称为B7-DCIg),其是PD-L2-FC融合蛋白并且与人PD-1结合。

[0303] OPDIVO/纳武单抗是由Bristol Myers Squibb销售的针对负免疫调节人细胞表面受体PD-1(程序性死亡-1或程序性细胞死亡-1/PCD-1)的完全人单克隆抗体,具有免疫增强

活性。作为其功能的一方面，纳武单抗通过结合PD-1 (Ig超家族跨膜蛋白) 并阻断PD-1被其配体PD-L1和/或PD-L2的活化，导致T细胞的活化和针对肿瘤细胞或病原体的细胞介导的免疫应答。活化的PD-1通过P13k/Akt途径激活的抑制负调节T细胞活化和效应器功能。纳武单抗的其他名称包括：BMS-936558、MDX-1106和ONO-4538。纳武单抗的氨基酸序列以及使用和制备方法公开于US专利号8,008,449中。

[0304] LIBTAYO/西米普利单抗-rwlc (cemiplimab-rwlc) 是由Regeneron和Sanofi销售的用于治疗癌症(包括晚期皮肤鳞状细胞癌)的抗PD-1抗体。

[0305] 结合TIM-3的抗原结合蛋白和抗体

[0306] 在本发明的任何方面或实施方案中，针对TIM-3的药剂包括特异性结合TIM-3的单克隆抗体(mAb)或其抗原结合片段。在一些实施方案中，针对TIM-3的mAb特异性结合人TIM-3。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白是单克隆抗体或其抗原结合片段。mAb可为人抗体、人源化抗体或嵌合抗体，并且可包括人恒定区。人恒定区选自由IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区组成的组，并且在优选的实施方案中，人恒定区是IgG1或IgG4恒定区。抗原结合片段可选自由Fab、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、scFv和Fv片段组成的组。

[0307] 如本文所用，“TIM-3”是指T细胞免疫球蛋白及粘蛋白结构域-3，也称为甲型肝炎病毒细胞受体2(HAVCR2)。它是Th1特异性细胞表面蛋白，其调节巨噬细胞活化，并且增强小鼠中实验性自身免疫性脑脊髓炎的严重程度。TIM-3在多种免疫细胞类型的表面上高度表达，包括例如Th1 IFN- $\gamma$  +细胞、Th17细胞、自然杀伤(NK)细胞、单核细胞和肿瘤相关的树突状细胞(DC)(参见例如WO 2018/129553和其中所含的参考文献)。TIM-3还在多种慢性病毒感染(例如HIV、HCV和HBV)和某些癌症中在“耗竭的”或受损的CD8+T细胞上高度表达(参见例如WO 2018/129553和其中所含的参考文献)。

[0308] TIM-3的推定配体包括磷脂酰丝氨酸(Nakayama et al. Blood, 113:3821-3830 (2009))、半乳糖凝集素-9(Zhu et al. Nat. Immunol., 6:1245-1252 (2005))、高迁移率族蛋白1(HMGB1)(Chiba et al. Nat. Immunol., 13:832-842 (2012))和癌胚抗原细胞粘附分子1(CEACAM1)(Huang et al. Nature, 517(7534):386-90 (2015))。

[0309] TIM-3发挥功能以调节免疫应答的各种方面。TIM-3与半乳糖凝集素-9(Gal-9)的相互作用诱导细胞死亡，并且这种相互作用的体内阻断在实验模型中加剧自身免疫并消除耐受性，这有力表明TIM-3是负调节分子。与其对T细胞的效应形成对照，TIM-3-Gal-9相互作用通过促进巨噬细胞清除细胞内病原体而表现出抗微生物效应(参见例如Sakuishi et al., Trends in Immunology, 32(8):345-349 (2011))。TIM-3的体内抑制显示增强实验性自身免疫性脑脊髓炎的病理学严重程度(Mannev et al. 同上；以及Anderson, A.C. 和Anderson, D.E., Curr. Opin. Immunol., 18:665-669 (2006))。研究还表明TIM-3-半乳糖凝集素-9途径的失调可以在慢性自身免疫疾病如多发性硬化症中发挥作用(Anderson和Anderson, 同上)。TIM-3通过其独特的结合槽来结合磷脂酰丝氨酸而促进凋亡细胞的清除(参见例如DeKruyff et al., J. Immunol., 184(4):1918-1930 (2010))。

[0310] 人TIM-3的氨基酸序列(登录号:UniProtKB-Q8TDQ0)如下显示为SEQ ID NO:40。

[0311] MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWKGKACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPAKVTPAPTRQRDF TAAFPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFG

ALIFKWYSHSKEKIQNLSLISLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYTTIEENVYVEEPPNEYCYVSSRQQPSQLGC  
RFAMP (SEQ ID NO:40)

[0312] “针对TIM-3的药剂”意指能够结合TIM-3的任何化学化合物或生物分子。在一些实施方案中,针对TIM-3的药剂是TIM-3结合蛋白。

[0313] 如本文所用,术语“TIM-3结合蛋白”是指能够结合TIM-3的抗体和其他蛋白构建体,如结构域。在某些情况下,TIM-3是人TIM-3。术语“TIM-3结合蛋白”可以与“TIM-3结合剂”、“TIM-3抗原结合蛋白”或“TIM-3抗原结合剂”互换使用。因此,如本领域所理解,抗TIM-3抗体和/或TIM-3抗原结合蛋白将被视为TIM-3结合蛋白。该定义不包括天然同源配体或受体。提及到的TIM-3结合蛋白包括其抗原结合部分或片段。如本文所用,TIM-3结合蛋白的“抗原结合部分”将包括能够结合TIM-3的TIM-3结合蛋白的任何部分,包括但不限于抗原结合抗体片段。

[0314] 在一个实施方案中,本发明的TIM-3结合蛋白包含以下CDR中的任一者或组合:

[0315] CDRH1:SYDMS (SEQ ID NO:30)

[0316] CDRH2:TISGGTYTYYYQDSVK (SEQ ID NO:31)

[0317] CDRH3:MDY (SEQ ID NO:32)

[0318] CDRL1:RASQSIRRYLN (SEQ ID NO:33)

[0319] CDRL2:GASTLQS (SEQ ID NO:34)

[0320] CDRL3:QQSHSAPLT (SEQ ID NO:35)

[0321] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含重链可变区CDR1 (“CDRH1”),该重链可变区CDR1包含相对于SEQ ID NO:30中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0322] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含重链可变区CDR2 (“CDRH2”),该重链可变区CDR2包含相对于SEQ ID NO:31中所示的氨基酸序列具有五个或更少个,如四个或更少个、三个或更少个、两个或更少个、或一个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。在进一步的实施方案中,CDRH2包含相对于SEQ ID NO:31中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0323] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含重链可变区CDR3 (“CDRH3”),该重链可变区CDR3包含相对于SEQ ID NO:32中所示的氨基酸序列具有一个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0324] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含轻链可变区CDR1 (“CDRL1”),该轻链可变区CDR1包含相对于SEQ ID NO:33中所示的氨基酸序列具有三个或更少个,如一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0325] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含轻链可变区CDR2 (“CDRL2”),该轻链可变区CDR2包含相对于SEQ ID NO:34中所示的氨基酸序列具有一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0326] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含轻链可变区CDR3 (“CDRL3”),该轻链可变区CDR3包含相对于SEQ ID NO:35中所示的氨基酸序列具有三个或更少个,如一个或两个氨基酸变异的氨基酸序列 (“CDR变体”)。

[0327] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含:CDRH1,其包含相对于SEQ ID NO:30中所

示的氨基酸序列具有至多一个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRH2,其包含相对于SEQ ID NO:31中所示的氨基酸序列具有至多五个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRH3,其包含相对于SEQ ID NO:32中所示的氨基酸序列具有至多一个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRL1,其包含相对于SEQ ID NO:33中所示的氨基酸序列具有至多三个氨基酸变异的氨基酸序列;CDRL2,其包含相对于SEQ ID NO:34中所示的氨基酸序列具有至多一个氨基酸变异的氨基酸序列;和/或CDRL3,其包含相对于SEQ ID NO:35中所示的氨基酸序列具有至多三个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0328] 在本发明的一个实施方案中,TIM-3结合蛋白在具有SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列的重链可变区中包含CDRH1(SEQ ID NO:30)、CDRH2(SEQ ID NO:31)和CDRH3(SEQ ID NO:32)。在一些实施方案中,本发明的TIM-3结合蛋白包含与SEQ ID NO:36具有至少90%序列同一性的重链可变区。合适地,本发明的TIM-3结合蛋白可以包含与SEQ ID NO:36具有约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变区。

[0329] TIM-3重链( $V_H$ )可变区:

[0330] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLDWVSTISGGGTYTYYQDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:36)

[0331] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的重链可变区(" $V_H$ ").在一个实施方案中, $V_H$ 包含相对于SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列具有1至5个,如1至3个,特别是至多2个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0332] 在本发明的一个实施方案中,TIM-3结合蛋白在具有SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列的轻链可变区中包含CDRL1(SEQ ID NO:33)、CDRL2(SEQ ID NO:34)和CDRL3(SEQ ID NO:35)。在一些实施方案中,本发明的TIM-3结合蛋白包含与SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区。合适地,本发明的TIM-3结合蛋白可以包含与SEQ ID NO:37具有约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变区。

[0333] TIM-3轻链( $V_L$ )可变区:

[0334] DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSIIRRYLNWYHQKPGKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQSHSAPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:37)

[0335] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的轻链可变区(" $V_L$ ").在一个实施方案中, $V_L$ 包含相对于SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有1至5个,如1至3个,特别是至多2个氨基酸变异的氨基酸序列。

[0336] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含具有SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列的 $V_H$ ;以及具有SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列的 $V_L$ 。

[0337] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一

性的氨基酸序列的 $V_H$ ;以及含有与SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的 $V_L$ 。

[0338] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是包含与SEQ ID NO:38中所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链(HC)氨基酸序列的单克隆抗体。

[0339] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLDWVSTISGGGTYTYYQDSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASMDYWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:38)

[0340] 在一个实施方案中,HC包含相对于SEQ ID NO:38中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:38中所示的氨基酸序列具有1至10个,如1至7个,特别是至多6个氨基酸变异的氨基酸序列。在进一步的实施方案中,HC包含相对于SEQ ID NO:38中所示的氨基酸序列而言一、二、三、四、五、六或七个氨基酸变异。

[0341] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是包含与SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链(LC)氨基酸序列的人源化单克隆抗体。

[0342] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIRRYLNWYHQKPGKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISLQPEDFAVYYCQQSHSAPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:39)

[0343] 在一个实施方案中,LC包含相对于SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列具有至少一个氨基酸变异,如相对于SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列具有1至10个,如1至5个,特别是至多3个氨基酸变异的氨基酸序列。在进一步的实施方案中,LC包含相对于SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列而言一、二或三个氨基酸变异。

[0344] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:38中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的HC;以及含有与SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的氨基酸序列的LC。因此,抗体是具有与SEQ ID NO:38的重链氨基酸序列至少约90%相同的重链和/或具有与SEQ ID NO:39的轻链氨基酸序列至少约90%相同的轻链的抗体。

[0345] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含SEQ ID NO:38的重链序列和SEQ ID NO:39的轻链序列。在一个实施方案中,抗体是包含SEQ ID NO:38的重链序列和SEQ ID NO:39的轻链序列的考伯利单抗(cobolimab)。

[0346] 治疗方法

[0347] 本文所述的抗原结合蛋白也可用于治疗。本领域的技术人员应当理解,本文

提及到的治疗是指已确定病况的治疗。然而,取决于病况,本发明的组合物也可用于预防某些疾病。本文所述的抗原结合蛋白能够以有效量用于治疗性、防治性或预防性治疗。本文所述的抗原结合蛋白的治疗有效量是有效地改善或减少疾病的一种或多种症状或者预防或治愈疾病的量。

[0348] 在一个方面,提供了在有此需要的人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用ICOS结合蛋白。在另一方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白。在另一个方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途。公开了包含ICOS结合蛋白的药物试剂盒。

[0349] 在一个方面,提供了在有此需要的人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用PD-1结合蛋白。在另一方面,提供了用于治疗癌症的PD-1结合蛋白。在进一步的方面,提供了PD-1结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途。公开了包含PD-1结合蛋白的药物试剂盒。

[0350] 在一个实施方案中,结合蛋白同时/并行地施用。在可替代的实施方案中,结合蛋白序贯施用(例如,在施用任何剂量的第二方案之前施用第一方案)。

[0351] 在一个方面,提供了在有此需要的人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白。在进一步的方面,提供了在治疗癌症中并行或序贯使用的ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白。在另一方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白,其中ICOS结合蛋白与PD-1结合蛋白并行或序贯施用。在一个方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白与PD-1结合蛋白并行或序贯施用。在另一方面,提供了包含ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白的药物试剂盒。

[0352] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:1中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:2中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:3中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:4中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:5中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:6中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域,以及含有如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有如SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列的轻链。

[0353] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有与如SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:13中所示的

CDRH1;如SEQ ID NO:14中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:15中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:16中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:17中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:18中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有如SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域,以及含有如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有如SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列的轻链。

[0354] 本发明的方法可另外地包含TIM-3。因此,在一个方面,提供了在有此需要的人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白。在进一步的方面,提供了在治疗癌症中并行或序贯使用的ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白。在另一方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白,其中ICOS结合蛋白与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在一个方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在另一方面,提供了用于治疗癌症的PD-1结合蛋白,其中PD-1结合蛋白与ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在一个方面,提供了PD-1结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中PD-1结合蛋白与ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在另一方面,提供了包含ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白的药物试剂盒。上文所述的所有方面和实施方案也适用于其中也使用TIM-3结合蛋白的组合。

#### [0355] 剂量

[0356] 在一个方面,该方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的如本文所述的组合(即,包含ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,以及任选地TIM-3结合蛋白)。

[0357] 在一些实施方案中,ICOS结合蛋白的治疗有效剂量为约0.01-1000mg的剂量(例如约0.01mg剂量;约0.08mg剂量;约0.1mg剂量;约0.24mg剂量;约0.8mg剂量;约1mg剂量;约2.4mg剂量;约7.2mg剂量;约8mg剂量;约10mg剂量;约20mg剂量;约24mg剂量;约30mg剂量;约40mg剂量;约48mg剂量;约50mg剂量;约60mg剂量;约70mg剂量;约72mg剂量;约80mg剂量;约90mg剂量;约100mg剂量;约160mg剂量;约200mg剂量;约240mg剂量;约300mg剂量;约320mg剂量;约400mg剂量;约480mg剂量;约500mg剂量;约600mg剂量;约700mg剂量;约720mg剂量;约800mg剂量;约900mg剂量;或约1000mg剂量)。

[0358] 在一些实施方案中,ICOS结合蛋白的治疗有效剂量为约0.001mg/kg至10mg/kg的剂量。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.001mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.003mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.01mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.03mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.1mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.3mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.6mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约1mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约2mg/

kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约3mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约4mg/kg;约5mg/kg;约6mg/kg;约7mg/kg;约8mg/kg;约9mg/kg或约10mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约500mg剂量。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约800mg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约1000mg。

[0359] 在一些实施方案中,PD-1结合蛋白的治疗有效剂量为约0.01-5000mg的剂量(例如约0.01mg剂量;约0.1mg剂量;约1mg剂量;约10mg剂量;约20mg剂量;约30mg剂量;约40mg剂量;约50mg剂量;约60mg剂量;约70mg剂量;约80mg剂量;约90mg剂量;约100mg剂量;约200mg剂量;约300mg剂量;约400mg剂量;约500mg剂量;约600mg剂量;约700mg剂量;约800mg剂量;约900mg剂量;约1000mg剂量;约1100mg剂量;约1200mg剂量;约1300mg剂量;约1400mg剂量;约1500mg剂量;约1600mg剂量;约1700mg剂量;约1800mg剂量;约1900mg剂量;约2000mg剂量;约2100mg剂量;约2200mg剂量;约2300mg剂量或约2400mg剂量;约2500mg剂量;约3000mg剂量;约4000mg剂量或约5000mg剂量)。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.001mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.003mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.01mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.03mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.1mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.3mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约1mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约2mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约3mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约10mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约500mg剂量。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约800mg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约1000mg。

[0360] 在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白的治疗有效剂量为约0.01-5000mg的剂量(例如约0.01mg剂量;约0.1mg剂量;约1mg剂量;约10mg剂量;约20mg剂量;约30mg剂量;约40mg剂量;约50mg剂量;约60mg剂量;约70mg剂量;约80mg剂量;约90mg剂量;约100mg剂量;约200mg剂量;约300mg剂量;约400mg剂量;约500mg剂量;约600mg剂量;约700mg剂量;约800mg剂量;约900mg剂量;约1000mg剂量;约1100mg剂量;约1200mg剂量;约1300mg剂量;约1400mg剂量;约1500mg剂量;约1600mg剂量;约1700mg剂量;约1800mg剂量;约1900mg剂量;约2000mg剂量;约2100mg剂量;约2200mg剂量;约2300mg剂量;约2400mg剂量、约2500mg剂量;约3000mg剂量;约4000mg;或约5000mg剂量),如约5-5000mg的剂量。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白的治疗有效剂量为约100mg、300mg或900mg。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白的治疗有效剂量为300mg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.001mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.003mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.01mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.03mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.1mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约0.3mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约1mg/kg。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白的治疗有效剂量为约1.25mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约2mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约3mg/kg。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白的治疗有效剂量为约3.75mg/kg。在一些实施方案中,治疗有效剂量为约10mg/kg。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白的治疗有效剂量为约11.25mg/kg。

[0361] 在一个实施方案中,组合每2-6周(例如,2、3或4周,特别是3周)施用一次。在一个实施方案中,组合每3周施用一次。在一个实施方案中,组合每6周施用一次。在一个实施方

案中,组合每3周施用一次,持续2-6个给药周期(例如,前3、4、或5个给药周期,特别是前4个给药周期)。

[0362] 若需要,(治疗性)组合的有效日剂量可以单位剂型在全天任选地按适当的间隔分开地以二、三、四、五、六个或更多个剂量施用。

[0363] 本公开提供了治疗癌症的方法,该方法包括以第一剂量按第一间隔向需要治疗的患者施用组合中的一种或两种结合蛋白达第一时段;以及以第二剂量按第二间隔向患者施用组合中的一种或两种结合蛋白达第二时段。在第一与第二时段之间,可存在不向患者施用组合中的一种或两种结合蛋白的休息期。在一些实施方案中,在第一时段与第二时段之间存在休息期。在一些实施方案中,休息期为1至30天。在一些实施方案中,休息期为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或31天。在一些实施方案中,休息期为1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、9周、10周、11周、12周、13周、14周或15周。

[0364] 在一些实施方案中,第一剂量和第二剂量是相同的。在一些实施方案中,第一剂量和第二剂量为300mg。在一些实施方案中,第一剂量和第二剂量是不同的。在一些实施方案中,第一剂量为约500mg且第二剂量为约1000mg。

[0365] 在一些实施方案中,第一间隔和第二间隔是相同的。在一些实施方案中,第一间隔和第二间隔是每三周一次。在一些实施方案中,第一间隔和第二间隔是每六周一次。

[0366] 在一些实施方案中,第一间隔和第二间隔是不同的。在一些实施方案中,第一间隔是每三周一次,且第二间隔是每六周一次。在一些实施方案中,组合以500mg的第一剂量每三周一次施用达2-6个给药周期的第一时段(例如,前3、4、或5个给药周期,特别是前4个给药周期),并且以1000mg的第二剂量每六周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以500mg的第一剂量每三周一次施用达前三个给药周期,并且以1000mg的第二剂量每六周或更多周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以500mg的第一剂量每三周一次施用达前四个给药周期,并且以1000mg的第二剂量每六周或更多周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以500mg的第一剂量每三周一次施用达前五个给药周期,并且以1000mg的第二剂量每六周或更多周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,第二剂量每六周一次施用。

[0367] 在一些实施方案中,第一间隔和第二间隔是不同的。在一些实施方案中,第一间隔是每三周一次,且第二间隔是每六周一次。在一些实施方案中,组合以24mg的第一剂量每三周一次施用达2-6个给药周期的第一时段(例如,前3、4、或5个给药周期,特别是前4个给药周期),并且以80mg的第二剂量每六周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以24mg的第一剂量每三周一次施用达前三个给药周期,并且以80mg的第二剂量每六周或更多周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以24mg的第一剂量每三周一次施用达前四个给药周期,并且以80mg的第二剂量每六周或更多周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以24mg的第一剂量每三周一次施用达前五个给药周期,并且以80mg的第二剂量每六周或更多周一

次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以48mg的第一剂量每三周一次施用达2-6个给药周期的第一时段(例如,前3、4、或5个给药周期,特别是前4个给药周期),并且以160mg的第二剂量每六周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以48mg的第一剂量每三周一次施用达前三个给药周期,并且以160mg的第二剂量每六周或更多周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以48mg的第一剂量每三周一次施用达前四个给药周期,并且以160mg的第二剂量每六周或更多周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,组合以48mg的第一剂量每三周一次施用达前五个给药周期,并且以160mg的第二剂量每六周或更多周一次施用,直到疗法中断(例如,由于疾病进展、不良事件、或如由医师决定)。在一些实施方案中,第二剂量每六周一次施用。

[0368] 在一些实施方案中,组合以每周一次(Q1W)、每2周一次(Q2W)、每3周一次(Q3W)、每4周一次(Q4W)、每5周一次(Q5W)、或每6周一次(Q6W)的施用间隔(或治疗周期)施用。在一些实施方案中,组合以每周一次(Q1W)的施用间隔(或治疗周期)施用。在一些实施方案中,组合以每2周一次(Q2W)的施用间隔(或治疗周期)施用。在一些实施方案中,组合以每三周一次(Q3W)的施用间隔(或治疗周期)施用。在一些实施方案中,组合以每4周一次(Q4W)的施用间隔(或治疗周期)施用。在一些实施方案中,组合以每5周一次(Q5W)的施用间隔(或治疗周期)施用。在一些实施方案中,组合以每6周一次(Q6W)的施用间隔(或治疗周期)施用。在一些实施方案中,组合施用至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20周、或更长的时段。在一些实施方案中,组合在治疗周期的第一天或者在治疗周期的第一天的1、2、或3天内施用。

[0369] 在一些实施方案中,本文所述的组合根据展示出对患者实现临床益处的给药方案进行施用。在一些实施方案中,临床益处是疾病稳定(“SD”)、部分响应(“PR”)和/或完全响应(“CR”)。在一些实施方案中,临床益处是疾病稳定(“SD”)。在一些实施方案中,临床益处是部分响应(“PR”)。在一些实施方案中,临床益处是完全响应(“CR”)。在一些实施方案中,PR或CR根据实体瘤反应评价标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST)来确定。在一些实施方案中,组合被施用较长时段以维持临床益处。

[0370] 在一个方面,提供了在人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用约0.08mg至约240mg的剂量的ICOS结合蛋白(或其抗原结合部分),以及向人施用PD-1结合蛋白(或其抗原结合部分)。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以0.08mg、0.24mg、0.8mg、2.4mg、8mg、24mg、48mg、80mg、160mg或240mg,特别是24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用。在一个方面,提供了在人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用约100mg至约2000mg的剂量的PD-1结合蛋白(或其抗原结合部分),以及向人施用ICOS结合蛋白(或其抗原结合部分)。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在一个方面,提供了在人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用约0.08mg至约240mg的剂量的ICOS结合蛋白(或其抗原结合部分),以及向人施用PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白(或它们的抗原结合部分)。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。

[0371] 在一个实施方案中,存在在人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用约0.08mg

至约240mg的剂量的ICOS结合蛋白,以及向人施用约100mg至约2000mg的剂量的PD-1结合蛋白。在另一个实施方案中,存在在人在治疗癌症的方法,该方法包括向人施用约0.08mg至约240mg的剂量的ICOS结合蛋白,以及向人施用约100mg至约2000mg的剂量的PD-1结合蛋白和约5mg至约5000mg的剂量的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或100mg的剂量施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。

[0372] 在一个方面,提供了在治疗癌症中并行(即同时)或序贯使用的ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以0.08mg、0.24mg、0.8mg、2.4mg、8mg、24mg、48mg、80mg、160mg或240mg,特别是24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用。在一个方面,提供了在治疗癌症中并行(即同时)或序贯使用的ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在一个方面,提供了在治疗癌症中并行(即同时)或序贯施用的ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白,其中TIM-3结合蛋白以约5mg至约5000mg的剂量施用。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白以300mg的剂量施用。

[0373] 在一个实施方案中,提供了在治疗癌症中并行或序贯使用的ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在另一个实施方案中,提供了在治疗癌症中并行或序贯使用的ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以约5mg至约5000mg的剂量施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。

[0374] 在另一方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白并行(即同时)或序贯施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以8mg、24mg、48mg、80mg、160mg或240mg的剂量施用。在另一方面,提供了用于治疗癌症的PD-1结合蛋白,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白并行(即同时)或序贯施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与约100mg至约2000mg的剂量的PD-1结合蛋白并行或序贯施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。

[0375] 在另一方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行(即同时)或序贯施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以8mg、24mg、48mg、80mg、160mg或240mg的剂量施用。在另一方面,提供了用于治疗癌症的PD-1结合蛋白,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约

2000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行(即同时)或序贯施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与约100mg至约2000mg的剂量的PD-1结合蛋白和约5mg至约5000mg的剂量的TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。

[0376] 在另一方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白并行或序贯施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以8mg、24mg、48mg、80mg、160mg或240mg的剂量施用。在另一方面,提供了PD-1结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白并行或序贯施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在一个实施方案中,存在ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与约100mg至约2000mg的剂量的PD-1结合蛋白并行或序贯施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。

[0377] 在另一方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以8mg、24mg、48mg、80mg、160mg或240mg的剂量施用。在另一方面,提供了PD-1结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在一个实施方案中,存在ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与约100mg至约2000mg的剂量的PD-1结合蛋白和约5mg至约5000mg的剂量的TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。

[0378] 在一个方面,提供了包含约0.08mg至约240mg的ICOS结合蛋白以及PD-1结合蛋白的药物试剂盒。在另一个实施方案中,药物试剂盒包含约8mg、约24mg、约48mg、约80mg或约160mg的ICOS结合蛋白。在一个实施方案中,药物试剂盒包含约100mg至约2000mg的PD-1结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物试剂盒包含约500mg或约1000mg的PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。

[0379] 在一个方面,提供了包含约100mg至约2000mg的PD-1结合蛋白以及ICOS结合蛋白的药物试剂盒。在一个实施方案中,药物试剂盒包含约0.08mg至约240mg的ICOS结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物试剂盒包含约24mg或约48mg的ICOS结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物试剂盒包含约80mg或约160mg的ICOS结合蛋白。

[0380] 在一个方面,提供了包含约0.08mg至约240mg的ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白以及TIM-3结合蛋白的药物试剂盒。在进一步的实施方案中,药物试剂盒包含约8mg、约24mg、约48mg、约80mg或约160mg的ICOS结合蛋白。在一个实施方案中,药物试剂盒包含约100mg至约

2000mg的PD-1结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物试剂盒包含约500mg或约1000mg的PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。在一个实施方案中,药物试剂盒包含约5mg至约5000mg的TIM-3结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物试剂盒包含约100mg、约300mg或约900mg的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,药物试剂盒包含约300mg的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。

[0381] 在一个方面,提供了包含约100mg至约2000mg的PD-1结合蛋白、ICOS结合蛋白以及TIM-3结合蛋白的药物试剂盒。在一个实施方案中,药物试剂盒包含约0.08mg至约240mg的ICOS结合蛋白。在另一个实施方案中,药物试剂盒包含约24mg或约48mg的ICOS结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物试剂盒包含约80mg或约160mg的ICOS结合蛋白。

[0382] 在一个实施方案中,药物试剂盒包含浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白。在一个实施方案中,药物试剂盒包含浓度为约20mg/mL至约125mg/mL的PD-1结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物试剂盒包含浓度为20mg/mL至50mg/mL的PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白为20mg/mL的浓度。在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白为50mg/mL的浓度。在一个实施方案中,药物试剂盒包含浓度为约5mg/mL至约100mg/mL的TIM-3结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物试剂盒包含浓度为10mg/mL至40mg/mL的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白为20mg/mL的浓度。

[0383] 在另一方面,提供了包含浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白的药物制剂。在另一方面,提供了包含浓度为约20mg/mL至约125mg/mL的PD-1结合蛋白的药物制剂。在进一步的实施方案中,药物制剂包含浓度为20mg/mL至50mg/mL的PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白为20mg/mL的浓度。在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白为50mg/mL的浓度。因此,在一个实施方案中,药物制剂包含浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白和浓度为约20mg/mL至约125mg/mL的PD-1结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物制剂包含浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白和浓度为20mg/mL至50mg/mL的PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,药物制剂包含浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白和浓度为20mg/mL的PD-1结合蛋白。在另一个实施方案中,药物制剂包含浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白和浓度为50mg/mL的PD-1结合蛋白。在另一方面,提供了包含浓度为约5mg/mL至约100mg/mL的TIM-3结合蛋白的药物制剂。在进一步的实施方案中,药物制剂包含浓度为10mg/mL至40mg/mL的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白为20mg/mL的浓度。因此,在一个实施方案中,药物制剂包含浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白、浓度为约20mg/mL至约125mg/mL的PD-1结合蛋白,以及浓度为约5mg/mL至约100mg/mL的TIM-3结合蛋白。在进一步的实施方案中,药物制剂包含浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白、浓度为20mg/mL至50mg/mL的PD-1结合蛋白,以及浓度为10mg/mL至40mg/mL的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,药物制剂包含浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白、浓度为50mg/mL的PD-1结合蛋白,以及浓度为20mg/mL的TIM-3结合蛋白。

[0384] 在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约0.08-800mg的剂量(例如,约0.08mg剂量;约0.24mg剂量;约0.8mg剂量;约2.4mg剂量;约8mg剂量;约16mg剂量;约24mg剂量;约32mg剂量;约40mg剂量;约48mg剂量;约56mg剂量;约64mg剂量;约72mg剂量;约80mg剂量;约88mg剂量;约96mg剂量;约100mg剂量;约160mg剂量;约200mg剂量;约240mg剂量;约300mg剂量;约400mg剂量;约500mg剂量;约600mg;约700mg剂量或约800mg剂量)施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约0.08-240mg的剂量施用。在进一步的实施方案中,ICOS结合蛋白以约

0.001-10mg/kg的剂量(例如,约0.001mg/kg剂量、约0.003mg/kg剂量、约0.01mg/kg剂量、约0.03mg/kg剂量、约0.1mg/kg剂量、约0.3mg/kg剂量、约0.6mg/kg剂量、约1.0mg/kg剂量、约2.0mg/kg剂量、约3.0mg/kg剂量、约6mg/kg剂量或约10mg/kg剂量)施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约0.001-3mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约0.3mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约1mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约3mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约24mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约48mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约72mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约80mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS蛋白以约96mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS蛋白以约120mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS蛋白以约148mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约160mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS结合蛋白以约240mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS蛋白以约320mg的剂量施用。在一些实施方案中,ICOS蛋白以约480mg的剂量施用。

[0385] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量在约0.08mg至约800mg的范围内。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量在约0.8mg至约240mg的范围内。

[0386] 在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量在约8mg至约80mg的范围内。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为约0.08mg、约0.24mg、约0.48mg、约0.8mg、约1.6mg、约2.4mg、约8mg、约24mg、约48mg、约80mg、约160mg或约240mg。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为约24mg、约48mg、约80mg或约160mg。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为至少约24mg。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为至少约48mg。

[0387] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白每2-6周(例如,2、3或4周,特别是3周)施用一次。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白每3周施用一次达2-6个给药周期(例如,前3、4、或5个给药周期,特别是前4个给药周期)。

[0388] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是伏派利单抗。在一个实施方案中,伏派利单抗以0.03mg/kg、0.3mg/kg或0.1mg/kg施用。在一个实施方案中,伏派利单抗每3周施用。在另一个实施方案中,伏派利单抗的给药量和剂量间的间隔是脉冲的。

[0389] 在一些实施方案中,PD-1结合蛋白以约100-2000mg的剂量(例如约100mg剂量;约200mg剂量;约300mg剂量;约400mg剂量;约500mg剂量;约600mg剂量;约700mg剂量;约800mg剂量;约900mg剂量;约1000mg剂量;约1100mg剂量;约1200mg剂量;约1300mg剂量;约1400mg剂量;约1500mg剂量;约1600mg剂量;约1700mg剂量;约1800mg剂量;约1900mg;或约2000mg剂量)施用。在一些实施方案中,PD-1结合蛋白以约1mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,PD-1结合蛋白以约3mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,PD-1结合蛋白以约6.25mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,PD-1结合蛋白以约10mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,PD-1结合蛋白以约12.5mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg的剂量施用。在一些实施方案中,PD-1结合蛋白以约800mg的剂量施用。在一些实施方案中,PD-1结合蛋白以约1000mg的剂量施用。

[0390] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白每2-6周(例如,2、3或4周,特别是3周)施用一次。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白每3周施用一次达2-6个给药周期(例如,前3、4、或5个给药周期,特别是前4个给药周期)。

[0391] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以每3周约500mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以每6周约1000mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg的第一剂量每3周一次(Q3W)施用达4个周期,继之以约1000mg的第二剂量每6周一次(Q6W)施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以每3周约240mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以每3周约350mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以每2周约840mg、每3周约1200mg或每4周约1680mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以每2周约800mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以每2周约10mg/kg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以每3周约6.25mg/kg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以每6周约12.5mg/kg的剂量施用。在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约6.25mg/kg的第一剂量每3周一次(Q3W)施用达4个周期,继之以约12.5mg/kg的第二剂量每6周一次(Q6W)施用。

[0392] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。在一个实施方案中,多塔利单抗以每3周500mg的剂量施用。在一个实施方案中,多塔利单抗以每6周1000mg的剂量施用。在一个实施方案中,多塔利单抗以每3周6.25mg/kg的剂量施用。在一个实施方案中,多塔利单抗以每6周12.5mg/kg的剂量施用。

[0393] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是纳武单抗。在一个实施方案中,纳武单抗以每3周240mg的剂量施用。在一个实施方案中,纳武单抗以每3周3mg/kg的剂量施用。

[0394] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是西米普利单抗。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是西米普利单抗。在一个实施方案中,西米普利单抗以每3周350mg的剂量施用。在一个实施方案中,西米普利单抗以每3周4.375mg/kg的剂量施用。

[0395] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是阿特殊单抗(atezolizumab)。在一个实施方案中,阿特殊单抗以每2周840mg、每3周1200mg或每4周1680mg的剂量施用。在一个实施方案中,阿特殊单抗以每2周10.5mg/kg、每3周15mg/kg或每4周21mg/kg的剂量施用。

[0396] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是阿维单抗(avelumab)。在一个实施方案中,阿维单抗以每2周800mg的剂量施用。在一个实施方案中,阿维单抗以每2周10mg/kg的剂量施用。

[0397] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是德瓦鲁单抗(durvalumab)。在一个实施方案中,德瓦鲁单抗以每2周800mg的剂量施用。在一个实施方案中,德瓦鲁单抗以每2周10mg/kg的剂量施用。

[0398] 在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白以约5-5000mg的剂量(例如约5mg剂量;约10mg剂量;约50mg剂量;约100mg剂量;约200mg剂量;约300mg剂量;约400mg剂量;约500mg剂量;约600mg剂量;约700mg剂量;约800mg剂量;约900mg剂量;约1000mg剂量;约1100mg剂量;约1200mg剂量;约1300mg剂量;约1400mg剂量;约1500mg剂量;约2000mg剂量;约3000mg剂量;约4000mg剂量;或约5000mg剂量)施用。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白以约100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白以约300mg的剂量施用。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白以约1.25mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白以约3.75mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,TIM-3结合蛋白以约11.25mg/kg的剂量施用。

[0399] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白每2-6周(例如,2、3或4周,特别是3周)施用一

次。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白每3周施用一次。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白每3周施用一次达2-6个给药周期(例如，前3、4、或5个给药周期，特别是前4个给药周期)。

[0400] 在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白以每3周约100mg的剂量施用。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白以每3周约300mg的剂量施用。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白以每3周约900mg的剂量施用。在一些实施方案中，TIM-3结合蛋白以每4周约800mg至约1500mg(例如，约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg、约1400mg或约1500mg)的剂量施用。在一些实施方案中，TIM-3结合蛋白以每6周约800mg至约1500mg(例如，约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg、约1400mg或约1500mg)的剂量施用。在一些实施方案中，TIM-3结合蛋白以每8周约800mg至约1500mg(例如，约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg、约1400mg或约1500mg)的剂量施用。

[0401] 在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。在一个实施方案中，考伯利单抗以每3周100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中，考伯利单抗以每3周300mg的剂量施用。

[0402] 在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白是MBG453。在一个实施方案中，MBG453以每两周或每四周80-1200mg的剂量施用。在另一个实施方案中，MBG453以每四周800mg的剂量施用。

[0403] 在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白是LY3321367。在一个实施方案中，LY3321367以每两周3-1200mg的剂量施用。在另一个实施方案中，LY3321367以每两周70-1200mg的剂量施用。在另一个实施方案中，LY3321367以每两周1200mg的剂量施用。

[0404] 假设典型的中位体重为80kg，可以测试固定剂量。

[0405] 治疗性单克隆抗体通常基于体型来给药，这是由于这样降低了受试者间药物暴露的可变性的观念。然而，PK参数的体重依赖性并不总能解释所观察到的单克隆抗体暴露的可变性(Zhao et al. *Annals of Oncology*. (2017) 28:2002-2008)。通过群体PK建模和模拟努力，评价了实施例中所提供的研究中基于体重的给药与固定给药的优势。由单一疗法剂量递增(数据至多1mg/kg的剂量；n=19名受试者)，开发初步群体PK模型。

[0406] 通过在模拟中考虑体重分布，基于初步数据集中观察到的分布进行模拟。在体重的第5百分位值(40-47kg)，中位稳态AUC(0-)增加70-100%；采用3mg/kg剂量方案，在当前第1阶段研究中评价高于这些增加的H2L5 IgG4PE暴露。在体重的第95百分位值(107-118kg)，与中位80kg暴露相比，中位稳态AUC(0-)降低23-32%，提供了足够的受体占有率(R0)，且暴露最小限度的下降。对于基于体重的给药与固定给药之间的稳态 $C_{max}$ 和谷浓度，预期类似的结果。

[0407] 总之，这些初步群体PK模拟指示，使用固定给药将导致与基于体重的给药类似的暴露范围。而且，固定给药提供了减少给药错误、减少药物浪费、缩短制备时间和改善施用容易性的优点。因此，基于80kg参考体重转换为固定剂量是合理且适当的。

[0408] 应当理解，当使用mg/kg时，这是mg/kg的体重。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白的剂量为约0.001mg/kg至约3.0mg/kg。在另一个实施方案中，ICOS结合蛋白的剂量为约0.001mg/kg、约0.003mg/kg、约0.01mg/kg、约0.03mg/kg、约0.1mg/kg、约0.3mg/kg、约1.0mg/kg、约3.0mg/kg或约10mg/kg。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白的剂量为约0.3mg/kg。在另一个实施方案中，ICOS结合蛋白的剂量为至少3.0mg/kg。在一个实施方案中，ICOS

结合蛋白的剂量在约0.001mg/kg至约10mg/kg的范围内。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为约0.1mg/kg至约1.0mg/kg。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为约0.1mg/kg。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为至少0.1mg/kg。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为约0.3mg/kg。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为约1mg/kg。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量为约3mg/kg。在一个实施方案中,假设典型的中位体重为80kg,可以施用固定剂量的ICOS结合蛋白。

[0409] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白的剂量在治疗方案期间增加。在一个实施方案中,约0.001mg/kg、约0.003mg/kg、约0.01mg/kg、约0.03mg/kg、约0.1mg/kg、约0.3mg/kg、约1.0mg/kg的初始剂量增加到约0.003mg/kg、约0.01mg/kg、约0.03mg/kg、约0.1mg/kg、约0.3mg/kg、约1.0mg/kg、约3.0mg/kg或至少3.0mg/kg。在一个实施方案中,0.1mg/kg的初始剂量增加到1mg/kg。在一个实施方案中,0.3mg/kg的初始剂量增加到1mg/kg。在一个实施方案中,0.6mg/kg的初始剂量增加到2mg/kg。

[0410] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以0.1mg/kg×3剂,然后1mg/kg施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约0.001mg/kg、约0.003mg/kg、约0.01mg/kg、约0.03mg/kg、约0.1mg/kg、约0.3mg/kg、约1.0mg/kg、或约3.0mg/kg施用,然后增加到约0.01mg/kg、约0.03mg/kg、约0.1mg/kg、约0.3mg/kg、约1.0mg/kg、约3.0mg/kg或约10mg/kg。

[0411] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的剂量为约1.25mg/kg至约25.0mg/kg。在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的剂量为约1.25mg/kg、约6.25mg/kg、约12.5mg/kg、约18.75mg/kg、或约25.0mg/kg。在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的剂量为至少6.25mg/kg。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的剂量在约6.25mg/kg至约12.5mg/kg的范围内。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的剂量为约6.25mg/kg。在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白的剂量为约12.5mg/kg。在一个实施方案中,假设典型的中位体重为80kg,可以施用固定剂量的PD-1结合蛋白。

[0412] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白的剂量在治疗方案期间增加。在一个实施方案中,约6.25mg/kg的初始剂量增加到约12.5mg/kg。

[0413] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白的剂量为约0.0625mg/kg至约62.5mg/kg。在另一个实施方案中,TIM-3结合蛋白的剂量为约1.25mg/kg、约3.75mg/kg或约11.25mg/kg。在另一个实施方案中,TIM-3结合蛋白的剂量为约3.75mg/kg。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白的剂量在约1.25mg/kg至约11.25mg/kg的范围内。在一个实施方案中,假设典型的中位体重为80kg,可以施用固定剂量的TIM-3结合蛋白。

[0414] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白的剂量在治疗方案期间增加。在一个实施方案中,约1.25mg/kg的初始剂量增加到约11.25mg/kg。在一个实施方案中,约1.25mg/kg的初始剂量增加到约3.75mg/kg。在一个实施方案中,约3.75mg/kg的初始剂量增加到约11.25mg/kg。在一个实施方案中,约1.25mg/kg的初始剂量增加到约3.75mg/kg,随后增加到约11.25mg/kg。

[0415] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白每1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、31天、32天、33天、34天、35天、36天、37天、38天、39天、40天、41天、或42天施用一次。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白每1天、2天、3天、4天、5天、6

天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天、30天、31天、32天、33天、34天、35天、36天、37天、38天、39天、40天、41天、或42天施用一次。

[0416] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每五周一次或每六周一次施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白每三周施用一次。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白每六周施用一次。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白每三周一次或每六周一次施用直到疾病进展。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白每三周施用一次达35个周期。

[0417] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每五周一次或每六周一次施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白每三周施用一次。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白每六周施用一次。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白每三周一次或每六周一次施用直到疾病进展。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白每三周施用一次达35个周期。

[0418] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每五周一次或每六周一次施用。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白每三周施用一次。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白每六周施用一次。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白每三周一次或每六周一次施用直到疾病进展。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白每三周施用一次达35个周期。

[0419] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和/或TIM-3结合蛋白每三周施用,至多3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40个周期。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和/或TIM-3结合蛋白每三周施用,至多35个周期。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和/或TIM-3结合蛋白每六周施用,至多3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40个周期。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和/或TIM-3结合蛋白每六周施用,至多35个周期。

[0420] 本文所公开的组合的各个组分能够以单独或组合形式(例如,作为药物制剂)通过任何方便的途径施用。

[0421] 对于一些治疗剂(即结合蛋白),合适的途径包括口服、直肠、鼻、局部(包括含服和舌下)、阴道和肠胃外(包括皮下、肌内、静脉内、皮内、鞘内和硬膜外)。应当理解,优选的途径可以随例如组合的接受者的状况和待治疗的癌症而变化。还应当理解,每种所施用的药剂可以通过相同或不同的途径进行施用,并且治疗剂可以配制在一起或者配制在独立的药物组合物中。

[0422] 在一个实施方案中,本发明的组合的一种或多种结合剂经静脉内施用。在进一步的实施方案中,本发明的组合的一种或多种结合剂经静脉内输注施用。在另一个实施方案中,本发明的组合的一种或多种治疗剂经瘤内施用。在另一个实施方案中,本发明的组合的一种或多种结合剂经口服施用。在另一个实施方案中,本发明的组合的一种或多种结合剂全身施用,例如静脉内,并且本发明的组合的一种或多种其他治疗剂经瘤内施用。在另一个实施方案中,本发明的组合的所有治疗剂全身施用,例如静脉内。在可替代的实施方案中,

本发明的组合的所有治疗剂经瘤内施用。在任何实施方案中,例如在本段中,本发明的治疗剂可以作为一种或多种药物组合物施用。

[0423] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白经由静脉内(IV)输注施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白经由IV输注施用。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白经由IV输注施用。在一个实施方案中,治疗剂(例如,ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白或TIM-3结合蛋白)在30分钟、60分钟或90分钟内经由IV输注施用。在一个实施方案中,治疗剂在30分钟内经由IV输注施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白在30分钟内经由IV输注施用。

[0424] 在一个实施方案中,在两种或更多种治疗剂经由IV输注并行施用的情况下,第二治疗剂在第一治疗剂的输注结束(EOI)后至少30分钟且不长于一小时经由IV输注施用。在第三治疗剂与第一和第二治疗剂并行施用的情况下,第三治疗剂在第二治疗剂的输注结束后至少30分钟且不长于一小时经由IV输注施用。在一个实施方案中,首先施用ICOS结合蛋白,继之以PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,首先施用ICOS结合蛋白,继之以PD-1结合蛋白,然后继之以TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白首先以24mg Q3W的剂量经由IV输注施用。在ICOS结合蛋白输注结束后至少30分钟且不长于一小时,PD-1结合蛋白以500mg Q3W的剂量经由IV输注施用。在PD-1结合蛋白输注结束后至少30分钟且不长于一小时,TIM-3结合蛋白以300mg Q3W的剂量经由IV输注施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白是H2L5 IgG4PE。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。

[0425] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约0.08mg、约0.24mg、约0.48mg、约0.8mg、约1.6mg、约2.4mg、约8mg、约24mg、约48mg、约80mg、约160mg或约240mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg或80mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以0.3mg/kg或1mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约8mg、约24mg、约48mg、约80mg、约160mg或约240mg的剂量每六周经由IV输注施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以48mg或160mg的剂量每六周经由IV输注施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以0.6mg/kg或2mg/kg的剂量每六周经由IV输注施用。

[0426] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约100mg、约200mg、约300mg、约400mg、约500mg、约600mg、约700mg、约800mg、约900mg或约1000mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约6.25mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg、约600mg、约700mg、约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg、约1400mg或约1500mg的剂量每六周经由IV输注施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以1000mg的剂量每六周经由IV输注施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约12.5mg/kg的剂量每六周经由IV输注施用。

[0427] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白以约10mg、约20mg、约30mg、约40mg、约50mg、约60mg、约70mg、约80mg、约90mg、约100mg、约150mg、约200mg、约300mg、约400mg、约500mg、约600mg、约700mg、约800mg、约900mg、约1000mg、约2000mg、约3000mg、约4000mg或约5000mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白以100mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白以约1.25mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用。

注施用。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白以300mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白以约3.75mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白以900mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白以约11.25mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白以约100mg、约300mg或约900mg的剂量每六周经由IV输注施用。在一个实施方案中，TIM-3结合蛋白以约1.25mg/kg、约3.75mg/kg或约11.25mg/kg的剂量每六周经由IV输注施用。

[0428] 在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以0.3mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用，并且PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以0.3mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用，并且PD-1结合蛋白以6.25mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以24mg的剂量每三周经由IV输注施用，并且PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以24mg的剂量每三周经由IV输注施用，并且PD-1结合蛋白以6.25mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以48mg的剂量每六周经由IV输注施用，并且PD-1结合蛋白以1000mg的剂量每六周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以48mg的剂量每六周经由IV输注施用，并且PD-1结合蛋白以12.5mg/kg的剂量每六周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以160mg的剂量每六周经由IV输注施用，并且PD-1结合蛋白以1000mg的剂量每六周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以160mg的剂量每六周经由IV输注施用，并且PD-1结合蛋白以12.5mg/kg的剂量每六周经由IV输注施用。

[0429] 在一个实施方案中，PD-1结合蛋白每三周施用一次。在一个实施方案中，PD-1结合蛋白是多塔利单抗。在一个实施方案中，500mg的多塔利单抗每3周经由IV输注施用。在一个实施方案中，500mg的多塔利单抗每3周经由IV输注施用达四个给药周期，然后此后每6周1000mg（即直至疾病进展）。在进一步的实施方案中，6.25mg/kg的多塔利单抗每3周经由IV输注施用。在一个实施方案中，6.25mg/kg的多塔利单抗每3周经由IV输注施用达四个给药周期，然后此后每6周12.5mg/kg。

[0430] 在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以0.3mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用，PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周经由IV输注施用，并且TIM-3结合蛋白以100mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以24mg的剂量每三周经由IV输注施用，PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周经由IV输注施用，并且TIM-3结合蛋白以100mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以0.3mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用，PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周经由IV输注施用，并且TIM-3结合蛋白以300mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以24mg的剂量每三周经由IV输注施用，PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周经由IV输注施用，并且TIM-3结合蛋白以300mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以0.3mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用，PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周经由IV输注施用，并且TIM-3结合蛋白以900mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以24mg的剂量每三周经由IV输注施用，PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周经由IV输注施用，并且TIM-3结合蛋白以900mg的剂量每三周经由IV输注施用。在一个实施方案中，ICOS结合蛋白以1.0mg/kg的剂量每三周经由IV输注施用，PD-1结合蛋白以500mg的剂量每三周



中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。

[0432] 在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白每三周施用一次。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。在一个实施方案中,100mg的考伯利单抗每3周经由IV输注施用。在一个实施方案中,300mg的考伯利单抗每3周经由IV输注施用。在一个实施方案中,900mg的考伯利单抗每3周经由IV输注施用。在一个实施方案中,100mg的考伯利单抗每3周经由IV输注施用达四个给药周期,然后此后每6周100mg、300mg或900mg(即直至疾病进展)。在一个实施方案中,300mg的考伯利单抗每3周经由IV输注施用达四个给药周期,然后此后每6周300mg或900mg。在一个实施方案中,900mg的考伯利单抗每3周经由IV输注施用达四个给药周期,然后此后每6周900mg。

[0433] 在一些实施方案中,向患者首先施用ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是ICOS结合蛋白与PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一些实施方案中,向患者首先施用PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是ICOS结合蛋白与PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一些实施方案中,向患者首先施用ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是ICOS结合蛋白与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一些实施方案中,向患者首先施用PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是PD-1结合蛋白与ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。

[0434] 在一些实施方案中,向患者首先施用药0.08mg至约800mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是约0.08mg至约800mg的剂量的ICOS结合蛋白与100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用药8mg、约24mg、约48mg、约80mg、约160mg或约240mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是约8mg、约24mg、约48mg、约80mg、约160mg或约240mg的剂量的ICOS结合蛋白与100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是24mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是80mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是24mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是80mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。

[0435] 在一些实施方案中,向患者首先施用药0.08mg至约800mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是约0.08mg至约800mg的剂量的ICOS结合蛋白与100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白和5mg至5000mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用药24mg、约48mg、约80mg或约160mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是约24mg、约48mg、约80mg或约160mg的剂量的ICOS结合蛋白与100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白和5mg至5000mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是24mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白和100mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用24mg的剂量的ICOS结合蛋白

作为单一疗法方案,然后是24mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白和300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是24mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白和900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是80mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白和100mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是80mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白和300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是80mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白和900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是24mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白和100mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是24mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白和300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是24mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白和900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是80mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白和100mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是80mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白和300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是80mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白和900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。

[0436] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周24mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周80mg的剂量的ICOS结合蛋白与500mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0437] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周48mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周48mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周160mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周160mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。



蛋白和300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周160mg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周160mg的剂量的ICOS结合蛋白与1000mg的剂量的PD-1结合蛋白和900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0440] 在一些实施方案中,向患者首先施用药0.001mg/kg至约10mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是约0.001mg/kg至约10mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与1.25mg/kg至25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案。

[0441] 在一些实施方案中,向患者首先施用药0.001mg/kg至约10mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是约0.001mg/kg至约10mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与1.25mg/kg至25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和0.0625mg/kg至62.5mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合

疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。

[0442] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0443] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周1.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周1.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周1.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周1.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周1.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周1.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结

合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0444] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周2mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周2mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0445] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周2.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周2.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周2.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周2.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周2.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周2.0mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白与12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0446] 在一些实施方案中,向患者首先施用100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白与约0.08mg至约800mg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白与约8mg、约24mg、约48mg、约80mg、约160mg或约240mg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用500mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是500mg的剂量的PD-1结合蛋白与24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用500mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是500mg的剂量的PD-1结合蛋白与80mg的剂量的ICOS结

合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。

[0447] 在一些实施方案中,向患者首先施用100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白与约0.08mg至约800mg的剂量的ICOS结合蛋白和约5mg至约5000mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是100mg至2000mg的剂量的PD-1结合蛋白与约8mg、约24mg、约48mg、约80mg、约160mg或约240mg的剂量的ICOS结合蛋白和约5mg至约5000mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用500mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是500mg的剂量的PD-1结合蛋白与24mg的剂量的ICOS结合蛋白和100mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用500mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是500mg的剂量的PD-1结合蛋白与24mg的剂量的ICOS结合蛋白和300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用500mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是500mg的剂量的PD-1结合蛋白与24mg的剂量的ICOS结合蛋白和900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用500mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是500mg的剂量的PD-1结合蛋白与100mg的剂量的TIM-3结合蛋白和80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用500mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是500mg的剂量的PD-1结合蛋白与300mg的剂量的TIM-3结合蛋白和80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用500mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是500mg的剂量的PD-1结合蛋白与900mg的剂量的TIM-3结合蛋白和80mg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与24mg的剂量的ICOS结合蛋白和100mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与24mg的剂量的ICOS结合蛋白和300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与24mg的剂量的ICOS结合蛋白和900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与80mg的剂量的ICOS结合蛋白和100mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与80mg的剂量的ICOS结合蛋白和300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用1000mg的剂量的PD-1结合蛋白,然后是1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与80mg的剂量的ICOS结合蛋白和900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。

[0448] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周500mg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周500mg的剂量的PD-1结合蛋白与24mg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、



的ICOS结合蛋白与300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周1000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与48mg的剂量的ICOS结合蛋白与900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周1000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与160mg的剂量的ICOS结合蛋白和100mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周1000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与160mg的剂量的ICOS结合蛋白和300mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周1000mg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周1000mg的剂量的PD-1结合蛋白与160mg的剂量的ICOS结合蛋白和900mg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0452] 在一些实施方案中,向患者首先施用1.25mg/kg至25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1.25mg/kg至25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与约0.001mg/kg至约10mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案。

[0453] 在一些实施方案中,向患者首先施用1.25mg/kg至25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是1.25mg/kg至25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与约0.001mg/kg至约10mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和0.0625mg/kg至62.5mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是6.25mg/kg的剂量的

PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。在一个实施方案中,向患者首先施用12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案,然后是12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案。

[0454] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0455] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白

与0.3mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每3周6.25mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与1mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0456] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与2mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0457] 在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与0.6mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与2mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和1.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与2mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和3.75mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、

13或14个周期。在进一步的实施方案中,向患者首先施用每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白作为单一疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期,然后是每6周12.5mg/kg的剂量的PD-1结合蛋白与2mg/kg的剂量的ICOS结合蛋白和11.25mg/kg的剂量的TIM-3结合蛋白作为组合疗法方案至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个周期。

[0458] 应当理解,在向患者首先施用ICOS结合蛋白或PD-1结合蛋白作为单一疗法与施用ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白作为如本文所述的组合疗法之间,可以在如规定数目的周期内执行无治疗或无施用的时段。例如,在首先施用单一疗法之后,患者可在施用如本文所述的组合疗法之前3周、6周或12周的1个周期或2个周期内不施用治疗。因此,在一个实施方案中,向患者首先施用ICOS结合蛋白作为如本文所述的单一疗法,然后在向患者施用ICOS结合蛋白与PD-1结合蛋白作为如本文所述的组合疗法之前的3周、6周或12周的1个周期或2个周期内不施用治疗。在一个实施方案中,向患者首先施用PD-1结合蛋白作为如本文所述的单一疗法,然后在向患者施用PD-1结合蛋白与ICOS结合蛋白作为如本文所述的组合疗法之前的3周、6周或12周的1个周期或2个周期内不施用治疗。

[0459] 在一个方面,提供了在有此需要的人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用约0.08mg至约240mg的剂量的ICOS结合蛋白,以及向人施用PD-1结合蛋白,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在另一方面,提供了在有此需要的人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用约0.08mg至约240mg的剂量的ICOS结合蛋白,以及向人施用PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约24mg至约160mg的剂量施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白500mg或1000mg的剂量施用。在进一步的实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:1中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:2中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:3中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:4中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:5中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:6中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID

NO:5和SEQ ID NO:6的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域,以及含有如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列的轻链。

[0460] 在一个方面,提供了在有此需要的人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用约100mg至约2000mg的剂量的PD-1结合蛋白,以及向人施用ICOS结合蛋白,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在另一方面,提供了在有此需要的人中治疗癌症的方法,该方法包括向人施用约100mg至约2000mg的剂量的PD-1结合蛋白,以及向人施用ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg至约1000mg的剂量施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在进一步的实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:13中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:14中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:15中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:16中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:17中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:18中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域,以及含有如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列的轻链。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。

[0461] 在一个方面,提供了在治疗癌症中并行或序贯使用的ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在另一

方面,提供了在治疗癌症中并行或序贯使用的ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以约5mg至约5000mg的剂量施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约24mg至约160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以约500mg至约1000mg的剂量施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在进一步的实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:1中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:2中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:3中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:4中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:5中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:6中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域,以及含有如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列的轻链。

[0462] 在一个方面,提供了在治疗癌症中并行或序贯使用的PD-1结合蛋白和ICOS结合蛋白,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在另一方面,提供了在治疗癌症中并行或序贯使用的PD-1结合蛋白、ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以约5mg至约5000mg的剂量施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg至约1000mg的剂量施用,并且ICOS结合蛋白以约8mg至约160mg的剂量施用,其中PD-1结合蛋白

包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg至约1000mg的剂量施用,ICOS结合蛋白以约8mg至约160mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以约5mg至约5000mg的剂量施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在进一步的实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:13中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:14中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:15中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:16中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:17中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:18中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域,以及含有如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列的轻链。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。

[0463] 在另一方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白并行或序贯施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在进一步的方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约24mg至约160mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白并行或序贯施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在进一步的实施方案中,ICOS结合蛋白以约24mg至约160mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至

少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在又一些另外的实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:1中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:2中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:3中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:4中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:5中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:6中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域,以及含有如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列的轻链。

[0464] 在另一方面,提供了用于治疗癌症的PD-1结合蛋白,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白并行或序贯施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在进一步的方面,提供了用于治疗癌症的PD-1结合蛋白,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg至约1000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白并行或序贯施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在进一步的实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg至约1000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施

用。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:13中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:14中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:15中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:16中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:17中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:18中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域,以及含有如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列的轻链。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。

[0465] 在另一方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用并且与PD-1结合蛋白并行或序贯施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在进一步的方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白以约0.08mg至约240mg的剂量施用并且与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约24mg至约160mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白并行或序贯施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在另一个实施方案中,ICOS结合蛋白以约24mg至约160mg的剂量施用,并且与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:1中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:2中所示的CDRH2;如SEQ ID

NO:3中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:4中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:5中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:6中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域,以及含有如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列的轻链。

[0466] 在另一方面,提供了PD-1结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白并行或序贯施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在进一步的方面,提供了PD-1结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中PD-1结合蛋白以约100mg至约2000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg至约1000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白并行或序贯施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在另一个实施方案中,PD-1结合蛋白以约500mg至约1000mg的剂量施用,并且与ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白并行或序贯施用,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,并且PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用。在进一步的实施方案中,ICOS结合蛋白以24mg、48mg、80mg或160mg的剂量施用,PD-1结合蛋白以500mg或1000mg的剂量施用,并且TIM-3结合蛋白以100mg、300mg或900mg的剂量施用。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:13中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:14中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:15中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:16中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:17中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:18中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18中的一者或多者的轻链可变区。在一个实

实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域,以及含有如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列的轻链。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。

[0467] 在一个方面,提供了药物试剂盒,该药物试剂盒包含约0.08mg至约240mg的ICOS结合蛋白以及PD-1结合蛋白,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在另一方面,提供了药物试剂盒,该药物试剂盒包含约0.08mg至约240mg的ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白,其中ICOS结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述ICOS结合蛋白特异性结合人ICOS。在一个实施方案中,试剂盒包含24mg、48mg、80mg或160mg的ICOS结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含约100mg至约2000mg的PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含500mg或1000mg的PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含约5mg至约5000mg的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含100mg、300mg或900mg的TIM-3结合蛋白。在另一个实施方案中,试剂盒包含24mg、48mg、80mg或160mg的ICOS结合蛋白,以及500mg或1000mg的PD-1结合蛋白。在另一个实施方案中,试剂盒包含24mg、48mg、80mg或160mg的ICOS结合蛋白,500mg或1000mg的PD-1结合蛋白,以及100mg、300mg或900mg的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含以下中之一者或多者:如SEQ ID NO:1中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:2中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:3中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:4中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:5中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:6中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1;SEQ ID NO:2;和SEQ ID NO:3的重链可变区,并且其中所述ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:4;SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的轻链可变区。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域,以及含有如SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列的轻链。

[0468] 在一个方面,提供了药物试剂盒,该药物试剂盒包含约100mg至约2000mg的PD-1结合蛋白以及ICOS结合蛋白,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在另一方面,提供了药物试剂盒,该药物试剂盒包含约100mg至约2000mg的PD-1结合蛋白、

ICOS结合蛋白和TIM-3结合蛋白,其中PD-1结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述PD-1结合蛋白特异性结合人PD-1。在一个实施方案中,试剂盒包含约0.08mg至约240mg的ICOS结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含24mg、48mg、80mg或160mg的ICOS结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含500mg或1000mg的PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含100mg、300mg或900mg的TIM-3结合蛋白。在另一个实施方案中,试剂盒包含24mg、48mg、80mg或160mg的ICOS结合蛋白,以及500mg或1000mg的PD-1结合蛋白。在另一个实施方案中,试剂盒包含24mg、48mg、80mg或160mg的ICOS结合蛋白,500mg或1000mg的PD-1结合蛋白,以及100mg、300mg或900mg的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:13中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:14中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:15中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:16中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:17中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:18中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13;SEQ ID NO:14;和SEQ ID NO:15的重链可变区,并且其中所述PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:16;SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的轻链可变区。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:19中所示的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域,以及含有如SEQ ID NO:20中所示的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:21中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:22中所示的氨基酸序列的轻链。在一个实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。

[0469] 在一个方面,提供了药物试剂盒,该药物试剂盒包含约5mg至约5000mg的TIM-3结合蛋白、ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白,其中TIM-3结合蛋白包含含有与SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_H$ 结构域和/或含有与如SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列至少90%相同的氨基酸序列的 $V_L$ 结构域,其中所述TIM-3结合蛋白特异性结合人TIM-3。在一个实施方案中,试剂盒包含100mg、300mg或900mg的TIM-3结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含约0.08mg至约240mg的ICOS结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含24mg、48mg、80mg或160mg的ICOS结合蛋白。在一个实施方案中,试剂盒包含500mg或1000mg的PD-1结合蛋白。在另一个实施方案中,试剂盒包含100mg、300mg或900mg的TIM-3结合蛋白,24mg、48mg、80mg或160mg的ICOS结合蛋白,以及500mg或1000mg的PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含以下中的一者或多者:如SEQ ID NO:30中所示的CDRH1;如SEQ ID NO:31中所示的CDRH2;如SEQ ID NO:32中所示的CDRH3;如SEQ ID NO:33中所示的CDRL1;如SEQ ID NO:34中所示的CDRL2和/或如SEQ ID NO:35中所示的CDRL3或各个CDR的直接等同物,其中直接等同物在所述CDR中具有不超过两个氨基酸取代。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:31;和SEQ ID NO:32中的一者或多者的重链可变区,并且其中所述TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:33;SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:35中的一者或多者的轻链可变区。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:31;和SEQ ID NO:32的重链可变区,并且其中所述TIM-3结

合蛋白包含含有SEQ ID NO:33;SEQ ID NO:34和SEQ ID NO:35的轻链可变区。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:36中所示的氨基酸序列的V<sub>H</sub>结构域,以及含有如SEQ ID NO:37中所示的氨基酸序列的V<sub>L</sub>结构域。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:38中所示的氨基酸序列的重链,以及含有如SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列的轻链。在一个实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。

[0470] 在一个方面,提供了治疗癌症的方法,该方法包括以一定剂量向受试者(例如人)施用ICOS结合蛋白,其中在第一剂量后至少7天,ICOS结合蛋白的中位血浆浓度介于100µg/mL与0.1µg/mL之间。在一个方面,提供了治疗癌症的方法,该方法包括以一定剂量向受试者(例如人)施用PD-1结合蛋白,其中在第一剂量后至少7天,PD-1结合蛋白的中位血浆浓度介于120µg/mL与0.1µg/mL之间。在一个实施方案中,提供了治疗癌症的方法,该方法包括以一定剂量向受试者(例如人)施用PD-1结合蛋白,其中在第一剂量后至少7天,PD-1结合蛋白的中位血浆浓度介于120µg/mL与40µg/mL之间。

[0471] 在一个方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少7天,ICOS结合蛋白的中位血浆浓度介于100µg/mL与0.1µg/mL之间。

[0472] 在另一方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少7天,ICOS结合蛋白的中位血浆浓度介于100µg/mL与0.1µg/mL之间。

[0473] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少1、2.5、4.5、7、14或21天,ICOS结合蛋白的中位血浆浓度介于100µg/mL、10µg/mL、1µg/mL或0.1µg/mL与10µg/mL、1µg/mL或0.1µg/mL之间。

[0474] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少1、2、2.5、3、4、4.5、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或21天,ICOS结合蛋白的中位血浆浓度介于100µg/mL、90µg/mL、80µg/mL、70µg/mL、60µg/mL、50µg/mL、40µg/mL、30µg/mL、20µg/mL、10µg/mL、9µg/mL、8µg/mL、7µg/mL、6µg/mL、5µg/mL、4µg/mL、3µg/mL、2µg/mL、1µg/mL、0.9µg/mL、0.8µg/mL、0.7µg/mL、0.6µg/mL、0.5µg/mL、0.4µg/mL、0.3µg/mL或0.2µg/mL与90µg/mL、80µg/mL、70µg/mL、60µg/mL、50µg/mL、40µg/mL、30µg/mL、20µg/mL、10µg/mL、9µg/mL、8µg/mL、7µg/mL、6µg/mL、5µg/mL、4µg/mL、3µg/mL、2µg/mL、1µg/mL、0.9µg/mL、0.8µg/mL、0.7µg/mL、0.6µg/mL、0.5µg/mL、0.4µg/mL、0.3µg/mL或0.2µg/mL之间。

[0475] 在一个实施方案中,PD-1结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少1、2、2.5、3、4、4.5、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或21天,PD-1结合蛋白的中位血浆浓度介于120µg/mL、110µg/mL、100µg/mL、90µg/mL、80µg/mL、70µg/mL、60µg/mL、50µg/mL、40µg/mL、30µg/mL、20µg/mL、10µg/mL、9µg/mL、8µg/mL、7µg/mL、6µg/mL、5µg/mL、4µg/mL、3µg/mL、2µg/mL、1µg/mL、0.9µg/mL、0.8µg/mL、0.7µg/mL、0.6µg/mL、0.5µg/mL、0.4µg/mL、0.3µg/mL或0.2µg/mL与120µg/mL、110µg/mL、100µg/mL、90µg/mL、80µg/mL、70µg/mL、60µg/mL、50µg/mL、40µg/mL、30µg/mL、20µg/mL、10µg/mL、9µg/mL、8µg/mL、7µg/mL、6µg/mL、5µg/mL、4µg/mL、3µg/mL、2µg/mL、1µg/mL、0.9µg/mL、0.8µg/mL、0.7µg/mL、0.6µg/mL、0.5µg/mL、0.4µg/mL、0.3µg/mL或0.2µg/mL之间。

[0476] 在一个实施方案中,以一定剂量向人施用ICOS结合蛋白,其中在第一剂量后21天,

ICOS结合蛋白的中位血浆浓度介于10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。在一个实施方案中,以一定剂量向人施用ICOS结合蛋白,其中在第一剂量后21天,ICOS结合蛋白的中位血浆浓度介于10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。

[0477] 在一个实施方案中,以一定剂量向人施用ICOS结合蛋白,其中在第一剂量后21天,ICOS结合蛋白的中位血浆浓度介于100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。在一个实施方案中,以一定剂量向人施用ICOS结合蛋白,其中在第一剂量后21天,ICOS结合蛋白的中位血浆浓度介于100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。

[0478] 在一个方面,提供了治疗癌症的方法,该方法包括以一定剂量向受试者(例如人)施用ICOS结合蛋白,其中在第一剂量后至少7天,受试者中的ICOS受体饱和度或占有率处于或高于约50%。

[0479] 在一个方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以一定剂量施用于受试者(例如人),其中在第一剂量后至少7天,受试者中的ICOS受体饱和度或占有率处于或高于约50%。

[0480] 在另一方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白以一定剂量施用于人,其中在第一剂量后至少7天,人体内的ICOS受体饱和度或占有率处于或高于约50%。

[0481] 在一个实施方案中,以一定剂量向人施用ICOS结合蛋白,其中在第一剂量后至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或21天,人体内的ICOS受体饱和度或占有率处于或高于约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。

[0482] 在一个方面,提供了治疗癌症的方法,该方法包括以一定剂量向受试者(例如人)施用ICOS结合蛋白,其中在第一剂量后至少7天,外周CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>T细胞受体占有率处于或高于50%。

[0483] 在一个方面,提供了用于治疗癌症的ICOS结合蛋白,其中ICOS结合蛋白以一定剂量施用于人,其中在第一剂量后至少7天,外周CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>T细胞受体占有率处于或高于50%。

[0484] 在另一方面,提供了ICOS结合蛋白在制备用于治疗癌症的药物中的用途,其中ICOS结合蛋白以一定剂量施用于人,其中在第一剂量后至少7天,外周CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>T细胞受体占有率处于或高于50%。

[0485] 峰值CD4<sup>+</sup>受体占有率(R0)对应于ICOS结合蛋白最大血浆浓度。峰值CD8<sup>+</sup>受体占有率(R0)对应于ICOS结合蛋白最大血浆浓度。

[0486] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或21天,外周CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>T细胞受体占有率处于或高于约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。

[0487] 在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少21天,外周CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>T细胞受体占有率处于或高于约60%。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少21天,外周CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>T细胞受体占有率处于或高于约70%。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少21天,外周CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>T细胞受体占有率处于或高于约80%。在一个实施方案中,ICOS结合蛋白以一定剂量施用,其中在第一剂量后至少21天,外周CD4<sup>+</sup>或CD8<sup>+</sup>T细胞受体占有率处于或高于

约90%。

[0488] 在一个方面,提供了药物组合物,该药物组合物包含ICOS结合蛋白,其中所述组合物在单一剂量后提供 $37\text{mg/mL} \times \text{天}$ 至 $255\text{mg/mL} \times \text{天}$ 的ICOS结合蛋白的曲线下面积(AUC)值。在一个实施方案中,所述组合物还提供了PD-1结合蛋白。在一个实施方案中,所述组合物在单一剂量后提供 $62\text{mg/mL} \times \text{天}$ 至 $220\text{mg/mL} \times \text{天}$ 的ICOS结合蛋白的AUC值。

[0489] 在一个实施方案中,双萜类,如紫杉醇、白蛋白结合紫杉醇或多西他赛;长春花生生物碱类,如长春碱、长春新碱、或长春瑞滨;铂配位络合物,如顺铂或卡铂;氮芥类,如环磷酰胺、美法仑、或苯丁酸氮芥;烷基磺酸盐类,如白消安;亚硝基脲类,如卡莫司汀;三氮烯类,如达卡巴嗪;放线菌素类,如放线菌素D;蒽环类(anthrocyclins),如柔红霉素或多柔比星;博莱霉素;表鬼臼毒素类,如依托泊苷或替尼泊苷;抗代谢物抗增生剂,如氟尿嘧啶、培美曲塞、甲氨蝶呤、阿糖胞苷、硫基嘌呤、硫鸟嘌呤、或吉西他滨;甲氨蝶呤;喜树碱类,如伊立替康或拓扑替康;利妥昔单抗;奥法木单抗;曲妥珠单抗;西妥昔单抗;蓓萨罗丁;索拉非尼;erbB抑制剂,如拉帕替尼、埃罗替尼或吉非替尼;帕妥珠单抗;伊匹单抗(ipilimumab);曲美木单抗;纳武单抗;派姆单抗;FOLFOX;卡培他滨;FOLFIRI;贝伐单抗;阿特殊单抗;塞鲁单抗;奥滨尤妥珠单抗(obinotuzumab)或它们的任何组合进一步与ICOS结合蛋白和/或PD-1结合蛋白和/或TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。

[0490] 在一个实施方案中,化疗进一步与ICOS结合蛋白和/或PD-1结合蛋白和/或TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在一个实施方案中,化疗进一步与ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白并行或序贯施用。在一个实施方案中,化疗是基于铂的化疗。在一个实施方案中,化疗是基于铂的化疗和氟尿嘧啶。在一个实施方案中,基于铂的化疗是紫杉醇、多西他赛、顺铂、卡铂或它们的任何组合。在一个实施方案中,基于铂的化疗是氟尿嘧啶、顺铂、卡铂或它们的任何组合。在一个实施方案中,化疗是顺铂或卡铂与培美曲塞、紫杉醇(或白蛋白结合紫杉醇)、吉西他滨、或氟尿嘧啶中的任一者的铂双联体。在一个实施方案中,将化疗进一步与ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白并行或序贯施用于未接受过PD-1结合蛋白/PD-L1的患者。

[0491] 在一个实施方案中,将ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和化疗每3周施用达6个周期,然后将ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白每3周施用达35个周期。

[0492] 在一个实施方案中,将ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白并行或序贯施用于PD-L1阳性患者。

[0493] 在一个实施方案中,放疗进一步与ICOS结合蛋白和/或PD-1结合蛋白并行或序贯施用。在一个实施方案中,放疗进一步与ICOS结合蛋白和/或PD-1结合蛋白和/或TIM-3结合蛋白并行或序贯施用。在一些实施方案中,放疗选自由以下项组成的组:全身放射疗法、外照射放射疗法、图像引导放射疗法、螺旋断层放疗、立体定位性放射外科手术、体部立体定向放射疗法和质子疗法。在一些实施方案中,放疗包括外照射放射疗法、内放射疗法(近距离放射疗法)、或全身放射疗法。参见例如Amini et al.,*Radiat Oncol.*“Stereotactic body radiation therapy (SBRT) for lung cancer patients previously treated with conventional radiotherapy: a review”9:210 (2014); Baker et al.,*Radiat Oncol.*“A critical review of recent developments in radiotherapy for non-small cell lung cancer”11(1):115 (2016); Ko et al.,*Clin Cancer Res*“The Integration of Radiotherapy with Immunotherapy for the Treatment of Non-Small Cell Lung

Cancer” (24) (23) 5792-5806;以及Yamoah et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys “Radiotherapy Intensification for Solid Tumors: A Systematic Review of Randomized Trials” 93 (4) :737-745 (2015)。

[0494] 在一些实施方案中,放疗包括外照射放射疗法,并且外照射放射疗法包括调强放射疗法(IMRT)、图像引导放射疗法(IGRT)、螺旋断层放疗、立体定位性放射外科手术、体部立体定向放射疗法、质子疗法、或其他带电粒子束。

[0495] 在一些实施方案中,放疗包括体部立体定向放射疗法。

[0496] 癌症

[0497] 本发明的组合和方法可用于治疗癌症。

[0498] 如本文所用,术语“治疗”及其语法变体是指治疗性疗法。在提及到具体病况时,治疗意指:(1)改善或减轻病况的严重程度或病况的一种或多种生物学表现,(2)干扰(a)导致或造成病况的生物学级联中的一个或多个点或(b)病况的一种或多种生物学表现,(3)缓解与病况或其治疗相关联的症状或体征、效应或副作用的一种或多种,(4)减缓病况的进展(也就是说延长生存期)、或病况的一种或多种生物学表现,和/或(5)治愈所述病况或病况的一种或多种生物学表现,这是通过在该缓解期内无额外治疗的情况下,在被认为该表现的缓解状态的一段时间内使病况的一种或多种生物学表现消除或降低至不可检测的水平。本领域的技术人员将理解被认为缓解特定疾病或病况的持续时间。因此也考虑防治性治疗。技术人员将理解“预防”不是绝对的术语。在医学中,“预防”应理解为指防治性施用药物,以基本上减少病况或其生物学表现的可能性或严重程度,或者延迟此类病况或其生物学表现的发作。例如,当受试者被认为处于发展癌症的高风险时,如当受试者具有较强癌症家族史时或者当受试者已经暴露于致癌物时,防治性疗法是适当的。

[0499] 如本文所用,术语“癌症”、“赘生物”、“恶性肿瘤”和“肿瘤”可互换使用,并且在单数或复数形式下是指已经经历恶性转化而使得它们对宿主生物体呈病理性的细胞。通过公认的技术,特别是组织学检查,可以容易地将原发性癌细胞与非癌细胞区分开来。如本文所用,癌细胞的定义不仅包括原发性癌细胞,而且包括源自癌细胞祖先的任何细胞。这包括转移癌细胞,以及源自癌细胞的体外培养物和细胞系。当提及到通常表现为实体瘤的癌症类型时,“临床上可检测的”肿瘤是这样的肿瘤:其基于肿瘤团块而可检测;例如,通过如计算机断层扫描(CT)、磁共振成像(MRI)、X射线、超声或身体检查触诊的程序,并且/或者其由于可从患者获得的样品中的一种或多种癌症特异性抗原的表达而可检测。

[0500] 在一个方面,本发明涉及用于治疗癌症或减轻其严重程度的方法。在一个实施方案中,癌症选自:脑癌、成胶质细胞瘤、胶质瘤(如弥漫性内生性脑桥胶质瘤(diffuse intrinsic pontine glioma))、斑纳扬-佐纳纳综合征(Bannayan-Zonana syndrome)、考登病、小脑发育不良性节细胞瘤(Lhermitte-Duclos disease)、乳腺癌(例如炎性乳腺癌)、维尔姆斯瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、心脏肿瘤、结肠癌、结直肠癌、头颈癌(例如头颈部鳞状细胞癌、口部的癌症(即口腔癌)、涎腺癌、颊癌、咽癌、口咽癌、鼻咽癌、下咽癌、喉癌)、眼癌(例如成视网膜细胞瘤)、肺癌(例如非小细胞肺癌、小细胞癌)、肝癌(即肝细胞癌)、皮肤癌(例如基底细胞癌、梅克尔细胞癌、鳞状细胞癌)、黑素瘤、卵巢癌、胰腺癌、胆管癌、胆囊癌、前列腺癌、肉瘤(例如软组织肉瘤、尤因氏肉瘤、卡波西肉瘤、横纹肌肉瘤)、骨癌、骨肉瘤、骨巨细胞瘤、甲状腺癌、甲状旁腺癌、胸腺瘤、血癌(其可广泛分类为白血病、淋巴瘤或骨

髓瘤,并且包括实例如成淋巴细胞性T细胞白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病、急性成淋巴细胞性白血病、急性骨髓性白血病、慢性中性粒细胞性白血病、急性成淋巴细胞性T细胞白血病、浆细胞瘤、成免疫细胞性大细胞白血病、套细胞白血病、多发性骨髓瘤巨核细胞白血病、多发性骨髓瘤、急性巨核细胞性白血病、早幼粒细胞性白血病、红白血病、恶性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、成淋巴细胞性T细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤和滤泡性淋巴瘤)、成神经细胞瘤、垂体瘤、肾上腺皮质癌、肛门癌(即直肠癌)、膀胱癌、尿路上皮癌、尿道癌、阴道癌、外阴癌、宫颈癌、子宫内膜癌、子宫癌、输卵管癌、肾癌(即肾脏癌,例如肾细胞癌)、间皮瘤(例如恶性胸膜间皮瘤)、食管癌(例如食管鳞状细胞癌)、胃癌(即胃部癌)、胃肠道类癌瘤、GIST(胃肠道间质瘤)、阑尾癌、阴茎癌、睾丸癌、生殖细胞肿瘤。

[0501] 在一个实施方案中,癌症表现出微卫星不稳定性(MSI)。微卫星不稳定性(“MSI”)是或者包括某些细胞(如肿瘤细胞)的DNA中的变化,其中微卫星的重复数目(DNA的短重复序列)不同于其所遗传的DNA中所含的重复数目。微卫星不稳定性由缺陷性DNA错配修复(MMR)系统所致的复制相关的错误修复失败引起。这种失败允许错配突变在整个基因组中持续存在,但尤其是在称为微卫星的重复DNA区域中,从而导致突变负荷增加。已经展示至少一些以MSI-H为特征的肿瘤对某些抗PD-1剂具有改进的反应(Le et al. (2015) N. Engl. J. Med. 372 (26) :2509-2520; Westdorp et al. (2016) Cancer Immunol. Immunother. 65 (10) :1249-1259)。

[0502] 在一些实施方案中,癌症具有高微卫星不稳定性的微卫星不稳定性状态(例如MSI-H状态)。在一些实施方案中,癌症具有低微卫星不稳定性的微卫星不稳定性状态(例如MSI-L状态)。在一些实施方案中,癌症具有微卫星稳定的微卫星不稳定性状态(例如MSS状态)。在一些实施方案中,通过基于下一代测序(NGS)的测定、基于免疫组织化学(IHC)的测定和/或基于PCR的测定来评估微卫星不稳定性状态。在一些实施方案中,通过NGS来检测微卫星不稳定性。在一些实施方案中,通过IHC来检测微卫星不稳定性。在一些实施方案中,通过PCR来检测微卫星不稳定性。

[0503] 在一些实施方案中,癌症与高肿瘤突变负荷(TMB)相关联。在一些实施方案中,癌症与高TMB和MSI-H相关联。在一些实施方案中,癌症与高TMB和MSI-L或MSS相关联。在一些实施方案中,癌症是与高TMB相关联的子宫内膜癌。在一些相关的实施方案中,子宫内膜癌与高TMB和MSI-H相关联。在一些相关的实施方案中,子宫内膜癌与TMB和MSI-L或MSS相关联。

[0504] 在一些实施方案中,癌症是错配修复缺陷型(dMMR)癌症。微卫星不稳定性可能由缺陷性DNA错配修复(MMR)系统所致的复制相关的错误修复失败引起。这种失败允许错配突变在整个基因组中持续存在,但尤其是在称为微卫星的重复DNA区域中,从而导致突变负荷增加,这可能改进对某些治疗剂的反应。

[0505] 在一些实施方案中,癌症是高突变癌症。在一些实施方案中,癌症在聚合酶ε(POLE)中具有突变。在一些实施方案中,癌症在聚合酶δ(POLD)中具有突变。

[0506] 在一些实施方案中,癌症是子宫内膜癌(例如MSI-H或MSS/MSI-L子宫内膜癌)。在一些实施方案中,癌症是在POLE或POLD中包含突变的MSI-H癌症(例如,在POLE或POLD中包含突变的MSI-H非子宫内膜癌)。

[0507] 在一些实施方案中,癌症是晚期癌症。在一些实施方案中,癌症是转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是复发性癌症(例如复发性妇科癌症,如复发性上皮卵巢癌、复发性输卵管癌、复发性原发性腹膜癌、或复发性子宫内膜癌)。在一个实施方案中,癌症是复发性或晚期的。

[0508] 在一个实施方案中,癌症选自:阑尾癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、食管癌(特别是食管鳞状细胞癌)、输卵管癌、胃癌、胶质瘤(如弥漫性内生性脑桥胶质瘤)、头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、白血病(特别是急性成淋巴细胞性白血病、急性髓性白血病)、肺癌(特别是非小细胞肺癌)、淋巴瘤(特别是霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤)、黑素瘤、间皮瘤(特别是恶性胸膜间皮瘤)、梅克尔细胞癌、成神经细胞瘤、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、前列腺癌、肾癌、涎腺肿瘤、肉瘤(特别是尤因氏肉瘤或横纹肌肉瘤)、鳞状细胞癌、软组织肉瘤、胸腺瘤、甲状腺癌、尿路上皮癌、子宫癌、阴道癌、外阴癌或维尔姆斯瘤。在进一步的实施方案中,癌症选自:阑尾癌、膀胱癌、宫颈癌、结直肠癌、食管癌、头颈癌、黑素瘤、间皮瘤、非小细胞肺癌、前列腺癌和尿路上皮癌。在进一步的实施方案中,癌症选自宫颈癌、子宫内膜癌、头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、肺癌(特别是非小细胞肺癌)、淋巴瘤(特别是非霍奇金淋巴瘤)、黑素瘤、口腔癌、甲状腺癌、尿路上皮癌或子宫癌。在另一个实施方案中,癌症选自头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)、肺癌(特别是非小细胞肺癌)、尿路上皮癌、黑素瘤或宫颈癌。

[0509] 在一个实施方案中,人患有实体瘤。在一个实施方案中,实体瘤是晚期实体瘤。在一个实施方案中,癌症选自头颈癌、头颈部鳞状细胞癌(SCCHN或HNSCC)、胃癌、黑素瘤、肾细胞癌(RCC)、食管癌、非小细胞肺癌、前列腺癌、结直肠癌、卵巢癌和胰腺癌。在一个实施方案中,癌症选自下组:结直肠癌、宫颈癌、膀胱癌、尿路上皮癌、头颈癌、黑素瘤、间皮瘤、非小细胞肺癌、前列腺癌、食管癌和食管鳞状细胞癌。在一个方面,人患有以下中之一者或多者:SCCHN、结直肠癌、食管癌、宫颈癌、膀胱癌、乳腺癌、头颈癌、卵巢癌、黑素瘤、肾细胞癌(RCC)、食管鳞状细胞癌、非小细胞肺癌、间皮瘤(例如胸膜恶性间皮瘤)和前列腺癌。

[0510] 在另一方面,人患有液体瘤,如弥漫大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、多发性骨髓瘤、慢性成淋巴细胞性白血病、滤泡性淋巴瘤、急性髓性白血病和慢性骨髓性白血病。

[0511] 在一个实施方案中,癌症是头颈癌。在一个实施方案中,癌症是HNSCC。鳞状细胞癌是由称为鳞状细胞的特定细胞引起的癌症。鳞状细胞存在于皮肤外层和粘膜中,它们是排列于体腔如气道和肠的湿组织。头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)在口部、鼻部和咽部的粘膜中发展。HNSCC也称为SCCHN和头颈部鳞状细胞癌。

[0512] HNSCC可发生在口部(口腔)、靠近口部的咽的中部(口咽)、鼻部后面的空间(鼻腔和鼻窦)、靠近鼻腔的咽的上部(鼻咽)、喉头(喉部)、或靠近喉部的咽的下部(下咽)。取决于位置,癌症可引起口部和咽部中异常斑块或疮口(溃疡)、口部中异常出血或疼痛、不明的鼻窦充血、咽喉痛、耳痛、吞咽时疼痛或吞咽困难、声音嘶哑、呼吸困难、或淋巴结肿大。

[0513] HNSCC可转移至身体的其他部分,如淋巴结、肺或肝。

[0514] 烟草使用和饮酒是发展HNSCC的两个最重要的风险因素,它们对风险的贡献是协同的。此外,人乳头瘤病毒(HPV)(尤其是HPV-16)是目前公认的独立风险因素。患有HNSCC的患者预后相对较差。无论人乳头瘤病毒(HPV)状态如何,复发性/转移性(R/M)HNSCC尤其具有挑战性,并且目前本领域中很少有有效的治疗选项可用。与比率分别为9-18%和5-12%

的HPV阳性HNSCC相比,HPV阴性HNSCC与标准护理后19-35%的局部区域复发率和14-22%的远处转移率相关联。一线化疗情形下R/M疾病患者的中位总生存期为10-13个月,并且二线情形下为6个月。目前的标准护理是具有或不具有西妥昔单抗的基于铂的双联体化疗。二线标准护理选项包括西妥昔单抗、甲氨蝶呤和紫杉烷。所有这些化学治疗剂与显著的副作用相关联,并且仅10-13%的患者对治疗有反应。来自现有全身疗法的HNSCC消退是短暂的,且并未增加显著增加的寿命,并且几乎所有的患者死于他们的恶性肿瘤。

[0515] 在一个实施方案中,癌症是头颈癌。在一个实施方案中,癌症是头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)。在一个实施方案中,癌症是复发性/转移性(R/M)HNSCC。在一个实施方案中,癌症是复发/难治性(R/R)HNSCC。在一个实施方案中,癌症是HPV阴性或HPV阳性HNSCC。在一个实施方案中,癌症是局部晚期HNSCC。在一个实施方案中,癌症是PD-L1 CPS(综合阳性评分)阳性(CPS $\geq$ 1)患者中的(R/M)HNSCC。通过FDA批准的测试来确定综合阳性评分。PD-L1 CPS是PD-L1染色细胞(肿瘤细胞、淋巴细胞、巨噬细胞)的数目除以活肿瘤细胞的总数,乘以100。在一个实施方案中,使用PharmDx22C3确定PD-L1 CPS。在一个实施方案中,癌症是已经历过PD-1结合蛋白/PD-L1结合蛋白或未接受过PD-1结合蛋白/PD-L1结合蛋白的患者中的HNSCC。在一个实施方案中,癌症是已经历过PD-1结合蛋白/PD-L1结合蛋白或未接受过PD-1结合蛋白/PD-L1结合蛋白的患者中的HNSCC。

[0516] 在一个实施方案中,头颈癌是口咽癌。在一个实施方案中,头颈癌是口腔癌(即口部癌症)。

[0517] 在一个实施方案中,癌症是肺癌。在一些实施方案中,肺癌是肺的鳞状细胞癌。在一些实施方案中,肺癌是小细胞肺癌(SCLC)。在一些实施方案中,肺癌是非小细胞肺癌(NSCLC),如鳞状NSCLC。在一些实施方案中,肺癌是ALK易位的肺癌(例如ALK易位的NSCLC)。在一些实施方案中,癌症是具有经鉴定的ALK易位的NSCLC。在一些实施方案中,肺癌是EGFR突变型肺癌(例如EGFR突变型NSCLC)。在一些实施方案中,癌症是具有经鉴定的EGFR突变的NSCLC。

[0518] 在一个实施方案中,癌症是黑素瘤。在一些实施方案中,黑素瘤是晚期黑素瘤。在一些实施方案中,黑素瘤是转移性黑素瘤。在一些实施方案中,黑素瘤是MSI-H黑素瘤。在一些实施方案中,黑素瘤是MSS黑素瘤。在一些实施方案中,黑素瘤是POLE突变型黑素瘤。在一些实施方案中,黑素瘤是POLD突变型黑素瘤。在一些实施方案中,黑素瘤是高TMB黑素瘤。

[0519] 在一个实施方案中,癌症是结直肠癌。在一些实施方案中,结直肠癌是晚期结直肠癌。在一些实施方案中,结直肠癌是转移性结直肠癌。在一些实施方案中,结直肠癌是MSI-H结直肠癌。在一些实施方案中,结直肠癌是MSS结直肠癌。在一些实施方案中,结直肠癌是POLE突变型结直肠癌。在一些实施方案中,结直肠癌是POLD突变型结直肠癌。在一些实施方案中,结直肠癌是高TMB结直肠癌。

[0520] 在一些实施方案中,癌症是妇科癌症(即女性生殖系统的癌症,如卵巢癌、输卵管癌、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、子宫癌、或原发性腹膜癌、或乳腺癌)。在一些实施方案中,女性生殖系统的癌症包括但不限于卵巢癌、输卵管癌、腹膜癌和乳腺癌。

[0521] 在一些实施方案中,癌症是卵巢癌(例如浆液性或透明细胞卵巢癌)。在一些实施方案中,癌症是输卵管癌(例如浆液性或透明细胞输卵管癌)。在一些实施方案中,癌症是原发性腹膜癌(例如浆液性或透明细胞原发性腹膜癌)。

[0522] 在一些实施方案中,卵巢癌是上皮癌。上皮癌占卵巢癌的85%至90%。虽然历史上认为在卵巢的表面上开始,但新的证据表明,至少一些卵巢癌以输卵管的一部分中的特殊细胞开始。输卵管是使妇女的卵巢与其作为妇女生殖系统的一部分的子宫连接的小导管。在正常女性生殖系统中,存在两条输卵管,在子宫的每一侧定位有一条。在输卵管中开始的癌细胞可能在早期到达卵巢的表面。术语“卵巢癌”通常用于描述在卵巢中、输卵管中,以及从腹腔内衬(称为腹膜)开始的上皮癌。在一些实施方案中,癌症是或者包括生殖细胞瘤。生殖细胞瘤是在卵巢的产卵细胞中发展的一类卵巢癌。在一些实施方案中,癌症是或者包括间质瘤。间质瘤在使卵巢保持在一起的结缔组织细胞(其有时是产生称为雌激素的雌性激素的组织)中发展。在一些实施方案中,癌症是或者包括颗粒细胞瘤。颗粒细胞瘤可分泌雌激素,在诊断时导致异常阴道出血。在一些实施方案中,妇科癌症与同源重组修复缺陷/同源修复缺陷(HRD)和/或BRCA1/2突变相关联。在一些实施方案中,妇科癌症是铂类敏感的。在一些实施方案中,妇科癌症对基于铂的疗法有反应。在一些实施方案中,妇科癌症已发展出对基于铂的疗法的抗性。在一些实施方案中,妇科癌症曾经显示出对基于铂的疗法的部分或完全响应(例如,对最后一次基于铂的疗法或对倒数第二次基于铂的疗法的部分或完全响应)。在一些实施方案中,妇科癌症现在对基于铂的疗法有抗性。

[0523] 在一些实施方案中,癌症是乳腺癌。通常,乳腺癌在产乳腺体(称为小叶)的细胞或导管中开始。较不常见的乳腺癌可在基质组织中开始。这些包括乳房的脂肪和纤维性结缔组织。随着时间的推移,乳腺癌细胞可在称为转移的过程中侵入附近的组织,如腋下淋巴结或肺。乳腺癌的阶段、肿瘤的尺寸及其生长速率都是决定所提供的治疗类型的因素。治疗选项包括移除肿瘤的手术、包括化疗和激素疗法在内的药物治疗、放射疗法和免疫疗法。预后和生存率变化很大;取决于发生的乳腺癌的类型,五年相对生存率从98%到23%变化。乳腺癌是世界上第二最常见的癌症(在2012年新病例为大约170万)以及第五种最常见的癌症死因(大约521,000例死亡)。在这些病例中,大约15%是三阴性的,其不表达雌激素受体、孕酮受体(PR)或HER2。在一些实施方案中,三阴性乳腺癌(TNBC)以雌激素受体表达阴性(<1%的细胞)、孕酮受体表达阴性(<1%的细胞)和HER2阴性的乳腺癌细胞为特征。

[0524] 在一些实施方案中,癌症是雌激素受体(ER)阳性乳腺癌、ER阴性乳腺癌、PR阳性乳腺癌、PR阴性乳腺癌、HER2阳性乳腺癌、HER2阴性乳腺癌、BRCA1/2阳性乳腺癌、BRCA1/2阴性癌症、或TNBC。在一些实施方案中,乳腺癌是转移性乳腺癌。在一些实施方案中,乳腺癌是晚期乳腺癌。在一些实施方案中,癌症是II期、III期或IV期乳腺癌。在一些实施方案中,癌症是IV期乳腺癌。在一些实施方案中,乳腺癌是三阴性乳腺癌。

[0525] 在一个实施方案中,癌症是子宫内膜癌。子宫内膜癌是女性生殖道最常见的癌症,占每100,000人年中的10-20。据估计每年新发子宫内膜癌(EC)的病例数在全世界为约325,000。另外,EC是绝经后妇女中最常发生的癌症。约53%的子宫内膜癌病例发生在发达国家。在2015年,在美国诊断出大约55,000例EC,且目前尚无靶向疗法被批准用于EC。需要改进晚期和复发性EC在1L和2L情形中的存活的药剂和方案。预计在2016年美国有大约10,170人死于EC。最常见的组织学形式是子宫内膜样腺癌,代表诊断病例的约75-80%。其他组织学形式包括子宫乳头状浆液性(小于10%)、4%透明细胞、1%粘液性、小于1%鳞状以及约10%混合性。

[0526] 从病原学的观点来看,EC分为两种不同的类型,即所谓的I型和II型。I型肿瘤是低

级和雌激素相关的子宫内膜样癌 (EEC)，而II型是非子宫内膜样 (NEEC) (主要是浆液性和透明细胞) 癌。世界卫生组织更新了EC的病理分类，确认了EC的九种不同亚型，但EEC和浆液性癌 (SC) 占绝大多数病例。EEC是雌激素相关的癌，其发生在围绝经期患者中，并且之前为前期病变 (子宫内膜增生/子宫内膜样上皮内瘤变)。通过显微镜，低级EEC (EEC 1-2) 含有管状腺，有些类似于增殖内膜，具有腺体融合和筛状型态的结构复杂性。高级EEC显示出实性生长模式。相比之下，SC发生在不存在雌激素过多症的绝经后患者中。在显微镜下，SC显示出的较厚、纤维变性或水肿性乳突，具有明显的肿瘤细胞分层、细胞出芽，以及具有较大嗜酸性细胞质的间变性细胞。绝大多数EEC是低级别肿瘤 (1级和2级)，并且当它们局限于子宫时与良好的预后相关联。3级EEC (EEC3) 是侵袭性肿瘤，具有增加的淋巴结转移频率。SC极具侵袭性，与雌激素刺激无关，主要发生在老年妇女中。EEC 3和SC被认为是高级别肿瘤。使用1988年至2001年的监测、流行病及最终结果 (SEER) 计划数据，对SC和EEC3进行比较。它们分别代表EC的10%和15%，但分别占癌症死亡的39%和27%。子宫内膜癌也可分类为四个分子亚组：(1) 超突变的/POLE-突变体；(2) 高突变的MSI+ (例如MSI-H或MSI-L)；(3) 拷贝数低/微卫星稳定 (MSS)；和(4) 拷贝数高/浆液样。大约28%的病例为MSI-高 (Murali, Lancet Oncol. (2014))。在一些实施方案中，患者患有2L子宫内膜癌的错配修复缺陷型亚组。在一些实施方案中，子宫内膜癌是转移性子宫内膜癌。在一些实施方案中，患者患有MSS子宫内膜癌。在一些实施方案中，患者患有MSI-H子宫内膜癌。

[0527] 在一个实施方案中，癌症是宫颈癌。在一些实施方案中，宫颈癌是晚期宫颈癌。在一些实施方案中，宫颈癌是转移性宫颈癌。在一些实施方案中，宫颈癌是MSI-H宫颈癌。在一些实施方案中，宫颈癌是MSS宫颈癌。在一些实施方案中，宫颈癌是POLE突变型宫颈癌。在一些实施方案中，宫颈癌是POLD突变型宫颈癌。在一些实施方案中，宫颈癌是高TMB宫颈癌。

[0528] 在一个实施方案中，癌症是子宫癌。在一些实施方案中，子宫癌是晚期子宫癌。在一些实施方案中，子宫癌是转移性子宫癌。在一些实施方案中，子宫癌是MSI-H子宫癌。在一些实施方案中，子宫癌是MSS子宫癌。在一些实施方案中，子宫癌是POLE突变型子宫癌。在一些实施方案中，子宫癌是POLD突变型子宫癌。在一些实施方案中，子宫癌是高TMB子宫癌。

[0529] 在一个实施方案中，癌症是尿路上皮癌。在一些实施方案中，尿路上皮癌是晚期尿路上皮癌。在一些实施方案中，尿路上皮癌是转移性尿路上皮癌。在一些实施方案中，尿路上皮癌是MSI-H尿路上皮癌。在一些实施方案中，尿路上皮癌是MSS尿路上皮癌。在一些实施方案中，尿路上皮癌是POLE突变型尿路上皮癌。在一些实施方案中，尿路上皮癌是POLD突变型尿路上皮癌。在一些实施方案中，尿路上皮癌是高TMB尿路上皮癌。

[0530] 在一个实施方案中，癌症是甲状腺癌。在一些实施方案中，甲状腺癌是晚期甲状腺癌。在一些实施方案中，甲状腺癌是转移性甲状腺癌。在一些实施方案中，甲状腺癌是MSI-H甲状腺癌。在一些实施方案中，甲状腺癌是MSS甲状腺癌。在一些实施方案中，甲状腺癌是POLE突变型甲状腺癌。在一些实施方案中，甲状腺癌是POLD突变型甲状腺癌。在一些实施方案中，甲状腺癌是高TMB甲状腺癌。

[0531] 肿瘤可以是造血 (或血液学的或血液的或血液相关的) 癌症，例如，衍生自血细胞或免疫细胞的癌症，其可被称为“液体瘤”。基于血液肿瘤的临床病况的具体实例包括白血病，如慢性髓细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病和急性淋巴细胞性白血病；浆细胞恶性肿瘤，如多发性骨髓瘤、意义未明 (或未知或不清楚) 的单克隆丙种球

蛋白病 (MGUS) 和华氏巨球蛋白血症;淋巴瘤,如非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤等。

[0532] 癌症可以是其中存在异常数量的母细胞或不希望的细胞增殖或者被诊断为血液癌症(包括淋巴样和髓样恶性肿瘤)的任何癌症。髓样恶性肿瘤包括但不限于急性髓样(或髓细胞性或骨髓性或成髓细胞性)白血病(未分化或分化的)、急性早幼粒细胞样(promyeloid)(或早幼髓细胞性(promyelocytic)或早幼骨髓性(promyelogenous)或成早幼髓细胞性)白血病、急性粒单核细胞性(或成粒单核细胞性)白血病、急性单核细胞性(或成单核细胞性)白血病、红白血病和巨核细胞性(或成巨核细胞性)白血病。这些白血病可一起称为急性髓样(或髓细胞性或骨髓性)白血病。髓样恶性肿瘤还包括骨髓增生性障碍(MPD),其包括但不限于慢性骨髓性(或髓样或髓细胞性)白血病(CML)、慢性粒单核细胞性白血病(CMML)、原发性血小板增多症(thrombocythemia)(或血小板增多症(thrombocytosis))和真性红细胞增多症(PCV)。髓样恶性肿瘤还包括脊髓发育不良(或骨髓增生异常综合征或MDS),其可称为难治性贫血(RA)、伴原始细胞增多的难治性贫血(RAEB)和转变中的伴原始细胞增多的难治性贫血(RAEBT);以及伴有或不伴有原因不明的髓样化生的骨髓纤维化(MFS)。

[0533] 在一个实施方案中,癌症是非霍奇金淋巴瘤。造血癌症还包括淋巴样恶性肿瘤,其可影响淋巴结、脾、骨髓、外周血和/或结外部位。淋巴样癌症包括B细胞恶性肿瘤,其包括但不限于B细胞非霍奇金淋巴瘤(B-NHL)。B-NHL可以是惰性的(或低级的)、中级的(或侵袭性的)或高级的(极具侵袭性的)。惰性B细胞淋巴瘤包括滤泡性淋巴瘤(FL);小淋巴细胞淋巴瘤(SLL);边缘区淋巴瘤(MZL),包括结节性MZL、结外MZL、脾MZL和伴绒毛淋巴细胞的脾MZL;淋巴浆细胞性淋巴瘤(LPL);以及粘膜相关淋巴样组织(MALT或结外边缘区)淋巴瘤。中级B-NHL包括伴有或不伴有白血病累及的套细胞淋巴瘤(MCL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性大细胞(或3级或3B级)淋巴瘤和原发性纵膈淋巴瘤(PML)。高级B-NHL包括伯基特淋巴瘤(BL)、伯基特样淋巴瘤、小无裂细胞淋巴瘤(SNCCL)和成淋巴细胞性淋巴瘤。其他B-NHL包括成免疫细胞性淋巴瘤(或免疫细胞瘤)、原发性渗出性淋巴瘤、HIV相关联的(或AIDS相关的)淋巴瘤以及移植后淋巴增生性病征(PTLD)或淋巴瘤。B细胞恶性肿瘤还包括但不限于慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、幼淋巴细胞性白血病(PLL)、华氏巨球蛋白血症(WM)、毛细胞白血病(HCL)、大颗粒淋巴细胞(LGL)白血病、急性淋巴样(或淋巴细胞性或成淋巴细胞性)白血病和卡斯特莱曼病。NHL也可包括T细胞非霍奇金淋巴瘤(T-NHL),其包括但不限于不明确的(NOS)T细胞非霍奇金淋巴瘤、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、血管成免疫细胞性淋巴样障碍(AILD)、鼻自然杀伤(NK)细胞/T细胞淋巴瘤、 $\gamma/\delta$ 淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、蕈样肉芽肿病和塞扎里综合征。

[0534] 造血癌症还包括霍奇金淋巴瘤(或疾病),包括经典型霍奇金淋巴瘤、结节性硬化型霍奇金淋巴瘤、混合细胞型霍奇金淋巴瘤、淋巴细胞为主型(LP)霍奇金淋巴瘤、结节性LP霍奇金淋巴瘤和淋巴细胞消退型霍奇金淋巴瘤。造血癌症还包括浆细胞疾病或癌症,如多发性骨髓瘤(MM),包括郁积MM、意义未明(或未知或不清楚)的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、浆细胞瘤(骨、髓外)、淋巴浆细胞性淋巴瘤(LPL)、华氏巨球蛋白血症、浆细胞白血病和原发性淀粉样变性(AL)。造血癌症也可包括另外的造血细胞,包括多形核白细胞(或中性粒细胞)、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、树突细胞、血小板、红细胞和自然杀伤细胞的其他癌症。包括造血细胞的组织(本文称为“造血细胞组织”)包括骨髓;外周血;胸腺;和外周淋巴样组

织,如脾、淋巴结、与粘膜相关联的淋巴样组织(如肠相关联的淋巴样组织)、扁桃体、派尔集合淋巴结和阑尾,以及与其他粘膜(例如支气管衬里)相关联的淋巴样组织。

[0535] 在一个实施方案中,治疗是HNSCC的一线或二线治疗。在一个实施方案中,治疗是复发性/转移性HNSCC的一线或二线治疗。在一个实施方案中,治疗是复发性/转移性(1L R/M)HNSCC的一线治疗。在一个实施方案中,治疗是PD-L1 CPS(综合阳性评分)阳性(CPS $\geq$ 1)患者中1L R/M HNSCC的一线治疗。在一个实施方案中,治疗是复发性/转移性(2L R/M)HNSCC的二线治疗。

[0536] 在一个实施方案中,治疗是未接受过PD-1/PD-L1的HNSCC的一线、二线、三线、四线或五线治疗。在一个实施方案中,治疗是已经历过PD-1/PD-L1的HNSCC的一线、二线、三线、四线或五线治疗。

[0537] 在一些实施方案中,癌症治疗是癌症的一线治疗。在一个实施方案中,癌症治疗是癌症的二线治疗。在一些实施方案中,治疗是癌症的三线治疗。在一些实施方案中,治疗是癌症的四线治疗。在一些实施方案中,治疗是癌症的五线治疗。在一些实施方案中,癌症的所述二线、三线、四线或五线治疗的既往治疗包括放疗、化疗、手术、或放射化学疗法中的一种或多种。

[0538] 在一个实施方案中,既往治疗包括用以下项治疗:双萜类,如紫杉醇、白蛋白结合紫杉醇或多西他赛;长春花生物碱类,如长春碱、长春新碱、或长春瑞滨;铂配位络合物,如顺铂或卡铂;氮芥类,如环磷酰胺、美法仑、或苯丁酸氮芥;烷基磺酸盐类,如白消安;亚硝基脲类,如卡莫司汀;三氮烯类,如达卡巴嗪;放线菌素类,如放线菌素D;蒽环类,如柔红霉素或多柔比星;博莱霉素;表鬼白毒素类,如依托泊苷或替尼泊苷;抗代谢物抗增生剂,如氟尿嘧啶、甲氨蝶呤、阿糖胞苷、硫基嘌呤、硫鸟嘌呤、或吉西他滨;甲氨蝶呤;喜树碱类,如伊立替康或拓扑替康;利妥昔单抗;奥法木单抗;曲妥珠单抗;西妥昔单抗;蓓萨罗丁;索拉非尼;erbB抑制剂,如拉帕替尼、埃罗替尼或吉非替尼;帕妥珠单抗;伊匹单抗;纳武单抗;FOLFOX;卡培他滨;FOLFIRI;贝伐单抗;阿特殊单抗;塞鲁单抗;奥滨尤妥珠单抗或它们的任何组合。在一个实施方案中,癌症的所述二线治疗、三线、四线或五线治疗的既往治疗包含伊匹单抗和纳武单抗。在一个实施方案中,癌症的所述二线治疗、三线、四线或五线治疗的既往治疗包含FOLFOX、卡培他滨、FOLFIRI/贝伐单抗和阿特殊单抗/塞鲁单抗。在一个实施方案中,癌症的所述二线治疗、三线、四线或五线治疗的既往治疗包含卡铂/白蛋白结合紫杉醇。在一个实施方案中,癌症的所述二线治疗、三线、四线或五线治疗的既往治疗包含纳武单抗和电化学疗法。在一个实施方案中,癌症的所述二线治疗、三线、四线或五线治疗的既往治疗包含放疗、顺铂和卡铂/紫杉醇。

[0539] 在一个实施方案中,治疗是头颈癌(特别是头颈部鳞状细胞癌和口咽癌)的一线或二线治疗。在一个实施方案中,治疗是复发性/转移性HNSCC的一线或二线治疗。在一个实施方案中,治疗是复发性/转移性(1L R/M)HNSCC的一线治疗。在一个实施方案中,治疗是PD-L1 CPS(综合阳性评分)阳性(CPS $\geq$ 1)患者中1L R/M HNSCC的一线治疗。在一个实施方案中,治疗是复发性/转移性(2L R/M)HNSCC的二线治疗。

[0540] 在一个实施方案中,治疗是未接受过PD-1/PD-L1的HNSCC的一线、二线、三线、四线或五线治疗。在一个实施方案中,治疗是已经历过PD-1/PD-L1的HNSCC的一线、二线、三线、四线或五线治疗。

[0541] 在一些实施方案中,与治疗前的水平(例如基线水平)相比,治疗导致增加的肿瘤浸润性淋巴细胞(包括细胞毒性T细胞、辅助T细胞和NK细胞)、增加的T细胞、增加的粒酶B+细胞、减少的增殖肿瘤细胞以及增加的活化T细胞中的一种或多种。可以通过更高的OX40和人白细胞抗原DR表达而观察到活化T细胞。在一些实施方案中,与治疗前的水平(例如基线水平)相比,治疗导致PD-1和/或PD-L1的上调。

[0542] 在一个实施方案中,本发明的方法还包括向所述人施用至少一种肿瘤剂或癌症佐剂。本发明的方法也可以与癌症治疗的其他治疗方法一起采用。

[0543] 通常,在本发明的癌症治疗中,可以共同施用对肿瘤(如所治疗的易感肿瘤)具有活性的任何抗赘生剂或癌症佐剂。此类药剂的实例可见于Cancer Principles and Practice of Oncology, V.T.Devita, T.S.Lawrence和S.A.Rosenberg(编辑),第10版(2014年12月5日),Lippincott Williams&Wilkins Publishers。

[0544] 在一个实施方案中,该人先前已经用一种或多种不同的癌症治疗模式治疗过。在一些实施方案中,癌症患者群体中的至少一些患者先前已经用一种或多种疗法(如手术、放疗、化疗或免疫疗法)治疗过。在一些实施方案中,癌症患者群体中的至少一些患者先前已经用化疗(例如基于铂的化疗)治疗过。例如,已经接受两线癌症治疗的患者可被鉴定为2L癌症患者(例如2L NSCLC患者)。在一些实施方案中,患者已经接受两线或更多线的癌症治疗(例如2L+癌症患者,如2L+子宫内膜癌患者)。在一些实施方案中,患者先前未曾用抗体疗法如抗PD-1疗法治疗。在一些实施方案中,患者先前接受过至少一线癌症治疗(例如,患者先前接受过至少一线或至少两线的癌症治疗)。在一些实施方案中,患者先前接受过至少一线的转移性癌症治疗(例如,患者先前接受过一线或两线的转移性癌症治疗)。在一些实施方案中,受试者对于用抑制PD-1的药剂的治疗有抗性。在一些实施方案中,受试者难以用抑制PD-1的药剂治疗。在一些实施方案中,本文所述的方法使受试者对于用抑制PD-1的药剂的治疗敏感。

[0545] 应当注意的是,就其涉及剂量、治疗方案以及所述剂量和治疗方案的效应而言,治疗癌症的方法的实施方案也被认为是用于治疗癌症的ICOS结合蛋白和/或PD-1结合蛋白(和任选地TIM-3结合蛋白)或者ICOS结合蛋白和/或PD-1结合蛋白(和任选地TIM-3结合蛋白)在制备用于治疗癌症的药物中的用途的实施方案以及它们的互换形式。还应当注意的是,就其涉及剂量、治疗方案以及所述剂量和治疗方案的效应而言,治疗癌症的方法的实施方案、用于治疗癌症的ICOS结合蛋白和/或PD-1结合蛋白(和任选地TIM-3结合蛋白)或者ICOS结合蛋白和/或PD-1结合蛋白(和任选地TIM-3结合蛋白)在制备用于治疗癌症的药物中的用途的实施方案也被认为是药物组合物、药物制剂或药物试剂盒的实施方案。

[0546] 药物组合物/施用途径/剂量

[0547] 如本文所述的抗原结合蛋白可以掺入药物组合物中,用于治疗本文所述的人疾病。在一个实施方案中,药物组合物包含与一种或多种药学上可接受的载体和/或赋形剂组合的抗原结合蛋白。

[0548] 此类组合物包含药学上可接受的载体,如可接受的药学实践已知和要求的。

[0549] 药物组合物可以通过注射或连续输注(实例包括但不限于静脉内、腹膜内、皮内、皮下、肌内、眼内和门静脉内)进行施用。在一个实施方案中,组合物适用于静脉内施用。药物组合物可适于局部施用(其包括但不限于表皮、吸入、鼻内或眼部施用)或肠内施用(其包

括但不限于口服、阴道、或直肠施用)。

[0550] 药物制剂可以以单位剂型呈现,每单位剂量含有预定量的活性成分。如本领域的技术人员已知,每剂量的活性成分的量将取决于所治疗的病况、施用途径以及患者的年龄、体重和状况。

[0551] 尤其有利的是将肠胃外组合物配制成单位剂型,以便于施用和剂量的均匀度。如本文所用,单位剂型是指适于作为用于待治疗哺乳动物受试者的单位剂量的物理离散单位;每个单位含有预定量的活性化合物,其被计算成与所需药物载体结合起来产生期望的治疗效果。

[0552] 药物组合物可以包括在含有抗原结合蛋白连同其他药物和/或使用说明书的试剂盒中。为方便起见,试剂盒可包含预定量的试剂和使用说明书。试剂盒也可包括用于施用药物组合物的装置。

[0553] 术语“个体”、“受试者”和“患者”在本文中可互换使用。在一个实施方案中,受试者是动物。在另一个实施方案中,受试者是哺乳动物,如灵长类,例如狨猴或猴。在另一个实施方案中,受试者是人(即人患者)。“受试者”广义地定义为包括需要治疗的任何患者,例如需要癌症治疗的患者。需要癌症治疗的受试者可包括来自各种阶段的患者,包括新诊断、复发性、难治性、进行性疾病、缓解等等。需要癌症治疗的受试者也可包括已经经历干细胞移植或者被认为移植不合格的患者。

[0554] 可以预先筛选受试者,以便选择用本文所述的组合治疗。在一个实施方案中,在用本文所述的组合治疗之前,测试来自受试者的样品的PD-L1的表达。

#### [0555] 试剂盒

[0556] 在一些方面,本发明提供了试剂盒,该试剂盒包含:

[0557] (i) ICOS结合蛋白,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;

[0558] (ii) PD-1结合蛋白,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列;并且任选地包含

[0559] (iii) 在人的癌症的治疗中组合使用(i)和(ii)的说明书。

[0560] 在一些方面,本发明提供了试剂盒,该试剂盒包含:

[0561] (i) ICOS结合蛋白,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;

[0562] (ii) PD-1结合蛋白,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列;

[0563] (iii) TIM-3结合蛋白,该TIM-3结合蛋白包含含有SEQ ID NO:30的CDRH1、SEQ ID NO:31的CDRH2和SEQ ID NO:32的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:33的CDRL1、SEQ ID NO:34的CDRL2和SEQ ID NO:35的CDRL3的轻链氨基酸序列;并且任选地包含

[0564] (iv) 在人的癌症的治疗中组合使用(i)和(ii)的说明书。

- [0565] 在一个实施方案中,试剂盒包含:
- [0566] (i) 浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白;以及
- [0567] (ii) 浓度为约20mg/mL至约125mg/mL,如约20mg/mL至约50mg/mL,特别是20mg/mL或50mg/mL的PD-1结合蛋白。
- [0568] 在进一步的实施方案中,试剂盒包含:
- [0569] (i) 浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白;
- [0570] (ii) 浓度为约20mg/mL至约125mg/mL,如约20mg/mL至约50mg/mL,特别是20mg/mL或50mg/mL的PD-1结合蛋白;以及
- [0571] (iii) 浓度为约5mg/mL至约100mg/mL,如约10mg/mL至约40mg/mL,特别是20mg/mL的TIM-3结合蛋白。
- [0572] 在一些方面,试剂盒用于治疗癌症。
- [0573] 在一些实施方案中,ICOS结合蛋白和PD-1结合蛋白各自单独地与一种或多种药学上可接受的载体一起配制在它们自身的药物组合物中。在进一步的实施方案中,ICOS结合蛋白、PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白各自单独地与一种或多种药学上可接受的载体一起配制在它们自身的药物组合物中。
- [0574] 在一些方面,本发明提供了用于治疗癌症的试剂盒,该试剂盒包含:
- [0575] (i) ICOS结合蛋白,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;
- [0576] (ii) 当与PD-1结合蛋白组合时用于治疗癌症的说明书。
- [0577] 在进一步的方面,本发明提供了用于治疗癌症的试剂盒,该试剂盒包含:
- [0578] (i) ICOS结合蛋白,该ICOS结合蛋白包含含有SEQ ID NO:1的CDRH1、SEQ ID NO:2的CDRH2和SEQ ID NO:3的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:4的CDRL1、SEQ ID NO:5的CDRL2和SEQ ID NO:6的CDRL3的轻链氨基酸序列;
- [0579] (ii) 当与PD-1结合蛋白和TIM-3结合蛋白组合时用于治疗癌症的说明书。
- [0580] 在一些方面,本发明提供了用于治疗癌症的试剂盒,该试剂盒包含:
- [0581] (i) PD-1结合蛋白,该PD-1结合蛋白包含含有SEQ ID NO:13的CDRH1、SEQ ID NO:14的CDRH2和SEQ ID NO:15的CDRH3的重链氨基酸序列,以及含有SEQ ID NO:16的CDRL1、SEQ ID NO:17的CDRL2和SEQ ID NO:18的CDRL3的轻链氨基酸序列;
- [0582] (ii) 当与ICOS结合蛋白组合时用于治疗癌症的说明书。
- [0583] 在一个实施方案中,用于治疗癌症的试剂盒包含:
- [0584] (i) 浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白;以及
- [0585] (ii) 浓度为约20mg/mL至约125mg/mL,如约20mg/mL至约50mg/mL,特别是20mg/mL或50mg/mL的PD-1结合蛋白。
- [0586] 在进一步的实施方案中,用于治疗癌症的试剂盒包含:
- [0587] (i) 浓度为10mg/mL的ICOS结合蛋白;
- [0588] (ii) 浓度为约20mg/mL至约125mg/mL,如约20mg/mL至约50mg/mL,特别是20mg/mL或50mg/mL的PD-1结合蛋白;以及
- [0589] (iii) 浓度为约5mg/mL至约100mg/mL,如约10mg/mL至约40mg/mL,特别是20mg/mL

的TIM-3结合蛋白。

[0590] 在所有以上试剂盒方面的特定实施方案中,ICOS结合蛋白是非阿迪利单抗。在所有以上试剂盒方面的特定实施方案中,TIM-3结合蛋白是考伯利单抗。在所有以上试剂盒方面的特定实施方案中,PD-1结合蛋白是多塔利单抗。

## 实施例

[0591] 实施例1.测试抗体在鼠肿瘤模型治疗中的体内功效研究

[0592] 1.1细胞培养物

[0593] 在37°C下在5% CO<sub>2</sub>的空气中环境中,将乳腺癌细胞系(EMT-6)用DMEM+10% FBS在体外维持。每周常规传代培养肿瘤细胞两次。收获指数生长期的细胞并计数用于肿瘤接种。

[0594] 1.2肿瘤接种

[0595] 将BALB/C雌性小鼠在右下肋腹中经皮下接种0.1ml的PBS中的 $5 \times 10^5$ 个肿瘤细胞用于肿瘤发展。肿瘤细胞接种的日期表示为第0天。本研究按照GSK机构动物福利与使用委员会(GSK Institutional Animal Care and Use Committee)在研究开始前批准的方案进行。

[0596] 1.3随机化

[0597] 当平均肿瘤大小达到约95mm<sup>3</sup>时开始随机化。90只小鼠入组本研究。将所有动物随机分配至9个研究组。随机化基于“匹配分布”方法(STUDYDIRECTOR软件,版本3.1.399.19)随机区组设计执行。

[0598] 1.4观察和数据收集

[0599] 在肿瘤细胞接种后,每天检查动物的发病率和死亡率。在常规监测期间,检查动物的肿瘤生长和治疗对行为如活动力、食物和水消耗、体重增加/损失(在随机化后每周测量体重两次)、眼/毛发无光泽和任何其他异常的任何影响。详细记录个体动物的死亡率和观察到的临床体征。

[0600] 1.5抗体施用

[0601] 在表2所述的研究设计中施用抗体。所有抗体并行、每周两次(BIW)给药共3周。在对EMT-6模型分组的同一天-第6天开始治疗。

[0602] 表2.抗体研究设计

组	No.	治疗	剂量水平 ( $\mu\text{g}/\text{小鼠}$ )	给药体积 ( $\mu\text{L}/\text{小鼠}$ )	ROA	给药频率&持续时间	
[0603]	1	PBS	--	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
	2	rIgG2a	100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
		mIgG1	10	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
	3	抗 TIM3	100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
		mIgG1	10	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
	4	抗 PD1	100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
		mIgG1	10	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
	5	rIgG2a	100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
	[0604]	6	抗 ICOS	10	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周
			抗 TIM3	100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周
抗 PD1			100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
7		抗 TIM3	100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
		抗 ICOS	10	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
8		抗 PD1	100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
		抗 ICOS	10	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
9		抗 TIM3	100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
		抗 PD1	100	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	
		抗 ICOS	10	100	<i>i.p.</i>	BIW $\times$ 3 周	

### [0605] 1.6 统计分析

[0606] 通过卡普兰-梅尔 (Kaplan-Meier) 方法分析生存时间。感兴趣的事件是动物死亡。生存时间定义为从肿瘤细胞接种当天到肿瘤体积达到 $3000\text{mm}^3$ 那天的时间。对于每组, 计算中位生存时间 (MST)、相应的95%置信区间和寿命增加 (ILS)。对各组构建卡普兰-梅尔曲线, 并使用对数秩检验比较各组之间的生存曲线。使用SPSS 18.0分析所有数据。 $P < 0.05$ 被认为是统计学上显著的。

### [0607] 1.7 结果

[0608] 本研究的目的是评价单独和与PD-1 (克隆RMP1-14, 大鼠IgG2a) 和TIM-3 (克隆RMT3-23, 大鼠IgG2a) 阻断组合的抗ICOS激动剂抗体 (克隆鼠ICOS IgG1克隆7E.17G9, 小鼠IgG1) 在同系小鼠肿瘤模型EMT-6 (乳腺, BALB/c背景) 中的治疗功效。

[0609] 对于EMT-6肿瘤模型, 相对于同种型对照组, 抗ICOS激动剂单一疗法导致显著的肿瘤生长抑制 (TGI,  $P < 0.01$ ) 和无瘤生存 ( $P < 0.01$ )。相对于单独的抗ICOS激动剂抗体, 与抗PD-1的组合导致无瘤生存增加30%, 并且虽然在统计学上不显著, 还观察到在该双联体 (抗ICOS和抗PD-1) 之上的改善的TGI和无瘤生存趋势。结果显示于图1中。

[0610] 观察到抗ICOS、PD-1和TIM-3的三重组合的无瘤生存增加20%。类似地, 相对于抗ICOS和抗PD-1双联体, 还在三重组合组中观察到改善的TGI, 然而, 与总生存的改善一样, 结果并不显著, 这可能是由于研究规模。

[0611] 实施例2.组合疗法人临床试验方案开发

[0612] H2L5 hIgG4PE是旨在治疗不同组织学的癌症的抗诱导性T细胞共刺激因子 (ICOS) 受体激动剂抗体。预期它与引发或调节肿瘤免疫的药剂的组合具有活性。如其与H2L5 hIgG4PE和多塔利单抗+/-考伯利单抗的组合相关的研究设计汇总于图2中。H2L5 hIgG4PE包含如SEQ ID NO:1-6中所示的CDR序列、分别如SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8中所示的可变重链和可变轻链序列,以及分别如SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10中所示的重链和轻链序列。

[0613] 2.1研究设计

[0614] H2L5 hIgG4PE将与多塔利单抗组合进行测试。该研究将探索H2L5hIgG4PE的24mg和80mg剂量,以及500mg Q3W达4剂此后继之以1000mg Q6W的多塔利单抗的固定剂量计划表。

[0615] H2L5 hIgG4PE还将与多塔利单抗和考伯利单抗组合进行测试。该研究将探索24mg和80mg剂量的H2L5 hIgG4PE、500mg Q3W达4剂此后继之以1000mg Q6W的多塔利单抗,以及300mg Q3W的考伯利单抗。

[0616] 所评价的这些组合将在患有选定、复发性和/或难治性实体瘤的受试者中进行探索。每个群组将入组大约25名受试者。

[0617] 在剂量扩展阶段,将实施具有独立肿瘤类型建模的贝叶斯自适应设计。

[0618] 2.1.1H2L5 hIgG4PE与多塔利单抗或多塔利单抗加考伯利单抗的组合

[0619] 多塔利单抗以及多塔利单抗加考伯利单抗的组合群组将各自具有剂量递增阶段,对于25名受试者的每个群组内的每个剂量水平,测试24mg (剂量水平1) 或80mg (剂量水平2) 的两种不同剂量的H2L5 hIgG4PE与固定剂量方案的组合伴侣。适用的组合伴侣给药方案为:

[0620] • 多塔利单抗组合疗法将以静脉内施用的500mg Q3W达4剂,此后继之以静脉内施用的1000mg Q6W的固定剂量计划表开始;

[0621] • 多塔利单抗+考伯利单抗组合疗法将以静脉内施用的500mg Q3W达4剂,此后继之以1000mg Q6W的多塔利单抗的固定剂量,以及静脉内施用的300mg Q3W的考伯利单抗的固定剂量开始。

[0622] 每个群组的目标将是基于安全性和药效学数据 (包括基于活检样品的组织水平分析) 来确定推荐的2期剂量 (RP2D)。即便在定义RP2D之后,如果数据呈现出支持其研究,则也可以探索替代计划表或剂量水平。

[0623] 对于共25名受试者的每个群组,3名受试者将在第一剂量水平入组。如果在3名受试者间没有观察到剂量限制性毒性 (DLT),则将与研究者进行剂量递增讨论。如果在3名受试者间观察到DLT,则该群组将扩展至6名受试者。如果在6名受试者间没有观察到进一步DLT,则将与研究者进行剂量递增讨论。如果观察到第二DLT,则H2L5 hIgG4PE剂量将递减到研发团队与研究者之间的讨论确定的较低剂量,可能的目标为0.1mg/kg。剂量递增计划汇总于表3中。

[0624] 剂量决策规则将遵循改良毒性概率区间 (mTPI) 方法,图3描绘了基于在群组内观察到的DLT的剂量探索行动递增决策。在确定组合中H2L5hIgG4PE的RP2D时,将考虑安全性、耐受性、PK、药效学测量和抗肿瘤活性。

[0625] 因为每个群组限于25名受试者,在PK/药效学阶段入组的数量将是25减去在剂量

递增阶段入组的受试者数量。例如,如果两个剂量水平中的每者入组共3名受试者,则剂量递增中的受试者总数为6。从25中减去6则将允许至多19名受试者入组PK/药效学阶段。另一种情形可以是,在剂量递增中,以一个剂量水平入组的受试者总数为3,且在第二剂量水平为6,因此剂量递增总数为9,这将允许至多16名受试者入组PK/药效学阶段。

[0626] 表3. 组合疗法的剂量递增计划

剂量水平	H2L5 hIgG4PE 剂量	组合伴侣	N, 安全 全界限	PK/药效学的额外受试者, 使得 群组中所有受试者的总数 $\leq$ 25
1	24 mg	固定剂量方案	3-6	6-19
2	80 mg	固定剂量方案	3-6	6-19

[0628] 如果起始剂量群组中的组合剂量是不可耐受的,则可以评价较低剂量的H2L5 hIgG4PE。

[0629] 在该剂量的安全限界后,另外的受试者可以以一个或两个剂量水平入组,以生成PK/药效学数据,从而在组织水平上验证剂量。PK/药效学数据将取决于在基线和第6周的研究中获得可评价的组织样品。基于既往经验,必须入组比分析所需的样品更多的受试者,以解释不可评价或不可获得的组织样品。PK/药效学阶段中的所有受试者也包括在抗药物抗体(ADA)群组中,并且基于成像和免疫相关实体瘤反应评价标准(immune-related Response Evaluation Criteria In Solid Tumors, irRECIST)来评估抗肿瘤活性,因为抗肿瘤活性是药效学结果。

[0630] 研究的剂量递增/安全性导入阶段中的研究群体是患有以下类型的晚期/复发性实体瘤的成人:膀胱/尿路上皮癌、宫颈癌、结直肠癌(包括阑尾癌)、具有鳞状细胞组织学的食管癌、头颈癌、黑素瘤、恶性胸膜间皮瘤、非小细胞肺癌和前列腺癌。每个群组可以在任何时间入组具有选自前述列表的一种特定肿瘤类型的受试者,或者基于另外的特征如既往治疗史(即抗PD-1/L1疗法)、表现出特定分子/遗传改变(即PD-L1表达)的肿瘤、或病理学(即鳞状)入组受试者。

[0631] 2.1.2剂量限制性毒性

[0632] 使用美国国家癌症研究所-不良事件通用术语标准(National Cancer Institute-Common Terminology Criteria for Adverse Events, NCI-CTCAE) (4.0版) [NCI, 2010],对所有毒性的严重程度进行分级。DLT观察期长度为28天,并且开始于H2L5 hIgG4PE首次施用于受试者的当天。

[0633] DLT定义为符合表4中所列标准中的至少一项的不良事件(AE),并且研究者认为在28天DLT观察期期间与研究治疗在临床上相关并且归因于(大概或可能)研究治疗。认为与研究中的基础疾病相关的AE不被定义为DLT。

[0634] 表4. 剂量限制性毒性标准

毒性	DLT 定义
血液学	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 如由 CTCAE v4 所定义的发热性中性粒细胞减少症</li> <li>● 持续时间&gt;7 天或需要 G-CSF 的 4 级中性粒细胞减少症</li> <li>● 任何持续时间的 4 级贫血</li> <li>● 任何持续时间的 4 级血小板减少症或 3 级血小板减少症伴出血</li> </ul>
非血液学	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 4 级毒性</li> <li>● 任何持续时间的 3 级肺炎</li> <li>● 尽管有最佳支持性护理, 未在 3 天内消退至≤1 级或基线的 3 级毒性</li> <li>● 任何需要全身性类固醇的 2 级眼部毒性, 或任何≥3 级眼部毒性</li> <li>● 以下事件不视为 DLT               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 在 24 小时内矫正而无临床后遗症的 3 级和 4 级无症状性电解质异常</li> </ul> </li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 在最佳支持性护理下 7 天内消退至≤1 级的 3 级恶心、呕吐、或疲劳</li> <li>○ 未接受输注相关反应(IRR)防治的受试者中的 3 级和 4 级输注反应(IRR 管理详情参见章节 <b>Error! Reference source not found</b>)</li> </ul>
其他	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 在治疗的前四周期间导致 H2L5 hIgG4PE 单一疗法或组合中的 H2L5 hIgG4PE 和药剂的永久中断的毒性</li> <li>● 导致受试者未接受第 1 周期(定义为 21 天)中方案的预期剂量的 3 级/4 级毒性</li> <li>● 在选择对扩展群组推荐的剂量时, 将考虑超过四周发生的被视为剂量限制性的任何其他毒性</li> <li>● 在研究者和 GSK 医学监查员的判断中认为是 DLT 的任何其他事件</li> </ul>

[0637] 注释: 建议的毒性管理指南可以包括针对免疫相关毒性的全身性皮质类固醇; 如果全身性皮质类固醇的使用延迟了研究治疗的第二剂量的施用并且该事件在其他方面不符合非血液学毒性的 DLT 标准, 则剂量延迟将不被视为 DLT。

[0638] 如果受试者在 DLT 观察期期间经历 DLT, 只要毒性不符合研究治疗中断标准并在申办者批准后, 受试者可以恢复以相同或较低剂量给药。

[0639] 2.1.3受试者内剂量递增

[0640] 如果受试者已完成至少一个治疗周期而在治疗的前28天内未发生任何严重度等级的药物相关 $\geq$ 2级AE或严重不良事件(SAE),则可以根据具体情况考虑受试者内剂量递增。对于第6周治疗中活检是强制性的扩展阶段,批准受试者内递增也需要采集该活体组织切片。另外,处于下一个较高剂量水平的所有受试者必须已完成DLT观察期,且未达到最大耐受剂量(MTD)。受试者可以剂量递增至最高准许剂量。个体受试者可以剂量递增多次,条件是在每个受试者内剂量递增步骤满足以上标准。

[0641] 2.1.4剂量扩展阶段

[0642] 可以选择剂量递增阶段中的任何剂量水平/剂量用于扩展,以便收集关于安全性、PK、药效学活性和初步临床活动性的额外数据。

[0643] 每个扩展群组将包括如由图2中所指示的单一肿瘤类型所定义或者其特征在于其他特征(如用免疫检查点抑制剂的既往治疗、分子/遗传改变(MSI-H/dMMR)或病理学)的受试者。受试者可以按既往PD-1/L1治疗史(即未接受过或已经历;最佳响应)分为不同等级。

[0644] 指导委员会将审查研究可用的全部数据,以告知任何扩展群组的剂量水平适应症。

[0645] 2.1.4.1.PK/药效学剂量扩展群组

[0646] 任何剂量水平可以扩展到超出剂量递增阶段中入组的预期3名受试者,以便收集关于安全性、PK、药效学活性和初步功效的额外数据。受试者仅可以入组先前准许的剂量水平。一旦完成必需的PK/药效学程序,PK/药效学群组中入组的受试者可以将剂量递增至更高准许的剂量水平(即,不超过MTD)。基于模型的设计可用于每个PK/药效学剂量扩展群组,以便充分地探索在建立组合中的药剂的生物学最佳剂量中的关键参数(即,安全性、耐受性和功效)。

[0647] 2.1.5研究治疗和持续时间

[0648] 研究的每个部分和阶段包括筛选期、治疗期和随访期。对于符合所有合格标准并登记到研究中的受试者,用H2L5 hIgG4PE治疗的最大持续时间预计为两年,至多35个周期。安全性评估的最大随访期将是自研究治疗的末次剂量之日起90天。生存和后续抗癌疗法的预期最大随访期将是自研究治疗的末次剂量之日起两年。对由于实现确认的完全响应(CR)而中断研究治疗的受试者(额外要求参考第2.2.3节)将进行进展随访(这些评估的频率的细节参考第2.2.3节)。

[0649] 参与多塔利单抗组合群组的受试者将接受与以500mg Q3W持续4个周期继之以1000mg Q6W经静脉内(IV)输注施用的多塔利单抗组合的H2L5hIgG4PE 24或80mg剂量(固定剂量参考表5)。

[0650] 参与多塔利单抗+考伯利单抗组合群组的受试者将接受与以500mg Q3W持续4个周期继之以1000mg Q6W经IV输注施用的多塔利单抗,加上以300mg Q3W经IV输注施用的考伯利单抗组合的H2L5 hIgG4PE 24或80mg剂量(固定剂量参考表5)。

[0651] 2.1.6剂量合理性说明

[0652] 2.1.6.1与多塔利单抗或者多塔利单抗加考伯利单抗组合的H2L5 hIgG4PE起始剂量

[0653] 基于外周中的初步ICOS受体占有率药效学分析,选择24mg和80mg的H2L5 hIgG4PE

剂量,其在以0.3mg/kg (约24mg) 开始的21天给药周期内显示对CD4和CD8 T细胞的高受体占有率水平;在1mg/kg (约80mg) 剂量水平下观察到接近总受体饱和。基于既往临床和非临床数据,预期无交叉毒性。同样,基于已建立的药理学,预期没有药物-药物相互作用。

[0654] 2.1.6.2H2L5 hIgG4PE给药频率

[0655] 由于选择的伴侣药剂可以比每三周更低的频率给药,除Q3W选项之外,替代的延长给药计划表将为患者和临床医师提供额外的便利和灵活性。因此,将探索H2L5 hIgG4PE的每六周一次(Q6W) 给药计划表,具体地在未接受过PD-1/L1的HNSCC受试者的随机计划表优化群组中。选择初始Q6W计划表探索的两个剂量48和160mg,以提供对应于Q3W HNSCC剂量随机化群组(0.3和1mg/kg) 中相应的Q3W方案的匹配累积暴露。初步PK模拟表明,预期H2L5 hIgG4PE的剂量和间隔的加倍(例如0.3mg/kg Q3W到48mg Q6W) 提供类似的累积AUC,其中输注结束 $C_{max}$  近似加倍且循环结束谷浓度略微较低(稳态下~43%)。160mg Q6W的典型 $C_{max}$  将维持在Q3W方案建立的阈值以下。

[0656] 2.1.6.3H2L5 hIgG4PE固定剂量理论根据

[0657] 假定典型的中位体重为80kg,固定剂量可以在多塔利单抗以及多塔利单抗加考伯利单抗的剂量递增中进行测试。

[0658] 初步群体PK模拟指示,使用固定给药将导致与基于体重的给药类似的暴露范围。而且,固定给药提供了减少给药错误、减少药物浪费、缩短制备时间和提高施用便利性的优点。因此,基于80kg参考体重转换为固定剂量是合理且适当的。

[0659] 表5中呈现了使用80kg体重的基于体重的H2L5 hIgG4PE剂量水平的固定剂量当量。

[0660] 表5.H2L5 hIgG4PE固定剂量计算

剂量水平	H2L5 hIgG4PE(mg/kg)	H2L5 hIgG4PE(mg)
1	0.001	0.08
2	0.003	0.24
3	0.01	0.8
4	0.03	2.4
5	0.1	8.0

[0661]

剂量水平	H2L5 hIgG4PE(mg/kg)	H2L5 hIgG4PE(mg)
6	0.3	24.0
7	0.6	48.0
8	1.0	80.0
9	2.0	160.0
10	3.0	240.0

[0662]

[0663] 2.1.6.4多塔利单抗(抗PD1) 剂量理论根据

[0664] 多塔利单抗的推荐临床剂量和方案是500mg Q3W持续4个周期,继之以1000mg Q6W。该方案由相应的1/2期研究的结果确定,其中在该研究内的3个部分中评价PK、功效和

安全性。

[0665] 2.1.6.5考伯利单抗(抗TIM3)剂量理论根据

[0666] 考伯利单抗的推荐临床剂量和方案是300mg Q3W。该方案由相应的1期研究(单一疗法和与500mg多塔利单抗Q3W组合)的结果确定。

[0667] 受体占有率(R0)数据表明了900mg下相对较高靶标接合的潜能,然而,与300mg剂量相比,没有观察到900mg剂量的临床活动性的改善(警告:数据来自非随机序贯群组)。

[0668] 与功效和安全性数据一起,这些数据支持300mg Q3W的RP2D的选择。

[0669] 2.2研究群体的选择和退出标准

[0670] 2.2.1纳入标准

[0671] 对于有资格纳入本研究的受试者,必须满足所有以下标准:

[0672] 1.能够给予签署的书面知情同意书

[0673] 2.年龄 $\geq$ 18岁(获得同意时)的男性或女性。

[0674] 3.诊断为局部晚期/转移性或复发性/难治性且属于以下肿瘤类型之一的侵袭性恶性肿瘤的组织学或细胞学记录:

[0675] • 膀胱癌/上和下尿路的尿路上皮癌

[0676] • 子宫颈

[0677] • 结直肠(包括阑尾)

[0678] • 食管,鳞状细胞

[0679] • 头颈癌

[0680] • 黑素瘤

[0681] • MPM

[0682] • NSCLC

[0683] • 前列腺

[0684] • MSI-H/dMMR肿瘤

[0685] • HPV阳性或EBV阳性肿瘤

[0686] 4.在针对特定肿瘤类型的标准疗法后有进展,或者对其的标准疗法被证明无效、不可耐受,或者被认为不适当,或者如果不存在进一步标准疗法的疾病。

[0687] • 受试者不得接受超过5线既往晚期疾病疗法,包括标准护理和研究性疗法两者。

[0688] • 接受既往抗PD-1/L1疗法的受试者必须满足以下要求:

[0689] o已经实现完全响应[CR]、部分响应[PR]和疾病稳定[SD],并且后续在仍进行PD-1/L1疗法的同时具有疾病进展;

[0690] o已接受至少2剂(由任何管理机构)批准的PD-1/L1抑制剂;

[0691] o自最后一剂的PD-1/L1抑制剂起18周内,已展示出如RECIST v1.1所定义的疾病进展。疾病进展的初始证据由自首次记录的PD之日起不少于四周的第二评估来确认(确认性扫描可以为本研究的基线合格性扫描)。

[0692] 5.在从初始诊断到研究进入的任何时间所获得的存档肿瘤组织;如果存档组织不可用,则除非需要进展的病变,否则使用对受试者安全的程序对先前未照射的病变进行新鲜肿瘤活检。

[0693] 6.同意经受治疗前和治疗中活检,并且疾病适合PK/药效学、剂量随机化HNSCC、黑

素瘤剂量扩展和生物标志物群组中所需的活检。

[0694] 7. 根据RECIST 1.1版的可测量疾病(参考第2.6节)。通过影像学或摄影学评价不可测量的可触知病变不能被用作唯一可测量的病变。除非GSK同意,否则在筛选时活检的任何可测量病变不能作为靶/指标病变被跟踪。

[0695] 8. 美国东部肿瘤协作组 (Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG) 行为状态 (performance status, PS) 0-1 (参考第2.7节)。

[0696] 9. 至少12周的预期寿命。

[0697] 10. 适当器官功能,如表6中所定义:

[0698] 表6. 适当器官功能的定义

系统	实验室值
<b>血液学<sup>b</sup></b>	
嗜中性粒细胞绝对计数(ANC)	$\geq 1.5 \times 10^9/L$
血红蛋白	$\geq 9 \text{ g/dL}$
血小板	$\geq 100 \times 10^9/L$
<b>肝</b>	
总胆红素, 对于患有吉尔伯特综合征的受试者(仅当 直接胆红素 $\leq 35\%$ 时)	$\leq 1.5 \times \text{正常上限(ULN)}$ $\leq 3.0 \times \text{ULN}$
丙氨酸转氨酶(ALT)	$\leq 2.5 \times \text{ULN};$ 或 $\leq 5 \times \text{ULN}$ , 对于记录肝转移 的受试者
<b>肾</b>	
计算的肌酐清除率 <sup>c</sup>	$\geq 30 \text{ mL/分钟}$
<b>心脏</b>	
射血分数	$\geq 50\%$ , 通过超声心动图 <sup>d</sup>

[0700] a. 绝对淋巴细胞计数将包括在基线评估中,但对于合格性没有范围限制要求。

[0701] b. 应当使用慢性肾脏病流行病学协作 (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) (CKD-EPI) 公式来计算估计的CrCl。

[0702] c. 如果ECHO不可用,则多重门控采集扫描 (multigated acquisition scan, MUGA) 是可接受的(参考下文的超声心动图章节)

[0703] 11. 对束支传导阻滞受试者,通过Fridericia氏公式 (QTcF) 针对心率校正的QT持续时间 $< 450$ 毫秒 (msec) 或QTcF $< 480$ msec。QTcF是机器读取或人工通读的,根据Fridericia氏公式针对心率校正的QT间期。

[0704] 12. 如果女性受试者未妊娠(如由有生殖潜能的女性的阴性血清 $\beta$ -人绒毛膜促性腺激素 [ $\beta$ -hCG] 测试所证实) 且未哺乳,或者适用以下条件中的至少一种,则其有资格参与:

[0705] a) 无生殖潜能,定义为:

[0706] • 具有以下之一的绝经前女性:记录的输卵管结扎、记录的宫腔镜输卵管闭合手术以及双侧输卵管闭合的随访确认、子宫切除术、记录的双侧卵巢切除术

[0707] • 绝经后,定义为自发性闭经12个月。处于激素替代疗法(HRT)并且其绝经状态可疑的女性如果在研究期间希望继续其HRT,则她们将需要使用高效避孕方法之一。否则,他们必须中断HRT以允许在研究入组之前确认绝经后状态。

[0708] b) 有生育潜能和同意从研究药物的第一剂前30天和直到研究治疗最后一剂后120天遵循避免妊娠的高效方法。

[0709] 13. 具有女性配偶的有生育潜能的男性受试者必须同意从研究治疗的第一剂的时间直到研究治疗的最后一剂后120天使用高效避孕方法。

[0710] 15. 记录的人乳头状瘤病毒(HPV)/Epstein-Barr(EBV)阳性肿瘤,如由当地实验室对仅病毒阳性扩展群组所确定

[0711] 16. 记录的MSI-H或dMMR阳性肿瘤,如由当地实验室对仅组合MSI-H/dMMR扩展群组所确定。

[0712] 17. 通过对HNSCC PD-L1 CPS<1群组的中心实验室测试,使用FDA批准的PD-L1 IHC 22C3 pharmDx测定的PD-L1 CPS<1。可以接受在当地实验室中由FDA批准的PD-L1 IHC 22C3 pharmDx测定的记录测试结果(如果可用)代替中心实验室测试结果。

[0713] 18. 通过对入组到组合研究的PK/PD群组的中心测试,使用Ventana PD-L1 (SP263) IHC测定的定义PD-L1表达。

[0714] 2.2.2排除标准

[0715] 如果适用任何以下标准,受试者将无资格纳入本研究:

[0716] 1. 用以下疗法的既往治疗:

[0717] • 在药物的30天或5个半衰期内(以较短者为准)的抗癌疗法。在既往抗癌剂的最后一剂与施用的研究药物的第一剂之间必须经过至少14天。

[0718] • 既往放射疗法:如果至少一个未照射的可测量病变可用于根据RECIST 1.1版进行评估,或者如果对孤立性可测量病变进行照射,则允许记录客观进展。需要在研究药物开始前至少两周淘汰对肢体的骨转移的任何预期用途的放射,以及在研究药物开始前4周淘汰对胸部、脑部、或内脏器官的放射。

[0719] • 在探索产品的30天内或5个半衰期内(以较短者为准)的研究性疗法。在研究性药剂的最后一剂与施用的研究药物的第一剂之间必须经过至少14天。

[0720] 2. 既往同种异体或自体骨髓移植或其他实体器官移植。

[0721] 3. 先前抗癌治疗的毒性,包括:

[0722] • 认为与既往免疫疗法相关并且导致治疗中断的 $\geq 3$ 级毒性。

[0723] • 未消退至 $\leq 1$ 级的与既往治疗相关的毒性(除脱发、替代疗法管理的内分泌病,以及必须 $\leq 2$ 级的外周神经病变以外)。

[0724] 4. 侵袭性恶性肿瘤或过去两年内有除受研究疾病外的侵袭性恶性肿瘤史,如下所指出的除外:

[0725] • 受试者被明确治疗、已经在 $\leq 2$ 年内无疾病,并且根据主要研究者和GSK医学监查员的见解,不会影响研究治疗对当前靶向的恶性肿瘤的效应的评价的任何其他侵袭性恶性肿瘤可以包括在本临床试验中。

- [0726] • 治愈性治疗的非黑素瘤皮肤癌。
- [0727] 5. 中枢神经系统 (CNS) 转移, 以下除外:
- [0728] • 先前治疗过 CNS 转移, 无症状, 并且在研究药物的第一剂前至少 14 天内不需要类固醇的受试者。注释: 无论临床稳定性如何, 患有癌性脑膜炎或柔脑膜扩散的受试者均排除在外。
- [0729] 6. H2L5 hIgG4PE 的第一剂前 14 天内接受血液制品 (包括血小板或红细胞) 的输注或者集落刺激因子 (包括粒细胞集落刺激因子 [G-CSF]、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、重组促红细胞生成素) 的施用。
- [0730] 7. 在研究治疗的第一剂前  $\leq 4$  周的大手术。受试者在开始研究治疗前还必须从任何手术 (大手术或小手术) 和/或其并发症中完全恢复。
- [0731] 8. 在过去两年内需要全身治疗 (即, 使用疾病修正剂 (disease modifying agent)、皮质类固醇或免疫抑制药物) 的活动性自身免疫疾病。注释: 替代疗法 (例如, 用于肾上腺或垂体功能不全的甲状腺素或生理性皮质类固醇替代疗法等) 不被认为是全身治疗的形式。
- [0732] 9. 需要在研究治疗的第一剂之前 7 天内使用全身性免疫抑制药物的并发医学病症。如果受试者处在稳定剂量, 可以继续用于治疗内分泌病的皮质类固醇或全身吸收最小的类固醇 (包括局部、吸入、或鼻内皮质类固醇) 的生理剂量。
- [0733] 10. 需要全身疗法的活动性感染、已知的人免疫缺陷病毒感染、或针对乙型肝炎活动性感染或丙型肝炎活动性感染的测试呈阳性 (细节参考图 5)。
- [0734] 11. 当前活动性肝或胆道疾病 (根据研究者评估, 吉尔伯特综合征或无症状胆结石、肝转移、或其他稳定慢性肝病除外)。注释: 稳定慢性肝病通常应当定义为不存在腹水、脑病、凝血病、低白蛋白血症、食管或胃静脉曲张、持续性黄疸、或肝硬化。
- [0735] 12. 需要手术的急性憩室炎、炎性肠病、腹腔内脓肿、或胃肠道梗阻的近期病史 (过去 6 个月内)
- [0736] 13. 在研究治疗的第一剂前 4 周内接受任何活疫苗。
- [0737] 14. 在开始研究治疗的 4 周内变应原脱敏疗法的近期病史。
- [0738] 15. 对单克隆抗体或所探索的化疗 (包括制剂中使用的任何成分) 有严重超敏反应史。
- [0739] 16. 心脏异常的病史或证据, 包括以下中的任一者:
- [0740] • 严重不受控制的心律失常或临床上显著的心电图异常 (包括二度 (II 型) 或三度房室传导阻滞) 的近期 (过去 6 个月内) 病史。
- [0741] • 入组前的过去 6 个月内的心肌病、心肌梗死、急性冠状动脉综合征 (包括不稳定型心绞痛)、冠状动脉血管成形术、支架植入术、或旁路移植术。
- [0742] • 充血性心力衰竭 (II、III 或 IV 类), 如由纽约心脏协会 (New York Heart Association) 功能分类体系所定义。
- [0743] • 症状性心包炎的近期 (过去 6 个月内) 病史。
- [0744] 17. 特发性肺纤维化、肺炎 (仅在治疗需要类固醇才排除既往肺炎)、间质性肺病、或机化性肺炎的病史 (当前和既往)。注释: 如果研究者和医学监查员同意, 可允许与既往放疗相关的肺部辐射后变化和/或不需要治疗的无症状放射诱导的间质性肺炎。

- [0745] 18. 不受控制症状性腹水或胸腔积液的近期病史(6个月内)。
- [0746] 19. 任何严重和/或不稳定的预先存在的医学、精神病症、或可能干扰受试者的安全性、获得知情同意、或遵守研究程序的其他状况。
- [0747] 20. 是或具有为直接参与试验的研究中心或申办工作人员的直系家庭成员(例如, 配偶、父母/法定监护人、兄弟姐妹或子女), 除非给予前瞻性IRB批准(由委员长或指定人员批准)而允许本标准对特定受试者例外。
- [0748] 2.2.3退出/停止标准
- [0749] 如果适用, 受试者将接受安排时间段的研究治疗, 除非以下事件之一较早发生: 疾病进展(如由irRECIST所确定)、死亡、或不可接受的毒性, 包括符合肝脏化学的停止标准(参考第2.2.3.1节)、或符合如第2.2.3.2节中所定义的其他标准。由毒性所致的输注延迟>21天的受试者应当考虑中断研究药物, 除非治疗研究者和申办者/医学监查员同意存在着有力的证据支持继续治疗。
- [0750] 除非治疗研究者和申办者/医学监查员同意用剩余药剂继续治疗, 否则由于毒性而需要永久中断给定治疗组合中的研究药剂之一的入组受试者必须永久中断该组合中的两种药剂。
- [0751] 此外, 研究治疗可能因任何以下原因而永久中断:
- [0752] a. 偏离方案
- [0753] b. 受试者或代理人要求
- [0754] c. 研究者决定
- [0755] d. 受试者失访
- [0756] e. 研究结束或终止
- [0757] 中断的主要原因必须记录在受试者的医案和电子病例报告表(eCRF)中。
- [0758] 如果受试者由于毒性而自行中断治疗, 则在eCRF上记录“不良事件”作为永久中断的主要原因。
- [0759] 一旦受试者永久中断研究治疗, 将不允许受试者再治疗。
- [0760] 治疗中断访视(TDV)所需的评估必须在决定永久中断研究药物的30天内且在开始后续抗癌疗法之前完成。
- [0761] 出于任何原因而中断研究治疗(提前或永久)的所有受试者将在中断时和研究治疗后随访期间进行安全性评估。
- [0762] 具有CR或PR的受试者需要在第一次成像显示CR或PR后至少4周经由成像确认响应。
- [0763] 对于按照RECIST 1.1已获得确认的完全响应且接受研究治疗至少24周且在声称初始CR时的日期后接受至少两次治疗的受试者, 可以考虑提前中断研究治疗(提前中断研究治疗本身不构成永久中断); 这些受试者将以12周的频率经受疾病评估。允许这些受试者在疾病进展时恢复研究治疗; 这种再治疗被定义为第二疗程。此外, 具有RECISTv1.1确认的SD、PR、或CR的受试者将以12周的频率经受疾病评估, 他们完成了35个研究治疗周期并且研究治疗出于该原因而非其他原因(如疾病进展或不耐受性)中断: 这些受试者可能能够在疾病进展时接受第二研究疗程。对于有第二研究疗程资格的受试者, 必须满足所有以下要求:
- [0764] • 在中断初始研究疗程后, 经历研究者由RECIST 1.1确定的影像学疾病进展

- [0765] • 在研究治疗的最后一剂后未施用后续/新的抗癌治疗
- [0766] • 满足纳入标准中所列的所有安全性参数,且不满足排除标准中所列的任何安全性参数
- [0767] • 研究仍在进行中
- [0768] 如果重新开始研究治疗,将要求受试者恢复评估;此外,需要有限的PK和免疫原性取样。
- [0769] 每12周随访因任何原因而永久中断研究治疗的所有受试者的生存和新抗癌疗法(包括放疗)直到死亡、申办者终止总体研究或群组、或直到随访受试者两年。如果受试者在随访期间不能或不愿意参加门诊访视,则可经由另一种沟通形式(例如电话、电子邮件等)进行联系以评估生存。
- [0770] 对出于疾病进展或撤回知情同意书以外的原因而永久中断研究治疗的所有受试者进行进展随访或直到抗癌疗法开始(以先到者为准)。
- [0771] 2.2.3.1肝化学停止标准
- [0772] 设计肝脏化学停止和增加监测标准,以确保受试者安全性并评价肝脏事件病因(与食品和药品管理局(Food and Drug Administration)上市前临床肝脏安全指南一致)。
- [0773] 如果满足表7中的任何标准,则必须中断所有研究药物。
- [0774] 表7.肝化学停止标准

在基线值 ALT $\leq$ 2.5 ULN 的受试者的肝脏停止事件	
ALT-增加	ALT $\geq$ 5 $\times$ ULN
ALT 增加	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN, 但 $<$ 5 $\times$ ULN, 持续 $\geq$ 4 周
胆红素 <sup>a, b</sup>	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN 且胆红素 $\geq$ 2 $\times$ ULN( $>$ 35%直接胆红素)
国际标准化比率(INR) <sup>b</sup>	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN 且 INR $>$ 1.5
不能监测	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN 但 $<$ 5 $\times$ ULN 并且在 $\geq$ 4 周内不能每周监测
症状性 <sup>c</sup>	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN 与被认为与肝损伤或超敏反应相关的症状(新发或恶化)相关联
在基线值 ALT $>$ 2.5 或 $\leq$ 5 $\times$ ULN 的受试者的肝脏停止事件	
ALT 绝对值	ALT $\geq$ 5 $\times$ ULN 且 $\geq$ 2 $\times$ 基线值两者

[0776]	<b>ALT 增加</b>	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN 且 $\geq$ 1.5 $\times$ 基线值两者, 持续 $\geq$ 4 周
	<b>胆红素<sup>a, b</sup></b>	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN 且胆红素 $\geq$ 2 $\times$ ULN(>35%直接胆红素)
	<b>INR<sup>b</sup></b>	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN 且 INR>1.5
	<b>不能监测</b>	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN 且 $\geq$ 1.5 $\times$ 基线值两者, 在 4 周内不能监测
	<b>症状性<sup>c</sup></b>	ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN 且 $\geq$ 1.5 $\times$ 基线值与被认为与肝损伤或超敏反应相关的症状(新发或恶化)相关联

[0777] a. 如果测试可用, 应执行血清胆红素分级分离。如果不能立即获得血清胆红素分级分离, 则如果ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN且胆红素 $\geq$ 2 $\times$ ULN, 中断研究治疗。另外, 如果血清胆红素分级分离测试不可用, 则记录试纸条上可检测尿胆红素的存在, 其指示直接胆红素升高并提示肝损伤。

[0778] b. ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN且胆红素 $\geq$ 2 $\times$ ULN (>35%直接胆红素) 或ALT $\geq$ 3 $\times$ ULN且INR>1.5的所有事件, 其可能指示严重肝损伤(可能的“Hy的定律”), 必须报告为SAE(肝损害或肝硬化研究除外); 不需要INR测量, 并且规定的阈值不适用于接受抗凝血剂的受试者。

[0779] c. 新或恶化的症状, 其被认为与肝损伤(如疲劳、恶心、呕吐、右上腹疼痛或压痛、或黄疸)相关, 或者被认为与超敏反应(如发烧、皮疹或嗜酸性粒细胞增多症)相关。

[0780] 2.2.3.2临床恶化的停止规则

[0781] 为了充分评估免疫治疗剂的抗肿瘤效应, 合理的是允许经历如由RECIST 1.1指南所定义的明显进展的受试者继续接受治疗, 直到如由irRECIST指南所指示在至少4周后下一次成像评估时确认进展。然而, 这些考虑应当通过关于受试者是否在临床上恶化以及是否不可能从继续的研究治疗中接受任何益处的临床判断进行平衡。

[0782] 在根据研究者的见解评估恶化在可归因于疾病进展且不可能用继续研究治疗逆转或者通过支持性护理(例如, 双膦酸盐和/或骨定向放疗、胸腔穿刺术、或用于累积积液的穿刺术)管理的临床事件后发生的情况下, 应当中断研究治疗。可根据研究者的见解指示缺乏临床益处的事件的实例包括但不限于以下:

[0783] • ECOG PS比基线恶化至少2分

[0784] • 骨骼相关事件如下定义: 癌症累及区域中的病理性骨折; 骨的癌相关手术; 和/或脊髓或神经根压迫

[0785] • 新的CNS转移的发展

[0786] • 认为新抗赘生疗法的开始对受试者有益的任何情形, 甚至在不存在任何这样的记录的临床事件的情况下。

[0787] 2.2.4受试者和研究完成

[0788] 对于与多塔利单抗或者多塔利单抗+考伯利单抗的组合以及研究的剂量递增阶段, 如果受试者完成筛选评估, 接受至少两剂的研究治疗或者接受一剂但经历DLT, 在28天DLT观察期期间观察, 并且完成治疗中断访视和安全性随访访视, 或者在接受研究治疗时或在研究治疗后安全性随访期的期间死亡, 则认为受试者完成研究。

## [0789] 2.3研究治疗

## [0790] 2.3.1研究性产品和其他研究治疗

[0791] 在研究者或指定人员的医学监督下,将H2L5 hIgG4PE经静脉内施用于各研究中心的受试者。当组合施用,首先施用H2L5 hIgG4PE。在H2L5hIgG4PE、多塔利单抗+考伯利单抗群组中,首先施用H2L5 hIgG4PE,继之以考伯利单抗,最后是多塔利单抗。

[0792] 在研究者或指定人员的医学监督下,在H2L5 hIgG4PE输注结束后至少30分钟且不超过一小时,开始向受试者经静脉内施用多塔利单抗或者多塔利单抗+考伯利单抗(参考表8)。

[0793] 对于前两次研究治疗给药访视,要求所有受试者在研究中心在施用的末次研究药物输注后至少1.5小内保持观察。在后续的研究治疗给药访视中,对于经历输注相关反应的受试者,输注后观察时间应保持为至少1.5小时;对于未经历输注反应的受试者,这些受试者应当在研究治疗输注后至少30分钟或者根据研究者的判断或者根据机构指南在研究中心保持观察。

[0794] 对于由研究者或指定人员施用的药物,研究治疗的剂量和研究受试者鉴定将在给药时由研究中心工作人员的成员而非施用研究治疗的人员来确认。研究治疗施用的具体时间(例如,首次施用那周的时间;每次施用那天的时间)应当考虑PK取样时间点、研究访视程序,以及输注后观察时间间隔。仅出于可施用原因(例如,避开假期安排输注),可将输注在计划的治疗日期之前或之后至多72小时施用。

## [0795] 表8.组合研究产品描述和施用

	研究治疗		
[0796]	产品名称:	多塔利单抗	考伯利单抗
	产品描述	PD-1 抑制剂	抗 TIM3
	剂型/强度	50 mg/mL 溶液	20 mg/mL 溶液
	计划的剂量水平	500-1000 mg(详见方案)	300 mg
	施用途径	IV 输注	IV 输注
[0797]	给药说明/频率	施用稀释产品/Q3W 一次,共 4 剂,此后继之以 1000 mg Q6W(输注时间参考 SRM)	施用稀释产品/Q3W 一次(输注时间参考 SRM)
	制造商	GSK	GSK

## [0798] 2.3.2治疗分配

[0799] 入组研究的受试者将以开放标签方式并且根据针对权责发生而开放的组合治疗群组来分配至组合治疗。其他扩展群组可以研究多于一个剂量水平的H2L5 hIgG4PE;如果实施,则该群组中的受试者将随机分配至选定的剂量水平。

## [0800] 2.3.3设盲

- [0801] 这是一项开放标签研究。
- [0802] 2.3.4伴随用药和非药物治疗
- [0803] 受试者被指示从研究治疗的首次剂量的时间直到研究治疗中断,在开始任何新的药物之前要通知研究者。将在eCRF中记录研究期间服用的任何允许的伴随用药,包括非处方药和草药产品。报告的最低要求是药物名称、剂量、施用日期和用药原因。
- [0804] 2.3.4.1允许用药和非药物治疗
- [0805] 择期姑息性手术或放射可允许根据具体情况与GSK医学监查员协商。
- [0806] 允许如所指示的以下用药:
- [0807] a. 双膦酸盐类和核因子 $\kappa$ B受体活化因子配体 (RANKL) 抑制剂 (例如地诺单抗 (denosumab)): 受试者需要在接受第一剂H2L5 hIgG4PE之前至少4周处于稳定剂量。除了治疗骨质疏松症以外,不允许在没有骨转移证据或病史的受试者中防治性使用。
- [0808] b. 生长因子: 在研究治疗的前4周期间不允许开始生长因子,除非临床上指示用于毒性管理且由研究者和GSK医学监查员同意。
- [0809] c. 类固醇: 允许患有需要类固醇的预先存在病症的受试者继续服用最多达10mg强的松或等同物,条件是受试者在第一剂H2L5 hIgG4PE之前至少28天已处于稳定剂量;进一步要求参考第2.2.2节中的排除标准9。用于化疗前用药的类固醇是允许的。
- [0810] 2.3.4.2. 禁止用药和非药物治疗
- [0811] 在研究治疗的第一剂之前 (具体时间要求参考第2.2.2节) 和本研究治疗时,禁止以下用药:
- [0812] a. 抗癌疗法 (除了本研究中使用的那些以外), 包括但不限于化疗、免疫疗法、生物疗法、激素疗法 (除生理替代以外)、手术和放疗 (除了如第2.3.4.1节中所述的姑息性干预以外);
- [0813] b. 除本研究中提及的那些以外的任何研究性药物;
- [0814] c. 活疫苗, 如鼻内流感疫苗。
- [0815] 2.4研究评估和程序
- [0816] 本章节列出了每项计划研究评估的程序和参数。各评估的准确时间列出于图4和图5所描绘的时间和事件表中。
- [0817] 必须注意以下几点:
- [0818] • 如果在相同的标定时间安排评估, 则评估应按以下次序进行:
- [0819] 1. 十二导联ECG
- [0820] 2. 生命体征
- [0821] 3. 抽血 (例如PK抽血)。注释: 评估时间应当允许在准确的标定时间进行抽血。
- [0822] • 计划的研究评估 (包括安全性、药代动力学、药效学/生物标志物或其他评估) 的时间和次数可以在研究过程期间基于新出现的数据而改变 (例如, 以获得接近峰值血浆浓度时间的数据), 以确保适当的监测。
- [0823] • 在研究治疗的前四剂中, 将收集不超过500mL的血液。
- [0824] 2.4.1筛选和临界基线评估
- [0825] 将采集以下人口统计学参数: 出生年份、性别、人种和种族。
- [0826] 医疗史 (包括心血管医疗史/风险因素) 将被评估为与第2.2.1节和第2.2.2节中所

列的纳入/排除标准相关。

[0827] 疾病特征(包括医疗、手术和治疗史,包括放疗、初始诊断日期、初始诊断阶段、组织学、肿瘤遗传/基因组特征、肿瘤病毒状态和当前疾病部位)将视作医疗史和疾病状态的一部分;可能要求在基线病变评估所需的筛选扫描之前所执行的成像研究扫描。对于至少两线既往疗法(如果可用),将记录关于既往抗癌疗法(例如,全身疗法和放疗)的细节,包括对既往全身疗法的最佳响应。

[0828] 对于未接受过PD-1/L1治疗的HNSCC受试者进行筛选,仅入组HNSCC PD-L1 CPS<1 群组:PD-L1蛋白表达使用PD-L1 IHC 22C3 pharmDx测定通过当地实验室测试;如果不可用,则中心实验室测试。合格性需要可评价的CPS得分;对于CPS合格性要求,参考第2.2.1节。

[0829] 第一剂H2L5 hIgG4PE前30天内所需的基线病变评估包括:

[0830] • 胸部、腹部和骨盆造影剂下的计算机断层扫描(CT);

[0831] • 对于患有头颈癌的受试者,需要头颈区域的CT/磁共振成像(MRI);

[0832] • 可触知/可见病变的临床疾病评估;

[0833] • 如由筛选前存在的受试者基础疾病所指示的其他区域。

[0834] 注释:尽管CT扫描是优选的,但MRI可用作基线疾病评估的替代方法,尤其是对于CT扫描由于对造影剂过敏而禁忌的那些受试者,条件是在整个研究治疗中始终使用记录基线状态的方法以利于直接比较。对于氟脱氧葡萄糖-正电子发射断层扫描(FDG-PET)/CT的使用,参考RECIST 1.1版指南(Eisenhauer et al. Eur J Cancer. 2009;45:228-247)。

[0835] 对于靶和非靶病变的基线记录,参考第2.4.2节。

[0836] 在基线时所需的安全性和实验室评估包括:

[0837] • 身体检查

[0838] • 行为状态

[0839] • 生命体征

[0840] • 伴随用药

[0841] ○从筛选开始到研究后随访记录。

[0842] ○至少,应当记录药物名称、施用途径、剂量和给药频率,连同开始和停止日期。

[0843] • 心电图

[0844] • 超声心动图或MUGA

[0845] • 实验室评估

[0846] 对于筛选时和研究治疗开始前所需的评估的额外细节,参考图4和5中的时间和事件表。

[0847] 2.4.2抗癌活性的评价

[0848] RECIST 1.1版指南将用于在筛选、选择靶和非靶病变,以及在整个研究持续时间的疾病评估中确定总体肿瘤负荷(Eisenhauer, 2009)。

[0849] 如RECIST 1.1版指南所指示:

[0850] • 短轴<10mm的淋巴结被认为是非病理性的,并且不必记录或跟踪。

[0851] • 短轴<15mm,但≥10mm的病理淋巴结被认为是不可测量。

[0852] • 短轴≥15mm的病理淋巴结被认为是可测量的,并且可以选择为靶病变;然而,当

其他合适的靶病变可用时,淋巴结不应被选择为靶病变。

[0853] • 每个器官多达最多两个病变以及代表所有受累器官的总共5个病变的可测量病变应当被鉴定为靶病变,并且在基线时记录和测量。这些病变应当基于其尺寸(最长直径的病变)及其准确重复测量的适合性(通过成像技术或临床)进行选择。

[0854] 注释:当其他合适的靶病变可用时,被认为代表囊性转移的囊性病变不得被选择为靶病变。

[0855] 注释:先前照射过且照射后未显示进展的可测量病变不得被视为靶病变。

[0856] • 可通过CT或MRI评价的具有可鉴定软组织成分的溶骨性病变或混合性溶骨-成骨病变可以被视为可测量。骨扫描、FDG-PET扫描或X射线不被视为测量骨病变的适当成像技术。

[0857] • 所有其他病变(或疾病部位)必须被鉴定为非靶标,并且也必须在基线处记录。非靶病变将按器官分组。不需要测量这些病变,但在整个随访中必须注意每个病变的存在与否。

[0858] 疾病评估模式可包括成像(例如,CT扫描、MRI、骨扫描)和身体检查(如可触知/浅表病变所指示)。

[0859] 如第2.4.1节所指示,基线疾病评估必须在第一剂H2L5 hIgG4PE前30天内完成。治疗中疾病评估每9周进行,直到第54周。在54周后,每12周,然后在研究治疗中断时执行疾病评估。在每次基线后评估时,需要通过基线扫描鉴定的疾病部位(所有靶和非靶病变)的评价。每次基线后评估时需要胸部、腹部和骨盆的有造影剂CT扫描,或者如果禁忌则需要MRI。为了确保基线和后续评估之间的可比性,在评估响应时,将使用相同的评估方法和相同的技术。

[0860] 对于基线后评估,允许±7天的窗口以允许灵活时间安排。如果最后一次影像学评估是在受试者中断研究治疗之前大于9周,或者如果在第54周之后>12周,则应当获得疾病评估。

[0861] 按照RECIST 1.1版指南疾病进展的受试者需要在声称疾病进展日期后至少4周进行确认性疾病评估,以便按照irRECIST指南确认疾病进展。

[0862] 疾病响应(CR或PR)的受试者必须在展示出响应的评估日期后至少4周执行确认性疾病评估。研究者可决定执行更频繁的疾病评估。在得到确认的CR并满足提前中断研究治疗要求的受试者中(参考第2.2.3节),每12周执行一定频率的疾病评估,直到疾病进展。如果在疾病进展时且与研究者和GSK医学监查员协商后恢复研究治疗,则指示进展的成像扫描将充当基线扫描。

[0863] 访视水平响应和基于治疗的决策将引入如第2.6节所述的irRECIST指南。

[0864] 2.4.3身体检查

[0865] 全面身体检查至少包括心血管、呼吸、胃肠和神经系统的评估。还将测量并记录身高(仅在筛选时)和体重。

[0866] 简要的身体检查至少包括皮肤、肺、心血管系统和腹部(肝和脾)的评估。

[0867] 研究者应特别注意与既往严重疾患相关的临床体征。

[0868] 2.4.4行为状态

[0869] 行为状态使用如第2.7节中所述的ECOG量表进行评估。

[0870] 2.4.5生命体征

[0871] 在休息5分钟后,以半仰卧位测量生命体征,并且包括体温、收缩压和舒张压以及脉搏率。在第一读数异常的情况下,必须获取血压和/或脉搏率的三个读数,因此应丢弃第一读数,并对第二和第三读数平均化,以给出记录在eCRF中的测量值。

[0872] 如果受试者的临床状况许可,则将更频繁地测量生命体征。

[0873] 在多次测量生命体征的天数中,除非临床指示,否则不需要重复体温。

[0874] 如果受试者出现发热,将使用发热管理指南来管理受试者。

[0875] 2.4.6心电图

[0876] 使用自动计算心率并测量PR、QRS、QT和QTcF间期的ECG机器来获得12导联心电图;允许手动计算QTcF。

[0877] 2.4.7超声心动图

[0878] 在基线时执行超声心动图,以评估心射血分数和心脏瓣膜形态,以用于研究合格性的目的。如果临床许可,可执行额外的ECHO评估。超声心动图的评价必须包括左心室射血分数(LVEF)以及右侧和左侧瓣膜病变的评价。在LVEF评估中,MUGA可用于替代ECHO(如果不可用);在任何后续评估中应当使用相同的模式。

[0879] 2.4.8生物标志物/药效学标志物

[0880] 2.4.8.1血液生物标志物

[0881] 收集血样并通过流式细胞术分析,以评价H2L5 hIgG4PE与ICOS受体的结合。

[0882] 在同一血样中,通过流式细胞术同时评价T细胞、B细胞、自然杀伤(NK)细胞以及T细胞亚群的数目、T细胞的活化和增殖状态。收集血样以分离PBMC和血浆。血浆和血清样品将用于分析与T细胞活化相关的循环可溶性因子,并且可用于分析可溶性ICOS或可溶性ICOS药物复合物,这取决于测定的可用性。待分析的循环因子可包括但不限于IFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-8、IL-13、IL-12p70、IL-21和趋化因子,以及针对肿瘤、自身或病毒抗原的抗体的存在。对于用H2L5 hIgG4PE作为单一疗法或组合治疗的免疫活化或应答的新型标志物,还可以分析血浆样品的无细胞DNA(cfDNA)或外体(核糖核酸[RNA])。

[0883] 从全血分离的PBMC将被保存和储存,用于额外细胞如免疫调节群体(其可包括但不限于髓系衍生抑制细胞)的流式细胞术、后续功能分析、T细胞库的评估、它们与临床响应的关系,以及对用H2L5 hIgG4PE治疗的反应的变化。可针对细胞因子(其可包括但不限于IFN $\gamma$ 、IL-2、IL-10、TNF $\alpha$ 、颗粒酶B、PD-1、TIM3和CD107a)的表达,分析PBMC的功能状态。还可以评价PBMC的基因组(脱氧核糖核酸[DNA])和基因表达(RNA或蛋白质)改变,以确定免疫相关签名中的治疗相关变化。

[0884] 2.4.8.2肿瘤组织

[0885] 采集存档肿瘤组织以及治疗前和治疗中的新鲜活体组织切片。在药效学/PK群组中需要新鲜活体组织切片样品。HNSCC PD1/L1未治疗PD-L1CPS<1和HNSCC Q6W扩展群组需要筛选时的基线肿瘤组织的存档或新鲜活体组织切片,以及第6周的治疗中新鲜活体组织切片。

[0886] 需要筛选(存档或新鲜)和治疗中第6周活体组织切片样品;在入组PK/药效学群组的受试者中,需要与多塔利单抗以及多塔利单抗+考伯利单抗的组合研究。

[0887] 另外,将在以下指定群组中评价以下筛选测试:

[0888] • 对于仅入组HNSCC PD-L1 CPS<1群组,PD-L1 IHC 22C3 pharmDx测定。

[0889] • 对于入组多塔利单抗以及多塔利单抗+考伯利单抗组合研究的扩展群组, Ventana PD-L1 (SP263) IHC测定。

[0890] 还将通过IHC、多重免疫荧光技术或潜在其他方法,评价在筛选时和治疗中收集的肿瘤组织的肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)和其他免疫细胞上的表型和功能性免疫细胞标志物以及肿瘤细胞上的免疫信号传导标志物的表达,以理解抗肿瘤应答(包括但不限于PDL-1、ICOS、TIM-3、NY-ESO、TGF- $\beta$ )。此外,如果可能,将对进展后获得的肿瘤组织执行类似的分析。另外,可对肿瘤组织测序,以评估T细胞受体多样性(TCR多样性)以及评价与应答相关的任何DNA/RNA/蛋白质变化。

[0891] 2.5统计考虑和数据分析

[0892] 2.5.1剂量递增

[0893] 使用适应性mTPI方法(如图3所显示),评价与多塔利单抗或者多塔利单抗+考伯利单抗组合施用的H2L5 hIgG4PE的安全性和耐受性。mTPI设计是毒性概率区间方法的扩展,并且采用简单的 $\beta$ -二项式层次化模型(Ji等人,Clin Trials.2010;7:653-663)。决策规则是基于计算与剂量不足、适当剂量以及毒性方面的过量剂量对应的三个区间的单位概率质量(UPM)。具体地,剂量不足区间被定义为 $(0, pT-\epsilon_1)$ ,剂量过量区间被定义为 $(pT+\epsilon_2, 1)$ ,并且适当剂量区间被定义为 $(pT-\epsilon_1, pT+\epsilon_2)$ ,其中 $\epsilon_1$ 和 $\epsilon_2$ 是小分数,如0.05,以考虑关于真实目标毒性的不确定性。灵敏度分析显示,mTPI设计对 $\epsilon$ 值指定是稳健的(Ji,2010)。此外, $\epsilon_1$ 和 $\epsilon_2$ 可以采用不同的值来反映医师偏好和疾病的性质。对于治疗选项较少的晚期疾病,较高的毒性率可能被认为是可接受的,这意味着 $\epsilon_2 > \epsilon_1$ 的指定。对于较不晚期的疾病,两个 $\epsilon$ 值可以相同或者 $\epsilon_1 > \epsilon_2$ 。三个剂量区间与三种不同的剂量递增决策相关联。剂量不足区间对应于剂量递增(E),剂量过量对应于剂量递减(D),且适当剂量对应于保持在当前剂量(S)。给定区间和概率分布,该区间的UPM被定义为该区间的概率除以该区间的长度。mTPI设计计算了三个给药区间的UPM,具有最大UPM的一者意味着相应的剂量探索决策。该决策提供了用于未来受试者的剂量水平。例如,如果剂量不足区间具有最大的UPM,则将执行递增的决策E,并且以下一较高剂量水平治疗下一群组的受试者。分析显示,基于UPM的决策是最佳的,因为它使后续预期损失最小化(Ji,2010)。在mTPI设计下,当最低剂量高于MTD或者达到预先指定的最大样品量时,终止试验。

[0894] 2.5.2剂量扩展

[0895] 在扩展群组中,在群组中最少10名受试者入组一个剂量/剂量水平后,观察到的响应数目以及其他可用日期将用于无效分析。

[0896] 如果数据允许,单独施用的H2L5 hIgG4PE的临床活动性也可使用贝叶斯分层建模方法作为探索性分析进行评价。该设计允许在I型和II型错误率两者的约束下频繁监测试验的临床活动性(Berry,2013)。

[0897] 2.5.3样品量考虑

[0898] 为了完成H2L5 hIgG4PE与多塔利单抗或者多塔利单抗+考伯利单抗的组别的剂量递增/安全性导入(参考图2),估计将入组约241名受试者。待研究的H2L5 hIgG4PE的剂量将由mTPI设计指导。

[0899] 考虑到H2L5 hIgG4PE与多塔利单抗或者多塔利单抗+考伯利单抗的组别的剂量递

增阶段(由mTPI设计指导),进行模拟以确定平均样品量以及在四种不同情形下每种剂量将被选择为MTD的时间百分比。使用3名受试者的群组量,其中一个剂量水平的上限为6名受试者(如果下一剂量已经有6名受试者,试验将停止招募),最大样品量的12名受试者用于剂量递增,并且15名受试者处于RP2D用于进一步探索。在后验概率超过目标毒性概率95%的情况下,使用提前终止的安全规则。使用1000个模拟研究来推导FACTS6.1版软件的操作特征。在四种情形下,模拟临床试验的平均样品量分别为9.1、9.3、8.9和8.0,每种组合总计大约25名受试者。

[0900] 情形的细节在表9中提供。表中的剂量组合是计划在试验中使用的预选剂量组合。

[0901] 表9.各种情形下的模拟结果

[0902]	组合中的剂	情形 1: 低毒性	情形 2: 低毒性	情形 3: 中度毒性	情形 4: 高毒性
--------	-------	--------------	--------------	---------------	--------------

量 H2L5 hIgG4PE(m g)	真实	试验选择	真实	试验选择	真实	试验选择	真实	试验选择
	DLT 率	剂量作为 MTD 的 百分比 (%)	DLT 率	剂量作为 MTD 的 百分比 (%)	DLT 率	剂量作为 MTD 的 百分比 (%)	DLT 率	剂量作为 MTD 的 百分比 (%)
24	0.01	<0.01%	0.05	3%	0.20	38%	0.40	83%
80	0.05	99.9%	0.10	97%	0.30	62%	0.50	17%

[0904] 在扩展阶段,一个或多个群组的样品量可以以每群组大约30名受试者为目标。样品量增加的情况取决于对肿瘤类型确定的零/备择假设的中期分析结果。

[0905] 对于每个肿瘤适应症扩展群组,在至少一名受试者上获得任何剂量水平下的功效数据后进行中期分析(参考第2.5.5节);对各疾病群组和剂量做出单独决策。试验可继续入组最大计划样品量,以便更好地估计不同剂量和目标群体的响应率分布。

[0906] 该试验不是设计成因功效而早期停止,而是如果预测成功概率为10%或更低,则设计成评估无效性。通过声明最小和最大样品量、无效停止率以及在零假设下最小化样品量的最优化标准,确定I型错误率、功效和评估无效性的预测概率。假设具有等于目标响应率的平均响应率的极弱信息先验分布。因此,响应率的预测概率将主要由数据驱动。所有群组的详细决策标准记录在第2.5.5节中。

[0907] 对于以各群组中的10名受试者开始并允许各群组的最大样品量为30的任何PD-1/L1经历的组合疗法扩展群组,该设计将具有5%的总体I型错误率( $\alpha$ )。在10%总体响应率(ORR)的零假设下,设计的预期样品量为各群组15名受试者;并且提前终止概率(PET)对评价的10名受试者为35%且对评价的20名受试者为80%。在备择假设下,如果真实响应率为30%,成功概率为83%;设计的预期样品量总共为28名受试者,PET对10名受试者为3%且对20名受试者为13%。

[0908] 对于以各群组中的10名受试者开始并允许各群组的最大样品量为30的未接受过

PD-1/L1的组合扩展群组,包括HNSCC、PD-L1<50%的NSCLC、膀胱/尿路上皮癌、宫颈癌和病毒性癌症,该设计将具有9.8%的总体I型错误率( $\alpha$ )。在20% ORR的零假设下,设计的预期样品量为各群组16名受试者;并且提前终止概率(PET)对评价的10名受试者为38%且对评价的20名受试者为72%。在备择假设下,如果真实响应率为40%,成功概率为83%;设计的预期样品量总共为28名受试者,PET对评价的10名受试者为5%且对评价的20名受试者为12%。

[0909] 对于以12名受试者开始并允许最大样品量为40的生物标志物阳性群组,该设计将具有4%的总体I型错误率( $\alpha$ )。在10% ORR的零假设下,设计的预期样品量为26名受试者;并且PET对评价的12名受试者为28%且对评价的30名受试者为55%。在备择假设下,如果真实响应率为25%,功效为80%;设计的预期样品量总共为39名受试者,并且PET对评价的12名受试者为3%且对评价的30名受试者为5%。生物标志物阴性组将类似地允许最大样品量为40,并且将根据生物标志物阳性组来跟踪入组/无效性。

[0910] 对于以各群组中的10名受试者开始并允许各群组的最大样品量为30的未接受过PD-1/L1的组合扩展群组,包括PD-L1 $\geq$ 50%的NSCLC和MSI-H/dMMR癌症,该设计将具有7.9%的总体I型错误率( $\alpha$ )。在30% ORR的零假设下,设计的预期样品量为各群组19名受试者;并且提前终止概率(PET)对评价的10名受试者为15%且对评价的20名受试者为55%。在备择假设下,如果真实响应率为50%,成功概率为80%;设计的预期样品量总共为29名受试者,PET对评价的10名受试者为1.0%且对评价的20名受试者为6.2%。

[0911] 2.5.4数据分析—x分析群体

[0912] 所有治疗的群体将定义为接受至少一剂H2L5 hIgG4PE的所有受试者。基于该分析群体来评价安全性和抗癌活性。

[0913] 药代动力学群体被定义为从中获得PK样品并分析的所有治疗群体的所有受试者。

[0914] 将药效学群体定义为从中获得治疗前和治疗中成对和可评价的肿瘤活体组织切片或治疗前和治疗中血样并分析生物标志物的所有治疗受试者群体中的受试者。

[0915] 2.5.5中期分析

[0916] 不使用研究的剂量递增阶段期间生成的数据来执行正式中期分析。在完成各剂量水平后,将审查可用的安全性和PK/药效学数据。该审查将支持使用如第2.5.1节中所述的规则而递增至剂量水平的决策。对于剂量扩展群组,基于至少一个扩展群组中至少10名受试者的可用的未确认总体响应数据,在首次中期分析后执行功效和安全性的连续评估。

[0917] 2.5.6药代动力学分析

[0918] 使用经验证的分析方法来测量多塔利单抗和考伯利单抗的浓度。如果数据允许,使用非区室方法测定以下药代动力学参数,并且可以包括但不限于:

[0919] • 观察到的最大血浆浓度( $C_{max}$ )

[0920] • 到 $C_{max}$ 的时间( $t_{max}$ )

[0921] •  $C_{min}$

[0922] • 血浆浓度-时间曲线下面积(AUC(0-t)、AUC(0- $\infty$ )和AUC(0- $\tau$ ))

[0923] • 表观终末期消除速率常数( $\lambda_z$ ) (单一剂量)

[0924] • 表观终末期半衰期( $t_{1/2}$ )

[0925] • 母体药物的全身清除率(CL)

[0926] 2.6疾病、疾病进展和响应标准评估指南—改编自RECIST 1.1版

[0927] 2.6.1评估指南

[0928] 可在整个研究中使用相同的诊断方法,包括在适用时使用造影剂,以评价病变。造影剂必须根据图像采集指南(Image Acquisition Guidelines)使用。

[0929] 必须使用直尺或卡尺进行所有测量,并以毫米(mm)记录。

[0930] 超声不是疾病评估的合适模式。如果通过超声鉴定新病变,则需要通过CT或MRI确认。

[0931] 氟脱氧葡萄糖(FDG)-PET通常不适于进行疾病评估。然而,在阳性FDG-PET扫描与CT/MRI上呈现的新疾病部位相关的情况下,或者当基线FDG-PET先前对新病变部位呈阴性时,FDG-PET可用于确认新疾病部位。FDG-PET也可用于替代提供允许探查骨疾病的所有可能部位的覆盖的标准骨扫描,并且在所有评估时执行FDG-PET。

[0932] 如果执行PET/CT,则CT组分仅可用于标准响应评估——如果针对诊断质量执行,其包括所需的解剖覆盖和规定的造影剂使用。评估方法必须在eCRF上注明为CT。

[0933] 临床检查:临床检测到的病变仅在它们为浅表(例如皮肤结节)时才被视为可测量。在皮肤病变的情况下,需要通过彩色摄影术记录,包括测量病变尺寸的直尺/卡尺。

[0934] CT和MRI:建议采用5mm连续层厚的造影剂增强CT。可测量基线病变的最小尺寸必须是层厚的两倍,当层厚为5mm时,最小病变尺寸为10mm。MRI是可接受的,但在使用时,扫描序列的技术规范必须被最优化成用于评价疾病的类型和部位,并且必须通过使用相同的成像检查在相同的解剖平面中测量病变。只要可能,应当使用相同的扫描仪。

[0935] X射线:一般而言,由于病变清晰度较差,X射线不应当被用于靶病变测量。如果胸部X光片上的病变清晰可辨并被充气肺包围,则可视为可测量;然而,胸部CT优于胸部X光片。

[0936] 脑部扫描:如果需要脑部扫描,则造影剂增强的MRI优于造影剂增强的CT。

[0937] 2.6.2疾病评价指南

[0938] 可测量和不可测量的定义如下:

[0939] 可测量病变:可在以下的至少一个维度(最长维度)上准确测量的非结节病变:

[0940] •  $\geq 10\text{mm}$ ,采用MRI或CT,当扫描层厚不大于5mm时。如果层厚大于5mm,则可测量病变的最小尺寸必须至少为层厚的两倍(例如,如果层厚为10mm,则可测量病变必须 $\geq 20\text{mm}$ )。

[0941] •  $\geq 10\text{mm}$ ,卡尺/直尺测量,通过临床检查或医学摄影。

[0942] •  $\geq 20\text{mm}$ ,通过胸部X光片。

[0943] • 另外,当通过CT或MRI评估时,如果短轴 $\geq 15\text{mm}$ (层厚建议不超过5mm),则淋巴结可被认为是病理性增大的和可测量的。在基线和随访时,仅测量短轴。

[0944] 不可测量病变:所有其他病变,包括太小而不能视为可测量的病变(最长直径 $< 10\text{mm}$ ,或者短轴 $\geq 10\text{mm}$ 且 $< 15\text{mm}$ 的病理淋巴结)以及真实不可测量的病变,其包括:软脑膜疾病、腹水、胸膜或心包积液、炎性乳腺病、皮肤或肺的淋巴管受累、通过身体检查鉴定的腹部肿块/腹部脏器肿大,它们不能通过可再现的成像技术测量。

[0945] 可测量疾病:至少一个可测量病变的存在。不可通过放射学或摄影学评价测量的可触知病变不能被用作唯一可测量的病变。

[0946] 仅不可测量的疾病:仅存在不可测量的病变。注释:根据方案,不允许仅不可测量

的疾病。

[0947] 2.6.3免疫相关RECIST响应标准

[0948] 靶病变的评价汇总于表10中。

[0949] 表10.

	新的可测量 <sup>a</sup> 病变	并入肿瘤负荷
	新的不可测量病变	不定义进展(但排除 CR)
	irCR	相隔不少于4周的两次连续观察中所有病变的消失。任何病理性淋巴结(无论是靶还是非靶)的短轴必须减小到<10 mm。
[0950]	irPR	在相隔至少4周的两次观察中与基线相比肿瘤负荷减少≥30%
	irSD	与基线相比肿瘤负荷减少30%或者与最低点相比增加20%均不能确立
	irPD <sup>b</sup>	在相隔至少4周的两次连续观察中与最低点(在任何单个时间点)相比肿瘤负荷增加至少20%。除了相对增加20%之外,总和还必须展示出至少5 mm的绝对增加。

[0951] a.根据RECIST v1.1可测量。

[0952] b.治疗决策将基于免疫相关的RECIST指南。

[0953] 2.6.3.1基于总可测量肿瘤负荷的抗肿瘤应答

[0954] 对于基于RECIST v1.1和免疫相关RECIST的改良RECIST[Wolchok et al.Clin Cancer Res 2009;15(23):7412-20;Nishino et al.Clin Cancer Res.2013;19:3936-3943],考虑了初始靶标(“指标”)和可测量的新病变。在基线肿瘤评估时,计算所有靶病变的测量平面中的直径总和(总共最多五个病变且代表所有受累器官的每个器官最多两个病变)。

[0955] 注释:如果病理淋巴结包括在直径的总和之中,则淋巴结的短轴增加到总和中。短轴是与淋巴结或结节块的最长直径垂直的最长直径。在每次后续肿瘤评估时,将基线靶病变和新的可测量结节和非结节病变(≥10mm)(每个器官至多2个新病变)的直径总和加在一起,以提供总肿瘤负荷:

[0956] 肿瘤负荷=直径<sub>靶病变</sub>的总和+直径<sub>新的可测量病变</sub>的总和

[0957] 2.6.3.2使用免疫相关RECIST标准的时间点响应评估

[0958] 每个评估时间点的肿瘤负荷的百分比变化描述了常规和新的可测量病变在它们出现时的尺寸和生长动力学。在每次肿瘤评估时,基于肿瘤负荷的变化(在排除irPD后)定义指标和新的可测量病变中的响应。必须相对于基线测量(即,筛选时所有靶病变的直径总和)来评估肿瘤负荷的减少。

[0959] 2.6.3.3非靶病变的评价

[0960] 用于评估非靶病变的响应的定义如下：

[0961] • 完全响应 (CR) :所有非靶病变消失。在基线被鉴定为疾病部位的所有淋巴结必须是非病理的 (例如<10mm短轴)。

[0962] • 非CR/非PD:在基线短轴 $\geq 10\text{mm}$ 的被鉴定为疾病部位的1个或多个非靶病变或淋巴结的持续存在。

[0963] • 疾病进展 (PD) :现有非靶病变的明确进展。

[0964] • 不适用 (NA) :在基线无非靶病变。

[0965] • 不可评价 (NE) :不能由前述四种定义之一分类。

[0966] 注释:在存在可测量疾病的情况下,基于单独非靶疾病的进展需要显著的恶化,使得即使在靶疾病中存在SD或PR的情况下,总体肿瘤负荷也增加到足以利于疗法中断。此外,在基于评估计划表的时间点未评估的非靶病变部位应当从响应确定中排除 (例如,非靶反应不必“不可评价”)。

[0967] 2.6.3.4新病变

[0968] 表示疾病进展的新恶性肿瘤必须是明确的。随访中鉴定的基线未扫描的解剖位置中的病变被视为新病变。

[0969] 必须继续跟踪任何不明确的新病变。研究者可决定继续治疗,直至下一次安排的评估。如果在下一次评估时认为新病变是明确的,则将宣称进展。

[0970] 2.6.3.5总体响应的评价

[0971] 表11呈现在各个疾病评估时间点的总体响应,说明了在基线时具有可测量疾病的受试者出现或不出现新病变的情况下,靶和非靶病变中所有可能的响应组合。

[0972] 表11.基线时具有可测量疾病的受试者的总体响应评价

	靶病变	非靶病变	新病变	总体响应
[0973]	CR	CR 或 NA	否	CR
	CR	非 CR/非 PD 或 NE	否	PR
	PR	非 PD 或 NA 或 NE	否	PR
	SD	非 PD 或 NA 或 NE	否	SD
[0974]	NE	非 PD 或 NA 或 NE	否	NE
	PD	任一者	是或否	PD
	任一者	PD	是或否	PD
	任一者	任一者	是	PD

[0975] 缩写:CR=完全响应 (CR),PR=部分响应,SD=疾病稳定,PD=疾病进展,NA=不适用,并且NE=不可评价

[0976] 2.6.3.6最佳总体响应的评价

[0977] 最佳总体响应是从治疗开始直到疾病进展/复发而记录的最佳响应,并且将通过GSK基于研究者在每个时间点对响应的评估来程序化地确定。

[0978] 为了指定SD状态,随访疾病评估必须以如RAP中所定义的最小天数间隔,在第一剂

后至少满足一次SD标准。

[0979] 如果不满足SD的最小时间,则最佳响应将取决于后续评估。例如,如果PD的评估遵循SD的评估并且SD不满足最小时间要求,则最佳响应将是PD。或者,在SD评估不满足最小时间标准后失访的受试者将被视为不可评价。

[0980] 2.6.3.7确认标准

[0981] 为指定PR或CR状态,必须在首次满足响应标准后不少于4周(28天)执行确认性疾病评估。

[0982] 2.7ECOG行为状态

[0983] 汇总呈现于表12中。

[0984] 表12.ECOG行为状态

等级	描述
0	正常活动。完全活动,能够无限制地进行所有疾病前行为。
1	有症状,但能走动。身体剧烈活动受限,但能走动且能够进行轻便或久坐性质的工作(例如,轻便家务、办公室工作)。
2	在床上<50%的时间。能走动并且能够自理,但不能进行任何工作活动。超过50%的清醒时间能下床活动。
3	在床上>50%的时间。只能进行有限的自理,超过50%的清醒时间局限于床或椅子。
4	100%卧床不起。完全无能力。不能进行任何自理。完全局限于床或椅子。
5	死亡。

[0987] Oken et al.Am J Clin Oncol.1982;5:649-655。

[0988] 2.8临床关注事件

[0989] 这些是被视为临床关注的选定事件;它们可能是非严重AE或SAE。临床关注的事件与特别关注的不良事件(AESI)的不同之处在于,AESI被定义为潜在免疫病因学的不良事件。在用其他免疫调节疗法治疗后最近报道的此类事件包括结肠炎、葡萄膜炎、肝炎、肺炎、痢疾、内分泌病症和特异性皮肤毒性,以及其他可能是免疫介导的事件。

[0990] 对于从研究治疗的第一剂施用开始到研究治疗中断后30天的时间段,必须向申办者报告任何ECI或随访ECI,无论是否与研究药物相关。ECI包括:

[0991] 1. 必须在5天内报告与临床症状或异常实验室结果无关的研究药物过量。

[0992] 2. 大于或等于正常值上限的3×的升高的天冬氨酸转氨酶(AST)或丙氨酸转氨酶

(ALT)实验室值,并且大于或等于正常值上限的2×的升高的总胆红素实验室值,同时,小于正常值上限的2×的碱性磷酸酶实验室值,如通过方案规定的实验室测试或非计划实验室测试所测定。必须在24小时内报告该ECI。这些标准基于可用的监管指南文件。该标准的目的是指定异常肝测试的阈值,其可能需要对潜在病因进行额外评价。

[0993] 3.COVID-19冠状病毒感染,无论是基于暴露史和临床体征和症状而怀疑,还是在暴露史和临床体征和症状的情况下通过实验室测试确认。报告将遵循WHO和GSK指南。

[0994] 2.9遗传研究

[0995] 2.9.1遗传研究目标和分析

[0996] 遗传研究的目的是探索遗传变体与以下之间的关系:

[0997] • 对药物,包括H2L5 hIgG4PE、本研究中探索的其他免疫疗法、或任何伴随用药的响应;

[0998] • 癌症易感性、严重程度,以及进展和相关状况。

[0999] 遗传数据可以在研究进行中或研究完成后生成。遗传评价可以包括集中的候选基因方法和/或整个基因组中大量遗传变体的检查(全基因组分析)。遗传分析将利用本研究中收集的数据,并且限于理解以上强调的目的。可以使用来自多个临床研究的数据执行分析以探索这些研究目的。

[1000] 使用适当的描述性和/或统计学分析方法。任何计划分析的详细描述将在分析开始前记录在报告与分析计划(RAP)中。遗传探索的计划分析和结果将视情况而定作为临床RAP和研究报告的一部分,或者在单独的遗传学RAP和报告中报告。

[1001] 2.9.2研究群体

[1002] 入组研究的任何受试者均可以参与遗传研究。任何接受同种异体骨髓移植的受试者必须从遗传研究中排除。

[1003] 2.9.3研究评估和程序

[1004] 成功的遗传研究的主要组成部分是在临床研究期间收集样品。即使当没有鉴定先验假设时,样品的收集也可使得未来的遗传分析能够进行以助于理解疾病和药物响应的可变性。

[1005] 取6ml血样进行DNA提取。在受试者随机化并提供遗传研究的知情同意后,在基线访问时收集血样。在实验室手册中描述了遗传样品的收集和运输说明。来自血样的DNA可以进行质量控制分析以确认样品的完整性。如果存在关于样品质量的顾虑,则样品可被销毁。血样只采集一次,除非由于不能利用原始样品而需要双份样品。

[1006] 采用与用于标记研究中的其他样品和数据的相同研究特定编号来标记(或“编码”)遗传样品。该编号可由研究者或现场工作人员上溯或追溯回受试者。编码样品不携带个人标识符(如姓名或社会保障号)。

[1007] 实施例3.组合疗法人临床试验方案

[1008] 3.1研究设计

[1009] H2L5 hIgG4PE以及多塔利单抗+考伯利单抗的组合在平台NSCLC研究中并与当前标准护理多西他赛进行比较。多西他赛作为目前的NSCLC标准护理以75mg/m<sup>2</sup>的剂量每三周一次经由IV输注施用持续6个周期,并且可在6个周期后根据研究者的决定中断。该研究将探索24mg Q3W剂量的H2L5 hIgG4PE、Q3W的一定剂量的多塔利单抗和Q3W的一定剂量的考伯

利单抗。第1部分为非随机化安全性和PK/PD评价,第2部分为比较组合的功效和安全性的随机化II期。

[1010] 在组合地或作为单独线的既往含铂化疗方案和靶向PD-1/PD-L1的药剂失败的复发性/难治性晚期NSCLC患者中,对评价的组合进行探索。

[1011] 3.1.1H2L5 hIgG4PE和多塔利单抗+考伯利单抗

[1012] 24mg H2L5 hIgG4PE在研究者或指定人员的医学监督下首先以30分钟IV输注(输注时间可在发生输注相关反应的事件下调整)施用。500mg多塔利单抗将在H2L5 hIgG4PE EOI (输注结束) Q3W静脉内施用的后至少30分钟且不超过一小时经由IV输注施用,并且300mg考伯利单抗在多塔利单抗EOI后至少30分钟且不超过一小时Q3W施用。研究设计示于表13中。

[1013] 表13.H2L5 hIgG4PE和多塔利单抗+考伯利单抗的描述和施用

名称	多塔利单抗	考伯利单抗	H2L5 hIgG4PE(ICOS 激动剂)
描述	PD-1 抑制剂	抗 Tim3	人源化抗 ICOS IgG4 mAb
剂型/强度	50 m <sup>2</sup> mg/ml 溶液	20 mg/ml 溶液	注射用溶液/10 mg/mL
剂量	500 mg(详见方 案)	300 mg	24 mg
施用途径	IV 输注	IV 输注	IV 输注
给药说明 <sup>a</sup> /频率	施用稀释产品 /Q3W 一次(输注 时间参考 SRM)	施用稀释产品 /Q3W 一次(输注 时间参考 SRM)	施用稀释产品 /Q3W 一次

[1014] 3.1.2剂量限制性毒性

[1016] 使用美国国家癌症研究所-不良事件通用术语标准(National Cancer Institute-Common Terminology Criteria for Adverse Events,NCI-CTCAE) (5.0版) [NCI,2017],对所有毒性的严重程度进行分级。DLT观察期长度为21天,并且开始于H2L5 hIgG4PE首次施用于参与者的当天。

[1017] DLT定义为符合表4中所列标准中的至少一项的不良事件(AE),并且研究者认为在28天DLT观察期期间与研究治疗在临床上相关并且归因于(大概或可能)研究治疗。认为与研究中的基础疾病相关的AE不被定义为DLT。

[1018] 表14.剂量限制性毒性标准

毒性	DLT 定义
血液学	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 如由 CTCAE v4 所定义的发热性中性粒细胞减少症</li> <li>● 持续时间&gt;7 天或需要 G-CSF 的 4 级中性粒细胞减少症</li> <li>● 任何持续时间的 4 级贫血</li> <li>● 任何持续时间的 4 级血小板减少症或 3 级血小板减少症伴出血</li> </ul>
非血液学	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 4 级毒性</li> <li>● 任何持续时间的 3 级肺炎</li> <li>● 尽管有最佳支持性护理, 未在 3 天内消退至≤1 级或基线的 3 级毒性</li> <li>● 任何需要全身类固醇的 2 级眼部毒性, 或任何≥3 级眼部毒性</li> <li>● 以下事件不视为 DLT                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 在 24 小时内矫正而无临床后遗症的 3 级和 4 级无症状性电解质异常</li> <li>○ 在最佳支持性护理下 7 天内消退至≤1 级的 3 级恶心、呕吐、或疲劳</li> <li>○ 未接受输注相关反应(IRR)防治的参与者中的 3 级和 4 级输注反应</li> </ul> </li> </ul>
其他	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 在治疗的前四周期间导致 H2L5 hIgG4PE 单一疗法或组合中的 H2L5 hIgG4PE 和药剂的永久中断的毒性</li> <li>● 导致参与者未接受第 1 周期(定义为 21 天)中方案的预期剂量的 3 级/4 级毒性</li> </ul>
[1020]	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 在研究者和 GSK 医学监查员的判断中认为 DLT 的任何其他事件</li> </ul>

[1021] 注释: 建议的毒性管理指南可以包括针对免疫相关毒性的全身性皮质类固醇; 如果全身性皮质类固醇的使用延迟了研究治疗的第二剂量的施用并且该事件在其他方面不符合非血液学毒性的 DLT 标准, 则剂量延迟将不被视为 DLT。

[1022] 如果参与者在 DLT 观察期期间经历 DLT, 只要毒性不符合研究治疗中断标准并在申办者批准后, 参与者可以恢复给药。

[1023] 3.1.3 研究治疗和持续时间

[1024] 入组的参与者将接受治疗, 直到疾病进展、不可耐受的毒性、撤回知情同意书或死亡。组合研究治疗将以指定计划表继续施用, 最长持续时间为大约 2 年或至多 35 次治疗访视 (以先到者为准)。

[1025] 在永久中断研究治疗后,将跟踪参与者的AE。另外,每12周经由电话联系跟踪参与者的生存和后续抗癌疗法,直到死亡或参与者退出进一步的联系。

[1026] iRECIST基于RECIST 1.1,但适于解释免疫治疗药物所见的独特肿瘤响应(Seymour,2017)。按照iRECIST获得确认CR、在声称初始CR的日期后接受至少2次额外剂量的研究治疗,且已治疗至少6个月的参与者可以中断研究治疗;并且这些参与者将继续进行安排的疾病评估。在治疗研究者与申办者/医学监查员之间协商后,且在参与者书面同意后,可允许参与者在疾病进展时恢复研究治疗。

[1027] 永久中断研究治疗的参与者将进入研究的生存随访期并经受评估。

[1028] 3.1.4剂量合理性说明

[1029] H2L5 hIgG4PE以及多塔利单抗+考伯利单抗的合理剂量如2.1.6中所阐述。多塔利单抗的推荐临床剂量和方案是500mg Q3W持续4个周期,继之以1000mg Q6W。对于本研究,多塔利单抗将以500mg Q3W给药,以便匹配也Q3W给药的其他药物(考伯利单抗和H2L5 hIgG4PE)的计划表,并且减少患者负担。

[1030] 3.2研究群体的选择和退出标准

[1031] 3.2.1纳入标准

[1032] 对于有资格纳入本研究的参与者,必须满足所有以下标准:

[1033] 1.能够给予签署的知情同意书/允许书

[1034] 2.获得同意时年龄为18岁或以上的男性或女性

[1035] 3.组织学或细胞学确认的NSCLC(鳞状或非鳞状)诊断,以及:

[1036] a.在局部/区域性晚期复发性IIIb期/IIIc期/IV期或转移性疾病的最多2线全身治疗期间或之后,基于影像学成像记录的疾病进展

[1037] 必须在同一治疗线或单独治疗线中接受两种治疗组分:

[1038] i.不超过或少于1线的含铂化疗方案,以及;

[1039] ii.不超过或少于1线的含PD(L)1mAb的方案。

[1040] b.具有已知BRAF分子改变的参与者必须在接受用于分子改变的当地可用标准护理治疗后已经疾病进展。

[1041] 4.可测量疾病,根据RECIST 1.1存在至少1个可测量病变(可测量病变定义见第3.6节)

[1042] 5.美国东部肿瘤协作组(ECOG)行为状态(PS)得分为0或1(参考第3.7节)

[1043] 6.从NSCLC的初始诊断到研究进入时间的任何时间获得的肿瘤组织样品是强制性的。尽管在筛选期间获得的新鲜肿瘤组织样品是优选的,但存档肿瘤标本也是可接受的。

[1044] 7.适当器官功能,如表15中所定义:

[1045] 表15.适当器官功能的定义

系统	实验室值
<b>血液学<sup>a</sup></b>	
嗜中性粒细胞绝对计数(ANC)	$\geq 1.5 \times 10^9/L (\geq 1500/\mu L)$
血红蛋白	$\geq 9 \text{ g/dL}$ 或 $\geq 5.6 \text{ mmol/L}$
血小板	$\geq 100 \times 10^9/L (\geq 100\,000/\mu L)$
<b>肝</b>	
白蛋白	$\geq 2.5 \text{ g/dL}$
总胆红素	$\leq 1.5 \times$ 正常上限(ULN)(如果胆红素被分级分离且直接胆红素 < 35%，则分离的胆红素 $> 1.5 \times$ ULN 是可接受)
对于患有吉尔伯特综合征的参与者(仅当直接胆红素 $\leq 35\%$ 时)	$\leq 3.0 \times$ ULN
丙氨酸转氨酶(ALT)	$\leq 2.5 \times$ ULN;
	或 $\leq 5 \times$ ULN, 对于记录肝转移的参与者
<b>肾</b>	
计算的肌酐清除率 <sup>b</sup>	$\geq 30 \text{ mL/分钟}$

[1048] a. 参与者可以输液或接受生长因子治疗,以在确定合格性前至多7天满足最低血液学值。绝对淋巴细胞计数将包括在基线评估中,但对于合格性没有范围限制要求。

[1049] b. 计算的肌酐清除率需要使用慢性肾脏病流行病学协作 (CKD EPI) 或 Cockcroft-Gault 公式来计算。任一公式均是可接受的,并且必须在整个研究中一致地用于每名参与者。

[1050] 8. 男性参与者必须同意在治疗期的期间和在研究治疗的最后一剂后至少120天内使用高效避孕,并且在该时段期间不要捐精。

[1051] 9. 如果女性参与者未妊娠,未哺乳,并且适用以下条件中的至少1种,则其有资格参与:

[1052] i. 不是生育潜能女性 (WOCBP) 或

[1053] ii. 同意在治疗期的期间和在研究治疗的最后一剂后至少120天内遵循避孕指南的WOCBP。

[1054] 3.2.2 排除标准

[1055] 如果适用任何以下准标,参与者将无资格纳入本研究:

[1056] 1. 接受过以下疗法的既往治疗(计算基于最后疗法的日期到研究治疗的第一剂的日期):

[1057] a. 任何时间的多西他赛

- [1058] b. 研究中测试的任何研究性药物,包括实验性ICOS激动剂
- [1059] c. 在药物的30天或5个半衰期内(以较短者为准)的全身性经批准或研究性抗癌疗法。在既往抗癌剂的最后一剂与施用的研究药物的第一剂之间必须经过至少14天。
- [1060] d. 既往放疗:如果至少一个未照射的可测量病变可用于根据RECIST 1.1版进行评估,或者如果对孤立性可测量病变进行照射,则允许记录客观进展。需要在研究药物开始前至少2周淘汰任何预期用途的放射。
- [1061] 2. 接受过>2线既往NSCLC疗法,包括具有BRAF分子改变的参与者。
- [1062] 注释:具有已知EGFR/ALK/ROS1分子改变的患者被排除参与本研究,然而,如果当地无其他治疗选项可用,则可考虑使具有已知外显子20EGFR分子改变的患者纳入本研究。
- [1063] 3. 侵袭性恶性肿瘤或过去2年内有除受研究疾病外的侵袭性恶性肿瘤史,如下所指出的除外:
- [1064] • ,参与者被明确治疗、已经在至少2年内无疾病,并且根据主要研究者和GSK医学监查员的见解,不会影响研究治疗对当前靶向的恶性肿瘤的效应的评价的任何其他侵袭性恶性肿瘤可以包括在本临床试验中。
- [1065] • 治愈性治疗的非黑素瘤皮肤癌或成功治疗的原位癌。
- [1066] 4. 中枢神经系统(CNS)转移,以下除外:具有无症状CNS转移的参与者,其临床上稳定且在研究治疗的第一剂前至少14天内不需要类固醇。
- [1067] 注释:无论临床稳定性如何,患有癌性脑膜炎或柔脑膜扩散的参与者均排除在外。
- [1068] 5. 研究治疗的第一剂前≤28天的大手术。
- [1069] 6. 过去2年内需要全身治疗的自身免疫疾病(当前或历史)或综合征。包括用于治疗内分泌病(例如肾上腺功能不全)的生理剂量的皮质类固醇的替代疗法不被认为是全身治疗。
- [1070] 注释:患有受控的1型糖尿病(T1DM)的参与者是合格的。
- [1071] 7. 在研究治疗的第一剂之前7天内接受全身类固醇(>10mg口服强的松或等同物)或其他免疫抑制剂。
- [1072] 注释:允许类固醇作为超敏反应的术前用药(例如,计算机断层扫描(CT)扫描术前用药)。
- [1073] 8. 既往同种异体/自体骨髓或实体器官移植。
- [1074] 9. 在研究治疗的第一剂前30天内接受任何活疫苗。活疫苗的实例包括但不限于以下:麻疹、流行性腮腺炎、风疹、水痘/带状疱疹(鸡痘)、黄热病、狂犬病、卡介苗(BCG)和伤寒疫苗。用于注射的季节性流感疫苗通常是灭活病毒疫苗并且是允许的;然而,鼻内流感疫苗(例如FluMist)是活减毒疫苗,并且是不允许的。
- [1075] 10. 既往抗癌治疗的毒性,包括:
- [1076] a. 被认为与既往免疫疗法相关,并且导致治疗中断的≥3级毒性。
- [1077] b. 未消退至≤1级的与既往治疗相关的毒性(除脱发、听觉损失、替代疗法管理的内分泌病,以及必须≤2级的外周神经病变以外)。
- [1078] 11. 特发性肺纤维化、肺炎(仅在治疗需要类固醇才排除既往肺炎)、间质性肺病、或机化性肺炎的病史(当前和既往)。
- [1079] 注释:如果研究者和医学监查员同意,可允许与既往放疗相关的肺部辐射后变化

和/或不需要治疗的无症状放射诱导的间质性肺炎。

[1080] 12. 不受控制症状性腹水、胸腔或心包积液的近期病史(过去6个月内)

[1081] 13. 需要手术的胃肠道梗阻、急性憩室炎、炎性肠疾病、或腹腔内脓肿的近期病史(过去6个月内)

[1082] 14. 入组前6个月内心脏异常的病史或证据,包括:

[1083] a. 严重不受控制的心律失常或临床上显著的心电图异常(包括二度(II型)或三度房室传导阻滞)。

[1084] b. 心肌病、心肌梗死、急性冠状动脉综合症(包括不稳定型心绞痛)、冠状动脉血管成形术、支架植入术或旁路移植术

[1085] c. 症状性心包炎。

[1086] 15. 根据研究者评估,目前不稳定的肝或胆道疾病定义为存在腹水、脑病、凝血病、低白蛋白血症、食管或胃静脉曲张、持续性黄疸、或肝硬化。

[1087] 注释:如果参与者另外满足进入标准,则稳定的慢性肝病(包括吉尔伯特综合征或无症状胆结石)是可接受的。

[1088] 16. 需要全身疗法的活动性感染。

[1089] 17. 已知的人免疫缺陷病毒感染

[1090] 18. 对单克隆抗体的严重超敏反应或对多西他赛制剂中所用成分的超敏反应史。

[1091] 19. 据研究者的见解,任何严重和/或不稳定的预先存在的医学(除恶性肿瘤外)、精神病症、或可能干扰参与者的安全性、获得知情同意、或遵守研究程序的其他状况

[1092] 20. 妊娠或哺乳的女性参与者

[1093] 21. 在研究治疗的第一剂前4周内,目前正在参与或已经参与研究性装置的研究。

[1094] 22. 筛选时或研究干预的第一剂前3个月内存在乙型肝炎表面抗原(HBsAg)

[1095] 23. 筛选时或研究干预的第一剂前3个月内阳性丙型肝炎抗体测试结果。

[1096] 注释:只有在获得确认性阴性丙型肝炎RNA测试的情况下,才可入组由于既往消退疾病而具有阳性丙型肝炎抗体的参与者。

[1097] 24. 筛选时或研究治疗的第一剂前3个月内阳性丙型肝炎RNA测试结果。

[1098] 注释:试验是任选的,并且丙型肝炎抗体测试阴性的参与者不需要另外经丙型肝炎RNA测试。

[1099] 25. 对多塔利单抗组分或赋形剂的已知超敏反应。

[1100] 26. 对多塔利单抗组分或赋形剂的已知超敏反应。

[1101] 3.3研究治疗

[1102] 3.3.1治疗分配方法

[1103] 一旦确定符合研究条件,所有参与者将使用交互式网络应答系统(Interactive Web Response System, IWRS)进行集中随机化。

[1104] 3.3.2设盲

[1105] 这是一项开放标签研究。

[1106] 3.3.3伴随用药和非药物治疗

[1107] 参与者被指示从研究治疗的首次剂量的时间直到研究治疗中断,在开始任何新的药物之前要通知研究者。将在eCRF中记录研究期间服用的任何允许的伴随用药,包括非处

方药和草药产品。报告的最低要求是药物名称、剂量、施用日期和用药原因。

[1108] 3.3.3.1 允许用药和非药物治疗

[1109] 在研究的治疗过程期间,所有参与者均应接受充分的支持性护理,包括输血和血液制品,且适当时使用抗生素、止吐药、止泻药和镇痛药进行治疗。季节性流感疫苗仅以注射方式允许,即不允许鼻内流感疫苗。择期姑息性手术或放射可允许根据具体情况与GSK医学监查员协商。

[1110] 允许如所指示的以下用药:

[1111] a. 双膦酸盐类和核因子 $\kappa$ B受体活化因子配体(RANKL)抑制剂(例如地诺单抗):参与者需要在接受第一剂H2L5 hIgG4PE之前至少4周处于稳定剂量。除了治疗骨质疏松症以外,不允许在没有骨转移证据或病史的参与者中防治性使用。

[1112] b. 生长因子:在研究治疗期间不允许防治性使用生长因子,除非临床上指示用于毒性管理。

[1113] c. 类固醇:允许患有需要类固醇的预先存在病症的参与者继续服用最多达10mg强的松或等同物,条件是参与者在研究治疗的第一剂之前至少28天已处于稳定剂量;进一步要求参考第3.2.2节中的排除标准。用于化疗前用药的类固醇是允许的。

[1114] d. 在研究期间允许处方药物大麻素作为姑息疗法

[1115] 3.3.3.2. 禁止用药和非药物治疗

[1116] 在研究治疗的第一剂之前(具体时间要求参考第3.2.2节)和本研究治疗时,禁止以下用药:

[1117] a. 抗癌疗法(除了本研究中使用的那些以外),包括但不限于化疗、免疫疗法、生物疗法、激素疗法(除生理替代以外)、手术和放疗(除了如第2.3.4.1节中所述的姑息性干预以外);

[1118] b. 除本研究中所提及的那些以外的任何研究性药物;

[1119] c. 活疫苗,如鼻内流感疫苗。

[1120] 3.4 研究评估和程序

[1121] 必须注意以下几点:

[1122] • 在执行任何研究要求的程序之前,参与者必须签署知情同意书。然而,作为常规临床管理的一部分(例如,成像研究)进行且在签署研究知情同意书之前进行的程序可用于筛选/基线评估。

[1123] • 如果在相同的标定时间安排评估,则评估应按以下次序进行:

[1124] 1. 十二导联ECG

[1125] 2. 生命体征

[1126] 3. 抽血,注释:评估时间必须允许在准确的标定时间进行抽血。

[1127] • 计划的研究评估(包括安全性、生物标志物或其他评估)的时间和次数可以在研究过程期间基于新出现的数据而改变,以确保适当的监测。

[1128] • 在整个研究治疗过程(2年)中,将从每个参与者收集不超过900mL的血液。

[1129] 3.4.1 筛选和临界基线评估

[1130] 将采集人口统计学参数,如出生年份和性别。

[1131] 医疗史(包括心血管医疗史、吸烟以及其他风险因素)将被评估为与纳入/排除标

准相关。

[1132] 疾病特征(包括医疗、手术和治疗史,包括放疗、初始诊断日期、根据国际抗癌联盟关于肺癌的TNM第8版(8th Edition of TNM for Lung Cancer by the Union for International Cancer Control (UICC))的初始诊断阶段、组织学、肿瘤遗传/基因组特征和当前疾病部位)将视为医疗史和疾病状态的一部分。可能要求在筛选前执行成像研究扫描,以评估基线病变。记录关于既往抗癌疗法(例如,全身疗法和放疗)的细节,包括对既往全身疗法的最佳响应。

[1133] 如果可用,应理想地记录在研究的第一剂前90天内的任何抗生素使用,以通过其对免疫系统的操纵而助于告知抗生素对临床结果的影响。

[1134] 研究治疗的第一剂前28天内所需的基线病变评估包括:

[1135] • 胸部和腹部造影剂下的计算机断层扫描

[1136] 注释:尽管CT扫描是优选的,但磁共振成像(MRI)可用作基线疾病评估的替代方法,尤其是对于CT扫描由于对造影剂过敏而禁忌的那些参与者,条件是在整个研究治疗中始终使用记录基线状态的方法以利于直接比较。当MRI用于疾病评估时,还应当执行胸部的非造影CT,以评价肺。对于氟脱氧葡萄糖-正电子发射断层扫描(FDG-PET)/CT的使用,参考RECIST 1.1指南(Eisenhauer, 2009; Seymour, 2017)。

[1137] • 采用和不采用IV钆的脑部的MRI(如果临床指示)

[1138] • 骨扫描(如果临床指示)

[1139] • 可触知/可见病变的临床疾病评估

[1140] • 如由筛选前存在的参与者基础疾病所指示的其他区域

[1141] 对于靶和非靶病变的基线记录,参考第3.4.2节。

[1142] 在基线时所需的安全性和实验室评估包括:

[1143] • 身体检查

[1144] • ECOG行为状态

[1145] • 生命体征

[1146] • 伴随用药

[1147] ○从筛选开始到研究后随访记录。

[1148] ○记录参与者正在服用的所有药物,包括处方药、非处方(OTC)药物或制备物,以及包括所使用的任何大麻素和/或娱乐性药物的草药制剂。

[1149] ○至少,应当记录药物名称、施用途径、剂量和给药频率,连同开始和停止日期。

[1150] • 心电图

[1151] • 超声心动图

[1152] • 实验室评估

[1153] 3.4.2 抗癌活性的评价

[1154] RECIST 1.1版指南将用于在筛选、选择靶和非靶病变,以及在整个研究持续时间的疾病评估中确定总体肿瘤负荷(Eisenhauer, 2009)。

[1155] 如RECIST 1.1版指南所指示:

[1156] • 短轴<10mm的淋巴结被认为是非病理性的,并且不必记录或跟踪。

[1157] • 短轴<15mm,但≥10mm的病理淋巴结被认为是不可测量。

[1158] • 短轴 $\geq 15\text{mm}$ 的病理淋巴结被认为是可测量的,并且可选择为靶病变;然而,当其他合适的靶病变可用时,淋巴结不应被选择为靶病变。

[1159] • 每个器官多达最多两个病变以及代表所有受累器官的总共5个病变的可测量病变应当被鉴定为靶病变,并且在基线时记录和测量。这些病变应当基于其尺寸(最长直径的病变)及其准确重复测量的适合性(通过成像技术或临床)进行选择。

[1160] 注释:当其他合适的靶病变可用时,被认为代表囊性转移的囊性病变不得被选择为靶病变。

[1161] 注释:先前照射过且照射后未显示进展的可测量病变不得被视为靶病变。

[1162] • 可通过CT或MRI评价的具有可鉴定软组织成分的溶骨性病变或混合性溶骨-成骨病变可以被视为可测量。骨扫描、FDG-PET扫描或X射线不被视为测量骨病变的适当成像技术。

[1163] • 所有其他病变(或疾病部位)必须被鉴定为非靶标,并且也必须在基线处记录。非靶病变将按器官分组。不需要测量这些病变,但在整个随访中必须注意每个病变的存在与否。

[1164] 3.4.3 身体检查

[1165] 在筛选时执行的全面身体检查至少包括心血管、呼吸、胃肠和神经系统的评估。

[1166] 在每次后续访视时执行的简要身体检查至少包括皮肤、肺、心血管系统和腹部(肝和脾)的评估。

[1167] 研究者应特别注意与既往严重疾患相关的临床体征。

[1168] 可以根据需要在给药的一天内执行身体检查(即,而非给药当天)。

[1169] 3.4.4 行为状态

[1170] 在每次访视和治疗当天使用ECOG量表来评估行为状态。

[1171] 3.4.5 生命体征

[1172] 在休息5分钟后测量生命体征,并且包括体温、收缩压和舒张压、脉搏率、呼吸率和氧饱和度(通过脉搏血氧仪测量)。血压应当在整个研究中的同一位置采集,并记录在eCRF中。

[1173] 如果参与者的临床状况许可,则将更频繁地测量生命体征。

[1174] 在多次测量生命体征的天数中,除非临床指示,否则不需要重复体温。

[1175] 如果参与者出现发热和输注相关反应或者疑似有细胞因子释放综合征,则将使用管理指南来管理参与者。

[1176] 仅在筛选时记录身高。

[1177] 在基线和每隔一次治疗访视时测量并记录体重(以千克计)。

[1178] 在治疗日给药前必须记录生命体征。

[1179] 3.4.6 心电图

[1180] 在筛选时使用自动计算心率并测量PR、QRS、QT和QTcF间期的ECG机器来获得12导联心电图;允许手动计算QTcF。ECG可根据临床指示在研究期间重复。

[1181] 3.4.7 超声心动图

[1182] 在基线时局部执行超声心动图(ECHO),以评估心射血分数用于研究合格性,如活动计划表中所指定(图4-6)。如果临床许可,可执行额外的ECHO评估。超声心动图的评价应

当包括左心室射血分数 (LVEF) 以及右侧和左侧瓣膜病变的评价。在LVEF评估中,多重门控采集扫描 (MUGA) 可用于替代ECHO (如果不可行);在任何后续评估中应当使用相同的模式。

#### [1183] 3.4.8生物标志物

##### [1184] 3.4.8.1血液生物标志物

[1185] 还收集血样以分离PBMC、血浆和血清。收集全血样品,并且可用于评估免疫细胞数量、表型、活化和功能。血浆和血清样品将用于分析与T细胞活化相关的循环可溶性因子、cfDNA、外泌体循环蛋白,并且可以根据测定的可用性分析可溶性H2L5 hIgG4PE (ICOS激动剂)。待分析的因子可包括但不限于:IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-8、IL-12p70和IL-13,以及针对肿瘤、自身肿瘤突变、基因表达 (RNA或蛋白质)、遗传分析 (DNA) 或病毒抗原的抗体的存在。

[1186] 从全血分离的PBMC将被保存和储存,用于额外细胞类型如免疫调节群体 (其可包括但不限于髓系衍生抑制细胞) 的流式细胞术、后续功能分析或遗传分析以用于T细胞库多样性的评估、其与临床响应的关系,以及对治疗的响应的变化。可针对细胞因子 (其可包括但不限于IFN- $\gamma$ 、IL-2、TNF- $\alpha$ 、IL-17、颗粒酶B和CD107a) 的表达,分析PBMC的功能状态。还可以评价PBMC的基因组 (DNA) 和基因表达 (RNA或蛋白质) 改变,以确定免疫相关签名中的治疗相关变化。

##### [1187] 3.4.8.2肿瘤组织

[1188] 对于第1部分,要求所有参与者在开始研究治疗前具有可用的肿瘤组织 (存档或新鲜活体组织切片)。如果存档组织不可用,则需要新鲜活体组织切片。在第1部分初始安全性评价 (至多前10名参与者) 后,对于为评估进一步安全性以及PK/PD而入组的额外参与者,在研究治疗开始前需要筛选时的新鲜肿瘤组织和存档肿瘤组织样品。

[1189] 对于第2部分,所有参与者均需要筛选时的肿瘤组织 (存档或新鲜活体组织切片,如果存档组织不可用)。至少20名参与者需要在筛选期间获得的新鲜肿瘤组织和存档组织样品。

[1190] 对于第1部分的初始安全性评价中的参与者,第7周 ( $\pm 8$ 天) 的新鲜活体组织切片是任选的。在第1部分初始安全性评价 (至多前10名参与者) 后,需要为评估进一步安全性和PK/PD而入组的额外参与者提供筛选时和第7周 ( $\pm 8$ 天) 收集的成对新鲜活体组织切片。

[1191] 如果肿瘤适合活检并在参与者同意时,在第7周 ( $\pm 8$ 天) 收集的新鲜活体组织切片对于第2部分的参与者是任选的。然而,至少20名参与者需要在筛选时和第7周 ( $\pm 8$ 天) 收集成对新鲜肿瘤活体组织切片。

[1192] 在参与者同意后 ( $\pm 8$ 天),在成像评估时和/或在确认PR或PD时,在第19周 ( $\pm 8$ 天) 收集额外的可选新鲜肿瘤组织样品。

[1193] 当可行时,应当在组织收集之前完成肿瘤成像,以避免由活检程序所致的潜在影像学改变。

[1194] 通过IHC或其他潜在方法,评价这些组织的肿瘤浸润性淋巴细胞 (TIL) 和其他免疫细胞上的表型和功能性免疫细胞标志物以及肿瘤细胞上的免疫信号传导标志物的表达,以理解抗肿瘤应答。此外,如果可能,对进展后获得的肿瘤组织执行类似分析。另外,可对肿瘤组织测序,以评估T细胞多样性 (TCR多样性) 以及评价与应答相关的任何DNA/RNA/蛋白质变化,包括肿瘤突变负荷评估。还可以评价这些样品的应答的预测性测量,以包括在生物标志

物选择的群体中。

[1195] 3.5统计考虑和数据分析

[1196] 3.5.1第1部分

[1197] 第1部分的主要目的是在过渡到研究的第2部分之前确立实验方案的安全性和耐受性。

[1198] 使用由于仅评价一个剂量水平而作出一些额外修改的mTPI方法,指导安全性和耐受性。mTPI设计是毒性概率区间方法的扩展,并且采用简单的 $\beta$ -二项式层次化模型(Ji, 2010)。决策规则是基于计算与剂量不足、适当剂量以及毒性方面的过量剂量对应的三个区间的单位概率质量(UPM)。具体地,剂量不足区间被定义为 $(0, p_T - \epsilon_1)$ ,剂量过量区间被定义为 $(p_T + \epsilon_2, 1)$ ,并且适当剂量区间被定义为 $(p_T - \epsilon_1, p_T + \epsilon_2)$ ,其中 $p_T$ 为目标毒性率, $\epsilon_1$ 和 $\epsilon_2$ 是小分数,如0.05,以考虑关于真实目标毒性的不确定性。三个剂量区间与三种不同的剂量决策相关联。给定区间和概率分布,该区间的UPM被定义为该区间的概率除以该区间的长度。mTPI设计计算了三个给药区间的UPM,具有最大UPM的一者意味着相应的剂量探索决策。例如,如果过量剂量区间具有最大的UPM,则决策停止进一步的评价。

[1199] 在10名参与者进行至少两次基线后RECIST评估之后,进行ORR的无效性分析。最多入组15名参与者,以允许评估10名可评价参与者的无效性。如果在10名可评价参与者中观察到至少一种客观响应,则实验方案可进行到研究的第2部分。如果在10名可评价参与者中没有观察到客观响应,则可以停止实验方案的开发。决策将在评价其他终点后做出,并且将基于总体数据,包括疾病控制率终点。

[1200] 3.5.2第2部分

[1201] 第2部分的主要终点是OS。主要分析使基于比较该组合与标准护理的III期研究成功的预测概率。

[1202] 假设所观察的 $\log(HR)$ 和 $\log(HR)$ 平均值的先验均遵循正态分布,将使用 $\log(HR, 3)$ 期的后验分布、给定 $\log(HR, 2)$ 期来计算未来III期研究成功的预测概率。

[1203] 假设3期中的事件总数为210,并且使用3期试验成功的预测概率的70%或更大的截止值来定义组合的成功。

[1204] 3.5.3样品量确定

[1205] 第1部分将入组最多15名参与者。

[1206] 对于第2部分,经由模拟评价样品量和相关联操作特征。

[1207] 组合治疗中70名参与者的最大样品量以及对照组中最少35名参与者将入组。

[1208] 3.5.4分析群体

[1209] 意图是治疗群体(ITT)定义为随机接受治疗的所有参与者,无论参与者是否实际接受研究治疗。基于该群体来评价所有功效终点。

[1210] 安全性群体被定义为基于接受的实际治疗而接受至少1剂标准护理或实验方案(即,H2L5 IgG4PE和多塔利单抗+考伯利单抗)的所有参与者。基于该群体来评价所有安全性终点。

[1211] PK群体将由ITT群体的所有参与者组成,从该群体获得血样并分析PK浓度。

[1212] 3.5.5中期分析(第2部分)

[1213] 大约每3至6个月执行中期分析,这取决于应计的额外数据量。

- [1214] 执行基于OS的初始中期分析。
- [1215] 3.5.6药代动力学/药效学分析
- [1216] 如果认为适当并且如果数据允许,可以进行研究性药代动力学/药效学分析,如暴露(例如,剂量、 $C_{\max}$ 或 $C_{\min}$ )与临床终点(例如,抗肿瘤应答、生物标志物)之间的暴露-响应关系。
- [1217] 3.6疾病、疾病进展和响应标准评估指南—改编自RECIST 1.1版
- [1218] 3.6.1评估指南
- [1219] 评估指南如第2.6.1节所阐述。
- [1220] 3.6.2疾病评价指南
- [1221] 疾病评价指南如第2.6.2节所阐述。
- [1222] 3.7ECOG行为状态
- [1223] 如第2.7节中显示的汇总。
- [1224] 序列表

SEQ ID 号	序列	描述
1	DYAMH	ICOS 结合蛋白 CDRH1
2	LISYSDHTNYNQKFQG	ICOS 结合蛋白 CDRH2
3	NNYGNYGWYFDV	ICOS 结合蛋白 CDRH3
4	SASSSVSYMH	ICOS 结合蛋白 CDRL1
5	DTSKLAS	ICOS 结合蛋白 CDRL2
6	FQSGYPYT	ICOS 结合蛋白 CDRL3
7	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGYTFTDYAMHWV RQAPGQGLEWMGLISYSDHTNYNQKFQGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCGRNNYGNYGWYFDVWGQ GTTVTVSS	ICOS 人源化重链可变区(H2)
8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPG QAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSDYTLTISLPEDF AVYYCFQSGYPYTFGQGTKLEIK	ICOS 人源化轻链可变区(L5)
9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGYTFTDYAMHWV RQAPGQGLEWMGLISYSDHTNYNQKFQGRVTITADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCGRNNYGNYGWYFDVWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKTYTCNVDPKPKSTKVDKRVESKYGPPCPPCA PEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLGLK	ICOS 人源化单克隆抗体重链
10	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPG QAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSDYTLTISLPEDF AVYYCFQSGYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	ICOS 人源化单克隆抗体轻链
11	MKSGLWYFFLFCLRIKVL TGEINGSANYEMFIFHNGGVQI LCKYPDIVQQFKMQLLKGQILCDLTKTKGSGNTVSIKS LKFCHSQLSNNSVSFFLYNLDHSHANYFCNLSIFDPPPF KVTLTGGYLHIYESQLCCQLKFWLPIGCAAFVVVCILGCI LICWLTKKM	人 ICOS (同等型 2)
12	MKSGLWYFFLFCLRIKVL TGEINGSANYEMFIFHNGGVQI LCKYPDIVQQFKMQLLKGQILCDLTKTKGSGNTVSIKS LKFCHSQLSNNSVSFFLYNLDHSHANYFCNLSIFDPPPF KVTLTGGYLHIYESQLCCQLKFWLPIGCAAFVVVCILGCI LICWLTKKKYSSSVHDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTDV TL	人 ICOS (同等型 1)
13	SYDMS	PD-1 结合蛋白 CDRH1
14	TISGGGSYTTYQDSVKG	PD-1 结合蛋白 CDRH2
15	PYYAMDY	PD-1 结合蛋白 CDRH3
16	KASQDVGTA	PD-1 结合蛋白 CDRL1
17	WASTLHT	PD-1 结合蛋白 CDRL2

[1225]

18	QHYSSYPWT	PD-1 结合蛋白 CDRL3
19	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQ APGKGLEWVSTISGGGSYTTYQDSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYYAMDYWGQGTITVTS S	PD-1 重链可变区
20	DIQLTQSPSFLSAYVGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTLHTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP EDFATYYCQHYSSYPWTFGQGTKLEIK	PD-1 轻链可变区
21	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQ APGKGLEWVSTISGGGSYTTYQDSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYYAMDYWGQGTITVTS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTK TYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEHA LHNHYTQKSLSLGLK	PD-1 单克隆抗体重链
22	DIQLTQSPSFLSAYVGDRTITCKASQDVGTAVAWYQQK PGKAPKLLIYWASTLHTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP EDFATYYCQHYSSYPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSSITLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC	PD-1 单克隆抗体轻链
23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQ APGKGLEWVSTISGGGSYTTYQDSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYYAMDYWGQGTITVTS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTK TYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESDQENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEHA LHNHYTQKSLSLGLK	具有 N380D 修饰的 PD-1 重链序 列
24	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQ APGKGLEWVSTISGGGSYTTYQDSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYYAMDYWGQGTITVTS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTK TYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEDNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEHA LHNHYTQKSLSLGLK	具有 N385D 修饰的 PD-1 重链序 列
25	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMSWVRQ APGKGLEWVSTISGGGSYTTYQDSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYYAMDYWGQGTITVTS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV	具有 N380D 和 N385D 修饰的 PD-1 重链序列

[1226]

	SWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGK TYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESDQPEDNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLGLK	
26	QHNSYPWT	PD-1 结合蛋白 CDRL3 替代物
27	MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPTFS PALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESVLWYRMSPSNQTD KLAAPFEDRSQPGQDCFRVTVLQPNRDFHMSVVRARR NDSGYLTCGAIKSLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAH PSPSPRPAGQFQTLVVGTVGGLLGSLVLLVWVLAICSR AARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSDYGELEDFQWREK TPEPPVPCVPEQTEYATIVFSPGMGTSSPARRGSADGPRS AQPLRPEDGHCSWPL	NCBI 基因座号: NP_005009 中 的人 PD-1 氨基酸序列
28	MRIFAVFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIE CKFPVEKQLDLAALIVWEMEDKNIIQFVHGEEELKVVQH SSYRQRARLLKQSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMIS YGGADYKRITVKNAPYNKINQRILVVDVPTSEHELTQ AEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTS TLRINTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPPLAHPPN ERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQ DTNSKKQSDTHLEET	NCBI 基因座号: NP_054862 中 的人 PD-L1 氨基酸序列
29	MIFLLMLSLQLHLQIAALFTVTVPKELYIIEHGSNTLE CNFDTGSHVNLGAIASLQKVENDTSPHRERATLLEEQL PLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIIYGVAWDYKYLTLKV KASYRKINTHILKVPETDEVELTCQATGYPLAEVSWPNV SVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRKPPPGRNFSCVFWNT HVRELTLASIDLQSQMEPRTHPTWLLHIFIPFCIAFIFIATV IALRKQLCQKLYSSKDTTKRPVTTKREVNSAI	NCBI 基因座号: NP_079515 中 的人 PD-L2 氨基酸序列
30	SYDMS	TIM-3 结合蛋白 CDRH1
31	TISGGGTYTYQDSVKG	TIM-3 结合蛋白 CDRH2
32	MDY	TIM-3 结合蛋白 CDRH3
33	RASQSIRRYLN	TIM-3 结合蛋白 CDRL1
34	GASTLQS	TIM-3 结合蛋白 CDRL2
35	QQSHSAPLT	TIM-3 结合蛋白 CDRL3
36	EVQLESGLLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVR QAPGKGLDWVSTISGGGTYTYQDSVKGRFTISRDNKSN TL YLQMNSLRAEDTA VYYCASMDYWGQGTITVTVSS	TIM-3 重链可变区
37	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSIRRYLNWYHQKP GKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPE DFA VYYCQQSHSAPLTFGGGTKVEIK	TIM-3 轻链可变区
38	EVQLESGLLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVR QAPGKGLDWVSTISGGGTYTYQDSVKGRFTISRDNKSN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCASMDYWGQGTITVTVSSAS TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVF LFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM	TIM-3 单克隆抗体重链

[1227]

	TKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	
39	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIRRYLNWYHQKP GKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPE DFAVYYCQQSHSAPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC	TIM-3 单克隆抗体轻链
40	MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYRAEVGQNAYLPCF YTPAAPGNLVPVCWKGACPVFECGNVLRDTERDVN YWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIP GIMNDEKFNKLVKPAKVTTPAPTRQRDFTAAFPRMLTT RGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRD SGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKIQN LSLISLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYIEENVYEVVEEP NEYCYVSSRQQPSQPLGCRFAMP	人 TIM-3
41	GFTFSDYWMD	37A10S713 VH CDR1
42	NIDEDGSITEYSPFVKG	37A10S713 VH CDR2
43	WGRFGFDS	37A10S713 VH CDR3
44	KSSQSLLSGSFNYLT	37A10S713 VL CDR1
45	YASTRHT	37A10S713 VL CDR2
46	HHHYNAPPT	37A10S713 VL CDR3
47	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMDWVRQ APGKGLVWVSNIDEDGSITEYSPFVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCTRWGRFGFDSWGQGLVTVSS	37A10S713 重链可变区
48	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLSGSFNYLTWY QQKPGQPPKLLIFYASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFLTISS LQAEDVAVYYCHHHYNAPPTFGPGTKVDIK	37A10S713 轻链可变区
49	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYFMHWVR QAPGKGLEWVGVIDTKSFNYATYYSDLVKGRFTISRDDS KNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTATIAVPPYFDYWGQGT LVTVSS	ICOS.33 IgG1f S267E 重链可变区
50	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLSWYQQKP GKAPKLLIYYTNLLAEGVPSRFSGSGSGTDFFTISLQPE DIATYYCQQYYNYRTFGPGTKVDIK	ICOS.33 IgG1f S267E 轻链可变区
51	EVQLVESGGGVVRRPGGSLRLSCVAVSGVTFDDYGMWVR QAPGKGLEWVSGINWNGGDTDYSDSVKGRFTISRDNK NSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDYFGSGSYHVPFDYW GQGILVTVSS	STIM003 重链可变区
52	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQK RGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGDGSSTDFLTLSISRLEP EDFAVYYCHQYDMSPTFGPGTKVDIK	STIM003 轻链可变区
53	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTGYMHVWV RQAPGQGLEWGMWINPHSGETIYAQKFQGRVTMTRDTS ISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARTYDYDTSGYHDAFD VWGQGTMTVTVSS	XENP23104 [ICOS]_H0.66_L0 重链可变区
54	GYVMH	XENP23104 [ICOS]_H0.66_L0 CDRH1
55	WINPHSGETIYAQKFQG	XENP23104 [ICOS]_H0.66_L0 CDRH2
56	TYYYDTSGYHDAFDV	XENP23104 [ICOS]_H0.66_L0

[1228]

		CDRH3
57	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISRLAWYQQKPGKAPKLLIYVASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQANSFPWTFGQGTKVEIK	XENP23104 [ICOS]_H0.66_L0 轻链可变区
58	RASQGISRLA	XENP23104 [ICOS]_H0.66_L0 CDRL1
59	VASSLQS	XENP23104 [ICOS]_H0.66_L0 CDRL2
60	QQANSFPWT	XENP23104 [ICOS]_H0.66_L0 CDRL3

## 序列表

<110> 葛兰素史密斯克莱知识产权发展有限公司

<120> 涉及抗ICOS和抗PD1抗体,任选地进一步涉及抗TIM3抗体的癌症的组合治疗

<130> PB66867

<150> 63/009555

<151> 2020-04-14

<150> 63/110094

<151> 2020-11-05

<160> 60

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Asp Tyr Ala Met His

1                    5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Leu Ile Ser Ile Tyr Ser Asp His Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Gln

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<400> 3

Asn Asn Tyr Gly Asn Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val

1                    5                    10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 4

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His



<213> 智人

<400> 8

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

<210> 9

<211> 448

<212> PRT

<213> 智人

<400> 9

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Leu	Ile	Ser	Ile	Tyr	Ser	Asp	His	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
		50				55					60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85				90						95
Gly	Arg	Asn	Asn	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Gly	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly
			100					105					110		
Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
			115					120					125		
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala
			130				135							140	

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160  
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175  
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190  
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His  
 195 200 205  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly  
 210 215 220  
 Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser  
 225 230 235 240  
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 245 250 255  
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 275 280 285  
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
 290 295 300  
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 305 310 315 320  
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr  
 325 330 335  
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 340 345 350  
 Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 355 360 365  
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 370 375 380  
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 385 390 395 400  
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 405 410 415  
 Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 420 425 430  
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440 445

<210> 10

<211> 213  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 10  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1                   5                   10                   15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
                   20                   25                   30  
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr  
                   35                   40                   45  
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
                   50                   55                   60  
 Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
 65                   70                   75                   80  
 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Tyr Thr  
                   85                   90                   95  
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro  
                   100                   105                   110  
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr  
                   115                   120                   125  
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys  
                   130                   135                   140  
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu  
 145                   150                   155                   160  
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser  
                   165                   170                   175  
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala  
                   180                   185                   190  
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe  
                   195                   200                   205  
 Asn Arg Gly Glu Cys  
                   210  
 <210> 11  
 <211> 168  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 11  
 Met Lys Ser Gly Leu Trp Tyr Phe Phe Leu Phe Cys Leu Arg Ile Lys  
 1                   5                   10                   15

Val Leu Thr Gly Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile  
 20 25 30  
 Phe His Asn Gly Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val  
 35 40 45  
 Gln Gln Phe Lys Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp  
 50 55 60  
 Leu Thr Lys Thr Lys Gly Ser Gly Asn Thr Val Ser Ile Lys Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Phe Cys His Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu  
 85 90 95  
 Tyr Asn Leu Asp His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser  
 100 105 110  
 Ile Phe Asp Pro Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu  
 115 120 125  
 His Ile Tyr Glu Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro  
 130 135 140  
 Ile Gly Cys Ala Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu  
 145 150 155 160  
 Ile Cys Trp Leu Thr Lys Lys Met  
 165

<210> 12

<211> 199

<212> PRT

<213> 智人

<400> 12

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

Ile Phe Asp Pro Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu  
 115 120 125

His Ile Tyr Glu Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro  
 130 135 140

Ile Gly Cys Ala Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu  
 145 150 155 160

Ile Cys Trp Leu Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro  
 165 170 175

Asn Gly Glu Tyr Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser  
 180 185 190

Arg Leu Thr Asp Val Thr Leu  
 195

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<400> 13

Ser Tyr Asp Met Ser  
 1 5

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<400> 14

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

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 15

Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr  
 1 5

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 16

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala



<213> 智人

<400> 20

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

<210> 21

<211> 443

<212> PRT

<213> 智人

<400> 21

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                   5                   10                   15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                   25                   30  
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                   40                   45  
 Ser Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Gln Asp Ser Val  
                   50                   55                   60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65                   70                   75                   80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                   90                   95  
 Ala Ser Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val  
                   100                   105                   110  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
                   115                   120                   125  
 Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
                   130                   135                   140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190  
 Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
 210 215 220  
 Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 225 230 235 240  
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 245 250 255  
 Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
 260 265 270  
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 275 280 285  
 Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
 290 295 300  
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
 305 310 315 320  
 Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 325 330 335  
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu  
 340 345 350  
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 355 360 365  
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
 370 375 380  
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 385 390 395 400  
 Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly  
 405 410 415  
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 420 425 430  
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440

<210> 22

<211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 22  
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Tyr Val Gly  
 1                   5                   10                   15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala  
                   20                   25                   30  
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                   35                   40                   45  
 Tyr Trp Ala Ser Thr Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
                   50                   55                   60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65                   70                   75                   80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Trp  
                   85                   90                   95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
                   100                   105                   110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
                   115                   120                   125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
                   130                   135                   140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145                   150                   155                   160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
                   165                   170                   175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
                   180                   185                   190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
                   195                   200                   205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 23

<211> 443

<212> PRT

<213> 智人

<400> 23

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Gln Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Ser Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 115 120 125  
 Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 130 135 140  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 165 170 175  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 180 185 190  
 Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
 195 200 205  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
 210 215 220  
 Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 225 230 235 240  
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 245 250 255  
 Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
 260 265 270  
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 275 280 285  
 Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
 290 295 300  
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
 305 310 315 320  
 Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

	325		330		335										
Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu
	340		345		350										
Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe
	355		360		365										
Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asp	Gly	Gln	Pro	Glu
	370		375		380										
Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe
385			390		395		400								
Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly
	405		410		415										
Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr
	420		425		430										
Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys					
	435		440												
<210>	24														
<211>	443														
<212>	PRT														
<213>	智人														
<400>	24														
Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5		10		15								
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
	20		25		30										
Asp	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
	35		40		45										
Ser	Thr	Ile	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Tyr	Gln	Asp	Ser	Val
	50		55		60										
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65			70		75		80								
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
	85		90		95										
Ala	Ser	Pro	Tyr	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val
	100		105		110										
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
	115		120		125										
Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
	130		135		140										
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly

145	150	155	160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser			
	165	170	175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu			
	180	185	190
Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr			
	195	200	205
Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro			
	210	215	220
Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro			
225	230	235	240
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr			
	245	250	255
Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn			
	260	265	270
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg			
	275	280	285
Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val			
	290	295	300
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser			
305	310	315	320
Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys			
	325	330	335
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu			
	340	345	350
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe			
	355	360	365
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu			
	370	375	380
Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe			
385	390	395	400
Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly			
	405	410	415
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr			
	420	425	430
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys			
	435	440	

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 443

<212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 25  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                   5                   10                   15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
                   20                   25                   30  
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                   40                   45  
 Ser Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Gln Asp Ser Val  
                   50                   55                   60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65                   70                   75                   80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                   90                   95  
 Ala Ser Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val  
                   100                   105                   110  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
                   115                   120                   125  
 Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
                   130                   135                   140  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 145                   150                   155                   160  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
                   165                   170                   175  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
                   180                   185                   190  
 Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
                   195                   200                   205  
 Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
                   210                   215                   220  
 Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 225                   230                   235                   240  
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
                   245                   250                   255  
 Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn  
                   260                   265                   270  
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
                   275                   280                   285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
 290 295 300  
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
 305 310 315 320  
 Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
 325 330 335  
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu  
 340 345 350  
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
 355 360 365  
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu  
 370 375 380  
 Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 385 390 395 400  
 Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly  
 405 410 415  
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
 420 425 430  
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440  
 <210> 26  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 26  
 Gln His Tyr Asn Ser Tyr Pro Trp Thr  
 1 5  
 <210> 27  
 <211> 288  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 27  
 Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln  
 1 5 10 15  
 Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp  
 20 25 30  
 Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp  
 35 40 45  
 Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val



35	40	45
Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile		
50	55	60
Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser		
65	70	75
Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn		
85	90	95
Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr		
100	105	110
Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val		
115	120	125
Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val		
130	135	140
Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr		
145	150	155
Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser		
165	170	175
Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn		
180	185	190
Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr		
195	200	205
Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu		
210	215	220
Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His		
225	230	235
Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr		
245	250	255
Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys		
260	265	270
Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu		
275	280	285
Glu Thr		
290		
<210> 29		
<211> 273		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 29		
Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln		

1	5	10	15
Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile			
	20	25	30
Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser			
	35	40	45
His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn			
	50	55	60
Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu			
65	70	75	80
Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp			
	85	90	95
Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr			
	100	105	110
Lys Tyr Leu Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr			
	115	120	125
His Ile Leu Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln			
	130	135	140
Ala Thr Gly Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val			
145	150	155	160
Pro Ala Asn Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val			
	165	170	175
Thr Ser Val Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys			
	180	185	190
Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp			
	195	200	205
Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr Trp Leu Leu His			
	210	215	220
Ile Phe Ile Pro Phe Cys Ile Ile Ala Phe Ile Phe Ile Ala Thr Val			
225	230	235	240
Ile Ala Leu Arg Lys Gln Leu Cys Gln Lys Leu Tyr Ser Ser Lys Asp			
	245	250	255
Thr Thr Lys Arg Pro Val Thr Thr Thr Lys Arg Glu Val Asn Ser Ala			
	260	265	270

Ile

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 30

Ser Tyr Asp Met Ser

1 5

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<400> 31

Thr Ile Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Gln Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 32

<211> 3

<212> PRT

<213> 智人

<400> 32

Met Asp Tyr

1

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人

<400> 33

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Arg Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 34

Gly Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 35

Gln Gln Ser His Ser Ala Pro Leu Thr

1 5

<210> 36

<211> 113

<212> PRT

<213> 智人

<400> 36

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

Ser

<210> 37

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 37

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

<210> 38

<211> 440



Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 290 295 300  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly  
 305 310 315 320  
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 325 330 335  
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr  
 340 345 350  
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 355 360 365  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 370 375 380  
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 385 390 395 400  
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe  
 405 410 415  
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 420 425 430  
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440  
 <210> 39  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 39  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Arg Tyr  
 20 25 30  
 Leu Asn Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Ala Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210> 40  
 <211> 301  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 40  
 Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln  
 20 25 30  
 Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu  
 35 40 45  
 Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly  
 50 55 60  
 Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser  
 65 70 75 80  
 Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr  
 85 90 95  
 Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile  
 100 105 110  
 Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val  
 115 120 125  
 Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe  
 130 135 140  
 Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala  
 145 150 155 160



1                    5  
 <210> 44  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 44  
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly Ser Phe Asn Tyr Leu Thr  
 1                    5                    10                    15  
 <210> 45  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 45  
 Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr  
 1                    5  
 <210> 46  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 46  
 His His His Tyr Asn Ala Pro Pro Thr  
 1                    5  
 <210> 47  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 47  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser  
 1                    5                    10                    15  
 Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp  
                   20                    25                    30  
 Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val Ser  
                   35                    40                    45  
 Asn Ile Asp Glu Asp Gly Ser Ile Thr Glu Tyr Ser Pro Phe Val Lys  
                   50                    55                    60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
 65                    70                    75                    80  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr  
                   85                    90                    95

Arg Trp Gly Arg Phe Gly Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ser  
 115  
 <210> 48  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 48  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly  
 20 25 30  
 Ser Phe Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
 35 40 45  
 Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp  
 50 55 60  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys His His His Tyr  
 85 90 95  
 Asn Ala Pro Pro Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
 100 105 110  
 <210> 49  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 49  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30  
 Phe Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Gly Val Ile Asp Thr Lys Ser Phe Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ser Asp  
 50 55 60  
 Leu Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr  
 65 70 75 80  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

	85		90		95
Tyr Cys Thr	Ala Thr Ile Ala Val	Pro Tyr Tyr Phe Asp	Tyr Trp Gly		
	100		105		110
Gln Gly Thr	Leu Val Thr Val Ser Ser				
	115		120		
<210>	50				
<211>	106				
<212>	PRT				
<213>	智人				
<400>	50				
Asp Ile Gln Met	Thr Gln Ser Pro Ser	Ser Leu Ser Ala Ser	Val Gly		
1	5		10		15
Asp Arg Val Thr	Ile Thr Cys Gln Ala Ser	Gln Asp Ile Ser	Asn Tyr		
	20		25		30
Leu Ser Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro Gly	Lys Ala Pro Lys	Leu Leu Ile		
	35		40		45
Tyr Tyr Thr Asn	Leu Leu Ala Glu Gly	Val Pro Ser Arg	Phe Ser Gly		
	50		55		60
Ser Gly Ser Gly	Thr Asp Phe Thr Phe	Thr Ile Ser Ser	Leu Gln Pro		
65		70		75	
Glu Asp Ile Ala	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln	Tyr Tyr Asn Tyr	Arg Thr		
	85		90		95
Phe Gly Pro Gly	Thr Lys Val Asp Ile	Lys			
	100		105		
<210>	51				
<211>	124				
<212>	PRT				
<213>	智人				
<400>	51				
Glu Val Gln Leu	Val Glu Ser Gly Gly	Gly Val Val Arg	Pro Gly Gly		
1	5		10		15
Ser Leu Arg Leu	Ser Cys Val Ala Ser	Gly Val Thr Phe	Asp Asp Tyr		
	20		25		30
Gly Met Ser Trp	Val Arg Gln Ala Pro	Gly Lys Gly Leu	Glu Trp Val		
	35		40		45
Ser Gly Ile Asn	Trp Asn Gly Gly	Asp Thr Asp Tyr	Ser Asp Ser	Val	
	50		55		60
Lys Gly Arg Phe	Thr Ile Ser Arg	Asp Asn Ala Lys	Asn Ser Leu	Tyr	
65		70		75	
					80



65		70		75		80									
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Ala	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Asp	Thr	Ser	Gly	Tyr	Tyr	His	Asp	Ala	Phe
			100					105					110		
Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
		115					120						125		
<210> 54															
<211> 5															
<212> PRT															
<213> 智人															
<400> 54															
Gly	Tyr	Tyr	Met	His											
1				5											
<210> 55															
<211> 17															
<212> PRT															
<213> 智人															
<400> 55															
Trp	Ile	Asn	Pro	His	Ser	Gly	Glu	Thr	Ile	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	
Gly															
<210> 56															
<211> 16															
<212> PRT															
<213> 智人															
<400> 56															
Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Asp	Thr	Ser	Gly	Tyr	Tyr	His	Asp	Ala	Phe	Asp	Val
1				5					10					15	
<210> 57															
<211> 107															
<212> PRT															
<213> 智人															
<400> 57															
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Arg	Leu
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile

	35		40		45														
	Tyr	Val	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly			
	50						55					60							
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro			
	65					70					75				80				
	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ala	Asn	Ser	Phe	Pro	Trp			
					85					90				95					
	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys								
				100					105										

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 58

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

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 59

Val	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser
1				5		

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 60

Gln	Gln	Ala	Asn	Ser	Phe	Pro	Trp	Thr
1			5					

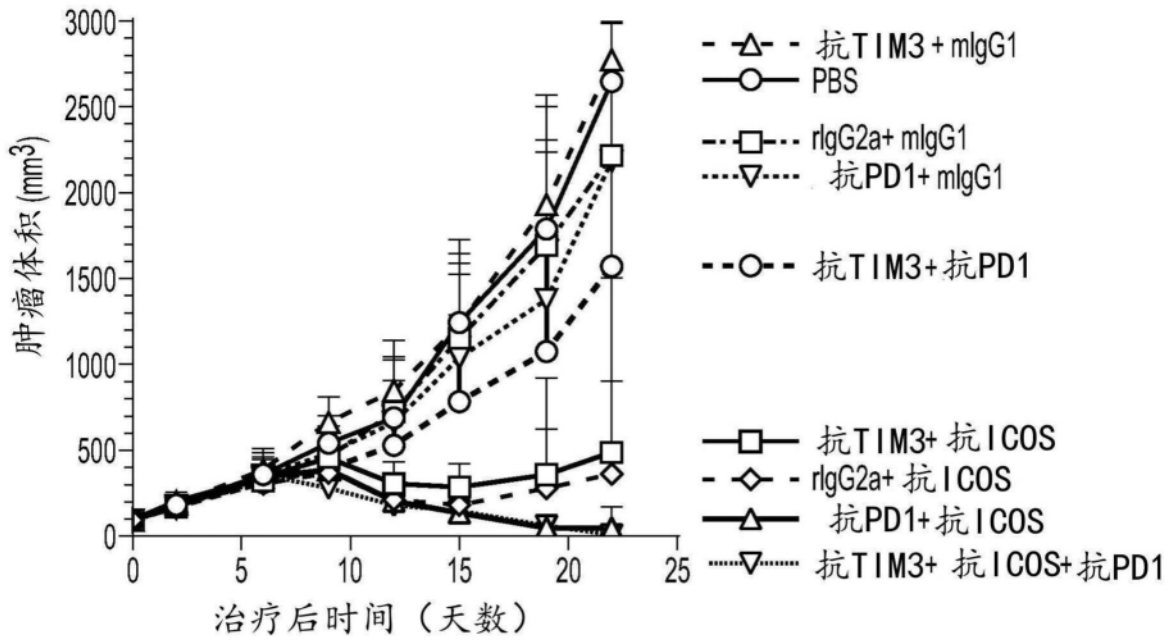


图1A

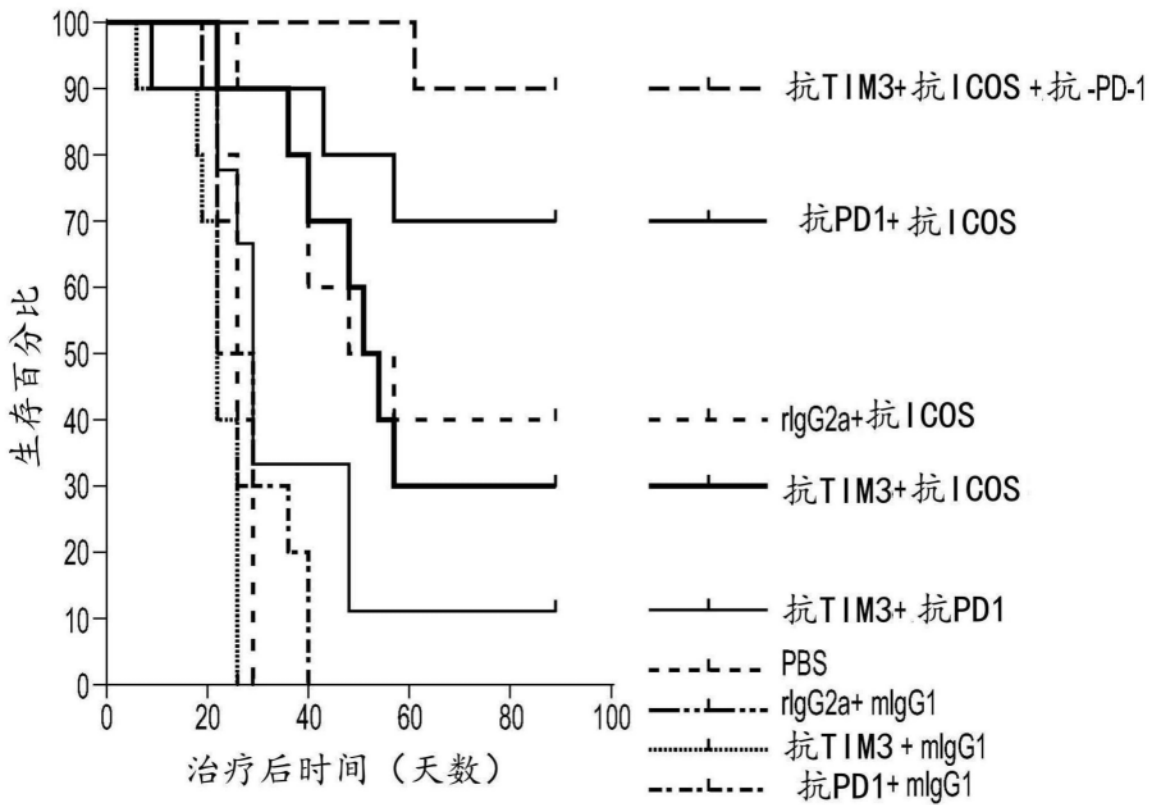


图1B

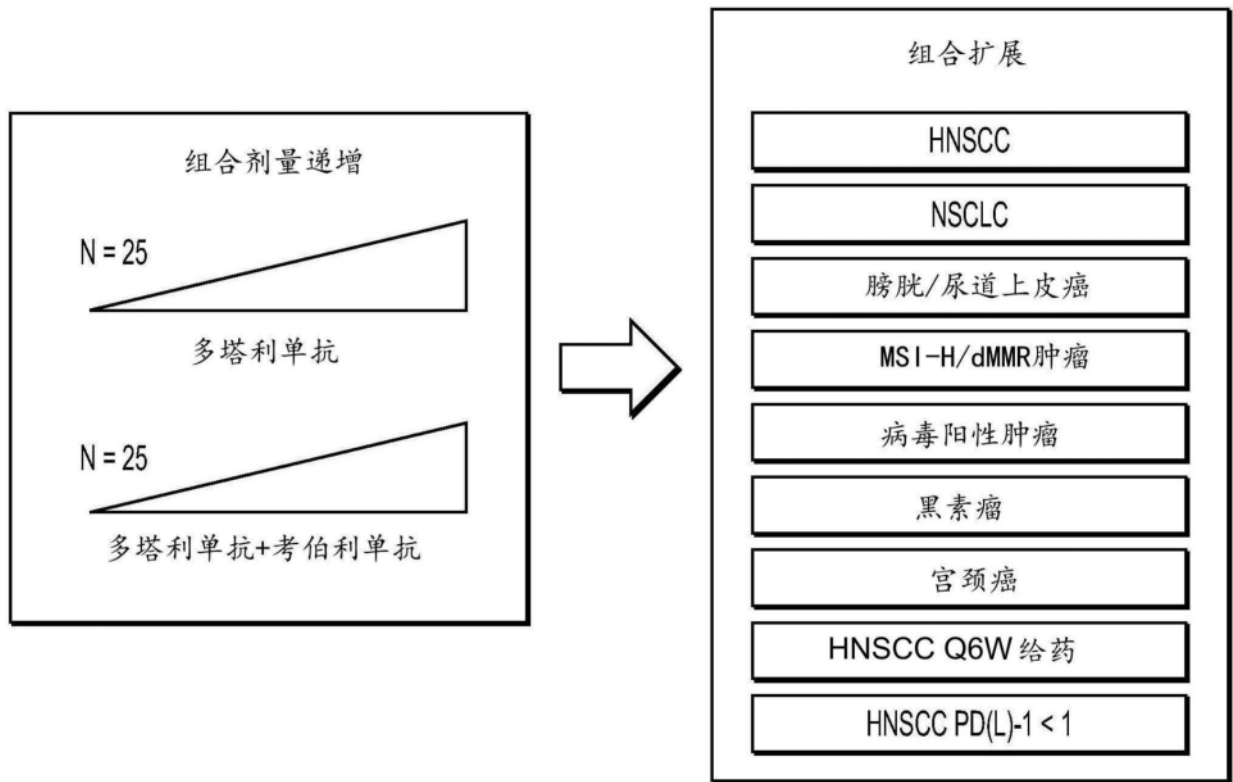


图2

		当前剂量下治疗的患者的数量																															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
剂量限制性毒性 (DLT) 的数量	0	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E		
	1	D	S	S	S	S	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	
	2		DU	D	S	S	S	S	S	S	S	S	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	
	3			DU	DU	D	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	
	4				DU	DU	DU	D	D	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	E	E	E	E	E	E	E	E	E	
	5					DU	DU	DU	DU	DU	D	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	E	E	E	E
	6						DU	DU	DU	DU	DU	D	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	E
	7							DU	DU	DU	DU	DU	DU	D	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	8								DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	D	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	9									DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	10										DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	D	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	11											DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	S	S	S	S	S	S
	12												DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	S	S	S
	13													DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	S
	14														DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	15															DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	16																DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	17																	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	18																		DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	19																			DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	20																				DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	21																					DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	22																						DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	23																							DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	24																								DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	25																									DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	26																										DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
	27																												DU	DU	DU	DU	DU
	28																														DU	DU	DU
	29																															DU	DU
	30																																DU

E=递增至下一较高剂量  
 S=在当前剂量下保持  
 D=递减至下一较低剂量  
 U=当前剂量是不可接受的毒性

MTD = 30%  
 样本量=30  
 EPSILON1 = 0.05  
 EPSILON2 = 0.05

图3

研究程序	筛选	治疗期周数											治疗中断	随访	
		0	1	2	3	4	5	6	9	12	>12				
知情同意	X														
人口统计学	X														
入选和排除标准	X														
医疗史 (既往和当前)	X														
疾病特征	X														
通过22C3 PharmDx进行 PD-L1 IHC的测定结果 (2B部分, 仅HNSCC PD-L1 CPS <1群组)	X														
ICOS IHC测定 (仅对于生 物标志物群组)	X														
VENTANA PD-L1 (SP263) IHC测定 (仅对于 含有多塔利单抗的群组)	X														
入组后或筛选期间的 基因签名测定 (仅对于生 物标志物群组)	X	X													
抗癌疗法	X														X
受试者登记	X														
安全性评估															
身体检查	X	X			X			X	X	X	Q3W		X		
ECOG PS	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Q3W		X		
生命体征、身高和体重	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Q3W		X		
超声心动图	X														
12导联ECG	X	X			X			X	X	X	Q12w		X		

图4A

研究程序	筛选	治疗期周数										治疗中断	随访
		0	1	2	3	4	5	6	9	12	>12		
AE/SAE审查		续：签署ICF起每次访视时评估										X	X
并用药物审查		续：研究治疗的第一剂起 每次访视时评估										X	Q12W
<b>安全性实验室评估</b>													
乙型和丙型肝炎	X												
血清β-hCG	X												
血液学/临床化学	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Q3W	X	
甲状腺功能	X							X	X	Q6W	X		
肌钙蛋白		X			X			X	X	X	Q3W	X	
尿分析	X		X	X	X	X	X	X	X	X	Q3W	X	
<b>组合研究治疗</b>													
施用Q3W H2L5 hlgG4PE		X			X			X	X	X	Q3W		
施用Q6W H2L5 hlgG4PE		X						X	X		Q6W		
施用多塔利单抗		X			X			X	X	X	Q6W (剂量变化)		
施用多塔利单抗加考伯利单抗		X			X			X	X	X	对于多塔利单抗 Q6W (剂量变化) 对于考伯利单抗 继续Q3W		
<b>功效评估</b>													
肿瘤成像/临床检查	X							X			Q9W	X	X
生存率随访													每12周

缩写：AE=不良事件；AESI=特别关注的不良事件；β-hCG=β-人绒毛膜促性腺激素；  
 ECG =心电图；ECHO=超声心动图；ECOG PS =东部肿瘤协作组行为得分；  
 EOI=输注结束；ICF=知情同意书；irRECIST=免疫相关RECIST；MUGA=多门采集扫描；  
 RECIST=实体瘤的反应评价标准；SAE=严重不良事件；W=周

图4B

研究程序	筛选	治疗期周数天数												最后一剂后30天	最后一剂后12周
		0		1	2	3	4	5	6	9	12	15	≥18		
		1#	2	8	15	22*	29	36	43*#	64*	85*#	106*	≥127*#		
<b>肿瘤标本</b>															
存档肿瘤组织	X														
新鲜肿瘤活体组织检查	X							X						X	
<b>药效学/免疫原性血液标本</b>															
全血： 受体占有/ 免疫表型		PRE, EOI+4h	EOI +24h	X	X	PRE, EOI+4h		PRE, EOI+4h		PRE, EOI+4h				X	
PBMC		PRE		X		PRE <sup>5</sup>		PRE	PRE	PRE		PRE (仅第18周)		X	
血浆和血清		PRE EOI+4h	EOI +24h	X		PRE <sup>17</sup> EOI+4h		PRE EOI+4h	PRE EOI+4h			PRE EOI +4h (仅第18周)		X	
血清H2L5 hIgG4PE Q3W 免疫原性		PRE				PRE		PRE	PRE	PRE	PRE	PRE		X	X
血清H2L5 hIgG4PE Q6W 免疫原性		PRE						PRE		PRE		PRE		X	X

图5A

研究程序	筛选	治疗期周数天数												最后一剂 后30天	最后一剂 后12 周
		0	1	2	3	4	5	6	9	12	15	≥18			
		1*#	2	8	15	22*	29	36	43*#	64*	85*#	106*	≥127*#		
多塔利单抗 免疫原性		PRE				PRE					PRE	PRE	第18周 时前 剂量, 然后 每18周	X(治疗 结束和 EOT+30d)	X
考伯利单抗 免疫原性		PRE				PRE			PRE	PRE	PRE	PRE	第18周 时前 剂量, 然后 每18周	X(治疗 结束和 EOT+30d)	X
血清: IRR实验 室组		EOI +4h				EOI +4h			EOI +4h	EOI +4h	EOI +4h	EOI +4h	EOI +4h		
药代动力学血液标本															
H2L5 hlgG4PE (Q3W)		X10	EOI +24h	X	X	PRE EOI +4h	X	X	PRE EOI +4h	PRE EOI +4h	PRE EOI +4h	PRE EOI +4h	PRE	X	X
H2L5 hlgG4PE (Q6W)		X10	EOI +24h	X	X	X	X	X	PRE EOI +4h	X	PRE EOI +4h	PRE	PRE	X	X
多塔利单抗		PRE, EOI				PRE, EOI							PRE 第18周 时EOI, 然后每 18周仅 前剂量	X(治疗 结束和 EOT+30d)	X

图5B

研究程序	筛选	治疗期周数天数												最后一剂 后30天	最后 一剂 后12 周		
		0	1	2	3	4	5	6	9	12	15	≥18					
		1*#	2	8	15	22*	29	36	43*#	64*	85*#	106*	≥127*#				
考伯利单抗		PRE, EOI + 0.5h				PRE, EOI + 0.5h				PRE, EOI + 0.5h	PRE, EOI + 0.5h	PRE, EOI + 0.5h	PRE, EOI + 0.5h	PRE, 第 18周时 EOI + 0.5h直 到第36 周 , 然后 此后每 18周仅 前剂量	X (治疗结束 和EOI+ 30d)	X	
遗传研究血液标本																	
全血		X															

\*指示Q3W方案的给药日;#指示Q6W方案的给药日

图5C

研究程序	筛选	治疗期周数								治疗中断	随访
		0	3	6	9	12	15	18	>54		
EORTC QLQ-C30		X	X	X	X	X	X	Q9W	Q12W	X	
PRO-CTCAE		X	X	X	X	X	X	Q9W	Q12W	X	
FACT GP5		X	X	X	X	X	X	Q9W	Q12W	X	

图6