(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117794569 A
(43)申请公布日 2024.03.29

(21)申请号 202280037120.1
(22)申请日 2022.03.28
(30)优先权数据
63/167,111 2021.03.28 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.11.22
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/022198 2022.03.28
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/212286 EN 2022.10.06
(71)申请人 天演药业公司
地址 新加坡莱佛士码头16号丰隆大厦#33-03
(72)发明人 罗培志 刘桂中 龚常华 郑松茂
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

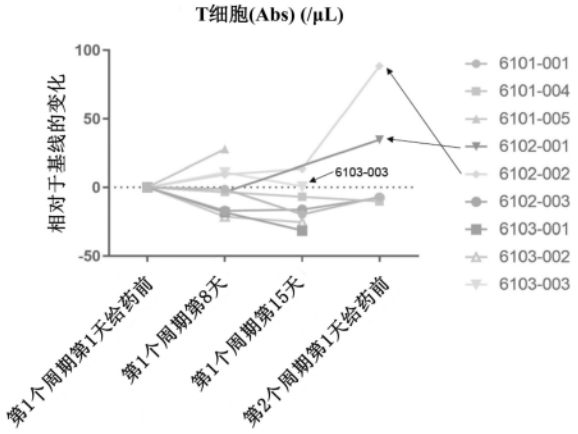
权利要求书6页 说明书68页
序列表64页 附图49页

(54)发明名称

使用抗CTLA4抗体治疗癌症的方法

(57)摘要

本发明提供使用抗CTLA4抗体治疗癌症的组合物和方法,包括对PD-1或PD-L1抑制剂具有耐药性或难治性的癌症。还提供了用于本文所述的治疗方法的生物标志物,例如CD8+效应记忆T(T_{em})细胞、CD4+T_{em}细胞、调节性T(T_{reg})细胞和自然杀伤(NK)细胞的水平。



CN 117794569 A

1.一种治疗受试者癌症的方法,包括:(a)向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,(b)随后确定受试者的样品中选自由以下组成的组中一种或多种生物标志物水平:IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、干扰素(IFN)-γ、肿瘤坏死因数(TNF)-α、可溶性CTLA4(sCTLA4)、可溶性PD-L1(sPD-L1)、可溶性CD25(sCD25)、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+T细胞、CD4+T细胞、CD8+效应记忆T(T_{em})细胞、CD4+T_{em}细胞、调节性T(T_{reg})细胞、CD8+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞。

2.如权利要求1所述的方法,其中与一种或多种生物标志物的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后选自CD8+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T_{em}细胞、CD4+T_{em}细胞、CD8+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组的一种或多种生物标志物水平增加表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。

3.如权利要求1或2所述的方法,其中与一种或多种生物标志物的基线水平相比,样品施用抗CTLA4抗体后选自CD8+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T_{em}细胞、CD4+T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组的一种或多种生物标志物水平增加,所述方法还包含向受试者施用进一步周期的有效量的抗CTLA4抗体。

4.如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中与T_{reg}细胞的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后T_{reg}细胞的水平降低表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。

5.如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中与T_{reg}细胞的基线水平相比,样品施用抗CTLA4抗体后T_{reg}细胞的水平降低,所述方法还包含向受试者施用进一步周期的有效量的抗CTLA4抗体。

6.一种为受试者提供预后的方法,受试者已经施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108;所述方法包含确定受试者的样品中选自由以下组成的组中一种或多种生物标志物水平:CD8+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T_{em}细胞、CD4+T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞、B细胞,其中:(a)与一种或多种生物标志物的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后选自CD8+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T_{em}细胞、CD4+T_{em}细胞、CD8+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组的一种或多种生物标志物水平增加表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加;和/或(b)与T_{reg}细胞的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后T_{reg}细胞的水平降低表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。

7.如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中一种或多种生物标志物包含CD8+T_{em}细胞。

8.如权利要求1-7中任一项所述的方法,其中一种或多种生物标志物包含CD4+T_{em}细胞。

9.如权利要求1-8中任一项所述的方法,其中一种或多种生物标志物包含NK细胞。

10.如权利要求1-9中任一项所述的方法,其中一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。

11.如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中一种或多种生物标志物包含CD8+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。

12.如权利要求1-11中任一项所述的方法,其中一种或多种生物标志物包含CD4+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。

13.如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述样品为血液样品。

14.如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述样品为肿瘤活检样品。

15.如权利要求1-14中任一项所述的方法,其中癌症对先前疗法具有耐药性或难治性,其中先前疗法为CTLA4、PD-1或PD-1配体抑制剂。

16.一种治疗受试者癌症的方法,包含向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,及其中癌症对先前疗法具有耐药性或难治性,其中先前疗法为CTLA4、PD-1或PD-1配体抑制剂。

17.如权利要求15或16所述的方法,其中所述先前疗法为抗PD-1抗体。

18.如权利要求17所述的方法,其中所述抗PD-1抗体为帕母单抗或纳武单抗。

19.如权利要求1-18中任一项所述的方法,其中所述癌症为实体癌症。

20.如权利要求19所述的方法,其中所述癌症为尿路上皮癌。

21.如权利要求19所述的方法,其中所述癌症为肾细胞癌。

22.如权利要求19所述的方法,其中所述癌症为胰腺癌。

23.如权利要求1-22中任一项所述的方法,其中所述癌症为晚期癌症。

24.如权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述癌症为转移性癌症。

25.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体以约0.001mg/kg至约15mg/kg的剂量施用。

26.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体以约0.001mg/kg至约10mg/kg的剂量施用。

27.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体以至少约0.03mg/kg、约1mg/kg、约3mg/kg、约6mg/kg、约10mg/kg、或约15mg/kg的剂量施用。

28.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体以至少约3mg/kg或至少约10mg/kg的剂量施用。

29.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体以约3mg/kg的剂量施用。

30.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体以约6mg/kg的剂量施用。

31.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体以约10mg/kg的剂量施用。

32.如权利要求1-31中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体为静脉内施用。

33.如权利要求1-32中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体约每三周施用一次。

34.如权利要求1-33中任一项所述的方法,其中所述受试者接受至少4个周期的抗CTLA4抗体治疗。

35.如权利要求34所述的方法,其中所述受试者还接受维持治疗,包括大约每四周一次至大约每十二周一次向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体。

36.如权利要求1-35中任一项所述的方法,其中所述受试者为人。

37.如权利要求1-36中任一项所述的方法,其中:

a)所述抗体以约350nM或更小的解离常数(K_D)结合人CTLA4、食蟹猴CTLA4、小鼠CTLA4、

大鼠CTLA4和狗CTLA4。

b)所述抗CTLA4抗体的结合诱导针对CTLA4表达性人细胞或人Treg细胞的抗体依赖性细胞细胞毒性(ADCC),其中所述抗CTLA4抗体的ADCC活性比伊匹木单抗的ADCC活性更高;和/或

c)在其中当CD80和/或CD86进行板结合时或当人CTLA4存在于细胞表面上时的测定中,对于阻断CD80和/或CD86与人CTLA4的结合,所述抗CTLA4抗体具有的IC50比伊匹木单抗的IC50更高。

38.如权利要求1-37中任一项所述的方法,其中所述抗体包括重链可变区和轻链可变区,

a)其中所述重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,

其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式(I):X1TFSX2YX3IHWV(SEQ ID NO:1),其中X1是F或Y,X2是D或G,并且X3是A、G或W;

式(II):YSIX1SGX2X3WX4WI(SEQ ID NO:2),其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D或S;和

式(III):FSLSTGGVAVX1WI(SEQ ID NO:3),其中X1是G或S;

其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式(IV):IGX1IX2HSGSTYYSX3SLKSRV(SEQ ID NO:4),其中X1是D或E,X2是S或Y,并且X3是P或Q;

式(V):IGX1ISPSX2GX3TX4YAQKFQGRV(SEQ ID NO:5),其中X1是I或W,X2是G或S,X3是G或S,并且X4是K或N;和

式(VI):VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF(SEQ ID NO:6),其中X1是A、G或S,X2是S或Y,X3是G或S,并且X4是S或T;并且

其中所述HVR-H3包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式(VII):ARX1X2X3X4FDX5(SEQ ID NO:7),其中X1是G、R或S,X2是A、I或Y,X3是D、V或Y,X4是A、E或Y,并且X5是I或Y;

式(VIII):ARX1GX2GYFDX3(SEQ ID NO:8),其中X1是D或L,X2是F或Y,并且X3是V或Y;

式(IX):ARX1X2X3X4AX5X6FDY(SEQ ID NO:9),其中X1是L或R,X2是I或P,X3是A或Y,X4是S或T,X5是T或Y,并且X6是A或Y;

式(X):ARDX1X2X3GSSGYYX4GFDX5(SEQ ID NO:10),其中X1是I或V,X2是A或H,X3是P或S,X4是D或Y,并且X5是F或V;和

b)其中所述轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,

其中所述HVR-L1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式(XI):RASQX1X2X3SX4LX5(SEQ ID NO:11),其中X1是G或S,X2是I或V,X3是G或S,X4是S或Y,并且X5是A或N;

式(XII):RASQX1VX2X3RX4LA(SEQ ID NO:12),其中X1是S或T,X2是F、R或S,X3是G或S,并且X4是F或Y;和

式(XIII):RASX1SVDFX2GX3SFLX4(SEQ ID NO:13),其中X1是E或Q,X2是D、F、H或Y,X3是F、I或K,并且X4是A、D或H;

其中所述HVR-L2包含根据式(XIV):X1ASX2X3X4X5GX6(SEQ ID NO:14)的氨基酸序列,

其中X1是A或D,X2是N、S或T,X3是L或R,X4是A、E或Q,X5是S或T,并且X6是I或V;并且

其中所述HVR-L3包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:

式(XV):YCX1X2X3X4X5X6PX7T(SEQ ID NO:15),其中X1是E、Q或V,X2是H或Q,X3是A、G、H、R或S,X4是D、L、S或Y,X5是E、G、P、Q或S,X6是L、T、V或W,并且X7是F、L、P、W或Y;

式(XVI):YCQQX1X2X3WPPWT(SEQ ID NO:16),其中X1是S或Y,X2是D或Y,并且X3是Q或Y;和

式(XVII):YCQX1YX2SSPPX3YT(SEQ ID NO:17),

其中X1是H或Q,X2是T或V,并且X3是E或V。

39.如权利要求38的方法,其中所述抗体包括:

a)含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L3;

b)含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L3;

c)含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3;

d)含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HVR-L3;

e)含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的HVR-L3;

f)含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3;

g)含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的HVR-L3;

h)含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的HVR-L3;

i)含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的HVR-L3;

j)含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的HVR-L3;

k)含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的HVR-L3;

l)含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HVR-L3;或

m)含有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的HVR-L3。

40.如权利要求38或39所述的方法,其中所述抗体包含:

a)含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链可变区;

b)含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的轻链可变区;

c)含有SEQ ID NO:84的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的轻链可变区;

d)含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的轻链可变区;

e)含有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的轻链可变区;

f)含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区;

g)含有SEQ ID NO:88的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的轻链可变区;

h)含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的轻链可变区;

i)含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的轻链可变区;

j)含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:104的氨基酸序列的轻链可变区;

k)含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的轻链可变区;

l)含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:106的氨基酸序列的轻链可变区;或

m)含有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的重链可变区,和含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的轻链可变区。

41.如权利要求1-37中任一项所述的方法,其中所述抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2和含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3,和/或轻链可变区,所述轻链可变区

包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3;或(b)含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。

42.如权利要求1-37中任一项所述的方法,其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。

43.如权利要求1-37中任一项所述的方法,其中所述抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。

44.如权利要求41-43中任一项所述的方法,其中所述抗体为人抗体。

45.如权利要求1-44中任一项所述的方法,其中所述抗体包含人IgG1 Fc区或具有增强ADCC活性的变体。

46.如权利要求1-45中任一项所述的方法,还包含向受试者施用治疗有效量的至少一种额外治疗剂。

使用抗CTLA4抗体治疗癌症的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2021年3月28日提交的美国临时专利申请号63/167,111的优先权,出于所有目的将公开以引用方式整体并入本文。

[0003] 采用ASCII文本文件进行的序列表提交

[0004] ASCII文本文件上的以下提交的内容以引用方式整体并入本文:计算机可读形式(CRF)的序列表(文件名:6954020013405EQLIST.TXT,记录日期:2022年3月25日,大小98,612bytes)。

技术领域

[0005] 本申请属于癌症治疗领域,且涉及使用与人CTLA4结合的抗体治疗癌症的组合物和方法。

背景技术

[0006] CTLA4是免疫球蛋白(Ig)蛋白质超家族的起下调T细胞活化以及维持免疫原性体内平衡的作用的成员。已显示在同种同基因鼠前列腺癌模型中,体内抗体介导的CTLA4阻断使抗癌免疫应答增强(Kwon等(1997)Proc Natl Acad Sci USA,94(15):8099-103)。此外,显示阻断CTLA4功能会在携带肿瘤的小鼠中,在各种肿瘤生长阶段下,使抗肿瘤T细胞应答增强(Yang等(1997)Cancer Res 57(18):4036-41;Hurwitz等(1998)Proc Natl Acad Sci USA 95(17):10067-7)。然而,对适于人类使用的基于抗体的治疗剂的开发仍然是困难的,因为从临床前动物模型向人类安全性的转化经常是不良的。因此,存在对在不同物种诸如人和实验动物(例如小鼠、猴、大鼠等)之间具有交叉反应性的抗CTLA4抗体的需要,以并行地能够进行动物模型研究以及提供适合人治疗性候选物。此外,存在对开发仅在某些情形下诸如在富含蛋白酶的肿瘤微环境中具有活性的更安全抗CTLA4抗体的需要。

发明内容

[0007] 本申请提供使用抗CTLA4抗体治疗癌症的方法,以及使用生物标志物(例如,药效学生物标志物)来确定患者对抗CTLA4抗体治疗的应答性、调整治疗剂量和给药方案、及监测治疗预后的方法。

[0008] 因此,在一个方面,本文提供治疗受试者癌症的方法,包括:(a)向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中所述抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,(b)随后确定受试者的样品中选自由以下组成的组中一种或多种生物标志物水平:IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、干扰素(IFN)-γ、肿瘤坏死因子(TNF)-α、可溶性CTLA4(sCTLA4)、可溶性PD-L1(sPD-L1)、可溶性CD25(sCD25)、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+效应记忆T(T_{em})细胞、CD4+ T_{em}细胞、调节性T(T_{reg})细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞。在一些实施方案中,与一种或多种生物标志物的基线水平相比,施用

抗CTLA4抗体后一种或多种生物标志物增加或减少表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。在一些实施方案中,与一种或多种生物标志物的基线水平相比,其中样品在施用抗CTLA4抗体后一种或多种生物标志物增加或减少,所述方法还包含向受试者施用进一步周期的有效量的抗CTLA4抗体。

[0009] 在另一方面,本文提供为受试者提供预后的方法,受试者已经施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108;所述方法包含确定受试者的样品中选自由以下组成的组中一种或多种生物标志物水平:IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、IFN-γ、TNF-α、sCTLA4、sPD-L1、sCD25、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞,其中,与一种或多种生物标志物的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后一种或多种生物标志物增加或减少表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。

[0010] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含选自由CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组的一种或多种生物标志物。在一些实施方案中,与一种或多种生物标志物的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞的水平增加表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含NK细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中,与T_{reg}细胞的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后T_{reg}细胞水平的降低表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。

[0011] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,所述样品是血液样品。在一些实施方案中,所述样品是肿瘤活检样品。

[0012] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,癌症对先前疗法具有耐药性或难治性,其中先前疗法是CTLA4、PD-1或PD-1配体抑制剂。在一些实施方案中,受试者对先前疗法具有耐药性或已经从先前疗法中复发,其中先前疗法是CTLA4、PD-1或PD-1配体抑制剂。在一些实施方案中,先前疗法是CTLA4抑制剂,例如伊匹木单抗。在一些实施方案中,先前疗法是PD-1抑制剂,例如抗PD-1抗体,如派姆单抗。在一些实施方案中,先前疗法是PD-1配体(例如PD-L1)抑制剂,如抗PD-L1抗体。在一些实施方案中,先前疗法包括CTLA4抑制剂和PD-1抑制剂。在一些实施方案中,先前疗法包括CTLA4抑制剂和PD-L1抑制剂。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含人IgG1 Fc区,例如野生型IgG1 Fc区或具有增强ADCC活性的变体。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID

NO:125的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体是TY21580。

[0013] 本申请的另一方面提供治疗受试者癌症的方法,包括向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,且其中癌症对先前疗法具有耐药性或难治性,其中先前疗法是CTLA4、PD-1或PD-1配体抑制剂。在一些实施方案中,本申请提供治疗受试者癌症的方法,包括向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,且其中受试者对先前疗法具有耐药性或已经从先前疗法中复发,其中先前疗法是CTLA4、PD-1或PD-1配体抑制剂。在一些实施方案中,先前疗法是CTLA4抑制剂,例如伊匹木单抗。在一些实施方案中,先前疗法是PD-1抑制剂,例如抗PD-1抗体,如派姆单抗。在一些实施方案中,先前疗法是PD-1配体抑制剂(如,PD-L1),例如抗PD-L1抗体。

[0014] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,所述癌症是肝癌、消化系统癌症(例如结肠癌、结肠直肠癌)、肺癌、骨癌、心脏癌、脑癌、肾癌、膀胱癌、血液癌症(例如白血病)、皮肤癌、乳腺癌、甲状腺癌、胰腺癌、头部和/或颈部癌症、眼相关癌症、男性生殖系统癌症(例如前列腺癌、睾丸癌)或女性生殖系统癌症(例如子宫癌、子宫颈癌)。在一些实施方案中,所述癌症是实体癌。在一些实施方案中,所述癌症是尿路上皮癌。在一些实施方案中,所述癌症是晚期癌症。在一些实施方案中,所述癌症是转移性癌症。

[0015] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约0.001mg/kg至约20mg/kg的剂量施用。在根据上述任一方法的其它实施方案中,抗CTLA4抗体以约0.001mg/kg至约10mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以至少约0.03mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以至少约6mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约0.03mg/kg、0.1mg/kg、0.3mg/kg、1.0mg/kg、3.0mg/kg、6.0mg/kg、10.0mg/kg、15mg/kg或20mg/kg的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是静脉内施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是皮下施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体大约每三周施用一次。在一些实施方案中,受试者接受至少4个周期的抗CTLA4抗体治疗。在一些实施方案中,受试者还接受维持治疗,包括大约每四周一次至大约每十二周一次(例如,每4、6、8、10或12周一次)向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体。

[0016] 本申请的另一方面提供治疗受试者癌症的方法,包括向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,且其中抗CTLA4抗体以至少6mg/kg的剂量施用。

[0017] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约6mg/kg(例如6mg/kg)的剂量施用。

[0018] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约10mg/kg(例如10mg/kg)的剂量施用。

[0019] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约3mg/kg(例如3mg/kg)的剂量每三周施用一次。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约6mg/kg(例如6mg/kg)的剂量每三周施用一次。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约10mg/kg(例如10mg/kg)的剂量每三周施用一次。在一些

实施方案中,抗CTLA4抗体以约10mg/kg(例如10mg/kg)的剂量每三周施用一次。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约15mg/kg(例如15mg/kg)的剂量每三周施用一次。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约20mg/kg(例如15mg/kg)的剂量每三周施用一次。在一些实施方案中,所述癌症是尿路上皮癌。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含人IgG1 Fc区,例如野生型IgG1 Fc区或具有增强ADCC活性的变体。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体是TY21580。

[0020] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,所述受试者是人。

[0021] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,抗CTLA4抗体与来自至少一种选自由食蟹猴、小鼠、大鼠和狗组成的组的非人动物的CTLA4多肽具有交叉反应性。在一些实施方案中,抗体结合食蟹猴CTLA4和小鼠CTLA4。在一些实施方案中,抗体以约350nM或更小(例如约300nM或更小、约200nM或更小、约100nM或更小、约50nM或更小、或约10nM或更小)的解离常数(K_D)结合人CTLA4、食蟹猴CTLA4、小鼠CTLA4、大鼠CTLA4和/或狗CTLA4。在一些实施方案中,KD通过表面等离子体共振(SPR)测量。在一些实施方案中,抗体与CTLA4的结合诱导针对CTLA4表达性细胞的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。在一些实施方案中,抗体与CTLA4的结合诱导针对Treg细胞的ADCC。在一些实施方案中,本文所述的抗CTLA4抗体的结合诱导针对CTLA4表达性人细胞或人Treg细胞的抗体依赖性细胞细胞毒性(ADCC),其中在体外,抗CTLA4抗体的ADCC活性高于伊匹木单抗(ipilimumab)的ADCC活性,并且其中两种抗体均包含野生型人IgG1 Fc区。在一些实施方案中,本文所述的抗CTLA4抗体的结合诱导针对CTLA4表达性人细胞或人Treg细胞的抗体依赖性细胞细胞毒性(ADCC),其中在体外,抗CTLA4抗体的ADCC活性是伊匹木单抗的ADCC活性的两倍或更高,并且其中两种抗体均包含野生型人IgG1 Fc区。在一些实施方案中,在体外,抗CTLA4抗体ADCC活性的EC50是伊匹木单抗ADCC活性的EC50的50%或更小。在一些实施方案中,在小鼠癌症模型中,相较于PBMC或脾,抗CTLA4抗体选择性地使肿瘤微环境中的Treg细胞消减(例如使肿瘤浸润性淋巴细胞中的Treg细胞的百分比降低)。

[0022] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,抗体特异性结合包含在人CTLA4的配体结合位点诸如人CTLA4的CD80和/或CD86结合位点处的氨基酸残基的表位。在一些实施方案中,抗体特异性结合与人CTLA4的配体结合位点诸如人CTLA4的CD80和/或CD86结合位点类似的表位。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体阻断CD80和/或CD86与人CTLA4的结合。在一些实施方案中,对于阻断CD80和/或CD86与人CTLA4的结合,抗CTLA4抗体具有的IC50高于伊匹木单抗的IC50。在一些实施方案中,在用CD86或CD80进行板结合,而CTLA4处于溶液中或CTLA4展示在细胞表面上的测定中,对于阻断CD80和/或CD86与人CTLA4的结合,抗CTLA4抗体具有的IC50是伊匹木单抗的IC50的3.5倍或更高(包括3.9倍或更高)。

[0023] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,抗体包含重链可变区和轻链

可变区,a)其中所述重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:式(I):X1TFSX2YX3IHWV(SEQ ID NO:1),其中X1是F或Y,X2是D或G,并且X3是A、G或W;式(II):YSIX1SGX2X3WX4WI(SEQ ID NO:2),其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D或S;和式(III):FSLSTGGVAVX1WI(SEQ ID NO:3),其中X1是G或S;其中所述HVR-H2包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:式(IV):IGX1IX2HSGSTYYSX3SLKSRV(SEQ ID NO:4),其中X1是D或E,X2是S或Y,并且X3是P或Q;式(V):IGX1ISPSX2GX3TX4YAQKFQGRV(SEQ ID NO:5),其中X1是I或W,X2是G或S,X3是G或S,并且X4是K或N;和式(VI):VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF(SEQ ID NO:6),其中X1是A、G或S,X2是S或Y,X3是G或S,并且X4是S或T;并且其中所述HVR-H3包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:式(VII):ARX1X2X3X4FDX5(SEQ ID NO:7),其中X1是G、R或S,X2是A、I或Y,X3是D、V或Y,X4是A、E或Y,并且X5是I或Y;式(VIII):ARX1GX2GYFDX3(SEQ ID NO:8),其中X1是D或L,X2是F或Y,并且X3是V或Y;式(IX):ARX1X2X3X4AX5X6FDY(SEQ ID NO:9),其中X1是L或R,X2是I或P,X3是A或Y,X4是S或T,X5是T或Y,并且X6是A或Y;式(X):ARDX1X2X3GSSGYYX4GFDX5(SEQ ID NO:10),其中X1是I或V,X2是A或H,X3是P或S,X4是D或Y,并且X5是F或V,并且b)其中所述轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:式(XI):RASQX1X2X3SX4LX5(SEQ ID NO:11),其中X1是G或S,X2是I或V,X3是G或S,X4是S或Y,并且X5是A或N;式(XII):RASQX1VX2X3RX4LA(SEQ ID NO:12),其中X1是S或T,X2是F、R或S,X3是G或S,并且X4是F或Y;和式(XIII):RASX1SVDFX2GX3SFLX4(SEQ ID NO:13),其中X1是E或Q,X2是D、F、H或Y,X3是F、I或K,并且X4是A、D或H;其中所述HVR-L2包含根据式(XIV):X1ASX2X3X4X5GX6(SEQ ID NO:14)的氨基酸序列,其中X1是A或D,X2是N、S或T,X3是L或R,X4是A、E或Q,X5是S或T,并且X6是I或V;并且其中所述HVR-L3包含根据选自由以下组成的组的式的氨基酸序列:式(XV):YCX1X2X3X4X5X6PX7T(SEQ ID NO:15),其中X1是E、Q或V,X2是H或Q,X3是A、G、H、R或S,X4是D、L、S或Y,X5是E、G、P、Q或S,X6是L、T、V或W,并且X7是F、L、P、W或Y;式(XVI):YCQQX1X2X3WPPWT(SEQ ID NO:16),其中X1是S或Y,X2是D或Y,并且X3是Q或Y;和式(XVII):YCQX1YX2SSPPX3YT(SEQ ID NO:17),其中X1是H或Q,X2是T或V,并且X3是E或V。在一些实施方案中,HVR-H1包含选自由SEQ ID NO:18-29组成的组的氨基酸序列,HVR-H2包含选自由SEQ ID NO:30-39组成的组的氨基酸序列,HVR-H3包含选自由SEQ ID NO:40-52组成的组的氨基酸序列,HVR-L1包含选自由SEQ ID NO:53-65组成的组的氨基酸序列,HVR-L2包含选自由SEQ ID NO:66-69组成的组的氨基酸序列,并且HVR-L3包含选自由SEQ ID NO:70-81组成的组的氨基酸序列。在一些实施例中,抗体包含:a)含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L3;b)含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L3;c)含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2,和含有

SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3;d)含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HVR-L3;e)含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的HVR-L3;f)含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3;g)含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的HVR-L3;h)含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的HVR-L3;i)含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的HVR-L3;j)含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的HVR-L3;k)含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的HVR-L3;l)含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HVR-L3;或m)含有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H2,含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3,含有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施例中,重链可变区包含选自由SEQ ID NO:82-94组成的组的氨基酸序列,和/或轻链可变区包含选自由SEQ ID NO:95-107组成的组的氨基酸序列。在一些实施例中,抗体包含:a)含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:82的氨基酸序列具有至少约90%(例如,至少约92%、95%、98%、99%或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:95的氨基酸序列具有至少约90%(例如,至少约92%、95%、98%、99%或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;b)含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:83的氨基酸序列具有至少约90%(例如,至少约92%、95%、98%、99%或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:96的氨基酸序列具有至少约90%(例如,至少约92%、

95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;c)含有SEQ ID NO:84的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:84的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:97的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;d)含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:85的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:98的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:98的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;e)含有SEQ ID NO:86的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:86的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:99的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:99的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;f)含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;g)含有SEQ ID NO:88的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:88的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:101的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;h)含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:89的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:102的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;i)含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:90的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:103的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;j)含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:91的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:104的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:104的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;k)含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:92的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:105的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;l)含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:93的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:106的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:106的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区;或m)含有SEQ ID NO:94的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:94的氨基酸序列具

有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的重链可变区,以及含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列或其与SEQ ID NO:107的氨基酸序列具有至少约90％(例如,至少约92％、95％、98％、99％或更大)序列同一性的变体的轻链可变区。

[0024] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,本文所述的抗CTLA4抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中抗体的一个、两个、三个、四个、五个或六个HVR包含表A中所示的HVR序列。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3的重链可变区,其中所述HVR-H1包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列,或所述HVR-H2包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列,或所述HVR-H3包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3的轻链可变区,其中所述HVR-L1包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列,或所述HVR-L2包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列,或所述HVR-L3包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1,含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2,和含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3,和/或轻链可变区,所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1,含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2,和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体的HVR中的一者、两者、三者、四者、五者或六者可在HVR中包含一个、两个或三个保守性氨基酸取代。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含(b)重链可变区,所述重链可变区包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90％(例如,91％、92％、93％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列,和/或轻链可变区,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90％(例如,91％、92％、93％、95％、96％、97％、98％或99％)序列同一性的氨基酸序列。

[0025] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,抗体是人抗体。在一些实施方案中,抗体包含IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区(诸如人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区)。在一些实施方案中,抗体包含人IgG1或具有增强的ADCC活性的变体。在一些实施方案中,抗体包含具有降低的海藻糖基化(或非海藻糖基化)的人IgG1。

[0026] 在根据上文所述方法中的任一者的一些实施方案中,方法还包括向受试者施用有效量的至少一种额外治疗剂。在一些实施方案中,至少一种额外治疗剂选自由病毒基因疗法、免疫检查点抑制剂、靶向疗法、放射疗法、疫苗接种疗法和化学疗法组成的组。在一些实施方案中,方法包括在用以移除受试者中的肿瘤的手术之前或在所述手术之后向受试者施用有效量的本文所述的抗CTLA4抗体。

[0027] 应了解,以上以及本文中所述的各种实施方案的性质中的一者、一些或全部可加以组合以形成本公开的其他实施方案。本公开的这些和其他方面将变得为本领域技术人员显而易知。本公开的这些和其他实施方案通过随后具体实施方式来进一步描述。

附图说明

[0028] 图1示出在抗CTLA4抗体TY21580治疗的患者中,T细胞水平相对于基线随时间的变化。x轴显示采样时间,y轴显示每μL的T细胞绝对计数相对于基线的百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。

[0029] 图2示出在TY21580治疗的患者中,NK细胞水平相对于基线随时间的变化。x轴显示

采样时间,y轴显示每μL的NK细胞绝对计数相对于基线的百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。

[0030] 图3示出在TY21580治疗的患者中,T_{reg}细胞占总CD4+ T细胞群体的随时间的百分比。x轴显示采样时间,y轴显示T_{reg}水平相对于基线的百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。

[0031] 图4示出在TY21580治疗的患者中,TY21580不同剂量群组中T细胞水平相对于基线的变化。x轴显示剂量,y轴显示每μL的T细胞绝对计数相对于基线的百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。

[0032] 图5示出在TY21580治疗的患者中,TY21580不同剂量群组中NK细胞水平相对于基线的变化。x轴显示剂量,y轴显示每μL的NK细胞绝对计数相对于基线的百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。

[0033] 图6示出在TY21580治疗的患者中,TY21580不同剂量群组中T_{reg}细胞占总CD4+ T细胞群体的百分比。x轴显示剂量,y轴显示T_{reg}水平相对于基线的百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。

[0034] 图7示出在TY21580治疗的患者中,TY21580不同剂量群组中效应记忆(EM)CD8+ T细胞占总CD8+ T细胞群体的百分比。x轴显示剂量,y轴显示EM CD8+ T细胞水平相对于基线的百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。

[0035] 图8示出在TY21580治疗的患者中,TY21580不同剂量群组中EM $CD4^+$ T细胞占总CD4+ T细胞群体的百分比。x轴显示剂量,y轴显示EM $CD4^+$ T细胞水平相对于基线的百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。

[0036] 图9A-9C示出当TY21580剂量为0.1mg/kg或0.3mg/kg时,三名受试者的淋巴细胞剖析结果。图9A(从左到右)示出受试者6102-003在0.1mg/kg剂量下的$CD8^+$ T_{EM}/Treg比率的百分比变化、$CD8^+$ T_{EM}细胞的百分比变化、以及T_{reg}细胞的百分比变化。图9B(从左到右)示出受试者6101-004在0.1mg/kg剂量下的$CD8^+$ T_{EM}/Treg比率的百分比变化、$CD8^+$ T_{EM}细胞的百分比变化、以及T_{reg}细胞的百分比变化。图9C(从左到右)示出受试者6101-005在0.3mg/kg剂量下的$CD8^+$ T_{EM}/Treg比率的百分比变化、$CD8^+$ T_{EM}细胞的百分比变化、以及T_{reg}细胞的百分比变化。在各图中,x轴显示采样时间,且y轴显示相对于基线的百分比变化。

[0037] 图10示出当TY21580的剂量为0.03mg/kg时,受试者6102-002的淋巴细胞剖析结果。该图示出(顶行从左到右)$CD8^+$ T_{EM}/Treg比率的百分比变化、$CD8^+$ T_{EM}细胞的百分比变化、和T_{reg}细胞的百分比变化,以及(底行从左到右)$CD4^+$ T_{EM}细胞的百分比变化、NK细胞的百分比变化、和B细胞的百分比变化。在各图中,x轴显示采样时间,且y轴显示相对于基线的百分比变化。

[0038] 图11示出在1期研究中使用2房室模型的TY21580的群体药代动力学建模结果。

[0039] 图12A-12B示出1期研究的群体药代动力学建模结果。图12A显示拟合优度图。图12B显示诊断图。

[0040] 图13示出在TY21580治疗的患者中,TY21580不同剂量群组中$CD8^+$ T_{EM}/T_{reg}细胞比率的百分比变化。x轴显示剂量,y轴显示百分比,且线条代表来自不同受试者的值。

[0041] 图14示出在TY21580治疗的患者中,TY21580不同剂量群组中$CD4^+$ T_{EM}/T_{reg}细胞比率的百分比变化。x轴显示剂量,y轴显示百分比,且线条代表来自不同受试者的值。

[0042] 图15A-15D示出有关正在进行的研究的信息。图15A描述本研究的给药方案。图15B示出有关正在进行的研究的受试者信息,并提供有关每种TY21580给药的数量和持续时间信息。图15C示出受试者#23在C1D1给药前和C2D1之间的CD8+ T细胞增加。图15D示出本研究患者经历过的与治疗相关的不良事件。

[0043] 图16示出TY21580的血清药代动力学。x轴显示给药后天数,y轴显示在患者血清中测量的药物浓度,且线条代表不同的剂量。

[0044] 图17A-17C示出在TY21580治疗的患者中动力学血清IFN-γ水平。图17A示出在TY21580治疗的患者中IFN-γ相对丰度相对于基线的变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。图17B示出在TY21580治疗的患者中,在基线和C1D2之间的IFN-γ相对丰度变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。图17C示出在TY21580治疗的患者中,自C1D2的IFN-γ相对于基线的百分比变化散点图。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。

[0045] 图18A-18B示出在TY21580治疗的患者中TNFα变化。图18A示出在TY21580治疗的患者中TNFα相对丰度相对于基线的变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。图18B示出用TY21580治疗,自C1D2的TNFα相对于基线的百分比变化散点图。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。

[0046] 图19A和19B示出在TY21580治疗的患者中IL-6变化。图20A示出在TY21580治疗的患者中IL-6相对丰度相对于基线的变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。图19B示出在TY21580治疗的患者中,自C1D2的IL-6相对于基线的百分比变化散点图。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。

[0047] 图20A和20B示出在TY21580治疗的患者中IL-10变化。图20A示出在TY21580治疗的患者中IL-10相对丰度相对于基线的变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。图20B示出在TY21580治疗的患者中,自C1D2的IL-10相对于基线的百分比变化散点图。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。

[0048] 图21A-21C示出在TY21580治疗的患者中sPD-L1变化。图21A示出在TY21580治疗的患者中sPD-L1的丰度。x轴显示剂量群组,y轴显示sPD-L1浓度,且线条代表来自不同受试者的值。图21B示出在TY21580治疗的患者中sPD-L1相对于基线的相对丰度的变化。x轴显示剂量群组,y轴显示相对于基线的百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。图21C示出在TY21580治疗的患者中,自C1D8的sPD-L1相对于基线的百分比变化散点图。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。

[0049] 图22A和22B示出在TY21580治疗的患者中sCD25变化。图22A示出TY21580治疗的患者中sCD25相对丰度相对于基线的变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且线条代表来自不同受试者的值。图22B示出在TY21580治疗的患者中,自C1D8的sCD25相对于基线的百分比变化散点图。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。

[0050] 图23A和23B示出在TY21580治疗的患者中CXCL-11变化。图23A示出TY21580治疗的患者中CXCL-11相对丰度相对于基线的变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且线

条代表来自不同受试者的值。图23B示出TY21580治疗的患者中,自C1D8的CXCL-11相对于基线的百分比变化散点图。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。

[0051] 图24A-24E示出在TY21580治疗的患者中CD4+ T细胞变化。图24A示出在TY21580治疗的患者中CD4+ T细胞水平相对于基线随时间的变化。x轴显示剂量群组,y轴显示每μL细胞绝对水平相对于基线的变化,且线条代表来自不同受试者的值。突出显示来自几个患者(#4、#19、#22、#23)的值。图24B示出在TY21580治疗的患者中,CD4+ T细胞绝对水平在C1D8相对于基线的百分比变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。图24C示出在TY21580治疗的患者中,CD4+ T细胞绝对计数从基线到C1D8的变化。x轴显示时间点,y轴显示每μL绝对计数,且线条代表来自不同受试者的值。图24D示出在TY21580治疗的患者中,CD4+T细胞绝对水平在C1D15相对于基线的百分比变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。图24E示出在TY21580治疗的患者中,CD4+CD8-T细胞绝对计数从基线到C1D15的变化。x轴显示时间点,y轴显示每μL绝对计数,且线条代表来自不同受试者的值。

[0052] 图25A-25E示出在TY21580治疗的患者中CD8+ T细胞变化。图25A示出在TY21580治疗的患者中CD8+ T细胞水平相对于基线随时间的变化。x轴显示剂量群组,y轴显示每μL细胞绝对水平相对于基线的变化,且线条代表来自不同受试者的值。突出显示来自几个患者(#4、#19、#22、#23)的值。图25B示出TY21580治疗的患者中,CD8+ T细胞绝对水平在C1D8相对于基线的百分比变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。图25C示出在TY21580治疗的患者中,CD8+ T细胞绝对计数从基线到C1D8的变化。x轴显示时间点,y轴显示每μL绝对计数,且线条代表来自不同受试者的值。图25D示出在TY21580治疗的患者中,CD8+T细胞绝对水平在C1D15相对于基线的百分比变化。x轴显示剂量群组,y轴显示百分比变化,且点代表来自不同受试者的值。图25E示出在TY21580治疗的患者中,CD8+ T细胞绝对计数从基线到C1D15的变化。x轴显示时间点,y轴显示每μL绝对计数,且线条代表来自不同受试者的值。

[0053] 图26A和26B示出在TY21580治疗的患者中NK细胞变化。图26A示出在TY21580治疗的患者中,NK细胞绝对计数在C1D8相对于基线的变化。x轴显示时间点,y轴显示每μL绝对计数,且线条代表来自不同受试者的值。图26B示出在TY21580治疗的患者中,NK细胞绝对计数在C1D15相对于基线的变化。x轴显示时间点,y轴显示每μL绝对计数,且线条代表来自不同受试者的值。

[0054] 图27示出CTLA4的3D结构及其与伊匹木单抗和TY21580的相互作用。

[0055] 图28示出在hCTLA4敲入背景中,经MC38肿瘤处理的肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)中的Treg消减和CD8/Treg值。

[0056] 图29示出对人受试者静脉内施用TY21580后,不同剂量水平的TY21580的血浆C_{max}。

[0057] 图30示出对人受试者静脉内施用TY21580后,不同剂量水平的TY21580的预测$AUC_{(0-\infty)}$。

[0058] 图31示出一项模拟PK研究,用于预测人受试者施用不同剂量TY21580的血清浓度水平。

具体实施方式

[0059] I.定义

[0060] 除非本文另外定义,否则与本申请关联使用的科学和技术术语将具有由本领域普通技术人员通常所理解的含义。另外,除非上下文另有要求,否则单数术语应包括复数,并且复数术语应包括单数。一般来说,本文所述的抗体工程改造、免疫疗法、细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学和蛋白质及核酸化学使用的命名法和技术是本领域中所熟知且常用的。

[0061] 术语“抗体”在本文中在最广泛意义上使用,并且明确涵盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、多特异性抗体(例如双特异性抗体、三特异性抗体)和抗体片段(例如Fab、Fab’、Fab’-SH、$F(ab')_2$、Fv和/或单链可变片段或scFv),只要它们展现所需生物活性即可。

[0062] 在一些实施方案中,术语“抗体”是指具有由两条相同的重(H)链和两条相同的轻(L)链组成的基本四多肽链结构的抗原结合蛋白(即,免疫球蛋白)。各L链通过一个共价二硫键连接至H链,同时两条H链取决于H链同种型通过一个或多个二硫键彼此连接。每条重链在N末端具有可变区(在本文缩写为V_H),接着是恒定区。重链恒定区包含三个结构域:C_{H1}、C_{H2}和C_{H3}。每条轻链在N末端具有可变区(在本文缩写为V_I),接着是在其另一端的恒定区。轻链恒定区包含一个结构域,C_L。将V_L与V_H比对并且将C_L与重链的第一恒定结构域(CH1)比对。V_H和V_L的配对一起形成单一抗原结合位点。IgM抗体由5个基本的异四聚体单元以及被称为J链的另一多肽组成,因此含有10个抗原结合位点;而分泌型IgA抗体可聚合形成包含2-5个基本的4链单元以及J链的多价装配物。

[0063] V_H和V_L区还可以基于结构和序列分析细分成具有高变性的区域,称为高变区(HVR)。HVR散布有更加保守的区域,称为框架区(FW)(参见例如,Chen等人(1999)J.Mol.Biol.(1999)293,865-881)。各V_H和V_L由三个HVR和四个FW组成,以下列顺序从氨基末端到羧基末端排列:FW-1_HVR-1_FW-2_HVR-2_FW-3_HVR-3_FW4。在本公开通篇,重链的三个HVR被称为HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3。类似地,轻链的三个HVR被称为HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3。

[0064] 如本文所用,术语“CDR”或“互补决定区”旨在表示在重链和轻链多肽的可变区内发现的非连续抗原结合位点。这些特定区域已被描述于Kabat等人,J.Biol.Chem.252:6609-6616(1977);Kabat等人,U.S.Dept.of Health and Human Services,“Sequences of proteins of immunological interest”(1991);Chothia等人,J.Mol.Biol.196:901-917(1987);Al-Lazikani B等人,J.Mol.Biol.,273:927-948(1997);MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996);Abhinandan和Martin,Mol.Immunol.,45:3832-3839(2008);Lefranc M.P.等人,Dev.Comp.Immunol.,27:55-77(2003);以及Honegger和Plückthun,J.Mol.Biol.,309:657-670(2001),其中所述定义包括彼此比较时氨基酸残基的重叠或子集。然而,任一定义的抗体或移植抗体或其变体的CDR的应用旨在处于本文定义和使用的术语的范围内。下表I中列出了氨基酸残基,其包含由上述引用各个文献中定义的CDRs,作为比较。CDR预测算法和界面在本领域中是已知的,包括例如Abhinandan和Martin,Mol.Immunol.,45:3832-3839(2008);Ehrenmann F.等人,Nucleic Acids Res.,38:D301-D307(2010);和Adolf-Bryfogle J.等人,Nucleic Acids Res.,43:D432-D438(2015)。本段

中引用的参考文献的内容通过引用方式整体并入本文,以用于本发明并且可能包括在本文的一个或多个权利要求中。

[0065] 表I:CDR定义

	Kabat[1]	Chothia[2]	MacCallum[3]	IMGT[4]	AHo[5]
VH CDR1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
VH CDR2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
VH CDR3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
VL CDR1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
VL CDR2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
VL CDR3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

[0066]

[0067] [1]残基编号遵循Kabat等人的命名法,同上

[0068] [2]残基编号遵循Chothia等人的命名法,同上

[0069] [3]残基编号遵循MacCallum等人的命名法,同上

[0070] [4]残基编号遵循Lefranc等人的命名法,同上

[0071] [5]残基编号遵循Honegger及Plückthun的命名法,同上

[0072] 重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和经典补体系统的第一组分(Clq)。在轻链和重链内,可变区和恒定区通过具有约12个或更多个氨基酸的“J”区连接,其中重链还包括具有约10个或更多个氨基酸的“D”区(参见例如,Fundamental Immunology第7章(Paul,W.编辑第2版,Raven Press,N.Y).(1989))。

[0073] 来自任何脊椎动物物种的L链可基于其恒定结构域的氨基酸序列指定为两种明显不同类型(称为κ和λ)中的一者。取决于其重链的恒定结构域(CH)的氨基酸序列,抗体可分为不同的种类或同种型。存在五类抗体:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其分别具有被命名为α(alpha)、δ(delta)、ε(epsilon)、γ(gamma)和μ(mu)的重链。IgG类抗体可以分别通过γ重链Y1-Y4进一步分类为四个亚类IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。

[0074] 术语“抗体衍生物”或抗体的“衍生物”是指能够与所述抗体结合的相同抗原(例如,CTLA4)且包含与另一分子实体连接的所述抗体的氨基酸序列的分子。抗体衍生物中包含的抗体氨基酸序列可以是全长重链、全长轻链、全长重链的任何一个或多个部分、全长轻链的任何一个或多个部分、抗体的其他片段,或互补抗体。另一分子实体可以是化学或生物分子。另一分子实体的实例包括化学基团、氨基酸、肽、蛋白质(例如酶、抗体)以及化学化合物。另一分子实体可具有任何实用性,诸如用作检测剂、标记、标志物、药剂或治疗剂。抗体的氨基酸序列可通过化学偶联、基因融合、非共价缔合或其他方式与另一分子实体附接或连接。术语“抗体衍生物”还涵盖嵌合抗体、人源化抗体,以及由CTLA4抗体的氨基酸序列修饰,诸如保守氨基酸取代、添加和插入衍生的分子。

[0075] 术语抗体的“抗原结合片段”或“抗原结合部分”是指抗体的保留与所述抗体所结合的抗原(例如,CTLA4)相结合的能力的一个或多个部分。抗体的“抗原结合片段”的实例包括(i)Fab片段,其为由V_L、V_H、C_L和C_{H1}结构域组成的一价片段;(ii)$F(ab')_2$片段,其为包含由在铰链区的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)由V_H和C_{H1}结构域组成的Fd片段;(iv)由抗体的单臂的V_L和V_H结构域组成的Fv片段;(v)由V_H结构域组成的dAb片段(Ward等

人,Nature 341:544-546(1989));以及(vi)分离的互补决定区(CDR)。

[0076] 术语“CTLA4”在本申请中使用,并且包括人CTLA4(例如,UniProt登录号P16410)以及其变体、亚型和物种同源物(例如小鼠CTLA4(UniProt登录号P09793)、大鼠CTLA4(UniProt登录号Q9Z1A7)、狗CTLA4(UniProt登录号Q9XSI1)、食蟹猴CTLA4(UniProt登录号G7PL88)等)。因此,如本文定义和公开的抗CTLA4抗体还可结合来自除人以外的物种的CTLA4。在其他情况下,抗CTLA4抗体可对人CTLA4具有完全特异性,并且可不展现物种交叉反应性或其他类型的交叉反应性。

[0077] 术语“CTLA4抗体”是指能够结合人CTLA4的如本文定义的抗体。

[0078] 术语“嵌合抗体”是指包含源于不同动物物种的氨基酸序列的抗体,诸如具有源于人抗体的可变区和鼠免疫球蛋白恒定区的那些。

[0079] 术语“竞争结合”是指两个抗体在它们与结合靶标结合时的相互作用。如果相较于在不存在第二抗体下第一抗体的结合,在第二抗体存在下,第一抗体与它的同源表位的结合被可检测地降低,那么第一抗体与第二抗体竞争结合。其中在第一抗体存在下,第二抗体与它的表位的结合也被可检测地降低的替代方案可为但无需为事实。也就是说,第一抗体可抑制第二抗体与它的表位的结合,而不伴有第二抗体抑制第一抗体与它的相应表位的结合的情况。然而,当每个抗体可检测地抑制另一抗体与它的同源表位的结合时,无论程度相同、更大还是更小,抗体都被称为彼此“交叉竞争”结合它们的一个或多个相应表位。

[0080] 术语“表位”是指抗原上与抗体(或其抗原结合片段)相结合的部分。可由通过蛋白质的三级折叠来并置的连续氨基酸或不连续氨基酸形成表位。由连续氨基酸形成的表位通常在暴露于变性溶剂时保留,而通过三级折叠形成的表位通常在用变性溶剂处理时丢失。表位可包括处于独特空间构象的不同数量的氨基酸。确定表位的空间构象的方法包括,例如,x射线晶体学、2维核磁共振、与质谱组合的氘氢交换,或定点诱变,或与抗原以及具有其结合抗体及其变体的其复合物结构的计算机建模组合使用的所有方法。参见,例如,Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology中,第66卷,G.E.Morris编辑(1996)。一旦确定了抗原的期望表位,就可以例如使用本文所述的技术生成针对所述表位的抗体。抗体的生成和表征也可阐明关于期望表位的信息。由此信息,接着可以竞争性地筛选结合相同表位的抗体。实现这一点的方法是进行交叉竞争研究,以寻找彼此竞争结合的抗体,即竞争结合抗原的抗体。基于其交叉竞争“分拣(binning)”抗体的高通量方法描述于PCT公布号WO 03/48731中。

[0081] 术语“糖基化位点”是指由真核细胞识别为用于附接糖残基的位置的氨基酸残基。在其中附接碳水化合物(诸如低聚糖)的氨基酸通常为天冬酰胺(N-键)、丝氨酸(O-键)和苏氨酸(O-键)残基。附接的特异性位点通常以在本文称为“糖基化位点序列”的氨基酸序列为标志。用于N-连接糖基化的糖基化位点序列为:-Asn-X-Ser-或-Asn-X-Thr-,其中X可以是除脯氨酸之外的任何常规氨基酸。术语“N-连接的”和“O-连接的”是指在糖分子与氨基酸残基之间用作附接位点的化学基团。N-连接的糖通过氨基附接;O-连接的糖通过羟基附接。术语“聚糖占据(glycan occupancy)”是指存在连接至糖基化位点的碳水化合物部分(即,聚糖位点被占据)。在多肽上存在至少两个潜在糖基化位点的情况下,没有一个(0-聚糖位点占据)、一个(1-聚糖位点占据)或两个(2-聚糖位点占据)位点可以被碳水化合物部分占据。

[0082] 术语“宿主细胞”是指可被工程改造来产生目标蛋白质、蛋白质片段或肽的细胞系

统。宿主细胞包括不限于培养细胞,例如源于啮齿动物(大鼠、小鼠、豚鼠或仓鼠)的哺乳动物培养细胞诸如CHO、BHK、NSO、SP2/0、YB2/0;人细胞,例如HEK293F细胞、HEK293T细胞;或人组织或杂交瘤细胞、酵母细胞、昆虫细胞(例如S2细胞)、细菌细胞(例如大肠杆菌(E.coli)细胞)以及包含在转基因动物或培养组织内的细胞。所述术语不仅涵盖特定主题细胞,而且还涵盖这种细胞的子代。因为某些修饰可由于突变或环境影响而发生在继代中,所以所述子代可能不与亲本细胞相同,但仍然被包括在术语"宿主细胞"的范围内。

[0083] "人抗体"是具有对应于由人或人细胞产生或源于非人来源的抗体的氨基酸序列的氨基酸序列的抗体,所述非人来源利用人抗体谱系或其他人抗体编码序列。人抗体的这个定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0084] 术语"人源化抗体"是指包含来源于人抗体序列的氨基酸残基的嵌合抗体。人源化抗体可包含来自非人动物或合成抗体的一些或所有CDR或HVR,而抗体的框架和恒定区包含来源于人抗体序列的氨基酸残基。

[0085] 术语"说明性抗体"是指本公开中描述以及指定为表A和表B中所列的那些的抗体中的任一者,以及包含表A和表B中所列的抗体的6个HVR和/或VH和VL的任何抗体。这些抗体可处于任何类别(例如IgA、IgD、IgE、IgG和IgM)。因此,以上鉴定的每种抗体涵盖处于所有五个类别的具有相同V_L区和V_H区氨基酸序列的抗体。此外,处于IgG类别的抗体可处于任何子类(例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)。因此,处于IgG子类的以上鉴定的每种抗体涵盖处于所有四个子类的具有相同V_L区和V_H区氨基酸序列的抗体。处于五个类别以及处于四个IgG子类的人抗体的重链恒定区的氨基酸序列在本领域中是已知的。

[0086] "抗体依赖性细胞介导的细胞毒性"或"ADCC"是指其中结合到某些细胞毒性细胞(例如,NK细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞)上存在的Fc受体(FcR)上的分泌免疫球蛋白使得这些细胞毒性效应细胞能够与携带抗原的靶细胞特异性结合并且随后用细胞毒素杀死靶细胞的细胞毒性形式。用于介导ADCC的原代细胞、NK细胞仅表达FcγRIII,而单核细胞表达FcγRI、FcγRII和FcγRIII。FcR在造血细胞上的表达在Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol.9:457-92(1991)第464页的表3中进行概述。为了评定感兴趣的分子的ADCC活性,可以进行体外ADCC测定,诸如美国专利号5,500,362或5,821,337或美国专利号6,737,056(Presta)所描述的。用于此类测定的有用效应细胞包括PBMC和NK细胞。可替代地或另外地,可以在体内(诸如Clynes等人,PNAS USA 95:652-656(1998)中公开的动物模型中)评定感兴趣的分子的ADCC活性。本文的实施例中提供用于评估ADCC活性的示例性测定。

[0087] "补体依赖性细胞毒性"或"CDC"是指在补体存在下靶细胞的裂解。经典补体途径的激活通过补体系统的第一组分(C1q)与结合其同源抗原的(适当亚类的)抗体的结合来启动。为了评估补体激活,可以进行CDC测定,例如,如Gazzano-Santoro等人,J.Immunol.Methods 202:163(1996)中所描述。具有改变的Fc区氨基酸序列(具有Fc区变体的多肽)并且C1q结合能力升高或降低的多肽变体描述于,例如,美国专利号6,194,551B1和WO 1999/51642。还参见Idusogie等人J.Immunol.164:4178-4184(2000)。

[0088] "经分离"抗体是已与它的天然环境的组分分离的抗体或结合分子。在一些实施方案中,抗体被纯化至大于95%或99%纯度,如通过例如电泳(例如SDS-PAGE、等电聚焦(IEF)、毛细管电泳)或色谱(例如离子交换或反相HPLC)所测定。对于用于评估抗体纯度的方法的综述,参见例如Flatman等,J.Chromatogr.B 848:79-87(2007)。

[0089] 术语“k_a”是指特定抗体-抗原相互作用的缔合速率常数,而术语“k_d”是指特定抗体-抗原相互作用的解离速率常数。

[0090] 术语“K_D”是指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。它由k_d与k_a的比率(即,k_d/k_a)获得,并且表示为摩尔浓度(M)。K_D用作抗体与它的结合配偶体的结合的亲和力的量度。K_D越小,抗体越紧密结合,或抗体与抗原之间的亲和力越高。举例来说,相比于具有微体积摩尔浓度(μM)解离常数的抗体,具有纳体积摩尔浓度(nM)解离常数的抗体更紧密结合特定抗原。抗体的K_D值可使用本领域中完善建立的方法确定。一种用于确定抗体的K_D的方法是通过使用表面等离子体共振(SPR),通常利用生物传感器系统,诸如Biacore®系统。举例来说,使用BIACORE™系统的测定程序(BIAcore测定)描述于本公开的至少实施例3中。

[0091] 术语“哺乳动物”是指哺乳纲的任何动物物种。哺乳动物的实例包括:人;实验室动物诸如大鼠、小鼠、仓鼠、兔、非人灵长类动物和豚鼠;家养动物诸如猫、狗、牛、绵羊、山羊、马和猪;以及圈养野生动物诸如狮子、老虎、大象等。

[0092] 如本文所用,两个多肽序列之间的“序列同一性”指示在所述序列之间相同的氨基酸的百分比。多肽的氨基酸序列同一性可以使用已知计算机程序诸如Bestfit、FASTA或BLAST常规地确定(参见,例如Pearson,Methods Enzymol.183:63-98(1990);Pearson,Methods Mol.Biol.132:185-219(2000);Altschul等人,J.Mol.Biol.215:403-410(1990);Altschul等人,Nucelic Acids Res.25:3389-3402(1997))。当使用Bestfit或任何其他序列比对程序确定特定序列是否与参考氨基酸序列具有例如95%同一性时,设定参数,使得在参考氨基酸序列的全长上计算同一性的百分比并且允许参考序列中的氨基酸残基的总数的同源性的间隔最高至5%。确定多肽之间的同一性百分比的这一上述方法适用于本文公开的所有蛋白质、其片段或变体。

[0093] 如本文所用,术语“结合”、“特异性结合”或“对……具有特异性”是指靶标与抗体之间的可测量和可重现相互作用诸如结合,此在包括生物分子的分子的异质群体存在下,确定所述靶标的存在。举例来说,结合或特异性结合靶标(其可为表位)的抗体是相比于它结合其他靶标,以更大亲和力、亲合力,更易于和/或以更久持续时间结合这个靶标的抗体。在一个实施方案中,抗体与无关靶标结合的程度小于所述抗体与靶标结合的约10%,如例如通过放射免疫测定(RIA)所测量。在某些实施方案中,特异性结合靶标的抗体具有≤1μM、≤100nM、≤10nM、≤1nM或≤0.1nM的解离常数(Kd)。在某些实施方案中,抗体特异性结合蛋白质上在来自不同物种的蛋白质之间保守的表位。在另一实施方案中,特异性结合可包括但不要求排他性结合。

[0094] 关于哺乳动物中的某一疾病病状的术语“治疗(treat、treating或treatment)”是指在患有该疾病病状的哺乳动物中导致期望或有益的效应。期望或有益的效应可包括疾病的一种或多种症状(即,肿瘤生长和/或转移,或由免疫细胞的数量和/或活性介导的其他作用等)的频率或严重程度降低,或疾病、病状或病症的进一步发展的停止或抑制。在治疗哺乳动物的癌症的上下文中,期望或有益的效应可包括癌细胞的进一步生长或扩散的抑制、癌细胞的死亡、癌症复发的抑制、癌症相关疼痛的减少,或哺乳动物存活率的提高。所述作用可以是主观或客观的。例如,如果哺乳动物是人,那么人可将精力或活力改善或疼痛减少记录为改善的自觉症状或对疗法的响应。可替代地,临床医生可基于体检、实验室参数、肿瘤标志物或影像学发现注意到肿瘤大小或肿瘤负荷的减小。对于对治疗的响应,临床医生

可观察的一些实验室征象包括测试的标准化,诸如白血细胞计数、红血细胞计数、血小板计数、红细胞沉降率以及各种酶水平。另外,临床医生可观察到可检测肿瘤标志物的减少。可替代地,可使用其他测试评估客观改善,诸如声像图、核磁共振测试以及正电子发射测试。

[0095] 关于哺乳动物中的某一疾病病状的术语"预防(prevent或preventing)"是指预防或延迟疾病的发作,或预防其临床或亚临床症状的出现。

[0096] 术语"分离核酸"是指与在核酸的天然来源中存在的其他核酸分子分开的基因组、cDNA或合成来源或其组合的核酸分子。例如,关于基因组DNA,术语"分离的"包括与基因组DNA天然相关联的染色体分开的核酸分子。优选地,"分离的"核酸不含天然侧接于所述核酸的序列(即,位于目标核酸的5'端和3'端的序列)。

[0097] 术语"载体"是指能够运送外来核酸分子的核酸分子。外来核酸分子通过重组技术诸如连接或重组来连接于载体核酸分子。这允许在宿主细胞或生物体中繁殖、选择、进一步操作或表达外来核酸分子。载体可为质粒、噬菌体、转座子、粘粒、染色体、病毒或病毒粒子。一种类型的载体可在引入宿主细胞中后整合至宿主细胞的基因组中,并且由此连同宿主基因组一起复制(例如非游离型哺乳动物载体)。另一类的载体能够在它所引入的宿主细胞中自主复制(例如具有细菌复制起点的细菌载体和游离型哺乳动物载体)。能够引导它们所操作性地连接的可表达外来核酸的表达的另一特定类型的载体通常被称为"表达载体"。表达载体通常具有驱动可表达外来核酸的表达的控制序列。被称为"转录载体"的较简单载体仅能够被转录而非翻译:它们可在靶标细胞中复制而非表达。术语"载体"涵盖所有类型的载体,无论它们的功能如何。能够引导它们所操作性地连接的可表达核酸的表达的载体通常被称为"表达载体"。"载体"的其他实例可包括展示载体(例如引导所编码多肽在病毒或细胞(诸如细菌细胞、酵母细胞、昆虫细胞和/或哺乳动物细胞)的表面上表达和展示的载体)。

[0098] 如本文所用,"受试者"、"患者"或"个体"可指人或非人动物。"非人动物"可指不分类为人的任何动物,诸如家养动物、农场动物或动物园动物、运动动物、玩赏动物(诸如狗、马、猫、母牛等)以及研究中使用的动物。研究动物可不加限制地指代线虫、节肢动物、脊椎动物、哺乳动物、蛙、啮齿动物(例如小鼠或大鼠)、鱼(例如斑马鱼或河豚鱼)、鸟(例如鸡)、狗、猫以及非人灵长类动物(例如恒河猴、食蟹猴、黑猩猩等)。在一些实施方案中,受试者、患者或个体是人。

[0099] "有效量"是指至少以下数量:在必要剂量下以及持续必要时期,所述数量有效实现一种或多种包括治疗或防治结果的所需或所指示作用。有效量可以一次或多次施用来提供。出于本申请的目的,抗体、药物、化合物或药物组合物的有效量是足以直接或间接实现防治性或治疗性治疗的量。如在临床情形下所了解,药物、化合物或药物组合物的有效量可或可不与另一药物、化合物或药物组合物联合实现(例如如以单一疗法或组合疗法形式施用的有效量)。因此,可在施用一种或多种治疗剂的情形下考虑"有效量",并且如果与一种或多种其他药剂联合,可实现或实现了合乎需要结果,那么单一药剂可被视为以有效量给予。

[0100] 术语"复发"、"复发性复发"或"复发的"是指在临床评估疾病或癌症消失后再发生。远距离转移或局部复发的诊断可被认为是复发。

[0101] 术语"难治性"或"耐药性"是指对治疗没有响应的癌症或疾病。

[0102] 如本文所用,"完全缓解"或"CR"是指所有靶病变的消失;"部分缓解"或"PR"是指

靶病变的最长直径之和(SLD)至少降低30％,以基线SLD作为参考;且“疾病稳定”或“SD”是指自开始治疗以来以最低点SLD作为参考,未使靶病变充分缩小以符合PR,又未充分增加以符合PD。

[0103] 如本文所用,“疾病进展”或“PD”是指靶病变的SLD至少增加20％,自开始治疗以来以最低点SLD作为参考或存在一个或多个新病变。

[0104] 如本文所用,“无进展生存期”(PFS)是指治疗期间及之后疾病(如癌症)未恶化的时间长度。无进展生存期可包括患者经历完全缓解或部分缓解的时间,以及患者经历疾病稳定的时间。

[0105] 如本文所用,“总体响应率”(ORR)是指完全缓解(CR)率和部分缓解(PR)率的和。

[0106] 如本文所用,“总体存活”是指在特定持续时间后,群组中可能存活的个体的百分比。

[0107] 如本文所用,术语“生物标志物”或“标志物”通常是指分子(例如,前体mRNA、mRNA、蛋白质等)或细胞群体(例如,效应记忆T细胞或T_{em}细胞、或调节性T细胞或T_{reg}细胞),其在受试者的组织(例如,肿瘤)中或上的水平,或在分子的情况下,由受试者的组织或细胞的分泌可以通过已知方法(或本文公开的方法)检测并且是预测的或可以用于预测(或辅助预测)受试者对其的敏感性,并且在一些实施方案中,预测(或辅助预测)受试者对治疗方案(例如,利用抗CTLA4抗体治疗)的应答性。

[0108] 如本文所用,术语“样品”是指获得自或来源于目的受试者的组合物,其包含待表征和/或鉴定的细胞和/或其他分子实体,例如基于物理、生化、化学和/或生理特征。

[0109] 如本文所用,术语“组织或细胞样品”是指获得自受试者或患者的组织的类似细胞的集合。组织或细胞样品的来源可以是来自新鲜、冷冻和/或保存的器官或组织样品或活检或抽吸物的实体组织;血液或任何血液成分;体液,例如脑脊液、羊水、腹膜液或间质液;来自受试者的妊娠或发育过程中任何时间的细胞。组织样品也可以是原代细胞或培养细胞。任选地,组织或细胞样品获得自疾病组织或器官。组织样品可以包括在自然界中不与组织自然混合的化合物,例如防腐剂、抗凝剂、缓冲剂、固定剂、营养物、抗生素等。如本文所用,“参考值”或“参考水平”可以是绝对值;相对值;具有上限和/或下限的值;一系列值;平均值;中值;平均值;或与特定水平或基准水平相比的值。

[0110] 如本文所用,“基线水平”或“基线值”是指受试者在开始治疗(例如抗CTLA4抗体治疗)前的水平或值。

[0111] 如本文所用“参考样品”、“参考细胞”、“参考组织”、“对照样品”、“对照细胞”或“对照组织”是指用于比较目的的样品、细胞、组织、标准品或水平。在一个实施方案中,参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织是从同一受试者或个体的身体(例如,组织或细胞)的健康和/或非患病部位获得。例如,与患病细胞或组织相邻的健康和/或非患病细胞或组织(例如,与肿瘤相邻的细胞或组织)。在另一实施方案中,参考样品是从同一受试者或个体的身体未治疗的组织和/或细胞获得。在又一实施方案中,参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织是从个体(非受试者或非个体)的身体(例如,组织或细胞)健康和/或非患病部位获得。甚至在另一实施方案中,参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织是从个体(非受试者或非个体)的身体未经治疗的组织和/或细胞中获得的。

[0112] “相关(correlate)”或“相关(correlating)”是指以任何方式将第一次分析或方案的性能和/或结果与第二次分析或方案的性能和/或结果进行比较。例如,可以使用第一分析或方案的结果来开展第二方案,和/或可使用第一分析或方案的结果来确定是否应开展第二分析或方案。关于生物标志物分析或方案的实施方案中,可以使用生物标志物水平分析或方案的结果来确定是否开展特定治疗方案。关于生物标志物水平分析或方案的实施方案中,可以使用生物标志物水平分析或方案的结果来确定是否应开展特定治疗方案。

[0113] 患者的“有效响应”或患者对药物治疗的“应答性”以及类似措辞是指赋予有疾病或病症(如癌症)风险或患有疾病或病症的患者的临床或治疗益处。在一个实施方案中,这种益处包括以下任何一种或多种:生存期延长(包括总生存期和无进展生存期);导致客观缓解(包括完全缓解或部分缓解);或改善癌症的体征或症状。

[0114] 对治疗“不具有有效响应”的患者是指没有任何一项延长生存期(包括总生存期和无进展生存期);导致客观缓解(包括完全缓解或部分缓解);或改善癌症的体征或症状的患者。

[0115] 除非另外指示,否则本申请的方法和技术通常根据本领域熟知且如本说明书通篇引用和论述的各种一般性和更特定参考文献中所描述的方法来执行。此类参考文献包括,例如,Sambrook和Russell,Molecular Cloning,A Laboratory Approach,Cold Spring Harbor Press,Cold Spring Harbor,N.Y.(2001),Ausubel等人,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,NY(2002),以及Harlow和Lane Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.(1990)。酶促反应和纯化技术是根据制造商说明书,如本领域中通常所达成或如本文所述来执行。与本文所述的分析化学、合成有机化学以及医学和药物化学结合使用的命名法,以及所述分析化学、合成有机化学以及医学和药物化学的实验室程序和技术是本领域熟知和常用的那些。标准技术用于化学合成、化学分析、药物制备、配制和递送以及患者的治疗。

[0116] 如本文所用,20种常规氨基酸及其缩写遵循常规用法。参见Immunology—A Synthesis(第2版,E.S.Golub和D.R.Gren编辑,Sinauer Associates,Sunderland,Mass.(1991))。

[0117] 如本文所用,除非内容另外明确规定,否则单数形式“一个(种)(a/an)”和“这个(种)(the)”包括复数个(种)指示物。因此,举例来说,提及“一个(种)分子”任选地包括两个(种)或更多个(种)所述分子的组合,以此类推。

[0118] 如本文所用的术语“约”是指相应值的易于为本技术领域中的熟练人士所知的通常误差范围。在本文中提及“约”某一值或参数包括(并且描述)有关那个值或参数本身的实施方案。

[0119] 应了解,本文所述的本公开的方面和实施方案包括“包含”、“由……组成”以及“基本上由……组成”方面和实施方案。

[0120] 如本文所用,对“并非”某个值或参数的引用通常指描述“除某个值或参数以外”。例如,该方法不用于治疗X型癌症,表示该方法用于治疗X型以外的癌症。

[0121] 本文使用的术语“约X-Y”具有与“约X至约Y”相同的含义。

[0122] 如本文所用,术语“和/或”,短语例如“A和/或B”旨在包括A和B二者;A或B;A(单独);和B(单独)。类似地,如本文所用,术语“和/或”,短语例如“A、B和/或C”旨在涵盖以下实

施方案的每一种:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0123] II.治疗方法

[0124] 本申请提供使用特异性结合人CTLA4的抗CTLA4抗体来治疗受试者癌症的方法。部分IV“抗CTLA4抗体”中的任一抗CTLA4抗体(包括全长抗体及其抗原结合片段)可用于本文所述的方法。

[0125] 在一些实施方案中,提供一种治疗受试者癌症的方法,其包括向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108;及其中癌症对先前疗法具有耐药性或难治性,其中先前疗法为CTLA4、PD-1或PD-1配体抑制剂。在一些实施方案中,癌症是实体癌症,例如晚期和/或转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是尿路上皮癌。

[0126] 在一些实施方案中,提供一种治疗受试者癌症的方法,包含向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108;及其中癌症对不同抗CTLA4抗体具有耐药性或难治性,例如伊匹木单抗。在一些实施方案中,癌症是实体癌症,例如晚期和/或转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是尿路上皮癌。

[0127] 在一些实施方案中,提供一种治疗受试者癌症的方法,包含向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108;及其中癌症对PD-1或PD-1配体(例如,PD-L1或PD-L2)抑制剂具有耐药性或难治性。在一些实施方案中,癌症是实体癌症,例如晚期和/或转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是尿路上皮癌。

[0128] 在一些实施方案中,提供一种治疗受试者癌症的方法,包含向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108;及其中癌症对抗PD-1抗体(例如帕母单抗)具有耐药性或难治性。在一些实施方案中,癌症是实体癌症,例如晚期和/或转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是尿路上皮癌。

[0129] 在一些实施方案中,提供一种治疗受试者癌症的方法,其中癌症对CTLA-4、PD-1或PD-1配体(例如PD-L1或PD-L2)抑制剂具有耐药性或难治性,包含向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中所述抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2和含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3,和/或轻链可变区,所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,癌症对抗PD-1抗体(如帕母单抗)具有耐药性或难治性。在一些实施方案中,癌症对不同的抗CTLA4抗体(如伊匹木单抗)具有耐药性或难治性。在一些实施方案中,癌症对抗PD-L1抗体具有耐药性或难治性。在一些实施方案中,癌症是实体癌症,例如晚期和/或转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是尿路上皮癌。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在一些实施

方案中,抗体包含人IgG1 Fc区,例如野生型IgG1 Fc区或具有增强ADCC活性的变体。在一些实施方案中,抗体是TY21580。

[0130] 在一些实施方案中,提供一种治疗受试者癌症的方法,包括向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,且其中抗CTLA4抗体以至少约6mg/kg(例如6mg/kg或10mg/kg)的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2和含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3,和/或轻链可变区,所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体包含人IgG1 Fc区,例如野生型IgG1 Fc区或具有增强ADCC活性的变体。在一些实施方案中,抗体是TY21580。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是约每三周施用一次。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是静脉内施用。

[0131] 在一些实施方案中,提供一种治疗受试者癌症的方法,包括向受试者施用:(a)有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,和(b)有效量的抗PD-1抗体。在一些实施方案中,抗PD-1抗体是帕母单抗、其生物类似物或其衍生物。在一些实施方案中,抗PD-1抗体是特瑞普利单抗、其生物类似物或其衍生物。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含:(a)重链可变区,所述重链可变区包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2和含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3,和/或轻链可变区,所述轻链可变区包含含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体包含人IgG1 Fc区,例如野生型IgG1 Fc区或具有增强ADCC活性的变体。在一些实施方案中,抗体是TY21580。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以至少约6mg/kg(例如6mg/kg或10mg/kg)的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是约每三周施用一次。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是静脉内施用。在一些实施方案中,癌症对CTLA-4、PD-1或PD-1配体(例如PD-L1或PD-L2)抑制剂具有耐药性或难治性。在一些实施方案中,癌症是实体癌症,例如晚期和/或转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是尿路上皮癌。癌症治疗可通过例如肿瘤消退、肿瘤重量或大小缩小、进展时间、存活持续时间、无进展生存期、总体缓解率、缓解持续时间、生活质量、蛋白质表达和/或活性来评估。可以采用确定治疗功效的方法,包括例如通过放射成像来测量响应。

[0132] 可以通过任何合适的施用的肠途径或肠胃外途径施用本公开提供的抗CTLA4抗体和组合物。术语施用的“肠途径”是指经由胃肠道的任何部分的施用。肠途径的实例包括口

腔、粘膜、颊面和直肠途径,或胃内途径。施用的“肠胃外途径”是指除了肠途径以外的施用途径。施用的肠胃外途径的实例包括静脉内、肌内、真皮内、腹膜内、瘤内、膀胱内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心脏内、经气管、关节内、被膜下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内、皮下或局部施用。可使用任何合适的方法施用本公开的抗体和组合物,诸如通过口服摄取、鼻胃管、胃造口管(gastrostomy tube)、注射、输注、可植入输注泵,以及渗透泵。合适的施用途径和方法可取决于多种因素而变化,诸如所用的具体抗体、期望的吸收速率、所用的具体制剂或剂型、所治疗病症的类型或严重程度、具体的作用部位,以及患者的状况,并且可以由本领域技术人员容易地选择。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是静脉内施用。

[0133] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是以不超过以下中的任一者的剂量施用:20mg/kg、15mg/kg、10mg/kg、9mg/kg、8mg/kg、7mg/kg、6mg/kg、5mg/kg、4mg/kg、3mg/kg、2mg/kg、1mg/kg、0.8mg/kg、0.6mg/kg、0.5mg/kg、0.4mg/kg、0.3mg/kg、0.2mg/kg、0.1mg/kg、0.08mg/kg、0.05mg/kg、0.04mg/kg、0.03mg/kg、0.01mg/kg、0.003mg/kg或0.001mg/kg。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体的剂量在以下范围中的任一内,其中范围具有以下中的任一者的上限:20mg/kg、15mg/kg、10mg/kg、9mg/kg、8mg/kg、7mg/kg、6mg/kg、5mg/kg、4mg/kg、3mg/kg、2mg/kg、1mg/kg、0.8mg/kg、0.6mg/kg、0.5mg/kg、0.4mg/kg、0.3mg/kg、0.2mg/kg、0.1mg/kg、0.08mg/kg、0.05mg/kg、0.04mg/kg、0.03mg/kg或0.003mg/kg,及以下中的任一者的独立选择的下限:15mg/kg、10mg/kg、9mg/kg、8mg/kg、7mg/kg、6mg/kg、5mg/kg、4mg/kg、3mg/kg、2mg/kg、1mg/kg、0.8mg/kg、0.6mg/kg、0.5mg/kg、0.4mg/kg、0.3mg/kg、0.2mg/kg、0.1mg/kg、0.08mg/kg、0.05mg/kg、0.04mg/kg、0.03mg/kg、0.01mg/kg、0.003mg/kg或0.001mg/kg,且其中下限小于上限。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是以下列中的任一者的剂量施用:约0.03mg/kg至约20mg/kg、约0.1mg/kg至约20mg/kg、约0.3mg/kg至约20mg/kg、约1mg/kg至约20mg/kg、约5mg/kg至约20mg/kg、约0.03mg/kg至约10mg/kg、约0.1mg/kg至约10mg/kg、约0.3mg/kg至约10mg/kg、约1mg/kg至约10mg/kg、约3mg/kg至约10mg/kg、约5mg/kg至约10mg/kg、约0.03mg/kg至约0.1mg/kg、约0.1mg/kg至约0.3mg/kg、约0.3mg/kg至约1mg/kg、约1mg/kg至约3mg/kg、约3mg/kg至约5mg/kg、约0.1mg/kg至约3mg/kg、或约1mg/kg至约5mg/kg。本文所述的剂量是指用于人的合适剂量,或用于特定物种的受试者的等效剂量。在一些实施方案中,对于人受试者,抗CTLA4抗体是以等效于约0.03mg/kg至约10mg/kg或约0.03mg/kg至约20mg/kg的剂量施用:如约0.03mg/kg、约0.1mg/kg、约0.3mg/kg、约1.0mg/kg、约3.0mg/kg、约6.0mg/kg、约10mg/kg、约15mg/kg或约20mg/kg。

[0134] 在抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的一些实施方案中,抗CTLA4抗体以约0.5mg/kg至约10mg/kg之间的剂量每三周施用一次、约1mg/kg至约10mg/kg之间的剂量每三周施用一次、约3mg/kg至约20mg/kg之间的剂量每三周施用一次、约3mg/kg至约15mg/kg之间的剂量每三周施用一次、约6mg/kg至约15mg/kg之间的剂量每三周施用一次、或从约6mg/kg至约10mg/kg之间的剂量每三周施用一次。在一些此类实施方案中,抗CTLA4抗体以约0.5mg/kg的剂量每三周施用一次。在一些此类实施方案中,抗CTLA4抗体以约1mg/kg的剂量每三周施用一次。在一些此类实施方案中,抗CTLA4抗体以约3mg/kg的剂量每三周施用一次。在其他此类实施方案中,抗CTLA4抗体以

约6mg/kg的剂量每三周施用一次。在其他此类实施方案中,抗CTLA4抗体以约10mg/kg的剂量每三周施用一次。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体是TY21580。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾细胞癌或肝细胞癌的患者。在前述的其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有MSI-H或dMMR癌症的患者。在前述的其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于癌症已转移的患者。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于对先前癌症疗法(包括其他抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其组合)具有耐药性或难治性的患者。

[0135] 在抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的一些实施方案中,抗CTLA4抗体以第一较高剂量(例如,在约10mg/kg和约20mg之间)施用至少一个治疗周期(如本文所定义),并在后续周期中,以较低的剂量施用(例如,约0.5mg/kg至约10mg/kg之间、约0.5mg/kg至约6mg/kg之间或约3mg/kg至约10mg/kg之间)。在一些此类实施方案中,抗CTLA4抗体以约10mg/kg的剂量施用至少一个治疗周期(例如,一至三个治疗周期),并在后续治疗周期中以约6mg/kg的剂量施用。在其他此类实施方案中,抗CTLA4抗体以约10mg/kg的剂量施用至少一个治疗周期(例如,一至三个治疗周期),并在后续治疗周期中以约3mg/kg的剂量施用。在其他此类实施方案中,抗CTLA4抗体以约15mg/kg的剂量施用至少一个治疗周期(例如,一至三个治疗周期),并在后续治疗周期中以约10mg/kg的剂量施用。在其他此类实施方案中,抗CTLA4抗体以约20mg/kg的剂量施用至少一个治疗周期(例如,一至三个治疗周期),并在后续治疗周期中以约10mg/kg的剂量施用。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体是TY21580。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾细胞癌或肝细胞癌的患者。在上述其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有MSI-H或dMMR癌症的患者。在前述的其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于癌症已转移的患者。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于对先前癌症疗法具有耐药性或难治性的患者,包括其他抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其组合。

[0136] 在抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID

NO:87的氨基酸序列具有至少90％序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90％序列一致性的氨基酸序列的一些实施方案中,当在给药周期的最后一天测量时,抗CTLA4抗体以在体循环中提供约50nM至约700nM的稳态浓度(即血药谷浓度)的剂量施用。例如,若给药周期为每三周一次,则在给药周期的第21天(即504小时后)测量血药谷浓度。若给药周期为每四周一次(即672小时后),则在给药周期的第28天测量血药谷浓度。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以提供约100nM至约500nM的稳态血药谷浓度的剂量施用。在其他实施方案中,抗CTLA4抗体以提供约100nM至约400nM的稳态血药谷浓度的剂量施用。在其他实施方案中,抗CTLA4抗体以提供约100nM至约200nM的稳态血药谷浓度的剂量施用。在其他实施方案中,抗CTLA4抗体以提供约150nM至约400nM的稳态血药谷浓度的剂量施用。在其他实施方案中,抗CTLA4抗体以提供约150nM至约450nM的稳态血药谷浓度的剂量施用。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体每三周施用一次。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体每四周施用一次。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体每两周施用一次。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体是TY21580。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾细胞癌或肝细胞癌的患者。在前述的其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有MSI-H或dMMR癌症的患者。在前述的其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于癌症已转移的患者。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于对先前癌症疗法(包括其他抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其组合)具有耐药性或难治性的患者。

[0137] 在抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90％序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90％序列一致性的氨基酸序列的一些实施方案中,当在给药方案一周后(例如168小时)测量时,抗CTLA4抗体以在体循环中提供约100nM至约2000nM浓度的剂量施用。在一些实施方案中,当在给药方案一周后(例如168小时)测量时,抗CTLA4抗体以在体循环中提供约150nM至约1500nM浓度的剂量施用。在其他实施方案中,当在给药方案一周后(例如168小时)测量时,抗CTLA4抗体以在体循环中提供约150nM至约1000nM浓度的剂量施用。在其他实施方案中,当在给药方案一周后(例如168小时)测量时,抗CTLA4抗体以在体循环中提供约1000nM至约2000nM浓度的剂量施用。在其他实施方案中,当在给药方案一周后(例如168小时)测量时,抗CTLA4抗体以在体循环中提供约150nM至约500nM浓度的剂量施用。在其他实施方案中,当在给药方案一周后(例如168小时)测量时,抗CTLA4抗体以提供大于约150nM浓度的剂量施用。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体每三周施用一次。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体每四周施用一次。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体每两周施用一次。在前述的一些实施方案

中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体是TY21580。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾细胞癌或肝细胞癌的患者。在前述的其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有MSI-H或dMMR癌症的患者。在前述的其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于癌症已转移的患者。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于对先前癌症疗法(包括其他抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其组合)具有耐药性或难治性的患者。

[0138] 在抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区或与SEQ ID NO:87的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列,和/或含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区或与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%序列一致性的氨基酸序列的一些实施方案中,抗CTLA4抗体以导致稳态$AUC_{(0-\infty)}$从约500,000天*ng/mL到约2,500,000天*ng/mL的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以导致稳态$AUC_{(0-\infty)}$从约500,000天*ng/mL到约1,500,000天*ng/mL的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以导致稳态$AUC_{(0-\infty)}$从约500,000天*ng/mL到约1,000,000天*ng/mL的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以导致稳态$AUC_{(0-\infty)}$从约500,000天*ng/mL到约1,000,000天*ng/mL的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以导致稳态$AUC_{(0-\infty)}$从约1,500,000天*ng/mL到约2,000,000天*ng/mL的剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以导致稳态$AUC_{(0-\infty)}$从约2,000,000天*ng/mL到约2,500,000天*ng/mL的剂量施用。在一些实施方案中,稳态$AUC_{(0-\infty)}$通过每三周施用一次抗CTLA4抗体来实现。在一些实施方案中,稳态$AUC_{(0-\infty)}$通过每四周施用一次抗CTLA4抗体来实现。在一些实施方案中,稳态$AUC_{(0-\infty)}$通过每五周施用一次抗CTLA4抗体来实现。在一些实施方案中,稳态$AUC_{(0-\infty)}$通过每两周施用一次抗CTLA4抗体来实现。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:125的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:126的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体是TY21580。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾细胞癌或肝细胞癌的患者。在前述的其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于患有MSI-H或dMMR癌症的患者。在前述的其他实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于癌症已转移的患者。在前述的一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用于对先前癌症疗法(包括其他抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其组合)具有耐药性或难治性的患者。

[0139] 抗CTLA4抗体的有效量可以单剂量或多剂量施用。对于包含以多剂量施用抗CTLA4

抗体的方法,示范性给药频率包含但不限于,每周一次1、每周不间断、三周中的两周每周一次、四周中的三周每周一次、每三周一次、每两周一次、每月一次、每六个月一次、每年一次等。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体约每周一次、每2周一次、每3周一次、每6周一次或每12周一次施用。在一些实施方案中,每次施用之间的间隔小于约3年、2年、12个月、11个月、10个月、9个月、8个月、7个月、6个月、5个月、4个月、3个月、2个月、1个月、4周、3周、2周或1周中的任一个。在一些实施方案中,每次施用之间的间隔大于约1周、2周、3周、4周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、2年或3年中的任一个。在一些实施方案中,给药方案不存在中断。

[0140] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以低频率施用,例如,不超过每周一次、每隔一周一次、每三周一次、每月一次、每2个月一次、每3个月一次、每4个月一次、每5个月一次、每6个月一次、每7个月一次、每8个月一次、每9个月一次、每10个月一次、每11个月一次、每年一次或更少中的任一个。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以单一剂量施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体约每三周施用一次。

[0141] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用2个或更多个周期,例如约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期中的任一个。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体被施用至少4个周期。

[0142] 在一些实施方案中,治疗包括初始阶段和后续维持阶段。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体在维持阶段的施用频率低于初始阶段。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体在维持阶段的施用频率与初始阶段相同。在一些实施方案中,治疗包含初始阶段:其中抗CTLA4抗体约每三周施用一次持续至少4个周期,和维持期:其中抗CTLA4抗体约每4周施用一次至每12周施用一次,例如每4周一次、每6周一次、每8周一次、每10周一次或每12周一次。在一些实施方案中,维持阶段的给药频率根据一种或多种生物标志物进行调整,例如T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率和/或NK细胞。例如,如果受试者接受抗CTLA4抗体后显示CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率增加,则受试者可约每4周进一步施用抗CTLA4抗体。

[0143] 抗CTLA4抗体的给药可以延长一段时间,例如从约一周至约一个月、从约一个月至约一年、从约一年至约几年。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以至少约1周、2周、3周、4周、5周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、1年、2年、3年、4年或更长的任一时间施用。

[0144] 本文所述的方法可用于治疗多种癌症。在一些实施方案中,癌症是实体癌症。在一些实施方案中,癌症是液体癌症。涉及CTLA4的多种癌症,无论恶性或良性且无论原发性或继发性,都可使用本公开所提供的方法治疗或预防。示范性癌症包含但不限于肝癌、消化系统癌症(例如结肠癌、结肠直肠癌)、肺癌、骨癌、心脏癌、脑癌、肾癌、膀胱癌、血液癌症(例如白血病)、皮肤癌、乳腺癌、甲状腺癌、胰腺癌、头部和/或颈部癌症、眼相关癌症、男性生殖系统癌症(例如前列腺癌、睾丸癌)或女性生殖系统癌症(例如子宫癌、子宫颈癌)。在一些实施方案中,所述癌症是肾癌,例如肾细胞癌或尿路上皮癌。

[0145] 在一些实施方案中,受试者先前已用先前疗法治疗。在一些实施方案中,受试者先前已经接受1、2、3、4或更多种先前疗法中的任何一种。在一些实施方案中,受试者已经用尽所有其他可用的疗法。在一些实施方案中,受试者对先前疗法不响应或有耐药性。在一些实

施方案中,受试者在先前治疗之后疾病复发。在一些实施方案中,受试者对先前疗法具有难治性。在一些实施方案中,受试者在约1年、6个月、3个月或更短时间内对先前疗法失效。在一些实施方案中,受试者先前未接受先前疗法。

[0146] 在一些实施方案中,受试者先前已用针对癌症的标准疗法治疗。在一些实施方案中,受试者对标准疗法不响应或有耐药性。在一些实施方案中,受试者在标准疗法之后疾病复发。在一些实施方案中,受试者对标准疗法具有难治性。在一些实施方案中,受试者在大约1年、6个月、3个月或更短时间对标准治疗失效。在一些实施方案中,受试者先前未接受标准疗法。在一些实施方案中,受试者拒绝或不适合标准疗法。

[0147] 在一些实施方案中,先前疗法(例如,标准疗法)选自病毒基因疗法、免疫疗法、靶疗法、放射疗法以及化学疗法组成的组。在一些实施方案中,先前疗法是免疫检查点抑制剂。在一些实施方案中,先前疗法是CTLA4、PD-1或PD-1配体(例如PD-L1或PD-L2)抑制剂。在一些实施方案中,先前疗法是CTLA4抑制剂,例如不同于本文所述的抗CTLA4抗体的抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,先前疗法是伊匹木单抗。在一些实施方案中,先前疗法是CTLA4抑制剂(例如,抗CTLA4抗体)和PD-1抑制剂(例如,抗PD-1抗体)。在一些实施方案中,先前疗法是CTLA4抑制剂(例如,抗CTLA4抗体)和PD-1配体抑制剂(例如,抗PD-L1抗体或抗PD-L2抗体)。

[0148] 在一些实施方案中,先前疗法是PD-1或PD-1配体抑制剂,包括PD-1结合拮抗剂、PDL1结合拮抗剂和PDL2结合拮抗剂。“PD-1”的别名包括CD279和SLEB2。“PDL1”的别名包括B7-H1、B7-4、CD274和B7-H。“PDL2”的别名包括B7-DC、Btdc和CD273。在一些实施方案中,PD-1、PDL1和PDL2是人PD-1、PDL1和PDL2。

[0149] 在一些实施方案中,PD-1抑制剂是抑制PD-1与其配体结合配偶体结合的分子。在一些实施方案中,PD-1配体抑制剂是PD-L1和/或PD-L2抑制剂。在一些实施方案中,PD-L1抑制剂是抑制PDL1与其结合配偶体结合的分子。在一些实施方案中,PD-L2结合配偶体是PD-1和/或B7-1。在一些实施方案中,PD-1配体抑制剂是抑制PD-L2与其结合配偶体结合的分子。在一些实施方案中,PD-L2结合配偶体是PD-1。所述抑制剂可以是抗体、其抗原结合片段、免疫粘附素、融合蛋白或寡肽。

[0150] 在一些实施方案中,PD-1抑制剂是抗PD-1抗体(例如,人抗体、人源化抗体或嵌合抗体)。在一些实施方案中,抗PD-1抗体选自纳武单抗、帕母单抗和CT-011组成的组。在一些实施方案中,PD-1抑制剂是免疫粘附素(例如,包含与恒定区(例如免疫球蛋白序列的Fc区)融合的胞外域或PDL1或PDL2的PD-1结合部分的免疫粘附素)。在一些实施方案中,PD-1抑制剂是AMP-224。纳武单抗,也称为MDX-1106-04、MDX-1106、ONO-4538、BMS-936558和OPDIVO®,是WO2006/121168中描述的抗PD-1抗体。Pembrolizumab,也称为MK-3475、Merck 3475、lambrolizumab、KEYTRUDA®和SCH-900475,是WO2009/114335中描述的抗PD-1抗体。CT-011,也称为hBAT或hBAT-1,是WO2009/101611中描述的抗PD-1抗体。AMP-224,也称为B7-DCIg,是WO2010/027827和WO2011/066342中描述的PDL2-Fc融合可溶性受体。在一些实施方案中,抗PD-1抗体是纳武单抗(CAS登记号:946414-94-4)。在一些实施方案中,抗PD-1抗体是帕母单抗(CAS登记号:1374853-91-4)。

[0151] 在一些实施方案中,PD-L1抑制剂是抗PD-L1抗体。在一些实施方案中,PD-L1抑制剂选自YW243.55.S70、MPDL3280A、MDX-1105和MEDI4736组成的组。MDX-1105,也称为BMS-

936559,是WO2007/005874中描述的抗PD-L1抗体。抗体YW243.55.S70(重链和轻链可变区序列分别显示在SEQ ID Nos.20和21中)是WO 2010/077634A1中描述的抗PD-L1。MEDI4736是WO2011/066389和US2013/034559中描述的抗PD-L1抗体。可用于本申请方法的抗PD-L1抗体的实例,及其制造方法描述于PCT专利申请WO 2010/077634A1和美国专利号8,217,149中,其以引用的方式并入本文。

[0152] 先前疗法(例如,标准疗法)还涵盖除去肿瘤的手术和放射疗法。示范性放射疗法包括但不限于电离(电磁)放射治疗(例如,X射线或γ射线)和粒子束放射疗法(例如,高线性能放射(high linear energy radiation))的组合。放射源对于受试者可以是外部的或内部的。

[0153] 本文所述的方法可用于癌症治疗的各个方面。在一些实施方案中,提供一种抑制个体的细胞增殖(例如肿瘤生长)的方法,包含向个体施用有效量的本文所述抗CTLA4抗体中的任一者。在一些实施方案中,抑制至少约10%(包括例如至少约20%、约30%、约40%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%或更大中的任一者)的细胞增殖。

[0154] 在一些实施方案中,提供一种抑制个体的肿瘤转移的方法,包含向个体施用有效量的本文所述抗CTLA4抗体中的任一者。在一些实施方案中,抑制至少约10%(包括例如至少约20%、约30%、约40%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%或更大中的任一者)的转移。

[0155] 在一些实施方案中,提供减少(例如消除)个体的预先存在的肿瘤转移(例如转移至淋巴结)的方法,包含向个体施用有效量的本文所述抗CTLA4抗体中的任一者。在一些实施方案中,减少至少约10%(包括例如至少约20%、约30%、约40%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%或更大中的任一者)的转移。

[0156] 在一些实施方案中,提供减小个体的预先存在的肿瘤转移(例如转移至淋巴结)的发生率或负荷的方法,包含向个体施用有效量的本文所述抗CTLA4抗体中的任一者。

[0157] 在一些实施方案中,提供减小个体的肿瘤大小的方法,包含向个体施用有效量的本文所述抗CTLA4抗体中的任一者。在一些实施方案中,该方法使肿瘤大小减小至少约10%(包括例如至少约20%、约30%、约40%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%或更大中的任一者)。

[0158] 在一些实施方案中,提供一种延长个体癌症疾病进展时间的方法,包含向个体施用有效量的本文所述抗CTLA4抗体中的任一者。在一些实施方案中,该方法使疾病进展时间延长至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、20、24、28、32、36或更多周中的任一者。

[0159] 在一些实施方案中,提供一种延长患有癌症的个体的生存期(例如总生存期或无进展生存期)的方法,包含向个体施用有效量的本文所述抗CTLA4抗体中的任一者。在一些实施方案中,该方法使个体的生存期延长至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18或24个月中的任一者。

[0160] 在一些实施方案中,提供一种减轻患有癌症的个体一种或多种症状的方法,包含向个体施用有效量的本文所述抗CTLA4抗体中的任一者。

[0161] 在一些实施方案中,提供一种改善患有癌症的个体生活品质的方法,包含向个体施用有效量的本文所述抗CTLA4抗体中的任一者。

[0162] 抗CTLA4抗体可作为单一疗法单独施用,或与一种或多种另外的治疗剂或疗法组

合施用。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体与一种或多种另外的治疗剂组合施用,以用于分开、顺序或同时施用。术语“另外的治疗剂”是指除本公开提供的抗CTLA4抗体之外的任何治疗剂。在一些实施方案中,提供一种用于治疗受试者癌症的组合疗法,其包含向受试者施用治疗有效量的本文所述的抗CTLA4抗体与一种或多种另外的治疗剂组合。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体与一种或多种另外的治疗剂组合施用,另外的治疗剂包含化疗剂、免疫治疗剂和/或激素治疗剂。在一些实施方案中,一种或多种另外的治疗剂选自由以下组成的组:病毒基因疗法、免疫检查点抑制剂、靶向疗法、放射疗法和化疗。

[0163] 术语“化学治疗剂”是指可导致癌细胞死亡,或干扰癌细胞的生长、分裂、修复和/或功能的化学或生物物质。化学治疗剂的实例包括WO 2006/129163和US20060153808中公开的那些,所述专利的公开内容以引用的方式并入本文。特定化学治疗剂的实例包括:(1)烷基化剂,诸如苯丁酸氮芥(chlorambucil)(瘤克宁(LEUKERAN®))、环磷酰胺(癌得星(CYTOXAN®))、异环磷酰胺(ifosfamide)(伊弗克斯(IFEX®))、盐酸二氯甲基二乙胺(mechlorethamine hydrochloride)(盐酸氮芥(MUSTARGEN®))、噻替派(thiotepa)(噻普勒斯(THIOPLEX®))、链脲佐菌素(streptozotocin)(链佐星(ZANOSAR®))、卡莫司汀(carmustine)(比克纽(BICNU®)、格立得糯米纸囊剂(GLIADELWAFER®))、洛莫司汀(lomustine)(斯思尤(CEENU®))和达卡巴嗪(dacarbazine)(甲氮咪胺(DTIC-DOME®));(2)生物碱或植物长春花生物碱,包括细胞毒性抗生素,诸如多柔比星(doxorubicin)(阿霉素(ADRIAMYCIN®))、表柔比星(epirubicin)(艾棱斯(ELLENCE®)、泛艾霉素(PHARMORUBICIN®))、柔红霉素(daunorubicin)(司比定(CERUBIDINE®)、柔红霉素脂质体(DAUNOXOME®))、奈莫柔比星(nemombicin)、伊达比星(idarubicin)(伊达霉素无防腐剂溶液(IDAMYCIN PFS®)、善唯达(ZAVEDOS®))、米托蒽醌(mitoxantrone)(DHAD®、诺凡特龙(NOVANTRONE®))、更生霉素(dactinomycin)(放线菌素D(actinomycin D)、可美净(COSMEGEN®))、光神霉素(plicamycin)(光辉霉素(MITHRACIN®))、丝裂霉素(mitomycin)(突变霉素(MUTAMYCIN®))和博莱霉素(bleomycin)(布兰诺克塞(BLENOXANE®))、酒石酸长春瑞滨(vinorelbinetartrate)(诺维本(NAVELBINE®))、长春花碱(vinblastine)(维尔班(VELBAN®))、长春新碱(vincristine)(昂可文(ONCOVIN®))和长春地辛(vindesine)(癌的散(ELDISINE®));(3)抗代谢剂,诸如卡培他滨(capecitabine)(希罗达(XELODA®))、阿糖胞苷(cytarabine)(塞特沙-U(CYTOSAR-U®))、氟达拉滨(fludarabine)(福达华(FLUDARA®))、吉西他滨(gemcitabine)(健择(GEMZAR®))、羟基脲(hydroxyurea)(海卓(HYDRA®))、甲氨蝶呤(methotrexate)(福勒克斯(FOLEX®)、麦沙特(MEXATE)、曲夏尔(TREXALL®))、奈拉滨(nelarabine)(阿仑恩

(ARRANON®)、三甲曲沙(trimetrexate)(宁赐新(NEUTREXIN®))和培美曲塞(pemetrexed)(爱宁达(ALIMTA®));(4)嘧啶拮抗剂,诸如5-氟尿嘧啶(5-FU);卡培他滨(希罗达®)、雷替曲塞(raltitrexed)(图姆戴克斯(TOMUDEX®))、替加氟-尿嘧啶(tegafur-uracil)(优服托拉(UFTORAL®))和吉西他滨(健择®);(5)紫杉烷,诸如多西他赛(docetaxel)(泰索帝(TAXOTERE®))、太平洋紫杉醇(paclitaxel)(泰素(TAXOL®));(6)铂药物,诸如顺铂(cisplatin)(帕拉汀洛(PLATINOL®))和卡铂(carboplatin)(伯尔定(PARAPLATIN®))以及奥沙利铂(oxaliplatin)(乐沙定(ELOXATIN®));(7)拓扑异构酶抑制剂,诸如伊立替康(irinotecan)(开普拓沙(CAMPTOSAR®))、拓扑替康(topotecan)(癌康定(HYCAMTIN®))、依托泊苷(etoposide)(凡毕复(ETOPOPHOS®)、灭必治(VEPESSID®)、托普萨(TOPOSAR®))和替尼泊苷(teniposide)(威猛(VUMON®));(8)表鬼臼毒素(epipodophyllotoxin)(鬼臼毒素(podophyllotoxin)衍生物),诸如依托泊苷(凡毕复®、灭必治®、托普萨®);(9)叶酸衍生物,诸如甲酰四氢叶酸(leucovorin)(维尔卡伏(WELLCOVORIN®));(10)亚硝基脲(nitrosourea),诸如卡莫司汀(比克纽®)、洛莫司汀(斯思尤®);(11)包括表皮生长因子受体(EGFR)、血管内皮生长因子(VEGF)、胰岛素受体、胰岛素样生长因子受体(IGFR)、肝细胞生长因子受体(HGFR)和血小板源性生长因子受体(PDGFR)的受体酪氨酸激酶的抑制剂,诸如吉非替尼(gefitinib)(易瑞沙(IRESSA®))、埃罗替尼(erlotinib)(塔西瓦(TARCEVA®))、硼替佐米(bortezomib)(维尔科德(VELCADE®))、甲磺酸伊马替尼(imatinib mesylate)(格列卫(GLEEVEC®))、吉非替尼(genefitinib)、拉帕替尼(lapatinib)、索拉非尼(sorafenib)、沙利度胺(thalidomide)、舒尼替尼(sunitinib)(舒腾特(SUTENT®))、阿西替尼(axitinib)、利妥昔单抗(rituximab)(利妥星(RITUXAN)、美罗华(MABTHERA®))、曲妥珠单抗(trasmzumab)(赫赛汀(HERCEPTIN®))、西妥昔单抗(cetuximab)(爱必妥(ERBITUX®))、贝伐单抗(bevacizumab)(阿伐斯汀(AVASTIN®))和雷珠单抗(ranibizumab)(诺适得(LUCENTIS®))、lym-1(安可临(ONCOLYM®))、WO2002/053596中公开的针对胰岛素样生长因子-1受体(IGF-1R)的抗体;(12)血管生成抑制剂,诸如贝伐单抗(阿伐斯汀®)、苏拉明(suramin)(各莫素(GERMANIN®))、血管抑素(angiostatin)、SU5416、沙利度胺和基质金属蛋白酶抑制剂(诸如巴马司他(batimastat)和马立马司他(marimastat))以及WO2002055106中公开的那些;和(13)蛋白酶体抑制剂,诸如硼替佐米(维尔科德®)。

[0164] 术语“免疫治疗剂”是指可使哺乳动物的免疫应答增强的化学或生物物质。免疫治

疗剂的实例包括:卡介苗(BCG);细胞因子,诸如干扰素;疫苗,诸如MyVax个性化免疫疗法、Onyvax-P、安可菲(Oncophage)、GRNVAC1、法维得(Favld)、普罗温基(Provenge)、吉瓦克斯(GVAX)、洛瓦新C(Lovaxin C)、拜瓦希得(BiovaxID)、吉姆克斯(GMXX)和纽瓦克斯(NeuVax);以及抗体,诸如阿来珠单抗(alemtuzumab)(坎帕斯(CAMPATH®))、贝伐单抗(阿伐斯汀®)、西妥昔单抗(爱必妥®)、奥佐米星吉妥单抗(gemtuzunab ozogamicin)(米洛他(MYLOTARG®))、替坦异贝莫单抗(ibritumomab tiuxetan)(泽瓦林(ZEVALIN®))、帕尼单抗(panitumumab)(维克替比(VECTIBIX®))、利妥昔单抗(利妥星®、美罗华®)、曲妥珠单抗(赫赛汀®)、托西莫单抗(tositumomab)(百克沙(BEXXAR®))、伊匹木单抗(叶沃(YERVOY®))、曲美木单抗(tremelimumab)、CAT-3888、针对OX40受体的激动抗体(诸如WO2009/079335中公开的那些)、针对CD40受体的激动抗体(诸如WO2003/040170中公开的那些)和TLR-9激动剂(诸如WO2003/015711、WO2004/016805和WO2009/022215中公开的那些)。

[0165] 术语"激素治疗剂"是指抑制或消除激素的产生,或抑制或抵抗激素对癌性细胞的生长和/或存活的影响的化学或生物物质。适于本文方法的所述药剂的实例包括US20070117809中公开的那些。特定激素治疗剂的实例包括他莫昔芬(tamoxifen)(洛尔瓦德(NOLVADEX®))、托瑞米芬(toremifene)(法乐通(FARESTON®))、氟维司群(fulvestrant)(法斯洛德(FASLODEX®))、阿那曲唑(anastrozole)(安美达(ARIMIDEX®))、依西美坦(exemestane)(阿诺新(AROMASIN®))、来曲唑(letrozole)(弗隆(FEMARA®))、乙酸甲地孕酮(megestrol acetate)(美格思(MEGACE®))、戈舍瑞林(goserelin)(诺雷德(ZOLADEX®))和亮脯利特(leuprolide)(利普安(LUPRON®))。本公开的抗CTLA4抗体还可与非药物激素疗法组合使用,所述非药物激素疗法诸如(1)移除参与产生激素的器官或腺体诸如卵巢、睾丸、肾上腺和垂体腺的全部或一部分的手术方法,和(2)放射治疗,其中使患者的器官或腺体经受数量足以抑制或消除所靶向激素的产生的放射。

[0166] 在一些实施方案中,额外治疗剂是以下中的一者或多者:泊马莱斯特、雷利米德、来那度胺、泊马度胺、沙利度胺、DNA烷基化含铂衍生物顺铂、5-氟尿嘧啶、环磷酰胺、抗CD137抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗CD20抗体、抗CD40抗体、抗DR5抗体、抗CDld抗体、抗TIM3抗体、抗SLAMF7抗体、抗KIR受体抗体、抗OX40抗体、抗HER2抗体、抗ErbB-2抗体、抗EGFR抗体、西妥昔单抗、利妥昔单抗、曲妥珠单抗、帕母单抗、放射疗法、单次剂量放射、分次放射、局灶性放射、全器官放射、IL-12、IFNα、GM-CSF、嵌合抗原受体、继承性转移的T细胞、抗癌疫苗和溶瘤性病毒。在一些实施方案中,另外的治疗剂是抗PD-1抗体。在一些实施方案中,另外的治疗剂是抗PD-1抗体。

[0167] 用于治疗癌症的组合疗法还涵盖抗CTLA4抗体与用以移除肿瘤的手术的组合。抗CTLA4抗体可在手术之前、期间或之后向哺乳动物施用。

[0168] 用于治疗癌症的组合疗法还涵盖抗CTLA4抗体与放射疗法诸如离子化(电磁)放射

疗法(例如X射线或γ射线)和粒子束放射疗法(例如高线性能量放射)的组合。放射源可在哺乳动物的外部或内部。抗CTLA4抗体可在放射疗法之前、期间或之后向哺乳动物施用。

[0169] 还提供了用于此部分描述方法的本文所述任一抗CTLA4抗体的组合物,和抗CTLA4抗体在制备用于治疗癌症(例如实体癌症,如尿路上皮癌)的药物中的用途。

[0170] III.生物标志物

[0171] 本申请还提供可与本文所述的任何一种治疗方法结合使用的生物标志物。合适的生物标志物包括IL-1β、IL-2、IL-6、干扰素(IFN)-γ、肿瘤坏死因子(TNF)-α、可溶性CTLA4(sCTLA4)、可溶性PD-L1(sPD-L1)、可溶性CD25(sCD25)、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+效应记忆T(T_{em})细胞、CD4+ T_{em}细胞、调节性T(T_{reg})细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞。

[0172] 在一些实施方案中,提供一种通过施用有效量的抗CTLA4抗体来治疗受试者的癌症或延迟其进展方法,其基于来自受试者的一种或多种样品中选自由IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、IFN-γ、TNF-α、sCTLA4、sPD-L1、sCD25、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组中的一种或多种生物标志物水平来进行。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包括CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含NK细胞。

[0173] 在一些实施方案中,提供一种确定受试者是否可能对包含抗CTLA4抗体的疗法有响应的方法,其基于来自受试者的一种或多种样品中选自由IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、IFN-γ、TNF-α、sCTLA4、sPD-L1、sCD25、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组中的一种或多种生物标志物水平来进行。在一些实施方案中,提供在确定受试者有可能响应抗CTLA4抗体之后通过施用有效量的抗CTLA4抗体来治疗受试者的癌症或延迟其进展方法。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含NK细胞。

[0174] 在一些实施方案中,提供一种选择受试者接受或不接受包含抗CTLA4抗体疗法的方法,其基于来自受试者的一种或多种样品中选自由IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、IFN-γ、TNF-α、sCTLA4、sPD-L1、sCD25、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比

率、NK细胞和B细胞组成的组中的一种或多种生物标志物水平来进行。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含NK细胞。

[0175] 在一些实施方案中，提供一种预测受试者对于包含抗CTLA4抗体疗法的反应性和/或监测治疗和/或反应性的方法，其基于来自受试者的一种或多种样品中选自由IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、IFN-γ、TNF-α、sCTLA4、sPD-L1、sCD25、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞，CD8+ T_{em}细胞，CD4+ T_{em}细胞，T_{reg}细胞，CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组中的一种或多种生物标志物水平来进行。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含NK细胞。

[0176] 在一些实施方案中，提供一种将患者阳性和/或阴性地分层至特定治疗方案组的方法，其基于来自受试者的一种或多种样品中选自由IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、IFN-γ、TNF-α、sCTLA4、sPD-L1、sCD25、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组中的一种或多种生物标志物水平来进行。在一些实施方案中，治疗包含施用抗CTLA4抗体。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中，一种或多种生物标志物包含NK细胞。

[0177] 在一些实施方案中，提供一种用于确定来自受试者的一种或多种样品中选自由IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、IFN-γ、TNF-α、sCTLA4、sPD-L1、sCD25、CXCL11、FoxP3、Ki67、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组中的一种或多种生物标志物水平的测定方法。在一些实施方案中，测定方法为流式细胞术测定。在一些实施方案中，测定方法为免疫组织化学(IHC)测定。在一些实施方案中，测定方法为能够检测两种或更多种生物标志物的多重IHC测定。在一些实施方案中，测定方法为免疫测定，例如Meso Scale

Discovery(MSD)测定。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含NK细胞。

[0178] 在一些实施方案中,提供一种治疗受试者癌症的方法,包括:(a)向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,(b)随后确定受试者的样品中选自由以下组成的组中一种或多种生物标志物水平:CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞、B细胞。在一些实施方案中,与一种或多种生物标志物的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后选自CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组的一种或多种生物标志物水平增加表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。在一些实施方案中,与T_{reg}细胞的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后T_{reg}细胞的水平降低表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。在一些实施方案中,癌症是实体癌症,例如晚期和/或转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是尿路上皮癌。在一些实施方案中,癌症对先前疗法具有耐药性或难治性,其中先前疗法为CTLA4抑制剂(例如伊匹木单抗)、PD-1抑制剂(例如帕母单抗)或PD-1配体抑制剂。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含NK细胞。在一些实施方案中,抗体是TY21580。

[0179] 在一些实施方案中,提供一种治疗受试者癌症的方法,包括:(a)向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108,(b)随后确定受试者的样品中选自由以下组成的组中一种或多种生物标志物水平:CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞,以及(c)其中与一种或多种生物标志物的基线水平相比,样品施用抗CTLA4抗体后选自CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组的一种或多种生物标志物水平增加,和/或与T_{reg}细胞的基线水平相比,样品施用抗CTLA4抗体后T_{reg}细胞的水平降低,向受试者施用进一步周期的有效量的抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,癌症是实体癌症,例如晚期和/或转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是尿路上皮癌。在一些实施方案中,癌症对先前疗法具有耐药性或难治性,其中先前疗法为CTLA4抑制剂(例如伊匹木单抗)、PD-1抑制剂(例如帕母单抗)或PD-1配体抑制剂。在一些实施方案中,一种或

多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含NK细胞。在一些实施方案中,抗体是TY21580。

[0180] 在一些实施方案中,提供一种为受试者提供预后的方法,受试者已经施用有效量的抗CTLA4抗体,其中抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106,但不包含残基I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据SEQ ID NO:108;所述方法包含确定受试者的样品中选自由以下组成的组中一种或多种生物标志物水平:CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞、B细胞,其中:(a)与一种或多种生物标志物的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后选自CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞和B细胞组成的组的一种或多种生物标志物水平增加表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加;和/或(b)与T_{reg}细胞的基线水平相比,施用抗CTLA4抗体后T_{reg}细胞的水平降低表明受试者对CTLA4抗体具有有效响应的可能性增加。在一些实施方案中,癌症是实体癌症,例如晚期和/或转移性癌症。在一些实施方案中,癌症是尿路上皮癌。在一些实施方案中,癌症对先前疗法具有耐药性或难治性,其中先前疗法为CTLA4抑制剂(例如伊匹木单抗)、PD-1抑制剂(例如帕母单抗)或PD-1配体抑制剂。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含T_{reg}细胞。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物包含NK细胞。在一些实施方案中,抗体是TY21580。

[0181] 在一些实施方案中,生物标志物是细胞群,例如肿瘤浸润性T细胞、CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、NK细胞和/或B细胞,或两个细胞群之间的比率,例如CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率或CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率。用于确定样品中细胞群水平的合适方法是本领域已知的,包括例如荧光激活细胞分选(FACS)。在一些实施方案中,所述样品是血液样品。在一些实施方案中,所述样品是肿瘤样品。在一些实施方案中,所述T细胞是肿瘤浸润性T细胞。

[0182] 在一些实施方案中,所述方法包含确定样品中T_{em}细胞的水平。在一些实施方案中,T_{em}细胞是CD8+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,T_{em}细胞是CD4+ T_{em}细胞。在一些实施方案中,T_{em}细胞是CD45RO+CCR7-L-选择蛋白-T细胞。在一些实施方案中,T_{em}细胞的CD44中至高度表达。在一些实施方案中,在可能对抗CTLA4抗体治疗有响应的受试者中,受试者接受抗CTLA4抗体后,相较于基线水平(例如,受试者接受抗CTLA4抗体前),T_{em}细胞(例如CD8+ T_{em}细胞或CD4+ T_{em}细胞)的水平增加至少约10%、20%、30%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、150%、2倍、3倍、4倍、5倍或更多倍。在一些实施方案中,相较于参考水平(例如,健康受试者的T_{em}细胞水平),受试者接受抗CTLA4抗体前的低水平T_{em}细胞表明受试者可能对抗CTLA4抗体治疗有响应。在一些实施方案中,与参考水平相比低水平为不超过90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%或低于参考水平中的任一种。

[0183] 在一些实施方案中,该方法包含确定样品中T_{reg}细胞的水平。在一些实施方案中,T_{reg}细胞是CD4+CD25+FOXP3+ T细胞。在一些实施方案中,与基线水平相比,受试者接受抗CTLA4抗体后T_{reg}细胞水平的降低表明该受试者可能对抗CTLA4抗体治疗有响应,例如受试者可能具有稳定疾病或部分缓解。在一些实施方案中,在可能对抗CTLA4抗体治疗有响应的受试者中,与受试者接受抗CTLA4抗体前相比,受试者接受抗CTLA4抗体后,T_{reg}细胞的水平降低至少约10%、20%、30%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。

[0184] 在一些实施方案中,所述方法包含施用抗CTLA4抗体后确定T_{em}细胞水平与T_{reg}细胞水平的比率,例如CD8+ T_{em}细胞水平与T_{reg}细胞水平的比率、和/或CD8+ T_{em}细胞水平与T_{reg}细胞水平的比率。在一些实施方案中,与基线水平相比,受试者接受抗CTLA4抗体后CD8+T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率增加表明受试者可能对抗CTLA4抗体治疗有响应,例如,受试者可能具有稳定疾病或部分缓解。在一些实施方案中,在可能对抗CTLA4抗体治疗有响应的受试者中,与受试者接受抗CTLA4抗体前相比,受试者接受抗CTLA4抗体后,CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率增加至少约10%、20%、30%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。在一些实施方案中,与基线水平相比,受试者接受抗CTLA4抗体后CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率增加表明受试者可能对抗CTLA4抗体治疗有响应,例如,受试者可能具有稳定疾病或部分缓解。在一些实施方案中,在可能对抗CTLA4抗体治疗有响应的受试者中,与受试者接受抗CTLA4抗体前相比,受试者接受抗CTLA4抗体后,CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率增加至少约10%、20%、30%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。

[0185] 在一些实施方案中,该方法包含确定样品中NK细胞,例如血液样品,例如外周血样品的水平。在一些实施方案中,与NK细胞基线水平相比,受试者接受抗CTLA4抗体后NK细胞水平的增加表明受试者对抗CTLA4抗体治疗有响应的可能性增加,例如受试者可能具有稳定疾病或部分缓解。在一些实施方案中,在可能对抗CTLA4抗体治疗有响应的受试者中,与受试者施用抗CTLA4抗体前相比,受试者施用抗CTLA4抗体后,NK细胞的水平增加至少约10%、20%、30%、50%、60%、70%、80%、90%或更多百分比。在一些实施方案中,与参考水平(例如,健康受试者的NK细胞水平)相比,受试者中施用抗CD137抗体前的低水平NK细胞水平表明该受试者可能对抗CD137抗体治疗有响应。在一些实施方案中,与参考水平相比低水平为不超过90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%或低于参考水平中的任一种。

[0186] 在一些实施方案中,通过确定生物标志物的RNA转录物表达水平来测量样品中的生物标志物水平。测量样品中的RNA转录物水平的合适方法是本领域已知的,包括例如通过Northern印迹分析、核酸酶保护测定、原位杂交、PCR分析(例如,qPCR、RT-PCR、RT-qPCR等),以及下一代测序(例如,RNAseq)。在一些实施方案中,通过RT-PCR、原位杂交和/或RNAseq测量生物标志物的转录物表达水平。

[0187] 在一些实施方案中,通过确定生物标志物的蛋白质表达水平来测量样品中的生物标志物水平。测量样品中的蛋白质表达的合适方法是本领域已知的,包括例如免疫测定(例如Meso Scale Discovery或MSD测定)、免疫组织化学(IHC)、PET成像、蛋白质印迹、酶联免疫吸附测定(ELISA)、流式细胞术和质谱。在一些实施方案中,通过免疫测定、蛋白质印迹、ELISA、IHC和/或流式细胞术测量生物标志物的蛋白表达水平。

[0188] 在一些实施方案中,在从受试者获得的一种或多种(例如,一种或多种、两种或更

多种、三种或更多种、四种或多更多种等)样品中测量一种或多种生物标志物水平。已知或被认为含有患病细胞和/或目标靶标的呈组织和/或流体形式的任何合适样品均可用于本文所述的方法,包括例如痰液、胸膜液、淋巴液、骨髓、血液、血浆、血清、尿液、组织样品(已知或预期含有癌细胞的样品)、肿瘤样品、肿瘤活检物等。在一些实施方案中,样品是血液样品。在一些实施方案中,样品是血清样品。在一些实施方案中,样品是肿瘤样品。在一些实施方案中,样品是肿瘤活检物。在一些实施方案中,样品包含一个或多个癌细胞。

[0189] 获得合适的组织和/或流体样品的方法(例如,适于从特定类型、位置、疾病组织等获得代表性样品的方法)是本领域普通技术人员众所周知的,包括例如,通过切除术、骨髓活检或骨髓穿刺、内窥镜活检或内窥镜穿刺(例如,膀胱镜检、支气管镜检、结肠镜检等)、针头活检或针头穿刺(例如,细针穿刺、空芯针活检、真空辅助活检、图像引导活检等)、皮肤活检(例如,刮取活检、钻取活检、切开活检、切除活检等)、各种其他手术组织(例如,肿瘤组织)活检和/或切除策略,以及流体收集(例如,收集尿液、血液、血清、血浆、痰液等)。

[0190] 在一些实施方案中,从受试者获得的一种或多种样品富集患病(例如,癌性)细胞。使组织或流体制备物富集患病(例如,癌性)细胞的方法是本领域已知的,包括例如,通过流式细胞术将患病(例如,癌性)细胞与正常细胞分开。在一些实施方案中,在富集样品中测量一种或多种生物标志物水平。在一些实施方案中,在分离后未富集或以其他方式改变的样品中测量一种或多种生物标志物水平。

[0191] 在一些实施方案中,一种或多种样品通过常规方法固定(即,防腐保存)(参见例如,“Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology,”第3版(1960)LeeG.Luna,HT(ASCP)编辑,The Blakston Division McGraw-Hill Book Company,New York;The Armed Forces Institute of Pathology Advanced Laboratory Methods in Histology and Pathology(1994)Ulreka V.Mikel编辑,Armed Forces Institute of Pathology,American Registry of Pathology,Washington,D.C.)。固定剂的选择可出于将对样品进行分析的目的由本领域普通技术人员确定。固定的时间长度将取决于组织样品的大小和类型以及所用的固定剂(例如,中性缓冲的福尔马林、多聚甲醛等),如本领域普通技术人员将认识到的那样。在一些实施方案中,在固定的样品中测量一种或多种生物标志物水平。在一些实施方案中,在分离后未固定或以其他方式改变的样品中测量一种或多种生物标志物水平。

[0192] 在一些实施方案中,在施用抗CTLA4抗体之前,从受试者获得一种或多种样品。在一些实施方案中,在施用第一和/或后续剂量的抗CTLA4抗体之后,从受试者获得一种或多种样品。在一些实施方案中,在完成抗CTLA4抗体疗法之后,从受试者获得一种或多种样品。在一些实施方案中,在完成抗CTLA4抗体疗法之前、期间和之后,从受试者获得一种或多种样品。

[0193] 在一些实施方案中,所述方法包含将从受试者获得的样品中的生物标志物水平与生物标志物的参考水平进行比较。在一些实施方案中,参考水平是参考样品(例如,参考细胞(诸如细胞系,包括但不限于Raji(ATCC,CC-86)或Daudi(ATCC,CCL-213)细胞系)、从被确定为对抗CTLA4抗体疗法有响应的一个或多个患者获取的对应样品、从被确定为对抗CTLA4抗体疗法无响应的一个或多个患者获取的对应样品、对应的相邻正常组织等)中的生物标志物水平。在一些实施方案中,使用与用于测量受试者的样品中的生物标志物水平的方法

相同的方法在参考样品中测量参考水平。在一些实施方案中,使用与用于测量受试者的样品中的生物标志物水平的方法不同的方法在参考样品中测量参考水平。

[0194] 在一些实施方案中,参考水平是预先确定的生物标志物水平(例如,从多个参考患者分离的患病样品(诸如组织活检物或血清样品)的数据库中的平均生物标志物水平;从多个健康参考患者分离的样品(诸如组织活检物或血清样品)的数据库中的平均生物标志物水平;等等)。

[0195] 在一些实施方案中,参考水平是受试者施用抗CTLA4抗体前的生物标志物基线水平。

[0196] 在一些实施方案中,生物标志物的参考水平是指可检测的表达水平。也就是说,在一些实施方案中,当样品中的生物标志物水平不可检测,例如低于检测极限时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为低于参考水平。

[0197] 在一些实施方案中,当样品中的生物标志物水平比参考水平低至少约25%时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为低于参考水平。例如,当样品中的生物标志物水平比参考水平低至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为低于参考水平。在一些实施方案中,当样品中的生物标志物水平比参考水平低至少约1倍时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为低于参考水平。例如,当样品中的生物标志物水平比参考水平低至少约1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约4.5倍、至少约5倍、至少约5.5倍、至少约6倍、至少约6.5倍、至少约7倍、至少约7.5倍、至少约8倍、至少约8.5倍、至少约9倍、至少约9.5倍、至少约10倍、至少约100倍或至少约1000倍时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为低于参考水平。在一些实施方案中,从受试者获得的样品中的生物标志物水平低于检测极限。在一些实施方案中,当样品中的生物标志物水平低于检测极限,而参考水平高于检测极限、可检测和/或不为零时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为低于参考水平。在一些实施方案中,在进行用于测量生物标志物水平的测定时,当水平未给出明显信号、可检测信号和/或与适当的阴性对照没有显著差异时,该水平被认为低于检测极限(例如,低于测量生物标志物的RNA转录物表达的测定(诸如RT-PCR、原位杂交和/或下一代测序)的检测极限,低于测量生物标志物蛋白质表达的测定(诸如免疫测定、PET成像、蛋白质印迹、ELISA、免疫组织化学和/或流式细胞术)的检测极限,等等)。

[0198] 在一些实施方案中,当从受试者获得的样品中的生物标志物水平低于参考水平时,向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,当从受试者获得的样品中的生物标志物水平低于参考水平时,受试者被确定为可能对抗CTLA4抗体有响应。在一些实施方案中,在已确定受试者可能对抗CTLA4抗体有响应之后,向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,当从受试者获得的样品中的生物标志物水平低于参考水平时,选择患有癌症的受试者以使用抗CTLA4抗体进行治疗。在一些实施方案中,当从受试者获得的样品中的生物标志物水平低于参考水平时,将受试者阳性分层以参与抗CTLA4抗体疗法。

[0199] 在一些实施方案中,当样品中的生物标志物水平比参考水平高至少约5%时,在从

受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为高于参考水平。例如,当样品中的生物标志物水平比参考水平高至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为高于参考水平。在一些实施方案中,当样品中的生物标志物水平比参考水平高至少约1倍时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为高于参考水平。例如,当样品中的生物标志物水平比参考水平高至少约1倍、至少约1.5倍、至少约2倍、至少约2.5倍、至少约3倍、至少约3.5倍、至少约4倍、至少约4.5倍、至少约5倍、至少约5.5倍、至少约6倍、至少约6.5倍、至少约7倍、至少约7.5倍、至少约8倍、至少约8.5倍、至少约9倍、至少约9.5倍、至少约10倍、至少约100倍或至少约1000倍时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为高于参考水平。在一些实施方案中,参考样品中的生物标志物水平低于检测极限。在一些实施方案中,当样品中的生物标志物水平高于检测极限、可检测和/或不为零,而参考样品中的生物标志物水平低于检测极限时,在从受试者获得的样品中测得的生物标志物水平被认为高于参考水平。在一些实施方案中,在进行用于测量生物标志物水平的测定时,当水平未给出明显信号、可检测信号和/或与适当的阴性对照没有显著差异时,该水平被认为低于检测极限(例如,低于测量生物标志物的RNA转录物表达的测定(诸如RT-PCR、原位杂交和/或下一代测序)的检测极限,低于测量生物标志物蛋白质表达的测定(诸如免疫测定、PET成像、蛋白质印迹、ELISA、免疫组织化学和/或流式细胞术)的检测极限,等等)。

[0200] 在一些实施方案中,当从受试者获得的样品中的生物标志物水平高于参考水平时,向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,当从受试者获得的样品中的生物标志物水平高于参考水平时,受试者被确定为可能对抗CTLA4抗体有响应。在一些实施方案中,在已确定受试者可能对抗CTLA4抗体有响应之后,向受试者施用有效量的抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,当从受试者获得的样品中的生物标志物表达水平高于参考水平时,选择患有癌症的受试者以使用抗CTLA4抗体进行治疗。在一些实施方案中,当从受试者获得的样品中的生物标志物水平高于参考水平时,将受试者阳性分层以参与抗CTLA4抗体疗法。

[0201] 在一些实施方案中,该方法包含在抗CTLA4抗体治疗过程中的两个或更多个时间点确定生物标志物的水平。在一些实施方案中,该方法包含在施用抗CTLA4抗体之前确定从受试者获得的样品中的生物标志物(例如,CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞)的水平。在一些实施方案中,该方法包含在施用抗CTLA4抗体后确定从受试者获得的样品中的生物标志物的水平。在一些实施方案中,该方法包含在抗CTLA4抗体治疗每轮周期后确定从受试者获得的样品中的生物标志物的水平。在一些实施方案中,该方法包含确定施用抗CTLA4抗体后的生物标志物水平(C2)与施用抗CTLA4抗体前的生物标志物水平(C1)的差异与施用抗CTLA4抗体前的生物标志物水平(C1)之间的比率("诱导比率"):(C2-C1)/C1。在一些实施方案中,至少约50%、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更高的任一者的诱导比率表明对抗CTLA4抗体治疗有高可能性的响应,即,治疗后具有疾病稳定(SD)或部分缓解(PR)。

[0202] IV.抗CTLA4抗体

[0203] 本文所述方法包含施用特异性结合人CTLA4的抗CTLA4抗体,包括CTLA4抗体、CTLA4抗体的抗原结合片段、以及CTLA4抗体的衍生物。示例性抗CTLA4抗体已在例如国际公开号WO2019149281A1中描述,其以引用方式整体并入本文。

[0204] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是本文所述的任何抗体,包括关于HVR、可变区(VL、VH)以及轻链和重链(例如IgG1、IgG2、IgG4)的特定氨基酸序列所述的抗体。在一些实施方案中,抗体是人抗体。在一些实施方案中,抗体是人源化抗体和/或嵌合抗体。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体结合人CTLA4,并且具有以下功能性质中的至少一者(例如至少一者、至少两者、至少三者、至少四者、至少五者、至少六者、至少七者、至少八者或全部九者):(a)以500nM或更小的K_D结合人、食蟹猴、小鼠、大鼠和/或狗CTLA4;(b)对人CTLA4具有拮抗活性;(c)在多达100nM的浓度下不结合人PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG3、TIM3、B7-H3、CD95、CD120a、OX40、CD40、BTLA、VISTA、ICOS和/或B7-H4;(d)与猴、小鼠、大鼠和/或狗CTLA4具有交叉反应性;(e)诱导ADCC效应(例如对Treg);(f)使人PBMC活化(例如刺激IL-2和/或IFNγ的分泌);(g)能够抑制肿瘤细胞生长;(h)对癌症具有治疗作用;和(i)阻断人CTLA4与人CD80和/或CD86的结合。在一些实施方案中,在其中当人CD80和/或CD86被固定(或进行板结合)时或当人CTLA4蛋白存在于细胞表面上时的测定中,相较于伊匹木单抗,本文所述的抗CTLA4抗体在阻断CD80和/或CD86与人CTLA4的结合方面具有较低活性。在一些实施方案中,相较于PBMC或脾中的Treg消减,本文所述的抗CTLA4抗体选择性地使肿瘤环境中的Treg细胞消减。在一些实施方案中,相较于伊匹木单抗,本文所述的抗CTLA4抗体在肿瘤微环境中具有更高Treg消减活性。本文还提供了一种或多种与本文所述的抗体或抗原结合片段中的一者或多者交叉竞争结合人CTLA4的抗CTLA4抗体或抗原结合片段。

[0205] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段以约500nM或更小(例如约500nM或更小,约450nM或更小,约400nM或更小,约350nM或更小,约300nM或更小,约250nM或更小,约200nM或更小,约150nM或更小,约100nM或更小,约90nM或更小,约80nM或更小,约70nM或更小,约60nM或更小,约50nM或更小,约40nM或更小,约30nM或更小,约25nM或更小,约20nM或更小,约10nM或更小,约1nM或更小,约0.1nM或更小等)的K_D结合人、食蟹猴、小鼠、大鼠和/或狗CTLA4。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段以约350nM或更小的K_D结合人、食蟹猴、小鼠、大鼠和/或狗CTLA4。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段以约100nM或更小的K_D结合人CTLA4。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段以约50nM或更小的K_D结合人CTLA4。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段以约10nM或更小的K_D结合人CTLA4。测量抗体或抗原结合片段的K_D的方法可使用本领域中已知的任何方法进行,包括例如通过表面等离子体共振、ELISA、等温滴定量热法、滤膜结合测定、EMSA等。在一些实施方案中,K_D通过表面等离子体共振或ELISA测量(参见例如以下实施例3)。

[0206] 在一些实施方案中,本文所述的抗体或抗原结合片段对人CTLA4具有拮抗活性。在一些实施方案中,当表达人CTLA4的细胞(例如人细胞)由抗体或抗原结合片段接触时,抗体或抗原结合片段阻遏人CTLA4的一种或多种活性(例如CTLA4阻断,如使用CLA4阻断报告基因测定,通过报告基因信号增加所度量)。

[0207] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段与猴(例如食蟹猴)、小鼠、大鼠和/或狗CTLA4具有交叉反应性。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段与猴CTLA4具有交叉反应性。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段与小鼠CTLA4具有交叉反应性。在一些实施方

案中,抗体或抗原结合片段与大鼠CTLA4具有交叉反应性。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段与狗CTLA4具有交叉反应性。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段与猴和小鼠CTLA4;猴和大鼠CTLA4;猴和狗CTLA4;小鼠和大鼠CTLA4;小鼠和狗CTLA4;大鼠和狗CTLA4;猴、小鼠和大鼠CTLA4;猴、小鼠和狗CTLA4;猴、大鼠和狗CTLA4;小鼠、大鼠和狗CTLA4;或猴、小鼠、大鼠和狗CTLA4具有交叉反应性。在一些实施方案中,如果抗体或抗原结合片段以小于约500nM(例如小于约1nM、小于约10nM、小于约25nM、小于约50nM、小于约75nM、小于约100nM、小于约150nM、小于约200nM、小于约250nM、小于约300nM、小于约350nM等)的K_D结合至非人CTLA4分子,那么抗体或抗原结合片段具有交叉反应性。测量抗体交叉反应性的方法在本领域中是已知的,包括不限于表面等离子体共振、ELISA、等温滴定量热法、滤膜结合测定、EMSA等。在一些实施方案中,交叉反应性通过ELISA测量。

[0208] 在一些实施方案中,在抗体结合细胞表达的CTLA4之后,抗体诱导针对CTLA4表达性细胞(例如针对CTLA4表达性人细胞诸如Treg)的ADCC效应。测量ADCC效应的方法(例如体外方法)在本领域中是已知的。在一些实施方案中,相对于对照(例如同种型对照或伊匹木单抗),抗体诱导ADCC效应超过约10%(例如诱导ADCC超过约10%、超过约15%、超过约20%、超过约25%、超过约30%、超过约35%、超过约40%等)。

[0209] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段能够抑制肿瘤细胞生长和/或增殖。在一些实施方案中,相对于未与抗体或抗原结合片段接触的相应肿瘤细胞(或相对于与同种型对照抗体接触的相应肿瘤细胞),当与抗体或抗原结合片段接触时,肿瘤细胞生长和/或增殖被抑制至少约5%(例如至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或至少约99%)。在一些实施方案中,当向受试者施用抗体或抗原结合片段时,抗体或抗原结合片段能够使所述受试者中的肿瘤体积降低。在一些实施方案中,相对于受试者中的初始肿瘤体积(例如在施用抗体或抗原结合片段之前;相较于被施用同种型对照抗体的受试者中的相应肿瘤),抗体或抗原结合片段能够使所述受试者中的肿瘤体积降低至少约5%(例如至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或至少约99%)。监测肿瘤细胞生长/增殖、肿瘤体积和/或肿瘤抑制的方法在本领域中是已知的。

[0210] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段对癌症具有治疗作用。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段使癌症的一种或多种征象或症状减轻。在一些实施方案中,当被施用抗体或抗原结合片段时,罹患癌症的受试者得到部分或完全缓解。

[0211] 在另一方面,本公开提供与本公开的任何说明性抗体诸如TY21585、TY21586、TY21587、TY21588、TY21589、TY21580、TY21591、TY21686、TY21687、TY21689、TY21680、TY21691和/或TY21692竞争或交叉竞争结合人CTLA4的经分离抗体。在一特定实施方案中,本申请提供与本公开的任何说明性抗体竞争或交叉竞争结合人CTLA4上的相同表位的经分离抗体。抗体与另一抗体竞争或交叉竞争结合的能力可使用本领域中已知的标准结合测定诸如BIAcore分析、ELISA测定或流式细胞计量术来测定。举例来说,可使本公开的说明性抗体在饱和条件下结合人CTLA4,接着测量测试抗体结合CTLA4的能力。如果测试抗体能够与说明性抗体同时结合CTLA4,那么测试抗体与说明性抗体结合不同表位。然而,如果测试抗体不能同时结合CTLA4,那么测试抗体结合相同表位、重叠表位、或紧密邻近于由说明性抗

体结合的表位的表位。这个实验可使用各种方法诸如ELISA、RIA、FACS或表面等离子体共振来进行。

[0212] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段阻断CTLA4与它的结合配偶体中的一者或多者(例如人CTLA4与人CD80、人CTLA4与人CD86)之间的结合。在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段在体外阻断CTLA4与它的配体之间的结合。在一些实施方案中,对于阻断CTLA4与CD80和/或CD86的结合,抗体或抗原结合片段具有约500nM或更小(例如约500nM或更小、约400nM或更小、约300nM或更小、约200nM或更小、约100nM或更小、约50nM或更小、约25nM或更小、约10nM或更小、约1nM或更小等)的半数最大抑制浓度(IC_{50})。在一些实施方案中,对于阻断CTLA4与CD80和/或CD86的结合,抗体或抗原结合片段具有约100nM或更小的半数最大抑制浓度(IC_{50})。在一些实施方案中,当在约100nM或更大(例如约100nM或更大、约500nM或更大、约1μM或更大、约10μM或更大等)的浓度下提供时,抗体或抗原结合片段完全阻断人CTLA4与CD80和/或CD86的结合。如本文所用,术语“完全阻断(complete blocking/completely blocks)”是指抗体或抗原结合片段能够使第一蛋白与第二蛋白之间的结合降低至少约80%(例如至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约99%等)。测量抗体或抗原结合片段阻断第一蛋白(例如人CTLA4)和第二蛋白(例如人CD80或人CD86)的结合的能力的方法在本领域中是已知的,包括不限于通过BIAcore分析、ELISA测定和流式细胞计量术。在一些实施方案中,相比于伊匹木单抗,本文所述的抗CTLA4抗体在阻断配体结合方面具有较低活性。

[0213] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体以1000nM或更小(例如50nM或更小、10nM或更小)的K_D结合人CTLA4,如通过表面等离子体共振所测量。在一些实施方案中,抗体与至少一个选自食蟹猴、小鼠、大鼠和狗的非人物种具有交叉反应性。

[0214] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体特异性结合与人CTLA4的配体结合位点类似的表位。在一些实施方案中,抗体特异性结合与人CTLA4的CD80结合位点类似的表位。在一些实施方案中,抗体特异性结合与人CTLA4的CD86结合位点类似的表位。在一些实施方案中,抗体特异性结合包含人CTLA4的配体结合位点(例如CD80和/或CD86结合位点)中的一个或多个氨基酸残基的表位。在一些实施方案中,抗体特异性结合人CTLA4上与伊匹木单抗的表位不同的表位。在一些实施方案中,表位不包含人CTLA4的CC’环基序中的氨基酸残基。在一些实施方案中,表位不包含人CTLA4的氨基酸残基L106或I108。在一些实施方案中,抗体特异性结合包含人CTLA4的氨基酸残基Y105和L106而非I108的表位,其中氨基酸残基的编号根据:KAMHVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADS QVTEVCAATYMMGNELTFLDDSICTGTS SGNQVNLTIQGLRAMD TGLYICKVELMYPPPYYLGIGNGTQIYVIDPE(SEQ ID NO:108)

[0215] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含重链可变区和轻链可变区,a)其中所述重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,其中所述HVR-H1包含根据选自以下的式的氨基酸序列:式(I):X1TFSX2YX3IHWV(SEQ ID NO:1),其中X1是F或Y,X2是D或G,并且X3是A、G或W;式(II):YSIX1SGX2X3WX4WI(SEQ ID NO:2),其中X1是S或T,X2是H或Y,X3是H或Y,并且X4是A、D或S;和式(III):FSLSTGGVAVX1WI(SEQ ID NO:3),其中X1是G或S;所述HVR-H2包含根据选自以下的式的氨基酸序列:式(IV):IGX1IX2HSGSTYYSX3SLKSRV(SEQ ID NO:4),其中X1是D或E,X2是S或Y,并且X3是P或Q;式(V):IGX1ISPSX2GX3TX4YAQKFQGRV(SEQ ID NO:5),其中X1是I或W,X2是G或S,X3是G或S,并且X4是K或N;和式(VI):VSX1ISGX2GX3X4TYYADSVKGRF(SEQ ID

NO:6),其中X1是A、G或S,X2是S或Y,X3是G或S,并且X4是S或T;并且所述HVR-H3包含根据选自以下的式的氨基酸序列:式(VII):ARX1X2X3X4FDX5(SEQ ID NO:7),其中X1是G、R或S,X2是A、I或Y,X3是D、V或Y,X4是A、E或Y,并且X5是I或Y;式(VIII):ARX1GX2GYFDX3(SEQ ID NO:8),其中X1是D或L,X2是F或Y,并且X3是V或Y;式(IX):ARX1X2X3X4AX5X6FDY(SEQ ID NO:9),其中X1是L或R,X2是I或P,X3是A或Y,X4是S或T,X5是T或Y,并且X6是A或Y;和式(X):ARDX1X2X3GSSGYYX4GFDX5(SEQ ID NO:10),其中X1是I或V,X2是A或H,X3是P或S,X4是D或Y,并且X5是F或V;和/或b)其中所述轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,其中所述HVR-L1包含根据选自以下的式的氨基酸序列:式(XI):RASQX1X2X3SX4LX5(SEQ ID NO:11),其中X1是G或S,X2是I或V,X3是G或S,X4是S或Y,并且X5是A或N;式(XII):RASQX1VX2X3RX4LA(SEQ ID NO:12),其中X1是S或T,X2是F、R或S,X3是G或S,并且X4是F或Y;和式(XIII):RASX1SVDFX2GX3SFLX4(SEQ ID NO:13),其中X1是E或Q,X2是D、F、H或Y,X3是F、I或K,并且X4是A、D或H;所述HVR-L2包含根据式(XIV):X1ASX2X3X4X5GX6(SEQ ID NO:14)的氨基酸序列,其中X1是A或D,X2是N、S或T,X3是L或R,X4是A、E或Q,X5是S或T,并且X6是I或V;并且所述HVR-L3包含根据选自以下的式的氨基酸序列:式(XV):YCX1X2X3X4X5X6PX7T(SEQ ID NO:15),其中X1是E、Q或V,X2是H或Q,X3是A、G、H、R或S,X4是D、L、S或Y,X5是E、G、P、Q或S,X6是L、T、V或W,并且X7是F、L、P、W或Y;式(XVI):YCQQX1X2X3WPPWT(SEQ ID NO:16),其中X1是S或Y,X2是D或Y,并且X3是Q或Y;和式(XVII):YCQX1YX2SSPPX3YT(SEQ ID NO:17),其中X1是H或Q,X2是T或V,并且X3是E或V。

[0216] 在一些实施方案中,抗体包含:a)含有选自SEQ ID NO:18-29的氨基酸序列的HVR-H1;含有选自SEQ ID NO:30-39的氨基酸序列的HVR-H2;和含有选自SEQ ID NO:40-52的氨基酸序列的HVR-H3;和/或b)含有选自SEQ ID NO:53-65的氨基酸序列的HVR-L1;含有选自SEQ ID NO:66-69的氨基酸序列的HVR-L2;和含有选自SEQ IDNO:70-81的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含对于下表A中所述的任何示例性抗体显示的HVR中的一者、两者、三者、四者、五者或全部六者。

[0217] 表A:抗CTLA4 HVR序列

[0218]

抗体名称:	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
TY21585	FTFSDYAIHWV (SEQ ID NO: 18)	IGIISPSSGSTNYAQKFQGRV (SEQ ID NO: 30)	ARDIHSGSSGYYYGFDV (SEQ ID NO: 40)	RASESVDFFGISFLA (SEQ ID NO: 53)	DASNRATGI (SEQ ID NO: 66)	YCQHYTSSPPVYT (SEQ ID NO: 70)
TY21586	YSITSGYYWAWI (SEQ ID NO: 19)	VSSISGSGSTTYYADSVKGRF (SEQ ID NO: 31)	ARDGFGYFDY (SEQ ID NO: 41)	SASSSVSYV Y (SEQ ID NO: 54)	DASSLESGV (SEQ ID NO: 67)	YCVQGLQTPWT (SEQ ID NO: 71)
TY21587	FTFSDYGIHWV (SEQ ID NO: 20)	IGEIYHSGSTYYSPSLKSRV (SEQ ID NO: 32)	ARDVAPGSSGYYDGFDF (SEQ ID NO: 42)	RASQGIGSSLA (SEQ ID NO: 55)	DASNRATGI (SEQ ID NO: 66)	YCQQYDQWPPWT (SEQ ID NO: 72)
TY21588	YSISSGYHWDWI (SEQ ID NO: 21)	VSGISGYGGSTYYADSVKGRF (SEQ ID NO: 33)	ARHSYYGSGNFDY (SEQ ID NO: 43)	RASESVDFFGKSFLH (SEQ ID NO: 56)	DASNLETGV (SEQ ID NO: 68)	YCQQSYSWPPT (SEQ ID NO: 73)
TY21589	FTFSDYWIHWV (SEQ ID NO: 22)	IGWISPSGGGTKYAQKFQGRV (SEQ ID NO: 34)	ARGAYEFDY (SEQ ID NO: 44)	RASQSVSSRFLA (SEQ ID NO: 57)	DASNRATGI (SEQ ID NO: 66)	YCQQSYPTPLT (SEQ ID NO: 74)
TY21580	YSISSGYHWSWI (SEQ ID NO: 23)	LARIDWDDDKYYSTSLKSRL (SEQ ID NO: 35)	ARSYVYFDY (SEQ ID NO: 45)	RASQSVRGRFLA (SEQ ID NO: 58)	DASNRATGI (SEQ ID NO: 66)	YCQQSSSWPPT (SEQ ID NO: 75)
TY21591	FSLSTGGVAVSWI (SEQ ID NO: 24)	IGEIYHSGSTYYSPSLKSRV (SEQ ID NO: 32)	ARRIATATYFD Y (SEQ ID NO: 46)	RASQTVFSRYLA (SEQ ID NO: 59)	DASNRATGI (SEQ ID NO: 66)	YCQQSYYWPPWT (SEQ ID NO: 76)
TY21686	FSLSTGGVAVGWI (SEQ ID NO: 25)	VSAISGYGSTTYYADSVKGRF (SEQ ID NO: 36)	ARLPYSAYAF DY (SEQ ID NO: 47)	RASQGVSSY LA (SEQ ID NO: 60)	AASTLQSGV (SEQ ID NO: 69)	YCQHHYGTPLT (SEQ ID NO: 77)
TY21687	FTFSGYAIHWV (SEQ ID NO: 26)	IGIISPSGGGTKYAQKFQGRV (SEQ ID NO: 37)	ARHPFAY (SEQ ID NO: 48)	RASQSVDFYGISFLD (SEQ ID NO: 61)	DASNRATGI (SEQ ID NO: 66)	YCQQYVSSPPEYT (SEQ ID NO: 78)
TY21689	YTFSGYGIHWV (SEQ ID NO: 27)	IGEIYHSGSTYYSPSLKSRV (SEQ ID NO: 32)	ARRIDAFDI (SEQ ID NO: 49)	RASQSVDFDGFSFLH (SEQ ID NO: 62)	DASSLESGV (SEQ ID NO: 67)	YCQQRDSWPYT (SEQ ID NO: 79)
TY21680	YTFSGYAIHWV (SEQ ID NO: 28)	IGIISPSGGGTKYAQKFQGRV (SEQ ID NO: 37)	ARLYDVAY (SEQ ID NO: 50)	RASQSVDFHGKSFLH (SEQ ID NO: 63)	DASSLESGV (SEQ ID NO: 67)	YCEQSLEVPFT (SEQ ID NO: 80)

[0219]

TY21691	FTFSDYAIHWV (SEQ ID NO: 18)	IGIISPSGGSTKYAQKFQGRV (SEQ ID NO: 38)	ARLGYGYFDV (SEQ ID NO: 51)	RASQSVDFYGISFLH (SEQ ID NO: 64)	DASSLESGV (SEQ ID NO: 67)	YCVQALQLPLT (SEQ ID NO: 81)
TY21692	YSITSGHYWSWI (SEQ ID NO: 29)	IGDISHSGSTYYSQSLKSRV (SEQ ID NO: 39)	ARGSRTGYFD Y (SEQ ID NO: 52)	RASQSISSYL N (SEQ ID NO: 65)	DASNLETGV (SEQ ID NO: 68)	YCQHHYGTPLT (SEQ ID NO: 77)

[0220] 在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:40的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:53的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:70的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:41的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的

HVR-L2和含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:42的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:55的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:43的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:44的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:57的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:74的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:45的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:58的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:46的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:59的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:47的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:60的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:69的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:48的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:61的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:66的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:78的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:49的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:62的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:79的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:37的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:50的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:63的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:80的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:38的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:51的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:64的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:67的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的HVR-H1、含有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的HVR-H2、含有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的HVR-H3、含有SEQ ID NO:65的氨基酸序列的HVR-L1、含有SEQ ID NO:68的氨基酸序列的HVR-L2和含有SEQ ID NO:77的氨基酸序列的HVR-L3。

[0221] 在一些实施方案中,抗体包含:a)含有选自SEQ ID NO:82-94的氨基酸序列的重链可变区;和/或b)含有选自SEQ ID NO:95-107的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案

中,抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含与选自SEQ ID NO:82-94的序列具有至少90%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列,和/或轻链可变区,所述轻链可变区包含与选自SEQ ID NO:95-107的序列具有至少90%(例如至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体包含下表B中所述的任何示例性抗体的重链可变区和轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含对于下表B中所述的任何示例性抗体显示的重链可变区的一个、两个或全部三个HVR和/或轻链可变区的一个、两个或全部三个HVR。

[0222] 表B:抗CTLA4可变区氨基酸序列

[0223]

抗体名称:	VH:	VL:
TY21585	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDY AIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSSGSTNYAQKF QGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARDIHSGSSGYYYGFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 82)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDFF GISFLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGI PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ HYTSSPPVYTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 95)
TY21586	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSG YYWAWIRQAPGKGLEWVSSISGSGSTTYYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVY YCARDGFGYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 83)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYV YWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQGLQT PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 96)
TY21587	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDY GIHWVRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTYYSPSLK SRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCA RDVAPGSSGYYDGFDFWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 84)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIGSS LAWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYDQ WPPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 97)

[0224]

TY21588	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSG YHWDWIRQAPGKGLEWVSGISGYGGSTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAV YYCARHSYYGSGNFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 85)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVDFF GKSFLHWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSWPPTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 98)
TY21589	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDY WIHWVRQAPGKGLEWIGWISPSGGGTKYAQK FQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYY CARGAYEFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 86)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSS RFLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS YPTPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 99)
TY21580	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSG YHWSWIRQAPGKGLEWLARIDWDDDKYYST SLKSRLTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYY CARSYVYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 87)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVRG RFLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS SSWPPTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 100)
TY21591	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSTG GVAVSWIRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTYYSPS LKSRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYY CARRIATATYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 88)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTVFS RYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS YYWPPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 101)
TY21686	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSTG GVAVGWIRQAPGKGLEWVSAISGYGSTTYYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAV YYCARLPYSAYAFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 89)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGVSS YLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHY GTPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 102)
TY21687	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY AIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSGGGTKYAQKF QGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARHPFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 90)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDF YGISFLDWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATG IPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QYVSSPPEYTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 103)
TY21689	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSGY GIHWVRQAPGKGLEWIGEIYHSGSTYYSPSLK SRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCA RRIDAFDIWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 91)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDF DGFSFLHWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQRDSWPYTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 104)
TY21680	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSGY AIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSGGGTKYAQKF QGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARLYDVAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 92)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDF HGKSFLHWYQQKPGKAPKLLIYDASSLES GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CEQSLEVPFTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 105)
TY21691	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDY AIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSGGSTKYAQKF QGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARLGYGYFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 93)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDF YGISFLHWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC VQALQLPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 106)
TY21692	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSG HYWSWIRQAPGKGLEWIGDISHSGSTYYSQSL KSRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYC ARGSRTGYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 94)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHY GTPLTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 107)

[0225] 在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:95的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:83的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:96的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:84的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:85的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:86的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:99的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:87的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:88的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的轻链可变

区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:89的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:102的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:90的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:103的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:91的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:104的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:92的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:105的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:93的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:106的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,抗体包含含有SEQ ID NO:94的氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:107的氨基酸序列的轻链可变区。

[0226] 在一些实施方案中,本申请的抗体与包含以下的抗体交叉竞争结合人CTLA4:a)含有选自SEQ ID NOS:18-29的氨基酸序列的HVR-H1;含有选自SEQ ID NOS:30-39的氨基酸序列的HVR-H2;和含有选自SEQ ID NOS:40-52的氨基酸序列的HVR-H3;和/或b)含有选自SEQ ID NOS:53-65的氨基酸序列的HVR-L1;含有选自SEQ ID NOS:66-69的氨基酸序列的HVR-L2;和含有选自SEQ ID NOS:70-81的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,本申请的抗体与包含对于表A中所述的任何示例性抗体显示的HVR中的一者、两者、三者、四者、五者或全部六者的抗体交叉竞争结合人CTLA4。在一些实施方案中,本申请的抗体与包含以下的抗体交叉竞争结合人CTLA4:a)含有选自SEQ ID NOS:82-94的氨基酸序列的重链可变区;和/或b)含有选自SEQ ID NOS:95-107的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,本申请的抗体与包含对于表B中所述的任何示例性抗体显示的VH和/或VL的抗体交叉竞争结合人CTLA4。

[0227] 本文所述的CTLA4抗体可处于任何类别,诸如IgG、IgM、IgE、IgA或IgD。在一些实施方案中,CTLA4抗体处于IgG类别,诸如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4子类。使用本领域中已知的方法,可使CTLA4抗体从一个类别或子类转变成另一类别或子类。用于产生处于所需类别或子类的抗体的一示例性方法包括以下步骤:分离编码CTLA4抗体的重链的核酸和编码CTLA4抗体的轻链的核酸,分离编码V_H区的序列,使V_H序列连接于编码所述所需类别或子类的重链恒定区的序列,在细胞中表达轻链基因和重链构建体,以及收集CTLA4抗体。本申请的抗体可为单克隆抗体或多克隆抗体。本申请的抗体可为单特异性抗体或多特异性(例如双特异性、三特异性等)抗体。在一些实施方案中,本文所述的CTLA4抗体可包括一个或多个Fc突变(例如调节(增加或降低)ADCC或CDC活性)。本领域中已知的任何适合Fc突变都可用于本申请的CTLA4抗体中。

[0228] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYHWSWIRQAPGKGLEWLARIDWDDDKYYSTSLKSRLTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARSYVYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(SEQ ID NO:125)的氨基酸序列的重链和含有DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVRGRFLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSSSWPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ

SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:127)的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSISSGYHWSWIRQAPGKGLEWLARIDWDDDKYYSTSLKSRLTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARSYVYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:126)的氨基酸序列的重链和含有DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVRGRFLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSSSWPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:127)的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是指抗体种类的混合物,其中每种抗体种类具有包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列的轻链和包含SEQ ID NO:125或126的氨基酸序列中任一者的重链。

[0229] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSGGSTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARLGYGYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(SEQ ID NO:128)的氨基酸序列的重链和含有DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGISFLHWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQALQLPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:130)的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSGGSTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARLGYGYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SE Q ID NO:129)的氨基酸序列的重链和含有DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGISFLHWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQALQLPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:130)的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是指抗体种类的混合物,其中每种抗体种类具有包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列的轻链和包含SEQ ID NO:128或129的氨基酸序列中任一者的重链。

[0230] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYYWAWIRQAPGKGLEWVSSISGSGSTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARDGFGYFDYW

GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(SEQ ID NO:131)的氨基酸序列的重链和含有DI
QLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYVYWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ
PEDFATYYCVQGLQTPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:133)的
氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA
ASGYSITSGYYWAWIRQAPGKGLEWVSSISGSGSTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCAR
DGFGYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:132)的氨基酸序列的重
链和含有DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSYVYWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCVQGLQTPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK
VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID
NO:133)的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是指抗体种类的混合物,其
中每种抗体种类具有包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的轻链和包含SEQ ID NO:131或132
的氨基酸序列中任一者的重链。

[0231] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY
AIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSGGGTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARHPFAYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(SEQ ID NO:134)的氨基酸序列的重链和含有DIQLTQ
SPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGISFLDWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDFATYYCQQYVSSPPEYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:136)
的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTFSGYAIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSGGGTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCA
RHPFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:135)的氨基酸序列的重链
和含有DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFYGISFLDWYQQKPGKAPKLLIYDASNRATGIPSRFSGSG

SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYVSSPPEYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:136)的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是指抗体种类的混合物,其中每种抗体种类具有包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的轻链和包含SEQ ID NO:134或135的氨基酸序列中任一者的重链。

[0232] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSGY AIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSGGGTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCARLYDVAYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG(SEQ ID NO:137)的氨基酸序列的重链和含有DIQLT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGKSFLHWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCEQSLEVPFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:139) 的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体包含含有EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGYTFSGYAIHWVRQAPGKGLEWIGIISPSGGGTKYAQKFQGRVTISRDNSKNTLYLQLNSLRAEDTAVYYCA RLYDVAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:138)的氨基酸序列的重链 和含有DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVDFHGKSFLHWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCEQSLEVPFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ ID NO:139)的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是指抗体种类的混合物,其中每种抗体种类具有包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的轻链和包含SEQ ID NO:137或138的氨基酸序列中任一者的重链。

[0233] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是抗CTLA4抗体的抗原结合片段。CTLA4抗体的抗原结合片段包括:(i)Fab片段,其为由V_L、V_H、C_L和C_H1结构域组成的一价片段;(ii)$F(ab')_2$片段,其为包含由在铰链区的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)由V_H和C_H1结构域组成的Fd片段;(iv)由抗体的单臂的V_L和V_H结构域组成的Fv片段;(v)由V_H结构域组成的dAb片段(Ward等人,(1989)Nature341:544-546);(vi)分离的CDR,以及(vii)单链抗体(scFv),其为包含与抗体的V_H区连接的抗体的V_L区的多肽。(参见,Bird等人,(1988)Science 242:423-426;Huston等人,(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883)。

[0234] 在一些实施方案中,抗CTLA4抗体是本文所述的任何一种抗CTLA4抗体的衍生物。在一些实施方案中,抗体衍生物衍生自本申请的示例性抗体(例如"亲本抗体")的氨基酸序列的修饰,同时保留亲本抗体氨基酸序列的总体分子结构。亲本抗体链的任何区域的氨基酸序列可被修饰,诸如框架区、HVR区或恒定区。修饰的类型包括亲本抗体的一个或多个氨

基酸的取代、插入、缺失或其组合。

[0235] 在一些实施方案中,抗体衍生物包含V_L或V_H区,其与如SEQ ID NOS:82-107中的任一个中所示的氨基酸序列具有至少65%、至少75%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性。在一些实施方案中,抗体衍生物包含HVR_H1氨基酸序列区域,其与如SEQ ID NOS:18-29中的任一个中所示的氨基酸序列具有至少65%、至少75%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性。在一些实施方案中,抗体衍生物包含HVR_H2氨基酸序列区域,其与如SEQ ID NOS:30-39中的任一个中所示的氨基酸序列具有至少65%、至少75%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性。在一些实施方案中,抗体衍生物包含HVR_H3氨基酸序列区域,其与如SEQ ID NOS:40-52中的任一个中所示的氨基酸序列具有至少65%、至少75%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性。在一些实施方案中,抗体衍生物包含HVR_L1氨基酸序列区域,其与如SEQ ID NOS:53-65中的任一个中所示的氨基酸序列具有至少65%、至少75%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性。在一些实施方案中,抗体衍生物包含HVR_L2氨基酸序列区域,其与如SEQ ID NOS:66-69中的任一个中所示的氨基酸序列具有至少65%、至少75%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性。在一些实施方案中,抗体衍生物包含HVR_L3氨基酸序列区域,其与如SEQ ID NOS:70-81中的任一个中所示的氨基酸序列具有至少65%、至少75%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性。

[0236] 在一些特定实施方案中,所述衍生物包含对SEQ ID NOS:18-107中的任一个中所示的氨基酸序列的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个保守或非保守取代,和/或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个添加和/或缺失。

[0237] 氨基酸取代涵盖保守取代和非保守取代。术语“保守氨基酸取代”是指一个氨基酸替换为另一个氨基酸,其中两个氨基酸在某些物理-化学特性上具有相似性,诸如所涉及残基的极性、电荷、溶解度、疏水性、亲水性、和/或两亲性质。例如,取代通常可以在以下组中的每一个内进行:(a)非极性(疏水性)氨基酸,诸如丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸以及甲硫氨酸;(b)极性中性氨基酸,诸如甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺以及谷氨酰胺;(c)带正电的(碱性)氨基酸,诸如精氨酸、赖氨酸以及组氨酸;以及(d)带负电的(酸性)氨基酸,诸如天冬氨酸和谷氨酸。

[0238] 修饰可在抗体的氨基酸序列的任何位置进行,包括HVR、框架区或恒定区。在一个实施方案中,本申请提供一种抗体衍生物,其包含本公开的例示性抗体的V_H和V_L HVR序列,还包含与例示性抗体的那些不同的框架序列。此类框架序列可以从包括生殖系抗体基因序列的公共DNA数据库或公布的参考文献获得。例如,人重链和轻链可变区基因的生殖系DNA序列可以在Genbank数据库或“VBase”人生殖系序列数据库中找到(Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,美国卫生与公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH出版号91-3242(1991);

Tomlinson等人,J.Mol.Biol.227:776-798(1992);以及Cox等人,Eur.J.Immunol.24:827-836(1994))。可用于构建抗体衍生物的框架序列包括在结构上类似于本公开的例示性抗体所用的框架序列。例如,可以将例示性抗体的HVR_H1、HVR_H2和HVR_H3序列,以及HVR_L1、HVR_L2和HVR_L3序列移植到具有与框架序列所来源的生殖系免疫球蛋白基因中所发现的相同序列的框架区上,或可以将HVR序列移植到与生殖系序列相比包含一个或多个突变的框架区上。

[0239] 在一些实施方案中,抗体衍生物是嵌合抗体,其包含本公开的例示性抗体的氨基酸序列的。在一个实例中,来自一种或多种例示性抗体的一个或多个HVR与来自非人动物(诸如小鼠或大鼠)的抗体的HVR组合。在另一个实例中,嵌合抗体的所有HVR来源于一种或多种例示性抗体。在一些特定实施方案中,嵌合抗体包含来自例示性抗体的重链可变区的一个、两个或三个HVR和/或轻链可变区的一个、两个或三个HVR。可以使用本领域已知的常规方法生成嵌合抗体。

[0240] 另一类修饰是使V_H和/或V_L链的HRV区内的氨基酸残基突变。可以执行定点诱变或PCR介导的诱变以引入一个或多个突变,并且可以在本领域已知的体外或体内测定中评估对抗体结合或其他感兴趣的功能特性的影响。通常,引入保守取代。突变可以是氨基酸添加和/或缺失。此外,通常改变HVR区内的不超过一个、两个、三个、四个或五个残基。在一些实施方案中,抗体衍生物在重链HVR和/或轻链HVR中包含1、2、3或4个氨基酸取代。在另一个实施方案中,氨基酸取代是将抗体中的一个或多个半胱氨酸变为另一残基,诸如但不限于丙氨酸或丝氨酸。半胱氨酸可以是经典或非经典半胱氨酸。在一个实施方案中,相对于例示性抗体的氨基酸序列,抗体衍生物在重链HVR区中具有1、2、3或4个保守氨基酸取代。

[0241] 还可对V_H和/或V_L区内的框架残基进行修饰。通常,制备此类框架变体以降低抗体的免疫原性。一种方法是将一个或多个框架残基“回复突变”为对应的生殖系序列。已经进行了体细胞突变的抗体可包含不同于抗体所来源的生殖系序列的框架残基。可以通过将抗体框架序列与抗体所来源的生殖系序列相比较来鉴定此类残基。为了将框架区序列恢复至其生殖系构造,可以通过例如定点诱变或PCR介导的诱变将体细胞突变“回复突变”为生殖系序列。

[0242] 此外,还可在例示性抗体的Fc区内进行修饰,通常以改变抗体的一种或多种功能特性,诸如血清半衰期、补体固定、Fc受体结合,和/或抗原依赖性细胞毒性。在一个实例中,CH1的铰链区经过修饰,使得铰链区中的半胱氨酸残基数量改变,例如增加或减少。此方法在美国专利号5,677,425中进一步描述。改变CH1的铰链区中的半胱氨酸残基数量,例如,以有利于轻链和重链的装配,或增加或降低抗体的稳定性。在另一情况下,使抗体的Fc铰链区突变,以减少抗体的生物学半衰期。

[0243] 此外,可根据本领域已知的常规实验对本申请的抗体进行修饰,以改变其潜在的糖基化位点或模式。在另一方面,本申请提供CTLA4抗体的衍生物,其在轻链或重链的可变区中包含至少一个突变,所述突变改变可变区中的糖基化模式。对于抗原的结合,这种抗体衍生物可具有增大的亲和力和/或改变的特异性。突变可在V区中增添新的糖基化位点,改变一个或多个V区糖基化位点的位置,或除去先前存在的V区糖基化位点。在一个实施方案中,本申请提供CTLA4抗体的衍生物,其在重链可变区中的天冬酰胺处具有潜在的N-连接糖基化位点,其中一个重链可变区中的潜在的N-连接糖基化位点被除去。在另一个实施方案

中,本申请提供CTLA4抗体的衍生物,其在重链可变区中的天冬酰胺处具有潜在的N-连接糖基化位点,其中两个重链可变区中的潜在的N-连接糖基化位点均被除去。改变抗体的糖基化模式的方法是本领域已知的,诸如美国专利号6,933,368中描述的那些,所述专利的公开内容以引用方式并入本文。

[0244] 制备方法

[0245] 本申请的抗体可通过本领域已知的技术产生,包括常规单克隆抗体方法,例如标准体细胞杂交技术(参见例如Kohler和Milstein,Nature 256:495(1975))、对B淋巴细胞的病毒性或致癌性转化、或重组抗体技术。

[0246] 杂交瘤产生是一种极其完善建立的程序。用于制备杂交瘤的常见动物系统是鼠系统。用于分离供融合用的经免疫脾细胞的免疫方案和技术在本领域中是已知的。融合配偶体(例如鼠骨髓瘤细胞)和融合程序也是已知的。一种可用于制备由本申请提供的人CTLA4抗体的熟知方法涉及使用XenoMouse™动物系统。XenoMouse™小鼠是包含人免疫球蛋白重链和轻链基因座的大型片段,并且在小鼠抗体产生方面有缺陷的经工程改造小鼠品系(参见例如Green等,(1994)Nature Genetics 7:13-21;WO2003/040170)。用CTLA4抗原使动物免疫。CTLA4抗原是经分离和/或经纯化CTLA4。它可为CTLA4的片段,诸如CTLA4的细胞外结构域。动物的免疫可通过本领域中已知的任何方法进行(参见例如Harlow和Lane,Antibodies:A Laboratory Manual,New York:Cold Spring Harbor Press,1990)。用于使非人动物诸如小鼠、大鼠、绵羊、山羊、猪、牛和马免疫的方法在本领域中是熟知的(参见例如Harlow和Lane(上文)以及美国专利号5,994,619)。CTLA4抗原可与佐剂一起施用以刺激免疫应答。示例性佐剂包括完全或不完全弗氏佐剂(Freund's adjuvant)、RIBI(胞壁酰二肽)或ISCOM(免疫刺激性复合物)。在用CTLA4抗原使动物免疫之后,从分离自经免疫动物的细胞制备抗体产生性永生化细胞系。在免疫之后,将动物处死,并且使淋巴结和/或脾B细胞永生化。使细胞永生化的方法包括但不限于用致癌基因对它们进行转移,用致癌病毒感染它们,在选择永生化细胞的条件下培养它们,使它们经受致癌性或突变性化合物,使它们与永生化细胞例如骨髓瘤细胞融合,以及使肿瘤抑制基因失活(参见例如Harlow和Lane(上文))。如果使用与骨髓瘤细胞融合,那么骨髓瘤细胞优选地不分泌免疫球蛋白多肽(非分泌细胞系)。使用CTLA4、其一部分或表达CTLA4的细胞筛选永生化细胞。选择、克隆CTLA4抗体产生性细胞例如杂交瘤,并且关于合乎需要特征加以进一步筛选,所述特征包括稳健生长、高抗体产量和合乎需要抗体特征,如以下进一步所讨论。杂交瘤可在体内在同种同基因动物中,在缺乏免疫系统的动物例如裸小鼠中,或在体外在细胞培养中扩增。选择、克隆和扩增杂交瘤的方法为本领域普通技术人员所熟知。

[0247] 本申请的抗体还可使用噬菌体展示或酵母展示方法制备。本领域中建立了用于分离人抗体的所述展示方法(参见例如Knappik等(2000)J.Mol.Biol.296,57-86;Feldhaus等(2003)Nat Biotechnol21:163-170)。

[0248] 在一些实施方案中,通过在宿主细胞中表达编码抗CTLA4抗体或其多肽链的一种或多种核酸来制备抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,一种或多种核酸是DNA或RNA,并且可包含或可不包含内含子序列。通常,核酸是cDNA分子。

[0249] 本公开的核酸可以使用任何合适的分子生物学技术获得。对于杂交瘤表达的抗体,可以通过PCR扩增或cDNA克隆技术获得编码通过杂交瘤制备的抗体的轻链和重链的

cDNA。对于从免疫球蛋白基因文库获得的抗体(例如,使用噬菌体展示技术),可以从文库中回收编码所述抗体的核酸。

[0250] 可以通过将编码VH的DNA操作性地连接至编码重链恒定区(CH1、CH2和CH3)的另一DNA分子而将编码VH区的分离DNA转换成全长重链基因。人重链恒定区基因的序列是本领域已知的(参见例如,Kabat等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,美国卫生与公共服务部,NIH出版物第91-3242号),并且涵盖这些区域的DNA片段可以通过标准PCR扩增获得。重链恒定区可以是IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恒定区,但最优选的是不具有ADCC效应的IgG4或IgG2恒定区。IgG4恒定区序列可以是已知存在于不同个体中的各种等位基因或同种异型中的任一个。这些同种异型代表IgG4恒定区中天然存在的氨基酸取代。对于Fab片段重链基因,可以将编码VH的DNA操作性地连接至仅编码重链CH1恒定区的另一DNA分子。

[0251] 可以通过将编码VL的DNA操作性地连接至编码轻链恒定区CL的另一DNA分子而将编码VL区的分离DNA转换成全长轻链基因(以及Fab轻链基因)。人轻链恒定区基因的序列是本领域已知的(参见例如,Kabat等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,美国卫生与公共服务部,NIH出版物第91-3242号),并且涵盖这些区域的DNA片段可以通过标准PCR扩增获得。轻链恒定区可以是κ或λ恒定区。

[0252] 为了产生scFv基因,将编码VH和VL的DNA片段操作性地连接至编码柔性接头,例如编码氨基酸序列$(Gly_4\text{-}Ser)_3$的另一片段,使得VH和VL序列可以表达为具有通过柔性接头连接的VL和VH区的连续的单链蛋白质(参见例如,Bird等人,Science 242:423-426(1988);Huston等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883(1988);以及McCafferty等人,Nature 348:552-554(1990))。

[0253] 在一些实施方案中,还提供一种载体,其包含本文所述的核酸分子。在一些实施方案中,载体是表达载体或展示载体(例如病毒展示载体、细菌展示载体、酵母展示载体、昆虫展示载体、哺乳动物展示载体等)。核酸分子可编码轻链或重链的一部分(诸如CDR或HVR;轻链可变区或重链可变区)、全长轻链或重链、包含重链或轻链的一部分或全长的多肽、或抗体衍生物或抗原结合片段的氨基酸序列。在一些实施方案中,载体是可用于表达抗CTLA4抗体的表达载体。在一些实施方案中,本文提供载体,其中第一载体包含编码如本文所述的重链可变区的多核苷酸序列,并且第二载体包含编码如本文所述的轻链可变区的多核苷酸序列。在一些实施方案中,单一载体包含编码如本文所述的重链可变区和如本文所述的轻链可变区的多核苷酸。

[0254] 为表达本公开的抗CTLA4抗体,将编码部分或全长轻链和重链的DNA插入表达载体中,以使DNA分子操作性地连接于转录和翻译控制序列。在这个情形下,术语“操作性地连接”意指将抗体基因连接至载体中以使所述载体内的转录和翻译控制序列发挥它们调控DNA分子的转录和翻译的预定功能。选择表达载体和表达控制序列以可与所用表达宿主细胞相容。可将抗体轻链基因和抗体重链基因插入单独载体中,或可将两个基因插入同一表达载体中。通过任何适合方法(例如抗体基因片段和载体上的互补限制位点的连接,或基于同源性重组的DNA连接)来将抗体基因插入表达载体中。本文所述的抗体的轻链可变区和重链可变区可用于通过以下方式来创建任何抗体同种型和子类的全长抗体基因:将它们插入已编码所需同种型和子类的重链恒定区和轻链恒定区的表达载体中,以使V_H区段操作性地

连接于载体内的一个或多个C_H区段,并且V_L区段操作性地连接于载体内的C_L区段。另外或替代地,重组表达载体可编码有助于抗体链从宿主细胞分泌的信号肽。可将抗体链基因克隆至载体中以使信号肽同框连接于抗体链基因的氨基末端。信号肽可为免疫球蛋白信号肽或异源性信号肽(即来自非免疫球蛋白的信号肽)。

[0255] 除抗体序列之外,本公开的表达载体通常还携带控制抗体序列在宿主细胞中的表达的调控序列。术语"调控序列"意图包括启动子、增强子和控制抗体链基因的转录或翻译的其他表达控制元件(例如多腺苷酸化信号)。所述调控序列例如描述于Goeddel(GeneExpression Technology.Methods in Enzymology 185,Academic Press,San Diego,Calif.(1990))中。本领域技术人员应了解,对表达载体的设计,包括对调控序列的选择,可取决于诸如对待转化的宿主细胞的选择、所需蛋白质表达水平等的因素。用于哺乳动物宿主细胞表达的调控序列的实例包括引导在哺乳动物细胞中进行高水平蛋白质表达的病毒元件,诸如源于巨细胞病毒(CMV)、猿猴病毒40(SV40)、腺病毒(例如腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))和多瘤病毒的启动子和/或增强子。或者,可使用非病毒调控序列,诸如泛素启动子或β-球蛋白启动子。此外,调控元件由来自不同来源的序列组成,诸如SR启动子系统,其含有来自SV40早期启动子和1型人T细胞白血病病毒的长末端重复序列的序列(Takebe,Y.等(1988)Mol.Cell.Biol.8:466-472)。

[0256] 除抗体链基因和调控序列之外,表达载体还可携带额外序列,诸如调控载体在宿主细胞中的复制的序列(例如复制起点)和可选择标记基因。可选择标记基因有助于选择已向其中引入载体的宿主细胞(参见例如美国专利号4,399,216、4,634,665和5,179,017,全都由Axel等人完成)。举例来说,通常,可选择标记基因对已向其中引入载体的宿主细胞赋予对药物诸如G418、潮霉素或甲氨蝶呤的耐药性。可选择标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(联合甲氨蝶呤选择/扩增一起用于dhfr-宿主细胞中)和neo基因(用于G418选择)。

[0257] 对于轻链和重链的表达,通过任何适合技术来将一种或多种编码重链和轻链的表达载体转染至宿主细胞中。术语"转染"的各种形式意图涵盖通常用于将外源性DNA引入原核或真核宿主细胞中的广泛多种技术,例如电穿孔、磷酸钙沉淀、DEAE-右旋糖酐转染等。尽管有可能在原核或真核宿主细胞中表达本公开的抗体,但在真核细胞中,并且通常在哺乳动物宿主细胞中表达抗体是最典型的。

[0258] 本申请还提供一种含有由本申请提供的核酸分子的宿主细胞。宿主细胞可实际上是有表达载体可用的任何细胞。它可为例如高等真核宿主细胞诸如哺乳动物细胞、低等真核宿主细胞诸如酵母细胞,并且可为原核细胞诸如细菌细胞。将重组核酸引入宿主细胞中的方法在本领域中是已知的,包括例如通过磷酸钙转染、DEAE、右旋糖酐介导的转染、电穿孔或噬菌体感染。

[0259] 适于转化的原核宿主包括大肠杆菌、枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)、鼠伤寒沙门氏菌(Salmonella typhimurium)以及假单胞菌属(Pseudomonas)、链霉菌属(Streptomyces)和葡萄球菌属(Staphylococcus)内的各种物种。

[0260] 适于转化的真核宿主包括酵母、昆虫(例如S2细胞)和哺乳动物细胞。用于表达本公开的抗CTLA4抗体的哺乳动物宿主细胞包括例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞(包括dhfr-CHO细胞,描述于Urlaub和Chasin,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216-4220(1980);Sharp,

J.Mol.Biol.159:601-621(1982)中)、NS0骨髓瘤细胞、COS细胞、HEK293F细胞、HEK293T细胞和Sp2细胞。特别地,对于与NS0骨髓瘤或CHO细胞一起使用,另一表达系统是WO 87/04462、WO 89/01036和EP 338,841中公开的GS(谷氨酰胺合成酶)基因表达系统。在一些实施方案中,本申请的抗体在CHO细胞中产生。在一些实施方案中,本申请的抗体被修饰,并且不包括C末端赖氨酸残基(例如本文所述的抗体重链的C末端赖氨酸残基被移除(诸如在抗体产生之前或期间))。当将编码抗体基因的表达载体引入哺乳动物宿主细胞中时,通过持续足以允许抗体在宿主细胞中表达或抗体向宿主细胞生长于其中的培养基中分泌的时期培养宿主细胞来产生抗体。可使用本领域中已知的任何适合蛋白质纯化方法(例如蛋白A色谱法和/或离子交换色谱法)从培养基回收抗体。

[0261] V.药物组合物、试剂盒和制品

[0262] 在其他方面,本申请提供一种组合物,其包含本文所述的任何一种抗CTLA4抗体。在一些实施方案中,组合物是包含抗CTLA4抗体和药学上可接受的载体的药物组合物。组合物可通过本领域中已知的常规方法制备。

[0263] 术语"医药学上可接受的载剂"是指适用于递送活性剂(例如抗CTLA4抗体)的制剂中的任何非活性物质。载剂可以是抗粘剂、粘结剂、包衣、崩解剂、填料或稀释剂、防腐剂(诸如抗氧化剂、抗细菌剂或抗真菌剂)、甜味剂、吸收延迟剂、湿润剂、乳化剂、缓冲剂等。合适的药学上可接受的载剂的实例包括水、乙醇、多元醇(诸如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)、右旋糖、植物油(诸如橄榄油)、盐水、缓冲液、缓冲盐水,以及等渗剂(诸如糖、聚醇、山梨醇和氯化钠)。组合物可处于任何合适的形式,诸如液体、半固体和固体剂型。液体剂型的实例包括溶液(例如,可注射和可输注溶液)、微乳液、脂质体、分散体或混悬液。固体剂型的实例包括片剂、丸剂、胶囊、微胶囊和粉剂。适用于递送抗CTLA4抗体的组合物的特定形式是可注射或可输注无菌液体,诸如溶液、悬浮液或分散液。无菌溶液可以通过将所需量的抗体掺入适当的载剂中,然后进行灭菌微过滤来制备。一般来说,通过将抗体掺入无菌媒介物中来制备分散液,所述无菌媒介物包含基本分散介质和其他载剂。对于用于制备无菌液体的无菌粉末来说,制备方法包括真空干燥和冷冻干燥(冻干),以产生活性成分加上来自其先前经过无菌过滤的溶液的任何另外的期望成分的粉末。组合物的各种剂量可以通过本领域已知的常规技术制备。

[0264] 组合物中包含的抗CTLA4抗体的相对量将取决于多种因素,诸如所用的具体抗CTLA4抗体和载剂、剂型以及期望的释放和药效学特征。单一剂型中抗CTLA4抗体的量通常为产生治疗效果的量,但也可以是较少的量。一般来说,相对于剂型的总重量,此量将在约0.01%至约99%、约0.1%至约70%,或约1%至约30%的范围内。

[0265] 除抗CTLA4抗体之外,还可在组合物中包括一种或多种额外治疗剂。本文在"治疗方法"部分描述额外治疗剂的实例。包括在组合物中的额外治疗剂的适合量可易于由本领域技术人员选择,并且将视许多因素而变化,诸如所用特定药剂和载体、剂型、以及所需释放和药效学特征。包括在单一剂型中的额外治疗剂的量将通常是药剂的产生治疗作用的那个量,但也可为更小量。

[0266] 在一些实施方案中,提供一种制品,其包含可用于治疗癌症的材料。制品可包含容器和在容器上或与容器相关联的标签或包装插页。合适的容器包含例如瓶子、小瓶、注射器等。容器可以由多种材料形成,例如玻璃或塑料。通常,容器容纳本文所述的用于有效治疗

癌症的组合物,并且可以具有无菌进入口(例如,容器可以是静脉内溶液袋或具有可被皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。包装插页是指治疗产品的商业包装中通常包含的说明书,其包含关于适应症、用法、剂量、给药、禁忌和/或有关此类治疗产品的用途警告的信息。在一些实施方案中,包装插页指示组合物用于治疗癌症。标签或包装页可进一步包含用于向患者施用所述组合物的说明书。

[0267] 另外,制品还可进一步包含第二容器,所述第二容器包含药学上可接受的缓冲剂,例如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液(Ringer's solution)和右旋糖溶液。其还可以包括自商业和用户的立场中期望的其他材料,包含其他缓冲剂、稀释剂、过滤器、针和注射器。

[0268] 还提供了可用于各种目的的试剂盒,例如用于本文所述的癌症的治疗,视情况与制品组合使用。本申请的试剂盒包括一个或多个容器,其包括本文所述的任何一种组合物(或单位剂型和/或制品)。在一些实施方案中,所述试剂盒还包括根据本文所述的方法中的任一者使用的其它药剂(例如,一个或多个额外治疗剂)和/或说明书。所述试剂盒还可包括选择适于治疗的个体的描述。在本申请的试剂盒中提供的说明书通常是在标签或包装插页(例如,包括在试剂盒中的纸张)上的书面说明书,但是机器可读的说明书(例如,存储在磁碟存储器或光碟存储器上的说明书)也是可接受的。

[0269] 例如,在一些实施方案中,提供试剂盒,其包含含有本文所述的任何一种抗CTLA4抗体及医药学上可接受的载剂的药物组合物,和将药物组合物施用患有癌症的个体的说明书。在一些实施方案中,试剂盒进一步包含含有额外治疗剂的药物组合物,例如化学治疗剂。在一些实施方案中,试剂盒包含用于确定本文所述的一种或多种生物标志物的水平(例如,CD8+ T细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T_{em}细胞、CD4+ T_{em}细胞、T_{reg}细胞、CD8+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、CD4+ T_{em}细胞与T_{reg}细胞的比率、NK细胞、B细胞)的一种或多种测定方法或其试剂。

[0270] 本申请的试剂盒是在合适包装中。合适包装包括但不限于小瓶、瓶子、广口瓶、软包装(例如,密封的聚酯薄膜或塑料袋)等。试剂盒可视情况地提供其他组分,例如缓冲页和解释性信息。因此,本申请还提供了包括小瓶、瓶子、广口瓶、软包装等制品。

[0271] 容器可以是单位剂量,散装包装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。试剂盒还可以包括多个单位剂量的药物组合物和使用说明书,且足以在药房例如医院药房和配制药房中储存和使用的量包装。

[0272] 实施例

[0273] 通过参考以下实施例可以进一步理解本发明,所述实施例通过说明的方式提供并且不意味是限制性的。

[0274] 实施例1.TY21580在晚期/转移性实体瘤患者中的1期、开放式、剂量递增研究

[0275] 以下实例描述了正在进行的1期临床试验,用以评估TY21580(抗细胞毒性T-淋巴细胞-相关蛋白4(CTLA4)全人免疫球蛋白G(IgG)1单克隆抗体)的安全性和耐受性(参见ClinicalTrials.gov标识符:NCT04501276)。

[0276] TY21580。TY21580是全人源配体阻断性抗CTLA-4单克隆抗体,其靶向具有广泛物种交叉反应性的保守表位,以保证转化的准确性。在不受任何理论或假设约束的情况下,观察到TY21580比伊匹木单抗具有更柔和的CTLA-4配体阻断和更强的ADCC来消减调节性T细

胞。在一项头对头体内功效研究中,观察到与伊匹木单抗相比,TY21580具有至少五倍的临床前抗肿瘤活性。在临床前研究中,在高至30mg/kg剂量的四周重复给药GLP细胞毒性研究中,TY21580在大鼠和食蟹猴中具有良好的耐受性,并且无论是作为单一药剂(在肿瘤大小约100mm^{3}的H22肝癌模型中,在0.02mg/kg显示初次应答、且在0.1mg/kg显示完全缓解)还是与其他疗法组合,在多免疫活性小鼠肿瘤模型中都以剂量依赖性方式表现出令人鼓舞的抗肿瘤应答。在不受任何理论或假设约束的情况下,TY21580通过新型作用机制平衡安全性和有效性;TY21580通过部分阻断CTLA-4配体结合来维持其原始生理功能,与此同时,通过强抗体依赖性细胞毒性(ADCC)在肿瘤微环境中消减T_{regs}。

[0277] 目的。本研究的主要目的是评估TY21580在晚期/转移性实体瘤成人患者中以递增剂量静脉内(IV)施用的安全性及耐受性,并确定TY21580的最大耐受剂量(MTD)和2期推荐剂量(RP2D)。本研究的次要目的是评估TY21580的药代动力学(PK)特征;评估关键PK参数(AUC、C_{max})的剂量比例;评估TY21580的免疫原性;并表征免疫原性(抗药物抗体(ADA)阳性)和PK、安全性及有效性参数之间的关系;评估TY21580的初步抗肿瘤活性。本研究的探索性目标是评估TY21580的药效学生物标志物(包括但不限于细胞因子(IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、干扰素(IFN)-γ和肿瘤坏死因子(TNF)-α)、血浆蛋白(sCTLA4、sPD-L1、sCD25、CXCL11)、免疫细胞(肿瘤浸润性免疫(T_{reg})、CD8+ T_{EM}、Ki67)和组织生物标志物(FoxP3、IFNγ、PD-L1)。

[0278] 方法。这是一项针对晚期/转移性实体瘤患者的1期、开放标签、剂量递增研究。1期的预期患者人数高达约60名患者,且不受统计学的影响。患者实际总数由方案的复合要素、剂量递增和剂量水平扩展标准、观察到的剂量限制性毒性(DLT)-存在或不存在、任何客观的抗肿瘤活性证据以及其他临床安全性数据共同决定。安全监管由安全审查委员会(SRC)提供,委员会由主要研究者(PI)、医学监察员和申办者组成。

[0279] 所有潜在的研究候选人在参与研究前提供知情同意并接受筛选程序。在长达28天的筛选期后,符合条件的患者入组接受指定的TY21580剂量方案。TY21580在前4个周期每3周一次(Q3W)静脉内(IV)施用60-90分钟的计划剂量。如果前4个连续治疗周期内未发生不可耐受的毒性,则可每12周一次(Q12W)继续施用TY21580,总持续时间可达2年。

[0280] 治疗周期为21天,在第1天静脉注射一剂TY21580。在最初的21天评估DLT。使用国立癌症研究所不良事件通用术语标准(NCI CTCAE)v5.0进行毒性评估。患者在研究中接受TY21580治疗,直到根据RECIST v1.1和/或iRECIST记录到确认的疾病进展、出现显著毒性、撤回同意或其他中止/退出原因;以先发生者为准。在研究期间,评估患者的安全性和毒性、PK、免疫原性、客观缓解、DOR、PFS、OS和方案前预先指定的生物标志物。

[0281] 研究在较低剂量水平(DL1和DL2)中采用加速滴定设计(ATD),然后在较高剂量水平采用传统3+3剂量递增设计,直到确定RP2D。起始剂量为DL1。如下表1所示,研究采用九种潜在的静脉输注剂量水平进行。

[0282] 表1.潜在的TY21580剂量水平

[0283]

设计	剂量水平(DL)*	剂量，mg/kg	相对于前一剂量的百分比增加
加速滴定设计	DL-1	0.001	-
	DL1	0.003	300%
	DL2	0.01	333%
传统3+3设计**	DL3	0.03	300%
	DL4	0.1	333%
	DL5	0.3	300%
	DL6	1.0	333%
	DL7	3.0	300%
	DL8	6.0	200%
	DL9	10.0	166%

[0284] *在研究期间,根据安全性数据和观察到的全身暴露,并由SRC确定,可能会重新考虑和修改推荐剂量、方案和PK时间点。DL-1是一种较低滴定剂量,用于发生DLT事件或临床显著的DL1中≥2级毒性AE情况。

[0285] **如果单个患者在21天的DLT评估期内出现DLT或两个≥2级药物相关毒性,则传统3+3剂量递增标准将用于该剂量水平,并入组更多患者。随后的所有剂量水平将遵循传统3+3剂量递增标准。

[0286] 在ATD期间,每个剂量水平治疗1名患者。如果患者出现DLT或两个≥2级药物相关毒性,则剂量水平根据3+3设计扩展。从DL3(0.03mg/kg)开始,剂量递增遵循传统3+3设计,每个剂量水平治疗3或6名患者,取决于DLT的发生率。最初,3名患者入组剂量水平,哨兵患者比后续患者至少提前24小时接受治疗。

[0287] 从DL3(0.03mg/kg)开始,剂量递增将遵循传统3+3设计,每个剂量水平治疗3或6名患者,取决于DLT的发生率。最初,3名患者入组剂量水平,哨兵患者比后续患者至少提前24小时接受治疗。剂量递增决定将由SRC做出。传统3+3设计的剂量递增规则如下表2所示。

[0288] 表2.传统3+3设计的剂量递增规则

[0289]

给定剂量水平下DLT患者数量	剂量递增决定规则
3个中0个	在下一剂量水平(下一/更高剂量水平/剂量递增)入组3名患者

[0290]

3个中1个	在当前剂量水平(当前剂量)再入组3名患者
3个中2个	停止入组。如果先前仅入组3名患者，则在前一剂量水平(先前/较低水平/剂量降级)或中等剂量水平再入组3名患者
6个中1个	在下一剂量水平(下一/更高剂量水平/剂量递增)入组3名患者
6个中≥2个	停止入组。如果在DL-1或DL1，研究将停止。如果在DL2或以上，且先前仅入组3名患者，则在前一剂量水平(先前/较低剂量水平/剂量降级)或中等剂量水平再入组3名患者

[0291] 本研究的最高潜在剂量水平不会超过10mg/kg(作为预定的最大给药剂量(MAD))。一旦达到MTD或MAD,就确定RP2D,包括选择和治疗预先指定的剂量水平之间的中间剂量水平。RP2D主要基于对MTD的观察、或者在无MTD的情况下通过MAD来决定。RP2D的考虑选项还包括低于MTD或MAD的剂量水平、以及预先指定的剂量水平之间的中间剂量,这是基于对所

有安全性数据的总体评估、以及所有可用PK和药效学数据、和剂量递增期间记录的客观缓解观察。其他群组可以作为扩展群组添加,以进一步评估RP2D。

[0292] 对于以原始入组剂量水平完成至少两个治疗周期的患者,则允许患者体内剂量递增至SRC批准的剂量水平。

[0293] 如果有证据表明临床获益无恶化的肿瘤相关症状和/或不可接受的毒性,则可根据RECIST v1.1继续治疗进展性疾病。所有疾病进展都应根据iRECIST确认:需要影像学复查,最好在4周后且不迟于6周。一旦根据和/或iRECIST确认疾病进展,则不允许继续进行治疗。否则,研究治疗的总持续时间可达2年,或直到疾病进展、不可接受的毒性或撤回同意;以先发生者为准。

[0294] 所有患者(除撤回同意的患者外),在最后一次给药之日起30天和90天进行安全性随访评估,以及自最后一次给药之日起每12周进行生存期随访。对与TY21580相关的不可耐受不良事件终止治疗的患者进行随访,直到不良事件恢复到0级或1级、或变得稳定、或直到患者接受新的非方案治疗。生存期随访持续进行直至接受另一种抗肿瘤疗法、患者失访或死亡,以先发生者为准。申办者也可以决定随时终止研究。

[0295] 筛选标准。患者必须满足以下所有入组标准才有资格参与本研究:

[0296] 1)知情同意时年龄≥18岁。

[0297] 2)东部肿瘤协作组(ECOG)表现状态为0或1,且前2周无恶化。

[0298] 3)经组织病理学证实的患有晚期或转移性实体瘤,经所有标准疗法后进展、或无进一步标准疗法的患者。拒绝标准疗法或无法接受标准疗法的患者可能会入选,但需要记录缺少标准疗法的原因。

[0299] 4)既往接受抗CTLA4检查点抑制剂或抗程序性细胞死亡受体1(PD-1)的难治性或复发性患者如果符合所有筛选标准,也将入选。

[0300] 5)足够的血液学功能,定义如下:

[0301] a.绝对中性粒细胞计数(ANC)≥1.5×10^9/L,在研究治疗前2周内未使用粒细胞集落刺激因子,例如非格司亭。

[0302] b.研究治疗前2周(≤14天)内未输血的血小板计数≥100×10^9/L。肝细胞癌患者且血小板计数≥75×10^9/L。

[0303] c.研究治疗前2周(≤14天)内未输血或未使用促红细胞生成素的血红蛋白≥9g/dL。

[0304] 6)天冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT)≤3倍正常值上限(ULN),且总胆红素≤1.5倍正常值上限(ULN)。例外:由于记录的潜在吉尔伯特综合征或家族良性高非结合胆红素血症出现的血清胆红素升高的患者。肝细胞癌和肝转移患者的AST和ALT可高达≤5倍正常值上限(ULN)。

[0305] 7)肾功能充足,定义为肌酐清除率≥60mL/min(通过Cockcroft-Gault公式)或血清肌酐(SCr)<1.5倍正常值上限(ULN)。

[0306] 8)凝血检测,定义如下:

[0307] a.活化部分凝血活酶时间(aPTT)≤1.5倍正常值上限(ULN)。

[0308] b.国际标准化比值(INR)≤1.5倍正常值上限(ULN)。例外:使用华法林抗凝治疗的患者可接受INR 2至≤3倍正常值上限(ULN)。

[0309] 9)多门控采集(MUGA)或超声心动图(ECHO)测量左心室射血分数(LVEF)≥50％。

[0310] 10)既往抗肿瘤疗法(包括内分泌、化疗/放疗、靶向疗法或免疫疗法)在施用TY21580前至少4周结束。既往接受抗CTLA4检查点抑制剂失败的患者如果符合所有筛选标准,则可被视为合格。

[0311] 11)既往不良事件已改善至基线或≤1级NCI CTCAE v5.0(脱发患者除外)。

[0312] 排除标准包括以下任一项:

[0313] 1)孕妇或哺乳期女性。

[0314] 2)有生育能力的女性和伴侣有生育能力的男性,不同意在治疗期间和最后一次研究药物给药后120天内使用两种高效避孕措施。

[0315] 3)研究药物首次给药前4周内使用任何研究药物治疗。

[0316] 4)≥3级免疫相关不良事件(irAE)或导致先前免疫疗法中断的irAE。

[0317] 5)未经治疗或控制的中枢神经系统(CNS)肿瘤或转移,但以下情况除外:

[0318] a.临床稳定的磁共振成像(MRI)扫描(6个月内至少连续扫描两次),且至少4周无进行性或未控制的神经系统症状或体征(例如癫痫、头痛、中枢性恶心/呕吐、进行性神经缺伤)。

[0319] b.任何未经治疗的无症状脑转移瘤,不需要立即局部或全身治疗。

[0320] 6)有危及生命的超敏反应史或已知对蛋白类药物或重组蛋白或TY21580药物配方中所含的任何成分过敏。

[0321] 7)有活动性自身免疫性疾病或有记录的自身免疫性疾病病史或症状,需要全身使用药理学剂量的皮质类固醇和/或免疫抑制剂的患者。白癜风、儿童哮喘/特应性消退以及I型糖尿病或甲状腺功能减退可通过替代疗法治疗的患者除外。

[0322] 8)在研究药物计划首次给药的前21天内需要用皮质类固醇(>15mg/天泼尼松或同等物)或其他免疫抑制药物进行全身治疗的患者。在无活动性自身免疫性疾病的情况下,允许吸入性或局部类固醇和每日≤15mg泼尼松当量的肾上腺替代类固醇剂量。允许眼科、鼻腔、吸入和关节内注射类固醇。

[0323] 9)周围神经病变≥2级。

[0324] 10)在研究药物首次给药前14天内接受粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、促红细胞生成素或血液(红细胞[RBC]或血小板)输注的患者。

[0325] 11)有其他原因导致潜在肝功能障碍的证据;有严重酗酒史、酒精性或药物性肝炎史或记录在案的非酒精性脂肪肝炎史。

[0326] 12)排除活动性病毒性肝炎(任何病因)患者。乙型肝炎病毒(HBV)携带者不符合条件。治愈的丙型肝炎(HCV)(HCV核糖核酸[RNA]检测阴性)患者可在咨询医学监察员后入组。

[0327] 13)任何需要全身抗菌治疗(病毒、细菌或其他)的未控制的活动性感染,或筛查(基线)HgbA-1c≥7.5证明的未控制或控制不佳的糖尿病,哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)或其他对参与研究的患者构成风险的疾病。

[0328] 14)已知人类免疫缺陷病毒(HIV)阳性。

[0329] 15)需要治疗的任何类型的原发性免疫缺陷或自身免疫性疾病患者。

[0330] 16)在研究药物首次给药前4周内进行大手术。

[0331] 17)既往同种异体器官移植或同种异体外周血干细胞(PBSC)/骨髓(BM)移植。

[0332] 18)临床意义的心脏病,包括近六个月内心肌梗塞、未控制的心绞痛、病毒性心肌炎、心包炎、脑血管意外或其他在研究药物首次给药前<3个月的急性未控制的心脏病;LVEF<50%,纽约心脏病协会(NYHA)III级或IV级充血性心力衰竭或未控制的高血压。

[0333] 19)研究药物首次给药前3个月内肺栓塞或深部静脉血栓形成。

[0334] 20)研究药物首次给药前4周内进行活病毒疫苗治疗。

[0335] 21)任何已知的、有记录的或可疑的非法药物滥用史。

[0336] 22)研究者认为的任何其他疾病或临床显著的实验室参数异常,包括可能会危及患者的安全或研究的完整性、干扰患者参与试验或损害试验目标的严重的医学或精神疾病/状况。

[0337] 安全性评价。通过定期体检结果、生命体征、ECOG表现状态、实验室变量(例如肝脏检查/监测、血液学、凝血检测、血清化学、尿液检查和妊娠检查)、心电图和不良事件进行安全性评估。不良事件根据NCI CTCAE v5.0分级。研究者和现场人员负责正确记录和报告AE/SAE。在剂量递增前,SRC在所有患者完成当前水平的第一个21天周期后审查安全性数据,以确定是否应继续递增(或递减)至下一剂量水平。

[0338] 药效评价。肿瘤应答/进展评估在基线时进行,且前4个周期每6周(±1周)一次。如果治疗持续超过4个周期,则在后续治疗时间内每9周(±1周)评估一次,直到疾病进展或死亡、因治疗性毒性治疗/研究终止、失访、撤回同意、开始新的癌症治疗、或研究完成/结束,以先发生者为准。药效的探索性评价基于研究者根据RECIST v1.1和/或iRECIST进行的肿瘤评估。

[0339] 药代动力学和免疫原性评价。在第一个周期内采集所有患者血液样本以确定TY21580的血清浓度。在第一个治疗周期内更密集地监测药代动力学(PK)参数。从第二次施用开始,在药物施用前30分钟(C_{trough})和输注结束时采集TY21580的血浆浓度。PK采样时间点可以根据累积数据进行调整。非房室分析将使用WinNonlin 6.4或更高版本进行。PK参数包括但不限于AUC_{0-21d}、AUC_{last}、C_{max}、T_{max}、$t_{1/2}$、MRT、CL、V_d等。还评估了AUC和C_{max}的剂量比例。

[0340] 在1、2、3、4周期给药前采集ADA血液样本,之后若治疗持续超过4个周期,则每两个周期采集一次。此外,在治疗结束时以及在最后一次给药后的第30天和第90天随访中采集ADA样本。如果ADA为阳性,则评估中和活性。

[0341] 结果

[0342] 研究的中期结果在附图中提供,且描述如下。

[0343] 总体观察

[0344] 截止目前,剂量递增至0.3mg/kg时,TY21580在超过10名患者中耐受性良好,并且目前为止未观察到剂量限制性毒性(DLT)或意外的安全性信号,包括治疗相关的严重不良事件(SAEs,即药物相关的G3和G4毒性)、结肠炎或肝炎。TY21580的终末半衰期在IgG1抗体的正常范围内,在暴露良好的情况下约为14天。

[0345] 中期药效学(PD)结果如图1-9C和图13-14所示。具体而言,TY21580自0.03至0.3mg/kg剂量水平(图1、4)下诱导T细胞的免疫细胞应答。首先观察到CD8和CD4 T细胞的有效增加,随后以剂量依赖性方式自0.03、0.1和0.3mg/kg剂量减少,类似于抗PD1和CD137抗体等治疗。对于某些患者,在0.03、0.1和0.3mg/kg剂量(图6)下T_{reg}细胞的百分比下降,且在

0.03、0.1和0.3mg/kg剂量下CD8+效应记忆T细胞(图7)和CD4+效应记忆T细胞(图8)的百分比显著增加。此外,对于这些患者,CD8+效应记忆T细胞/调节性T细胞(T_{EM}/T_{reg})(图13)和CD4+效应记忆T细胞/调节性T细胞(T_{EM}/T_{reg})的比率(图14)显示出显著增加。某些患者的NK和B细胞水平升高(图2、5)。

[0346] 图4-6和13-14显示TY21580剂量与免疫细胞应答之间的关系。在自0.003到0.3mg/kg(图13)TY21580给药的患者中观察到$CD8^+T_{EM}/T_{reg}$比率的剂量依赖性变化,这是一种重要的指示免疫活化的药效学(PD)生物标志物。类似地,如图14所示,$CD4^+$ T_{EM}/T_{reg}比率存在剂量依赖性变化。在0.003至0.3mg/kg剂量TY21580治疗后,CD8+TEM/Treg比率和CD4+ TEM/Treg比率的强烈剂量依赖性趋势表明TY21580可以在剂量水平低至0.03mg/kg下有效刺激免疫细胞。CD8+ T_{EM}/T_{reg}比率的剂量依赖性变化是TY21580有力的(POM)机制临床验证。这些结果与临床前观察一致,即TY21580在低至0.02mg/kg的剂量下对敏感肿瘤模型(如H22)中有效诱导肿瘤响应,并在0.1mg/kg时达到完全缓解(CR)。特别是,对先前帕母单抗治疗法>25个周期的具有难治性或耐药性的一名患者(受试者6103-002),在接受3个周期0.03mg/kg的TY21580后,观察到包括$CD8^+$ T_{EM}/T_{reg}比率在内的免疫细胞稳定增加。患者出现irAE瘙痒。此外,受试者6103-003在治疗结束第22天时也出现irAE 1级皮疹。这种1级治疗相关免疫介导的瘙痒与TY21580治疗的作用机制一致。

[0347] 持续进行监测,以确认各种生物标志物对TY21580治疗的剂量依赖性响应。

[0348] TY21580治疗后,T细胞和N细胞绝对水平的显着增加以及T_{reg}细胞百分比的降低与良好的临床结果相关。1期剂量递增数据证明TY21580靶向CTLA-4机制的临床验证,与临床前TY21580自0.03至0.3mg/kg的效价观察一致。预计TY21580有可能克服市场上现存的抗CTLA-4检查点抑制剂的局限性,并在单一和联合治疗方面扩展现有抗CTLA-4抑制剂的市场潜力。本文描述的抗CTLA-4疗法可以通过扩大克隆多样性、浸润冷肿瘤、以及对当前免疫疗法具有耐药性/难治性的患者来改善疗效。

[0349] 受试者6102-002

[0350] 受试者6102-002入组本研究。受试者6102-002为白人男性、60岁、患有尿路上皮癌(肾脏)、且ECOG表现状态评分为0。在2018年4月15日至2019年9月19日期间,受试者6102-002在先接受25个周期的帕母单抗加艾卡哚司他。受试者最初表现出部分缓解,随后对>25个周期的帕母单抗治疗变得具有难治性和耐药性。对受试者6102-002施用了3次0.03mg/kg剂量(2.7+mg)的TY21580,并于2021年2月24日剂量递增至0.1mg/kg。一旦清除,受试者6102-002将递增至更高的剂量。受试者6102-002出现免疫相关不良事件(irAE)瘙痒。0.03mg/kg的药物相关1级免疫毒性表明,0.03mg/kg的靶点调节估计有60%的靶标参与,且与TY21580治疗的作用机制一致。受试者6102-002经历的治疗紧急不良事件汇总见下表3。

[0351] 表3.受试者6102-002的治疗紧急不良事件汇总

[0352]

治疗紧急不良事件(TEAEs)	开始时间	结束时间	等级	因果关系	结果
头痛	2020-12-22 (第1天)	2020-12-22 (第1天)	1	不相关	已完成REC
肌痛	2021-1-5 (第15天)	2021-1-13 (第23天)	1	不相关	已完成REC
瘙痒/irAE	2021-1-4 (第14天)	持续进行中	1	相关	Rec进行中
胃反流	2021-1-14 (第24天)		1	不相关	Rec进行中

[0353] 图10提供受试者6102-002随时间变化的淋巴细胞剖析结果。如图10所示,在受试者6102-002中,CD8 T细胞持续有效增加,但CD4T细胞在0.03mg/kg时先增加,然后降低。在受试者6102-002中,T_{reg}细胞在0.03mg/kg时降低。$CD8^+$ T_{EM}/T_{reg}的比率显著增加。此外,NK和B细胞增加。通过流式细胞术对免疫细胞亚群的分析揭示TY21580治疗后T细胞刺激、NK和B细胞增殖以及T_{reg}消减,特别是$CD8^+T_{EM}/T_{reg}$比率的大幅增加。0.1和0.3mg/kg剂量的患者(如上所述)似乎也遵循这种趋势。受试者6102-002的PD结果也示于图1-8中。

[0354] 群体药代动力学(PK)建模

[0355] 对本研究进行初步的PK群体建模。2房室线性PK模型很好地描述研究剂量的当前PK数据(图11)。除V2(外周分布体积)外,所有PK参数估算精度均良好。模型估算的群体终末半衰期为~14天。模型估算的群体中心分布容积(V1)与血浆体积(例如,40mL/kg)相似。生成拟合优度图(图12A-12B)。从诊断图来看,模型的拟合极好。其他出现的PK数据用于实时优化参数估算。

[0356] 附图中提供正在进行的研究的二次中期分析,并描述如下。

[0357] 临床总结

[0358] 截至目前,25名晚期/转移性实体瘤患者接受9个剂量递增群组(即0.003mg/kg、0.01mg/kg、0.03mg/kg、0.3mg/kg、1.0mg/kg、3.0mg/kg、6.0mg/kg和10mg/kg,n=24个患者)和6mg/kg扩展(n=1)的TY21580治疗。这些患者患有晚期转移性疾病,并接受15种不同肿瘤类型的治疗,其中68%是IO不敏感的肿瘤。(图15B)。TY21580在高至10mg/kg、每三周一次(Q3W)时耐受性良好,无DLT、也未发现剂量依赖性毒性(图15D)。目前,患者正以下一更高的剂量水平(20mg/kg)入组,以在修订方案和6.0mg/kg剂量扩展后继续剂量递增。

[0359] 药代动力学

[0360] TY21580半衰期约为10天(高至10mg/kg时预估约为10±5天),与药物暴露的剂量成比例增加。图16显示静脉输注后TY21580的血清药代动力学,通过非房室分析和群体PK建模方法评估。

[0361] 药效学结果

[0362] 药效学结果如图17-26所示。在连续就诊点采集患者血液样本进行药效学研究,以监测细胞因子和免疫相关可溶性蛋白的动态变化。在六个就诊时间点:第1个周期第1天给药前、第1个周期第1天给药后4小时、第1个周期第2天、第1个周期第8天、第1个周期第15天

和第2个周期第1天采集血液。血清按照标准方案制备。设计MSD来研究TY21580治疗期间外周血中五种细胞因子IFN-γ、IL-2、IL-6、IL-10和TNF-a的丰度是否存在剂量依赖性变化。此外,还测量了血清中四种可溶性蛋白sCTLA-4、sPD-L1、sCD25和CXCL11的水平。

[0363] 图17A显示经TY21580治疗患者中血清IFN-γ浓度的剂量依赖性变化,大多数患者在给药后前两天IFN-γ水平显著增加。这些动力学反映免疫系统活化且可能与患者血液中的抗体浓度相关。每种被分析物的绝对浓度相较于基线的变化,显示IFN-γ对剂量高至6mg/kg的TY21580治疗表现出明显的剂量依赖性响应(图17B)。此外,定量每个剂量组在C1D2时IFN-γ血清浓度与基线水平(C1D1给药前)的变化,显示在0.1mg/kg或更高时IFN-γ丰度增加呈剂量依赖性(图17C),这表明免疫系统在TY21580治疗后被活化。这些数据与TY21580作用机制一致,TY21580通过缓解CTLA-4介导的免疫抑制来活化免疫系统。

[0364] 还测量了经TY21580治疗患者的TNFα浓度,并绘制相对于基线水平的变化图。图18显示TY21580治疗后TNFα水平的剂量依赖性增加。

[0365] 此外,还测量了经TY21580治疗患者的IL-6(图19)、IL-10(图20)和IL-2(数据未显示)。图19显示在TY21580治疗患者中未观察到IL-6浓度的剂量依赖性变化。大多数患者的血清IL-2浓度低于检测极限。

[0366] 在连续就诊时间点测量经TY21580治疗患者的可溶性PD-L1血清浓度(图21A),且图21B显示对治疗响应的sPD-L1丰度相对于基线的变化。各剂量组的sPD-L1丰度变化如图21C所示。在3mg/kg或更高剂量给药的患者中,sPD-L1水平显著增加,这可能表明临床响应。

[0367] 图22显示在C1D8时,可溶性CD25相对于基线的剂量依赖性增加。

[0368] 在连续就诊时间点测量经TY21580治疗患者的可溶性CXCL11血清浓度,且图23显示TY21580治疗后响应的剂量依赖性增加。这些数据显示CXCL11丰度在接受剂量等同或超过0.3mg/kg的患者中显著增加。

[0369] 从患者采集的全血还用于评估经TY21580治疗患者的T细胞和NK细胞计数。

[0370] 在C1D1(给药前)、C1D8、C1D15和C2D1时间点对从经TY21580治疗患者采集的全血中的CD4+CD8-T细胞定量。通过绝对计数测量CD4+细胞的剂量依赖性增加,在3mg/kg和6mg/kg剂量下尤其显著(图24A)。图24B-24E比较基线与C1D8(图24B和24C)以及基线与C1D8(图24D和24E)之间的CD4+ T细胞计数变化,图24B和24D显示与基线相比的相对变化,且图24C和24E显示每μL的绝对计数变化。如图25所示,还测量了CD8+ T细胞绝对计数的剂量依赖性增加。CD4+和CD8+ T细胞绝对计数的剂量依赖性增加表明免疫系统在TY21580治疗后被活化。数据还显示即使在治疗两周(C1D15)后,TY21580也显示出一致的抗肿瘤功效。

[0371] 还测定了经TY21580治疗患者的NK细胞计数,图26显示C1D8和C1D15的每μL细胞绝对计数变化。

[0372] 中期疗效数据

[0373] 受试者#23为74岁患有肾细胞癌的男性,在纳武单抗治疗后复发,并入组10mg/kg群组。在第一个治疗周期后,受试者的CD8+ T细胞增加(图15C和25A),表明TY21580对触发T细胞活化具有高度活性。

[0374] 受试者#22为10mg/kg群组中77岁患有胰腺癌的男性,先前接受三种疗法。该受试者有两处靶病变,一处位于胰腺、一处位于肝脏,胰腺病变的基线测量值为35mm、肝脏病变的基线测量值为15mm。经两周期TY21580治疗后对患者进行第一次肿瘤评估。评估显示胰腺

病变缩小至29mm,肝脏病变缩小至10mm,反映靶病变体积缩小22%(表4)。

[0375] 表4:受试者#22(胰腺癌)的肿瘤缩小

[0376]

患者#22		基线	第一次肿瘤评估
靶病变	TL1-胰腺	35 mm	29 mm
	TL-2肝脏	15 mm	10 mm
非靶病变	门静脉淋巴结	存在	消失
靶病变的变化	-22%		

[0377] 在17%(4/24)的患者中观察到长期稳定的疾病,所有患者都接受过多次先前治疗并患有"冷肿瘤"(即T细胞无法渗透的肿瘤,因为肿瘤尚未被免疫系统识别,或引起免疫响应)。值得注意的是,所有四名患者CD8和/或CD4 T细胞均增加,受试者#4和#19的CD8 T细胞显著增加。(图24A和25A)。

[0378] 实施例2.TY21580的剂量选择标准

[0379] 使用非房室分析(Phoenix WinNonlin 8.3版本的NCA)和群体PK建模(通过NONMEM®7.5)方法评估TY21580单一疗法静脉输注后的血清药代动力学(PK)。

[0380] 观察到血清暴露剂量依赖性增加。静脉输注后最大血清浓度($C_{max,周期1}$)与剂量有近似线性关系(例如,0.003至10mg/kg,R^2=0.89,图29)。预测周期1PK(AUC_{INF_pred})的药物暴露$AUC_{0-无穷大}$与剂量有近似线性关系(例如,0.01至10mg/kg,R^2=0.90,图30)。

[0381] 血清中TY21580在0.01到10mg/kg范围的周期1终末半衰期(平均值±标准偏差)估计为~10±3天。未观察到明显的剂量依赖性。这组PK分析,包括C_{max}、AUC和半衰期,表明TY21580在0.01到10mg/kg范围内未观察到显著的靶点介导药物处置(TMDD)。建立2房室线性群体PK模型,能较好地描述PK数据。体重(BW)与模型估计的中心分布容积(Vc)高度相关,并被视为有意义的协变量(例如,指数>0.8)。对于具有多个治疗周期(Q3W,每三周给药一次)PK数据的患者,大多数患者观察到给药前PK($C_{trough,重复给药}$)和$C_{max,重复给药}$的累积限制(例如,<2倍),这与PK模型估计的半衰期和Q3W给药的预测平均积累比(例如,~1.3倍)一致。

[0382] 根据观察到的PK与体外数据,探讨潜在有效的人体剂量。在各种结合测定中,TY21580的EC_{90}通常>3-5μg/mL,与功能读数一致,可以作为靶向肿瘤组织的最小稳态给药前浓度(即$C_{trough,ss}$)。这些EC_{90}与~90%的理论受体占有率(RO)相关。例如,基于关键的体外可用数据(例如,结合、T细胞活化的功能读数和ADCC)选择~5μg/mL(~34.5nM)作为代表性的综合EC_{90}值。考虑到无显著TMDD的靶点可能具有10-20%的肿瘤组织药物分布,EC_{90}对应体循环中的172-345nM。当TY21580剂量为10mg/kg时,第一个周期第21天观察到的TY21580的平均血清谷浓度仍约为最低靶向全身浓度(例如,172nM,假设肿瘤药物分布为20%)。这些PK数据与稳态下的模拟PK(图31,显示10mg/kg给药周期的504小时时的C_{trough}浓度,例如212nM,接近目标浓度的中间范围)、单一疗法临床PD生物标志物数据和安全性/有效性数据支持10mg/kg每三周一次(Q3W)静脉给药作为可能有效/饱和的单药剂量。

[0383] 考虑到TY21580的Q3W给药预测平均积累比(例如,~1.3倍),在6或3mg/kg时,预测第14天或第7天,TY21580平均血清浓度将分别接近或略高于最低靶向全身浓度(例如,172nM)(图31)。因此,在3mg/kg Q3W给药的稳态下,高于最低靶向浓度的估算时间(例如,~

168小时,图31)约占总循环持续时间的～33％,可能足以达到最佳治疗指标。或者,在6mg/kg Q3W给药的稳态下,高于最低靶向浓度的估算时间(例如,～370小时,图31)大于总循环持续时间的70％。

序列表
<110> 天演药业公司(Adagene Inc.)
<120> 使用抗CTLA4抗体治疗癌症的方法
<130> 69540-20013.40
<140> 尚未分配
<141> 同时随同提交
<150> US 63/167,111
<151> 2021-03-28
<160> 139
<170> FastSEQ for Windows Version 4.0
<210> 1
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 1
<223> Xaa = Phe或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 5
<223> Xaa = Asp或Gly
<220>
<221> 变体
<222> 7
<223> Xaa = Ala、Gly或Trp
<400> 1
Xaa Thr Phe Ser Xaa Tyr Xaa Ile His Trp Val
1 5 10
<210> 2
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>

<221> 变体
<222> 4
<223> Xaa = Ser或Thr
<220>
<221> 变体
<222> 7、8
<223> Xaa = His或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 10
<223> Xaa = Ala、Asp或Ser
<400> 2
Tyr Ser Ile Xaa Ser Gly Xaa Xaa Trp Xaa Trp Ile
1 5 10
<210> 3
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 11
<223> Xaa = Gly或Ser
<400> 3
Phe Ser Leu Ser Thr Gly Gly Val Ala Val Xaa Trp Ile
1 5 10
<210> 4
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 3
<223> Xaa = Asp或Glu
<220>
<221> 变体

<222> 5
<223> Xaa = Ser或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 14
<223> Xaa = Pro或Gln
<400> 4
Ile Gly Xaa Ile Xaa His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Xaa Ser Leu
1 5 10 15
Lys Ser Arg Val
20
<210> 5
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 3
<223> Xaa = Ile或Trp
<220>
<221> 变体
<222> 8、10
<223> Xaa = Gly或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 12
<223> Xaa = Lys或Asn
<400> 5
Ile Gly Xaa Ile Ser Pro Ser Xaa Gly Xaa Thr Xaa Tyr Ala Gln Lys
1 5 10 15
Phe Gln Gly Arg Val
20
<210> 6
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 3
<223> Xaa = Ala、Gly或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 7
<223> Xaa = Ser或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 9
<223> Xaa = Gly或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 10
<223> Xaa = Ser或Thr
<400> 6
Val Ser Xaa Ile Ser Gly Xaa Gly Xaa Xaa Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly Arg Phe
20
<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 3
<223> Xaa = Gly、Arg或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 4
<223> Xaa = Ala、Ile或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 5

<223> Xaa = Asp、Val或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 6
<223> Xaa = Ala、Glu或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 9
<223> Xaa = Ile或Tyr
<400> 7
Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Asp Xaa
1 5
<210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 3
<223> Xaa = Asp或Leu
<220>
<221> 变体
<222> 5
<223> Xaa = Phe或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 10
<223> Xaa = Val或Tyr
<400> 8
Ala Arg Xaa Gly Xaa Gly Tyr Phe Asp Xaa
1 5 10
<210> 9
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> 变体
<222> 3
<223> Xaa = Leu或Arg
<220>
<221> 变体
<222> 4
<223> Xaa = Ile或Pro
<220>
<221> 变体
<222> 5
<223> Xaa = Ala或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 6
<223> Xaa = Ser或Thr
<220>
<221> 变体
<222> 8
<223> Xaa = Thr或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 9
<223> Xaa = Ala或Tyr
<400> 9
Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 4
<223> Xaa = Ile或Val
<220>
<221> 变体

<222> 5
<223> Xaa = Ala或His
<220>
<221> 变体
<222> 6
<223> Xaa = Pro或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 13
<223> Xaa = Asp或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 17
<223> Xaa = Phe或Val
<400> 10
Ala Arg Asp Xaa Xaa Xaa Gly Ser Ser Gly Tyr Tyr Xaa Gly Phe Asp
1 5 10 15
Xaa
<210> 11
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 5、7
<223> Xaa = Gly或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 6
<223> Xaa = Ile或Val
<220>
<221> 变体
<222> 9
<223> Xaa = Ser或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 11

<223> Xaa = Ala或Asn
<400> 11
Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Leu Xaa
1 5 10
<210> 12
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 5
<223> Xaa = Ser或Thr
<220>
<221> 变体
<222> 7
<223> Xaa = Phe、Arg或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 8
<223> Xaa = Gly或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 10
<223> Xaa = Phe或Tyr
<400> 12
Arg Ala Ser Gln Xaa Val Xaa Xaa Arg Xaa Leu Ala
1 5 10
<210> 13
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 4
<223> Xaa = Glu或Gln

<220>
<221> 变体
<222> 9
<223> Xaa = Asp、Phe、His或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 11
<223> Xaa = Phe、Ile或Lys
<220>
<221> 变体
<222> 15
<223> Xaa = Ala、Asp或His
<400> 13
Arg Ala Ser Xaa Ser Val Asp Phe Xaa Gly Xaa Ser Phe Leu Xaa
1 5 10 15
<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 1
<223> Xaa = Ala或Asp
<220>
<221> 变体
<222> 4
<223> Xaa = Asn、Ser或Thr
<220>
<221> 变体
<222> 5
<223> Xaa = Leu或Arg
<220>
<221> 变体
<222> 6
<223> Xaa = Ala、Glu或Gln
<220>
<221> 变体

<222> 7
<223> Xaa = Ser或Thr
<220>
<221> 变体
<222> 9
<223> Xaa = Ile或Val
<400> 14
Xaa Ala Ser Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa
1 5
<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 3
<223> Xaa = Glu、Gln或Val
<220>
<221> 变体
<222> 4
<223> Xaa = His或Gln
<220>
<221> 变体
<222> 5
<223> Xaa = Ala、Gly、His、Arg或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 6
<223> Xaa = Asp、Leu、Ser或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 7
<223> Xaa = Glu、Gly、Pro、Gln或Ser
<220>
<221> 变体
<222> 8
<223> Xaa = Leu、Thr、Val或Trp

<220>
<221> 变体
<222> 10
<223> Xaa = Phe、Leu、Pro、Trp或Tyr
<400> 15
Tyr Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr
1 5 10
<210> 16
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 5
<223> Xaa = Ser或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 6
<223> Xaa = Asp或Tyr
<220>
<221> 变体
<222> 7
<223> Xaa = Gln或Tyr
<400> 16
Tyr Cys Gln Gln Xaa Xaa Xaa Trp Pro Pro Trp Thr
1 5 10
<210> 17
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<220>
<221> 变体
<222> 4
<223> Xaa = His或Gln
<220>

<221> 变体
<222> 6
<223> Xaa = Thr或Val
<220>
<221> 变体
<222> 11
<223> Xaa = Glu或Val
<400> 17
Tyr Cys Gln Xaa Tyr Xaa Ser Ser Pro Pro Xaa Tyr Thr
1 5 10
<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 18
Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Ala Ile His Trp Val
1 5 10
<210> 19
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 19
Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr Trp Ala Trp Ile
1 5 10
<210> 20
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 20
Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Ile His Trp Val
1 5 10
<210> 21
<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 21
Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr His Trp Asp Trp Ile
1 5 10
<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 22
Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Ile His Trp Val
1 5 10
<210> 23
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 23
Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr His Trp Ser Trp Ile
1 5 10
<210> 24
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 24
Phe Ser Leu Ser Thr Gly Gly Val Ala Val Ser Trp Ile
1 5 10
<210> 25
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体
<400> 25
Phe Ser Leu Ser Thr Gly Gly Val Ala Val Gly Trp Ile
1 5 10
<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 26
Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ala Ile His Trp Val
1 5 10
<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 27
Tyr Thr Phe Ser Gly Tyr Gly Ile His Trp Val
1 5 10
<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 28
Tyr Thr Phe Ser Gly Tyr Ala Ile His Trp Val
1 5 10
<210> 29
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 29
Tyr Ser Ile Thr Ser Gly His Tyr Trp Ser Trp Ile

1 5 10

<210> 30
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 30

Ile Gly Ile Ile Ser Pro Ser Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
1 5 10 15
Phe Gln Gly Arg Val
20

<210> 31
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 31

Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly Arg Phe
20

<210> 32
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 32

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser Leu
1 5 10 15
Lys Ser Arg Val
20

<210> 33
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体
<400> 33
Val Ser Gly Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly Arg Phe
20
<210> 34
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 34
Ile Gly Trp Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
1 5 10 15
Phe Gln Gly Arg Val
20
<210> 35
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 35
Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu
1 5 10 15
Lys Ser Arg Leu
20
<210> 36
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 36
Val Ser Ala Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly Arg Phe
20

<210> 37
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 37
Ile Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
1 5 10 15
Phe Gln Gly Arg Val
20
<210> 38
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 38
Ile Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys
1 5 10 15
Phe Gln Gly Arg Val
20
<210> 39
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 39
Ile Gly Asp Ile Ser His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Gln Ser Leu
1 5 10 15
Lys Ser Arg Val
20
<210> 40
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体

<400> 40
Ala Arg Asp Ile His Ser Gly Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Gly Phe Asp
1 5 10 15
Val
<210> 41
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 41
Ala Arg Asp Gly Phe Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 42
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 42
Ala Arg Asp Val Ala Pro Gly Ser Ser Gly Tyr Tyr Asp Gly Phe Asp
1 5 10 15
Phe
<210> 43
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 43
Ala Arg His Ser Tyr Tyr Gly Ser Gly Asn Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 44

Ala Arg Gly Ala Tyr Glu Phe Asp Tyr
1 5
<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 45
Ala Arg Ser Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr
1 5
<210> 46
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 46
Ala Arg Arg Ile Ala Thr Ala Thr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 47
Ala Arg Leu Pro Tyr Ser Ala Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 48
Ala Arg His Pro Phe Ala Tyr
1 5
<210> 49

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 49
Ala Arg Arg Ile Asp Ala Phe Asp Ile
1 5
<210> 50
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 50
Ala Arg Leu Tyr Asp Val Ala Tyr
1 5
<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 51
Ala Arg Leu Gly Tyr Gly Tyr Phe Asp Val
1 5 10
<210> 52
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 52
Ala Arg Gly Ser Arg Thr Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 53
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成构建体
<400> 53
Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Phe Gly Ile Ser Phe Leu Ala
1 5 10 15
<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 54
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Val Tyr
1 5 10
<210> 55
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 55
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gly Ser Ser Leu Ala
1 5 10
<210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 56
Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Phe Phe Gly Lys Ser Phe Leu His
1 5 10 15
<210> 57
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 57

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Arg Phe Leu Ala
1 5 10

<210> 58
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 58
Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Gly Arg Phe Leu Ala
1 5 10

<210> 59
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 59
Arg Ala Ser Gln Thr Val Phe Ser Arg Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 60
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 60
Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 61
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Tyr Gly Ile Ser Phe Leu Asp
1 5 10 15

<210> 62

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 62
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp Gly Phe Ser Phe Leu His
1 5 10 15
<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 63
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe His Gly Lys Ser Phe Leu His
1 5 10 15
<210> 64
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 64
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Tyr Gly Ile Ser Phe Leu His
1 5 10 15
<210> 65
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 65
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成构建体
<400> 66
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile
1 5
<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 67
Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
1 5
<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 68
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val
1 5
<210> 69
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 69
Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val
1 5
<210> 70
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 70

Tyr Cys Gln His Tyr Thr Ser Ser Pro Pro Val Tyr Thr
1 5 10

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 71
Tyr Cys Val Gln Gly Leu Gln Thr Pro Trp Thr
1 5 10

<210> 72
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 72
Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gln Trp Pro Pro Trp Thr
1 5 10

<210> 73
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 73
Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Trp Pro Pro Thr
1 5 10

<210> 74
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 74
Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Pro Thr Pro Leu Thr
1 5 10

<210> 75

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 75
Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Ser Trp Pro Pro Thr
1 5 10
<210> 76
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 76
Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Tyr Trp Pro Pro Trp Thr
1 5 10
<210> 77
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 77
Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Leu Thr
1 5 10
<210> 78
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 78
Tyr Cys Gln Gln Tyr Val Ser Ser Pro Pro Glu Tyr Thr
1 5 10
<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成构建体
<400> 79
Tyr Cys Gln Gln Arg Asp Ser Trp Pro Tyr Thr
1 5 10
<210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 80
Tyr Cys Glu Gln Ser Leu Glu Val Pro Phe Thr
1 5 10
<210> 81
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 81
Tyr Cys Val Gln Ala Leu Gln Leu Pro Leu Thr
1 5 10
<210> 82
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 82
Glu Val Gln Leu Val 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 Asp Tyr
20 25 30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Ser Pro Ser Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ile His Ser Gly Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Gly Phe Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 83

Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30
Tyr Tyr Trp Ala Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala 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 Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Asp Gly Phe Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 84
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 84

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

<210> 85
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 85

Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Tyr His Trp Asp Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Val Ser Gly Ile Ser Gly Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala 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 Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg His Ser Tyr Tyr Gly Ser Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 86
<211> 116

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 86

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

<210> 87
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 87

Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Tyr His Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Ser Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115
<210> 88
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 88
Glu Val Gln Leu Val 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 Ser Leu Ser Thr Gly
20 25 30
Gly Val Ala Val Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
65 70 75 80
Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Arg Ile Ala Thr Ala Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 89
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 89
Glu Val Gln Leu Val 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 Ser Leu Ser Thr Gly
20 25 30

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

<210> 90
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 90

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

<210> 91
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体
<400> 91

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

<210> 92
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 92

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

Val Ser Ser
115

<210> 93
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 93

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

<210> 94
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 94

Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30
His Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Asp Ile Ser His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ser Gln Ser Leu

50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Ser Arg Thr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 95
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 95
Asp Ile Gln Leu 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 Glu Ser Val Asp Phe Phe
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ser
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Thr
85 90 95
Ser Ser Pro Pro Val Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys Arg

<210> 96
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 96
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

<210> 97
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 97
Asp Ile Gln Leu 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 Gly Ile Gly Ser Ser
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile 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 Tyr Asp Gln Trp Pro Pro
85 90 95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 98
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体
<400> 98

Asp Ile Gln Leu 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 Glu Ser Val Asp Phe Phe
20 25 30
Gly Lys Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr
85 90 95
Ser Trp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 99
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 99

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

<210> 100
<211> 109

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 100

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

<210> 101
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 101

Asp Ile Gln Leu 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 Thr Val Phe Ser Arg
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Tyr Trp Pro
85 90 95
Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105 110

<210> 102
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 102

Asp Ile Gln Leu 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 Gly Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala 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 Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 103
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 103

Asp Ile Gln Leu 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 Val Asp Phe Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ser
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Val
85 90 95
Ser Ser Pro Pro Glu Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys Arg

<210> 104
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 104

Asp Ile Gln Leu 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 Val Asp Phe Asp
20 25 30
Gly Phe Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asp
85 90 95
Ser Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 105
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 105

Asp Ile Gln Leu 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 Val Asp Phe His
20 25 30
Gly Lys Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Glu Gln Ser Leu
85 90 95
Glu Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 106
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 106

Asp Ile Gln Leu 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 Val Asp Phe Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Gln Ala Leu
85 90 95
Gln Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 107
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 107

Asp Ile Gln Leu 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 Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr 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 His His Tyr Gly Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 108
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 108

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu
115 120

<210> 109
<400> 109
000
<210> 110
<400> 110

000

<210> 111

<400> 111

000

<210> 112

<400> 112

000

<210> 113

<400> 113

000

<210> 114

<400> 114

000

<210> 115

<400> 115

000

<210> 116

<400> 116

000

<210> 117

<400> 117

000

<210> 118

<400> 118

000

<210> 119

<400> 119

000

<210> 120

<400> 120

000

<210> 121

<400> 121

000

<210> 122

<400> 122

000

<210> 123

<400> 123

000

<210> 124

<400> 124

000

<210> 125

<211> 445

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 125

```
Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
            20                  25                  30
Tyr His Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45
Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu
    50                  55                  60
Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Ser Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220
```

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 126
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 126

Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr His Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Leu Ala Arg Ile Asp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 127
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 127
Asp Ile Gln Leu 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 Val Arg Gly Arg
20 25 30
Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Ser Trp Pro
85 90 95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 128
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 128
Glu Val Gln Leu Val 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 Asp Tyr
20 25 30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Gly Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 129
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体

<400> 129

Glu Val Gln Leu Val 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 Asp Tyr
20 25 30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Gly Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 130
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 130

Asp Ile Gln Leu 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 Val Asp Phe Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Gln Ala Leu
85 90 95
Gln Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 131
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 131

Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30
Tyr Tyr Trp Ala Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala 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 Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Asp Gly Phe Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu 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 His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ala Leu Pro Ala Pro 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 Arg Asp Glu Leu 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 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly
435 440 445

<210> 132

<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 132

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Val
20 25 30
Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Gln Gly Leu Gln Thr Pro Trp Thr
85 90 95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 133
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体

<400> 133

Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30
Tyr Tyr Trp Ala Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala 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 Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Asp Gly Phe Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu 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 His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ala Leu Pro Ala Pro 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 Arg Asp Glu Leu 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 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 134
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 134
Glu Val Gln Leu Val 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 Gly Tyr
20 25 30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
115 120 125
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 135
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 135

Glu Val Gln Leu Val 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 Gly Tyr
20 25 30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
115 120 125
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 136
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 136

Asp Ile Gln Leu 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 Val Asp Phe Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Phe Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ser
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Val
85 90 95
Ser Ser Pro Pro Glu Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 137
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 137

Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Tyr Asp Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 138
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体
<400> 138
Glu Val Gln Leu Val 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 Tyr Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30
Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Ser Pro Ser Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Tyr Asp Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly

180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys

195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys

210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 139

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体

<400> 139

Asp Ile Gln Leu 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 Val Asp Phe His
20 25 30
Gly Lys Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
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 Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Glu Gln Ser Leu
85 90 95
Glu Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

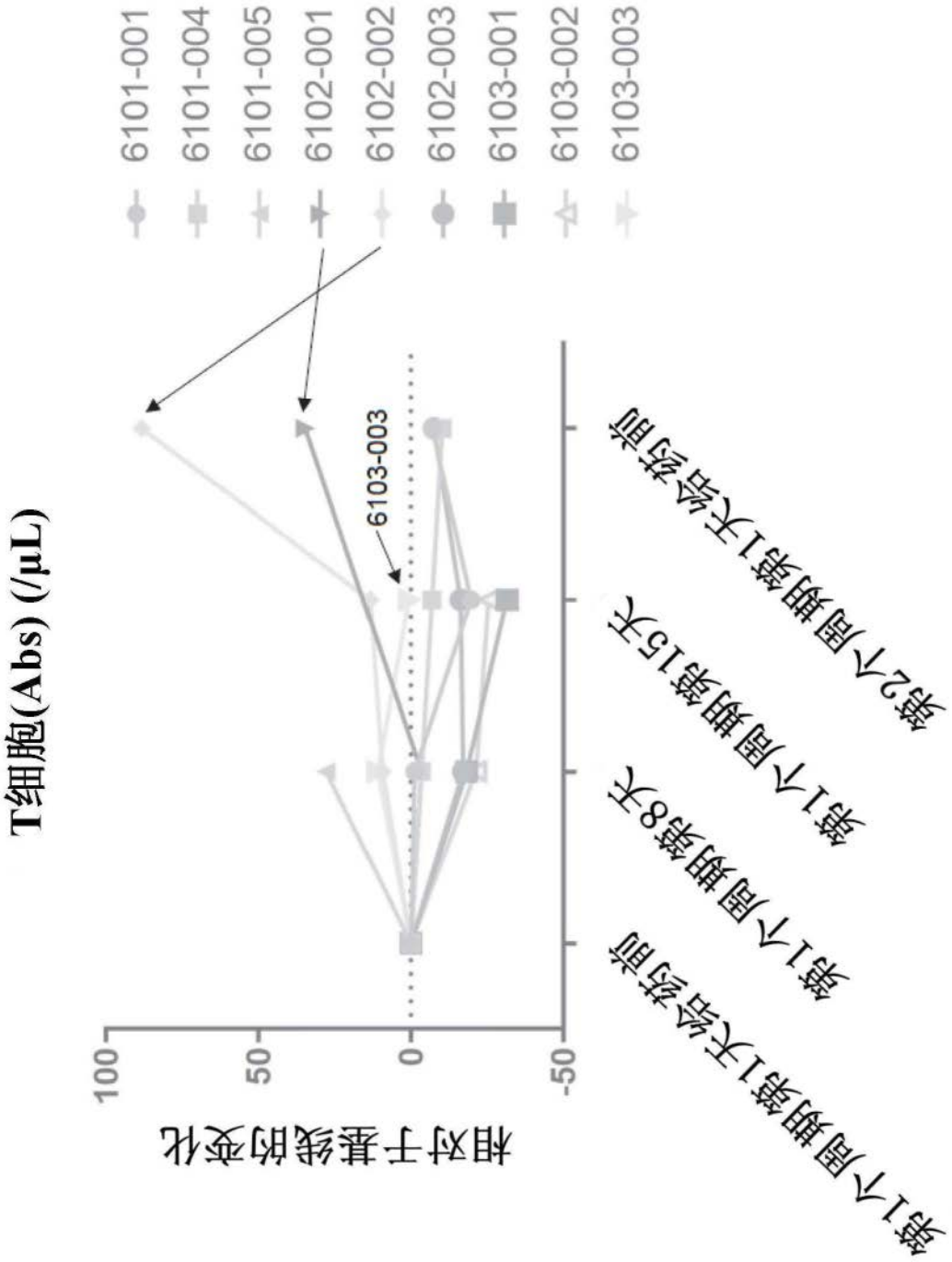

6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003
T细胞(Abs) (/μL)
相对于基线的变化
100
50
0
-50
6103-003
第1个周期第1天给药前
第1个周期第8天
第1个周期第15天
第2个周期第1天给药前

图1

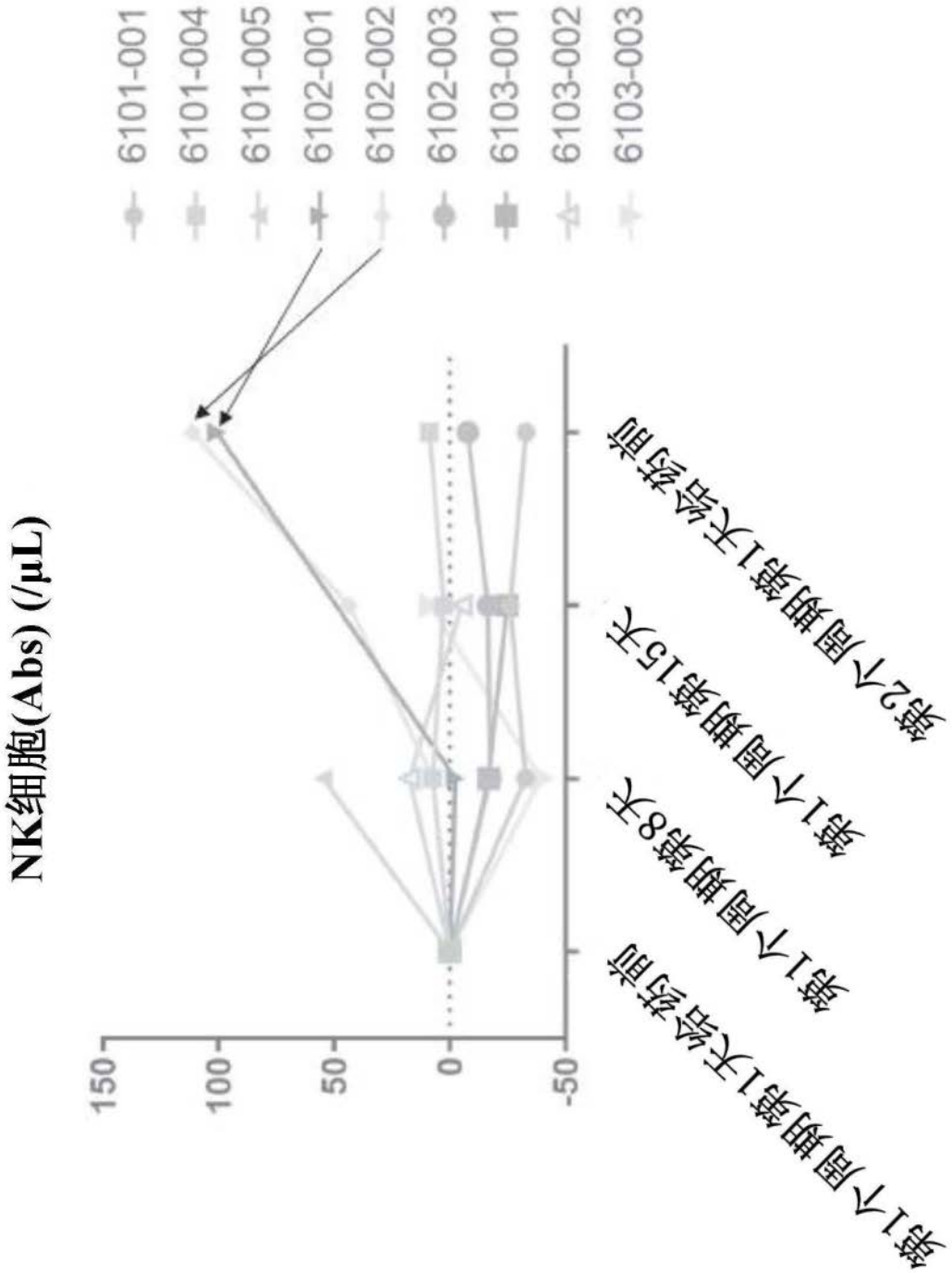

6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003
NK细胞(Abs) (/μL)
150
100
50
0
-50
第1个周期第1次给药前
第1个周期第8天
第1个周期第15天
第2个周期第1次给药前

图2

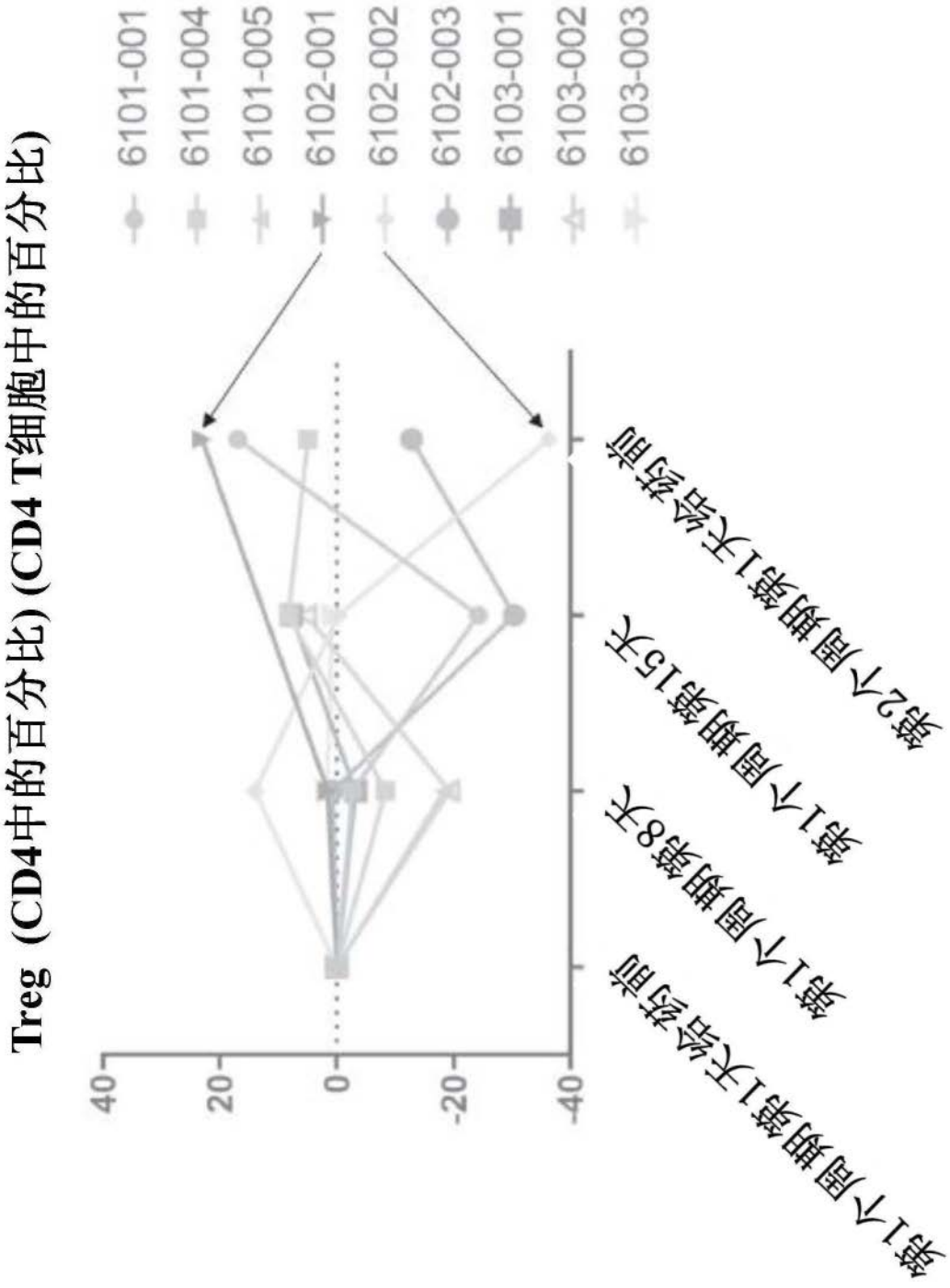

Treg (CD4中的百分比) (CD4 T细胞中的百分比)
6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003
40
20
0
-20
-40
第1个周期第1天给药前
第1个周期第8天
第1个周期第15天
第2个周期第1天给药前

图3

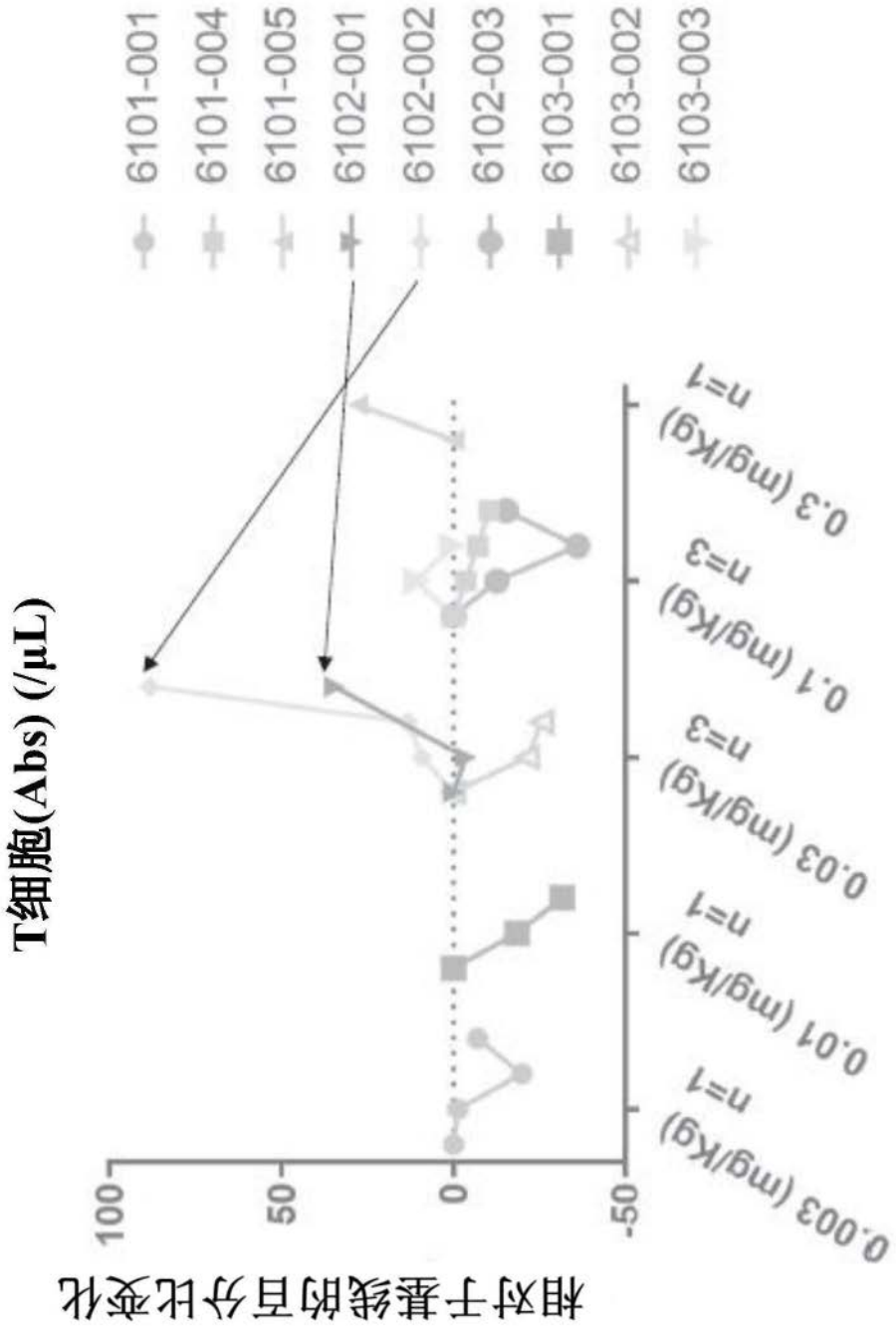

6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003
T细胞(Abs) (/μL)
相对于基线的百分比变化
100
50
0
-50
0.003 (mg/kg)
n=1
0.01 (mg/kg)
n=1
0.03 (mg/kg)
n=3
0.1 (mg/kg)
n=3
0.3 (mg/kg)
n=1

图4

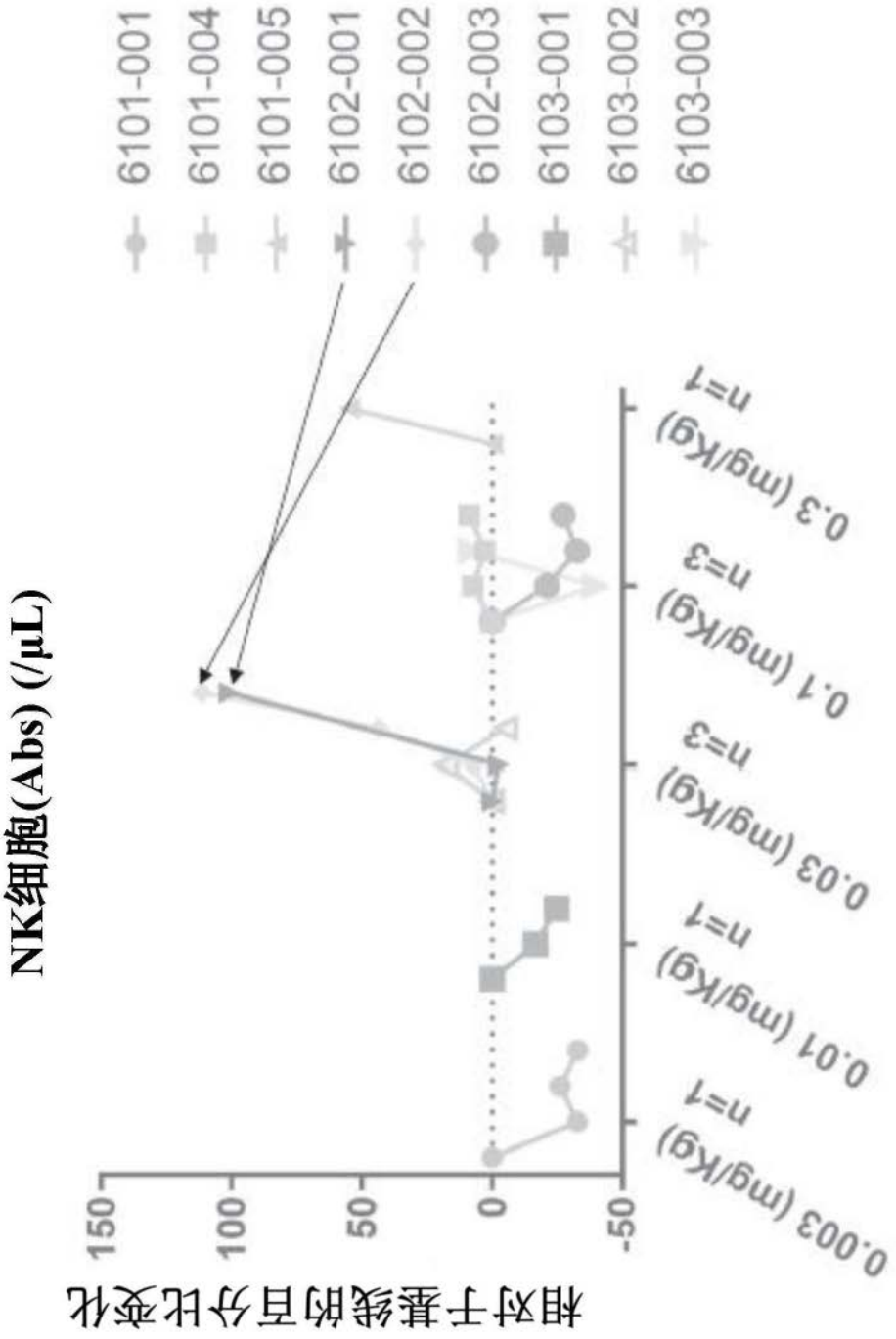

6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003
NK细胞(Abs) (/μL)
相对于基线的百分比变化
150
100
50
0
-50
0.003 (mg/Kg)
n=1
0.01 (mg/Kg)
n=1
0.03 (mg/Kg)
n=3
0.1 (mg/Kg)
n=3
0.3 (mg/Kg)
n=1

图5

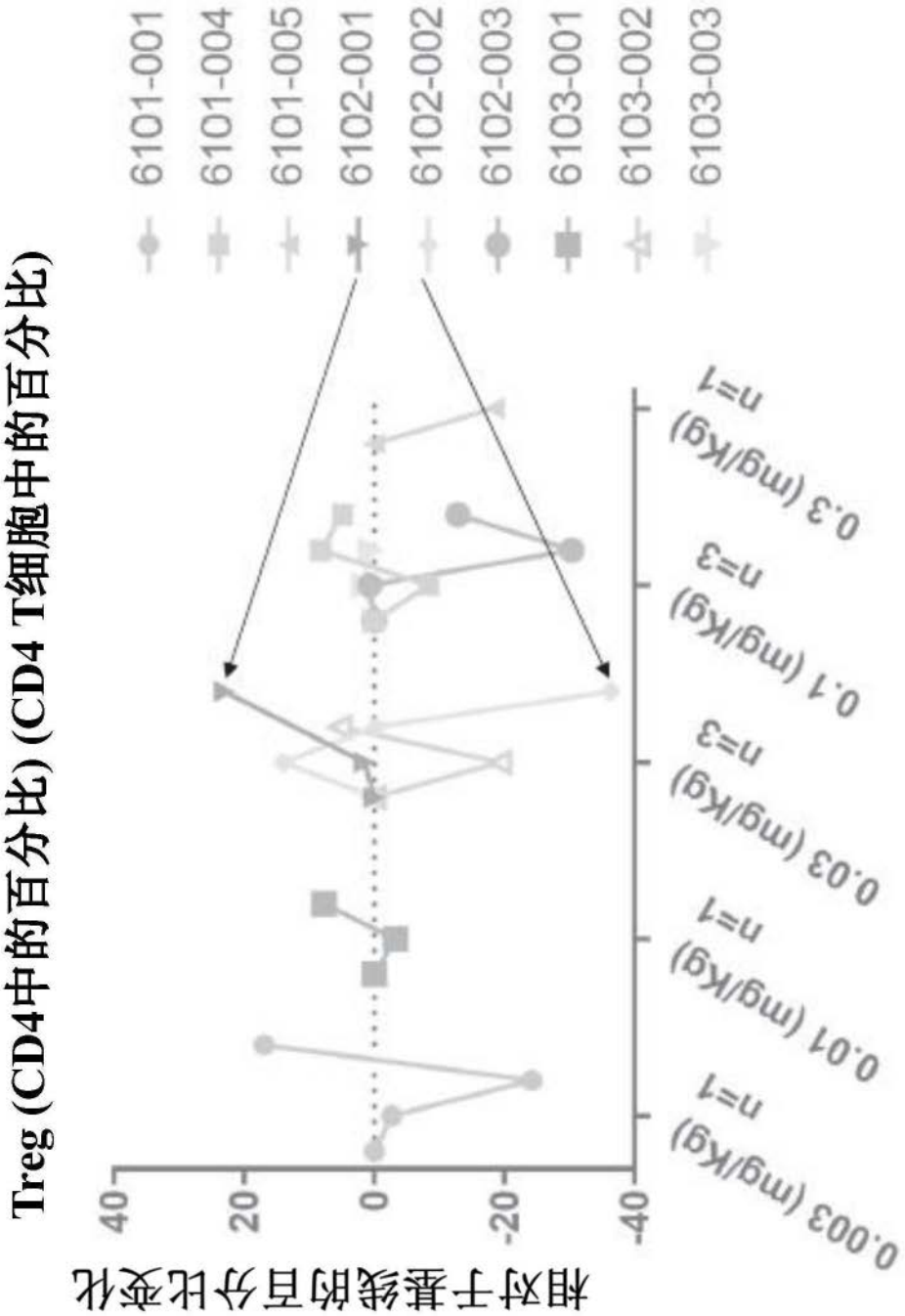

Treg (CD4中的百分比) (CD4 T细胞中的百分比)
相对于基线的百分比变化
6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003
40
20
0
-20
-40
0.003 (mg/kg) n=1
0.01 (mg/kg) n=1
0.03 (mg/kg) n=3
0.1 (mg/kg) n=3
0.3 (mg/kg) n=1

图6

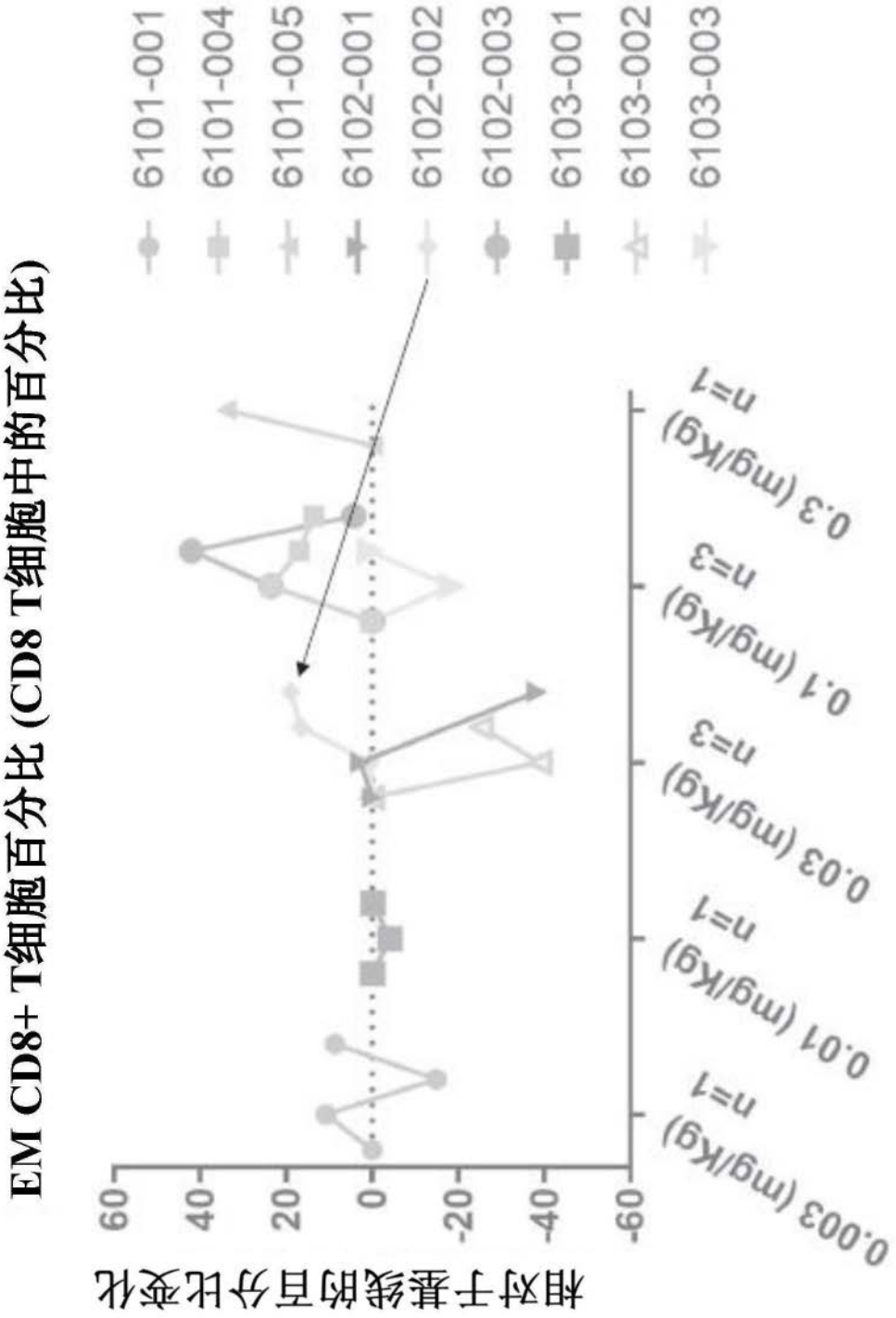

EM CD8+ T细胞百分比 (CD8 T细胞中的百分比)
6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003
相对于基线的百分比变化
60
40
20
0
-20
-40
-60
0.003 (mg/kg)
n=1
0.01 (mg/kg)
n=1
0.03 (mg/kg)
n=3
0.1 (mg/kg)
n=3
0.3 (mg/kg)
n=1

图7

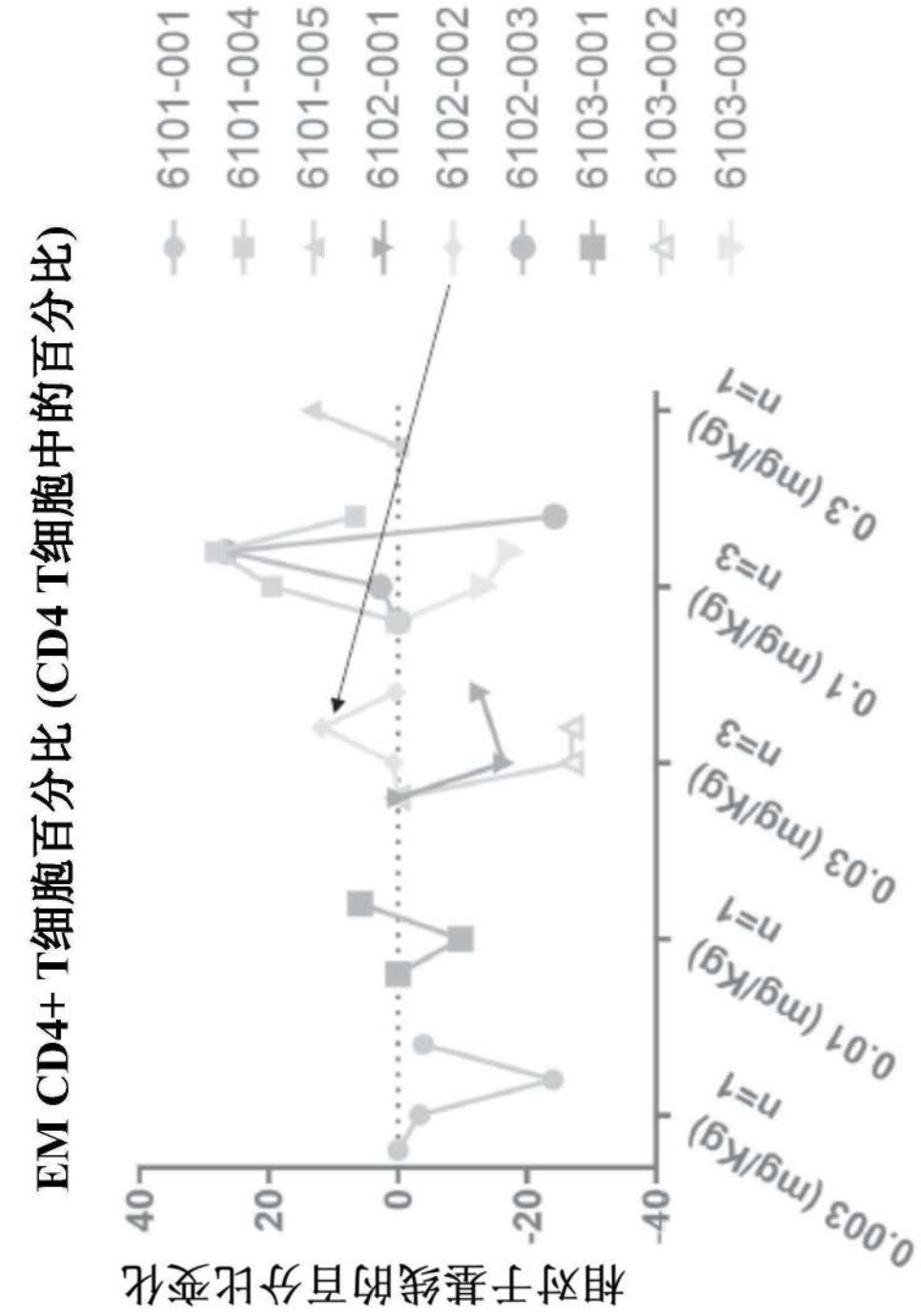

EM CD4+ T细胞百分比 (CD4 T细胞中的百分比)
6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003
相对于基线的百分比变化
40
20
0
-20
-40
0.003 (mg/Kg) n=1
0.01 (mg/Kg) n=1
0.03 (mg/Kg) n=3
0.1 (mg/Kg) n=3
0.3 (mg/Kg) n=1

图8

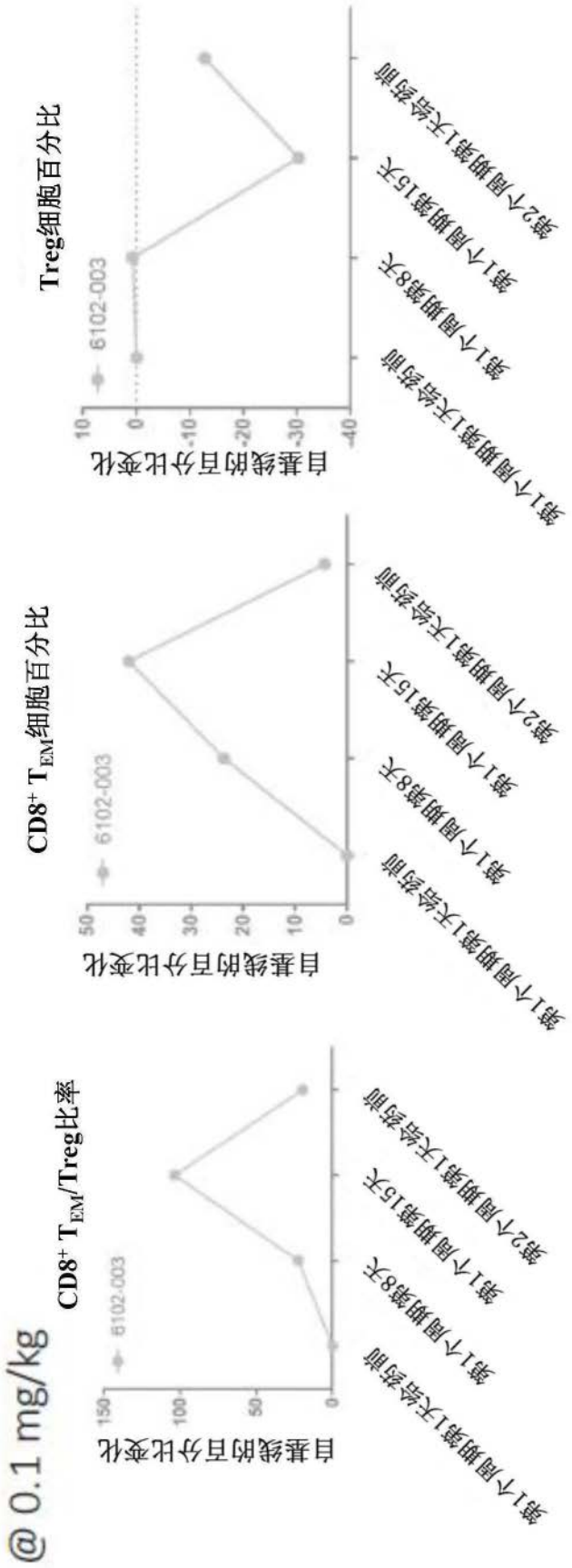

@ 0.1 mg/kg
CD8+ TEM/Treg比率
CD8+ TEM细胞百分比
Treg细胞百分比
自基线的百分比变化
6102-003
150
100
50
0
-10
-20
-30
-40
第1个周期第1天给药前
第1个周期第8天
第1个周期第15天
第2个周期第1天给药前

图9A

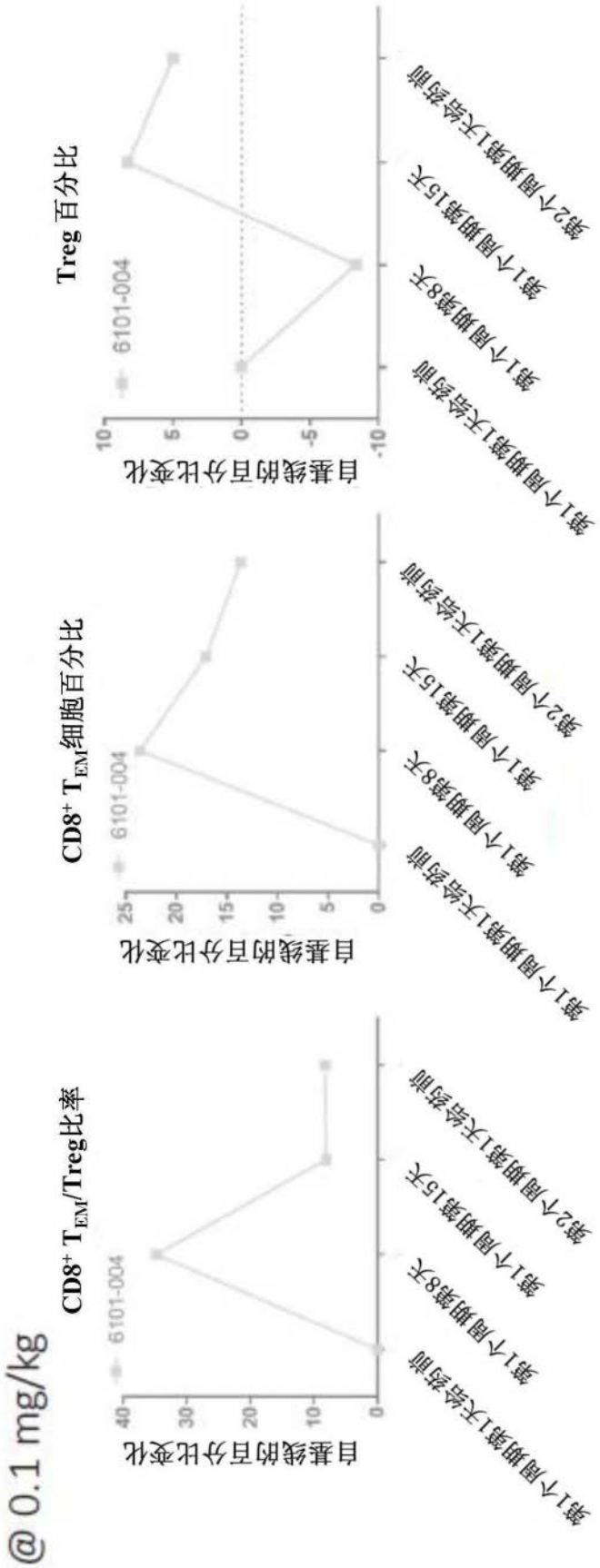

@ 0.1 mg/kg
CD8+ TEM/Treg比率
CD8+ TEM细胞百分比
Treg 百分比
自基线的百分比变化
6101-004
第1个周期第1天给药前
第1个周期第8天
第1个周期第15天
第2个周期第1天给药前

图9B

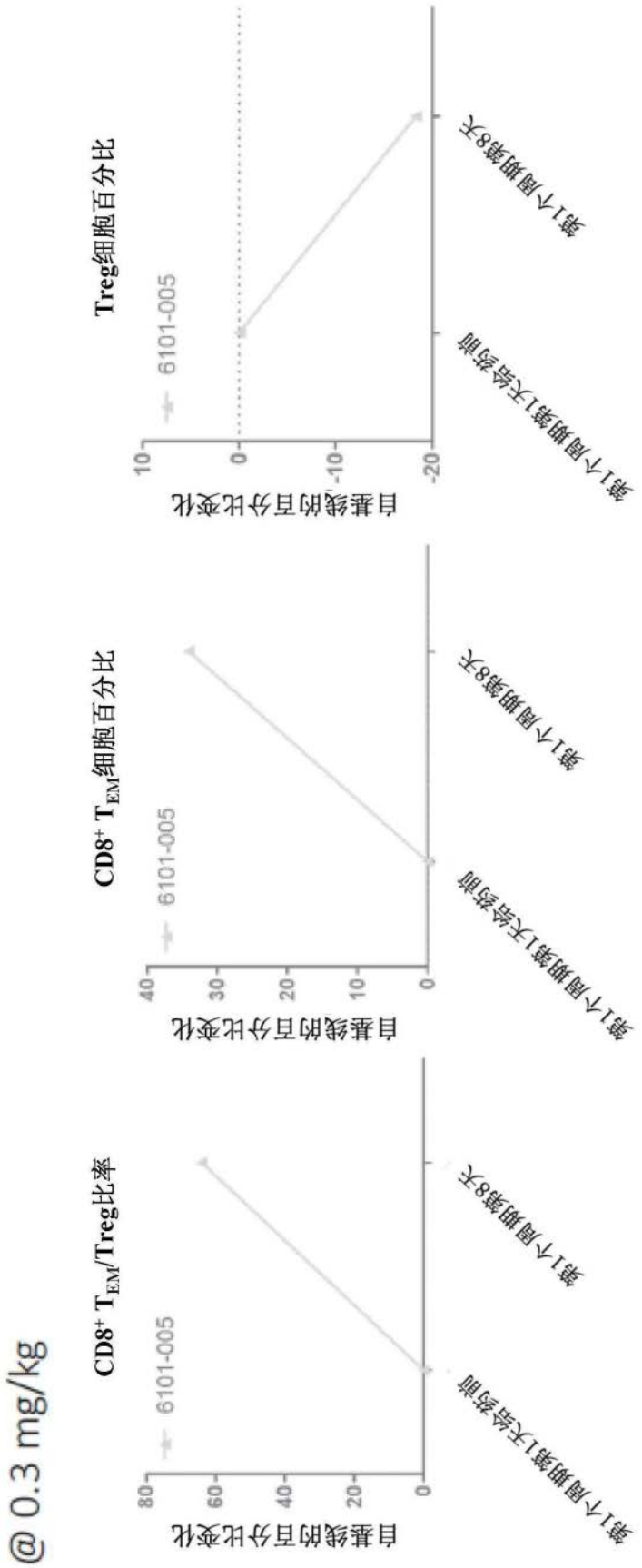

@ 0.3 mg/kg
CD8+ TEM/Treg比率
CD8+ TEM细胞百分比
Treg细胞百分比
6101-005
自基线的百分比变化
第1个周期第1天给药前
第1个周期第8天

图9C

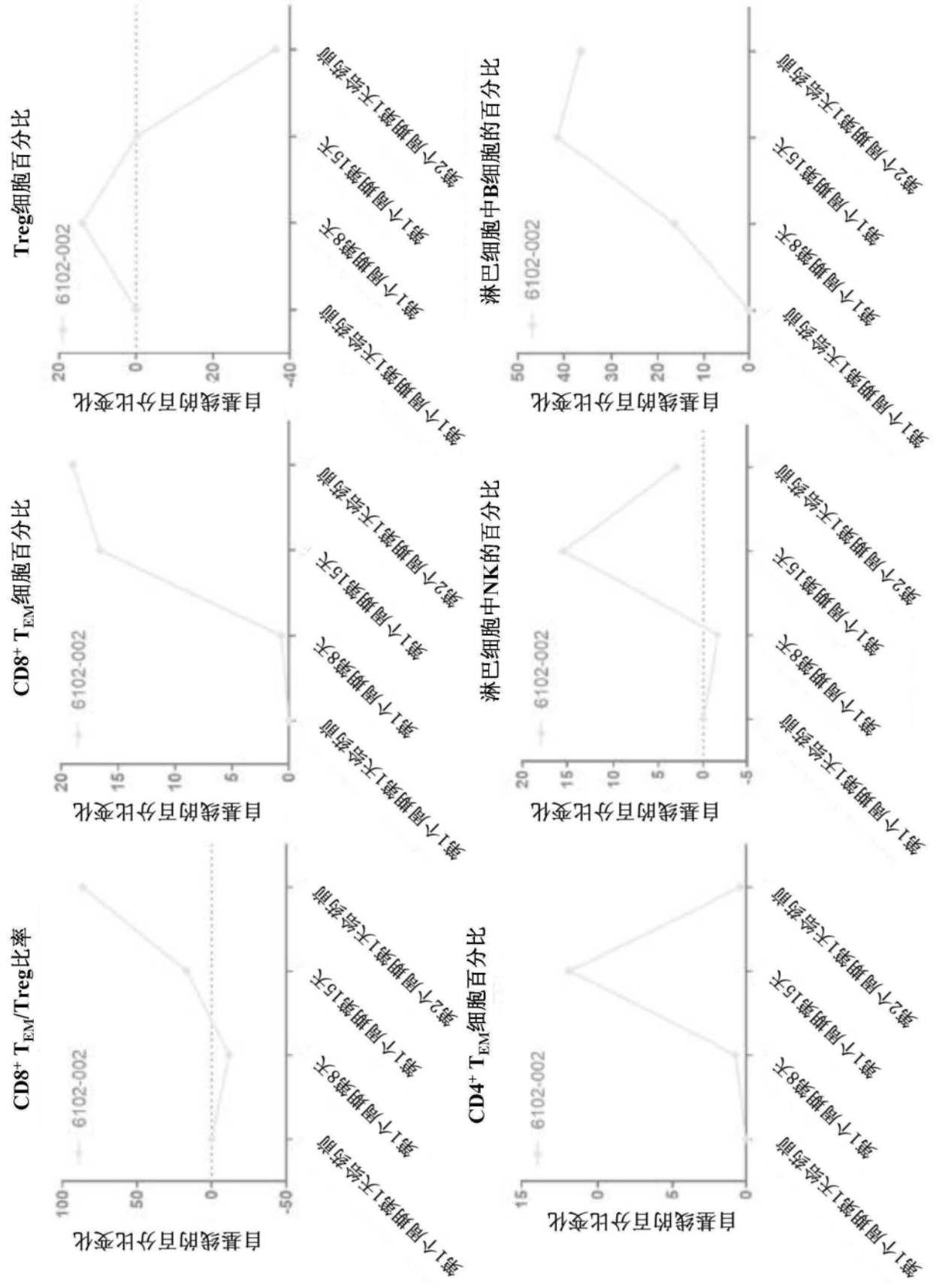

Treg细胞百分比
CD8+ TEM细胞百分比
淋巴细胞中B细胞的百分比
CD8+ TEM/Treg比率
淋巴细胞中NK的百分比
CD4+ TEM细胞百分比
自基线的百分比变化
6102-002
第1个周期第1天给药前
第1个周期第8天
第1个周期第15天
第2个周期第1天给药前

图10

Theta	估算值*	SE	RSE	95% CI**
1 V1 L/kg	**0.0393**	0.0025	6.3%	0.034 - 0.044
2 V2 L/kg	**0.03**	0.0081	26.9%	0.014 - 0.046
3 CL L/day/kg	**0.00194**	0.0001	3.4%	0.002 - 0.002
4 Q L/day/kg	**0.00261**	0.0001	3.9%	0.002 - 0.003

图11

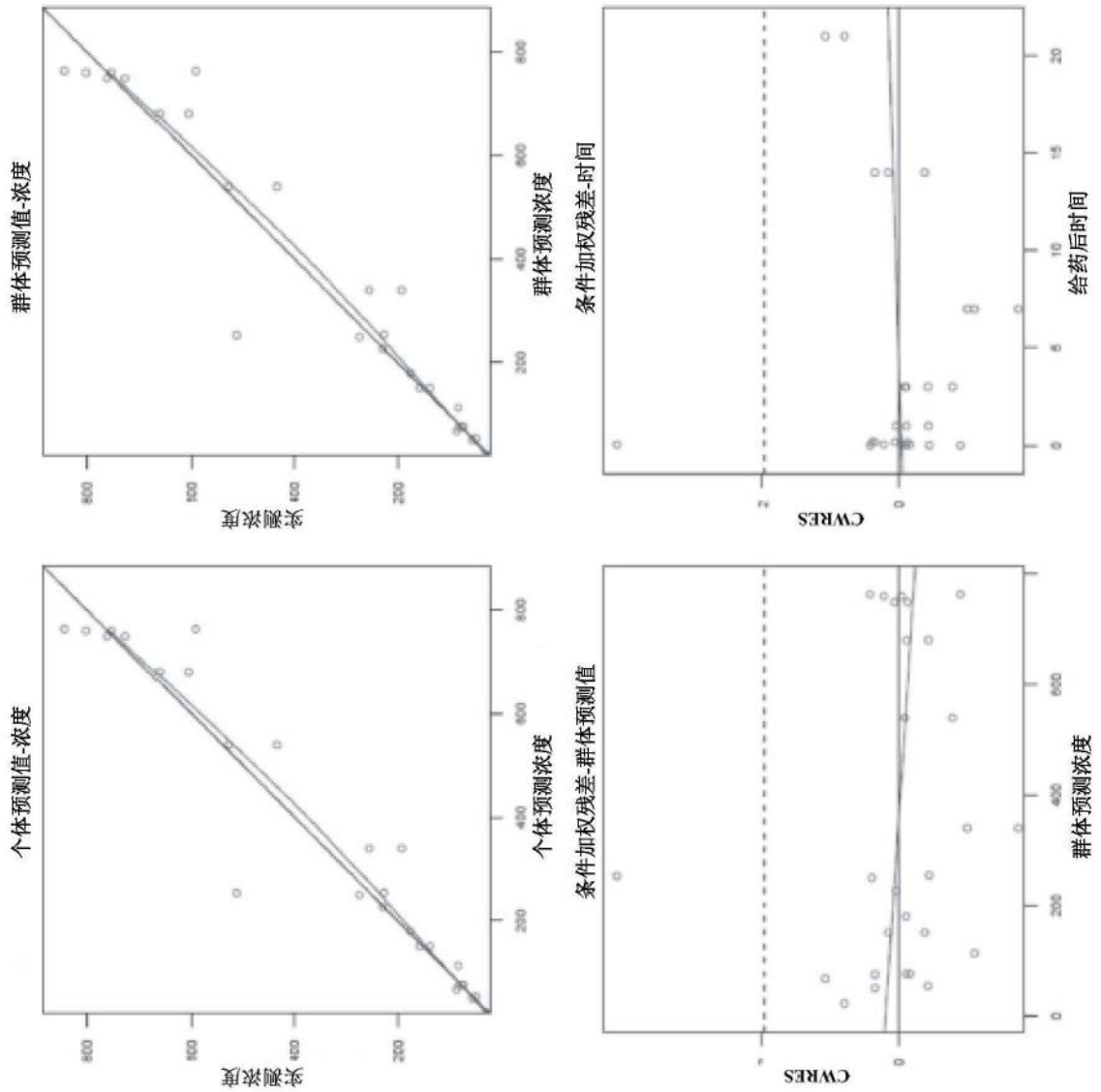

群体预测值-浓度
实测浓度
群体预测浓度
条件加权残差-时间
CWRES
给药后时间
个体预测值-浓度
实测浓度
个体预测浓度
条件加权残差-群体预测值
CWRES
群体预测浓度

图12A

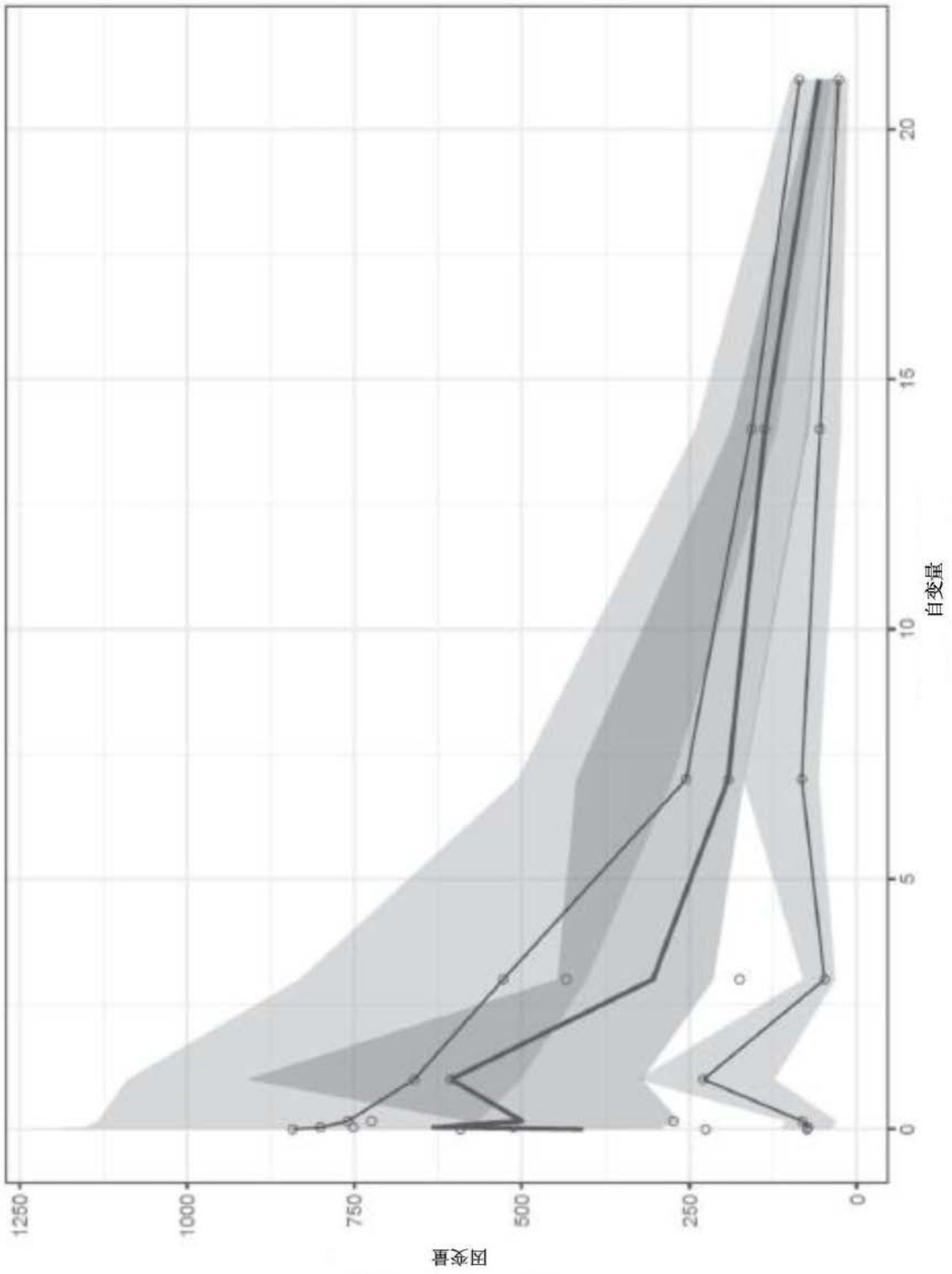


图12B

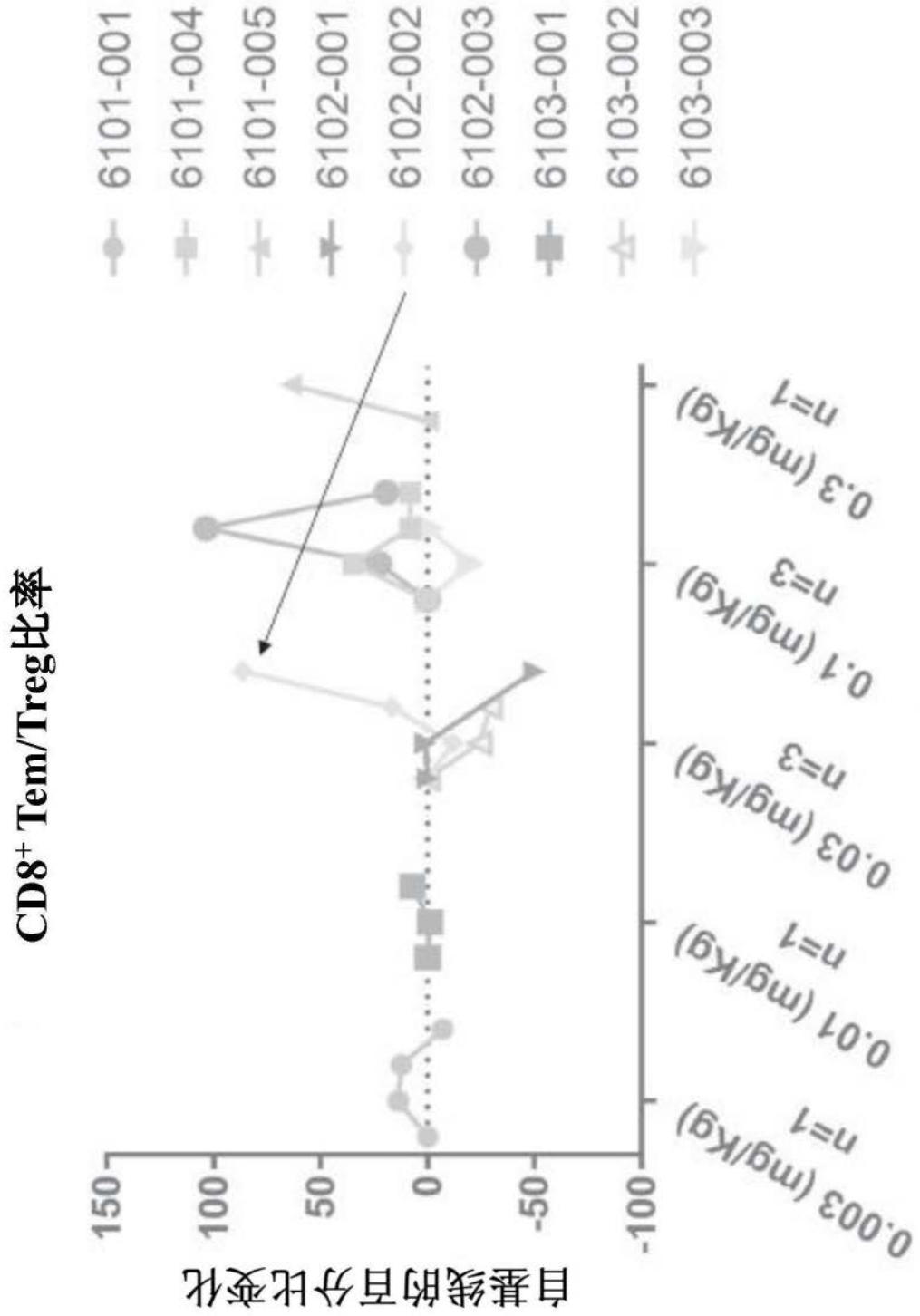

6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003
CD8+ Tem/Treg比率
自基线的百分比变化
150
100
50
0
-50
-100
0.003 (mg/Kg) n=1
0.01 (mg/Kg) n=1
0.03 (mg/Kg) n=3
0.1 (mg/Kg) n=3
0.3 (mg/Kg) n=1

图13

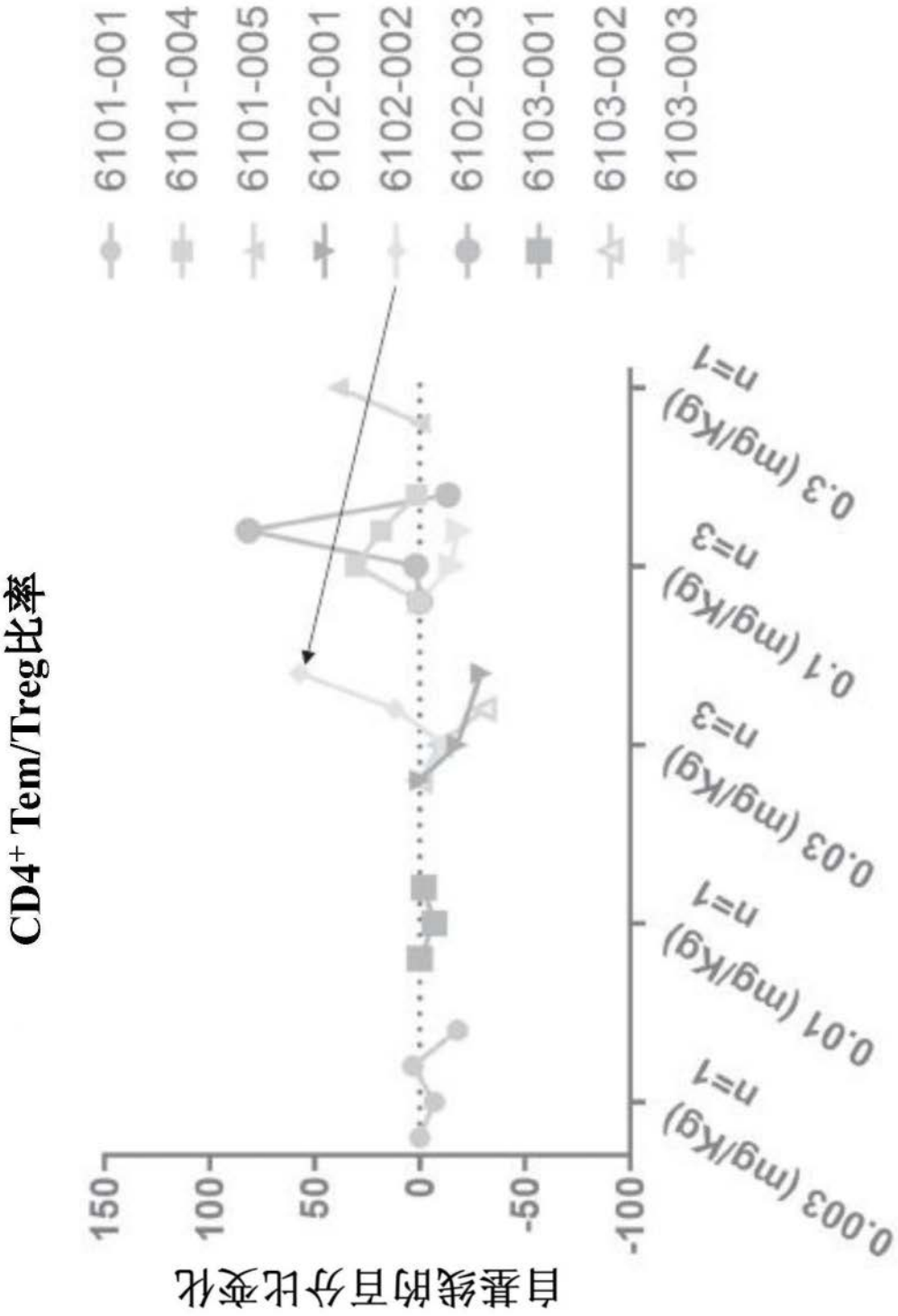

CD4+ Tem/Treg比率
自基线的百分比变化
150
100
50
0
-50
-100
0.003 (mg/kg)
n=1
0.01 (mg/kg)
n=1
0.03 (mg/kg)
n=3
0.1 (mg/kg)
n=3
0.3 (mg/kg)
n=1
6101-001
6101-004
6101-005
6102-001
6102-002
6102-003
6103-001
6103-002
6103-003

图14

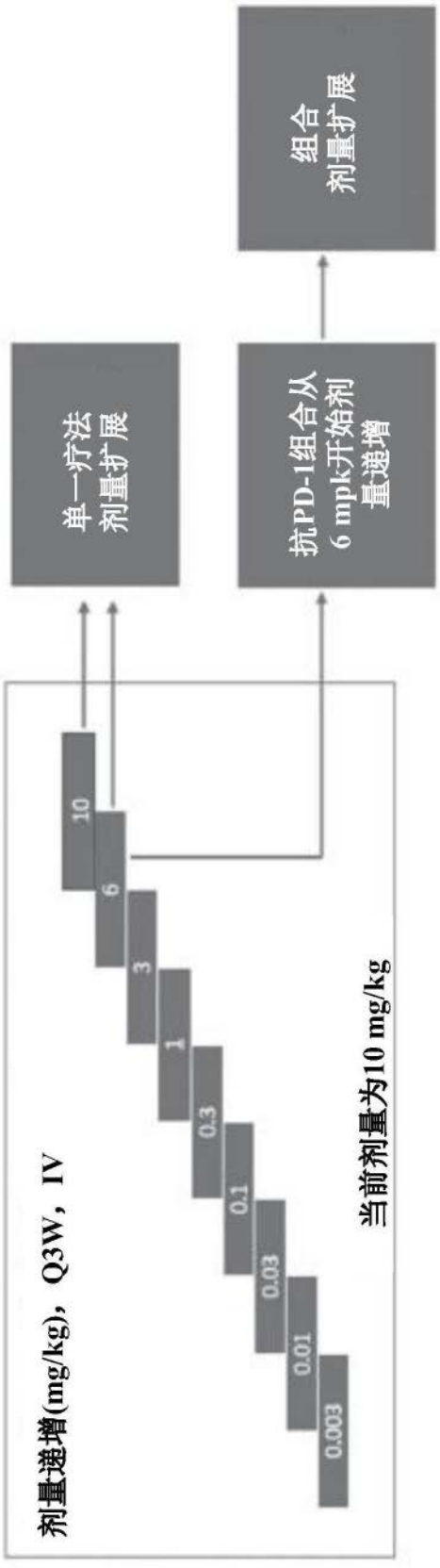

剂量递增(mg/kg)，Q3W，IV
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1
3
6
10
当前剂量为10 mg/kg
单一疗法
剂量扩展
抗PD-1组合从
6 mpk开始剂
量递增
组合
剂量扩展

图15A

受试者ID	剂量 (mg/kg)	先前tx #	先前IO #	持续时间 (天)	剂量 #
1	0.003	2	Pembro	37	2
2	0.01	11	0	87	3
3	0.03	5	Nivo	29	2
4	0.03	2	Pembro	128	4
5	0.03	5	0	24	1
6	0.1	8	0	22	1
7	0.1	4	Nivo	43	2
8	0.1	1	0	33	2
9	0.3	2	0	84	4
10	0.3	4	0	31	2
11	0.3	3	0	48	3
12	1	5	0	40	2
13	1	2	0	174	5

受试者ID	剂量 (mg/kg)	先前tx #	先前IO #	持续时间 (天)	剂量 #
14	1	7	0	85	4
15	3	3	Pembro	37	2
16	3	7	0	40	2
17	3	4	0	13	1
18	3	4	0	87	4
19	6	3	0	116+*	4+
20	6	3	0	39	2
21	6	5	0	45	3
22	10	3	0	38+*	2+
23	10	3	Nivo, 2x	37	2
24	10	2	0	36	2
25	6 (Exp)	2	0	34+*	2+

*仍在治疗中

图15B

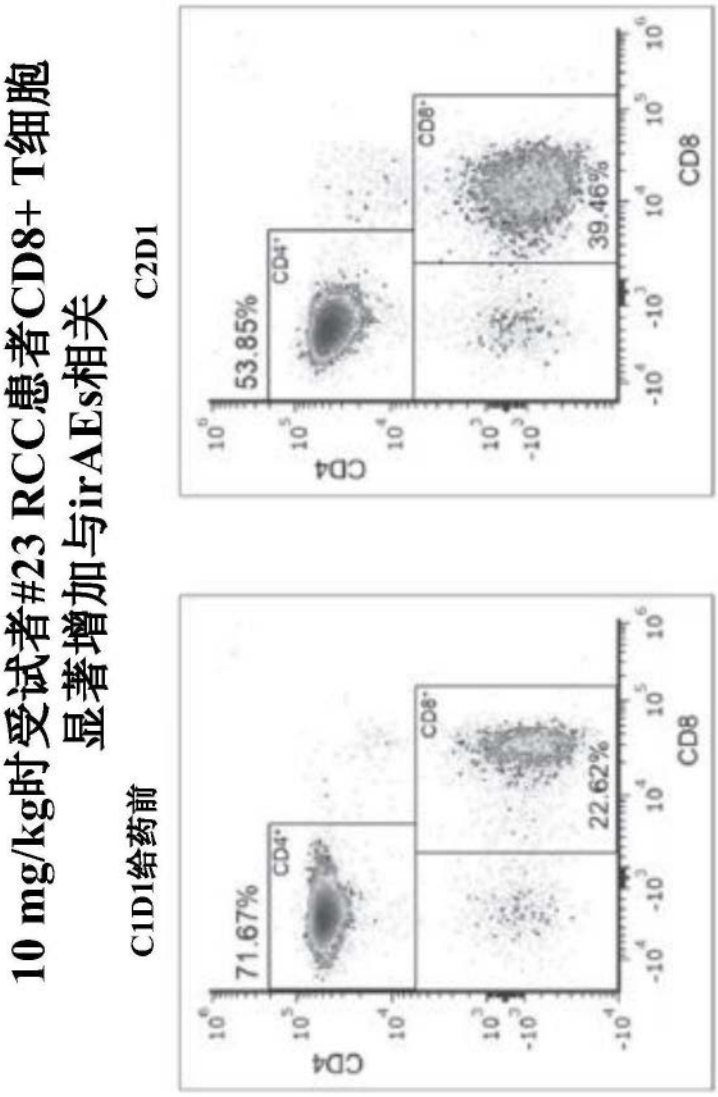

10 mg/kg时受试者#23 RCC患者CD8+ T细胞显著增加与irAEs相关
C1D1给药前
C2D1
71.67%
22.62%
53.85%
39.46%
CD4
CD8
CD4+
CD8+

图15C

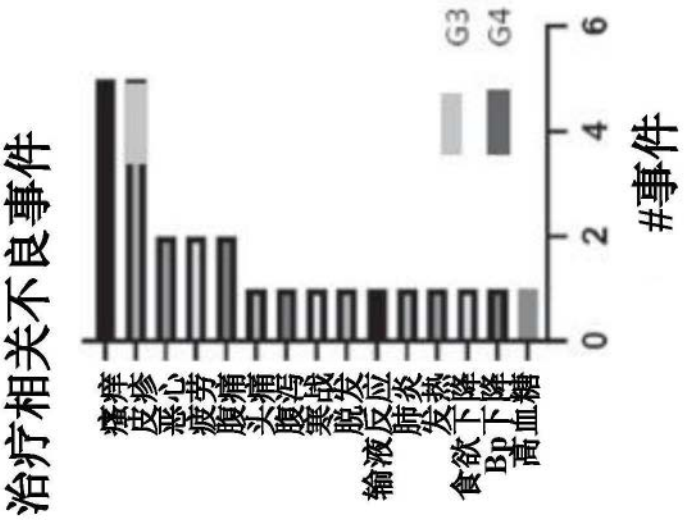

治疗相关不良事件
#事件
G3
G4
0
2
4
6
疼痛
皮疹
恶心
疲劳
腹痛
头痛
腹泻
寒战
脱发
反应
肺炎
发热
食欲下降
Bp下降
高血糖

图15D

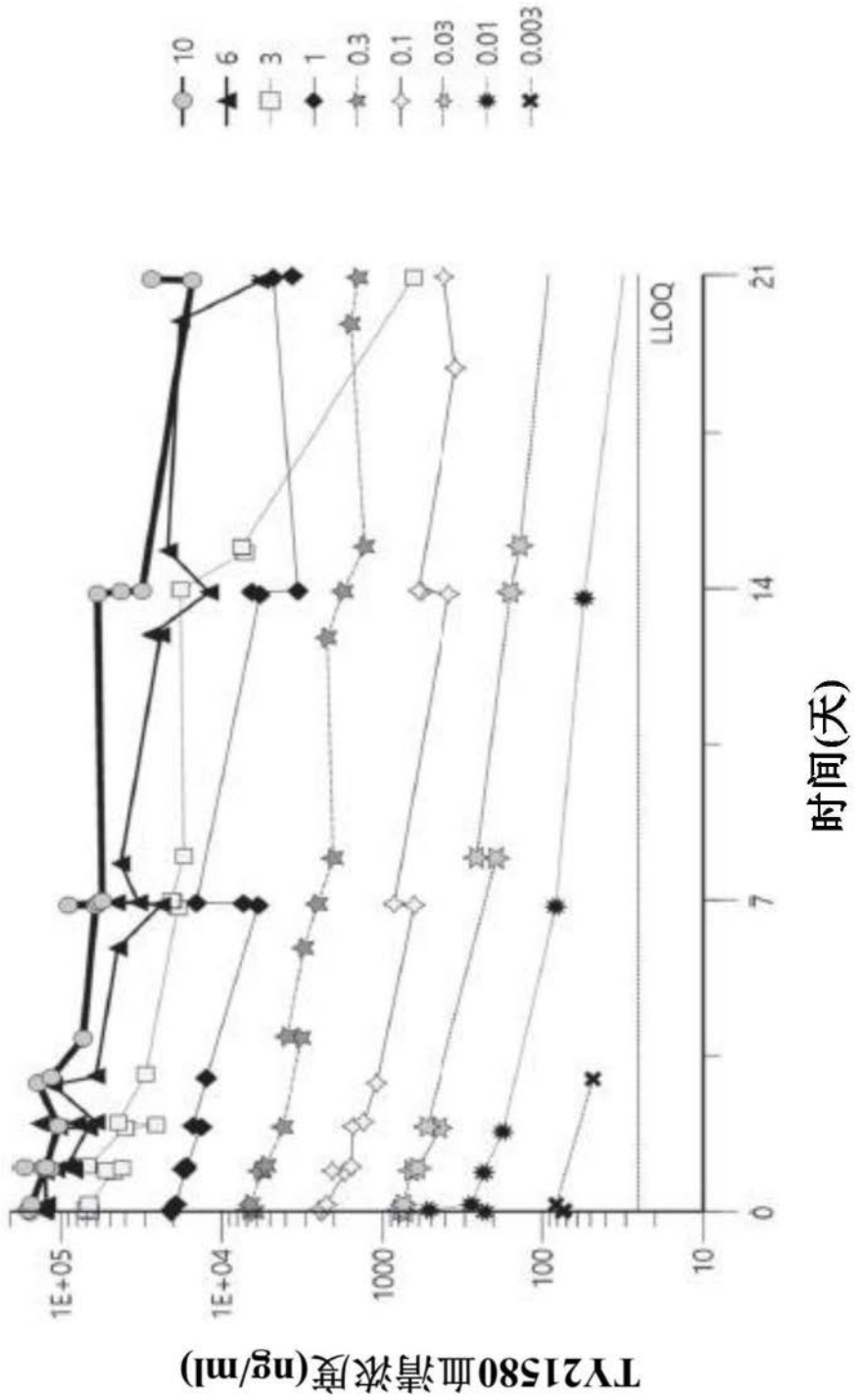

10
6
3
1
0.3
0.1
0.03
0.01
0.003
LLOQ
1E+05
1E+04
1000
100
10
0
7
14
21
时间(天)
TY21580血清浓度(ng/ml)

图16

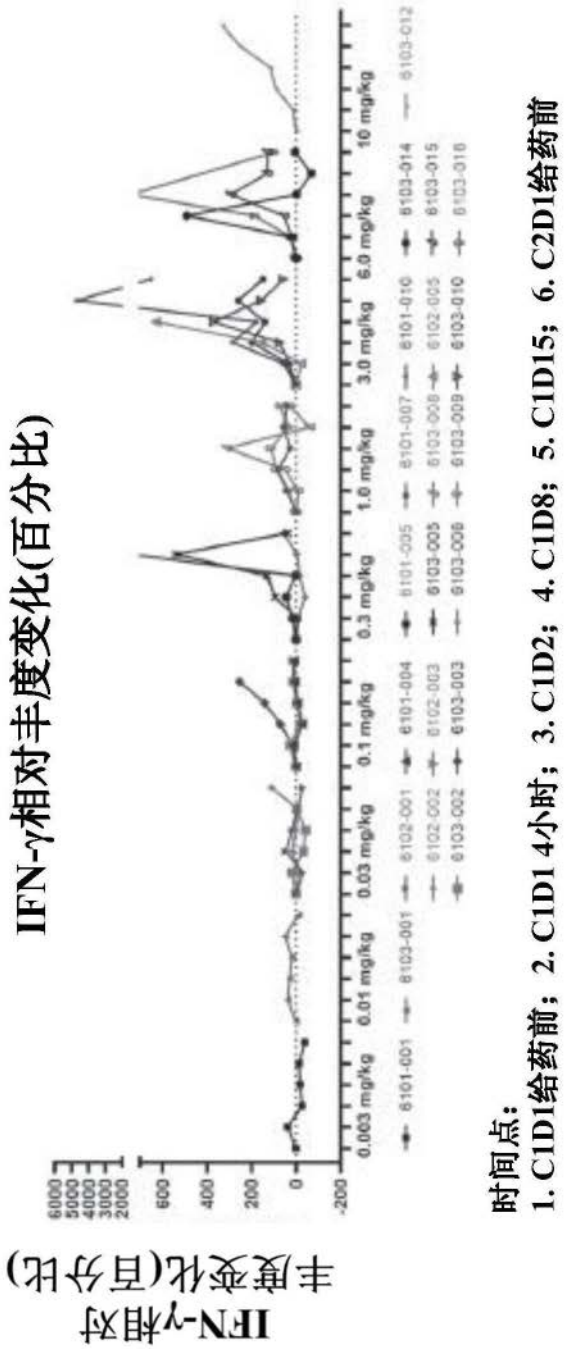

IFN-γ相对丰度变化(百分比)
6000
5000
4000
3000
2000
600
400
200
0
-200
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
3.0 mg/kg
6.0 mg/kg
10 mg/kg
6101-001
6103-001
6102-001
6101-004
6101-005
6101-007
6101-010
6103-014
6103-012
6102-002
6102-003
6103-005
6103-008
6102-005
6103-015
6103-002
6103-003
6103-006
6103-009
6103-010
6103-016
时间点:
1. C1D1给药前; 2. C1D1 4小时; 3. C1D2; 4. C1D8; 5. C1D15; 6. C2D1给药前
IFN-γ相对
丰度变化(百分比)

图17A

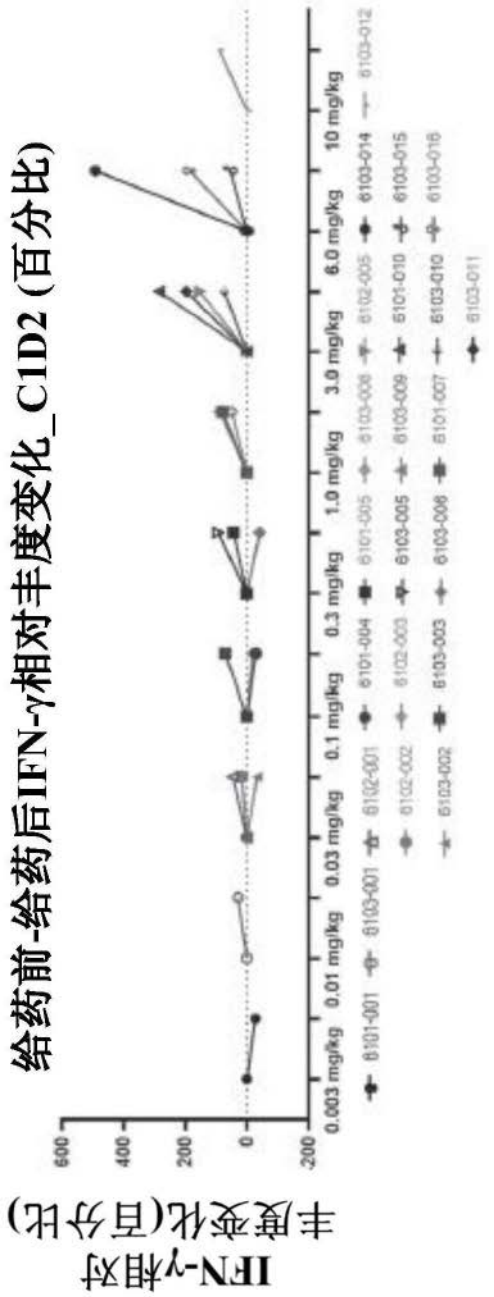

给药前-给药后IFN-γ相对丰度变化_C1D2 (百分比)
IFN-γ相对丰度变化(百分比)
600
400
200
0
-200
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
3.0 mg/kg
6.0 mg/kg
10 mg/kg
6101-001
6103-001
6102-001
6101-004
6101-005
6102-005
6103-014
6103-012
6102-002
6102-003
6103-005
6103-009
6101-010
6103-015
6103-002
6103-003
6103-006
6101-007
6103-010
6103-016
6103-011

图17B

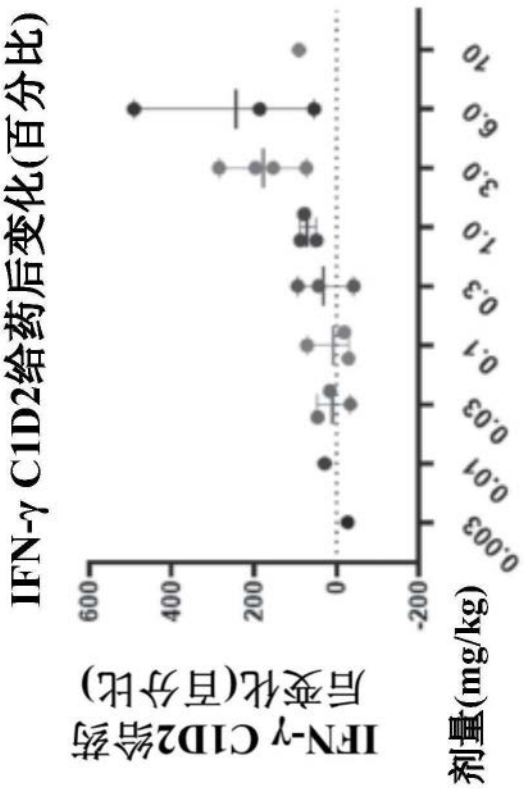

IFN-γ C1D2给药后变化(百分比)
600
400
200
0
-200
IFN-γ C1D2给药
后变化(百分比)
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1.0
3.0
6.0
10
剂量(mg/kg)

图17C

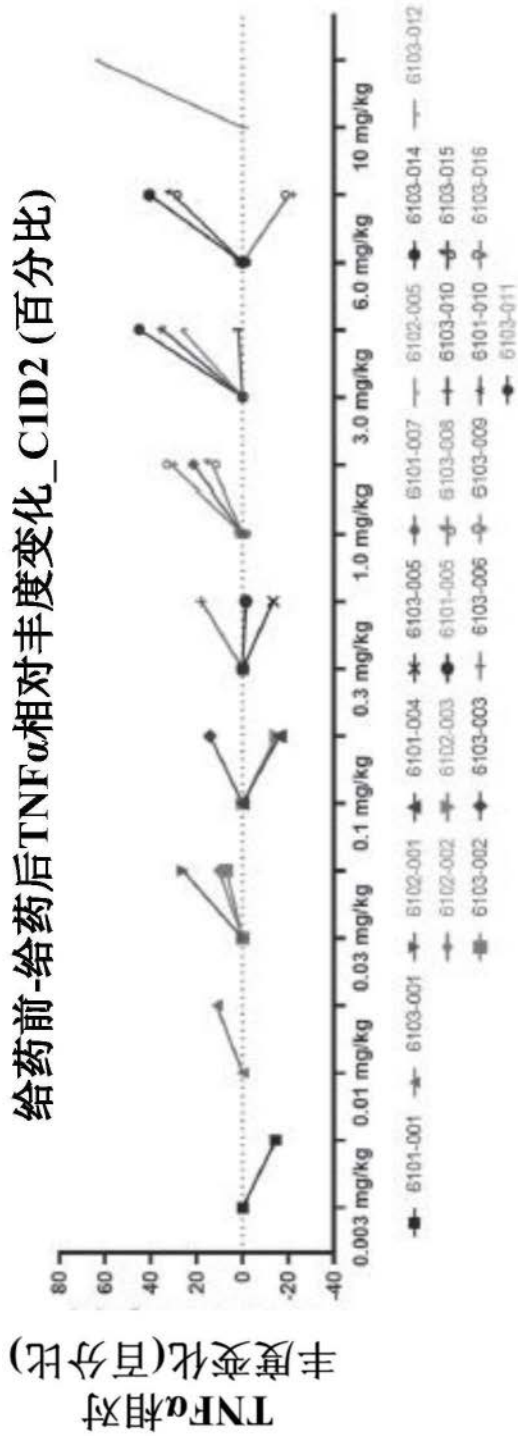

给药前-给药后TNFα相对丰度变化_C1D2 (百分比)
TNFα相对丰度变化(百分比)
80
60
40
20
0
-20
-40
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
3.0 mg/kg
6.0 mg/kg
10 mg/kg
6101-001
6103-001
6102-001
6101-004
6103-005
6101-007
6102-005
6103-014
6103-012
6102-002
6102-003
6101-005
6103-008
6103-010
6103-015
6103-002
6103-003
6103-006
6103-009
6101-010
6103-016
6103-011

图18A

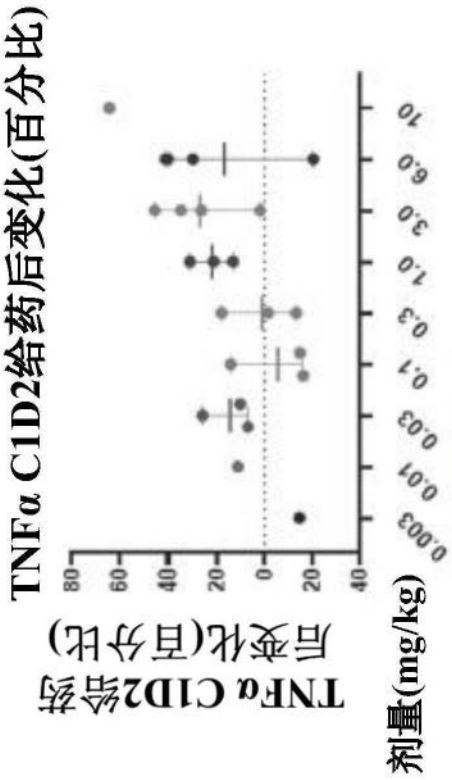

TNFα C1D2给药后变化(百分比)
80
60
40
20
0
20
40
TNFα C1D2给药后变化(百分比)
剂量(mg/kg)
10
6.0
3.0
1.0
0.3
0.1
0.03
0.01
0.003

图18B

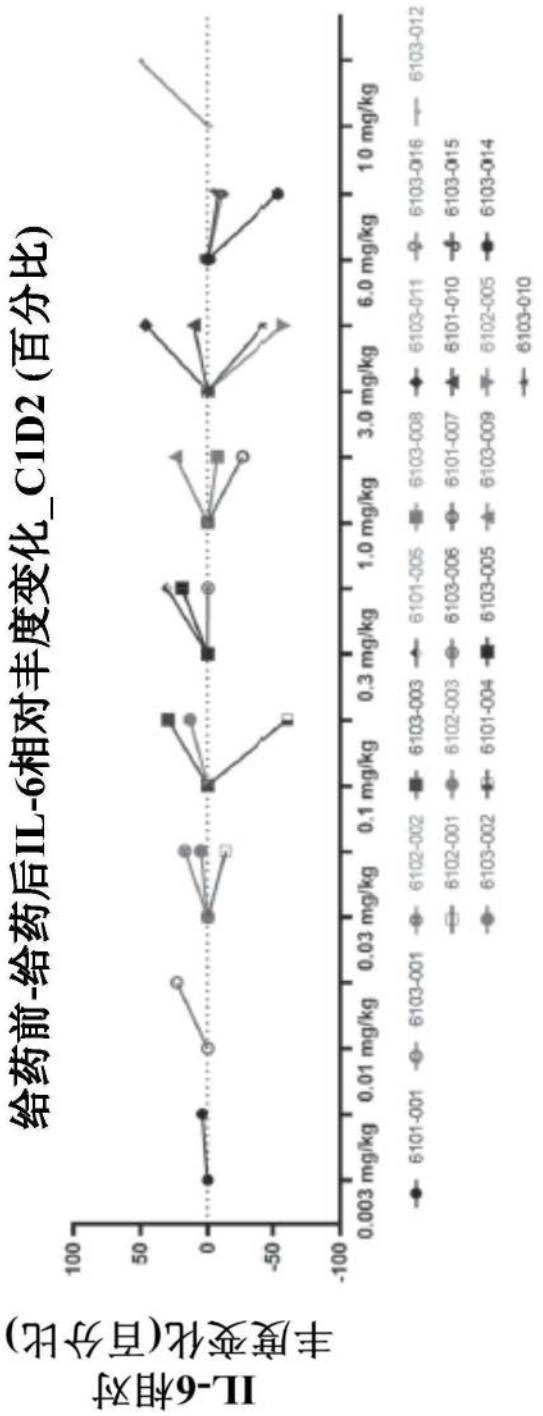

给药前-给药后IL-6相对丰度变化_C1D2 (百分比)
IL-6相对丰度变化(百分比)
100
50
0
-50
-100
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
3.0 mg/kg
6.0 mg/kg
10 mg/kg
6101-001
6103-001
6102-002
6103-003
6101-005
6103-008
6103-011
6103-016
6103-012
6102-001
6102-003
6103-006
6101-007
6101-010
6103-015
6103-002
6101-004
6103-005
6103-009
6102-005
6103-014
6103-010

图19A

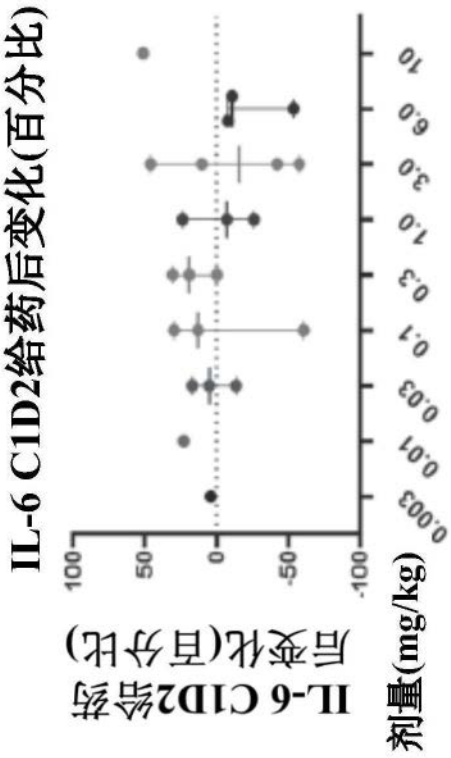

IL-6 C1D2给药后变化(百分比)
100
50
0
-50
-100
剂量(mg/kg)
10
6.0
3.0
1.0
0.3
0.1
0.03
0.01
0.003
IL-6 C1D2给药
后变化(百分比)

图19B

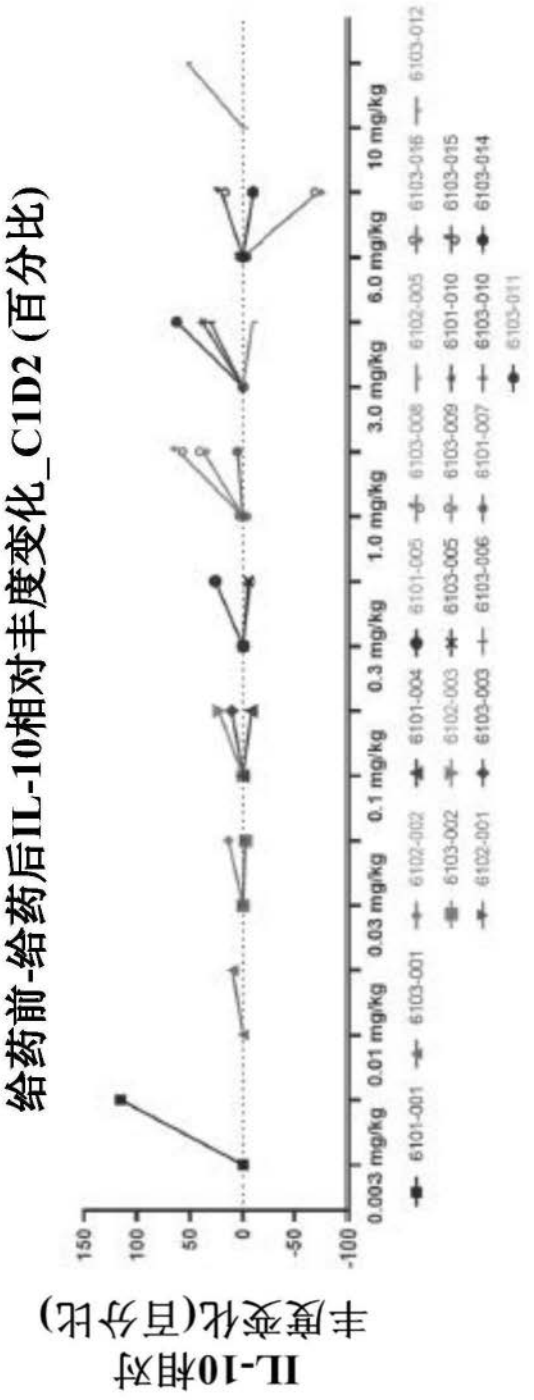

给药前-给药后IL-10相对丰度变化_C1D2 (百分比)
IL-10相对丰度变化(百分比)
150
100
50
0
-50
-100
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
3.0 mg/kg
6.0 mg/kg
10 mg/kg
6101-001
6103-001
6102-002
6101-004
6101-005
6103-008
6102-005
6103-016
6103-012
6103-002
6102-003
6103-005
6103-009
6101-010
6103-015
6102-001
6103-003
6103-006
6101-007
6103-010
6103-014
6103-011

图20A

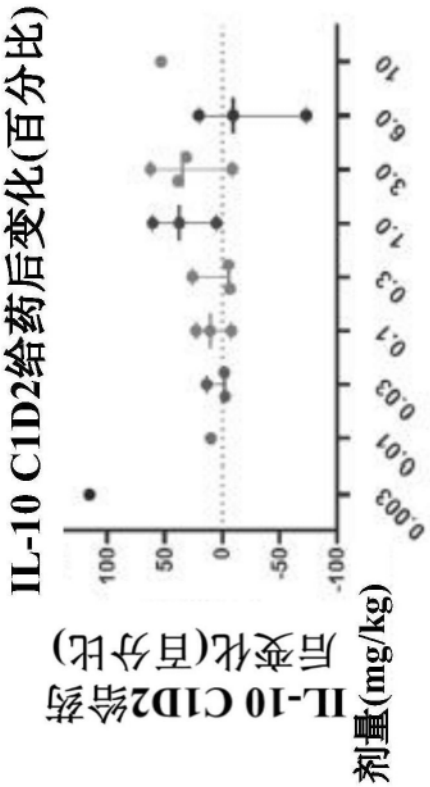

IL-10 C1D2给药后变化(百分比)
100
50
0
-50
-100
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1.0
3.0
6.0
10
剂量(mg/kg)
IL-10 C1D2给药
后变化(百分比)

图20B

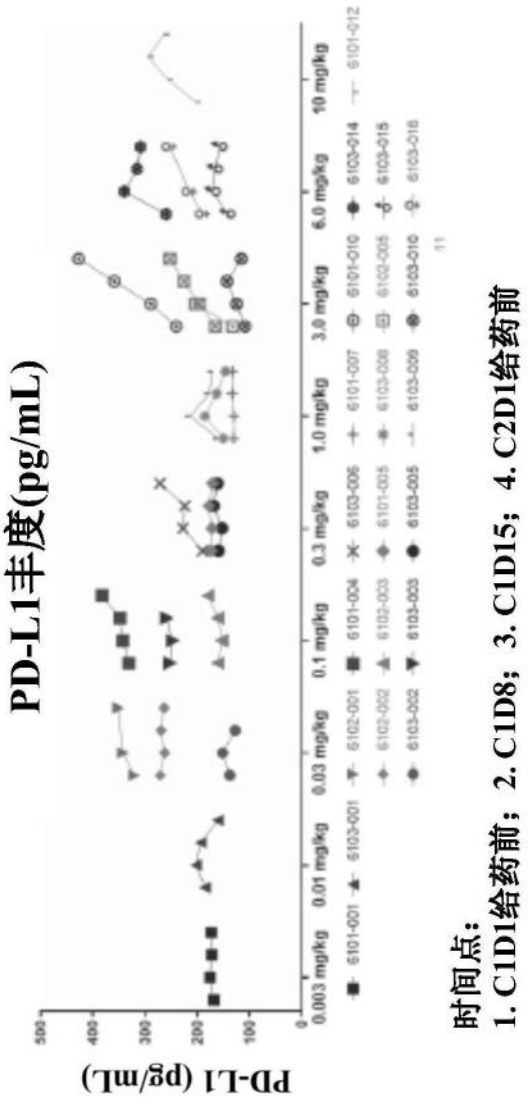

PD-L1丰度(pg/mL)
PD-L1 (pg/mL)
500
400
300
200
100
0
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
3.0 mg/kg
6.0 mg/kg
10 mg/kg
6101-001
6103-001
6102-001
6101-004
6103-006
6101-007
6101-010
6103-014
6101-012
6102-002
6102-003
6101-005
6103-008
6102-005
6103-015
6103-002
6103-003
6103-005
6103-009
6103-010
6103-016
11
时间点:
1. C1D1给药前；2. C1D8；3. C1D15；4. C2D1给药前

图21A

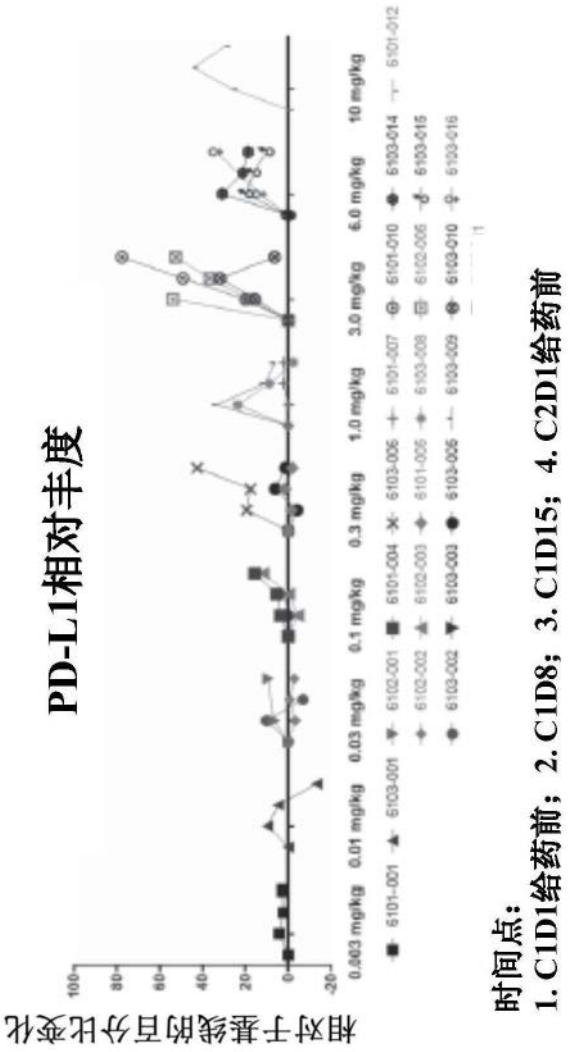

PD-L1相对丰度
相对于基线的百分比变化
100
80
60
40
20
0
-20
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
3.0 mg/kg
6.0 mg/kg
10 mg/kg
6101-001
6103-001
6102-001
6101-004
6103-006
6101-007
6101-010
6103-014
6101-012
6102-002
6102-003
6101-005
6103-008
6102-005
6103-015
6103-002
6103-003
6103-005
6103-009
6103-010
6103-016
时间点：
1. C1D1给药前；2. C1D8；3. C1D15；4. C2D1给药前

图21B

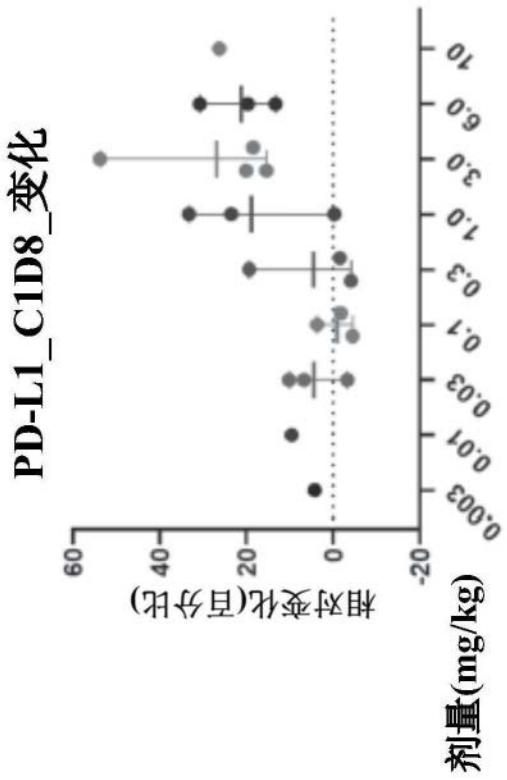

PD-L1_C1D8_变化
相对变化(百分比)
60
40
20
0
-20
剂量(mg/kg)
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1.0
3.0
6.0
10

图21C

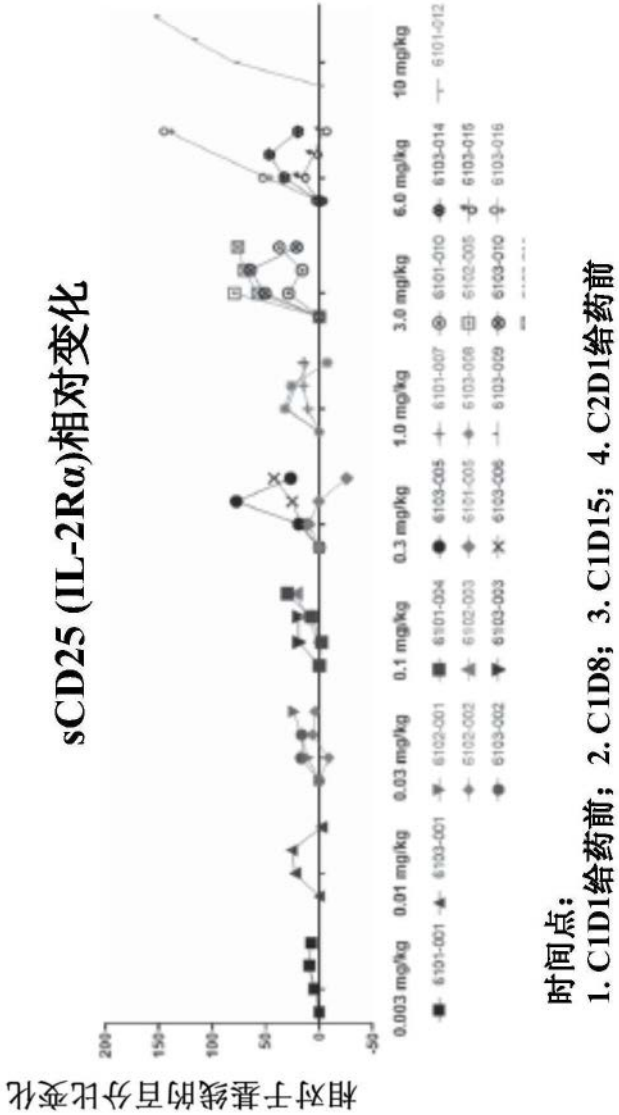

sCD25 (IL-2Rα)相对变化
相对于基线的百分比变化
200
150
100
50
0
-50
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
3.0 mg/kg
6.0 mg/kg
10 mg/kg
6101-001
6102-001
6103-001
6101-004
6102-003
6103-003
6101-005
6102-005
6103-005
6101-007
6102-008
6103-008
6101-010
6102-010
6103-010
6103-014
6103-015
6103-016
6101-012
时间点：
1. C1D1给药前；2. C1D8；3. C1D15；4. C2D1给药前

图22A

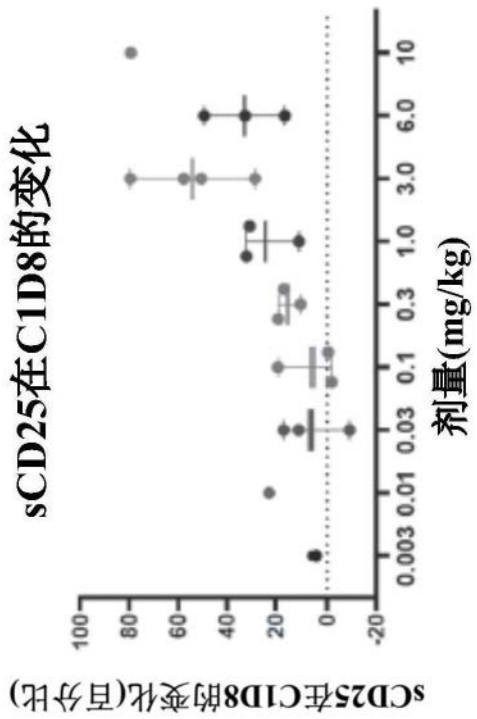

sCD25在C1D8的变化
剂量(mg/kg)
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1.0
3.0
6.0
10
100
80
60
40
20
0
-20
sCD25在C1D8的变化(百分比)

图22B

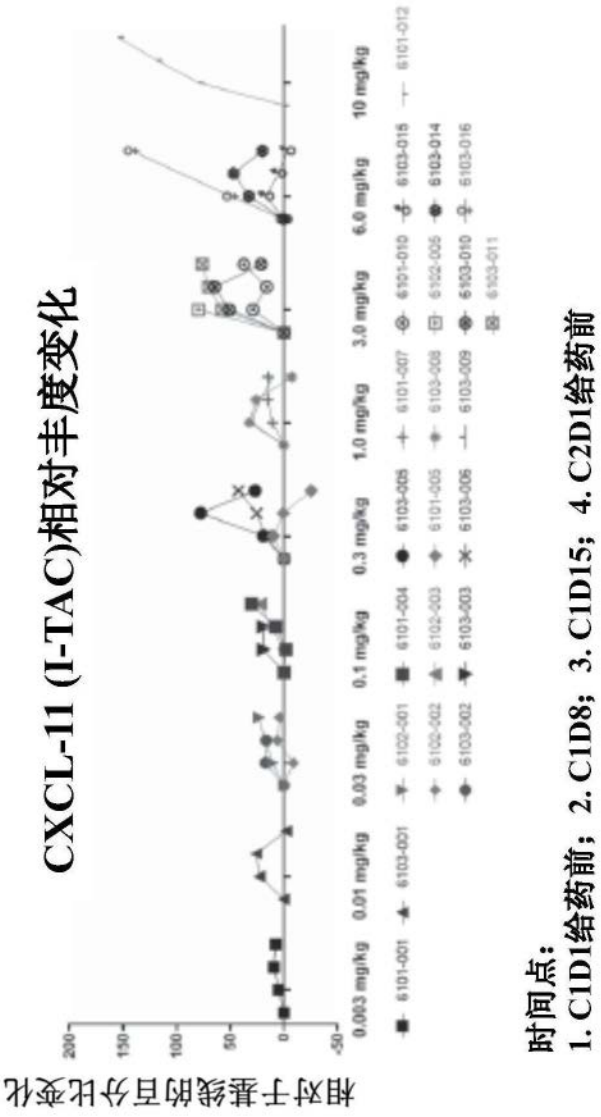

CXCL-11 (I-TAC)相对丰度变化
相对于基线的百分比变化
200
150
100
50
0
-50
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1.0 mg/kg
3.0 mg/kg
6.0 mg/kg
10 mg/kg
6101-001
6103-001
6102-001
6101-004
6103-005
6101-007
6103-010
6103-015
6101-012
6102-002
6102-003
6101-005
6103-008
6102-005
6103-014
6103-002
6103-003
6103-006
6103-009
6103-013
6103-016
6103-011
时间点：
1. C1D1给药前；2. C1D8；3. C1D15；4. C2D1给药前

图23A

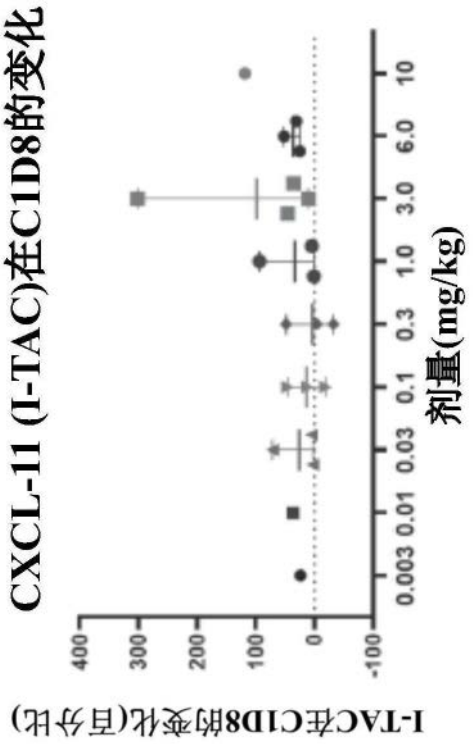

CXCL-11 (I-TAC)在C1D8的变化
I-TAC在C1D8的变化(百分比)
400
300
200
100
0
-100
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1.0
3.0
6.0
10
剂量(mg/kg)

图23B

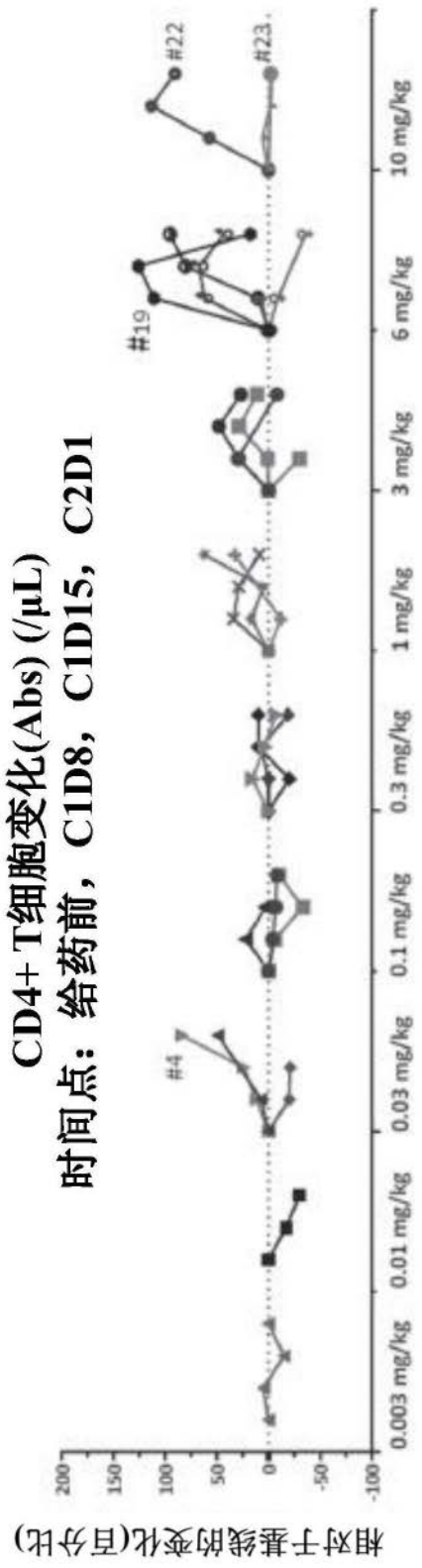

CD4+ T细胞变化(Abs) (/μL)
时间点：给药前，C1D8，C1D15，C2D1
相对于基线的变化(百分比)
200
150
100
50
0
-50
-100
#4
#19
#22
#23
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
6 mg/kg
10 mg/kg

图24A

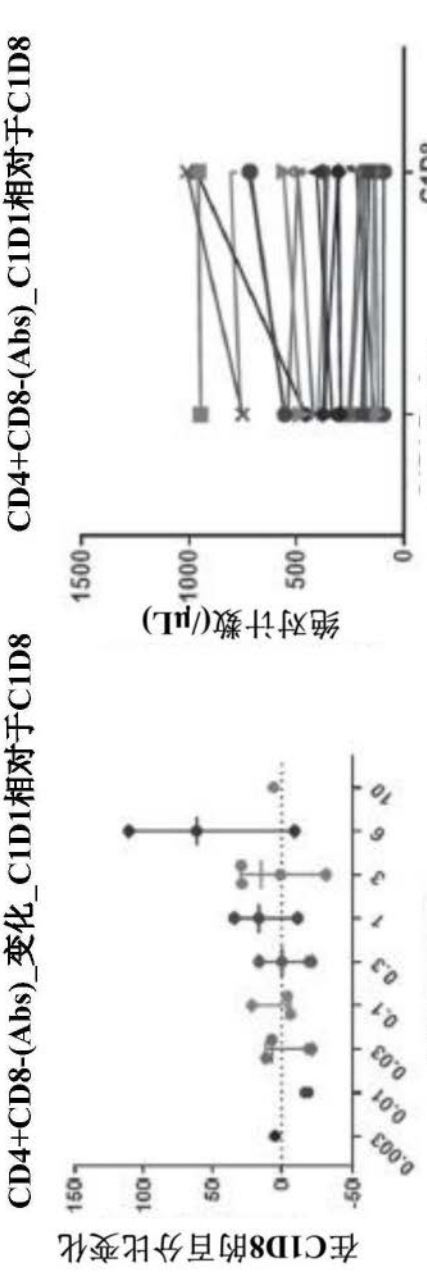


图 24B

图 24C

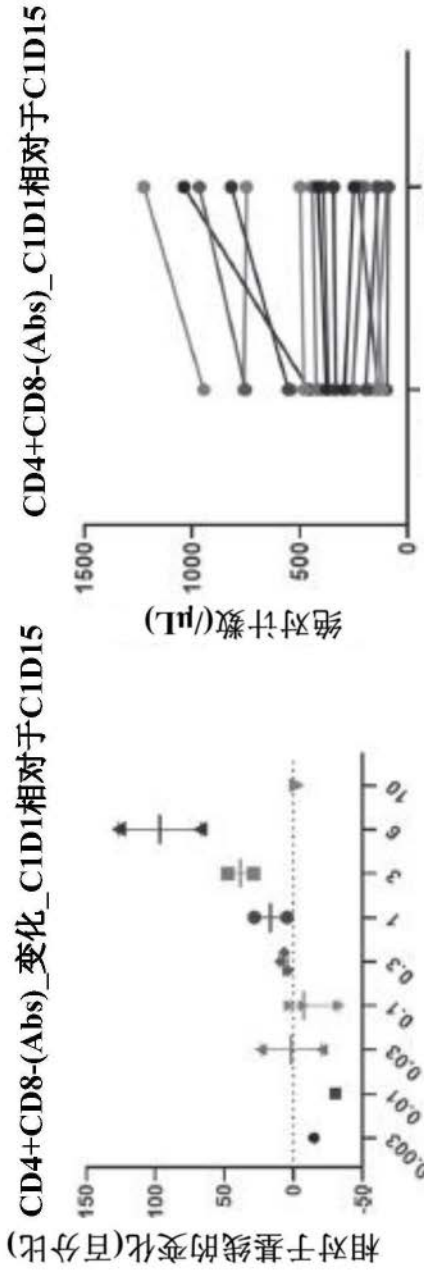


图 24D

图 24E

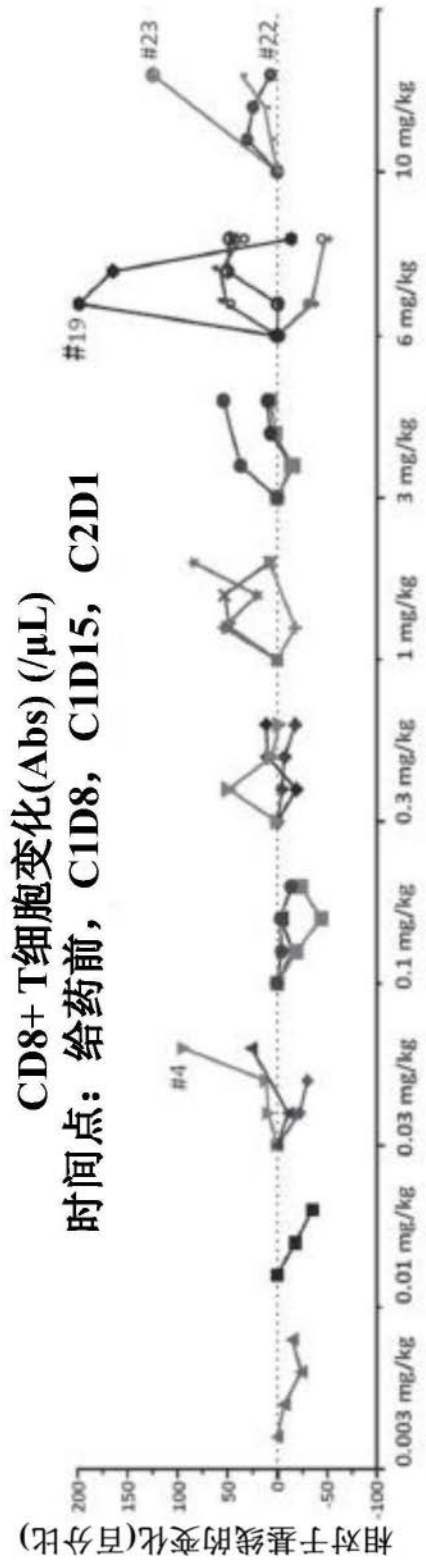

CD8+ T细胞变化(Abs) (/μL)
时间点：给药前，C1D8，C1D15，C2D1
相对于基线的变化(百分比)
200
150
100
50
0
-50
-100
#4
#19
#23
#22
0.003 mg/kg
0.01 mg/kg
0.03 mg/kg
0.1 mg/kg
0.3 mg/kg
1 mg/kg
3 mg/kg
6 mg/kg
10 mg/kg

图25A

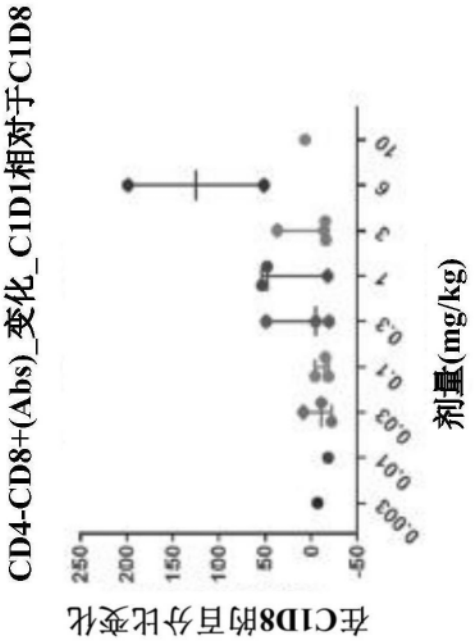

CD4-CD8+(Abs)_变化_C1D1相对于C1D8
在C1D8的百分比变化
250
200
150
100
50
0
-50
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1
3
6
10
剂量(mg/kg)

图25B

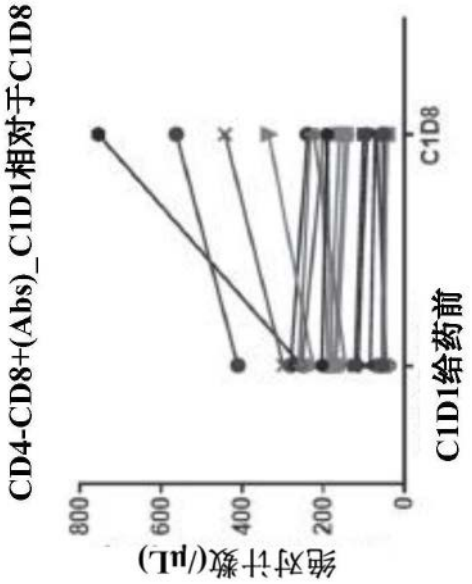

CD4-CD8+(Abs)_C1D1相对于C1D8
绝对计数(/μL)
800
600
400
200
0
C1D1给药前
C1D8

图25C

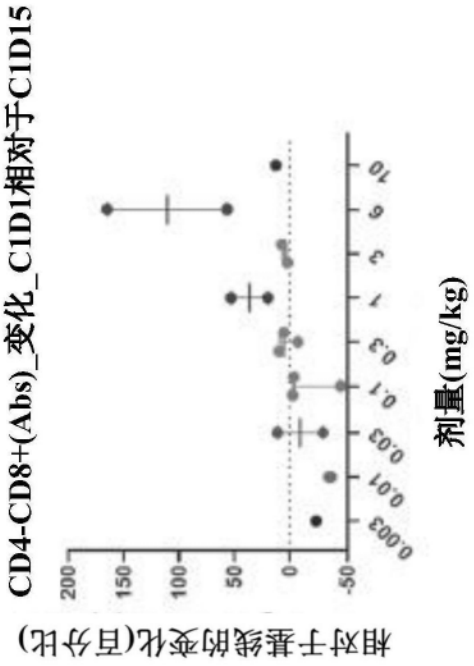

CD4-CD8+(Abs)_变化_C1D1相对于C1D15
相对于基线的变化(百分比)
200
150
100
50
0
-50
剂量(mg/kg)
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1
3
6
10

图25D

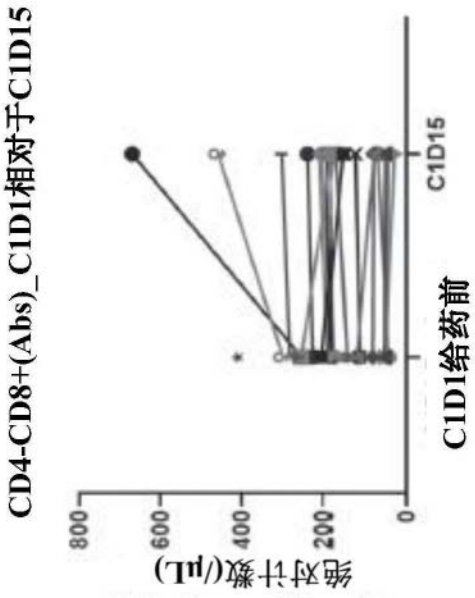

CD4-CD8+(Abs)_C1D1相对于C1D15
绝对计数(/μL)
800
600
400
200
0
C1D1给药前
C1D15

图25E

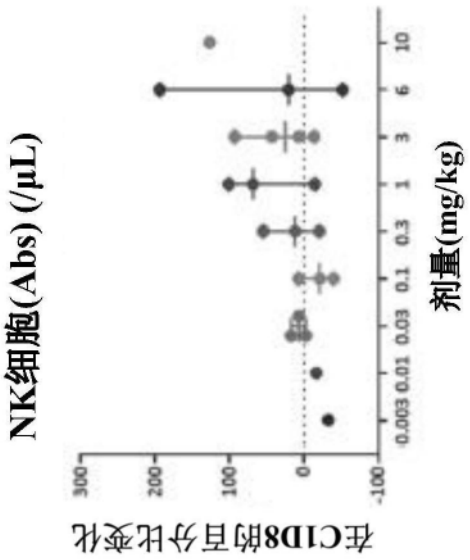

NK细胞(Abs) (/μL)
在C1D8的百分比变化
剂量(mg/kg)
300
200
100
0
-100
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1
3
6
10

图26A

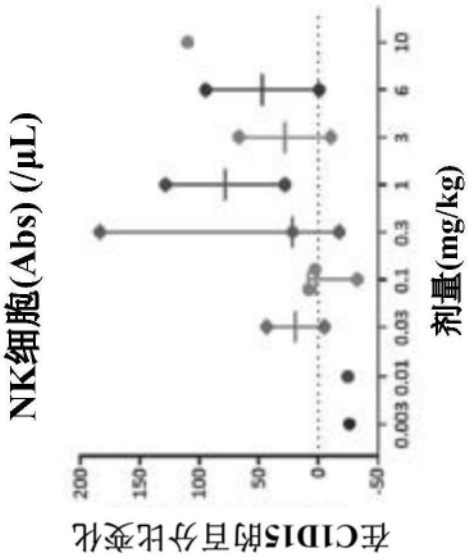

NK细胞(Abs) (/μL)
在C1D15的百分比变化
剂量(mg/kg)
200
150
100
50
0
-50
0.003
0.01
0.03
0.1
0.3
1
3
6
10

图26B

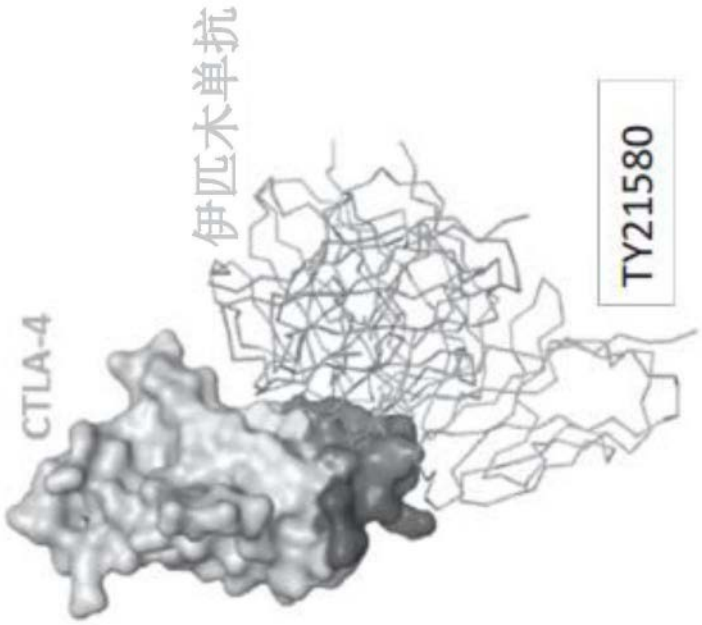


图27

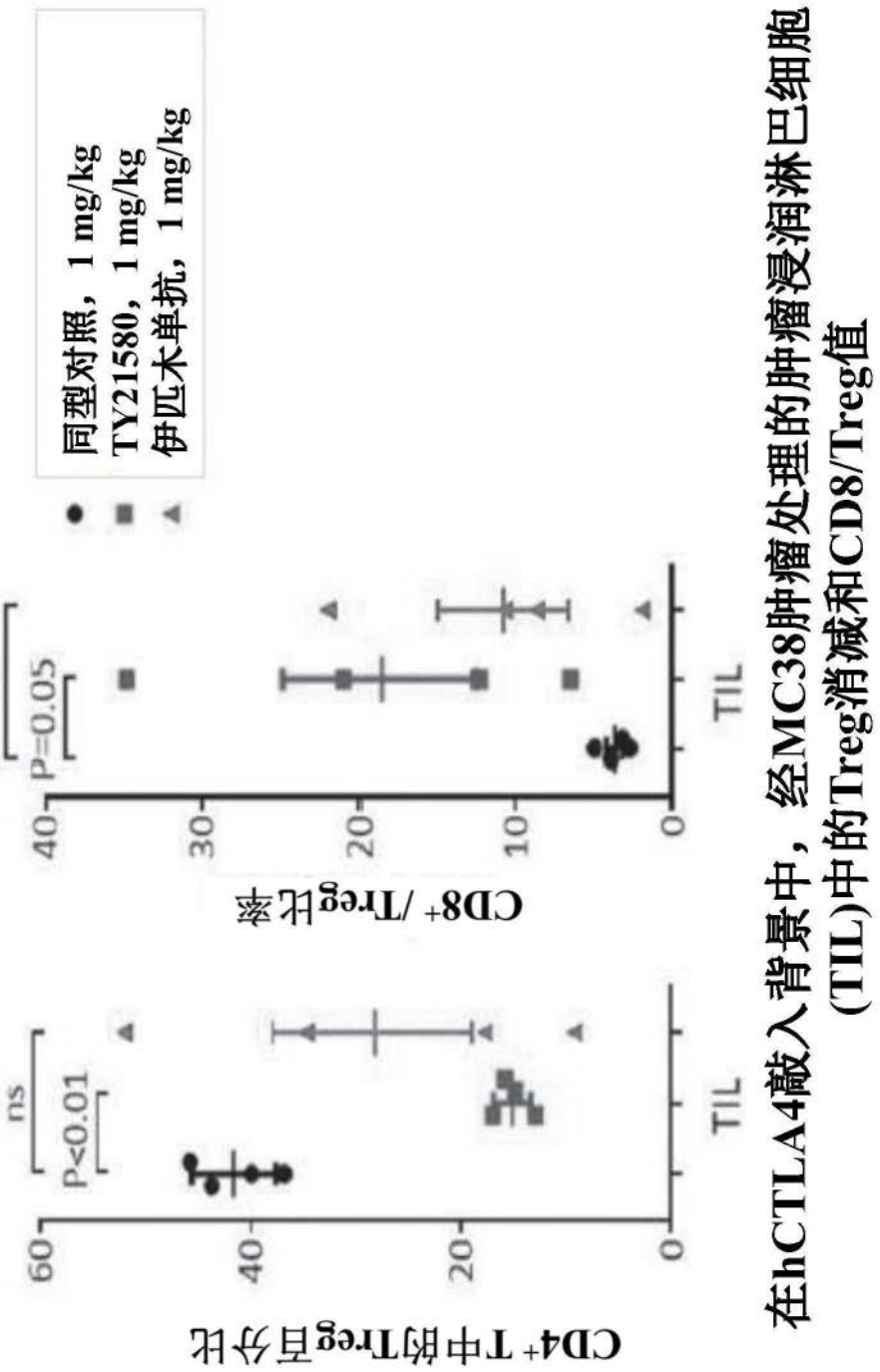

在hCTLA4敲入背景中，经MC38肿瘤处理的肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)中的Treg消减和CD8/Treg值
同型对照，1 mg/kg
TY21580，1 mg/kg
伊匹木单抗，1 mg/kg
CD4+ T中的Treg百分比
CD8+ /Treg比率
ns
P<0.01
P=0.05
TIL
0
20
40
60
10
30

图28

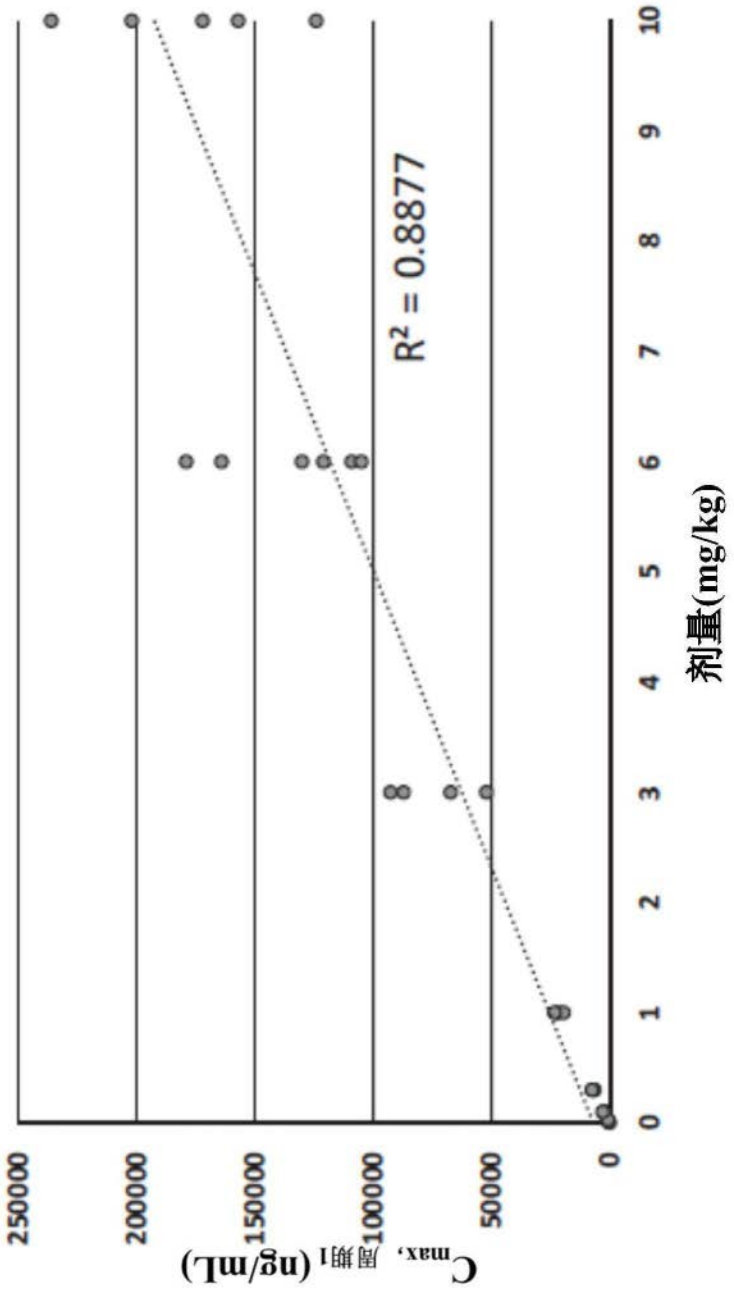

$C_{max,\ 周期1}$ (ng/mL)
250000
200000
150000
100000
50000
0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
剂量(mg/kg)
R^2 = 0.8877

图29

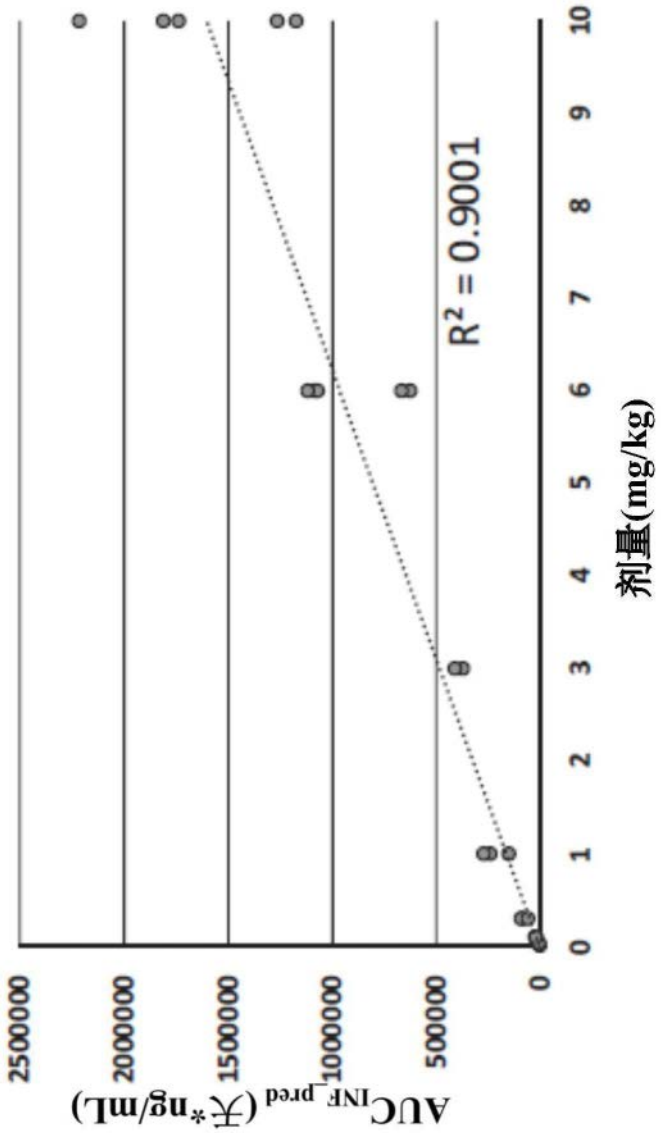

AUC_INF_pred (天*ng/mL)
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
剂量(mg/kg)
R² = 0.9001

图30

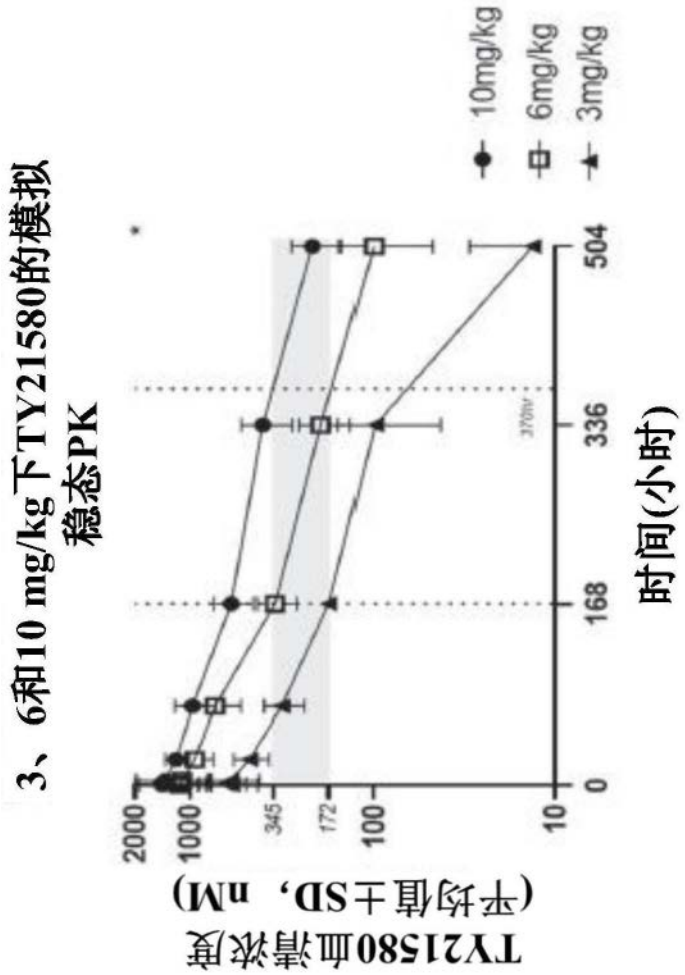

3、6和10 mg/kg下TY21580的模拟稳态PK
TY21580血清浓度
(平均值±SD，nM)
时间(小时)
10mg/kg
6mg/kg
3mg/kg
2000
1000
345
172
100
10
0
168
336
504

图31