

(21)申請案號：111119315 (22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 05 月 24 日

(51)Int. Cl. : *A61K39/395 (2006.01)* *A61N5/10 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/05/24 美國 63/192,217

(71)申請人：瑞典商阿斯特捷利康公司 (瑞典) ASTRAZENECA AB (SE)
 瑞典

(72)發明人：亞爾柯夫斯基 安東尼 三世 JARKOWSKI, ANTHONY III (US)；丹尼斯 飛利浦 DENNIS, PHILLIP (US)；特拉尼 里歐 TRANI, LEO (US)；牛頓 麥可 NEWTON, MICHAEL (US)；薛爾 諾拉 SHIRE, NORAH (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：43 項 圖式數：10 共 77 頁

(54)名稱

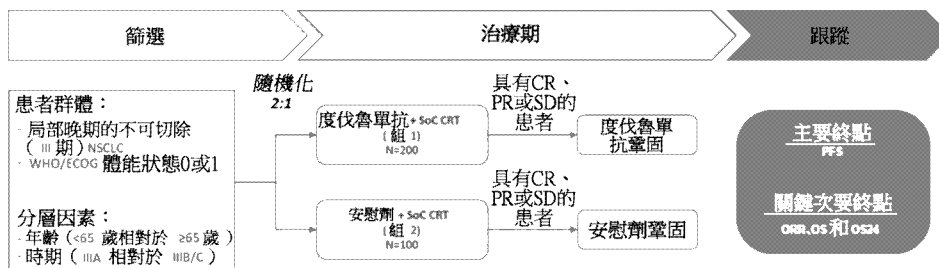
用於治療肺癌之組成物及方法

(57)摘要

本發明揭露了同時用抑制 PD-1/PD-L1 活性的抗體與放化療 (cCRT) 治療局部晚期 (III 期) 的不可切除的非小細胞肺癌 (NSCLC) 之方法。

Disclosed are methods for treating locally advanced (Stage III), unresectable non-small-cell lung cancer (NSCLC) with an antibody that inhibits PD-1/PD-L1 activity concurrently with chemoradiation therapy (cCRT).

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用於治療肺癌之組成物及方法

【英文發明名稱】 COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING

LUNG CANCER

【中文】

本發明揭露了同時用抑制PD-1/PD-L1活性的抗體與放化療（cCRT）治療局部晚期（III期）的不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）之方法。

【英文】

Disclosed are methods for treating locally advanced (Stage III), unresectable non-small-cell lung cancer (NSCLC) with an antibody that inhibits PD-1/PD-L1 activity concurrently with chemoradiation therapy (cCRT).

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於治療肺癌之組成物及方法

【英文發明名稱】 COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING

LUNG CANCER

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 肺癌係世界上數十年來最常見之癌症，到2012年，估計有180萬新病例，占有新發癌症之12.9%。它也是癌症死亡之最常見原因，造成了159萬人死亡（占總數的19.4%）。非小細胞肺癌（NSCLC）占有肺癌的大約80%至85%，30%的患者為III期疾病。對具有良好體能狀態（PS）和不可切除的III期NSCLC患者之標準治療係以治癒為目的同時投與的基於鉑之雙重化療和放療（cCRT）。一項同時與序貫CRT的薈萃分析表明同時療法的結果更好，但即使是cCRT，5年總生存率（OS）範圍也在15%與32%之間。因此，除了cCRT之外，對於提高患者生存率之新治療方法仍存在顯著未滿足之需求。

【0002】 腫瘤微環境中的腫瘤細胞和骨髓細胞上的計劃性細胞死亡配位基-1（PD-L1）與活化的T細胞上的免疫檢查點蛋白PD-1結合，從而抑制T細胞活性。度伐魯單抗（durvalumab）係一種選擇性、高親和力的人IgG1單株抗體，其阻斷PD-L1與PD-1和CD80的結合，從而允許T細胞識別並殺死腫瘤細胞。度伐魯單抗已在早期臨床研究中證明對多種晚期實性瘤具有鼓舞人心之抗腫瘤活性，並且已被批准用於鉑類藥物後、局部晚期或轉移性尿路上皮癌。

【0003】 為了解決對用於局部晚期癌症的臨床管理的改進方法之需要，本揭露提供了包括向患有晚期、局部晚期、不可切除NSCLC的患者同時投與度伐

魯單抗和放化療（cCRT）之方法。

【發明內容】

【0004】 本揭露總體上關於同時用抑制PD-1/PD-L1活性的抗體和放化療（cCRT）治療局部晚期（III期）的不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）之方法。

【0005】 本文提供了一種延長患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的無進展生存期（PFS）之方法，該方法包括同時用抗PD-L1抗體和放化療來治療患者。

【0006】 本文還提供了一種增加患有不可切除NSCLC的患者的總反應率（ORR）之方法，該方法包括同時用抗PD-L1抗體和放化療來治療患者。本文還提供了一種同時包含抗PD-L1抗體和放化療的組合，該組合在延長患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的無進展生存期（PFS）之方法中使用。

【0007】 本文還提供了一種同時包含抗PD-L1抗體和放化療的組合，該組合在增加患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的總反應率（ORR）之方法中使用。

【0008】 本文還提供了一種同時包含抗PD-L1抗體和放化療的組合，該組合在治療III期不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）中使用。

【0009】 還提供了同時包含人抗PD-L1抗體和放化療的組合在製造藥物中之用途，該藥物在延長患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的無進展生存期（PFS）之方法中使用。

【0010】 還提供了同時包含人抗PD-L1抗體和放化療的組合在製造藥物中之用途，該藥物在增加患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的總反應率（ORR）之方法中使用。

【0011】 還提供了同時包含人抗PD-L1抗體和放化療的組合在製造藥物中之用途，該藥物在治療III期不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）中使用。

【圖式簡單說明】

【0012】 [圖 1]示出了本文揭露之方法之一般研究設計。

【0013】 [圖 2A]係說明治療計畫和定義的終點之示意圖。每組含有 6 隻小鼠。當腫瘤大約為 100-200 mm³時進行放療（RT），並且用於測定的時間點如圖所示。圖 2B 示出了縱向途徑分析氣泡圖（來自表 4）。Y 軸上列出了途徑並且 X 軸上列出了時間點。氣泡的大小示出了每個途徑的表現值的絕對倍數變化。圖 2C 示出了切除時之腫瘤體積。數據表示為平均值 ± SEM。每組含有 6 隻小鼠。
* P < 0.05，曼－惠特尼檢定。

【0014】 [圖 3A 至圖 3C]示出了網路圖，其示出了在每個時間點 NT 與 RT 腫瘤之間差異調節的基因和上游調節子。在用 RT 治療後的第 1 天（圖 3A）、第 3 天（圖 3B）和第 7 天（圖 3C），將基因和上游調節子分離到它們的細胞區室中。圖 3D 示出了縱向途徑分析氣泡圖（來自表 3 中的數據）。Y 軸上列出了途徑並且 X 軸上列出了時間點。氣泡的顏色指示基因調節的方向。氣泡的大小示出了該途徑的表現值的絕對倍數變化。途徑縮寫：樹突細胞（DC）與自然殺傷（NK）細胞之間的串擾；細菌和病毒的識別 - 模式識別受體在細菌和病毒識別中的作用；先天和適應性免疫系統 - 先天和適應性免疫細胞之間的通信。

【0015】 [圖 4A 至圖 4F]示出了 RT 導致腫瘤浸潤性骨髓細胞群體之變化。從未治療的腫瘤（NT）（黑色條）或 RT 後 1、3 或 7 天的 RT 治療腫瘤（7 Gy）（灰色條）（或時間匹配的 NT 對照）中分離細胞。圖 4A 示出了藉由流式細胞分析技術分析的腫瘤樣本中 F4/80⁺細胞之存在。圖 4B 和圖 4C 示出了 CD86 和

CD206 在 F4/80⁺細胞上之表現 (MFI)。代表性長條圖顯示在同型對照 (黑線)、NT (黑色填充部分) 和 RT (灰線) 的對應橫條圖上方。圖 4D 示出了為 F4/80⁺ 的 CD86⁺和 CD206⁺細胞的百分比, 並且盒鬚圖示出了 NT 腫瘤 (黑色) 或 RT 治療腫瘤 (灰色) 的 CD86⁺/CD206⁺比率。圖 4E 和圖 4F 示出了腫瘤組織中 CD11b⁺Gr1^{lo} 和 CD11b⁺Gr1^{hi}細胞之頻率。繪製為平均值 \pm SEM。每組含有 6 隻小鼠。當將 NT 與輻照組比較時, * $P < 0.05$ 並且 ** $P < 0.01$ 。

【0016】 [圖 5A 至圖 5F] 示出了 RT 影響腫瘤浸潤性淋巴細胞之頻率和表型。從未治療的腫瘤 (NT) (黑色條) 或 RT 後 1、3 或 7 天的 RT 治療腫瘤 (7 Gy) (灰色條) (或時間匹配的 NT 對照) 中分離細胞。圖 5A 和圖 5B 示出了 CD4⁺和 CD8⁺腫瘤浸潤性 T 細胞之頻率。圖 5C 和圖 5D 示出了 CD4⁺和 CD8⁺ T 細胞上之 CD69 表現。圖 5E 示出了腫瘤浸潤性 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ (T_{reg}) 細胞, 表示為占 CD4⁺群體之百分比。圖 5F 示出了 CD8⁺與 T_{reg}細胞之比率。繪製為平均值 \pm SEM。每組含有 6 隻小鼠。當將 NT 與輻照組比較時, * $P < 0.05$ 並且 ** $P < 0.01$ 。

【0017】 [圖 6A 至圖 6G] 示出了 RT 導致腫瘤中 PD-1 和 PD-L1 的表現升高, 這減弱了治療之功效。從未治療的腫瘤 (NT) (黑色條) 或 RT 後 1、3 或 7 天的 RT 治療腫瘤 (7 Gy) (灰色條) (或時間匹配的 NT 對照) 中分離細胞。圖 6A 和圖 6B 示出了 CD4⁺和 CD8⁺ T 細胞上之 PD-1 表現。圖 6C 和圖 6D 示出了 CD4⁺和 CD8⁺ T 細胞上之 PD-L1 表現。圖 6E 示出了 CD45⁺腫瘤細胞上之 PD-L1 表現。繪製為平均值 \pm SEM。當將 NT 與輻照組比較時, * $P < 0.05$ 並且 ** $P < 0.01$ 。圖 6F 和圖 6G 示出了單獨用 7 Gy RT 治療或與以 10 mg/kg 3qw 給藥的 α PD-L1 mAb 組合治療 1 週後攜帶已形成腫瘤的小鼠之腫瘤生長曲線和卡普蘭-邁耶曲線。實驗組含有至少 6 隻小鼠並且代表 2 項獨立研究。++ $P < 0.01$, 相對於單獨的 7 Gy RT。** $P < 0.01$ 並且 *** $P < 0.001$, 相對於 NT 對照。

【0018】 [圖 7A 至圖 7B] 示出了熱圖，其示出了來自在 7 Gy RT 後第 1、3 和 7 天取出的輻照腫瘤組織的譜系（圖 7A）和表型（圖 7B）標誌物的倍數變化，作為時間匹配的未治療對照腫瘤的百分比。粗框值係相對於未治療的時間匹配樣本具有統計學顯著性的那些。每組含有 6 隻小鼠。（曼－惠特尼檢定， $P < 0.05$ ）。

【0019】 [圖 8A 至圖 8D] 示出了用於分析腫瘤細胞群體之間控策略。圖 8A 示出了對分離自脾的活白血球之間控，用於繪製白血球閘控。圖 8B 示出了腫瘤組織中之 $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ 細胞。圖 8C 示出了脾和腫瘤組織中之 $CD11b^+Gr1^{lo}$ 和 hi 群體。圖 8D 示出了 $CD45^-$ 腫瘤細胞。

【0020】 [圖 9] 示出了在 NT（黑色）或 7 Gy（灰色）RT 後 1、3 或 7 天分離的腫瘤組織中 $CD45^+$ 細胞之百分比。 $P < 0.01$ ，曼－惠特尼檢定。每組含有 6 隻小鼠。 $** P < 0.01$ ，曼－惠特尼檢定。

【0021】 [圖 10A 至圖 10B] 示出了來自 NT 和 RT 治療的腫瘤組織的 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 細胞中 $CD69$ （圖 10A）和 $PD-1$ （圖 10B）表現之代表性長條圖。圖 10A 示出了未填充的長條圖係同型對照。圖 10B 示出了圖案化的長條圖係同型對照，黑線係 NT，灰線係 7 Gy RT。

【實施方式】

【0022】 除非另外說明，否則本文使用的所有技術和科學術語均具有本揭露所屬領域的技術人員通常理解之含義。以下的參考文獻為技術人員提供了本揭露所用的多個術語之通用定義：Singleton 等人, *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology* [微生物學和分子生物學詞典]（第 2 版 1994）；The Cambridge Dictionary of Science and Technology [劍橋科技詞典]（Walker 編著，1988）；The

Glossary of Genetics [遺傳學詞彙], 第5版, R. Rieger等人 (編輯), Springer Verlag [斯普林格出版社] (1991); 以及Hale和Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology [哈珀科林斯生物學詞典] (1991)。除非另有指明, 否則如本文所用的以下術語具有以下賦予它們的含義。

【0023】 在本揭露中, 「包含(comprises、comprising)」, 「含有(containing)」和「具有(having)」等可以具有美國專利法賦予它們的意義並且可以意指「包括(includes、including)」等; 「基本上由.....組成(consisting essentially of或consists essentially)」同樣具有美國專利法賦予的含義並且是開放性的, 允許超出所敘述的存在, 只要所敘述的基本或新穎特徵不被超過敘述的存在改變, 但是排除先前技術方面。

【0024】 除非明確說明或從上下文顯而易見, 否則如本文所用的術語「或」被理解為包括在內。除非明確說明或從上下文顯而易見, 否則如本文所用的術語「一種」、「一個」和「該」被理解為單數或複數。

【0025】 除非明確說明或從上下文顯而易見, 否則如本文所用的術語「約」被理解為在本領域的正常公差範圍內, 例如在平均數的2個標準差之內。約可以被理解為在聲明值的10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、或0.01%之內。除非從上下文顯而易見, 否則本文提供的所有數值被該術語約修飾。

【0026】 可以將本文提供的任何組成物或方法與本文提供的任何其他組成物和方法中的一種或多種進行組合。

【0027】 本文提供的範圍被理解為對該範圍內的所有值的簡寫。例如, 1到50的範圍應當理解為包括來自以下群組的任何數字、數字的組合或子範圍, 該群組由以下組成: 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、

35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50。

【0028】 如本文所用，「抗PD-L1抗體」係指選擇性結合PD-L1多肽的抗體或其抗原結合片段。示例性抗PD-L1抗體描述於例如美國專利案號8,779,108和9,493,565中，該等專利藉由援引併入本文。

【0029】 如本文所用，術語「度伐魯單抗」係指選擇性結合PD-L1並阻斷PD-L1與PD-1和CD80受體結合的抗體，如在美國專利案號9,493,565（其中度伐魯單抗被稱為「2.14H9OPT」）中揭露的，該專利藉由援引以其全文併入本文。度伐魯單抗的片段可結晶（Fc）結構域在IgG1重鏈的恒定結構域中含有三重突變，該三重突變減少與負責介導抗體依賴性細胞介導的細胞毒性（ADCC）的補體組分C1q和Fc γ 受體的結合。度伐魯單抗可以在體外解除PD-L1介導的對人T細胞活化的抑制，並且經由T細胞依賴性機制在異種移植物模型中抑制腫瘤生長。

【0030】 「完全反應」（CR）係指所有病灶（無論是可測量的或不可測量的）消失，並且沒有新的病灶。可以使用自第一次記載日期起不小於四週的重複連續評估來獲得確認。新的不可測量的病灶排除在CR外。

【0031】 「部分反應」（PR）係指相對於基線，腫瘤負荷減小 $\geq 50\%$ 。可以使用自第一次記載之日起至少四週的連續重複評估來獲得確認。

【0032】 「進行性疾病」（PD）係指相對於所記錄的最小值（最低點），腫瘤負荷增加 $\geq 25\%$ 。可以藉由自第一次記載日期起至少四週的連續重複評估來獲得確認。新的不可測量的病灶沒有定義PD。

【0033】 「疾病穩定」（SD）係指不滿足CR、PR或PD的標準。SD係指相對於基線無法建立50%的腫瘤負荷的減小，並且無法建立與最低點相比25%的增加。

【0034】 非小細胞肺癌（NSCLC）可指NSCLC的以下三種主要亞型中的任一種：鱗狀細胞癌、腺癌和大細胞（未分化）癌。其他亞型包括腺鱗癌和肉瘤樣

癌。

【0035】 如本文所用，「PD-L1」可以指與PD-L1序列具有至少約85%、95%或100%序列同一性的多肽或多核苷酸序列或其片段。PD-L1在本領域中也稱為B7-H1。在一些實施方式中，PD-L1多肽或其片段與NCBI登錄號NP_001254635具有至少約85%、95%或100%序列同一性，並且具有PD-1和CD80結合活性。

PD-L1多肽序列

NCBI登錄號 NP_001254635

```

1 mrifavfifm tywhllnapy nkinqrilvv dpvtsehelt cqaegyphae viwtssdhqv
61 lsgkttttns kreeklnvt stlrintttt eifyctfrrl dpeenhtael vipelplahp
121 pnerthlvil gaillclgva ltfifrlrkg rmmdvkkcgi qdtnskkqsd thleet

```

【0036】 在一些實施方式中，「PD-L1核酸分子」包含編碼PD-L1多肽的多核苷酸。示例性PD-L1核酸分子序列以NCBI登錄號NM_001267706提供。

PD-L1核酸序列

NCBI登錄號NM_001267706 mRNA

```

1 ggcgcaacgc tgagcagctg gcgcgtcccc gcggcccca gttctgcgca gtttccccgag
61 gctccgcacc agccgcgctt ctgtccgcct gcagggcatt ccagaaagat gaggatattt
121 gctgtcttta tattcatgac ctactggcat ttgctgaacg cccatacaa caaatcaac
181 caaagaattt tggttgtgga tccagtcacc tctgaacatg aactgacatg tcaggctgag
241 ggctacccca aggccgaagt catctggaca agcagtgacc atcaagtcct gagtggtgtaag
301 accaccacca ccaattccaa gagagaggag aagcttttca atgtgaccag cacactgaga
361 atcaacacaa caactaatga gattttctac tgcactttta ggagattaga tcctgaggaa
421 aaccatacag ctgaattggt catcccagaa ctacctctgg cacatcctcc aatgaaagg
481 actcacttgg taattctggg agccatctta ttatgccttg gtgtagcact gacattcatc
541 ttccgtttaa gaaaaggag aatgatggat gtgaaaaaat gtggcatcca agatacaaac

```

601 tcaaagaagc aaagtgatac acatttggag gagacgtaat ccagcattgg aacttctgat
661 cttcaagcag ggattctcaa cctgtggttt aggggttcat cggggctgag cgtgacaaga
721 ggaaggaatg ggcccgtggg atgcaggcaa tgtgggactt aaaaggccca agcactgaaa
781 atggaacctg gcgaaagcag aggaggagaa tgaagaaaga tggagtcaaa cagggagcct
841 ggagggagac cttgatactt tcaaatgcct gaggggctca tcgacgcctg tgacagggag
901 aaaggatact tctgaacaag gagcctcaa gcaaatcatc cattgctcat cctaggaaga
961 cgggttgaga atccctaatt tgagggtcag ttcctgcaga agtgcccttt gcctccactc
1021 aatgcctcaa tttgttttct gcatgactga gagtctcagt gttggaacgg gacagtatth
1081 atgtatgagt ttttcctatt tattttgagt ctgtgaggtc ttcttgtcat gtgagtgtgg
1141 ttgtgaatga tttcttttga agatatattg tagtagatgt tacaattttg tcgccaaact
1201 aaacttgctg cttaatgatt tgctcacatc tagtaaaaca tggagtatth gtaaggtgct
1261 tgggtctcctc tataactaca agtatacatt ggaagcataa agatcaaacc gttggttgca
1321 taggatgtca cttttattta acccattaat actctgggtg acctaacttt attctcagac
1381 ctcaagtgtc tgtgcagtat ctgttccatt taaatatcag ctttacaatt atgtggtagc
1441 ctacacacat aatctcattt catcgctgta accaccctgt tgtgataacc actattatth
1501 taccatcgt acagctgagg aagcaaacag attaagtaac ttgcccaaac cagtaaatag
1561 cagacctcag actgccacc actgtccttt tataatacaa tttacagcta tattttactt
1621 taagcaatc ttttattcaa aaaccattta ttaagtgcc ttgcaatata aatcgctgtg
1681 ccaggcattg aatctacaga tgtgagcaag acaaagtacc tgtcctcaag gagctcatag
1741 tataatgagg agattaacaa gaaaatgtat tattacaatt tagtccagtg tcatagcata
1801 aggatgatgc gaggggaaaa cccgagcagt gttgccaaaga ggaggaaata ggccaatgtg
1861 gtctgggacg gttggatata cttaaaccatc ttaataatca gagtaattht catttaciaa
1921 gagaggtcgg tacttaaaat aaccctgaaa aataaacctg gaattccttht tctagcatta
1981 tatttattcc tgatttgcct ttgccatata atctaagtct tgtttatata gtgtctggta

2041 ttgtttaaca gttctgtctt ttctatthaa atgccactaa atthtaaat cataccttc
2101 catgattcaa aattcaaaag atcccatggg agatgggttg aaaatctcca cttcatcctc
2161 caagccattc aagtttcctt tccagaagca actgctactg cttttcattc atatgttctt
2221 ctaaagatag tctacatttg gaaatgtatg ttaaaagcac gtatththaa aatthththc
2281 ctaaatagta acacattgta tgtctgctgt gtactthgct atthththth atththtagtg
2341 ttcttatata gcagatggaa tgaatttgaa gttcccaggg ctgaggatcc atgccttctt
2401 tgthttctaag ttatctthcc catagcttht cattatctth catatgatcc agtatatgth
2461 aatatatgth tacatataca tthagacaac caccattthg taagtatthg ctctaggaca
2521 gagthttgat ttgtthtatgt ttgctcaaaa ggagaccat gggctctcca ggggtgactg
2581 agtcaatcta gtcctaaaaa gcaatcttat tattaactct gtatgacaga atcatgtctg
2641 gaactththg tthctgctth ctgtcaagta taaactthc tthgatgctg tacttgcaaa
2701 atcacattht cthctgga aatccggcag tgtacctgta ctgctagcta ccctgtgcca
2761 gaaaagcctc attcgthtg cttgaaccct tgaatgccac cagctgtcat cactacacag
2821 ccctcctaag aggcttctg gaggtthcga gattcagatg ccctgggaga tcccagagth
2881 tcctthccct cthggccata tthctggtg aatgacaagg agtacctthg cthtgccaca
2941 tgtcaaggct gaagaaacag tgtctccaac agagctcctt gtgthtatctg tthgtacatg
3001 tgcattthgta cagtaattgg tgtgacagtg tthctthgtg gaattacagg caagaattg
3061 ggctgagcaa ggcacatag ctactcagtc tathcctaag tcctaactcc tccttgthg
3121 gthggatthg taaggcactt tatcccttht gtctcatgth tcatcgtaaa tggcataggc
3181 agagatgata cctaattctg catttgatthg tcactththg tacctgcatt aatthataa
3241 aatattctta tththththg tacttggtac accagcatg ccatththctt gththththg
3301 tgthtaataa aatgthcag ttaacatccc agtggagaaa gthaaaaa

【0037】 計劃性死亡-1 (「PD-1」) 係T細胞調節子的擴展的CD28/CTLA4

家族的大約31 kD I型膜蛋白成員 (參見Ishida等人, 「Induced Expression of PD-1,

A Novel Member of the Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death [計劃性細胞死亡誘導的PD-1(免疫球蛋白基因超家族的新成員)的表現],」 *EMBO J.* [歐洲分子生物學組織雜誌] 11: 3887-95 (1992)。

【0038】 PD-1在活化的T細胞、B細胞和單核細胞上表現 (Agata等人, 「Expression of the PD-1 Antigen on the Surface of Stimulated Mouse T and B Lymphocytes [PD-1抗原在經刺激的小鼠T和B淋巴細胞表面上的表現],」 *Int. Immunol.* [國際免疫學] 8(5): 765-72 (1996) ; Yamazaki等人, 「Expression of Programmed Death 1 Ligands by Murine T Cells and APC [鼠T細胞和APC對計劃性死亡1配位基的表現],」 *J. Immunol.* [免疫學雜誌] 169: 5538-45 (2002)) 以及在自然殺傷(NK)T細胞中低水平表現 (Nishimura等人, 「Facilitation of Beta Selection and Modification of Positive Selection in the Thymus of PD-1-Deficient Mice [PD-1缺陷小鼠的胸腺中β選擇的易化和陽性選擇的修飾],」 *J. Exp. Med.* [實驗醫學雜誌] 191: 891-98 (2000); Martin-Orozco等人, 「Inhibitory Costimulation and Anti-Tumor Immunity [抑制性共刺激和抗腫瘤免疫],」 *Semin. Cancer Biol.* [癌症生物學研討會] 17(4): 288-98 (2007))。PD-1係負責在藉由結合PDL-1或PDL-2進行活化後下調免疫系統的受體 (Martin-Orozco等人(2007)) 並作為細胞死亡誘導劑起作用 (Ishida 等人(1992) ; Subudhi 等人, 「The Balance of Immune Responses: Costimulation Verse Coinhibition [免疫反應的平衡: 共刺激與共抑制],」 *J. Molec. Med.* [分子醫學雜誌] 83: 193-202 (2005) ; Lazar-Molnar等人, 「Crystal Structure of the Complex Between Programmed Death-1 (PD-1) and Its Ligand PD-L2 [計劃性死亡1 (PD-1) 與其配位基PD-L2之間的複合物的晶體結構],」 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* [美國國家科學院院刊] 105(30): 10483-88 (2008))。經由PD-L1的過表現在許多腫瘤中利用該過程, 導致免疫反應受到抑制。

【0039】 PD-1係腫瘤學中免疫介導療法的充分驗證的靶標, 其中臨床試驗

在治療黑色素瘤和非小細胞肺癌（NSCLC）等其他方面具有陽性。拮抗性抑制PD-1/PDL-1相互作用增加T細胞活化，增強宿主免疫系統對腫瘤細胞的識別和消除。已經提出使用抗PD-1抗體來治療感染和腫瘤並上調適應性免疫反應。

【0040】 如本文所用，術語「抗體」係指免疫球蛋白或其片段或衍生物，並且涵蓋包含抗原結合位點的任何多肽，無論其係在體外還是在體內產生。該術語包括但不限於：多株、單株、單特異性、多特異性、非特異性、人源化、人單鏈、嵌合、合成、重組、雜交、突變、以及接枝抗體。除非用術語「完整」另外修飾，如在「完整抗體」中，否則出於本揭露內容的目的，術語「抗體」還包括抗體片段例如Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、Fd、dAb以及保留抗原結合功能（即，特異性結合PD-L1的能力）的其他抗體片段。典型地，此類片段將包含抗原結合結構域。

【0041】 如本文所用的術語「人抗體」包括具有實質上對應於人種系免疫球蛋白序列的可變區和恒定區的抗體。

【0042】 如本文所用，術語「抗原結合結構域」、「抗原結合片段」和「結合片段」係指抗體分子的包含負責抗體和抗原之間特異性結合的胺基酸的一部分。在抗原很大的一些情況下，抗原結合結構域可以僅結合到該抗原的一部分。抗原分子的負責與抗原結合結構域特異性相互作用的一部分被稱為「表位」或「抗原決定簇」。抗原結合結構域典型地包含抗體輕鏈可變區（V_L）和抗體重鏈可變區（V_H）；但是，它不一定必須包含兩者。例如，所謂的Fd抗體片段僅由V_H結構域組成，但是仍然保留完整抗體的一定抗原結合功能。

【0043】 抗體的結合片段藉由重組DNA技術或藉由完整抗體的酶促或化學裂解來產生。結合片段包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv以及單鏈抗體。除了「雙特異性」或「雙功能」抗體以外，抗體應理解為其每個結合位點係相同的抗體。用酶（木瓜蛋白酶）消化抗體產生兩個同一的抗原結合片段，又稱為「Fab」片段

和「Fc」片段，它們不具有抗原結合活性但具有結晶的能力。用酶（胃蛋白酶）來消化抗體的結果係F(ab')₂片段，其中該抗體分子的兩個臂保持連接並且包含兩個抗原結合位點。F(ab')₂片段具有交聯抗原的能力。如本文所用，術語「Fv」係指保留了抗原識別和抗原結合位點兩者的抗體的最小片段。如本文所用，術語「Fab」係指抗體的包含輕鏈的恒定結構域和重鏈的CHI結構域的片段。

【0044】如本文所用，術語「mAb」係指單株抗體。本揭露的抗體包括但不限於：全天然抗體、雙特異性抗體、嵌合抗體、Fab、Fab'、單鏈V區片段(scFv)、融合多肽、和非常規抗體。

【0045】如本文所用，術語「分離的」、「純化的」或「生物學上純的」係指在不同程度上不含在其天然狀態下發現的通常伴隨其的組分的材料。「分離」表示與初始來源或環境的分開程度。「純化」表示高於分離的分開程度。「純化的」或「生物學上純的」蛋白質最大限度地不含其他材料，這樣使得任何雜質不實質上影響蛋白質的生物特性或導致其他不利後果。

【0046】如本文所用，術語「特異性結合」意指識別並結合一種分子（例如，多肽），但是基本上不識別和不結合樣本（例如，生物樣本）中的其他分子的化合物（例如，抗體）。例如，特異性結合的兩個分子形成在生理條件下相對穩定的複合物。特異性結合的特徵在於區別於非特異性結合的高親和力和低等至中等容量，非特異性結合通常具有低親和力以及中等至高等容量。典型地，當親和力常數 K_A 高於 $10^6 M^{-1}$ ，或更較佳的是高於 $10^8 M^{-1}$ 時，結合被認為係特異的。如果需要的話，可以藉由改變結合條件來減少非特異性結合，基本上不影響特異性結合。適當的結合條件，諸如抗體濃度、溶液的離子強度、溫度、結合允許的時間、阻斷劑（例如，血清白蛋白、乳清酪蛋白）的濃度等，可以由熟練技術人員使用常規技術優化。

【0047】如本文通常所用的，術語「治療（treat、treating、treatment等）」

係指減少、改善或減緩障礙或疾病的進展和/或與障礙或疾病相關的症狀。將被理解的是，儘管不能排除，但是治療障礙、疾病或病症並不要求完全地消除該障礙、疾病或病症或與其相關的症狀。在與NSCLC有關的特定實施方式中，「治療（treat、treating、treatment）」可以指實現主要或次要臨床終點中的任一個或組合。

【0048】 本文提供了一種延長患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的無進展生存期（PFS）之方法，該方法包括同時用人抗PD-L1抗體和放化療來治療患者。

【0049】 本文還提供了一種增加患有不可切除NSCLC的患者的總反應率（ORR）之方法，該方法包括同時用人抗PD-L1抗體和放化療來治療患者。

【0050】 本文還提供了治療患有III期不可切除NSCLC的患者之方法，該方法包括同時用人抗PD-L1抗體和放化療來治療患者。

【0051】 在一些實施方式中，人抗PD-L1抗體係度伐魯單抗、阿維魯單抗（avelumab）、阿特珠單抗（atezolizumab）或舒格利單抗（sugemalimab）。在一些實施方式中，人抗PD-L1抗體係度伐魯單抗、阿維魯單抗或阿特珠單抗。在一些實施方式中，人抗PD-L1抗體係度伐魯單抗。

【0052】 用於在本文提供之方法中使用的度伐魯單抗和其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈或重鏈可變區和輕鏈可變區。度伐魯單抗輕鏈可變區的胺基酸序列以SEQ ID NO: 1提供，並且度伐魯單抗重鏈可變區的胺基酸序列以SEQ ID NO: 2提供。度伐魯單抗重鏈可變區互補決定區（CDR）的胺基酸序列分別以SEQ ID NO: 3（CDR1）、SEQ ID NO: 4（CDR2）和SEQ ID NO: 5（CDR3）提供，並且度伐魯單抗輕鏈可變區CDR的胺基酸序列分別以SEQ ID NO: 6（CDR1）、SEQ ID NO: 7（CDR2）和SEQ ID NO: 8（CDR3）提供。

【0053】 在一些實施方式中，用於在本文提供之方法中使用的度伐魯單抗

或其抗原結合片段包含輕鏈可變區和重鏈可變區，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 1的胺基酸序列，該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 2的胺基酸序列。在一些實施方式中，用於在本文提供之方法中使用的度伐魯單抗或其抗原結合片段包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含SEQ ID NO: 3-5的卡巴特（Kabat）定義的CDR1、CDR2和CDR3序列，並且其中該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 6-8的卡巴特定義的CDR1、CDR2和CDR3序列。熟悉該項技術者將能夠容易地鑒定熟悉該項技術者已知的喬西亞定義的、Abm定義的或其他的CDR定義。在一些實施方式中，用於在本文提供之方法中使用的度伐魯單抗或其抗原結合片段包含如在美國專利案號8,779,108和9,493,565（其藉由援引以其全文併入本文）中揭露的2.14H9OPT抗體的可變重鏈和可變輕鏈CDR序列。

【0054】 度伐魯單抗或其抗原結合片段可每四週投與一次，同時為患者提供益處。在另外的實施方式中，向患者投與另外的後續劑量。可以取決於患者的年齡、體重、臨床評估、腫瘤負荷和/或其他因素（包括主治醫師的判斷），以不同時間間隔投與後繼劑量。

【0055】 在一些實施方式中，向患者投與多劑量的度伐魯單抗或其抗原結合片段。在一些實施方式中，可向患者投與至少三個劑量、至少四個劑量、至少五個劑量、至少六個劑量、至少七個劑量、至少八個劑量、至少九個劑量、至少十個劑量、至少十五個劑量、至少二十六個劑量或多於至少二十個劑量。在一些實施方式中，每兩週、在兩週時段內、在四週治療期內、在六週治療期內、在八週治療期內、在十二週治療期內、在二十四週治療期內、在一年治療期內或超過一年治療期內投與度伐魯單抗或其抗原結合片段。

【0056】 在一些實施方式中，劑量之間的時間間隔可以是每三週。在一些實施方式中，劑量之間的時間間隔可以是每四週（Q4W）。在一些實施方式中，劑量之間的時間間隔可以是每兩個月（例如，在維持階段期間）。

【0057】 在一些實施方式中，向患者投與一個或多個劑量的抗PD-L1或其抗原結合片段，其中該劑量係1500 mg的固定劑量。在一些實施方式中，每四週向患者投與1500 mg人抗PD-L1。在一些實施方式中，向患者投與一個或多個劑量的抗PD-L1，其中該劑量係約20 mg/kg。在一些實施方式中，每四週（Q4W）向患者靜脈內投與1500 mg人抗PD-L1抗體。

【0058】 在一些實施方式中，向患者投與一個或多個劑量的度伐魯單抗或其抗原結合片段，其中該劑量係1500 mg的固定劑量。在一些實施方式中，每四週向患者投與1500 mg的度伐魯單抗。在一些實施方式中，向患者投與一個或多個劑量的度伐魯單抗，其中該劑量係約20 mg/kg。

【0059】 有待向患者投與的度伐魯單抗或其抗原結合片段的量可作調整並可取決於不同參數，如患者的年齡、體重、臨床評估、腫瘤負荷和/或其他因素（包括主治醫師的判斷）。在一些實施方式中，劑量係固定劑量。

【0060】 在一些實施方式中，根據本文提供之方法投與度伐魯單抗或其抗原結合片段係藉由腸胃外投與。例如，可以藉由靜脈內輸注或藉由皮下注射來投與度伐魯單抗或其抗原結合片段。在一些實施方式中，投與藉由靜脈內輸注進行。

【0061】 在一些實施方式中，度伐魯單抗或其抗原結合片段與放化療同時投與。如本文所用，術語「同時」係指度伐魯單抗或其抗原結合片段的投與和放化療的投與彼此在約三天內。在一些實施方式中，度伐魯單抗或其抗原結合片段在放化療的約兩天內投與。在一些實施方式中，度伐魯單抗或其抗原結合片段在放化療的約一天內投與。在一些實施方式中，度伐魯單抗或其抗原結合片段在放化療的第1週期第1天投與。

【0062】 在一些實施方式中，抗PD-L1抗體在放化療的第一天投與。

【0063】 在一些實施方式中，放化療包含基於鉑的治療劑。

【0064】 在一些實施方式中，同時放化療包括用於晚期 NSCLC 患者的任何公認的標準一線治療。在一些實施方式中，標準一線治療可包括化療、放療或兩者（放化療）。在一些實施方式中，療法可包含一種或多種基於鉑的化學治療劑。在一些實施方式中，放化療係基於鉑的。在一些實施方式中，該一種或多種基於鉑的化療劑可選自卡鉑、順鉑、奧沙利鉑或它們的組合。如本文所述，基於鉑的療法可包括單重或雙重方案，諸如例如，與另一種抗癌劑諸如紫杉醇、多西他賽、依託泊苷、吉西他濱、長春瑞濱等一起投與順鉑或卡鉑。

【0065】 本揭露關於治療患有不可切除的局部晚期非小細胞肺癌（NSCLC）的患者之方法，該方法包括向該患者同時投與人抗PD-L1抗體和放化療。所揭露的治療方法可在患者的無進展生存期（PFS）、總反應率（ORR）、總生存期（OS）和自隨機化起24個月時存活的患者比例（OS24）方面提供實質性改善。

【0066】 在一些實施方式中，該方法提供了相對於安慰劑的 PFS 增加。在一些實施方式中，該方法提供相對於安慰劑的 ORR 增加。在一些實施方式中，該方法提供了相對於安慰劑的 OS 增加。

【0067】 在一些實施方式中，提供了一種同時包含人抗PD-L1抗體和放化療的組合，該組合在延長患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的無進展生存期（PFS）之方法中使用。在一些實施方式中，提供了一種同時包含人抗PD-L1抗體和放化療的組合，該組合在增加患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的總反應率（ORR）之方法中使用。在一些實施方式中，提供了一種同時包含人抗PD-L1抗體和放化療的組合，該組合在治療III期不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）中使用。

【0068】 在一些實施方式中，提供了同時包含人抗PD-L1抗體和放化療的組合在製造藥物中之用途，還藥物在延長患有不可切除的非小細胞肺癌

(NSCLC) 的患者的無進展生存期 (PFS) 之方法中使用。在一些實施方式中，提供了同時包含人抗PD-L1抗體和放化療的組合在製造藥物中之用途，該藥物在增加患有不可切除的非小細胞肺癌 (NSCLC) 的患者的總反應率 (ORR) 之方法中使用。在一些實施方式中，提供了同時包含人抗PD-L1抗體和放化療的組合在製造藥物中之用途，該藥物在治療III期不可切除的非小細胞肺癌 (NSCLC) 中使用。

【0069】 總生存期 (OS) 與從治療日期到 (因任何原因導致的) 死亡日期的時間段有關。OS可以指一段時間 (例如12個月、18個月、24個月等) 內的總生存期。此類時間段可以被識別為例如「OS24」，其係指根據24個月總生存期的卡普蘭-邁耶估計，在治療開始後24個月還存活的患者人數 (%)。

【0070】 無進展生存期 (PFS) 與從治療日期到客觀疾病進展 (RECIST 1.1) 或 (無進展情況下因任何原因導致的) 死亡日期的時間段有關。在一些實施方式中，本揭露之方法提供了PFS的增加。在一些實施方式中，該方法提供了至少9個月至至少約24個月 (例如，至少9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或超過24個月，且至多約5年) 的PFS。

【0071】 客觀反應率 (ORR) 係指至少一次訪視完全反應 (CR) 或部分反應 (PR) (根據RECIST 1.1) 的患者數 (%)。

【0072】 如本文所述，並藉由實例舉例說明的，該方法提供了局部晚期的不可切除的 NSCLC 的治療。在一些實施方式中，不可切除的癌症包括由於若干醫學原因中的至少一種而不能藉由手術完全去除的癌症。癌症為何不可切除的原因包括例如腫瘤大小 (例如，太大而不能安全地去除和/或可能需要廣泛地去除一部分重要器官)、腫瘤位置 (例如，腫瘤與重要結構諸如血管或神經物理地纏繞)、腫瘤轉移 (其中去除腫瘤將不能有效控制所有癌症)、或將手術風險提高到不可接受水平的其他醫學病症 (例如，心臟病、肺病、糖尿病)。此外，不

可切除的 NSCLC 在侵襲性治療後可能不是永久不可切除的，侵襲性治療可有效地將腫瘤大小減小至允許可能的手術切除的程度。此外，不可切除的 NSCLC 還可以指不能藉由手術完全去除但可藉由一種或多種手術過程部分去除的 NSCLC（或遠端轉移）。實例包括減積手術和去除部分肺癌以及部分轉移性病灶的手術。

【0073】 在某些實施方式中，本文揭露之方法可用於可切除的癌症。

【0074】 如本文所描述和說明的，本揭露之方法可用於治療患有晚期（例如，III 期）局部晚期的不可切除的 NSCLC 的患者。可以使用本領域通常已知和接受的任何測試來進行癌症分期。在一些實施方式中，癌症分期可包括美國癌症聯合委員會（AJCC）的 TNM 系統。通常，TNM 系統提供來自各種測試和掃描的結果，以確定原發腫瘤（腫瘤，T）的大小和位置；癌症是否已經擴散到淋巴結，並且如果已經擴散，受影響的淋巴結的位置和數量（淋巴結，N）；以及癌症是否已經擴散到身體的其他部分，並且如果已經擴散，則還包括遠端癌症的程度和位置（轉移，M）。儘管每種類型的癌症都有其特定系統，但 TNM 分期系統通常使用每個字母的量表分數。

【0075】 在一些實施方式中，不可切除的 NSCLC 係 III 期的。在一些實施方式中，不可切除的 NSCLC 係局部晚期的。在一些實施方式中，不可切除的 NSCLC 係 III 期且局部晚期的。

【0076】 對於腫瘤，「T」與數字（例如，0 至 4）相關聯以描述腫瘤的總體大小、位置以及是否侵入附近組織。更大或更多的侵入性腫瘤的編號更高，根據癌症的不同，可以添加小寫字母，諸如「a」、「b」或「m」（表示多個）以提供更多細節。

【0077】 類似地，對於淋巴結，「N」與數字（例如，0 至 3）相關聯以描述是否在淋巴結中發現了癌症，並且還可以指示含有癌症的淋巴結的數目。當癌症累及更多的淋巴結時，分配的數字更大。

【0078】對於轉移，「M」指示癌症是否已擴散到身體的其他部位，並標記為 M0 表示未擴散，或標記為 M1（如果擴散）。

【0079】將 T、N 和 M 結果結合起來以確定癌症的分期，通常是以下四個分期之一：I 期（一）至 IV 期（四）。一些癌症也具有 0 期（零）。0 期描述保留在原始組織局部而沒有擴散到附近組織的**原位癌**。這一分期的癌症通常是高度可治癒的，通常可以藉由手術切除整個腫瘤。I 期或早期癌症通常用於描述尚未深入附近組織並且尚未擴散到淋巴結或身體其他部位的小的癌症或腫瘤。II 期和 III 期描述了已深入生長到附近組織、並且可能已經擴散到淋巴結但未轉移到其他組織的較大的癌症或腫瘤。IV 期描述了已經擴散到身體其他器官或部位的癌症，並且通常被確定為晚期癌症或轉移性癌症。

【0080】分期可以包括對預後因素進行選擇性分析，以提供恢復的機會和推薦的療法。預後因素可包括：基於癌細胞的外觀對癌症進行分級；腫瘤標誌物表現分析；以及腫瘤遺傳學分析。

【0081】為了確定治療的功效或獲得關於復發性癌症的更多資訊，可使用相同的初始系統對癌症再分期。

【0082】NSCLC 的分期：NSCLC 具有 5 個分期：0 期（零）和 I 至 IV（1 至 4）期。0 期 NSCLC 表明癌症尚未生長到附近組織中或擴散到肺外。

【0083】I 期 NSCLC 表明癌症係沒有擴散到任何淋巴結的小腫瘤。根據腫瘤的大小，I 期分為 2 個亞期：IA 期腫瘤寬度小於 3 釐米（cm），IB 期腫瘤寬度大於 3 cm 但小於 5 cm。I 期 NSCLC 可允許癌症的完全手術去除。

【0084】II 期分為 2 個亞期（IIA 和 IIB）。IIA 期可以是沒有擴散到附近的淋巴結的寬度大於 5 cm 但小於 7 cm 的腫瘤，或者係已經擴散到附近的淋巴結的寬度小於 5 cm 的小腫瘤。IIB 期可描述已經擴散到淋巴結的寬度大於 5 cm 但小於 7 cm 的腫瘤，或可能已經或可能沒有生長到肺的附近結構中但沒有擴散

到淋巴結的寬度大於 7cm 的腫瘤。儘管 II 期 NSCLC 可允許手術治療，但治療該階段的 NSCLC 通常需要其他療法。

【0085】 III 期包括 IIIA 或 IIIB 亞期。手術在許多 IIIA 期癌症和幾乎所有 IIIB 期癌症中是困難或不可能的，因為癌症擴散到淋巴結或因為其生長到肺中的附近結構中。任一情況下的手術通常需要部分去除癌症。

【0086】 IV 期 NSCLC 與向另一個肺中多於一個區域的擴散、肺或心臟周圍的流體或體內遠處轉移相關。NSCLC 更可能擴散至腦、骨、肝和腎上腺。IV 期 NSCLC 包括 IVA（在胸腔內擴散）和 IVB（在胸腔外擴散）亞期。對於大多數 III 或 IV 期 NSCLC，手術很少成功，並且如果其已經擴散到鎖骨上方的淋巴結，或擴散到胸部內的重要結構（例如，心臟、大血管、或主要肺結構），則可能不可能去除。在某些實施方式中，本文揭露的患者係 IV 期 NSCLC 患者。

【0087】 在治療過程後檢測到復發性 NSCLC。

【0088】 除非另外指明，否則本文揭露之方法的實施採用很好地處在普通技術人員能力範圍之內的分子生物學（包括重組技術）、微生物學、細胞生物學、生物化學和免疫學的常規技術。此類技術在文獻中被充分闡明，諸如，「Molecular Cloning: A Laboratory Manual [分子選殖 實驗室手冊]」第二版(Sambrook, 1989)；「Oligonucleotide Synthesis [寡核苷酸合成]」(Gait, 1984)；「Animal Cell Culture [動物細胞培養]」(Freshney, 1987)；「Methods in Enzymology [酶學方法]」；「Handbook of Experimental Immunology [實驗免疫學手冊]」(Weir, 1996)；「Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells [用於哺乳動物細胞的基因轉移載體]」(Miller and Calos, 1987)；「Current Protocols in Molecular Biology [分子生物學現代方法]」(Ausubel, 1987)；「PCR: The Polymerase Chain Reaction [PCR：聚合酶鏈式反應]」, (Mullis, 1994)；和「Current Protocols in Immunology [免疫學現代方法]」(Coligan, 1991)。

實例

實例1：度伐魯單抗與基於鉑的放化療組合在患有局部晚期的不可切除的非小細胞肺癌（III期）的患者中的功效

【0089】 這係一項評估與基於鉑的放化療（CRT）同時給予的度伐魯單抗（度伐魯單抗+標準護理[SoC] CRT）在患有局部晚期的不可切除NSCLC（III期）的患者中的功效和安全性的III期、隨機、雙盲、安慰劑對照、多中心、國際研究。

【0090】 將招募約 390 名患有局部晚期的不可切除 NSCLC（III 期）的患者，並將 300 名患者以 2：1 比率隨機分組到度伐魯單抗+ SoC CRT 或安慰劑+ SoC CRT。將按年齡（< 65 歲相對於 ≥ 65 歲）和分期（IIIA 相對於 IIIB/C）對患者進行分層。

【0091】 本研究中的受試者包括患有組織學或細胞學記錄的 NSCLC 的 ≥ 18 歲的成年受試者，其呈現出局部晚期的不可切除（III 期）的疾病。要求所有受試者具有足夠的器官和骨髓功能。

【0092】 如果受試者先前接受過或當前在接受 NSCLC 治療，包括但不限於放療、試驗藥、化療和 mAb，則排除參與本研究。

【0093】 所有患者除了放療外，還將接受一種以下基於鉑的 SoC 化療選擇：順鉑/依託泊苷、卡鉑/紫杉醇、培美曲塞（pemetrexed）/順鉑或培美曲塞/卡鉑。化療治療方案概述於表 1 中。

[表 1]：研究治療

	度伐魯單抗	安慰劑	標準護理 ^a				
研究治療名稱：	度伐魯單抗 (MED14736)	鹽水溶液	順鉑/依託泊苷	卡鉑/紫杉醇	培美曲塞/順鉑 ^b	培美曲塞/卡鉑 ^b	放射
劑量配方： ^c	稀釋後用於輸注的500 mg小瓶溶液，50 mg/mL	注射用0.9% (w/v) 氯化鈉無菌溶液	本地提供	本地提供	本地提供	本地提供	本地提供
投與途徑	IV ^e	IV ^e	IV ^e	IV ^e	IV ^e	IV ^e	體外放射
給藥說明： ^d	1500 mg IV q4w ^f	鹽水體積 匹配度 伐魯單 抗體積	第1天和第8天 順鉑50 mg/m ² 第1-5天依託泊 苷50 mg/m ² ， q28天 × 2個週 期 + 1個視需 要的額外誘導 週期 同步胸部 放療	第1天卡鉑AUC 2和紫杉 醇40-50 mg/m ² ，每週一 次，持續6週-同時胸部 放療 視需要：紫杉醇175-200 mg/m ² 和卡鉑AUC 5-6 q 21天，作為 放療開始前的1個誘導週期或 作為放療完成後的1-2個鞏固 週期給予	在每個21天 週期的第1 天培美曲塞 500 mg/m ² 和順鉑 75 mg/m ² ， 持續3個週 期 + 1個視 需要的額外 誘導週期	在每個21 天週期的 第1天培美 曲塞 500 mg/m ² 和卡鉑 AUC 5，持 續4個週期	5次/週，持 續約6週 (± 3天) (總計60 Gy)
包裝和標籤	在500 mg小瓶 中提供，按照 GMP附錄13和 國家法規要求 標注 ^g	由研究 中心本 地提供	由研究中心本 地提供	由研究中心本地提供	由研究中心 本地提供	由研究中 心本地 提供	由研究中 心本地 提供

	度伐魯單抗	安慰劑	標準護理 ^a				
提供商	阿斯利康公司 (AstraZeneca)	由研究中心本地提供 ^g	由研究中心本地提供 ^g	由研究中心本地提供 ^g	由研究中心本地提供 ^g	由研究中心本地提供 ^g	由研究中心本地提供

【0094】 患者還將每四週經由靜脈輸注同時接受度伐魯單抗 1500 mg 或安慰劑與 SoC CRT（即，從第 1 週期第 1 天[± 3 天]開始）。在完成 SoC CRT 後的第 16 週腫瘤評價時具有完全反應（CR）、部分反應（PR）或穩定疾病（SD）的患者將繼續接受度伐魯單抗/安慰劑作為鞏固治療（1500 mg q4w IV）。在完成 SoC CRT 後的第 16 週腫瘤評價時具有 RECIST 1.1 定義的放射學進行性疾病的患者將繼續進行跟蹤。基於 75 kg 的平均體重，1500 mg 的度伐魯單抗 q4w 的固定劑量相當於 20 mg/kg q4w。

【0095】 本研究之主要目的係評估度伐魯單抗 + SoC CRT 與安慰劑+ SoC CRT 相比在根據實性瘤 1.1 版（RECIST 1.1）中的反應評價標準的無進展生存期方面的功效，如藉由盲態獨立中心審查（BICR）所評估。關鍵次要終點（即，被包括在多個測試過程中的那些）係藉由 BICR 評估的根據 RECIST 1.1 的客觀反應率、總生存期、和在隨機化後 24 個月時存活的患者比例（OS24）。

實例2：在展示放療的免疫學後果的同系鼠腫瘤模型中的基因表現

【0096】 材料和方法

【0097】 *鼠腫瘤模型*。在無特定病原體的條件下將小鼠圈養在 Tecniplast 1284 IVC 籠中，該籠最多容納 6 隻動物並帶有 aspenchips-2 墊料、sizzlenest 築巢材料和紙板通道。將小鼠以 12/12 光/暗循環圈養，並給予過濾水並隨意餵食 Teklad Global 19%蛋白質擠出齧齒動物飲食。

【0098】 將 CT26 結腸腺癌細胞系（2011 年購自美國典型培養物保藏中心（ATCC））在補充有 10%（v/v）胎牛血清和 1%（v/v）L-麩醯胺酸（體內基因公司（Invivogen））的達爾伯克氏改良伊格爾培養基中培養。將細胞傳代不超過 3 個月，並定期篩選以證實沒有支原體（*mycoplasma*）感染（PlasmoTest，英國生物生命科學資源公司（Source BioScience LifeSciences, U.K.））。將 1×10^5 個 CT26 細胞皮下（s.c.）注射到 Balb/c 小鼠（英國哈蘭實驗室（Harlan Laboratories,

U.K.)) 的背部，距離尾巴根部 1 cm。用卡尺測量腫瘤體積，即長 × 寬 × 深，以 mm³ 為單位，並且每天監測重量。

【0099】 腫瘤療法。當腫瘤達到 100-200 mm³時遞送局部放射。將小鼠限制在鉛護罩中，僅暴露腫瘤以允許局部暴露於使用 12 mA 和 2 Gy/min 劑量率的 250 kV x-射線 (MXR-320/36 x-射線管，瑞士彗星公司 (Comet AG, Switzerland)) 的 7 Gy 單劑量的 IR。在輻照後 1、3 和 7 天將小鼠與時間匹配的未治療對照一起處死。收穫腫瘤並新鮮用於流式細胞分析技術分析，其中將來自每個腫瘤的至少 20 mg 組織速凍用於基因微陣列分析。對於組合研究，小鼠接受 RT，然後接受 10 mg/kg αPD-L1 單株抗體 (mAb) (植株 10F.9G2，英國百進生技公司 (Biolegend, U.K.))，3qw 給藥 1 週並在 RT 的第 1 天開始。當腫瘤達到 1000 mm³ 體積時處死小鼠，或在療法後 100 天處死長期存活 (LTS) 的小鼠。流式細胞分析技術表型研究和組合研究代表兩個獨立的實驗。

【0100】 外顯子微陣列分析。對於微陣列評估，在每個時間點對來自每個治療組的 5 個不同腫瘤取樣進行單一研究。使用 RNASTat 60 (英國阿姆斯特比奧公司 (Amsbio, U.K.)) 進行新鮮冷凍的 RNA 提取，並使用 2100 生物分析儀 (英國安捷倫公司 (Agilent, U.K.)) 進行總 RNA 的品質控制測試。使用 Ovation Pico WTA 系統 v2 (荷蘭努根科技公司 (NuGEN Technologies, Netherlands)) 擴增樣本。在 QC 測試後，使用 Encore 生物素模組 (荷蘭努根科技公司) 將 cDNA 片段化並標記，然後根據用於 Affymetrix GeneChip® 陣列的努根指南將其與小鼠外顯子陣列雜交。使用小鼠外顯子 1.0 ST 陣列 (英國昂飛公司 (Affymetrix, U.K.)) 進行微陣列分析。所有微陣列數據已被存入 GEO (登錄號 GSE74875)。

【0101】 數據分析。原始微陣列數據經歷了對核心轉錄物探針進行預處理/標準化的穩健多晶片演算法 (RMA) (Bolstad 等人, *Bioinformatics* [生物資訊學] 19(2): 185-93 (2003))。然後進行品質控制，排除數據完整性評估後的三個異常

值（一個來自第 1 天的每個治療組，一個來自第 3 天的放射治療組）。去除 Affy AFX 對照轉錄物以及非資訊轉錄物（ \log_2 表現閾值 < 3.6473 並且方差閾值 < 0.0088 ）。8500 個可靠檢測的轉錄物 Id（Affymetrix 轉錄物聚類 Id）仍待分析。

【0102】在每個時間點對治療組（未治療對輻照）進行比較，並使用 0.05 的截止 p 值（ANOVA）鑒定差異表現的轉錄物 Id（上調或下調）。對於未治療的腫瘤組計算每個時間點每個轉錄物 Id 的中值 \log_2 強度值，然後從在它們的等同時間點的治療樣本中減去，得到每個時間點的對照標準化轉錄物表現強度。分層聚類分析（HCA）；進行非標準化、連鎖 = Ward 和距離 = 非中心相關（Omicsoft ArrayStudio）以將每個樣本的對照標準化轉錄物表現數據和轉錄物 Id 聚類。將途徑分類的差異調節的基因集數據在每個時間點繪製為氣泡圖（MatLab），其中氣泡的顏色指示基因調節的方向。氣泡的大小表示每個途徑的表現值的絕對倍數變化。使用 BioMart（小家鼠基因 GRCm38.p2）和 IDconverter 將小鼠基因注釋分配給轉錄物 Id（Alibes 等人, *BMC Bioinformatics* [BMC 生物資訊學] 8:9. doi: 10.1186/1471-2105-8-9 (2007)）。使用 Ingenuity 途徑分析（IPA，Ingenuity®系統）進行功能富集和網路分析。上調或下調至少 1.5 倍的轉錄物被映射到途徑和上游調節子。用 g:Profiler 中的 g:GOST 函數進行基因本體富集分析（Reimand 等人, (2011 更新), *Nucleic Acids Res.* [核酸研究] 39(Web 伺服器出版):W307-15. doi: 10.1093/nar/gkr378 (2011)）。

【0103】*流式細胞分析技術*。將腫瘤切成 1 mm^3 片，並在 PBS 中的 2 U/mL DNase（英國西格瑪公司（Sigma, U.K.））、300 CDU/mL 膠原酶 I（英國生命科技公司（Life Technologies, U.K.））和 0.9 mg/mL 分散酶 II（英國西格瑪公司）中在 37°C 下溫育 40 分鐘，並用 FACS 緩衝液（具有 10% FCS 的 PBS）推動通過 $100\ \mu\text{m}$ 細胞過濾器。CD4、CD8（英國碧迪生物科學公司（BD Biosciences, U.K.））、CD11b、CD11c、CD45、CD69、CD86、CD206（英國百進生技公司

(Biolegend, U.K.))、MHC-II、F4/80、Gr1、NKp46、B220、PD-1 和 CTLA-4 (除非另有說明，否則均來自英國電子生物科學公司 (eBiosciences, U.K.)) 的表現在與 CD16/CD32 Fc 阻斷抗體 (英國生命科技公司) 一起孵育後藉由流式細胞分析技術進行分析。包括活力染色 (英國生命科技公司) 以排除死細胞。使用小鼠調節性 T 細胞染色套組 (kit) #3 (英國電子生物科學公司) 分析調節性 T 細胞。

【0104】 統計分析。使用曼-惠特尼檢定比較兩組之間的流式細胞分析技術數據和腫瘤體積。如上所述評估基因表現譜數據。對生存期數據進行對數秩 Mantel-Cox 測試。如果 $P < 0.05$ ，則認為數據顯著不同。

【0105】 RT 導致先天和適應性免疫的活化。攜帶已形成的 CT26 腫瘤的免疫活性 Balb/c 小鼠接受單次 7 Gy 劑量的 RT 並且在治療後 1、3 和 7 天切除腫瘤 (圖 2A 和圖 2C) 用於外顯子微陣列分析以鑒定早期轉錄變化。將輻照腫瘤的轉錄組與未治療 (NT) 時間匹配對照的轉錄組進行比較，導致鑒定出對於該等時間點中的至少一個時間點顯著差異表現 (上調或下調) 的 757 個基因 (± 1.5 倍變化，並且 $p \leq 0.05$) (表 2)。除了預期的 p53 活化途徑 (放射依賴性 DNA 損傷和細胞死亡) 之外，對數據的 IPA 功能富集分析強調了對先天和適應性免疫功能的強烈偏倚。該等包括抗原呈遞、T 細胞活化和細胞毒性以及趨化因子產生 (圖 2B 和圖 3，以及表 3 和表 4)。值得注意的是，差異調節基因的數目從第 1 天到第 7 天明顯增加 (表 2)。

【0106】 [表 2] :在不同時間點滿足截止閾值 ($\geq \pm 1.5$ 倍變化並且 $p \leq 0.05$ ，ANOVA) 的上調或下調基因的數目。

	第1天	第3天	第7天
≥ 1.5 倍變化	205	275	503
≤ -1.5 倍變化	185	242	205

每日差異調節基因 總數	390	517	708
----------------	-----	-----	-----

【0107】 [表 3]：在 7 Gy IR 後 CT26 腫瘤中在三個時間點（第 1、3 和 7 天）與差異表現基因（倍數變化 = +/- 1.5 並且 $p \leq 0.05$ ）相關的關鍵主要免疫途徑（藉由 IPA 軟體分析）。*在多個時間點涉及的途徑。突出顯示了具有最顯著 p 值的前 10 個中存在的非疾病相關免疫途徑。

	途徑	小鼠基因	-log(p值)
第1天	抗原呈遞途徑	Psmb9、Ifng、H2-Q4、H2-Aa、Psmb8、Cd74、Tap1、H2-DMa、H2-DMb1、H2-DMb2、Tapbp、H2-Eb1	18.6
	先天和適應性免疫細胞之間的通信*	Ifng、Cd40lg、H2-Q4、Il15、Cd8a、Cd8b1、Cxcl10、Ccl4、Ccl3、Il1b、Tnf、H2-Eb1	14.4
	樹突細胞成熟*	Cd40lg、H2-Q4、Il15、H2-Aa、H2-Ab1、H2-DMa、H2-DMb1、H2-DMb2、Il1b、Stat2、Stat1、Tnf、H2-Eb1、Fcgr4	9.36
	輔助性T細胞分化	Ifng、Cd40lg、H2-DMa、H2-DMb1、H2-DMb2、H2-Aa、H2-Ab1、Stat1、Tnf、H2-Eb1	9.11
第3天	顆粒性白血球黏附和血球滲出*	Il1a、VCAM1、Cxcl11、Ppbbp、Il1rl1、Cxcl12、Ccl17、Mmp13、Ccl5、Cldn6、Cxcl10、Cxcl16、Cxcl3、Ccl4、Il1rn、Ccl3、Ccl2、Cxcl14、Cxcl1、Ccl7	11.9
	無顆粒性白血球黏附和血球滲出*	Il1a、Vcam1、Cxcl11、Ppbbp、Cxcl12、Ccl17、Mmp13、Ccl5、Cldn6、Cxcl10、Cxcl16、Cxcl3、Ccl4、Il1rn、Ccl3、Ccl2、Cxcl14、Cxcl1、Ccl7	10.5
	先天和適應性免疫細胞之間的通信*	Cxcl10、Il1a、Ccl4、Cd80、Il1rn、Ccl3、Il15、Ccl5、Tlr3、H2-Eb1	8.5

	樹突細胞成熟*	Il1a、Il15、H2-Aa、Col10a1、H2-Ab1、Cd80、H2-DMa、Il1rn、Pik3cg、H2-DMb1、H2-DMb2、Stat2、Tlr3、Stat1、H2-Eb1、Col3a1	7.63
第7天	顆粒性白血球黏附和血球滲出*	Sell、Sele、Cxcl11、Cxcl12、Thy1、Mmp2、Ccl5、Ccl11、Cldn6、Itgal、Ccl9、Selplg、Il1r2、Cxcl10、Ccl4、Selp、Il1rn、Ccl3、Ccl2、Tnf、Ccl6、Ccl7、Mmp19、Itga4	11.9
	先天和適應性免疫細胞之間的通信*	Ifng、Il15、Ccl5、Cd8a、Tlr9、Cd8b1、Ccl9、Cxcl10、Cd28、Ccl4、Il1rn、Ccl3、Tlr3、Tnf	8.98
	無顆粒性白血球黏附和血球滲出*	Sell、Sele、Cxcl11、Cxcl12、Mmp2、Ccl5、Ccl11、Cldn6、Ccl9、Selplg、Cxcl10、Ccl4、Selp、Il1rn、Ccl3、Ccl2、Tnf、Ccl6、Ccl7、Mmp19、Itga4	8.92
	T細胞受體傳訊	Camk4、Prkcq、Cd3e、Cd8a、Cd8b1、Cd3d、Ctla4、Ptprc、Cd28、Cd3g、Lck、Txk、Card11、Grap2、Lat、Itk	8.54
	模式識別受體在細菌和病毒識別中的作用	Ifng、Oas1a、Oas1g、Prkcq、C3、Oas2、Ccl5、Oas3、Tlr9、Ifih1、Irf7、Ddx58、Casp1、Prkch、Eif2ak2、Tlr3、Tnf	7.24
	樹突狀細胞與自然殺傷細胞之間的串擾	Ifng、Cd28、Prf1、Klrd1、Il15、Cd226、Ltb、Tnfsf10、Tlr3、Tlr9、Tnf、Itgal	6.68
	干擾素傳訊	Ifit3、Ifng、Oas1a、Oas1g、Ifi35、Stat2、Irf9、Psm8、Stat1	6.33

【0108】 [表 4]：將來自熱圖（圖 2）的每個聚類（A-E）中的關鍵基因分類為具有免疫或放射調節關聯的功能組。示出了在每個時間點（放射治療的與未

治療的腫瘤相比)的基因表現倍數變化，顯著性 p 值用星號顯示 ($p \leq 0.05$ * ; $p \leq 0.01$ ** ; $p \leq 0.005$ ***)。功能分類由 Nanostring nCounter 小鼠 PanCancer 免疫譜分析組和作者的知識指導。

	基因名稱	聚類	第1天 (倍數變化)	第3天 (倍數變化)	第7天 (倍數變化)
T細胞和細胞毒性	Cd3d	A	1.84	-2.47**	3.97***
	Cd3g	A	1.37	-1.94	3.35***
	Cd3e	A	1.46	-1.72	3.09***
	Cd8a	A	2.16*	-1.69	3.38***
	Cd28	A	-1.05	-1.24	3.39***
	Pdcd1 (Pd1)	A	-1.05	-1.25	1.95***
	Ctla4	A	1.07	-1.09	2.54***
	Icos	A	1.03	-1.17	1.78***
	Lag3	A	1.01	1.04	2.24***
	Entpd1 (Cd39)	A	1.38	-1.09	1.63***
	Havcr2 (Tim3)	A	-1.05	1.04	2.54***
	Ifng	A	1.67**	1.24	1.99***
	Il15	B	1.61***	2.65***	2.14***
	Tnfsf9 (Cd137)	B	1.15	1.5*	1.12
	Cd274 (Pd-11)	C	2.41	2.29***	2.11***
	Tnf	C	1.53*	1.1	1.71**
	Sell (Cd621)	C	1.48	1.39	-1.6**
	Cd40lg	C	1.7**	-1.17	-1.47
	Gzmb	C	2.58*	3.75***	4.04***
	先天免疫反應	Tlr9	A	1.24	1.16
C2		A	1.32	1.1	1.84***
Stat4		A	1.05	-1.36	2.25***
Tlr3		B	1.21	2.21***	2.24***
Nos2		B	1.46	1.82***	1.79***
Cfb		B	1.35	1.44	2.66***

	Irf7	B	1.27	2.77***	4.39***
	Irf9	B	1.22	1.39	1.71***
	Mx1	B	1.53	3.68***	5.41***
	Oas1a/Oas1g	B	1.42	1.92***	2.82***
	Oas2	B	1.27	2.15**	2.54***
	Irf1	C	2.14***	1.41	1.49
	Stat1	C	2.08***	1.61*	1.85***
	Stat2	C	1.64*	2.05***	2.38***
	C3	C	1.98***	1.42	2.24***
	C1ra	C	1.37	1.48	1.87***
	C1rb	C	1.37	1.48	1.87***
	Cd74	D	2.21**	-2.02**	-1.19
	Retnla	D	-1.55	-6.93***	2.54
	Mrc1	E	-1.34	-1.89***	-1.41
	Cd163	E	-1.58**	-1.96***	1.09
放射依賴 性DNA損 傷修復和 細胞死亡	Tnfsf10 (Trail)	A	1.22	1.62*	1.63***
	Casp4	B	1.54***	2.09***	1.85***
	Parp11	B	1.24	1.79***	2.01***
	Cdkn1a	C	1.46	1.7***	1.24
	Fas	C	1.8***	1.52*	1.31
	Parp14	C	1.53	1.8*	2.51***
	Parp12	C	1.32	1.76**	2.06***
	Parp9	C	1.44	1.72***	1.97***
	Brca1	E	-1.07	-1.2	-1.59***
	Brca2	E	-1.04	-1.18	-1.59***
	Ercc1	E	-1.02	-1.13	-1.77***
	Lig4	E	-1.83*	-1.59	-1.33
	Pola1	E	-1.09	-1.32	-1.56***
	Gadd45a	E	-2.13***	-1.53*	-1.2
	Parppp	E	1.33	-1.11	-1.56*
Hist1h4h	E	-1.87***	-1.81***	-1.35	

	Hist2h4	E	-1.72*	-1.83**	-1.06
抗原呈遞 和B細胞	Cd80	B	1.26	1.87***	1.37
	Psmb8	C	1.84***	1.4	1.52*
	Psmb9	C	2.03***	1.43	1.4
	Psmb10	C	1.59*	1.55*	1.51*
	Tap1	C	1.85***	1.37	1.48
	Tapbp	C	1.51**	1.6***	1.6***
	H2-DMA	D	1.6**	-1.54**	-1.05
	H2-DMb1	D	1.61*	-1.9***	-1.24
	H2-DMb2	D	1.61*	-1.9***	-1.24
	H2-Aa	D	1.95*	-2.28***	1.02
	H2-Ab1	D	1.66*	-1.72*	1.01
	H2-Eb1	D	2.08*	-2.43***	-1.02
	Prkcb	D	-1.26	-2.48***	1.32
	Cd24a	D	1.02	-2.32*	1.31
	Cd93	D	-1.03	-1.73***	-1.13
	Cd38	D	1.59**	-1.09	1.26
	Cd209d	D	-1.18	-2.02***	1.12
Cd209c	D	-1.08	-1.96***	-1.04	
趨化因子	Cxcl10	B	2.12*	3.04***	2.58***
	Ccl2	B	1.38	1.9***	1.51**
	Ccl5	B	1.44	1.75*	4.17***
	Ccl6	B	1.08	1.33	1.51*
	Ccl7	B	1.25	1.63**	1.97***
	Cxcl1	C	2.58***	2.41***	1.26
	Cxcl2	C	1.59	3.63***	1.15
	Cxcl11	C	2.7**	3.1***	2.72***
	Ccl3	C	2.4**	2.28**	2.63***
	Ccl4	C	2.37***	2.48***	3.45***
	Ccl11	D	1.04	-1.29	3.24***
	Ccr2	D	1.22	-1.56*	1.3

	Cxcl9	D	4.25***	-1.02	1
	Cxcl12	D	1.38	-1.64*	1.77*
	Cxcl14	D	-1.07	-2.26***	1.38
	Cxcl16	D	1.37	-1.57***	-1.11
	Ccl17	E	-1.21	-1.56**	-1.18

【0109】在由在每個時間點顯著差異調節的最高免疫相關上游調節子構建的網路圖中，接聽模式也是明顯的（圖 3）。此外，途徑分析強調 30.8% 的上調和下調基因與免疫系統過程相關（GO：0002376），給出了用該基因集觀察到的 $4.35E-72$ 的最顯著富集 p 值，強調了在輻照後的 7 天中免疫過程的優勢。然而，僅超過 5% 的基因在所有 3 個時間點顯示出相似的行為（38 個上調/3 個下調），因此強調了在所評估的 3 個時間點的放射反應中的不同階段。

【0110】差異表現基因的詳細分級聚類分析（HCA）鑒定出 5 個聚類，每個聚類含有在不同時間點共同調節的基因（圖 2B）。當與對照腫瘤中的表現相比時，聚類 A 中的基因在第 7 天顯著上調。途徑分析證明該等基因中的絕大多數與適應性免疫細胞反應相關，包括 T 細胞受體傳訊和 CD28 傳訊。說明這一點係 *Cd3d/e/g*、*Cd8a* 和 *Cd28* 表現增加，提示 $CD3^+/CD8^+$ T 細胞的浸潤或擴增增加。*Ifny* 的上調也提示有活性抗腫瘤免疫反應的跡象。另一個上調之目的基因係 *Tnfsf10*，其編碼細胞死亡受體 TRAIL。已知放射誘導腫瘤細胞表面表現細胞死亡受體及其配位基，並且 T 細胞上 TRAIL 的上調可經由活化 TRAIL 受體幫助直接殺傷腫瘤細胞。有趣的是，觀察到的抑制性免疫檢查點諸如 *Pd-1*、*Lag3* 和 *Ctla4* 的同時表現提示該適應性免疫反應可能是短暫的。這種免疫抑制性腫瘤微環境的發展也藉由 *Cd39/Entpd1* 的上調而加強，已知其與 *Cd73* 的酶活性相關，有助於腺苷依賴性免疫細胞抑制。

【0111】第二聚類（B）不僅富集了與先天免疫相關的基因，而且富集了編碼參與免疫系統的先天和適應性組之間的通信的蛋白質的基因。在實驗過程期

間該等基因被連續上調。一些基因在第 1 天顯著上調，但大多數基因的表現從第 3 天顯著上調。這種表現模式提示先天免疫反應在早期開始，並且在單次劑量 RT 後的第一週內保持相對恒定。該聚類中的相關基因包括 *Cd80*，它係 APC 上表現的共刺激受體，以及 *IL15*，它係單核細胞和樹突細胞表現的細胞介素，作為天然殺傷細胞和 T 細胞的有效誘導物/活化物。此外，聚類 B 含有 *Nos2*（由活化巨噬細胞上的 *IFN γ* 誘導的酶）、*Cfb*（補體因子 B，其中催化亞基 Bb 可活化 C3 轉化酶以隨後活化 B 細胞）和 toll 樣受體 3（*Tlr3*）。此外，在該聚類中富集了 I 型和 II 型干擾素調節基因，包括 *Irf7*、*Irf9*、*Mx1*、*Oas1a/g* 和 *Oas2*，以及趨化因子基因 *Cxcl10*、*Ccl2/5/6* 和 7。

【0112】聚類 C 的分佈在時間點上更一致，並且在按時間響應方面可被認為係「第一基因聚類」。它包含在較早時間點（第 1 天和第 3 天）顯著上調的一大組基因，其中較小的亞組在較晚時間點（第 3 天至第 7 天）上調。先天免疫反應、放射依賴性 DNA 損傷修復和細胞死亡以及趨化因子係該聚類中的主要功能富集，但也存在與 T 細胞和細胞毒性以及抗原呈遞和 B 細胞相關的若干基因。與先天免疫相關的基因包括編碼補體的基因，諸如 *C3*、*C1ra* 和 *C1rb*，以及干擾素調節基因，包括 *Stat1*。有趣的是，在所有三個時間點的 IPA 功能富集分析中，*Stat1* 作為上游調節子係突出的（圖 3 和表 4）。趨化因子諸如 *Ccl4*（與巨噬細胞和 NK 細胞的募集相關的趨化因子）在第 1 天也強烈上調；與抗原加工相關的基因也是如此（*Psmb8/9/10*、*Tap1* 和 *Tapbp*）。放射依賴性 DNA 損傷修復和細胞死亡以及 T 細胞和細胞毒性係該聚類中的主要功能富集。值得注意並驗證的數據集係與 p53 傳訊相關的基因的表現，其與 IR 的直接作用有關。由 IR 引起的細胞應激諸如 DNA 損傷活化 p53、抑制細胞增殖並引發腫瘤細胞凋亡。例如，p53 活化誘導細胞週期進展基因 *Cdkn1a* 的抑制劑的表現（在第 3 天上調 1.7 倍， $p < 0.01$ ）。類似地，已知死亡受體 *Fas*（在第 1 天上調 1.8 倍， $p < 0.01$ ）被活化

的 p53 誘導並使細胞對表現 FAS 配位基的免疫效應細胞敏感。與適應性免疫相關的上調基因包括 *Cd40lg*（通常在活化的 CD4⁺ T 細胞上表現）；免疫檢查點蛋白 *Pd-1l* (*Cd274*)，其從第 3 天起顯著上調；以及 *Gzmb*（粒酶 B），其除了其在靶細胞殺傷中的功能之外，還參與基底膜重塑和淋巴細胞遷移，並且從第 1 天起顯著上調。

【0113】 在第 3 天顯著下調之前，聚類 D 中的基因在第 1 天瞬時上調。途徑分析表明與抗原呈遞 (*H2* 基因、*Cd74*、*Cd209d* 和 *Cd209c*) 和 B 細胞活化 (*Cd24a*) 以及趨化因子表現 (*Cxcl9* 和 *Cxcl12*) 相關的基因的富集。到第 7 天，抗原呈遞和 B 細胞相關基因中沒有一個被顯著差異地調節，這提示效應級聯進一步沿免疫功能途徑向下發展。

【0114】 最後鑒定的聚類（聚類 E）係最大的聚類，含有 180 個基因。放射依賴性 DNA 損傷修復係關鍵的功能富集，某些基因早在第 1 天就明顯下調（第 1 天 *Lig4*；第 1 天和第 3 天 *Gadd45a* 或第 7 天 *Brca1*、*Brca2*、*Ercc1*、*Polal* 和 *Parbp*）。該數據支持先前的研究，該等研究揭示了在輻照後 24 小時內 DNA 的快速修復。最後，鑒定出膽固醇生物合成下調與放射之間的強關聯。

【0115】 總之，轉錄組學分析證實對 CT26 腫瘤的單劑量放射觸發 p53 依賴性細胞死亡。觸發細胞死亡可能是在輻照腫瘤中引發先天和適應性免疫反應的限速步驟。實際上，基因表現譜提示 RT 誘導的腫瘤細胞死亡導致先天免疫的募集和活化（IFN α 表現、抗原加工/呈遞、巨噬細胞募集和樹突細胞成熟），隨後活化適應性免疫反應（IFN γ 傳訊、T 細胞毒性、T 細胞受體傳訊和 B 細胞活化）。然而，對於任何生理系統，如藉由若干免疫抑制分子的表現增加所證明的，這種生物免疫反應預計係短暫的。

【0116】 為了驗證基因微陣列數據並進一步研究在蛋白質水平上 IR 後免疫組分的表型變化，藉由流式細胞分析技術平行分析相同的組織。顯示來自匹配

腫瘤組織的譜系和表型標誌物的倍數變化的熱圖總結於圖 7 中。

【0117】 RT 改變腫瘤浸潤性骨髓細胞群體的表型。 巨噬細胞顯示高度的譜系可塑性，然而腫瘤相關巨噬細胞 (TAM) 在許多癌症類型中主要偏向 M2 表型。M2 細胞表現 CD206 (也稱為甘露糖受體或 MRC1)，係不良的 APC，並且可藉由釋放促血管生成和免疫抑制因子而促進免疫逃逸和疾病進展。相比之下，M1 分化的巨噬細胞共表現共刺激分子諸如 CD86，從而能夠有效活化淋巴細胞。分析了 RT 治療的和時間匹配的 NT 對照腫瘤中 TAM 的頻率和分化狀態。雖然 F4/80⁺ TAM 的總數在 RT 後沒有顯著改變 (圖 4A)，但調節了 CD86 和 CD206 的表現。在 RT 七天後，相對於 NT 時間匹配的對照，F4/80⁺ 細胞具有降低的 CD86 表現 (NT 組的 MFI 為 695.0 ± 46.6 ，而輻照組的 MFI 為 494.7 ± 13.9 ， $P < 0.05$ ；圖 4B)。此外，在 RT 3 天後，腫瘤浸潤性 F4/80⁺ 細胞上的 CD206 表現顯著降低 (NT 中的 MFI 為 263.7 ± 23.8 ，而輻照腫瘤中的 MFI 為 99.5 ± 8.1 ， $P < 0.001$ ；圖 4C)。在 RT 後第 7 天也觀察到這種表現的降低。在轉錄組學分析中也觀察到相似的接聽模式 (表 4)。相對於時間匹配的 NT 對照，CD86⁺ 與 CD206⁺ 陽性 F4/80⁺ 細胞的比率在第 3 天增加 (1.8 ± 0.05 NT 相對於 2.7 ± 0.12 輻照， $P < 0.01$) (圖 4D)。除了 CD86 和 CD206 表現的變化外，輻照後基因譜數據中觀察到的 *Nos2* 和 *Stat1* 表現的增加也提示巨噬細胞表型的改變 (圖 3 和表 4)。此外，還在 RT 3 天後鑒定出與 M2 樣表型相關的抵抗素樣 α (*Retnla*) 和 *Cd163* 的基因表現的降低 (分別為 6.9 倍和 2 倍) (圖 3 和表 4)。鑒於沒有發現總 TAM 數的變化，該等數據提示 RT 導致巨噬細胞向 M1 表型的瞬時極化。

【0118】 髓源性抑制細胞 (MDSC) 具有抑制抗腫瘤免疫反應的能力，因此可能影響 RT 的免疫原性。 雖然在 RT 後的任何時間點均未觀察到腫瘤浸潤性 CD11b⁺Gr1^{lo} 細胞的頻率變化 (圖 4E 和圖 8 的閘控策略)，但在 RT 治療的腫瘤中在第 3 天觀察到 CD11b⁺Gr1^{hi} 細胞 (表型定義為 MDSC) 增加 2.7 倍 (圖 4F)。

由於到第 7 天，在 NT 和 RT 治療組之間沒有觀察到 CD11b⁺Gr1^{hi} 細胞頻率的顯著差異，這種增加表現為短暫的。

【0119】 RT 導致 T 細胞活化並改變腫瘤中的 CD8:Treg 比率。儘管 RT 導致浸潤腫瘤的 CD45⁺細胞的比例總體增加（圖 9），但發現當與時間匹配的對照相比時，在 RT 3 天後 CD4⁺和 CD8⁺ T 細胞數分別減少 52%和 63%（圖 5A 和 5B）。雖然 CD4⁺ T 細胞數在治療 7 天後保持耗盡，但 CD8⁺ T 細胞數已經恢復並且在 RT 治療的腫瘤中存在強烈的擴增趨勢（ $15.9 \pm 3.0\%$ 至 $25.9 \pm 3.8\%$ 。 $P = 0.06$ ）。有趣的是，相對於時間匹配的對照（圖 5C 和圖 5D 以及圖 10A），在剩餘的腫瘤浸潤性 CD4⁺（在 RT 後第 3 天和第 7 天）和 CD8⁺（在 RT 後第 1 天和第 3 天）T 細胞上觀察到早期活化標誌物 CD69 的表現升高，提示 RT 已誘導了 T 細胞活化。

【0120】 甚至在 NT 腫瘤中，具有 Treg 表型的 CD4⁺細胞的比例從第 1 天至第 7 天增加 3.3 倍（圖 5E），表明了腫瘤微環境隨時間變化的方式。然而，時間匹配的腫瘤的比較揭示，當在治療 7 天後評估時，RT 進一步使 Treg 的頻率額外增加 32%。儘管如此，CD8:Treg 細胞比率（通常被報導與癌症中更好的預後相關）當與第 7 天 NT 對照相比時在 RT 治療的腫瘤中高 2.5 倍（圖 5F）。

【0121】 RT 導致 PD-1 和 PD-L1 在腫瘤微環境中的表現，這限制了抗腫瘤功效。基因譜數據揭示 RT 導致腫瘤中若干共抑制性免疫檢查點的表現增加。考慮到 RT 後在 mRNA 水平上觀察到的 *Pd-11* 的一致上調和第 7 天 *Pdcd1*（PD-1）的表現（圖 3 和表 4），最初的研究集中於 PD-1/PD-L1 途徑。流式細胞分析技術允許進一步瞭解 mRNA 數據的來龍去脈，並揭示了 RT 7 天後 CD4⁺和 CD8⁺ T 細胞上 PD-1 和 PD-L1 的表現增加（圖 6A 至圖 6D 和圖 10B）。此外，RT 還導致在所有測試時間點腫瘤細胞上 PD-L1 的表現增加（圖 6E）。該數據與在 mRNA 水平上觀察到的表現模式非常相似（圖 3 和表 4）。

【0122】 進行治療性研究以確定PD-1/PD-L1軸的阻斷是否會影響RT的抗腫瘤功效。小鼠接受單獨的或與 α PD-L1 mAb組合的RT（7 Gy作為單劑量）。NT佇列中的中位生存期為15.5天， α PD-L1 mAb作為單一療法3qw遞送時中位生存期未顯著改善（中位生存期 = 18天；圖6F和圖6G）。然而，當與單獨的任一單一療法相比時，當與 α PD-L1 mAb組合遞送時，RT導致生存期顯著改善，其中>70%的小鼠經歷了完全治療反應。

序列表

SEQ ID NO: 1

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFS
GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 3 - VH CDR1

GFTFSRYWMS

SEQ ID NO: 4 - VH CDR2

NIKQDGSEKYYVDSVKG

SEQ ID NO: 5 - VH CDR3

EGGWFGELAFDY

SEQ ID NO: 6 - VL CDR1

RASQRVSSSYLA

SEQ ID NO: 7 - VL CDR2

DASSRAT

C247767PA.docx

SEQ ID NO: 8 - VL CDR3

QQYGSLPWT

【符號說明】

【0123】 無

【生物材料寄存】

【0124】 無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="C247767SEQA.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0" productionDate="2022-11-
17">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>WO</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>PCTEP2022064061</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-05-24</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>B7H1-270-WO-PCT 20-1963-WO</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>63/192, 217</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2021-05-24</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">阿斯利康製藥有限公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>ASTRAZENECA AB</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="en">COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING LUNG
CANCER</InventionTitle>
  <InventionTitle languageCode="zh">用於治療肺癌之組成物及方法</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>10</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>108</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..108</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Synthetic peptide</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>合成肽</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..108</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDR
FSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGGQTKVEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>121</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..121</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q3">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..121</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q4">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGLVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q5">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

```

```
<INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q6">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFTFSRYWMS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q7">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q8">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NIKQDGSEKYYVDSVKG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q9">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

<INSDQualifier id="q10">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EGGWFGELAFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q11">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q12">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RASQRVSSSYLA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q13">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q14">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DASSRAT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 8" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q15">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Synthetic peptide</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成肽</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q16">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QQYGSLPWT</INSDSeq_sequence>
```

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 9" >
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>176</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..176</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q17">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRIFAVFIFMTYWHLNAPYNKINQRILVVDVPTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLS
GKTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPNERTHLVILGAILLCLGVALT
FIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 10" >
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>3349</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..3349</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>

```

```

<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>unassigned DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q18">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggcgcaacgctgagcagctggcgcgctcccgcgcgccccagttctgcgcgagcttcccgaggc
tccgcaccagccgcgcttctgtccgcctgcagggcattccagaaagatgaggatatttctgtcttttatattcatgacct
actggcatttctgtaacgccccatacaaaaaatcaaccaaagaattttggttgtggatccagtcacctctgaacatgaa
ctgacatgtcaggctgagggtaccccaaggccgaagtcatctggacaagcagtgaccatcaagtcctgagtggttaagac
caccaccaccaattccaagagagaggagaagcttttcaatgtgaccagcacactgagaatcaacacaacaactaatgaga
tttctactgcacttttaggagattagatcctgaggaaaaccatacagctgaattggtcatcccagaactacctctggca
catcctccaaatgaaaggactcacttggttaattctgggagccatcttattatgccttggtgtagcactgacattcatctt
ccgtttaagaaaaggagaatgatggatgtgaaaaatgtggcatccaagatacaaactcaaagaagcaaagtgatacac
atgtgaggagacgtaatccagcattggaactctgatcttcaagcagggattctcaacctgtggtttaggggttcacg
gggctgagcgtgacaagaggaaggaatgggcccgtgggatgcaggcaatgtgggacttaaaaggccaagcactgaaaat
ggaacctggcgaaagcagaggaggagaatgaagaaagatggagtcaaacagggagcctggaggggagaccttgatacttct
aaatgcctgaggggctcatcgacgcctgtgacagggagaaaggatacttctgaacaaggagcctccaagcaaatcatcca
ttgctcatcctaggaagacgggttgagaatcccataattgagggtcagttcctgcagaagtgccctttgcctccactcaa
tgcctcaatttgttttctgcatgactgagagctcagtggttgaacgggacagtatattatgtatgagtttttctattta
ttttgagctgtgaggtcttctgtcatgtgagtggttgtgaatgatttcttttgaagatatattgtagtagatgtta
caatttctgcgcaactaaacttgctgcttaatgatttgcctcacatctagtaaaacatggagttttgtaaggtgcttg
gtctctctataactacaagtatacatgggaagcataaagatcaaaccgttggttgcataggatgtcacctttatttaac
ccattaactctggttgacctaatcttattctcagacctcaagtgtctgtgcagtatctgttccatttaaatatcagct
ttacaattatgtgtagcctacacacataatctcatttcatcgctgtaaccacctgttgtgataaccactattatttta
cccatcgtagcagctgaggaagcaaacagattaagtaacttgcccaaaccagtaaatagcagacctcagactgccaccac
tgtccttttataatacaatttacagctatattttactttaagcaattcttttattcaaaaaccatttattaagtgcctt
gcaatatcaatcgctgtgccaggcattgaaatctacagatgtgagcaagacaaagtacctgtcctcaaggagctcatagta
taatgaggagattaacaagaaaatgtattattacaatttagtccagtgctatagcataaggatgatgcgaggggaaaacc
cgagcagtggtgccaagaggaggaaaataggccaatgtggctctgggacggttgatataacttaaacatcttaataatcaga
gtaattttcatttacaagagaggtcggtacttaaaaataacctggaattccttttctagcattata
tttattcctgatttgcctttgccaataatctaatgcttgtttatatagtgtctggtattgtttaacagttctgtctttt
ctatttaaatgccactaaattttaaattcatacctttccatgattcaaaattcaaaagatcccatgggagatggttggaa
aatctccacttcatctccaagccattcaagtttctttccagaagcaactgctactgcctttcattcatatgttcttct

```

aaagatagtctacatttggaaatgtatgtttaaagcacgtatTTTTTAAATTTTTTCTAAATAGTAACACATTGTATG
TCTGCTGTGTACTTTGCTATTTTTATTTATTTTAGTGTTCCTATATAGCAGATGGAATGAATTTGAAGTCCCAGGGCT
GAGGATCCATGCCTTCTTTGTTTCTAAGTTATCTTCCCATAGCTTTTCATTATCTTTCATATGATCCAGTATATGTAA
ATATGTCCTACATATAcatttagacaaccaccatttGTTAAGTATTTGCTCTAGGACAGAGTTTGGATTTGTTTATGTTT
GCTCAAAGGAGACCCATGGGCTCTCCAGGGTGCCTGAGTCAATCTAGTCTAAAAGCAATCTTATTATTAACCTGT
ATGACAGAAATCATGTCTGGAACTTTTGTTTTCTGTTTTCTGTCAAGTATAAACTTCACTTTGATGCTGTACTTGCAAAT
CACATTTCTTCTGGAAATCCGGCAGTGTACCTTGACTGCTAGCTACCCTGTGCCAGAAAAGCCTCATTGTTGTGCT
TGAACCTTGAATGCCACCAGCTGTCACTACACAGCCCTCCTAAGAGGCTTCTGGAGGTTTCGAGATTCAGATGCC
CTGGGAGATCCCAGAGTTTCTTCCCTCTTGGCCATATCTGGTGTCAATGACAAGGAGTACCTTGGCTTGGCCATG
TCAAGGCTGAAGAAACAGTGTCTCCAACAGAGCTCCTTGTGTTATCTGTTTGTACATGTGCATTTGTACAGTAATTGGTG
TGACAGTGTCTTGTGTGAATTACAGGCAAGAATTGTGGCTGAGCAAGGCACATAGTCTACTCAGTCTATTCTAAGTC
CTAACTCCTCTTGTGGTGTGGATTTGTAAGGCATTTATCCCTTTGTCTCATGTTTCATCGTAAATGGCATAGGCAG
AGATGATACCTAATCTGCATTTGATTGTCATTTTTGTACCTGCATTAATTTAATAAAATATTCTTATTTATTTGTTA
CTTGGTACACCAGCATGTCCATTTCTTGTTTATTTGTGTTTAAATAAAATGTTTCAGTTTAAACATCCCAGTGGAGAAAGT
TAAAAA</INSDSeq_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

</ST26SequenceListing>

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種延長患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的無進展生存期（PFS）之方法，該方法包括同時用抗PD-L1抗體和放化療來治療該患者。

【請求項2】 如請求項1所述之方法，其中該抗PD-L1抗體係人的。

【請求項3】 如請求項1或請求項2所述之方法，其中該放化療係基於鉑的。

【請求項4】 如請求項2或請求項3所述之方法，其中該人抗PD-L1抗體包含輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含SEQ ID NO: 1的胺基酸序列，該重鏈可變結構域包含SEQ ID NO: 2的胺基酸序列。

【請求項5】 如請求項2或請求項3所述之方法，其中該人抗PD-L1抗體包含：
具有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的VH CDR1；和
具有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的VH CDR2；和
具有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的VH CDR3；和
具有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的VL CDR1；和
具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的VL CDR2；和
具有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項6】 如請求項2或請求項3所述之方法，其中該人抗PD-L1抗體係度伐魯單抗、阿維魯單抗、阿特珠單抗或舒格利單抗。

【請求項7】 如任一項前述請求項所述之方法，其中用該抗PD-L1抗體治療包括每四週（Q4W）向該患者靜脈內投與1500 mg該抗PD-L1抗體。

【請求項8】 如任一項前述請求項所述之方法，其中該不可切除的NSCLC係III期的。

【請求項9】 如任一項前述請求項所述之方法，其中該不可切除的NSCLC係

局部晚期的。

【請求項10】如任一項前述請求項所述之方法，其中該抗PD-L1抗體在放化療的第一天投與。

【請求項11】一種增加患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的總反應率（ORR）之方法，該方法包括同時用抗PD-L1抗體和放化療來治療該患者。

【請求項12】如請求項11所述之方法，其中該抗PD-L1抗體係人的。

【請求項13】如請求項11或請求項12所述之方法，其中該放化療係基於鉑的。

【請求項14】如請求項12或請求項13所述之方法，其中該人抗PD-L1抗體包含輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含SEQ ID NO: 1的胺基酸序列，該重鏈可變結構域包含SEQ ID NO: 2的胺基酸序列。

【請求項15】如請求項12或請求項13所述之方法，其中該人抗PD-L1抗體包含：

具有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的VH CDR1；和

具有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的VH CDR2；和

具有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的VH CDR3；和

具有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的VL CDR1；和

具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的VL CDR2；和

具有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項16】如請求項12或請求項13所述之方法，其中該人抗PD-L1抗體係度伐魯單抗、阿維魯單抗、阿特珠單抗或舒格利單抗。

【請求項17】如請求項11至16中任一項所述之方法，其中用該抗PD-L1抗體治療包括每四週（Q4W）向該患者靜脈內投與1500 mg該抗PD-L1抗體。

【請求項18】如請求項11至17中任一項所述之方法，其中該不可切除的NSCLC係III期的。

【請求項19】 如請求項11至18中任一項所述之方法，其中該不可切除的NSCLC係局部晚期的。

【請求項20】 如請求項11至19中任一項所述之方法，其中該抗PD-L1抗體在放化療的第一天投與。

【請求項21】 一種治療患有III期不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者之方法，該方法包括同時用抗PD-L1抗體和放化療來治療該患者。

【請求項22】 如請求項21所述之方法，其中該抗PD-L1抗體係人的。

【請求項23】 如請求項21或請求項22所述之方法，其中該放化療係基於鉑的。

【請求項24】 如請求項22或請求項23所述之方法，其中該人抗PD-L1抗體包含輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含SEQ ID NO: 1的胺基酸序列，該重鏈可變結構域包含SEQ ID NO: 2的胺基酸序列。

【請求項25】 如請求項22或請求項23所述之方法，其中該人抗PD-L1抗體包含：

具有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的VH CDR1；和

具有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的VH CDR2；和

具有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的VH CDR3；和

具有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的VL CDR1；和

具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的VL CDR2；和

具有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項26】 如請求項22或請求項23所述之方法，其中該抗PD-L1抗體係度伐魯單抗、阿維魯單抗、阿特珠單抗或舒格利單抗。

【請求項27】 如請求項21至26中任一項所述之方法，其中用該抗PD-L1抗體治療包括每四週（Q4W）向該患者靜脈內投與1500 mg該抗PD-L1抗體。

【請求項28】 如請求項21至27中任一項所述之方法，其中該抗PD-L1抗體在

放化療的第一天投與。

【請求項29】一種同時包含抗PD-L1抗體和放化療的組合，該組合在延長患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的無進展生存期（PFS）之方法中使用。

【請求項30】一種同時包含抗PD-L1抗體和放化療的組合，該組合在增加患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的總反應率（ORR）之方法中使用。

【請求項31】一種同時包含抗PD-L1抗體和放化療的組合，該組合在治療III期不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）中使用。

【請求項32】如請求項29至31中任一項所述使用的組合，其中該抗PD-L1抗體係人的。

【請求項33】如請求項29至32中任一項所述使用的組合，其中該放化療係基於鉑的。

【請求項34】如請求項32或請求項33所述使用的組合，其中該人抗PD-L1抗體包含輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含SEQ ID NO: 1的胺基酸序列，該重鏈可變結構域包含SEQ ID NO: 2的胺基酸序列。

【請求項35】如請求項32或請求項33所述使用的組合，其中該人抗PD-L1抗體包含：

具有SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的VH CDR1；和

具有SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的VH CDR2；和

具有SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的VH CDR3；和

具有SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的VL CDR1；和

具有SEQ ID NO: 7的胺基酸序列的VL CDR2；和

具有SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項36】如請求項32至35中任一項所述使用的組合，其中該人抗PD-L1抗體係度伐魯單抗、阿維魯單抗、阿特珠單抗或舒格利單抗。

【請求項37】如請求項31至36中任一項所述使用的組合，其中用該人抗PD-L1抗體治療包括每四週（Q4W）向該患者靜脈內投與1500 mg該抗PD-L1抗體。

【請求項38】如請求項31至37中任一項所述使用的組合，其中該不可切除的NSCLC係III期的。

【請求項39】如請求項31至38中任一項所述使用的組合，其中該不可切除的NSCLC係局部晚期的。

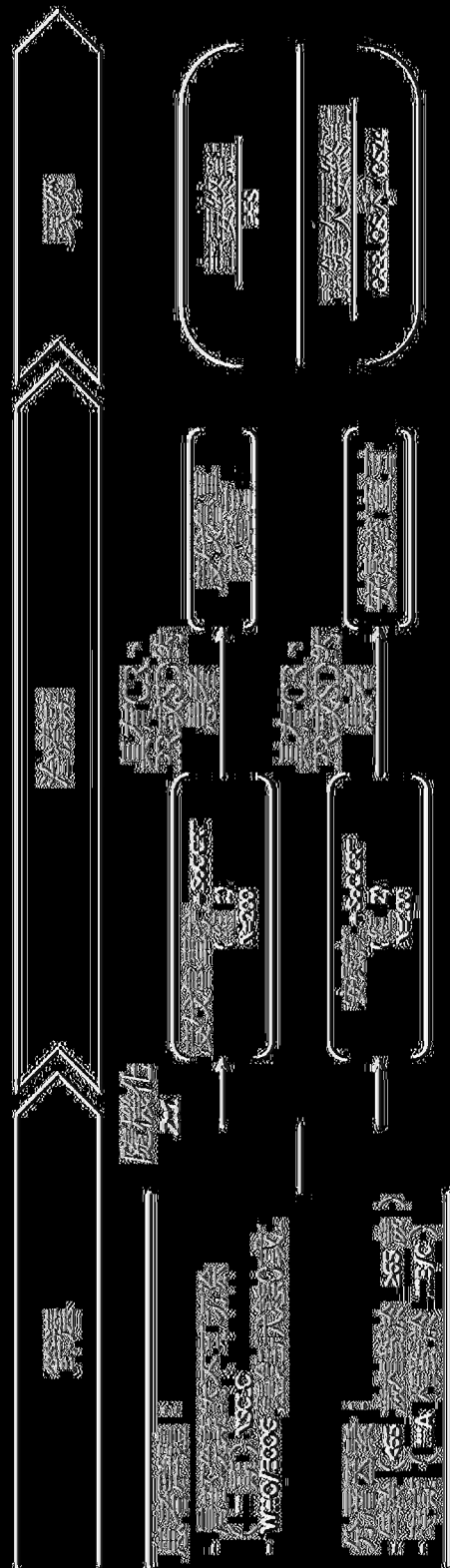
【請求項40】如請求項31至39中任一項所述使用的組合，其中該抗PD-L1抗體在放化療的第一天投與。

【請求項41】一種同時包含抗PD-L1抗體和放化療的組合在製造藥物中之用途，該藥物在延長患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的無進展生存期（PFS）之方法中使用。

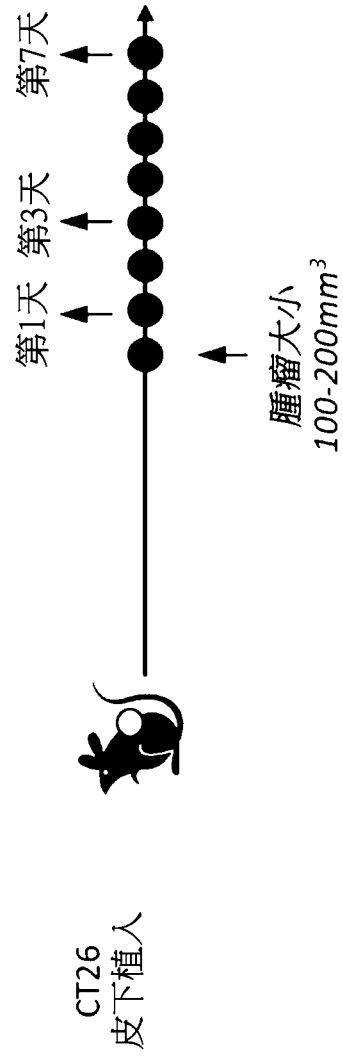
【請求項42】一種同時包含抗PD-L1抗體和放化療的組合在製造藥物中之用途，該藥物在增加患有不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）的患者的總反應率（ORR）之方法中使用。

【請求項43】一種同時包含抗PD-L1抗體和放化療的組合在製造藥物中之用途，該藥物在治療III期不可切除的非小細胞肺癌（NSCLC）中使用。

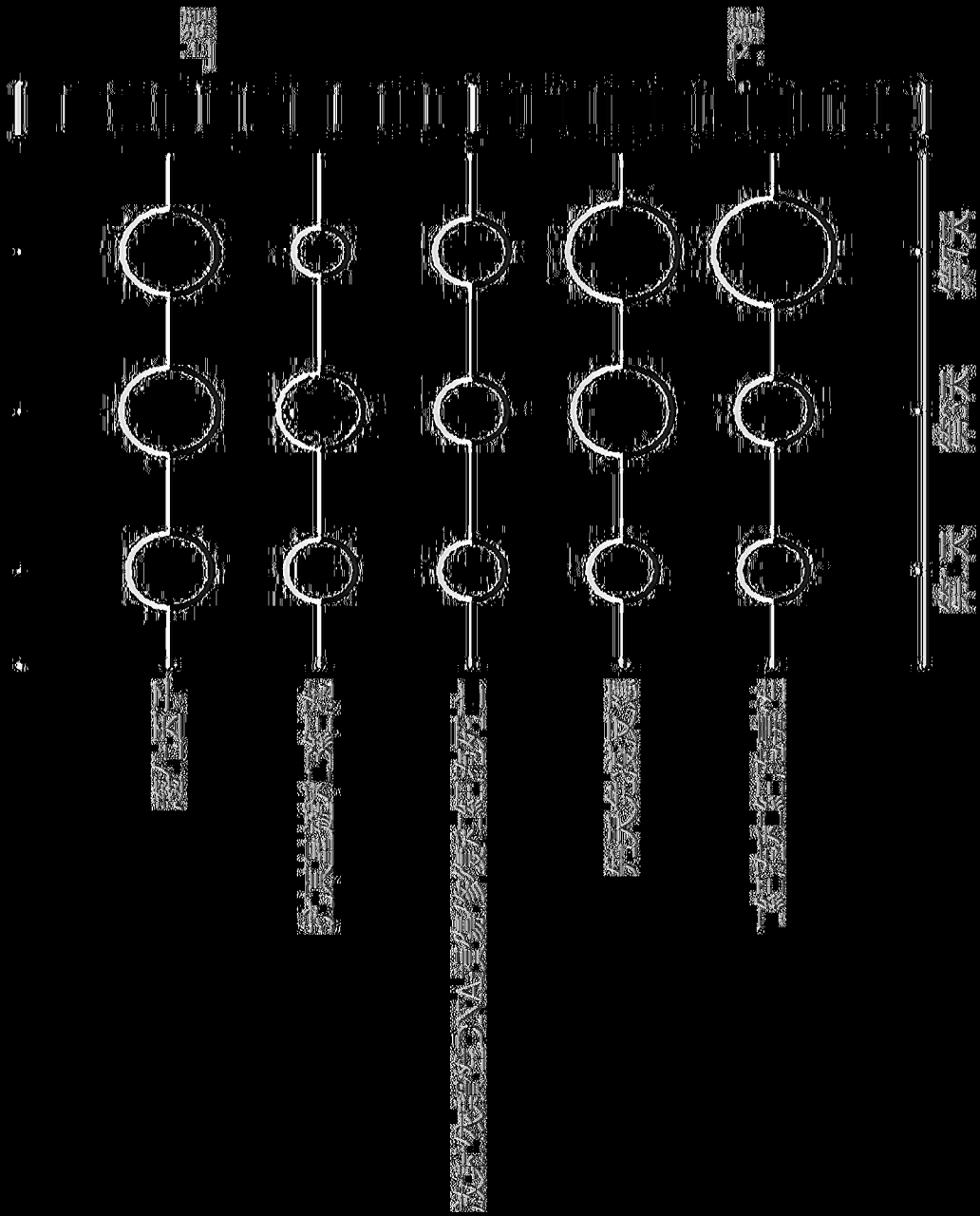
(發明圖式)



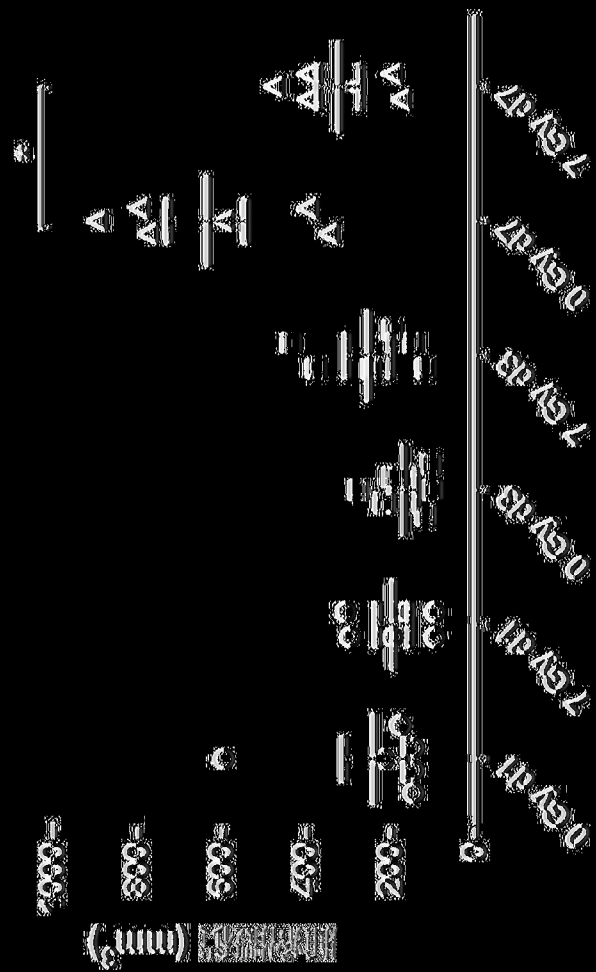
(圖 1)



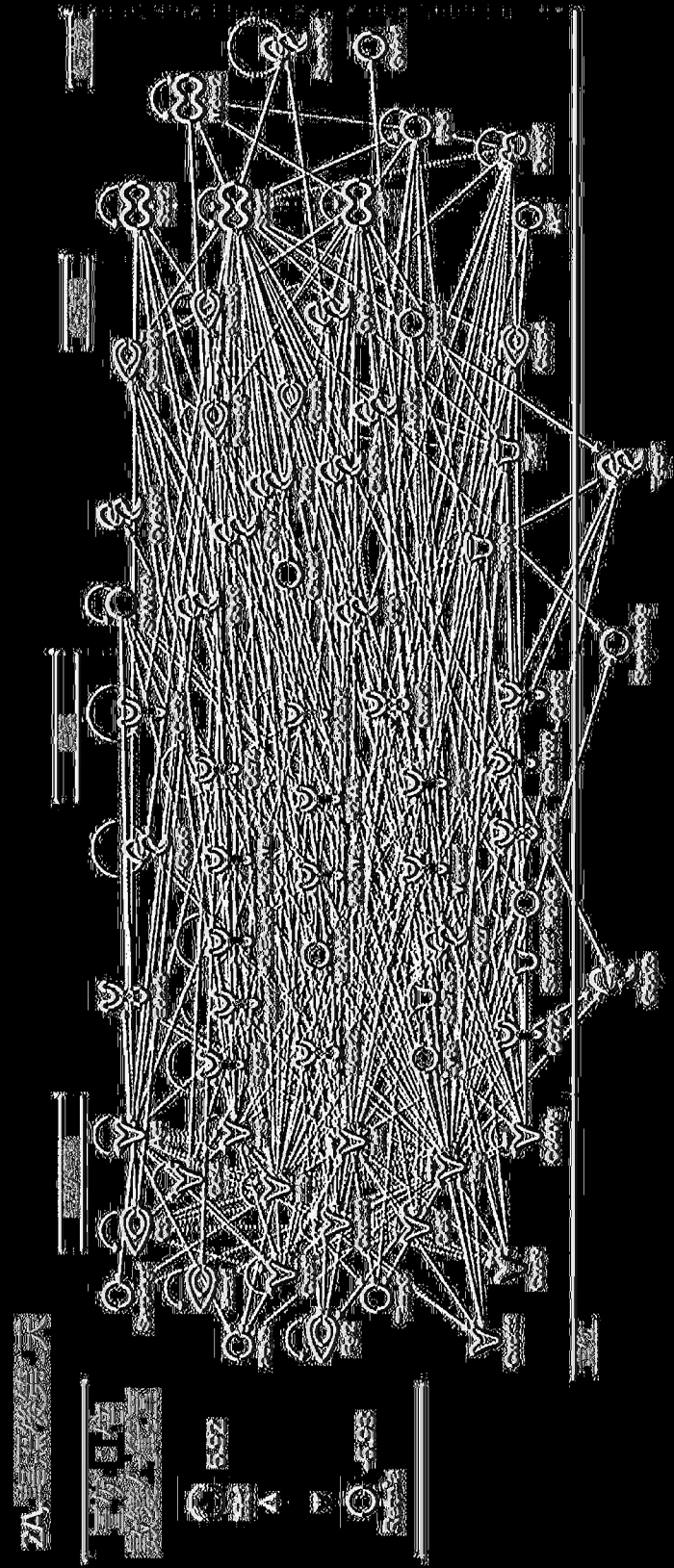
【圖2A】



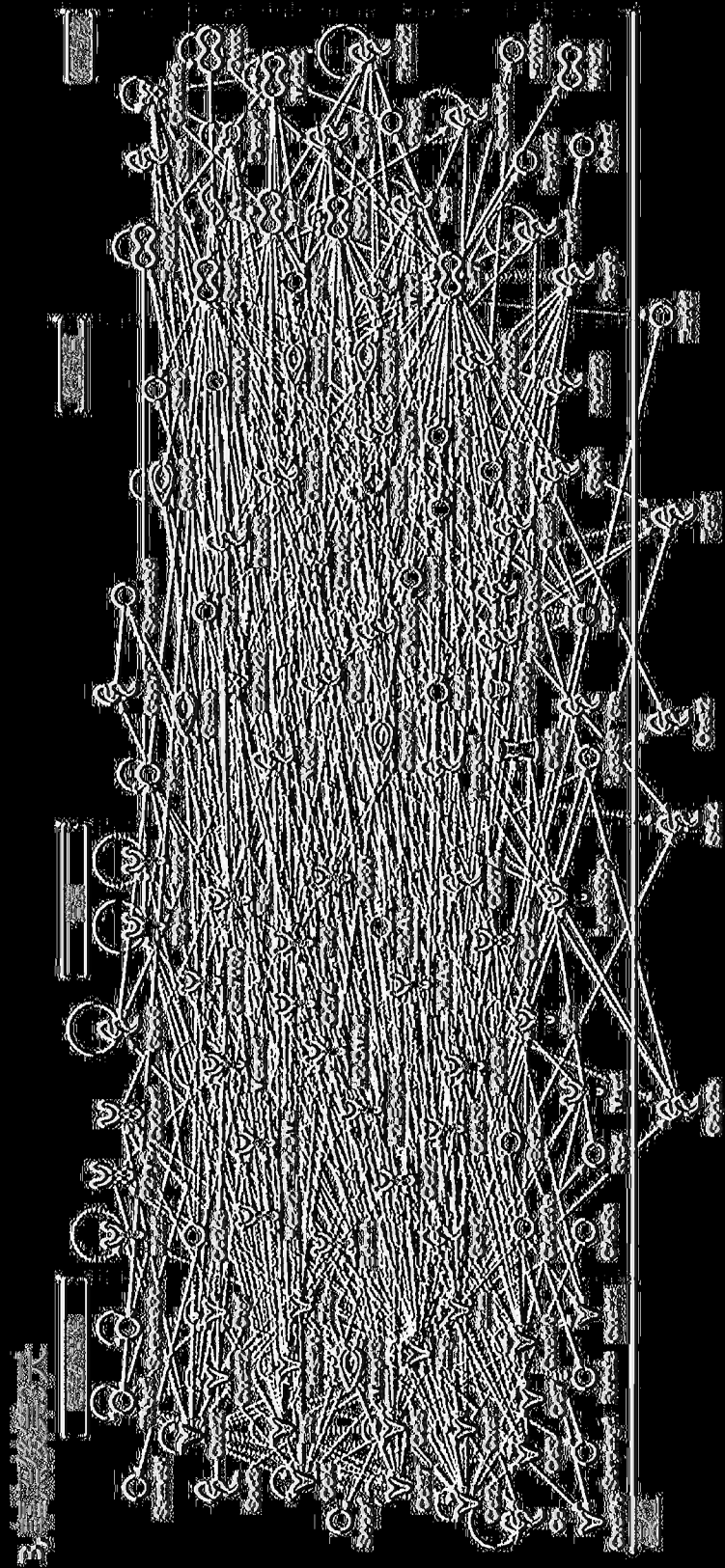
【圖23】



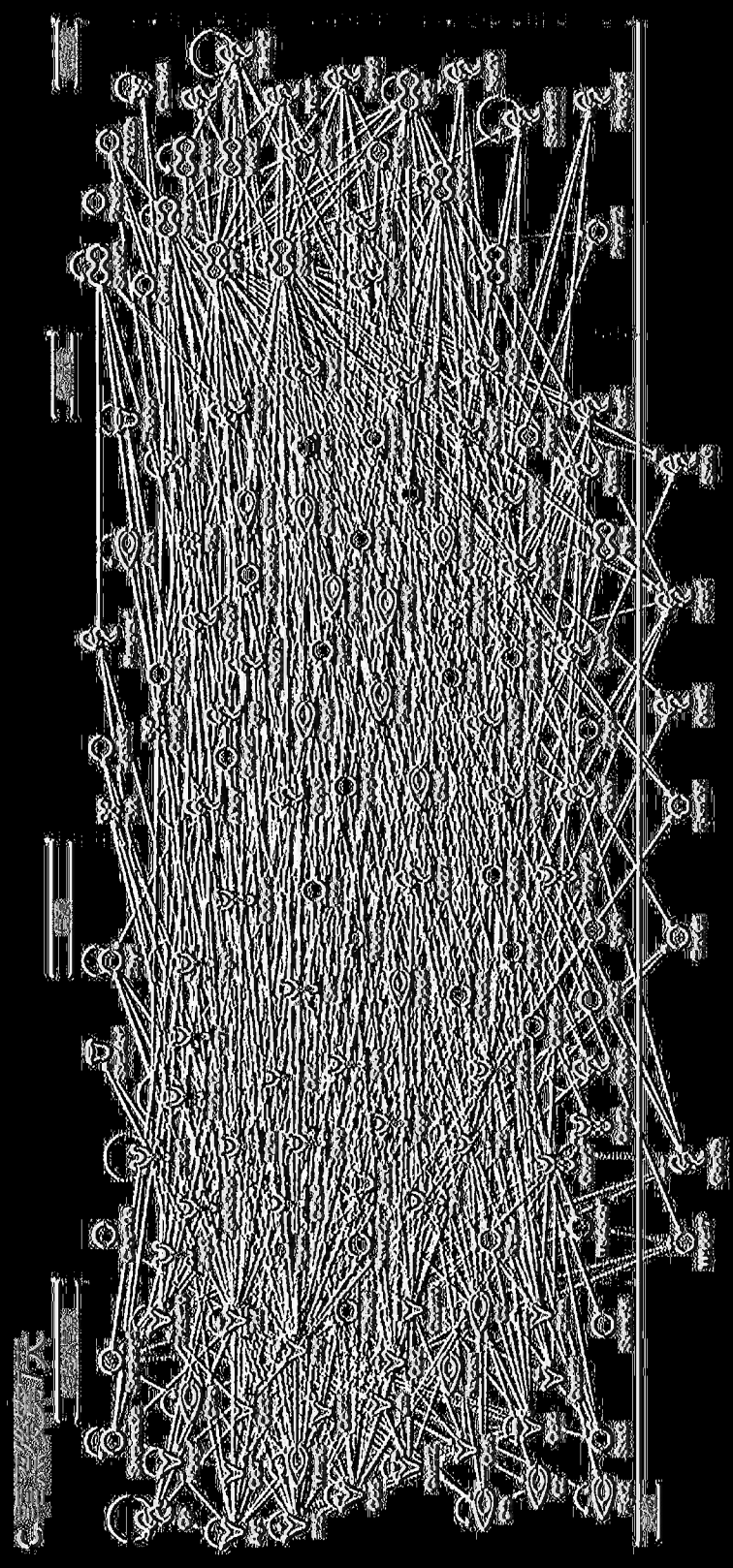
[圖20]



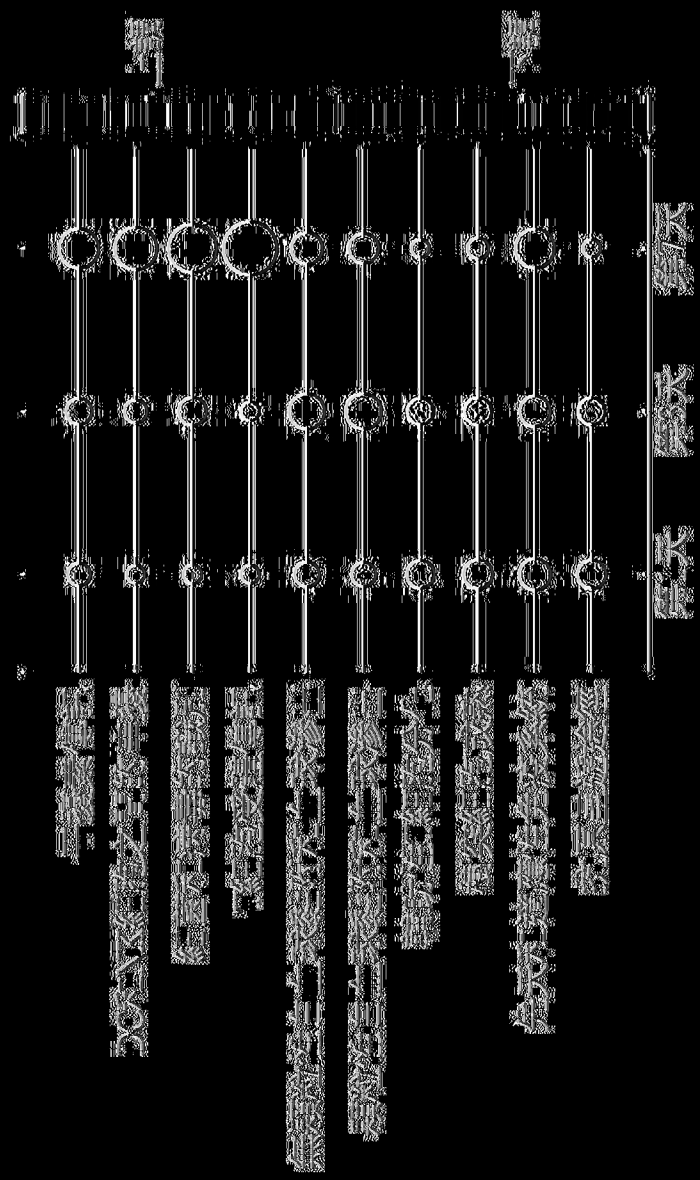
〔圖3A〕



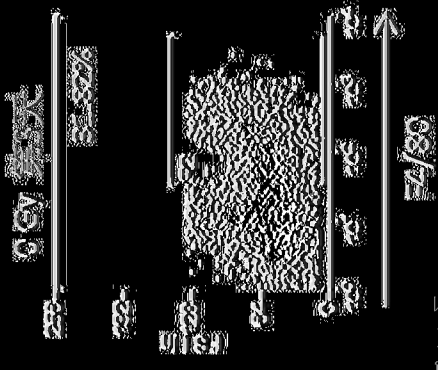
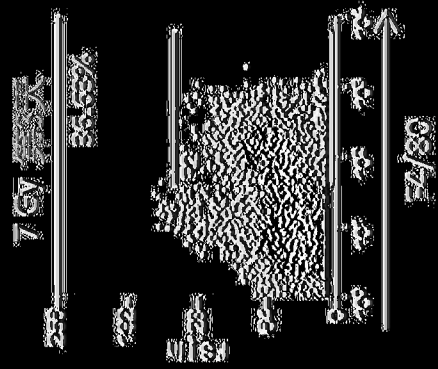
(圖33)



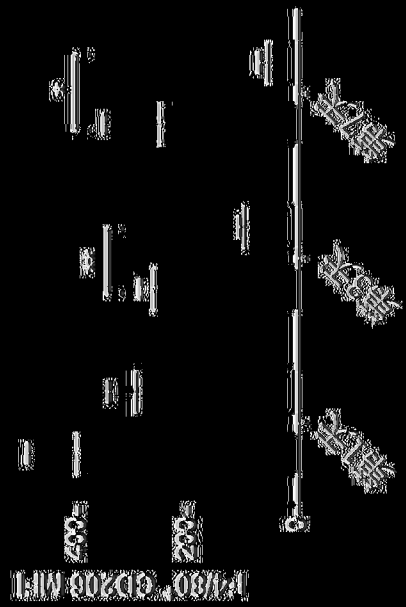
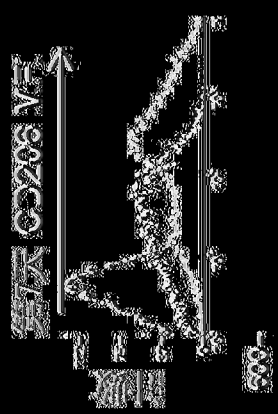
(圖30)



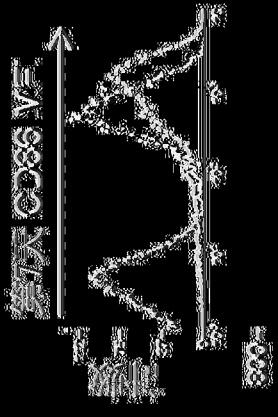
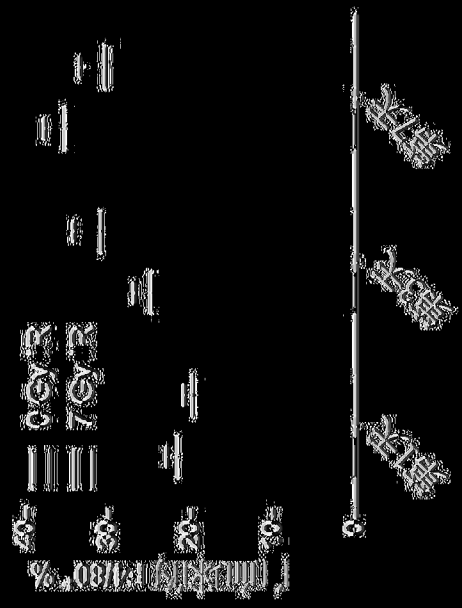
(圖3)



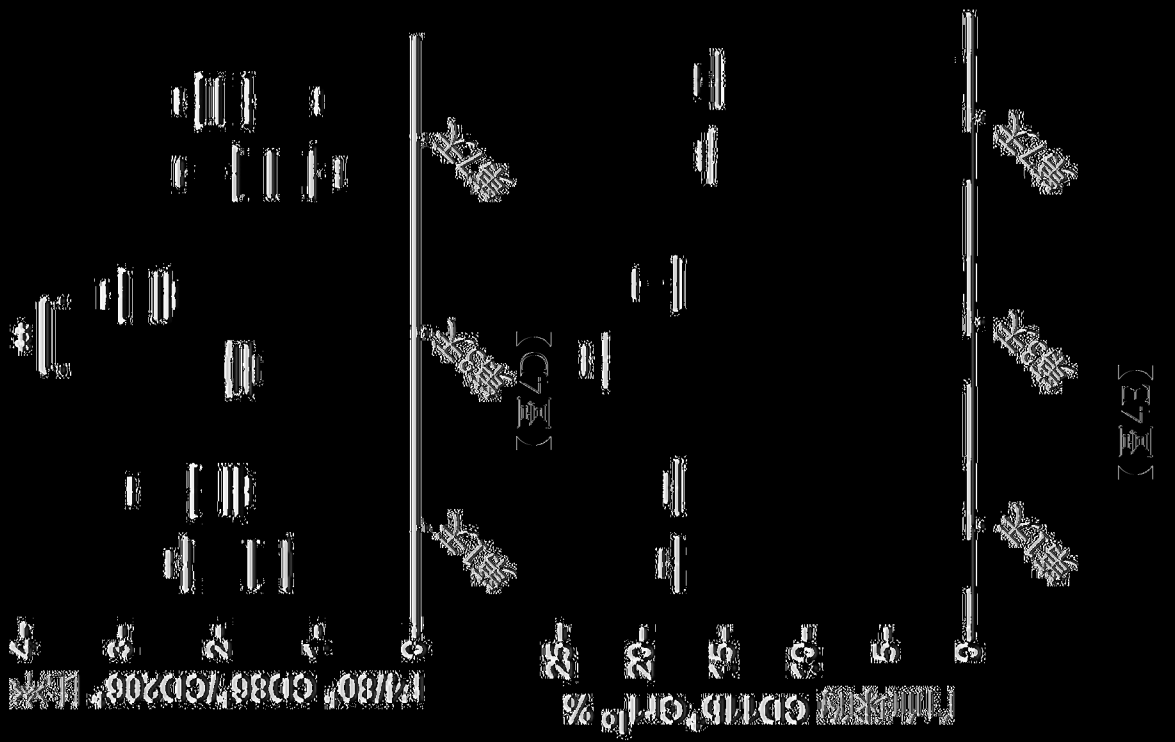
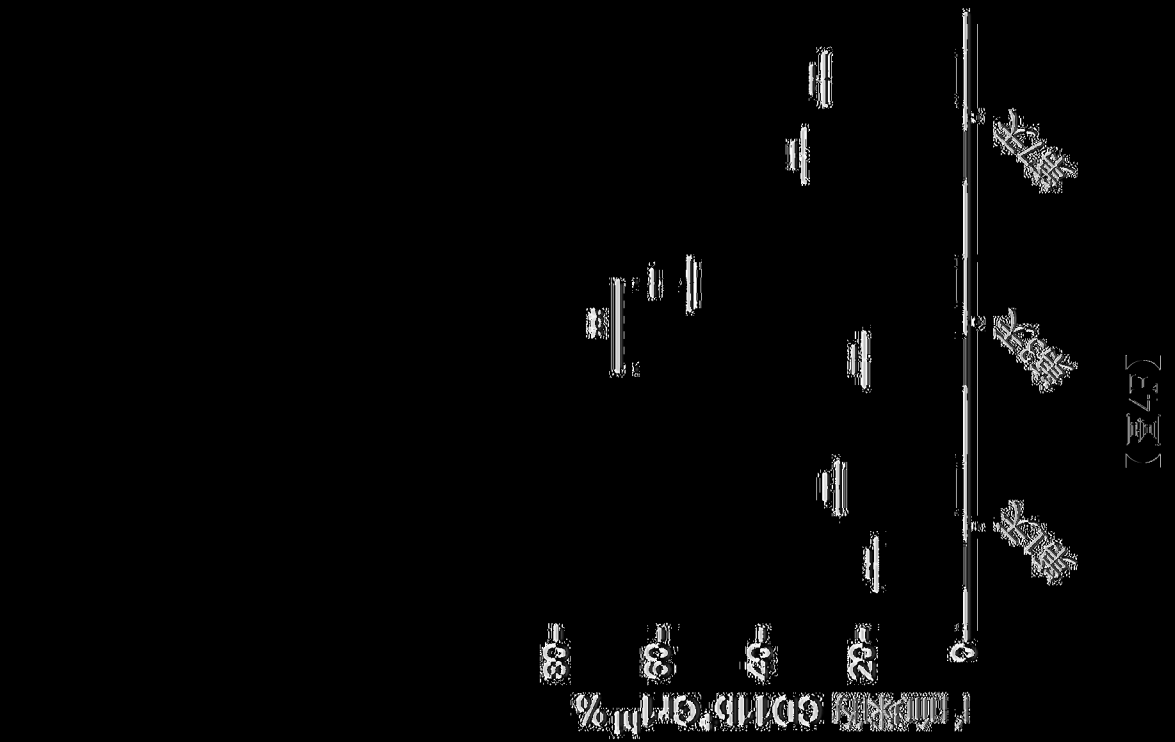
【圖7A】

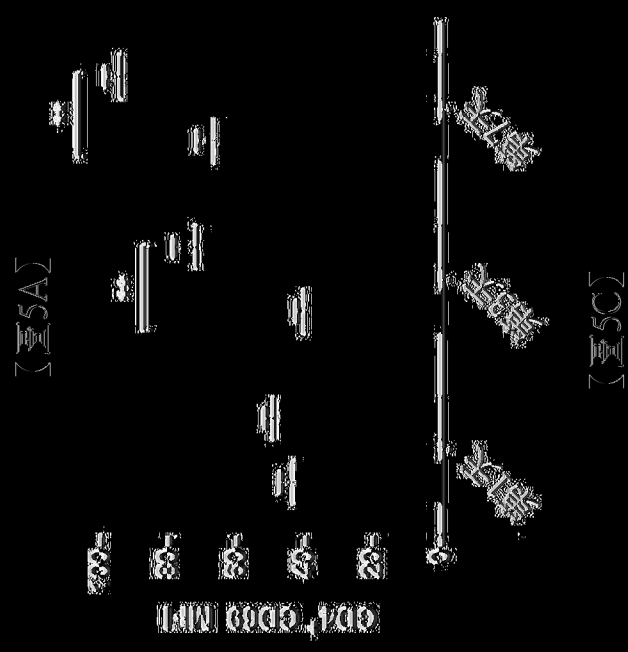
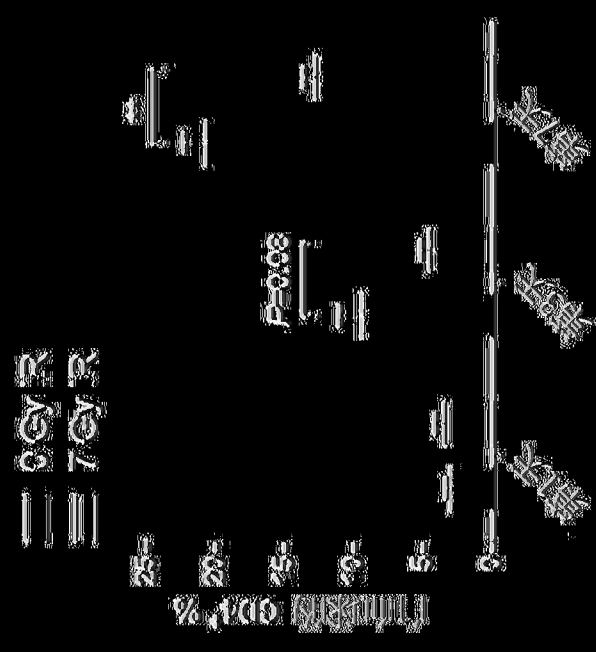
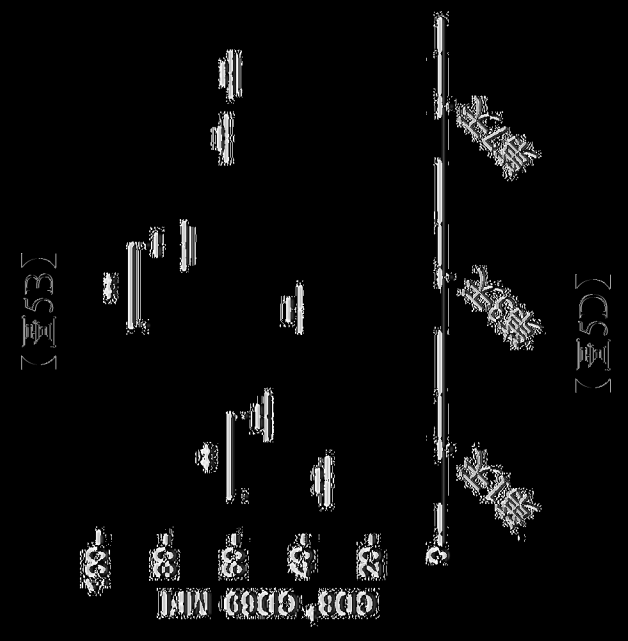
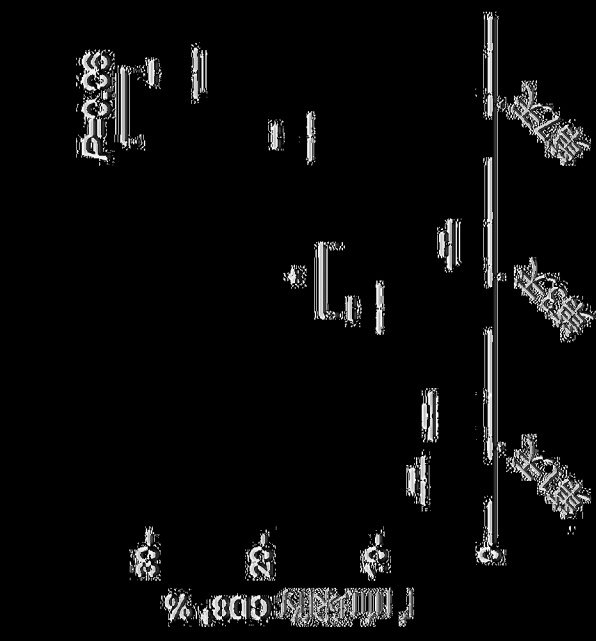


【圖7C】

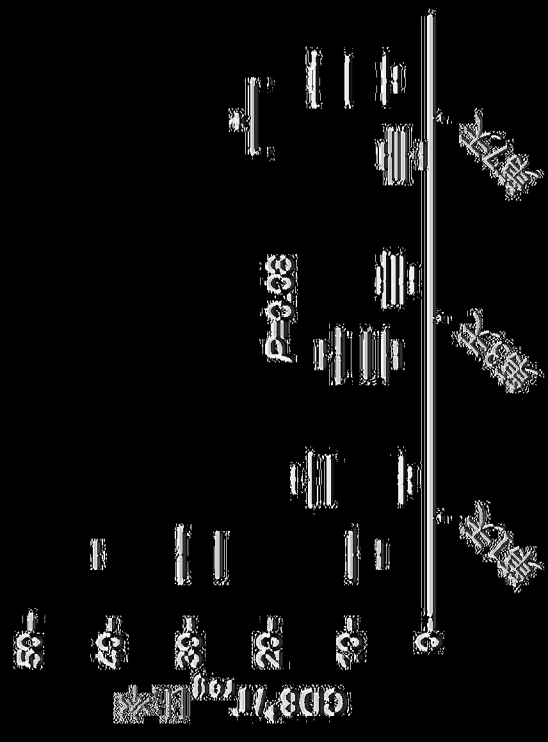


【圖7B】

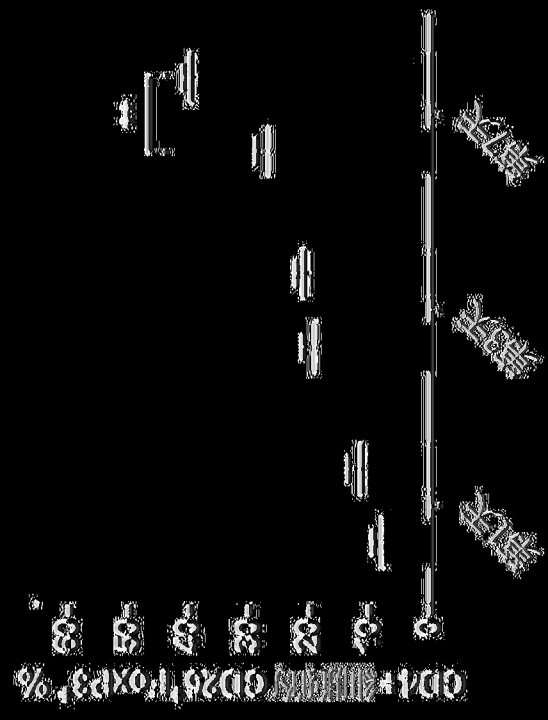




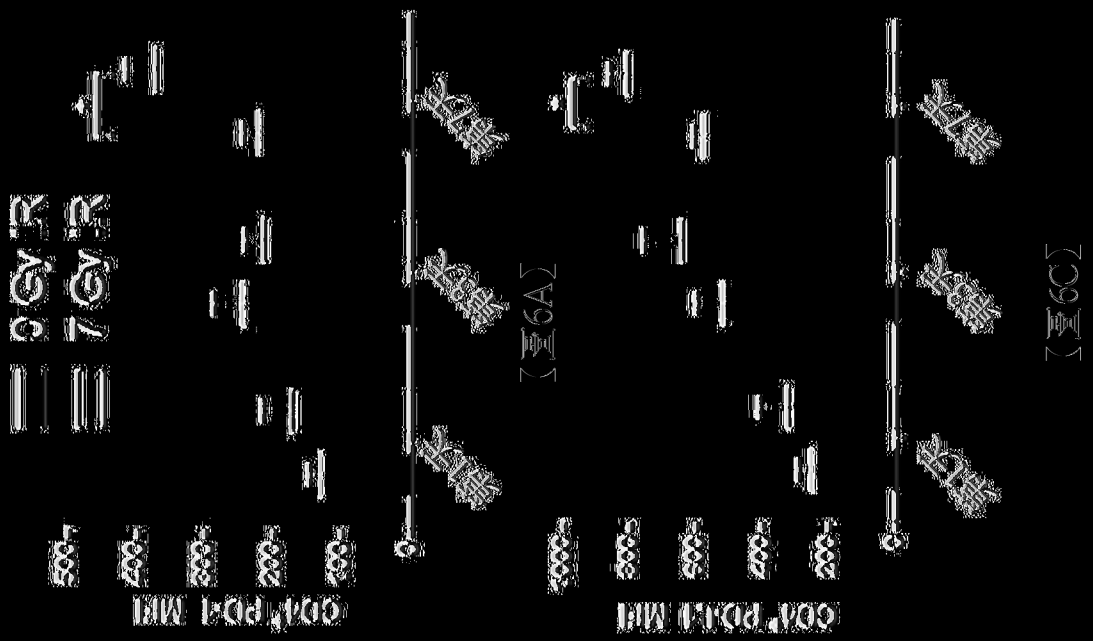
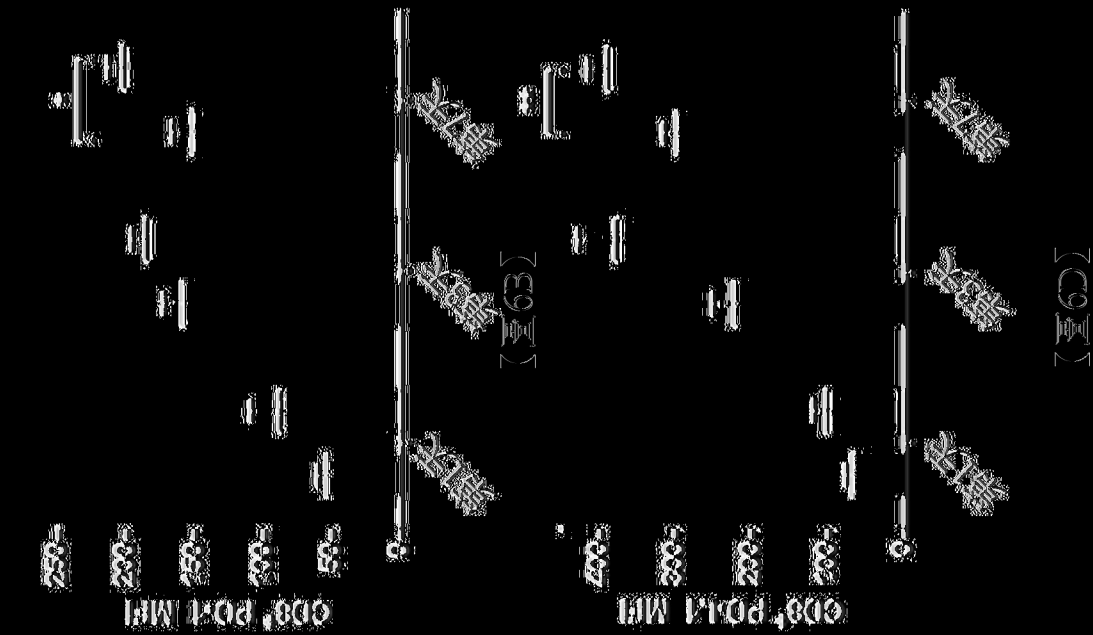
96R
96R
97R

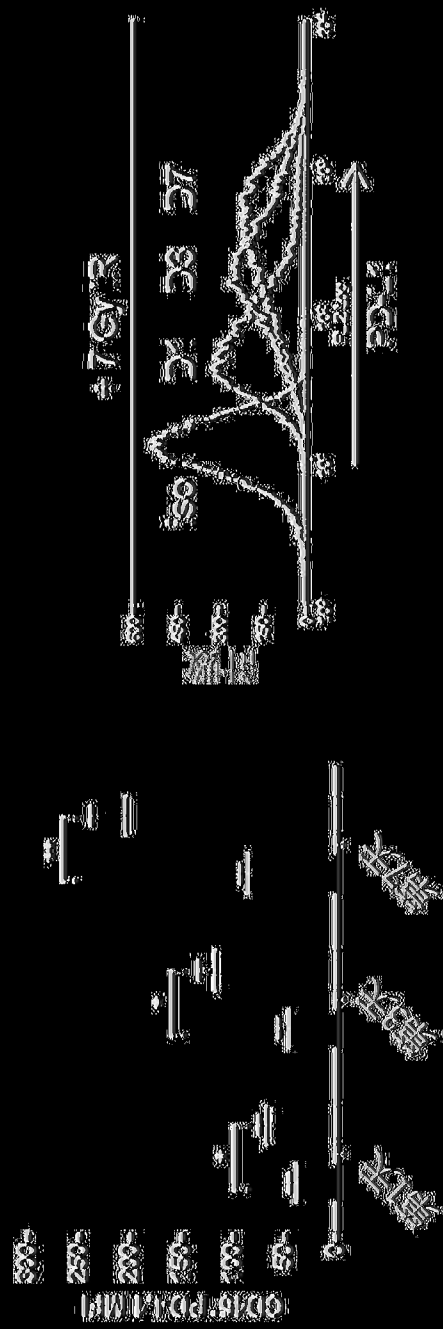


(圖52)

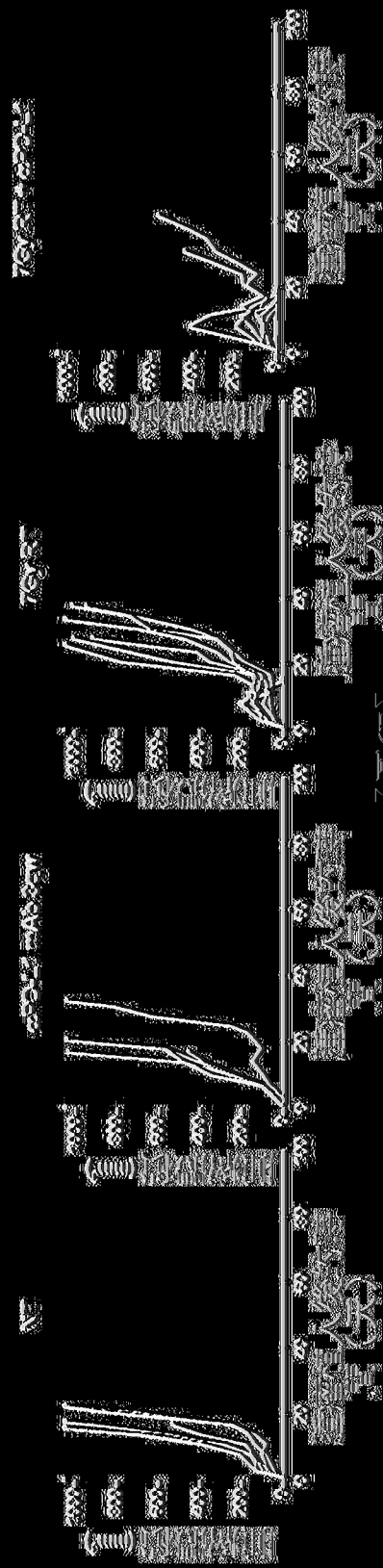


(圖53)

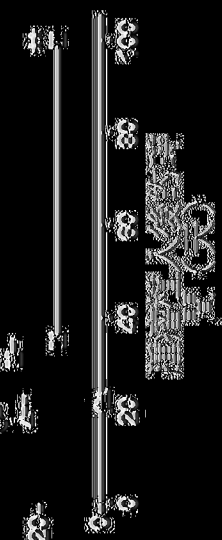
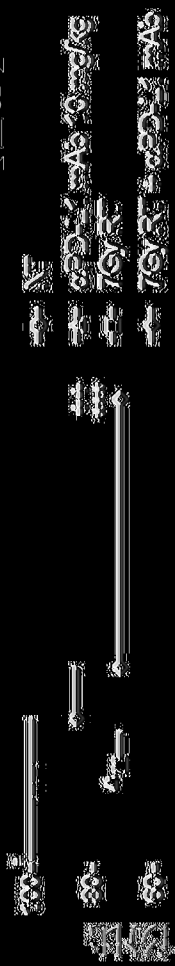




【E9】

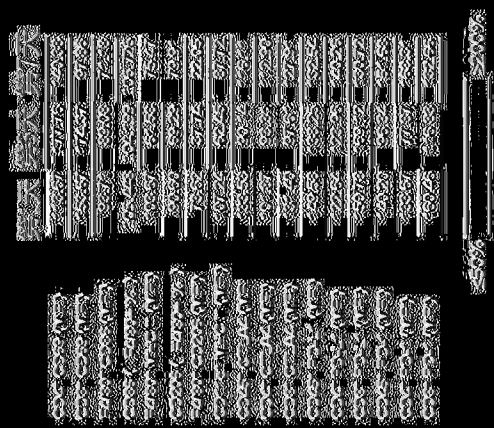


【圖59】

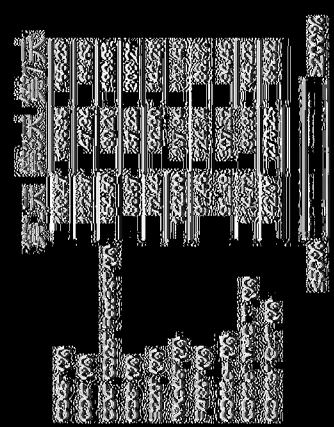


【圖60】

【圖61】



【圖73】



【圖74】

