



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201811369 A

(43)公開日：中華民國 107 (2018) 年 04 月 01 日

(21)申請案號：106127203

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 08 月 11 日

(51)Int. Cl.：

A61K45/06 (2006.01)

A61K31/4523 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2016/08/12

美國

62/374,437

(71)申請人：美商建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC. (US)

美國

(72)發明人：崇 尼可拉斯 CHOONG, NICHOLAS (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：30 項 圖式數：2 共 110 頁

(54)名稱

MEK 抑制劑、PD-1 軸抑制劑及 VEGF 抑制劑之組合療法

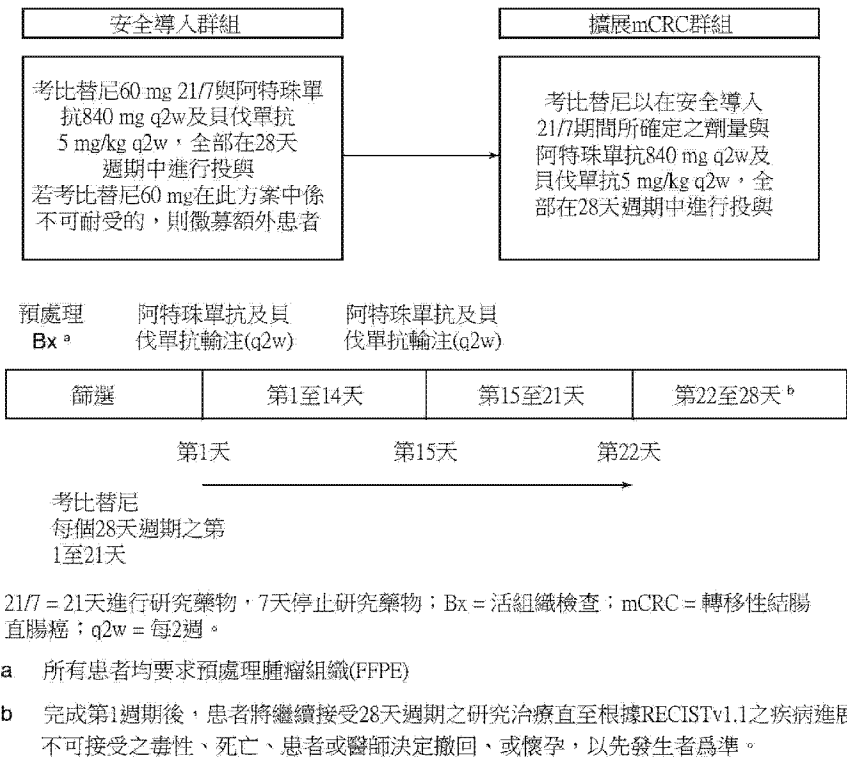
COMBINATION THERAPY WITH A MEK INHIBITOR, A PD-1 AXIS INHIBITOR, AND A VEGF INHIBITOR

(57)摘要

本發明提供一種包括 MEK 抑制劑、PD-1 軸抑制劑及 VEGF 抑制劑之組合療法，其用於治療結腸直腸癌及轉移性結腸直腸癌。

A combination therapy comprising a MEK inhibitor, a PD-1 axis inhibitor, and a VEGF inhibitor is provided for the treatment of colorectal cancer and metastatic colorectal cancer.

指定代表圖：



【圖1】



201811369

【發明摘要】

【中文發明名稱】

MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑之組合療法

【英文發明名稱】

COMBINATION THERAPY WITH A MEK INHIBITOR, A PD-1
AXIS INHIBITOR, AND A VEGF INHIBITOR

【中文】

本發明提供一種包括MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑之組合療法，其用於治療結腸直腸癌及轉移性結腸直腸癌。

【英文】

A combination therapy comprising a MEK inhibitor, a PD-1 axis inhibitor, and a VEGF inhibitor is provided for the treatment of colorectal cancer and metastatic colorectal cancer.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑之組合療法

【英文發明名稱】

COMBINATION THERAPY WITH A MEK INHIBITOR, A PD-1
AXIS INHIBITOR, AND A VEGF INHIBITOR

【技術領域】

本發明技術領域大體上係關於一種利用MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑之組合的癌症療法。

【先前技術】

胃腸瘤係全世界範圍內癌症相關死亡率的常見原因。結腸直腸癌(CRC)係男性及女性中所診斷出之各自第三及第二常見癌症，且係男性及女性中之癌症死亡率的各自前四及前三原因(Torre LA、Bray F、Siegel RL等人，Global cancer statistics, 2012, CA Cancer J Clin. 2015;65:87-108)。在美國每年經診斷患有CRC之患者中，約40%經診斷患有早期疾病，約40%經診斷患有局部疾病，及約20%經診斷患有遠距離轉移，其中五年存活率各自為90%、70%及13%，其中大多數患者死於轉移性疾病(Alberts SR及Wagman LD.，Chemotherapy for colorectal cancer liver metastases, Oncologist 2008;13:1063-73；Kennecke H、Yu J、Gill S等人，Effect of M1a and M1b Category in Metastatic Colorectal Cancer, Oncologist 2014;19:720-6；及 American Cancer Society, Estimated Number* of New Cancer Cases and Deaths by Sex, US, 2013 [Internet上資源；2015年11月12日訪問])。

全身性細胞毒性化學療法為用於大多數轉移性CRC (mCRC)患者之主要治療且總存活期中位數僅為30個月左右。可將諸如貝伐單抗(bevacizumab)、拉姆單抗(ramucirumab)及ziv-阿柏西普(aflibercept)之抗-血管內皮生長因子(VEGF)療法及諸如西妥昔單抗(cetuximab)及帕尼妥木單抗(panitumumab)之抗-表皮生長因子受體單株抗體(mAb)與化學療法組合用於一線、二線及三線療法中，雖然治療組合隨區域而變化(Petrelli F、Coinu A、Ghilardi M等人，Efficacy of Oxaliplatin-based Chemotherapy + Bevacizumab as First-line Treatment for Advanced Colorectal Cancer. Am J Clin Oncol 2015; 38:227-233)。

儘管目前有所進展，但mCRC仍係不治之疾病。患有mCRC之患者對各進一步治療線持續減少疾病控制期，直至疾病變得難治癒，且患者死於癌症。骨髓抑制、胃腸毒性、無力/疲勞、周邊神經錯亂及皮膚毒性(包括手足症候群)係接受治療之mCRC患者中所觀察到的常見不良事件。此等不良事件可顯著影響患者之生活品質。

因此存在用於CRC及轉移性CRC之改良療法的需要。

【發明內容】

本發明提供一種治療患有結腸直腸癌之個體的方法。該方法包括向該個體投與包括(i)治療有效量之MEK抑制劑，(ii)治療有效量之PD-1軸抑制劑，及(iii)治療有效量之VEGF抑制劑的療法。

本發明進一步提供一種用於治療人類個體之結腸直腸癌的套組。該等套組包括MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑、VEGF抑制劑及包括使用治療有效量之MEK抑制劑、治療有效量之PD-1軸抑制劑及治療有效量之VEGF抑制劑來治療該個體之說明書的包裝插頁。

可改變MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑之投與順序。在一些態樣中，當PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑係在同一天進行投與時，PD-1軸抑制劑係在VEGF抑制劑之前至少30分鐘進行投與。

在本發明之一些態樣中，MEK抑制劑為考比替尼(cobimetinib)或其醫藥上可接受之鹽；PD-1軸抑制劑為PD-L1抑制劑，且更特定言之為阿特珠單抗(atezolizumab)；及/或VEGF抑制劑為貝伐單抗。

本發明進一步提供癌症療法藥物組合，其包括：(i)以約20 mg至約100 mg、約40 mg至約80 mg或約80 mg之劑量的MEK抑制劑；(ii)以約400 mg至約1200 mg、約600 mg至約1000 mg、約700 mg至約900 mg或約840 mg之劑量的PD-1軸抑制劑；及(iii)以約5 mg/kg至約15 mg/kg、約5 mg/kg至約10 mg/kg、約5 mg/kg、約10 mg/kg或約15 mg/kg之劑量的VEGF抑制劑。在本發明之一些特定態樣中，MEK抑制劑為考比替尼或其醫藥上可接受之鹽；PD-1軸抑制劑為PD-L1抑制劑，且更特定言之為阿特珠單抗；及/或VEGF抑制劑為貝伐單抗。

【圖式簡單說明】

圖1顯示臨床試驗之導入及擴展群組的研究架構。

圖2顯示臨床試驗之活組織檢查群組的研究架構。

【實施方式】

相關申請案之交互參照

本申請案主張2016年8月12日申請之美國臨時申請案序號62/374437之優先權，該案全文併入本文中。

本發明係關於使用MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑之組合，更特定言之MEK抑制劑、PD-L1抑制劑及VEGF抑制劑之組合，且仍

更特定言之考比替尼或其醫藥上可接受之鹽、阿特珠單抗及貝伐單抗之組合的癌症的治療。在一些態樣中，該癌症為CRC，且更特定言之轉移性CRC (mCRC)。據信，同時抑制MEK、VEGF信號傳導及PD-1軸(諸如PD-L1)藉此以多因子方式靶向腫瘤將增強CRC患者之免疫治療組分的療效。在一些態樣中，據信該組合療法將增強曾接受含有氟嘧啶及奧賽力鉑(oxaliplatin)或伊立替康(irinotecan)之至少一先前療法線的CRC患者之免疫治療組分的療效。

另外據信，添加貝伐單抗至考比替尼及阿特珠單抗將向CRC患者提供與基於化學療法之方案相比減少毒性的積極治療。

因為本發明組合療法之作用機制係與傳統化學療法方案不同，所以另外據信進一步標準療法之活性將不會受到顯著影響。此將允許患有進行性疾病之患者繼續進行治療。

定義

如本文所用，「結腸直腸癌」(CRC)係指結腸癌、直腸癌及結腸直腸癌(即，結腸及直腸兩者區域之癌症)。

如本文所用，術語「癌症」係指或描述哺乳動物中之通常以失調之細胞生長為特徵的生理狀況。「腫瘤」包括一或多種癌細胞。

如本文所用，術語「患者」及「個體」係指動物，諸如哺乳動物，包括(但不限於)靈長類動物(例如，人類)、牛、綿羊、山羊、馬、狗、貓、兔、大鼠、小鼠及類似者。在某些態樣中，患者或個體為人類。

如本文所用，術語「治療」係指目的在於改變所治療個體或細胞在臨床病理過程期間之自然病程的臨床干預。理想治療效果包括降低疾病進展速率、改善或減輕疾病狀態、及緩和或改善預後。例如，若一或多種與

癌症相關之症狀係經緩和或減除，包括(但不限於)減少癌細胞之增殖(或摧毀癌細胞)、減少由疾病所致之症狀、增加彼等罹患疾病者之生活品質、減少治療疾病所需之其他藥物的劑量、及/或延長個體之存活期，則該個體係經成功地「治療」。

如本文所用，片語「治療有效量」係指(i)治療或預防特定疾病、病狀或病症，(ii)減弱、緩解或消除特定疾病、病狀或病症之一或多種症狀，或(iii)預防或延遲本文所述之特定疾病、病狀或病症的一或多種症狀之發作的一或多種藥物化合物之量。就癌症而言，藥物之治療有效量可減少癌細胞之數量；減少腫瘤大小；抑制(即，在某種程度上減緩且較佳停止)癌細胞滲透至周圍器官；抑制(即，在某種程度上減緩且較佳停止)腫瘤轉移；在某種程度上抑制腫瘤生長；及/或在某種程度上緩解與癌症相關聯之一或多種症狀。藥物可預防生長及/或殺死已存在之癌細胞到一定程度，其可為細胞生長抑制性及/或細胞毒性。對於癌症療法而言，可(例如)藉由評估總反應率(ORR)來量測療效。本文之治療有效量可根據以下因素而改變，諸如患者之疾病狀態、年齡、性別及體重，及藥劑在個體中引發所需反應之能力。治療有效量亦係指治療有利效果超過治療之毒性或有害影響的有效量。對於預防用途而言，有益或所需結果包括以下結果：諸如消除或減少風險、減輕嚴重性、或延遲疾病(包括疾病之生化、組織學及/或行為症狀、其併發症及存在於疾病發展期間之中間病理學表現型)之發作。對於治療用途而言，有益或所需結果包括以下臨床結果：諸如減少由疾病所致之一或多種症狀、提高彼等罹患疾病者之生活品質、減少治療疾病所需之其他藥物的劑量、及諸如經由靶向增強另一藥物之效應、延遲疾病之進展、及/或延長存活期。就癌症或腫瘤而言，藥物之治療有效

量可具有以下作用：減少癌細胞之數量；減少腫瘤大小；抑制(即，在某種程度上減緩且期望停止)癌細胞滲透至周圍器官；抑制(即，在某種程度上減緩且期望停止)腫瘤轉移；在某種程度上抑制腫瘤生長；及/或在某種程度上緩解與病症相關聯之一或多種症狀。治療有效量可呈一或多次投與進行投與。出於本發明之目的，藥物、化合物或醫藥組合物之治療有效量係足夠直接或間接地完成預防性或治療性治療的量。如於臨床背景中所瞭解，藥物、化合物或醫藥組合物之治療有效量可與或不與另一藥物、化合物或醫藥組合物組合來達成。因此，可在投與一或多種治療劑之背景下考慮治療有效量，且若與一或多種其他藥劑組合可達成或達成期望結果，則可認為單一藥劑係以治療有效量提供。

如本文所用，「組合」係指除投與另一種治療方式外還投與一種治療方式。正因如此，「組合」係指在向個體投與其他治療方式之前、期間或之後投與一種治療方式。

如本文所用，術語「醫藥調配物」係指以可以讓活性成分之生物活性起作用之形式呈現的製劑，且其不含對該調配物所投與之個體而言係不可接受毒性的附加組分。此等調配物係無菌的。「醫藥上可接受之」賦形劑(媒劑、添加劑)係彼等可合理投與至哺乳動物個體以提供所使用之活性成分的有效劑量者。

如本文所用，「免疫組織化學」(IHC)係指組織部分之細胞中藉由利用生物組織中抗體特異性結合至抗原之原則來檢測抗原(例如，蛋白質)之過程。可在異常細胞諸如彼等於惡性腫瘤中所發現者之診斷中使用免疫組織化學染色。特異性分子標記係特定細胞事件諸如增殖或細胞死亡(細胞凋亡)之特徵。IHC亦可用於瞭解生物標記及在生物組織之不同部分中差

異表現之蛋白質的分佈及定位。抗體或抗血清(諸如對各標記具有特異性之多株抗血清及單株抗體)係用於檢測表現。可藉由(例如)使用放射性標記、螢光標記、半抗原標記(諸如，生物素)或酶(諸如辣根過氧化酶或鹼性磷酸酶)直接標記抗體自身來檢測抗體。在一目測方法中，抗體係與可催化顯色反應之酶(諸如過氧化酶)共軛(參見免疫過氧化酶染色)。在另一目測方法中，抗體亦可經螢光團(諸如螢光素或若丹明)標記(參見免疫螢光法)。或者，未經標記之一級抗體係用於與經標記之二級抗體(包括對一級抗體具有特異性之抗血清、多株抗血清或單株抗體)共軛。免疫組織化學協定及套組係此項技術中所熟知且可自市面購得。

如本文所用，「抗-治療性抗體評估」(ATA)係指免疫原性評定，其使用如 Rosenberg AS、Worobec AS.，A risk-based approach to immunogenicity concerns of therapeutic protein products, BioPharm Intl 2004;17:34-42；及 Koren E、Smith HW、Shores E 等人，Recommendations on risk-based strategies for detection and characterization of antibodies against biotechnology products, J Immuno Methods 2008; 333:1-9)中所詳述的基於風險之免疫原性策略來表徵ATA反應。各參考文獻係以全文引用之方式併入本文中。

如本文所用， $C_{\max}$ 係指最大血漿濃度。

如本文所用， $C_{\min}$ 係指最小血漿濃度。

如本文所用，「濃度曲線下面積」(AUC)係指經擬合之血漿濃度對時間曲線下的面積。 $AUC_{0-\infty}$ 係指曲線基線至無窮大下之面積。 AUC_{0-T} 為總曝露。

如本文所用，「實體腫瘤之反應評定準則」(RECIST) v1.1係指腫瘤

反應準則協議，如由Eisenhauer, EA等人，New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (1.1版), Eur J Cancer 2009;45:228-247；由Topalian SL等人，Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-L1 antibody in cancer, N Engl J Med 2012;366:2443-54；及由Wolchok JD等人，Guidelines for the evaluation of immunotherapy activity in solid tumors: immune-related response criteria, Clin Can Res 2009;15:7412-20所詳述。各參考文獻係以全文引用之方式併入本文中。

如本文所用，「經免疫改質之RECIST」(irRC)係指衍生自RECIST v1.1協議(Eisenhauer, EA等人，(2009))及免疫反應準則之準則，如由Nishino M等人，Optimizing immune-related tumor response assessment: does reducing the number of lesions impact response assessment in melanoma patients treated with ipilimumab, J Immunother Can 2014;2:17；及Nishino M、Giobbie-Hurder A、Gargano M等人，Developing a common language for tumor response to immunotherapy: immune-related response criteria using unidimensional measurements, Clin Can Res 2013;19:3936-43所詳述。各參考文獻係以全文引用之方式併入本文中。除非另有說明，否則應用RECIST v1.1協議。

如本文所用，「抑制」係指與不存在抑制劑之目標酶的活性相比降低該酶之活性。在一些態樣中，術語「抑制」意指降低至少約5%、至少約10%、至少約20%、至少約25%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約95%之活性。在另一態樣中，抑制意指降低約5%至約25%、約25%至約50%、約50%至約75%或約75%至

100%之活性。在一些態樣中，抑制意指降低約95%至約100%之活性，例如降低95%、96%、97%、98%、99%或100%之活性。可使用熟習此項技術者可識別之多種技術測定此等降低。

如本文所用，「無進展存活期」(PFS)係指自疾病治療至第一次發生疾病進展或復發之時間，如由研究者使用RECIST v1.1所測定。

如本文所用，「總存活期」(OS)係指自隨機化至因任何原因而死亡之時間。

如本文所用，「部分反應」(PR)係指採取直徑之基線總和作為參考，標靶病灶直徑總和減少至少30%。

如本文使用，「延遲」疾病之「進展」意指推遲、妨礙、減慢、阻礙、穩定及/或延緩該疾病(諸如癌症)之進展。此延遲可取決於該疾病之歷史及/或治療之個體而變化時間長度。如熟習此項技術者所顯而易見，充分或顯著延遲可實際上涵蓋預防，其中個體不發展疾病。例如，可延遲晚期癌症，諸如轉移之發展。

如本文所用，「持續反應」係指在停止治療後對減少腫瘤生長之持續作用。例如，腫瘤大小可保持與投與階段之開始的大小相比相同或更小。在一些態樣中，持續反應具有至少與治療持續時間相同、為治療持續時間之長度的至少1.5x、2x、2.5x或3x之持續時間。

如本文所用，「減少或抑制癌症復發」意指減少或抑制腫瘤或癌症復發或腫瘤或癌症進展。如本文所揭示，癌症復發及/或癌症進展包括(但不限於)癌症轉移。

如本文所用，「完全反應」(CR)係指所有標靶病灶之消失。任何病理淋巴結(無論標靶或非標靶)具有減少至小於10 mm之短軸。

如本文所用，「進行性疾病」(PD)係指標靶病灶之直徑總和增加至少20%，其採取研究中之最小總和(最低點)作為參考，包括基線及至少5 mm之絕對增加。亦認為一或多個新病灶之出現為進展。

如本文所述，「穩定疾病」(SD)係指既無足夠收縮認定為PR亦無足夠增加認定為PD，其採取研究中之最小總和作為參考。

如本文所用，「總反應率」(ORR)係指隨機化後發生之PR或CR比率且在 ≥ 28 天後進行確認，如由研究者使用RECIST v1.1所測定。

如本文所用，「未確認總反應率」(ORR_uc)係指隨機化後發生之PR或CR比率，如由研究者使用RECIST v1.1所測定，其中不要求確認。

如本文所用，「反應持續時間」(DOR)係指第一次出現經記錄之客觀反應之時間至復發之時間，如由研究者使用RECIST v1.1所測定，或至研究期間因任何原因而死亡之時間，以先發生者為準。

如本文所用，「國家癌症研究所不良事件常用術語標準」(National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events，NCI CTCAE)係指由美國衛生及公共服務部(Department of Health and Human Services)、國家衛生研究院(National Institutes of Health)、國家癌症研究院(National Cancer Institute) 2009年5月28日所公開之不良事件常用術語標準(Common Terminology Criteria for Adverse Effect)，4.0版(v4.03：2010年6月14日)(全文以引用之方式併入本文)。

如本文所用，「癌症療法功能評估綜述」(Functional Assessment of Cancer Therapy General，FACT-G)係指經驗證且可靠之包含量測身體(7項)、社會/家庭(7項)、情緒(6項)及功能健康(7項)之四個分量表的27項問卷，且認為其適用於患有任何形式之癌症的患者(Cella DF、Tulsky DS、

Gray G、Sarafian B、Linn E、Bonomi AE 等人，The Functional Assessment of Cancer Therapy scale: development and validation of the general measure, *Journal of Clinical Oncology* 1993; 11(3 Suppl.2):570-9；及Webster, K.、Odom, L.、Peterman, A.、Lent, L.、Cella, D.，The Functional Assessment of Chronic Illness Therapy (FACIT) measurement system: Validation of version 4 of the core questionnaire, *Quality of Life Research* 1999, 8(7):604)。各參考文獻係以全文引用之方式併入本文中。患者在前7天以五點量表(0，一點也不；1，一點；2，稍微；3，相當多；4，非常多)來評估針對自身的各敘述之真實程度。

如本文所用，術語「MEK抑制劑」係指抑制MEK之分子，諸如有絲分裂原活化蛋白激酶酶MEK1（亦稱為MAP2K1）或MEK2（亦稱為MAP2K2）。MEK抑制劑可用於影響在一些癌症(諸如CRC)中過度活性之MAPK/ERK路徑。MEK抑制劑係經廣泛評審(S. Price, Putative Allosteric MEK1 and MEK 2 inhibitors, *Expert Opin. Ther. Patents*, 2008 18(6):603；J. I. Trujillo, MEK Inhibitors: a patent review 2008-2010, *Expert Opin. Ther. Patents* 2011 21(7):1045)。

如本文所用，術語「PD-1軸抑制劑」或「結合拮抗劑」係指抑制PD-1軸結合搭配物與其一或多個結合搭配物相互作用，以便移除由PD-1信號傳導軸上之信號傳導所致之T細胞功能障礙，結果導致恢復或增強T細胞功能(例如，增殖、細胞活素產生、靶細胞殺死)的分子。如本文所用，PD-1軸抑制劑包括PD-1抑制劑、PD-L1抑制劑及PD-L2抑制劑。

如本文所用，術語「PD-1抑制劑」或「結合拮抗劑」係指減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-1與其結合搭配物之一或多者(諸如PD-L1及

PD-L2)之相互作用所致之信號轉導的分子。在一些實施例中，PD-1抑制劑為抑制PD-1結合至其結合搭配物之一或多者的分子。在一特定態樣中，PD-1抑制劑抑制PD-1結合至PD-L1及/或PD-L2。例如，PD-1抑制劑包括抗-PD-1抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-1與PD-L1及/或PD-L2之相互作用所致之信號轉導的其他分子。在一實施例中，PD-1抑制劑減少藉由或經由於T淋巴細胞(其介導經由PD-1之信號傳導)上所表現的細胞表面蛋白質所介導之負共同刺激信號從而使功能異常之T細胞減少功能異常(例如，增強對抗原識別之效應子反應)。在一些實施例中，PD-1抑制劑為抗-PD-1抗體。

如本文所用，術語「PD-L1抑制劑」或「結合拮抗劑」係指減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L1與其一或多種結合搭配物(諸如PD-1、B7-1)之相互作用所致之信號轉導的分子。在一些實施例中，PD-L1抑制劑為抑制PD-L1結合至其結合搭配物之分子。在一特定態樣中，PD-L1抑制劑抑制PD-L1結合至PD-1及/或B7-1。在一些實施例中，PD-L1抑制劑包括抗-PD-L1抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L1與其結合搭配物之一或多者(諸如PD-1、B7-1)之相互作用所致之信號轉導的其他分子。在一實施例中，PD-L1抑制劑減少藉由或經由於T淋巴細胞(其介導經由PD-1之信號傳導)上所表現的細胞表面蛋白質所介導之負共同刺激信號從而使功能異常之T細胞減少功能異常(例如，增強對抗原識別之效應子反應)。在一些實施例中，PD-L1抑制劑為抗-PD-L1抗體。

如本文所用，術語「PD-L2抑制劑」或「結合拮抗劑」係指減少、

阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L2與其一或多種結合搭配物(諸如PD-1)之相互作用所致之信號轉導的分子。在一些實施例中，PD-L2抑制劑為抑制PD-L2結合至其結合搭配物之一或多者的分子。在一特定態樣中，PD-L2抑制劑抑制PD-L2結合至PD-1。在一些實施例中，PD-L2抑制劑包括抗-PD-L2抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾由PD-L2與其一或多種結合搭配物(諸如PD-1)之相互作用所致之信號轉導的其他分子。在一實施例中，PD-L2抑制劑減少藉由或經由T淋巴細胞(其介導經由PD-1之信號傳導)上所表現的細胞表面蛋白質所介導之負共同刺激信號從而使功能異常之T細胞減少功能異常(例如，增強對抗原識別之效應子反應)。在一些實施例中，PD-L2抑制劑為免疫黏附素。

如本文所用，在免疫功能障礙之背景內容中的術語「功能障礙」係指對抗原刺激之免疫反應減少的狀態。該術語包括衰竭及/或無反應性兩者常見要素，其中可發生抗原識別，但是隨後免疫反應係對控制感染或腫瘤生長無效。如本文所用，術語「功能異常」亦包括對抗原識別難治或無反應，具體而言，將抗原識別轉化為下游T細胞效應子功能(諸如增殖、細胞活素產生(例如，IL-2)及/或靶細胞殺死)之能力受損。

如本文所用，術語「無反應性」係指由經由T細胞受體所遞送之信號(例如，在無ras-活化之情況下增加細胞內Ca²⁺)不完全或不足所致之對抗原刺激無反應的狀態。T細胞無反應性亦為在無共同刺激情況下受抗原刺激時的結果，從而導致即使在共同刺激的情況下細胞亦變得對抗原之後續活化難治。無反應狀態可通常由存在介白素-2所覆蓋。無反應T細胞不經歷無性擴增及/或獲得效應子功能。

如本文所用，「衰竭」係指T細胞呈T細胞功能障礙之狀態衰竭，其由發生在許多慢性感染及癌症期間之持續TCR信號傳導所引起。其係與無反應性有區別，在於其不經由信號傳導不完全或不足而引起，但由持續信號傳導所引起。其係由不良效應子功能、持續表現抑制性受體及與功能性效應子或記憶T細胞不同之轉錄狀態所定義。衰竭防止感染及腫瘤之最佳控制。衰竭可歸因於外源性負調控路徑(例如免疫調節細胞活素)以及細胞內源性負調控(共同刺激)路徑(PD-1、B7-H3、B7-H4等)兩者。

「增強T細胞功能」意指誘導、引起或刺激T細胞具有持續或放大之生物功能，或使衰竭或非活性T細胞恢復或重新活化。增強T細胞功能之實例包括：相對於干預之前的水平，增加自CD8+ T細胞之 γ -干擾素分泌、增加增殖、增加抗原反應(例如，病毒、病原體或腫瘤清除)。在一實施例中，增強之程度為至少50%，或60%、70%、80%、90%、100%、120%、150%、200%。一般技術者知曉量測此增強之方法。

「T細胞功能異常病症」為特徵為對抗原刺激之反應性減少的T細胞病症或病狀。在一特定實施例中，T細胞功能異常病症為特異性與不適當增加之經由PD-1之信號傳導相關聯的病症。在另一實施例中，T細胞功能異常病症為其中T細胞係無反應或具有降低之分泌細胞活素、增殖或執行溶細胞活性能力的病症。在一特定態樣中，減少反應性導致表現免疫原之病原體或腫瘤的無效控制。特徵在於T細胞功能異常之T細胞功能異常病症的實例包括未解決之急性感、慢性感染及腫瘤免疫性。

如本文所用，「VEGF」係指165-胺基酸人類血管內皮細胞生長因子及相關121-、189-及206-胺基酸人類血管內皮細胞生長因子(如由Leung等人(1989) Science 246:1306及Houck等人(1991) Mol. Endocrin, 5:1806所

述)，連同天然存在之其等位基因及加工形式。術語「VEGF」亦係指來自非人類物種諸如小鼠、大鼠或靈長類動物之VEGF。有時來自特定物種之VEGF係由諸如以下之術語所指示：hVEGF代表人類VEGF，mVEGF代表鼠類VEGF，等等。術語「VEGF」亦用於係指包括165-胺基酸人類血管內皮細胞生長因子之胺基酸8至109或1至109之多肽的截短形式。在本申請案中，可藉由「VEGF (8-109)」、「VEGF (1-109)」或「VEGF.sub.165」來識別對任何此等形式之VEGF的引用。「截短」天然VEGF之胺基酸位置係如天然VEGF序列所指示般進行編號。例如，截短天然VEGF之胺基酸位置17 (甲硫胺酸)亦係天然VEGF之位置17 (甲硫胺酸)。截短天然VEGF具有相當於天然VEGF之針對KDR及Flt-1受體的結合親和性。

如本文所用，「VEGF抑制劑」係指能夠中和、阻斷、抑制、消除、減少或干擾VEGF活性(包括其結合至一或多種VEGF受體)的分子。VEGF拮抗劑包括抗-VEGF抗體及其抗原結合片段、特異性結合至VEGF藉此隔離其結合至一或多個受體之受體分子及衍生物、抗-VEGF受體抗體及VEGF受體拮抗劑(諸如VEGFR酪胺酸激酶之小分子抑制劑)、及融合蛋白(例如，VEGF-Trap(Regeneron)、VEGF.sub.121-白樹毒素(gelonin)(Peregrine))。VEGF拮抗劑亦包括VEGF之拮抗劑變異體、定向VEGF之反義分子、對VEGF具有特異性之RNA適體、及針對VEGF或VEGF受體之核糖酵素。VEGF拮抗劑藉由干擾VEGF至細胞受體之結合、藉由使經VEGF活化之細胞致殘或致死、或藉由在VEGF結合至細胞受體後干擾血管內皮細胞活化來起作用。出於本發明之目的，所有此等VEGF拮抗劑之干預點應視為等效。較佳VEGF拮抗劑為能夠抑制VEGF之一或

多種生物活性(例如，其有絲分裂、血管生成或血管滲透活性)的抗-VEGF拮抗抗體。抗-VEGF拮抗抗體包括(但不限於)抗體A4.6.1、rhuMab VEGF (貝伐單抗)、Y0317 (蘭尼單抗(ranibizumab))、G6、B20、2C3、及其他於(例如)WO98/45331、US2003/0190317、美國專利號6,582,959及6,703,020；WO98/45332；WO 96/30046；WO94/10202；WO2005/044853；EP 0666868B1；及Popkov等人，Journal of Immunological Methods 288:149-164 (2004)中所述之抗體。各參考文獻係以全文引用之方式併入本文中。更佳地，本發明抗-VEGF拮抗抗體為蘭尼單抗，其為具有Y0317之輕鏈及重鏈可變域序列的人源化親和力成熟抗-人類VEGF抗體Fab片段，如WO98/45331及Chen等人J Mol Biol 293:865-881 (1999)中所述，其等各係以全文引用之方式併入本文中。

如本文所用，術語「包裝插頁」係指通常包含於治療產品之市售包裝中的說明書，其含有關於使用該治療產品之適應症、用法、劑量、投與、禁忌症及/或警示的資訊。

術語「醫藥上可接受之鹽」表示非生物上或其他方面非所欲之鹽。醫藥上可接受之鹽包括酸及鹼加成鹽兩種。片語「醫藥上可接受」指示物質或組合物係與包含調配物之其他成分及/或其所治療之哺乳動物在化學上及/或毒物學上可相容。酸加成鹽係與無機酸諸如氫氯酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸，及選自脂族、環脂族、芳族、芳脂族、雜環、羧酸及磺酸類有機酸之有機酸諸如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、丙酮酸、草酸、蘋果酸、馬來酸、丙二酸、琥珀酸、富馬酸、酒石酸、檸檬酸、天冬胺酸、抗壞血酸、穀胺酸、鄰胺基苯甲酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、雙羥萘酸、苯乙酸、甲磺酸「甲磺酸鹽」、乙磺酸、對甲

苯磺酸及水楊酸所形成。鹼加成鹽係與有機或無機鹼所形成。可接受之無機鹼的實例包括鈉鹽、鉀鹽、銨鹽、鈣鹽、鎂鹽、鐵鹽、鋅鹽、銅鹽、錳鹽及鋁鹽。衍生自醫藥上可接受之有機無毒鹼之鹽包括以下物質之鹽：第一、第二及第三胺、經取代之胺(包括天然經取代之胺)、環狀胺及鹼性離子交換樹脂，諸如異丙基胺、三甲基胺、二乙基胺、三乙基胺、三丙基胺、乙醇胺、2-二乙基胺基乙醇、胺丁三醇(trimethamine)、二環己基胺、離胺酸、精胺酸、組胺酸、咖啡因(cafeine)、普魯卡因(procaine)、海巴明(hydrabamine)、膽鹼、甜菜鹼(betaine)、乙二胺、葡萄糖胺、甲基葡萄糖胺、可可鹼、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶及聚胺樹脂。

本文中，術語「抗體」係在其最廣泛之意義上使用且特別涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體、多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)及抗體片段，只要其等呈現所需之生物活性。

「單離」抗體係指一種業經自其天然環境之組分中加以鑑別且分離及/或回收之抗體。其天然環境之污染物組分為干擾抗體之研究、診斷及治療用途之物質，且可包括酶、激素及其他蛋白或非蛋白溶質。在一些實施例中，抗體係經純化：(1)至大於95重量%之抗體，如藉由(例如)勞立法(Lowry method)所測定，且在一些實施例中，至大於99重量%；(2)至足以藉由使用(例如)旋杯式定序儀可得到N-端或內部胺基酸序列之至少15個殘基之程度；或(3)至在還原或非還原條件下藉由SDS-PAGE，使用(例如)考馬斯藍(Coomassie blue)或銀染色為均質性。單離抗體包括原位在重組細胞內的抗體，因為該抗體的天然環境之至少一種組分是不存在的。然而，通常單離抗體要藉由至少一個純化步驟才能製備。

「天然抗體」通常為約150,000道耳頓的由兩條相同輕(L)鏈及兩條

相同重(H)鏈組成之異質四聚糖蛋白。各輕鏈係經由一共價雙硫鍵連接至重鏈，而雙硫鍵之數量隨不同免疫球蛋白同型物之重鏈而改變。各重鏈及輕鏈亦具有有規律間隔之鏈內雙硫橋。各重鏈在一端具有可變域(VH)，其後接著數個恆定域。各輕鏈具有在一端之可變域(VL)及在其另一端之恆定域；輕鏈之恆定域係與重鏈之第一恆定域對齊，且輕鏈之可變域係與重鏈之可變域對齊。據信，特定胺基酸殘基在輕鏈與重鏈可變域之間形成介面。

術語「恆定域」係指相比含有抗原結合位點之免疫球蛋白的其他部分(可變域)具有更保守胺基酸序列之免疫球蛋白分子的部分。恆定域包含重鏈之CH1、CH2及CH3域(統稱，CH)及輕鏈之CHL (或CL)域。

抗體之「可變區」或「可變域」係指該抗體之重鏈或輕鏈之胺基端區域。重鏈之可變域稱為「VH」。輕鏈之可變域稱為「VL」。此等區域通常是抗體最可變之部分且包含抗原結合位點。

術語「可變」係指可變域之某些部分在抗體之間存在廣泛不同之序列且係用於各特定抗體對其特定抗原之結合及特異性。然而，可變性並非均勻分布於抗體之整個可變域。其係集中在輕鏈及重鏈可變域兩者之三個稱為超變區(HVR)之片段中。可變域中較高保守部分被稱為框架區(FR)。天然重鏈及輕鏈之可變域各包含由三個HVR連接(形成環形連接，而在一些情況中形成 β 折疊結構之一部分)之四個FR區(其主要採用 β 折疊構形)。各鏈中之HVR係藉由FR區緊密相鄰地固定在一起，且與其他鏈之HVR一起有助於形成抗體之抗原結合位點(參見Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版，National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991))。雖然恆定域不會直接涉及抗體與抗原之結合，但

會展現各種效應子功能，諸如參與抗體在抗體-依賴性細胞毒性。

來自任何哺乳動物物種之抗體(免疫球蛋白)的「輕鏈」可根據其等之恆定域的胺基酸序列歸類為兩種截然不同類型中之一者，稱為 κ 及 λ 。

如本文所用，術語IgG「同型物」或「亞類」係意指由其等之恆定區的化學及抗原特徵所定義之免疫球蛋白的任何亞類。

根據抗體(免疫球蛋白)重鏈之恆定域的胺基酸序列，其等可歸類為不同類別。存在五個免疫球蛋白之主要類別：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等類別中的一些可進一步分成亞類(同型物)，例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。對應不同種類之免疫球蛋白的重鏈恆定域分別稱為 α 、 γ 、 ϵ 、 δ 及 μ 。不同類型之免疫球蛋白的亞單位結構及三維構形已為吾人所熟知且係概括地描述於(例如)Abbas等人Cellular and Mol. Immunology，第4版(W.B. Saunders, Co., 2000)中。抗體可為更大之由抗體與一或多種其他蛋白質或肽的共價或非共價締合所形成之融合分子的部分。

術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用，係指呈其實質上完整形式，而非如下文所定義之抗體片段的抗體。該術語特定言之係指具有含有Fc區之重鏈的抗體。

出於本文目的，「裸抗體」為未與細胞毒性部分或放射性標記共軛之抗體。

「抗體片段」包括完整抗體之一部分，較佳包括其抗原結合區。在一些實施例中，本文所述之抗體片段為抗原結合片段。抗體片段之實例包括Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv片段；雙功能抗體；線性抗體；單鏈抗體分子；及由抗體片段所形成之多特異性抗體。

抗體經木瓜蛋白酶消化會產生兩個相同之稱為「**Fab**」片段、各具有單一抗原結合位點的抗原結合片段，及其名稱會反映出具易於結晶之能力的殘餘「**Fc**」片段。胃蛋白酶處理獲得具有兩個抗原結合位點且仍然能夠與抗原交聯之**F(ab')**₂片段。

「**Fv**」係包含完整抗原結合位點之最小抗體片段。在一實施例中，雙鏈**Fv**物質係由一條重鏈及一條輕鏈可變域以緊密、非共價締合之二聚體所組成。在單鏈**Fv** (**scFv**)物質中，一條重鏈及一條輕鏈可變域可經由可撓性肽連接子進行共價連接使得該輕鏈及重鏈可類似於雙鏈**Fv**物質中之情況呈「二聚體」結構締合。各可變域之三個**HVR**係在此構形中相互作用來定義**VH-VL**二聚體表面上之抗原結合位點。該等六個**HVR**共同地賦予抗體之抗原結合特異性。然而，甚至單一可變域(或僅包含三個對抗原具特異性之**HVR**的半**Fv**)都具有識別並結合抗原之能力，但親和力低於整個結合位點。

Fab片段包含重鏈及輕鏈可變域且亦包含輕鏈之恆定域及重鏈之第一恆定域(**CH1**)。**Fab'**片段與**Fab**片段之不同在於在重鏈**CH1**域之羧基末端新增少數殘基，包括來自抗體鉸鏈區之一或多個半胱胺酸。本文中**Fab'-SH**係指其中恆定域之半胱胺酸殘基帶有游離硫醇基之**Fab'**的名稱。**F(ab')**₂抗體片段最初係經生產呈其間具有鉸鏈半胱胺酸之**Fab'**片段對。抗體片段之其他化學偶聯物亦係已知的。

「單鏈**Fv**」或「**scFv**」抗體片段包含抗體之**VH**及**VL**域，其中此等域係存在於單一多肽鏈中。一般而言，**scFv**多肽進一步在**VH**及**VL**域之間包含多肽連接子，其使**scFv**能夠形成抗原結合所需之結構。為回顧**scFv**，參見(例如)**Pluckthün, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies**，第

113 卷，Rosenburg 及 Moore 編 (Springer-Verlag, New York, 1994)，第 269 至 315 頁。

術語「雙功能抗體」係指具有兩個抗原結合位點之抗體片段，該等片段包含在同一多肽鏈(VH-VL)中連接至輕鏈可變域(VL)之重鏈可變域(VH)。藉由使用過短而無法讓同一鏈上之兩個域形成配對的连接子，該等域係強制與另一鏈之互補域形成配對並產生兩個抗原結合位點。雙功能抗體可為雙價或雙特異性。雙功能抗體係在(例如)EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson等人，Nat. Med. 9:129-134 (2003)；及Hollinger等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)中更全面地描述。Hudson等人，Nat. Med. 9:129-134 (2003)中亦描述三功能抗體及四功能抗體。

如本文所用，術語「單株抗體」係指一種自實質上均質抗體之群體所得到的抗體，例如，除可少量存在之可能突變(例如，天然突變)外，組成該群體之個別抗體係相同。因此，修飾語「單株」指示該抗體之特徵為其不為離散抗體之混合物。在某些實施例中，此等單株抗體通常包括含有結合標靶之多肽序列的抗體，其中該結合標靶之多肽序列係藉由包括自複數個多肽序列中選擇單一標靶結合多肽序列之方法來獲得。例如，該選擇方法可為自複數個純系(諸如融合瘤純系、噬菌體純系或重組DNA純系池)選擇獨特純系。應瞭解，經選擇之標靶結合序列可進一步改變以(例如)改良對標靶之親和力、使標靶結合序列人源化、改良其在細胞培養中之生產、減少其活體內之免疫原性、形成多特異性抗體等，及經改變之標靶結合序列亦係本發明單株抗體。與通常包括經定向對抗不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑不同地，單株抗體製劑之各單株抗體係

經定向對抗抗原上之單一決定子。除了其等之特異性外，單株抗體製劑的有利之處在於其等可通常不會受到其他免疫球蛋白的污染。

修飾語「單株」指示該抗體之特徵為其係自實質上均質之抗體群體得到，且不應視為需以任何特定方法生產該抗體。例如，根據本發明所使用之單株抗體可藉由多種技術進行製備，該等技術包括(例如)融合瘤方法(例如，Kohler及Milstein, *Nature*, 256:495-97 (1975)；Hongo等人，*Hybridoma*, 14 (3): 253-260 (1995)；Harlow等人，*Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press，第2版，1988)；Hammerling等人，*Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981))、重組DNA方法(參見，例如，美國專利號4,816,567)、噬菌體展示技術(參見，例如Clackson等人，*Nature*, 352: 624-628 (1991)；Marks等人，*J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992)；Sidhu等人，*J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004)；Lee等人，*J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004)；Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004)；及Lee等人，*J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004))、及用於在具有編碼人類免疫球蛋白序列之部分或全部人類免疫球蛋白基因座或基因之動物中產生人類或類人類抗體之技術(參見，例如，WO 1998/24893；WO 1996/34096；WO 1996/33735；WO 1991/10741；Jakobovits等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993)；Jakobovits等人，*Nature* 362: 255-258 (1993)；Bruggemann等人，*Year in Immunol.* 7:33 (1993)；美國專利號5,545,807；5,545,806；5,569,825；5,625,126；5,633,425；及5,661,016；Marks等人，*Bio/Technology* 10: 779-783 (1992)；Lonberg

等人，*Nature* 368: 856-859 (1994)；Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994)；Fishwild 等人，*Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996)；Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14: 826 (1996)；以及Lonberg及 Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995))。

本文單株抗體特別包括「嵌合」抗體(其中重鏈及/或輕鏈之一部分係與衍生自特定物種或者隸屬於特定抗體類別或亞類之抗體中的對應序列相同或同源，而該(等)鏈之其餘部分則與衍生自另一物種或者隸屬於另一抗體類別或亞類之抗體中的對應序列相同或同源)以及此等抗體之片段，只要其等呈現所需之生物活性(參見，例如，美國專利號4,816,567；及Morrison等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984))。嵌合抗體包括PRIMATTZED®抗體，其中該抗體之抗原結合區係衍生自藉由(例如)使用所關注之抗原使獼猴免疫所產生的抗體。

非人類(例如，鼠類)抗體之「人源化」形式係指含有衍生自非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合抗體。在一個實施例中，人源化抗體為人類免疫球蛋白(接受者抗體)，其中來自接受者之HVR的殘基係由具有所需特異性、親和力及/或能力之來自非人類物種(諸如小鼠、大鼠、兔子或非人類靈長類動物)(供者抗體)之HVR的殘基所替換。在一些實例中，人類免疫球蛋白之FR殘基係由對應非人類殘基所替換。此外，人源化抗體可包含接受者抗體或供者抗體中所未發現之殘基。可進行此等修飾以進一步改善抗體性能。一般而言，人源化抗體將包含實質上所有之至少為一個(且通常為兩個)的可變域，其中所有或實質上所有之超可變回環係相對應於彼等非人類免疫球蛋白之超可變回環，而所有或實質上所有之FR為彼等人類免疫球蛋白序列之FR。人源化抗體視情況亦將包含通常為人類免疫球

蛋白之免疫球蛋白恆定區(Fc)的至少一部分。關於進一步細節，參見(例如)Jones等人，Nature 321:522-525 (1986)；Riechmann等人，Nature 332:323-329 (1988)；及Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)。亦參見(例如)Vaswani及Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998)；Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995)；Hurle及Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994)；及美國專利號6,982,321及7,087,409。

「人類抗體」係指具有與由人類所產生及/或已利用如本文所揭示之製造人類抗體之任何技術所產生的抗體一致之胺基酸序列的抗體。此人類抗體之定義明確排除含有非人類抗原結合殘基之人源化抗體。可利用此項技術中已知之各種技術產生人類抗體，包括噬菌體展示庫。Hoogenboom及Winter，J. Mol. Biol., 227:381 (1991)；Marks等人，J. Mol. Biol., 222:581 (1991)。Cole等人，Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss，第77頁(1985)；Boerner等人，J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)中所描述之方法亦可用於製備人類單株抗體。亦參見van Dijk及van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5: 368-74 (2001)。藉由將抗原投與至業經修飾為可針對抗原攻擊回應產生此等抗體但其內源性基因座已失效之基因轉殖動物(例如，經免疫之異種小鼠)來製備人類抗體(關於XENOMOUSE™技術，參見(例如)美國專利號6,075,181及6,150,584)。關於經由人類B細胞融合瘤技術所產生之人類抗體，亦參見(例如)Li等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)。

「物種依賴性抗體」為具有對來自第一哺乳動物物種之抗原比對來自第二哺乳動物物種之彼抗原之同系物更強之結合親和力的抗體。通常，

物種依賴性抗體「特異性結合」至人類抗原(例如，具有不超過約 1×10^{-7} M，較佳不超過約 1×10^{-8} M且較佳不超過約 1×10^{-9} M之結合親和力(Kd值)，而其具有之對來自第二非人類哺乳動物物種之該抗原之同系物的結合親和力比對人類抗原之結合親和力弱至少約50倍、或至少約500倍、或至少約1000倍。物種依賴性抗體可為如上所定義之各種類型抗體中的任一種，但較佳為人源化或人類抗體。

當本文使用術語「超變區」、「HVR」或「HV」時，其係指序列超可變及/或形成結構上定義之回環之抗體可變域的區域。一般而言，抗體包含六個HVR；三個在VH (H1、H2、H3)中，及三個在VL (L1、L2、L3)中。在天然抗體中，H3及L3顯示六個HVR中最大的多樣性，且據信H3尤其在賦予抗體精細特異性中起獨特作用。參見(例如)Xu等人，*Immunity* 13:37-45 (2000)；Johnson及Wu，*Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo等人，Human Press, Totowa, N.J., 2003)。事實上，僅由重鏈組成之天然駱駝抗體在缺乏輕鏈時具有功能且是穩定的。參見(例如) Hamers-Casterman等人，*Nature* 363:446-448 (1993)；Sheriff等人，*Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996)。

有許多HVR描述方式可以使用，並涵蓋於本文中。Kabat互補決定區(CDR)係基於序列可變性且係最常使用(Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第5版，Public Health Service, 國家健康研究院(National Institutes of Health), Bethesda, Md. (1991))。Chothia係指代結構性回環之定位(Chothia及Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))。AbM HVR代表Kabat HVR與Chothia結構性回環之間的折衷方案，並為Oxford Molecular's AbM抗體建模軟體所採用。

「Contact」HVR係基於可用之複雜晶體結構的分析。此等HVR中每一者之殘基列示如下。

回環	Kabat	AbM	Chothia	Contact
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (Kabat 編號)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (Chothia編號)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

HVR可包括如下「延伸性HVR」：VL中之24-36或24-34 (L1)、46-56或50-56 (L2)及89-97或89-96 (L3)，及VH中之26-35 (H1)、50-65或49-65 (H2)及93-102、94-102或95-102 (H3)。該等可變域殘基係根據Kabat等人(前述)針對此等定義之每一者進行編號。

「框架」或「FR」殘基係彼等不同於如本文所定義之HVR殘基的可變域殘基。

術語「如Kabat中之可變域殘基編號」或「如Kabat中之胺基酸位置編號」及其變型係指前述Kabat等人用於彙編抗體之重鏈可變域或輕鏈可變域的編號系統。利用此編號系統，實際線性胺基酸序列可包含較少或額外的胺基酸，該等胺基酸就相當於縮短了可變域的FR或HVR之胺基酸或將胺基酸插入其中。例如，重鏈可變域在H2之殘基52後包含單一胺基酸插入物(根據Kabat編號為殘基52a)及在重鏈FR殘基82後包含插入殘基(例

如根據Kabat編號為殘基82a、82b及82c等)。藉由用「標準」Kabat編號的序列對準給定抗體序列之同源區可確定該抗體之殘基的Kabat編號。

當涉及可變域中之殘基(大致為輕鏈之殘基1-107及重鏈之殘基1-113)時，通常使用Kabat編號系統(例如，Kabat等人，Sequences of Immunological Interest, 第5版，Public Health Service, 國家健康研究院，Bethesda, Md. (1991))。當涉及免疫球蛋白重鏈恆定區之殘基時，通常使用「EU編號系統」或「EU索引」(例如，Kabat等人(前述)所報告之EU索引)。「如Kabat中之EU索引」係指人類IgG1 EU抗體之殘基編號。

表述「線性抗體」係指Zapata等人(1995 Protein Eng, 8(10):1057-1062)中所述之抗體。簡而言之，此等抗體包含一對串聯Fd片段(VH-CH1-VH-CH1)，該片段與互補輕鏈多肽一起形成一對抗原結合區。線性抗體可為雙特異性或單特異性。

如本文所用，術語「結合」、「特異性結合」或「對...具有特異性」係指諸如標靶與抗體之間之結合的可量測且可重現之相互作用，其確定在分子(包括生物分子)之異質群體的存在下存在標靶。例如，結合或特異性結合標靶(其可為抗原決定基)之抗體係以相比其結合其他標靶更大之親和力、結合性、更輕易地及/或以更長之持續時間結合此標靶的抗體。在一實施例中，抗體結合非相關標靶之程度係低於約10%之該抗體與標靶之結合，如(例如)藉由放射免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，特異性結合至標靶之抗體具有 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{ nM}$ 、 $\leq 10\text{ nM}$ 、 $\leq 1\text{ nM}$ 或 $\leq 0.1\text{ nM}$ 之解離常數。在某些實施例中，抗體特異性結合蛋白質上之在來自不同物種之蛋白質中保守的抗原決定基。在另一實施例中，特異性結合可包括但不需要專一結合。

術語「檢測」包括檢測之任何方法，包括直接及間接檢測。

如本文所用，術語「生物標記」係指(例如)預測性、診斷性及/或預後性指示劑，其可在試樣中檢測到。生物標記可充作特徵為特定分子、病理、組織學及/或臨床特徵之疾病或病症(例如，癌症)之特定亞型的指示劑。在一些實施例中，生物標記為基因。生物標記包括(但不限於)多核苷酸(例如，DNA及/或RNA)、多核苷酸複本數變化(例如，DNA複本數)、多肽、多肽及多核苷酸修飾(例如，轉譯後修飾)、碳水化合物及/或基於醣脂類之分子標記。

治療劑

本發明使用MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑之組合來治療個體之CRC。在一些態樣中，MEK抑制劑為考比替尼或其醫藥上可接受之鹽；PD-1軸抑制劑為PD-L1抑制劑，且更特定言之該PD-L1抑制劑為阿特珠單抗；及/或VEGF抑制劑為貝伐單抗。在一些其他態樣中，考比替尼為Cotellic®，阿特珠單抗為Tecentriq®，及/或貝伐單抗為Avastin®。

本發明化合物可以此項技術中已知之任何合適方式進行投與。在一些態樣中，該等化合物可經靜脈內、肌肉內、皮下、局部、經口、經皮、腹膜內、眼窩內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、室內、瘤內或鼻內投與。

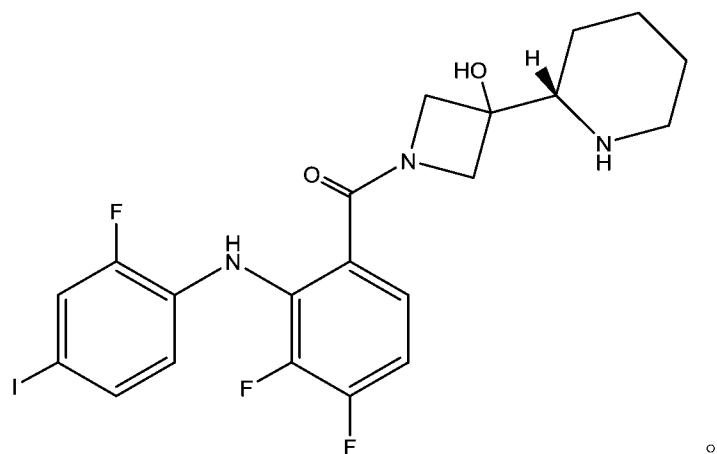
應瞭解，活性化合物之合適劑量取決於若干一般醫師所熟知之因素。活性化合物之劑量將視(例如)個體之年齡、體重、一般健康狀況、性別及飲食、投與之時間、投與之途徑、排泄速率及任何藥物組合而改變。

亦應瞭解，用於治療之本發明化合物或其醫藥上可接受之鹽、前藥、代謝產物或衍生物的有效劑量可隨特定治療之過程增加或減少。劑量之改變可由診斷分析之結果來產生且變得顯然。

MEK抑制劑

在本發明範圍內之MEK抑制劑的實例包括考比替尼、曲美替尼(trametinib)、必尼美替尼(binimetinib)、賽路美替尼(selumetinib)、皮馬瑟替(pimasertib)、瑞法美替尼(refametinib)、PD-0325901及BI-847325，或其醫藥上可接受之鹽。

在本發明之一些特定態樣中，該MEK抑制劑為考比替尼或其醫藥上可接受之鹽(例如，Cotellic®)，其具有化學名稱(S)[3,4-二氟-2-(2-氟-4-碘苯基胺基)苯基][3-羥基-3-(哌啶-2-基)吡丁啶-1-基]甲酮，且具有以下結構：



Cotellic®為考比替尼之富馬酸鹽。考比替尼係描述於美國專利號7,803,839及8,362,002中，其等各係以全文引用之方式併入本文中。考比替尼為MEK1及MEK2 (RAS/RAF/MEK/ERK (MAPK)之中心組分)路徑之可逆、高效且高度選擇性抑制劑且在多個人類癌症模型中具有單一藥劑抗-腫瘤活性。

考比替尼經由抑制MEK1及MEK2而抑制多種人類腫瘤細胞系之增殖。此外，考比替尼抑制異種移植腫瘤模型中之ERK磷酸化且刺激細胞凋亡。考比替尼在腫瘤異種移植中累積且在血漿濃度已降低後仍在腫瘤中處於高濃度。考比替尼抑制ERK1磷酸化之活性係與其在腫瘤組織中之濃度

更密切相關而非其在血漿中之濃度；一般而言，減少**ERK1**磷酸化與腫瘤異種移植模型之療效之間存在良好關聯性。業經在若干個人類腫瘤異種移植模型中觀察到腫瘤退化。此退化係劑量依賴性，其中在最高測試劑量下至多100%退化。所研究之模型包括**CRC**、惡性黑色素瘤、乳癌及肺癌。

考比替尼作為單一藥劑進行投與之藥物動力學(PK)業經在Ia期劑量遞增研究**MEK4592g**中之遵循口服的癌症患者中於單次及多次給藥後進行表徵，該研究包括具有**BRAF**、**NRAS**或**KRAS**突變之患者的60 mg/天之考比替尼劑量的評定。總共有6個患者(其等全部患有黑色素瘤；6.2%)具有經確認之部分反應(PR)，28個患者(28.9%)具有穩定疾病(SD)，及40個患者(41.2%)具有進行性疾病(PD)。在14個結腸直腸癌(CRC)患者中，所有患者經歷進行性疾病(PD)。在研究**MEK4592g**之階段III中，納入18個患者，並評估18個患者中之14個患者的最佳總反應。四個患者(22.2%)具有SD作為其等之最佳總反應，且2個患者(11.1%)具有確認的腫瘤反應。

考比替尼具有中等之吸收率(達到最大濃度之中值時間[t_{max}]為1至3小時)及48.8小時之平均最終半衰期($t_{1/2}$) (23.1至80小時之範圍)。考比替尼以濃度依賴性方式結合血漿蛋白質(95%)。考比替尼在0.05 mg/kg (對70 kg成人而言為約3.5 mg/kg)至80 mg之劑量範圍內呈現線性藥物動力學且在健康個體中在研究**MEK4952g**中之絕對生物可利用率經測定為45.9% (90% CI：39.74%，53.06%)。與在空腹狀態下投與比較，當健康個體在飽食狀態下投與時考比替尼藥物動力學無變化。因為食物不改變考比替尼藥物動力學，所以考比替尼可與食物一起或不與食物一起投與。與考比替尼在空腹狀態下單獨投與相比，質子泵抑制劑雷貝拉唑(rabeprazole)似乎對考比替尼藥物動力學具有最小作用，不管在存在還是不存在高脂肪餐食

下投與。因此，胃pH值之增加不影響考比替尼藥物動力學，這指示其係對胃pH值變化不敏感。

考比替尼鹽、結晶型式及前藥係在本發明範圍內。考比替尼、製備方法及治療用途係揭示於國際公開案號 WO 2007/044515、WO 2007/044615、WO 2014/027056及WO 2014/059422中，其等各係以全文引用之方式併入本文中。例如，在本發明之一些態樣中，該MEK抑制劑為結晶半富馬酸鹽考比替尼多晶型物A型。

在本發明範圍內之MEK抑制劑(例如，考比替尼)劑量為每日約20 mg至約100 mg、約40 mg至約80 mg或約60 mg之MEK抑制劑。在特定實施例中，MEK抑制劑為考比替尼，且係以約60 mg、約40 mg或約20 mg進行給藥。

該MEK抑制劑適於每日一次地投與。在一些態樣中，該MEK抑制劑係每日一次地投與持續28天治療週期中之連續21天。在一些態樣中，該MEK抑制劑係在28天治療週期中之第1至21天每日一次地投與。在一些態樣中，該MEK抑制劑係在28天治療週期中之第3至23天每日一次地投與。

PD-1軸抑制劑

根據本發明，PD-1軸抑制劑可更特定言之係指PD-1抑制劑、PD-L1抑制劑或PD-L2抑制劑。「PD-1」之替代名稱包括CD279及SLEB2。

「PD-L1」之替代名稱包括B7-H1、B7-4、CD274及B7-H。「PD-L2」之替代名稱包括B7-DC、Btdc及CD273。在一些實施例中，PD-1、PD-L1及PD-L2為人類PD-1、PD-L1及PD-L2。

在一些實施例中，該PD-1抑制劑為抑制PD-1結合至其配體結合搭配物之分子。在一特定態樣中，該PD-1配體結合搭配物為PD-L1及/或PD-

L2。在另一實施例中，PD-L1抑制劑為抑制PD-L1結合至其結合搭配物之分子。在一特定態樣中，PD-L1結合搭配物為PD-1及/或B7-1。在另一實施例中，PD-L2抑制劑為抑制PD-L2結合至其結合搭配物之分子。在一特定態樣中，PD-L2結合搭配物為PD-1。該抑制劑可為抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白或寡肽。

在一些實施例中，該PD-1抑制劑為抗-PD-1抗體(例如，人類抗體、人源化抗體或嵌合抗體)。在一些實施例中，該抗-PD-1抗體係選自由尼沃單抗(nivolumab)、派立珠單抗(pembrolizumab)、拉立珠單抗(Lambrolizumab)及CT-011組成之群。在一些實施例中，該PD-1抑制劑為免疫黏附素(例如，包括PD-L1或PD-L2之融合至恆定區(例如，免疫球蛋白序列之Fc區)之細胞外或PD-1結合部分的免疫黏附素)。在一些實施例中，該PD-1抑制劑為AMP-224。尼沃單抗(亦稱為MDX-1106-04、MDX-1106、ONO-4538、BMS-936558及OPDIVO®)係WO2006/121168中描述之抗-PD-1抗體。派立珠單抗(亦稱為MK-3475、Merck 3475、拉立珠單抗、KEYTRUDA®及SCH-900475)係WO2009/114335中描述之抗-PD-1抗體。CT-011 (亦稱為hBAT或hBAT-1)係WO2009/101611中描述之抗-PD-1抗體。AMP-224 (亦稱為B7-DCIg) 係WO2010/027827及WO2011/066342中描述之PD-L2-Fc融合可溶受體。

在一些實施例中，該抗-PD-1抗體為尼沃單抗(CAS登錄號：946414-94-4)。在其他實施例中，提供單離抗-PD-1抗體，其包含含有來自SEQ ID NO:1之重鏈可變區胺基酸序列的重鏈可變區及/或含有來自SEQ ID NO:2之輕鏈可變區胺基酸序列的輕鏈可變區。在其他實施例中，提供包含重鏈及/或輕鏈序列之單離抗-PD-1抗體，其中：

(a)該重鏈序列與以下重鏈序列相比具有至少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%、至少99%或100%之序列一致性：
 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLE
 WVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTA
 VYYCATNDDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG
 CLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPS
 SSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV
 FLFPPKPKDTLMISRTP E VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN
 AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
 KTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV
 MHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:1)，或

(b)該輕鏈序列與以下輕鏈序列相比具有至少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%、至少99%或100%之序列一致性：
 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLI
 YDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPR
 TFGQGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA
 KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSSTLTLSKADYEKHK
 VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:2)。

在一些實施例中，該抗-PD-1抗體為派立珠單抗(CAS登錄號：1374853-91-4)。在其他實施例中，提供單離抗-PD-1抗體，其包含含有來

自SEQ ID NO:3之重鏈可變區胺基酸序列的重鏈可變區及/或含有來自SEQ ID NO:4之輕鏈可變區胺基酸序列的輕鏈可變區。在其他實施例中，提供包含重鏈及/或輕鏈序列之單離抗-PD-1抗體，其中：

(a)該重鏈序列與以下重鏈序列相比具有至少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%、至少99%或100%之序列一致性：

QVQLVQSGVE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYMYWVRQA
PGQGLEWMGG INPSNGGTNF NEKFKNRVTL TTDSTTTAY
MELKSLQFDD TAVYYCARRDYRFDMGFDYW GQGTTVTVSS
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT
VPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPCCPPCP
APEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQED
PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFFLYSRL TVDKSRWQEG
NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO:3)，或

(b)該輕鏈序列與以下輕鏈序列相比具有至少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%、至少99%或100%之序列一致性：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKP
GQAPRLLIYLAstyleSGVPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYC

QHSRDLPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC (SEQ ID NO:4)。

在一些實施例中，該PD-L1抑制劑為抗-PD-L1抗體。在一些實施例中，該抗-PD-L1抗體係選自由YW243.55.S70、MPDL3280A (阿特珠單抗)、MDX-1105及MEDI4736組成之群。MDX-1105 (亦稱為BMS-936559)係WO2007/005874中描述之抗-PD-L1抗體。抗體YW243.55.S70 (重鏈及輕鏈可變區序列各自顯示於SEQ ID No. 5及6中)係WO 2010/077634 A1中描述之抗-PD-L1抗體。MEDI4736係WO2011/066389及US2013/034559中描述之抗-PD-L1抗體。

適用於本發明方法之抗-PD-L1抗體及其製備方法的實例係描述於PCT專利申請案WO 2010/077634 A1及美國專利案號8,217,149中，其等係以引用之方式併入本文中。

在一些實施例中，該PD-1軸抑制劑為抗-PD-L1抗體。在一些實施例中，該抗-PD-L1抗體能夠抑制PD-L1與PD-1之間及/或PD-L1與B7-1之間之結合。在一些實施例中，該抗-PD-L1抗體為單株抗體。在一些實施例中，該抗-PD-L1抗體為選自由Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及(Fab')₂片段組成之群的抗體片段。在一些實施例中，該抗-PD-L1抗體為人源化抗體。在一些實施例中，該抗-PD-L1抗體為人類抗體。

適用於本發明之抗-PD-L1抗體(包括含有此等抗體之組合物)諸如彼等於WO 2010/077634 A1中所描述者。在一些實施例中，該抗-PD-L1抗體包含含有胺基酸序列SEQ ID NO:7或8 (下文)之重鏈可變區及含有胺基酸序列SEQ ID NO:9 (下文)之輕鏈可變區。

在一實施例中，該抗-PD-L1抗體包含含有HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列之重鏈可變區多肽，其中：

(a)該HVR-H1序列為GFTFSX₁SWIH (SEQ ID NO:10)；

(b) 該 HVR-H2 序 列 為 AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG (SEQ ID NO:11)；

(c)該HVR-H3序列為RHWPGGFDY (SEQ ID NO:12)；

進一步地其中：X₁為D或G；X₂為S或L；X₃為T或S。

在一特定態樣中，X₁為D；X₂為S且X₃為T。在另一態樣中，該多肽進一步含有根據下式之並置於HVR之間的可變區重鏈框架序列：(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)。在又另一態樣中，該等框架序列係衍生自人類一致框架序列。在其他態樣中，該等框架序列為VH亞族III一致框架。在其他態樣中，該等框架序列中至少一者係如下：

HC-FR1為EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:13)

HC-FR2為WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:14)

HC-FR3 為 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:15)

HC-FR4為WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:16)。

在其他態樣中，該重鏈多肽係進一步與含有HVR-L1、HVR-L2及HVR-L3之可變區輕鏈組合，其中：

(a)該HVR-L1序列為RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (SEQ ID NO:17)；

(b)該HVR-L2序列為SASX₉LX₁₀S (SEQ ID NO:18)；

(c)該HVR-L3序列為QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T (SEQ ID NO:19)；

進一步地其中：X₄為D或V；X₅為V或I；X₆為S或N；X₇為A或F；X₈為V或L；X₉為F或T；X₁₀為Y或A；X₁₁為Y、G、F或S；X₁₂為L、Y、F或W；X₁₃為Y、N、A、T、G、F或I；X₁₄為H、V、P、T或I；X₁₅為A、W、R、P或T。

在其他態樣中，X₄為D；X₅為V；X₆為S；X₇為A；X₈為V；X₉為F；X₁₀為Y；X₁₁為Y；X₁₂為L；X₁₃為Y；X₁₄為H；X₁₅為A。在其他態樣中，該輕鏈進一步含有根據下式並置於HVR之間的可變區輕鏈框架序列：(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)。在其他態樣中，該等框架序列係衍生自人類一致框架序列。在其他態樣中，該等框架序列為VL_κI一致框架。在其他態樣中，該等框架序列中至少一者係如下：

LC-FR1為DIQMTQSPSSLSASVGDRVITC (SEQ ID NO:20)

LC-FR2為WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:21)

LC-FR3為GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:22)

LC-FR4為FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:23)。

在另一實施例中，提供包含重鏈及輕鏈可變區序列之單離抗-PD-L1抗體或抗原結合片段，其中：

該重鏈含有HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3，其中進一步地：

(i)該HVR-H1序列為GFTFSX₁SWIH (SEQ ID NO:10)

(ii)該HVR-H2序列為AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG (SEQ ID NO:11)

(iii)該HVR-H3序列為RHWPGGFDY，及 (SEQ ID NO:12)

該輕鏈含有HVR-L1、HVR-L2及HVR-L3，其中進一步地：

(i)該HVR-L1序列為RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A (SEQ ID NO:17)

(ii)該HVR-L2序列為SASX₉LX₁₀S；及 (SEQ ID NO:18)

(iii)該HVR-L3序列為QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T； (SEQ ID NO:19)

進一步地其中：X₁為D或G；X₂為S或L；X₃為T或S；X₄為D或V；X₅為V或I；X₆為S或N；X₇為A或F；X₈為V或L；X₉為F或T；X₁₀為Y或A；X₁₁為Y、G、F或S；X₁₂為L、Y、F或W；X₁₃為Y、N、A、T、G、F或I；X₁₄為H、V、P、T或I；X₁₅為A、W、R、P或T。

在一特定態樣中，X₁為D；X₂為S且X₃為T。在另一態樣中，X₄為D；X₅為V；X₆為S；X₇為A；X₈為V；X₉為F；X₁₀為Y；X₁₁為Y；X₁₂為L；X₁₃為Y；X₁₄為H；X₁₅為A。在又另一態樣中，X₁為D；X₂為S且X₃為T，X₄為D；X₅為V；X₆為S；X₇為A；X₈為V；X₉為F；X₁₀為Y；X₁₁為Y；X₁₂為L；X₁₃為Y；X₁₄為H且X₁₅為A。

在其他態樣中，該重鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架序列：(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)，且該輕鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架序列：(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-

(HVR-L3)-(LC-FR4)。在其他態樣中，該等框架序列係衍生自人類一致框架序列。在其他態樣中，該等重鏈框架序列係衍生自Kabat亞族I、II或III序列。在其他態樣中，該重鏈框架序列為VH亞族III一致框架。在其他態樣中，該等重鏈框架序列中之一或多者係如下：

HC-FR1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:13)

HC-FR2 WVRQAPGKGGLEWV (SEQ ID NO:14)

HC-FR3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:15)

HC-FR4 WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:16)。

在其他態樣中，該等輕鏈框架序列係衍生自Kabat κ I、II、III或IV亞族序列。在其他態樣中，該等輕鏈框架序列為VL κ I一致框架。在其他態樣中，該等輕鏈框架序列中之一或多者係如下：

LC-FR1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:20)

LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:21)

LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:22)

LC-FR4 FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:23)。

在其他特定態樣中，該抗體進一步包含人類或鼠類恆定區。在其他態樣中，該人類恆定區係選自由IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4組成之群。在其他特定態樣中，該人類恆定區為IgG1。在其他態樣中，該鼠類恆定區係選自由IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3組成之群。在其他態樣

中，該鼠類恆定區為IgG2A。在其他特定態樣中，該抗體具有減少或最小之效應子功能。在其他特定態樣中，該最小效應子功能源於「無效應子Fc突變」或無糖基化作用。在其他實施例中，該無效應子Fc突變為恆定區中之N297A或D265A/N297A取代。

在又另一實施例中，提供包含重鏈及輕鏈可變區序列之抗-PD-L1抗體，其中：

(a)該重鏈進一步含有HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列，該等序列與GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:24)、AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:25)及RHWPGGFDY (SEQ ID NO:12)相比各自具有至少85%之序列一致性，或

(b)該輕鏈進一步含有HVR-L1、HVR-L2及HVR-L3序列，該等序列與RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:26)、SASFLYS (SEQ ID NO:27)及QQYLYHPAT (SEQ ID NO:28)相比各自具有至少85%之序列一致性。

在一特定態樣中，該序列一致性為86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在另一態樣中，該重鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架序列：(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)，且該輕鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架序列：(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)。在又另一態樣中，該等框架序列係衍生自人類一致框架序列。在其他態樣中，該等重鏈框架序列係衍生自Kabat亞族I、II或III序列。在其他態樣中，該重鏈框架序列為VH亞族III一致框架。在其他態樣中，該等重鏈框架序列中之一或多者係如下：

HC-FR1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:13)

HC-FR2 WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:14)

HC-FR3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:15)

HC-FR4 WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:16)。

在其他態樣中，該等輕鏈框架序列係衍生自Kabat κ I、II、III或IV亞族序列。在其他態樣中，該等輕鏈框架序列為VL κ I一致框架。在其他態樣中，該等輕鏈框架序列中之一或多者係如下：

LC-FR1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:20)

LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:21)

LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:22)

LC-FR4 FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:23)。

在其他特定態樣中，該抗體進一步包含人類或鼠類恆定區。在其他態樣中，該人類恆定區係選自由IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4組成之群。在其他特定態樣中，該人類恆定區為IgG1。在其他態樣中，該鼠類恆定區係選自由IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3組成之群。在其他態樣中，該鼠類恆定區為IgG2A。在其他特定態樣中，該抗體具有減少或最小之效應子功能。在其他特定態樣中，該最小效應子功能源於「無效應子Fc突變」或無糖基化作用。在其他實施例中，該無效應子Fc突變為恆定區中之N297A或D265A/N297A取代。

在其他實施例中，提供包含重鏈及輕鏈可變區序列之單離抗-PD-L1 抗體，其中：

(a)該重鏈序列與以下重鏈序列相比具有至少85%之序列一致性：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLE
WVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA
VYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:29)，或

(b)該輕鏈序列與以下輕鏈序列相比具有至少85%之序列一致性：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLL
IYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPA
TFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:9)。

在一特定態樣中，該序列一致性為86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在另一態樣中，該重鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架序列：(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)，且該輕鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架序列：(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)。在又另一態樣中，該等框架序列係衍生自人類一致框架序列。在其他態樣中，該等重鏈框架序列係衍生自Kabat亞族I、II或III序列。在其他態樣中，該重鏈框架序列為VH亞族III一致框架。在其他態樣中，該等重鏈框架序列中之一或多者係如下：

HC-FR1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID
NO:13)

HC-FR2 WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:14)

HC-FR3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:15)

HC-FR4 WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:16)。

在其他態樣中，該等輕鏈框架序列係衍生自Kabat κ I、II、III或IV亞族序列。在其他態樣中，該等輕鏈框架序列為VL κ I一致框架。在其他態樣中，該等輕鏈框架序列中之一或多者係如下：

LC-FR1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:20)

LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:21)

LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:22)

LC-FR4 FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:23)。

在其他特定態樣中，該抗體進一步包含人類或鼠類恆定區。在其他態樣中，該人類恆定區係選自由IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4組成之群。在其他特定態樣中，該人類恆定區為IgG1。在其他態樣中，該鼠類恆定區係選自由IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3組成之群。在其他態樣中，該鼠類恆定區為IgG2A。在其他特定態樣中，該抗體具有減少或最小之效應子功能。在其他特定態樣中，該最小效應子功能歸因於原核細胞中之生產。在其他特定態樣中，該最小效應子功能源於「無效應子Fc突變」或無糖基化作用。在其他實施例中，該無效應子Fc突變為恆定區中之N297A或D265A/N297A取代。

在另一其他實施例中，提供包含重鏈及輕鏈可變區序列之單離抗-PD-L1抗體，其中：

(a)該重鏈序列與以下重鏈序列相比具有至少85%之序列一致性：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGK
GLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE
DTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:7)，或

(b)該輕鏈序列與以下輕鏈序列相比具有至少85%之序列一致性：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLL
IYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPA
TFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:9)。

在其他實施例中，提供包含重鏈及輕鏈可變區序列之單離抗-PD-L1
抗體，其中：

(a)該重鏈序列與以下重鏈序列相比具有至少85%之序列一致性：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLE
WVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA
VYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSASTK (SEQ ID NO:8)，或

(b)該輕鏈序列與以下輕鏈序列相比具有至少85%之序列一致性：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLL
IYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPA
TFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:9)。

在一特定態樣中，該序列一致性為86%、87%、88%、89%、90%、
91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在另
一態樣中，該重鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架序
列：(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-
(HC-FR4)，且該輕鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架

序列：(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)。在又另一態樣中，該等框架序列係衍生自人類一致框架序列。在其他態樣中，該等重鏈框架序列係衍生自Kabat亞族I、II或III序列。在其他態樣中，該重鏈框架序列為VH亞族III一致框架。在其他態樣中，該等重鏈框架序列中之一或多者係如下：

HC-FR1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:13)

HC-FR2 WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:14)

HC-FR3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:15)

HC-FR4 WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:30)。

在其他態樣中，該等輕鏈框架序列係衍生自Kabat κ I、II、III或IV亞族序列。在其他態樣中，該等輕鏈框架序列為VL κ I一致框架。在其他態樣中，該等輕鏈框架序列中之一或多者係如下：

LC-FR1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:20)

LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:21)

LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:22)

LC-FR4 FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:23)。

在其他特定態樣中，該抗體進一步包含人類或鼠類恆定區。在其他態樣中，該人類恆定區係選自由IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4組成之群。在其他特定態樣中，該人類恆定區為IgG1。在其他態樣中，該鼠類

恆定區係選自由IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3組成之群。在其他態樣中，該鼠類恆定區為IgG2A。在其他特定態樣中，該抗體具有減少或最小之效應子功能。在其他特定態樣中，該最小效應子功能源於原核細胞之生產。在其他特定態樣中，該最小效應子功能源於「無效應子Fc突變」或無糖基化作用。在其他實施例中，該無效應子Fc突變為恆定區中之N297A或D265A/N297A取代。

在又另一實施例中，該抗-PD-L1抗體為阿特珠單抗或MPDL3280A (CAS登錄號：1422185-06-5)。在其他實施例中，提供單離抗-PD-L1抗體，其包含含有來自EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:7) 或EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSASTK (SEQ ID NO:8)之重鏈可變區胺基酸序列的重鏈可變區及含有胺基酸序列DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:9)的輕鏈可變區。在其他實施例中，提供包含重鏈及/或輕鏈序列之單離抗-PD-L1抗體，其中：

(a)該重鏈序列與以下重鏈序列相比具有至少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% 、 至 少 99% 或 100% 之 序 列 一 致 性 ；

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLE
WVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA
VYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG
GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:31) ， 及/或

(b)該輕鏈序列與以下輕鏈序列相比具有至少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%、至少99%或100%之序列一致性：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLL
IYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPA
TFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHK
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:32) 。

在其他實施例中，提供編碼抗-PD-L1抗體之輕鏈或重鏈可變區序列的單離核酸，其中：

(a)該重鏈進一步含有HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列，該等序列與GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:24)、AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ

ID NO:25)及RHWPGGFDY (SEQ ID NO:12)相比各自具有至少85%之序列一致性，及

(b)該輕鏈進一步含有HVR-L1、HVR-L2及HVR-L3序列，該等序列與RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:26)、SASFLYS (SEQ ID NO:27)及QQYLYHPAT (SEQ ID NO:28)相比各自具有至少85%之序列一致性。

在一特定態樣中，該序列一致性為86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在一態樣中，該重鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架序列：(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)，且該輕鏈可變區含有如下般並置於HVR之間的一或多個框架序列：(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)。在又另一態樣中，該等框架序列係衍生自人類一致框架序列。在其他態樣中，該等重鏈框架序列係衍生自Kabat亞族I、II或III序列。在其他態樣中，該重鏈框架序列為VH亞族III一致框架。在其他態樣中，該等重鏈框架序列中之一或多者係如下：

HC-FR1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:13)

HC-FR2 WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:14)

HC-FR3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:15)

HC-FR4 WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:16)。

在其他態樣中，該等輕鏈框架序列係衍生自Kabat κ I、II、III或IV亞族序列。在其他態樣中，該等輕鏈框架序列為VL κ I一致框架。在其他態

樣中，該等輕鏈框架序列中之一或多者係如下：

LC-FR1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITC (SEQ ID NO:20)

LC-FR2 WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:21)

LC-FR3 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:22)

LC-FR4 FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:23)。

在其他特定態樣中，本文所述之抗體(諸如抗-PD-1抗體、抗-PD-L1抗體或抗-PD-L2抗體)進一步包含人類或鼠類恆定區。在其他態樣中，該人類恆定區係選自由IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4組成之群。在其他特定態樣中，該人類恆定區為IgG1。在其他態樣中，該鼠類恆定區係選自由IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3組成之群。在其他態樣中，該鼠類恆定區為IgG2A。在其他特定態樣中，該抗體具有減少或最小之效應子功能。在其他特定態樣中，該最小效應子功能源於原核細胞之生產。在其他特定態樣中，該最小效應子功能源於「無效應子Fc突變」或無糖基化作用。在其他態樣中，該無效應子Fc突變為恆定區中之N297A或D265A/N297A取代。

在其他態樣中，本文提供編碼本文所述抗體中之任一者的核酸。在一些實施例中，該核酸進一步包含適用於表現編碼前述抗-PD-L1、抗-PD-1或抗-PD-L2抗體之任一者的核酸的載體。在其他特定態樣中，該載體進一步包含適用於表現該核酸之宿主細胞。在其他特定態樣中，該宿主細胞為真核細胞或原核細胞。在其他特定態樣中，該真核細胞為哺乳動物細胞，諸如中國倉鼠卵巢(CHO)。

可使用此項技術中已知之方法(例如，藉由包括在適於生產此類抗體或片段之條件下培養含有編碼以適用於表現之形式的前述抗-PD-L1、抗-PD-1或抗-PD-L2抗體或抗原結合片段之核酸的宿主細胞及回收該抗體或片段的方法)，來製備抗體或其抗原結合片段。

在一些實施例中，該單離抗-PD-L1抗體係經無糖基化。抗體之糖基化通常為N-連接或O-連接。N-連接係指將碳水化合物部分附接於天冬醯胺殘基之側鏈。三肽序列天冬醯胺-X-絲胺酸及天冬醯胺-X-蘇胺酸(其中X為脯胺酸除外的任何胺基酸)係碳水化合物部分與天冬醯胺側鏈進行酶附接之識別序列。因此，多肽中存在此等兩種三肽序列中任一者皆可創造潛在糖基化位點。O-連接糖基化係指將糖N-乙醯胺基半乳糖、半乳糖或木糖之一者附接於羥胺基酸上，最常見為絲胺酸或蘇胺酸，但亦可使用5-羥脯胺酸或5-羥離胺酸。藉由改變胺基酸序列使上述三肽序列(提供N-連接糖基化位點)之一或多者移除，可便捷地完成自抗體移除糖基化位點。可藉由將糖基化位點中之天冬醯胺、絲胺酸或蘇胺酸殘基取代為另一胺基酸殘基(例如，甘胺酸、丙胺酸或保守性取代基)來進行該改變。

就此而言，應注意，阿特珠單抗作為單一藥劑進行投與之藥物動力學業經基於來自研究PCD4989g之臨床數據進行表徵，且係與目前進行之對TNBC之一線治療的III期研究WO29522一致。已在1至20 mg/kg之劑量下觀察到阿特珠單抗之抗腫瘤活性。總而言之，對於每三週(q3w)≥ 1 mg/kg之劑量而言，阿特珠單抗呈現為線性且與典型IgG1抗體一致的藥物動力學。藥物動力學數據(Bai S、Jorga K、Xin Y等人，A guide to rational dosing of monoclonal antibodies, Clin Pharmacokinet 2012;51:119-35，其係以全文引用之方法併入本文中)未表明遵循固定劑

量或根據體重進行調整之劑量後存在任何臨床上有意義之曝露差異。業經測試q3w及q2w之阿特珠單抗給藥時間表。每兩週(q2w) 800 mg阿特珠單抗之固定劑量(相當於10 mg/kg q2w之基於體重的劑量)導致與每三週(q3w)投與1200 mg之III期劑量等效的曝露。q3w時間表係用於多種阿特珠單抗對多種腫瘤類型之單一療法的III期研究，而q2w主要用於與化學療法方案組合。在研究PCD4989g中，卡普蘭-邁耶(Kaplan-Meier)估算總體24週無進展存活期(PFS)率為33% (95% CI：12%，53%)。

本發明PD-1軸抑制劑劑量合適為約400 mg至約1200 mg、約600 mg至約1000 mg、約700 mg至約900 mg或約840 mg。在一些態樣中，該PD-1軸抑制劑為PD-L1抑制劑，且更特定言之為以約840 mg之劑量進行投與之阿特珠單抗。

在特定實施例中，該PD-1軸抑制劑，或更特定言之該PD-L1抑制劑係在28天治療週期中每14天經靜脈內投與。在一些態樣中，該個體係在28天治療週期之第1天及第15天經該PD-1軸抑制劑，且更特定言之該PD-L1抑制劑治療。

VEGF抑制劑

在本發明範圍內之 VEGF 抑制劑包括帕唑帕尼 (pazopanib，Votrient®)、貝伐單抗(Avastin®)、索拉非尼(sorafenib，Nexavar®)、蘇尼替尼(sunitinib，Sutent®)、阿西替尼(axitinib，Inlyta®)、博納替尼(ponatinib，Iclusig®)、瑞格菲尼(regorafenib，Stivarga®)、卡贊替尼(cabozantinib，Carbometyx®)、凡德他尼(vendetanib，Caprelsa®)、拉姆單抗(Cyramsa®)、樂伐替尼(lenvatinib，Lenvima®)及ziv-阿柏西普(Zaltrap®)。

在一些態樣中，該VEGF抑制劑藥物為貝伐單抗。貝伐單抗已由FDA批准用於與化學療法方案組合來治療轉移性結腸直腸癌(CRC)及非小細胞肺癌(NSCLC)。貝伐單抗係描述於美國專利案號6,054,297及6,884,879中(其等之內容係以全文引用之方式併入本文中)且為結合VEGF並藉由阻止VEGF與其受體相互作用來中和VEGF之生物活性的重組人源化IgG1 mAb。

在本發明之此或另一態樣中，該VEGF抑制劑為抗體，其包含含有來自SEQ ID NO:33之重鏈可變區胺基酸序列的重鏈可變區及/或含有來自SEQ ID NO:34之輕鏈可變區胺基酸序列的輕鏈可變區。在本發明之其他態樣中，提供包含重鏈及/或輕鏈序列之單離VEGF抑制劑抗體，其中：

(a)該重鏈序列與以下重鏈序列相比具有至少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%、至少99%或100%之序列一致性：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA
PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY
LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT VSS
(SEQ ID NO:33)；或，

(b)該輕鏈序列與以下輕鏈序列相比具有至少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%、至少99%或100%之序列一致性：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP
GKAPKVLIIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP
EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKR (SEQ ID NO:34)。

在本發明之此或又另一態樣中，該VEGF抑制劑為包含重鏈及/或輕鏈可變區序列之抗體，其中：

(a)該重鏈進一步含有HVR-H1、HVR-H2及HVR-H3序列，該等序列與GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:35)、WINTYTGEPTYAADFQR (SEQ ID NO:36)及YPHYYGSSHWYFDV (SEQ ID NO:37)相比各自具有至少85%之序列一致性；或，

(b)該輕鏈進一步含有HVR-L1、HVR-L2及HVR-L3序列，該等序列與SASQDISNYLN (SEQ ID NO:38)、FTSSLHS (SEQ ID NO:39)及QQYSTVPWT (SEQ ID NO:40)相比各自具有至少85%之序列一致性。

根據本發明，該VEGF抑制劑劑量為約0.1至約15 mg/kg/週、約0.5至約15 mg/kg/週、約1至約15 mg/kg/週、約5至約15 mg/kg/週、約5至約10 mg/kg/週，諸如約5 mg/kg/週、約10 mg/kg/週或約15 mg/kg/week。在一些態樣中，該VEGF抑制劑為貝伐單抗。在一些態樣中，貝伐單抗係每週進行投與，且更特定言之係以約5 mg/kg/週之劑量進行投與。

結腸直腸癌

在一態樣中，本文提供治療有此需要之個體之結腸直腸癌的方法，其包括向該個體投與治療有效量之MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑的組合。mCRC係特別適合使用本文所述之組合療法。

在本發明之一些態樣中，該治療導致個體之CRC的進展延遲。在一些其他態樣中，該治療導致個體之完全反應。在一些其他態樣中，該反應係在停止治療後持續。在其他態樣中，相比接受包括(i)治療有效量之PD-1軸抑制劑及治療有效量之MEK抑制劑而不投與VEGF抑制劑，(ii)治療有效量之PD-1軸抑制劑及治療有效量之VEGF抑制劑而不投與MEK

抑制劑，及/或(iii)治療有效量之MEK抑制劑及治療有效量之VEGF抑制劑而不投與PD-1軸抑制劑之療法的CRC個體，該治療使中值無進展存活期時間延長。

組合療法

據信，MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑及VEGF抑制劑之三重組合(i)靶向癌症標誌(即，增殖信號傳導、免疫逃避及血管生成)，(ii)將引起基於此等藥劑呈現之複雜相互作用及活性的協同性抗腫瘤活性，及/或(iii)將為CRC患者提供實質臨床受益可能。

另外據信，相比接受包括(i)治療有效量之PD-1軸抑制劑及治療有效量之MEK抑制劑而不投與VEGF抑制劑，(ii)治療有效量之PD-1軸抑制劑及治療有效量之VEGF抑制劑而不投與MEK抑制劑，及/或(iii)治療有效量之MEK抑制劑及治療有效量之VEGF抑制劑而不投與PD-1軸抑制劑之療法之患有CRC的個體，本發明三重組合治療可使患有CRC之個體的中值無進展存活期時間延長。

藥物組合

在本發明之一些態樣中，提供一種癌症療法藥物組合，其包含：(i)以約20 mg至約100 mg、約40 mg至約80 mg或約80 mg之劑量的MEK抑制劑；(ii)以約400 mg至約1200 mg、約600 mg至約1000 mg、約700 mg至約900 mg或約840 mg之劑量的PD-1軸抑制劑；及(iii)以約5 mg/kg至約15 mg/kg、約5 mg/kg至約10 mg/kg、約5 mg/kg、約10 mg/kg或約15 mg/kg之劑量的VEGF抑制劑。在一特定態樣中，該MEK抑制劑為考比替尼，該PD-L1抑制劑為阿特珠單抗，且該VEGF抑制劑為貝伐單抗。在一些態樣中，該組合可每兩週進行投與。例如，該組合可在28天治療週期中

之第1天及第15天進行投與。

就此而言，應注意，可使用該組合之所述組分之所述劑量範圍內的任何組合而不脫離本發明之預期範圍。當個體係在同一天經該藥物組合(即，該MEK抑制劑、該PD-1軸抑制劑及該VEGF抑制劑)投與時，該等藥物可係以任何順序進行投與。例如，(i)該等藥物可係以任何順序單獨投與或(ii)第一藥物及第二藥物可在同一時間或接近的時間間隔內進行投與而第三藥物可在該第一及第二藥物之投與之前或之後進行投與。該藥物組合之各藥物的投與可相隔一些時段，諸如0.5小時、1小時、2小時、3小時或4小時。在一些特定態樣中，考比替尼可經口投與，阿特珠單抗可經靜脈內投與，且貝伐單抗可在投與阿特珠單抗至少0.5小時後非經腸或經靜脈內投與。在此等態樣中，考比替尼可在阿特珠單抗之前或之後進行投與。在一些態樣中，該MEK抑制劑及該PD-1軸抑制劑係各在28天治療週期之第1天及第15天進行投與，而考比替尼係在該28天治療週期之第1天至第21天進行投與。

套組

在本發明之一些態樣中，提供一種治療人類個體之CRC之套組。該等套組包括MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑、VEGF抑制劑及包括使用治療有效量之MEK抑制劑、治療有效量之PD-1軸抑制劑及治療有效量之VEGF抑制劑來治療個體之說明書的包裝插頁。在一些態樣中，該MEK抑制劑為考比替尼，該PD-1軸抑制劑為阿特珠單抗，且該VEGF抑制劑為貝伐單抗。

相比接受包括(i)治療有效量之PD-1軸抑制劑及治療有效量之MEK抑制劑而不投與VEGF抑制劑，(ii)治療有效量之PD-1軸抑制劑及治療有效

量之VEGF抑制劑而不投與MEK抑制劑，及/或(iii)治療有效量之MEK抑制劑及治療有效量之VEGF抑制劑而不投與PD-1軸抑制劑之療法的CRC個體，本發明套組使中值無進展存活期時間延長。

實例

該等實例係關於雙階段、開放標籤、多中心、單臂Ib期研究，其經設計以評估考比替尼、阿特珠單抗及貝伐單抗之組合在曾接受至少一種用於晚期疾病之含有氟嘧啶及奧賽力鉑或伊立替康的先前治療線且進展之mCRC患者中的安全性、耐受性及藥物動力學。

階段1將為安全導入。階段2將為具有擴展群組及活組織檢查群組之劑量擴展。首先將患者納入至該安全導入期中。測定治療方案之安全性及耐受性後，研究將進入擴展階段。若安全導入期之結果要求減少考比替尼之劑量，則將開放附加之階段1群組。在擴展階段中，可根據患者接受系列腫瘤活組織檢查之適合性及意願將患者登記於治療或活組織檢查群組中。當所有登記患者均已追蹤直至死亡、撤回同意、失去隨訪、或試驗委託者決定結束該試驗時(以先發生者為準)，該研究將結束。

該研究之主要目標包括評估考比替尼加貝伐單抗加阿特珠單抗之安全性及耐受性的評定及用於進一步臨床發展之推薦給藥方案的確認。評定準則及終點包括：(i)不良事件之發生率、特性及嚴重性，根據國家癌症研究所不良事件常用術語標準(NCI CTCAE) v4進行評級，(ii)實驗室數據；及(iii)等級 ≥ 3 之不良事件，包括特別受關注之不良事件及導致治療中止之不良事件。

探究性療效目標包括考比替尼加貝伐單抗加阿特珠單抗之療效的評定。評定準則及終點包括：(i)研究者評估由實體腫瘤之反應評定準則

(RECIST) v1.1所定義之經確認的總反應率；(ii)無進展存活期，定義為第1週期第1天至第一次出現如由研究者使用RECIST v1.1所測定之疾病進展或在研究期間因任何原因而死亡之時間，以先發生者為準；及(iii)反應持續時間，定義為第一次出現經記錄之客觀反應之時間至如由研究者使用RECIST v1.1所測定之疾病進展或研究期間因任何原因而死亡的時間，以先發生者為準。

研究治療將包括21/7時間表的劑量為60 mg之考比替尼，840 mg每2週(q2w)時間表之阿特珠單抗，及5 mg/kg q2w時間表之貝伐單抗。在安全導入及擴展群組中之患者將從第1天開始接受考比替尼、阿特珠單抗及貝伐單抗。在擴展階段之活組織檢查群組中的患者將在第一天開始貝伐單抗其後接著在第14天(± 2 天窗口)腫瘤活組織檢查並在第15天開始考比替尼其後接著在第28天(± 2 天窗口)腫瘤活組織檢查並在第29天(即，第2週期第1天)開始阿特珠單抗其後接著在第56天(± 2 天窗口)可選腫瘤活組織檢查。活組織檢查將各自在開始考比替尼及阿特珠單抗之前進行。至此開始，在活組織檢查群組中之患者將遵循與彼等在安全導入及治療擴展群組中之治療方案相同的治療方案。

預處理活組織檢查對所有患者而言將係要求的且將為經福馬林固定石蠟包埋之組織。檔案活組織檢查可用於預處理活組織檢查，只要其等係在篩選之前不超過3個月進行收集。對於活組織檢查群組中之患者而言，新製試樣係較佳的。將僅對如上所述之活組織檢查群組中之患者排定剩餘活組織檢查。

所有患者將在所有治療週期期間、在研究結束之治療訪問及在隨訪期期間針對安全性及耐受性密切地進行監測。將使用NCI CTCAE v4.0來

表徵對所有患者之研究治療的毒性圖譜(toxicity profile)。

在兩個階段中之患者將持續接受研究療法直至根據RECISTv1.1之疾病進展、不可接受之毒性、死亡、患者或醫師決定撤回、或懷孕，以先發生者為準。任何可評估且可量測之疾病將在篩選中記錄並在各後續腫瘤評定中重新評估。研究者將以8週間隔評估腫瘤反應，無關於任何劑量延遲。

治療將持續直至患者具有根據RECISTv1.1之疾病進展、不可接受之毒性、死亡、患者或醫師決定撤回、或懷孕，以先發生者為準。單獨癌胚抗原含量上升將不會被認為係疾病進展。若滿足特定條件，將允許患者接受在疾病進展之外的研究治療。

患者進入研究之納入準則包括以下。至少18歲。東部腫瘤協作組(Eastern Cooperative Oncology Group)體能狀態為0或1。組織學上確認之不可切除轉移性結腸直腸腺癌。用於不可切除轉移性結腸直腸腺癌之含有氟嘧啶及奧賽力鉑或伊立替康之先前治療線的進展。允許輔助或新輔助化學療法，限制條件為其係在研究治療開始前至少12個月完成。根據RECIST v1.1，可量測疾病。注意，意欲進行活組織檢查之病灶不應為靶病灶。充足的血液及末端器官功能，藉由在研究藥物治療之第一劑量前的14天內所獲得之以下實驗室結果所定義：(i) $WBC \geq 2.5$ 且 $\leq 15.0 \times 10^9/L$ ；(ii) $ANC \geq 1.5 \times 10^9/L$ ；(iii) 血小板數 $\geq 100 \times 10^9/L$ ；(iv) 血紅素 ≥ 9 g/dL；(v) 白蛋白 ≥ 9 g/dL；血清膽紅素 $\leq 1.5 \times$ 正常上限(ULN) (患有已知之吉伯(Gilbert)氏疾病的患者可具有 $\leq 3.0 \times$ ULN之膽紅素)；(vi) INR及PTT $\leq 1.5 \times$ ULN；(vii) 澱粉酶及脂肪酶 $\leq 1.5 \times$ ULN；(viii) AST、ALT及鹼性磷酸酶(ALP) $\leq 3 \times$ ULN，存在以下例外狀況：具有記錄肝轉移之患者

(AST及/或ALT $\leq 5 \times$ ULN)及具有記錄肝或骨轉移之患者(ALP $\leq 5 \times$ ULN)；(ix)肌酐清除率 ≥ 30 mL/min。

患者進入研究之排除準則包括以下。在登記前60天內經歷外科手術(包括切開活組織檢查、手術切除、傷口修正或任何其他大型手術)或顯著創傷損傷，或預期需要在研究期間進行大型外科手術。研究第1週期第1天前15天內經歷小型外科手術(包括血管通路裝置放置)。未治療之CNS轉移。藉由手術或放射技術治療腦轉移將在開始研究治療前至少4週完成。在登記入此研究(第1週期第1天)前28天或兩個研究藥劑半衰期(以較長者為準)內使用任何研究藥劑或批准療法進行治療。在第1週期第1天前5年內經歷非結腸直腸癌之惡性腫瘤，除了具有極小轉移或死亡風險(例如，預期5年總存活期 $> 90\%$)且經預期根治性結果治療之彼等(諸如經充分治療之子宮頸原位癌、基底或鱗狀細胞皮膚癌、以根治目的經手術治療之局部前列腺癌、以根治目的經手術治療之導管原位癌)。在研究第1週期第1天前30天內經歷先前放射療法及/或放射相關副作用留存。過去曾針對另一惡性腫瘤進行先前同種異體骨髓移植或實體器官移植。未經手術及/或放射完全治療之脊髓壓迫症。需要反復排水過程之不受控的胸膜積水、心包積水或腹水症。

與研究藥物相關之患者進入研究的排除準則包括以下。出於治療目的，目前或最近(研究登記10天內)使用乙醯水楊酸(> 325 mg/天)、氯吡格雷(clopidogrel)(> 75 mg/天)或目前或最近(貝伐單抗之第一劑量的10天內)使用治療性口服或非口服抗凝血劑或血栓溶解藥劑。對嵌合或人源化抗體或融合蛋白性嚴重過敏、過敏性或其他高敏感反應之病史。已知對在中國倉鼠卵巢細胞中所生產之生物醫藥或考比替尼、阿特珠單抗或

貝伐單抗調配物之任何組分高敏感性或過敏。使用CD137促效劑或免疫檢查點阻斷療法、抗程式性死亡-1、抗程式性死亡-配體1、MEK抑制劑之先前治療。

與器官功能及醫藥病史相關之患者進入研究的排除準則包括以下。

臨床顯著心臟或肺功能障礙之病史。嚴重未癒合傷口、活性潰瘍或未治療骨折。在第1週期第1天前6個月內腹部瘻管或胃腸穿孔病史。咯血(每次發作 $\geq \frac{1}{2}$ 茶匙鮮紅血液)或任何其他嚴重出血或存在出血風險之病史(胃腸出血病史、胃腸潰瘍、等等)。在第1週期第1天前7天內INR > 1.5 且aPTT $> 1.5 \times \text{ULN}$ 。遺傳性出血體質或存在出血風險之顯著凝血病變的病史或證據。預期壽命 < 12 週。任何先前靜脈血栓性栓塞 $\geq$ 等級3。篩選時蛋白尿，如藉由尿測深桿 $\geq 2+$ 或24小時蛋白尿 $> 1.0 \text{ g}$ 所證實。左心室射血分數低於協會正常下限。不受控之嚴重醫學或精神病學疾病。不受控之腫瘤疼痛；在篩選期間需要麻醉性疼痛藥物之患者應在第1週期第1天前接受穩定劑量方案。妊娠或哺乳，或意欲在研究期間懷孕。非絕經期後($\geq$ 連續12個月無月經，除絕經期外無明確原因)或手術節育之女性必須在第1週期第1天前14天內進行陰性血清懷孕測試。特發性肺纖維化、器質化肺炎(organizing pneumonia)(例如，閉塞性細枝氣管炎)、藥物誘發肺炎之病史，或在篩選胸部CT掃描中之活性肺炎證據。在眼科檢查中之視網膜病理病史或證據，其被認為係感覺神經視網膜脫落/中心性漿液性脈絡膜視網膜病變、視網膜靜脈梗阻或新生血管性黃斑變性之風險因子。基於傳染性疾病之排除準則包括：在篩選時需要IV抗生素之活性感染；患有活性B型肝炎(慢性或急性)之患者；過去患有B型肝炎病毒(HBV)感染或已解決之HBV感染的患者；患有活性C型肝炎之患者；及已知HIV感染。基於自

體免疫病狀之排除準則包括：自體免疫疾病病史，包括(但不限於)重症肌無力、肌炎、自體免疫性肝炎、全身性紅斑狼瘡、類風濕性關節炎、發炎性腸病、與抗磷脂症候群相關聯之血管栓塞、韋格納(Wegener)氏肉芽腫病、修格蘭(Sjögren)氏症候群、格-巴(Guillain-Barre)二氏症候群、多發性硬化、血管炎或腎小球性腎炎。

患者包含於活組織檢查群組中之納入準則包括：滿足所有進入研究之納入準則；及未接受貝伐單抗(bevacizumab naïve)或最近一次接受貝伐單抗治療在第1週期第1天前至少12個月。

考比替尼將係以60 mg考比替尼(三個錠劑，各20 mg)之劑量每日一次地經口投與持續28天週期之第1天至第21天。

阿特珠單抗將係以840 mg之劑量在各28天週期之第1天及第15天經由IV輸注進行投與。阿特珠單抗將首先進行投與，其後接著貝伐單抗，給藥間隔最小為30分鐘。

貝伐單抗將係以5 mg/kg之劑量在各28天週期之第1天及第15天經由IV輸注進行投與。

檔案及/或新製腫瘤標本之收集及生物標記評估

延長RAS狀態在mCRC之治療及預後中具有意義(Karapetis CS、Khambata-Ford S、Jonker DJ等人，K-ras Mutations and Benefit from Cetuximab in Advanced Colorectal Cancer, N Engl J Med 2008;359:1757-65；De Roock W、Claes B、Bernasoni D等人，Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis, The Lancet

2010;11:753-62 ; Sorich MJ 、 Wise MD 、 Rowland A 等人 , Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer: a meta analysis of randomized controlled trials, Ann Oncol 2015;26:13-21 ; 及 Allegra CJ 、 Rumble RB 、 Hamilton SR 等人 , Extended RAS Gene Mutation Testing in Metastatic Colorectal Carcinoma to Predict Response to Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody Therapy: American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion Update 2015, J Clin Oncol 2016;34:179-85 。 各參考文獻係以全文引用之方式併入本文中。) 。 若干研究證實 , RAS 突變對 PFS 及總存活期相比 RAS 野生型群組具有較差預後 (Sorbye H 、 Dragomir A 、 Sundström M 等人 , High BRAF Mutation Frequency and Marked Survival Differences in Subgroups According to KRAS/BRAF Mutation Status and Tumor Tissue Availability in a Prospective Population-Based Metastatic Colorectal Cancer Cohort, PLoS One 2015;10:e0131046 ; Sorich 等人 2015 ; 及 Vincenzi B 、 Cremolini C 、 Sartore-Bianchi A 等人 , Prognostic significance of K-Ras mutation rate in metastatic colorectal cancer patients, Oncotarget 2015;6:31604-12) 。 Ib 期研究 GP28363 (考比替尼與阿特珠單抗一起投與患有局部晚期或轉移性腫瘤之患者) 評估在 KRAS 突變型 mCRC 中以及在包括多種實體腫瘤之活組織檢查群組中之安全性及療效。結合本發明 , 不管是否延長 RAS 狀態 , 皆評估此方案在所有 mCRC 患者中之療效及安全性 , 因為作用機制不預測不同效應。然而 , 在給定基於 RAS 狀態之不同預後的情況下 , 將進行檔案 / 基線腫瘤組織針對延長 RAS 狀態之測試。

CRC 中之 MSI 狀態亦在 mCRC 之治療及預後兩者中具有意義 (Goldstein J、Tran B、Ensor J 等人，Multicenter retrospective analysis of metastatic colorectal cancer (CRC) with high-level microsatellite instability (MSI-H), *Annals of Oncology* 2014;25:1032-8，其係以全文引用之方式併入本文中)。其具有不同於檢查點抑制劑(諸如PD L1及PD 1拮抗劑)之 ORR 及反應持續時間(DOR)率(Li J、Qin S、Xu R 等人，Regorafenib plus best supportive care versus placebo plus best supportive care in Asian patients with previously treated metastatic colorectal cancer (CONCUR): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial, *Lancet Oncol* 2015;16:619-29；及Oh DY、Venook AP、Fong L.，On the Verge: Immunotherapy for Colorectal Carcinoma, *J Natl Comp Canc Netw* 2015;13:970-8)。據信，阿特珠單抗(PD L1抗體)可係類似於其他檢查點抑制劑在MSI高CRC患者中有效，但是可存在取決於MSI狀態之不同效應。因此，將自檔案/基線組織評估MSI狀態以區分此方案在此等不同群體中之療效。

將在基線時收集腫瘤組織試樣用於DNA及/或RNA提取來使得進行識別體細胞突變之下一代定序(NGS)以增加研究者對疾病病理生物學之理解。越來越多地推薦基於基因之CRC分類作為區分多種CRC亞型之方法且其可對治療及預後兩者具有深刻影響。已顯示此等亞型具有不同免疫調節效應且可影響此方案之療效(Guinney J、Dienstmann R、Wang X 等人，The consensus molecular subtypes of colorectal cancer, *Nat Med* 2015;21:1350-6；Kocarnik JM、Shiovitz S、Phipps AI，Molecular phenotypes of colorectal cancer and potential clinical applications,

Gastroenterol Rep (Oxf) 2015;3:269-76；及Lal N、Beggs AD、Willcox BE、Middleton GW，An immunogenomic stratification of colorectal cancer: Implications for development of targeted immunotherapy, Oncoimmunology 2015;4:e976052)。由於此等生物標記亦可具有預後價值，所以亦將探索其等與疾病進展之潛在聯繫。將進行檔案/基線腫瘤分析及不同CRC亞型之分類以進一步評估此可能關係。

排定在預處理時、在經貝伐單抗、與考比替尼組合、及在與阿特珠單抗之三重組合治療時進行腫瘤活組織檢查之獨立群組。交錯治療之活組織檢查中的生物標記比較將進一步闡明此組合之可能作用機制。生物標記分析將集中於CD8-陽性T細胞浸潤之評定、PD L1表現、及增強免疫反應之生物標記、MAPK抑制、及涉及細胞凋亡或發炎之其他因子。

階段1：安全導入群組

I期研究GP28363已探索漸增劑量之考比替尼與阿特珠單抗一起投與。已顯示考比替尼與阿特珠單抗一起投與係安全且可耐受。在此研究中，將貝伐單抗添加至考比替尼與阿特珠單抗之方案。雖然以前曾將貝伐單抗與阿特珠單抗一起投與，但是因為貝伐單抗先前未與考比替尼及阿特珠單抗一起投與至患者，所以此研究將以安全導入群組開始。貝伐單抗具有與考比替尼及阿特珠單抗的一些重疊毒性。

在安全導入群組中之患者將從第1天接受考比替尼、阿特珠單抗及貝伐單抗。提供安全導入及擴展群組之研究架構，並描繪於圖1中。

在該安全導入群組中，將評估28天給藥週期，其中將向患者投與：

- (i) 60 mg考比替尼持續前21天，其後接著7天無考比替尼治療之休息期；
- (ii) 840 mg阿特珠單抗輸注，在該28天週期之第1天及第15天；及(iii) 5

mg/kg 貝伐單抗輸注，在該28天週期之第1天及第15天。

在處於安全導入階段中之患者已完成至少一個28天治療週期之後，將評審臨床數據以確定所測試劑量之安全性及耐受性。據信，將需要數月來完成此組之登記；因此，安全性評審應包含在安全性評定時業經接受該方案持續多個週期之患者的數據。若在該安全導入階段中60 mg 考比替尼劑量經測定係不可耐受，則研究團隊可以40 mg QD (21/7)之減少考比替尼劑量徵募額外之患者群組。在此減少考比替尼劑量評定中，在該額外群組完成一個治療週期後，將進行臨床數據之評審以確定是否擴展階段可以此較低之考比替尼劑量開始。

若發生以下情境之任一者且由研究者評估係相關，則將立即終止個別患者之研究治療，並將進行徹底的調查及安全性分析：(i)高血壓等級 ≥ 3 (收縮壓 ≥ 180 mmHg或舒張壓 ≥ 110 mmHg)；(ii)出血等級 ≥ 3 (≤ 2 單位包裝RBC之症狀及輸血指示)；(iii)肺炎等級 ≥ 3 (症狀，干擾ADL；氧氣指示)；(iv)左心室功能障礙等級 ≥ 3 (症狀性CHF，響應干預)；(v)腹瀉等級 ≥ 3 ，對止瀉劑無反應(比基線增加 ≥ 7 次/天排便；失禁；IV流體 ≥ 24 小時；住院)；或(vi) ALT或AST $> 5 \times \text{ULN}$ 與總膽紅素 $> 2 \times \text{ULN}$ 組合。若發生以下情境之任一者，則將立即終止進一步登記及研究治療直至完成所進行之徹底的調查及安全性分析：(i)任何個體經歷由於(經研究者及/或試驗委託者)評估係與研究治療相關之AE而死亡，將導致研究暫時停止直至由研究團隊評審；或(ii)超過30%之患者滿足上文所定義之個別停止規則。

階段2：擴展及活組織檢查群組

在擴展群組中之患者將從第1天接受考比替尼、阿特珠單抗及貝伐單

抗。

在擴展階段之活組織檢查群組中的患者將在第一天開始貝伐單抗其後接著在第14天(± 2 天窗口)腫瘤活組織檢查並在第15天開始考比替尼其後接著在第28天(± 2 天窗口)腫瘤活組織檢查並在第29天(即，第2週期第1天)開始阿特珠單抗其後接著在第56天(± 2 天窗口)可選腫瘤活組織檢查。活組織檢查將各自在開始考比替尼及阿特珠單抗之前進行收集。至此開始，在活組織檢查群組中之患者將遵循與彼等在安全導入及治療擴展群組中之治療方案相同的治療方案。

活組織檢查群組之研究架構係描繪於圖2中。

腫瘤反應將根據RECIST v1.1進行評估。任何可評估且可量測之疾病將在篩選時記錄並在各後續腫瘤評定中重新評估。將在第1週期第1天前 ≤ 28 天進行基線腫瘤評定並根據如下文所概述之RECIST v 1.1進行評估。與用於評估基線疾病部位相同之程序將用於整個研究中(例如，與用於CT掃描或MRI掃描相同之對比方案)。

將每8週 ± 1 週(無論患者處於治療週期何處)記錄符合RECIST v1.1之腫瘤反應的評定直至記錄、經研究者確定、進行性疾病、失去臨床受益、撤回同意、死亡或由試驗委託者終止研究，以先發生者為準。腫瘤評定之時間表係與研究治療投與時間表之任何改變(例如，給藥延遲)無關且可根據週期長度出現中-週期(mid-cycle)。若必須更早或更遲地進行腫瘤評定，則後續評定應根據基於第一研究藥物投與日期(第1週期，第1天)之原本時間表來進行。將在自進入研究起不早於28天完成反應(PR或完全反應[CR])之確認。就SD而言，量測必須以不少於6週之最小間隔在進入研究後滿足SD準則至少一次。由於除疾病進展外之任何原因而停止

研究治療之患者將繼續進行腫瘤反應評定(約每8週)直至進行性疾病。在不存在進展之放射學證據的情況下，不認為腫瘤標記(例如，CEA)上升為進行性疾病。

實體腫瘤之反應評定

在基線，將如下將腫瘤病灶/淋巴結歸類為可量測或非可量測。將以至少一個維度(記錄量測平面中之最長直徑)量測腫瘤病灶，其中最小尺寸為：(i) 10 mm，藉由電腦斷層攝影術(CT)或核磁共振成像(MRI)掃描(CT/MRI掃描切片厚度/間隔不超過5 mm)；(ii) 10 mm測徑器量測，藉由臨床檢查(不可用測徑器精確量測之病灶應記錄為非可量測)；或(iii) 20 mm，藉由胸部X射線。將被認為係病理上腫大且可量測之惡性淋巴結係當由CT掃描(CT掃描切片厚度推薦不大於5 mm)評估時短軸 ≥ 15 mm之淋巴結。在基線及隨訪中，將僅量測及跟蹤短軸。非可量測腫瘤病灶涵蓋小型病灶(最長直徑 < 10 mm或短軸 ≥ 10 至 ≤ 15 mm之病理淋巴結)，以及真正不可量測之病症。被認為係真正不可量測之病症包括軟腦膜疾病、腹水症、胸膜或心包積水、發炎性乳房疾病、涉及皮膚或肺之淋巴管炎、腹膜擴張及由身體檢查所鑑別之腹部腫塊/腹部器官腫大(其係不可藉由可重現成像技術進行量測)。

關於骨病灶，不認為骨掃描、正子發射斷層攝影術(PET)掃描或素膜係量測骨病灶之合適成像技術。然而，此等技術可用於確認骨病灶之存在或消失。可藉由橫截面成像技術諸如CT或MRI進行評估之具有可鑑別軟組織分量的溶解骨病灶或混合溶解-急變病灶可被認為係可量測病灶，若該軟組織分量滿足上述可量測性定義。急變骨病灶係非可量測。關於囊性病灶，滿足放射攝影上定義之單純囊腫之準則的病灶不應被認為係惡性病

灶(既非可量測亦非不可量測)，因為其等經定義為單純囊腫。據認為表示囊性轉移之囊性病灶可被認為係可量測病灶，若其等滿足上文所述之可量測性定義。然而，若非囊性病灶存在於同一患者中，則較佳選擇其等作為標靶病灶。位於先前輻照區域或接受其他局部區域(loco-regional)療法之區域的腫瘤病灶通常不認為係可量測，除非該病灶中存在經證實之進展。研究方案應詳細說明將認為此等病灶係可量測之條件。

若臨床上進行評估，將以公制記法(使用測徑器)記錄病灶量測。將儘可能地接近治療開始且絕不在治療開始前超過4週進行所有基線評定。將使用相同評定方法及相同技術來表徵基線及研究期間之各經鑑別及經報告的病灶。基於成像之評定係較佳的。

僅當臨床病灶係淺層且如使用測徑器所評估之直徑 ≥ 10 mm時，將認為其等係可量測(例如，皮膚結節)。就皮膚病灶而言，藉由彩色攝影(包括用於評估病灶大小之直尺)記錄較佳。

特別是當進展係重要終點時，胸部CT係優於胸部X射線，因為特定言之對鑑別新病灶而言，CT係比X射線更敏感。然而，若胸部X射線中之病灶係清晰界定且由充氣肺所包圍，則可認為其等係可量測。CT係最佳之當前可用且可重現之用於量測選擇用於反應評定之病灶的方法。此指導已定義病灶在CT掃描中的可量測性，以CT切片厚度係5 mm或更小之假設為基礎。當CT掃描具有大於5 mm之切片厚度時，可量測病灶之最小尺寸應為該切片厚度之兩倍。MRI係亦可接受。若在登記前已知患者由於過敏或腎功能衰竭而不能經歷具有靜脈內(IV)造影之CT掃描，則是否使用平掃(noncontrast)CT或MRI (無IV造影)在基線及研究期間評估患者之決定應由調查中之腫瘤類型及疾病之解剖部位來引導。對於在基線造影CT完

成後對造影發展禁忌之患者而言，是否將進行平掃CT或MRI (增強或非增強)之決定亦應以腫瘤類型及疾病之解剖部位為基礎且(若可能)應進行最佳化以允許與先前研究比較。

腫瘤反應之評定涉及基線之總腫瘤負荷之評估及使用此作為後續量測之比較物。可量測疾病係由至少一個如上文所詳細說明之可量測病灶的存在所定義。當在基線存在一個以上可量測病灶時，代表所有涉及器官之至多總共最多五個病灶(且每個器官最多兩個病灶)的所有病灶應鑑別為標靶病灶且將在基線對其等進行記錄及量測。此意味著在僅涉及患者之一或兩個器官部位的情況下，將各自記錄最多兩個病灶(一個部位)及4個病灶(兩個部位)。在彼等器官中之其他病灶(儘管可量測)將記錄為非可量測病灶(即使由CT掃描所量測之尺寸> 10 mm)。標靶病灶應根據其等之尺寸進行進行選擇(具有最長直徑之病灶)且代表所有涉及器官，但是另外，應使其等接受可重現重複量測。認為具有< 10 mm之短軸的淋巴結係非病理性且不應記錄或跟蹤。將計算所有標靶病灶之直徑總和(非結節病灶之最長直徑，結節病灶之短軸)並報告作為基線直徑總和。若淋巴結係包括在該總和內，則(如上所述)僅將短軸添加至該總和中。基線直徑總和將用作進一步以疾病之可量測尺寸表徵任何目標腫瘤退化的參考。

在基線具有可量測疾病之患者在各時間點之總反應狀態計算的總結係提供於下表1中。要求確認反應之總反應計算的總結係提供於下表2中。

表1：時間點反應-具有標靶病灶之患者(具有或不具有非標靶病灶)

標靶病灶	非標靶病灶	新病灶	總反應
CR	CR	無	CR
CR	非CR/非PD	無	PR

CR	未評估	無	PR
PR	非PD或未全部評估	無	PR
SD	非PD或未全部評估	無	SD
未全部評估	非PD	無	不可評估
PD	任何	有或無	PD
任何	PD	有或無	PD
任何	任何	有	PD

表2：當要求確認時之最佳總反應

第一時間點之總反應	後續時間點之總反應	最佳總反應
CR	CR	CR
CR	PR	SD、PD或PR ^a
CR	SD	SD，限制條件為滿足SD之最小持續時間；否則，PD
CR	PD	SD，限制條件為滿足SD之最小持續時間；否則，PD
CR	不可評估	SD，限制條件為滿足SD之最小持續時間；否則，不可評估
PR	CR	PR
PR	PR	PR
PR	SD	SD
PR	PD	SD，限制條件為滿足SD之最小持續時間；否則，PD
PR	不可評估	SD，限制條件為滿足SD之最小持續時間；否則，不可評估
不可評估	不可評估	不可評估

^a若在第一時間點真正滿足CR，則在後續時間點所發現之任何疾病 (甚至相對於基線滿足PR準則之疾病)在彼點上定性為PD (因為疾病必須在CR後重現)。最佳反應將取決於是否滿足SD之最小持續時間。然而，當後續掃描表明小型病灶係可能仍然存在可聲稱CR且事實上該患者在第一時間點係具有PR而非CR時。在此等情況下，起始CR應改為PR且最佳反應為PR。

實驗室、生物標記及其他生物試樣及評定

用於以下實驗室試驗之試樣將送至一或多個中心實驗室進行分析。對於顯示免疫介導之毒性證據之患者而言，可收集額外試樣並進行分析，包括：(i)抗-核抗體；(ii)抗-雙股DNA；(iii)循環性抗-嗜中性球細胞質抗體；及(iv)核周抗-嗜中性球細胞質抗體。藥物動力學分析將包括：(i)血清

試樣，使用經驗證免疫分析按照下表3中之時間表分析阿特珠單抗及貝伐單抗之濃度；及(ii)血漿試樣，使用經驗證液相層析與串聯式質譜法組合按照下表3中之時間表量測考比替尼之濃度。將根據表3中之時間表收集血樣並分析生物標記，包括(但不限於) 來自所有合格患者之與CRC或腫瘤免疫生物學相關的生物標記。將處理該等試樣以獲得用於測定表4中所列之基於血液之推薦生物標記的血漿。

表3：藥物動力學、免疫原性及生物標記試樣的時間表

訪問	時間點	試樣類型
第1週期第1天	第一次輸注前	阿特珠單抗PK及ATA (血清) 生物標記
	阿特珠單抗輸注結束後30 (±10)分鐘	阿特珠單抗PK (血清)
	考比替尼給藥後2至4小時	考比替尼PK (血漿)
第1週期第15天	考比替尼給藥前	考比替尼PK (血漿)
第2週期第1天	第一次輸注前	生物標記
第2、4、8週期及此後每8週期	第一次輸注前	阿特珠單抗PK及ATA (血清)
第3週期第1天	第一次輸注前	生物標記
第3週期第15天	阿特珠單抗輸注前	阿特珠單抗PK及ATA (血清) 貝伐單抗PK (血清)
	考比替尼給藥前	考比替尼PK (血漿)
	阿特珠單抗輸注結束後30分鐘	阿特珠單抗PK及ATA (血清)
	考比替尼給藥後2至4小時	考比替尼PK (血漿)
第6週期第1天及此後每6週期	第一次輸注前	生物標記
治療中止訪問 ^a	訪問時	阿特珠單抗PK及ATA (血清) 生物標記

^a中止研究藥物之患者將返回診所進行在研究藥物之最後一次給藥後30 (± 7)天的治療中止訪問。反應評定顯示進行性疾病所處之訪問可用作

第 72 頁(發明說明書)

治療中止訪問。

表4：用於探索研究之推薦生物標記

試樣類型	時序	推薦生物標記
血漿	基線及治療期間之後續時間點	細胞活素及其他免疫調節劑
單離自血漿之循環性腫瘤DNA	基線及治療期間之後續時間點	一組致癌突變及總突變負荷
腫瘤組織	所有患者之研究(檔案)或基線前(新製；較佳對在活組織檢查群組中之患者而言)，在治療期間(活組織檢查群組)	免疫細胞浸潤、及蛋白質表現(包括但不限於PD L1及主要組織相容性表現)
提取自腫瘤組織之DNA及RNA	研究(檔案)或基線(新製)之前，在治療期間(活組織檢查群組)	微衛星，一組致癌突變及總突變負荷 CRC亞型基因特徵

腫瘤組織試樣

將提交含於石蠟塊中之代表性腫瘤標本(較佳)或具有相關聯之病理報告之至少20個連續切割未染色載玻片用於測定RAS狀態及MSI狀態。

延長RAS突變係定義為出現在外顯子2之KRAS及NRAS基因密碼子之12及13；外顯子3之59及61；及外顯子4之117及146中之突變(Allegra等人2016)。局部RAS測試結果將以該等結果及解釋之複本接受作為要求中心確認之篩選程序的一部分。

可藉由若干種方法(諸如hMLH1及hMSH2基因產品之IHC偵測、NGS測試或藉由展現不同大小重複序列之MSI基因座的片段化的PCR測試)定義MSI狀態 (Lindor NM、Burgart LJ、Leontovich O等人，Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors, J Clin Oncol 2002;20:1043-8；Salipante SJ、Scroggins SM、Hampel HL等人，Microsatellite instability detection by next generation sequencing., Clin Chem 2014;60:1192-9。各參考文獻係以全文引用之方式併入本文中)。局部MSI測試結果將以該

等結果及解釋之複本接受作為要求中心確認之篩選程序的一部分。

此外，可評估用於探索性研究非遺傳性(或腫瘤特異性)生物標記(包括但不限於，與常見分子路徑相關聯之癌症相關基因及生物標記)及探索性生物標記(包括但不限於與免疫、MAP激酶路徑或CRC生物學相關之標記，諸如T細胞標記或腫瘤突變狀態)之NGS。

本書面說明使用實例來揭示本發明。本發明之專利範圍係由申請專利範圍界定，且可包括為熟習本項技術者已知之其他實例。若此等其他實例具有與專利申請範圍之文字語言無異之結構要素，或若其等包括與申請專利範圍之文字語言無實質差異之等效結構要素，則此等其他實例意欲屬於申請專利範圍之範圍內。

【序列表】

<110> 美商建南德克公司

<120> MEK 抑制劑、PD-1 軸抑制劑及 VEGF 抑制劑之組合療法

<130> P33774 (33988-58)

<150> US 62/374437

<151> 2016-08-12

<160> 40

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 440

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 1

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser

第 1 頁(序列表)

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

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 2
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 2

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

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

<210> 3
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 3

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Val	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
1				5					10					15		
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr	
			20					25					30			

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe 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	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu										
			260					265					270												
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys										
		275					280					285													
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	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	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	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	Gln	Glu	Glu	Met	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	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg										
				405					410					415											
Trp	Gln	Glu	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	Leu	Gly	Lys											
		435					440					445													

- <210> 4
- <211> 218
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 4

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
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 Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly 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> 5
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 5

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 Ser
20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 6
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 6

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

<210> 7
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 7

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

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 8
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 8

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 Ser
20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120

<210> 9
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 9

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala
85 90 95

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

<210> 10
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)
<223> Asp 或 Gly

<400> 10

Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 11
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Ser 或 Leu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)..(10)
<223> Thr 或 Ser

<400> 11

Ala Trp Ile Xaa Pro Tyr Gly Gly Ser Xaa Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 12

Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 13
<211> 25
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 13

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
20 25

<210> 14

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 14

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 15

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 15

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 16

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
1 5 10

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5).. (5)
<223> Asp 或 Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6).. (6)
<223> Val 或 Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7).. (7)
<223> Ser 或 Asn

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9).. (9)
<223> Ala 或 Phe

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10).. (10)
<223> Val 或 Leu

<400> 17

Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Ala
1 5 10

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4).. (4)
<223> Phe 或 Thr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6).. (6)
<223> Tyr 或 Ala

<400> 18

Ser Ala Ser Xaa Leu Xaa Ser
1 5

<210> 19
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3).. (3)
<223> Tyr、Gly、Phe 或 Ser

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4).. (4)
<223> Leu、Tyr、Phe 或 Trp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5).. (5)
<223> Tyr、Asn、Ala、Thr、Gly、Phe 或 Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6).. (6)
<223> His、Val、Pro、Thr 或 Ile

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8).. (8)
<223> Ala、Trp、Arg、Pro 或 Thr

<400> 19

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr
1 5

<210> 20
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 20

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 21
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 21

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 22
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 22

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 23
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 23

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
1 5 10

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 24

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 25
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 25

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 26

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 27
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 27

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 28

Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr
1 5

<210> 29
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 29

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 Ser
20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 30

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 31
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 31

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 Ser
20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Arg	His	Trp	Pro	Gly	Gly	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 Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser 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> 32
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 32

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 33
<211> 123

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 33

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

<210> 34
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 34

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20

25

30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile

354045

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp

859095

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

100105

<210> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 35

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn

1510

<210> 36
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 36

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe Lys

151015

Arg

<210> 37
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 37

Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 38
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 38

Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 39

Phe Thr Ser Ser Leu His Ser
1 5

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 40

Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr
1 5

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種治療患有結腸直腸癌之個體的方法，該方法包括向該個體投與包括以下的療法：(i)治療有效量之MEK抑制劑，(ii)治療有效量之PD-1軸抑制劑，及(iii)治療有效量之VEGF抑制劑。

【第2項】

如請求項1之方法，其中該個體患有轉移性結腸直腸癌。

【第3項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該MEK抑制劑為考比替尼(cobimetinib)或其醫藥上可接受之鹽。

【第4項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該PD-1軸抑制劑為PD-L1抑制劑。

【第5項】

如請求項4之方法，其中該PD-L1抑制劑為包含含有HVR-H1序列GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:24)、HVR-H2序列AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:25)及HVR-H3序列RHWPGGFDY (SEQ ID NO:12)之重鏈；及含有HVR-L1序列RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:26)、HVR-L2序列SASFLYS (SEQ ID NO:27)及HVR-L3序列QQYLYHPAT (SEQ ID NO:28)之輕鏈的抗體。

【第6項】

如請求項4之方法，其中該PD-L1抑制劑為包含以下之抗體：

含有以下胺基酸序列之重鏈可變區：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGK
GLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLR
AEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:7)
及

含有以下胺基酸序列之輕鏈可變區：
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAP
KLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ
YLYHPATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:9)。

【第7項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該PD-L1抑制劑為阿特珠單抗 (atezolizumab)。

【第8項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該VEGF抑制劑為包含含有HVR-H1序列GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:35)、HVR-H2序列WINTYTGEPTYAADFQR (SEQ ID NO:36)及HVR-H3序列YPHYYGSSHWYFDV (SEQ ID NO:37)之重鏈；及含有HVR-L1序列SASQDISNYLN (SEQ ID NO:38)、HVR-L2序列FTSSLHS (SEQ ID NO:39)及HVR-L3序列QQYSTVPWT (SEQ ID NO:40)之輕鏈的抗體。

【第9項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該VEGF抑制劑為包含以下之抗體：

含有以下胺基酸序列之重鏈可變區：EVQLVESGGG
LVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGW

INTYTGEPY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED
TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT VSS (SEQ ID
NO:33)及

含有以下胺基酸序列之輕鏈可變區：DIQMTQSPSS
LSASVGDRVIT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIIYF
TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ
YSTVPWTFGQ GTKVEIKR (SEQ ID NO:34)。

【第10項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該VEGF抑制劑為貝伐單抗
(bevacizumab)。

【第11項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該個體係經每日約20 mg至約100
mg、約40 mg至約80 mg或約60 mg之該MEK抑制劑治療。

【第12項】

如請求項11之方法，其中該MEK抑制劑為考比替尼或其醫藥上可接
受之鹽，且進一步地其中該個體係經約60 mg、約40 mg或約20 mg治療。

【第13項】

如請求項11之方法，其中該MEK抑制劑係每日一次地投與持續28天
治療週期中的連續21天。

【第14項】

如請求項13之方法，其中該MEK抑制劑係在28天治療週期中之第3
天至第23天進行投與。

【第15項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該個體係在28天治療週期之每14天經約400 mg至約1200 mg、約600 mg至約1000 mg、約700 mg至約900 mg或約840 mg之該PD-1軸抑制劑靜脈內治療。

【第16項】

如請求項15之方法，其中該PD-1軸抑制劑為阿特珠單抗，且進一步地其中該個體係經約840 mg治療。

【第17項】

如請求項15之方法，其中該個體係在該28天治療週期中之第1天及第15天經該PD-1軸抑制劑治療。

【第18項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該個體係在28天治療週期之每14天經約3 mg/kg體重至約7 mg/kg體重、約4 mg/kg體重至約6 mg/kg體重或約5 mg/kg體重之該VEGF抑制劑治療。

【第19項】

如請求項18之方法，其中該VEGF抑制劑為貝伐單抗，且進一步地其中該個體係經約5 mg/kg體重治療。

【第20項】

如請求項18之方法，其中該個體係在該28天治療週期中之第1天及第15天經該VEGF抑制劑治療。

【第21項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該MEK抑制劑、該PD-1軸抑制劑及該VEGF抑制劑各係在28天治療週期中之第1天及第15天進行投與。

【第22項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該結腸直腸癌為微衛星穩定結腸直腸癌。

【第23項】

如請求項1或請求項2之方法，其中該PD-1軸抑制劑及該VEGF抑制劑各係在28天治療週期中之第1天及第15天進行投與且其中該PD-1軸抑制劑係在該VEGF抑制劑投與至該個體之前投與至該個體。

【第24項】

如請求項23之方法，其中該MEK抑制劑係在該28天治療週期中之第1天至第21天進行投與。

【第25項】

一種治療患有結腸直腸癌之患者的方法，該方法包括向該個體投與包括以下之療法：

(i)治療有效量之考比替尼或其醫藥上可接受之鹽；

(ii)治療有效量之PD-L1抑制劑，其為包含以下之抗體：

(a)含有HVR-H1序列GFTFSDSWIH (SEQ ID NO:24)、HVR-H2序列AWISPYGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:25)及HVR-H3序列RHWPGGFDY (SEQ ID NO:12)之重鏈；及含有HVR-L1序列RASQDVSTAVA (SEQ ID NO:26)、HVR-L2序列SASFLYS (SEQ ID NO:27)及HVR-L3序列QQYLYHPAT (SEQ ID NO:28)之輕鏈，或

(b)含有以下胺基酸序列之重鏈可變區：
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPG
KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMN

SLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:7)及含有以下胺基酸序列之輕鏈可變區：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTK VEIKR (SEQ ID NO:9)；及

(iii)治療有效量之VEGF抑制劑，其為包含以下之抗體：

(a)含有HVR-H1序列GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:35)、HVR-H2序列WINTYTGEPTYAADFQR (SEQ ID NO:36)及HVR-H3序列YPHYYGSSHWYFDV (SEQ ID NO:37)之重鏈；及含有HVR-L1序列SASQDISNYLN (SEQ ID NO:38)、HVR-L2序列FTSSLHS (SEQ ID NO:39)及HVR-L3序列QQYSTVPWT (SEQ ID NO:40)之輕鏈，或

(b)含有以下胺基酸序列之重鏈可變區：EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQAPGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFQRRTF SLDTSKSTAYLQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWYFDVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:33)及含有以下胺基酸序列之輕鏈可變區：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:34)。

【第26項】

如請求項25之方法，其中該個體係經以下治療：約60 mg之考比替尼或其醫藥上可接受之鹽；約840 mg之該PD-L1抑制劑；及約5 mg/kg體重之該VEGF抑制劑。

【第27項】

一種治療人類個體之結腸直腸癌的套組，該套組包括MEK抑制劑、PD-1軸抑制劑、VEGF抑制劑及包括使用治療有效量之該MEK抑制劑、治療有效量之該PD-1軸抑制劑及治療有效量之該VEGF抑制劑來治療該個體之說明書的包裝插頁。

【第28項】

如請求項27之套組，其中該MEK抑制劑為考比替尼或其醫藥上可接受之鹽，該PD-1軸抑制劑為PD-L1抑制劑阿特珠單抗，且該VEGF抑制劑為貝伐單抗。

【第29項】

一種結腸直腸癌療法藥物組合，其包含：

(i)以約20 mg至約100 mg、約40 mg至約80 mg或約80 mg之劑量的MEK抑制劑；

(ii)以約400 mg至約1200 mg、約600 mg至約1000 mg、約700 mg至約900 mg或約840 mg之劑量的PD-1軸抑制劑；及

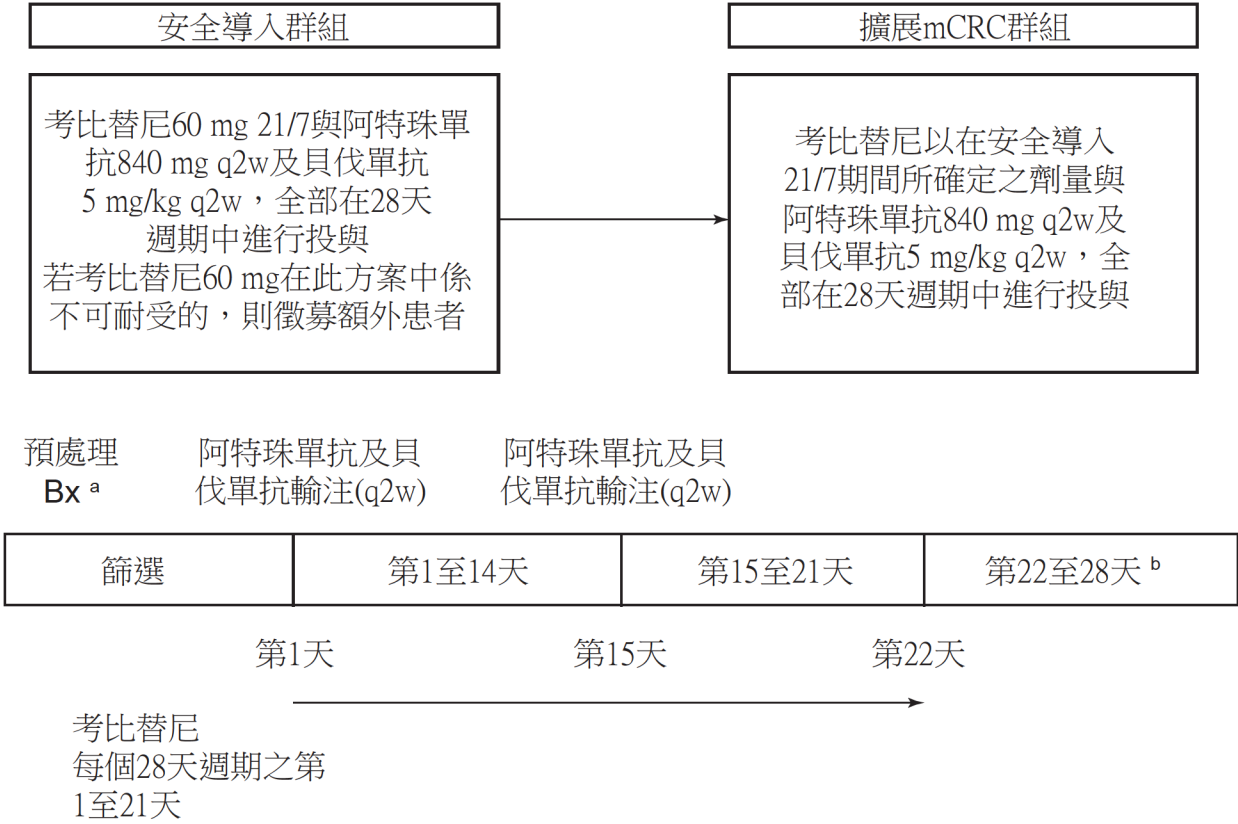
(iii)以約5 mg/kg至約15 mg/kg、約5 mg/kg至約10 mg/kg、約5 mg/kg、約10 mg/kg或約15 mg/kg之劑量的VEGF抑制劑。

【第30項】

如請求項29之結腸直腸癌療法藥物組合，其中該MEK抑制劑為以約60 mg之劑量之考比替尼或其醫藥上可接受之鹽，該PD-1軸抑制劑為以約

840 mg之劑量之該PD-L1抑制劑阿特珠單抗，且該VEGF抑制劑為以約5 mg/kg體重之劑量之貝伐單抗。

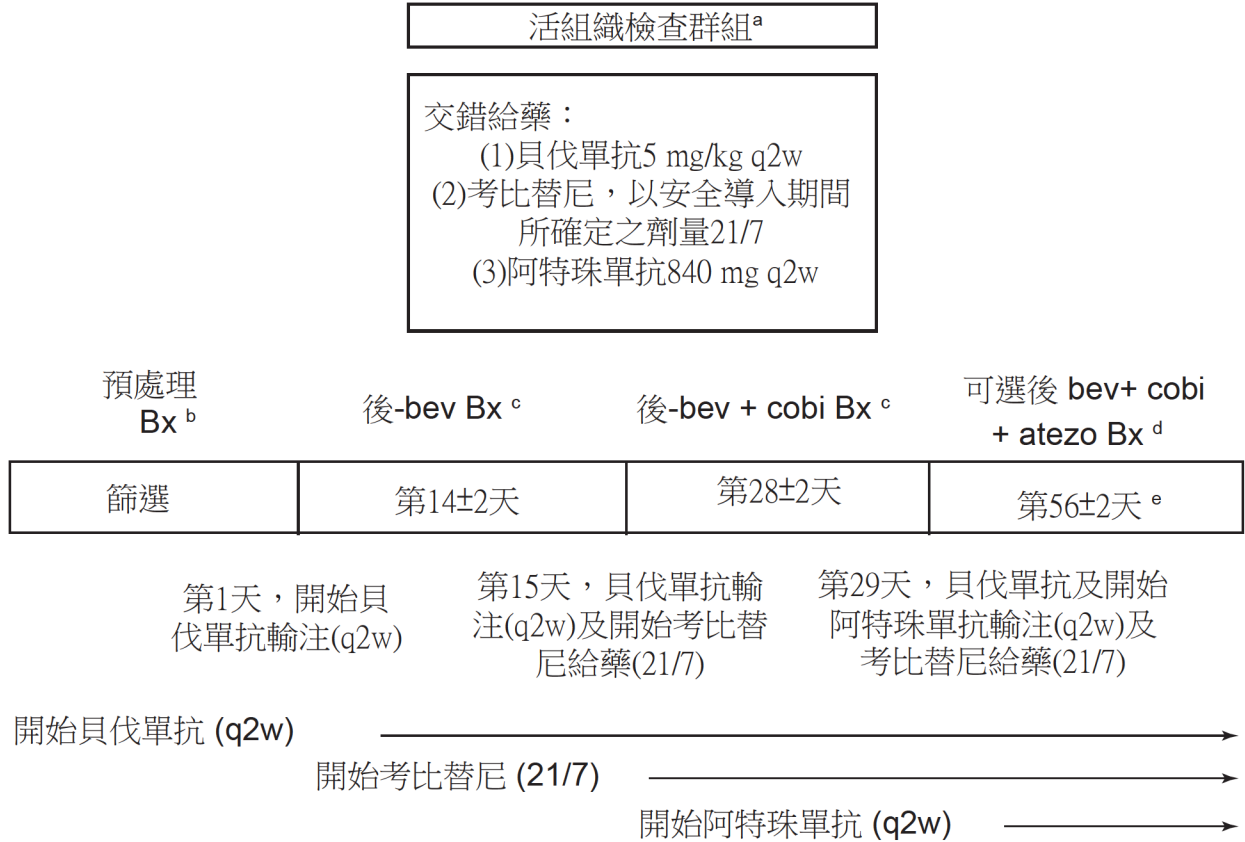
【發明圖式】



21/7 = 21天進行研究藥物，7天停止研究藥物；Bx = 活組織檢查；mCRC = 轉移性結腸直腸癌；q2w = 每2週。

- a 所有患者均要求預處理腫瘤組織(FFPE)
- b 完成第1週期後，患者將繼續接受28天週期之研究治療直至根據RECISTv1.1之疾病進展、不可接受之毒性、死亡、患者或醫師決定撤回、或懷孕，以先發生者為準。

【圖1】



21/7 = 21天進行研究藥物，7天停止研究藥物；Atezo = 阿特珠單抗；Bev = 貝伐單抗；
Bx = 活組織檢查；mCRC = 轉移性結腸直腸癌；q2w = 每2週。

- a 活組織檢查群組及交錯給藥研究設計允許比較mCRC中經貝伐單抗、經貝伐單抗及考比替尼、及經貝伐單抗、考比替尼及阿特珠單抗預處理之活組織檢查標本。
- b 對活組織檢查群組中之患者而言，要求預處理腫瘤組織(FEPE)；預處理新製活組織檢查係較佳的
- c 要求後貝伐單抗活組織檢查且應在第1天後的14 (±2)天進行，及要求後貝伐單抗加考比替尼活組織檢查且應在第1天後的28 (±2)天進行。
- d 後貝伐單抗加考比替尼加阿特珠單抗活組織檢查係可選的且應在第1天後的56 (±2)天進行。
- e 完成活組織檢查期後，完成第1週期後，患者將繼續接受28天週期之研究治療直至根據RECISTv1.1之疾病進展、不可接受之毒性、死亡、患者或醫師決定撤回、或懷孕，以先發生者為準。

【圖2】