



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I877278 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 03 月 21 日

(21)申請案號：109146217

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 12 月 25 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

C07K16/30 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/12/30 美國

62/954,904

2020/04/17 美國

63/011,906

(71)申請人：美商思進公司(美國) SEAGEN INC. (US)

美國

(72)發明人：蓋戴 斯拉 GARDAL, SHYRA (US)；何 菲尼克斯 HO, PHOENIX (US)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

US 20190276796A1

WO 2014/158821A1

期刊 Ochsenbein, Adrian F., et al. Argx-110 targeting CD70, in combination with azacitidine, shows favorable safety profile and promising anti-leukemia activity in newly diagnosed AML patients in an ongoing phase 1/2 clinical trial. Blood Vol 132 American Society of Hematology 2018 2680

期刊 Morsink, Linde M, and Roland B Walter. Novel monoclonal antibody-based therapies for acute myeloid leukemia. Best practice & research. Clinical haematology vol. 32 2019 116-126

審查人員：陳婷妤

申請專利範圍項數：33 項 圖式數：11 共 170 頁

(54)名稱

以非海藻糖苷化抗-CD70 抗體治療癌症之方法

(57)摘要

本發明提供以非海藻糖苷化抗-CD70 抗體治療癌症之方法，諸如骨髓性惡性腫瘤，包括骨髓發育不良症候群(MDS)和急性骨髓性白血病(AML)。

The invention provides methods of treating cancer, such as myeloid malignancies including myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML), with nonfucosylated anti-CD70 antibodies.



I877278

【發明摘要】

【中文發明名稱】

以非海藻糖苷化抗－C D 7 0 抗體治療癌症之方法

【英文發明名稱】

METHODS OF TREATING CANCER WITH NONFUCOSYLATED
ANTI-CD70 ANTIBODIES

【中文】

本發明提供以非海藻糖苷化抗-CD70抗體治療癌症之方法，諸如骨髓性惡性腫瘤，包括骨髓發育不良症候群(MDS)和急性骨髓性白血病(AML)。

【英文】

The invention provides methods of treating cancer, such as myeloid malignancies including myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML), with nonfucosylated anti-CD70 antibodies.

【指定代表圖】無

【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】

以非海藻糖苷化抗－C D 7 0 抗體治療癌症之方法

【英文發明名稱】

METHODS OF TREATING CANCER WITH NONFUCOSYLATED
ANTI-CD70 ANTIBODIES

【技術領域】

【0001】本發明關於以非海藻糖苷化抗-CD70抗體治療癌症之方法，諸如骨髓性惡性腫瘤，包括骨髓發育不良症候群(MDS)和急性骨髓性白血病(AML)。

相關申請案之交叉參考

【0002】本申請案主張在2019年12月30日申請之美國臨時申請案第62/954,904號及在2020年4月17日申請之美國臨時申請案第63/011,906號之優先權，將每一該等內容以其全文併入本文以供參考。

以ASCII正文檔案提交序列表

【0003】將下列以ASCII正文檔案提交之內容以其全文併入本文以供參考：序列表之電腦可讀形式(CRF)(檔名：761682003140SEQLIST.TXT，紀錄日期：2020年12月9日，大小：13 KB)。

【先前技術】

【0004】CD70為經細胞膜結合及分泌之分子的腫瘤壞死因子(TNF)家族的一員，其係由各種正常及惡性細胞類型表現。CD70之一級胺基酸(AA)序列預測具有暴露於細胞外部的其羧基末端及在漿膜之細胞溶質側發現的其胺基末端之II型跨膜蛋白(Bowman等人，1994, *J. Immunol.* 152:1756-61；Goodwin等人，1993, *Cell* 73: 447-56)。人類CD70係由20 AA細胞質結構域、18 AA跨膜結構域及155 AA外細胞質結構域所組成，具有兩個潛在的經N-連結之糖基化位點(Bowman等人，如上所述；Goodwin等人，如上所述)。經放射性同位素標記的表現CD70之細胞以抗-CD70抗體之特異性免疫沉澱法得到29及50 kDa之多肽(Goodwin等人，如上所述；Hintzen等人，1994, *J. Immunol.* 152: 1762-73)。基於其與TNF- α 及TNF- β 的同源性，尤其在結構鏈C、D、H和I中，預測出CD70之三聚體結構(Petsch等人，1995, *Mol. Immunol.* 32: 761-72)。

【0005】最初的免疫組織學研究揭露CD70係表現在扁桃體、皮膚及腸道的生發中心B細胞及罕見的T細胞上(Hintzen等人，1994, *Int. Immunol.* 6:477-80)。隨後，據報導CD70表現在最近經抗原活化之T及B淋巴細胞的細胞表面上且其表現在移除抗原刺激後減弱(Lens等人，1996, *Eur. J. Immunol.* 26:2964-71；Lens等人，1997, *Immunology* 90: 38-45)。在淋巴系統內，活化之天然殺手細胞(Orengo

等人，1997, *Clin. Exp. Immunol.* 107:608-13)及小鼠成熟末梢樹狀細胞(Akiba等人，2000, *J. Exp. Med.* 191:375-80)亦表現CD70。在非淋巴譜系中，已在胸腺髓質上皮細胞上檢測出CD70 (Hintzen等人，1994, *supra*；Hishima等人，2000, *Am. J. Surg Pathol.* 24:742-46)。

【0006】CD70未表現在正常的非造血細胞上。CD70表現在生理條件下主要侷限於最近經抗原活化之T及B細胞，且當抗原刺激停止時，其表現調降。來自動物模式的證據示意CD70可能促成免疫學疾患，諸如類風濕性關節炎(Brugnoni等人，1997, *Immunol. Lett.* 55:99-104)、牛皮癬性關節炎(Brugnoni等人，1997, *Immunol. Lett.* 55:99-104)和狼瘡(Oelke等人，2004, *Arthritis Rheum.* 50:1850-60)。除了其在發炎反應中的潛在角色以外，CD70亦表現在各種轉變細胞上，包括淋巴瘤B細胞、霍奇金氏(Hodgkin's)和里-斯二氏(Reed-Sternberg)細胞、神經源性惡性細胞和許多癌症。研究顯示來自急性骨髓性白血病(AML)及骨髓生成不良疾病(MDS)患者之幹細胞表現CD70及其受體CD27兩者。在此配體-受體對之間的相互作用可促進白血病胚細胞存活及增生。

【0007】在哺乳動物宿主細胞中產生的單株抗體可具有多種轉譯後修飾，包括糖基化。單株抗體(諸如IgG1)在各重鏈(每一完整抗體兩個)的天門冬醯胺297 (Asn297)上具有經N-連結之糖基化位點。附著至抗體上的Asn297之聚醣通常為複雜的雙觸角結構，其具有少量或不具有平分型

N-乙醯葡萄糖胺(平分型GlcNAc)與少量的末端唾液酸及可變量的半乳糖。聚醣亦經常具有高水平的核心海藻糖苷化(core fucosylation)。已顯示降低抗體中的核心海藻糖苷化使Fc效應子功能改變，特別為Fc γ 受體結合活性及ADCC活性。此觀察引起對改造細胞株的興趣，因為彼等產生具有降低的核心海藻糖苷化之抗體。

【0008】用於降低核心海藻糖苷化的改造細胞株之方法包括基因剔除、基因嵌入和RNA干擾(RNAi)。在基因剔除中，使編碼FUT8 (α 1,6-海藻糖基轉移酶酵素)之基因去活化。FUT8催化海藻糖基殘基自GDP-海藻糖轉移至N-聚醣的經Asn-連結(N-連結)之GlcNAc的位置6。據報導FUT8為負責添加海藻糖至Asn297上經N-連結之雙觸角醣的唯一酵素。基因嵌入係添加編碼酵素，諸如GNTIII或golgi α 甘露糖苷酶II之基因。在細胞中的此等酵素濃度增加使單株抗體自海藻糖苷化路徑轉移(導致增加的核心海藻糖苷化)且增加平分型N-乙醯葡萄糖胺的量。RNAi通常亦靶向FUT8基因表現，導致降低的mRNA轉錄水平或完全剔除基因表現。

【0009】改造細胞株的替代方案包括使用在糖基化路徑中的酵素上起作用之小分子抑制劑。抑制劑(諸如凱特諾斯胺(catanospermine))早期在糖基化路徑中起作用，產生具有不成熟聚醣(例如高濃度的甘露糖)及低的海藻糖苷化水平之抗體。由此等方法產生之抗體通常缺乏與成熟抗體相關聯的複雜的經N-連結之聚醣結構。小分子海藻糖類

似物亦可用於產生具有複雜的經N-連結之聚醣，但具有降低的核心海藻糖苷化之重組抗體。

【0010】有抗-CD70抗體之需求，諸如具有降低的核心海藻糖苷化之抗-CD70抗體，其可對表現CD70之細胞發揮臨床上有用的細胞毒性、抑制細胞或免疫調節效應，特別對不表現CD70之細胞不發揮非所欲效應。此等化合物可為對抗表現CD70之癌症的有用治療劑。

【0011】骨髓性惡性腫瘤包括急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生性疾患(MPDS)、骨髓發育不良症候群(MDS)和骨髓生成不良/骨髓增生性症候群，全部皆為殖株幹細胞(HSC)或祖細胞惡性疾患(TIU等人，*Leukemia*, vol. 21(8), p: 1648-57, 2007)。

【0012】MDS包含多種亞型，包括具有單譜系發育不良之MDS、具有環形含鐵胚血球之MDS、具有多譜系發育不良之MDS、具有過量胚細胞之MDS、具有分離的del(5q)之MDS和無法分類的MDS (ARBER等人，*Blood*, vol. 127, p: 2391-405, 2016)。MDS係以骨髓譜系之一或多者中的無效造血為特徵。早期MDS主要展示出過度的細胞凋亡及造血細胞發育不良(CLAESSENS等人，*Blood*, vol. 99, p: 1594-601, 2002；CLAESSENS等人，*Blood*, vol. 105, p: 4035-42, 2005)。在約三分之一的MDS患者中，此無效造血係在進展至繼發性AML (sAML)之前。儘管已鑑定出與特定的MDS亞型(ELBERT等人，*Nature*, vol. 451(7176), p: 335-9, 2008)或疾病轉變(BRAUN等人，*Blood*, vol. 107(3),

p: 1156-65, 2006)相關聯的一些分子事件，但是潛在的分子缺陷仍知之甚少。目前沒有生物學標誌可用於早期診斷及預後，除了形態特徵以外。

【0013】急性骨髓性白血病(AML)為白血球之骨髓性譜系的惡性腫瘤。若不及時治療，此血瘀形成通常為數週至數月內致命的血液及骨髓疾病。美國有30,000例AML及歐盟有47,000例AML估計值(2010年流行率數據由Mattson-Jack於2010年確認)。AML為成人急性白血病的最普遍形式(約90%)及相當於新白血病病例的約33%。診斷出患有AML的患者之中位年齡為67歲。在美國，AML佔癌症死亡的約1.2%。

【0014】AML引起非特異性症狀，諸如體重減輕、疲勞、發燒和盜汗。AML係由血液檢查、骨髓檢查及實驗室檢查來診斷以確定AML亞型及確定治療決策。

【0015】將本文所引用之所有參考文獻(包括專利申請案、專利公開案和科學文獻)以其全文併入本文以供參考，如同每一個別的參考文獻經具體地或個別地指示併入以供參考。

【發明內容】

【0016】本文提供治療個體的表現CD70之癌症之方法，該方法包含對個體投予治療有效量的非海藻糖苷化抗-CD70抗體，其中該方法導致個體的癌細胞耗竭，其中該方法不導致個體的CD70+T調節性細胞(CD70+Treg)耗竭，

其中抗-CD70抗體包含重鏈可變區(包含三個SEQ ID NO：1之CDR)、輕鏈可變區(包含三個SEQ ID NO：2之CDR)、及Fc結構域，其中抗-CD70抗體之CDR係以卡貝特(Kabat)編號方案定義，且其中癌症係選自由骨髓發育不良症候群(MDS)和急性骨髓性白血病(AML)所組成之群組。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含重鏈可變區(包含與SEQ ID NO：1之胺基酸序列至少85%一致的胺基酸序列)及輕鏈可變區(包含與SEQ ID NO：2之胺基酸序列至少85%一致的胺基酸序列)。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體重鏈可變區(包含SEQ ID NO：1之胺基酸序列)及輕鏈可變區(包含SEQ ID NO：2之胺基酸序列)。在一些實施態樣中，Fc結構域為媒介抗體依賴性細胞性細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞性吞噬作用(ADCP)及補體依賴性細胞性細胞毒性(CDC)中之一或多者的抗體效應子結構域。在一些實施態樣中，Fc結構域為媒介ADCC之抗體效應子結構域。在一些實施態樣中，Fc結構域為人類Fc結構域。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體為沃瑟珠單抗(vorsetuzumab)。在一些實施態樣中，抗體係與治療劑共軛。在一些實施態樣中，治療劑為化學治療劑或免疫調節劑。在一些實施態樣中，治療劑為化學治療劑。在一些實施態樣中，化學治療劑為單甲基奧利他汀(auristatin) E (MMAE)或單甲基奧利他汀F (MMAF)。在一些實施態樣中，該方法包含投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之各抗體包含重鏈可變區(包含三個SEQ ID NO：1之CDR)、輕鏈可變區(包含

三個SEQ ID NO：2之CDR)、及Fc結構域，其中抗-CD70抗體之CDR係以卡貝特編號方案定義，其中在抗-CD70抗體群中之至少50%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中之至少70%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中之至少90%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，癌症為MDS。在一些實施態樣中，MDS為復發性或頑抗性MDS。在一些實施態樣中，個體在先前用於MDS之低甲基化劑(HMA)療法後經歷治療失敗。在一些實施態樣中，癌症為AML。在一些實施態樣中，AML為復發性或頑抗性AML。在一些實施態樣中，個體接受2次用於治療AML之先前治療方案。在一些實施態樣中，個體接受3次用於治療AML之先前治療方案。在一些實施態樣中，至少約0.1%、至少約1%、至少約2%、至少約3%、至少約4%、至少約5%、至少約6%、至少約7%、至少約8%、至少約9%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、或至少約80%之癌細胞表現CD70。在一些實施態樣中，與對個體投予非海藻糖苷化抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，對個體投予非海藻糖苷化抗-CD70抗體導致至少約5%、至少約6%、至少約7%、至少約8%、至少約9%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約

50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 90%、至少約 95%、或約 100%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予非海藻糖苷化 (afucosylated) 抗-CD70抗體前的CD70+Treg量相比，對個體投予非海藻糖苷化抗-CD70抗體導致不超過約 20%、約 10%、約 9%、約 8%、約 7%、約 6%、約 5%、約 4%、約 3%、約 2%、約 1%、或約 0.1%之CD70+Treg耗竭。在一些實施態樣中，在個體中的一或多個治療效應係在投予非海藻糖苷化抗-CD70抗體後，相對於基線，受到改善。在一些實施態樣中，一或多個治療效應係選自由下列者所組成之群組：客觀反應率、反應持續時間、達到反應的時間、無惡化存活期 (progression free survival)和整體存活期。在一些實施態樣中，客觀反應率為至少約 20%、至少約 25%、至少約 30%、至少約 35%、至少約 40%、至少約 45%、至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、或至少約 80%。在一些實施態樣中，個體展現在投予非海藻糖苷化抗-CD70抗體後至少約 1個月、至少約 2個月、至少約 3個月、至少約 4個月、至少約 5個月、至少約 6個月、至少約 7個月、至少約 8個月、至少約 9個月、至少約 10個月、至少約 11個月、至少約 12個月、至少約 18個月、至少約兩年、至少約三年、至少約四年、或至少約五年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予非海藻糖苷化抗-CD70抗體後至少約 1個月、至少約 2個月、至少約 3個月、至少約 4個月、至少約 5個月、至少約 6個月、至少約 7個月、至少約 8個

月、至少約9個月、至少約10個月、至少約11個月、至少約12個月、至少約18個月、至少約兩年、至少約三年、至少約四年、或至少約五年之整體存活期。在一些實施態樣中，對抗-CD70抗體的反應持續時間係在投予非海藻糖苷化抗-CD70抗體後至少約1個月、至少約2個月、至少約3個月、至少約4個月、至少約5個月、至少約6個月、至少約7個月、至少約8個月、至少約9個月、至少約10個月、至少約11個月、至少約12個月、至少約18個月、至少約兩年、至少約三年、至少約四年、或至少約五年。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體之投予途徑為靜脈內。在一些實施態樣中，個體為人類。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與阿扎胞苷(azacitidine)組合投予。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與維托拉斯(venetoclax)組合投予。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與阿扎胞苷及維托拉斯組合投予。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與氟喹諾酮(fluoroquinolone)組合投予。

【0017】本文亦提供用於治療表現CD70之癌症之醫藥組成物，該組成物包含非海藻糖苷化抗-CD70抗體及至少一種醫藥上可相容的成分，其中抗-CD70抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含三個SEQ ID NO：1之CDR，輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含三個SEQ ID NO：2之CDR、及Fc結構域，其中抗-CD70抗體之CDR係以卡貝特編號方案定義，且其中組成物係用於本文之實施態樣中任一者之方法。

【0018】本文亦提供套組，其包含非海藻糖苷化抗-CD70抗體及在本文之實施態樣中任一者之方法中使用抗-CD70抗體之用法說明，其中抗-CD70抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含三個SEQ ID NO：1之CDR、輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含三個SEQ ID NO：2之CDR、及Fc結構域，其中抗-CD70抗體之CDR係以卡貝特編號方案定義。

【0019】應理解本文所述之各種實施態樣中之一種、一些或全部特性可組合以形成本發明之其他實施態樣。本發明之該等及其他態樣為熟習本技術領域者顯而易見。本發明之該等及其他實施態樣係由隨後的詳細說明進一步說明。

【圖式簡單說明】

【0020】本專利或申請文件含有至少一個以彩色製作的附圖。具有彩色附圖的本專利或專利申請公開案副本係由專利局要求且支付必要的費用後提供。

【0021】[圖1]為SGN-70（海藻糖苷化h1F6）及SEA-CD70（非海藻糖苷化h1F6）與各種Fc γ 受體結合的一系列感測圖。在圖1中，SGN-70被標記為h1F6 WT而SEA-CD70被標記為h1F6 SEA。使用生物膜干涉法(BLI)評定SGN-70及SEA-CD70對Fc γ R I、IIa、IIIa、IIb和FcRN之結合動力學及親和性。

【0022】[圖2A至2B]為使用流動式細胞測量術評定

SGN-70及SEA-CD70 (在圖2A至2B中被標記為SEA-70對)高親和性人類FcγRIIIa受體(158V)(圖2A)或石蟹獼猴FcγRIIIa受體(圖2B)結合的一系列圖。

【0023】[圖3A至3B]為顯示SGN-70及SEA-CD70在兩種CD70+AML細胞株，MOLM-13(圖3A)及NOMO-1(圖3B)中之ADCC活性的一系列圖。

【0024】[圖4A至4D]為評定SGN-70(在圖4A至4D中被標記為SGN-CD70)及SEA-CD70對來自高親和性FcγRIIIa受體(V/V 158)純合子或低親和性FcγRIIIa受體(F/F 158)純合子的供體之細胞中的CD70+Treg及CD8 T細胞之影響的一系列圖。

【0025】[圖4E至4H]為評定海藻糖苷化(WT植株(Clone)13 IgG1)或非海藻糖苷化(SEA植株13 IgG1)抗-TIGIT抗體對來自高親和性FcγRIIIa受體(V/V 158)純合子或低親和性FcγRIIIa受體(F/F 158)純合子的供體之細胞中的Treg及CD8 T細胞之影響的一系列圖。

【0026】[圖5]為評定在Raji NHL勃兒基特(Burkitt)淋巴瘤模式中以SEA-CD70治療隨時間對百分比動物存活之影響的結果之卡普蘭-邁爾(Kaplan-Meyer)圖。SEA-CD70被標記為h1F6SEA。

【0027】[圖6]為評定h1F6SEA、h1F6G1V1、h00SEA和阿扎胞苷在MV-411急性骨髓性白血病模式中之抗腫瘤效力的圖。SEA-CD70被標記為h1F6SEA。包含與SEA-CD70相同的CDR，但是包含去活化之主幹突變的抗體被

標記為h1F6G1V1。非海藻糖苷化 (afucosylated) 人類 IgG1 同型對照抗體被標記為h00SEA。

【0028】[圖 7A 至 7D] 為評定 h1F6SEA、h00SEA (非海藻糖苷化人類 IgG1 同型對照抗體)、h1F6G1V1 (包含與 SEA-CD70 相同的 CDR，但是包含去活化之主幹突變的抗體) 和阿扎胞苷在 MV-411 急性骨髓性白血病模式中之抗腫瘤效力的一系列蜘蛛網曲線圖。個別動物之腫瘤體積係以各治療條件繪製且與未治療組的中位腫瘤體積重疊。

【0029】[圖 8A 至 8B] 為評估針對 AML 細胞株的經 SEA-CD70 及 SGN-CD70 媒介之 ADCP 活性的一系列圖。所顯示的數據代表相對於背景對照物的百分比陽性巨噬細胞。

【0030】[圖 9A 至 9B] 為評估針對 AML 細胞株的經 SEA-CD70 及 SGN-CD70 CDC 媒介之 CDC 活性的一系列圖。

【0031】[圖 10] 為評估 SEA-CD70 與阿扎胞苷 (VIDAZA®) 之組合對 MV411 AML 異種移植小鼠模式中的腫瘤生長之效應的圖。報告各治療分組的平均腫瘤體積 ($\pm$ SEM)。繪製各治療組的數據，直到各組中的第一隻動物達到腫瘤大小 $>1000 \text{ mm}^3$ 而犧牲為止。

【0032】[圖 11A 至 B] 為評估 SEA-CD70 與阿扎胞苷 (VIDAZA®)、維托拉斯 (VENCLEXTA®; ABT-199) 或兩者 (阿扎胞苷+維托拉斯) 之組合對 MV411 AML 異種移植小鼠模式中的腫瘤生長之效應的一系列圖。圖 11A：報告各治療分組的平均腫瘤體積 ($\pm$ SEM)。繪製各治療組的數據，

直到各組中的第一隻動物達到腫瘤大小 $>1000\text{ mm}^3$ 而犧牲為止。圖 11B：關於對照物、阿扎胞苷+維托拉斯及 SEA-CD70+阿扎胞苷+維托拉斯組合(三重組合)之單一動物生長曲線。

【實施方式】

I. 定義

【0033】除非另有其他定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語具有如一般熟習與所述之方法及組成物相關的技術領域者共同瞭解的相同意義。當在本文使用商標名稱時，申請者意欲單獨地納入商標名稱之產品調配物、學名藥及商標名稱產品的活性醫藥成分。如本文所使用之下列術語及詞組具有歸屬於彼等的意義，除非另有其他指定。

【0034】在本文使用術語「及/或」的情況中，該術語被視為兩個具體化特徵或組分之各者(與或不與另一者)的具體揭示。因此，如詞組中所使用之術語「及/或」，諸如本文之「A及/或B」意欲包括「A和B」、「A或B」、「A」(單獨的)及「B」(單獨的)。同樣地，如詞組中所使用之術語「及/或」，諸如術語「A、B及/或C」意欲包含下列態樣中之各者：A、B和C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A和C；A和B；B和C；A(單獨的)；B(單獨的)；及C(單獨的)。

【0035】應理解本文所述本發明之態樣及實施態樣包

括「包含」態樣及實施態樣、「由態樣及實施態樣所組成」及「基本上由態樣及實施態樣所組成」。

【0036】單位、前置代號及符號係使用其國際單位制 (Système International de Unites)(SI)接受之形式表示。數字範圍包括界定範圍之數值。本文中提供的標題不是本發明之各種態樣的限制，其可以總體上引用本說明書之方式獲得。因此，緊接在下文定義之術語係以其全文引用本說明書的方式更全面地定義。

【0037】如本文所使用之術語「CD70結合劑」及「抗-CD70結合劑」意指抗-CD70抗體、抗-CD70抗體之衍生物或片段或與CD70結合之其他劑，且包含CD70結合抗體或其衍生物之至少一個CDR或可變區。

【0038】術語「特異性結合」意指結合劑係以高選擇性方式與其對應抗原反應及不與許多其他抗原(例如非-CD70分子)反應。

【0039】在CD70結合劑之背景下，如本文所使用之術語「功能性」表明結合劑能夠與CD70結合。

【0040】如本文所使用之術語「抑制」或「...之抑制」意指以可測量的量減少或完全預防。

【0041】在CD70-結合劑對表現CD70之細胞的效應之背景下，術語「耗竭」係指減少表現CD70之細胞的數目或消除表現CD70之細胞。

【0042】「完整抗體」及「完整免疫球蛋白」在本文被定義為由兩個相同的輕(L)鏈及兩個相同的重(H)鏈所組

成之異四聚體糖蛋白，通常約150,000道耳吞。各輕鏈係以二硫鍵共價連結至重鏈以形成異二聚體。異四聚體係由此等異二聚體的兩個相同重鏈之間的共價二硫鍵聯而形成。儘管輕鏈及重鏈係以二硫鍵連結在一起，但是在兩個重鏈之間的二硫鍵聯數目係因免疫球蛋白(Ig)同型而不同。各重鏈及輕鏈亦具有規律間隔的鏈內二硫橋。各重鏈在胺基末端上具有可變結構域(V_H)，繼而以三或四個不變結構域(C_H1 、 C_H2 、 C_H3 及/或 C_H4)，以及在 C_H1 與 C_H2 之間的鉸鏈(J)區。各輕鏈具有兩個結構域、胺基末端的可變結構域(V_L)及羧基末端的不變結構域(C_L)。 V_L 結構域係與 V_H 結構域非共價締合，而 C_L 結構域一般經由二硫鍵共價連結至 C_H1 結構域。咸信特定的胺基酸殘基形成輕鏈及重鏈可變結構域之間的界面(Chothia等人，1985, *J. Mol. Biol.* 186:651-663)。

【0043】術語「高度變異」係指可變結構域內的特定序列，其在抗體之間的序列差異很大且含有直接涉及各特定抗體對其特異性抗原決定子之結合及特異性的殘基。在輕鏈及重鏈可變結構域兩者中的高度變異性係集中在三個稱為互補性決定區(CDR)或高度變異環(HVL)之鏈段中。CDR係以Kabat等人，1991, In: *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, M.D.中的序列比較來定義，而HVL係在結構上根據可變結構域之三維結構來定義，如Chothia和Lesk之1987, *J. Mol. Biol.* 196:901-917

所述。在該兩種方法導致稍有不同的CDR鑑定之情況下，則優選結構定義。如以卡貝特(參見卡貝特等人，“Sequences of proteins of immunological interest, 5th ed., Pub. No. 91-3242, U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, M.D., 1991)所定義，CDR-L1係定位在輕鏈可變結構域中約殘基24-34上，CDR-L2在約殘基50-56上，及CDR-L3在約殘基89-97上，及CDR-H1係定位在重鏈可變結構域中約31-35上，CDR-H2在約50-65上，及CDR-H3在約95-102。

【0044】在每一重鏈及輕鏈內的三個CDR係以傾向較少的可變性之序列的框架區(FR)隔開。重鏈及輕鏈可變結構域自胺基末端至羧基末端的FR及CDR係以下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。FR的大部分 β -板構形使每一鏈內的CDR彼此以及與其他鏈的CDR緊密靠近。所得構形促成抗原結合位點(參見Kabat等人，1991, NIH Publ. No. 91-3242, Vol. I, pages 647-669)，儘管並非所有的CDR殘基都必須直接涉及抗原結合。

【0045】FR殘基及Ig不變結構域通常不直接涉及抗原結合，但是可促成抗原結合或媒介抗體效應子功能。一些FR殘基可以至少三種方式對抗原結合具有顯著的效應：藉由直接非共價結合至表位、藉由與一或多個CDR殘基相互作用及藉由影響重鏈與輕鏈之間的界面。不變結構域媒介各種Ig效應子功能，諸如抗體參與抗體依賴性細胞性細胞毒性(ADCC)、補體依賴性細胞毒性(CDC)及/或抗體依賴

性細胞性吞噬作用(ADCP)。

【0046】脊椎動物免疫球蛋白之輕鏈係基於不變結構域之胺基酸序列而分配成兩個明顯不同的類別之一，kappa (κ)及lambda (λ)。相比之下，哺乳動物免疫球蛋白之重鏈係根據不變結構域的序列而分配成五種主要類別之一：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM。IgG及IgA進一步區分成子類別(同型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA及IgA2。對應於不同類別的免疫球蛋白之重鏈不變結構域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。天然免疫球蛋白類別的子單元結構及三維構形為眾所周知的。

【0047】術語「抗體」、「抗-CD70抗體」、「人源化抗-CD70抗體」及「變異性人源化抗-CD70抗體」在本文以最廣義使用且特別地包含全長和天然抗體、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)及其抗體或抗原結合片段，諸如抗體的可變結構域和其他部分，其展現所欲生物活性，例如CD70結合。

【0048】術語「單株抗體」(mAb)係指自實質上同源抗體族群獲得的抗體；亦即該族群包含的個別抗體可為相同的，除了可能以少量存在的天然生成突變以外。單株抗體為高度特異性的，其係針對單一抗原決定子，亦稱為表位。修飾語「單株」表示針對相同表位之實質上同源抗體族群且不應解釋為需要以任何特定的方法生產抗體。單株抗體可以本技術中已知的任何技術或方法製得；例如首先

由 Köhler 等人，1975, *Nature* 256:495 說明之融合瘤方法或本技術中已知的重組 DNA 方法 (參見例如美國專利案號 4,816,567 號)。在另一實例中，單株抗體亦可使用 Clackson 等人，1991, *Nature* 352: 624-628 及 Marks 等人，1991, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 所述之技術自噬菌體抗體庫單離。

【0049】相反地，在多株抗體之製劑中的抗體通常為免疫球蛋白同型及/或類別之異源族群且亦展現多種表位特異性。

【0050】如本文所使用之術語「嵌合」抗體為單株抗體類型，其中在重鏈及/或輕鏈之一或多個區域或結構域中的一部分或完整胺基酸序列係與來自另一物種、或屬於另一免疫球蛋白類別或同型、或來自共有序列之單株抗體中的對應序列相同、同源或為其變異體。嵌合抗體包括此等抗體的片段，其先決條件為抗體片段展現其親體抗體的所欲生物活性，例如結合至相同的表位 (參見例如美國專利案第 4,816,567 號；及 Morrison 等人，1984, *Proc. Natl. Acad Sci. USA* 81:6851-6855)。生產嵌合抗體之方法為本技術中已知。(參見例如 Morrison, 1985. *Science* 229:1202； Oi 等人，1986, *BioTechniques* 4:214； Gillies 等人，1989, *J. Immunol. Methods* 125:191-202；美國專利案第 5,807,715 號、4,816,567 號和 4,816,397 號。)

【0051】術語「抗體片段」、「抗-CD70 抗體片段」、「人源化抗-CD70 抗體片段」及「變異性人源化抗-

CD70抗體片段」係指一部分的全長抗-CD70抗體，其中保留可變區或功能性能力，例如特異性CD70表位結合。抗體片段的實例包括但不限於Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、scFv和scFv-Fc片段、雙鏈抗體(diabody)、三鏈抗體(triabody)、四鏈抗體(tetrabody)、線性抗體、單鏈抗體、及自抗體片段形成的多特異性抗體。(參見Holliger and Hudson之2005, *Nat. Biotechnol.* 23:1126-1136)。

【0052】「單鏈Fv」或「scFv」抗體片段為單鏈Fv變異體，其包含抗體之V_H及V_L結構域，其中結構域係存在於單一多肽鏈中且能夠辨識及結合抗原。scFv多肽視需要地含有定位在V_H與V_L結構域之間的多肽連結子，其能使scFv形成用於抗原結合之所欲三維結構(參見例如Pluckthun之1994, In *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, Vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315)。

【0053】術語「雙鏈抗體」係指具有兩個抗原結合位點之小抗體片段。各片段含有串接至輕鏈可變結構域(V_L)之重鏈可變結構域(V_H)以形成V_H-V_L或V_L-V_H多肽。藉由使用太短而使得同一鏈上的兩個結構域之間無法配對的連結子，迫使經連結之V_H-V_L結構域與另一鏈的互補結構域配對，創造兩個抗原結合位點。雙鏈抗體更詳細地說明於例如EP 404 097；WO 93/11161；及Hollinger等人，1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448中。

【0054】術語「線性抗體」係指包含一對串聯Fd鏈段

(V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1})以形成一對抗原結合區之抗體。線性抗體可具有雙特異性或單特異性，如 Zapata 等人，1995, *Protein Eng.* 8(10):1057-1062 中所述。

【0055】「人源化抗體」係指免疫球蛋白胺基酸序列變異體或其片段，其能夠結合至預定抗原且其包含可變區多肽鏈，該可變區多肽鏈具有實質上具有人類免疫球蛋白之胺基酸序列的框架區及實質上具有非人類免疫球蛋白之胺基酸序列的 CDR。

【0056】人源化抗體通常具有一或多個自非人類來源引入其中的胺基酸殘基。該等非人類胺基酸殘基在本文被稱為「輸入(import)」殘基，其通常取自「輸入」抗體結構域，特別為可變結構域。輸入殘基、序列或抗體具有所欲親和性及/或特異性或如本文所討論之其他所欲抗體生物活性。

【0057】人源化抗體通常包含實質上所有的可變結構域，至少一個及通常兩個可變結構域，其中所有或實質上所有的 CDR 區係對應於非人類免疫球蛋白的 CDR 區，且所有或實質上所有的框架區為人類免疫球蛋白序列(諸如來自例如共有或胚原序列)的框架區。人源化抗體亦視需要地包含至少一部分免疫球蛋白 Fc 結構域，通常為人類免疫球蛋白。例如，抗體可含有輕鏈以及重鏈的至少可變結構域兩者。抗體亦可視情況包括重鏈的 C_{H1}、絞鏈(J)、C_{H2}、C_{H3}及/或 C_{H4}區。

【0058】人源化抗體可選自任何類別的免疫球蛋白，

包括 IgM、IgG、IgD、IgA 和 IgE，及任何同型，包括 IgG₁、IgG₂、IgG₃ 和 IgG₄。在希望人源化抗體展現細胞毒性活性(例如 IgG₁)的情況下，不變區或結構域可包括例如補體結合性不變結構域。在不希望此細胞毒性活性的情況下，不變結構域可具有另一類別(例如 IgG₂)。人源化抗體可包含來自一種以上的類別或同型之序列，且選擇特定的不變結構域以優化所欲效應子功能係在本技術的一般技能範圍內。

【0059】人源化抗體之 FR 及 CDR 區不必精確地對應親體序列，例如輸入 CDR 或共有 FR 可藉由取代、插入或缺失至少一個殘基來改變，使得在該位點的 CDR 或 FR 殘基不對應於共有或輸入抗體。此等突變的規模通常不大。經常以至少 75% 之人源化抗體殘基對應於親體 FR 及 CDR 序列的殘基、更常為至少 90%，且最常為大於 95%。

【0060】如本文所使用之術語「抗體效應子功能」係指由 Ig 之 Fc 結構域促成的功能。此等功能可為例如抗體依賴性細胞性細胞毒性、抗體依賴性細胞性吞噬作用或補體依賴性細胞毒性。此等功能可藉由例如 Fc 效應子結構域結合至具有吞噬細胞或溶解活性之免疫細胞上的 Fc 受體或藉由 Fc 效應子結構域結合至補體系統之組分而達成。由 Fc 結合細胞或補體組分媒介之效應通常導致經 CD70 靶向之細胞的抑制及/或耗竭。不想受到任何特定理論的束縛，抗體之 Fc 區可募集表現 Fc 受體 (FcR) 之細胞且使該細胞與經抗體包覆之標靶細胞並列。表現 IgG 之表面 FcR (包括

Fc γ RIII (CD16)、Fc γ RII (CD32)和Fc γ RI (CD64))的細胞可作為破壞經IgG包覆之細胞的效應子細胞起作用。此等效應子細胞包括單核細胞、巨噬細胞、天然殺手(NK)細胞、嗜中性球和嗜酸性球。以IgG接合Fc γ R來活化抗體依賴性細胞性細胞毒性(ADCC)或抗體依賴性細胞性吞噬作用(ADCP)。ADCC係以CD16⁺效應子細胞通過膜孔形成蛋白質及蛋白酶之分泌來媒介，而吞噬作用係以CD32⁺及CD64⁺效應子細胞媒介(參見*Fundamental Immunology*, 4th ed., Paul ed., Lippincott-Raven, N.Y., 1997, 第3、17和30章；Uchida等人，2004, *J. Exp. Med.* 199:1659-69；Akewanlop等人，2001, *Cancer Res.* 61:4061-65；Watanabe等人，1999, *Breast Cancer Res. Treat.* 53:199-207)。除了ADCC及ADCP以外，結合細胞之抗體的Fc區亦可活化補體經典路徑以誘出補體依賴性細胞毒性(CDC)。當抗體與抗原複合時，補體系統之C1q結合至抗體的Fc區。C1q結合至結合細胞之抗體可引發涉及C4及C2之蛋白分解活化以產生C3轉化酶之級聯事件。以C3轉化酶分裂C3成為C3b能夠活化末端補體組分，包括C5b、C6、C7、C8和C9。該等蛋白質集體在經抗體包覆之細胞上形成膜攻擊複合物孔。該等孔破壞細胞膜完整性，殺死標靶細胞(參見*Immunobiology*, 6th ed., Janeway等人，Garland Science, N.Y., 2005, Chapter 2)。

【0061】術語「抗體依賴性細胞性細胞毒性」或ADCC為誘導細胞死亡之機制，其取決於經抗體包覆之標

靶細胞與具有溶解活性之免疫細胞(亦稱為效應子細胞)的相互作用。此等效應子細胞包括天然殺手細胞、單核細胞/巨噬細胞和嗜中性球。效應子細胞係經由彼等抗原組合位點附著至與標靶細胞結合之Ig的Fc效應子結構域。經抗體包覆之標靶細胞的死亡係由於效應子細胞活性而發生。

【0062】術語「抗體依賴性細胞性吞噬作用」或ADCP係指使經抗體包覆之細胞以結合至Ig的Fc效應子結構域之吞噬細胞性免疫細胞(例如巨噬細胞、嗜中性球和樹狀細胞)全部或部分內化之過程。

【0063】術語「補體依賴性細胞毒性」或CDC係指誘導細胞死亡之機制，其中經標靶結合之抗體的Fc效應子結構域活化一系列的酵素反應，最終在標靶細胞膜中形成孔。抗原-抗體複合物(諸如在經抗體包覆之標靶細胞上的該等複合物)通常結合且活化補體組分C1q，其依次活化補體級聯，導致標靶細胞死亡。補體之活化亦可能導致補體組分沉積在標靶細胞表面上，藉由結合在白血球上的補體受體(例如CR3)而促進ADCC。

【0064】如本文所使用之「免疫細胞」係指涉及調節免疫反應之造血譜系的細胞。在典型的實施態樣中，免疫細胞為T淋巴細胞、B淋巴細胞、NK細胞、單核細胞/巨噬細胞或樹狀細胞。

【0065】如本文所使用之「效應子細胞」係指表現免疫球蛋白(FcR)之Fc結構域的表面受體之細胞。例如，表現IgG之表面FcR(包括FcγRIII(CD16)、FcγRII(CD32))

和FcγRIII (CD64))之細胞可作為效應子細胞起作用。此等效應子細胞包括單核細胞、巨噬細胞、天然殺手(NK)細胞、嗜中性球和嗜酸性球。

【0066】「治療劑」為對癌細胞、活化之免疫細胞或其他標靶細胞群施予細胞毒性、抑制細胞及/或免疫調節效應之劑。治療劑的實例包括細胞毒性劑、化學治療劑、抑制細胞劑和免疫調節劑。

【0067】「細胞毒性效應」係指標靶細胞之耗竭、消除及/或殺死。「細胞毒性劑」係指對細胞具有細胞毒性效應之劑。該術語意欲包括放射活性同位素(諸如I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰和Re¹⁸⁶)、化學治療劑和毒素，諸如細菌、真菌、植物和動物來源之酶促活性毒素及其片段。此等細胞毒性劑可與抗體(例如人源化抗-CD70抗體)偶合且用於例如治療適應於抗體治療之患者。在一個實施態樣中，「細胞毒性劑」包括單株抗體，例如與本文所述之人源化抗體組合使用之抗體。

【0068】「化學治療劑」為有用於治療癌症之化學化合物。化學治療劑的實例包括烷基化劑，諸如噻替派(thiotepa)和環磷醯胺(cyclophosphamide)(CYTOXAN™)；烷基磺酸鹽，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶(aziridine)，諸如苯唑多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)和尤利多巴(uredopa)；伸乙基亞胺和甲基三聚氰胺，包括六甲密胺

(altretamine)、三乙烯三聚氰胺(triethylenemelamine)、三
 乙烯磷醯胺(triethylenephosphoramidate)、三乙烯硫代磷醯胺
 (triethylenethiophosphoramidate)和三羥甲基三聚氰胺
 (trimethylolomelamine)；多聚乙醯(acetogenin)(尤其為布
 拉他辛(bullatacin)和布拉他辛酮(bullatacinone))；喜樹鹼
 (camptothecin)(包括合成類似物拓朴替康(妥普替康))；苔
 蘚蟲素(bryostatin)；海洋抑素(callystatin)；CC-1065 (包
 括其阿多來新(adozelesin)、卡折來新(carzelesin)和比折來
 新(bizelesin)合成類似物)及其衍生物；念珠藻環肽
 (cryptophycine)(特別為念珠藻環肽1和念珠藻環肽8)；尾
 海兔素；奧利他汀(包括類似物單甲基奧利他汀E和單甲基
 奧利他汀F(參見例如在2005年10月27日公開之美國公開申
 請案第2005-0238649號，以其全文併入本文))；倍癌黴素
 (duocarmycin)(包括合成類似物，KW-2189和CBI-TMI)；
 艾榴塞洛素(eleutherobin)；水鬼蕉鹼(pancratistatin)；匍
 枝珊瑚醇(sarcodictyin)；海綿抑素(spongistatin)；氮芥
 (nitrogen mustards)，諸如氯芥苯丁酸(chlorambucil)、氯
 瑪菲嗪(chlomaphazine)、氯磷醯胺(cholophosphamide)、
 雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺(ifosfamide)、甲基二
 (氯乙基)胺(mechlorethamine)、甲基二(氯乙基)胺氧化物
 鹽酸鹽、美法侖(melphalan)、新恩比興(novembichin)、芬
 司特瑞(phenesterine)、潑尼莫司汀(prednimustine)；曲洛
 磷胺(trofosfamide)；尿嘧啶氮芥(uracil mustard)；亞硝基
 脲(nitrosurea)，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素

(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素(例如卡奇黴素(calicheamicin)，尤其為卡奇黴素 γ II和卡奇黴素 ω II，參見例如Agnew, *Chem. Intl. Ed. Engl.*, 33:183-186；達內黴素(dynemicin)，包括達內黴素A；雙膦酸鹽，諸如氯屈膦酸鹽(clodronate)；埃斯培拉黴素(esperamicin)；以及新制癌菌素(neocarzinostatin)發色團和相關色素蛋白烯二炔抗生素發色團、阿克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌素(actinomycin)、安麴黴素(authramycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博來黴素(bleomycin)、放線菌素C(cactinomycin)、卡拉比辛(carubicin)、洋紅黴素(carminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycinis)、放線菌素D(dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、阿黴素(doxorubicin)(Adriamycin™)(包括嗎啉基阿黴素、氰基嗎啉基阿黴素、2-吡咯啉基阿黴素和去氧阿黴素)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊達比星(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycin)(諸如絲裂黴素C)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、泊非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星

(rodorubicin)、鏈黑黴素(streptonigrin)、鏈脲黴素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、左柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤(methotrexate)和5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巯基嘌呤、噻咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿扎胞苷、6-氮雜尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、雙去氧尿苷(dideoxyuridine)、脫氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄激素，諸如卡普甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酯(testolactone)；抗腎上腺素，諸如胺麩精(aminogluthimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如夫羅林酸(frolinic acid)；醋葡醛內酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸；恩尿嘧啶(eniluracil)；安吡啶(amsacrine)；貝斯布西(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；艾達曲克(edatraxate)；得弗伐胺(defofamine)；秋水仙胺(demecolcine)；地吡醌(diaziquone)；艾弗鳥胺酸(elfornithine)；依利醋鉅

(elliptinium acetate)；埃博黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂；脛基脲(脛基 urea)；香菇多糖(lentinan)；氯尼達明(lonidainine)；類美登素(maytansinoid)，諸如美登素(maytansine)和安絲菌素(ansamitocin)；米托胍脲(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；莫比達摩(mopidamol)；二胺硝吡啶(nitracrine)；噴司他汀(pentostatin)；蛋胺氮芥(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；洛索蒽醌(losoxantrone)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK[®]；雷佐生(razoxane)；根瘤菌素(根黃素)；西佐喃(sizofiran)；鍺螺旋胺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2"-三氯三乙胺；新月毒素(trichothecene)(尤其為T-2毒素、黏液黴素A(verrucarin A)、桿孢菌素A(roridin A)和胺癸叮(anguidine))；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；加西托星(gacytosine)；阿拉伯糖苷(arabinoside)(「Ara-C」)；環磷醯胺；噻替派；類紫杉醇，例如太平洋紫杉醇(太平洋紫杉醇)(TAXOL[®]，Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ)和歐洲紫杉醇(doxetaxel)(TAXOTERE[®]，Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France)；氯芥苯丁酸；吉西他濱

(gemcitabine)(Gemzar™)；6-硫鳥嘌呤(6-thioguanine)；巰基嘌呤(巰基 purine)；甲胺嘌呤；鉑類似物，諸如順鉑(cisplatin)和卡鉑(卡铂)；長春花鹼(vinblastine)；鉑；依託泊苷(依托泊苷)(VP-16)；異環磷醯胺；米托蒽醌；長春新鹼(vincristine)；長春瑞賓(vinorelbine)(Navelbine™)；諾凡特龍(novantrone)；替尼泊苷(teniposide)；依達曲沙(edatrexate)；柔紅黴素(daunomycin)；胺基蝶呤(aminopterin)；希羅達(xeloda)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；CPT-11；拓撲異構酶(拓撲異構酶)抑制劑RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視色素(retinoid)，諸如視黃酸(retinoic acid)；卡培他濱(capecitabine)；及上述中任一者之醫藥上可接受的鹽、酸或衍生物。此定義亦包括以調控或抑制對腫瘤之激素作用而起作用之抗激素劑，諸如抗雌激素劑和選擇性雌激素受體調節劑(SERM)，包括例如他莫昔芬(tamoxifen)(包括Nolvadex™)、雷諾昔酚(raloxifene)、曲洛昔芬(droloxifene)、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、克沃昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)和托瑞米芬(toremifene)(Fareston™)；抑制用於調控腎上腺中的雌激素產生之酵素芳香酶的芳香酶抑制劑，諸如4(5)-咪唑、胺麩精、乙酸甲地孕酮(megestrol acetate)(Megace™)、依西美坦(exemestane)、福美司坦(formestane)、法屈唑(fadrozole)、伏羅唑(vorozole)(Rivisor™)、來曲唑(letrozole)(Femara™)和阿那

曲唑(anastrozole)(Arimidex™)；及抗雄激素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙立德(leuprolide)及戈舍瑞林(goserelin)；及上述中任一者之醫藥上可接受的鹽、酸或衍生物。

【0069】如本文所使用之術語「前藥」係指相較於親體藥物相比而對腫瘤細胞較小的細胞毒性且能夠酶促活化或轉化成更大活性的親體形式之醫藥活性物質的前驅物或衍生物形式。參見例如 Wilman, 1986, “Prodrugs in Cancer Chemotherapy”, In *Biochemical Society Transactions*, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast, 及 Stella等人, 1985, “Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery, In: ”*Directed Drug Delivery*, Borchardt等人(編輯), pp. 247-267, Humana Press。有用的前藥包括但不限於含磷酸酯之前藥、含硫代磷酸酯之前藥、含硫酸酯之前藥、含肽之前藥、經D-胺基酸修飾之前藥、糖基化前藥、含 β -內醯胺之前藥、視需要地經取代之含苯氧基乙醯胺之前藥和視需要地經取代之含苯基乙醯胺之前藥、5-氟胞嘧啶及其他的5-氟尿苷前藥，其可轉化成更大活性的無細胞毒性藥物。可衍生成前藥形式之細胞毒性藥物的實例包括但不限於上述之該等化學治療劑。

【0070】「抑制細胞效應」係指細胞增生之抑制。「抑制細胞劑」係指對細胞具有抑制細胞效應之劑，從而抑制細胞之特定亞群的生長及/或表現。

【0071】如本文所使用之術語「免疫調節效應」係指刺激(免疫刺激)或抑制(免疫抑制)免疫反應之發展或維持。抑制可藉由例如免疫細胞(例如T或B淋巴細胞)之消除；可調節(例如調降)其他細胞之功能性能力的免疫細胞之誘導或產生；在免疫細胞中的無反應狀態之誘導(例如無因變性)；或增加、降低或改變免疫細胞之活性或功能，包括例如改變以該等細胞表現之蛋白質圖譜(例如改變特定的分子類別(諸如細胞介素、趨化介素、生長因子、轉錄因子、激酶、共刺激分子或其他細胞表面受體及類似者)之生產及/或分泌)而達成。「免疫調節劑」係指對細胞具有免疫調節效應之劑。在一些實施態樣中，免疫調節劑對促進免疫反應之免疫細胞具有細胞毒性或抑制細胞效應。

【0072】術語「標記物」係指直接或間接與抗體共軛之可檢測的化合物或組成物。標記物本身可為可檢測的(例如放射性同位素標記物或螢光標記物)，或在酵素標記物的例子中可催化受質化合物或組成物的化學改變，此改變為可檢測的。可製備經標記之抗-CD70抗體且將其用於各種應用中，包括試管內及活體內診斷。

【0073】「經單離之」核酸分子為經鑑定且自通常與其在核酸之天然來源中締合的至少一種污染物核酸分子單離之核酸分子。經單離之核酸分子不呈天然界中所見之形式或配置(setting)。經單離之核酸分子因此不同於其存在於天然細胞中時之核酸分子。然而，經單離之核酸分子包

括通常在表現抗體之細胞中含有的核酸分子，其中例如核酸分子在染色體中的位置與天然細胞不同。

【0074】術語「控制序列」係指在特定宿主生物體中表現可操作地連結之編碼序列所必要的多核苷酸序列。適用於原核細胞之控制序列包括例如啟動子、操縱子和核糖體結合位點序列。真核細胞控制序列包括但不限於啟動子、多腺核苷酸化信號和增強子。可利用該等控制序列在原核及真核宿主細胞中表現及生產抗-CD70結合劑。

【0075】當核酸序列與另一核酸序列係處於功能關係時，將該核酸序列「可操作地連結」。例如，若核酸前序列或分泌性前導序列表現為參與多肽分泌之前蛋白，則該等序列係與編碼多肽之核酸可操作地連結；若啟動子或增強子影響序列之轉錄，則啟動子或增強子係與編碼序列可操作地連結；或者若核糖體結合位點被定位以促進轉譯，則核糖體結合位點係與編碼序列可操作地連結。通常，「可操作地連結」意指連結之DNA序列為連續的，且在分泌性前導序列的例子中為連續的且在閱讀框中。然而，增強子視需要為連續的。連結可在合宜的限制性位點上以接合來實現。若此等位點不存在，則可使用合成的寡核苷酸轉接子或連結子連結DNA序列。

【0076】術語「多肽」係指胺基酸之聚合物及其等效物且不指特定長度的產物；因此，「肽」及「蛋白質」包括在多肽的定義內。在多肽的定義內亦包括如本文所定義之「抗體」。「多肽區」係指多肽的鏈段，該鏈段可含有

例如一個或多個結構域或模體(例如抗體之多肽區可含有例如一個或多個互補性決定區(CDR))。術語「片段」係指多肽的一部分，通常具有多肽之至少20個連續或至少50個連續的胺基酸。「衍生物」為相對於第二多肽而具有一個或多個非保守性或保守性胺基酸取代之多肽或其片段；或藉由第二分子之共價附著(諸如藉由異源性多肽之附著)或藉由糖基化、乙醯化、磷酸化及類似者修飾之多肽或其片段。在「衍生物」的定義內另外包括例如含有一或多種胺基酸類似物(例如非天然胺基酸及類似者)的多肽、具有未經取代之鍵聯的多肽、以及本技術中已知的天然和非天然兩者生成之其他修飾物。

【0077】「經單離之」多肽為已自其天然環境之組分中鑑定且分離及/或回收之多肽。其天然環境之污染組分為總會干擾多肽之診斷或治療用途的物料，且可包括酵素、激素和其他的蛋白質或非蛋白質溶質。經單離之多肽包括經單離之抗體或其片段或衍生物。「抗體」包括重組細胞內的原位抗體，因為抗體的天然環境之至少一種組分是不存在的。

【0078】在特定的實施態樣中，將抗體純化至(1)大於95重量%之抗體，如以勞立法(Lowry method)所測定，且在一個態樣中超過99重量%，(2)藉由使用旋杯式定序儀(spinning cup sequenator)足以獲得至少15個N端或內部胺基酸序列殘基的程度，或(3)在還原或非還原條件下使用考馬斯藍(Coomassie blue)或較佳為銀染色之SDS-PAGE而

呈均質性。

【0079】 在多肽之背景下，術語「異源性」意指與另一多肽相比而來自不同的來源(例如細胞、組織、生物體或物種)，使得兩種多肽不同。異源性多肽通常來自不同的物種。

【0080】 在免疫球蛋白多肽或其片段之背景下，「保守性取代」意指不實質地減少免疫球蛋白多肽或其片段與抗原之特異性結合(例如以 K_D 所測量)之一或多個胺基酸取代(亦即以不超過約40%、典型地不超過約30%、更典型地不超過約20%、甚至更典型地不超過約10%、或最典型地不超過約5%增加結合親和性、不實質地改變結合親和性或減少結合親和性之取代，如以標準的結合檢定法所測定，諸如ELISA)。

【0081】 在二或更多個核酸或多肽序列之背景下，術語「一致的」或「一致性百分比」係指當進行最大對應性的比較及比對時，具有相同或具有指定的百分比之相同的核苷酸或胺基酸殘基之二或更多個序列或子序列。為了確定一致性百分比，比對序列以達成最優化的比較目的(例如可在第一胺基酸或核酸序列中引入空位以達成與第二胺基酸或核酸序列的最優化比對)。接著比較在對應的胺基酸位置或核苷酸位置上的胺基酸殘基或核苷酸。當第一序列中的一位置經與第二序列中的對應位置相同的胺基酸殘基或核苷酸佔據時，則分子在該位置上為一致的。在兩個序列之間的一致性百分比為以序列共有的一致位置之數目

的函數(亦即一致性% =一致位置之數目/位置(例如重疊位置)之總數目×100)。在一些實施態樣中，兩個序列具有相同的長度。

【0082】在兩個核酸或多肽之背景下，術語「實質上一致的」係指具有至少50%，至少55%，至少60%或至少65%一致性；典型為至少70%或至少75%一致性；更典型為至少80%或至少85%一致性；且甚至更典型為至少90%，至少95%或至少98%一致性之二或更多個序列或子序列(例如使用下文列出的方法之一確定)。

【0083】在二或更多個多肽序列之背景下，術語「相似性」或「相似性百分比」係指當進行最大對應性的比較及比對時，具有指定的百分比之相同或經保守性取代的胺基酸殘基之二或更多個序列或子序列，如使用下文列出的方法之一測量。以實例說明，當與第一序列中含有的數目相等的胺基酸數目相比時或當與以例如下文列出的方法之一已比對的多肽之比對相比時，當第一胺基酸序列與第二胺基酸序列為至少50%，60%，70%，75%，80%，90%或95%一致或經保守性取代時，則第一胺基酸序列可視為相似於第二胺基酸序列。

【0084】在多肽序列之背景下，術語「實質的相似性」或「實質地相似於」表明多肽區具有與參考序列至少70%，典型為至少80%，更典型為至少85%或至少90%或至少95%之序列相似性的序列。例如，多肽實質上相似於第二多肽，例如在兩個肽的差別為一或多個保守性取代的情

況下。

【0085】在抗-CD70抗體或其衍生物之背景下，具有一或多個多肽區實質上一致或實質上相似於抗-CD70抗體的一或多個抗原結合區(例如重鏈或輕鏈可變區，或重鏈或輕鏈CDR)之蛋白質保留與以抗-CD70抗體辨識之CD70的表位之特異性結合，如使用本技術中或本文提及之各種標準的免疫檢定法中任一者確定。

【0086】在兩個序列之間的一致性百分比或相似性百分比之確定可使用數學演算法完成。用於比較兩個序列的數學演算法之較佳的非限制性實例為在Karlin和Altschul之1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877中經修飾之Karlin和Altschul之1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-2268的演算法。將此種演算法併入Altschul等人，1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410的NBLAST和XBLAST程式中。BLAST核苷酸搜尋可以NBLAST程式(計分= 100，字長= 12)執行以獲得與編碼關注的蛋白質之核酸同源性的核苷酸序列。BLAST蛋白質搜尋可以XBLAST程式(計分= 50，字長= 3)執行以獲得與關注的蛋白質同源性的胺基酸序列。為了獲得達成比較目的之空位比對，可利用空位BLAST，如Altschul等人，1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402中所述。另一選擇地，可使用PSI-Blast執行迭代搜尋，其檢測分子之間的遠緣關係(同上)。當利用BLAST、空位BLAST及PSI-Blast程式時，可使用各別程式(例如XBLAST及NBLAST)之預設參數。用於比較序列之數

學演算法的另一非限制性實例為 Myers 和 Miller 之 CABIOS (1989) 的演算法。將此種演算法併入作為 GCG 序列比對套裝軟體的一部分之 ALIGN 程式(第 2.0 版)中。當利用 ALIGN 程式比較胺基酸序列時，可使用 PAM120 權重殘差表、12 之空位長度罰值及 4 之空位罰分。用於序列分析的其他演算法為本技術中已知的且包括如 Torellis 和 Robotti 之 1994, *Comput. Appl. Biosci.* 10:3-5 中所述之 ADVANCE 和 ADAM；及 Pearson 和 Lipman 之 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444-8 中所述之 FASTA。在 FASTA 內，ktup 為設置搜尋之靈敏性及速度之控制選項。若 ktup = 2，則兩個比較序列中的相似區係藉由檢查比對之殘基對而尋得；若 ktup = 1，則檢查單一比對之胺基酸。ktup 可針對蛋白質序列而設定至 2 或 1 或針對 DNA 序列而設定至 1 至 6。若不指定 ktup，則針對蛋白質之預設值為 2 及針對 DNA 之預設值為 6。另一選擇地，蛋白質序列比對可使用 CLUSTAL W 演算法進行，如 Higgins 等人，1996, *Methods Enzymol.* 266:383-402 中所述。

【0087】如本文所使用之詞句「細胞」、「細胞株」及「細胞培養物」可互換使用且所有該等名稱都包括其後代。因此，「轉變體」及「轉變細胞」包括初代個體細胞及自其衍生之培養物，而不考慮轉移數目。亦應理解由於故意或非有意出現的突變，使所有後代不可能有精確相同 DNA 含量。包括具有與最初轉變細胞中篩選之相同功能或生物活性的突變後代。在意欲以不同名稱的情況下，其由

上下文可清楚見出。

【0088】出於治療目的之術語「個體」係指任何動物，特別為分類成哺乳動物的動物，包括人類、家畜和農畜、及動物園、運動或寵物動物，諸如狗、馬、貓、乳牛及類似者。個體較佳為人類。

【0089】如本文所使用之「疾患」及術語「與CD70相關的疾患」及「與CD70相關的疾病」係指將自如本文所述之抗-CD70結合劑治療而獲益的任何症狀。「與CD70相關的疾患」及「與CD70相關的疾病」通常在細胞表面上表現CD70或其片段。這包括慢性和急性疾患或疾病，包括易使哺乳動物患有討論中的疾患之該等病理學症狀。在本文中欲治療之疾患的非限制性實例包括癌症、骨髓性惡性腫瘤、血液惡性腫瘤、良性和惡性腫瘤、白血病和淋巴惡性腫瘤、惡性瘤及發炎、血管生成性和免疫性疾患。疾患的特定實例於下文揭示。

【0090】如本文所使用之術語「治療」及「療法」及類似者意謂著包括針對疾病或疾患以導致任何臨床上所欲或有益的效應之治療性以及防治性或抑制性措施，該效應包括但不限於緩解或減輕一或多種症狀、消退、減緩或中止疾病或疾患的進展。因此，例如術語治療包括在疾病或疾患的症狀發作前或後投予藥劑，從而預防或去除疾病或疾患的所有體徵。作為另一實例，該術語包括在疾病的臨床表現後投予藥劑以對抗疾病之症狀。再者，在發作後及在臨床症狀發展後投予藥劑，此時投予會影響疾病或疾患

之臨床參數，諸如組織損傷程度或轉移量或轉移程度，無論治療是否會導致疾病改善，該投予皆構成如本文所使用之「治療」或「療法」。

【0091】如本文所使用之術語「預防(prevention)」或「預防(prevent)」係指在表現CD70之癌症或免疫學疾患的臨床或診斷症狀發作前對個體投予抗-CD70結合劑(例如投予易感染表現CD70之癌症或免疫學疾患或處於得到該疾病之風險的個體)，以(a)阻斷表現CD70之癌症或免疫學疾患或其臨床或診斷症狀中之一或多者的出現或發作，(b)抑制表現CD70之癌症或免疫學疾患發作的嚴重性，或(c)減少表現CD70之癌症或免疫學疾患發作的可能性。

【0092】術語「靜脈內輸注」係指將藥劑，例如治療劑在約15分鐘以上的時間內，通常在約30至90分鐘之間引入動物或人類患者的靜脈內。

【0093】術語「靜脈內團注」或「靜脈內推注」係指將藥物投予動物或人類的靜脈，使得身體在約15分鐘或更短之內，通常為5分鐘或更短之內接收藥物。

【0094】術語「皮下投予」係指將藥劑，例如治療劑以相對緩慢、持續的遞送方式自藥物貯器引入動物或人類患者的皮膚下，通常在皮膚與下層組織之間的凹穴(pocket)內。向上擠壓或牽引皮膚且離開下層組織可產生凹穴。

【0095】使用術語「藥品說明書」係指通常包括在治療性產品之商業包裝中的用法說明，其含有關於使用此等

治療性產品之適應症、用法、投予、禁忌症及/或警語的資訊。

【0096】「脂質體」為由各種類型之脂質、磷脂及/或有用於對哺乳動物遞送藥物(諸如抗體)的界面活性劑所組成之小微脂粒。脂質體之組分通常以雙層形式排列，類似於生物膜之脂質排列。

【0097】術語「皮下輸注」係指將藥物以相對緩慢、持續的遞送方式自藥物貯器經一段時間(包括但不限於30分鐘或更短或90分鐘或更短)引入動物或人類患者的皮膚下，較佳地在皮膚與下層組織之間的凹穴內。輸注可視需要地以植入動物或人類患者之皮膚下的藥物遞送泵之皮下植入方式進行，其中泵係經預定的時段(諸如30分鐘、90分鐘)或跨越治療方案的時段來遞送預定量的藥物。

【0098】術語「皮下團注」係指在動物或人類患者之皮膚下投予藥物，其中團注藥物遞送少於約15分鐘；在另一態樣中，少於5分鐘，且在又另一態樣中，少於60秒。在甚至又另一態樣中，投予皮膚與下層組織之間的凹穴內，其中該凹穴可藉由向上擠壓或牽引皮膚且離開下層組織而產生。

【0099】術語「有效量」係指足以抑制表現CD70之癌症或免疫學疾患的一或多種臨床或診斷症狀的發生或改善該症狀之抗-CD70結合劑(例如抗體或衍生物或其他結合劑)的量。藥劑的有效量係根據本文「有效方案」中所述之方法投予。術語「有效方案」係指足以完成表現CD70

之癌症或免疫學疾患的治療或預防的劑藥量與劑量頻率之組合。

【0100】使用術語「治療有效量」係指具有獲益的患者結果之治療劑的量，例如細胞的生長遏止效應或缺失。在一個態樣中，治療有效量具有促凋亡活性或能夠誘導細胞死亡。在另一個態樣中，治療有效量係指顯示出有效於例如減緩疾病進展之標靶血清濃度。效力可取決於欲治療之症狀而以習知的方式測量。例如，在以表現CD70之細胞為特徵的贅瘤性疾病或疾患中，效力可藉由評定疾病進展的時間(TTP)或測定反應率(RR)來測量。

【0101】如本文所使用之「完全反應」或「CR」係指所有標靶病變消失；「部分反應」或「PR」係指標靶病變之最長直徑的總和(SLD)減少至少30%，以基線SLD作為參考；及「穩定的疾病」或「SD」係指標靶病變既未充分縮小至具有PR的資格，亦未充分增加至具有PD的資格，以自開始治療之最小的SLD作為參考。

【0102】如本文所使用之「無惡化存活期」或「PFS」係指治療期間及之後的時間長度，在此期間正治療的疾病(例如癌症)未惡化。無惡化存活期可包括患者經歷完全反應或部分反應之時間量，以及患者經歷穩定的疾病之時間量。

【0103】如本文所使用之「總反應率」或「ORR」係指完全反應(CR)率與部分反應(PR)率的總和。

【0104】如本文所使用之「整體存活期」或「OS」

係指在一組中經特定的持續時間後仍可能活著的人之百分比。

【0105】如本文所使用之「不良事件」(AE)為與使用醫學治療相關聯的任何不利及通常為無意或不希望的體徵(包括異常的實驗室發現)、症狀或疾病。醫學治療可具有一或多個相關聯的AE且各AE可具有相同或不同的嚴重等級。所提及之能夠「改變不良事件」之方法意指減少與使用不同的治療方案相關聯的一或多種AE的發生率及/或嚴重性之治療方案。

【0106】如本文所使用之「嚴重的不良事件」或「SAE」為符合下列標準之一的不良事件：

- 為致命或威脅生命(如嚴重的不良事件之定義中所使用之「威脅生命」係指其中患者在事件發生時處於死亡風險的事件；其不是指若事件更嚴重，則假設可能引起死亡的事件。
- 導致持續或嚴重殘疾/失能
- 構成先天性異常/先天缺陷
- 具有醫學顯著性，亦即經定義為危及患者的事件或可能需要醫療或手術干預以防止上文列出的結果之一。必須致力於醫學及科學判斷以決定AE是否為具有「醫學顯著性」
- 需要入院留醫(inpatient hospitalization)或延長現有住院時間，排除下列者：1)潛在疾病的常規治療或監控，與任何症狀惡化無關；2)選擇性或預

先計劃對預先存在的症狀之治療，該症狀與研究中的適應症無關，且自簽署知情同意書起未惡化；及3)在患者整體症狀沒有出現任何惡化下的社會原因及喘息照顧。

【0107】應理解替代物(例如「或」)的使用意指替代物之任一者、兩者或其任何組合。應理解如本文所使用之不定冠詞「一(a或an)」係指任何引述或列舉的組分中之「一或多者」。

【0108】術語「約」或「基本上包含」係指在如一般熟習本技術領域者所確定的特定值或組成之可接受的誤差範圍內的值或組成，該可接受的誤差範圍部分取決於該值或組成是如何測量或確定的，亦即測量系統的限制。例如，「約」或「基本上包含」可根據本技術之實施而在1或超過1個標準偏差內。另一選擇地，「約」或「基本上包含」可意指至多20%之範圍。此外，特別關於生物系統或過程，該術語可意指一值的至多一個數量級或至多5倍。當本申請案及請求項提供特定的值或組成時，除非另有其他陳述，否則「約」或「基本上包含」的意義應假定在該特定的值或組成之可接受的誤差範圍內。

【0109】如本文所使用之術語「醫藥上可接受的」意指由聯邦或州政府之管理機構核准或在美國藥典或其他一般認可之藥典中列出用於動物，且更特別地用於人類。術語「醫藥上可相容的成分」係指與抗-CD70-結合劑一起投予之醫藥上可接受的稀釋劑，佐劑、賦形劑或媒劑。

【0110】如本文所使用之詞組「醫藥上可接受的鹽」係指抗-CD70結合劑或治療劑之醫藥上可接受的有機或無機鹽。抗-CD70結合劑或治療劑含有至少一個胺基且因此酸加成鹽可以此胺基或其他適合的基團形成。示例性鹽類包括但不限於硫酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸鹽、硫酸氫鹽、磷酸鹽、酸性磷酸鹽、異菸鹼酸鹽、乳酸鹽、水楊酸鹽、酸性檸檬酸鹽、酒石酸鹽、油酸鹽、鞣酸鹽、泛酸鹽、酒石酸氫鹽、抗壞血酸鹽、琥珀酸鹽、順丁烯二酸鹽、龍膽酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡萄糖酸鹽、葡萄糖醛酸鹽、蔗糖酸鹽、甲酸鹽、苯甲酸鹽、麩胺酸鹽、甲磺酸鹽、乙磺酸鹽、苯磺酸鹽、對-甲苯磺酸鹽和雙羥萘酸鹽(亦即1,1'-亞甲基雙-(2-羥基-3-萘甲酸鹽))。醫藥上可接受的鹽可包含納入的另一分子，諸如乙酸鹽離子、琥珀酸鹽離子或其他相對離子。相對離子可為使親體化合物上的電荷穩定之任何有機或無機部分。此外，醫藥上可接受的鹽可在其結構中具有一個以上的荷電原子。在其中多重荷電原子為醫藥上可接受的鹽之一部分的情況可具有多重相對離子。因此，醫藥上可接受的鹽可具有一或多個荷電原子及/或一或多個相對離子。

【0111】「醫藥上可接受的溶劑合物」或「溶劑合物」係指一或多種溶劑分子與抗-CD70結合劑及/或治療劑之締合。形成醫藥上可接受的溶劑合物之溶劑的實例包括但不限於水、異丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、

乙酸和乙醇胺。

【0112】縮寫「AFP」係指二甲基纈胺酸-纈胺酸-尾海兔異白胺酸(dolaisoleuine)-尾海兔脯胺酸(dolaproine)-苯基丙胺酸-對-苯二胺。

【0113】縮寫「MMAE」係指單甲基奧利他汀E。

【0114】縮寫「AEB」係指藉由奧利他汀E與對乙醯基苯甲酸反應所製造之酯。

【0115】縮寫「AEVB」係指藉由奧利他汀E與苯甲醯基戊酸反應所製造之酯。

【0116】縮寫「MMAF」係指多纈胺酸-纈胺酸-尾海兔異白胺酸-尾海兔脯胺酸-苯基丙胺酸。

【0117】縮寫「fk」及「phe-lys」係指連結子苯基丙胺酸-離胺酸。

【0118】術語「Treg」或「調節性T細胞」係指抑制CD4+CD25⁺及CD8⁺T細胞增生及/或效應子功能或另外調降調節免疫反應之CD4⁺T細胞。值得注意的是Treg可調降由天然殺手細胞、天然殺手T細胞以及其他免疫細胞媒介之免疫反應。

【0119】術語「調節性T細胞功能」或「Treg之功能」可交換使用，其係指導致CD4+CD25⁺或CD8⁺T細胞增生降低或經效應子T細胞媒介之免疫反應降低之Treg的任何生物學功能。Treg功能可經由本技術中確立之技術測量。用於測量Treg功能之有用的試管內檢定法的非限制性實例包括Transwell抑制檢定法以及試管內檢定法，其中自

人類末梢血液或臍帶血液(或鼠類脾臟或淋巴結)純化之標靶經典T細胞(Tconv)及Treg視需要地經抗-CD3⁺抗-CD28包覆之小珠(或抗原呈現細胞(APC)，諸如經照射之脾細胞或經純化之樹狀細胞(DC)或經照射之PBMC)活化，隨後以試管內檢測經典T細胞增生(例如藉由測量併入的放射性核苷酸(諸如[H]-胸腺嘧啶)或螢光核苷酸)、或藉由Cayman Chemical MTT細胞增生檢定套組(Cell Proliferation Assay Kit)、或藉由流動式細胞測量術監測綠螢光染料酯CFSE或Seminaphtharhodafluor (SNARF-1)染料之稀釋)。其他常見的檢定法係測量T細胞細胞介素反應。Treg功能之有用的活體內檢定法包括其中Treg扮演重要角色之疾病動物模式中的檢定法，包括例如(1)恆定模式(homeostasis model)(使用初始恆定擴展(expanding)之CD4⁺T細胞作為主要以Treg抑制之標靶細胞)，(2)發炎性腸病(IBD)復元模式(使用Th1 T細胞(Th17)作為主要以Treg抑制之標靶細胞)，(3)實驗性自體免疫性腦脊髓炎(EAE)模式(使用Th1 7及Th1 T細胞作為主要以Treg抑制之標靶細胞)，(4) B16黑色素瘤模式(抗腫瘤免疫性之抑制)(使用CD8⁺T細胞作為主要以Treg抑制之標靶細胞)，(5)抑制授受性轉移結腸炎之結腸發炎，其中將初始CD4⁺CD45RB^M Tconv細胞轉移至RagV小鼠中，及(6) Foxp3援救(rescue)模式(使用淋巴球作為主要以Treg抑制之標靶細胞)。根據一個程序，所有的模式需要用於供體T細胞群的小鼠以及用於接受者的Rag1^{-/-}或Foxp3小鼠。各種有用檢定法之更多細節參見例如 Collison 和

Vignali, In Vitro Treg Suppression Assays, Chapter 2 in Regulatory T Cells: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, Kassiotis和Liston編輯, Springer, 2011, 707:21-37 ; Workman 等人, In Vivo Treg Suppression Assays, Chapter 9 in Regulatory T Cells: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, Kassiotis和Liston編輯, Springer, 2011, 119-156 ; Takahashi 等人, Int. Immunol, 1998, 10: 1969-1980 ; Thornton 等人, J. Exp. Med., 1998, 188:287-296 ; Collison 等人, J. Immunol, 2009, 182:6121-6128 ; Thornton和Shevach, J. Exp. Med., 1998, 188:287-296 ; Asseman 等人, J. Exp. Med., 1999, 190:995-1004 ; Dieckmann 等人, J. Exp. Med., 2001, 193: 1303-1310 ; Belkaid, Nature Reviews, 2007, 7:875-888 ; Tang和Bluestone, Nature Immunology, 2008, 9:239-244 ; Bettini和Vignali, Curr. Opin. Immunol, 2009, 21 :612-618 ; Dannull 等人, J Clin Invest, 2005, 115(12):3623-33 ; Tsaknaridis, 等人, J Neurosci Res., 2003, 74:296-308。

【0120】應理解如本文所述之任何濃度範圍、百分比範圍、比率範圍或整數範圍包括在所列舉之範圍內的任何整數值且在適當時包括其分數(諸如整數的十分之一及百分之一), 除非另有其他指示。

【0121】本揭示之各種態樣於下列的子段落中更詳細說明。

II. 抗-CD70抗體

【0122】本發明提供抗-CD70抗體，諸如自小鼠抗體1F6衍生之人源化抗體。1F6為對抗CD70之鼠類免疫球蛋白G1 (IgG1)單株抗體。1F6及人源化1F6變異體說明於美國專利案第8,067,546號及國際專利公開案WO 2006/113909。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體經非海藻糖苷化。

【0123】小鼠1F6抗體之人源化形式的結合親和性(亦即解離常數， K_D)較佳地在用於人類CD70之小鼠抗體1F6的五倍或兩倍的範圍內。人源化1F6抗體特異性地結合至呈天然形式及/或自中國倉鼠卵巢(CHO)細胞重組表現之人類CD70，如自該等細胞所衍生之小鼠抗體。人源化1F6抗體較佳地具有與用於人類CD70之1F6相同或更大(亦即大於超出測量誤差的範圍)的親和性(例如1.1至5倍、1.1至3倍、1.5至3倍、1.7至2.3倍、或1.7至2.1倍親和性或約兩倍的1F6之親和性)。較佳的人源化1F6抗體係結合至相同的表位及/或與1F6競爭與人類CD70之結合。

【0124】在一些實施態樣中，本發明之抗體抑制癌症(例如細胞生長、轉移及/或生物體之致死性)，如培養物、動物模式或臨床試驗中的癌細胞繁殖所示。動物模式可藉由將表現CD70之人腫瘤細胞株植入適當的免疫缺陷的嚙齒動物品系(例如無胸腺裸小鼠或SCID小鼠)中來形成。該等腫瘤細胞株可在免疫缺陷的嚙齒動物宿主中藉由皮下注射建立為實體瘤或藉由靜脈內注射建立為播散性腫瘤。

【0125】一旦在宿主內建立時，該等腫瘤模式可應用於評估抗-CD70抗體或其共軛物形式之治療效力，如實施例中所述。

【0126】本揭示之抗-CD70抗體通常結合CD70，例如人類CD70且對惡性細胞(諸如癌細胞)發揮抑制細胞及細胞毒性效應。本揭示之抗-CD70抗體較佳為單株抗體，且可為多特異性、人類、人源化或嵌合抗體、單鏈抗體、Fab片段、F(ab')片段、由Fab表現庫產生之片段及上述中任一者之CD70結合片段。在一些實施態樣中，本揭示之抗-CD70抗體特異性結合CD70。本揭示之免疫球蛋白分子可具有免疫球蛋白分子之任何類型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、類別(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或子類別。

【0127】在本揭示之特定的實施態樣中，抗-CD70抗體為如本文所述之抗原結合片段(例如人類抗原結合片段)且包括但不限於Fab、Fab'和F(ab')₂、Fd、單鏈Fvs(scFv)、單鏈抗體、經二硫鍵連結之Fvs(sdFv)及包含V_L或V_H結構域之片段。抗原結合片段(包括單鏈抗體)可包含單獨或與下列全部或一部分組合之可變區：鉸鏈區、CH1、CH2、CH3和CL結構域。在本揭示中亦包括抗原結合片段，其包含可變區與鉸鏈區、CH1、CH2、CH3和CL結構域之任何組合。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體或其抗原結合片段為人類、鼠類(例如小鼠和大鼠)、驢、綿羊、兔子、山羊、天竺鼠、駱駝、馬或雞。

【0128】本揭示之抗-CD70抗體可為單特異性、雙單特異性、三單特異性或更大的多特異性。多特異性抗體可對CD70的不同表位具有特異性或可對CD70以及對異源性蛋白質兩者具有特異性。參見例如PCT公開案WO 93/17715；WO 92/08802；WO 91/00360；WO 92/05793；Tutt,等人，1991, J. Immunol. 147:60-69；美國專利案號4,474,893；4,714,681；4,925,648；5,573,920；5,601,819；Kostelny等人，1992, J. Immunol. 148:1547-1553。

【0129】本揭示之抗-CD70抗體可為人源化抗體。在一些實施態樣中，本揭示之抗-CD70抗體為小鼠抗體1F6之人源化抗體。1F6之人源化形式說明於美國專利案號8,067,546號。人源化抗體為基因改造抗體，其中來自非人類「供體」抗體之CDR移植於人類「接受者」抗體序列中（參見例如Queen，US 5,530,101和5,585,089；Winter，US 5,225,539；Carter，US 6,407,213；Adair，US 5,859,205；及Foote，US 6,881,557）。接受者抗體序列可為例如成熟人類抗體序列、此等序列之複合物、人類抗體序列之共有序列或種系區域序列。重鏈之較佳的接受者序列為種系V_H外顯子V_H1-2（在文獻中亦稱為HV1-2）（Shin等人，1991, EMBO J. 10:3641-3645）及鉸鏈區之較佳的接受者序列為（J_H），外顯子J_H-6（Mattila等人，1995, Eur. J. Immunol. 25:2578-2582）。輕鏈之較佳的接受者序列為外顯子VK2-30（在文獻中亦稱為KV2-30）及鉸鏈區之較佳的接受者序列為外顯子JK-4（Hieter等人，1982, J. Biol. Chem. 257:1516-

1522)。因此，人源化抗體為具有一些或全部完全或實質上來自供體抗體的CDR及完全或實質上來自人類抗體序列的可變區框架序列和不可變區(若存在)之抗體。人源化重鏈同樣地具有至少一個、兩個及經常三個完全或實質上來自供體抗體重鏈的CDR及實質上來自人類重鏈可變區框架和不可變區序列的重鏈可變區框架序列和重鏈不可變區(若存在)。人源化輕鏈同樣地具有至少一個、兩個及經常三個完全或實質上來自供體抗體輕鏈的CDR及實質上來自人類輕鏈可變區框架和不可變區序列的輕鏈可變區框架序列和輕鏈不可變區(若存在)。除了奈米抗體及dAb以外，人源化抗體包含人源化重鏈及人源化輕鏈。當各個CDR之間具有至少60%、85%、90%、95%或100%之對應殘基(如以卡貝特所定義)一致時，則在人源化抗體中的CDR實質上來自非人類抗體中的對應CDR。當至少85%、90%、95%或100%之以卡貝特所定義之對應殘基為一致時，則抗體鏈的可變區框架序列或抗體鏈的不可變區實質上分別來自人類可變區框架序列或人類不可變區。

【0130】儘管人源化抗體時常併入來自小鼠抗體的全部六個CDR(如以卡貝特所定義)，其亦可以比來自小鼠抗體的全部CDR更少的CDR(例如至少3、4或5個)製造(例如Pascalis等人，J. Immunol. 169:3076, 2002；Vajdos等人，Journal of Molecular Biology, 320: 415-428, 2002；Iwahashi等人，Mol. Immunol. 36:1079-1091, 1999；Tamura等人，Journal of Immunology, 164:1432-1441,

2000)。

【0131】來自人類可變區框架殘基之特定胺基酸可基於其對CDR構形及/或與抗原結合的可能影響而選擇取代。該等可能的影響之研究可藉由建模、檢查在特定位置之胺基酸的特徵或特定胺基酸之取代或誘變效應的實證觀察來進行。

【0132】例如，當鼠類可變區框架殘基與所選擇的人類可變區框架殘基之間的胺基酸不同時，則人類框架胺基酸可經來自小鼠抗體之等效框架胺基酸取代，其係合理地預期胺基酸：

- (1) 直接非共價結合抗原，
- (2) 與CDR區相鄰，
- (3) 在其他情況下，與CDR區相互作用(例如在CDR區的約6Å之內)；或
- (4) 媒介在重鏈與輕鏈之間的相互作用。

【0133】本揭示之抗-CD70抗體可以彼等包含之特定的CDR方面來說明或具體指明。給定之CDR或FR的精確胺基酸序列邊界可使用許多熟知的方案中任一者輕易地確定，包括那些下列所述者：卡貝特等人，(1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (「卡貝特」編號方案)；Al-Lazikani等人，(1997) JMB 273,927-948 (「夸西亞(Chothia)」編號方案)；MacCallum等人，J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996),

“Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography,” J. Mol. Biol. 262, 732-745.” (「康特克(Contact)」編號方案)；Lefranc MP等人， “IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,” Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77 (「IMGT」編號方案)；Honegger A和Plückthun A， “Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool,” J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70 (「Aho」編號方案)；及 Martin等人， “Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm,” PNAS, 1989, 86(23):9268-9272 (「AbM」編號方案)。給定之CDR的邊界可取決於用以鑑定之方案而改變。在一些實施態樣中，應理解給定之抗體或其區域(例如其可變區)之「CDR」或「互補性決定區」或個別具體指明之CDR(例如CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3)包含如前述方案中任一者所定義之(或特定的)CDR。例如，在宣稱特定的CDR(例如CDR-H3)在給定之 V_H 或 V_L 區胺基酸序列中含有對應CDR之胺基酸序列的情況下，應理解此CDR在如前述方案中任一者所定義之可變區內具有對應CDR(例如CDR-H3)之序列。可具體指明用於鑑定特定的CDR之方案，諸如以卡貝特、夸西亞、AbM或IMGT方法所定義之CDR。

【0134】本文所述之抗-CD70抗體及抗-CD70抗體-藥

物共軛物的 CDR 序列係根據如卡貝特等人，(1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD 中所述之卡貝特編號方案，除非另有其他具體指明。

【0135】在一個態樣中，本文提供抗-CD70 抗體，其包含重鏈可變區(其包含三個 SEQ ID NO：1 之 CDR)及輕鏈可變區(其包含三個 SEQ ID NO：2 之 CDR)，其中抗-CD70 抗體之 CDR 係以卡貝特編號方案定義。在一些實施態樣中，抗-CD70 抗體另外包含 Fc 結構域。在一些實施態樣中，抗-CD70 抗體經非海藻糖苷化。

【0136】本文所述之抗-CD70 抗體可包含任何適合的框架可變結構域序列，其先決條件為抗體保留與 CD70 (例如人類 CD70) 結合之能力。如本文所使用之重鏈框架區被標示為「HC-FR1-FR4」及輕鏈框架區被標示為「LC-FR1-FR4」。

【0137】在本文所述之抗-CD70 抗體的一些實施態樣中，重鏈可變結構域包含

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVR
QAPGQGLKWMGWINTYTGEPTYADAFKGRVTMTRDTSIS
TAYMELSRLRSDDTAVYYCARDYGDYGM DYWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO：1) 之胺基酸序列及輕鏈可變結構域包含
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSFMHWY
QKPGQPPKLLIYLASNLES GVPDRFSGSG

SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQHSREVPWTFGQGKTKVEI
K (SEQ ID NO：2)之胺基酸序列。

【0138】在本文所述之抗-CD70抗體的一些實施態樣中，重鏈可變結構域包含

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVR
QAPGQGLKWMGWINTYTGEPTYADAFKGRVTMTRDTSIS
TAYMELSRRLRSDDTAVYYCARDYGDYGM DYWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO：1)之胺基酸序列及輕鏈可變結構域包含
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSFMHWY
QQKPGQPPKLLIYLASNLES GVPDRFSGSG
SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQHSREVPWTFGQGKTKVEI
KR (SEQ ID NO：7)之胺基酸序列。

【0139】在一個態樣中，本文提供抗-CD70抗體，其包含重鏈可變結構域，該重鏈可變結構域包含 SEQ ID NO：1之胺基酸序列、或包含輕鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含 SEQ ID NO：2之胺基酸序列。在一些實施態樣中，重鏈可變結構域之N-端麩醯胺經環化以形成焦麩胺酸。在一個態樣中，本文提供抗-CD70抗體，其包含重鏈可變結構域，該重鏈可變結構域包含 SEQ ID NO：1之胺基酸序列、及包含輕鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含 SEQ ID NO：2之胺基酸序列。在一些實施態樣中，重鏈可變結構域之N-端麩醯胺經環化以形成焦麩胺酸。

【0140】在一個態樣中，本文提供抗-CD70抗體，其包含重鏈可變結構域，該重鏈可變結構域包含 SEQ ID

NO：1之胺基酸序列、或包含輕鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含SEQ ID NO：7之胺基酸序列。在一些實施態樣中，重鏈可變結構域之N-端麩醯胺經環化以形成焦麩胺酸。在一個態樣中，本文提供抗-CD70抗體，其包含重鏈可變結構域，該重鏈可變結構域包含SEQ ID NO：1之胺基酸序列、及包含輕鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含SEQ ID NO：7之胺基酸序列。在一些實施態樣中，重鏈可變結構域之N-端麩醯胺經環化以形成焦麩胺酸。

【0141】在一些實施態樣中，本文提供抗-CD70抗體，其包含重鏈可變結構域，該重鏈可變結構域包含與SEQ ID NO：1之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性的胺基酸序列。在一些實施態樣中，重鏈可變結構域之N-端麩醯胺經環化以形成焦麩胺酸。在特定的實施態樣中，包含與SEQ ID NO：1之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性的胺基酸序列之重鏈可變結構域含有相對於參考序列的取代(例如保守性取代)、插入或缺失且保留與CD70(例如人類CD70)結合的能力。在特定的實施態樣中，在SEQ ID NO：1中共有1至10個胺基酸被取代、插入及/或缺失。在特定的實施態樣中，取代、插入或缺失(例如1、2、3、4或5個胺基酸)係發生在CDR外部區域中(亦即在FR中)。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含SEQ ID

NO：1之重鏈可變結構域序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一些實施態樣中，重鏈可變結構域之N-端麩醯胺經環化以形成焦麩胺酸。

【0142】在一些實施態樣中，本文提供抗-CD70抗體，其包含輕鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含與SEQ ID NO：2之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，包含與SEQ ID NO：2之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%之之序列一致性的胺基酸序列之輕鏈可變結構域含有相對於參考序列的取代(例如保守性取代)、插入或缺失且保留與CD70(例如人類CD70)結合的能力。在特定的實施態樣中，在SEQ ID NO：2中共有1至10個胺基酸被取代、插入及/或缺失。在特定的實施態樣中，取代、插入或缺失(例如1、2、3、4或5個胺基酸)係發生在CDR外部區域中(亦即在FR中)。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含SEQ ID NO：2之輕鏈可變結構域序列，包括該序列之轉譯後修飾。

【0143】在一些實施態樣中，本文提供抗-CD70抗體，其包含輕鏈可變結構域，該輕鏈可變結構域包含與SEQ ID NO：7之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的

實施態樣中，包含與SEQ ID NO：5之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%之之序列一致性的胺基酸序列之輕鏈可變結構域含有相對於參考序列的取代(例如保守性取代)、插入或缺失且保留與CD70 (例如人類CD70)結合的能力。在特定的實施態樣中，在SEQ ID NO：7中共有1至10個胺基酸被取代、插入及/或缺失。在特定的實施態樣中，取代、插入或缺失(例如1、2、3、4或5個胺基酸)係發生在CDR外部區域中(亦即在FR中)。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含SEQ ID NO：7之輕鏈可變結構域序列，包括該序列之轉譯後修飾。

【0144】 在一些實施態樣中，本文提供抗-CD70抗體，其包含重鏈，該重鏈包含與胺基酸序列

QVQLVQSGAE	VKKPGASVKV	SCKASGYTFT
NYGMNWVRQA	PGQGLKWMGW	INTYTGEPTY
ADAFKGRVTM	TRDTSISTAY	MELSRLRSDD
TAVYYCARDY	GDYGMDYWGQ	GTTVTVSSAS
TKGPSVFPLA	PSSKSTSGGT	AALGCLVKDY
FPEPVTVSWN	SGALTSGVHT	FPAVLQSSGL
YSSLGTQTYI	CNVNHKPSNT	KVDKKVEPKS
CDKTHTCPPC	PAPELLGGPS	VFLFPPKPKD
TCVVVDVSHE	DPEVKFNWYV	DGVEVHNAKT
KPREEQYNST	YRVVSVLTVL	HQDWLNGKEY
KCKVSNKALP	APIEKTISKA	KGQPREPQVY
TLPPSRDELT		

KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN
NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO :
3)具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、
92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%之序列一
致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，包含與SEQ ID
NO : 3之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、
89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、
98%或99%之序列一致性的胺基酸序列之重鏈含有相對於
參考序列的取代(例如保守性取代)、插入或缺失且保留與
CD70 (例如人類CD70)結合的能力。在特定的實施態樣
中，在SEQ ID NO : 3中共有1至10個胺基酸被取代、插入
及/或缺失。在特定的實施態樣中，取代、插入或缺失(例
如1、2、3、4或5個胺基酸)係發生在CDR外部區域中(亦即
在FR中)。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含SEQ ID
NO : 3之重鏈序列，包括該序列之轉譯後修飾。

【0145】 在一些實施態樣中，本文提供抗-CD70抗體，其包含輕鏈，該輕鏈包含與 DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCRASKSVS TSGYSFMHWY QQKPGQPPKL LIYLASNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQHSREVPW TFGQGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLISKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC

(SEQ ID NO：4)之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%,或99%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，包含與SEQ ID NO：4之胺基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%,或99%之序列一致性的胺基酸序列之輕鏈含有相對於參考序列的取代(例如保守性取代)、插入或缺失且保留與CD70 (例如人類CD70)結合的能力。在特定的實施態樣中，在SEQ ID NO：4中共有1至10個胺基酸被取代、插入及/或缺失。在特定的實施態樣中，取代、插入或缺失(例如1、2、3、4或5個胺基酸)係發生在CDR外部區域中(亦即在FR中)。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含SEQ ID NO：4之輕鏈序列，包括該序列之轉譯後修飾。

【0146】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含如上文提供的實施態樣之任一者中的重鏈可變結構域及如上文提供的實施態樣之任一者中的輕鏈可變結構域。在一個實施態樣中，抗體包含SEQ ID NO：1之重鏈可變結構域序列及SEQ ID NO：2之輕鏈可變結構域序列，包括該等序列之轉譯後修飾。在一些實施態樣中，重鏈可變結構域之N-端麩醯胺經環化以形成焦麩胺酸。

【0147】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含：i)與包含SEQ ID NO：1之胺基酸序列的重鏈可變區具有至少85%之序列一致性的胺基酸序列，及ii)與包含SEQ ID

NO：2之胺基酸序列的輕鏈可變區具有至少85%之序列一致性的胺基酸序列。在一些實施態樣中，重鏈可變結構域之N-端麩醯胺經環化以形成焦麩胺酸。

【0148】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體為單株抗體。

【0149】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含在美國專利第8,067,546號、美國專利第8,562,987號、美國專利第9,428,585號、美國專利第9,701,752號、US 2009/0148942、US 2012/0045436、US 2014/0178936、US 2017/0022282或國際專利公開案WO 2006/113909中所述之抗-CD70抗體的重鏈可變區(其包含三個CDR)或輕鏈可變區(其包含三個CDR)。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含在美國專利第8,067,546號、美國專利第8,562,987號、美國專利第9,428,585號、美國專利第9,701,752號、US 2009/0148942、US 2012/0045436、US 2014/0178936、US 2017/0022282或國際專利公開案WO 2006/113909中所述之抗-CD70抗體的重鏈可變區(其包含三個CDR)及輕鏈可變區(其包含三個CDR)。在一些實施態樣中，CDR係以卡貝特編號方案定義。

【0150】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含在美國專利第8,067,546號、美國專利第8,562,987號、美國專利第9,428,585號、美國專利第9,701,752號、US 2009/0148942、US 2012/0045436、US 2014/0178936、US 2017/0022282或國際專利公開案WO 2006/113909中所述之抗

-CD70抗體的重鏈可變區或輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含在美國專利第8,067,546號、美國專利第8,562,987號、美國專利第9,428,585號、美國專利第9,701,752號、US 2009/0148942、US 2012/0045436、US 2014/0178936、US 2017/0022282或國際專利公開案WO 2006/113909中所述之抗-CD70抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區。

【0151】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體為抗-CD70抗體，諸如人源化1F6變異體，如美國專利第8,067,546號、美國專利第8,562,987號、美國專利第9,428,585號、美國專利第9,701,752號、US 2009/0148942、US 2012/0045436、US 2014/0178936、US 2017/0022282或國際專利公開案WO 2006/113909中所述。

【0152】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含抗-CD70抗體沃瑟珠單抗的重鏈可變區(其包含三個CDR)或輕鏈可變區(其包含三個CDR)。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含抗-CD70抗體沃瑟珠單抗的重鏈可變區(其包含三個CDR)及輕鏈可變區(其包含三個CDR)。在一些實施態樣中，CDR係以卡貝特編號方案定義。

【0153】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含抗-CD70抗體沃瑟珠單抗的重鏈可變區或輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含抗-CD70抗體沃瑟珠單抗的重鏈可變區及輕鏈可變區。

【0154】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體為沃瑟珠

單抗。

【0155】本發明之抗-CD70抗體亦可以彼等與CD70 (例如人類CD70)之結合親和性來說明或具體指明。較佳的結合親合性包括具有小於 5×10^{-2} M、 10^{-2} M、 5×10^{-3} M、 10^{-3} M、 5×10^{-4} M、 10^{-4} M、 5×10^{-5} M、 10^{-5} M、 5×10^{-6} M、 10^{-6} M、 5×10^{-7} M、 10^{-7} M、 5×10^{-8} M、 10^{-8} M、 5×10^{-9} M、 10^{-9} M、 5×10^{-10} M、 10^{-10} M、 5×10^{-11} M、 10^{-11} M、 5×10^{-12} M、 10^{-12} M、 5×10^{-13} M、 10^{-13} M、 5×10^{-14} M、 10^{-14} M、 5×10^{-15} M或 10^{-15} M之解離常數或 K_D 。

【0156】有五種類別的免疫球蛋白：具有分別以 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 標示之重鏈的IgA、IgD、IgE、IgG和IgM。 γ 和 α 類別進一步分成子類別，例如人類表現下列的子類別：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。IgG1抗體可存在於稱為異型(allotype)的多種多型變異體中(綜述於Jefferis和Lefranc, 2009. *mAbs* Vol 1 Issue 4 1-7)，其中任一者適用於本文的一些實施態樣中。在人類群體中最常見的異型變異體為那些以字母a、f、n、z或其組合標示者。在本文的實施態樣之任一者中，抗體可包含重鏈Fc區，其包含人類IgG Fc區。在另外的實施態樣中，人類IgG Fc區包含人類IgG1。

【0157】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體包含如上文提供的實施態樣之任一者中的重鏈可變結構域及如上文提供的實施態樣之任一者中的輕鏈可變結構域。在一個實施態樣中，抗體包含重鏈不可變區(其包含AS

TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY
FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP
SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS
CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV
TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT
KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY
KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT
KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN
NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO :
5)之胺基酸序列)及輕鏈不可變區(其包含 TVAAPSVF
IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV
QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS
STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
(SEQ ID NO : 6)之胺基酸序列), 包括該等序列之轉譯後
修飾。

【0158】抗體亦包括經修飾之衍生物，亦即藉由任何類型的分子共價附著至抗體，使得共價附著不阻止抗體與CD70結合或對細胞發揮抑制細胞或細胞毒性效應。例如但不以任何方式限制，抗體衍生物包括已修飾之抗體，例如藉由糖基化、乙醯化、聚乙二醇化(PEGylation)、磷酸化、醯胺化、由已知的保護基/阻隔基衍生、蛋白酶切割、連結至細胞配體或其他蛋白質等。許多化學修飾中任一者可以已知的技術進行，包括但不限定於特異性化學切

割、乙醯化、甲醯化、衣黴素(tunicamycin)之代謝合成等。另外，衍生物可含有一或多種非經典胺基酸。

【0159】CD70-結合劑可視需要地包括抗體效應子結構域，其媒介或刺激針對表現CD70之標靶細胞的ADCC、ADCP及/或CDC反應。效應子結構域可為例如Fc結構域或Ig分子之結構域。此CD70-結合劑可對表現CD70之癌症細胞發揮細胞毒性或抑制細胞效應或對活化之淋巴細胞或樹狀細胞發揮細胞毒性、抑制細胞或免疫調節效應，例如分別治療表現CD70之癌症或免疫學疾患。CD70-結合劑通常募集及/或活化細胞毒性白血球(例如天然殺手(NK)細胞、吞噬細胞(例如巨噬細胞)及/或血清補體組分)。

【0160】抗-CD70抗體可為人源化抗體、單鏈抗體、scFv、雙鏈抗體、Fab、微型抗體、scFv-Fc、Fv或類似者。在一些實施態樣中，CD70抗原結合區可接合至效應子結構域或結構域類，諸如免疫球蛋白之絞鏈-C_H2-C_H3結構域或具有效應子功能之效應子結構域的一部分或片段。抗原結合之抗體片段(包括單鏈抗體)可包含例如與整個或一部分的效應子結構域組合的可變區(例如單獨或與C_H1、絞鏈及/或C_L結構域組合的C_H2及/或C_H3結構域)。抗原結合片段亦可包含效應子結構域的任何組合。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體可為包含接合至絞鏈-C_H2-C_H3結構域的結合CD70之可變區的單鏈抗體。

【0161】抗-CD70抗體之效應子結構域可來自任何適合的人類免疫球蛋白同型。例如，人類免疫球蛋白媒介

CDC及ADCC/ADCP的能力通常分別按照IgM≈IgG1≈IgG3>IgG2>IgG4及IgG1≈IgG3>IgG2/IgM/IgG4的順序。結合CD70之多肽可表現為重組融合蛋白，其包含適當的不變結構域以產生所欲效應子功能。一旦結合至標靶細胞，抗-CD70抗體或衍生物可通過抗體效應子功能(諸如ADCC、CDC和ADCP)觸發試管內及活體內標靶細胞破壞。

【0162】CD70-結合劑視需要地可與治療劑共軛，諸如細胞毒性劑、抑制細胞劑或免疫調節劑。有用的細胞毒性劑或免疫調節劑包括例如抗微管蛋白劑、奧利他汀、DNA小溝結合劑、DNA複製抑制劑、烷基化劑(例如鉑複合物，諸如順鉑(*cis-platin*)、單(鉑)、雙(鉑)和三核鉑複合物、及卡鉑(*carboplatin*))、蒽環素(*anthracycline*)、抗生素、抗葉酸劑、抗代謝物、化療增敏劑、倍癌黴素、依托泊苷(*etoposide*)、氟化嘧啶、離子載體、萊克西托素(*lexitropsin*)、亞硝基脲、鉑帝爾(*platinol*)、預形成化合物、嘌呤抗代謝物、嘌呤黴素、輻射增敏劑、類固醇、紫杉烷、拓撲異構酶抑制劑、長春花生物鹼及類似者。在一些典型的實施態樣中，治療劑為細胞毒性劑。適合的細胞毒性劑包括例如尾海兔素(例如奧利他汀E、AFP、MMAF、MMAE)、DNA小溝結合劑(例如烯二炔和萊克西托素)、倍癌黴素、紫杉烷(例如太平洋紫杉醇(*paclitaxel*)和歐洲紫杉醇(*docetaxel*))、嘌呤黴素、長春花生物鹼、CC-1065、SN-38、妥普替康(*topotecan*)、嗎啉基阿黴素、根黃素(*rhizoxin*)、氰基嗎啉基阿黴素、棘黴素(*echinomycin*)、

考布他汀(combretastatin)、紡錘菌素(netropsin)、埃博黴素A和B、雌莫司汀、隱花素(cryptophysin)、西馬多汀(cemadotin)、類美登素、圓皮海綿內酯(discodermolide)、艾榴塞洛素和米托蒽醌。在特定的實施態樣中，細胞毒性或抑制細胞劑為奧利他汀E(在本技術中亦稱為尾海兔素-10)或其衍生物。奧利他汀E衍生物典型為例如奧利他汀E與酮酸之間所形成的酯。例如，奧利他汀E可與對乙醯基苯甲酸或苯甲醯基戊酸反應，分別產生AEB和AEVB。其他典型的奧利他汀衍生物包括AFP、MMAF和MMAE。奧利他汀E及其衍生物的合成及結構說明於美國專利申請公開案號20030083263和20050009751)、國際專利申請案號PCT/US03/24209、國際專利申請案號PCT/US02/13435、及美國專利案號6,323,315；6,239,104；6,034,065；5,780,588；5,665,860；5,663,149；5,635,483；5,599,902；5,554,725；5,530,097；5,521,284；5,504,191；5,410,024；5,138,036；5,076,973；4,986,988；4,978,744；4,879,278；4,816,444和4,486,414中。在特定的實施態樣中，細胞毒性劑為DNA小溝結合劑(參見例如美國專利第6,130,237號)。例如，在一些實施態樣中，小溝結合劑為CBI化合物。在其他的實施態樣中，小溝結合劑為烯二炔(例如卡奇黴素)。抗微管蛋白劑的實例包括但不限於紫杉烷(例如Taxol[®](太平洋紫杉醇)、Taxotere[®](歐洲紫杉醇))、T67(Tularik)、長春花生物鹼(例如長春新鹼、長春花鹼、長春地辛和長春瑞賓)及尾海兔素(例如奧利他汀E、

AFP、MMAF、MMAE、AEB、AEVB)。其他的抗微管蛋白劑包括例如漿果赤黴素(baccatin)衍生物、紫杉烷類似物(例如埃博黴素A和B)、諾考達唑(nocodazole)、秋水仙鹼和秋水仙胺(colcimid)、雌莫司汀、隱花素、西馬多丁、類美登素、考布他汀、圓皮海綿內酯及艾榴塞洛素。在一些實施態樣中，細胞毒性劑為類美登素，另一群組的抗微管蛋白劑。例如，在特定的實施態樣中，類美登素為美登素或DM-1 (ImmunoGen, Inc.; 亦參見Chari等人，1992, *Cancer Res.* 52:127-131)。

【0163】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體可為嵌合抗體，其包含人類或非人類Fc區或其一部分。例如，抗體可包括非人類來源之Fc結構域或一部分，例如嚙齒動物(例如小鼠或大鼠)、驢、綿羊、兔子、山羊、天竺鼠、駱駝、馬、雞或猴(例如獼猴、恆河猴或類似者)。

【0164】抗-CD70結合劑(諸如抗體)可為單特異性、雙單特異性、三單特異性或更大的多特異性。多特異性抗體可對CD70的不同表位具有特異性或可對CD70以及對異源性蛋白質兩者具有特異性。(參見例如PCT公開案WO 93/17715、WO 92/08802、WO 91/00360和WO 92/05793；Tutt等人，1991, *J. Immunol.* 147:60-69；美國專利案號4,474,893、4,714,681、4,925,648、5,573,920和5,601,819；Kostelny等人，1992, *J. Immunol.* 148:1547-1553)。有用於實施本文所述之方法的多特異性抗體(包括雙特異性和三特異性抗體)為免疫特異性結合至以下兩者

之抗體：CD70（包括但不限於具有單株抗體1F6之CDR的抗體）及媒介ADCC、ADCP及/或CDC之第二細胞表面受體或受體複合物，諸如CD16/FcγRIII、CD64/FcγRI、殺手細胞抑制性或活化受體或補體控制蛋白質CD59。在一些實施態樣中，多特異性抗體的一部分與第二細胞表面分子或受體複合物之結合可增強抗-CD70抗體或其他的CD70結合劑之效應子功能。

【0165】抗體可以本技術中已知的方法產生。例如，單株抗體可使用各種廣泛的技術製備，包括例如使用融合瘤、重組和噬菌體展示技術或其組合。融合瘤技術概括地討論於例如Harlow等人，*Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed., 1988)；及Hammerling等人，In *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas*, pp. 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)中。可用於製造抗-CD70抗體之噬菌體展示方法的實例包括例如那些在下列中所揭示之方法：Hoogenboom和Winter，1991, *J. Mol. Biol.* 227:381；Marks等人，1991, *J. Mol. Biol.* 222:581；Quan和Carter，2002, *The rise of monoclonal antibodies as therapeutics in Anti-IgE and Allergic Disease*, Jardieu和Fick Jr.編輯，Marcel Dekker, New York, NY, Chapter 20, pp. 427-469；Brinkman等人，1995, *J. Immunol. Methods* 182:41-50；Ames等人，1995, *J. Immunol. Methods* 184:177-186；Kettleborough等人，1994, *Eur. J. Immunol.* 24:952-958；Persic等人，1997,

Gene 187:9-18 ; Burton 等 人 , 1994, *Advances in Immunology* 57:191-280 ; PCT申請案號PCT/GB91/01134 ; PCT公開案WO 90/02809、WO 91/10737、WO 92/01047、WO 92/18619、WO 93/11236、WO 95/15982、WO 95/20401, 及美國專利案號5,698,426 ; 5,223,409 ; 5,403,484 ; 5,580,717 ; 5,427,908 ; 5,750,753 ; 5,821,047 ; 5,571,698 ; 5,427,908 ; 5,516,637 ; 5,780,225 ; 5,658,727 ; 5,733,743和5,969,108 (將該等揭示內容併入本文以供參考)。

【0166】可用於生產單鏈抗體之技術的實例包括那些在下列中所述之技術：美國專利4,946,778和5,258,498 ; Huston等人, 1991, *Methods in Enzymology* 203:46-88 ; Shu等人, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:7995-7999 ; 及Skerra等人, 1988, *Science* 240:1038-1040。

【0167】用於製造雙特異性抗體之方法為本技術中已知。全長雙特異性抗體之傳統生產係基於兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對之共同表現，其中兩個鏈具有不同的特異性(參見例如Milstein等人, 1983, *Nature* 305:537-39)。因為免疫球蛋白重鏈及輕鏈之隨機分配，所以該等融合瘤(四源雜交瘤(quadroma))產生10種不同的抗體分子之潛在混合物，其中一些具有恰當的雙單特異性結構。類似的程序揭示於國際公開案第WO 93/08829號及Traunecker等人, 1991, *EMBO J.* 10:3655-59中。

【0168】根據不同的方法，具有所欲結合特異性(抗

體-抗原組合位點)之抗體可變結構域融合至免疫球蛋白不變結構域序列。融合物通常具有包含至少部分的絞鏈、 C_H2 和 C_H3 區之免疫球蛋白重鏈不變結構域。在一些實施態樣中，融合物包括第一重鏈不可變區(C_H1)，其含有存在於融合物之至少一者中的輕鏈結合必要的位點。將具有編碼免疫球蛋白重鏈融合物之序列的核酸及若需要的免疫球蛋白輕鏈插入單獨的表現載體中且共同轉染至適合的宿主生物體中。當在構築中使用不同比率的三個多肽鏈提供最優化產量時，這對調整三個多肽片段在實施態樣中的相互比例提供極大的靈活性。然而，當至少兩個多肽鏈以相等的比率表現導致高產量時或當比率不具有特別的意義時，則有可能在一個表現載體中插入用於二或所有三種多肽鏈之編碼序列。

【0169】在此方法的一實施態樣中，雙特異性抗體在第一臂中具有第一結合特異性的雜交免疫球蛋白重鏈及在其他臂中具有雜交免疫球蛋白重鏈-輕鏈對(提供第二結合特異性)。此不對稱的結構有助於自不想要的免疫球蛋白鏈組合分離出所欲雙特異性化合物，因為免疫球蛋白輕鏈僅存在於一半的雙特異性分子中，此提供簡便的分離方式(參見例如國際公開案第WO 94/04690號，將其全文併入本文以供參考)。

【0170】雙特異性抗體的進一步討論參見例如 Suresh 等人，1986, *Methods in Enzymology* 121:210；Rodrigues 等人，1993, *J. Immunology* 151:6954-61；Carter 等人，1992,

Bio/Technology 10:163-67 ; Carter 等 人 , 1995, *J. Hematotherapy* 4:463-70 ; Merchant 等 人 , 1998, *Nature Biotechnology* 16:677-81。使用此等技術可製備用於治療或預防如本文所定義之疾病的雙特異性抗體。

【0171】雙功能性抗體亦說明於歐洲專利公開案號 EPA 0 105 360中。如該參考文獻中所討論，雜交或雙功能性抗體可以生物學方式(亦即藉由細胞融合技術)或以化學方式(尤其以交聯劑或二硫橋連形成試劑)衍生，且可包含全抗體或其片段。獲得此等雜交抗體之方法揭示於例如國際公開案 WO 83/03679及歐洲專利公開案第 EPA 0 217 577 號，將兩者併入本文以供參考。

【0172】在一些實施態樣中，在人類框架區中的框架殘基係經來自 CDR 供體抗體之對應殘基取代以改變(較佳為改進)抗原結合。該等框架取代係以本技術中熟知的方法鑑定，例如藉由 CDR 與框架殘基之相互作用來建模以鑑定對抗原結合及序列比較重要的框架殘基，以鑑定在特定位置上獨特的框架殘基(參見例如美國專利第 5,585,089 號；Riechmann 等人，1988, *Nature* 332:323)。抗體可使用本技術中已知的多種技術人源化，包括例如 CDR-移植(參見例如 EP 0 239 400；PCT 公開案 WO 91/09967；美國專利案號 5,225,539、5,530,101 和 5,585,089)、面飾(veneering)或表面重修(resurfacing)(參見例如 EP 0 592 106；EP 0 519 596；Padlan，1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498；Studnicka 等人，1994, *Protein Engineering* 7(6):805-

814 ; Roguska 等 人 , 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:969-973)及鏈改組(chain shuffling)(參見例如美國專利第5,565,332號)(將所有參考文獻併入本文以供參考)。

【0173】人源化單株抗體可藉由本技術中已知的重組DNA技術生產，例如使用在下列中所述之方法：國際公開案第WO 87/02671號；歐洲專利公開案第0 184 187號；歐洲專利公開案第0 171 496號；歐洲專利公開案第0 173 494號；國際公開案第WO 86/01533號；美國專利第4,816,567號；歐洲專利公開案第0 012 023號；Berter等人，1988, *Science* 240:1041-43；Liu等人，1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-43；Liu等人，1987, *J. Immunol.* 139:3521-26；Sun等人，1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-18；Nishimura等人，1987, *Cancer. Res.* 47:999-1005；Wood等人，1985, *Nature* 314:446-449；Shaw等人，1988, *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-59；Morrison, 1985, *Science* 229:1202-07；Oi等人，1986, *BioTechniques* 4:214；美國專利第5,225,539號；Jones等人，1986, *Nature* 321:552-25；Verhoeyan等人，1988, *Science* 239:1534，及Beidler等人，1988, *J. Immunol.* 141:4053-60；將每一該等以其全文併入本文以供參考。

【0174】如上文所述，CD70結合劑可為抗-CD70抗體之衍生物。抗-CD70抗體衍生物通常包含抗-CD70抗體(包括例如抗原結合片段或經保守性取代之多肽)及與抗-CD70抗體異源的至少一個多肽區或其他部分。例如，抗-CD70

抗體可例如藉由任何類型的分子之共價附著來修飾。典型的修飾包括例如糖基化、乙醯化、聚乙二醇化、磷酸化、醯胺化、由已知的保護基/阻隔基衍生、蛋白酶切割、連結至細胞配體(例如白蛋白結合分子)或其他蛋白質及類似者。多種化學修飾中任一者可以已知的技術進行，包括但不限於特定的化學切割、乙醯化、甲醯化、衣黴素之代謝合成等。

【0175】在一些實施態樣中，共價附著不干擾效應子功能，例如防止抗體衍生物經由抗原結合區或自其衍生之區特異性結合至CD70，或防止效應子結構域特異性結合Fc受體。

【0176】在一些實施態樣中，抗體衍生物為包含一或多個單體的多聚體，諸如二聚體，其中各單體包括(i)抗-CD70抗體之抗原結合區或自其衍生之多肽區(諸如藉由一或多中胺基酸之保守性取代)，及(ii)多聚合化(例如二聚合化)多肽區，使得抗體衍生物形成多聚體(例如單二聚體)，其特異性結合至CD70。在典型的實施態樣中，抗-CD70抗體之抗原結合區或自其衍生之多肽區係與異源性蛋白質重組或化學融合，其中異源性蛋白質包含二聚合或多聚合結構域。在出於治療或預防免疫學疾患或表現CD70之癌症的目的而對個體投予抗體衍生物前，使衍生物經受容許形成單二聚體或異二聚體的條件。如本文所使用之異二聚體可包含相同的二聚合結構域，但不同的CD70抗原結合區，相同的CD70抗原結合區，但不同的二聚合結構域，

或不同的CD70抗原結合區及二聚合結構域。

【0177】典型的二聚合結構域為那些源自於轉錄因子之二聚合結構域。在一個實施態樣中，二聚合化結構域為鹼性區白胺酸拉鍊(「bZIP」)之二聚合化結構域(參見Vinson等人，1989, *Science* 246:911-916)。有用的白胺酸拉鍊結構域包括例如酵母轉錄因子GCN4、哺乳動物轉錄因子CCAAT/增強子結合蛋白C/EBP及在癌基因產物Fos和Jun中的核轉變之該結構域。(參見例如Landschultz等人，1988, *Science* 240:1759-64；Baxeavanis和Vinson，1993, *Curr. Op. Gen. Devel.* 3:278-285；O'Shea等人，1989, *Science* 243:538-542)。在另一實施態樣中，二聚合化結構域為鹼性區螺旋-環圈-螺旋(「bHLH」)蛋白質之二聚合化結構域(參見例如Murre等人，1989, *Cell* 56:777-783。亦參見Davis等人，1990, *Cell* 60:733-746；Voronova和Baltimore，1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:4722-26)。特別有用的bHLH蛋白質為myc、max和mac。

【0178】在又其他的實施態樣中，二聚合化結構域為免疫球蛋白不可變區，諸如重鏈不可變區或其結構域(例如C_H1結構域、C_H2結構域及/或C_H3結構域)。(參見例如美國專利案號5,155,027、5,336,603、5,359,046和5,349,053；EP 0 367 166；及WO 96/04388。)

【0179】已知異二聚體係在Fos與Jun之間形成(Bohmann等人，1987, *Science* 238:1386-1392)、在ATF/CREB家族成員之間形成(Hai等人，1989, *Genes Dev.*

3:2083-2090)、在 C/EBP 家族成員之間形成 (Cao 等人, 1991, *Genes Dev.* 5:1538-52; Williams 等人, 1991, *Genes Dev.* 5:1553-67; Roman 等人, 1990, *Genes Dev.* 4:1404-15) 及在 ATF/CREB 與 Fos/Jun 家族成員之間形成 (Hai and Curran, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:3720-24)。因此, 當 CD70 結合蛋白係作為包含不同的二聚合化結構域之異二聚體投予個體時, 可使用前述之任何組合。

【0180】在其他的實施態樣中, 抗-CD70 抗體衍生物為與第二抗體共軛之抗-CD70 抗體(「抗體異質共軛物」)(參見例如美國專利案號 4,676,980)。有用於實施本發明方法之異質共軛物包含結合至 CD70 之抗體(例如具有單株抗體 1F6 的 CDR 及/或重鏈之抗體)及結合至受體或受體複合物表面之抗體, 其媒介 ADCC、吞噬作用及/或 CDC, 諸如 CD16/FcγRIII、CD64/FcγRI、殺手細胞活化或抑制性受體或補體控制蛋白質 CD59。在典型的實施態樣中, 多特異性抗體的一部分與第二細胞表面分子或受體複合物之結合增強抗-CD70 抗體之效應子功能。在其他的實施態樣中, 抗體的功能可為治療劑。在本文說明適合的抗體治療劑。

【0181】在一些實施態樣中, 本文所述之抗-CD70 抗體中任一者經非海藻糖苷化。

【0182】在一些實施態樣中, 本文提供抗-CD70 抗體群, 其包含如本文所述之多種抗-CD70 抗體, 其中在抗-CD70 抗體群中的抗-CD70 抗體具有降低的核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中, 在抗-CD70 抗體群中的至少 20%

之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少30%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少40%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少50%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少60%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少70%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少80%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少90%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少95%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少98%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少99%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的至少99.5%之抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中實質上沒有(亦即少於0.5%)抗體具有核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，在抗-CD70抗體群中的所有抗體缺乏核心海藻糖苷化。

【0183】如美國專利第10,196,445號中所述，抗體糖基化之修飾可藉由例如以改變的糖基化機制表現在宿主細胞中的抗體來完成。已說明具有改變的糖基化機制之細胞且可用作為宿主細胞，其中表現本揭示之重組抗體，從而

產生具有改變的糖基化之抗體。例如，細胞株 Ms704、Ms705和 Ms709缺乏海藻糖基轉移酶基因，FUT8 (α -(1,6)海藻糖基轉移酶(參見美國專利申請公開案第 20040110704 號；Yamane-Ohnuki 等人，(2004) *Biotechnol. Bioeng.* 87: 614)，使得在該等細胞株中表現的抗體在彼等的醣上缺乏海藻糖。作為另一實例，EP 1176195亦說明具有功能受破壞之 FUT8 基因的細胞株，以及不太具有或不具有使海藻糖添加至與抗體之 Fc 區結合之 N-乙醯葡萄糖胺的活性之細胞株，例如大鼠骨髓瘤細胞株 YB2/0 (ATCC CRL 1662)。PCT 公開案 WO 03/035835 說明變異體 CHO 細胞株，Lec13，其具有使海藻糖附著至經 Asn(297)連結之醣的能力降低，亦導致在該宿主細胞中表現的抗體具有低海藻糖苷化。亦參見 Shields 等人，(2002) *J. Biol. Chem.* 277: 26733。具有經修飾之糖基化輪廓的抗體亦在雞蛋中產生，如 PCT 公開案第 WO 2006/089231 號中所述。另一選擇地，具有經修飾之糖基化輪廓的抗體可在植物細胞中產生，諸如浮萍屬 (*Lemna*)。參見例如美國公開案第 2012/0276086 號。PCT 公開案第 WO 99/54342 號說明經改造以表現經糖蛋白修飾之糖基轉移酶(例如 β (1,4)-N-乙醯基葡萄糖胺基轉移酶 III (GnTIII))之細胞株，使得在改造細胞株中表現之抗體展現增加的平分型 GlcNac 結構，其導致抗體的 ADCC 活性增加。亦參見 Umaña 等人，(1999) *Nat. Biotech.* 17: 176。另一選擇地，抗體之海藻糖殘基可使用海藻糖苷酶酵素切割。例如，酵素 α -L-海藻糖苷酶移除抗

體的海藻糖基殘基。Tarentino等人，(1975) *Biochem.* 14: 5516。具有降低的核心海藻糖苷化之抗體的製備可藉由在使用基因剔除、基因嵌入或RNAi來改造以降低核心海藻糖苷化的細胞株中生產抗體。在糖基化路徑中的酵素上起作用之小分子抑制劑亦可用於產生具有降低的核心海藻糖苷化之抗體。此等方法說明於美國專利案號8,163,551中。在一些實施態樣中，具有降低的核心海藻糖苷化之如本文所述之抗-CD70抗體係藉由在包含有效量的海藻糖類似物之培養基中培養表現抗體之宿主細胞來產生，該海藻糖類似物降低海藻糖併入由宿主細胞所產生的抗體或抗體衍生物之複雜的經N-糖苷連結之糖鏈中。參見美國專利案第8,163,551號。生產非海藻糖苷化抗體之方法以說明於Pereira等人，(2018) *MAbs* 10(5):693-711中。

【0184】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體或其衍生物競爭性地抑制mAb 1F6與CD70之結合，如本技術中用於測定競爭性結合之任何已知的方法測定(諸如本文所述之免疫檢定法)。在典型的實施態樣中，抗體競爭性地抑制至少50%、至少60%、至少70%或至少75%之1F6與CD70之結合。在其他的實施態樣中，抗體競爭性地抑制至少80%、至少85%、至少90%、或至少95%之1F6與CD70之結合。

【0185】可以各種已知的方法檢定抗體與CD70之特異性結合。可使用之免疫檢定法包括例如使用下列技術之競爭性及非競爭性檢定系統：諸如西方墨點法、放射性免

疫檢定法、ELISA（酵素結合免疫吸附檢定法）、「三明治」免疫檢定法、沈澱素反應、凝膠擴散沈澱素反應、免疫擴散檢定法、凝集檢定法、補體結合檢定法、免疫放射量檢定法、螢光免疫檢定法和蛋白質A免疫檢定法。此等檢定法為常規的且為本技術中所熟知（參見例如 Ausubel 等人編輯之 *Short Protocols in Molecular Biology* (John Wiley and Sons, Inc., New York, 4th ed. 1999)；Harlow 和 Lane，*Using Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1999)。

【0186】再者，抗體與 CD70 之結合親和性及抗體 CD70 相互作用之解離速率 (off-rate) 可以競爭性結合檢定法來測定。競爭性結合檢定法的一個實例為放射性免疫檢定法，其包含在漸增量的未經標記之 CD70 存在下以關注的抗體培育標記之 CD70（例如 ^3H 或 ^{125}I ）且檢測與標記之 CD70 結合之抗體。接著抗體對 CD70 之親和性及結合解離速率可自數據以斯卡查德圖 (Scatchard plot) 分析來測定。與第二抗體（諸如 mAb 1F6）之競爭亦可使用放射性免疫檢定法測定。在此例子中，CD70 係在漸增量的未經標記之第二抗體存在下以與標記之化合物（例如 ^3H 或 ^{125}I ）共軛之關注的抗體培育。另一選擇地，抗體與 CD70 之結合親和性及抗體-CD70 相互作用之結合速率和解離速率可以表面電漿子共振來測定。在一些實施態樣中，抗-CD70 抗體或其衍生物可靶向及累積在表現 CD70 之細胞的膜上。

【0187】抗-CD70 抗體及其衍生物可以本技術中已知

通常用於蛋白質合成之方法生產，例如以重組表現技術。與CD70結合之抗體或其衍生物的重組表現通常包括含有編碼抗體或其衍生物之核酸的表現載體之構築體。生產蛋白質分子之載體可以使用本技術中已知的技術之重組DNA技術生產。可以例如那些下列所述之標準技術用於重組核酸方法、核酸合成、細胞培養、轉殖基因合併及重組蛋白質表現：Sambrook和Russell，*Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 3rd ed., 2001)；Sambrook等人，*Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2nd ed., 1989)；*Short Protocols in Molecular Biology* (Ausubel等人，John Wiley and Sons, New York, 4th ed., 1999)；及Glick和Pasternak，*Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA* (ASM Press, Washington, D.C., 2nd ed., 1998)。

【0188】例如，用於抗-CD70抗體的重組表現之表現載體可編碼其重鏈或輕鏈或重鏈或輕鏈可變結構域，可操作地連結至啟動子。表現載體可包括例如編碼抗體分子之不可變區的核苷酸序列(參見例如PCT公開案WO 86/05807；PCT公開案WO 89/01036；及美國專利第5,122,464號)，且抗體之可變結構域可選殖至用於完整重鏈或輕鏈表現之此載體中。表現載體係以習知的技術轉移至宿主細胞，且接著經轉染之細胞係以習知的技術培養以生產抗-

CD70抗體。在雙鏈抗體表現之典型的實施態樣中，編碼重鏈及輕鏈兩者之載體可共同表現在用於完整免疫球蛋白分子表現之宿主細胞中。

【0189】可利用各種原核及真核宿主表現載體系統表現抗-CD70抗體或其衍生物。真核細胞(特別用於整體重組抗-CD70抗體分子)通常用於重組蛋白質表現。例如，與載體(諸如來自人類細胞巨大病毒之主要迅早期基因(intermediate early gene)啟動子元件)聯合之哺乳動物細胞(諸如中國倉鼠卵巢細胞(CHO))為生產抗-CD70抗體及其衍生物之有效的表現系統(參見例如 Foecking 等人，1986, *Gene* 45:101；Cockett 等人，1990, *Bio/Technology* 8:2)。

【0190】其他的宿主表現系統包括例如在細菌細胞中基於質體之表現系統(參見例如 Ruther 等人，1983, *EMBO* 1,2:1791；Inouye 和 Inouye，1985, *Nucleic Acids Res.* 13:3101-3109；Van Heeke 和 Schuster，1989, *J. Biol. Chem.* 24:5503-5509)；昆蟲系統，諸如使用在草地貪葉蛾(*Spodoptera frugiperda*)細胞中的加州苜蓿葉蛾多角體病毒(*Autographa californica nuclear polyhedrosis virus*) (AcNPV)表現載體；及在哺乳動物細胞中基於病毒之表現系統，諸如基於腺病毒之系統(參見例如 Logan 和 Shenk，1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:355-359；Bittner 等人，1987, *Methods in Enzymol.* 153:51-544)。

【0191】另外，可選擇宿主細胞株，以其調節經插入之序列的表現，或以所欲特定方式修飾及加工基因產物。

可選擇適當的細胞株或宿主系統以確保所表現之蛋白質的正確修飾及加工(例如糖基化、磷酸化和切割)。出於此目的，可使用具有適當的初級轉錄物及基因產物加工之細胞機制的真核宿主細胞。此等哺乳動物宿主細胞包括例如 CHO、VERO、BHK、HeLa、COS、MDCK、293、3T3和 W138。

【0192】穩定的表現系統通常用於重組抗-CD70抗體或其衍生物或其他 CD70 結合劑之長期、高產量生產。例如，穩定表現抗-CD70抗體或其衍生物之細胞株可藉由以適當的表現控制元件(例如啟動子和增強子序列、轉錄序列、轉錄終止子、多腺核苷酸化位點)及可篩選標誌控制之 DNA 轉變宿主細胞，隨後使轉變之細胞在選擇性培養基中生長來改造。可篩選標誌賦予抗選擇性，且容許細胞穩定地整合 DNA 至其染色體中及生長以形成細胞簇(foci)，其依次可選殖且擴展至細胞株中。可使用許多篩選系統，包括例如單純疱疹病毒胸苷激酶、次黃嘌呤鳥嘌呤(hypoxanthineguanine)磷酸核苷轉移酶和腺嘌呤磷酸核苷轉移酶基因，其可分別用於 tk⁻、hgprt⁻或 aprt⁻細胞中。亦可使用抗代謝物抗性作為篩選下列基因的基礎：dhfr，其賦予甲胺喋呤抗性；gpt，其賦予黴酚酸抗性；neo，其賦予胺基糖苷 G-418 抗性；及 hyg^r，其賦予潮黴素抗性。在重組 DNA 技術中一般已知的方法可常規地應用於篩選所欲重組植株，且此等方法說明於例如 *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel 等人編輯，John Wiley and

Sons, N.Y., 1993) ; Kriegler , *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual* (Stockton Press, N.Y., 1990) ; *Current Protocols in Human Genetics* (Dracopoli等人編輯 , John Wiley and Sons, N.Y., 1994, Chapters 12 and 13) ; 及 Colberre-Garapin等人 , 1981, *J. Mol. Biol.* 150:1 中。

【0193】抗體或衍生物之表現水平可以載體擴增來增加。(概括地參見例如 Bebbington和 Hentschel , *The Use of Vectors Based on Gene Amplification for the Expression of Cloned Genes in Mammalian Cells in DNA Cloning*, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)。)當表現抗-CD70抗體或其衍生物之載體系統中的標誌為可擴增的，則以增加在宿主細胞培養基中存在的抑制劑濃度篩選具有增加的標誌基因拷貝數之宿主細胞，以賦予抑制劑抗性。締合之抗體基因的拷貝數亦增加，從而增加抗體或其衍生物之表現(參見 Crouse等人，1983, *Mol. Cell. Biol.* 3:257)。

【0194】在抗-CD70抗體包含重鏈及輕鏈兩者或其衍生物的情況下，宿主細胞可與兩種表現載體共同轉染，第一載體編碼重鏈蛋白質及第二載體編碼輕鏈蛋白質。兩種載體可含有相同的可篩選標誌，其能使重鏈及輕鏈蛋白質均等表現。另一選擇地，可使用編碼且能夠表現重鏈及輕鏈蛋白質兩者之單一載體。在此等情況下，輕鏈通常放置在重鏈之前，以避免過量的無毒重鏈(參見 Proudfoot , 1986, *Nature* 322:52 ; Kohler , 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci.*

USA 77:2197)。重鏈及輕鏈之編碼序列可包含cDNA或基因組DNA。

【0195】一旦生產出抗-CD70抗體或其衍生物(例如以動物、化學合成重組表現)，可將其以任何適合於蛋白質純化之方法純化，包括例如以層析術(例如離子交換或親和性層析術(諸如用於純化具有完整Fc區之抗體的蛋白質A層析術))、離心、差別性溶解度或用於純化蛋白質的任何其他標準技術。抗-CD70抗體或其衍生物可例如與標誌序列(諸如肽)融合，有助於以親和性層析術純化。適合的標誌胺基酸序列包括例如六組胺酸肽，諸如在pQE載體中提供的標籤(QIAGEN, Inc., Chatsworth, CA, 91311)和「HA」標籤，其對應於流感血球凝集素蛋白所衍生之表位(Wilson等人，1984, *Cell* 37:767)及「flag」標籤。

【0196】一旦生產抗-CD70抗體或其衍生物，其對表現CD70之癌症細胞發揮抑制細胞及細胞毒性效應或對表現CD70之免疫細胞發揮免疫調節效應的能力係以下文所述之方法或如本技術中以之的方法確定。

【0197】為使抗-CD70抗體在活化之免疫細胞或表現CD70之癌細胞外部的活性最小化，可使用與經細胞膜結合之CD70，但不與可溶性CD70特異性結合之抗體，使得抗-CD70抗體集中在活化之免疫細胞或表現CD70之癌症細胞上的細胞表面。

【0198】通常將抗-CD70抗體或衍生物實質純化(例如實質上不含有限制其效應或產生非所欲副作用的物質)。

在一些實施態樣中，抗-CD70抗體或衍生物具有至少約40%純度、至少約50%純度或至少約60%純度。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體或衍生物具有至少約60-65%、65-70%、70-75%、75-80%、80-85%、85-90%、90-95%或95-98%純度。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體或衍生物具有約99%純度。

III. 治療方法

【0199】本發明提供治療個體的表現CD70之癌症(諸如骨髓性惡性腫瘤)之方法，其包含對個體投予治療有效量的如本文所述之抗-CD70抗體，諸如非海藻糖苷化抗-CD70抗體。骨髓性惡性腫瘤包括急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增生性疾患(MPDS)、骨髓發育不良症候群(MDS)和骨髓生成不良/骨髓增生性症候群，全部皆為殖株幹細胞(HSC)或祖細胞惡性疾患。在一些實施態樣中，癌症為MDS。在一些實施態樣中，癌症為AML。MDS包含多種亞型，包括具有單譜系發育不良之MDS、具有環形含鐵胚血球之MDS、具有多譜系發育不良之MDS、具有過量胚細胞之MDS、具有分離的del(5q)之MDS和無法分類的MDS。MDS係以骨髓譜系之一或多者中的無效造血為特徵。早期MDS主要展示出過度的細胞凋亡及造血細胞發育不良。在約三分之一的MDS患者中，此無效造血係在進展至繼發性AML (sAML)之前。AML為白血球之骨髓性譜系的惡性腫瘤。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投

予治療有效量的非海藻糖苷化抗-CD70抗體，其中抗-CD70抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含三個SEQ ID NO：1之CDR、輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含三個SEQ ID NO：2之CDR、及Fc結構域，其中抗-CD70抗體之CDR係以卡貝特編號方案定義。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少30%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少40%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少50%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少60%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少70%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少80%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少90%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少95%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態

樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少98%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中在抗-CD70抗體群中之至少99%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，該方法包含對個體投予抗-CD70抗體群，其中至少99.5%之抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與低甲基化劑(HMA)組合投予。在一些實施態樣中，HMA為阿扎胞苷。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與BH3-擬似物組合投予。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與維托拉斯(VENCLEXTA®)組合投予。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與HMA及BH3-擬似物組合投予。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與HMA及維托拉斯組合投予。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與阿扎胞苷及BH3-擬似物組合投予。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係與阿扎胞苷及維托拉斯組合投予。

【0200】在一些實施態樣中，本文提供治療個體的表現CD70之MDS之方法，其包含投予治療有效量的如本文所述之抗-CD70抗體。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係經非海藻糖苷化。在一些實施態樣中，MDS為復發性或頑抗性MDS。在一些實施態樣中，MDS為復發性MDS。在一些實施態樣中，MDS為頑抗性MDS。在一些實施態樣中，個體在先前用於MDS之低甲基化劑(HMA)療法後經歷治療失敗。HMA(亦稱為去甲基化劑)為抑制DNA甲基化之

藥物。在一些實施態樣中，HMA為DNA甲基轉移酶抑制劑。在一些實施態樣中，HMA為阿扎胞苷。在一些實施態樣中，HMA為地西他濱(decitabine)。

【0201】在一些實施態樣中，本文提供治療個體的表現CD70之AML之方法，其包含投予治療有效量的如本文所述之抗-CD70抗體。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體係經非海藻糖苷化。在一些實施態樣中，AML為復發性或頑抗性AML。在一些實施態樣中，AML為復發性AML。在一些實施態樣中，AML為頑抗性AML。在一些實施態樣中，個體接受1次用於治療AML之先前治療方案。在一些實施態樣中，個體接受2次用於治療AML之先前治療方案。在一些實施態樣中，個體接受3次用於治療AML之先前治療方案。

【0202】在一些實施態樣中，來自個體的至少約0.1%、至少約1%、至少約2%、至少約3%、至少約4%、至少約5%、至少約6%、至少約7%、至少約8%、至少約9%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、或至少約80%之癌細胞表現CD70。在一些實施態樣中，來自個體的至少0.1%、至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少60%、至少70%、或至少

80%之癌細胞表現CD70。在一些實施態樣中，表現CD70之細胞百分比係使用免疫組織化學法(IHC)測定。在一些實施態樣中，表現CD70之細胞百分比係使用流動式細胞測量術測定。在一些實施態樣中，表現CD70之細胞百分比係使用酵素結合免疫吸附檢定法(ELISA)測定。

【0203】在一個態樣中，以如本文所述之抗-CD70抗體治療癌症之方法導致個體中的一或多個治療效應在投予抗體後，相對於基線，受到改善。在一些實施態樣中，一或多個治療效應為客觀反應率、反應持續時間、達到反應的時間、無惡化存活期、整體存活期或其任何組合。在一個實施態樣中，一或多個治療效應為穩定的疾病。在一個實施態樣中，一或多個治療效應為部分反應。在一個實施態樣中，一或多個治療效應為完全反應。在一個實施態樣中，一或多個治療效應為客觀反應率。在一個實施態樣中，一或多個治療效應為反應持續時間。在一個實施態樣中，一或多個治療效應為達到反應的時間。在一個實施態樣中，一或多個治療效應為無惡化存活期。在一個實施態樣中，一或多個治療效應為整體存活期。在一個實施態樣中，一或多個治療效應為癌症消退。

【0204】在本文所提供之方法或用途或使用之產物的一個實施態樣中，以如本文所述之抗-CD70抗體治療的反應可包括以下準則(謝森(Cheson)準則)：

條件	定義(必須符合所有的準則，除非另有其他指定) ^a
形態學 完全緩解(CR)	絕對嗜中性球數(ANC)≥1000/μL及血小板數≥100,000/μL，沒有輸血及/ 或外源性生長因子支持(亦即在評定的7天內沒有輸血或外源性生長因 子)。 具有<5%之胚細胞的骨髓 沒有骨髓外疾病的證據
具有血細胞數恢復不全之 形態學完全緩解(CRi)	CRi(p) (具有血小板恢復不全之形態學CR) 具有<5%之胚細胞的骨髓 血小板數<100,000/μL或若個體在最後7天內輸血，≥100,000/μL ANC ≥1000/μL，沒有外源性生長因子支持 沒有骨髓外疾病的證據 CRi(n) (具有嗜中性球恢復不全之形態學CR) 具有<5%之胚細胞的骨髓 ANC <1000/μL或在最後7天內使用外源性生長因子，ANC ≥1000/μL 在最後7天內未輸血，血小板數≥100,000/μL 沒有骨髓外疾病的證據
具有血液學恢復部分之形 態學完全緩解(CRh)	具有<5%之胚細胞的骨髓，ANC >500/μL及血小板數≥50,000/μL，在最 後7天內沒有輸血及/或外源性生長因子支持，不具備完全CR的合格條 件 沒有骨髓外疾病的證據
血液學白血病無狀態 (mLFS)	具有<5%之胚細胞的骨髓 沒有骨髓外疾病的證據 不符合CR、CRi或CRh之血細胞數恢復準則
部分緩解(PR)	ANC ≥1000/μL及血小板數≥100,000/μL，沒有輸血及/或外源性生長因子 支持(亦即在評定的7天內沒有輸血或外源性生長因子) 具有5%至25%之胚細胞的骨髓及自基線起降低至少50%之骨髓胚細胞 百分比 沒有骨髓外疾病的證據
抗白血病效應	相對於基線，減少>25%之骨髓胚細胞且不符合PR之準則
穩定的疾病(SD)	缺少CR、CRi、CRh、mLFS、PR或抗白血病效應。不符合進展性疾病 (PD)之準則
進展性疾病 (PD)	在4次或更多次治療週期後，上升>25%之絕對骨髓胚細胞百分比或出現 新型骨髓外疾病。在具有基線骨髓胚細胞>75%的個體中，增加25%比 例(而非絕對)之骨髓胚細胞被認為是PD。
自CR/CRi/CRh復發	在達到CR、CRi或CRh後，在血液(除非與再生的骨髓一致)或骨髓 (>5%)中或在任何骨髓外位點中重新出現胚細胞

a 自國際工作組對急性骨髓性白血病的診斷、反應準則標準化、治療結果及記述標準之修訂建議進行修
改(Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, Buchner T, Willman CL, Estey EH, Schiffer CA, Doehner H, Tallman
MS, Lister TA, Lo-Coco F, Willemze R, Biondi A, Hiddemann W, Larson RA, Lowenberg B, Sanz MA, Head
DR, Ohno R, Bloomfield CD (2003)。自國際工作組對急性骨髓性白血病的診斷、反應準則標準化、治療
結果及記述標準之修訂建議。J Clin Oncol 21(24): 4642-9)。

【0205】在本文所提供之方法或用途或使用之產物的一個實施態樣中，以如本文所述之抗-CD70抗體治療的反應包括以下準則(謝森準則)：

分類	反應準則(反應必須持續至少4週)
完全緩解	骨髓≤5%之骨髓胚細胞，所有的細胞系正常成熟* 注意持續性發育不良*† 末梢血液‡ Hgb ≥11 g/dL 血小板數≥100 x10 ⁹ /L 嗜中性球 ≥1.0 x10 ⁹ /L† 胚細胞0%
部分緩解	所有的CR準則，若治療前異常，除了： 骨髓胚細胞比治療前降低≥50%，但仍>5% 細胞性及形態不相關
骨髓CR†	骨髓：≤5%之髓胚細胞且比治療前† 末梢血液降低50%：若HI反應，則除了骨髓CR†以外，將會注意到該等反應
穩定的疾病	無法達到至少PR，但>8週沒有進展的證據
失敗	在治療期間死亡或以比治療前惡化的血球減少症、增加的骨髓胚細胞或進展至更晚期的MDS FAB亞型為特徵的疾病進展，
在 CR 或 PR 後復發	下列中之至少1者： 返回治療前骨髓胚細胞百分比 顆粒性細胞或血小板數自最大緩解/反應水平起≥50%之遞減 降低≥1.5 g/dL之Hgb濃度或輸血依賴
細胞遺傳學反應	完全 染色體異常消失而沒有新異常出現 部分 降低至少50%之染色體異常
疾病進展	對具有下列者之個體： 少於5%之胚細胞：增加≥50%之胚細胞至>5%之胚細胞 5%至10%之胚細胞：增加≥50%之胚細胞至>10%之胚細胞 10%至20%之胚細胞：增加≥50%之胚細胞至>20%之胚細胞 20%至30%之胚細胞：增加≥50%之胚細胞至>30%之胚細胞 下列中任一者： 顆粒性細胞或血小板數自最大緩解/反應水平遞減至少50% Hgb降低≥2 g/dL 輸血依賴

存活	終點： 總體：因任何原因死亡 無事件：因任何原因的失敗或死亡 PFS：疾病進展或因MDS死亡 DFS：復發時間 因特定原因死亡：與MDS有關的死亡
----	--

未顯示缺失至IWG反應準則。

為了將血紅素自每公合的克數轉換成每公升的克數，將每公合的克數乘以10。MDS表示骨髓發育不良症候群；Hgb：血紅素；CR：完全緩解；HI：血液學改善；PR：部分緩解；FAB, 英國-美國-法國；PFS：無惡化存活期；DFS：無病存活期。

*發育不良變化應考慮發育不良變化的正常範圍(修改)。(Ramos F, Fernandez-Ferrero S, Suarez D等人，Myelodysplastic syndrome: a search for minimal diagnostic criteria. Leuk Res. 1999;23:283-290)。

†修改IWG反應準則。

‡在一些情況下，規劃治療可能需要在 4 週期前開始進一步治療(例如強化、維持)。可將此等個體包括在開始治療時彼等適合的反應分類中。在重複的化療法過程期間的短暫性血球減少症只要恢復至先前療程的改善計數，不應視為中斷反應持續性。(Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, Lowenberg B, Wijermans PW, Nimer SD, Pinto A, Beran M, de Witte TM, Stone RM, Mittelman M, Sanz GF, Gore SD, Schiffer CA, Kantarjian H (2006)。國際工作組(IWG)反應準則對骨髓發育不良之臨床應用及修改提議。Blood 108(2): 419-25)。

血液學改善 ^a	反應準則(反應必須持續至少 8 週) ^b
紅血球反應 (治療前，<11 g/dL)	Hgb增加≥1.5 g/dL 與先前8週的治療前輸血數相比，以每8週至少4次RBC輸血的絕對量相對減少的RBC輸血單位。僅治療前≤9.0 g/dL之Hgb而給出之RBC輸血 將計入RBC輸血反應評估
血小板反應 (治療前，<100 x 10 ⁹ /L)	以>20 x 10 ⁹ /L之血小板開始的個體，絕對增加數≥30 x 10 ⁹ /L 自< 20 x 10 ⁹ /L增加至> 20 x 10 ⁹ /L及至少100% ^b 。
嗜中性球反應 (治療前，<1.0 x 10 ⁹ /L) 在 HI ^c 後的進展或復發	增加至少100%及絕對增加量> 0.5 x 10 ⁹ /L ^b 下列中之至少1者： 顆粒性細胞或血小板數自最大反應水平遞減至少50% Hgb減少≥1.5 g/dL 輸血依賴

RBC= 紅血球

a ≥1週間隔的至少2個測量值的治療前計數平均值(不受輸血影響)(修改)。

b 修改IWG反應準則。

c 在缺少另外的解釋下，諸如急性感染、重複的化療法過程(修改)、胃腸道出血、溶血等等。建議以總體以及個別的反应模式記述紅血球及血小板兩種反應(Cheson 2006)。

【0206】在本文所提供之方法或用途或使用之產物的一個實施態樣中，以如本文所述之抗-CD70抗體治療的有

效性係以測量客觀反應率來評定。在一些實施態樣中，客觀反應率為具有預定義量的腫瘤大小縮減及經最短的時間段之患者的比例。在一些實施態樣中，客觀反應率係基於謝森準則。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、或至少約80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約20%至80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約30%至80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約40%至80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約50%至80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約60%至80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約70%至80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約85%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約90%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約95%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約98%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約99%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少約20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少60%、至少70%、或至少80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少20%至80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少30%至80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少40%至80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少50%至80%。在一個實施態樣中，

客觀反應率為至少 60% 至 80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少 70% 至 80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少 80%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少 85%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少 90%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少 95%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少 98%。在一個實施態樣中，客觀反應率為至少 99%。在一個實施態樣中，客觀反應率為 100%。

【0207】在本文所述之方法或用途或使用之產物的一個實施態樣中，以如本文所述之抗-CD70 抗體治療的反應係藉由測量在投予本文所述之抗-CD70 抗體後的無惡化存活期之時間來評定。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70 抗體後至少約 1 個月、至少約 2 個月、至少約 3 個月、至少約 4 個月、至少約 5 個月、至少約 6 個月、至少約 7 個月、至少約 8 個月、至少約 9 個月、至少約 10 個月、至少約 11 個月、至少約 12 個月、至少約 18 個月、至少約兩年、至少約三年、至少約四年、或至少約五年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70 抗體後至少約 6 個月的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70 抗體後至少約一年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70 抗體後至少約兩年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70 抗體後至少約三年的無惡化存活期。在一些實

施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約四年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約五年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少1個月、至少2個月、至少3個月、至少4個月、至少5個月、至少6個月、至少7個月、至少8個月、至少9個月、至少10個月、至少11個月、至少12個月、至少18個月、至少兩年、至少三年、至少四年、或至少五年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少6個月的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少一年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少兩年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少三年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少四年的無惡化存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少五年的無惡化存活期。

【0208】在本文所述之方法或用途或使用之產物的一個實施態樣中，以如本文所述之抗-CD70抗體治療的反應係藉由測量在投予本文所述之抗-CD70抗體後的整體存活期之時間來評定。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約1個月、至少約2個月、至少約3個月、至少約4個月、至少約5個月、至少約6個月、

至少約7個月、至少約8個月、至少約9個月、至少約10個月、至少約11個月、至少約12個月、至少約18個月、至少約兩年、至少約三年、至少約四年、或至少約五年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少6個月的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約一年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約兩年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約三年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約四年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約五年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少1個月、至少2個月、至少3個月、至少4個月、至少5個月、至少6個月、至少7個月、至少8個月、至少9個月、至少10個月、至少11個月、至少約12個月、至少18個月、至少兩年、至少三年、至少四年、或至少五年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少6個月的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少一年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少兩年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少三年

的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少四年的整體存活期。在一些實施態樣中，個體展現在投予本文所述之抗-CD70抗體後至少五年的整體存活期。

【0209】在本文所述之方法或用途或使用之產物的一個實施態樣中，以如本文所述之抗-CD70抗體治療的反應係藉由測量在投予本文所述之抗-CD70抗體後對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間來評定。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約1個月、至少約2個月、至少約3個月、至少約4個月、至少約5個月、至少約6個月、至少約7個月、至少約8個月、至少約9個月、至少約10個月、至少約11個月、至少約12個月、至少約18個月、至少約兩年、至少約三年、至少約四年、或至少約五年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約6個月。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約一年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約兩年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約三年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約四年。在一些實施態樣

中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少約五年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少1個月、至少2個月、至少3個月、至少4個月、至少5個月、至少6個月、至少7個月、至少8個月、至少9個月、至少10個月、至少11個月、至少12個月、至少18個月、至少兩年、至少三年、至少四年、或至少五年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少6個月。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少一年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少兩年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少三年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少四年。在一些實施態樣中，對本文所述之抗-CD70抗體的反應持續時間為投予本文所述之抗-CD70抗體後至少五年。

【0210】在本文所述之方法或用途或使用之產物的一些實施態樣中，對個體投予本文所述之抗-CD70抗體(諸如非海藻糖苷化抗-CD70抗體)導致個體的癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，投予本文所述之抗-CD70抗體(諸如非海藻糖苷化抗

-CD70抗體)導致至少約5%、至少約6%、至少約7%、至少約8%、至少約9%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約95%、或約100%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約5%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約10%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約20%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約30%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約40%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約50%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約60%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約70%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約80%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約90%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約95%之癌細胞耗竭。在一些實

施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少約99%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，約100%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，投予本文所述之抗-CD70抗體(諸如非海藻糖苷化抗-CD70抗體)導致至少5%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少60%、至少70%、至少約80%、至少約90%、至少95%、或100%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，癌細胞耗竭至少5%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少10%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少20%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少30%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少40%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少50%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少60%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少70%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相

比，至少80%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少90%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少95%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，至少99%之癌細胞耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，100%之癌細胞耗竭。

【0211】在本文所述之方法或用途或使用之產物的一些實施態樣中，對個體投予本文所述之抗-CD70抗體(諸如非海藻糖苷化抗-CD70抗體)不導致個體的CD70+T調節性細胞(CD70+Treg)耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的CD70+Treg量相比，投予本文所述之抗-CD70抗體(諸如非海藻糖苷化抗-CD70抗體)導致不超過約50%、約40%、約30%、約20%、約10%、約9%、約8%、約7%、約6%、約5%、約4%、約3%、約2%、約1%、或約0.1%之CD70+Treg耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的CD70+Treg量相比，不超過約50%之CD70+Treg耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的CD70+Treg量相比，不超過約40%之CD70+Treg耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的CD70+Treg量相比，不超過約30%之CD70+Treg耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的CD70+Treg量相比，不超過約20%之CD70+Treg耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-

CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過約 10% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過約 5% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過約 1% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過約 0.1% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，投予本文所述之抗-CD70 抗體(諸如非海藻糖苷化抗-CD70 抗體)導致不超過 50%、40%、30%、20%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、或 0.1% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過 50% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過 40% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過 30% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過 20% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過 10% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前的 CD70+Treg 量相比，不超過 5% 之 CD70+Treg 耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70 抗體前

的CD70+Treg量相比，不超過1%之CD70+Treg耗竭。在一些實施態樣中，與對個體投予抗-CD70抗體前的CD70+Treg量相比，不超過0.1%之CD70+Treg耗竭。

【0212】在一些實施態樣中，海藻糖苷化抗-CD70抗體在個體中耗竭比包含相同的重鏈及輕鏈胺基酸序列的抗-CD70抗體之非海藻糖苷化形式更大程度的CD70+Treg。在一些實施態樣中，當個體為高親和性FcγRIIIa受體(V/V 158)純合子時，海藻糖苷化抗-CD70抗體在個體中耗竭比包含相同的重鏈及輕鏈胺基酸序列的抗-CD70抗體之非海藻糖苷化形式更大程度的CD70+Treg。在一些實施態樣中，當個體為低親和性FcγRIIIa受體(F/F 158)純合子時，海藻糖苷化抗-CD70抗體在個體中耗竭與包含相同的重鏈及輕鏈胺基酸序列的抗-CD70抗體之非海藻糖苷化形式相同程度的CD70+Treg。在一些實施態樣中，當個體為高親和性FcγRIIIa受體(V/V 158)純合子時，包含相同的重鏈及輕鏈胺基酸序列的海藻糖苷化抗-CD70抗體及抗-CD70抗體之非海藻糖苷化形式皆不耗竭CD8 T細胞。在一些實施態樣中，當個體為低親和性FcγRIIIa受體(F/F 158)純合子時，包含相同的重鏈及輕鏈胺基酸序列的海藻糖苷化抗-CD70抗體及抗-CD70抗體之非海藻糖苷化形式皆不耗竭CD8 T細胞。

IV. 用於細胞毒性、抑制細胞及免疫調節活性之檢定法

【0213】已知測定抗體是否媒介對抗標靶細胞的效應

子功能之方法。此等方法的例證性實例於下文說明。

【0214】為了測定抗-CD70抗體是否媒介對抗活化之免疫細胞或表現CD70之癌症細胞的抗體依賴性細胞性細胞毒性，可使用在抗體及效應子免疫細胞存在下測量標靶細胞死亡之檢定法。用於測量此類型的細胞毒性之檢定法可基於在效應子細胞及標靶特異性抗體存在下培育後測定來自經代謝標記的標靶細胞之 ^{51}Cr 釋放(參見例如Perussia和Loza，2000, *Methods in Molecular Biology* 121:179-92；及“ ^{51}Cr Release Assay of Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity (ADCC)” in *Current Potocols in Immunology*, Coligan等人編輯，Wileyand Sons, 1993)。例如，可將以 $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ 標記且以96孔盤的每孔5,000個細胞之密度平鋪的活化之免疫細胞(例如活化之淋巴細胞)或表現CD70之癌症細胞以不同濃度的抗-CD70抗體處理30分鐘且接著與正常人類末梢血液單核細胞(PBMC)混合4小時。以伴隨標靶細胞死亡的膜破壞釋放 ^{51}Cr 至培養上清液中，可收集且評定放射性作為細胞毒性活性的量度。其他測量ADCC之檢定法可能涉及非放射性標記物或基於特定酵素的誘導釋放。例如，基於時間解析螢光法之非放射性檢定法可於市場上取得(Delphia, Perkin Elmer)。此檢定係基於以穿透細胞膜的螢光增強配體之乙醯氧基甲酯(BATDA)裝載標靶細胞，接著水解以形成膜不可滲透的親水性配體(TDA)。當與標靶特異性抗體及PBMC效應子細胞混合時，TDA自分解之細胞釋放，且當與鎔混合時有效形成高

螢光螯合物。以時間解析螢光計測量的信號係與細胞分解量互相關聯。

【0215】為了測定抗-CD70抗體是否媒介對抗活化之免疫細胞或表現CD70之癌症細胞的抗體依賴性細胞性吞噬作用，可使用以效應子免疫細胞(例如新鮮培養之巨噬細胞或經建立之巨噬細胞樣細胞株)測量標靶細胞內化之檢定法(參見例如 Munn 和 Cheung，1990, *J. Exp. Med.* 172:231-37；Keler等人，2000, *J. Immunol.* 164:5746-52；Akewanlop等人，2001, *Cancer Res.* 61:4061-65)。例如，可將標靶細胞以親脂性膜染料(諸如PKH67 (Sigma))標記、以標靶特異性抗體包覆且與效應子免疫細胞混合4至24小時。接著可將效應子細胞以對吞噬細胞表面標誌(例如CD14)具有特異性的經螢光染料標記之抗體對比染色來鑑定，且將細胞以兩色流動式細胞測量術或螢光顯微鏡術分析。雙陽性細胞代表具有經內化之標靶細胞的效應子細胞。用於該等檢定法之效應子細胞可為源自己經M-CSF或GM-CSF培養5至10天而分化成巨噬細胞的PBMC之單核細胞(參見例如上述Munn和Cheung)。可ATCC可取得的人類巨噬細胞樣細胞株U937 (Larrick等人，1980, *J. Immunology* 125:6-12)或THP-1 (Tsuchiya等人，1980, *Int. J. Cancer* 26:171-76)可用作為替代的吞噬細胞來源。

【0216】已知測定抗體在結合至標靶細胞時是否媒介補體依賴性細胞毒性之方法。相同的方法可應用於測定抗-CD70抗體是否媒介活化之免疫細胞或表現CD70之癌症細

胞上的CDC。此等方法的例證性實例於下文說明。

【0217】活性補體的來源可為正常的血清或自實驗室動物(包括兔子)純化。在標準的檢定法中標，抗-CD70抗體係在補體存在下以表現CD70的活化之免疫細胞(例如活化之淋巴細胞)或表現CD70之癌症細胞培育。此抗-CD70抗體媒介細胞分解的能力可以數個讀數來測定。在一個實例中，使用 $\text{Na}^{51}\text{CrO}_4$ 釋放檢定法。在此檢定中，將標靶細胞以 $\text{Na}^{51}\text{CrO}_4$ 標記。將未併入之 $\text{Na}^{51}\text{CrO}_4$ 洗出且將細胞以適合的密度鋪置在96孔盤中，通常介於5,000至50,000個細胞/孔。在正常血清或經純化之補體存在下以抗-CD70抗體培育通常係在37℃下於5%之 CO_2 氛圍中持續2至6小時。釋放之放射性(表示細胞分解)係在培養上清液的等分試樣中以 γ 射線計數來測定。最大的細胞分解係藉由以洗滌劑(0.5-1%之NP-40或Triton X-100)處理而釋放的未併入之 $\text{Na}^{51}\text{CrO}_4$ 來測定。自發性背景細胞分解係在僅補體而沒有任何抗-CD70抗體存在下的孔中測定。細胞分解百分比係以(經抗-CD70抗體誘導之細胞分解 - 自發性分解)/最大的細胞分解)來計算。第二讀數為以活細胞還原的代謝染料，例如阿拉瑪藍(Alamar Blue)。在此檢定中，將標靶細胞以抗-CD70抗體與補體培育且如上述方式培育。在培育結束時，添加1/10體積的阿拉瑪藍(Biosource International, Camarillo, CA)。在37℃下於5%之 CO_2 氛圍中持續培育16小時。作為代謝活性活細胞的指標之阿拉瑪藍還原係以530 nm激發及590 nm發射之螢光計分析來測定。

第三讀數為細胞膜對碘化丙錠(propidium iodide)(PI)之滲透性。由於補體活化而於漿膜中形成的孔有助於PI進入細胞中，在此擴散至核中且結合DNA。一旦結合至DNA，顯著地增加在600 nm之PI螢光。以抗-CD70抗體及補體處理標靶細胞係如上文所述方式進行。在培育結束時，將PI添加至5 µg/ml之最終濃度中。接著將細胞懸浮液以使用488 nm氬雷射激發之流動式細胞測量術檢查。溶解之細胞係以600 nm之螢光發射來檢測。

V. 包含抗-CD70抗體之醫藥組成物及其投予

【0218】抗-CD70抗體之組成物可投予患有表現CD70之癌症或處於患有表現CD70之癌症的風險之個體。本發明進一步提供抗-CD70抗體在製造藥劑之用途，該藥劑係用於預防或治療表現CD70之癌症。如本文所使用之術語「個體」意指可投予CD70-結合劑之任何哺乳動物患者，包括例如人類和非人類哺乳動物，諸如靈長類動物、嚙齒動物和狗。尤其意欲使用本文所述之方法治療的個體包括人類。抗體可單獨或與其他組成物組合投予以預防或治療表現CD70之癌症。

【0219】已知各種遞送系統且其可用投遞抗-CD70抗體。引入之方法包括但不限於皮內、肌肉內、腹膜內、靜脈內、皮下、鼻內、硬膜上和經口途徑。抗-CD70抗體可例如藉由輸注或大劑量注射(例如靜脈內或皮下)、藉由通過上皮或黏膜內襯吸收(例如經口黏膜、直腸和腸黏膜及

類似者)來投予且可與其他的生物活性劑(諸如化學治療劑)一起投予。投予可為全身性或局部。在一個實施態樣中，本文所述之抗-CD70抗體係經胃腸外投予。胃腸外投予係指除了經常以注射的腸內及局部投予以外的投予模式且包括表皮、靜脈內、肌肉內、動脈內、鞘內、關節囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、腱內、經氣管、皮下、角質層下、關節內、囊膜下、蛛膜下、脊椎內、顱內、胸腔內、硬膜上和胸骨內注射和輸注。在一些實施態樣中，本文所述之抗-CD70抗體的投予途徑為靜脈內注射或輸注。在一些實施態樣中，本文所述之抗-CD70抗體的投予途徑為靜脈內輸注。

【0220】在特定的實施態樣中，抗-CD70抗體組成物係藉助於導管、藉助於栓劑或藉助於植入物而以注射投予，該植入物為多孔、無孔或凝膠狀材料，包括膜，諸如賽萊(sialastic)膜或纖維。通常當投予組成物時，使用不吸收抗-CD70抗體的材料。

【0221】抗-CD70抗體可作為包含治療有效量的抗體及一或多種醫藥上可相容的成分之醫藥組成物投予。例如，醫藥組成物通常包括一或多種醫藥載劑(例如無菌液體，諸如水和油，包括石油、動物、植物或合成來源之油，諸如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油及類似者)。當醫藥組成物係經靜脈內投予時，水為更典型的載劑。亦可使用鹽水溶液及右旋糖和甘油水溶液作為液體載劑，特別用於可注射溶液。適合的醫藥賦形劑包括例如澱粉、葡

萄糖、乳糖、蔗糖、明膠、麥芽、稻米、麵粉、白堊、矽膠、硬脂酸鈉、單硬脂酸甘油酯、滑石、氯化鈉、脫脂奶粉、甘油、丙烯、二醇、水、乙醇及類似者。若需要，組合物亦可含有少量潤濕劑或乳化劑、或pH緩衝劑。該等組合物可呈溶液、懸浮液、乳液、錠劑、丸劑、膠囊、粉劑、持續型釋放調配物及類似者。組成物可以傳統的結合劑及載劑(諸如三酸甘油酯)調配成栓劑。經口調配物可包括標準的載劑，諸如醫藥級甘露糖醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、纖維素、碳酸鎂等。適合的醫藥載體的實例說明於“Remington’s Pharmaceutical Sciences” by E.W. Martin中。此等組成物含有治療有效量的蛋白質(通常為純化形式)與適量的載劑，以便對患者提供適當的投予形式。調配物對應於投予模式。

【0222】在典型的實施態樣中，醫藥組成物係依照常規程序調配成適合於靜脈內投予人類的醫藥組成物。用於靜脈內投予之組成物通常為無菌等滲水性緩衝液中的溶液。在必要時，醫藥亦可包含增溶劑和局部麻醉劑，諸如利多卡因(lignocaine)，在注射位點減輕疼痛。該等成分通常單獨或混合在一起以單位劑量形式供應，例如在一個密封的容器中(諸如指示活性劑的量的安瓿或囊袋(sachette))以乾燥的凍乾粉末或無水濃縮物的形式。在醫藥係以輸注投予的情況下，其可以含有醫藥級無菌水或鹽水的輸注瓶施行。在醫藥係以注射投予的情況下，可提供注射用無菌水或鹽水的安瓿，使得成分可在投予前混合。

【0223】再者，醫藥組成物可以醫藥套組提供，該套組包含(a)含有呈凍乾形式的抗-CD70抗體之容器，及(b)含有用於注射之醫藥上可接受的稀釋劑(例如無菌水)之第二容器。醫藥上可接受的稀釋劑可用於凍乾的抗-CD70抗體之重組或稀釋。此等容器視需要地附有由管理醫藥或生物產品之製造、使用或銷售之政府機構所規定之形式的告示，該告示反映由該政府機構核准用於人類投予之製造、使用或銷售。

【0224】有效治療或預防表現CD70之癌症的抗-CD70抗體的量可由標準的臨床技術確定。另外，可視需要地使用試管內檢定法幫助鑑定最優化的劑量範圍。在調配物中使用的精確劑量亦取決於投予途徑及表現CD70之癌症的階段，且應根據醫師的判斷及各患者的情況來決定。有效的劑量可自試管內或動物模式試驗系統導出之劑量-反應曲線推算。

【0225】例如，抗-CD70抗體之毒性及治療效力可於細胞培養物或實驗動物中以用於測定LD₅₀ (使50%之族群致死的劑量)及ED₅₀ (50%之族群中治療有效的劑量)之標準的醫藥程序確定。在毒性與治療效應之間的劑量比為治療指數且其可以LD₅₀/ED₅₀之比表示。以展現大的治療指數之抗-CD70抗體較佳。在抗-CD70抗體展現毒性副作用的情況下，可使用靶向抗-CD70抗體至受影響之組織位點的遞送系統，對不表現CD70之細胞可能的損害減至最低且從而降低副作用。

【0226】自細胞培養檢定法及動物研究所獲得的數據可用於調配用於人類的劑量範圍。抗-CD70抗體的劑量通常位於循環濃度的範圍內，其包括低毒性或無毒性的ED₅₀。劑量可在取決於所使用的劑型及所利用的投予途徑而定的此範圍內改變。在本方法中所使用之抗-CD70抗體的治療有效劑量最初可自細胞培養檢定法估算。可在動物模式中調配劑量以達到循環血漿濃度範圍，其包括如在細胞培養中所測定的IC₅₀（亦即達到症狀最大抑制一半的試驗化合物濃度）。此訊息可用於更準確地確定在人類中有用的劑量。在血漿中的濃度可以例如高性能液相層析術測量。

【0227】對患有表現CD70之癌症的患者投予之抗-CD70抗體的劑量通常為約0.1 mg/kg至100 mg/kg個體體重。投予個體的劑量更典型為0.1 mg/kg至50 mg/kg個體體重，甚至更典型為1 mg/kg至30 mg/kg、1 mg/kg至20 mg/kg、1 mg/kg至15 mg/kg、1 mg/kg至12 mg/kg、1 mg/kg至10 mg/kg、或1 mg/kg至7.5 mg/kg個體體重。在一些實施態樣中，抗-CD70抗體的劑量為1.5 mg/kg。在一些實施態樣中，劑量為5 mg/kg。在一些實施態樣中，劑量為10 mg/kg。在一些實施態樣中，劑量為20 mg/kg。人類抗體通常在人體中具有比來自其他物種之抗體更長的半生期，其係由於對外來蛋白質的免疫反應。因此，時常有可能以較低劑量及較少投予頻率的包含人源化或嵌合抗體之抗-CD70抗體。

【0228】抗-CD70抗體劑量的投予可以例如每天一次、每週(per week)(每週(weekly))一次、每週兩次、每週三次、每週四次、每週五次、每兩週一次、每月一次或必要時以其他方式。

【0229】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體的劑量係對應於次優化劑量(亦即低於抗-CD70抗體之 EC_{50})。例如，抗-CD70抗體的劑量可包含選自最低25%、最低15%、最低10%或最低5%之治療範圍的劑量。如本文所使用之術語「治療範圍」係指在身體系統中提供安全且有效治療的藥物劑量或其濃度的範圍。

【0230】在一些實施態樣中，抗-CD70抗體的劑量為約0.05 mg/kg至約1 mg/kg、或約0.1 mg/kg至約0.9 mg/kg、或約0.15至約0.75 mg/kg個體體重。此劑量可以每週投予1至約15次。各劑量可相同或不同。例如，約0.15 mg/kg之抗-CD70抗體劑量可以每四天、五天、六天或七天期間內投予1至10次。

【0231】在一些實施態樣中，包含抗-CD70抗體之醫藥組成物可另外包含治療劑(例如非共軛之細胞毒性劑或免疫調節劑，諸如那些本文所述中任一者)。抗-CD70結合劑亦可與一或多種用於治療或預防表現CD70之癌症的治療劑組合共同投予。例如，組合療法可包括治療劑(例如抑制細胞、細胞毒性或免疫調節劑，諸如非共軛之抑制細胞、細胞毒性或免疫調節劑，諸如那些照慣例用於治療癌症之劑)。組合療法亦可包括例如投予靶向在活化之淋巴

細胞、樹狀細胞或表現 CD70 之癌症細胞的表面上除了 CD70 以外的受體或受體複合物之劑。此劑的實例包括與活化之淋巴細胞、樹狀細胞或表現 CD70 之癌症細胞的表面的分子結合之第二非 -CD70 抗體。另一實例包括靶向此種受體或受體複合物之配體。此種抗體或配體通常與活化之淋巴細胞、樹狀細胞或表現 CD70 之癌症細胞上的細胞表面受體結合，且藉由遞送抑制細胞或細胞毒性信號至活化之淋巴細胞、樹狀細胞或表現 CD70 之癌症細胞而增強抗 -CD70 抗體之細胞毒性或抑制細胞效應。此種組合投予可對疾病參數具有相加或協同效應(例如症狀的嚴重性、症狀的數量或復發的頻率)。另一實例包括低甲基化劑 (HMA)。在一些實施態樣中，HMA 為阿扎胞苷 (VIDAZA®)。另一實例包括 BH3-擬似物。另一實例包括維托拉斯 (VENCLEXTA®)。在一些實施態樣中，醫藥組成物包含抗 -CD70 抗體、HMA 及 BH3-擬似物。在一些實施態樣中，醫藥組成物包含抗 -CD70 抗體、HMA 及維托拉斯。在一些實施態樣中，醫藥組成物包含抗 -CD70 抗體、阿扎胞苷及 BH3-擬似物。在一些實施態樣中，醫藥組成物包含抗 -CD70 抗體、阿扎胞苷及維托拉斯。

【0232】關於組合療法的治療方案，在特定的實施態樣中，抗 -CD70 抗體係與治療劑同時投予。在另一特定的實施態樣中，治療劑係在投予抗 -CD70 抗體前或後至少 1 小時及至多數個月投予，例如在投予抗 -CD70 抗體前或後至少 1 小時、5 小時、12 小時、一天、一週、一個月或三個

月。在一些實施態樣中，在投予抗-CD70抗體及視需要的治療劑後監測個體。

VI. 製品(Article of Manufacture)及套組

【0233】在另一態樣中，提供製品或套組，其包含本文所述之抗-CD70抗體。製品或套組可另外包含在本發明之方法中使用本文所述之抗-CD70抗體的用法說明。因此，在特定的實施態樣中，製品或套組包含在治療個體的癌症(例如骨髓性惡性腫瘤)之方法中使用本文所述之抗-CD70抗體的用法說明，該方法包含對個體投予有效量的本文所述之抗-CD70抗體。在一些實施態樣中，癌症為MDS。在一些實施態樣中，癌症為AML。在一些實施態樣中，癌症為復發性或頑抗性癌症。在一些實施態樣中，個體為人類。

【0234】製品或套組可另外包含容器。適合的容器包括例如瓶子、小瓶(例如雙室小瓶)、注射器(諸如單室或雙室注射器)及試管。在一些實施態樣中，容器為小瓶。容器可自多種材料形成，諸如玻璃或塑膠。以容器容納調配物。

【0235】製品或套組可另外包含標籤或藥品仿單，其在容器上或與容器結合，可以標示重組及/或使用調配物的指示。標籤或藥品仿單可另外標示調配物可用於或意欲用於皮下、靜脈內(例如靜脈內輸注)或其他投予模式以治療個體的癌症。容納調配物的容器可為一次性使用的小

瓶或多次性使用的小瓶，其容許重複投予重組的調配物。製品或套組可另外包含第二容器，其包含適合的稀釋劑。製品或套組可另外包括自商業、治療及使用者觀點而期望的其他材料，包括其他的緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針、注射器及用法說明的藥品仿單。

【0236】製品或套組在本文可視需要地另外包含裝入第二藥劑的容器，其中抗-CD70抗體為第一藥劑，且其製品或套組另外包含在標籤或藥品仿單上用於以有效量的第二藥劑治療個體的用法說明。在一些實施態樣中，以標籤或藥品仿單標示第一及第二藥劑係依序或同時投予。

【0237】在一些實施態樣中，本文所述之抗-CD70抗體係以凍乾的粉末存在於容器中。在一些實施態樣中，凍乾的粉末係於密封的容器中，諸如小瓶、胺瓶、安瓿或囊袋，標示活性劑的量。在醫藥係以注射投予的情況下，可例如視需要地提供用於注射的無菌水或鹽水的安瓿作為套組的一部分，使得成分可在投予前混合。若需要時，此等套組可另外包括各種慣例的醫藥組分中之一或多者，諸如具有一或多種醫藥上可接受的載劑之容器、額外的容器等，這為那些熟習本技術領域者顯而易見的。作為仿單或標籤的印製之用法說明亦包括在套組中，其標示欲投予之組分量、投予指導及/或混合組分之指導。

【0238】本發明係藉由參考下列的實施例而更充分地理解。然而，不應將該等實施例解釋為限制本發明之範圍。應理解本文所述之實施例及實施態樣僅以例證為目

的，及各種修改或變化係由熟習本技術領域者依照該等實施例及實施態樣而提出且包括在本申請案的精神和權限範圍內及所附之申請專利的範圍內。

實施例

實施例 1：SEA-CD70與Fc γ 受體結合之評估

【0239】單核細胞、巨噬細胞、嗜中性球、樹狀細胞及NK細胞可於活體內經由Fc γ RI、Fc γ RIIa和Fc γ RIIIa媒介ADCP（經抗體依賴性細胞媒介之吞噬作用）及ADCC（經抗體依賴性細胞媒介之細胞毒性）。儘管所有三種受體皆可參與ADCP，但咸信Fc γ RIIIa為涉及ADCC之優勢的Fc γ 受體。IgG₁抗體之非海藻糖苷化導致與Fc γ RIIIa和b較高的親和性結合且因此可增加ADCC及ADCP活性。

【0240】SEA-CD70（非海藻糖苷化hIF6）為靶向CD70之人源化、非海藻糖苷化單株抗體，其係由Seattle Genetics開發，用於患有頑抗性及/或復發性急性骨髓性白血病(AML)或骨髓發育不良症候群(MDS)之患者，其沒有現行的標準護理存在。SEA-CD70為結合CD70之人源化單株IgG1抗體。SEA-CD70為非海藻糖苷化抗體，其以比海藻糖苷化親體抗體SGN-70（hIF6）更高的親和性與Fc γ RIIIa結合且經由CDC、ADCP及擴增之ADCC誘出增加CD70陽性細胞的經靶向毒殺。

【0241】使用生物膜干涉法(BLI)評定SGN-70及SEA-CD70與Fc γ R I、IIa、IIIa、IIb和FcRN之結合動力學。圖1

顯示 SGN-70 (被標記為 h1F6 WT) 及 SEA-70 (被標記為 h1F6 SEA) 與 Fc γ RI、IIa、IIIa、IIb 和 FcRN 結合的感測圖。

【 0242 】 與 人 類 Fc γ RI、Fc γ RIIa H131、Fc γ RIIa R131、Fc γ RIIIa F158 和 Fc γ RIIIa V158 之 SGN-70 及 SEA-CD70 結合動力學係以 BLI 評定。參數列示於表 1 中。在緩衝液 A (0.1% 之牛血清白蛋白 [BSA]、0.02% 之 Tween20、1 $\times$ 磷酸鹽緩衝鹽水 [PBS] pH 7.4) 中進行 100 秒感測器檢查後，將經生物素化 avi-標籤化之人類 Fc γ R-單體 Fc N297A LALA-PG 及 Fc 受體新生 (FcRN) 單體 Fc N297A IHH 融合蛋白質 (由 Seattle Genetics 設計及表現) 裝載至高精度鏈黴親和素 (streptavidin) 生物感測器 (ForteBio) 上，介於 0.3 至 1 nm 之間反應。在另一基線測量後，將滴定之抗體分別對 Fc γ RI、IIa、IIIa、FcRN pH 6 及 FcRN pH 7.4 經 600、10、100、50 和 10 秒締合及在緩衝液 B (1% 之酪蛋白、0.2% 之 Tween20、1 $\times$ PBS pH 7.4) 中經 1000、50、100、500 和 50 秒解離。在分析前，在各檢定中減去參考值。所有的感測圖係在締合及步驟間的解離校正開始時以 Y 軸對準處理。使用 1 : 1 之朗繆爾 (Langmuir) 等溫線整體適配度模式擬合曲線。

表1：用於SGN-70及SEA-CD70之BLI結合規程的參數

生物感測器：	SAX		
探針 (固定)：	hCD64 P2 mFc.67 N297A LALA-PG avi E143815	(40 µg/mL, 750 s 裝載)	裝配締合600 s。 解離1000 s。
	hFcγR 2a H131 mFc.67 N297A LALAPG avi 生物素 E142954	(4 µg/mL, 400 s 裝載)	裝配締合10 s。 解離3 s。
	hFcγR 2a R131 mFc.67 N297A LALAPG avi 生物素 E142954	(4 µg/mL, 400 s 裝載)	裝配締合10 s。 解離3 s。
	hFcγR 2b mFc.67 N297A LALAPG avi 生物素 E142954	(1 µg/mL), 400 s 裝載)	裝配締合10 s。 解離10 s。
	hFcγR 3a F158 mFc.67 N297A LALAPG avi 生物素 E142954	(2 µg/mL, 400 s 裝載)	裝配締合100 s。 解離20 s。
	hFcγR 3a V158 mFc.67 N297A LALAPG avi 生物素 E142954	(2 µg/mL, 400 s 裝載)	裝配締合100 s。 解離10 s。
	hFcRN mFc.67 N297A IHH avi 生物素 E143815-01	(5 µg/mL, 400 s 裝載)	裝配締合50 s。 解離50 s，pH 6 (10 s & 3-4 s， pH 7.4)
分析物 (滴定)：	h1F6 WT	E133368-02	
	h1F6 SEA	E133368-01	
固定緩衝液：	0.1%之BSA; 0.02%之Tween20 ; 1×PBS pH 7.4		
動力緩衝液：	1%之酪蛋白；0.2% Tween20；1×PBS pH 7.4 (hFcγR's)；1% 之BSA、0.2%之Tween20、磷酸鹽-檸檬酸鹽緩衝液pH 6.09 (hFcRN pH 6)、磷酸鹽-檸檬酸鹽緩衝液pH 7.46 (hFcRN pH 7.4)		
擬合參數：	整體(組，完整) 1：1； Rmax感測器未連結	(在分析前 減去參考值)	

BLI=生物膜干涉法；BSA=牛血清白蛋白；FcRN=Fc受體新生；PBS=磷酸鹽緩衝鹽水；s=秒。

【0243】人類CD70親和性係使用表2中列舉的參數以BLI測定。在緩衝液A (0.1%之BSA、0.02%之Tween20、1×PBS pH 7.4)中的基線測量係在以購自ForteBio之AHC (抗-Fc)生物感測器在固定於6 µg/mL之抗體57秒前及後取得。在緩衝液B (1%之酪蛋白、0.2%之Tween20、1×PBS pH 7.4)中取得第二基線後，將滴定之hCD70分析物經600秒締合及在緩衝液B中經1000秒解離。hCD70抗原係購自R&D (目錄編號9328-CL，批號DGSR0217071)且使用1.5倍莫耳

過量的購自 Thermo Fisher Scientific (目錄編號 20217，批號 SI249775)之 EZ-連結 N-羥基琥珀醯亞胺基生物素進行生物素化。

表2：用於人類CD70之BLI結合規程的參數

生物感測器：	ACH (抗-Fc)		
探針 (固定)：	hCD70生物素 E131664-01	(6 µg/mL, 57 s 裝載)	裝配締合600 s。 解離1000 s。
分析物 (滴定)：	h1F6 WT	E133368-03	33.3, 11.1, 3.7, 1.2, 0.4, 0.1 nM
	h1F6 SEA	E133368-01	33.3, 11.1, 3.7, 1.2, 0.4, 0.1 nM
固定緩衝液：	0.1%之BSA; 0.02%之Tween20; 1×PBS pH 7.4		
動力緩衝液：	1%之酪蛋白; 0.2%之Tween20; 1×PBS pH 7.4		
擬合參數：	整體(組，完整) 1：1； Rmax感測器未連結	(在分析前 減去參考值)	

BSA=牛血清白蛋白；PBS=磷酸鹽緩衝鹽水；s=秒。

【0244】SEA-CD70及SGN-70與hFcγRI和IIa結合具有類似的締合-解離速率。然而，SEA-CD70展現與FcγRIIIA之結合親和性比SGN-70更高。進行BLI實驗以檢查SEA-CD70及SGN-70之締合-解離速率及對FcγRI、FcγRIIa (H/H高親和性和R/R低親和性對偶基因)和FcγRIIIa (F/F低親和性和V/V高親和性對偶基因)之結合親和性。亦執行對FcRn之結合動力學且發現SEA-CD70及SGN-70以類似的動力學及親和性結合。

【0245】使用生物膜干涉法(BLI)評定SGN-70及SEA-CD70對高親和性FcγRIIIa (158V)受體變異體之結合動力學(表3)。SEA-CD70之非海藻糖苷化主幹對FcγRIIIa (158V)受體展現8倍的結合親和性增加。在緩衝液A (0.1%之BSA、0.02%之Tween20、1×PBS pH 7.4)中進行200至300秒

感測器檢查後，將經生物素化 avi-標籤化之人類 FcγR-單體 Fc N297A LALA-PG及FcRN單體 Fc N297A IHH融合蛋白質 (由 Seattle Genetics設計及表現)裝載至高精度鏈黴親和素生物感測器 (ForteBio)上，介於 0.3與 1 nm之間反應。在第二基線後，將滴定之 SEA-CD70或SGN-70抗體締合，直到最高濃度達到平衡及解離，直到反應接近基線。在分析前，在各檢定中減去參考值。所有的感測圖係在締合及步驟間的解離校正開始時以 Y軸對準處理。使用 1:1之朗繆爾等溫線整體適配度模式擬合曲線。

表3. 以BLI之SGN-70及SEA-CD70 FcγRIIIa結合的動力學參數

	抗體	K _D (M)	k _{on} (1/Ms)	k _{off} (1/s)	χ ²	K _D 誤差	k _{on} 誤差	k _{off} 誤差
hFcγRIIIa V158	SGN-70	8.60×10 ⁻⁷	4.6×10 ⁴	4.0×10 ⁻²	1.3	1.73×10 ⁻⁸	8.00×10 ²	3.93×10 ⁻⁴
	SEA-CD70	1.10×10 ⁻⁷	2.1×10 ⁵	2.2×10 ⁻²	0.4	9.69×10 ⁻¹⁰	1.68×10 ³	1.02×10 ⁻⁴

K_D = 平衡解離常數；k_{off} = 解離速率常數；k_{on} = 締合速率常數。

實施例 2：藉由流動式細胞測量術之 SGN-70及SEA-CD70與 hFcγRIIIa和 cFcγRIIIa之結合

【0246】儘管使用 BLI方法藉由監測結合動力學來評定受體親和力，但其主要設定於監測單價結合。為了加入 BLI數據集，亦執行流動式細胞測量術(圖 2A和 2B)。轉形 CHO細胞以過度表現高親和性人類 FcγRIIIa受體(158V)(圖 2A)或石蟹獼猴 FcγRIIIa受體(圖 2B)，且執行非海藻糖苷化抗體 SEA-CD70 (被標記為 SEA-70)或親體海藻糖苷化抗體 SGN-70之結合。如在 BLI實驗中的觀察，非海藻糖苷化抗體 SEA-CD70與人類和石蟹獼猴 FcγRIIIa兩者結合之親和性

比SGN-70更高。

【0247】CHO-FcγRIIIa結合檢定法係如下方式進行：

1. 解凍細胞：細胞係在2019年6月11日解凍且在培養基中培養1週以自凍融恢復。

數據 Vi-CELL XR2.04, Beckman Coulter, Inc.

樣品 ID	稀釋因數	樣品日期	活細胞	活細胞 /mL (×10 ⁶)	平均直徑 (微米)
CHO-FcγRIIIa	1.0	2019年6月20日， 12:17:42 PM	1584	1.81	18.17
CHO-cynoFcγIII	1.0	2019年6月20日， 12:18:57 PM	1241	1.42	15.30

2. 清洗：將6千萬個細胞在50-mL試管中於PBS清洗1×。細胞再計數且以2.2×10⁶/mL再懸浮。接著每一孔移取0.1 mL。

3. 製造抗體的10×稀釋液：製備10×稀釋液(3 mg/ mL、1 mg/mL、0.3 mg/mL、0.1 mg/mL、0.03 mg/mL、0.01 mg/mL、0.003 mg/mL、0.001 mg/mL和0.0003 mg/mL於稀釋盤中)。

抗體	批號	濃度 (mg/mL)	15個孔 (3×5) 具有3000 μg/mL之 330 μL	容積 緩衝液 (PBS)	15個孔 (3×5) 具有1000 μg/mL之 330 μL	容積 緩衝液 (PBS)
SGN-70	GZG002	25	0.040	0.290	0.013	0.317
SEA-CD70	145567	25	0.040	0.290	0.013	0.317
SGN-h00	E12057-01	10.4	0.095	0.235	0.032	0.298
SEA-h00	1913-020A	10	0.099	0.231	0.033	0.297

PBS = 磷酸鹽緩衝鹽水。

4. 抽吸：將清洗液抽吸至孔中且以多道吸管移取100 μL對應抗體稀釋液。對應濃度為一式三份的300、100、30、10、3、1、0.03、0.01、0.003、0.001和0.0003 μg/mL。濃度係於96孔圓底盤垂直向下降低。

5. 渦旋：在用力敲打盤的各側面後，使用渦旋儀輕輕混合。接著將盤在4℃下培育1小時。

6. 離心：將細胞離心，抽吸且在每一孔200 µL之1×BD染色緩衝液中清洗。在最後一次清洗抽吸後，將盤在渦旋儀上渦旋而使細胞再懸浮。

7. 製備抗體：抗-人類IgG-PE (Jackson，目錄編號109-116-170)係藉由以1：50稀釋1 mg/mL之濃縮物而製備，得到33 µg/mL之飽和濃度。抗體混合物係藉由輕敲盤的側面而充分混合。將混合物在冷凍機(4℃)中於暗處培育30分鐘。

8. 清洗：將混合物離心。接著抽吸上清液。將各孔以200 µL之2×BD染色緩衝液清洗。

9. 分析樣品：將樣品在Attune上以高通量採樣器(HTS)模式藉由流動式細胞測量術分析。標繪中位數螢光強度(MFI)(幾何平均值)且以PRIZM計算各者的平衡解離常數(K_D)。

實施例3：在AML CD70+細胞中的SEA-CD70及SGN-70之ADCC

【0248】儘管SGN-70未直接誘導CD70陽性標靶細胞中的細胞凋亡，但是SEA-CD70確實媒介可能導致標靶陽性細胞消除之效應子功能。在使用PBMC作為天然殺手(NK)細胞來源之標準的ADCC檢定法中，SEA-CD70係以劑量依賴方式誘導兩種CD70陽性AML細胞株裂解，而未結

合之對照人類IgG未達到裂解。該等實驗證明SEA-CD70具有比SGN-CD70抗體更高的抗體依賴性細胞性細胞毒性活性。

【0249】ADCC活性係使用兩種作為ADCC標靶之CD70+AML細胞株評估(圖3A和3B)。將AML細胞株、MOLM-13(圖3A)及NOMO-1(圖3B)標記且與滴定的試驗抗體或同型對照物混合。將效應子細胞使用EasySep人類NK細胞富集套組(Stem Cell Technologies)自冷凍保存的正常供體PBMC中單離。將效應子細胞以10:1之效應子細胞對標靶細胞之比添加(25,000:250,000)。在4-h培育後,計算百分比特定的細胞裂解。

【0250】將AML細胞株在適當的生長培養基中生長,同時在37℃下於5%之CO₂中培育。將懸浮之細胞使用ViCell XR細胞計數器計數。將所需之細胞體積與新鮮生長培養基混合且以0.5 M/mL之接種密度鋪置。

【0251】使用下列的規程評定ADCC活性:

1. 將兩個小瓶的huPBMC在37℃之水浴中解凍且再懸浮於1%之FBS-RPMI培養基中。將細胞旋轉且接著將NK細胞使用EasySep人類NK細胞富集套組遵照製造商的規程單離。

2. 抗體滴定係使用2 µg/mL之起始濃度(工作濃度6 µg/mL)及在1%之FBS-RPMI培養基中自10x稀釋至20 pg/mL之SGN-70及SEA-CD70抗體進行。

3. 將標靶腫瘤細胞(MOLM-3或NOMO-1)在1%之FBS-

RPMI中以 50 μ L/孔鋪置於 96 孔圓底盤中。接著將抗體稀釋液及同型對照物以 50 μ L/孔鋪置於相同的盤中。接著將分離之 NK 效應子細胞以 1 : 10 之比的腫瘤 : NK 細胞在 1% 之 FBS-RPMI 培養基中以 50 μ L/孔鋪置於相同的 96 孔圓底盤中。

4. 加入對照孔且以培養基加至 150 μ L 總體積。

5. 將試驗盤在 37°C 下於 5% 之 CO₂ 的培育器中培育 4 小時。當剩下 45 分鐘培育時間時，將 15 μ L/孔之裂解溶液添加至最大裂解對照孔中且放回培育器中進行 4 小時培育的剩餘時間。

6. 將試驗盤以 250xg 離心旋轉 4 min 且將來自各孔的 50 μ L 上清液轉移至新的平底透明盤中。

7. 將 CytoTox 96 試劑以 50 μ L/孔添加且在室溫下於暗處培育 30 min。接著將停止溶液以 50 μ L/孔添加至所有的孔中。

8. 每孔的吸光度係使用 SpectraMax 190 讀盤儀在 490 nm 下測量且將採集的值轉換成文檔及輸出到 Excel 和 GraphPad Prism 以進一步數據分析。

9. 細胞毒性係以減去背景及藉由裂解溶液處理所達成的最大裂解百分比來報告。

實施例 4：SGN-70 及 SEA-CD70 對調節性 T 細胞的影響

【0252】為了評估 SEA-CD70 對 CD70+ T 細胞耗竭的效應，將含有初始、記憶及 Treg 亞群之 PBMC 以濃度漸增的

SGN-70或SEA-CD70處理24小時。在實驗結束時，將細胞以Zombie Aqua存活力染料染色且評定活的Treg初始及記憶CD4和CD8T細胞總數目。耗竭評定係以低親和性FcγRIIIa受體(F/F 158)之供體純合子(圖4C和4D)或高親和性FcγRIIIa受體(V/V 158)之純合子(圖4A和4B)執行。靶向TIGIT之海藻糖苷化(WT植株13 IgG1)及非海藻糖苷化(SEA植株13 IgG1)抗體被用作為陽性對照物(圖4E至4H)。無一CD70靶向之抗體誘導低親和性F/F 158供體(圖4C)中的T調節性細胞耗竭。當使用V/V高親和性供體時，海藻糖苷化抗-CD70抗體(被標記為SGN-CD70)導致T調節性細胞耗竭，然而驚訝的是非海藻糖苷化抗體SEA-CD70在對CD70+AML細胞株具有增加的ADCC活性同時，不誘導Treg細胞耗竭(圖4A)。海藻糖苷化或非海藻糖苷化抗-CD70抗體皆不耗竭CD8+細胞，不論是否使用V/V高親和性供體(圖4B)或低親和性供體(圖4D)。

【0253】與靶向CD70之抗體的觀察相反，當使用V/V高親和性供體(圖4E)或低親和性供體(圖4G)時，非海藻糖苷化抗-TIGIT抗體(被標記為SEA植株13 IgG1)耗竭Treg細胞的程度大於海藻糖苷化抗-TIGIT抗體(被標記為WT植株13 IgG1)。

【0254】與SGN-70相比，以SEA-CD70使Treg耗竭缺乏令人驚訝，不僅鑑於比較海藻糖苷化及非海藻糖苷化抗-TIGIT抗體的結果，且亦鑑於報告其他非海藻糖苷化抗體的活性之公開案。例如，US 2019/0284287證明非海藻糖

昔化抗-CD25抗體具有更大的ADCC活性，導致經誘導之Treg (iTreg)比對應的海藻糖昔化抗-CD25抗體有更大的裂解及耗竭。同樣地，美國專利案第10,196,445號證明非海藻糖昔化抗-CTLA4抗體導致Treg之裂解及耗竭，而對應的海藻糖昔化抗-CTLA4抗體則否。

【0255】已顯示Treg之耗竭可具有負面的後果且甚至可能致命的後果。例如，已證明使用白喉毒素耗竭Treg在兩種小鼠模式中導致嚴重的自體免疫性疾患。參見Kim等人，(2009) *J. Immunol.* 183:7631-7634。此外，Treg細胞群之急性剝離導致末期自體免疫性疾病。參見Kim等人，(2007) *Nat. Immunol.* 8(2):191-7。

實施例5：SEA-CD70在患有骨髓性惡性腫瘤的患者中之第I期臨床研究

【0256】此為第1期、開放標籤、多中心、劑量遞增及群組擴展研究，設計此研究以評估SEA-CD70在患有骨髓性惡性腫瘤的成人中的安全性、耐受性、藥物動力學(PK)及抗腫瘤活性。在本文評估SEA-CD70在患有骨髓性惡性腫瘤(諸如骨髓發育不良症候群(MDS)和急性骨髓性白血病(AML))的患者中的安全性及效力。此試驗評估發生哪些副作用及SEA-CD70是否有效治療MDS和AML。

【0257】研究具有三部分，共入選60位個體。A部分為劑量遞增群組，設計此部分以鑑定SEA-CD70單一療法在患有復發性/頑抗性MDS的個體(諸如以低甲基化劑治療

失敗(HMA失敗)後)中的最大耐受劑量(MTD)或建議的擴展劑量。B部分為擴展群組，設計此部分以評估SEA-CD70單一療法在患有復發性/頑抗性MDS的個體(諸如在HMA失敗後)中的安全性及耐受性。C部分為擴展群組，設計此部分以評估SEA-CD70單一療法在患有復發性/頑抗性AML的個體中的安全性及耐受性。入選此試驗的個體為 ≥ 18 歲且同時包括男性和女性個體。SEA-CD70係在各治療週期的第1天及第15天投予。所有的治療組分係經靜脈內投予。入選試驗的個體之納入準則及排除準則顯示於表4中。

表 4. 納入及排除準則之列表

納入準則	A 部分的納入準則 • 根據世界衛生組織(WHO)分類具有如下經細胞學/組織學確診之骨髓發育不良症候群(MDS)的個體： ○ 5%至 20%之骨髓胚細胞。 ○ MDS，為復發性或頑抗性且不得具有其他已知可用於 MDS 中提供臨床效益的治療選擇。 ○ 在先前用於 MDS 之低甲基化劑(HMA)療法後治療失敗，如下列中任一者所定義： ▪ 在開始 HMA 療法後的任何時間進展(按照 2006 年國際工作組[IWG]準則)。 ▪ 在至少 6 個週期的阿扎胞苷或 4 個週期的地西他濱後缺乏反應(按照 2006 年 IWG 準則，無法能達到完全緩解[CR]，部分反應[PR]或血液學改善 [HI])。 ▪ 在達到 CR、PR 或 HI 後復發(按照 2006 年 IWG 準則)。 ▪ HMA 的不耐受性(導致治療中斷的 3 級或更高的非血液學毒性)。 ▪ 患有獨立的 5q-/5q-症候群的個體除了 HMA 以外，亦必須進展、失敗、復發或不耐受來那度胺(lenalidomide)。 • 必須停止所有用於 MDS 的治療≥ 4 週；在研究前及期間容許如臨床指示的生長因子及輸血。 • 0 至 1 的美國東岸癌症臨床研究合作組織(Eastern Cooperative Oncology Group)(ECOG)體能狀態 B 部分的納入準則 • 根據 WHO 分類具有如下經細胞學/組織學確診之 MDS 的個體： ○ 5%至 20%之骨髓胚細胞。 ○ MDS，為復發性或頑抗性且不得具有其他已知可用於 MDS 中提供臨床效益的治療選擇。 ○ 在先前用於 MDS 之 HMA 療法後治療失敗，如下列中任一者所定義： ▪ 在開始 HMA 療法後的任何時間進展(按照 2006 年 IWG 準則)。
-------------	---

	▪ 在至少 6 個週期的阿扎胞苷或 4 個週期的地西他濱後缺乏反應(按照 2006 年 IWG 準則，無法能達到 CR、PR 或 HI)。 ▪ 在達到 CR、PR 或 HI 後復發(按照 2006 年 IWG 準則)。 ▪ HMA 的不耐受性(導致治療中斷的 3 級或更高的非血液學毒性)。 ▪ 患有獨立的 5q-/5q-症候群的個體除了 HMA 以外，亦必須進展、失敗、復發或不耐受來那度胺。 • 必須停止所有用於 MDS(包括 HMA)的治療≥ 4 週；在研究前及期間容許如臨床指示的生長因子(例如，G-CSF、紅血球生成素及血小板生成素)及輸血。 • 至少一種血球減少症(絕對嗜中性球計數[ANC] <1800/μL 或血小板計數<100,000/μL 或血紅素[Hgb] <10 g/dL)。 • 0 至 2 之 ECOG 體能狀態 C 部分的納入準則 • 患有根據 WHO 2016 年分類的復發性或頑抗性急性骨髓性白血病(AML)的個體(除了急性前骨髓性白血病[APL]以外)： ◦ 其接受過 2 或 3 種既往方案以治療活動性疾病。緩解後的治療、鞘內化療法及放射療法不被視為既往方案。 ◦ 其接受過 1 種既往方案以治療活動性疾病且具有下列中任一者： ▪ 年齡> 60 及≤75 歲。 ▪ 原發性 AML 抗性(定義為 1 至 2 個療程的誘導治療後無法達到 CR)。 ▪ 在<6 個月期間內第一次 CR。 ▪ 按照歐洲白血病網(LeukemiaNet)(ELN)遺傳風險分層(Dohner 2017)的不良風險 ▪ 繼發性 AML (與 MDS 或治療有關的先前病史) • 年齡 18 至 75 歲 • 0 至 2 的 ECOG 體能狀態
排除準則	• 在首次的研究藥物劑量前 3 年內有另一惡性腫瘤的病史，或先前診斷出之惡性腫瘤有任何殘留疾病的證據。例外為具有可忽略的轉移或死亡風險的惡性腫瘤。 • 骨髓增生性腫瘤(MPN)的病史，包括慢性骨髓單核球白血病(CMML)。 • 先前暴露於靶定 CD70 之劑。

	• 出於任何狀況的先前同種異體造血幹細胞移植 • 基於影像或記錄之腦脊髓液陽性細胞學檢查的中樞神經系統白血病 • 在首次的研究治療劑量前 14 天內，任何不受控制的 3 級或更高級別的病毒、細菌或真菌感染。允許解決/控制感染之抗菌劑預防或持續治療。 • 在首次的研究治療劑量前 14 天內，經歷大手術(定義為需要全身麻醉和住院>24 小時)或重大的創傷性損傷的個體，研究員認為可能使個體處於來自研究程序的不當風險。 • 以表面抗原表現為 B 型肝炎陽性。活動性 C 型肝炎感染(在最近 6 個月內以 PCR 呈陽性或進行 C 型肝炎的抗病毒治療)。若已記錄持續 12 週的病毒學反應，則治療過 C 型肝炎感染的個體是被允許。 • 已知對人類免疫不全病毒(HIV)呈陽性。 • 已知的活動性或潛伏性結核病 • 具有臨床意義的鎌狀細胞性貧血、自體免疫性溶血性貧血或特發性血小板減少性紫癜的病史。 • 具有臨床意義的慢性肝病(例如肝硬化)及/或持續酗酒的病史。 • 在彼等首次的 SEA-CD70 劑量前 6 個月內，有記載的腦血管事件(中風或短暫性腦缺血發作)、不穩定的心絞痛、心肌梗塞或符合紐約心臟協會(New York Heart Association) III-IV 級之心臟症狀的病史。 • 在首次的 SEA-CD70 劑量前 4 週未完成化療、全身放射性療法、生物製劑、其他抗腫瘤或研究劑及/或以免疫療法的其他抗腫瘤治療。在首次的 SEA-CD70 劑量前 2 週未完成局部放射性療法。在治療前最多 24 小時可給予用於減少細胞作用的經脈或 6-巰基嘌呤。 • 個體患有下列中任一者： ◦ 在首次的 SEA-CD70 劑量的 2 週內需要以皮質類固醇(每天>10 mg 普賴蘇(prednisone)或等效物)或其他免疫抑制藥物的全身性治療之症狀。 ◦ 自先前基於免疫腫瘤學療法主動已知或懷疑具有臨床意義的自體免疫性疾病或臨床上顯著的自體免疫性相關毒性。 • 自知情同意的時間起直到最後的研究藥物劑量後 2 個月(單一療法)或 6 個月(組合療法)哺乳、懷孕或計劃懷孕的個體 • 對 SEA-CD70 之藥物調配物含有的任何賦形劑有已知的過敏反應 • 估算的預期壽命<12 週
--	--

【 0258 】 成效測量說明於表 5 中。所有的治療組分係經靜脈內投予。

表 5. 成效測量

[illegible]

實施例 6：h1F6SEA對Raji NHL 勃兒基特淋巴瘤小鼠模式中的存活率之劑量依賴性效應

【0259】研究顯示急性骨髓性白血病(AML)及骨髓生

成不良疾病(MDS)表現CD70及其受體CD27。此研究的目的是為測試反應抗CD70單株抗體SEA-CD70 (h1F6SEA)之動物存活率。動物存活率係在表現CD70之細胞異種移植小鼠模式，Raji NHL-勃兒基特模式中對投予之SEA-CD70的反應來評定。

【0260】在第0天，SCID小鼠係在尾靜脈中經靜脈內植入 1×10^6 個Raji細胞。在植入後一天，將動物隨機分成每組八隻小鼠的治療組。在經腹膜內腫瘤植入後第1天，動物係在每4天內以0.3、1和3 mg/kg之h1F6SEA每天給藥一次，共4個週期(Q4dx4)。將儲備濃縮抗體稀釋至適當的濃度且以10 μ l/g之體重注射至動物中。接著監測動物的疾病症狀。追蹤動物，直到出現疾病症狀且接著將動物安樂死。隨著時間進行動物分析且動物在顯示出疾病症狀時被犧牲。在未治療組中的動物顯示20天的中位存活期，而以0.3 mg/kg之h1F6SEA治療的動物在植入後進展至36.5天及/或3 mg/kg治療的動物在植入後進展至68和69.5天。將研究期間在各組中每一個別日子的動物總數目顯示於表6中。計算所有治療組中的動物之存活百分比(圖5)。卡普蘭-邁爾標繪圖顯示在治療與未治療的動物之間的百分比存活及在0.3 mg/kg與1或3 mg/kg之間的劑量反應顯著地增加(圖5)。在整個實驗日子對所有的治療組(包括0.3 mg/kg、1mg/kg和3 mg/kg之h1F6SEA劑量)進行百分比存活量化。與未治療的小鼠相比，以h1F6SEA治療的小鼠增加存活(圖5)。

表6. h1F6SEA在Raji NHL 勃兒基特淋巴瘤模式中的抗腫瘤活性之卡普蘭-邁爾結果

天數	未治療	h1F6SEA .3 mg/kg	h1F6SEA 1 mg/kg	h1F6SEA 3 mg/kg
0	8	8	8	8
5		8		
19	8			
20	5			
22	3			
23	1		8	
25				
28				8
30			7	
31				
33		7		7
35		6		
36		5		
37		4		
44				
46				
54			6	
61			5	
64				5
69		3		
75			4	4
79				
90		2	3	3

實施例 7. h1F6SEA對MV411急性骨髓性白血病小鼠模式中的腫瘤生長之劑量依賴性效應

【0261】在此研究中，反應投予之抗-CD70抗體 SEA-CD70 (h1F6SEA)的腫瘤生長是在表現CD70之細胞異種移植小鼠模式、MV-411株、急性骨髓性白血病模式中評定。腫瘤生長係以體積報告，且以各治療組內的動物之平均值來計算(圖6)以及針對各治療組內的各個體來報告(圖7A至D，表7)。將來自不同的治療組內的個別動物之每天腫瘤體積(mm³)總結於表7中。

【0262】在第0天，SCID小鼠係在後側經皮下植入5x10⁶ MV-411細胞。當達到50 mm³的平均腫瘤大小時(使

用以下公式測量：體積(mm^3)= $0.5 \times \text{長度} \times \text{寬度}^2$ ，其中長度為較長的尺寸)，將小鼠隨機分成每組六隻小鼠的治療組。治療每一治療組的動物；接受抗體的組每四天治療為期四個週期，接受阿扎胞苷的動物每四天治療為期四個週期。經腹膜內給予治療。將抗體及化療法的儲備濃縮物稀釋至適當的濃度且以 $10 \mu\text{l/g}$ 之體重注射至動物中。在整個研究期間，每週測量兩次腫瘤的長度和寬度及動物體重且使用以上公式計算腫瘤體積。追蹤動物，直到測出 $\sim 1000 \text{ mm}^3$ 的腫瘤體積，此時將動物安樂死。動物係基於腫瘤植入後九天接受的治療而以各種時間表給藥；接受抗體的動物係以 Q4dx4 治療，及經阿扎胞苷治療之動物係在每四天內以每天給藥一次，共 4 個週期(Q4dx4)。與未治療組的動物或那些以未結合之抗體治療的動物相比，隨時間之腫瘤體積變化的分析表明適度的腫瘤延遲(圖 6 和圖 7A 至 D)。當檢查各組的腫瘤達到 10 倍變化所花費的時間時，未治療組平均花費 26.8 天，而 h1F6SEA 10 mg/kg 治療組平均花費 32.65 天，在腫瘤生長上 18% 延遲(圖 6 及圖 7A 至 D)。然而，此延遲可能更長，因為一隻動物從未達到 10 倍變化。以阿扎胞苷(在圖 6、圖 7D 和表 7 中被標記為 Vidaza)治療之動物亦顯示花費 33.68 天達到 10 倍變化的生長延遲，在腫瘤生長上 20.5% 延遲(圖 6 和圖 7A 至 D)。亦應注意在 h1F6SEA 10 mg/kg 組中的小鼠顯示非常穩健的腫瘤生長延遲，使得研究長度延長(圖 7A 和表 7)。

表7. h1F6SEA、h1F6G1V1、h00SEA及Vidaza在MV-411急性骨髓性白血病模式中的抗腫瘤效力

植入後天數	未經治療						h1F6SEA 10 mg/kg					
9	0.0	50.3	56.9	54.4	58.3	50.7	52.1	54.1	58.6	51.0	59.2	59.0
13	66.3	81.3	70.8	94.2	94.7	50.1	48.7	68.7	59.9	47.1	56.4	72.6
16	95.4	116.4	81.8	116.8	135.7	76.8	90.8	83.5	67.6	65.3	60.4	98.2
20	146.2	203.7	155.1	240.6	271.7	117.9	151.0	142.8	93.1	63.1	42.0	165.9
24	279.6	326.0	224.0	489.0	633.3	179.0	336.7	299.1	165.4	161.4	70.9	266.6
27	522.2	616.5	453.6	670.7	871.2	268.4	447.0	337.6	231.0	254.6	0.0	392.1
30	813.3	1012.1	766.1	1060.9	1090.0	464.8	831.7	494.8	365.1	352.6	0.0	661.5
34	1099.2		1163.4			773.7	1042.3	655.6	531.6	666.1	15.4	998.9
38								1005.8	751.7	988.1	63.1	
41									1024.7		66.6	

植入後天數	h1F6G1V1 20 mg/kg						h00SEA 20 mg/kg					
9	48.0	62.8	51.3	49.1	52.1	58.2	55.5	60.3	51.0	52.6	56.3	50.1
13	46.1	64.4	65.7	61.5	56.8	65.4	65.1	62.5	101.8	76.4	72.8	43.4
16	59.3	109.1	97.7	68.1	64.7	103.8	76.7	94.2	131.0	106.9	70.0	34.3
20	91.5	234.8	241.3	80.6	104.4	127.2	73.6	135.4	287.0	199.5	126.6	75.5
24	188.7	449.2	338.1	96.3	198.9	274.9	90.9	234.5	499.1	349.4	215.2	165.8
27	306.6	606.7	567.6	213.6	325.4	433.0	154.9	490.1	905.1	544.0	364.4	344.4
30	474.6	1156.6	1039.1	325.4	470.6	847.7	202.6	649.0	1112.9	872.9	589.5	497.7
34	782.9			709.0	1001.0	1081.8	432.6	1062.8		1321.2	801.4	1034.7
38	1269.5			1330.9			696.2				1203.9	
41							1109.2					

植入後天數	Vidaza 5 mg/kg					
9	45.0	50.0	49.9	57.6	59.5	55.2
13	47.9	47.5	73.3	50.9	84.1	65.6
16	35.9	42.5	48.9	47.2	99.2	70.8
20	45.2	47.1	86.6	69.9	162.6	63.4
24	74.2	66.4	136.7	125.0	301.0	92.0
27	141.5	129.0	344.5	295.9	465.4	202.5
30	161.8	130.7	469.6	379.5	778.9	279.0
34	303.9	260.2	649.8	640.9	1238.8	451.9
38	568.7	452.8	1164.6	993.8		740.5
41	978.2	688.1				1063.7

實施例 8. 針對 AML 細胞株的經 SEA-CD70 及 SGN-CD70 媒介之 ADCP 活性之評估

【0263】經 SEA-CD70 及 SGN-CD70 (亦被稱為 SGN-70)媒介之 ADCP 係使用裝載親脂性螢光染料且與單核細胞衍生之巨噬細胞混合的 CD70+標靶細胞(NOMO-1及MOLM-13)經隔液測定。經螢光標記之標靶細胞的吞噬作用係使用流動式細胞測量術測定。吞噬作用係以雙重標記之偶合事件(螢光標靶細胞)的出現及抗-CD11c陽性來測量，以鑑定單核細胞/巨噬細胞。巨噬細胞輕易地以抗體劑量依賴性方式吞噬經 SEA-CD70或 SGN-CD70 包覆之標靶細胞(圖

8A和圖8B)。SEA-CD70及SGN-CD70媒介之吞噬作用達到類似水平。

【0264】使用以下的規程評定對AML細胞株的ADCC活性：

1. 將標靶細胞使用PKH26紅螢光細胞連結子小型套組(Sigma Aldrich)及遵照製造商的指示標記。

2. 將細胞(4000個細胞/孔)與指示之試驗物品一起溫育30分鐘、清洗且再懸浮於加10%之超低IgG FBS的RPMI中。

3. 將藉由PBMC衍生之單核細胞與500 U/mL (50 ng/mL)之GM-CSF一起培育10至12天所產生的PBMC衍生之巨噬細胞(100,000個細胞/孔)添加至標靶細胞中且在37℃下培育2小時。

4. 將盤離心且將細胞再懸浮於100 µl之APC-CD11抗體(巨噬細胞標誌)中，且在冰上培育30分鐘。

5. 將細胞清洗，再懸浮於PBS中且以流動式細胞測量術分析以測定吞噬百分比。

實施例9. 針對AML細胞株的經SEA-CD70及SGN-CD70媒介之CDC活性之評估

【0265】進一步測試SEA-CD70及SGN-CD70以補體結合誘導細胞裂解的能力。將CD70陽性的AML細胞株經螢光標記且以濃度漸增的經CD70定向之抗體處理。接著將細胞暴露於人類補體且以螢光染料的釋放測定細胞裂解。

當 CD70+ AML細胞株 MOLM-13及 NOMO-1係在未熱失活之正常人類血清存在下以 SEA-CD70或 SGN-CD70包覆時，其係以抗體特異性劑量依賴性方式裂解(圖 9A和 9B)。

【0266】使用以下的規程評定對 AML細胞株的 CDC活性：

1. 將細胞與 10 mg/ml之抗 -CRP單株抗體混合物(抗 -hCD46、抗 -hCD55、抗 -hCD59)一起在冰上培育30分鐘。

2. 將細胞清洗且鋪置(200,000個細胞/孔)在 37℃ 下含有未熱失活之血清，Sytox Green (Life technology)及以相同的最終濃度添加之抗體的培養基中2小時。

3. 細胞死亡係藉由在 Envision讀盤儀(Perkin Elmer)上檢測 Sytox Green螢光信號來量化，且經陽性對照物(經 1%之 Triton X-100處理之細胞)標準化。

實施例 10. SEA-CD70及阿扎胞苷之組合對 MV411 AML異種移植小鼠模式中的腫瘤生長之效應

【0267】在此研究中，反應單獨或與阿扎胞苷(VIDAZA®)組合投予之非海藻糖苷化抗 -CD70抗體 SEA-CD70 (h1F6SEA)的腫瘤生長係在表現 CD70之細胞異種移植小鼠模式 MV4-11株中評定。腫瘤生長係以體積報告，且以各治療組內的動物之平均值來計算(圖 10)。在第 0 天，SCID小鼠係在後側經皮下植入 5×10^6 MV4-11細胞。當達到 50 mm^3 的平均腫瘤大小時(使用以下公式測量：體積(mm^3)= $0.5 \times \text{長度} \times \text{寬度}^2$ ，其中長度為較長的尺寸)，將小

鼠隨機分成每組9隻小鼠的治療組。經腹膜內給予治療。將抗體及化療法的儲備濃縮物稀釋至適當的濃度且以10 μ l/g之體重注射至動物中。在整個研究期間，每週測量兩次腫瘤的長度和寬度及動物體重且使用以上公式計算腫瘤體積。追蹤動物，直到測出 $\sim 1000 \text{ mm}^3$ 的腫瘤體積，此時將動物安樂死。動物係基於所接受的治療而以各種時間表給藥；接受抗體的動物係以10 mg/kg之劑量(Q4dx5)治療，經阿扎胞苷治療之動物係以五天連續每天給藥一次(阿扎胞苷2 mg/kg；Q1dx5)，共3個週期(3週)，接受組合治療的動物係與單一治療相同的劑量及時間表接受各治療。與對照的未治療動物相比，隨時間之腫瘤體積變化的分析表明阿扎胞苷及SEA-CD70兩者縮減腫瘤生長。另外，與未治療的動物及單一SEA-CD70或阿扎胞苷治療兩者相比，當動物以SEA-CD70與阿扎胞苷之組合治療時觀察到進一步增加的腫瘤延遲(圖10)。如預期般，以在Fc結構域中攜有降低與Fc γ 受體(E233P、L234V、L235A)結合之突變的SEA-CD70 G1V1抗體治療(參見McEarchern等人，2008, *Clin. Cancer Res.* 14(23):7763-72；Armour等人，1999, *Eur. J. Immunol.* 29:2613-2624)在縮減腫瘤生長方面無效。當SEA-CD70 G1V1與阿扎胞苷組合時，驚訝地觀察到顯著延遲的腫瘤生長(圖10)。不欲受到任何理論的束縛，此觀察下的機制可能與以阿扎胞苷治療所引起的CD70或CD27之表現的變化或CD27/CD70傳訊的抑制有關。當檢查各組的腫瘤達到10倍變化所花費的時間時，未治療組平均花費

17.82天，而SEA-CD70治療組平均花費25.08天，在腫瘤生長上31%延遲(圖10)。與未治療的對照組相比，以阿扎胞苷治療的動物亦顯示花費26.59天達到10倍變化的生長延遲，在腫瘤生長上33%延遲(圖10)。與作為單一劑的兩種劑相比，以阿扎胞苷與SEA-CD70組合治療的動物花費33.81天達到10倍的增長(在腫瘤生長上47.3%延遲)(圖10)，表明SEA-CD70與阿扎胞苷之組合有效地延遲腫瘤生長。

實施例 11. SEA-CD70與阿扎胞苷、維托拉斯(ABT-199)或兩者(阿扎胞苷+維托拉斯)之組合對MV411 AML異種移植小鼠模式中的腫瘤生長之效應

【0268】在此研究中，反應非海藻糖苷化抗-CD70抗體SEA-CD70 (h1F6SEA)單獨或與阿扎胞苷(VIDAZA®)、維托拉斯(VENCLEXTA®；ABT-199)組合或與SEA-CD70+阿扎胞苷+維托拉斯組合(三重組合)之投予的腫瘤生長係在表現CD70之細胞異種移植小鼠模式MV4-11株中評定。腫瘤生長係以體積報告，且以各治療組內的動物之平均值來計算(圖11A)。在第0天，免疫功能不全的SCID小鼠係在後側經皮下植入 5×10^6 MV4-11細胞。當達到 50 mm^3 的平均腫瘤大小時(使用以下公式測量：體積(mm^3)= $0.5 \times \text{長度} \times \text{寬度}^2$ ，其中長度為較長的尺寸)，將小鼠隨機分成每組10隻小鼠的治療組。將抗體及化療法的儲備濃縮物稀釋至適當的濃度且以 $10 \text{ } \mu\text{l/g}$ 之體重注射至動物中。在整個研究期

間，每週測量兩次腫瘤的長度和寬度及動物體重且使用以上公式計算腫瘤體積。追蹤動物，直到測出 $\sim 1000\text{ mm}^3$ 的腫瘤體積，此時將動物安樂死。動物係基於所接受的治療而以各種時間表給藥；接受抗體的動物係以 10 mg/kg 之抗體(Q4dx5)治療，經阿扎胞苷治療之動物係以每週五天連續每天給藥(2 mg/kg)(Q1dx5)，共3個週期(3週)；維托拉斯係經口導管每天以 25 mg/kg 給予，連續21天(Q1dx21)。接受組合治療的動物係與單一治療相同的劑量及時間表接受各治療。

【0269】如圖11A中所示，當SEA-CD70、阿扎胞苷及維托拉斯治療係作為單一劑給藥時，則此等治療延遲腫瘤生長。值得注意的是當與相對的單一分組治療相比時，以SEA-CD70添加至阿扎胞苷或維托拉斯顯著地減少腫瘤生長(在第39天，兩者相比的 $p < 0.05$ ，雙因子ANOVA)。當與單一劑相比時，維托拉斯+阿扎胞苷之組合亦進一步抑制腫瘤生長(當分別與阿扎胞苷或維托拉斯單一分組相比時，在第39天， $p < 0.01$ 及 $p < 0.001$ ，雙因子ANOVA)。

【0270】當與兩種劑組合相比時，以SEA-CD70添加至維托拉斯及阿扎胞苷(三重組合)進一步延遲腫瘤生長(在第39天， $p = 0.0594$ ，雙因子ANOVA)。在第46天，阿扎胞苷+維托拉斯組合組具有 $349.9 \pm 141.7\text{ mm}^3$ (平均 $\pm$ SEM)的平均腫瘤大小，而三重組合具有 $85 \pm 11.09\text{ mm}^3$ (平均 $\pm$ SEM)的平均腫瘤大小($p < 0.05$ ；單尾t-試驗)。如圖11B中所示，當觀察單一動物腫瘤生長曲線時，以維托拉斯+阿扎胞苷之

組合治療的5隻動物在第56天達到10倍的腫瘤體積增加，而僅一隻以三重組合治療的動物在實驗中斷時達到10倍閾值。

【0271】總體上，該等結果表明當添加至標準的護理劑中時(阿扎胞苷、維托拉斯或阿扎胞苷+維托拉斯之組合)，SEA-CD70進一步延遲腫瘤生長。

【序列表】

<110> 美商思進公司 (Seagen Inc.)
<120> 以非海藻糖苷化抗-CD70 抗體治療癌症之方法
<130> 761682003140
<140> TW 109146217
<141> 2020-12-25

<150> US 63/011,906
<151> 2020-04-17

<150> US 62/954,904
<151> 2019-12-30

<160> 7

<170> Windows 4.0 版之 FastSEQ

<210> 1
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 1
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala 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
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Ala Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 2

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 3
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 3
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 4
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala 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
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Ala Phe
50 55 60

Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Asp	Tyr	Gly	Asp	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
			100					105					110		
Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
			115					120					125		
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
	130						135				140				
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145					150					155					160
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
				165					170					175	
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
			180					185					190		
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
		195					200					205			
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
	210					215					220				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
225					230					235					240
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
				245					250					255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
			260					265					270		
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		275					280					285			
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
	290					295					300				
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
305					310					315					320
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
				325					330					335	
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
			340					345					350		
Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
		355					360					365			
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
	370					375					380				
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
385					390					395					400
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	
				405				410					415		
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala
			420					425					430		
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
		435					440					445			

- <210> 5
- <211> 218
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 合成構築體

<400> 5
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 6
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

<210> 7
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種治療有效量的非海藻糖苷化抗-CD70抗體於製造用於治療個體的表現CD70之癌症的藥劑之用途，其中該用途導致個體的癌細胞耗竭，其中該用途不導致個體的CD70+T調節性細胞(CD70+Treg)耗竭，其中該抗-CD70抗體包含重鏈可變區、輕鏈可變區、及Fc結構域，該重鏈可變區包含SEQ ID NO：1之重鏈CDR1(「H-CDR1」)、重鏈CDR2(「H-CDR2」)與重鏈CDR3(「H-CDR3」)，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO：2之輕鏈CDR1(「L-CDR1」)、輕鏈CDR2(「L-CDR2」)與輕鏈CDR3(「L-CDR3」)，其中該抗-CD70抗體之該CDR係以卡貝特(Kabat)編號方案定義，且其中該癌症係選自由骨髓發育不良症候群(MDS)和急性骨髓性白血病(AML)所組成之群組。

【請求項2】如請求項1之用途，其中該抗-CD70抗體包含重鏈可變區，其包含與SEQ ID NO:1之胺基酸序列至少85%一致的胺基酸序列，及輕鏈可變區，其包含與SEQ ID NO:2之胺基酸序列至少85%一致的胺基酸序列。

【請求項3】如請求項1之用途，其中該抗-CD70抗體包含重鏈可變區，其包含SEQ ID NO:1之胺基酸序列，及輕鏈可變區，其包含SEQ ID NO:2之胺基酸序列。

【請求項4】如請求項1之用途，其中該Fc結構域為媒介抗體依賴性細胞性細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞性吞噬作用(ADCP)及補體依賴性細胞性細胞毒性(CDC)中

之一或多者的抗體效應子結構域。

【請求項5】如請求項1之用途，其中該Fc結構域為媒介ADCC之抗體效應子結構域。

【請求項6】如請求項1之用途，其中該Fc結構域為人類Fc結構域。

【請求項7】如請求項1之用途，其中該抗-CD70抗體為沃瑟珠單抗(vorsetuzumab)。

【請求項8】如請求項1之用途，其中該抗-CD70抗體係與治療劑共軛。

【請求項9】如請求項8之用途，其中該治療劑為化學治療劑或免疫調節劑。

【請求項10】如請求項8之用途，其中該治療劑為化學治療劑。

【請求項11】如請求項10之用途，其中該化學治療劑為單甲基奧利他汀(auristatin) E (MMAE)或單甲基奧利他汀F (MMAF)。

【請求項12】如請求項8之用途，其中該治療劑為免疫調節劑。

【請求項13】如請求項1之用途，其中該用途包含包括抗-CD70抗體群之組成物，其中在該抗-CD70抗體群中之各抗體包含重鏈可變區、輕鏈可變區、及Fc結構域，該重鏈可變區包含SEQ ID NO：1之該H-CDR1、H-CDR2與H-CDR3，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO：2之該L-CDR1、L-CDR2與L-CDR3，其中該抗-CD70抗體之CDR係以卡貝特

編號方案定義，且其中在該抗-CD70抗體群中之至少50%之該抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化(core fucosylation)。

【請求項14】如請求項13之用途，其中在該抗-CD70抗體群中之至少70%之該抗-CD70抗體缺乏核心海藻糖苷化。

【請求項15】如請求項1之用途，其中該癌症為MDS。

【請求項16】如請求項15之用途，其中該MDS為復發性或頑抗性MDS。

【請求項17】如請求項16之用途，其中該個體在先前用於該MDS之低甲基化劑(HMA)療法後經歷治療失敗。

【請求項18】如請求項1之用途，其中該癌症為AML。

【請求項19】如請求項18之用途，其中該AML為復發性或頑抗性AML。

【請求項20】如請求項19之用途，其中該個體接受2次用於治療AML之先前治療方案。

【請求項21】如請求項19之用途，其中該個體接受3次用於治療AML之先前治療方案。

【請求項22】如請求項1之用途，其中至少約0.1%、至少約1%、至少約2%、至少約3%、至少約4%、至少約5%、至少約6%、至少約7%、至少約8%、至少約9%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約

30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、或至少約80%之癌細胞表現CD70。

【請求項23】如請求項1之用途，其中與對該個體投予該非海藻糖苷化抗-CD70抗體前的癌細胞量相比，對該個體投予該非海藻糖苷化抗-CD70抗體導致至少約5%、至少約6%、至少約7%、至少約8%、至少約9%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約95%、或約100%之癌細胞耗竭。

【請求項24】如請求項1之用途，其中與對該個體投予該非海藻糖苷化抗-CD70抗體前的CD70+Treg量相比，對該個體投予該非海藻糖苷化抗-CD70抗體導致不超過約20%、約10%、約9%、約8%、約7%、約6%、約5%、約4%、約3%、約2%、約1%、或約0.1%之CD70+Treg耗竭。

【請求項25】如請求項1之用途，其中在該個體中的一或多個治療效應係在投予該非海藻糖苷化抗-CD70抗體後，相對於基線，受到改善。

【請求項26】如請求項25之用途，其中該一或多個治療效應係選自由下列者所組成之群組：客觀反應率、反應持續時間、達到反應的時間、無惡化存活期(progression free survival)和整體存活期。

【請求項27】如請求項1之用途，其中該抗-CD70抗體

之投予途徑為靜脈內。

【請求項28】如請求項1之用途，其中該抗-CD70抗體係與阿扎胞苷(azacitidine)組合投予。

【請求項29】如請求項1之用途，其中該抗-CD70抗體係與維托拉斯(venetoclax)組合投予。

【請求項30】如請求項1之用途，其中該抗-CD70抗體係與阿扎胞苷及維托拉斯組合投予。

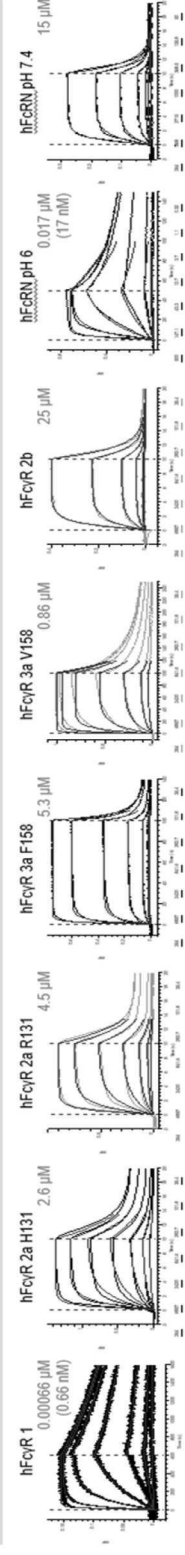
【請求項31】如請求項1之用途，其中該抗-CD70抗體係與氟喹諾酮(fluoroquinolone)組合投予。

【請求項32】一種用於治療表現CD70之癌症之醫藥組成物，該組成物包含非海藻糖苷化抗-CD70抗體及至少一種醫藥上可相容的成分，其中該抗-CD70抗體包含重鏈可變區、輕鏈可變區及Fc結構域，該重鏈可變區包含SEQ ID NO：1之H-CDR1、H-CDR2與H-CDR3，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO：2之L-CDR1、L-CDR2與L-CDR3，其中該抗-CD70抗體之CDR係以卡貝特編號方案定義，且其中該組成物係用於如請求項1至31中任一項之用途。

【請求項33】一種套組，其包含非海藻糖苷化抗-CD70抗體及針對如請求項1至31中任一項之用途之用法說明，其中該抗-CD70抗體包含重鏈可變區、輕鏈可變區、及Fc結構域，該重鏈可變區包含SEQ ID NO：1之H-CDR1、H-CDR2與H-CDR3，該輕鏈可變區包含SEQ ID NO：2之L-CDR1、L-CDR2與L-CDR3，其中抗-CD70抗體之CDR係以卡貝特編號方案定義。

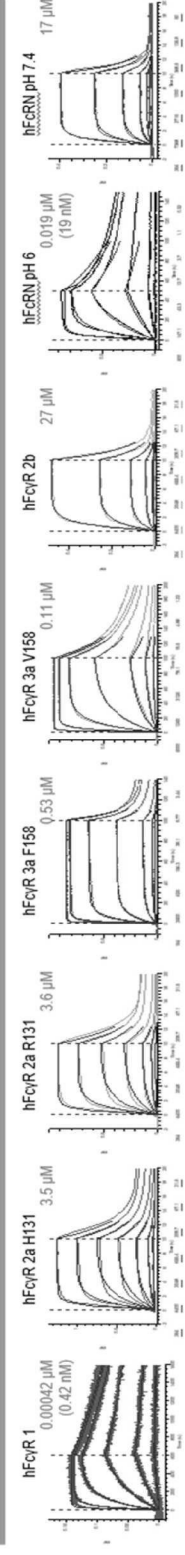
探針		分析物		K_D (nM)	k_a 1/(Ms)	k_d 1/s	χ^2	K_D 誤差	k_a 誤差	k_d 誤差
37 C SEA h1F6 E133368-01	hCD70 Biotin E131664-01	hCD70 Biotin E131664-01	hCD70 Biotin E131664-01	0.24	2.6E+05	6.2E-05	1.7	1.24E-12	5.77E+02	2.94E-07
				0.23	2.7E+05	6.3E-05	2.8	1.57E-12	7.83E+02	3.88E-07

h1F6 WT



探針	K_D (μ M)	k_a 1/(Ms)	k_d 1/s	χ^2	K_D 誤差	k_a 誤差	k_d 誤差
hFcγR 1	0.00066 (0.66 nM)	7.7E+05	5.1E-04	0.2	1.90E-12	1.92E+03	7.31E-07
hFcγR 2a H131	2.6	1.0E+05	2.7E-01	0.3	1.53E-07	5.37E+03	6.45E-03
hFcγR 2a R131	4.5	7.7E+04	3.4E-01	0.1	2.21E-07	3.56E+03	6.41E-03
hFcγR 3a F158	5.3	2.7E+04	1.4E-01	0.1	8.62E-08	3.96E+02	9.22E-04
hFcγR 3a V158	0.86	4.6E+04	4.0E-02	1.3	1.73E-08	8.00E+02	3.93E-04
hFcγR 2b	25	2.6E+04	6.7E-01	0.0	1.29E-06	1.32E+03	7.77E-03
hFcRN pH 6.09	0.017 (17 nM)	7.2E+05	1.2E-02	0.6	3.15E-10	1.12E+04	1.17E-04
hFcRN pH 7.46	15	4.2E+04	6.2E-01	0.1	9.58E-07	2.66E+03	1.12E-02

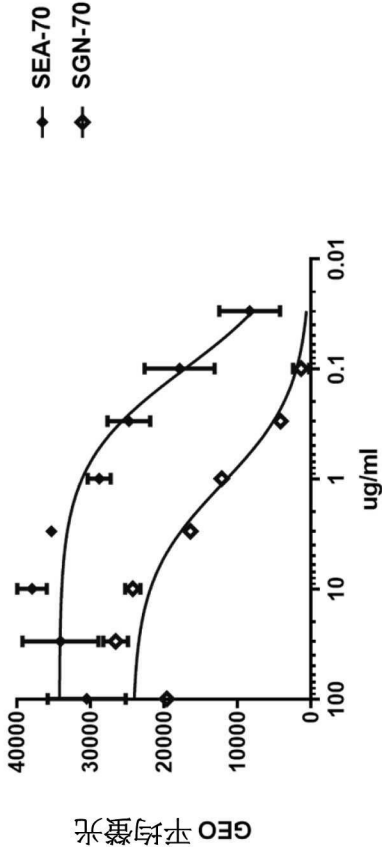
h1F6 SEA



探針	K_D (μ M)	k_a 1/(Ms)	k_d 1/s	χ^2	K_D 誤差	k_a 誤差	k_d 誤差
hFcγR 1	0.00042 (0.42 nM)	1.0E+06	4.2E-04	0.2	1.44E-12	2.84E+03	7.84E-07
hFcγR 2a H131	3.5	9.1E+04	3.2E-01	0.3	2.28E-07	5.34E+03	9.26E-03
hFcγR 2a R131	3.6	9.4E+04	3.4E-01	0.1	2.23E-07	5.19E+03	9.23E-03
hFcγR 3a F158	0.53	1.6E+05	8.6E-02	0.2	7.86E-09	2.13E+03	5.99E-04
hFcγR 3a V158	0.11	2.1E+05	2.2E-02	0.4	9.69E-10	1.68E+03	1.02E-04
hFcγR 2b	27	2.5E+04	6.8E-01	0.0	1.99E-06	1.79E+03	1.24E-02
hFcRN pH 6.09	0.019 (19 nM)	6.6E+05	1.2E-02	0.7	3.15E-10	9.63E+03	1.10E-04
hFcRN pH 7.46	16.7	4.3E+04	7.1E-01	0.0	1.01E-06	2.48E+03	1.26E-02

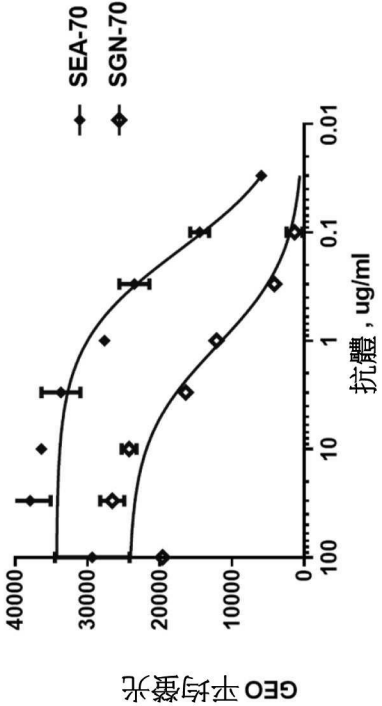
【圖 1】

與 CHO/hCD16 (FcγRIIIa - 158V) 結合之 SEA70

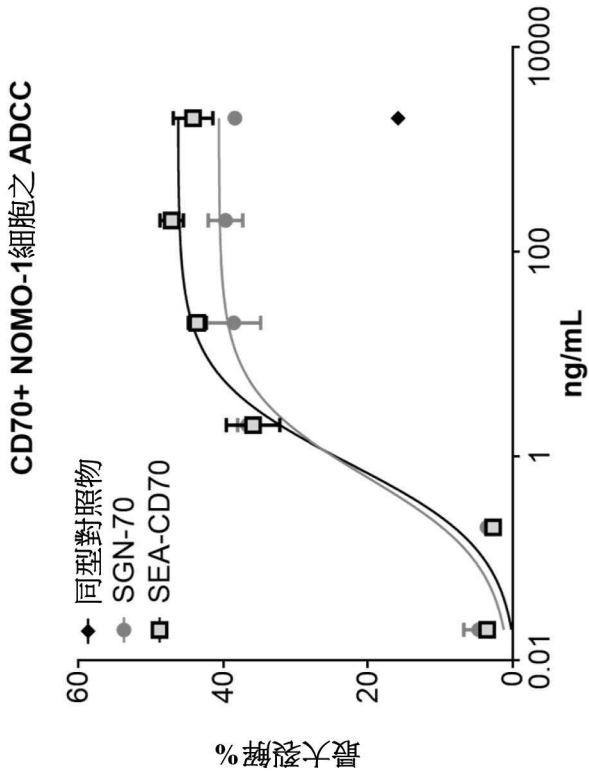


【圖 2A】

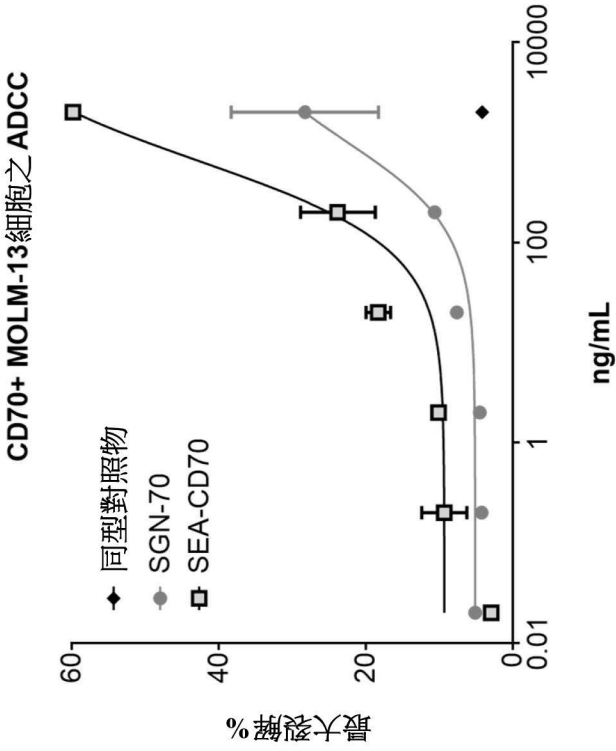
與 CHO/cynoCD16 (cynoFcγRIII) 結合之 SEA-CD70



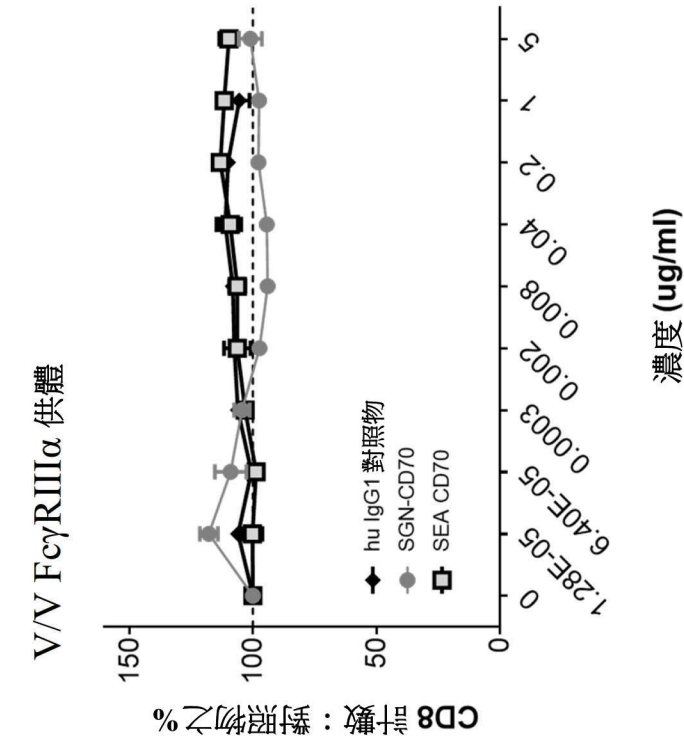
【圖 2B】



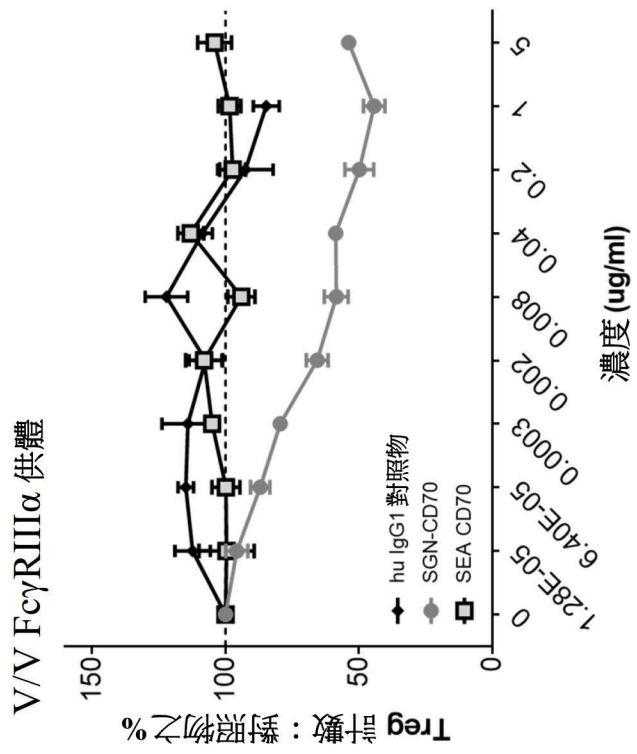
【圖 3B】



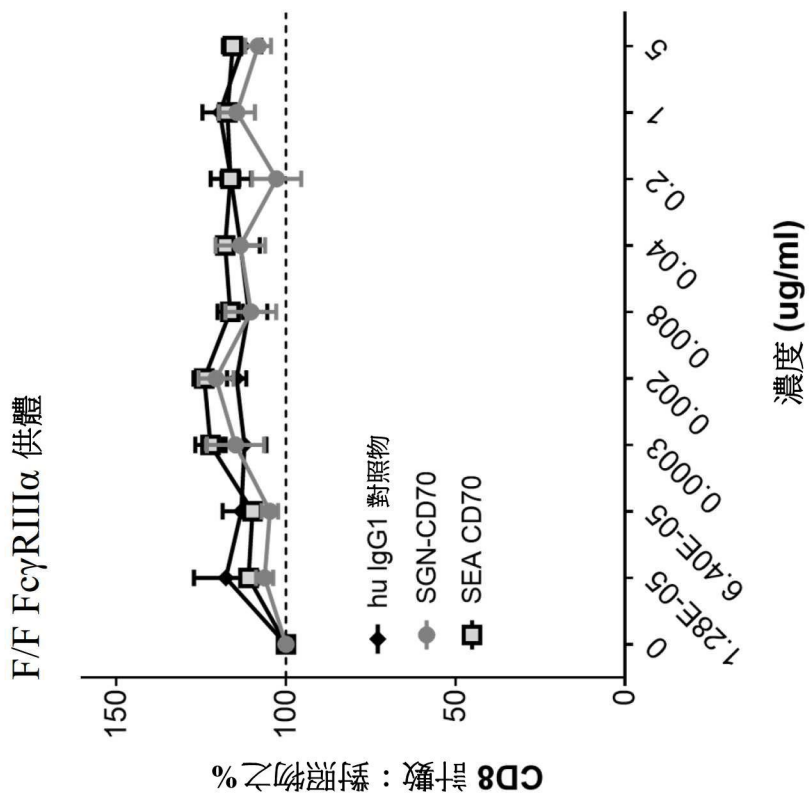
【圖 3A】



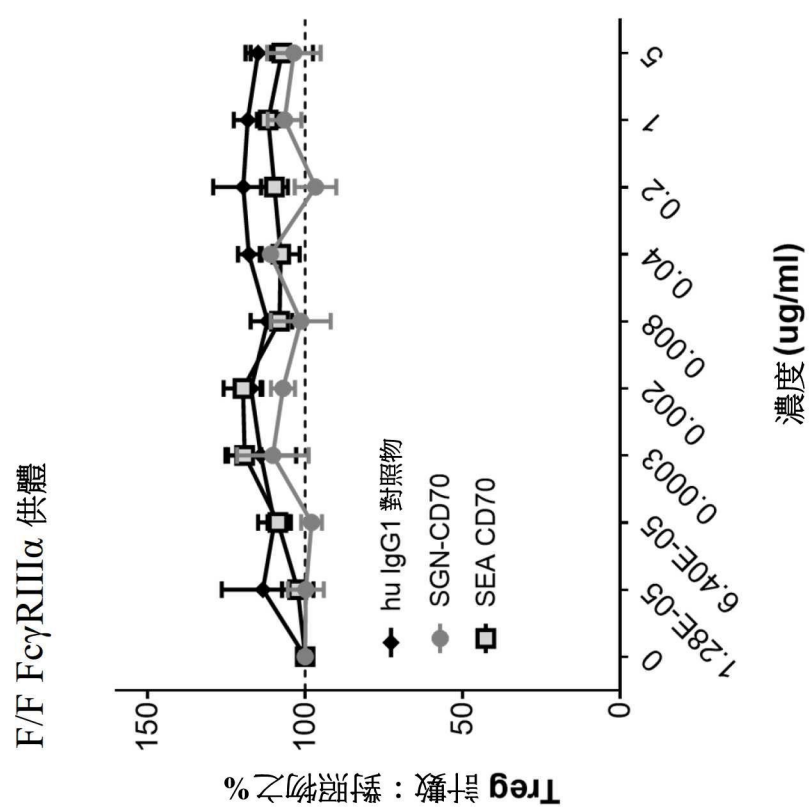
【圖 4B】



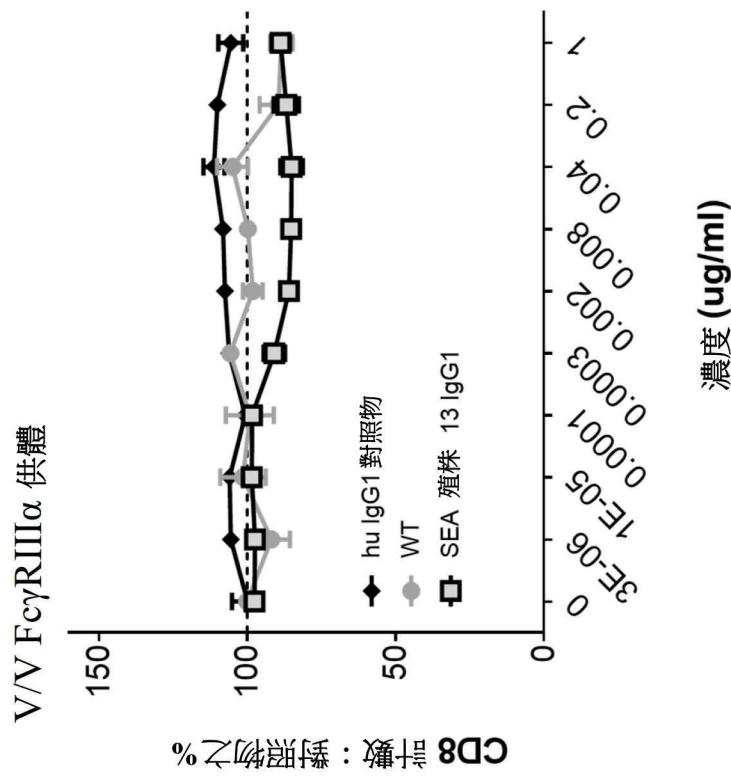
【圖 4A】



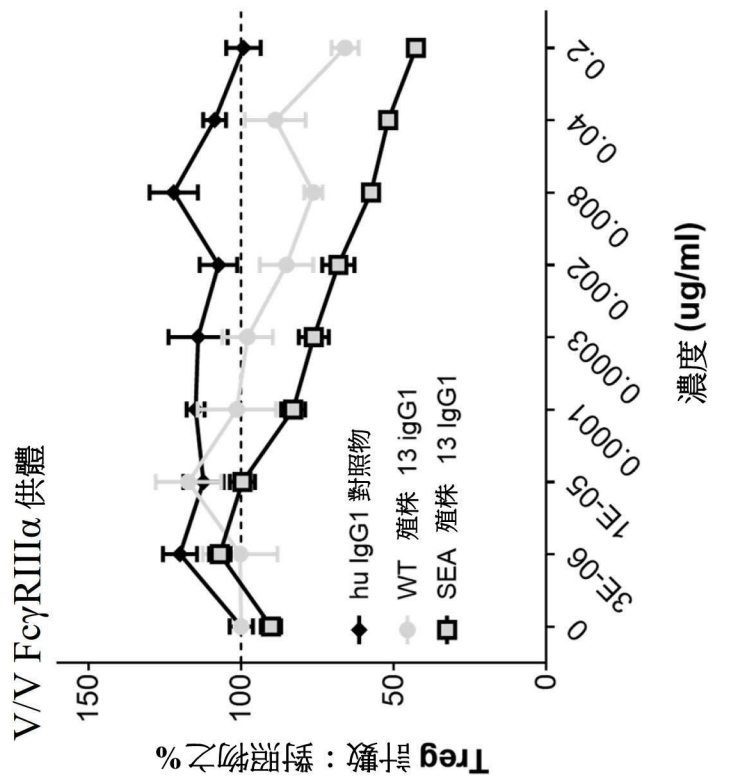
【圖 4D】



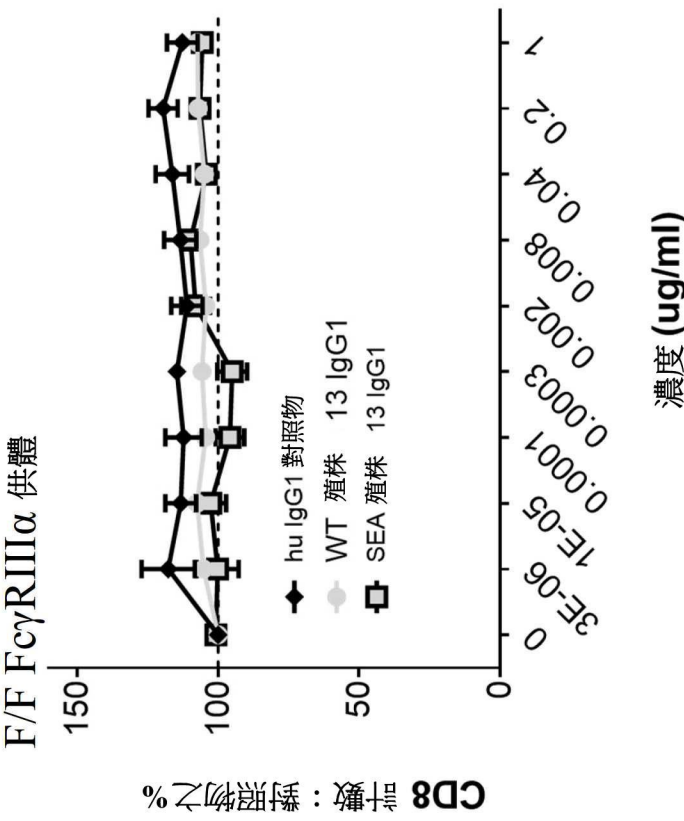
【圖 4C】



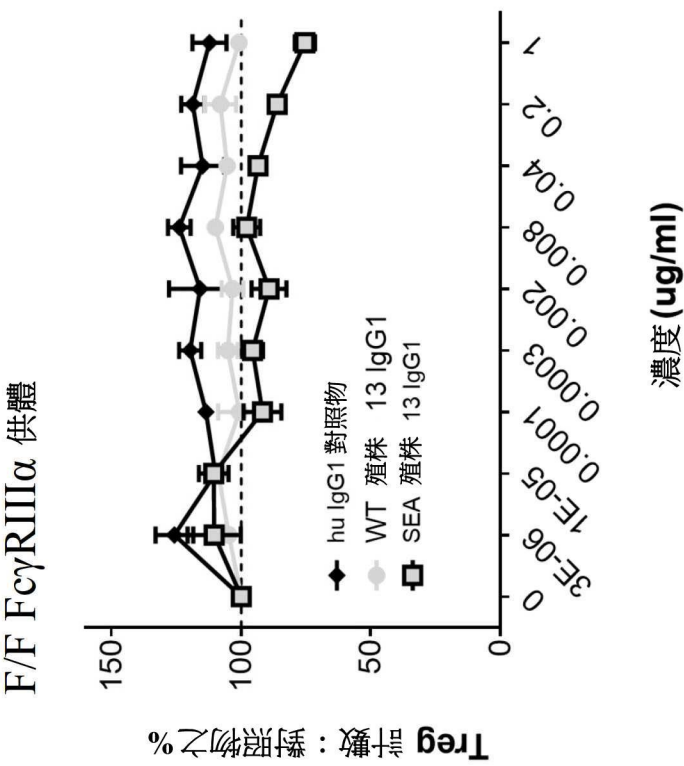
【圖 4F】



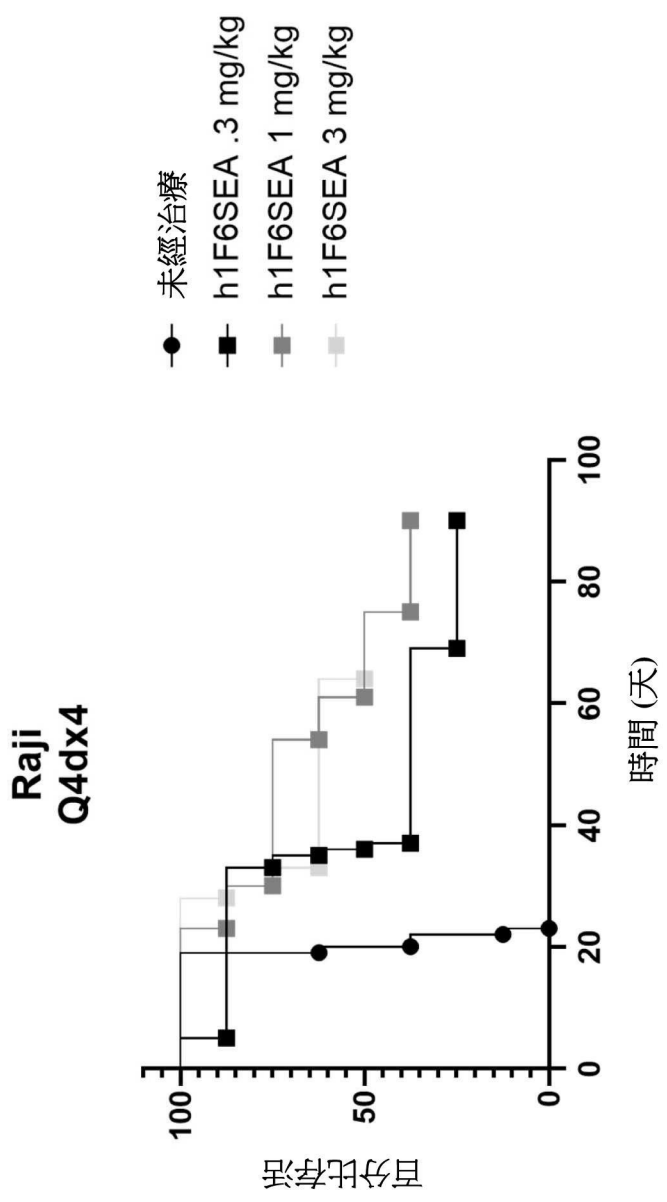
【圖 4E】



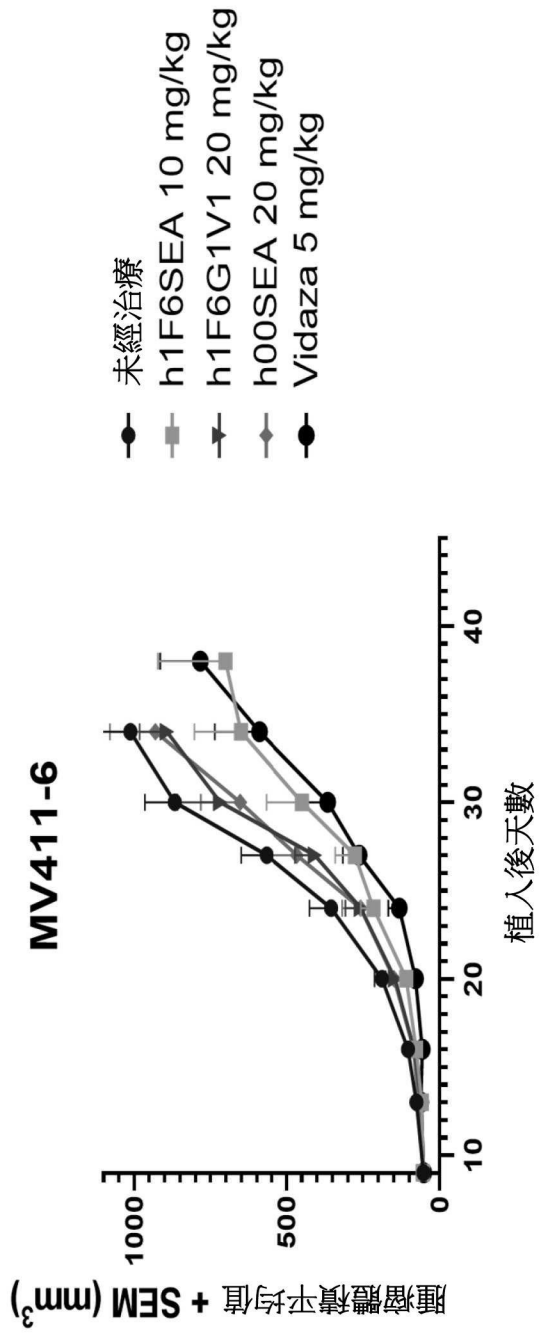
【圖 4H】



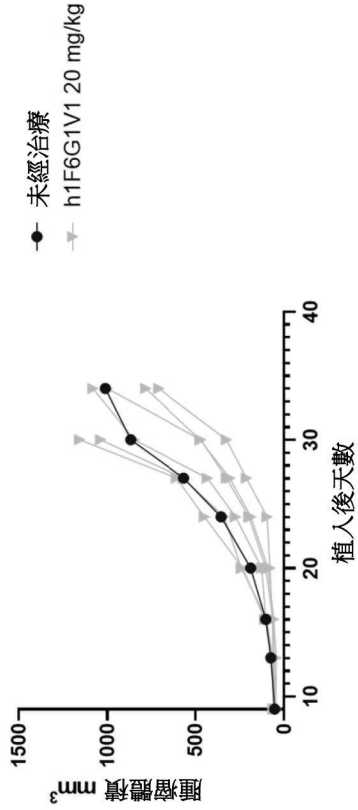
【圖 4G】



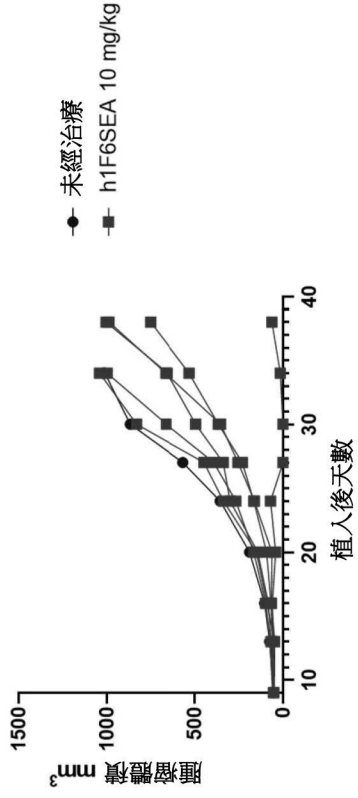
【圖 5】



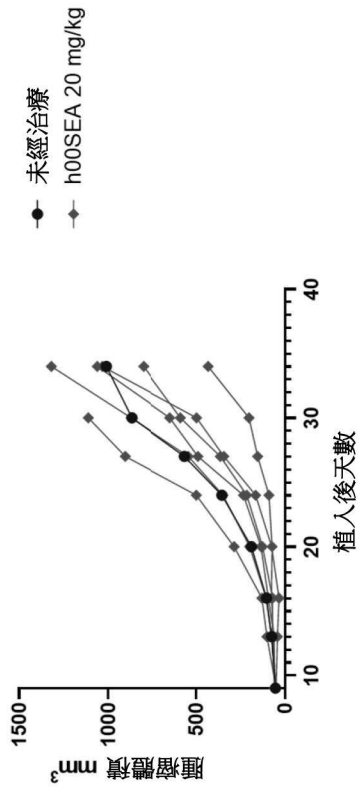
【圖 6】



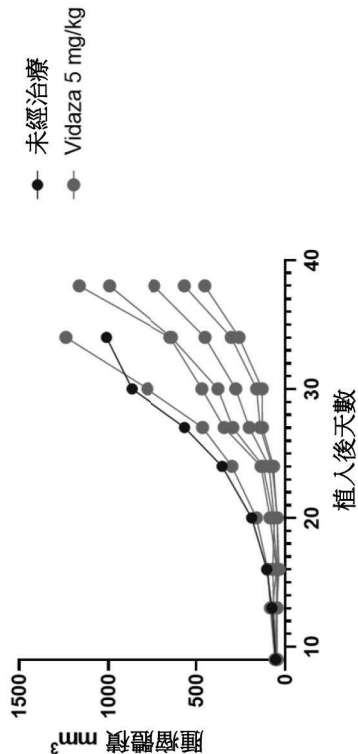
【圖 7B】



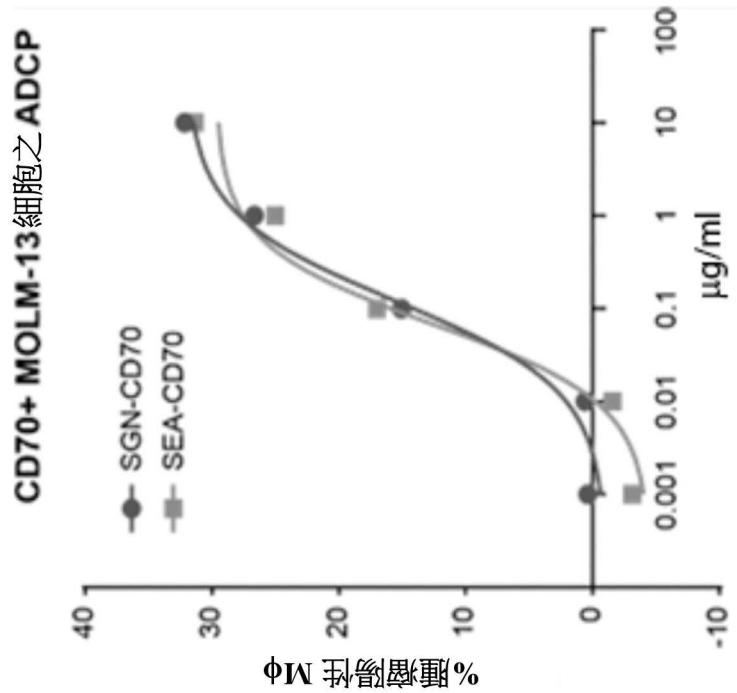
【圖 7A】



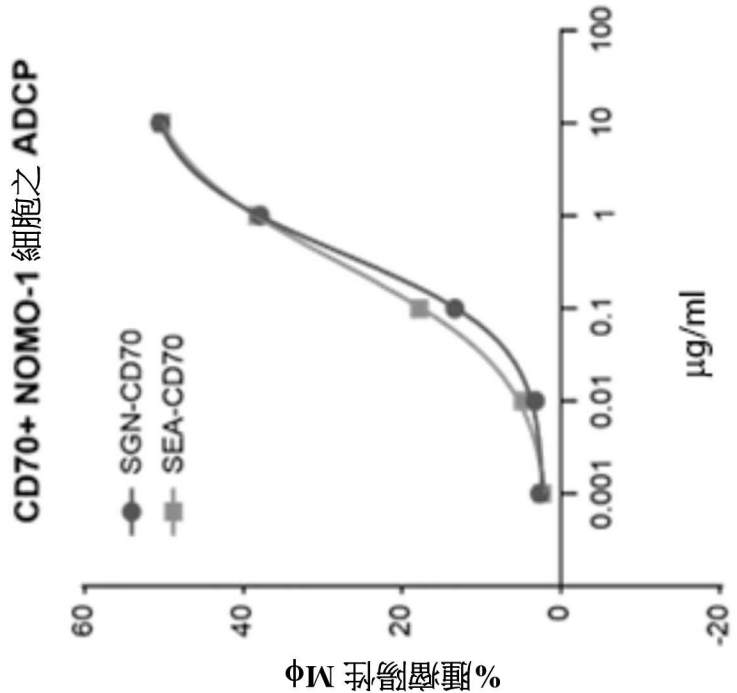
【圖 7C】



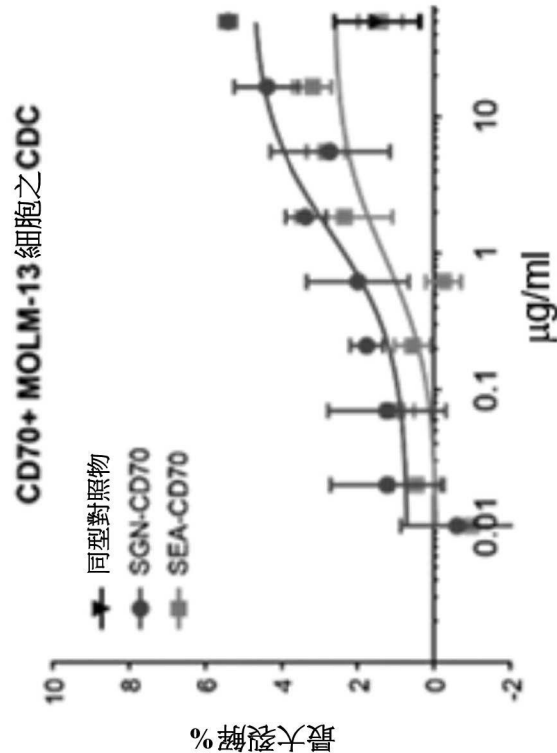
【圖 7D】



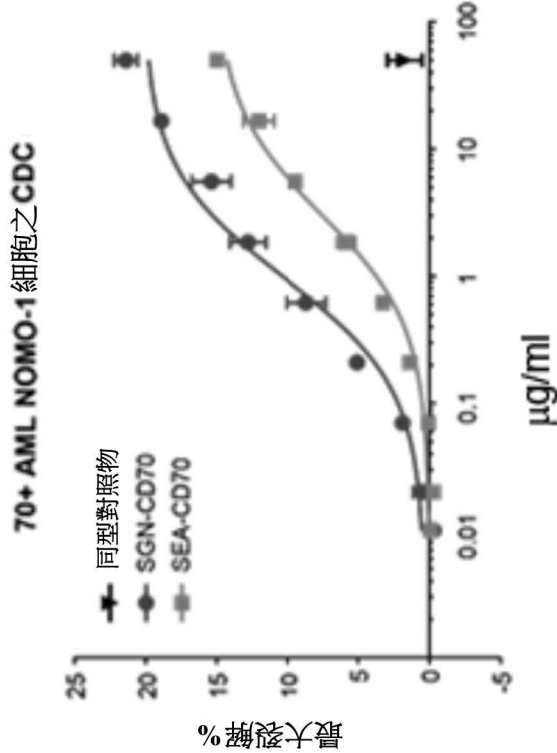
【圖 8B】



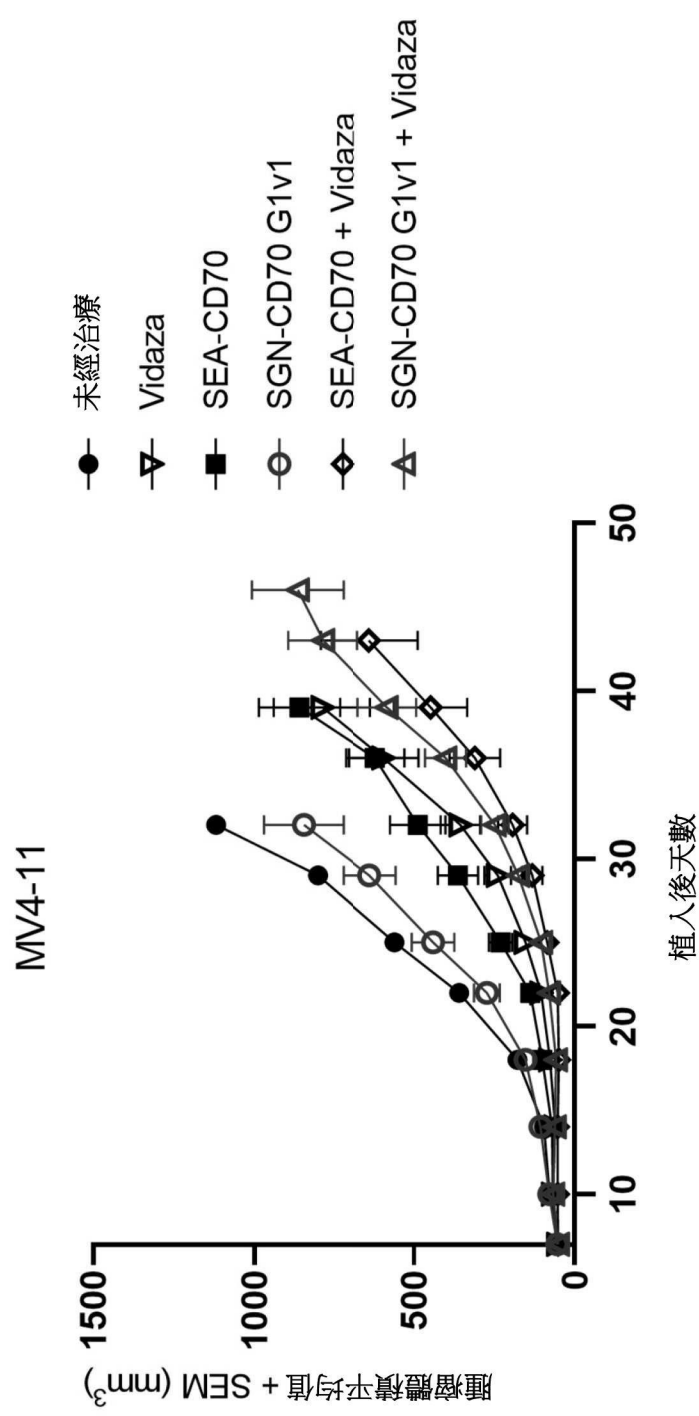
【圖 8A】



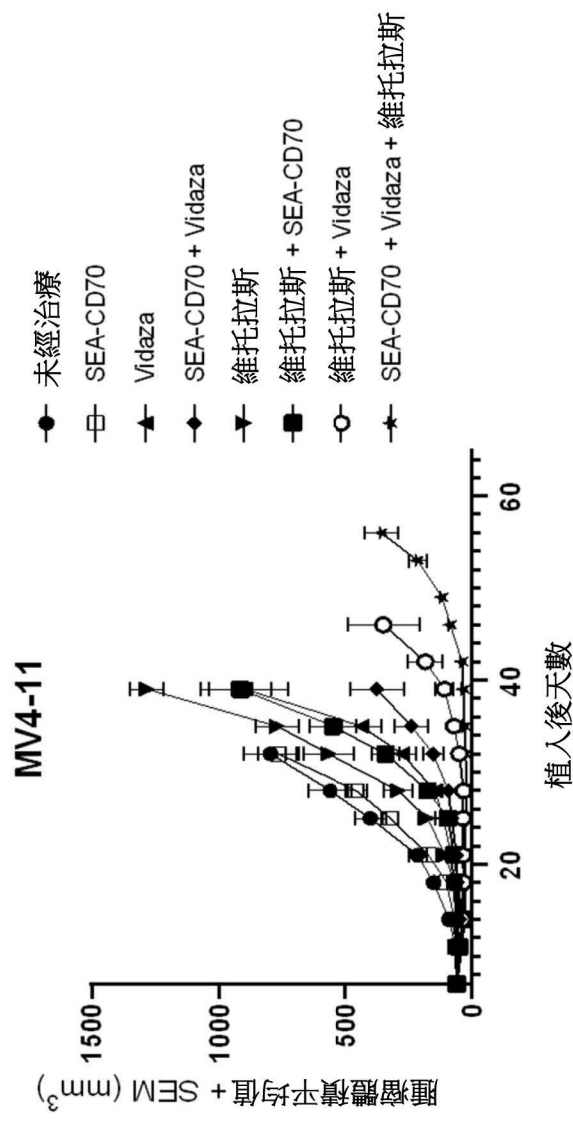
【圖 9A】



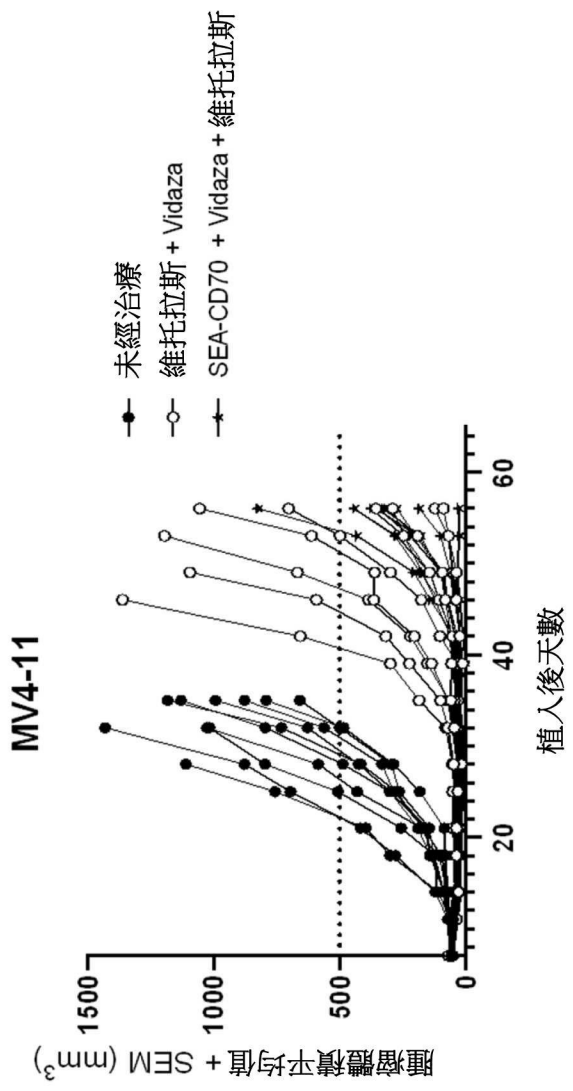
【圖 9B】



【圖 10】



【圖 11A】



【圖 11B】