



(21)申請案號：105134914

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 10 月 28 日

(51)Int. Cl. : *A61K38/47 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*  
*C07K16/28 (2006.01)* *C07K16/30 (2006.01)*  
*C07K16/40 (2006.01)*

(30)優先權：2015/11/02 美國 62/249,546  
 2015/11/04 美國 62/250,566  
 2015/12/04 美國 62/263,199  
 2015/12/04 美國 62/263,307  
 2016/05/04 美國 62/331,489  
 2016/06/24 美國 15/191,808  
 2016/06/24 世界智慧財產權組織 PCT/US16/39165

(71)申請人：健生生物科技公司 (美國) JANSSEN BIOTECH, INC. (US)  
 美國

(72)發明人：阿瑪迪 塔翰唐 AHMADI, TAHAMTAN (US)；卡司內夫 堤內克 CASNEUF,  
 TINEKE (NL)；諾克豪斯特 漢克 LOKHORST, HENK (NL)；木堤斯 圖那  
 MUTIS, TUNA (NL)；薩瑟 艾咪 SASSER, AMY (US)；維羅納 拉魯卡  
 VERONA, RALUCA (US)

(74)代理人：林秋琴；陳彥希；何愛文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：83 項 圖式數：18 共 168 頁

(54)名稱

使用特異性結合 CD 38 之抗體免疫調節及治療固態腫瘤

IMMUNE MODULATION AND TREATMENT OF SOLID TUMORS WITH ANTIBODIES THAT SPECIFICALLY BIND CD38

(57)摘要

本發明係關於用特異性結合 CD38 的抗體免疫調節劑及治療患有固態腫瘤之病患的方法。

The present invention relates to methods of immunomodulation and treating patients having solid tumors with antibodies that specifically bind CD38.

指定代表圖：

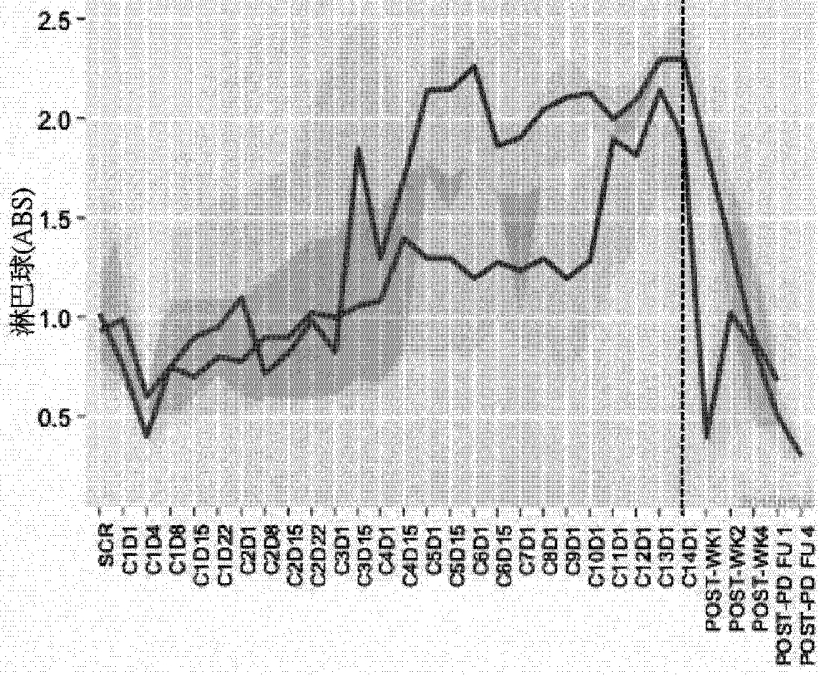


圖1

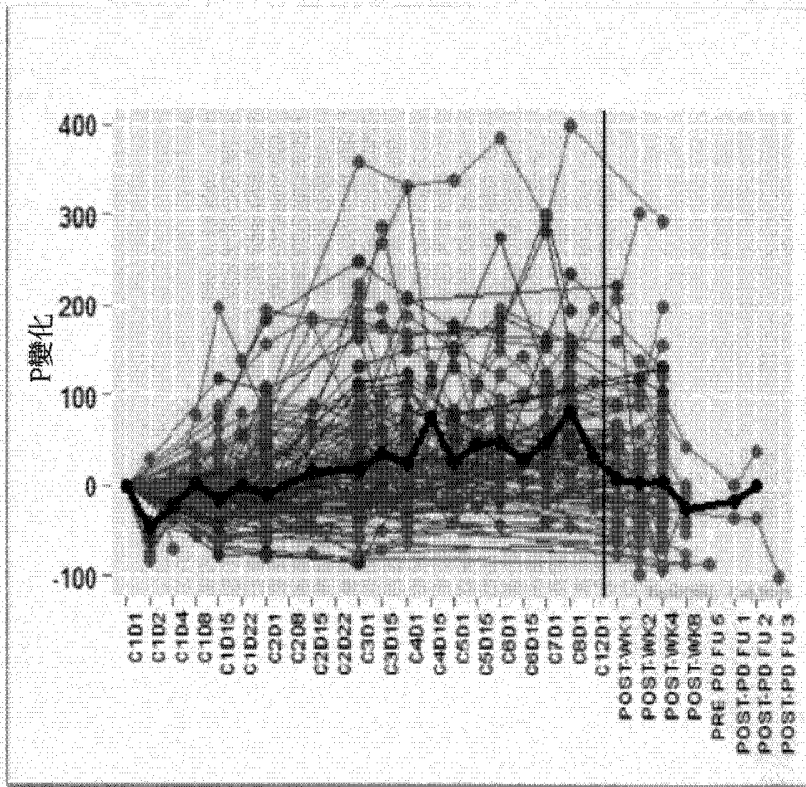


圖2

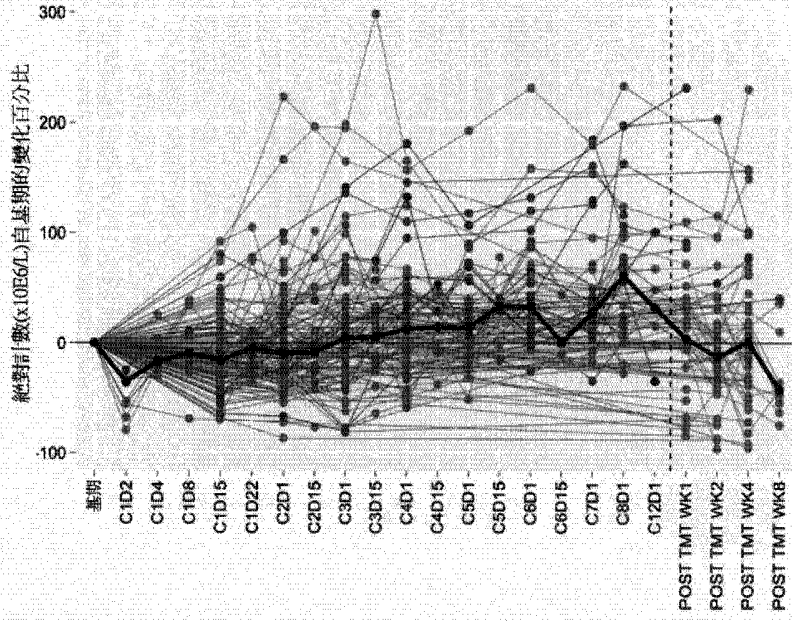


圖3

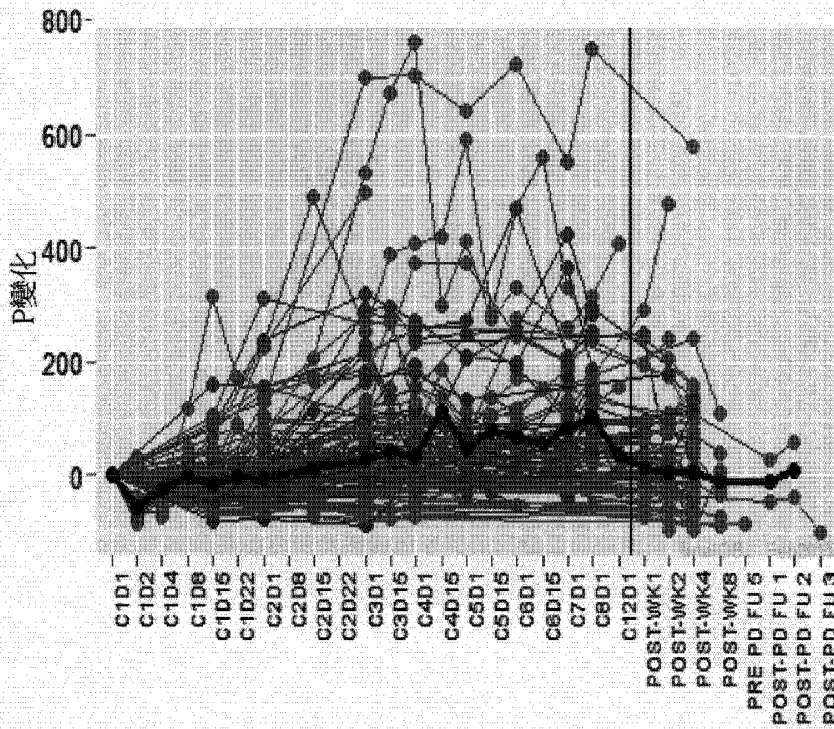


圖4

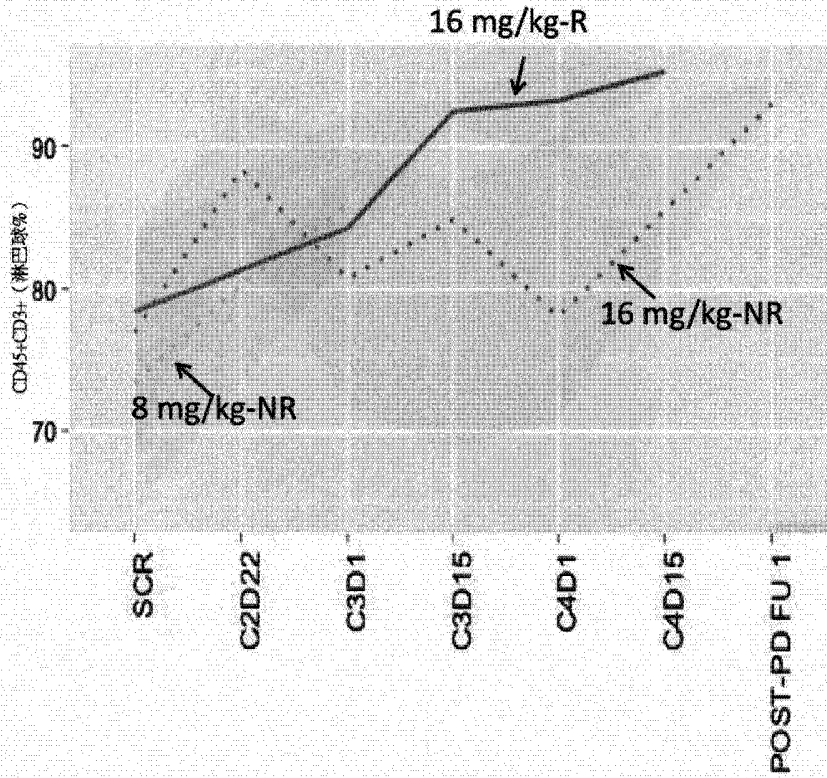


圖5

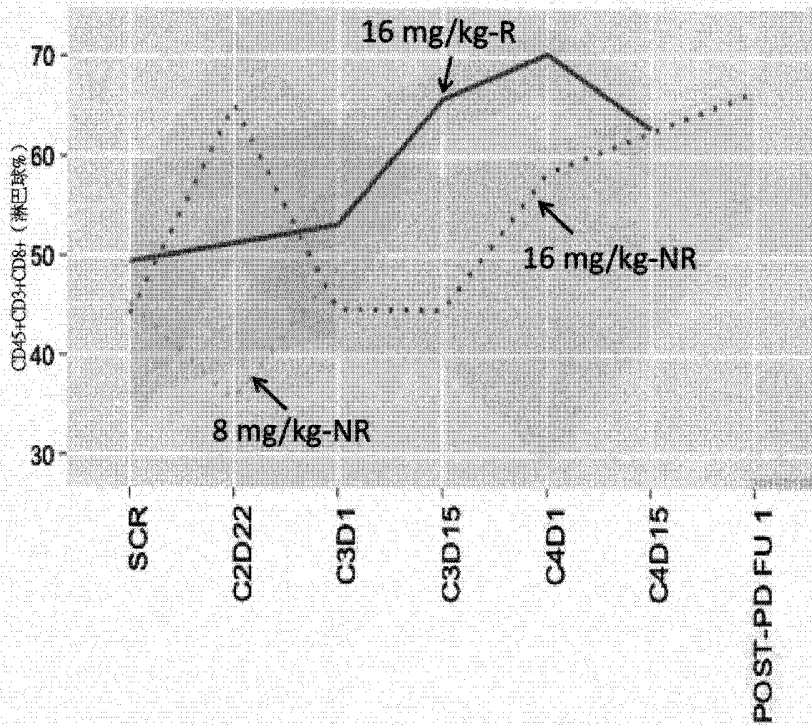


圖6

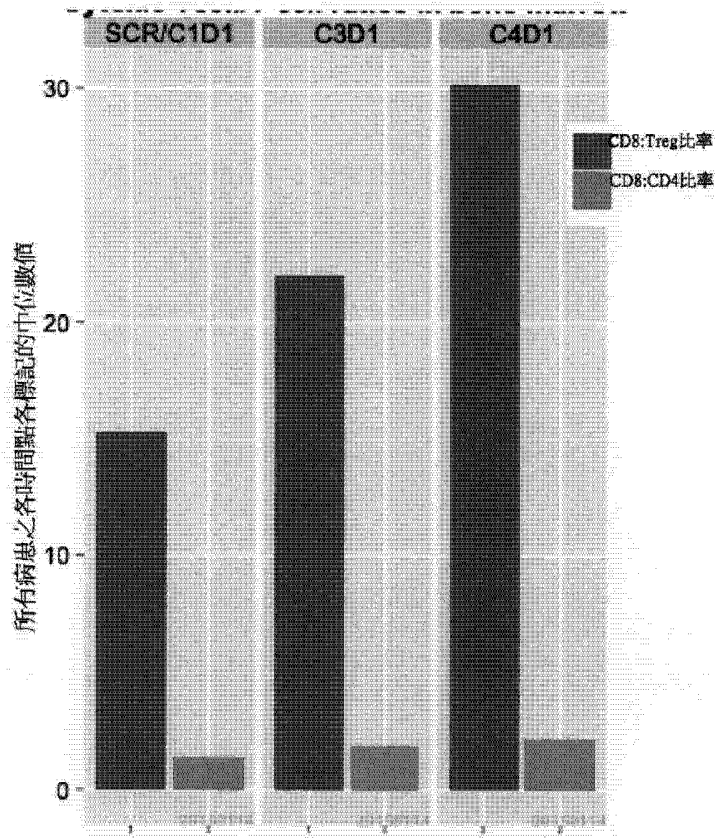


圖7A

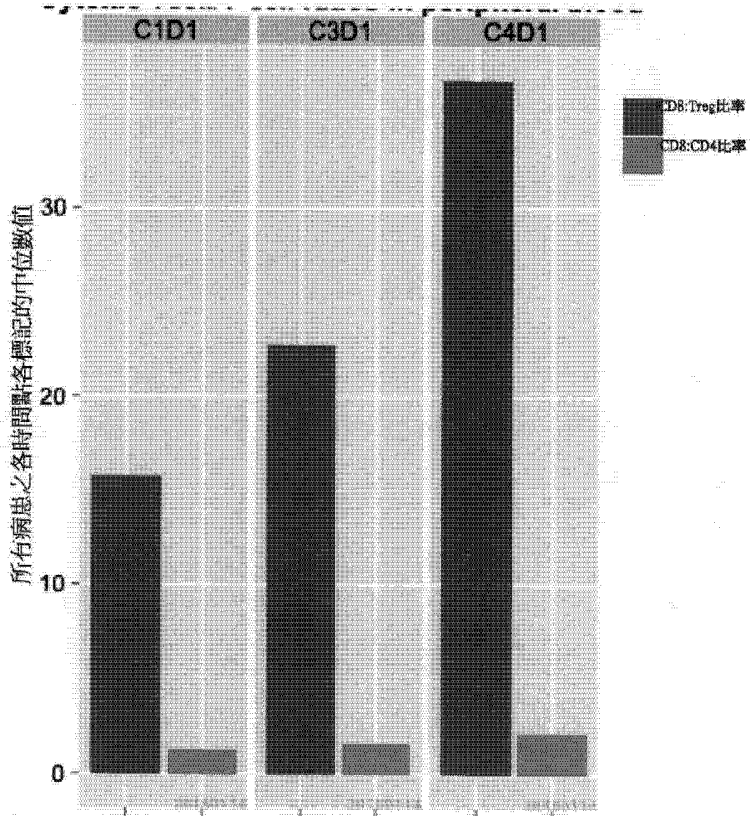


圖7B

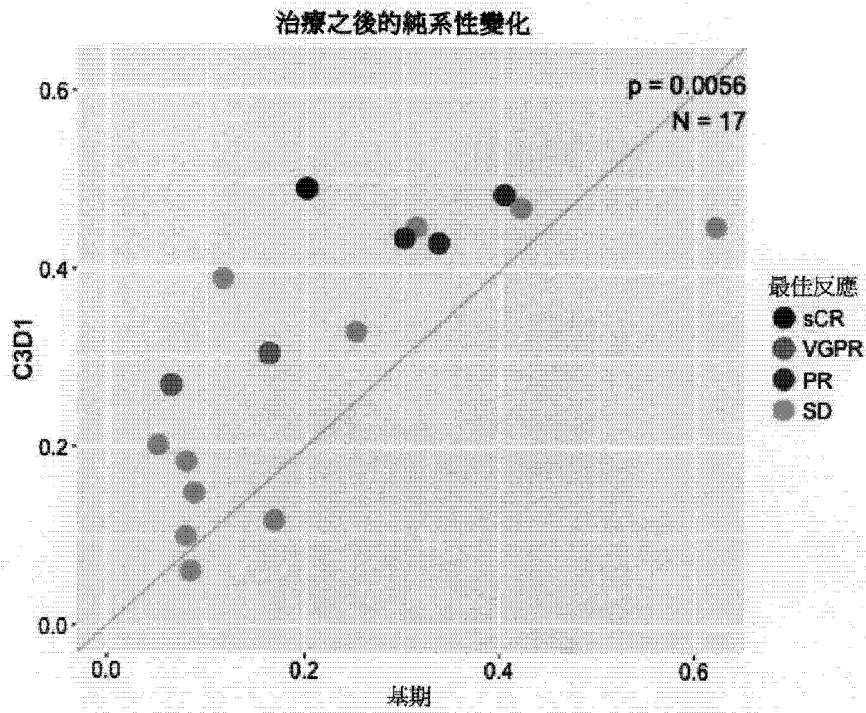


圖8A

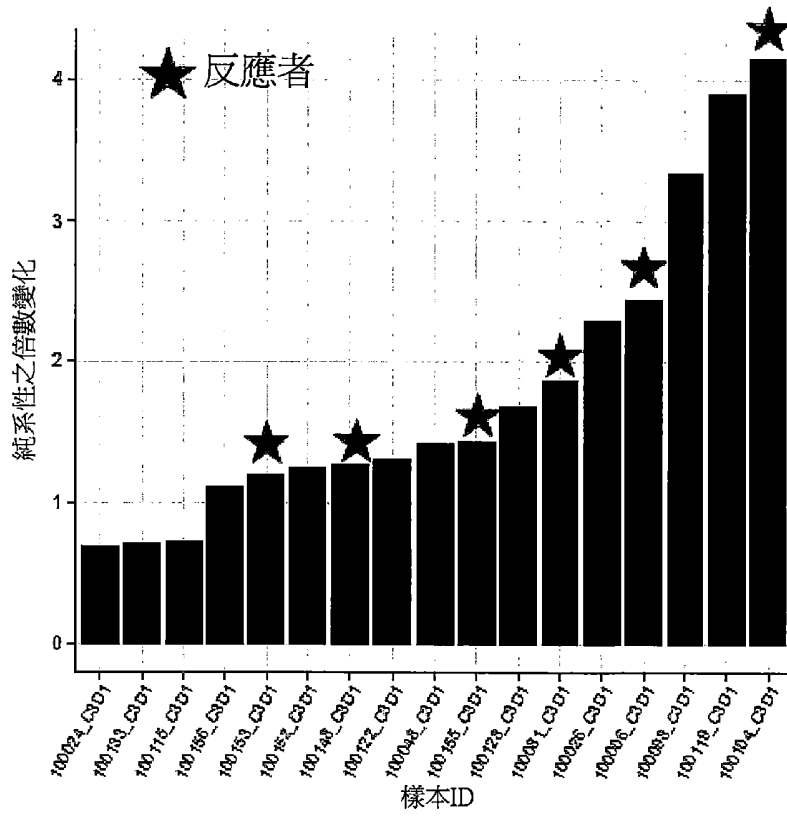


圖8B

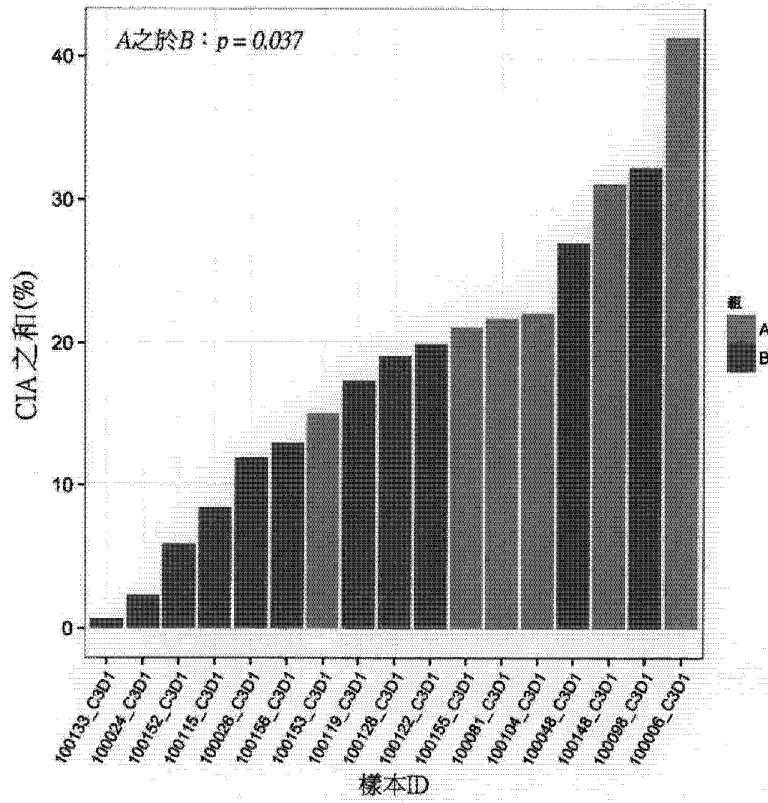


圖8C

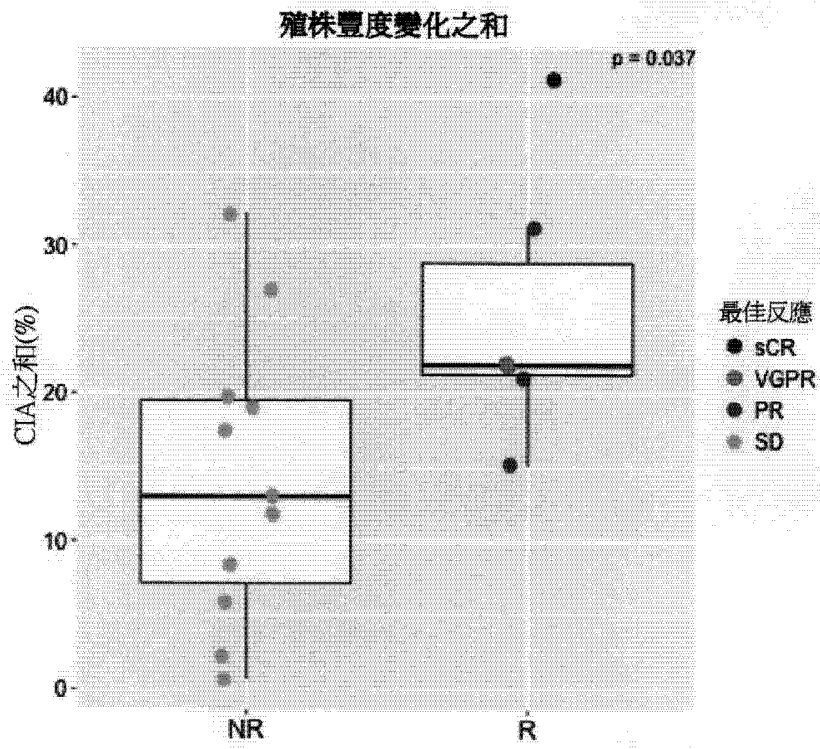


圖8D

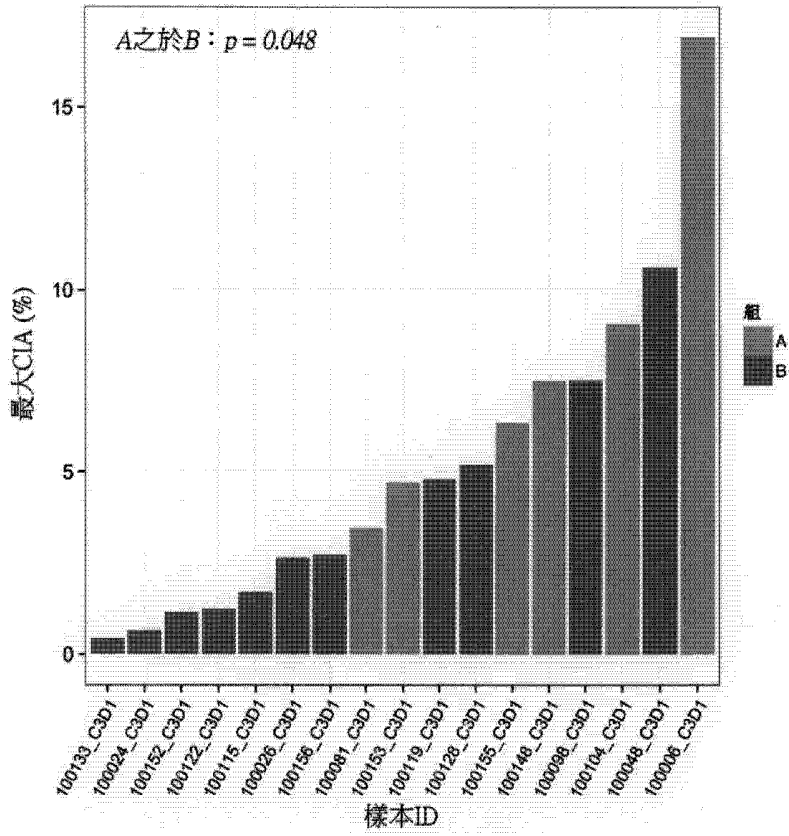


圖8E

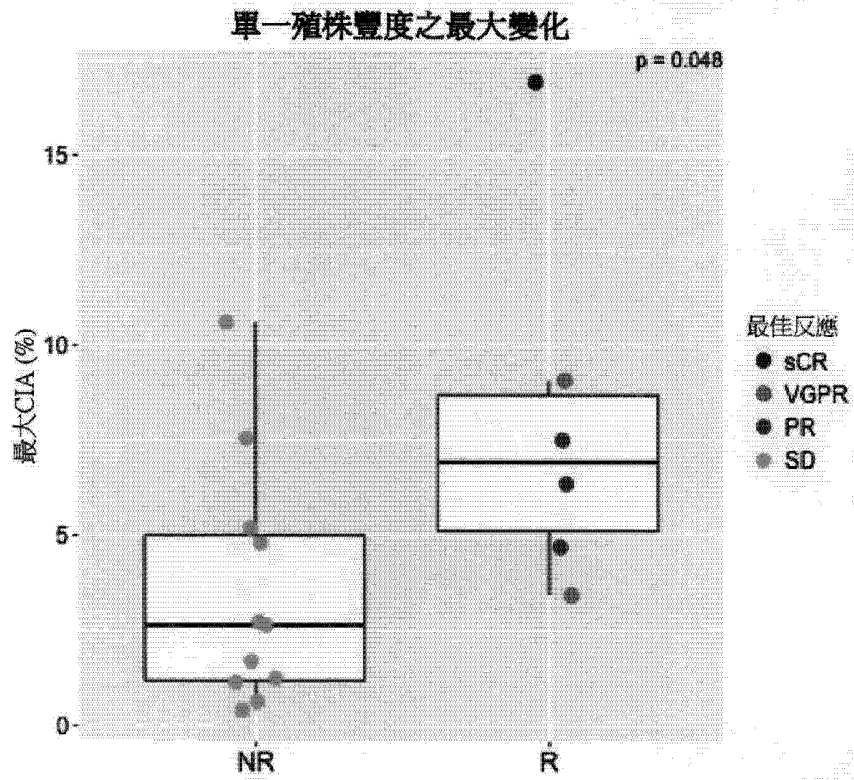


圖8F

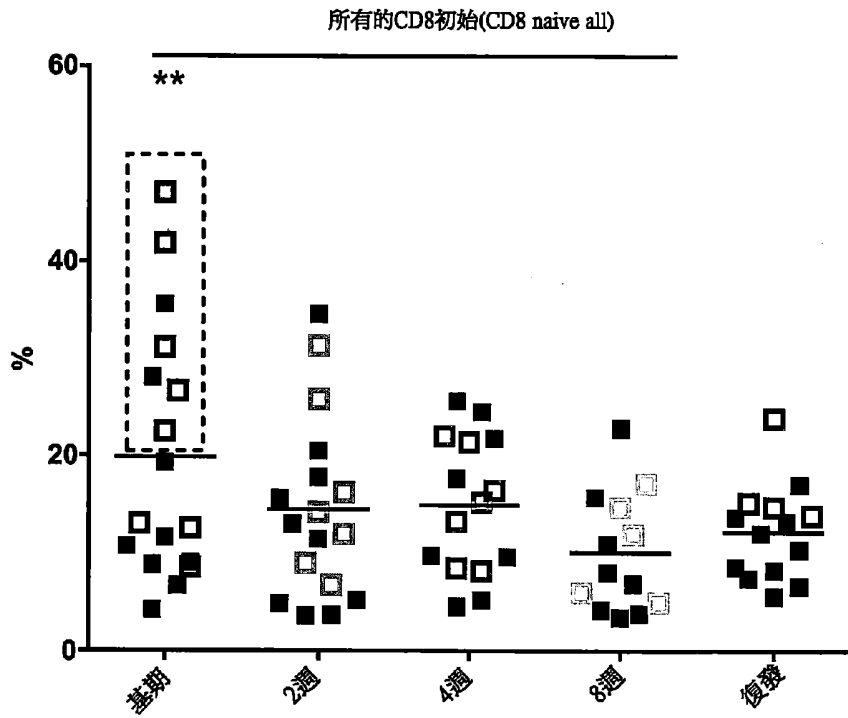


圖9A

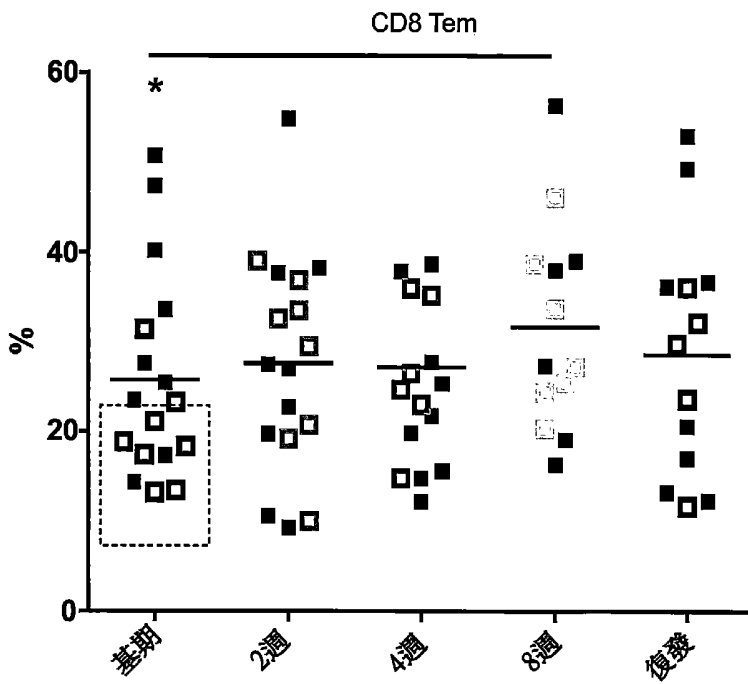
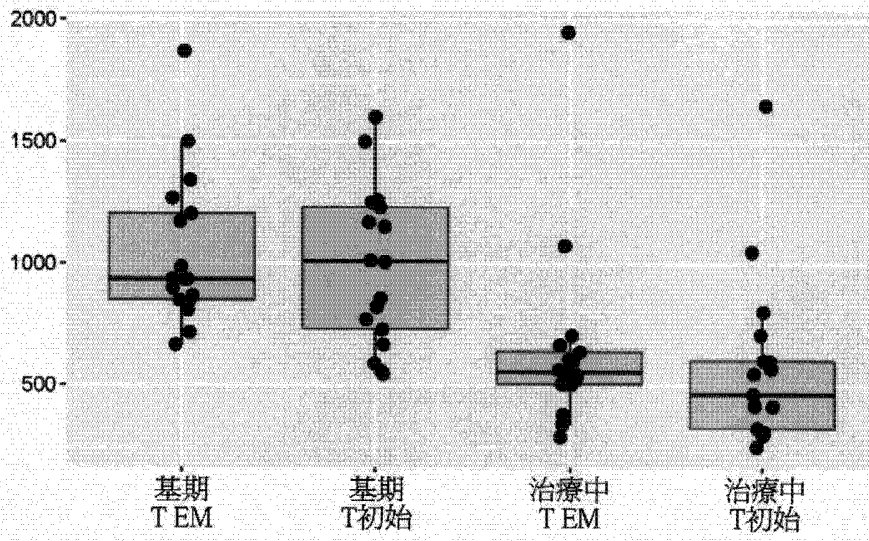
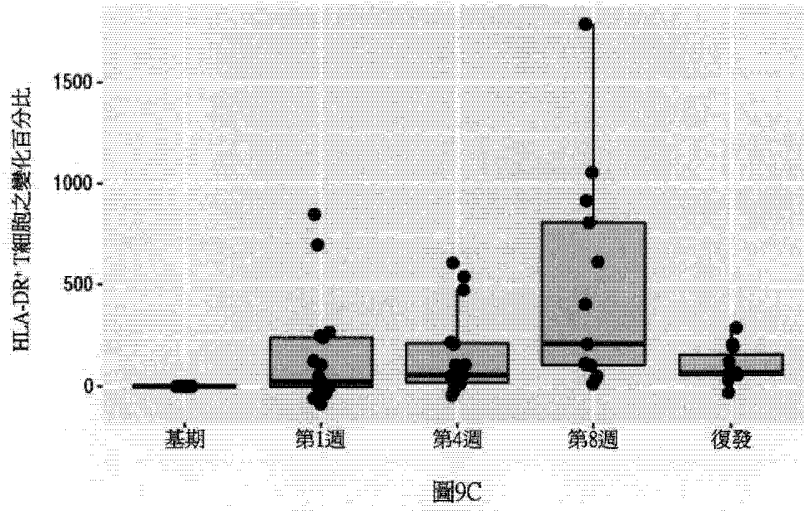


圖9B



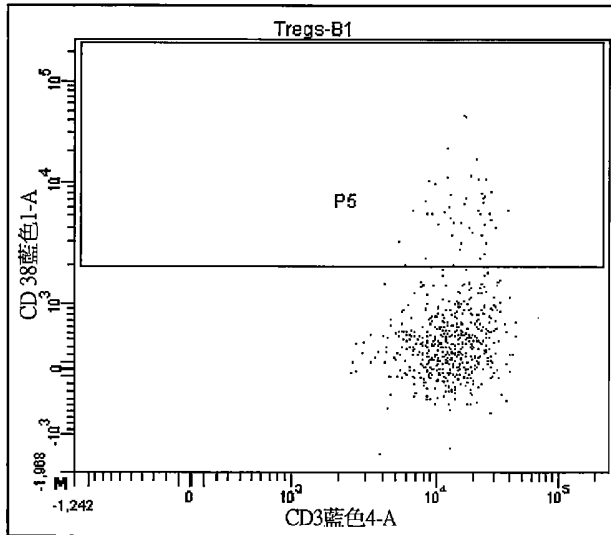
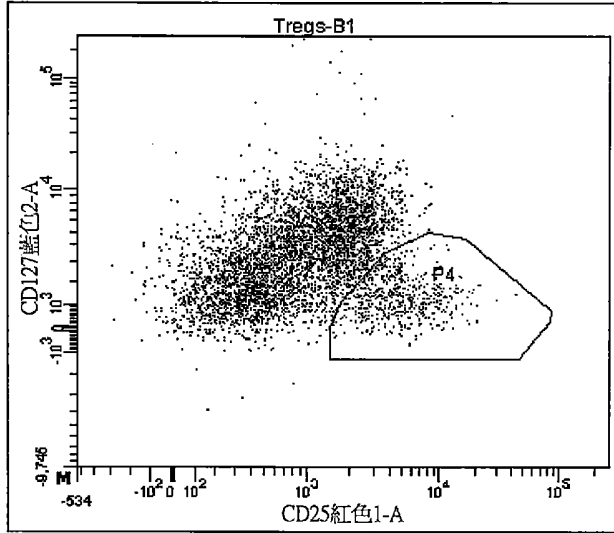


圖10A

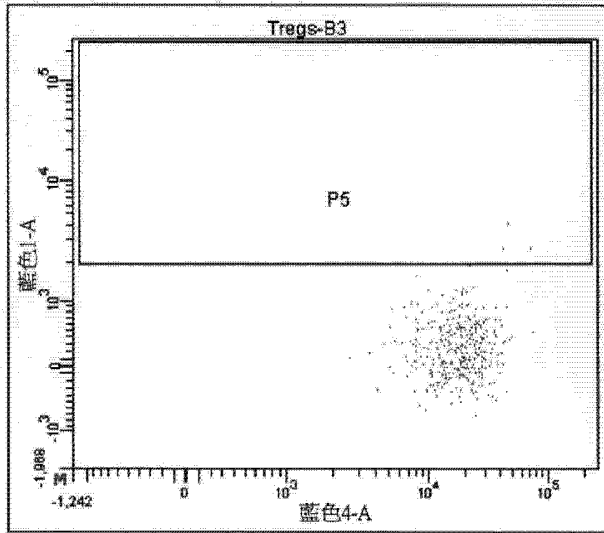
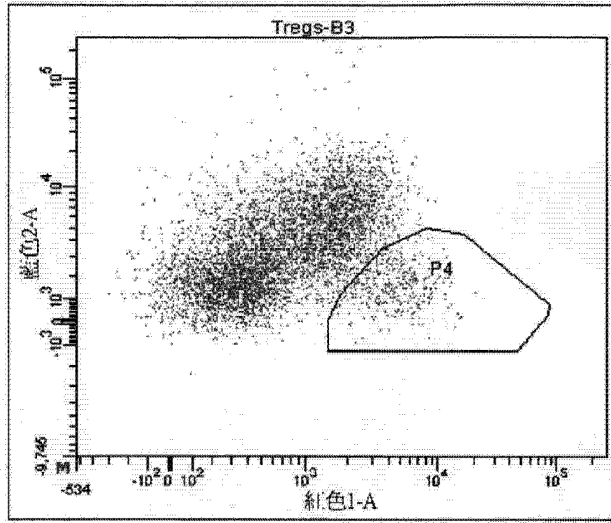


圖10B

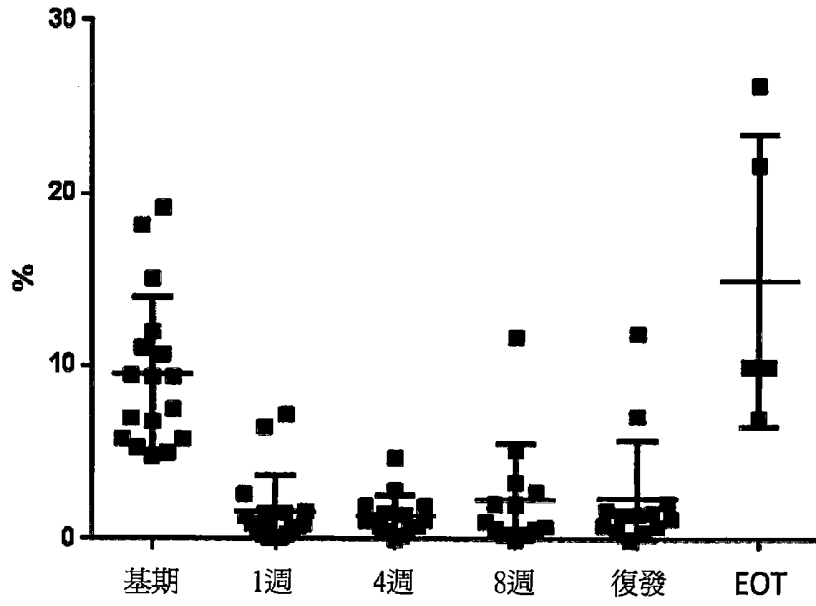


圖10C

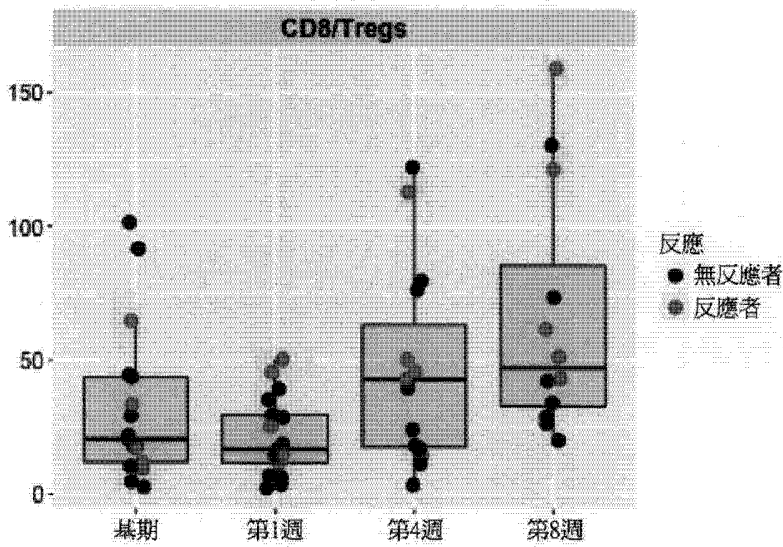


圖10D

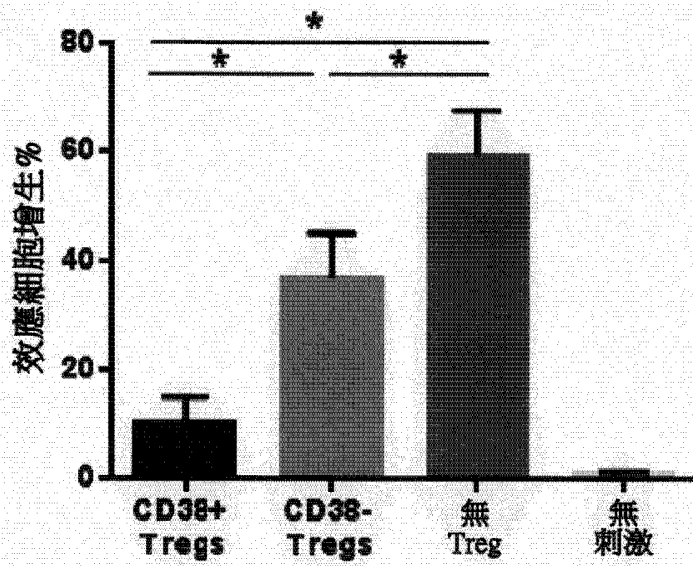


圖10E

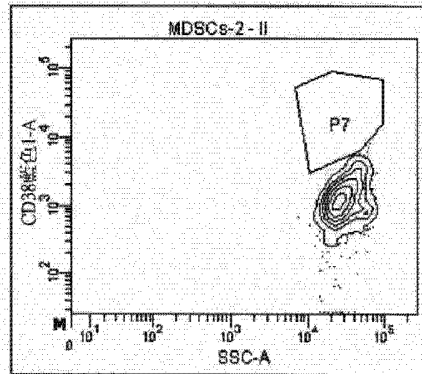
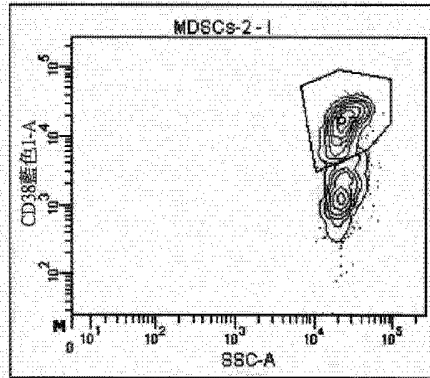
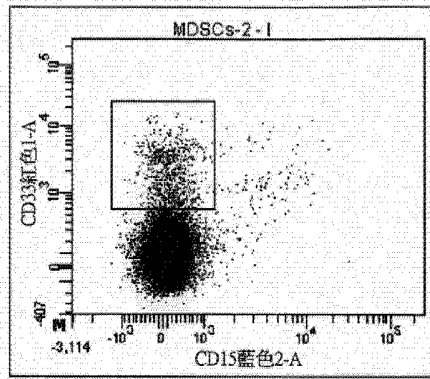


圖11

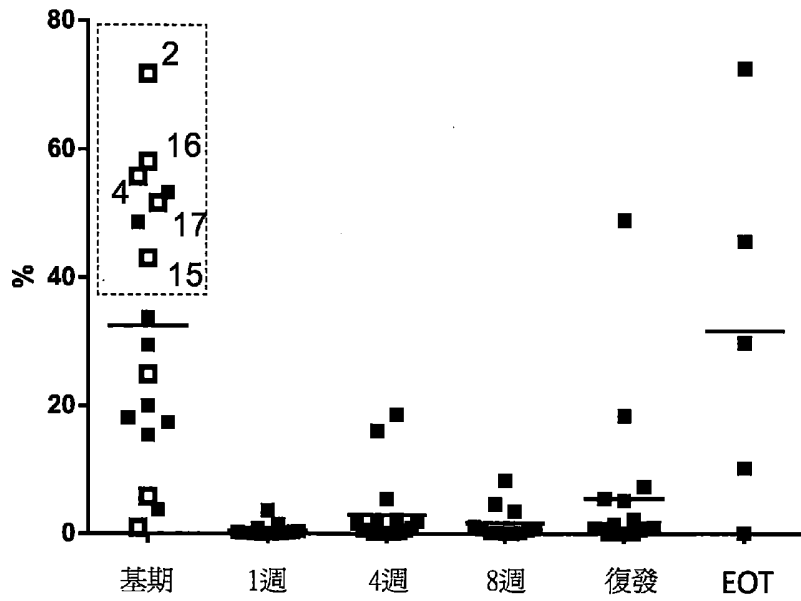


圖12

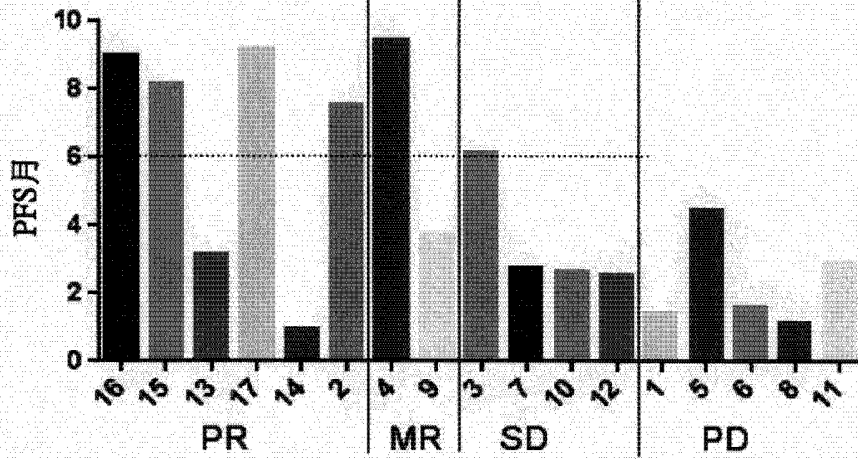


圖13

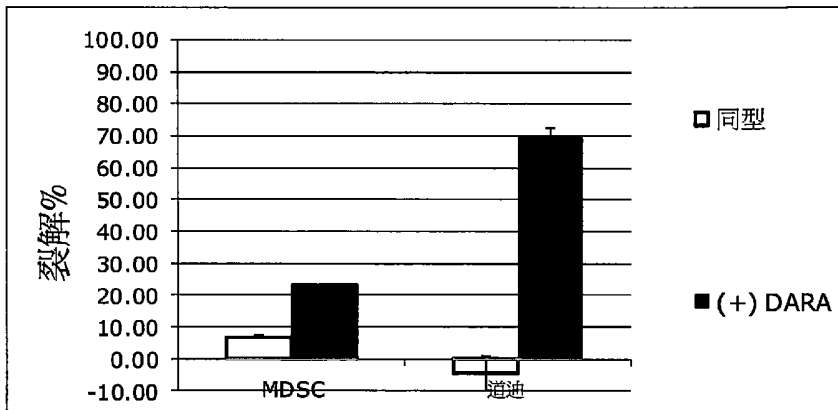


圖14

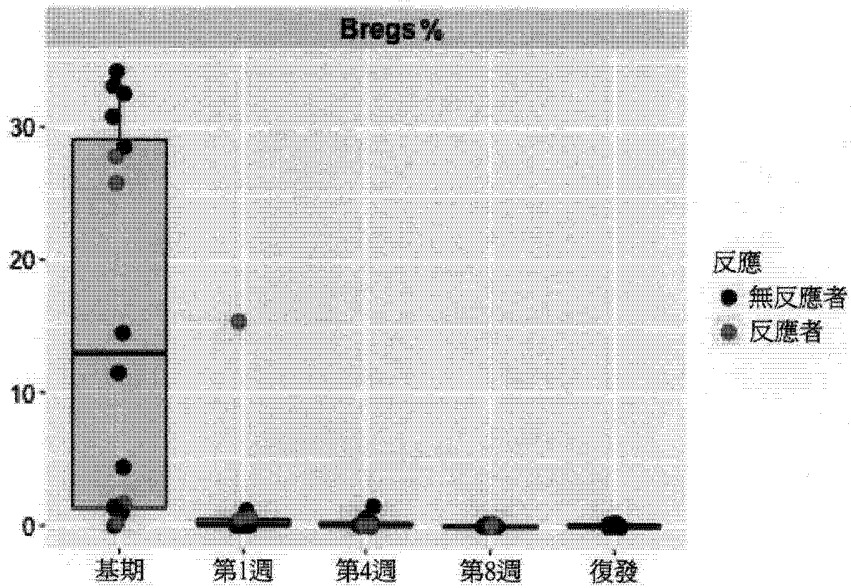


圖15A

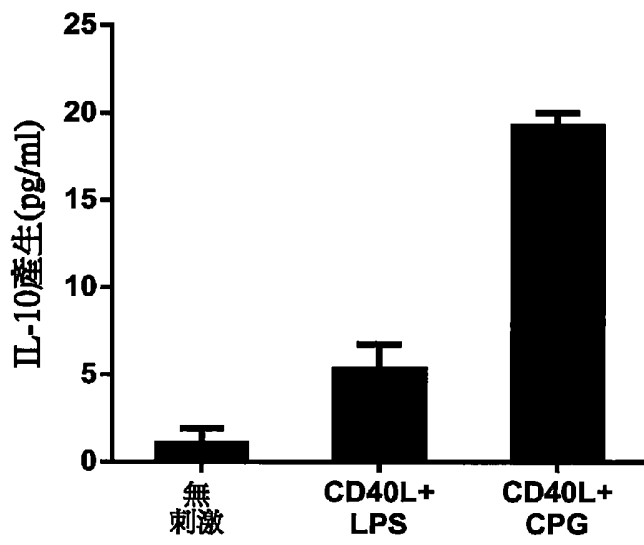


圖15B

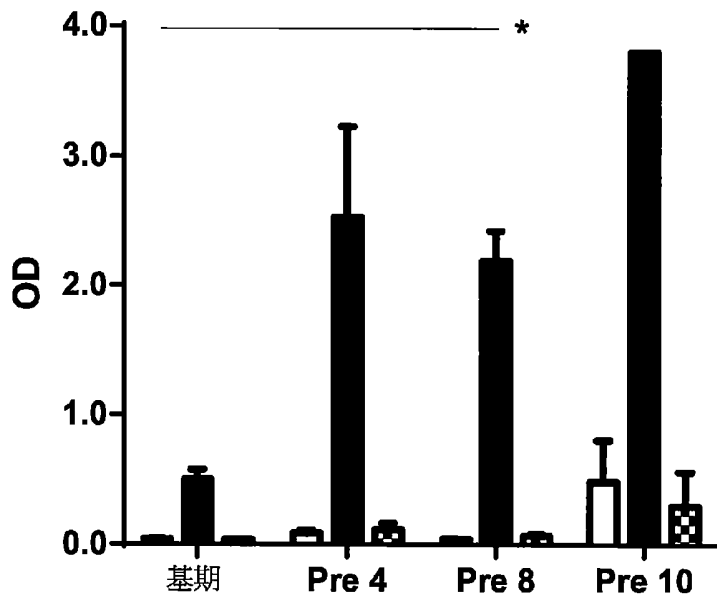


圖16A

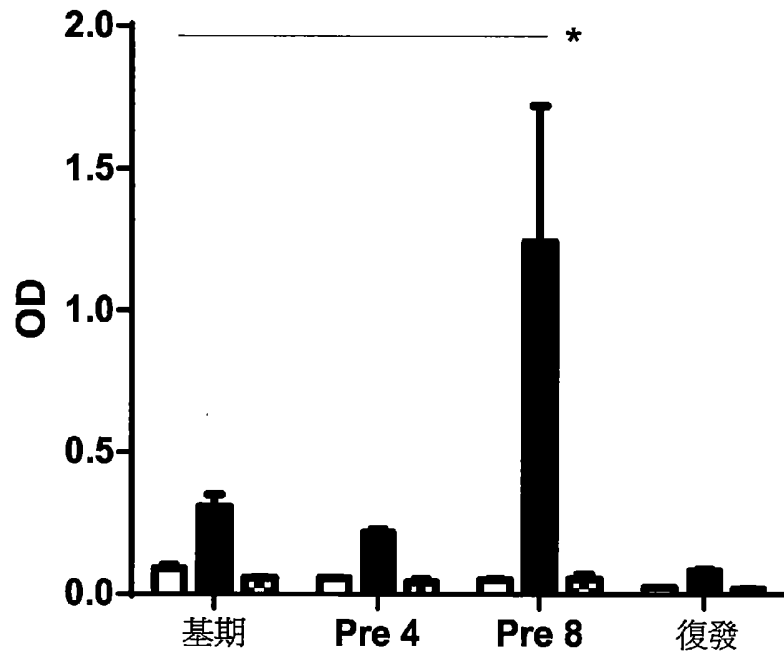


圖16B

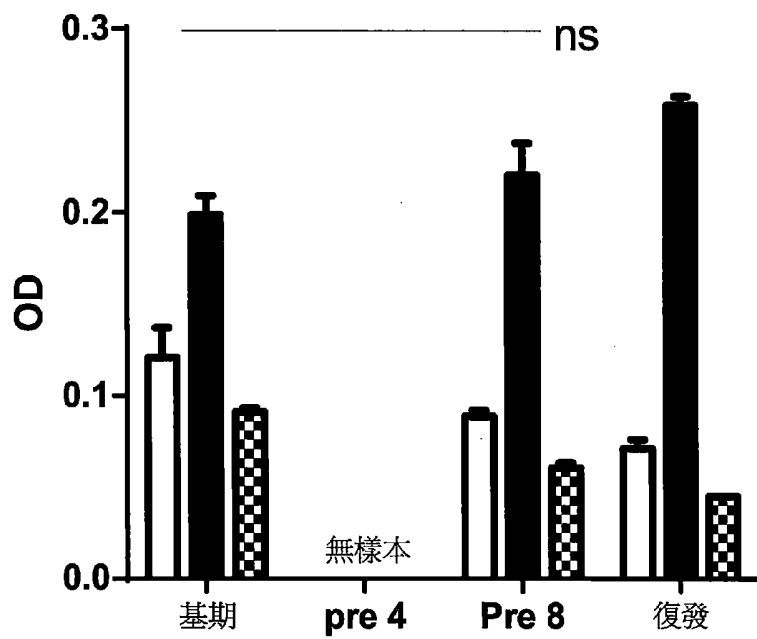


圖16C

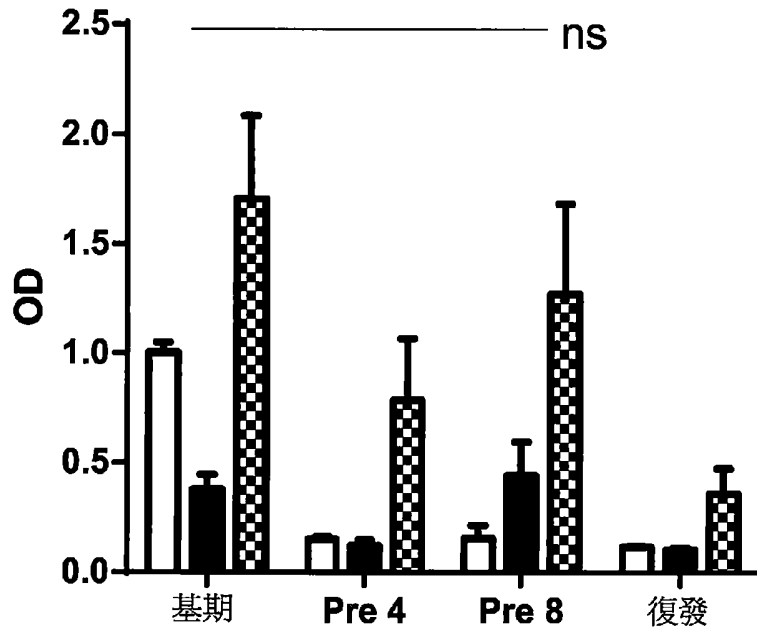


圖16D

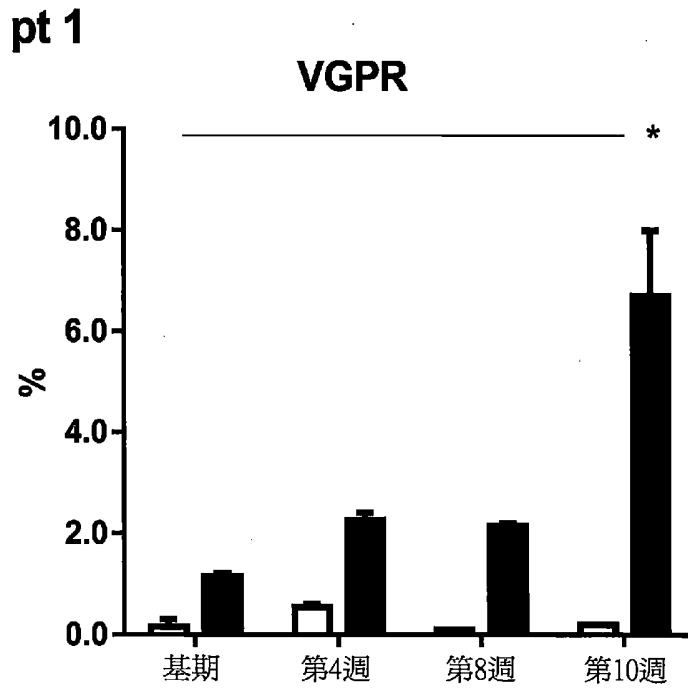


圖16E

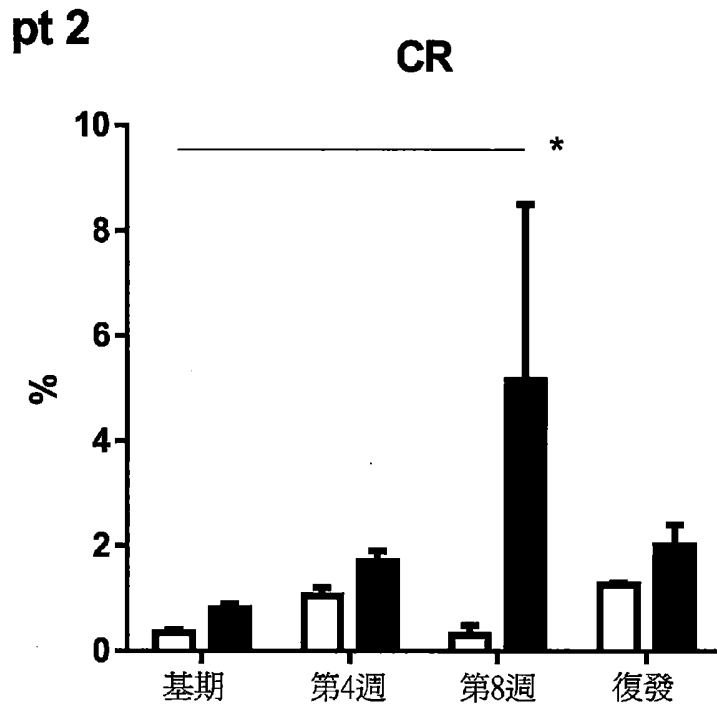


圖16F

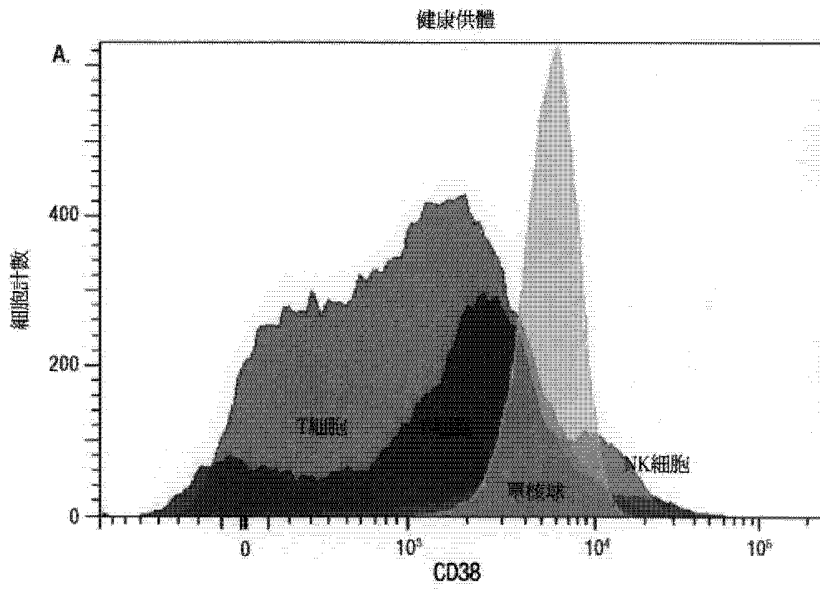


圖17A

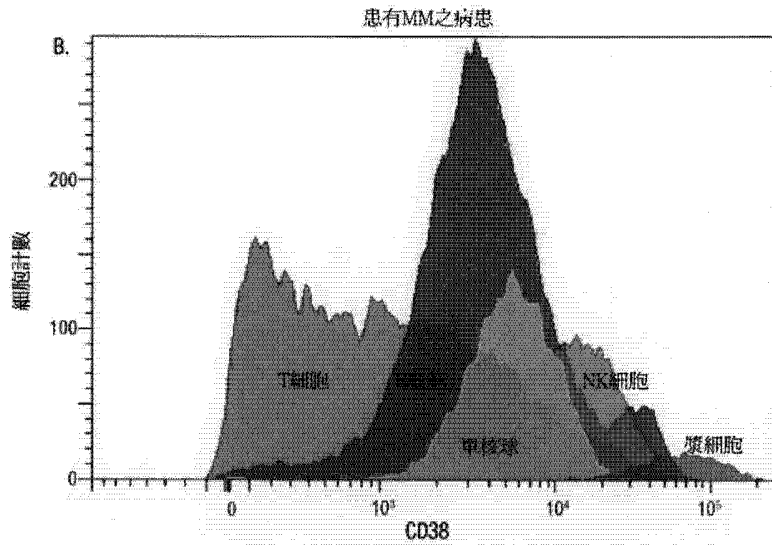


圖17B

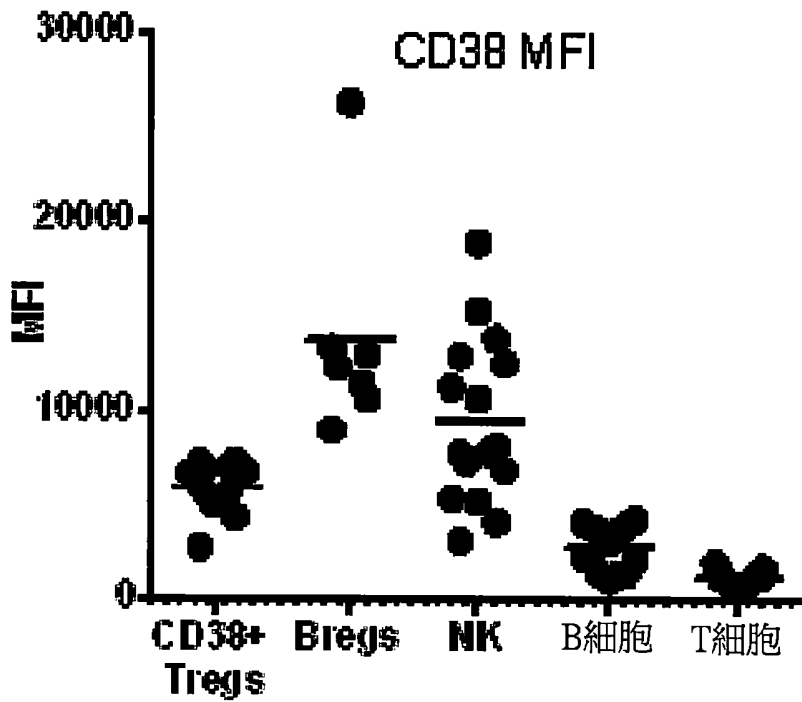


圖17C

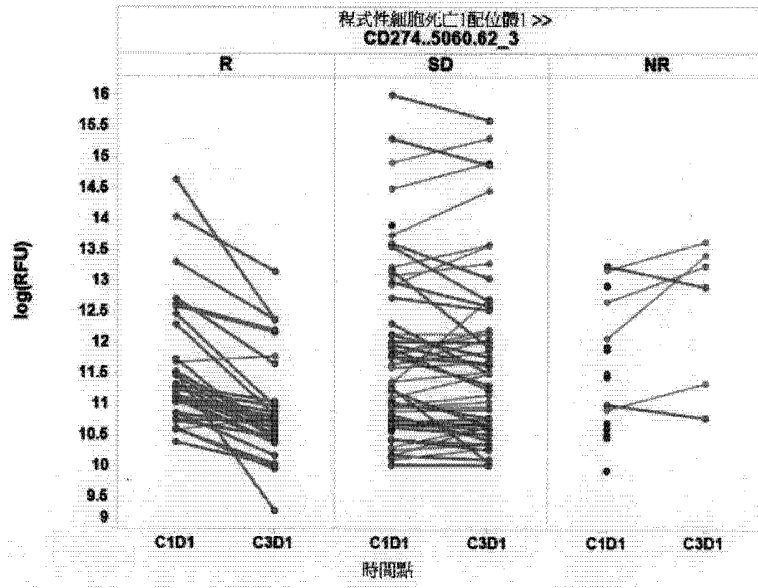


圖18

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】

使用特異性結合 CD38 之抗體免疫調節及治療固態腫瘤

IMMUNE MODULATION AND TREATMENT OF SOLID TUMORS WITH ANTIBODIES THAT SPECIFICALLY BIND CD38

## 【相關申請案之交互參照】

【0001】 本申請案主張 2016 年 6 月 24 日申請之美國申請案第 15/191808 號、2016 年 6 月 24 日申請之國際申請案第 US16/39165 號、2016 年 5 月 4 日申請之美國臨時申請案第 62/331,489 號、2015 年 12 月 4 日申請之美國臨時申請案第 62/263,307 號、及 2015 年 11 月 4 日申請之美國臨時申請案第 62/250,566 號、以及 2015 年 11 月 2 日申請之美國臨時申請案第 62/249,546 號之權益，其全部內容以引用的方式併入本文中。

## 【技術領域】

【0002】 本發明係關於用特異性結合 CD38 之抗體免疫調節及治療固態腫瘤之方法。

## 【先前技術】

【0003】 免疫系統係受共刺激及共抑制配位體及受體之網路嚴密控制。這些分子為 T 細胞活化提供二級訊號，且提供正訊號及負訊號之平衡網路，以最大化針對感染及腫瘤之免疫反應，同時限制對自身的免疫性 (Wang 等人，(Epub Mar. 7, 2011) *J Exp Med* 208(3):577-92 ; Lepenies 等人，(2008) *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 8:279-288)。

【0004】 治療固態腫瘤之免疫檢查點療法 (其靶向 T 細胞中之共抑制途徑以促進抗瘤免疫反應) 在核准抗 CTLA-4 及抗 PD-1 抗體

YERVOY<sup>®</sup> (伊匹單抗(ipilimumab))、KEYTRUDA<sup>®</sup> (派立珠單抗(pembrolizumab))、及 OPDIVO<sup>®</sup> (尼沃魯單抗(nivolumab))之情況下導致了癌症病患之臨床照護的進步。儘管抗 PD-1/PD-L1 抗體展示了促進患有多種固態腫瘤之病患之臨床反應，但是反應率仍然相當低，其在經預治療的病患中係 15%至 20% (Swaika 等人, (2015) *Mol Immunol* doi: 10.1016/j.molimm.2015.02.009)。

**【0005】** 儘管自然殺手細胞(NK)、樹突細胞(DC)、及效應 T 細胞能夠驅動強力的抗瘤反應，但腫瘤細胞時常誘導免疫抑制性微環境，其有利於免疫抑制性免疫細胞群之發展，諸如骨髓衍生抑制細胞(MDSC)、調節 T 細胞(Treg)、或調節 B 細胞(Breg)，其等導致癌症病患及實驗腫瘤模型中之腫瘤免疫耐受性及免疫療法方案之失敗。

**【0006】** 因此，仍需要發展新的癌症免疫療法，其等誘導針對腫瘤之適應性免疫反應或靶向免疫抑制性免疫細胞。

### **【發明內容】**

**【0007】** 本發明提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體。

**【0008】** 本發明亦提供一種用於治療患有調節 T 細胞(Treg)媒介之疾病的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體。

**【0009】** 本發明亦提供一種用於治療患有骨髓衍生抑制細胞(MDSC)媒介之疾病的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體。

**【0010】** 本發明亦提供一種用於治療患有調節 B 細胞(Breg)媒介之疾病的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體。

**【0011】** 本發明亦提供一種抑制調節 T 細胞(Treg)之活性的方法，其包含使該 Treg 接觸特異性結合 CD38 之抗體。

【0012】 本發明亦提供一種抑制骨髓衍生抑制細胞(MDSC)之活性的方法，其包含使該 MDSC 接觸特異性結合 CD38 之抗體。

【0013】 本發明亦提供一種抑制調節 B 細胞(Breg)之活性的方法，其包含使該 Breg 接觸特異性結合 CD38 之抗體。

【0014】 本發明亦提供一種增強病患之免疫反應的方法，其包含向該病患投予特異性結合 CD38 之抗體。

【0015】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含藉由向該病患投予特異性結合 CD38 之抗體來減少該病患中 Treg 細胞之數目。

【0016】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含藉由向該病患投予特異性結合 CD38 之抗體來減少該病患中骨髓衍生抑制細胞(MDSC)之數目。

【0017】 本發明亦提供一種抑制免疫抑制細胞之活性的方法，其包含使該免疫抑制細胞接觸特異性結合 CD38 之抗體。

【0018】 本發明亦提供一種治療患有病毒感染之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予特異性結合 CD38 之抗體。

### 【圖式簡單說明】

#### 【0019】

圖 1 顯示，病患中淋巴球數目之中位數係對以 8 mg/kg（上方線）或 16 mg/kg（下方線）劑量的 DARZALEX™（達拉單抗）治療反應隨時間推移而增加，並在治療結束後淋巴球數目返回至基期。研究：SIRIUS。X 軸指示時間，其係以治療週期及在各治療週期內之給藥天數表示（C1D1：第 1 週期第 1 天；C1D4：第 1 週期第 4 天等等）。SCR：基期；EOT：治療結束；WK：週；POST-WK：在治療後之指定週數；post-PD FU：進展後之追蹤(follow-up)。以灰色陰影強調的範圍指示反應者之各訪視之數據點的四分位數間距(IQR)係 25 至 27%。

圖 2 顯示針對各個別病患（淺灰色線）經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患之周邊血液中 CD3<sup>+</sup> T 細胞之絕對計數自基期的變

化百分比(%)。研究：SIRIUS (MMY2002)。X 軸指示時間，其係以治療週期及在各治療週期內之給藥天數表示 (C1D1：第 1 週期第 1 天；C1D4：第 1 週期第 4 天等等)。WK：週；POST-WK：在治療後之指定週數；POST-PD FU：進展後之追蹤。黑色線顯示所有病患之中位數變化%。

圖 3 顯示針對各個別病患 (淺灰色線) 經 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療的病患之周邊血液中 CD4<sup>+</sup> T 細胞之絕對計數自基期的變化百分比(%)。研究：SIRIUS。X 軸指示時間，其係以治療週期及在各治療週期內之給藥天數表示 (C1D1：第 1 週期第 1 天；C1D4：第 1 週期第 4 天等等)。WK：週；POST-TMT：治療後。黑色線顯示所有病患之中位數變化%。

圖 4 顯示針對各個別病患 (淺灰色線) 經 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療的病患之周邊血液中 CD8<sup>+</sup> T 細胞之絕對計數自基期的變化百分比(%)。研究：SIRIUS。X 軸指示時間，其係以治療週期及在各治療週期內之給藥天數表示 (C1D1：第 1 週期，第 1 天；C1D4：第 1 週期第 4 天等等)。WK：週；Pre-PD FU：進展前之追蹤；Post-PD FU：進展後之追蹤。黑色線顯示所有病患之中位數變化%。

圖 5 顯示骨髓抽出物中 CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>細胞之數目 (測量為淋巴球之百分比) 在以劑量 8 mg/kg 或 16 mg/kg 的 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療期間隨時間推移而增加。該圖表包括如所指示的反應者及無反應者。研究：SIRIUS。X 軸指示時間，其係以治療週期及在各治療週期內之給藥天數表示 (C2D22：第 2 週期第 22 天；等等)。SCR：基期；Post-PD FU1：進展後之追蹤。以灰色陰影強調的範圍指示針對以 8 mg/kg 給藥的無反應者、以 16 mg/kg 給藥的反應者、或以 16 mg/kg 給藥的無反應者，各訪視之數據點的四分位數間距(IQR)分別係 25 至 27%。NR：無反應者；R：反應者。

圖 6 顯示骨髓抽出物中 CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>細胞之數目 (呈淋巴球之百分比測量) 在以劑量 8 mg/kg 或 16 mg/kg 的 DARZALEX™

(達拉單抗) 治療期間隨時間推移而增加。該圖表包括如所指示的反應者及無反應者。研究：SIRIUS。X 軸指示時間，其係以治療週期及在各治療週期內之給藥天數表示 (C2D22：第 2 週期第 22 天等等)。SCR：基期；Post-PD FU1：進展後之追蹤。以灰色陰影強調的範圍指示針對以 8 mg/kg 給藥的無反應者、以 16 mg/kg 給藥的反應者、或以 16 mg/kg 給藥的無反應者，各訪視之數據點的四分位數間距(IQR)分別係 25 至 27%。NR：無反應者；R：反應者。

**圖 7A** 顯示在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療期間，以所有治療病患之中位數值所表示的周邊血液中 CD8<sup>+</sup>/Treg 及 CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> 細胞之比率增加。時間點：C1D1：第 1 週期第 1 天；C3D1：第 3 週期第 1 天；C4D1：第 4 週期第 1 天。研究：SIRIUS。SRC：基期。

**圖 7B** 顯示在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療期間，以所有經治療病患之中位數值所表示的骨髓抽出物中 CD8<sup>+</sup>/Treg 細胞之比率隨時間推移而增加。時間點：C1D1：第 1 週期第 1 天；C3D1：第 3 週期第 1 天；C4D1：第 4 週期第 1 天。研究：SIRIUS。

**圖 8A** 顯示當相較於無反應者時，反應者之 CD8<sup>+</sup> T 細胞純系性增加，如使用特定純系細胞之豐度變化(CIA)%所測量。研究：GEN501 17 病患子集。

**圖 8B** 顯示 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療之前之於之後，個別病患中 CD8<sup>+</sup> T 細胞純系性之倍數變化。反應者係經星號指示。純系性係測量為特定純系細胞之豐度變化(CIA)倍數。研究：GEN501 17 病患子集。

**圖 8C** 顯示當相較於無反應者 (B 組) 時，反應者 (A 組) 在 TCR 貯庫中總擴增較大，其係使用 CIA (豐度變化) 測量。P=0.037。研究：GEN501 17 病患子集。

**圖 8D** 顯示反應者及無反應者中各擴增 T 細胞殖株之絕對豐度變化 (CIA) 之和。反應者 (A 組) 與無反應者 (B 組) 之間的 P=0.035。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 8E 顯示反應者 (A 組) 及無反應者 (B 組) 中之單個細胞殖株的最大 CIA。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 8F 顯示當相較於無反應者 (B 組) 時，反應者 (A 組) 之單一殖株之最大擴增較大，其係使用最大 CIA% 測量。P=0.0477。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 9A 顯示在基期、或在治療 2 週、4 週、或 8 週、或復發後，無反應者 (NR，黑色方形) 及對 DARZALEX™ (達拉單抗) 具有至少最小反應之病患 (MR，白色方形) 的周邊血液中之 CD8<sup>+</sup> 初始細胞 (naïve cell) 的百分比 (%)。研究：GEN501 17 病患子集。  
\*\*p=1.82 × 10<sup>-4</sup>。

圖 9B 顯示在基期、或在治療 2 週、4 週、或 8 週、或復發後，無反應者 (NR，黑色方形) 及對 DARZALEX™ (達拉單抗) 具有至少最小反應之病患 (MR，白色方形) 的周邊血液中之 CD8<sup>+</sup> 中央記憶細胞 (Tem) 之百分比。研究：GEN501 17 病患子集。  
\*p=4.88 × 10<sup>-2</sup>。

圖 9C 顯示在基期、或在治療第 1、4、或 8 週、或復發後，周邊血液中 HLA I 類限制性 CD8<sup>+</sup> T 細胞之增加百分比。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 9D 顯示在基期或治療中，CD38 在周邊血液之 CD8<sup>+</sup> 初始 T 細胞及 CD8<sup>+</sup> 中央記憶細胞 (Tem) 中以低水平表現。研究：GEN501 17 病患子集。MFI：平均螢光強度。

圖 10A 顯示 FACS 分析之分佈圖，其顯示在基期，多發性骨髓瘤病患中 Treg (CD3<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup>) 之頻率 (上分佈圖，P4 細胞群) 及 CD38<sup>+</sup> Treg 在 Treg 群內之頻率 (下分佈圖，P5 細胞群)。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 10B 顯示 FACS 分析之分佈圖，其顯示在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療之後，多發性骨髓瘤病患中 Treg (CD3<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup>) 之頻率 (上分佈圖，P4 細胞群) 及 CD38<sup>+</sup> Treg 在 Treg 群內之頻率 (下分佈圖，P5 細胞群)。

DARZALEX™（達拉單抗）治療使 CD38<sup>+</sup> Treg 損耗。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 10C 顯示在基期、或在 1 週、4 週、8 週、復發之後、或在 6 個月治療結束(EOT)時，經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患中 CD38<sup>高</sup> CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup> Treg 之頻率。CD38<sup>高</sup> Treg 之頻率隨著 DARZALEX™（達拉單抗）治療減少，並在 EOT 時返回至基期。Y 軸：CD3<sup>+</sup> T 細胞之 CD38<sup>高</sup> CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup> Treg 的%。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 10D 顯示在基期、在治療 1 週、4 週、及 8 週，反應者及無反應者中之 CD8<sup>+</sup>/Treg 細胞比率。在治療第 8 週時，反應者之於無反應者之 CD8<sup>+</sup>/Treg 細胞比率顯著地較高(p=0.00955)。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 10E 顯示當相較於 CD38<sup>-</sup> Treg 或陰性對照時，在 CD38<sup>+</sup> Treg 存在下更有效地抑制效應細胞的增生。誤差條代表標準誤差。星號標示顯著變化。樣本係自多個健康供體獲得。透過羧基螢光素琥珀醯亞胺酯(CFSE)之稀釋評估細胞增生。

圖 11 顯示骨髓衍生抑制細胞(MDSC)存在於多發性骨髓瘤病患中（上圖表，加框的細胞），且約一半的細胞表現 CD38（中間圖表，加框的細胞）。CD38 高 MDSC 群於經一次 DARZALEX™（達拉單抗）輸液治療的病患中損耗（下圖表，加框的細胞）。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 12 顯示當相較於基期時，在經 DARZALEX™（達拉單抗）治療 1 週、4 週、或 8 週之後，病患中之 CD38 高 MDSC (CD11b<sup>+</sup>HLADR<sup>-</sup>CD14<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>)之數目減少，並在治療結束(EOT)後返回至接近基期。復發病患仍展示 CD38 高 MDSC 減少。黑色方形：無反應者；白色方形：對 DARZALEX™（達拉單抗）治療具有至少最小反應的病患。垂直線指示各組中之中位數值。病患 2、4、15、16、及 17 展示出高的最初 CD38 高 MDSC 群。研究：GEN501 17 病患子集。

圖 13 顯示具最高 CD38 高 MDSC 的病患（病患 2、4、15、16、及 17）具有最高的無進展存活期 (PFS)。這些病患對 DARZALEX™（達拉單抗）治療具有部分反應 (PR) 或最小反應 (MR)。SD：疾病穩定；PD：疾病進展。X 軸顯示各個別編號病患之 PFS。

圖 14 顯示 MDSC 對 DARZALEX™（達拉單抗）誘導之 ADCC 敏感。道迪細胞 (Daudi cell) 在測定中用作目標細胞之陽性對照。測量細胞裂解%。

圖 15A 顯示在治療之第 1 週、第 4 週、及第 8 週時，CD38<sup>+</sup> Breg 在經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患中損耗。

圖 15B 顯示 CD38<sup>+</sup> Breg 在刺激後分泌 IL-10。

圖 16A 顯示在基期及在治療期間的指定時間，透過具有 VGPR 的經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患之 PBMC 中 CMV、EBV、及流感病毒特異性 (CEF) IFN- $\gamma$  的產生所測量之抗病毒反應。OD：光學密度。白色條：陰性對照；黑色條：添加 CEF；短劃條：僅同種異體 PBMC。星號指示統計學顯著的變化。Pre 4, 8, 10=治療之第 4、8、或 10 週。

圖 16B 顯示在基期及在治療期間的指定時間，透過具有 CR 的經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患之 PBMC 中 CMV、EBV、及流感病毒特異性 (CEF) IFN- $\gamma$  的產生所測量之抗病毒反應。OD：光學密度。白色條：陰性對照；黑色條：添加 CEF；短劃條：僅同種異體 PBMC。星號指示統計學顯著的變化。Pre 4, 8, 10=治療之第 4、8、或 10 週。

圖 16C 顯示在基期及在治療期間的指定時間，透過具有 PD 的經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患之 PBMC 中 CMV、EBV、及流感病毒特異性 (CEF) IFN- $\gamma$  的產生所測量之抗病毒反應。OD：光學密度。白色條：陰性對照；黑色條：添加 CEF；短劃條：僅同種異體 PBMC。Ns：不顯著。Pre 4, 8=治療之第 4 或 8 週。

**圖 16D** 顯示在基期及在治療期間的指定時間，透過具有 MR 的經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患之 PBMC 中 CMV、EBV、及流感病毒特異性(CEF) IFN- $\gamma$  的產生所測量之抗病毒反應。OD：光學密度。白色條：陰性對照；黑色條：添加 CEF；短劃條：僅同種異體 PBMC。Ns：不顯著。Pre 4, 8=治療之第 4 或 8 週。

**圖 16E** 顯示在基期及在治療期間所指定的時間，具有 VGPR 的經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患之 PBMC 中增生病毒反應性 T 細胞之百分比(%)。白色條：陰性對照；黑色條：添加 CEF。星號指示統計學顯著的變化。Pre 4, 8, 10=治療之第 4、8、或 10 週。

**圖 16F** 顯示在基期及在治療期間所指定的時間，具有 CR 的經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患之 PBMC 中增生病毒反應性 T 細胞之百分比(%)。白色條：陰性對照；黑色條：添加 CEF。星號指示統計學顯著的變化。Pre 4, 8, 10=治療之第 4、8、或 10 週。

**圖 17A** 顯示 FACS 分析之分佈圖，其顯示 CD38 在健康供體之自然殺手細胞(NK)、單核球、B 細胞、及 T 細胞上的表現水平。

**圖 17B** 顯示 FACS 分析之分佈圖，其顯示 CD38 在多發性骨髓瘤病患之漿細胞、自然殺手細胞(NK)、單核球、B 細胞、及 T 細胞上的表現水平。

**圖 17C** 顯示復發性及難治性多發性骨髓瘤病患之 CD38+ Treg、Breg、NK、B 細胞、及 T 細胞中 CD38 之平均螢光強度(MFI)的比較。當相較於 CD38+Treg、Bregs、及 NK 細胞時，CD38 以較低水平表現於 B 細胞及 T 細胞中。

**圖 18** 顯示 PD-L1 蛋白隨時間推移在反應者(R)之 PBMC 樣本中下調且在無反應者(NR)中上調。SD：疾病穩定。C1D1：第 1 週期第 1 天；C3D1：第 3 週期第 1 天。Y 軸顯示 log<sub>2</sub> 蛋白濃度值。

## 【實施方式】

【0020】 於本說明書及隨附的申請專利範圍中，除非內文另有明確說明，否則單數形式的「一(a/an)」及「該(the)」皆包括複數指稱。因此，例如對於「一細胞(a cell)」之指稱包括兩或更多個細胞之組合、及類似者。

【0021】 「CD38」係指人類 CD38 蛋白（同義字：ADP 核糖基環化酶 1、cADPr 水解酶 1、環 ADP 核糖水解酶 1）。人類 CD38 具有 GenBank 登錄號 NP\_001766 及 SEQ ID NO: 1 所示之胺基酸序列。熟知的是，CD38 係一種 II 型單次跨膜蛋白，其具有：胺基酸殘基 1 至 21，其等代表胞質域；胺基酸殘基 22 至 42，其等代表跨膜域；及殘基 43 至 300，其等代表 CD38 之胞外域。

SEQ ID NO: 1

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSILVLILVVVLAVVVPR  
WRQQWSGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAF  
KGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQF  
TQVQRDMFTLEDTLGLYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKD  
CSNNPVSVFWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGS  
VEVHNLQPEKVQTTLEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIIKRN  
IQFSCKNIYRPDKFLQCCKNPEDSSCTSEI

【0022】 本文中所用之「抗體(antibody)」係以廣義的方式意指並包括免疫球蛋白(immunoglobulin)分子，其包括單株抗體（包括鼠類、人類、人化(humanized)、及嵌合單株抗體）、抗體片段、雙特異性或多特異性抗體、二聚體、四聚體、或多聚體抗體、單鏈抗體、域抗體、以及任何其他包含具有所需特異性之抗原結合部位(antigen binding site)的免疫球蛋白之修飾組態。

【0023】 免疫球蛋白可分派為五大類，即 IgA、IgD、IgE、IgG 及、IgM，取決於重鏈恆定域(constant domain)胺基酸序列。IgA 及 IgG 被進一步細分為同型 IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3、及 IgG4。任何脊椎動物物種的抗體輕鏈可分派為兩種截然不同類型（即 kappa ( $\kappa$ )及 lambda ( $\lambda$ )) 之一者，視其等恆定域的胺基酸序列而定。

【0024】 「抗體片段(Antibody fragment)」係指免疫球蛋白分子的一個部分，其保留重鏈及/或輕鏈抗原結合部位，諸如重鏈互補決定區(HCDR) 1、2、及 3、輕鏈互補決定區(LCDR) 1、2、及 3、重鏈可變區(VH)、或輕鏈可變區(VL)。抗體片段包括 Fab 片段，即由 VL、VH、CL、及 CH1 域所組成之單價片段；F(ab)<sub>2</sub> 片段，即二價片段，包含在絞鏈區域(hinge region)藉由二硫橋連結的兩個 Fab 片段；Fd 片段，由 VH 及 CH1 域所組成；Fv 片段，由抗體單臂的 VL 及 VH 域所組成；域抗體(dAb)片段 (Ward 等人，Nature 341:544- 6, 1989)，其係由 VH 域所組成。VH 及 VL 域可經工程改造並經由合成連接子連接在一起以形成各種類型的單鏈抗體設計，其中 VH/VL 域會進行分子內配對，或者在 VH 及 VL 域係由分開之單鏈抗體建構體所表現之情況下則會進行分子間配對，以形成單價抗原結合部位，諸如單鏈 Fv (scFv) 或雙價抗體 (diabody)；例如描述於 PCT 國際公開第 WO1998/44001 號、第 WO1988/01649 號、第 WO1994/13804 號、及第 WO1992/01047 號中者。這些抗體片段係使用所屬技術領域中具有通常知識者所知悉的熟知技術而獲得，且該些片段係經篩選具有如全長抗體相同方式之效用。

【0025】 「經單離之抗體(isolated antibody)」係指實質上不含其他具有不同抗原特異性之抗體的抗體或抗體片段（例如，特異性結合 CD38 的經單離之抗體實質上不含特異性結合人類 CD38 以外之抗原的抗體）。然而，特異性結合 CD38 的經單離之抗體可能會與其他抗原有交叉反應，諸如人類 CD38 的異種同源物，諸如食蟹獼猴(*Macaca fascicularis*, cynomolgus) CD38。在雙特異性抗體之情況下，雙特異性抗體特異性結合兩種感興趣的抗原，且實質上不含特異性結合非為兩種感興趣抗原之抗原的抗體。此外，經單離之抗體可實質上不含其他細胞材料和/或化學物。「經單離之抗體」涵蓋經單離至較高純度的抗體，諸如係 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%純的抗體。

【0026】 「特異性結合(specific binding, specific bind)」或「結合(bind)」係指抗體以大於其他抗原的親和力結合至一抗原或該抗原內之表位。通常，抗體以約  $1 \times 10^{-8}$  M 或更小（例如約  $1 \times 10^{-9}$  M 或更小、約  $1 \times 10^{-10}$  M 或更小、約  $1 \times 10^{-11}$  M 或更小、或約  $1 \times 10^{-12}$  M 或更小）的平衡解離常數( $K_D$ )，結合至抗原或抗原內之表位，通常係以其結合至非特異性抗原（例如，BSA、酪蛋白）之  $K_D$  小至少一百倍的  $K_D$  結合。解離常數可使用標準程序來測量。然而，特異性結合至抗原或抗原內之表位的抗體可能對於其他相關抗原具有交叉反應性，例如對於來自其他物種（諸如人類或猴）的相同抗原（同源物(homolog)），該猴例如食蟹獼猴(*Macaca fascicularis*, cynomolgus, cyno)、黑猩猩(*Pan troglodytes*, chimpanzee, chimp)、或狨(*Callithrix jacchus*, common marmoset, marmoset)。儘管單特異性抗體特異性結合一種抗原或一種表位，但雙特異性抗體特異性結合兩種不同抗原或兩種不同表位。

【0027】 抗體可變區係由被三個「抗原結合部位(antigen binding site)」中斷的「架構(architecture)」區所組成。該等抗原結合部位係使用各種用語定義：互補決定區(CDR)（三個在 VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3)且三個在 VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3)）係基於序列變異性（Wu 及 Kabat (1970) *J Exp Med* 132:211-50；Kabat 等人 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991）；「高度變異區(Hypervariable region)」、「HVR」、或「HV」（三個在 VH (H1, H2, H3)且三個在 VL (L1, L2, L3)）係指如 Chothia 及 Lesk 所定義般在結構上係高度變異(hypervariable)之抗體可變域中的區域（Chothia 及 Lesk (1987) *Mol Biol* 196:901-17）。其他用語包括「IMGT-CDR」（Lefranc 等人，(2003) *Dev Comparat Immunol* 27:55-77）及「特異性決定殘基用途(Specificity Determining Residue Usage)」（SDRU）(Almagro (2004) *Mol Recognit* 17:132-43)。國際免疫遺傳學(International ImMunoGeneTics, IMGT)數據庫(<http://www.imgt.org>)提供了標準化編號及抗原結合部位的定義。CDR、HV、及 IMGT 描

繪之間的對應性係描述於 Lefranc 等人，(2003) *Dev Comparat Immunol* 27:55-77 中。

【0028】 本文中所用之「Chothia 殘基(Chothia residue)」為根據 Al-Lazikani 所編號的抗體 VL 及 VH 殘基 (Al-Lazikani 等人，(1997) *J Mol Biol* 273:927-48)。

【0029】 「架構 (framework)」或「架構序列 (framework sequence)」為可變區中被定義為抗原結合部位以外的其餘序列。因為抗原結合部位可用如上所述之各種用語來定義，架構之確切胺基酸序列取決於如何定義抗原結合部位。

【0030】 「人化抗體(humanized antibody)」係指抗原結合部位係衍生自非人類物種且可變區架構係衍生自人類免疫球蛋白序列的抗體。人化抗體可在架構區中包括取代，所以該架構可能不是所表現人類免疫球蛋白或生殖系基因序列的確切複本。

【0031】 「人類抗體(human antibody)」係指具有重鏈及輕鏈可變區的抗體，其中架構及抗原結合部位兩者皆衍生自人源序列。若該抗體含有恆定區，則該恆定區亦衍生自人源序列。

【0032】 人類抗體包含「衍生自(derived from)」人源序列的重或輕鏈可變區，其中該抗體的可變區係獲自使用人類生殖系免疫球蛋白或重排(rearranged)免疫球蛋白基因的系統。該等系統包括經呈現在噬菌體上的人類免疫球蛋白基因庫(gene library)、及基因轉殖非人類動物 (諸如帶有人類免疫球蛋白基因座的小鼠)。「人類抗體」在與人類生殖系免疫球蛋白或重排免疫球蛋白基因比較時可能含有胺基酸差異，此係因於例如天然發生之體細胞突變、或在架構或抗原結合部位中刻意引入取代、或兩者。通常，「人類抗體」係在胺基酸序列上與由人類生殖系免疫球蛋白或重排免疫球蛋白基因所編碼的胺基酸序列具有至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%同一性。在一些情況下，「人類抗體」可能含有自人類架構序列分析導出的共有架構序列，例如 Knappik 等人，(2000) *J Mol Biol* 296:57-86 中所述，或合併至經呈現在噬菌體上的人類免疫球

蛋白基因庫中的合成 HCDR3，例如 Shi 等人，(2010) *J Mol Biol* 397:385-96 及國際專利公開第 WO2009/085462 號中所述。

【0033】 衍生自人類免疫球蛋白序列的人類抗體可使用諸如合併有合成 CDR 及/或合成架構之噬菌體呈現(phage display)的系統來產生，或者可在體外進行突變誘發以改良抗體性質，從而得到在體內人類抗體生殖系貯庫(repertoire)內不會天然存在的抗體。

【0034】 抗原結合部位衍生自非人類物種的抗體不包括在人類抗體的定義中。

【0035】 「重組抗體(recombinant antibody)」包括所有藉由重組手段製備、表現、創建、或單離之抗體。諸如自基因轉殖或染色體轉殖有人類免疫球蛋白基因的動物（例如小鼠或大鼠）或由其製備的融合瘤（於以下進一步描述）單離之抗體；自經轉形(transform)以表現抗體之宿主細胞單離之抗體；自重組、組合抗體庫單離之抗體；及藉由任何涉及將人類免疫球蛋白基因序列剪接到其他 DNA 序列的其他手段製備、表現、創建、或單離之抗體；或在體外使用 Fab 臂交換所產生的抗體諸如雙特異性抗體。

【0036】 「單株抗體(monoclonal antibody)」係指由單一分子組成之抗體分子的製劑。單株抗體組成物對特定表位呈現出單一結合特異性及親和力，或者在雙特異性單株抗體的情況下，對兩個不同的表位有雙結合特異性。「單株抗體」因此係指在各重鏈及各輕鏈中具有單一胺基酸組成之抗體群，除了可能熟知的變更，諸如自抗體重鏈移除 C 端離胺酸。在抗體群內，單株抗體可具有異質性醮基化。單株抗體可係單特異性或多特異性，或單價、二價、或多價。雙特異性抗體係包括在用語單株抗體中。

【0037】 「表位(epitope)」意指與抗體特異性結合的抗原部分。表位經常係由分子部分（諸如胺基酸或多醮側鏈）之化學活性（諸如極性、非極性、或疏水性）表面分組(grouping)所組成，並且可具有特定三維結構特性，以及特定電荷特性。表位可由形成構形空間單元之鄰接(contiguous)及/或非鄰接(noncontiguous)胺基酸所構成。針對非

鄰接表位，來自抗原線性序列之相異部分的胺基酸會透過蛋白質分子的摺疊而在 3 維空間中緊密靠近。

【0038】 「變異體(variant)」係指藉由一或多個修改（例如取代、插入、或刪除）而不同於參考多肽或參考多核苷酸的多肽或多核苷酸。

【0039】 「組合(in combination with)」意指二或更多種治療劑一起以混合物形式投予至對象，同時以單劑投予或以任何順序以單劑依序投予。一般而言，各藥劑將以一劑量及/或按照針對該藥劑所判定之時間表投予。

【0040】 「治療 (treat 或 treatment)」係指治療性處理，其中目的係在於減緩（減輕）非所欲的生理變化或疾病，諸如腫瘤或腫瘤細胞的發展或蔓延，或在治療過程中提供有益或所欲的臨床結果。有益或所欲的臨床結果包括症狀的減輕、疾病程度的減小、疾病狀態的穩定化（即，不惡化）、疾病進程的延緩或減慢、不發生轉移、疾病狀態的改善或緩和、及緩解（無論部分或完全），無論是可偵測或不可偵測的。「治療」亦可意指相較於未接受治療之對象的預期存活期，延長存活期。那些需要治療的對象包括那些已經患有非所欲的生理變化或疾病的對象，以及那些易患有該生理變化或疾病的對象。

【0041】 「治療有效量(therapeutically effective amount)」係指達到所欲治療成果所需之劑量及時間的有效量。治療有效量可根據不同因素而異，諸如對象之疾病狀態、年齡、性別、及體重、以及治療劑或治療劑的組合在對象中引發所欲反應的能力。有效治療劑或治療劑組合的例示性指標包括例如病患幸福感的改善、腫瘤負荷的減少、腫瘤生長的減緩或停止、及/或癌細胞未轉移至身體的其他位置。

【0042】 「抑制生長(inhibit growth)」(例如，提及腫瘤細胞時)係指當相較於在治療劑或治療藥品之組合不存在的情況下相同腫瘤細胞或腫瘤組織之生長的降低或延緩時，當與治療劑或治療劑或藥品之組合接觸時，在體外或體內的腫瘤細胞生長或腫瘤組織有可測量的降低或延緩。在體外或體內的腫瘤細胞或腫瘤組織之生長的抑制可

係至少約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、99%、或 100%。

【0043】 「調節 T 細胞(regulatory T cell)」、或「Tregs」、或「Treg」係指調節(一或多種)其他 T 細胞及/或其他免疫細胞之活性(經常藉由抑制其等活性)之 T 淋巴球。Treg 可係 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup> T 細胞。應瞭解, Treg 可不完全限於此表型, 且可表現 Foxp3。

【0044】 「效應 T 細胞(effector T cell)」、或「Teffs」、或「Teff」係指執行免疫反應之功能的 T 淋巴球, 諸如殺滅腫瘤細胞及/或活化抗瘤免疫反應, 其可導致腫瘤細胞自身體清除。Teff 可係 CD3<sup>+</sup>與 CD4<sup>+</sup>或 CD8<sup>+</sup>。Teff 可分泌、含有、或表現諸如 IFN- $\gamma$ 、顆粒酶 B、及 ICOS 之標誌。應瞭解, Teffs 可不完全限於這些表型。

【0045】 「Treg 之功能(Function of Tregs)」或「Treg 功能(Treg function)」係指 Treg 之抑制性功能, 其係關於宿主免疫反應之調節及/或自體免疫之預防。Treg 之功能可係抑制由 CD8<sup>+</sup> T 細胞、自然殺手(NK)細胞、M $\phi$  細胞、B 細胞、或樹突細胞(DC)所引發之抗瘤反應, 或抑制效應 T 細胞之增生。

【0046】 「抑制 Treg 之功能(Inhibit function of Tregs)」或「抑制 Treg 功能(inhibit Treg function)」係指降低在體外或在動物或人類對象體內的 Treg 之功能的水平, 其可藉由所屬技術領域中已知的習知技術判定。Treg 之功能的水平可降低例如至少約 1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、或 100%。「抑制 Treg 之功能」包括減少 Treg 之數目, 例如藉由經由抗體效應功能(諸如抗體依賴性細胞毒性(ADCC))來殺滅 Treg。

【0047】 「骨髓衍生抑制細胞(myeloid-derived suppressor cell)」、或「MDSCs」、或「MDSC」係指為造血譜系且表現巨噬細胞/單核球標誌 CD11b 及顆粒球標誌 Gr-1/Ly-6G 之特化細胞群。MDSC 之表型可係例如 CD11b<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD14<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>。MDSC 表現成熟抗原呈遞細胞標誌 MHC II 類及 F480 之低或不可偵測的表現。MDSC 係骨髓譜系之未成熟細胞, 且可進一步分化成若干細胞型, 包

括巨噬細胞、嗜中性球、樹突細胞、單核球、或顆粒球。MDSC 可天然地發現於人類及動物之正常成人骨髓中或正常造血之部位（諸如脾）中。

**【0048】** 「抑制 MDSC 之功能(Inhibit function of MDSCs)」或「抑制 MDSC 功能(inhibit MDSC function)」係指降低在體外或在動物或人類對象體內的 MDSC 之功能的水平，其可藉由所屬技術領域中已知的習知技術判定。MDSC 之功能的水平可降低例如至少約 1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、或 100%。「抑制 MDSC 之功能」包括減少 MDSC 之數目，例如藉由經由抗體效應功能（諸如 ADCC）來殺滅 MDSC。MDSC 可藉由各種機制（諸如活性氧化物過氧化亞硝酸鹽的產生、因高水平精胺酸酶所致的精胺酸酶代謝的增加、及氧化亞氮合成酶的增加）抑制 T 細胞反應諸如增生、純系擴增、或細胞介素產生。MDSC 可對 IFN- $\gamma$  及若干細胞介素（諸如 IL-4 及 IL-13）反應。IFN- $\gamma$  可活化 MDSC，其誘導一氧化氮合成酶 2 (NOS2)之活性。可替代地，Th2 細胞介素諸如介白素-4 (IL-4)及 IL-13 可活化 MDSC，其可引起誘導精胺酸酶-1 (ARG1)之活性。藉由 NOS2 或 ARG1 代謝 L-精胺酸可引起抑制 T 細胞的增生，且兩種酶的活性一起可透過產生活性氮氧化物而導致 T 細胞的細胞凋亡。

**【0049】** 「Treg 相關疾病(Treg related disease)」係指關係到 T 調節細胞(Treg)之疾病或病症。Treg 相關疾病可由 Treg 功能（例如，抑制抗瘤反應或抑制效應 T 細胞增生）造成。Treg 媒介之疾病可係癌症。「Treg 相關疾病」及「Treg 媒介之疾病(Treg mediated disease)」在本文中可互換使用。

**【0050】** 「增強效應 T 細胞之反應(Enhance response of effector T cells)」或「增強 T 細胞之反應(enhance T cell responses)」係指在體外或在動物或人類對象體內增強或刺激效應 T 細胞以具有持續的或放大的生物功能，或更新或再活化耗盡的或非活性的 T 細胞。例示性 T 細胞反應係增生、 $\gamma$ -干擾素自 CD 8<sup>+</sup> T 細胞分泌、抗原反應性、或

純系擴增。測量此增強之方式對於所屬技術領域中具有通常知識者係已知的。

【0051】 「MDSC 相關疾病(MDSC related disease)」係指關係到骨髓衍生抑制細胞(MDSC)之疾病或病症。MDSC 相關疾病可由 MDSC 功能（例如，抑制抗瘤反應或效應 T 細胞增生）造成。MDSC 媒介之疾病可係癌症。「MDSC 相關疾病」及「MDSC 媒介之疾病(Treg mediated disease)」在本文中可互換使用。

【0052】 「調節 B 細胞(Regulatory B cell)」、或「Breg」、或「Bregs」係指抑制免疫反應之 B 淋巴球。Breg 可係 CD19<sup>+</sup>CD24<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>細胞，且可藉由抑制由 Breg 所分泌之 IL-10 所媒介之 T 細胞增生來抑制免疫反應。應瞭解，存在其他 Breg 子集，且描述於例如 Ding 等人，(2015) *Human Immunology* 76: 615-621 中。

【0053】 「Breg 相關疾病(Breg related disease)」係指關係到調節 B 細胞之疾病或病症。Breg 相關疾病可由例如 Breg 媒介之抗瘤反應的抑制或效應 T 細胞增生造成。Breg 媒介之疾病可係癌症。「Breg 相關疾病」及「Breg 媒介之疾病(Breg mediated disease)」在本文中可互換使用。

【0054】 「病患 (Patient)」包括任何人類或非人類動物 (nonhuman animal)。「非人類動物」包括所有脊椎動物，例如，哺乳動物及非哺乳動物，諸如非人類靈長類、綿羊、狗、貓、馬、牛、雞、兩棲類、爬蟲類、等等。「病患」及「對象(subject)」在本文中可互換使用。

【0055】 本發明提供一種用特異性結合 CD38 之抗體治療患有固態腫瘤之病患的方法，不管腫瘤細胞是否表現 CD38。本發明進一步提供用於治療患有調節 T 細胞(Treg)、骨髓衍生抑制細胞(MDSC)、或調節 B 細胞(Breg)媒介之疾病之病患的方法。本發明進一步提供用於調節 Treg、MDSC、或 Breg 活性以治療固態腫瘤的方法，該等固態腫瘤係 CD38 陽性及/或與這些免疫抑制性細胞之高水平相關聯。

【0056】 本發明係至少部分地基於以下發現，即抗 CD38 抗體 DARZALEX™（達拉單抗(daratumumab)）在病患中具有免疫調節活

性，其減少免疫抑制性 Treg、MDSC、及 Breg 之數目，增加 CD8<sup>+</sup> T 細胞之數目及 CD8<sup>+</sup>對 Treg 之比率，促進 CD8<sup>+</sup>中央記憶細胞形成，及增加 T 細胞純系性。

**【0057】** 臨床上正評估 DARZALEX™（達拉單抗）及其他抗 CD38 抗體治療血基質惡性腫瘤及漿細胞病症之功效，包括多發性骨髓瘤，其係藉由該抗體藉由抗體效應功能（諸如 ADCC、CDC、ACDP、及細胞凋亡）消除 CD38-陽性細胞之能力，但是其等在促進適應性免疫反應中之免疫調節活性尚未被認識。其他免疫調節抗體（抗 PD1、抗 CTLA4）透過靶向免疫系統之抑制抗瘤反應的組分起作用。例如，抗 PD1 抗體已被展示增加 T 細胞增生，刺激抗原特異性記憶反應，且部分減輕在體外 Treg 媒介之效應 T 細胞的抑制（例如參見，美國專利第 8,779,105 號）。兩種抗 PD-1 抗體目前被核准用於黑色素瘤的治療，OPDIVO®（尼沃魯單抗(nivolumab)）及 KEYTRUDA®（派立珠單抗(pembrolizumab)），且這些抗體處於各種固態腫瘤之臨床開發中，諸如非小細胞肺癌、前列腺癌、頭部及頸部癌、胃腸癌、胃癌、前列腺癌、輸卵管癌、卵巢癌、胰腺癌、乳癌及腦癌、腎癌、膀胱癌、尿道癌、食管癌、及結腸直腸癌。抗 CTLA-4 抗體 YERVOY®（伊匹單抗(ipilimumab)）已被核准用於黑色素瘤的治療。YERVOY®（伊匹單抗）及另一個抗 CTLA-4 抗體（曲美木單抗(tremelimumab)）亦正開發用於前列腺癌、非小細胞肺癌、卵巢癌、胃腸癌、胃癌、結腸直腸癌、腎癌、食管癌、及泌尿生殖癌。

**【0058】** 不希望受任何特定理論束縛，基於用本文所述之 DARZALEX™（達拉單抗）觀察到之免疫調節效應，DARZALEX™（達拉單抗）及其他抗 CD38 抗體可能在固態腫瘤之治療中係有效的。因在經 DARZALEX™（達拉單抗）治療之病患中觀察到免疫反應之一般活化，患有 CD38-陰性固態腫瘤之病患可能同樣會對抗 CD38 抗體療法反應。

**【0059】** 本發明提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

【0060】 本發明亦提供一種治療患有調節 T 細胞(Treg)媒介之疾病之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該 Treg 媒介之疾病的時間。

【0061】 本發明亦提供一種治療患有骨髓衍生抑制細胞(MDSC)媒介之疾病之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該 MDSC 媒介之疾病的時間。

【0062】 本發明亦提供一種治療患有調節 B 細胞(Breg)媒介之疾病之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該 Breg 媒介之疾病的時間。

【0063】 本發明亦提供一種抑制調節 T 細胞(Treg)之活性的方法，其包含使該調節 T 細胞接觸特異性結合 CD38 之抗體。

【0064】 本發明亦提供一種抑制骨髓衍生抑制細胞(MDSC)之活性的方法，其包含使該 MDSC 接觸特異性結合 CD38 之抗體。

【0065】 本發明亦提供一種抑制調節 B 細胞(Breg)之活性的方法，其包含使該 Breg 接觸特異性結合 CD38 之抗體。

【0066】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含藉由向該病患投予特異性結合 CD38 之抗體來減少該病患中調節 T 細胞(Treg)之數目。

【0067】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含藉由向該病患投予特異性結合 CD38 之抗體來減少該病患中骨髓衍生抑制細胞(MDSC)之數目。

【0068】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含藉由向該病患投予特異性結合 CD38 之抗體來減少該病患中調節 B 細胞(Breg)之數目。

【0069】 本發明亦提供一種增強病患之免疫反應的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予特異性結合 CD38 之抗體達一段足以增強該免疫反應的時間。

【0070】 在一些實施例中，該病患患有病毒感染。

【0071】 本發明亦提供一種治療患有病毒感染之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該病毒感染的時間。

【0072】 在一些實施例中，該免疫反應係效應 T 細胞(Teff)反應。

【0073】 在一些實施例中，該 Teff 反應係由 CD4<sup>+</sup> T 細胞或 CD8<sup>+</sup> T 細胞媒介。

【0074】 在一些實施例中，該 Teff 反應係由 CD4<sup>+</sup> T 細胞媒介。

【0075】 在一些實施例中，該 Teff 反應係由 CD8<sup>+</sup> T 細胞媒介。

【0076】 在一些實施例中，該 Teff 反應係 CD8<sup>+</sup> T 細胞之數目的增加、CD8<sup>+</sup> T 細胞增生的增加、T 細胞純系擴增的增加、CD8<sup>+</sup>記憶細胞形成的增加、抗原依賴性抗體產生的增加、或細胞介素、趨化介素、或介白素產生的增加。

【0077】 T 細胞之增生可例如藉由使用氘化胸苷測量 DNA 合成之速率，或測量體外干擾素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )之產生，或使用已知方法測量病患樣本之細胞群中 T 細胞之絕對數目或百分比來評估。

【0078】 純系擴增可藉由例如使用已知方法定序 T 細胞池之 TCR 來評估。

【0079】 記憶細胞之形成可藉由使用例如 FACS 測量初始(naïve) T 細胞(CD45RO<sup>-</sup>/CD62L<sup>+</sup>)對記憶 T 細胞(CD45RO<sup>+</sup>/CD62L<sup>高</sup>)之比率來評估。

【0080】 細胞介素、趨化介素、或介白素之產生（諸如干擾素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、腫瘤壞死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13、IL-16、IL-18、及 IL-23、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTES、CCL4 的產生）可使用標準方法諸如 ELISA 或 ELLISPOT 測定評估。

【0081】 抗原特異性抗體之產生可使用標準方法（諸如 ELISA 或放射免疫測定(RIA)）從衍生自病患之樣本評估。

【0082】 「增加 (increase 或 increasing)」各種 Teff 反應之含義係易於理解的。在測試樣本中或在對象中當相較於對照時，舉例而

言，例如在經抗 CD38 抗體治療的病患中當相較於治療之前的相同病患時，或在對抗 CD38 抗體治療作出反應之病患或病患之群組中當相較於對相同治療未作出反應之病患或病患之群組中，增加可係增加至少約 5%、至少約 10%、25%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、200%、250%、300%、350%、400%、或更多。通常，增加係統計學顯著的。

【0083】 類似地，「減少 (reduce 或 reducing)」或「降低 (decreasing 或 decrease)」Treg、MDSC、及/或 Breg 之數目之含義係易於理解的。在測試樣本中或在對象中當相較於對照時，舉例而言，例如在經抗 CD38 抗體治療的病患中當相較於治療之前的相同病患時，或在對抗 CD38 抗體治療作出反應之病患或病患之群組中當相較於對相同治療未作出反應之病患或病患之群組中，降低可係至少約 10%、25%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、200%、250%、300%、350%、400%、或更多。一般而言，降低係統計學顯著的。

【0084】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體抑制免疫抑制細胞之功能。

【0085】 在一些實施例中，免疫抑制細胞係調節 T 細胞(Treg)、骨髓衍生抑制細胞(MDSC)、或調節 B 細胞(Breg)。

【0086】 在一些實施例中，Treg 係  $CD3^+CD4^+CD25^+CD127^{dim}$  T 細胞。

【0087】 在一些實施例中， $CD3^+CD4^+CD25^+CD127^{dim}$  細胞表現 Foxp3。

【0088】 在一些實施例中， $CD3^+CD4^+CD25^+CD127^{dim}$  T 細胞表現 CD38。

【0089】 Treg 功能，諸如其等抑制 Teff 細胞之能力，可使用已知方法評估，諸如評估混合淋巴球反應(MLR)中 Treg 抑制 Teff 增生之能力。

【0090】 Treg 功能可藉由例如透過直接殺滅 Treg 或 Treg 之亞群（諸如  $CD38^+$  Treg）減少 Treg 當相較於 Teff 時的相對數目（例如增加  $CD8^+/Treg$  細胞之比率）來抑制。

【0091】 在一些實施例中，Treg 功能係藉由殺滅 Treg 細胞來抑制。

【0092】 在一些實施例中，Treg 殺滅係藉由抗體誘導之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)、補體依賴性細胞毒性(CDC)、或特異性結合 CD38 之抗體所誘導的細胞凋亡來媒介。

【0093】 在一些實施例中，Treg 殺滅係藉由 ADCC 媒介。

【0094】 在一些實施例中， $CD38^+$  Treg 係被殺滅的。

【0095】 在一些實施例中，1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、或 60%的 Treg 係被殺滅的。

【0096】 由於 CD38 僅在 Treg 及 MDSC 之一部分中表現，所以預期治療患有固態腫瘤之病患將不會導致 Treg 及 MDSC 之全身性損耗，因此可能提供改善的安全概況。

【0097】 在一些實施例中，MDSC 係  $CD11b^+HLA-DR^-CD14^-CD33^+CD15^+$  細胞。

【0098】 在一些實施例中， $CD11b^+HLA-DR^-CD14^-CD33^+CD15^+$  MDSC 表現 CD38。

【0099】 MDSC 功能可例如藉由透過直接殺滅該等細胞減少 MDSC 之數目來抑制。

【0100】 在一些實施例中，MDSC 功能係藉由殺滅  $CD38^+$  MDSC 來抑制。

【0101】 在一些實施例中，MDSC 殺滅係藉由抗體誘導之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)、補體依賴性細胞毒性(CDC)、或特異性結合 CD38 之抗體所誘導的細胞凋亡來媒介。

【0102】 在一些實施例中，MDSC 殺滅係藉由 ADCC 媒介。

【0103】 在一些實施例中，1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、或 60% 的 MDSC 係被殺滅的。

【0104】 在一些實施例中，Breg 係  $CD19^+CD24^+CD38^+$  細胞。

【0105】 Breg 功能可例如藉由透過直接殺滅 Breg 減少 Breg 之數目來抑制。

【0106】 在一些實施例中，Breg 功能係藉由殺滅  $CD38^+$  Breg 來抑制。

【0107】 在一些實施例中，Breg 殺滅係藉由抗體誘導之抗體依賴性細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)、補體依賴性細胞毒性(CDC)、或特異性結合 CD38 之抗體所誘導的細胞凋亡來媒介。

【0108】 在一些實施例中，Breg 殺滅係藉由 ADCC 媒介。

【0109】 在一些實施例中，1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、或 60%的 Breg 係被殺滅的。

【0110】 Treg 在維持周邊身耐受性中起關鍵作用。天然發生之  $CD4^+CD25^{hi}$  Treg 係產生於胸腺中，並表現 Foxp3，其係用於建立及維持 Treg 譜系鑑別及抑制功能所需的轉錄因子。Treg 可聚積在疾病部位（例如在腫瘤內），在該處其等抑制腫瘤抗原特異性 T 細胞之效應功能，導致抗瘤反應不足。腫瘤浸潤 Foxp3<sup>+</sup> Treg 之增加的密度與各種固態腫瘤（包括胰腺癌、卵巢癌、及肝細胞癌）中之不良預後相關聯。Treg 之損耗導致鼠類模型中之抗瘤免疫及腫瘤排斥增強，但亦可導致自體免疫疾病之發展。

【0111】 骨髓衍生抑制細胞(MDSC)係在不同分化階段之早期骨髓前驅細胞、未成熟顆粒球、巨噬細胞、及樹突細胞之異質性族群。其等大量聚積於癌症病患中，且其等具有強力的免疫抑制性功能，抑制自然殺手細胞(NK)及自然殺手 T 細胞(NKT)兩者之細胞毒性活性、及由  $CD8^+$  T 細胞媒介之適應性免疫反應。儘管 NK 細胞抑制之機制目前未被很好地理解，但 MDSC 媒介之 T 細胞抑制係由多個途徑負責，包括精胺酸酶 1/ARG1 之產生及一氧化氮合成酶 2 (NOS2)之上調。ARG1 及 NOS2 代謝 L-精胺酸，且係一起或分開地阻斷 T 細胞 CD3 $\zeta$  鏈之轉譯，抑制 T 細胞增生，及促進 T 細胞凋亡。此外，MDSC 分泌免疫抑制性細胞介素並誘導調節 T 細胞發展。

【0112】 MDSC 係由促發炎細胞介素誘導，且在感染性及發炎性病理狀態中發現數目增加。其等聚積於荷瘤小鼠之血液、骨髓、及次級淋巴器官中，且其等在腫瘤微環境中的存在表明在促進腫瘤相關之免疫抑制中起致病作用。

【0113】 MDSC 已描述於患有結腸癌、黑色素瘤、肝細胞癌、頭部及頸部鱗狀細胞癌、非小細胞肺癌、腎細胞癌、胰腺癌、及乳癌之病患中 (Mandrizzato 等人, (2009) *J Immunol* 182: 6562-6568 ; Liu 等人, (2009) *J Cancer Res Clin Oncol* 136: 35-45 ; Ko 等人, (2009) *Clin Cancer Res* 15: 2148-2157 ; Morse 等人, (2009) *Expert Opin Biol Ther* 9: 331-339 ; Diaz-Montero 等人, (2009) *Cancer Immunol Immunother* 58: 49-59 ; Corzo 等人, (2009) *J Immunol* 182: 5693-5701 )。在癌症病患中, Diaz 等人 ( Diaz-Montero 等人, (2009) *Cancer Immunol Immunother* 58: 49-59 ) 提出 MDSC 之聚積與更加嚴重的疾病及不良的預後相關。

【0114】 腫瘤浸潤 Breg 已在固態腫瘤中鑑定出, 且 Breg 可藉由各種機制促進腫瘤生長及轉移, 諸如抑制 CD8<sup>+</sup> T 細胞及 NK 細胞之抗瘤活性, 如例如 Ding 等人, (2015) *Human Immunology* 76:615-62 中所述。

【0115】 「抗體依賴性細胞毒性」、「抗體依賴性細胞媒介的細胞毒性」、或「ADCC」是一種誘導細胞死亡的機制, 其取決於抗體包覆的目標細胞與具有裂解活性的效應細胞 ( 諸如自然殺手細胞、單核球、巨噬細胞、及嗜中性球 ) 之間經由效應細胞上表現的 Fc $\gamma$  受體 (Fc $\gamma$ R) 的相互作用。例如, NK 細胞表現 Fc $\gamma$ RIIIa, 而單核球表現 Fc $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RII、及 Fc $\gamma$ RIIIa。抗體包覆的目標細胞 ( 諸如 CD38 表現細胞 ) 的死亡會發生是由於效應細胞活性, 其係透過分泌膜孔形成蛋白 (membrane pore-forming protein) 及蛋白酶。為了評估特異性結合 CD38 之抗體的 ADCC 活性, 可將該抗體加入至 CD38 表現細胞與免疫效應細胞的組合, 該等免疫效應細胞可被抗原抗體複合物活化而導致目標細胞的細胞裂解。細胞裂解一般是透過從裂解細胞中釋放的標記 ( 例如放射性基質、螢光染料、或天然的細胞內蛋白質 ) 來偵測。用於該等測定之例示性效應細胞包括周邊血液單核細胞 (PBMC) 及 NK 細胞。例示性目標細胞包括表現 CD38 之 Treg 或 MDSC。在一例示性測定中, 將目標細胞以 20  $\mu$ Ci 的 <sup>51</sup>Cr 標記 2 小時並徹底清洗。可將該等目標細胞的細胞濃度調整至 1 $\times$ 10<sup>6</sup> 細胞/ml, 並加入各種濃度的抗

CD38 抗體。以效應：目標細胞比率為 40 : 1 加入目標細胞以開始測定。於 37°C 培養 3 小時後，以離心停止測定，並在閃爍計數器中測量從裂解細胞中釋放出的  $^{51}\text{Cr}$ 。細胞毒性百分比可計算為加入 3% 過氧酸至目標細胞中可誘導的最大裂解百分比。

【0116】 「抗體依賴性細胞吞噬作用」(「ADCP」) 係指一種透過吞噬細胞 (諸如巨噬細胞或樹突細胞) 內化(internalization)以消滅抗體包覆的目標細胞的機制。ADCP 可藉由使用表現 CD38 之 Treg 或 MDSC 作為目標細胞 (其等經工程改造以表現 GFP 或其他標記分子) 來評估。效應：目標細胞比率可為例如 4 : 1。可將效應細胞與目標細胞在抗 CD38 抗體存在或不存在的情況下一起培養 4 小時。培養後，可使用細胞剝離液(acutase)將細胞分離。巨噬細胞可用偶接螢光標記的抗 CD11b 及抗 CD14 抗體來鑑定，且吞噬作用百分比可基於在該等 CD11<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>巨噬細胞中的 GFP 螢光%使用標準方法判定。

【0117】 「補體依賴性細胞毒性 (complement-dependent cytotoxicity)」或「CDC」係指一種誘導細胞死亡的機制，其中與目標結合之抗體的 Fc 效應域結合並活化補體成分 C1q，其轉而再活化補體級聯反應而引起目標細胞死亡。補體的活化亦可導致補體成分沉積在該目標細胞表面上，藉由結合白血球上的補體受體 (例如 CR3) 而促進 ADCC。

【0118】 單株抗體誘導 ADCC 之能力可藉由工程改造其寡醣成分來增強。人類 IgG1 或 IgG3 係在 Asn297 處經 N-醣基化並且大部分聚醣係呈熟知之雙觸角(biantennary) G0、G0F、G1、G1F、G2、或 G2F 形式。由未經工程改造之 CHO 細胞所生產之抗體通常具有約至少 85%之聚醣海藻糖(glycan fucose)含量。自附接至 Fc 區之雙觸角複合型寡醣移除核心海藻糖經由改善 FcγRIIIa 結合且不改變抗原結合或 CDC 活性來增強抗體之 ADCC。該等 mAb 可使用已報導會引起成功表現相對高量去海藻糖基化(defucosylated)抗體 (帶有雙觸角複合型之 Fc 寡醣) 的不同方法來達成，諸如控制培育滲透壓 (Konno 等人, (2012) *Cytotechnology* 64:249-65)、應用變異體 CHO 株 Lec13 作為宿主細胞系 (Shields 等人, (2002) *J Biol Chem* 277:26733-26740)、

應用變異體 CHO 株 EB66 作為宿主細胞系 (Olivier 等人, (2010) *MAbs* 2(4), Epub ahead of print; PMID:20562582)、應用大鼠融合瘤細胞系 YB2/0 作為宿主細胞系 (Shinkawa 等人, (2003) *J Biol Chem* 278:3466-3473)、引入專門針對  $\alpha$ 1,6-岩藻糖基轉移酶 (1,6-fucosyltransferase, *FUT8*) 基因之短小干擾 RNA (Mori 等人, (2004) *Biotechnol Bioeng* 88:901-908)、或共表現  $\beta$ -1,4-*N*-乙醯葡萄糖胺基轉移酶 III ( $\beta$ -1,4-*N*-acetylglucosaminyltransferase III) 及高基氏  $\alpha$ -甘露糖苷酶 II (Golgi  $\alpha$ -mannosidase II) 或基夫鹼 (kifunensine) (一種強效  $\alpha$ -甘露糖苷酶 I 抑制劑) (Ferrara 等人, (2006) *J Biol Chem* 281:5032-5036; Ferrara 等人, (2006) *Biotechnol Bioeng* 93:851-861; Xhou 等人, (2008) *Biotechnol Bioeng* 99:652-65)。由在本發明之方法中, 以及在以下每一個編號實施例的一些實施例中所使用的抗 CD38 抗體所引發的 ADCC 亦可藉由在抗體 Fc 中的某些取代來增強。例示性取代例如為在胺基酸位置 256、290、298、312、356、330、333、334、360、378、或 430 處之取代 (殘基編號根據 EU 索引), 如美國專利第 6,737,056 號中所述。

**【0119】** 在一些實施例中, 特異性結合 CD38 之抗體包含在抗體 Fc 中的一個取代。

**【0120】** 在一些實施例中, 特異性結合 CD38 之抗體包含在抗體 Fc 中胺基酸位置 256、290、298、312、356、330、333、334、360、378、或 430 處的一個取代 (殘基編號根據 EU 索引)。

**【0121】** 在一些實施例中, 特異性結合 CD38 之抗體具有雙觸角聚醣結構, 其海藻糖含量係約介於 0% 至約 15% 之間, 例如 15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、或 0%。

**【0122】** 在一些實施例中, 特異性結合 CD38 之抗體具有雙觸角聚醣結構, 其海藻糖含量係約 50%、40%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、或 0%。

【0123】 Fc 中的取代及減少的海藻糖含量可增強該特異性結合 CD38 之抗體的 ADCC 活性。

【0124】 「海藻糖含量(Fucose content)」意指 Asn297 處糖鏈中海藻糖單糖的量。海藻糖的相對量係含海藻糖的結構相對於所有醣類結構的百分比。這些可藉由多種方法來表徵及定量，例如：1)使用經 N-醣苷酶 F 處理過的樣本（例如複合、雜合、及寡與高甘露糖(oligo- and high-mannose)結構）的 MALDI-TOF，如在國際專利公開號 WO2008/077546 中所述；2)酶促釋放 Asn297 聚醣，隨後衍生化並藉由 HPLC (UPLC)以螢光偵測及/或 HPLC-MS (UPLC-MS)來偵測/定量；3)天然或還原 mAb 的完整蛋白質分析，將 Asn297 聚醣以 Endo S 或其他會在第一與第二 GlcNAc 單糖之間切割而留下連接至第一 GlcNAc 的海藻糖的酵素處理或不經處理；4)以酶消化法(enzymatic digestion)（例如胰蛋白酶或內肽酶 Lys-C）將 mAb 消化成構成分 (constituent)肽，隨後以 HPLC-MS (UPLC-MS)分離、偵測及定量；或 5)用 PNGase F 在 Asn 297 處進行特異性酶促去醣基化(specific enzymatic deglycosylation)以將 mAb 寡醣自 mAb 蛋白分離。該等釋放出的寡醣可用螢光團標記，藉由各種互補的技術分離和鑑定，該等技術允許：藉由基質輔助雷射脫附遊離(MALDI)質譜術比較實驗質量與理論質量以精細表徵聚醣結構、藉由離子交換 HPLC (GlycoSep C)判定唾液酸化(sialylation)程度、藉由正相 HPLC (GlycoSep N)根據親水性標準(hydrophilicity criteria)分離及定量寡醣形式、及藉由高效毛細管電泳-雷射誘導螢光(HPCE-LIF)分離及定量寡醣。

【0125】 本文中所使用之「低海藻糖(Low fucose)」或「低海藻糖含量(low fucose content)」係指抗體的海藻糖含量為約 0%至 15%。

【0126】 本文中使用之「正常海藻糖(Normal fucose)」或「正常海藻糖含量(normal fucose content)」係指抗體的海藻糖含量約超過 50%，通常約超過 60%、70%、80%、或超過 85%。

【0127】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體可藉由細胞凋亡來誘導 Treg、MDSC、及/或 Breg 之殺滅。評估細胞凋亡的方法係熟知的，且包括例如使用標準方法進行膜聯蛋白 IV (annexin IV)染

色。在本發明之方法中所使用之抗 CD38 抗體可在約 20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或 100%的細胞中誘導細胞凋亡。

【0128】 在一些實施例中，Teff 或免疫抑制細胞存在於骨髓中或周邊血液中。

【0129】 在一些實施例中，Teff 或免疫抑制細胞存在於骨髓中。

【0130】 在一些實施例中，Teff 或免疫抑制細胞存在於周邊血液中。

【0131】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體增加 CD8<sup>+</sup> T 細胞對 Treg 之比率。

【0132】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體增加 CD8<sup>+</sup> 中央記憶細胞對 CD8<sup>+</sup> 初始細胞之比率。CD8<sup>+</sup> 中央記憶細胞可鑑定為 CD45RO<sup>+</sup>/CD62L<sup>+</sup> 細胞。CD8<sup>+</sup> 初始細胞可鑑定為 CD45RO<sup>-</sup>/CD62L<sup>+</sup> 細胞。

【0133】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體係非促效性抗體。

【0134】 特異性結合 CD38 之非促效性抗體係指在結合至 CD38 之後，當相較於由同型對照抗體或僅有介質所誘導的增生時，不會誘導體外周邊血液單核細胞樣本之顯著增生的抗體。

【0135】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之非促效性抗體以統計學不顯著的方式誘導周邊血液單核細胞(PBMC)之增生。PBMC 增生可藉由自健康供體單離之 PBMC 並於 200  $\mu$ l RPMI 中在測試抗體存在或不存在之情況下以  $1 \times 10^5$  個細胞/孔於平底 96 孔盤中培育該等細胞來評估。於 37°C 培養 4 天後，可添加 30  $\mu$ l <sup>3</sup>H-胸苷(16.7  $\mu$ Ci/ml)，且可繼續培育過夜。<sup>3</sup>H-胸苷併入可使用 Packard Cobra 加馬計數器(Packard Instruments, Meriden, DT, USA)，根據製造商之說明評估。數據可計算為從若干供體獲得之 PBMC 的平均 cpm ( $\pm$ SEM)。介於在測試抗體存在或不存在之情況下所培育之樣本間的統計學顯著性或不顯著性係使用標準方法來計算。

【0136】 可用於本發明之方法中的例示性抗 CD38 抗體係 DARZALEX™ (達拉單抗)。DARZALEX™ (達拉單抗) 包含分別顯示於 SEQ ID NO: 4 及 5 的重鏈可變區(VH)及輕鏈可變區(VL)胺基酸序列、分別為 SEQ ID NO: 6、7、及 8 的重鏈互補決定區 1 (HCDR1)、HCDR2、及 HCDR3、及分別為 SEQ ID NO: 9、10、及 11 的輕鏈互補決定區 1 (LCDR1)、LCDR2、及 LCDR3，且係 IgG1/κ 亞型並描述於美國專利第 7,829,693 號中。DARZALEX™ (達拉單抗) 的重鏈胺基酸序列係顯示於 SEQ ID NO: 12，且輕鏈胺基酸序列係顯示於 SEQ ID NO: 13。

【0137】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體與包含 SEQ ID NO: 4 之重鏈可變區(VH)及 SEQ ID NO: 5 之輕鏈可變區(VL)的抗體競爭結合至 CD38。

【0138】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體至少結合至人類 CD38 (SEQ ID NO: 1)之 SKRNIQFSCCKNIYR (SEQ ID NO: 2)區及 EKVQTTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3)區。

SEQ ID NO: 1

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVLSILVLILVVVLAVVVPR  
WRQQWSGPGTTRKFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAF  
KGAFISKHPCNITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQF  
TQVQRDMFTLEDTLGLYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKD  
CSNNPVSFVWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDKNSTFGS  
VEVHNLQPEKVQTTLEAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIISKRN  
IQFSCCKNIYRDPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI

SEQ ID NO: 2

SKRNIQFSCCKNIYR

SEQ ID NO: 3

EKVQTTLEAWVIHGG

SEQ ID NO: 4

EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGL  
EWVSA  
ISGSGGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFC  
AKDK  
ILWFGPEVFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 5

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL  
LIYD  
ASNRATGIPARFSGSGGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPT  
FGQ  
GTKVEIK

SEQ ID NO: 6

SFAMS

SEQ ID NO: 7

AISGSGGGTYADSVKGR

SEQ ID NO: 8

DKILWFGPEVFDY

SEQ ID NO: 9

RASQSVSSYLA

SEQ ID NO: 10

DASNRAT

SEQ ID NO: 11

QQRSNWPPTF

SEQ ID NO: 12

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGL  
 EWVSAISGSGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED  
 TAVYFCAKDKILWFGEPVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP  
 SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS  
 SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK  
 THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE  
 DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD  
 WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE  
 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG  
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 13

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL  
 LIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQRSN  
 WPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF  
 YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSL SSTLTLSKA  
 DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**【0139】** 可使用熟知的體外方法來評估抗體與參考抗體（諸如具有 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL 的 DARZALEX™（達拉單抗））對 CD38 的競爭結合。在一例示性方法中，可將重組表現 CD38 的 CHO 細胞與未標記的參考抗體於 4°C 培養 15 分鐘，然後與過量的螢光標記測試抗體於 4°C 培養 45 分鐘。於 PBS/BSA 中清洗後，可藉由流動式細胞測量術(flow cytometry)使用標準方法來測量螢光。在另一例示性方法中，可將人類 CD38 的細胞外部分塗覆在 ELISA 盤的表面上。可將過量的未標記參考抗體加入約 15 分鐘，且隨後可加入經生物素化的測試抗體。在 PBS/Tween 中清洗後，可使用

共軛辣根過氧化酶(horseradish peroxidase, HRP)的鏈黴親和素(streptavidin)來偵測該測試生物素化抗體的結合並使用標準方法來偵測訊號。在該等競爭性測定(competition assay)中，顯而易見的是參考抗體可係標記的且該測試抗體可係未標記的。當參考抗體抑制測試抗體結合至 CD38，或測試抗體抑制參考抗體結合至 CD38 達至少 80%，例如 81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%時，測試抗體與參考抗體競爭。該測試抗體的表位可進一步藉由例如胜肽圖譜技術(peptide mapping)或氫/氘保護測定使用已知方法來定義，或者藉由晶體結構判定來定義。

**【0140】** 結合至人類 CD38 (SEQ ID NO: 1) 之 SKRNIQFSCKNIYR (SEQ ID NO: 2) 區及 EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3)區的抗體可例如藉由下列產生：使用標準方法及本文中所述之方法利用具有顯示於 SEQ ID NO: 2 及 3 中之胺基酸序列的胜肽免疫小鼠，且使用例如 ELISA 或突變誘發研究以定性用於結合至胜肽的所得抗體。

**【0141】** 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予抗 CD38 抗體，其結合至人類 CD38 (SEQ ID NO: 1) 之 SKRNIQFSCKNIYR (SEQ ID NO: 2) 區及 EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3)區。本發明之方法中所使用之抗體的表位包括具有顯示於 SEQ ID NO: 2 或 SEQ ID NO: 3 之序列的殘基中的一些或全部。在一些實施例中，抗體表位包含人類 CD38 (SEQ ID NO: 1)之 SKRNIQFSCKNIYR (SEQ ID NO: 2)區中至少一個胺基酸及 EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3)區中至少一個胺基酸。在一些實施例中，抗體表位包含人類 CD38 (SEQ ID NO: 1)之 SKRNIQFSCKNIYR (SEQ ID NO: 2)區中至少兩個胺基酸及 EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3)區中至少兩個胺基酸。在一些實施例中，抗體表位包含人類 CD38 (SEQ ID NO: 1)之 SKRNIQFSCKNIYR (SEQ ID NO: 2)區中至少三個胺基酸及 EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3)區中至少三個胺基酸。

【0142】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體包含分別為 SEQ ID NO: 6、7、及 8 之 HCDR1、HCDR2、及 HCDR3 胺基酸序列。

【0143】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體包含分別為 SEQ ID NO: 9、10、及 11 之 LCDR1、LCDR2、及 LCDR3 胺基酸序列。

【0144】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體包含分別為 SEQ ID NO: 6、7、8、9、10、及 11 之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及 LCDR3 胺基酸序列。

【0145】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體包含 VH 與 VL，該 VH 係與 SEQ ID NO: 4 具有 95%、96%、97%、98%、99%、或 100%同一性，且該 VL 係與 SEQ ID NO: 5 具有 95%、96%、97%、98%、99%、或 100%同一性。

【0146】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL。

【0147】 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體包含 SEQ ID NO: 12 之重鏈及 SEQ ID NO: 13 之輕鏈。

【0148】 可用於本發明之任何實施例中的其他例示性抗 CD38 抗體係：

mAb003，其包含分別為 SEQ ID NO: 14 及 15 的 VH 及 VL 序列並描述於美國專利第 7,829,693 號中。mAb003 的該 VH 及該 VL 可被表示為 IgG1/κ。

SEQ ID NO: 14

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAFSWVRQAPGQG  
LEWMGRVIPFLGIANS A QKFQGRVTITADKSTSTAY  
MDLSSLRSED TAVYYC ARDDIAALGPFDYWGQGTLVTVSSAS

SEQ ID NO: 15

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKS  
 LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP  
 EDFATYYCQQYNSYPRTFGQGTKVEIK ;

mAb024，其包含分別為 SEQ ID NO: 16 及 17 的 VH 及 VL 序列並描述於美國專利第 7,829,693 號中。mAb024 的該 VH 及該 VL 可被表示為 IgG1/κ。

SEQ ID NO: 16

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKG  
 LEWMGIYPHDS DARYSPSFQGVTF SADKSISTAYLQWSSLKASD  
 TAMYICARHVGWGSRYWYFDLWGRGTLVTVSS

SEQ ID NO: 17

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPGL  
 LIYDASNRRASGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRN  
 WPLTFGGGKTKVEIK

【0149】 MOR-202 (MOR-03087)，其包含分別為 SEQ ID NO: 18 及 19 的 VH 及 VL 序列並描述於美國專利第 8,088,896 號中。MOR-202 的該 VH 及該 VL 可被表示為 IgG1/κ。

SEQ ID NO: 18

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKG  
 LEWVSGISGDPSNTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY  
 LQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFAFWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 19

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYVYVYQQKPGQAPVL  
 VIYGDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAE  
 DEADYYCQTYTGGASLVFGGGKLTVLGQ ;

伊沙妥昔單抗(Isatuximab)；其包含分別為 SEQ ID NO: 20 及 21 的 VH 及 VL 序列並描述於美國專利第 8,153,765 號中。伊沙妥昔單抗之 VH 及 VL 可被表示為 IgG1/ $\kappa$ 。

SEQ ID NO 20:

QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKASGYTFTDYWMQWVKQRPGQ  
GLEWIGT

IYPGDGDTGYAQKFQGKATLTADKSSKTVYMHLSSLASEDSAVYY  
CARGD

YYGSNSLDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 21:

DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCKASQDVSTVVAWYQQKPGQSPR  
RLIYS

ASYRYIGVPDRFTGSGAGTDFTFITSSVQAEDLAVYYCQQHYSPPY  
TFGG

GTKLEIK

**【0150】** 可用於本發明之方法中的其他例示性抗 CD38 抗體包括描述於國際專利公開號 WO05/103083、國際專利公開號 WO06/125640、國際專利公開號 WO07/042309、國際專利公開號 WO08/047242、或國際專利公開號 WO14/178820 中者。

**【0151】** 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該固態腫瘤的時間，該抗體包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL。

**【0152】** 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該固態腫瘤的時間，該抗體包含 SEQ ID NO: 14 之 VH 及 SEQ ID NO: 15 之 VL。

【0153】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該固態腫瘤的時間，該抗體包含 SEQ ID NO: 16 之 VH 及 SEQ ID NO: 17 之 VL。

【0154】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該固態腫瘤的時間，該抗體包含 SEQ ID NO: 18 之 VH 及 SEQ ID NO: 19 之 VL。

【0155】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該固態腫瘤的時間，該抗體包含 SEQ ID NO: 20 之 VH 及 SEQ ID NO: 21 之 VL。

【0156】 在一些實施例中，固態腫瘤係黑色素瘤。

【0157】 在一些實施例中，固態腫瘤係肺癌。

【0158】 在一些實施例中，固態腫瘤係鱗狀非小細胞肺癌 (NSCLC)。

【0159】 在一些實施例中，固態腫瘤係非鱗狀 NSCLC。

【0160】 在一些實施例中，固態腫瘤係肺腺癌。

【0161】 在一些實施例中，固態腫瘤係腎細胞癌(RCC) (例如，腎臟透明細胞癌或腎臟乳突細胞癌)、或其轉移性病變。

【0162】 在一些實施例中，固態腫瘤係間皮瘤。

【0163】 在一些實施例中，固態腫瘤係鼻咽癌(NPC)。

【0164】 在一些實施例中，固態腫瘤係結腸直腸癌。

【0165】 在一些實施例中，固態腫瘤係前列腺癌或去勢抗性前列腺癌。

【0166】 在一些實施例中，固態腫瘤係胃癌(stomach cancer)。

【0167】 在一些實施例中，固態腫瘤係卵巢癌。

【0168】 在一些實施例中，固態腫瘤係胃癌(gastric cancer)。

【0169】 在一些實施例中，固態腫瘤係肝癌。

【0170】 在一些實施例中，固態腫瘤係胰腺癌。

- 【0171】 在一些實施例中，固態腫瘤係甲狀腺癌。
- 【0172】 在一些實施例中，固態腫瘤係頭部及頸部鱗狀細胞癌。
- 【0173】 在一些實施例中，固態腫瘤係食道或胃腸道癌。
- 【0174】 在一些實施例中，固態腫瘤係乳癌。
- 【0175】 在一些實施例中，固態腫瘤係輸卵管癌。
- 【0176】 在一些實施例中，固態腫瘤係腦癌。
- 【0177】 在一些實施例中，固態腫瘤係尿道癌。
- 【0178】 在一些實施例中，固態腫瘤係泌尿生殖癌。
- 【0179】 在一些實施例中，固態腫瘤係子宮內膜異位。
- 【0180】 在一些實施例中，固態腫瘤係子宮頸癌。
- 【0181】 在一些實施例中，固態腫瘤係癌症之轉移性病變。
- 【0182】 在一些實施例中，固態腫瘤缺乏可偵測的 CD38 表現。
- 【0183】 當相較於對照，例如使用熟知方法以抗 CD38 抗體偵測

的表現之於以同型對照抗體偵測的表現時，當固態腫瘤組織中或單離自固態腫瘤之細胞上的 CD38 表現係統計學不顯著的時候，固態腫瘤缺乏可偵測的 CD38 表現。

【0184】 本發明之方法中所使用之抗 CD38 抗體亦可重新選自例如噬菌體呈現庫，其中噬菌體係經工程改造以表現人類免疫球蛋白或其部分，諸如 Fab、單鏈抗體(scFv)、或未配對或配對抗體可變區 (Knappik 等人，(2000) *J Mol Biol* 296:57-86；Krebs 等人，(2001) *J Immunol Meth* 254:67-84；Vaughan 等人，(1996) *Nature Biotechnology* 14:309-314；Sheets 等人，(1998) *PITAS (USA)* 95:6157-6162；Hoogenboom 及 Winter，(1991) *J Mol Biol* 227:381；Marks 等人，(1991) *J Mol Biol* 222:581)。CD38 結合可變域可自例如噬菌體呈現庫（表現抗體重鏈及輕鏈可變區）單離為具有噬菌體 pIX 外殼蛋白的融合蛋白，如描述於 Shi 等人，(2010) *J Mol Biol* 397:385-96 及國際專利公開號 WO09/085462 中。抗體庫可用對於人類 CD38 細胞外域之結合進行篩選，所獲得之陽性殖株進一步表徵，自殖株溶解物(lysate)單離出 Fab，且隨後選殖為全長抗體。此種用於單離人類抗體之噬菌體呈現法已於本領域中建立。參見例如：美國專

利第 5,223,409 號、美國專利第 5,403,484 號、美國專利第 5,571,698 號、美國專利第 5,427,908 號、美國專利第 5,580,717 號、美國專利第 5,969,108 號、美國專利第 6,172,197 號、美國專利第 5,885,793 號、美國專利第 6,521,404 號、美國專利第 6,544,731 號、美國專利第 6,555,313 號、美國專利第 6,582,915 號、及美國專利第 6,593,081 號。

【0185】 在一些實施例中，抗 CD38 抗體係 IgG1、IgG2、IgG3、或 IgG4 同型。

【0186】 該抗體的 Fc 部份可媒介抗體的效應功能 (effector function)，諸如抗體依賴性細胞媒介的細胞毒性 (ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用 (ADCP)、或補體依賴性細胞毒性 (CDC)。該功能可藉由 Fc 效應域 (effector domain) 與具有吞噬或裂解活性的免疫細胞上 Fc 受體的結合來媒介，或藉由 Fc 效應域與補體系統成分的結合來媒介。通常，由與 Fc 結合的細胞或補體成分所媒介的效應會導致目標細胞 (例如 CD38 表現細胞) 的抑制或損耗 (depletion)。人類 IgG 同型 IgG1、IgG2、IgG3、及 IgG4 在效應功能上顯示出差別能力。ADCC 可由 IgG1 及 IgG3 媒介，ADCP 可由 IgG1、IgG2、IgG3、及 IgG4 媒介，且 CDC 可由 IgG1 及 IgG3 媒介。

【0187】 與包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL 的抗體實質上同一的抗體可在本發明之方法中使用。本文中所使用之用語「實質上同一 (substantially identical)」意指所比較的兩個抗體 VH 或 VL 胺基酸序列係同一或具有「無實質差異 (insubstantial differences)」。無實質差異係在抗體重鏈或輕鏈中 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、或 15 個不會對抗體性能產生不利影響的胺基酸取代。同一性百分比可例如藉由使用 Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 之 AlignX 模組的預設設定進行成對比對來判定。本發明的蛋白質序列可被用作查詢序列 (query sequence) 來執行針對公開或專利數據庫的檢索以 (例如) 鑑定相關序列。用來執行該等檢索之例示性程式係 XBLAST 或 BLASTP 程式 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)，或使用預設設定的 GenomeQuest™

(GenomeQuest, Westborough, MA)套件。可對特異性結合 CD38 的抗體進行的例示性取代係例如以具有類似電荷、疏水性、或立體化學特性的胺基酸進行的保守型取代(conservative substitution)。亦可進行保守型取代以改良抗體性質(例如穩定性或親和力)，或改良抗體的效應功能。例如可對該抗 CD38 抗體的重鏈或輕鏈中進行 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、或 15 個胺基酸取代。此外，該 VH 或 VL 中的任何天然殘基亦可經丙胺酸取代，如先前已針對丙胺酸掃描式突變誘發(alanine scanning mutagenesis)所描述者(MacLennan 等人，Acta Physiol Scand Suppl 643:55-67, 1998；Sasaki 等人，Adv Biophys 35:1-24, 1998)。所欲之胺基酸取代可在此等取代係所欲時由所屬領域中具有通常知識者判定。胺基酸取代可例如藉由 PCR 突變誘發(美國專利第 4,683,195 號)來進行。變異體庫可使用熟知方法來產生，例如使用隨機(NNK)或非隨機密碼子(例如 DVK 密碼子)，其編碼 11 種胺基酸(Ala、Cys、Asp、Glu、Gly、Lys、Asn、Arg、Ser、Tyr、Trp)，然後篩選變異體庫以找出具有所欲性質之變異體。所產生的變異體可使用本文所述之方法體外測試其等與 CD38 的結合、其等誘導 ADCC、ADCP、或細胞凋亡、或調節 CD38 酶活性的能力。

**【0188】** 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體可以一範圍之親和力( $K_D$ )結合人類 CD38。在根據本發明之一實施例中，以及在以下每一個編號實施例的一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體以高親和力結合至 CD38，例如  $K_D$  等於或小於約  $10^{-7}$  M，諸如但不限於，1 至 9.9 (或其中任何範圍或值，諸如 1、2、3、4、5、6、7、8、或 9)  $\times 10^{-8}$  M、 $10^{-9}$  M、 $10^{-10}$  M、 $10^{-11}$  M、 $10^{-12}$  M、 $10^{-13}$  M、 $10^{-14}$  M、 $10^{-15}$  M、或其中任何範圍或值，如藉由表面電漿共振或 Kinexa 方法所判定，如所屬技術領域中具有通常知識者所實踐。一例示性親和力係等於或小於  $1 \times 10^{-8}$  M。另一例示性親和力係等於或小於  $1 \times 10^{-9}$  M。

**【0189】** 在一些實施例中，特異性結合 CD38 之抗體係雙特異性抗體。現有的抗 CD38 抗體之 VL 及/或 VH 區或如本文所述重新鑑定

之 VL 及 VH 區可被工程改造至雙特異性全長抗體中。該等雙特異性抗體可藉由調節介於單特異性抗體重鏈間的 CH3 相互作用來製造以形成雙特異性抗體，其係使用諸如在以下文獻中所述之技術：美國專利第 7,695,936 號；國際專利公開號 WO04/111233；美國專利公開號 US2010/0015133；美國專利公開號 US2007/0287170；國際專利公開號 WO2008/119353；美國專利公開號 US2009/0182127；美國專利公開號 US2010/0286374；美國專利公開號 US2011/0123532；國際專利公開號 WO2011/131746；國際專利公開號 WO2011/143545；或美國專利公開號 US2012/0149876。可合併本發明之抗體之 VL 及/或 VH 區的另外雙特異性結構係例如雙可變域免疫球蛋白（國際專利公開號 WO2009/134776）、或包括各種二聚化域以連接具有不同特異性的兩個抗體臂的結構，諸如白胺酸拉鍊(leucine zipper)或膠原蛋白二聚化域（國際專利公開號 WO2012/022811、美國專利第 5,932,448 號；美國專利第 6,833,441 號）。

【0190】 例如，雙特異性抗體可在無細胞環境中體外產生，此係藉由在兩個單特異性同二聚體抗體之 CH3 區中引入非對稱突變，且在還原條件中（以讓雙硫鍵異構化）以兩個親體單特異性同二聚體抗體形成該雙特異性異二聚體抗體，其係根據描述於國際專利公開號 WO2011/131746 中之方法。在該等方法中，第一單特異性雙價抗體（例如，抗 CD38 抗體）及第二單特異性雙價抗體係經工程改造以在 CH3 域具有某些促進異二聚體穩定性之取代；該等抗體係在足以讓絞鏈區中之半胱胺酸進行雙硫鍵異構化的還原條件下一起培養；從而藉由 Fab 臂交換來產生該雙特異性抗體。培養條件可最佳地被回復為非還原性(non-reducing)。可使用之例示性還原劑係 2-巰基乙胺(2-MEA)、二硫蘇糖醇(dithiothreitol, DTT)、二硫赤蘇醇(dithioerythritol, DTE)、麩胱甘肽、參(2-羧乙基)膦(TCEP)、L-半胱胺酸及 β-巰基乙醇，還原劑較佳係選自由下列所組成之群組：2-巰基乙胺、二硫蘇糖醇及參(2-羧乙基)膦。例如，可使用在至少 20°C 之溫度且有至少 25 mM 之 2-MEA 存在下或於至少 0.5 mM 之二硫蘇糖醇

存在且在 5 至 8 之 pH 下（例如在 7.0 之 pH 下或在 7.4 之 pH 下）培養至少 90 分鐘。

【0191】 可在該雙特異性抗體之第一重鏈中及在第二重鏈中使用的例示性 CH3 突變係 K409R 及/或 F405L。

【0192】 本發明之方法可用來治療屬於任何分類之動物病患。此等動物之實例包括哺乳動物，諸如人類、鼠、犬、貓、及農畜(farm animal)。

### 投予/醫藥組成物

【0193】 特異性結合 CD38 之抗體可以本發明之方法以合適的醫藥組成物之形式提供，該等醫藥組成物包含特異性結合 CD38 之抗體及醫藥上可接受之載劑。該載劑可係與特異性結合 CD38 之抗體一起投予之稀釋劑、佐劑、賦形劑、或媒劑。此等媒劑可為液體如水及油，包括來自石油、動物、蔬菜、或合成來源者，諸如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油、及類似者。例如，可使用 0.4% 鹽水及 0.3% 甘胺酸。這些溶液係無菌且一般不含顆粒物質。其等可藉由習知、熟知的滅菌技術（例如過濾）來滅菌。該等組成物可含有如用以接近生理條件所需之醫藥上可接受的輔助物質，諸如 pH 調整及緩衝劑、穩定劑、增稠劑、潤滑劑、及著色劑等。在此類醫藥配方中特異性結合 CD38 之抗體的濃度可有廣泛變化，即從以重量計小於約 0.5%，常達以重量計至少約 1% 至多達以重量計 15 或 20%、25%、30%、35%、40%、45%、或 50%，並且將主要基於所需劑量、流體體積、黏度等，根據所選擇之特定投予模式來選擇。合適的媒劑及調配物（包含其他的人類蛋白質，例如人類血清白蛋白），舉例而言，係被描述於例如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>st</sup> Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691-1092 中，請特別參見 pp. 958-989。

【0194】 在本發明之方法中的特異性結合 CD38 的抗體之投予模式可係任何合適之路徑，諸如腸胃外投予，例如皮內、肌肉內、腹膜

內(intraperitoneal)、靜脈內或皮下、肺臟、經黏膜(口腔、鼻腔、陰道內、直腸)、或技藝人士所瞭解以及在所屬技術領域中所熟知之其他手段。特異性結合 CD38 的抗體可使用已知方法瘤內投予至淋巴結引流部位，用以局部遞送至腫瘤中。

【0195】 特異性結合 CD38 的抗體可藉由任何合適的路徑投予至病患，例如非經腸道(parentally)投予(其藉由靜脈(*i.v.*)輸液或推注注射(bolus injection))、肌內或皮下或腹膜內。*i.v.*輸液可在例如 15、30、60、90、120、180、240 分鐘內給予，或者在 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 小時內給予。

【0196】 給予病患之劑量係足以減輕或至少部分遏止所要治療之疾病(「治療有效量」)並且有時可係 0.005 mg 至約 100 mg/kg，例如約 0.05 mg 至約 30 mg/kg 或約 5 mg 至約 25 mg/kg、或約 4 mg/kg、約 8 mg/kg、約 16 mg/kg、或約 24 mg/kg，或者例如約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 mg/kg，但可甚至更高，例如約 15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40、50、60、70、80、90、或 100 mg/kg。

【0197】 亦可給予固定單位劑量，例如 50、100、200、500、或 1000 mg，或者劑量可基於病患之表面積，例如 500、400、300、250、200、或 100 mg/m<sup>2</sup>。經常可投予介於 1 與 8 次間的劑量(例如 1、2、3、4、5、6、7、或 8 次)，但亦可給予 9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、或更多次劑量。

【0198】 本發明之方法中之特異性結合 CD38 之抗體的投予可在一天、兩天、三天、四天、五天、六天、一週、兩週、三週、一個月、五週、六週、七週、兩個月、三個月、四個月、五個月、六個月、或更久之後重覆進行。重覆治療過程亦為可能者，如為慢性投予。重覆投予可在相同劑量或在不同劑量下。例如，本發明之方法中之特異性結合 CD38 之抗體可在 8 mg/kg 或在 16 mg/kg 下以每週間隔投予持續 8 週，接著在 8 mg/kg 或在 16 mg/kg 下每兩週投予持續另外 16 週，接著在 8 mg/kg 或在 16 mg/kg 下藉由靜脈輸液每四週投予。

【0199】 特異性結合 CD38 之抗體可在本發明之方法中藉由維持療法投予，諸如（例如）一週一次，持續 6 個月或更長時間。

【0200】 例如，本發明之方法中之特異性結合 CD38 的抗體可以約 0.1 至 100 mg/kg 的量作為日劑量，諸如 0.5、0.9、1.0、1.1、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、40、45、50、60、70、80、90、或 100 mg/kg，每天提供、於開始治療後的第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、或 40 天中之至少一天提供、或者可替代地，於開始治療後的第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或 20 週中之至少一週提供、或其任何組合，並使用每 24、12、8、6、4、或 2 小時之單次或分次劑量、或其任何組合。

【0201】 本發明之方法中之特異性結合 CD38 的抗體亦可預防性投予以減少發展癌症之風險、延緩癌症進展事件之開始發生、及/或當癌症處於緩解時減少復發之風險。這可能在已知存在有腫瘤但因其他生物因素而很難定位腫瘤的病患中特別有用。

【0202】 本發明之方法中之特異性結合 CD38 之抗體可凍乾貯存，並在使用前於合適的載劑中重構。此技術已顯示對於習知蛋白質製劑為有效者並且可使用熟知之凍乾及重構技術。

【0203】 本發明之方法中之特異性結合 CD38 之抗體可與第二治療劑組合投予。

【0204】 在本發明之方法中，特異性結合 CD38 之抗體可與化學治療藥品或所屬技術領域中具有通常知識者已知的其他抗癌治療劑中之任何一或多者一起投予。化學治療劑係可用於治療癌症的化學化合物，且包括生長抑制劑或其他細胞毒性劑，並包括烷化劑、抗代謝藥、抗微管抑制劑、拓樸異構酶抑制劑(topoisomerase inhibitor)、受體酪胺酸激酶抑制劑、血管生成抑制劑、及類似者。化學治療劑之實例包括：烷化劑，諸如噻替派(thiotepa)及環磷醯胺(CYTOXAN®)；

磺酸烷基酯，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)、及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶類(aziridine)，諸如苯佐替派(benzodopa)、卡波醜(carboquone)、美妥替派(meturedopa)、及烏瑞替派(uredopa)；乙烯亞胺(ethylenimine)及甲基三聚氰胺(methylamelamine)，包括六甲蜜胺(altretamine)、三亞乙基密胺(triethylenemelamine)、三亞乙基磷醯胺(triethylenephosphoramidate)、三亞乙基硫代磷醯胺(triethylenethiophosphoramidate)、及三羥甲基密胺(trimethylolomelamine)；氮芥(nitrogen mustard)，諸如氮芥苯丁酸(chlorambucil)、萘氮芥(chloronaphazine)、膽磷醯胺(cholophosphamide)、雌莫司汀(estramustine)、異環磷醯胺(ifosfamide)、雙氯乙基甲胺(mechlorethamine)、鹽酸雙氯乙基甲胺氧化物(mechlorethamine oxide hydrochloride)、黴法蘭(melphalan)、新氮芥(novembichin)、膽固醇苯乙酸氮芥(phenesterine)、松龍苯芥(prednimustine)、氯乙環磷醯胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard)；硝基脲類(nitrosureas)，諸如卡莫司汀(carmustine)、吡葡亞硝脲(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，諸如阿克拉黴素(aclacinomycin)、放線菌黴素(actinomycin)、氨基黴素(authramycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博萊黴素(bleomycin)、放線菌素(cactinomycin)、卡奇黴素(calicheamicin)、卡拉比黴素(carabycin)、洋紅黴素(carminomycin)、嗜癌黴素(carzinophilin)、色黴素(chromomycin)、更生黴素(dactinomycin)、道諾黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氨基-5-側氧基-L-正白胺酸、多柔比星(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、艾達魯比星(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycin)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、潑非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、三鐵阿黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑菌素(streptonigrin)、鏈脲黴素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司

(ubenimex)、淨司他汀(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代謝藥，諸如胺甲喋呤(methotrexate)及 5-FU；葉酸類似物，諸如二甲葉酸(denopterin)、胺甲喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate)；喋呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巰基喋呤(6-mercaptopurine)、硫咪喋呤(thiamiprine)、硫鳥喋呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如環胞苷(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮雜尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二脫氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)；雄性激素，諸如卡普舉酮(calusterone)、丙酸甲雄烷酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、舉內酯(testolactone)；抗腎上腺劑，諸如氨魯米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如亞葉酸(frolic acid)；醋葡醛內酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基酮戊酸(aminolevulinic acid)；安吡啶(amsacrine)；貝塔布辛(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatraxate)；得弗伐胺(defofamine)；地美可辛(demecolcine)；亞胺醯(diaziquone)；依洛尼塞(elfornithine)；依利醋銨(elliptinium acetate)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂；羥基脲(hydroxyurea)；香菇多糖(lentinan)；氯尼達明(lonidamine)；米托胍脲(mitoguazone)；米托蒽醯(mitoxantrone)；莫匹丹莫(mopidanmol)；二胺硝吡啶(nitracrine)；噴司他汀(pentostatin)；苯來美特(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼(2-ethylhydrazide)；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK®；雷佐生(razoxane)；西索菲蘭(sizofiran)；螺旋鍺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醯(triaziquone)；2,2',2"-三氯三乙胺；胺甲酸酯；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露醇氮芥(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；格塞圖辛(gacytosine)；阿拉伯糖苷(arabinoside)(「Ara-C」)；環磷醯胺；噻替派(thiotepa)；類紫杉

醇或紫杉烷家族之成員，諸如紫杉醇 (TAXOL®)、剋癌易(docetaxel, TAXOTERE®)、及其類似物；氮芥苯丁酸(chlorambucil)；吉西他濱 (gemcitabine)；6-硫鳥嘌呤；巯基嘌呤；胺甲喋呤；鉑類似物，諸如順氯氨鉑(cisplatin)及卡鉑(carboplatin)；長春花鹼(vinblastine)；鉑；依妥普賽(etoposide, VP-16)；異環磷醯胺；絲裂黴素 C；邁杜蔥酮(mitoxantrone)；長春新鹼(vincristine)；長春瑞濱(vinorelbine)；溫諾平(navelbine)；諾安托(novantrone)；坦尼坡賽(teniposide)；道紅鏈絲菌素(daunomycin)；胺蝶呤(aminopterin)；截瘤達(xeloda)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；CPT-11；拓樸異構酶抑制劑 RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；視黃酸；埃斯培拉黴素(esperamicin)；卡培他濱(capecitabine)；受體酪胺酸激酶抑制劑及/或血管生成抑制劑，包括 NEXAVAR® (索拉非尼(sorafenib))、SUTENT® (舒尼替尼(sunitinib))、VOTRIENT™ (帕唑帕尼(pazopanib))、PALLADIA™ (托西尼布(toceranib))、ZACTIMA™ (凡德他尼(vandetanib))、RECENTIN® (西地尼布(cediranib))、瑞格非尼(regorafenib) (BAY 73-4506)、阿西替尼(axitinib) (AG013736)、來他替尼(lestaurtinib) (CEP-701)、TARCEVA® (厄洛替尼(erlotinib))、IRESSA™ (吉非替尼(gefitinib))、Gilotrif® (阿法替尼(afatinib))、TYKERB® (拉帕替尼(lapatinib))、來那替尼(neratinib)、及類似者、以及上述中任一者之醫藥上可接受之鹽、酸、或衍生物。此定義中亦包括用於調節或抑制激素對腫瘤作用之抗激素劑，諸如抗雌激素，包括例如他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、芳香酶抑制性 4(5)-咪唑、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)、LY 117018、奧那司酮(onapristone)、及 FARESTON® (托瑞米芬(toremifene))；及抗雄激素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)、及戈舍瑞林(goserelin)；及上述中任一者之醫藥上可接受之鹽、酸、或衍生物。如那些在 Wiemann 等人，1985，在 *Medical Oncology* (Calabresi 等人，eds.) 中，Chapter 10, McMillan Publishing 中所揭露的其他習知細胞毒性化合物亦可適用於本發明之方法。

**【0205】** 可與本發明之方法中之特異性結合 CD38 之抗體組合使用的例示性藥劑包括酪胺酸激酶抑制劑及標靶抗癌療法，諸如 IRESSA™（吉非替尼）及 Tarceva®（厄洛替尼）、以及 HER2、HER3、HER4、或 VEGF 之其他拮抗劑。例示性 HER2 拮抗劑包括 CP-724-714、HERCEPTIN™（曲妥珠單抗 (trastuzumab)）、OMNITARG™（帕妥珠單抗 (pertuzumab)）、TAK-165、TYKERB®（拉帕替尼）（EGFR 及 HER2 抑制劑）、及 GW-282974。例示性 HER3 拮抗劑包括抗 Her3 抗體（參見例如，美國專利公開號 2004/0197332）。例示性 HER4 拮抗劑包括抗 HER4 siRNA（參見例如，Maatta 等人，Mol Biol Cell 17: 67-79, 2006）。例示性 VEGF 拮抗劑係 Avastin™（貝伐單抗 (bevacizumab)）。

**【0206】** 可與本發明之方法中之特異性結合 CD38 之抗體組合使用的例示性藥劑包括用於固態腫瘤之標準照護藥品、或免疫檢查點抑制劑。

**【0207】** 本發明之方法中之第二治療劑可係免疫檢查點抑制劑。

**【0208】** 在一些實施例中，免疫檢查點抑制劑係抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 PD-L2 抗體、抗 LAG3 抗體、抗 TIM3 抗體、或抗 CTLA-4 抗體。

**【0209】** 在一些實施例中，免疫檢查點抑制劑係拮抗性抗 PD-1 抗體、拮抗性抗 PD-L1 抗體、拮抗性抗 PD-L2 抗體、拮抗性抗 LAG3 抗體、或拮抗性抗 TIM3 抗體。

**【0210】** 在一些實施例中，免疫檢查點抑制劑係抗 PD-1 抗體。

**【0211】** 在一些實施例中，免疫檢查點抑制劑係抗 PD-L1 抗體。

**【0212】** 在一些實施例中，免疫檢查點抑制劑係抗 PD-L2 抗體。

**【0213】** 在一些實施例中，免疫檢查點抑制劑係抗 LAG3 抗體。

**【0214】** 在一些實施例中，免疫檢查點抑制劑係抗 TIM3 抗體。

**【0215】** 在一些實施例中，免疫檢查點抑制劑係抗 CTLA-4 抗體。

【0216】 任何拮抗性抗 PD-1 抗體均可用於本發明之方法中。可使用之例示性抗 PD-1 抗體係 OPVIDO®（尼沃魯單抗）及 KEYTRUDA®（派立珠單抗）。OPVIDO®（尼沃魯單抗）係描述於例如美國專利第 8,008,449 號中（抗體 5C4）且包含 SEQ ID NO: 24 之 VH 及 SEQ ID NO: 25 之 VL。KEYTRUDA®（派立珠單抗）係描述於例如美國專利第 8,354,509 號中且包含 SEQ ID NO: 22 之 VH 及 SEQ ID NO: 23 之 VL。尼沃魯單抗及派立珠單抗之胺基酸序列亦可透過 CAS 登錄取得。可使用之另外的 PD-1 抗體係描述於美國專利第 7,332,582 號、美國專利公開號 2014/0044738、國際專利公開號 WO2014/17966、及美國專利公開號 2014/0356363 中。

【0217】 「拮抗劑(Antagonist)」係指當結合至細胞蛋白質時抑制至少一種該蛋白質之天然配位體所誘導之反應或活性的分子。一分子，當至少一種反應或活性受到的抑制比該至少一種反應或活性在不存在拮抗劑之情況下（例如，陰性對照）受到的抑制多至少約 30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或 100%時，或當相較於在不存在拮抗劑之情況下的抑制，抑制係統計學顯著的時，係拮抗劑。拮抗劑可係抗體、可溶性配位體、小分子、DNA、或 RNA 諸如 siRNA。例如藉由 PD-1 結合至其受體 PD-L1 或 PD-L2 所誘導之典型反應或活性可係抗原特異性 CD4<sup>+</sup> 或 CD8<sup>+</sup>細胞增生的減少或 T 細胞之干擾素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )產生的減少，其導致抑制針對例如腫瘤的免疫反應。藉由 TIM-3 結合至其受體（諸如半乳糖凝集素-9）所誘導之典型反應或活性可係抗原特異性 CD4<sup>+</sup>或 CD8<sup>+</sup>細胞增生的減少、T 細胞之 IFN- $\gamma$  產生的減少、或 CD4<sup>+</sup>或 CD8<sup>+</sup>細胞上之 CD137 表面表現的減少，其導致抑制針對例如腫瘤的免疫反應。因此，特異性結合 PD-1 的拮抗性 PD-1 抗體、拮抗性 PD-L2、特異性結合 TIM-3 的拮抗性抗體藉由對於抑制劑途徑加以抑制來誘導免疫反應。

SEQ ID NO: 22

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQ  
GLEWMGG  
INPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYC  
ARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO: 23

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQ  
APRLLIYLAASYLESQVPAFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQ  
HSRDLPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 24

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKG  
LEWVAVIWYDGSKRYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAE  
DTAVYYCATNDDYWGQGTTLVTVSS

SEQ ID NO: 25

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL  
LIYDASNRAFGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQSSN  
WPRTFGQGTKVEIK

**【0218】** 增強免疫反應的抗 PD-L1 抗體可用於本發明之方法中（例如拮抗性抗 PD-L1 抗體）。可使用之例示性抗 PD-L1 抗體係德瓦魯單抗(durvalumab)、阿替珠單抗(atezolizumab)、及艾維路單抗(avelumab)、以及描述於例如美國專利公開號 2009/0055944、美國專利第美國專利第 8,552,154 號、美國專利第 8,217,149 號、及美國專利第 8,779,108 號中者。

**【0219】** 德瓦魯單抗包含 SEQ ID NO: 26 之 VH 及 SEQ ID NO: 27 之 VL。

**【0220】** 阿替珠單抗包含 SEQ ID NO: 28 之 VH 及 SEQ ID NO: 29 之 VL。

【0221】 艾維路單抗包含 SEQ ID NO: 30 之 VH 及 SEQ ID NO: 31 之 VL。

SEQ ID NO: 26

EVQLVESGGG

LVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVAN

IKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYY

CAREG GWFGELAFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 27

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQK

PGQAPRLLIY

DASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPW

TFG

QGTKVEIK

SEQ ID NO: 28

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGL

EWVAW

ISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC

ARRH

WPGGFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 29

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPK

LLIYS

ASFLYSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPAT

FGQ

GTKVEIK

SEQ ID NO: 30

EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGL  
 EWVSS  
 IYPSGGITFYADTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC  
 ARIK  
 LGTVTTVDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 31

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAP  
 KLMI  
 YDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSS  
 STRV  
 FGTGTKVTVL

**【0222】** 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 24 之 VH 及 SEQ ID NO: 25 之 VL）之組合達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

**【0223】** 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 22 之 VH 及 SEQ ID NO: 23 之 VL）之組合達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

**【0224】** 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-L1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 26 之 VH 及 SEQ ID NO: 27 之 VL）之組合達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

**【0225】** 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗

體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-L1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 28 之 VH 及 SEQ ID NO: 29 之 VL）之組合達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

【0226】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-L1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 30 之 VH 及 SEQ ID NO: 31 之 VL）之組合達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

【0227】 本發明亦提供一種增強病患之免疫反應的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 24 之 VH 及 SEQ ID NO: 25 之 VL）之組合達一段足以增強免疫反應的時間。

【0228】 本發明亦提供一種增強病患之免疫反應的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 22 之 VH 及 SEQ ID NO: 23 之 VL）之組合達一段足以增強免疫反應的時間。

【0229】 本發明亦提供一種增強病患之免疫反應的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-L1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 26 之 VH 及 SEQ ID NO: 27 之 VL）之組合達一段足以增強免疫反應的時間。

【0230】 本發明亦提供一種增強病患之免疫反應的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-L1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 28 之 VH 及 SEQ ID NO: 29 之 VL）之組合達一段足以增強免疫反應的時間。

【0231】 本發明亦提供一種增強病患之免疫反應的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體

(其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL) 與抗 PD-L1 抗體 (其包含 SEQ ID NO: 30 之 VH 及 SEQ ID NO: 31 之 VL) 之組合達一段足以增強免疫反應的時間。

**【0232】** 本發明亦提供一種治療患有結腸直腸癌之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體與拮抗性抗 PD-1 抗體之組合達一段足以治療該結腸直腸癌的時間。

**【0233】** 本發明亦提供一種治療患有結腸直腸癌之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體與拮抗性抗 PD-L1 抗體之組合達一段足以治療該結腸直腸癌的時間。

**【0234】** 本發明亦提供一種治療患有結腸直腸癌之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體與拮抗性抗 PD-L2 抗體之組合達一段足以治療該結腸直腸癌的時間。

**【0235】** 本發明亦提供一種治療患有肺癌之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體與拮抗性抗 PD-1 抗體之組合達一段足以治療該肺癌的時間。

**【0236】** 本發明亦提供一種治療患有肺癌之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體與拮抗性抗 PD-L1 抗體之組合達一段足以治療該肺癌的時間。

**【0237】** 本發明亦提供一種治療患有肺癌之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體與拮抗性抗 PD-L2 抗體之組合達一段足以治療該肺癌的時間。

**【0238】** 本發明亦提供一種治療患有前列腺癌之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體與拮抗性抗 PD-1 抗體之組合達一段足以治療該前列腺癌的時間。

**【0239】** 本發明亦提供一種治療患有前列腺癌之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體與拮抗性抗 PD-L1 抗體之組合達一段足以治療該前列腺癌的時間。

【0240】 本發明亦提供一種治療患有前列腺癌之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體與拮抗性抗 PD-L2 抗體之組合達一段足以治療該前列腺癌的時間。

【0241】 增強免疫反應的抗 LAG-3 抗體可用於本發明之方法中。可使用之例示性抗 LAG-3 抗體係描述於例如國際專利公開號 WO2010/019570 中者。

【0242】 增強免疫反應的抗 CTLA-4 抗體可用於本發明之方法中。可使用之例示性抗 CTLA-4 抗體係伊匹單抗。

【0243】 可用於本發明之方法中之抗 PD-1、抗 PD-L1、抗 PD-L2、抗 LAG3、抗 TIM3、及抗 CTLA-4 抗體亦可使用本文中所述之方法重新產生。

【0244】 在一些實施例中，可使用包含 SEQ ID NO: 32 之 VH 及 SEQ ID NO: 33 之 VL 的抗 PD1 抗體。

【0245】 在一些實施例中，可使用包含 SEQ ID NO: 34 之 VH 及 SEQ ID NO: 35 之 VL 的抗 PD1 抗體。

【0246】 在一些實施例中，可使用包含 SEQ ID NO: 36 之 VH 及 SEQ ID NO: 37 之 VL 的抗 TIM-3 抗體。

【0247】 在一些實施例中，可使用包含 SEQ ID NO: 38 之 VH 及 SEQ ID NO: 39 之 VL 的抗 TIM-3 抗體。

SEQ ID NO: 32

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGL  
EWMGGIIPFDTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTA  
VYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 33

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRL  
LIYDASNRAITGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNY  
WPLTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 34

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSRYDMSWVRQAPGKG  
LESVAYISGGGANTYYLDNVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAE  
DTAVYYCASPYLSYFDVWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 35

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSLSDYLHWYQQKPGQAPRL  
LIKSASQSIGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQNGHSF  
PYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 36

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGL  
EWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED  
TAVYYCAKSPYAPLDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 37

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVNDYLAWYQQKPGQAPRL  
LIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQGGH  
APITFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 38

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWMQWVRQMPGKG  
LEWMGAIYPGDGDIRYTQNFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKAS  
DTAMYYCARWEKSTTVVQRNYFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 39

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASENVGTFVSWYQQKPGKAPK  
LLIYGASNRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCGQSY  
SYPTFGQGTKLEIK

【0248】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 32 之 VH 及 SEQ ID NO: 33 之 VL）之組合達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

【0249】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 PD-1 抗體（其包含 SEQ ID NO: 34 之 VH 及 SEQ ID NO: 35 之 VL）之組合達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

【0250】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 TIM-3 抗體（其包含 SEQ ID NO: 36 之 VH 及 SEQ ID NO: 37 之 VL）之組合達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

【0251】 本發明亦提供一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體（其包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL）與抗 TIM-3 抗體（其包含 SEQ ID NO: 38 之 VH 及 SEQ ID NO: 39 之 VL）之組合達一段足以治療該固態腫瘤的時間。

【0252】 在本發明之方法中，特異性結合 CD38 之抗體與第二治療劑之組合可在任何習知時段內投予。例如，特異性結合 CD38 之抗體及第二治療劑可在同一天，且甚至以同一靜脈輸液投予至病患。然而，特異性結合 CD38 之抗體及第二治療劑亦可在交替的日子、或交替的週或月、等等投予。在一些方法中，特異性結合 CD38 之抗體及第二治療劑可在足夠接近的時間投予，使其等在可偵測的水平下同時存在（例如，在血清中）於經治療的病患中。在一些方法中，以特異性結合 CD38 之抗體（其在一段時間內由數個劑量組成）治療之整個過程係在以第二治療劑（其由數個劑量組成）治療之過程之前或之

後。介於投予特異性結合 CD38 之抗體與第二治療劑之間可使用 1、2、或若干天或週之恢復期。

**【0253】** 特異性結合 CD38 之抗體或特異性結合 CD38 之抗體與第二治療劑之組合可與任何形式的放射療法（包括體外放射(external beam radiation)，強度調控放射療法(IMRT)、聚焦放射、及任何形式的放射手術（包括  $\gamma$  刀(Gamma Knife)、射波刀(Cyberknife)、直線加速器(Linac)、及間質放射（例如植入的放射性種粒、GliaSite 氣球)))、及/或與手術一起施用。

**【0254】** 可使用的聚焦放射法包括立體定位放射手術、分次立體定位放射手術、及強度調控放射療法(IMRT)。顯而易見的是，立體定位放射手術涉及精確地遞送輻射至腫瘤組織（例如腦腫瘤），同時避開周圍的非腫瘤、正常組織。使用立體定位放射手術所施加的輻射劑量可能會變化，通常為 1 Gy 至約 30 Gy，且可包含中間範圍，包括例如 1 至 5、10、15、20、25、高至 30 Gy 的劑量。因為非侵入性固定裝置的緣故，立體定位放射不需要在單次治療中被遞送。治療計劃可以日復一日確實地重複，藉此使多個分次輻射劑量得以被遞送。當用來在一段時間內治療腫瘤時，該放射手術被稱為「分次立體定位放射手術(fractionated stereotactic radiosurgery)」或 FSR。相比之下，立體定位放射手術係指單次治療(one-session treatment)。分次立體定位放射手術可能導致高治療比率，即腫瘤細胞殺滅率高且對正常組織低影響。腫瘤及正常組織對高單次劑量輻射之於多次小劑量輻射的反應不同。單次大劑量輻射比起若干次小劑量輻射可能會殺滅更多的正常組織。因此，多次小劑量輻射可以殺滅更多的腫瘤細胞而不傷害正常組織。使用分次立體定位放射所施加的輻射劑量可能會在 1 Gy 至約 50 Gy 的範圍內變化，且可包含中間範圍，包括例如 1 至 5、10、15、20、25、30、40、直到 50 Gy 的低分次劑量。也可使用強度調控放射療法(IMRT)。IMRT 係高精度三維順形放射療法(3DCRT)的進階模式，其使用電腦控制的直線加速器以遞送精確的輻射劑量至惡性腫瘤或腫瘤內的特定範圍。在 3DCRT 中，使用多葉式準直儀(MLC)將每個輻射束的輪廓成形為適合目標的輪廓（來自射束透視(beam's eye view,

BEV)觀點)，藉此產生若干光束。IMRT 以多個小量來調節該輻射束的強度，使輻射劑量得以更精確地符合腫瘤的三維(3-D)形狀。因此，IMRT 使更高的輻射劑量能集中到腫瘤內的區域，同時盡量減少對周圍正常關鍵結構的劑量。IMRT 提高了使治療量符合凹腫瘤形狀的能力，例如，當腫瘤係纏繞在諸如脊髓或主要器官或血管的脆弱結構上。

### **包含特異性結合 CD38 之抗體及玻尿酸酶的醫藥組成物之皮下投予**

【0255】 特異性結合 CD38 之抗體可以醫藥組成物之形式皮下投予，該醫藥組成物包含特異性結合 CD38 之抗體及玻尿酸酶。

【0256】 特異性結合 CD38 之抗體在皮下投予之醫藥組成物中的濃度可係約 20 mg/ml。

【0257】 皮下投予之醫藥組成物可包含介於約 1,200 mg 至 1,800 mg 之間的特異性結合 CD38 之抗體。

【0258】 皮下投予之醫藥組成物可包含約 1,200 mg 的特異性結合 CD38 之抗體。

【0259】 皮下投予之醫藥組成物可包含約 1,600 mg 的特異性結合 CD38 之抗體。

【0260】 皮下投予之醫藥組成物可包含約 1,800 mg 的特異性結合 CD38 之抗體。

【0261】 皮下投予之醫藥組成物可包含介於約 30,000 U 至 45,000 U 之間的玻尿酸酶。

【0262】 皮下投予之醫藥組成物可包含約 1,200 mg 的特異性結合 CD38 之抗體及約 30,000 U 的玻尿酸酶。

【0263】 皮下投予之醫藥組成物可包含約 1,800 mg 的特異性結合 CD38 之抗體及約 45,000 U 的玻尿酸酶。

【0264】 皮下投予之醫藥組成物可包含約 1,600 mg 的特異性結合 CD38 之抗體及約 30,000 U 的玻尿酸酶。

【0265】 皮下投予之醫藥組成物可包含約 1,600 mg 的特異性結合 CD38 之抗體及約 45,000 U 的玻尿酸酶。

【0266】 皮下投予之醫藥組成物可包含玻尿酸酶 rHuPH20，其具有 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列。

【0267】 rHuPH20 係重組玻尿酸酶 (HYLENEX®重組體)，且描述於國際專利公開號 WO2004/078140 中。

【0268】 玻尿酸酶係降解玻尿酸(EC 3.2.1.35)的酶，並減低在細胞外基質中玻尿酸之黏度，從而增加組織滲透性。

#### SEQ ID NO: 40

MGVLKFKHIFFRSFKSSGVSQIVFTFLIPCCCLTLNFRAPPVIPNVP  
 FLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD  
 RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLKAKKDITFYMPVDNL  
 GMAVIDWEEWRPTWARNWPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSLTEA  
 TEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYLFPDCYNHH  
 YKKPGYNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVA  
 ATLYVRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE  
 LVYTFGETVALGASGIVIWGTLSIMRSMKSCLLDNYMETILNPYII  
 NVTAAKMCSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEK  
 GGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFCSCYSTLSCKEKADVKTDAVD  
 VCIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLSATMFIVSILFLIISS  
 VASL

【0269】 包含特異性結合 CD38 之抗體及玻尿酸酶的醫藥組成物之投予可在一天、兩天、三天、四天、五天、六天、一週、兩週、三週、四週、五週、六週、七週、兩個月、三個月、四個月、五個月、六個月、或更久之後重覆進行。重覆治療過程亦為可能者，如為慢性投予。重覆投予可在相同劑量或不同劑量下。例如，包含特異性結合 CD38 之抗體及玻尿酸酶之醫藥組成物可每週投予一次持續八週，接著兩週投予一次持續 16 週，接著四週投予一次。待投予之醫藥組成物可包含約 1,200 mg 的特異性結合 CD38 之抗體及約 30,000 U 的玻尿酸酶，其中特異性結合 CD38 之抗體在醫藥組成物中之濃度係約 20 mg/ml。待投予之醫藥組成物可包含約 1,800 mg 的特異性結合 CD38

之抗體及約 45,000 U 的玻尿酸酶。待投予之醫藥組成物可包含約 1,600 mg 的特異性結合 CD38 之抗體及約 30,000 U 的玻尿酸酶。待投予之醫藥組成物可包含約 1,600 mg 的特異性結合 CD38 之抗體及約 45,000 U 的玻尿酸酶。

【0270】 包含特異性結合 CD38 之抗體及玻尿酸酶之醫藥組成物可皮下投予至腹部區域。

【0271】 包含特異性結合 CD38 之抗體及玻尿酸酶之醫藥組成物可以約 80 ml、90 ml、100 ml、110 ml、或 120 ml 之總體積投予。

【0272】 投予時，可將 20 mg/ml 的特異性結合 CD38 之抗體（於 25 mM 乙酸鈉、60 mM 氯化鈉、140 mM D-甘露醇、0.04% 聚山梨醇酯 20，pH 5.5）與 rHuPH20（1.0 mg/mL (75-150 kU/mL)，於 10 mM L-組胺酸、130 mM NaCl、10 mM L-甲硫胺酸、0.02% 聚山梨醇酯 80，pH 6.5）混合，之後將該混合物投予至對象。

【0273】 雖然已用一般術語描述了本發明，本發明之實施例將進一步揭露於下列實例中，但其不應被解釋為限制權利要求的範圍。

## 實例 1。一般材料及方法

### 樣本收集及處理

【0274】 緊接在第一輸液之前的基期及在治療期間內指明的時間點，將周邊血液及骨髓抽出物收集於肝素化管(heparinized tube)中。大部分樣本係當其等到達中央實驗室時，在收集後 24 至 48 小時，使用即時流動式細胞測量術評估。周邊血液單核細胞(PBMC)係獲自全血，藉由密度梯度離心來單離，且冷凍儲存直至分析。針對 T 細胞活化、純系性、及 CD38<sup>+</sup> Treg 抑制測定，使用冷凍 PBMC 樣本，同時對治療前及治療後之樣本進行分析。

【0275】 在 BARC 全球中心實驗室(BARC global central laboratory)，對這些樣本進行流動式細胞測量分析，使用預先驗證的免疫分型測定來評估 NK 細胞、T 細胞、B 細胞、骨髓瘤細胞(CD138<sup>+</sup>)、及 CD38 表現。簡言之，將血液樣本及骨髓樣本利用下列多螢光染料抗體組染色：細胞譜系組：PerCPCy5.5α-CD19（純系

HIB19 ; Becton Dickinson [BD])、APC $\alpha$ -CD24 (SN3; eBioscience)、PC7 $\alpha$ -CD3 (UCHT-1; Beckman Coulter)、V500 $\alpha$ -CD16 (3G8; BD)、及 PE $\alpha$ -CD56 (MY; BD) ; 調節 T 細胞(T<sub>reg</sub>)組 : APC $\alpha$ -CD25 (2A3; BD)、PE $\alpha$ -CD127 (HIL-7R-M21; BD)、APC-H7 $\alpha$ -HLA-DR (G46-6; BD)、及 PerCP $\alpha$ -CD4 (L200; BD) ; 初始(naive)/記憶 T 細胞組 : APC-H7 $\alpha$ -CD4 (RPA-T4; BD)、PerCP-Cy5.5 $\alpha$ -CD8 (RPA-T4 BD)、PE $\alpha$ -CD62L (SK11; BD)、及 APC $\alpha$ -CD45RA (HI100; BD)。CD38 表現係使用 Alexa 647 標記之抗體 mAb 003 評估，其描述於美國專利第 7,829,693 號中，具有 SEQ ID NO: 14 及 SEQ ID NO: 15 之 VH 及 VL 序列。血液樣本係使用不同的裂解-清洗方法製備。利用各種抗體對骨髓抽出物樣本進行膜或細胞內染色。Becton Dickinson FACS 裂解溶液用於裂解周邊血液樣本中之紅血球，且來自 Invitrogen 之 Fix 與 Perm 細胞滲透試劑用於骨髓抽出物樣本之細胞內染色。染色樣本係在 FACS Canto II 流動式細胞測量儀上獲得，且數據係使用 FacsDiva 軟體分析。在所測試之所有時間點判定免疫細胞群在血液樣本中的絕對計數及淋巴球在骨髓樣本中之百分比。

### T 細胞受體(TCR)定序

【0276】 T 細胞多樣性係藉由使用 PBMC 樣本之基因體 DNA 進行 TCR 重排之深度定序(deep sequencing)以評估 CD8<sup>+</sup> T 細胞純系性來分析。TCR 定序係使用 Adaptive Biotechnologies 市售的 Immunoseq™測定進行，且分析係使用預審的多重聚合酶連鎖反應(PCR)測定(TR2015CRO-V-019)進行，其等係由正向引子及反向引子所構成，該等正向引子及反向引子直接靶向可變(V)基因(正向引子)及連接(J)基因(反向引子)之家族。各 V 及 J 基因引子係作為引導對(priming pair)以放大體細胞重組 TCR，且各引子含有特定的通用 DNA 序列。在最初的 PCR 放大之後，將各放大物用正向引子及反向引子放大第二次，該等正向引子及反向引子含有通用序列及 Illumina 的 DNA 定序所需的轉接序列(adaptor sequence)。

### T 細胞對病毒抗原及同種異體抗原的反應

【0277】 將病患 PBMC 接種於 96 孔盤上 ( $2 \times 10^5$  個細胞/孔)，且用下列刺激 5 天：23 種主要組織相容性基因複合體(MHC) I 類限制性病毒胜肽之混合物(cocktail)，其係來自人類巨細胞病毒(CMV)、艾司坦-巴爾病毒(EBV)、及流感病毒 ( $2 \mu\text{g/ml}$ ；CEF 胜肽池；PANATecs<sup>®</sup>)；或相等數目的來自健康供體的 25-Gy 照射之同種異體 PBMC。未經刺激之 PBMC 及經抗 CD3/CD28 塗覆珠粒刺激之 PBMC 分別充當陰性對照及陽性對照。在第 5 天，藉由三明治酶聯免疫吸附測定 (ELISA；人類 IFN  $\gamma$  ELISA Ready-SET-Go；eBioscience) 測量無細胞上清液之干擾素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )，且其充當 T 細胞活化之替代標誌。

### 調節 T 細胞(Treg)對效應細胞功能的抑制：羧基螢光素琥珀醯亞胺酯 (CFSE)稀釋測定

【0278】 將健康供體之 PBMC 用 PerCP-Cy5.5 $\alpha$ -CD3 (SK7; BD)、KO $\alpha$ -CD45, (J33; Beckman Coulter)、V450 $\alpha$ -CD4 (SK3; BD)、PE $\alpha$ -CD25 (M-A251, BD)、PE Cy7 $\alpha$ -CD127 (HIL-7R-M21; BD)、及 APC $\alpha$ -CD38 (HB-7; BD)標記並藉由 FACS Aria (BD)分選。將經分選之效應細胞用羧基螢光素琥珀醯亞胺酯(CFSE; eBioscience)標記，並用抗 CD3/CD28 塗覆珠粒在 CD38<sup>+</sup>Treg 或 CD38<sup>-</sup>Treg (Treg 對效應細胞之比率係 1:1) 存在或不存在的情況下，於 RPMI 加 10%胎牛血清中刺激。72 小時後，進行流動式細胞測量術，且將 CFSE 之稀釋百分比用作 T 細胞增生之替代。

### 骨髓衍生抑制細胞(MDSC)表型及 DARZALEX<sup>™</sup> (達拉單抗) 媒介之 ADCC

【0279】 將三個正常健康供體之 PBMC 與骨髓瘤細胞系 (RPMI8226, U266, H929)共培育六天，並評估顆粒球性 MDSC (G-MDSC)之產生(CD11b<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>HLA<sup>-</sup>DR<sup>-</sup>CD15<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>)，如 Gorgun 等人，Blood 121:2975-87, 2013 中所述。G-MDSC 不存在於正常健康

PBMC 中，然而在與所有三個骨髓瘤細胞系共培育之後，G-MDSC 以總 PBMC 群之 5 至 25% 存在（數據未顯示）。針對 G-MDSC 之流動式細胞測量評估的圈選(gating)策略包括以 CD11b<sup>+</sup>作為第一圈選，接著進行 CD14<sup>-</sup>及 HLA-DR<sup>-</sup>圈選，然後接著進行 CD15<sup>+</sup>及 CD33<sup>+</sup>圈選。G-MDSC 經細胞分選且評估 CD38 表現水平及對 DARZALEX™（達拉單抗）媒介之 ADCC 的敏感度。為了評估 DARZALEX™（達拉單抗）對 MDSC 之 ADCC/CDC 的效應，將含有補體或同型對照之血清加至 ADCC 測定中。

### 初始及記憶 T 細胞分析

【0280】 自病患獲得肝素化周邊血液樣本，之後各自輸液 DARZALEX™（達拉單抗）。將周邊血液單核細胞(PBMC)藉由 Ficoll-Hypaque 密度梯度離心來單離，並儲存在液態氮中之冷凍保存(cryopreservation)培養基（添加 10% 人類血清及 10% 二甲亞砷之 RPMI）。針對 FACS 分析，將 PBMC 解凍，且將  $2 \times 10^6$  個細胞/組再懸浮於具有 0.05% 疊氮化物及 0.1% HAS 之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中。

### 數據分析

【0281】 所有數據分析及關聯圖表之產生僅使用 R 軟體進行(R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011, ISBN 3-900051-07-0 <http://www.R-project.org/>)。所有具有可評估反應的經治療之對象均包括在數據分析中。通篇一致地，反應者定義為按照 IRC 具有 sCR、VGPR、及 PR 之最佳反應的對象，且無反應者定義為按照 IRC 具有 MR、SD、及 PD 之最佳反應的對象。

【0282】 不同的統計學比較包括：(i)反應者與無反應者之間的基期水平，(ii)反應者及無反應者的基期之於治療中，(iii)反應者與無反應者之間的變化百分比，(iv)基期之於治療中的比率變化。各比較首先包括利用夏皮羅-威爾克(Shapiro-Wilk)檢定之常態性檢定(Royston

(1995) Remark AS R94: A remark on Algorithm AS 181: The W test for normality. *Applied Statistics*, 44, 547–551)。發現到，幾乎所有數據都不具有常態分佈。差異水平檢定包括進行非參數威爾卡森等級和檢定 (Wilcoxon rank sum test) (Hollander 及 Wolfe (1973), *Nonparametric Statistical Methods*. New York: John Wiley & Sons. Pages 27–33 (單樣本), 68–75 (雙樣本)) 及在博克斯-卡克斯(Box-Cox) 轉換之後的 t 檢定 (Weisberg, S. (2014) *Applied Linear Regression*, Fourth Edition, Wiley Wiley, Chapter 7)。針對博克斯-卡克斯轉換，將小數(1e-07)加至等於 0 的值。在所有情況下，兩個檢定一致。除非另外指示，否則威爾卡森等級和檢定 p-值係顯示於本說明書通篇的表中。當測試反應者及無反應者之基期之於治療中的差異時，每個對象進行雙組配對測試，在所有其他情況下，進行雙組非配對測試。

【0283】 因為針對不同的給藥排程，分析各種淋巴球群之樣本不是在同一時間點取得的，所以進行族群模型化。模型擬合係對訪視之等級進行。對總體及活化 NK 細胞的族群模型化涉及擬合折棒模型 (broken stick model) (Lutz 等人，「Statistical model to estimate a threshold dose and its confidence limits for the analysis of sublinear dose–response relationships, exemplified for mutagenicity data.」 *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 678.2 (2009): 118-122.)。將具有隨機截距及斜率之線性混合效應模型對 B 細胞、T 細胞亞群、及白血球、單核球、嗜中性球、及淋巴球病患族群之數據進行擬合 (Bates 等人，(2014)。「lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4.」 ArXiv e-print；提交至 *Journal of Statistical Software*, <http://arxiv.org/abs/1406.5823>)。此線性混合模型化係對治療開始後的相對日子進行(ADY)。此線性混合模型擬合係對經對數轉換的反應變數進行。在反應變數值等於 0 之情況下，將 0.1 加至所有反應變數值以允許在對數尺度下的模型化。

**實例 2.研究 54767414MMY2002 設計(SIRIUS)**

【0284】 研究 54767414MMY2002 (SIRIUS)之目標族群係患有晚期多發性骨髓瘤之病患，其等之前接受過至少 3 種療法，包括蛋白酶體抑制劑(PI)及免疫調節藥品(IMiD)，或其等對於 PI 及 IMiD 而言係雙重難治。主要終點/最終分析之反應評估係基於獨立評審委員會(independent review committee, IRC)及電腦化演算法之評估，其使用 2011 IMWG 準則（臨床研究報告：一項開放標籤、多中心、第 2 期試驗，其探究在患有多發性骨髓瘤之對象中 DARZALEX™（達拉單抗）的功效及安全性，該等對象之前已接受至少 3 種療法（包括蛋白酶體抑制劑及 IMiD）或該等對象對於蛋白酶體抑制劑及 IMiD 而言係雙重難治（EDMS-ERI-92399922; de Weers 等人，(2011) *J Immunol* 186(3):1840-1848））。

【0285】 這些評估包括：總體反應率(ORR)、反應持續時間、反應時間及最佳反應、臨床受益率、進展時間(TTP)、無進展存活期(PFS)、及總體存活期(OS)。

【0286】 此研究中，總計 124 個對象經 DARZALEX™（達拉單抗）治療（de Weers 等人，(2011) *J Immunol* 186(3):1840-1848）。18 個對象係以 8 mg/kg 治療，且 106 個對象係以 16 mg/kg 治療。給藥排程係如下：

A 組：DARZALEX™（達拉單抗）16 mg/kg：週期 1 及週期 2：第 1、8、15、及 22 天（每週），週期 3 至週期 6：第 1 及 15 天（每隔一週），週期 7+：第 1 天（每 4 週）。各週期係 4 週。

B 組：DARZALEX™（達拉單抗）8 mg/kg：週期 1+：第 1 天（每 4 週）。

【0287】 研究之主要目標係判定 DARZALEX™（達拉單抗）之 2 個治療方案的功效，如藉由 ORR (CR + PR)所測量，在患有多發性骨髓瘤的對象中，該等對象之前已接受至少 3 種療法，包括 PI 及 IMiD，或該等對象之疾病對於 PI 及 IMiD 而言係雙重難治（臨床研究報告：一項開放標籤、多中心、第 2 期試驗，其探究在患有多發性骨髓瘤之對象中 DARZALEX™（達拉單抗）的功效及安全性，該等對

象之前已接受至少 3 種療法（包括蛋白酶體抑制劑及 IMiD）或該等對象對於蛋白酶體抑制劑及 IMiD 而言係雙重難治。EDMS-ERI-92399922）。

【0288】 此研究之次級目標包括評估 DARZALEX™（達拉單抗）之安全性及耐受性、展示功效之額外量度（例如，臨床受益、TTP、PFS、及 OS）連同評估藥物動力學、免疫原性、藥效動力學、以及探究預示對 DARZALEX™（達拉單抗）之反應的生物標誌。額外研究相關的資訊可得自臨床研究規程（臨床研究報告：一項開放標籤、多中心、第 2 期試驗，其探究在患有多發性骨髓瘤之對象中 DARZALEX™（達拉單抗）的功效及安全性，該等對象之前已接受至少 3 種療法（包括蛋白酶體抑制劑及 IMiD）或該等對象對於蛋白酶體抑制劑及 IMiD 而言係雙重難治。EDMS-ERI-92399922）。

【0289】 在第 1 部分之第 1 階段中，8 mg/kg 組中 1 個對象(6%)有反應，且在 16 mg/kg 組中 5 個對象(31%)有反應。因此，在第 1 部分之第 2 階段及第 2 部分中，僅 16 mg/kg 組擴增。

【0290】 在 16 mg/kg 組中，基於 IRC 評估，31 個對象達成 PR 或更好的反應；ORR 係 29% (95% CI: 21%, 39%)。三個對象(3%)達成 sCR，且 13 個對象(12%)達成 VGPR 或更好。

### 實例 3. DARZALEX™（達拉單抗）在登記 54767414MMY2002 研究 (SIRIUS) 之病患中對 T 細胞擴增及活性之效應

【0291】 CD38 表現在多種免疫細胞及造血細胞上。藉由流動式細胞測量術進行廣泛的免疫剖析，以檢驗 DARZALEX™（達拉單抗）對免疫細胞子集的效應及這些細胞的基期水平與臨床反應的關聯。在基期及 DARZALEX™（達拉單抗）治療之後藉由流動式細胞測量術評估周邊血液及骨髓抽出物中之各種細胞群，包括 T 細胞（CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、及調節 T 細胞(Treg)）、B 細胞(CD19<sup>+</sup>)、NK 細胞、單核球(CD14<sup>+</sup>)、白血球、及嗜中性球，以監測反應者及無反應者中這些細胞群之變化。

### 淋巴球、白血球、單核球、及嗜中性球

【0292】 研究反應者及無反應者中周邊血液中之白血球、淋巴球、單核球、及嗜中性球計數。在以 8 mg/kg 及 16 mg/kg 劑量之病患中均發現總淋巴球隨著 DARZALEX™（達拉單抗）治療而增加（圖 1）。線性混合效應模型化揭示每 100 天在對數尺度下增加  $0.8 \times 10^6$  個細胞/ $\mu\text{L}$  (CI = 0.06, 0.11)。發現單核球及白血球之略微增加，其係於各 100 天在對數尺度下分別顯著增加  $0.03 \times 10^6$  個細胞/ $\mu\text{L}$  (CI = 0.01, 0.04) 及  $0.03 \times 10^6$  個細胞/ $\mu\text{L}$  (CI = 0.01, 0.05)。儘管注意到在一些病患中嗜中性球減少，但是嗜中性球計數中位數與基期一致，且變化不顯著。

【0293】 比較反應組之間這些細胞群之各者的基期水平。使用威爾卡森符號等級檢定(Wilcoxon signed-rank test)並未發現跨反應組的這些細胞類型之任一者的基期水平不同的證據（表 1）。

表 1：

反應者之於無反應者在基期的周邊血液細胞計數					
	N	中位數	平均值(SD)	範圍	P-值*
白血球：R	33	4.3	4.32 (1.65)	(1.6;8.8)	
白血球：NR	82	4.19	4.77 (2.26)	(2.13;13.8)	0.60987
淋巴球：R	33	0.9	1.09 (0.59)	(0.27;2.67)	
淋巴球：NR	82	1	1.05 (0.55)	(0.3;2.8)	0.85028
單核球：R	33	0.43	0.5 (0.25)	(0.2;0.97)	
單核球：NR	82	0.5	0.51 (0.25)	(0.04;1.3)	0.72803
嗜中性球：R	33	2.47	2.54 (1.23)	(1.06;5.94)	
嗜中性球：NR	82	2.44	3.05 (2.08)	(1;11.7)	0.40373
N：每組樣本之數目					
R：反應者					
NR：無反應者					
*無反應者之於反應者					
SD：標準偏差					

### NK 細胞

【0294】 總 NK 細胞 (CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) 及活化 NK 細胞 (CD16<sup>+</sup>CD56<sup>dim</sup>) 在 DARZALEX™（達拉單抗）治療之情況下隨著時間推移而減少（數據未顯示）。

## B 細胞

【0295】 在反應者及無反應者中測量周邊血液或骨髓抽出物中之 B 細胞(CD45<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>)在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療期間隨時間推移的絕對計數。B 細胞在全血中略微增加，且在骨髓抽出物中維持不變。周邊血液中之 B 細胞的線性混合模型化揭示，在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療之過程內於各 100 天在對數尺度下最小增加  $0.1 \times 10^6$  個細胞/ $\mu\text{L}$  [CI=0.04, 0.16]。在達拉單抗治療期間骨髓抽出物中之 B 細胞 (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>/淋巴球) 之百分比在反應者或無反應者中皆沒有變化 (分別係  $p=0.1$  及  $0.4$ )。另外，在反應者與無反應者之間，沒有發現在基期之 B 細胞計數不同的證據( $p = 0.5$ )。

## T 細胞

【0296】 注意到淋巴球在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療之情況下增加 (圖 1)，即使 B 細胞僅顯示最小增加 (參見上文)。為了進一步調查，研究周邊血液及骨髓兩者中之各種 T 細胞群 (CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 細胞、調節 T 細胞)。

【0297】 在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療之後，周邊血液中之 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、及 CD8<sup>+</sup> T 細胞增加 (淋巴球之絕對計數/ $\mu\text{l}$  及百分比兩者)。圖 2 顯示隨時間推移每個病患的周邊血液中之 CD3<sup>+</sup> T 細胞 (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>) 之絕對計數自基期的變化百分比。圖中之黑色線顯示所有病患之絕對計數中位數  $\times 10^6$  個細胞/ $\mu\text{L}$ 。圖中僅包括多於 2 次觀察的訪視。圖 3 顯示隨時間推移每個病患的周邊血液中之 CD4<sup>+</sup> T 細胞 (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) 之絕對計數自基期的變化%。圖中之黑色線顯示所有病患之中位數。圖中僅包括多於 2 次觀察的訪視。圖 4 顯示隨時間推移每個病患的周邊血液中之 CD8<sup>+</sup> T 細胞 (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) 之絕對計數自基期的變化%。圖中之黑色線顯示所有病患之中位數。圖中僅包括多於 2 次觀察的訪視。對周邊血液中之絕對計數的線性混合模型化揭示，平均來說，總 T 細胞 (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>) 在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療之後係於各 100 天在對數尺度下增加  $0.13 \times 10^6$  個細胞/ $\mu\text{l}$

(CI = 0.1, 0.15)。發現 CD8<sup>+</sup> T 細胞於各 100 天在對數尺度下顯著增加  $0.16 \times 10^6$  個細胞/ $\mu\text{l}$  (CI = 0.13, 0.19)。發現 CD4<sup>+</sup> 細胞於各 100 天在對數尺度下中等增加  $0.11 \times 10^6$  個細胞/ $\mu\text{l}$  (CI = 0.09, 0.13)。

【0298】 對於 T 細胞亞群之各者，反應者顯示絕對計數自基期的最大變化百分比高於無反應者 (CD3<sup>+</sup> p=3.2993e-05；CD4<sup>+</sup> p=3.486e-05；CD8<sup>+</sup> p=2.7172e-05；調節 T 細胞 p=0.002)。表 2 顯示威爾卡森符號等級檢定結果，用以比較反應者與無反應者之間周邊血液中之各 T 細胞亞群之絕對計數自基期的變化百分比。

表 2：

絕對細胞計數的變化百分比；周邊血液					
樣本	N	中位數	平均值(SD)	範圍	P-值*
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> ：R	33	86.76	118.91 (104.07)	(-16.1;398.71)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> ：NR	80	28.08	43.02 (69.55)	(-67.11;286.67)	3.30E-05
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> ：R	33	72.08	77.74 (60.99)	(-21.05;233.21)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> ：NR	80	19.48	29.36 (59.58)	(-68;298.89)	3.49E-05
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> ：R	33	106.6	180.81 (192.37)	(-7.07;760.51)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> ：NR	80	32.24	63.96 (112.44)	(-66.22;588.89)	2.72E-05
N：每組樣本之數目					
R：反應者					
NR：無反應者					
*反應者之於無反應者					
SD：標準偏差					

【0299】 類似地在骨髓中，發現反應者及無反應者之總 T 細胞（呈淋巴球之百分比的 CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>）及 CD8<sup>+</sup> T 細胞（呈淋巴球之百分比的 CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>）在 DARZALEX™（達拉單抗）治療期間皆顯著地增加（CD3<sup>+</sup>反應者 p=3.8147e-06，無反應者 p=9.8225e-05；CD8<sup>+</sup>反應者 p=3.8147e-06，無反應者 p=0.0003）。骨髓中之 CD4<sup>+</sup> T 細胞中位數在任一臨床反應組中皆沒有變化。表 3 顯示呈骨髓中淋巴球%之各種 T 細胞的威爾卡森符號等級檢定結果。圖 5 顯示在 DARZALEX™（達拉單抗）治療期間 CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>細胞隨時間推移的百分比(%)（反應者及無反應者均包括在圖表中）。圖 6 顯示在

DARZALEX™（達拉單抗）治療期間 CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>細胞隨時間推移的%（反應者及無反應者均包括在圖表中）。

表 3：

骨髓中之 T 細胞群（淋巴球%）					
樣本		NR：基期	NR：治療中	R：基期	R：治療中
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> / 淋巴球	N	29	29	19	19
	中位數	72.2	83.6	77.9	91.4
	平均值(SD)	68.57 (13.64)	80.93 (11.57)	71.82 (14.92)	87.67 (9.49)
	範圍	(36.3;94.5)	(50.9;97.4)	(42.2;94.8)	(63.3;97.2)
	P-值*		9.8225e-05		3.8147e-06
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> /淋巴球	N	29	29	19	19
	中位數	33.7	29.2	22.7	22.8
	平均值(SD)	31.24 (12.14)	32.96 (12.57)	24.18 (7.37)	24.29 (9.58)
	範圍	(6.3;54.2)	(9.6;60.9)	(8.1;36.6)	(12.5;45.4)
	P-值*		0.18351		0.98432
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> /淋巴球	N	29	29	19	19
	中位數	36.3	43.3	49.4	66.9
	平均值(SD)	37.39 (13.64)	47.74 (18.14)	46.91 (14.89)	62.82 (12.79)
	範圍	(15.9;67.2)	(18.5;81)	(24.5;79.6)	(33.1;83.3)
	P-值*		0.00026883		3.8147e-06
N：每組樣本之數目					
R：反應者					
NR：無反應者					
*反應者組或無反應者組的基期之於治療中					
SD：標準偏差					

【0300】 儘管反應者及無反應者均展示周邊血液及骨髓中之 T 細胞增加，但是反應者具有最大的自基期的變化百分比。為了區別在 DARZALEX™（達拉單抗）治療之前，是反應者還是無反應者具有不同水平的 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、及 CD8<sup>+</sup> T 細胞，比較周邊血液中各亞組之基期測量值。

【0301】 根據威爾卡森符號等級檢定，在周邊血液中之基期的絕對 T 細胞計數（表 4）或骨髓中之自總淋巴球的 T 細胞百分比中（表 5），反應者與無反應者之間不具有統計學顯著的差異。

表 4：

在治療之前基期的周邊血液中之絕對細胞計數					
樣本	N	中位數	平均值(SD)	範圍	P-值*
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> : R	33	574	715.91 (472.54)	(186;2096)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> : NR	80	638	672.5 (426.36)	(85;2407)	0.81527
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> : R	33	190	276.91 (207.39)	(77;1085)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> : NR	80	214	251.61 (146.13)	(21;766)	0.94965
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> : R	33	332	424.55 (324.49)	(93;1238)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> : NR	80	318	398.14 (354.52)	(43;2221)	0.56555
N：每組樣本之數目					
R：反應者					
NR：無反應者					
*每種細胞類型反應者之於無反應者					
SD：標準偏差					

表 5：

在治療之前骨髓中之 T 細胞（淋巴球%）					
樣本	N	中位數	平均值(SD)	範圍	P-值
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> : R	23	78.4	73.66 (14.43)	(42.2;94.8)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> : NR	65	76.5	73.5 (13.93)	(36.3;94.5)	0.81232
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> : R	23	25	25.57 (8.32)	(8.1;41.4)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> : NR	65	25.3	27.53 (12.76)	(6.3;55.2)	0.76482
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> : R	23	50	47.7 (13.73)	(24.5;79.6)	
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> : NR	65	44.3	44.73 (15.49)	(15.9;76.1)	0.41678
N：每組樣本之數目					
R：反應者					
NR：無反應者					
*每種細胞類型反應者之於無反應者					
SD：標準偏差					

## T 調節細胞

【0302】 Treg 細胞係鑑定為樣本中之 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup> 細胞群。評估經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患中周邊血液及骨髓中隨時間推移的 CD8<sup>+</sup> T 細胞對 Treg 之比率。周邊血液及骨髓

中之比率均增加。圖 7A 顯示每個時間點所有病患之周邊血液中  $CD8^+/Treg$  及  $CD8^+/CD4^+$  細胞比率之中位數值。圖 7B 顯示每個時間點所有病患之骨髓中  $CD8^+/Treg$  及  $CD8^+/CD4^+$  T 細胞比率之中位數值。根據威爾卡森符號等級檢定，周邊血液中隨治療時間推移（表 6）及骨髓（表 7）中之  $CD8^+/Treg$  及  $CD8^+/CD4^+$  的絕對計數比率之變化係顯著的。

【0303】 在 SIRIUS 及 GEN501 研究（實例 6）之組合數據分析中，周邊血液中之  $CD8^+/CD4^+$  及  $CD8^+/Treg$  細胞之比率中位數在第 8 週（ $CD8^+/CD4^+$  之  $p = 5.1 \times 10^{-5}$ ，且  $CD8^+/Treg$  之  $p = 1.8 \times 10^{-7}$ ）及在第 16 週（ $CD8^+/CD4^+$  之  $p = 0.00017$ ，且  $CD8^+/Treg$  之  $p = 4.1 \times 10^{-7}$ ）係增加的。類似地，在骨髓中， $CD8^+/CD4^+$  及  $CD8^+/Treg$  細胞之比率中位數在治療中（第 12 + 1 週週期）相較於基期係增加的（ $CD8^+/CD4^+$  之  $p = 0.00016$ ，且  $CD8^+/Treg$  之  $p = 2.8 \times 10^{-7}$ ）。反應者與無反應者之間未觀察到顯著差異。

表 6：

周邊血液中之 T 細胞比率					
樣本	N	中位數	平均值(SD)	範圍	P-值*
$CD8^+/CD4^+$ ：基期	66	119.75	191.78 (231.09)	(24.17;1461.18)	
$CD8^+/CD4^+$ ：C3D1	66	204.86	222.96 (167.44)	(25.53;867.58)	0.00046409
$CD8^+/CD4^+$ ：C4D1	66	210.05	215.15 (151.31)	(25.86;798.83)	0.00042154
$CD8^+/Treg$ ：基期	66	1258.33	2338.46 (3465.12)	(206.82;18550)	
$CD8^+/Treg$ ：C3D1	66	2326.74	3361.87 (3661.61)	(155;23066.67)	5.25E-06
$CD8^+/Treg$ ：C4D1	66	2763.16	3382.86 (3629.69)	(316.67;22087.5)	9.95E-08
*與基期的比較；N：每組樣本之數目；SD：標準偏差					

表 7：

骨髓中之 T 細胞比率					
樣本	N	中位數	平均值(SD)	範圍	P-值*
$CD8^+/CD4^+$ (/淋巴球)：基期	31	163.18	184.4 (129.5)	(32.58;674.58)	
$CD8^+/CD4^+$ (/淋巴球)：治療中	31	221.89	240.85 (155.57)	(30.38;666.4)	0.0038599
$CD8^+/Treg$ (/淋巴球)：基期	30	1219.58	1802.73 (1582.7)	(306.41;7960)	

CD8 <sup>+</sup> /Treg (/淋巴球) : 治療中	30	2273.56	3905.72 (4232.73)	(451.22;20825)	3.15E-07
*與基期的比較；N：每組樣本之數目；SD：標準偏差					

#### 實例 4. 研究設計(GEN501)

【0304】 研究 GEN501 (NCT00572488) 評估雙重難治 MM 病患中作為單一療法的 DARZALEX™ (達拉單抗)。樣本單離、處理、及統計分析係如實例 1 及實例 2 中所述。該研究已描述於 Lokhorst 等人，N Eng J Med 373:1207-19, 2005 中。

【0305】 簡言之，研究 GEN501 係 DARZALEX™ (達拉單抗) 在患有 MM 的對象中之首次應用於人類(first-in-human)的臨床研究。其係第 1/2 期劑量逐步升高的安全性研究，該研究分成 2 個部分。第 1 部分係開放標籤劑量逐步升高的研究；第 2 部分係開放標籤以多個分群的單臂研究，其係基於第 1 部分中所確立之劑量水平。

【0306】 在第 1 部分中，評估 DARZALEX™ (達拉單抗) 之 10 個劑量水平：0.005、0.05、0.10、0.50、1、2、4、8、16、及 24 mg/kg。兩個最低劑量分群各配給 1 (+3) 個對象，且標準 3 (+3) 個對象配給應用至剩餘 8 個劑量分群。第 2 部分係開放標籤單研究，其包括兩個劑量水平，8 mg/kg 及 16 mg/kg。第 1 部分包括 32 個對象，且第 2 部分包括 72 個對象。

#### 實例 5. DARZALEX™ (達拉單抗) 治療誘導病患中之 T 細胞純系性

【0307】 鑒於在 MY2002 研究中在周邊血液及骨髓中注意到的 CD8<sup>+</sup> T 細胞之擴增，使用 Immunoseq™ 測定進行 T 細胞受體(TCR)之高通量次世代定序，以判定擴增 CD8<sup>+</sup> T 細胞是否在本質上係純系的，其係適應性免疫反應之指示。對登記 GEN501 研究之對象之總計 17 個病患樣本進行評估（反應者 n=6，即，≥ PR；無反應者 n=11，即，MR、SD、PD）。

【0308】 TCR 定序揭示，DARZALEX™ (達拉單抗) 治療顯著地增加病患之純系性。圖 8A 顯示 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療之前之於之後的 T 細胞純系性之間的相關性(p = 0.0056)。圖 8B 顯示個

體病患中之純系性之倍數變化。反應者係以星標出。此數據表明，在 DARZALEX™（達拉單抗）治療之情況下所注意到的 T 細胞擴增可在本質上係純系的。

【0309】 當相較於無反應者時，反應者在 TCR 貯庫中具有較大的總擴增（如藉由豐度變化所測量；CIA）。圖 8C 顯示個別病患之 CIA%。A 組：反應者，B 組：無反應者。於反應者與無反應者之間觀察到統計學顯著的差異(p=0.037)。圖 8D 顯示反應者及無反應者中各擴增 T 細胞殖株之絕對豐度變化(CIA)之和。圖 8E 顯示各個別病患之最大 CIA%。A 組：反應者，B 組：無反應者。於反應者與無反應者之間觀察到統計學顯著的差異(p=0.048)。圖 8F 顯示反應者（A 組）及無反應者（B 組）中之單個細胞殖株的最大 CIA。

【0310】 CIA 係藉由使用費雪精確檢定(Fisher's exact test)（DeWit 等人 J. Virol. 2015）鑑定介於兩個樣本之間的純系豐度之顯著差異且對各擴增殖株之絕對豐度變化求和來獲得。

### 實例 6.DARZALEX™（達拉單抗）在登記 GEN501 研究之病患中的免疫調節效應

【0311】 評估登記 GEN501 之反應者及無反應者中的各種 T 及 B 細胞群。

#### 淋巴球

【0312】 類似於 SIRIUS (MMY2002)研究，在 DARZALEX™（達拉單抗）治療期間，周邊血液及骨髓中之淋巴球均增加。此增加係歸因於 CD4<sup>+</sup>及 CD8<sup>+</sup>細胞兩者的數目增加。

#### CD8<sup>+</sup>中央記憶細胞

【0313】 在登記 GEN 501 研究之 17 個病患之子集中研究經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患中隨時間推移之 CD8<sup>+</sup> T 細胞表型。使用標準規程，來自病患之 CD8<sup>+</sup>細胞被鑑定為初始(CD45RO<sup>-</sup>/CD62L<sup>+</sup>) (T<sub>N</sub>)細胞或中央記憶(T<sub>CM</sub>) (CD45RO<sup>+</sup>/CD62L<sup>高</sup>)細胞。

【0314】 圖 9A 顯示 CD8<sup>+</sup>初始細胞之% (CD8<sup>+</sup>細胞之%)，且圖 9B 顯示 CD8<sup>+</sup>中央記憶細胞之%。DARZALEX™ (達拉單抗) 治療顯著地降低初始 CD8<sup>+</sup> T 細胞之量 (第 8 週之  $p = 1.82 \times 10^{-4}$ )，且增加 CD8<sup>+</sup>記憶 T 細胞之量 (第 8 週之  $p = 4.88 \times 10^{-2}$ )。這表明，初始細胞毒性 T 細胞轉變成記憶 T 細胞，其可針對特定抗原被活化。白色方形指示至少達成最小反應( $\geq$ MR)之病患，且黑色方形指示疾病穩定或疾病進展之病患。對治療有反應的病患中，CD8<sup>+</sup>初始 T 細胞之顯著地較大的降低係明顯的 (數據未顯示)。圖 9C 顯示，DARZALEX™ (達拉單抗) 治療增加 HLA I 類-限制性 T 細胞之百分比，該等細胞部分驅動病毒特異性及同種反應性 T 細胞反應。圖 9D 顯示，擴增效應記憶 T 細胞表現低水平的 CD38。重要的是要注意，這些 T 細胞呈現正常且甚至增加的針對病毒胜肽及同種抗原的功能活性 (參見實例 8)。根據這些功能結果，我們推斷，在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療期間存在針對病毒及同種抗原的經歷抗原之 T 細胞的擴增、或活性改善。這些數據表明，不同於調節細胞子集，效應 T 細胞不需要 CD38 表現以適當地起作用並擴增。

### CD38 陽性調節 T 細胞

【0315】 細胞毒性 T 細胞之穩健擴增及活性增加之觀察，連同指示若干免疫抑制性細胞子集表現 CD38 的最近文獻一起，促進檢驗 DARZALEX™ (達拉單抗) 對調節細胞群調節 T 細胞(Treg)、骨髓衍生抑制細胞(MDSC)、及調節 B 細胞(Breg)的效應。

【0316】 使用標準規程單離調節 T 細胞 (Treg) (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup>)。使用流動式細胞測量術分析 Treg 之頻率。

【0317】 在 Treg 活化之前，周邊 Treg 之亞群(10% + 10%)表現高水平的 CD38。圖 10A，上圖顯示在基期時 Treg 在 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>細胞群 (P4 細胞群) 中之頻率。圖 10A，下圖顯示表現高 CD38 之 Treg 之子集 (P5 細胞群)。這些 CD38<sup>+</sup> Treg 對 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療高度敏感，且在 DARZALEX™ (達拉單抗) 之第一劑量之

後展現出顯著的且幾乎即時的衰退（病患  $n = 17$ ；第 1 週之於基期  $P = 8.88 \times 10^{-16}$ ）。DARZALEX™（達拉單抗）治療之後 Treg 之頻率顯示於圖 10B，上圖（P4 細胞群）中。圖 10B，下圖顯示，在第一(1<sup>st</sup>) DARZALEX™（達拉單抗）輸液之後，CD38<sup>高</sup> Treg（P5 細胞）係最顯著損耗的 Treg 群。這些 CD38<sup>+</sup> Treg 在整個 DARZALEX™（達拉單抗）治療中係維持損耗的（在第 1、4、及 8 週之於基期分別係  $p = 8.88 \times 10^{-16}$ 、 $1.11 \times 10^{-15}$ 、及  $1.50 \times 10^{-11}$ ）。圖 10C 顯示在基期、第 1 週、第 4 週、第 8 週、復發、及治療結束(EOT)6 個月後的總 CD3<sup>+</sup> 細胞之 CD38<sup>高</sup> Treg 之%。CD38<sup>高</sup> Treg 在該時間點恢復至基期。對治療有反應與沒有反應之病患之間的 CD38<sup>+</sup> Treg 之變化係類似的，然而，顯示對 DARZALEX™（達拉單抗）治療有反應的病患在第 8 週的 CD8<sup>+</sup> T 細胞:Treg 比率顯著地較高（ $P = 0.00955$ ；圖 10D）。

【0318】 為了評估 CD38<sup>+</sup> Treg 之損耗與 DARZALEX™（達拉單抗）治療之可能的生物相關性，對自體 CD3<sup>+</sup> T 細胞上的 CD38<sup>+</sup> Treg 之於 CD38<sup>-</sup> Treg 的抑制能力進行評估。在利用多個健康供體的樣本進行的一系列實驗中，CD38<sup>+</sup> Treg 對 T 細胞增生的抑制（觀察到 9.9% 細胞增生）比 CD38<sup>-</sup> Treg（觀察到 53.2% 細胞增生）或陰性對照（觀察到 74.9% 細胞增生）更穩健（圖 10E）。

【0319】 因為 MDSC 在冷凍 PBMC 樣本中不易偵測，所以 CD38<sup>+</sup> 顆粒球性 MDSC (CD11b<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD15<sup>+</sup>CD33<sup>+</sup>) 係自 PBMC 體外產生，該等 PBMC 係從在基期的病患及已接受一次 DARZALEX™（達拉單抗）輸液的病患而單離。圖 11 顯示經鑑定之 MDSC 之流動式細胞測量術分佈圖（圖 11，上方分佈圖，加框的細胞群）。大約一半的 MDSC 表現 CD38（圖 11，中間圖表；圈起來的 P7 細胞群）。在經 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患中，CD38<sup>高</sup> MDSC 係幾乎耗盡的（圖 11，下方圖表；圈起來的 P7 細胞群）。

【0320】 在無反應者及對治療有至少最小休止(Minimal Repose)的病患中，CD38<sup>高</sup> 譜系非特異性 MDSC 在 DARZALEX™（達拉單抗）治療之情況下隨著時間推移而損耗。圖 12 顯示，在治療 1 週、4

週、或 8 週時，在病患中 CD38<sup>高</sup> MDSC 之百分比減少至接近 0%。CD38<sup>高</sup> 譜系非特異性 MDSC 在治療結束後返回至基期。

【0321】 具有在譜系非特異性 MDSC 內的最大 CD38<sup>+</sup>群的病患展示對 DARZALEX™（達拉單抗）治療的最佳且最持久的反應。圖 13 顯示，具有最高百分比的 CD38<sup>高</sup> MDSC（如圖 11 中所示）且分類為具有 PR 或 MR 之病患的病患 2、4、15、16、或 17 具有至少 8 個月的無進展存活期(Progression-Free Survival, PFS)。

【0322】 CD38<sup>高</sup> 譜系非特異性 MDSC 亦對體外 DARZALEX™（達拉單抗）誘導的 ADCC 敏感。使用來自兩個供體的 CD38<sup>高</sup> MDSC 及道迪細胞作為對照目標細胞進行 ADCC 測定，其中效應細胞：目標細胞比率係 50:1。圖 14 顯示來自一個供體的實驗之結果。DARZALEX™（達拉單抗）誘導 MDSC 細胞之裂解。

【0323】 在 DARZALEX™（達拉單抗）治療的病患(n = 16)中測量 CD38<sup>+</sup> Breg，且類似於 CD38<sup>+</sup> Treg，CD38<sup>+</sup> Breg 在 DARZALEX™（達拉單抗）之第一劑量之後係損耗的（第 1 週與基期比較， $p = 0.0018$ ；成對威爾卡森等級檢定）且當病患在治療中時持續係低的（圖 15A）。當刺激時，FACS 分選之 Breg 產生 IL-10（圖 15B）。

【0324】 總而言之，這些觀察表明，免疫抑制性 CD38<sup>+</sup> MDSC、Breg、及 Treg 之損耗係 DARZALEX™（達拉單抗）誘導的 T 細胞群及純系性之變化的顯著促成機制。

### 實例 7. CD38<sup>+</sup> MDSC 細胞存在於癌症病患中

【0325】 使用流動式細胞測量術研究患有 NSCLC 或前列腺癌之病患之周邊血液中 MDSC (Lin<sup>-</sup>CD14<sup>-</sup>HLADR<sup>低/-</sup>) 及其等 CD38 表現之百分比。

【0326】 在來自 NSCLC 及前列腺癌病患之分析樣本中，MDSC 之百分比分別係 PBMC 之介於約 10%至 37%之間及介於約 10%至 27%之間。CD38 表現在 NSCLC 病患之 PBMC 之 80 至 100%的 Lin<sup>-</sup>

CD14<sup>+</sup>HLADR<sup>-/低</sup> MDSC 中、且在前列腺癌病患的 PBMC 之 70 至 100% 的 MDSC 中經鑑定。

### 實例 8. DARZALEX™ (達拉單抗) 增強抗病毒 T 細胞反應

【0327】 為了進一步評估 DARZALEX™ (達拉單抗) 對 T 細胞活化及功能性的效應，在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療的具有一定範圍臨床結果之病患(n = 7)中，測量反應於病毒及同種抗原中之周邊 T 細胞的 IFN- $\gamma$  產生。具有 PR 或更佳反應的病患在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療之後，相較於基期展示出反應於病毒及同種抗原的 IFN- $\gamma$  分泌之顯著增加，至少在治療期間的一個時間點係如此，其表明 T 細胞功能不受低 CD38 表現而受損 (參見實例 6，圖 9C)。類似於 TCR 純系性數據，此增加在對 DARZALEX™ (達拉單抗) 有反應的病患中，比在那些沒有反應的病患中更加明顯。圖 16A 顯示具有 VGPR 的一個代表性病患之抗病毒反應。圖 16B 顯示具有 CR 的一個代表性病患之抗病毒反應。圖 16C 顯示具有 PD 的一個代表性病患之抗病毒反應。圖 16D 顯示具有 MR 的一個代表性病患之抗病毒反應。在圖式中，誤差條代表雙份培育物之平均之標準誤差。星號標示介於所指比較之間統計學顯著的變化。顯示按照獨立評審委員會標準的最佳反應。與這些結果一致，具有 VGPR (圖 16E) 或 CR (圖 16F) 之病患中之病毒反應性 T 細胞展示出在 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療期間增生能力的增加。

### 實例 9。表現 CD38 的免疫細胞亞型對 DARZALEX™ (達拉單抗) 的敏感度之機制

【0328】 GEN501 及 SIRIUS 研究之數據指示，在 DARZALEX™ (達拉單抗) 療法下，有一些表現 CD38 的免疫細胞係損耗的 (NK 細胞、調節 T 細胞(Treg)、調節 B 細胞(Breg)、及骨髓衍生抑制細胞(MDSC))，然而其他表現 CD38 的免疫細胞之數目卻是增加的 (細胞毒性 T 細胞及輔助 T 細胞)。

【0329】 為了解決敏感度之機制，評估健康供體中及 GEN501 或 SIRIUS 研究中所登記之多發性骨髓瘤病患中之各種免疫細胞亞群中之 CD38 的表現水平。圖 17A 顯示健康供體之免疫細胞中 CD38 表現之分佈圖，且圖 17B 顯示多發性骨髓瘤病患之免疫細胞中 CD38 表現之分佈圖。在健康供體中，CD38 表現在 NK 細胞上係最高，接著係單核球、B 細胞、及 T 細胞。在多發性骨髓瘤病患中，CD38 表現在漿細胞上最高，接著係 B 細胞之一子集、NK 細胞、單核球、B 細胞、及 T 細胞。圖 17C 顯示復發性及難治性骨髓瘤病患之 NK 細胞、Treg、Breg、B 細胞、及 T 細胞之 CD38 的平均螢光強度(MFI)的比較，其展示在漿細胞之後，NK 細胞表現最高水平的 CD38，接著係調節 T 細胞 (Treg)及調節 B 細胞(Breg)。

【0330】 除了 CD38 表現，其他細胞表面蛋白諸如補體抑制蛋白 (CIP; CD46, CD55, CD59)亦可能導致對 DARZALEX™ (達拉單抗) 的敏感性或抗性。體外評估免疫細胞亞群中之 CIP 發現到，NK 細胞表現非常低水平的 CD59 及 CD55，而其他 T 細胞群及 B 細胞群則表現出遠高得多的水平。這也可能導致免疫細胞亞型之 DARZALEX™ (達拉單抗) 敏感性之變異性 (數據未顯示)。

## 討論

【0331】 此研究透過減少 CD38<sup>+</sup>免疫抑制性細胞群及伴隨之誘導輔助及細胞毒性 T 細胞擴增、反應於病毒胜肽的 IFN- $\gamma$  之產生、及 TCR 純系性之增加而描述先前未知的 DARZALEX™ (達拉單抗) 之免疫調節效應，其指示出適應性免疫反應改善。

【0332】 此研究展示出，MDSC 及 Breg 表現 CD38 且易受 DARZALEX™ (達拉單抗) 治療影響。這些細胞已知存在於腫瘤微環境中，且導致腫瘤生長、免疫逃避(immune evasion)、血管生成、轉移、及抑制性細胞介素之產生。除了這些 CD38<sup>+</sup>抑制性細胞子集，亦鑑定出新穎的調節 T 細胞亞群(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup>)，其亦表現高水平的 CD38 且展示優異的自體 T 細胞抑制性能力。這些細胞亦對 DARZALEX™ (達拉單抗) 敏感，且在接受治療的病患中，這些細胞

顯著地減少。由 DARZALEX™（達拉單抗）媒介之該些 CD38<sup>+</sup>免疫調節細胞的消除，可減少骨髓瘤微環境內的局部免疫抑制，且允許陽性免疫效應細胞擴增並導致抗瘤反應。

【0333】 實際上，周邊血液中及骨髓內（即，腫瘤）皆觀察到包括了 CD4<sup>+</sup>及 CD8<sup>+</sup>的廣泛 T 細胞群之顯著增加。特定 CD8<sup>+</sup>亞群經 DARZALEX™（達拉單抗）療法改變，包括顯著地降低初始 T 細胞及伴隨的顯著增加之效應記憶 CD8<sup>+</sup> T 細胞，其指示效應 T 細胞向經歷抗原之表型偏移，該表型保留了免疫記憶且可對腫瘤抗原具有反應性。CD8<sup>+</sup>:CD4<sup>+</sup>及 CD8<sup>+</sup>:Treg 之比率亦在治療之下顯著增加，其展示出陽性免疫調節物之於陰性免疫調節物的偏移。

【0334】 為了評估擴增 CD4<sup>+</sup>及 CD8<sup>+</sup> T 細胞在本質上係純系的，檢驗病患子集中之 T 細胞貯庫。即使在具有 SD 之最佳反應的病患或有進展的病患中，T 細胞純系性也在 DARZALEX™（達拉單抗）治療之情況下顯著增加。因此，T 細胞純系性增加不能簡單地歸因於腫瘤負荷的減少。然而，T 細胞純系性的偏差在具有良好臨床反應的病患中較大，且與 CD8<sup>+</sup> T 細胞增加相關，其表明在 DARZALEX™（達拉單抗）治療之下所觀察到的 T 細胞擴增係抗原驅動的。這在該病患族群中係顯著的，該病患群體經大量預治療（中位數係 5 個先前療法數）且不預期能夠建立強烈的抗瘤免疫反應。除了 TCR 純系性增加，對 DARZALEX™（達拉單抗）具有反應性的病患展示對先前存在的病毒及同種抗原的 T 細胞反應增加，其表明免疫系統從免疫抑制性狀態回復的救援。

【0335】 利用 DARZALEX™（達拉單抗）治療造成免疫抑制性 MDSC 以及調節 T 細胞及 B 細胞的減少。這些減少伴隨有 CD4<sup>+</sup> T 輔助細胞及 CD8<sup>+</sup>細胞毒性 T 細胞的擴增。如藉由 IFN- $\gamma$  產生所測量之 T 細胞純系性及功能性抗病毒反應亦在 DARZALEX™（達拉單抗）治療之下增加。這些觀察指示，儘管 CD38 表現低但 T 細胞仍適當地繼續起作用，且表明 T 細胞反應增加可能係因為調節細胞之損耗。此外這些 T 細胞擴增、活性、及純系性變化，在對 DARZALEX™（達拉單抗）有反應的病患中相較於在那些沒有反應的病患中，可能係更顯

著的。從 DARZALEX™（達拉單抗）療法復發與許多這些變化之逆轉相關聯。這表明透過免疫調節的 DARZALEX™（達拉單抗）之額外、先前未表徵機制之作用，其可導致臨床反應及 DARZALEX™（達拉單抗）之功效。

**【0336】** 最近，促進抗瘤免疫反應（而非直接靶向癌症）的抗體已在一系列環境中展示功效。抑制 CTLA-4 及 PD-1 的抗體促進 T 細胞擴增且增強 T 細胞活化，其導致在患有晚期固態腫瘤及血液學惡性腫瘤（諸如霍奇金氏淋巴瘤）之病患中延長的存活期且延緩疾病復發。藉由增強抗癌免疫，這些免疫調節抗體可能不僅誘導臨床反應，且亦預防疾病復發。

### **實例 10。在 54767414MMY2002 (SIRIUS)第 2 部分臨床研究中與單劑 DARZALEX™（達拉單抗）互換的多發性骨髓瘤對象之血清蛋白體分析**

#### **生物標誌樣本收集及處理**

**【0337】** 將周邊血液樣本收集於標準血清分離管（2.5 mL 至 5 mL）中，且將血清試樣等分冷凍運送 SomaLogic, Inc (Boulder, CO) 以用於多分析物血清蛋白剖析。

**【0338】** 血清蛋白剖析係在 SomaLogic 處使用預先驗證的 SOMAscan 測定進行，該 SOMAscan 測定藉由使用以 SOMAmer 親和力為基礎之分子測量 1129 種蛋白質分析物。SOMAmer 試劑係以單鏈 DNA 為基礎之蛋白質親和力試劑。該測定使用少量的輸入樣本（150  $\mu$ L 血漿）且將蛋白質訊號轉變成 SOMAmer 訊號，該 SOMAmer 訊號係藉由客製化 DNA 微陣列定量。

**【0339】** 各 SOMAmer 含有 4 個功能部分：

1. 一個獨特蛋白質識別序列
2. 用於捕捉的生物素
3. 光可裂解連接子
4. 用於偵測之螢光分子

【0340】 該獨特蛋白質識別序列使用 DNA 且併入模擬胺基酸側鏈的化學修飾核苷酸，其擴增標準適體之多樣性且增強蛋白質-核酸相互作用的特異性及親和力（Gold 等人，PLoS One 5:e15004, 2010）。適體係藉由 SELEX 來選擇。SOMAmer 試劑係使用呈現原始構形的蛋白質來選擇。因為此類 SOMAmer 試劑需要完整的三級蛋白質結構來結合。未折疊或變性的推測上非活性蛋白質不為 SOMAmer 試劑所偵測。

【0341】 針對樣本類型及稀釋，將 SOMAmer 試劑之主要混合物分組。在樣本培養之前，將試劑預結合至鏈黴親和素珠粒。蛋白質在平衡期間將樣本中之結合至同源 SOMAmer、清洗、用 NHS-生物素培養、清洗、然後將珠粒暴露於 UV 光以裂解該光可裂解連接子。洗出液含有 SOMAmer 試劑，該等試劑結合至其等的生物素所標記之蛋白質。鏈黴親和素捕捉且後續清洗移除未結合的 SOMAmer 試劑。在最終洗提中，SOMAmer 分子透過變性條件從其等之同源蛋白質釋放。將最終洗出液混成至客製化 Agilent DNA 微陣列，而 SOMAmer 分子之螢光團係藉由相對螢光單位(RFU)來定量。RFU 與樣本中之蛋白質之量成比例。

【0342】 在兩個主要批次中測試 MMY2002 研究之樣本。第一批次的 180 個樣本含有來自 90 個對象的成對第 1 週期第 1 天（C1D1，基期）及 C3D1（第 3 週期第 1 天）之血清樣本。將 180 個樣本一起在 3 個分開的 SomaScan 盤上分析。第二批次樣本包括 50 個 C1D1 樣本，其包括來自第 1 批次的 35 個重複樣本。

## 數據分析

### 輸入數據集及定義

【0343】 具有可評估反應的經治療之對象均包括在數據分析中。在報導全文中，反應者係定義為具有 sCR、VGPR、及 PR 之總體最佳反應（按照 IRC，針對 MMY2002）的對象，疾病穩定(SD)對象係定義為具有最小反應(MR)或 SD 的對象，且無反應者係定義為具有疾病進展(PD)之總體最佳反應（按照 IRC，針對 MMY2002）的對象。

## Somalogic 數據預處理

### 批次校準

【0344】 將第 1 批及第 2 批的 MMY2002 樣本於兩個不同版本的 SOMAscan 平臺上進行測試。兩個版本間的差異微小，且包括三個 SOMAmer 序列，該等序列於版本之間有所改變(CTSE: 3594-6\_1 -> 3594-6\_5, FCN1: 3613-62\_1 -> 3613-62\_5, BMPER: 3654-27\_1 -> 3654-27\_4)。該等均自分析移除。

【0345】 根據 SomaLogic 之標準盤間校準工作流程，藉由透過計算主混合物(Master-mix)特定整體參考值對 7 個盤內對照校準物測量值之比率，來定義各 SOMAmer 之盤寬(plate-wide)校準比例因數，因此校準三個第 1 批次盤之測量值。將各 SOMAmer 試劑之盤特定(plate-specific)比例因數同等地應用於盤上的各樣本。

【0346】 給定第 1 批次及第 2 批次之不同的 SOMAscan 平臺版本，藉由考慮跨批次的 35 個樣本之重複測量值的比率，利用 SomaLogic 之標準盤間校準工作流程之修改實施方案，進行系統性批次間變異性校正。針對各 SOMAmer，計算 35 個重複樣本之每一者的第 1 批次校準後測量值除以第 2 批次校準前測量值之比率( $r_{i,j}$ )。將這 35 個比率之中位數用於定義第 2 批次樣本之修正 SOMAmer 特定校準比例因數( $\tilde{r}_i$ )。然後將這些校準比例因數同樣地實施於標準 SOMAscan 程序。

$$r_{i,j} = \left( \frac{\text{校準後濃度}_{\text{批次 } 1, i, j}}{\text{校準前濃度}_{\text{批次 } 2, i, j}} \right), \text{ 所有重複樣本的 } \vec{r}_i = (r_{i,1}, r_{i,2}, \dots, r_{i,j})$$

$$\text{校準比例因數}_i = \text{中位數}(\vec{r}_i) = \tilde{r}_i$$

【0347】 一旦計算出修正校準比例因數，就繪製分析之各批次的所有比例因數之分佈，以評估離群值之存在狀況。由於再現性不良，因此將 9 個具有極大或極小校準值 ( $> 0.25$  且  $< 3$ ) 的 SOMAmer 從分析移除。

【0348】 在 MMY2002 之批次校準及 SOMAmer 過濾完成之後，將 log2 轉換應用於 MMY2002 之所有蛋白質濃度值，以使數據更合乎常態分佈且改善參數統計檢定之表現。

### 混雜變數校正

【0349】 藉由對定中心且成比例的數據集的主成份分析，進行數據集變異數之藉由元變數(meta-variables)所解釋的部分之估計（如人口統計、反應級別、及樣本時間點）及可能混雜因子之鑑定。將簡單的線性模型擬合以鑑定與感興趣的各變數顯著相關聯的最高等級 PC。這些關聯之顯著性係使用渥得檢定(Wald test)來判定，且由該模型解釋的 PC 變異性之部分係藉由擬合之 R<sup>2</sup> 估計。針對 MMY2002 數據，部位 ID 被發現到與 PC1 相關，且解釋了數據集變異性之最大部分（≥ 7.37%，p-值= 3.71×10<sup>-9</sup>）。為了減少樣本獲得部位相關效應在數據內的影響，利用 ComBat28 校正部位 ID 效應。

### 重複樣本合併

【0350】 藉由計算各蛋白質之平均值而合併在 MMY2002 第 1 批次與第 2 批次之間重複的 35 個樣本之數據。

### 差異蛋白質濃度分析(Differential Protein Concentration Analysis)

#### 反應者之於無反應者

【0351】 對於在 DARZALEXTM（達拉單抗）反應者之於無反應者中於基期以及治療中之蛋白質濃度分佈的統計學比較係使用兩個互補的方法進行：(i)威爾卡森等級和檢定(Hollander 及 Wolfe, *Nonparametric Statistical Methods*. New York: John Wiley & Sons. 1973. 27-33（一個樣本），68-75（兩個樣本），對各個別 SOMAmer 進行，及(ii) Limma 分析（Ritchie, M.E.等人，*Nucleic Acids Res.* 2015; 20:43(7):e47），對所有 SOMAmer 同時進行。所有 p-值係使用針對多假說校正之班傑明-哈克伯格(Benjamini-Hochberg; BH)方法而進行調整（Benjamini 及 Hochberg，(1995) *J. R. Statist. Soc. B*.57:

289–300; R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Development Core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2011; ISBN 3-900051-07-0)。當調整的  $p$ -值  $< 0.05$  時，拒絕無差異表現之歸零假說。

### 治療中之於基期

【0352】 使用三個替代統計學方法來比較基期蛋白質水平之於治療中蛋白質水平：(i)雙向重複測量 ANOVA<sup>6</sup>、(ii)威爾卡森符號等級檢定、及(iii)傅里德曼檢定(Friedman test) (Johnson 等人, (2007) *Biostatistics* 8(1):118-127)。所有  $p$ -值係經調整以控制 FDR，該調整係使用針對多假說校正之 BH 方法 (Benjamini 及 Hochberg, J.R. *Statist. Soc. B.*57:289-300, 1995)。除了治療顯著性，雙向重複測量 ANOVA (Chambers 等人, *Analysis of variance; designed experiments: Chapter 5. Statistical Models in S*, Editors J.M Chambers and T.J Hastie. Wadsworth & Brookes/Cole. 1992) 亦應用於判定各 SOMAmer 是否發生顯著的時間點：反應級別相互作用。將修改的威爾卡森等級和檢定作為事後測試應用，以明確判定反應者及無反應者是否顯示不同的治療效應，其藉由計算每個對象之治療中蛋白質濃度值與基期蛋白質濃度值間的差異且進行威爾卡森等級和檢定。使用 BH 方法調整顯著性值，且當調整的  $p$ -值  $< 0.05$  時，拒絕歸零假說。

### 分級系統訓練

【0353】 將基期蛋白質水平 MMY2002 數據用於建立反應預測分級系統。巢套迴路分層的 10 折交叉驗證方法(10-fold cross-validation approach)重複 30 次，其使用 4 個不同的機器學習者：支持向量機 (Support Vector Machine, SVM)、隨機森林(Random Forest, RF)、單純貝氏(Naïve Baye; NB)、及 j48 決策樹。針對各學習者，訓練程序以產生數據集之平衡的 10 個折開始 (外迴路)。這些折之一者提供為測試分群，而剩餘的 9 個傳至內迴路作為訓練分群。在內迴路內，訓練分群被再次被分成平衡的 10 個折，其產生訓練內集及測試內集。對這

些訓練內集之各者進行學習者訓練，且針對外迴路內之各分群重複此程序 30 次。各內迴路學習者在預測測試內集時之準確度係用於選擇特徵及最佳化模型參數。一旦各訓練分組之 30 次(30x)內循環完成，就對各對應的測試分群進行外迴路之表現（使用最佳化的參數及特徵）之評估。然後將整個外循環程序重複 30 次，針對數據集內之每一樣本產生 30 次反應預測。獲自此循環方法的 AUC、靈敏度、及特異度統計學係最終模型（以完整原始數據集所訓練）對新測試案例之表現的近似值。

### **MMY2002 研究之結果**

**【0354】** 進行各種比較，包括蛋白質表現中治療誘導的反應依賴性變化。在反應者中顯示隨時間推移表現減小的蛋白質中之一者係 PD-L1；然而在無反應者中，PD-L1 蛋白質表現隨時間推移而增加。PD-L1 在 T 細胞上的接合引起 T 細胞功能減少及 Treg 發展增加。圖 18 顯示在第 1 週期及第 3 週期，反應者、無反應者、及疾病穩定的病患中 PD-L1 之蛋白質表現概況。

**【0355】** PD-L1 與其受體 PD-1 的接合抑制了抗瘤反應，且驅使 T 細胞無反應性及耗盡。儘管不希望受任何特定理論束縛，但是在 CD38 治療之後，PD-L1 之下調亦可能導致固態腫瘤之抗瘤免疫反應增強之改善。

### **【符號說明】**

無。

## 105510-序列表

## 序列表

- <110> 楊森生技公司(Janssen Biotech, Inc.)  
 他哈坦阿馬迪(Ahmadi, Tahamtan)  
 丁南科卡司紐(Casneuf, Tineke)  
 漢克羅侯特(Lokhorst, Henk)  
 吐納牧提絲(Mutis, Tuna)  
 愛咪沙奢(Sasser, Amy)
- <120> 使用特異性結合CD38之抗體免疫調節及  
 治療固態腫瘤
- <130> JBI5067ARNP
- <140> 待指派  
 <141> 隨同本文
- <150> 15/191808  
 <151> 2016-06-24
- <150> PCT/US16/39165  
 <151> 2016-06-24
- <150> 62/331489  
 <151> 2016-05-04
- <150> 62/263307  
 <151> 2015-12-04
- <150> 62/250566  
 <151> 2015-11-04
- <150> 62/249546  
 <151> 2015-11-02
- <150> 62/184018  
 <151> 2015-06-24
- <160> 40
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1  
 <211> 300  
 <212> PRT  
 <213> 智人
- <400> 1
- Met Ala Asn Cys Glu Phe Ser Pro Val Ser Gly Asp Lys Pro Cys Cys  
 1 5 10 15
- Arg Leu Ser Arg Arg Ala Gln Leu Cys Leu Gly Val Ser Ile Leu Val  
 20 25 30

## 105510-序列表

Leu Ile Leu Val Val Val Leu Ala Val Val Val Pro Arg Trp Arg Gln  
           35                          40                          45

Gln Trp Ser Gly Pro Gly Thr Thr Lys Arg Phe Pro Glu Thr Val Leu  
       50                          55                          60

Ala Arg Cys Val Lys Tyr Thr Glu Ile His Pro Glu Met Arg His Val  
   65                          70                          75                          80

Asp Cys Gln Ser Val Trp Asp Ala Phe Lys Gly Ala Phe Ile Ser Lys  
           85                          90                          95

His Pro Cys Asn Ile Thr Glu Glu Asp Tyr Gln Pro Leu Met Lys Leu  
           100                          105                          110

Gly Thr Gln Thr Val Pro Cys Asn Lys Ile Leu Leu Trp Ser Arg Ile  
       115                          120                          125

Lys Asp Leu Ala His Gln Phe Thr Gln Val Gln Arg Asp Met Phe Thr  
       130                          135                          140

Leu Glu Asp Thr Leu Leu Gly Tyr Leu Ala Asp Asp Leu Thr Trp Cys  
   145                          150                          155                          160

Gly Glu Phe Asn Thr Ser Lys Ile Asn Tyr Gln Ser Cys Pro Asp Trp  
           165                          170                          175

Arg Lys Asp Cys Ser Asn Asn Pro Val Ser Val Phe Trp Lys Thr Val  
           180                          185                          190

Ser Arg Arg Phe Ala Glu Ala Ala Cys Asp Val Val His Val Met Leu  
       195                          200                          205

Asn Gly Ser Arg Ser Lys Ile Phe Asp Lys Asn Ser Thr Phe Gly Ser  
       210                          215                          220

Val Glu Val His Asn Leu Gln Pro Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala  
   225                          230                          235                          240

Trp Val Ile His Gly Gly Arg Glu Asp Ser Arg Asp Leu Cys Gln Asp

## 105510-序列表

245

250

255

Pro Thr Ile Lys Glu Leu Glu Ser Ile Ile Ser Lys Arg Asn Ile Gln  
 260 265 270

Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg Pro Asp Lys Phe Leu Gln Cys Val  
 275 280 285

Lys Asn Pro Glu Asp Ser Ser Cys Thr Ser Glu Ile  
 290 295 300

<210> 2  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 2

Ser Lys Arg Asn Ile Gln Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg  
 1 5 10

<210> 3  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 3

Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala Trp Val Ile His Gly Gly  
 1 5 10

<210> 4  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之VH

<400> 4

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe  
 20 25 30

## 105510-序列表

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

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

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

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

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 5  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之VL

<400> 5

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

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

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

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

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

## 105510-序列表

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro  
 85 90 95

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

<210> 6  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之HCDR1

<400> 6

Ser Phe Ala Met Ser  
 1 5

<210> 7  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之HCDR2

<400> 7

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

Gly

<210> 8  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之HCDR3

<400> 8

Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 9

## 105510-序列表

<211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之LCDR1

<400> 9

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

<210> 10  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之LCDR2

<400> 10

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
 1 5

<210> 11  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之LCDR3

<400> 11

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr Phe  
 1 5 10

<210> 12  
 <211> 452  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之重鏈

<400> 12

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

## 105510-序列表

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe  
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr  
 130 135 140

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

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

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

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
 195 200 205

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
 225 230 235 240

## 105510-序列表

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr  
 290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
 325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
 355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
 405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 435 440 445

Ser Pro Gly Lys  
 450

## 105510-序列表

<210> 13  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之輕鏈

<400> 13

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro  
 85 90 95

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

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

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

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

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

## 105510-序列表

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 14  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之VH 003

<400> 14

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

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

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

Gly Arg Val Ile Pro Phe Leu Gly Ile Ala Asn Ser Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Asp Ile Ala Ala Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser  
 115 120

## 105510-序列表

<210> 15  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之VL 003

<400> 15

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile  
 35 40 45

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg  
 85 90 95

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

<210> 16  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之VH 024

<400> 16

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Asn Tyr  
 20 25 30

## 105510-序列表

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

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

Gln Gly Gln Val Thr Phe Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg His Val Gly Trp Gly Ser Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp  
 100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 17  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之VL 024

<400> 17

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

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

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

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

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

## 105510-序列表

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu  
 85 90 95

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

<210> 18  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38抗體之VH MOR202

<400> 18

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 19  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

## 105510-序列表

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 抗CD38抗體之VL MOR202

&lt;400&gt; 19

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

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg His Tyr Tyr Val  
 20 25 30

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

Gly Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu  
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser Leu  
 85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
 100 105

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 120

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 抗CD38 mAb之VH伊沙妥昔單抗

&lt;400&gt; 20

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

## 105510-序列表

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Lys Thr Val Tyr  
 65 70 75 80

Met His Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

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

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 21  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗CD38 mAb之VL伊沙妥昔單抗

<400> 21

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

Asp Pro Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val  
 20 25 30

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

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

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

105510-序列表  
105

100

<210> 22  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-1 mAb之VH Keytruda

<400> 22

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 23  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-1 mAb之VL Keytruda

<400> 23

## 105510-序列表

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

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

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

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala  
 50 55 60

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

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

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 24  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-1 mAb之VH Opdivo

<400> 24

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

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

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe



## 105510-序列表

<212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-L1 mAb之VII德瓦魯單抗

<400> 26

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr  
 20 25 30

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 27  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-L1 mAb之VI德瓦魯單抗

<400> 27

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser

## 105510-序列表

20

25

30

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

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

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

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

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

<210> 28  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-L1 mAb之VH阿替珠單抗

<400> 28

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

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

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

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

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

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

## 105510-序列表

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

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 29  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-L1 mAb之VL阿替珠單抗

<400> 29

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

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

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

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

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

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

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

<210> 30  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-L1 mAb之VH艾維路單抗

## 105510-序列表

&lt;400&gt; 30

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 110

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 抗PD-L1 mAb之VL艾維路單抗

&lt;400&gt; 31

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr  
 20 25 30

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

## 105510-序列表

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser  
85 90 95

Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu  
100 105 110

<210> 32  
<211> 123  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 抗PD-1 mAb之VH

<400> 32

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

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

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr  
100 105 110

## 105510-序列表

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 33  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-1 mAb之VL

<400> 33

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu  
 85 90 95

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

<210> 34  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-1 mAb之VH

<400> 34

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

## 105510-序列表

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Arg Tyr  
 20 25 30

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

Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Leu Asp Asn Val  
 50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 35  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗PD-1 mAb之VH

<400> 35

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

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

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

Lys Ser Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

## 105510-序列表

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr  
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 36  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 抗TIM-3 mAb之VH

<400> 36

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Pro Tyr Ala Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

## 105510-序列表

<210> 37  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗TIM-3 mAb之VL

<400> 37

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

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

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

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

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

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

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

<210> 38  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗TIM-3 mAb之VH

<400> 38

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30

## 105510-序列表

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

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

Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Trp Glu Lys Ser Thr Thr Val Val Gln Arg Asn Tyr Phe Asp  
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 39  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗TIM-3 mAb之VL

<400> 39

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

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

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

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

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

## 105510-序列表

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Thr  
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 40  
 <211> 509  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 重組玻尿酸酶

<400> 40

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 5 10 15

Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro  
 35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60

Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg  
 65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

## 105510-序列表

145		150		155		160
Lys Asp Val Tyr	Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn	165		170		175
Val Gln Leu Ser	Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe	180		185		190
Glu Lys Ala Gly	Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys	195		200		205
Leu Leu Arg Pro	Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys	210		215		220
Tyr Asn His His	Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn	225		230		235
Val Glu Ile Lys	Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser	245		250		255
Thr Ala Leu Tyr	Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val	260		265		270
Ala Ala Thr Leu	Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val	275		280		285
Ser Lys Ile Pro	Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr	290		295		300
Arg Ile Val Phe	Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu	305		310		315
Leu Val Tyr Thr	Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile	325		330		335
Val Ile Trp Gly	Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu	340		345		350
Leu Leu Asp Asn	Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn	355		360		365

## 105510-序列表

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415

Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile  
 465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val  
 485 490 495

Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu  
 500 505

※ 申請案號：105134914

*A61K 38/47* (2006.01)

*A61K 39/395* (2006.01)

※ 申請日：105/10/28※IPC 分類：

*G07K 16/28* (2006.01)

*G07K 16/30* (2006.01)

*G07K 16/40* (2006.01)

**【發明名稱】**

使用特異性結合 CD38 之抗體免疫調節及治療固態腫瘤

IMMUNE MODULATION AND TREATMENT OF SOLID  
TUMORS WITH ANTIBODIES THAT SPECIFICALLY BIND  
CD38

**【中文】**

本發明係關於用特異性結合 CD38 的抗體免疫調節劑及治療患有固態腫瘤之病患的方法。

**【英文】**

The present invention relates to methods of immunomodulation and treating patients having solid tumors with antibodies that specifically bind CD38.

**【代表圖】**

**【本案指定代表圖】**：圖 1 至 18

**【本代表圖之符號簡單說明】**：無

**【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】**：無

## 申請專利範圍

1. 一種治療患有固態腫瘤之病患的方法，其包含向有彼之需要之該病患投予治療有效量之特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該固態腫瘤的時間。
2. 如請求項 1 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體引發該病患之免疫反應。
3. 如請求項 2 所述之方法，其中該免疫反應係效應 T 細胞(Teff)反應。
4. 如請求項 3 所述之方法，其中該 Teff 反應係由 CD4<sup>+</sup> T 細胞或 CD8<sup>+</sup> T 細胞媒介。
5. 如請求項 4 所述之方法，其中該 Teff 反應係由該等 CD8<sup>+</sup> T 細胞媒介。
6. 如請求項 3 所述之方法，其中該 Teff 反應係該 CD8<sup>+</sup> T 細胞之數目的增加、CD8<sup>+</sup> T 細胞增生的增加、T 細胞純系擴增的增加、CD8<sup>+</sup> 記憶細胞形成的增加、抗原依賴性抗體產生的增加、細胞介素產生的增加、趨化介素產生的增加、或介白素產生的增加。(由該等細胞)
7. 如請求項 1 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體抑制免疫抑制細胞之功能。
8. 如請求項 7 所述之方法，其中該免疫抑制細胞係調節 T 細胞 (Treg)。
9. 如請求項 8 所述之方法，其中該 Treg 係 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup> T 細胞。
10. 如請求項 9 所述之方法，其中該 Treg 表現 CD38。
11. 如請求項 10 所述之方法，其中該 Treg 之功能係藉由殺滅該 Treg 來抑制。
12. 如請求項 11 所述之方法，其中殺滅該 Treg 係藉由抗體依賴性細胞毒性(ADCC)來媒介。
13. 如請求項 7 所述之方法，其中該免疫抑制細胞係骨髓衍生抑制細胞 (MDSC)。
14. 如請求項 13 所述之方法，其中該 MDSC 係 CD11b<sup>+</sup>HLADR<sup>-</sup>CD14<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>細胞。

15. 如請求項 14 所述之方法，其中該  $CD11b^+HLADR^-CD14^-CD33^+CD15^+$  細胞表現 CD38。
16. 如請求項 15 所述之方法，其中該 MDSC 之功能係藉由殺滅該 MDSC 來抑制。
17. 如請求項 16 所述之方法，其中殺滅 MDSC 係藉由 ADCC 來媒介。
18. 如請求項 7 所述之方法，其中該免疫抑制細胞係調節 B 細胞 (Breg)。
19. 如請求項 18 所述之方法，其中該 Breg 係  $CD19^+CD24^+CD38^+$  細胞。
20. 如請求項 19 所述之方法，其中該 Breg 功能係藉由殺滅該 Breg 來抑制。
21. 如請求項 20 所述之方法，其中殺滅該 Breg 係藉由 ADCC 來媒介。
22. 如請求項 7 所述之方法，其中該免疫抑制細胞存在於骨髓中或於周邊血液中。
23. 如請求項 1 所述之方法，其中該固態腫瘤係黑色素瘤、肺癌、鱗狀非小細胞肺癌(NSCLC)、非鱗狀 NSCLC、結腸直腸癌、前列腺癌、去勢抗性前列腺癌、胃癌(stomach cancer)、卵巢癌、胃癌(gastric cancer)、肝癌、胰腺癌、甲狀腺癌、頭部及頸部鱗狀細胞癌、食道或胃腸道癌、乳癌、輸卵管癌、腦癌、尿道癌、泌尿生殖癌、子宮內膜異位、子宮頸癌、或該癌症之轉移性病變。
24. 如請求項 23 所述之方法，其中該固態腫瘤缺乏可偵測的 CD38 表現。
25. 如請求項 1 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體係非促效性抗體。
26. 如請求項 25 所述之方法，其中該非促效性抗體以統計學不顯著的方式在體外誘導周邊血液單核細胞之樣本的增生。
27. 如請求項 1 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體與包含 SEQ ID NO: 4 之重鏈可變區(VH)及 SEQ ID NO: 5 之輕鏈可變區(VL)的抗體競爭結合至 CD38。

28. 如請求項 27 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體至少結合至人類 CD38 (SEQ ID NO: 1)之 SKRNIQFSCCKNIYR (SEQ ID NO: 2)區及 EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3)區。
29. 如請求項 28 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含分別係 SEQ ID NO: 6、7、8、9、10、及 11 之重鏈互補決定區 (HCDR) 1、HCDR2、HCDR3、輕鏈互補決定區 (LCDR) 1、LCDR2、及 LCDR3 胺基酸序列。
30. 如請求項 29 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL。
31. 如請求項 23 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含下列之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及 LCDR3：
  - a) SEQ ID NO: 14 之 VH 及 SEQ ID NO: 15 之 VL；
  - b) SEQ ID NO: 16 之 VH 及 SEQ ID NO: 17 之 VL；
  - c) SEQ ID NO: 18 之 VH 及 SEQ ID NO: 19 之 VL；或
  - d) SEQ ID NO: 20 之 VH 及 SEQ ID NO: 21 之 VL。
32. 如請求項 31 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含：
  - a) 該 SEQ ID NO: 14 之 VH 及該 SEQ ID NO: 15 之 VL；
  - b) 該 SEQ ID NO: 16 之 VH 及該 SEQ ID NO: 17 之 VL；
  - c) 該 SEQ ID NO: 18 之 VH 及該 SEQ ID NO: 19 之 VL；或
  - d) 該 SEQ ID NO: 20 之 VH 及該 SEQ ID NO: 21 之 VL。
33. 如請求項 1 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體係與第二治療劑組合投予。
34. 如請求項 33 所述之方法，其中該第二治療劑係化學治療劑、標靶抗癌療法、用於治療固態腫瘤之標準照護藥品、或免疫檢查點抑制劑。
35. 如請求項 34 所述之方法，其中該免疫檢查點抑制劑係抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 PD-L2 抗體、抗 LAG3 抗體、抗 TIM3 抗體、或抗 CTLA-4 抗體。

36. 如請求項 35 所述之方法，其中該免疫檢查點抑制劑係抗 PD-1 抗體。
37. 如請求項 36 所述之方法，其中該抗 PD-1 抗體包含
  - a) SEQ ID NO: 22 之 VH 及 SEQ ID NO: 23 之 VL；
  - b) SEQ ID NO: 24 之 VH 及 SEQ ID NO: 25 之 VL；
  - c) SEQ ID NO: 32 之 VH 及 SEQ ID NO: 33 之 VL；或
  - d) SEQ ID NO: 34 之 VH 及 SEQ ID NO: 35 之 VL。
38. 如請求項 35 所述之方法，其中該免疫檢查點抑制劑係抗 PD-L1 抗體。
39. 如請求項 38 所述之方法，其中該抗 PD-L1 抗體包含
  - a) SEQ ID NO: 26 之 VH 及 SEQ ID NO: 27 之 VL；
  - b) SEQ ID NO: 28 之 VH 及 SEQ ID NO: 29 之 VL；或
  - c) SEQ ID NO: 30 之 VH 及 SEQ ID NO: 31 之 VL。
40. 如請求項 35 所述之方法，其中該免疫檢查點抑制劑係抗 PD-L2 抗體。
41. 如請求項 35 所述之方法，其中該免疫檢查點抑制劑係抗 LAG3 抗體。
42. 如請求項 35 所述之方法，其中該免疫檢查點抑制劑係抗 TIM-3 抗體。
43. 如請求項 42 所述之方法，其中該抗 TIM-3 抗體包含
  - a) SEQ ID NO: 36 之 VH 及 SEQ ID NO: 37 之 VL；或
  - b) SEQ ID NO: 38 之 VH 及 SEQ ID NO: 39 之 VL。
44. 如請求項 33 所述之方法，其中該第二治療劑係同時、依序、或分開投予。
45. 如請求項 1 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體係經靜脈內投予。
46. 如請求項 1 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體係於醫藥組成物中經皮下投予，該醫藥組成物包含該特異性結合 CD38 的抗體及玻尿酸酶。

47. 如請求項 46 所述之方法，其中該玻尿酸酶係 SEQ ID NO: 40 之 rHuPH20。
48. 如請求項 1 所述之方法，其中該病患係以放射療法治療，或已經過放射療法治療。
49. 如請求項 1 所述之方法，其中該病患已經歷過手術，或將經歷手術。
50. 一種抑制免疫抑制細胞之活性的方法，其包含使該免疫抑制細胞接觸特異性結合 CD38 之抗體。
51. 如請求項 50 所述之方法，其中該免疫抑制細胞係 Treg。
52. 如請求項 51 所述之方法，其中該 Treg 係 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>dim</sup> T 細胞。
53. 如請求項 50 所述之方法，其中該免疫抑制細胞係 MDSC。
54. 如請求項 53 所述之方法，其中該 MDSC 係 CD11b<sup>+</sup>HLADR<sup>-</sup>CD14<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>細胞。
55. 如請求項 50 所述之方法，其中該免疫抑制細胞係 Breg。
56. 如請求項 55 所述之方法，其中該 Breg 係 CD19<sup>+</sup>CD24<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>細胞。
57. 如請求項 50 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體係非促效性抗體。
58. 如請求項 57 所述之方法，其中該非促效性抗體以統計學不顯著的方式在體外誘導周邊血液單核細胞之樣本的增生。
59. 如請求項 58 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體與包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL 的抗體競爭結合至 CD38。
60. 如請求項 59 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體至少結合至人類 CD38 (SEQ ID NO: 1) 之 SKRNIQFSCKNIYR (SEQ ID NO: 2) 區及 EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) 區。
61. 如請求項 60 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含分別係 SEQ ID NO: 6、7、8、9、10、及 11 之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及 LCDR3 胺基酸序列。

62. 如請求項 61 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL。
63. 如請求項 50 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含下列之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及 LCDR3：
  - a) SEQ ID NO: 14 之 VH 及 SEQ ID NO: 15 之 VL；
  - b) SEQ ID NO: 16 之 VH 及 SEQ ID NO: 17 之 VL；
  - c) SEQ ID NO: 18 之 VH 及 SEQ ID NO: 19 之 VL；或
  - d) SEQ ID NO: 20 之 VH 及 SEQ ID NO: 21 之 VL。
64. 如請求項 63 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含：
  - a) 該 SEQ ID NO: 14 之 VH 及該 SEQ ID NO: 15 之 VL；
  - b) 該 SEQ ID NO: 16 之 VH 及該 SEQ ID NO: 17 之 VL；
  - c) 該 SEQ ID NO: 18 之 VH 及該 SEQ ID NO: 19 之 VL；或
  - d) 該 SEQ ID NO: 20 之 VH 及該 SEQ ID NO: 21 之 VL。
65. 一種增強病患之免疫反應的方法，其包含向該病患投予特異性結合 CD38 之抗體。
66. 如請求項 65 所述之方法，其中該病患患有癌症或病毒感染。
67. 如請求項 65 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體係非促效性抗體。
68. 如請求項 67 所述之方法，其中該非促效性抗體以統計學不顯著的方式在體外誘導周邊血液單核細胞之樣本的增生。
69. 如請求項 68 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體與包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL 的抗體競爭結合至 CD38。
70. 如請求項 69 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體至少結合至人類 CD38 (SEQ ID NO: 1) 之 SKRNIQFSCIYR (SEQ ID NO: 2) 區及 EKVQTLAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) 區。
71. 如請求項 70 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含分別係 SEQ ID NO: 6、7、8、9、10、及 11 之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及 LCDR3 胺基酸序列。

72. 如請求項 71 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL。
73. 如請求項 65 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含下列之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及 LCDR3：
- a) SEQ ID NO: 14 之 VH 及 SEQ ID NO: 15 之 VL；
  - b) SEQ ID NO: 16 之 VH 及 SEQ ID NO: 17 之 VL；
  - c) SEQ ID NO: 18 之 VH 及 SEQ ID NO: 19 之 VL；或
  - d) SEQ ID NO: 20 之 VH 及 SEQ ID NO: 21 之 VL。
74. 如請求項 73 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含：
- a) 該 SEQ ID NO: 14 之 VH 及該 SEQ ID NO: 15 之 VL；
  - b) 該 SEQ ID NO: 16 之 VH 及該 SEQ ID NO: 17 之 VL；
  - c) 該 SEQ ID NO: 18 之 VH 及該 SEQ ID NO: 19 之 VL；或
  - d) 該 SEQ ID NO: 20 之 VH 及該 SEQ ID NO: 21 之 VL。
75. 一種治療患有病毒感染之病患的方法，其包含向該病患投予特異性結合 CD38 之抗體達一段足以治療該病毒感染的時間。
76. 如請求項 75 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體係非促效性抗體。
77. 如請求項 76 所述之方法，其中該非促效性抗體以統計學不顯著的方式在體外誘導周邊血液單核細胞之樣本的增生。
78. 如請求項 77 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體與包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL 的抗體競爭結合至 CD38。
79. 如請求項 78 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體至少結合至人類 CD38 (SEQ ID NO: 1) 之 SKRNIQFSCIYR (SEQ ID NO: 2) 區及 EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) 區。
80. 如請求項 79 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含分別係 SEQ ID NO: 6、7、8、9、10、及 11 之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及 LCDR3 胺基酸序列。

81. 如請求項 80 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含 SEQ ID NO: 4 之 VH 及 SEQ ID NO: 5 之 VL。
82. 如請求項 75 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含下列之 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及 LCDR3：
  - a) SEQ ID NO: 14 之 VH 及 SEQ ID NO: 15 之 VL；
  - b) SEQ ID NO: 16 之 VH 及 SEQ ID NO: 17 之 VL；
  - c) SEQ ID NO: 18 之 VH 及 SEQ ID NO: 19 之 VL；或
  - d) SEQ ID NO: 20 之 VH 及 SEQ ID NO: 21 之 VL。
83. 如請求項 82 所述之方法，其中該特異性結合 CD38 之抗體包含：
  - a) 該 SEQ ID NO: 14 之 VH 及該 SEQ ID NO: 15 之 VL；
  - b) 該 SEQ ID NO: 16 之 VH 及該 SEQ ID NO: 17 之 VL；
  - c) 該 SEQ ID NO: 18 之 VH 及該 SEQ ID NO: 19 之 VL；或
  - d) 該 SEQ ID NO: 20 之 VH 及該 SEQ ID NO: 21 之 VL。



















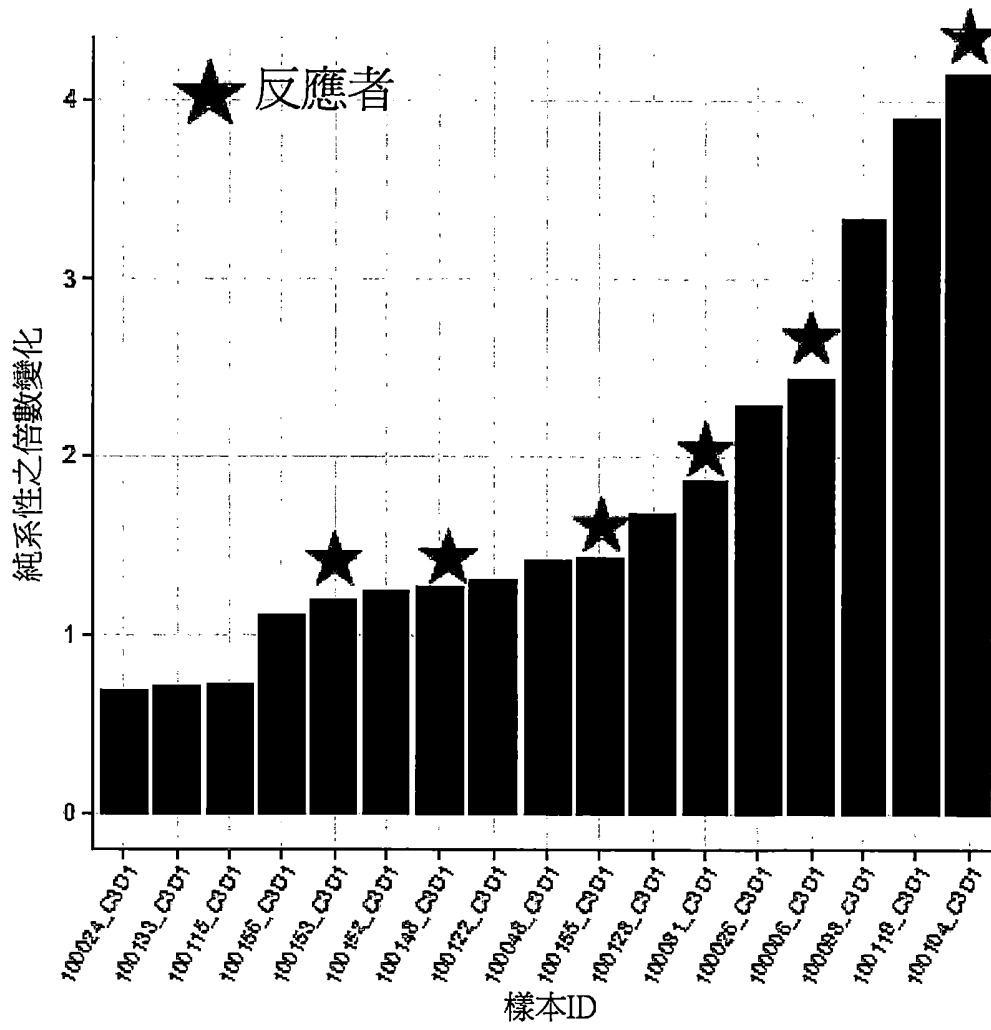


圖8B









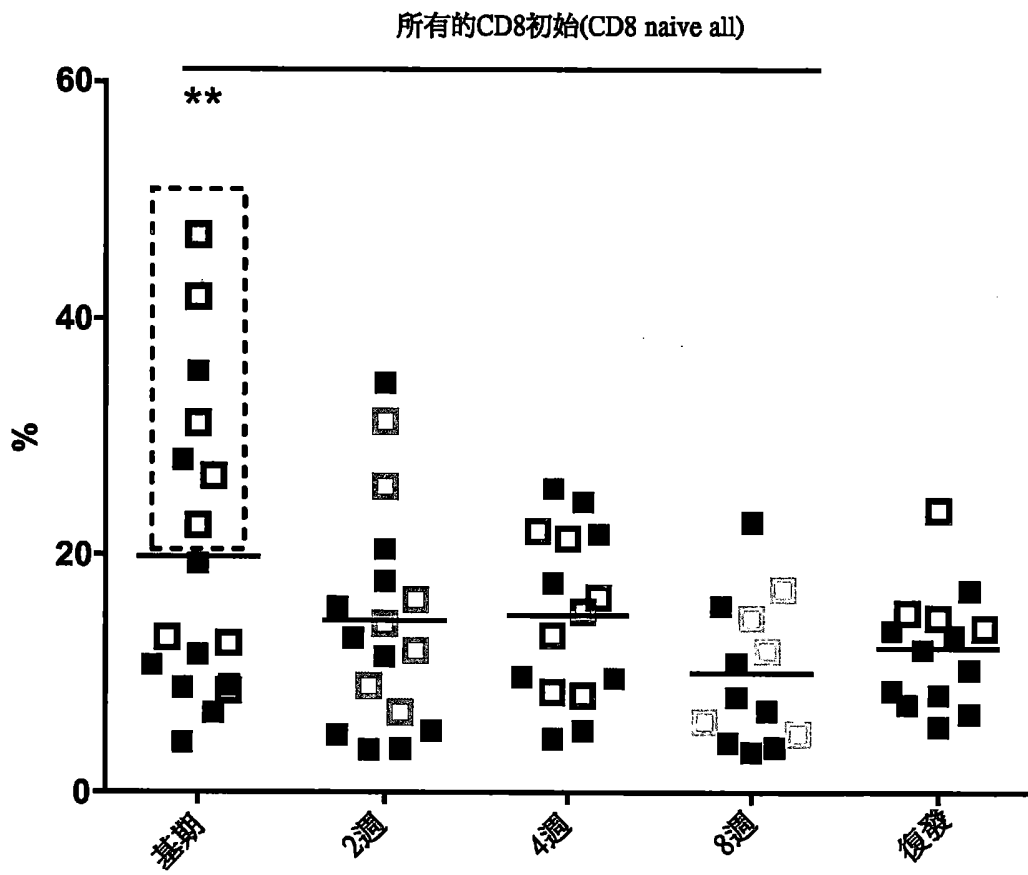


圖9A

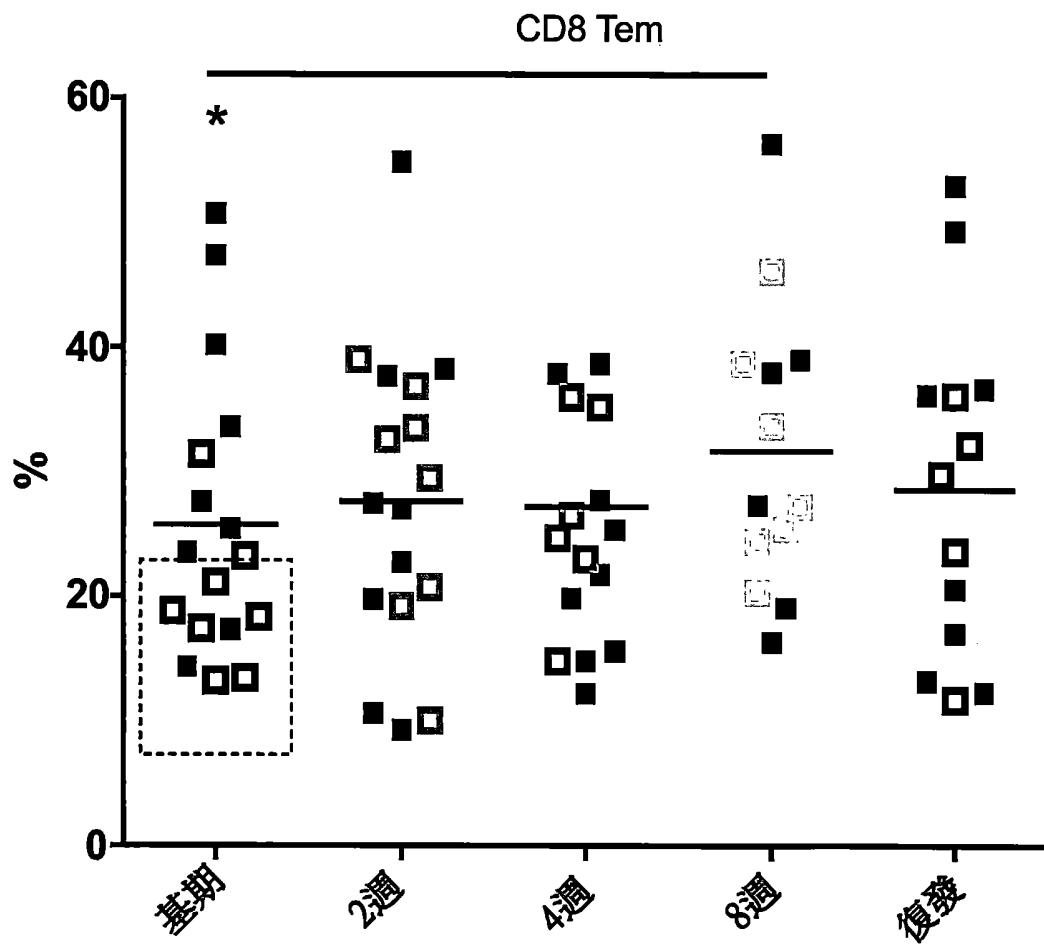


圖9B





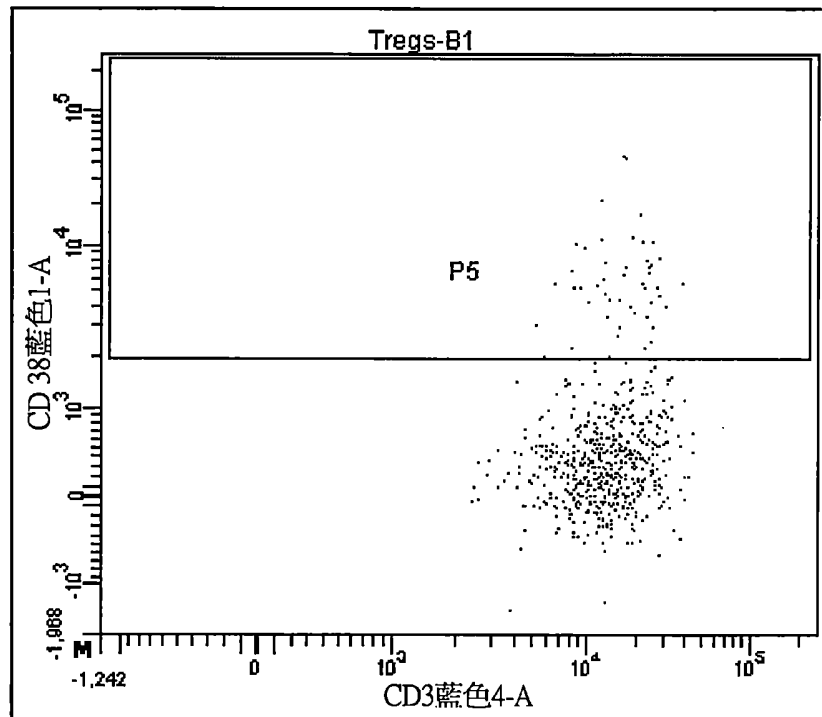
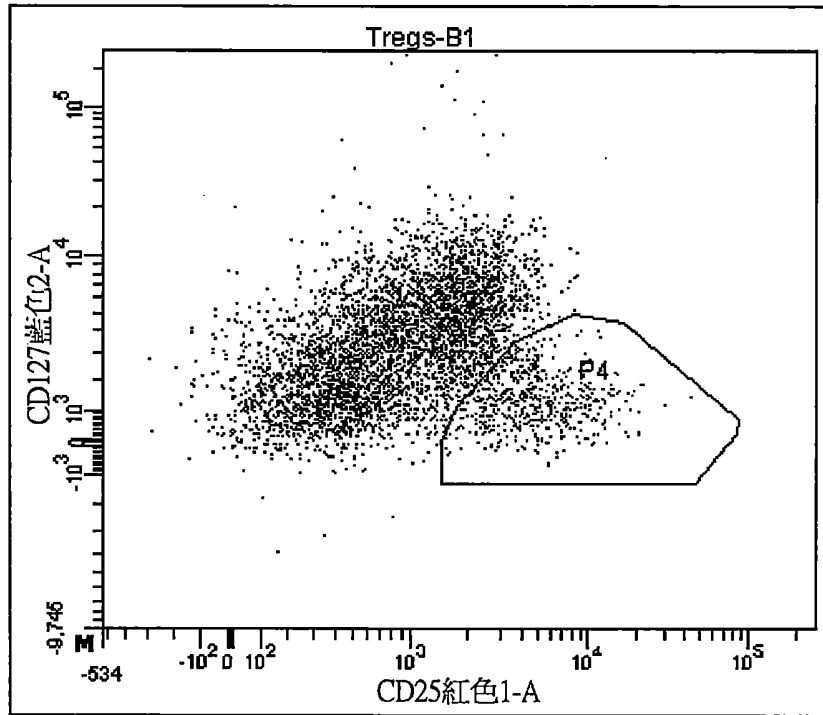


圖10A



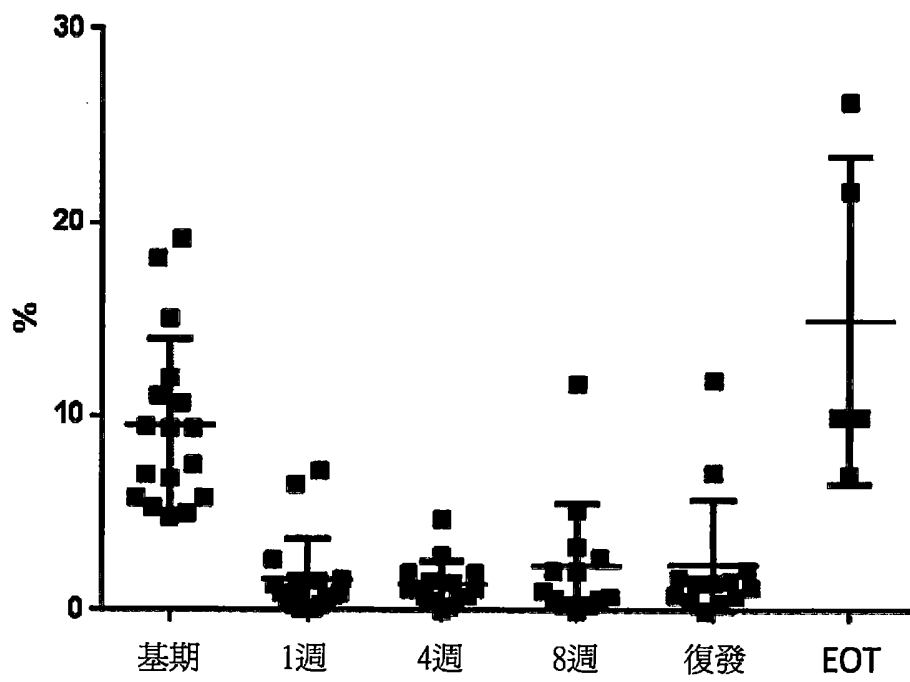


圖10C











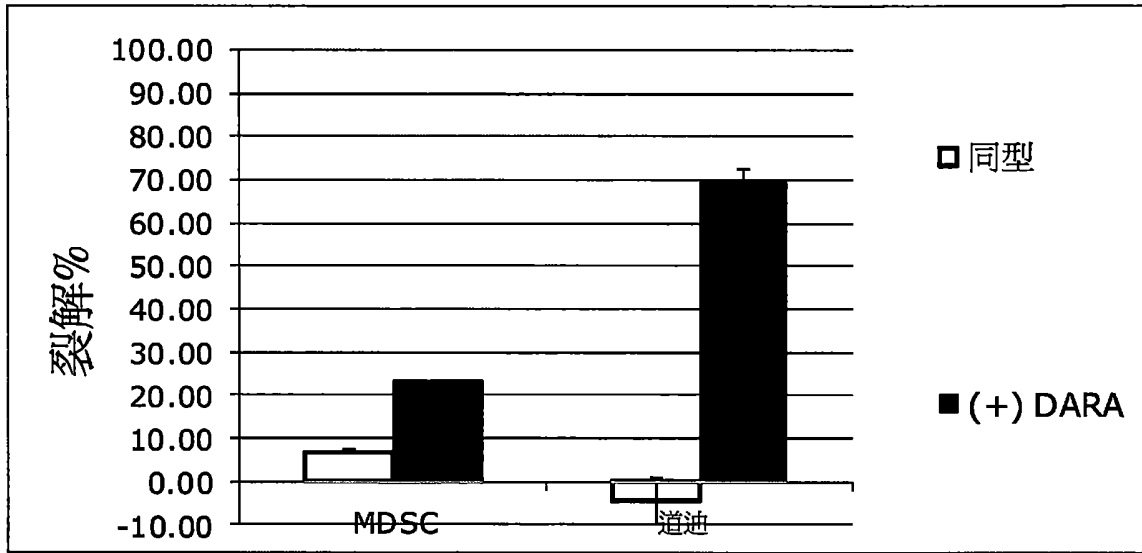


圖14



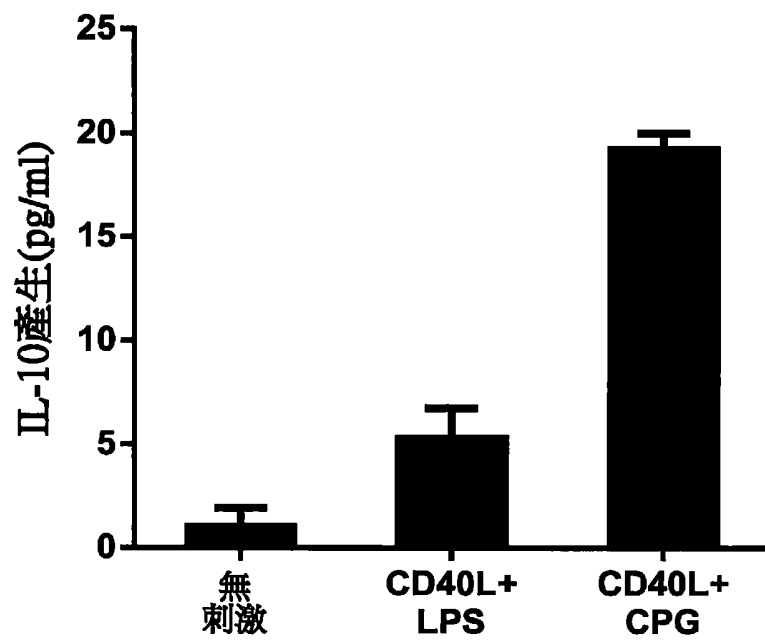


圖15B

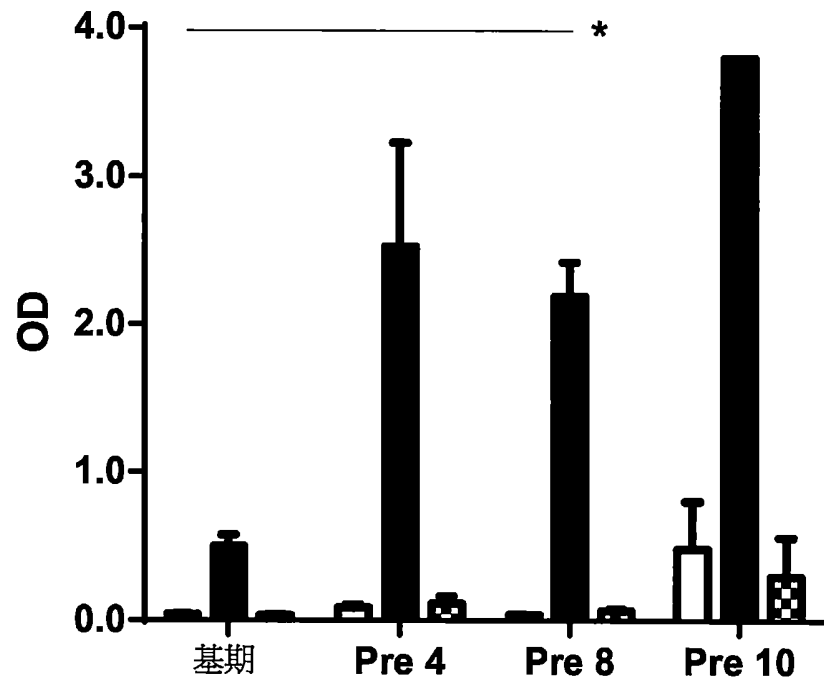


圖16A

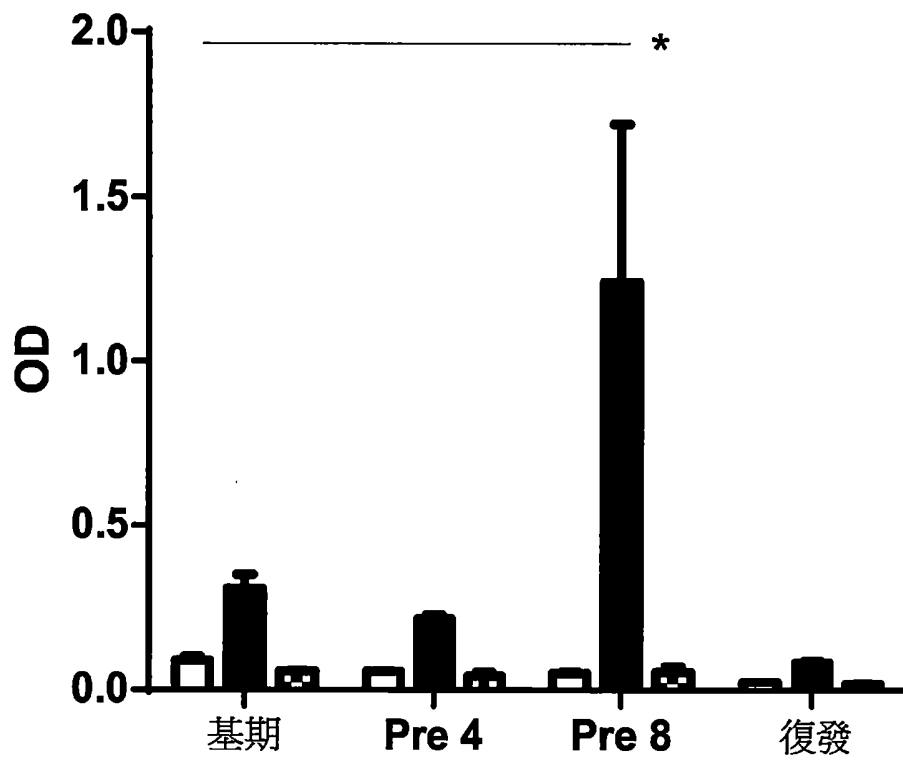


圖16B

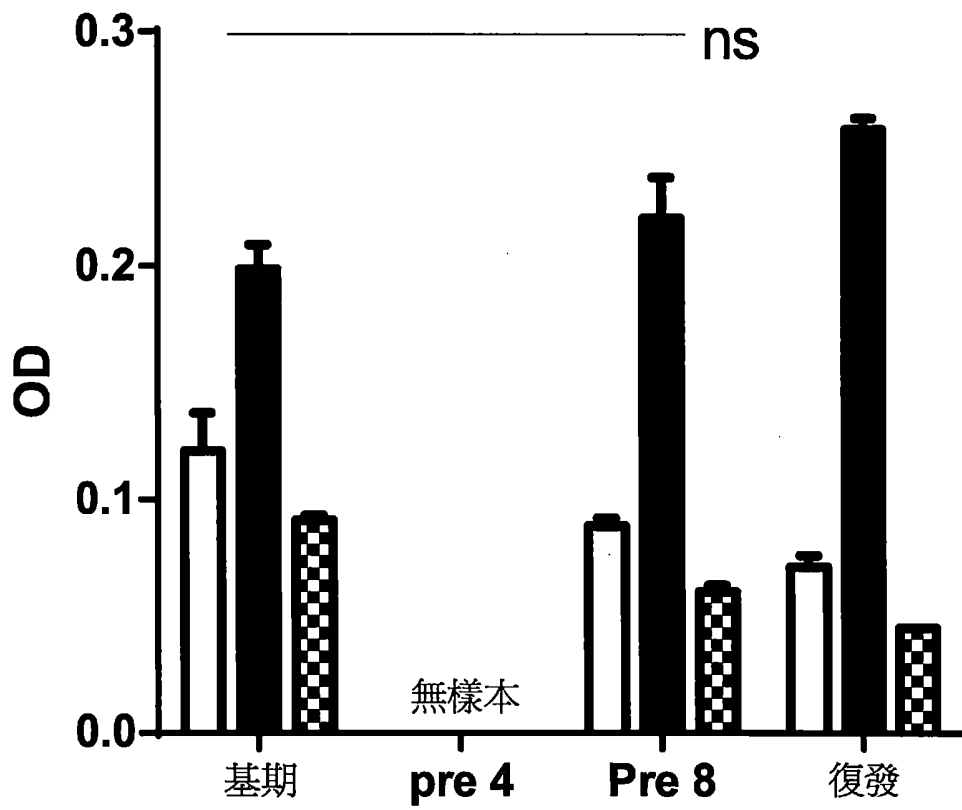


圖16C

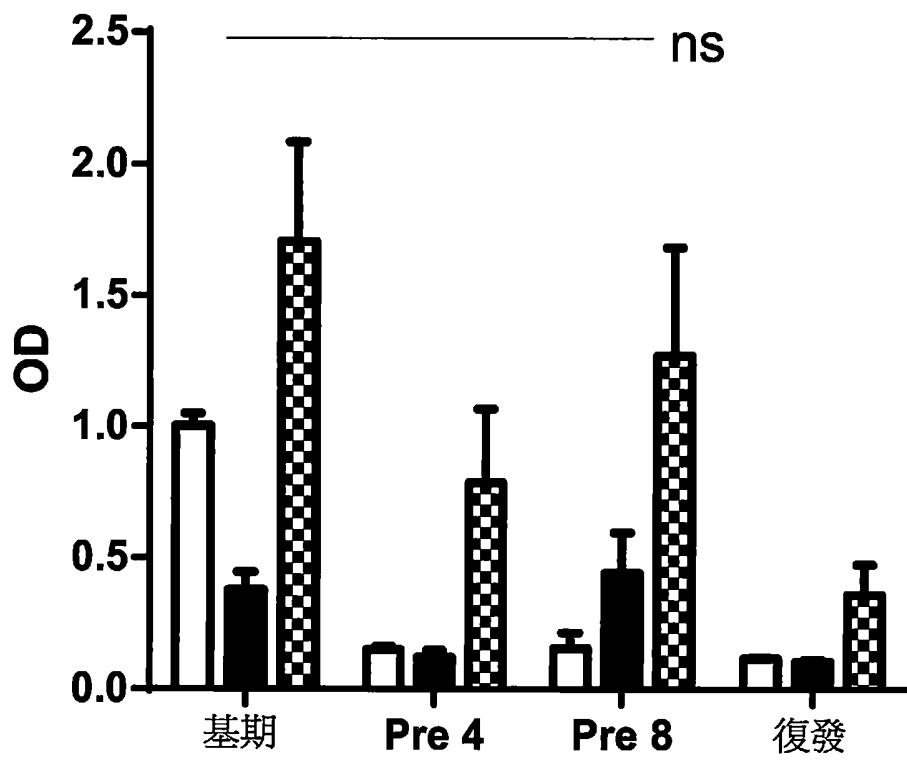


圖16D

pt 1

VGPR

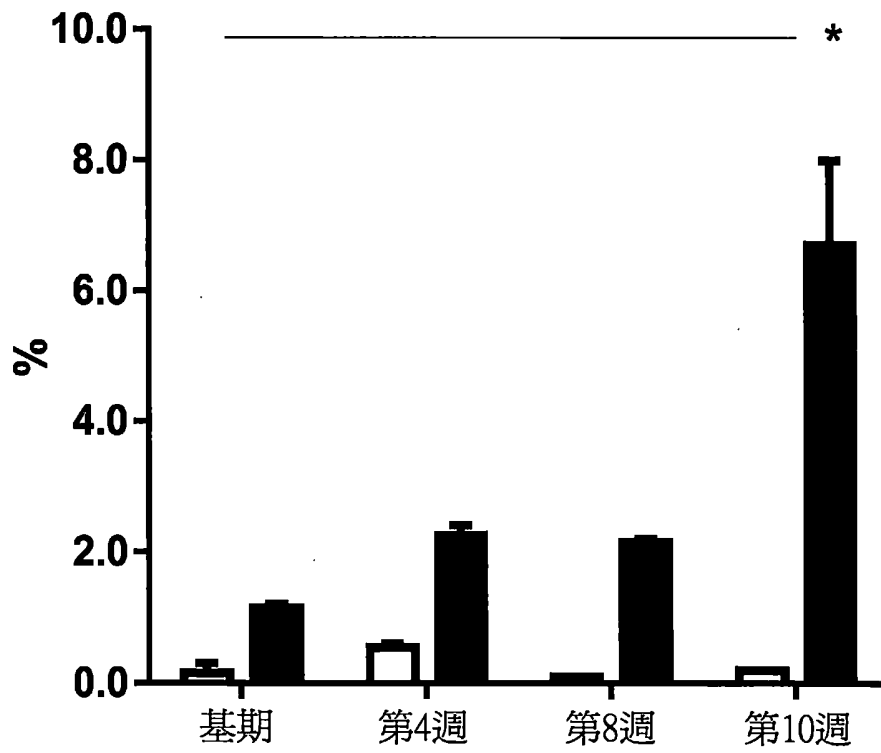


圖16E

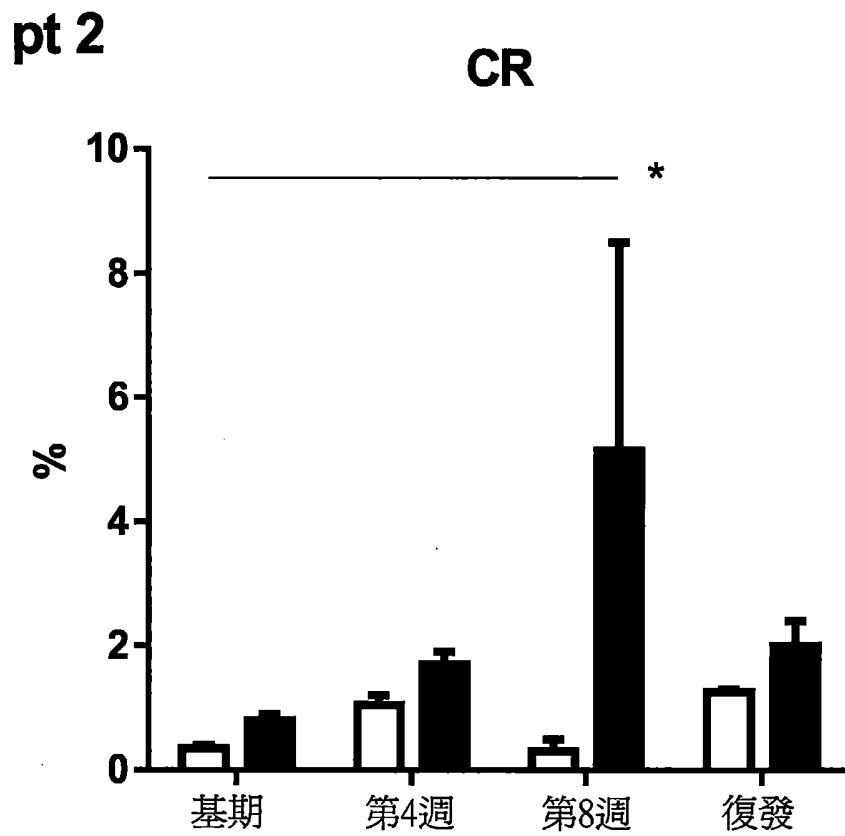


圖16F





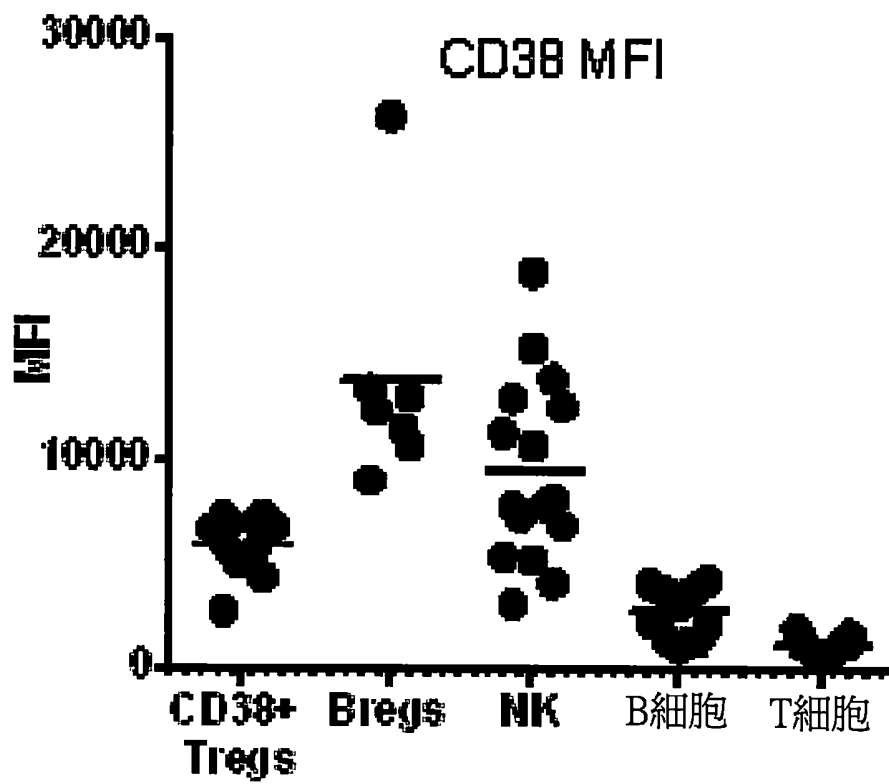


圖17C

