(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107530428 A
(43)申请公布日 2018.01.02

(21)申请号 201680026223.2

(22)申请日 2016.03.22

(30)优先权数据
62/137,034 2015.03.23 US
62/147,484 2015.04.14 US
62/156,588 2015.05.04 US
62/242,489 2015.10.16 US
62/255,635 2015.11.16 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.11.06

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/023524 2016.03.22

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2016/154177 EN 2016.09.29

(71)申请人 震动疗法股份有限公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 S·萨津斯基 J·S·迈克尔森
S·萨雅纳雷阿南
K·G·艾尔派克

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 岑晓东

(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C07K 16/46(2006.01)
C12P 21/08(2006.01)

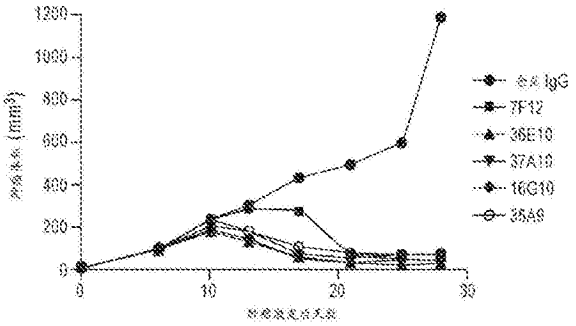
权利要求书11页 说明书87页
序列表17页 附图34页

(54)发明名称

ICOS的抗体

(57)摘要

本文提供关于抗体的各种实施方案。所述实施方案中的一些包括结合ICOS的激动剂抗体。此类抗体可用于治疗例如癌症的方法中。在一些实施方案中，提供结合ICOS的分离的抗体，其中所述抗体为CD4 T细胞(诸如，CD4 T效应(Teff)细胞)的激动剂。在一些实施方案中，提供结合ICOS的分离的抗体，其中所述抗体为CD4 T细胞(诸如CD4 Teff细胞)的激动剂，并且耗尽T调控(Treg)细胞。在一些实施方案中，提供结合ICOS的分离的抗体，其中所述抗体耗尽Treg细胞，但不耗尽Teff细胞。



CN 107530428 A

1.一种结合至ICOS的分离的抗体,其中所述抗体包含:

i)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列;或

ii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列;或

iii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列;或

iv)(a)HCDR1,其包含选自SEQ ID NO:22、62、72、82、92、102和112的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含选自SEQ ID NO:23、63、73、83、93、103和113的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含选自SEQ ID NO:24、64、74、84、94、104和114的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含选自SEQ ID NO:25、65、75、85、95、105和115的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含选自SEQ ID NO:26、66、76、86、96、106和116的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含选自SEQ ID NO:27、67、77、87、97、107和117的氨基酸序列;或

v)(a)HCDR1,其包含选自SEQ ID NO:32、162、172和182的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含选自SEQ ID NO:33、163、173和183的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含选自SEQ ID NO:34、164、174和184的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含选自SEQ ID NO:35、165、175和185的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含选自SEQ ID NO:36、166、176和186的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含选自SEQ ID NO:37、167、177和187的氨基酸序列;或

vi)(a)HCDR1,其包含选自SEQ ID NO:52、122、132、142和152的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含选自SEQ ID NO:53、123、133、143和153的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含选自SEQ ID NO:54、124、134、144和154的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含选自SEQ ID NO:55、125、135、145和155的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含选自SEQ ID NO:56、126、136、146和156的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含选自SEQ ID NO:57、127、137、147和157的氨基酸序列;或

vii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列;或

viii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列;或

ix)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:

55的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列;或

x)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列;或

xi)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;或

xii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列;或

xiii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列;或

xiv)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列;或

xv)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列;或

xvi)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列;或(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列;或

xvii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列;或

xviii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ

ID NO:165的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列;或

xix)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列;或

xx)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列。

2.如权利要求1所述的抗体,其包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L),其中:

i)所述V_H与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性,并且所述V_L与SEQ ID NO:11的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性;或

ii)所述V_H与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性,并且所述V_L与SEQ ID NO:21的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性;或

iii)所述V_H与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性,并且所述V_L与SEQ ID NO:31的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性;或

iv)所述V_H与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性,并且所述V_L与SEQ ID NO:41的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性;或

v)所述V_H与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性,并且所述V_L与SEQ ID NO:51的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性;或

vi)所述V_H与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性,并且所述V_L与SEQ ID NO:61的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性;或

vii)所述V_H与SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性,并且所述V_L与SEQ ID NO:71的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性;或

viii)所述V_H与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性,并且所述V_L与SEQ ID NO:81的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性;或

ix)所述V_H与SEQ ID NO:90的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性,并且所述V_L与SEQ ID NO:91的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性;或

x)所述V_H与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、

96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:101的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

xi)所述V_H与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:111的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

xii)所述V_H与SEQ ID NO:120的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:121的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

xiii)所述V_H与SEQ ID NO:130的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:131的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

xiv)所述V_H与SEQ ID NO:140的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:141的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

xv)所述V_H与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:151的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

xvi)所述V_H与SEQ ID NO:160的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:161的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

xvii)所述V_H与SEQ ID NO:170的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

xviii)所述V_H与SEQ ID NO:180的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:181的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性。

3.如权利要求1或权利要求2所述的抗体，其包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L)，其中：

i)所述V_H包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，并且所述V_L包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列；或

ii)所述V_H包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列，并且所述V_L包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列；或

iii)所述V_H包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列，并且所述V_L包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列；或

iv)所述V_H包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列，并且所述V_L包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列；或

v)所述V_H包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列，并且所述V_L包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列；或

vi)所述V_H包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列，并且所述V_L包含SEQ ID NO:61的氨基酸序

列;或

vii)所述V_H包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列;或

viii)所述V_H包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列;或

ix)所述V_H包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列;或

x)所述V_H包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列;或

xi)所述V_H包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列;或

xii)所述V_H包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列;或

xiii)所述V_H包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列;或

xiv)所述V_H包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列;或

xv)所述V_H包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列;或

xvi)所述V_H包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;或

xvii)所述V_H包含SEQ ID NO:170的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:171的氨基酸序列;或

xviii)所述V_H包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列。

4.如前述权利要求中任一项所述的抗体,其中所述抗体为单克隆抗体。

5.如前述权利要求中任一项所述的抗体,其中所述抗体为嵌合抗体或人源化抗体。

6.如前述权利要求中任一项所述的抗体,其中所述抗体为选自Fab、Fab'、Fv、scFv或$(Fab')_2$片段的抗体片段。

7.如前述权利要求中任一项所述的抗体,其中所述抗体为全长抗体。

8.如权利要求7所述的抗体,其中所述重链包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列,并且所述轻链包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列。

9.如前述权利要求中任一项所述的抗体,其中向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T效应(Teff)细胞增加。

10.如前述权利要求中任一项所述的抗体,其中向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T效应(Teff)细胞活化。

11.如权利要求9或权利要求10所述的抗体,其中所述Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞。

12.如权利要求9或权利要求10所述的抗体,其中所述Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。

13.如权利要求9或权利要求10所述的抗体，其中所述Teff细胞为CD8+T细胞。

14.如前述权利要求中任一项所述的抗体，其中向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T调控(Treg)细胞减少。

15.如权利要求14所述的抗体，其中所述Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。

16.一种分离的核酸，其编码如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗体。

17.一种载体，其包含如权利要求16所述的核酸。

18.一种宿主细胞，其包含如权利要求17所述的载体。

19.一种宿主细胞，其产生如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗体。

20.一种用于制备抗ICOS抗体的方法，其包括在适于表达所述抗体的条件下培养如权利要求19所述的宿主细胞。

21.如权利要求20所述的方法，其还包括回收由所述宿主细胞产生的所述抗体。

22.一种药物组合物，其包含如权利要求1至15或60至82中任一项所述的抗ICOS抗体和药学上可接受的载剂。

23.一种治疗哺乳动物的癌症的方法，其包括施用有效量的如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗ICOS抗体或如权利要求22所述的药物组合物。

24.如权利要求23所述的方法，其中所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

25.如权利要求24所述的方法，其中所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

26.一种增加哺乳动物中T效应(Teff)细胞的数目的方法，其包括施用有效量的如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗ICOS抗体或如权利要求22所述的药物组合物。

27.如权利要求26所述的方法，其中所述方法还包括活化Teff细胞。

28.一种活化哺乳动物中T效应(Teff)细胞的方法，其包括施用有效量的如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗ICOS抗体或如权利要求22所述的药物组合物。

29.如权利要求26至28中任一项所述的方法，其中所述Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞。

30.如权利要求26至28中任一项所述的方法，其中所述Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。

31.如权利要求26至28中任一项所述的方法，其中所述Teff细胞为CD8+T细胞。

32.如权利要求26至31中任一项所述的方法，其中所述方法还包括减少T调控(Treg)细胞的数目。

33.一种减少哺乳动物中T调控(Treg)细胞的数目的方法，其包括施用有效量的如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗ICOS抗体或如权利要求22所述的药物组合物。

34.如权利要求32或权利要求33所述的方法，其中所述Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。

35.如权利要求23至34中任一项所述的方法，其中所述哺乳动物为人。

36.如权利要求23至35中任一项所述的方法，其中所述哺乳动物施用至少一种另外的治疗剂。

37.如权利要求36所述的方法，其中所述另外的治疗剂与所述抗ICOS抗体同时或依序施用。

38.如权利要求36或权利要求37所述的方法，其中所述另外的治疗剂选自抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。

39.如权利要求36或权利要求37所述的方法，其中所述另外的治疗剂为癌症疫苗。

40.如权利要求39所述的方法，其中所述癌症疫苗选自DNA疫苗、工程改造的病毒疫苗、工程改造的肿瘤细胞疫苗和使用新抗原开发的癌症疫苗。

41.如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗体的用途，其用于制造治疗癌症的药物。

42.如权利要求41所述的用途，其中所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

43.如权利要求42所述的用途，其中所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

44.如权利要求41至43中任一项所述的用途，其中所述药物用于与至少一种另外的治疗剂一起施用。

45.如权利要求44所述的用途，其中所述另外的治疗剂选自抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。

46.如权利要求44所述的用途，其中所述另外的治疗剂为癌症疫苗。

47.如权利要求46所述的用途，其中所述癌症疫苗选自DNA疫苗、工程改造的病毒疫苗、工程改造的肿瘤细胞疫苗和使用新抗原开发的癌症疫苗。

48.如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗体或如权利要求22所述的药物组合物的用途，其用于治疗癌症。

49.如权利要求48所述的用途，其中所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

50.如权利要求49所述的用途，其中所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

51.如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗体或如权利要求22所述的药物组合物和至少一种另外的治疗剂的用途，其用于治疗癌症。

52.如权利要求51所述的用途，其中所述另外的治疗剂选自抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。

53.如权利要求51所述的用途，其中所述另外的治疗剂为癌症疫苗。

54.如权利要求53所述的用途，其中所述癌症疫苗选自DNA疫苗、工程改造的病毒疫苗、工程改造的肿瘤细胞疫苗和使用新抗原开发的癌症疫苗。

55.如权利要求51至54中任一项所述的用途，其中所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴

瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

56.如权利要求55所述的用途,其中所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

57.如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗体或如权利要求22所述的药物组合物,其用于治疗癌症。

58.如权利要求58所述的抗体,其中所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

59.如权利要求58所述的抗体,其中所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

60.一种结合至人ICOS的分离的抗体,其中所述抗体还结合至小鼠ICOS和/或大鼠ICOS。

61.如权利要求60所述的分离的抗体,其中所述抗体以小于5nM的亲和力(K_D)结合至人ICOS。

62.如权利要求60或权利要求61所述的分离的抗体,其中所述抗体以小于10nM的亲和力(K_D)结合至大鼠ICOS。

63.如权利要求61或权利要求62所述的分离的抗体,其中使用生物膜干涉法来测定亲和力。

64.如权利要求60至63中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体结合至人ICOS、小鼠ICOS和大鼠ICOS。

65.如权利要求60至64中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体结合至食蟹猴ICOS。

66.如权利要求60至65中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体为单克隆抗体。

67.如权利要求60至66中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体为嵌合抗体或人源化抗体。

68.如权利要求60至67中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体为选自Fab、Fab'、Fv、scFv或$(Fab')_2$片段的抗体片段。

69.如权利要求60至67中任一项所述的分离的抗体,其中所述抗体为全长抗体。

70.如权利要求60至69中任一项所述的分离的抗体,其中向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T效应(Teff)细胞增加。

71.如权利要求60至70中任一项所述的分离的抗体,其中向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T效应(Teff)细胞活化。

72.如权利要求70或权利要求71所述的分离的抗体,其中所述Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞。

73.如权利要求70或权利要求71所述的分离的抗体,其中所述Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。

74.如权利要求70或权利要求71所述的分离的抗体,其中所述Teff细胞为CD8+T细胞。

75.如权利要求60至74中任一项所述的分离的抗体,其中向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T调控(Treg)细胞减少。

76.如权利要求75所述的分离的抗体,其中所述Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。

77.如权利要求70至76中任一项所述的分离的抗体，其中所述哺乳动物选自小鼠、大鼠、食蟹猴和人。

78.如权利要求1至15或60至77中任一项所述的抗体，其中在用所述抗体治疗肺肿瘤组织之后，选自GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11及CXCL13的至少一种趋化因子和/或细胞因子mRNA的水平比在用对照抗体治疗所述肺肿瘤组织之后的所述趋化因子的水平高至少2倍或至少3倍。

79.如权利要求78所述的抗体，其中所述趋化因子的水平在治疗后1小时、2小时、3小时、4小时、5小时或6小时测量。

80.如权利要求78所述的抗体，其中至少一种趋化因子为CXCL11。

81.如权利要求80所述的抗体，其中所述趋化因子的水平在治疗后6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、36小时或48小时测量。

82.如权利要求81所述的抗体，其中所述趋化因子的水平在治疗后24小时测量。

83.如权利要求78至82中任一项所述的抗体，其中所述肺肿瘤组织为人肺肿瘤组织。

84.如权利要求1至15或60至83中任一项所述的抗体，其中所述抗体使已施用所述抗体的哺乳动物中选自GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11及CXCL13的至少一种趋化因子和/或细胞因子mRNA的水平增加至少2倍。

85.如权利要求84所述的抗体，其中所述趋化因子的水平在施用所述抗体后1小时、2小时、3小时、4小时、5小时或6小时测量。

86.如权利要求84所述的抗体，其中至少一种趋化因子为CXCL11。

87.如权利要求86所述的抗体，其中所述趋化因子的水平在施用所述抗体后6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、36小时或48小时测量。

88.如权利要求86所述的抗体，其中所述趋化因子的水平在施用所述抗体后24小时测量。

89.一种激动剂抗ICOS抗体，其使已施用所述抗体的哺乳动物中选自GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11及CXCL13的至少一种趋化因子和/或细胞因子mRNA的水平增加至少2倍。

90.如权利要求89所述的抗体，其中所述趋化因子的水平在施用所述抗体后1小时、2小时、3小时、4小时、5小时或6小时测量。

91.如权利要求89所述的抗体，其中至少一种趋化因子为CXCL11。

92.如权利要求91所述的抗体，其中所述趋化因子的水平在施用所述抗体后6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、36小时或48小时测量。

93.如权利要求91所述的抗体，其中所述趋化因子的水平在施用所述抗体后24小时测量。

94.如权利要求84至93中任一项所述的抗体，其中所述哺乳动物为人。

95.如权利要求94所述的抗体，其中所述人患有癌症。

96.如权利要求95所述的抗体，其中所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈

鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

97.如权利要求96所述的抗体,其中所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

98.一种增加哺乳动物中选自GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11和CXCL13的至少一种趋化因子和/或细胞因子mRNA的水平的方法,其包括向所述哺乳动物施用如权利要求1至15或60至97或127至134中任一项所述的抗体。

99.如权利要求98所述的方法,其中所述趋化因子的水平在施用所述抗体后1小时、2小时、3小时、4小时、5小时或6小时测量。

100.如权利要求98所述的方法,其中至少一种趋化因子为CXCL11。

101.如权利要求100所述的方法,其中所述趋化因子的水平在施用所述抗体后6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、36小时或48小时测量。

102.如权利要求100所述的方法,其中所述趋化因子的水平在施用所述抗体后24小时测量。

103.如权利要求98至102中任一项所述的方法,其中所述哺乳动物为人。

104.如权利要求103所述的方法,其中所述人患有癌症。

105.如权利要求104所述的方法,其中所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

106.如权利要求104所述的方法,其中所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

107.如权利要求23至27中任一项所述的方法,其中Teff细胞在施用所述抗ICOS抗体之后活化。

108.如权利要求23至27及107中任一项所述的方法,其中Teff细胞的数目在施用所述抗ICOS抗体之后增加。

109.如权利要求107或权利要求108所述的方法,其中所述Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞。

110.如权利要求107至109中任一项所述的方法,其中所述Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。

111.如权利要求107至110中任一项所述的方法,其中所述Teff细胞为CD8+T细胞。

112.如权利要求23至27及107至111中任一项所述的方法,其中T调控(Treg)细胞的数目在施用所述抗ICOS抗体之后减少。

113.如权利要求112所述的方法,其中所述Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。

114.如权利要求107至113中任一项所述的方法,其中所述哺乳动物为人。

115.如权利要求107至114中任一项所述的方法,其中所述哺乳动物施用至少一种另外的治疗剂。

116.如权利要求115所述的方法,其中所述另外的治疗剂与所述抗ICOS抗体同时或依序施用。

117.如权利要求116所述的方法,其中所述另外的治疗剂为PD-1疗法。

118.如权利要求115至117中任一项所述的方法，其中所述另外的治疗剂选自抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。

119.如权利要求115或权利要求116所述的方法，其中所述另外的治疗剂为癌症疫苗。

120.如权利要求119所述的方法，其中所述癌症疫苗选自DNA疫苗、工程改造的病毒疫苗、工程改造的肿瘤细胞疫苗和使用新抗原开发的癌症疫苗。

121.如权利要求23至27和107至120中任一项所述的方法，其中已经确定所述癌症的样品表达ICOS。

122.如权利要求121所述的方法，其中通过免疫组织化学(IHC)所述样品显示ICOS的1+、2+或3+染色。

123.如权利要求23至27和107至122中任一项所述的方法，其中已确定所述样品具有低水平的PD-L1。

124.如权利要求23至27和107至123中任一项所述的方法，其中已确定所述样品为PD-L1阴性。

125.如权利要求23至27和107至122中任一项所述的方法，其中已确定所述样品具有升高水平的PD-L1。

126.如权利要求123至125中任一项所述的方法，其中使用IHC来测定PD-L1水平。

127.一种结合至ICOS的抗体，其中所述抗体增加T细胞上NKp46的配体(NKp46-L)的水平。

128.如权利要求127所述的抗体，其中在流式细胞术测定中使用可溶性NKp46细胞外结构域来确定T细胞上NKp46-L的水平增加。

129.如权利要求127或权利要求128所述的抗体，其中所述抗体使Treg细胞上NKp46-L的水平增加的程度多于所述抗体使Teff细胞上NKp46-L的水平增加的程度。

130.如权利要求127至129中任一项所述的抗体，其中所述抗体增加NK细胞上的CD16脱落。

131.如权利要求1至15或60至97中任一项所述的抗体，其中所述抗体增加T细胞上NKp46的配体(NKp46-L)的水平。

132.如权利要求131所述的抗体，其中在流式细胞术测定中使用可溶性NKp46细胞外结构域来确定T细胞上NKp46-L的水平增加。

133.如权利要求131或权利要求132所述的抗体，其中所述抗体使Treg细胞上NKp46-L的水平增加的程度多于所述抗体使Teff细胞上NKp46-L的水平增加的程度。

134.如权利要求131至133中任一项所述的抗体，其中所述抗体增加NK细胞上的CD16脱落。

ICOS的抗体

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2015年3月23日提交的美国临时申请号62/137,034;2015年4月14日提交的美国临时申请号62/147,484;2015年5月4日提交的美国临时申请号62/156,588;2015年10月16日提交的美国临时申请号62/242,489;以及2015年11月16日提交的美国临时申请号62/255,635的优先权的权益,所述申请中的每个均出于任何目的以引用的方式整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有序列表,所述序列表已以ASCII格式通过EFS-Web提交并且由此以引用的方式整体并入。2016年3月15日创建的所述ASCII拷贝名为2016-03-22_01140-0001-00PCT_ST25.txt且大小为81,925字节。

发明领域

[0005] 提供结合至可诱导T细胞共刺激分子(ICOS)的抗体。还提供包括施用抗ICOS抗体的治疗方法。

[0006] 背景

[0007] ICOS是B7/CD28/CTLA-4免疫球蛋白超家族的成员,并且在T细胞上特异性表达。与在T细胞上组成型表达并提供静息T细胞完全活化所需的共刺激信号的CD28不同,ICOS仅在初始T细胞活化后表达。

[0008] ICOS牵涉于T细胞应答的不同方面(在Simpson等人,2010,Curr.Opin.Immunol.,22:326-332种有所综述)。它在生发中心形成、T/B细胞合作和免疫球蛋白类别转换方面发挥作用。ICOS缺陷小鼠显示生发中心形成受损,并且白细胞介素IL-10的产生减少。这些缺陷与T滤泡辅助细胞的缺陷特异性关联。

[0009] ICOS还在其他T细胞亚组(包括Th1、Th2和Th17)的发育和功能方面发挥作用。值得注意的是,ICOS共同刺激与Th1和Th2细胞相关的T细胞增殖和细胞因子分泌。因此,ICOS KO小鼠展示各种疾病模型(包括糖尿病(Th1)、气道炎症(Th2)和EAE神经炎症模型(Th17))中自身免疫表型的发展受损。

[0010] 除了其在调节T效应(Teff)细胞功能方面的作用外,ICOS还调节T调节细胞(Treg)。ICOS在Treg上以高水平表达,并且牵涉于Treg稳态和功能。

[0011] 在活化时,ICOS(即二硫键连接的同二聚体)通过PI3K和AKT途径诱导信号。随后的信号传导事件致使谱系特异性转录因子(例如,T-bet、GATA-3)的表达,并且转而对T细胞增殖和存活产生影响。

[0012] 也作为B7超家族成员的ICOS配体(ICOSL;B7-H2;B7RP1;CD275;GL50)是ICOS的唯一配体,并且在B细胞、巨噬细胞和树突状细胞的细胞表面上表达。ICOSL在与ICOS的相互作用中作为细胞表面上的非共价连接的同二聚体。已报告人ICOSL(虽然不是小鼠ICOSL)结合至人CD28和CTLA-4(Yao等人,2011,Immunity,34:729-740)。

[0013] 概述

[0014] 在一些实施方案中，提供结合ICOS的分离的抗体，其中所述抗体为CD4T细胞(诸如CD4T效应(Teff)细胞)的激动剂。在一些实施方案中，提供结合ICOS的分离的抗体，其中所述抗体为CD4T细胞(诸如CD4Teff细胞)的激动剂，并且耗尽T调控(Treg)细胞。在一些实施方案中，提供结合ICOS的分离的抗体，其中所述抗体耗尽Treg细胞，但不耗尽Teff细胞。在一些实施方案中，提供结合ICOS的分离的抗体，其中所述抗体在CD4T细胞上诱导pAKT信号传导。在一些实施方案中，提供结合ICOS的分离的抗体，其中所述抗体在CD4T细胞上诱导pAKT信号传导，并且耗尽Treg细胞。在一些实施方案中，提供结合至ICOS的分离的抗体，其中所述抗体包含：

[0015] i)(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列；或

[0016] ii)(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列；或

[0017] iii)(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列；或

[0018] iv)(a)HCDR1，其包含选自SEQ ID NO:22、62、72、82、92、102和112的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含选自SEQ ID NO:23、63、73、83、93、103和113的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含选自SEQ ID NO:24、64、74、84、94、104和114的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含选自SEQ ID NO:25、65、75、85、95、105和115的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含选自SEQ ID NO:26、66、76、86、96、106和116的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含选自SEQ ID NO:27、67、77、87、97、107和117的氨基酸序列；或

[0019] v)(a)HCDR1，其包含选自SEQ ID NO:32、162、172和182的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含选自SEQ ID NO:33、163、173和183的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含选自SEQ ID NO:34、164、174和184的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含选自SEQ ID NO:35、165、175和185的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含选自SEQ ID NO:36、166、176和186的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含选自SEQ ID NO:37、167、177和187的氨基酸序列；或

[0020] vi)(a)HCDR1，其包含选自SEQ ID NO:52、122、132、142和152的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含选自SEQ ID NO:53、123、133、143和153的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含选自SEQ ID NO:54、124、134、144和154的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含选自SEQ ID NO:55、125、135、145和155的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含选自SEQ ID NO:56、126、136、146和156的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含选自SEQ ID NO:57、127、137、147和157的氨基酸序列；或

[0021] vii)(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID

NO:25的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列;或

[0022] viii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列;或

[0023] ix)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列;或

[0024] x)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列;或

[0025] xi)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列;或

[0026] xii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列;或

[0027] xiii)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列;或

[0028] xiv)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列;或

[0029] xv)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列;或

[0030] xvi)(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列;或(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:144的

氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列；或

[0031] xvii)(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列；或

[0032] xviii)(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列；或

[0033] xix)(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列；或

[0034] xx)(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列。

[0035] 在一些实施方案中，提供结合至ICOS的抗体，其中所述抗体包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L)，其中：

[0036] i)所述V_H与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:11的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性；或

[0037] ii)所述V_H与SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:21的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性；或

[0038] iii)所述V_H与SEQ ID NO:30的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:31的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性；或

[0039] iv)所述V_H与SEQ ID NO:40的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:41的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性；或

[0040] v)所述V_H与SEQ ID NO:50的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:51的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性；或

[0041] vi)所述V_H与SEQ ID NO:60的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:61的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性；或

[0042] vii)所述V_H与SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、

95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:71的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0043] viii)所述V_H与SEQ ID NO:80的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:81的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0044] ix)所述V_H与SEQ ID NO:90的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:91的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0045] x)所述V_H与SEQ ID NO:100的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:101的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0046] xi)所述V_H与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:111的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0047] xii)所述V_H与SEQ ID NO:120的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:121的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0048] xiii)所述V_H与SEQ ID NO:130的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:131的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0049] xiv)所述V_H与SEQ ID NO:140的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:141的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0050] xv)所述V_H与SEQ ID NO:150的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:151的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0051] xvi)所述V_H与SEQ ID NO:160的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:161的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0052] xvii)所述V_H与SEQ ID NO:170的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:171的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性；或

[0053] xviii)所述V_H与SEQ ID NO:180的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性，并且所述V_L与SEQ ID NO:181的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性。

[0054] 在一些实施方案中，提供结合至ICOS的抗体，其中所述抗体包含重链可变区(V_H)和轻链可变区(V_L)，其中：

[0055] i)所述V_H包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列，并且所述V_L包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列；或

[0056] ii)所述V_H包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列;或

[0057] iii)所述V_H包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列;或

[0058] iv)所述V_H包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;或

[0059] v)所述V_H包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列;或

[0060] vi)所述V_H包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列;或

[0061] vii)所述V_H包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列;或

[0062] viii)所述V_H包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列;或

[0063] ix)所述V_H包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:91的氨基酸序列;或

[0064] x)所述V_H包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列;或

[0065] xi)所述V_H包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列;或

[0066] xii)所述V_H包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列;或

[0067] xiii)所述V_H包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列;或

[0068] xiv)所述V_H包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列;或

[0069] xv)所述V_H包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列;或

[0070] xvi)所述V_H包含SEQ ID NO:160的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:161的氨基酸序列;或

[0071] xvii)所述V_H包含SEQ ID NO:170的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:171的氨基酸序列;或

[0072] xviii)所述V_H包含SEQ ID NO:180的氨基酸序列,并且所述V_L包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列。

[0073] 在一些实施方案中,所述抗体为单克隆抗体。在一些实施方案中,所述抗体为嵌合抗体或人源化抗体。在一些实施方案中,所述抗体为选自Fab、Fab'、Fv、scFv或$(Fab')_2$片段的抗体片段。在一些实施方案中,所述抗体为全长抗体。

[0074] 在一些实施方案中,提供结合至ICOS的抗体,其中所述抗体包含:包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的重链以及包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的轻链。

[0075] 在一些实施方案中，向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T效应(Teff)细胞增加。在一些实施方案中，向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T效应(Teff)细胞活化。在一些实施方案中，向哺乳动物施用所述抗体使Teff细胞与Treg细胞的比率增加。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+T细胞。在一些实施方案中，向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T调控(Treg)细胞减少。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。

[0076] 在一些实施方案中，提供结合至人ICOS的分离的抗体，其中所述抗体还结合至小鼠ICOS和/或大鼠ICOS。在一些实施方案中，分离的抗体以小于5nM的亲和力(K_D)结合至人ICOS。在一些实施方案中，分离的抗体以小于10nM的亲和力(K_D)结合至大鼠ICOS。在一些实施方案中，亲和力使用生物膜干涉法来测定(biolayer interferometry)(参见，例如，Abdiche等人，2008，Anal Biochem，377：209-217；以及ForteBio Octet®系统)。在一些实施方案中，抗体结合至人ICOS、小鼠ICOS和大鼠ICOS。在一些实施方案中，抗体结合至食蟹猴ICOS。在一些实施方案中，所述抗体为单克隆抗体。在一些实施方案中，所述抗体为嵌合抗体或人源化抗体。在一些实施方案中，所述抗体为选自Fab、Fab'、Fv、scFv或$(Fab')_2$片段的抗体片段。在一些实施方案中，所述抗体为全长抗体。在一些实施方案中，向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T效应(Teff)细胞增加。在一些实施方案中，向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T效应(Teff)细胞活化。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+T细胞。在一些实施方案中，向哺乳动物施用所述抗体致使所述哺乳动物中T调控(Treg)细胞减少。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。在一些实施方案中，哺乳动物选自小鼠、大鼠、食蟹猴和人。

[0077] 在一些实施方案中，在用本文提供的抗体治疗肺肿瘤组织之后，选自GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11及CXCL13的趋化因子或细胞因子的水平比在用对照抗体治疗所述肺肿瘤组织之后的趋化因子的水平高至少2倍或至少3倍。在一些实施方案中，水平为mRNA水平。在一些实施方案中，水平为蛋白质水平。在一些实施方案中，对照抗体为结合至不相关抗原并且预期不会对趋化因子水平具有影响的同种型匹配的抗体。在一些实施方案中，趋化因子的水平在治疗后1小时、2小时、3小时、4小时、5小时或6小时测量。在一些实施方案中，趋化因子为CXCL11。在一些实施方案中，趋化因子的水平在治疗后6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、36小时或48小时测量。在一些实施方案中，趋化因子的水平在治疗后24小时测量。在一些实施方案中，肺肿瘤组织为人肺肿瘤组织。

[0078] 在一些实施方案中，本文提供的抗体使已施用所述抗体的哺乳动物中选自GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11及CXCL13的至少一种趋化因子和/或细胞因子的水平增加至少2倍。在一些实施方案中，趋化因子的水平在施用抗体后1小时、2小时、3小时、4小时、5小时或6小时测量。在一些实施方案中，水平为mRNA水平。在一些实施方案中，水平为蛋白质水平。在一些实施方案中，趋化因子为CXCL11。在一些实施方案中，趋化因子的水平在施用抗体后6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、36小时或48小时测量。在一些实施方案中，趋化因子的水平在施用抗体后24小时测量。

[0079] 在一些实施方案中，提供抗ICOS激动剂抗体，其中所述抗体使已施用所述抗体的哺乳动物中选自GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11及CXCL13的至少一种趋化因子和/或细胞因子的水平增加至少2倍。在一些实施方案中，提供抗ICOS激动剂抗体，其中所述抗体使已施用所述抗体的哺乳动物中选自GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10和CXCL11的至少一种趋化因子和/或细胞因子的水平增加至少2倍。在一些实施方案中，趋化因子的水平在施用抗体后1小时、2小时、3小时、4小时、5小时或6小时测量。在一些实施方案中，水平为mRNA水平。在一些实施方案中，水平为蛋白质水平。在一些实施方案中，趋化因子为CXCL11。在一些实施方案中，趋化因子的水平在施用抗体后6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、36小时或48小时测量。在一些实施方案中，趋化因子的水平在施用抗体后24小时测量。在一些实施方案中，所述哺乳动物为人。在一些实施方案中，所述人患有癌症。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

[0080] 在一些实施方案中，提供结合至ICOS的抗体，其中所述抗体增加T细胞上NKp46的配体(NKp46-L)的水平。在一些实施方案中，在流式细胞术测定中使用可溶性NKp46细胞外结构域来确定T细胞上NKp46-L的水平增加。在一些实施方案中，所述抗体使Treg细胞上NKp46-L的水平增加的程度多于所述抗体使Teff细胞上NKp46-L的水平增加的程度。在一些实施方案中，所述抗体增加NK细胞上的CD16脱落。

[0081] 在一些实施方案中，提供编码本文所述的抗体的分离的核酸。在一些实施方案中，提供包含所述核酸的载体。在一些实施方案中，提供一种包含所述载体的宿主细胞。在一些实施方案中，提供产生本文所述的抗体的宿主细胞。在一些实施方案中，提供用于制备抗ICOS抗体的方法，其包括在适于表达所述抗体的条件下培养所述宿主细胞。在一些实施方案中，所述方法包括回收由所述宿主细胞产生的抗体。

[0082] 在一些实施方案中，提供药物组合物，所述药物组合物包含本文所述的抗ICOS抗体和药学上可接受的载剂。

[0083] 在一些实施方案中，提供治疗癌症的方法，其包括施用有效量的本文所述的抗ICOS抗体或本文所述的药物组合物。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

[0084] 在一些实施方案中，提供增加哺乳动物中T效应(Teff)细胞的数目的方法，其包括施用有效量的本文所述的抗ICOS抗体或本文所述的药物组合物。在一些实施方案中，所述方法还包括活化Teff细胞。在一些实施方案中，提供活化哺乳动物中T效应(Teff)细胞的方法，其包括施用有效量的本文所述的抗ICOS抗体或本文所述的药物组合物。在一些实施方案中，提供增加哺乳动物中Teff细胞与Treg细胞的比率的方法，其包括施用有效量的本文所述的抗ICOS抗体或本文所述的药物组合物。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T

细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+T细胞。在一些实施方案中，所述方法还包括减少T调控(Treg)细胞的数目。

[0085] 在一些实施方案中，提供减少哺乳动物中T调控(Treg)细胞的数目的方法，其包括施用有效量的本文所述的抗ICOS抗体或本文所述的药物组合物。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。

[0086] 在一些实施方案中，提供增加哺乳动物中选自GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11及CXCL13的至少一种趋化因子和/或细胞因子的水平的方法，其包括向所述哺乳动物施用本文提供的抗体。在一些实施方案中，至少一种趋化因子的水平增加至少2倍或至少3倍。在一些实施方案中，趋化因子的水平在施用抗体后1小时、2小时、3小时、4小时、5小时或6小时测量。在一些实施方案中，水平为mRNA水平。在一些实施方案中，水平为蛋白质水平。在一些实施方案中，趋化因子为CXCL11。在一些实施方案中，趋化因子的水平在施用抗体后6小时、8小时、10小时、12小时、14小时、16小时、18小时、20小时、22小时、24小时、36小时或48小时测量。在一些实施方案中，趋化因子的水平在施用抗体后24小时测量。在一些实施方案中，所述哺乳动物为人。在一些实施方案中，所述人患有癌症。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

[0087] 在一些实施方案中，所述哺乳动物为人。

[0088] 在一些实施方案中，所述哺乳动物施用至少一种另外的治疗剂。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂与所述抗ICOS抗体同时或依序施用。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂为PD-1疗法。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂选自抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与纳武单抗(nivolumab)一起施用。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与派姆单抗(pembrolizumab)一起施用。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与阿特珠单抗(atezolizumab)一起施用。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与avelumab一起施用。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与durvalumab一起施用。

[0089] 在一些实施方案中，所述另外的治疗剂为癌症疫苗。在一些此类实施方案中，所述癌症疫苗使用新抗原(neoantigen)来开发。在一些实施方案中，所述癌症疫苗为DNA疫苗。在一些实施方案中，所述癌症疫苗为包含癌抗原的工程改造的病毒，诸如PROSTVAC(rilimogene galvacirepvec/rilimogene glafolivec)。在一些实施方案中，所述癌症疫苗包含工程改造的肿瘤细胞，诸如GVAX。

[0090] 在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与激动剂抗OX40抗体一起施用。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与抗CTLA4抗体一起施用。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与伊匹单抗(ipilimumab)一起施用。

[0091] 在一些实施方案中，所述另外的治疗剂为化学治疗剂。非限制性示例性化学治疗剂包括卡培他滨(capectiabine)、环磷酰胺、达卡巴嗪、替莫唑胺、环磷酰胺、多西他赛、多柔比星、柔红霉素、顺铂、卡铂、表柔比星、艾日布林、5-FU、吉西他滨、伊立替康、伊沙匹隆、甲氨蝶呤、米托蒽醌、奥沙利铂、紫杉醇、nab-紫杉醇、ABRAXANE®(蛋白质结合紫杉

醇)、培美曲塞、长春瑞滨和长春新碱。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与ABRAXANE®(Celgene)一起施用。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与至少一种激酶抑制剂一起施用。非限制性示例性激酶抑制剂包括埃罗替尼、阿法替尼、吉非替尼、克唑替尼、达拉菲尼、曲美替尼、威罗菲尼和考比替尼(cobimetanib)。

[0092] 在一些实施方案中，所述另外的治疗剂为IDO抑制剂。非限制性示例性IDO抑制剂包括Indoximod(New Link Genetics)、INCB024360(Incyte Corp)、1-甲基-D-色氨酸(New Link Genetics)和GDC-0919(Genentech)。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂为免疫调节药物(IMiD)。非限制性示例性IMiD包括沙利度胺、来那度胺和泊马度胺(pomalidomide)。

[0093] 在一些实施方案中，除了施用本文所述的抗ICOS抗体之外，哺乳动物还接受CAR-T疗法。

[0094] 在一些实施方案中，除了施用本文所述的抗ICOS抗体之外，哺乳动物还在有或无另外的治疗剂的情况下进行手术和/或放射疗法。在一些实施方案中，除了施用本文所述的抗ICOS抗体之外，哺乳动物还在有或无另外的治疗剂的情况下进行放射疗法。

[0095] 在一些实施方案中，提供本文所述的抗体的用途用于制造治疗癌症的药物。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。在一些实施方案中，所述药物用于与至少一种另外的治疗剂一起施用。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂选自抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。

[0096] 在一些实施方案中，提供本文所述的抗体或本文所述的药物组合物的用途用于治疗癌症。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

[0097] 在一些实施方案中，提供本文所述的抗体或本文所述的药物组合物和至少一种另外的治疗剂的用途用于治疗癌症。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂选自抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

[0098] 在一些实施方案中，提供本文所述的抗体或本文所述的药物组合物以用于治疗癌症。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、非小细胞肺癌(NSCLC)、肾细胞癌(RCC)、胃癌、膀胱癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、霍奇金氏淋巴瘤、卵巢癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。在一些实施方案中，所述癌症选自黑色素瘤、胃癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)。

[0099] 附图简述

[0100] 图1A-B.多种人肿瘤中ICOS mRNA的水平。A)绘制各种适应症中的归一化ICOS mRNA水平的平均强度和75％置信区间。指示强度在75％置信范围之外的样品(点)。B)显示

通过免疫组织化学(IHC)染色为0、1+、2+或3+ICOS的每个指示的肿瘤类型的百分比。

[0101] 图2.ICOS表达与T细胞浸润的相关性。将来自约450个HNSCC肿瘤的ICOS mRNA水平与12基因T细胞相关趋化因子标志(chemokine signature)评分或FoxP3mRNA水平进行比较。每种肿瘤的归一化趋化因子标志或FoxP3mRNA的水平绘制在Y轴上,ICOS的mRNA水平绘制在X轴上。关联的斯皮尔曼相关性(Spearman correlation)(R)示于图上[Corr(S)]。>0.75(斯皮尔曼R)的相关性被视为强相关性的截止值。

[0102] 图3.使用TCGA RNA测序数据(NCI)比较约450个HNSCC肿瘤的ICOS mRNA表达。每种肿瘤的归一化CTLA-4或PD-1或PD-L1mRNA的水平绘制在Y轴上,ICOS的mRNA水平绘制在X轴上。关联的斯皮尔曼相关性(R)示于图上[Corr(S)]。ICOS表达水平与检查点分子CTLA-4、PD-1的表达显著相关。观察到ICOS与PD-L1之间的弱相关性。>0.75(斯皮尔曼R)的相关性被视为强相关性的截止值。

[0103] 图4.人NSCLC肿瘤的ICOS染色的变化强度的代表性图像。

[0104] 图5.来自人肿瘤的ICOS细胞密度的分布。在每种人肿瘤中测定ICOS细胞密度,并将来自每种肿瘤类型的平均ICOS密度绘制在Y轴上[NSCLC(N=100);HNSCC(N=102);乳腺癌,所有主要亚型(N=94);三阴性乳腺癌亚型,TNBC(N=95);卵巢癌(N=94)]。使用ANOVA进行统计分析。

[0105] 图6.NSCLC样品中ICOS细胞密度的多样性。A)在一组肺肿瘤样品(N=98)中评估ICOS表达的密度,并且基于阳性细胞/mm2的ICOS+密度对肿瘤进行分级。B)NSCLC临床样品(N=204)的第二独立群组中ICOS表达的多样性。

[0106] 图7.来自人癌症的不同T细胞亚组中ICOS细胞密度的分布。A)描绘不同T细胞区室中ICOS染色的代表性图像。箭头指向ICOS+FOXP3+Treg细胞或ICOS+CD8-CD4效应细胞。B)在FoxP3阳性CD4Treg或CD8阳性T细胞或CD8阴性和FoxP3阴性CD4阴性eff中分析来自单独肿瘤的ICOS细胞密度。绘制来自这些肿瘤类型中的每一种的平均ICOS密度和标准偏差。[肺癌(N=100);HNSCC(N=102);三阴性乳腺癌亚型,TNBC(N=95);卵巢癌(N=94)]。

[0107] 图8A-B.在PD-L1高NSCLC肿瘤中观察到高ICOS表达。通过利用PD-L1/ICOS/PD-1多重IHC,我们评估一组NSCLC腺癌(n=150)中的ICOS和PD-L1水平。A)ICOS、PD-1和PD-L1染色的PD-L1高(左图)或PD-L1低(右图)肿瘤的代表性图像。B)PD-L1高(>5%的细胞为PD-L1阳性)或PD-L1低(<5%的细胞为PD-L1阳性)鳞状细胞癌(左图)和腺癌(右图)中ICOS细胞密度的定量。

[0108] 图9A-C.人肿瘤TIL分析显示Treg细胞和CD4效应细胞中的ICOS表达。A)来自HNSCC患者(N=4)的不同T细胞亚组中PD-1和ICOS表达的代表性轮廓图。B)示出T细胞区室中ICOS单阳性细胞或ICOS PD-1双阳性细胞的频率(HNSCC N=4;NSCLC N=3;卵巢癌N=4)。C)CD4Treg细胞和CD4Teff中ICOS水平的比较。绘制来自患者肿瘤样品的CD4T细胞亚组中如通过平均荧光强度(MFI;或ICOS几何平均值)所测量的ICOS的染色强度。

[0109] 图10A-C.A)示出在存在次最佳抗CD3的情况下抗ICOS抗体对板结合形式的原代人CD4+T细胞增殖的影响。分裂细胞的百分比以图表表示。B)示出在存在次最佳PMA的情况下抗ICOS抗体对可溶形式的人CD4+T细胞增殖的影响。分裂细胞的百分比以图表表示。C)示出在存在次最佳抗CD3的情况下抗ICOS抗体37A10S713-hIgG1对板结合形式的原代人CD4+T细胞增殖的影响。

[0110] 图11A-B.示出NF-kB报告测定中对抗ICOS抗体的评估。图表示出GFP+细胞百分比。

[0111] 图12.示出在PBMC测定中用超抗原(SEB)刺激对可溶性抗ICOS抗体的评估。读出为IFNg产生。

[0112] 图13.在人T细胞增殖测定中在不存在抗CD3的情况下评估抗ICOS抗体的潜在超激动性。此测定中的读出为增殖百分比。

[0113] 图14A-B.在磷酸化AKT(pAKT)测定中在存在或不存在二级交联剂的情况下对抗ICOS抗体的评估。读出是pAKT阳性CD4T细胞的百分比。A)不存在二级交联剂的情况下的结果。B)存在二级交联剂的情况下的结果。

[0114] 图15A-B.在Sa1/N纤维肉瘤同基因肿瘤模型中评估抗ICOS抗体。肿瘤生长绘制在y轴上。A)虚线指示单独小鼠的肿瘤生长;实线指示所述组的平均生长曲线。指示每组无肿瘤小鼠的数目。B)每个治疗组的平均肿瘤体积。

[0115] 图16.先前用抗ICOS 7F12治疗的无肿瘤小鼠用Sa1/N肿瘤重激发,肿瘤生长绘制在y轴上。

[0116] 图17.具有mG1和mG2a Fc的仓鼠抗ICOS抗体37A10对Sa1/N肿瘤生长的影响。虚线指示单独小鼠的单独肿瘤生长;实线指示所述组的平均肿瘤生长曲线。指示每组无肿瘤小鼠的数目。

[0117] 图18.在CT26同基因肿瘤模型中对作为单一药剂或与抗PD1的组合的抗ICOS抗体的评估。虚线指示单独小鼠;实线指示所述组的平均生长曲线。指示每组无肿瘤小鼠的数目。

[0118] 图19.抗ICOS抗体治疗时的Sa1/N肿瘤中FoxP3+Treg的耗尽。示出脾和肿瘤中CD8、CD4Teff和Treg细胞的频率以及每毫克肿瘤的Treg数目。每个形状指示单独小鼠。

[0119] 图20.抗ICOS抗体治疗时的Sa1/N肿瘤中Treg的耗尽以及Teff细胞的活化。顶行:肿瘤中CD8、CD4Teff和Treg细胞的频率、CD8与Treg的比率以及PD-1+CD8T细胞的频率。底行:肿瘤中将Ki-67+CD8和CD4Teff细胞以及Tbet+CD4Teff细胞在CD3+细胞中分配的频率。每个形状指示单独小鼠。

[0120] 图21.在T细胞耗尽之后在Sa1/N肿瘤模型中对抗ICOS抗体的评估。绘制随时间推移的肿瘤生长。指示无肿瘤小鼠的数目。

[0121] 图22A-B.A)在PBMC测定中在用人源化抗ICOS抗体治疗时Tegs细胞的减少。B)Treg和Teff细胞在IL-2治疗5天后表达类似水平的ICOS。

[0122] 图23.用抗ICOS抗体治疗后的肿瘤重激发。左图示出施用一剂或两剂抗ICOS抗体后小鼠的肿瘤体积。右图示出在肿瘤重激发后、在施用抗ICOS抗体后对照小鼠或无肿瘤小鼠的肿瘤体积。

[0123] 图24A-B.施用抗ICOS抗体的带有Sa1/N肿瘤的小鼠(A)和食蟹猴(B)中的ICOSL表达增加。

[0124] 图25.在6小时(上图)或24小时(下图)时用抗ICOS抗体(右图)或抗PD-1抗体(左图)处理肺肿瘤组织之后Th-1趋化因子和细胞因子表达的变化。

[0125] 图26.在用激动剂和拮抗剂抗ICOS抗体治疗之后来自三种不同供体的Teff细胞(A、C、E)和Treg细胞(B、D、F)上的NKp46配体水平。

[0126] 图27.来自用激动剂抗ICOS抗体处理的NK细胞的CD16损失(CD16脱落)。

[0127] 一些实施方案的详述

[0128] 提供结合ICOS的抗体。还提供能够形成结合ICOS的抗体的抗体重链和轻链。此外，提供包含一个或多个特定互补决定区(CDR)的抗体、重链和轻链。提供编码ICOS的抗体的多核苷酸。还提供编码抗体重链或轻链的多核苷酸。提供产生和/或纯化ICOS的抗体的方法。提供使用ICOS的抗体的治疗方法。此类方法包括但不限于治疗癌症的方法。提供检测ICOS的方法。此类方法包括鉴定可能受益于用抗ICOS抗体进行的治疗的个体的方法，以监测用抗ICOS抗体对个体进行的治疗并改善抗ICOS抗体在个体中的治疗功效。

[0129] 本文所用的章节标题仅出于组织目的，并且不应解释为限制所述主题。

[0130] 本文中引用的所有参考文献(包括专利申请、专利公布和Genbank登录号)均以引用的方式并入本文，如同特别地且单独地指示每个单独参考文献以引用的方式整体并入一样。

[0131] 本文所述或参考的技术和程序通常由本领域技术人员良好理解并使用常规方法来普遍采用，所述常规方法例如像以下文献中所述的广泛利用的方法：Sambrook等人，Molecular Cloning:A Laboratory Manual第3版(2001)Cold Spring Harbor Laboratory Press，Cold Spring Harbor、N.Y.CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY(F.M.Ausubel，等人编，(2003))；丛书METHODS IN ENZYMOLOGY(Academic Press，Inc.)：PCR 2:A PRACTICAL APPROACH(M.J.MacPherson，B.D.Hames和G.R.Taylor编(1995))，Harlow和Lane编(1988)ANTIBODIES，A LABORATORY MANUAL，and ANIMAL CELL CULTURE(R.I.Freshney编(1987))；Oligonucleotide Synthesis(M.J.Gait编，1984)；Methods in Molecular Biology，Humana Press；Cell Biology:A Laboratory Notebook(J.E.Cellis编，1998)Academic Press；Animal Cell Culture(R.I.Freshney)，编，1987)；Introduction to Cell and Tissue Culture(J.P.Mather和P.E.Roberts，1998)Plenum Press；Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures(A.Doyle，J.B.Griffiths和D.G.Newell，编，1993-8)J.Wiley and Sons；Handbook of Experimental Immunology(D.M.Weir和C.C.Blackwell编)；Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells(J.M.Miller和M.P.Calos，编，1987)；PCR:The Polymerase Chain Reaction，(Mullis等人，编，1994)；Current Protocols in Immunology(J.E.Coligan等人，编，1991)；Short Protocols in Molecular Biology(Wiley和Sons，1999)；Immunobiology(C.A.Janeway和P.Travers，1997)；Antibodies(P.Finch，1997)；Antibodies:A Practical Approach(D.Catty编，IRL Press，1988-1989)；Monoclonal Antibodies:A Practical Approach(P.Shepherd和C.Dean编，Oxford University Press，2000)；Using Antibodies:A Laboratory Manual(E.Harlow和D.Lane(Cold Spring Harbor Laboratory Press，1999)；The Antibodies(M.Zanetti和J.D.Capra编，Harwood Academic Publishers，1995)；以及Cancer:Principles and Practice of Oncology(V.T.DeVita等人编，J.B.Lippincott Company，1993)；及其更新版本。

[0132] I.定义

[0133] 除非另外定义，否则与本公开关联使用的科学和技术术语将具有由本领域普通技术人员通常所理解的含义。此外，除非另外为上下文所需或明确指示，否则单数术语将包括复数，并且复数术语将包括单数。对于各种来源或参考文献之间的定义的任何冲突，以本文

中提供的定义为准。

[0134] 应理解，本文所述发明的实施方案包括由实施方案“组成”和/或“基本上由其组成”。如本文所使用，除非另外指出，否则单数形式“一个/一种(a/an)”和“所述(the)”包括复数个指示物。本文中术语“或”的使用不意在暗示指替代选择是相互排斥的。

[0135] 在本申请中，除非明确规定或由本领域技术人员所理解，否则“或”的使用意指“和/或”。在多重从属性权利要求的情形下，使用“或”回指一个以上前述独立性或从属性权利要求。

[0136] 如本领域技术人员所理解，本文中对“约”某一值或参数的提及包括(并且描述)针对所述值或参数本身的实施方案。例如，关于“约X”的描述包括“X”的描述。

[0137] 术语“核酸分子”、“核酸”和“多核苷酸”可互换使用，并且是指核苷酸的聚合物。所述核苷酸的聚合物可含有天然和/或非天然核苷酸，并且包括但不限于DNA、RNA和PNA。“核酸序列”是指构成核酸分子或多核苷酸的线性核苷酸序列。

[0138] 术语“多肽”与“蛋白质”可互换用于指代氨基酸残基的聚合物，并且不限于最小长度。所述氨基酸残基的聚合物可含有天然或非天然氨基酸残基，并且包括但不限于由氨基酸残基组成的肽、寡肽、二聚体、三聚体和多聚体。全长蛋白质和其片段两者均由所述定义涵盖。该术语还包括多肽的表达后修饰，例如糖基化、唾液酸化、乙酰化、磷酸化等。此外，出于本公开的目的，“多肽”是指包括对天然序列的修饰，诸如缺失、添加和取代(在自然界中通常是保守性的)的蛋白质，只要所述蛋白质维持所需活性即可。这些修饰可为有意的，如通过定点诱变，或可为偶然的，如通过产生蛋白质的宿主的突变或归因于PCR扩增的错误。

[0139] 本文所用的“ICOS”和“可诱导T细胞共刺激”是指由细胞中ICOS的表达和加工产生的任何天然ICOS。除非另外指示，否则该术语包括来自任何脊椎动物来源的ICOS，所述脊椎动物来源包括哺乳动物，诸如灵长类动物(例如人和食蟹猴)；和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)。该术语也包括ICOS的天然存在的变体，例如剪接变体或等位基因变体。具有信号序列的示例性人ICOS前体蛋白的氨基酸序列(具有信号序列，氨基酸1-20)示于SEQ ID NO:1中。示例性成熟人ICOS的氨基酸序列示于SEQ ID NO:2中。具有信号序列的示例性小鼠ICOS前体蛋白的氨基酸序列(具有信号序列，氨基酸1-20)示于SEQ ID NO:3中。示例性成熟小鼠ICOS的氨基酸序列示于SEQ ID NO:4中。具有信号序列的示例性大鼠ICOS前体蛋白的氨基酸序列(具有信号序列，氨基酸1-20)示于SEQ ID NO:190中。示例性成熟大鼠ICOS的氨基酸序列示于SEQ ID NO:191中。具有信号序列的示例性食蟹猴ICOS前体蛋白的氨基酸序列(具有信号序列，氨基酸1-20)示于SEQ ID NO:5中。示例性成熟食蟹猴ICOS的氨基酸序列示于SEQ ID NO:6中。

[0140] 术语“特异性结合”至抗原或表位是本领域众所周知的术语，并且确定此类特异性结合的方法也是本领域众所周知的。如果分子与其与可替代细胞或物质反应或缔合相比，更频繁地、更快速地、以更长持续时间和/或以更高亲和力与特定细胞或物质反应或缔合，则所述分子据称展示“特异性结合”或“优先结合”。如果抗体与其结合至其他物质相比，以更大的亲和力(affinity)、亲合力(avidity)、更容易地和/或以更久的持续时间结合，则所述抗体“特异性结合”或“优先结合”至靶标。例如，特异性或优先结合至ICOS表位的抗体为与其结合至其他ICOS表位或非ICOS表位相比以更大的亲和力、亲合力、更容易地和/或以更久的持续时间结合此表位的抗体。通过阅读此定义还应理解，例如，特异性或优先结合第一

靶标的抗体(部分或表位)可以或可以不特异性或优先结合至第二靶标。因此,“特异性结合”或“优先结合”并不一定需要(尽管其可包括)排外的结合。一般来说,但不一定,对结合的提及意指优先结合。“特异性”是指结合蛋白选择性地结合抗原的能力。

[0141] 如本文所用的术语“基本上纯的”是指一种物质,其至少为50%纯的(即,不含污染物),优选至少为90%纯的,更优选至少为95%纯的,仍更优选至少为98%纯的,且最优选至少为99%纯的。

[0142] 如本文所用,术语“表位”是指抗原结合分子(例如抗体、抗体片段或含有抗体结合区的支架蛋白)所结合的靶分子(例如抗原,诸如蛋白质、核酸、碳水化合物或脂质)上的位点。表位通常包括分子的化学活性表面分组(诸如氨基酸、多肽或糖侧链),并且具有特定三维结构特征,以及特定电荷特征。表位可由靶分子的连续和/或并置的不连续残基(例如,氨基酸、核苷酸、糖、脂质部分)形成。由连续残基(例如,氨基酸、核苷酸、糖、脂质部分)形成的表位通常在暴露于变性溶剂时得以保留,而通过三级折叠形成的表位在用变性溶剂处理时失去。表位可包括但不限于至少3个、至少5个或8-10个残基(例如,氨基酸或核苷酸)。在一些实例中,表位的长度小于20个残基(例如,氨基酸或核苷酸)、小于15个残基或少于12个残基。如果两个抗体对抗原展示出竞争性结合,则其可结合抗原内的相同表位。在一些实施方案中,表位可通过与抗原结合分子上CDR残基的一定最小距离来鉴定。在一些实施方案中,表位可通过以上距离鉴定,并且还限于涉及抗体残基与抗原残基之间的键(例如,氢键)的那些残基。表位还可通过各种扫描来鉴定,例如丙氨酸或精氨酸扫描可指示一个或多个残基,所述抗原结合分子可与所述一个或多个残基相互作用。除非明确表示,否则作为表位的一组残基不排除其他残基作为特定抗体的表位的一部分。相反,这种组的存在指定表位的最小系列(或种类组)。因此,在一些实施方案中,鉴定为表位的一组残基指定对抗原具有相关性的最小表位,而不是抗原上表位的残基的排他性列表。

[0143] “非线性表位”或“构象表位”包含对所述表位特异性的抗体所结合的抗原性蛋白质内的非邻接多肽、氨基酸和/或糖。在一些实施方案中,至少一个残基与表位的其他所述残基不邻接;然而,一个或多个残基还可与其他残基邻接。

[0144] “线性表位”包含对所述表位特异性的抗体所结合的抗原性蛋白质内的邻接多肽、氨基酸和/或糖。应注意,在一些实施方案中,不是线性表位内的每个残基均需要与抗体直接结合(或参与结合)。在一些实施方案中,线性表位可来自用有效地由线性表位的序列组成的肽进行的免疫,或者来自与蛋白质的其余部分相对分离的蛋白质的结构部分(使得抗体可至少首先仅与所述序列部分相互作用)。

[0145] 术语“抗体”在本文中是以最广泛意义使用且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性(诸如双特异性T细胞衔接器(T-cell engager))和三特异性抗体)和抗体片段,只要其展示出所需抗原结合活性即可。

[0146] 术语抗体包括但不限于能够结合至抗原的片段,诸如Fv、单链Fv(scFv)、Fab、Fab'、二scFv、sdAb(单结构域抗体)和$(Fab')_2$(包括化学连接的$F(ab')_2$)。木瓜蛋白酶消化抗体产生两个称为“Fab”片段的相同抗原结合片段,各自具有单个抗原结合位点;和残余“Fc”片段,其名称反映其易于结晶的能力。胃蛋白酶处理产生具有两个抗原结合位点并且仍能够交联抗原的$F(ab')_2$片段。术语抗体还包括但不限于嵌合抗体、人源化抗体和各种物种诸如小鼠、人、食蟹猴等的抗体。此外,对于本文提供的所有抗体构建体,还考虑具有来自

其他生物体的序列的变体。因此，如果公开抗体的人形式，则本领域技术人员将了解如何将基于人序列的抗体转化至小鼠、大鼠、猫、狗、马等序列中。抗体片段还包括单链scFv、串联二scFv、二抗体、串联三sdcFv、微型抗体等的任一取向。抗体片段还包括纳米抗体(sdAb，具有单个单体结构域(诸如重链的一对可变结构域)而没有轻链的抗体)。在一些实施方案中，抗体片段可被称为特异性物质(例如，人scFv或小鼠scFv)。这表示非CDR区的至少一部分的序列，而不是构建体的来源。

[0147] 术语“单克隆抗体”是指基本上同源的抗体群体中的抗体，即构成所述群体的单独抗体除可以微小量存在的可能天然存在的突变外均相同。单克隆抗体是高度特异性的，针对单一抗原位点。此外，与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂不同，各单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。因此，单克隆抗体的样品可结合至抗原上的相同表位。修饰语“单克隆”指示抗体是从基本上均质的抗体群体获得的特性，且不应解释为需要通过任何特定方法来产生所述抗体。例如，单克隆抗体可通过首先由Kohler和Milstein，1975，Nature 256:495所述的杂交瘤方法制备，或可通过诸如美国专利号4,816,567中所述的重组DNA方法制备。单克隆抗体还可从使用例如McCafferty等人，1990，Nature 348:552-554中所述的技术产生的噬菌体文库中分离。

[0148] 术语“CDR”表示如由本领域技术人员的至少一种鉴定方式所定义的互补决定区。在一些实施方案中，CDR可根据Chothia编号方案、Kabat编号方案、Kabat和Chothia的组合、AbM定义、接触定义和/或Kabat、Chothia、AbM和/或接触定义的组合中的任一种来定义。示例性CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)出现在L1的氨基酸残基24-34处、L2的50-56处、L3的89-97处、H1的31-35B处、H2的50-65处和H3的95-102处。(Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD(1991))。AbM定义可包括例如L1的氨基酸残基24-34处、L2的50-56处、L3的89-97处、H1的H26-H35B处、H2的50-58处和H3的95-102处的CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)。接触定义可包括例如L1的氨基酸残基30-36处、L2的46-55处、L3的89-96处、H1的30-35处、H2的47-58处和H3的93-101处的CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)。Chothia定义可包括例如L1的氨基酸残基24-34处、L2的50-56处、L3的89-97处、H1的26-32…34处、H2的52-56处和H3的95-102处的CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)。CDR还可如附图中任一个或多个所示来提供。除V_H中的CDR1之外，CDR通常包含形成高变环的氨基酸残基。抗体内的各种CDR可由其适当数目和链型定名，无限制性地包括如：a)CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3；b)CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2和CDRH3；c)LCDR-1、LCDR-2、LCDR-3、HCDR-1、HCDR-2和HCDR-3；或d)LCDR1、LCDR2、LCDR3、HCDR1、HCDR2和HCDR3等。术语“CDR”在本文中还用于涵盖HVR或“高变区”，包括高变环。示例性高变环存在于氨基酸残基26-32(L1)、50-52(L2)、91-96(L3)、26-32(H1)、53-55(H2)及96-101(H3)处。(Chothia和Lesk，J.Mol.Biol.196:901-917(1987)。)

[0149] 如本文所用的术语“重链可变区”是指包含至少三个重链CDR的区。在一些实施方案中，重链可变区包括三个CDR和至少FR2和FR3。在一些实施方案中，重链可变区包括至少重链HCDR1、框架(FR)2、HCDR2、FR3和HCDR3。在一些实施方案中，重链可变区也包含至少一部分FR1和/或至少一部分FR4。

[0150] 如本文所用的术语“重链恒定区”是指包含至少三个重链恒定结构域C_H1、C_H2和C_H3的区域。当然，除非另有指定，否则结构域内的非功能变更性缺失和变更均涵盖在术语“重链恒定区”的范围内。非限制性示例性重链恒定区包括γ、δ和α。非限制性示例性重链恒定区也包括ε和μ。各重恒定区对应于抗体同种型。例如，包含γ恒定区的抗体是IgG抗体，包含δ恒定区的抗体是IgD抗体，并且包含α恒定区的抗体是IgA抗体。此外，包含μ恒定区的抗体是IgM抗体，并且包含ε恒定区的抗体是IgE抗体。某些同种型还可细分成亚类。例如，IgG抗体包括但不限于IgG1(包含γ_1恒定区)、IgG2(包含γ_2恒定区)、IgG3(包含γ_3恒定区)和IgG4(包含γ_4恒定区)抗体；IgA抗体包括但不限于IgA1(包含α_1恒定区)和IgA2(包含α_2恒定区)抗体；并且IgM抗体包括但不限于IgM1和IgM2。

[0151] 如本文所用的术语“重链”是指包含至少重链可变区的有或无前导序列的多肽。在一些实施方案中，重链包含至少一部分重链恒定区。如本文所用的术语“全长重链”是指包含重链可变区和重链恒定区的有或无前导序列的多肽。

[0152] 如本文所用的术语“轻链可变区”是指包含至少三个轻链CDR的区。在一些实施方案中，轻链可变区包括三个CDR和至少FR2和FR3。在一些实施方案中，轻链可变区包括至少轻链LCDR1、框架(FR)2、LCDR2、FR3和LCDR3。例如，轻链可变区可包含轻链CDR1、框架(FR)2、CDR2、FR3和CDR3。在一些实施方案中，轻链可变区还包含FR1的至少一部分和/或FR4的至少一部分。

[0153] 如本文所用的术语“轻链恒定区”是指包含轻链恒定结构域C_L的区。非限制性示例性轻链恒定区包括λ和κ。当然，除非另有指定，否则结构域内的非功能变更性缺失和变更均涵盖在术语“轻链恒定区”的范围内。

[0154] 如本文所用的术语“轻链”是指包含至少轻链可变区的有或无前导序列的多肽。在一些实施方案中，轻链包含至少一部分轻链恒定区。如本文所用的术语“全长轻链”是指包含轻链可变区和轻链恒定区的有或无前导序列的多肽。

[0155] 出于本文的目的，“受者人框架”为以下框架：其包含源于如以下定义的人免疫球蛋白框架或人共有框架的轻链可变结构域(V_L)框架或重链可变结构域(V_H)框架的氨基酸序列。来源于人免疫球蛋白框架或人共有框架的受者人框架可包含其相同氨基酸序列，或其可含有氨基酸序列变化。在一些实施方案中，氨基酸变化数目为10或更少、9或更少、8或更少、7或更少、6或更少、5或更少、4或更少、3或更少、或2或更少。在一些实施方案中，V_L受者人框架在序列方面与V_L人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列相同。

[0156] “亲和力”是指分子(例如抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。分子X对其配偶体Y的亲和力可通常由解离常数(K_D)表示。亲和力可通过本领域已知的常规方法(例如像，ELISA K_D、KinExA、生物膜干涉法(BLI)和/或表面等离子体共振装置(诸如，BIAcore®装置)包括本文所描述的那些方法)来测量。

[0157] 本文所用的术语“K_D”是指抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0158] 在一些实施方案中，通过使用表面等离子体共振测定使用BIACORE®-2000或BIACORE®-3000(BIAcore，Inc.，Piscataway，N.J.)在25℃下以约10个响应单位(RU)的固定化抗原CM5芯片来测量抗体的“K_D”、“K_d”、“Kd”或“Kd值”。简言之，根据供货商说明书用N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺盐酸盐(EDC)及N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活化

羧甲基化葡聚糖生物传感器芯片(CM5,BIACORE公司)。用10mM乙酸钠(pH 4.8)将抗原稀释至5μg/ml(约0.2μM),随后在流速5μL/min下注射以实现约10响应单位(RU)的偶联蛋白。在注射抗原之后,注射1M乙醇胺以封闭未反应的基团。对于动力学测量,在25℃下在流速约25μL/min下将多肽例如全长抗体的连续稀释液注射于含0.05%TWEEN-20™表面活性剂的PBS(PBST)中。通过同时拟合缔合和解离传感器图,使用简单一对一朗缪尔结合模型(BIACORE®评估软件3.2版)计算缔合速率(k_{on})和解离速率(k_{off})。平衡解离常数(K_d)被计算为比率k_{off}/k_{on}。参见,例如,Chen等人,J.Mol.Biol.293:865-881(1999)。如果根据以上表面等离子体共振测定的缔合速率超过$10^6M^{-1}s^{-1}$,则可通过使用荧光淬灭技术来测定缔合速率,所述荧光淬灭技术测量在如在分光计(诸如停流配备分光光度计(Aviv Instruments)或具有搅拌比色皿的8000系列SLM-AMINCO™分光光度计(ThermoSpectronic))中测量的递增浓度的抗原存在下,在25℃下于PBS(pH 7.2)中的20nM抗抗原抗体的荧光发射强度(激发=295nm;发射=340nm,16nm带通)的增加或降低。

[0159] 在一些实施方案中,所述两个值(例如,K_d值)之间的差异基本上相同,例如根据参照/比较值而小于约50%、小于约40%、小于约30%、小于约20%和/或小于约10%。

[0160] 在一些实施方案中,所述两个值(例如,K_d值)之间的差异基本上相同,例如根据参照/比较分子的值而大于约10%、大于约20%、大于约30%、大于约40%和/或大于约50%。

[0161] “表面等离子体共振”表示允许通过例如使用BIAcore™系统(BIAcore International AB(GE Healthcare公司),Uppsala,Sweden和Piscataway,N.J.)检测生物传感器基质内蛋白质浓度的变化来分析实时生物特异性相互作用的光学现象。对于进一步描述,参见Jonsson等人(1993)Ann.Biol.Clin.51:19-26。

[0162] “生物膜干涉法”是指分析从生物传感器尖端和内部参照层上的固定化蛋白层反射的光的干涉图案的光学分析技术。结合至生物传感器尖端的分子数目的变化会导致实时测量的干涉图案的偏移。用于生物膜干涉法的非限制性示例性装置为ForteBio Octet® RED96系统(Pall Corporation)。参见,例如Abdiche等人,2008,Anal.Biochem.377:209-277。

[0163] 如本文所用的术语“k_{on}”是指抗体与抗原缔合的速率常数。具体地,使用具有单价ICOS抗原的IgG(二价)测量速率常数(k_{on}和k_{off})和平衡解离常数。“K_{on}”、“k_{on}”、“缔合速率常数”或“ka”在本文中可互换使用。所述值表示结合蛋白与其靶抗原的结合速率或抗体与抗原之间的复合物形成速率,由以下反应式所示:抗体(“Ab”)+抗原(“Ag”)→Ab-Ag。

[0164] 如本文所用的术语“k_{off}”是指抗体从抗体/抗原复合物中解离的速率常数。k_{off}还表示为“K_{off}”或“解离速率常数”。这个值指示抗体自其靶抗原的解离速率或Ab-Ag复合物随时间推移分开成游离抗体和抗原的解离速率,如由以下反应式所示:

[0165] Ab+Ag←Ab-Ag

[0166] 术语“生物活性”是指分子的任何一种或多种生物学特性(无论是天然存在,如存在于体内,还是通过重组手段提供或启用)。生物学特性包括但不限于结合受体、诱导细胞增殖、抑制细胞生长、诱导其他细胞因子、诱导细胞凋亡和酶活性。在一些实施方案中,ICOS蛋白的生物学活性包括例如与Th1和Th2细胞相关的T细胞增殖和细胞因子分泌的共刺激;Treg细胞的调控;对T细胞分化的影响,包括转录因子基因表达的调节;通过PI3K和AKT途径诱导信号传导;以及介导ADCC。

[0167] “亲和力成熟的”抗体是指与在一个或多个CDR中不具有一种或多种改变的亲本抗体相比，具有此类改变的抗体，此类改变会导致抗体对抗原的亲和力的改善。

[0168] 如本文所用的“嵌合抗体”是指重链和/或轻链的一部分来源于特定来源或物种，而重链和/或轻链的其余部分中的至少一部分来源于不同来源或物种的抗体。在一些实施方案中，嵌合抗体是指包含至少一个来自第一物种(诸如，小鼠、大鼠、食蟹猴等)的可变区和至少一个来自第二物种(诸如，人、食蟹猴等)的恒定区的抗体。在一些实施方案中，嵌合抗体包含至少一个小鼠可变区和至少一个人恒定区。在一些实施方案中，嵌合抗体包含至少一个食蟹猴可变区和至少一个人恒定区。在一些实施方案中，嵌合抗体的全部可变区都来自第一物种，并且嵌合抗体的全部恒定区都来自第二物种。嵌合抗体还可为如上所述的功能性片段。

[0169] 如本文所用的“人源化抗体”是指非人可变区的框架区中的至少一个氨基酸已被来自人可变区的相应氨基酸替换的抗体。在一些实施方案中，人源化抗体包含至少一个人恒定区或其片段。在一些实施方案中，人源化抗体为抗体片段，诸如Fab、scFv、$(Fab')_2$等。术语人源化还表示作为嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(诸如抗体的Fv、Fab、Fab’、$F(ab')_2$或其他抗原结合子序列)的含有非人免疫球蛋白的最小序列的非人(例如，鼠)抗体的形式。人源化抗体可包括来自接受者的互补决定区(CDR)的残基被来自非人物种(供体抗体)的CDR的残基取代的具有所需的特异性、亲和力和容量的人免疫球蛋白(接受者抗体)，所述非人物种诸如小鼠、大鼠或兔。在一些情况下，人免疫球蛋白的Fv构架区(FR)残基被相应的非人残基替换。此外，人源化抗体可包含在接受者抗体或重要的CDR或框架序列中均不存在但被包括以进一步改进和优化抗体性能的残基。通常，所述人源化抗体可包含至少一个且通常两个可变结构域的基本全部，其中全部或基本全部的CDR区对应于非人免疫球蛋白的那些CDR区且全部或基本全部的FR区为人免疫球蛋白共有序列的那些FR区。在一些实施方案中，人源化抗体还可以包含免疫球蛋白恒定区或结构域的至少一部分(Fc)，通常为人免疫球蛋白的一部分。其他形式的人源化抗体具有相对于原始抗体改变的一个或多个CDR(CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2和/或CDR H3)，其也称为“来源于”原始抗体的一个或多个CDR的一个或多个CDR。将理解，人源化序列可通过其一级序列来鉴定，并且不一定表示产生抗体的过程。

[0170] 如本文所用的“CDR移植抗体”是指第一(非人)物种的一个或多个互补决定区(CDR)已移植于第二(人)物种的框架区(FR)上的人源化抗体。

[0171] 如本文所用的“人抗体”涵盖在人中产生的抗体、在包含人免疫球蛋白基因的非人动物(诸如XenoMouse®小鼠)中产生的抗体以及使用体外方法选择的抗体，所述体外方法诸如噬菌体展示(Vaughan等人，1996，Nature Biotechnology，14:309-314；Sheets等人，1998，Proc.Natl.Acad.Sci.(USA)95:6157-6162；Hoogenboom和Winter，1991，

[0172] J.Mol.Biol.，227:381；Marks等人，1991，J.Mol.Biol.，222:581)，其中所述抗体集合基于人免疫球蛋白序列。术语“人抗体”表示作为人序列的序列类。因此，所述术语不指定产生抗体的过程，而是指定相关序列类。

[0173] “功能性Fc区”具有天然序列Fc区的“效应功能”。示例性“效应功能”包括Fc受体结合；C1q结合；CDC；ADCC；吞噬作用；细胞表面受体(例如B细胞受体；BCR)的下调等。此类效应功能通常需要将Fc区与结合结构域(例如，抗体可变结构域)组合，并且可使用各种测定来

评定。

[0174] “天然序列Fc区”包含与天然存在的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1Fc区(非A和A同种异型);天然序列人IgG2Fc区;天然序列人IgG3Fc区;和天然序列人IgG4Fc区以及其天然存在的变体。

[0175] “变体Fc区”包含与天然序列Fc区的氨基酸序列的不同之处在于至少一个氨基酸修饰的氨基酸序列。在一些实施方案中,“变体Fc区”包含与天然序列Fc区的氨基酸序列的不同之处在于至少一个氨基酸修饰但保留天然序列Fc区的至少一个效应功能的氨基酸序列。在一些实施方案中,与天然序列Fc区或亲本多肽的Fc区相比,变体Fc区具有至少一个氨基酸取代,例如在天然序列Fc区或母体多肽的Fc区中为约1至约10个氨基酸取代,并且优选为约1至5个氨基酸取代。在一些实施方案中,本文的变体Fc区域将与天然序列Fc区和/或与亲本多肽的Fc区具有至少约80%的序列同一性,与其具有至少约90%序列同一性、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%序列同一性。

[0176] “Fc受体”或“FcR”描述结合至抗体Fc区的受体。在一些实施方案中,FcγR为天然人FcR。在一些实施方案中,FcR为结合IgG抗体的受体(γ受体)且包括FcγRI、FcγRII及FcγRIII亚类的受体,包括那些受体的等位基因变体和可替代剪接形式。FcγRII受体包括FcγRIIA(“活化受体”)和FcγRIIB(“抑制受体”),所述受体具有主要在其细胞质结构域方面不同的类似氨基酸序列。活化受体FcγRIIA在其细胞质结构结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)。抑制性受体FcγRIIB在其胞质结构结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM)。(参见,例如Daeron,Annu.Rev.Immunol.15:203-234(1997))。FcR例如在Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol 9:457-92(1991);Capel等人,Immunomethods 4:25-34(1994);以及de Haas等人,J.Lab.Clin.Med.126:330-41(1995)中有所综述。本文中的术语“FcR”涵盖其他FcR,包括将来待鉴定的FcR。

[0177] 术语“Fc受体”或“FcR”还包括负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等人,J.Immunol.117:587(1976)和Kim等人,J.Immunol.24:249(1994))且调控免疫球蛋白的稳态的新生儿受体FcRn。测量与FcRn的结合的方法是已知的(参见,例如Ghetie和Ward.,Immunol.Today18(12):592-598(1997);Ghetie等人,Nature Biotechnology,15(7):637-640(1997);Hinton等人,J.Biol.Chem.279(8):6213-6216(2004);WO 2004/92219(Hinton等人)。

[0178] “效应功能”是指可归因于抗体的Fc区的生物活性,其随抗体同种型而变化。抗体效应功能的实例包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体)的下调;以及B细胞活化。

[0179] “人效应细胞”是表达一种或多种FcR并进行效应功能的白细胞。在一些实施方案中,细胞表达至少FcγRIII并进行一种或多种ADCC效应功能。介导ADCC的人白细胞的实例包括外周血单核细胞(PBMC)、天然杀伤(NK)细胞、单核细胞、细胞毒性T细胞和嗜中性粒细胞。效应细胞可从天然来源例如血液中分离。

[0180] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指一种形式的细胞毒性,其中结合于存在于某些细胞毒性细胞(例如NK细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞)上的Fc受体(FcR)上的分泌型Ig使得这些细胞毒性效应细胞能够特异性结合带有抗原的靶细胞并随后用细胞

毒素杀死靶细胞。用于介导ADCC的初级细胞NK细胞仅表达Fc γ RIII，而单核细胞表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。造血细胞上的FcR表达概述于Ravetch和Kinet，Annu.Rev.Immunol 9:457-92(1991)第464页上的表3中。为了评定目标分子的ADCC活性，可进行体外ADCC测定，诸如美国专利号5,500,362或5,821,337或美国专利号6,737,056(Presta)中所述的测定。用于此类测定的可用效应细胞包括PBMC和NK细胞。可替代地或另外，目标分子的ADCC活性可例如在动物模型，诸如Clynes等人Proc.Natl.Acad.Sci.(USA)95:652-656(1998)中公开的动物模型中进行体内评定。具有改变的Fc区氨基酸序列(具有变体Fc区的多肽)和增加或减少的ADCC活性的其他多肽变体在例如美国专利号7,923,538和美国专利号7,994,290中有所描述。

[0181] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指靶细胞在补体存在下的裂解。经典补体途径的活化通过补体系统的第一组分(C1q)结合至抗体(合适子类)来启始，所述抗体结合至其同源抗原。为了评定补体活化，可进行例如如Gazzano-Santoro等人，J.Immunol.Methods 202:163(1996)中所述的CDC测定。具有改变的Fc区氨基酸序列(具有变体Fc区的多肽)和增加或减少的C1q结合能力的多肽变体例如在美国专利号6,194,551B1、美国专利号7,923,538、美国专利号7,994,290和WO 1999/51642中所有描述。还参见，例如，Idusogie等人，J.Immunol.164:4178-4184(2000)。

[0182] 具有“改变的”FcR结合亲和力或ADCC活性的多肽变体为与亲本多肽或包含天然序列Fc区的多肽相比具有增强或减弱的FcR结合活性和/或ADCC活性的多肽变体。“显示与FcR增加的结合”的多肽变体以比亲本多肽更好的亲和力结合至少一种FcR。“显示与FcR减少的结合”的多肽变体以比亲本多肽更低的亲和力结合至少一种FcR。与天然序列IgG Fc区相比，显示与FcR减少的结合的此类变体可能具有很少或不具有与FcR的明显结合，例如与FcR的0-20％结合。

[0183] 与亲本抗体相比“在人效应细胞存在下更有效地介导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)”的多肽变体是当测定中所用的多肽变体和亲本抗体的量基本相同时在体外或体内在介导ADCC时更有效的多肽变体。一般来说，此类变体将使用如本文所公开的体外ADCC测定来鉴定，但还考虑用于例如在动物模型等中测定ADCC活性的其他测定或方法。

[0184] 如本文所用，术语“基本上相似”或“基本上相同”表示两个或更多个数值之间的足够高的相似程度，以使得本领域技术人员将认为在由所述值度量的生物学特性的背景下这两个或更多个值之间的差异几乎没有或没有生物学和/或统计显著性。在一些实施方案中，两个或更多个基本上相似的值相差不大约约5％、10％、15％、20％、25％或50％中的任一个。

[0185] 如本文所用，短语“基本上不同”表示两个数值之间的足够高的差异程度，以使得本领域技术人员将认为在由所述值度量的生物学特性的背景下这两个值之间的差异具有统计显著性。在一些实施方案中，两个基本不同的数值相差大于约10％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、70％、80％、90％或100％中的任一个。

[0186] 如本文所用，短语“基本上减少”表示数值与参照数值之间的足够高的减少程度，以使得本领域技术人员将认为在由所述值度量的生物学特性的背景下这两个值之间的差异具有统计显著性。在一些实施方案中，与参照值相比，基本上减少的数值减少大于约10％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、60％、70％、80％、90％或100％中的任一个。

[0187] 术语“前导序列”是指位于多肽的N端的有助于多肽自哺乳动物细胞分泌的氨基酸残基的序列。前导序列可在多肽自哺乳动物细胞排出后裂解，从而形成成熟蛋白质。前导序列可为天然或合成的，并且它们可与它们所连接的蛋白质异源或同源。

[0188] “天然序列”多肽包括与自然界中存在的多肽具有相同氨基酸序列的多肽。因此，天然序列多肽可具有来自任何哺乳动物的天然存在多肽的氨基酸序列。此类天然序列多肽可从自然界中分离，或者可通过重组或合成手段产生。术语“天然序列”多肽具体涵盖多肽的天然存在的截短或分泌形式(例如，细胞外结构域序列)、多肽的天然存在的变体形式(例如，可替代剪接形式)和天然存在的等位基因变体。

[0189] 多肽“变体”意指在比对序列并且必要时引入空位以实现最大序列同一性百分比，并且不考虑任何保守性取代作为序列同一性的一部分之后，与天然序列多肽具有至少约80％氨基酸序列同一性的生物活性多肽。此类变体包括例如在多肽的N或C端添加或缺失一个或多个氨基酸残基的多肽。在一些实施方案中，变体将具有至少约80％氨基酸序列同一性。在一些实施方案中，变体将具有至少约90％氨基酸序列同一性。在一些实施方案中，变体将与天然序列多肽具有至少约95％氨基酸序列同一性。

[0190] 如本文所用，关于肽、多肽或抗体序列的“氨基酸序列同一性百分比(％)”和“同源性”定义为在比对序列并且必要时引入空位以实现最大序列同一性百分比，并且不考虑任何保守性取代作为序列同一性的一部分之后，候选序列中与具体多肽或多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于测定氨基酸序列同一性百分比的目的的比对可以属于本领域中的技能的多种方式实现，所述方式例如使用可公开获得的计算机软件，诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN™(DNASTAR)软件。本领域技术人员可确定测量比对的适当参数，包括在所比较的序列的全长获得最大比对所需的任何算法。

[0191] 氨基酸取代可包括但不限于将多肽中的一种氨基酸替换为另一种氨基酸。示例性取代示于表1中。氨基酸取代可引入目标抗体和针对所需活性(例如，保留的/改善的抗原结合性、降低的免疫原性或改善的ADCC或CDC)筛选的产物中。

[0192] 表1

[0193]

原始残基	示例性取代
Ala (A)	Val； Leu； Ile
Arg (R)	Lys； Gln； Asn
Asn (N)	Gln； His； Asp、Lys； Arg
Asp (D)	Glu； Asn
Cys (C)	Ser； Ala
Gln (Q)	Asn； Glu
Glu (E)	Asp； Gln

[0194]

Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸

[0195] 可根据共同的侧链特性对氨基酸分组：

[0196] (1)疏水性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

[0197] (2)中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

[0198] (3)酸性：Asp、Glu；

[0199] (4)碱性：His、Lys、Arg；

[0200] (5)影响链取向的残基：Gly、Pro；

[0201] (6)芳族：Trp、Tyr、Phe。

[0202] 非保守性取代将需要将这些类别中的一类的成员更换成另一类别。

[0203] 术语“载体”用于描述可被工程改造以含有一种或多种可在宿主细胞中增殖的克隆的多核苷酸的多核苷酸。载体可包括以下元件中的一个或多个：复制起点、一种或多种调控目标多肽表达的调控序列(例如像启动子和/或增强子)、和/或一种或多种可选择标记基因(例如像抗生素抗性基因和可用于比色测定中的基因，例如β-半乳糖苷酶)。术语“表达载体”是指用于在宿主细胞中表达目标多肽的载体。

[0204] “宿主细胞”是指可为或已为载体或分离的多核苷酸的接受者的细胞。宿主细胞可为原核细胞或真核细胞。示例性真核细胞包括哺乳动物细胞，诸如灵长类动物或非灵长类动物细胞；真菌细胞，如酵母；植物细胞；以及昆虫细胞。非限制性示例性哺乳动物细胞包括但不限于NSO细胞、PER.C6®细胞(Crucell)、以及293和CHO细胞和它们的衍生物，分别诸如293-6E和DG44细胞。宿主细胞包括单一宿主细胞的子代，并且由于天然、偶然或有意突变，子代可以不必与原始亲本细胞完全相同(在形态方面或在基因组DNA互补序列方面)。宿主细胞包括用本文提供的一种或多种多核苷酸在体内转染的细胞。

[0205] 如本文所用的术语“分离的”是指分子已与通常与其一起存在于自然界中或所产生的至少一些组分分开。例如，当多肽与产生其的细胞的至少一些组分分开时，其称为“分离的”。当多肽在表达之后由细胞分泌时，将含有所述多肽的上清液与产生其的细胞物理地分开被视为“分离”所述多肽。类似地，当多核苷酸不是其通常在自然界中所存在于的较大多核苷酸(在DNA多核苷酸的情况下，例如像基因组DNA或线粒体DNA)的一部分，或例如在

RNA多核苷酸的情况下与产生其的细胞的至少一些组分分开时，其被称为“分离的”。因此，在宿主细胞内部的载体中含有的DNA多核苷酸可称为“分离的”。

[0206] 术语“个体”或“受试者”在本文中可互换用于指动物；例如哺乳动物。在一些实施方案中，提供治疗哺乳动物的方法，所述哺乳动物包括但不限于人、啮齿动物、猿、猫科动物、犬科动物、马、牛、猪、绵羊、山羊、哺乳动物实验室动物、哺乳动物家畜、哺乳动物体育动物和哺乳动物宠物。在一些实施方案中，“个体”或“受试者”是指需要治疗疾病或病症的个体或受试者。在一些实施方案中，待接受治疗的受试者可为患者，指定受试者已被鉴定为患有与治疗相关的病症或处于感染病症的足够风险中的事实。

[0207] 如本文所用的“疾病”或“病症”是指需要和/或期望治疗的病状。

[0208] 如本文所用的“癌症”和“肿瘤”为可互换的术语，其指动物中的任何异常细胞或组织生长或增殖。如本文所用，术语“癌症”和“肿瘤”涵盖实体和血液/淋巴癌，并且还涵盖恶性、恶性前和良性生长，诸如发育异常。癌症的实例包括但不限于癌瘤、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤和白血病。此类癌症的更具体的非限制性实例包括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、垂体癌、食道癌、星形细胞瘤、软组织肉瘤、非小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞状癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠癌、胰腺癌、成胶质细胞瘤、子宫颈癌、卵巢癌、肝癌(liver cancer)、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾脏癌、肾癌、肝癌、前列腺癌、阴外阴癌、甲状腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)、脑癌、子宫内膜癌、睾丸癌、胆管癌、胆囊癌、胃癌、黑色素瘤和各种类型的头颈癌。

[0209] 如本文所用，“治疗”是用于获得有利或所需临床结果的方法。如本文所用的“治疗”涵盖用于哺乳动物(包括人)的疾病的治疗剂的任何施用或应用。出于本公开的目的，有益或所需临床结果包括但不限于以下中的任何一种或多种：缓解一种或多种症状、减弱疾病程度、预防或延缓疾病的扩散(例如，转移，例如转移至肺或淋巴结)、预防或延缓疾病的复发、延缓或减缓疾病进展、改善疾病状态、抑制疾病或疾病进展、抑制或减缓疾病或其进展、阻止其发展和缓解(无论是部分还是全部)。“治疗”还涵盖减少增生性疾病的病理后果。本文提供的方法考虑这些治疗方面中的任何一种或多种。根据上述情况，术语治疗不需要百分之百除去所述病症的所有方面。

[0210] “改善”意指与不施用抗ICOS抗体相比，一种或多种症状的减轻或改善。“改善”还包括缩短或减少症状的持续时间。

[0211] 在癌症的情况下，术语“治疗”包括以下中的任一种或全部：抑制癌细胞的生长、抑制癌细胞的复制、减轻整体肿瘤负荷以及改善与所述疾病相关的一种或多种症状。

[0212] 术语“生物样品”意指一定量的来自生物(living thing)或先前的生物的物质。此类物质包括但不限于血液(例如全血)、血浆、血清、尿、羊水、滑液、内皮细胞、白细胞、单核细胞、其他细胞、器官、组织、骨髓、淋巴节和脾。

[0213] 具有“升高的ICOS水平”或“表达高水平的ICOS”或“$ICOS^{高}$”的样品意指ICOS的水平，使得本领域技术人员可得出以下结论：癌症可用抗ICOS疗法(诸如本文提供的抗体)来治疗。在一些实施方案中，“升高的ICOS水平”为肿瘤样品内1％细胞显示对ICOS的染色的ICOS水平。在一些实施方案中，关于ICOS的“高水平”为1％或更多染色，例如肿瘤样品内1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或100％的细胞显示染色。在一些实施方案中，ICOS水平可通过发色团IHC或免疫荧光IHC(Aqua评分)来测量。

[0214] “表达ICOS”或具有“ICOS阳性染色”或“ICOS阳性”的样品意指样品中1％或更多的细胞显示对ICOS的染色。在一些实施方案中，ICOS阳性的样品至少显示弱、中度和/或强细胞染色(基于ICOS的膜表达)。具有对ICOS的中度或强细胞染色的样品还被视为“$ICOS^{高}$”。

[0215] 具有“低PD-L1水平”或表达“低水平的PD-L1”或“$PD\text{-}L1^{低}$”的样品意指PD-L1的水平低于癌症的通常指示用PD-1疗法进行治疗的阈值水平。在一些实施方案中，“低PD-L1水平”为肿瘤中小于5％的细胞显示对PD-L1的膜染色的PD-L1水平。在一些实施方案中，关于PD-L1的“低水平”小于5％染色，例如肿瘤中的4％、3％、2％、1％或0％细胞显示染色。在一些实施方案中，PD-L1水平可通过发色团IHC或免疫荧光IHC(Aqua评分)来测量。表达不可检测的PD-L1的样品还据称“表达低水平的PD-L1”。因此，不可检测的PD-L1涵盖在术语“低”内。

[0216] 具有“升高的PD-L1水平”或“表达高水平的PD-L1”或“$PD\text{-}L1^{高}$”的样品意指PD-L1的水平，使得本领域技术人员可得出以下结论：癌症可用PD-1疗法来治疗。在一些实施方案中，“升高的PD-L1水平”是肿瘤中5％的细胞或更多细胞具有PD-L1的膜染色的PD-L1水平。在一些实施方案中，关于PD-L1的“高水平”为5％或更多染色，例如肿瘤中的5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或100％的细胞显示染色。在一些实施方案中，PD-L1水平可通过发色团IHC或免疫荧光IHC(Aqua评分)来测量。

[0217] “表达PD-L1”或具有“PD-L1阳性染色”或“PD-L1阳性”的样品意指1％或更多细胞具有对PD-L1的膜染色。在一些实施方案中，PD-L1阳性的样品至少显示弱、中度和/或强细胞染色(基于PD-L1的膜表达)。具有对PD-L1的中度或强细胞染色的样品还被视为“$PD\text{-}L1^{高}$”。

[0218] “缺乏PD-L1表达”或具有“PD-L1阴性染色”或“PD-L1阴性”的样品意指样品细胞表面上的PD-L1表达不可由IHC诸如发色团IHC或免疫荧光IHC(Aqua评分)检测到。PD-L1阴性样品还被视为“$PD\text{-}L1^{低}$”。

[0219] 在一些实施例中，可采用用于测量PD-L1水平的任何方法。在一些实施方案中，这可包括使用PD-L1IHC 22C3pharmDx测试(Dako Inc.，Carpinteria，CA)，其为用于评估NSCLC中PD-L1表达的临床验证和FDA批准的测试。PD-L1IHC 22C3pharmDx为使用单克隆小鼠抗PD-L1抗体(克隆22C3)进行的定性免疫组织化学测定，其可用于检测福尔马林固定石蜡包埋(FFPE)非小细胞肺癌(NSCLC)组织中的PD-L1蛋白。所述测定可在Autostainer Link 48系统上进行，并使用EnVision FLEX系统进行可视化。PD-L1蛋白表达使用肿瘤比例评分(Tumor Proportion Score，TPS)来证明合格，所述肿瘤比例评分为显示部分或完全膜染色的活肿瘤细胞的百分比。在一些实施方案中，如果TPS≥50％的活肿瘤细胞显示任何强度的膜染色，则将试样视为PD-L1阳性。PD-L1IHC 22C3pharmDx指示为有助于鉴定NSCLC患者是否可用KEYTRUDA®(派姆单抗)进行治疗。关于评分系统和对派姆单抗的应答的另外细节在Garon等人(N Engl J Med 2015;372:2018-28)的文章中有所描述。在一些实施方案中，如果肿瘤比例评分≥50％的活肿瘤细胞显示任何强度(即≥1+)的膜染色(部分或完全)，则NSCLC患者试样可视为PD-L1表达阳性。在一些实施方案中，这可具体地关于抗体克隆22C3。在一些实施方案中，如果TPS＝5％至50％的活肿瘤细胞显示任何强度的膜染色，则样品和/或患者视为PD-L1阳性。在一些实施方案中，如果TPS≥50％的活肿瘤细胞显示任何强度的膜染色，则样品和/或患者视为$PD\text{-}L1^{高}$。

[0220] 术语“对照”是指已知不含分析物(“阴性对照”)或已知含有分析物(“阳性对照”)

的组合物。阳性对照可包含已知浓度的分析物。“对照”、“阳性对照”和“校准物”在本文中可互换使用，以指包含已知浓度的分析物的组合物。“阳性对照”可用于建立测定性能特征，并且是试剂(例如分析物)的完整性的有用指示物。

[0221] “预定截止值”和“预定水平”一般是指通过相对于预定截止值/水平比较测定结果而用于评定诊断/预后/治疗功效结果的测定截止值，其中预定截止值/水平已与各种临床参数(例如疾病的严重程度、进展/无进展/改善等)相联系或相关联。虽然本公开可提供示例性预定水平，但熟知的是截止值可视免疫测定法的性质(例如所用抗体等)而变化。此外，基于本公开针对其他免疫测定法修改本文中的公开内容以获得用于那些其他免疫测定法的免疫测定法特定截止值完全在本领域人员的技术内。尽管预定截止值/水平的确切值在不同测定法之间可能有所不同，但如本文所述的相关性(如果存在)可一般是适用的。

[0222] 术语“抑制”是指任何表型特征的减少或终止或指该特征的发生率、程度或可能性的降低或终止。与参照相比，“降低”或“抑制”是减少、降低或阻止活型、功能和/或数量。在一些实施方案中，“降低”或“抑制”意指引起总体减少20％或更大的能力。在一些实施方案中，“降低”或“抑制”意指引起总体减少50％或更大的能力。在一些实施方案中，“降低”或“抑制”意指引起总体减少75％、85％、90％、95％或更大的能力。在一些实施方案中，相对于一定时间周期内的对照剂量(诸如安慰剂)，在所述相同时间周期内抑制或降低上述量。如本文所用的“参照”是指用于比较目的的任何样品、标准或水平。参照可获自健康和/或非患病样品。在一些实例中，参照可获自未处理的样品。在一些实例中，参照获自受试者个体的非患病或非治疗样品。在一些实例中，参照获自不作为受试者或患者的一个或多个健康个体。

[0223] 如本文所用，“延缓疾病发展”意指延迟、阻碍、减缓、阻滞、稳定、抑制和/或推迟疾病(诸如，癌症)的发展。取决于疾病史和/或治疗的个体，这种延缓可以有不同的时间长度。本领域技术人员显而易见，足够或显著的延迟实际上可涵盖预防，因为个体不发展所述疾病。例如，可延迟晚期癌症，诸如转移的发展。

[0224] 如本文所用，“预防”包括提供关于可能易患疾病但尚未诊断患有所述疾病的受试者的疾病的发生或复发的预防。除非另有规定，否则术语“降低”、“抑制”或“预防”不表示或要求随着所有时间推移的完全预防。

[0225] 如本文所用，“抑制”功能或活性是当与除了目标条件或参数之外的其他相同条件相比时或者可替代地与另一条件相比，降低功能或活性。例如，与不存在抗体的情况下的肿瘤生长速率相比，抑制肿瘤生长的抗体降低肿瘤的生长速率。

[0226] 物质/分子、激动剂或拮抗剂的“治疗有效量”可根据诸如以下的因素而变化：个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及物质/分子、激动剂或拮抗剂在个体中引发所需应答的能力。治疗有效量还是治疗有益效果胜过物质/分子、激动剂或拮抗剂的任何毒性或有害作用的量。治疗有效量可在一次或多次施用中递送。治疗有效量是指在必需剂量下并且持续必需的时间有效实现所需治疗和/或预防结果的量。

[0227] “防治有效量”是指在各种剂量下且持续必要时期，有效达成所需防治结果的量。通常但不一定地，由于预防剂量在疾病前或疾病早期阶段用于受试者，所以预防有效量将小于治疗有效量。

[0228] 术语“药物制剂”和“药物组合物”是指处于允许活性成分的生物活性有效的形式

并且不含有对进行所述制剂施用的受试者具有不可接受的毒性的另外组分的制剂。此类制剂可为无菌的。

[0229] “药学上可接受的载剂”是指供与治疗剂一起使用，共同构成用于向受试者施用的“药物组合物”的本领域中常规的无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、囊封物质、配制助剂或载剂。药学上可接受的载剂应在所用剂量和浓度下对接受者无毒，并且可与制剂的其他成分相容。药学上可接受的载剂应适于所用制剂。

[0230] “无菌”制剂是防腐的，或者基本上不含活微生物及其孢子。

[0231] “PD-1疗法”涵盖调节PD-1与PD-L1和/或PD-L2的结合的任何疗法。PD-1治疗可例如与PD-1和/或PD-L1直接相互作用。在一些实施方案中，PD-1疗法包括直接结合和/或影响PD-1的活性的分子。在一些实施方案中，PD-1疗法包括直接结合和/或影响PD-L1的活性的分子。因此，结合至PD-1或PD-L1并阻断PD-1与PD-L1的相互作用的抗体为PD-1治疗剂。当期望所需PD-1疗法的亚型时，将由短语“对涉及直接与PD-1相互作用的分子的疗法特异的PD-1”来指定，或者酌情由“对直接与PD-L1相互作用的分子特异的PD-L1”来指定。除非另有指定，否则本文中关于PD-1疗法含有的所有公开一般适用于PD-1疗法，以及PD-1特异性和/或PD-L1特异性疗法。非限制性PD-1疗法包括纳武单抗(抗PD-1抗体;BMS-936558、MDX-1106、ONO-4538;OPDIVO®;Bristol-Myers Squibb);pidilizumab(抗PD-1抗体,CureTech)、派姆单抗(抗PD-1抗体;KEYTRUDA®,MK-3475,lambrolizumab);durvalumab(抗PD-L1抗体,MEDI-4736;AstraZeneca/MedImmune);RG-7446;MSB-0010718C;AMP-224;BMS-936559(抗PD-L1抗体;Bristol-Myers Squibb);AMP-514;MDX-1105;ANB-011;抗LAG-3/PD-1;抗PD-1 Ab(CoStim);抗PD-1 Ab(Kadmon Pharm.);抗PD-1 Ab(Immunovo);抗TIM-3/PD-1 Ab(AnaptysBio);抗PD-L1 Ab(CoStim/Novartis);阿特珠单抗(atezolizumab)(抗PD-L1抗体,Genentech/Roche);avelumab(抗PD-L1抗体,MSB0010718C,Pfizer);KD-033,PD-1拮抗剂(Agenus);STI-A1010;STI-A1110;TSR-042;以及针对程序性死亡-1(PD-1)或程序性死亡配体1(PD-L1)的其他抗体。

[0232] 术语“IDO抑制剂”是指能够抑制吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)的活性并由此逆转IDO介导的免疫抑制的药剂。IDO抑制剂可抑制IDO1和/或IDO2(INDOL1)。IDO抑制剂可为可逆或不可逆的IDO抑制剂。“可逆的IDO抑制剂”为在催化位点或非催化位点处可逆地抑制IDO酶活性的化合物，并且“不可逆的IDO抑制剂”为通过与酶相互形成共价键来不可逆地抑制IDO酶活性的化合物。非限制性示例性IDO抑制剂包括Indoximod(New Link Genetics)、INCB024360(Incyte Corp.)、1-甲基-D-色氨酸(New Link Genetics)和GDC-0919(Genentech)。

[0233] “嵌合抗原受体T细胞疗法”或“CAR-T疗法”是指包含经遗传修饰以表达识别抗原的受体的T细胞的治疗剂，所述抗原由肿瘤细胞表达。抗原可为由肿瘤特异性表达的抗原或由癌细胞和健康组织表达的抗原。在一些实施方案中，CAR-T疗法是过继性CAR-T疗法，在所述过继性CAR-T疗法中将患者T细胞移除并修饰以表达嵌合抗原受体，然后返回到患者。参见，例如Dai等人，2016，J Natl Cancer Inst，108(7):djv439,doi:10.1093/jnci/djv439;Gill等人，2015，Blood Rev，pii:S0268-960X(15)00080-6，doi:10.1016/j.blre.2015.10.003;Gill等人，2015，Immunol Rev，263(1):68-89.doi:10.1111/imr.12243。

[0234] “与一种或多种其他治疗剂组合”施用包括同时(并行)施用和以任何顺序连续或依序施用。

[0235] 术语“并行”在本文中用于指两种或更多种治疗剂的施用,其中至少部分的施用的时间重叠,或者其中一种治疗剂的施用相对于另一种治疗剂的施用处于短时间周期内。例如,两种或更多种治疗剂以不多于约指定分钟数的时间间隔施用。

[0236] 术语“依序”在本文中用于指两种或更多种治疗剂的施用,其中一种或多种药剂的施用在停止给予一种或多种其他药剂后继续,或者其中一种或多种治疗剂的施用在一种或多种其他药剂施用之前开始。例如,两种或更多种治疗剂的施用以多于约指定分钟数的时间间隔施用。

[0237] 如本文所用,“与...联合”是指除了另一种治疗方式之外还施用一种治疗方式。因此,“与...联合”是指在向个体施用另一种治疗方式之前、期间或之后施用一种治疗方式。

[0238] 术语“包装插页”用于代表惯常包括在治疗产品的商业包装中的说明书,其含有关于适应症、用法、剂量、施用、组合疗法、禁忌症和/或涉及这些治疗产品的使用的警告的信息。

[0239] “制品”是包含至少一种试剂(例如用于治疗疾病或病症(例如癌症)的药物或用于特异性检测本文所述的生物标记的探针)的任何制造(例如,包装或容器)或试剂盒。在一些实施方案中,制品或试剂盒作为用于进行本文所述的方法的单位来推广、分发或出售。

[0240] 术语“标签”和“可检测标签”意指连接到抗体或其分析物以使特异性结合对成员之间的反应(例如,结合)可检测的部分。特异性结合对的标记成员称为“可检测标记的”。因此,术语“标记的结合蛋白”是指具有掺入的标签的蛋白质,其提供对结合蛋白的鉴定。在一些实施方案中,标签为可检测标记,其可产生可由视觉或工具性装置检测的信号,例如并入放射性标记的氨基酸或连接到具有可通过标记的抗生物素蛋白(例如,含有可通过光学或比色方法检测的荧光标记或酶促活性的链霉亲和素)检测的生物素部分的多肽。用于多肽的标签的实例包括但不限于以下:放射性同位素或放射性核素(例如,^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Ho或^{153}Sm);色原、荧光标签(例如,FITC、罗丹明、镧系磷光体)、酶标签(例如,辣根过氧化物酶、荧光素酶、碱性磷酸酶);化学发光标记;生物素基团;由二级报告蛋白识别的预定多肽表位(例如,亮氨酸拉链对序列、第二抗体的结合位点、金属结合结构域、表位标签);以及磁性剂,诸如钆螯合物。通常用于免疫测定的标签的代表性实例包括产生光的部分(例如吖啶鎓化合物)以及产生荧光的部分(例如荧光素)。就此而言,所述部分本身不可被可检测地标记,但是在与另一部分反应时可变为可检测的。

[0241] 术语“缀合物”是指与第二化学部分诸如治疗剂或细胞毒性剂化学连接的抗体。术语“药剂”包括化合物、化合物的混合物、生物大分子或由生物材料制成的提取物。在一些实施方案中,治疗剂或细胞毒性剂包括但不限于百日咳毒素、紫杉醇、细胞松弛素B(cytochalasin B)、短杆菌肽D(gramicidin D)、溴化乙锭、依米丁(emetine)、丝裂霉素(mitomycin)、依托泊苷(etoposide)、替尼泊苷(tenoposide)、长春新碱(vincristine)、长春花碱(vinblastine)、秋水仙碱(colchicin)、多柔比星(doxorubicin)、柔红霉素(daunorubicin)、二羟基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神霉素(mithramycin)、放线菌素D(actinomycin D)、1-去氢睾固酮(1-dehydrotestosterone)、糖皮质激素、普鲁卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡

因(lidocaine)、普萘洛尔(propranolol)和嘌呤霉素及其类似物或同系物。当用于免疫测定的情况下时,缀合物抗体可为用作检测抗体的可检测标记的抗体。

[0242] II.抗ICOS抗体

[0243] 提供针对ICOS的新型抗体。抗ICOS抗体包括但不限于人源化抗体、嵌合抗体、小鼠抗体、人抗体和包含本文所讨论的重链和/或轻链CDR的抗体。在一些实施方案中,提供结合至ICOS的分离的抗体。在一些实施方案中,提供结合至ICOS的单克隆抗体。在一些实施方案中,抗ICOS抗体为激动剂抗ICOS抗体。在一些实施方案中,本文所述的抗ICOS抗体的施用增加Teff细胞的数目;活化Teff细胞;耗尽受试者中的Treg细胞;并且/或者增加Teff细胞与Treg细胞的比率。在一些实施方案中,Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。在一些实施方案中,Teff细胞为CD8+T细胞。在一些实施方案中,Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。

[0244] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少1、2、3、4、5、6个CDR:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0245] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少1、2、3、4、5、6个CDR:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列。

[0246] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含6个CDR,所述6个CDR包括:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列。

[0247] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少1、2、3、4、5或6个CDR:(a)HCDR1,其包含选自SEQ ID NO:22、62、72、82、92、102和112的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含选自SEQ ID NO:23、63、73、83、93、103和113的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含选自SEQ ID NO:24、64、74、84、94、104和114的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含选自SEQ ID NO:25、65、75、85、95、105和115的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含选自SEQ ID NO:26、66、76、86、96、106和116的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含选自SEQ ID NO:27、67、77、87、97、107和117的氨基酸序列。

[0248] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少1、2、3、4、5或6个CDR:(a)HCDR1,其包含选自SEQ ID NO:32、162、172和182的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含选自SEQ ID NO:33、163、173和183的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含选自SEQ ID NO:34、164、174和184的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含选自SEQ ID NO:35、165、175和185的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含选自SEQ ID NO:36、166、176和186的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含选自SEQ ID NO:37、167、177和187的氨基酸序列。

[0249] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少1、2、3、4、5或6个CDR:(a)

HCDR1，其包含选自SEQ ID NO:52、122、132、142和152的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含选自SEQ ID NO:53、123、133、143和153的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含选自SEQ ID NO:54、124、134、144和154的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含选自SEQ ID NO:55、125、135、145和155的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含选自SEQ ID NO:56、126、136、146和156的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含选自SEQ ID NO:57、127、137、147和157的氨基酸序列。

[0250] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含重链可变区和轻链可变区。在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含至少一条包含重链可变区和至少一部分重链恒定区的重链、以及至少一条包含轻链可变区和至少一部分轻链恒定区的轻链。在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含两条重链，其中各重链包含重链可变区和至少一部分重链恒定区；以及两条轻链，其中各轻链包含轻链可变区和至少一部分轻链恒定区。如本文所用，单链Fv(scFv)或包含例如含有全部六个CDR(三个重链CDR和三个轻链CDR)的单一多肽链的任何其他抗体被视为具有重链和轻链。在一些实施方案中，重链为包含三个重链CDR的抗ICOS抗体的区。在一些实施方案中，轻链为包含三个轻链CDR的抗ICOS抗体的区。

[0251] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0252] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0253] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

[0254] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列。

[0255] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列。

[0256] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含

SEQ ID NO:72的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

[0257] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含6个CDR,所述6个CDR包括:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列。

[0258] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含6个CDR,所述6个CDR包括:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

[0259] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含6个CDR,所述6个CDR包括:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列。

[0260] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含6个CDR,所述6个CDR包括:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列。

[0261] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含6个CDR,所述6个CDR包括:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列。

[0262] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含6个CDR,所述6个CDR包括:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列。

[0263] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含6个CDR,所述6个CDR包括:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列;(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列;(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列。

[0264] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列。

[0265] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列。

[0266] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列。

[0267] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含6个CDR，所述6个CDR包括：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列；(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列；(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列。

[0268] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含如上所述的六个CDR，并且结合至ICOS。在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含如上所述的六个CDR，结合至ICOS，并且在哺乳动物(诸如人)中增加Teff细胞的数目，并且/或者活化Teff细胞，并且/或者减少Treg细胞的数目，并且/或者增加Teff细胞与Treg细胞的比率。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和/或CD8+T细胞。

[0269] 在一些实施方案中，提供与本文所述的抗ICOS抗体竞争结合至ICOS的抗ICOS抗体。在一些实施方案中，可制备和/或使用与本文提供的任何抗体竞争结合的抗体。

[0270] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

[0271] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

[0272] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

[0273] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:

43的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0274] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。

[0275] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列。

[0276] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列。

[0277] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列。

[0278] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列。

[0279] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列。

[0280] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列。

[0281] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列。

[0282] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列。

[0283] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列。

[0284] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列。

[0285] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列。

[0286] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:

173的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列。

[0287] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列。

[0288] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0289] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0290] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

[0291] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列。

[0292] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列。

[0293] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列。

[0294] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

[0295] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列。

[0296] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

[0297] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列。

[0298] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列。

[0299] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:126的

氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列。

[0300] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列。

[0301] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列。

[0302] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列。

[0303] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列。

[0304] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列。

[0305] 在一些实施方案中,抗体包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列。

[0306] 在一些实施方案中,本文提供的六种CDR中的任一种均可与本文提供的其他CDR中的任一种组合为亚部分,构建体中总计六个CDR。因此,在一些实施方案中,来自第一抗体的两个CDR(例如,HCDR1和HCDR2)可与来自第二抗体的四个CDR(HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3)组合。在一些实施方案中,可替换一个或多个CDR中的两个或更少个残基以获得其变体。在一些实施方案中,可在1、2、3、4、5或6个CDR中替换两个或更少个残基。

[0307] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0308] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0309] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ

ID NO:34的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

[0310] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列。

[0311] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列。

[0312] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列。

[0313] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

[0314] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列。

[0315] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

[0316] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO：102的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO：103的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO：104的氨基酸序列；所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO：105的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO：106的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO：107的氨基酸序列。

[0317] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO：112的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO：113的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO：114的氨基酸序列；所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO：115的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO：116的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO：117的氨基酸序列。

[0318] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO：122的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO：123的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO：124的氨基酸序列；所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO：125的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO：126的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO：127的氨基酸序列。

[0319] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO：132的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO：133的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO：134的氨基酸序列；所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO：135的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO：136的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO：137的氨基酸序列。

[0320] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO：142的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO：143的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO：144的氨基酸序列；所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO：145的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO：146的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO：147的氨基酸序列。

[0321] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO：152的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO：153的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO：154的氨基酸序列；所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO：155的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO：156的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO：157的氨基酸序列。

[0322] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO：162的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO：163的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含

SEQ ID NO:164的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一种个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列。

[0323] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VH CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列;所述VL结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个VL CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列。

[0324] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)V_L结构域,所述VH结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个V_H CDR序列:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列;所述V_L结构域包含选自以下的至少一个、至少两个或所有三个V_L CDR序列:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列。

[0325] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含与SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170或180的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在一些实施方案中,相对于参照序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有取代(例如保守性取代)、插入或缺失,但包含所述序列的抗ICOS抗体保留结合至ICOS的能力。在一些实施方案中,在SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170或180中总计1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在一些实施方案中,取代、插入或缺失发生在CDR以外的区中(即在FR中)。任选地,抗ICOS抗体包含SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170或180中的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。

[0326] 在一些实施方案中,VH包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列。

[0327] 在一些实施方案中,VH包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。

[0328] 在一些实施方案中,VH包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

[0329] 在一些实施方案中,VH包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0330] 在一些实施方案中,VH包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:54的氨基酸

序列。

[0331] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列。

[0332] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列。

[0333] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列。

[0334] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列。

[0335] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列。

[0336] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列。

[0337] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列。

[0338] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列。

[0339] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列。

[0340] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列。

[0341] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列。

[0342] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列。

[0343] 在一些实施方案中，VH包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:184的氨基

酸序列。

[0344] 在一些实施方案中，提供抗ICOS抗体，其中所述抗体包含与SEQ ID NO:11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171或181的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在一些实施方案中，相对于参照序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的VL序列含有取代(例如保守性取代)、插入或缺失，但包含所述序列的抗ICOS抗体保留结合至ICOS的能力。在一些实施方案中，在SEQ ID NO:11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171或181中总计1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在一些实施方案中，取代、插入或缺失发生在CDR以外的区中(即在FR中)。任选地，抗ICOS抗体包含SEQ ID NO:11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171或181中的VL序列，包括所述序列的翻译后修饰。

[0345] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列；(b)LCDR2，其包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列；以及(c)LCDR3，其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0346] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列；(b)LCDR2，其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列；以及(c)LCDR3，其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0347] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列；(b)LCDR2，其包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列；以及(c)LCDR3，其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

[0348] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列；(b)LCDR2，其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列；以及(c)LCDR3，其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列。

[0349] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列；(b)LCDR2，其包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列；以及(c)LCDR3，其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列。

[0350] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列；(b)LCDR2，其包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列；以及(c)LCDR3，其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列。

[0351] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列；(b)LCDR2，其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列；以及(c)LCDR3，其包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

[0352] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列；(b)LCDR2，其包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列；以及(c)LCDR3，其包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列。

[0353] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列；(b)LCDR2，其包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列；以及(c)LCDR3，其包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

[0354] 在一些实施方案中，VL包含：(a)LCDR1，其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列；(b)

LCDR2,其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列。

[0355] 在一些实施方案中,VL包含:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列。

[0356] 在一些实施方案中,VL包含:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列。

[0357] 在一些实施方案中,VL包含:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列。

[0358] 在一些实施方案中,VL包含:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列。

[0359] 在一些实施方案中,VL包含:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:156的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列。

[0360] 在一些实施方案中,VL包含:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列。

[0361] 在一些实施方案中,VL包含:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列。

[0362] 在一些实施方案中,VL包含:(a)LCDR1,其包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列;(b)LCDR2,其包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列;以及(c)LCDR3,其包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列。

[0363] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含与SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170或180的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列;以及与SEQ ID NO:11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171或181的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在一些实施方案中,相对于参照序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列含有取代(例如保守性取代)、插入或缺失,并且相对于参照序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列含有取代(例如保守性取代)、插入或缺失,但包含所述序列的抗ICOS抗体保留结合至ICOS的能力。在一些实施方案中,在SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170或180中总计1至10个氨基酸已被取代、插入和/或缺失。在一些实施方案中,在SEQ ID NO:11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171或181中总计1至10个氨基酸已被取代、插入和/

或缺失。在一些实施方案中，取代、插入或缺失发生在CDR以外的区中(即在FR中)。任选地，抗ICOS抗体包含：SEQ ID NO:10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170或180中的VH序列；以及SEQ ID NO:11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171或181的VL序列，包括一种或两种序列的翻译后修饰。

[0364] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列。

[0365] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列。

[0366] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列。

[0367] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列。

[0368] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列。

[0369] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列。

[0370] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:75的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列。

[0371] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:86的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:87的氨基酸序列。

[0372] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:93的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:95的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:97的氨基酸序列。

[0373] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列。

[0374] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列。

[0375] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:125的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:126的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:127的氨基酸序列。

[0376] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)V_H结构域和(II)VL结构域，所述V_H结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列。

[0377] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:143的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:144的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:145的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:146的氨基酸序列；以及(f)LCDR3，其包含SEQ ID NO:147的氨基酸序列。

[0378] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域，所述VH结构域包含：(a)HCDR1，其包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列；(b)HCDR2，其包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列；以及(c)HCDR3，其包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列；所述VL结构域包含：(d)LCDR1，其包含SEQ ID NO:155的氨基酸序列；(e)LCDR2，其包含SEQ ID NO:156的氨基酸序

列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:157的氨基酸序列。

[0379] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:162的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:163的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:164的氨基酸序列;所述VL结构域包含:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:166的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列。

[0380] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)V_H结构域和(II)VL结构域,所述V_H结构域包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:172的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:173的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:174的氨基酸序列;所述VL结构域包含:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:175的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:176的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:177的氨基酸序列。

[0381] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含(I)VH结构域和(II)VL结构域,所述VH结构域包含:(a)HCDR1,其包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列;(b)HCDR2,其包含SEQ ID NO:183的氨基酸序列;以及(c)HCDR3,其包含SEQ ID NO:184的氨基酸序列;所述VL结构域包含:(d)LCDR1,其包含SEQ ID NO:185的氨基酸序列;(e)LCDR2,其包含SEQ ID NO:186的氨基酸序列;以及(f)LCDR3,其包含SEQ ID NO:187的氨基酸序列。

[0382] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体包含如本文提供的任何实施方案中的VH,以及如本文提供的任何实施方案中的VL。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:21中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:30和SEQ ID NO:31中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:40和SEQ ID NO:41中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:50和SEQ ID NO:51中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:60和SEQ ID NO:61中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:71中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:90和SEQ ID NO:91中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:100和SEQ ID NO:101中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:110和SEQ ID NO:111中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:120和SEQ ID NO:121中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:130和SEQ ID NO:131中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:140和SEQ ID NO:141中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:150和SEQ ID NO:151中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:160和SEQ ID NO:161中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述

抗体包含分别在SEQ ID NO:170和SEQ ID NO:171中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,所述抗体包含分别在SEQ ID NO:180和SEQ ID NO:181中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。

[0383] 在一些实施方案中,提供与本文提供的抗ICOS抗体竞争结合至ICOS的抗体。在一些实施方案中,抗体与本文提供的抗ICOS抗体竞争结合至ICOS上的表位。

[0384] 在一些实施方案中,竞争测定可用于鉴定与本文所述的抗ICOS抗体(诸如,7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710或35A9S89)竞争结合至ICOS的单克隆抗体。竞争测定可用于确定两种抗体是否通过识别相同或空间上重叠的表位来结合相同表位,或者一种抗体是否竞争性抑制另一种抗体与抗原的结合。在一些实施方案中,这种竞争性抗体结合至由本文所述的抗体结合的相同表位。示例性竞争测定包括但不限于诸如Harlow和Lane(1988)Antibodies:A Laboratory Manual第14章(Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,N.Y.)中所提供的那些测定的常规测定。用于对抗体所结合到的表位进行作图的详细示例性方法提供于Methods in Molecular Biology第66卷(Humana Press,Totowa,N.J.)中的Morris(1996)“表位作图方案(Epitope Mapping Protocols)”中。在一些实施方案中,如果每种抗体将另一种的结合阻断50%或更多,则所述两种抗体据称结合至相同表位。在一些实施方案中,与本文所述的抗ICOS抗体竞争的抗体为嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在一些实施方案中,提供与本文所述的嵌合抗ICOS抗体、人源化抗ICOS抗体或人抗ICOS抗体竞争的抗体。

[0385] 在一些实施方案中,提供结合至本文提供的抗体所结合的任何一个或多个表位的抗体。在一些实施方案中,提供结合本发明抗体所结合的表位并且与其重叠的抗体。在一些实施方案中,提供与本文提供的至少一种抗体竞争的抗体。在一些实施方案中,提供与本文提供的至少两种抗体竞争的抗体。在一些实施方案中,提供与本文提供的至少三种抗体竞争的抗体。在一些实施方案中,抗体与本文实例中所述抗体结合至重叠表位。在一些实施方案中,整个表位被竞争性抗体结合和/或阻隔。在一些实施方案中,表位的一部分被竞争性抗体结合和/或阻隔。在一些实施方案中,竞争性抗体的互补位结合至本文提供的抗体表位的至少一部分。在一些实施方案中,竞争性抗体的互补位结合靶标,并且竞争性抗体结构的不同部分阻隔本文提供的抗体表位的至少一部分。

[0386] 示例性嵌合抗体

[0387] 在一些实施方案中,本文提供的抗体为嵌合抗体。某些嵌合抗体在例如美国专利号4,816,567;以及Morrison等人,(1984)Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))中有所描述。在一个实例中,嵌合抗体包含非人可变区(例如来源于小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类(诸如猴)的可变区)和人恒定区。在另一实施例中,嵌合抗体为“类别转换”抗体,其中类别或亚类已由亲本抗体的类别或亚类发生改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0388] 非限制性示例性嵌合抗体包括包含以下的嵌合抗体:选自7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710或35A9S89的抗体的重链可变区和/或轻链可变区。另外的非限制性示例性嵌合抗体包括包含以下的嵌合抗体:选自7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、

37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710或35A9S89的抗体的重链CDR1、CDR2和CDR3和/或轻链CDR1、CDR2和CDR3。其他非限制性示例性嵌合抗体包括包含以下的嵌合抗体：选自7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710或35A9S89的抗体的重链CDR1、CDR2和CDR3；和/或轻链CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中，嵌合抗ICOS抗体包含以上所述的可变区，并且结合至ICOS。在一些实施方案中，嵌合抗ICOS抗体包含以上所述的可变区，结合至ICOS，并且增加Teff细胞的数目，并且/或者活化Teff细胞，并且/或者减少Treg细胞的数目，并且/或者增加Teff细胞与Treg细胞的比率。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。

[0389] 在一些实施方案中，嵌合抗ICOS抗体包含重链，所述重链包含与选自SEQ ID NO：10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170或180的序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的可变区序列，其中所述抗体结合ICOS。在一些实施方案中，嵌合抗ICOS抗体包含轻链，所述轻链包含与选自SEQ ID NO：11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171或181的序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的可变区序列，其中所述抗体结合ICOS。在一些实施方案中，嵌合抗ICOS抗体包含重链和轻链，所述重链包含与选自SEQ ID NO：10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170和180的序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的可变区序列；所述轻链包含与选自SEQ ID NO：11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171和181的序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的可变区序列；其中所述抗体结合ICOS。

[0390] 示例性嵌合抗ICOS抗体还包括与本文所述的抗体或其片段竞争结合至ICOS的嵌合抗体。因此，在一些实施方案中，提供与选自以下的抗体或其片段竞争结合至ICOS的嵌合抗ICOS抗体：7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710和35A9S89。在一些实施方案中，抗体竞争结合至ICOS，并且增加Teff细胞的数目，并且/或者活化Teff细胞，并且/或者减少Treg细胞的数目，并且/或者增加Teff细胞与Treg细胞的比率。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。

[0391] 在一些实施方案中，本文所述的嵌合抗体包含一个或多个人恒定区。在一些实施方案中，人重链恒定区属于选自IgA、IgG和IgD的同种型。在一些实施方案中，人轻链恒定区属于选自κ和λ的同种型。在一些实施方案中，本文所述的嵌合抗体包含人IgG恒定区。在一些实施方案中，本文所述的嵌合抗体包含人IgG4重链恒定区。在一些实施方案中，本文所述的嵌合抗体包含人IgG4恒定区和人κ轻链。

[0392] 如上所指示，效应功能是否合乎需要可取决于抗体所意图的特定治疗方法。因此，

在一些实施方案中，当效应功能合乎需要时，选择包含人IgG1重链恒定区或人IgG3重链恒定区的嵌合抗ICOS抗体。在一些实施方案中，当效应功能不合乎需要时，选择包含人IgG4或IgG2重链恒定区的嵌合抗ICOS抗体。

[0393] 示例性人源化抗体

[0394] 在一些实施方案中，提供结合ICOS的人源化抗体。人源化抗体可用作治疗分子，因为与非人抗体相比，人源化抗体降低或消除人免疫应答，这可致使对抗体治疗的免疫应答(诸如人抗小鼠抗体(HAMA)应答)以及减少的治疗效果。

[0395] 在一些实施方案中，嵌合抗体为人源化抗体。通常，非人抗体被人源化以降低对人的免疫原性，同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。一般来说，人源化抗体包含一个或多个可变结构域，在所述一个或多个可变结构域中CDR(或其部分)来源于非人抗体，并且FR(或其部分)来源于人抗体序列。人源化抗体任选还将包含至少一部分人恒定区。在一些实施方案中，人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如CDR残基所来源的抗体)的相应残基取代，例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0396] 人源化抗体及其制备方法在例如Almagro和Fransson，(2008)Front.Biosci.13:1619-1633中有所综述，并且在例如以下文献中进一步描述:Riechmann等人，(1988)Nature 332:323-329;Queen等人，(1989)Proc.Natl Acad.Sci.USA 86:10029-10033;美国专利号5,821,337、7,527,791、6,982,321和7,087,409;Kashmiri等人，(2005)Methods 36:25-34;Padlan，(1991)Mol.Immunol.28:489-498(描述“表面重修”);Dall'Acqua等人，(2005)Methods 36:43-60(描述“FR改组”);以及Osbourn等人，(2005)Methods 36:61-68，以及Klimka等人，(2000)Br.J.Cancer，83:252-260(描述FR改组的“定向选择”方法)。

[0397] 可用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合”法选择的框架区(参见，例如Sims等人(1993)J.Immunol.151:2296);来源于具有轻链可变区或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区(参见，例如Carter等人(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285;以及Presta等人(1993)J.Immunol,151:2623);人成熟(体细胞突变)框架区或人种系框架区(参见，例如Almagro和Fransson，(2008)Front.Biosci.13:1619-1633);以及来源于筛选FR文库的框架区(参见，例如Baca等人，(1997)J.Biol.Chem.272:10678-10684以及Rosok等人，(1996)J.Biol.Chem.271:22611-22618)。

[0398] 非限制性示例性人源化抗体包括本文所述的37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710和35A9S89。非限制性示例性人源化抗体还包括包含以下的抗体:选自37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710和35A9S89的抗体的重链可变区;和/或选自37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710和35A9S89的抗体的轻链可变区。非限制性示例性人源化抗体包括包含以下的抗体:选自SEQ ID NO:60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170和180的重链可变区;和/或选自SEQ ID NO:61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171和181的轻链可变区。示例性人源化抗体还包括但不限于包含以下的人源化抗体:选自7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、

37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710或35A9S89的抗体的重链CDR1、CDR2和CDR3；和/或轻链CDR1、CDR2和CDR3。在一些实施方案中，人源化抗ICOS抗体包含以上所述的CDR，并且结合至ICOS。在一些实施方案中，人源化抗ICOS抗体包含以上所述的CDR，结合至ICOS，并且增加Teff细胞的数目，并且/或者活化Teff细胞，并且/或者减少Treg细胞的数目，并且/或者增加Teff细胞与Treg细胞的比率。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。

[0399] 在一些实施方案中，人源化抗ICOS抗体包含：选自7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710和35A9S89的抗体的重链CDR1、CDR2和CDR3；和/或轻链CDR1、CDR2和CDR3。

[0400] 在一些实施方案中，人源化抗ICOS抗体包含重链，所述重链包含与选自SEQ ID NO:60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170和180的序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的可变区序列，并且其中所述抗体结合ICOS。在一些实施方案中，人源化抗ICOS抗体包含轻链，所述轻链包含与选自SEQ ID NO:61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171和181的序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的可变区序列，其中所述抗体结合ICOS。在一些实施方案中，人源化抗ICOS抗体包含重链和轻链，所述重链包含与选自SEQ ID NO:60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170和180的序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的可变区序列；所述轻链包含与选自SEQ ID NO:61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171和181的序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的可变区序列；其中所述抗体结合ICOS。

[0401] 在一些实施方案中，维持本文提供的CDR序列中的任何一个或多个，同时保持与选自SEQ ID NO:10,20,30,40,50,60,70,80,90,100,110,120,130,140,150,160,170,180,11,21,31,41,51,61,71,81,91,101,111,121,131,141,151,161,171和181的序列具有至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的重链区、轻链区或重链区和轻链区(即FR1、FR2、FR3和FR4)。

[0402] 在一些实施方案中，人源化抗ICOS抗体包含本文讨论的至少一个CDR。即，在一些实施方案中，人源化抗ICOS抗体包含至少一个选自本文讨论的重链CDR1、本文讨论的重链CDR2、本文讨论的重链CDR3、本文讨论的轻链CDR1、本文讨论的轻链CDR2和本文讨论的轻链CDR3的CDR。此外，在一些实施方案中，人源化抗ICOS抗体包含至少一个基于本文讨论的CDR的突变CDR，其中所述突变CDR相对于本文讨论的CDR包含1、2、3或4个氨基酸取代。在一些实施方案中，一个或多个氨基酸取代是保守性氨基酸取代。本领域技术人员可为特定CDR序列选择一个或多个适合的保守性氨基酸取代，其中预测所述适合的保守性氨基酸取代不显著改变包含突变CDR的抗体的结合特性。

[0403] 示例性人源化抗ICOS抗体还包括与本文所述的抗体或其片段竞争结合至ICOS的抗体。因此，在一些实施方案中，提供与选自以下的抗体或其片段竞争结合至ICOS的人源化

抗ICOS抗体:7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710和35A9S89。在一些实施方案中,提供与选自以下的抗体或其片段竞争结合至ICOS的人源化抗ICOS抗体:7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710和35A9S89,并且增加Teff细胞的数目,并且/或者活化Teff细胞,并且/或者减少Treg细胞的数目,并且/或者增加Teff细胞与Treg细胞的比率。在一些实施方案中,Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。在一些实施方案中,Teff细胞为CD8+T细胞。在一些实施方案中,Teff细胞为CD4+FoxP3-T细胞和CD8+T细胞。

[0404] 在一些实施方案中,人源化抗ICOS抗体包含SEQ ID NO:188的氨基酸序列的重链以及包含SEQ ID NO:189的氨基酸序列的轻链。

[0405] 示例性人抗体

[0406] 在一些实施方案中,本文提供的抗ICOS抗体为人抗体。人抗体可使用本领域中已知的各种技术来产生。人抗体通常在van Dijk和van de Winkel,(2001)Curr.Opin.Pharmacol.5:368-374以及Lonberg,(2008)Curr.Opin.Immunol.20:450-459中有所描述。在一些实施方案中,人抗体不为天然存在的抗体。在一些实施方案中,人抗体为单克隆抗体;因此,在一些实施方案中,组中的每种人抗体均可结合至抗原上相同的表位。

[0407] 人抗体可通过向已被修饰以响应于抗原激发而产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体的转基因动物施用免疫原来制备。此类动物通常含有全部或一部分人免疫球蛋白基因座,其替换内源性免疫球蛋白基因座或存在于染色体外或随机整合至动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,内源性免疫球蛋白基因座通常已失活。对于从转基因动物获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg,(2005)Nat.Biotech.23:1117-1125。还参见,例如描述XENOMOUSE™技术的美国专利号6,075,181及6,150,584;描述HUMAB®技术的美国专利号5,770,429;描述K-M MOUSE®技术的美国专利号7,041,870以及描述VELOCIMOUSE®技术的美国专利申请公布号US 2007/0061900)。来自由此类动物生成的完整抗体的人可变区可例如通过与不同人恒定区组合而进一步修饰。

[0408] 人抗体还可通过基于杂交瘤的方法制备。用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤及小鼠-人杂交骨髓瘤细胞系已有所描述。(参见,例如Kozbor(1984)J.Immunol,133:3001;Brodeur等人,Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications,第51-63页(Marcel Dekker,Inc.,New York,1987);以及Boerner等人,(1991)J.Immunol.,147:86)。通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体还在Li等人,(2006)Proc.Natl.Acad.Sci.USA,103:3557-3562中有所描述。另外的方法包括例如美国专利号7,189,826(描述由杂交瘤细胞系产生单克隆人IgM抗体)以及Ni,(2006)Xiandai Mianyixue,26(4):265-268(描述人-人杂交瘤)中描述的那些方法。人杂交瘤技术(三源杂交瘤技术)还在Vollmers和Brandlein,(2005)Histology and Histopathology,20(3):927-937(2005)以及Vollmers和Brandlein,(2005)Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology,27(3):185-191中有所描述。

[0409] 人抗体还可通过分离选自人来源的噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列来产生。此类可变结构域序列然后可与所需人恒定域组合。用于从抗体文库中选择人抗体的

技术在以下有所描述。

[0410] 抗体可通过筛选组合文库中具有一种或多种所需活性的抗体来分离。例如，本领域中已知多种用于产生噬菌体展示文库及筛选此类文库中具有所需结合特征的抗体的方法。此类方法例如在Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等人编，Human Press，Totowa，NJ，2001)中的Hoogenboom等人中有所综述，并且例如在McCafferty等人，(1990)Nature 348:552-554;Clackson等人，(1991)Nature 352:624-628;Marks等人，(1992)J.Mol.Biol 222:581-597;Methods in Molecular Biology 248:161-175(Lo编，Human Press，Totowa，NJ，2003)中的Marks和Bradbury;Sidhu等人，(2004)J.Mol.Biol.338(2):299-310;Lee等人，(2004)J.Mol.Biol.340(5):1073-1093;Fellouse，(2004)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472;以及Lee等人，(2004)J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132以及PCT公布WO 99/10494中进一步描述。

[0411] 在某些噬菌体展示方法中，V_H和V_L基因库通过聚合酶链式反应(PCR)分别克隆并且在噬菌体文库中随机重组，然后可如Winter等人，(1994)Ann.Rev.Immunol.，12:433-455中所述筛选所述噬菌体文库的抗原结合噬菌体。噬菌体通常展示呈单链Fv(scFv)片段形式或呈Fab片段形式的抗体片段。来自免疫过的来源的文库提供对免疫原具有高亲和力的抗体而无需构建杂交瘤。可替代地，可在不进行任何免疫的情况下如Griffiths等人，(1993)EMBO J12:725-734所述克隆(例如，由人克隆)天然库以提供单一来源的针对各种非自体抗原以及自体抗原的抗体。最终，如由Hoogenboom和Winter(1992)，J.Mol.Biol，227:381-388所述，天然文库还可通过以下以合成方式制备：由干细胞克隆未重排的V基因区段，及使用含有随机序列的PCR引物来编码高度可变的CDR3区并且实现体外重排。描述人抗体噬菌体文库的专利公布包括例如：美国专利号5,750,373以及美国专利公布号2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936和2009/0002360。

[0412] 在一些实施方案中，人抗ICOS抗体结合至具有SEQ ID NO:1或2的序列的多肽。在一些实施方案中，人抗ICOS抗体结合至ICOS，并且增加Teff细胞的数目，并且/或者活化Teff细胞，并且/或者减少Treg细胞的数目，并且/或者增加Teff细胞与Treg细胞的比率。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+FoxP3+T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+ T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+ FoxP3- T细胞和CD8+ T细胞。

[0413] 示例性人抗ICOS抗体还包括与本文所述的人抗体或其片段竞争结合至ICOS的抗体。因此，在一些实施方案中，提供与选自以下的抗体或其片段竞争结合至ICOS的人抗ICOS抗体：7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710和35A9S89。在一些实施方案中，提供与选自以下的抗体或其片段竞争结合至ICOS的人抗ICOS抗体：7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710和35A9S89，并且增加Teff细胞的数目，并且/或者活化Teff细胞，并且/或者减少Treg细胞的数目，并且/或者增加Teff细胞与Treg细胞的比率。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+ FoxP3+ T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+ T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+ FoxP3- T细胞和CD8+ T细胞。

[0414] 在一些实施方案中，提供嵌合人抗ICOS抗体，其中所述抗体包含来自结合ICOS的人抗体的可变区和来自不同人抗体的恒定区。在一些实施方案中，提供嵌合人抗ICOS抗体，其中所述抗体包含来自结合ICOS的人抗体的CDR和来自不同人抗体的框架。在一些实施方案中，抗体不为天然存在的人抗体。

[0415] 在一些实施方案中，人抗ICOS抗体包含一个或多个人恒定区。在一些实施方案中，人重链恒定区属于选自IgA、IgG和IgD的同种型。在一些实施方案中，人轻链恒定区属于选自κ和λ的同种型。在一些实施方案中，本文所述的人抗体包含人IgG恒定区。在一些实施方案中，本文所述的人抗体包含人IgG4重链恒定区。在一些实施方案中，本文所述的人抗体包含人IgG4恒定区和人κ轻链。

[0416] 在一些实施方案中，当效应功能合乎需要时，选择包含人IgG1重链恒定区或人IgG3重链恒定区的人抗ICOS抗体。在一些实施方案中，当效应功能不合乎需要时，选择包含人IgG4或IgG2重链恒定区的人抗ICOS抗体。

[0417] 如本文所述，术语“人抗体”表示抗体构建体的可能序列类，而非抗体来源。

[0418] 示例性抗体恒定区

[0419] 在一些实施方案中，本文所述的抗体包含一个或多个人恒定区。在一些实施方案中，人重链恒定区属于选自IgA、IgG和IgD的同种型。在一些实施方案中，人轻链恒定区属于选自κ和λ的同种型。在一些实施方案中，本文所述的抗体包含人IgG恒定区。在一些实施方案中，本文所述的抗体包含人IgG4重链恒定区。在一些实施方案中，本文所述的抗体包含人IgG4恒定区和人κ轻链。

[0420] 在整个本说明书和权利要求书中，除非本领域技术人员明确说明或已知，否则免疫球蛋白重链中残基的编号是如Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，Md.(1991)中的EU索引的编号，所述文献以引用的方式明确并入本文。“如Kabat中的EU索引”是指人IgG1EU抗体的残基编号。

[0421] 如上所指示，效应功能是否合乎需要可取决于抗体所意图的特定治疗方法。因此，在一些实施方案中，当效应功能合乎需要时，选择包含人IgG1重链恒定区或人IgG3重链恒定区的抗ICOS抗体。在一些实施方案中，当效应功能不合乎需要时，选择包含人IgG4或IgG2重链恒定区的抗ICOS抗体。

[0422] 在一些实施方案中，与野生型IgG或野生型抗体的Fc区相比，抗体包含具有至少一个氨基酸取代的变体Fc区。在一些实施方案中，变体Fc区具有野生型抗体的Fc区中的两个或更多个氨基酸取代。在一些实施方案中，变体Fc区具有野生型抗体的Fc区中的三个或更多个氨基酸取代。在一些实施方案中，变体Fc区具有本文所述的至少一个、两个或三个或更多个Fc区氨基酸取代。在一些实施方案中，本文中变体Fc区域将与天然序列Fc区和/或与亲本多肽的Fc区具有至少约80％同源性。在一些实施方案中，本文中变体Fc区域将与天然序列Fc区和/或与亲本多肽的Fc区具有至少约90％同源性。在一些实施方案中，本文中变体Fc区域将与天然序列Fc区和/或与亲本多肽的Fc区具有至少约95％同源性。

[0423] 在一些实施方案中，改变本文提供的抗体以提高或降低抗体糖基化的程度。对抗体添加糖基化位点或使抗体缺失糖基化位点可通过改变氨基酸序列以使得生成或移除一个或多个糖基化位点来便利地实现。

[0424] 当抗体包含Fc区时，可改变与其连接的碳水化合物。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含一般通过N-键联连接到Fc区的CH2结构域域的Asn297的分支二天线寡糖。参见，例如，Wright等人TIBTECH 15:26-32(1997)。寡糖可包括各种碳水化合物，例如甘露糖、N-乙酰基葡糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸，以及连接到二天线寡糖结构的“主干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中，可对抗体中的寡糖进行修饰以产生具有某些改善特性的抗体变体。

[0425] 在一些实施方案中，提供具有缺乏连接到(直接或间接)Fc区上的岩藻糖的碳水化合物结构的抗体变体。例如，此类抗体中岩藻糖的量可为1％至80％、1％至65％、5％至65％或20％至40％。如例如WO 2008/077546中所述，如通过MALDI-TOF质谱法所测量，通过相对于连接到Asn 297的所有糖结构(例如复合、杂合和高甘露糖结构)的总和计算Asn297处糖链内岩藻糖的平均量来确定岩藻糖的量。Asn297是指位于Fc区中大致位置297(Fc区残基的EU编号)上的天冬酰胺残基；然而，Asn297也可由于抗体中的微小序列变化而位于位置297的上游或下游约±3个氨基酸处，即在位置294与300之间。此类岩藻糖基化变体可具有改善的ADCC功能。参见，例如美国专利公布号US 2003/0157108号(Presta,L.)；US 2004/0093621(Kyowa Hakko Kogyo Co.,Ltd)。关于“去岩藻糖基化”或“岩藻糖缺陷型”抗体变体的出版物的实例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki等人J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004)；Yamane-Ohnuki等人Biotech.Bioeng.87:614(2004)。能够产生去岩藻糖基化抗体的细胞系的实例包括：蛋白质岩藻糖基化缺陷的Lec13 CHO细胞(Ripka等人Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986)；美国专利申请号US 2003/0157108 A1，Presta,L；以及WO 2004/056312 A1,Adams等人，特别是在实施例11处)；以及敲除细胞系，诸如α-1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8、敲除CHO细胞(参见，例如Yamane-Ohnuki等人Biotech.Bioeng.87:614(2004)；Kanda,Y.等人，Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006)；以及WO2003/085107)。

[0426] 还提供具有二等分寡糖的抗体变体，例如其中连接到抗体的Fc区的二天线寡糖是由GlcNAc二等分。此类抗体变体可具有降低的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体变体的实例例如描述于WO 2003/011878(Jean-Mairet等人)；美国专利号6,602,684(Umana等人)；及US 2005/0123546(Umana等人)中。还提供在连接到Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可具有改善的CDC功能。此类抗体变体例如描述于WO 1997/30087(Patel等人)；WO 1998/58964(Raju,S.)；及WO 1999/22764(Raju,S.)中。

[0427] 还提供具有氨基端前导延伸的抗体变体。例如，氨基端前导序列的一个或多个氨基酸残基存在于抗体的任何一个或多个重链或轻链的氨基端处。示例性氨基端前导延伸包含存在于抗体变体的一个或两个轻链上的三个氨基酸残基VHS或由其组成。

[0428] 人FcRn高亲和力结合多肽的体内或血清半衰期可例如在施用具有变体Fc区的多肽的转基因小鼠、人或非人灵长类动物中测定。还参见，例如，Petkova等人International Immunology 18(12):1759-1769(2006)。

[0429] 在一些实施方案中，抗体变体在存在人效应细胞的情况下比亲本抗体更有效地介

导ADCC。在一些实施方案中，当测定中使用的多肽变体和亲本抗体的量基本上相同时，抗体变体在体外介导ADCC时基本上更有效。在一些实施方案中，当测定中使用的多肽变体和亲本抗体的量基本上相同时，抗体变体在体内介导ADCC时基本上更有效。一般来说，此类变体将使用如本文所公开的体外ADCC测定来鉴定，但还考虑用于例如在动物模型等中测定ADCC活性的其他测定或方法。

[0430] 示例性抗体缀合物

[0431] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体缀合到另一种分子。在一些实施方案中，另外的分子可为可检测标记，诸如标签。在一些实施方案中，另外的分子可为治疗分子，诸如细胞毒性剂。在一些实施方案中，标签和/或细胞毒性剂可缀合到抗体。如本文所用，标签为有助于检测抗体和/或有助于检测抗体所结合的分子的部分。非限制性示例性标签包括但不限于放射性同位素、荧光基团、酶基团、化学发光基团、生物素、表位标签、金属结合标签等。本领域技术人员可根据具体应用选择合适的标签。

[0432] 如本文所用，细胞毒性剂是降低一种或多种细胞的增殖能力的部分。当细胞例如因为经受细胞凋亡或以其他方式死亡，不能通过细胞周期继续前进和/或不能分裂，分化等而致使细胞增殖能力变得较小时，所述细胞的增殖能力降低。非限制性示例性细胞毒性剂包括但不限于放射性同位素、毒素和化学治疗剂。本领域技术人员可根据预定应用选择适合的细胞毒性剂。在一些实施方案中，细胞毒性剂为以下中的至少一种：抗代谢物、烷化剂、抗生素、生长因子、细胞因子、抗血管生成剂、抗有丝分裂剂、蒽环霉素、毒素或细胞凋亡剂

[0433] 在一些实施方案中，使用体外化学方法使标签和/或细胞毒性剂缀合到抗体。非限制性示例性化学缀合方法是本领域已知的，并且包括可从例如Thermo Scientific Life Science Research Produces(formerly Pierce;Rockford,Ill.)、Prozyme(Hayward,Calif.)、SACRI Antibody Services(Calgary,Canada)、AbD Serotec(Raleigh,N.C.)等商购获得的服务、方法和/或试剂。在一些实施方案中，当标签和/或细胞毒性剂为多肽时，标签和/或细胞毒性剂可由具有至少一个抗体链的相同表达载体表达，以产生包含融合至抗体链的标签和/或细胞毒性剂融合的多肽。本领域技术人员可根据预期应用选择用于使标签和/或细胞毒性剂缀合至抗体的合适方法。

[0434] 在一些实施方案中，缀合可为共价的。在一些实施方案中，缀合可为非共价的。在一些实施方案中，缀合可通过特异性结合相互作用，例如通过结合第二抗体来进行。

[0435] 示例性前导序列

[0436] 为使一些分泌蛋白质大量表达并分泌，来自异源蛋白质的前导序列可为合乎需要的。在一些实施方案中，采用异源前导序列可为有利的，因为当前导序列在分泌过程期间在ER中移除时，所得成熟多肽可保持不变。异源前导序列的添加可用于表达并分泌一些蛋白质。

[0437] 某些示例性前导序列例如描述于由新加坡国立大学生物化学系(Department of Biochemistry,National University of Singapore)维护的在线前导序列数据库(Leader sequence Database)中。参见，Choo等人，BMC Bioinformatics,6:249(2005)；以及PCT公布号WO 2006/081430。

[0438] IV.抗体表达和产生

[0439] 编码抗ICOS抗体的核酸分子

[0440] 本文提供包含编码抗ICOS抗体的一个或多个链的多核苷酸的核酸分子。在一些实施方案中，核酸分子包含编码抗ICOS抗体的重链或轻链的多核苷酸。在一些实施方案中，核酸分子包含编码抗ICOS抗体的重链的多核苷酸以及编码抗ICOS抗体的轻链的多核苷酸两者。在一些实施方案中，第一核酸分子包含编码重链的第一多核苷酸，并且第二核酸分子包含编码轻链的第二多核苷酸。

[0441] 在一些实施方案中，重链和轻链自一个核酸分子表达，或自两个单独核酸分子表达为两个分开的多肽。在一些实施方案中，如当抗体是scFv时，单一多核苷酸编码包含连接在一起的重链与轻链两者的单一多肽。

[0442] 在一些实施方案中，编码抗ICOS抗体的重链或轻链的多核苷酸包含编码本文提供的至少一个CDR的核苷酸序列。在一些实施方案中，编码抗ICOS抗体的重链或轻链的多核苷酸包含编码本文提供的至少3个CDR的核苷酸序列。在一些实施方案中，编码抗ICOS抗体的重链或轻链的多核苷酸包含编码本文提供的至少6个CDR的核苷酸序列。在一些实施方案中，编码抗ICOS抗体的重链或轻链的多核苷酸包含编码在翻译时位于重链或轻链的N端的前导序列的核苷酸序列。如上所讨论，前导序列可为天然重链或轻链前导序列，或可为另一异源前导序列。

[0443] 在一些实施方案中，核酸为编码本文序列表中抗体的任何氨基酸序列的核酸。在一些实施方案中，核酸为与编码本文序列表中抗体的任何氨基酸序列的核酸具有至少80％同一性，例如至少80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98或99％同一性的核酸。在一些实施方案中，核酸为与本文提供的任何一种或多种核酸序列杂交的核酸。在一些实施方案中，杂交是处于温和条件下。在一些实施方案中，杂交处于非常严格的条件下，诸如：在65℃下至少约6X SSC和1％SDS，首次用约42℃的约20％(v/v)甲酰胺于0.1X SSC中的溶液洗涤10分钟，并且随后用65℃的0.2X SSC和0.1％SDS洗涤。

[0444] 核酸分子可使用本领域常规的重组DNA技术来构建。在一些实施方案中，核酸分子是适于在所选宿主细胞中表达的表达载体。载体

[0445] 提供包含编码抗ICOS重链和/或抗ICOS轻链的多核苷酸的载体。还提供包含编码抗ICOS重链和/或抗ICOS轻链的多核苷酸的载体。此类载体包括但不限于DNA载体、噬菌体载体、病毒载体、逆转录病毒载体等。在一些实施方案中，载体包含编码重链的第一多核苷酸序列，以及编码轻链的第二多核苷酸序列。在一些实施方案中，重链和轻链自载体表达为两个分开的多肽。在一些实施方案中，重链和轻链表达为单一多肽的一部分，例如像当抗体是scFv时。

[0446] 在一些实施方案中，第一载体包含编码重链的多核苷酸，并且第二载体包含编码轻链的多核苷酸。在一些实施方案中，第一载体和第二载体以类似量(如类似摩尔量或类似质量)转染入宿主细胞中。在一些实施方案中，摩尔比或质量比介于5:1与1:5之间的第一载体和第二载体转染入宿主细胞中。在一些实施方案中，使用编码重链的载体与编码轻链的载体的介于1:1与1:5之间的质量比。在一些实施方案中，使用编码重链的载体与编码轻链的载体的1:2的质量比。

[0447] 在一些实施方案中，选择针对多肽在CHO或CHO源性细胞中或在NSO细胞中的表达加以优化的载体。示例性此类载体例如在Running Deer等人，Biotechnol.Prog.20:880-889(2004)中有所描述。

[0448] 宿主细胞

[0449] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体重链和/或抗ICOS抗体轻链可在原核细胞(诸如细菌细胞)中；或在真核细胞(诸如真菌细胞(如酵母)、植物细胞、昆虫细胞和哺乳动物细胞)中表达。所述表达可例如根据本领域中已知的程序来进行。可用于表达多肽的示例性真核细胞包括但不限于COS细胞，包括COS 7细胞；293细胞，包括293-6E细胞；CHO细胞，包括CHO-S、DG44。Lec13 CHO细胞和FUT8 CHO细胞；PER.C6®细胞(Crucell)；以及NSO细胞。在一些实施方案中，抗ICOS抗体重链和/或抗ICOS抗体轻链可在酵母中表达。参见，例如，美国公布号US 2006/0270045 A1。在一些实施方案中，基于特定真核宿主细胞能够对抗ICOS抗体重链和/或抗ICOS抗体轻链进行所需翻译后修饰来对它进行选择。例如，在一些实施方案中，CHO细胞产生唾液酸化程度高于293细胞中产生的相同多肽的多肽。

[0450] 将一个或多个核酸引入所需宿主细胞中可通过任何方法来达成，所述方法包括但不限于磷酸钙转染、DEAE-葡聚糖介导的转染、阳离子脂质介导的转染、电穿孔、转导、感染等。非限制性示例性方法例如在Sambrook等人，Molecular Cloning，A Laboratory Manual，第3版Cold Spring Harbor Laboratory Press(2001)中有所描述。可根据任何适合方法使核酸短暂或稳定转染于所需宿主细胞中。

[0451] 还提供包含本文所述的多核苷酸或载体中的任一种的宿主细胞。在一些实施方案中，提供包含抗ICOS抗体的宿主细胞。能够过表达异源DNA的任何宿主细胞可出于分离编码目标抗体、多肽或蛋白质的基因的目的而使用。哺乳动物细胞的非限制性实例包括但不限于COS、HeLa和CHO细胞。还参见例如PCT公布号WO 87/04462。合适的非哺乳动物宿主细胞包括原核生物(诸如大肠杆菌或枯草芽孢杆菌(B.subtillis))和酵母(诸如酿酒酵母(S.cerevisae)、粟酒裂殖酵母(S.pombe)；或乳酸克鲁维酵母(K.lactis))。

[0452] 抗体的纯化

[0453] 抗ICOS抗体可通过任何适合方法来纯化。所述方法包括但不限于使用亲和力基质或疏水性相互作用色谱。适合的亲和配体包括ROR1ECD和结合抗体恒定区的配体。例如，蛋白质A、蛋白质G、蛋白质A/G或抗体亲和柱可用于结合恒定区，并且纯化抗ICOS抗体。疏水性相互作用色谱(例如丁基或苯基柱)也可适于纯化一些多肽，诸如抗体。离子交换色谱(例如阴离子交换色谱和/或阳离子交换色谱)也可适用于纯化一些多肽，诸如抗体。混合模式色谱(例如反相/阴离子交换、反相/阳离子交换、亲水性相互作用/阴离子交换、亲水性相互作用/阳离子交换等)也可适用于纯化一些多肽，诸如抗体。许多纯化多肽的方法在本领域中是已知的。

[0454] 抗体的无细胞产生

[0455] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体在无细胞系统中产生。非限制性示例性无细胞系统例如在Sitaraman等人，Methods Mol.Biol.498:229-44(2009)；Spirin，Trends Biotechnol.22:538-45(2004)；Endo等人，Biotechnol.Adv.21:695-713(2003)中有所描述。

[0456] 组合物

[0457] 在一些实施方案中，提供由以上所述方法制备的抗体。在一些实施方案中，抗体在宿主细胞中制备。在一些实施方案中，抗体在无细胞系统中制备。在一些实施方案中，抗体是纯化的。在一些实施方案中，宿主细胞或无细胞系统中制备的抗体为嵌合抗体。在一些实

施方案中，宿主细胞或无细胞系统中制备的抗体为人源化抗体。在一些实施方案中，宿主细胞或无细胞系统中制备的抗体为人抗体。在一些实施方案中，提供包含抗ICOS抗体的细胞培养基。在一些实施方案中，提供包含抗ICOS抗体的宿主细胞培养液。

[0458] 在一些实施方案中，提供包含由以上所述方法制备的抗体的组合物。在一些实施方案中，组合物包含宿主细胞中制备的抗体。在一些实施方案中，组合物包含无细胞系统中制备的抗体。在一些实施方案中，组合物包含纯化的抗体。在一些实施方案中，组合物包含宿主细胞或无细胞系统中制备的嵌合抗体。在一些实施方案中，组合物包含宿主细胞或无细胞系统中制备的人源化抗体。在一些实施方案中，组合物包含宿主细胞或无细胞系统中制备的人抗体。

[0459] 在一些实施方案中，提供包含多于约以下中的任一种的浓度的抗ICOS抗体的组合物：10mg/mL、20mg/mL、30mg/mL、40mg/mL、50mg/mL、60mg/mL、70mg/mL、80mg/mL、90mg/mL、100mg/mL、125mg/mL、150mg/mL、175mg/mL、200mg/mL、225mg/mL或250mg/mL。在一些实施方案中，组合物包含宿主细胞或无细胞系统中制备的嵌合抗体。在一些实施方案中，组合物包含宿主细胞或无细胞系统中制备的人源化抗体。在一些实施方案中，组合物包含宿主细胞或无细胞系统中制备的人抗体。

[0460] V.治疗组合物和方法

[0461] 使用抗ICOS抗体治疗疾病的方法

[0462] 提供用于在人或动物的治疗方法中使用的抗体和包含抗体的组合物。还提供包括施用抗ICOS抗体的治疗疾病的方法。可用抗ICOS抗体治疗的非限制性示例性疾病包括但不限于癌症。

[0463] 在一些实施方案中，提供治疗肿瘤的方法，其中肿瘤样品内的细胞表达ICOS。在一些此类实施方案中，肿瘤可视为ICOS阳性，或表达ICOS。ICOS的表达可通过例如如本文所述的IHC来测定。在一些实施方案中，当来自肿瘤的样品显示通过IHC对ICOS染色为1+、2+或3+时，肿瘤被视为表达ICOS。在一些实施方案中，来自肿瘤的样品显示通过IHC对ICOS染色为2+或3+染色。在一些实施方案中，分析来自受试者的肿瘤样品的ICOS表达，并且如果肿瘤样品显示ICOS表达，则选择所述受试者以用本文所述的抗体来治疗。在一些实施方案中，如果肿瘤样品显示升高的ICOS表达，则选择受试者。

[0464] 在一些实施方案中，如果受试者的肿瘤为$PD\text{-}L1^{低}$，则选择所述受试者以用本文提供的抗ICOS抗体来治疗。在一些实施方案中，如果受试者的肿瘤为$ICOS^{高}/PD\text{-}L1^{低}$，则选择所述受试者以用本文提供的抗ICOS抗体来治疗。在一些实施方案中，如果受试者的肿瘤为$ICOS^{高}/PD\text{-}L1^{高}$，则选择所述受试者以用本文提供的抗ICOS抗体来治疗。

[0465] 抗ICOS抗体可按需要向受试者施用。可由本领域技术人员，如主治医师基于以下考虑决定施药频率：所治疗病状、所治疗受试者的年龄、所治疗病状的严重性、所治疗受试者的一般健康状况等。在一些实施方案中，向受试者施用有效剂量的抗ICOS抗体一次或多次。在一些实施方案中，一个月一次、少于一个月一次(例如像每两个月或每三个月)向受试者施用有效剂量的抗ICOS抗体。在一些实施方案中，每月小于一次(例如像每三周一次、每两周一次或每周一次)施用有效剂量的抗ICOS抗体。向受试者施用有效剂量的抗ICOS抗体至少一次。在一些实施方案中，可施用有效剂量的抗ICOS抗体多次，包括持续至少一个月、至少六个月或至少一年的时期。

[0466] 在一些实施方案中，药物组合物以有效治疗(包括预防)癌症的量施用。治疗有效量通常取决于所治疗受试者的重量、他的或她的身体或健康状况、待治疗病状的广泛性或所治疗受试者的年龄。一般来说，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约10μg至每千克体重约100mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约50μg至每千克体重约5mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约100μg至每千克体重约10mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约100μg至每千克体重约20mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约0.5mg至每千克体重约20mg的范围内的量施用。

[0467] 药物组合物以有效增加Teff细胞的数目；活化Teff细胞；耗尽Treg细胞；和/或增加Teff细胞与Treg细胞的比率的量施用。在一些实施方案中，Treg细胞为CD4+ FoxP3+ T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD8+ T细胞。在一些实施方案中，Teff细胞为CD4+ FoxP3- T细胞和CD8+ T细胞。

[0468] 在一些实施方案中，用抗ICOS抗体进行的治疗致使药效学读出，诸如ICOS配体(ICOSL)上调。在一些实施方案中，在B细胞的表面上观察到ICOSL的上调。在一些实施方案中，在粒细胞的表面上观察到ICOSL的上调。在一些实施方案中，在嗜中性粒细胞的表面上观察到ICOSL的上调。可能在肿瘤中的细胞上；脾中的细胞上；外周血中的细胞上观察到ICOSL的上调。细胞表面上ICOSL的上调可例如通过流式细胞术来检测。在一些实施方案中，在用抗ICOS抗体治疗后，血清中可溶性ICOSL增加。可溶性ICOSL可通过包括但不限于ELISA、MSD和质谱的方法来检测。在一些实施方案中，如由游离受体的可用性通过抗ICOS抗体所测量的ICOS靶标参与也可用作药效学读出。在一些此类实施方案中，在通过抗ICOS抗体治疗时，可量化T淋巴细胞表面上的可自由结合另外抗体的ICOS受体的数目。观察到的可用受体的减少可充当抗ICOS抗体结合其靶分子的指示。

[0469] 治疗有效量通常取决于所治疗受试者的重量、他的或她的身体或健康状况、待治疗病状的广泛性或所治疗受试者的年龄。一般来说，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约10μg至每千克体重约100mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约50μg至每千克体重约5mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约100μg至每千克体重约10mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约100μg至每千克体重约20mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约0.5mg至每千克体重约20mg的范围内的量施用。

[0470] 药物组合物

[0471] 在一些实施方案中，包含抗ICOS抗体的组合物与多种多样药学上可接受的载剂提供在制剂中(参见，例如，Gennaro，Remington：The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons：Drugfacts Plus，第20版(2003)；Ansel等人，Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems，第7版，Lippencott Williams and Wilkins(2004)；Kibbe等人，Handbook of Pharmaceutical Excipients，第3版，Pharmaceutical Press(2000))。包括媒介物、佐剂和稀释剂的各种药学上可接受的载剂是可用的。此外，多种可药用的辅助物质如pH值调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、润湿剂等也是可用的。非限制性示例性载剂包括盐水、缓冲盐水、右旋糖、水、甘油、乙醇及其

组合。

[0472] 在一些实施方案中，提供包含抗ICOS抗体的药物组合物。在一些实施方案中，药物组合物包含嵌合抗体。在一些实施方案中，药物组合物包含人源化抗体。在一些实施方案中，药物组合物包含在本文所述的宿主细胞或无细胞系统中制备的抗体。在一些实施方案中，药物组合物包含药学上可接受的载剂。

[0473] 在一些实施方案中，药物组合物以有效治疗(包括预防)癌症的量施用。治疗有效量通常取决于所治疗受试者的重量、他的或她的身体或健康状况、待治疗病状的广泛性或所治疗受试者的年龄。一般来说，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约0.05mg至每千克体重约100mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约10μg至每千克体重约100mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约50μg至每千克体重约5mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约100μg至每千克体重约10mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约100μg至每千克体重约20mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约0.5mg至每千克体重约20mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约0.5mg至每千克体重约10mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约0.05mg至每千克体重约20mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约0.05mg至每千克体重约10mg的范围内的量施用。在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每千克体重约5mg或更低(例如，小于4、小于3、小于2或小于1mg/kg抗体)的范围内的量施用。

[0474] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体可以在每剂每千克体重约50μg至每千克体重约5mg的范围内的量存在。例如，在一些实施方案中，20kg人的剂量可在约1mg至约100mg的范围内。在一些实施方案中，剂量可在2mg至200mg抗ICOS抗体的范围内。在一些实施方案中，剂量可在10mg至400mg抗ICOS抗体的范围内。

[0475] 施用途径

[0476] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体可通过各种途径来在体内施用，所述各种途径包括但不限于静脉内、动脉内、胃肠外、肿瘤内、腹膜内或皮下。可根据预期应用选择适当制剂和施药途径。

[0477] 组合疗法

[0478] 抗ICOS抗体可单独施用或与其他治疗模式一起施用。它们可在其他治疗模式之前、基本上与其他治疗模式同时和/或在其他治疗模式之后提供，所述治疗模式例如手术、化学疗法、放射疗法或施用生物制剂，如另一治疗抗体。在一些实施方案中，抗ICOS抗体与另一种抗癌剂联合施用。

[0479] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体与第二治疗剂同时给予。例如，两种或更多种治疗剂以不多于约60分钟的时间间隔施用，诸如不多于约30、15、10、5或1分钟中的任何一种。在一些实施方案中，抗ICOS抗体与第二治疗剂依序施用。例如，两种或更多种治疗剂施用以多于约15分钟的时间间隔施用，诸如约20、30、40、50或60分钟、1天、2天、3天、1周、2周或1个月或更长时间中的任一种。

[0480] 在一些实施方案中，抗ICOS抗体与用于治疗的第二治疗方法一起施用。因此，本文

提供的抗体的施用可与另一种治疗系统组合。

[0481] 在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与PD-1疗法一起施用。示例性PD-1疗法包括但不限于纳武单抗(OPDIVO®，BMS-936558、MDX-1106、ONO-4538)；pidilizumab、lambrolizumab/派姆单抗(KEYTRUDA，MK-3475)；durvalumab(抗PD-L1抗体、MEDI-4736；AstraZeneca/MedImmune)；RG-7446；avelumab(抗PD-L1抗体；MSB-0010718C；Pfizer)；AMP-224；BMS-936559(抗PD-L1抗体)；AMP-514；MDX-1105；ANB-011；抗LAG-3/PD-1；抗PD-1抗体(CoStim)；抗PD-1抗体(Kadmon Pharm.)；抗PD-1抗体(Immunovo)；抗TIM-3/PD-1抗体(AnaptysBio)；抗PD-L1抗体(CoStim/Novartis)；RG7446/MPDL3280A(抗PD-L1抗体，Genentech/Roche)；KD-033、PD-1拮抗剂(Agenus)；STI-A1010；STI-A1110；TSR-042；以及针对程序性死亡1(PD-1)或程序性死亡配体1(PD-L1)的其他抗体。

[0482] 在一些实施方案中，如果受试者的肿瘤表达PD-L1，则选择所述受试者以用本文提供的抗ICOS抗体和PD-1疗法来治疗。在一些实施方案中，如果受试者的肿瘤为PD-L1^{高}，则选择所述受试者以用本文提供的抗ICOS抗体和PD-1疗法来治疗。在一些实施方案中，如果受试者的肿瘤表达ICOS和PD-L1，则选择所述受试者以用本文提供的抗ICOS抗体和PD-1疗法来治疗。在一些实施方案中，如果受试者的肿瘤为ICOS^{高}/PD-L1^{高}，则选择所述受试者以用本文提供的抗ICOS抗体和PD-1疗法来治疗。确定PD-L1和/或ICOS的水平可例如使用IHC来确定。在一些实施方案中，当样品中的1％或更多或5％或更多的肿瘤细胞显示通过IHC进行的PD-L1膜染色时，患者的肿瘤被视为表达PD-L1。在一些实施方案中，样品中多于50％的肿瘤细胞显示通过IHC进行的PD-L1膜染色。在一些此类实施方案中，受试者的肿瘤被视为PD-L1^{高}。在一些实施方案中，当肿瘤样品中的1％或更多的细胞显示通过IHC进行的ICOS染色时，患者的肿瘤被视为表达ICOS。在一些实施方案中，受试者首先用PD-1疗法来治疗，并且后来用本文提供的抗ICOS抗体来治疗，继续或不继续PD-1疗法。因此，本文提供的方法包括用抗ICOS抗体治疗受试者，其中所述受试者先前已用PD-1疗法来治疗。

[0483] 在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与激动剂抗OX40抗体(诸如Medi6469，MedImmune；MOXR0916/RG7888，Roche)一起施用。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与抗CTLA4抗体(诸如伊匹单抗，YERVOY®，BMS)一起施用。

[0484] 在一些实施方案中，另外的治疗剂为化学治疗剂。可与本文提供的抗ICOS抗体组合的示例性化学治疗剂包括但不限于卡培他滨、环磷酰胺、达卡巴嗪、替莫唑胺、环磷酰胺、多西他赛、多柔比星、柔红霉素、顺铂、卡铂、表柔比星、艾日布林、5-FU、吉西他滨、伊立替康、伊沙匹隆、甲氨蝶呤、米托蒽醌、奥沙利铂、紫杉醇、nab-紫杉醇、ABRAXANE®(蛋白质结合紫杉醇)、培美曲塞、长春瑞滨和长春新碱。在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与至少一种激酶抑制剂一起施用。非限制性示例性激酶抑制剂包括埃罗替尼、阿法替尼、吉非替尼、克唑替尼、达拉菲尼、曲美替尼、威罗菲尼和考比替尼(cobimetanib)。

[0485] 在一些实施方案中，所述另外的治疗剂为IDO抑制剂。非限制性示例性IDO抑制剂例如在US 2016/0060237；以及US 2015/0352206中有所描述。非限制性示例性IDO抑制剂包括Indoximod(New Link Genetics)、INCB024360(Incyte Corp)、1-甲基-D-色氨酸(New Link Genetics)和GDC-0919(Genentech)。

[0486] 在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与免疫调节药物(IMiD)组合施用。非限制性示例性IMiD包括沙利度胺、来那度胺和泊马度胺。

[0487] 在一些实施方案中，另外的治疗剂为癌症疫苗。已经研究将癌症疫苗作为树突状细胞的抗原转移和活化的潜在方法。特别地，与免疫检查点或激动剂组合用于共刺激途径的疫苗接种已经显示克服耐受性并产生增加的抗肿瘤应答的证据。已经测试一系列癌症疫苗，所述疫苗采用不同的方法来促进针对肿瘤的免疫应答(参见，例如，Emens LA，Expert Opin Emerg Drugs 13(2)：295-308(2008))。已经设计增强B细胞、T细胞或专职抗原呈递细胞对肿瘤的应答的方法。示例性癌症疫苗类型包括但不限于采用靶向不同肿瘤抗原的基于肽的疫苗，其可作为肽/蛋白质或遗传工程改造DNA载体、病毒、细菌等来递送；以及例如用于针对不太明确的靶标的癌症疫苗开发的细胞生物学方法，包括但不限于由患者来源的树突状细胞、自体肿瘤细胞或肿瘤细胞裂解物、同种异体肿瘤细胞等开发的疫苗。

[0488] 因此，在某些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体可与癌症疫苗组合使用。示例性癌症疫苗包括但不限于树突状细胞疫苗、溶瘤病毒、肿瘤细胞疫苗等。在一些实施方案中，此类疫苗增大抗肿瘤应答。可与本文提供的抗ICOS抗体组合使用的癌症疫苗的实例包括但不限于MAGE3疫苗(例如，用于黑色素瘤和膀胱癌)、MUC1疫苗(例如，用于乳腺癌)、EGFRv3(诸如Rindopepimut，例如用于脑癌，包括多形性成胶质细胞瘤)或ALVAC-CEA(例如，用于CEA+癌症)。

[0489] 非限制性示例性癌症疫苗还包括Sipuleucel-T，其来源于包括抗原呈递细胞的自体外周血单核细胞(PBMC)(参见，例如，Kantoff PW等人，N Engl J Med 363：411-22(2010))。在Sipuleucel-T代中，患者的PBMC用PA2024即前列腺酸性磷酸酶(前列腺抗原)和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(免疫细胞活化剂)的重组融合蛋白来离体活化。候选癌症疫苗的另一种方法是产生针对肿瘤组织诸如黑色素瘤中突变的特异性肽的免疫应答(参见，例如，Carreno BM等人，Science 348：6236(2015))。在一些实施方案中，此类突变肽可被称为新抗原。作为肿瘤疫苗中新抗原使用的非限制性实例，肿瘤中预测结合主要组织相容性复合蛋白HLA-A*02：01的新抗原被鉴定用于患有癌症(诸如黑色素瘤)的个体患者。来自患者的树突状细胞离体成熟，然后与新抗原一起孵育。然后向患者施用活化的树突状细胞。在一些实施方案中，在施用癌症疫苗后，可检测到针对新抗原的强健T细胞免疫。

[0490] 在一些此类实施方案中，所述癌症疫苗使用新抗原来开发。在一些实施方案中，所述癌症疫苗为DNA疫苗。在一些实施方案中，所述癌症疫苗为包含癌抗原的工程改造病毒，诸如PROSTVAC(rilimogene galvacirepvec/rilimogene glafolivec)。在一些实施方案中，癌症疫苗包含工程改造肿瘤细胞，诸如GVAX，其为粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)基因转染的肿瘤细胞疫苗(参见，例如，Nemunaitis，2005，Expert Rev Vaccines，4：259-74)。

[0491] 在一些实施方案中，本文所述的抗ICOS抗体在癌症疫苗之前、与其同时和/或在其之后施用。在一些实施方案中，使用新抗原开发的癌症疫苗与本文所述的抗ICOS抗体组合使用。在一些此类实施方案中，所述组合用于治疗具有高突变负担的癌症，诸如黑色素瘤、肺癌、膀胱癌或结肠直肠癌。

[0492] 在一些实施方案中，本文提供的抗ICOS抗体与嵌合抗原受体T细胞疗法(CAR-T疗法)组合施用。

[0493] 诊断用途

[0494] 本文提供使用抗ICOS抗体、多肽和多核苷酸以检测、诊断和监测与抗ICOS抗体表

位表达(相对于正常样品增加或减少和/或不适当的表达,诸如通常缺乏表位表达的组织和/或细胞中表达的存在)相关的疾病、病症或病状的方法。本文提供确定患者是否将对抗ICOS抗体疗法应答的方法。

[0495] 在一些实施方案中,方法包括使用抗ICOS抗体检测患者是否具有表达ICOS的细胞。在一些实施方案中,检测方法包括使样品与抗体、多肽或多核苷酸接触,以及确定结合水平是否不同于参照或比较样品(诸如对照)的结合水平。在一些实施方案中,方法可用于确定本文所述的抗体或多肽是否是受试者的适当治疗。

[0496] 在一些实施方案中,使细胞或细胞/组织裂解物与抗ICOS抗体接触,并测定抗体与细胞之间的结合。当测试细胞与属于相同组织类型的参照细胞相比显示结合活性时,可能指示受试者将受益于用抗ICOS抗体进行的治疗。在一些实施方案中,测试细胞来自人组织。

[0497] 可使用本领域已知的用于检测特异性抗体-抗原结合的各种方法。可进行的示例性免疫测定包括荧光偏振免疫测定(FPIA)、荧光免疫测定(FIA)、酶免疫测定(EIA)、浊度抑制免疫测定(NIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射免疫测定(RIA)。指示剂部分或标签基团可连接到受试者抗体,并且被选择以便满足对通常由测定设备和相容性免疫测定程序的可用性决定的方法的各种用途的需要。适当的标签无限制性地包括放射性核素(例如^{125}I、^{131}I、^{35}S、^{3}H或^{32}P)、酶(例如,碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、荧光素酶或β-半乳糖苷酶)、荧光部分或蛋白质(例如,荧光素、罗丹明、藻红蛋白、GFP或BFP)或发光部分(例如,由Quantum Dot Corporation,Palo Alto,Calif.提供的Qdot™纳米颗粒)。用于进行上述各种免疫测定的一般技术是本领域普通技术人员已知的。

[0498] 出于诊断的目的,包括抗体的多肽可用可检测部分来标记,所述可检测部分包括但不限于本领域已知的放射性同位素、荧光标签和各种酶-底物标签。将标签缀合到抗体的方法是本领域已知的。

[0499] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体不需要被标记,并且其存在可使用结合至第一抗ICOS抗体的第二标记抗体来检测。

[0500] 在一些实施方案中,抗ICOS抗体可以任何已知的测定方法来采用,诸如竞争性结合测定、直接和间接夹心测定和免疫沉淀测定。Zola,Monoclonal Antibodies:A Manual of Techniques,第147-158页(CRC Press,Inc.1987)。

[0501] 抗ICOS抗体和多肽还可用于体内诊断测定,诸如体内成像。通常,抗体或多肽用放射性核素(诸如,^{111}In、^{99}Tc、^{14}C、^{131}I、^{125}I、^{3}H或任何其他放射性核素标签,包括本文所概述的那些放射性核素标签)来标记,以便目标细胞或组织可使用免疫闪烁照相术(immunoscintiography)来定位。

[0502] 还可使用本领域熟知的技术来将抗体用作病理学中的染色试剂。

[0503] 在一些实施方案中,第一抗体用于诊断,并且第二抗体用作治疗剂。在一些实施方案中,第一抗体和第二抗体是不同的。在一些实施方案中,第一抗体来自非人,而治疗剂来自人。在一些实施方案中,第一抗体和第二抗体均可通过结合至分开的表位来同时结合至抗原。

[0504] 试剂盒/制品

[0505] 本文还提供用于本文所述的任何方法的试剂盒、药物、组合物和单位剂型。

[0506] 试剂盒可包括一个或多个包含抗ICOS抗体(或单位剂型和/或制品)的容器。在一

些实施方案中，提供单位剂量，其中所述单位剂量含有预定量的包含抗ICOS抗体、有或无一种或多种另外药剂的组合物。在一些实施方案中，所述单位剂量以用于注射的单次使用预填充注射器提供。在一些实施方案中，单位剂量中所含的组合物可以含有盐水、蔗糖等；缓冲剂如磷酸盐等；和/或配制成处于稳定和有效的pH值范围内。在一些实施方案中，组合物可以可在添加适当液体(例如无菌水)后复原的冻干粉末形式提供。在一些实施方案中，组合物包含一种或多种抑制蛋白质聚集的物质，包括但不限于蔗糖和精氨酸。在一些实施方案中，组合物包含肝素和/或蛋白聚糖。

[0507] 在一些实施方案中，单位剂量中使用的抗ICOS抗体的量可以是本文为所述的各种方法和/或组合物提供的任何量。

[0508] 在一些实施方案中，试剂盒还包括用于根据本文所述的任何方法治疗癌症的说明书。试剂盒还可包括对选择适于治疗的个体的描述。试剂盒中提供的说明书通常是标签或包装插页(例如试剂盒中包括的纸张)上的书面说明，但机器可读说明(例如，磁性或光学存储盘上携带的说明)也是可接受的。在一些实施方案中，试剂盒还包含另一种治疗剂。

[0509] 试剂盒具有合适的包装。合适的包装包括但不限于小瓶、瓶、罐、柔性包装(例如，密封的聚酯薄膜或塑料袋)等。试剂盒可任选地提供另外的组分，诸如缓冲液和解释性信息。因此，本申请还提供包括小瓶(诸如密封小瓶)、瓶、罐、柔性包装等的制品。

实施例

[0510] 以下讨论的实施例仅意图例示本发明，并且不应视为以任何方式限制本发明。实施例不意图表示以下实验是进行的全部或仅有实验。已努力确保关于所用数字(例如量、温度等)的准确性，但应考虑一些实验误差和偏差。除非另外指出，否则份数是重量份，分子量是重均分子量，温度是摄氏度并且压力是大气压或接近大气压。

[0511] 实施例1：人肿瘤中ICOS mRNA表达的生物信息学分析。

[0512] 利用作为TCGA的一部分收集的RNA测序数据，在24种不同适应症中比较约7500种肿瘤中的ICOS表达。在头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、非小细胞肺癌(NSCLC)和三阴性乳腺癌(TNBC)亚组中发现高ICOS mRNA水平。参见图1A。

[0513] 研究T细胞浸润与ICOS表达水平之间的关系。一组12种趋化因子基因的表达一直与高水平的T细胞浸润和淋巴结样结构的形成相关(Messina等人，2012，Sci Reports.2：765-771)。基于这12种趋化因子基因的平均表达计算每个样品的趋化因子标志评分。在所有头颈鳞状细胞癌样品(HNSCC)中计算此标志评分。是趋化因子标志或Treg细胞标记(FoxP3)的水平与HNSCC肿瘤中的ICOS水平相关。参见图2。在趋化因子标志与ICOS水平(R＝0.83；斯皮尔曼相关性)或ICOS和FoxP3、Treg细胞标记(R＝0.88；斯皮尔曼相关性)之间存在强相关性。这些数据证明ICOS表达与T细胞浸润和Treg细胞密切相关。在NSCLC和TNBC中观察到类似的数据。

[0514] 在HNSCC肿瘤中，ICOS表达与其他检查点分子诸如CTLA-4和PD-1的表达水平显著相关(R分别等于0.93和0.78)。参见图3。ICOS与PD-L1的相关性较弱(R＝0.62)。在其他适应症诸如NSCLC中观察到类似的数据。这些数据表明ICOS可在表达其他检查点分子诸如CTLA-4和PD-1的相同T细胞上表达。与PD-L1和ICOS的相关性较弱表明可能存在可能为PD-L1低或阴性的ICOS高患者的亚组。这些数据支持ICOS作为PD-L1阴性患者中的单一因素，并且还作

为与抗PD-1或抗CTLA-4疗法的组合策略。

[0515] 实施例2:人肿瘤的IHC分析

[0516] 使用免疫组织化学(IHC)测定来测定ICOS蛋白表达水平。使用兔抗ICOS单克隆抗体(SP98,Spring Biosciences,Pleasanton,CA),此测定验证了测定特异性、测定精度(运行内和运行之间以及批次间再现性)和灵敏度。使用福尔马林固定石蜡包埋(FFPE)组织切片和对照细胞系(工程改造以表达人ICOS的CHO(阳性对照)或不表达ICOS的CHO载体对照细胞系(阴性对照))进行验证研究。在Leica-Bond Rx自动染色平台上进行测定,并在阳性对照CHO细胞和正常人扁桃体中的T细胞亚组中检测到特异性ICOS染色。

[0517] 由训练有素的病理学家使用以下发色团染色标准对载玻片进行评分:

[0518]

ICOS阳性细胞的频率	评分
<1%的细胞为ICOS阳性	0
>1%但<5%的细胞为ICOS阳性	1+
>5%但<15%的细胞为ICOS阳性	2+
>15%的细胞为ICOS阳性	3+

[0519] 使用此评分系统对来自11种不同肿瘤类型的组织微阵列进行染色和分类。参见图1B。IHC数据证实基于mRNA的数据在于HNSCC、NSCLC和TNBC含有最高百分比的高ICOS+免疫细胞浸润(即3+)。参见图1B。除了这些肿瘤外,来自黑色素瘤、结肠直肠癌和胃腺癌的患者亚组具有中度水平的ICOS阳性细胞浸润。参见图1B。

[0520] 为了评估表达ICOS的T细胞的普遍性和性质,开发用于检测ICOS、FOXP3和CD8的多重免疫荧光IHC测定。利用对人肿瘤切片中总细胞核数目进行计数的DNA标记(DAPI)。

[0521] 使用免疫组织化学分析用识别人ICOS的兔单克隆抗体克隆(Spring Biosciences Inc.Pleasanton,CA)确定ICOS表达。使用人扁桃体和组成型地过表达ICOS的细胞系确认ICOS IHC测定的特异性和灵敏度。由训练有素的病理学家使用以下标准对染色强度进行评分。所有阳性染色是基于至少三分之二细胞中的膜表达的评分。

[0522] 评分方案的代表性图像示于图4中。基于以下免疫荧光标准进行评分:

[0523] 0(阴性)=无或小于0.1%的细胞具有膜染色

[0524] 1+(轻度)=0.1%至5%的细胞为阳性

[0525] 2+(中度)=5%至10%的细胞为阳性

[0526] 3+(强)=细胞中的>10%至50%为阳性

[0527] ICOS表达在各种NSCLC或相邻正常肺样品亚组中的普遍性概述于表2中。在癌症患者的相邻正常肺组织中未观察到强ICOS表达。在所有主要的肺癌亚型中观察到强ICOS表达。约29%-31%的最常见NSCLC亚型(腺癌或鳞状细胞癌)具有强ICOS染色。

[0528] 表2.ICOS染色在基于病理学评分的NSCLC样品的各种亚组中的分布。

[0529]

肿瘤亚型	N	强(3+)	中度(2+)	弱(1+)	阴性(0)
SCLC	2	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)
鳞状	49	14 (29%)	14 (29%)	17 (35%)	4 (8%)
腺癌	16	5 (31%)	2 (13%)	8 (50%)	1 (6%)
腺鳞状	9	3 (11%)	2 (11%)	3 (11%)	1 (67%)
细支气管肺泡癌 (Brochiolalveolar carcinoma)	9	2 (22%)	2 (22%)	5 (56%)	0 (0%)
未分化	5	1 (20%)	0 (0%)	3 (60%)	1(20%)
正常	3		1 (33%)	2 (67%)	0 (0%)

[0530] 还使用图像分析软件(来自Tissuegnostics Inc.,Tarzana,CA的Strataquest)来采用测量ICOS阳性细胞的自动化方法。通过测定如由DAPI染色区界定的活的人肿瘤组织区中ICOS阳性细胞的数目来测定固定肿瘤组织区域中ICOS阳性细胞的密度。由大约500个个体患者的分开的组在4个主要肿瘤类型[NSCLC(N=100);HNSCC(N=102);乳腺癌,所有主要亚型(N=94);三阴性乳腺癌亚型,TNBC(N=95);卵巢癌(N=94)]中测定ICOS细胞密度。分析结果的概述示于图5中。与ICOS mRNA分析一致,与卵巢癌或乳腺癌相比,HNSCC和NSCLC肿瘤的ICOS阳性肿瘤密度显著较高。虽然在乳腺癌中ICOS表达较低,但在TNBC亚型中观察到高水平的ICOS表达,所述高水平的ICOS表达占乳腺癌的约10%。参见图5。乳腺癌的这种TNBC亚型是治疗选择有限且医疗需求最未满足的最具侵袭性的亚型。

[0531] 在具有高表达ICOS肿瘤类型(NSCLC)的两种不同群组中患者对患者的ICOS表达变异性示于图6A和6B中。在来自购自商业供应商的98个肺癌样品(图6A)的NSCLC中观察到一系列ICOS细胞密度。使用NSCLC(N=204)的独立临床群组(图6B)观察ICOS表达的类似多样性。

[0532] 使用图像分析软件(来自Tissuegnostics Inc.,Tarzana,CA的Strataquest)分析并定量用来自上述人肿瘤样品的ICOS、FoxP3(Treg细胞标记)和CD8进行的多重IHC。用这些T细胞标记进行的多重ICOS染色的代表性图像示于图7A中。亦为FOXP3阳性的ICOS阳性细胞被称为ICOS+ CD4 Treg细胞。ICOS阳性和CD8阳性细胞被称为ICOS+ CD8细胞。ICOS阳性但CD8和FoxP3阴性的细胞被称为ICOS+ CD4 Teff。使用如上所述的图像分析软件定量不同的ICOS阳性T细胞亚组的密度。在肺(N=100)和TNBC(n=95)样品中,存在ICOS阳性的大量CD4效应细胞和CD4 Treg细胞(图7B)。相比之下,在卵巢癌(n=94)中未观察到许多ICOS阳性细胞。HNSCC肿瘤(N=102)具有大量的ICOS阳性CD4 Treg细胞。在所检查的所有肿瘤类型中观察到仅有少量ICOS阳性CD8 T细胞。这些数据表明,与CD8 T细胞相比,ICOS主要在CD4区室中表达,并且可在适应症中观察到Treg对Teff的相对比例的变化。

[0533] 为理解ICOS表达是否与PD-L1状态直接相关,评估PD-L1水平与ICOS表达之间的相关性。生物信息学分析表明PD-L1表达和ICOS水平呈弱相关(R=0.62)。通过多重IHC评估PD-L1、ICOS和PD-1水平。示出来自PD-L1高和低肺肿瘤的多重IHC的代表性图像。参见图8。

评估NSCLC肿瘤的154个腺癌亚型中的PD-L1和ICOS。基于PD-L1阳性的5％细胞将肿瘤细分成PD-L1高或低肿瘤。结果指示PD-L1阳性肿瘤的ICOS表达密度较高。

[0534] 实施例3:流式细胞术分析

[0535] 为了证实通过IHC获得的ICOS表达数据以及比较不同T细胞群体中表达的ICOS的相对强度,使用多色流式细胞术评估肿瘤浸润淋巴细胞中的ICOS表达。分析来自四个HNSCC患者、三个肺癌患者和四个卵巢癌患者的样品。与IHC数据一致,主要在CD4T细胞上观察到ICOS表达。参见图9(HNSCC)。CD8群体中ICOS阳性细胞的频率在这些肿瘤的大多数中非常低。我们还观察到,大多数CD4效应细胞共表达ICOS和PD-1。这些数据支持单独或与抗PD-1疗法组合在临床中开发ICOS治疗剂。ICOS染色的平均荧光强度(MFI)提供不同T细胞群体中ICOS表达的量度。Treg细胞中ICOS阳性细胞的MFI比CD4效应细胞高2-3倍。参见图9C。应注意,具有高ICOS MFI的CD4效应细胞群体较小。Teff与Treg中ICOS受体密度的差异的证实,外加来自正在进行的评估差异性Teff和Treg对耗尽的灵敏度的ADCC测定的数据,将支持开发具有可能潜在耗尽Treg细胞的活性Fc的激动性抗体。

[0536] 翻译研究显示人肿瘤亚组(诸如HNSCC、NSCLC等)中肿瘤浸润性ICOS阳性T细胞的高水平。ICOS表达与其他检查点调控因子诸如CTLA-4和PD-1等的表达相关。对T细胞亚组的分析显示,ICOS表达主要限于CD4 T细胞区室。在两个FoxP3阳性Treg细胞以及CD4 Teff细胞中均表达ICOS。研究显示,与文献一致,与CD4 Teff细胞相比,Treg细胞中ICOS表达水平较高。

[0537] 实施例4:抗体生成

[0538] 试剂

[0539] 使代表人、小鼠、大鼠和食蟹猴物种的ICOS蛋白质产生为同二聚体、Fc融合体(IgG1主链),并且使用人和小鼠ICOS-hFc作为用于啮齿动物免疫的抗原。人ICOS-hFc包括人ICOS氨基酸1至141(在成熟构建体中,21至141);小鼠ICOS-hFc包括小鼠ICOS氨基酸1至142(在成熟构建体中,21至142)。

[0540] 产生ICOS-Fc作为二价和单价Fc融合分子,以分别评定抗体对ICOS的亲合结合和单价结合。

[0541] 出于筛选目的,产生过表达全长人或小鼠ICOS(ICOS+ CHO细胞或“CHO-ICOS细胞”)的CHO稳定细胞系如编码全长食蟹猴或大鼠ICOS的构建体一样产生,以使能够在瞬时转染后进行筛选。

[0542] 啮齿动物抗体活动

[0543] 以精确抗体进行啮齿动物活动。用hICOS-hFc或mICOS-hFc免疫小鼠(10只)、大鼠(6只)、叙利亚仓鼠(6只)和亚美尼亚仓鼠(6只)。产生杂交瘤,并通过ELISA筛选上清液与hICOS和mICOS的结合,以及通过FACS对与CHO-hICOS和CHO-mICOS细胞的结合进行多重筛选。另外评定杂交瘤阻断ICOSL与CHO-ICOS细胞结合的能力。选择对于与小鼠和人ICOS的结合评分为阳性的克隆以进行蛋白质纯化。随后在结合和阻断测定中重新筛选纯化的抗体,并且如下所概述对评分为阳性的抗体进行体外评定。由源自亚美尼亚仓鼠融合的免疫方法选择所有抗体以进行进一步研究。

[0544] 抗体的生物化学表征

[0545] 使用Bio-Layer Interferometry(BLI)技术(ForteBio Octet®RED96)进行亲和力

测量。用IgG形式的抗体针对单价、异二聚体形式的ICOS受体产生单价亲和力。使用针对同二聚体形式的ICOS受体的全长IgG产生亲合亲和力。所选仓鼠抗体的单体和二价hICOS亲和力示于表3中。

[0546] 表3.仓鼠来源的抗体亲和力。

[0547]

	单体 hICOS 亲和力			二价 hICOS 亲和力		
mAb	K_D	K_{on} (1/Ms)	K_{dis}(1/s)	K_D (M)	K_{on} (1/Ms)	K_{dis} (1/s)
7F12	1.32E-08	1.33E+05	1.75E-03	3.42E-11	6.74E+05	2.30E-05
35A9	2.45E-09	1.78E+05	4.38E-04	<1.0E-12	6.25E+05	<1.0E-07
36E10	1.59E-09	1.43E-05	2.28E-04	<1.0E-12	6.26E+05	<1.0E-07
37A10	3.18E-09	1.51E+05	4.79E-04	3.42E-11	6.74E+05	2.30E-05
16G10	4.37E-09	1.63E+05	7.12E-04	<1.0E-12	1.01E+06	<1.0E-07

[0548] 还测定抗体对食蟹猴、小鼠和大鼠ICOS的结合亲和力，并且发现抗体以相当的亲和力结合所有物种。使用BLI技术进行交叉反应性测量，筛选抗体组与人、小鼠和食蟹猴ICOS-Fc融合体(同二聚体、二价形式)的结合。表4示出几种仓鼠抗体对人和食蟹猴ICOS的代表性结合数据。

[0549] 表4.几种仓鼠抗体对人ICOS-Fc和食蟹猴ICOS-Fc的二价结合亲和力。

[0550]

	hICOS-Fc			cynoICOS-Fc		
配体/mAb	K_D (M)	K_{on}(1/Ms)	K_{dis}(1/s)	K_D (M)	K_{on} (1/Ms)	K_{dis} (1/s)
hICOSL-mG2a	3.62E-10	9.41E+05	3.41E-04			
7F12	3.42E-11	6.74E+05	2.30E-05	<1.0E-12	5.85E+05	<1.0E-07
35A9	<1.0E-12	1.01E+06	<1.0E-07	<1.0E-12	7.40E+05	<1.0E-07
36E10	<1.0E-12	6.17E+05	<1.0E-07	<1.0E-12	6.97E+05	<1.0E-07
37A10	<1.0E-12	6.25E+05	<1.0E-07	<1.0E-12	7.12E+05	<1.0E-07
16G10	<1.0E-12	6.26E+05	<1.0E-07	<1.0E-12	6.47E+05	<1.0E-07

[0551] 为了评定特异性,通过流式细胞术单独分析与人ICOS+ CHO细胞和小鼠ICOS+ CHO细胞的结合。作为筛选出泛反应性抗体的对照,还检查缺乏ICOS受体表达的CHO细胞上的染色。所有所选抗体结合至人和小鼠ICOS+ CHO细胞,而未结合至缺乏ICOS表达的CHO细胞。

[0552] 为进一步评定抗ICOS抗体的特异性,筛选抗体与CD28蛋白家族的另外成员(CD28、BTLA、PD-1和CTLA-4)的结合。未观察到所选抗体与人或小鼠CD28、BTLA、PD-1或CTLA4的交叉反应性。具体地,评估与二聚体形式的Fc融合体(CD28、BTLA、PD-1和CTLA-4)的结合,并且未观察到结合。对于CD28家族成员的亚组,小鼠或人蛋白质在HEK293和CHOK1细胞的表面上过表达。相对于未转导的亲本细胞,未观察到高于本底的抗体结合。

[0553] 还发现抗体未结合至丰富的血清蛋白,也未结合至血小板或红细胞。

[0554] 使用BLI进行表位分箱(Epitope binning)。还针对ICOSL-Fc融合体(同二聚体、二价形式)来对抗体进行分箱。发现所有所选抗体处于相同表位箱中,并且所有抗体阻断ICOS与ICOS配体的结合。

[0555] 人源化

[0556] 通过在人和仓鼠来源的抗体可变框架区之间进行同源性研究来将所选抗体人源化。提供一组用于分析的主要设计,然后产生抗体以与野生型抗体(仓鼠或嵌合体形式)进行比较。一旦产生人源化组,则基于亲和力和体外活性对引导物(lead)进行表征和分级。执行另外的人源化设计以减少序列负荷和低评分的免疫原性位点,致使序列变异较小。考虑的序列负荷包括存在游离半胱氨酸和潜在的化学降解位点(天冬酰胺脱酰胺、天冬氨酸异构化、甲硫氨酸/色氨酸和非酶促赖氨酸糖化)。

[0557] 通过生物膜干涉法(BLI)技术(ForteBio Octet®RED96)测量具有37A10S713的可变区的人源化抗体对来自人、食蟹猴和大鼠的单体形式ICOS的亲和力,并且K_D示于表5中。K_D

被视为在物种中是相当的，因为它们处于2至5倍内。通过评定诱导从每个物种分离的原代CD4+T细胞增殖的效力来证实结合的功能性。

[0558] 表5. 37A10S713对人、食蟹猴和大鼠ICOS的单价结合亲和力。

[0559]

	人	食蟹猴	大鼠
结合亲和力(K_D nM)[A]	1.50±0.39	0.66±0.16	7.20±2.55
原代CD4+ T细胞增殖的效力(EC50 nM)[B]	4.27-49.75	8.25 – 13.14	10.7-30.0

[0560] [A]亲和力显示为6次实验的平均值±SEM;[B]显示4个供体的范围

[0561] 实施例5：抗ICOS抗体的体外功能表征

[0562] 使用许多基于细胞的体外测定来评定抗ICOS mAb的活性。主要目的是筛选具有激动性/共刺激性特性的抗体。由于细胞系统(原代细胞与转染细胞系)和抗体呈递方法(可溶性与板结合或交联)可影响激动性活性，所以采用许多不同的测定形式。此外，还使用检测不期望的超激动性活性的测定(参见，Suntharalingam等人，2006，N.Eng.J.Med.，355：1018-28)。

[0563] 对以下概述的细胞类型进行被设计来寻找抗ICOS mAb的激动性/共刺激性活性的测定，使用次最佳浓度的抗CD3或PMA或在PBMC测定中在用超抗原(SEB)刺激的情况下向T细胞提供第一信号(信号1)：

[0564] 1.原代人CD4+ T细胞测定

[0565] a.用抗CD3共刺激的板结合/交联抗体形式

[0566] b.用PMA共同刺激的可溶性抗体形式

[0567] 2.Jurkat测定(具有转染的人或小鼠ICOS构建体的报告细胞系)

[0568] a.具有抗CD3或PMA的板结合/交联形式

[0569] b.用PMA共同刺激的可溶性抗体形式

[0570] 3.人PBMC测定

[0571] a.具有超抗原(SEB)的可溶性抗体形式

[0572] 在以上测定中筛选仓鼠抗ICOS mAb的组以鉴定具有激动性特性的抗体。使用以加入板结合抗ICOS抗体的次最佳抗CD3共同刺激的原代人CD4+ T细胞的测定中观察到的激动性活性的实例示于图10A中，以选择仓鼠抗ICOS抗体。在此测定中，在四种浓度(μg/ml)的板结合的仓鼠抗ICOS抗体(7F12、37A10和16G10)的存在下，用次最佳板结合的抗CD3活化与PBMC分离的人CD4+ T细胞。在抗CD3的存在下将板结合的hICOSL和可溶性抗CD28用作阳性对照。分裂细胞％以图表表示。多种抗ICOS抗体在此测定中展示出活性。图10B示出使用可溶性抗体和用次最佳PMA共刺激的测定的结果。将人CD4+ T细胞通过阴性选择来与PBMC分离，并用CFSE标记。在96孔板中单独使用次最佳PMA(0.25ng/ml)或在指示浓度(μg/ml)的抗ICOS抗体37A10的不同Fc形式(仓鼠、mG1、mG2a、mG1Agly或hG1)的存在下活化细胞。将可溶性抗CD28抗体用作对照。在第3天通过流式细胞术分析增殖。小鼠IgG1和小鼠IgG1-agly形式连同亲本全仓鼠抗体在测定中显示出活性。至少抗体37A10在可溶性和板结合形式中显示出激动剂活性。参见图10A和10B。

[0573] 图10C示出在原代人CD4+ T细胞测定中具有人IgG1的37A10S713抗体的结果的激动剂活性。将CD4+ T细胞与来自4个健康供体的PBMC分离，用CFSE染料标记，然后在用次最佳浓度的抗CD3和各种浓度的37A10S713-hIgG1或阴性对照人IgG1抗体(抗呼吸道合胞病毒(RSV))包被的板中孵育。3天后，使用流式细胞术测定分裂细胞的百分比。对于所测试的4个供体，EC50值的范围为4.27-49.75nM。将增殖绘制为分裂细胞的百分比(通过CFSE稀释使用流式细胞术测量)，并且其为重复的平均值。图10C示出来自代表性供体的数据。

[0574] 仓鼠抗体证明激动性活性的测定的另一个实例为Jurkat报告测定。通过将hICOS-hCD28嵌合表达构建体转导到Jurkat NFkB报告细胞系中来开发Jurkat报告测定。将Jurkat-hICOS-hCD28报告细胞用PMA和11种浓度(μg/ml)的具有不同Fc末端的可溶性仓鼠抗ICOS 37A10抗体活化5小时。将可溶性抗CD28和hICOSL-Fc用作对照。GFP+细胞％以图表表示。来自使用仓鼠抗ICOS抗体进行的Jurkat报告测定的代表性数据示于图11中。图11A示出指示浓度(μg/ml)的抗ICOS抗体37A10的不同Fc形式(hG1、mG1、mG2a、mG1Agly)的结果。抗ICOS抗体的所有Fc形式(包括mG1-agly形式(即最小Fc效应功能))均在此测定中显示出活性。图11B示出指示浓度(μg/ml)的人源化抗体37A10S713、37A10S715、37A10S716和37A10S718的结果。所有四种测试的人源化抗体均在测定中显示出激动剂活性。

[0575] 显示出激动活性的另一个测定形式是用超抗原葡萄球菌肠毒素B(SEB)使用细胞因子产生(例如，IFNg)作为读出进行的PBMC测定。此测定通常具有对细胞因子释放的1.5-3倍影响的小窗口。与公布的抗PD-1数据一致，用抗ICOS抗体进行的细胞因子诱导为约2倍，但在此测定中在多个供体中再现地观察到。参见，例如Korman等人，2014，Cancer Res.，2：846-856。代表性测定示于图12中。将来自健康供体的冷冻PBMC用SEB和指示浓度(μg/ml)的可溶性抗ICOS 37A10抗体(具有mG1、mG1-agly或hG1 Fc)刺激3天。将上清液收集，并且通过细胞因子珠粒阵列使用流式细胞术测量IFNg水平。将抗CD28和小鼠IgG1同种型抗体用作对照。在可溶性抗ICOS抗体存在下用SEB刺激后，通过PBMC诱导IFNg。在此测定形式中，37A10的mG1-agly形式显示出降低的活性。

[0576] 为了筛选出任何潜在的超激动剂，使用已知的抗CD28超激动剂抗体作为阳性对照采用其中在不存在信号1的情况下原代人CD4+ T细胞与可溶性或板结合的抗ICOS抗体一起孵育的测定。在不存在抗CD3的情况下活化的人CD4 T细胞将仅在用可溶形式的抗CD28超激动剂抗体(克隆CD28.2/5D10)处理时增殖，但是在用ICOSL-Fc或抗ICOS抗体37A10(仓鼠和hG1 Fc形式)或非强激动剂抗CD28(CD28.2)抗体处理时未增殖。所测试的抗ICOS mAb均未在此测定中展示出超激动性活性。代表性数据示于图13中。

[0577] 良好地确立了ICOS可通过AKT信号传导途径来进行信号传导(在Simpson等人，2010，Curr.Opin.Immunol.，22：326-332中综述)。将抗ICOS抗体通过AKT诱导信号传导的能力评估为证明抗体的激动性活性的另外手段。

[0578] 将与人PBMC分离的CD4 T细胞用抗CD3/抗CD28刺激24小时，然后在培养基中静置24小时。然后在有或无抗小鼠IgG交联抗体的情况下，将细胞与抗ICOS 37A10-mG2a、hICOSL-mG2a Fc或PBS一起孵育2、5、15或30分钟。孵育后，将细胞固定，透化，然后用抗磷酸AKT抗体染色。通过流式细胞术分析pAKT阳性细胞的百分比。

[0579] 如图14A-B所示，与用hICOSL-mG2a进行的处理相比，在用具有类似动力学的37A10-mG2a处理后，在CD4 T细胞上诱导pAKT。仅在二级交联剂存在下观察到pAKT信号传导

的诱导。

[0580] 实施例6:抗ICOS抗体的体内功能表征

[0581] 使用同基因肿瘤模型在体内评价选自上述筛选测定的抗体。

[0582] 可将Sa1N纤维肉瘤模型(Ostrand-Rosenberg,2001,Curr.Protoc.Immunol.,第20章)用于体内评估抗ICOS抗体。Sa1/N小鼠模型的免疫谱显示,其被CD4 T细胞高度浸润,并且CD4 T细胞表达高水平的ICOS。这种免疫谱类似于NSCLC患者样品的免疫谱,在NSCLC患者样品的免疫谱中我们观察到高水平的CD4浸润,而ICOS表达主要限于CD4区室。

[0583] 用于评估抗ICOS抗体功效的第二模型为CT26结肠癌模型(Wang等人,1995,J.Immunol.,9:4685-4692)。CT26小鼠模型的免疫谱显示高水平的CD8浸润。在此模型中在CD8 T细胞亚组中观察到ICOS表达。人NSCLC样品的一小部分类似地显示CD8 T细胞中的ICOS表达。

[0584] 用于体内评估的抗体形式

[0585] 人IgG1(hIgG1)可结合多个Fc受体,包括与能够受体交联并介导ADCC和CDC的活化Fc受体的强结合。鉴于结合活化的Fc受体的能力,hIgG1通常能够耗尽表达高水平靶标的细胞。相当于hIgG1的最亲近小鼠为小鼠IgG2a(mIgG2a)。因此,作为实例,评估具有耗尽能力的ICOS激动剂抗体的体内实验将利用mIgG2a来模拟hIgG1的特性。

[0586] 将人IgG4(hIgG4)用于不需要耗尽的治疗情况中,尽管hIgG4能够进行一些水平的耗尽。人IgG4大致上(虽然不完全地)与小鼠IgG1(mIgG1)对准,所述小鼠IgG1几乎专一地结合抑制性FcγRII受体,并且因此能够交联,但未特别地胜任耗尽。

[0587] 关于抗ICOS抗体,仓鼠抗体最初在体内作为全仓鼠Ab评估。仓鼠Ab具有仓鼠IgG1,所述仓鼠IgG1与mIgG1具有类似的FcR结合特征。将目标仓鼠抗体作为具有小鼠Fc区的嵌合体(作为mIgG2a或mIgG1)克隆。

[0588] Sa1N纤维肉瘤模型

[0589] 用于筛选抗ICOS抗体候选者的功效的主要体内模型为Sa1N纤维肉瘤模型。因此,在Sa1N模型中评定选自上述筛选测定的抗体。在最初研究中,当在Sa1N模型中以8mg/kg剂量作为单一药剂施用时,几种仓鼠抗体(克隆7F12、36E10、37A10、16G10和35A9)证明强健的抗肿瘤活性。参见图15。将Sa1N纤维肉瘤细胞($1x10^6$个)s.c.注射到初次接受试验的A/J小鼠(6-8周龄,雌性)的右侧腹。当肿瘤体积在第7天达到50-100mm^3时,将小鼠随机分组。小鼠在第7天、第10天、第14天和第17天i.p.接受仓鼠抗ICOS(7F12、36E10、37A10、16G10和35A9)或仓鼠IgG同种型抗体。每周两次监测肿瘤生长。N=10。

[0590] 癌症免疫治疗剂的潜在有益特征是对肿瘤施加持续和持久的免疫应答的能力。确定先前用抗ICOS抗体治疗的小鼠随后排斥肿瘤的能力。在第7天、第10天、第14天和第17天,以8mg/kg抗体处理小鼠。随后,在第60天然后对无肿瘤的小鼠重新植入肿瘤。与肿瘤在所有小鼠中生长的初次接受试验的小鼠(n=10)相反,用抗ICOS抗体7F12预处理的所有小鼠(n=7)排斥新植入的肿瘤。参见图16。

[0591] 将仓鼠抗体作为具有小鼠Fc区(mG1或mG2a)的嵌合抗体进行克隆,以能够评定Fc效应功能对体内活性的贡献。从第11天开始,小鼠每两周一次地接受总计4个剂量的4mg/kg抗体。包括抗CTLA-4抗体作为阳性对照。最初筛选实验以4mg/kg剂量进行,并且在mG1和mG2a两种形式的情况下观察到功效。一种仓鼠抗体37A10的代表性数据示于图17中。

[0592] 结肠CT26同基因肿瘤模型

[0593] 将结肠CT26同基因肿瘤模型用于评定单一药剂活性，以及与抗PD-1抗体的组合疗法。

[0594] 在CT26模型中，几种抗ICOS仓鼠抗体(例如，7F12、35A9、36E10、37A10)展示出单一药剂活性。参见图18。还将CT26模型用于评定与抗PD-1的潜在组合活性。当抗ICOS抗体与抗PD-1抗体组合时，抗肿瘤功效显著增强。每两周(在第3天开始，4个剂量)将带有CT26肿瘤的小鼠单独用仓鼠抗ICOS抗体(8mg/kg)治疗一次，或用与抗PD-1抗体(8mg/kg)组合的仓鼠抗ICOS抗体(8mg/kg)治疗一次。值得注意的是，抗PD-1与抗ICOS抗体37A10的组合致使9/10的小鼠无肿瘤。参见图18。

[0595] 实施例7：选择性Treg耗尽有助于抗ICOS抗体功效

[0596] 进行离体研究以表征在用抗ICOS抗体给药后免疫细胞浸润物的状态。Sa1N模型的研究显示用7F12处理后的Treg群体减少。在第7天和第10天，小鼠以8mg/kg接受两个剂量的抗ICOS仓鼠7F12、7F12-mG1或7F12-mG2a。收获肿瘤和脾，并且在第12天进行分析。Treg明显减少，但Teff细胞未明显减少，但对淋巴器官诸如脾或淋巴结中的T细胞群体的影响很小。参见图19。

[0597] 还在其他抗ICOS抗体(诸如37A10)的情况下观察到类似结果。参见图20。在第7天和第10天，小鼠以8mg/kg接受两个剂量的抗ICOS抗体。将肿瘤收获，并且在第12天进行分析。在CT26模型中，在用抗ICOS抗体给药后，也观察到Treg群体的类似减少。

[0598] 总之，TIL(肿瘤浸润淋巴细胞)研究支持以下假设：Treg细胞被本文所述的抗ICOS抗体选择性地耗尽，而没有Teff细胞群体的相应耗尽，并且特别是在肿瘤中而非在其他器官中或在周边中。

[0599] 为了正式证明免疫系统对抗ICOS抗体功效的贡献，在肿瘤模型Sa1N的背景下进行细胞耗尽实验。具体地，小鼠耗尽CD8 T细胞，CD4 T细胞或CD4 + CD8 T细胞的组合。在肿瘤植入后第6天和第13天时，用抗CD8、抗CD4、抗CD4 +抗CD8或对照Ig抗体处理小鼠(每组n＝10)。在第7天、第10天、第14天和第17天，以8mg/kg抗体施用抗ICOS抗体7F12。每周两次监测肿瘤生长。

[0600] 当小鼠耗尽CD4、CD8或CD4 + CD8 T细胞时，观察到7F12的抗肿瘤功效显著降低。参见图21。

[0601] 实施例8：由人源化抗ICOS抗体引起的选择性Treg减少

[0602] 将人PBMC在具有5％CO_2的湿润培养箱中在37℃下与100ng/ml重组人IL-2一起孵育48小时。48小时后，以指示浓度加入抗体37A10S713。将抗体在含有IL-2的培养基中制备为10倍系列稀释。将抗体/细胞混合物另外孵育72小时。孵育后，根据标准方法对细胞的CD3、CD4、CD8、CD25和FoxP3进行染色，并通过流式细胞术进行分析。对每种浓度和处理进行Treg(CD4+ CD25+ FoxP3+)和Teff(CD4+ CD25- FoxP3-)细胞的定量。将每种浓度的数据归一化为曲妥珠单抗治疗组中每个亚组的百分比。

[0603] 所述实验的结果示于图22A中。抗体37A10S713引起Treg细胞的剂量依赖性减少。如图22B所示，在IL-2治疗5天后，Teff和Treg细胞表达类似水平的ICOS。

[0604] 实施例9：用抗ICOS抗体治疗后的肿瘤重激发

[0605] 使用具有27号针头的结核菌素注射器用100μl PBS中的$1x10^6$个Sa1/N细胞在右侧

腹以皮下方式接种6至8周龄的雌性A/J小鼠。监测肿瘤生长，并且在第7天，在将每个治疗组的平均肿瘤体积归一化为100-150mm^{3}后，将动物重新分配到新笼中。每个治疗组中包括10只小鼠。将动物用抗体通过腹膜内注射0.25mg/kg抗ICOS抗体(具有小鼠IgG2a的37A10S713 VH和VL(SEQ ID NO:60和61))或同种型对照来治疗。在第7天进行单剂量给药，或在第7天和第14天进行2个剂量给药。每周两次监测肿瘤生长和动物体重。当肿瘤体积达到约2000mm^{3}时，或者如果根据IACUC方案存在诸如严重溃疡的临床痛苦的体征时，则处死小鼠。

[0606] 图23(左图)示出施用单剂量抗ICOS抗体(n＝10)或两个剂量抗ICOS抗体(n＝10)的小鼠的肿瘤体积。

[0607] 进行肿瘤重激发实验以评定应答的耐久性。将先前用Sa1/N细胞激发的用单剂量或两个剂量的0.25mg/kg 37A10S713-mIgG2a抗体将肿瘤根除的7只小鼠在最初肿瘤激发后10周用Sa1/N细胞在对侧腹上重激发。作为对照，还用Sa1/N细胞(N＝10)激发初次接受试验的小鼠。每两周评定动物的肿瘤生长一次。

[0608] 如图23(右图)所示，先前已用抗ICOS抗体治疗将肿瘤根除的小鼠均未在重激发实验中显示出肿瘤生长。

[0609] 实施例10：施用抗ICOS抗体的带有Sa1/N肿瘤的小鼠和食蟹猴中的ICOS配体(ICOSL)表达

[0610] 在第0天时，用Sa1/N肿瘤细胞接种8周龄的雌性A/J小鼠。在第7天时，当肿瘤达到约100mm^{3}时，向小鼠i.p.施用5或100μg单一剂量的具有小鼠IgG1或IgG2a的抗体37A10或同种型对照抗体。在第10天向小鼠施用随后剂量的抗体，在第12天时收获组织(血液、脾和肿瘤)。在组织处理后，将细胞与5％Fc封闭剂(5％重构正常大鼠、小鼠和人血清、5％胎牛血清、0.1mg/mL封闭Fc的Ab 2.4G2、0.01％叠氮化钠)一起在流动染色缓冲液(FSB:1xPBS中的5％FBS、0.01％叠氮化钠)中在冰上孵育15分钟。在Fc封闭后，将细胞在FSB中在冰上用细胞外染色混合物(抗CD45-BV510、抗CD19-BV605、抗ICOSL-PE、可固定活力染料eFluor 780)染色1小时。将细胞用FSB洗涤两次。将细胞在冰上用固定/透化溶液固定30分钟。将细胞用1x透化缓冲液洗涤两次，然后在透化缓冲液中在冰上用细胞内染色混合物(抗CD3-BUV496染色1小时。将细胞用透化缓冲液洗涤两次，然后重悬于1.5％PFA FSB溶液中。使细胞在BD Fortessa上运行，并使用FlowJo软件分析来数据。

[0611] 将样品在BD Fortessa流式细胞仪上分析。对于ICOSL表达的分析，在活的CD45+ CD3- CD19+ B细胞上分析ICOSL的染色。报告ICOSL平均荧光强度(MFI)。

[0612] 通过1小时静脉内输注向每剂量组(0.5mg/kg、5mg/kg、75mg/kg和单独的媒介物)的三只食蟹猴施用具有人IgG1的抗体37A10S713。在第一剂量前(第1天)、第一剂后48小时(第3天)、第一剂后7天(第二剂量前；第8天)和第二剂后48小时(第10天)获得血液。首先在冰上用5μL人TruStain对95μL全血样品进行第一Fc封闭15分钟。在Fc封闭后，加入100μL含有抗CD3 FITC、抗CD20 PE、抗CD14 PE/Cy7、活力染料e780和cynoICOS-Fc DyLight 650的抗体混合物。将血液和抗体混合物在冰上孵育60分钟。孵育后，将样品以500xg离心5分钟。倾析上清液，并且将样品重悬于200μL的FACS染色缓冲液中。将洗涤步骤重复三次，最后再次悬浮于200μL染色缓冲液+0.1％多聚甲醛中。

[0613] 将样品在BD Fortessa流式细胞仪上分析。对于ICOSL表达的分析，在活的CD3- CD20+ B细胞上分析由DyLight 650标记的cynoICOS-Fc进行的ICOSL的染色。在每个时间点

时将ICOSL MFI归一化为媒介物。

[0614] 那些实验的结果示于图24A和24B中。相对于同种型对照处理的小鼠，在所有抗体治疗和剂量以及所有组织中观察到ICOS-L表达的剂量依赖性增加。参见图24A。类似地，相对于媒介物和研究前样品，在食蟹猴中的0.5和5mg/kg剂量组的所有时间点时观察到ICOS-L表达的剂量依赖性增加。参见图24B。还在75mg/kg组中观察到ICOSL的诱导，但因为抗ICOS抗体能够结合染色试剂(cynoICOS-Fc)，所观察到的表达可能由于潜在的药物干扰而不具代表性。

[0615] 还可如由受体可用性测定所测量例如如下来评定ICOS靶标参与。对初次接受试验的小鼠用2.5mg/kg的同种型对照mIgG2a或2.5mg/kg的具有小鼠IgG2a的37A10S713进行i.p.注射。在注射后的不同时间点时，通过下颌下牵引将血液收集在EDTA包被的微管中。

[0616] 在冰上使用小鼠TruStain(BioLegend)对全血进行Fc封闭5分钟。孵育后，在4℃下向每个样品中加入100μl 2x浓缩的细胞外染色抗体混合物，保持30分钟。将样品离心沉降(spun down)，并且固定并在4℃下在Foxp3染色缓冲液(eBioSciences)中透化30分钟。然后将样品离心沉降，并且在4℃下重悬于细胞内抗体中，染色30分钟。将样品离心沉降并重悬于0.1％PFA中。将样品在BD LSRII Fortessa上分析。将Treg鉴定为活CD45+ CD3+ CD4+ Foxp3+。将Teff细胞鉴定为活CD45+ CD3+ CD4+ Foxp3-。将CD8+细胞鉴定为活CD45+ CD3+ CD8+。将荧光标记的37A10S713-mG2a(DyLight 650缀合的)用作ICOS的染色试剂。使用以下公式确定每个时间点时的受体可用性：

[0617] 时间t时可用受体％＝((时间t时37A10S713-mG2aDy650的MFI-时间t时同种型Dy650的MFI))/((研究前37A10S713-mG2aDy650的MFI-研究前同种型Dy650的MFI))x 100

[0618] 结果显示，在施用抗ICOS抗体后，检测不到游离受体的水平，表明抗体使所有可用的靶ICOS分子饱和。

[0619] 实施例11：在抗ICOS抗体治疗后Th-1趋化因子和细胞因子的诱导

[0620] 手术后24小时获得新鲜的患者肺肿瘤。将软组织从肿瘤中手动移除，并将剩余的实体肿瘤在铸造容器中包埋于4％低熔点琼脂中，并使其在冰上固化。通过振动切片机(Leica)(速度:2，频率:9)切割凝胶包埋的肿瘤，产生厚度为300μm的切片。如果肿瘤太软而不能通过振动切片机来切片，则用刀片手动切割组织。

[0621] 将肿瘤切片置于40μm transwell过滤器(Millipore)中(约1个切片/孔)，并且将单元移至6孔板的孔中，所述孔含有1.5mL组织培养基(完全RPMI 1640/AIM-V)。然后将适当处理剂加入相应孔的培养基中。处理剂包括10μg/ml作为同种型对照的抗RSV hIgG1(Lake Pharma，批号3086-849598)、10μg/ml具有人IgG1的抗体37A10S713(SEQ ID NO:188和189)或10μg/ml抗PD-1(IgG4)抗体。制备不同时间点(范围为6-72小时)的复制板。将板置于37℃、5％CO_2下的培养箱中。

[0622] 在所需时间点时，将肿瘤切片收集并浸入RNALater(Ambion)中。使用RNeasy Mini试剂盒(Qiagen，目录号74106)根据制造商的说明书提取RNA。RNA提取后，使用Bio-Rad iScript cDNA合成试剂盒(目录号170-8891)，将用1μg RNA用于逆转录。以1:7稀释RT产物，并且每次qPCR反应使用3μl。使用Bio-Rad实时系统，使用来自Thermo Fisher Scientific的TaqMan基因表达主混合物(目录号4369016)进行qPCR。所用的TaqMan测定列于表6中。

[0623] 将表达归一化为CD45，倍数变化计算为：

[0624] $$倍数变化=\frac{1/2^{(表达靶标浓度-表达CD45浓度)}}{1/2^{(分离靶标浓度-分离CD45浓度)}}$$

[0625] 表6.TaqMan趋化因子和细胞因子测定

[0626]

靶标	测定ID	来源
CD8B	Hs00174762_m1	ThermoFisher Scientific
CSF2	Hs00929873_m1	ThermoFisher Scientific
PRF1	Hs00169473_m1	ThermoFisher Scientific
GZMA	Hs00989184_m1	ThermoFisher Scientific
GZMB	Hs00188051_m1	ThermoFisher Scientific
IL2	Hs00174114_m1	ThermoFisher Scientific
CXCL9	Hs00171065_m1	ThermoFisher Scientific
CXCL10	Hs01124251_g1	ThermoFisher Scientific
CXCL11	Hs04187682_g1	ThermoFisher Scientific
FOXP3	Hs01085834_m1	ThermoFisher Scientific
CTLA4	Hs00175480_m1	ThermoFisher Scientific
CD45	Hs04189704_m1	ThermoFisher Scientific
CXCL13	Hs00757930_m1	ThermoFisher Scientific

[0627] 所述实验的结果示于图25中。在肺肿瘤1的情况下，在6小时时间点时，抗ICOS抗体致使GZMa、GZMb、CSF2、IL2、CXCL9、CXCL10、CXCL11和CXCL13的表达增加。抗PD-1抗体还增加GZMa、GZMb、CSF2、CXCL9和CXCL10的表达(尽管在较小程度上)，并且显示CXCL11的类似增加。对于肺肿瘤2，在24小时时间点时，抗ICOS抗体治疗显示CXCL11的持续增加，以及IL2、CXCL9和CXCL10的一些继续升高。在24小时时，抗PD-1抗体仅显示CXCL11的轻微升高。

[0628] 实施例12:在激动剂抗ICOS抗体治疗后Treg细胞上NKp46配体的诱导

[0629] 将外周血单核细胞使用Ficoll(GE Life Sciences)离心从健康人供体中分离(研究血液组分)，在BamBanker(Wako-Chem)中冷冻，并且在-150℃下储存直至使用。在37℃下在补充有10％胎牛血清(Sigma-Aldrich)和1％青霉素/链霉素(Gibco)的RPMI(Gibco)中将PBMC与可溶性抗ICOS抗体和板结合的抗人CD3(1μg/ml涂覆，Biolegend，OKT3)一起孵育。在测定中测试三种抗体:强激动剂抗体37A10S713、弱激动剂抗体和弱拮抗剂抗体。四天后，将PBMC从板上轻轻刮下并用含有1％胎牛血清、0.05％叠氮化钠(Ricco)和2mM EDTA(Ambion)的DPBS(Gibco)洗涤。然后将细胞用人TruStain FcX(Biolegend)封闭。为了检测NKp46配体，将细胞与2μg/mL NKp46-hIgG1Fc(R&D Systems，1850-NK)一起孵育。使用PE缀合的抗人IgG(Biolegned，多克隆)检测结合至细胞的NKp46-hIgG1Fc。将细胞再次用人TruStain FcX封闭，然后用抗人CD56(Biolgend，Brilliant Violet 711，HCD56)、抗人CD16(Biolegend，Brilliant Violet 785，3G8)、抗人CD4(Biolegend，Brilliant Violet 510，OKT4)、抗人CD8(BD Biosciences，BUV395，RPA-T8)、抗人CD25(Biolegend，Brilliant Violet 605，BC96)和可固定活力染料(eBioscience，eFluor 780)染色。染色后，将细胞固定，并用Foxp3/转录因子染色缓冲液套组(eBioscience)透化。透化后，将细胞用抗人CD3(BD

Biosceinces,PE-CF594,UCHT1)和抗人Foxp3(eBioscience,APC,PCH101)以细胞内方式染色。然后将细胞固定在多聚甲醛(Alfa Aesar)中。在BD LSRII Fortessa上获得数据,并将其在FlowJo v10.1软件上进行分析。

[0630] 所述实验的结果示于图26和图27中。用激动剂抗ICOS抗体37A10S713进行的治疗致使来自三个不同供体的Treg细胞上NKp46配体的强诱导。参见图26A-F(图26A-B示出来自供体1的数据,图26C-D示出来自供体2的数据,并且图26E-F示出来自供体3的数据)。Teff细胞上NKp46配体的诱导不如Treg细胞上一样强。参见图26A-F。此外,用激动剂抗ICOS抗体37A10S713进行的治疗致使NK细胞上CD16的损失(CD16脱落),表明NK细胞活化。参见图27。

[0631] 不意图受任何特定理论束缚,假设激动剂抗ICOS抗体37A10S713显著增加Treg细胞上的NKp46配体水平,并且还活化NK细胞,致使选择性Treg耗尽。

[0632] 可在不脱离本公开的精神或基本特征的情况下以其他特定形式来实施本公开。因此,上述实施方案在所有方面都应视为具有说明性而非限制本公开。因此,本公开的范围是由随附权利要求而非由上述描述所指示,并且因此属于权利要求的等效性含义和范围内的所有变化都意图包括在本文中。

[0633] 序列表

[0634]

SEQ ID NO	描述	序列
1	人 ICOS 前体(具有信号序列); UniProtKB/Swiss-Prot: Q9Y6W8.1; 07-JAN-2015	MKSGLWYFFL FCLRIKVLTG EINGSANYEM FIFHNGGVQI LCKYPDIVQQ FKMQLLKGGQ ILCDLTKTKG SGNTVSIKSL KFCHSQLSNN SVSFFLYNLD HSHANYYFCN LSIFDPPPFK VTLTGGYLHI YESQLCCQLK FWLPIGCAAF VVVCILGCIL ICWLTKKKYS SSVHDPNGEY MFMRAVNTAK KSRLTDVTL
2	人成熟 ICOS(没有信号序列)	EINGSANYEM FIFHNGGVQI LCKYPDIVQQ FKMQLLKGGQ ILCDLTKTKG SGNTVSIKSL KFCHSQLSNN SVSFFLYNLD HSHANYYFCN LSIFDPPPFK VTLTGGYLHI YESQLCCQLK FWLPIGCAAF VVVCILGCIL ICWLTKKKYS SSVHDPNGEY MFMRAVNTAK KSRLTDVTL
3	小鼠 ICOS 前体(具有信号序列); UniProtKB/Swiss-Prot: Q9WVS0.2; 07-JAN-2015	MKPYFCRVFV FCFLIRLLTG EINGSADHRM FSFHNGGVQI SCKYPETVQQ LKMRLFRERE VLCELTKTKG SGNAVSIKNP MLCLYHLSNN SVSFFLNNPD SSQGSYYFCS LSIFDPPPFQ ERNLSGGYLH IYESQLCCQL KLWLPVGCAA FVVVLLFGCI LIIWFSKKKY GSSVHDPNSE YMFMAAVNTN KKSRLAGVTS
4	小鼠成熟 ICOS(没有信号序列)	EINGSADHRM FSFHNGGVQI SCKYPETVQQ LKMRLFRERE

[0635]

		VLCELTKTKG SGNAVSIKNP MLCLYHLSNN SVSFFLNNPD SSQGSYYFCS LSIFDPPPFQ ERNLSGGYLH IYESQLCCQL KLWLPVGCAA FVVVLLFGCI LIIWFSKKKY GSSVHDPNSE YMFMAAVNTN KKSRLAGVTS
5	食蟹猴 ICOS 前体(具有信号序列)	MKSGLWYFFL FCLHMKVLTG EINGSANYEM FIFHNGGVQI LCKYPDIVQQ FKMQLLKGGQ ILCDLTKTKG SGNKVSIKSL KFCHSQLSNN SVSFFLYNLD RSHANYYFCN LSIFDPPPFK VTLTGGYLHI YESQLCCQLK FWLPIGCATF VVVCIFGCIL ICWLTKKKYS STVHDPNGEY MFMRAVNTAK KSRLTGTTP
6	食蟹猴成熟 ICOS(没有信号序列)	EINGSANYEM FIFHNGGVQI LCKYPDIVQQ FKMQLLKGGQ ILCDLTKTKG SGNKVSIKSL KFCHSQLSNN SVSFFLYNLD RSHANYYFCN LSIFDPPPFK VTLTGGYLHI YESQLCCQLK FWLPIGCATF VVVCIFGCIL ICWLTKKKYS STVHDPNGEY MFMRAVNTAK KSRLTGTTP
10	7F12 重链可变区	E V Q L V E S G G G L V K P G G S L T L S C A A S G F T F S D Y W M D W V R Q G P G K G L E W V G N I D E D G S T T Y Y A P F V K G R F T I S R D N A K K T L Y L Q M N S V K S E D T A T Y Y C T R W G R Y A F D S W G Q G T L V T V S S
11	7F12 轻链可变区	D I V M T Q S P S S L A V S P G D K V T I N C K S S Q S L L S G N Y N Y L A W Y Q Q K T G Q A P K L L I F Y A S T R H T G V P D R F M G S G S G T D F S L T I N S F Q T E D L G D Y Y C Q H H Y S T P P T F G P G T K L E I K
12	7F12 VH CDR1	G F T F S D Y W M D

[0636]

13	7F12 VH CDR2	N I D E D G S T T Y Y A P F V K G
14	7F12 VH CDR3	W G R Y A F D S
15	7F12 VL CDR1	K S S Q S L L S G N Y N Y L A
16	7F12 VL CDR2	Y A S T R H T
17	7F12 VL CDR3	Q H H Y S T P P T
20	37A10 重链可变区	E V Q L V E S G G G L V K P G G S L K L S C A A S G F T F S D Y W M D W V R Q A P G K G L E W V G N I D E D G S I T E Y S P F V K G R F T I S R D N V K N T L Y L Q M N S V K S E D T A T Y Y C T R W G R F G F D S W G Q G T L V T V S S
21	37A10 轻链可变区	D I V M T Q S P S S L A V S A G D R V T I N C K S S Q S L L S G S F N Y L T W Y Q Q K T G Q A P K L L I F Y A S T R H T G V P D R F M G S G S G T D F T L T I N S F Q T E D L G D Y Y C H H H Y N A P P T F G P G T K L E L R
22	37A10 VH CDR1	G F T F S D Y W M D
23	37A10 VH CDR2	N I D E D G S I T E Y S P F V K G
24	37A10 VH CDR3	W G R F G F D S
25	37A10 VL CDR1	K S S Q S L L S G S F N Y L T
26	37A10 VL CDR2	Y A S T R H T
27	37A10 VL CDR3	H H H Y N A P P T
30	35A9 重链可变区	E V Q L V E S G G G L V K P G G S L K L S C A A S G F T F S D Y W M D W V R Q A P G K G L E W V G N I D E D G S I A E Y S P F V K G R F T I S R D N V K N T L Y L Q M N S V K S E D T A T Y Y C S R W G R F A F D S W G Q G T L V T V S S
31	35A9 轻链可变区	D I V M T Q S P S S L A V S A G D R V T I N C K S S Q S L L S G S F N Y L T W Y Q Q K T G Q A P K L L I F Y A S T R H T G V P D R F M G S G S G T D F T L T I

[0637]

		NSFQTEDLGDYYCHH HYNAPPTFGPGTKLEL R
32	35A9 VH CDR1	GFTFSDYWMD
33	35A9 VH CDR2	NIDEDGSIAEYSPFVK G
34	35A9 VH CDR3	WGRFAFDS
35	35A9 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
36	35A9 VL CDR2	YASTRHT
37	35A9 VL CDR3	HHHYNAPPT
40	36E10 重链可变区	EVQLVESGGGLVKPG GSLKLSCAASGFTFSD YWMDWVRQAPGKGL EWVGNIDEDGSITEYS PFVKGRFTISRDNVKN ILYLQMNSVKSEDTAT YYCTRWGRFAFDSWG QGTLVTVSS
41	36E10 轻链可变区	DIVMTQSPSSLAVSPG DRVTINCKSSQSLLSG SFHYLTWYQQKTGQA PKLLIFYASTRHTGVP DRFMGSGSGTDFTLTI NSFQTEDLGDYYCHH HYNAPPTFGPGTKLEL R
42	36E10 VH CDR1	GFTFSDYWMD
43	36E10 VH CDR2	NIDEDGSITEYSPFVK G
44	36E10 VH CDR3	WGRFAFDS
45	36E10 VL CDR1	KSSQSLLSGSFHYLT
46	36E10 VL CDR2	YASTRHT
47	36E10 VL CDR3	HHHYNAPPT
50	16G10 重链可变区	EVQLVESGGGLVKPG GSLKLSCAASGFTFSD YWMDWVRQAPGKGL EWVGNIDHDGNIINFA PSVKGRFTISRDNAKN TLYLQMNSVKSEDTA TYYCARWGHYAFDSW GQGTLVTVSS
51	16G10 轻链可变区	DIVMTQSPSSLAVSAG

[0638]

		D K V T I N C K S S Q S L L S S G Y N Y L I W Y Q Q K T G Q A P K L L I F Y A S T R H T G V P D R F I G S G S G T D F T L T I T S F Q T E D L G D Y Y C Q H H Y S S P P T F G P G T K L E I K
52	16G10 VH CDR1	G F T F S D Y W M D
53	16G10 VH CDR2	N I D H D G N I I N F A P S V K G
54	16G10 VH CDR3	W G H Y A F D S
55	16G10 VL CDR1	K S S Q S L L S S G Y N Y L I
56	16G10 VL CDR2	Y A S T R H T
57	16G10 VL CDR3	Q H H Y S S P P T
60	37A10S713 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDEDGSITEY SPFVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCTRWG RFGFDSWGQG TLVTVSS
61	37A10S713 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRHT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP TFGPGTKVDI K
62	37A10S713 VH CDR1	GFTFSDYWMD
63	37A10S713 VH CDR2	NIDEDGSITEYSPFVKG
64	37A10S713 VH CDR3	WGRFGFDS
65	37A10S713 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
66	37A10S713 VL CDR2	YASTRHT
67	37A10S713 VL CDR3	HHHYNAPPT
70	37A10S714 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDEDGSITEY SPFVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCTRWG RFGFDSWGQG TLVTVSS
71	37A10S714 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRET GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP

[0639]

		TFGPGTKVDI K
72	37A10S714 VH CDR1	GFTFSDYWMD
73	37A10S714 VH CDR2	NIDEDGSITEYSPFVKG
74	37A10S714 VH CDR3	WGRFGFDS
75	37A10S714 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
76	37A10S714 VL CDR2	YASTRET
77	37A10S714 VL CDR3	HHHYNAPPT
80	37A10S715 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDEDGSITEY SPFVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCTRWG RFGFDSWGQG TLVTVSS
81	37A10S715 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRQT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP TFGPGTKVDI K
82	37A10S715 VH CDR1	GFTFSDYWMD
83	37A10S715 VH CDR2	NIDEDGSITEYSPFVKG
84	37A10S715 VH CDR3	WGRFGFDS
85	37A10S715 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
86	37A10S715 VL CDR2	YASTRQT
87	37A10S715 VL CDR3	HHHYNAPPT
90	37A10S716 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDESGSITEY SPFVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCTRWG RFGFDSWGQG TLVTVSS
91	37A10S716 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRHT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP TFGPGTKVDI K
92	37A10S716 VH CDR1	GFTFSDYWMD
93	37A10S716 VH CDR2	NIDESGSITEYSPFVKG
94	37A10S716 VH CDR3	WGRFGFDS
95	37A10S716 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
96	37A10S716 VL CDR2	YASTRHT

97	37A10S716 VL CDR3	HHHYNAPPT
100	37A10S717 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDESGSITEY SPFVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCTRWG RFGFDSWGQG TLVTVSS
101	37A10S717 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRET GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP TFGPGTKVDI K
102	37A10S717 VH CDR1	GFTFSDYWMD
103	37A10S717 VH CDR2	NIDESGSITEYSPFVKG
104	37A10S717 VH CDR3	WGRFGFDS
105	37A10S717 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
106	37A10S717 VL CDR2	YASTRET
107	37A10S717 VL CDR3	HHHYNAPPT
110	37A10S718 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDESGSITEY SPFVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCTRWG RFGFDSWGQG TLVTVSS
111	37A10S718 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRQT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP TFGPGTKVDI K
112	37A10S718 VH CDR1	GFTFSDYWMD
113	37A10S718 VH CDR2	NIDESGSITEYSPFVKG
114	37A10S718 VH CDR3	WGRFGFDS
115	37A10S718 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
116	37A10S718 VL CDR2	YASTRQT
117	37A10S718 VL CDR3	HHHYNAPPT
120	16G10S71 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDHDGNIINF APSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARWG

[0640]

		HYAFDSWGQG TLVTVSS
121	16G10S71 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SSGYNYLIWY QQKPGQPPKL LIFYASTRHT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQHHYSSPP TFGPGTKVDI K
122	16G10S71 VH CDR1	GFTFSDYWMD
123	16G10S71 VH CDR2	NIDHDGNIINFAPSVKG
124	16G10S71 VH CDR3	WGHYAFDS
125	16G10S71 VL CDR1	KSSQSLLSSGYNYLI
126	16G10S71 VL CDR2	YASTRHT
127	16G10S71 VL CDR3	QHHYSSPPT
130	16G10S72 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDHDGNIINF APSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARWG HYAFDSWGQG TLVTVSS
131	16G10S72 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SSGYNYLIWY QQKPGQPPKL LIFYASTRET GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQHHYSSPP TFGPGTKVDI K
132	16G10S72 VH CDR1	GFTFSDYWMD
133	16G10S72 VH CDR2	NIDHDGNIINFAPSVKG
134	16G10S72 VH CDR3	WGHYAFDS
135	16G10S72 VL CDR1	KSSQSLLSSGYNYLI
136	16G10S72 VL CDR2	YASTRET
137	16G10S72 VL CDR3	QHHYSSPPT
140	16G10S73 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDHDGNIINF APSVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARWG HYAFDSWGQG TLVTVSS
141	16G10S73 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SSGYNYLIWY QQKPGQPPKL LIFYASTRQT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQHHYSSPP

[0641]

[0642]

		TFGPGTKVDI K
142	16G10S73 VH CDR1	GFTFSDYWMD
143	16G10S73 VH CDR2	NIDHDGNIINFAPSVKG
144	16G10S73 VH CDR3	WGHYAFDS
145	16G10S73 VL CDR1	KSSQSLLSSGYNYLI
146	16G10S73 VL CDR2	YASTRQT
147	16G10S73 VL CDR3	QHHYSSPPT
150	16G10S83 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLEWVSN IDHDGNIINF APSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSVRAED TAVYYCARWG HYAFDSWGQG TLVTVSS
151	16G10S83 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSAGERVT INCKSSQSLL SSGYNYLIWY QQKPGQPPKL LIFYASTRQT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQHHYSSPP TFGQGTKLEI K
152	16G10S83 VH CDR1	GFTFSDYWMD
153	16G10S83 VH CDR2	NIDHDGNIINFAPSVKG
154	16G10S83 VH CDR3	WGHYAFDS
155	16G10S83 VL CDR1	KSSQSLLSSGYNYLI
156	16G10S83 VL CDR2	YASTRQT
157	16G10S83 VL CDR3	QHHYSSPPT
160	35A9S79 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDEDGSIAEY SPFVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG RFAFDSWGQG TLVTVSS
161	35A9S79 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRQT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP TFGPGTKVDI K
162	35A9S79 VH CDR1	GFTFSDYWMD
163	35A9S79 VH CDR2	NIDEDGSIAEYSPFVKG
164	35A9S79 VH CDR3	WGRFAFDS
165	35A9S79 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
166	35A9S79 VL CDR2	YASTRQT

[0643]

167	35A9S79 VL CDR3	HHHYNAPPT
170	35A9S710 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDESGSIAEY SPFVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG RFAFDSWGQG TLVTVSS
171	35A9S710 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRHT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP TFGPGTKVDI K
172	35A9S710 VH CDR1	GFTFSDYWMD
173	35A9S710 VH CDR2	NIDESGSIAEYSPFVKG
174	35A9S710 VH CDR3	WGRFAFDS
175	35A9S710 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
176	35A9S710 VL CDR2	YASTRHT
177	35A9S710 VL CDR3	HHHYNAPPT
180	35A9S89 重链可变区	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLEWVSN IDEDGSIAEY SPFVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG RFAFDSWGQG TLVTVSS
181	35A9S89 轻链可变区	DIVMTQSPDS LAVSAGERVT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRQT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP TFGQGTKLEI K
182	35A9S89 VH CDR1	GFTFSDYWMD
183	35A9S89 VH CDR2	NIDEDGSIAEYSPFVKG
184	35A9S89 VH CDR3	WGRFAFDS
185	35A9S89 VL CDR1	KSSQSLLSGSFNYLT
186	35A9S89 VL CDR2	YASTRQT
187	35A9S89 VL CDR3	HHHYNAPPT
188	37A10S713 人 IgG1 重链	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYWMDWVRQA PGKGLVWVSN IDEDGSITEY SPFVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCTRWG

		RFGFDSWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK
[0644]	189	37A10S713 人κ轻链	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLL SGSFNYLTWY QQKPGQPPKL LIFYASTRHT GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCHHHYNAPP TFGPGTKVDI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV THQGLSSPVT KSFNRGEC
	190	大鼠 ICOS 前体(具有信号序列)；UniProt Q9R1T7	MKPYFSCVFV FCFLIKLLTG ELNDLANHRM FSFHDGGVQI SCNYPETVQQ LKMQLFKDRE VLCDLTKTKG SGNTVSIKNP MSCPYQLSNN SVSFFLDNAD SSQGSYFLCS LSIFDPPPFQ EKNLSGGYLL IYESQLCCQL KLWLPVGCAA FVAALLFGCI FIVWFAKKKY RSSVHDPNSE YMFMAAVNTN KKSRLAGMTS

[0645]

191	成熟大鼠 ICOS(没有信号序列)	ELNDLANHRM FSFHDGGVQI SCNYPETVQQ LKMQLFKDRE VLCDLTKTKG SGNTVSIKNP MSCPYQLSNN SVSFFLDNAD SSQGSYFLCS LSIFDPPPFQ EKNLSGGYLL IYESQLCCQL KLWLPVGCAA FVAALLFGCI FIVWFAKKKY RSSVHDPNSE YMFMAAVNTN KKSRLAGMTS

序列表

<110> 震动疗法股份有限公司(JOUNCE THERAPEUTICS, INC.)

<120> ICOS的抗体

<130> 01140-0001-00US

<150> US 62/137,034

<151> 2015-03-23

<150> US 62/147,484

<151> 2015-04-14

<150> US 62/156,588

<151> 2015-05-04

<150> US 62/242,489

<151> 2015-10-16

<150> US 62/255,635

<151> 2015-11-16

<160> 191

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 199

<212> PRT

<213> 智人()

<400> 1

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

130 135 140

Ile Gly Cys Ala Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu
145 150 155 160

Ile Cys Trp Leu Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro
165 170 175

Asn Gly Glu Tyr Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser
180 185 190

Arg Leu Thr Asp Val Thr Leu
195

<210> 2

<211> 179

<212> PRT

<213> 智人()

<400> 2

Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile Phe His Asn Gly
1 5 10 15

Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val Gln Gln Phe Lys
20 25 30

Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp Leu Thr Lys Thr
35 40 45

Lys Gly Ser Gly Asn Thr Val Ser Ile Lys Ser Leu Lys Phe Cys His
50 55 60

Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu Tyr Asn Leu Asp
65 70 75 80

His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser Ile Phe Asp Pro
85 90 95

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

Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro Ile Gly Cys Ala
115 120 125

Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu Ile Cys Trp Leu
130 135 140

Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr
145 150 155 160

Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser Arg Leu Thr Asp
165 170 175

Val Thr Leu

<210> 3

<211> 200

<212> PRT
<213> 小家鼠()
<400> 3

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

<210> 4
<211> 180
<212> PRT
<213> 小家鼠()
<400> 4

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

35 40 45

Lys Gly Ser Gly Asn Ala Val Ser Ile Lys Asn Pro Met Leu Cys Leu
50 55 60

Tyr His Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu Asn Asn Pro Asp
65 70 75 80

Ser Ser Gln Gly Ser Tyr Tyr Phe Cys Ser Leu Ser Ile Phe Asp Pro
85 90 95

Pro Pro Phe Gln Glu Arg Asn Leu Ser Gly Gly Tyr Leu His Ile Tyr
100 105 110

Glu Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Leu Trp Leu Pro Val Gly Cys
115 120 125

Ala Ala Phe Val Val Val Leu Leu Phe Gly Cys Ile Leu Ile Ile Trp
130 135 140

Phe Ser Lys Lys Lys Tyr Gly Ser Ser Val His Asp Pro Asn Ser Glu
145 150 155 160

Tyr Met Phe Met Ala Ala Val Asn Thr Asn Lys Lys Ser Arg Leu Ala
165 170 175

Gly Val Thr Ser
180

<210> 5

<211> 199

<212> PRT

<213> 食蟹猴()

<400> 5

Met Lys Ser Gly Leu Trp Tyr Phe Phe Leu Phe Cys Leu His Met Lys
1 5 10 15

Val Leu Thr Gly Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile
20 25 30

Phe His Asn Gly Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val
35 40 45

Gln Gln Phe Lys Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp
50 55 60

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

Lys Phe Cys His Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu
85 90 95

Tyr Asn Leu Asp Arg Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser
100 105 110

Ile Phe Asp Pro Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu

115 120 125

His Ile Tyr Glu Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro
130 135 140

Ile Gly Cys Ala Thr Phe Val Val Val Cys Ile Phe Gly Cys Ile Leu
145 150 155 160

Ile Cys Trp Leu Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Thr Val His Asp Pro
165 170 175

Asn Gly Glu Tyr Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser
180 185 190

Arg Leu Thr Gly Thr Thr Pro
195

<210> 6

<211> 179

<212> PRT

<213> 食蟹猴()

<400> 6

Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile Phe His Asn Gly
1 5 10 15

Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val Gln Gln Phe Lys
20 25 30

Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp Leu Thr Lys Thr
35 40 45

Lys Gly Ser Gly Asn Lys Val Ser Ile Lys Ser Leu Lys Phe Cys His
50 55 60

Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu Tyr Asn Leu Asp
65 70 75 80

Arg Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser Ile Phe Asp Pro
85 90 95

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

Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro Ile Gly Cys Ala
115 120 125

Thr Phe Val Val Val Cys Ile Phe Gly Cys Ile Leu Ile Cys Trp Leu
130 135 140

Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Thr Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr
145 150 155 160

Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser Arg Leu Thr Gly
165 170 175

Thr Thr Pro

<210> 7
<400> 7
000
<210> 8
<400> 8
000
<210> 9
<400> 9
000
<210> 10
<211> 117
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 10

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

<210> 11
<211> 111
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 11

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Pro	Gly
1				5					10						15
Asp	Lys	Val	Thr	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Ser	Gly
			20					25					30		

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

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 12
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Met Asp
1 5 10

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 13
Asn Ile Asp Glu Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Pro Phe Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 14
<211> 8
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 14
Trp Gly Arg Tyr Ala Phe Asp Ser
1 5

<210> 15
<211> 15
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 15
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Ala
1 5 10 15

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 16
Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5
<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 17
Gln His His Tyr Ser Thr Pro Pro Thr
1 5
<210> 18
<400> 18
000
<210> 19
<400> 19
000
<210> 20
<211> 117
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 20
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Asn Ile Asp Glu Asp Gly Ser Ile Thr Glu Tyr Ser Pro Phe Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Val Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Trp Gly Arg Phe Gly Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 21
<211> 111
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 21

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

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 22

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Met Asp
1 5 10

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 23

Asn Ile Asp Glu Asp Gly Ser Ile Thr Glu Tyr Ser Pro Phe Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 24
<211> 8
<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 24

Trp Gly Arg Phe Gly Phe Asp Ser
1 5

<210> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 25

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly Ser Phe Asn Tyr Leu Thr
1 5 10 15

<210> 26

<211> 7

<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 26

Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 27

His His His Tyr Asn Ala Pro Pro Thr
1 5

<210> 28

<400> 28

000

<210> 29

<400> 29

000

<210> 30

<211> 117

<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 30

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Arg Phe Ala Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 31

<211> 111

<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 31

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly

20 25 30

Ser Phe Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ala Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Phe Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Phe Gln Thr Glu Asp Leu Gly Asp Tyr Tyr Cys His His His Tyr

85 90 95

Asn Ala Pro Pro Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Leu Arg

100 105 110

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 32

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Met Asp

1 5 10

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 33
Asn Ile Asp Glu Asp Gly Ser Ile Ala Glu Tyr Ser Pro Phe Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 34
<211> 8
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 34
Trp Gly Arg Phe Ala Phe Asp Ser
1 5
<210> 35
<211> 15
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 35
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly Ser Phe Asn Tyr Leu Thr
1 5 10 15
<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 36
Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5
<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 37
His His His Tyr Asn Ala Pro Pro Thr
1 5
<210> 38
<400> 38
000

<210> 39
<400> 39
000
<210> 40
<211> 117
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 40

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

<210> 41
<211> 111
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 41

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

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

<210> 42
<211> 10
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 42
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Met Asp
1 5 10

<210> 43
<211> 17
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 43
Asn Ile Asp Glu Asp Gly Ser Ile Thr Glu Tyr Ser Pro Phe Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 44
<211> 8
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 44
Trp Gly Arg Phe Ala Phe Asp Ser
1 5

<210> 45
<211> 15
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 45
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Gly Ser Phe His Tyr Leu Thr
1 5 10 15

<210> 46
<211> 7
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 46
Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 47

His His His Tyr Asn Ala Pro Pro Thr

1 5

<210> 48

<400> 48

000

<210> 49

<400> 49

000

<210> 50

<211> 117

<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 50

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Asn Ile Asp His Asp Gly Asn Ile Ile Asn Phe Ala Pro Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Trp Gly His Tyr Ala Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 51

<211> 111

<212> PRT

<213> 金仓鼠()

<400> 51

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

<210> 52
<211> 10
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 52

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Met Asp
1 5 10

<210> 53
<211> 17
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 53

Asn Ile Asp His Asp Gly Asn Ile Ile Asn Phe Ala Pro Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 54
<211> 8
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 54

Trp Gly His Tyr Ala Phe Asp Ser
1 5

<210> 55
<211> 15

<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 55
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ser Ser Gly Tyr Asn Tyr Leu Ile
1 5 10 15
<210> 56
<211> 7
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 56
Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5
<210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> 金仓鼠()
<400> 57
Gln His His Tyr Ser Ser Pro Pro Thr
1 5
<210> 58
<400> 58
000
<210> 59
<400> 59
000
<210> 60
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列()
<220>

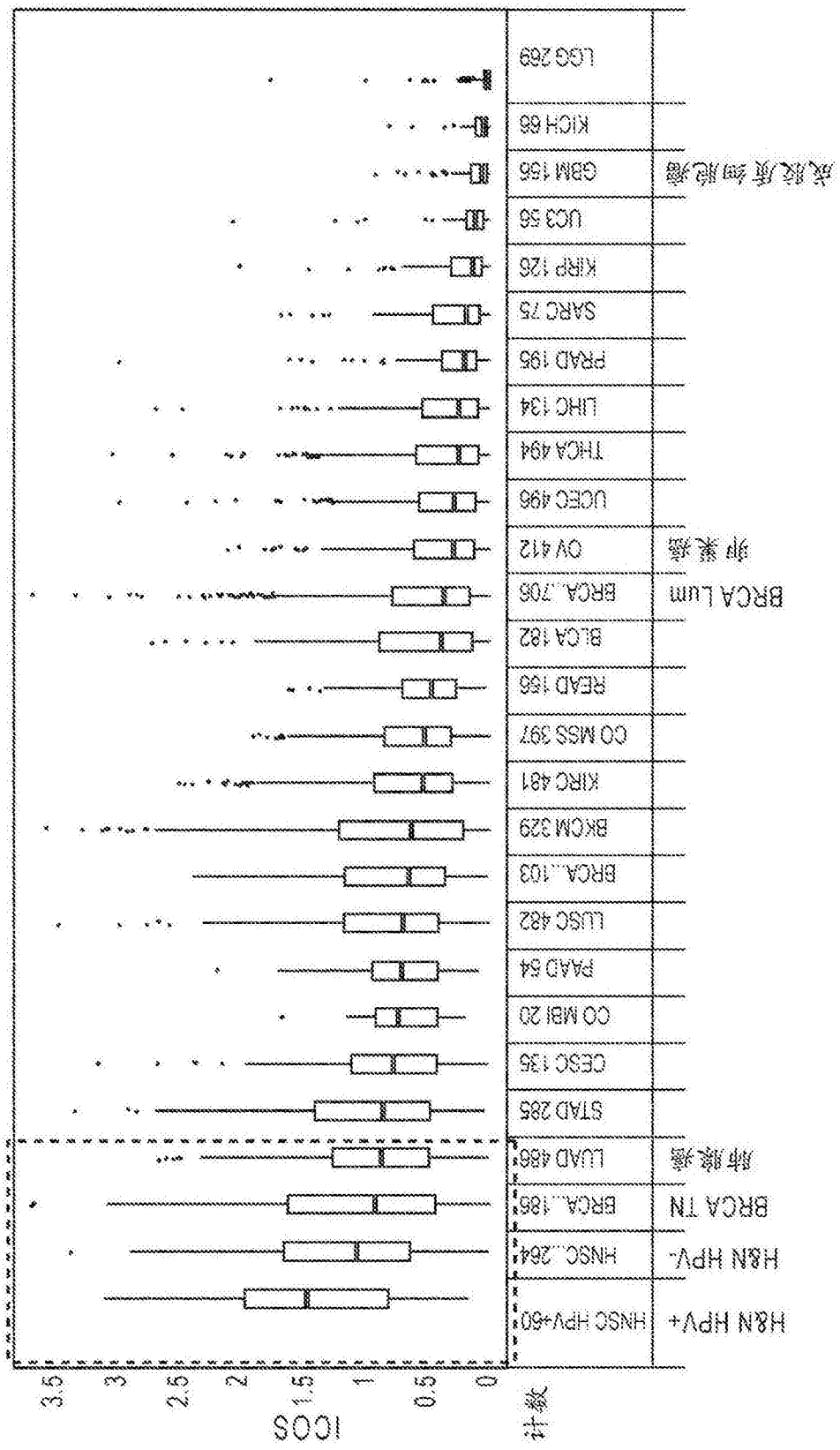

ICOS
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
计数
H&N HPV+
HNSC HPV+60
H&N HPV-
HNSC...264
BRCA TN
BRCA...185
肺腺癌
LUAD 486
STAD 285
CESC 135
CO MBI 20
PAAD 54
LUSC 482
BRCA...103
BKCM 329
KIRC 481
CO MSS 397
READ 156
BLCA 182
BRCA Lum
BRCA...706
卵巢癌
OV 412
UCEC 496
THCA 494
LIHC 134
PRAD 195
SARC 75
KIRP 126
UC3 56
成胶质细胞瘤
GBM 156
KICH 66
LGG 269

图1A

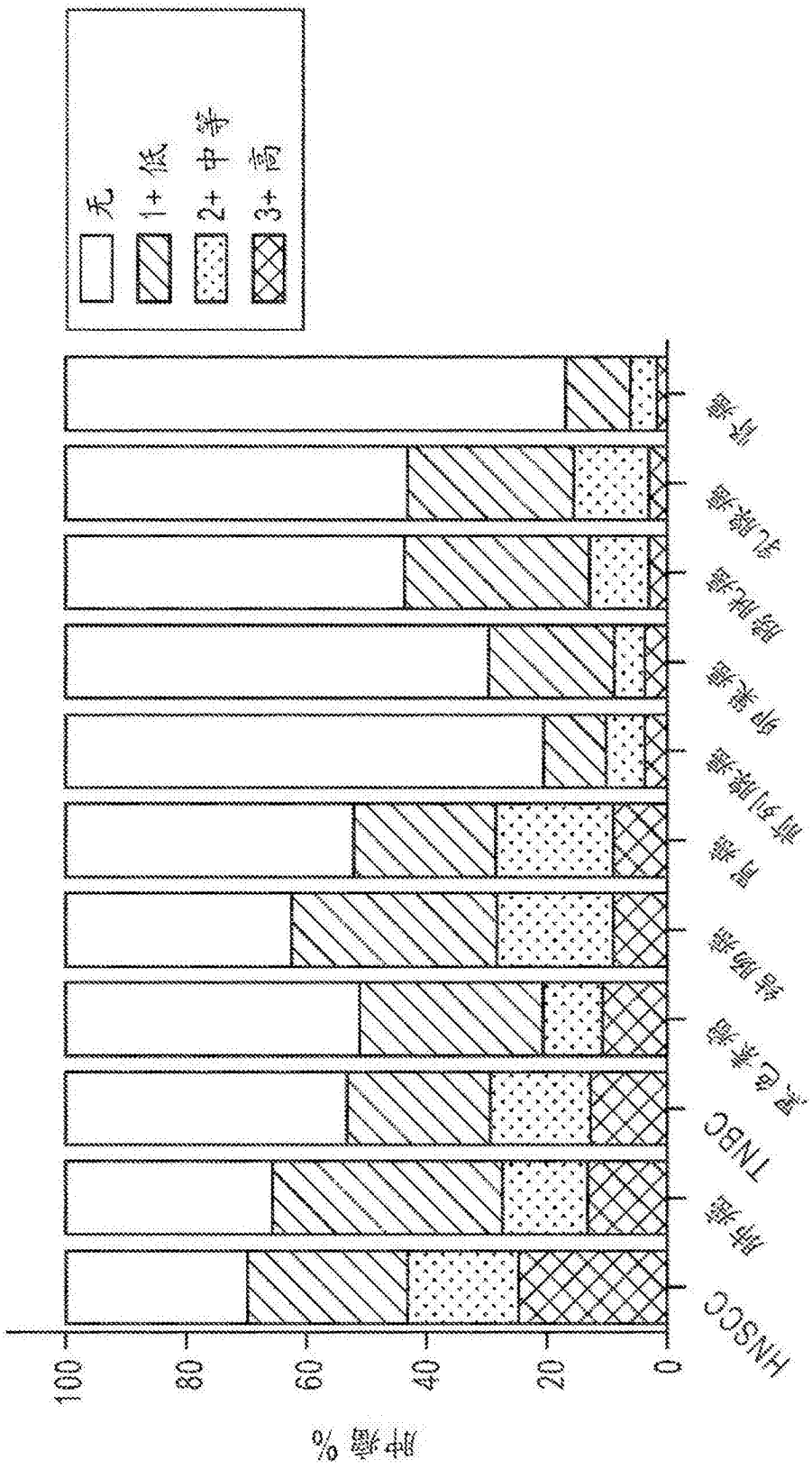

无
1+
2+
3+
肿瘤 %
100
80
60
40
20
0
HNSCC
肺癌
TNBC
复色素癌
结肠癌
骨癌
前列腺癌
卵巢癌
膀胱癌
乳腺癌
肾癌

图1B

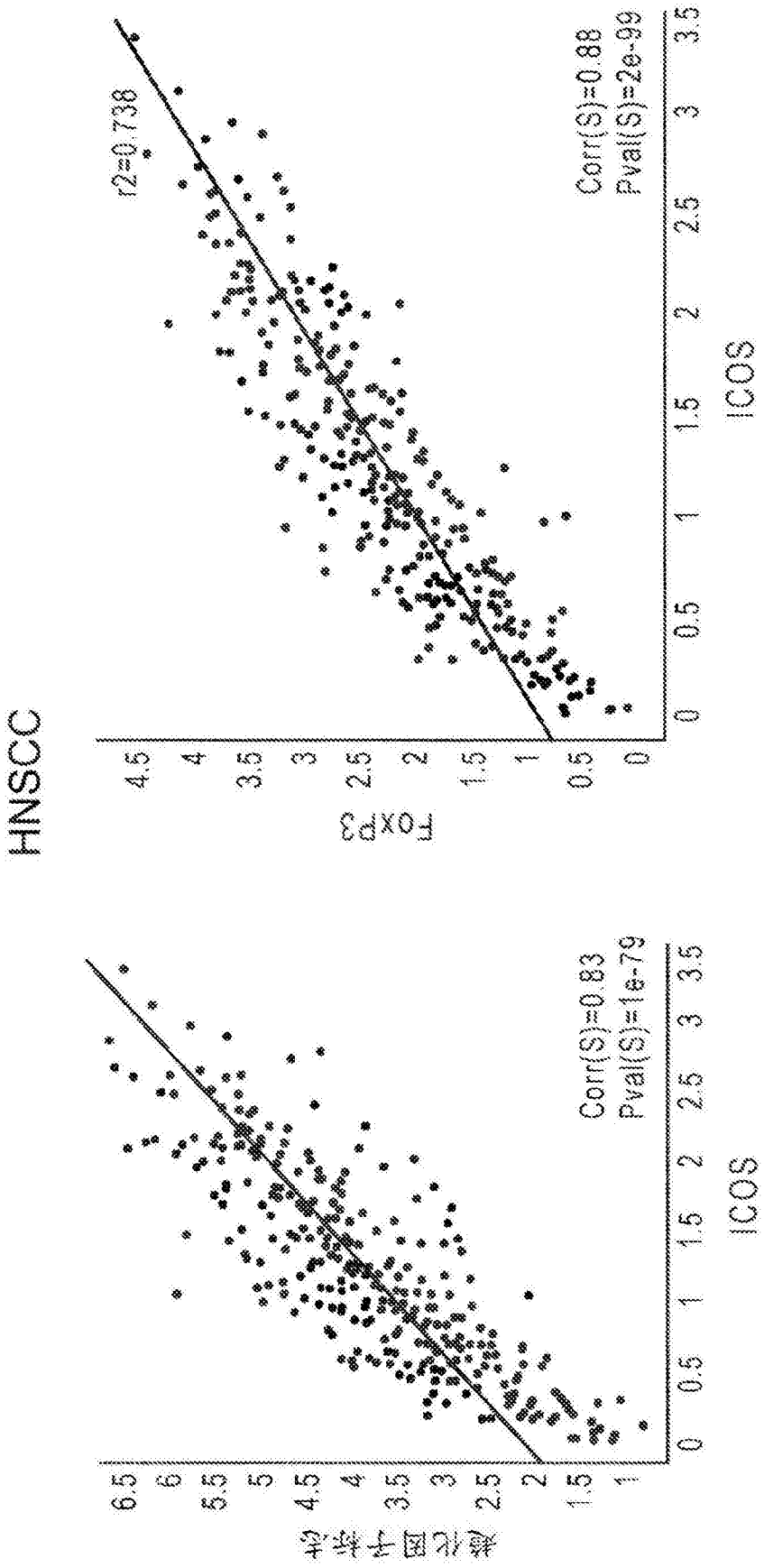

HNSCC
FOXP3
r2=0.738
Corr(S)=0.88
Pval(S)=2e-99
ICOS
趋化因子样态
Corr(S)=0.83
Pval(S)=1e-79
ICOS

图2

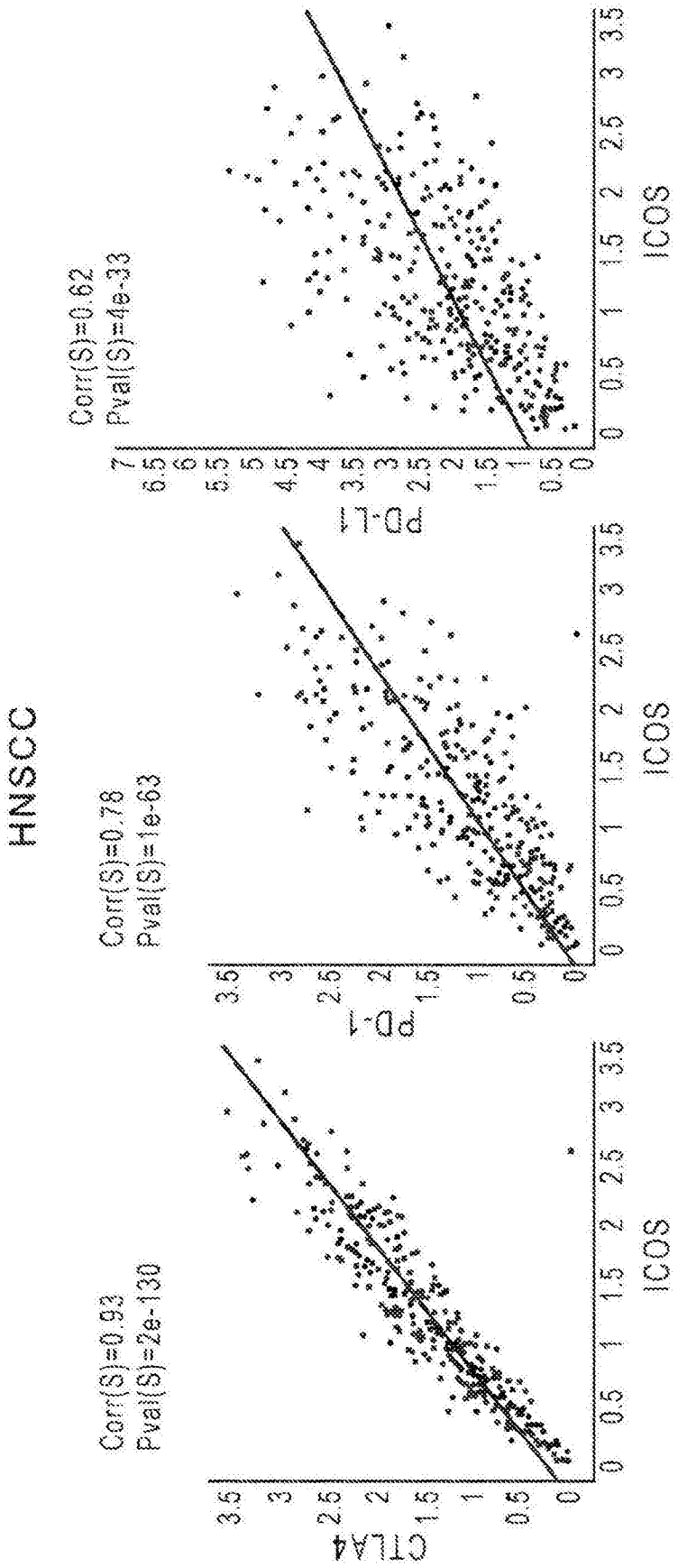

HNSCC
Corr(S)=0.93
Pval(S)=2e-130
CTLA4
ICOS
Corr(S)=0.78
Pval(S)=1e-63
PD-1
ICOS
Corr(S)=0.62
Pval(S)=4e-33
PD-L1
ICOS

图3

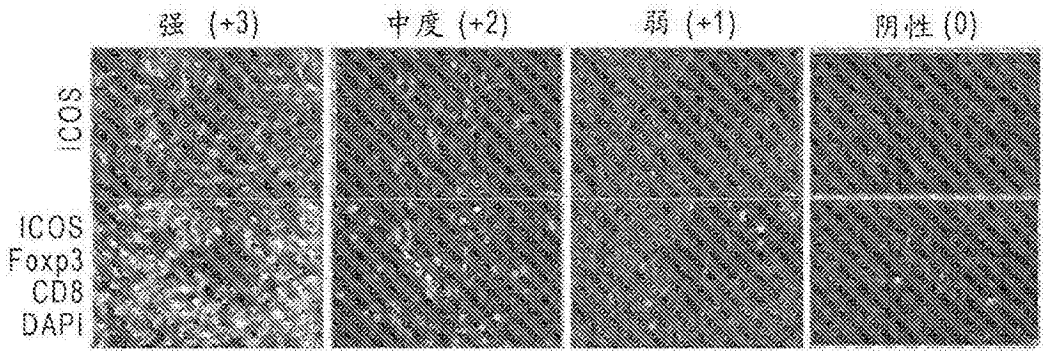

强 (+3)
中度 (+2)
弱 (+1)
阴性 (0)
ICOS
ICOS
Foxp3
CD8
DAPI

图4

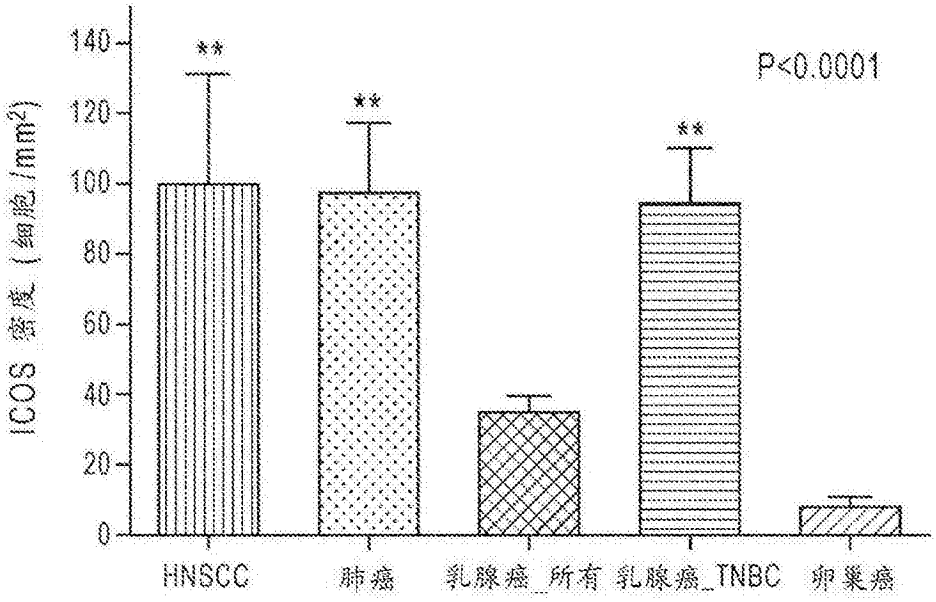

ICOS 密度 (细胞 /mm²)
140
120
100
80
60
40
20
0
**
**
**
P<0.0001
HNSCC
肺癌
乳腺癌_所有
乳腺癌_TNBC
卵巢癌

图5

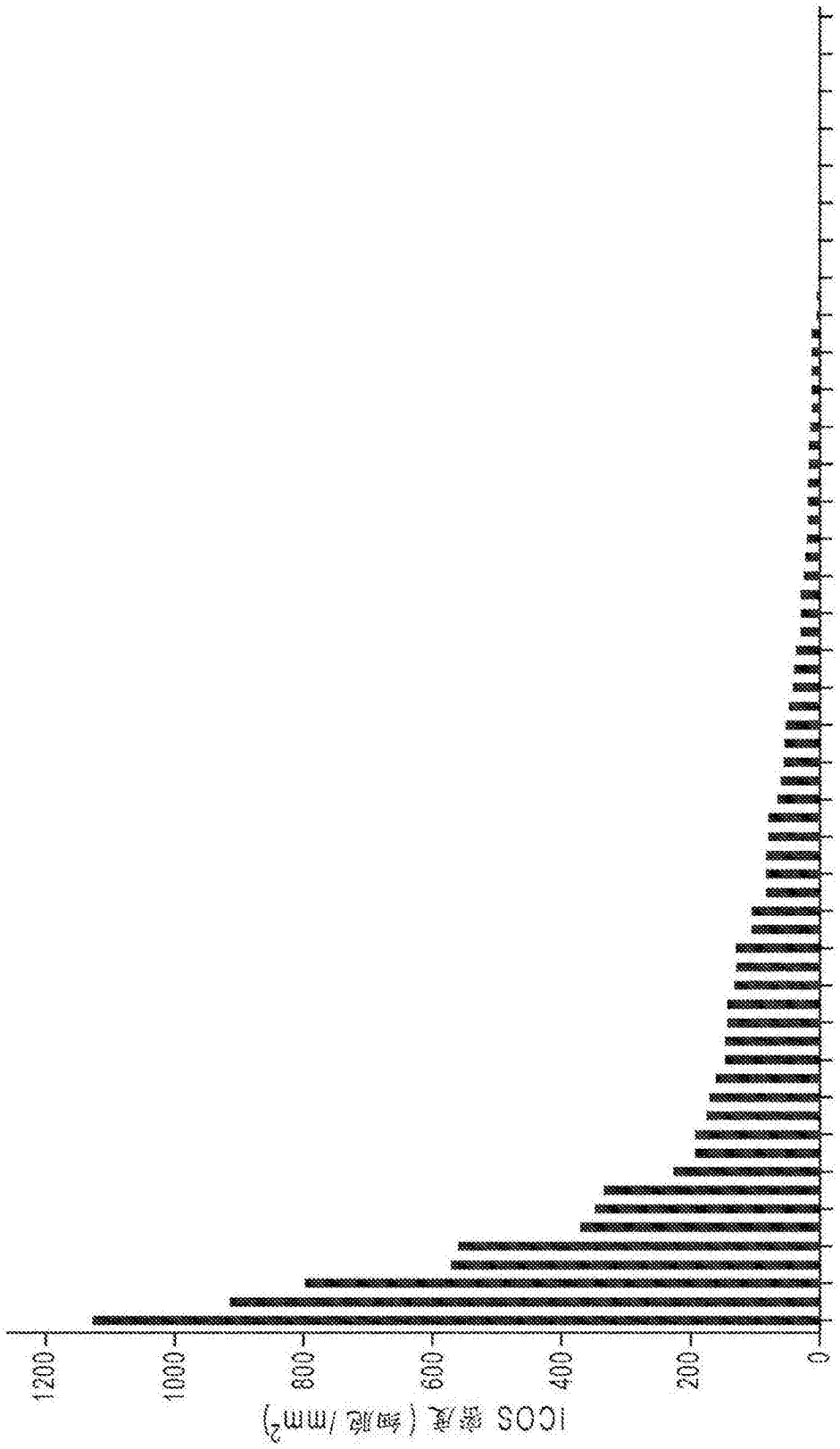


图6A

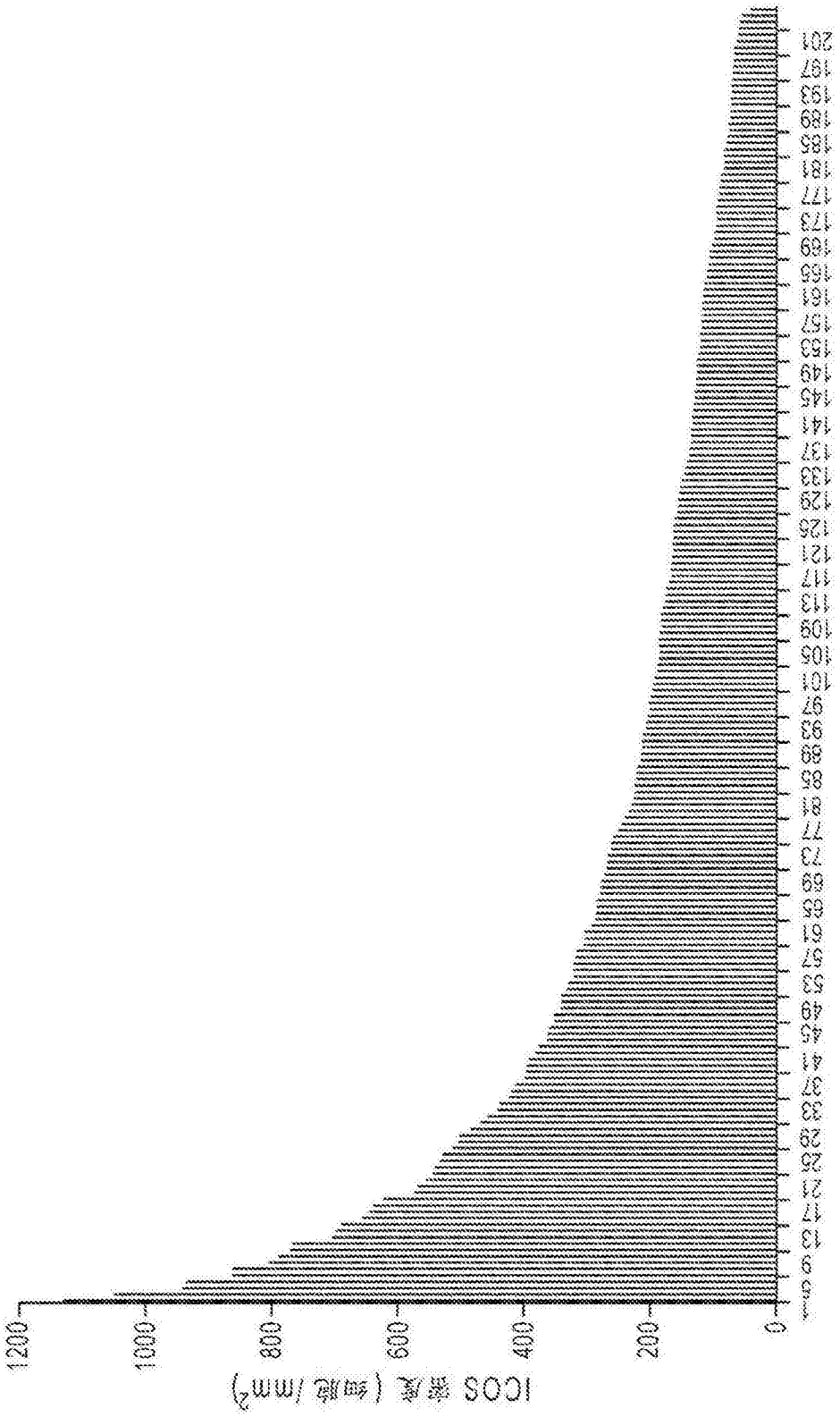

ICOS 密度 (细胞/mm²)
0
200
400
600
800
1000
1200
1
5
9
13
17
21
25
29
33
37
41
45
49
53
57
61
65
69
73
77
81
85
89
93
97
101
105
109
113
117
121
125
129
133
137
141
145
149
153
157
161
165
169
173
177
181
185
189
193
197
201

图6B

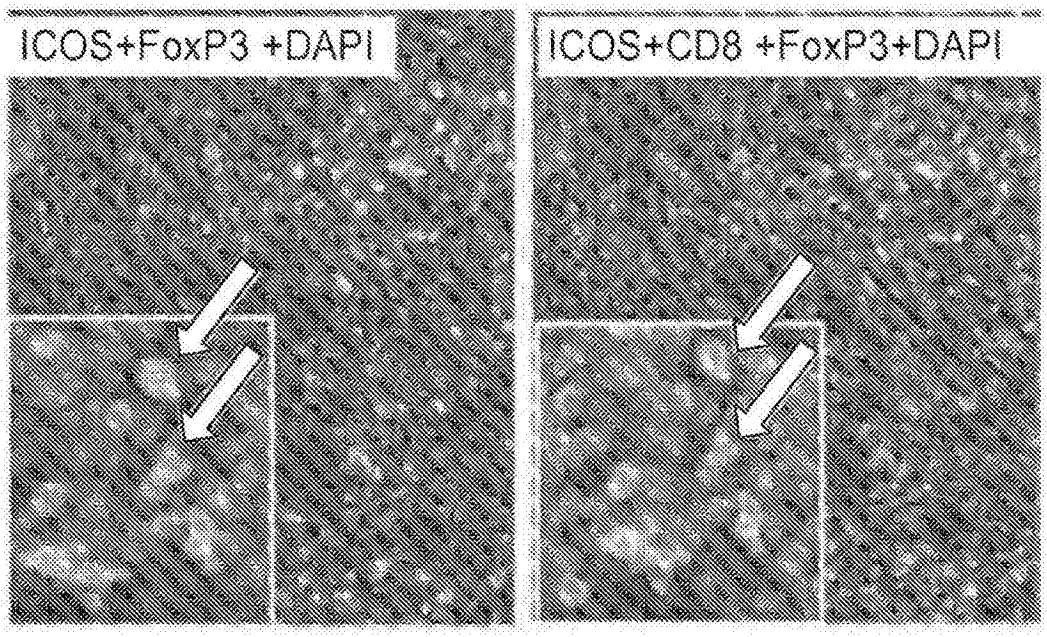


图7A

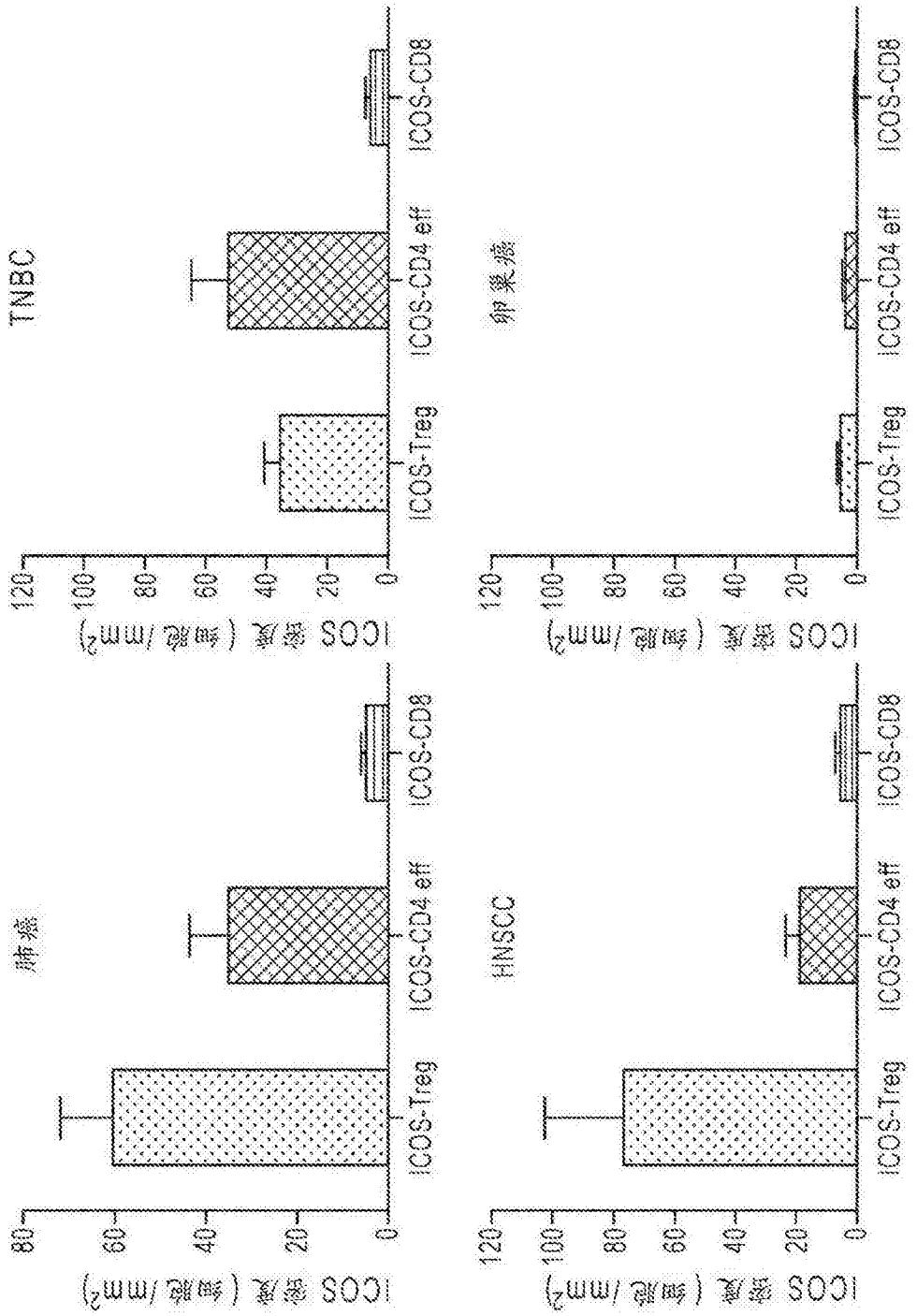

TNBC
卵巢癌
肺癌
HNSCC
ICOS 密度 (细胞/mm²)
ICOS-Treg
ICOS-CD4 eff
ICOS-CD8
0
20
40
60
80
100
120

图7B

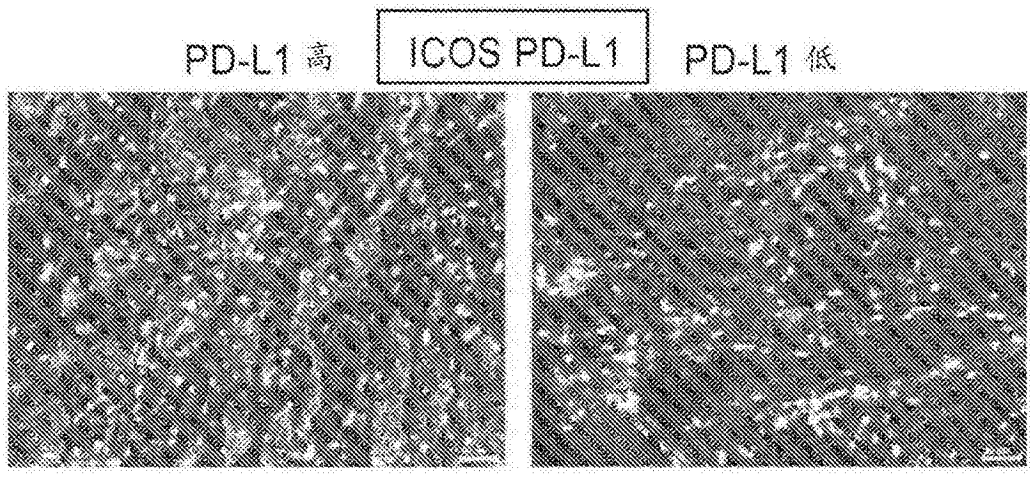

PD-L1 高
ICOS PD-L1
PD-L1 低

图8A

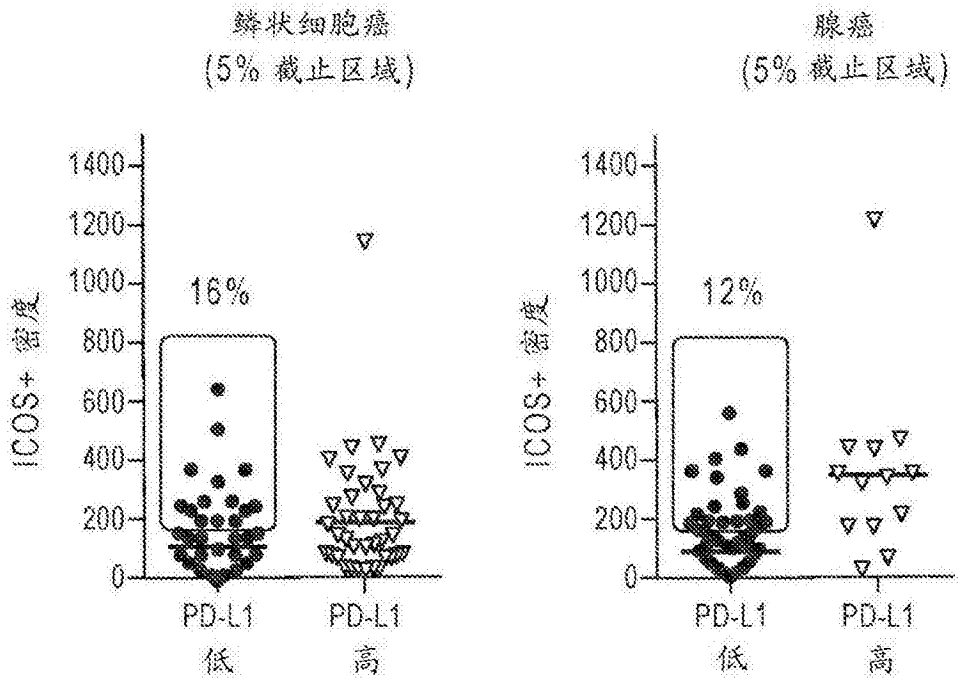

鳞状细胞癌
(5% 截止区域)
腺癌
(5% 截止区域)
ICOS+ 密度
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
16%
12%
PD-L1
低
PD-L1
高

图8B

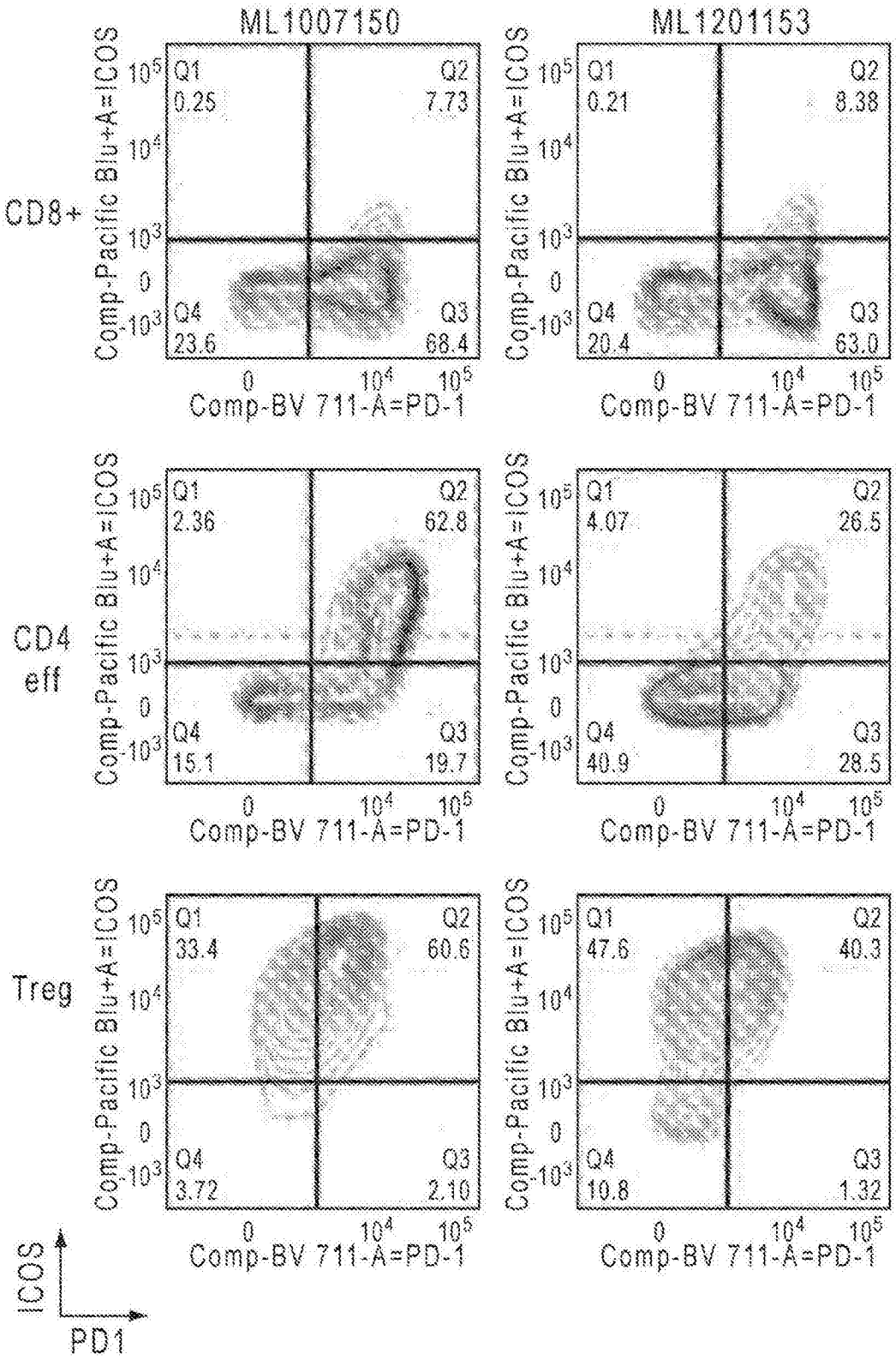

ML1007150
ML1201153
CD8+
CD4 eff
Treg
Comp-Pacific Blu+A=ICOS
Comp-BV 711-A=PD-1
Q1 0.25
Q2 7.73
Q4 23.6
Q3 68.4
Q1 0.21
Q2 8.38
Q4 20.4
Q3 63.0
Q1 2.36
Q2 62.8
Q4 15.1
Q3 19.7
Q1 4.07
Q2 26.5
Q4 40.9
Q3 28.5
Q1 33.4
Q2 60.6
Q4 3.72
Q3 2.10
Q1 47.6
Q2 40.3
Q4 10.8
Q3 1.32
ICOS
PD1

图9A(第1部分)

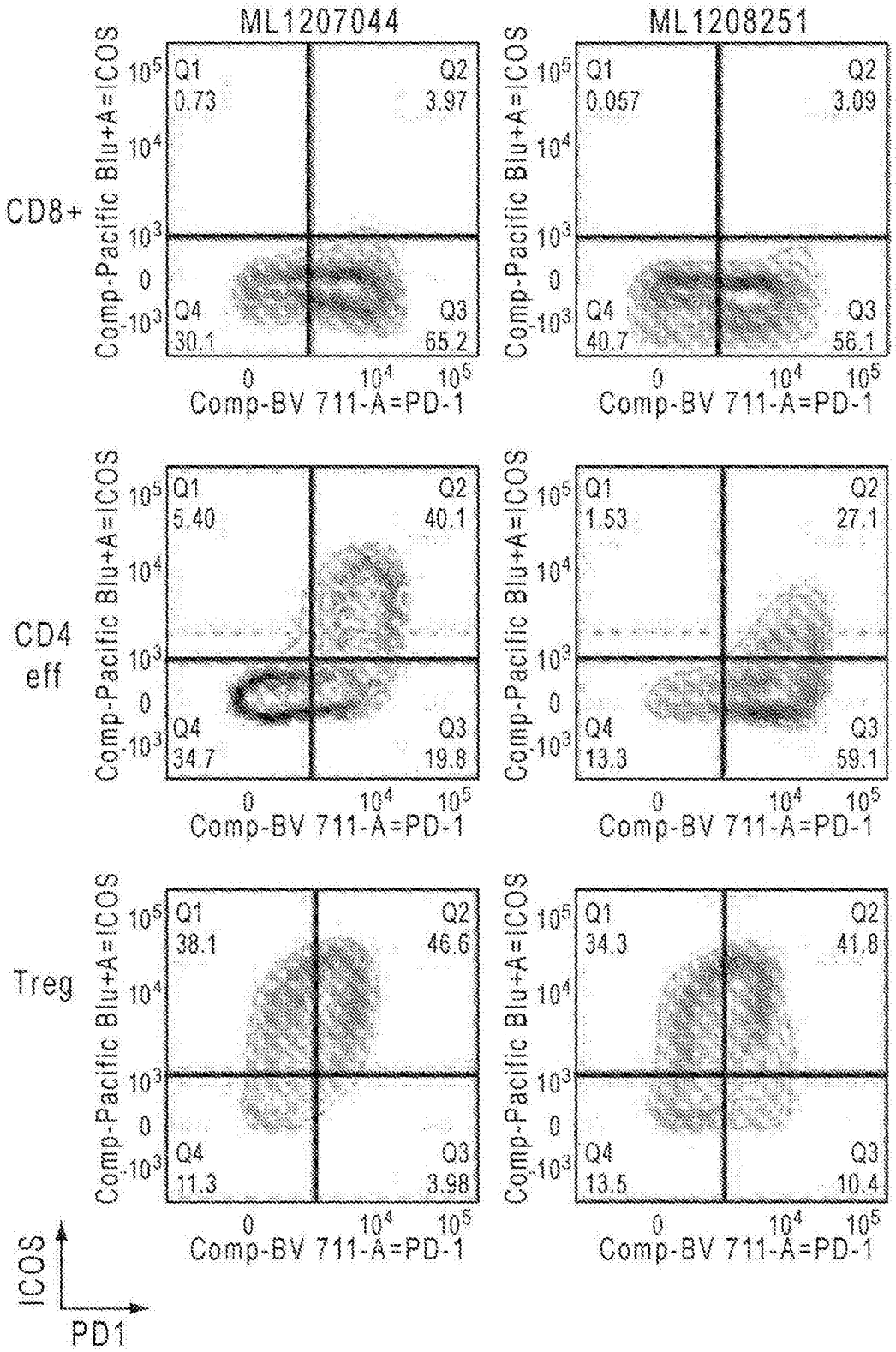

ML1207044
ML1208251
CD8+
CD4 eff
Treg
Comp-Pacific Blu+A=ICOS
Comp-BV 711-A=PD-1
Q1
Q2
Q3
Q4
0.73
3.97
30.1
65.2
0.057
3.09
40.7
56.1
5.40
40.1
34.7
19.8
1.53
27.1
13.3
59.1
38.1
46.6
11.3
3.98
34.3
41.8
13.5
10.4
ICOS
PD1

图9A(第2部分)

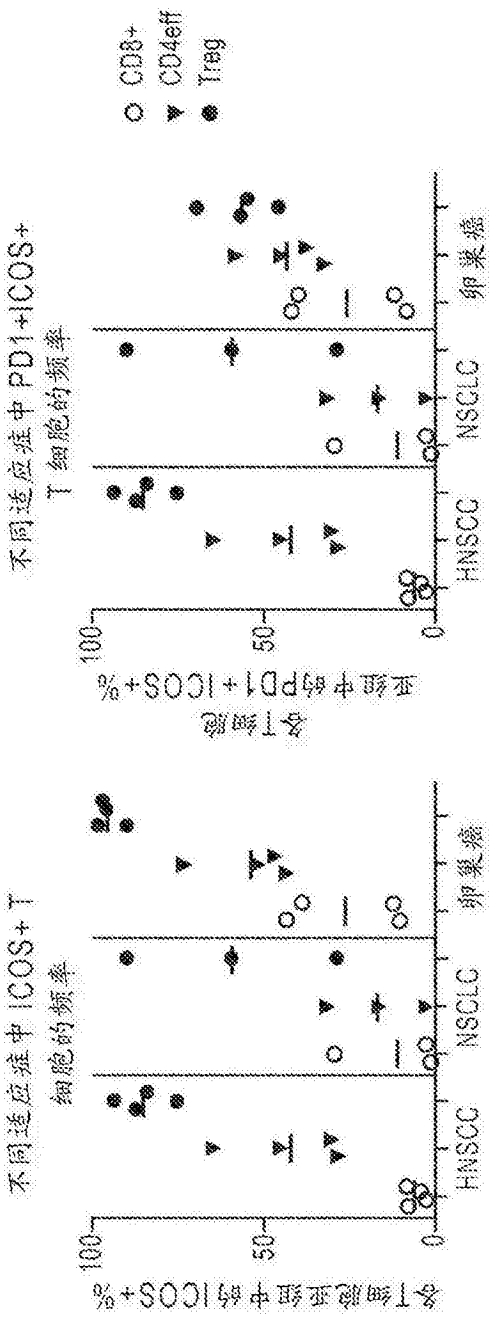

CD8+
CD4eff
Treg
不同适应症中 PD1+ICOS+ T 细胞的频率
HNSCC
NSCLC
卵巢癌
100
50
0
总T细胞亚组中的PD1+ICOS+%
不同适应症中 ICOS+ T 细胞的频率
总T细胞亚组中的ICOS+%

图9B

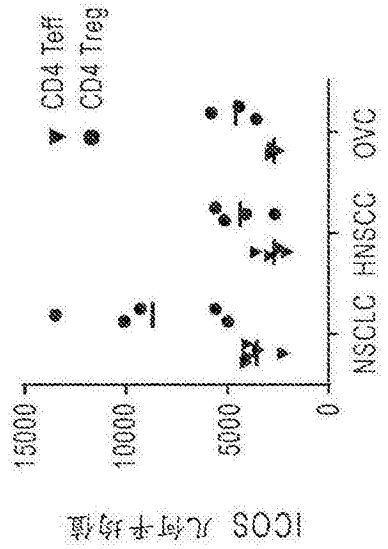

CD4 Teff
CD4 Treg
NSCLC HNSCC OVC
15000
10000
5000
0
ICOS 几何平均值

图9C

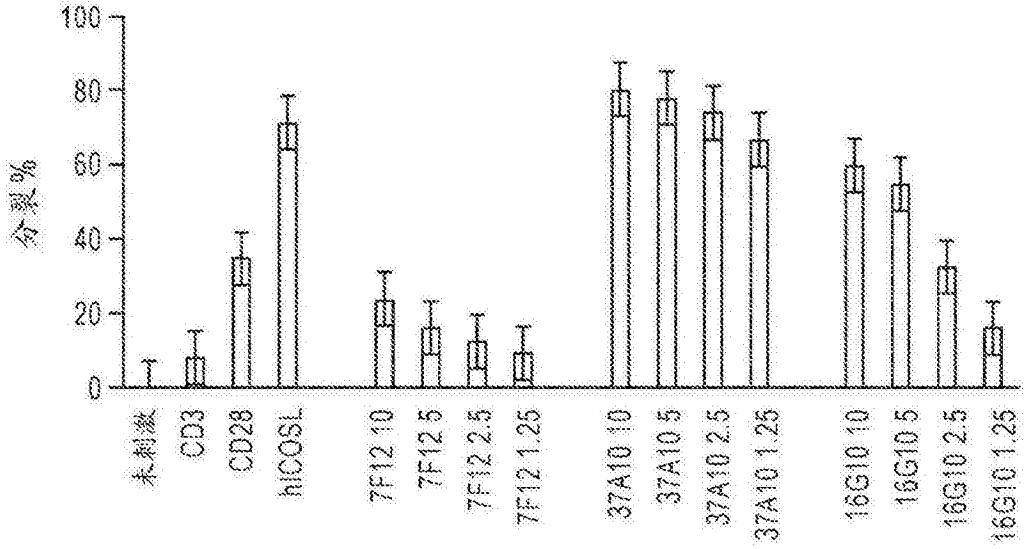

分裂%
100
80
60
40
20
0
未刺激
CD3
CD28
hICOSL
7F12 10
7F12 5
7F12 2.5
7F12 1.25
37A10 10
37A10 5
37A10 2.5
37A10 1.25
16G10 10
16G10 5
16G10 2.5
16G10 1.25

图10A

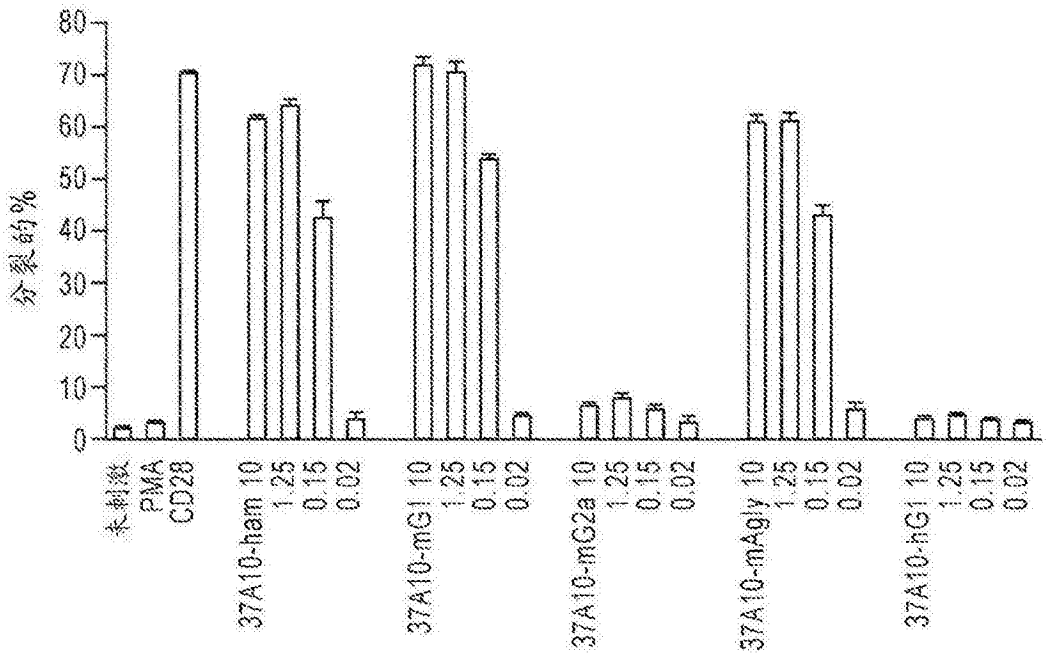

80
70
60
50
40
30
20
10
0
分裂的%
未刺激
PMA
CD28
37A10-ham 10
1.25
0.15
0.02
37A10-mG1 10
1.25
0.15
0.02
37A10-mG2a 10
1.25
0.15
0.02
37A10-mAgly 10
1.25
0.15
0.02
37A10-hG1 10
1.25
0.15
0.02

图10B

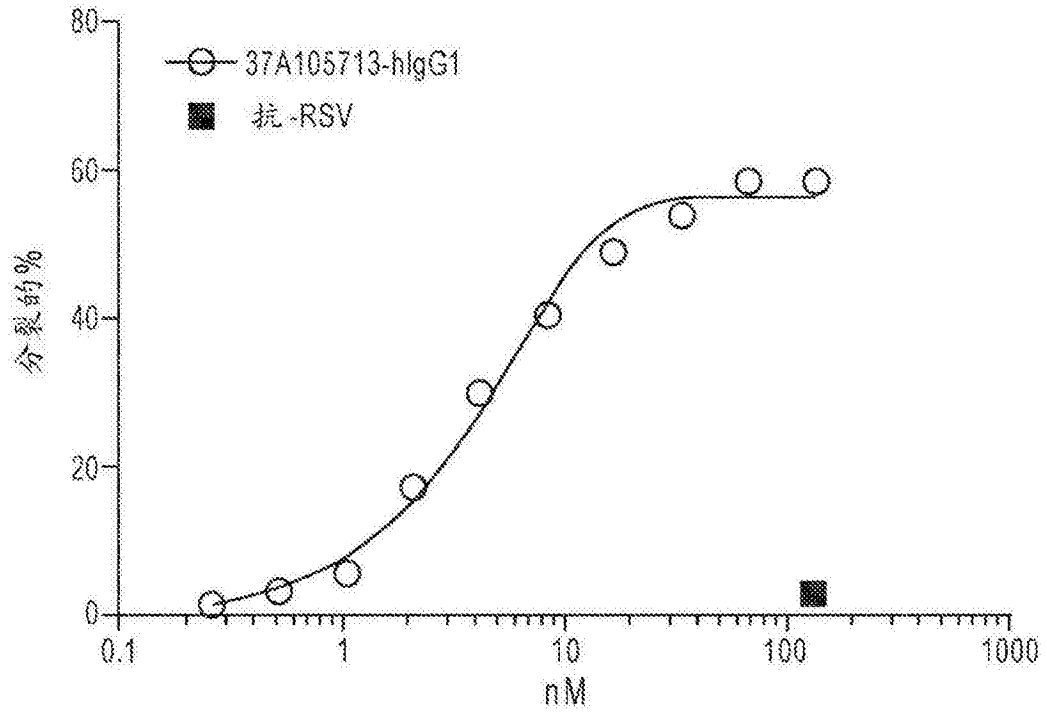

80
60
40
20
0
分裂的%
37A105713-hIgG1
抗-RSV
0.1
1
10
100
1000
nM

图10C

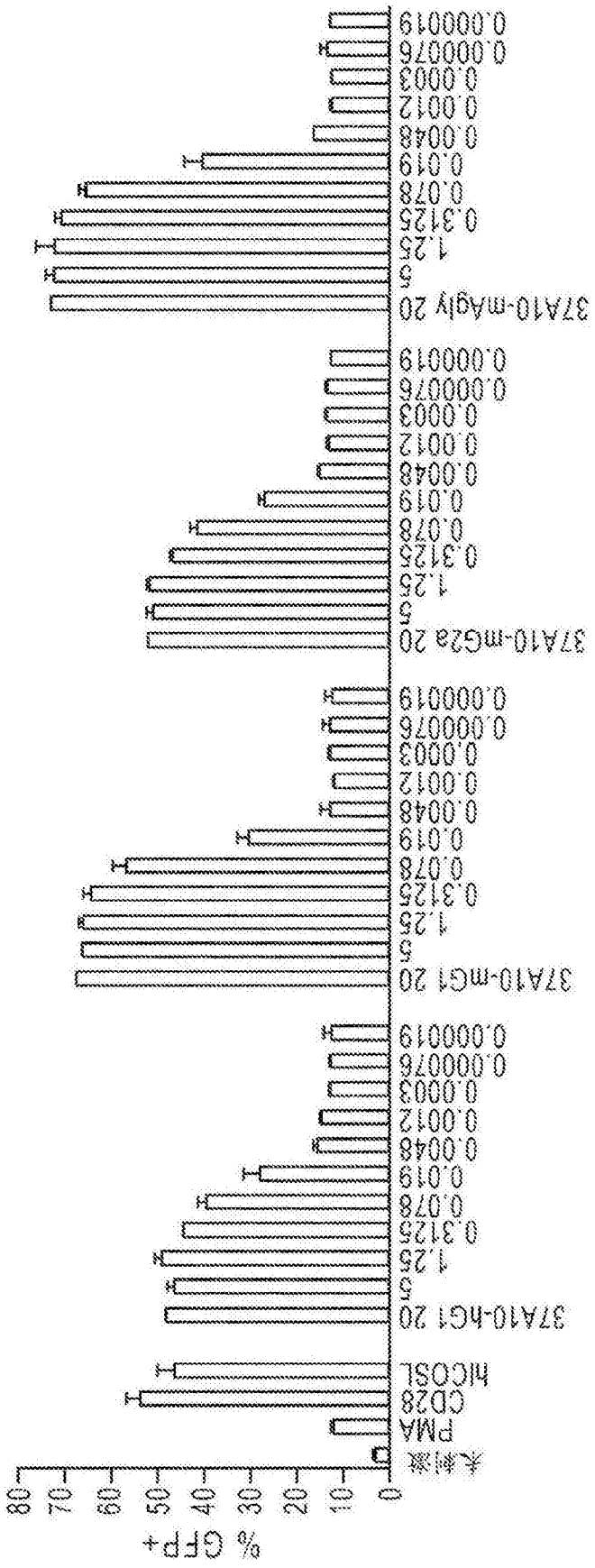

% GFP+
80
70
60
50
40
30
20
10
0
未转染
PMA
CD28
hICOSL
37A10-hG1 20
5
1.25
0.3125
0.078
0.019
0.0048
0.0012
0.0003
0.000076
0.000019
37A10-mG1 20
5
1.25
0.3125
0.078
0.019
0.0048
0.0012
0.0003
0.000076
0.000019
37A10-mG2a 20
5
1.25
0.3125
0.078
0.019
0.0048
0.0012
0.0003
0.000076
0.000019
37A10-mAgly 20
5
1.25
0.3125
0.078
0.019
0.0048
0.0012
0.0003
0.000076
0.000019

图11A

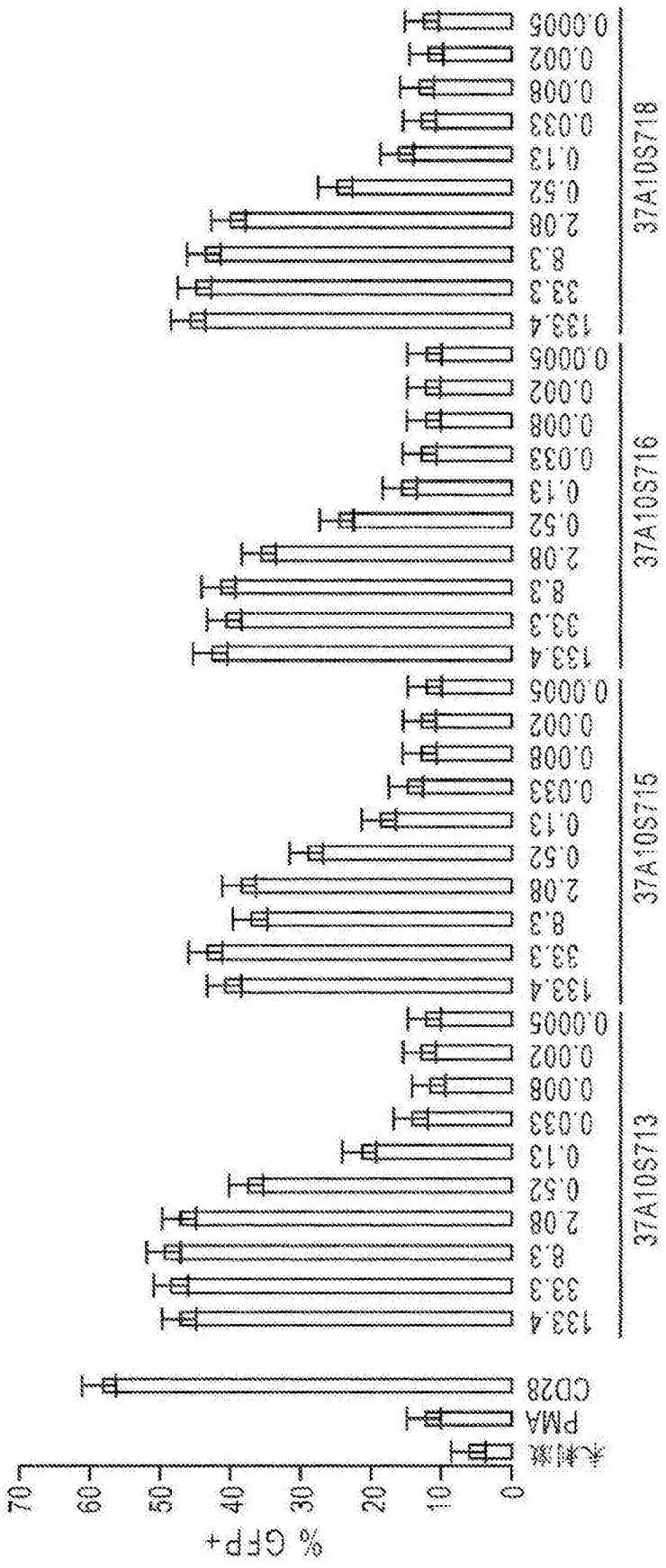

未刺激
PMA
CD28
133.4
33.3
8.3
2.08
0.52
0.13
0.033
0.008
0.002
0.0005
37A10S713
37A10S715
37A10S716
37A10S718
0
10
20
30
40
50
60
70
% GFP+

图11B

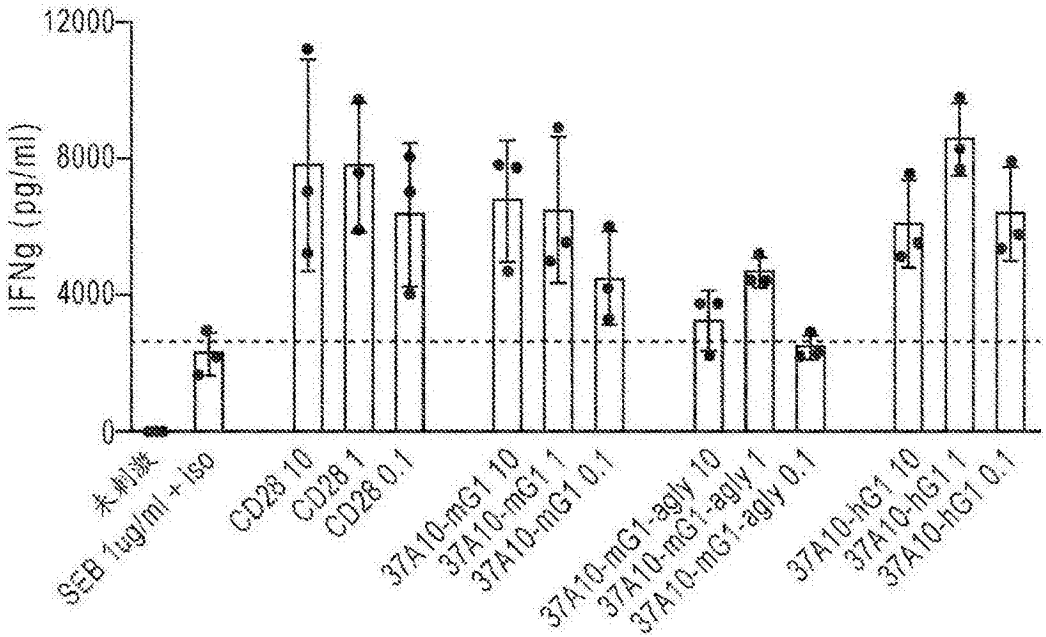

12000
8000
4000
0
IFNg (pg/ml)
未刺激
SEB 1ug/ml + Iso
CD28 10
CD28 1
CD28 0.1
37A10-mG1 10
37A10-mG1 1
37A10-mG1 0.1
37A10-mG1-agly 10
37A10-mG1-agly 1
37A10-mG1-agly 0.1
37A10-hG1 10
37A10-hG1 1
37A10-hG1 0.1

图12

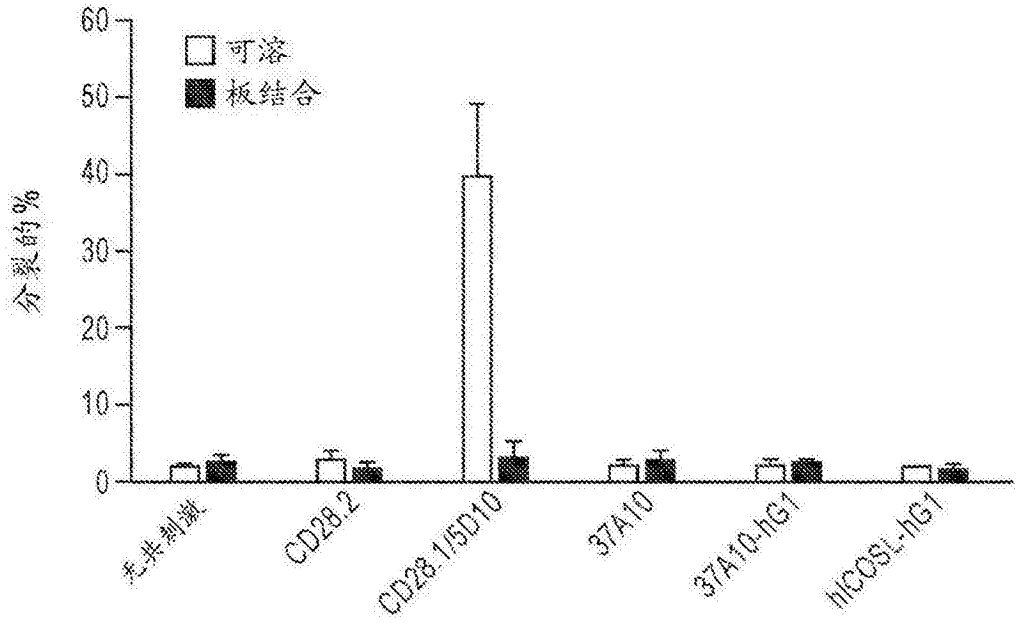

60
50
40
30
20
10
0
分裂的%
可溶
板结合
未刺激
CD28.2
CD28.1/5D10
37A10
37A10-hG1
hICOSL-hG1

图13

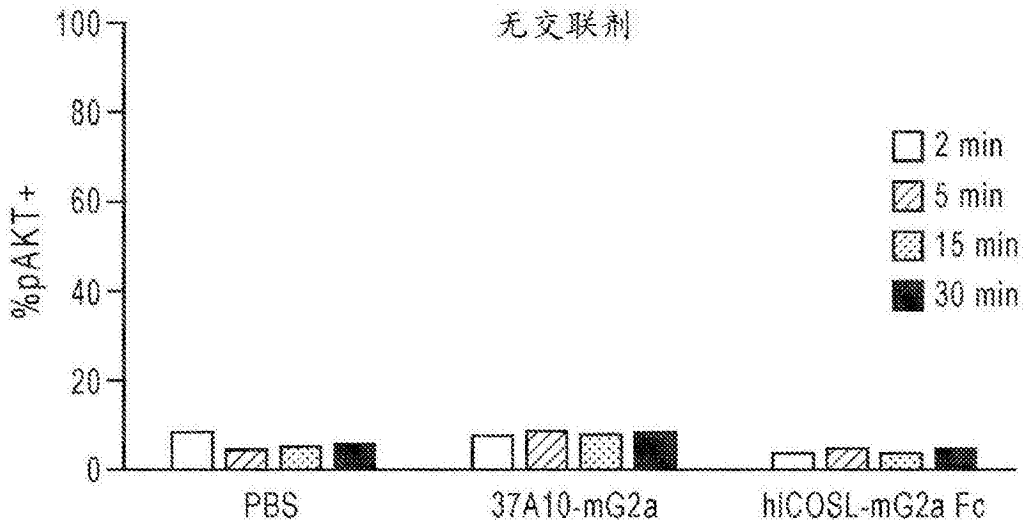

无交联剂
100
80
60
40
20
0
%pAKT+
2 min
5 min
15 min
30 min
PBS
37A10-mG2a
hICOSL-mG2a Fc

图14A

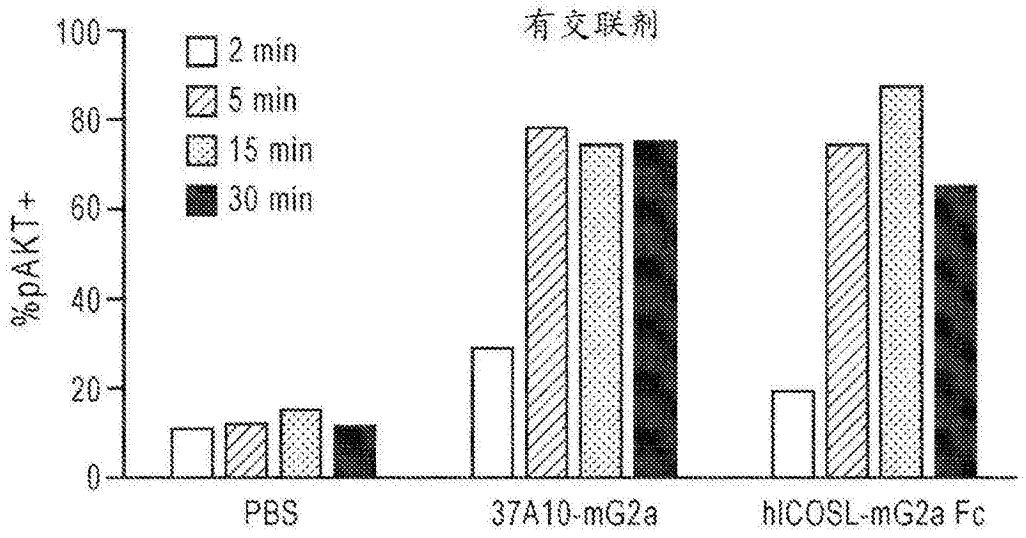

有交联剂
100
80
60
40
20
0
%pAKT+
2 min
5 min
15 min
30 min
PBS
37A10-mG2a
hICOSL-mG2a Fc

图14B

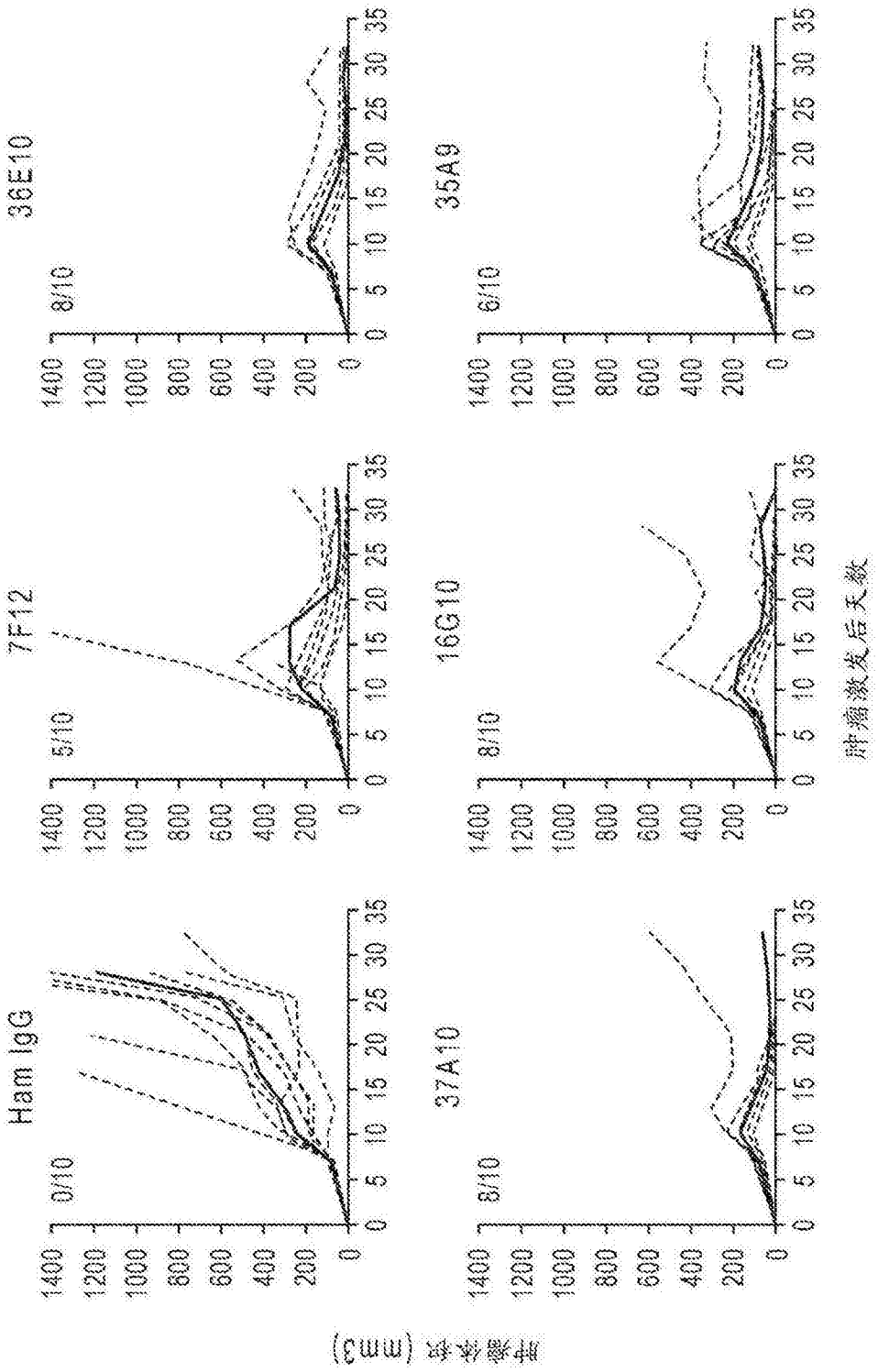

Ham IgG
0/10
7F12
5/10
16G10
8/10
37A10
8/10
36E10
8/10
35A9
6/10
肿瘤体积 (mm3)
肿瘤激发后天数

图15A

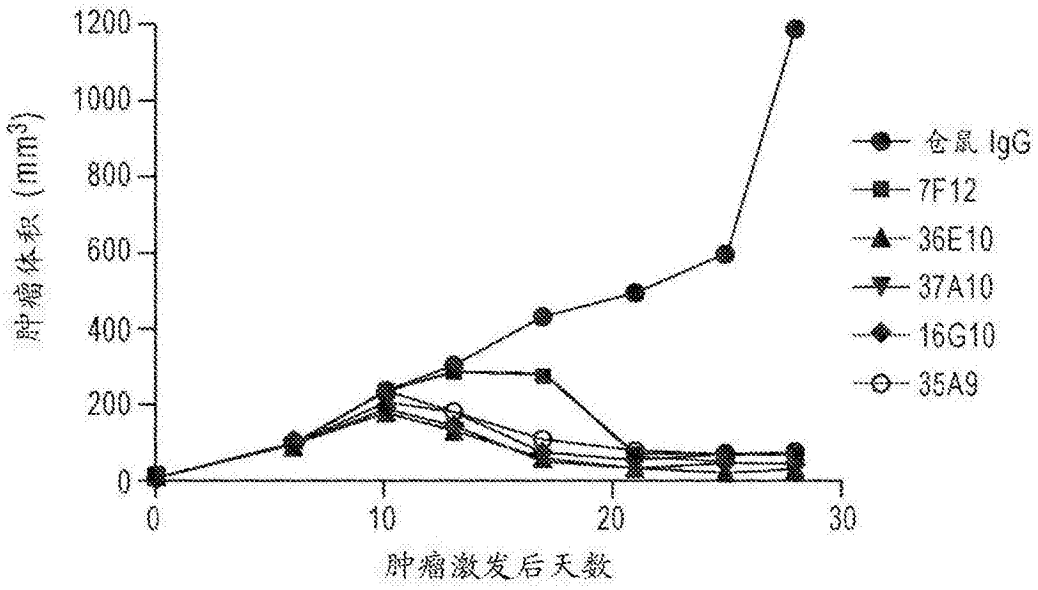

1200
1000
800
600
400
200
0
肿瘤体积 (mm3)
0
10
20
30
肿瘤激发后天数
仓鼠 IgG
7F12
36E10
37A10
16G10
35A9

图15B

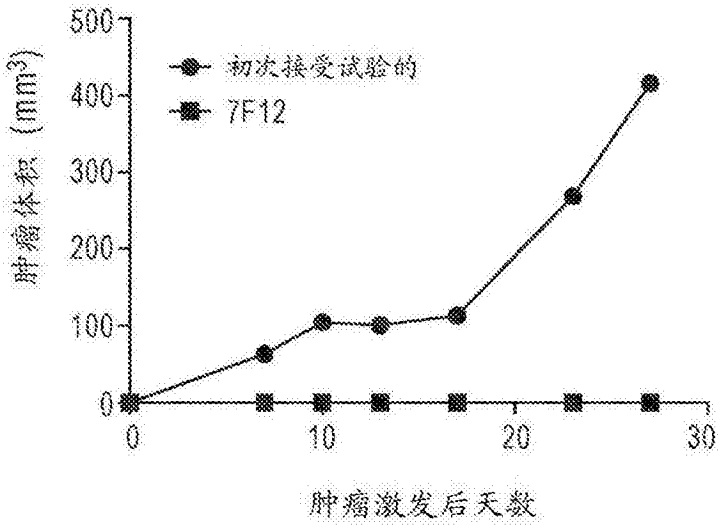

500
400
300
200
100
0
肿瘤体积 (mm3)
0
10
20
30
肿瘤激发后天数
初次接受试验的
7F12

图16

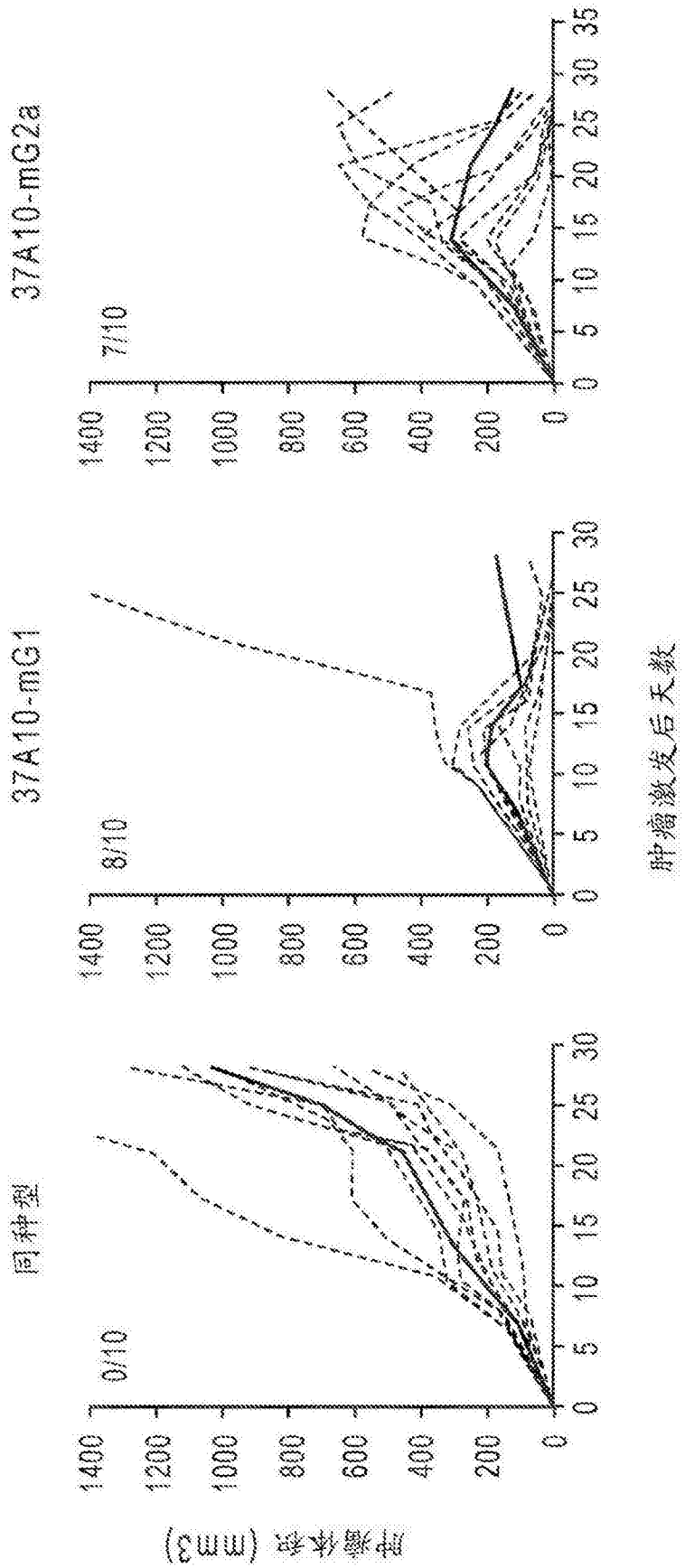

同种型
37A10-mG1
37A10-mG2a
0/10
8/10
7/10
肿瘤体积 (mm3)
肿瘤激发后天数
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
0
5
10
15
20
25
30
35

图17

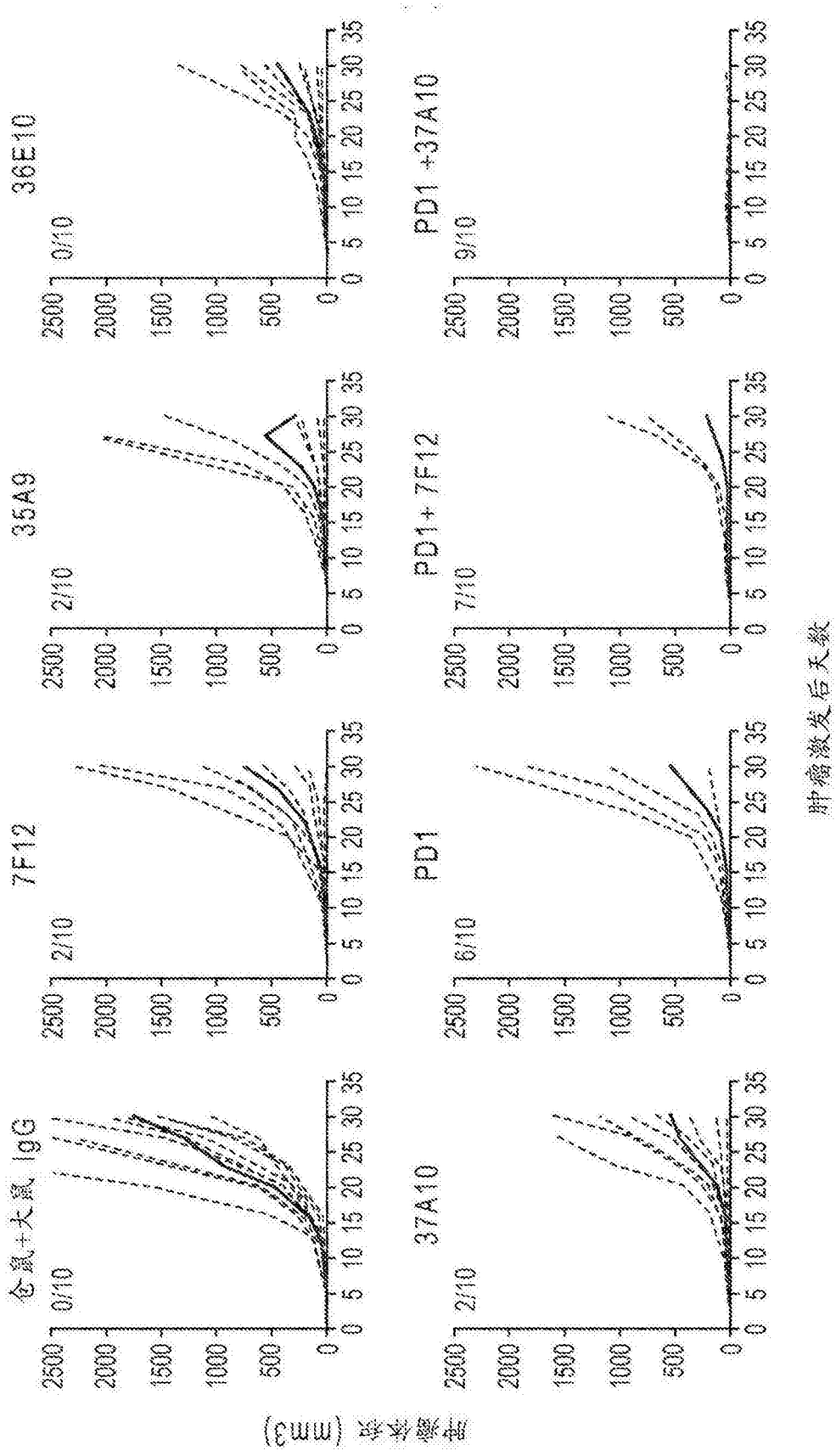

仓鼠+大鼠 IgG
0/10
7F12
2/10
35A9
2/10
36E10
0/10
37A10
2/10
PD1
6/10
PD1+ 7F12
7/10
PD1 +37A10
9/10
肿瘤体积 (mm3)
肿瘤激发后天数

图18

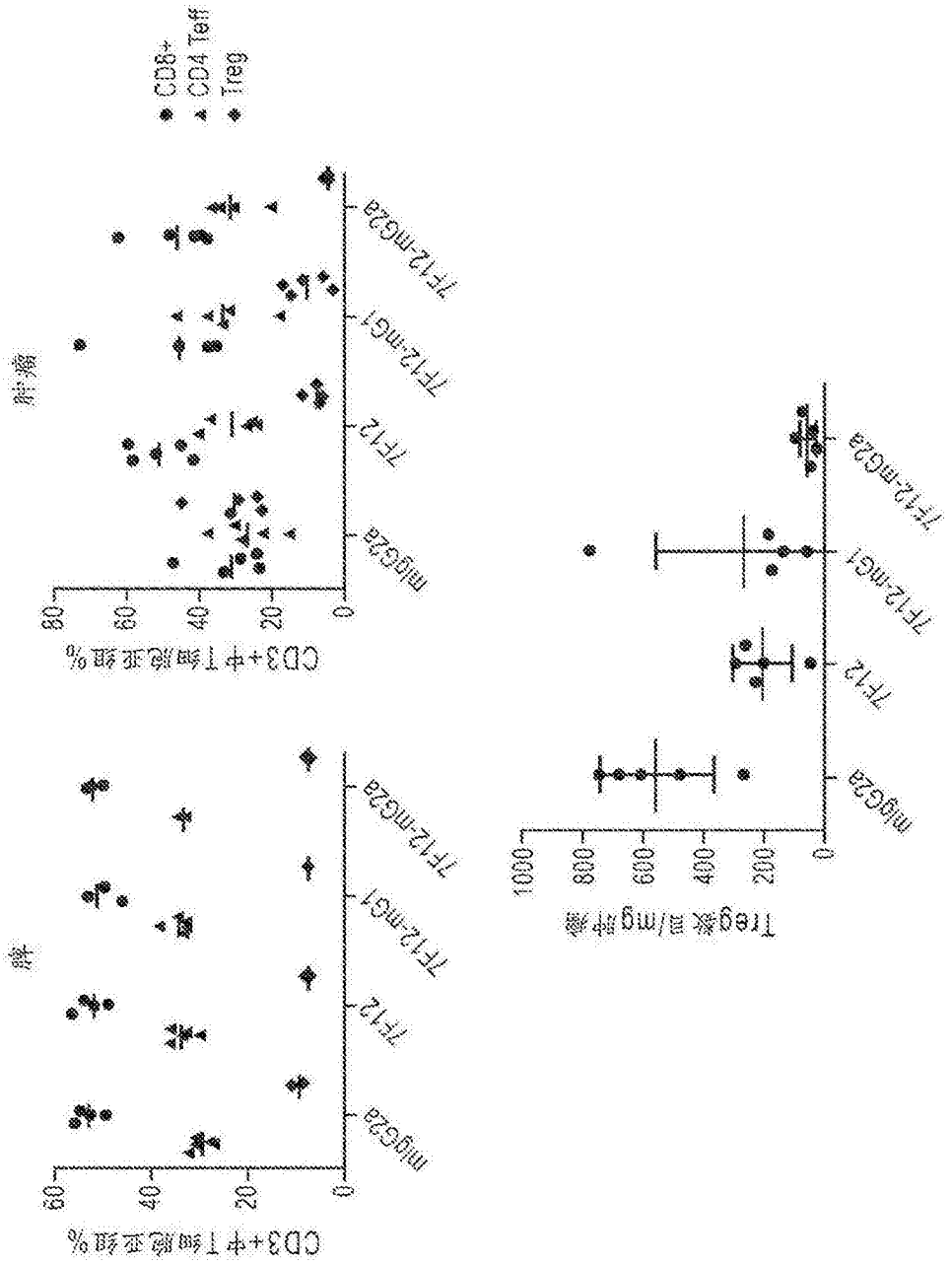

CD8+
CD4 Teff
Treg
肿瘤
CD3+中T细胞亚组%
mIgG2a
7F12
7F12-mG1
7F12-mG2a
脾
CD3+中T细胞亚组%
Treg数目/mg肿瘤

图19

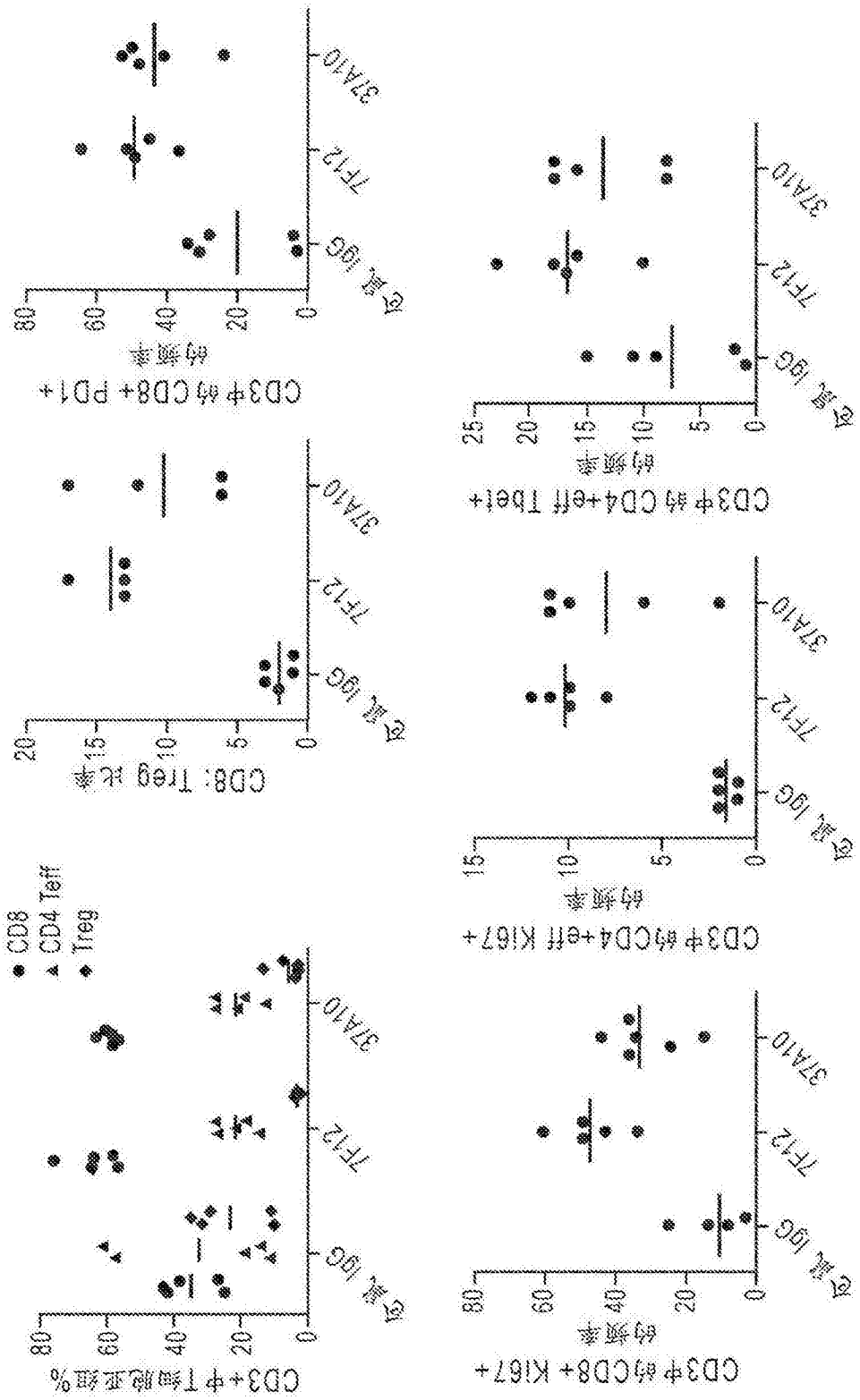

CD3+的CD8+ PD1+
的频率
CD3+的CD4+eff Tbet+
的频率
CD3+的CD4+eff Ki67+
的频率
CD3+的CD8+ Ki67+
的频率
CD8: Treg 比率
CD3+中T细胞亚组%
CD8
CD4 Teff
Treg
鼠IgG
TF12
37A10

图20

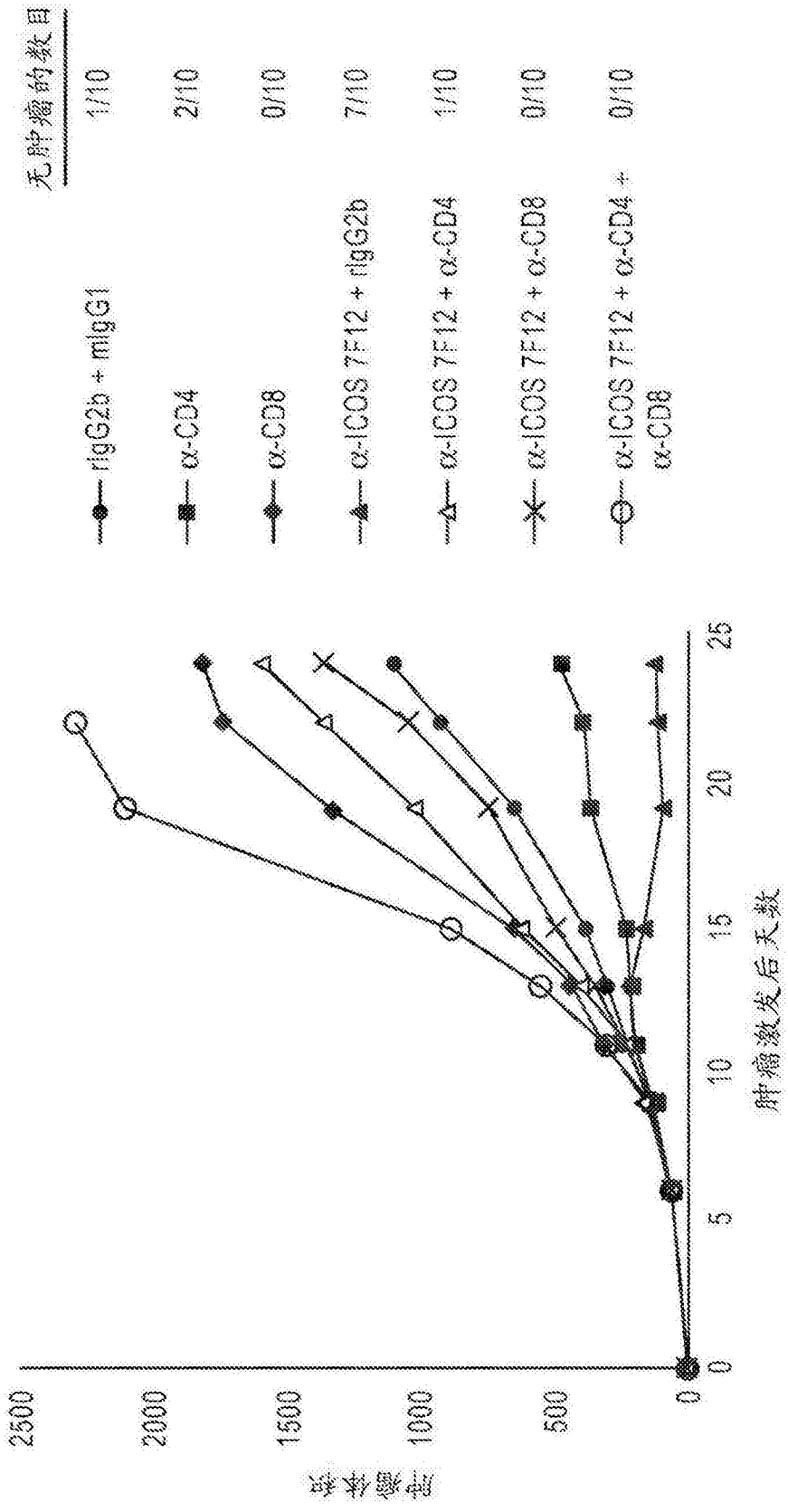

无肿瘤的数目
rIgG2b + mIgG1 1/10
α-CD4 2/10
α-CD8 0/10
α-ICOS 7F12 + rIgG2b 7/10
α-ICOS 7F12 + α-CD4 1/10
α-ICOS 7F12 + α-CD8 0/10
α-ICOS 7F12 + α-CD4 + α-CD8 0/10
肿瘤体积
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
肿瘤激发后天数

图21

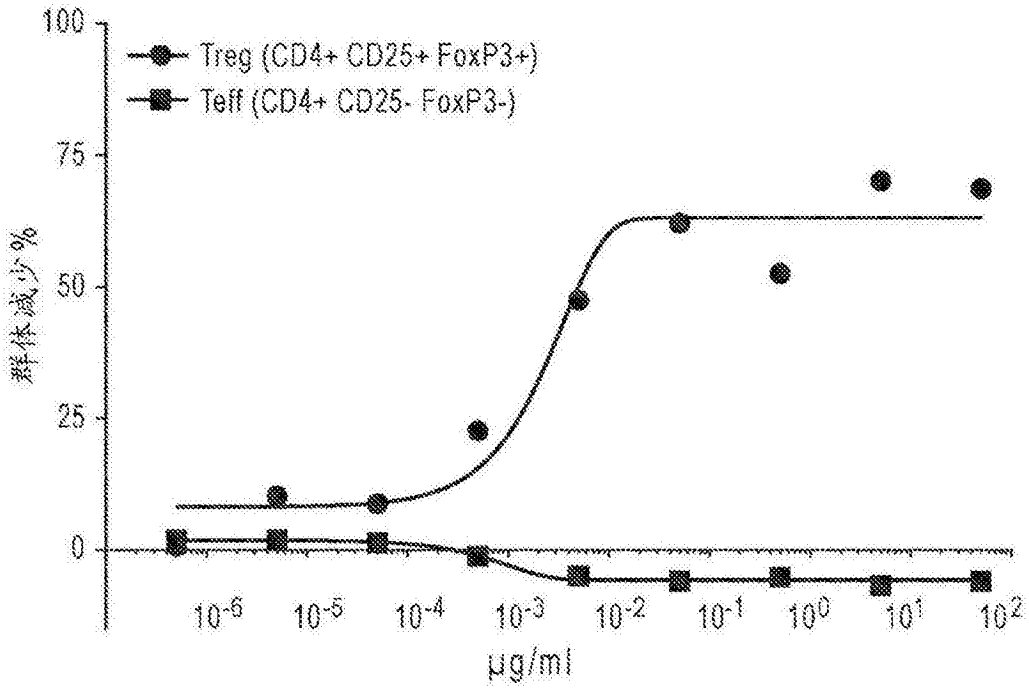

100
75
50
25
0
Treg (CD4+ CD25+ FoxP3+)
Teff (CD4+ CD25- FoxP3-)
群体减少%
10-6
10-5
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
μg/ml

图22A

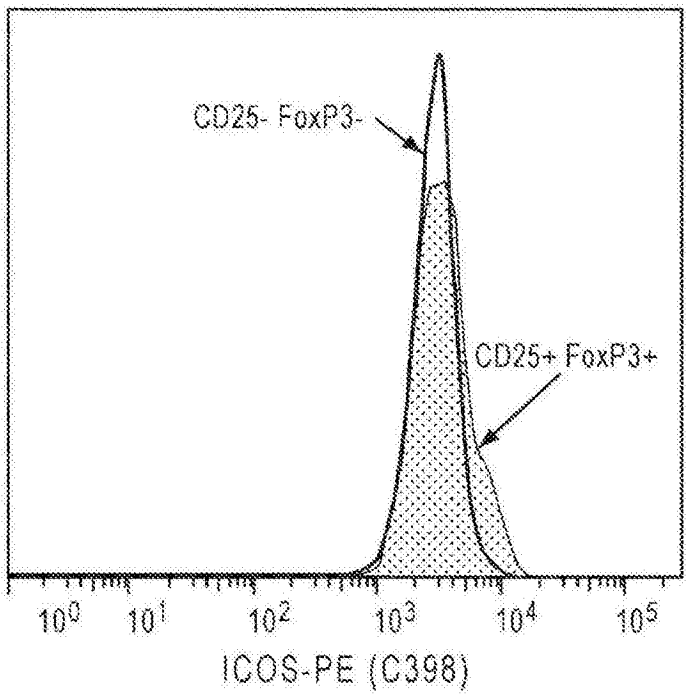

CD25- FoxP3-
CD25+ FoxP3+
100
101
102
103
104
105
ICOS-PE (C398)

图22B

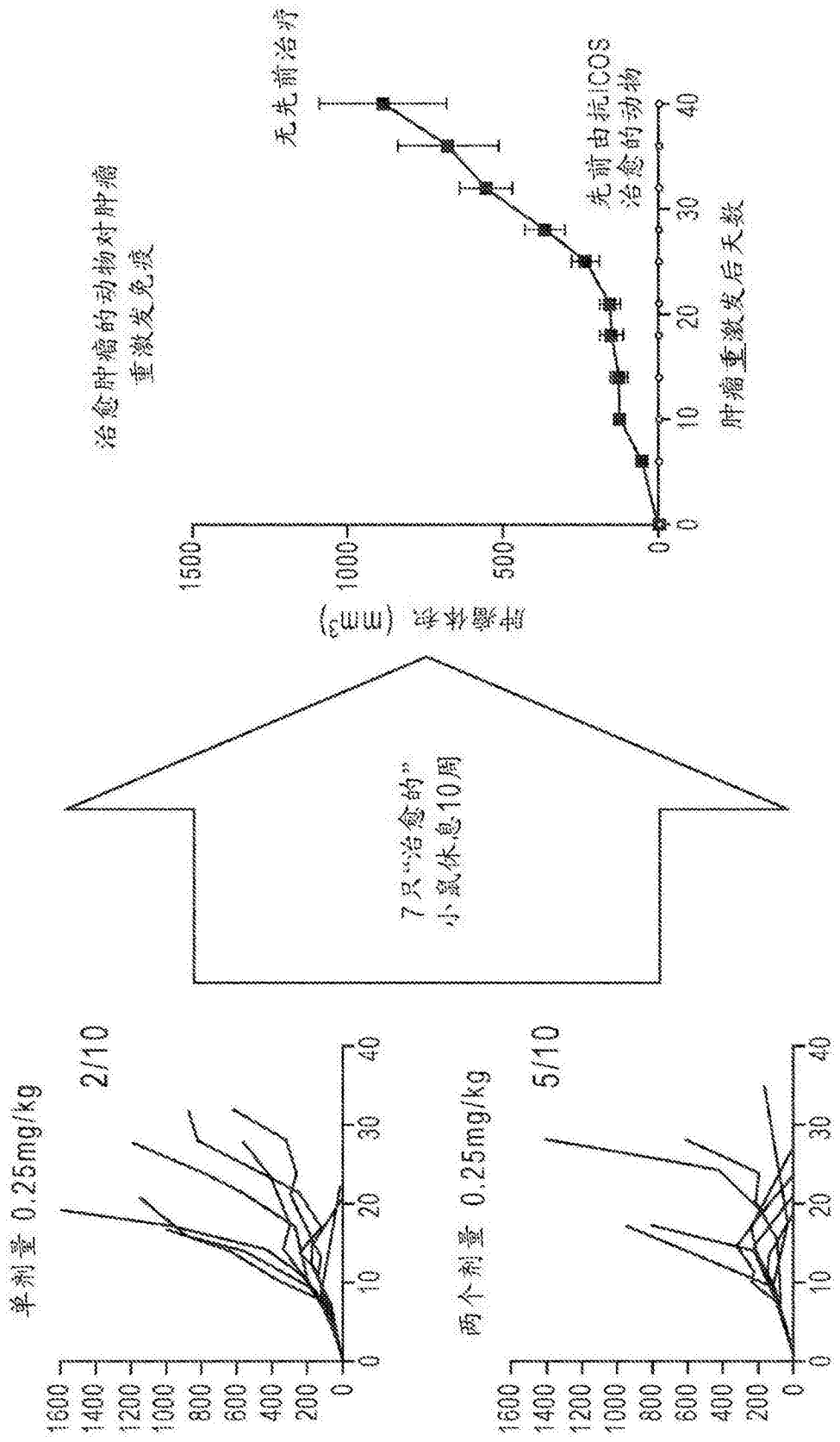

治愈肿瘤的动物对肿瘤
重激发免疫
无先前治疗
先前由抗ICOS
治愈的动物
肿瘤体积 (mm³)
肿瘤重激发后天数
7只"治愈的"
小鼠休息10周
单剂量 0.25mg/kg
2/10
两个剂量 0.25mg/kg
5/10

图23

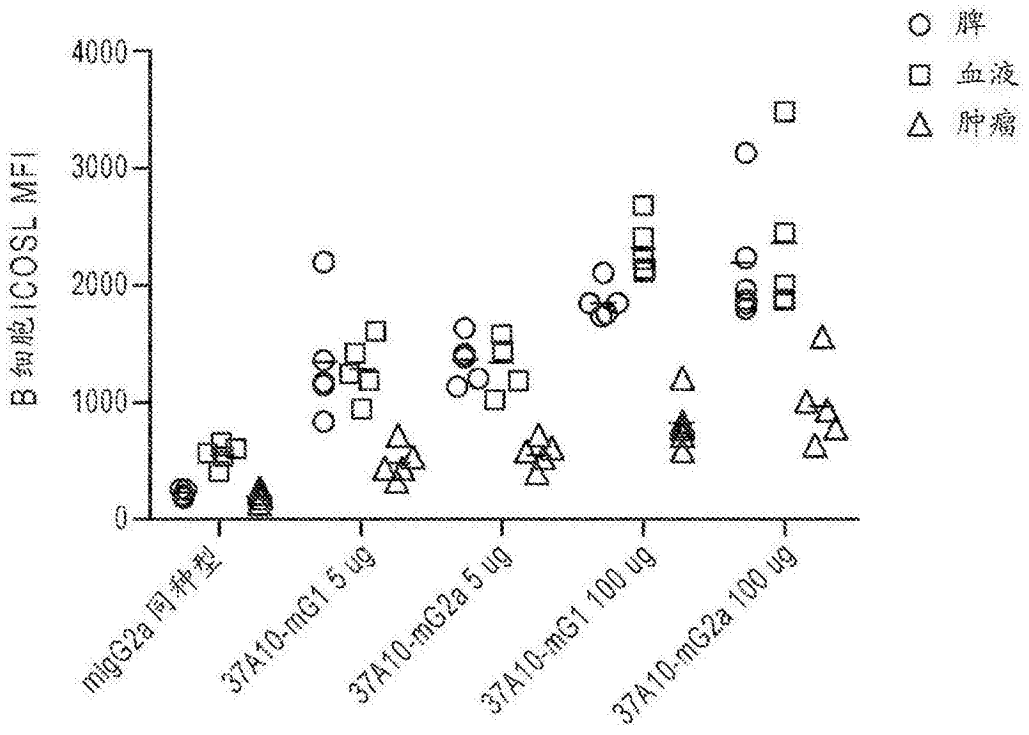

脾
血液
肿瘤
B细胞ICOSL MFI
4000
3000
2000
1000
0
mIgG2a 同种型
37A10-mG1 5 ug
37A10-mG2a 5 ug
37A10-mG1 100 ug
37A10-mG2a 100 ug

图24A

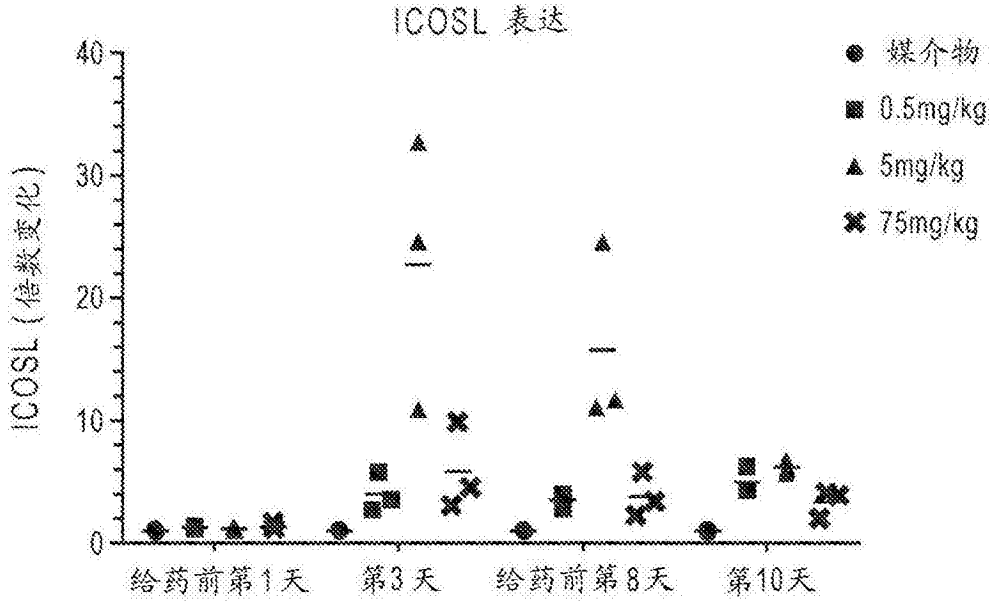

ICOSL 表达
媒介物
0.5mg/kg
5mg/kg
75mg/kg
ICOSL（倍数变化）
40
30
20
10
0
给药前第1天
第3天
给药前第8天
第10天

图24B

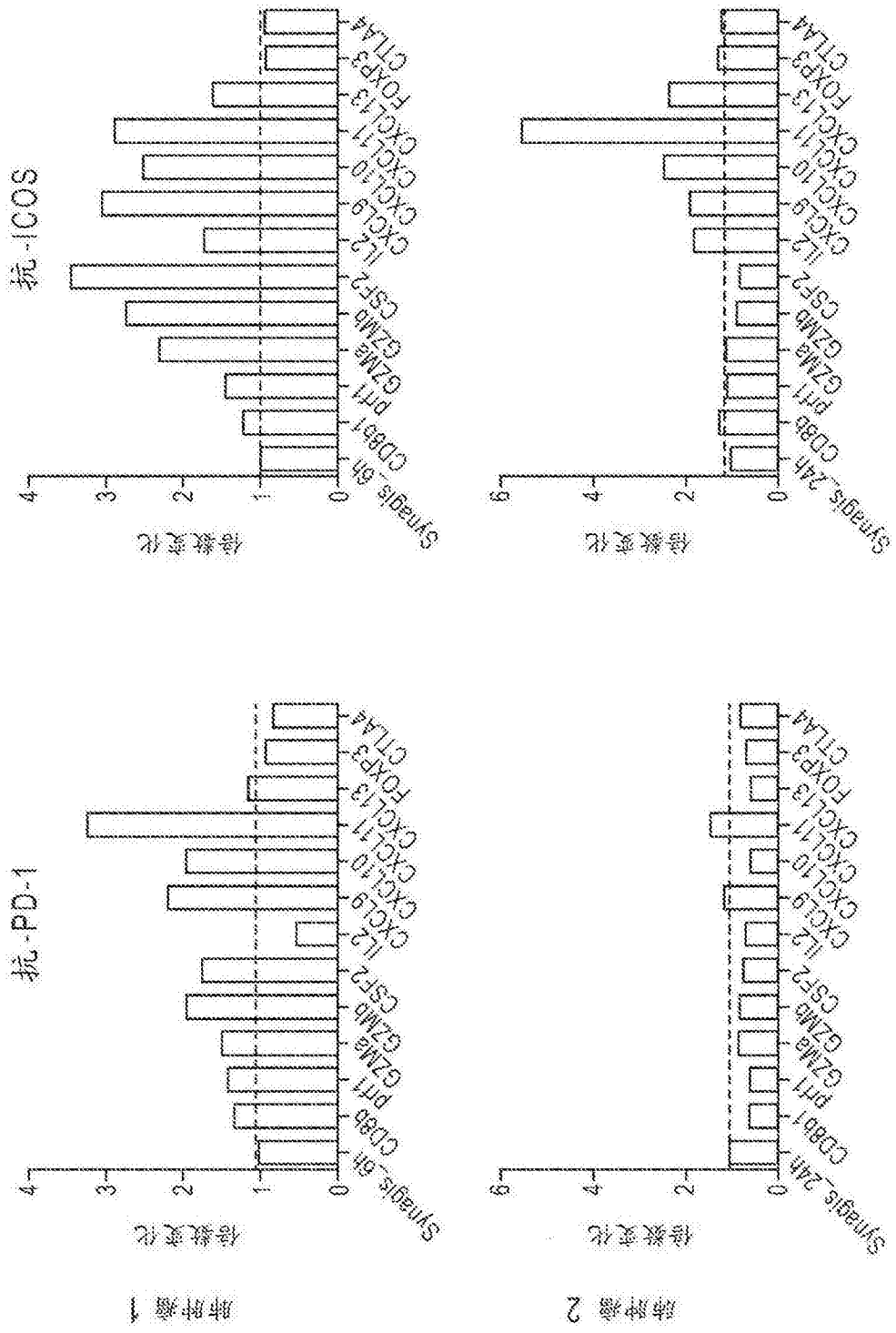

抗-ICOS
抗-PD-1
肿瘤 1
肿瘤 2
倍数变化
Synapis_6h
Synapis_24h
CD8b1
prf1
GZMa
GZMb
CSF2
IL2
CXCL9
CXCL10
CXCL11
CXCL13
FOXP3
CTLA4

图25

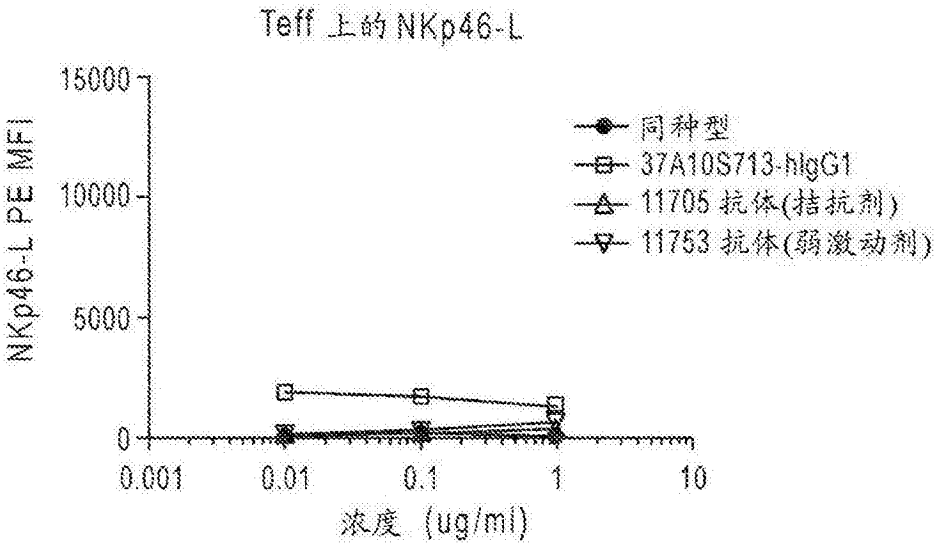

Teff 上的NKp46-L
NKp46-L PE MFI
15000
10000
5000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
浓度 (ug/ml)
同种型
37A10S713-hIgG1
11705 抗体(拮抗剂)
11753 抗体(弱激动剂)

图26A

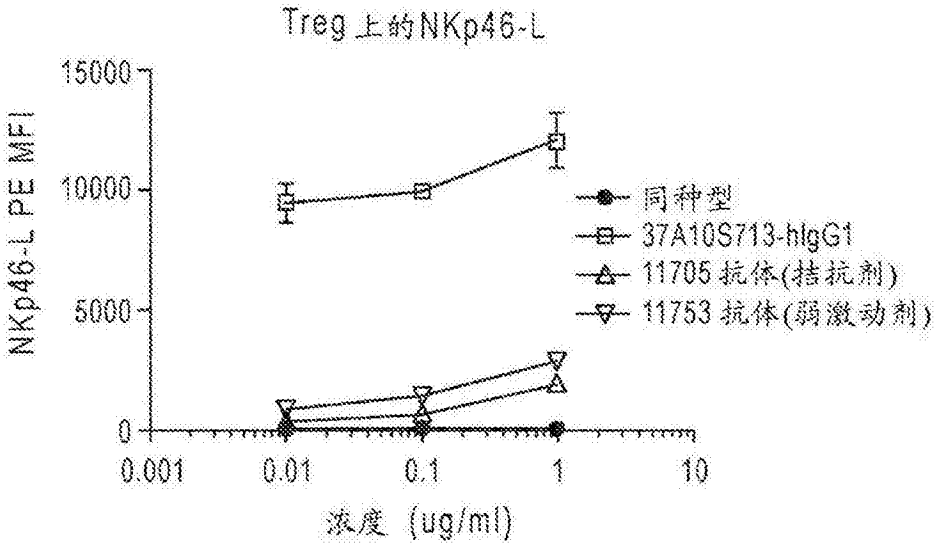

Treg 上的NKp46-L
NKp46-L PE MFI
15000
10000
5000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
浓度 (ug/ml)
同种型
37A10S713-hIgG1
11705 抗体(拮抗剂)
11753 抗体(弱激动剂)

图26B

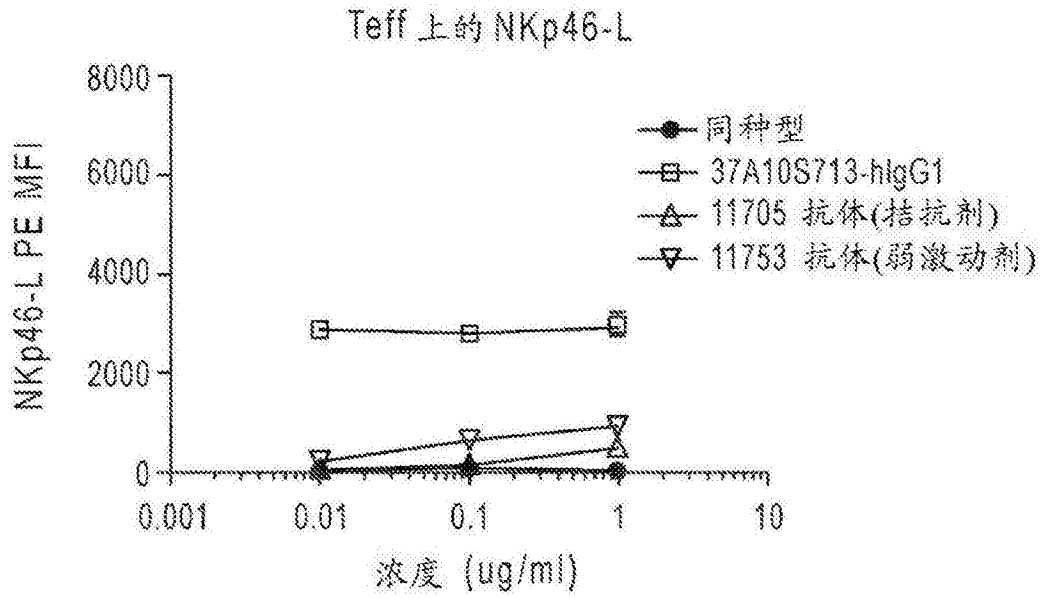

Teff 上的 NKp46-L
NKp46-L PE MFI
8000
6000
4000
2000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
浓度 (ug/ml)
同种型
37A10S713-hIgG1
11705 抗体(拮抗剂)
11753 抗体(弱激动剂)

图26C

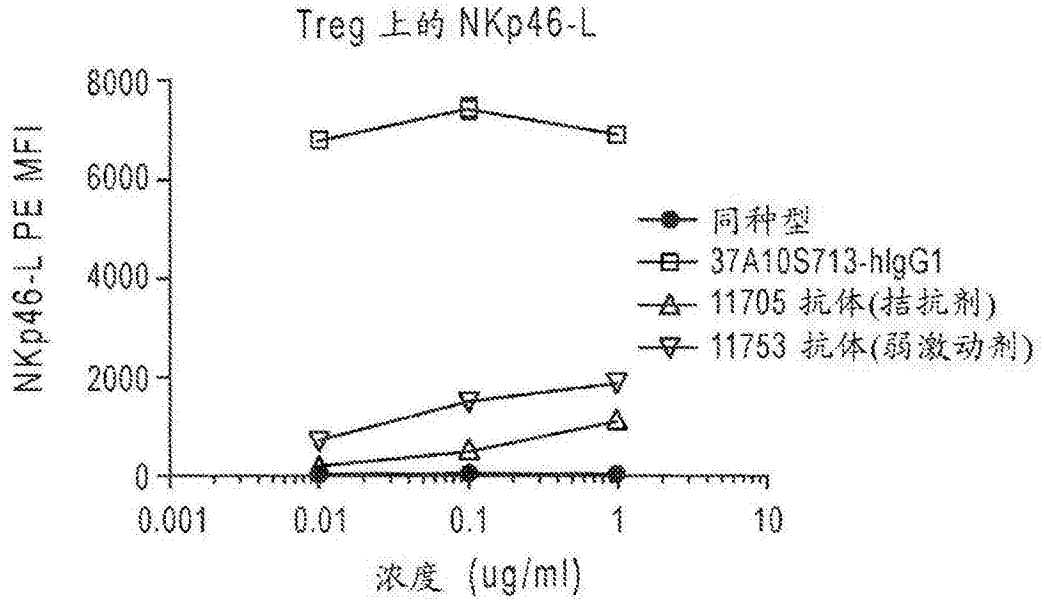

Treg 上的 NKp46-L
NKp46-L PE MFI
8000
6000
4000
2000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
浓度 (ug/ml)
同种型
37A10S713-hIgG1
11705 抗体(拮抗剂)
11753 抗体(弱激动剂)

图26D

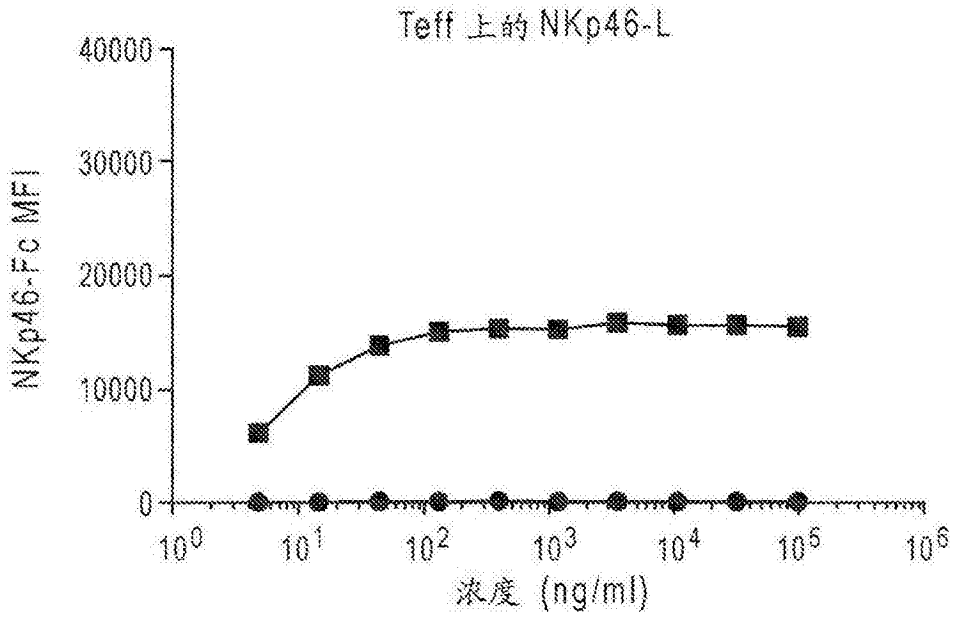

Teff 上的 NKp46-L
NKp46-Fc MFI
40000
30000
20000
10000
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6
浓度 (ng/ml)

图26E

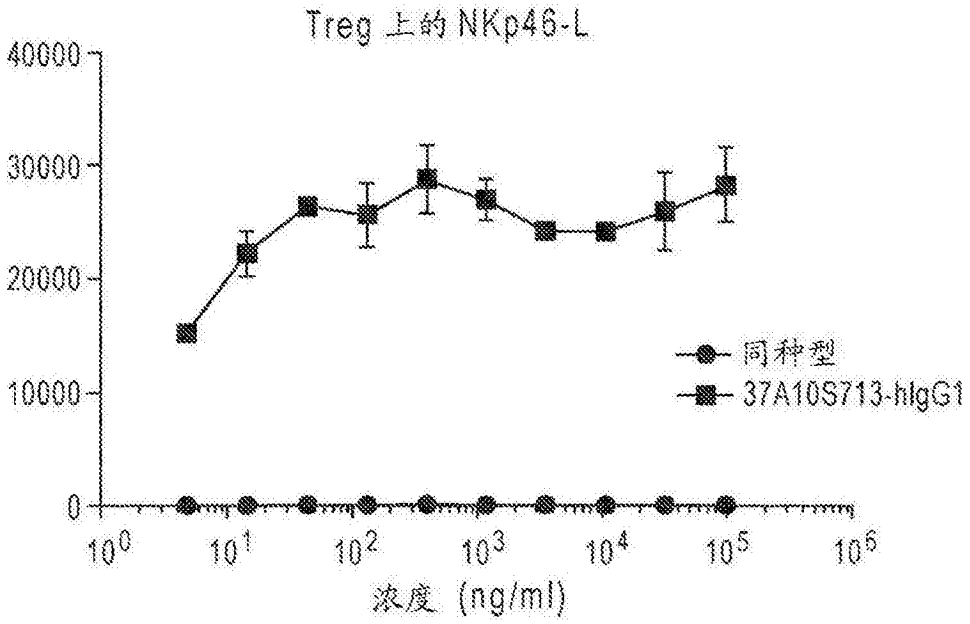

Treg 上的 NKp46-L
40000
30000
20000
10000
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6
浓度 (ng/ml)
同种型
37A10S713-hIgG1

图26F

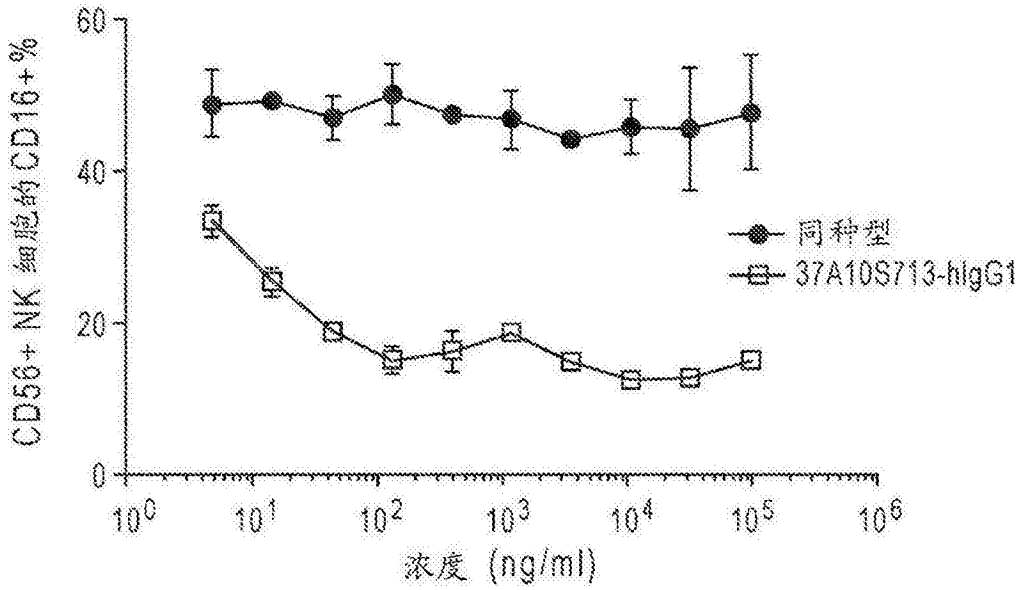

60
40
20
0
CD56+ NK 细胞的CD16+ %
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6
浓度 (ng/ml)
同种型
37A10S713-hIgG1

图27