



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114173823 A

(43) 申请公布日 2022.03.11

(21) 申请号 202080012901.6

(22) 申请日 2020.02.06

(30) 优先权数据

19305173.7 2019.02.11 EP

19305504.3 2019.04.18 EP

62/802,511 2019.02.07 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.08.05

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2020/052932 2020.02.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/161214 EN 2020.08.13

(71) 申请人 赛诺菲

地址 法国巴黎

(72) 发明人 A·阿拉德 M·卡德加

C·科姆博 B·德默斯 C·亨利

S·约克

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51) Int.Cl.

A61K 47/68 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

权利要求书3页 说明书43页

序列表16页 附图4页

(54) 发明名称

抗CEACAM5免疫缀合物用于治疗肺癌的用途

(57) 摘要

本公开文本提供了使用包含特异性结合人CEACAM5的抗体的免疫缀合物来治疗高CEACAM5表达的癌症的方法,所述癌症包括肺癌如NSQ NSCLC。

1. 一种抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,所述抗体或包含所述抗体的免疫缀合物用于治疗有需要的受试者中的非鳞状非小细胞肺癌(NSQ NSCLC),其中所述抗体特异性地结合hCEACAM5,并且其中所述抗体包含VH和VL,其中所述VH包含三个互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3,并且其中所述VL包含三个CDR即LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列(GFVFSSYD);所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列(ISSGGGIT);所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列(AAHYFGSSGPFAY);所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列(ENIFSY);所述LCDR2包含NTR的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列(QHHYGPFT)。

2. 根据权利要求1所述的用于所述用途的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述受试者是高癌胚抗原相关细胞粘附分子表达者。

3. 根据权利要求1或2中任一项所述的用于所述用途的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述受试者用于治疗非小细胞肺癌的药剂或药物进行预处理。

4. 根据权利要求3所述的用于所述用途的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述药剂或药物选自:化学治疗剂、血管生成抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂、间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂、受体酪氨酸激酶(ROS1)抑制剂、和免疫检查点抑制剂。

5. 根据权利要求4所述的用于所述用途的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述免疫检查点抑制剂是PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的用于所述用途的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述VH包含SEQ ID NO:1(EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYPSTVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMNLSLTSEDVAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGTLLVTVSS)。

7. 根据权利要求6所述的用于所述用途的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述重链包含SEQ ID NO:8

(EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYPSTVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMNLSLTSEDVAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG)。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的用于所述用途的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述VL包含SEQ ID NO:2(DIQMTQSPASLSASVGDRVTITCRASENIFSYLAWYQQKPKGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRFSGSGTDFSLTISLQPEDFATYYCQHHYGPFTFGSGTKLEIK)。

9. 根据权利要求8所述的用于所述用途的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述轻链包含SEQ ID NO:9

(DIQMTQSPASLSASVGDRVTITCRASENIFSYLAWYQQKPKGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRFSGSGTDFSLTISLQPEDFATYYCQHHYGPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC)。

10. 根据权利要求1至9中任一项所述的用于所述用途的包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述抗体与至少一种生长抑制剂缀合或连接。

11. 根据权利要求10所述的用于所述用途的免疫缀合物,其中所述生长抑制剂是细胞

毒性剂。

12. 根据权利要求10或11所述的用于所述用途的免疫缀合物,其中所述生长抑制剂选自化学治疗剂、酶、抗生素和毒素如小分子毒素或酶活性毒素、紫杉类、长春花类、紫杉烷、类美登素或类美登素类似物、茅屋霉素或吡咯并苯并二氮杂萜衍生物、念珠藻素衍生物、来普霉素衍生物、澳瑞他汀或尾海兔素类似物、前药、拓扑异构酶II抑制剂、DNA烷基化剂、抗微管蛋白剂、和CC-1065或CC-1065类似物。

13. 根据权利要求10或11所述的用于所述用途的免疫缀合物,其中所述生长抑制剂是(N2'-脱乙酰基-N2'-(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素)DM1或N2'-脱乙酰基-N-2'(4-甲基-4-巯基-1-氧代戊基)-美登素(DM4)。

14. 根据权利要求10至13中任一项所述的用于所述用途的免疫缀合物,其中所述抗体经由可裂解或不可裂解的接头与所述至少一种生长抑制剂共价衔接。

15. 根据权利要求14所述的用于所述用途的免疫缀合物,其中所述接头选自N-琥珀酰亚胺基吡啶基二硫代丁酸酯(SPDB)、4-(吡啶-2-基二巯基)-2-磺基-丁酸(磺基-SPDB)和琥珀酰亚胺基(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸酯(SMCC)。

16. 根据权利要求1至15中任一项所述的用于所述用途的免疫缀合物,其中所述受试者在所述肿瘤细胞群中具有百分比分数大于或等于50的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)。

17. 根据权利要求1至16中任一项所述的用于所述用途的免疫缀合物,其中基于所述受试者的体表面积,以5、10、20、30、40、60、80、100、120、150、180、或210mg/m²的剂量水平给予所述免疫缀合物。

18. 根据权利要求1至17中任一项所述的用于所述用途的免疫缀合物,其中每14天或每3周给予所述免疫缀合物。

19. 一种用于在有需要的受试者中治疗非鳞状非小细胞肺癌(NSQ NSCLC)的方法,所述方法包括给予特异性地结合hCEACAM5的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,其中所述抗体包含VH和VL,其中所述VH包含三个互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3,并且其中所述VL包含三个CDR即LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列(GFVFSSYD);所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列(ISSGGGIT);所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列(AAHYFGSSGPFAY);所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列(ENIFSY);所述LCDR2包含NTR的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列(QHHYGTPFT)。

20. 根据权利要求19所述的方法,其中所述受试者是高癌胚抗原相关细胞粘附分子表达者。

21. 根据权利要求19中任一项所述的方法,其中所述受试者先前用治疗非小细胞肺癌的药剂或药物进行治疗。

22. 根据权利要求19所述的方法,其中所述药剂或药物选自:化学治疗剂、血管生成抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂、间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂、受体酪氨酸激酶(ROS1)抑制剂、和免疫检查点抑制剂。

23. 根据权利要求22所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂。

24. 根据权利要求19至23中任一项所述的方法,其中所述抗体与至少一种生长抑制剂

缀合或连接。

25. 根据权利要求24所述的方法,其中所述生长抑制剂是(N2'-脱乙酰基-N2'-(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素)DM1或N2'-脱乙酰基-N-2'(4-甲基-4-巯基-1-氧代戊基)-美登素(DM4)。

26. 根据权利要求19至25中任一项所述的方法,其中所述抗体经由可裂解或不可裂解的接头与所述至少一种生长抑制剂共价衔接。

27. 根据权利要求26所述的方法,其中所述接头选自N-琥珀酰亚胺基吡啶基二硫代丁酸酯(SPDB)、4-(吡啶-2-基二硫基)-2-磺基-丁酸(磺基-SPDB)和琥珀酰亚胺基(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸酯(SMCC)。

28. 根据权利要求19至27中任一项所述的方法,其中所述受试者在所述肿瘤细胞群中具有百分比分数大于或等于50的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)。

29. 根据权利要求19至28中任一项所述的方法,其中基于所述受试者的体表面积,以5、10、20、30、40、60、80、100、120、150、180、或210mg/m²的剂量水平给予所述抗体。

30. 根据权利要求19至29中任一项所述的方法,其中每14天或每3周给予所述抗体。

抗CEACAM5免疫缀合物用于治疗肺癌的用途

技术领域

[0001] 本公开文本涉及表达CEACAM5的癌症如非鳞状非小细胞肺癌 (NSQ NSCLC) 的治疗性治疗。本发明的某些方面涉及CEACAM5拮抗剂 (如抗CEACAM5抗体和免疫缀合物用于治疗肺癌的用途)。

背景技术

[0002] 抗体药物缀合物 (ADC) 的作用机理始于其与肿瘤细胞上充分表达的特异性抗原的结合, 以实现药物的选择性和高效内化。现已显示, 使用ADC将有效的细胞毒素选择性地靶向肿瘤细胞是治疗癌症的有效策略, 如通过最近批准维汀-本妥昔单抗用于治疗霍奇金淋巴瘤和恩美-曲妥珠单抗 (T-DM1) 用于治疗复发的转移性HER2+乳腺癌所证实。医疗需求未得到满足的许多其他恶性疾病如实体瘤癌症可能会从此类治疗选择中受益。

[0003] 例如, 肺癌是一种侵袭形式的癌症, 其在美国造成数十万人死亡。不幸的是, 它在初次治疗后往往会复发, 并且对随后的治疗更有抵抗力。尽管已将多种疗法用于治疗患有肺癌的个体, 但需要更有效的治疗。

发明内容

[0004] 本公开文本尤其提供了治疗有需要的受试者中的肺癌 (例如, NSQ NSCLC) 的方法, 所述方法包括给予有效量的特异性结合CEACAM5的抗体或免疫缀合物 (包含所述抗体)。

[0005] 本公开文本尤其提供了抗体或包含抗体的免疫缀合物 (也称为ADC或抗体-药物缀合物) 以及治疗有需要的受试者中表达CEACAM5的癌症的方法, 所述方法包括给予有效量的特异性结合CEACAM5的抗体或免疫缀合物。例如, 癌症表达人癌胚抗原相关细胞粘附分子5 (hCEACAM5)。在各个实施方案中, 癌症高表达hCEACAM5。例如, 癌症表达hCEACAM5的包含SEQ ID NO:10和11的A3-B3结构域, 使得抗体或免疫缀合物结合所述结构域。

[0006] 本公开文本提供了抗体或包含抗体的免疫缀合物, 所述抗体或包含抗体的免疫缀合物用于治疗有需要的受试者中的高癌胚抗原相关细胞粘附分子5癌症。在各个实施方案中, 抗体特异性地结合人癌胚抗原相关细胞粘附分子5 (hCEACAM5), 并且所述抗体包含重链可变区 (VH) 和轻链可变区 (VL), 其中所述VH包含三个互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3, 并且其中所述VL包含三个CDR即LCDR1、LCDR2和LCDR3, 其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列 (GFVFSSYD); 所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列 (ISSGGGIT); 所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列 (AAHYFGSSGPFAY); 所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列 (ENIFSY); 所述LCDR2包含NTR的氨基酸序列; 并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列 (QHHYGTPFT)。

[0007] 本公开文本提供了抗体或包含抗体的免疫缀合物, 所述抗体或包含抗体的免疫缀合物用于治疗有需要的受试者中的非鳞状非小细胞肺癌 (NSQNSCLC), 其中所述抗体特异性地结合hCEACAM5, 并且其中所述抗体包含VH和VL, 其中所述VH包含三个互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3, 并且其中所述VL包含三个CDR即LCDR1、LCDR2和LCDR3, 其中所述HCDR1包含

SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;所述LCDR2包含NTR的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

[0008] 本公开文本提供了抗体或包含抗体的免疫缀合物,所述抗体或包含抗体的免疫缀合物用于治疗已经用癌症治疗剂预治疗的受试者,其中所述抗体特异性地结合hCEACAM5,并且其中所述抗体包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),其中所述VH包含三个互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3,并且其中所述VL包含三个CDR即LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;所述LCDR2包含NTR的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。在某些实施方案中,受试者是高癌胚抗原相关细胞粘附分子表达者。在其他实施方案中,受试者用治疗非小细胞肺癌的药剂或药物进行预治疗。在其他实施方案中,药剂或药物选自:化学治疗剂、血管生成抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂、间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂、受体酪氨酸激酶(ROS1)抑制剂、和免疫检查点抑制剂。在这些实施方案的某些方面,免疫检查点抑制剂是PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂。

[0009] 在各个实施方案中,癌症是NSQ NSCLC。

[0010] 在各个实施方案中,VH包含SEQ ID NO:1(EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYAPSTVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMNSLTSEDVAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGLVTVSS)。

[0011] 在各个实施方案中,重链包含SEQ ID NO:8

[0012] (EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYAPSTVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMNSLTSEDVAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLPG)。

[0013] 在各个实施方案中,VL包含SEQ ID NO:2(DIQMTQSPASLSASVGDRTITCRASENIFSYLAWYQQKPGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRFSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPTFGSGTKLEIK)。

[0014] 在各个实施方案中,轻链包含SEQ ID NO:9

[0015] (DIQMTQSPASLSASVGDRTITCRASENIFSYLAWYQQKPGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRFSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC)。

[0016] 在各个实施方案中,抗体与至少一种生长抑制剂缀合或连接。在实施方案中,生长抑制剂是细胞毒性剂。在抗体的各个实施方案中,生长抑制剂选自化学治疗剂、酶、抗生素和毒素(如小分子毒素或酶活性毒素)、紫杉类、长春花类、紫杉烷、类美登素或类美登素类似物、茅屋霉素或吡咯并苯并二氮杂萜衍生物、念珠藻素衍生物、来普霉素衍生物、澳瑞他汀或尾海兔素类似物、前药、拓扑异构酶II抑制剂、DNA烷基化剂、抗微管蛋白剂、和CC-1065或CC-1065类似物。在抗体的各个实施方案中,生长抑制剂是N2'-脱乙酰基-N2'-(3-巯基-

1-氧代丙基)-美登素(DM1)或N2'-脱乙酰基-N-2'(4-甲基-4-巯基-1-氧代戊基)-美登素(DM4)。例如,生长抑制剂是DM4。

[0017] 在各个实施方案中,抗体经由可裂解或不可裂解的接头与至少一种生长抑制剂共价衔接。在抗体的各个实施方案中,接头选自N-琥珀酰亚胺基吡啶基二硫代丁酸酯(SPDB)、4-(吡啶-2-基二巯基)-2-磺基-丁酸(磺基-SPDB)和琥珀酰亚胺基(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸酯(SMCC)。例如,接头是SPDB。

[0018] 在各个实施方案中,抗体是huMAb2-3。

[0019] 在本发明的各个实施方案中,受试者在肿瘤细胞群中具有百分比分数大于或等于50的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成),例如,百分比分数为大于或等于至少约50、至少约50至约80、至少约80或约100的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)。在各个实施方案中,hCEACAM5表达的百分比为肿瘤细胞群的至少约50%至约80%,肿瘤细胞群的至少约80%、至少约90%、至少约95%或约100%。在各个实施方案中,癌症是非鳞状非小细胞肺癌,其在至少约50%、至少约50%至约80%、至少约80%、至少约90%、至少约95%或约100%的肿瘤细胞群中高表达hCEACAM5。

[0020] 在各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物静脉内给予,例如通过静脉内输注。

[0021] 在各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物在前30分钟内以2.5mg/min的速率给予。在各个实施方案中,在约30分钟后,抗体的给予速率增加至5mg/min。

[0022] 在各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物基于受试者的体表面积以5、10、20、30、40、60、80、100、120、150、180、或210mg/m²的剂量水平给予。根据实施方案,将包含抗体的免疫缀合物基于受试者的体表面积以100mg/m²的剂量水平给予,所述剂量水平对应于在递增阶段过程中确定的最大耐受剂量(MTD)。

[0023] 在各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物以约2.5mg/m²至约5mg/m²的剂量给予。例如,将抗体或包含抗体的免疫缀合物以约2.5mg/m²至约5mg/m²的剂量给予一小时。所述剂量包括2.5mg/m²的抗体、5mg/m²的抗体以及2.5mg/m²与5mg/m²之间的所有剂量,例如2.75、3、3.25、3.5、3.75、4、4.25、4.5、和4.75mg/m²。在各个实施方案中,使用受试者的身高和实际身体来计算体表面积。

[0024] 在各个实施方案中,每14天给予抗体或包含抗体的免疫缀合物。在各个实施方案中,每三周给予抗体或包含抗体的免疫缀合物。

[0025] 在实施方案中,本公开文本提供了用于治疗有需要的受试者中的非鳞状非小细胞肺癌(NSQNSCLC)的免疫缀合物huMAb2-3-SPDB-DM4,其中免疫缀合物huMAb2-3-SPDB-DM4以100mg/m²的剂量水平每两周给予。

[0026] 在实施方案中,本公开文本提供了用于治疗有需要的受试者中的非鳞状非小细胞肺癌(NSQNSCLC)的免疫缀合物huMAb2-3-SPDB-DM4,其中将免疫缀合物huMAb2-3-SPDB-DM4以100mg/m²的剂量水平每三周给予。

[0027] 在另一个实施方案中,本公开文本提供了用于治疗有需要的受试者中的非鳞状非小细胞肺癌(NSQNSCLC)的免疫缀合物huMAb2-3-SPDB-DM4,其中将免疫缀合物huMAb2-3-SPDB-DM4以150mg/m²或170mg/m²的第一剂量水平给予,然后以100mg/m²的剂量水平每两周给予。

[0028] 在各个实施方案中,在给予抗体或包含抗体的免疫缀合物之前,向受试者给予前置药物(pre-medication)。例如,前置药物是组胺H1拮抗剂。

[0029] 在各个实施方案中,组胺H1拮抗剂是苯海拉明或右氯苯那敏。

[0030] 在本发明的各个实施方案中,受试者先前用治疗非小细胞肺癌的药剂或药物进行治疗。例如,受试者用所述药剂或药物进行过度预治疗和/或无效治疗。在本发明的各个实施方案中,药剂或药物选自:化学治疗剂、血管生成抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂、间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂、受体酪氨酸激酶(ROS1)抑制剂、和免疫检查点抑制剂。在本发明的各个实施方案中,免疫检查点抑制剂是PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂。

[0031] 在用于上述用途的抗体或包含抗体的免疫缀合物的一些实施方案中,癌症的至少一种症状的进展被降低、减慢、停止或以其他方式改善。在这些实施方案的某些方面,在用抗体治疗后肿瘤生长速率或肿瘤大小降低。在这些实施方案的其他方面,表达细胞的表达模式、强度和比例指示癌症的降低、减慢或停止。

[0032] 本公开文本提供了包含本文所述的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0033] 本公开文本提供了用于治疗有需要的受试者中高癌胚抗原相关细胞粘附分子癌症的免疫缀合物,其中所述免疫缀合物包含特异性结合hCEACAM5的抗体药物缀合物(ADC)并且包含如上所述的抗体,其中癌症的至少一种症状的进展被降低、减慢、停止或以其他方式改善。

[0034] 本公开文本提供了用于治疗有需要的受试者中NSQ NSCLC的免疫缀合物,其中所述免疫缀合物包含特异性结合hCEACAM5的ADC并且包含如上所述的抗体,其中癌症的至少一种症状的进展被降低、减慢、停止或以其他方式改善。

[0035] 本公开文本提供了用于治疗受试者的免疫缀合物,所述受试者是过度预治疗的高癌胚抗原相关细胞粘附分子表达者,其中所述免疫缀合物包含特异性结合hCEACAM5的ADC并且包含如上所述的抗体,其中癌症的至少一种症状被降低、减慢、停止或以其他方式改善。

[0036] 在各个实施方案中,免疫缀合物包含抗体huMAb2-3。

[0037] 其中生长抑制剂包含DM4;并且其中接头包含SPDB。在各个实施方案中,ADC包含huMAb2-3-SPDB-DM4。

[0038] 在各个实施方案中,在用免疫缀合物治疗后肿瘤生长速率或肿瘤大小降低。

[0039] 在各个实施方案中,表达细胞的表达模式、强度和比例指示癌症的降低、减慢或停止。

[0040] 本公开文本提供了包含本文所述的抗体或所述免疫缀合物和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0041] 本公开文本提供了用于治疗有需要的受试者中高癌胚抗原相关细胞粘附分子5癌症的方法,所述方法包括给予特异性结合hCEACAM5的抗体,其中所述抗体包含VH和VL,其中所述VH包含三个互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3,并且其中所述VL包含三个CDR即LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;所述LCDR2包含NTR的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:7的氨基酸

序列。

[0042] 本公开文本提供了用于治疗有需要的受试者中的NSQ NSCLC的方法,所述方法包括给予特异性结合hCEACAM5的抗体,其中所述抗体包含VH和VL,其中所述VH包含三个互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3,并且其中所述VL包含三个CDR即LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;所述LCDR2包含NTR的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。

[0043] 本公开文本提供了用于治疗已经用癌症治疗剂预治疗的受试者的方法,其中所述抗体特异性地结合hCEACAM5,其中所述抗体包含VH和VL,其中所述VH包含三个互补决定区HCDR1、HCDR2和HCDR3,并且其中所述VL包含三个CDR即LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中所述HCDR1包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列;所述HCDR2包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列;所述HCDR3包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列;所述LCDR1包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列;所述LCDR2包含NTR的氨基酸序列;并且所述LCDR3包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列。在某些实施方案中,受试者是高癌胚抗原相关细胞粘附分子表达者。在其他实施方案中,受试者用治疗非小细胞肺癌的药剂或药物进行预治疗。在其他实施方案中,药剂或药物选自:化学治疗剂、血管生成抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂、间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂、受体酪氨酸激酶(ROS1)抑制剂、和免疫检查点抑制剂。在这些实施方案的某些方面,免疫检查点抑制剂是PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂。

[0044] 在上述方法的各个实施方案中,癌症是NSQ NSCLC。

[0045] 在所述方法的各个实施方案中,VH包含SEQ ID NO:1。在所述方法的各个实施方案中,重链包含SEQ ID NO:8。

[0046] 在所述方法的各个实施方案中,VL包含SEQ ID NO:2。在所述方法的各个实施方案中,轻链包含SEQ ID NO:9。

[0047] 在所述方法的各个实施方案中,抗体与至少一种生长抑制剂缀合或连接。例如,生长抑制剂是细胞毒性剂。

[0048] 在所述方法的各个实施方案中,生长抑制剂选自化学治疗剂、酶、抗生素和毒素(如小分子毒素或酶活性毒素)、紫杉类、长春花类、紫杉烷、类美登素或类美登素类似物、茅屋霉素或吡咯并苯并二氮杂萜衍生物、念珠藻素衍生物、来普霉素衍生物、澳瑞他汀或尾海兔素类似物、前药、拓扑异构酶II抑制剂、DNA烷基化剂、抗微管蛋白剂、和CC-1065或CC-1065类似物。在所述方法的各个实施方案中,生长抑制剂是DM1或DM4。例如,生长抑制剂是DM4。

[0049] 在所述方法的各个实施方案中,抗体经由可裂解或不可裂解的接头与至少一种生长抑制剂共价衔接。在所述方法的各个实施方案中,接头选自SPDB、磺基-SPDB和SMCC。在一个实施方案中,接头是SPDB。

[0050] 在所述方法的各个实施方案中,抗体是huMAb2-3。在所述方法的各个实施方案中,受试者患者在肿瘤细胞群中具有百分比分数大于或等于50的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)。例如,百分比分数为大于或等于至少约50、至少约50至约80、至少约80或约100的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)。在各个实施方案中,hCEACAM5表达的百分比为肿瘤细胞群的至少约50%至约80%、肿瘤细胞群的至少约80%或约100%。在所述方法的各个实施

方案中,癌症是非鳞状非小细胞肺癌,其在至少约50%、至少约50%至约80%、至少约80%或约100%的肿瘤细胞群中高表达hCEACAM5。

[0051] 在所述方法的各个实施方案中,将抗体静脉内给予,例如通过静脉内输注。

[0052] 在所述方法的各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物在前30分钟内以2.5mg/min的速率给予。在所述方法的各个实施方案中,在30分钟后,抗体的给予速率增加至5mg/min。

[0053] 在所述方法的各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物基于受试者的体表面积以5、10、20、30、40、60、80、100、120、150、180、或210mg/m²的剂量水平给予。在所述方法的各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物以约2.5mg/m²至约5mg/m²的剂量给予。例如,将抗体或包含抗体的免疫缀合物以约2.5mg/m²至约5mg/m²的剂量给予一小时。所述剂量包括2.5mg/m²的抗体或包含抗体的免疫缀合物、5mg/m²的抗体或包含抗体的免疫缀合物,以及2.5mg/m²与5mg/m²之间的所有剂量,例如2.75、3、3.25、3.5、3.75、4、4.25、4.5、和4.75mg/m²。在各个实施方案中,使用受试者的身高和实际身体来计算体表面积。

[0054] 在所述方法的各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物每14天给予。在各个实施方案中,每三周给予抗体或包含抗体的免疫缀合物。

[0055] 在所述方法的各个实施方案中,在给予抗体或包含抗体的免疫缀合物之前,向受试者给予前置药物,例如所述前置药物是组胺H1拮抗剂。在所述方法的各个实施方案中,组胺H1拮抗剂是苯海拉明或右氯苯那敏。

[0056] 在所述方法的各个实施方案中,受试者先前用治疗非小细胞肺癌的药剂或药物进行治疗。例如,药剂或药物选自:化学治疗剂、血管生成抑制剂、EGFR抑制剂、间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂、受体酪氨酸激酶(ROS1)抑制剂、和免疫检查点抑制剂。例如,免疫检查点抑制剂是PD-1抑制剂和/或PD-L1抑制剂。

[0057] 在上述方法的一些实施方案中,癌症的至少一种症状的进展被降低、减慢、停止或以其他方式改善。在这些实施方案的某些方面,在用抗体治疗后肿瘤生长速率或肿瘤大小降低。在这些实施方案的其他方面,表达细胞的表达模式、强度和比例指示癌症的降低、减慢或停止。

[0058] 本公开文本提供了包含本文所述的抗体或包含所述抗体的免疫缀合物和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0059] 在所述方法的各个实施方案中,抗体以特异性结合hCEACAM5并且包含本文所述的任何抗体的ADC的形式来给予,其中在用所述ADC给予/治疗后,癌症的至少一种症状的进展被降低、减慢、停止或以其他方式改善。

[0060] 在所述方法的各个实施方案中,ADC包含抗体huMAb2-3;

[0061] 其中生长抑制剂包含DM4;并且其中接头包含SPDB。在各个实施方案中,ADC包含huMAb2-3-SPDB-DM4。

[0062] 在所述方法的各个实施方案中,在用抗体和/或免疫缀合物治疗后,肿瘤生长速率和/或肿瘤大小降低。

[0063] 在所述方法的各个实施方案中,表达细胞的表达模式、强度和比例指示在用抗体和/或免疫缀合物治疗后,癌症的降低、减慢或停止。

[0064] 在所述方法的各个实施方案中,抗体和/或免疫缀合物以包含药学上可接受的载

体的药物组合物的形式来给予。

附图说明

[0065] 图1A、图1B和图1C分别显示了1+、2+、3+染色强度的例子。

[0066] 图2是根据档案样品中集中CEACAM5表达的种类,用huMAb2-3-SPDB-DM4治疗的患者中最佳相对肿瘤缩小的条形图。患者的CEACAM5表达(2+/3+) <50%、在50%与80%之间或≥或。PR意指部分反应。SD意指稳定疾病。PD意指进展疾病。

[0067] 图3说明了在高CEACAM5表达(肺)群组中治疗的32名患者中和在中等表达者群组的患者中观察到的最佳相对肿瘤缩小。患者的CEACAM5表达(2+/3+) <50%或≥50%。PR意指部分反应。SD意指稳定疾病。PD意指进展疾病。

[0068] 图4说明了在高CEACAM5表达(肺)群组中治疗的32名患者中的进展时间(TTP)。

具体实施方式

[0069] 本公开文本提供了药物组合物和使用这些组合物治疗NSQ NSCLC以及改善所述疾病的至少一种症状的方法。这些组合物包含至少一种特异性结合(CEACAM5)的抗体,例如所述抗体是抗体huMAb2-3。ADC huMAb2-3-SPDB-DM4是将huMAb2-3(抗CEACAM5)抗体和类美登素衍生物4(DM4)(一种抑制微管组装的有效抗有丝分裂剂)组合的免疫缀合物。DM4通过优化的接头SPDB[N-琥珀酰亚胺基4-(2-吡啶基二硫代)-丁酸酯]与huMAb2-3共价结合,所述接头在血浆中稳定且在细胞内可裂解。在结合并在靶向的癌细胞中内化后,huMAb2-3-SPDB-DM4降解,从而释放细胞毒性DM4代谢物。

[0070] 如本文所用,高CEACAM5癌症是指若干种类型,包括肺癌。在一些实施方案中,肺癌是非鳞状非小细胞肺癌。在某些实施方案中,高CEACAM5表达者在至少50%的表达肿瘤细胞群中具有大于2+的强度。高CEACAM5表达者占肺癌的约20%。在概念验证研究中给予包含DM4细胞毒性剂、SPDB接头和人源化抗体huMAb2-3的本文所述ADC。数据显示,ADC在肺癌的子集中实现了概念验证。

[0071] 在1/2期研究中在过度预治疗的高CEACAM5表达者中分析ADC。对于在3L环境中,ADC显示了竞争性的总反应率(ORR)和反应持续时间(DoR)。最常见的药物不良反应(ADR)是眼毒性(在不中断治疗的情况下可逆)和极低血液/神经毒性。

[0072] 如本文所用,“过度预治疗”是指超过1个月的对受试者的预治疗。在其他实施方案中,被过度预治疗的受试者已经经历超过2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24个月的治疗。在某些实施方案中,预治疗是一种或多种癌症治疗剂的给予。

[0073] 非小细胞肺癌(NSCLC)

[0074] 非小细胞肺癌是在肺组织中形成恶性(癌)细胞的疾病。吸烟是所述疾病的主要原因。这是一种不同于小细胞肺癌的上皮性肺癌类型。非小细胞肺癌有若干种类型。每种类型的非小细胞肺癌都有不同种类的癌细胞。每种类型的癌细胞以不同的方式生长和扩散。非小细胞肺癌的类型是针对在癌症中发现的细胞类型以及在显微镜下的细胞外观命名的:(1)鳞状细胞癌:始于鳞状细胞的癌症,鳞状细胞是薄而扁平的细胞,看起来像鱼鳞。这种类型也被称为表皮样癌。(2)大细胞癌:可能始于若干种类型的大细胞的癌症。和(3)腺癌:始

于内衬于肺泡并产生如粘液的物质的细胞的癌症。

[0075] 现已显示,使用ADC将有效的细胞毒素选择性靶向肿瘤细胞是治疗癌症的有效策略,如通过最近批准维汀-本妥昔单抗用于治疗霍奇金淋巴瘤和恩美-曲妥珠单抗(T-DM1)用于治疗复发的转移性HER2+乳腺癌所证实。医疗需求未得到满足的许多其他恶性疾病可能会从此类治疗选择中受益。ADC的作用机理始于其与肿瘤细胞上充分表达的特异性抗原的结合,以实现药物的选择性和高效内化。

[0076] 根治性手术是适合I期NSCLC患者的护理标准(例如,全肺切除术、肺叶切除术、肺段切除术或楔形切除术、袖状切除术)。辅助治疗应仅作为研究试验的一部分提供。基于顺铂的II期和IIIA期辅助化学疗法仍然是完全切除的NSCLC肿瘤的金标准。与顺铂或彼此相互组合使用的其他化学治疗剂可以包括卡铂、紫杉醇(Taxol)、白蛋白结合的紫杉醇(nab-紫杉醇, Abraxane)、多西他赛(Taxotere)、吉西他滨(Gemzar)、长春瑞滨(Navelbine)、伊立替康(Camptosar)、依托泊苷(VP-16)、长春碱、和培美曲塞(Alimta)。此外,放射疗法可用于具有N2淋巴结的患者。在晚期IIIB/IV或无法手术的NSCLC患者中,治疗可以包括多个周期的基于顺铂的化学疗法加上第3代细胞毒性剂或细胞抑制药物(抗EGFR、抗VEGFR)。

[0077] 包括肺癌在内的癌症的治疗可以包括血管生成抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂、间变性淋巴瘤激酶(ALK)抑制剂、受体酪氨酸激酶ROS1抑制剂和免疫检查点抑制剂。

[0078] 血管生成抑制剂可能包括但不限于阿昔替尼(Inlyta)、贝伐单抗(Avastin)、卡博替尼(Cometriq)、依维莫司(Afinitor、Zortress)、来那度胺(Revlimid)、帕唑帕尼(Votrient)、雷莫芦单抗(Cyramza)、瑞戈非尼(Stivarga)、索拉非尼(Nexavar)、舒尼替尼(Sutent)、沙利度胺(Synovir、Thalomid)、凡德他尼(Caprelsa)、阿柏西普和Ziv-阿柏西普(Zaltrap)。

[0079] 表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂可以包括但不限于吉非替尼(Iressa)、厄洛替尼(Tarceva)、拉帕替尼(Tykerb)、西妥昔单抗(Erbix)、来那替尼(Nerlynx)、奥希替尼(Tagrisso)、帕尼单抗(Vectecti)、凡德他尼(Caprelsa)、耐昔妥珠单抗(Protrazza)和达克替尼(Vizimpro)。

[0080] 免疫检查点抑制剂可以包括但不限于程序性死亡1(PD-1)受体(PD-1)结合剂(例如派姆单抗、纳武单抗、西米单抗(cimiplimab))、程序性死亡配体1(PD-L1)结合剂(例如,阿特珠单抗、阿维鲁单抗、度伐鲁单抗)、CTLA-4结合剂(例如,伊匹单抗)、OX40或OX40L结合剂、腺苷A2A受体结合剂、B7-H3结合剂、B7-H4结合剂、BTLA结合剂、吡啶胺2,3-双加氧酶结合剂、杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)结合剂、淋巴细胞激活基因3(LAG-3)结合剂、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸NADPH氧化酶亚型(NOX2)结合剂、T细胞免疫球蛋白结构域和粘蛋白结构域3(TIM-3)结合剂、T细胞激活的V结构域Ig抑制剂(VISTA)结合剂、糖皮质激素诱导的TNFR家族相关基因(GITR)结合剂和唾液酸结合免疫球蛋白型凝集素7(SIGLEC7)结合剂。

[0081] CEA和CEACAM

[0082] 癌胚抗原(CEA)是参与细胞粘附的糖蛋白。CEA在1965年首次被鉴定(Gold和Freedman, J Exp Med, 121, 439, 1965)为通常在妊娠的前六个月内由胎儿肠道表达的蛋白质,并发现于胰腺癌、肝癌和结肠癌中。CEA家族属于免疫球蛋白超家族。由18个基因组成的CEA家族细分为蛋白质的两个亚组:癌胚抗原相关细胞粘附分子(CEACAM)亚组和妊娠特异

性糖蛋白亚组。

[0083] 在人类中,CEACAM亚组由7个成员组成:CEACAM1、CEACAM3、CEACAM4、CEACAM5、CEACAM6、CEACAM7和CEACAM8。大量研究已经显示,CEACAM5与最初鉴定的CEA相同,在结肠、胃、肺、乳腺、前列腺、卵巢、子宫颈和膀胱肿瘤细胞的表面高表达,并在极少正常上皮组织中弱表达,所述正常上皮组织如结肠中的柱状上皮细胞和杯状细胞、胃中的颈粘液细胞以及食道和子宫颈中的鳞状上皮细胞。因此,CEA-CAM5可以构成适合于肿瘤特异性靶向方法(如免疫缀合物)的治疗性靶标。本发明提供了针对CEACAM5的抗体,并显示它们可以在体内使用接头与细胞毒性剂缀合并安全地给予至患有NSQ NSCLC的受试者。数据显示,在各种肺癌细胞中的hCEACAM5表达是大于或等于约50、约50至约80或约100的百分比分数(由2+和3+强度组成)。CEACAM家族成员的胞外结构域由重复的免疫球蛋白样(Ig样)结构域组成,所述免疫球蛋白样(Ig样)结构域已经根据序列同源性被分类为3种类型,即A、B和N。CEACAM5含有七种此类结构域,即N、A1、B1、A2、B2、A3和B3。

[0084] CEACAM5 A1、A2和A3结构域在一方面以及B1、B2和B3结构域在另一方面显示出高序列同源性,人CEACAM5的A结构域呈现84%至87%成对序列相似性,并且B结构域呈现69%至80%成对序列相似性。此外,在其结构中呈现A和/或B结构域的其他人CEACAM成员(即CEACAM1、CEACAM6、CEACAM7和CEACAM8)显示出与人CEACAM5的同源性。特别地,人CEACAM6蛋白的A和B结构域分别展示出与人CEACAM5的A1和A3结构域以及B1至B3结构域中的任何一个的序列同源性,所述序列同源性甚至高于在人CEA-CAM5的A结构域和B结构域之间观察到的序列同源性。

[0085] 鉴于靶向CEA的诊断或治疗目的,产生许多抗CEA抗体。对相关抗原的特异性作为该领域中的关注点一直被提及,如通过Sharkey等人(1990, *Cancer Research* 50, 2823)所举的例子。由于上述同源性,一些先前描述的抗体可能显示出与存在于不同免疫球蛋白结构域中的CEACAM5的重复表位的结合,显示出与其他CEACAM成员如CEACAM1、CEACAM6、CEACAM7或CEA-CAM8的交叉反应性,从而缺乏对CEACAM5的特异性。鉴于CEA靶向疗法,抗CEACAM5抗体的特异性是所期望的,使得其与表达人CEACAM5的肿瘤细胞结合,但不与表达其他CEACAM成员的一些正常组织结合。值得注意的是,CEACAM1、CEACAM6和CEACAM8已经被描述为由人和非人灵长类动物的嗜中性粒细胞表达,其中已显示出CEACAM1、CEACAM6和CEACAM8调节粒细胞生成并在免疫应答中发挥作用。

[0086] 已经描述了抗CEACAM6抗体药物缀合物,如由Genentech开发的类美登素抗CEACAM6抗体(Strickland等人,2009 *J Pathol*, 218, 380),已显示其在非人灵长类动物中诱导CEACAM6依赖性造血毒性。这种毒性被作者认为是严重安全问题,其归因于抗体药物缀合物在骨髓中的积累以及粒细胞及其细胞前体的耗尽。因此,更准确地说,对于治疗目的,抗CEACAM5抗体与CEACAM1、CEACAM6、CEACAM7或CEACAM8的交叉反应性可能会因增加的对正常组织的毒性而降低化合物的治疗指数。因此,在获得特异性针对CEACAM5的抗体方面具有强大的优势,所述抗体不会与CEACAM家族的其他分子交叉反应,尤其是以抗体药物缀合物(ADC)的形式使用或以导致杀死靶细胞的任何其他作用方式。

[0087] 此外,因为CEACAM5被描述在一些正常细胞组织中被表达(尽管以低水平表达),所以开发能够与人CEACAM5以及食蟹猴(*cynomolgus monkey*, *Macaca fascicularis*) CEACAM5结合的抗CEACAM5抗体是重要的,因此可以在食蟹猴的临床前毒理学研究中容易地测试此

类抗体以评价其安全性特性。由于在功能性抗体 (Doern等人2009, J. Biol. Chem 284 10254) 和在涉及效应子功能 (Beers等人Semin Hematol 47:107-114) 这两种情况下已经显示出治疗性抗体的功效可能依赖于表位在靶标中的定位, 因此必须显示人/猴交叉反应抗体结合人和食蟹猴蛋白质的相同重复Ig样同源结构域中的表位。

[0088] 考虑到人与食蟹猴CEACAM蛋白之间的总体序列同源性, 将对此类抗体的物种交叉反应性与对人和食蟹猴CEACAM5的特异性 (即与其他食蟹猴和人CEACAM成员无交叉反应性) 的需求组合进一步增加复杂程度。

[0089] 确实, 食蟹猴CEACAM5序列与人CEACAM5序列 (AAA51967.1/GI:180223, 702个氨基酸) 的整体成对比对指示仅78.5%同一性。克隆食蟹猴CEACAM1、CEACAM5和CEACAM6基因, 并进行人与食蟹猴A、B和N结构域的整体比对。这种比对预测, 只有很少的区域 (如果有的话) 定位理想的表位, 所述理想的表位将是人和食蟹猴CEACAM5共有的, 并且不与任何其他家族成员共享。由于这些原因, 预期开发在人与食蟹猴CEACAM5之间具有交叉反应性而与其他人和食蟹猴CEACAM成员无交叉反应性的抗体的成功率较低。值得注意的是, 除了极少数例外 (MT111), 几乎没有记载过先前描述的抗CEACAM5抗体具有食蟹猴交叉反应性。

[0090] 抗人CEACAM5抗体已经用于临床试验中, 如Immunomedics的拉贝珠单抗 (也称为hMN14, Sharkey等人, 1995, Cancer Research 55, 5935)。已显示该抗体不与相关抗原结合, 但不与来自食蟹猴的CEACAM5交叉反应。值得注意的是, Micromet的MT111抗体 (也称为MedImmune的MEDI-565抗体) 是与人CEA-CAM5和人CD3结合的双特异性抗体 (Peng等人, PLoS ONE 7 (5):e3641; WO 2007/071426)。据说, MT111是通过将来自识别人和食蟹猴CEACAM5的抗体的单链可变片段 (scFv) 与来自识别人CD3的抗体的scFv融合而产生。还已经报道MT111不结合其他CEACAM家族成员 (Peng等人, PLoS ONE 7 (5):e3641)。MT111与人CEA-CAM5的A2结构域中的构象表位结合。该构象表位在人CEACAM5的剪接变体中是缺失的, 所述剪接变体与全长CEACAM5同时在肿瘤上表达 (Peng等人, PLoS ONE 7 (5):e3641)。另外, 没有证据表明MT111与在食蟹猴CEACAM5中的相同表位结合。

[0091] 在产生具有用于治疗目的的最佳特征的针对CEACAM5表面蛋白的新抗体的尝试中, 用重组蛋白以及用肿瘤细胞对小鼠进行免疫。他们已经使用针对CEACAM家族的几种重组蛋白的ELISA以及使用相关细胞系的流式细胞术筛选了数百种杂交瘤, 以仅选择具有有利特性的免疫球蛋白 (IgG)。出乎意料的是, 他们能够选择杂交瘤克隆并产生包含所有所需特征的相应成熟IgG。所述成熟IgG以高亲和力与人CEACAM5的A3-B3结构域特异性地结合, 并且不识别人CEACAM1、CEACAM6、CEACAM7和CEACAM8蛋白。在细胞的背景下, 这些抗体展示出对肿瘤细胞的高亲和力 (在纳摩尔范围内)。此外, 这些抗体还与食蟹猴CEACAM5蛋白结合, 猴/人亲和力比率小于或等于10。

[0092] 通过靶向CEACAM5的A3-B3结构域, 这些抗体具有增加的肿瘤靶向潜力, 因为它们具有结合全长人CEACAM5及由Peng等人鉴定的人CEACAM5剪接变体的能力。参见

[0093] 最后, CEACAM5在文献中被描述为内化不良的表面蛋白 (综述于Schmidt等人, 2008, Cancer Immunol. Immunother. 57, 1879中), 因此可能不是抗体药物缀合物的有利靶标。不管现有技术中如何报道, 本发明人已经显示, 他们已产生的抗体能够在结合后内化CEACAM5-抗体复合物, 并且在与细胞毒性剂组合时能够在体外诱导对肿瘤细胞的细胞毒性活性。与细胞毒性剂组合的相同抗体也能够在携带人原发性结肠肿瘤和胃肿瘤的小鼠中显

著抑制肿瘤生长。参见WO 2014079886,将其整体并入本文。

[0094] 定义

[0095] 如本文所用,在定量术语中的术语“约”是指其修饰的值的加或减10% (如果所述值不可再分,如分子或核苷酸的数量,则舍入为最接近的整数)。例如,短语“约100mg”将涵盖90mg至110mg (包含端值);短语“约2500mg”将涵盖2250mg至2750mg。当应用于百分比时,术语“约”是指相对于该百分比加或减10%。例如,短语“约20%”将涵盖18%-22%,并且“约80%”将涵盖72%-88% (包含端值)。此外,在“约”在本文中结合定量术语使用的情况下,应理解,除了所述值加或减10%外,还考虑并描述所述定量术语的确切值。例如,术语“约23%”明确地考虑、描述并确切地包括23%。

[0096] 应注意,术语“一个/一种(a)”或“一个/一种(an)”实体是指一个/一种或多个/多种该实体,例如,“一种症状”应理解为表示一种或多种症状。因此,术语“一个/一种(a)”(或“一个/一种(an)”)、“一个/一种或多个/多种”和“至少一个/至少一种”在本文中可互换使用。

[0097] 此外,本文使用的“和/或”被视为明确公开两个指定特征或组分中的每一个,与或不与另一个特征或组分一起公开。因此,如在本文中于短语如“A和/或B”中使用的术语“和/或”旨在包括“A和B”、“A或B”、“A”(单独)和“B”(单独)。同样地,如在短语如“A、B和/或C”中使用的术语“和/或”旨在涵盖以下方面中的每一个:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);以及C(单独)。

[0098] 应当理解,本文中无论在哪里用语言“包含”描述方面,还提供以“由……组成”和/或“基本上由……组成”描述的其他类似方面。

[0099] 如本文所用,“CEACAM5”表示“癌胚抗原相关细胞粘附分子5”,也称为“CD66e”(分化簇66e)或CEA。CEACAM5是参与细胞粘附的糖蛋白。CEACAM5特别在结直肠、胃、肺和子宫肿瘤细胞的表面上高表达。

[0100] 包括信号肽(位置1-34)和前肽(位置686-702)的全长人CEACAM5的参考序列可从GenBank数据库在登录号AAA51967.1下获得(SEQ ID NO:52)。在高加索人群中已经以高于2%的频率鉴定出五个非同义SNP,其中四个位于人CEACAM5(SEQ ID NO:58)的N结构域中(在位置80、83、112、113),最后一个位于A2结构域中(在位置398)。GenBank AAA51967.1含有主要单倍型(I80、V83、I112、I113和E398)。

[0101] 由本发明人克隆的食蟹猴CEACAM5的细胞外结构域的序列在SEQ ID NO:12中公开。还参见WO 2014079886,将其整体通过引用并入。

[0102] SEQ ID NO:12

[0103] QLTIESRPFNVAEGKEVLLLAHNVSQNLFYIWKGERVDASRRIGSCVIRTQQITPGPAHSGRETIDF
NASLLIQNVTQSDTGSYTIQVIKEDLVNEEATGQFRVYPELPKPYITSNNSNPIEDKDAVALTCEPETQDTTYLWWV
NNQSLPVSRLSSDNRTLTVFNIPRNDTTSYK CETQNPVSVRRSDPVTNLVLYGPDAPTISPLNTPYRAGEYLN
TCHASNPTAQYFWFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYMCQAHNSATGLNRRTVTAITVYAE LPKPYITSNNSNP
IEDKDAVTLTCEPETQDTTYLWWVNNQRLSVSSRLELSDNRTLTVFNIPRNDTTFYECETQNPVSVRRSDPVTNLV
LYGPDAPTISPLNTPYRAGENLNSCHAASNPAQYFWFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYMCQAHNSATGLNR
TTVTAITVYVELPKPYISSNNSNPIEDKDAVTLTCEPVAENTTYLWWVNNQSLSVSRLQLSNGNRI LTL SVTRND
TGPYECGIQNSESAKRSDPVTNLVNTYGPDTPIISPDL SYRSGANLNSCHSDSNPSPQYSWLINGTLRQHTQVLF I

SKITSNNGAYACFVSNLATGRNNSIVKNISVSSGDSAPGSSGLSA

[0104] “结构域”可以是蛋白质的任何区域,通常根据序列同源性来定义并且通常与特定的结构或功能实体有关。已知CEACAM家族成员由Ig样结构域构成。术语结构域在本文件中用于表示单独的Ig样结构域(如“N结构域”)或连续结构域的组(如“A3-B3结构域”)。

[0105] 人CEACAM5的结构域组织如下(基于GenBank AAA51967.1;SEQ ID NO:13):

[0106] SEQ ID NO:13MESPSAPPHRWCIPWQRLLLTASLLTFWNPPTAKLTIESTPFNVAEGKEVLLLVH
 NLPQHFLFGYSWYKGERVDGNRQIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIIPNASLLIQNIQNDTGFYTLHVIKSDLVNEE
 ATGQFRVYPELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDATYLWWVNNQSLPVSRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDT
 ASYKCETQNPVSARRSDSVILNVLYGPDAPTISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYSWFVNGTFQQSTQELFIP
 NITVNNSGSYTCQAHNSDTGLNRTTVTTITVYAEPKPFITSNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQSLP
 VSPRLQLSNDNRTLTLVSVTRNDVGPYECG IQNELSVDHSDPVILNVLYGPDPTISPSYTYRPGVNLSSCHAAS
 NPPAQYSWLIDGNIQQHTQELFISNITEKNSGLYTCQANNSASGHSRTTVKTI TVSAELPKPSISSNNSKPVEDKDA
 VAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQSLPVSRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDARAYVCGIQNSVSANRSDPVTLDVLYGPD
 PII SPPDSSYLSGANLNLSCHSASNPSQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSI
 TVSASGTSPGLSAGATVGMIGVLVGVALI

[0107] 表1A. 人CEACAM5结构域

人CEACAM5结构域	在SEQ ID NO: 13上的位置
结构域N	35-142
结构域A1	143-237
结构域B1	238-320
结构域A2	321-415
结构域B2	416-498
结构域A3	499-593

[0108]

结构域B3	594-685
-------	---------

[0109] 因此,人CEACAM5的A3-B3结构域由在SEQ ID NO:13的位置499-685的氨基酸组成。

[0110] 食蟹猴CEACAM5的结构域组织如下(基于克隆的细胞外结构域序列;SEQ ID NO:12):

[0111] 表1B: 食蟹猴CEACAM5结构域

[0112]

食蟹猴CEACAM5结构域	在SEQ ID NO:12上的位置
结构域N-A1-B1	-1-286
结构域A2-B2	-287-464
结构域A3-B3	465-654

[0114] 因此,食蟹猴CEACAM5的A3-B3结构域由在SEQ ID NO:53的位置465-654的氨基酸组成。

[0115] “编码序列”或“编码”表达产物(如RNA、多肽、蛋白质或酶)的序列是核苷酸序列,当表达时,所述核苷酸序列导致产生该RNA、多肽、蛋白质或酶,即所述核苷酸序列编码该多肽、蛋白质或酶的氨基酸序列。蛋白质的编码序列可以包括起始密码子(通常是ATG)和终止密码子。

[0116] 如本文所用,提及的特定蛋白质(例如,抗体)可以包括具有天然氨基酸序列的多肽以及变体和修饰形式,而不论其来源或制备方式如何。具有天然氨基酸序列的蛋白质是具有与从自然界获得的相同的氨基酸序列的蛋白质。此类天然序列蛋白质可以从自然界分离,或者可以使用标准的重组和/或合成方法来制备。天然序列蛋白质明确涵盖天然存在的截短或可溶形式、天然存在的变体形式(例如,可变剪接形式)、天然存在的等位基因变体和形式,包括翻译后修饰。天然序列蛋白质包括携带一些氨基酸残基的翻译后修饰(如糖基化或磷酸化)或其他修饰的蛋白质。

[0117] 术语“基因”意指编码或对应于构成一种或多种蛋白质或酶的全部或部分的特定氨基酸序列的DNA序列,并且可以包括或不包括调节性DNA序列(如启动子序列),所述调节性DNA序列决定例如基因表达的条件。一些基因(不是结构基因)可以从DNA转录为RNA,但不会翻译成氨基酸序列。其他基因可以充当结构基因的调节子或充当DNA转录的调节子。特别地,术语基因可以意图用于编码蛋白质的基因组序列,即包含调节子、启动子、内含子和外显子序列的序列。

[0118] “序列同一性”的百分比可以通过比较在比较窗口上最佳比对的两个序列来确定,其中多核苷酸或多肽序列在比较窗口中的部分可以包含如与参考序列(其不包含添加或缺失)相比的添加或缺失(即,空位),以实现这两个序列的最佳比对。百分比是通过以下方式来计算的:确定两个序列中出现相同核酸碱基或氨基酸残基的位置数,以得到匹配的位置数;用匹配的位置数除以比较窗中的总位置数,并将结果乘以100,得到序列同一性百分比。用于比较的序列的最佳比对是通过整体成对比对进行的,例如使用Needleman和Wunsch J.Mol.Biol.48:443(1970)的算法进行。序列同一性的百分比可以例如使用程序Needle和BLOSUM62矩阵以及以下参数容易地确定:空位-开口=10、空位-延伸=0.5。

[0119] “保守氨基酸取代”是其中用具有侧链R基的氨基酸残基取代另一氨基酸残基的氨基酸取代,所述侧链R基具有类似的化学特性(例如电荷、大小或疏水性)。一般而言,保守氨基酸取代基本上不会改变蛋白质的功能特性。具有化学特性相似的侧链的氨基酸的组的例子包括:1)脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2)脂肪族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3)含酰胺的侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4)芳香族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;6)酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸;以及7)含硫侧链:半胱氨酸和甲硫氨酸。保守氨基酸取代组也可以根据氨基酸大小来定义。

[0120] 本公开文本包括方法,所述方法包括向受试者给予与CEACAM5特异性结合的抗体或其抗原结合片段。如本文所用,术语“hCEACAM5”意指特异性结合人CEACAM5的人细胞因子受体。在某些实施方案中,被给予患者的抗体与hCEACAM5的至少一个结构域特异性地结合。

[0121] 进行研究以产生、筛选和选择特定的小鼠抗CEACAM5抗体,所述抗体展示对人和食蟹猴CEACAM5蛋白二者的高亲和力,并且所述抗体与人CEACAM1、CEACAM6、CEACAM7和

CEACAM8蛋白以及与食蟹猴CEACAM1、CEACAM6和CEACAM8蛋白没有显著交叉反应。

[0122] 所谓的“抗体Mab1”包含：

[0123] -重链的可变结构域，其由序列

EVMLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYAMSWVRQTPEKRLEWVA

TISSGGSYIYYLDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRSEDAMYYCARP

AYYGNPAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:14, CDR用粗体显示) 组成，其中FR1-H跨越氨基酸位置1至25, CDR1-H跨越氨基酸位置26至33, FR2-H跨越氨基酸位置34至50, CDR2-H跨越氨基酸位置51至58, FR3-H跨越氨基酸位置59至96, CDR3-H跨越氨基酸位置97至109, 并且FR4-H跨越氨基酸位置110至120, 以及

[0124] -轻链的可变结构域，其由序列

DILMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIY

SASYRYSQVDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPLYTF

GGGTKLEIK (SEQ ID NO:15, CDR用粗体显示) 组成，其中FR1-L跨越氨基酸位置1至26, CDR1-L跨越氨基酸位置27至32, FR2-L跨越氨基酸位置33至49, CDR2-L跨越氨基酸位置50至52, FR3-L跨越氨基酸位置53至88, CDR3-L跨越氨基酸位置89至98, 并且FR4-L跨越氨基酸位置99至108。

[0125] 所谓的“抗体Mab2”包含：

[0126] -重链的可变结构域，其由序列

EVQLQESGGVLVKPGGSLKLSCAASGFVFSYDMSWVRQTPEKRLEWVA

YISSGGGITYFPDVTVQGRFTVSRDNKNTLYLQMNSLKSEDTAIYYCAA

HYFGSSGPFAYWGQGTSLVTVSA (SEQ ID NO:16, CDR用粗体显示) 组成，其中FR1-H跨越氨基酸位置1至25, CDR1-H跨越氨基酸位置26至33, FR2-H跨越氨基酸位置34至50, CDR2-H跨越氨基酸位置51至58, FR3-H跨越氨基酸位置59至96, CDR3-H跨越氨基酸位置97至109, 并且FR4-H跨越氨基酸位置110至120, 以及

[0127] -轻链的可变结构域，其由序列

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIFSYLAWYQQKQKSPQLLVYN

TKTLAEGVPSRFSGSGGTQFSLKINSIQPEDFGSYQCQHHYGTPTFTFGS

GTKLEIK (SEQ ID NO:17, CDR用粗体显示) 组成，其中FR1-L跨越氨基酸位置1至26, CDR1-L跨越氨基酸位置27至32, FR2-L跨越氨基酸位置33至49, CDR2-L跨越氨基酸位置50至52, FR3-L跨越氨基酸位置53至88, CDR3-L跨越氨基酸位置89至97, 并且FR4-L跨越氨基酸位置98至107。

[0128] 还通过在CDR2-L中引入K52R取代产生抗体Mab2的变体。该变体在本文中称为“Mab2_{K52R}”，其对人和食蟹猴CEACAM5的亲合力与Mab2基本相同。

[0129] 所谓的“抗体Mab3”包含：

[0130] -重链的可变结构域，其由序列

EVKLVESGGGLVKPGGSLTLPCAASGFTFSRYAMSWVRQTPEKRLEWVA

SISSGGDTYYPDSVKGRFTVSRDNARNILFLQMSSLRSEDGMYYCARV

NYDSSFLDWWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:18, CDR用粗体显示) 组成, 其中FR1-H跨越氨基酸位置1至25, CDR1-H跨越氨基酸位置26至33, FR2-H跨越氨基酸位置34至50, CDR2-H跨越氨基酸位置51至57, FR3-H跨越氨基酸位置58至95, CDR3-H跨越氨基酸位置96至108, 并且FR4-H跨越氨基酸位置109至119, 以及

[0131] -轻链的可变结构域, 其由序列

**DIVMTQSQRFMSTLEGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKALIY
SASYRYSQVDPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNNYPLYTF**

GGGTKLEIK (SEQ ID NO:19, CDR用粗体显示) 组成, 其中FR1-L跨越氨基酸位置1至26, CDR1-L跨越氨基酸位置27至32, FR2-L跨越氨基酸位置33至49, CDR2-L跨越氨基酸位置50至52, FR3-L跨越氨基酸位置53至88, CDR3-L跨越氨基酸位置89至98, 并且FR4-L跨越氨基酸位置99至108。

[0132] 所谓的“抗体MAb4”包含:

[0133] -重链的可变结构域, 其由序列

**EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYDMSWVRQTPEKRLEWVA
FISSYGGRTYYADTVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLKSEDTAMFYCAA**

HYFGTSGPFAYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO:20, CDR用粗体显示) 组成, 其中FR1-H跨越氨基酸位置1至25, CDR1-H跨越氨基酸位置26至33, FR2-H跨越氨基酸位置34至50, CDR2-H跨越氨基酸位置51至58, FR3-H跨越氨基酸位置59至96, CDR3-H跨越氨基酸位置97至109, 并且FR4-H跨越氨基酸位置110至120, 以及

[0134] -轻链的可变结构域, 其由序列

**DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYFAWYQQKQGKSPQLLVYN
AKILAEQVPSRFSGSGGTQFSLKINSLQPEDFGTYTCQHGYGIPFTFGSG**

TKLELK (SEQ ID NO:21, CDR用粗体显示) 组成, 其中FR1-L跨越氨基酸位置1至26, CDR1-L跨越氨基酸位置27至32, FR2-L跨越氨基酸位置33至49, CDR2-L跨越氨基酸位置50至52, FR3-L跨越氨基酸位置53至88, CDR3-L跨越氨基酸位置89至97, 并且FR4-L跨越氨基酸位置98至107。

[0135] 所谓的“抗体MAb5”包含:

[0136] -重链的可变结构域, 其由序列

**ELQLVESGGVLVKPGGSLKLSCAASGFASFSSYDMSWVRQTPEKRLEWVT
YINSGGGITYYPDTVKGRFTISRDNARNTLYLQMSSLKSEDTAIYYCTAH**

YFGSSGPFAYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO:22, CDR用粗体显示) 组成, 其中FR1-H跨越氨基酸位置1至25, CDR1-H跨越氨基酸位置26至33, FR2-H跨越氨基酸位置34至50, CDR2-H跨越氨基酸位置51至58, FR3-H跨越氨基酸位置59至96, CDR3-H跨越氨基酸位置97至109, 并且FR4-H跨越氨基酸位置110至120, 以及

[0137] -轻链的可变结构域, 其由序列

**DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQKGKSPQLLVYN
AKTLTEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYCYCQHHYGTPTFTGS**

GTKLEIK (SEQ ID NO:23, CDR用粗体显示) 组成, 其中FR1-L跨越氨基酸位置1至26, CDR1-L跨越氨基酸位置27至32, FR2-L跨越氨基酸位置33至49, CDR2-L跨越氨基酸位置50至52, FR3-L跨越氨基酸位置53至88, CDR3-L跨越氨基酸位置89至97, 并且FR4-L跨越氨基酸位置98至107。

[0138] 这些抗体的多种变异和变体描述于WO 2014079886中, 其通过引用以其整体并入。在实施方案中, 本发明的抗体是抗体huMAb2-3或其变体, 即分离的抗体, 所述分离的抗体与人和食蟹猴CEACAM5蛋白的A3-B3结构域结合并且包含:

[0139] a) 重链, 所述重链由序列SEQ ID NO:8或与所述序列至少85%相同的序列组成; 或

[0140] b) 轻链, 所述轻链由序列SEQ ID NO:9或与所述序列至少85%相同的序列组成, 或者重链和轻链。

[0141] 在各个实施方案中, 本发明涉及与人和食蟹猴CEACAM5结合的抗体。在实施方案中, 本发明的抗体与人和食蟹猴CEACAM5的A3-B3结构域结合。更具体地, 抗体可以无差别地与人和食蟹猴A3-B3结构域结合, 无论所述结构域是以分离的形式表达, 还是以可溶性细胞外结构域或膜锚定的全长CEACAM5蛋白的形式存在。

[0142] 抗体对人CEACAM5的A3-B3结构域的特异性是有利的, 因为在该结构域中没有报告在高加索人群中频率高于2%的SNP, 这使在部分群体中抗体在CEACAM5上的一个或多个表位改变的风险降至最低。

[0143] 根据实施方案, 根据本发明的抗体对人和食蟹猴表面CEACAM5蛋白具有特异性。在实施方案中, 本发明的抗体与人CEACAM1、人CEACAM6、人CEACAM7、人CEACAM8、食蟹猴CEACAM1、食蟹猴CEACAM6和食蟹猴CEACAM8蛋白不结合或者不显著地交叉反应。

[0144] 在各个实施方案中, 抗体与前述的人和食蟹猴CEACAM蛋白的细胞外结构域不结合或者不显著地交叉反应。

[0145] 人CEACAM1全长蛋白质可在GenBank数据库中在登录号NP_001703.2下获得。人CEACAM1的细胞外结构域由在该蛋白质的位置35-428的氨基酸组成。人CEACAM6全长蛋白质可在GenBank数据库中在登录号NP_002474.3下获得。人CEACAM6的细胞外结构域由在该蛋白质的位置35-327的氨基酸组成。

[0146] 人CEACAM7全长蛋白质可在GenBank数据库中在登录号NP_008821.1下获得。人CEACAM7的细胞外结构域由在该蛋白质的位置36-248的氨基酸组成。

[0147] 人CEACAM8全长蛋白质可在GenBank数据库中在登录号NP_001807.2下获得。人CEACAM8的细胞外结构域由在该蛋白质的位置35-332的氨基酸组成。

[0148] 食蟹猴CEACAM1细胞外结构域由在全长蛋白质的位置35-428的氨基酸, 即蛋白质的氨基酸1-394组成。

[0149] 食蟹猴CEACAM6细胞外结构域由在全长蛋白质的位置35-327的氨基酸, 即蛋白质的氨基酸1-293组成。

[0150] 食蟹猴CEACAM8细胞外结构域由在全长蛋白质的位置35-332的氨基酸, 即蛋白质的氨基酸1-298组成。

[0151] 如本文所用, 术语“抗体”是指包含通过二硫键相互连接的四条多肽链 (即两条重

(H)链和两条轻(L)链)的免疫球蛋白分子,以及其多聚体(例如,IgM)。每条重链包含重链可变区(本文缩写为HCVR或VH)和重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域,CH1、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变区(本文缩写为LCVR或VL)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域(CL1)。VH和VL区域可以进一步细分为具有高变性的区域,称为互补决定区(CDR),散布有更保守的区域,称为框架区(FR)。每个VH和VL由三个CDR和四个FR组成,从氨基末端到羧基末端按照以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在一些实施方案中,抗体(或其抗原结合部分)的FR可以与人种系序列相同,或者可以是天然修饰或人工修饰的。可以基于两个或更多个CDR的并排分析来定义氨基酸共有序列。

[0152] 如本文所用,术语“抗体”还包括完整抗体分子的抗原结合片段。如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括任何天然存在的、可酶促获得的、合成的或基因工程化的多肽或糖蛋白,其特异性结合抗原以形成复合物。抗体的抗原结合片段可以例如使用任何合适的标准技术从完整抗体分子衍生,所述标准技术如蛋白水解消化或重组基因工程技术,所述重组基因工程技术涉及操纵和表达编码抗体可变结构域和任选恒定结构域的DNA。这种DNA是已知的和/或可从例如商业来源、DNA文库(包括例如噬菌体-抗体文库)容易地获得,或者可以合成。DNA可以按化学方式或通过使用分子生物学技术进行测序和操纵,例如,以将一个或多个可变结构域和/或恒定结构域排列成合适的构型,或引入密码子,产生半胱氨酸残基,修饰、添加氨基酸或使之缺失等。

[0153] 抗原结合片段的非限制性例子包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab')₂片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;和(vii) 由模拟抗体高变区的氨基酸残基组成的最小识别单位(例如,分离的互补决定区(CDR),如CDR3肽,或受限FR3-CDR3-FR4肽)。其他工程化分子,如结构域特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失抗体、嵌合抗体、CDR移植抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微抗体、纳米抗体(例如,单价纳米抗体和二价纳米抗体)、小的模块化免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域也涵盖在如本文所用的表述“抗原结合片段”内。

[0154] 抗体的抗原结合片段通常将包含至少一个可变结构域。可变结构域可以具有任何大小或氨基酸组成,并且通常包含与一个或多个框架序列相邻或同框的至少一个CDR。在具有与VL结构域缔合的VH结构域的抗原结合片段中,VH和VL结构域可以相对于彼此以任何合适的排列定位。例如,可变区可以是二聚体并且含有VH-VH、VH-VL或VL-VL二聚体。可替代地,抗体的抗原结合片段可以含有单体VH或VL结构域。

[0155] 在某些实施方案中,抗体的抗原结合片段可以含有与至少一个恒定结构域共价连接的至少一个可变结构域。可在抗体的抗原结合片段内发现的可变结构域和恒定结构域的非限制性的示例性构型包括:(i) VH-CH1;(ii) VH-CH2;(iii) VH-CH3;(iv) VH-CH1-CH2;(v) VH-CH1-CH2-CH3;(vi) VH-CH2-CH3;(vii) VH-CL;(viii) VL-CH1;(ix) VL-CH2;(x) VL-CH3;(xi) VL-CH1-CH2;(xii) VL-CH1-CH2-CH3;(xiii) VL-CH2-CH3;和(xiv) VL-CL。在可变结构域和恒定结构域的任何构型中,包括上文列出的任何示例性构型,可变结构域和恒定结构域可以彼此直接连接或可以通过完整或部分铰链或接头区连接。在各个实施方案中,铰链区可以由至少2个(例如,5、10、15、20、40、60或更多个)氨基酸组成,所述氨基酸导致单个多肽分子中相邻可变结构域和/或恒定结构域之间的柔性或半柔性连接。此外,在各个实施方案中,抗体的抗原结合片段可以包含上文列出的任何可变结构域和恒定结构域构型的同型二

聚体或异型二聚体(或其他多聚体),所述结构域构型彼此非共价缔合和/或与一个或多个单体VH或VL结构域非共价缔合(例如,通过一个或多个二硫键)。

[0156] 在特定的实施方案中,用于本发明方法的抗体或抗体片段可以是多特异性抗体,所述多特异性抗体可以对一种靶多肽的不同表位具有特异性,或者可以含有对多于一种靶多肽的表位具有特异性的抗原结合结构域。可以在本发明的情况下使用的示例性双特异性抗体形式涉及使用第一免疫球蛋白(Ig)C_{H3}结构域和第二Ig C_{H3}结构域,其中第一和第二Ig C_{H3}结构域彼此相差至少一个氨基酸,并且其中与没有所述氨基酸差异的双特异性抗体相比,至少一个氨基酸差异降低了所述双特异性抗体与蛋白A的结合。在一个实施方案中,第一Ig C_{H3}结构域结合蛋白A,并且第二Ig C_{H3}结构域含有降低或消除蛋白A结合的突变,如H95R修饰(根据IMGT外显子编号;H435R,根据EU编号)。第二C_{H3}可以进一步包含Y96F修饰(根据IMGT;Y436F,根据EU)。可在第二C_{H3}内发现的其他修饰包括:在IgG1抗体的情况下,D16E、L18M、N44S、K52N、V57M、和V82I(根据IMGT;D356E、L358M、N384S、K392N、V397M、和V422I,根据EU);在IgG2抗体的情况下,N44S、K52N、和V82I(IMGT;N384S、K392N、和V422I,根据EU);以及在IgG4抗体的情况下,Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q、和V82I(根据IMGT;Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q、和V422I,根据EU)。在本发明的范围内设想了上述双特异性抗体形式的变化。在各个实施方案中,使用本领域可获得的常规技术,可以使任何多特异性抗体形式(包括本文公开的示例性双特异性抗体形式)适用于抗CEACAM5抗体的抗原结合片段的情况。

[0157] 如与相应种系序列相比,本文公开的CEACAM5抗体可以在重链和轻链可变结构域的框架区和/或CDR区域中包含一个或多个氨基酸取代、插入和/或缺失。可以通过将本文公开的氨基酸序列与可从例如公共抗体序列数据库获得的种系序列进行比较,容易地确定此类突变。本发明包括衍生自本文公开的任何氨基酸序列的抗体及其抗原结合片段,其中一个或多个框架区和/或CDR区域内的一个或多个氨基酸回复突变至一个或多个相应种系残基或一个或多个相应种系残基的保守氨基酸取代(天然或非天然)(此类序列变化在本文中称为“种系回复突变”)。从本文公开的重链和轻链可变区序列开始,本领域普通技术人员可以容易地产生包含一个或多个单独种系回复突变或其组合的许多抗体和抗原结合片段。在某些实施方案中,VH和/或VL结构域内的所有框架残基和/或CDR残基突变回至种系序列。在其他实施方案中,仅某些残基突变回种系序列,例如,仅在FR1的前8个氨基酸内或在FR4的最后8个氨基酸内发现的突变残基,或者仅在CDR1、CDR2或CDR3内发现的突变残基。此外,本发明的抗体可以含有在框架区和/或CDR区域内的两个或更多个种系回复突变的任何组合,即其中某些单独的残基突变回种系序列,而与种系序列不同的某些其他残基保持不变。一旦获得,可以容易地测试含有一个或多个种系回复突变的抗体和抗原结合片段的一种或多种所希望特性,如改善的结合特异性、增加的结合亲和力、改善或增强的拮抗或激动生物学特性(视情况而定)、降低的免疫原性等。以这种通用方式获得的抗体和抗原结合片段涵盖于本发明内。

[0158] 抗体的恒定区在抗体固定补体和介导细胞依赖性细胞毒性的能力中是重要的。因此,可以基于是否是抗体介导细胞毒性所需的来选择抗体的同种型。

[0159] 如本文所用,术语“人抗体”旨在包括具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。尽管如此,在各个实施方案中,本公开文本中所述的人抗体可以例如在

CDR中,以及在一些实施方案中在CDR3中,包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,如本文所用,术语“人抗体”不意图包括如下抗体,所述抗体中已经将衍生自另一种哺乳动物物种(如小鼠)的种系的CDR序列移植到人框架序列上。

[0160] 如本文所用,术语“重组人抗体”旨在包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人抗体,如使用转染到宿主细胞(下文进一步描述)中的重组表达载体表达的抗体,从重组的组合人抗体文库(下文进一步描述)分离的抗体,从针对人免疫球蛋白基因转基因的动物(例如小鼠)分离的抗体(参见例如,Taylor等人,(1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295,将其通过引用以其整体并入本文),或通过涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接到其他DNA序列的任何其他方式制备、表达、产生或分离的抗体。此类重组人抗体具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。然而,在某些实施方案中,将此类重组人抗体进行体外诱变(或者,当使用针对人Ig序列的转基因动物时,进行体内体细胞诱变),并且因此重组抗体的VH和VL区域的氨基酸序列是如下的序列:虽然衍生自人种系VH和VL序列并与其相关,但是可能在体内人抗体种系库中并非天然存在。

[0161] 人抗体能够以与铰链异质性相关的两种形式存在。在实施方案中,免疫球蛋白分子包含大约150-160kDa的稳定四链构建体,其中二聚体通过链间重链二硫键保持在一起。在另一个实施方案中,二聚体不通过链间二硫键连接,并且形成由共价偶联的轻链和重链构成的约75-80kDa的分子(半抗体)。这些实施方案/形式即使在亲和纯化之后也极难分离。

[0162] 术语“人化抗体”或“人源化抗体”是指如下抗体,所述抗体具有完全或部分非人来源,并且已被修饰以替代例如VH和VL结构域的框架区中的某些氨基酸,以避免或最小化在人体中的免疫应答。在很多时候,人源化抗体的恒定结构域是人CH和CL结构域。

[0163] 用于抗体序列的人化/人源化的多种方法是本领域中已知的;参见例如,Almagro和Fransson(2008) *Front Biosci.* 13:1619-1633的综述。一种常用的方法是CDR移植或抗体改型,所述方法涉及将供体抗体(通常是小鼠抗体)的CDR序列移植到具有不同特异性的人抗体的框架支架中。由于CDR移植可能降低CDR移植的非人抗体的结合特异性和亲和力,从而降低其生物活性,因此可以在CDR移植的抗体的所选位置处引入回复突变,以保持亲本抗体的结合特异性和亲和力。可以使用在文献和抗体数据库中可获得的信息来进行可能的回复突变位置的鉴定。作为回复突变候选物的氨基酸残基通常是位于抗体分子表面的那些,而被掩埋或具有低表面暴露程度的残基通常不会被改变。CDR移植和回复突变的可替代人源化技术是表面重修技术,其中非人来源的非表面暴露残基保持不变,而表面残基被改变为人残基。另一种可替代技术称为“指导选择”(Jespersen等人(1994) *Biotechnology* 12, 899),并且可以用于从鼠抗体衍生出保存亲本抗体的表位和结合特征的完全人抗体。

[0164] 在各种完整IgG同种型中出现第二种形式的频率归因于但不限于与抗体的铰链区同种型相关的结构差异。人IgG4铰链的铰链区中的单个氨基酸取代可以将第二种形式的出现率(Angal等人,(1993) *Molecular Immunology* 30:105,将其通过引用以其整体并入)显著降低至通常使用人IgG1铰链观察到的水平。在各个实施方案中,本公开文本涵盖在铰链、CH2或CH3区域具有一个或多个突变的抗体,所述突变例如在生产中可能是改善所需抗体形式的产率所需的。

[0165] 如本文所用,“分离的抗体”意指已经从其天然环境的至少一种组分鉴定和分离

和/或回收的抗体。例如,已从生物体的至少一种组分或从其中天然存在或天然产生抗体的组织或细胞中分离或去除的抗体是“分离的抗体”。在各个实施方案中,分离的抗体还包括重组细胞内的原位抗体。在其他实施方案中,分离的抗体是已经经历了至少一个纯化或分离步骤的抗体。在各个实施方案中,分离的抗体可以基本上不含其他细胞材料和/或化学物质。

[0166] 术语“特异性结合”等意指,抗体或其抗原结合片段与抗原形成在生理条件下相对稳定的复合物。用于确定抗体是否特异性结合抗原的方法是本领域公知的,并且包括例如平衡透析、表面等离子体共振等。例如,如在本文中使用的,“特异性结合”CEACAM5的抗体包括以下KD结合CEACAM5的抗体或其部分:小于约1000nM、小于约500nM、小于约300nM、小于约200nM、小于约100nM、小于约90nM、小于约80nM、小于约70nM、小于约60nM、小于约50nM、小于约40nM、小于约30nM、小于约20nM、小于约10nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM或约0.5nM,如在表面等离子体共振测定中测量的。特异性结合的特征也可以在于解离常数为至少约 1×10^{-6} M或更小。在其他实施方案中,解离常数为至少约 1×10^{-7} M、 1×10^{-8} M、或 1×10^{-9} M。然而,特异性结合人CEACAM5的分离的抗体可能与其他抗原(如来自其他(非人)物种的CEACAM5分子)具有交叉反应性。

[0167] 如本文所用,术语“表面等离子体共振”是指一种光学现象,它允许通过例如使用BIACORE系统(Biacore Life Sciences division of GE Healthcare,皮斯卡塔韦,新泽西州)检测生物传感器基质内蛋白质浓度的改变来分析实时相互作用。

[0168] 如本文所用,术语“KD”意图指抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0169] 理论上,“亲和力”是通过完整抗体与抗原之间的平衡缔合来定义的。亲和力可以通过多种已知方法以实验方式来评估,所述方法如用表面等离子共振测量缔合和解离速率,或在免疫化学测定(ELISA,FACS)中测量EC50(或表观KD)。在这些测定中,EC50是在对限定浓度的抗原(通过ELISA(酶联免疫吸附测定)测量)或表达抗原的细胞(通过FACS(荧光激活细胞分选)测量)暴露某一指定时间后,诱导基线与最大值之间的中途反应的抗体浓度。

[0170] 在对抗原1(Ag1)和抗原2(Ag2)二者的EC50在类似范围内时,与抗原1(Ag1)结合的单克隆抗体与抗原2(Ag2)“交叉反应”。在本申请中,当Ag2的亲和力与Ag1的亲和力的比率等于或小于10(例如5、2、1或0.5)时,与Ag1结合的单克隆抗体与Ag2交叉反应,两种抗原的亲和力是用相同方法测量的。

[0171] 可以根据在使用可溶性重组CEACAM5作为捕获抗原的ELISA中的EC50值来确定对人CEACAM5或对食蟹猴CEACAM5的亲和力。

[0172] 本发明的抗体也可以具有 ≤ 25 nM,例如 ≤ 20 nM、 ≤ 10 nM、 ≤ 5 nM、 ≤ 3 nM或 ≤ 1 nM的表观解离常数(表观KD),如通过对肿瘤细胞系MKN45(DSMZ,ACC 409)或对衍生自患者的异种移植物肿瘤细胞(CR-IGR-034P,可从Oncodesign Biotechnology,肿瘤集合CReMEC获得)的FACS分析所确定。表观KD可以在0.01-20nM的范围内,或者可以在0.1-20nM、0.1-10nM或0.1-5nM的范围内。

[0173] 另外,已经显示根据本发明的抗体能够在冷冻的且福尔马林固定的且石蜡包埋的(FFPE)组织切片中通过免疫组织化学检测CEACAM5表达。

[0174] 术语“表位”是指与抗体分子的可变区中称为互补位的特异性抗原结合位点相互作用的抗原决定簇。单一抗原可以具有多于一个表位。因此,不同的抗体可以与抗原上的不

同区域结合并且可以具有不同的生物效应。表位可以是构象的或线性的。构象表位是由来自线性多肽链的不同区段的空间并列氨基酸产生。线性表位是由多肽链中的相邻氨基酸残基产生的表位。在某些情况下,表位可以包括抗原上的糖、磷酸基或磺酰基的部分。

[0175] 在各个实施方案中,如与衍生出抗体的相应种系序列相比,可用于本文所述方法的抗CEACAM5抗体可以在重链和轻链可变结构域的框架区和/或CDR区域中包含一个或多个氨基酸取代、插入和/或缺失。可以通过将本文公开的氨基酸序列与可从例如公共抗体序列数据库获得的种系序列进行比较,容易地确定此类突变。在各个实施方案中,本公开文本包括方法,所述方法涉及使用衍生自本文公开的任何氨基酸序列的抗体及其抗原结合片段,其中一个或多个框架区和/或CDR区域内的一个或多个氨基酸突变为衍生出所述抗体的种系序列的一个或多个相应残基,或者突变为另一个人种系序列的一个或多个相应残基,或者突变为一个或多个相应种系残基的保守氨基酸取代(此类序列变化在本文中统称为“种系突变”)。可以构建包含一个或多个单独种系突变或其组合的许多抗体和抗原结合片段。在某些实施方案中,VH和/或VL结构域内的所有框架和/或CDR残基突变回在衍生出抗体的原始种系序列中发现的残基。在其他实施方案中,仅某些残基突变回原始种系序列,例如,仅在FR1的前8个氨基酸内或在FR4的最后8个氨基酸内发现的突变残基,或仅在CDR1、CDR2或CDR3内发现的突变残基。在其他实施方案中,一个或多个框架和/或CDR残基突变为不同种系序列的一个或多个相应残基(即,与最初衍生出所述抗体的种系序列不同的种系序列)。此外,抗体可以在框架区和/或CDR区域内含有两个或更多个种系突变的任何组合,例如,其中某些单独残基突变为某个种系序列的相应残基,而与原始种系序列不同的某些其他残基保持不变或突变为不同种系序列的相应残基。一旦获得,可以容易地测试含有一个或多个种系突变的抗体和抗原结合片段的一种或多种所希望特性,如改善的结合特异性、增加的结合亲和力、改善或增强的拮抗或激动生物学特性(视情况而定)、降低的免疫原性等。本公开文本涵盖使用以这种通用方式获得的抗体和抗原结合片段。

[0176] 本公开文本还包括方法,所述方法涉及使用抗CEACAM5抗体,所述抗CEACAM5抗体包含具有一个或多个保守取代的本文公开的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的变体。例如,本公开文本包括使用具有HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗CEACAM5抗体,相对于本文公开的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列,所述HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等保守氨基酸取代。

[0177] 根据本公开文本,在各个实施方案中,抗CEACAM5抗体或其抗原结合片段包含含有国际专利公开号WO 2014/079886 A1中描述的抗CEACAM5抗体的任何氨基酸序列的重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)和/或互补决定区(CDR),将所述专利通过引用以其整体并入本文。

[0178] 设想了本文描述的抗体的一种或多种氨基酸序列修饰。例如,可能希望改善抗体的结合亲和力和/或其他生物学特性。已知当通过仅将衍生自非人动物的抗体VH和VL中的CDR简单地移植在人抗体VH和VL的FR中来产生人化抗体时,抗原结合活性与衍生自非人动物的原始抗体的抗原结合活性相比可能降低。认为不仅在CDR中而且在FR中,非人抗体的VH和VL的若干个氨基酸残基可以与抗原结合活性直接或间接相关。因此,将这些氨基酸残基用衍生自人抗体VH和VL的FR的不同氨基酸残基取代将降低结合活性。为了解决所述问题,在移植有非人CDR的人抗体中,必须尝试在人抗体VH和VL的FR的氨基酸序列中鉴定出与抗

体的结合直接相关的氨基酸残基、或与CDR的氨基酸残基相互作用的氨基酸残基、或保持抗体的三维结构的氨基酸残基、以及与抗原的结合直接相关的氨基酸残基。降低的抗原结合活性可以通过用衍生自非人动物的原始抗体的氨基酸残基替代鉴定的氨基酸来提高。

[0179] 可以对本发明的抗体的结构以及编码它们的DNA序列进行修饰和改变,并且仍然产生具有所需特征的功能性抗体或多肽。

[0180] 本发明的另一个目的还涵盖本发明多肽的功能保守变体。例如,蛋白质结构中的某些氨基酸可以被其他氨基酸取代而没有明显的活性损失。由于蛋白质的相互作用能力和性质限定其生物功能活性,因此可以在蛋白质序列中,当然也可以在其DNA编码序列中进行某些氨基酸取代,同时仍获得具有类似特性的蛋白质。因此,可以设想的是,可对本发明的抗体序列或编码所述多肽的相应DNA序列进行各种改变,而其生物活性没有明显损失。本领域中已知某些氨基酸可以被具有相似亲水指数或得分的其他氨基酸取代,并且仍然产生具有相似生物活性的蛋白质,即仍然获得生物学功能上等效的蛋白质。也可以使用成熟的技术(如丙氨酸扫描方法)来鉴定在本发明的抗体或多肽中,可以在不显著损失与抗原的结合的情况下被取代的所有氨基酸。此类残基可以被认为是中性的,因为它们不参与抗原结合或维持抗体的结构。这些中性位置中的一个或多个可以被丙氨酸或另一种氨基酸取代,而不改变本发明的抗体或多肽的主要特征。

[0181] 中性位置可视为如下位置,在所述位置中任何氨基酸取代都可掺入抗体中。实际上,在丙氨酸扫描的原理中,选择丙氨酸是因为该残基不携带特定的结构或化学特征。一般认为,如果丙氨酸可以取代特定的氨基酸而不改变蛋白质的特性,那么许多(如果不是所有)其他氨基酸取代也可能是中性的。在丙氨酸是野生型氨基酸的相反情况下,如果特定取代可以显示为中性,则其他取代也可能是中性的。如上所述,因此氨基酸取代通常基于氨基酸侧链取代基的相对相似性,例如它们的疏水性、亲水性、电荷、大小等。考虑到任何前述特征的示例性取代是本领域技术人员所熟知的,并且包括:精氨酸与赖氨酸;谷氨酸与天冬氨酸;丝氨酸与苏氨酸;谷氨酰胺与天冬酰胺;以及缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸。

[0182] 关于效应子功能,可能也需要修饰本发明的抗体,例如以增强所述抗体的抗原依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)。这可以通过在抗体的Fc区域中引入一个或多个氨基酸取代来实现。可替代地或另外地,可以将一个或多个半胱氨酸残基引入Fc区域中,从而允许在该区域中形成链间二硫键。由此生成的同型二聚体抗体可以具有改善的内化能力和/或增强的补体介导的细胞杀伤和/或抗体依赖性细胞毒性(ADCC)(Caron PC.等人1992;和Shopes B.1992)。

[0183] 本发明抗体的另一种类型的氨基酸修饰可用于改变抗体的原始糖基化模式,即通过使抗体中发现的一个或多个碳水化合物部分缺失,和/或添加在抗体中不存在的一个或多个糖基化位点。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸中的任何一个(其中X是除脯氨酸以外的任何氨基酸)的存在都会产生潜在的糖基化位点。通过改变氨基酸序列使得其含有上述三肽序列中的一个或多个(用于N连接的糖基化位点),方便地完成抗体中糖基化位点的添加或缺失。

[0184] 另一种类型的修饰涉及去除如下序列,所述序列通过计算机或实验方式被鉴定为可能导致降解产物或抗体制剂的异质性。例如,根据诸如pH和表面暴露的因素,可能发生天冬酰胺和谷氨酰胺残基的脱酰胺。天冬酰胺残基特别容易脱酰胺,主要发生在存在于序列

Asn-Gly中时,并且在其他二肽序列如Asn-Ala中则程度较低。当这样的脱酰胺位点、特别是Asn-Gly存在于本发明的抗体或多肽中时,可能因此希望去除所述位点,通常通过保守取代去除所涉及的残基之一。本发明还意图涵盖在序列中用于去除一个或多个所涉及的残基的此类取代。

[0185] 另一种类型的共价修饰涉及将糖苷与抗体化学地或酶促地偶联。这些程序的有利之处在于,它们不需要在宿主细胞中产生具有用于N连接或O连接糖基化的糖基化能力的抗体。根据所用偶联方式,可以使一种或多种糖附接至:(a) 精氨酸和组氨酸;(b) 游离羧基;(c) 游离巯基,如半胱氨酸的那些游离巯基;(d) 游离羟基,如丝氨酸、苏氨酸或羟脯氨酸的那些游离羟基;(e) 芳族残基,如苯丙氨酸、酪氨酸或色氨酸的那些芳族残基;或(f) 谷氨酰胺的酰胺基团。例如,此类方法描述在WO 87/05330中。

[0186] 存在于抗体上的任何碳水化合物部分的去除可以化学或酶促地完成。化学去糖基化需要使抗体暴露于化合物三氟甲烷磺酸或等效化合物。该处理使除连接糖(N-乙酰基葡萄糖胺或N-乙酰基半乳糖胺)以外的大多数或所有糖裂解,同时保持抗体完整。化学去糖基化由Sojahr H.等人(1987)和Edge,AS.等人(1981)描述。抗体上的碳水化合物部分的酶促切割可以通过使用多种内切糖苷酶和外切糖苷酶来实现,如Thotakura,NR.等人(1987)描述。

[0187] 另一种类型的抗体共价修饰包括以美国专利号4,640,835、4,496,689、4,301,144、4,670,417、4,791,192或4,179,337中所述的方式将抗体与多种非蛋白质聚合物中的一种(例如,聚乙二醇、聚丙二醇或聚氧化烯)连接。

[0188] 在实施方案中,本发明的抗体是抗体huMAb2-3或其变体。huMAb2-3抗体的不同氨基酸序列显示在下文SEQ ID NO:1-9中。

[0189] SEQ ID NO:1的重链可变结构域氨基酸序列是

[0190] EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYAPSTVKGRF TVSRDNAKNTLYLQMNSLTSEDTAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGLVTVSS。

[0191] SEQ ID NO:2的轻链可变结构域氨基酸序列是

[0192] DIQMTQSPASLSASVGDRTITCRASENIFSYLAWYQQKPKGKSPKLLVYNTRTLAEGVPSRFSGSGSG TDFSLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPTFTFGSGTKLEIK。

[0193] SEQ ID NO:1和2的CDR序列如下列出,并且涵盖SEQ ID NO:3-7。

[0194] SEQ ID NO:3的氨基酸序列是GFVFSYD。

[0195] SEQ ID NO:4的氨基酸序列是ISSGGGIT。

[0196] SEQ ID NO:5的氨基酸序列是AAHYFGSSGPFAY。

[0197] SEQ ID NO:6的氨基酸序列是ENIFSY。

[0198] 轻链CDR2的氨基酸序列是NTR。

[0199] SEQ ID NO:7的氨基酸序列是QHHYGTPTFT。

[0200] SEQ ID NO:8的重链氨基酸序列是

[0201] EVQLQESGPGLVKPGGSLSLSCAASGFVFSYDMSWVRQTPERGLEWVAYISSGGGITYAPSTVKGRF TVSRDNAKNTLYLQMNSLTSEDTAVYYCAAHYFGSSGPFAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEP KSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV

KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG。

[0202] SEQ ID NO:9的轻链氨基酸序列是

[0203] DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLESGVPSRFSSGSGSGTDFLTTISSLPEDFASYYCQQANSFPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC。

[0204] 根据本公开文本,本文公开的抗体与人CEACAM5蛋白的A3-B3结构域的表位结合。由本公开文本的抗体结合的A3-B3结构域表位的氨基酸序列包括SGANLNL (SEQ ID NO:10) 和INGIPQQHTQVLF (SEQ ID NO:11)。

[0205] 如本文所用,术语“生物等效”是指如下分子,其以相同摩尔剂量和在相似条件(例如,相同的给予途径)下给予后具有相似的生物利用度(利用率和利用程度),使得在功效和安全性这两个方面,可以预期与比较分子基本相同的效果。如果包含抗CEACAM5抗体或含有所述抗体的免疫缀合物的两种药物组合物在药学上等效,那么所述药物组合物是生物等效的,这意味着它们含有等量活性成分、呈相同的剂型、用于相同的给予途径并且符合相同或相当的标准。

[0206] 在某些实施方案中,本公开文本涉及包括方法,所述方法包括向受试者给予抗体,所述抗体包含含有序列SEQ ID NO:1的重链可变区和含有序列SEQ ID NO:2的轻链可变区。

[0207] 本公开文本提供了包含这种抗体的药物组合物以及使用这些组合物的方法。

[0208] 在各个实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:1的重链可变区/结构域中的CDR和SEQ ID NO:2的轻链可变区/结构域中的CDR。在各个实施方案中,抗体包含含有序列SEQ ID NO:1的重链可变区和含有序列SEQ ID NO:2的轻链可变区,所述抗体是特异性结合CEACAM5的抗体。参见国际公开号WO 2014/079886 A1,将其通过引用以其整体并入本文。在一个实施方案中,抗体包含含有序列SEQ ID NO:8的重链可变区和含有序列SEQ ID NO:9的轻链可变区。

[0209] 免疫缀合物

[0210] 本发明还包括细胞毒性缀合物、或免疫缀合物、或抗体-药物缀合物、或缀合物。如本文所用,所有这些术语具有相同的含义并且是可互换的。

[0211] 因此,本发明涉及“免疫缀合物”,其包含与至少一种生长抑制剂(如细胞毒性剂或放射性同位素)连接或缀合的本发明抗体。

[0212] “生长抑制剂”或“抗增殖剂”可以无差别地使用,是指在体外或体内抑制细胞、尤其是肿瘤细胞的生长的化合物或组合物。

[0213] 如本文所用,术语“细胞毒性剂”是指抑制或阻止细胞功能和/或引起细胞破坏的物质。术语“细胞毒性剂”旨在包括化学治疗剂、酶、抗生素和毒素(如细菌、真菌、植物或动物来源的小分子毒素或酶活性毒素,包括其片段和/或变体),以及下文公开的各种抗肿瘤剂或抗癌剂。在一些实施方案中,细胞毒性剂是紫杉类、长春花类、类美登素或类美登素类似物(如DM1或DM4)、小药物、茅屋霉素或吡咯并苯并二氮杂萜衍生物、念珠藻素衍生物、来普霉素衍生物、澳瑞他汀或尾海兔素类似物、前药、拓扑异构酶II抑制剂、DNA烷基化剂、抗微管蛋白剂、CC-1065或CC-1065类似物。

[0214] 如本文所用,“类美登素”表示类美登素和类美登素类似物。类美登素是抑制微管

形成并且对哺乳动物细胞具有高毒性的药物。

[0215] 合适的类美登素的例子包括美登醇和美登醇类似物。

[0216] 合适的美登醇类似物的例子包括具有修饰的芳香环的那些和在其他位置具有修饰的那些。此类合适的类美登素公开在美国专利号4,424,219、4,256,746、4,294,757、4,307,016、4,313,946、4,315,929、4,331,598、4,361,650、4,362,663、4,364,866、4,450,254、4,322,348、4,371,533、6,333,410、5,475,092、5,585,499、和5,846,545中。

[0217] 合适的具有修饰的芳香环的美登醇类似物的具体例子包括：

[0218] (1) C-19-脱氯(美国专利号4,256,746)(通过安丝菌素P2的LAH还原制备)；

[0219] (2) C-20-羟基(或C-20-去甲基)+/-C-19-脱氯(美国专利号4,361,650和4,307,016)(通过使用链霉菌属(*Streptomyces*)或放线菌属(*Actinomyces*)去甲基化或使用LAH脱氯来制备)；和

[0220] (3) C-20-去甲氧基、C-20-酰基氧基(-OCOR)、+/-脱氯(美国专利号4,294,757)(通过使用酰氯酰化制备)。

[0221] 合适的具有其他位置的修饰的美登醇类似物的具体例子包括：

[0222] (1) C-9-SH(美国专利号4,424,219)(通过美登醇与 H_2S 或 P_2S_5 的反应制备)；

[0223] (2) C-14-烷氧基甲基(去甲氧基/ CH_2OR)(美国专利号4,331,598)；

[0224] (3) C-14-羟甲基或酰基氧基甲基(CH_2OH 或 CH_2OAc)(美国专利号4,450,254)(从诺卡氏菌属(*Nocardia*)制备)；

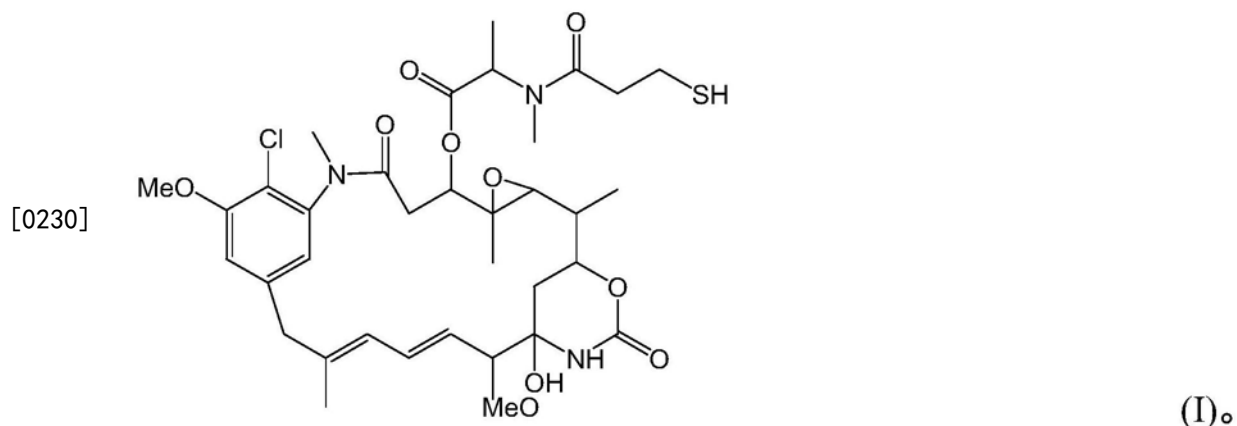
[0225] (4) C-15-羟基/酰基氧基(美国专利号4,364,866)(通过链霉菌属转化美登醇制备)；

[0226] (5) C-15-甲氧基(美国专利号4,313,946和4,315,929)(从滑桃树(*Trewia nudiflora*)分离)；

[0227] (6) C-18-N-去甲基(美国专利号4,362,663和4,322,348)(通过链霉菌属对美登醇去甲基化制备)；以及

[0228] (7) 4,5-脱氧(美国专利号4,371,533)(通过美登醇的三氯化钛/LAH还原制备)。

[0229] 在本发明的实施方案中,本发明的细胞毒性缀合物利用正式名称为 $N^{2'}$ -去乙酰基- $N^{2'}$ -(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素的含硫醇类美登素(DM1)作为细胞毒性剂。DM1由以下结构式(I)表示：



[0231] 在另一个实施方案中,本发明的细胞毒性缀合物利用正式名称为 $N^{2'}$ -去乙酰基- $N^{2'}$ -(4-甲基-4-巯基-1-氧代戊基)-美登素的含硫醇类美登素DM4作为细胞毒性剂。DM4由以

下结构式 (II) 表示:



[0233] 在本发明的其他实施方案中,可以使用其他美登素,包括在携带硫原子的碳原子上携带单烷基或二烷基取代的含硫醇和含二硫键的类美登素。这些包括如下类美登素,其在C-3、C-14羟甲基、C-15羟基或C-20去甲基处具有酰基化的氨基酸侧链,所述侧链具有携带位阻巯基的酰基,其中携带硫醇官能团的酰基的碳原子具有一个或两个取代基,所述取代基为 CH_3 、 C_2H_5 、具有1至10个试剂的直链或支链烷基或烯基;以及可以存在于溶液中的任何聚集体。

[0234] 这些细胞毒性剂和缀合方法的例子在申请W0 2008/010101中进一步给出,将所述申请通过引用并入。

[0235] 术语“放射性同位素”旨在包括适合于治疗癌症的放射性同位素,如 At^{211} 、 Bi^{212} 、 Er^{169} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 In^{111} 、 P^{32} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Sr^{89} 和放射性同位素Lu。此类放射性同位素通常主要发射 β -辐射。在实施方案中,放射性同位素是 α -发射体同位素,更准确地说是发射 α -辐射的钍227。可以如申请W0 2004/091668中所述制备根据本发明的免疫缀合物。

[0236] 在一些实施方案中,本发明的抗体直接地或经由可裂解或不可裂解的接头与至少一种生长抑制剂共价附接。

[0237] 如本文所用,“接头”意指包含共价键或将多肽与药物部分共价附接的原子链的化学部分。

[0238] 缀合物可以通过体外方法制备。为了使药物或前药与抗体连接,使用了连接基团。合适的连接基团是本领域熟知的,并且包括二硫基团、硫醚基团、酸不稳定基团、光不稳定基团、肽酶不稳定基团和酯酶不稳定基团。可以使用多种双功能蛋白偶联剂将本发明的抗体与细胞毒性剂或生长抑制剂缀合,所述双功能蛋白偶联剂包括但不限于N-琥珀酰亚胺基吡啶基二硫代丁酸酯(SPDB)、丁酸4-[(5-硝基-2-吡啶基)二硫代]-2,5-二氧代-1-吡咯烷基酯(硝基-SPDB)、4-(吡啶-2-基二硫基)-2-磺基-丁酸(磺基-SPDB)、N-琥珀酰亚胺基(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)、琥珀酰亚胺基(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸酯(SMCC)、亚氨基硫杂环戊烷(IT)、亚氨酸酯的双功能衍生物(如二甲基二亚胺代己二酸酯HCL)、活性酯(如双琥珀酰亚胺辛二酸酯)、醛(如戊二醛)、双叠氮化合物(如双(对叠氮基苯甲酰基)-己二胺)、双重氮基衍生物(如双-(对重氮基苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(如甲苯2,6-二异氰酸酯)和双活性氟化合物(如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。例如,可以如Vitetta等人(1987)中所述制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳标记的1-异硫氰酸基苄基甲基二亚乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)是用于将放射性核苷酸与抗体缀合的示例性螯合剂(WO 94/11026)。

[0239] 接头可以是“可裂解的接头”,其促进在细胞中释放细胞毒性剂或生长抑制剂。例如,可以使用酸不稳定的接头、肽酶敏感的接头、酯酶不稳定的接头、光不稳定的接头或含二硫键的接头(参见例如美国专利号5,208,020)。接头也可以是在一些情况下可能导致更

好耐受性的“不可裂解的接头”(例如SMCC接头)。

[0240] 可替代地,可以通过重组技术或肽合成来制备包含本发明的抗体和细胞毒性多肽或生长抑制性多肽的融合蛋白。DNA的长度可以包含编码缀合物的两个部分的各个区域,这些区域彼此相邻或被编码接头肽的区域分隔开,所述接头肽不破坏缀合物的所需特性。

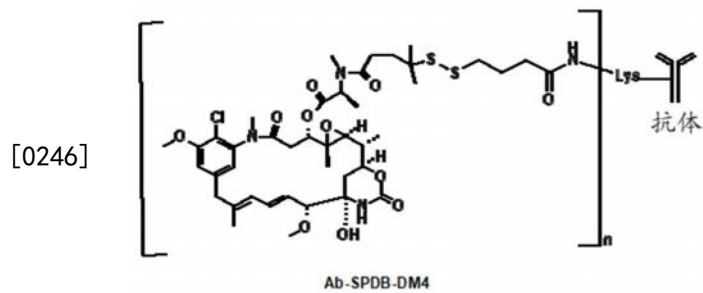
[0241] 本发明的抗体还可以通过使多肽与前药激活酶缀合而用于依赖性酶介导的前药疗法中,所述前药激活酶将前药(例如肽基化学治疗剂,参见W081/01145)转化为活性抗癌药物(参见例如WO 88/07378和美国专利号4,975,278)。可用于ADEPT的免疫缀合物的酶组分包括任何的如下酶,所述酶能够以这样的方式作用于前药以将前药转化为其更具活性的细胞毒性形式。可用于本发明方法的酶包括但不限于碱性磷酸酶,其可用于将含磷酸酯的前药转化为游离药物;芳基硫酸酯酶,其可用于将含硫酸酯的前药转化为游离药物;胞嘧啶脱氨酶,其可用于将无毒的氟胞嘧啶转化为抗癌药物5-氟尿嘧啶;蛋白酶(如沙雷氏菌属蛋白酶、嗜热菌蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶、羧肽酶和组织蛋白酶(如组织蛋白酶B和L)),其可用于将含肽的前药转化为游离药物;D-丙氨酰基羧肽酶,其可用于转化含有D-氨基酸取代基的前药;碳水化合物裂解酶(如O-半乳糖苷酶和神经氨酸酶),其可用于将糖基化前药转化为游离药物;P-内酰胺酶,其可用于将用P-内酰胺衍生的药物转化为游离药物;以及青霉素酰胺酶(如青霉素V酰胺酶或青霉素G酰胺酶),其可用于将在药物的胺氮上分别用苯氧乙酰基或苯基乙酰基衍生的药物转化为游离药物。酶可以通过本领域熟知的技术,如使用上文讨论的异双功能交联剂,与本发明的多肽共价结合。

[0242] 根据实施方案,在本发明的缀合物中,生长抑制剂是类美登素,在实施方案中是DM1或DM4。

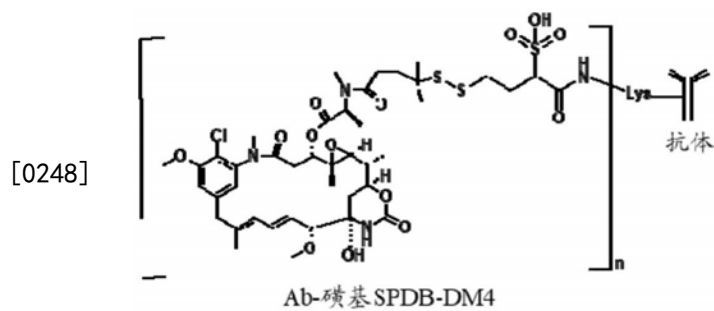
[0243] 在所述缀合物中,抗体通过连接基团与所述至少一种生长抑制剂缀合。在实施方案中,所述连接基团是可裂解或不可裂解的接头,如SPDB、磺基-SPDB或SMCC。

[0244] 缀合物可以选自:

[0245] 式(III)的抗体-SPDB-DM4缀合物

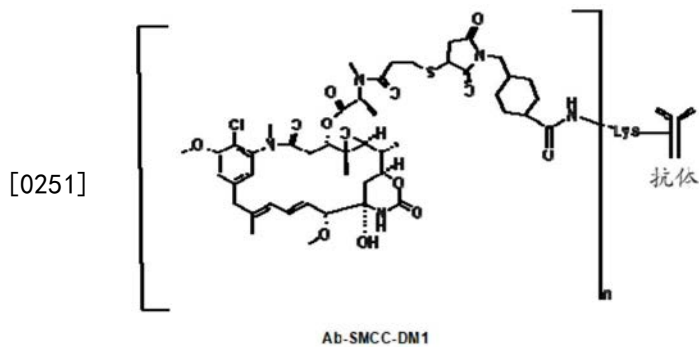


[0247] 式(IV)的抗体-磺基-SPDB-DM4缀合物



[0249] 和

[0250] 式(V)的抗体-SMCC-DM1缀合物



[0252] 在实施方案中,缀合物是如上定义的式(III)、(IV)或(V)的缀合物,其中抗体是本文所述的抗体。

[0253] 一般而言,缀合物可以通过包括以下步骤的方法获得:

[0254] (i) 使细胞结合剂(例如,根据本发明的抗体)的任选缓冲水溶液与接头和细胞毒性化合物的溶液接触;

[0255] (ii) 然后任选地将(i)中形成的缀合物与未反应的细胞结合剂分离。

[0256] 细胞结合剂的水溶液可以用缓冲液(例如磷酸钾、乙酸盐、柠檬酸盐或N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸(Hepes缓冲液))缓冲。缓冲液取决于细胞结合剂的性质。细胞毒性化合物在有机极性溶剂(例如二甲基亚砜(DMSO)或二甲基乙酰胺(DMA))的溶液中。

[0257] 反应温度通常在20°C与40°C之间。反应时间可以从1至24小时变化。细胞结合剂与细胞毒性剂之间的反应可以通过尺寸排阻色谱法(SEC)用折射检测器和/或UV检测器来监测。如果缀合物产率太低,则反应时间可以延长。

[0258] 本领域技术人员可以使用许多不同的色谱方法进行步骤(ii)的分离:缀合物可以例如通过以下方式纯化,SEC、吸附色谱法(如离子交换色谱法,IEC)、疏水相互作用色谱法(HIC)、亲和色谱法、混合支持物色谱法(如羟基磷灰石色谱法)或高效液相色谱法(HPLC)。也可以使用通过透析或渗滤的纯化。

[0259] 如本文所用,术语“聚集体”意指可以在两种或更多种细胞结合剂之间形成的缔合物,所述药剂被修饰或未被缀合。聚集体可以在许多参数的影响下形成,所述参数如溶液中细胞结合剂的高浓度、溶液的pH、高剪切力、键合二聚体的数量及其疏水性、温度(参见Wang和Gosh,2008,J.Membrane Sci.,318:311-316,以及其中引用的参考文献);请注意,这些参数中的一些参数的相对影响尚不清楚。在蛋白质和抗体的情况下,本领域技术人员将参考Cromwell等人(2006,AAPS Journal,8(3):E572-E579)。聚集体的内容物可以用技术人员熟知的技术如SEC来确定,(参见Walter等人,1993,Anal.Biochem.,212(2):469-480)。

[0260] 在步骤(i)或(ii)之后,可以将含有缀合物的溶液提交至色谱法、超滤和/或渗滤的另外的步骤(iii)。

[0261] 在这些步骤结束时,在水溶液中回收缀合物。

[0262] 根据实施方案,根据本发明的缀合物的特征在于,“药物与抗体的比率”(或“DAR”)的范围为1至10,例如2至5,特别是3至4。包含类美登素分子的缀合物通常是这种情况。

[0263] 该DAR数可随所使用的抗体和药物(即生长抑制剂)的性质以及缀合所使用的实验

条件(如生长抑制剂/抗体的比率、反应时间、溶剂和助溶剂(如果有的话)的性质)而变化。因此,抗体与生长抑制剂之间的接触导致如下混合物,所述混合物包含若干种缀合物,它们彼此的不同之处在于不同的药物/抗体比率;任选裸抗体;任选聚集体。因此,所确定的DAR是平均值。

[0264] 可用于确定DAR的方法由分光光度法测量基本上纯化的缀合物的溶液在 λ_D 和280nm处的吸光度比率组成。280nm是通常用于测量蛋白质浓度(如抗体浓度)的波长。选择波长 λ_D 以允许将药物与抗体区分开,即如本领域技术人员容易知道的, λ_D 是药物具有高吸光度的波长并且 λ_D 足够远离280nm,从而避免药物和抗体的吸收峰的显著重叠。在类美登素分子的情况下,可以将 λ_D 选择为252nm。DAR计算方法可以从Antony S.Dimitrov(编辑),LLC,2009,Therapeutic Antibodies and Protocols,第525卷,第445卷,Springer Science推导出:

[0265] 在尺寸排阻色谱(SEC)分析的单体峰上(允许计算“DAR(SEC)”参数)或使用经典分光光度计设备(允许计算“DAR(UV)”参数)来测量缀合物在 λ_D (A_{λ_D})和280nm(A_{280})处的吸光度。吸光度可以如下表示:

$$[0266] \quad A_{\lambda_D} = (c_D \times \epsilon_{D\lambda_D}) + (c_A \times \epsilon_{A\lambda_D})$$

$$[0267] \quad A_{280} = (c_D \times \epsilon_{D280}) + (c_A \times \epsilon_{A280})$$

[0268] 其中:

[0269] c_D 和 c_A 分别是溶液中药物和抗体的浓度

[0270] $\epsilon_{D\lambda_D}$ 和 ϵ_{D280} 分别是药物在 λ_D 和280nm处的摩尔消光系数

[0271] $\epsilon_{A\lambda_D}$ 和 ϵ_{A280} 分别是抗体在 λ_D 和280nm处的摩尔消光系数。

[0272] 对具有两个未知数的这两个方程的解析导致以下方程:

$$[0273] \quad c_D = [(\epsilon_{A280} \times A_{\lambda_D}) - (\epsilon_{A\lambda_D} \times A_{280})] / [(\epsilon_{D\lambda_D} \times \epsilon_{A280}) - (\epsilon_{A\lambda_D} \times \epsilon_{D280})]$$

$$[0274] \quad c_A = [A_{280} - (c_D \times \epsilon_{D280})] / \epsilon_{A280}$$

[0275] 然后从药物浓度与抗体浓度的比率计算平均DAR: $DAR = c_D / c_A$ 。

[0276] 药物组合物

[0277] 本发明的抗体或免疫缀合物可以与药学上可接受的赋形剂和任选地缓释基质(如可生物降解的聚合物)组合以形成治疗性组合物。

[0278] 因此,本发明的另一个目的涉及药物组合物,其包含本发明的抗体或免疫缀合物和药学上可接受的载体或赋形剂。

[0279] 本发明还涉及用作药物的根据本发明的多肽或免疫缀合物。

[0280] “药学上”或“药学上可接受的”是指当根据情况给予至哺乳动物、特别是人时,不产生不利的、过敏的或其他不良的反应的分子实体和组合物。药学上可接受的载体或赋形剂是指任何类型的无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、封装材料或配制助剂。

[0281] 如本文所用,“药学上可接受的载体”包括生理相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌剂和抗真菌剂等。合适的载体、稀释剂和/或赋形剂的例子包括以下各项中的一种或多种:水、氨基酸、盐水、磷酸盐缓冲盐水、磷酸盐缓冲液、乙酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、琥珀酸盐缓冲液;氨基酸和衍生物,如组氨酸、精氨酸、甘氨酸、脯氨酸、甘氨酸甘氨酸;无机盐NaCl、氯化钙;糖或多元醇,如葡萄糖、甘油、乙醇、蔗糖、海藻糖、甘露醇;表面活性剂,如聚山梨酯80、聚山梨酯20、泊洛沙姆188;等等,以及它们的组合。在许多情况下,优

选地在组合物中包含等渗剂(如糖、多元醇或氯化钠),并且配制品还可以含有抗氧化剂(如色胺)和稳定剂(如吐温20)。

[0282] 药物组合物的形式、给予途径、剂量和方案自然取决于要治疗的病症,疾病的严重程度,患者的年龄、体重和性别等。

[0283] 可将本发明的药物组合物配制用于局部、口服、肠胃外、鼻内、静脉内、肌肉内、皮下或眼内给予等。

[0284] 在实施方案中,药物组合物含有对于能够注射的配制品而言是药学上可接受的媒介物。这些可以是等渗的无菌盐溶液(磷酸一钠或磷酸二钠,氯化钠、氯化钾、氯化钙或氯化镁等,或此类盐的混合物),或者是根据情况添加无菌水或生理盐水后允许构成可注射溶液的干燥、尤其冷冻干燥的组合物。

[0285] 药物组合物可以通过药物组合装置给予。

[0286] 用于给予的剂量可以根据各种参数进行调整,并且例如根据所使用的给予方式、相关病理学或者可替代地所需的治疗持续时间进行调整。

[0287] 为了制备药物组合物,可以将有效量的本发明的抗体或免疫缀合物溶解或分散在药学上可接受的载体或水性介质中。

[0288] 适合于可注射使用的药物形式包括无菌水溶液或分散液;配制品,包括芝麻油、花生油或丙二醇水溶液;以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。在所有情况下,所述形式都必须是无菌的,并且可用适当装置或系统进行注射以供在不降解的情况下递送。其在制造和储存条件下必须稳定并且必须抵抗微生物(如细菌和真菌)的污染作用而保存。

[0289] 作为游离碱或药理学上可接受的盐的活性化合物的溶液可以在适当地与表面活性剂混合的水中制备。分散液也可以在甘油、液体聚乙二醇及其混合物和油中制备。在通常的储存和使用条件下,这些制剂含有防腐剂以防止微生物的生长。

[0290] 可以将本发明的抗体或免疫缀合物配制成呈中性或盐形式的组合物。药学上可接受的盐包括酸加成盐(与蛋白质的游离氨基形成),并且它们是与无机酸(例如盐酸或磷酸)或有机酸(如乙酸、草酸、酒石酸、扁桃酸等)形成的。与游离羧基形成的盐也可以衍生自无机碱(例如钠、钾、铵、钙或铁的氢氧化物)、以及有机碱(例如异丙胺、三甲胺、甘氨酸、组氨酸、普鲁卡因等)。

[0291] 载体也可以是溶剂或分散介质,所述溶剂或分散介质含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)、其合适的混合物和植物油。例如,通过使用包衣如卵磷脂、通过在分散液的情况下维持所需的粒度、以及通过使用表面活性剂,可以维持适当的流动性。防止微生物的作用可以通过各种抗细菌以及抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等来实现。在许多情况下,优选地包含等渗剂,例如糖或氯化钠。通过在组合物中使用延迟吸收的药剂(例如单硬脂酸铝和明胶),可以实现可注射组合物的延长吸收。

[0292] 无菌可注射溶液是通过以下方式制备:将活性化合物以所需量掺入视需要具有上文所列举的任何其他成分的适当溶剂中,之后过滤灭菌。通常,通过将各种灭菌的活性成分掺入无菌媒介物中制备分散体,所述无菌媒介物含有基础分散介质和来自以上列举的那些的所需其他成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选制备方法为真空

干燥和冷冻干燥技术,所述真空干燥和冷冻干燥技术由先前无菌过滤的溶液产生活性成分和任何另外的所需成分的粉末。

[0293] 还考虑了用于直接注射的更浓缩或高度浓缩的溶液的制备,其中设想使用DMSO作为溶剂以导致极快的渗透,从而将高浓度的活性剂递送至小的肿瘤区域。

[0294] 配制后,以与剂量配制品相容的方式和以如治疗有效的量来给予溶液。配制品容易以多种剂型(如上述可注射溶液的类型)给予,但也可以采用药物释放胶囊等。

[0295] 对于水溶液的肠胃外给予,例如,如果必要的话,溶液应该适当地缓冲,并且首先用足够的盐水或葡萄糖使液体稀释剂等渗。这些水溶液尤其适合于静脉内、肌肉内、皮下和腹膜内给予。就此而言,根据本公开文本,本领域技术人员将知道可以使用的无菌水性介质。例如,可以将一个剂量溶解在1ml等渗NaCl溶液中,并且添加至1000ml皮下灌注流体中,或在建议的输注部位注射(参见例如,“Remington’s Pharmaceutical Sciences”第15版,第1035-1038页和第1570-1580页)。根据被治疗的受试者的病症,必然会发生一些剂量变化。在任何事件中,负责给予的人将决定单独受试者的适当剂量。

[0296] 可以将本发明的抗体或免疫缀合物配制在治疗混合物中,以大约每剂量包含约0.01至100毫克。

[0297] 除了配制用于肠胃外给予(如静脉内或肌肉内注射)的抗体或免疫缀合物外,其他药学上可接受的形式包括例如片剂或其他用于口服给予的固体;定时释放(time release)胶囊;以及当前使用的任何其他形式。

[0298] 在某些实施方案中,设想使用脂质体和/或纳米颗粒将多肽引入宿主细胞中。脂质体和/或纳米颗粒的形成和使用是本领域技术人员已知的。

[0299] 纳米胶囊通常可以以稳定且可再现的方式包埋化合物。为了避免由于细胞内聚合物超载引起的副作用,通常使用能够在体内降解的聚合物来设计此类超细颗粒(尺寸为约0.1 μm)。满足这些要求的可生物降解的聚烷基-氰基丙烯酸酯纳米颗粒或可生物降解的聚丙交酯或聚丙交酯共乙交酯纳米颗粒被设想用于本发明中,并且可以容易地制备此类颗粒。

[0300] 脂质体由分散在水性介质中并自发形成多层同心双层囊泡(也称为多层囊泡(MLV))的磷脂形成。MLV通常具有25nm至4 μm 的直径。MLV的超声处理导致形成直径在200至500 Å范围内的小单层囊泡(SUV),核中含有水溶液。脂质体的物理特征取决于pH、离子强度和二价阳离子的存在。

[0301] 给予方法和配制品

[0302] 本文所述的方法包括向受试者给予治疗有效量的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物。如本文所用,“有效量”或“治疗有效量”是导致肺癌(例如,NSQ NSCLC)的治疗的治疗剂的剂量。如本文所用,“治疗”是指引起与肺癌相关的一种或多种症状的可检测的改善,或者引起与导致病症或一种或多种症状的一种或多种潜在病理机制相关联的生物学效应(例如,特定生物标记物的水平的降低)。例如,将导致与肺癌相关的任何以下症状或病症的改善的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物的剂量视为“治疗有效量”:

[0303] 在另一个例子中,当抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物的剂量未导致与癌症(例如,肺癌)相关的一种或多种参数或症状的可检测的改善,或者未引起与导致癌症的病症或一种或多种症状的一种或多种潜在病理机制相关联的生物学效应时,治疗尚未

见效。

[0304] 根据这些实施方案中的一些,静脉内给予抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物。

[0305] 根据本发明的方法,给予至受试者的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物的治疗有效量将根据受试者的年龄和体型(例如,体重或体表面积),以及给予途径和本领域普通技术人员熟知的其他因素而变化。

[0306] 在某些实施方案中,抗体或包含抗体的免疫缀合物的剂量根据受试者的体表面积而变化。在某些实施方案中,给予至受试者的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物的剂量为约 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 。在一些实施方案中,给予至受试者的抗体或包含抗体的免疫缀合物的剂量为约 5mg 至约 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 。在各个实施方案中,给予至受试者的抗体或包含抗体的免疫缀合物的剂量为约 5 至约 $250\text{mg}/\text{m}^2$ 。在各个实施方案中,基于受试者的体表面积,剂量为约 5 、 10 、 20 、 30 、 40 、 60 、 80 、 100 、 120 、 150 、 180 、或 $210\text{mg}/\text{m}^2$ 。在各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物以约 $2.5\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $5\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量给予。例如,将抗体或包含抗体的免疫缀合物以约 $2.5\text{mg}/\text{m}^2$ 至约 $5\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量给予一段时间(例如,30分钟和一小时)。剂量包括 $2.5\text{mg}/\text{m}^2$ 的抗体、 $5\text{mg}/\text{m}^2$ 的抗体或包含抗体的免疫缀合物,以及在 $2.5\text{mg}/\text{m}^2$ 与 $5\text{mg}/\text{m}^2$ 之间的所有剂量,例如 2.6 、 2.7 、 2.8 、 2.9 、 3.0 、 3.1 、 3.2 、 3.3 、 3.4 、 3.5 、 3.6 、 3.7 、 3.8 、 3.9 、 4.0 、 4.1 、 4.2 、 4.3 、 4.4 、 4.5 、 4.6 、 4.7 、 4.8 、和 $4.9\text{mg}/\text{m}^2$ 。

[0307] 例如,本发明包括(但不限于)如下方法,其中将约 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $5\text{mg}/\text{m}^2$ 、 $10\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $15\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $20\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $25\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $30\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $35\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $40\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $45\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $50\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $55\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $60\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $65\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $70\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $75\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $80\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $85\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $90\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $95\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $105\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $110\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $115\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $120\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $125\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $130\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $135\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $140\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $145\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $150\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $155\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $160\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $165\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $170\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $175\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $180\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $185\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $190\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $195\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $200\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $205\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $210\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $215\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $220\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $225\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $230\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $235\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $240\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $245\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $250\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $255\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $260\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $265\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $270\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $275\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $280\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $285\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $290\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $295\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $300\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $325\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $350\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $375\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $400\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $425\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $450\text{mg}/\text{m}^2$ 、约 $475\text{mg}/\text{m}^2$ 、或约 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物每周一次或每两周一次给予至患者。在各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物基于受试者的体表面积以约 5 、 10 、 20 、 30 、 40 、 60 、 80 、 100 、 120 、 150 、 180 、或 $210\text{mg}/\text{m}^2$ 每两周给予。

[0308] 如本文所用,“以约 1 至约 $500\text{mg}/\text{kg}$ 给予”意指以规定范围内的任何值(包括所述范围的端点)给予所提及的物质。例如,“给予至患者的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物的剂量为 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 至 $500\text{mg}/\text{m}^2$ ”包括给予 $1\text{mg}/\text{m}^2$ 的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物、 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物以及中间的所有剂量。在实施方案中,将CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物以约 5 、 10 、 20 、 30 、 40 、 60 、 80 、 100 、 120 、 150 、 180 、或 $210\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量给予一段时间,例如每14天(即每两周)或3周一次。在方法的各个实施方案中,抗体或包含抗体的免疫缀合物以实施例1中所列出的剂量使用。

[0309] 在各个实施方案中,将剂量以恒定速率给予。可替代地,将剂量以可变速率给予。在各个实施方案中,将剂量以约 0.5 、 1 、 1.5 、 2 、 2.5 、 3 、 3.5 、 4 、 2.5 或 $5\text{mg}/\text{min}$ 的恒定速率给

予。在各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物在前30分钟内或前1小时内以一定的速率给予。在各个实施方案中,在约30分钟或1小时后,改变抗体的给予速率。例如,降低速率。在各个实施方案中,增加速率。在各个实施方案中,将抗体或包含抗体的免疫缀合物在前30分钟或1小时内以2.5mg/min的速率给予。在各个实施方案中,在约30分钟或1小时后,抗体或包含抗体的免疫缀合物的给予速率增加至5mg/min。

[0310] 本发明的方法包括在指定的时间过程中向患者给予多剂量的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物。例如,抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物可以每天给予约1至5次、每周给予约1至5次、每两周给予约1至5次、每月给予约1至5次或每年给予约1至5次。在某些实施方案中,本发明的方法包括在第一时间点向患者给予第一剂量的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物,之后在第二时间点向患者给予至少第二剂量的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物。在某些实施方案中,第一和第二剂量可以含有等量的抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物。第一与第二剂量之间的时间可以是约几小时至几周。例如,第二时间点(即,给予第二剂量时的时间)可以在第一时间点(即,给予第一剂量时的时间)之后约1小时至约7周。根据本发明的某些示例性实施方案,第二时间点可以是在第一时间点之后约1小时、约4小时、约6小时、约8小时、约10小时、约12小时、约24小时、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天、约7天、约2周、约3周、约4周、约6周、约8周、约10周、约12周、约14周或更长时间。在某些实施方案中,第二时间点是约1周或约2周。在患者的整个治疗过程中,可以类似地给予第三剂量和后续剂量。本发明提供了使用治疗性组合物的方法,所述治疗性组合物包含抗CEACAM5抗体或其抗原结合片段或含有所述抗体的免疫缀合物以及任选地一种或多种另外的治疗剂。本发明的治疗性组合物将与合适的载体、赋形剂和被掺入配制品中以提供改善的转移、递送、耐受性等的其他药剂一起给予。在所有药物化学家已知的处方集中可以找到许多适当的配制品:Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, 伊斯顿,宾夕法尼亚州,将其通过引用以其整体并入本文。这些配制品包括例如粉末、糊剂、软膏、凝胶、蜡、油、脂质、含有脂质(阳离子或阴离子)的囊泡(如LIPOFECTIN)、DNA缀合物、无水吸收膏、水包油和油包水乳液、乳液carbowax(具有不同分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有carbowax的半固体混合物。还参见Powell等人“Compendium of excipients for parenteral formulations” PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311,将其通过引用以其整体并入本文。

[0311] 各种递送系统是已知的并且可以用于给予本发明的药物组合物,所述递送系统是例如包封在脂质体、微粒、微胶囊中、受体介导的胞吞作用(参见例如,Wu等人(1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432,将其通过引用以其整体并入本文)引入方法包括但不限于真皮内、肌肉内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外和口服途径。组合物可以通过任何方便的途径给予,例如通过输注或团注,通过上皮或粘膜皮肤内层(例如,口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)吸收,并且可以与其他生物活性剂一起给予。给予可以是全身的或局部的。CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物可以皮下给予。

[0312] 药物组合物也可以在囊泡(如脂质体)中递送(参见Langer(1990) Science 249:1527-1533,将其通过引用以其整体并入本文)。在某些情况下,药物组合物可以在控释系统中例如使用泵或聚合物材料递送。在另一个实施方案中,可以将控释系统置于组合物的靶标附近,从而仅需要全身剂量的一部分。

[0313] 可注射制剂可以包括用于静脉内、皮下、皮内和肌肉内注射、局部注射、滴注等的剂型。这些可注射制剂可通过公众已知的方法制备。例如，可以通过例如将上述抗体或其盐溶解、悬浮或乳化在常规用于注射的无菌水性介质或油性介质中来制备可注射制剂。作为注射用水性介质，例如有生理盐水、含有葡萄糖的等渗溶液和其他助剂等，它们可以与适当的增溶剂组合使用，所述增溶剂如醇（例如乙醇）、多元醇（例如丙二醇、聚乙二醇）、非离子表面活性剂[例如聚山梨酯80、HCO-50（氢化蓖麻油的聚氧乙烯（50mol）加合物）]等。作为油性介质，使用例如芝麻油、大豆油等，它们可以与增溶剂组合使用，所述增溶剂如苯甲酸苄酯、苯甲醇等。由此制备的注射剂可以填充在适当的安瓿中。

[0314] 有利地，将上述用于口服或肠胃外使用的药物组合物制备为呈单位剂量的剂型，所述单位剂量适于配合活性成分的剂量。呈单位剂量的此类剂型包括例如片剂、丸剂、胶囊、注射剂（安瓿）、栓剂等。

[0315] 根据本文公开的方法，可以使用任何可接受的装置或机制将抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物（或者包含所述抗体或包含所述抗体的免疫缀合物的药物配制品）给予至患者。例如，可以使用注射筒和针或用可重复使用的笔和/或自动注射器递送装置来完成给予。本发明的方法包括使用许多可重复使用的笔和/或自动注射器递送装置来给予抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物（或者包含所述抗体或包含所述抗体的免疫缀合物的药物配制品）。此类装置的例子包括但不限于AUTOPEN（Owen Mumford, Inc., 伍德斯托克, 英国）、DISETRONIC笔（Disetronic Medical Systems, 波道夫（Bergdorf）, 瑞士）、HUMALOG MIX75/25笔、HUMALOG笔、HUMALIN 70/30笔（Eli Lilly and Co., 印第安纳波利斯, 印第安纳州）、NOVOPEN I、II和III（Novo Nordisk, 哥本哈根, 丹麦）、NOVOPEN JUNIOR（Novo Nordisk, 哥本哈根, 丹麦）、BD笔（Becton Dickinson, 富兰克林湖, 新泽西州）、OPTIPEN、OPTIPEN PRO、OPTIPEN STARLET和OPTICLIK（Sanofi-Aventis, 法兰克福, 德国）。仅举几个例子，可应用于本发明的药物组合物的皮下递送的一次性笔和/或自动注射器递送装置的例子包括但不限于SOLOSTAR笔（Sanofi-Aventis）、FLEXPEN（Novo Nordisk）、和KWIKPEN（Eli Lilly）、SURECLICK自动注射器（Amgen, 千橡市, 加利福尼亚州）、PENLET（Haselmeier, 斯图加特, 德国）、EPIPEN（Dey, L.P.）、以及HUMIRA笔（AbbVie Inc., 北芝加哥, 伊利诺伊州）。

[0316] 在一个实施方案中，将抗体或包含抗体的免疫缀合物用预填充注射筒给予。在另一个实施方案中，将抗体或包含抗体的免疫缀合物用含有安全系统的预填充注射筒给予。例如，安全系统防止意外的针刺伤害。在各个实施方案中，将抗体用含有ERIS安全系统的预填充注射筒（West Pharmaceutical Services Inc.）给予。还参见美国专利号5,215,534和9,248,242，将其通过引用以其整体并入本文。

[0317] 在另一个实施方案中，将抗体或包含抗体的免疫缀合物用自动注射器给予。在各个实施方案中，将抗体或包含抗体的免疫缀合物用以PUSHCLICK技术为特征的自动注射器（SHL Group）给予。在各个实施方案中，自动注射器是包含注射筒的装置，所示装置允许向受试者给予一定剂量的组合物和/或抗体。还参见美国专利号9,427,531和9,566,395，将其通过引用以其整体并入本文。

[0318] 本文还设想使用微量输注器将抗CEACAM5抗体或包含所述抗体的免疫缀合物（或包含所述抗体或包含所述抗体的免疫缀合物的药物配制品）递送至患者。如本文所用，术语

“微量输注器”意指皮下递送装置,其被设计为在延长的时间段(例如,约10、15、20、25、30分钟或更长时间)内缓慢给予大量(例如,高达约2.5mL或更多)的治疗性配制品。参见例如, U.S.6,629,949;US 6,659,982;和Meehan等人, J.Controlled Release 46:107-116 (1996),将其通过引用以其整体并入本文。微量输注器尤其可用于递送含于高浓度和/或粘性溶液中的大剂量治疗性蛋白质。

[0319] 出于所有目的,本文提及的所有出版物通过引用以其整体并入本文。

[0320] 实施例

[0321] 实施例1:TED13751-用于评价在患有晚期实体瘤的患者中huMAb2-3-SPDB-DM4的安全性、药代动力学和抗肿瘤活性的首次人体研究-研究设计

[0322] 用于评价通过静脉内途径每2周(q2w;14天)以单一药剂形式给予的鉴定为huMAb2-3-SPDB-DM4的ADC的安全性和药代动力学的首次人体(FIH)临床研究在患有晚期的、不可切除的或转移性实体瘤的成年人中进行。

[0323] 研究分为两个部分:递增阶段和扩展阶段。

[0324] 在递增阶段过程中,针对患有已知表达CEACAM5的肿瘤类型的患者富集但不限制待治疗的群体;使用IHC对最新的档案组织样品并在中央实验室中回顾性地证实CEACAM5表达。循环CEACAM5的表达也用于富集。在递增阶段过程中,基于受试者的体表面积确定最大耐受剂量(MTD)为100mg/m²。

[0325] 在扩展阶段过程中,将待治疗的群体限制于患有NSQ NSCLC的患者,所述NSQ NSCLC的强度≥2+的CEACAM5表达,涉及在预筛选过程中记录的50%的肿瘤细胞群,所述预筛选是对最新档案组织样品并且使用对胃腺癌群组中可能有资格进行研究治疗的患者进行的本地IHC评价来进行。

[0326] 有2个独立的NSQ NSCLC扩展阶段群组:第一个(肺群组)包括强度≥2+的CEACAM5表达涉及至少50%的肿瘤细胞群的患者。第二个群组(肺bis群组)包括在21%至<50%之间的肿瘤细胞群中以≥2+强度预筛选呈阳性的患者。对于没有在其本地IHC平台上实施基于huMAb2-3-SPDB-DM4单克隆抗体的CEACAM5测定的研究中心,集中进行肿瘤CEACAM5表达的预筛选评估。对满足以上限定的档案病例进行了全面筛选。

[0327] 对档案和新鲜(基线样品)肿瘤组织二者,基本上回顾性地且集中地记录CEACAM5表达水平。

[0328] CEACAM5肿瘤表达的证实是在中央实验室对在基线收集的新鲜肿瘤组织回顾性地(仅对NSQ NSCLC在扩展阶段进行强制性活检)。如果可获得足够的归档肿瘤材料,则还回顾性地(仅对NSQ NSCLC在扩展阶段进行强制性活检)进行中心评价,以增加对表达评价的可变性的了解。回顾性分析的结果对患者的治疗没有影响。这是为了更好地解释总体反应,并作为基线用于与进展后的CEACAM5表达进行比较(探索作为获得性耐药性的机制的CEACAM5损失)。

[0329] NSQ NSCLC(肺)群组中包括最多60名患者,并且NSQ NSCLC(肺bis)群组中包括最多28名患者。只有患有可测量的恶性疾病的患者才有资格。对于在预筛选程序过程中符合严格的CEACAM5表达标准的患有恶性疾病的NSQ NSCLC患者,将针对其在无负荷剂量的情况下以最大耐受剂量(MTD)治疗的资格进行进一步筛选。

[0330] 当第6名患者已经治疗两个周期时,在纳入后续患者之前,研究委员会审查在扩展阶段中纳入的前6名患者的安全性。如果在计划的huMAb2-3-SPDB-DM4剂量下在第2周期结

束时,三分之一或更少的被治疗的患者(纳入3个群组中)已经历了剂量限制毒性(DLT),则证实MTD(在无负荷剂量的情况下)。在同一时间点,关于在预防角膜毒性方面,主要角膜毒性预防法是否有益,进行初步评价。另外,评估累积毒性(如果有的话)的发生。根据RECIST 1.1评价药物的抗肿瘤活性。

[0331] 单独患者的研究持续时间包括长达4周的入选期(基线期)、至少1个周期(2周)的治疗期、在最后一次研究性医药产品(IMP)给予后约30天的治疗结束(EOT)访问、以及用于免疫原性评价的至少一次随访访问(EOT访问后约30天)。

[0332] 入选标准

[0333] I1. 局部晚期或转移性实体恶性肿瘤疾病,根据研究者的判断对其尚无标准替代疗法可用,并且满足以下入选标准。

[0334] I2. 来自FFPE档案组织的至少6x5 μ m载玻片加上另外数量的载玻片(可以是3x10 μ m(最佳)、或6x5 μ m、或等效尺寸以保持相同总量的所需材料)应可用于在现场进行本地测试和/或将其运送至赞助商或赞助商指定的实验室,用于评价肿瘤CEACAM5表达(在递增阶段回顾性地评价,和在扩展阶段预期性地评价)以及探索反应的其他预测性生物标记物。如果可用材料较少,则在与赞助商讨论并评估和确认有足够的相关材料用于关键评价后,患者仍然有资格。

[0335] I3. 对于递增阶段群组(主要和bis)的参与者:针对表达或可能表达CEACAM5的肿瘤对入选进行富集(但不限制于所述肿瘤),所述肿瘤包括具有高流行的CEACAM5表达的恶性疾病,即NSQ NSCLC。对于扩展阶段群组的参与者,将入选限制于患有NSQ NSCLC亚型或其他肺癌亚型的患者。根据对档案肿瘤组织的本地或中央CEACAM5表达评估,在NSQ NSCLC扩展阶段中有两个独立的群组:第一个(肺)在修订#4之前开始,包括强度>2+的CEACAM5表达涉及至少50%的肿瘤细胞群的患者。第二个独立群组(肺bis)包括在21%至<50%的肿瘤细胞群中以>2+的强度预筛选呈阳性的患者。

[0336] I4. 仅在扩展阶段中根据RECIST v1.1至少一个可测量病变。

[0337] I5. 至少一个适合活检的病变(仅扩展群组)。治疗开始前,患者必须同意进行基线活检以回顾性证实肿瘤CEACAM5表达,除非不具有适合活检的病变的NSCLC或SCLC。

[0338] 研究产品

[0339] 药物形式

[0340] huMAb2-3-SPDB-DM4 ADC以25mL可提取体积的浓缩液形式提供,用于30mL I型玻璃小瓶中含有的125mg(5mg/mL)输注用溶液。

[0341] 每次给予的药物剂量

[0342] 每2周以如在递增阶段过程中确定的MTD(100mg/m²)给予药物。

[0343] 使用患者的身高和实际体重来计算患者的体表面积(BSA)。对于BSA>2.2m²的患者,将基于2.2m² BSA计算剂量。

[0344] 所有患者都需要组胺H1拮抗剂的前置药物(二苯羟胺50mg口服或等效物[例如,右氯苯那敏],在huMAb2-3-SPDB-DM4给予之前约1小时给予)。

[0345] 使用输注控制泵,将huMAb2-3-SPDB-DM4在前30分钟内以2.5mg/min的速率通过静脉内输注给予,然后在不出出现超敏反应的情况下增加至5mg/min。

[0346] 给予的IMP的确切剂量和时间(天/月/年,h:min)将记录在eCRF中。

[0347] 治疗持续时间：

[0348] 将huMAb2-3-SPDB-DM4在第1天给予，并且每14天重复一次；这14天的时间段构成一个治疗周期(1个周期)。患者可以继续治疗，直到疾病进展、出现不可接受的毒性或愿意停止为止。

[0349] 稀释和输注方法

[0350] 产品中不存在抑菌剂；因此，需要遵守无菌技术。给药前，每个患者的剂量需要研究药剂师从预填充的稀释剂(0.9%氯化钠)袋开始单独地准备。

[0351] 一旦溶液准备好，从袋准备到剂量输注结束在7.5小时内向患者给予剂量。

[0352] 使用两种类型的给予：

[0353] • 低剂量(最高30mg/m²)通过注射筒驱动器输注。

[0354] • 其他剂量通过泵输注。

[0355] 使用外接有0.2微米过滤器单元的静脉内管道给予装置进行输注。研究药物不与任何其他静脉内流体一起给予。然而，输注管道任选地用生理盐水或huMAb2-3-SPDB-DM4启动。对于≤25mL的输注量，在输注剂量之前，需要确保25mL的huMAb2-3-SPDB-DM4的冲洗和销毁。在通过泵输注结束时，根据需要用生理盐水冲洗静脉内管线，以确保完整剂量的递送。在通过注射筒驱动器输注结束时，销毁注射筒中剩余量的huMAb2-3-SPDB-DM4。

[0356] 肿瘤反应评价

[0357] 为了评估客观反应或未来的进展，有必要在基线时估计总体肿瘤负荷，并将其用作后续测量的比较物。在方案中仅包括在基线时患有可测量疾病的患者，其中客观肿瘤反应为主要终点。可测量的疾病被定义为存在至少一个可测量的病变。在主要终点是肿瘤进展(进展时间或在固定日期的进展比例)的研究中，方案规定了是否仅限于患有可测量疾病的患者参与，或者仅患有不可测量疾病的患者是否也有资格。参见表2和表3。

[0358] 反应标准

[0359] 表2

[0360] 靶病变的评价

[0361] 完全反应(CR)所有靶病变消失。任何病理性淋巴结(无论是靶标或者非靶标)的短轴必须减小至<10mm。

[0362] 部分反应(PR)：以基线直径总和为参考，靶病变的直径总和减小至少30%。

[0363] 进展疾病(PD)：以研究中的最小总和作为参考(这包括基线总和，如果基线总和在研究中最小)，靶病变直径总和增加至少20%。

[0364] 除了20%的相对增加以外，总和还必须显示至少5mm的绝对增加。(注意：出现一个或多个新病变也被视为进展)。

[0365] 稳定疾病(SD)：以研究进行时的最小直径总和作为参考，既没有足够的缩小以符合PR，也没有足够的增加以符合PD

[0366] 表3

[0367] 非靶病变的评价

[0368] 所有非靶病变消失，并且肿瘤标记物水平正常化。所有淋巴结的大小必须都是非病理性的(短轴<10mm)。

[0369] 不完全反应/稳定一个或多个非靶病变的持续存在和/或肿瘤标记物水平疾病

(SD) :的维持高于正常限值。

[0370] 进展疾病 (PD) :现有非靶病变的明确进展 (参见以下注释)。(注意:出现一个或多个新病变也被视为进展)。

[0371] 但是只有“非靶标”病变明显进展是罕见的,在此类情况下,治疗医生的意见。应为准,随后应由审查小组 (或研究主席) 确认进展状态。

[0372] 最佳总体反应的评价

[0373] 下表提供了对于在基线时患有可测量疾病的患者在每个时间点的总体反应状况计算的总结。

[0374] 表4

[0375]	靶病变	非靶病变	新病变	总体反应
	CR	CR	无	CR
	CR	非CR/非PD	无	PR
	CR	未评价	无	PR
	PR	非PD或未全部评价	无	PR
[0376]	SD	非PD或未全部评价	无	SD
	未全部评价	非PD	无	NE
	PD	任何	有或无	PD
	任何	PD	有或无	PD
	任何	任何	有	PD

[0377] 表5

	总体反应	总体反应	最佳总体反应
	第一时间点	后续时间点	
	CR	CR	CR
	CR	PR	SD、PD或PR ^a
	CR	SD	SD，前提是符合SD持续时间的最低标准，否则，PD
	CR	PD	SD，前提是符合SD持续时间的最低标准，否则，PD
[0378]	CR	NE	SD，前提是符合SD持续时间的最低标准，否则，NE
	PR	CR	PR
	PR	PR	PR
	PR	SD	SD
	PR	PD	SD，前提是符合SD持续时间的最低标准，否则，PD
	PR	NE	SD，前提是符合SD持续时间的最低标准，否则，NE
[0379]	NE	NE	NE

[0380] a如果在第一时间点确实符合CR，那么在随后的时间点观察到的任何疾病（即使疾病相对于基线符合PR标准）都会使所述疾病在该时间点成为PD（因为疾病必定在CR后重新出现）。最佳反应将取决于是否符合SD的最短持续时间。然而，当随后的扫描显示可能仍存在小病变并且实际上患者在第一时间点具有PR而非CR时，有时可能会声称‘CR’。在这些情况下，应将原始CR更改为PR，并且最佳反应是PR。

[0381] 一旦了解了患者的所有数据，就可以确定最佳总体反应。

[0382] 在不需要确认完全或部分反应的试验中的最佳反应确定：这些试验中的最佳反应被定义为在所有时间点中的最佳反应（例如，第一次评估为SD、第二次评估为PR、以及最后一次评估为PD的患者的最佳总体反应为PR）。当SD被认为是最佳反应时，它还必须符合方案规定的从基线开始的最短时间。如果在SD原本是最佳时间点反应时不符合最短时间，则患

者的最佳反应取决于后续评估。例如，第一次评估为SD、第二次评估为PD并且不符合SD的最短持续时间的患者的最佳反应将为PD。在第一次SD评估后失访的相同患者将被视为无法评价。

[0383] 在需要确认完全或部分反应的试验中的最佳反应确定：只有在方案中规定的后续时间点(通常是4周后)符合完全或部分反应各自的标准的情况下，才能声称完全或部分反应。在这种情况下，最佳总体反应如表5所示。CEACAM5-免疫组织化学(IHC)评分方法

[0384] 病理学家通过光学显微镜评估CEACAM5染色的免疫组织化学载玻片。

[0385] CEACAM5阳性是通过表达CEACAM5阳性膜染色的活肿瘤细胞的百分比来确定的。

[0386] 如果肿瘤细胞以2+和3+的强度展现部分或完全周围质膜染色，则所述肿瘤细胞为CEACAM5阳性。如果肿瘤细胞以1+强度展现染色(弱染色)或没有染色(强度0)，则所述肿瘤细胞被视为阴性。

[0387] 评价在切片上观察到的所有肿瘤细胞的CEACAM5。

[0388] 切片上应存在最少100个活的肿瘤细胞，以确定CEACAM5阳性细胞的百分比。

[0389] 评分记录了在测量的每个强度下染色的肿瘤细胞的百分比，如下所示：

[0390] $CEACAM5阳性\% = 100 \times \frac{\text{表达} \geq 2+ \text{强度CEACAM5膜染色的肿瘤细胞数}}{\text{切片中存在的活肿瘤细胞总数}}$

[0391] 图1A、图1B和图1C分别显示了1+、2+、3+染色强度的例子。2+和3+膜染色强度被认为是CEACAM5阳性。对IHC方法(包括评分)的一般描述由So-Woon Kim等人给出(Journal of Pathology and Translational Medicine 2016;50:411-418)。

[0392] 实施例2:TED13751-扩展阶段-NSQ NSCLC群组-初级阶段期中分析

[0393] 如实施例1中所讨论，根据对档案肿瘤组织的本地或中央CEACAM5表达评估，在非sqNSCLC扩展阶段中有两个独立的群组：第一群组包括强度 $\geq 2+$ 的CEACAM5表达涉及至少50%的肿瘤细胞群的患者。第二独立群组(肺bis)包括在21%至 $< 50\%$ 的肿瘤细胞群中以 $\geq 2+$ 的强度预筛选呈阳性的患者。选择两个群组用于用 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 的huMAb2-3-SPDB-DM4治疗。

[0394] 对于强度 $\geq 2+$ 的CEACAM5表达 $\geq 50\%$ 的肿瘤细胞群的NSQ NSCLC(肺)群组，包括最少30名用抗PD1/抗PDL1预治疗的患者，以评价在用抗PDL1预治疗的患者中huMAb2-3-SPDB-DM4的抗肿瘤活性，以及确保在该亚群中亚组分析的最低能力。对于强度 $\geq 2+$ 的CEACAM5表达在 $\geq 1\%$ 至 $< 50\%$ 之间的NSQ NSCLC(肺bis)群组，将通过添加28名具有轻度CEACAM5膜染色(在 $> 2+$ 强度下，至少1%的阳性肿瘤细胞和 $< 50\%$ 的肿瘤细胞)的被治疗患者的群组来评估CEACAM5表达水平与功效结果之间的关系。

[0395] 如表1和表2所示，在高CEACAM5表达(肺)群组中观察到25.9%的客观反应，而在低表达(肺bis)群组中未观察到客观反应。表1和表2总结了用huMAb2-3-SPDB-DM4治疗的非小细胞肺癌患者的客观反应结果所述表比较了具有百分比分数大于或等于50的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)的NSCLC患者与具有百分比分数为1-49的hCEACAM5表达的患者之间的客观反应。

[0396] 表1:具有百分比分数大于或等于50的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)的患者的客观反应

[0397]	(CEACAM5 $> 50\%$)	(N=27)
	客观反应(CR+PR)	7 (25.9%)

完全反应	0
部分反应	7 (*25.9%)
稳定疾病	12 (44.4%)
进展疾病	8 (29.6%)
疾病控制率 (PR+SD)	19 (70.3%)

[0398] *90%置信区间:14.7%-41.52%

[0399] 表2:具有百分比分数为1-49的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)的患者的客观反应

[0400] (CEACAM5 1%-49%)	(N=11)
客观反应 (CR+PR)	0
稳定疾病	5 (45.5%)
进展疾病	6 (54.6%)

[0401] 此外,如图2所示,在CEACAM5表达为50%-80%或大于80%的患者中观察到最佳相对肿瘤缩小。

[0402] 如表3和表4所示,在高表达(肺)群组中,反应持续时间(DoR)和进展时间(TTP)也得到了改善。

[0403] 表3:具有百分比分数大于或等于50的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)的huMAb2-3-SPDB-DM4治疗的NSCLC患者的反应持续时间

[0404] 反应持续时间(月)	(N=27)
反应数	7
中值	4.5
90%CI	3.68至8.51

[0405] 表4:具有百分比分数大于或等于50的hCEACAM5表达(由2+和3+强度组成)的huMAb2-3-SPDB-DM4治疗的NSCLC患者的进展时间

[0406] 进展时间(月)	(N=27)
中值	3.7
90%CI	2.60至5.39

[0407] 此外,在这些高表达患者(百分比分数大于或等于50的hCEACAM5表达)中,在用抗PD1/PDL1预治疗的那些患者和未用抗PD1/PDL1预治疗的那些患者中获得了相似的客观反应(表5和表6)。

[0408] 表5:最佳客观反应ICI(抗PD1/PDL)预治疗的NSQ NSCLC患者(CEACAM5ients)e

[0409] 抗PD1/PDL1预治疗	(N=17)
客观反应 (CR+PR)	4 (23.5%)
完全反应	0
部分反应	4 (*23.5%)
稳定疾病	9 (52.9%)
进展疾病	4 (23.6%)

疾病控制率 (PR+SD)	13 (76.4%)
---------------	------------

[0410] *90%置信区间:11.3%-43.30%

[0411] 表6:最佳客观反应ICI未用(抗PD1/PDL)预治疗的NSQ NSCLC患者 (CEACAM5 ≥ 50%)

未用抗PD1/PDL1预治疗		(N = 10)
[0412]	客观反应 (CR + PR	3 (30.0%)
	完全反应	0
	部分反应	3 (**30.0%)
	稳定疾病	3 (30.0%)
	进展疾病	4 (40.0%)
[0413]	疾病控制率 (PR + SD	6 (60.0%)

[0414] **90%置信区间:12.69%-55.83%

[0415] 实施例3:TED13751-扩展阶段-NSQ NSCLC高表达者群组-对所治疗的32名患者的初级阶段完整群组分析

[0416] 对32名患者的群组进行的完整分析证实了实施例2的期中分析。

[0417] 它显示在CEACAM5 ≥ 50%的过度预治疗的患有NSQ NSCLC的患者中促进抗肿瘤活性。根据RECIST1.1,这种抗肿瘤活性与25%的反应率相关 (90%CI 14.70-39.20%)。

[0418] 如表7所示,在高CEACAM5表达(肺)群组中治疗的32名患者中观察到25%的客观反应。

[0419] 表7:在高CEACAM5表达(肺)群组中治疗的32名患者中的最佳客观反应。

(CEACAM5 > 50%)		(N = 32)
«高表达者»		
[0420]	客观反应 (CR + PR)	8 (*25.0%)
	完全反应	0
	部分反应	8 (*25.0%)
	稳定疾病	12 (37.5%)
	进展疾病	12** (37.5%)
	疾病控制率 (PR + SD)	20 (62.5%)

[0421] 此外,如图3所示,在CEACAM5表达为50%-80%或大于80%的患者中通常观察到最佳相对肿瘤缩小。如图4所示,在高表达(肺)群组中,进展时间(TTP)也得到了改善。此外,在这些高表达患者中,在用抗PD1/PDL1预治疗的那些患者和未用抗PD1/PDL1预治疗的那些患

者中获得了相似的客观反应,如下表8所示。

[0422] 表8:用或未用抗PD1/抗PDL1抗体预治疗的患者中的最佳客观反应

预后因素	数量	反应	
		(n[%])	90% CI ^a
任何先前的抗PD1/抗PDL1疗法			
数量	32		(12.74%至
先前的抗PD1/抗PDL1	20	5 (25.0%)	43.22%)
无先前的抗PD1/抗PDL1	12	3 (25.0%)	(10.47%至
			48.73%)
a由Wilson得分区间估计			
*不包括原发肿瘤部位			
仅在每个子类别中有足够的患者时才进行亚组分析			

[0424] 实施例4:TED13751-扩展阶段-NSQ NSCLC中等表达者群组

[0425] 如表9所示,在低表达(肺bis)群组中仅观察到一个客观反应(基于20名患者)。

[0426] 表9:在中等表达(肺bis)群组中观察到的基于20名患者的客观反应

(CEACAM5 1%-49%)	(N = 20)
«中等表达者»	
客观反应 (CR + PR	1 (**5.0%)
完全反应	0
部分反应	1 (**5.0%)
稳定疾病	11 (55.0%)
进展疾病	7 (35.0%)
无法评价	1 (5.0%)
疾病控制率 (PR + SD	12 (60.0%)

[0428] 总之,这些数据证明,在用huMAb2-3-SPDB-DM4治疗的NSCLC肺癌的亚组中实现了概念验证。特别地,这些数据支持以下结论:huMAb2-3-SPDB-DM4在治疗NSQ NSCLC(占约60%肺癌的亚型)中有效。此外,这些数据支持以下结论:huMAb2-3-SPDB-DM4在治疗高CEACAM5表达的NSQ NSCLC(占约20%的NSQ NSCLC癌症的肿瘤类型)中特别有效。

<210> 6
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> LCDR1
 <400> 6
 Glu Asn Ile Phe Ser Tyr
 1 5
 <210> 7
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> LCDR3
 <400> 7
 Gln His His Tyr Gly Thr Pro Phe Thr
 1 5
 <210> 8
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 重链
 <400> 8
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Val Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Arg Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Ala Pro Ser Thr Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala His Tyr Phe Gly Ser Ser Gly Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val	115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala	130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser	145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val	165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro	180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys	195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp	210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly	225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile	245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu	260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His	275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg	290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys	305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr	340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu	355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp	370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val	385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp	405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			

	420		425		430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro					
	435		440		445
Gly					
<210> 9					
<211> 214					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 轻链					
<400> 9					
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly					
1	5		10		15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp					
	20		25		30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile					
	35		40		45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					
	50		55		60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro					
65		70		75	80
Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr					
		85		90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala					
	100		105		110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly					
	115		120		125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala					
	130		135		140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln					
145		150		155	160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser					
		165		170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr					
	180		185		190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser					
	195		200		205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys					
210					

<210> 10
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人CEACAM5蛋白的A3-B3结构域
 <400> 10
 Ser Gly Ala Asn Leu Asn Leu
 1 5
 <210> 11
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> A3-B3结构域表位
 <400> 11
 Ile Asn Gly Ile Pro Gln Gln His Thr Gln Val Leu Phe
 1 5 10
 <210> 12
 <211> 654
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 食蟹猴CEACAM5的细胞外结构域
 <400> 12
 Gln Leu Thr Ile Glu Ser Arg Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu
 1 5 10 15
 Val Leu Leu Leu Ala His Asn Val Ser Gln Asn Leu Phe Gly Tyr Ile
 20 25 30
 Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Ala Ser Arg Arg Ile Gly Ser Cys
 35 40 45
 Val Ile Arg Thr Gln Gln Ile Thr Pro Gly Pro Ala His Ser Gly Arg
 50 55 60
 Glu Thr Ile Asp Phe Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln
 65 70 75 80
 Ser Asp Thr Gly Ser Tyr Thr Ile Gln Val Ile Lys Glu Asp Leu Val
 85 90 95
 Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe Arg Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys
 100 105 110

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

	420		425		430
Ile Thr Val	Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Met Cys Gln Ala His Asn Ser				
	435		440		445
Ala Thr Gly Leu	Asn Arg Thr Thr Val Thr Ala Ile Thr Val Tyr Val				
	450		455		460
Glu Leu Pro Lys	Pro Tyr Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Ile Glu				
465		470		475	480
Asp Lys Asp Ala	Val Thr Leu Thr Cys Glu Pro Val Ala Glu Asn Thr				
	485		490		495
Thr Tyr Leu Trp	Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Ser Val Ser Pro Arg				
	500		505		510
Leu Gln Leu Ser	Asn Gly Asn Arg Ile Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr				
	515		520		525
Arg Asn Asp Thr	Gly Pro Tyr Glu Cys Gly Ile Gln Asn Ser Glu Ser				
	530		535		540
Ala Lys Arg Ser	Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Thr Tyr Gly Pro Asp				
545		550		555	560
Thr Pro Ile Ile	Ser Pro Pro Asp Leu Ser Tyr Arg Ser Gly Ala Asn				
	565		570		575
Leu Asn Leu Ser	Cys His Ser Asp Ser Asn Pro Ser Pro Gln Tyr Ser				
	580		585		590
Trp Leu Ile Asn	Gly Thr Leu Arg Gln His Thr Gln Val Leu Phe Ile				
	595		600		605
Ser Lys Ile Thr	Ser Asn Asn Asn Gly Ala Tyr Ala Cys Phe Val Ser				
	610		615		620
Asn Leu Ala Thr	Gly Arg Asn Asn Ser Ile Val Lys Asn Ile Ser Val				
625		630		635	640
Ser Ser Gly Asp	Ser Ala Pro Gly Ser Ser Gly Leu Ser Ala				
	645		650		

<210> 13

<211> 702

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人CEACAM5

<400> 13

Met Glu Ser Pro	Ser Ala Pro Pro His Arg Trp Cys Ile Pro Trp Gln
1	5 10 15
Arg Leu Leu Leu	Thr Ala Ser Leu Leu Thr Phe Trp Asn Pro Pro Thr

	20	25	30
Thr Ala Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly			
	35	40	45
Lys Glu Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln His Leu Phe Gly			
	50	55	60
Tyr Ser Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Ile			
65	70	75	80
Gly Tyr Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser			
	85	90	95
Gly Arg Glu Ile Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Ile			
	100	105	110
Ile Gln Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu His Val Ile Lys Ser Asp			
	115	120	125
Leu Val Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe Arg Val Tyr Pro Glu Leu			
	130	135	140
Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro Val Glu Asp Lys			
145	150	155	160
Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Ala Thr Tyr			
	165	170	175
Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln			
	180	185	190
Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn Val Thr Arg Asn			
	195	200	205
Asp Thr Ala Ser Tyr Lys Cys Glu Thr Gln Asn Pro Val Ser Ala Arg			
	210	215	220
Arg Ser Asp Ser Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Ala Pro			
225	230	235	240
Thr Ile Ser Pro Leu Asn Thr Ser Tyr Arg Ser Gly Glu Asn Leu Asn			
	245	250	255
Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Phe			
	260	265	270
Val Asn Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn			
	275	280	285
Ile Thr Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys Gln Ala His Asn Ser			
	290	295	300
Asp Thr Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Thr Thr Ile Thr Val Tyr Ala			
305	310	315	320
Glu Pro Pro Lys Pro Phe Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu			
	325	330	335

Asp Glu Asp Ala Val Ala Leu Thr Cys Glu Pro Glu Ile Gln Asn Thr
 340 345 350
 Thr Tyr Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg
 355 360 365
 Leu Gln Leu Ser Asn Asp Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr
 370 375 380
 Arg Asn Asp Val Gly Pro Tyr Glu Cys Gly Ile Gln Asn Glu Leu Ser
 385 390 395 400
 Val Asp His Ser Asp Pro Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp
 405 410 415
 Asp Pro Thr Ile Ser Pro Ser Tyr Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Val Asn
 420 425 430
 Leu Ser Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser
 435 440 445
 Trp Leu Ile Asp Gly Asn Ile Gln Gln His Thr Gln Glu Leu Phe Ile
 450 455 460
 Ser Asn Ile Thr Glu Lys Asn Ser Gly Leu Tyr Thr Cys Gln Ala Asn
 465 470 475 480
 Asn Ser Ala Ser Gly His Ser Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Thr Val
 485 490 495
 Ser Ala Glu Leu Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro
 500 505 510
 Val Glu Asp Lys Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Ala Gln
 515 520 525
 Asn Thr Thr Tyr Leu Trp Trp Val Asn Gly Gln Ser Leu Pro Val Ser
 530 535 540
 Pro Arg Leu Gln Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn
 545 550 555 560
 Val Thr Arg Asn Asp Ala Arg Ala Tyr Val Cys Gly Ile Gln Asn Ser
 565 570 575
 Val Ser Ala Asn Arg Ser Asp Pro Val Thr Leu Asp Val Leu Tyr Gly
 580 585 590
 Pro Asp Thr Pro Ile Ile Ser Pro Pro Asp Ser Ser Tyr Leu Ser Gly
 595 600 605
 Ala Asn Leu Asn Leu Ser Cys His Ser Ala Ser Asn Pro Ser Pro Gln
 610 615 620
 Tyr Ser Trp Arg Ile Asn Gly Ile Pro Gln Gln His Thr Gln Val Leu
 625 630 635 640
 Phe Ile Ala Lys Ile Thr Pro Asn Asn Asn Gly Thr Tyr Ala Cys Phe

	645	650	655
Val Ser Asn Leu	Ala Thr Gly Arg	Asn Asn Ser Ile	Val Lys Ser Ile
	660	665	670
Thr Val Ser Ala	Ser Gly Thr Ser	Pro Gly Leu Ser	Ala Gly Ala Thr
	675	680	685
Val Gly Ile Met	Ile Gly Val Leu	Val Gly Val Ala	Leu Ile
	690	695	700

<210> 14

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重链的MAb1可变结构域

<400> 14

Glu Val Met 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 Ser Tyr
	20	25	30
Ala Met Ser Trp	Val Arg Gln Thr	Pro Glu Lys Arg	Leu Glu Trp Val
	35	40	45
Ala Thr Ile Ser	Ser Ser Gly Gly	Ser Tyr Ile Tyr	Tyr Leu Asp 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 Ser	Ser Leu Arg Ser	Glu Asp Thr Ala	Met Tyr Tyr Cys
	85	90	95
Ala Arg Pro Ala	Tyr Tyr Gly Asn	Pro Ala Met Asp	Tyr Trp Gly Gln
	100	105	110
Gly Thr Ser Val	Thr Val Ser Ser		
	115	120	

<210> 15

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 轻链的MAb1可变结构域

<400> 15

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

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

<210> 16

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重链的MAb2可变结构域

<400> 16

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

<210> 17

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 轻链的Mab2可变结构域

<400> 17

```

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

```

<210> 18

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重链的Mab3可变结构域

<400> 18

```

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

```


	35		40		45												
Thr	Tyr	Ile	Asn	Ser	Gly	Gly	Gly	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Thr	Val		
	50					55					60						
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Arg	Asn	Thr	Leu	Tyr		
65					70					75				80			
Leu	Gln	Met	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys		
				85					90				95				
Thr	Ala	His	Tyr	Phe	Gly	Ser	Ser	Gly	Pro	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln		
			100					105					110				
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala										
	115						120										
<210>	23																
<211>	107																
<212>	PRT																
<213>	人工序列																
<220>																	
<223>	轻链的MAb5可变结构域																
<400>	23																
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly		
1			5					10					15				
Glu	Thr	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Glu	Asn	Ile	Tyr	Ser	Tyr		
		20						25					30				
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Gln	Gly	Lys	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Val		
	35						40					45					
Tyr	Asn	Ala	Lys	Thr	Leu	Thr	Glu	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly		
	50					55					60						
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Ile	Asn	Ser	Leu	Gln	Pro		
65					70					75				80			
Glu	Asp	Phe	Gly	Ser	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	His	Tyr	Gly	Thr	Pro	Phe		
				85					90				95				
Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys							
			100					105									

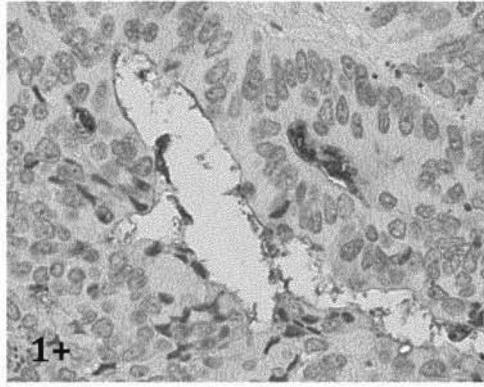


FIG1A

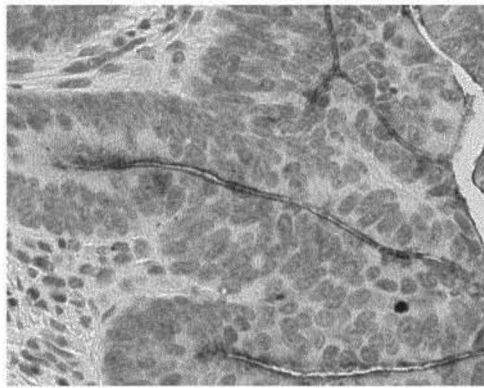


FIG1B

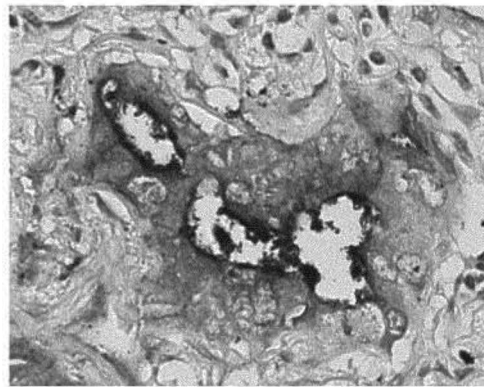


FIG1C

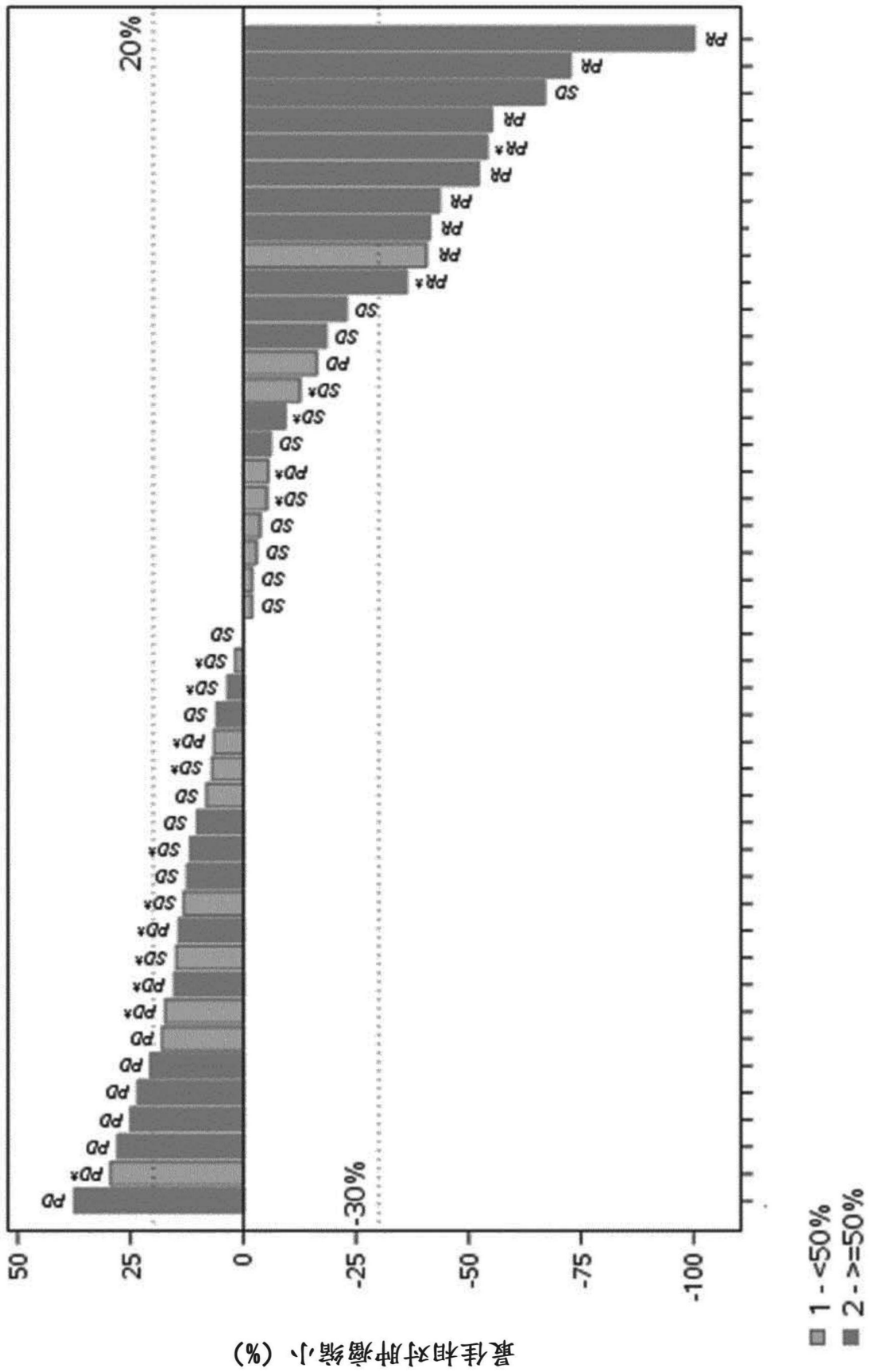


FIG3

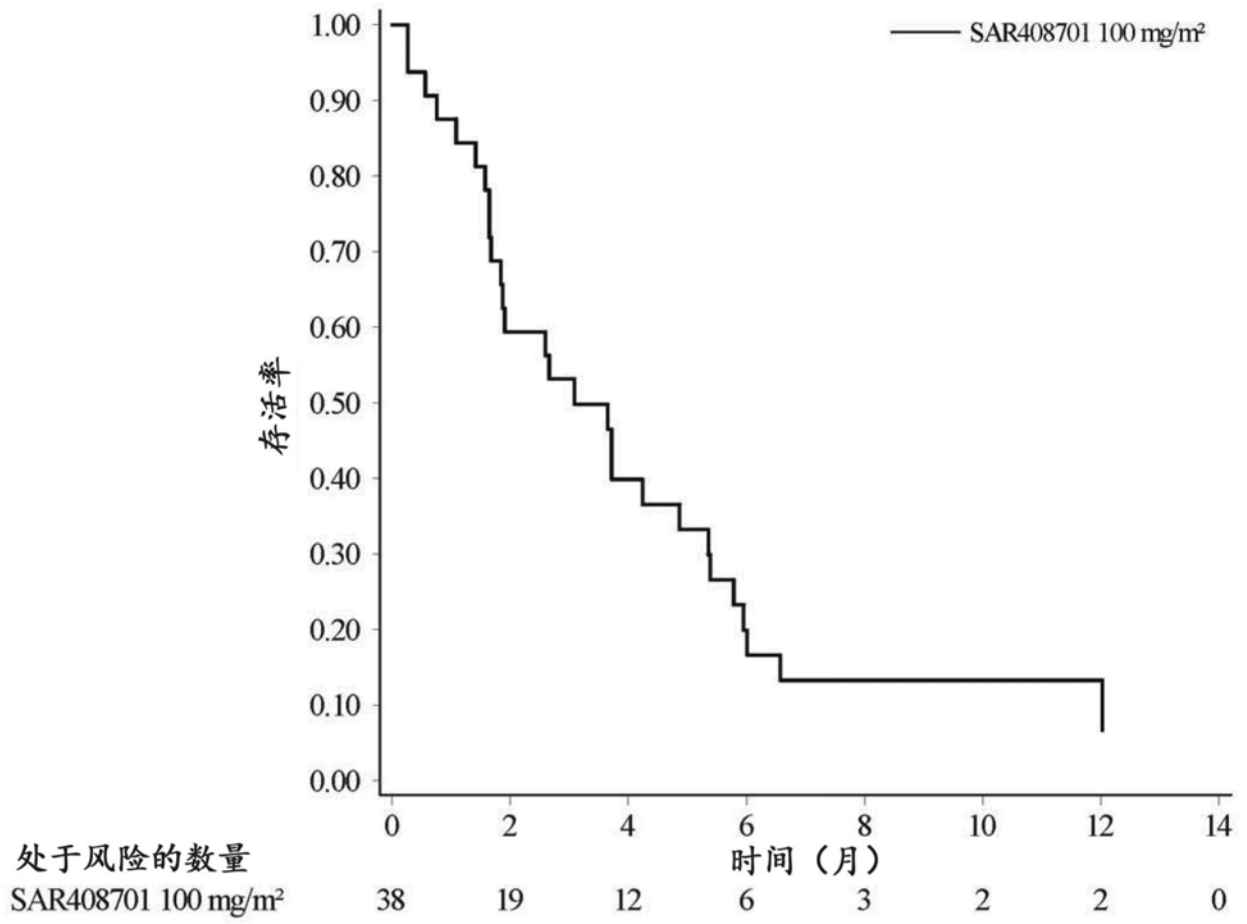


FIG4