



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118369344 A

(43) 申请公布日 2024. 07. 19

(21) 申请号 202280076111.3

奥利维耶·法夫尔-比勒

(22) 申请日 2022.09.16

(74) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

(30) 优先权数据

72003

21306283.9 2021.09.16 EP

专利代理师 付文川

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int. Cl.

2024.05.15

C07K 16/28 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

C07K 16/40 (2006.01)

PCT/EP2022/075794 2022.09.16

C07K 19/00 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

C12N 5/10 (2006.01)

W02023/041717 EN 2023.03.23

C12N 15/13 (2006.01)

(71) 申请人 阿博莱斯制药公司

C12N 15/62 (2006.01)

地址 法国南特

A61K 39/00 (2006.01)

申请人 南特大学

A61P 37/06 (2006.01)

法国国家健康和医学研究院

A61P 37/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(72) 发明人 C·吉永璐 I·阿内贡

权利要求书2页 说明书62页

序列表(电子公布) 附图2页

(54) 发明名称

抗人CD45RC结合结构域及其用途

(57) 摘要

本发明涉及特异性结合CD45RC的抗原结合结构域以及包含其的抗体和嵌合抗原受体。本发明还涉及它们在治疗目的的多种方法中的用途,包括用于预防和/或减少移植排斥,特别是移植物抗宿主病(GvHD)。

1. 特异性结合CD45RC的抗原结合结构域,其中所述抗原结合结构域包含:

(a) 重链可变区 (HCVR),其包含以下三个CDR:

(i) 序列为SEQ ID NO:10的V_H-CDR1;

(ii) 序列为SEQ ID NO:11的V_H-CDR2;和

(iii) 序列为SEQ ID NO:12的V_H-CDR3;和

(b) 轻链可变区 (LCVR),其包含以下三个CDR:

(i) 序列为SEQ ID NO:13的V_L-CDR1;

(ii) 序列为SEQ ID NO:14的V_L-CDR2;和

(iii) 序列为SEQ ID NO:15的V_L-CDR3,

其中SEQ ID NO:13中的X不存在或者选自Asn (N)、Ser (S) 和Gly (G);优选地,SEQ ID NO:13中的X不存在。

2. 根据权利要求1所述的抗原结合结构域,其中所述抗原结合结构域包含:

1) 序列为SEQ ID NO:24的HCVR和序列为SEQ ID NO:25的LCVR;或者

2) 包含序列为SEQ ID NO:10、11和12的三个CDR以及与序列为SEQ ID NO:24的框架区具有至少70%序列同一性的框架区的HCVR,和包含序列为SEQ ID NO:13、14和15的三个CDR以及与序列为SEQ ID NO:25的框架区具有至少70%序列同一性的框架区的LCVR,其中所述抗原结合结构域保留了其对CD45RC的结合特异性;

其中SEQ ID NO:25中的X₁不存在或者选自Asn (N)、Ser (S) 和Gly (G);优选地,SEQ ID NO:13中的X不存在;并且

其中SEQ ID NO:25中的X₂选自Tyr (Y) 和Phe (F),优选地,SEQ ID NO:25中的X₂为Tyr (Y)。

3. 根据权利要求1或2所述的抗原结合结构域,其中所述抗原结合结构域选自单链可变片段 (scFv)、串联-di-scFv、串联-tri-scFv、scFv-Fc、minibody、maxibody、双抗体、三抗体、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH和F(ab')₂。

4. 特异性结合CD45RC的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体包含权利要求1至3中任一项所述的抗原结合结构域。

5. 根据权利要求4所述的抗体或其抗原结合片段,其进一步包含重链恒定区 (HCCR) 和轻链恒定区 (LCCR),

优选地,其中所述HCCR包含与SEQ ID NO:26至28中任一个的氨基酸序列、更优选与SEQ ID NO:26的氨基酸序列具有至少70%序列同一性的氨基酸序列,并且所述LCCR包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列具有至少70%序列同一性的氨基酸序列;并且

其中所述抗体或其抗原结合片段保留了其对CD45RC的结合特异性。

6. 特异性结合CD45RC的嵌合抗原受体 (CAR),其包含:

i) 至少一个权利要求1至3中任一项所述的胞外抗原结合结构域;

ii) 任选地,胞外铰链结构域,

iii) 至少一个跨膜结构域,

优选地,所述跨膜结构域选自CD8跨膜结构域和CD28跨膜结构域,更优选地,所述跨膜结构域选自具有与SEQ ID NO:49的氨基酸序列共有至少70%序列同一性的氨基酸序列的CD8跨膜结构域和具有与SEQ ID NO:50的氨基酸序列共有至少70%序列同一性的氨基酸序

列的CD28跨膜结构域；

iv) 至少一个胞内信号传导结构域,其包含至少一个初级信号传导结构域和任选的一个或多个共刺激信号传导结构域,

优选地,所述至少一个初级信号传导是CD3 ζ 的信号传导结构域,

优选地,所述至少一个初级信号传导是具有与SEQ ID NO:51的氨基酸序列共有至少70%序列同一性的氨基酸序列的CD3 ζ 的信号传导结构域。

7. 免疫细胞群,其在细胞表面表达权利要求6所述的嵌合抗原受体。

8. 根据权利要求7所述的免疫细胞群,其中所述细胞群的免疫细胞选自包含CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、双阳性T细胞、双阴性T细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、NK细胞、NKT细胞、B细胞、巨噬细胞或树突细胞的组。

9. 核酸,其编码权利要求1至3中任一项所述的抗原结合结构域、权利要求4或5所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求6所述的CAR,优选地在调节元件的控制下。

10. 根据权利要求1至3中任一项所述的抗原结合结构域、根据权利要求4或5所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求7或8所述的免疫细胞群或根据权利要求9所述的核酸,用作药物。

11. 根据权利要求1至3中任一项所述的抗原结合结构域、根据权利要求4或5所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求7或8所述的免疫细胞群或根据权利要求9所述的核酸,用于在有需要的受试者中诱导免疫耐受。

12. 根据权利要求1至3中任一项所述的抗原结合结构域、根据权利要求4或5所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求7或8所述的免疫细胞群或根据权利要求9所述的核酸,用于耗减有需要的受试者中的CD45RC^高细胞。

13. 根据权利要求1至3中任一项所述的抗原结合结构域、根据权利要求4或5所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求7或8所述的免疫细胞群或根据权利要求9所述的核酸,用于预防和/或减少有需要的受试者中的移植排斥。

14. 根据权利要求13所述使用的抗原结合结构域、抗体或其抗原结合片段、免疫细胞群或核酸,用于预防和/或减少移植物抗宿主病(GvHD)。

15. 根据权利要求1至3中任一项所述的抗原结合结构域、根据权利要求4或5所述的抗体或其抗原结合片段、根据权利要求7或8所述的免疫细胞群或根据权利要求9所述的核酸,用于在有需要的受试者中预防、减少和/或治疗CD45RC^高相关疾病、病症或病况,

优选地,其中CD45RC^高相关疾病、病症或病况选自自身免疫疾病、不希望的免疫应答、单基因疾病、淋巴瘤和癌症。

抗人CD45RC结合结构域及其用途

发明领域

[0001] 本发明涉及特异性结合CD45RC的抗原结合结构域以及包含其的抗体和嵌合抗原受体。本发明还涉及它们在治疗目的的多种方法中的用途,包括用于预防和/或减少移植排斥,特别是移植物抗宿主病(GvHD)。

[0002] 发明背景

[0003] CD45(也称为白细胞共同抗原(LCA)、EC3.1.3.48、T200、Ly5和PTPRC)构成第一个且原型的受体样蛋白酪氨酸磷酸酶(RPTP)。CD45表达限于白细胞,它是该细胞中最丰富的细胞表面糖蛋白之一,占几乎10%的细胞表面(Trowbridge&Thomas,1994.*Annu Rev Immunol*.12:85-116;Hermiston等,2003.*Annu Rev Immunol*.21:107-37;Holmes,2006.*Immunology*.117(2):145-55)。

[0004] CD45包含胞外结构域、单个跨膜结构域和大的胞质结构域。跨膜和胞质结构域在物种间高度保守。具体来说,CD45的胞质结构域包含两个串联复制的磷酸酶结构域,其中仅膜近端结构域具有酶活性(Desai等,1994.*EMBO J*.13(17):4002-10)。CD45中更近C末端的第二磷酸酶结构域的功能尚未确定,尽管有人提出其可能通过稳定第一结构域而间接地促进CD45活性。通过这个胞质结构域,CD45通过调节酪氨酸蛋白激酶的Src家族(例如T细胞中的Lck,或B细胞中的Lyn、Fyn和Lck)的活性,在至少白细胞中充当磷酸酪氨酸水平的核心调节因子(Palacios&Weiss,2004.*Oncogene*.23(48):7990-8000;Lowell,2004.*Mol Immunol*.41(6-7):631-43)。

[0005] 与跨膜和胞质结构域相比,CD45的N-端胞外结构域在不同的白细胞谱系中显示出更高的多态性。实际上,这个胞外结构域是高度糖基化的,并含有O-联糖基化和唾液酸化两者的三个选择性剪接外显子(4、5和6-分别编码A、B和C决定簇)(Hermiston等,2003.*Annu Rev Immunol*.21:107-37;Holmes,2006.*Immunology*.117(2):145-55)。因此,可通过在白细胞分化和细胞活化中进行动态受控的选择性剪接,从而导致分子的胞外结构域中发生变化,来产生大小、形状和电荷不同的CD45同工型(Hall等,1988.*J Immunol*.141(8):2781-7;Lynch,2004.*Nat Rev Immunol*.4(12):931-40)。

[0006] 含有全部三个选择性剪接外显子的最大CD45同工型CD45RABC为约235kDa,而缺乏全部三个外显子的最小同工型CD45R0为约180kDa。介于之间的可能还有包含三个外显子中的仅两个(例如CD45RAB、CD45RBC)或仅一个(CD45RB)的同工型。

[0007] 虽然不同CD45同工型的功能尚不清楚,但这些同工型的差异表达与T细胞的激活水平关联,并可使初始T细胞(naive T cell)与记忆T细胞分离(Birkeland等,1989.*Proc Natl Acad Sci USA*.86(17):6734-8)。例如,CD45RA存在于外周的初始成熟CD4⁺T细胞上,而CD45R0在激活的和记忆CD4⁺T细胞上表达。CD45RABC在B细胞及其前体上、在树突细胞的亚组和其他抗原呈递细胞上表达。效应记忆RA T细胞(T_{EMRA})作为终末分化记忆T细胞的亚型,也重新表达初始T细胞标志物CD45RA(Koch等,2008.*Immun Ageing*.5:6)。重要的是,这种同工型表达模式在物种间高度保守,突显了其功能性作用和重要性(Hermiston等,2003.*Annu Rev Immunol*.21:107-37)。

[0008] $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T细胞上CD45RC同工型的特定表达模式可以区分在增殖和细胞因子分泌方面表现不同的功能不同的同种异型反应性T细胞亚群。例如,在啮齿动物中,已显示 $CD4^+$ 和 $CD8^+CD45RC^{高}$ T细胞是能够促进移植排斥和器官炎症的前体和/或强力的 T_H1 效应细胞(Spickett等,1983.JExp Med.158(3):795-810;Xystrakis等,2004.Eur J Immunol.34(2):408-17),而表达不可检测或低水平的 $CD45RC^{低/-}$ 的T细胞是 T_H2 和调节性T细胞,并抑制同种异体移植排斥、移植物抗宿主病(GvHD)和细胞介导的自身免疫疾病(Xystrakis等,2004.Blood.104(10):3294-30;Guillonneau等,2007.J Clin Invest.117(4):1096-106;Powrie&Mason,1990.J Exp Med.172(6):1701-8)。在人类中,移植前高比例的 $CD45RC^+CD8^+$ T细胞与肾移植患者中的移植物存活降低有关联(Ordenez等,2013.PLoS One.8(7):e69791)。

[0009] 因此,消除 $CD45RC^{高}$ T细胞群代表了一种在人体中诱导免疫耐受,从而预防、减少和/或治疗移植排斥(特别是GvHD)和自身免疫疾病的有前景的方法。

[0010] GvHD或移植物抗宿主病是干细胞移植患者发病和死亡的重要原因。这是T细胞介导的免疫反应性过程,在该过程中供体细胞对抗受体细胞发生反应。目前,用免疫调节药物如皮质类固醇进行免疫抑制是预防GvHD的主要手段。尽管随着时间在提高存活效果上已取得进展,但皮质类固醇在高比例的患者中无法预防GvHD(少于50%的具有急性GvHD的患者,40-50%的具有慢性GvHD的患者,取决于初始疾病的严重程度-Garnett et al.,2013.Ther Adv Hematol.4(6):366-378),与显著的毒性相关,并且许多当前可用的挽救疗法与免疫抑制增加和感染性并发症相关联。因此,开发用于GvHD的新型治疗策略以改善移植后的长期结果的需求仍未得到满足。

[0011] 本发明人先前已经描述,耗减 $CD45RC^{高}$ T细胞代表了一种通过减少攻击性效应T细胞同时增加耐受性调节性T细胞来预防或减少移植排斥的新治疗策略。实际上,瞬时抗CD45RC mAb治疗触发了快速的 $CD45RC^{高}$ T细胞凋亡,同时保留记忆免疫力。此外,本发明人证明,短期抗CD45RC抗体治疗会导致同种异体移植物的永久存活而没有慢性排斥的迹象(国际专利申请W02016/016442;Picarda et al.,2017.JCI Insight.2(3):e90088)。他们还已经令人惊讶地证明,用特异性耗减 $CD45RC^{高}$ T细胞的抗CD45RC抗体进行治疗改善了肌肉强度(Ouisse et al.,2019.Front Immunol.10:2131),并且预防和治疗了单基因疾病,如杜氏肌营养不良症(Duchenne muscular dystrophy,DMD)或自身免疫性多内分泌腺病-念珠菌病-外胚层营养不良症(autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy,APECED)(国际专利申请W0 2019/115791)。

[0012] 最近,发明人已经产生了从头人源化抗人CD45RC抗体,与市售的抗人CD45RC抗体MT2(国际专利申请W02020/058495)相比,其在诱导靶T细胞凋亡方面表现出更高的效率并改善了治疗效果,尤其是在异种GvHD的免疫人源化NSG小鼠模型中。

[0013] 在这里,发明人更进一步并开发了W02020/058495中这些已经改进的抗人CD45RC抗体的改进版本,其具有更好的治疗效果。

发明内容

[0014] 本发明涉及一种特异性结合CD45RC的抗原结合结构域,其中所述抗原结合结构域包含:

- [0015] (a) 重链可变区 (HCVR), 其包含以下三个CDR:
- [0016] (i) 序列SEQ ID NO:10的V_H-CDR1;
- [0017] (ii) 序列SEQ ID NO:11的V_H-CDR2;和
- [0018] (iii) 序列SEQ ID NO:12的V_H-CDR3;和
- [0019] (b) 轻链可变区 (LCVR), 其包含以下三个CDR:
- [0020] (i) 序列SEQ ID NO:13的V_L-CDR1;
- [0021] (ii) 序列SEQ ID NO:14的V_L-CDR2;和
- [0022] (iii) 序列SEQ ID NO:15的V_L-CDR3,
- [0023] 其中SEQ ID NO:13中的X不存在或者选自由Asn(N)、Ser(S)和Gly(G)组成的组;优选地, SEQ ID NO:13中的X不存在。
- [0024] 在一个实施方案中, 所述抗原结合结构域包含:
- [0025] 1) 序列SEQ ID NO:24的HCVR和序列SEQ ID NO:25的LCVR;或者
- [0026] 2) 包含具有SEQ ID NO:10、11和12的三个CDR以及与SEQ ID NO:24的框架区具有至少70%序列同一性的框架区的HCVR, 以及包含具有SEQ ID NO:13、14和15的三个CDR以及与SEQ ID NO:25的框架区具有至少70%序列同一性的框架区的LCVR, 其中所述抗原结合结构域保留了其对CD45RC的结合特异性;
- [0027] 其中SEQ ID NO:25中的X₁不存在或者选自由Asn(N)、Ser(S)和Gly(G)组成的组;优选地, SEQ ID NO:13中的X不存在;和
- [0028] 其中SEQ ID NO:25中的X₂选自由Tyr(Y)和Phe(F)组成的组, 优选地, SEQ ID NO:25中的X₂为Tyr(Y)。
- [0029] 在一个实施方案中, 所述抗原结合结构域选自由单链可变片段(scFv)、串联-di-scFv(tandem-di-scFv)、串联-tri-scFv(tandem-tri-scFv)、scFv-Fc、minibody、maxibody、双抗体(diabody)、三抗体(triabody)、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH和F(ab')₂组成的组。
- [0030] 本发明进一步涉及特异性结合CD45RC的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体包含本发明的抗原结合结构域。
- [0031] 在一个实施方案中, 所述抗体或其抗原结合片段还包含重链恒定区(HCCR)和轻链恒定区(LCCR),
- [0032] 优选地, 其中HCCR包含与SEQ ID NO:26至28中任一个的氨基酸序列具有至少70%序列同一性、更优选地与SEQ ID NO:26具有至少70%序列同一性的氨基酸序列, 并且LCCR包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列具有至少70%序列同一性的氨基酸序列;和
- [0033] 其中所述抗体或其抗原结合片段保留了其对CD45RC的结合特异性。
- [0034] 本发明还涉及一种特异性结合CD45RC的嵌合抗原受体(CAR), 其包含:
- [0035] i) 至少一个本发明的胞外抗原结合结构域;
- [0036] ii) 任选地, 胞外铰链结构域,
- [0037] iii) 至少一个跨膜结构域,
- [0038] 优选地, 所述跨膜结构域选自由CD8跨膜结构域和CD28跨膜结构域组成的组,
- [0039] 更优选地, 所述跨膜结构域选自具有与SEQ ID NO:49的氨基酸序列共有至少70%序列同一性的氨基酸序列的CD8跨膜结构域和具有与SEQ ID NO:50的氨基酸序列共有至少

70%序列同一性的氨基酸序列的CD28跨膜结构域;

[0040] iv) 至少一个胞内信号传导结构域,其包含至少一个初级信号传导结构域(primary signaling domain)和任选的一个或多个共刺激信号传导结构域,

[0041] 优选地,所述至少一个初级信号传导结构域是CD3 ζ 的信号传导结构域,

[0042] 优选地,所述至少一个初级信号传导结构域是具有与SEQ ID NO:51的氨基酸序列共有至少70%序列同一性的氨基酸序列的CD3 ζ 的信号传导结构域。

[0043] 本发明进一步涉及在其细胞表面表达本发明的嵌合抗原受体的免疫细胞群。

[0044] 在一个实施方案中,所述细胞群的免疫细胞选自包含以下或由以下组成的组:CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、双阳性T细胞、双阴性T细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、NK细胞、NK T细胞、B细胞、巨噬细胞或树突细胞。

[0045] 本发明进一步涉及编码本发明的抗原结合结构域、本发明的抗体或其抗原结合片段或本发明的CAR的核酸,优选地在调节元件的控制下。

[0046] 本发明进一步涉及本发明的抗原结合结构域、本发明的抗体或其抗原结合片段、本发明的免疫细胞群或本发明的核酸,用作药物。

[0047] 本发明进一步涉及本发明的抗原结合结构域、本发明的抗体或其抗原结合片段、本发明的免疫细胞群或本发明的核酸,用于在有需要的受试者中诱导免疫耐受。

[0048] 本发明进一步涉及本发明的抗原结合结构域、本发明的抗体或其抗原结合片段、本发明的免疫细胞群或本发明的核酸,用于耗减有需要的受试者中的CD45RC^高细胞。

[0049] 本发明进一步涉及本发明的抗原结合结构域、本发明的抗体或其抗原结合片段、本发明的免疫细胞群或本发明的核酸,用于预防和/或减少有需要的受试者的移植排斥。

[0050] 在一个实施方案中,预防和/或减少移植排斥包括预防和/或减少移植物抗宿主病(GvHD)或由预防和/或减少移植物抗宿主病(GvHD)组成。

[0051] 本发明进一步涉及本发明的抗原结合结构域、本发明的抗体或其抗原结合片段、本发明的免疫细胞群或本发明的核酸,用于在有需要的受试者中预防、减少和/或治疗CD45RC^高相关疾病、病症或病况,

[0052] 优选地,其中CD45RC^高相关疾病、病症或病况选自由自身免疫疾病、不希望的免疫应答、单基因疾病、淋巴瘤和癌症组成的组。

[0053] 定义

[0054] “抗体”或“免疫球蛋白”

[0055] 如本文所用,术语“免疫球蛋白”是指具有两条重链和两条轻链的组合的蛋白,而无论其是否具有任何相关的特异性免疫反应性。“抗体”是指对目标抗原(例如人CD45RC)具有显著已知的特异性免疫反应活性的组装体。本文所用的术语“抗hCD45RC抗体”是指对人CD45RC蛋白显示免疫特异性的抗体。如本文别处所述,对人CD45RC的“特异性”不排除与表达hCD45RC的物种的交叉反应。

[0056] 抗体和免疫球蛋白包含轻链和重链,它们之间具有或不具有链间共价连接。对脊椎动物系统中的基本免疫球蛋白结构具有相对深入的理解。上位术语“免疫球蛋白”包括五种不同的抗体类别,它们在生化上并不相同。尽管以下讨论整体上针对IgG类免疫球蛋白分子,但是所有五类抗体都在本发明的范围内。对于IgG,免疫球蛋白包含两条相同的分子量为约23kDa的多肽轻链,和两条相同的分子量为约53-70kDa的重链。这四条链以“Y”构型通

过二硫键连接,其中轻链从“Y”的开口处开始并持续整个可变区与重链归在一起。抗体的轻链分类为kappa (κ) 或lambda (λ)。每个重链类别可以与 κ 或 λ 轻链结合。通常,当免疫球蛋白由杂交瘤、B细胞或基因工程宿主细胞产生时,轻链和重链彼此共价结合,并且两条重链的“尾”区通过共价二硫键或非共价键彼此结合。在重链中,氨基酸序列从Y构型的叉头末端的N-端延伸至每条链末端的C-端。本领域技术人员理解,重链被分类为gamma (γ)、mu (μ)、alpha (α)、delta (δ) 或epsilon (ϵ),其中有一些亚类(例如 $\gamma 1-\gamma 4$)。这条链的性质决定了抗体的“类别”,分别为IgG、IgM、IgA、IgD或IgE。免疫球蛋白亚类或“同种型”(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1等)已被充分表征,并已知赋予功能特化。鉴于本公开的内容,这些类别和同种型中每一种的修饰形式对于本领域技术人员都是容易辨别的,并且因此在本发明的范围内。如上所述,抗体的可变区允许抗体选择性地识别并特异性地结合抗原上的表位。即,抗体的轻链可变区(V_L 结构域)和重链可变区(V_H 结构域)组合形成了限定三维抗原结合位点的可变区。这种四元抗体结构形成了存在于“Y”的每个臂的末端的抗原结合位点。更具体地说,抗原结合位点由 V_H 和 V_L 链中的每一个上的三个互补决定区(CDR)限定。

[0057] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”

[0058] 如本文所用,术语“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指一种细胞毒性形式,其中结合至带有抗原的靶细胞的抗体的Fc区与主要存在于NK细胞上的CD16a型的Fc γ 受体(Fc γ R)相结合(DiLillo&Ravetch,2015.Cancer Immunol Res.3(7):704-13)。某些IgG亚型与其他Fc γ R(如CD32或CD64)结合,触发单核细胞、巨噬细胞和PMN等细胞的活化以及多种物质(如裂合酶、穿孔素、颗粒酶、TFN等)的分泌,从而介导炎症靶细胞的破坏。CD16a在NK细胞上的接合还触发细胞因子的产生((Anegón et al.,1988.JExp Med.167(2):452-72)。为了评估感兴趣分子的ADCC活性,可以进行体外ADCC测定,例如美国专利5,500,362或5,821,337中描述的测定。

[0059] “抗体依赖性细胞介导的吞噬作用”或“ADCP”

[0060] 如本文所用,术语“抗体依赖性细胞介导的吞噬作用”或“ADCP”是指一种吞噬作用形式,其中结合至带有抗原的靶细胞的抗体的Fc区与存在于某些吞噬细胞(例如,中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和树突细胞)上的Fc γ 受体(Fc γ R)相结合。这种结合触发了吞噬过程的启动,以介导靶细胞的破坏。

[0061] “抗原结合片段”或“抗原结合结构域”

[0062] 如本文所用,术语“抗原结合片段”或“抗原结合结构域”是指抗体或免疫球蛋白的一部分或区域,其包含的氨基酸残基少于完整抗体,但能够结合抗原和/或与完整抗体竞争结合抗原(例如,竞争与人CD45RC的特异性结合)。抗原结合片段包括但不限于单链抗体、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH和F(ab')₂。

[0063] “补体依赖性细胞毒性”或“CDC”

[0064] 术语“补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指在补体存在下靶细胞的裂解。经典补体途径的激活是通过补体系统的第一组分结合至与其关联抗原结合的抗体来启动的。为了评估补体激活,可以进行CDC测定,例如Gazzano-Santoro et al.,1997.J Immunol Methods.202(2):163-71中描述的测定。

[0065] “CD45”

[0066] 如本文所用,术语“CD45”(也称为CD45R或PTPRC)是指以不同同工型存在的跨膜糖

蛋白。CD45的这些不同同工型的胞外结构域结构不同,这源于分别编码CD45胞外区的A、B和C决定簇的3个可变外显子(外显子4、5和6)的选择性剪接。与限制性表位反应的抗体聚类为“CD45R”。因此,抗CD45RA、抗CD45RB和抗CD45RC抗体分别识别包括A、B和C决定簇的表达的CD45同工型。在缺乏所有三个A、B和C决定簇的情况下,同工型被称为CD45R0。CD45的各种同工型具有不同的胞外结构域,但在膜近端具有相同的胞外序列,以及跨膜结构域和包含两个串联的同源的高度保守的约300个残基的磷酸酶结构域的大胞质尾部片段。CD45及其同工型与T和B淋巴细胞上的淋巴细胞磷酸酶相关磷酸蛋白(lymphocyte phosphatase-associated phosphoprotein,LPAP)非共价结合。据报道,CD45与几种其他细胞表面抗原相关,包括CD1、CD2、CD3和CD4。CD45参与信号传导淋巴细胞激活。当前面有字母“h”(例如hCD45)时,表示CD45是人来源的。

[0067] “CD45RC”

[0068] 如本文所用,术语“CD45RC”是指本领域技术人员熟知的200-220kDa单链I型膜糖蛋白。CD45RC是CD45的选择性剪接同工型,包含编码C决定簇的外显子6(因此为术语CD45RC,即限于C决定簇的CD45R)。人CD45RC的氨基酸序列在SEQ ID NO:1中给出,对应于UniProt登录号P08575-10。该CD45RC同工型在B细胞和NK细胞以及CD8⁺T细胞和CD4⁺T细胞的亚组上表达,但不在CD8⁺或CD4⁺Treg、CD14⁺单核细胞或PMN上表达(Picarda et al., 2017.JCI Insight.2(3):e90088)。尽管一些单克隆抗体可以识别所有不同同工型所共有的CD45部分中的表位(这些称为抗CD45抗体),但其他单克隆抗体对给定同工型具有受限的特异性,这取决于它们识别何种决定簇(A、B或C)。当前面有字母“h”(例如,hCD45RC)时,表示CD45RC是人来源的。

[0069] “CDR”或“互补决定区”

[0070] 如本文所用,术语“CDR”或“互补决定区”是指在重链和轻链多肽的可变区内均发现的非连续抗原结合位点。CDR根据表1的规则进行鉴定,如根据Kabat et al., 1991.Sequences of proteins of immunological interest(第5版).Bethesda,MD: U.S.Dep.of Health and Human Services;和Chothia&Lesk,1987.J Mol Biol.196(4): 901-17;

[0071] 表1

		重链可变区 (HCVR 或 V _H)		
		V _H -CDR1	V _H -CDR2	V _H -CDR3
[0072]	开始	根据 Chothia/AbM 的定义，约在残基 26 处(通常是 Cys 之后 4) Kabat 的定义开始在 5 个残基之后	根据 Kabat/AbM 的定义，通常是 V _H -CDR1 末端之后 15 个残基	通常是 V _H -CDR2 末端之后 33 个残基 通常是 Cys 之后 2 个残基

[0073]

残基之前	根据 Chothia/AbM 的定义，通常是 Cys-Xaa-Xaa-Xaa，其中 Xaa 为任意氨基酸	典型的是 Leu-Glu-Trp-Ile-Gly (SEQ ID NO: 58)，但有一些变化	通常是 Cys-Xaa-Xaa，其中 Xaa 为任意氨基酸 典型的是 Cys-Ala-Arg
残基之后	通常是 Trp 典型的是 Trp-Val，但也可以是 Trp-Ile 或 Trp-Ala	Lys/Arg-Leu/Ile/Val/Phe/Thr/Ala-Thr/Ser/Ile/Ala	通常是 Trp-Gly-Xaa-Gly，Xaa 为任意氨基酸
长度	根据 AbM 的定义，是 10-12 个残基 Chothia 的定义排除了最后 4 个残基 根据 Kabat 的定义，是 5-7 个残基	根据 Kabat 的定义，是 16-19 个残基 AbM 的定义提前 7 个残基结束	3-25 个残基
轻链可变区(LCVR 或 V _L)			
	V _L -CDR1	V _L -CDR2	V _L -CDR3
开始	约在残基 24	通常是 V _L -CDR1 结束后 16 个残基	通常是 V _L -CDR2 结束后 33 个残基(除了 NEW(PDB ID: 7FAB) 其在 CDR-L2 的末端具有删除*)

[0074]	残基之前	通常是 Cys	一般是 Ile-Tyr，但也可以是 Val-Tyr、Ile-Lys 或 Ile-Phe	通常是 Cys
	残基之后	通常是 Trp 典型是 Trp-Tyr-Gln，但也可以是 Trp-Leu-Gln、Trp-Phe-Gln 或 Trp-Tyr-Leu		通常是 Phe-Gly-Xaa-Gly，其中 Xaa 为任意氨基酸
	长度	10-17 个残基	通常是 7 个残基(除了 NEW(PDB ID: 7FAB) 其在这个区域具有删除*)	7-11 个残基

[0075] *Saul&Poljak,1992.Proteins.14(3):363-71

[0076] “工程化的”

[0077] 如本文所用,术语“工程化的”或者“修饰的”是指已经转染、转化或转导的细胞。

[0078] “表位”

[0079] 如本文所用,术语“表位”是指一种或多种蛋白上抗体或其结合片段与之结合的氨基酸的特定排列。表位通常由分子的化学活性表面基团如氨基酸或糖侧链组成,并且具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。表位可以是线性(或连续的)表位或构象表位,即,涉及抗原的不同区域中可以不必是连续的两个或更多个氨基酸序列。

[0080] “框架区”或“FR”或“非CDR区”

[0081] 本文所用的术语“框架区”、“FR”或“非CDR区”包括作为可变区的一部分但不是CDR的一部分的氨基酸残基(例如,使用Kabat/Chothia的CDR定义)。因此,可变区框架的长度在约100-120个氨基酸之间,但仅包括CDR以外的那些氨基酸。

[0082] 对于HCVR的具体实例和Kabat/Chothia定义的CDR:

[0083] -根据Chothia/AbM的定义,FR1可对应于可变区的涵盖氨基酸1-25的结构域,或根据Kabat的定义在5个残基之后;

[0084] -FR2可对应于可变区的涵盖氨基酸36-49的结构域;

[0085] -FR3可对应于可变区的涵盖氨基酸67-98的结构域;以及

[0086] -FR4可对应于可变区的从氨基酸104-110至可变区末端的结构域。

[0087] 轻链的框架区类似地被LCVR的各CDR分开。在天然存在的抗体中,每个单体抗体上存在的六个CDR是短的非连续的氨基酸序列,当抗体在水性环境中呈现三维构型时,所述氨基酸序列特异性定位以形成抗原结合位点。重链和轻链可变结构域的其余部分显示氨基酸

序列的较小分子间变异性,并且称为框架区。框架区大部分采用 β -折叠构象,并且CDR形成环,这些环连接 β -折叠结构,并且在一些情况下形成 β -折叠结构的一部分。因此,这些框架区作用形成支架,所述支架通过链间非共价相互作用将六个CDR定位在正确的方向。由定位的CDR形成的抗原结合位点限定了与免疫反应性抗原上的表位互补的表面。这个互补表面促进抗体与免疫反应性抗原表位的非共价结合。CDR的位置可由本领域普通技术人员容易地确定。

[0088] “重链区”

[0089] 如本文所用,术语“重链区”包括来源于免疫球蛋白重链的恒定结构域的氨基酸序列。包含重链区的蛋白包含 C_H1 结构域、铰链(例如上、中和/或下铰链区)结构域、 C_H2 结构域、 C_H3 结构域或其变体或片段中的至少一个。在一个实施方案中,本发明的抗体或其结合片段可以包含免疫球蛋白重链的Fc区(例如,铰链部分、 C_H2 结构域和 C_H3 结构域)。在另一个实施方案中,本发明的抗体或其结合片段缺少恒定结构域的至少一个区域(例如, C_H2 结构域的全部或部分)。在某些实施方案中,至少一个且优选所有的恒定区均来源于人免疫球蛋白重链。例如,在一个优选的实施方案中,重链区包含完全的人铰链结构域。在其它优选的实施方案中,重链区包含完全的人Fc区(例如,来自人免疫球蛋白的铰链、 C_H2 和 C_H3 结构域序列)。在某些实施方案中,重链区的组成性恒定结构域来自不同的免疫球蛋白分子。例如,蛋白的重链区可包含来源于IgG1分子的 C_H2 结构域和来源于IgG3或IgG4分子的铰链区。在其它实施方案中,恒定结构域是包含不同免疫球蛋白分子的区域的嵌合结构域。例如,铰链可包含来自IgG1分子的第一区域和来自IgG3或IgG4分子的第二区域。如上所述,本领域普通技术人员理解,可以修饰重链区的恒定结构域,使得它们在氨基酸序列上与天然存在的(野生型)免疫球蛋白分子不同。即,本发明的抗体或其结合片段可以包含对一个或多个重链恒定结构域(C_H1 、铰链、 C_H2 或 C_H3)和/或对轻链恒定结构域(C_L)的改变或修饰。示例性修饰包括在一个或多个结构域中添加、缺失或取代一个或多个氨基酸。

[0090] “铰链区”或“铰链结构域”

[0091] 如本文所用,术语“铰链区”或“铰链结构域”可互换使用,并且包括连接 C_H1 结构域与 C_H2 结构域的免疫球蛋白重链区域。这个铰链区包含约25个残基并且是柔性的,因此允许两个N-末端抗原结合区独立移动。铰链区可细分为三个不同的结构域:上、中和下铰链结构域(Roux等,1998.J Immunol.161(8):4083-90)。在嵌合抗原受体(CAR)中,术语“铰链区”或“铰链结构域”是指连接胞外结合结构域与跨膜结构域的区域。

[0092] “同一性”或“同一的”

[0093] 如本文所用,术语“同一性”或“同一的”当用于两个或更多个氨基酸序列的序列之间、或两个或更多个核酸序列的序列之间的关系时,是指氨基酸序列或核酸序列之间的序列相关性程度,这通过两个或更多个氨基酸残基或核酸残基的片段之间的匹配数目确定。“同一性”测量由特定数学模型或计算机程序(即“算法”)处理的具有空位比对(如果有的话)的两条或更多条序列中较小的序列之间的相同匹配的百分比。

[0094] 相关氨基酸序列或核酸序列的同一性可以通过已知方法容易地计算。这样的方法包括但不限于描述于以下的那些:Lesk,1988.Computational molecular biology: Sources and methods for sequence analysis.New York,NY:Oxford University Press;Smith,1993.Biocomputing:Informatics and genome projects.San Diego,CA:

Academic Press;Griffin&Griffin,1994.Computer analysis of sequence data,Part 1.Totowa,NJ:Humana Press;von Heijne,1987.Sequence analysis in molecular biology:treasure trove or trivial pursuit.San Diego,CA:Academic press; Gribskov&Devereux,1991.Sequence analysis primer.New York,NY:Stockton Press; Carillo et al.,1988.SIAM J Appl Math.48(5):1073-82。

[0095] 设计用于测定同一性的优选方法以在所检测的序列之间给出最大匹配。测定同一性的方法描述在公众可获得的计算机程序中。用于测定两条序列之间同一性的优选的计算机程序方法包括GCG程序包,包括GAP (Genetics Computer Group,University of Wisconsin,Madison,WI;Devereux等,1984.Nucleic Acids Res.12(1Pt 1):387-95)、BLASTP、BLASTN和FASTA(Altschul等,1990.J Mol Biol.215(3):403-10)。BLASTX程序可从美国国家生物技术信息中心(NCBI)和其它来源(BLAST Manual,Altschul等NCB/NLM/NIH Bethesda,Md.20894)由公众获得。也可使用公知的Smith Waterman算法来测定同一性。

[0096] “免疫特异性的”、“特异于”或“特异性结合”

[0097] 如本文所用,如果抗体或其结合片段以可检测水平与抗原(例如hCD45RC)反应,优选以大于或等于约 10^6M^{-1} ,优选大于或等于约 10^7M^{-1} 、 10^8M^{-1} 、 $5 \times 10^8\text{M}^{-1}$ 、 10^9M^{-1} 、 $5 \times 10^9\text{M}^{-1}$ 或更高的亲和常数(K_A),则称其为对所述抗原是“免疫特异性的”、“特异于”所述抗原或“特异性结合”所述抗原。

[0098] 抗体或其结合片段对其关联抗原的亲和力通常也表示为平衡解离常数(K_D)。如果抗体或其结合片段以可检测水平与抗原(例如hCD45RC)反应,优选以小于或等于 10^{-6}M ,优选小于或等于 10^{-7}M 、 $5 \times 10^{-8}\text{M}$ 、 10^{-8}M 、 $5 \times 10^{-9}\text{M}$ 、 10^{-9}M 或更小的 K_D 反应,则其被称为对所述抗原是“免疫特异性的”、“特异于”所述抗原或“特异性结合”所述抗原。

[0099] 抗体或其结合片段的亲和力可以使用常规技术容易地确定,例如Scatchard,1949.Ann NY Acad Sci.51:660-672所述。抗体或其结合片段与抗原、细胞或组织的结合性质通常可以使用免疫检测方法来测定和评估,所述免疫检测方法包括例如ELISA、基于免疫荧光的测定例如免疫组织化学(IHC)和/或荧光激活细胞分选(FACS)或通过表面等离子体共振(SPR,例如使用BIAcore®)。

[0100] “单克隆抗体”

[0101] 如本文所用,术语“单克隆抗体”是指从一群基本上同质的抗体获得的抗体,即,群体中包含的各个抗体是相同的,除了可能以少量存在的可能的天然存在的突变。单克隆抗体是高度特异性的,针对单一抗原位点。此外,与包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相比,每种单克隆抗体针对抗原上的单个决定簇。除了它们的特异性之外,单克隆抗体的优点还在于它们可以在不被其它抗体污染的情况下合成。修饰语“单克隆”不应被解释为需要通过任意特定方法产生抗体。例如,本发明的单克隆抗体或其结合片段可以通过首先由Kohler等,1975.Nature.256(5517):495-7描述的杂交瘤方法制备,或者可以使用重组DNA方法在细菌、真核动物或植物细胞中制备(US专利4,816,567)。“单克隆抗体”也可以使用例如Clackson等,1991.Nature.352(6336):624-8和Marks等,1991.J Mol Biol.222(3):581-97中描述的技术从噬菌体抗体文库中分离。

[0102] “预防”或“防止”或“阻止”

[0103] 如本文所用,术语“预防”、“防止”和“阻止”是指预防性和防止性措施,其中目的是

减少受试者在给定时间段内将要发展病理状况或病症的机率。这样的减少可以反映在例如受试者中病理状况或病症的至少一种症状的延迟发作中。

[0104] “单链可变片段”

[0105] 如本文所用,术语“单链可变片段”,也缩写为“sFv”或“scFv”,是指包含连接成单个氨基酸链的 V_H 和 V_L 抗体结构域的抗原结合结构域。优选地,scFv氨基酸序列在 V_H 和 V_L 结构域之间包含肽接头,使得scFv能够形成抗原结合所需的结构(Plückthun,1994.Antibodies from Escherichia coli.In Rosenberg&Moore(Eds.),The pharmacology of monoclonal antibodies.Handbook of Experimental Pharmacology,113:269-315.Springer:Berlin,Heidelberg)。二价、三价和更高价的scFv,称为串联-di-scFv、串联-tri-scFv等,可以通过将两个、三个或更多个scFv连接在一起来工程化。或者,通过使用对于 V_H 和 V_L 结构域之间来说太短(通常约5至10个氨基酸)的连接肽,可以迫使两个scFv二聚化成双抗体。双抗体更完整地描述于欧洲专利EP 0 404 097、国际专利申请W01993/011161和Holliger et al.,1993.Proc Natl Acad Sci USA.90(14):6444-8。或者,甚至更短的连接肽(通常约1至2个氨基酸)导致scFv三聚体的形成,也称为三抗体或三体(tribody)。

[0106] “受试者”

[0107] 如本文所用,术语“受试者”是指哺乳动物,优选人。在一个实施方案中,受试者可以是“患者”,即温血动物,更优选人,其正在等待接受或正在接受医疗护理或曾经/正/将成为医疗程序的对象,或被监测疾病的发展。术语“哺乳动物”在这里是指任意哺乳动物,包括人、家畜和农场动物以及动物园动物、运动型动物或宠物动物,例如狗、猫、牛、马、绵羊、猪、山羊、兔等。优选地,哺乳动物是灵长类,更优选是人。

[0108] “治疗”或“改善”

[0109] 如本文所用,术语“治疗”或“改善”是指治疗性治疗,不包括预防性或防止性措施;其中目的是减缓(减轻)目标病理状况或病症。需要治疗的那些包括已经患有病症的那些以及怀疑患有病症的那些。如果在接受治疗有效量的本发明的分离的抗体或其结合片段、核酸、表达载体、组合物、药物组合物或药物后,受试者显示可观察到和/或可测量到的以下一种或多种降低或不存在,则认为所述受试者的目标病理状况或病症得到成功“治疗”:CD45RC^高细胞数量减少;CD45RC^高的总细胞的百分比降低;在一定程度上缓解与特定疾病或病况相关的一种或多种症状;发病率和死亡率降低;和/或生活质量问题得到改善。用于评估疾病的成功治疗和改善的上述参数可通过医师熟悉的常规方法容易地测量。

[0110] “可变区”或“可变结构域”

[0111] 如本文所用,术语“可变”是指可变结构域 V_H 和 V_L 的某些区域的序列在抗体之间差异非常大,并且用于每个特定抗体对其靶抗原的结合和特异性的事实。然而,变异性并非均匀分布于抗体的整个可变区。它集中在每个 V_L 结构域和 V_H 结构域中称为“高变环”的三个区段中,所述区段形成抗原结合位点的部分。

[0112] V_L 轻链结构域的第一、第二和第三高变环在本文中称为L1(λ)、L2(λ)和L3(λ),并且可定义为包含 V_L 结构域中的残基24-33(L1(λ),由9、10或11个氨基酸残基组成)、49-53(L2(λ),由3个残基组成)和90-96(L3(λ),由6个残基组成)(Morea等,2000.Methods.20(3):267-79)。

[0113] V_K 轻链结构域的第一、第二和第三高变环在本文中称为L1(κ)、L2(κ)和L3(κ),并

且可定义为包含 V_L 结构域中的残基25-33 (L1 (κ), 由6、7、8、11、12或13个残基组成)、49-53 (L2 (κ), 由3个残基组成) 和90-97 (L3 (κ), 由6个残基组成) (Morea等, 2000.Methods.20(3): 267-79)。

[0114] V_H 结构域的第一、第二和第三高变环在本文中称为H1、H2和H3, 并且可定义为包含 V_H 结构域中的残基25-33 (H1, 由7、8或9个残基组成)、52-56 (H2, 由3或4个残基组成) 和91-105 (H3, 长度高度可变) (Morea等, 2000.Methods.20(3): 267-79)。

[0115] 除非另有说明, 否则术语L1、L2和L3分别指 V_L 结构域的第一、第二和第三高变环, 并涵盖从 V_κ 和 V_λ 同种型获得的高变环。术语H1、H2和H3分别指 V_H 结构域的第一、第二和第三高变环, 并涵盖从任意已知重链同种型, 包括gamma (γ)、mu (μ)、alpha (α)、delta (δ) 或 epsilon (ϵ) 获得的高变环。高变环L1、L2、L3、H1、H2和H3可以各自包含如上文定义的“互补决定区”或“CDR”的一部分。

[0116] “载体”

[0117] 如本文所用, 术语“载体”是指核酸序列可插入其中的载体核酸分子, 用于引入可在其中复制的细胞中。核酸序列可以是“外源的”, 这意味着它对于引入载体的细胞来说是外来的, 或者该序列与细胞中的序列同源, 但在宿主细胞核酸内的位置中通常找不到该序列。载体包括DNA载体、RNA载体、质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、病毒 (例如噬菌体、动物病毒和植物病毒)、粘粒和人工染色体 (例如YAC)。本领域技术人员将有能力通过本领域已知的标准重组技术构建载体。

[0118] 发明详述

[0119] 在第一方面, 本发明涉及特异性结合CD45RC并且优选特异性结合人CD45RC (hCD45RC) 的抗原结合结构域。因此, 本发明的抗原结合结构域是“CD45RC结合结构域”, 并且优选是“hCD45RC结合结构域”。

[0120] 在一个实施方案中, 所述CD45RC结合结构域特异性结合具有SEQ ID NO:1的hCD45RC。

[0121]

SEQ ID NO: 1

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTDVPGERSTASTFPTDPVSPLTTTSL
AHHSSAALPARTSNTTITANTSDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTTIATTPSKPTCDEKYA

[0122]

NITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAP
DKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITYRFQCGNMIFD
NKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVIT
WNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKDYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRN
GSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERYHLEVEAGN
TLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAF
LIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRR
IADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGS
NYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVIVMVTRCEEGRNKNK
AEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFTSWP
DHGVPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTIYIGIDAMLEGLEAENKV
DVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVLNSELHPYLHNMMKKRD
PPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSK
ESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRK
VKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDLKDTDKSSTYTLRVFELRHSCR
KDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGKHHKSTPLLIHC
RDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIAS
YPAQNGQVKKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTS
GTEGPEHSVNGPASPALNQGS

[0123] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域特异性结合hCD45RC的胞外结构域。在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域特异性结合存在于hCD45RC的胞外结构域上的至少一个表位。

[0124] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域特异性结合由hCD45的外显子6编码的C决定簇。在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域特异性结合由hCD45的外显子6编码的C决定簇上的至少一个表位。

[0125] 在一个实施方案中,由hCD45的外显子6编码的C决定簇的氨基酸序列包含SEQ ID NO:2或由SEQ ID NO:2组成。

[0126]

SEQ ID NO: 2

DVPGERSTASTFPTDPVSPLTTTSLAHSSAALPARTSNTTITANTS

[0127] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域特异性结合至少一个表位,所述至少一个表位包含与SEQ ID NO:2或其片段具有至少约70%,优选至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列,或由其组成。

[0128] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域特异性结合至少一个表位,所述至少一个表位包含SEQ ID NO:2的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46或47个氨基酸,或由其组成;或包含与SEQ ID NO:2具有至少约70%,优选至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列

的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46或47个氨基酸,或由其组成。

[0129] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域特异性结合至少一个表位,所述至少一个表位包含SEQ ID NO:2的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46或47个连续氨基酸,或由其组成;或包含与SEQ ID NO:2具有至少约70%,优选至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的序列的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46或47个连续氨基酸,或由其组成。

[0130] 在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:2或由SEQ ID NO:2组成的所述至少一个表位的片段包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46或47个氨基酸残基,优选连续氨基酸残基,或由其组成。

[0131] 在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:2或由SEQ ID NO:2组成的所述至少一个表位的片段包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46或47个氨基酸残基或由其组成,所述氨基酸残基分布于包含SEQ ID NO:2或由SEQ ID NO:2组成的序列的10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、73、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、1000、1010、1020、1030、1040、1050、1060、1070、1080、1090、1100或更多个连续氨基酸残基中。

[0132] 在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:2的序列是SEQ ID NO:1所示的hCD45RC的序列。

[0133] 在一个实施方案中,包含SEQ ID NO:2的序列是hCD45的序列,也称为hCD45RABC(即,包含A、B和C决定簇),如SEQ ID NO:3中所示,对应于UniProt登录号P08575-3。

[0134]

SEQ ID NO: 3

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVPLSSDPLPHTTTAFSP
 ASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPDSLNASAFNTTGVSSVQTPHLPHTHADSQTPS
 AGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDVPGERSTASTFPTDPVSPLTTTTSLAHSSAA
LPARTSNTTITANTSDAYLNASETTTSLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYL
 YNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAPDKTLILD
 VPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLE
 NLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRS
 FHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMC
 HFTTKSAPPSQVWNMTVSMSTDNSMHVKCRPPDRNGPHERYHLEVEAGNTLVRNES
 HKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIA

[0135]

LLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEGR
 LFLAEFQSIPRVFSKFPKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINAS
 YIDGFKPRKYIAAQGPRDETVDDEFWRMIWEQKATVIVMVTRCEEGRNKAECYWP
 MEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFTSWPDHGVPE
 DPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTYIGIDAMLEGLEAENKVDVYGY
 VVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSELHPYLHNMKKRDPPSEPS
 PLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEHDS
 DESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRKVKVIVM
 LTELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDLKDTSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVY
 QYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGKHHKSTPLLIHCRDGSQQT
 GIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQ
 VKKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHS
 VNGPASPALNQGS

[0136] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合由hCD45的外显子4编码的A决定簇。在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合由hCD45的外显子4编码的A决定簇上的至少一个表位。

[0137] 在一个实施方案中,由hCD45的外显子4编码的A决定簇的氨基酸序列包含SEQ ID NO:4或由SEQ ID NO:4组成。

[0138]

SEQ ID NO: 4

GLTTAKMPSVPLSSDPLPHTTTAFSPASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPDSLNAS
 AFNTT

[0139] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合由hCD45的外显子5编码的B决定簇。在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合由hCD45的外显子5编码的B决定簇上的至少一个表位。

[0140] 在一个实施方案中,由hCD45的外显子4编码的B决定簇的氨基酸序列包含SEQ ID NO:5或由SEQ ID NO:5组成。

[0141]

SEQ ID NO: 5

GVSSVQTPHLPHTHADSQTPSAGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAIS

[0142] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合hCD45RA。在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合hCD45RA的至少一个表位。

[0143] 在一个实施方案中,hCD45RA的氨基酸序列包含SEQ ID NO:6或由SEQ ID NO:6组成,SEQ ID NO:6对应于UniProt登录号P08575-8。

[0144]

SEQ ID NO: 6

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVPLSSDPLPHTHTTAFSP
ASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPDSLNASAFNTTDAYLNASETTTLSPSGSAVIS
TTTIATTPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNL
TECKNASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTC
DTQNITYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPG
EPQIIFCRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKDYDLQNLKPYT
KYVLSLHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRD
RNGPHERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFIL
HHSTSYNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLM
NVEPIHADILLETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQKNRYVDILPY
DYNRVELSEINGDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATV
IVMVTRCEEGRNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLIVNKKKEK
ATGREVTHIQFTSWPDHGVDPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTYY
GIDAMLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVN
LSELHPYLHNMKKRDPPEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPY
DYNRVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPL
KETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDLKDSTDKS
STYTLRVFELRHRSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLQKNSS
EGNKHKKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVS
TFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEK
LPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS

[0145] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合hCD45RB。在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合hCD45RB的至少一个表位。

[0146] 在一个实施方案中,hCD45RB的氨基酸序列包含SEQ ID NO:7或由SEQ ID NO:7组成,SEQ ID NO:7对应于UniProt登录号P08575-9。

[0147]

SEQ ID NO: 7

[0148]

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGVSSVQTPHLPTHADSQTPTSAGTDT
QTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTCDEKYA
NITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHNSCTAP
DKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITYRFQCGNMIFD
NKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQIIFCRSEAAHQGVIT
WNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIAKVQRN
GSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPDRNGPHERYHLEVEAGN
TLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKALIAFLAF
LIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRK
IADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGS
NYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVIVMVTRCEEGRNKNK
AEYWPSMEEGTRAFGDVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQFTSWP
DHGVPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRGTGTIYIGIDAMLEGLEAENKV
DVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSELHPYLHNMKKRD
PPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSK
ESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQMIFQRK
VKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDLKDSDKSSTYTLRVFELRHSKR
KDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGKHHKSTPLLIHC
RDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIAST
YPAQNGQVKKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTS
GTEGPEHSVNGPASPALNQGS

[0149] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合hCD45RAB。在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合hCD45RAB的至少一个表位。

[0150] 在一个实施方案中,hCD45RAB的氨基酸序列包含SEQ ID NO:8或由SEQ ID NO:8组成,SEQ ID NO:8对应于UniProt登录号P08575-5。

[0151]

SEQ ID NO: 8

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTGLTTAKMPSVPLSSDPLPHTTAFSP
ASTFERENDFSETTTSLSPDNTSTQVSPDSLNASAFNTTGVSSVQTPHLPTHADSQTPTS
AGTDTQTFSGSAANAKLNPTPGSNAISDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIATTPSKPTC
DEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLNVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKNASVSISHN
SCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNITYRFQCG

[0152]

NMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQIIFCRSEAAH
QGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKDYDLQNLKPYTKYVLSLHAYIIA
KVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPHERYHLE
VEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTSYNSKAL
IAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLE
TYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNRVELSEIN
GDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDEFWRMIWEQKATVIVMVTRCEE
NRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGREVTHIQ
FTSWPDHGVPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRGTGYIGIDAMLEGLE
AENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSLHPYLNH
MKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHE
LEMSKESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQM
IFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDLKDSDKSSTYTLRVFELR
HSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGNKHHKSTPL
LIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDV
IASTYPAQNGQVKKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPPEAKEQAEGS
EPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS

[0153] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域不结合hCD45R0。在一个实施方案中,CD45RC结合结构域不结合hCD45R0的至少一个表位。

[0154] 在一个实施方案中,hCD45R0的氨基酸序列包含SEQ ID NO:9或由SEQ ID NO:9组成,SEQ ID NO:9对应于UniProt登录号P08575-4。

[0155]

SEQ ID NO: 9

MTMYLWLKLLAFGFAFLDTEVFVTGQSPTPSPTDAYLNASETTTLSPSGSAVISTTTIAT
TPSKPTCDEKYANITVDYLYNKETKLFTAKLVNENVECGNNTCTNNEVHNLTECKN
ASVSISHNSCTAPDKTLILDVPPGVEKFQLHDCTQVEKADTTICLKWKNIETFTCDTQNI
TYRFQCGNMIFDNKEIKLENLEPEHEYKCDSEILYNNHKFTNASKIIKTDFGSPGEPQIIF
CRSEAAHQGVITWNPPQRSFHNFTLCYIKETEKDCLNLDKNLIKDYDLQNLKPYTKYVLS
LHAYIIAKVQRNGSAAMCHFTTKSAPPSQVWNMTVSMTSDNSMHVKCRPPRDRNGPH
ERYHLEVEAGNTLVRNESHKNCDFRVKDLQYSTDYTFKAYFHNGDYPGEPFILHHSTS
YNSKALIAFLAFLIIVTSIALLVVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPI
HADILLETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPIKEARKPFNQKNRYVDILPYDYNR
VELSEINGDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDDEFWRMIWEQKATVIVMV

[0156]

```

TRCEEGNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEKATGR
EVTHIQFTSWPDHGVDPEDPHLLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVVHCSAGVGRGTGYIGIDA
MLEGLEAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSEL
HPYLHNMMKKRDPPEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYN
RVPLKHELEMSKESEHDSDESSDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETI
GDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEKGQTYGDIEVDLKDSDKSSTYT
LRVFELRHSSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGNK
HHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQ
YQFLYDVIASTYPAQNGQVKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEA
KEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS

```

[0157] 在一个实施方案中,至少一个表位是构象表位。在另一个实施方案中,至少一个表位是连续表位。

[0158] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域以约 5×10^{-7} M或更低、优选约 2.5×10^{-7} M或更低、约 1×10^{-7} M或更低、约 7.5×10^{-8} M或更低、约 5×10^{-8} M或更低、约 2.5×10^{-8} M或更低、约 1×10^{-8} M或更低、约 7.5×10^{-9} M或更低、约 5×10^{-9} M或更低、约 2.5×10^{-9} M或更低、约 1×10^{-9} M或更低的平衡解离常数(K_d)结合hCD45RC,如可以通过例如Biacore在固定的hCD45RC上测定。

[0159] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域以小于10nM,例如9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM或更小的 K_d 结合hCD45RC,如可以通过例如Biacore在固定的hCD45RC上测定。在一个实施方案中,CD45RC结合结构域以约2.24nM的 K_d 与hCD45RC结合,通过Biacore在固定的hCD45RC上测定。

[0160] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域以约 $1 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高、优选约 $5 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高、约 $1 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高、约 $2.5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高、约 $5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高的结合速率(K_{on})与hCD45RC结合。

[0161] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域以约 $5 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低、优选约 $4 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低、约 $3 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低、约 $2 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低、约 $1.5 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低的解离速率(k_{off})与hCD45RC结合。

[0162] 在一个实施方案中,所述CD45RC结合结构域以下列至少一项、优选以下列至少两项、更优选以下列三项与hCD45RC结合:

[0163] -平衡解离常数(K_d)为约 5×10^{-7} M或更低,优选约 2.5×10^{-7} M或更低、约 1×10^{-7} M或更低、约 7.5×10^{-8} M或更低、约 5×10^{-8} M或更低、约 1×10^{-8} M或更低;

[0164] -结合速率(K_{on})为约 $1 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高,优选约 $5 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高、约 $1 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高、约 $2.5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高、约 $5 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ 或更高;以及

[0165] -解离速率(k_{off})为约 $5 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低,优选约 $4 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低、约 $3 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低、约 $2 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低、约 $1.5 \times 10^{-2} \text{sec}^{-1}$ 或更低。

[0166] 用于测定抗原结合结构域或抗体对其配体的亲和力(包括例如测定 K_d 、 K_{off} 和 K_{on})的方法是本领域公知的,并且包括但不限于表面等离子体共振(SPR)、荧光激活细胞分选(FACS)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、AlphaLISA和KinExA。

[0167] 一种优选的方法是 **BIAcore®**, 它依赖于使用固定的CD45RC进行SPR来确定抗原结合结构域或抗体的亲和力。

[0168] 在一个实施方案中, CD45RC结合结构域是分离的CD45RC结合结构域。

[0169] “分离的”是指CD45RC结合结构域基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗原结合结构域; 换句话说, CD45RC结合结构域基本上不含特异性结合CD45RC以外的抗原的抗原结合结构域。然而, 分离的CD45RC结合结构域可与其他抗原, 特别是来自其他物种的CD45RC蛋白具有交叉反应性。此外, 分离的CD45RC结合结构域可以基本上不含其他细胞材料和/或化学物质, 特别是会干扰CD45RC结合结构域的诊断或治疗用途的那些, 包括但不限于酶、激素和其他蛋白性或非蛋白性成分。

[0170] 在一个实施方案中, 分离的CD45RC结合结构域因此是纯化的。

[0171] 在一个实施方案中, 将分离的CD45RC结合结构域纯化为:

[0172] (1) 通过Lowry法测定, 以重量计大于80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%或以上的CD45RC结合结构域, 最优选以重量计大于96%、97%、98%或99%;

[0173] (2) 通过使用旋转杯测序仪足以获得N-末端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度; 或

[0174] (3) 在还原或非还原条件下并使用考马斯蓝或优选银染色通过SDS-PAGE所示的均一性。

[0175] 在一个实施方案中, 抗原结合结构域是选自包含以下或由以下组成的组的分子: 单链抗体、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH和F(ab')₂。

[0176] 在一个实施方案中, 抗原结合结构域是单链抗体。在一个实施方案中, 单链抗体选自包含以下或由以下组成的组: 单链可变片段(scFv)、串联-di-scFv、串联-tri-scFv、scFv-Fc、(scFv-C_H3)₂ (也称为minibody)、(scFv-C_H2-C_H3)₂ (也称为maxibody)、双抗体和三抗体。

[0177] 在一个实施方案中, 抗原结合结构域是scFv。

[0178] 在一个实施方案中, scFv包含V_H和V_L结构域之间的接头, 其使得scFv能够形成用于抗原结合的所需结构。在一个实施方案中, 接头是短多肽, 优选具有2至25个氨基酸的长度。

[0179] 例如, 甘氨酸-丝氨酸接头提供特别合适的接头。甘氨酸-丝氨酸接头的实例包括但不限于(GS)_n接头、(G₂S)_n接头、(G₃S)_n接头、(G₄S)_n接头等; 其中n是正整数。在一个实施方案中, n等于1、2、3、4、5或更大。

[0180] 甘氨酸-丝氨酸接头的具体实例包括但不限于SEQ ID NO:30-39。

[0181]

EQ ID NO: 30
GGGS
SEQ ID NO: 31
GGSGGGS
SEQ ID NO: 32
GGSGGGS
SEQ ID NO: 33
GGSGGGS
SEQ ID NO: 34
GGSGGGS
SEQ ID NO: 35
GGGS
SEQ ID NO: 36
GGSGGGS

[0182]

SEQ ID NO: 37
GGSGGGS
SEQ ID NO: 38
GGSGGGS
SEQ ID NO: 39
GGSGGGS

[0183] 在下文中,除非另外明确提及,否则CDR编号和定义均根据Kabat/Chothia定义。

[0184] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含重链可变区(HCVR),该HCVR包含至少一个、优选至少两个、更优选以下三个CDR:

[0185] V_H -CDR1:NYIIG(SEQ ID NO:10);

[0186] V_H -CDR2:DIFPGDYANYNEKFQG(SEQ ID NO:11);和

[0187] V_H -CDR3:RNFDY(SEQ ID NO:12)。

[0188] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含HCVR,该HCVR包含以下三个CDR:

[0189] V_H -CDR1:NYIIG(SEQ ID NO:10);

[0190] V_H -CDR2:DIFPGDYANYNEKFQG(SEQ ID NO:11);和

[0191] V_H -CDR3:RNFDY(SEQ ID NO:12)。

[0192] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含轻链可变区(LCVR),该LCVR包含至少一个、优选至少两个、更优选以下三个CDR:

[0193] V_L -CDR1:RASVS-X-YMH(SEQ ID NO:13);

[0194] V_L -CDR2:NTANLPS(SEQ ID NO:14);和

[0195] V_L -CDR3:QQRSSYPLTF(SEQ ID NO:15)。

[0196] 其中X不存在或者选自包含Asn(N)、Ser(S)和Gly(G)或由其组成的组,优选地,X不存在。

- [0197] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含LCVR,该LCVR包含以下三个CDR:
- [0198] V_L -CDR1:RASSSVS-X-YMH(SEQ ID NO:13);
- [0199] V_L -CDR2:NTANLPS(SEQ ID NO:14);和
- [0200] V_L -CDR3:QQRSSYPLTF(SEQ ID NO:15)。
- [0201] 其中X不存在或者选自包含Asn(N)、Ser(S)和Gly(G)或由其组成的组,优选地,X不存在。
- [0202] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含:
- [0203] -HCVR,其包含至少一个、优选至少两个、更优选以下三个CDR:
- [0204] V_H -CDR1:NYIIG(SEQ ID NO:10);
- [0205] V_H -CDR2:DIFPGGDYANYNEKFQG(SEQ ID NO:11);和
- [0206] V_H -CDR3:RNFDY(SEQ ID NO:12);和
- [0207] -LCVR,其包含至少一个、优选至少两个、更优选以下三个CDR:
- [0208] V_L -CDR1:RASSSVS-X-YMH(SEQ ID NO:13);
- [0209] V_L -CDR2:NTANLPS(SEQ ID NO:14);和
- [0210] V_L -CDR3:QQRSSYPLTF(SEQ ID NO:15)。
- [0211] 其中X不存在或者选自包含Asn(N)、Ser(S)和Gly(G)或由其组成的组,优选地,X不存在。
- [0212] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含:
- [0213] -HCVR,其包含以下三个CDR:
- [0214] V_H -CDR1:NYIIG(SEQ ID NO:10);
- [0215] V_H -CDR2:DIFPGGDYANYNEKFQG(SEQ ID NO:11);和
- [0216] V_H -CDR3:RNFDY(SEQ ID NO:12);和
- [0217] -LCVR,其包含以下三个CDR:
- [0218] V_L -CDR1:RASSSVS-X-YMH(SEQ ID NO:13);
- [0219] V_L -CDR2:NTANLPS(SEQ ID NO:14);和
- [0220] V_L -CDR3:QQRSSYPLTF(SEQ ID NO:15)。
- [0221] 其中X不存在或者选自包含Asn(N)、Ser(S)和Gly(G)或由其组成的组,优选地,X不存在。
- [0222] 在一个实施方案中,如上文定义的 V_H -CDR1、 V_H -CDR2、 V_H -CDR3、 V_L -CDR1、 V_L -CDR2和/或 V_L -CDR3中的任一个可被表征为具有与如上文定义的特定CDR或CDR组具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高同一性的氨基酸序列,同时CD45RC结合结构域保留其整体功能特性,特别是其对CD45RC、优选hCD45RC的结合特异性。
- [0223] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含HCVR,该HCVR包含至少一个、优选至少两个、更优选至少三个、甚至更优选以下四个框架区(FR):
- [0224] V_H -FR1:QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT(SEQ ID NO:16);
- [0225] V_H -FR2:WVRQAPGQGLEWIG(SEQ ID NO:17);
- [0226] V_H -FR3:RVTLTADTSISTAYMELSRSLRSDDTVVYYCVR(SEQ ID NO:18);
- [0227] V_H -FR4:WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:19)。
- [0228] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含HCVR,该HCVR包含以下四个FR:

- [0229] V_H -FR1: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT (SEQ ID NO:16);
- [0230] V_H -FR2: WVRQAPGQGLEWIG (SEQ ID NO:17);
- [0231] V_H -FR3: RVTLTADTSISTAYMELSRLRSDDTVVYYCVR (SEQ ID NO:18);
- [0232] V_H -FR4: WGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:19)。
- [0233] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含LCVR,该LCVR包含至少一个、优选至少两个、更优选至少三个、甚至更优选以下四个FR:
- [0234] V_L -FR1: DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:20);
- [0235] V_L -FR2: WYQQKPGKAPKLWIY (SEQ ID NO:21);
- [0236] V_L -FR3: GVPSRFSGSGSGTE-X-TLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:22);
- [0237] V_L -FR4: GGGTKVEIK (SEQ ID NO:23)
- [0238] 其中X选自包含Tyr (Y) 和Phe (F) 或由其组成的组,优选地,X为Tyr (Y)。
- [0239] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含LCVR,该LCVR包含以下四个FR:
- [0240] V_L -FR1: DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:20);
- [0241] V_L -FR2: WYQQKPGKAPKLWIY (SEQ ID NO:21);
- [0242] V_L -FR3: GVPSRFSGSGSGTE-X-TLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:22);
- [0243] V_L -FR4: GGGTKVEIK (SEQ ID NO:23),
- [0244] 其中X选自包含Tyr (Y) 和Phe (F) 或由其组成的组,优选地,X为Tyr (Y)。
- [0245] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含HCVR,该HCVR包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列或由其组成。
- [0246] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含HCVR,该HCVR包含具有SEQ ID NO:10、11和12的三个CDR,和与SEQ ID NO:24的框架区具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性的框架区。

SEQ ID NO: 24

- [0247] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYIGWVRQAPGQGLEWIGDIFPGGDY
ANYNEKFQGRVTLTADTSISTAYMELSRLRSDDTVVYYCVRRNFDYWGQGT LVT VSS

- [0248] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含LCVR,该LCVR包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列或由其组成。
- [0249] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域包含LCVR,该LCVR包含具有SEQ ID NO:13、14和15的三个CDR,和与SEQ ID NO:25的框架区具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性的框架区,其中:
- [0250] - X_1 不存在或者选自包含Asn (N)、Ser (S) 和Gly (G) 或由其组成的组,优选地, X_1 不存在;和
- [0251] - X_2 选自包含Tyr (Y) 和Phe (F) 或由其组成的组,优选地, X_2 为Tyr (Y)。

SEQ ID NO: 25

- [0252] DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASSVS- X_1 -
YMHWYQQKPGKAPKLWIYNTANLPSGVPSRFSGSGSGTE- X_2 -
TLTISLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

- [0253] 在一个实施方案中, X_1 不存在并且 X_2 是 Tyr (Y)。
- [0254] 在一个实施方案中, CD45RC 结合结构域包含:
- [0255] -HCVR, 其包含 SEQ ID NO:24 的氨基酸序列或由 SEQ ID NO:24 的氨基酸序列组成; 和
- [0256] -LCVR, 其包含 SEQ ID NO:25 的氨基酸序列或由 SEQ ID NO:25 的氨基酸序列组成。
- [0257] 在一个实施方案中, CD45RC 结合结构域包含:
- [0258] -HCVR, 其包含具有 SEQ ID NO:10、11 和 12 的三个 CDR, 和与 SEQ ID NO:24 的框架区具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高的序列同一性的框架区; 和
- [0259] -LCVR, 其包含具有 SEQ ID NO:13、14 和 15 的三个 CDR, 和与 SEQ ID NO:25 的框架区具有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高的序列同一性的框架区。
- [0260] 在一个实施方案中, 如上文所定义的 HCVR 和/或 LCVR 可以表征为具有与如上文所定义的特定 HCVR 和/或 LCVR 共有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高的同一性的氨基酸序列, 同时 CD45RC 结合结构域保留其整体功能特性, 特别是其对 CD45RC、优选对 hCD45RC 的结合特异性。
- [0261] 在一个实施方案中, 如上文所定义的 HCVR 和/或 LCVR 的框架区的序列可以表征为具有与如上文所定义的特定 HCVR 和/或 LCVR 的框架区序列共有至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高的同一性的氨基酸序列, 同时 CD45RC 结合结构域保留其整体功能特性, 特别是其对 CD45RC、优选对 hCD45RC 的结合特异性。
- [0262] 在一个实施方案中, CD45RC 结合结构域结合至有效负载 (payload), 任选地通过接头结合。
- [0263] 合适的有效负载的实例包括但不限于肽、多肽、蛋白、聚合物、核酸分子、小分子、模拟剂 (mimetic agent)、合成药物、无机分子、有机分子和放射性同位素。
- [0264] 或者或另外, 合适的有效负载的实例包括但不限于化疗剂、靶向治疗剂 (targeted therapy agent)、细胞毒性剂 (或细胞毒素)、细胞周期同步剂 (cell cycle-synchronizing agent)、细胞受体的配体、免疫调节剂、促凋亡剂、裂解肽、抗血管生成剂、细胞因子、生长因子、激素、编码或非编码寡核苷酸、光检测标记、造影剂、放射性标记等。
- [0265] 显然, 一些有效负载可能属于多个类别。
- [0266] 在一个实施方案中, 有效负载是化疗剂。如本文所用, 术语“化疗剂”是指有效抑制肿瘤生长的任何分子。
- [0267] 化疗剂的合适实例包括在解剖治疗化学分类系统 (Anatomical Therapeutic Chemical Classification System) 的子组 L01 下描述的那些。
- [0268] 化疗剂的合适实例包括但不限于:
- [0269] -烷化剂, 例如:
- [0270] ■ 氮芥类, 包括氮芥 (chlormethine)、环磷酰胺、异环磷酰胺、曲磷胺、苯丁酸氮芥、美法仑、泼尼松氮芥、苯达莫司汀、乌拉莫司汀 (uramustine)、萘氮芥、氯磷酰胺、雌莫司汀、氮芥 (mechlorethamine)、氮芥氧化物盐酸盐、新恩比兴、苯芥胆甾醇 (phenesterine)、乌拉莫司汀 (uracil mustard) 等;

[0271] ■亚硝基脲类,包括卡莫司汀、洛莫司汀、司莫司汀、福莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀、链脲霉素(streptozocin)、氯脲菌素(chlorozotocin)等;

[0272] ■烷基磺酸盐类,包括白消安、甘露舒凡、曲奥舒凡等;

[0273] ■氮丙啶类,包括卡波醌、噻替派、三亚胺醌、三乙撑蜜胺、苯并多巴(benzodopa)、美妥替哌(meturedopa)、乌瑞替哌(uredopa)等;胍,包括丙卡巴胍等;

[0274] ■三氮烯类,包括达卡巴嗪、替莫唑胺等;亚乙基亚胺类和甲基蜜胺类,包括六甲蜜胺、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代亚磷酰胺(triethylenethiophosphoramide)、三羟甲基蜜胺等;

[0275] ■以及其它,包括丝裂布醇(mitobronitol)、哌泊溴烷、放线菌素、博来霉素、丝裂霉素(包括丝裂霉素C等)、普卡霉素等;

[0276] -多聚乙酰类(acetogenins),例如布拉它辛、布拉它辛酮等;

[0277] -苯并二氮杂类,例如2-氧代夸西泮、3-羟基西那西泮、溴西泮、卡马西泮、卡布西泮、利眠宁(chlordiazepoxide)、西那西泮、西诺西泮、氯硝西泮、cloniprazepam、氯拉卓酸、环丙西泮、地洛西泮、去甲西泮、去甲基氟硝西泮、地伐西匹、地西泮、地克拉西泮(diclazepam)、二氟地西泮(difludiazepam)、度氟西泮、依法西泮、乙卡氟特、地卓乙酯、氯氟卓乙酯、氟溴西泮(flubromazepam)、氟乙西泮、氟地西泮、氟硝西泮、氟西泮、氟太西泮、氟托西泮、磷定安、吉达西泮、哈拉西泮、伊氯西泮、irazepine、kenazepine、凯他唑仑、劳拉西泮、氯甲西泮、鲁夫拉朵、甲氯西泮、美达西泮、甲硝西泮、美他西泮、莫曲西泮、N-脱烷基氟西泮、nifoxipam、硝甲西泮、nitemazepam、硝西泮、硝卓酸钾、去甲西泮、诺替西泮、奥沙西泮、芬纳西泮、匹那西泮、匹伏西泮、普拉西泮、丙氟西泮、夸西泮、QH-II-66、瑞氯西泮、R04491533、Ro5-4864、SH-I-048A、硫西泮、羟基安定、四氢西泮、替氟朵、甲磺西泮、triflunordazepam、妥氯西泮、乌达西泮、阿芬达占、氧异安定、CP-1414S、洛芬达占、三氟巴占、吉立索泮、GYKI-52466、GYKI-52895、奈立索泮、他仑帕奈、托非索泮、阿的纳唑仑、阿普唑仑、溴唑仑、clonazepam、艾司唑仑、氟阿普唑仑、氟溴唑仑、氟硝唑仑(flunitrazepam)、硝唑仑、吡唑仑、三唑仑、溴他西尼、氯马唑仑、EVT-201、FG-8205、氟马西尼、GL-II-73、米达西尼、123I-碘西尼、L-655,708、氯普唑仑、咪达唑仑、PWZ-029、瑞马唑仑、Ro15-4513、Ro48-6791、Ro48-8684、Ro4938581、沙马西尼、SH-053-R-CH3-2'F、氯恶唑仑、氟他唑仑、卤恶唑仑、美沙唑仑、奥沙唑仑、苯他西泮、氯噻西泮、溴替唑仑、环氯唑仑、去氯依替唑仑、依替唑仑、氟菊唑仑(fluclozepam)、伊拉帕泛(israpafant)、JQ1、美替唑仑(metizolam)、奥氮平、替仑西平、氯吡西泮、扎吡唑仑、雷唑巴占、利帕扎泮、唑拉西泮、唑美巴占、佐美他平、普瑞西泮、克拉唑仑、蒽霉素、阿维扎封、利马扎封等;

[0278] -抗代谢类,例如:

[0279] ■抗叶酸剂,包括氨基蝶呤、甲氨蝶呤、培美曲塞、普拉曲沙、蝶罗替罗、雷替曲塞、二甲叶酸(denopterin)、三甲曲沙、培美曲塞等;

[0280] ■嘌呤类似物,包括喷司他丁、克拉屈滨、氯法拉滨、氟达拉滨、奈拉滨、硫鸟嘌呤、疏嘌呤等;

[0281] ■嘧啶类似物,包括氟尿嘧啶、卡培他滨、多西氟尿嘧啶(doxifluridine)、替加氟、替加氟/吉美拉西/奥替拉西、卡莫氟、氟尿苷、阿糖胞苷、吉西他滨、氮杂胞苷、地西他滨等;以及

- [0282] ■羟基脲;
- [0283] -雄激素类,例如卡普睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯等;
- [0284] -抗肾上腺素,例如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦等;
- [0285] -叶酸补充剂,例如,亚叶酸等;
- [0286] -美登素类,例如美登素、安丝菌素等;
- [0287] -铂类似物,例如铂、卡铂、顺铂、双环铂、奈达铂、奥沙利铂、沙替铂等;
- [0288] -抗激素剂,例如:
- [0289] ■抗雌激素剂,包括他莫昔芬、雷洛昔芬、芳香酶抑制性4(5)-咪唑类、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮、托瑞米芬等;
- [0290] ■抗雄激素剂,包括氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林、戈舍瑞林等;
- [0291] -单端孢霉烯类,例如T-2毒素、疣孢菌素A、杆孢菌素A、蛇形菌素等;
- [0292] -类毒素,例如卡巴他赛、多西他赛、拉罗他赛、奥他赛、紫杉醇、替司他赛等;
- [0293] -拓扑异构酶I抑制剂,例如贝洛替康、喜树碱、考尔替康、依替诺替康培醇(etirinotecan pegol)、依沙替康、吉马替康、伊立替康、勒托替康、卢托替康、硅泰替康、托泊替康等;
- [0294] -拓扑异构酶II抑制剂,例如依托泊苷、替尼泊苷等;
- [0295] -其他,例如,如喜树碱(包括合成类似物托泊替康);苔藓抑素;卡利他汀(callystatin);CC-1065(包括其阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物);隐藻素(包括隐藻素1和隐藻素8);多拉司他汀;多卡霉素(duocarmycin)(包括其合成类似物KW-2189和CBI-TMI);五加苷素(eleutherobin);水鬼蕉碱(pancratistatin);匍枝珊瑚醇(sarcodictyin);海绵抑素;阿克那霉素;安曲霉素;重氮丝氨酸;博来霉素;放线菌素;卡拉霉素;洋红霉素;嗜癌素(carzinophilin);色霉素;更生霉素;道诺霉素;地托霉素;6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸;多柔比星(包括吗啉代-多柔比星、氰基吗啉-多柔比星、2-吡咯啉-多柔比星、脱氧多柔比星等);表柔比星;依索比星;伊达比星;马塞罗霉素;霉酚酸;诺加霉素;橄榄霉素;培洛霉素;泊非霉素(potfiromycin);嘌呤霉素;三铁阿霉素(quelamycin);罗红霉素;链球菌素(streptomycin);链佐星;杀结核菌素;乌苯美司;净司他丁;佐柔比星;醋葡醛内酯;醛磷酸胺糖苷(aldophospharnide glycoside);氨基乙酰丙酸;安吡啶;倍思塔布(bestrabucil);比生群(bisantrene);依达曲沙;地磷酰胺(defofamine);地美可辛;地吡醌;依氟鸟氨酸(elfornithine);依利醋铵;埃博霉素;依托格鲁(etoglucid);硝酸镓;羟基脲;香菇多糖(lentinan);氯尼达明;米托胍脲;米托蒽醌;莫派达醇;尼曲吡啶(nitracrine);蛋氨酸芥;吡柔比星;鬼臼酸;2-乙基酰胺;PSK®;雷佐生;根霉菌素;西佐喃;锗螺胺(spirogennanium);细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid);2,2',2''-三氯三乙醇胺(2,2',2''-trichlorotriethylamine);乌拉坦(urethan);长春地辛;达卡巴嗪;甘露醇氮芥;丝溴酮(mitobromtol);二溴卫矛醇;派泊溴烷;加西托新(gacytosine);阿糖胞苷;6-硫鸟嘌呤;长春碱;依托泊苷;长春新碱;长春瑞滨;诺维本;米托蒽醌;替尼泊苷;道诺霉素;卡培他滨(xeloda);伊班膦酸盐;CPT-11;拓扑异构酶抑制剂RFS2000;拓扑异构酶I抑制剂SN38;二氟甲基鸟氨酸;视黄酸等。
- [0296] 在一个实施方案中,有效负载是靶向治疗剂。
- [0297] 如本文所用,术语“靶向治疗剂”是指目标为参与肿瘤发生、肿瘤进展、肿瘤转移、

肿瘤细胞增殖、细胞修复等的一个或多个特定靶分子(例如蛋白)的任意分子。

[0298] 靶向治疗剂的合适实例包括但不限于酪氨酸激酶抑制剂、丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂、单克隆抗体等。

[0299] 靶向治疗剂的合适实例包括但不限于HER1/EGFR抑制剂(例如布加替尼、厄洛替尼、吉非替尼、奥姆替尼、奥希替尼、罗西替尼、凡德他尼等);HER2/neu抑制剂(例如阿法替尼、拉帕替尼、来那替尼等);C-kit和PDGFR抑制剂(例如阿西替尼、马替尼、帕唑帕尼、舒尼替尼、索拉非尼、托塞尼布等);FLT3抑制剂(例如来他替尼等);VEGFR抑制剂(例如阿西替尼、西地尼布、乐伐替尼、尼达尼布(nintedanib)、帕唑尼布、瑞戈非尼、塞马尼布、索拉非尼、舒尼替尼、替沃扎尼、托塞尼布、凡德他尼等);RET抑制剂(例如凡德他尼、恩曲替尼等);c-MET抑制剂(例如卡博替尼等);bcr-abl抑制剂(例如伊马替尼、达沙替尼、尼罗替尼、普纳替尼、拉多替尼等);Src抑制剂(例如,伯舒替尼、达沙替尼等);Janus激酶抑制剂(例如,来他替尼、莫洛替尼、鲁索替尼(ruxolitinib)、帕瑞替尼等);MAP2K抑制剂(例如,科比替尼(cobimetinib)、司美替尼(selumetinib)、曲美替尼(trametinib)、比尼替尼等);EML4-ALK抑制剂(例如,艾来替尼、布加替尼、色瑞替尼、克唑替尼等);Bruton抑制剂(例如依鲁替尼等);mTOR抑制剂(例如依维莫司、替西罗莫司等);Hedgehog抑制剂(例如,索尼吉布(sonidegib)、维莫德吉(vismodegib)等);CDK抑制剂(例如,帕博西尼(palbociclib)、瑞博西尼(ribociclib)等);抗HER1/EGFR单克隆抗体(例如西妥昔单抗、奈西单抗、帕尼单抗等);抗HER2/neu单克隆抗体(例如,恩美曲妥珠单抗(ado-trastuzumab emtansine)、帕妥珠单抗、曲妥珠单抗、曲妥珠单抗-dkst等);抗EpCAM单克隆抗体(例如卡妥索单抗、依德可洛单抗等);抗VEGF单克隆抗体(例如贝伐单抗、贝伐单抗-awwb等);抗-CD20单克隆抗体(例如,替伊莫单抗、奥比妥珠单抗、奥瑞珠单抗、奥法木单抗、利妥昔单抗、托西莫单抗等);抗CD30单克隆抗体(例如本妥昔单抗等);抗CD33单克隆抗体(例如吉妥珠单抗等);和抗CD52单克隆抗体(例如阿仑单抗等)。

[0300] 在一个实施方案中,有效负载是细胞毒性剂。

[0301] 如本文所用,术语“细胞毒性剂”或“细胞毒素”是指通过任何机制导致细胞死亡的任何分子。

[0302] 细胞毒性剂的合适实例包括但不限于紫杉烷类、蒽环类、烷化剂、长春花生物碱、抗代谢物、铂剂、类固醇、化疗剂和澳瑞他汀。

[0303] 紫杉烷的合适实例包括但不限于卡巴他赛、多西他赛、拉罗他赛、奥他赛、紫杉醇和替司他赛。

[0304] 蒽环类药物的合适实例包括但不限于阿柔比星、氨柔比星、柔红霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、吡柔比星、戊柔比星和佐柔比星。

[0305] 烷化剂的合适实例包括但不限于氮芥类(例如氮芥(chlormethine)、环磷酰胺、异环磷酰胺、曲磷酰胺、苯丁酸氮芥、美法仑、泼尼松氮芥、苯达莫司汀、乌拉莫司汀等)、亚硝基脲(例如卡莫司汀、洛莫司汀、司莫司汀、福莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀、链脲霉素等)、烷基磺酸盐(例如白消安、甘露舒凡、曲奥舒凡等)、氮丙啶(例如卡波醌、噻替派、三亚胺醌、三乙撑蜜胺、苯并多巴、美妥替派、乌瑞替派等)、胍类(例如丙卡巴胍等)、三氮烯类(例如达卡巴嗪、替莫唑胺等)、六甲蜜胺、丝裂布醇、哌泊溴烷、放线菌素、博来霉素、丝裂霉素和普卡霉素。

[0306] 长春花生物碱的合适实例包括但不限于长春碱、长春新碱、长春氟宁、长春地辛和长春瑞滨。

[0307] 抗代谢物的合适实例包括但不限于抗叶酸剂(例如氨基蝶呤、甲氨蝶呤、培美曲塞、普拉曲沙、拉利曲塞、培美曲塞等)、嘌呤类似物(例如喷司他丁、克拉屈滨、氟达拉滨、奈拉滨、硫鸟嘌呤、疏嘌呤等)、嘧啶类似物(例如氟尿嘧啶、卡培他滨、去氧氟尿苷、替加氟、替加氟/吉美拉西/奥替拉西、卡莫氟、氟尿苷、阿糖胞苷、吉西他滨、氮胞苷、地西他滨等)和羟基脲。

[0308] 铂剂的合适实例包括但不限于卡铂、顺铂、双环铂、奈达铂、奥沙利铂和沙替铂。

[0309] 类固醇的合适实例包括但不限于雌激素受体调节剂、雄激素受体调节剂和黄体酮受体调节剂。

[0310] 化疗剂的合适实例已在上文描述。

[0311] 澳瑞他汀的合适实例包括但不限于澳瑞他汀E、澳瑞他汀F、单甲基澳瑞他汀E和单甲基澳瑞他汀F。

[0312] 在一个实施方案中,有效负载是细胞周期同步剂。

[0313] 如本文所用,术语“细胞周期同步剂”是指在施用后能够将细胞群的细胞周期统一到相同阶段的任何分子。

[0314] 细胞周期同步剂的合适实例包括但不限于阿非迪霉素(aphidicolin)、丁内酯I、秋水仙碱、环己酰亚胺、地美可辛(demecolcine)、二甲基亚砷、5-氟脱氧尿苷、Hoechst 33342、含羞草碱(mimosine)、诺考达唑(nocodazole)、罗斯科维汀(roscovitine)和胸苷。

[0315] 在一个实施方案中,有效负载是细胞受体的配体。

[0316] 本文所用的术语“细胞受体的配体”是指与细胞受体(例如细胞表面受体、细胞内受体或辅助受体(co-receptor),包括转录因子等)结合的任何分子,包括激动剂和拮抗剂,以及部分激动剂、反向激动剂和别构调节剂。

[0317] 细胞受体的配体的合适实例包括但不限于与以下结合的配体:AATYK受体、乙酰胆碱受体、ADGRG受体、脂联素受体、肾上腺素 $\alpha 1$ 受体、肾上腺素 $\alpha 2$ 受体、肾上腺素 $\beta 1$ 受体、肾上腺素 $\beta 2$ 受体、肾上腺素 $\beta 3$ 受体、肾上腺髓质素受体、AMPA受体、过敏毒素受体、血管生成素受体、血管紧张素受体、抗穆氏管激素受体、爱帕琳肽受体(apelin receptor)、去唾液酸糖蛋白受体、AXL受体、苯二氮卓类受体、胆汁酸受体、铃蟾肽受体、骨形态发生蛋白受体、缓激肽受体、脑特异性血管生成抑制剂、钙黏蛋白受体、降钙素受体、降钙素受体样受体、钙敏感受体、大麻素受体、CD97受体、趋化因子受体、胆囊收缩素受体、补体受体、促肾上腺皮质激素释放激素受体、CysLT受体、细胞因子受体、DDR受体、多巴胺受体、EBI2受体、外异质素A受体(ectodysplasin A receptor)、含EGF模块的黏蛋白样激素受体、EGF受体、内皮素受体、EPH受体、雌激素受体、FGF受体、游离脂肪酸受体、卷曲受体(frizzled receptor)、FSH受体、GABAB受体、甘丙肽受体、GHB受体、胃饥饿素受体(ghrelin receptor)、胰高血糖素受体、胰高血糖素样肽受体、谷氨酸受体、甘氨酸受体、促性腺激素受体、促性腺激素释放激素受体、GPCR6A受体、生长因子受体、生长激素受体、生长激素释放激素受体、鸟苷酸环化酶偶联受体、HGF受体、组胺受体、羟基羧酸受体、免疫球蛋白免疫受体、胰岛素受体、海藻氨酸受体、KiSS1衍生肽受体、蛛毒素受体(latrophilin receptor)、瘦素受体、白三烯B4受体、脂蛋白受体相关蛋白受体、LTK受体、黄体生成素/绒毛膜促性腺激素受体、溶血磷脂酸受体、溶血

磷脂受体、甘露糖受体、MAS受体、黑色素浓缩激素受体、黑皮质素受体、褪黑激素受体、methuselah样蛋白受体、胃动素受体、MuSK受体、N-乙酰氨基葡萄糖受体、神经调节素受体、神经肽B/W受体、神经肽FF受体、神经肽S受体、神经肽Y受体、神经纤毛蛋白受体、神经降压素受体、N-甲酰肽受体、烟碱乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor)、NMDA受体、核受体、嗅觉受体、阿片受体、视蛋白受体、食欲素受体、氧化二十烷酸受体、氧化戊二酸受体、催产素受体、甲状旁腺激素受体、PDGF受体、垂体腺苷酸环化酶激活多肽I型受体、血小板激活因子受体、孕激素和脂联素Q受体(progestin and adipoQ receptor)、促动力素受体、催乳素受体、催乳素释放肽受体、前列环素受体、前列腺素受体、蛋白酶激活受体、PTK7受体、嘌呤能腺苷受体、嘌呤能P2X受体、嘌呤能P2Y受体、松弛素受体、RET受体、视黄酸诱导的孤儿G蛋白偶联受体、ROR受体、ROS受体、RYK受体、清道夫受体、促胰液素受体、丝氨酸/苏氨酸-特异性蛋白激酶受体、血清素受体、平滑受体(smoothened receptor)、生长抑素受体、1-磷酸鞘氨醇受体(sphingosine-1-phosphate receptor)、SREB受体、干扰素基因刺激物(STING)受体、琥珀酸受体、速激肽受体、血栓素受体、促甲状腺素受体、促甲状腺素释放激素受体、toll样受体、微量胺相关受体、转铁蛋白受体、Trk受体、肿瘤坏死因子受体、酪氨酸磷酸酶受体、尿紧张素-II受体(urotensin-II receptor)、血管活性肠肽受体、血管活性肠肽受体、加压素受体、VEGF受体、犁鼻受体(vomeronasal receptor)和锌活化离子通道受体。

[0318] 在一个实施方案中,有效负载是免疫调节剂。

[0319] 免疫调节剂的合适实例包括但不限于免疫刺激剂和免疫抑制剂。

[0320] 免疫刺激剂的合适实例包括在解剖治疗化学分类系统的子组L03中描述的那些。

[0321] 免疫刺激剂的合适实例包括但不限于细胞因子(例如,非格司亭、培非格司亭、来格司亭、莫拉司亭、沙格司亭、安塞司亭、albinterferon、天然干扰素 α 、干扰素 α 2a、聚乙二醇干扰素 α 2a、干扰素 α 2b、聚乙二醇干扰素 α 2b、干扰素 α n1、干扰素 α lfacon-1、干扰素 α -n3、天然干扰素 β 、干扰素 β 1a、干扰素 β 1b、干扰素 γ 、阿地白介素(aldesleukin)、奥普瑞白介素(oprelvekin)等);免疫检查点抑制剂(例如CTLA4、PD-1、PD-L1、LAG-3、B7-H3、B7-H4、TIM3、A2AR和/或IDO的抑制剂,包括纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、AMP-224、MPDL3280A、MDX-1105、MEDI-4736、arelumab、伊匹单抗、曲美木单抗、匹地利珠单抗、IMP321、MGA271、BMS-986016、利瑞鲁单抗、乌瑞芦单抗、PF-05082566、IPH2101、MEDI-6469、CP-870,893、莫格利珠单抗、伐立鲁单抗、阿维单抗、加利昔单抗、AMP-514、AUNP 12、吲哚莫德(indoximod)、NLG-919、INCB024360等);toll样受体激动剂(例如丁丙诺啡、卡马西平、乙醇、芬太尼、GS-9620、咪喹莫特、来托莫德、左啡诺、美沙酮、吗啡、(+)-吗啡、吗啡-3-葡萄糖苷酸、奥卡西平、氧可酮、哌替啶、瑞喹莫德、SD-101、他喷他多、替索莫德、VTX-2337、来自隐球菌的葡萄糖醛酸木甘聚糖(glucuronoxylomannan)、来自支原体的MALP-2、来自支原体的MALP-404、来自疏螺旋体的OspA、来自奈瑟菌或嗜血杆菌的孔蛋白、hsp60、血凝素、来自耶尔森菌的LcrV、细菌鞭毛蛋白、脂多糖、脂磷壁酸、来自分枝杆菌的脂甘露聚糖、糖基磷脂酰肌醇、溶血磷脂酰丝氨酸、来自利什曼原虫的脂磷酸聚糖、来自酵母菌的酵母聚糖、Pam2CGDPKHPKSF、Pam3CSK4、CpG寡脱氧核苷酸、聚(I:C)核酸序列、聚(A:U)核酸序列、双链病毒RNA等);STING受体激动剂(例如W02017100305中描述的那些,vadimezan、CL656、ADU-S100、3' 3' -cGAMP、2' 3' -cGAMP、ML RR-S2 CDG、ML RR-S2 cGAMP、环-二GMP(cyclic di-

GMP)、DMXAA、DiABZI等);CD1配体;生长激素;免疫花青(immunocyanin);聚乙二醇化酶;催乳素;他索那明;雌性性类固醇;二盐酸组胺;聚ICLC;维生素D;香菇多糖;普乐沙福;罗喹美克;米法莫肽;醋酸格拉替雷;胸腺五肽(thymopentin);胸腺素 $\alpha 1$;胸腺九肽(thymulin);聚肌苷:聚胞苷酸;匹多莫德;卡介苗(Bacillus Calmette-Guérin);黑色素瘤疫苗;sipuleucel-T等。

[0322] 免疫抑制剂的合适实例包括在解剖治疗化学分类系统的子组L04中描述的那些。

[0323] 免疫抑制剂的合适实例包括但不限于:

[0324] -抗代谢类,例如

[0325] ■抗叶酸类,包括氨基蝶呤、甲氨蝶呤、培美曲塞、普拉曲沙、蝶罗呤、雷替曲塞、二甲叶酸、三甲曲沙、培美曲塞等;

[0326] ■嘌呤类似物,包括喷司他丁、克拉屈滨、氯法拉滨、氟达拉滨、奈拉滨、硫鸟嘌呤、疏嘌呤等;

[0327] ■嘧啶类似物,包括氟尿嘧啶、卡培他滨、多西氟尿嘧啶、替加氟、替加氟/吉美拉西/奥替拉西、卡莫氟、氟尿苷、阿糖胞苷、吉西他滨、氮杂胞苷、地西他滨等;和

[0328] ■羟基脲;

[0329] -大环内酯类,例如他克莫司、环孢素、吡美莫司、阿贝莫司、胍立莫司(gusperimus)等;

[0330] -免疫调节性亚胺药物,例如来那度胺、泊马度胺、沙利度胺、阿普斯特等;

[0331] -IL-1受体拮抗剂,例如阿那白滞素等;

[0332] -mTOR抑制剂,例如西罗莫司、依维莫司、地磷莫司、替西罗莫司、乌罗莫司(umirrolimus)、佐他莫司等;

[0333] -血清靶向抗体,例如依库珠单抗、阿达木单抗、阿非莫单抗、培塞利珠单抗、戈利木单抗、英夫利昔单抗、奈瑞莫单抗、美泊利单抗、奥马珠单抗、法拉莫单抗、艾西莫单抗、来瑞组单抗、优特克单抗、苏金单抗等;

[0334] -细胞靶向抗体,例如莫罗单抗-CD3、奥昔组单抗、替利组单抗、维西珠单抗、克立昔单抗、凯利昔单抗、扎木单抗、依法珠单抗、厄利珠单抗、奥妥珠单抗、利妥昔单抗、奥克利珠单抗、帕考珠单抗、戈利木单抗(gomiliximab)、鲁昔单抗、替奈昔单抗、托拉珠单抗、阿塞珠单抗、加利昔单抗、加维莫单抗、卢利珠单抗、贝利单抗、比利莫德(blisibimod)、伊匹单抗、曲美木单抗、柏替木单抗、乐德木单抗、美替木单抗、那他珠单抗、托珠单抗、奥度莫单抗、巴利昔单抗、达克珠单抗、伊诺莫单抗、阿佐莫单抗(zolimomab aritox)、阿托木单抗、西利珠单抗、芳妥珠单抗、马司莫单抗、莫罗木单抗、培克珠单抗、瑞利珠单抗、罗维珠单抗、西利珠单抗、他利珠单抗、阿替莫单抗(telimomab aritox)、伐利昔单抗、维帕莫单抗等;

[0335] -融合抗体,例如阿巴西普、贝拉西普、依那西普、派格西普(pegsunercept)、阿柏西普、阿法西普、利洛那西普等。

[0336] 在一个实施方案中,有效负载是促凋亡剂。

[0337] 如本文所用,术语“促凋亡剂”是指在施用后能够在细胞中诱导细胞凋亡或细胞程序性死亡的任何分子。

[0338] 促凋亡剂的合适实例包括但不限于组蛋白去乙酰化酶抑制剂(例如丁酸钠、酯肽(depsipeptide)等)、硼替佐米、鱼藤素、favopiridol、维甲酰酚胺、氟达拉滨、山奈酚、米替

福新、水仙环素、obatoclax、奥利美生和oncrasin。

[0339] 在一个实施方案中,有效负载是裂解肽。

[0340] 如本文所用,术语“裂解肽”是指具有裂解或刺穿膜的能力的肽。

[0341] 裂解肽的实例包括但不限于LL-37、 α -防御素、 β -防御素、 θ -防御素、dermcidin、组氨素(histatin)、穿孔素、cecropins、dermaseptin、magainin、蜂毒肽、乳酸链球菌素(nisin)、肺炎溶素(pneumolysin)和毒素。

[0342] 毒素的实例包括但不限于细菌毒素(例如,破伤风梭菌破伤风毒素(*Clostridium tetani* tetanus toxin)、破伤风梭菌破伤风溶血素(*Clostridium tetani* tetanolysin)、产气荚膜梭菌 α 毒素(*Clostridium perfringens* alpha toxin)、产气荚膜梭菌肠毒素(*Clostridium perfringens* enterotoxin)、艰难梭菌毒素A(*Clostridium difficile* toxin A)、艰难梭菌毒素B(*Clostridium difficile* toxin B)、肉毒梭菌毒素(*Clostridium botulinum* toxin)、肉毒梭菌C3胞外酶(*Clostridium botulinum* C3 exoenzyme)、炭疽毒素(anthrax toxin)、李斯特菌溶血素O(*Listeria* listeriolysin O)、金黄色葡萄球菌 α 毒素(*Staphylococcus aureus* alpha toxin)、金黄色葡萄球菌 β 毒素(*Staphylococcus aureus* beta toxin)、金黄色葡萄球菌 δ 毒素(*Staphylococcus aureus* delta toxin)、金黄色葡萄球菌凝集因子A(*Staphylococcus aureus* clumping factor A)、金黄色葡萄球菌纤连蛋白结合蛋白A(*Staphylococcus aureus* fibronectin binding protein A)、剥落素(exfoliatin)、中毒性休克综合征毒素、B型肠毒素、脐带因子、白喉毒素、链球菌溶血素、杀白细胞素(leucocidin)、志贺毒素、志贺样毒素、热稳定肠毒素、霍乱毒素、百日咳毒素、假单胞菌外毒素(*Pseudomonas* exotoxin)、细胞外腺苷酸环化酶、苏云金芽孢杆菌 δ 内毒素(*Bacillus thuringiensis* delta endotoxin)、霉菌毒素(mycotoxin)(例如黄曲霉毒素、 α -鹅膏菌素、 β -鹅膏菌素、 γ -鹅膏菌素、 ϵ -鹅膏菌素、 β -硝基丙酸、柑橘素(citrinin)、细胞松弛素、麦角胺、伏马菌素B1、伏马菌素B2、伏马菌素B3、伏马菌素B4、胶霉毒素、鹅膏菌酸(ibatonic acid)、黑麦震颤素B(lolitrems B)、蝇蕈醇(muscimol)、赭曲霉毒素、棒曲霉素、鬼笔环肽、杂曲霉素、单端孢菌素(trichothecene)、呕吐毒素、折仑诺(zeranol)、玉米赤霉烯酮(zearalenone)、植物毒素(例如,苦杏仁甙(amygdalin)、茴香甙(anisatin)、抗蒜素(antiarin)、马钱子碱、查茄碱(chaconine)、毒芹素(cicutoxin)、daphnin、翠雀碱(delphinine)、香豌豆嘧啶(divicine)、黎豆氨酸(djenkolic acid)、镰叶芹醇(falcarinol)、棉酚(gossypol)、锦鸡菊素(helenalin)、喇叭茶醇(ledol)、里那苦苷(linamarin)、百脉根苷(lotaustralin)、含羞草碱(mimosine)、水芹毒素(oenanthotoxin)、欧夹竹桃甙(oleandrin)、persin、原白头翁素(protoanemonin)、假乌头碱(pseudoaconitine)、惹卓裂碱(retronecine)、树胶脂毒素(resiniferatoxin);东莨菪碱(scopolamine)、澳洲茄边碱(solamargine)、茄尼定(solanidine)、龙葵碱(solanine)、澳洲茄胺(solasodamine)、澳洲茄碱(solasodine)、澳洲茄尼定(solasonine)、耳茄定(solauricidine)、耳茄碱(solauricine)、马钱子碱(strychnine)、苦马豆碱(swainsonine)、万菊毒素(tagetitoxin)、亭牙毒素(tinyatoxin)、番茄碱(tomatine)、红豆碱(abrin)、蓖麻毒蛋白(ricin)、马桑苷(tutin)、无脊椎动物毒素(例如,赫克托黄肥尾蝎(*Androctonus australis* hector)昆虫毒素、卡律蝎毒素(charybdotoxin)、莫鲁蝎毒素(maurotoxin)、agitoxin、玛格斑蝎毒素(margatoxin)、斯罗毒素(slotoxin)、希拉毒素

(scyllatoxin)、赫福毒素(hefutoxin)、HgeTX1、HsTX1、Lq2、birtoxin、贝托毒素(bestoxin)、BmKAEP、phaioxin、不透毒素(imperatoxin)、Pi3、latrotoxin、CSTX、cupiennins、PhTx3、stromatoxin、vanillotoxin、虎纹鱼毒素(huwentoxin)、芋螺毒素(conotoxin)、章鱼素(eledoisin)、onchidal、石房蛤毒素(saxitoxin)、河豚毒素(tetrodotoxin))以及脊椎动物毒素(例如,雪卡毒素(ciguatera)、河豚毒素、(+)-allopumiliotoxin 267A、箭毒蛙毒素(batrachotoxin)、沙蟾毒精(arenobufagin)、蟾蜍他林(bufotalin)、蟾毒特宁(bufotenine)、华蟾毒精(cinobufagin)、海蟾蜍精(marinobufagin)、地棘蛙素(epibatidine)、戏蛙毒素(histrionicotoxin)、pumiliotoxin 251D、蝶螈碱(samandarin)、火蛇皮碱(samandaridine)、蝶螈毒素(tarichatoxin)、zetekitoxinAB、 α -银环蛇毒素(alpha-bungarotoxin)、 β -银环蛇毒素(beta-bungarotoxin)、钙塞停(calciseptine)、泰杰蛇毒素(taicatoxin)、钙克鲁素(calciclude)、心脏毒素III)。

[0343] 在一个实施方案中,所述有效负载是抗血管生成剂。

[0344] 如本文所用,术语“抗血管生成剂”是指减少或防止血管生成的分子,其负责血管的生长和发育。

[0345] 抗血管生成剂的合适实例包括但不限于任何血管内皮生长因子VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C或VEGF-D的抑制剂,这些血管内皮生长因子是正常和病理条件下血管生成的主要诱导物,并且在胚胎血管发生中是必不可少的。

[0346] 另外或可选地,抗血管生成剂也可以抑制其他血管生成因子,例如但不限于成纤维细胞生长因子(FGF)家族的成员,例如FGF-1(酸性)、FGF-2(碱性)、FGF-4或FGF-5;或血管生成素-1,其是一种通过内皮细胞特异性Tie2受体酪氨酸激酶发出信号的因子;或任何这些血管生成因子的受体。

[0347] 在一个实施方案中,有效负载是细胞因子。

[0348] 细胞因子的合适实例包括但不限于趋化因子、肿瘤坏死因子、白介素和集落刺激因子。

[0349] 趋化因子的合适实例包括但不限于趋化因子C-C基序配体(CCL)1、CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCL6、CCL7、CCL8、CCL9、CCL11、CCL12、CCL13、CCL14、CCL15、CCL16、CCL17、CCL18、CCL19、CCL20、CCL21、CCL22、CCL23、CCL24、CCL25、CCL26、CCL27、CCL28、趋化因子C-X-C基序配体(CXCL)1、CXCL2、CXCL3、CXCL4、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL12、CXCL13、CXCL14、CXCL15、CXCL16、CXCL17、分形趋化因子(fractalkine)、趋化因子C基序配体(XCL)1和XCL2。

[0350] 肿瘤坏死因子的合适实例包括但不限于肿瘤坏死因子(TNF) α 、淋巴毒素、OX40L、CD40LG、Fas配体、CD70、CD153、4-1BB配体、TNF相关凋亡诱导配体(TRAIL)、核因子 κ -B配体的受体激活剂(RANKL)、增殖诱导配体(APRIL)、B细胞激活因子(BAFF)和外异质素A(EDA)。

[0351] 白介素的合适实例包括但不限于白介素(IL-)1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21、IL-22、IL-23、IL-24、IL-25、IL-26、IL-27、IL-28、IL-29、IL-30、IL-31、IL-32、IL-33、IL-34、IL-35、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-36Ra、IL-37、IL-38、干扰素(IFN) α 、IFN β 、IFN κ 和IFN ω 。

[0352] 集落刺激因子的合适实例包括但不限于粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)(包括粒细胞-集落刺激因子(G-CSF)和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF))、红细胞生成素和血小板生成素。

[0353] 在一个实施方案中,有效负载是生长因子。

[0354] 生长因子的合适实例包括但不限于成纤维细胞生长因子(FGF)1、FGF2、FGF3、FGF4、FGF5、FGF6、FGF7、FGF8、FGF9、FGF10、FGF11、FGF12、FGF13、FGF14、FGF16、FGF17、FGF18、FGF19、FGF20、FGF21、FGF23、转化生长因子(TGF) α 、表皮生长因子(EGF)、肝素结合EGF样生长因子(HB-EGF)、转化生长因子(TGF) β 、胰岛素样生长因子(IGF)1、IGF2、血小板衍生生长因子(PDGF)亚基A(PDGFA)、PDGF亚基B(PDGFB)、PDGF亚基C(PDGFC)、PDGF亚基D(PDGFD)、血管内皮生长因子(VEGF)-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、胎盘生长因子(PGF)、神经生长因子(NGF)和肝细胞生长因子(HGF)。

[0355] 在一个实施方案中,有效负载是激素。

[0356] 激素的合适实例包括但不限于GnRH、TRH、多巴胺、CRH、GHRH、生长抑素、MCH、催产素、加压素、FSH、LH、TSH、催乳素、POMC、CLIP、ACTH、MSH、内啡肽、促脂素、GH、醛固酮、皮质醇、皮质酮、DHEA、DHEA-S、雄烯二酮、肾上腺素、去甲肾上腺素、甲状腺激素T3、甲状腺激素T4、降钙素、PTH、睾酮、AMH、抑制素、雌二醇、孕酮、激活素(activin)、松弛素、GnSAF、hCG、HPL、雌激素、胰高血糖素、胰岛素、胰淀素、胰多肽、褪黑素、N,N-二甲基色胺、5-甲氧基-N,N-二甲基色胺、胸腺素 α 1、 β 胸腺素、胸腺生成素(thymopoietin)、胸腺肽(thymulin)、胃泌素、胃饥饿素(ghrelin)、CCK、GIP、GLP-1、胰泌素(secretin)、胃动素(motilin)、VIP、肠高血糖素、肽YY、IGF-1、IGF-2、瘦素、脂联素、抵抗素、骨钙素、肾素、EPO、骨化三醇、前列腺素、ANP和BNP。

[0357] 在一个实施方案中,有效负载是编码或非编码寡核苷酸。

[0358] 编码或非编码寡核苷酸的合适实例包括但不限于信使RNA(mRNA)、反义RNA(asRNA)、小干扰RNA(siRNA)、microRNA(miRNA)、长的非编码RNA(lncRNA)(例如,转移RNA[tRNA]、核糖体RNA[rRNA]等)、小时序RNA(small temporal RNA,stRNA)、反式作用siRNA、短发夹RNA(shRNA)、顺式天然反义转录物(NAT)、CRISPR RNA、长的非编码RNA、piwi相互作用RNA(piRNA)、重复相关siRNA(rasiRNA)、RNA适体、核酶等。

[0359] 进一步合适的实例包括但不限于recapuldencel-T、TriMix、BI-1361849、诺西那生(nusinersen)、沃拉尼生钠(volanesorsen sodium)、依替来生(etelplirsen)、ATL1105、ASM-8、英克司兰(inclisiran)、帕西仑(patisiran)、RXI-109、非曲西仑(fitusiran)、cemdisiran、QPI-1002、BMS-986263、PF-655、哌加他尼(pegaptanib)、阿瓦卡普肽钠(avacincaptad pegol sodium)、olaptased pegol、emapticap pegol、SPC3649、贝伐西尼(bevasiranib)、AGN-745、QPI-1007、TD101、SYL040012、SYL1001、Excellair、ALN-RSV01、CEQ508、siG12D LODER、TKM-ApoB、TKM-PLK1、ALN-VSP02、ALN-TTR01、Bcr-Abl siRNA、Atu027、I5NP、CALAA-01、FANG疫苗、iPsiRNA、Tat/Rev shRNA、ARC1779、ARC19499、AS1411(AGR0001)、Fovista、NOX-A12、NOX-E36、NOX-H94、NU172、RB006和RB007、ARC1905,以及Crooke et al.,2018(Cell Metab.27(4):714-739)的表1和表2中描述的那些,其通过引用并入本文。

[0360] 在一个实施方案中,有效负载是光检测标记。

[0361] 如本文所用,术语“光检测标记(photodetectable label)”或“荧光团”是指在光激发时可以重新发射光的部分。

[0362] 光检测标记的合适实例包括但不限于Alexa Fluor[®]染料、BODIPY[®]染料、荧光素、5-羧基荧光素、5-(4,6-二氯三嗪-2-基)氨基荧光素、2',7'-二甲氧基-4',5'-二氯-6-羧基荧光素、异硫氰酸荧光素(FITC)、QFITC、OregonGreen[®]488、OregonGreen[®]514、罗丹明及其衍生物(例如罗丹明绿、罗丹明绿-X、罗丹明红-X、X-罗丹明、6-羧基-X-罗丹明(ROX)、6-羧基罗丹明(R6G)、N,N,N',N'-四甲基-6-羧基罗丹明(TAMRA)、丽丝胺罗丹明B、罗丹明123、罗丹明X异硫氰酸、磺酰罗丹明B、磺酰罗丹明101(德克萨斯州红)、四甲基罗丹明、四甲基罗丹明异硫氰酸酯(TRITC))、曙红、曙红异硫氰酸酯、赤藓红、赤藓红B、赤藓红异硫氰酸酯、Texas Red[®]、Texas Red[®]-X、萘荧光素、孔雀绿、孔雀绿异硫氰酸酯、香豆素衍生物、太平洋橙、级联蓝、级联黄、丹磺酰氯、达氧基染料(dapoxyl dye)、1-二甲胺-N(2-叠氮基-乙基)萘-5-磺酰胺、6-(6-氨基-2-(2-叠氮乙基))-1,3-二氧化-1H-苯并(de)-2(3H)异喹啉、6-(6-氨基-2-(2-丙炔基))-1,3-二氧化-1H-苯并(de)-2(3H)异喹啉、8-(4-叠氮乙氧基苯基)-2,6-二乙基-1,3,5,7-四甲基-4,4-二氟-4-硼-3a,4a-二氮杂-s-茛烯、8-(4-丙炔氧基苯基)-2,6-二乙基-1,3,5,7-四甲基-4,4-二氟-4-硼-3a,4a-二氮杂-s-茛烯、1-(3-叠氮基-丙氧基)-7-甲氨基-吩噻嗪-3-酮、1-(2-丙炔基)-7-甲氨基-吩噻嗪-3-酮、N-(5-(3-叠氮基丙基氨基))-9H-苯并(a)-苯氧基-2-in-9-亚甲基)-N-甲基-甲胺盐酸盐、N-(5-(3-丙炔基-氨基))-9H-苯并(a)-吩噻嗪-9-亚基)-N-甲基-甲胺盐酸盐、(9-(3-叠氮基-丙氧基)-7-哌啶-1-基-吩噻嗪-3-亚基)-二甲基-高氯酸铵、4-乙酰氨基-4'-异硫氰酸芪-2,2'-二磺酸、吡啶、吡啶异硫氰酸、5-(2'-氨基乙基)氨基萘-1-磺酸、4-氨基-N-[3-乙烯基磺酰基]苯基]萘二甲酰亚胺-3,5二磺酸、N-(4-苯胺基-1-萘基)马来酰亚胺、邻氨基苯甲酰胺、亮黄(Brilliant Yellow)、香豆素、香豆素衍生物、7-氨基-4-甲基香豆素、7-氨基-三氟甲基香豆素、焰红染料(cyanosine)、4',6-二氨基-2-苯基吡啶、5',5"-二溴邻苯三酚-磺酰、7-二乙氨基-3-(4'-异硫氰酸基苯基)-4-甲基香豆素-4,4'-二异硫氰酸基二氢-芪-2,2'-二磺酸、4,4'-二异硫氰酸芪-2,2'-二磺酸、乙锭、IR144、IR1446、4-甲基伞形酮、邻甲酚酞、硝基酪氨酸、副品红(pararosaniline)、酚红、B-藻红蛋白、邻苯二甲醛、芪、芪丁酸酯、1-芪丁琥琥珀酰亚胺、活性红4、核黄素、玫瑰酸(rosolic acid)、镧系元素螯合物、量子点、花青、pyrelum染料和方酸箐(squaraine)。

[0363] 在一个实施例中,有效负载是造影剂。

[0364] 如本文所用,术语“造影剂”是指在医学成像中用于增加体内的结构或流体的对比度的任何分子。造影剂吸收或改变外部电磁或超声(这与自身发射辐射的放射性标记不同)。

[0365] 放射性标记的合适实例包括在解剖治疗化学分类系统的子组V08下描述的那些。

[0366] 造影剂的合适实例包括但不限于泛影酸、甲泛影酸、碘酰胺、碘他拉明酸、碘氧他拉明酸、碘格利酸、醋碘苯酸、碘卡尔酸、甲碘磺酸(methiodal)、碘奥酮(diodone)、甲泛葡胺、碘海醇、碘沙格酸(ioxaglic acid)、碘帕醇、碘普罗胺(iopromide)、碘曲兰、碘佛醇、碘喷醇、碘克沙醇、碘美普尔、碘比醇、碘西兰(ioxilan)、碘沙酸、碘曲酸、碘甘卡酸、胆影酸、碘苯扎酸、碘番酸、碘西他酸、碘泊酸钠、酪潘酸(tyropanoic acid)、碘泊酸钙、碘吡醇、丙

碘酮、碘芬酯(iofendylate)、碘油、硫酸钡、钆苯酸、钆布醇、钆二胺、钆磷维塞(gadofosveset)、钆、钆喷酸、钆特酸、钆特醇、钆维塞胺(gadoversetamide)、钆塞酸、柠檬酸铁铵、锰福地吡(mangafodipir)、非莫西尔(ferumoxsil)、铁利司坦(ferristene)、perflubron、人白蛋白微球、半乳糖微粒、全氟戊烷、磷脂微球、六氟化硫等。

[0367] 在一个实施方案中,有效负载是放射性标记。

[0368] 如本文所用,术语“放射性标记”、“放射性药物”或“放射性同位素”是指发射辐射的任何分子。放射性标记可用于治疗或诊断目的。

[0369] 放射性标记的合适实例包括在解剖治疗化学分类系统的子组V09和V10下描述的那些。

[0370] 放射性标记的合适实例包括但不限于 ^{99m}Tc 化合物(例如,依沙美肟(exametazime)、亚甲基二磷酸(medronic acid)、大聚集白蛋白、塞他米比(sestamibi)、替曲膦、依沙美肟、硫索单抗、替马诺塞(tilmanocept)、阿西莫单抗、伏妥莫单抗、hynic-奥曲肽等); ^{123}I 、 ^{125}I 或 ^{131}I 化合物(例如,氟潘(ioflupane)、碘丙胺(iofetamine)、碘西尼(iomazenil)、碘马尿酸钠、碘苄胍、碘胆固醇、明瑞莫单抗、托西莫单抗等); ^{18}F 化合物(例如,氟洛贝平(flortetapir)、氟美他酚、fluciclovine、氟脱氧葡萄糖、氟乙基酪氨酸、氟化钠等); ^{64}Cu 化合物(例如Cu-ETS2等); ^{75}Se 化合物(例如SeHCAT); ^{111}In 化合物(例如,英西单抗、喷地肽卡罗单抗(capromab pendetide)、喷地肽沙妥莫单抗(satumomab pendetide)等); ^{82}Rb 化合物(例如氯化铷); ^{153}Sm 化合物(例如来昔决南钆(lexidronam)等); ^{89}Sr 化合物(例如氯化锶-89等); ^{90}Y 化合物(例如替伊莫单抗(ibritumomab tiuxetan)等); ^{223}Ra 化合物(例如,氯化镭-223等); ^{177}Lu 化合物(例如,oxodotreotide等);以及包含以下至少一个的任意化合物: ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{14}C 、 ^{15}O 、 ^{18}F 、 ^{22}Na 、 ^{24}Na 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{40}K 、 ^{47}Ca 、 ^{51}Cr 、 ^{55}Eu 、 ^{57}Co 、 ^{58}Co 、 ^{60}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{75}Se 、 ^{81}mKr 、 ^{82}Rb 、 ^{89}Sr 、 ^{90}Sr 、 ^{90}Y 、 ^{97}Tc 、 ^{99m}Tc 、 ^{103}Pd 、 ^{106}Ru 、 ^{107}Pd 、 ^{111}In 、 ^{113}Cd 、 ^{121}Sn 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{126}Sn 、 ^{129}I 、 ^{131}I 、 ^{133}Xe 、 ^{135}Cs 、 ^{137}Cs 、 ^{153}Sm 、 ^{165}Dy 、 ^{169}Er 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{192}Ir 、 ^{198}Au 、 ^{201}Tl 、 ^{213}Bi 、 ^{223}Ra 和/或 ^{225}Ra 原子。

[0371] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至澳瑞他汀或其类似物、衍生物或前药。澳瑞他汀已被证明可干扰微管动力学、GTP水解以及细胞核和细胞分裂(Woyke et al., 2001.Antimicrob Agents Chemother.46(12):3802-8)并具有抗癌活性(美国专利5,663,149)和抗真菌活性(Pettit et al.,1998.Antimicrob Agents Chemother.42(11):2961-5)。例如,澳瑞他汀E可以与对乙酰基苯甲酸或苯甲酰戊酸反应,分别产生AEB和AEVB。其他典型的澳瑞他汀衍生物包括澳瑞他汀F、MMAF(单甲基澳瑞他汀F)和MMAE(单甲基澳瑞他汀E)。合适的澳瑞他汀和澳瑞他汀类似物、衍生物和前药以及用于将澳瑞他汀与抗体结合的合适接头描述于例如美国专利5,635,483、5,780,588和6,214,345以及国际专利公开WO 2002/088172、WO 2004/010957、WO 2005/081711、WO 2005/084390、WO 2006/132670、WO 2003/026577、WO 2007/00860、WO 2007/011968和WO2005/082023。

[0372] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂卓(PDB)(例如蒽霉素)或其类似物、衍生物或前药。合适的PDB和PDB衍生物以及相关技术在本领域中有描述。

[0373] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至选自以下的细胞毒性部分:蒽环类、美登素、卡利奇霉素(calicheamicin)、倍癌霉素(duocarmycin)、雷切霉素(CC-1065)、多拉

司他汀10、多拉司他汀15、伊立替康、单甲基澳瑞他汀E、单甲基澳瑞他汀F、PDB或其任何类似物、衍生物或前药。

[0374] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至蒽环类药物或其类似物、衍生物或前药。

[0375] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至美登素或其类似物、衍生物或前药。

[0376] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至卡利奇霉素或其类似物、衍生物或前药。

[0377] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至倍癌霉素或其类似物、衍生物或前药。

[0378] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至雷切霉素(CC-1065)或其类似物、衍生物或前药。

[0379] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段结合至多拉司他汀或其类似物、衍生物或前药。

[0380] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至单甲基澳瑞他汀E或其类似物、衍生物或前药。

[0381] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至单甲基澳瑞他汀F或其类似物、衍生物或前药。

[0382] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域结合至伊立替康或其类似物、衍生物或前药。

[0383] 在第二方面,本发明涉及特异性结合CD45RC、优选特异性结合hCD45RC的抗体或其抗原结合片段。因此,本发明的抗体或其抗原结合片段是“抗CD45RC抗体或其抗原结合片段”,并且优选是“抗hCD45RC抗体或其抗原结合片段”。

[0384] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段包含至少一个CD45RC结合结构域,如上文所定义。

[0385] CD45RC结合结构域的上述所有特征和实施方案经必要修改后适用于抗CD45RC抗体或其抗原结合片段。额外的特征定义如下。

[0386] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段是多克隆抗体。优选地,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体。

[0387] 生产多克隆和单克隆抗体及其片段的方法是本领域公知的(参见例如Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1988)。

[0388] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段具有选自包含以下或由以下组成的组的同种型:IgG(包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)、IgM、IgA(包括IgA1和IgA2)、IgD和IgE。

[0389] 抗体的恒定区对于抗体固定补体和介导细胞依赖性细胞毒性和吞噬作用的能力很重要。因此,如本文所讨论的,可以基于抗体是否需要介导细胞毒性/吞噬作用来选择抗体的同种型。抗体同种型的确定或选择可以通过本领域已知的方法进行。

[0390] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段包含重链恒定区(缩写为HCCR或C_H)和/或轻链恒定区(缩写为LCCR或C_L)。

[0391] 在一个实施方案中,HCCR和/或轻链恒定区LCCR是鼠HCCR和/或LCCR。

[0392] 在一个实施方案中,HCCR和/或轻链恒定区LCCR(优选两者)是人的或人源化的。

[0393] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段包含人HCCR或人源化HCCR,其包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列或由SEQ ID NO:26的氨基酸序列组成;或人HCCR或人源化HCCR,其包含与SEQ ID NO:26的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成。

	SEQ ID NO: 26
[0394]	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK
[0395]	SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0396] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段包含人HCCR或人源化HCCR,其包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列或由SEQ ID NO:27的氨基酸序列组成;或人HCCR或人源化HCCR,其包含与SEQ ID NO:27的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成。

	SEQ ID NO: 27
[0397]	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0398] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段包含人HCCR或人源化HCCR,其包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列或由SEQ ID NO:28的氨基酸序列组成;或人HCCR或人源化HCCR,其包含与SEQ ID NO:28的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成。

[0399]	SEQ ID NO: 28
--------	----------------------

[0400]

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK
SCVAAAHHHHHH

[0401] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段包含人LCCR或人源化LCCR,其包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列或由SEQ ID NO:29的氨基酸序列组成;或人LCCR或人源化LCCR,其包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列或由该氨基酸序列组成。

[0402]

SEQ ID NO: 29

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGEC

[0403] 因此,在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段包含:

[0404] -HCVR,该HCVR包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列或由其组成;

[0405] -LCVR,该LCVR包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列或由其组成;

[0406] -HCCR,该HCCR包含SEQ ID NO:26、27或28中任一项的氨基酸序列,优选SEQ ID NO:26的氨基酸序列,或由其组成;和

[0407] -LCCR,该LCCR包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列或由其组成。

[0408] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段包含:

[0409] -HCVR,其包含具有SEQ ID NO:10、11和12的三个CDR,以及与SEQ ID NO:24的框架区具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性的框架区;

[0410] -LCVR,其包含具有SEQ ID NO:13、14和15的三个CDR,以及与SEQ ID NO:25的框架区具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的序列同一性的框架区;

[0411] -HCCR,其包含与SEQ ID NO:26、27或28中任一项的氨基酸序列、优选与SEQ ID NO:26的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列,或由其组成;和

[0412] -LCCR,其包含与SEQ ID NO:29的氨基酸序列具有至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列,或由其组成;

[0413] 同时,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段保留其整体功能特性,特别是其对CD45RC、优选对hCD45RC的结合特异性。

[0414] 应当理解,可以使用本领域熟知的方法修饰抗CD45RC抗体或其抗原结合片段,例如以改善分离的抗体或其抗原结合片段的性质,或增强抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)。此类修饰是本领域公知的。

[0415] 例如,为了减缓体内清除并获得更理想的药代动力学特征,可以用聚乙二醇(PEG)

修饰抗CD45RC抗体或其抗原结合片段。用于将PEG位点特异性结合至抗体或其抗原结合片段的方法描述于例如Leong et al., 2001. Cytokine. 16 (3):106-19或Delgado et al., 1996. Br J Cancer. 73 (2):175-82。

[0416] 修饰的另一个非限制性实例是修饰抗体的人Fc区以增强其对Fc γ 受体的亲和力。增强Fc γ 受体结合的方法包括修饰Fc片段的一级氨基酸序列、特别是HCCR的一级氨基酸序列,以及修饰Fc片段的糖结构和含量。

[0417] 因此,已知包含降低的岩藻糖含量的抗体增强ADCC和/或ADCP应答。事实上,已证明从Fc片段寡糖去除核心 α -1,6-岩藻糖部分可通过改善Fc γ RIII受体结合来改善ADCC和/或ADCP活性(参见,例如,Carter, 2001. Nat Rev Cancer. 1 (2):118-29; Kanda et al., 2007. Glycobiology. 17 (1):104-18; Shields et al., 2002. J Biol Chem. 277 (30):26733-40; Shinkawa et al., 2003. J Biol Chem. 278 (5):3466-73; Niwa et al., 2004. Cancer Res. 64 (6):2127-33; 国际专利公布W0 2014/140322)。

[0418] 因此,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段可包含降低的岩藻糖含量。

[0419] 如本文所用,术语“岩藻糖含量”是指与每个抗体的每个重链的Fc片段的N297残基(对应于SEQ ID NO:26或27的N180)结合的N-聚糖内的岩藻糖基化形式的百分比。

[0420] 如本文所用,术语“降低的岩藻糖含量”是指岩藻糖含量小于或等于85%。有利地,岩藻糖含量范围为约65%至约85%。或者,岩藻糖含量可以小于或等于85%、80%、75%、70%、65%或甚至更少,例如60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%或20%。然而,岩藻糖含量不必为零,并且其可以例如大于或等于5%、10%、15%或20%。

[0421] 另一种糖型即二等分的N-连接糖的水平也被提出用于增加ADCC和/或ADCP(参见,例如, Umaña et al., 1999. Nat Biotechnol. 17 (2):176-80; Hodoniczky et al., 2005. Biotechnol Prog. 21 (6):1644-52)。

[0422] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段可进一步包含不同类型的糖基化(寡聚甘露糖或二分支复合物类型的N-聚糖,具有可变比例的二等分N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)残基或半乳糖残基(在二分支复合物类型的N-聚糖的情况下)),条件是它们具有如上所定义的降低的岩藻糖含量(国际专利公布W02007/048077)。例如,具有降低的岩藻糖含量的抗体可以通过例如欧洲专利公布EP1176195或国际专利公布W02001/077181或W02012/041768中描述的方法获得。

[0423] 与二分支复合物类型的N-聚糖相比,寡聚甘露糖类型的N-聚糖具有降低的体内半衰期。因此,有利地,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段在其N-糖基化位点上具有岩藻糖含量降低的二分支复合物类型的Fc片段聚糖结构,如上文所定义。

[0424] 多种具有针对Fc γ 受体的优化的结合亲和力和/或增强的ADCC和/或ADCP的Fc片段变体已有描述并且是本领域已知的。

[0425] 在一个实施方案中,抗CD45RC抗体或其抗原结合片段结合至有效负载,任选地通过接头结合。上文已在CD45RC结合结构域的上下文中描述了有效负载的合适实例,其经必要修改适用于此。

[0426] 在一个实施方案中,有效负载是药物。抗体或其抗原结合片段与药物的结合物在本领域中被称为“抗体-药物缀合物”或“ADC”。

[0427] 在第三方面,本发明涉及特异性结合CD45RC、优选特异性结合hCD45RC的嵌合抗原

受体 (CAR)。因此,本发明的CAR是“抗CD45RC CAR”,并且优选地是“抗hCD45RC CAR”。

[0428] 在一个实施方案中,抗CD45RC CAR包含:

[0429] (i) 至少一个胞外CD45RC结合结构域,优选至少一个胞外hCD45RC结合结构域,如上所述;

[0430] (ii) 任选地,胞外铰链结构域;

[0431] (iii) 至少一个跨膜结构域;和

[0432] (iv) 至少一个胞内信号传导结构域,其包含至少一个初级信号传导结构域和任选的一个或多个共刺激信号传导结构域。

[0433] 在一个实施方案中,CAR包含至少一个胞外CD45RC结合结构域,如上所述。

[0434] 在一个实施方案中,胞外CD45RC结合结构域是结合CD45RC的scFv。

[0435] 在一个实施方案中,CAR包含两个或更多个胞外抗原结合结构域,其中至少第一个是CD45RC结合结构域,如上所述,并且其中至少第二个与除CD45RC之外的抗原特异性结合。因此,这样的CAR能够结合至少两种不同的抗原,其中之一是CD45RC。

[0436] 在一个实施方案中,胞外抗原结合结构域,特别是胞外CD45RC结合结构域,通过铰链结构域连接至跨膜结构域。

[0437] 在一个实施方案中,铰链结构域是短多肽接头,优选具有2至25个氨基酸的长度。在一个实施方案中,铰链结构域是与scFv中V_H和V_L结构域之间的接头类似的接头,如上文所述。

[0438] 在一个实施方案中,铰链结构域是如上所述的甘氨酸-丝氨酸接头,例如(GS)_n接头、(G₂S)_n接头、(G₃S)_n接头、(G₄S)_n接头等;其中n是正整数。在一个实施方案中,n等于1、2、3、4、5或更大。在一个实施方案中,铰链结构域可以是具有SEQ ID NO:30-39中任一项的甘氨酸-丝氨酸接头。

[0439] 合适的铰链结构域的另一个实例描述于国际专利公布W02012/138475,其通过引用并入本文。

[0440] 在一个实施方案中,铰链结构域可以是SEQ ID NO:40-44中的任一项。

[0441]

SEQ ID NO: 40

AGSSSSGGSTTGGSTT

SEQ ID NO: 41

GTTAASGSSGGSSSGA

[0442]

SEQ ID NO: 42

SSATATAGTGSSTGST

SEQ ID NO: 43

TSGSTGTAASSTSTST

SEQ ID NO: 44

KIRRDSS

[0443] 在一个实施方案中,铰链结构域包含具有SEQ ID NO:45的CD8铰链的氨基酸序列或与SEQ ID NO:45具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

SEQ ID NO: 45

[0444]

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

[0445] 在另一个实施方案中,铰链结构域包含具有SEQ ID NO:46的IgG4铰链的氨基酸序列或与SEQ ID NO:46具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

SEQ ID NO: 46

[0446]

ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKM

[0447] 在另一个实施方案中,铰链结构域包含具有SEQ ID NO:47的IgD铰链的氨基酸序列或与SEQ ID NO:47具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

SEQ ID NO: 47

[0448]

RWPESPKAQASSVPTAQPAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPQLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPPQATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSIVTDH

[0449] 在另一个实施方案中,铰链结构域包含具有SEQ ID NO:48的CD28铰链的氨基酸序列或与SEQ ID NO:48具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

SEQ ID NO: 48

[0450]

IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKP

[0451] 可用于本发明的CAR中的跨膜结构域的实例包括但不限于T细胞受体的 α 、 β 或 δ 链的跨膜结构域,或CD28、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1 α 亚基(CD11a)、LFA-1 β 亚基(CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、

SLAMF7、NKp80 (KLRP1)、CD160、CD19、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49d、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、ITGAM、CD11b、PD1、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、ITGB7、TNFR2、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly-9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、SLAMF6 (Ly-108)、SLAMF1 (CD150)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKp44、NKp30、NKp46、NKG2D和NKG2C的跨膜结构域。

[0452] 在一个实施方案中,跨膜结构域可以包含其来源的分子完整跨膜结构域,或者它可以仅包含其功能和/或结构片段或变体。

[0453] 在一个实施方案中,跨膜结构域包含具有SEQ ID NO:49的CD8跨膜结构域的氨基酸序列或与SEQ ID NO:49具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

SEQ ID NO: 49

[0454]

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

[0455] 在另一个实施方案中,跨膜结构域包含具有SEQ ID NO:50的CD28跨膜结构域的氨基酸序列或与SEQ ID NO:50具有至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%氨基酸序列同一性的氨基酸序列,或由其组成。

SEQ ID NO: 50

[0456]

FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV

[0457] 如本文所用,术语“胞内信号传导结构域”是指分子的胞内部分。胞内信号结构域产生能够促进含有CAR的免疫细胞的免疫效应子功能的信号。CAR-免疫细胞中的免疫效应子功能的实例包括但不限于溶细胞活性、抑制活性、调节活性和辅助活性,包括细胞因子的分泌。

[0458] 在一个实施方案中,胞内信号传导结构域包含至少一个初级信号传导结构域,并且任选地包含一个或多个共刺激信号传导结构域。

[0459] 初级信号传导结构域,也称为胞内结构域(endodomain),是胞质的,并且允许转导效应子功能信号并指导含有CAR的免疫细胞在胞外结合结构域与其抗原结合时执行其特化功能。

[0460] 初级信号传导结构域的实例包括但不限于T细胞受体的 δ 链或其任何同源物(例如 η 链、Fc ϵ R1 γ 和 β 链、MB1 (Ig α) 链、B29 (Ig β) 链等)、CD3多肽(例如, Δ 、 δ 和 ϵ)、syk家族酪氨酸激酶(例如,Syk、ZAP 70等)、src家族酪氨酸激酶(例如,Lck、Fyn、Lyn等)和参与T细胞转导的其他分子,例如CD2、CD5和CD28。

[0461] 在一个实施方案中,胞内信号传导结构域可以是人CD3 δ 链、Fc γ RIII、Fc ϵ RI、Fc受体的胞质尾、带有基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)的胞质受体或其组合。其他胞内信号传导结构域对于本领域技术人员来说是显而易见的,并且可以与本发明的可选实施方案结合使用。

[0462] 在一个实施方案中,所述至少一个胞内信号传导结构域可以包含其来源的分子的完整胞内部分、或完整的天然胞内信号传导结构域,或其功能片段或衍生物。

[0463] 在一个实施方案中,所述至少一个胞内初级信号传导结构域包含T细胞初级信号传导结构域(或衍生自其的序列),或由其组成。

[0464] 在一个实施方案中,T细胞初级信号传导结构域包含选自CD3 ζ 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、共同FcR γ (FCER1G)、FcR ϵ (Fc Epsilon Rib)、CD79a、CD79b、Fc γ RIIa、DAP10、DAP12的蛋白的信号传导结构域以及衍生自其的序列,或由以上组成。

[0465] 在一个实施方案中,T细胞初级信号传导结构域包含CD3 ζ 的功能性信号传导结构域,或由其组成。

[0466] 在一个实施方案中,T细胞初级信号传导结构域包含具有SEQ ID NO:51的CD3 ζ 的功能性信号传导结构域或包含与SEQ ID NO:51具有至少约70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或由其组成。

SEQ ID NO: 51

[0467]

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK
PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

[0468] 以刺激方式起作用的T细胞初级信号传导结构域可以另外或可选地包含称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序 (ITAMS) 的信号传导基序。

[0469] 含有ITAM的T细胞初级胞内信号传导结构域的实例包括但不限于CD3 ζ 、共同FcR γ (FCER1G)、Fc γ RIIa、FcR β (Fc ϵ R1b)、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD66b、CD79a、CD79b、DAP10和DAP12的T细胞初级胞内信号传导结构域,或衍生自CD3 ζ 、共同FcR γ (FCER1G)、Fc γ RIIa、FcR β (Fc ϵ R1b)、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD66b、CD79a、CD79b、DAP10和DAP12的T细胞初级胞内信号传导结构域。

[0470] 在一个实施方案中,与天然ITAM结构域相比,T细胞初级信号传导结构域包含修饰的ITAM结构域(例如,具有改变的(例如增加或减少的)活性的突变ITAM结构域)。在一个实施方案中,初级信号传导结构域包含修饰的含有ITAM的初级胞内信号传导结构域,例如优化的和/或截短的含有ITAM的初级胞内信号传导结构域。在一个实施方案中,初级信号传导结构域包含一个、两个、三个、四个或更多个ITAM基序。

[0471] 在一个实施方案中,CAR包含多于一个胞内初级信号传导结构域,例如2、3、4、5或更多个胞内初级信号传导结构域。

[0472] 在一个实施方案中,这两个或更多个胞内初级信号传导结构域可以串联、以随机顺序或指定顺序彼此连接。任选地,接头,例如如上所述的柔性肽接头,可以形成两个不同的胞内初级信号传导结构域之间的连接。除了上述甘氨酸-丝氨酸接头之外,单个氨基酸(例如丙氨酸或甘氨酸残基)也可以是合适的接头。

[0473] 在一个实施方案中,本发明的CAR可以任选地包含一个或数个共刺激信号传导结构域。

[0474] 如本文所用,术语“共刺激信号传导结构域”是指共刺激分子的胞内部分,即T细胞上与共刺激配体特异性结合的关联结合配偶体,从而介导T细胞的共刺激反应,例如但不限于增强的细胞增殖、增强的细胞存活和记忆细胞的发育。

[0475] 所述一个或数个共刺激信号传导结构域可以单独地是共刺激分子的胞内结构域

的全部或一部分,所述共刺激分子包括但不限于4-1BB(CD137)、ICOS(CD278)、CD27、CD28、CTLA-4(CD152)、PD-1、MHC I类分子、BTLA、To11配体受体、OX40、CD30、CD40、淋巴细胞功能相关抗原1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、与CD83特异性结合的配体、CDS、ICAM-1、GITR、ARHR、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160(BY55)、CD19、CD19a、CD4、CD8 α 、CD8 β 、IL2R α 、IL6R α 、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、IL-13R α 1、IL-13R α 2、IL-33R、IL-10R α 、IL-10R β 、IL-4R、IL-5R(CSF2RB)、IL-21R、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49d、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a/CD18、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、ITGB7、NKG2D、NKG2C、CD95、TGF β RI/2/3、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、共同 γ 链、与CD83特异性结合的配体、NKp44、NKp30、NKp46、NKG2D及其任意组合。

[0476] 在一个实施方案中,CAR包含至少一个共刺激信号传导结构域,其包含4-1BB、ICOS、OX40、CD28、CTLA4或PD-1的胞内结构域的全部或一部分。

[0477] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含4-1BB的胞内结构域的全部或一部分,或由其组成。

[0478] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含以下或由以下组成:具有SEQ ID NO:52的4-1BB的胞内结构域,或与SEQ ID NO:52具有至少约70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其功能活性片段。

SEQ ID NO: 52

[0479]

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL

[0480] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含ICOS的胞内结构域的全部或一部分,或由其组成。

[0481] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含以下或由以下组成:具有SEQ ID NO:53的ICOS的胞内结构域,或与SEQ ID NO:53具有至少约70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其功能活性片段。

SEQ ID NO: 53

[0482]

CWLTKKKYSSSVHDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTL

[0483] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含OX40的胞内结构域的全部或一部分,或由其组成。

[0484] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含以下或由以下组成:具有SEQ ID NO:54的OX40的胞内结构域,或与SEQ ID NO:54具有至少约70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其功能活性片段。

[0485]

SEQ ID NO: 54

ALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI

[0486] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含CD28的胞内结构域的全部或一部分,或由其组成。

[0487] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含以下或由以下组成:具有SEQ ID NO:55的CD28的胞内结构域,或与SEQ ID NO:55具有至少约70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其功能活性片段。

[0488]

SEQ ID NO: 55

RSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS

[0489] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含CTLA4的胞内结构域的全部或一部分,或由其组成。

[0490] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含以下或由以下组成:具有SEQ ID NO:56的CTLA4的胞内结构域,或与SEQ ID NO:56具有至少约70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其功能活性片段。

[0491]

SEQ ID NO: 56

AVSLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPTEPECEKQFQPYFIPIN

[0492] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含PD-1的胞内结构域的全部或一部分,或由其组成。

[0493] 在一个实施方案中,胞内共刺激信号传导结构域包含以下或由以下组成:具有SEQ ID NO:57的PD-1的胞内结构域,或与SEQ ID NO:57具有至少约70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其功能活性片段。

[0494]

SEQ ID NO: 57CSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPVPC
VPEQTEYATIVFPSGMTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL

[0495] 在一个实施方案中,CAR包含多于一个胞内共刺激信号传导结构域,例如2、3、4、5或更多个胞内共刺激信号传导结构域。

[0496] 在一个实施方案中,所述两个或更多个胞内共刺激信号传导结构域可以串联、以随机顺序或指定顺序彼此连接。任选地,接头,例如如上所述的柔性肽接头,可以形成两个不同的胞内共刺激信号传导结构域之间的连接。除了如上所述的甘氨酸-丝氨酸接头之外,单个氨基酸(例如丙氨酸或甘氨酸残基)也可以是合适的接头。

[0497] 在一个实施方案中,所述至少一个胞内初级信号传导结构域和至少一个胞内共刺激信号传导结构域可以串联、以随机顺序或以特定顺序彼此连接。任选地,接头,例如如上

所述的柔性肽接头,可以形成胞内初级信号传导结构域和胞内共刺激信号传导结构域之间的连接。除了上述甘氨酸-丝氨酸接头之外,单个氨基酸(例如丙氨酸或甘氨酸残基)也可以是合适的接头。

[0498] 本发明的CAR可以是第一代、第二代或第三代CAR。

[0499] 第一代CAR于30多年前开发出来(Kuwana et al.,1987.Biochem Biophys Res Commun.149(3):960-968;Gross et al.,1989.Transplant Proc.21(1Pt1):127-130;Gross et al.,1989.Proc Natl Acad Sci USA.86(24):10024-10028)。

[0500] 在一个实施方案中,本发明的CAR是第一代CAR并且包含:

[0501] (i) 至少一个胞外CD45RC结合结构域,优选至少一个胞外hCD45RC结合结构域,如上所述,

[0502] (ii) 任选地,胞外铰链结构域,

[0503] (iii) 至少一个跨膜结构域,和

[0504] (iv) 一个或多个胞内初级信号传导结构域。

[0505] 第一代CAR可以例如是其中信号传导由CD3 ζ 提供的CAR,即胞内初级信号传导结构域是CD3 ζ 。

[0506] 第二代CAR添加了胞内共刺激信号传导结构域,例如CD28或4-1BB。这些胞内信号传导结构域的参与改善了T细胞增殖、细胞因子分泌、细胞凋亡抗性和体内持久性。

[0507] 在一个实施方案中,本发明的CAR是第二代CAR并且包含:

[0508] (i) 至少一个胞外CD45RC结合结构域,优选至少一个胞外hCD45RC结合结构域,如上所述,

[0509] (ii) 任选地,胞外铰链结构域,

[0510] (iii) 至少一个跨膜结构域,

[0511] (iv) 共刺激信号传导结构域,和

[0512] (v) 一个或多个胞内初级信号传导结构域。

[0513] 第三代CAR组合了多个共刺激结构域,例如CD28-4-1BB或CD28-0X40,以增加T细胞活性。

[0514] 在一个实施方案中,本发明的CAR是第三代CAR并且包含:

[0515] (i) 至少一个胞外CD45RC结合结构域,优选至少一个胞外hCD45RC结合结构域,如上所述,

[0516] (ii) 任选地,胞外铰链结构域,

[0517] (iii) 至少一个跨膜结构域,

[0518] (iv) 至少两个共刺激信号传导结构域,和

[0519] (iv) 一个或多个胞内初级信号传导结构域。

[0520] 在第四方面,本发明涉及编码如上所述的CD45RC结合结构域、或抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR的核酸。

[0521] 本发明还涉及包含编码如上所述的CD45RC结合结构域、或抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR的核酸的载体。

[0522] 在一个实施方案中,所述载体是表达载体并且进一步包含允许在细胞中表达CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR的调节元件。

[0523] “表达载体”是指包含编码能够被转录的序列的核酸的任何类型的基因构建体。表达载体可以含有多种调控元件,其指特定宿主细胞中的可操作连接的编码序列的转录和可能的翻译所必需的核酸序列。此类调节元件的实例包括但不限于启动子、增强子、内部核糖体进入位点(IRES)、剪接位点、终止信号等。

[0524] 载体的实例包括但不限于DNA载体、RNA载体、质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、病毒和粘粒。

[0525] 在一个实施方案中,表达载体是质粒。

[0526] 在一个实施方案中,表达载体是病毒载体。病毒载体的实例包括但不限于腺病毒载体、腺相关病毒(AAV)载体、逆转录病毒载体(例如慢病毒)、牛痘病毒载体、辛德毕斯病毒载体(sindbis virus vector)、巨细胞病毒载体、单纯疱疹病毒载体等。

[0527] 在一个实施方案中,表达载体可以是单顺反子的。“单顺反子”是指在单个表达载体中表达编码单个蛋白的单个核酸。

[0528] 在一个实施方案中,表达载体包含编码CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR的HCVR的序列,优选地与调节元件可操作地连接。在一个实施方案中,表达载体包含编码CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段的重链(包括HCVR和HCCR)的序列,优选地与调节元件可操作地连接。在一个实施方案中,HCVR和HCCR的序列位于相同的开放阅读框中,因此可以表达为单条多肽链。

[0529] 在一个实施方案中,表达载体包含编码CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR的LCVR的序列,优选地与调节元件可操作地连接。在一个实施方案中,表达载体包含编码CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段的轻链(包括LCVR和LCCR)的序列,优选地与调节元件可操作地连接。在一个实施方案中,LCVR和LCCR的序列位于相同的开放阅读框中,因此可以表达为单条多肽链。

[0530] 因此,本发明还涉及一种表达载体系统,其包含至少两个表达载体或由至少两个表达载体组成,一个表达载体包含编码CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR的HCVR的序列,优选地与调节元件可操作地连接;另一个表达载体包含编码CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR的LCVR的序列,优选地与调节元件可操作地连接。

[0531] 在一个实施方案中,表达载体包含编码胞外CD45RC结合结构域、任选地胞外铰链结构域、至少一个跨膜结构域和至少一个胞内信号传导结构域的序列,所述至少一个胞内信号传导结构域包含至少一个初级信号传导结构域和任选地一个或多个共刺激信号传导结构域,优选地与调节元件可操作地连接。在一个实施方案中,这些序列位于相同的开放阅读框中,因此可以表达为单条多肽链。

[0532] 在一个实施方案中,表达载体可以是多顺反子的。“多顺反子”是指在单个表达载体中表达至少两个或更多个核酸,每个核酸编码单个蛋白。

[0533] 在一个实施方案中,表达载体包含:

[0534] -编码CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR的HCVR的序列,优选地与调节元件可操作地连接;和

[0535] -编码CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR的LCVR的序列,优选地与调节元件可操作地连接。

[0536] 容易理解的是,本领域技术人员可以设计编码本文公开的HCVR、LCVR、HCCR和/或LCCR的核酸序列。还应当理解,本领域技术人员熟悉旨在修饰核酸序列以提高例如重组生产率的分子生物学方法,例如通过密码子优化。最后,本申请因此涵盖编码本文公开的任何HCVR、LCVR、HCCR和/或LCCR的任何核酸。

[0537] 在一个实施方案中,核酸或载体是分离的核酸或载体。

[0538] “分离的”是指核酸或载体基本上不含基因组DNA序列以及天然伴随天然序列的蛋白或复合物,例如核糖体和聚合酶。该术语涵盖已从其天然存在的环境中移出的核酸序列,并且包括重组或克隆的DNA分离物和化学合成的类似物或通过异源系统生物合成的类似物。

[0539] 在一个实施方案中,分离的核酸或载体是纯化的。

[0540] 在一个实施方案中,将分离的核酸或载体纯化为:

[0541] (1) 如通过吸光度法或荧光法测定(例如,通过测量260nm和280nm处的吸光度比(A₂₆₀/A₂₈₀)),以核酸重量计大于80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%或更高,且最优选以重量计大于96%、97%、98%或99%;或

[0542] (2) 如通过琼脂糖凝胶电泳并使用插入剂如溴化乙锭、SYBR Green、GelGreen等显示的均一性。

[0543] 在第五方面,本发明涉及一种生产和纯化上述CD45RC结合结构域、或抗CD45RC抗体或其抗原结合片段的方法。

[0544] 在一个实施方案中,所述方法包括:

[0545] -在适合表达CD45RC结合结构域、或抗CD45RC抗体或其抗原结合片段的条件下,培养包含上述核酸、优选表达载体的宿主细胞,和

[0546] -回收表达的CD45RC结合结构域、或抗CD45RC抗体或其抗原结合片段。

[0547] 该重组方法可用于大规模生产抗体或其抗原结合片段,包括单克隆抗体,旨在用于体外、离体和/或体内治疗和/或诊断用途。

[0548] 核酸或表达载体可以根据用于核酸切割、连接、转化和转染的多种常规实施程序中的任一种来增殖和表达。在某些实施方案中,表达可以在原核宿主细胞(即,包含核酸或表达载体的宿主细胞是原核宿主细胞)中进行,例如在大肠杆菌中进行。在其他实施方案中,表达可以在真核宿主细胞(即,包含核酸或表达载体的宿主细胞是真核宿主细胞)中进行,所述真核宿主细胞包括动物细胞(例如哺乳动物细胞)、酵母(例如,酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)或毕赤酵母(*Pichia pastoris*))和植物细胞。

[0549] 通过本领域普通技术人员已知的方法并基于本公开,可以设计核酸或表达载体用于在特定宿主系统中表达外来序列,然后可以插入编码细胞多肽的多核苷酸序列。调节元件将根据特定宿主的情况而有所不同。

[0550] 所有这些方法都是本领域公知的(参见,例如,Subramanian (Ed.), 2004. *Antibodies* (1st ed., Vol.1: Production and Purification). New York, NY: Springer US)。

[0551] 在一个实施方案中,进一步纯化表达的CD45RC结合结构域或抗CD45RC抗体或其抗原结合片段。

[0552] 纯化抗体或其抗原结合片段的方法是本领域公知的(参见,例如,Subramanian (Ed.), 2004. Antibodies (1st ed., Vol. 1: Production and Purification). New York, NY: Springer US)。

[0553] 在第六方面,本发明涉及表达本文所述的抗CD45RC CAR的免疫细胞,以及此类免疫细胞的细胞群。

[0554] 如本文所用,术语“免疫细胞”是指源自骨髓中产生的造血干细胞(HSC)的白血细胞(或白细胞)。

[0555] 在一个实施方案中,免疫细胞包含编码上述抗CD45RC CAR的核酸或载体,优选表达载体,从而产生在其细胞表面表达抗CD45RC CAR的工程化免疫细胞。

[0556] 在一个实施方案中,免疫细胞是哺乳动物免疫细胞,例如人免疫细胞、来自农场动物(例如牛、猪或马)的免疫细胞或来自宠物(例如猫或狗)的免疫细胞。

[0557] 在一个实施方案中,免疫细胞是自体细胞、异源细胞或同种异体细胞。

[0558] 在一个实施方案中,免疫细胞选自包含以下或由以下组成的组:淋巴细胞、骨髓来源的细胞及其任何组合。

[0559] 在一个实施方案中,免疫细胞是淋巴细胞,例如选自包含以下或由以下组成的组的细胞:T细胞、B细胞、自然杀伤(NK)细胞、自然杀伤T(NKT)细胞及其任意组合。

[0560] 在一个实施方案中,免疫细胞是T细胞,其可以选自包含以下或由以下组成的组:CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、双阴性(DN)T细胞及其任意组合。

[0561] 在一个实施方案中,免疫细胞是CD4⁺T细胞,例如T辅助细胞(Helper cell)、调节性T细胞、效应T细胞及其任何组合。在一个实施方案中,免疫细胞是CD8⁺T细胞,例如细胞毒性CD8⁺T细胞或CD8⁺调节性T细胞。在一个实施方案中,免疫细胞是 $\gamma\delta$ T细胞。在一个实施方案中,免疫细胞是经工程改造以表达所定义的 $\gamma\delta$ TCR的T细胞(TEG细胞)。在一个实施方案中,免疫细胞是DN T细胞。在一个实施方案中,免疫细胞是NK细胞。在一个实施方案中,免疫细胞是NKT细胞。

[0562] 在一个实施方案中,免疫细胞是调节性免疫细胞,例如适用于细胞治疗的任何调节性免疫细胞。在一个实施方案中,调节性免疫细胞选自调节性T细胞、CD4⁺调节性T细胞、CD8⁺调节性T细胞、调节性 $\gamma\delta$ T细胞、调节性DN T细胞、调节性B细胞、调节性NK细胞、调节性NKT细胞、调节性巨噬细胞、调节性树突细胞及其任何组合。

[0563] 在一个实施方案中,调节性免疫细胞是调节性T细胞(Treg),特别是胸腺来源的Treg或适应性或诱导性Treg。在一个实施方案中,免疫细胞是CD4⁺Treg。在一个实施方案中,Treg是胸腺衍生的Treg或适应性或诱导性Treg。在一个实施方案中,Treg是CD4⁺FoxP3⁺Treg或CD4⁺FoxP3⁻Treg(Tr1细胞)。在一个实施方案中,免疫细胞是CD4⁺FoxP3⁺调节性T细胞。在一个实施方案中,免疫细胞是CD8⁺Treg。CD8⁺Treg的实例包括但不限于CD8⁺CD28⁻Treg、CD8⁺CD103⁺Treg、CD8⁺FoxP3⁺Treg、CD8⁺CD122⁺Treg及其任何组合。

[0564] 在一个实施方案中,调节性免疫细胞是调节性 $\gamma\delta$ T细胞。在一个实施方案中,调节性免疫细胞是调节性DN T细胞。在一个实施方案中,调节性免疫细胞是调节性NK细胞。在一个实施方案中,调节性免疫细胞是调节性NKT细胞。

[0565] 在一个实施方案中,免疫细胞是效应免疫细胞,例如适用于细胞治疗的任何效应免疫细胞。在一个实施方案中,效应免疫细胞选自包含以下或由以下组成的组:效应T细胞、

CD4⁺效应T细胞、CD8⁺效应T细胞、效应 $\gamma\delta$ T细胞、效应DN T细胞、效应NK细胞或效应NKT细胞及其任意组合。

[0566] 在一个实施方案中,免疫细胞是效应T细胞(Teff)。在一个实施方案中,效应免疫细胞是CD4⁺Teff。CD4⁺Teff的实例包括但不限于:T_H1细胞、T_H2细胞、T_H9细胞、T_H17细胞、T_H22细胞、CD4⁺T滤泡辅助性(Tfh)细胞及其任何组合。在一个实施方案中,效应免疫细胞是CD8⁺Teff。CD8⁺效应T细胞的实例包括但不限于CD8⁺CD45RO⁺CCR7⁻CD62L⁻Teff、CD8⁺CD45RA⁺CCR7⁻CD62L⁻Teff及其任何组合。

[0567] 在一个实施方案中,免疫细胞是效应 $\gamma\delta$ T细胞。在一个实施方案中,免疫细胞是效应DN T细胞。在一个实施方案中,免疫细胞是效应NK细胞。在一个实施方案中,免疫细胞是效应NKT细胞。

[0568] 本发明还涉及如上所述的分离的和/或基本上纯化的免疫细胞群。

[0569] 如本文所用,“分离的细胞群(isolated population)”是指从其天然环境(例如外周血)中移出并被分离、纯化或分开的细胞群,并且至少约75%不含、80%不含、85%不含,并且在某些实施方案中约90%、95%、96%、97%、98%、99%不含天然一起存在的但缺乏细胞籍此分离的细胞表面标志物的其他细胞。

[0570] 本发明还涉及如上所述的免疫细胞的富集细胞群。在一个实施方案中,富集细胞群包含至少30%,优选至少40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多的感兴趣的免疫细胞。

[0571] 在第七方面,本发明涉及一种组合物,其包含如上所述的CD45RC结合结构域、或抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR;或如上所述编码其的核酸或载体,优选表达载体;或如上所述表达抗CD45RC CAR的免疫细胞。

[0572] 在一个实施方案中,所述组合物是药物组合物并且还包含至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0573] 术语“药学上可接受的赋形剂”包括任意和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。当施用于动物,优选人时,所述赋形剂不产生不利的、过敏的或其他不良反应。对于人体施用,制剂应符合监管局(例如FDA局或EMA)所要求的无菌性、热原性以及一般安全性和纯度标准。

[0574] 可用于这些组合物中的药学上可接受的赋形剂包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白如人血清白蛋白、缓冲物质如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、盐或电解质如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质(例如羧甲基纤维素钠)、聚乙二醇、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

[0575] 在一个实施方案中,药物组合物包含对于能够被注射至受试者的制剂而言是药学上可接受的媒介物。这些尤其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),或干燥的尤其是冻干的组合物,其根据情况添加无菌水或生理盐水后可配制可注射溶液。

[0576] 在一个实施方案中,所述组合物是药物。

[0577] 在第八方面,本发明涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的

细胞群以及上述组合物在多种治疗目的的方法中的用途,如下文将进一步描述。

[0578] 在一个实施方案中,本发明涉及一种通过向有需要的受试者施用上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物中的任一种来在所述受试者中诱导免疫耐受的方法。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物,用于在有需要的受试者中诱导免疫耐受。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物在制备用于在有需要的受试者中诱导免疫耐受的药物中的用途。

[0579] 如本文所用,术语“免疫耐受”涉及免疫系统对具有引发免疫应答的能力的特定物质或组织的无应答状态,而同时保持针对其它物质或组织的免疫应答。

[0580] 如本文所用,术语“免疫应答”包括T细胞介导的和/或B细胞介导的免疫应答。示例性的免疫应答包括但不限于T细胞应答(例如细胞因子产生和细胞毒性),以及由T细胞激活间接影响的免疫应答(例如,巨噬细胞)。参与免疫应答的免疫细胞包括淋巴细胞(例如B细胞和T细胞,包括CD4⁺、CD8⁺、T_h1和T_h2细胞)、抗原呈递细胞(例如专职抗原呈递细胞,如树突细胞)、自然杀伤细胞、骨髓细胞(例如巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、嗜碱性粒细胞和粒细胞)。

[0581] 在一个实施方案中,本发明涉及一种通过向有需要的受试者施用上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物中的任一种来耗减所述受试者中的CD45RC^高细胞的方法。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物,用于耗减有需要的受试者中的CD45RC^高细胞。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物在制备用于耗减有需要的受试者中的CD45RC^高细胞的药物中的用途。

[0582] CD45RC表达的相对水平可以使用流式细胞术测量。可以区分三种类型的细胞:呈现高、中或阴性CD45RC表达水平的细胞。

[0583] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物能够耗减CD45RC^高细胞。

[0584] “CD45RC^高细胞”是高水平表达CD45RC标志物的细胞(例如T细胞、NK细胞、NKT细胞、B细胞等),如上文所定义。

[0585] 如本文所用,关于表达CD45RC的细胞,术语“耗减(deplete)”是指受试者中细胞数量的可测量的减少。所述减少可以是至少约10%,例如至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更多。在一个实施方案中,该术语是指受试者或样品中的CD45RC^高细胞数量减少至低于可检测限的量。

[0586] 特别地,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC

CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物通过结合CD45RC并转导促凋亡信号和/或通过激活抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)和/或补体依赖性细胞毒性(CDC)来耗减CD45RC^高细胞。

[0587] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物介导补体依赖性细胞毒性。

[0588] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、或抗CD45RC CAR可结合至细胞毒性剂或生长抑制剂。

[0589] 在一个实施方案中,本发明涉及一种通过向有需要的受试者施用上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物中的任一种,在所述受试者中扩增和/或增强调节性T细胞的方法。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物,用于在有需要的受试者中扩增和/或增强调节性T细胞。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物在制备用于在有需要的受试者中扩增和/或增强调节性T细胞的药物中的用途。

[0590] 如本文所用,术语“扩增”是指转变和/或扩大给定细胞群(例如免疫细胞如Treg)的过程。细胞群的扩增可以在体内、体外或离体发生。

[0591] 如本文所用,术语“增强”是指提高给定细胞群的功能(例如提高Treg的抑制能力)的过程。细胞群的增强可以在体内、体外或离体发生。

[0592] “调节性T细胞”或“Treg”是抑制异常或过度免疫应答并在免疫耐受中起作用的T细胞。Treg通常是“叉头盒P3(Foxp3⁺)调节性T细胞”和/或“CD45RC^{低/-}细胞”。

[0593] 如本文所用,术语“叉头盒P3(Foxp3⁺)调节性T细胞”和“CD45RC^{低/-}细胞”是指在人和啮齿动物中表征性标志物为转录因子Foxp3的0.1-10%的CD4⁺和/或CD8⁺T细胞。

[0594] 在一个实施方案中,所述方法和用途是用于扩增和/或增强Foxp3⁺和/或CD45RC^{低/-}Treg。

[0595] 在一个实施方案中,通过刺激来扩增CD45RC^{低/-}Treg。在一个实施方案中,在IL-2和/或IL-15的存在下通过刺激来扩增CD45RC^{低/-}Treg。在一个实施方案中,通过用抗CD3/抗CD28抗体和/或同种异基因的抗原呈递细胞(APC)和/或特异性抗原进行刺激,来扩增CD45RC^{低/-}Treg。

[0596] 另外或可选地,本发明涉及纯化CD45RC^{低/-}Treg的体外或离体方法。

[0597] 在一个实施方案中,CD45RC^{低/-}Treg是CD8⁺/CD4⁺T细胞。在一个实施方案中,CD45RC^{低/-}Treg是CD8⁺/CD4⁻T细胞。在一个实施方案中,CD45RC^{低/-}Treg是CD8⁻/CD4⁺T细胞。

[0598] 在一个实施方案中,可以在施用给有此需要的受试者之前、同时或之后进一步扩增和/或增强纯化的CD45RC^{低/-}Treg。

[0599] 在一个实施方案中,本发明涉及通过向有需要的受试者施用上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC

CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物的任一种,在所述受试者中预防和/或减少移植排斥的方法。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物,用于在有需要的受试者中预防和/或减少移植排斥。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物在制备用于在有需要的受试者中预防和/或减少移植排斥的药物中的用途。

[0600] 术语“预防移植排斥”和“减少移植排斥”意在涵盖预防或抑制免疫移植排斥,以及延迟免疫移植排斥的发作或进展。此术语还意在涵盖延长移植植物在受试者中的存活或逆转受试者中移植植物的失败。此外,此术语意在涵盖改善免疫移植排斥的症状,包括例如改善与免疫排斥相关的免疫并发症,例如间质纤维化、慢性移植性动脉硬化或血管炎。

[0601] 术语“移植”及其变形是指将移植植物(transplant或graft)插入接受者,无论移植是同基因的(syngeneic,供体和接受者在基因上相同)、同种异基因的(allogeneic,供体和接受者具有不同的遗传来源但属于同一物种)或异种的(xenogeneic,供体和接受者来自不同物种)。因此,在典型情况下,宿主是人,且移植植物是来源于相同或不同遗传来源的人的同种移植植物(isograft)。在另一种情况下,移植植物来源于与其移植到的物种不同的物种,包括来自系统发育学上距离大的物种的动物,例如,将狒狒心脏移植到人类宿主中。

[0602] 如本文所用,术语“移植排斥”涵盖急性和慢性移植排斥两者。

[0603] “急性排斥”是当移植的组织在免疫学上是外来的时,组织移植植物接受者的免疫系统产生的排斥。急性排斥的特征在于接受者的免疫细胞对移植组织的浸润,其执行其效应子功能并破坏移植组织。急性排斥的发作迅速,且通常发生在人体移植手术后几周内。通常,可以用雷帕霉素、环孢菌素、抗CD40L单克隆抗体等免疫抑制药物抑制或压制急性排斥。

[0604] “慢性排斥”通常发生在人体植入后数月至数年之内,即使在成功免疫抑制了急性排斥的情况下。纤维化是所有类型器官移植植物的慢性排斥中的常见因素。

[0605] 在一个实施方案中,移植排斥是同种异基因移植排斥。因此,在一个实施方案中,移植植物的供体是人。移植植物的供体可以是活体供体或已故供体,即尸体供体。

[0606] 在一个实施方案中,移植植物是器官、组织或细胞。

[0607] 如本文所用,术语“器官”是指在生物体内执行特定功能或功能组的实体血管化器官。术语器官包括但不限于心脏、肺、肾、肝、胰腺、皮肤、子宫、骨骼、软骨、小肠或大肠、膀胱、脑、乳腺、血管、食管、输卵管、胆囊、卵巢、胰腺、前列腺、胎盘、脊髓、包括上肢和下肢在内的肢体、脾脏、胃、睾丸、胸腺、甲状腺、气管、输尿管、尿道、子宫。

[0608] 如本文所用,术语“组织”是指人或动物中任意类型的组织,且包括但不限于血管组织、皮肤组织、肝组织、胰腺组织、神经组织、泌尿生殖组织、胃肠道组织、包括骨骼和软骨在内的骨骼组织、脂肪组织、包括腱和韧带在内的结缔组织、羊膜组织、绒毛膜组织、硬脑膜、心包、肌肉组织、腺体组织、面部组织、眼组织。

[0609] 术语“细胞”是指富集感兴趣的细胞的组合物,优选包含至少30%,优选至少50%,甚至更优选至少65%的所述细胞的组合物。在一个实施方案中,细胞选自包含以下或由以下组成的组:来源于骨髓、外周血或脐带血的多潜能(multipotent)造血干细胞;或多能(pluripotent)(即胚胎干细胞[ES]或诱导多能干细胞[iPS])或多潜能干细胞衍生的不同

细胞谱系的分化细胞,包括但不限于心肌细胞、 β -胰腺细胞、肝细胞、神经元等。

[0610] 在一个实施方案中,其中移植是同种异基因造血干细胞移植(HSCT),细胞选自包含以下或由以下组成的组:多潜能造血干细胞,通常来源于骨髓、外周血或脐带血。

[0611] “HSCT”或“造血干细胞移植”是可以治疗患有白血病和淋巴瘤(包括但不限于急性髓性白血病(AML)、急性淋巴性白血病(ALL)、慢性髓性白血病(CML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓增生综合征、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴性白血病(CLL)和多发性骨髓瘤)的患者的移植疗法。然而,同种异基因HSCT的一个重要局限是移植物抗宿主病(GvHD)的发展,其以严重形式发生在约30-50%接受这种疗法的人中。

[0612] 因此,在一个实施方案中,所述方法和用途用于预防和/或减少移植物抗宿主病(GvHD)。

[0613] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物可以与多潜能造血干细胞组合使用以预防和/或治疗恶性疾病,例如白血病和/或淋巴瘤(包括但不限于急性髓性白血病(AML)、急性淋巴性白血病(ALL)、慢性髓性白血病(CML)、骨髓增生异常综合征(MDS)、骨髓增生综合征、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴性白血病(CLL)、神经母细胞瘤、尤文肉瘤、骨髓增生异常综合征、胶质瘤和多发性骨髓瘤)或非恶性疾病,如肾上腺脑白质营养不良(adrenoleukodystrophy)、地中海贫血(thalassemia)、镰刀细胞性贫血(drepanocytic anemia)、再生障碍性贫血(aplastic anemia)、镰状细胞性贫血(sickle cell anemia)、范可尼贫血(Fanconi anemia)、骨髓衰竭综合征(bone marrow failure syndrome)、血红蛋白病(hemoglobinopathy)、恶性婴儿硬化病(malignant infantile osteopetrosis)、黏多糖贮积症(mucopolysaccharidosis)、丙酮酸激酶缺乏症(pyruvate kinase deficiency)、免疫缺陷综合征(immune deficiency syndrome)、噬血细胞性淋巴组织细胞增生症(hemagophagocytic lymphohistiocytosis)、先天性代谢错误(inborn errors of metabolism)、硬化型骨髓瘤(又名POEMS综合征)和原发性淀粉样变性(primary amyloidosis)。

[0614] 另外或可选地,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物可用于移植工程。

[0615] 在一个实施方案中,在移植前用上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物处理待移植的移植物,以耗减CD45RC^高细胞。

[0616] 在一个实施方案中,移植物是骨髓,并且在移植前用上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物进行处理,以耗减CD45RC^高T细胞。在一个实施方案中,骨髓包含含有CD45RC^高T细胞和CD45RC^低 T细胞的CD34⁺细胞。

[0617] 在一个实施方案中,本发明涉及通过向有需要的受试者施用上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物的任一种,在所述受试者中预防、减

少和/或治疗CD45RC^高相关疾病、病症或病况的方法。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物,用于在有需要的受试者中预防、减少和/或治疗CD45RC^高相关疾病、病症或病况。它还涉及上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物在制备用于在有需要的受试者中预防、减少和/或治疗CD45RC^高相关疾病、病症或病况的药物中的用途。

[0618] 如本文所用,术语“CD45RC^高相关疾病、病症或病况”是指由受试者中表达CD45RC细胞的细胞比例增加和/或由受试者细胞中CD45RC的表达水平增加而引起或潜在或表征的疾病、病症或病况。

[0619] “表达CD45RC的细胞比例增加”意指与参照例如基本上健康的受试者(即,未遭受CD45RC^高相关疾病、病症或病况风险的受试者)中CD45RC^高细胞的数量相比,给定受试者中表达CD45RC的细胞(即CD45RC^高细胞)的数量增加约5%,优选约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%或更多。

[0620] “CD45RC表达水平增加”意指与参照例如基本上健康的受试者(即,未遭受CD45RC^高相关疾病、病症或病况风险的受试者)的细胞中的CD45RC表达水平相比,给定受试者的细胞中CD45RC表达水平(无论mRNA水平或蛋白水平)增加约5%,优选约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%、90%、100%或更多。

[0621] 在一个实施方案中,CD45RC^高相关疾病、病症或病况选自包含以下或由以下组成的组:自身免疫疾病、不希望的免疫应答、单基因疾病和淋巴瘤或癌症。

[0622] 在一个实施方案中,CD45RC^高相关疾病、病症或病况选自包含以下或由以下组成的组:自身免疫疾病、不希望的免疫应答和单基因疾病。

[0623] 如本文所用,术语“自身免疫疾病”是指其中免疫系统针对作为正常宿主一部分的抗原(即自身抗原)产生免疫应答(例如,B细胞或T细胞应答),随之对组织造成损害的疾病。在自身免疫疾病中,宿主的免疫系统无法将特定抗原识别为“自身”,并且针对表达该抗原的宿主组织发起免疫反应。

[0624] 本发明中涉及的示例性自身免疫疾病包括但不限于类风湿性关节炎、青少年关节炎(juvenile oligoarthritis)、胶原诱导性关节炎(collagen-induced arthritis)、佐剂诱导性关节炎(adjuvant-induced arthritis)、干燥综合征、多发性硬化、实验性自身免疫性脑脊髓炎、炎症肠疾病(包括克罗恩氏病和溃疡性结肠炎)、自身免疫性胃萎缩(autoimmune gastric atrophy)、寻常型天疱疮、银屑病、白癜风、斑秃(alopecia areata)、1型糖尿病、非肥胖型糖尿病、重症肌无力、格雷夫斯病(Grave's disease)、桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、硬化性胆管炎、硬化性涎腺炎(sclerosing sialadenitis)、系统性红斑狼疮、自身免疫性血小板减少性紫癜(autoimmune thrombocytopenia purpura)、肺出血肾炎综合征(Goodpasture's syndrome)、艾迪生氏病(Addison's disease)、全身性硬化、多发性肌炎、皮炎、获得性血友病、血栓性血小板减少性紫癜(thrombotic thrombocytopenic purpura)、葡萄膜炎、IgG4相关自身免疫疾病(例如,Kleger等,2015.Dtsch Arztebl Int.112(8):128-135的表1中列出的疾病,该表通过引用并入本文)等。

[0625] 在一个实施方案中,自身免疫疾病是系统性红斑狼疮。

[0626] 在一个实施方案中,自身免疫疾病是炎症肠疾病,包括克罗恩氏病、结肠炎和溃疡性结肠炎。在一个实施方案中,自身免疫疾病是克罗恩氏病。在一个实施方案中,自身免疫疾病是溃疡性结肠炎。

[0627] 如本文所用,术语“不希望的免疫应答”是指任意不想要的免疫反应,优选针对以下的任意不想要的免疫反应:(i) 基因疗法过程中表达的蛋白,(ii) 基因疗法过程中使用的载体(例如病毒载体)和/或(iii) 治疗性蛋白。这样的蛋白包括例如因子VIII(血友病A)和其他凝血因子、酶替代疗法、单克隆抗体(例如那他珠单抗、利妥昔单抗、英夫利昔单抗)、多克隆抗体、酶和细胞因子(例如IFN β)。术语“不希望的免疫应答”还指过敏和过敏反应。

[0628] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物可以施用于受试者以抑制免疫应答,尤其是防止针对特定蛋白的免疫反应(当其表达通过基因治疗在具有相应遗传缺陷的那些受试者中恢复时)。因此,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物可用于预防针对通常由于突变在受试者中不存在同时通过基因疗法实现其重新形成(reconstitution)的蛋白的免疫反应性。此外,蛋白疗法是一个正变得越来越广泛的医学创新领域,并且涉及将例如酶、抗体或细胞因子的蛋白作为治疗性产品直接应用于受试者。递送此类药物的主要障碍之一涉及针对治疗性蛋白本身的免疫应答。基于蛋白的治疗剂的施用通常伴随着施用免疫抑制剂,其用于促进蛋白的寿命增长,并因此增加生物体的细胞和组织对蛋白的摄取。然而,一般的免疫抑制剂由于其所实施的免疫抑制的非特异性性质而可能是不利的,从而导致患者中不想要的副作用。因此,这种方法可用于抑制针对治疗性蛋白和肽的免疫应答,所述治疗性蛋白和肽例如是治疗性抗体、细胞因子、酶或施用于患者的任意其他蛋白。

[0629] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物可以施用于受试者,以抑制免疫应答,尤其是防止针对基因疗法中使用的载体(特别是基因疗法中使用的病毒载体)的免疫反应。这样的病毒载体包括例如腺相关病毒(AAV)载体、腺病毒(Ad)载体、慢病毒载体等。关于综述,参见Nayak&Herzog,2010.Gene Ther.17(3):295-304。

[0630] 如本文所用,术语“过敏反应”或“过敏”是指免疫系统的不恰当反应。过敏反应针对称为过敏原的通常无害的环境物质而发生;这些反应是获得性的,可预测的和快速的。严格来说,过敏是四种超敏反应形式之一,并称为I型(或速发型(immediate))超敏反应。它的特征在于通过称为IgE的一种抗体类型过度激活称为肥大细胞的某些白细胞和嗜碱性粒细胞,从而导致极端炎症反应。常见的过敏反应包括湿疹、荨麻疹、花粉症、哮喘、食物过敏、乳糖不耐症以及对刺针昆虫(stinging insect)如黄蜂和蜜蜂的毒液的反应。

[0631] 如本文所用,术语“单基因疾病”是指由选自以下基因的单个基因中的突变引起的疾病:

[0632] (i) 与免疫功能无关但其缺乏与炎症和/或自身免疫反应有关的基因,例如在以下疾病中缺乏的基因:杜氏肌营养不良症(DMD)、囊性纤维化、溶酶体疾病和 α 1-抗胰蛋白酶缺

乏;和

[0633] (ii) 与免疫系统有关且其缺乏会引起炎症和/或自身免疫反应的基因,例如在以下疾病中缺乏的基因:T细胞原发性免疫缺陷,例如IPEX (immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome,免疫失调多内分泌病肠病X连锁综合征),自身免疫性多内分泌综合征1型 (APS-1) (又称为自身免疫性多内分泌病-念珠菌病-表皮营养不良 (autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy) 或APECED),自身免疫性多内分泌综合征2型 (APS-2) (又称为Schmidt综合征),自身免疫性多内分泌综合征3型 (APS-3) (又称为自身免疫性多内分泌病),B细胞原发性免疫缺陷,穆-韦综合征 (Muckle-Wells syndrome),自身炎症和自身免疫混合综合征 (mixed autoinflammatory and autoimmune syndrome),NLRP12相关的遗传性周期性发热综合征以及与肿瘤坏死因子受体1相关的周期性综合征。

[0634] 基因来源的其他自身免疫疾病(即,如本文所定义的单基因疾病)是本领域已知的并且在本文中涵盖在术语“单基因疾病”下,如例如Ramos et al.,2015 (J Hum Genet.60 (11):657-64)的表1中所描述,该表通过引用并入本文。具体地,本文涵盖的基因来源的自身免疫疾病是与以下基因中任一种的突变相关的疾病:HLA-DR等位基因、STAT4、PTPN22、IFIH1、TRAF3IP2、TRAF1-C5、PADI4、TNF、IL-1、IL-6、IL-4、IL-5、OPN、IL12A和IL12RB2。

[0635] 在一个实施方案中,单基因疾病是APECED(自身免疫性多内分泌病-念珠菌病-表皮营养不良)。

[0636] 在一个实施方案中,单基因疾病是杜氏肌营养不良症 (DMD)。

[0637] 如本文所用,术语“淋巴瘤或癌症”涵盖与CD45RC^高细胞相关的淋巴瘤或癌症。与CD45RC^高细胞相关的示例性淋巴瘤或癌症包括但不限于急性髓性白血病 (AML)、急性淋巴性白血病 (ALL)、慢性髓性白血病 (CML)、骨髓增生异常综合征 (MDS)/骨髓增生综合征、淋巴瘤(例如,霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤)、慢性淋巴性白血病 (CLL) 和多发性骨髓瘤。

[0638] 在一个实施方案中,CD45RC^高相关疾病、病症或病况是系统性红斑狼疮、炎性肠疾病(包括克罗恩氏病和溃疡性结肠炎)、APECED(自身免疫性多内分泌病-念珠菌病-表皮营养不良)或杜氏肌营养不良症 (DMD)。

[0639] 在一个实施方案中,CD45RC^高相关疾病、病症或病况是系统性红斑狼疮、炎性肠疾病(包括克罗恩氏病和溃疡性结肠炎)或APECED(自身免疫性多内分泌病-念珠菌病-表皮营养不良)。

[0640] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物将被配制用于施用于受试者。

[0641] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物将被全身或局部施用。

[0642] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物通过注射、经口、局部、经鼻、经颊、经直肠、经阴道、气管内、通过内窥镜、经粘膜或经皮施用来施用。

[0643] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物将被注射,优选全身注射。

[0644] 适合注射的制剂的实例包括但不限于溶液,例如无菌水性溶液、凝胶、分散体、乳液、悬浮液、适合在使用前在添加液体后用于制备溶液或悬浮液的固体形式,例如粉末、脂质体形式等。

[0645] 全身注射的实例包括但不限于静脉内(iv)、皮下、肌肉(im)、皮内(id)、腹膜内(ip)注射和灌注。

[0646] 应当理解,本发明还考虑了其他合适的施用途径,并且施用模式最终将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。除了通过注射(iv、ip、im等)施用之外,其他途径也是可用的,例如雾化(Respaud et al.,2014.MAbs.6(5):1347-55;Guilleminault et al.,2014.J Control Release.196:344-54;Respaud et al.,2015.Expert Opin Drug Deliv.12(6):1027-39)或皮下施用(Jackisch et al.,2014.Geburtshilfe Frauenheilkd.74(4):343-349;Solal-Celigny,2015.Expert Rev Hematol.8(2):147-53)。

[0647] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物将以治疗有效量施用于有需要的受试者。

[0648] 如本文所用,术语“治疗有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效实现期望的预防和/或治疗结果的量。

[0649] 然而,应当理解,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物的总每日使用量将由主治医师在合理的医学判断范围内决定。对于任何特定患者的具体治疗有效剂量水平将取决于多种因素,包括所治疗的疾病和该疾病的严重程度;所采用的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或组合物的活性;受试者的年龄、体重、总体健康状况、性别和饮食;所采用的具体CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或组合物的施用时间、施用途径和排泄速率;治疗的持续时间;与所采用的具体CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或组合物组合或同时使用的药物;以及医学领域中公知的类似因素。例如,本领域技术人员熟知,化合物的起始剂量水平低于实现所期望治疗效果所需的水平,并逐渐增加剂量直至实现所期望的效果。每次治疗所需的总剂量可以通过多剂量或单剂量施用。

[0650] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域或抗CD45RC抗体或其抗原结合片段的治疗有效量的范围为约0.1mg/kg至约5mg/kg、约0.2mg/kg至约4mg/kg、约0.3mg/kg至约3mg/kg、约0.4mg/kg至约2.5mg/kg、约0.5mg/kg至约2mg/kg。

[0651] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域或抗CD45RC抗体或其抗原结合片段的治疗有效量的范围为约10μg/kg至约400μg/kg、约20μg/kg至约300μg/kg、约30μg/kg至约250μg/kg。

kg、约35 μ g/kg至约200 μ g/kg、约40 μ g/kg至约160 μ g/kg。

[0652] 在一个实施方案中,表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群的治疗有效量的范围为约 1×10^2 至约 1×10^9 个细胞/kg体重,优选约 1×10^3 至约 1×10^8 个细胞/kg体重,包括这些范围内的所有整数值。

[0653] 在一个实施方案中,表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群的治疗有效量为至少 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 或 1×10^9 个细胞/kg体重。

[0654] 在一个实施方案中,治疗有效量的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物每天施用一次、每天施用两次、每天施用三次或更多次。

[0655] 在一个实施方案中,治疗有效量的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物为每天、每两天、每三天、每四天、每五天、每六天施用。

[0656] 在一个实施方案中,治疗有效量的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物为每周、每两周、每三周施用。

[0657] 在一个实施方案中,治疗有效量的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物为每月、每两个月、每三个月、每四个月、每五个月、每六个月施用。

[0658] 在一个优选的实施方案中,治疗有效量的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物为每12小时、每24小时、每36小时、每48小时、每60小时、每72小时、每96小时施用。

[0659] 在一个优选的实施方案中,治疗有效量的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物为每60小时施用。

[0660] 在一个实施方案中,CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物用于急性施用。在一个实施方案中,CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物用于慢性施用。

[0661] 在一个实施方案中,治疗有效量的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物施用约5天、7天、10天、14天、21天、28天、1个月、2个月、3个月、6个月、1年或更长时间。

[0662] 在一个实施方案中,治疗有效量的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物施用约一周至约八周、约两周至约七周、约两周至约六周、约两周

到大约五周的时间。

[0663] 在一个优选的实施方案中,治疗有效量的CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或所述组合物施用约10天至约40天、约15天至约35天、约20天至约30天的时间。

[0664] 在一个实施方案中,上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物在治疗药物之前、同时或之后施用。

[0665] 合适的治疗药物的实例已在上文描述为与CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR结合的合适的有效负载,并且包括化疗剂、靶向治疗剂、细胞毒性剂(或细胞毒素)、细胞周期同步剂、细胞受体的配体、免疫调节剂、促凋亡剂、裂解肽、抗血管生成剂、细胞因子、生长因子和激素。

[0666] 容易理解的是,这些治疗药物因此可以以结合形式施用,但也可以以非结合(或游离)形式与上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物一起施用。

[0667] 本领域技术人员还应当理解,用于共同施用的具体治疗药物将取决于待预防和/或治疗的疾病或病症。

[0668] 在一个示例性实施方案中,其中当上述CD45RC结合结构域、抗CD45RC抗体或其抗原结合片段、抗CD45RC CAR、编码其的核酸或载体、表达抗CD45RC CAR的免疫细胞或此类免疫细胞的细胞群或上述组合物用于在有需要的受试者中诱导免疫耐受,或用于预防和/或减少移植排斥时,可能需要共同施用免疫抑制剂。

[0669] 附图简要说明

[0670] 图1A-1C是一组三幅图,显示了三种抗hCD45RC抗体(ABO-21001、ABO-21007和ABO-21009)治疗NSG免疫缺陷小鼠中的GvHD的效果。图1A:存活曲线。图1B:体重减轻。图1C:临床评分。

实施例

[0671] 通过以下实施例进一步说明本发明。在整个实施例中,适用以下术语:

[0672] “ABIS-45RC”:鼠抗hCD45RC抗体,对应于W02020/058495的表2中公开的抗体#1。

[0673] “ABO-21001”:W02020/058495的ABIS-45RC的同类最佳(best-in-class)人源化变体之一,对应于W02020/058495的表2中公开的抗体#92。

[0674] “ABO-21009”:W02020/058495的ABIS-45RC的同类最佳人源化变体之一,对应于W02020/058495的表2中公开的抗体#103。

[0675] “ABO-21007”:ABIS-45RC的人源化变体,本发明的目的,其包含:

[0676] -重链可变区(HCVR),序列为SEQ ID N0:24;

[0677] -轻链可变区(LCVR),序列为SEQ ID N0:25,其中X₁不存在,并且X₂是Tyr(Y);

[0678] -重链恒定区(HCCR),序列为SEQ ID N0:26;和

[0679] -轻链恒定区(LCCR),序列为SEQ ID N0:29。

[0680] 实施例1：用ABO-21007治疗移植物抗宿主病 (GvHD)

[0681] 材料与方法

[0682] PBMC分离

[0683] 血液是在法国血液中心 (**Établissement Français du Sang**, Nantes, 法国) 从健康个体采集的。根据机构指南提供了书面知情同意书。通过Ficoll-Paque密度梯度离心 (Eurobio, Courtaboeuf, 法国) 分离PBMC。用低渗溶液和离心除去剩余的红细胞和血小板。

[0684] 动物

[0685] 将8至12周龄的NOD/SCID/IL2R $\gamma^{-/-}$ (NSG) 小鼠在我们自己的动物设施中在SPF条件下饲养 (认证号C44-278)。

[0686] GvHD模型

[0687] 对成年NSG免疫缺陷小鼠进行全身亚致死辐射 (第-1天的辐射剂量为2Gy) 以诱导组织损伤, 从而有利于GvHD的发生。次日 (第0天), 将来自健康志愿者的 1.5×10^7 个PBMC (包括CD45RC^高和CD45RC^低 T细胞) 静脉注射到这些小鼠中。人PBMC, 特别是T细胞, 对小鼠组织有反应并攻击小鼠组织, 从而诱发损伤。这些T细胞以及在肝脏、肠、肺和皮肤中观察到的损伤模仿了在人类骨髓移植或使用啮齿类动物作为供体和受体的其他GvHD实验系统中观察到的GvHD。特别是, 这些组织损伤通常会导致体重减轻, 取决于注射的PBMC数量以及在我们的实验系统中, 所述体重减轻通常在注射PBMC后第13天左右开始。每天监测体重减轻情况, 当体重下降至原始体重的20%时处死动物, 以避免不必要的痛苦。

[0688] 治疗

[0689] 用纯化的抗CD45RC抗体ABO-21001、ABO-21007和ABO-21009或用PBS, 从第0天开始并在20天内每2.5天以0.8mg/kg对NSG小鼠进行腹膜内治疗。

[0690] 总体临床评分

[0691] GvHD总体临床评分 (从0到12) 是通过汇总六个单独评分来确定的, 即:

[0692] -体重减轻评分 (从0到2);

[0693] -姿势评分 (从0到2);

[0694] -皮肤完整性评分 (从0到2);

[0695] -活动评分 (从0到2);

[0696] -毛皮质地 (fur texture) 评分 (从0到2); 和

[0697] -苍白性 (paleness) 评分 (从0到2)。

[0698] 结果

[0699] 仅用PBMC (PBS) 治疗在第11天左右开始诱导小鼠死亡, 如图1A所示, 截至第15天所有小鼠均死亡。与PBS处理的小鼠相比, 用ABO-21001和ABO-21009治疗增加了小鼠的存活。在第35天, 平均40%的经治疗小鼠仍然存活 (图1A)。然而令人惊讶的是, 用ABO-21007治疗显著提高了小鼠的存活率, 平均70%的小鼠在35天时仍然存活 (图1A)。

[0700] 类似地, 在用ABO-21001或ABO-21009治疗后, NSG小鼠体重减轻显著低于用PBS治疗的NSG小鼠 (图1B)。然而令人惊讶的是, 用ABO-21007治疗没有导致任何体重减轻。

[0701] 最后, 用ABO-21007治疗的小鼠的GvHD临床评分也是最低的 (图1C)。

[0702] 总而言之, 这些结果证明了与W02020/058495中已经改进的抗人CD45RC抗体相比, ABO-21007具有改进的特性。

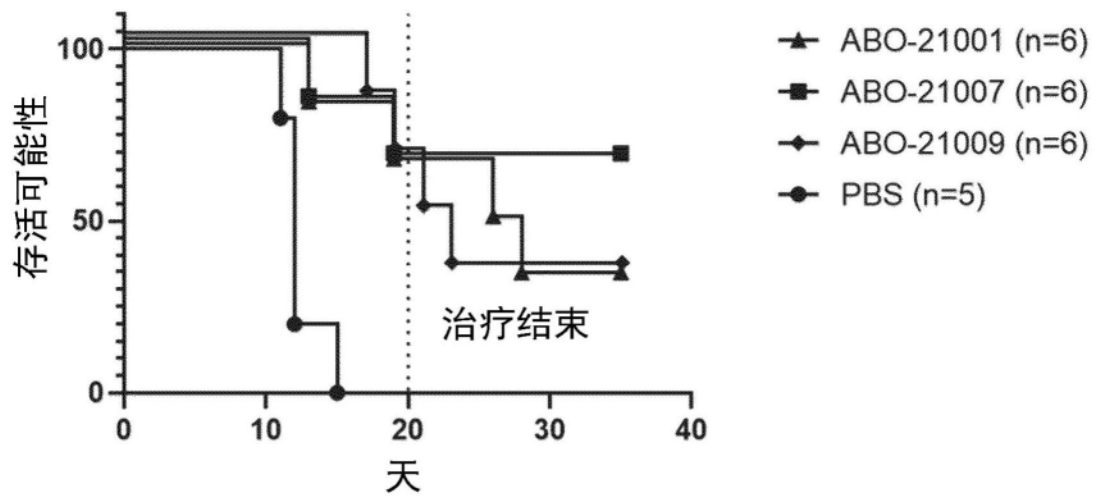


图1A

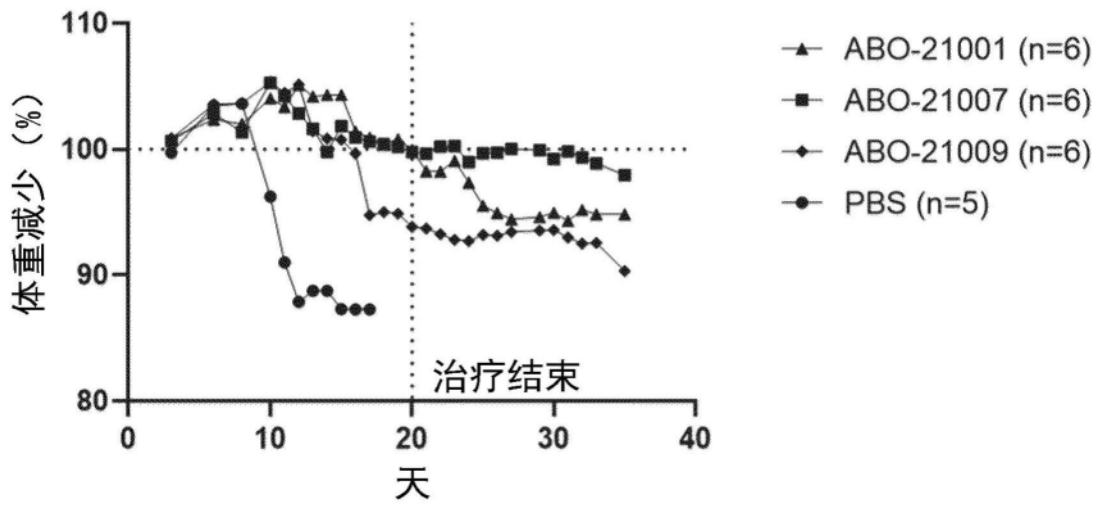


图1B

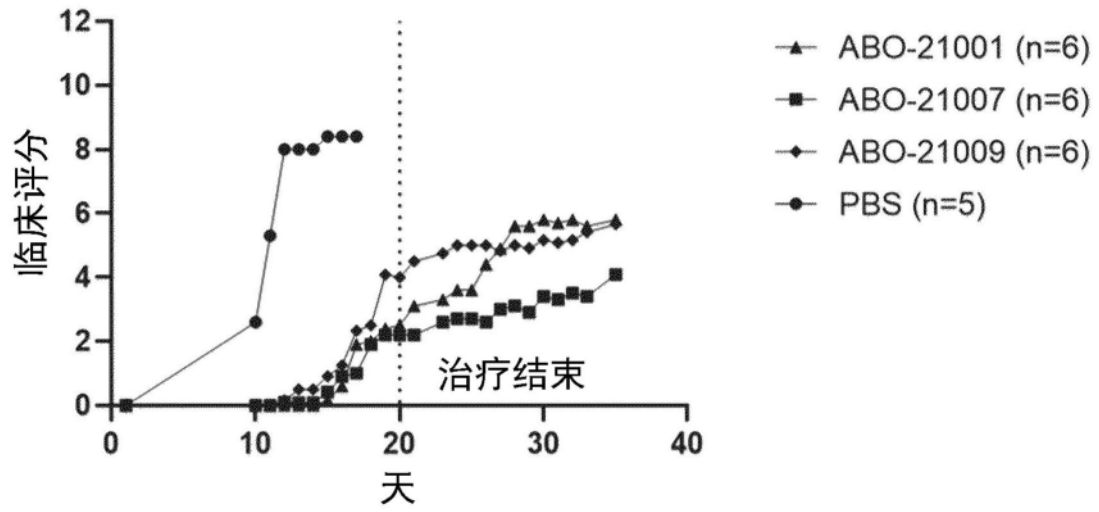


图1C