

WO 2020/063858 A1

TLR 激动剂与免疫检查点抑制剂联合在制备治疗肿瘤的药物中的用途

技术领域

本公开中涉及一种 TLR 激动剂与免疫检查点抑制剂联合在制备治疗肿瘤的药物中的用途。

背景技术

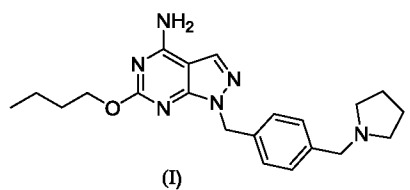
蛋白质程序性死亡 1(PD-1)是 CD28 受体家族的抑制性成员，该家族还包括 CD28、CTLA-4、ICOS 和 BTLA。PD-1 在活化的 B 细胞、T 细胞和髓样细胞上表达。根据加入单克隆抗体后对提升 T 细胞增殖的功能性影响发现了家族最初的成员，CD28 和 ICOS。通过在凋亡细胞中筛选差异表达发现了 PD-1。目前，已有小野公司的 Nivolumab 及 Merck 公司的 Pembrolizumab 成功获批上市，用于治疗不可切除或转移性黑色素瘤、非小细胞肺癌、晚期肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、复发性或转移性鳞状细胞癌等。

Toll 样受体(toll-like receptors; TLRs)是参与先天免疫的一类重要蛋白质分子。TLRs 是单体跨膜的非催化性受体，通常在岗哨细胞如巨噬细胞和树突状细胞中表达，可以识别由微生物产生的结构保守的分子。一旦这些微生物突破如皮肤或肠道粘膜的物理屏障，就会被 TLRs 识别，继而激活免疫细胞应答。(Mahla, RS. 等人, Front Immunol. 4: 248 (2013))。免疫系统之所以具有广泛识别病原微生物的能力，某种程度上是由于 Toll 样免疫受体的广泛存在。

在哺乳动物中至少有 10 种不同的 TLRs。一些此类受体的配体和相应的信号级联放大已经被鉴定出。很多疾病、障碍与 TLRs 的异常有关，比如黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌、基底细胞癌(basalcellcarcinoma)、肾细胞癌、骨髓瘤、变应性鼻炎、哮喘、慢性阻塞性肺炎(COPD)、溃疡性结肠炎、肝纤维化，HBV、黄病毒科(Flaviviridae)病毒、HCV、HPV、RSV、SARS、HIV 或流行性感冒的病毒感染等。

TLR7 是 TLRs(TLRs 3、7、8 和 9)亚组的成员，局限于专门检测非己核酸的细胞的内涵体隔室。TLR7 在通过识别 ssRNA 抗病毒防御方面起关键作用(Diebold S.S. 等, Science, 2004 : 303, 1529-1531; 和 Lund J.M. 等, PNAS, 2004 : 101, 5598-5603)。目前，已上市的 TLR7 抑制剂主要用于表面给药，例如 imiquimod 用于治疗尖锐湿疣等。

WO2018095426A 提供了一种 TLR7 激动剂，结构如下所示：



F Sato-Kaneko 等人发现通过瘤内注射 TLR 激动剂及 PD-1 阻断剂的联合治疗可以激活肿瘤相关巨噬细胞 (TAM) 并诱导肿瘤特异性适应性免疫应答, 在复发性或转移性头颈部鳞状细胞癌 (HNSCC) 模型中抑制原发性肿瘤并预防转移 (JCI Insight. 2017 Sep 21; 2(18): e93397.)。

5 Yosuke Ota 等人发现通过静脉注射 TLR7 激动剂 DSP-0509 联用抗 PD-1 抗体对于抗肿瘤免疫反应起到了协同作用 (AACR 2018 Proceedings: Abstracts 4726)。

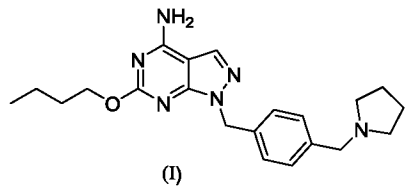
Naoto Nishii 等人发现在 TLR7 激动剂 resiquimod 与 PD-L1 抗体联用在小鼠头颈鳞癌模型 SCCVII 及结肠癌模型 Colon 26 的实验结果上认为低剂量瑞喹莫德可作为 PD-1 / PD-L1 阻断治疗的伴侣药物 (Oncotarget, 2018, Vol. 9, (No. 17), pp: 10 13301-13312)。

MEDIMMUNE 公司开展了关于 TLR7 激动剂 MEDI9197 与 durvalumab 联用治疗实体瘤或者 T-细胞淋巴瘤的临床实验, 目前尚未有结果 (NCT02556463)。

发明内容

15 本公开中提供一种 TLR 激动剂与免疫检查点抑制剂联合在制备治疗肿瘤的药物中的用途。

本公开中提供的 TLR 激动剂可选式(I)所示化合物或其复合物或其可药用盐,



本公开中 TLR 激动剂的可药用盐可以是盐酸盐、磷酸盐、磷酸氢盐、硫酸盐、20 硫酸氢盐、亚硫酸盐、乙酸盐、草酸盐、丙二酸盐、戊酸盐、谷氨酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、硼酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸盐、羟乙基磺酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、苯甲酸盐、双羟萘酸盐、水杨酸盐、香草酸盐、扁桃酸盐、琥珀酸盐、葡萄糖酸盐、乳糖酸盐或月桂基磺酸盐等, 优选马来酸盐、盐酸盐, 最优选二盐酸盐。

25 本公开中所述的免疫检查点抑制剂可选自程序性死亡-1(PD-1)抑制剂、程序性死亡配体-1 (PD-L1) 抑制剂或细胞毒性-T-淋巴细胞相关蛋白-4 (CTLA-4) 抑制剂。

在一些实施方案中, 本公开中所述的 PD-1 受体抑制剂为可特异性的结合 PD-1 并抑制 PD-1 活性的抗体或者其抗原结合片段; 所述 PD-L1 抑制剂为可特异性地结30 合 PD-L1 并抑制 PD-L1 活性的抗体或其抗原结合片段; 所述 CTLA-4 抑制剂为可特异性的结合 CTLA-4 并抑制 CTLA-4 活性的抗体或其抗原结合片段。

本公开中所述的可特异性的结合 PD-1 并抑制 PD-1 活性的抗体或者其抗原结合片段即为抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段。

本公开中所述的可特异性地结合 PD-L1 并抑制 PD-L1 活性的抗体或其抗原结合片段即为抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段。

本公开中所述的可特异性的结合 CTLA-4 并抑制 CTLA-4 活性的抗体或其抗原结合片段即抗 CTLA-4 抗体其抗原结合片段。

5 在一些实施方案中,本公开所述的 PD-1 抗体的轻链可变区包含分别如 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO: 6 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

所述的 PD-1 抗体的重链可变区包含分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。

其中,前面所述的各 CDR 序列如下表所示:

名称	序列	编号
HCDR1	SYMMS	SEQID NO: 1
HCDR2	TISGGGANTYYPDSVKG	SEQID NO: 2
HCDR3	QLYYFDY	SEQID NO: 3
LCDR1	LASQTIGTWLT	SEQID NO: 4
LCDR2	TATSLAD	SEQID NO: 5
LCDR3	QQVYSIPWT	SEQID NO: 6

10 优选的,所述的 PD-1 抗体为人源化抗体或其片段。

在可选实施方案中,本公开中所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段选自由 Fab, Fab'-SH, Fv, scFv, 和(Fab')₂ 片段组成的组的抗体片段。

免疫球蛋白可以来源于任何通常已知的同种型,包括但不限于 IgA、分泌型 IgA、IgG 和 IgM。IgG 亚类也是本领域技术人员众所周知的,包括但不限于 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4。“同种型”是指由重链恒定区基因编码的 Ab 种类或亚类(例如, IgM 或 IgG1)。在一些可选实施方案中,本公开中所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段包含人源 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 同种型的重链恒定区,优选包含 IgG1 或 IgG4 同种型的重链恒定区。

20 在另一些可选实施方案中,所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段包含 κ 或 λ 的轻链恒定区的轻链恒定区。

进一步地,优选人源化抗体轻链可变区序列为如 SEQ ID NO:10 所示的序列或其变体,所述变体优选在轻链可变区有 0-10 的氨基酸变化,更优选为 A43S 的氨基酸变化;所述人源化抗体重链可变区序列为如 SEQ ID NO:9 所示的序列或其变体,所述变体优选在重链可变区有 0-10 的氨基酸变化,更优选为 G44R 的氨基酸变化。

前述的人源化抗体重、轻链的序列如下所示:

重链可变区

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISG
GGANTYYPDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDY

WGQGTTVTVSS

SEQID NO: 9

轻链可变区

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCLASQTIGTWLTWYQQKPGKAPKLLIYTATSLA
 5 DGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVYSIPWTFGGGTKVEIK

SEQID NO: 10

优选的，所述人源化抗体轻链序列为如 SEQ ID NO:8 所示的序列或其变体；
 所述变体优选在轻链可变区有 0-10 的氨基酸变化，更优选为 A43S 的氨基酸变化；
 所述人源化抗体重链序列为如 SEQ ID NO:7 所示的序列或其变体，所述变体优选
 10 在重链可变区有 0-10 的氨基酸变化，更优选为 G44R 的氨基酸变化。

在另一实施方案中，所述人源化抗体的轻链序列为如 SEQ ID NO:8 所示的序
 列，重链序列为如 SEQ ID NO:7 所示的序列。

所述人源化抗体重、轻链的序列如下所示：

重链

15 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMMSWVRQAPGKGLEWVATISG
 GGANTYYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLYYFDY
 WGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
 GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKR
 VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPE
 20 VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
 EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEAL
 HNHYTQKSLSLSLGK

SEQID NO: 7

25 轻链

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCLASQTIGTWLTWYQQKPGKAPKLLIYTATSLA
 DGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQVYSIPWTFGGGTKVEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
 QDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

30 SEQID NO: 8

在某些实施方案中，TLR 激动剂为式 (I) 所示化合物或其复合物或其可药用
 盐，所述免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体，其重、轻链的序列如本公开中 SEQ
 ID NO:7 和 SEQ ID NO:8 所示。

在某些实施方式中，所述抗 PD-L1 抗体或抗原结合片段的重链可变区包含分
 35 别如 SEQ ID NO: 11-13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，所述抗 PD-L1 抗体
 或抗原结合片段的轻链可变区包含分别如 SEQ ID NO: 14-16 所示的 HCDR1、
 HCDR2 和 HCDR3；

具体如下：

HCDR1 选自：

SYWMH

SEQ ID NO: 11

HCDR2 选自：

5 RIGPNSGFTSYNEKFKN

SEQ ID NO: 12

HCDR3 选自：

GGSSYDYFDY

SEQ ID NO: 13

LCDR1 选自：

RASESVSIHGTHLMH

SEQ ID NO: 14

10 LCDR2 选自：

AASNLES

SEQ ID NO: 15

LCDR3 选自：

QQSFEDPLT

SEQ ID NO: 16。

在某些实施方式中，所述 PD-L1 抗体或抗原结合片段包含和氨基酸序列：SEQ
15 ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 具有至少 85%, 86%, 87%, 88%,
89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或 99% 序列一致性
的轻链可变区 CDR 序列，和氨基酸序列：SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 和
SEQ ID NO: 13 具有至少 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%,
94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 或 99% 序列一致性的重链可变区 CDR 序列。

20 在某些实施方式中，所述 PD-L1 抗体或抗原结合片段可选自鼠源抗体、嵌合
抗体、人源化抗体，人抗体，优选人源化抗体。

在某些实施方式中，所述 PD-L1 抗体或抗原结合片段包含和氨基酸序列 SEQ
ID NO: 17 具有至少 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%,
95%, 96%, 97%, 98%, 或 99% 序列一致性的重链可变区序列，和氨基酸序列 SEQ
25 ID NO: 18 具有至少 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%,
95%, 96%, 97%, 98%, 或 99% 序列一致性的轻链可变区序列。

在某些实施方式中，所述的 PD-L1 抗体或抗原结合片段进一步包含人源 IgG1、
IgG2、IgG3 或 IgG4 或其变体的重链恒定区，优选包含人源 IgG2 或 IgG4 重链恒
定区，更优选包含引入 F234A 和 L235A 突变的 IgG4 重链恒定区；所述人源化抗
30 体轻链进一步包含人源 κ 、 λ 链或其变体的恒定区。

在某些实施方式中，所述 PD-L1 抗体或抗原结合片段包含和氨基酸序列 SEQ ID NO: 19 具有至少 85%，86%，87%，88%，89%，90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，或 99% 序列一致性的重链序列，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 21 具有至少 85%，86%，87%，88%，89%，90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，或 99% 序列一致性的轻链序列。

在某些实施方式中，所述的 PD-L1 抗体或抗原结合片段的重链序列为 SEQ ID NO: 19，轻链序列为 SEQ ID NO: 21。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGRIGPN
*SGFTSYNEKFKNRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSED**TAVYYCARGGSSYDYFDYWG*
QGTTVTVSS

SEQ ID NO: 17

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASN
*LESGV**PARFSGSGSGTDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSFEDPLT**FGQGTKLEIK*

SEQ ID NO: 18

注：序列中斜体为FR序列；下划线为CDR序列。

重链序列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGRI
*GPNSGFTSYNEKFKNRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSED**TAVYYCARGGSSYD*
*YFDYWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV*
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO: 19

重链序列编码基因序列

CAGGTGCAACTGGTGCAGAGCGGTGCCGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCAAG
CGTGAAAGTGAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGAT

GCACTGGGTGAGGCAGGCCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATGGGCAGGAT
CGGGCCCAACAGTGGTTTCACTAGCTACAATGAAAAGTTCAAGAACAGGGT
AACCATGACCAGGGACACCTCCACCAGCACAGTGTATATGGAGCTGAGCAGC
CTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGGCGGCAGCAGC
5 TACGACTACTTCGACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGTG
CTTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCAC
CTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA
ACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACAC
CTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTG
10 ACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATC
ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTC
CCCCATGCCCACCATGCCCAGCACCTGAGGCTGCTGGGGGACCATCAGTCTT
CCTGTTCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG
GTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTC
15 AACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG
GAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC
ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
GCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCC
GAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGA
20 ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGC
CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGC
CTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTCACCGT
GGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT
GAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTA
25 AATGA

SEQ ID NO: 20

轻链序列

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPLLIYAA
SNLESGVPARFSGSGSDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSFEDPLTFGQGTKLEIK
30 RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 21

轻链序列编码基因序列:

GACATCGTGCTGACCCAGAGTCCCGCCTCACTTGCCGTGAGCCCCGGTCAGA
GGGCCACCATCACCTGTAGGGCCAGCGAGAGCGTGAGCATCCACGGCACCC
ACCTGATGCACTGGTATCAACAGAAACCCGGCCAGCCCCCAAAGTCTGCTGAT
CTACGCCGCCAGCAACCTGGAGAGCGGCGTGCCCGCCAGGTTTCAGCGGCTC
5 CGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTCACTATCAACCCCGTGAGGCCGAGGA
CACCGCCAACTACTACTGCCAGCAGAGCTTCGAGGACCCCCTGACCTTCGGC
CAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCA
TCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGC
CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATA
10 ACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA
AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT
ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCT
CGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA

SEQ ID NO: 22

15 在一些实施方案中，本公开中提供的抗 CTLA-4 抗体或者其抗原结合片段选自 ipilimumab、tremelimumab、AGEN-1884、CS-1002、XmAb-20717、REGN-4659、BCD-145、MEDI-5752、AK-104、MK-1308、BMS-986249、BMS-986218、PF-06753512，优选 ipilimumab、tremelimumab。

20 本公开中提供的 TLR 激动剂与免疫检查点抑制剂的联合可以调节剂量方案以提供最适期望应答，例如，最大治疗应答和/或最小不良作用。

在一些实施方案中，所述 TLR 激动剂的给药剂量可以在以下范围内：0.0001-20.0mg/kg，可选 0.001-10.0mg/kg，可选 0.001-5.0mg/kg，可选 0.001-1.0mg/kg。

25 可选的实施方案中，TLR 激动剂的剂量为 0.0010 mg/kg、0.0015 mg/kg、0.0020 mg/kg、0.0025 mg/kg、0.0030 mg/kg、0.0035 mg/kg、0.0040 mg/kg、0.0045 mg/kg、0.0050 mg/kg、0.0055 mg/kg、0.0060 mg/kg、0.0065 mg/kg、0.0070 mg/kg、0.0075 mg/kg、0.0080 mg/kg、0.0085 mg/kg、0.0090 mg/kg、0.0095 mg/kg、0.0100 mg/kg、0.0105 mg/kg、0.0110 mg/kg、0.0115 mg/kg、0.0120 mg/kg、0.0125 mg/kg、0.0130 mg/kg、0.0135 mg/kg、0.0140 mg/kg、0.0145 mg/kg、0.0150 mg/kg、0.0155 mg/kg、0.0160 mg/kg、0.0165 mg/kg、0.0170 mg/kg、0.0175 mg/kg、0.0180 mg/kg、0.0185 mg/kg、0.0190 mg/kg、0.0195 mg/kg、0.0200 mg/kg、0.0205 mg/kg、0.0210 mg/kg、0.0215 mg/kg、0.0220 mg/kg、0.0225 mg/kg、0.0230 mg/kg、0.0235 mg/kg、0.0240 mg/kg、0.0245 mg/kg、0.0250 mg/kg、0.0255 mg/kg、0.0260 mg/kg、0.0265 mg/kg、0.0270 mg/kg、0.0275 mg/kg、0.0280 mg/kg、0.0285 mg/kg、0.0290 mg/kg、0.0295 mg/kg、0.0300 mg/kg、0.0305 mg/kg、0.0310 mg/kg、0.0315 mg/kg、0.0320 mg/kg、0.0325 mg/kg、0.0330 mg/kg、0.0335 mg/kg、0.0340 mg/kg、0.0345 mg/kg、0.0350
35

mg/kg, 0.0355 mg/kg, 0.0360 mg/kg, 0.0365 mg/kg, 0.0370 mg/kg, 0.0375 mg/kg,
0.0380 mg/kg, 0.0385 mg/kg, 0.0390 mg/kg, 0.0395 mg/kg, 0.0400 mg/kg, 0.0405
mg/kg, 0.0410 mg/kg, 0.0415 mg/kg, 0.0420 mg/kg, 0.0425 mg/kg, 0.0430 mg/kg,
0.0435 mg/kg, 0.0440 mg/kg, 0.0445 mg/kg, 0.0450 mg/kg, 0.0455 mg/kg, 0.0460
5 mg/kg, 0.0465 mg/kg, 0.0470 mg/kg, 0.0475 mg/kg, 0.0480 mg/kg, 0.0485 mg/kg,
0.0490 mg/kg, 0.0495 mg/kg, 0.0500 mg/kg, 0.0505 mg/kg, 0.0510 mg/kg, 0.0515
mg/kg, 0.0520 mg/kg, 0.0525 mg/kg, 0.0530 mg/kg, 0.0535 mg/kg, 0.0540 mg/kg,
0.0545 mg/kg, 0.0550 mg/kg, 0.0555 mg/kg, 0.0560 mg/kg, 0.0565 mg/kg, 0.0570
mg/kg, 0.0575 mg/kg, 0.0580 mg/kg, 0.0585 mg/kg, 0.0590 mg/kg, 0.0595 mg/kg,
10 0.0600 mg/kg, 0.0605 mg/kg, 0.0610 mg/kg, 0.0615 mg/kg, 0.0620 mg/kg, 0.0625
mg/kg, 0.0630 mg/kg, 0.0635 mg/kg, 0.0640 mg/kg, 0.0645 mg/kg, 0.0650 mg/kg,
0.0655 mg/kg, 0.0660 mg/kg, 0.0665 mg/kg, 0.0670 mg/kg, 0.0675 mg/kg, 0.0680
mg/kg, 0.0685 mg/kg, 0.0690 mg/kg, 0.0695 mg/kg, 0.0700 mg/kg, 0.0705 mg/kg,
0.0710 mg/kg, 0.0715 mg/kg, 0.0720 mg/kg, 0.0725 mg/kg, 0.0730 mg/kg, 0.0735
15 mg/kg, 0.0740 mg/kg, 0.0745 mg/kg, 0.0750 mg/kg, 0.0755 mg/kg, 0.0760 mg/kg,
0.0765 mg/kg, 0.0770 mg/kg, 0.0775 mg/kg, 0.0780 mg/kg, 0.0785 mg/kg, 0.0790
mg/kg, 0.0795 mg/kg, 0.0800 mg/kg, 0.0805 mg/kg, 0.0810 mg/kg, 0.0815 mg/kg,
0.0820 mg/kg, 0.0825 mg/kg, 0.0830 mg/kg, 0.0835 mg/kg, 0.0840 mg/kg, 0.0845
mg/kg, 0.0850 mg/kg, 0.0855 mg/kg, 0.0860 mg/kg, 0.0865 mg/kg, 0.0870 mg/kg,
20 0.0875 mg/kg, 0.0880 mg/kg, 0.0885 mg/kg, 0.0890 mg/kg, 0.0895 mg/kg, 0.0900
mg/kg, 0.0905 mg/kg, 0.0910 mg/kg, 0.0915 mg/kg, 0.0920 mg/kg, 0.0925 mg/kg,
0.0930 mg/kg, 0.0935 mg/kg, 0.0940 mg/kg, 0.0945 mg/kg, 0.0950 mg/kg, 0.0955
mg/kg, 0.0960 mg/kg, 0.0965 mg/kg, 0.0970 mg/kg, 0.0975 mg/kg, 0.0980 mg/kg,
0.0985 mg/kg, 0.0990 mg/kg, 0.0995 mg/kg, 0.1000 mg/kg, 0.1005 mg/kg, 0.1010
25 mg/kg, 0.1015 mg/kg, 0.1020 mg/kg, 0.1025 mg/kg, 0.1030 mg/kg, 0.1035 mg/kg,
0.1040 mg/kg, 0.1045 mg/kg, 0.1050 mg/kg, 0.1055 mg/kg, 0.1060 mg/kg, 0.1065
mg/kg, 0.1070 mg/kg, 0.1075 mg/kg, 0.1080 mg/kg, 0.1085 mg/kg, 0.1090 mg/kg,
0.1095 mg/kg, 0.1100 mg/kg, 0.1105 mg/kg, 0.1110 mg/kg, 0.1115 mg/kg, 0.1120
mg/kg, 0.1125 mg/kg, 0.1130 mg/kg, 0.1135 mg/kg, 0.1140 mg/kg, 0.1145 mg/kg,
30 0.1150 mg/kg, 0.1155 mg/kg, 0.1160 mg/kg, 0.1165 mg/kg, 0.1170 mg/kg, 0.1175
mg/kg, 0.1180 mg/kg, 0.1185 mg/kg, 0.1190 mg/kg, 0.1195 mg/kg, 0.1200 mg/kg,
0.1205 mg/kg, 0.1210 mg/kg, 0.1215 mg/kg, 0.1220 mg/kg, 0.1225 mg/kg, 0.1230
mg/kg, 0.1235 mg/kg, 0.1240 mg/kg, 0.1245 mg/kg, 0.1250 mg/kg, 0.1255 mg/kg,
0.1260 mg/kg, 0.1265 mg/kg, 0.1270 mg/kg, 0.1275 mg/kg, 0.1280 mg/kg, 0.1285
35 mg/kg, 0.1290 mg/kg, 0.1295 mg/kg, 0.1300 mg/kg, 0.1305 mg/kg, 0.1310 mg/kg,
0.1315 mg/kg, 0.1320 mg/kg, 0.1325 mg/kg, 0.1330 mg/kg, 0.1335 mg/kg, 0.1340

mg/kg、0.1345 mg/kg、0.1350 mg/kg、0.1355 mg/kg、0.1360 mg/kg、0.1365 mg/kg、
0.1370 mg/kg、0.1375 mg/kg、0.1380 mg/kg、0.1385 mg/kg、0.1390 mg/kg、0.1395
mg/kg、0.1400 mg/kg、0.1405 mg/kg、0.1410 mg/kg、0.1415 mg/kg、0.1420 mg/kg、
0.1425 mg/kg、0.1430 mg/kg、0.1435 mg/kg、0.1440 mg/kg、0.1445 mg/kg、0.1450
5 mg/kg、0.1455 mg/kg、0.1460 mg/kg、0.1465 mg/kg、0.1470 mg/kg、0.1475 mg/kg、
0.1480 mg/kg、0.1485 mg/kg、0.1490 mg/kg、0.1495 mg/kg、0.1500mg/kg。

在一些实施方案中，所述 TLR 激动剂的给药剂量选自 0.01-200mg，0.05-
100mg，0.10-50mg，具体可选 0.01 mg、0.02 mg、0.03 mg、0.04 mg、0.05 mg、0.06
mg、0.07 mg、0.08 mg、0.09 mg、0.10 mg、0.11 mg、0.12 mg、0.13 mg、0.14 mg、
10 0.15 mg、0.16 mg、0.17 mg、0.18 mg、0.19 mg、0.20 mg、0.21 mg、0.22 mg、0.23
mg、0.24 mg、0.25mg、0.26 mg、0.27 mg、0.28 mg、0.29 mg、0.30 mg、0.31 mg、
0.32 mg、0.33 mg、0.34 mg、0.35 mg、0.36 mg、0.37 mg、0.38 mg、0.39 mg、0.40
mg、0.41 mg、0.42 mg、0.43 mg、0.44 mg、0.45 mg、0.46 mg、0.47 mg、0.48 mg、
0.49 mg、0.50 mg、0.51 mg、0.52 mg、0.53 mg、0.54 mg、0.55 mg、0.56 mg、0.57
15 mg、0.58 mg、0.59 mg、0.60 mg、0.61 mg、0.62 mg、0.63 mg、0.64 mg、0.65 mg、
0.66 mg、0.67 mg、0.68 mg、0.69 mg、0.70 mg、0.71 mg、0.72 mg、0.73 mg、0.74
mg、0.75 mg、0.76 mg、0.77 mg、0.78 mg、0.79 mg、0.80 mg、0.81 mg、0.82 mg、
0.83 mg、0.84 mg、0.85 mg、0.86 mg、0.87 mg、0.88 mg、0.89 mg、0.90 mg、0.91
mg、0.92 mg、0.93 mg、0.94 mg、0.95 mg、0.96 mg、0.97 mg、0.98 mg、0.99 mg、
20 1.00 mg、1.01 mg、1.02 mg、1.03 mg、1.04 mg、1.05 mg、1.06 mg、1.07 mg、1.08
mg、1.09 mg、1.10 mg、1.11 mg、1.12 mg、1.13 mg、1.14 mg、1.15 mg、1.16 mg、
1.17 mg、1.18 mg、1.19 mg、1.20 mg、1.21 mg、1.22 mg、1.23 mg、1.24 mg、1.25
mg、1.26 mg、1.27 mg、1.28 mg、1.29 mg、1.30 mg、1.31 mg、1.32 mg、1.33 mg、
1.34 mg、1.35 mg、1.36 mg、1.37 mg、1.38 mg、1.39 mg、1.40 mg、1.41 mg、1.42
25 mg、1.43 mg、1.44 mg、1.45 mg、1.46 mg、1.47 mg、1.48 mg、1.49 mg、1.50 mg、
1.51 mg、1.52 mg、1.53 mg、1.54 mg、1.55 mg、1.56 mg、1.57 mg、1.58 mg、1.59
mg、1.60 mg、1.61 mg、1.62 mg、1.63 mg、1.64 mg、1.65 mg、1.66 mg、1.67 mg、
1.68 mg、1.69 mg、1.70 mg、1.71 mg、1.72 mg、1.73 mg、1.74 mg、1.75 mg、1.76
mg、1.77 mg、1.78 mg、1.79 mg、1.80 mg、1.81 mg、1.82 mg、1.83 mg、1.84 mg、
30 1.85 mg、1.86 mg、1.87 mg、1.88 mg、1.89 mg、1.90 mg、1.91 mg、1.92 mg、1.93
mg、1.94 mg、1.95 mg、1.96 mg、1.97 mg、1.98 mg、1.99 mg、2.00mg、2.00 mg、
2.50 mg、3.00 mg、3.50 mg、4.00 mg、4.50 mg、5.00 mg、5.50 mg、6.00 mg、6.50
mg、7.00 mg、7.50 mg、8.00 mg、8.50 mg、9.00 mg、9.50 mg、10.00 mg、10.50 mg、
11.00 mg、11.50 mg、12.00 mg、12.50 mg、13.00 mg、13.50 mg、14.00 mg、14.50
35 mg、15.00 mg、15.50 mg、16.00 mg、16.50 mg、17.00 mg、17.50 mg、18.00 mg、
18.50 mg、19.00 mg、19.50 mg、20.00 mg、20.50 mg、21.00 mg、21.50 mg、22.00

mg、22.50 mg、23.00 mg、23.50 mg、24.00 mg、24.50 mg、25.00 mg、25.50 mg、26.00 mg、26.50 mg、27.00 mg、27.50 mg、28.00 mg、28.50 mg、29.00 mg、29.50 mg、30.00 mg、30.50 mg、31.00 mg、31.50 mg、32.00 mg、32.50 mg、33.00 mg、33.50 mg、34.00 mg、34.50 mg、35.00 mg、35.50 mg、36.00 mg、36.50 mg、37.00 mg、37.50 mg、38.00 mg、38.50 mg、39.00 mg、39.50 mg、40.00 mg、40.50 mg、41.00 mg、41.50 mg、42.00 mg、42.50 mg、43.00 mg、43.50 mg、44.00 mg、44.50 mg、45.00 mg、45.50 mg、46.00 mg、46.50 mg、47.00 mg、47.50 mg、48.00 mg、48.50 mg、49.00 mg、49.50 mg、50.00mg。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量选自 0.10 mg、0.15 mg、0.20 mg、0.25mg、0.30 mg、0.35 mg、0.40 mg、0.45 mg、0.50 mg、0.55 mg、0.60 mg、0.65 mg、0.70 mg、0.75 mg、0.80 mg、0.85 mg、0.90 mg、0.95 mg、1.0mg、2.0mg、3.0mg、4.0mg、5.0mg、6.0mg、7.0mg、8.0mg、9.0mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量选自 0.5mg、1.0mg、2.0mg、3.0mg、4.0mg、5.0mg、6.0mg、7.0mg、8.0mg、9.0mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量选自 0.5mg、1mg、2.0mg、3mg、4.0mg、6.0mg、8mg、9mg、12mg。

本公开中 TLR 激动剂给药频次为每天 3 次、每天 2 次、每天 1 次、每 2 天 1 次、每 3 天一次、每 4 天一次、每 5 天一次、每 6 天一次、每周一次、每 2 周一次、每 3 周一次、每 4 周一次，优选每 3 天 1 次，每周一次或每 2 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂给药频次为每周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂给药频次为每 2 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂给药频次为每 3 天一次。

在本公开中的某些实施方案中，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量可以在以下范围内：0.1-10.0mg/kg、0.1-5 mg/kg、1-5 mg/kg、2-5 mg/kg，例如，给药剂量可以是 0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.6mg/kg、0.7mg/kg、0.8mg/kg、0.9mg/kg、1.0mg/kg、1.2mg/kg、1.4mg/kg、1.6mg/kg、1.8mg/kg、2.0mg/kg、2.2mg/kg、2.4mg/kg、2.6mg/kg、2.8mg/kg、3.0mg/kg、3.2mg/kg、3.4mg/kg、3.6mg/kg、3.8mg/kg、4.0mg/kg、4.2mg/kg、4.4mg/kg、4.6mg/kg、4.8mg/kg、5.0mg/kg、5.2mg/kg、5.4mg/kg、5.6mg/kg、5.8mg/kg、6.0mg/kg、6.2mg/kg、6.4mg/kg、6.6mg/kg、6.8mg/kg、7.0mg/kg、7.2mg/kg、7.4mg/kg、7.6mg/kg、7.8mg/kg、8.0mg/kg、8.2mg/kg、8.4mg/kg、8.6mg/kg、8.8mg/kg、9.0mg/kg、9.2mg/kg、9.4mg/kg、9.6mg/kg、9.8mg/kg、10.0mg/kg。

在一些实施方案中，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段也可以在以下范围内

1-1000mg、80-800 mg、80-700 mg、80-600 mg、80-500 mg、80-400 mg、80-300 mg、100-300 mg 或 200-300 mg。例如，给药剂量可以是 1.0mg、1.2mg、1.4mg、1.6mg、1.8mg、2.0mg、2.2mg、2.4mg、2.6mg、2.8mg、3.0mg、3.2mg、3.4mg、3.6mg、3.8mg、4.0mg、4.2mg、4.4mg、4.6mg、4.8mg、5.0mg、5.2mg、5.4mg、5.6mg、5.8mg、6.0mg、6.2mg、6.4mg、6.6mg、6.8mg、7.0mg、7.2mg、7.4mg、7.6mg、7.8mg、8.0mg、8.2mg、8.4mg、8.6mg、8.8mg、9.0mg、9.2mg、9.4mg、9.6mg、9.8mg、10.0mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg、140mg、145mg、150mg、155mg、160mg、165mg、170mg、175mg、180mg、185mg、190mg、195mg、200mg、205mg、210mg、215mg、220mg、225mg、230mg、235mg、240mg、245mg、250mg、255mg、260mg、265mg、270mg、275mg、280mg、285mg、290mg、295mg、300mg、305mg、310mg、315mg、320mg、325mg、330mg、335mg、340mg、345mg、350mg、355mg、360mg、365mg、370mg、375mg、380mg、385mg、390mg、395mg、400mg、405mg、410mg、415mg、420mg、425mg、430mg、435mg、440mg、445mg、450mg、455mg、460mg、465mg、470mg、475mg、480mg、485mg、490mg、495mg、500mg、505mg、510mg、515mg、520mg、525mg、530mg、535mg、540mg、545mg、550mg、555mg、560mg、565mg、570mg、575mg、580mg、585mg、590mg、595mg、600mg。

可选的实施方案中，抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 80 mg、100 mg、160 mg、200 mg、240 mg、300mg、320 mg、400 mg、500 mg、600 mg、700 mg 或 800 mg。

可选的实施方案中，抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量为 200mg。

本公开可选的实施方案中，所述免疫检查点抑制剂的给药频次为每周一次、每 2 周一次、每 3 周一次、每 4 周一次、1 个月一次、每 3-6 个月或更长一次的给药频次施用。

在可选的实施方案中，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段的给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

在一些实施方案中，所述的 PD-L1 抗体或其抗原结合片段剂量选自 1-50mg/kg，优选自 1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg、10mg/kg、11mg/kg、12mg/kg、13mg/kg、14mg/kg、15mg/kg、16mg/kg、17mg/kg、18mg/kg、19mg/kg、20mg/kg、21mg/kg、22mg/kg、23mg/kg、24mg/kg、25mg/kg、26mg/kg、27mg/kg、28mg/kg、29mg/kg、30mg/kg、31mg/kg、32mg/kg、33mg/kg、34mg/kg、35mg/kg、36mg/kg、37mg/kg、38mg/kg、39mg/kg、40mg/kg、42mg/kg、45mg/kg、47mg/kg、50mg/kg，更优选 1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、30mg/kg、40mg/kg。

在可选实施方案中，所述的 PD-L1 抗体或其抗原结合片段剂量 50-3000mg，

优选自 50mg、60mg、70mg、75mg、100mg、125mg、150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、500mg、550mg、600mg、650 mg、700 mg、750 mg、800 mg、850 mg、900 mg、950 mg、1000 mg、1050 mg、1100 mg、1150 mg、1200 mg、1250 mg、1300 mg、1350 mg、1400 mg、1450 mg、1500 mg、1550 mg、1600 mg、1650 mg、1700 mg、1750 mg、1800 mg、1850 mg、1900 mg、1950 mg、2000 mg、2050 mg、2100 mg、2150 mg、2200 mg、2250 mg、2300 mg、2350 mg、2400 mg、2450 mg、2500 mg、2550 mg、2600 mg、2650 mg、2700 mg、2750 mg、2800 mg、2850 mg、2900 mg、2950 mg、3000 mg。

在可选实施方案中，所述的 PD-L1 抗体或抗原结合片段的给药频次可以是一周一次、每 2 一次、每 3 周一次、每 4 周一次，优选每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量选自 0.25mg、0.30 mg、0.35 mg、0.40 mg、0.45 mg、0.50 mg、0.55 mg、0.60 mg、0.65 mg、0.70 mg、0.75 mg、0.80 mg、0.85 mg、0.90 mg、0.95 mg、1.00mg、2.0mg、3.0mg、4.0mg、5.0mg、6.0mg、7.0mg、8.0mg、9.0mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg，给药频次为每 3 天 1 次，每周一次或每 2 周一次；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 0.1-10.0mg/kg 或 1-1000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量选自 0.5mg、1.0mg、2.0mg、3.0mg、4.0mg、5.0mg、6.0mg、7.0mg、8.0mg、9.0mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg、20mg，给药频次为每 3 天 1 次、每周一次或每 2 周一次；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 0.1-10.0mg/kg 或 1-1000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量选自 0.5mg、1.0mg、2.0mg、3.0mg、4.0mg、5.0mg、6.0mg、7.0mg、8.0mg、9.0mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg、20mg，给药频次为每 3 天 1 次、每周一次或每 2 周一次；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 80 mg、100 mg、160 mg、200 mg、240 mg、300mg、320 mg、400 mg、500 mg、600 mg、700 mg 或 800 mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次

或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量选自 0.5mg、1.0mg、2.0mg、3.0mg、4.0mg、5.0mg、6.0mg、7.0mg、8.0mg、9.0mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg、20mg，给药频次为每 3 天 1 次、每周一次或每 2 周一次；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量选自 0.5mg、1.0mg、2.0mg、3.0mg，给药频次为每周一次或每 2 周一次；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量选自 2.0mg、4.0mg、6.0mg、8.0mg、9mg、12mg，给药频次为每 3 天 1 次或每周一次；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 0.50mg，给药频次为每周一次或每 2 周一次；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 1mg，给药频次为每周一次或每 2 周一次；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 2mg，给药频次为每周一次或每 2 周一次；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 3mg，给药频次为每周一次或

每2周一次；免疫检查点抑制剂选自抗PD-1抗体或其抗原结合片段或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段，所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段给药剂量为200mg，给药频次为每2周一次或每3周一次，所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的给药剂量为选自1-50mg/kg或50-3000mg，给药频次为每2周一次或每3周一次。

5 可选的实施方案中，TLR激动剂的给药剂量为0.50mg，给药频次为每2周一次；免疫检查点抑制剂选自抗PD-1抗体或其抗原结合片段或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段，所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段给药剂量为200mg，给药频次为每2周一次或每3周一次，所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自1-50mg/kg或50-3000mg，给药频次为每2周一次或每3周一次。

10 可选的实施方案中，TLR激动剂的给药剂量为1mg，给药频次为每2周一次；免疫检查点抑制剂选自抗PD-1抗体或其抗原结合片段或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段，所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段给药剂量为200mg，给药频次为每2周一次或每3周一次，所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自1-50mg/kg或50-3000mg，给药频次为每2周一次或每3周一次。

15 可选的实施方案中，TLR激动剂的给药剂量为2mg，给药频次为每2周一次；免疫检查点抑制剂选自抗PD-1抗体或其抗原结合片段或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段，所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段给药剂量为200mg，给药频次为每2周一次或每3周一次，所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的给药剂量为选自1-50mg/kg或50-3000mg，给药频次为每2周一次或每3周一次。

20 可选的实施方案中，TLR激动剂的给药剂量为3mg，给药频次为每2周一次；免疫检查点抑制剂选自抗PD-1抗体或其抗原结合片段或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段，所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段给药剂量为200mg，给药频次为每2周一次或每3周一次，所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自1-50mg/kg或50-3000mg，给药频次为每2周一次或每3周一次。

25 可选的实施方案中，TLR激动剂的给药剂量为2.0mg，给药频次为每3天1次或每周一次；免疫检查点抑制剂选自抗PD-1抗体或其抗原结合片段或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段，所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段给药剂量为200mg，给药频次为每2周一次或每3周一次，所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自1-50mg/kg或50-3000mg，给药频次为每2周一次或每3周一次。

30 可选的实施方案中，TLR激动剂的给药剂量为4.0mg，给药频次为每3天1次或每周一次；免疫检查点抑制剂选自抗PD-1抗体或其抗原结合片段或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段，所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段给药剂量为200mg，给药频次为每2周一次或每3周一次，所述抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自1-50mg/kg或50-3000mg，给药频次为每2周一次或每3周一次。

35 可选的实施方案中，TLR激动剂的给药剂量为6.0mg，给药频次为每3天1次或每周一次；免疫检查点抑制剂选自抗PD-1抗体或其抗原结合片段或抗PD-L1

抗体或其抗原结合片段, 所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg, 给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次, 所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg, 给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中, TLR 激动剂的给药剂量为 8.0mg, 给药频次为每 3 天 1 次或每周一次; 免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段, 所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg, 给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次, 所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg, 给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中, TLR 激动剂的给药剂量为 9mg, 给药频次为每 3 天 1 次或每周一次; 免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段, 所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg, 给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次, 所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg, 给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中, TLR 激动剂的给药剂量为 12mg, 给药频次为每 3 天 1 次或每周一次; 免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段, 所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg, 给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次, 所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg, 给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

在某些实施方案中, 本公开中公开的任意组合治疗持续至少 3 周、或至少 1 个月、或至少 3 个月、或至少 6 个月、或 9 个月、或至少 1 年、或至少 18 个月、或至少 24 个月、或至少 3 年、或至少 5 年。

本公开中所述肿瘤是选自肺癌、非小细胞肺癌、肝细胞癌、基底细胞癌、肾细胞癌、骨髓瘤、直肠癌、结肠癌、乳腺癌、胃癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑色素瘤、子宫癌、卵巢癌、肛区癌、胃癌、睾丸癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、阴户癌、何杰金氏病、非何杰金氏淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统的癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病、急性髓细胞样白血病、慢性髓细胞样白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、儿童期实体瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)的赘生物、原发性 CNS 淋巴瘤、肿瘤血管发生、脊髓轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西氏肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T 细胞淋巴瘤和所述肿瘤的任何组合, 优选肝细胞癌、直肠癌、结肠癌、非小细胞肺癌。

在可选实施方案中, 本公开中的用途中所述肿瘤为肝细胞癌、肝内胆管细胞癌、胆管胰腺癌、混合型肝癌。

在可选实施方案中, 本公开中的用途中所述肿瘤为肺癌。

在可选实施方案中, 本公开中的用途中所述肿瘤为非小细胞肺癌, 本公开所

述的非小细胞肺癌选自鳞状细胞癌和非鳞状细胞癌，优选非鳞状细胞癌。

在可选实施方案中，本公开中的用途中所述肿瘤为直肠癌、结肠癌。

本公开所述联合的给药途径包括但不限于经口给药、胃肠外给药、经皮给药，所述胃肠外给药包括但不限于静脉注射、皮下注射、肌肉注射。

- 5 可以将本公开的免疫检查点抑制剂构成在组合物中，例如，含有抗体和药学上可接受的载体的药物组合物。本文中使用的“药学上可接受的载体”包括生理学上相容的任意的和所有的溶剂、分散介质、包衣剂、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。在一个实施方案中，用于含有抗体的组合物的载体适合静脉、肌肉、皮下、胃肠外、腹腔、脊柱或表皮施用（例如，通过注射或输注），本
10 公开的组合物可以包括一种或多种药学上可接受的盐、抗氧化剂、水性和非水性载体，和/或佐剂，诸如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。

- 在本公开中优选的实施方案中，所述的 PD-1 抗体或其抗原结合片段以注射的方式给药，例如皮下或静脉注射或腹腔，注射前需将 PD-1 抗体或其抗原结合片段配制成可注射的形式。本公开特别优选的实施方案中抗 PD-1 抗体或其抗原结合
15 片段的可注射形式是注射液或冻干粉针，其包含 PD-1 抗体或其抗原结合片段、缓冲剂、稳定剂，任选地还含有表面活性剂。缓冲剂可选自醋酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、以及磷酸盐中的一种或几种。稳定剂可选自糖或氨基酸，优选二糖，例如蔗糖、乳糖、海藻糖、麦芽糖。表面活性剂选自聚氧乙烯氢化蓖麻油、甘油脂肪酸酯、聚氧乙烯山梨醇酐脂肪酸酯，优选所述聚氧乙烯山梨醇酐脂肪酸酯为聚山
20 梨酯 20、40、60 或 80，最优选聚山梨酯 20。最为优选的 PD-1 抗体或其抗原结合片段的可注射形式包含 PD-1 抗体或其抗原结合片段、醋酸盐缓冲剂、海藻糖和聚山梨酯 20。

- 本公开中 TLR 激动剂的给药途径可以是与上述免疫检查点抑制剂相同或者不同，具体包括包括经口给药、鼻腔、局部、静脉内、肌肉内、皮下、腹膜内、病
25 灶内、脊柱或其它胃肠外施用途径。

为方便给药，需要将 TLR 激动剂配置成组合物，TLR 激动剂以口服方式给药时，组合物的载体包括但不限于填充剂、润滑剂、崩解剂、粘合剂等。

- 在一些实施方案中，所述 TLR 激动剂以病灶内（具体可为瘤内）注射给药的方式施与患者，或者以吸入给药的方式施与患者，组合物的载体包括但不限于缓
30 冲剂、渗透压调节剂。

- 本公开可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 0.50mg，给药频次为每周一次或每 2 周一次，瘤内给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给
35 药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 1mg，给药频次为每周一次或每 2 周一次，瘤内给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 2mg，给药频次为每周一次或每 2 周一次，瘤内给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 3mg，给药频次为每周一次或每 2 周一次，瘤内给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 0.50mg，给药频次为每 2 周一次，瘤内给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 1mg，给药频次为每 2 周一次，瘤内给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 2mg，给药频次为每 2 周一次，瘤内给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 3mg，给药频次为每 2 周一次，瘤内给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药

频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量为选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 2.0mg，给药频次为每 3 天 1 次或每周一次，口服给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 4.0mg，给药频次为每 3 天 1 次或每周一次，口服给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 6.0mg，给药频次为每 3 天 1 次或每周一次，口服给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 8.0mg，给药频次为每 3 天 1 次或每周一次，口服给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 9mg，给药频次为每 3 天 1 次或每周一次，口服给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，TLR 激动剂的给药剂量为 12mg，给药频次为每 3 天 1 次或每周一次，口服给药；免疫检查点抑制剂选自抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段给药剂量为 200mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合

片段的给药剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每 2 周一次或每 3 周一次。

可选的实施方案中，所述 TLR 激动剂的给药方式为口服给药、瘤内注射或者吸入给予包含 TLR 激动剂的药物组合物。

5 本公开提供一种含 TLR 激动剂的药物组合物，其中式 (I) 所示化合物或其复合物或其可药用盐，所述药物组合物的 pH 为 3.0-7.0，具体可为 3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0，优选 pH 范围为 4.5-6.0。

10 本公开提供的含 TLR 激动剂的药物组合物，其中缓冲剂可选括醋酸盐、琥珀酸盐、葡萄糖酸盐、组氨酸、草酸盐、乳酸盐、磷酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、延胡索酸盐、甘氨酸甘氨酸和和其它有机酸盐。

具体的，缓冲剂以“缓冲液”形式在溶液中阻碍 pH 值的变化，“缓冲液”指通过其酸-碱共轭组分的作用而耐受 pH 变化的缓冲液。将 pH 控制在适当范围中的
15 缓冲液的例子包括醋酸盐缓冲液、琥珀酸盐缓冲液、葡萄糖酸盐缓冲液、组氨酸缓冲液、草酸盐缓冲液、乳酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、酒石酸盐、缓冲液、延胡索酸盐缓冲液、甘氨酸甘氨酸缓冲液和其它有机酸缓冲液。

“柠檬酸盐缓冲液”是包括柠檬酸根离子的缓冲液。柠檬酸盐缓冲液的实例包括柠檬酸-柠檬酸钠、柠檬酸-柠檬酸钾、柠檬酸-柠檬酸钙、柠檬酸-柠檬酸镁等。

20 优选的柠檬酸盐缓冲液是柠檬酸-柠檬酸钠。

“琥珀酸盐缓冲液”是包括琥珀酸离子的缓冲液。琥珀酸盐缓冲液的实例包括琥珀酸-琥珀酸钠、琥珀酸-琥珀酸钾、琥珀酸-琥珀酸钙盐等。优选的琥珀酸盐缓冲液是琥珀酸-琥珀酸钠。

“磷酸盐缓冲液”是包括磷酸离子的缓冲液。磷酸盐缓冲液的实例包括磷酸氢二
25 钠酸-磷酸二氢钠、磷酸氢二钠酸-磷酸二氢钾等。优选的磷酸盐缓冲液是磷酸氢二钠酸-磷酸二氢钠。

“醋酸盐缓冲液”是包括醋酸根离子的缓冲液。醋酸盐缓冲液的实例包括醋酸-醋酸钠、醋酸组氨酸盐、醋酸-醋酸钾、醋酸醋酸钙、醋酸-醋酸镁等。优选的醋酸盐缓冲液是醋酸-醋酸钠。

30 在可选的实施方案中，所述缓冲液选自醋酸盐缓冲液、柠檬酸-柠檬酸缓冲液，优选自柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。

在可选的实施方案中，含 TLR 激动剂的药物组合物中缓冲剂的浓度为
1-150mM (毫摩尔)，可为 1 mM、5 mM、10 mM、15 mM、20 mM、25 mM、30 mM、
35 mM、40 mM、45 mM、50 mM、55 mM、60 mM、65 mM、70 mM、75 mM、
35 80 mM、85 mM、90 mM、95 mM、100 mM、105 mM、110 mM、115 mM、120 mM、
125 mM、130 mM、135 mM、140 mM、145 mM 或 150 mM，优选为 10-80mM，

最优选为 20mM。

进一步的，所述含 TLR 激动剂的药物组合物的渗透压为 150-500 mOsmol/kg，
优选 200-400 mOsmol/kg，最优选 280-320 mOsmol/kg，具体可为 280 mOsmol/kg、
281 mOsmol/kg、282 mOsmol/kg、283 mOsmol/kg、284 mOsmol/kg、285 mOsmol/kg、
5 286 mOsmol/kg、287 mOsmol/kg、288 mOsmol/kg、289 mOsmol/kg、290 mOsmol/kg、
291 mOsmol/kg、292 mOsmol/kg、293 mOsmol/kg、294 mOsmol/kg、295 mOsmol/kg、
296 mOsmol/kg、297 mOsmol/kg、298 mOsmol/kg、299 mOsmol/kg、300 mOsmol/kg、
301 mOsmol/kg、302 mOsmol/kg、303 mOsmol/kg、304 mOsmol/kg、305 mOsmol/kg、
306 mOsmol/kg、307 mOsmol/kg、308 mOsmol/kg、309 mOsmol/kg、310 mOsmol/kg、
10 311 mOsmol/kg、312 mOsmol/kg、313 mOsmol/kg、314 mOsmol/kg、315 mOsmol/kg、
316 mOsmol/kg、317 mOsmol/kg、318 mOsmol/kg、319 mOsmol/kg 或 320
mOsmol/kg。

在可选的实施方案中，所述含 TLR 激动剂的药物组合物还包含渗透压调节剂，
所述渗透压调节剂优选自氯化钠、葡萄糖、山梨醇、甘油、PEG、丙二醇等中的一
15 种或多种，渗透压调节剂的含量为 0.001~100 mg/ml 之间。

优选的实施方案中，透压调节剂为氯化钠，氯化钠的浓度约为 0.1-100mg/ml，
非限制性实施例包括 0.1mg/mL、0.5mg/mL、1mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、
2.5 mg/mL、3.0 mg/mL、3.5 mg/mL、4.0 mg/mL、4.5 mg/mL、5.0 mg/mL、5.5 mg/mL、
6.0 mg/mL、6.5 mg/mL、7.0 mg/mL、7.5 mg/mL、8.0 mg/mL、8.5 mg/mL、9.0 mg/mL、
20 9.5 mg/mL、10.0mg/mL，优选为 4-10mg/ml。

在可选的实施方案中，所述含 TLR 激动剂的药物组合物中 TLR 激动剂浓度为
0.01-10mg/ mL，优选 0.1-10mg/mL，具体可为 0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、
0.4 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6 mg/mL、0.7 mg/mL、0.8 mg/mL、0.9 mg/mL 或 1.0 mg/ml、
1.1 mg/mL、1.2 mg/mL、1.3 mg/mL、1.4 mg/mL、1.5 mg/mL、1.6 mg/mL、1.7 mg/mL、
25 1.8 mg/mL、1.9 mg/mL、2.0 mg/mL、2.1 mg/mL、2.2 mg/mL、2.3 mg/mL、2.4 mg/mL、
2.5 mg/mL、2.6 mg/mL、2.7 mg/mL、2.8 mg/mL、2.9 mg/mL、3.0 mg/mL、3.1 mg/mL、
3.2 mg/mL、3.3 mg/mL、3.4 mg/mL、3.5 mg/mL、3.6 mg/mL、3.7 mg/mL、3.8 mg/mL、
3.9 mg/mL、4.0 mg/mL、4.1 mg/mL、4.2 mg/mL、4.3 mg/mL、4.4 mg/mL、4.5 mg/mL、
4.6 mg/mL、4.7 mg/mL、4.8 mg/mL、4.9 mg/mL、5.0mg/mL。

30 在一个实施方案中，本公开中含 TLR 激动剂的药物组合物包含：0.01-10mg/ml
的式(I)所示化合物或其复合物或其可药用盐，所述药物组合物的 pH 约为 3.0-7.0。

在一个实施方案中，本公开中含 TLR 激动剂的药物组合物包含：a)
0.01-10mg/ml 的式 (I) 所示化合物或其复合物或其可药用盐，b) 1-150mM 的柠檬
酸-柠檬酸钠缓冲液，所述药物组合物的 pH 约为 3.0-7.0。

35 在一个实施方案中，本公开中含 TLR 激动剂的药物组合物包含：a)
0.01-10mg/ml 的式 (I) 所示化合物或其复合物或其可药用盐，b) 1-150mM 的柠檬

酸-柠檬酸钠缓冲液, c) 0.1-100mg/ml 的氯化钠, 所述药物组合物的 pH 约为 3.0-7.0。

在一个实施方案中, 本公开中含 TLR 激动剂的药物组合物包含: a) 0.1-10mg/ml 的式 (I) 所示化合物或其复合物或其可药用盐, 10-80mM 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液, pH 范围为 4.5-6.0。

5 本公开还提供了制备前述含 TLR 激动剂的药物组合物的方法, 该方法包括: TLR 激动剂和缓冲液相混合的步骤, 进一步地, 还包括加入氯化钠的步骤。

在一些实施方案中, 上述含 TLR 激动剂的药物组合物于 25°C 稳定至少 3 个月, 至少 6 个月, 至少 12 个月, 至少 18 个月或至少 24 个月。

10 在一些实施方案中, 上述含 TLR 激动剂的药物组合物于 60°C 稳定至少 10 天, 至少 20 天或至少 30 天。

本公开还涉及一种包含 TLR 激动剂、免疫检查点抑制剂, 以及一种或多种药用载体、赋形剂、稀释剂的药物组合物。所述药物组合物可以制成药学上可接受的任一剂型。例如, 可以配制为片剂、胶囊剂、丸剂、颗粒剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂、注射剂 (包括注射液、注射用无菌粉末与注射用浓溶液)、栓剂、吸入剂
15 或喷雾剂。

本公开还提供了一种药物包装盒, 其中包装有本发明所述的 TLR 激动剂、免疫检查点抑制剂的药物组合物。

本公开将 TLR 激动剂、免疫检查点抑制剂联合给药, 从而增强了抗肿瘤活性、改善了肿瘤的治疗效果。

20 在本公开中, 提供了一种治疗肿瘤的办法, 包括向患者施用治疗有效量的上述 TLR 激动剂和免疫检查点抑制剂。

如无相反解释, 本公开中术语具有如下含义:

本文中使用的术语“给药频次”表示在给定时间中本文公开的药物的施用剂量的频率。可以将给药频次指示为每个给定时间的剂量的数目, 例如, 一周一次、
25 二周一次。

本公开中所述的“联合”是一种给药方式, 是指在一定时间期限内给予至少一种剂量的免疫检查点抑制剂和 TLR 激动剂, 其中两种药物都显示药理学作用。所述的时间期限可以是一个给药周期内, 优选 4 周内, 3 周内, 2 周内, 1 周内, 或 24 小时以内。可以同时或不分先后顺序给予免疫检查点抑制剂和 TLR 激动剂。这种
30 期限包括这样的治疗, 其中通过相同给药途径或不同给药途径给予给予免疫检查点抑制剂和 TLR 激动剂。

本公开中所述“人源化抗体 (humanized antibody)”, 也称为 CDR 移植抗体 (CDR-grafted antibody), 是指将小鼠的 CDR 序列移植到人的抗体可变区框架, 即不同类型的人种系抗体构架序列中产生的抗体。可以克服嵌合抗体由于携带大量小鼠蛋白成分, 从而诱导的强烈的抗体可变抗体反应。此类构架序列可以从包
35 括种系抗体基因序列的公共 DNA 数据库或公开的参考文献获得。如人重链和轻链

可变区基因的种系 DNA 序列可以在“VBase”人种系序列数据库（在因特网 www.mrccpe.com.ac.uk/vbase 可获得），以及在 Kabat, E.A.等人, 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版中找到。在本公开中一个优选的实施方案中，所述的 PD-1 人源化抗体的 CDR 序列选自 SEQ ID NO:1, 2, 3, 4, 5, 6。

5 本公开中所述“抗原结合片段”，指具有抗原结合活性的 Fab 片段，Fab' 片段，F(ab')₂ 片段，以及与人 PD-1 结合的 Fv 片段 sFv 片段；包含本公开中所述抗体的选自 SEQ ID NO:1 至 SEQ ID NO:6 中的一个或多个 CDR 区。Fv 片段含有抗体重链可变区和轻链可变区，但没有恒定区，并具有全部抗原结合位点的最小抗体片段。一般地，Fv 抗体还包含在 VH 和 VL 结构域之间的多肽接头，且能够形成
10 抗原结合所需的结构。也可以用不同的连接物将两个抗体可变区连接成一条多肽链，称为单链抗体（single chain antibody）或单链 Fv（sFv）。本公开中的术语“与 PD-1 结合”，指能与 PD-1 相互作用。本公开中的术语“抗原结合位点”指抗原上不连续的，由本公开中抗体或抗原结合片段识别的三维空间位点。

本公开中所述“免疫检查点抑制剂”不包含 TLR 激动剂。

15

附图说明

图 1. Hepa1-6 原位同源移植模型荷瘤鼠在药物 A 和药物 B 治疗中的体重变化曲线；

20 图 2. Hepa1-6 原位同源移植模型荷瘤鼠在药物 A 和药物 B 治疗中的体重改变百分比曲线；

图 3. Hepa1-6 原位同源移植模型荷瘤鼠在药物 A 和药物 B 治疗中的荷瘤鼠血清 AFP 浓度；

图 4. Hepa1-6 原位同源移植模型荷瘤鼠在药物 A 和药物 B 治疗中的肿瘤重量。

25 图 5. hPD-1 人源化转基因小鼠的 LLC 肺癌动物模型治疗后小鼠的体重；

图 6. hPD-1 人源化转基因小鼠的 LLC 肺癌动物模型治疗后小鼠的体重变化曲线；

图 7. hPD-1 人源化转基因小鼠的 LLC 肺癌动物模型实验结束后肿瘤重量数据。

30 图 8. 药物 A 瘤内给药单药或与 PD-L1 单抗药物 C 联用对 MC38/H-11 小鼠皮下移植瘤的疗效（给药端, Mean±SEM, n=10）；

图 9. 药物 A 瘤内给药单药或与 PD-L1 单抗药物 C 联用对 MC38/H-11 小鼠皮下移植瘤的疗效（非给药端, n=10）；

35 图 10. 药物 A、药物 C 单药及两药联用对荷瘤裸小鼠体重的影响（Mean±SD; n=10）。

具体实施方式

以下结合实施例用于进一步描述本公开，但这些实施例并非限制本公开的范围。

- 5 **实施例 1** 临床前验证雌性 PD-1 HuGEMM 小鼠中受试药式 (I) 所示化合物二盐酸盐 (药物 A) 单独治疗和联合 PD-1 抗体 (药物 B) 治疗肝原位接种的同源移植模型 Hepa1-6 的药效

1. 实验材料

10 1) 动物

品系: PD-1 HuGEMM 小鼠; 供应商: 南京银河生物医药有限公司年龄: 6-9 周 (给药起始); 性别: 雌性; 动物数量: 115 只

2) 受试药和对照药

药物 A 式(I)所示化合物二盐酸盐

- 15 制备方法: 将式(I)所示化合物(40 mg, 0.105 mmol, 式(I)所示化合物采用 WO2018095426A 公开的方法制备)溶于 0.5 mL 异丙醇和四氢呋喃的混合溶剂(V/V = 1:1)中, 搅拌全溶, 升温至 50°C, 滴加 4M 氯化氢的异丙醇溶液(0.055 mL, 0.22 mmol), 冷却至室温搅拌 16 小时, 析出白色固体。反应液过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到药物 A。

20 药物 B

抗 PD-1 抗体, WO2017054646A 公开的 PD-1 抗体, 重、轻链的序列分别如 SEQID NO: 7、SEQID NO: 8 所示, 200mg, 冻干粉针。

IgG4: 阴性对照, 供应商: 上海恒瑞医药有限公司

3) 小鼠 AFP 检测 ELISA 试剂盒: 厂家为 R&D

25 4) 模型

PD-1 HuGEMM 模型是一种转基因小鼠模型, 在 C57BL/6 背景小鼠中表达人源和鼠源的 PD-1 基因。同源模型 Hepa1-6 用于该药效实验。

2. 实验方法

- 30 采用对数生长的肿瘤细胞系 Hepa1-6, 接种于 4-7 周龄 HuPD-1 人源雌性小鼠右侧肩胛骨。当皮下接种的 Hepa1-6 种子瘤块生长到 700-1000mm³ 时, 剖取种子瘤, 剪切成 2-3mm 的直径, 原位接种至小鼠肝脏。接种 4 天后选取 63 只状态良好的小鼠, 随机分为 9 组, 每组 7 只。分组当天定义为 Day0, 并于 Day0 开始给药 (分组当天开始给药治疗)。给药开始于第 0 天, 结束于第 21 天。9 个剂量组及给药途径、给药频次分别为如表 1 所述。

- 35 肿瘤称量: 实验中的动物每周两次测量老鼠体重, 实验结束后剖取肿瘤瘤块, 检测肿瘤重量, 并计算 T/C weight 百分比, T weight 和 C weight 分别表示给药组

和溶媒对照组的瘤重。使用 Study Director (版本号 3.1.399.19, 供应商 Studylog System, Inc) 软件收集数据。

AFP 检测: 在分组给药的 21 天 (实验结束时) 采集血清样品, 用于 AFP 检测。分组给药当天定义为 Day0 天。(每只老鼠采集约 100 μ L 的全血, 分离出 30-40 μ L 的血清样品)。

统计分析基于试验结束时肿瘤重量的数据运用 SPSS 软件进行分析。所有数据比较均用 T test 进行分析。所有数据均使用 SPSS 18.0 和 (或者) GraphPad Prism 5.0 进行分析。所有实验结果以 “平均值 $\pm$ 标准误差” 表示。P 值小于 0.05 被认为具有显著性差异。

10 表 1.

组号	动物数	给药组	给药剂量(mg/kg)	给药途径	给药频次
1	7	IgG4 30%HP- β -CD	3 -	i.p. p.o.	Q3D $\times$ 6 QD $\times$ 21
2	7	药物 A	0.3	p.o.	QD $\times$ 21
3	7	药物 A	1	p.o.	QD $\times$ 21
4	7	药物 A	3	p.o.	QD $\times$ 21
5	7	药物 B	1	i.p.	Q3D $\times$ 6
6	7	药物 B	3	i.p.	Q3D $\times$ 6
7	7	药物 B 药物 A	3 0.3	i.p. p.o.	Q3D $\times$ 6 QD $\times$ 21
8	7	药物 B 药物 A	3 1	i.p. p.o.	Q3D $\times$ 6 QD $\times$ 21
9	7	药物 B 药物 A	3 3	i.p. p.o.	Q3D $\times$ 6 QD $\times$ 21

注: N: 每组动物数; i.p.: 腹腔注射; p.o.: 口服灌胃; QD: 每天一次; Q3D: 每 3 天一次;

表 2. 受试药、对照药配制方法

受试药/对照药	配制方法	浓度 (mg/mL)	配制频率
溶媒对照	将 0.2M Na ₂ HPO ₄ 41.1mL 和 0.1 柠檬酸 158.9 mL 混合, 调节 PH 到 3.0, 然后加入 30% β 环糊精 (HP- β -CD) 配置成 30% HP- β -CD.	-	一周一次
IgG4	用 4mL PBS 稀释 1 mL IgG4 溶液 (22.5 mg/kg) 以配制成 5.0mL 的 4.5 mg/mL 的母液。取 0.2 mL 的 IgG4 母液 (4.5 mg/mL) 加入到 2.8 mL 的 PBS 中以配制成 3.0 mL 的 0.3 mg/mL 的工作液。	母液 4.5mg/mL 工作液 0.3mg/mL	母液每 7 天 配制一次; 工作液现用 现配
药物 A	称取适量药物 A (实际量 =(1-8.2%)*98.66%*称量量=90.57*称 量量), 添加适量体积的溶媒缓冲液	0.03mg/m L 0.1mg/mL 0.3mg/mL	每 3 天配制 一次

	配制成浓度为 0.03mg/ml, 0.1mg/mL 和 0.3mg/mL 的工作液。		
药物 B	用 PBS 稀释药物 B 冻干粉到母液 20mg/mL, 然后吸取适量体积的母液 20mg/mL, 用适量体积的 PBS 稀释到工作液浓度 0.1mg/ml 和 0.3mg/mL。	0.1mg/mL 0.3 mg/mL	母液一次配制 工作液现用现配

注：保存条件均为 4-8℃，给药类型为根据体重调整给药量(给药体积 = 10 μL/g)

3. 实验结果

1) 各治疗组和溶剂处理组荷瘤鼠在不同时间点的体重见表3及表4。

各治疗组和溶剂处理组荷瘤鼠的体重表3

治疗后天数 (D)	老鼠体重 (g)				
	第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 5 组	第 5 组
0	18.2±0.3	18.3±0.3	18.5±0.3	18.4±0.5	18.3±0.3
3	18.2±0.3	18.2±0.3	18.6±0.2	18.6±0.5	18.5±0.3
7	18.2±0.3	18.8±0.2	18.9±0.2	18.9±0.4	18.4±0.4
10	18.8±0.3	19.4±0.2	19.6±0.2	19.4±0.4	19.1±0.5
14	18.9±0.3	19.6±0.3	19.8±0.2	20.0±0.4	20.0±0.6
17	19.0±0.3	20.0±0.3	20.5±0.2	20.2±0.4	19.9±0.6
21	19.2±0.2	20.1±0.3	20.5±0.2	20.3±0.4	19.9±0.6

5

各治疗组和溶剂处理组荷瘤鼠的体重表4

治疗后天数 (D)	老鼠体重 (g)			
	第 6 组	第 7 组	第 8 组	第 9 组
0	18.4±0.2	18.5±0.3	18.4±0.2	18.3±0.2
3	18.5±0.3	18.5±0.3	18.6±0.2	18.3±0.2
7	18.8±0.3	19.0±0.3	19.0±0.2	18.7±0.2
10	19.3±0.3	19.5±0.2	19.7±0.3	19.3±0.2
14	19.8±0.2	19.8±0.4	19.6±0.3	20.0±0.2
17	20.2±0.4	20.2±0.4	20.0±0.3	20.3±0.3
21	20.4±0.4	20.0±0.4	19.8±0.4	19.8±0.5

注释：数据以“平均值±标准误差”表示

各治疗组和溶剂处理组荷瘤鼠的体重变化曲线及体重改变百分比曲线分别见图 1 和图 2，依次为第 1 组到第 9 组。

10 在分组治疗后第 21 天，第 1 组、第 2 组、第 3 组、第 4 组、第 5 组、第 6 组、第 7 组、第 8 组和第 9 组的荷瘤鼠体重改变百分比分别为 5.72%，9.53%，11.73%，10.56%，8.35%，10.83%，8.15%，6.63%和 8.59%。

该实验所选用的是同源移植肝原位转接模型，在肿瘤生长到一定程度之后，极易发生侵袭，引起小鼠内脏中（如肠系膜，腹膜内侧等）出现小的颗粒状肿瘤，

导致小鼠出现急性的不适症状引起死亡。实验中老鼠对药物耐受较好，小鼠体重下降均未超过 10%。

2) 各治疗组和溶剂处理组荷瘤鼠的 AFP 浓度数据及数据统计分析见表 5

荷瘤鼠的 AFP 浓度数据及数据统计分析表 5

组号	第 21 天 AFP 浓度 (ng/ml) a	P 值 ^b
1	16719±3740.5	
2	8848±4257.4	0.195
3	10482±5680.7	0.364
4	17022±4996.8	0.963
5	8038±3718.2	0.131
6	16335±7227.1	0.965
7	9345±4688.2	0.256
8	4913±3582.9	0.046
9	2022±1166.7	0.004

5 注释: a. 数据以“平均值 ± 标准误差”表示。

b. 利用独立样本 T 检验 (Independent T-test) 分析血清 AFP 值所得。

Hepa1-6 原位同源移植模型荷瘤鼠在药物 A 和药物 B 治疗中的荷瘤鼠血清 AFP 浓度见图 3，依次为第 1 组到第 9 组。

在分组治疗后第 21 天，与对照组相比较，测试药第 2 组，第 3 组，第 4 组，
10 第 5 组，第 6 组及第 7 组，都不具有统计学显著的抗肝原位转接的同源移植模型 Hepa1-6 肿瘤生长的作用 (P>0.05)。但是高剂量联合治疗组第 8 组和第 9 组，与溶媒治疗组相比，均具有统计学显著的抗肝原位转接的同源移植模型 Hepa1-6 肿瘤生长的作用 (P<0.05)。

3) 各治疗组和溶剂处理组荷瘤鼠的瘤重数据及统计分析表 6

15 荷瘤鼠的瘤重数据及统计分析表 6

组号	第 21 天肿瘤重量(g) a	P 值 ^b
1	0.2425±0.024	
2	0.1651±0.055	0.238
3	0.1988±0.083	0.636
4	0.2243±0.064	0.799
5	0.1692±0.053	0.258
6	0.2685±0.120	0.838
7	0.1519±0.051	0.143
8	0.0676±0.035	0.002
9	0.0527±0.022	0.0002

注释: a. 数据以“平均值 ± 标准误差”表示;

b. 利用独立样本 T 检验 (Independent T-test) 分析肿瘤重所得。

Hepa1-6 原位同源移植模型荷瘤鼠在药物 A 和药物 B 治疗中的肿瘤重见图 4, 依次为第 1 组到第 9 组。

在分组治疗后第 21 天, 与对照组相比较, 测试药第 2 组, 第 3 组, 第 4 组, 第 5 组, 第 6 组及第 7 组, 都不具有统计学显著的抗肝原位转接的同源移植模型 Hepa1-6 肿瘤生长的作用 ($P>0.05$)。而高剂量联合治疗组第 8 组和第 9 组, 与溶媒治疗组相比, 均具有统计学显著的抗肝原位转接的同源移植模型 Hepa1-6 肿瘤生长的作用 ($P<0.05$)。

综合以上实验结果证明: 腹腔注射药物 B 在 3mg/kg 分别与口服药物 A 1 mg/kg, 3 mg/kg 联合治疗时, 均能显著抑制肝原位接种的同源移植模型 Hepa1-6 的肿瘤生长。口服药物 A 与腹腔注射药物 B 联用具有显著协同抑瘤的作用。

实施例 2、检测式 (I) 所示化合物二盐酸盐 (药物 A) 不同给药剂量下单药及联合 PD-1 抗体 (药物 B) 对 HuPD-1 人源化小鼠 LLC 肺癌原位移植瘤生长的抑制作用评价, 其中药物 A 给药方式为雾化给药。

15 1、实验材料

1) 肿瘤细胞

LLC 肿瘤细胞, 培养于含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基中, 细胞按照常规使用含有 EDTA 的胰蛋白酶消化传代, 每周传代两次, 放置于 37℃、5%CO₂ 培养箱中继续培养。对数生长期的肿瘤细胞被用于进行体内移植瘤模型的建立。

20 2) 实验动物

60 只 B6/JNju-pdcd1em2Cin345/Nju 人源化 PD-1 转基因小鼠, 雌性, 4-8 周, 由江苏集萃药康生物科技有限公司提供。

3) 受试样品

药物 A 式 (I) 所示化合物二盐酸盐

25 将式 (I) 所示化合物 (40 mg, 0.105 mmol, 式 (I) 所示化合物采用 WO2018095426 公开的方法制备) 溶于 0.5 mL 异丙醇和四氢呋喃的混合溶剂 (V/V = 1:1) 中, 搅拌全溶, 升温至 50℃, 滴加 4M 氯化氢的异丙醇溶液 (0.055 mL, 0.22 mmol), 冷却至室温搅拌 16 小时, 析出白色固体。反应液过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到药物 A。

药物 A 依据表 7 处方配置。

30 表 7

物料名称	每支药品处方组成
药物 A	1mg
枸橼酸	2.101mg
氯化钠	7.50mg
氢氧化钠	N/A
注射用水	1ml

药物 B

WO2017054646A 公开的 PD-1 抗体，重、轻链的序列分别如 SEQID NO： 7、SEQID NO： 8 所示；

IgG4： 阴性对照， 供应商： 上海恒瑞医药有限公司。

5 4) 实验仪器

小动物雾化给药系统为 Sansbio SA-YLS-8B。

2、实验步骤和方法

1) LLC 小鼠肺癌原位肿瘤细胞接种

10 用胰蛋白酶消化后收集对数生长期的 LLC 肿瘤细胞，P10，用 PBS 缓冲液调整细胞浓度为 $8\times 10^6/\text{mL}$ ，用胰岛素注射针将 0.025mL LLC 细胞悬液注射到肺脏组织中。注射小鼠需进行麻醉，细胞注射手术之前所有小鼠进行称重，记录为初始体重。待手术的小鼠用异氟烷和氧气混合气体充分麻醉。注射时动物采用左侧卧位。手术前所有小鼠进行皮毛剔除，用碘伏和酒精棉球进行消毒后进行手术，在动物左侧第三第四根肋骨处剪开皮肤和肌肉组织，在解剖显微镜下找到动物的左肺叶，将细胞用胰岛素针注射到左肺叶上，并以 5-0 缝合伤口，待小鼠活动等恢复后放入笼盒。所有手术器械均提前进行了高压灭菌处理。以手术当天为 PG-D0，接种后第 6 天剔除状态不好，体重过低的老鼠，并按照体重分组和给药观察。

具体分组信息如下表 8：

20 表 8 . hPD-1 人源化转基因小鼠的 LLC 肺癌动物模型药效实验的给药途径，给药剂量及分组

组号	动物数	给药组	给药剂量	给药途径	给药频次
1	8	Vehicle (30% HP-β-CD) +IgG4	10μL/g +3mg/kg	p.o+i.p	QDX15+Q3Dx6
2	8	药物 A	1000μL(1mg)	雾化	QDX15
3	8	药物 A	3000μL(3mg)	雾化	QDX15
4	8	药物 B	3mg/kg	i.p	Q3Dx6
5	8	药物 B	3mg/kg	i.p	Q3Dx6
		药物 A	1000μL(1mg)	雾化	QDX15
6	8	药物 B	3mg/kg	i.p	Q3Dx6
		药物 A	3000μL(3mg)	雾化	QDX15

备注： i.p.:腹腔给药； QD： 每天一次； Q3D 每 3 天一次。

2) 受试药品的配置

表 9.

样品名称	工作液浓度/包装	配制方法	给药浓度	储存
IgG4 溶剂	0	5%葡萄糖	0	4℃

药物 B	20mg/mL	用 7.683mL 5% 葡萄糖 稀释 0.117mL 的 20mg/mL 药物 B 配制成 0.3mg/mL 药液用于给药。	0.3mg/mL	4°C
药物 A	1mg/mL, 1mL/vial	直接使用, 每组动物每次 3mL	3mL/只鼠	4 °C
药物 A	1mg/mL, 1mL/vial	直接使用, 每组动物每次 1mL	1mL/8 只鼠	4 °C
药物 A 安慰剂注射液 (30%HP-β-CD)	0mg/mL	注射 0.1mL/鼠 药物 A 安慰剂注射液	3mL 每次	4°C

3) 评估指标

主要是检测受试化合物对 hPD-1 人源化小鼠 LLC 肺癌细胞移植瘤的生长抑制作用。肿瘤体积和荷瘤鼠体重测量: 实验结束时, 实验结束后剖取肿瘤瘤块, 检测肿瘤重量。

本实验在开始给药后第 15 天安乐死所有给药小鼠, 结束实验。

数据均采用 Mean±SEM 表示, 使用统计学分析软件 Graphpad Prism 对数据进行正态分布和方差齐性检验, 根据检验结果选择 one-way 方差分析方法。*P<0.05 将被认为具有统计学意义的显著性差异。

3、实验结果

图 5 为 hPD-1 人源化转基因小鼠的 LLC 肺癌动物模型治疗后动物的体重;

图 6 为 hPD-1 人源化转基因小鼠的 LLC 肺癌动物模型治疗后动物的体重变化曲线;

图 7 为 hPD-1 人源化转基因小鼠的 LLC 肺癌动物模型实验结束后肿瘤重量数据(*P<0.05, **P<0.01, 相比于溶剂组)。

表 10. 肿瘤块重量 (g) (Mean±SEM) n=8

组别	肿瘤块重量 (g) a b	P 值
1	0.354±0.067	-
2	0.091±0.036**	0.0014
3	0.135±0.043**	0.0084
4	0.12±0.08**	0.0038
5	0.082±0.052***	0.001
6	0.031±0.018***	0.001

注释: a. 数据以“平均值±标准误差”表示;

b. **P<0.01, ***P≤0.001, 与溶剂组比较。

本实验检测了受试化合物药物 A 不同剂量联合药物 B 对肺癌细胞 LLC 原位移植瘤生长的抑制作用。

在实验过程中, 受试化合物药物 A 给药方式为雾化给药, 对照组雾化给予同等体积的药物 A 安慰剂溶液。给药期间每周进行两次体重测量, 数据等详见图 5。其中溶剂对照组平均肿瘤块重量为 0.354g, 其他给药组中肿瘤重量分别为 0.091g(药物 A 1mL 雾化给药, QD), 0.135g(药物 A 3mL 雾化给药, QD), 0.12g(药物 B 3mg/kg ip, Q3D), 0.082g(药物 A 1mL, 雾化, QD+药物 B 3mg/kg, ip, Q3D)和 0.031g(药物 A 3mL, 雾化, QD+药物 B 3mg/kg, ip, Q3D), 各治疗组均表现出明显的抑制 LLC 肿瘤细胞小鼠肺脏原位生长的作用, 与溶剂对照组比较有显著性的差异 (**P<0.01, ***P≤0.001)。(见表 10)

实施例 3、评价式(I)所示化合物二盐酸盐(药物 A)瘤内给药单药或与 PD-L1 单抗(药物 C)联用对 MC38/H-11 小鼠皮下移植瘤的疗效。

1、实验材料

1) 肿瘤细胞

MC-38/H-11 细胞是小鼠结肠癌 MC-38 细胞通过 CRISPR/Cas9 技术敲除小鼠内源性 PD-L1, 转染并表达人 PD-L1 的单克隆细胞, 因此, MC-38/H-11 细胞只高表达人 PD-L1 蛋白。MC-38/H-11 用 10-cm 培养皿贴壁培养, 培养条件为 RPMI1640 培养基中加 10%胎牛血清以及青、链霉素, 于 37℃、含 5%CO₂ 空气的培养箱中培养。一周三次传代, 当细胞呈指数生长期时, 胰酶消化、收集细胞, 计数, 接种。

2) 实验动物

C57BL/6 小鼠 50 只, 6-7 周, ♀, 购自上海灵畅生物科技有限公司。生产许可证号: SCXK(沪) 2013-0018; 动物合格证号 2013001829559。饲养环境: SPF 级。

3) 受试药物

药物 A

将式(I)所示化合物(40 mg, 0.105 mmol, 式(I)所示化合物采用 WO2018095426 公开的方法制备)溶于 0.5 mL 异丙醇和四氢呋喃的混合溶剂(V/V = 1:1)中, 搅拌全溶, 升温至 50℃, 滴加 4M 氯化氢的异丙醇溶液(0.055 mL, 0.22 mmol), 冷却至室温搅拌 16 小时, 析出白色固体。反应液过滤, 收集滤饼, 真空干燥, 得到药物 A。

药物 A 依据表 11 处方配置。

表 11

物料名称	每支药品处方组成
药物 A	1mg
枸橼酸	4.208mg
氯化钠	7.50mg
氢氧化钠	N/A
注射用水	1ml

药物 C

抗 PD-L1 抗体, 重链序列为 SEQ ID NO: 19, 轻链序列为 SEQ ID NO: 21。

2、实验方法和步骤

小鼠左右腋下双侧接种, 每只小鼠接种 1.3×10^6 个 MC38/H-11 细胞, 待肿瘤长到 80-150 mm³ 后, 根据肿瘤大小分组。药物 A 组及联用组裸小鼠右侧肿瘤瘤内给予 50 μg 药物 A (i.t.), 注射体积为 50 μL, 每周给药 2 次 (BIW), 共 4 次; 药物 C 组及联合用药组裸小鼠腹腔注射 10 mg/kg 药物 C, 每 2 天给药一次 (QOD), 共 6 次; 对照组瘤内给予 50 μL 生理盐水, 腹腔注射 10 mL/kg 生理盐水。具体给药剂量和给药方案见表 12。

表 12.

组别	动物数	分组	给药	途径
1	10	溶剂	BIW×2+QOD×6	i.t.+i.p.
2	10	药物 A 50 μg/只+溶剂	BIW×2+QOD×6	i.t.+i.p.
3	10	溶剂+药物 C 10 mg/kg	BIW×2+QOD×6	i.t.+i.p.
4	10	药物 A 50 μg/只+ +药物 C 10 mg/kg	BIW×2+QOD×6	i.t.+i.p.

D0: 第一次给药时间; i.p.: 腹腔给药; i.t.: 瘤内注射; QOD: 每2天给药1次; BIW: 每周2次。

实验指标为考察药物对肿瘤生长的影响, 具体指标为T/C%或抑瘤率TGI(%)。

每周二次用游标卡尺测量肿瘤直径, 肿瘤体积 (V) 计算公式为:

$$V = 1/2 \times a \times b^2, \text{ 中 } a、b \text{ 分别表示长、宽。}$$

$T/C(\%) = (T - T_0) / (C - C_0) \times 100$ 其中 T、C 为实验结束时的肿瘤体积; T₀、C₀ 为实验开始时的肿瘤体积。

抑瘤率(TGI)(%)=100-T/C(%)。

当肿瘤出现消退时, 抑瘤率(TGI) (%)=100-(T-T₀)/T₀×100

如果肿瘤比起始体积缩小, 即 T<T₀ 或 C<C₀ 时, 即定义为肿瘤部分消退(PR); 如果肿瘤完全消失, 即定义为肿瘤完全消退(CR)。

二组肿瘤体积或肿瘤重量之间的比较采用双尾 Student' s t 检验, P<0.05 定义为有统计学显著性差异。

3、实验结果

如表 13 和图 8 所示: 在给药侧 (近端), 50 μg/只药物 A (第 2 组) 和 10 mg/kg 药物 C (第 3 组) 显著抑制 MC38/H-11 裸小鼠皮下移植瘤的生长, 抑瘤率分别为 32.1%和 34.4%。药物 A 和药物 C 联合用药 (第 4 组) 同样显著抑制 MC38/H-11 裸小鼠皮下移植瘤的生长, 抑瘤率为 58.8%。联用组 (第 4 组) 与药物 C (第 3 组) 单药相比, 具有显著的协同抗肿瘤药效, 与药物 A 单药 (第 2 组) 相比, 有协同抗肿瘤趋势 (P=0.067)。

表 13. 药物 A 瘤内给药单药或与药物 B 联用对 MC38/H-11 小鼠皮下移植瘤的疗效
(药物 A 给药侧(近端)数据, Mean±SEM, n=10)

组别	平均肿瘤体积		% T/C	% 抑瘤率
	D0	D11		
1	127.3±4.8	2147.0±133.8	-	-
2	124.4±4.5	1449.0±148.4 [*]	67.9	32.1
3	119.8±4.9	1492.0±338.9 ^{**}	65.6	34.4
4	128.4±5.1	961.5±200.8 ^{***#}	41.3	58.8

D0: 第一次给药时间, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$, ^{***} $P<0.001$ vs. 溶剂组; [#] $P<0.05$ vs. 药物 C 10 mg/kg; ^{\$} $P=0.067$ vs. 药物 A 50 μg/只。

5 如表 14 和图 9 所示:在非给药侧(远端), 50 μg/只 药物 A(第 2 组)和 10 mg/kg 药物 C(第 3 组)显著抑制 MC38/H-11 裸小鼠皮下移植瘤的生长, 抑瘤率分别为 41.8%和 34.7%。药物 A 和药物 C 联合用药(第 4 组)同样显著抑制 MC38/H-11 裸小鼠皮下移植瘤的生长, 抑瘤率为 48.3%, 和各自单药比均有协同增效趋势。

表 14. 药物 A 瘤内给药单药或与药物 B 联用对 MC38/H-11 小鼠皮下移植瘤的疗效
(药物 A 非给药侧(远端)数据, Mean±SEM, n=10)

组别	平均肿瘤体积		% T/C	% 抑瘤率
	D0	D11		
1	99.1±8.4	2220.9±234.1	-	-
2	117.6±5.6	1502.4±151.0 [*]	58.2	41.8
3	123.7±5.6	1359.0±185.1 [*]	65.3	34.7
4	128.6±9.9	1225.7±205.2 ^{**}	51.7	48.3

D0: 第一次给药时间; ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ vs. Vehicle。

如图 10, 50 μg/只 药物 A(第 2 组)和 10 mg/kg 药物 C 单药(第 3 组)及联用组(第 4 组)小鼠体重增长正常, 和对照组(第 1 组)相比, 无显著性差异。提示, 荷瘤小鼠对药物 A 和药物 C 单药或联用均能很好耐受, 体重增长无明显变化。

实施例 4、

将式 (I) 所示化合物二盐酸盐与注射用水相混合, 用醋酸-醋酸钠、磷酸二氢钠-磷酸氢二钠调节 pH, 搅拌溶解以备用, 考察不同 pH 值下, 60℃条件下的稳定性, 数据见表 15 和 16:

表 15

处方/用量	1	2	3	4	5	6	7	8	9
活性成分	0.1mg/ml								
缓冲盐浓度	10mM								
pH 值	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0

表 16

检测项	pH 值	60℃			
		0 天	5 天	10 天	30 天
总杂%	3.0	1.45	1.89	2.36	3.10
	3.5	1.17	1.31	1.65	1.95
	4.0	0.90	1.00	1.17	1.30
	4.5	0.87	0.94	0.98	0.12
	5.0	0.85	0.89	0.93	1.02
	5.5	0.83	0.82	0.86	1.00
	6.0	0.81	0.87	0.88	0.96
	6.5	0.85	0.87	0.92	1.00
	7.0	0.85	0.86	0.92	1.12
含量%	3.0	99.3	100.3	97.3	97.2
	3.5	99.7	100.2	100.7	98.1
	4.0	99.6	99.3	98.2	97.3
	4.5	98.8	99.4	97.9	96.6
	5.0	100.4	97.0	99.6	98.2
	5.5	101.1	100.7	100.2	97.7
	6.0	90.5	93.5	91.0	91.6
	6.5	95.4	99.2	96.1	94.7
	7.0	96.6	101.3	99.3	97.1

由实验结果可知：pH 的变化影响式 (I) 所示化合物二盐酸在溶液中的稳定性，当 pH 值在 3.0~4.0 之间时，在 60℃ 高温条件下放置 20 天总杂明显增加。当注射液的 pH 值在 4.5~6.0 之间时，稳定性良好，利于组合物的长期储存。

5 实施例 5、

将式 (I) 所示化合物二盐酸盐与缓冲液按表 17 中处方量配置，搅拌溶解、调节 pH 后，以备用，分别考察 60℃ 条件下的稳定性，数据见表 18：

表 17

处方/用量	1	2
活性成分	10mg/ml	

缓冲体系	柠檬酸-柠檬酸钠	醋酸-醋酸钠
缓冲盐浓度	20mM	
pH 值	5.0	5.0

表 18

检测项	缓冲体系	0 天	60℃		
			5 天	10 天	20d
总杂%	柠檬酸-柠檬酸钠	0.86	0.91	0.90	1.02
	醋酸-醋酸钠	0.85	0.93	0.94	0.98

由实验结果可知：式 (I) 所示化合物二盐酸盐在 pH 值为 5.0 的醋酸盐与柠檬酸盐缓冲体系中稳定性良好。

实施例 6、柠檬酸盐浓度筛选

- 5 按表 19 式 (I) 所示化合物二盐酸盐的处方制剂，考察 60℃ 条件下稳定性，数据见表 20：

表 19

处方/用量	1	2	3
化合物 A 盐酸盐 (1:2)	0.5mg/ml		
醋酸盐浓度	10Mm	40mM	80mM
pH 值	5.0		

表 20

检测项	醋酸盐浓度 mM	0 天	60℃		
			5 天	10 天	20 天
总杂%	10	0.85	0.89	0.91	1.01
	20	0.86	0.91	0.90	1.02
	40	0.80	0.87	0.88	1.07
含量%	10	101.8	101.2	99.5	100.7
	20	102.4	100.2	99.8	100.8
	40	102.1	101.8	99.5	100.7
pH 值	10	4.92	4.94	4.91	4.93
	20	4.92	4.95	4.94	4.94
	40	4.94	4.98	4.99	4.98

- 由实验结果可知，在各个浓度的醋酸盐缓冲液中，(I) 所示化合物二盐酸盐的稳定性均良好，pH 值也稳定在 4.5~5.5 之间，同时 (I) 所示化合物二盐酸盐在缓冲盐浓度为 10mM~80mM 稳定性均良好。
- 10

实施例 7、

按表 21 配置式 (I) 所示化合物二盐酸的处方制剂, 考察 60℃ 条件下稳定性, 结果见表 22。

表 21

成分/用量	1	2
活性成分	1mg/ml	
柠檬酸盐浓度	20mM	
pH 值	5.5	
甘露醇	45mg/ml	N/A
氯化钠	N/A	7.5mg/ml

5

表 22

检测项	渗透压调节剂	0 天	60℃	
			10 天	20 天
总杂%	甘露醇	0.89	0.94	0.98
	氯化钠	0.87	0.95	0.99
含量%	甘露醇	101.8	102.5	102.4
	氯化钠	101.5	101.4	100.8
渗透压 mOsmol/kg	甘露醇	286	N/A	N/A
	氯化钠	289	N/A	N/A

由实验结果可知, 加入渗透压调节剂, 药物组合物的稳定性均良好, 但为了避免或减轻给药的刺激, 需要加入渗透压调节剂保持药物组合物的等渗性, 同时考虑到临床使用时给药患者的血钠问题, 优选氯化钠作为渗透压调节剂。

实施例 8、

10 按表 23 处方量配置式 (I) 所示化合物二盐酸的溶液, 灭菌, 分装。放置于温度为 60℃ ± 2℃ 的条件下, 考察稳定性, 具体数据如表 24。

表 23

活性成分	5mg/ml
柠檬酸盐浓度	40mM
氯化钠	7.5mg/ml
pH 值	5.5

表 24

	0 月	10 天	30 天
--	-----	------	------

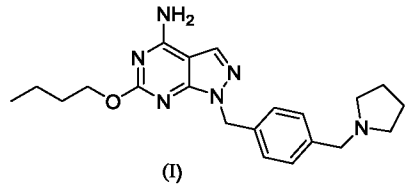
总杂%	1.2%	1.4	1.4
含量	98.9%	98.9%	100.2%
pH 值	5.50	5.49	5.48

权利要求书:

1. 一种 TLR 激动剂与免疫检查点抑制剂联合在制备治疗肿瘤的药物中的用途。

5

2. 根据权利要求 1 所述的用途, 所述的 TLR 激动剂为式 (I) 所示化合物或其复合物或其可药用盐



10

3. 根据权利要求 2 所述的用途, 所述的免疫检查点抑制剂选自 PD-1 抑制剂、PD-L1 抑制剂或 CTLA-4 抑制剂。

4. 根据权利要求 3 所述的用途, 所述 PD-1 抑制剂为抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段。

15

5. 根据权利要求 4 所述的用途, 所述抗 PD-1 抗体的轻链可变区包含分别如 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO: 6 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 所述的 PD-1 抗体的重链可变区包含分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。

20

6. 根据权利要求 5 所述的用途, 所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段选自人源化抗体或其片段。

7. 根据权利要求 5 或 6 所述的用途, 所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段包含人源 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 同种型的重链恒定区, 优选包含 IgG1 或 IgG4 同种型的重链恒定区。

25

8. 根据权利要求 6 所述的用途, 所述人源化抗体的轻链可变区序列为如 SEQ ID NO:10 所示的序列或其变体, 所述人源化抗体的重链可变区序列为如 SEQ ID NO:9 所示的序列或其变体。

30

9. 根据权利要求 6 所述的用途, 所述人源化抗体的轻链序列为如 SEQ ID NO:8 所示的序列或其变体; 所述人源化抗体的重链序列为如 SEQ ID NO:7 所示的序列

或其变体。

10. 根据权利要求 6 所述的用途，所述的人源化抗体轻链序列为如 SEQ ID NO:8 所示的序列，重链序列为如 SEQ ID NO:7 所示的序列。

5

11. 根据权利要求 3 所述用途，所述的 PD-L1 抑制剂为抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段。

12. 根据权利要求 11 所述的用途，所述抗 PD-L1 抗体或抗原结合片段的重链可变区包含分别如 SEQ ID NO: 11-13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，所述抗 PD-L1 抗体或抗原结合片段的轻链可变区包含分别如 SEQ ID NO: 14-16 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。

13. 根据权利要求 12 所述的用途，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段包含 SEQ ID NO: 17 所示的重链可变区或其变体，和 SEQ ID NO: 18 所示的轻链可变区或其变体。

14. 根据权利要求 13 所述的用途，其特征在于所述的 PD-L1 抗体或抗原结合片段进一步包含人源 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 或其变体的重链恒定区，优选包含人源 IgG2 或 IgG4 重链恒定区，更优选包含引入 F234A 和 L235A 突变的 IgG4 重链恒定区；所述人源化抗体轻链进一步包含人源 κ 、 λ 链或其变体的恒定区。

15. 根据权利要求 14 所述的用途，所述的 PD-L1 抗体或抗原结合片段包含如序列为 SEQ ID NO: 19 所示重链，和如序列为 SEQ ID NO: 21 所示轻链。

25

16. 根据权利要求 12 所述的用途，所述的 PD-L1 抗体或抗原结合片段选自鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体，人抗体，优选人源化抗体。

17. 根据权利要求 1-6 任一项所述的用途，所述肿瘤选自肺癌、非小细胞肺癌、肝细胞癌、基底细胞癌、肾细胞癌、骨髓瘤、直肠癌、结肠癌、乳腺癌、胃癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、肛区癌、胃癌、睾丸癌、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、阴户癌、何杰金氏病、非何杰金氏淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统的癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病、急

- 性髓细胞样白血病、慢性髓细胞样白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、儿童期实体瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统的赘生物、原发性 CNS 淋巴瘤、肿瘤血管发生、脊髓轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西氏肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T 细胞淋巴瘤，
- 5 优选肝细胞癌、直肠癌、结肠癌、非小细胞肺癌。

18. 根据权利要求 2-17 任一项所述的用途，所述 TLR 激动剂为式 (I) 所示化合物二盐酸盐。

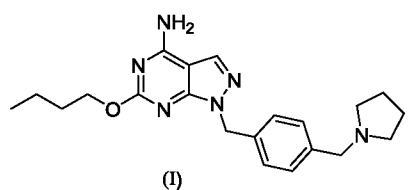
- 10 19. 根据权利要求 1-18 任一项所述的用途，所述 TLR 激动剂的给药剂量选自 0.0001-20.0mg/kg 或 0.01-200mg，给药频次为每天 3 次、每天 2 次、每天 1 次、每 2 天 1 次、每 3 天一次、每 4 天一次、每 5 天一次、每 6 天一次、每周一次、每 2 周一次、每 3 周一次、每 4 周一次，优选每 3 天 1 次，每周一次或每 2 周一次。

- 15 20. 根据权利要求 4-10、17-19 任一项所述的用途，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段的给药剂量选自 0.1-10.0mg/kg 或 1-1000mg，给药频次为每周一次、每 2 周一次、每 3 周一次、每 4 周一次、1 个月一次、每 3-6 个月一次，优选每 2 周一次或每 3 周一次。

- 20 21. 根据权利要求 11-16、17-19 任一项所述的用途，所述抗 PD-L1 抗体或其抗原结合片段剂量选自 1-50mg/kg 或 50-3000mg，给药频次为每周一次、每 2 周一次、每 3 周一次、每 4 周一次，优选每 2 周一次或每 3 周一次。

22. 根据权利要求 1-21 任一项所述的用途，所述 TLR 激动剂的给药方式为口服给药、瘤内注射或者吸入给药药。
- 25

23. 一种含式 (I) 所示化合物或其复合物或其可药用盐的药物组合物，所述



药物组合物的 pH 为 3.0-7.0，优选为 4.5-6.0。

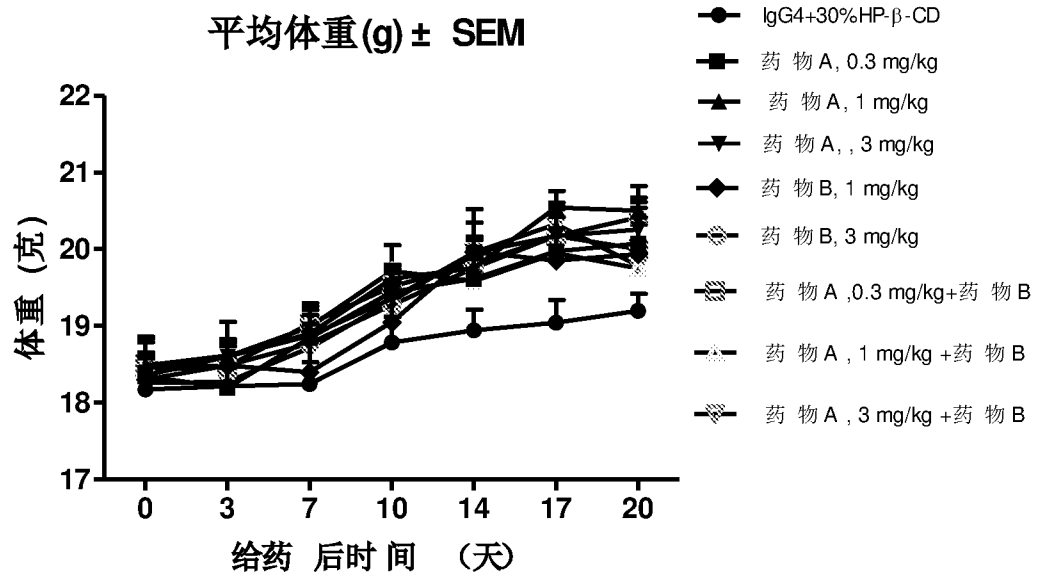


图1

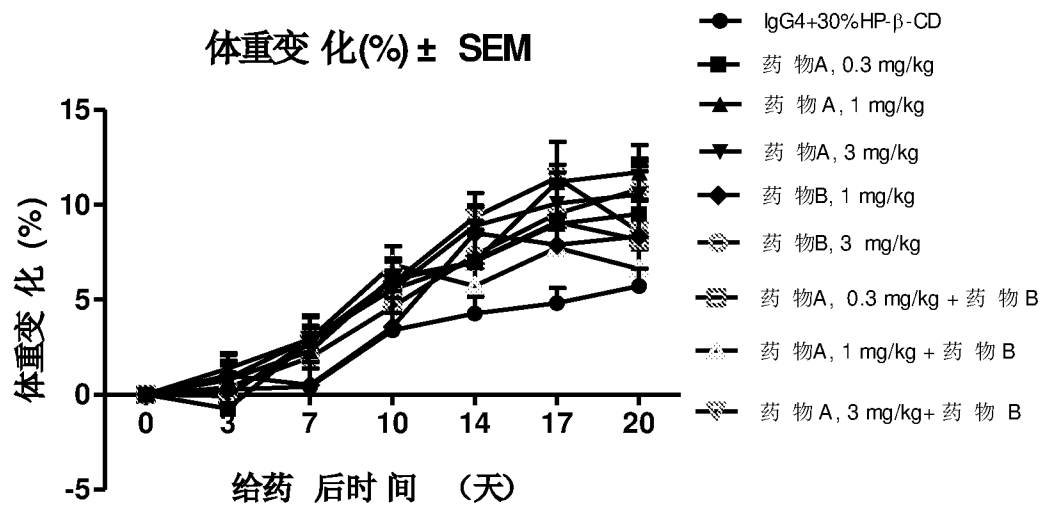


图2

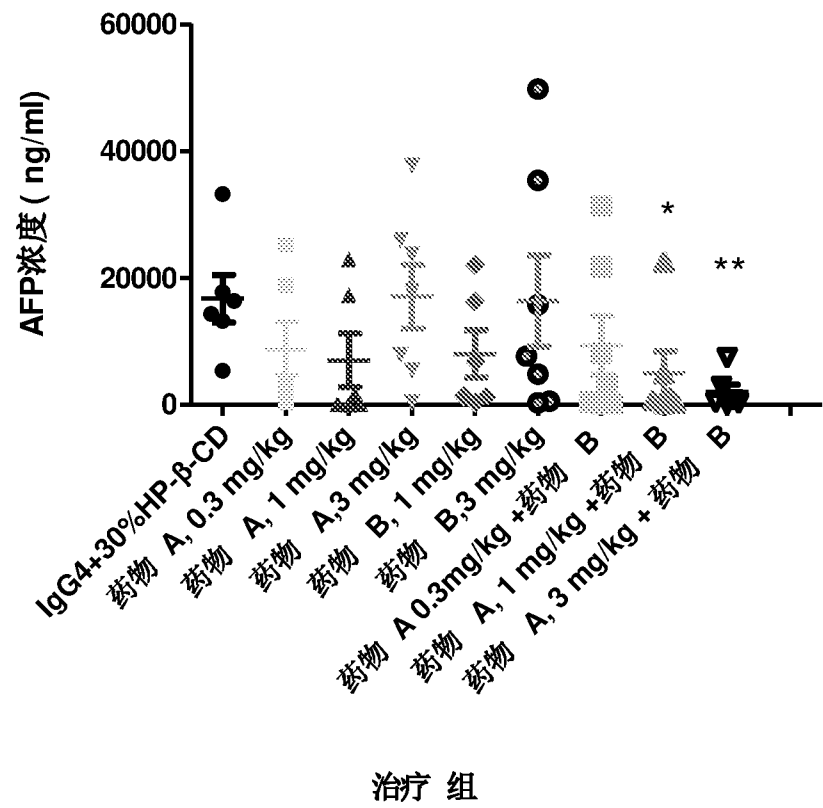


图 3

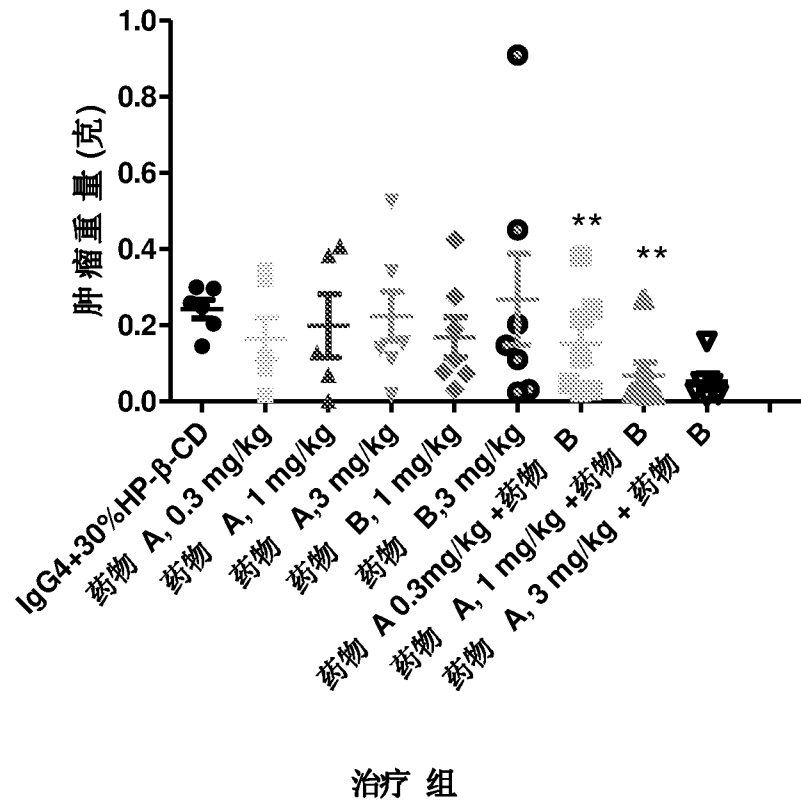


图 4

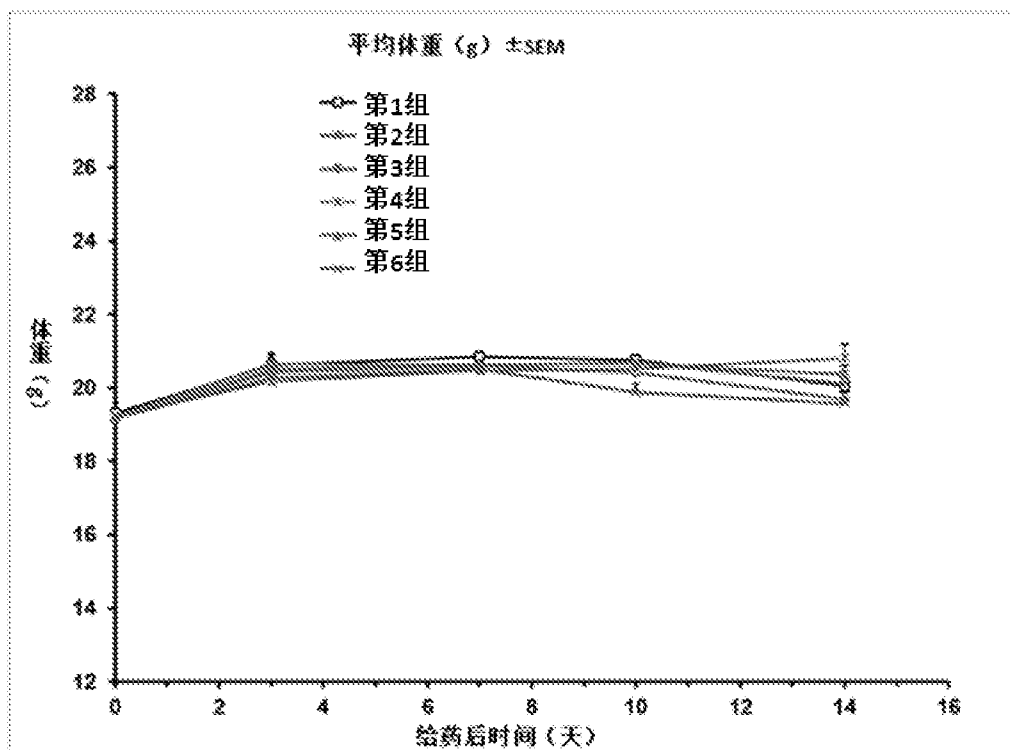


图 5

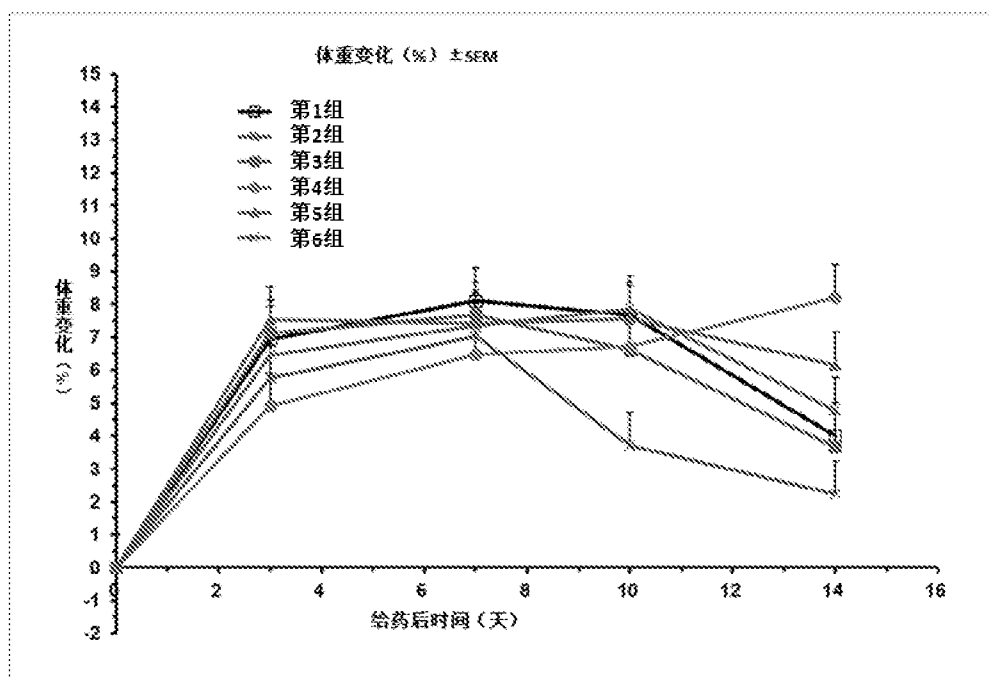


图 6

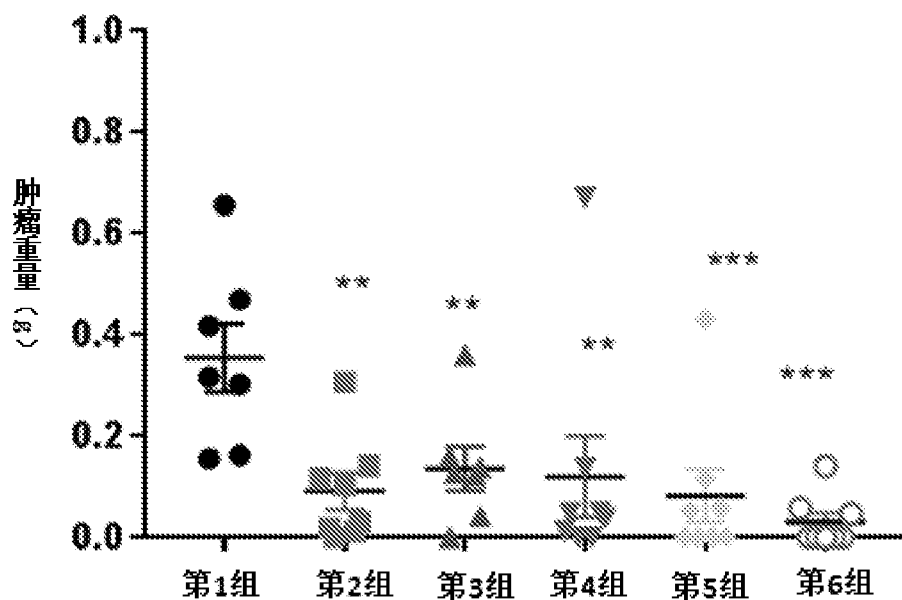


图 7

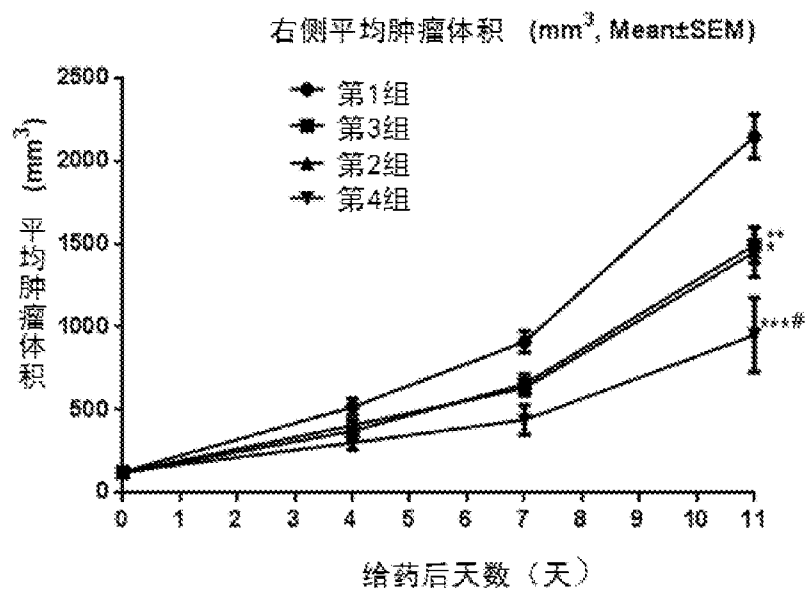


图 8

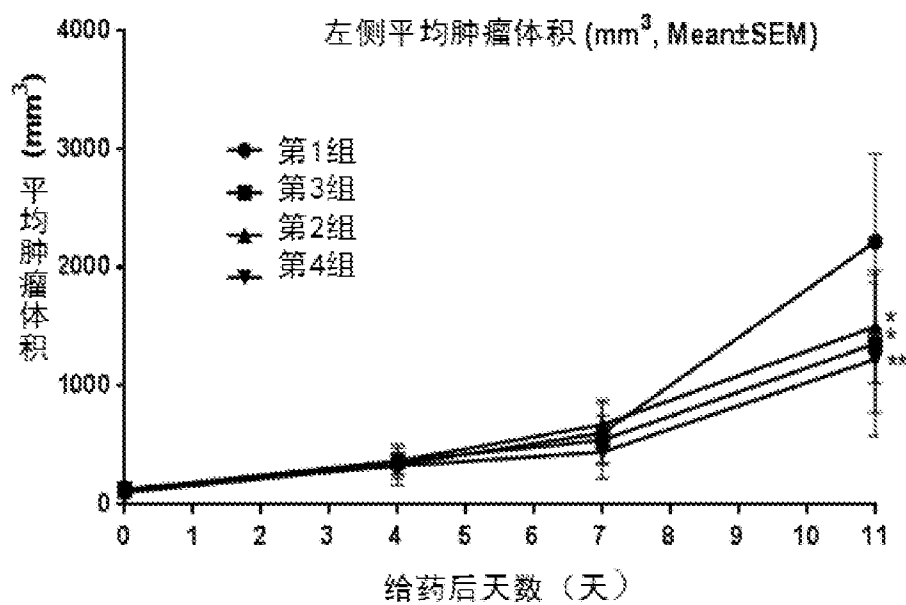


图 9

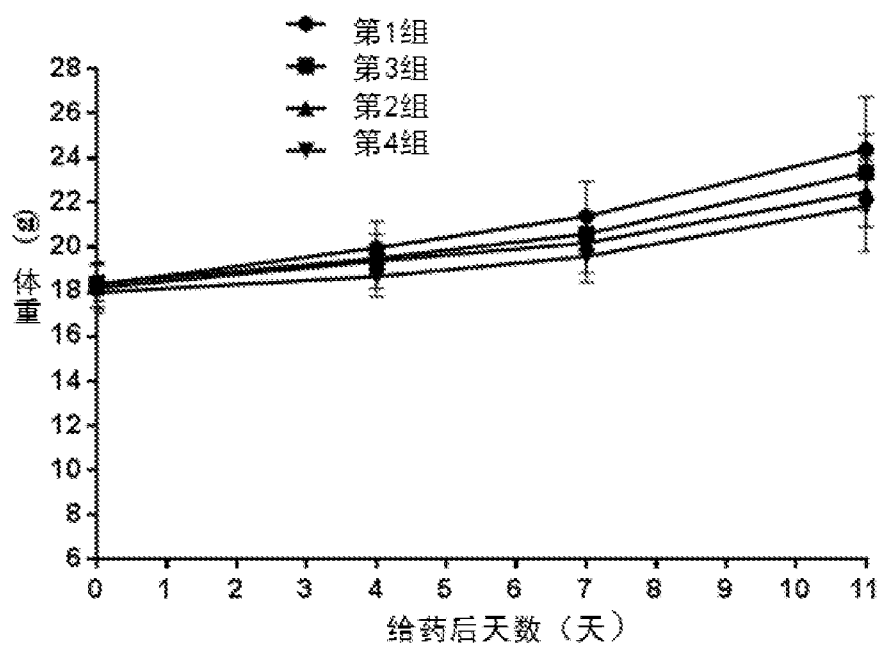


图 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/108529

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 39/395(2006.01)i; C07D 471/04(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61K 31/395(2006.01)n

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; C07D; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DWPI, SIPOABS, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNTXT, CATXT, GBTXT, JPTXT, KRABS, CNABS, CNKI, STNext, ISI Web of Science: TLR, immune, checkpoint, PD-1, PD-L1, CTLA-4, cancer, tumor, JIANSU HENGRUI MEDICINE, SUZHOU SUNCADIA BIOPHARMACEUTICALS, Toll样受体, 免疫, 检查点, 蛋白质程序性死亡, 江苏恒瑞医药股份有限公司, 苏州盛迪亚生物医药有限公司, 张岚, 杨昌永, 廖成, 张连山, 蒋家骅, 孙飘扬, 黄晓星

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 106999574 A (IDERA PHARMACEUTICALS, INC.) 01 August 2017 (2017-08-01) claims 1, 5, and 6	1
X	WO 2018078620 A1 (UROGEN PHARMA LTD.) 03 May 2018 (2018-05-03) claim 23	1
X	OTA, Y. et al. "Abstract 4726: Novel intravenous injectable TLR7 agonist, DSP-0509, synergistically enhanced antitumor immune responses in combination with anti-PD-1 antibody" <i>Proceedings: AACR Annual Meeting 2018</i> , Vol. 78, No. 13, 31 July 2018 (2018-07-31), abstract	1
X	SATO-KANEKO, F. et al. "Combination immunotherapy with TLR agonists and checkpoint inhibitors suppresses head and neck cancer" <i>JCI Insight</i> , Vol. 2, No. 18, 21 September 2017 (2017-09-21), abstract	1



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 December 2019

Date of mailing of the international search report

27 December 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/108529

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NISHII, N. et al. "Systemic administration of a TLR7 agonist attenuates regulatory T cells by dendritic cell modification and overcomes resistance to PD-L1 blockade therapy" <i>Oncotarget</i> , Vol. 9, No. 17, 27 January 2018 (2018-01-27), abstract	1
X	WO 2018095426 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 31 May 2018 (2018-05-31) abstract, and description, p. 5	23
Y	CN 106999574 A (IDERA PHARMACEUTICALS, INC.) 01 August 2017 (2017-08-01) claims 1, 5, and 6	2-22
Y	WO 2018095426 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 31 May 2018 (2018-05-31) abstract, and description, p. 5	2-22
A	CN 106794246 A (ONCOQUEST INC) 31 May 2017 (2017-05-31) entire document	1-23
A	WO 2017024296 A1 (MEMORIAL SLOAN KETTERING CANCER CENTER) 09 February 2017 (2017-02-09) entire document	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/108529

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	106999574	A	01 August 2017	AU	2015330731	A1	04 May 2017
				US	2017274004	A1	28 September 2017
				WO	2016057898	A1	14 April 2016
				KR	20170072244	A	26 June 2017
				US	2016101128	A1	14 April 2016
				IL	251669	D0	29 June 2017
				CA	2964155	A1	14 April 2016
				EP	3204040	A4	11 April 2018
				JP	2017531664	A	26 October 2017
				EP	3204040	A1	16 August 2017
				MX	2017004708	A	12 October 2017
WO	2018078620	A1	03 May 2018	US	2019201334	A1	04 July 2019
				EP	3532505	A1	04 September 2019
WO	2018095426	A1	31 May 2018	CA	3044903	A1	31 May 2018
				TW	201819387	A	01 June 2018
				BR	112019010182	A2	17 September 2019
				CN	108884092	A	23 November 2018
				AU	2017366621	A1	23 May 2019
				KR	20190084991	A	17 July 2019
				EP	3546457	A1	02 October 2019
CN	106794246	A	31 May 2017	EP	3177321	A4	07 February 2018
				US	10392444	B2	27 August 2019
				WO	2016019472	A1	11 February 2016
				JP	2017524033	A	24 August 2017
				EP	3177321	A1	14 June 2017
				US	2017226221	A1	10 August 2017
WO	2017024296	A1	09 February 2017	CA	2994965	A1	09 February 2017
				AU	2016304597	A1	29 March 2018
				EP	3331612	A1	13 June 2018
				EP	3331612	A4	03 July 2019

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/108529

A. 主题的分类 A61K 39/395(2006.01)i; C07D 471/04(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61K 31/395(2006.01)n 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																	
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) A61K; C07D; A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) DWPI, SIPOABS, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNTXT, CATXT, GBTXT, JPTXT, KRABS, CNABS, CNKI, STNext, ISI Web of Science: TLR, immune, checkpoint, PD-1, PD-L1, CTLA-4, cancer, tumor, JIANSU HENGRUI MEDICINE, SUZHOU SUNCADIA BIOPHARMACEUTICALS, Toll样受体, 免疫, 检查点, 蛋白质程序性死亡, 江苏恒瑞医药股份有限公司, 苏州盛迪亚生物医药有限公司, 张岚, 杨昌永, 廖成, 张连山, 蒋家骅, 孙飘扬, 黄晓星																	
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 106999574 A (伊黛拉制药有限公司) 2017年 8月 1日 (2017 - 08 - 01) 权利要求1, 5-6</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2018078620 A1 (UROGEN PHARMA LTD.) 2018年 5月 3日 (2018 - 05 - 03) 权利要求23</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>OTA, Y. et al. "Abstract 4726: Novel intravenous injectable TLR7 agonist, DSP-0509, synergistically enhanced antitumor immune responses in combination with anti-PD-1 antibody" Proceedings: AACR Annual Meeting 2018, 第78卷, 第13期, 2018年 7月 31日 (2018 - 07 - 31), 摘要</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>SATO-KANEKO, F. et al. "Combination immunotherapy with TLR agonists and checkpoint inhibitors suppresses head and neck cancer" JCI Insight, 第2卷, 第18期, 2017年 9月 21日 (2017 - 09 - 21), 摘要</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 106999574 A (伊黛拉制药有限公司) 2017年 8月 1日 (2017 - 08 - 01) 权利要求1, 5-6	1	X	WO 2018078620 A1 (UROGEN PHARMA LTD.) 2018年 5月 3日 (2018 - 05 - 03) 权利要求23	1	X	OTA, Y. et al. "Abstract 4726: Novel intravenous injectable TLR7 agonist, DSP-0509, synergistically enhanced antitumor immune responses in combination with anti-PD-1 antibody" Proceedings: AACR Annual Meeting 2018, 第78卷, 第13期, 2018年 7月 31日 (2018 - 07 - 31), 摘要	1	X	SATO-KANEKO, F. et al. "Combination immunotherapy with TLR agonists and checkpoint inhibitors suppresses head and neck cancer" JCI Insight, 第2卷, 第18期, 2017年 9月 21日 (2017 - 09 - 21), 摘要	1
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求															
X	CN 106999574 A (伊黛拉制药有限公司) 2017年 8月 1日 (2017 - 08 - 01) 权利要求1, 5-6	1															
X	WO 2018078620 A1 (UROGEN PHARMA LTD.) 2018年 5月 3日 (2018 - 05 - 03) 权利要求23	1															
X	OTA, Y. et al. "Abstract 4726: Novel intravenous injectable TLR7 agonist, DSP-0509, synergistically enhanced antitumor immune responses in combination with anti-PD-1 antibody" Proceedings: AACR Annual Meeting 2018, 第78卷, 第13期, 2018年 7月 31日 (2018 - 07 - 31), 摘要	1															
X	SATO-KANEKO, F. et al. "Combination immunotherapy with TLR agonists and checkpoint inhibitors suppresses head and neck cancer" JCI Insight, 第2卷, 第18期, 2017年 9月 21日 (2017 - 09 - 21), 摘要	1															
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																	
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件																	
国际检索实际完成的日期 2019年 12月 13日		国际检索报告邮寄日期 2019年 12月 27日															
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		授权官员 崔义文 电话号码 (86-10)53961855															

C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	NISHII, N. et al. "Systemic administration of a TLR7 agonist attenuates regulatory T cells by dendritic cell modification and overcomes resistance to PD-L1 blockade therapy" Oncotarget, 第9卷, 第17期, 2018年 1月 27日 (2018 - 01 - 27), 摘要	1
X	W0 2018095426 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 2018年 5月 31日 (2018 - 05 - 31) 摘要和说明书第5页	23
Y	CN 106999574 A (伊黛拉制药有限公司) 2017年 8月 1日 (2017 - 08 - 01) 权利要求1, 5-6	2-22
Y	W0 2018095426 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 2018年 5月 31日 (2018 - 05 - 31) 摘要和说明书第5页	2-22
A	CN 106794246 A (昂奎斯特有限公司) 2017年 5月 31日 (2017 - 05 - 31) 全文	1-23
A	W0 2017024296 A1 (MEMORIAL SLOAN KETTERING CANCER CENTER) 2017年 2月 9日 (2017 - 02 - 09) 全文	1-23

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/108529

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	106999574	A	2017年 8月 1日	AU	2015330731	A1	2017年 5月 4日
				US	2017274004	A1	2017年 9月 28日
				WO	2016057898	A1	2016年 4月 14日
				KR	20170072244	A	2017年 6月 26日
				US	2016101128	A1	2016年 4月 14日
				IL	251669	D0	2017年 6月 29日
				CA	2964155	A1	2016年 4月 14日
				EP	3204040	A4	2018年 4月 11日
				JP	2017531664	A	2017年 10月 26日
				EP	3204040	A1	2017年 8月 16日
				MX	2017004708	A	2017年 10月 12日
WO	2018078620	A1	2018年 5月 3日	US	2019201334	A1	2019年 7月 4日
				EP	3532505	A1	2019年 9月 4日
WO	2018095426	A1	2018年 5月 31日	CA	3044903	A1	2018年 5月 31日
				TW	201819387	A	2018年 6月 1日
				BR	112019010182	A2	2019年 9月 17日
				CN	108884092	A	2018年 11月 23日
				AU	2017366621	A1	2019年 5月 23日
				KR	20190084991	A	2019年 7月 17日
				EP	3546457	A1	2019年 10月 2日
CN	106794246	A	2017年 5月 31日	EP	3177321	A4	2018年 2月 7日
				US	10392444	B2	2019年 8月 27日
				WO	2016019472	A1	2016年 2月 11日
				JP	2017524033	A	2017年 8月 24日
				EP	3177321	A1	2017年 6月 14日
				US	2017226221	A1	2017年 8月 10日
WO	2017024296	A1	2017年 2月 9日	CA	2994965	A1	2017年 2月 9日
				AU	2016304597	A1	2018年 3月 29日
				EP	3331612	A1	2018年 6月 13日
				EP	3331612	A4	2019年 7月 3日