



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 110678200 B

(45) 授权公告日 2024. 05. 17

(21) 申请号 201880035348.0

(22) 申请日 2018.05.30

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110678200 A

(43) 申请公布日 2020.01.10

(30) 优先权数据  
62/512,644 2017.05.30 US  
62/513,816 2017.06.01 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2019.11.28

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/US2018/035142 2018.05.30

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02018/222722 EN 2018.12.06

(73) 专利权人 百时美施贵宝公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 L·S·伯顿 W·应 N·隆伯格  
S·查克拉瓦蒂 P·史密斯

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所  
11247

专利代理师 胡晨曦 黄革生

(51) Int.Cl.  
C07K 16/28 (2006.01)

(56) 对比文件  
W0 2014008218 A1, 2014.01.09  
W0 2016168716 A1, 2016.10.20  
W0 2017079150 A1, 2017.05.11

审查员 陈盛峰

权利要求书3页 说明书61页  
序列表14页 附图11页

(54) 发明名称

包含抗LAG-3抗体或抗LAG-3抗体和抗PD-1  
或抗PD-L1抗体的组合物

(57) 摘要

本文提供了药物组合物,其包含(i)抗LAG-3  
抗体或其抗原结合片段或(ii)抗LAG-3抗体或其  
抗原结合片段和抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其  
抗原结合片段。还提供了药物组合物,其包含缓  
冲剂、稳定剂或增量剂和表面活性剂。本文还提  
供了包含所述组合物的小瓶、注射器、静脉内袋  
或药盒,以及使用所述组合物的方法。

1. 一种药物组合物, 包含:

- (i) 4mg/mL至12mg/mL抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;
- (ii) 12mg/mL的抗PD-1抗体或其抗原结合片段;
- (iii) 20mM的组氨酸缓冲液;
- (iv) 250mM的蔗糖;
- (v) 20 $\mu$ M的DTPA; 和
- (vi) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80;

其中所述药物组合物具有5.8的pH,

其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含: 序列分别为SEQ ID NOs: 7, 8和9的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域; 以及序列分别为SEQ ID NOs: 10、11和12的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域;

其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含: 序列分别为SEQ ID NOs: 23、24和25的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域; 以及序列分别为SEQ ID NOs: 26、27和28的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域。

2. 如权利要求1所述的药物组合物, 其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区, 所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO: 3和5所示的序列。

3. 如权利要求1所述的药物组合物, 其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区, 所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO: 19和21所示的序列。

4. 如权利要求1所述的药物组合物, 其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区, 所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO: 3和5所示的序列; 且所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区, 所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO: 19和21所示的序列。

5. 如权利要求1所述的药物组合物, 其中所述抗LAG-3抗体包含重链和轻链, 所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO: 1和2所示的序列。

6. 如权利要求1所述的药物组合物, 其中所述抗PD-1抗体包含重链和轻链, 所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO: 17和18所示的序列。

7. 如权利要求1所述的药物组合物, 其中所述抗LAG-3抗体包含重链和轻链, 所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO: 1和2所示的序列; 且所述抗PD-1抗体包含重链和轻链, 所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO: 17和18所示的序列。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的药物组合物, 其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为4mg/mL。

9. 如权利要求1-7中任一项所述的药物组合物, 其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为8mg/mL。

10. 如权利要求1-7中任一项所述的药物组合物, 其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为10mg/mL。

11. 如权利要求1-7中任一项所述的药物组合物, 其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为12mg/mL。

12. 如权利要求1-7中任一项所述的药物组合物, 其中所述组合物用于静脉内施用。

13. 一种小瓶, 其包含20mL的药物组合物, 其中所述药物组合物包含:

- (i) 4mg/mL至12mg/mL的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;
- (ii) 12mg/mL的抗PD-1抗体或其抗原结合片段;
- (iii) 20mM的组氨酸缓冲液;
- (iv) 250mM的蔗糖;
- (v) 20 $\mu$ M的DTPA;和
- (vi) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80;

其中所述药物组合物具有5.8的pH,

其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含序列分别为SEQ ID NOs:7,8和9的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域以及序列分别为SEQ ID NOs:10、11和12的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域;且所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含序列分别为SEQ ID NOs:23、24和25的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域以及序列分别为SEQ ID NOs:26、27和28的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域。

14. 如权利要求13所述的小瓶,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区,所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO:3和5所示的序列。

15. 如权利要求13所述的小瓶,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区,所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO:19和21所示的序列。

16. 如权利要求13所述的小瓶,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区,所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO:3和5所示的序列;且所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区,所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO:19和21所示的序列。

17. 如权利要求13所述的小瓶,其中所述抗LAG-3抗体包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:1和2所示的序列。

18. 如权利要求13所述的小瓶,其中所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:17和18所示的序列。

19. 如权利要求13所述的小瓶,其中所述抗LAG-3抗体包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:1和2所示的序列;且所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:17和18所示的序列。

20. 如权利要求13-19中任一项所述的小瓶,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为4mg/mL。

21. 如权利要求13-19中任一项所述的小瓶,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为8mg/mL。

22. 如权利要求13-19中任一项所述的小瓶,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为10mg/mL。

23. 如权利要求13-19中任一项所述的小瓶,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为12mg/mL。

24. 一种输注液,其包含:

- (i) 4mg/mL至12mg/mL的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;
- (ii) 12mg/mL的抗PD-1抗体或其抗原结合片段;
- (iii) 20mM的组氨酸缓冲液;

- (iv) 250mM的蔗糖;
  - (v) 20 $\mu$ M的DTPA;和
  - (vi) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80;
- 其中所述输注液具有5.8的pH,

其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含序列分别为SEQ ID NOs:7,8和9的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域以及序列分别为SEQ ID NOs:10、11和12的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域;且所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含序列分别为SEQ ID NOs:23、24和25的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域以及序列分别为SEQ ID NOs:26、27和28的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3结构域。

25. 如权利要求24所述的输注液,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区,所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO:3和5所示的序列。

26. 如权利要求24所述的输注液,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区,所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO:19和21所示的序列。

27. 如权利要求24所述的输注液,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区,所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO:3和5所示的序列;且所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区,所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO:19和21所示的序列。

28. 如权利要求24所述的输注液,其中所述抗LAG-3抗体包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:1和2所示的序列。

29. 如权利要求24所述的输注液,其中所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:17和18所示的序列。

30. 如权利要求24所述的输注液,其中所述抗LAG-3抗体包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:1和2所示的序列;且所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:17和18所示的序列。

31. 如权利要求24-30中任一项所述的输注液,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为4mg/mL。

32. 如权利要求24-30中任一项所述的输注液,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为8mg/mL。

33. 如权利要求24-30中任一项所述的输注液,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为10mg/mL。

34. 如权利要求24-30中任一项所述的输注液,其中所述抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的浓度为12mg/mL。

35. 一种静脉内袋,其包含权利要求24-34中任一项所述的输注液。

36. 一种静脉内袋,其包含权利要求24-34中任一项所述的输注液的稀释液。

37. 权利要求36的静脉内袋,其中稀释剂为0.9%氯化钠注射液USP。

38. 权利要求36的静脉内袋,其中稀释剂为5%葡萄糖注射液USP。

## 包含抗LAG-3抗体或抗LAG-3抗体和抗PD-1或抗PD-L1抗体的组合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2017年5月30日提交的美国临时申请号62/512,644和2017年6月1日提交的美国临时申请号62/513,816的优先权,其全部内容通过引用引入本文。

### 发明领域

[0003] 本发明涉及药物组合物,包含(i)抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,或(ii)抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。本发明还涉及包含缓冲剂、稳定剂或增量剂(bulking agent)和表面活性剂的药物组合物。

### [0004] 发明背景

[0005] 淋巴细胞活化基因3 (LAG-3、LAG3或CD223) 是一种I型跨膜蛋白,其在活化的CD4+和CD8+T细胞以及NK和树突状细胞的子集的细胞表面上表达 (Triebel F.等人, J.Exp.Med.1990;171:1393-1405;Workman CJ等人, J.Immunol.2009;182(4):1885-91)。LAG-3与CD4密切相关,而CD4是T辅助细胞激活的辅助受体。这两种分子均具有四个细胞外Ig样结构域,并需要结合其配体(主要组织相容性复合体(MHC) II类) 以发挥其功能活性。与CD4不同,LAG-3仅在活化的T细胞的细胞表面表达,并且其从细胞表面的切割终止了LAG-3信号传导。LAG-3还被发现是可溶性蛋白,但它不结合II类MHC,且其功能尚不清楚。

[0006] 据报道,LAG-3在促进调节性T细胞(Treg) 活性和下调T细胞活化和增殖中起重要作用(Workman CJ等人, J.Immunol.2005;174:688-695)。天然的和诱导的Treg都表达增加的LAG-3,这是其最大抑制功能所必需的(Camisaschi C.等人, J.Immunol.2010;184:6545-6551和Huang CT等人, Immunity.2004;21:503-513)。此外,LAG-3在CD4+效应器T细胞上的异位表达降低了它们的增殖能力,并赋予它们对抗第三方T细胞的调节潜力(Huang C.T., 等人, Immunity.2004;21:503-513)。最近的研究还显示,在耗竭的淋巴细胞性脉络膜脑膜炎病毒(LCMV)-特异性CD8+T细胞上的高LAG-3表达导致它们无响应状态,并限制了CD8+T细胞的抗肿瘤响应(Blackburn SD等人, Nat.Immunol.2009;10:29-37和Grosso JF等人, J.Clin.Invest.2007;117:3383-3392)。实际上,在两个鼠模型中LAG-3通过对CD8+T细胞的直接作用维持了对自身和肿瘤抗原的耐受性(Grosso J.F.等人, J.Clin.Invest.2007;117:3383-3392)。

[0007] 程序性细胞死亡1 (PD-1) 是细胞表面信号传导受体,其在T细胞活化和耐受的调节中起关键作用(Keir ME等人, Annu.Rev.Immunol.2008;26:677-704)。它是一种I型跨膜蛋白,并与BTLA、CTLA-4、ICOS和CD28一起构成T细胞共刺激受体的CD28家族。PD-1主要在活化的T细胞、B细胞和髓样细胞上表达(Dong H.等人, Nat.Med.1999;5:1365-1369)。它还在自然杀伤(NK) 细胞上表达(Terme M.等人, Cancer Res.2011;71:5393-5399)。PD-1与其配体PD-L1和PD-L2的结合导致近端细胞内免疫受体酪氨酸抑制域中的酪氨酸残基磷酸化,随后募集磷酸酶SHP-2,最终导致下调T细胞的活化。PD-1的一项重要作用是在感染后的炎症反应时限制外周组织中T细胞的活性,从而限制自身免疫的发展(Pardoll DM,

Nat.Rev.Cancer 2012;12:252-264)。这种负调节作用的证据来自以下发现:PD-1缺陷的小鼠发展为狼疮样自身免疫性疾病,包括关节炎和肾炎,以及心肌病(Nishimura H.,等人,Immunity,1999;11:141-151;和Nishimura H.等人,Science,2001;291:319-322)。在肿瘤环境中,结果是在肿瘤微环境内免疫抵抗的发展。PD-1在浸润肿瘤的淋巴细胞上高度表达,并且其配体在许多不同肿瘤的细胞表面上被上调(Dong H.等人,Nat.Med.2002;8:793-800)。多种鼠类癌症模型表明,配体与PD-1的结合可导致免疫逃逸。另外,阻断该相互作用导致抗肿瘤活性(Topalian S.L.等人,NEJM2012;366(26):2443-2454;Hamid O.等人,NEJM 2013;369:134-144)。此外,已经显示,在临床前模型中,抑制PD-1/PD-L1相互作用介导了有效的抗肿瘤活性(美国专利号8,008,449和7,943,743)。

[0008] 具有转移性或难治性实体瘤的患者的预后非常差(Rosenberg SA等人,Cancer immunotherapy in Cancer:Principles&Practice of Oncology(DeVita V.T.,Lawrence T.S.和Rosenberg S.A.编辑)2011;332-344(Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia Pa.))。尽管在多模式治疗方面取得了进展,但该患者群体的总生存率的增加却受到限制。因此,本发明的目的是提供用于治疗患有此类肿瘤(例如晚期难治性实体瘤)的个体的改进方法。

#### [0009] 发明简述

[0010] 本发明涉及药物组合物,其包含:(i)抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,或(ii)抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,药物组合物包含(i)约1mg/ml至约300mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约5mM至约50mM的缓冲剂;(iii)约50mM至约300mM的稳定剂或增量剂;和(iv)约0.001%至约1%(w/v)的表面活性剂。在一些实施方案中,药物组合物还包含(v)螯合剂。在一些实施方案中,药物组合物包含约80mg至约240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,药物组合物包含约80mg、约120mg、约160mg或约240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,药物组合物包含约4mg/ml至约12mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。在其他实施方案中,药物组合物包含约4mg/ml、约8mg/ml、约10mg/ml或约12mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。

[0011] 在其他实施方案中,此类组合物的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:3所示序列的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域,和/或具有SEQ ID NO:5所示序列的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在一些实施方案中,此类组合物的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:3所示的序列至少90%相同的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域,和/或与SEQ ID NO:5所示序列至少90%相同的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含:(a)重链可变区CDR1,其包含SEQ ID NO:7所示的序列;(b)重链可变区CDR2,其包含SEQ ID NO:8所示的序列;(c)重链可变区CDR3,其包含SEQ ID NO:9所示的序列;(d)轻链可变区CDR1,其包含SEQ ID NO:10所示的序列;(e)轻链可变区CDR2,其包含SEQ ID NO:11所示的序列;(f)轻链可变区CDR3,其包含SEQ ID NO:12所示的序列。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链可变区,所述重链和/或轻链可变区分别包含SEQ ID NO:3和5所示的序列。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链,所述重链和/或轻链分别包含SEQ ID NO:1和2所示的序列。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体是BMS-

986016、IMP731 (H5L7BW)、MK-4280 (28G-10)、REGN3767、GSK2831781、人源化BAP050、IMP-701 (LAG-5250) 或FS-118。

[0012] 在其他实施方案中,此类药物组合物的缓冲剂是组氨酸、Tris-Cl、柠檬酸盐、Tris-柠檬酸盐、磷酸盐(例如磷酸钠)或其任何组合。在一些实施方案中,药物组合物包含约10mM或约20mM的缓冲剂。在其他实施方案中,此类药物组合物的稳定剂是蔗糖、海藻糖、棉子糖、精氨酸或其任何组合。在一些实施方案中,此类药物组合物的增量剂是氯化钠、甘露醇、甘氨酸、丙氨酸或其任何组合。在其他实施方案中,药物组合物包含约150mM或约250mM的稳定剂或增量剂。在一些实施方案中,表面活性剂是聚山梨酯、泊洛沙姆或其任何组合(例如,聚山梨酯80(PS80)、聚山梨酯20(PS20)、泊洛沙姆188(PX188)或其任何组合)。在其他实施方案中,药物组合物包含约0.05%至约1% (w/v) 的表面活性剂。

[0013] 在其他实施方案中,此类药物组合物还包含(v) 约5 $\mu$ M至约1mM的螯合剂。在一些实施方案中,螯合剂是二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、次氨基三乙酸或其任何组合。在一些实施方案中,药物组合物包含约20 $\mu$ M的螯合剂。

[0014] 另一方面,本发明涉及药物组合物,包含(i) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 约5mM至约50mM的柠檬酸盐;(iii) 约50mM至约300mM的氯化钠;(iv) 约0.001%至约1% (w/v) 的聚山梨酯或泊洛沙姆。另一方面,药物组合物包含(i) 约11mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 约10mM的柠檬酸盐和约10mM的磷酸盐;(iii) 约150mM的氯化钠;和(iv) 约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面,药物组合物包含(i) 约11mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 约10mM的柠檬酸钠和约10mM的磷酸钠;(iii) 约150mM的氯化钠;和(iv) 约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。另一方面,药物组合物包含(i) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 约5mM至约50mM的组氨酸;(iii) 约50mM至约300mM的蔗糖;和(iv) 约0.001%至约1% (w/v) 的聚山梨酯或泊洛沙姆。在另一方面,本发明包括药物组合物,其包含(i) 约10mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;和(ii) 约20mM的组氨酸;(iii) 约250mM的蔗糖;和(iv) 约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。另一方面,药物组合物包含(i) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 约5mM至约50mM的组氨酸;(iii) 约50mM至约300mM的蔗糖;(iv) 约5 $\mu$ M至约1mM的一种或多种螯合剂;(v) 约0.001%至约1% (w/v) 的聚山梨酯或泊洛沙姆。

[0015] 在另一方面,本发明涉及药物组合物,其包含(i) 约10mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 约20mM的组氨酸;(iii) 约250mM的蔗糖;(iv) 约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M的DTPA或EDTA;和(v) 约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面,药物组合物包含(i) 11mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 10mM的柠檬酸盐和10mM的磷酸盐;(iii) 150mM的氯化钠;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面,药物组合物包含(i) 11mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 10mM的柠檬酸钠和10mM的磷酸钠;(iii) 150mM的氯化钠;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面,药物组合物包含(i) 110mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 10mM的柠檬酸盐;(iii) 150mM的氯化钠;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面,药物组合物包含(i) 10mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 20mM的组氨酸;(iii) 250mM的蔗糖;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面,药物组合物包含(i) 100mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 20mM的组氨酸;(iii) 250mM的蔗糖;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面,药物组合物包含:(i) 80mg的抗LAG-3抗

体或其抗原结合片段; (ii) 20mM的组氨酸; (iii) 250mM的蔗糖; 和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面, 药物组合物包含(i) 10mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段; (ii) 20mM的组氨酸; (iii) 250mM的蔗糖; (iv) 20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA; 和(v) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面, 药物组合物包含: (i) 100mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段; (ii) 20mM的组氨酸; (iii) 250mM的蔗糖; (iv) 20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA; 和(v) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在另一方面, 药物组合物包含(i) 80mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段; (ii) 20mM的组氨酸; (iii) 250mM的蔗糖; (iv) 20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA; 和(v) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。

[0016] 在一些实施方案中, 此类药物组合物可具有约5至约6的pH。在一个实施方案中, pH为约5.5或约5.6。

[0017] 另一方面, 本发明涉及药物组合物, 包含(i) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段; (ii) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段; (iii) 约5mM至约50mM的缓冲剂; (iv) 约50mM至约300mM的稳定剂; (v) 约5 $\mu$ M至约1mM的螯合剂; 和(vi) 约0.001%至约1% (w/v) 的表面活性剂。在一些实施方案中, 药物组合物包含约4mg/ml至约12mg/ml, 或约80mg至约240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。在其他实施方案中, 药物组合物包含约4mg/ml、约8mg/ml、约10mg/ml、约12mg/ml、约80mg、约120mg、约160mg或约240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。

[0018] 在此类组合物的一方面, 抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:3所示序列的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域, 和/或具有SEQ ID NO:5所示序列的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在另一方面, 抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含: (a) 重链可变区CDR1, 其包含SEQ ID NO:7所示的序列; (b) 重链可变区CDR2, 其包含SEQ ID NO:8所示的序列; (c) 重链可变区CDR3, 其包含SEQ ID NO:9所示的序列; (d) 轻链可变区CDR1, 其包含SEQ ID NO:10所示的序列; (e) 轻链可变区CDR2, 其包含SEQ ID NO:11所示的序列; (f) 轻链可变区CDR3, 其包含SEQ ID NO:12所示的序列。在此类组合物的另一方面, 抗LAG-3抗体是BMS-986016、IMP731 (H5L7BW)、MK-4280 (28G-10)、REGN3767、GSK2831781、人源化BAP050、IMP-701 (LAG-5250)、FS-118。在此类组合物的另一方面, 抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链可变区, 所述重链和/或轻链可变区分别包含SEQ ID NO:3和5所示的序列。在此类组合物的另一方面, 抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链, 所述重链和/或轻链分别包含SEQ ID NO:1和2所示的序列。

[0019] 另一方面, 这样的组合物包含约60mg至约300mg的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中, 抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:19所示序列的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域, 和/或具有SEQ ID NO:21所示序列的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在一些实施方案中, 抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含: (a) 重链可变区CDR1, 其包含SEQ ID NO:23所示的序列; (b) 重链可变区CDR2, 其包含SEQ ID NO:24所示的序列; (c) 重链可变区CDR3, 其包含SEQ ID NO:25所示的序列; (d) 轻链可变区CDR1, 其包含SEQ ID NO:26所示的序列; (e) 轻链可变区CDR2, 其包含SEQ ID NO:27所示的序列; (f) 轻链可变区CDR3, 其包含SEQ ID NO:28所示序列。在其他实施方案中, 抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链可变区, 所述重链和/或轻链可变区分别包含SEQ ID NO:19和21所示的序列。在其他实施方



案中,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链,所述重链和/或轻链分别包含SEQ ID NO:17和18所示的序列。在其他实施方案中,其抗PD-1抗体是派姆单抗(pembrolizumab)(KEYTRUDA;MK-3475)、皮地珠单抗(pidilizumab)(CT-011)或纳武单抗(nivolumab)(OPDIVO;BMS-936558)。在其他实施方案中,抗PD-L1抗体是阿特殊单抗(atezolizumab)(TECENTRIQ;RG7446)、度伐鲁单抗(durvalumab)(IMFINZI;MEDI4736)或BMS-936559。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体是BMS-986016并且抗PD-1抗体是纳武单抗,抗LAG-3抗体是MK-4280并且抗PD-1抗体是派姆单抗,抗LAG-3抗体是REGN3767并且抗PD-1抗体为REGN2810,或抗LAG-3抗体是LAG525并且抗PD-1是REGN2810,或抗LAG-3抗体是LAG525并且抗PD-1抗体是PDR001。

[0020] 在此类组合物的其他方面,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段与抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量之比大约是1:3,约1:1,约2:3或约1:1。在一些实施方案中,此类组合物可以包含约240mg的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和约80mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,此类组合物可以包含约240mg的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和约160mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。在其他实施方案中,此类组合物可以包含约240mg的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和约240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。在其他实施方案中,组合物可以包含约12mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和约4mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。在其他实施方案中,此类组合物可包含约12mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和约8mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。在其他实施方案中,此类组合物可包含约12mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和约12mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。

[0021] 另一方面,本发明涉及药物组合物,包含:(i)约5mM至约50mM的缓冲剂;(ii)约50mM至约300mM的稳定剂或增量剂;(iii)约0.001%至约1%(w/v)的表面活性剂。在另一方面,本发明涉及药物组合物,包含:(i)约5mM至约50mM的缓冲剂;和(ii)约50mM至约300mM的稳定剂;(iii)约5 $\mu$ M至约1mM的螯合剂;(iv)约0.001%至约1%(w/v)的表面活性剂。在一些实施方案中,此类组合物用于抗体制剂中。

[0022] 在本发明的某些方面,本发明的组合物包含缓冲剂。在一些实施方案中,缓冲剂是组氨酸、Tris-Cl、柠檬酸盐、Tris-柠檬酸盐、磷酸盐(例如磷酸钠)或其任何组合。在其他实施方案中,组合物包含约20mM的缓冲剂。在其他方面,所述组合物包含稳定剂。在一些实施方案中,稳定剂是蔗糖、海藻糖、棉子糖、精氨酸、氯化钠或其任何组合。在一些实施方案中,该组合物包含约250mM的稳定剂。在其他方面,该组合物包含螯合剂。在一些实施方案中,螯合剂是DTPA、EDTA、次氨基三乙酸或其任何组合。在一些实施方案中,所述组合物包含约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M的螯合剂。在其他方面,所述组合物包含表面活性剂。在一些实施方案中,表面活性剂是聚山梨酯、泊洛沙姆或其任何组合(例如PS80、PS20、PX188或其任何组合)。在其他实施方案中,组合物包含约0.05%至约1%(w/v)的表面活性剂。

[0023] 本发明的其他方面涉及药物组合物,其包含:(i)约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约1mg/ml至约100mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段;(iii)约5mM至约50mM的组氨酸;(iv)约50mM至约300mM的蔗糖;(v)约5 $\mu$ M至约1mM的DTPA或EDTA;(vi)约0.001%至约1%(w/v)的聚山梨酯或泊洛沙姆。在其他实施方案

中,药物组合物包含:(i)约80mg至约240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约60mg至约300mg的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段;(iii)约5mM至约50mM的组氨酸;(iv)约50mM至约300mM的蔗糖;(v)约5 $\mu$ M至约1mM的DTPA或EDTA;和(vi)约0.001%至约1% (w/v)的聚山梨酯或泊洛沙姆。在其他实施方案中,药物组合物包含:(i)约4mg/ml、约8mg/ml、约10mg/ml或约12mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约12mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段;(iii)约20mM的组氨酸;(iv)约250mM的蔗糖;(v)约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M的DTPA或EDTA;和(vi)约0.05% (w/v)的聚山梨酯80。

[0024] 在其他方面,药物组合物包含:(i)约80mg、约160mg、约200mg或约240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约240mg抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段;(iii)约20mM的组氨酸;(iv)约250mM的蔗糖;(v)约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M的DTPA或EDTA;和(vi)约0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,药物组合物包含:(i)4mg/ml、8mg/ml、10mg/ml或12mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)12mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段;(iii)20mM的组氨酸;(iv)250mM的蔗糖;(v)20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA;和(vi)0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,药物组合物包含:(i)80mg、160mg、200mg或240mg抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)240mg的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段;(iii)20mM的组氨酸;(iv)250mM的蔗糖;(v)20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA;和(vi)0.05% (w/v)的聚山梨酯80。

[0025] 在此类组合物的一些实施方案中,组合物的pH为约5至约6.5。在其他实施方案中,pH为约5.3至约6.3。在其他实施方案中,pH为5.8。在其他实施方案中,使用pH计确定pH。

[0026] 在其他方面,本发明的药物组合物用于静脉内施用。在其他方面,在使用前将本发明的药物组合物稀释。在一些实施方案中,在使用之前,将组合物用0.9%氯化钠注射液USP或5%葡萄糖注射液USP稀释。在其他实施方案中,将组合物稀释以获得期望的抗体浓度。

[0027] 本发明的其他方面涉及包含本发明的药物组合物的小瓶、注射器、静脉内施用袋或试剂盒。在一些实施方案中,小瓶还包括塞子和密封件。在一些实施方案中,小瓶中的总体积为8毫升或10毫升。

[0028] 在本发明的其他方面,药物组合物还包含第三治疗剂。在一些实施方案中,第三治疗剂是抗体或肿瘤免疫治疗药。

[0029] 在本发明的其他方面,组合物在约-60 $^{\circ}$ C,约5 $^{\circ}$ C,约25 $^{\circ}$ C和/或约40 $^{\circ}$ C下稳定至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年。在其他方面,药物组合物在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年内pH没有显著变化。在一些实施方案中,药物组合物的pH在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年内变化不超过0.2。在其他方面,药物组合物在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年中蛋白质浓度没有显著变化。在一些实施方案中,组合物的蛋白质浓度在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年增加不超过约0.7mg/ml。

[0030] 在其他方面,药物组合物具有至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6

个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年,或至少约5年的低的颗粒计数。在其他方面,药物组合物在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年的抗体单体物质的浓度没有显著降低。在一些实施方案中,抗体单体物质的浓度在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年降低不超过约10%。

[0031] 在其他方面,药物组合物在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年中高分子量(HMW)抗体物质的浓度没有显著增加。在一些实施方案中, HMW抗体物质的浓度在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年内增加不超过约10%。在其他方面,药物组合物在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年内低分子量(LMW)抗体物质的浓度没有显著增加。在一些实施方案中, LMW抗体的浓度在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年增加不超过约3%。

[0032] 在其他方面,药物组合物在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年内纯度没有显著变化。在一些实施方案中,抗体的纯度在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年内降低不超过约5%,约4%,约3%,约2%或约1%。在其他方面,药物组合物在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年内表现出小于约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2%或约1%的酸性峰变化。在其他方面,药物组合物在至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约2年,至少约3年,至少约4年或至少约5年内未显示电荷分布的显著变化。在一些实施方案中,电荷分布的变化不超过约5%,约4%,约3%,约2%或约1%。

[0033] 本发明的其他方面涉及制备本发明药物组合物的方法。在其他方面,本发明涉及在有需要的患者中调节免疫应答的方法,其包括向患者施用本发明的药物组合物。在其他方面,本发明涉及治疗疾病或病症的方法,其包括向患者施用本发明的药物组合物。在一些实施方案中,该疾病或病症是感染性疾病。在一些实施方案中,该疾病是癌症。在其他实施方案中,癌症是黑素瘤、肾癌、前列腺癌、乳腺癌、结肠癌、口腔癌、肺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑色素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门区域癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、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,包括急性髓性白血病、慢性髓性白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病,儿童期实体瘤、淋巴细胞淋巴瘤、膀胱癌、肾脏或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症,包括由石棉诱导的癌症,以及其任意组合。在其他实施方案中,肺癌是小细胞肺癌或非小细胞肺

癌。

[0034] 在此类方法的其他方面,癌症对于治疗是难治性的。在一些实施方案中,癌症对于用抗PD1抗体或抗PD-L1抗体治疗是难治性的。在其他实施方案中,癌症对于用肿瘤免疫治疗药的治疗是难治性的。

[0035] 在另一方面,本发明的方法涉及包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的药物组合物,还包括施用包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的药物组合物。在一些实施方案中,包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的药物组合物和包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的药物组合物被共同施用。在其他实施方案中,依次施用包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的药物组合物和包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的药物组合物。在其他实施方案中,在包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的药物组合物之前,施用包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的药物组合物。在其他实施方案中,将抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段作为第一线治疗来施用。在其他实施方案中,将抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段作为第二线治疗来施用。

## 附图说明

[0036] 图1显示在40℃下储存3个月的本发明的抗LAG-3抗体组合物的电荷相关和尺寸相关的降解物与pH的关系。

[0037] 图2显示在25℃下储存3个月的本发明的抗LAG-3抗体组合物的电荷相关和尺寸相关的降解物与pH的关系。

[0038] 图3A-3B显示在5℃、25℃或40℃下储存1-6个月期间本发明组合物中抗LAG-3抗体浓度的变化不影响酸性电荷变体的百分比。

[0039] 图4显示本发明的抗LAG-3抗体组合物在光照和避光条件下的pH、颗粒计数、高分子量聚集体(HMW)、低分子量聚集体(LMW)、酸性峰和纯度。

[0040] 图5显示在40℃下储存1个月或3个月的含有DTPA和不含有DTPA的本发明的抗LAG-3抗体组合物的pH、颗粒计数、HMW、LMW、酸性峰和纯度。

[0041] 图6显示在25℃下储存1个月或3个月的含有DTPA和不含有DTPA的本发明的抗LAG-3抗体组合物的pH、颗粒计数、HMW、LMW、酸性峰和纯度。

[0042] 图7显示在40℃或室温下储存了1个月的含有DTPA或EDTA的本发明的抗LAG-3组合物中被金属诱导的HMW的百分比。

[0043] 图8显示在40℃或室温下储存了1个月的含有DTPA或EDTA的本发明的1:1(抗LAG-3抗体:抗PD-1抗体)固定剂量比例组合(FDRC)中由金属诱导的HMW的百分比。

[0044] 图9A-9B显示在本发明的1:3(抗LAG-3抗体:抗PD-1抗体)FDRC组合物中抗PD-1(图9A)和抗LAG-3(图9B)的iCIEF稳定性模式类似于在相同缓冲系统中单独使用抗PD-1或抗LAG-3的稳定性模式。

[0045] 图10A-10C显示本发明的3:1和1:1(抗PD-1抗体:抗LAG-3抗体)FDRC组合物的12个月稳定性性能。用3:1或1:1(抗PD-1抗体:抗LAG-3抗体)FDRC组合物未观察到显著的HWM聚集(图10A)。同样,在5℃下,对于3:1或1:1(抗PD-1抗体:抗LAG-3抗体)FDRC制剂未观察到显著的电荷变化,在25℃下观察到相似或改善的稳定性(图10B和10C)。

[0046] 图11A-11C显示通过测定蛋白质氧化和脱酰胺作用评估的1:3和1:1 (抗LAG-3抗体:抗PD-1抗体) FDRC组合物的稳定性性能。在组合物中未观察到甲硫氨酸 (Met) 的显著氧化或色氨酸 (Trp) 氧化 (分别为图11A和11B)。另外,在组合物中仅观察到相对较小的脱氨基增加 (图11C)。

#### [0047] 发明详述

[0048] 本发明涉及药物组合物,包含 (i) 抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,或 (ii) 抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。这种制剂的优点包括更大的稳定性。

#### [0049] 术语

[0050] 为了可以更容易理解本公开物,首先定义某些术语。如在本申请中所使用的,除非在此另外明确提供,否则以下术语中的每一个应具有下面阐述的含义。在整个申请中阐述了其他定义。

[0051] 在本文中使用的术语“和/或”将被视为两个指定的特征或组分中的每个具有或不具有另一个的具体公开。因此,在本文中在诸如“A和/或B”之类的短语中使用的术语“和/或”旨在包括“A和B”,“A或B”,“A”(单独)和“B”(单独)。同样地,在诸如“A、B和/或C”的短语中使用的术语“和/或”旨在涵盖以下方面中的每个:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0052] 应当理解,无论在何处用语言“包括”来描述方面,都还提供了根据“由...组成”和/或“基本上由...组成”描述的类型方面。

[0053] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本公开物相关的本领域普通技术人员通常理解的含义。例如,the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第二版, 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第三版, 1999, Academic Press; 和 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 修订版, 2000, Oxford University Press 向本领域技术人员提供了本公开中使用的许多术语的通用词典。

[0054] 单位、前缀和符号以其Système International de Unites (SI) 接受的形式表示。数字范围包括定义范围的数字。本文提供的标题不是对本公开的各个方面的限制,可以通过整体参考说明书来获得本公开的各个方面。因此,通过参考整个说明书更完整地定义了下面直接定义的术语。

[0055] “施用”是指使用本领域技术人员已知的任何各种方法和递送系统将包含治疗剂的组合物物理引入个体。用于本文所公开的制剂的优选给药途径包括静脉内、肌肉内、皮下、腹膜内、脊柱或其他肠胃外给药途径,例如通过注射或输注。本文所用的短语“肠胃外给药”是指除肠内和局部给药以外的给药方式,通常通过注射给药,包括但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮内、关节内、包膜下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注、以及体内电穿孔。在一些实施方案中,制剂通过非肠胃外途径施用,优选口服。其他非肠胃外途径包括局部、表皮或粘膜给药途径,例如鼻内、阴道、直肠、舌下或局部给药。还可以例如一次、多次和/或历经一个或多个延长的时段执行施用。

[0056] “抗体”(Ab)应包括但不限于糖蛋白免疫球蛋白,其特异性结合抗原并包含通过二

硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链,或其抗原结合部分。每个H链包含重链可变区(本文缩写为VH)和重链恒定区。重链恒定区包含三个恒定结构域,CH1、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变区(本文中缩写为VL)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个恒定结构域CL。VH和VL区可以进一步细分为高变区,称为互补决定区(CDR),散布在更保守的称为框架区(FR)的区域内。每个VH和VL包含三个CDR和四个FR,按照以下顺序从氨基末端到羧基末端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)和经典补系统的第一组分(C1q)。重链可以具有或不具有C末端赖氨酸。除非本文另有说明,否则可变区中的氨基酸使用Kabat编号系统编号,而恒定区中的氨基酸使用EU系统编号。

[0057] 免疫球蛋白可以源自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,包括但不限于人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。“同种型”是指由重链恒定区基因编码的抗体类别或亚类(例如,IgM或IgG1)。术语“抗体”包括例如单克隆和多克隆抗体;嵌合和人源化抗体;人或非人抗体;全合成抗体;和单链抗体。可以通过重组方法将非人类抗体人源化以降低其在人体中的免疫原性。在没有明确说明的地方,除非上下文另有说明,否则术语“抗体”包括单特异性、双特异性或多特异性抗体,以及单链抗体。在实施方案中,抗体是双特异性抗体。在其他实施方案中,抗体是单特异性抗体。

[0058] 如本文所用,“IgG抗体”具有天然存在的IgG抗体的结构,即,其具有与相同亚类的天然存在的IgG抗体相同数目的重链和轻链和二硫键。例如,抗ICOS的IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗体由两条重链(HC)和两条轻链(LC)组成,其中所述两条重链和轻链通过相同数量和位置的二硫键连接,所述二硫键分别在天然存在的IgG1、IgG2、IgG3和IgG4抗体中发生(除非已对抗体进行了突变以修饰二硫键)。

[0059] 抗体可以是已被改变的抗体(例如通过突变、缺失、取代、与非抗体部分的缀合)。例如,抗体可以包括一种或多种改变抗体的特性(例如功能特性)的变体氨基酸(与天然存在的抗体相比)。例如,本领域已知许多这样的改变,其影响例如半衰期、效应器功能和/或患者对抗体的免疫应答。术语抗体还包括人工多肽构建体,其包含至少一个来自抗体的抗原结合位点。

[0060] “分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,与PD-1特异性结合的分离的抗体基本上不含与PD-1以外的抗原特异性结合的抗体)。然而,与PD-1特异性结合的分离的抗体可能与其他抗原(例如来自不同物种的PD-1分子)具有交叉反应性。此外,分离的抗体可以基本上不含其他细胞物质和/或化学物质。

[0061] 术语“单克隆抗体”(mAb)是指单一分子组成的抗体分子的非天然存在的制备物,即其一级序列基本相同且表现出对特定表位的单一结合特异性和亲和力的抗体分子。单克隆抗体是分离的抗体的实例。MAb可以通过杂交瘤、重组、转基因或本领域技术人员已知的其他技术产生。

[0062] “人抗体”(HuMAb)是指具有可变区的抗体,其中框架区和CDR区均源自人种系免疫球蛋白序列。此外,如果抗体含有恒定区,则恒定区也衍生自人种系免疫球蛋白序列。本发明的人抗体可包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或

位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,如本文所用,术语“人抗体”不旨在包括其中衍生自另一种哺乳动物物种(例如小鼠)的种系的CDR序列已经移植到人框架序列上的抗体。术语“人抗体”和“完全人抗体”同义使用。

[0063] “人源化抗体”是指其中非人抗体的CDR结构域以外的一些、大多数或所有氨基酸被衍生自人免疫球蛋白的相应氨基酸替换的抗体。在人源化形式的抗体的一个实施方案中,CDR结构域之外的一些、大多数或所有氨基酸已被来自人免疫球蛋白的氨基酸替换,而一个或多个CDR区域内的一些、大多数或所有氨基酸未改变。氨基酸的少量添加、缺失、插入、取代或修饰是允许的,只要它们不消除抗体结合特定抗原的能力即可。“人源化”抗体保留了与原始抗体相似的抗原特异性。

[0064] “嵌合抗体”是指其中可变区衍生自一个物种并且恒定区衍生自另一物种的抗体,例如其中可变区衍生自小鼠抗体而恒定区衍生自人抗体的抗体。

[0065] “抗抗原”抗体是指与所述抗原特异性结合的抗体。例如,抗PD-1抗体特异性结合PD-1,而抗CTLA-4抗体特异性结合CTLA-4。

[0066] 抗体的“抗原结合部分”(也称为“抗原结合片段”)是指抗体的一个或多个片段,其保留特异性结合由整个抗体结合的抗原的能力。已经显示,抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段或部分来执行。抗体,例如本文所述的抗LAG-3抗体的术语“抗原结合部分”或“抗原结合片段”所涵盖的结合片段的实例包括:

[0067] (1) Fab片段(木瓜蛋白酶切割的片段)或类似的由VL、VH、LC和CH1结构域组成的单价片段;

[0068] (2) F(ab')<sub>2</sub>片段(胃蛋白酶切割的片段)或类似的二价片段,其包含两个通过铰链区的二硫键连接的Fab片段;

[0069] (3) 由VH和CH1结构域组成的Fd片段;

[0070] (4) 由抗体单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段,

[0071] (5) 单结构域抗体(dAb)片段(Ward等人,(1989)Nature 341:544-46),其由VH结构域组成;

[0072] (6) 双-单结构域抗体,其由通过铰链连接的两个VH结构域组成(双亲和性重靶向抗体(DART));

[0073] (7) 双重可变结构域免疫球蛋白;

[0074] (8) 分离的互补决定区(CDR);和

[0075] (9) 两个或更多个分离的CDR的组合,所述CDR可任选地通过合成接头连接。此外,尽管Fv片段的两个结构域VL和VH由不同的基因编码,然而它们可以使用重组方法通过合成的接头连接起来,从而使它们成为一条蛋白链,其中VL和VH区配对以形成单价分子(称为单链Fv(scFv);参见例如Bird等人(1988)Science 242:423-426;和Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883)。这样的单链抗体也包含在抗体的术语“抗原结合部分”或“抗原结合片段”之内。这些抗体片段是使用本领域技术人员已知的常规技术获得的,并且以与完整抗体相同的方式筛选片段的效用。抗原结合部分可通过重组DNA技术或通过完整的免疫球蛋白的酶促或化学裂解产生。

[0076] “癌症”是指一组广泛的多种疾病,其特征不在于体内异常细胞的不受控制的生长。不受调节的细胞分裂和生长导致恶性肿瘤的形成,其侵入邻近组织并且还可以

通过淋巴系统或血流转移到身体的远端部分。“癌”或“癌组织”可包括肿瘤。

[0077] 如本文所用,术语“肿瘤”是指由细胞过度生长或增殖所导致的任何组织块,包括良性(非癌性)或恶性(癌性),包括癌前病变。

[0078] “疾病”是指不是物理伤害的直接结果的生物体(例如人)中的任何结构或功能紊乱。“感染性疾病”是由生物诸如细菌、真菌、寄生虫、病毒或其他病原体引起的疾病。

[0079] 关于本发明的组合物,使用术语“固定剂量”是指在单一组合物中的两种或更多种不同抗体以彼此特定的(固定的)比例存在于组合物中。在一些实施方案中,固定剂量基于抗体的重量(例如mg)。在某些实施方案中,固定剂量基于抗体的浓度(例如mg/ml)。在一些实施方案中,该比例为至少约1:1,约1:2,约1:3,约1:4,约1:5,约1:6,约1:7,约1:8,约1:9,约1:10,约1:15,约1:20,约1:30,约1:40,约1:50,约1:60,约1:70,约1:80,约1:90,约1:100,约1:120,约1:140,约1:160,约1:180,约1:200,约200:1,约180:1,约160:1,约140:1,约120:1,约100:1,约90:1,约80:1,约70:1,约60:1,约50:1,约40:1,约30:1,约20:1,约15:1,约10:1,约9:1,约8:1,约7:1,约6:1,约5:1,约4:1,约3:1,或约2:1的mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段与抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的比例。例如,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段与抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的比例为1:3意味着小瓶可以包含约240mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和80mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;或约3mg/ml的抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和约1mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。

[0080] 关于本发明的组合物,术语“平剂量(flat dose)”的使用是指不考虑患者的体重或体表面积(BSA)而施用于患者的剂量。因此,平剂量不是以mg/kg剂量的形式提供,而是以试剂(例如抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和/或抗PD-1抗体、PD-L1抗体或其抗原结合片段)的绝对量。例如,60kg的人和100kg的人将接受相同剂量的组合物(例如240mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和80mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,其在包含240mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和80mg抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的单个固定剂量制剂瓶中(或者两个固定剂量的制剂瓶,其包含120mg的抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段和40mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段等))。

[0081] 如本文所述的术语“基于体重的剂量”是指基于患者的体重来计算施用于患者的剂量。例如,如果体重为60kg的患者需要4mg/kg的抗PD-1抗体与1.33mg/kg的抗LAG-3抗体结合使用,则可以一次施用来自抗LAG-3抗体和抗PD-1抗体的1:3比例固定剂量制剂的适量的抗PD-1抗体(例如240mg)和抗LAG-3抗体(例如80mg)。

[0082] 如本文所用,术语“参照组合物”是指包含抗LAG-3抗体(或在抗体组合实施方案中,包含抗PD-1抗体,但不是两种抗体都有)的组合物。参照组合物可包含除抗体外的组合物的相同组分(或在抗体组合实施方案中,参照组合物可包含除了其中一种抗体外的组合物的相同组分)。在其他实施方案中,参照组合物是可商购的相应组合物,例如抗PD-1抗体的**OPDIVO®**或**KEYTRUDA®**。

[0083] 术语“LAG-3”、“LAG3”或“淋巴细胞活化基因-3”是指淋巴细胞活化基因-3。本文所用的术语LAG-3包括人LAG-3(hLAG-3)、hLAG-3的变体、同工型、直系同系物、旁系同系物和物种同系物,以及与hLAG-3具有至少一个共同表位的类似物。本文使用的术语LAG-3包括变体、同工型、同系物、直系同系物和旁系同系物。例如,在某些情况下,对人LAG-3蛋白具有特



异性的抗体可与人类以外的物种的LAG-3蛋白发生交叉反应。在其他实施方案中,对人LAG-3蛋白特异的抗体可以对人LAG-3蛋白完全特异,并且可不表现出物种或其他类型的交叉反应性,或者可以与来自某些其他物种,但不是所有其他物种的LAG-3交叉反应(例如,与猴LAG-3而非小鼠LAG-3交叉反应)。术语“人LAG-3”是指人序列LAG-3,例如具有Genbank登录号NP\_002277的人LAG-3的完整氨基酸序列。术语“小鼠LAG-3”是指小鼠序列LAG-3,例如具有Genbank登录号NP\_032505的小鼠LAG-3的完整氨基酸序列。LAG-3在本领域中也称为例如CD223。人LAG-3序列与Genbank登录号NP\_002277的人LAG-3的不同之处可能在于,例如具有保守突变或非保守区的突变,并且LAG-3具有与Genbank登录号NP\_002277基本相同的生物学功能。例如,人LAG-3的生物学功能是在LAG-3的细胞外结构域中具有被本文公开的抗体特异性结合的表位,或者人LAG-3的生物学功能是与MHC II类分子结合。

[0084] 特定的人LAG-3序列的氨基酸序列通常与GenBank登录号NP\_002277的人LAG-3的氨基酸序列至少90%相同,并且包含与其他物种(例如鼠类)的LAG-3氨基酸序列相比时鉴定为人序列的氨基酸残基。在某些情况下,人LAG-3的氨基酸序列可以与GenBank登录号NP\_002277的LAG-3至少95%、或甚至至少96%、97%、98%或99%相同。在某些实施方案中,人LAG-3序列与GenBank登录号NP\_002277的LAG-3序列显示不超过10个氨基酸差异。在某些实施方案中,人LAG-3可与GenBank登录号NP\_002277的LAG-3序列显示不超过5个,或甚至不超过4、3、2或1个氨基酸差异。可以如本文所述确定同一性百分比。

[0085] 如本文所用,术语“程序性死亡1”、“程序性细胞死亡1”、“蛋白PD-1”、“PD-1”、“PD1”、“PDCD1”、“hPD-1”和“hPD-1”可互换使用,包括人PD-1的变体、同工型、物种同系物、以及具有至少一个与PD-1共同表位的类似物。完整的PD-1序列可以在GenBank登录号U64863(SEQ ID NO:29)下找到。

[0086] 蛋白质程序性死亡1(PD-1)是CD28受体家族的抑制成员,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(Agata等人,同上;Okazaki等人(2002)Curr.Opin.Immunol.14:391779-82;Bennett等人(2003)J Immunol 170:711-8)。发现了该家族的最初成员CD28和ICOS通过加入单克隆抗体后增强T细胞增殖的功能作用(Hutloff等人,Nature(1999);397:263-266;Hansen等人,Immunogenics(1980);10:247-260)。通过筛选凋亡细胞中的差异表达发现了PD-1(Ishida等人,EMBO J(1992);11:3887-95)。通过分别筛选细胞毒性T淋巴细胞和TH1细胞中的差异表达,发现了该家族的其他成员CTLA-4和BTLA。CD28、ICOS和CTLA-4均具有未配对的半胱氨酸残基,可进行同型二聚化。相反,PD-1被建议以单体形式存在,缺乏在其他CD28家族成员中未配对的半胱氨酸残基特征。

[0087] PD-1基因是55kDa的I型跨膜蛋白,其是Ig基因超家族的一部分(Agata等人(1996)Int Immunol 8:765-72)。PD-1包含膜近端免疫受体酪氨酸抑制基序(ITIM)和膜远端基于酪氨酸的开关基序(ITSM)(Thomas,ML(1995)J Exp Med 181:1953-6;Vivier,E和Daeron,M(1997)Immunol Today 18:286-91)。尽管PD-1在结构上与CTLA-4相似,但PD-1缺乏对于B7-1和B7-2结合至关重要的MYPPPY基序(SEQ ID NO:32)。已经鉴定出PD-1的两个配体PD-L1和PD-L2,它们已经显示出在与PD-1结合后下调T细胞活化(Freeman等人(2000)J Exp Med 192:1027-34;和Latchman等人(2001)Nat Immunol 2:261-8;Carter等人(2002)Eur J Immunol 32:634-43)。PD-L1和PD-L2都是与PD-1结合但不与其他CD28家族成员结合的B7同

系物。PD-L1在多种人类癌症中丰富 (Dong等人 (2002) Nat. Med. 8:787-9)。PD-1和PD-L1之间的相互作用导致肿瘤浸润的淋巴细胞减少、T细胞受体介导的增殖减少以及癌细胞的免疫逃避 (Dong等 (2003) J. Mol. Med. 81:281-7; Blank等人 (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314; Konishi等人 (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100)。可以通过抑制PD-1与PD-L1的局部相互作用来逆转免疫抑制作用,并且当PD-1与PD-L2的相互作用也被阻断时,这种效果是叠加的 (Iwai等人 (2002) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 99:12293-7; Brown等人 (2003) J. Immunol. 170:1257-66)。

[0088] 与PD-1是CD28家族的抑制成员一致,PD-1缺陷的动物发展出各种自身免疫表型,包括自身免疫性心肌病和具有关节炎和肾炎的狼疮样综合征 (Nishimura等人 (1999) Immunity 11:141-51; Nishimura等人, (2001) Science 291:319-22)。另外,已经发现PD-1在自身免疫性脑脊髓炎、系统性红斑狼疮、移植物抗宿主病 (GVHD)、I型糖尿病和类风湿性关节炎中起作用 (Salama等人 (2003) J Exp Med 198:71-78; Prokunina和Alarcon-Riquelme (2004) Hum Mol Genet 13:R143; Nielsen等人 (2004) Lupus 13:510)。在鼠B细胞肿瘤系中,PD-1的ITSM被证明对于阻断BCR介导的Ca<sup>2+</sup>-通量和酪氨酸磷酸化下游效应子分子至关重要 (Okazaki等人, (2001) PNAS 98:13866-71)。

[0089] “程序性死亡配体-1 (PD-L1)”是PD-1的两个细胞表面糖蛋白配体之一 (另一个是PD-L2),其与PD-1结合后下调T细胞活化和细胞因子分泌。本文所用的术语“PD-L1”包括人PD-L1 (hPD-L1)、hPD-L1的变体、同工型和物种同系物,以及与hPD-L1具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-L1序列可在GenBank登录号Q9NZQ7下找到。

[0090] 本文所用的术语“程序性死亡配体-2”和“PD-L2”包括人PD-L2 (hPD-L2)、hPD-L2的变体、同工型和物种同系物,以及与hPD-L2具有至少一个共同表位的类似物。完整的hPD-L2序列可在GenBank登录号Q9BQ51下找到。

[0091] 本文所用的“患者”包括患有癌症 (例如,黑素瘤) 的任何患者。术语“个体”和“患者”在本文可互换使用。

[0092] 药物或治疗剂的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是任何量的药物,当单独使用或与另一种治疗剂组合使用时,保护个体免于疾病的发作或促进以疾病症状严重程度降低、疾病无症状期的频率和持续时间的增加为证据的疾病消退,或预防由疾病引起的损伤或残疾。可以使用本领域技术人员已知的各种方法评估治疗剂促进疾病消退的能力,例如在临床试验期间的人类个体中、在预测人类功效的动物模型系统中,或通过在体外试验中测定治疗剂的活性。

[0093] 个体的“治疗”或“疗法”是指对个体进行的任何类型的干预或过程,或向个体施用活性剂,其目的是逆转、减轻、改善、抑制、减慢或预防与疾病有关的症状、并发症或病症的发作、进展、发展、严重程度或复发。

[0094] 替代方案的使用 (例如“或”) 应理解为指替代方案中的一个、两个或其任何组合。如本文所用,不定冠词“一种”或“一个”应理解为是指任何列举或列举的组分的“一个或多个”。

[0095] 应当理解,无论在何处用语言“包括”来描述方面,都还提供了根据“由.....组成”和/或“基本上由.....组成”描述的类似方面。

[0096] 术语“约”或“基本上由.....组成”是指在本领域普通技术人员确定的特定值或

组成的可接受误差范围内的值或组成,其部分取决于如何测量或确定数值或组成,即,测量系统的局限性。例如,“约”或“基本上由.....组成”可以表示本领域实践中1个或多于1个标准偏差之内。或者,“约”或“基本上由.....组成”可以表示高达10%或20% (即 $\pm 10\%$ 或 $\pm 20\%$ ) 的范围。例如,约3mg可包括2.7mg至3.3mg (对于10%) 或2.4mg至3.6mg (对于20%) 之间的任何数字。此外,特别是关于生物系统或过程,该术语可以表示高达一个数量级或高达5倍的值。当在本申请和权利要求中提供特定值或组成时,除非另有说明,否则应当假定“约”或“基本上包括”的含义在该特定值或组成的可接受的误差范围内。

[0097] 如本文所述,任何浓度范围、百分比范围、比率范围或整数范围应理解为包括所述范围内的任何整数的值,并且在适当时,除非另有说明,否则包括其分数(例如整数的十分之一和百分之一)。

[0098] 在以下小节中更详细描述了本发明的各个方面。

[0099] 抗LAG-3抗体

[0100] 本发明的组合物包括抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。本发明的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段与人LAG-3结合。适用于本发明的抗LAG-3抗体(或由其衍生的VH/VL和CDR结构域)可以使用本领域众所周知的方法产生。

[0101] 可选地,可以使用本领域公认的抗LAG-3抗体。结合LAG-3的抗体已在国际公开号W02015/042246和W02016/168716以及美国公开号2014/0093511和2011/0150892中公开,其通过引用并入本文。一种用于本发明的抗LAG-3抗体是25F7(在美国公开号2011/0150892中描述,也称为“LAG-3.1”)。可用于本发明的其他示例性抗LAG-3抗体和蛋白质包括在美国公开号2011/007023中描述的IMP731,在国际公开号W02016/028672中描述的MK-4280 (28G-10),在Burova E.等人,J.ImmunoTherapy Cancer,2016;4 (增刊1):P195中描述的REGN3767;GSK2831781;在国际公开号W02014/140180中描述的IMP731;人源化的BAP050,在国际公开号W02017/019894中描述;IMP-701;IMP321 (LAG-3融合蛋白);Sym022,TSR-033,MGD013,BI754111,FS118,AVA-017和GSK2831781。在本发明中有用的这些和其他抗LAG-3抗体可以在例如W02016/028672、W02017/106129、W02017062888、W02009/044273、W02018/069500、W02016/126858、W02014/179664、W02016/200782、W02015/200119、W02017/019846、W02017/198741、W02017/220555、W02017/220569、W02018/071500、W02017/015560、W02017/025498、W02017/087589、W02017/087901、W02018/083087、W02017/149143、W02017/219995、US2017/0260271、W02017/086367、W02017/086419、W02018/034227和W02014/140180中找到。这些参考文献的内容通过引用并入本文。

[0102] 也可以使用与任何以上引用的本领域公认的抗体竞争结合LAG-3的抗体。

[0103] 可用于本发明的另一种示例性抗LAG-3抗体是BMS-986016。BMS-986016包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:1和2 (参见表1) 中所示的序列或其抗原结合片段和变体,如国际申请号PCT/US13/48999所述,其通过引用并入本文。

[0104] 在一个实施方案中,可用于组合物的抗LAG-3抗体与例如25F7或BMS-986016交叉竞争。在另一个实施方案中,可用于该组合物的抗LAG-3抗体与例如25F7或BMS-986016结合相同的表位。

[0105] 在其他实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段具有BMS-986016的重链和轻链CDR或可变区。因此,在一个实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID

NO:3所示序列的BMS-986016的VH区的CDR1、CDR2和/或CDR3结构域,和/具有SEQ ID NO:5所示序列的BMS-986016的VL区的CDR1、CDR2和/或CDR3结构域(参见表1)。在另一个实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含CDR1、CDR2和/或CDR3结构域(所述CDR1、CDR2和/或CDR3结构域分别包含SEQ ID NO:7、8和9所示的序列),和/或CDR1、CDR2、和/或CDR3结构域(所述CDR1、CDR2和/或CDR3结构域分别包含SEQ ID NO:10、11和12中列出的序列)(参见表1)。在另一个实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含VH和/或VL区,其分别包含SEQ ID NO:3和/或SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含由SEQ ID NO:4和/或SEQ ID NO:6所示核酸序列分别编码的重链可变区(VH)和/或轻链可变区(VL)(参见表1)。在另一个实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段竞争结合LAG-3上与上述抗体相同的表位。在另一个实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段结合包含氨基酸序列SEQ ID NO:14的人LAG-3的表位(参见表1)。在另一个实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段结合人LAG-3的表位,所述表位包含SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:16的氨基酸序列(参见表1)。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链,所述重链和/或轻链分别包含SEQ ID NO:1和2所示的序列(参见表1)。

[0106] 在另一个实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与上述抗体具有至少约90%的可变区氨基酸序列同一性(例如与SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:5具有至少约90%、95%或99%的可变区同一性)。

[0107] 表1:LAG-3和抗LAG-3抗体序列

[0108]

重链氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:1)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIR QPPGKGLEWIGEINHRGSTNSNPSLKSRTLSLSDTSKNQF SLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDWPWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLGLK
轻链氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:2)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDF AVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG

[0109]

	LSSPVTKSFNRGEC
重链可变区(VH)氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:3)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIR QPPGKGLEWIGEINHRGSTNSNPSLKSRLVSLDTSKNQF SLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDPWQGQTLV TVSS
重链可变区(VH)核苷酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:4)	caggtgcagctacagcagtgggcgaggactgtgaagcctcggagaccctgtccctc acctgcgtgtctatgggtgcttcagtgattactactggaactggatccgccagcccc aggggaagggcgtggagtgattgggaaatcaatcatcgtggaagcaccactccaacc cgtcctcaagagtcgagtcaccctatcactagacagtcgaagaaccagttctcctgaa gctgaggtctgtgaccgcgcggacacggctgtgtattactgtgcgttgatatagtgact acgagtacaactggttcgaccctggggccagggaaccctggtcaccgtctcctca
轻链可变区(VL)氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:5)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDF AVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIK
轻链可变区(VL)核苷酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:6)	gaaattgtgtgacacagtcctcagccaccctgtcttctcaggggaagagccacct ctcctcagggccagtcagagtattagcagctacttagcctggtaccaacagaacctggc caggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagccaggt tcagtggcagtggtctgggacagactcactctcaccatcagcagcctagagcctgaaga tttgcagtttattactgtcagcagcgtagcaactggcctctacttttgccaggggaccaa cctggagatcaaa
重链 CDR1 氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:7)	DYYWN
重链 CDR2 氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:8)	EINHRGSTNSNPSLKS
重链 CDR3 氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:9)	GYSDYEYNWFDP
轻链 CDR1 氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:10)	RASQSISSYLA
轻链 CDR2 氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:11)	DASNRT
轻链 CDR3 氨基酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:12)	QQRSNWPLT
人 LAG-3 氨基酸序列 (SEQ ID NO:13)	MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGAEPVWVWAQEG APAQLPCSPTIPLQDLSLLRRAGVTWQHQPDSGPPAAAPG HPLAPGPHPAAPSSWGP RP RRYTVLSVGPGLRSGRLPLQ

[0110]

	PRVQLDERGRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRD RALSCRLRLRLGQASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSRPD RPASVHWFRNRGQGRVPVRESPHHHLAESFLFLPQVSPM DSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVLGLPPTPLTVYAG AGSRVGLPCRLPAGVGTRSFLLAKWTPPGGGPDLLVTGD NGDFTLRLEDVSQAQAGTYTCHHLQEQLNATVTLAIIIT VTPKSFSGPSLGLKLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRS FSGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAVYFTELS SPGAQRSGRAPGALPAGHLLFLTLGVLSLLLLVTGAFGF HLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPE PEPEPEPEPEPEQL
LAG-3 表位(SEQ ID NO:14)	PGHPLAPG
LAG-3 表位(SEQ ID NO:15)	HPAAPSSW
LAG-3 表位(SEQ ID NO:16)	PAAPSSWG
重链核苷酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:30)	cagggtgcagctacagcagtgggcgaggactgtgaagccttcggagaccctgtccctc acctgcgctgtctatgtgggtccttcagtattactactggaactggatccgccagccccc aggggaaggggctggagtgattgggaaatcaatcatcgtggaagcaccactccaacc cgtccctcaagagtcgagtcaccctatcactagacacgtccaagaaccagttctccctgaa gctgaggtctgtgaccgccgacacggctgtgtattactgtgcgttgatatagtgact acgagtacaactggttcgaccctggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcta gcaccaagggcccatcctgtctccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagc acagccgccctgggctgctgtcaaggactacttcccgaaccggtgacgggtgtcgtgg aactcaggcgccctgaccagcggtgcacaccttcccggctgtctacagtcctcagga ctctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaagacctac acctgcaacgtatgacacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagccaa atatgtgtcccccagccaccatgccagcacctgagttcctgggggaccatcatgttc ctgttcccccaaaaccaggaactctcatgatctccggaccctgaggtcacgtgcg tgggtgtggagctgagccaggaagaccccgaggtcagttcaactgtgtacgtggtggc gtggaggtgcataatgccaagacaagccgaggaggagcagttcaacagcacgtacc gtgtgtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagt gcaaggtctccaacaaaggcctccgtctcctcatcgagaaaaccatctcaaaagccaaag ggcagccccgagagccacaggtgtacacctgccccatcccaggaggagatgaccaa gaaccaggtcagcctgacctggtcaaaaggcttctacccagcgacatgcgctgga gtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccagcctccgtgctgac tccgacggctccttctctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggag gggaaatgtcttctcatgtccgtgatgcatgagctctgcacaaccactacacagaaga gcctctccctgtctctgggtaaatga
轻链核苷酸序列; 抗 LAG-3 mAb (BMS-986016) (SEQ ID NO:31)	gaaattgtgtgacacagtcctcagccaccctgtcttctcaggggaaagagccaccct ctctcagggccagtcagagtagcagctacttagcctgttaccacaagaacctggc caggctcccaggctcctcatctatgatcatccaacagggccactggcatcccagcaggt tcagtggcagtggtctgggacagacttctcctcaccatcagcagcctagagcctgaaga

[0111]	ttttgcagttattactgtcagcagcgtagcaactggcctctcacttttggccaggggaccaa cctggagatcaaacgtacggtggctgcaccatctgtcttcattcccgccatctgatgagc agttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgtgaataacttctatcccagagaggcca aagtacagtggagggtgataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacag agcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaagc agactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgc ccgtcacaagagctcaacaggggagagtgttag
基序(SEQ ID NO:32)	MYPPPY

[0112] 也可以使用与任何以上引用的本领域公认的抗体竞争结合LAG-3的抗体。

[0113] 在一些实施方案中,抗LAG-3抗体是双特异性抗体。在一些实施方案中,抗LAG-3抗体是结合PD-1和LAG-3两者的双特异性抗体。

[0114] 抗PD-1和抗PD-L1抗体

[0115] 本发明的一些组合物包括抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段,以及抗LAG-3抗体或其抗原结合片段。PD-1是激活的T细胞和B细胞表达并介导免疫抑制的关键免疫检查点受体。PD-1是CD28受体家族的成员,该家族包括CD28、CTLA-4、ICOS、PD-1和BTLA。已经确定了PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体,程序性死亡配体1(PD-L1)和程序性死亡配体2(PD-L2),它们在抗原呈递细胞以及许多人类癌症中表达,已显示与PD-1结合后可下调T细胞活化和细胞因子分泌。在临床前模型中,PD-1/PD-L1相互作用的抑制介导了有效的抗肿瘤活性。

[0116] 在美国专利号8,008,449和8,779,105中公开了以高亲和力特异性结合PD-1的人单克隆抗体(HuMAb)。其他抗PD-1 mAb已经在例如美国专利号6,808,710、7,488,802、8,168,757和8,354,509以及PCT公开号W02012/145493和W02016/168716中描述。已证明美国专利号8,008,449中公开的每种抗PD-1 HuMAb均显示以下一种或多种特征:(a)以 $1 \times 10^{-7}$ M或更小的 $K_D$ 结合人PD-1(通过使用Biacore生物传感器系统的表面等离子体共振确定);(b)基本上不结合人CD28、CTLA-4或ICOS;(c)在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中增加T细胞增殖;(d)在MLR分析中增加 $\gamma$ -干扰素的产生;(e)在MLR分析中增加IL-2的分泌;(f)结合人PD-1和食蟹猴PD-1;(g)抑制PD-L1和/或PD-L2与PD-1的结合;(h)刺激抗原特异性记忆反应;(i)刺激抗体反应;(j)抑制体内肿瘤细胞的生长。可用于本发明的抗PD-1抗体包括与人PD-1特异性结合并表现出至少一种,优选至少五种前述特征的mAb。

[0117] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体是纳武单抗。纳武单抗(也称为“**OPDIVO®**”; BMS-936558;以前称为5C4、BMS-936558、MDX-1106或ONO-4538)是完全的人IgG4(S228P)PD-1免疫检查点抑制剂抗体,可选择性地阻止与PD-1配体(PD-L1和PD-L2)的相互作用,从而阻止抗肿瘤T细胞功能的下调(美国专利号8,008,449;Wang等人,2014Cancer Immunol Res.2(9):846-56)。在另一个实施方案中,抗PD-1抗体或其片段与纳武单抗交叉竞争。在其他实施方案中,抗PD-1抗体或其片段结合与纳武单抗相同的表位。在某些实施方案中,抗PD-1抗体具有与纳武单抗相同的CDR。

[0118] 适用于本发明的抗人PD-1抗体(或衍生自其的VH和/或VL结构域)可以使用本领域众所周知的方法产生。或者,可以使用本领域公认的抗PD-1抗体。例如,可以使用在W02006/121168中描述的单克隆抗体5C4(在本文中称为纳武单抗或BMS-936558)、17D8、2D3、

4H1、4A11、7D3和5F4,其教导通过引用并入本文。其他已知的PD-1抗体包括WO 2008/156712中所述的lambrolizumab(MK-3475)和WO 2012/145493中所述的AMP-514。其他已知的抗PD-1抗体和其他PD-1抑制剂包括WO 2009/014708、WO 03/099196、WO 2009/114335和WO 2011/161699中所述的那些。另一种已知的抗PD-1抗体是皮地珠单抗(CT-011)。也可以使用与这些抗体或抑制剂的任何一种竞争与PD-1的结合的抗体或其抗原结合片段。

[0119] 示例性的抗PD-1抗体是BMS-936558,其包含重链和轻链,所述重链和轻链分别包含SEQ ID NOs:17和18所示的序列或其抗原结合片段和变体(参见表2)。在其他实施方案中,抗体或其抗原结合片段具有BMS-936558的重链和轻链CDR或可变区。因此,在一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:19所示序列的BMS-936558的VH的CDR1、CDR2和/或CDR3结构域,和/或具有SEQ ID NO:21所示的序列的BMS-936558的VL的CDR1、CDR2和/或CDR3结构域(参见表2)。在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含CDR1、CDR2和/或CDR3结构域,所述CDR1、CDR2和/或CDR3结构域分别包含SEQ ID NO:23、24和25所示的序列,和/或CDR1、CDR2和/或CDR3结构域,所述CDR1、CDR2和/或CDR3结构域分别包含SEQ ID NO:26、27和28所示的序列(参见表2)。在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含分别包含SEQ ID NO:19和/或SEQ ID NO:21所示氨基酸序列的VH和/或VL区。在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含分别由SEQ ID NO:20和/或SEQ ID NO:22所示的核酸序列编码的重链可变区(VH)和/或轻链可变区(VL)(见表2)。在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段竞争结合PD-1上与上述抗体相同的表位。在另一个实施方案中,抗体或其抗原结合片段与上述抗体具有至少约90%的可变区氨基酸序列同一性(例如,与SEQ ID NO:19或SEQ ID NO:21至少约90%,95%或99%的可变区同一性)。

[0120] 在另一个实施方案中,抗PD-1抗体是派姆单抗。派姆单抗是针对人细胞表面受体PD-1(程序性死亡-1或程序性细胞死亡-1)的人源化单克隆IgG4(S228P)抗体。派姆单抗在例如美国专利号8,354,509和8,900,587中有描述。

[0121] 在另一个实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段与派姆单抗交叉竞争。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段结合与派姆单抗相同的表位。在某些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段具有与派姆单抗相同的CDR。在另一个实施方案中,抗PD-1抗体是派姆单抗。派姆单抗(也称为“KEYTRUDA”、lambrolizumab和MK-3475)是针对人细胞表面受体PD-1(程序性死亡1或程序性细胞死亡1)的人源化单克隆IgG4抗体。派姆单抗在例如美国专利号8,354,509和8,900,587中有描述,也可参见<http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789>(最新访问:2017年5月25日)。派姆单抗已被FDA批准用于治疗复发或难治性黑色素瘤。

[0122] 在其他实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段与MEDI0608交叉竞争。在其他实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段结合与MEDI0608相同的表位。在某些实施方案中,抗PD-1抗体具有与MEDI0608相同的CDR。在其他实施方案中,抗PD-1抗体是MEDI0608(以前为AMP-514),其是单克隆抗体。例如在美国专利号8,609,089或<http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047>(最后访问于2017年5月25日)中描述了MEDI0608。

[0123] 在其他实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段与BGB-A317交叉竞争。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段结合与BGB-A317相同的表位。在某些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段具有与BGB-A317相同的CDR。在某些实施方案中,抗PD-1



抗体或其抗原结合片段是BGB-A317,其是人源化的单克隆抗体。BGB-A317在美国公开号2015/0079109中有描述。

[0124] 可用于所公开的组合物抗PD-1抗体还包括分离的抗体,其特异性结合人PD-1并与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1(参见,例如美国专利号8,008,449和8,779,105;国际公开号WO 2013/173223)。抗体交叉竞争结合抗原的能力表明这些抗体与抗原的相同表位区域结合,并且在空间上阻碍其他交叉竞争抗体与该特定表位区域的结合。这些交叉竞争的抗体由于与PD-1的相同表位区域结合而具有与纳武单抗极为相似的功能特性。在标准PD-1结合测定(例如Biacore分析、ELISA测定或流式细胞术)中,可以根据交叉竞争抗体与纳武单抗交叉竞争的能力来轻松鉴定交叉竞争抗体(参见,例如国际公开第WO 2013/173223)。

[0125] 在某些实施方案中,与纳武单抗交叉竞争人PD-1或人PD-1的相同表位区的抗体或其抗原结合片段是mAb。为了施用于人类个体,这些交叉竞争抗体可以是嵌合抗体,或人源化或人抗体。此类嵌合的、人源化的或人的mAb可以通过本领域众所周知的方法来制备和分离。

[0126] 可用于所公开的发明的组合物抗PD-1抗体还包括上述抗体的抗原结合部分。已经充分证明,抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段来执行。抗体的术语“抗原结合部分”所涵盖的结合片段的实例包括:(i) Fab片段,由VL、VH、CL和CH1结构域组成的单价片段;(ii) F(ab')<sub>2</sub>片段,是包含在铰链区通过二硫键连接的两个Fab片段的二价片段;(iii) 由VH和CH1结构域组成的Fd片段;(iv) 由抗体单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段。

[0127] 适用于所公开的组合物中的抗PD-1抗体是与PD-1以高特异性和亲和力结合,阻断PD-L1和/或PD-L2的结合并抑制PD-1信号通路的免疫抑制作用的抗体。在本文公开的任何组合物或方法中,抗PD-1“抗体”包括与PD-1受体结合并且在抑制配体结合并上调免疫系统方面表现出与全抗体相似的功能特性的抗原结合部分或片段。在某些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合部分与纳武单抗交叉竞争结合人PD-1。在其他实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合部分是嵌合、人源化或人单克隆抗体或其一部分。在某些实施方案中,抗体是人源化抗体。在其他实施方案中,抗体是人抗体。可以使用IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型的抗体。

[0128] 在某些实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含人IgG1或IgG4同种型的重链恒定区。在某些其他实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段的IgG4重链恒定区的序列包含S228P突变,其用通常在IgG1同种型抗体中相应位置上发现的脯氨酸残基代替铰链区中的丝氨酸残基。这种突变存在于纳武单抗中,阻止了Fab臂与内源性IgG4抗体的交换,同时保留了与野生型IgG4抗体相关的激活Fc受体的低亲和力(Wang等人,2014)。在其他实施方案中,抗体包含轻链恒定区,其是人κ或λ恒定区。在其他实施方案中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段是mAb或其抗原结合部分。在本文描述的包括给予抗PD-1抗体的任何治疗方法的某些实施方案中,所述抗PD-1抗体是纳武单抗。在其他实施方案中,抗PD-1抗体是派姆单抗。在其他实施方案中,抗PD-1抗体选自美国专利号8,008,449中所述的人抗体17D8、2D3、4H1、4A11、7D3和5F4。在其他实施方案中,抗PD-1抗体是MEDI0608(以前称为AMP-514)、AMP-224或皮地珠单抗(CT-011)。其他已知的PD-1抗体包括例如在WO 2008/156712中描述的lambrolizumab(MK-3475)和例如在WO 2012/145493中描述的AMP-514。其他已知的抗PD-1抗体和其他PD-1抑制剂包括例如在WO 2009/014708、WO 03/099196、WO 2009/114335和WO

2011/161699中描述的那些。在一个实施方案中,抗PD-1抗体是REGN2810。在一个实施方案中,抗PD-1抗体是PDR001。另一种已知的抗PD-1抗体是皮地珠单抗(CT-011)。以上文献中的每一个通过引用并入。也可以使用与这些抗体或抑制剂竞争结合PD-1的抗体或其抗原结合片段。

[0129] 其他抗PD-1单克隆抗体已经在例如美国专利号6,808,710、7,488,802、8,168,757和8,354,509,美国公开号2016/0272708和PCT公开号WO 2012/145493、WO 2008/156712、WO 2015/112900、WO 2012/145493、WO 2015/112800、WO 2014/206107、WO 2015/35606、WO 2015/085847、WO 2014/179664、WO 2017/020291、WO 2017/020858、WO 2016/197367、WO 2017/024515、WO 2017/025051、WO 2017/123557、WO 2016/106159、WO 2014/194302、WO 2017/040790、WO 2017/133540、WO 2017/132827、WO 2017/024465、WO 2017/025016、WO 2017/106061、WO 2017/19846、WO 2017/024465、WO 2017/025016、WO 2017/132825和WO 2017/133540中描述,它们各自通过引用并入本文。

[0130] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体选自纳武单抗(也称为**OPDIVO®**、5C4、BMS-936558、MDX-1106和ONO-4538),派姆单抗(Merck;也被称为**KEYTRUDA®**, lambrolizumab和MK-3475;参见WO2008/156712),PDR001(诺华;参见WO 2015/112900)、MEDI-0680(阿斯利康(AstraZeneca);也称为AMP-514;参见WO 2012/145493),cemiplimab(Regeneron;也称为REGN-2810;参见WO 2015/112800),JS001(泰州君实药业(TAIZHOU JUNSHI PHARMA);参见刘思阳等,J.Hematol.Oncol.10:136(2017)),BGB-A317(Beigene;参见WO 2015/35606和US 2015/0079109),INCSHR1210(江苏恒瑞医药;也称为SHR-1210;参见WO 2015/085847;Si-Yang Liu等人,J.Hematol.Oncol.10:136(2017)),TSR-042(Tesaro Biopharmaceutical;也称为ANB011;参阅WO2014/179664),GLS-010(Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals;也称为WBP3055;参见Si-Yang Liu等人,J.Hematol.Oncol.10:136(2017)),AM-0001(Armo),STI-1110(Sorrento Therapeutics;参见WO 2014/194302),AGEN2034(Agenus;参阅WO 2017/040790),MGA012(Macrogenics,参阅WO 2017/19846)和IBI308(Innovent;请参阅WO 2017/024465、WO 2017/025016、WO 2017/132825和WO 2017/133540)。以上每个参考文献均通过引用并入本文。

[0131] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体是双特异性抗体。在一些实施方案中,抗PD-1抗体是结合PD-1和LAG-3两者的双特异性抗体。

[0132] 因为抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体靶向相同的信号传导途径,并且已经在临床试验中显示出在多种癌症中相似水平的功效,所以在本文公开的任何治疗方法或组合物中,抗PD-L1抗体或其抗原结合片段可以代替抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0133] 适用于本发明的抗人-PD-L1抗体(或衍生自其的VH和/或VL结构域)可使用本领域众所周知的方法产生。或者可以使用本领域公认的抗PD-L1抗体。例如,可以使用美国专利号7,943,743公开的抗PD-L1抗体,其内容通过引用并入本文。这样的抗PD-L1抗体包括3G10、12A4(也称为BMS-936559)、10A5、5F8、10H10、1B12、7H1、11E6、12B7和13G4。可以使用的其他本领域公认的抗PD-L1抗体包括例如在美国专利号7,635,757和8,217,149、美国专利公开号2009/0317368以及PCT公开号WO 2011/066389和WO 2012/145493中公开的那些,其各自通过引用并入本文。抗PD-L1抗体的其他实例包括阿特殊单抗(TECENTRIQ;RG7446)或度伐鲁单抗(IMFINZI;MEDI4736)。也可以使用与这些本领域公认的抗体或抑制剂竞争结

合PD-L1的抗体或其抗原结合片段。

[0134] 可用于本文的方法的抗PD-L1抗体的实例包括美国专利号9,580,507中公开的抗体,其通过引用并入本文。已证明美国专利号9,580,507公开的抗PD-L1人单克隆抗体表现出以下一种或多种特征:(a)以 $1 \times 10^{-7}$ M或更小的 $K_D$ 结合人PD-L1,如使用Biacore生物传感器系统通过表面等离子共振确定;(b)在混合淋巴细胞反应(MLR)分析中增加T细胞增殖;(c)在MLR分析中增加 $\gamma$ -干扰素的产生;(d)在MLR分析中增加IL-2的分泌;(e)刺激抗体反应;(f)逆转T调节细胞对T细胞效应细胞和/或树突状细胞的作用。可用于本发明的抗PD-L1抗体包括与人PD-L1特异性结合并表现出至少一种上述特征、在一些实施方案中至少五种上述特征的单克隆抗体。

[0135] 在某些实施方案中,抗PD-L1抗体是BMS-936559(以前为12A4或MDX-1105)(参见例如美国专利号7,943,743;WO 2013/173223)。在其他实施方案中,抗PD-L1抗体是MPDL3280A(也称为RG7446和阿特殊单抗)(参见例如Herbst等人,2013J Clin Oncol 31(增刊):3000;美国专利号8,217,149),MEDI4736(Khleif,2013年,在2013年欧洲癌症大会的论文集中;2013年9月27日至10月1日;荷兰阿姆斯特丹,摘要802)或MSB0010718C(也称为阿维鲁单抗(Avelumab);参见US 2014/0341917)。在某些实施方案中,与上述PD-L1抗体交叉竞争结合人PD-L1或结合人PD-L1相同表位区域的抗体是mAb。为了施用于人类个体,这些相互竞争的抗体可以是嵌合抗体,或者可以是人源化或人抗体。此类嵌合的、人源化的或人的mAb可以通过本领域众所周知的方法来制备和分离。在某些实施方案中,抗PD-L1抗体选自BMS-936559(也称为12A4、MDX-1105;参见例如美国专利号7,943,743和WO 2013/173223、阿特殊单抗(Roche;也称为 **TECENTRIQ®**;MPDL3280A, RG7446;参见US 8,217,149;也参见Herbst等人(2013)J Clin Oncol 31(增刊):3000)、度伐鲁单抗(阿斯利康;也称为IMFINZI™, MEDI-4736;参见例如WO2011/066389)、阿维鲁单抗(辉瑞;也称为 **BAVENCIO®**、MSB-0010718C;参见例如WO 2013/079174)、STI-1014(Sorrento;参见例如WO2013/181634)、CX-072(Cytomx;参见例如WO2016/149201)、KN035(3D Med/Alphamab;参见Zhang等人,Cell Discov.7:3(2017年3月)、LY3300054(礼来公司,参见例如WO 2017/034916)以及CK-301(Checkpoint Therapeutics;参见Gorelik等人,AACR: Abstract 4606(2016年4月))。以上文献通过引用并入本文。

[0136] 在某些实施方案中,PD-L1抗体是阿特殊单抗(**TECENTRIQ®**)。阿特殊单抗是一种完全人源化的IgG1单克隆抗PD-L1抗体。

[0137] 在某些实施方案中,PD-L1抗体是度伐鲁单抗(IMFINZI™)。度伐鲁单抗是人IgG1 $\kappa$ 单克隆抗PD-L1抗体。

[0138] 在某些实施方案中,PD-L1抗体是阿维鲁单抗(**BAVENCIO®**)。阿维鲁单抗是一种人类IgG1 $\lambda$ 单克隆抗PD-L1抗体。

[0139] 在其他实施方案中,抗PD-L1单克隆抗体选自28-8、28-1、28-12、29-8、5H1及其任意组合。

[0140] 可用于公开的方法中的抗PD-L1抗体还包括分离的抗体,其与人PD-L1特异性结合并且与本文公开的任何抗PD-L1抗体例如阿特殊单抗、度伐鲁单抗和/或阿维鲁单抗交叉竞

争结合人PD-L1。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体结合与本文所述的任何抗PD-L1抗体例如阿特殊单抗、度伐鲁单抗和/或阿维鲁单抗相同的表位。抗体交叉竞争结合抗原的能力表明这些抗体与抗原的相同表位区域结合,并且在空间上阻碍其他交叉竞争抗体与该特定表位区域的结合。这些交叉竞争抗体由于其与PD-L1的相同表位区域的结合而具有与参照抗体例如阿特殊单抗和/或阿维鲁单抗非常相似的功能特性。可以在标准的PD-L1结合测定例如Biacore分析、ELISA测定或流式细胞术中,根据与阿特殊单抗和/或阿维鲁单抗交叉竞争的能力来轻松鉴定交叉竞争性抗体(参见,例如WO 2013/173223)。

[0141] 在某些实施方案中,与阿特殊单抗、度伐鲁单抗和/或阿维鲁单抗交叉竞争人PD-L1抗体或者结合与阿特殊单抗、度伐鲁单抗和/或阿维鲁单抗的人PD-L1抗体的相同表位区的抗体是单克隆抗体。为了施用于人类个体,这些交叉竞争抗体是嵌合抗体、工程抗体或人源化或人抗体。可以通过本领域众所周知的方法来制备和分离所述嵌合的、工程的、人源化的或人的单克隆抗体。

[0142] 可用于所公开的发明的方法中的抗PD-L1抗体还包括上述抗体的抗原结合部分。已经充分证明,抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段来实现。

[0143] 适用于所公开的方法或组合物中的抗PD-L1抗体是与PD-L1以高特异性和亲和力结合,阻断PD-1的结合并抑制PD-1信号通路的免疫抑制作用的抗体。在本文公开的任何组合物或方法中,抗PD-L1“抗体”包括与PD-L1结合并在抑制受体结合和上调免疫系统方面表现出与完整抗体相似的功能特性的抗原结合部分或片段。在某些实施方案中,抗PD-L1抗体或其抗原结合部分与阿特殊单抗、度伐鲁单抗和/或阿维鲁单抗交叉竞争结合人PD-L1。

[0144] 表2:PD-1和抗PD-1抗体序列

[0145]

重链氨基酸序列；抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:17)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSAST KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK
轻链氨基酸序列；抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:18)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDF AVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSSTLLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
重链可变区(VH)氨基酸序列；抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:19)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQ APGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDN SKNT LFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSS
重链可变区(VH)核苷酸序列；抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:20)	Caggtgcagctggtggagtctgggggagcgctggtccagcctgggaggtccctgagact cgactgtaaagcgtctggaatcacctcagtaactctggcatgcactgggtccgccaggtc caggcaagggctggagtgggtggcagttatttggtatgatgaagtaaaagatactatgca gactccgtgaagggccgattcacatctccagagacaattccaagaacacgctgtttctgca

	aatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgacaaacgacgactactggggccaggggaacccctgggtcacccgtctcctca
轻链可变区(VL)氨基酸序列; 抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:21)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDF AVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK
合成的: 轻链可变区(VL)核苷酸序列; 抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:22)	gaaattgtgttgacacagtctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagtgttagtagttacttagcctgggtaccaacagaacacctggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagccaggttcagtggcagtggggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagtttattactgtcagcagagtagcaactggcctcggacgttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaa
重链 CDR1 氨基酸序列; 抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:23)	NSGMH
重链 CDR2 氨基酸序列; 抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:24)	VIWYDGSKRYYADSVKG
重链 CDR3 氨基酸序列; 抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:25)	NDDY
轻链 CDR1 氨基酸序列; 抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:26)	RASQSVSSYLA
轻链 CDR2 氨基酸序列; 抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:27)	DASNRAT
轻链 CDR3 氨基酸序列; 抗 PD-1 mAb (BMS936558) (SEQ ID NO:28)	QQSSNWPRT
完整的 PD-1 序列(SEQ ID NO:29)	agtttccctccgctcacctccgctgagcagtgagagaaggcggcactctggtggggctgctccaggcatgcagatcccacaggcgccctggccagtcgtctggcggtgctacaactgggtggcgccaggatggttcttagactccccagacaggccctggaacccccccaccttctccagccctgctcgtggtgaccgaaggggacaaacgccaccttcacctgcagcttctccaacatcgagagcttcgtgctaaactggtagcccatgagccccagcaaccagacgggacaagctggccgcttccccgaggaccgcagccagccccggccaggactgccgttccgtgtgacacaactgccaacgggcgtgacttccacatgagcgtggtcaggggccggcgcaatgacagcggcacctacctctgtggggccatctccctggcccccaaggcgcagatcaaaagagagcctgaggcagagctcagggtagacagagagaagggcagaagtgccacagcccaccagccctcaccagggccagccggcagttccaacccctggtggtgtgtctgtggcgccctgctggcagcctggtgctgtagtctgggtcctggccgtcatctgctccgggcccacagagggaataaggagcagcgccagcccgccctgaaggaggacccctcagccgtgctctgttctctgtgactatggggagctggatttcagtgccgagagagaagccccggagccccctgcccctgtgtccctgagcagacggagtatgccaccattgtctttcctagcgggaatggcacctc atcccccccccgcaggggctcagccgcagccctcgagtgcccagccactgaggcctg



中,组合物包含(i)约10mM的柠檬酸盐和约10mM的磷酸盐;(ii)约150mM的氯化钠;和(iii)约0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)约10mM的柠檬酸钠和约10mM的磷酸钠;(ii)约150mM的氯化钠;和(iii)约0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)约20mM的组氨酸;(ii)约250mM的蔗糖;和(iii)约0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)约5mM至约50mM的组氨酸;(ii)约50mM至约300mM的蔗糖;(iii)约5 $\mu$ M至约1mM的一种或多种螯合剂;和(iv)约0.001%至约1% (w/v)的聚山梨酯或泊洛沙姆。在其他实施方案中,组合物包含(i)约20mM的组氨酸;(ii)约250mM的蔗糖;(iii)约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M的DTPA或EDTA;和(iv)约0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)10mM的柠檬酸盐和10mM的磷酸盐;(ii)150mM的氯化钠;和(iii)0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)10mM的柠檬酸钠和10mM的磷酸钠;(ii)150mM的氯化钠;和(iii)0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)20mM的组氨酸;(ii)250mM的蔗糖;和(iii)0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)20mM的组氨酸;(ii)250mM的蔗糖;(iii)20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA;和(iv)0.05% (w/v)的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物还包含抗体或其抗原结合片段。

[0153] 本发明的其他制剂包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,或抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在本发明的一些制剂中,将抗LAG-3抗体或其抗原结合片段配制成单一组合物,例如,包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体的药物组合物。在本发明的其他制剂中,将抗LAG-3抗体与抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段配制成单一组合物,例如包含抗LAG-3抗体、抗PD1抗体或其抗原结合片段以及可药用载体的药物组合物。在本文所述的任何制剂、组合物或方法中,可以使用抗PD-L1抗体或其抗原结合片段代替抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0154] 如本文所用,“药学上可接受的载体”包括生理上相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗细菌和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等。在某些实施方案中,用于包含抗体的组合物的载体适合于静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊髓或表皮给药(例如,通过注射或输注)。本发明的药物组合物可以包含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,例如防腐剂、湿润剂、乳化剂和分散剂。

[0155] 在一个实施方案中,包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,或抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的组合物在一次性使用的小瓶中提供。在另一个实施方案中,包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,或抗LAG-3抗体或其抗原结合片段与抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的组合物在多次使用的小瓶中提供。

[0156] 在一些实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段与抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的组合以固定剂量(即固定比例)存在于组合物中。在其他实施方案中,固定剂量是至少约1:200至至少约200:1,至少约1:150至至少约150:1,至少约1:100至至少约100:1,至少约1:75至至少约75:1,至少约1:50至至少约50:1,至少约1:25至至少约25:1,至少约1:10至至少约10:1,至少约1:5至至少约5:1,至少约1:4至至少约4:1,至少约1:3至至少约3:1,至少约1:2至至少约2:1的mg抗LAG-3抗体或其抗原结合片段比mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,固定剂量为至少约1:1,约1:2,约1:3,



约1:4,约1:5,约1:6,约1:7,约1:8,约1:9,约1:10,约1:15,约1:20,约1:30,约1:40,约1:50,约1:60,约1:70,约1:80,约1:90,约1:100,约1:120,约1:140,约1:160,约1:180或约1:200的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段比抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,固定剂量为至少约1:1,约2:1,约3:2,约3:1,约4:1,约5:1,约6:1,约7:1,约8:1,约9:1,约10:1,约15:1,约20:1,约30:1,约40:1,约50:1,约60:1,约70:1,约80:1,约80:3,约90:1,约100:1,约120:1,约140:1,约160:1,约180:1或约200:1的mg抗LAG-3抗体或其抗原结合片段比mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。

[0157] 抗LAG-3抗体或其抗原结合片段与抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的组合也描述于例如国际公布号W02016/1686716中,其内容通过引用并入本文。

[0158] 在其他实施方案中,组合物包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,以及抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段,它们以一定比例(例如从200:1至1:200,100:1至1:100,20:1:1至1:1-20或本文公开的任何比例),其中所述组合物具有选自以下的一种或多种特征:(i)在2℃至8℃下储存6个月后,所述组合物中的聚集与参照组合物(即,包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或者包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的组合物)中的聚集相当;(ii)在2℃至8℃下储存6个月后,所述组合物中的片段化与参照组合物(即,包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或者包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的组合物)中的片段化相当;(iii)在2℃至8℃储存6个月后,组合物中抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的脱酰胺作用与该抗体在参照组合物(即,包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或者包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的组合物)的脱酰胺作用相当;(iv)在2℃至8℃下储存6个月后,组合物中颗粒物的水平与参照组合物(即包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或者包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的组合物)中的颗粒物水平相当;(v)上述几项的任何组合。在其他实施方案中,包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的本发明的组合物具有一个或多个相同的特征。

[0159] 在其他实施方案中,组合物包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,以及抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段,它们以一定比例(例如从200:1至1:200,100:1至1:100,20:1:1至1:1-20或本文公开的任何比例),其中所述组合物具有选自以下的一种或多种特征:(i)在25℃下储存6个月后,所述组合物中的聚集与参照组合物(即,包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或者包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的组合物)中的聚集相当;(ii)在25℃下储存6个月后,所述组合物中的片段化与参照组合物(即,包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或者包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的组合物)中的片段化相当;(iii)在25℃储存6个月后,组合物中抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的脱酰胺作用与该抗体在参照组合物(即,包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或者包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的组合物)的脱酰胺作用相当;(iv)在25℃下储存6个月后,组合物中颗粒物的水平与参照组合物(即包含抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段或者包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的组合物)中的颗粒物水平相当;(v)上述几项的任何组合。在其他实施方案中,包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的本发明的组合物具有一个或多个相同的特征。

[0160] 在一些实施方案中,通过组合物中高分子量(HMW)物质的水平来测量本发明的组

合物的聚集,其可以通过尺寸排阻高效液相色谱法(SE-HPLC)检测。在一些实施方案中,通过组合物中低分子量(LMW)物质的水平来测量本发明的组合物的片段化,其通过SE-HPLC检测。在一些实施方案中,通过组合物中酸性电荷变体的水平来测量本发明的组合物的脱酰胺,其通过阳离子交换色谱法(CEX)或成像的毛细管等电聚焦(iCIEF)来检测。

[0161] 在一些实施方案中,组合物中抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的量为至少约60mg,约80mg,约100mg,约120mg,约140mg,约160mg,约180mg,约200mg,约220mg,约240mg,约260mg,约280mg或约300mg。在一些实施方案中,组合物中抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的量为约60mg至约300mg,约60mg至约240mg,约60mg至约160mg,约60mg至约80mg,约80mg至约300mg,约80mg至约240mg,约80mg至约160mg,约160mg至约300mg或约160mg至约240mg。在一些实施方案中,组合物中抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的量为约80mg、约160mg、约200mg或约240mg。

[0162] 在一些实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的量为至少约1mg/ml,约2mg/ml,约3mg/ml,约4mg/ml,约5mg/ml,约6mg/ml,约7mg/ml,约8mg/ml,约9mg/ml,约10mg/ml,约11mg/ml,约12mg/ml,约13mg/ml,约14mg/ml,约15mg/ml,约20mg/ml,约25mg/ml或约30mg/ml。在一些实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的量为约1mg/ml至约30mg/ml,约1mg/ml至约15mg/ml,约2mg/ml至约15mg/ml,约4mg/ml至约15mg/ml,约10mg/ml至约15mg/ml,约4mg/ml至约15mg/ml,约4mg/ml至约12mg/ml,约4mg/ml至约10mg/ml,约4mg/ml至约8mg/ml,约8mg/ml至约15mg/ml,约8mg/ml至约12mg/ml,或约8mg/ml至约10mg/ml。

[0163] 在一些实施方案中,组合物中抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的量为至少约0.5mg/kg,至少约1mg/kg,至少约2mg/kg,至少约3mg/kg或至少约5mg/kg。在一些实施方案中,组合物中抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的量在约0.5mg/kg至约5mg/kg之间,在约0.5mg/kg至约5mg/kg之间,在约0.5mg/kg至约3mg/kg之间或在约0.5mg/kg至约2mg/kg之间。在一些实施方案中,组合物中抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的量为至少约1mg/kg。

[0164] 在一些实施方案中,组合物中抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量为至少约60mg,约80mg,约100mg,约120mg,约140mg,约160mg,约180mg,约200mg,约220mg,约240mg,约260mg,约280mg或约300mg。在一些实施方案中,组合物中抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量为至少约310mg,约320mg,约330mg,约340mg,约350mg,约360mg,约370mg,约380mg,约390mg,约400mg,约410mg,约420mg,约430mg,约440mg,约450mg,约460mg,约470mg,约480mg,约490mg或约500mg。在一些实施方案中,组合物中抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量为约60mg至约300mg,约60mg至约240mg,约80mg至约240mg,约100mg至约240mg,约160mg至约240mg,约160mg至约300mg或约240mg至约300mg。在一些实施方案中,组合物中抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量为约80mg,约160mg或约240mg。

[0165] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量为至少约1mg/ml,约2mg/ml,约3mg/ml,约4mg/ml,约5mg/ml,约6mg/ml,约7mg/ml,约8mg/ml,约9mg/ml,约10mg/ml,约11mg/ml,约12mg/ml,约13mg/ml,约14mg/ml,约15mg/ml,约20mg/ml,约25mg/ml或约30mg/ml。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量为约1mg/ml至约30mg/ml,约1mg/ml至约15mg/ml,约2mg/ml至约15mg/ml,约4mg/ml至约15mg/ml,约4mg/ml至约12mg/ml,约4mg/ml至约8mg/ml,或约8mg/ml至约12mg/ml。

[0166] 在一些实施方案中,组合物中抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量为至少约0.5mg/kg,至少约1mg/kg,至少约2mg/kg,至少约3mg/kg或至少约5mg/kg。在一些实施方案中,组合物中抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量为约0.5mg/kg至约5mg/kg,约0.5mg/kg至约5mg/kg,约0.5mg/kg至约3mg/kg或约0.5mg/kg至约2mg/kg。在一些实施方案中,组合物中抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量为至少约1mg/kg。

[0167] 在一些实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段使用两种抗体的当前制剂进行组合(例如,将在基于柠檬酸盐的缓冲液中的2ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段与在基于组氨酸的缓冲液中的2ml的抗LAG-3抗体或抗原结合片段组合,无缓冲液交换)。

[0168] 在一些实施方案中,本发明的组合物包含缓冲剂。在一些实施方案中,缓冲剂是柠檬酸盐(例如柠檬酸盐缓冲液、柠檬酸钠)、Tris缓冲剂、Tris-Cl缓冲液、组氨酸(例如组氨酸缓冲液)、磷酸盐(例如磷酸盐缓冲液、磷酸钠)、TAE缓冲液、HEPES缓冲液、TBE缓冲液、磷酸钠缓冲液、MES缓冲液、硫酸铵缓冲液、磷酸钾缓冲液、硫氰酸钾缓冲液、琥珀酸盐缓冲液、酒石酸盐缓冲液、DIPSO缓冲液、HEPPSO缓冲液、POPSO缓冲液、PIPES缓冲液、PBS缓冲液、MOPS缓冲液、乙酸盐缓冲液、椰油酸酯缓冲液、甘氨酸缓冲液、硫酸盐缓冲液、咪唑缓冲液、盐酸胍盐缓冲液、柠檬酸磷酸盐缓冲液、硼酸盐缓冲液、丙二酸缓冲液、3-甲基吡啶缓冲液、2-甲基吡啶缓冲液、4-甲基吡啶缓冲液、3,5-二甲基吡啶缓冲液、3,4-二甲基吡啶缓冲液、2,4-二甲基吡啶缓冲液、Aces、丙二酸二乙酯缓冲液、N-甲基咪唑缓冲液、1,2-二甲基咪唑缓冲液、TAPS缓冲液、bis-Tris缓冲液、L-精氨酸缓冲液、乳酸盐缓冲液、乙醇酸盐缓冲液或其任何组合。

[0169] 在一些实施方案中,将抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段配制在基于这两种单独抗体制剂之一的缓冲剂条件的缓冲液中。在一些实施方案中,使用的缓冲液条件是抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的那些。在其他实施方案中,使用的缓冲液条件是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的缓冲液条件。

[0170] 在一些实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段在与这两种抗体中任何一种的自身缓冲剂条件不同的缓冲液条件下配制。

[0171] 在一些实施方案中,所使用的缓冲液是基于Tris的缓冲液。在一些实施方案中,Tris缓冲液是Tris-Cl缓冲液。在一些实施方案中,缓冲液中Tris-Cl的浓度为至少约5mM,约10mM,约15mM,约20mM,约25mM,约30mM,约35mM,约40mM或约50mM。在一些实施方案中,Tris-Cl的浓度为约5mM至约50mM,约10mM至约50mM,约10mM至约40mM,约10mM至约30mM或约15mM至约25mM。在一些实施方案中,Tris-Cl的浓度为约20mM。

[0172] 在一些实施方案中,所使用的缓冲液是基于组氨酸的缓冲液。在一些实施方案中,组氨酸的浓度为至少约5mM,约10mM,约15mM,约20mM,约25mM,约30mM,约35mM,约40mM或约50mM。在一些实施方案中,组氨酸的浓度为约5mM至约50mM,约5mM至约40mM,约5mM至约30mM,约5mM至约25mM或约10mM至约15mM。在一些实施方案中,组氨酸的浓度为约20mM。

[0173] 在一些实施方案中,所用的缓冲液是Tris-柠檬酸盐缓冲液。在一些实施方案中,Tris-Cl的浓度为至少约5mM,约10mM,约15mM,约20mM,约25mM,约30mM,约35mM,约40mM或约50mM,且柠檬酸盐的浓度为至少约2mM,约5mM,约10mM,约15mM,约20mM,约25mM,约30mM,约

35mM, 约40mM或约50mM。在一些实施方案中, Tris-Cl的浓度为约5mM至约20mM, 约5mM至约15mM或约10mM至约15mM, 且柠檬酸盐的浓度为约1mM至约15mM, 约1mM至约10mM或约5mM至约10mM。在一些实施方案中, Tris-Cl的浓度为约13.3mM, 且柠檬酸盐的浓度为约6.7mM。

[0174] 在一些实施方案中, 组合物的pH为至少约4.5, 约4.6, 约4.7, 约4.8, 约4.9, 约5, 约5.1, 约5.2, 约5.3, 约5.4, 约5.5, 约5.6, 约5.7, 约5.8, 约5.9, 约6.0, 约6.1, 约6.2, 约6.3, 约6.4, 约6.5, 约6.6, 约6.7, 约6.8, 约6.9, 约7.0, 约7.1, 约7.2, 约7.3, 约7.4, 约7.5, 约7.6, 约7.7, 约7.8, 约7.9或约8.0。在一些实施方案中, 组合物的pH为约4.5至约8.0, 约5.0至约8.0, 约5.0至约7.0, 约5.0至约6.5, 约5.3至约6.3, 约5.0至约6.0, 约5.5至约6.0或约5.5至约6.5。在一些实施方案中, pH为约6.5, 约6.4, 约6.3, 约6.2, 约6.1, 约6.0, 约5.5, 约5.4, 约5.3, 约5.2, 约5.1或约5.0。在一些实施方案中, 使用pH计确定pH。

[0175] 在一些实施方案中, 本发明的组合物还包含增量剂。在一些实施方案中, 增量剂可以选自NaCl、甘露醇、甘氨酸、丙氨酸及其任何组合。在一些实施方案中, 增量剂在组合物中的存在量为约50mM至约300mM, 约50mM至约200mM, 约50mM至约150mM, 约100mM至约200mM, 或约150mM至约200mM。在一些实施方案中, 增量剂是氯化钠, 其存在量为约50mM至约300mM、或约150mM。

[0176] 在其他实施方案中, 本发明的组合物包含稳定剂。在一些实施方案中, 稳定剂可以选自蔗糖、海藻糖、棉子糖、精氨酸及其任何组合。在一些实施方案中, 稳定剂以约50mM至约300mM, 约50mM至约250mM, 约100mM至约250mM, 约150mM至约250mM, 或约200mM至约250mM的量存在。在一些实施方案中, 稳定剂是以约50mM至约300mM、或约250mM的量存在的蔗糖。

[0177] 在其他实施方案中, 本发明的组合物包含表面活性剂。在一些实施方案中, 表面活性剂是聚山梨酯、泊洛沙姆或其任何组合。在其他实施方案中, 表面活性剂可以选自聚山梨酯80 (PS80)、聚山梨酯20 (PS20)、泊洛沙姆188 (PX188) 及其任何组合。在一些实施方案中, 表面活性剂在组合物中的存在量为约0.001%至约1% (w/v), 约0.01%至约1% (w/v), 约0.01%至约0.5% (w/v), 约0.05%至约1% (w/v), 或约0.05%至约0.5% (w/v)。在一些实施方案中, 表面活性剂是PS80或PS20, 其含量为约0.001%至约1% (w/v)、或约0.05% (w/v)。在其他实施方案中, 表面活性剂是泊洛沙姆 (例如PX188), 含量为约0.001%至约1% (w/v)、或约0.5% (w/v) 或约1% (w/v)。

[0178] 在一些实施方案中, 组合物包含浓度为至少约0.005%, 至少约0.01%, 至少约0.015%, 至少约0.02%, 至少约0.03%, 至少约0.04%, 至少约0.05%, 至少约0.06%, 至少约0.07%, 至少约0.08%, 至少约0.09%或至少约0.1%的聚山梨酯80, NF (PS80) (%w/v)。在其他实施方案中, 组合物包含约0.005%至约0.1%的PS80, 约0.005%至约0.02%的PS80, 约0.005%至约0.05%的PS80, 约0.01%至约0.02%的PS80, 约0.02%至约0.1%的PS80, 或约0.02%至约0.03%的PS80。在一个具体的实施方案中, 组合物包含浓度为约0.05%的PS80。

[0179] 在其他实施方案中, 本发明的组合物包含螯合剂。在一些实施方案中, 螯合剂可以选自二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA)、乙二胺四乙酸 (EDTA)、次氨基三乙酸及其任何组合。在一些实施方案中, 螯合剂在组合物中的存在量为约5 $\mu$ M至约1mM, 约5 $\mu$ M至约50 $\mu$ M, 约10 $\mu$ M至约50 $\mu$ M或约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M。在一些实施方案中, 螯合剂是DTPA或EDTA, 其存在量为约5 $\mu$ M至约1mM, 约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M, 约20 $\mu$ M或约50 $\mu$ M。

[0180] 在其他实施方案中,组合物包含浓度为至少约5 $\mu$ M,至少约10 $\mu$ M,至少约15 $\mu$ M,至少约20 $\mu$ M,至少约25 $\mu$ M,至少约30 $\mu$ M,至少约40 $\mu$ M,至少约50 $\mu$ M,至少约60 $\mu$ M,至少约70 $\mu$ M,至少约75 $\mu$ M,至少约80 $\mu$ M,至少约90 $\mu$ M,至少约100 $\mu$ M,至少约110 $\mu$ M,至少约120 $\mu$ M,至少约130 $\mu$ M,至少约140 $\mu$ M,至少约150 $\mu$ M,至少约175 $\mu$ M或至少约200 $\mu$ M的二亚乙基三胺五乙酸(DTPA) USP。在一些实施方案中,组合物包含约10 $\mu$ M至约200 $\mu$ M DTPA,约10 $\mu$ M至约150 $\mu$ M DTPA,约10 $\mu$ M至约100 $\mu$ M DTPA,约10 $\mu$ M至约30 $\mu$ M DTPA,约50 $\mu$ M至约100 $\mu$ M DTPA,或约75 $\mu$ M至约125 $\mu$ M DTPA。在某些实施方案中,组合物包含约20 $\mu$ M的DTPA或EDTA。

[0181] 在其他实施方案中,组合物包含第三种抗体。在一些实施方案中,第三种抗体是本文公开的任何抗体。

[0182] 本发明的一些实施方案涉及包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段、缓冲剂、稳定剂或增量剂以及表面活性剂的组合物。在一些实施方案中,组合物包含(i)约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约5mM至约50mM的缓冲剂;(iii)约50mM至约300mM的稳定剂;和(iv)约0.001%至约1% (w/v) 的表面活性剂。在其他实施方案中,组合物包含(i)约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约5mM至约50mM的柠檬酸盐;(iii)约50mM至约300mM的氯化钠;和(iv)约0.001%至约1% (w/v) 的聚山梨酯或泊洛沙姆。在其他实施方案中,组合物包含(i)约11mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约10mM的柠檬酸盐和约10mM的磷酸盐;(iii)约150mM的氯化钠;和(iv)约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)约11mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约10mM的柠檬酸钠和约10mM的磷酸钠;(iii)约150mM的氯化钠;和(iv)约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,(ii)约5mM至约50mM的组氨酸;(iii)约50mM至约300mM的蔗糖;和(iv)约0.001%至约1% (w/v) 的聚山梨酯或泊洛沙姆。在其他实施方案中,组合物包含(i)约10mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约20mM的组氨酸;(iii)约250mM的蔗糖;和(iv)约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i)约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或抗原结合片段;(ii)约5mM至约50mM的组氨酸;(iii)约50mM至约300mM的蔗糖;(iv)约5 $\mu$ M至约1mM的一种或多种螯合剂;和(v)约0.001%至约1% (w/v) 的聚山梨酯或泊洛沙姆。

[0183] 在其他实施方案中,组合物包含(i)约10mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii)约20mM的组氨酸;(iii)约250mM的蔗糖;(iv)约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M的DTPA或EDTA;和(v)约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i) 11mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 10mM的柠檬酸盐和10mM的磷酸盐;(iii) 150mM的氯化钠;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i) 11mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 10mM的柠檬酸钠和10mM的磷酸钠;(iii) 150mM的氯化钠;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i) 110mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 10mM的柠檬酸盐;(iii) 150mM的氯化钠;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i) 10mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 20mM的组氨酸;(iii) 250mM的蔗糖;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i) 100mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段;(ii) 20mM的组氨酸;(iii) 250mM的蔗糖;和(iv) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中,组合物包含(i) 10mg/ml的抗

LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 20mM的组氨酸；(iii) 250mM的蔗糖；(iv) 20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA；和(v) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中，组合物包含(i) 100mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 20mM的组氨酸；(iii) 250mM的蔗糖；(iv) 20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA；和(v) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中，组合物包含(i) 50mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段，(ii) 20mM的组氨酸，(iii) 250mM蔗糖和(iv) 0.05% (w/v) PS80，并且具有pH为5.5。

[0184] 在其他实施方案中，本发明的组合物包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段、抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段、缓冲剂、稳定剂和表面活性剂。在一些实施方案中，组合物包含(i) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段；(iii) 约5mM至约50mM的缓冲剂；(iv) 约50mM至约300mM的稳定剂；(v) 约5 $\mu$ M至约1mM的螯合剂；和(vi) 约0.001%至约1% (w/v) 的表面活性剂。在一些实施方案中，组合物包含(i) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段；(iii) 约5mM至约50mM的组氨酸；(iv) 约50mM至约300mM的蔗糖；(v) 约5 $\mu$ M至约1mM的DTPA或EDTA；和(vi) 约0.001%至约1% (w/v) 的聚山梨酯或泊洛沙姆。在其他实施方案中，组合物包含(i) 约80mg至约240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 约60mg至约300mg的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段；(iii) 约5mM至约50mM的组氨酸；(iv) 约50mM至约300mM的蔗糖；(v) 约5 $\mu$ M至约1mM的DTPA或EDTA；和(vi) 约0.001%至约1% (w/v) 的聚山梨酯或泊洛沙姆。

[0185] 在其他实施方案中，组合物包含(i) 约4mg/ml、约8mg/ml、约10mg/ml或约12mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 约12mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段；(iii) 约20mM的组氨酸；(iv) 约250mM的蔗糖；(v) 约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M的DTPA或EDTA；和(vi) 约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中，组合物包含(i) 约80mg、约160mg、约200mg或约240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 约240mg抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段；(iii) 约20mM的组氨酸；(iv) 约250mM的蔗糖；(v) 约20 $\mu$ M至约50 $\mu$ M的DTPA或EDTA；和(vi) 约0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中，组合物包含(i) 4mg/ml、8mg/ml、10mg/ml或12mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 12mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段；(iii) 20mM的组氨酸；(iv) 250mM的蔗糖；(v) 20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA；和(vi) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中，组合物包含(i) 80mg、160mg、200mg或240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 240mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段；(iii) 20mM的组氨酸；(iv) 250mM的蔗糖；(v) 20 $\mu$ M至50 $\mu$ M的DTPA或EDTA；和(vi) 0.05% (w/v) 的聚山梨酯80。在其他实施方案中，组合物包含(i) 80mg抗LAG-3抗体或其抗原结合片段，(ii) 240mg抗PD-1抗体(例如纳武单抗)或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段，(iii) 20mM的组氨酸，(iv) 250mM蔗糖，(v) 50 $\mu$ M EDTA，和(vi) 0.05% (w/v) PS80，并且具有pH为5.8。在其他实施方案中，组合物包含(i) 4mg/ml的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段，(ii) 12mg/ml的抗PD-1抗体(例如纳武单抗)或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段，(iii) 20mM的组氨酸，(iv) 250mM的蔗糖，(v) 50 $\mu$ M EDTA，和(vi) 0.05% (w/v) PS80，并且具有pH为5.8。

[0186] 在一些实施方案中，本发明涉及药物组合物，包含：(i) 约1mg/ml至约100mg/ml的

抗LAG-3抗体或其抗原结合片段；(ii) 约1mg/ml至约100mg/ml的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段；(iii) 约5mM至约50mM的缓冲剂；(iv) 约50mM至约300mM的稳定剂；(v) 约5 $\mu$ M至约1mM的螯合剂；和(vi) 约0.001%至约1% (w/v) 的表面活性剂，其中所述组合物以约10ml、约15ml或约20ml的填充体积存在于小瓶中。在一些实施方案中，填充体积为约20ml。在某些实施方案中，抗LAG-3抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链，所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:1和2所示的序列。在一个实施方案中，药物组合物包含约60mg至约300mg的抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在一个实施方案中，药物组合物的抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:19所示序列的重链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域，以及具有SEQ ID NO:21所示序列的轻链可变区的CDR1、CDR2和CDR3结构域。在某些实施方案中，抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含：(a) 重链可变区CDR1，其包含SEQ ID NO:23所示的序列；(b) 重链可变区CDR2，其包含SEQ ID NO:24所示的序列；(c) 重链可变区CDR3，其包含SEQ ID NO:25所示的序列；(d) 轻链可变区CDR1，其包含SEQ ID NO:26所示的序列；(e) 轻链可变区CDR2，其包含SEQ ID NO:27所示的序列；(f) 轻链可变区CDR3，其包含SEQ ID NO:28所示的序列。在一个实施方案中，抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链可变区，其分别包含SEQ ID NO:19和21所示的序列。在一个具体的实施方案中，抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链，所述重链和轻链分别包含SEQ ID NO:17和18所示的序列。在一个实施方案中，抗PD-1抗体是派姆单抗(KEYTRUDA; MK-3475)、皮地珠单抗(CT-011)或纳武单抗(OPDIVO; BMS-936558)。在实施方案中，抗PD-L1抗体是阿特珠单抗(TECENTRIQ; RG7446)、度伐鲁单抗(IMFINZI; MEDI4736)或BMS-936559。在一些实施方案中，抗LAG-3抗体是BMS-986016并且抗PD-1抗体是纳武单抗，抗LAG-3抗体是MK-4280并且抗PD-1抗体是派姆单抗，抗LAG-3抗体是REGN3767并且抗PD-1抗体是REGN2810，抗LAG-3抗体是LAG525并且抗PD-1为REGN2810，或抗LAG-3抗体是LAG525并且抗PD-1抗体是PDR001。在一个实施方案中，抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的量与抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的量之比为约1:3，约1:2，约1:1或约2:3。

#### [0187] 组合物的稳定性

[0188] 在一个实施方案中，本文公开的组合物在约-60℃、0℃、约5℃、约10℃、约15℃、约20℃、约25℃、约30℃、约35℃、约40℃、约45℃、约50℃或约55℃下是稳定的，其持续至少约1周，至少约2周，至少约1个月，至少约2个月，至少约3个月，至少约6个月，至少约9个月，至少约1年，至少约2年，至少约3年，至少约4年或至少约5年。

[0189] 在另一个实施方案中，组合物在约5℃下储存约1个月，约2个月，约3个月，约4个月，约6个月，约1年，约2年，约3年，约4年或约5年后表现出的酸性峰(例如脱酰胺)变化小于约15%，约14%，约13%，约12%，约11%，约10%，约9%，约8%，约7%，约6%，约5%，约4%，约3%，约2%或约1%。在其他实施方案中，组合物在约25℃储存约1个月，约2个月，约3个月，约4个月，约6个月，约1年，约2年，约3年，约4年或约5年后表现出的酸性峰变化小于约15%，约14%，约13%，约12%，约11%，约10%，约9%，约8%，约7%，约6%，约5%，约4%，约3%，约2%或约1%。在一些实施方案中，组合物在约40℃储存约1个月，约2个月，约3个月，约4个月，约6个月，约1年，约2年，约3年，约4年或约5年后表现出的酸性峰变化小于约15%，约14%，约13%，约12%，约11%，约10%，约9%，约8%，约7%，约6%，约5%，约4%，

约3%,约2%或约1%。在一些实施方案中,使用成像毛细管等电聚焦测定法(cIEF)测量酸性峰。

[0190] 在一些实施方案中,如果本发明的组合物表现出与参照组合物(例如,包含抗LAG-3抗体或抗PD-1抗体的组合物)的酸性峰相比,小于约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2%或约1%的酸性峰(例如脱酰胺)的变化,则该组合物的脱酰胺作用与参照组合物的脱酰胺作用相当。

[0191] 在某些实施方案中,组合物在约5℃储存约1个月,约2个月,约3个月,约4个月,约6个月,约1年,约2年,约3年,约4年或约5年后表现出的高分子量(HMW)峰(例如聚集)的变化小于约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2%或约1%。在一些实施方案中,组合物在约25℃储存约1个月,约2个月,约3个月,约4个月,约6个月,约1年,约2年,约3年,约4年或约5年后表现出的HMW峰的变化小于约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2%或约1%。在一些实施方案中,组合物在约40℃储存约1个月,约2个月,约3个月,约4个月,约6个月,约1年,约2年,约3年,约4年或约5年后表现出的HMW峰的变化小于约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2%或约1%。在一些实施方案中,组合物表现出的HMW峰的变化小于约5%,约4%,约3%,约2%,约1.5%,约1.4%,约1.3%,约1.2%,约1.1%,约1%,约0.9%,约0.8%,约0.7%,约0.6%,约0.5%,约0.4%,约0.3%,约0.2%,约0.1%或小于约0.1%。在某些实施方案中,组合物在约5℃、约25℃或约40℃储存1个月,约2个月,约3个月,约4个月,约6个月,约1年,约2年,约3年,约4年或约5年后表现出的HMW峰为约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2.5%,约2%,约1.5%,约1%,约0.9%,约0.8%,约0.7%,约0.6%,约0.5%,约0.4%,约0.3%,约0.2%或约0.1%。在一些实施方案中,使用色谱法测量高分子量峰。在一些实施方案中,色谱是尺寸排阻色谱。

[0192] 在一些实施方案中,如果本发明的组合物与参照组合物(包含抗LAG-3抗体或抗PD-1抗体)的HMW物质峰相比,表现出小于约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2%或约1%的HMW物质峰变化,则该组合物的聚集(例如,HMW物质的水平)与参照组合物的聚集相当。

[0193] 在一些实施方案中,组合物在约5℃下储存约1个月,约2个月,约3个月,约4个月,约6个月,约1年,约2年,约3年,约4年或约5年后表现出的主峰的变化小于约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2%或约1%。在一些实施方案中,组合物在约25℃储存约1个月,约2个月,约3个月,约4个月,约6个月,约1年,约2年,约3年,约4年或约5年后表现出的主峰的变化小于约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2%或约1%。在一些实施方案中,组合物在约40℃储存约1个月,约2个月,约3个月,约4个月,约6个月,约1年,约2年,约3年,约4年或约5年后表现出的主峰的变化小于约15%,约14%,约13%,约12%,约11%,约10%,约9%,约8%,约7%,约6%,约5%,约4%,约3%,约2%或约1%。在一些实施方案中,组合物表现出的主峰变化小于约5%,约4%,约3%,约2%,约1.5%,约1.4%,约1.3%,约1.2%,约1.1%,约1%,约0.9%,约0.8%,约0.7%,约0.6%,



约0.5%，约0.4%，约0.3%，约0.2%或约0.1%。在一些实施方案中，使用成像的毛细管等电聚焦测定法(cIEF)测量主峰。

[0194] 在一些实施方案中，组合物在约5℃储存约1个月，约2个月，约3个月，约4个月，约6个月，约1年，约2年，约3年，约4年或约5年后表现出的低分子量(LMW)峰的变化(例如，片段化)小于约15%，约14%，约13%，约12%，约11%，约10%，约9%，约8%，约7%，约6%，约5%，约4%，约3%，约2%或约1%。在一些实施方案中，组合物在25℃储存约1个月，约2个月，约3个月，约4个月，约6个月或约1年后表现出的LMW峰的变化小于约15%，约14%，约13%，约12%，约11%，约10%，约9%，约8%，约7%，约6%，约5%，约4%，约3%，约2%或约1%。在一些实施方案中，组合物在约40℃储存约1个月，约2个月，约3个月，约4个月，约6个月，约1年，约2年，约3年，约4年或约5年后表现出的LMW峰的变化小于约15%，约14%，约13%，约12%，约11%，约10%，约9%，约8%，约7%，约6%，约5%，约4%，约3%，约2%或约1%。在一些实施方案中，组合物表现出的LMW峰的变化小于约5%，约4%，约3%，约2%，约1.5%，约1.4%，约1.3%，约1.2%，约1.1%，约1%，约0.9%，约0.8%，约0.7%，约0.6%，约0.5%，约0.4%，约0.3%，约0.2%或约0.1%。在某些实施方案中，组合物在约5℃、约25℃或约40℃下储存约1个月，约2个月，约3个月，约4个月，约6个月，约1年，约2年，约3年，约4年或约5年后表现出的LMW峰为约15%，约14%，约13%，约12%，约11%，约10%，约9%，约8%，约7%，约6%，约5%，约4%，约3%，约2.5%，约2%，约1.5%，约1%，约0.9%，约0.8%，约0.7%，约0.6%，约0.5%，约0.4%，约0.3%，约0.2%或约0.1%。在一些实施方案中，低分子量峰是使用色谱法测量的。在一些实施方案中，色谱是尺寸排阻色谱。

[0195] 在一些实施方案中，如果包含第一种抗体和第二种抗体的组合物与参照组合物的LMW物质峰相比，表现出LMW物质峰变化小于约15%，约14%，约13%，约12%，约11%，约10%，约9%，约8%，约7%，约6%，约5%，约4%，约3%，约2%，或约1%，则本发明的组合物的片段化(例如，LMW物质的水平)可与参照组合物(例如，包含抗LAG-3抗体或包含抗PD-1抗体的组合物)的片段化相当。

[0196] 制备本文公开的组合物的方法

[0197] 在一个实施方案中，本发明涉及制备本文公开的任何组合物的方法。在另一个实施方案中，将包含抗LAG-3抗体药物产品的制剂与包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体药物产品的制剂混合，以便在没有缓冲剂变化的情况下获得在最终药物产品中的所需比例。在一些实施方案中，将包含抗LAG-3抗体药物的制剂和包含抗PD-1抗体药物的制剂在混合前进行缓冲剂交换和/或浓缩，以在最终药物产品中获得所需比例。

[0198] 在其他实施方案中，在使用前将组合物稀释。在某些实施方案中，在使用之前，将组合物用0.9%的氯化钠注射液USP或5%的葡萄糖注射液USP稀释。在其他实施方案中，将组合物稀释以获得具有期望的抗体总浓度的输注液。在其他实施方案中，最终总抗体浓度为约1mg/ml至约500mg/ml，约1mg/ml至约450mg/ml，约1mg/ml至约400mg/ml，约1mg/ml至约350mg/ml，约1mg/ml至约300mg/ml，约1mg/ml至约250mg/ml，约1mg/ml至约200mg/ml，约1mg/ml至约150mg/ml，约1mg/ml至约100mg/ml，约1mg/ml至约90mg/ml，约1mg/ml至约80mg/ml，约1mg/ml至约70mg/ml，约1mg/ml至约60mg/ml，约1mg/ml至约50mg/ml，约1mg/ml至约40mg/ml，约1mg/ml至约30mg/ml，约1mg/ml至约20mg/ml，约1mg/ml至约15mg/ml，约1mg/ml至约10mg/ml，约1mg/ml至约9mg/ml，约1mg/ml至约8mg/ml，约1mg/ml至约7mg/ml，约1mg/ml

至约6mg/ml,约1mg/ml至约5mg/ml,约1mg/ml至约4mg/ml,约1mg/ml至约3mg/ml,约1mg/ml至约2mg/ml,约0.5mg/ml至约3mg/ml,约50mg/ml至约400mg/ml,或约100mg/ml至约300mg/ml。在其他实施方案中,最终总抗体浓度为约1mg/ml至约30mg/ml,约1mg/ml至约15mg/ml,约2mg/ml至约15mg/ml,约4mg/ml至约15mg/ml,约10mg/ml至约15mg/ml,约4mg/ml至约15mg/ml,约4mg/ml至约12mg/ml,约4mg/ml至约10mg/ml,约4mg/ml至约8mg/ml,约8mg/ml至约15mg/ml,约8mg/ml至约12mg/ml,或约8mg/ml至约10mg/ml。在一些实施方案中,将含有本发明的组合物的20ml小瓶用盐水稀释至约60ml。

[0199] 在某些实施方案中,稀释的输注液在稀释后在室温下保存不超过约10、约9、约8、约7、约6、约5、约4、约3、约2或约1小时。在一些实施方案中,稀释的输注液在稀释后冷藏(约2℃至约8℃)储存不超过约1周、约6天、约5天、约4天、约3天、约2天、约1天或约12小时。

[0200] 本发明的方法

[0201] 本公开物提供了用本文公开的任何组合物治疗患有疾病或病症的个体的方法。在一个实施方案中,该方法涉及施用包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的药物组合物,或包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段以及抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的药物组合物。

[0202] 在一些实施方案中,该疾病或病症是感染性疾病。在其他实施方案中,该疾病或病症是癌症。在其他实施方案中,癌症是黑素瘤、肾癌、前列腺癌、乳腺癌、结肠癌、口腔癌、肺癌、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、直肠癌、肛门区域癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、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,包括急性髓性白血病、慢性髓性白血病、急性淋巴母细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病,儿童期实体瘤、淋巴细胞淋巴瘤、膀胱癌、肾脏或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症、包括由石棉诱导的癌,或其任何组合。在其他实施方案中,癌症是肺癌、转移性黑素瘤、胶质母细胞瘤或肾细胞癌。

[0203] 在某些实施方案中,癌症是鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)、非鳞状NSCLC、神经胶质瘤、胃肠道癌、肾癌(例如透明细胞癌)、卵巢癌、肝癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、肾癌(例如肾细胞癌(RCC))、前列腺癌(例如激素难治性前列腺癌)、甲状腺癌、神经母细胞瘤、胰腺癌、胶质母细胞瘤(多形性胶质母细胞瘤)、子宫颈癌、胃癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌和头颈癌(或癌)、胃癌、生殖细胞瘤、小儿肉瘤、鼻窦自然杀伤、黑色素瘤(例如转移性恶性黑色素瘤,如皮肤或眼内恶性黑色素瘤)、骨癌、皮肤癌、子宫癌、肛门区域癌、睾丸癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、儿童期实体瘤、输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症、包括石棉诱导的那些,与病毒有关的癌症(例如与人乳头瘤病毒(HPV)有关的肿瘤),和源自两种主要血细胞谱系即髓细胞系(产生粒细胞、红细胞、血小板、巨噬细胞和肥大细胞)或淋巴样细胞系(产生B、T、NK和浆细胞)之一的血液恶性肿瘤,例如所有类

型的白血病、淋巴瘤和骨髓瘤,例如急性、慢性、淋巴细胞性和/或髓性白血病,例如急性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和慢性粒细胞性白血病(CML)、未分化的AML(M0)、粒细胞性白血病(M1)、粒细胞性白血病(M2;细胞成熟)、早幼粒细胞白血病(M3或M3变体[M3V])、骨髓单核细胞白血病(M4或M4伴嗜酸性粒细胞增多症[M4E])、单核细胞白血病(M5)、红白血病(M6)、巨核细胞白血病(M7)、孤立性粒细胞肉瘤和绿色瘤;淋巴瘤、例如霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、B细胞血液系统恶性肿瘤、例如B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、淋巴浆细胞样淋巴瘤、单核细胞B细胞淋巴瘤、粘膜相关淋巴样组织(MALT)淋巴瘤、间变性(例如Ki 1+)大细胞淋巴瘤、成人T细胞淋巴瘤/白血病、套细胞淋巴瘤、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤、肠道T细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤、前体T淋巴母细胞淋巴瘤、T淋巴母细胞;和淋巴瘤/白血病(T-Lbly/T-ALL)、外周T细胞淋巴瘤、淋巴母细胞淋巴瘤、移植后淋巴增生性疾病、真正的组织细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发渗出性淋巴瘤、淋巴母细胞淋巴瘤(LBL)、造血淋巴谱系肿瘤、急性淋巴母细胞性白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、弥漫性组织细胞淋巴瘤(DHL)、免疫原性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤(CTLC)(也称为蕈样肉芽肿病或塞扎里综合征)、和具有瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症的淋巴浆细胞样淋巴瘤(LPL);骨髓瘤、例如IgG骨髓瘤、轻链骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、闷烧性骨髓瘤(也称为惰性骨髓瘤)、孤立性浆细胞瘤和多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、毛细胞淋巴瘤;骨髓谱系的造血肿瘤、间质起源的肿瘤、包括纤维肉瘤和横纹肌肉瘤;精原细胞瘤、畸胎瘤、中枢神经和周围神经肿瘤,包括星形细胞瘤、神经鞘瘤;间充质起源的肿瘤、包括纤维肉瘤、横纹肌瘤和骨肉瘤;以及其他肿瘤,包括黑素瘤、色素性干皮病、角质层棘皮瘤、精原细胞瘤、甲状腺滤泡癌和畸胎瘤、淋巴谱系的造血肿瘤,例如T细胞和B细胞肿瘤、包括但不限于T细胞疾病、例如T前淋巴细胞性白血病(T-PLL)、包括小细胞和脑型细胞类型;大颗粒淋巴细胞白血病(LGL)、优选是T细胞型;a/d T-NHL肝脾淋巴瘤;外周/胸腺后T细胞淋巴瘤(多形亚型和免疫母细胞亚型);血管中心性(鼻)T细胞淋巴瘤;头或颈癌、肾癌、直肠癌、甲状腺癌;急性髓样淋巴瘤,以及上述癌症的任何组合。本文所述的方法还可用于治疗转移性癌症。

[0204] 在其他实施方案中,所述癌症对于治疗而言是难治性的。在一些实施方案中,癌症对于用抗PD1抗体或抗PD-L1抗体和/或肿瘤免疫药治疗而言是难治性的。

[0205] 在某些实施方案中,组合物与任何其他治疗剂一起施用。在一些实施方案中,其他治疗剂是抗癌剂或肿瘤免疫药。在其他实施方案中,抗癌剂或肿瘤免疫药是本领域已知的任何抗癌剂或肿瘤免疫药。在其他实施方案中,抗癌剂或肿瘤免疫药是治疗性抗体。在一些实施方案中,治疗性抗体是本文公开的任何抗体。

[0206] 在其他实施方案中,组合物静脉内施用。在一些实施方案中,在施用之前将组合物重构。在其他实施方案中,在施用前将组合物稀释。在一个具体的实施方案中,组合物以平剂量施用。在其他实施方案中,以基于体重的剂量施用组合物。

[0207] 在一些实施方案中,至少约每周,至少约每周两次,至少约每两周,至少约每三周或至少约每月一次施用所述组合物。在一些实施方案中,治疗持续至少约4周,至少约8周,至少约12周,至少约3个月,至少约6个月,至少约9个月,至少约1年,至少约18个月,至少约2年或大于2年。在一些实施方案中,抗LAG-3抗体组合物以至多800mg的剂量每两周施用一

次。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体组合物(例如80mg、160mg或240mg)每两周一次并先后与抗PD-1或抗PD-L1抗体组合物(例如240mg)一起施用。在一些实施方案中,在抗PD-1或抗PD-L1抗体组合物之前施用抗LAG-3抗体组合物。在其他实施方案中,在抗PD-1抗体组合物之后施用抗LAG-3抗体组合物。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体组合物和抗PD-1或抗PD-L1抗体组合物共同施用。在其他实施方案中,在约30分钟内给予输注。

[0208] 在一些实施方案中,共同施用包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的药物组合物和包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的药物组合物。在其他实施方案中,依次施用包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的药物组合物和包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的药物组合物。在一些实施方案中,在包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的药物组合物之前施用包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的药物组合物。在其他实施方案中,将抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段作为第一线治疗施用。在其他实施方案中,将抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段作为第二线治疗施用。

[0209] 在一些实施方案中,本发明涉及调节免疫应答的方法,该方法包括施用本文公开的任何组合物。

[0210] 在某些实施方案中,本发明的组合物有效地增加了个体的存活时间。例如,与仅用另一种疗法(例如,标准护理)治疗的另一个体,或(在抗LAG-3抗体和抗PD-1抗体联合治疗的情况下)仅用该组合物的两个成员之一(例如,单独的抗PD-1抗体)相比,个体的存活时间增加至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约4个月,至少约5个月,至少约6个月,至少约7个月,至少约8个月,至少约9个月,至少约10个月,至少约11个月或至少约1年或更长时间。在一些实施方案中,存活的持续时间增加至少约2个月。在某些实施方案中,本发明的疗法有效地增加了个体的无进展生存期。例如,与未经治疗的个体或仅接受另一种疗法(例如标准护理)或(在抗LAG-3抗体和抗PD-1或抗PD-L1抗体联合治疗的情况下)仅用组合物的两个成员之一(例如,单独的抗PD-1或抗PD-L1抗体)的个体相比,个体的无进展生存期增加至少约1个月,至少约2个月,至少约3个月,至少约4个月,至少约5个月,至少约6个月,至少约7个月,至少约8个月,至少约9个月,至少约10个月,至少约11个月或至少约一年。在一些实施方案中,无进展生存期增加至少约2个月。在某些实施方案中,本发明的疗法有效地增加了个体组的响应率。例如,与仅接受另一种疗法(例如标准护理)或(在抗LAG-3抗体和抗PD-1或抗PD-L1抗体联合治疗的情况下)仅组合物的两个成员之一(例如,单独的抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体),即单一疗法治疗的另一组个体相比,该个体组中的响应率增加了至少约2%,至少约3%,至少约4%,至少约5%,至少约10%,至少约15%,至少约20%,至少约25%,至少约30%,至少约35%,至少约40%,至少约45%,至少约50%,至少约55%,至少约60%,至少约70%,至少约75%,至少约80%,至少约85%,至少约90%,至少约95%,至少约99%或至少约100%。

[0211] 本文公开的组合物的剂量

[0212] 在一些实施方案中,无论患者体重如何,均以平剂量施用组合物。例如,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段或抗LAG-3抗体或其抗原结合片段与抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的组合可以0.1、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、50、75、80、200、240、300、360、400、480、500、750或1,500mg抗体的平剂量或本文公开的任何其他剂量给药,而与患者的体

重无关。在一些实施方案中,以本文公开的基于体重的任何剂量给予组合物。

[0213] 在本发明方法的某些实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为约60mg,约80mg,约100mg,约120mg,约140mg,约160mg,约180mg,约200mg,约220mg,约240mg,约260mg,约280mg或约300mg。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为约60mg至约300mg,约60mg至约240mg,约60mg至约160mg,约60mg至约80mg,约80mg至约300mg,约80mg至约240mg,约80mg至约160mg,约160mg至约300mg或约160mg至约240mg。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为约80mg、约160mg、约200mg或约240mg。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为至少约0.5mg/kg,至少约1mg/kg,至少约2mg/kg,至少约3mg/kg或至少约5mg/kg。在其他实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为约0.5mg/kg至约5mg/kg,约0.5mg/kg至约5mg/kg,约0.5mg/kg至约3mg/kg,或约0.5mg/kg至约2mg/kg。在一些实施方案中,抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为至少约1mg/kg。

[0214] 在本发明方法的某些实施方案中,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为约60mg,约80mg,约100mg,约120mg,约140mg,约160mg,约180mg,约200mg,约220mg,约240mg,约260mg,约280mg或约300mg。在其他实施方案中,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为约310mg,约320mg,约330mg,约340mg,约350mg,约360mg,约370mg,约380mg,约390mg,约400mg,约410mg,约420mg,约430mg,约440mg,约450mg,约460mg,约470mg,约480mg,约490mg或约500mg。在其他实施方案中,抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为约60mg至约300mg,约60mg至约240mg,约100mg至约240mg,或约200mg至约300mg。在其他实施方案中,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为至少约80mg,约160mg或约240mg。在其他实施方案中,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为至少约0.5mg/kg,至少约1mg/kg,至少约2mg/kg,至少约3mg/kg或至少约5mg/kg。在其他实施方案中,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为约0.5mg/kg至约5mg/kg,约0.5mg/kg至约5mg/kg,约0.5mg/kg至约3mg/kg,或约0.5mg/kg至约2mg/kg。在一些实施方案中,抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的治疗有效剂量为至少约1mg/kg。

[0215] 在一些实施方案中,组合物通过静脉内输注施用,约每周一次,约每2周一次,约每3周一次或约一个月一次(即约每4周一次)。在一些实施方案中,输注历经至少约10分钟,约20分钟,约30分钟,约45分钟,约60分钟,约90分钟,约2小时,约3小时,约4小时或约5小时。本发明的输注液可以在空的静脉输液袋中通过在将抗LAG-3抗体药物产品添加到袋中之前或之后向袋中添加一定量的盐水来制备。本发明的另一种输注溶液可以在空的静脉输液袋中通过在将抗LAG-3抗体药物产品和抗PD-1抗体加入袋中之前或之后向袋中添加一定量的盐水来制备。

[0216] 在某些实施方案中,用于治疗实体瘤的剂量是20mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和80mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在某些其他实施方案中,用于治疗实体瘤(例如肺)的剂量是20mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和240mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在某些其他实施方案中,用于治疗实体瘤(例如黑色素瘤、RCC、NSCLC、HCC、SCCHN)的剂量是80mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和240mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在某些其他实施方案中,用于治疗实体瘤的剂量是

240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和240mg的抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在某些其他实施方案中,用于治疗实体瘤(例如黑色素瘤、RCC、NSCLC、胃、HCC、SCCHN)的剂量是160mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和240mg的抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。

[0217] 在某些其他实施方案中,用于治疗血液系统恶性肿瘤的剂量是80mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和240mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合其片段。在某些其他实施方案中,用于治疗血液系统恶性肿瘤(例如霍奇金淋巴瘤、DLBCL)的剂量是160mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和240mg的抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。在某些其他实施方案中,用于治疗血液恶性肿瘤(例如霍奇金淋巴瘤、DLBCL)的剂量是240mg的抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和240mg抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。

[0218] 在某些其他实施方案中,抗LAG-3抗体是BMS-986016并且抗PD-1抗体是纳武单抗,抗LAG-3抗体是MK-4280并且抗PD-1抗体是派姆单抗,抗LAG-3抗体是REGN3767并且抗PD-1抗体是REGN2810,抗LAG-3抗体是LAG525并且抗PD-1是REGN2810,或抗LAG-3抗体是LAG525并且抗PD-1抗体是PDR001。

[0219] 在本发明的药物组合物中,活性成分的实际剂量水平可以是平的或变化的,以便获得对于特定患者、组合物和给药方式而言有效地实现期望的治疗响应且对患者无过度毒性的活性成分的量。选择的剂量水平将取决于多种药代动力学因素,包括所用本发明具体组合物的活性、给药途径、给药时间、所用具体化合物的排泄速率、治疗持续时间,与所用特定组合物结合使用的其他药物、化合物和/或材料,所治疗患者的年龄、性别、体重、状况、一般健康状况和既往病史,以及医学领域众所周知的类似因素。本发明的组合物可以使用本领域熟知的多种方法中的一种或多种通过一种或多种给药途径来施用。如本领域技术人员将理解的,给药途径和/或方式将根据所需结果而变化。

[0220] 仪器、装置和药盒

[0221] 在本发明范围内的还有包含本发明组合物(例如,包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,或抗LAG-3抗体或抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段)的医疗仪器或装置。这样的仪器或装置包括例如注射器和静脉内袋。所述注射器可以是单腔的(例如,含有包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段或包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的组合物)或双腔(例如在一个腔中含有包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段的组合物,在另一个腔中含有包含抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的组合物)。

[0222] 也在本发明范围内的是包含本发明的组合物(例如,包含抗LAG-3抗体或其抗原结合片段,或抗LAG-3抗体或其抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体或其抗原结合片段)的药盒。本发明的药盒可包括对治疗用途的说明书。药盒通常包括标签,其指示药盒内容物的预期用途和使用说明。术语标签包括在药盒上或随药盒一起提供的任何文字或记录材料。因此,本文提供了一种药盒,其包含:(a)适当剂量的本文公开的组合物,和(b)对于在本文公开的任何方法中使用该组合物的说明书。

[0223] 通过以下实施例进一步说明本发明,这些实施例不应解释为对本发明的进一步的限制。

## 实施例

[0224] 进行了一些可行性研究以制备本发明的组合物并评估其稳定性。

[0225] 实施例1

[0226] 药物制剂

[0227] 使用抗LAG-3 (BMS-986016) 药物物质 (DS) 制备本发明的组合物。BMS-986016DS制剂在pH 5.5的20mM的组氨酸缓冲剂、250mM蔗糖、0.05%聚山梨酯80 (PS80) 中含有约50mg/mL (45-60mg/mL) 的抗LAG-3抗体。该DS制剂可以应用于本发明的抗LAG-3单一疗法以及抗LAG-3和抗PD-1/抗PD-L1组合疗法的药物产品 (PD)。

[0228] 为了制备用于抗LAG-3/抗PD-1联合疗法的BMS-986016与纳武单抗 (Nivo) DS的固定剂量比例组合 (FDRC), 进行了选择BMS-986016的DS制剂的研究。还使用了基于柠檬酸盐的BMS-986016DS制剂。该DS包含约50mg的BMS-986016、20mM的柠檬酸盐、150mM的NaCl和0.05%的PS80。

[0229] 对于用于FDRC的基于柠檬酸盐的药物和基于组氨酸的两种药物物质, 在冷冻/融化稳定性研究中观察到基于柠檬酸盐的DS的颗粒形成。对于基于组氨酸的DS, 未观察到颗粒稳定性问题。在25°C和40°C下暴露3个月后, 基于组氨酸的DS的氧化水平有所提高 (分别为9%和29%)。然而, 在5°C下3个月后基本上没有增加。因此, 当在低温下储存时, DS不会发生显著的氧化。

[0230] 单一疗法药物产品制剂

[0231] 抗LAG-3单一疗法药物产品 (DP) 制剂含有在pH 5.5的含有或没有20μM DTPA或50μM EDTA螯合剂的20mM组氨酸缓冲液、250mM蔗糖和0.05% PS80中的10mg/mL抗LAG-3抗体。该DP通过将配制的BMS-986016DS在pH5.5的20mM组氨酸缓冲液、250mM蔗糖、0.05% PS80中稀释来制备。也可以添加螯合剂 (DTPA或EDTA) 以达到20μM DTPA或50μM EDTA。

[0232] DP溶液的pH类似于在pH 5.5的DS的pH。该值提供了极好的和最佳的pH稳定性曲线, 用于控制药物的可能降解。添加螯合剂可有效提高制剂的稳定性从而持续更长的产品保质期 (例如, 至少约5年), 并显著提高药物产品的耐用性, 尤其是当金属离子存在于制剂、包装的任何组分中和/或在制造过程中从金属材料中释放出来时。因此, 单一治疗DP表现出出色的稳定性和用于单一治疗和/或与纳武单抗DP一起共输注的可接受的所有性能。

[0233] 固定剂量比例组合 (FDRC) 药物制剂

[0234] FDRC药物产品 (DP) 制剂含有在pH 5.8的具有20μM DTPA或50μM EDTA螯合剂的20mM组氨酸缓冲液、250mM蔗糖和0.05% PS80中的4-12mg/mL的抗LAG-3抗体和12mg/mL的纳武单抗。

[0235] 通过组合并稀释配制在pH 5.5的20mM的组氨酸缓冲剂、250mM蔗糖、0.05% PS80中的BMS-986016DS和配制在pH 6.0的20mM的组氨酸缓冲剂、250mM蔗糖、0.05%的PS80中的BMS-936558DS来制造DP。也可以添加螯合剂 (DTPA或EDTA) 以达到20μM DTPA或50μM EDTA。

[0236] 药物产品溶液的pH (pH 5.8) 是两种药物物质组合的结果。该值提供了极好的和最佳的pH稳定性曲线, 用于控制药物的任何潜在降解。如以下实施例所支持的, 添加螯合剂有效地提高制剂的稳定性以持续更长的产品的保质期 (例如, 至少约5年), 并显著提高药物产品的耐用性, 特别是当金属离子存在于制剂的任何组分中和/或在制造过程中从金属材料中释放出来时。因此, FDRC DP制剂显示出极好的稳定性和用于与纳武单抗DP联合治疗的药

物产品的可接受的所有性能。

[0237] 实施例2

[0238] 进行了可行性研究,以评估含有抗LAG-3抗体的本发明的组合物。

[0239] 材料

[0240] 药物物质

[0241] 使用BMS-986016药物物质 (DS)。该DS的蛋白质浓度为约50mg/mL。

[0242] 药物制剂缓冲液和赋形剂

[0243] 缓冲剂和赋形剂获自BMS, New Brunswick。

[0244] 药物产品的主要包装材料

[0245] 将药物产品 (DP) 稳定性样品装在带有**FluroTec®**涂层塞子的10cc I型透明火石玻璃管瓶中。小瓶用20mm铝制密封垫密封。

[0246] 方法

[0247] 样品分析

[0248] 在每个时间点,通过视觉外观、室温下的pH、HIAC、尺寸排阻色谱法和成像的毛细管等电聚焦 (cIEF) 来分析样品小瓶。HIAC (Royco) 是基于光遮蔽的粒子计数技术仪器。

[0249] 尺寸排阻色谱法 (SEC) 通过分析性尺寸排阻HPLC (SE-HPLC), 使用带有**TSKGEL®** Guard SW<sub>XL</sub>保护柱的**TSKGEL®** G3000SW<sub>XL</sub>在使用EMPOWER™2软件的带有2497双波长UV检测器的**WATERS®** 2695 **ALLIANCE®** HPLC上进行。用pH 6.8的0.1M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.1M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和15%乙腈 (ACN) (流动相) 来平衡系统。除非浓度大于125mg/mL, 否则样品将被纯净地分析。如果样品浓度大于125mg/mL, 则用相应的缓冲液将样品稀释至50mg/mL。在分析之前, 将样品转移到HPLC小瓶中, 并在5°C ± 3°C的温度下存储在分析HPLC系统中。总共注入100μg样品进行分析, 并使用流动相在22°C的柱温下等度运行。流速为1.0mL/min, 每个样品的运行时间为20min, 检测波长为280nm。

[0250] 使用带有Alcott采样器的Protein SIMPLE™iCE3仪器进行成像的毛细管等电聚焦 (cIEF)。使用2M尿素和0.35%甲基纤维素 (MC) 分析浓度为25mg/mL的样品。使用内径为100μm的50mm毛细管进行分离。电解质溶液是在0.1% MC中的80mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 阴极溶液是在0.1% MC中的100mM NaOH。载体两性电解质为1% **PHARMALYTE®** 5-8和3% **PHARMALYTE®** 8-10.5。聚焦时间为13分钟, 第一分钟的聚焦电压开始于1.5kV (300V/cm), 随后的12分钟为3kV (600V/cm)。在280nm处进行检测。

[0251] BMS-986016药物产品制剂和没有DTPA的对比物

[0252] 制剂缓冲液的制备

[0253] 通过添加以下在表3中的赋形剂, 溶解, 混合和用适量Milli-Q水在1升容量瓶中制备制剂缓冲液 (20mM的组氨酸、250mM蔗糖和0.05%聚山梨酯80 (PS80), pH 5.5)。

[0254] 表3: 制剂缓冲液的组成

[0255]	缓冲液成分	浓度
	组氨酸	20mM
	蔗糖	8.56%
	PS80	0.05%



[0256] 5mM二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA) 溶液

[0257] 用Milli-Q水制备5mM DTPA溶液,并使用0.22 $\mu$ m Millipore **Stericup®**过滤器单元进行过滤。通过称量0.098g的DTPA (MW393.35),添加50mL的水并搅拌1小时以获得澄清溶液来制备溶液。

[0258] 药物产品制剂溶液和没有DTPA的对比物

[0259] 如表4所列,总共制备8种制剂溶液。制剂F5.5N不含DTPA,并且在研究中用作对比物。

[0260] 表4:具有pH变量的制剂溶液

制剂#	pH	药物浓度 (mg/mL)	组氨酸浓度 (mM)	蔗糖浓度 (mM)	PS80 浓度 (w/v %)	DTPA 浓度(uM)
F4.8	4.80	10	20	250	0.05	20
F5.0	5.00	10	20	250	0.05	20
F5.25	5.25	10	20	250	0.05	20
F5.5	5.50	10	20	250	0.05	20
F5.5N	5.50	10	20	250	0.05	0
F5.75	5.75	10	20	250	0.05	20
F6.0	6.00	10	20	250	0.05	20
F6.25	6.25	10	20	250	0.05	20

[0263] BMS-986016DP小瓶填装

[0264] 采取以下步骤将大体积溶液填充到10cc玻璃小瓶中:

[0265] (1) 确认最终制剂的pH和A280浓度并使用0.22 $\mu$ m Millipore **Stericup®**过滤单元无菌过滤;

[0266] (2) 将制剂填充到10cc的Schott小瓶中。填充量根据表5进行,但F5.5除外,F5.5将在每瓶填充10.5mL。每个制剂总共填充60个小瓶。对于F5.5,为RT/RL条件填充额外的小瓶;和

[0267] (3) 适当密封小瓶并贴上标签,并在表6所列温度下存储。

[0268] 表5:小瓶填充量和分析测试

[0269]

测试	所需量/可用量
小瓶 1	
HIAC	6 mL
小瓶 2	
MFI	2 mL
小瓶 3	
可视, pH, A <sub>280</sub> , SEC, iCiEF, CE-SDS	6 mL
小瓶 4	
保留	2 mL

[0270] 表6: 稳定性温度和时间点

[0271]

存储温度		取样间隔							
	初始	2W	1M	3M	6M	12M	18M	24M	保留
5°C	4 小瓶				4 小瓶	4 小瓶	4 小瓶	4 小瓶	4 小瓶
25°C			4 小瓶	4 小瓶	4 小瓶	4 小瓶			
40°C			4 小瓶	4 小瓶					
-60°C			4 小瓶		4 小瓶				4 小瓶
RT/RL*		4 小瓶	4 小瓶						

[0272] \*室温 (23±3°C) 和室内光线 (1000±200勒克斯), 仅用于制剂F5.5。

[0273] 稳定性测试方法

[0274] 表中列出了稳定性样品的测试方法。这些方法是常规实验室方法 (例如pH测量), 或是BMS分析小组使用的显色法。

[0275] 表7: 稳定性样品测试方法

测试组	测试名称	方法
a	外观	视觉观察
	pH	pH 计
	蛋白浓度(A <sub>280</sub> )	基于 UV/Vis 法的
		Trinean 微流体芯片
b	颗粒物	HIAC
	iCIEF	显色法
	CE-SDS (非还原)	显色法
	SEC	显色法

[0277] 结果

[0278] 这项研究可获得最多三个月的稳定性数据。结果总结在以下各节中。

[0279] pH和蛋白质浓度

[0280] 监测稳定性样品长达三个月。对于所有测试的样品,溶液在玻璃小瓶中的外观是透明的,没有观察到可见的颗粒。对于不含DTPA(制剂编号F5.5N)的样品,在40℃时观察到黄色略微增加。

[0281] aLAG-3药物产品的pH值是关键质量属性(CQA)之一,因为它会影响药物产品的稳定性。稳定性样品的pH数据在表8中提供。结果显示,在3个月的各种存储条件下,所有样品的pH值基本没有变化,表明20mM缓冲液强度具有足以控制溶液的pH值的缓冲容量。

[0282] 表8:制剂样品的pH

[0283]

制剂编号	存储温度 °C	目标 pH	T0	2 周	1 个月	3 个月
F4.8	25	4.80	4.93		4.89	4.98
	40				4.89	4.98
	-60				4.89	-
F5.0	25	5.00	5.05		5.04	5.11
	40				5.04	5.09
	-60				5.04	-
F5.25	25	5.25	5.22		5.26	5.19
	40				5.26	5.17
	-60				5.26	-
F5.5	25	5.50	5.44		5.48	5.42
	40				5.48	5.44
	-60				5.48	-
	RT/RL			5.48	5.48	-
F5.5N	25	5.50	5.41		5.47	5.39
	40				5.47	5.37
	-60				5.47	-
F5.75	25	5.75	5.64		5.77	5.63
	40				5.77	5.61

[0284] 表8:制剂样品的pH

[0285]

	-60				5.77	-
F6.0	25	6.00	5.88		6.01	5.92
	40				6.01	5.83
	-60				6.01	-
F6.25	25	6.25	6.11		6.26	6.08
	40				6.26	6.12
	-60				6.26	-

[0286] 表9中显示了蛋白质浓度的结果。数据还显示,对于不同pH值的所有样品,无论在-60℃至40℃下、使用DTPA或不使用DTPA,其相对于初始值均无显著变化,表明即使在40℃的高胁迫温度下,或在-60℃与室温之间的冷冻/融化下,蛋白质质量没有损失。

[0287] 表9:蛋白质浓度 (mg/mL)

制剂编号	存储温度, °C	T0	2 周	1 个月	3 个月
F4.8	25	10.8		10.8	10.9
	40			11.0	10.8
	-60			10.8	-
F5.0	25	10.7		10.7	10.8
	40			10.7	10.8
	-60			10.7	-
F5.25	25	10.8		10.9	10.8
	40			10.7	10.8
	-60			10.8	-
F5.5	25	10.7		10.4	10.8
	40			10.8	10.5
	-60			11.3	-
	RT/RL		11.1	10.8	-

[0288]

F5.5N	25	10.8		10.8	10.8
	40			10.8	10.7
	-60			10.8	-
F5.75	25	10.9		10.9	10.9
	40			11.2	10.9
	-60			10.9	-
F6.0	25	10.8		10.8	10.9
	40			10.8	10.9
	-60			11.5	-
F6.25	25	10.8		11.5	10.9
	40			10.8	10.9
	-60			10.9	-

[0289]

[0290] 颗粒

[0291] 表中分别显示对于 $\geq 2$ 、 $\geq 10$ 和 $\geq 25\mu\text{m}$ 尺寸的颗粒物计数的结果。数据表明,计数值在USP限值内并且相对较低。在40°C的储存条件下,某些样品中观察到大量 $\geq 2\mu\text{m}$ 的颗粒,这并不出乎预料,因为样品暴露于如此高的温度下长达数月。即使考虑到这些数字,仍认为

微粒数非常低。表中还显示了pH值对颗粒计数的影响,总体上没有pH影响。

[0292] 表10:通过HIAC(数目/mL)的颗粒计数( $\geq 2\mu\text{m}$ ,  $\geq 10\mu\text{m}$ ,  $\geq 25\mu\text{m}$ )

[0293]

制剂编号	存储温度, °C	T0	2 周	1 个月	3 个月
F4.8	25	76, 25, 19		94, 8, 3	263, 15, 0
	40			136, 3, 0	1198, 5, 0
	-60			113, 10, 2	-
F5.0	25	93, 10, 1		76, 1, 0	93, 5, 0
	40			126, 3, 0	1810, 5, 0
	-60			53, 4, 3	-

[0294]

F5.25	25	63, 3, 0		214, 12, 8	198, 4, 0
	40			137, 14, 10	4487, 6, 0
	-60			128, 5, 1	-
F5.5	25	26, 3, 1		33, 1, 0	188, 6, 0
	40			1194, 0, 0	5613, 10, 0
	-60			90, 2, 0	-
	RT/RL		134, 2, 0	330, 10, 0	-
F5.5N	25	23, 5, 0		115, 8, 1	180, 6, 0
	40			76, 3, 1	456, 17, 0
	-60			597, 2, 0	-
F5.75	25	617, 5, 1		107, 10, 6	312, 15, 0
	40			1989, 7, 1	5080, 3, 0
	-60			265, 19, 10	-
F6.0	25	517, 10, 2		64, 2, 1	73, 3, 0
	40			55, 1, 0	2898, 35, 3
	-60			160, 8, 1	-
F6.25	25	49, 8, 2		102, 8, 0	207, 4, 0
	40			163, 8, 0	222, 8, 0
	-60			105, 2, 1	-

[0295] 聚集体和碎片段

[0296] 通过SEC分析抗体的高分子量(HMW)和低分子量(LMW)物质以及抗体单体。结果在表中显示。数据表明,从初始时间点开始,在25°C下保存最多3个月或在RT/RL下保存最多1

个月的样品,单体没有显著减少(<0.2%)。然而,由于HMW和LMW的增加,在40℃下长达3个月或在25℃下6个月观察到显著下降。HMW的增加比LMW的增加更为显著。

[0297] 表11还显示,HMW和LMW的增加受pH影响,并且两者均随pH值降低而增加。此外,整合剂DTPA的影响在表11中也很明显。在40℃下三个月暴露后,不含DTPA(F5.5N)的制剂显示的HMW增加比含DTPA的制剂高约3倍,表明稳定性提高是由DTPA实现的。显然,在预期的药物产品存储温度为2-8℃的情况下,添加DTPA可以进一步延长药物的保质期,使其在HMW、单体和LMW的规范范围内。

[0298] 表11:制剂中的尺寸变体分布(HMW、单体、LMW的%)

[0299]

制剂编号	存储温度, °C	T0	2 周	1 个月	3 个月
F4.8	25	0.5, 98.7, 0.8		0.5, 98.8, 0.7	0.6, 98.8, 0.6
	40			1.6, 97.4, 1.0	8.2, 88.6, 3.3
	-60			0.5, 98.9, 0.6	-
F5.0	25	0.6, 98.7, 0.8		0.5, 98.7, 0.8	0.6, 98.8, 0.6
	40			1.3, 97.7, 1.0	6.6, 90.3, 3.1
	-60			0.5, 98.9, 0.6	-
F5.25	25	0.6, 98.6, 0.8		0.5, 98.8, 0.8	0.6, 98.8, 0.6
	40			0.9, 98.1, 1.0	4.8, 92.7, 2.5
	-60			0.5, 98.8, 0.6	-
F5.5	25	0.6, 98.6, 0.8		0.5, 98.7, 0.8	0.6, 99.8, 0.6
	40			0.7, 98.3, 1.0	3.3, 94.7, 2.0
	-60			0.5, 98.8, 0.6	-
	RT/RL		0.6, 98.8, 0.7	0.7, 98.7, 0.7	-
F5.5N	25	0.6, 98.6, 0.8		0.6, 98.7, 0.8	0.8, 98.6, 0.6
	40			1.0, 98.1, 0.9	10.3, 86.6, 3.1
	-60			0.5, 98.9, 0.6	-
F5.75	25	0.6, 98.8, 0.7		0.5, 98.7, 0.7	0.6, 98.8, 0.6
	40			0.5, 98.6, 0.9	2.7, 95.4, 1.9
	-60			0.5, 98.8, 0.7	-

[0300]

<b>F6.0</b>	<b>25</b>	<b>0.6, 98.7, 0.8</b>		<b>0.5, 98.8, 0.7</b>	<b>0.6, 98.8, 0.6</b>
	<b>40</b>			<b>0.5, 98.7, 0.9</b>	<b>2.2, 96.0, 1.8</b>
	<b>-60</b>			<b>0.6, 98.8, 0.7</b>	<b>-</b>
	<b>F6.25</b>	<b>0.6, 98.7, 0.8</b>		<b>0.6, 98.7, 0.7</b>	<b>0.8, 98.7, 0.6</b>
				<b>0.5, 98.6, 0.8</b>	<b>1.8, 96.5, 1.7</b>
				<b>0.5, 98.8, 0.6</b>	<b>-</b>

[0301] 纯度

[0302] CE-SDS用于监测制剂样品的纯度。还原性CE-SDS结果表明,样品在RT/RL、-60℃和2℃(<0.5%)的情况下长达3个月基本上没有相对于起始时的纯度变化(表)。在40℃下观察到非常轻微的下降(<2%)。还进行了非还原的CE-SDS分析。结果在表中示出。对于低pH区域的样品,在40℃下观察到的变化很小,最多约为6%。随着pH值的增加,即使在40℃下放置3个月也没有显著变化(<2%)。对于所有其他样品,与初始值相比基本上没有变化(<1%)。具有和不具有DTPA的制剂之间也没有差异,表明CE-SDS的纯度不受添加DTPA的影响。这些纯度数据表明,在预期的2-8℃和避光的储存条件下持续长时间的保质期,药物产品制剂应当没有纯度变化或仅有极少的纯度变化。

[0303] 表12:还原性CE-SDS纯度

[0304]

制剂编号	存储温度, °C	T0	2 周	1 个月	3 个月
<b>F4.8</b>	<b>25</b>	<b>99.7</b>		<b>99.7</b>	<b>99.7</b>
	<b>40</b>			<b>99.2</b>	<b>98.1</b>
	<b>-60</b>			<b>99.7</b>	<b>-</b>
<b>F5.0</b>	<b>25</b>	<b>99.7</b>		<b>99.5</b>	<b>99.8</b>
	<b>40</b>			<b>99.2</b>	<b>98.3</b>
	<b>-60</b>			<b>99.7</b>	<b>-</b>



[0305]

<b>F5.25</b>	<b>25</b>	<b>99.7</b>		<b>99.5</b>	<b>99.7</b>
	<b>40</b>			<b>99.3</b>	<b>98.6</b>
	<b>-60</b>			<b>99.7</b>	<b>-</b>
<b>F5.5</b>	<b>25</b>	<b>99.8</b>		<b>99.5</b>	<b>99.7</b>
	<b>40</b>			<b>99.3</b>	<b>98.9</b>
	<b>-60</b>			<b>99.8</b>	<b>-</b>
	<b>RT/RL</b>		<b>99.8</b>	<b>99.7</b>	<b>-</b>
<b>F5.5N</b>	<b>25</b>	<b>99.7</b>		<b>99.7</b>	<b>99.7</b>
	<b>40</b>			<b>99.5</b>	<b>98.6</b>
	<b>-60</b>			<b>99.6</b>	<b>-</b>
<b>F5.75</b>	<b>25</b>	<b>99.8</b>		<b>99.5</b>	<b>99.8</b>
	<b>40</b>			<b>99.5</b>	<b>98.8</b>
	<b>-60</b>			<b>99.8</b>	<b>-</b>
<b>F6.0</b>	<b>25</b>	<b>99.7</b>		<b>99.7</b>	<b>99.8</b>
	<b>40</b>			<b>99.6</b>	<b>98.9</b>
	<b>-60</b>			<b>99.7</b>	<b>-</b>
<b>F6.25</b>	<b>25</b>	<b>99.7</b>		<b>99.6</b>	<b>99.8</b>
	<b>40</b>			<b>99.5</b>	<b>98.8</b>
	<b>-60</b>			<b>99.7</b>	<b>-</b>

[0306] 表13:非还原的CE-SDS的纯度

[0307]

制剂编号	存储温度, °C	T0	2 周	1 个月	3 个月
<b>F4.8</b>	<b>25</b>	<b>99.9</b>		<b>99.7</b>	<b>99.3</b>
	<b>40</b>			<b>99.3</b>	<b>93.8</b>
	<b>-60</b>			<b>99.8</b>	<b>-</b>
<b>F5.0</b>	<b>25</b>	<b>99.9</b>		<b>99.6</b>	<b>99.5</b>
	<b>40</b>			<b>99.3</b>	<b>94.2</b>

[0308] 表13:非还原的CE-SDS的纯度

[0309]

	-60			99.8	-
F5.25	25	99.9		99.8	99.6
	40			99.2	97.9
	-60			99.8	-
F5.5	25	99.9		99.8	99.6
	40			99.1	97.8
	-60			99.8	-
	RT/RL		99.6	99.6	-
F5.5N	25	99.9		99.8	99.5
	40			99.2	97.5
	-60			99.8	-
F5.75	25	99.9		99.8	99.6
	40			99.2	97.4
	-60			99.7	-
F6.0	25	99.9		99.8	99.6
	40			99.2	97.3
	-60			99.6	-
F6.25	25	99.9		99.8	99.6
	40			99.2	97.2
	-60			99.6	-

[0310] 电荷变体

[0311] 通过iCIEF监测制剂样品的电荷分布变化。预计如果形成电荷降解物,酸性峰会增加,而碱性峰或主峰会随着时间而减少。iCIEF结果(表、表和表)显示了暴露于-60℃和25℃多达3个月或在RT/RL下多达1个月的样品的电荷分布与初始相比没有显著变化(<5%)。在40℃下3个月后观察到显著变化,在如此高的胁迫条件下这并不出乎意料。正如预期的那样,在40℃时,酸性峰随pH的增加而增加,而增加的峰面积是主峰和碱性峰的峰面积减少的结果。这些结果表明,所有制剂在用于DP的预期存储条件2-8℃时电荷分布都相对稳定,但长时间的高温暴露可能导致BMS-986016降解以形成更多酸性物质,例如脱酰胺化副产物。

[0312] 表14还显示了在40℃持续3个月的含DTPA和无DTPA样品之间的酸性物质的显著差异(>5%),表明DTPA增强了mAb电荷分布的稳定性。因此,可以合理预期DTPA样品在2-8℃下的保质期会进一步延长。

[0313] 表14:酸性变体的峰面积%

[0314]

制剂编号	存储温度, °C	T0	2 周	1 个月	3 个月
<b>F4.8</b>	<b>25</b>	<b>12.6</b>		<b>14.5</b>	<b>16.4</b>
	<b>40</b>			<b>21.0</b>	<b>37.7</b>
	<b>-60</b>			<b>14.2</b>	<b>-</b>
<b>F5.0</b>	<b>25</b>	<b>13.4</b>		<b>14.8</b>	<b>16.2</b>
	<b>40</b>			<b>20.5</b>	<b>37.6</b>
	<b>-60</b>			<b>13.8</b>	<b>-</b>
<b>F5.25</b>	<b>25</b>	<b>13.0</b>		<b>13.7</b>	<b>16.5</b>
	<b>40</b>			<b>21.2</b>	<b>39.0</b>
	<b>-60</b>			<b>12.9</b>	<b>-</b>
<b>F5.5</b>	<b>25</b>	<b>12.9</b>		<b>13.2</b>	<b>16.7</b>
	<b>40</b>			<b>22.0</b>	<b>41.5</b>
	<b>-60</b>			<b>13.0</b>	<b>-</b>
	<b>RT/RL</b>		<b>12.9</b>	<b>15.3</b>	<b>-</b>
<b>F5.5N</b>	<b>25</b>	<b>13.2</b>		<b>14.8</b>	<b>17.4</b>
	<b>40</b>			<b>22.4</b>	<b>47.9</b>
	<b>-60</b>			<b>13.5</b>	<b>-</b>
<b>F5.75</b>	<b>25</b>			<b>13.9</b>	<b>16.8</b>

[0315]

	<b>40</b>	<b>12.4</b>		<b>23.1</b>	<b>43.6</b>
	<b>-60</b>			<b>12.4</b>	<b>-</b>
<b>F6.0</b>	<b>25</b>	<b>13.2</b>		<b>14.4</b>	<b>18.5</b>
	<b>40</b>			<b>23.5</b>	<b>46.0</b>
	<b>-60</b>			<b>12.8</b>	<b>-</b>
<b>F6.25</b>	<b>25</b>	<b>13.0</b>		<b>15.6</b>	<b>18.0</b>
	<b>40</b>			<b>25.6</b>	<b>48.6</b>
	<b>-60</b>			<b>13.0</b>	<b>-</b>

[0316] 表15:主峰的面积%

[0317]

制剂编号	存储温度, °C	T0	2 周	1 个月	3 个月
<b>F4.8</b>	<b>25</b>	<b>53.1</b>		<b>51.3</b>	<b>50.1</b>
	<b>40</b>			<b>44.7</b>	<b>32.5</b>
	<b>-60</b>			<b>51.3</b>	<b>-</b>
<b>F5.0</b>	<b>25</b>	<b>52.1</b>		<b>50.8</b>	<b>49.7</b>
	<b>40</b>			<b>45.5</b>	<b>34.5</b>
	<b>-60</b>			<b>52.0</b>	<b>-</b>
<b>F5.25</b>	<b>25</b>	<b>52.6</b>		<b>51.8</b>	<b>50.1</b>
	<b>40</b>			<b>45.2</b>	<b>35.8</b>
	<b>-60</b>			<b>52.2</b>	<b>-</b>
<b>F5.5</b>	<b>25</b>	<b>52.6</b>		<b>52.9</b>	<b>50.1</b>
	<b>40</b>			<b>45.5</b>	<b>35.2</b>
	<b>-60</b>			<b>52.5</b>	<b>-</b>
	<b>RT/RL</b>		<b>52.3</b>	<b>51.5</b>	<b>-</b>
<b>F5.5N</b>	<b>25</b>	<b>52.5</b>		<b>51.1</b>	<b>49.4</b>
	<b>40</b>			<b>45.1</b>	<b>31.1</b>
	<b>-60</b>			<b>52.2</b>	<b>-</b>

[0318] 表15:主峰的面积%

[0319]

<b>F5.75</b>	<b>25</b>	<b>53.4</b>		<b>52.3</b>	<b>50.6</b>
	<b>40</b>			<b>45.3</b>	<b>35.2</b>
	<b>-60</b>			<b>52.7</b>	<b>-</b>
<b>F6.0</b>	<b>25</b>	<b>52.7</b>		<b>51.4</b>	<b>49.3</b>
	<b>40</b>			<b>46.3</b>	<b>34.5</b>
	<b>-60</b>			<b>52.1</b>	<b>-</b>
<b>F6.25</b>	<b>25</b>	<b>52.4</b>		<b>51.1</b>	<b>18.0</b>
	<b>40</b>			<b>45.4</b>	<b>33.5</b>
	<b>-60</b>			<b>52.5</b>	<b>-</b>

[0320] 表16:碱性变体的峰面积%

[0321]

制剂编号	存储温度, °C	T0	2 周	1 个月	3 个月
F4.8	25	34.3		34.3	33.5
	40			34.2	29.8
	-60			34.5	-
F5.0	25	34.5		34.4	34.1
	40			34.0	27.9
	-60			34.2	-
F5.25	25	34.4		34.5	33.4
	40			33.6	25.3
	-60			34.9	-
F5.5	25	34.5		33.8	33.2
	40			32.5	23.4
	-60			34.4	-
	RT/RL		34.8	33.2	-
F5.5N	25			34.0	33.2

[0322] 表16:碱性变体的峰面积 %

[0323]

	40	34.3		32.5	20.5
	-60			34.4	-
F5.75	25	34.2		33.8	32.6
	40			31.6	21.2
	-60			34.9	-
F6.0	25	34.2		34.2	32.1
	40			30.2	19.4
	-60			35.0	-
F6.25	25	34.6		33.3	31.8
	40			29.0	17.9
	-60			34.5	-

[0324] 总体稳定性特征

[0325] 在-60℃和25℃下暴露3个月期间,在pH 4.80至6.25之间,药物产品的外观、pH、蛋白质浓度、纯度、电荷和尺寸变体分布没有太大变化,表明该产品在当前pH值为 $5.5 \pm 0.5$ 且预期存储温度为2-8℃时相对稳定。在40℃的高温下暴露不会显著改变外观、pH、蛋白质浓

度和纯度,但在胁迫条件下,可在制剂中提供尺寸和电荷相关降解物形成的强烈信号。尺寸和电荷相关变化的信号可以用于建立总体pH稳定性特征并选择最佳制剂pH值。显示了在40℃下具有不同pH值的样品中这两个主要组的降解物百分率。从图中,鉴定出X形曲线,曲线在约pH 5.5处相交。特征曲线清楚地表明,与尺寸相关的降解物(HMW和LMW)随pH的降低而增加,而与电荷相关的降解物(iCIEF酸性物质)随pH的升高而增加。pH值为约5.5是交叉点,并且它将使药物产品超出由iCIEF或SEC确定的规范的可能性降到最低。

[0326] 在25℃的较低温度下,对于这两种类型的降解物,pH值之间的差异不大,但在40℃时出现了与此相似的趋势(图2)。由于在25℃下3个月内没有发生降解或几乎没有降解,因此可能需要在25℃下暴露显著更长的时间才能显示出在40℃下观察到的相似的pH稳定性特征。

[0327] 此外,在5℃、25℃或40℃储存1-6个月期间(图3A和3B),改变抗LAG-3抗体浓度(4mg/ml对比12mg/ml)不会改变酸性电荷变体的百分比。

[0328] 光对药物产品稳定性的影响

[0329] 在图4中显示室温/室内照明(RT/RL)的影响。在暴露期间(长达1个月),曝光和避光的样品的外观、pH、蛋白质浓度、纯度、HMW和LMW基本上没有差异。两种样品的颗粒计数也非常低,并且都落在USP确定的限值内。暴露在室内光线下2周后,iCIEF酸性峰面积没有增加,并且在1个月的时间点上显示出很小的增加(约2%)。这种增加可能是由于分析方法的差异或光诱导反应的实际趋势。然而,由于酸性物质的变化相对较小(<3%),因此对药物产品质量不应有显著影响。根据以上的曝光样品和避光样品之间的比较,可以得出结论,所述药物产品在室温下具有足够的稳定性长达4周。

[0330] DTPA对药物产品稳定性的影响

[0331] DTPA对DP稳定性的影响在图5中示出。在40℃下保存多达3个月含有DTPA的样品的外观、pH、蛋白质浓度和纯度与不含DTPA的样品相似。所有样品的颗粒计数也很低并且在USP限值之内。然而,具有温度胁迫的含DTPA和不含DTPA样品之间的HMW和LMW物质水平存在更显著的差异。尽管在40℃下储存的所有样品中HMW和LMW物质随时间增加,但在含DTPA的样品中它们以较慢的速率增加。在40℃下暴露1个月后,iCIEF酸性峰面积没有差异,但在3个月时间点观察到大约6%的差异。因此,添加DTPA减少了尺寸和电荷相关降解物的形成。

[0332] 图5显示在25℃下含DTPA样品和不含DTPA样品之间的比较。在任何样品中,均未观察到外观、pH、蛋白质浓度、颗粒计数、HMW、LMW、酸性变体和纯度的显著差异。由于在3个月的时间点在25℃时明显没有降解或仅有最小程度的降解,因此很难评估DTPA在此温度下的影响。为了清楚地了解DTPA和无DTPA样品之间的差异,可能需要更长得多的暴露时间。在25℃下可获得的稳定性数据表明,即使没有DTPA,该药物产品在预期的2-8℃的贮存温度下长期保存也能相对稳定。

[0333] 然而,预期在药物产品制剂中添加DTPA可以进一步增加稳定性,并在制造、分配和给药过程中可能遇到的潜在的温度或光线改变条件下提供额外的产品耐用性。还使用EDTA进行了类似的研究,其结果相似(数据未显示)。

[0334] 结论

[0335] 在25℃下三个月内未观察到pH值、颗粒计数、蛋白质浓度、纯度、电荷变体和聚集的显著的稳定性问题,表明所述药物产品在pH 5-6内在2-8℃预期的长期产品储存条件下

相对稳定。发现pH是影响在40℃高温下稳定性的主要因素。当交叉覆盖两个主要降解产物组:电荷(iCIEF酸性组)和尺寸相关(HMW和LMW)变体时,观察到X形的pH稳定性曲线。电荷变体制剂随pH值的增加而增加,而尺寸变体随pH值的增加而减小。pH稳定性曲线在约pH 5.5处相交,表明在此pH下具有最佳稳定性。

[0336] 另外,在一个月的时间内,在暴露于光和未受光照的样品之间没有观察到稳定性的显著差异,这支持了在短期室内光照条件下药物产品的生产、储存、分配和给药。

[0337] 基于在40℃获得的数据,DTPA的添加增加了药物产品的稳定性。预期在2-8℃下储存时,DTPA或EDTA将进一步大大延长药物的保质期。

[0338] 实施例3

[0339] 进一步测试了螯合剂对本发明组合中聚集的影响。如其他实施例中所述,制备包含单独的抗LAG-3抗体(aLAG-3单独)或抗LAG-3抗体和抗PD-1抗体的固定比例为1:1的组合(aLAG-3FDRC)。最终的1:1aLAG-3FDRC组合包含12mg/ml抗LAG-3抗体、12mg/ml纳武单抗、20mM组氨酸、250mM蔗糖和0.05% (w/v) 的聚山梨酯80(PS80)。

[0340] 组合还含有20μM-100μM DTPA或20μM-250μM EDTA,并用1-5ppm的金属以诱导聚集(分别用200ppb或1,000ppb的Fe、Ni、Cr、Cu和Zn以达到总计1ppm或5ppm)。将组合在40℃或室温(RT/RL)下储存一个月,并且如实施例2中所述测量HMW聚集体。

[0341] aLAG-3单独和aLAG-3FDRC组合的HMW聚集体的百分比分别在图7和8中显示。对于aLAG-3单独和FDRC,在没有螯合剂的情况下,金属的存在会在40℃时引起明显的聚集,但在aLAG3单独组合中更明显。然而,在40℃或RT/RL下,DTPA和EDTA均可有效减少金属诱导的聚集。

[0342] 实施例4

[0343] 测试了本发明的1:3固定剂量比例组合的稳定性性能。如其他实施例中所述,制备包含以1:3固定剂量比例组合(1:3FDRC)的抗LAG-3抗体和抗PD-1抗体以及DTPA的组合,最终组合包含12mg/ml纳武单抗(Nivo)、4mg/ml的抗LAG-3抗体。还测试了包含不带抗PD-1抗体的抗LAG-3抗体和抗PD-1抗体的组合以进行比较。将组合在-60℃、5℃、25℃或40℃下保存3个月,并按照实施例2中的说明通过iCIEF测量制剂样品的电荷分布变化。

[0344] 抗PD-1抗体(图9A)和抗LAG-3抗体(图9B)的iCIEF结果显示,在1:3FDRC中的两种抗体的稳定性模式与抗PD-1抗体或抗LAG-3抗体单独在同一缓冲液系统中的稳定性相似。

[0345] 实施例5

[0346] 还测试了本发明的固定剂量比例组合(FDRC)的12个月稳定性。如其他实施例中所述,制备以3:1和1:1FDRC含有抗PD-1抗体和抗LAG-3抗体和DTPA的组合。还测试了含有抗LAG-3抗体而无抗PD-1抗体的组合(纳武单抗,Nivo)用于比较。如实施例2中所述,将组合在5℃或25℃下保存1、3、6和12个月,通过SEC测量HMW的百分比,并通过iCIEF测量电荷分布变化。

[0347] 用3:1或1:1FDRC制剂未观察到明显的聚集(图10A)。同样,在5℃下未观察到3:1或1:1FDRC制剂的显著电荷变化,并且在25℃下观察到相似或改善的稳定性模式(图10B和10C)。在表17和18中报告了其他稳定性测定。具体而言,表17显示,3:1和1:1(抗PD-1抗体:抗LAG-3抗体)FDRC制剂在加速和/或胁迫温度/光照条件下3个月后的总蛋白浓度或pH基本

没有变化。

[0348] 表17

[0349]

时间	存储条件	3:1 FDRC (240 N:80 aL3)		1:1 FDRC (240 N:240 aL3)	
		pH	A280, mg/mL	pH	A280, mg/mL
起始		5.83	15.1	5.83	22.3
1 个月	-60°C	5.84	15.9	5.81	23.4
	25°C	5.79	15.8	5.84	23.3
	40°C	5.79	15.7	5.79	23.6
	RT/RL	5.82	15.6	5.83	23.5
3 个月	-60°C	5.81	15.7	5.82	23.6
	5°C	5.81	15.9	5.80	23.5
	25°C	5.77	15.8	5.73	23.4
	40°C	5.83	16.0	5.83	24.0
	RT/RL	5.72	15.6	5.72	23.4

[0350] 表18

[0351]

测试项目		3:1 N/aL3 FDRC						
		T0	-60C	5C	25C	RT/RL	40C	
颗粒 (HIAC), #/mL		≥2 um	18	66	86	90	291	673
		≥10 um	8	3	5	5	25	6
		≥25 um	0	0	0	0	1	0
SEC		HMWs, %	0.6	0.5	0.5	0.6	1.8	2.0
		单体, %	99.4	98.8	98.7	98.6	97.0	96.6
		LMWs, %	0.1	0.7	0.7	0.8	1.2	0.8
iCIEF	aLAG3	酸性, %	13.8	11.6	11.9	17.8	28.3	46.0
		主峰, %	51.5	52.0	52.0	49.6	46.2	36.5
		碱性, %	34.7	36.4	36.1	32.6	25.5	17.5
	Nivo	酸性, %	28.3	28.0	28.3	32.9	36.8	65.9
		主峰, %	66.7	67.0	66.9	60.0	56.7	23.2
		碱性, %	5.0	5.0	4.8	7.1	6.5	10.9
CE-SDS, NR		纯度, %	99.4	99.7	99.7	99.5	99	95.3
RP-HPLC		Lag3/Nivo 比例	2.64	2.63	2.65	2.64	2.65	2.60

[0352] 实施例6

[0353] 还通过测量氧化和脱酰胺作用来评估FDRC组合物的稳定性性能。如在其他实施例中所述,制备含有1:3和1:1的抗PD-1抗体和抗LAG-3抗体(抗LAG-3抗体:抗PD-1抗体)FDRC的组合物。将组合物在40°C下保存3个月,并进行胰蛋白酶肽图谱分析以测量脱酰胺和氧化。具体而言,将样品还原、烷基化并用胰蛋白酶消化。胰蛋白酶肽在C-18色谱柱上分离,通过215和280nm的UV检测器检测,然后用质谱仪(LTQ-Orbitrap-Elite)检测。通过在所选离子色谱图中比较完整肽段和修饰肽段的峰面积来实现相对的定量。

[0354] 测定的结果显示在图11A-11C中。在制剂中未观察到甲硫氨酸(Met)的显著氧化或色氨酸(Trp)氧化(分别为图11A和11B)。另外,在制剂中仅观察到相对小的脱酰胺增加(图11C)。



[0355] 实施例7

[0356] 从纳武单抗药物产品和抗LAG-3TEST药物产品制备纳武单抗/抗LAG-3抗体FDRC, 用于在药物开发的早期阶段的FDRC的可靠性。纳武单抗药物产品是在pH6.0的20mM柠檬酸钠、50mM氯化钠、3.0% (w/v) 甘露醇、20μM三胺五乙酸、0.04% (w/v) 聚山梨酯80中含有10mg/mL纳武单抗的水溶液。抗LAG-3TEST药物产品是在pH5.5的10mM柠檬酸钠、10mM磷酸钠、150mM氯化钠、0.05% (w/v) 聚山梨酯80中含有10mg/mL抗LAG-3抗体的水溶液。

[0357] 通过以每1个抗LAG-3分子为1个纳武单抗分子的比例组合各个药物产品来配制纳武单抗/抗LAG-3FDRC (1:1) 药物产品。长达3个月的开发稳定性数据显示, FDRC药物产品在2℃至8℃下保存时是稳定的。FDRC药物产品的总蛋白浓度为10mg/mL。FDRC的组成在表19中提供。使用实施例中描述的方法通过目视外观、SE-HPLC、iCIEF和SDS-PAGE (NR/R) 评估稳定性。

[0358] 表19: 纳武单抗与抗LAG-3的1:1FDRC DP的制剂组成

[0359]

组分	功能	数量(浓度)	
		FDRC	单位
纳武单抗(BMS-936558)	活性成分	5	mg/mL
抗 LAG-3 (BMS-986016)	活性成分	5	mg/mL
磷酸氢二钠七水合物	缓冲剂	0.2	mM
磷酸二氢钠一水合物	缓冲剂	4.8	mM
柠檬酸钠二水合物	缓冲剂	15	mM
氯化钠	张力调节剂	100	mM
甘露醇	张力调节剂	1.5	% (w/v)
三胺五乙酸	金属离子螯合剂	10	μM
聚山梨酯 80	表面活性剂	0.035	% (w/v)
在 20°到 25°C 下 pH	pH 调节	5.75	pH 单位

## 序列表

<110> 百时美施贵宝公司  
BURTON, LORI S.  
YING, WILLIAM  
LONBERG, NILS  
CHAKRAVARTHI, SUDHIR  
SMITH, PEDRO

<120> 包含抗LAG-3抗体或抗LAG-3抗体和抗PD-1或抗PD-L1抗体的组合物

<130> 3338.071PC02/ELE/PAC/E-H

<150> 62/513,816  
<151> 2017-06-01

<150> 62/512,644  
<151> 2017-05-30

<160> 32

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1  
<211> 447  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 重链氨基酸序列; 抗LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 1

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

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

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

Gly Glu Ile Asn His Arg Gly Ser Thr Asn Ser Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

Ser Arg Val Thr Leu Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80

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

Phe Gly Tyr Ser Asp Tyr Glu Tyr Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln  
100 105 110

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

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

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

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

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys  
195 200 205

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

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

[0001]

[0002]

225                      230                      235                      240  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
                                  245                      250                      255  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu  
                                  260                      265                      270  
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
                                  275                      280                      285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
                                  290                      295                      300  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
                                  305                      310                      315                      320  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile  
                                  325                      330                      335  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
                                  340                      345                      350  
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
                                  355                      360                      365  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
                                  370                      375                      380  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
                                  385                      390                      395                      400  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
                                  405                      410                      415  
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
                                  420                      425                      430  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
                                  435                      440                      445  
 <210> 2  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 轻链氨基酸序列; 抗LAG-3 mAb (BMS-986016)  
 <400> 2  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1                      5                      10                      15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
                                  20                      25                      30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
                                  35                      40                      45  
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
                                  50                      55                      60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
                                  65                      70                      75                      80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu  
                                  85                      90                      95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Asn Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
                                  100                      105                      110

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 3  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 重链可变区 (VH) 氨基酸序列; 抗LAG-3  
mAb (BMS-986016)

<400> 3

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

[0003]

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

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

Gly Glu Ile Asn His Arg Gly Ser Thr Asn Ser Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

Ser Arg Val Thr Leu Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80

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

Phe Gly Tyr Ser Asp Tyr Glu Tyr Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 4  
<211> 360  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 重链可变区 (VH) 核酸序列; 抗LAG-3  
mAb (BMS-986016)

<400> 4

caggcgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcgagac cctgtccctc	60
acctgcgctg tctatgttgg gtccctcagt gattactact ggaactggat ccgcagcccc	120
ccagggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcacc gtggaagcac caactccaac	180
ccgtccctca agatcagtg caccctatca ctgacacgt ccaagaacca gttctccctg	240

aagctgaggt ctgtgaccgc gcgcgacacg gctgtgtatt actgtgcgtt tggatatagt 300  
 gactacgagt acaactgggt cgacccctgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360  
  
 <210> 5  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 轻链可变区(VL)氨基酸序列; 抗LAG-3  
 mAb (BMS-986016)  
  
 <400> 5  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
  
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80  
  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu  
 85 90 95  
  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Asn Leu Glu Ile Lys  
 100 105  
  
 [0004]  
 <210> 6  
 <211> 321  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 轻链可变区(VL)核酸序列; 抗LAG-3  
 mAb (BMS-986016)  
  
 <400> 6  
 gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtcttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gattattagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccacttg catccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactetca ccatcagcag cctagagcct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggctctcac ttttgccag 300  
 gggaccaacc tggagatcaa a 321  
  
 <210> 7  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 重链CDR1氨基酸序列; 抗LAG-3 mAb  
 (BMS-986016)  
  
 <400> 7  
 Asp Tyr Tyr Trp Asn  
 1 5  
  
 <210> 8  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 重链CDR2氨基酸序列; 抗LAG-3 mAb (BMS-986016)  
  
 <400> 8

Glu Ile Asn His Arg Gly Ser Thr Asn Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser  
1 5 10 15

<210> 9  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 重链CDR3氨基酸序列; 抗LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 9

Gly Tyr Ser Asp Tyr Glu Tyr Asn Trp Phe Asp Pro  
1 5 10

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

<220>  
<223> 轻链CDR1氨基酸序列; 抗LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 10

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

<210> 11  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 轻链CDR2氨基酸序列; 抗LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 11

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
1 5

[0005]

<210> 12  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 轻链CDR3氨基酸序列; 抗LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 12

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr  
1 5

<210> 13  
<211> 525  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 人LAG-3氨基酸序列

<400> 13

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp  
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val  
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile  
35 40 45

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln  
50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu  
65 70 75 80

[0006]

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro  
 85 90 95  
 Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly  
 100 105 110  
 Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln  
 115 120 125  
 Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala  
 130 135 140  
 Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys  
 145 150 155 160  
 Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro  
 165 170 175  
 Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser  
 180 185 190  
 Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln  
 195 200 205  
 Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser  
 210 215 220  
 Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly  
 225 230 235 240  
 Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn  
 245 250 255  
 Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala  
 260 265 270  
 Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val  
 275 280 285  
 Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly  
 290 295 300  
 Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu  
 305 310 315 320  
 Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His  
 325 330 335  
 Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr  
 340 345 350  
 Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu  
 355 360 365  
 Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser  
 370 375 380  
 Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala  
 385 390 395 400  
 Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln  
 405 410 415  
 Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr Glu Leu Ser Ser  
 420 425 430  
 Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly  
 435 440 445

His Leu Leu Leu Phe Leu Thr Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Leu  
450 455 460

Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His Leu Trp Arg Arg Gln Trp Arg Pro  
465 470 475 480

Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro Pro Gln Ala Gln  
485 490 495

Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro  
500 505 510

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gln Leu  
515 520 525

<210> 14  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> LAG-3表位

<400> 14

Pro Gly His Pro Leu Ala Pro Gly  
1 5

<210> 15  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> LAG-3表位

<400> 15

[0007]

His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp  
1 5

<210> 16  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> LAG-3表位

<400> 16

Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly  
1 5

<210> 17  
<211> 440  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 重链氨基酸序列; 抗PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 17

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

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

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

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

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



[0008]

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 100 105 110  
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser  
 115 120 125  
 Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
 130 135 140  
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
 145 150 155 160  
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
 165 170 175  
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys  
 180 185 190  
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
 195 200 205  
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 210 215 220  
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 225 230 235 240  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 245 250 255  
 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val  
 260 265 270  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 275 280 285  
 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 290 295 300  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly  
 305 310 315 320  
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 325 330 335  
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr  
 340 345 350  
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 355 360 365  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 370 375 380  
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 385 390 395 400  
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe  
 405 410 415  
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 420 425 430  
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

	435	440
<210>	18	
<211>	213	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	轻链氨基酸序列; 抗PD-1 mAb (BMS936558)	
<400>	18	
	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
	1                    5                    10                    15	
	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr	
	20                    25                    30	
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile	
	35                    40                    45	
	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly	
	50                    55                    60	
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro	
	65                    70                    75                    80	
	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg	
	85                    90                    95	
	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala	
	100                    105                    110	
	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	
	115                    120                    125	
[0009]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	
	130                    135                    140	
	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	
	145                    150                    155                    160	
	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	
	165                    170                    175	
	Ser Thr Leu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala	
	180                    185                    190	
	Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe	
	195                    200                    205	
	Asn Arg Gly Glu Cys	
	210	
<210>	19	
<211>	113	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	重链可变区 (VH) 氨基酸序列; 抗PD-1 mAb (BMS936558)	
<400>	19	
	Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg	
	1                    5                    10                    15	
	Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser	
	20                    25                    30	
	Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val	
	35                    40                    45	

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

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

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

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

Ser

<210> 20  
<211> 339  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 重链可变区(VH)核酸序列; 抗PD-1  
mAb (BMS936558)

<400> 20  
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
gactgtaaag cgtctggaat caccttcagt aactctggca tgcactgggt ccgccaggtc 120  
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atttggtatg atggaagtaa aagatactat 180  
gcagactccg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240  
ctgcaaaiga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gacaaaacgac 300  
gactactggg gccagggaac cctggtcacc gtctcctca 339

[0010]

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

<220>  
<223> 轻链可变区(VL)氨基酸序列;  
抗PD-1mAb (BMS936558)

<400> 21

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

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

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

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

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

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

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

<210> 22  
<211> 321  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 合成的: 轻链可变区(VL)核酸序列;  
抗PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 22  
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctcctgca gggccagtcg gagtgtagt agttacttag cctggtacca acagaaacct 120  
ggccaggtct ccaggctcct catctatgat gcattcaaca gggccactgg cateccagcc 180  
aggttcagtg gcagtggttc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240  
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag agtagcaact ggcctcggac gtctggccaa 300  
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 23  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 重链CDR1氨基酸序列; 抗PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 23  
Asn Ser Gly Met His  
1 5

<210> 24  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 重链CDR2氨基酸序列; 抗PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 24  
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

[0011]

<210> 25  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
  
<220>  
<223> 重链CDR3氨基酸序列; 抗PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 25  
Asn Asp Asp Tyr  
1

<210> 26  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 轻链CDR1氨基酸序列; 抗PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 26  
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala  
1 5 10

<210> 27  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 轻链CDR2氨基酸序列; 抗PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 27  
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
1 5

<210> 28  
<211> 9

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 轻链CDR3氨基酸序列; 抗PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 28

Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg Thr  
 1 5

<210> 29  
 <211> 2106  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 完整的PD-1序列

<400> 29  
 agtttccett ccgtcacc cgcctgagc agtggagaag gcggcactct ggtggggctg 60  
 ctccaggcat gcagatccca caggcgccct ggccagtcgt ctggcggtg ctacaactgg 120  
 gctggcgccc aggaatgttc ttagactccc cagacaggcc ctggaacccc cccaccttct 180  
 tcccagccct gctcgtggtg accgaagggg acaacgccac cttcacctgc agctttctca 240  
 acacatcgga gagcttctgt cttaactggt accgcatgag cccagcaac cagacggaca 300  
 agctggcgcc ctctcccgag gaccgcagcc agcccgccca ggactgcgc ttcctgttca 360  
 cacaactgcc caacggcggt gacttccaca tgagcgtggt caggcgccgg cgcaatgaca 420  
 gcggcaccta cctctgtggg gccatctccc tggccccaa ggcgcagatc aaagagagcc 480  
 tgcgggcaga gctcagggtg acagagagaa gggcagaagt gccacagcc cccccagcc 540  
 cctcaccag gccagccgc cagttccaaa ccttggtggt tgggtgtctg ggcggcctgc 600  
 tgggcagcct ggtgtctgta gctgggttcc tggccgtcat ctgctcccg gccgcacgag 660  
 ggacaatagg agccaggcgc accggccagc ccttgaagga ggacccctca gccgtgcctg 720  
 tgttctctgt ggaatattgg gagctggatt tcagtgccg agagaagacc ccggagcccc 780  
 ccgtgccctg tgtccctgag cagacggagt atgccacat tgtctttcct agcggaatgg 840  
 gcacctatc ccccgccgc aggggctcag ccgacggccc tcggagtgc cagccactga 900  
 ggccctagga tggacactgc tcttggcccc tctgaccggc ttccttggcc accagtgttc 960  
 tgcagacct ccacctgag cccgggtcag cgcatttct caggagaagc aggcagggtg 1020  
 caggccattg caggccgtcc aggggctgag ctgcctgggg gcgaccgggg ctccagcctg 1080  
 cacctgcacc aggcacagcc ccaccacagg actcatgtct caatgccac agtgagccca 1140  
 ggcagcaggt gtcacgtcc cctacaggga gggccagatg cagtcactgc ttcaggctct 1200  
 gccagcacag agctgcctgc gtccagctcc ctgaatctct gctgtctgtg ctgtctgtgc 1260  
 tgctgtctgc tgcggccggc ggctgaaggg gccgtggccc tgcctgacgc cccggagcct 1320  
 cctgcctgaa ctggggggct ggttgagat ggccctggag cagccaaggt gcccctggca 1380  
 gtggcatccc gaaacgccc ggacgcaggc cccaagactg ggcacaggag tgggaggtac 1440  
 atggggctgg ggaactccca ggagttatct gctccctgca ggccatagaga agtttcaggg 1500  
 aaggtcagaa gagctcctgg ctgtgtgtgg cagggcagga aacccctccc acccttacac 1560  
 atgccagggc agcacctcag gcccttctgt gggcagggaa gctgaggcag taagcgggca 1620  
 ggcagagctg gaggccttcc aggcacagca gcactctggc ctctgcccgc cgcattccac 1680  
 cccagccct caccaccactc gggagaggga catcctacgg tcccaggtc agggaggcag 1740  
 ggctgggggt gactcaggcc cctccagct gtggccacct ggggtgttgg agggcagaag 1800  
 tgcaggcacc tagggccccc catgtgccca ccttgggagc tctccttgg accattctct 1860  
 gaaattattt aaagggttgc gccgggctcc caccagggcc tgggtgggaa ggtacaggcg 1920  
 ttccccggg gcctagtacc ccccgctggc ctatccactc ctacatcca cacactgcac 1980  
 cccactcct ggggcagggc caccagcatc caggcgccca gcaggcactc gagtggctgg 2040  
 gacaagggat ccccttccc tgtggttcta ttatattata attataatta aatatgagag 2100

[0012]

catgct	2106
<210> 30	
<211> 1344	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 重链核酸序列; 抗LAG-3 mAb (BMS-986016)	
<400> 30	
caggtgcagc tacagcagtg gggcgagga ctgttgaagc cticggagac cctgtccctc	60
acctgcgctg tctaiggttg gtccttcagt gattactact ggaactggat ccgccagccc	120
ccagggaagg ggttgagtg gattggggaa atcaatcacc gtggaagcac caactccaac	180
ccgtccctca agagtcagtg caccctatca ctagacacgt ccaagaacca gtctccctg	240
aagctgaggt ctgtgaccgc cgggacacg gctgtgtatt actgtcggtt tggatatagt	300
gactacgagt acaactgggt cgaccctgg ggccaggga ccttggtcac cgtctccca	360
gctagacca agggccctc cgtctccccc ctggcgccct gctccaggag caccctcgag	420
agcacagccg ccttgggctg cctggtaag gactacttcc cgaaccggt gacggtgtcg	480
tggaaactcag gcgccctgac cagcggtgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtccca	540
ggactctact cctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc	600
tacacctgca acgtagatca caagccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtc	660
aaatatgttc cccatgccc accatgccc gcacctgagt tcttgggggg accatcagtc	720
ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
tgcgtgggtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat	840
ggcgtggagg tgcaataatg caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	900
cgtgtgttca gcgtctcacc cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
tgcaaggctc ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	1020
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat ccagaggga gaigaccaag	1080
aaccaggtea gcctgacctg cctgggtcaa ggcttctacc ccagcagat cgcctggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctccctg cctggactcc	1200
gacggtcctt tcttctcta cagcagcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg	1260
aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	1320
ctctccctgt ctctgggtaa atga	1344
<210> 31	
<211> 645	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 轻链核酸序列; 抗LAG-3 mAb (BMS-986016)	
<400> 31	
gaaatttgtg tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcctgca gggccagtca gactattagc agctacttag cctggtacca acagaaacct	120
ggccaggtcc ccaggtcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catccagcc	180
aggttcagtg gcagtggtg tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct	240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctctcac ttttgccag	300
gggaccaacc tggagatcaa acgtacgggt gctgcaccat ctgtcttcat ctcccgcca	360
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgtgaa taacttetat	420
cccagagagg ccaagtaca gtggaagggt gataacgcc tccaatcggg taactcccag	480
gagagtgta cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg	540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gogaagtcac ccatcagggc	600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag	645

[0013]

<210> 32  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列

[0014]

<220>  
<223> 基序

<400> 32

Met Tyr Pro Pro Pro Tyr  
1 5

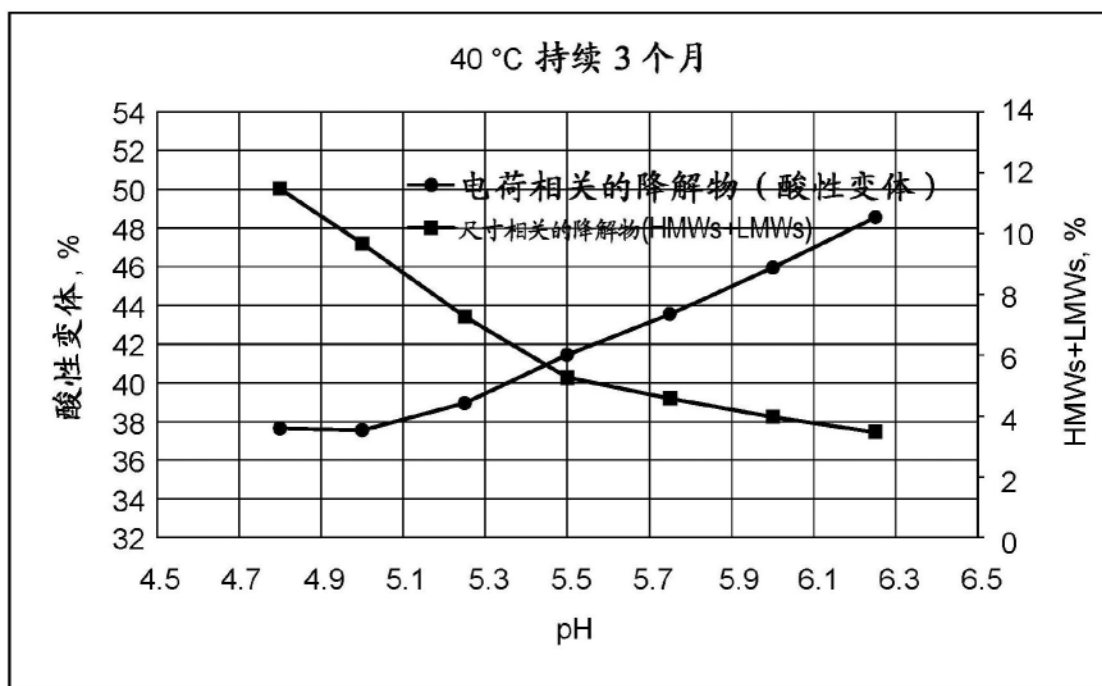


图1

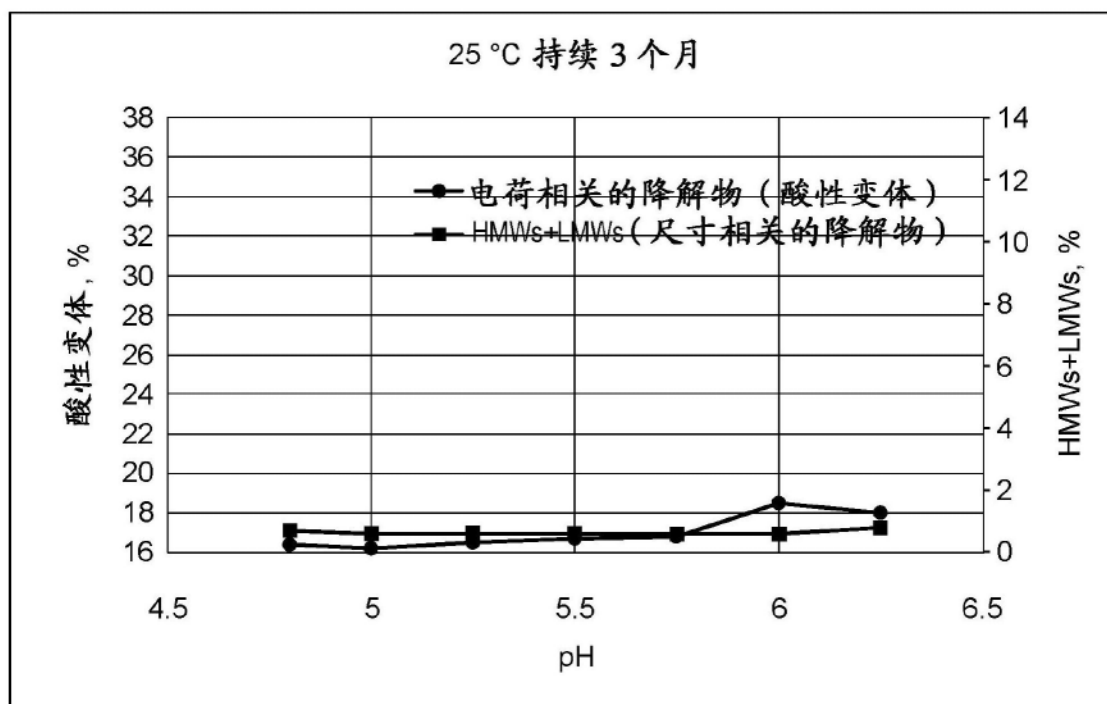


图2



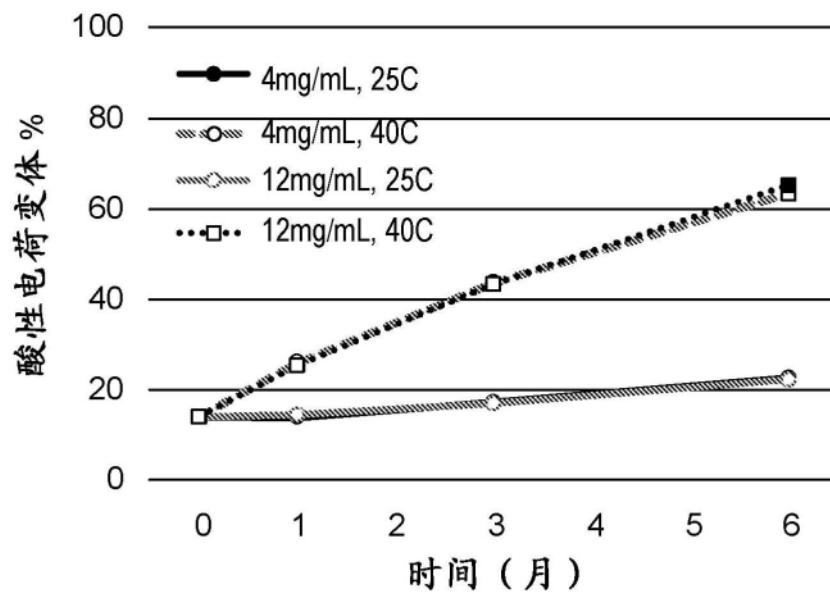


图3A

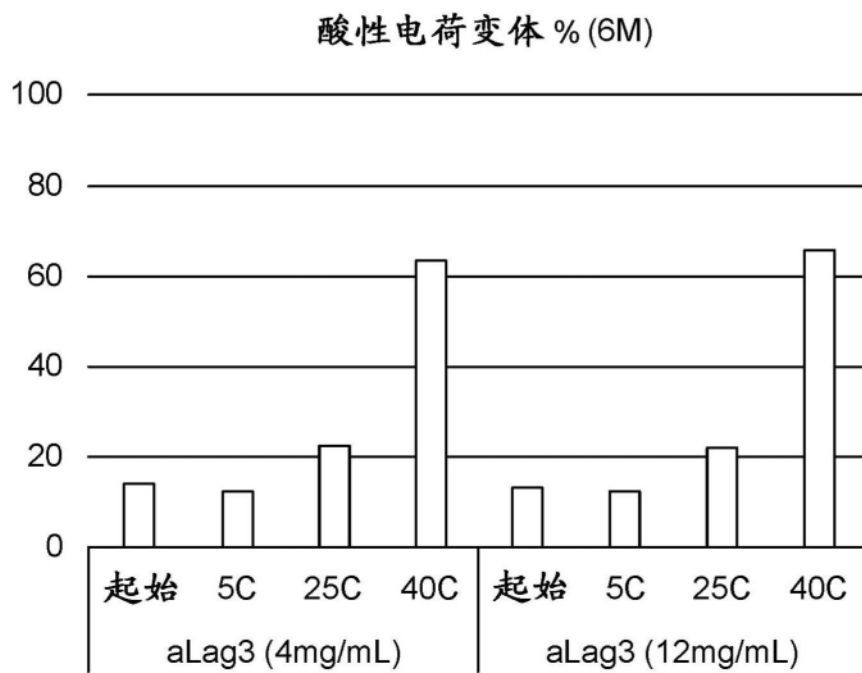


图3B

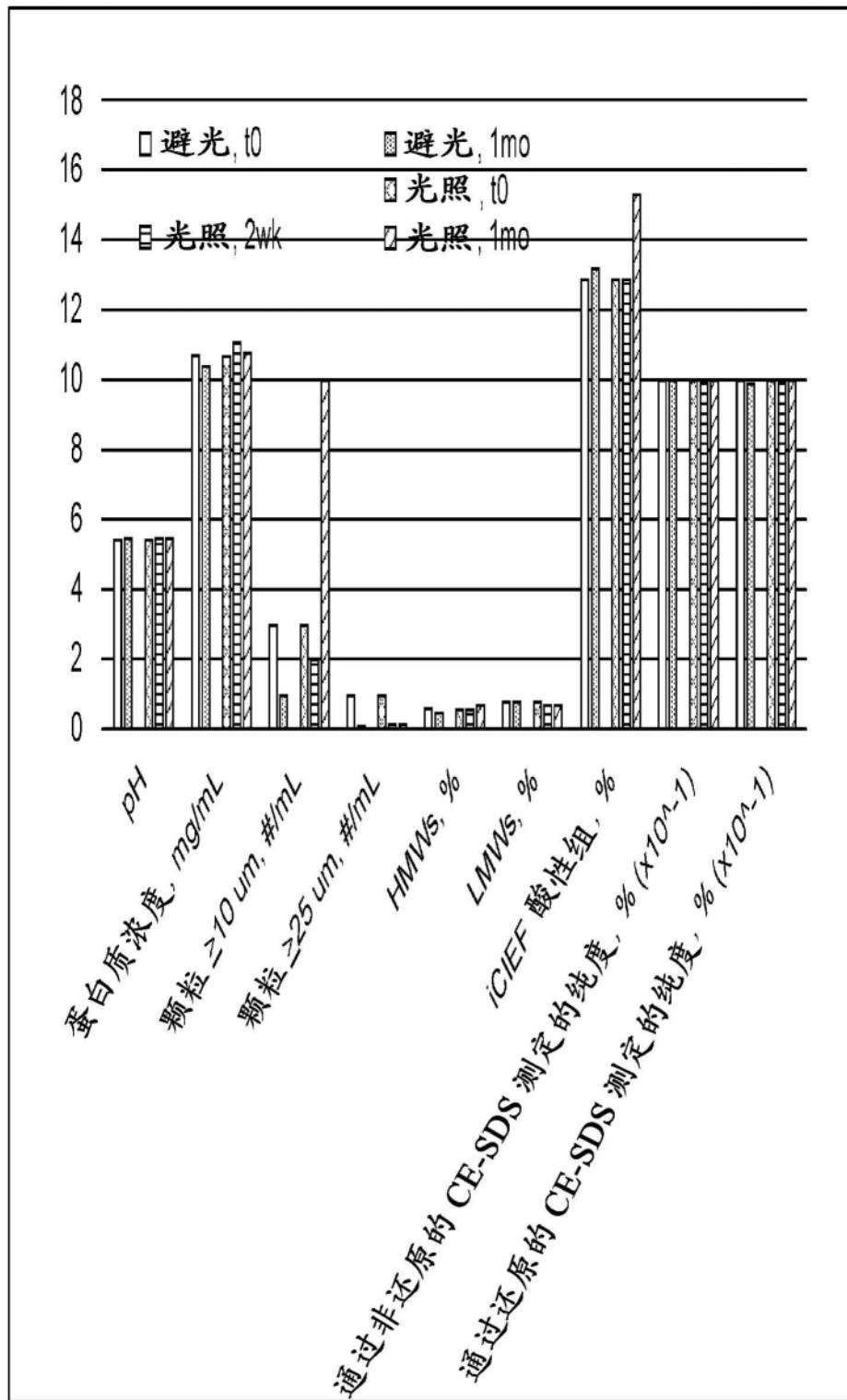


图4

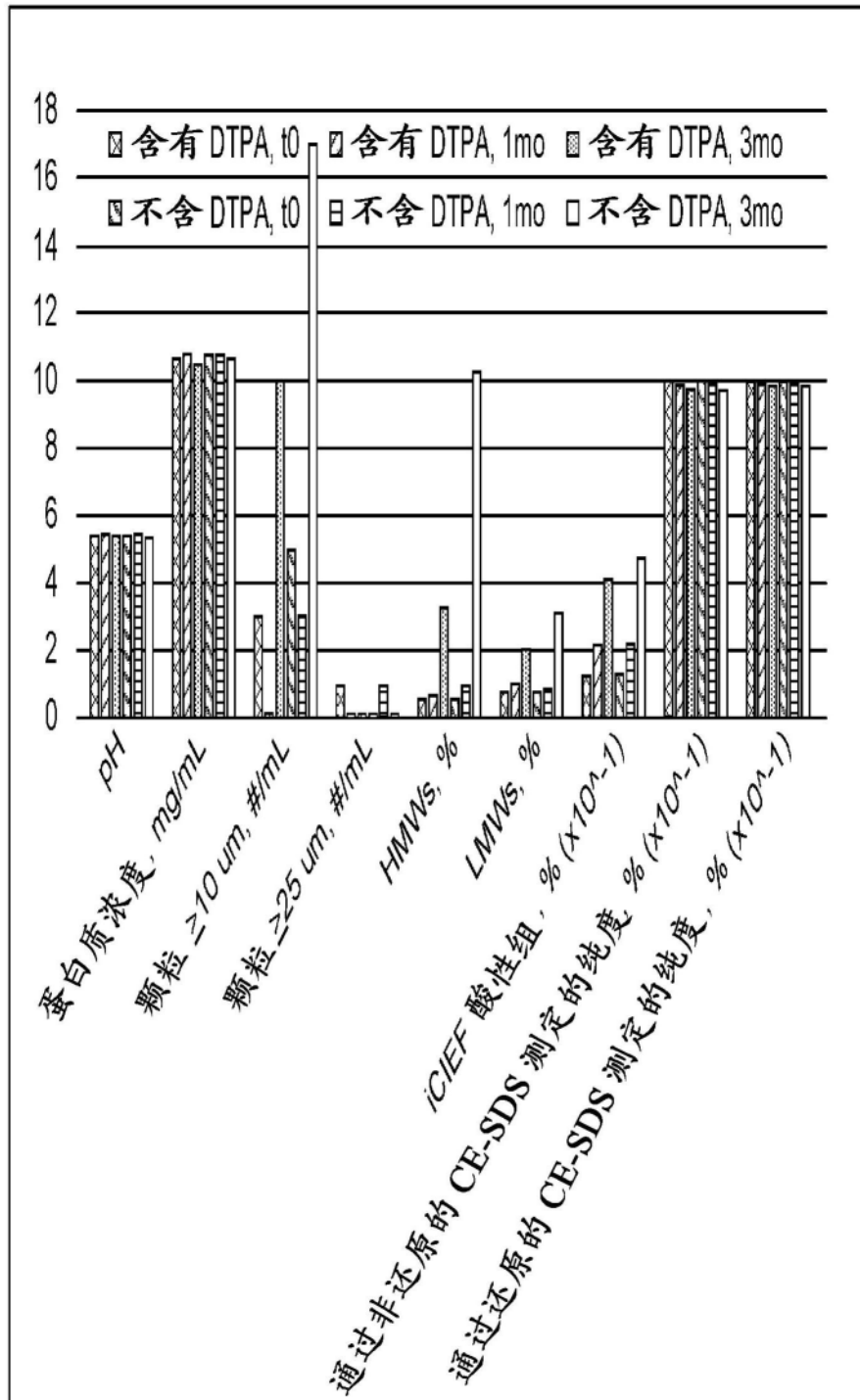


图5

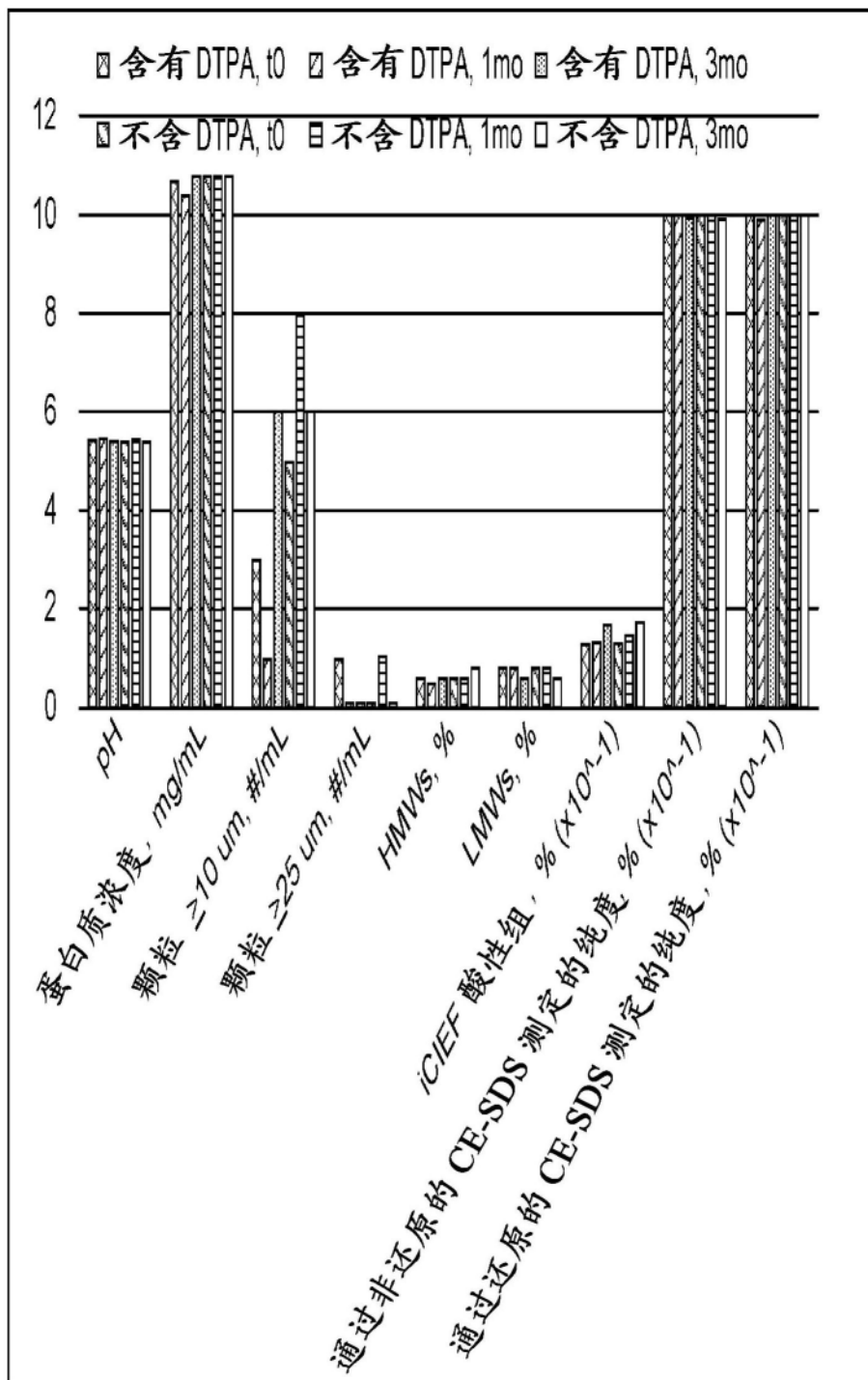


图6

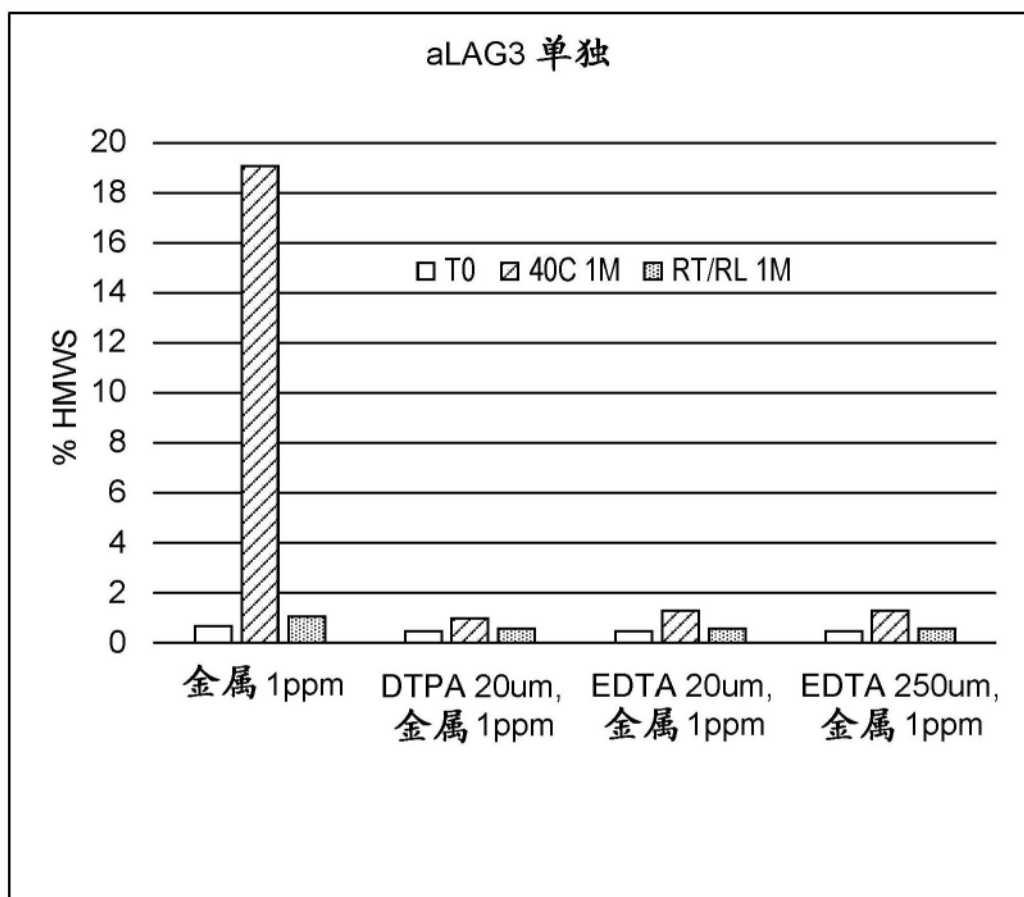


图7

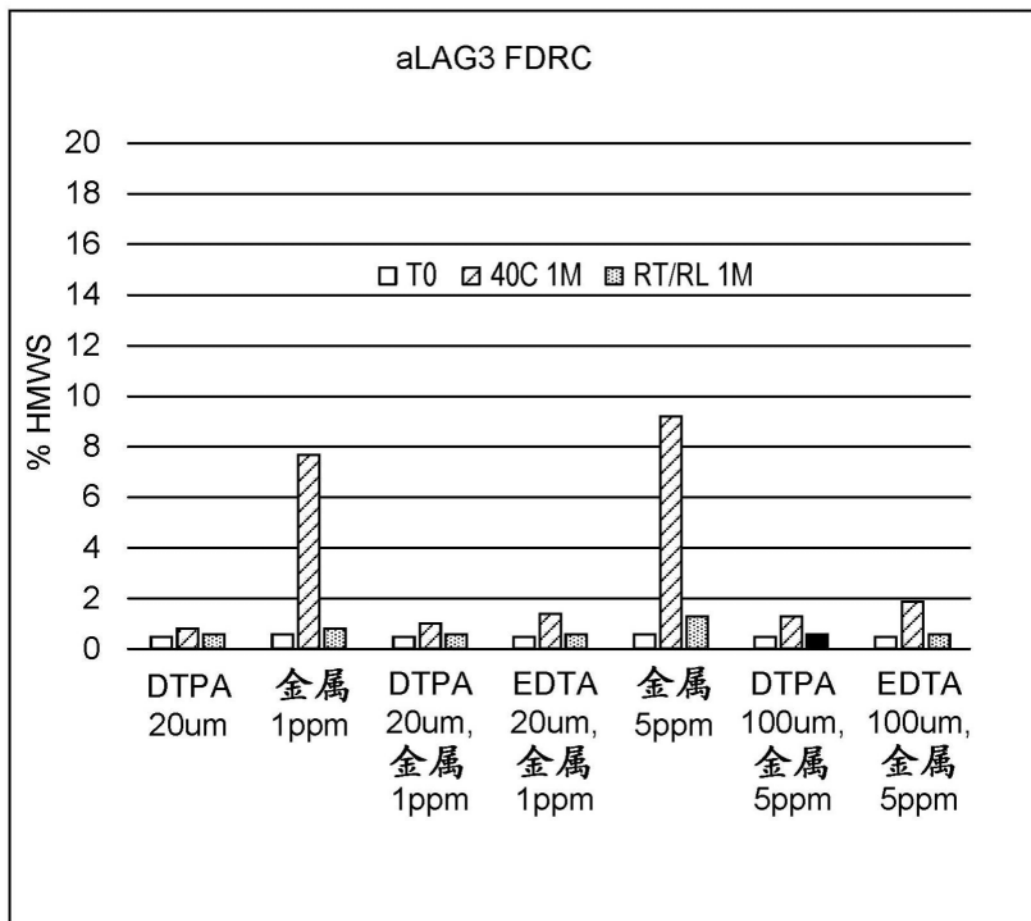


图8

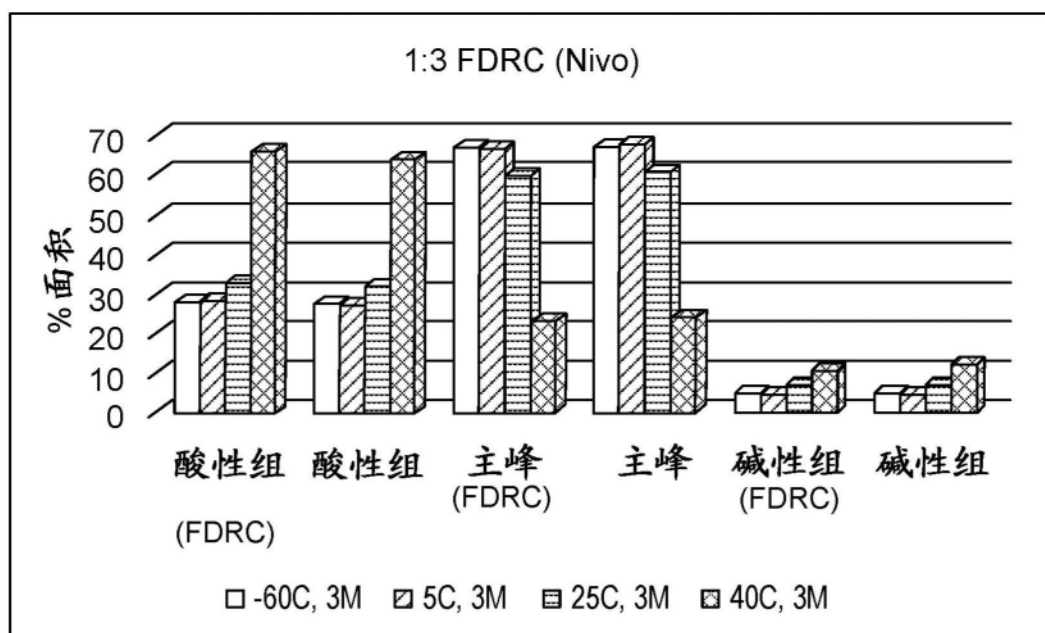


图9A

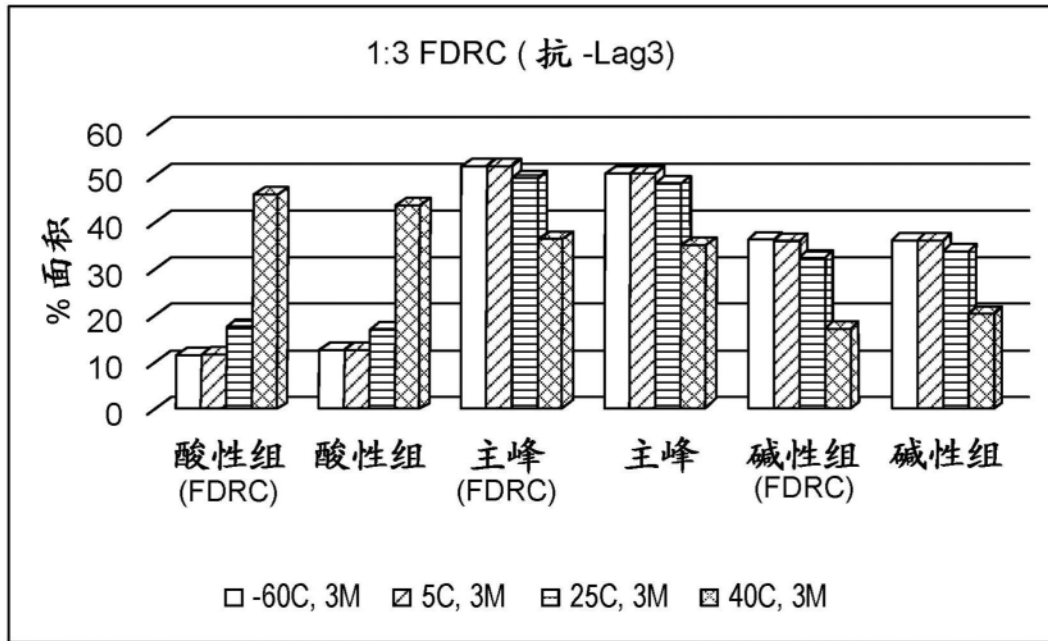


图9B

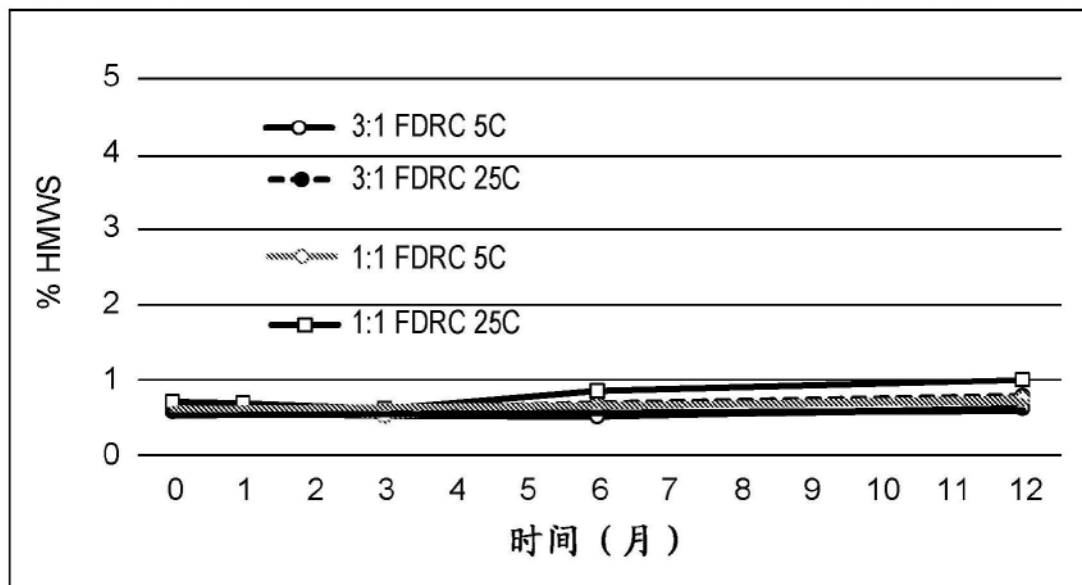


图10A

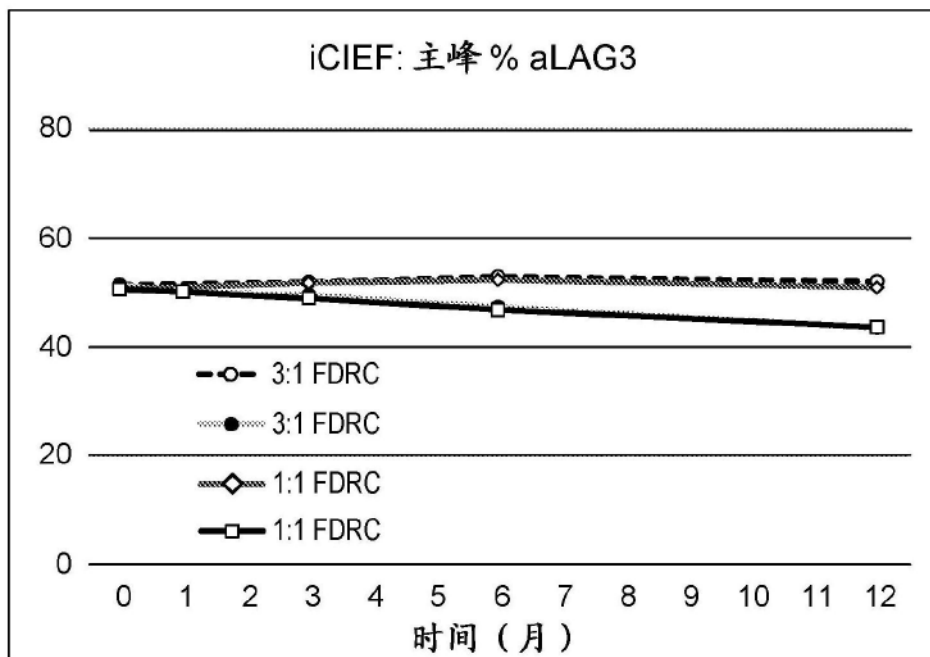


图10B

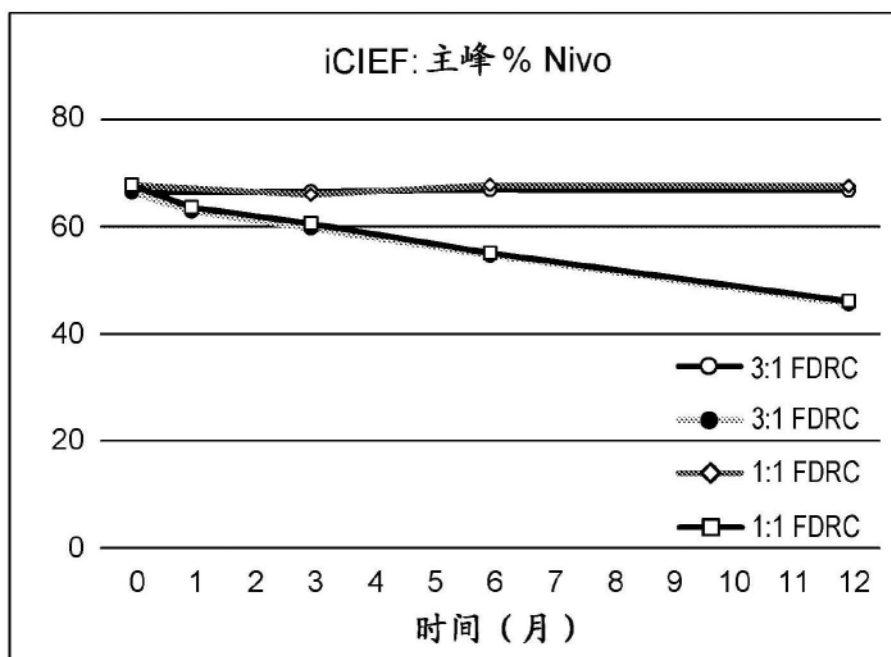


图10C



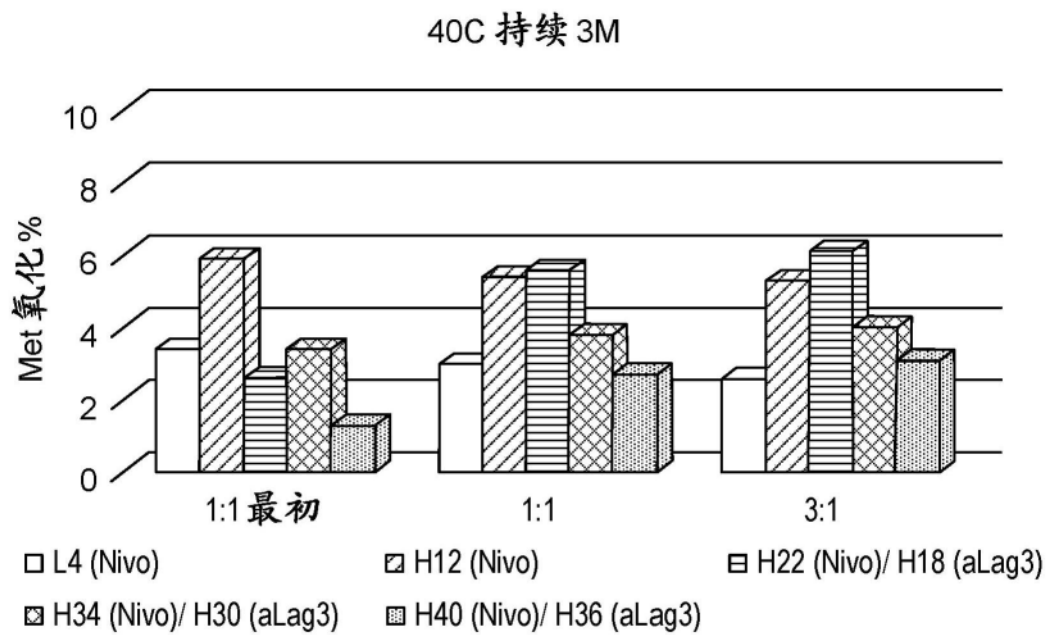


图11A

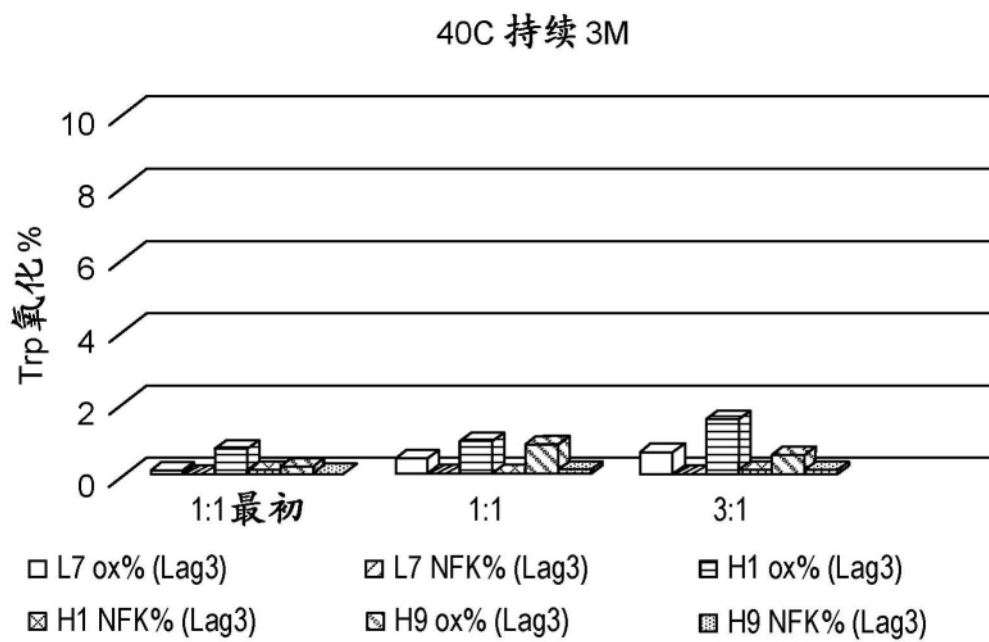


图11B

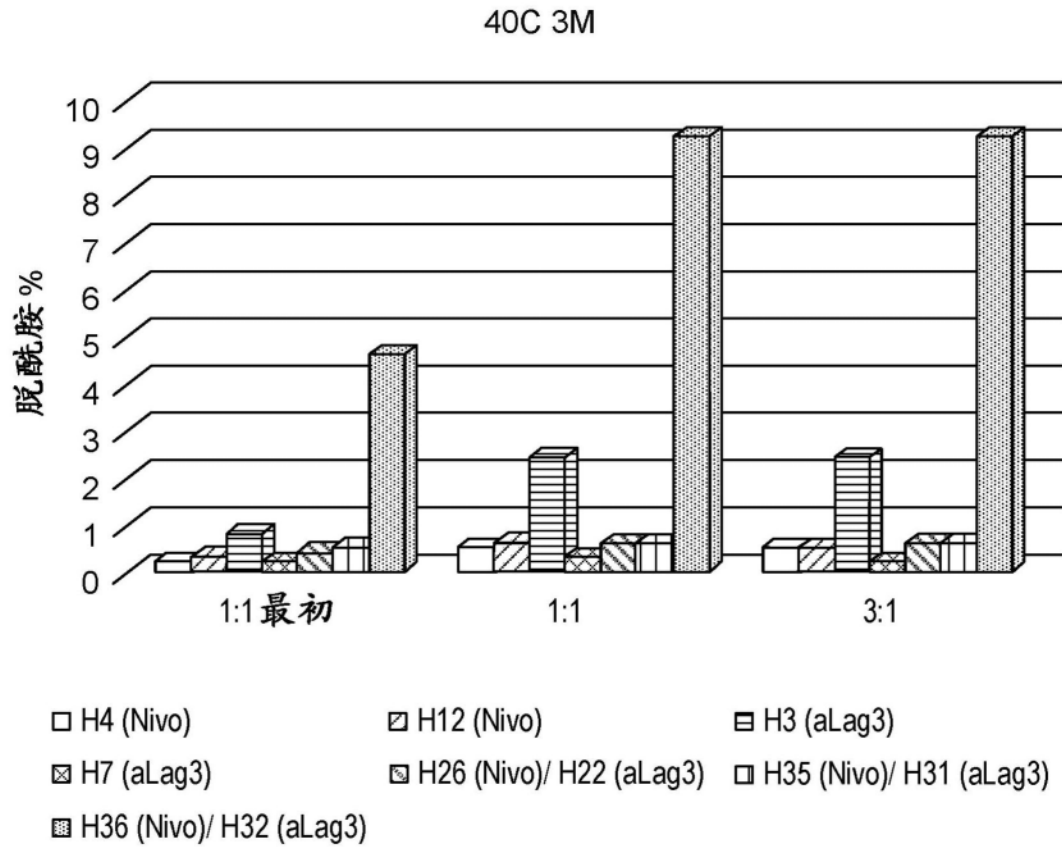


图11C