



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 108368174 B

(45) 授权公告日 2023. 04. 14

(21) 申请号 201680067905.8

(22) 申请日 2016.11.22

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108368174 A

(43) 申请公布日 2018.08.03

(30) 优先权数据
62/258,731 2015.11.23 US
62/314,174 2016.03.28 US
62/379,094 2016.08.24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.05.21

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/063332 2016.11.22

(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/091577 EN 2017.06.01

(73) 专利权人 戊瑞治疗有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 K·皮尔斯 J·珀尔斯
S·帕伦西亚 R·西拉尔斯基
M·古度西 K·克里希南

(74) 专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司 11713
专利代理师 王思琪 王建秀

(51) Int.Cl.
C07K 16/28 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 104334724 A, 2015.02.04

审查员 张华

权利要求书3页 说明书79页
序列表47页 附图20页

(54) 发明名称

用于癌症治疗的单独FGFR2抑制剂或与免疫刺激剂的组合

(57) 摘要

本文提供纤维母细胞生长因子受体2 (FGFR2) 抑制剂在癌症治疗中的用途, 在一些情形下其与免疫刺激剂(诸如PD-1或PD-L1的抑制剂) 组合。在一些实施方案中, FGFR2抑制剂可包含FGFR2抗体或FGFR2细胞外结构域 (ECD) 多肽、或包含FGFR2ECD与融合配偶体的FGFR2ECD融合分子。在一些实施方案中, PD-1/PD-L1抑制剂可包含抗PD-1抗体, 诸如结合至PD-1或PD-L1且抑制这些蛋白质之间的相互作用的抗体, 以及PD-1融合蛋白或多肽。

1. 抗纤维母细胞生长因子受体2IIIb (FGFR2-IIIb) 抗体和至少一种抗程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1) 抗体在制备用于受试者的胃癌治疗的药剂中的用途, 其中

(1) 所述治疗包括向所述受试者同时或依序施用所述抗FGFR2-IIIb抗体和所述至少一种抗PD-1抗体,

(2) 所述抗FGFR2-IIIb抗体在位置Asn297缺少岩藻糖并且包含:

(a) . 重链可变区, 其包含: (i) SEQ ID NO:6所示的HVR-H1; (ii) SEQ ID NO:7所示的HVR-H2; 和 (iii) SEQ ID NO:8所示的HVR-H3; 以及轻链可变区, 其包含: (iv) SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的HVR-L1; (v) SEQ ID NO:10所示的HVR-L2; 和 (vi) SEQ ID NO:11所示的HVR-L3;

(b) . SEQ ID NO:4所示的重链可变结构域和SEQ ID NO:5所示的轻链可变结构域; 或

(c) . SEQ ID NO:2所示的重链和SEQ ID NO:3所示的轻链; 并且

(3) 所述抗PD-1抗体是尼沃鲁单抗或派姆单抗。

2. 如权利要求1所述的用途, 其中所述抗FGFR2-IIIb抗体具有以下性质中的一个或多个:

a. 以高于与FGFR2-IIIC的亲和力结合至FGFR2-IIIb, 或无法检测到地结合至FGFR2-IIIC;

b. 抑制FGF2与人FGFR2结合;

c. 抑制FGF7与人FGFR2结合;

d. 抑制小鼠肿瘤模型中人类肿瘤的生长;

e. 诱导ADCC活性;

f. 具有增强的ADCC活性; 和

g. 与对照相比, 能增加小鼠肿瘤模型中肿瘤组织中的PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞和巨噬细胞中的一种或多种的数目。

3. 如权利要求1或权利要求2所述的用途, 其中所述抗FGFR2-IIIb抗体是人源化抗体和/或是选自Fab、Fv、scFv、Fab' 和 (Fab')₂ 的抗原结合片段。

4. 如权利要求1或权利要求2所述的用途, 其中所述抗FGFR2-IIIb抗体具有以下性质中的一个或多个:

a. 包含κ轻链恒定区;

b. 包含IgG1重链恒定区;

c. 与具有相同氨基酸序列的在位置Asn297经岩藻糖基化的抗体相比, 在体外具有增强的ADCC活性; 和

d. 与具有相同氨基酸序列的在位置Asn297经岩藻糖基化的抗体相比, 对Fc γ RIIIA具有增强的亲和力。

5. 如权利要求1或权利要求2所述的用途, 其中所述抗FGFR2-IIIb抗体与所述抗PD-1抗体依序施用。

6. 如权利要求5所述的用途, 其中所述受试者是PD-1抑制剂不充分反应者。

7. 如权利要求1或权利要求2所述的用途, 其中所述抗FGFR2-IIIb抗体以6-10mg/kg、10-15mg/kg或6-15mg/kg的剂量施用。

8. 如权利要求1或权利要求2所述的用途, 其中所述抗PD-1抗体以至少2mg/kg的剂量施

用。

9. 如权利要求1或权利要求2所述的用途,其中所述抗FGFR2-IIIb抗体与所述抗PD-1抗体是每1、2、3、4或5周施用一次。

10. 如权利要求1或权利要求2所述的用途,其中所述胃癌在选自手术、化学疗法、放射疗法及其组合的疗法后复发或进展。

11. 如权利要求1或权利要求2所述的用途,其中所述胃癌先前已确定过表达FGFR2IIIb,不论FGFR2基因扩增存在或不存在。

12. 如权利要求1或权利要求2所述的用途,其中所述治疗包括在施用所述抗FGFR2-IIIb抗体之前确定所述胃癌是否过表达FGFR2IIIb。

13. 如权利要求11所述的用途,其中FGFR2IIIb过表达是通过免疫组织化学(IHC)测定。

14. 如权利要求12所述的用途,其中FGFR2IIIb过表达是通过免疫组织化学(IHC)测定。

15. 如权利要求1或权利要求2所述的用途,其中所述胃癌包括胃食管癌。

16. 如权利要求1或权利要求2所述的用途,其中所述胃癌包括胃食管接合部癌。

17. 如权利要求1或权利要求2所述的用途,其中:

a) 所述胃癌在至少10%肿瘤细胞中具有2+或3+的FGFR2IIIb IHC信号;

b) 所述胃癌在至少10%肿瘤细胞中具有3+的FGFR2IIIb IHC信号;

c) 所述胃癌在至少10%肿瘤细胞中具有3+的FGFR2IIIb IHC信号,且其中所述FGFR2基因经扩增;

d) 所述胃癌在至少10%肿瘤细胞中具有3+的FGFR2IIIb IHC信号,且其中所述FGFR2基因未经扩增;或者

e) 所述胃癌在至少10%肿瘤细胞中具有1+或2+的FGFR2IIIb IHC信号。

18. 如权利要求1或权利要求2所述的用途,其中所述抗FGFR2-IIIb抗体包含SEQ ID NO:2所示的重链和SEQ ID NO:3所示的轻链。

19. 抗FGFR2-IIIb抗体和至少一种抗程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)抗体在制备用于受试者的胃癌治疗的试剂盒中的用途,其中当所述试剂盒用于所述治疗时,包括以下步骤:向所述受试者施用所述抗FGFR2-IIIb抗体且如果所述受试者经测定相对于所述抗体施用之前的样品具有增加数目的NK细胞和/或PD-L1阳性细胞和/或CD8+T细胞,则向所述受试者进一步施用所述至少一种抗PD-1抗体,并且其中

(1) 所述抗FGFR2-IIIb抗体包含:

(a) .重链可变区,其包含:(i) SEQ ID NO:6所示的HVR-H1;(ii) SEQ ID NO:7所示的HVR-H2;和(iii) SEQ ID NO:8所示的HVR-H3;以及轻链可变区,其包含:(iv) SEQ ID NO:9所示的HVR-L1;(v) SEQ ID NO:10所示的HVR-L2;和(vi) SEQ ID NO:11所示的HVR-L3;

(b) .SEQ ID NO:4所示的重链可变结构域和SEQ ID NO:5所示的轻链可变结构域;或

(c) .SEQ ID NO:2所示的重链和SEQ ID NO:3所示的轻链;并且

(2) 所述抗PD-1抗体是尼沃鲁单抗或派姆单抗。

20. 如权利要求19所述的用途,其中所述抗FGFR2-IIIb抗体具有以下性质中的一个或多个:

a. 以高于与FGFR2-IIIC的亲和力结合至FGFR2-IIIb,或无法检测到地结合至FGFR2-IIIC;

b. 抑制FGF2与人FGFR2结合；
c. 抑制FGF7与人FGFR2结合；
d. 抑制小鼠肿瘤模型中人类肿瘤的生长；
e. 诱导ADCC活性；
f. 具有增强的ADCC活性；
g. 无岩藻糖基化；和
h. 与对照相比，能增加小鼠肿瘤模型中肿瘤组织中的PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞和巨噬细胞中的一种或多种的数目。

21. 如权利要求19或20所述的用途，其中所述抗FGFR2-IIIb抗体包含SEQ ID NO:2所示的重链和SEQ ID NO:3所示的轻链。

22. 如权利要求19或权利要求20所述的用途，其中所述抗FGFR2-IIIb抗体被无岩藻糖基化。

23. 如权利要求19或权利要求20所述的用途，其中所述抗FGFR2-IIIb抗体是人源化抗体和/或是选自Fab、Fv、scFv、Fab' 和 (Fab')₂的抗原结合片段。

24. 如权利要求19或权利要求20所述的用途，其中所述抗FGFR2-IIIb抗体具有以下性质中的一个或多个：

a. 在位置Asn297缺少岩藻糖；
b. 包含κ轻链恒定区；
c. 包含IgG1重链恒定区；
d. 与具有相同氨基酸序列的在位置Asn297经岩藻糖基化的抗体相比，在体外具有增强的ADCC活性；和
e. 与具有相同氨基酸序列的在位置Asn297经岩藻糖基化的抗体相比，对Fc γ RIIIA具有增强的亲和力。

25. 一种包含抗FGFR2-IIIb抗体和至少一种抗PD-1抗体的组合物，其中所述抗FGFR2-IIIb抗体包含：

a. 重链可变结构域，其包含：(i) SEQ ID NO:6所示的HVR-H1；(ii) SEQ ID NO:7所示的HVR-H2；和(iii) SEQ ID NO:8所示的HVR-H3；以及轻链可变结构域，其包含：(iv) SEQ ID NO:9所示的HVR-L1；(v) SEQ ID NO:10所示的HVR-L2；和(vi) SEQ ID NO:11所示的HVR-L3；
b. SEQ ID NO:4所示的重链可变结构域和SEQ ID NO:5所示的轻链可变结构域；或
c. SEQ ID NO:2所示的重链和SEQ ID NO:3所示的轻链，并且
其中所述抗FGFR2-IIIb抗体在位置Asn297缺少岩藻糖，并且
其中所述抗PD-1抗体是尼沃鲁单抗或派姆单抗。

26. 如权利要求25所述的组合物，其中所述抗FGFR2-IIIb抗体包含SEQ ID NO:2所示的重链和SEQ ID NO:3所示的轻链。

用于癌症治疗的单独FGFR2抑制剂或与免疫刺激剂的组合

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求以下三个美国临时专利申请的优先权：2015年11月23日申请的第62/258,731号、2016年3月28日申请的第62/314,174号和2016年8月24日申请的第62/379,094号，其各自的全部内容以引用方式并入本文中。

[0003] 序列列表

[0004] 本申请与序列列表以电子格式一起提交。序列列表是以2016年11月17日创建的大小为103,517字节的标题为“2016-11-17_01134-0046-00PCT_SeqList_ST25.txt”的文件提供。序列列表的电子格式中的信息的全部内容以引用方式并入本文中。

发明领域

[0005] 本申请涉及纤维母细胞生长因子受体2 (FGFR2) 抑制剂用于治疗癌症的用途，在一些情形下与免疫刺激剂（诸如PD-1或PD-L1的抑制剂）组合。

[0006] 发明背景

[0007] 纤维母细胞生长因子 (FGF) 家族成员结合至四个已知酪氨酸激酶受体，即纤维母细胞生长因子受体1-4 (FGFR1-4) 及其同种型，其中不同的FGF以不同的程度结合不同的FGFR (Zhang等人, J. Biol. Chem. 281:15694, 2006)。人FGFR2的蛋白质序列提供于（例如）GenBank Locus AF487553中。每一FGFR是由包含三个免疫球蛋白 (Ig) 样结构域 (D1、D2和D3) 的细胞外结构域 (ECD)、单一跨膜螺旋和细胞内催化激酶结构域组成 (Mohammadi等人, Cytokine Growth Factor Revs, 16:107, 2005)。FGF主要是经由受体的D2和D3中的区域结合至受体。在D1与D2之间的接头中存在酸性氨基酸的邻接延伸段，称作“酸盒” (acid box; AB)。认为含有D1和AB的区域涉及受体的自体抑制作用，其通过结合至配体得以减轻。

[0008] FGFR的特征在于其mRNA的多个选择式剪接，此导致各种同种型 (Ornitz等人, J. Biol. Chem. 271:15292, 1996; 关于FGFR2及其同种型的序列，另参见Swiss-Prot P21802和同种型P21802-1至P21802-20)。应注意，存在含有全部三个Ig结构域 (α同种型) 或仅两个Ig结构域D2和D3结构域而无D1 (β同种型) 的形式。在FGFR1、FGFR2和FGFR3中，所有形式皆含有D3的第一半 (表示为IIIa)，但两个替代外显子可用于D3的第二半，从而导致IIIb和IIIc形式。对于FGFR2来说，这些形式分别表示为FGFR2-IIIb和FGFR2-IIIc (或仅FGFR2b和FGFR2c)；相应β形式表示为FGFR2 (β) IIIb和FGFR2 (β) IIIc。FGFR2的FGFR2-IIIb形式 (也表示为K-sam-II) 是FGF1和KGF家族成员 (FGF7、FGF10和FGF22) 的高亲和力受体，而FGFR2-IIIc (也表示为K-sam-I) 充分结合FGF1和FGF2，而不结合KGF家族成员 (Miki等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:246, 1992)。实际上，FGFR2-IIIb是KGF家族成员的唯一受体 (Ornitz等人, 1996, 前文所引用文献) 且因此也命名为KGRF。

[0009] FGFR及其同种型在各种组织中表达不同。FGFR2-IIIb (和FGFR1和FGFR3的IIIb形式) 在上皮组织中表达，而FGFR2-IIIc在间质组织中表达 (Duan等人, J. Biol. Chem. 267:16076, 1992; Ornitz等人, 1996, 前文所引用文献)。这些受体的某些FGF配体具有相反表达型式。因此，KGF亚家族成员 (包括FGF7 (KGF)、FGF10和FGF22) 仅结合至FGFR2-IIIb (Zhang等

人,前文所引用文献)且在间质组织中表达,因此可为上皮细胞的旁分泌效应子(Ornitz等人,1996,前文所引用文献)。相比之下,FGF4亚家族成员FGF4-6结合至FGFR2-IIIc且在上皮和间质谱系中表达,因此可具有自分泌或旁分泌功能。由于FGFR2及其配体的同种型的表达型式,FGFR2在上皮-间质相互作用中起作用(Finch等人,Dev.Dyn.203:223,1995),因此,小鼠中的FGFR2-IIIb的敲除会导致严重胚胎缺陷和致死率并不令人惊讶(De Moerlooze等人,Development 127:483,2000)。

[0010] KGF (FGF7) 和KGFR (FGFR2-IIIb) 在许多胰腺癌中会过表达(Ishiwata等人,Am.J.Pathol.153:213,1998),且其等共表达与较差预后相关(Cho等人,Am.J.Pathol.170:1964,2007)。在众多子宫内子宫癌(子宫)癌的12%中发现FGFR2基因的体细胞突变,且在若干测试情形下,其是肿瘤细胞存活所需(Dutt等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA105:8713,2008)。在两种肿瘤中,发现FGFR2突变是与Apert综合征相关的相同S252W取代。FGFR2的扩增和过表达与具有尤其差的预后的未分化、弥漫型胃癌相关,且由小分子化合物抑制FGFR2活性会强效抑制所述癌细胞的增殖(Kunii等人,Cancer Res.68:2340,2008;Nakamura等人,Gastroenterol.131:1530,2006)。

[0011] FGFR2的抑制剂包括抗体和FGFR2 ECD结构域或FGFR2 ECD融合分子。举例来说,美国专利第8,101,723B2号阐述(例如)结合人FGFR2-IIIb但不充分结合或不结合至FGFR2-IIIc且反之亦然单克隆抗体。美国专利公开第2015-0050273A1号阐述结合至FGFR2-IIIb的某些岩藻糖基化抗体。美国专利公开第US 2013-0324701 A1号阐述(例如)包含FGFR2-IIIc的细胞外结构域和融合配偶体的特定FGFR2 ECD融合分子。其他FGFR ECD融合分子阐述于美国专利第8,338,569B2号中。

[0012] 癌症的基因变化提供可介导抗肿瘤免疫性的抗原的多样化。经由T细胞受体(TCR)的抗原识别启动T细胞-反应,其会被介于活化与抑制性信号之间的平衡所调节。抑制性信号或“免疫检查点”通过防止自体免疫性在正常组织中起重要作用。免疫检查点蛋白的上调会使得癌症逃避抗肿瘤免疫性。两种检查点蛋白已为临床癌症免疫治疗剂的焦点,即细胞毒性T-淋巴细胞相关的抗原4 (CTLA-4) 和程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1)。抗CTLA-4抗体和抗PD-1抗体已被批准用于治疗转移性黑素瘤且目前在临床试验中用于其他癌症。针对PD-1的配体的抗PD-L1抗体目前还在临床研发中。

[0013] 已报导,FGFR信号传导的抑制可改善抗肿瘤免疫性并削弱乳腺癌的转移。(参见例如T.Ye等人,Breast Cancer Res.Treat.143:435-446 (2014))。抗FGFR2抗体已在(例如)胃癌模型中进行测试。然而,尚未知共施用FGFR2抑制剂与免疫检查点抑制剂(诸如PD-1或PD-L1抑制剂)在肿瘤模型中是否可进一步改善治疗。本文的发明者已证实,FGFR2抑制性抗体与PD-1抑制性抗体的组合在小鼠乳房肿瘤模型中展现至少加和效应。本发明者进一步展示,利用单独FGFR2抑制性抗体的处理在小鼠乳房肿瘤模型中导致肿瘤组织中的PD-L1表达细胞、NK细胞、和CD3+、CD8+和CD4+T细胞增加,且引起肿瘤组织中的淋巴系细胞与髓系细胞的比率增加。另外,单独给予的FGFR2抑制剂还有益于人类膀胱癌受试者。本文中的结果一起指示,FGFR2抑制剂单独或与PD-1/PD-L1抑制剂组合可改变肿瘤微环境且因此可增强杀死肿瘤的免疫反应。

发明概要

[0014] 在一些实施方案中,提供治疗受试者的癌症的方法,其包括向受试者施用FGFR2抑制剂(诸如抗FGFR2抗体或FGFR2 ECD或FGFR2ECD融合分子)与至少一种免疫刺激剂的组合。在一些实施方案中,免疫刺激剂是PD-1/PD-L1抑制剂,诸如抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、PD-1融合分子或PD-1多肽。在一些实施方案中,免疫刺激剂包含下文标题为“与其他免疫刺激剂的组合”的章节中所述的试剂中的一种或多种。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂是抗体。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂是识别FGFR2-IIIb的抗体。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体以低于与FGFR2-IIIb的亲和力结合至FGFR2-IIIc或无法检测到地结合至FGFR2-IIIc。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂是FGFR2 ECD。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂是包含FGFR2 ECD和融合配偶体(诸如Fc结构域、白蛋白或聚乙二醇(PEG))的FGFR2 ECD融合分子。在一些实施方案中,在至少一种免疫刺激剂包含PD-1/PD-L1抑制剂的情况下,PD-1/PD-L1抑制剂是抗体。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂是抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂是PD-1多肽,而在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂是PD-1融合分子。

[0015] 在本文的方法和组合物的实施方案的任一个中,PD-1/PD-L1抑制剂可具有以下特征。在一些实施方案中,抑制剂是包含选自尼沃鲁单抗(nivolumab)、匹利珠单抗(pidilizumab)和派姆单抗(pembrolizumab)的抗体的重链和轻链CDR的抗PD-1抗体。在一些实施方案中,抗PD-1抗体包含选自尼沃鲁单抗、匹利珠单抗和派姆单抗的抗体的重链和轻链可变区。在一些实施方案中,抗PD-1抗体选自尼沃鲁单抗、匹利珠单抗和派姆单抗。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂是抗PD-L1抗体。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体包含选自BMS-936559、MPDL3280A(阿替珠单抗(atezolizumab))、MEDI4736和MSB0010718C(阿维鲁单抗(avelumab))的抗体的重链和轻链CDR。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体包含选自BMS-936559、MPDL3280A、MEDI4736和MSB0010718C的抗体的重链和轻链可变区。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体选自BMS-936559、MPDL3280A、MEDI4736和MSB0010718C。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂是融合分子。在一些实施方案中,融合分子是AMP-224。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂是PD-1多肽,诸如AUR-012。

[0016] 在涉及抗PD-1抗体的任一本文所述组合物或方法中,抗PD-1抗体可为人源化抗体。在任一本文所述组合物或方法中,抗PD-1抗体可选自Fab、Fv、scFv、Fab'和(Fab')₂。在任一本文所述组合物或方法中,抗PD-1抗体可为嵌合抗体。在任一本文所述组合物或方法中,抗PD-1抗体可选自IgA、IgG和IgD。在任一本文所述组合物或方法中,抗PD-1抗体可为IgG。在任一本文所述方法中,抗体可为IgG1或IgG2。

[0017] 在任一本文所述组合物或方法中,FGFR2抑制剂可具有以下特征。在一些实施方案中,抑制剂是FGFR2抗体。在一些实施方案中,FGFR2抗体是FGFR2-IIIb抗体(在本文中也表示为αFGFR2b)。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体与FGFR2-IIIb结合的亲和力高于FGFR2-IIIc,或另一选择为,无法检测到地结合至FGFR2-IIIc。在一些实施方案中,抗体抑制FGF2和/或FGF7与FGFR2的结合。

[0018] 在一些实施方案中,FGFR2抗体具有单克隆抗体GAL-FR21、GAL-FR22或GAL-FR23的重链和轻链高变区(HVR)H1、H2、H3、L1、L2和L3氨基酸序列,其阐述于美国专利第8,101,723B2号中。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体重链可变区包含:(i)包含SEQ ID NO:6的

氨基酸序列的HVR-H1; (ii) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2; 和(iii) 包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3; 且轻链可变区包含: (iv) 包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1; (v) 包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2; 和(vi) 包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。

[0019] 在一些实施方案中, FGFR2抗体包含FGFR2-IIIb抗体, 其中重链可变结构域与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少95%、诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一些实施方案中, FGFR2抗体包含FGFR2-IIIb抗体, 其中轻链可变结构域与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少95%、诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。在一些实施方案中, 重链可变结构域与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少95%、诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列, 且轻链可变结构域与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少95%、诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。在一些实施方案中, FGFR2抗体包含FGFR2-IIIb抗体, 其中重链与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少95%、诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。在一些实施方案中, FGFR2抗体包含FGFR2-IIIb抗体, 其中轻链与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少95%、诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列。在一些实施方案中, 重链与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少95%、诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列, 且轻链与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少95%、诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列。

[0020] 在一些实施方案中, FGFR2-IIIb抗体重链可变区包含: (i) 包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的CDR1; (ii) 包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的CDR2; 和(iii) 包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的CDR3; 且轻链可变区包含: (iv) 包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的CDR1; (v) 包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的CDR2; 和(vi) 包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的CDR3。

[0021] 在一些实施方案中, FGFR2抗体包含FGFR2-IIIb抗体, 其中重链可变结构域与SEQ ID NO:39的氨基酸序列具有至少95%, 诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列。在一些实施方案中, FGFR2抗体包含FGFR2-IIIb抗体, 其中轻链可变结构域与SEQ ID NO:43的氨基酸序列具有至少95%, 诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一些实施方案中, 重链可变结构域与SEQ ID NO:39的氨基酸序列具有至少95%, 诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列, 且轻链可变结构域与SEQ ID NO:43的氨基酸序列具有至少95%, 诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性, 或其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列。

[0022] 在一些实施方案中, FGFR2抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中, 抗体在Asn297缺少岩藻糖。在一些实施方案中, 抗体包含 κ 轻链恒定区。在一些实施方案中, 抗体包含IgG1重链恒定区。在一些实施方案中, 与在Asn297经岩藻糖基化的具有相同氨基酸序列的抗体相比, 无岩藻糖基化抗体在体外和/或体内具有增强的ADCC (抗体依赖性细胞细胞毒性) 活性。在一些实施方案中, 与在位置Asn297经岩藻糖基化的具有相同氨基酸序列的抗体相比,

无岩藻糖基化抗体具有增强的对Fc γ RIIIA的亲和力。在一些实施方案中,与对照相比(例如与不靶向FGFR2的对照抗体相比),在小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型中,无岩藻糖基化抗体能增加肿瘤组织中的PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞和巨噬细胞中的一种或多种的数目。

[0023] 在一些实施方案中,FGFR2抑制剂是FGFR2 ECD,诸如FGFR2 ECD融合分子。FGFR2 ECD融合分子可包含融合配偶体,诸如Fc结构域、白蛋白或PEG。

[0024] 在一些实施方案中,且FGFR2抑制剂能结合至FGFR2以及具有活化突变(诸如FGFR2-S252W突变,其见于一些癌细胞中)的FGFR2突变体。

[0025] 在涉及FGFR2抗体的任一本文所述组合物或方法中,FGFR2抗体可为人源化抗体。在任一本文所述组合物或方法中,FGFR2抗体可选自Fab、Fv、scFv、Fab' 和 (Fab')₂。在任一本文所述组合物或方法中,FGFR2抗体可为嵌合抗体。在任一本文所述组合物或方法中,FGFR2抗体可选自IgA、IgG和IgD。在任一本文所述组合物或方法中,FGFR2抗体可为IgG。在任一本文所述方法中,抗体可为IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。

[0026] 在一些实施方案中,FGFR2抑制剂以至少0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、20或30mg/kg的剂量或在由那些剂量中的任两个界定的范围内的剂量施用。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂以至少0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、5或10mg/kg的剂量施用或以由这些剂量中的任两个界定的范围(例如以0.5-10mg/kg的范围)施用。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂和至少一种免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)是每1、2、3、4或5周至少一次施用。

[0027] 在一些实施方案中,癌症会过表达FGFR2IIIb,不论FGFR2基因扩增存在或不存在。在一些实施方案中,FGFR2IIIb过表达通过免疫组织化学(IHC)测定。举例来说,过表达可通过在至少10%肿瘤细胞中、诸如在至少20%、30%、40%或50%肿瘤细胞中1+、2+或3+的IHC信号来测定。

[0028] 在一些实施方案中,癌症选自胃癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、黑素瘤、头颈部鳞状细胞癌、卵巢癌、胰腺癌、肾细胞癌、肝细胞癌、膀胱癌、胆管癌、食管癌(包括胃食管接合部腺癌)和子宫内膜癌。在一些实施方案中,癌症经选自手术、化学疗法、放射疗法或其组合的疗法之后复发或进展。在一些实施方案中,受试者是PD-1/PD-L1抑制剂不充分反应者。在一些实施方案中,受试者先前曾接受PD-1/PD-L1抑制剂疗法。

[0029] 在一些实施方案中,治疗癌症的方法还包括施用至少一种选自以下的其他治疗剂:铂药剂、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、**ABRAXANE®**、多西他赛(docetaxel)、吉西他滨(gemcitabine)、卡培他滨(capecitabine)、伊立替康(irinotecan)、表柔比星(epirubicin)、FOLFOX、FOLFIRI、甲酰四氢叶酸、氟尿嘧啶、丝裂霉素C(mitomycin C)和盐酸多柔比星(doxorubicin hydrochloride)。在一些实施方案中,铂药剂选自顺铂(cisplatin)、奥沙利铂(oxaliplatin)和卡铂(carboplatin)。在一些实施方案中,治疗癌症的方法还包括施用太平洋紫杉醇。在一些实施方案中,治疗癌症的方法还包括施用顺铂和/或5-FU。

[0030] 在一些实施方案中,FGFR2抑制剂和PD-1/PD-L1抑制剂同时或依序施用。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂和免疫刺激剂同时施用。在一些实施方案中,在施用FGFR2抑制剂之前,施用一个或多个剂量的免疫刺激剂。在一些实施方案中,在施用FGFR2抑制剂之前,受试者接受免疫刺激剂疗法的完整疗程。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂是在免疫刺激剂疗法

的第二疗程期间施用。在一些实施方案中,在施用FGFR2抑制剂之前,受试者接受至少一个、至少两个、至少三个或至少四个剂量的免疫刺激剂。在一些实施方案中,至少一个剂量的免疫刺激剂是与FGFR2抑制剂同时施用。在一些实施方案中,一个或多个剂量的FGFR2抑制剂是在施用免疫刺激剂之前施用。在一些实施方案中,在施用免疫刺激剂之前,受试者可接受至少两个、至少三个、至少三个或至少四个剂量的FGFR2抑制剂。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂的至少一个剂量与免疫刺激剂同时施用。

[0031] 在一些实施方案中,在小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型中施用FGFR2抑制剂和PD-1/PD-L1抑制剂引起对肿瘤生长的加和或协同抑制。在一些实施方案中,模型是乳腺癌模型。在一些实施方案中,模型包含4T1细胞。

[0032] 在任一上述方法实施方案中,在小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型中,在至少1周、10天或2周的时段内,FGFR2抑制剂与PD-1/PD-L1抑制剂的组合可将肿瘤生长抑制(例如)至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在任一上述方法实施方案中,向受试者施用FGFR2抑制剂与免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)的组合可例如在至少1个月、2个月、3个月、6个月或1年的时段内将受试者的至少一个肿瘤的体积减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。

[0033] 在任一上述方法实施方案中,施用FGFR2抑制剂可显示在异种移植物和/或同源肿瘤模型中,在至少1天、至少4天、至少1周、至少10天或至少2周的时段内,与对照相比,NK细胞(诸如NKp46+细胞)增加、PD-L1表达细胞增加、巨噬细胞(诸如F480+巨噬细胞)增加、CD3+、CD8+和CD4+T细胞中的一种或多种增加,和/或肿瘤组织中淋巴系细胞与髓系细胞的比率增加,且增加例如至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些实施方案中,小鼠同源肿瘤模型是4T1乳房肿瘤模型。在一些实施方案中,对照是媒介物或是Ig-Fc分子或在模型中不抑制肿瘤生长的另一化合物。

[0034] 本文还提供增加癌症受试者的肿瘤组织中NK细胞、PD-L1阳性细胞、和/或CD3+、CD8+和/或CD8+T细胞和/或巨噬细胞的数目的方法、和/或增加癌症受试者的肿瘤组织中淋巴系细胞与髓系细胞的比率的方法,其包括向所述受试者施用有效量的FGFR2抑制性抗体,诸如前述段落中所述的FGFR2抗体中的任一种。在至少1天、至少4天、至少1周、至少10天或至少2周的时段内,与对照相比,肿瘤组织中CD3+、CD8+和CD4+T细胞中的一种或多种增加和/或淋巴系细胞与髓系细胞的比率增加,且增加例如至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些实施方案中,抗体可具有以下性质中的一个或多个:(a)在位置Asn297缺少岩藻糖;(b)包含 κ 轻链恒定区;(c)包含IgG1重链恒定区;(d)与在位置Asn297经岩藻糖基化的具有相同氨基酸序列的抗体相比,在体外具有增强的ADCC活性;和(e)与在位置Asn297经岩藻糖基化的具有相同氨基酸序列的抗体相比,具有增强的对Fc γ RIIIA的亲和力。在一些实施方案中,与对照相比(例如与不靶向FGFR2的对照抗体相比),在小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型中,无岩藻糖基化抗体能增加肿瘤组织中的PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞和巨噬细胞中的一种或多种的数目。在一些实施方案中,所述方法抑制肿瘤生长或使受试者的至少一个肿瘤的体积减小。在一些实施方案中,受试者患有乳腺癌、胃癌、非小细胞

肺癌、黑素瘤、头颈部鳞状细胞癌、卵巢癌、胰腺癌、肾细胞癌、肝细胞癌、膀胱癌、胆管癌、食管癌(包括胃食管接合部腺癌)和子宫内膜癌。在一些实施方案中,所述方法还包括在施用FGFR2抗体后,从受试者获得至少一个肿瘤样品和测定样品中NK细胞、PD-L1阳性细胞、和/或CD3⁺、CD8⁺和/或CD4⁺T细胞的数目,且如果一种或多种那些类型的细胞的数目相对于FGFR2抗体施用之前的样品或相对于来自受试者的非肿瘤样品是增加的,则向受试者施用PD-1/PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,所述方法还包括在施用FGFR2抗体后,从受试者获得至少一个肿瘤样品和测定样品中淋巴系细胞与髓系细胞的比率,如果比率相对于FGFR2抗体施用之前的样品或相对于来自受试者的非肿瘤样品是增加的,则向受试者施用至少一种。这些方法的至少一种免疫刺激剂(诸如至少一种PD-1/PD-L1抑制剂)可为前述段落中所述或下文标题为“与其他免疫刺激剂的组合”的章节中阐述的那些中的任一种。在一些实施方案中,可向患者施用FGFR2抑制剂、PD-1/PD-L1抑制剂和至少一种其他免疫刺激剂的组合。

[0035] 本文还提供治疗受试者的癌症的方法,其包括向受试者施用FGFR2抑制剂,且如果受试者经测定相对于对照(诸如FGFR2抗体施用之前的样品)或相对于来自受试者的非肿瘤样品具有增加的NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3⁺T细胞、CD8⁺T细胞和/或CD4⁺T细胞数目,则向受试者施用至少一种免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)。本文还提供治疗受试者的癌症的方法,其包括向受试者施用FGFR2抑制剂,且如果受试者经测定相对于对照(诸如FGFR2抗体施用之前的样品)或相对于来自受试者的非肿瘤样品具有增加的淋巴系细胞与髓系细胞的比率,则向受试者施用至少一种免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)。在此类方法中,FGFR2抑制剂和免疫刺激剂可为前述段落中或下文标题为“与其他免疫刺激剂的组合”的章节中阐述的那些中的任一种。此外,FGFR2和免疫刺激剂施用可根据前述方法,其中直至施用FGFR2抑制剂的至少一个剂量,才开始免疫刺激剂的施用。在此类情形下,用于测定NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3⁺、CD8⁺和/或CD4⁺T细胞、淋巴和/或髓系细胞的数目的测试可(例如)在已开始FGFR2抑制剂施用之后、但在开始FGFR2和免疫刺激剂组合施用之前进行。

[0036] 还提供包含任一本文所述FGFR2抑制剂和任一本文所述免疫刺激剂的组合物。在此类组合物中,FGFR2抑制剂和至少一种免疫刺激剂可位于单独容器或同一容器的单独隔室中,或另一选择为,其可一起混合至同一容器或隔室中。此类组合物可用于(例如)治疗癌症,诸如上述癌症中的任一种。在一些实施方案中,还可包括使用说明书,诸如用于治疗癌症的使用说明书。

[0037] 本文还提供增加癌症受试者的肿瘤组织中的PD-L1阳性细胞、NK细胞、巨噬细胞、CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞中的一种或多种的数目的方法,其包括施用FGFR2抑制剂,其中抑制剂是具有增强的ADCC活性的FGFR2抗体。在一些此类实施方案中,免疫刺激剂未与FGFR2抗体一起施用。在一些此类实施方案中,与对照相比,在小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型中,施用FGFR2抗体会增加肿瘤组织中PD-L1阳性细胞、NK细胞、巨噬细胞、CD3⁺T细胞、CD8⁺T细胞和CD4⁺T细胞中的一种或多种的数目,和/或增加肿瘤组织中淋巴系细胞与髓系细胞的比率。在一些此类实施方案中,受试者患有乳腺癌、胃癌、非小细胞肺癌、黑素瘤、头颈部鳞状细胞癌、卵巢癌、胰腺癌、肾细胞癌、肝细胞癌、膀胱癌、胆管癌、食管癌(包括胃食管接合部腺癌)或子宫内膜癌,诸如患有膀胱癌。

[0038] 在上述方法中,FGFR2抗体可为FGFR2-IIIb抗体,其可具有以下性质中的一个或多个:(a)以高于与FGFR2-IIIc的亲和力结合至FGFR2-IIIb或无法检测到地结合至FGFR2-IIIc;(b)抑制FGF2和/或FGF7与人FGFR2的结合;(c)在小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型中抑制人类肿瘤的生长;(d)诱导ADCC活性;(e)具有增强的ADCC活性;和(f)无岩藻糖基化。

[0039] 在上述方法的一些实施方案中,FGFR2抗体包含重链和轻链可变区,其中重链可变区包含:(i)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;(ii)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;和(iii)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3;且轻链可变区包含:(iv)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;(v)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2;和(vi)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。

[0040] 在一些情形下,FGFR2抗体的重链可变结构域包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列,和/或FGFR2抗体的轻链可变结构域包含与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些情形下,FGFR2抗体的重链可变结构域包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列,和/或FGFR2抗体的轻链可变结构域包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。在一些情形下,FGFR2抗体的重链包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列,和/或FGFR2抗体的轻链包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些情形下,FGFR2抗体的重链包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列,和/或FGFR2抗体的轻链包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列。在一些情形下,FGFR2抗体是嵌合、人源化或人抗体。在一些实施方案中,FGFR2抗体选自Fab、Fv、scFv、Fab'和(Fab')₂。在一些实施方案中,FGFR2抗体具有以下性质中的一个或多个:(a)在位置Asn297无岩藻糖;(b)包含κ轻链恒定区;(c)包含IgG1重链恒定区;(d)与在位置Asn297经岩藻糖基化的具有相同氨基酸序列的抗体相比,在体外具有增强的ADCC活性;和(e)与在位置Asn297经岩藻糖基化的具有相同氨基酸序列的抗体相比,具有增强的对FcγRIIIA的亲和力。在一些实施方案中,与对照相比(例如与不靶向FGFR2的对照抗体相比),在小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型中,无岩藻糖基化抗体能增加肿瘤组织中的PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞和巨噬细胞中的一种或多种的数目。

[0041] 在本发明内部分中所述的任一方法或用途中,癌症先前测定会过表达FGFR2IIIb,不论FGFR2基因扩增存在或不存在。或者,此部分中所述的任一方法或用途中,所述方法可还包括例如在施用FGFR2抑制剂之前测试受试者的癌症,以确定癌症是否过表达FGFR2IIIb和/或确定FGFR2基因是否在肿瘤细胞中扩增。在任一情形下,FGFR2IIIb可任选地通过免疫组织化学(IHC)测定且FGFR2基因扩增可任选地通过荧光原位杂交(FISH)、例如使用FGFR2基因座和上面定位有FGFR2基因的染色体10的着丝粒的探针来测定。在一些实施方案中,至少10%肿瘤细胞、诸如至少20%、30%、40%或50%肿瘤细胞中1+、2+或3+的IHC信号指示FGFR2IIIb的过表达。在一些实施方案中,FGFR2与染色体10的着丝粒(CEN10)比率大于或等于2指示FGFR2基因经扩增。

[0042] 在患者患有胃癌或膀胱癌的一些实施方案中,受试者可能先前经测定以具有以下特性中的一者,或另一选择为治疗方法包括确定患者关于FGFR2表达/基因扩增是否符合以下特性,且其可指示对治疗的预计反应程度:a)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为3+;b)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为3+,以及FGFR2基因扩增;c)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为3+而无FGFR2

基因扩增;d)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为1+或2+;e)在膀胱癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为1+;f)在膀胱癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为2+;g)在膀胱癌受试者的情形下,H评分大于20;h)在膀胱癌受试者的情形下,H评分为10-19;i)在膀胱癌受试者的情形下,H评分小于10。

[0043] 本公开还提供测定对上述FGFR2抑制剂、治疗和用途中任一者的反应的方法。所述方法可包括测试受试者的癌症以确定癌症是否过表达FGFR2IIIb和/或确定FGFR2基因是否在肿瘤细胞中扩增。FGFR2IIIb的过表达可任选地通过免疫组织化学(IHC)测定且FGFR2基因扩增可任选地通过荧光原位杂交(FISH)、例如使用FGFR2基因座和上面定位有FGFR2基因的染色体10的着丝粒的探针来测定。在一些实施方案中,至少10%肿瘤细胞、诸如至少20%、30%、40%或50%肿瘤细胞中1+、2+或3+的IHC信号指示FGFR2IIIb的过表达。在一些实施方案中,FGFR2与染色体10的着丝粒(CEN10)比率大于或等于2指示FGFR2基因经扩增。

[0044] 在患者患有胃癌或膀胱癌的一些实施方案中,所述方法可包括确定患者的癌症是否属以下类别中的一者,其可指示对治疗或FGFR2抑制剂组合物的反应:a)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为3+;b)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为3+以及FGFR2基因扩增;c)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为3+而无FGFR2基因扩增;d)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为1+或2+;e)在膀胱癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为1+;f)在膀胱癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为2+;g)在膀胱癌受试者的情形下,H评分大于20;h)在膀胱癌受试者的情形下,H评分为10-19;i)在膀胱癌受试者的情形下,H评分小于10。

[0045] 应理解,前述一般说明和以下详细说明两者皆仅为示例性和解释性且并不限制权利要求书。本文所用的标题部分仅出于组织目的,且不应理解为限制所述目标物。本文所引用的所有参考文献(包括专利申请和公开)的全文出于任一目的皆以引用方式并入本文中。

[0046] 附图简述

[0047] 图1a-1b显示BALB/c小鼠中在用Ig-Fc对照、包含SEQ ID NO:6-11的重链和轻链HVR的无岩藻糖基化抗FGFR2b抗体(抗FGFR2)、或具有相同氨基酸序列只是在氨基酸位置297用Q取代N以消除效应子功能的抗FGFR2b抗体(抗FGFR2-N297Q)处理后植入乳房4T1肿瘤细胞的体积变化。(关于该突变的绘示,参见下文序列表中的SEQ ID NO:12)。如图1a和图1b二者中所示,仅抗FGFR2抗体显示4T1肿瘤生长抑制。通过单向ANOVA、之后Tukey多重比较测试测定统计显著性($P<0.05=*$; $P<0.01=**$; $P<0.001=***$; $P<0.001=****$)。

[0048] 图2a-2d显示在第1天、即在经媒介物对照或抗FGFR2的单个剂量处理后1天(图2a和2c)、或在第4天、即在第0天和第3天给予媒介物对照或抗FGFR2的两次处理的第二次之后1天(图2b和2d),与细胞核的DAPI染色比较的存在NKp46(图2a-2b)或PD-L1(图2c-2d)的4T1肿瘤细胞的染色的结果。每一图像是取自不同肿瘤且图像是使用10倍物镜采集。与媒介物相比,在第1天和第4天二者用抗FGFR2处理增加4T1肿瘤中NKp46+细胞的数目(图2a-2b),且与媒介物相比,在第1天和第4天二者,增加PD-L1+细胞的数目(图2c-2d)。

[0049] 图3显示在第4天小鼠4T1肿瘤中抗FGFR2暴露对NKp46+细胞数目的效应的分析。与媒介物对照相比,用抗FGFR2处理增加肿瘤中的NK细胞,通过t检验, $P<0.05$ 。

[0050] 图4a-4b显示雌性BALB/c小鼠中在用Ig-Fc对照、抗PD-1抗体、命名为抗FGFR2的无

岩藻糖基化抗FGFR2b抗体处理后和在用抗PD-1抗体和无岩藻糖基化抗FGFR2b抗体的组合处理后植入乳房4T1肿瘤体积的变化。在每一图中,肿瘤体积是平均值 $\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$ 显示。如图4a中所示,直至第18天,与对照和单独任何抗体相比,抗FGFR2 (10mg/kg BIW) 与抗PD1抗体 (5mg/kg BIW) 的组合引起4T1肿瘤生长的显著抑制。如图4b中所示,在肿瘤植入后18天,与Ig-Fc对照或抗PD1抗体相比,组合显示4T1肿瘤中统计上显著的生长抑制。通过单向ANOVA、之后Tukey多重比较测试测定统计显著性

[0051] 图5a-5b显示在第1天(图5a)、即在经媒介物对照或抗FGFR2或抗FGFR2 N297Q单个剂量处理后1天、或在第4天、即在第0天和第3天给予媒介物对照或抗FGFR2的两次处理的第二次之后1天(图5b),存在NKp46细胞或PD-L1+细胞或CD3+T细胞的4T1肿瘤细胞的染色的结果。每一图像是取自不同肿瘤且图像是使用10倍物镜采集。与媒介物相比,在第1天和第4天二者,用抗FGFR2处理增加4T1肿瘤中NKp46+细胞的数目,且与媒介物相比,在第1天和第4天二者,增加PD-L1+细胞的数目,其中第4天可见的细胞数目大于第1天。截至用抗FGFR2处理后第4天,CD3+T细胞还浸润肿瘤。

[0052] 图6a-6b显示在处理方案的第4天毗邻细胞核的DAPI染色的存在CD3+和CD8+T细胞(图6a)或CD3+和CD4+T细胞(图6b)的4T1肿瘤细胞的染色的结果。图像显示与媒介物对照和经抗FGFR2N297Q处理相比,截至第4天,用抗FGFR2处理导致肿瘤组织中所有三种类型的T细胞的数目皆增加。

[0053] 图7a-7b分别显示在第1天和第4天4T1同源肿瘤模型中肿瘤细胞的FACS分析的结果。CD3+T细胞是针对每一处理组以CD45+活的单细胞的百分比提供。如图中所示,抗FGFR2组显示与媒介物对照和抗FGFR2 N297Q组二者相比,截至第4天,CD3+T细胞的百分比增加。根据student T检验,增加还是统计上显著的,如由符号**所指明,指示 $P \leq 0.01$ 。

[0054] 图8a-8b分别显示在第1天和第4天4T1同源肿瘤模型中肿瘤细胞的FACS分析的结果。CD8+T细胞是针对每一处理组以CD45+活的单细胞的百分比提供。如图中所示,抗FGFR2组显示与媒介物对照和抗FGFR2 N297Q组二者相比,截至第4天,CD8+T细胞的百分比增加。根据student T检验,增加还是统计上显著的,如由符号**所指明,指示 $P \leq 0.01$ 。

[0055] 图9a-9b分别显示在第1天和第4天4T1同源肿瘤模型中肿瘤细胞的FACS分析的结果。CD4+T细胞是针对每一处理组以CD45+活的单细胞的百分比提供。如图中所示,抗FGFR2组显示与媒介物对照和抗FGFR2 N297Q组二者相比,截至第4天,CD4+T细胞的百分比增加。根据student T检验,增加还是统计上显著的,如由符号*所指明,指示 $P \leq 0.5$ 。

[0056] 图10a-10c显示第4天4T1同源肿瘤模型中肿瘤细胞的FACS分析的其他结果。在图10a中,NKp46+细胞是针对每一处理组以CD45+活的单细胞的百分比提供。该图显示根据student T检验,与其他组相比,抗FGFR2组中NKp46+细胞在统计上显著增加,其中*表示 $P \leq 0.5$,**表示 $P \leq 0.01$,且***表示 $P \leq 0.001$ 。图10b和10c显示与其他组相比,抗FGFR2组中髓系细胞显著减少,而淋巴系细胞显著增加,在用抗FGFR2处理后第4天,淋巴系细胞与骨髓系细胞的比率增加,

[0057] 图11显示在用媒介物对照(顶部图)、抗FGFR2抗体(中间图)或抗FGFR2-N297Q抗体(底部图)处理后1或4天小鼠同源肿瘤模型中4T1肿瘤组织的染色。图像显示利用抗F480抗体的染色以观察F480+巨噬细胞至肿瘤组织中的浸润和细胞核的相应DAPI染色。如自图可见,与对照相比,在抗FGFR2处理后,F480+巨噬细胞远更众多(比较第4天的顶部图和中间

图)。在对照与抗FGFR2-N297Q组之间未观察到差异(比较第4天的顶部图和底部图)。图像是使用10倍物镜采集。

[0058] 图12显示在用各种抗体处理后4天小鼠同源肿瘤模型中4T1肿瘤组织的染色:对照抗体(Fc-G1抗体)(顶部图)、兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体-意欲减少NKp46细胞的数目(第二排图)、抗FGFR2抗体(第三排图)和抗FGFR2抗体加上抗缺乏唾液酸基的GM1抗体的组合(底部图)。将组织分别用NKp46的试剂或DAPI染色以对细胞核进行染色(分别左侧图和右侧图)。抗缺乏唾液酸基的GM1抗体是以1.25mg/kg投用且抗FGFR2抗体是以10mg/kg投用。图像是使用10倍物镜采集。如四个不同NKp46染色组中可见,抗缺乏唾液酸基的GM1抗体耗尽肿瘤组织中的NKp46细胞,而抗FGFR2抗体增加NKp46细胞的数目。(比较顶部图和第三排左侧图)。与单独抗缺乏唾液酸基的GM1抗体相比(但不与对照相比),抗FGFR2抗体与抗缺乏唾液酸基的GM1抗体组合会增加NKp46细胞的数目,指示在NKp46细胞因竞争抗体的存在而耗尽时,抗FGFR2抗体可增加肿瘤组织中那些细胞的数目。(比较顶部、第二排和底部左侧图)。

[0059] 图13显示在用对照抗体(Fc-G1抗体)(顶部图)、兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体(第二排图)、抗FGFR2抗体(第三排图)和抗FGFR2抗体加上抗缺乏唾液酸基的GM1抗体的组合(底部图)处理后4天小鼠同源肿瘤模型中4T1肿瘤组织的CD3+T细胞的染色和细胞核的相应DAPI染色。抗缺乏唾液酸基的GM1抗体是以1.25mg/kg投用且抗FGFR2抗体是以10mg/kg投用。图像是使用10倍物镜采集。如通过比较该图的四个左侧组可见,用抗FGFR2抗体处理增加肿瘤组织中CD3+T细胞的数目,但此时未与抗缺乏唾液酸基的GM1抗体一起施用。

[0060] 图14显示在用对照抗体(Fc-G1抗体)(顶部图)、兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体(第二排图)、抗FGFR2抗体(第三排图)和抗FGFR2抗体加上抗缺乏唾液酸基的GM1抗体的组合(底部图)处理后4天小鼠同源肿瘤模型中4T1肿瘤组织的PD-L1阳性细胞的染色和细胞核的相应DAPI染色。抗缺乏唾液酸基的GM1抗体是以1.25mg/kg投用且抗FGFR2抗体是以10mg/kg投用。图像是使用10倍物镜采集。如通过比较该图的四个左侧组可见,用抗FGFR2抗体处理增加肿瘤组织中PD-L1阳性细胞的数目,但此时未与抗缺乏唾液酸基的GM1抗体一起施用。

[0061] 图15a和15b显示在接种磷酸盐缓冲盐水(PBS)对照、抗FGFR2抗体、抗缺乏唾液酸基的GM1抗体或抗FGFR2和抗缺乏唾液酸基的GM1抗体的组合后小鼠中4T1正位肿瘤的生长。图15a显示接种后12和15天的肿瘤体积。图15b显示接种后15天每一组中个别小鼠的肿瘤体积的图。该图显示根据student T检验,与对照和抗缺乏唾液酸基的GM1组相比,抗FGFR2组的肿瘤体积在统计上显著减小,其中*表示 $P \leq 0.5$ 且**表示 $P \leq 0.01$,以及接受单独抗FGFR2抗体的组与接受抗FGFR2与抗缺乏唾液酸基的GM1抗体的组合的组之间的肿瘤体积在统计上显著改变。

[0062] 图16a、b、c和d显示在接种媒介物对照或抗FGFR2抗体后、直至接种肿瘤细胞后27天SCID小鼠中4T1正位肿瘤的生长。图16a显示随时间的肿瘤体积。图下方的箭头显示在接种后第12天和第15天投用媒介物或20mg/kg抗FGFR2抗体。星号(*)表示根据student T检验以 $P \leq 0.5$ 水平在媒介物或抗FGFR2抗体下肿瘤生长间存在统计上显著差异。图16b绘示接种后第19天每一组中个别小鼠的肿瘤体积。星号(*)表示根据student T检验以 $P \leq 0.5$ 水平两个组中存在肿瘤生长的统计上显著差异。图16c绘示接种后第23天每一组中个别小鼠的肿瘤体积。星号(*)表示根据student T检验以 $P \leq 0.5$ 水平两个组中存在肿瘤生长的统计上显著差异。图16d绘示接种后第27天每一组中个别小鼠的肿瘤体积。

[0063] 发明详述

[0064] 定义

[0065] 除非另有定义,否则结合本发明使用的科学和技术术语应具有本领域技术人员通常所理解的含义。此外,除非上下文另有需要,否则单数术语应包括复数形式且复数术语应包括单数形式。

[0066] 结合重组体DNA、寡核苷酸合成、组织培养和转型(例如,电穿孔、脂转染)、酶促反应和纯化技术使用的例示性技术为本领域已知。许多所述技术和程序阐述于(例如) Sambrook等人Molecular Cloning:A Laboratory Manual(第2版,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y. (1989)) 和其他地方中。另外,用于化学合成、化学分析、药物制备、配制、和递送、和患者的治疗的例示性技术还为本领域已知。

[0067] 在本申请中,除非另外陈述,否则使用“或”意指“和/或”。在多重附属权利要求书情况下,使用“或”以仅选择一个的方式回指一个以上前述独立或附属权利要求书。同时,除非另外明确说明,否则诸如“要素”或“组份”等术语涵盖包含一个单元的要素和组份和包含一个以上亚单元的要素和组份两种情况。

[0068] 如根据本公开所用,除非另外指示,否则以下术语应理解为具有以下含义:

[0069] 术语“核酸分子”和“多核苷酸”可互换使用,且是指核苷酸的聚合物。所述核苷酸的聚合物可含有天然和/或非天然核苷酸,且包括(但不限于) DNA、RNA和PNA。“核酸序列”是指包含核酸分子的核苷酸或多核苷酸的线性序列。

[0070] 术语“多肽”和“蛋白质”可互换使用,是指氨基酸残基的聚合物,且并不限于最小长度。氨基酸残基的所述聚合物可含有天然或非天然氨基酸残基,且包括(但不限于)氨基酸残基的肽、寡肽、二聚体、三聚体和多聚体。该定义涵盖所述全长蛋白质及其片段二者。所述术语还包括多肽的表达后修饰,例如糖基化、唾液酸化、乙酰化、磷酸化及诸如此类。此外,出于本发明的目的,“多肽”是指包括针对天然序列的修饰(诸如缺失、添加和取代(通常本质上保守))的蛋白质,只要蛋白质维持期望活性即可。所述修饰可为蓄意的,如经由定点诱变,或可为偶然的,诸如经由产生蛋白质的主体的突变或由于PCR扩增的误差。

[0071] “FGFR2”是指纤维母细胞生长因子受体2,包括其选择式剪接形式(诸如IIIa、IIIb和IIIc剪接形式)中的任一者。术语FGFR2涵盖野生型FGFR2和天然突变体形式,诸如FGFR2活化突变体形式,诸如FGFR2-S252W,其在一些癌细胞中发现。“FGFR2-IIIb”或“FGFR2b”可互换使用,是指纤维母细胞生长因子受体2IIIb剪接形式。例示性人FGFR2-IIIb显示于2013年7月7日的GenBank登录号NP_075259.4中。非限制性例示性成熟人FGFR2-IIIb氨基酸序列显示于SEQ ID NO:1中。“FGFR2-IIIc”或“FGFR2c”可互换使用,是指纤维母细胞生长因子受体2IIIc剪接形式。例示性人FGFR2-IIIc显示于2013年7月7日的GenBank登录号NP_000132.3中。非限制性例示性成熟FGFR2-IIIc氨基酸序列显示于SEQ ID NO:12中。

[0072] “FGFR2 ECD”是指FGFR2的细胞外结构域,包括其天然和经改造变体。FGFR2 ECD的非限制性实例包括SEQ ID NO:13-23、29和32。“FGFR2 ECD融合分子”是指包含FGFR2 ECD和融合配偶体(诸如Fc结构域、白蛋白或PEG)的分子。融合配偶体可共价附接至(例如)FGFR2 ECD的N-或C-末端或内部位置。FGFR2 ECD融合分子的非限制性实例包括SEQ ID NO:30、31和33。

[0073] “FGFR2抑制剂”是指抑制FGFR2与其一种或多种配体(诸如FGF1、FGF7和/或FGF2)

结合的分子,诸如结合FGFR2的抗体、或诸如FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子。在一些实施方案中,且FGFR2抑制剂能结合至FGFR2以及具有活化突变的FGFR2突变体,诸如FGFR2-S252W。

[0074] 如本文所用术语“免疫刺激剂”是指通过用作免疫刺激性分子(包括共刺激性分子)的激动剂、或用作免疫抑制性分子(包括共抑制性分子)的拮抗剂刺激免疫系统的分子。免疫刺激剂可为生物的,诸如抗体或抗体片段、其他蛋白质或疫苗,或可为小分子药物。

[0075] 术语“程序性细胞死亡蛋白1”和“PD-1”是指属CD28家族的免疫抑制性受体。PD-1主要在先前活化的T细胞上体内表达,且结合至两个配体,即PD-L1和PD-L2。如本文所用术语“PD-1”包括人PD-1(hPD-1)、hPD-1的变体、同种型和物种同系物、和与hPD-1具有至少一个共享表位的类似物。完全hPD-1序列可参见GenBank登录号U64863。在一些实施方案中,PD-1是具有SEQ ID NO:34(前体,具有信号序列)或SEQ ID NO:35(成熟,无信号序列)的氨基酸序列的人PD-1。

[0076] 术语“程序性细胞死亡蛋白1配体1”和“PD-L1”是指在结合至PD-1时下调T细胞活化和细胞因子分泌的PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体中的一者(另一者是PD-L2)。如本文所用术语“PD-L1”包括人PD-L1(hPD-L1)、hPD-L1的变体、同种型和物种同系物和与hPD-L1具有至少一个共享表位的类似物。完全hPD-L1序列可参见GenBank登录号Q9NZQ7。在一些实施方案中,PD-L1是具有SEQ ID NO:37(前体,具有信号序列)或SEQ ID NO:38(成熟,无信号序列)的氨基酸序列的人PD-L1。

[0077] 术语“PD-1/PD-L1抑制剂”是指破坏PD-1/PD-L1信号传导路径的部分。在一些实施方案中,抑制剂通过结合至PD-1和/或PD-L1抑制PD-1/PD-L1信号传导路径。在一些实施方案中,抑制剂还结合至PD-L2。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂抑制PD-1结合至PD-L1和/或PD-L2。非限制性例示性PD-1/PD-L1抑制剂包括结合至PD-1的抗体;结合至PD-L1的抗体;PD-1融合分子,诸如AMP-224;和PD-1多肽,诸如AUR-012。

[0078] 术语“抑制PD-1的抗体”是指结合至PD-1或结合至PD-L1且从而抑制PD-1和/或PD-L1信号传导的抗体。在一些实施方案中,抗体抑制PD-1结合至PD-1且阻断PD-L1和/或PD-L2结合至PD-1。在一些实施方案中,抗体抑制PD-1结合至PD-L1且阻断PD-1结合至PD-L1。抑制PD-1且结合至PD-L1的抗体可称作抗PD-L1抗体。抑制PD-1且结合至PD-1的抗体可称作抗PD-1抗体。

[0079] 在提及FGFR2抗体、FGFR2 ECD和FGFR2 ECD融合分子时,术语“阻断配体的结合”或“抑制配体的结合”是指抑制FGFR2与FGFR2配体(诸如FGF1或FGF2)之间的相互作用的能力。所述抑制可经由任何机制发生,包括直接干扰配体结合,例如由于FGFR2上的重迭结合位点、和/或由改变配体亲和力的抗体诱导的FGFR2的构象变化,例如在FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子情形下,通过竞争结合至FGFR2配体。

[0080] 在提及抗PD-1抗体和PD-1融合分子或多肽时,术语“阻断配体(诸如PD-L1)的结合”或“抑制配体(诸如PD-L1)的结合”及其语法变化形式是指抑制PD-1与PD-1配体(诸如PD-L1)之间的相互作用的能力。所述抑制可经由任何机制发生,包括直接干扰配体结合,例如由于PD-1上的重迭结合位点、和/或由改变配体亲和力的抗体诱导的PD-1的构象变化等,或通过竞争结合PD-1配体。

[0081] 如本文所用术语“抗体”是指至少包含重链的高变区(HVR)H1、H2和H3和轻链的L1、

L2和L3的分子,其中所述分子能结合至抗原。术语抗体包括(但不限于)能结合抗原的片段,诸如Fv、单链Fv(scFv)、Fab、Fab'和(Fab')₂。术语抗体还包括(但不限于)嵌合抗体、人源化抗体、人抗体和各种物种(诸如小鼠、人、食蟹猴等)的抗体。其还包括偶联至其他分子(诸如小分子药物、双特异性抗体和多特异性抗体)的抗体。

[0082] 术语“重链可变区”是指包含重链HVR1、框架(FR)2、HVR2、FR3和HVR3的区。在一些实施方案中,重链可变区还包含FR1的至少一部分和/或FR4的至少一部分。

[0083] 术语“重链恒定区”是指包含至少三个重链恒定结构域(C_H1、C_H2和C_H3)的区。非限制性例示性重链恒定区包括γ、δ和α。非限制性例示性重链恒定区还包括ε和μ。每一重恒定区对应于抗体同种型。举例来说,包含γ恒定区的抗体是IgG抗体,包含δ恒定区的抗体是IgD抗体,且包含α恒定区的抗体是IgA抗体。此外,包含μ恒定区的抗体是IgM抗体,且包含ε恒定区的抗体是IgE抗体。某些同种型可进一步细分成子类。举例来说,IgG抗体包括(但不限于)IgG1(包含γ₁恒定区)、IgG2(包含γ₂恒定区)、IgG3(包含γ₃恒定区)和IgG4(包含γ₄恒定区)抗体;IgA抗体包括(但不限于)IgA1(包含α₁恒定区)和IgA2(包含α₂恒定区)抗体;且IgM抗体包括(但不限于)IgM1和IgM2。

[0084] 术语“重链”是指至少包含重链可变区且具有或无前导序列的多肽。在一些实施方案中,重链包含重链恒定区的至少一部分。术语“全长重链”是指包含重链可变区和重链恒定区且具有或无前导序列的多肽。

[0085] 术语“轻链可变区”是指包含轻链HVR1、框架(FR)2、HVR2、FR3和HVR3的区。在一些实施方案中,轻链可变区还包含FR1和/或FR4。

[0086] 术语“轻链恒定区”是指包含轻链恒定结构域C_L的区。非限制性例示性轻链恒定区包括λ和κ。

[0087] 术语“轻链”是指至少包含轻链可变区且具有或无前导序列的多肽。在一些实施方案中,轻链包含轻链恒定区的至少一部分。术语“全长轻链”是指包含轻链可变区和轻链恒定区且具有或无前导序列的多肽。

[0088] 术语“高变区”或“HVR”是指抗体可变结构域区中序列具有高变性和/或形成结构上经界定的环(“高变环”)中的每一者。通常,天然四链抗体包含六个HVR;三个位于V_H中(H1、H2、H3),且三个位于V_L中(L1、L2、L3)。HVR通常包含来自高变环和/或来自“互补决定区”(CDR)的氨基酸残基,后者具有最高序列可变性和/或参与抗原识别。例示性高变环出现于氨基酸残基26-32(L1)、50-52(L2)、91-96(L3)、26-32(H1)、53-55(H2)和96-101(H3)。(Chothia和Lesk,J.Mol.Biol.196:901-917(1987)。)例示性CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)出现于L1的氨基酸残基24-34、L2的50-56、L3的89-97、H1的31-35B、H2的50-65和H3的95-102。(Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991))。术语高变区(HVR)和互补决定区(CDR)二者皆是指可变区中形成抗原结合区的部分。

[0089] “亲和力”或“结合亲和力”是指分子(例如,抗体)的单一结合位点与其结合配偶体(例如,抗原)间的非共价相互作用的总强度。在一些实施方案中,“结合亲和力”是指反映结合对的成员(例如,抗体与抗原)之间的1:1相互作用的固有结合亲和力。分子X对于其配偶体Y的亲和力通常可表示为解离常数(K_d)。

[0090] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指以下细胞毒性形式：其中结合至存在于某些细胞毒性细胞（例如NK细胞、嗜中性球和巨噬细胞）上的Fc受体（FcR）的经分泌Ig使所述细胞毒性效应细胞能够特异性地结合至带有抗原的靶细胞且随后利用细胞毒素杀灭所述靶细胞。用于介导ADCC的原代细胞（NK细胞）仅表达Fc γ RIII，而单核球表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。FcR于造血细胞上的表达汇总于Ravetch和Kinet, Annu.Rev.Immunol 9:457-92 (1991) 的第464页表3中。为了评价所关注分子的ADCC活性，可实施体外ADCC测定，诸如阐述于美国专利第5,500,362号或第5,821,337号或美国专利第6,737,056号 (Presta) 中的测定。用于此类测定的可用效应细胞包括PBMC和NK细胞。另一选择为或另外，可在体内（诸如在诸如公开于Clynes等人, Proc.Natl.Acad.Sci. (USA) 95:652-656 (1998) 中的动物模型等动物模型中）评价所关注分子的ADCC活性。具有改变Fc区氨基酸序列和增加或降低ADCC活性的其他抗体阐述于（例如）美国专利第7,923,538号和美国专利第7,994,290号中。

[0091] 具有“增强的ADCC活性”的抗体是指与亲代抗体相比更有效在体外或体内介导ADCC的抗体，其中抗体与亲代抗体的至少一个结构方面不同，且此时测定中所用的所述抗体和亲代抗体的量基本上相同。在一些实施方案中，抗体与亲代抗体具有相同氨基酸序列，但抗体无岩藻糖基化，而亲代抗体经岩藻糖基化。在一些实施方案中，ADCC活性将使用诸如美国公开第2015-0050273-A1号中所公开的体外ADCC测定来测定，但涵盖例如动物模型等中用于测定ADCC活性的其他测定或方法。在一些实施方案中，具有增强的ADCC活性的抗体还具有增强的对Fc γ RIIIA的亲合力。在一些实施方案中，具有增强的ADCC活性的抗体具有增强的对Fc γ RIIIA (V158) 的亲合力。在一些实施方案中，具有增强的ADCC活性的抗体具有增强的对Fc γ RIIIA (F158) 的亲合力。

[0092] “增强的对Fc γ RIIIA的亲合力”是指较亲代抗体对Fc γ RIIIA（在一些情况下，也称作CD16a）具有更大亲和力的抗体，其中抗体与亲代抗体的至少一个结构方面不同。在一些实施方案中，抗体与亲代抗体具有相同氨基酸序列，但抗体无岩藻糖基化，而亲代抗体经岩藻糖基化。可使用用于测定对Fc γ RIIIA的亲合力的任何适宜方法。在一些实施方案中，通过美国公开第2015-0050273-A1号中所述的方法测定对Fc γ RIIIA的亲合力。在一些实施方案中，具有增强的对Fc γ RIIIA的亲合力的抗体还具有增强的ADCC活性。在一些实施方案中，具有增强的对Fc γ RIIIA的亲合力的抗体具有增强的对Fc γ RIIIA (V158) 的亲合力。在一些实施方案中，具有增强的对Fc γ RIIIA的亲合力的抗体具有增强的对Fc γ RIIIA (F158) 的亲合力。

[0093] 如本文所用“嵌合抗体”是指包含第一物种（诸如小鼠、大鼠、食蟹猴等）的至少一个可变区和第二物种（诸如人、食蟹猴等）的至少一个恒定区的抗体。在一些实施方案中，嵌合抗体包含至少一个小鼠可变区和至少一个人类恒定区。在一些实施方案中，嵌合抗体包含至少一个食蟹猴可变区和至少一个人类恒定区。在一些实施方案中，嵌合抗体包含至少一个大鼠可变区和至少一个小鼠恒定区。在一些实施方案中，嵌合抗体的所有可变区皆是来自第一物种，且嵌合抗体的所有恒定区皆是来自第二物种。

[0094] 如本文所用“人源化抗体”是指其中非人类可变区的框架区中的至少一个氨基酸经人类可变区的相应氨基酸置换的抗体。在一些实施方案中，人源化抗体包含至少一个人类恒定区或其片段。在一些实施方案中，人源化抗体是Fab、scFv、(Fab')₂等。

[0095] 如本文所用“人抗体”是指人体中产生的抗体、非人类动物中产生的抗体(其包含人免疫球蛋白基因,诸如XenoMouse®)和使用体外方法(诸如噬菌体展示)选择的抗体,其中抗体谱是基于人免疫球蛋白序列。

[0096] “无岩藻糖基化”抗体或“缺少岩藻糖”的抗体是指在其恒定区糖基化中缺少岩藻糖的IgG1或IgG3同种型抗体。人IgG1或IgG3的糖基化发生在Asn297(N297),其作为核心岩藻糖化二支链复杂寡糖糖基化,末端为最多2个Gal残基。在一些实施方案中,无岩藻糖基化抗体在Asn297缺少岩藻糖。依末端Gal残基数而定,该结构命名为G0、G1(α 1,6或 α 1,3)或G2聚糖残基。参见(例如)Raju,T.S.,BioProcess Int.1:44-53(2003)。抗体Fc的CHO型糖基化阐述于(例如)Routier,F.H.,Glycoconjugate J.14:201-207(1997)中。在抗体的群体内,如果群体的抗体的<5%在Asn297包含岩藻糖,则将抗体视为无岩藻糖基化。

[0097] “效应子功能”是指可归因于抗体的Fc区的生物学活性,其可随抗体同种型而变化。抗体效应子功能的实例包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体)的下调;和B细胞活化。

[0098] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指以下细胞毒性形式:其中结合至存在于某些细胞毒性细胞(例如NK细胞、嗜中性球和巨噬细胞)上的Fc受体(FcR)的经分泌Ig使所述细胞毒性效应细胞能够特异性地结合至带有抗原的靶细胞且随后利用细胞毒素杀灭所述靶细胞。用于介导ADCC的原代细胞(NK细胞)仅表达Fc γ RIII,而单核球表达Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII。FcR于造血细胞上的表达汇总于Ravetch和Kinet,Annu.Rev.Immunol 9:457-92(1991)的第464页表3中。为了评价所关注分子的ADCC活性,可实施体外ADCC测定,诸如阐述于美国专利第5,500,362号或第5,821,337号或美国专利第6,737,056号(Presta)中的测定。用于此类测定的可用效应细胞包括PBMC和NK细胞。另一选择为或另外,可在体内(诸如在诸如公开于Clynes等人,Proc.Natl.Acad.Sci.(USA)95:652-656(1998)中的动物模型等动物模型中)评价所关注分子的ADCC活性。具有改变Fc区氨基酸序列和增加或降低ADCC活性的其他抗体阐述于(例如)美国专利第7,923,538号和美国专利第7,994,290号中。

[0099] 具有“增强的ADCC活性”的抗体是指与除至少一个经设计以改变ADCC活性的结构变化外具有相同序列的亲代抗体相比在体外或体内测定中更有效介导ADCC的抗体,此时测定中所用的所述抗体和亲代抗体的量基本上相同。在一些实施方案中,除Fc结构域中的突变(诸如其中亲代抗体经岩藻糖基化的引起岩藻糖基化的氨基酸取代)外,抗体和亲代抗体具有相同氨基酸序列。在一些实施方案中,ADCC活性将使用如本文中公开的体外ADCC测定来测定,但涵盖例如动物模型等中用于测定ADCC活性的其他测定或方法。在一些实施方案中,具有增强的ADCC活性的抗体具有增强的对Fc γ RIIIA的亲和力。在一些实施方案中,具有增强的ADCC活性的抗体具有增强的对Fc γ RIIIA(V158)的亲和力。在一些实施方案中,具有增强的ADCC活性的抗体具有增强的对Fc γ RIIIA(F158)的亲和力。

[0100] “增强的对Fc γ RIIIA的亲和力”是指较亲代抗体对Fc γ RIIIA(在一些情况下,也称作CD16a)具有更大亲和力的抗体,其中抗体与亲代抗体的至少一个结构方面不同。在一些实施方案中,抗体与亲代抗体具有相同氨基酸序列,但抗体无岩藻糖基化,而亲代抗体经岩藻糖基化。可使用用于测定对Fc γ RIIIA的亲和力的任何适宜方法。在一些实施方案中,

通过本文所述方法测定对Fc γ RIIIA的亲合力。在一些实施方案中,具有增强的对Fc γ RIIIA的亲合力的抗体具有增强的ADCC活性。在一些实施方案中,具有增强的对Fc γ RIIIA的亲合力的抗体具有增强的对Fc γ RIIIA (V158)的亲合力。在一些实施方案中,具有增强的对Fc γ RIIIA的亲合力的抗体具有增强的对Fc γ RIIIA (F158)的亲合力。

[0101] 术语“前导序列”是指位于多肽的N末端的氨基酸残基的序列,其有利于自哺乳动物细胞的多肽的分泌。前导序列可在自哺乳动物细胞导出多肽后裂解,从而形成成熟蛋白质。前导序列可为天然或合成的,且其可与及其附接的蛋白质异源或同源。非限制性例示性前导序列还包括异源蛋白质之前导序列。在一些实施方案中,抗体无前导序列。在一些实施方案中,抗体包含至少一个前导序列,其可选自天然抗体前导序列和异源前导序列。

[0102] 术语“载体”用于阐述可经改造以含有可在宿主细胞中繁殖的一种或多种经选殖多核苷酸的多核苷酸。载体可包括以下要素中的一者或多者:复制起点、一个或多个调节所关注多肽的表达的调节序列(举例来说,诸如启动子和/或增强子)、和/或一个或多个可选标记物基因(举例来说,诸如抗生素抗性基因和可用于比色测定的基因,例如 β -半乳糖苷酶)。术语“表达载体”是指用于使所关注多肽在宿主细胞中表达的载体。

[0103] “宿主细胞”是指可为或已为载体或分离的多核苷酸的接受者的细胞。宿主细胞可为原核细胞或真核细胞。例示性真核细胞包括哺乳动物细胞,诸如灵长类动物或非灵长类动物细胞;真菌细胞,诸如酵母;植物细胞;和昆虫细胞。非限制性例示性哺乳动物细胞包括(但不限于)NS0细胞、PER.C6®细胞(Crucell)和293和CHO细胞及其衍生物(诸如分别293-6E和DG44细胞)。

[0104] 如本文所用术语“分离的”是指已自通常在自然界中发现的至少一些组份分离的分子。举例来说,在多肽是自产生其的至少一些组份分离时,其称作“分离的”。如果多肽是由细胞在表达后分泌,则将物理分离含有多肽的上清液与产生其的细胞视为“分离”多肽。类似地,在多核苷酸并非通常在自然界中发现的较大多核苷酸(举例来说,诸如基因组DNA或粒腺体DNA,在DNA多核苷酸的情形下)的部分或自产生其的细胞的至少一些组份分离(例如,在RNA多核苷酸的情形下)时,多核苷酸称作“分离的”。因此,包含于宿主细胞内部的载体中的DNA多核苷酸可称作“分离的”,只要所述多核苷酸在自然界中未在所述载体中发现即可。

[0105] 术语“升高的水平”意指受试者的特定组织中蛋白质的水平相对于对照(诸如不患有癌症或本文所述其他病况的一个或多个个体)中相同组织更高。升高的水平可为任何机制的结果,诸如蛋白质的增加的表达、增加的稳定性、降低的降解、增加的分泌、降低的清除等。

[0106] 术语“减少(reduce/reduces)”或“增加(increase/increases)”关于蛋白质或细胞类型意指受试者的特定组织中(诸如肿瘤中)所述蛋白质或细胞类型的水平变化至少10%。在一些实施方案中,试剂(诸如FGFR2或PD-1/PD-L1抑制剂)将受试者的特定组织(诸如肿瘤)中蛋白质或细胞类型的水平增加或减少至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%或至少90%。在一些实施方案中,蛋白质或细胞类型的水平相对于在接触试剂(诸如FGFR2或PD-1/PD-L1抑制剂)之前蛋白质的水平或相对于对照处理的水平减少或增加。

[0107] 术语“受试者”和“患者”在本文中可互换使用且是指人。在一些实施方案中,还提供治疗其他哺乳动物(包括但不限于啮齿类动物、猿、猫、犬、马、牛、猪、绵羊、山羊、哺乳动物实验室动物、哺乳动物农场动物、哺乳动物比赛用动物和哺乳动物宠物)的方法。

[0108] 如本文所用术语“样品”是指从受试者获得或源自受试者的含有欲基于(例如)物理、生物化学、化学和/或生理特性表征、定量和/或鉴别的细胞和/或其他分子实体的组合物。示例性样品是组织样品。

[0109] 术语“癌症”是指与不受控细胞增殖、无限制细胞生长和经由细胞凋亡而降低的细胞死亡相关的恶性增殖性病症。癌症的实例包括(但不限于)癌、淋巴瘤、胚细胞瘤、肉瘤和白血病。所述癌症的更特定非限制性实例包括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、垂体癌、食管癌(包括胃食管接合部腺癌)、星形细胞瘤、软组织肉瘤、非小细胞肺癌(包括鳞状细胞非小细胞肺癌)、肺的腺癌、肺鳞状癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠癌、胰腺癌、胶质母细胞瘤、子宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、肾细胞癌、肝癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、脑癌、子宫内膜癌、睾丸癌、胆管癌、胆囊癌、胃癌、黑素瘤和各种类型的头颈癌(包括头颈部鳞状细胞癌)。

[0110] 在一些实施方案中,癌症是胃癌(其包括胃食管癌)。在一些实施方案中,癌症是膀胱癌。如本文定义的膀胱癌包括各种疾病形式,诸如膀胱癌(UBC)和移行细胞癌(TCC)(其也称为尿路上皮癌(UC))、以及在膀胱中发生的非移行细胞癌。

[0111] 在一些实施方案中,癌症包含FGFR2基因扩增,而在一些实施方案中,癌症不包含FGFR2扩增。在一些实施方案中,如果扩增发生,则FGFR2扩增包含>3的FGFR2:CEN10(染色体10着丝粒)比率。在一些实施方案中,FGFR2扩增包含 ≥ 2 的FGFR2:CEN10比率。然而,在其他实施方案中,FGFR2水平包含介于1与2之间的FGFR2:CEN10比率,此指示FGFR2是未经扩增。在一些实施方案中,突变或易位会造成FGFR2基因扩增。可使用(例如)荧光原位杂交测定(FISH)测定基因扩增。

[0112] 在一些实施方案中,如果癌症包含FGFR2基因扩增,则癌症会过表达FGFR2-IIIb。在一些实施方案中,包含FGFR2扩增的癌症过表达FGFR2-IIIb至较FGFR2-IIIc大的程度。在一些实施方案中,包含FGFR2扩增的癌症以标准化FGFR2-IIIc表达程度的超过2倍、3倍、5倍或10倍的标准化程度表达FGFR2-IIIb。在一些实施方案中,将表达程度标准化成GUSB。在一些实施方案中,癌症过表达FGFR2-IIIb,但不包含FGFR2基因扩增。

[0113] 在一些实施方案中,癌症包含FGFR2(诸如FGFR2-IIIb蛋白质)过表达,而在一些其他实施方案中,癌症不包含FGFR2或FGFR2-IIIb蛋白质过表达。FGFR2-IIIb蛋白质过表达可通过本领域的任何适宜方法(包括但不限于基于抗体的方法,诸如免疫组织化学(IHC))来测定。在一些实施方案中,根据本领域的方法对IHC染色进行评分。术语“FGFR2-IIIb蛋白质过表达”和“FGFR2IIIb过表达”及诸如此类意指FGFR2-IIIb蛋白质含量升高,而与所述升高的水平的原因无关(即,升高的水平是蛋白质的增加翻译和/或降低降解的结果、其他机制或机制的组合)。

[0114] 通过IHC的FGFR2或FGFR2IIIb表达程度可通过以0-3的标度给予肿瘤样品IHC评分来测定。本文中,如果未观察到反应性或如果仅在<10%肿瘤细胞中存在膜反应性,则给予“0”的评分;如果在至少10%肿瘤细胞中存在微弱或几乎不可感知的膜反应性或如果细胞仅在其膜的一部分中有反应,则给予“1+”的评分;如果在至少10%肿瘤细胞中存在弱至中

等完全、底侧面或侧面膜反应性,则给予“2+”的评分;且如果在至少10%肿瘤细胞中存在强的完全底侧面或侧面膜反应性,则给予“3+”的评分。在一些实施方案中,通过IHC的肿瘤细胞的1+、2+或3+染色指示FGFR2IIIb过表达。在一些实施方案中,通过IHC的肿瘤细胞的2+或3+染色指示FGFR2IIIb过表达。在一些实施方案中,通过IHC的肿瘤细胞的3+染色指示FGFR2IIIb过表达。在一些实施方案中,胃癌或膀胱癌包含FGFR2基因扩增。在一些实施方案中,包含FGFR2基因扩增的胃癌或膀胱癌过表达FGFR2-IIIb。在一些实施方案中,包含FGFR2扩增的胃癌或膀胱癌过表达FGFR2-IIIb至较FGFR2-IIIc大的程度。在一些实施方案中,胃癌或膀胱癌过表达FGFR2-IIIb,但不包含FGFR2基因扩增。在一些实施方案中,包含FGFR2扩增的胃癌或膀胱癌以标准化FGFR2-IIIc表达程度的超过2倍、3倍、5倍或10倍的标准程度表达FGFR2-IIIb。在一些实施方案中,将表达程度标准化成GUSB。在一些实施方案中,过表达是mRNA过表达。在一些实施方案中,过表达是蛋白质过表达。

[0115] 如本文所用“治疗”是指治疗性治疗和预防性(prophylactic或preventative)措施,其中目标是预防或减缓(减弱)靶定病理学病况或病症。在某些实施方案中,术语“治疗”涵盖用于哺乳动物(包括人)的疾病的治疗剂的任何施用或施加,且包括抑制或减缓疾病或疾病的进展;部分或完全减轻疾病,例如通过引起消退、或恢复或修复丧失、丢失或缺陷功能;刺激无效过程;或引起疾病平台期以具有减轻的严重程度。术语“治疗”还包括减轻任何表型特征的严重程度和/或降低所述特征的发病率、程度或可能性。需要治疗的那些包括已患有病症的那些以及易于患有病症的那些或欲预防病症的那些。

[0116] 术语“有效量”或“治疗有效量”是指有效治疗受试者的疾病或病症的药物的量。在某些实施方案中,有效量是指在所需时间段内以所需剂量有效达成期望预防或治疗结果的量。本发明的FGFR2抑制剂和/或PD-1/PD-L1抑制剂的治疗有效量可根据诸如以下等因素而有所变化:疾病状态、个体的年龄、性别和体重以及一种或多种抗体于个体体内引发期望反应的能力。治疗有效量涵盖其中治疗有益效应胜过一种或多种抗体的任何毒性或有害效应的量。在一些实施方案中,表达“有效量”是指有效治疗癌症的抗体的量。

[0117] 与一种或多种其他治疗剂“组合”施用包括同时(并行)和以任一次序连续(依序)施用。

[0118] “药学上可接受的载体”是指无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、囊封材料、配制逐级或本领域常规与治疗剂一起使用的载体,其一起包含用于施用至受试者的“药物组合物”。药学上可接受的载体于所用剂量和浓度下对接受者无毒且与制剂的其他成份相容。药学上可接受的载体适于所用制剂。举例来说,如果治疗剂欲经口施用,则载体可为凝胶胶囊。如果治疗剂欲皮下施用,则载体理想地是不会刺激皮肤且不会引起注射位点反应。

[0119] 以下章节中提供其他定义。

[0120] 例示性FGFR2抑制剂

[0121] 本文的方法和组合物的FGFR2抑制剂可为FGFR2抗体、FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子。

[0122] 例示性FGFR2抗体

[0123] 在涉及FGFR2抗体的任一本文所述组合物或方法中,FGFR2抗体可为人源化抗体、嵌合抗体或人抗体。在任一本文所述组合物或方法中,FGFR2抗体可选自Fab、Fv、scFv、Fab'和(Fab')₂。在任一本文所述组合物或方法中,FGFR2抗体可选自IgA、IgG和IgD。在任一本文

所述组合物或方法中,FGFR2抗体可为IgG。在任一本文所述方法中,抗体可为IgG1或IgG3。

[0124] 例示性FGFR2抗体包括结合FGFR2-IIIb的抗体。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体以较其结合至FGFR2-IIIb低的亲和力结合FGFR2-IIIc。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体无法检测到地结合至FGFR2-IIIc。

[0125] 用于本文实施方案中的例示性FGFR2-IIIb抗体是于2012年1月24日颁布的美国专利第8,101,723B2号中所述的HuGAL-FR21抗体,该专利以引用方式明确并入本文中。美国专利第8,101,723B2号的图13和14显示HuGAL-FR21的可变区和全长成熟抗体链的氨基酸序列,且以引用方式并入本文中。抗体HuGAL-FR21的重链可变区序列在美国专利第8,101,723B2号的图13中加下划线,且以引用方式明确并入本文中。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。可用于本文实施方案中的其他抗体包括美国专利公开第2015-0050273-A1号中阐述的那些,该专利阐述某些无岩藻糖基化FGFR2-IIIb抗体且以引用方式并入本文中。

[0126] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含至少1个、2个、3个、4个、5个或6个选自以下的高变区(HVR;例如,CDR):(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0127] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含重链可变区和轻链可变区。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含至少一条包含重链可变区和重链恒定区的至少一部分的重链、以及至少一条包含轻链可变区和轻链恒定区的至少一部分的轻链。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含两条重链,其中每条重链包含重链可变区和重链恒定区的至少一部分;和两条轻链,其中每条轻链包含轻链可变区和轻链恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包括包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包括包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链和包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的轻链。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0128] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含6个HVR,其包含(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含6个如上文所述的HVR且结合至FGFR2-IIIb。在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体不结合至FGFR2-IIIc。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0129] 在一个方面,FGFR2-IIIb抗体与包含6个HVR的FGFR2-IIIb抗体竞争,所述HVR包含(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3;(d)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;(e)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2;和(f)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在

Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0130] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含至少1个、至少2个或全部3个选自以下的VH HVR序列:(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0131] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含至少1个、至少2个或全部3个选自以下的VL HVR序列:(a)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0132] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含(a)VH结构域,其包含至少1个、至少2个或全部3个选自以下的VH HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1、(ii)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2和(iii)包含选自SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3;和(b)VL结构域,其包含至少1个、至少2个或全部3个选自以下的VL HVR序列:(i)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1、(ii)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2和(c)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0133] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列。在某些实施方案中,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但包含所述序列的FGFR2-IIIb抗体保留了结合FGFR2-IIIb的能力。在某些实施方案中,此类FGFR2-IIIb抗体保留了选择性结合至FGFR2-IIIb而无法检测到地结合至FGFR2-IIIC的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4中已经取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,在FR中)。任选地,FGFR2-IIIb抗体包含SEQ ID NO:5中的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,VH包含1个、2个或3个选自以下的HVR:(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0134] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但包含所述序列的FGFR2-IIIb抗体保留了结合FGFR2-IIIb的能力。在某些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体保留了选择性结合至FGFR2-IIIb而不结合至FGFR2-IIIC的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:5中已经取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,在FR中)。任选地,FGFR2-IIIb抗体包含SEQ ID NO:4中的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,VL包含1个、2个或3个选自以下的HVR:(a)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:10的氨基

酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0135] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链可变结构域(VH)序列和与SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链可变结构域(VL)。在某些实施方案中,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VH序列相对于参照序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,且具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的VL序列相对于参照序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但包含所述序列的FGFR2-IIIb抗体保留了结合FGFR2-IIIb的能力。在某些实施方案中,此类FGFR2-IIIb抗体保留了选择性结合至FGFR2-IIIb而不结合至FGFR2-IIIc的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:4中已经取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:5中已经取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,在FR中)。任选地,FGFR2-IIIb抗体包含SEQ ID NO:4中的VH序列和SEQ ID NO:5的VL序列,包括一个或两个序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,VH包含1个、2个或3个选自以下的HVR:(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3;且VL包含1个、2个或3个选自以下的HVR:(a)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0136] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含如任一上文提供的实施方案中的VH和如任一上文提供的实施方案中的VL。在一个实施方案中,抗体分别包含SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5中的VH和VL序列,包括那些序列的翻译后修饰。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0137] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链序列。在某些实施方案中,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列相对于参照序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但包含所述序列的FGFR2-IIIb抗体保留了结合FGFR2-IIIb的能力。在某些实施方案中,此类FGFR2-IIIb抗体保留了选择性结合至FGFR2-IIIb而无法检测到地结合至FGFR2-IIIc的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:2中已经取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,在FR中)。任选地,FGFR2-IIIb抗体重链包含SEQ ID NO:2中的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,重链包含1个、2个或3个选自以下的HVR:(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0138] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链。在某些实施方案中,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列相对于参照序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但包含所述序列的FGFR2-IIIb抗体保留了结合FGFR2-IIIb的能力。在某些实施方案中,此类FGFR2-IIIb抗体保留了选择性结合至FGFR2-IIIb而无法检测到地结合至FGFR2-IIIC的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:3中已经取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,在FR中)。任选地,FGFR2-IIIb抗体轻链包含SEQ ID NO:3中的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,轻链包含1个、2个或3个选自以下的HVR:(a)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0139] 在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的重链序列和与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列同一性的轻链序列。在某些实施方案中,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的重链序列相对于参照序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但包含所述序列的FGFR2-IIIb抗体保留了结合FGFR2-IIIb的能力。在某些实施方案中,此类FGFR2-IIIb抗体保留了选择性结合至FGFR2-IIIb而无法检测到地结合至FGFR2-IIIC的能力。在某些实施方案中,具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的轻链序列相对于参照序列含有取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但包含所述序列的FGFR2-IIIb抗体保留了结合FGFR2-IIIb的能力。在某些实施方案中,此类FGFR2-IIIb抗体保留了选择性结合至FGFR2-IIIb而无法检测到地结合至FGFR2-IIIC的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:2中已经取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:3中已经取代、插入和/或缺失总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,取代、插入或缺失发生在HVR以外的区中(即,在FR中)。任选地,FGFR2-IIIb抗体重链包含SEQ ID NO:2中的VH序列,包括所述序列的翻译后修饰,且FGFR2-IIIb抗体轻链包含SEQ ID NO:3中的VL序列,包括所述序列的翻译后修饰。在特定实施方案中,重链包含1个、2个或3个选自以下的HVR:(a)包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;(b)包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;和(c)包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3;且轻链包含1个、2个或3个选自以下的HVR:(a)包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;(b)包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2;和(c)包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。在一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0140] 其他例示性FGFR2抗体是美国专利第8,101,723B2号中所述的GAL-FR22和GAL-FR23抗体,该专利以引用方式并入本文中。GAL-FR22的轻链和重链可变区在专利第8,101,723B2号中提供为(例如)SEQ ID NO:7和8,而Kabat CDR和轻链和重链可变区还提供于该专利的图16中,该专利以引用方式并入本文中。产生杂交瘤的GAL-FR21、GAL-FR22和GAL-FR23分别于2008年11月6日、11月6日和8月12日以ATCC编号9586、9587和9408存放于美国典型培

养物保藏中心(American Type Culture Collection),PO Box 1549,Manassas VA,USA, 20108。因此,在一些实施方案中,FGFR2抗体是包含从这三个杂交瘤菌株中的一个获得的抗体的氨基酸序列的抗体。

[0141] GAL-FR22的重链和轻链可变区还在本文中呈现为SEQ ID NO:39和43,而Kabat CDR在本文中呈现为本文中的SEQ ID NO:40-42和44-46。因此,在一些实施方案中,FGFR2-IIIb抗体重链可变区包含:(i)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的CDR1;(ii)包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的CDR2;和(iii)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的CDR3;且轻链可变区包含:(iv)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的CDR1;(v)包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的CDR2;和(vi)包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的CDR3。

[0142] 在一些实施方案中,FGFR2抗体包含FGFR2-IIIb抗体,其中重链可变结构域与SEQ ID NO:39的氨基酸序列具有至少95%,诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性,或其包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列。在一些实施方案中,FGFR2抗体包含FGFR2-IIIb抗体,其中轻链可变结构域与SEQ ID NO:43的氨基酸序列具有至少95%,诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性,或其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一些实施方案中,重链可变结构域与SEQ ID NO:39的氨基酸序列具有至少95%,诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性,或其包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,且轻链可变结构域与SEQ ID NO:43的氨基酸序列具有至少95%,诸如至少97%、至少98%或至少99%同一性,或其包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一些实施方案中,抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0143] 无岩藻糖基化FGFR2抗体

[0144] 在一些实施方案中,FGFR2抗体(例如如上文所述FGFR2-IIIb抗体)具有无岩藻糖附接(直接或间接)至Fc区的碳水化合物结构(即,无岩藻糖基化抗体),即,抗体无岩藻糖基化。在一些实施方案中,无岩藻糖基化抗体是在Asn297缺少岩藻糖的IgG1或IgG3抗体。

[0145] 在本文中,在多种抗体包含至少95%无岩藻糖基化抗体时,可将此类抗体视为无岩藻糖基化。岩藻糖的量可通过计算相对于所有附接至Asn 297的糖结构(例如,复合、杂合和高甘露糖结构)的Asn297的糖链内岩藻糖的平均量来测定。检测抗体中的岩藻糖的非限制性示例性方法包括MALDI-TOF质谱(参见例如WO 2008/077546)、释放荧光标记的寡糖的HPLC测量(参见例如Schneider等人,“N-Glycan analysis of monoclonal antibodies and other glycoproteins using UHPLC with fluorescence detection” Agilent Technologies, Inc. (2012); Lines, J. Pharm. Biomed. Analysis, 14:601-608 (1996); Takahashi, J. Chrom., 720:217-225 (1996))、释放荧光标记的寡糖的毛细管电泳测量(参见例如Ma等人, Anal. Chem., 71:5185-5192 (1999))和利用脉冲电流计检测法以测量单糖组成的HPLC(参见例如Hardy, 等人, Analytical Biochem., 170:54-62 (1988))。

[0146] Asn297是指位于Fc区中大约297位的天冬酰胺残基(Fc区残基的EU编号);然而,因抗体中具有微小序列变化,故在给定抗体序列中,Asn297还可位于297位上游或下游的大约±3个氨基酸,即,在294位与300位之间。在本文所述FGFR2-IIIb抗体中,Asn297存在于序列QYNST中,且在下文所示序列表(SEQ ID NO:2)中加粗且加下划线。

[0147] 岩藻糖基化变体具有改善的ADCC功能。参见例如美国专利公开第US 2003/0157108号(Presta, L.);第US 2004/0093621号(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。与“无岩藻糖基化”或“缺少岩藻糖”抗体相关的公开的实例包括:US 2003/0157108;WO 2000/61739;

WO 2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US 2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki 等人, J.Mol.Biol.336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki 等人, Biotech.Bioeng.87:614 (2004)。能产生无岩藻糖基化抗体的细胞系的实例包括缺乏蛋白质岩藻糖基化的Lec13 CHO细胞 (Ripka 等人, Arch.Biochem.Biophys.249:533-545 (1986); 美国专利申请第US 2003/0157108 A1号, Presta, L; 和WO 2004/056312 A1, Adams 等人, 尤其在实施例11中) 和基因敲除细胞系, 诸如缺少功能性 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8的细胞系, 例如敲除CHO细胞 (参见例如Yamane-Ohnuki 等人, Biotech.Bioeng.87:614 (2004); Kanda, Y. 等人 Biotechnol.Bioeng., 94 (4):680-688 (2006); 和WO2003/085107)。

[0148] 本文中的FGFR2抗体还可具有二等分寡糖, 例如其中附接至抗体的Fc区的二分枝寡糖由GlcNAc二等分。此类抗体可具有降低的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体的实例阐述于(例如)WO 2003/011878 (Jean-Mairet 等人)、美国专利第6,602,684号 (Umana 等人) 和US 2005/0123546 (Umana 等人) 中。在一些实施方案中, FGFR2抗体具有至少一个在寡糖中附接至Fc区的半乳糖残基。此类抗体具有改善的CDC功能。此类抗体阐述于(例如)WO 1997/30087 (Patel 等人)、WO 1998/58964 (Raju, S.) 和WO 1999/22764 (Raju, S.) 中。

[0149] 在本发明的一些实施方案中, 在人效应细胞存在下, 无岩藻糖基化FGFR2抗体较具有相同氨基酸序列的包含岩藻糖的抗体更有效地介导ADCC。通常, ADCC活性可使用美国专利公开第2015-0050273A1号公开的体外ADCC测定来测定, 但涵盖例如在动物模型等中测定ADCC活性的其他测定或方法。

[0150] 在一些实施方案中, FGFR2抗体包含SEQ ID NO:2和3的重链和轻链序列。在一些实施方案中, 包含SEQ ID NO:2和3的重链和轻链序列的抗体无岩藻糖基化。

[0151] FGFR2 ECD和FGFR2 ECD融合分子

[0152] 在一些实施方案中, FGFR2抑制剂是FGFR2 ECD, 诸如FGFR2ECD融合分子。FGFR2 ECD融合分子可包含融合配偶体, 诸如聚合物、多肽、亲脂性部分和琥珀酰基。例示性多肽融合配偶体包括血清白蛋白和抗体Fc结构域。其他例示性聚合物融合配偶体包括(但不限于)聚乙二醇, 包括具有支链和/或直链的聚乙二醇。某些例示性融合配偶体包括(但不限于)免疫球蛋白Fc结构域、白蛋白和聚乙二醇。某些例示性Fc结构域的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:24至26中。

[0153] 例示性FGFR2 ECD和FGFR2 ECD融合分子包括PCT公开WO 2007/014123中阐述的那些。FGFR2 ECD和FGFR2 ECD融合分子可包含天然ECD氨基酸序列, 包括FGFR2-IIIb或FGFR2-IIIc BCD的氨基酸序列。或者, FGFR2 ECD和FGFR2 ECD融合分子可包含具有从C-末端计数一个或多个且多达22个氨基酸残基的C-末端缺失的FGFR2 ECD, 其中FGFR2 ECD保留了其FGF配体结合活性中的至少一种。在一些实施方案中, FGFR2 ECD的C-末端缺失多达22个氨基酸。在一些实施方案中, 缺失不延伸至或包括天然全长FGFR2-IIIb的氨基酸残基357或天然全长FGFR2-IIIc的氨基酸残基359处的缬氨酸残基。

[0154] 例如, 在一些实施方案中, FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列, 但其中氨基末端和/或羧基末端已缺失氨基酸残基, 且其中所得分子能结合至FGF2。在一些实施方案中, FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子包含SEQ ID NO:15的氨基酸序

列,其对应于SEQ ID NO:14的氨基酸序列,但最后三个羧基末端氨基酸残基YLE缺失。此类变体的其他实例包括C-末端4个氨基酸残基缺失的那些(SEQ ID NO:16)、C-末端5个氨基酸残基缺失的那些(SEQ ID NO:17)、C-末端8个氨基酸残基缺失的那些(SEQ ID NO:18)、C-末端9个氨基酸残基缺失的那些(SEQ ID NO:19)、C-末端10个氨基酸残基缺失的那些(SEQ ID NO:20)、C-末端14个氨基酸残基缺失的那些(SEQ ID NO:21)、C-末端15个氨基酸残基缺失的那些(SEQ ID NO:22)、C-末端16个氨基酸残基缺失的那些(SEQ ID NO:23)、C-末端17个氨基酸残基缺失的那些(SEQ ID NO:24),所有均是天然FGFR2-IIIb或FGFR2-IIIc序列相比。任一上述FGFR2ECD片段皆可偶联至任一上述融合配偶体以形成FGFR2 ECD融合分子。

[0155] 在某些实施方案中,FGFR2 ECD序列内的至少一个氨基酸可经突变以防止多肽中所述位点处的糖基化。可经糖基化的非限制性例示性FGFR2 ECD氨基酸包括SEQ ID NO:28中的N62、N102、N207、N220、N244、N276、N297和N310。

[0156] 其他例示性FGFR2 ECD和FGFR2 ECD融合分子包括PCT公开第W02010/017198号中阐述的那些。其中包括在FGFR2 ECD的“酸盒”区中具有突变的FGFR2 ECD和FGFR2 ECD融合分子。此种FGFR2 ECD酸性区突变蛋白质可用作FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子。在某些实施方案中,FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子包含代替FGFR2短酸盒的FGFR1短酸盒。举例来说,FGFR2 ECD残基111至118(SEQ ID NO:28)可经FGFR1 ECD残基105至112(SEQ ID NO:29)置换。在一些实施方案中,FGFR2 ECD或FGFR2ECD融合分子包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列。在一些实施方案中,FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子包含SEQ ID NO:31-34中任一个的氨基酸序列。“酸盒”突变体FGFR2 ECD序列(诸如SEQ ID NO:30)中的任一个还可与上述C-末端缺失FGFR2 ECD序列(SEQ ID NO:15-24)中的任一个组合,且任选地接合至一个或多个融合分子(例如,SEQ ID NO:32-34)。

[0157] 在某些实施方案中,FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子缺少信号肽。在某些实施方案中,FGFR2 ECD包括至少一个信号肽,其可选自天然FGFR2信号肽和/或异源信号肽,诸如来自FGFR1、FGFR3或FGFR4的信号肽。

[0158] 在FGFR2 ECD融合分子的情形下,融合配偶体可连接至多肽的氨基末端或羧基末端。在某些实施方案中,多肽和融合配偶体共价连接。如果融合配偶体也是多肽(“融合配偶体多肽”),则多肽和融合配偶体多肽可为连续氨基酸序列的一部分。在此类情形下,多肽和融合配偶体多肽可从编码多肽和融合配偶体多肽二者的编码序列翻译为单一多肽。在某些实施方案中,FGFR2 ECD融合分子在FGFR2 ECD或FGFR2 ECD酸性区突变蛋白质与融合配偶体之间含有“GS”接头。在某些实施方案中,多肽和融合配偶体经由其他方式(举例来说,诸如除肽键外的化学键联)共价连接。在某些实施方案中,多肽和融合配偶体非共价连接。在某些此类实施方案中,其可使用(例如)结合对连接。例示性结合对包括(但不限于)生物素和抗生物素蛋白或链酶亲和素、抗体及其抗原等。

[0159] 例示性PD-1/PD-L1抑制剂

[0160] 例示性PD-1/PD-L1抑制剂包括抑制PD-1的抗体,诸如抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体。此类抗体可为人源化抗体、嵌合抗体、小鼠抗体、人抗体和包含本文论述的重链和/或轻链CDR的抗体。PD-1/PD-L1抑制剂还包括阻断PD-1与PD-L1结合的融合分子(诸如AMP-224)和与PD-1竞争结合至PD-L1的抑制性PD-1多肽(诸如AUR-012)。

[0161] 例示性PD-1/PD-L1抗体

[0162] PD-1是由活化T和B细胞表达的关键免疫检查点受体且介导免疫抑制。PD-1是CD28家族受体(包括CD28、CTLA-4、ICOS、PD-1和BTLA)的成员。已鉴别了PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体,即程序性死亡蛋白配体-1(PD-L1)和程序性死亡蛋白配体-2(PD-L2)。这些配体在抗原呈递细胞以及许多人类癌症上表达且已证明在结合至PD-1后下调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强效抗肿瘤活性。

[0163] 以高亲和力特异性结合至PD-1的人单克隆抗体(HuMAb)已公开于美国专利第8,008,449号中。其他抗PD-1mAb阐述于(例如)美国专利第6,808,710号、第7,488,802号、第8,168,757号和第8,354,509号及PCT公开第WO 2012/145493号中。美国专利第8,008,449号中公开的抗PD-1HuMAb各自:(a)以 1×10^{-7} M或更小的 K_D 结合至人PD-1,如通过表面等离子共振使用Biacore生物传感器系统所测定;(b)基本上不结合至人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测定中增加干扰素- γ 产生;(e)在MLR测定中增加IL-2分泌;(f)结合至人PD-1和食蟹猴PD-1;(g)抑制PD-L1和/或PD-L2与PD-1的结合;(h)刺激抗原特异性内存反应;(i)刺激抗体反应;和/或(j)抑制肿瘤体内细胞生长。本发明中可用的抗PD-1抗体包括特异性结合至人PD-1且展现前述特征(a)至(j)中的至少一个、至少二个、至少三个、至少四个或至少五个的抗体。

[0164] 在一个实施方案中,抗PD-1抗体是尼沃鲁单抗。尼沃鲁单抗(也称为“Opdivo[®]”;先前命名为5C4、BMS-936558、MDX-1106或ONO-4538)是选择性防止与PD-1配体(PD-L1和PD-L2)的相互作用、从而阻断抗肿瘤T细胞功能的下调的完全人IgG4(S228P)PD-1免疫检查点抑制剂抗体(美国专利第8,008,449号;Wang等人,2014Cancer Immunol Res.2(9):846-56)。

[0165] 在另一实施方案中,抗PD-1抗体是派姆单抗(派姆单抗)。派姆单抗(也称为“Keytruda[®]”、兰布鲁单抗和MK-3475)是针对人细胞表面受体PD-1(程序性死亡蛋白-1或程序性细胞死亡蛋白-1)的人源化单克隆IgG4抗体。派姆单抗阐述于(例如)美国专利第8,900,587号中;另参见网址:“www”.“cancer”.“gov”/“drugdictionary?cdrid=695789”(最后存取:2014年12月14日)。派姆单抗已由FDA批准用于治疗复发性或难治性黑色素瘤。

[0166] 在其他实施方案中,抗PD-1抗体是MEDI0608(前称AMP-514),其是针对PD-1受体的单克隆抗体。MEDI0608阐述于(例如)美国专利第8,609,089,B2号中或网址:“www”.“cancer”.“gov”/“drugdictionary?cdrid=756047”(最后存取2014年12月14日)。

[0167] 在一些实施方案中,抗PD-1抗体是匹利珠单抗(CT-011),其为人源化单克隆抗体。匹利珠单抗阐述于美国专利第8,686,119B2号或WO 2013/014668 A1中。

[0168] 所公开方法中可用的抗PD-1抗体还包括特异性结合至人PD-1且与尼沃鲁单抗交叉竞争结合至人PD-1的分离的抗体(参见例如美国专利第8,008,449号;WO 2013/173223)。抗体交叉竞争结合至抗原的能力指示这些抗体结合至抗原的相同表位区,且在空间上阻碍其他交叉竞争抗体与该特定表位区结合。预计这些交叉竞争抗体具有与尼沃鲁单抗的功能性质极为类似的功能性质,此因其结合至PD-1的相同表位区。交叉竞争抗体可在标准PD-1结合测定(诸如Biacore分析、ELISA测定或流式细胞术)中基于其与尼沃鲁单抗交叉竞争的能力容易地鉴别(参见例如WO 2013/173223)。

[0169] 在某些实施方案中,与尼沃鲁单抗交叉竞争结合至人PD-1或结合至人PD-1的相同

表位区的抗体是单克隆抗体。对于施用至人类受试者来说,这些交叉竞争抗体可为嵌合抗体,或可为人源化或人抗体。

[0170] 本发明方法中可用的抗PD-1抗体还包括上述抗体的抗原结合部分。实例包括(i) Fab片段,即由 V_L 、 V_H 、 C_L 和 C_H1 结构域组成的单价片段;(ii) $F(ab')_2$ 片段,即包含由铰链区的二硫桥键所连接的两个Fab片段的二价片段;(iii) 由 V_H 和 C_H1 结构域组成的Fd片段;和(iv) 由抗体单臂的 V_L 和 V_H 结构域组成的Fv片段。

[0171] 作为PD-1/PD-L1抑制剂的非限制性例示性融合分子是AMP-224 (Amplimmune, GlaxoSmithKline)。作为PD-1/PD-L1抑制剂的非限制性例示性多肽是AUR-012。

[0172] 例示性抗体恒定区

[0173] 在一些实施方案中,本文所述FGFR2或抗PD-1或抗PD-L1抗体包含一个或多个人类恒定区。在一些实施方案中,人类重链恒定区属选自IgA、IgG和IgD的同种型。在一些实施方案中,人类轻链恒定区属选自 κ 和 λ 的同种型。

[0174] 在一些实施方案中,本文所述抗体包含人IgG恒定区。在一些实施方案中,在效应子功能合意时,选择包含人IgG1重链恒定区或人IgG3重链恒定区的抗体。在一些实施方案中,本文所述抗体包含人IgG1恒定区。在一些实施方案中,本文所述抗体包含人IgG1恒定区,其中N297未经岩藻糖基化。在一些实施方案中,本文所述抗体包含人IgG1恒定区和人类 κ 轻链。

[0175] 贯穿本说明书和权利要求书,除非明确说明或本领域技术人员已知,否则免疫球蛋白重链中残基的编号是EU索引的编号,如在Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) 中,该文献以引用方式明确并入本文中。“如Kabat中的EU索引”是指人IgG1 EU抗体的残基编号。

[0176] 在某些实施方案中,本发明的抗体包含与野生型IgG或野生型抗体的Fc区相比具有至少一个氨基酸取代的变体Fc区。在某些实施方案中,变体Fc区在野生型抗体的Fc区中具有两个或更多个氨基酸取代。在某些实施方案中,变体Fc区在野生型抗体的Fc区中具有三个或更多个氨基酸取代。在某些实施方案中,变体Fc区具有至少1个、2个或3个或更多个本文所述Fc区氨基酸取代。在某些实施方案中,本文中的变体Fc区将与天然序列Fc区和/或亲代抗体的Fc区具有至少约80%同源性。在某些实施方案中,本文中的变体Fc区将与天然序列Fc区和/或亲代抗体的Fc区具有至少约90%同源性。在某些实施方案中,本文中的变体Fc区将与天然序列Fc区和/或亲代抗体的Fc区具有至少约95%同源性。

[0177] 在某些实施方案中,改变本文所提供抗体以增加或降低抗体经糖基化的程度。抗体糖基化位点的添加或缺失可方便地通过改变氨基酸序列以产生或去除一个或多个糖基化位点来实现。

[0178] 如果抗体包含Fc区,则其所附接的碳水化合物可能有所变化。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含支链二分枝寡糖,其通常通过N-键联附接至Fc区的CH2结构域的Asn297。参见例如Wright等人, *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡糖可包括多种碳水化合物,例如甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸以及附接至二分枝寡糖结构的“主干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中,可修饰本发明抗体中的寡糖以产生具有某些改进的性质的抗体。

[0179] 抗体还可具有氨基末端前导延伸。举例来说,在抗体的任一个或多个重链或轻链的氨基末端存在氨基末端前导序列的一个或多个氨基酸残基。例示性氨基末端前导延伸包含存在于抗体的一条或两条轻链上的三个氨基酸残基VHS或由其组成。

[0180] 可在(例如)施用具有变体Fc区的多肽的转基因小鼠、人或非人灵长类动物中测定人FcRn高亲和力结合多肽的体内或血清半衰期。另参见(例如)Petkova等人International Immunology 18(12):1759-1769(2006)。

[0181] 例示性嵌合抗体

[0182] 在某些实施方案中,本文提供的FGFR2或抗PD-1或抗PD-L1抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体阐述于(例如)美国专利第4,816,567号;和Morrison等人,(1984)Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))中。在一个实施例中,嵌合抗体包含非人类可变区(例如,源自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物(诸如猴)的可变区)和人类恒定区。在另一个实施例中,嵌合抗体是类别或子类已自亲代抗体发生变化的“类别转换”抗体。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0183] 非限制性例示性嵌合抗体包括包含本文所述重链HVR1、HVR2和HVR3和/或轻链HVR1、HVR2和HVR3序列的针对FGFR2或PD-1/PD-L1的嵌合抗体。

[0184] 在一些实施方案中,本文所述嵌合抗体包含一个或多个人类恒定区。在一些实施方案中,人类重链恒定区属选自IgA、IgG和IgD的同种型。在一些实施方案中,人类轻链恒定区属选自κ和λ的同种型。在一些实施方案中,本文所述嵌合抗体包含人IgG恒定区。在一些实施方案中,本文所述嵌合抗体包含人IgG4重链恒定区。在一些实施方案中,本文所述嵌合抗体包含人IgG4恒定区和人类κ轻链。

[0185] 如上所述,效应子功能是否合意可取决于抗体所预期的特定治疗方法。因此,在一些实施方案中,在效应子功能合意时,选择包含人IgG1重链恒定区或人IgG3重链恒定区的嵌合抗体。在一些实施方案中,在效应子功能不合意时,选择包含人IgG4或IgG2重链恒定区的嵌合抗体。在一些实施方案中,本文所述嵌合抗体包含人IgG1恒定区,其中N297未经岩藻糖基化。在一些实施方案中,本文所述嵌合抗体包含人IgG1恒定区和人类κ轻链。

[0186] 例示性人源化抗体

[0187] 在一些实施方案中,使用结合FGFR2或PD-1/PD-L1的人源化抗体。人源化抗体可用作治疗分子,因为人源化抗体降低或消除对非人抗体的人类免疫反应(诸如人抗小鼠抗体(HAMA)反应),其可引起对抗体治疗剂的免疫反应并降低治疗剂的有效性。

[0188] 在某些实施方案中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以降低对人的免疫原性,而保持亲代非人抗体的特异性和亲和力。通常,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR或CDR(或其部分)源自非人抗体,且FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选地还可包含人类恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基经来自非人抗体(例如,产生HVR残基的抗体)的相应残基取代以(例如)恢复或改进抗体特异性或亲和力。

[0189] 人源化抗体及其制备方法综述于(例如)Almagro和Fransson,(2008)Front.Biosci.13:1619-1633中,且进一步阐述于(例如)以下文献中:Riechmann等人,(1988)Nature 332:323-329;Queen等人,(1989)Proc.Natl Acad.Sci.USA 86:10029-10033;美国专利第5,821,337号、第7,527,791号、第6,982,321号和第7,087,409号;

Kashmiri等人,(2005) *Methods* 36:25-34 (阐述SDR (a-CDR) 接枝); Padlan, (1991) *Mol. Immunol.* 28:489-498 (阐述“表面重塑”); Dall’Acqua等人,(2005) *Methods* 36:43-60 (阐述“FR改组”); 和Osbourne等人,(2005) *Methods* 36:61-68和Klimka等人,(2000) *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (阐述“导向选择”FR改组方法)。

[0190] 可用于人源化的人类框架区包括(但不限于):使用“最佳拟合”方法选择的框架区(参见例如Sims等人(1993) *J. Immunol.* 151:2296);源自轻链或重链可变区的特定子组的人抗体的共有序列的框架区(参见例如Carter等人(1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285;和Presta等人(1993) *J. Immunol.* 151:2623);人成熟(体细胞突变)框架区或人品系框架区(参见例如Almagro和Fransson, (2008) *Front. Biosci.* 13:1619-1633);和源自筛选FR文库的框架区(参见例如Baca等人,(1997) *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684和Rosok等人,(1996) *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618)。

[0191] 在一些实施方案中,人源化抗体包含一个或多个人类恒定区。在一些实施方案中,人类重链恒定区属选自IgA、IgG和IgD的同种型。在一些实施方案中,人类轻链恒定区属选自 κ 和 λ 的同种型。

[0192] 在一些实施方案中,本文所述人源化抗体包含人IgG恒定区。在一些实施方案中,在效应子功能合意时,抗体包含人IgG1重链恒定区或人IgG3重链恒定区。在一些实施方案中,本文所述人源化抗体包含人IgG1恒定区。在一些实施方案中,本文所述人源化抗体包含人IgG1恒定区,其中N297未经岩藻糖基化。在一些实施方案中,本文所述人源化抗体包含人IgG1恒定区和人类 κ 轻链。

[0193] 人抗体

[0194] 人FGFR2或PD-1/PD-L1抗体可通过任何适宜方法制得。非限制性例示性方法包括在包含人免疫球蛋白基因座的转基因小鼠中制备人抗体。参见(例如) Jakobovits等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:2551-55 (1993); Jakobovits等人, *Nature* 362:255-8 (1993); Lonberg等人, *Nature* 368:856-9 (1994); 和美国专利第5,545,807号、第6,713,610号、第6,673,986号、第6,162,963号、第5,545,807号、第6,300,129号、第6,255,458号、第5,877,397号、第5,874,299号和第5,545,806号。

[0195] 非限制性例示性方法还包括使用噬菌体展示文库制备人抗体。参见(例如) Hoogenboom等人, *J. Mol. Biol.* 227:381-8 (1992); Marks等人, *J. Mol. Biol.* 222:581-97 (1991); 和PCT公开第W0 99/10494号。

[0196] 在一些实施方案中,人抗体包含一个或多个人类恒定区。在一些实施方案中,人类重链恒定区属选自IgA、IgG和IgD的同种型。在一些实施方案中,人类轻链恒定区属选自 κ 和 λ 的同种型。在一些实施方案中,本文所述人抗体包含人IgG恒定区。在一些实施方案中,本文所述人抗体包含人IgG4重链恒定区。在一些此类实施方案中,本文所述人抗体包含人IgG4恒定区中的S241P突变。在一些实施方案中,本文所述人抗体包含人IgG4恒定区和人类 κ 轻链。

[0197] 在一些实施方案中,在效应子功能合意时,选择包含人IgG1重链恒定区或人IgG3重链恒定区的人抗体。在一些实施方案中,在效应子功能不合意时,选择包含人IgG4或IgG2重链恒定区的人抗体。在一些实施方案中,本文所述人源化抗体包含人IgG1恒定区,其中N297未经岩藻糖基化。在一些实施方案中,本文所述人源化抗体包含人IgG1恒定区和人类 κ

轻链。

[0198] 例示性抗体偶联物

[0199] 在一些实施方案中,FGFR2或PD-1/PD-L1抗体偶联至标记和/或细胞毒性剂。如本文所用,标记是有利于抗体的检测和/或有利于抗体结合的分子的检测的部分。非限制性例示性标记包括(但不限于)放射性同位素、荧光基团、酶基团、化学发光基团、生物素、表位标签、金属结合标签等。本领域技术人员可根据预期应用选择适宜标记。

[0200] 如本文所用,细胞毒性剂是降低一个或多个细胞的增殖能力的部分。在例如由于细胞经历细胞凋亡或以其他方式死亡、细胞未能进行完细胞周期和/或未能分裂、细胞分化等而使细胞较不能增殖时,细胞具有降低的增殖能力。非限制性例示性细胞毒性剂包括(但不限于)放射性同位素、毒素和化学治疗剂。本领域技术人员可根据预期应用选择适宜细胞毒性。

[0201] 在一些实施方案中,使用体外化学方法将标记和/或细胞毒性剂偶联至抗体。偶联的非限制性例示性化学方法为本领域已知,且包括可从(例如)Thermo Scientific Life Science Research Produces(先前为Pierce;Rockford,IL)、Prozyme(Hayward,CA)、SACRI Antibody Services(Calgary,Canada)、AbD Serotec(Raleigh,NC)等购得的服务、方法和/或试剂。在一些实施方案中,在标记和/或细胞毒性剂是多肽时,标记和/或细胞毒性剂可从具有至少一条抗体链的相同表达载体表达以产生包含融合至抗体链的标记和/或细胞毒性剂的多肽。本领域技术人员可根据预期应用选择将标记和/或细胞毒性剂偶联至抗体的适宜方法。

[0202] 编码抗体的核酸分子

[0203] 提供包含编码抗体的一条或多条链的多核苷酸的核酸分子。在一些实施方案中,核酸分子包含编码抗体的重链或轻链的多核苷酸。在一些实施方案中,核酸分子包含编码抗体的重链的多核苷酸和编码轻链的多核苷酸。在一些实施方案中,第一核酸分子包含编码重链的第一多核苷酸且第二核酸分子包含编码轻链的第二多核苷酸。

[0204] 在一些此类实施方案中,重链和轻链由一个核酸分子表达,或由两个单独的核酸分子表达为两种单独的多肽。在一些实施方案中,诸如在抗体是scFv时,单一多核苷酸编码包含连接在一起的重链和轻链的单一多肽。

[0205] 在一些实施方案中,编码抗体的重链或轻链的多核苷酸包含编码前导序列的核苷酸序列,所述前导序列在翻译时位于重链或轻链的N末端。如上文所论述,前导序列可为天然重链或轻链前导序列,或可为另一异源前导序列。

[0206] 核酸分子可使用本领域常规重组体DNA技术来构建。在一些实施方案中,核酸分子是适于在所选宿主细胞中表达的表达载体。

[0207] 抗体表达和产生

[0208] 载体

[0209] 提供包含编码抗体重链和/或轻链的多核苷酸的载体。还提供包含编码抗体重链和/或轻链的多核苷酸的载体。此类载体包括(但不限于)DNA载体、噬菌体载体、病毒载体、逆转录病毒载体等。在一些实施方案中,载体包含编码重链的第一多核苷酸序列和编码轻链的第二多核苷酸序列。在一些实施方案中,重链和轻链是由载体表达为两种单独的多肽。在一些实施方案中,举例来说,诸如在抗体是scFv时,重链和轻链表达为单一多肽的一部

分。

[0210] 在一些实施方案中,第一载体包含编码重链的多核苷酸且第二载体包含编码轻链的多核苷酸。在一些实施方案中,第一载体和第二载体以类似量(诸如类似摩尔浓度量或类似质量量)转染至宿主细胞中。在一些实施方案中,将摩尔比或质量比介于5:1与1:5之间的第一载体与第二载体转染至宿主细胞中。在一些实施方案中,对编码重链的载体与编码轻链的载体使用介于1:1与1:5之间的质量比。在一些实施方案中,对编码重链的载体与编码轻链的载体使用1:2的质量比。

[0211] 在一些实施方案中,选择针对CHO或CHO源细胞或NS0细胞中多肽的表达优化的载体。例示性此类载体阐述于(例如)Running Deer等人,Biotechnol.Prog.20:880-889(2004)中。

[0212] 在一些实施方案中,选择用于动物(包括人)中抗体重链和/或抗体轻链的体内表达的载体。在一些此类实施方案中,多肽的表达处于以组织特异性方式起作用的启动子的控制下。举例来说,肝特异性启动子阐述于(例如)PCT公开第W0 2006/076288号中。

[0213] 宿主细胞

[0214] 在各个实施方案中,抗体重链和/或轻链可在原核细胞诸如细菌细胞、或真核细胞诸如真菌细胞(诸如酵母)、植物细胞、昆虫细胞和哺乳动物细胞中表达。此种表达可根据(例如)本领域已知的程序实施。可用于表达多肽的例示性真核细胞包括(但不限于)COS细胞,包括COS 7细胞;293细胞,包括293-6E细胞;CHO细胞,包括CHO-S和DG44细胞;PER.C6®细胞(Crucell);和NS0细胞。在一些实施方案中,抗体重链和/或轻链可在酵母中表达。参见(例如)美国公开第US 2006/0270045A1号。在一些实施方案中,特定真核宿主细胞是基于其对抗体重链和/或轻链进行期望翻译后修饰的能力加以选择。举例来说,在一些实施方案中,CHO细胞产生较293细胞中产生的相同多肽具有更高唾液酸化程度的多肽。

[0215] 向期望宿主细胞中引入一种或多种核酸可通过任何方法(包括但不限于磷酸钙转染、DEAE-聚葡萄糖介导的转染、阳离子脂质介导的转染、电穿孔、转导、侵染等)完成。非限制性例示性方法阐述于(例如)Sambrook等人,Molecular Cloning,A Laboratory Manual,第3版,Cold Spring Harbor Laboratory Press(2001)中。核酸可根据任何适宜方法在期望宿主细胞中瞬时或稳定转染。

[0216] 在一些实施方案中,可根据任何适宜方法在经一个或多个编码多肽的核酸分子改造或转染的动物中体内产生一种或多种多肽。

[0217] 抗体的纯化

[0218] 可通过任何适宜方法纯化抗体。此类方法包括(但不限于)使用亲和基质或疏水相互作用色谱。适宜亲和配体包括结合抗体恒定区的抗原和配体。举例来说,可使用蛋白质A、蛋白质G、蛋白质A/G或抗体亲和柱以结合恒定区并纯化抗体。疏水性相互作用色谱(例如丁基或苯基柱)也可适于纯化某些多肽。纯化多肽的许多方法为本领域已知。

[0219] 抗体的无细胞产生

[0220] 在一些实施方案中,在无细胞的系统中产生抗体。非限制性例示性无细胞的系统阐述于(例如)Sitaraman等人,Methods Mol.Biol.498:229-44(2009);Spirin,Trends Biotechnol.22:538-45(2004);Endo等人,Biotechnol.Adv.21:695-713(2003)中。

[0221] 治疗性组合和方法

[0222] 治疗癌症的方法

[0223] 在一些实施方案中,提供治疗癌症的方法,其包括施用有效量的本文所述FGFR2抑制剂。一些此类实施方案包括增加癌症受试者的肿瘤组织中PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD4+T细胞和CD8+T细胞中的一种或多种的数目的方法,其包括施用FGFR2抑制剂,其中所述抑制剂是具有增强的ADCC活性的FGFR2抗体。在一些此类实施方案中,免疫刺激剂未与FGFR2抗体一起施用。

[0224] 在一些其他实施方案中,提供治疗癌症的方法,其包括施用有效量的FGFR2抑制剂和有效量的至少一种免疫刺激剂。在例示性实施方案中,至少一种免疫刺激剂包含PD-1/PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,同时施用FGFR2抑制剂和至少一种免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)。在一些实施方案中,依序施用FGFR2抑制剂和至少一种免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)。在一些实施方案中,在施用至少一种免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)之前施用至少1个、至少2个、至少3个剂量、至少5个剂量或至少10个剂量的FGFR2抑制剂。在一些实施方案中,在施用FGFR2抑制剂之前施用至少1个、至少2个、至少3个剂量、至少5个剂量或至少10个剂量的至少一种免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)。在一些实施方案中,在首个剂量的FGFR2抑制剂之前至少1、2、3、5或10天、或1、2、3、5、12或24周施用最后一个剂量的至少一种免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)。在一些其他实施方案中,在首个剂量的至少一种免疫刺激剂(诸如PD-1/PD-L1抑制剂)之前至少1、2、3、5或10天、或1、2、3、5、12或24周施用最后一个剂量的FGFR2抑制剂。在一些实施方案中,受试者已接受或正接受PD-1/PD-L1抑制剂疗法,且向治疗方案中添加FGFR2抑制剂。

[0225] 在一些实施方案中,癌症选自胃癌、乳腺癌、鳞状细胞癌、小细胞肺癌、垂体癌、食管癌(包括胃食管接合部腺癌)、星形细胞瘤、软组织肉瘤、非小细胞肺癌、肺的腺癌、肺鳞状癌、腹膜癌、肝细胞癌、胃肠癌、胰腺癌、胶质母细胞瘤、子宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌(kidney cancer)、肾癌(renal cancer)、肝癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、脑癌、子宫内膜癌、睾丸癌、胆管癌、胆囊癌、胃癌、黑素瘤和各种类型的头颈癌。在一些实施方案中,肺癌是非小细胞肺癌或肺鳞状细胞癌。在一些实施方案中,白血病是急性骨髓性白血病或慢性淋巴细胞性白血病。在一些实施方案中,乳腺癌是乳房侵袭性癌。在一些实施方案中,卵巢癌是卵巢浆液性囊腺癌。在一些实施方案中,肾癌是肾透明细胞癌。在一些实施方案中,结肠癌是结肠腺癌。在一些实施方案中,膀胱癌是膀胱尿路上皮癌。在一些实施方案中,癌症选自膀胱癌、子宫颈癌(诸如鳞状细胞子宫颈癌)、头颈部鳞状细胞癌、直肠腺癌、非小细胞肺癌、子宫内膜癌、前列腺腺癌、结肠癌、卵巢癌(诸如浆液性上皮卵巢癌)和黑素瘤。在一些实施方案中,癌症是胃癌(其包括胃食管癌)或膀胱癌(诸如移行细胞癌,也称为尿路上皮癌)。

[0226] 在一些实施方案中,癌症包含FGFR2基因扩增,而在一些实施方案中,癌症不包含FGFR2扩增。在一些实施方案中,使用诸如针对FGFR2基因座和染色体10着丝粒的探针使用荧光原位杂交(FISH)来评价基因扩增。在一些实施方案中,如果扩增发生,则FGFR2扩增包含>3的FGFR2:CEN10(染色体10着丝粒)比率。在一些实施方案中,FGFR2扩增包含 ≥ 2 的FGFR2:CEN10比率。然而,在其他实施方案中,FGFR2水平包含介于1与2之间的FGFR2:CEN10比率,此指示FGFR2未经扩增。

[0227] 在一些实施方案中,如果癌症包含FGFR2基因扩增,则癌症过表达FGFR2-IIIb。在

一些实施方案中,包含FGFR2扩增的癌症过表达FGFR2-IIIb至较FGFR2-IIIc大的程度。在一些实施方案中,癌症不包含基因扩增,但过表达FGFR2-IIIb。在一些实施方案中,包含FGFR2扩增的癌症以标准化FGFR2-IIIc表达水平的超过2倍、3倍、5倍或10倍的标准化水平表达FGFR2-IIIb。在一些实施方案中,将表达水平标准化成GUSB。在一些实施方案中,癌症过表达FGFR2-IIIb,但不包含FGFR2基因扩增。在一些实施方案中,胃癌或膀胱癌包含FGFR2基因扩增。在一些实施方案中,胃癌或膀胱癌包含过表达FGFR2-IIIb的FGFR2基因扩增。

[0228] 在一些实施方案中,包含FGFR2扩增的胃癌或膀胱癌过表达FGFR2-IIIb至较FGFR2-IIIc大的程度。在一些实施方案中,胃癌或膀胱癌不包含基因扩增,但过表达FGFR2-IIIb。在一些实施方案中,包含FGFR2扩增的胃癌或膀胱癌以标准化FGFR2-IIIc表达水平的超过2倍、3倍、5倍或10倍的标准化水平表达FGFR2-IIIb。在一些实施方案中,将表达水平标准化成GUSB。在一些实施方案中,胃癌或膀胱癌过表达FGFR2-IIIb,但不包含FGFR2基因扩增。在一些实施方案中,过表达是mRNA过表达。在一些实施方案中,过表达是蛋白质过表达。在一些实施方案中,点突变或易位可引起FGFR2的过表达。可(例如)使用IHC测定FGFR2物质的表达水平。

[0229] 在一些实施方案中,FGFR2过表达是通过免疫组织化学(IHC)测定。举例来说,过表达可通过在至少10%肿瘤细胞中,诸如在至少20%、30%、40%或50%肿瘤细胞中1+、2+或3+的IHC信号来测定。举例来说,在一些此类实施方案中,癌症是胃癌且待治疗的患者可(例如)在至少10%肿瘤细胞中(例如在细胞膜中)具有3+的FGFR2b的IHC信号。在一些实施方案中,胃癌患者可在至少10%肿瘤细胞中具有2+或3+信号。在一些实施方案中,胃癌患者可在至少10%肿瘤细胞中具有至少1+信号。

[0230] 在一些实施方案中,FGFR2过表达可报告为“H评分”。举例来说,在一些此类实施方案中,肿瘤是膀胱癌肿瘤。为测定H评分,可在固定场中对细胞测定第一膜染色强度,诸如经由IHC以获得0、1+、2+或3+的评分,且H评分可使用下式计算: $1 \times (\text{以1+的IHC强度可视的细胞的}\%) + 2 \times (\text{以2+的IHC强度可视的细胞的}\%) + 3 \times (\text{以3+的IHC强度可视的细胞的}\%)$ 。理论上,H评分可在0至300的范围内且如果视野中的所有细胞皆具有3+的IHC染色,则等于300。在一些实施方案中,待治疗的患者关于FGFR2(诸如FGFR2b(例如FGFR2IIIb))具有>20、诸如>30、>40、>50或>100或20-300、20-100、20-50、20-40或20-30范围的起始H评分。在一些实施方案中,患者具有>10或在10-20或15-20范围内的H评分。在其他实施方案中,患者具有0-10的H评分,此可指示无FGFR2过表达。在一些此类实施方案中,患者是膀胱癌症患者。

[0231] 在一些实施方案中,已经测定癌症过表达FGFR2IIIb和/或带有FGFR2基因扩增。在其他实施方案中,本文中的方法首先评价在给予治疗之前FGFR2IIIb表达和FGFR2基因扩增状态中的任一者或两者。且另外,本公开提供测定对上述FGFR2抑制剂、治疗和应用中任一者的反应的方法,其包括评价癌症患者的FGFR2IIIb表达和/或FGFR2基因扩增。

[0232] 在患者患有胃癌或膀胱癌的一些实施方案中,所述方法可包括确定患者的癌症是否属以下类别之一,其可指示对治疗或FGFR2抑制剂组合物的反应:a)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为3+;b)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为3+以及FGFR2基因扩增;c)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为3+而无FGFR2基因扩增;d)在胃癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为1+或2+;e)在膀胱癌受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为1+;f)在膀胱癌

受试者的情形下,在至少10%肿瘤细胞中IHC信号为2+;g)在膀胱癌受试者的情形下,H评分大于20;h)在膀胱癌受试者的情形下,H评分为10-19;i)在膀胱癌受试者的情形下,H评分小于10。

[0233] 在本文所述方法的一些实施方案中,受试者是PD-1/PD-L1抑制剂“不充分反应者”。为PD-1/PD-L1抑制剂不充分反应者的受试者可能先前已对PD-1/PD-L1抑制剂有反应,但可能对PD-1/PD-L1抑制剂的反应变小,或受试者可能从未对PD-1/PD-L1抑制剂有反应。对PD-1/PD-L1抑制剂反应不充分意指原本预计在PD-1/PD-L1抑制剂的标准剂量后改善的病况的方面未改善,和/或仅在以大于标准剂量施用时出现改善。在一些实施方案中,在接受标准剂量至少2周、至少3周、至少4周、至少6周或至少12周后,PD-1/PD-L1抑制剂不充分反应者已经历或正经历对PD-1/PD-L1抑制剂的不充分反应。“标准”剂量是由医学专业人员测定,且可取决于受试者的年龄、体重、健康史、疾病的严重程度、投药频率等。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂不充分反应者已经历或正经历对抗PD-1抗体和/或抗PD-L1抗体的不充分反应。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂不充分反应者已经历或正经历对AMP-224的不充分反应。在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂不充分反应者已经历或正经历对选自尼沃鲁单抗、匹利珠单抗和派姆单抗的PD-1/PD-L1抑制剂的不充分反应。

[0234] 在任一上述方法实施方案中,在小鼠肿瘤模型中,在1周、10天或2周的时段内,FGFR2抑制剂与至少一种免疫刺激剂(例如PD-1/PD-L1抑制剂)的组合可将肿瘤生长抑制(例如)至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在任一上述方法实施方案中,向受试者施用FGFR2抑制剂与PD-1/PD-L1抑制剂的组合可例如在至少1个月、2个月、3个月、6个月或1年的时段内将受试者中至少一个肿瘤的体积减少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。

[0235] FGFR2抗体增加NK细胞、PD-L1表达细胞、巨噬细胞和CD3+、CD8+和CD4+T细胞的数目且还会增加肿瘤中淋巴系细胞与髓系细胞的比率

[0236] 在任一上述方法实施方案中,在至少1天、4天、1周、10天或2周的时段内,与对照相比,在取自小鼠肿瘤模型(诸如异种移植瘤或同源肿瘤模型)的肿瘤中,施用FGFR2抑制剂可显示NK细胞(诸如NKp46+细胞)增加、PD-L1表达细胞增加、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞增加、巨噬细胞增加和/或淋巴系细胞与髓系细胞的比率增加,且增加(例如)至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。在一些实施方案中,小鼠肿瘤模型是4T1肿瘤模型。

[0237] 本文实施例中提供的数据显示利用无岩藻糖基化抗FGFR2b抗体处理小鼠同源肿瘤模型会增加鼠类肿瘤组织中NKp46+细胞的数目,同时还抑制肿瘤生长。利用在N297具有突变且无ADCC活性的抗体(抗FGFR2-N297Q)的类似处理不显示NK细胞增加且不影响肿瘤生长。(参见下文实施例2a-b。)

[0238] 本文实施例中提供的数据还显示利用无岩藻糖基化FGFR2抗体处理小鼠同源模型会增加肿瘤组织中PD-L1阳性细胞的数目。(参见实施例2a。.)此表明FGFR2抑制剂可与PD-1/PD-L1抑制剂充分组合用于癌症治疗且所要求保护的组合可对肿瘤体积或肿瘤生长抑制组合具有至少加和效应、且在一些情形下协同效应。本文中的其他数据显示利用无岩藻糖基化FGFR2抗体处理小鼠同源肿瘤模型还会增加肿瘤组织中CD3+、CD8+和CD4+T细胞的数目且

增加淋巴系细胞与骨髓系细胞的比率。利用经设计以防止效应子功能的含有N297Q突变的FGFR2抗体未观察到此类结果。(参见实施例2b。)本文中的其他数据显示利用无岩藻糖基化FGFR2抗体处理小鼠同源肿瘤模型还会增加肿瘤组织中巨噬细胞的数目。(参见实施例2c。)这些数据表明,NK细胞介导的ADCC活性部分有利于利用无岩藻糖基化抗FGFR2抗体观察到的对肿瘤生长的抑制。另外,数据表明此ADCC活性可增加肿瘤中PD-L1表达细胞,此可导致肿瘤中T细胞的浸润。淋巴系细胞与骨髓系细胞的比率的增加进一步表明,无岩藻糖基化FGFR2抗体作为单一药剂以及在与PD-1抑制剂组合使用时通过改变肿瘤微环境可具有强效抗肿瘤活性。

[0239] 因此,本文中还包括增加受试者肿瘤组织中NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞的数目和/或淋巴系细胞与髓系细胞的比率的方法,其包括向所述受试者施用有效量的FGFR2抑制剂,诸如FGFR2抗体,诸如具有增强的ADCC活性的FGFR2抗体。在施用FGFR2抗体的一些实施方案中,抗体无岩藻糖基化,诸如在位置N297无岩藻糖基化。在一些实施方案中,增加可在至少1天、4天、1周、10天或2周的时段后观察到,且可为(例如)与对照(诸如处理之前的肿瘤组织或非肿瘤组织)相比至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的增加。FGFR2抑制剂可在(例如)本文中别处所述的剂量条件下施用。

[0240] 本文中还包括增加受试者肿瘤组织中NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞的数目和/或淋巴系细胞与髓系细胞的比率的方法,其包括向所述受试者施用有效量的具有ADCC活性、诸如具有增强的ADCC活性的抗体。在一些实施方案中,由于位置N297的岩藻糖基化,抗体具有增强的ADCC活性。在一些实施方案中,增加可在至少1天、4天、1周、10天或2周的时段后观察到,且可为(例如)与对照(诸如处理之前的肿瘤组织或非肿瘤组织)相比至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的增加。一般来说,此种抗体可以约10 μ g/kg体重至约100mg/kg体重/剂量范围内的量施用。在一些实施方案中,抗体可以约50 μ g/kg体重至约5mg/kg体重/剂量范围内的量施用。在一些实施方案中,抗体可以约100 μ g/kg体重至约10mg/kg体重/剂量范围内的量施用。在一些实施方案中,抗体可以约100 μ g/kg体重至约20mg/kg体重/剂量范围内的量施用。在一些实施方案中,抗体可以约0.5mg/kg体重至约20mg/kg体重/剂量范围内的量施用。在一些实施方案中,抗体可以0.1至10mg/kg的剂量,诸如以至少0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、5或10mg/kg的剂量施用或以由前述数字中的任两个界定的剂量范围内的剂量施用。

[0241] 本申请还包括在施用具有ADCC活性或增强的ADCC活性的抗体之前和/或之后测定受试者肿瘤组织中NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞的数目和/或淋巴系细胞与髓系细胞的比率以例如确定抗体是否对受试者的至少一个肿瘤具有此类效应的方法。本申请还包括在施用单独或作为PD-1/PD-L1抑制剂组合的一部分的FGFR2抑制剂之前和/或之后在受试者肿瘤组织中测定NK细胞、PD-L1阳性细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞的数目、和/或测定淋巴系细胞与髓系细胞的比率的方法。本文中还包括在正接受FGFR2与PD-1/PD-L1抑制剂组合处理的受试者的肿瘤组织中测定NK细胞、PD-L1阳性细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞的数目和/或测定淋巴系细胞与髓系细胞的比率的方法。

[0242] 测定NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞的数目、和/或

测定淋巴系细胞与髓系细胞的比率可(例如)经由组织的生检或从肿瘤获得样品用于此类测试的一些其他方式来实施。此种生检或其他样品通常可(例如)在首次施用具有ADCC活性的抗体或FGFR2抑制剂后1、2、3、4、7、17、30、45或90天获取。NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞的数目和/或淋巴系细胞与髓系细胞的比率可(例如)相对于对照(诸如处理之前的肿瘤样品或来自非肿瘤组织的样品)测定。在一些实施方案中,数目可表示为特定细胞类型(诸如CD45+单细胞)的百分比。在一些实施方案中,特定细胞类型的数目可通过FACS分析测定。

[0243] 在一些实施方案中,如果在此种测试中相对于对照观察到NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞和/或淋巴系细胞与髓系细胞的比率增加,则可进一步向受试者施用PD-1/PD-L1抑制剂。在一些实施方案中,如果未观察到增加或如果未观察到显著增加,则可增加FGFR2抑制剂或具有ADCC活性的抗体的剂量。

[0244] 在一些实施方案中,可使用NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞和/或淋巴系细胞与髓系细胞的比率的增加的此种评价以确定是否给予与PD-1/PD-L1抑制剂的组合处理或是否继续处理而不用添加PD-1/PD-L1抑制剂。举例来说,在FGFR2抑制剂施用后,可针对与对照相比NK细胞、PD-L1阳性细胞、巨噬细胞、CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞的数目、和/或淋巴系细胞与髓系细胞的比率评估受试者的肿瘤样品,且如果在样品中观察到那些类型的细胞的任一种或两种增加,则可根据任一本文所述方法实施方案一起施用PD-1/PD-L1抑制剂与FGFR2抑制剂。

[0245] 施用途、载体和其他药物组合物

[0246] 在各个实施方案中,抗体可通过各种途径(包括但不限于经口、动脉内、肠胃外、鼻内、静脉内、肌内、心内、室内、气管内、经颊、直肠、腹膜内、真皮内、局部、经皮和鞘内或通过植入或吸入)体内施用。可将目标组合物配制成呈固体、半固体、液体或气体形式的制剂;包括但不限于片剂、胶囊剂、散剂、颗粒剂、软膏剂、溶液剂、栓剂、灌肠剂、注射剂、吸入剂和气雾剂。可将编码抗体的核酸分子涂覆至金微粒上并通过粒子轰击装置或“基因枪”真皮内递送,如文献中所述(参见例如Tang等人, *Nature* 356:152-154 (1992))。适当制剂和施用途可根据预期应用进行选择。

[0247] 在各个实施方案中,包含抗体的组合物与众多种药学上可接受的载体一起提供于制剂中(参见例如Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 第20版(2003); Ansel等人, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 第7版, Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe等人, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 第3版, Pharmaceutical Press (2000))。可获得各种药学上可接受的载体,其包括媒介物、佐剂和稀释剂。此外,还可获得各种药学上可接受的辅助物质,诸如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、润湿剂及诸如此类。非限制性例示性载体包括盐水、缓冲盐水、葡萄糖、水、甘油、乙醇及其组合。

[0248] 在各个实施方案中,包含抗体的组合物可通过以下方式进行配制以供注射(包括皮下施用):使其溶解、悬浮或乳化于水性或非水性溶剂(诸如植物或其他油、合成脂肪酸甘油酯、高碳脂肪酸的酯或丙二醇)中;且如果需要,利用常规添加剂,诸如增溶剂、等渗剂、助悬剂、乳化剂、稳定剂和防腐剂。在各个实施方案中,组合物可(例如)使用加压可接受的推进剂(诸如二氯二氟甲烷、丙烷、氮气及诸如此类)进行配制以供吸入。在各个实施方案中,

组合物还可配制成缓释微胶囊,诸如利用生物可降解或生物不可降解聚合物。非限制性例示性生物可降解制剂包括聚乳酸-乙醇酸聚合物。非限制性例示性生物不可降解制剂包括聚甘油脂肪酸酯。某些制备此类制剂的方法阐述于(例如)EP 1 125 584 A1中。

[0249] 还提供包含一个或多个容器的药用包装和试剂盒,每一容器含有一个或多个剂量的抗体或抗体组合。在一些实施方案中,提供单位剂量,其中单位剂量含有预定量的包含抗体或抗体组合且具有或不具一种或多种其他药剂的组合物。在一些实施方案中,此种单位剂量是供应于注射用一次性预填充注射器中。在各个实施方案中,含于单位剂量中的组合物可包含盐水、蔗糖或诸如此类;缓冲液,诸如磷酸盐或诸如此类;和/或配制于稳定且有效的pH范围内。或者,在一些实施方案中,组合物可提供为可在添加适当液体(例如无菌水)后复原的冻干粉末。在一些实施方案中,组合物包含一种或多种抑制蛋白质聚集的物质,包括但不限于蔗糖和精氨酸。在一些实施方案中,本发明的组合物包含肝素和/或蛋白多糖。

[0250] 药物组合物是以有效治疗或预防特定适应症的量施用。治疗有效量通常取决于所治疗受试者的体重、其身体或健康状况、待治疗的病况的延伸或待治疗的受试者的年龄。一般来说,抗体可以约10 μ g/kg体重至约100mg/kg体重/剂量范围内的量施用。在一些实施方案中,抗体可以约50 μ g/kg体重至约5mg/kg体重/剂量范围内的量施用。在一些实施方案中,抗体可以约100 μ g/kg体重至约10mg/kg体重/剂量范围内的量施用。在一些实施方案中,抗体可以约100 μ g/kg体重至约20mg/kg体重/剂量范围内的量施用。在一些实施方案中,抗体可以约0.5mg/kg体重至约20mg/kg体重/剂量范围内的量施用。

[0251] 在一些实施方案中,PD-1/PD-L1抑制剂(诸如抗体或融合分子或多肽)是以0.1至100mg/kg的剂量、诸如以0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25或30mg/kg的剂量施用或在由前述数字中的任两个界定的剂量范围内的剂量施用。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂(诸如抗体或融合分子或ECD多肽)是以0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、5或10mg/kg的剂量施用,诸如在由前述数字中的任两个界定的剂量范围内的剂量施用。

[0252] 如果需要,可将抗体组合物施用受试者。本领域技术人员(诸如主治医师)可基于对所治疗病况、所治疗受试者的年龄、所治疗病况的严重程度、所治疗受试者的一般健康状况及诸如此类的考虑来确定施用频率。在一些实施方案中,向受试者施用有效剂量的抗体一或多次。在各个实施方案中,每月一次、少于每月一次(举例来说,诸如每两个月或每三个月)向受试者施用有效剂量的抗体。在其他实施方案中,每月一次以上(举例来说,诸如每3周、每2周或每周)施用有效剂量的抗体。在一些实施方案中,每1、2、3、4或5周一次施用有效剂量的抗体。在一些实施方案中,每周两次或三次施用有效剂量的抗体。向受试者施用有效剂量的抗体至少一次。在一些实施方案中,可多次施用有效剂量的抗体,包括持续至少一个月、至少6个月或至少一年的时段。

[0253] 还提供包含如本文所述FGFR2抑制剂和如本文所述PD-1/PD-L1抑制剂的组合物。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂和PD-1/PD-L1抑制剂包含于单独容器或单一容器的单独隔室内,例如使得其不混合在一起。在一些实施方案中,FGFR2抑制剂和PD-1/PD-L1抑制剂可存于同一容器或隔室中,且因此混合在一起。在一些实施方案中,组合物包含使用说明书,诸如癌症治疗中的使用说明书。

[0254] 与其他免疫刺激剂的组合

[0255] 在一些实施方案中,FGFR2抑制剂与除PD-1/PD-L1抑制剂外的至少一种免疫刺激

剂组合。或者,在一些实施方案中,FGFR2抑制剂与PD-1/PD-L1抑制剂的组合可进一步与有效量的至少一种其他免疫刺激剂组合。

[0256] 免疫刺激剂可包含(例如)小分子药物或生物剂。生物免疫刺激剂的实例包括(但不限于)抗体、抗体片段、例如阻断受体-配体结合的受体或配体多肽的片段、疫苗和细胞因子。

[0257] 在一些实施方案中,至少一种免疫刺激剂包含免疫刺激性分子(包括共刺激性分子)的激动剂,而在一些实施方案中,至少一种免疫刺激剂包含免疫抑制性分子(包括共抑制性分子)的拮抗剂。在一些实施方案中,至少一种免疫刺激剂包含免疫细胞(诸如T细胞)上发现的免疫刺激性分子(包括共刺激性分子)的激动剂。在一些实施方案中,至少一种免疫刺激剂包含免疫细胞(诸如T细胞)上发现的免疫抑制性分子(包括共抑制性分子)的拮抗剂。在一些实施方案中,至少一种免疫刺激剂包含参与先天免疫性的细胞(诸如NK细胞)上发现的免疫刺激性分子(包括共刺激性分子)的激动剂。在一些实施方案中,至少一种免疫刺激剂包含参与先天免疫性的细胞(诸如NK细胞)上发现的免疫抑制性分子(包括共抑制性分子)的拮抗剂。在一些实施方案中,组合增强所治疗受试者的抗原特异性T细胞反应和/或增强受试者的先天免疫性反应。

[0258] 在一些实施方案中,在动物癌症模型(诸如小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型)中,与施用单独FGFR2抑制剂相比,FGFR2抑制剂与至少一种免疫刺激剂的组合引起抗肿瘤反应改善。在一些实施方案中,在动物癌症模型(诸如小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型)中,与施用单独任一药物相比,FGFR2抑制剂与至少一种免疫刺激剂的组合引起加和或协同反应。

[0259] 在涉及FGFR2抑制剂、PD-1/PD-L1抑制剂和至少一种其他免疫刺激剂的组合的实施方案中,在动物癌症模型(诸如小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型)中,与施用单独FGFR2抑制剂相比,组合引起抗肿瘤反应改善。在一些实施方案中,在动物癌症模型(诸如小鼠异种移植物和/或同源肿瘤模型)中,与施用单独个别治疗剂相比,FGFR2抑制剂与其他治疗剂的组合引起加和或协同反应。

[0260] 在某些实施方案中,免疫刺激剂靶向作为免疫球蛋白超家族(IgSF)的成员的刺激性或抑制性分子。举例来说,免疫刺激剂可为靶向(或特异性结合至)多肽的B7家族的另一成员的药剂。免疫刺激剂可为靶向膜结合配体的TNF家族的成员或特异性结合至TNF家族的成员的共刺激或共抑制性受体的药剂。可由免疫刺激剂靶向的例示性TNF和TNFR家族成员包括CD40和CD40L、OX-40、OX-40L、GITR、GITRL、CD70、CD27L、CD30、CD30L、4-1BBL、CD137(4-1BB)、TRAIL/Apo2-L、TRAILR1/DR4、TRAILR2/DR5、TRAILR3、TRAILR4、OPG、RANK、RANKL、TWEAKR/Fn14、TWEAK、BAFFR、EDAR、XEDAR、TACI、APRIL、BCMA、LTβR、LIGHT、DcR3、HVEM、VEG1/TL1A、TRAMP/DR3、EDAR、EDA1、XEDAR、EDA2、TNFR1、淋巴毒素α/TNFβ、TNFR2、TNFα、LTβR、淋巴毒素α1β2、FAS、FASL、RELT、DR6、TROY和NGFR。

[0261] 在一些实施方案中,免疫刺激剂可包含(i)抑制T细胞活化的蛋白质拮抗剂(例如,免疫检查点抑制剂),诸如CTLA4、LAG-3、TIM3、半乳糖凝集素9、CEACAM-1、BTLA、CD69、半乳糖凝集素-1、TIGIT、CD113、GPR56、VISTA、B7-H3、B7-H4、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM-1、TIM-4和ILT4,和/或可包含(ii)刺激T细胞活化的蛋白质激动剂,诸如B7-2、CD28、4-1BB(CD137)、4-1BBL、ICOS、ICOS-L、OX40、OX40L、GITR、GITRL、CD70、CD27、CD40、CD40L、DR3和

CD28H。

[0262] 在一些实施方案中,免疫刺激剂可包含抑制可抑制T细胞活化的细胞因子(例如,IL-6、IL-10、TGF- β 、VEGF和其他免疫抑制细胞因子)或为所述细胞因子的拮抗剂的药剂,且在一些实施方案中,免疫刺激剂可包含为刺激T细胞活化的细胞因子(诸如IL-2、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21和IFN α (例如,细胞因子自身))的激动剂的药剂。在一些实施方案中,免疫刺激剂可包含趋化因子的拮抗剂,诸如CXCR2(例如,MK-7123)、CXCR4(例如AMD3100)、CCR2或CCR4(莫格利珠单抗(mogamulizumab))。

[0263] 在一些实施方案中,免疫刺激剂可包含NK细胞上抑制性受体的拮抗剂或NK细胞上活化受体的激动剂。在一些实施方案中,至少一种免疫刺激剂是KIR拮抗剂。

[0264] 免疫刺激剂还可包括抑制TGF- β 信号传导的药剂、增强肿瘤抗原呈递的药剂(例如树突细胞疫苗、GM-CSF分泌细胞疫苗、CpG寡核苷酸和咪喹莫特(imiquimod))、或增强肿瘤细胞的免疫原性的治疗剂(例如,萘环类药物)。

[0265] 免疫刺激剂还可包括某些疫苗,诸如间皮素靶向疫苗或减毒的李氏菌属(*listeria*)癌症疫苗,诸如CRS-207。

[0266] 免疫刺激剂还可包括耗尽或阻断Treg细胞的药剂,诸如特异性结合至CD25的药剂。

[0267] 免疫刺激剂还可包括抑制代谢酶(诸如吡哆胺加双氧酶(IDO)、加双氧酶、精氨酸酶或一氧化氮合成酶)的药剂。

[0268] 免疫刺激剂还可包括抑制腺苷形成或抑制腺苷A2A受体的药剂。

[0269] 免疫刺激剂还可包括逆转/防止T细胞无反应或耗尽的药剂和触发肿瘤位点的先天免疫活化和/或发炎的药剂。

[0270] 在一些实施方案中,免疫刺激剂可包含CD40激动剂,诸如CD40激动剂抗体。FGFR2抑制剂和PD-1/PD-L1抑制剂组合还可进一步与靶向免疫路径的多个要素的组合方法组合,诸如以下中的一种或多种:至少一种增强肿瘤抗原呈递的药剂(例如,树突细胞疫苗、GM-CSF分泌细胞疫苗、CpG寡核苷酸、咪喹莫特);至少一种(例如)通过抑制CTLA-4路径和/或耗尽或阻断Treg或其他免疫抑制细胞抑制阴性免疫调节的药剂;(例如)利用刺激CD-137、OX-40和/或GITR路径和/或刺激T细胞效应子功能的激动剂刺激阳性免疫调节的疗法;至少一种全身性增加抗肿瘤T细胞的频率的药剂;(例如)使用CD25的拮抗剂(例如,达克珠单抗(daclizumab))或通过离体抗CD25珠粒耗尽来耗尽或抑制Treg(诸如肿瘤中的Treg)的疗法;至少一种影响肿瘤中的抑制剂髓系细胞的功能的药剂;增强肿瘤细胞的免疫原性的疗法(例如,萘环类药物);包括经遗传修饰的细胞(例如由嵌合抗原受体修饰的细胞)的过继性T细胞或NK细胞转移(CAR-T疗法);至少一种抑制代谢酶(诸如吡哆胺加双氧酶(IDO)、加双氧酶、精氨酸酶或一氧化氮合成酶)的药剂;至少一种逆转/防止T细胞无反应或耗竭的药剂;触发肿瘤位点的先天免疫活化和/或发炎的疗法;施用免疫刺激性细胞因子或阻断免疫抑制性细胞因子。

[0271] 举例来说,至少一种免疫刺激剂可包含一种或多种接合阳性共刺激受体的激动剂;一种或多种经由抑制性受体减弱信号传导的拮抗剂(阻断剂),诸如克服肿瘤微环境内的不同免疫抑制性路径的拮抗剂;一种或多种全身性增加抗肿瘤免疫细胞(诸如T细胞)的频率、耗尽或抑制Treg(例如,通过抑制CD25)的药剂;一种或多种抑制代谢酶(诸如IDO)的

药剂；一种或多种逆转/防止T细胞无反应或耗竭的药剂；和一种或多种触发肿瘤位点的先天免疫活化和/或发炎的药剂。

[0272] 在一个实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含CTLA4拮抗剂，诸如拮抗性CTLA4抗体。适宜CTLA4抗体包括(例如)YERVOY(伊匹单抗)或曲美目单抗(tremelimumab)。

[0273] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含LAG-3拮抗剂，诸如拮抗性LAG-3抗体。适宜LAG-3抗体包括例如BMS-986016(W010/19570、W014/08218)或IMP-731或IMP-321(W008/132601、W009/44273)。

[0274] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含CD137(4-1BB)激动剂，诸如激动性CD137抗体。适宜CD137抗体包括(例如)乌瑞鲁单抗(urelumab)或PF-05082566(W012/32433)。

[0275] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含GITR激动剂，诸如激动性GITR抗体。适宜GITR抗体包括例如TRX-518(W006/105021、W009/009116)、MK-4166(W011/028683)或W02015/031667中公开的GITR抗体。

[0276] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含OX40激动剂，诸如激动性OX40抗体。适宜OX40抗体包括例如MEDI-6383、MEDI-6469或MOXR0916(RG7888；W006/029879)。

[0277] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含CD27激动剂，诸如激动性CD27抗体。适宜CD27抗体包括例如瓦利珠单抗(varlilumab)(CDX-1127)。

[0278] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含MGA271，其靶向B7H3(W011/109400)。

[0279] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含KIR拮抗剂，诸如利瑞鲁单抗(lirilumab)。

[0280] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含IDO拮抗剂。IDO拮抗剂包括例如INCB-024360(W02006/122150、W007/75598、W008/36653、W008/36642)、吲哚莫德(indoximod)、NLG-919(W009/73620、W009/1156652、W011/56652、W012/142237)或F001287。

[0281] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含类铯受体激动剂，例如TLR2/4激动剂(例如，卡介苗)；TLR7激动剂(例如，海特诺尔(Hiltonol)或咪喹莫特)；TLR7/8激动剂(例如，雷西莫特(Resiquimod))；或TLR9激动剂(例如，CpG7909)。

[0282] 在一些实施方案中，至少一种免疫刺激剂包含TGF- β 抑制剂，例如GC1008、LY2157299、TEW7197或IMC-TR1。

[0283] 其他组合疗法

[0284] 抑制剂可单独施用或与其他治疗模式一起施用。其可在其他治疗模式(例如手术、化学疗法、放射疗法)或施用生物剂(诸如另一治疗性抗体)之前、基本上同时期或之后提供。在一些实施方案中，癌症经选自手术、化学疗法和放射疗法或其组合的疗法之后已复发或进展。

[0285] 对于癌症的治疗，抑制剂可结合一种或多种其他抗癌剂(诸如化学治疗剂、生长抑制剂、抗血管生成剂和/或抗赘瘤组合物施用。可与本发明抗体组合使用的化学治疗剂、生长抑制剂、抗血管生成剂、抗癌剂剂抗赘瘤组合物的非限制性实例提供于以下定义中。

[0286] “化学治疗剂”是可用于治疗癌症的化学化合物。化学治疗药剂的实例包括(但不限于)烷化剂，诸如噻替派(thiotepa)和Cytosan[®]环磷酰胺；磺酸烷基酯，诸如白消安

(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮丙啶,诸如苯并多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替派(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa);亚乙基亚胺和甲基蜜胺,包括六甲蜜胺(altretamine)、三亚乙基蜜胺、三亚乙基磷酰胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺;番荔枝内酯(acetogenin)(尤其是布拉他辛(bullatacin)和布拉他辛酮(bullatacinone));喜树碱(camptothecin)(包括其合成类似物托泊替康(topotecan));苔藓抑制素(bryostatin);卡利他汀(callystatin);CC-1065(包括其阿多来新(adozelesin)、卡折来新(carzelesin)和比折来新(bizelesin)合成类似物);念珠藻素(cryptophycin)(尤其是念珠藻素1和念珠藻素8);多拉司他汀(dolastatin);多卡米星(duocarmycin)(包括合成类似物KW-2189和CB1-TM1);艾榴塞洛素(eleutherobin);水鬼蕉碱(pancratistatin);匍枝珊瑚醇(sarcodictyin);海绵抑制素(spongistatin);氮芥,诸如苯丁酸氮芥、萘氮芥(chlornaphazine)、氯磷酰胺(cholophosphamide)、雌氮芥(estramustine)、异环磷酰胺、甲基二氯乙基胺(mechlorethamine)、甲基二氯乙基胺氧化物盐酸盐、美法仑(melphalan)、新氮芥(novembichin)、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥;硝基脲,诸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)和雷莫司汀(ranimustine);抗生素,诸如烯二炔抗生素(例如,卡奇霉素(calicheamicin),尤其是卡奇霉素 γ 1I和卡奇霉素 ϕ II(参见例如 Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)));达内霉素(dynemicin),包括达内霉素A;双膦酸盐,诸如氯屈膦酸盐(clodronate);埃斯培拉霉素(esperamicin);以及新制癌菌素发色团(neocarzinostatin chromophore)和相关色蛋白烯二炔抗生素发色团)、阿克拉霉素(aclacinomycin)、放线菌素、安曲霉素(authramycin)、偶氮丝氨酸、博莱霉素(bleomycin)、放线菌素c(cactinomycin)、卡拉霉素(carabycin)、洋红霉素(carminomycin)、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycin)、放线菌素D(dactinomycin)、道诺霉素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、**Adriamycin[®]**多柔比星(包括吗啉代多柔比星、氰基吗啉代多柔比星、2-吡咯啉基-多柔比星和脱氧多柔比星)、表柔比星、依索比星(esorubicin)、伊达比星(idarubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素(诸如丝裂霉素C)、霉酚酸(mycophenolic acid)、诺拉霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycin)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素(puromycin)、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑霉素(streptonigrin)、链脲霉素、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他汀(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin);抗代谢物,诸如氨甲喋呤和5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)(5-FU);叶酸类似物,诸如二甲叶酸(denopterin)、氨甲喋呤、蝶罗呤(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate);嘌呤类似物,诸如氟达拉滨(fludarabine)、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物,诸如安西他滨(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-氮杂尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、脱氧氟尿苷(doxifluridine)、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine);雄激素,诸如卡普睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、环硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯(testolactone);抗肾上腺素,诸如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦

(mitotane)、曲洛司坦(trilostane);叶酸补充剂,诸如亚叶酸;醋葡醛内酯(aceglatone);醛磷酰胺糖苷(aldophosphamide glycoside);氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid);恩尿嘧啶(eniluracil);安吡啶;比斯特氮芥(bestrabucil);比生群(bisantrene);依达曲沙(edatraxate);地磷酰胺(defofamine);秋水仙胺(demecolcine);地吡醌(diaziquone);依氟鸟氨酸(elformithine);依利醋铵(elliptinium acetate);埃博霉素(epothilone);依托格鲁(etoglucid);硝酸镓;羟基脲;香菇多糖(lentinan);氯尼达明(lonidainine);类美登素(maytansinoid),诸如美登素(maytansine)和安丝菌素(ansamitocin);米托胍脘(mitoguazone);米托蒽醌(mitoxantrone);莫哌达醇(mopidanmol);二胺硝吡啶(nitraerine);喷司他汀(pentostatin);蛋氨酸氮芥(phenamet);吡柔比星(pirarubicin);洛索蒽醌(losoxantrone);鬼臼酸;2-乙基酰肼;丙卡巴肼(procarbazine);**PSK[®]**多糖复合物(JHS Natural Products,Eugene,OR);雷佐生(razoxane);利索新(rhizoxin);西左非兰(sizofiran);锗螺胺(spirogermanium);替奴佐酸(tenuazonic acid);三亚胺醌(triaziquone);2,2',2''-三氯三乙胺;新月毒素(trichothecene)(尤其是T-2毒素、疣孢菌素A(verrucarin A)、杆孢菌素(roridin A)和蛇形菌素(anguidine));乌拉坦(urethan);长春地辛(vindesine);达卡巴嗪(dacarbazine);甘露莫司汀(mannomustine);二溴甘露醇(mitobronitol);二溴卫矛醇(mitolactol);哌泊溴烷(pipobroman);加西托星(gacytosine);阿糖胞苷(arabinoside) (“Ara-C”);环磷酰胺;噻替派;类紫杉醇(taxoid),例如**Taxol[®]**太平洋紫杉醇(Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.)、太平洋紫杉醇的无 **Abbraxane[®]** Cremophor 的白蛋白改造的纳米粒子制剂(American Pharmaceutical Partners,Schaumburg,Illinois)、和**Taxotere[®]**多西他赛(Rhône-Poulenc Rorer,Antony,France);苯丁酸氮芥;**Gemzar[®]**吉西他滨;6-巯鸟嘌呤;巯基嘌呤;氮甲嘌呤;铂类似物,诸如顺铂、奥沙利铂和卡铂;长春碱;铂;依托泊苷(etoposide)(VP-16);异环磷酰胺;米托蒽醌;长春新碱;**Navelbine[®]**长春瑞滨;能灭瘤(novantrone);替尼泊苷(teniposide);依达曲沙;道诺霉素(daunomycin);氨基蝶呤(aminopterin);截瘤达(xeloda);伊班膦酸盐(ibandronate);伊立替康(Camptosar,CPT-11)(包括利用伊立替康与5-FU和甲酰四氢叶酸的治疗方案);拓朴异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMFO);类视色素,诸如视黄酸;卡培他滨;康普瑞汀(combretastatin);甲酰四氢叶酸(LV);奥沙利铂,包括奥沙利铂治疗方案(FOLFOX);降低细胞增殖的PKC- α 、Raf、H-Ras、EGFR(例如,埃罗替尼(erlotinib) (**Tarceva[®]**)) 和VEGF-A的抑制剂;和上述药剂中任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0287] 其他非限制性例示性化学治疗剂包括抗激素剂,其用于调控或抑制激素对癌症的作用,诸如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM),包括(例如)他莫昔芬(tamoxifen)(包括**Nolvadex[®]**他莫昔芬)、雷洛昔芬(raloxifene)、屈洛昔芬(droloxifene)、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、可莫昔芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮(onapristone)和**Fareston[®]**托瑞米芬(toremifene);抑制芳香酶的芳香酶抑制剂,其调控肾上腺中的雌激素产生,举例来说,诸如,4(5)-咪唑、氨鲁米特、**Megase[®]**乙酸甲地孕酮

(megestrol acetate)、**Aromasin**[®]依西美坦(exemestane)、福美司坦(formestane)、法偈唑(fadrozole)、**Rivisor**[®]伏氯唑(vorozole)、**Femara**[®]来曲唑(letrozole)和**Arimidex**[®]阿那曲唑(anastrozole);和抗雄激素,诸如氟他胺(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)和戈舍瑞林(goserelin);以及曲沙他滨(troxacitabine)(1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物);反义寡核苷酸,尤其抑制与贴壁细胞增殖有关的信号传导途径中的基因(举例来说,诸如,PKC- α 、Raf和H-Ras)表达的那些;核酶,诸如VEGF表达抑制剂(例如,**Angiozyme**[®]核酶)和HER2表达抑制剂;疫苗,诸如基因疗法疫苗,例如,**Allovectin**[®]疫苗、**Leuvectin**[®]疫苗和**Vaxid**[®]疫苗;**Proleukin**[®]rIL-2;**Lurtotecan**[®]拓扑异构酶1抑制剂;**Abarelix**[®]rmRH;和上述药剂中任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0288] “抗血管生成剂”或“血管生成抑制剂”是指小分子量物质、多核苷酸(包括例如抑制性RNA(RNAi或siRNA))、多肽、分离的蛋白质、重组体蛋白质、抗体或其偶联物或融合蛋白,其直接或间接抑制血管生成、血管发生或不期望的血管通透性。应理解,抗血管生成剂包括结合并阻断血管生成因子或其受体的血管生成活性的那些药剂。举例来说,抗血管生成剂是血管生成剂的抗体或其他拮抗剂,例如针对VEGF-A的抗体(例如,贝伐珠单抗(bevacizumab) (**Avastin**[®]))或针对VEGF-A受体的抗体(例如,KDR受体或Flt-1受体);抗PDGFR抑制剂,诸如**Gleevec**[®](甲磺酸伊马替尼);阻断VEGF受体信号传导的小分子(例如,PTK787/ZK2284、SU6668、**Sutent**[®]/SU11248(苹果酸舒尼替尼(sunitinib malate))、AMG706、或阐述于(例如)国际专利申请WO 2004/113304中的那些)。抗血管生成剂还包括天然血管生成抑制剂,例如血管抑素、内皮抑素等。参见(例如)Klagsbrun和D'Amore(1991)Annu.Rev.Physiol.53:217-39;Streit和Detmar(2003)Oncogene22:3172-3179(例如,表3列举恶性黑素瘤中的抗血管生成疗法);Ferrara和Alitalo(1999)Nature Medicine 5(12):1359-1364;Tonini等人(2003)Oncogene 22:6549-6556(例如,表2列举已知抗血管生成因子);和Sato(2003)Int.J.Clin.Oncol.8:200-206(例如,表1列举用于临床试验中的抗血管生成剂)。

[0289] 如本文所用“生长抑制剂”是指体外或体内抑制细胞(诸如表达VEGF的细胞)的生长的化合物或组合物。因此,生长抑制剂可为显著降低S期中的细胞(诸如表达VEGF的细胞)的百分比者。生长抑制剂的实例包括(但不限于)阻断细胞周期进展(在除S期以外的点)的药剂,诸如诱导G1阻滞和M-期阻滞的药剂。典型M-期阻断剂包括长春花(vincas)(长春新碱和长春碱)、紫杉烷(taxane)和拓扑异构酶II抑制剂(诸如多柔比星、表柔比星、道诺霉素、依托泊苷和博来霉素)。阻滞G1的那些药剂还渗透至S-期阻滞,例如,DNA烷化剂,诸如他莫昔芬、强的松(prednisone)、达卡巴嗪、甲基二氯乙基胺、顺铂、氨甲蝶呤、5-氟尿嘧啶和阿糖胞苷。其他信息可参见Mendelsohn和Israel编辑,The Molecular Basis of Cancer,第1章,标题为“Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs”,Murakami等人(W.B.Saunders, Philadelphia, 1995),例如第13页。紫杉烷(太平洋紫杉醇和多西他赛)是皆源自紫杉树的抗癌药物。源自欧洲紫杉的多西他赛(**Taxotere**[®], Rhone-Poulenc

Rorer) 是太平洋紫杉醇 (Taxol[®], Bristol-Myers Squibb) 的半合成类似物。太平洋紫杉醇和多西他赛会促进微管从微管蛋白二聚体的组装并通过防止解聚而使微管稳定, 此可抑制细胞有丝分裂。

[0290] 术语“抗赘瘤组合物”是指可用于治疗癌症的组合物, 其包含至少一种活性治疗剂。治疗剂的实例包括 (但不限于, 例如) 化学治疗剂、生长抑制剂、细胞毒性剂、放射疗法中所用的药剂、抗血管生成剂、除PD-1/PD-L1抑制剂外的其他癌症免疫治疗剂、细胞凋亡剂、抗微管蛋白剂和用以治疗癌症的其他药剂, 诸如抗HER-2抗体、抗CD20抗体、表皮生长因子受体 (EGFR) 拮抗剂 (例如, 酪氨酸激酶抑制剂)、HER1/EGFR抑制剂 (例如, 埃罗替尼 (Tarceva[®]))、血小板源性生长因子抑制剂 (例如, Gleevec[®] (甲磺酸伊马替尼))、COX-2抑制剂 (例如, 塞来昔布 (celecoxib))、干扰素、CTLA-4抑制剂 (例如, 抗CTLA抗体伊匹单抗 (YERVOY[®]))、PD-L2抑制剂 (例如, 抗PD-L2抗体)、TIM3抑制剂 (例如, 抗TIM3抗体)、细胞因子、结合至以下靶标ErbB2、ErbB3、ErbB4、PDGFR- β 、BlyS、APRIL、BCMA、PD-L2、CTLA-4、TIM3或VEGF受体、TRAIL/Apo2中的一种或多种的拮抗剂 (例如, 中和抗体)、和其他生物活性和有机化学剂等。本发明中还包括其组合。

具体实施方案

[0291] 本公开的某些具体实施方案包括以下:

[0292] 1. 一种治疗受试者的癌症的方法, 其包括向所述受试者施用纤维母细胞生长因子受体2 (FGFR2) 抑制剂和至少一种免疫刺激剂, 诸如至少一种程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1)/程序性细胞死亡蛋白配体1 (PD-L1) 抑制剂。

[0293] 2. 如实施方案1的方法, 其中所述至少一种免疫刺激剂是PD-1/PD-L1抑制剂且其中所述PD-1/PD-L1抑制剂是抗体。

[0294] 3. 如实施方案2的方法, 其中所述PD-1/PD-L1抑制剂是抗PD-1抗体。

[0295] 4. 如实施方案3的方法, 其中所述抗PD-1抗体包含选自尼沃鲁单抗、匹利珠单抗和派姆单抗的抗体的重链和轻链CDR。

[0296] 5. 如实施方案4的方法, 其中所述抗PD-1抗体包含选自尼沃鲁单抗、匹利珠单抗和派姆单抗的抗体的重链和轻链可变区。

[0297] 6. 如实施方案5的方法, 其中所述抗PD-1抗体选自尼沃鲁单抗、匹利珠单抗和派姆单抗。

[0298] 7. 如实施方案2的方法, 其中所述PD-1/PD-L1抑制剂是抗PD-L1抗体。

[0299] 8. 如实施方案7的方法, 其中所述抗PD-L1抗体包含选自BMS-936559、MPDL3280A、MEDI4736和MSB0010718C的抗体的重链和轻链CDR。

[0300] 9. 如实施方案8的方法, 其中所述抗PD-L1抗体包含选自BMS-936559、MPDL3280A、MEDI4736和MSB0010718C的抗体的重链和轻链可变区。

[0301] 10. 如实施方案9的方法, 其中所述抗PD-L1抗体选自BMS-936559、MPDL3280A、MEDI4736和MSB0010718C。

[0302] 11. 如实施方案1的方法, 其中所述至少一种免疫刺激剂是PD-1/PD-L1抑制剂且其中所述PD-1/PD-L1抑制剂是PD-1融合分子。

- [0303] 12.如实施方案11的方法,其中所述融合分子是AMP-224。
- [0304] 13.如实施方案1的方法,其中所述至少一种免疫刺激剂是PD-1/PD-L1抑制剂且其中所述PD-1/PD-L1抑制剂是PD-1多肽,诸如AUR-012。
- [0305] 14.如实施方案1至13中任一个的方法,其中所述FGFR2抑制剂是FGFR2抗体。
- [0306] 15.如实施方案14的方法,其中所述FGFR2抗体是FGFR2-IIIb抗体。
- [0307] 16.如实施方案15的方法,其中所述FGFR2-IIIb抗体具有以下性质中的一个或多个:
- [0308] a.以高于与FGFR2-IIIc的亲和力结合至FGFR2-IIIb或无法检测到地结合至FGFR2-IIIc;
- [0309] b.抑制FGF2与人FGFR2结合;
- [0310] c.抑制FGF7与人FGFR2结合;
- [0311] d.抑制小鼠肿瘤模型中人类肿瘤的生长;
- [0312] e.诱导ADCC活性;
- [0313] f.具有增强的ADCC活性;
- [0314] g.无岩藻糖基化;且
- [0315] h.与对照相比,能增加小鼠肿瘤模型中肿瘤组织中的PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞和巨噬细胞中的一种或多种的数目。
- [0316] 17.如实施方案15或实施方案16的方法,其中所述FGFR2抗体包含重链和轻链可变区,其中所述重链可变区包含:
- [0317] (i) 包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的HVR-H1;
- [0318] (ii) 包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的HVR-H2;和
- [0319] (iii) 包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的HVR-H3;
- [0320] 且所述轻链可变区包含:
- [0321] (iv) 包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的HVR-L1;
- [0322] (v) 包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的HVR-L2;和
- [0323] (vi) 包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HVR-L3。
- [0324] 18.如实施方案17的方法,其中所述FGFR2抗体的所述重链可变区包含与所述SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。
- [0325] 19.如实施方案17或18的方法,其中所述FGFR2抗体的所述轻链可变区包含与所述SEQ ID NO:5的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。
- [0326] 20.如实施方案17至19中任一个的方法,其中所述FGFR2抗体的所述重链可变区包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。
- [0327] 21.如实施方案17至20中任一个的方法,其中所述FGFR2抗体的所述轻链可变区包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列。
- [0328] 22.如实施方案17的方法,其中所述FGFR2抗体的所述重链包含与所述SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。
- [0329] 23.如实施方案17或22的方法,其中所述FGFR2抗体的所述轻链包含与所述SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少95%同一性的氨基酸序列。
- [0330] 24.如实施方案17、22或23中任一个的方法,其中所述FGFR2抗体的所述重链包含

所述SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

[0331] 25.如实施方案17或22至24中任一个的方法,其中所述FGFR2抗体的所述轻链包含所述SEQ ID NO:3的氨基酸序列。

[0332] 26.如实施方案15至25中任一个的方法,其中所述FGFR2抗体是嵌合、人源化或人抗体。

[0333] 27.如实施方案15至26中任一个的方法,其中所述FGFR2抗体选自Fab、Fv、scFv、Fab' 和(Fab')₂。

[0334] 28.如实施方案17至27中任一个的方法,其中所述FGFR2抗体具有以下性质中的一个或多个:

[0335] a.在位置Asn297无岩藻糖;

[0336] b.包含κ轻链恒定区;

[0337] c.包含IgG1重链恒定区;

[0338] d.与具有相同氨基酸序列的在位置Asn297经岩藻糖基化的抗体相比,在体外具有增强的ADCC活性;

[0339] e.与具有相同氨基酸序列的在位置Asn297经岩藻糖基化的抗体相比,对Fc γ RIIIA具有增强的亲和力;和

[0340] f.与对照相比,能增加小鼠肿瘤模型中肿瘤组织中的PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞和巨噬细胞中的一种或多种的数目。

[0341] 29.如实施方案1至13中任一个的方法,其中所述FGFR2抑制剂是FGFR2细胞外结构域(ECD)或FGFR2 ECD融合分子。

[0342] 30.如实施方案29的方法,其中所述FGFR2抑制剂是包含FGFR2 ECD和至少一个选自Fc结构域、白蛋白和聚乙二醇的融合配偶体的FGFR2 ECD融合分子。

[0343] 31.如实施方案30的方法,其中所述FGFR2 ECD或FGFR2 ECD融合分子包含SEQ ID NO:13-33或29-33中任一个的氨基酸序列。

[0344] 32.如实施方案1至31中任一个的方法,其中所述FGFR2抑制剂与所述免疫刺激剂同时或依序施用。

[0345] 33.如实施方案32的方法,其中所述免疫刺激剂的一个或多个剂量是在施用FGFR2抑制剂之前施用。

[0346] 34.如实施方案33的方法,其中在施用所述FGFR2抑制剂之前,所述受试者接受免疫刺激剂疗法的完整疗程。

[0347] 35.如实施方案34的方法,其中所述FGFR2抑制剂是在免疫刺激剂疗法的第二疗程期间施用。

[0348] 36.如实施方案33至35中任一个的方法,其中在施用FGFR2抑制剂之前,所述受试者接受所述至少一种免疫刺激剂的至少一个、至少两个、至少三个或至少四个剂量。

[0349] 37.如实施方案33至36中任一个的方法,其中所述至少一种免疫刺激剂的至少一个剂量是与所述FGFR2抑制剂同时施用。

[0350] 38.如实施方案32的方法,其中所述FGFR2抑制剂的一个或多个剂量是在施用免疫刺激剂之前施用。

[0351] 39.如实施方案38的方法,其中在施用所述至少一种免疫刺激剂之前,所述受试者

接受所述FGFR2抑制剂的至少两个、至少三个、至少三个或至少四个剂量。

[0352] 40.如实施方案38或实施方案39的方法,其中所述FGFR2抑制剂的至少一个剂量与免疫刺激剂同时施用。

[0353] 41.如实施方案1至40中任一个的方法,其中所述FGFR2抑制剂以至少0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、5、6、10、15、20、25或30mg/kg的剂量或以由那些mg/kg剂量中的任两个界定的范围(诸如6-10mg/kg、10-15mg/kg或6-15mg/kg)施用。

[0354] 42.如实施方案32至41中任一个的方法,其中所述至少一种免疫刺激剂包含PD-1/PD-L1抑制剂。

[0355] 43.如实施方案42的方法,其中所述PD-1/PD-L1抑制剂以至少0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、5或10mg/kg的剂量施用。

[0356] 44.如实施方案1至43中任一个的方法,其中所述FGFR2抑制剂与所述免疫刺激剂是每1、2、3、4或5周施用一次。

[0357] 45.如实施方案1至44中任一个的方法,其中所述癌症选自乳腺癌、胃癌、非小细胞肺癌、黑素瘤、头颈部鳞状细胞癌、卵巢癌、胰腺癌、肾细胞癌、肝细胞癌、膀胱癌、胆管癌、食管癌和子宫内膜癌。

[0358] 46.如实施方案1至45中任一个的方法,其中所述癌症经选自手术、化学疗法、放射疗法或其组合的疗法后复发或进展。

[0359] 47.如实施方案1至46中任一个的方法,其中(a)所述癌症先前经测定会过表达FGFR2IIIb,不论FGFR2基因扩增存在或不存在,或(b)所述方法包括确定所述癌症是否过表达FGFR2IIIb的额外步骤,且任选地还包括确定所述FGFR2基因是否在肿瘤细胞中扩增的额外步骤。

[0360] 48.如实施方案47的方法,其中FGFR2IIIb过表达是通过免疫组织化学(IHC)测定。

[0361] 49.如实施方案48的方法,其中所述过表达是通过在至少10%肿瘤细胞中、诸如在至少20%、30%、40%或50%肿瘤细胞中1+、2+或3+的IHC信号测定。

[0362] 50.如实施方案47至49中任一个的方法,其中所述FGFR2基因扩增是通过使用荧光原位杂交(FISH)获得FGFR2与染色体10着丝粒(CEN10)的比率来测定,其中如果通过FISH测定的FGFR2/CEN10比率大于或等于2,则认为所述FGFR2基因经扩增。

[0363] 51.如实施方案47至50中任一个的方法,其中所述癌症是胃癌或膀胱癌。

[0364] 52.如实施方案48至50中任一个的方法,其中:

[0365] a)所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号;

[0366] b)所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所述FGFR2基因经扩增;

[0367] c)所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所述FGFR2基因未经扩增;

[0368] d)所述癌症是胃癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+或2+的IHC信号;

[0369] e)所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+的IHC信号;

[0370] f)所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有2+的IHC信号;

[0371] g)所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有20或更高的H评分;

[0372] h)所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有10至19的H评分;或

- [0373] i) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有<10的H评分。
- [0374] 53.如实施方案1至52中任一个的方法,其中所述受试者是PD-1/PD-L1抑制剂不充分反应者。
- [0375] 54.如实施方案1至53中任一个的方法,其中在所述癌症的小鼠肿瘤模型中施用所述FGFR2抑制剂和PD-1/PD-L1抑制剂引起肿瘤生长的加和或协同抑制。
- [0376] 55.如实施方案54的方法,其中所述癌症是乳腺癌且所述小鼠肿瘤模型包含4T1细胞。
- [0377] 56.如实施方案1至55中任一个的方法,其中与对照相比,在小鼠肿瘤模型中施用所述FGFR2抑制剂会增加肿瘤组织中NK细胞的数目。
- [0378] 57.如实施方案1至56中任一个的方法,其中与对照相比,在小鼠肿瘤模型中施用所述FGFR2抑制剂会增加肿瘤组织中PD-L1阳性细胞的数目。
- [0379] 58.如实施方案1至57中任一个的方法,其中与对照相比,在小鼠肿瘤模型中施用所述FGFR2抑制剂会增加肿瘤组织中CD3+、CD8+和/或CD4+T细胞的数目。
- [0380] 59.如实施方案1至58中任一个的方法,其中与对照相比,在小鼠肿瘤模型中施用所述FGFR2抑制剂会增加肿瘤组织中淋巴系细胞与髓系细胞的比率。
- [0381] 60.一种组合物,其包含如实施方案14至31中任一个中所述的FGFR2抑制剂和至少一种如实施方案2至13中任一个中所述的免疫刺激剂,诸如至少一种PD-1/PD-L1抑制剂。
- [0382] 61.如实施方案60的组合物,其中所述FGFR2抑制剂和所述至少一种免疫刺激剂包含于单独容器或隔室中。
- [0383] 62.如实施方案60或61的组合物,其还包含用于癌症治疗的说明书。
- [0384] 63.如实施方案60至62中任一个的组合物,其用于癌症治疗。
- [0385] 64.如实施方案63的组合物,其中所述癌症选自乳腺癌、胃癌、非小细胞肺癌、黑色素瘤、头颈部鳞状细胞癌、卵巢癌、胰腺癌、肾细胞癌、肝细胞癌、膀胱癌、胆管癌、食管癌和子宫内膜癌。
- [0386] 65.如实施方案63至64中任一个的组合物,其中所述癌症会过表达FGFR2IIIb,不论FGFR2基因扩增存在或不存在。
- [0387] 66.如实施方案65的组合物,其中FGFR2IIIb过表达是通过免疫组织化学(IHC)测定。
- [0388] 67.如实施方案66的组合物,其中所述过表达是通过在至少10%肿瘤细胞中、诸如在至少20%、30%、40%或50%肿瘤细胞中1+、2+或3+的IHC信号测定。
- [0389] 68.如实施方案63至67中任一个的组合物,其中癌症具有通过FISH测定的大于或等于2的FGFR2/CEN10比率。
- [0390] 69.如实施方案63至68中任一个的组合物,其中所述癌症是胃癌或膀胱癌。
- [0391] 70.如实施方案63至69中任一个的组合物,其中:
- [0392] a) 所述癌症是胃癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号;
- [0393] b) 所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所述FGFR2基因经扩增;
- [0394] c) 所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所述FGFR2基因未经扩增;

- [0395] d) 所述癌症是胃癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+或2+的IHC信号;
- [0396] e) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+的IHC信号;
- [0397] f) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有2+的IHC信号;
- [0398] g) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有20或更高的H评分;
- [0399] h) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有10至19的H评分;或
- [0400] i) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有<10的H评分。
- [0401] 71. 一种增加癌症受试者的肿瘤组织中NK细胞和/或PD-L1阳性细胞的数目的方法,其包括向所述受试者施用有效量的FGFR2抑制剂。
- [0402] 72. 如实施方案71的方法,其中所述FGFR2抑制剂是如实施方案14至31中任一个的抑制剂。
- [0403] 73. 如实施方案71或72的方法,其中所述方法抑制所述受试者中至少一种肿瘤的肿瘤生长或减小体积。
- [0404] 74. 如实施方案73的方法,其中所述癌症选自乳腺癌、胃癌、非小细胞肺癌、黑素瘤、头颈部鳞状细胞癌、卵巢癌、胰腺癌、肾细胞癌、肝细胞癌、膀胱癌、胆管癌、食管癌和子宫内膜癌。
- [0405] 75. 如实施方案71至74中任一个的方法,其中(a)所述癌症先前经测定会过表达FGFR2IIIb,不论FGFR2基因扩增存在或不存在,或(b)所述方法包括确定所述癌症是否过表达FGFR2IIIb的额外步骤,且任选地还包括确定所述FGFR2基因是否在肿瘤细胞中扩增的额外步骤。
- [0406] 76. 如实施方案75的方法,其中FGFR2IIIb过表达是通过免疫组织化学(IHC)测定。
- [0407] 77. 如实施方案76的方法,其中所述过表达是通过在至少10%肿瘤细胞中、诸如在至少20%、30%、40%或50%肿瘤细胞中1+、2+或3+的IHC信号测定。
- [0408] 78. 如实施方案75至77中任一个的方法,其中所述FGFR2基因扩增是通过使用荧光原位杂交(FISH)获得FGFR2与染色体10着丝粒(CEN10)的比率来测定,其中如果通过FISH测定的FGFR2/CEN10比率大于或等于2,则认为所述FGFR2基因经扩增。
- [0409] 79. 如实施方案75至78中任一个的方法,其中所述癌症是胃癌或膀胱癌。
- [0410] 80. 如实施方案75至79中任一个的方法,其中:
- [0411] a) 所述癌症是胃癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号;
- [0412] b) 所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所述FGFR2基因经扩增;
- [0413] c) 所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所述FGFR2基因未经扩增;
- [0414] d) 所述癌症是胃癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+或2+的IHC信号;
- [0415] e) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+的IHC信号;
- [0416] f) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有2+的IHC信号;
- [0417] g) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有20或更高的H评分;
- [0418] h) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有10至19的H评分;或
- [0419] i) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有<10的H评分。
- [0420] 81. 如实施方案71至80中任一个的方法,其中所述方法还包括在施用所述FGFR2抗

体后,从所述受试者获得至少一个肿瘤样品和测定所述样品中NK细胞和/或PD-L1阳性细胞和/或CD8+T细胞的数目,且如果NK细胞和/或PD-L1阳性细胞和/或CD8+T细胞的数目相对于FGFR2抗体施用之前的样品是增加的,则向所述受试者施用至少一种免疫刺激剂,诸如至少一种PD-1/PD-L1抑制剂。

[0421] 82.一种治疗受试者的癌症的方法,其包括向所述受试者施用FGFR2抑制剂,且如果所述受试者经测定相对于FGFR2抗体施用之前的样品具有增加数目的NK细胞和/或PD-L1阳性细胞和/或CD8+T细胞,则向所述受试者施用至少一种免疫刺激剂,诸如至少一种PD-1/PD-L1抑制剂。

[0422] 83.如实施方案82的方法,其中所述FGFR2抑制剂是如实施方案14至31中任一个的抑制剂。

[0423] 84.如实施方案82或83的方法,其中所述至少一种免疫刺激剂包含至少一种如实施方案2至13中任一个的PD-1/PD-L1抑制剂。

[0424] 85.如实施方案82至84中任一个的方法,其中所述FGFR2抑制剂和所述至少一种免疫刺激剂是根据如实施方案38或39的方法施用。

[0425] 86.一种增加癌症受试者的肿瘤组织中的PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞和巨噬细胞中的一种或多种的数目的方法,其包括施用FGFR2抑制剂,其中所述抑制剂是具有增强的ADCC活性的FGFR2抗体。

[0426] 87.如实施方案86的方法,其中所述抗体是如实施方案15至28中任一个的抗体。

[0427] 88.如实施方案86或87的方法,其中在小鼠肿瘤模型中,与对照相比,施用所述FGFR2抗体会增加肿瘤组织中PD-L1阳性细胞、NK细胞、CD3+T细胞、CD8+T细胞、CD4+T细胞和巨噬细胞中的一种或多种的数目,和/或增加所述肿瘤组织中淋巴系细胞与髓系细胞的比率。

[0428] 89.如实施方案86至88中任一个的方法,其中所述受试者患有乳腺癌、胃癌、非小细胞肺癌、黑素瘤、头颈部鳞状细胞癌、卵巢癌、胰腺癌、肾细胞癌、肝细胞癌、膀胱癌、胆管癌、食管癌或子宫内膜癌。

[0429] 90.如实施方案86至89中任一个的方法,其中(a)所述癌症先前经测定会过表达FGFR2IIIb,不论FGFR2基因扩增存在或不存在,或(b)所述方法包括确定所述癌症是否过表达FGFR2IIIb的额外步骤,且任选地还包括确定所述FGFR2基因是否在肿瘤细胞中扩增的额外步骤。

[0430] 91.如实施方案90的方法,其中FGFR2IIIb过表达是通过免疫组织化学(IHC)测定。

[0431] 92.如实施方案91的方法,其中所述过表达是通过在至少10%肿瘤细胞中、诸如在至少20%、30%、40%或50%肿瘤细胞中1+、2+或3+的IHC信号测定。

[0432] 93.如实施方案90至92中任一个的方法,其中所述FGFR2基因扩增是通过使用荧光原位杂交(FISH)获得FGFR2与染色体10着丝粒(CEN10)的比率来测定,其中如果通过FISH测定的FGFR2/CEN10比率大于或等于2,则认为所述FGFR2基因经扩增。

[0433] 94.如实施方案89至93中任一个的方法,其中受试者患有胃癌或膀胱癌。

[0434] 95.如实施方案90至94中任一个的方法,其中:

[0435] a)所述癌症是胃癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号;

[0436] b)所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所

述FGFR2基因经扩增；

[0437] c) 所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所述FGFR2基因未经扩增；

[0438] d) 所述癌症是胃癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+或2+的IHC信号；

[0439] e) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+的IHC信号；

[0440] f) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有2+的IHC信号；

[0441] g) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有20或更高的H评分；

[0442] h) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有10至19的H评分；或

[0443] i) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有<10的H评分。

[0444] 96. 如实施方案86至95中任一个的方法,其中所述FGFR2抗体每周、每两周、每三周或每月一次以至少0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、5、6、10、15、20、25或30mg/kg的剂量施用或以那些mg/kg剂量中的任两个界定的范围(诸如6-10mg/kg、10-15mg/kg或6-15mg/kg)施用。

[0445] 97. 一种确定胃癌或膀胱癌患者是否对利用FGFR2抑制剂的治疗有反应的方法,其包括通过IHC确定所述胃癌或膀胱癌是否过表达FGFR2IIIb,其中所述过表达是通过在至少10%癌症的肿瘤细胞中、诸如在至少20%、30%、40%或50%肿瘤细胞中1+、2+或3+的IHC信号测定。

[0446] 98. 如实施方案97的方法,其中所述方法还包括通过使用荧光原位杂交(FISH)获得FGFR2与染色体10着丝粒(CEN10)的比率来确定所述FGFR2基因是否扩增,其中如果通过FISH测定的FGFR2/CEN10比率大于或等于2,则认为所述FGFR2基因经扩增。

[0447] 99. 如实施方案97或98的方法,其中所述患者经测定对FGFR2IIIb抗体治疗有反应,条件是:

[0448] a) 所述癌症是胃癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号；

[0449] b) 所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所述FGFR2基因经扩增；

[0450] c) 所述癌症是胃癌,所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有3+的IHC信号,且其中所述FGFR2基因未经扩增；

[0451] d) 所述癌症是胃癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+或2+的IHC信号；

[0452] e) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有1+的IHC信号；

[0453] f) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症在至少10%肿瘤细胞中具有2+的IHC信号；

[0454] g) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有20或更高的H评分；

[0455] h) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有10至19的H评分；或

[0456] i) 所述癌症是膀胱癌,且所述癌症具有<10的H评分。

[0457] 100. 如实施方案97至99中任一个的方法,其中所述FGFR2抑制剂是如实施方案14至31中任一个的抑制剂。

[0458] 101. 如实施方案97至100中任一个的方法,其中所述治疗包括以至少0.1、0.3、0.5、1、2、3、4、5、6、10、15、20、25或30mg/kg的剂量或由以那些mg/kg剂量中的任两个界定的范围(诸如6-10mg/kg、10-15mg/kg或6-15mg/kg)施用所述FGFR2抑制剂。

[0459] 102. 如实施方案97至101中任一个的方法,其中所述治疗包括实施如实施方案71、82或86的方法。

[0460] 103.如实施方案97至101中任一个的方法,其中所述治疗还包括向所述受试者施用至少一种免疫刺激剂。

[0461] 104.如实施方案103的方法,其中所述至少一种免疫刺激剂包含如实施方案2至13中任一个的免疫刺激剂。

[0462] 如实施方案103的方法,其中所述治疗包括根据如实施方案32至44的方法中的任一者施用所述FGFR2抑制剂和所述至少一种免疫刺激剂,或其中所述治疗包括施用如实施方案60至62中任一个的组合物。

[0463] 实施例

[0464] 下文论述的实施例意欲仅对本发明具有例示性且不应认为以任何方式限制本发明。实施例不欲表示下文实验是所实施的所有实验或唯一实验。已努力确保关于所用数字(例如量、温度等)的精确度,但应虑及一些实验误差和偏差。除非另外指明,否则份数是重量份数,分子量是重量平均分子量,温度以℃表示,且压力为大气压力或接近大气压力。

[0465] 实施例1:在4T1小鼠乳房肿瘤模型中,肿瘤生长抑制需要ADCC活性

[0466] 从Charles River Laboratories (Wilmington, MA, USA) 购得70只8周龄雌性BALB/c小鼠(IACUC种类:AUP 2011编号01-03)。在到达后使动物适应至少3天并每个笼子圈养5只动物且自由获取食物和水。适应后,对其称重,且在肿瘤细胞植入之前剃毛。

[0467] 使用来自小鼠品系BALB/cF3H的乳房肿瘤系4T1作为肿瘤模型且其是从ATCC (Manassas, VA, USA; 目录编号CRL-2539) 获得。于37℃下在具有10%胎牛血清、2mM L-谷氨酰胺和1% Penn/Strep的RPMI 1640培养基 (Mediatech, Inc., Manassas, VA, USA; 目录号10-041-CV) 中培养细胞。

[0468] 通过从小鼠头部在第4个乳房乳头(乳头)下正位注射向每一小鼠接种 5×10^4 个4T1细胞。随后定期监测小鼠肿瘤体积和体重直至肿瘤体积经测量为 $100\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 。在肿瘤达到 $100\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 后,根据肿瘤大小将小鼠分成四组用于投药。第一组投用20mg/kg Fc-G1抗体(腹膜内(IP),每两周(BIW)),第二组投用20mg/kg具有SEQ ID NO:6-11的重链和轻链HVR的无岩藻糖基化FGFR2抗体(抗FGFR2)(IP, BIW),且第三组投用20mg/kg具有N297Q突变使得此分子不能刺激ADCC活性的FGFR2抗体(抗FGFR2-N297Q)(IP, BIW)。

[0469] 总之,与FcG1对照相比,利用抗FGFR2的处理引起肿瘤生长的约30%抑制($P < 0.001$),而与对照相比,利用抗FGFR2-N297Q的治疗不抑制肿瘤生长。(参见图1a-b)。这些数据支持ADCC作为抗FGFR2肿瘤生长抑制的机制的作用。

[0470] 实施例2a:暴露于抗FGFR2抗体引起肿瘤组织内NK细胞增加和PD-L1表达细胞增加

[0471] 对于免疫组织化学分析来说,如上文所述通过正位注射向BALB/cF3H小鼠接种 5×10^4 个4T1细胞。在肿瘤达到 $100\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ (第0天)后,根据肿瘤大小将小鼠分成两个投药组:媒介物或10mg/kg抗FGFR2(IP)。将每一组细分成(a)在第0天接受一个或两个剂量的小鼠,或(b)在第3天接受一个或两个剂量的小鼠,且分别在第1天或第4天投药后24小时将小鼠安乐死,并经处理用于组织学或FACS分析。

[0472] 对于组织学来说,在第1天和第4天,分别在第一次和第二次治疗后24小时,将小鼠用CO₂安乐死且随后灌注磷酸盐缓冲盐水(PBS)(pH 7.4)。简单来说,快速打开小鼠胸部,且使用具有20规针的注射器经由左心室中的切口向主动脉中输注40mL PBS。血液和PBS经由右心房中的开口离开。移出4T1正位肿瘤并于4℃下浸没于10%中性缓冲福尔马林

(formalin) 中。2小时后,将组织用PBS冲洗3次且随后在含30%蔗糖的PBS中转移过夜。次日,将肿瘤在OCT化合物中冷冻并储存于-80℃下。

[0473] 切割各肿瘤的20- μm 厚的连续切片。将切片在载玻片(VWR)上干燥1至2小时。将样本用含有0.3% Triton X-100的PBS可渗透化处理并于室温下在含5%山羊正常血清的PBS 0.3% Triton X-100(阻断溶液)中孵育1小时以阻断非特异性抗体结合。1小时后,移除阻断溶液并将切片在一级抗体中孵育过夜。为了检测NK细胞,将切片与在阻断溶液中1:500稀释的大鼠抗NKp46 (CD335;Biolegend,目录号137602)一起孵育。为了检测PD-L1,将切片与在阻断溶液中1:500稀释的大鼠抗PD-L1 (eBioscience,目录号14-5982-82)一起孵育。在连续切片中进行NK细胞和PD-L1染色,此因两种一级抗体皆是在大鼠中生成。在5%正常血清中孵育二级抗体仅阴性对照样本而非一级抗体。

[0474] 次日,在用含有0.3% Triton X-100的PBS冲洗后,于室温下将样本与于PBS中1:400稀释的Alexa Fluor 594标记的山羊抗大鼠(Jackson Immuno Research,目录号112-585-167)和Alexa Fluor 488标记的山羊抗兔(Jackson Immuno Research,目录号111-545-144)二级抗体一起孵育4小时。之后,将样本用含有0.3% Triton X-100的PBS冲洗,随后在1%多聚甲醛(PFA)中固定,再次用PBS冲洗,并安装于具有DAPI的Vectashield(载体,H-1200)中。DAPI被用来标记细胞核。

[0475] 利用配备有AxioCam® HRc照相机的ZeissAxiophot® 2加上荧光显微镜检验样本。收集显示肿瘤内NKp46+和PD-L1+细胞的量和分布的每一实验组的代表性图像且其显示于图2a-2d中。

[0476] 在注射媒介物的小鼠的4T1肿瘤中,检测最小散射的NKp46+NK细胞且这些细胞中的大部分位于肿瘤周边。(图2a。)通过比较,在用10mg/kg的抗FGFR2治疗1天后,NKp46+NK细胞更众多。尽管这些细胞中的大部分是在肿瘤边缘发现,但一些已浸润肿瘤中心。(参见图2a。)在抗FGFR2的第二个剂量后第4天观察到类似结果。(图2b。)

[0477] PD-L1染色揭示了在经媒介物处理1天的4T1肿瘤中,仅在肿瘤内的数个细胞中发现PD-L1免疫反应性。(图2c。)相比之下,在抗FGFR2的1个剂量之后24小时,肿瘤中心内的PD-L1阳性细胞更众多。(图2c。)在处理开始后第4天观察到类似结果。(图2d。)

[0478] 作为用以定量NK细胞的增加的正交测定,对接受2个剂量的盐水或10mg/Kg如上文所述抗FGFR2的带有4T1肿瘤的小鼠实施FACS。为了进行FACS分析,将肿瘤切成1-2mm片并于37℃下在振荡孵育器中的具有10% FBS、50U/mL DNase I和250U/mL胶原酶I(Worthington Biochemical Corporation,Lakewood,NJ)的DMEM中放置30min。使细胞通过70 μm 耐纶网滤器,且根据标准方案利用购自以下的抗体对单细胞悬浮液进行染色:BD Biosciences (San Jose,CA):CD45(克隆30-F11)和CD11b(1D3);Affymatrix eBioscience (San Diego,CA):CD16/32(FC受体阻断,93)、CD335(NKp46,29A1.4)、CD8a(53.67)和CD3e(145-2C11);R&D Systems (Minneapolis,MN):EphA2(233720);或ThermoFisher Scientific (Grand Island,NY):Live/Dead Aqua。固定细胞且次日在BD LSRII上获取。使用FlowJo (V10,Ashland,OR)利用以下门控策略分析结果:CD45+EphA2-、单峰(FSC-H对FSC-A)、活细胞(活/死阴性)和CD11b-以分离活的淋巴细胞。将NK细胞门控为NKp46+CD3-,且表示为CD45+活的单细胞的百分比。

[0479] 如图3中所显示,经抗FGFR2治疗的肿瘤与经盐水对照处理的肿瘤相比展现增加的

NK细胞。

[0480] 实施例2b:暴露于抗FGFR2抗体而非抗FGFR2 N297Q引起肿瘤组织内NK细胞、T细胞增加和PD-L1表达细胞增加

[0481] 如上文实施例1中所述通过正位注射向BALB/cfC3H小鼠接种 5×10^4 个4T1细胞。在肿瘤达到 $100\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ (第0天) 后,根据肿瘤大小将小鼠分成三个投药组:媒介物(对照组)、10mg/kg无岩藻糖基化抗FGFR2抗体(IP) (抗FGFR2组) 和10mg/kg抗FGFR2 N297Q抗体(抗FGFR2 N297Q组)。N297Q修饰是抗体的Fc结构域中意欲消除抗体的效应子功能的突变。

[0482] 将每一组细分成(a)在第0天接受一个或两个剂量的小鼠,或(b)在第3天接受一个或两个剂量的小鼠,且分别在第1天或第4天投药后24小时将小鼠安乐死,并经处理用于组织学或FACS分析。

[0483] 对于组织学来说,在第1天和第4天,分别在第一次和第二次治疗后24小时,将小鼠用CO₂安乐死且随后灌注磷酸盐缓冲盐水(PBS) (pH 7.4)。简单来说,快速打开小鼠胸部,且使用具有20规针的注射器经由左心室中的切口向主动脉中输注40mL PBS。血液和PBS经由右心房中的开口离开。移出4T1正位肿瘤并于4℃下浸没于10%中性缓冲福尔马林中。2小时后,将组织用PBS冲洗3次且随后在含30%蔗糖的PBS中转移过夜。次日,将肿瘤在OCT化合物中冷冻并储存于-80℃下。

[0484] 切割各肿瘤的20- μm 厚的连续切片。将切片在载玻片(VWR)上干燥1至2小时。将样本用含有0.3% Triton X-100的PBS可渗透化处理并于室温下在含5%山羊正常血清的PBS 0.3% Triton X-100(阻断溶液)中孵育1小时以阻断非特异性抗体结合。1小时后,移除阻断溶液并将切片在一级抗体中孵育过夜。为了检测NK细胞,将切片与在阻断溶液中1:500稀释的大鼠抗NKp46 (CD335;Biolegend,目录号137602)一起孵育。为了检测PD-L1,将切片与在阻断溶液中1:500稀释的大鼠抗PD-L1 (eBioscience,目录号14-5982-82)一起孵育。为了检测CD3+T细胞,将切片与以1:500于阻断溶液中的仓鼠抗CD3抗体 (BD biosciences,目录号553058)一起孵育。为了检测CD4+T细胞,将切片与以1:500于阻断溶液中的大鼠抗CD4抗体 (AbD Serotec,目录号MCA4635)一起孵育。为了检测CD8+T细胞,将切片与以1:500于阻断溶液中的大鼠抗CD8抗体 (Abcam,目录号ab22378)一起孵育。在连续切片中进行NK细胞和PD-L1染色,如同在大鼠中生成两个一级抗体。在相同切片中将CD3和CD4阳性细胞一起染色。还在相同切片中进行CD3和CD8染色。在5%正常血清中孵育二级抗体仅阴性对照样本而非一级抗体。

[0485] 次日,在用含有0.3% Triton X-100的PBS冲洗后,于室温下将样本与于PBS中1:400稀释的Alexa Fluor 594标记的山羊抗大鼠 (Jackson Immuno Research,目录号112-585-167) 和Alexa Fluor 488标记的山羊抗仓鼠 (Jackson Immuno Research,目录号127-545-160) 二级抗体一起孵育4小时。此后,将样本用含有0.3% Triton X-100的PBS冲洗,随后在1%多聚甲醛(PFA)中固定,再次用PBS冲洗,并安装于具有DAPI的Vectashield(载体, H-1200)中。DAPI被用来标记细胞核。

[0486] 利用配备有AxioCam®HRc照相机的ZeissAxiophot® 2加上荧光显微镜检验样本。收集显示肿瘤内NKp46+和PD-L1+细胞的量和分布的每一实验组的代表性图像且其显示于图5a-5b中。

[0487] 在注射媒介物或抗FGFR2 N297Q的小鼠的4T1肿瘤中,在处理1天后检测最小散射

的NKp46+NK细胞且这些细胞中的大部分位于肿瘤周边。(图5a。)通过比较,在用10mg/kg的抗FGFR2治疗1天后,NKp46+NK细胞更众多。尽管这些细胞中的大部分是在肿瘤边缘发现,但一些已浸润肿瘤中心。(参见图5a。)在抗FGFR2的第二个剂量后第4天观察到类似结果。(图5b。)

[0488] PD-L1染色揭示了在经媒介物或抗FGFR2 N297Q处理1天的4T1肿瘤中,仅在肿瘤内的数个细胞中发现PD-L1免疫反应性。(图5a。)相比之下,在抗FGFR2的1个剂量之后24小时,肿瘤中心内的PD-L1阳性细胞更众多。在处理开始后第4天观察到类似结果。(图5b。)

[0489] CD3、CD8和CD4染色揭示了在经媒介物或抗FGFR2 N297Q处理1天或4天的肿瘤中,T细胞浸润保持仅在肿瘤周边。相比之下,在第4天,经抗FGFR2处理的肿瘤引起肿瘤中心内CD3、CD8和CD4阳性T细胞的浸润。(图6a-6b。)

[0490] 作为用以定量NK细胞的增加的正交测定,对接受2个剂量的盐水或10mg/Kg如上文所述抗FGFR2或抗FGFR2 N297Q的带有4T1肿瘤的小鼠实施FACS。为了进行FACS分析,将肿瘤切成1-2mm片并于37℃下在振荡孵育器中的具有10% FBS、50U/mL DNase I和250U/mL胶原酶I(Worthington Biochemical Corporation,Lakewood,NJ)的DMEM中放置30min。使细胞通过70μm耐纶网滤器,且根据标准方案利用购自以下的抗体对单细胞悬浮液进行染色:BD Biosciences(San Jose,CA):CD45(克隆30-F11)CD4,(GK1.5)和CD11b(1D3);Affymatrix eBioscience(San Diego,CA):CD16/32(FC受体阻断,93)、CD335(NKp46,29A1.4)、CD8a(53.67)和CD3e(145-2C11);R&D Systems(Minneapolis,MN):EphA2(233720);或ThermoFisher Scientific(Grand Island,NY):Live/Dead Aqua。固定细胞且次日在BD LSRII上获取。使用FlowJo(V10,Ashland,OR)利用以下门控策略分析结果:CD45+EphA2⁻、单峰(FSC-H对FSC-A)、活细胞(活/死阴性)和CD11b⁻以分离活的淋巴细胞。将NK细胞门控为NKp46+CD3⁻。在CD3⁺细胞上门控CD4和CD8 T细胞,且每一子组表示为CD45+活的单细胞的百分比。

[0491] 如图10a中所显示,经抗FGFR2处理的肿瘤与经盐水对照或FGFR2 N297Q处理肿瘤相比展现NK细胞增加。另外,在第二个剂量后24小时,CD3、CD8和CD4 T细胞升高(图7-9),且与媒介物或抗FGFR2 N297Q相比,利用抗FGFR2处理的淋巴系细胞与骨髓系细胞的比率优先增加(图10b-c)。

[0492] 实施例2c:暴露于抗FGFR2抗体而非抗FGFR2 N297Q抗体增加肿瘤组织内F480+巨噬细胞

[0493] 为了检测4T1肿瘤中的巨噬细胞,将切片以1:500于阻断溶液中的大鼠抗F480抗体(Bio-Rad AbD Serotec Inc,目录号MCA497R)一起孵育。在连续切片中进行NK细胞、PD-L1和F480染色,此时在大鼠中生成所有这些一级抗体。

[0494] 在经对照处理的小鼠的4T1肿瘤中,在整个肿瘤中检测到大量F480+巨噬细胞(图11,顶部图)。通过比较,在用10mg/kg的抗FGFR2处理4天后,肿瘤内检测到的F480+细胞的数目增加(图11,中间图)。在经10mg/kg抗FGFR2抗体处理1天或经抗FGFR2-N297Q突变体抗体处理1天或4天的带有4T1肿瘤的小鼠中未观察到此效应(图11,底部图)。

[0495] 实施例3:乳房4T1同源肿瘤模型中FGFR2抗体与PD-1抗体的组合

[0496] 在本实施例中,在具备免疫能力的小鼠中的乳腺癌的4T1同源鼠类模型中评估无岩藻糖基化FGFR2抗体(抗FGFR2)与抗PD-1抗体(Bio X Cell,West Lebanon,NH,USA,克隆

RMP1-14) 的组合的抗肿瘤效应。4T1模型展示FGFR2-IIIb的适度过表达,而非FGFR2扩增。

[0497] 从Charles River Laboratories (Wilmington,MA,USA) 购得70只8周龄雌性BALB/c小鼠。在到达后使动物适应至少3天并每个笼子圈养5只动物且自由获取食物和水。适应后,对其称重,且在肿瘤细胞植入之前剃毛。

[0498] 使用来自小鼠品系BALB/cF3H的乳房肿瘤系4T1作为肿瘤模型且其是从ATCC (Manassas,VA,USA; 目录编号CRL-2539) 获得。于37℃下在具有10%胎牛血清、2mM L-谷氨酰胺和1% Penn/Strep的RPMI 1640培养基 (Mediatech, Inc., Manassas,VA,USA; 目录号10-041-CV) 中培养细胞。

[0499] 通过从小鼠头部在第4个乳房乳头(乳头)下正位注射向每一小鼠接种 5×10^4 个4T1细胞。随后定期监测小鼠肿瘤体积和体重直至肿瘤体积经测量为 $150\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 。在肿瘤达到 $150\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 后,根据肿瘤大小将小鼠分成四组用于投药。第一组投用10mg/kg Ig-FC对照(腹膜内(IP),每两周(BIW)),第二组投用5mg/kg抗PD-1抗体(IP,第0、3和7天),第三组投用10mg/kg FGFR2抗体(IP,BIW),且第四组投用分别5mg/kg和10mg/kg的抗PD-1与FGFR2抗体的组合。

[0500] 在植入后12天(投药第0天)、植入后15天和植入后18天测量肿瘤体积。图4a和b显示,与Ig-FC对照组相比,截至第18天,FGFR2抗体显著减小小鼠中4T1肿瘤体积(通过t检验,分别 $P < 0.001$ 或 $P = 0.01$)。与单独给予的FGFR2抗体相比,截至第18天,FGFR2抗体与抗PD-1抗体的组合进一步减小肿瘤体积(分别 $P = 0.08$)。(参见图4a-b。)且与单独给予的抗PD-1抗体相比,截至第18天,FGFR2抗体与抗PD-1抗体的组合进一步减小肿瘤体积($P < 0.01$)。

[0501] 总之,用FGFR2抗体处理引起与IgFC相比肿瘤生长约25%抑制,而用抗PD-1抗体处理引起与对照相比肿瘤生长0%抑制。用抗FGFR2和抗PD-1抗体二者处理将肿瘤生长抑制约40%,此展现组合疗法至少具有加和益处。

[0502] 下表显示相对于Fc-G1对照的分数肿瘤体积(FTV)的分析。

[0503]	天数 ^b	FTV 抗 FGFR2	FTV 抗 PD-1	预计值 ^c	观察值 ^d	预计值/ 观察值 ^e
	15	0.80	1.04	0.84	0.69	1.22
	18	0.96	0.96	0.73	0.59	1.23

[0504] a:FTV=分数肿瘤体积=平均TV经处理/平均TV对照

[0505] b:肿瘤细胞植入后的天数

[0506] c:预计值=(平均FTV药物1)×(平均FTV药物2)

[0507] d:观察值=药物1加上药物2的组合的平均FTV

[0508] e:报告值=预计值(c)÷观察值(d);值>1指示协同反应,而值=1指示加和反应且值<1指示拮抗反应

[0509] 本实验研究抗FGFR2抗体对NK细胞耗尽的肿瘤组织的效应。使用来自小鼠品系BALB/cF3H的乳房肿瘤系4T1作为肿瘤模型且其是从ATCC (Manassas,VA,USA; 目录编号CRL-2539) 获得。于37℃下在具有10%胎牛血清、2mM L-谷氨酰胺和1% Penn/Strep的RPMI1640培养基 (Mediatech, Inc., Manassas,VA,USA; 目录号10-041-CV) 中培养细胞。

[0510] 通过从小鼠头部在第4个乳房乳头(乳头)下正位注射向每一小鼠接种 5×10^4 个

4T1细胞。随后定期监测小鼠肿瘤体积和体重直至肿瘤体积经测量为 $100\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 。在肿瘤达到 $125\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 后,根据肿瘤大小将小鼠分成四组用于投药(第0天)。第1组投用 10mg/kg 人Fc-G1对照抗体(腹膜内(IP),第0天和第3天)。在0天向第2组i.v.投用 50mg/kg 兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体(Wako Chemicals, Osaka, Japan)一次,抗体经设计以耗尽BalbC小鼠的NK细胞。第3组投用 10mg/kg 抗FGFR2(IP,在第0天和第3天)。第4组投用 50mg/kg 兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体(第0天)与 10mg/kg 抗FGFR2(IP,在第0天和第3天)的组合。

[0511] 对于组织学来说,在第4天,在第二次治疗后24小时,将小鼠用 CO_2 安乐死且随后灌注磷酸盐缓冲盐水(PBS)(pH 7.4)。简单来说,快速打开小鼠胸部,且使用具有20规针的注射器经由左心室中的切口向主动脉中输注 40mL PBS。血液和PBS经由右心房中的开口离开。移出4T1正位肿瘤并于 4°C 下浸没于10%中性缓冲福尔马林中。2小时后,将组织用PBS冲洗3次且随后在含30%蔗糖的PBS中转移过夜。次日,将肿瘤在OCT化合物中冷冻并储存于 -80°C 下。

[0512] 切割各肿瘤的 $20\text{-}\mu\text{m}$ 厚的连续切片。将切片在载玻片(VWR)上干燥1至2小时。将样本用含有0.3% Triton X-100的PBS可渗透化处理并于室温下在含5%山羊正常血清的PBS 0.3% Triton X-100(阻断溶液)中孵育1小时以阻断非特异性抗体结合。1小时后,移除阻断溶液并将切片在一级抗体中孵育过夜。为了检测NK细胞,将切片与在阻断溶液中1:500稀释的大鼠抗NKp46(CD335; Biolegend, 目录号137602)一起孵育。为了检测PD-L1,将切片与在阻断溶液中1:500稀释的大鼠抗PD-L1(eBioscience, 目录号14-5982-82)一起孵育。为了检测CD3+T细胞,将切片与以1:500于阻断溶液中的仓鼠抗CD3抗体(BD biosciences, 目录号553058)一起孵育。在连续切片中进行NK细胞和PD-L1染色,此时在大鼠中生成所有这些一级抗体。在5%正常血清中孵育二级抗体仅阴性对照样本而非一级抗体。

[0513] 次日,在用含有0.3% Triton X-100的PBS冲洗后,于室温下将样本与于PBS中1:400稀释的Alexa Fluor 594标记的山羊抗大鼠(Jackson Immuno Research, 目录号112-585-167)和Alexa Fluor 488标记的山羊抗仓鼠(Jackson Immuno Research, 目录号127-545-160)二级抗体一起孵育4小时。之后,将样本用含有0.3% Triton X-100的PBS冲洗,随后在1%多聚甲醛(PFA)中固定,再次用PBS冲洗,并安装于具有DAPI的Vectashield(载体, H-1200)中。DAPI被用来标记细胞核。

[0514] 利用配备有AxioCam®HRc照相机的ZeissAxiophot®2加上荧光显微镜检验样本。收集显示肿瘤内NKp46+、CD3+和PD-L1+细胞的量和分布的每一实验组的代表性图像且其显示于图12-14中。

[0515] 在注射Fc-G1对照抗体的小鼠的4T1肿瘤中,在肿瘤内检测到最小散射的NKp46+NK细胞(图12,顶部图)。与对照相比,施用以 50mg/kg 投用的兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体减少NKp46+NK细胞的数目(图12,第二排图)。在用 10mg/kg 的抗FGFR2处理4天后,NKp46+NK细胞更众多。(参见图12,第三排图)。但在抗FGFR2与兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体和抗FGFR2组合时,未观察到此增加。在组合处理后,浸润NKp46+NK细胞的数目与对照相当(图12,第四排图)。

[0516] CD3染色揭示了在经对照处理4天的4T1肿瘤中,在肿瘤中发现极少稀疏CD3+T细胞且其大部分位于肿瘤周边(图13,顶部图)。与对照相比,利用以 50mg/kg 投用的兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体的处理不影响CD3+T细胞的数目(图13,第二排图)。在用 10mg/kg 抗FGFR2

处理4天后,浸润CD3+T细胞的数目增加(图13,第三排图)。通过比较,在抗FGFR2与兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体组合时,浸润CD3+T细胞的数目与对照相当(图13,第四排图)。

[0517] PD-L1染色揭示了在经对照处理4天的4T1肿瘤中,仅在肿瘤内的稀疏细胞中发现PD-L1免疫反应性(图14,顶部图)。利用兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体的处理不影响PD-L1免疫反应性(图14,第二排图)。利用单独抗FGFR2的处理增加PD-L1阳性细胞的数目(图14,第三排图),但在抗FGFR2是与兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体组合给予时,PD-L1染色类似于对照(图14,第四排图)。

[0518] 实施例4b:在NK细胞耗尽剂存在下抗FGFR2抗体对肿瘤生长的抑制减弱

[0519] 本实验研究4T1同源肿瘤模型中耗尽NK细胞对抗FGFR2功效的效应。使用来自小鼠品系BALB/c/cfC3H的乳房肿瘤系4T1作为肿瘤模型且其是从ATCC (Manassas, VA, USA; 目录编号CRL-2539) 获得。于37℃下在具有10%胎牛血清、2mM L-谷氨酰胺和1% Penn/Strep的RPMI 1640培养基(Mediatech, Inc., Manassas, VA, USA; 目录号10-041-CV) 中培养细胞。

[0520] 通过从小鼠头部在第4个乳房乳头(乳头)下正位注射向每一小鼠接种 5×10^4 个4T1细胞。随后定期监测小鼠肿瘤体积和体重直至肿瘤体积经测量为 $100\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 。在肿瘤达到 $100\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 后,根据肿瘤大小将小鼠分成四组用于投药(第0天)。第1组投用PBS作为对照(腹膜内(IP), 第0天和第3天)。在0天向第2组i.v.投用50mg/kg兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体(Wako Chemicals, Osaka, Japan)一次,抗体经设计以耗尽BalbC小鼠中的NK细胞。第3组投用10mg/kg抗FGFR2(IP, 在第0天和第3天)。第4组投用50mg/kg兔抗缺乏唾液酸基的GM1抗体(第0天)与10mg/kg抗FGFR2(IP, 在第0天和第3天)的组合且每两周监测肿瘤体积。

[0521] 总之,与PBS对照组和抗缺乏唾液酸基的GM1抗体组($P < 0.05$)相比,利用抗FGFR2的处理引起肿瘤生长的约35%抑制($P < 0.01$)。与PBS对照组相比,利用抗缺乏唾液酸基的GM1抗体的处理对肿瘤负荷无影响。与抗FGFR2组($P < 0.05$)相比,抗缺乏唾液酸基的GM1抗体与抗FGFR2的组合引起肿瘤生长抑制减弱,此表明NK细胞和ADCC活性在4T1同源肿瘤模型中促进肿瘤生长抑制是重要的。与组织学数据组合,抗FGFR2通过经由先天和适应性免疫系统修饰肿瘤微环境来抑制4T1肿瘤负荷。

[0522] 实施例4c:在无适应性免疫系统的CB17 SCID小鼠中钝化抗FGFR2驱动的肿瘤生长抑制

[0523] 从Charles River Laboratories (Wilmington, MA, USA) 购得8周龄的雌性CB17 SCID小鼠。在到达后使动物适应至少3天并每个笼子圈养5只动物且自由获取食物和水。适应后,对其称重,且在肿瘤细胞植入之前剃毛。

[0524] 使用小鼠的同源乳房肿瘤系4T1作为肿瘤模型且其是从ATCC (Manassas, VA, USA; 目录编号CRL-2539) 获得。于37℃下在具有10%胎牛血清、2mM L-谷氨酰胺和1% Penn/Strep(其是青霉素(penicillin)和链霉素(streptomycin))的RPMI 1640培养基(Mediatech, Inc., Manassas, VA, USA; 目录号10-041-CV) 中培养细胞。

[0525] 通过从小鼠头部在第4个乳房乳头(乳头)下正位注射向每一小鼠接种 5×10^4 个4T1细胞。随后定期监测小鼠肿瘤体积和体重直至肿瘤体积经测量为 $80\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 。在第12天,在肿瘤达到 $80\text{mm}^3 \pm 25\text{mm}^3$ 后,根据肿瘤大小将小鼠分成两组用于投药。第一组投用媒介物对照,且第二组投用20mg/Kg无岩藻糖基化抗FGFR2抗体(腹膜内(IP), 在第12天和第15

天)。

[0526] 与BalbC小鼠中肿瘤体积的约30%、 $P<0.001$ 减小相比(实施例1),与具有完整先天免疫系统(NK细胞和巨噬细胞)但无适应性免疫细胞组份(T细胞和B细胞)的CB17 SCID小鼠中的媒介物对照相比,利用抗FGFR2抗体的处理引起肿瘤生长的约20%抑制、 $P<0.05$ 。

[0527] 这些数据表明,抗FGFR2抗体可刺激先天免疫细胞以起始直接肿瘤细胞杀伤,但CB17 SCID小鼠展现对于抗FGFR2抗体的钝化反应,此可能由于其不可参与适应性免疫系统。此进一步展现抗FGFR2抗体与先天和适应性免疫系统一致地起作用以驱动在具备免疫能力的小鼠中引起持续肿瘤生长抑制的肿瘤微环境变化。

[0528] 实施例5:经抗FGFR2抗体处理的患有晚期实体肿瘤的癌症患者的开放标签、I期研究

[0529] 在包含SEQ ID NO:6-11的重链和轻链HVR的无岩藻糖基化FGFR2抗体的剂量递增研究中,在28天周期中每2周利用所述抗体治疗患有任何局部晚期或转移性实体肿瘤或淋巴瘤且已耗竭标准疗法的约30名患者。在研究的部分1A中,向6个队列的患者施用剂量递增研究中的6个不同剂量水平:0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg和15mg/kg。评价患者的28天周期中剂量限制毒性的任何出现。如果临床上适应,则可跟随额外28天周期。

[0530] 在部分1B中,在至多30个胃癌患者中和/或在已知FGFR2基因扩增或FGFR2b蛋白质过表达的患者中进行进一步安全性和功效评估。此部分中的受试者最初接受低于部分1A中6个队列的目前最高剂量水平的一个剂量水平,即0.3、1、3或10mg/kg,且如果在部分1A中未鉴别最大耐受剂量,则在部分1B中可能递增至15mg/kg。

[0531] 在研究的部分1A和1B中鉴别参照剂量后,部分2将开始。部分2包括具有组织学文献记载的胃癌或胃食管癌或其他组织学或细胞学确认的实体肿瘤类型的患者,伴有(a) FGFR2b过表达与FGFR2扩增;(b) FGFR2b过表达而无FGFR2扩增,或(c) FGFR2b非过表达,且具有在标准治疗后已进展或不适于标准治疗的局部复发性或转移性疾病,且还具有如通过RECIST 1.1版定义的可测量疾病。将患者分组成三个队列。约30名患者患有胃癌且FGFR2b过表达(通过IHC分析测定为3+)和FGFR2基因扩增(如通过FISH分析测定的FGFR2与CEN10的比率 ≥ 2)。约30名患者患有胃癌且FGFR2b过表达(IHC3+),但不存在FGFR2b基因扩增(约1的FISH比率)。约10名患者不具有FGFR2b过表达(0至2+的IHC分析)。

[0532] 研究的详细目标、方案和纳入/排除准则如下:

[0533] 主要目标是评估抗体的递增剂量在患有实体肿瘤的患者中的安全性概况、和测定最大耐受剂量(MTD)和推荐剂量(RD)(部分1A);和评估抗体的递增剂量在患有晚期胃癌或胃食管癌(部分1B)(在本文中统称为“胃癌”)的患者中的安全性概况。次要目标是:(a) 表征静脉内施用的抗体的单个和多个剂量在胃癌患者和其他实体肿瘤患者中的PK概况;(b) 评估长期暴露于所施用抗体的安全性和耐受性;(c) 评估患有FGFR2b选择胃癌的患者中的客观反应率(ORR)(仅部分2);和(d) 评估具有FGFR2b选择胃癌的反应患者中的反应持续时间(仅部分2)。

[0534] 一些探索性目标是:评估患有在FGFR2扩增存在或不存在下FGFR2b过表达胃肿瘤的患者中的稳定患病率和持续时间(仅部分2);评价患有在FGFR2扩增存在或不存在下FGFR2b过表达胃肿瘤的患者中的无进展存活期(PFS)(仅部分2);和(c) 探索肿瘤组织中FGFR2b过表达程度和FGFR2扩增与临床结果之间的相关性。

[0535] 此为三部分、开放标签、安全性、耐受性和PK研究。患者入选研究的部分1 (A或B) 或部分2,而非同时入选部分1和2。至多28天(4周)的初始筛选时段后,在28天周期中每2周用抗体治疗患者。在部分1A中,针对安全性评价和剂量限制毒性的出现对各入选患者观察28天(DLT观察时段)。如果临床上适应,可在28天周期中每2周施用其他治疗(延长治疗期)。在部分1B中,在28天周期中每2周以目前部分1A DLT清除剂量水平治疗患者。在部分2中,在28天周期中每2周以在评价部分1A和1B中获得的数据后选择的推荐剂量(RD)用抗FGFR2抗体治疗患者。

[0536] 部分1A是患有任何局部晚期或转移性实体肿瘤或淋巴瘤且标准疗法已耗竭的患者中的剂量递增研究。预期约6个剂量队列,其中每一队列中入选最少3名患者。预期剂量水平是:0.3mg/kg、1mg/kg、3mg/kg、6mg/kg、10mg/kg和15mg/kg。安全性和PK参数的综述可告知向队列添加替代剂量水平或剂量方案(例如较不频繁投药)的决定以达到最佳靶暴露。所有剂量递增决定均基于DLT、整体安全性和耐受性的评价且将在入选每一队列的最后一名患者完成第一治疗周期后进行。剂量递增决定将由发起人和研究者组成的队列审议委员会(Cohort Review Committee,CRC)同意。最大耐受剂量(MTD)定义为在第1周期(安全性和PK评价期)期间<33%患者经历DLT的最大剂量。如果在3名患者中有1名被观察到DLT,则另3名患者将以所述相同剂量水平入选。剂量递增可继续,直至以剂量水平治疗的3至6名患者中有2名经历DLT为止。随后认为下一较低剂量为MTD。或者,在推断已达成MTD之前,可探索最后清除的剂量水平与引起>33% DLT的剂量水平之间的中间剂量。一旦达到MTD或RD,可在开始部分2之前增添3至10名额外胃癌患者,以进一步探索此剂量水平下的安全性和PK。

[0537] 以下算法用于部分1A剂量递增决定:

[0538]	具有 DLT 的患者的数目	行动
	0/3	开放下一队列
	1/3	在相同队列中再入选 3 名患者
	$\geq 2/3$	停止入选。如果先前仅输入 3 名患者,则按以下剂量水平再输入 3 名患者
	1/6	开放下一队列
	$\geq 2/6$	停止入选。如果先前仅输入 3 名患者,则按以下剂量水平再输入 3 名患者。

[0539] 倘若未鉴别出MTD但药物暴露超过基于非临床药理学数据或临床PK概况认为必需的那些,则发起人和研究者可决定中断剂量递增。

[0540] 在完成第1周期(安全性和PK评价期)时,部分1A患者可参与可选延长治疗期,其在第2周期的第1天开始。在4周周期中每2周施用抗FGFR2抗体直至疾病进展、不可接受的毒性、患者或医师要求中断、死亡或停止研究。

[0541] 部分1B的目的是在开始部分2之前进一步评价胃癌患者中抗FGFR2抗体的安全性和评估PK。已证明一些抗体(例如,贝伐珠单抗和曲妥珠单抗)的清除率在胃癌患者中较在患有其他实体肿瘤的患者中更快速。入选患者可为回溯性测试其肿瘤的胃癌患者,或已知FGFR2基因扩增或FGFR2b蛋白质过表达的那些。以与部分1A剂量递增的交错模式,部分1B中

的患者入选低于部分1A中所研究的目前最高剂量水平队列的一个剂量水平。举例来说,如果所研究的部分1A中的目前剂量水平是3mg/kg,部分1B患者的入选将处于1mg/kg剂量水平;如果部分1A中所研究的目前剂量水平是6mg/kg,部分1B患者的入选将处于3mg/kg剂量水平。

[0542] 在部分1B中,在每一剂量水平下可入选约3名患者,由发起人和研究者选定每剂量队列入选至多6名患者。如果部分1A中未鉴别出MTD,则剂量递增在部分1B中可继续最多15mg/kg。

[0543] 已由CRC基于整体安全性、耐受性、PK和从非临床数据外推得到的有效暴露的估计值鉴别出推荐剂量(RD)时,开始部分2中的入选。RD可与部分1A中鉴别的MTD相同或可不相同。举例来说,如果未达到MTD,或如果MTD下的暴露远高于认为功效所需的水平,或如果部分1B患者或两个部分1(A和B)的治疗的后续周期的数据提供关于安全性概况的额外理解,则RD可为与MTD不同、但不高于其的剂量。一旦确立RD,基于FGFR2b表达选择的患有胃癌的患者入选研究的部分2。部分2患者入选且经治疗以进一步表征具有来自抗体治疗的临床益处的最大潜能的所选癌症患者群体中的安全性和初步功效。治疗可继续直至疾病进展、不可接受的毒性、患者或医师决定中断、死亡或停止研究。

[0544] 入选部分1(A或B)或部分2的患者必须符合所有以下纳入准则:

[0545] 1) 在任何研究特定评估之前,了解并签署机构审查委员会(Institutional Review Board)/独立伦理委员会(Independent Ethics Committee)批准的知情同意书;

[0546] 2) 预期寿命至少3个月;

[0547] 3) ECOG体能状态为0至1;

[0548] 4) 在签署知情同意书时,年龄 ≥ 18 岁,中国台湾患者除外,其中在签署知情同意书时患者的年龄必须 ≥ 20 岁;

[0549] 5) 在性活跃患者(即,未经历连续12个月无月经定义的绝经或尚未进行永久性绝育术的育龄女性,或尚未进行永久性绝育术的男性)中,愿意使用2种有效的避孕方法,其中一种必须是物理屏障方法(避孕套、横膈膜或子宫帽/穹顶帽),直至最后剂量的抗FGFR2抗体后6个月。其他有效避孕形式是在筛选前至少6个月永久性绝育(子宫切除术和/或双侧卵巢切除术、或利用手术双侧输卵管结扎或输精管切除术)。育龄女性患者必须在研究前至少90天进行稳定的口服避孕疗法或子宫内或植入装置,或作为生活方式戒除性交。

[0550] 6) 适当的血液和生物学功能,由以下实验室值确认:

[0551] a) 骨髓功能

[0552] i) $ANC \geq 1.5 \times 10^9/L$

[0553] ii) 血小板 $> 100 \times 10^9/L$

[0554] iii) 血红蛋白 $\geq 9g/dL$

[0555] b) 肝功能

[0556] i) 天冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸转氨酶(ALT) $\leq 3 \times$ 正常值上限(ULN);如果肝转移,则 $\leq 5 \times$ ULN

[0557] ii) 胆红素 $\leq 1.5 \times$ ULN

[0558] c) 肾功能

[0559] i) 血清肌酐 $\leq 1.5 \times$ ULN

- [0560] 7) 可用于测定FGFR2b表达和FGFR2扩增的肿瘤组织 (对于部分1A患者是可选的)。
- [0561] 入选研究的部分1A (剂量递增) 的患者必须还满足以下纳入准则:
- [0562] 8) 组织学或细胞学确认的局部复发或转移并且在标准治疗后已进展或不适于标准治疗的实体肿瘤或淋巴瘤;
- [0563] 9) 可测量或不可测量的疾病。
- [0564] 入选研究的部分1B的患者必须还满足以下纳入准则:
- [0565] 10) 组织学文献记载的胃癌或胃食管癌;
- [0566] 11) 用于前瞻性或回溯性测定FGFR2b表达和FGFR2扩增的肿瘤组织;
- [0567] 12) 在标准治疗后已进展或不适于标准治疗的局部复发性或转移性疾病;
- [0568] 13) 如通过RECIST 1.1版定义的可测量的疾病。
- [0569] 入选研究的部分2 (剂量扩展) 的患者必须还满足以下纳入准则:
- [0570] 14) 组织学文献记载的胃癌或胃食管癌, 伴有
- [0571] a) FGFR2b过表达且FGFR2扩增, 或
- [0572] b) FGFR2b过表达而无FGFR2扩增, 或
- [0573] c) FGFR2b未过表达;
- [0574] 15) 在标准治疗后已进展或不适于标准治疗的局部复发性或转移性疾病;
- [0575] 16) 如通过RECIST 1.1版定义的可测量的疾病。
- [0576] 如果以下准则中的任一个适用, 则排除入选部分1 (A或B) 或部分2的患者:
- [0577] 1) 未经治疗或症状性中枢神经系统 (CNS) 转移。患有无症状CNS转移的患者是合格的, 前提是其已经在临床上稳定至少4周, 并且不需要介入, 诸如用于管控与CNS疾病相关的症状的手术、放射或任何皮质类固醇疗法。
- [0578] 2) 受损心脏功能或临床上显著的心脏病, 包括下列中的任一者:
- [0579] a) 在第一排定剂量的抗体之前, 不稳定性心绞痛 ≤ 6 个月
- [0580] b) 在第一排定剂量的抗体之前, 急性心肌梗塞 ≤ 6 个月
- [0581] 3) QTc区段 >470 msec
- [0582] 4) 已知人类免疫缺失病毒 (HIV) 或获得性免疫缺失综合征 (AIDS) 相关的疾病, 或慢性乙型或丙型肝炎的病史。
- [0583] 5) 在首个剂量的抗体之前, 利用任何抗癌疗法或参与另一利用研究药物的治疗性临床研究的治疗 ≤ 14 天 (对于韩国患者, ≤ 28 天)。
- [0584] 6) 来自先前治疗的持续不良效应 $> \text{NCI CTCAE 1级}$ 。
- [0585] a) 视网膜疾病或视网膜疾病或视网膜脱离的病史, 或在眼科医生看来视网膜脱离的风险增加
- [0586] b) 视网膜静脉阻塞 (RVO) 或中心浆液性视网膜病变的目前证据或先前病史。
- [0587] c) 在研究第1天之前1个月内诊断出青光眼。
- [0588] d) 用于青光眼的进行性医学疗法。
- [0589] e) 针对黄斑变性的先前眼内注射或激光治疗。
- [0590] f) 角膜缺损、角膜溃疡、角膜炎、圆锥角膜、角膜移植史或角膜的其他已知异常, 其在眼科医生看来可能引起抗FGFR2抗体治疗的风险。
- [0591] g) 尚未接受分别EGFR或ALK TKI的具有外显子19或21EGFR突变或ALK扩增的NSCLC

患者(仅1A部分)。

[0592] h) 尚未接受抗HER2靶向疗法的HER2过表达的胃癌和乳腺癌患者。

[0593] i) 在抗FGFR2抗体施用之前 ≤ 28 天不容许重大手术程序。在所有情形下,在治疗施用之前,患者必须充分康复且稳定。

[0594] j) 怀孕或哺乳的女性;育龄妇女不能在研究期间考虑怀孕。

[0595] k) 存在与临床研究不相容的任何严重或不稳定伴随系统障碍(例如物质滥用、精神病学紊乱或不受控间发病,包括活动性感染、动脉血栓形成和症状性肺栓塞)。

[0596] l) 存在可能增加与研究参与相关的风险或可能干扰研究结果解释且在研究者看来将使患者不适合进入研究的任何其他病况。

[0597] m) 对包含聚山梨醇酯的抗FGFR2抗体制剂的组份已知过敏或超敏。

[0598] n) 先前恶性病史,以下除外:

[0599] a) 治愈性治疗的非黑素瘤皮肤癌或

[0600] b) 实体肿瘤先前治愈性治疗5年以上而无复发证据,或

[0601] c) 在研究者看来不会影响研究治疗效果的确定的其他恶性肿瘤的病史。

[0602] o) 在部分1B和2(剂量扩展)中,用FGF-FGFR路径的任何选择性抑制剂(例如,AZD4547、BGJ398、JNJ-42756493、BAY1179470)的先前治疗。

[0603] p) 不授权这些纳入或排除准则的弃权声明书。

[0604] 部分2将涉及以下研究队列A、C、D、E和F。队列A将涉及约30名具有如IHC 3+ $\geq 10\%$ 肿瘤膜染色定义的强FGFR2b过表达的胃癌患者。队列C将涉及约10-30名无FGFR2b过表达的胃癌患者,如通过IHC=0所定义。还包括队列D-F。队列D将涉及约30名具有如通过IHC 2+ $\geq 10\%$ 和/或IHC 3+ $<10\%$ 肿瘤膜染色定义的中等FGFR2b过表达的胃癌患者。队列E将涉及约30名具有如通过IHC 1+和/或IHC 2+ $<10\%$ 肿瘤膜染色定义的低FGFR2b过表达的胃癌患者。队列F将涉及每一测试肿瘤类型约30名非胃实体肿瘤患者。对于膀胱癌患者来说,将存在两个子组。子组1对于FGFR2b具有10-19的H评分且子组2对于FGFR2b具有20或更高的H评分。

[0605] 研究药物:抗FGFR2抗体在无菌小瓶中提供,用于稀释至静脉内袋中以供通过研究位点施用。在部分1A中,患者接受2个剂量的抗FGFR2抗体,间隔2周。如果此在第一周期结束时耐受而无疾病进展,则患者有资格在延长治疗期内继续研究,并且每2周接受抗FGFR2抗体,直至疾病进展或其他原因而退出研究。

[0606] 剂量调整:在与发起人讨论并由其批准后,对于部分1A中除DLT时段外治疗中的患者或部分1B或2中的任何患者,允许剂量减少。对于不良或其他事件,患者可能错过最多2个连续剂量(剂量之间至多6周);对于不良或其他事件省略超过6周的额外投药将需要患者从研究中移除,除非研究发起人容许。不允许部分1(A和B)和部分2中每个患者的高于起始剂量的患者内剂量递增。如果患者的剂量由于不再相关的原因而减少,则在由发起人讨论和批准后,可以将剂量递增至初始分配的剂量。

[0607] 合并用药:可以由研究者决定并根据制度程序使用支持性护理(例如,止吐药;用于疼痛控制的止痛药)。如果指示,可使用造血刺激剂。除了长期维持疗法(诸如用于乳腺癌或前列腺癌的促黄体激素释放激素(LHRH)调节剂)外,不允许任何种类的合并抗癌疗法,如果患者已经服用这些药剂且1)继续使用不可能导致肿瘤测量结果的额外减少,和2)被认为是患者的标准疗法,则疗法可继续。

[0608] 退出:如果下列中的任一者适用,则患者必须中断方案处方的疗法:

[0609] • 应患者或其合法授权代表的要求撤回同意书;

[0610] • 患者的疾病进展。尽管孤立的疾病进展仍然获得临床益处的患者可以在与医学监测者讨论后继续研究;

[0611] • 任何会对患者造成不可接受的安全风险的事件;

[0612] • 会在很大程度上影响临床状态的评价的同时发生的疾病;

[0613] • 在研究期间的任何时间阳性怀孕测试;

[0614] • 根据发起人或其授权代表的具体要求(例如,如果研究由于患者安全的原因而终止)。

[0615] 药物动力学评价:部分1A和1B中入选的患者在第1周期的第1、2、4和8天期间进行血液取样用于测量血清抗FGFR2抗体浓度。另外,在第1周期第15天和第2-5周期第1天和从第5周期开始每隔一个周期的第1天在输注之前和结束时采集血样。对于部分2的第1周期中的患者来说,在第1天输注之前和结束时以及在第8天采集血样。在第1周期第15天和第2-5周期第1天和从第5周期开始每隔一个周期的第1天在输注之前和结束时以及治疗结束时采集血样,以探索在具有或无FGFR2扩增的FGFR2b过表达肿瘤的所选胃癌患者中的PK。基于血清抗FGFR2抗体浓度-时间数据测定标准PK参数。

[0616] 免疫原性:对研究中的所有患者在第1-5周期和从第5周期起每隔一个周期的第1天在投药之前采集血样,用于测量针对抗FGFR2抗体的抗体。

[0617] 功效评价:功效量度包括由以下组成的肿瘤评价:临床检查和适当成像技术,优选根据RECIST具有适当切片厚度的胸、腹部和骨盆的计算机断层摄影(CT)扫描;如果需要,可实施其他评价(磁共振成像[MRI])、X射线、正电子发射断层摄影术(PET)和超声波)。在筛选时实施肿瘤评价,随后从第一剂量起每6周进行一次,持续24周,且此后约每12周进行一次。一旦注意到初始完全反应(CR)或部分反应(PR),必须在4-6周后进行确证性扫描。

[0618] 安全性评价:安全性量度包括AE、血液学、临床化学、尿分析、生命征象、体重、合并用药/程序、ECOG体能状态、靶向体检、ECG、眼科/视网膜检查和抗FGFR2抗体剂量修改。

[0619] 本研究计划总共入选约100-130名患者:约20-30名患者入选部分1A。在部分1B中,入选最多30名胃癌患者。对于部分2来说,通过入选下列中的一个或多个检查探索性活动:

[0620] • 队列A:约30名具有FGFR2b过表达(IHC 3+)和FGFR2扩增(FISH \geq 2比率)的胃癌患者;

[0621] • 队列B:约30名在不存在FGFR2扩增(FISH比率=1)下具有FGFR2b过表达(IHC 3+)的胃癌患者,以帮助表征FGFR2选择的预测重要性。

[0622] • 队列C:约10-30名无FGFR2b过表达的胃癌患者,如由IHC=0至2+所定义。

[0623] • 队列D:约30名具有如IHC 2+ \geq 10%和/或IHC 3+<10%肿瘤膜染色所定义的中等FGFR2b过表达的胃癌患者。

[0624] • 队列E:约30名具有如IHC 1+和/或IHC 2+<10%肿瘤膜染色定义的低FGFR2b过表达的胃癌患者。

[0625] • 队列F:每个测试肿瘤类型约30名非胃实体肿瘤患者。对于膀胱癌患者来说,将存在两个子组。子组1对于FGFR2b具有10-19的H评分且子组2对于FGFR2b具有20或更高的H评分。

[0626] 实施例6:利用抗FGFR2抗体的膀胱癌患者的治疗

[0627] 本实施例阐述利用实施例5中所述的研究的包含SEQ ID NO:6-11的重链和轻链HVR的无岩藻糖基化FGFR2抗体的入选上述研究(参见实施例5)的76岁男性的治疗,其在向其主治医师提供血尿后于2014年7月被诊断有膀胱癌。患者进行诊断性膀胱镜检查 and 活检,且随后进行原发性肿瘤的切除术。其被分期为T2、N2、M0-肿瘤进入肌肉壁且6个取样的淋巴结中有3个是阳性的-此使其成为4期受试者。其在辅助设定中接受4个周期的吉西他滨和顺铂(SOC)。2015年3月,在辅助化学疗法完成后约6个月,患者进行常规监督PET和CT。CT显示在骨盆和腹膜后腔中有多个扩大的淋巴结,而PET证实这些是代谢活动的并且与复发性转移性膀胱癌(UBC)一致。患者以大约每两周3mg/kg的剂量开始接受抗FGFR2抗体。随后跟踪大小和总体腺病最大的淋巴结。在2015年4月初次筛选和第一抗FGFR2剂量时,最大淋巴结为18×12mm。六周后,最大结经测量为15×11mm,且12周后,其大小为9×7mm,因此减少约一半。2014年8月未观察到明显腺病。随后的再分期扫描证实没有明显的淋巴结病,且在2015年11月实施的PET显示无异常的代谢活动。患者目前继续进行抗FGFR2抗体疗法。

[0628] 实施例7:针对FGFR2b过表达的膀胱癌样品的免疫组织化学分析

[0629] 为了评价膀胱癌群体中FGFR2b过表达的频率,使用免疫组织化学(IHC)。使用包含GAL-FR21的鼠类可变区的鼠类 α FGFR2b抗体对正常膀胱和归档尿路上皮癌(UC)样品实施免疫组织化学(IHC)(参见美国专利第8,101,723B2号)。使用生色底物对422个福尔马林固定石蜡包埋的UC切片(原发性和转移性全切片或呈组织微阵列形式)进行染色和检测。以0-3的量表对膜肿瘤细胞染色强度进行评分,其中如果未观察到反应性或如果仅在<10%肿瘤细胞中有膜反应性,则给出评分“0”;如果在至少10%肿瘤细胞中存在微弱或几乎不可感知的膜反应性或如果细胞仅在其膜的一部分中具有反应性,则给出评分“1+”;如果在至少10%肿瘤细胞中存在弱至中度的完全、基底外侧或侧膜反应性,则给出评分“2+”;且如果在至少10%肿瘤细胞中存在强的完全基底外侧或侧膜反应性,则给出评分“3+”。在本实验中,在≥10%肿瘤细胞中具有1+膜反应性的肿瘤被认为是阳性的。

[0630] 正常膀胱具有弱转移上皮染色(<1+)。然而,422个归档原发性UC样品的IHC分析显示FGFR2b在≥10%样品中过表达,表达强度为至少1+。

[0631] 此外,来自手术切除的抗FGFR2反应性膀胱癌患者(参见实施例6)的原发性肿瘤样品利用FPR2-D抗体具有15%2+IHC染色和35%1+染色。此与来自胃癌患者的先前数据形成对比,其中选择具有3+染色的患者的肿瘤样品且已观察到客观反应。此患者对抗FGFR2抗体(参见实施例6)的反应和UC样品中的阳性IHC染色共同地表明,膀胱癌是可能对抗FGFR2抗体治疗敏感的额外适应症。

[0632] 实施例8:在患有晚期实体肿瘤的患者中与尼沃鲁单抗组合的抗FGFR2抗体的开放标签I期研究

[0633] 将进行两部分、开放标签、多中心、剂量递增和剂量扩展研究以评估在患有晚期实体肿瘤的患者中包含SEQ ID NO:6-11的重链和轻链HVR的无岩藻糖基化FGFR2抗体与尼沃鲁单抗的组合的安全性、耐受性、药物动力学(PK)、药效学(PD)和初步功效。研究的每一部分将由3个时段组成:筛选(长达28天)、治疗 and 随访(长达100天)。抗FGFR2抗体和尼沃鲁单抗将在每一14天治疗周期的第1天给予。在30分钟内以IV输注形式施用抗FGFR2抗体,之后静息30分钟,且随后在30分钟内以IV输注形式施用尼沃鲁单抗。如果在以建议输注速率输

注任一药物期间观察到任何3级或更高级输注反应,则在此研究的持续时间内,对于所有目前和随后患者,输注速率将延长至60分钟。在完成研究的治疗和随访期后,将跟踪所有患者的存活。

[0634] 本研究将包括部分1剂量递增和部分2剂量扩展。部分1由在患有胃或胃食管接合部癌(共同称作胃癌)的患者中抗FGFR2抗体与尼沃鲁单抗的组合的两个计划的投药队列组成。对于研究进入本研究的剂量递增部分将不需要表型表征,但将回溯性地进行。此表型表征包括(但不限于)通过免疫组织化学(IHC)的FGFR2b和PD-L1的表达的分析。入选部分1的每一患者将观察28天(或在完成两个14天周期后)用于安全性评价和剂量限制性毒性(DLT观察期)的发生。在部分1中入选的任何患者中第一次发生延迟的DLT(定义为在施用研究药物后4至6周之间发生的任何AE)后,对于部分1中入选的所有其余和随后患者,所有正在进行和随后的DLT期将延长至42天(或在完成三个14天周期后)。如临床上所指示,此后可在14天周期中每2周施用额外治疗(延长治疗期)。

[0635] 部分2由患有晚期胃癌的患者中的两个扩展队列组成。入选本研究的部分2需要使用验证的测定的FGFR2b表达的前瞻性IHC分析。允许入选通过IHC肿瘤对FGFR2b呈阳性的患者,前提是满足其他合格性准则。本研究的部分2中的两个队列将由患者肿瘤中对FGFR2b的IHC阳性程度定义。队列2a将包括在至少10%肿瘤细胞中肿瘤以1+或2+的强度染色的患者。队列2b将包括在至少10%肿瘤细胞中肿瘤以3+的强度染色的患者。这些队列中的每一个的开始将由发起人决定。研究的部分2剂量扩展部分是开放标签。在14天周期中每2周利用与3mg/kg尼沃鲁单抗组合的抗FGFR2抗体以在评价部分1中获得的数据后选择的推荐剂量(RD)治疗满足所有合格性准则的患者。患者将入选研究的部分1或部分2,而非二者。

[0636] 在部分1中,预期两个剂量队列,其中每一队列中入选最少6名胃癌患者。计划剂量水平如下;第一患者将入选剂量水平1中:

[0637] 剂量水平-1:6mg/kg抗FGFR2抗体+3mg/kg尼沃鲁单抗(q2w)

[0638] 剂量水平1:10mg/kg抗FGFR2抗体+3mg/kg尼沃鲁单抗(q2w)

[0639] 剂量水平2:15mg/kg抗FGFR2抗体+3mg/kg尼沃鲁单抗(q2w)

[0640] 所有剂量递增决定将基于DLT的评价、总体安全性和耐受性,且将在每个队列中入选的最后受试者完成规定的DLT观察期之后进行。剂量递增决定将由由发起人和调查员组成的队列审议委员会(CRC)同意。安全性和PK参数的审查可通知决定以向队列添加替代剂量水平,以达到最佳目标暴露。仅在需要检查较低剂量的抗FGFR2抗体的剂量水平1下观察到DLT时才将询问剂量水平-1。观察到 ≤ 1 DLT的最高剂量水平将被认为是推荐的2期剂量(RP2D)。在鉴别RP2D后研究的部分1中入选额外8名患者。因此,对于部分1将入选约20名患者。

[0641] 在完成DLT观察期时,部分1患者可参与在第2周期的第1天开始的可选延长治疗期。抗FGFR2抗体将继续在4周周期中每2周以相同剂量水平与尼沃鲁单抗组合施用直至疾病进展、不可接受的毒性、患者或医师请求中断、死亡或终止研究。

[0642] 为了进一步表征抗FGFR2抗体与尼沃鲁单抗的组合的安全性和功效,部分2将入选约40名晚期胃癌患者,其中在两个队列中,每个队列20名患者。这两个队列将在针对FGFR2b的肿瘤的IHC阳性程度上不同。通过中央审查在 $\geq 10\%$ 肿瘤细胞中肿瘤评分为1+或2+(低或中等过表达)的患者将被置于队列2A中;肿瘤分级为3+ $\geq 10\%$ 肿瘤细胞的患者将入选队列

2B.当CRC基于总体安全性和耐受性鉴别推荐剂量(RD)时,将开始部分2的入选。RD可与部分1中鉴别的MTD相同或可不相同。抗FGFR2抗体将在4周周期中每2周以RD与尼沃鲁单抗组合施用直至疾病进展、不可接受的毒性、患者或医师请求中断、死亡或终止研究。

[0643] 如果在入选和评估前20名患者后观察到足够活性以值得进一步探索,则每个队列中对另外20名患者的入选将开放。每个队列的开放和向每个队列增添20名患者将根据发起人决定进行。

[0644] 入选部分2的患者将使用验证的免疫组织化学(IHC)测定回溯性测试PD-L1表达的肿瘤组织(归档和/或最近)。在治疗之前和治疗中将获得原发性肿瘤位点或转移位点的生检(如果可行),以检查免疫浸润物和所选肿瘤标记物的表达。可获得在治疗时或治疗后有反应和/或进展的肿瘤的可选生检以了解抗性机制。

[0645] 根据方案中概述的指南,对于部分1中超过DLT期的治疗中的患者或部分2中的任何患者,可以允许抗FGFR2抗体的剂量减少。

[0646] 计划将来自北美洲和欧洲的最多约60个受试者入选此研究。此包括部分1剂量递增中的20名患者和部分2剂量扩展中的约40名患者。

[0647] 纳入准则

[0648] 入选部分1或部分2的患者必须符合所有以下纳入准则:

[0649] 1.在任何研究特定评估之前,了解并签署机构审查委员会/独立伦理委员会批准的知情同意书

[0650] 2.预期寿命至少3个月

[0651] 3.ECOG体能状态为0至1

[0652] 4.在签署知情同意书时年龄 ≥ 18 岁

[0653] 5.在性活跃患者(即,未经历连续12个月无月经定义的绝经或尚未进行永久性绝育术的育龄女性,或尚未进行永久性绝育术的男性)中,愿意使用2种有效的避孕方法,其中一种必须是物理屏障方法(避孕套、横膈膜或子宫帽/穹顶帽),直至最后剂量的抗FGFR2抗体后6个月。其他有效避孕形式是在筛选前至少6个月永久性绝育(子宫切除术和/或双侧卵巢切除术、或利用手术双侧输卵管结扎或输精管切除术)。育龄女性患者必须在研究前至少90天进行稳定的口服避孕疗法或子宫内或植入装置,或作为生活方式戒除性交。

[0654] 6.适当的血液和生物学功能,由以下实验室值确认:

[0655] a) 骨髓功能

[0656] • $ANC \geq 1.5 \times 10^9/L$

[0657] • 血小板 $> 100 \times 10^9/L$

[0658] • 血红蛋白 $\geq 9g/dL$

[0659] b) 肝功能

[0660] • 天冬氨酸转氨酶(AST)和丙氨酸转氨酶(ALT) $\leq 3 \times$ 正常值上限(ULN);如果肝转移,则 $\leq 5 \times$ ULN

[0661] • 胆红素 $\leq 1.5 \times$ ULN

[0662] c) 肾功能

[0663] • 血清肌酐 $\leq 1.5 \times$ ULN

[0664] 7.组织学或细胞学确认的局部复发或转移并且在标准治疗后已进展或不适于标

准治疗的胃癌或胃食管癌。

[0665] 入选研究的部分1 (剂量递增) 的患者必须还满足以下纳入准则:

[0666] 7. 可测量或可评价的疾病

[0667] 入选研究的部分2 (剂量扩展) 的患者必须还满足以下纳入准则:

[0668] 8. 如通过RECIST 1.1版定义的可测量的疾病

[0669] 9. 如通过验证的IHC测定来测定的对FGFR2b表达呈阳性的肿瘤

[0670] 10. 用于回溯性测定PD-L1表达的肿瘤组织 (归档或最近)

[0671] 排除准则

[0672] 如果以下准则中的任一个适用, 则排除入选部分1或部分2的患者:

[0673] 1. 未经治疗或症状性中枢神经系统 (CNS) 转移。患有无症状CNS转移的患者是合格的, 前提是其已经在临床上稳定至少4周, 并且不需要介入, 诸如用于管控与CNS疾病相关的症状的手术、放射或任何皮质类固醇疗法。

[0674] 2. 受损心脏功能或临床上显著的心脏病, 包括下列中的任一者:

[0675] ○在第一排定剂量的抗FGFR2抗体之前, 不稳定性心绞痛≤6个月

[0676] ○在第一排定剂量的抗FGFR2抗体之前, 急性心肌梗塞≤6个月

[0677] 3. QTc区段>470msec

[0678] 4. 测试对人类免疫缺失病毒 (HIV) 1或2呈阳性的已知历史或已知获得性免疫缺失综合征 (AIDS)

[0679] 5. 对乙型肝炎病毒表面抗原 (HBsAg) 或可检测丙型肝炎病毒核糖核酸 (HCV RNA) 的阳性测试, 指示急性或慢性感染

[0680] 6. 筛选时对潜伏性结核病 (TB) 呈阳性的测试 (Quantiferon测试) 或活动性TB的证据

[0681] 7. 症状性间质性肺病或炎性肺炎

[0682] 8. 活动性、已知或怀疑自体免疫疾病。允许入选患有I型糖尿病、仅需要激素替代的甲状腺功能减退、不需要全身性治疗的皮肤病症 (诸如白癜风、银屑病或脱发) 或在不存在外部触发时预计不会复发的病况的患者。

[0683] 9. 任何不受控的炎性GI疾病, 包括克隆氏病 (Crohn's Disease) 和溃疡性结肠炎

[0684] 10. 抗药物抗体、严重变应性、过敏性或对先前生物剂的其他输注相关反应的历史

[0685] 11. 在研究药物施用前至少2周, 必须中断免疫抑制剂量的全身性用药, 诸如类固醇或吸收的局部类固醇 (剂量>10mg/天强的松或等效日剂量), 除非在肿瘤相关的AE治疗的情形下。在不存在活动性自体免疫疾病下允许患有在2周治疗内需要用皮质类固醇 (吸入或局部类固醇和肾上腺替代类固醇剂量>10mg/天强的松等效物) 或其他免疫抑制药物进行慢性全身性治疗的病况的患者 (患有神经胶质瘤的患者除外)。

[0686] 12. 在研究药物施用的4周内用于预防传染病的非肿瘤疫苗疗法 (例如, HPV疫苗)。不活化的流行性感疫苗可在治疗前和治疗时给予患者而无限制。可允许含有活病毒的流行性感疫苗或用于传染病 (即, 肺炎病毒、水痘等) 的其他临床上指示的疫苗接种, 但必须利用发起人的医疗监测仪进行讨论且在施用疫苗之前和之后可能需要研究药物清除期。

[0687] 13. 在首个剂量的研究药物施用之前≤14天利用任何抗癌症疗法治疗或参与利用

研究药物的另一治疗性临床研究。

[0688] 14. 来自先前治疗的进行性急性不良效应>NCI CTCAE 1级。

[0689] 15. 尚未接受抗HER2靶向疗法的具有HER2过表达的胃癌患者。

[0690] 16. 在FPA144施用之前≤28天不容许重大手术程序。在所有情形下,在治疗施用之前,患者必须充分康复且稳定。

[0691] 17. 怀孕或哺乳的女性;育龄妇女不能在研究期间考虑怀孕。

[0692] 18. 存在与临床研究不相容的任何严重或不稳定伴随系统障碍(例如物质滥用、精神病学紊乱或不受控间发病,包括活动性感染、动脉血栓形成和症状性肺栓塞)。

[0693] 19. 存在可能增加与研究参与相关的风险或可能干扰研究结果解释且在研究者看来将使患者不适合进入研究的任何其他病况。

[0694] 20. 对包含聚山梨醇酯的抗FGFR2抗体或尼沃鲁单抗制剂的组份已知过敏或超敏。

[0695] 21. 用FGF-FGFR路径的任何选择性抑制剂(例如,AZD4547、BGJ398、JNJ-42756493、BAY1179470)的先前治疗

[0696] 22. 先前恶性病史,以下除外:

[0697] a) 治愈性治疗的非黑素瘤皮肤癌或

[0698] b) 实体肿瘤先前治愈性治疗5年以上而无复发证据,或

[0699] c) 在研究者看来不会影响研究治疗效果的确定的其他恶性肿瘤的病史。

[0700] 对于药物动力学分析来说,将从所有患者采集血样。将基于抗FGFR2抗体浓度-时间数据测定标准PK参数。还采集血样以测定针对抗FGFR2抗体的抗药物抗体(ADA)和尼沃鲁单抗。

[0701] 功效量度将包括肿瘤评价,其包括临床检查和适当成像技术,优选根据RECIST 1.1具有适当切片厚度的胸、腹部和骨盆的计算机断层摄影(CT)扫描;如果需要,可实施其他评价(磁共振成像(MRI)、X射线、正电子发射断层摄影术(PET)和超声波)。将在筛选时实施肿瘤评价,随后从第一剂每6周进行24周,且此后约每12周进行一次。一旦注意到初始完全反应(CR)或部分反应(PR),必须在4-6周后进行确证性扫描。

[0702] 对于部分2中的所有患者,在治疗前和治疗时第15天或29天实施肿瘤生检(如果可行,强制性)。每个时间点的可行性将由研究者评价,并应包括患者安全性的考虑。在与发起人讨论之后,患者还可具有关于文献记载的肿瘤反应的可选治疗时生检和/或关于文献记载的肿瘤进展的可选治疗后生检。

[0703] 最多约60个受试者的样本大小是基于部分1中的剂量递增的研究设计和部分2中治疗组中每组20名患者。本研究的部分2中的每一个别组将进行Simon两阶段设计。对于PD-L1表达未选择的晚期胃癌中作为单一疗法的尼沃鲁单抗的假定观察反应率是12%;依肿瘤中观察到的FGFR2b的表达程度而定,对于抗FGFR2抗体的ORR可不同。对于队列2A来说,对于抗FGFR2抗体的假定ORR是0%。对于队列2B来说,对于抗FGFR2抗体单一疗法的ORR是30%。因此,如果在前20名患者中观察到<2个反应,则队列2A将不入选20名患者扩展。对于队列2B来说,如果前20名入选患者中<6名患者达成客观反应,则将不开始20名患者扩展。

[0704] 序列表

[0705] 下表提供本文提及的某些序列表。

[0706]

SEQ. ID. NO.	说明	序列
1	成熟人 FGFR2-IIIb	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKHSNGINSS NAEVLALFNV TEADAGEYIC KVSNIYIGQAN QSAWLTVLPK QQAPGREKEI TASP DYLEIA IYCIGVFLIA CMVVTVILCR MKNTTKKPDF SSQPAVHKLK KRIPLRRQVT VSAESSSSMN SNTPLVRITT RLSSTADTPM LAGVSEYELP EDPKWEFPRD KLT LGKPLGE GCFGQVMAE AVGIDKDKPK EAVTVAVKML KDDATEKDLS DLVSEMEMMK MIGKHKNIIN LLGACTQDGP LYVIVEYASK GNLREYLRAR RPPGMEYSYD INRVPEEQMT FKDLVSCTYQ LARGMEYLAS QKCIHRDLAA RNVLV TENNV MKIADFLAR DINNIDYYKK TTNGRLPVKW MAPEALFDRV YTHQSDVWSF GVLMWEIFTL GGSPYPGIPV EELFKLLKEG HRMDK PANCT NELYMMMRDC WHAVPSQRPT FKQLVEDLDR ILTLTTNEEY LDLSQPLEQY SPSYPDTRSS CSSGDDSVFS PDPMPYEPCL PQYPHINGSV KT
2	α FGFR2b 重 链; Asn297 加 粗且加 <u>下划线</u>	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT TYNVHWVRQA PGQGLEWIGS IYPDNGDTSY NQNFKGRATI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARGD FAYWGQGTLV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCDKT HTCPCPAPE LLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV

[0707]

		KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGK
3	α FGFR2b 轻链	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQGVV NDVAWYQQKPKAPKLLIYS ASYRYTGVPV RFGSGSGTD FTFTISLQPEDIATYYCQQ HSTTPYTFGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEK
4	α FGFR2b 重链可变区	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT TYNVHWVRQA PGQGLEWIGSIYPDNGDTSY NQNFKGRATIADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGDFAYWGQGTLVTVSS
5	α FGFR2b 轻链可变区	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQGVV NDVAWYQQKPKAPKLLIYS ASYRYTGVPV RFGSGSGTD FTFTISLQPEDIATYYCQQ HSTTPYTFGQGTKLEIK
6	α FGFR2b 重链(HC) HVR1	TYNVH
7	α FGFR2b HC HVR2	SIYPDNGDTSYNQNFKG
8	α FGFR2b HC HVR3	GDFAY
9	α FGFR2b 轻链(LC) HVR1	KASQGVSNDA
10	α FGFR2b LC HVR2	SASYRYT
11	α FGFR2b LC HVR3	QQHSTTPYT
12	α FGFR2b N297Q 重链; N297Q 点突变加粗且加下划线	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYIFT TYNVHWVRQA PGQGLEWIGSIYPDNGDTSY NQNFKGRATIADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGDFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYQSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGK

[0708]

13	成熟人 FGFR2-IIIc	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT ASPDYLEIAI YCIGVFLIAC MVVTVILCRM KNTTKKPDFS SQPAVHKLTK RIPLRRQVTV SAESSSSMNS NTPLVRITTR LSSTADTPML AGVSEYELPE DPKWEFPRDK LTLGKPLGEG CFGQVVMAEA VGIDKDKPKE AVTVAVKMLK DDATEKDLS LVSEMEMMKM IGKHKNINL LGACTQDGPL YVIVEYASKG NLREYLRARR PPGMEYSYDI NRVPEEQMTF KDLVSCTYQL ARGMEYLASQ KCIHRDLAAR NVLV TENNV M KIADFGLARD INNIDYYKKT TNGRLPVKWM APEALFDRVY THQSDVWSFG VLMWEIFTLG GSPYPGIPVE ELFKLLKEGH RMDKPANCTN ELYMMMRDCW HAVPSQRPTF KQLVEDLDRI LTLTTNEEYL DLSQPLEQYS PSYPDTRSSC SSGDDSVFSP DPMPEPCLP QYPHINGSVK T
14	FGFR2 ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT ASPDYLE
15	FGFR2 ECD Δ3	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI

[0709]

			SFHSAWLTVL PAPGREKEIT ASPD
16	FGFR2 Δ4	ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNNT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT ASP
17	FGFR2 Δ5	ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNNT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT AS
18	FGFR2 Δ8	ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNNT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEI
19	FGFR2 Δ9	ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNNT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKE
20	FGFR2	ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY

[0710]

	$\Delta 10$		VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREK
21	FGFR2 $\Delta 14$	ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAP
22	FGFR2 $\Delta 15$	ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PA
23	FGFR2 $\Delta 16$	ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL P
24	FGFR2 $\Delta 17$	ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS

[0711]

		RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDEDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL
25	Fc C237S	EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP VLDSGDSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
26	Fc	ERKCCVECPP CPAPPVAGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST FRVVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTISK KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
27	Fc	ESKYGPPCPS CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFPYSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK
28	FGFR2(111-118)	DDEDDTDG
29	FGFR1(105-112)	EDDDDDDD
30	R2(111-118)由R1(105-112)置换的 FGFR2 ECD	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS G EDDDDDDDD A EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT ASPDYLE
31	R2(111-118)由	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY

[0712]

	R1(105-112)置换的 FGFR2 ECD + Fc	VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS G EDDDDDDDD A EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNNT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT ASPDYLE EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP VLDSGDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
32	FGFR2 ECD $\Delta 3$ + GS 接头 + Fc (也 称 作 FGFR2ECD(Δ 3)-GS 接头-Fc 和 FGFR2-Fc)	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS GDDDDTDGA EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNNT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT ASPD GS EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP VLDSGDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
33	R2(111-118)由 R1(105-112)置换的 FGFR2 ECD $\Delta 3$	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS G EDDDDDDDD A EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNNT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI

[0713]

		SFHSAWLTVL PAPGREKEIT ASPD
34	R2(111-118)由 R1(105-112)置 换的 FGFR2 ECD $\Delta 3$ + GS 接头 + Fc (也称作 FGFR2ECD(F GFR2(111-118):FGFR1(105- 112): $\Delta 3$)-GS 接头 -Fc 和 R2(111-118):R 1(105-112))	RPSFSLVED TTLEPEEPPT KYQISQPEVY VAAPGESLEV RCLLKDAAVI SWTKDGVHLG PNNRTVLIGE YLQIKGATPR DSGLYACTAS RTVDSETWYF MVNVTDAISS G EDDDDDDDD A EDFVSENSNN KRAPYWTNTE KMEKRLHAVP AANTVKFRCP AGGNPMPTMR WLKNGKEFKQ EHRIGGYKVR NQHWSLIMES VVPSDKGNYT CVVENEYGSI NHTYHLDVVE RSPHRPILQA GLPANASTVV GGDVEFVCKV YSDAQPHIQW IKHVEKNGSK YGPDGLPYLK VLKAAGVNTT DKEIEVLYIR NVTFEDAGEY TCLAGNSIGI SFHSAWLTVL PAPGREKEIT ASPD GS EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP VLDSGGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
35	人 PD-1 前体(具有信号序列) UniProtKB/ Swiss-Prot: Q15116.3, 01-OCT-2014	MQIPQAPWPV VWAVLQLGWR PGWFLDSPDR PWNPTFSPA LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL
36	人 PD-1 (成熟 , 无信号序列)	PGWFLDSPDR PWNPTFSPA LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL
37	人 PD-L1 前体 (具有信号序 列) UniProtKB/ Swiss-Prot: Q9NZQ7.1, 01-OCT-2014	MRIFAVFIFM TYWHLLNAFT VTPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVDPVTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTLRLIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVPELP LAHPPNERTH LVILGAILLC LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK QSDTHLEET

[0714]

38	人 PD-L1 (成熟, 无信号序列)	FT VTVPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTLRLIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVLPELP LAHPPNERTH LVILGAILLC LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK KQSDTHLEET
39	抗 FGFR2 Gal-FR22 重链 可变区	QVQLKQSGPG LVQPSQSLSI TCTVSGFSLT SFGVHWVRQS PGKGLEWLGV IWSGGSTDYN ADFRSRLSIS KDNSKSQIFF KMNSLQPDDT IAYCANFYYG YDDYVMDYWG QGTSVTVSS
40	抗 FGFR2 Gal-FR22 重链 CDR1	SFGVH
41	抗 FGFR2 Gal-FR22 重链 CDR2	VIWSGGSTDYNADFRS
42	抗 FGFR2 Gal-FR22 重链 CDR3	FYYGYDDYVMDY
43	抗 FGFR2 Gal-FR22 轻链 可变区	DIQMTQSPSS LSASLGGRVT ITCKASQDIK NYIAWYQHQP GKSPRLLIHY TSTLQPGVPS RFSGSGSGRD YSFSISNLEP EDIATYYCLQ YDDDLYMFGG GTKLDIK
44	抗 FGFR2 Gal-FR22 轻链 CDR1	KASQDIKNYIA
45	抗 FGFR2 Gal-FR22 轻链 CDR2	YTSTLQP
46	抗 FGFR2 Gal-FR22 轻链 CDR3	LQYDDL YM

[0001]	序列表
[0002]	<110> 戊瑞治疗有限公司(FIVE PRIME THERAPEUTICS, INC.)
[0003]	<120> 用于癌症治疗的单独FGFR2抑制剂或与免疫刺激剂的组合
[0004]	<130> 01134-0046-00PCT
[0005]	<150> US 62/258,731
[0006]	<151> 2015-11-23
[0007]	<150> US 62/314,174
[0008]	<151> 2016-03-28
[0009]	<150> US 62/379,094
[0010]	<151> 2016-08-24
[0011]	<160> 46
[0012]	<170> PatentIn 3.5版
[0013]	<210> 1
[0014]	<211> 801
[0015]	<212> PRT
[0016]	<213> 智人
[0017]	<220>
[0018]	<221> MISC_FEATURE
[0019]	<223> 成熟人FGFR2-IIIb
[0020]	<400> 1
[0021]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu
[0022]	1 5 10 15
[0023]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala
[0024]	20 25 30
[0025]	Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val
[0026]	35 40 45
[0027]	Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr
[0028]	50 55 60
[0029]	Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp
[0030]	65 70 75 80
[0031]	Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr
[0032]	85 90 95
[0033]	Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
[0034]	100 105 110
[0035]	Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
[0036]	115 120 125
[0037]	Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
[0038]	130 135 140

[0039]	Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
[0040]	145 150 155 160
[0041]	Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
[0042]	165 170 175
[0043]	Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His
[0044]	180 185 190
[0045]	Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr
[0046]	195 200 205
[0047]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
[0048]	210 215 220
[0049]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
[0050]	225 230 235 240
[0051]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
[0052]	245 250 255
[0053]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His
[0054]	260 265 270
[0055]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu
[0056]	275 280 285
[0057]	Lys Val Leu Lys His Ser Gly Ile Asn Ser Ser Asn Ala Glu Val Leu
[0058]	290 295 300
[0059]	Ala Leu Phe Asn Val Thr Glu Ala Asp Ala Gly Glu Tyr Ile Cys Lys
[0060]	305 310 315 320
[0061]	Val Ser Asn Tyr Ile Gly Gln Ala Asn Gln Ser Ala Trp Leu Thr Val
[0062]	325 330 335
[0063]	Leu Pro Lys Gln Gln Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser
[0064]	340 345 350
[0065]	Pro Asp Tyr Leu Glu Ile Ala Ile Tyr Cys Ile Gly Val Phe Leu Ile
[0066]	355 360 365
[0067]	Ala Cys Met Val Val Thr Val Ile Leu Cys Arg Met Lys Asn Thr Thr
[0068]	370 375 380
[0069]	Lys Lys Pro Asp Phe Ser Ser Gln Pro Ala Val His Lys Leu Thr Lys
[0070]	385 390 395 400
[0071]	Arg Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala Glu Ser Ser Ser
[0072]	405 410 415
[0073]	Ser Met Asn Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Thr Thr Arg Leu Ser
[0074]	420 425 430
[0075]	Ser Thr Ala Asp Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser Glu Tyr Glu Leu
[0076]	435 440 445
[0077]	Pro Glu Asp Pro Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp Lys Leu Thr Leu Gly

[0078]	450	455	460
[0079]	Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala		
[0080]	465	470	475
[0081]	Val Gly Ile Asp Lys Asp Lys Pro Lys Glu Ala Val Thr Val Ala Val		
[0082]	485	490	495
[0083]	Lys Met Leu Lys Asp Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val		
[0084]	500	505	510
[0085]	Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile		
[0086]	515	520	525
[0087]	Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu Tyr Val Ile Val		
[0088]	530	535	540
[0089]	Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu Arg Ala Arg Arg		
[0090]	545	550	555
[0091]	Pro Pro Gly Met Glu Tyr Ser Tyr Asp Ile Asn Arg Val Pro Glu Glu		
[0092]	565	570	575
[0093]	Gln Met Thr Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Thr Tyr Gln Leu Ala Arg		
[0094]	580	585	590
[0095]	Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala		
[0096]	595	600	605
[0097]	Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asn Asn Val Met Lys Ile Ala Asp		
[0098]	610	615	620
[0099]	Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Asn Asn Ile Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr		
[0100]	625	630	635
[0101]	Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe		
[0102]	645	650	655
[0103]	Asp Arg Val Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu		
[0104]	660	665	670
[0105]	Met Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro		
[0106]	675	680	685
[0107]	Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys		
[0108]	690	695	700
[0109]	Pro Ala Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met Arg Asp Cys Trp		
[0110]	705	710	715
[0111]	His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp		
[0112]	725	730	735
[0113]	Leu Asp Arg Ile Leu Thr Leu Thr Thr Asn Glu Glu Tyr Leu Asp Leu		
[0114]	740	745	750
[0115]	Ser Gln Pro Leu Glu Gln Tyr Ser Pro Ser Tyr Pro Asp Thr Arg Ser		
[0116]	755	760	765

[0117] Ser Cys Ser Ser Gly Asp Asp Ser Val Phe Ser Pro Asp Pro Met Pro
 [0118] 770 775 780
 [0119] Tyr Glu Pro Cys Leu Pro Gln Tyr Pro His Ile Asn Gly Ser Val Lys
 [0120] 785 790 795 800
 [0121] Thr
 [0122] <210> 2
 [0123] <211> 444
 [0124] <212> PRT
 [0125] <213> 人工序列
 [0126] <220>
 [0127] <223> 抗FGFR2b重链
 [0128] <220>
 [0129] <221> MISC_FEATURE
 [0130] <222> (294) .. (294)
 [0131] <223> Asn297
 [0132] <400> 2
 [0133] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 [0134] 1 5 10 15
 [0135] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Thr Tyr
 [0136] 20 25 30
 [0137] Asn Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 [0138] 35 40 45
 [0139] Gly Ser Ile Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
 [0140] 50 55 60
 [0141] Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 [0142] 65 70 75 80
 [0143] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0144] 85 90 95
 [0145] Ala Arg Gly Asp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 [0146] 100 105 110
 [0147] Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
 [0148] 115 120 125
 [0149] Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
 [0150] 130 135 140
 [0151] Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
 [0152] 145 150 155 160
 [0153] Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
 [0154] 165 170 175
 [0155] Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

[0156]	180	185	190
[0157]	Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val		
[0158]	195	200	205
[0159]	Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro		
[0160]	210	215	220
[0161]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe		
[0162]	225	230	235
[0163]	Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		
[0164]	245	250	255
[0165]	Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe		
[0166]	260	265	270
[0167]	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		
[0168]	275	280	285
[0169]	Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr		
[0170]	290	295	300
[0171]	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val		
[0172]	305	310	315
[0173]	Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala		
[0174]	325	330	335
[0175]	Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
[0176]	340	345	350
[0177]	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
[0178]	355	360	365
[0179]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro		
[0180]	370	375	380
[0181]	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
[0182]	385	390	395
[0183]	Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln		
[0184]	405	410	415
[0185]	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
[0186]	420	425	430
[0187]	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[0188]	435	440	
[0189]	<210> 3		
[0190]	<211> 214		
[0191]	<212> PRT		
[0192]	<213> 人工序列		
[0193]	<220>		
[0194]	<223> 抗FGFR2b轻链		

[0195]	<400> 3
[0196]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
[0197]	1 5 10 15
[0198]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Val Ser Asn Asp
[0199]	20 25 30
[0200]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
[0201]	35 40 45
[0202]	Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
[0203]	50 55 60
[0204]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
[0205]	65 70 75 80
[0206]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ser Thr Thr Pro Tyr
[0207]	85 90 95
[0208]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
[0209]	100 105 110
[0210]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
[0211]	115 120 125
[0212]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
[0213]	130 135 140
[0214]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
[0215]	145 150 155 160
[0216]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
[0217]	165 170 175
[0218]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
[0219]	180 185 190
[0220]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
[0221]	195 200 205
[0222]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0223]	210
[0224]	<210> 4
[0225]	<211> 114
[0226]	<212> PRT
[0227]	<213> 人工序列
[0228]	<220>
[0229]	<223> 抗FGFR2b重链可变区
[0230]	<400> 4
[0231]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[0232]	1 5 10 15
[0233]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Thr Tyr

[0234]	20	25	30
[0235]	Asn Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
[0236]	35	40	45
[0237]	Gly Ser Ile Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe		
[0238]	50	55	60
[0239]	Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
[0240]	65	70	75
[0241]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
[0242]	85	90	95
[0243]	Ala Arg Gly Asp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val		
[0244]	100	105	110
[0245]	Ser Ser		
[0246]	<210> 5		
[0247]	<211> 107		
[0248]	<212> PRT		
[0249]	<213> 人工序列		
[0250]	<220>		
[0251]	<223> 抗FGFR2b轻链可变区		
[0252]	<400> 5		
[0253]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[0254]	1	5	10
[0255]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Val Ser Asn Asp		
[0256]	20	25	30
[0257]	Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[0258]	35	40	45
[0259]	Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[0260]	50	55	60
[0261]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[0262]	65	70	75
[0263]	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Ser Thr Thr Pro Tyr		
[0264]	85	90	95
[0265]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
[0266]	100	105	
[0267]	<210> 6		
[0268]	<211> 5		
[0269]	<212> PRT		
[0270]	<213> 人工序列		
[0271]	<220>		
[0272]	<223> 抗FGFR2b重链 (HC) HVR1		

[0273] <400> 6
 [0274] Thr Tyr Asn Val His
 [0275] 1 5
 [0276] <210> 7
 [0277] <211> 17
 [0278] <212> PRT
 [0279] <213> 人工序列
 [0280] <220>
 [0281] <223> 抗FGFR2b HC HVR2
 [0282] <400> 7
 [0283] Ser Ile Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
 [0284] 1 5 10 15
 [0285] Gly
 [0286] <210> 8
 [0287] <211> 5
 [0288] <212> PRT
 [0289] <213> 人工序列
 [0290] <220>
 [0291] <223> 抗FGFR2b HC HVR3
 [0292] <400> 8
 [0293] Gly Asp Phe Ala Tyr
 [0294] 1 5
 [0295] <210> 9
 [0296] <211> 11
 [0297] <212> PRT
 [0298] <213> 人工序列
 [0299] <220>
 [0300] <223> 抗FGFR2b轻链(LC) HVR1
 [0301] <400> 9
 [0302] Lys Ala Ser Gln Gly Val Ser Asn Asp Val Ala
 [0303] 1 5 10
 [0304] <210> 10
 [0305] <211> 7
 [0306] <212> PRT
 [0307] <213> 人工序列
 [0308] <220>
 [0309] <223> 抗FGFR2b LC HVR2
 [0310] <400> 10
 [0311] Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

[0312] 1 5
 [0313] <210> 11
 [0314] <211> 9
 [0315] <212> PRT
 [0316] <213> 人工序列
 [0317] <220>
 [0318] <223> 抗FGFR2b LC HVR3
 [0319] <400> 11
 [0320] Gln Gln His Ser Thr Thr Pro Tyr Thr
 [0321] 1 5
 [0322] <210> 12
 [0323] <211> 444
 [0324] <212> PRT
 [0325] <213> 人工序列
 [0326] <220>
 [0327] <223> 抗FGFR2b N297Q重链
 [0328] <220>
 [0329] <221> MISC_FEATURE
 [0330] <222> (294) .. (294)
 [0331] <223> N297Q
 [0332] <400> 12
 [0333] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 [0334] 1 5 10 15
 [0335] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Thr Tyr
 [0336] 20 25 30
 [0337] Asn Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 [0338] 35 40 45
 [0339] Gly Ser Ile Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe
 [0340] 50 55 60
 [0341] Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 [0342] 65 70 75 80
 [0343] Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 [0344] 85 90 95
 [0345] Ala Arg Gly Asp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 [0346] 100 105 110
 [0347] Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
 [0348] 115 120 125
 [0349] Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
 [0350] 130 135 140

[0351]	Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
[0352]	145 150 155 160
[0353]	Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
[0354]	165 170 175
[0355]	Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
[0356]	180 185 190
[0357]	Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
[0358]	195 200 205
[0359]	Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
[0360]	210 215 220
[0361]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
[0362]	225 230 235 240
[0363]	Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
[0364]	245 250 255
[0365]	Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
[0366]	260 265 270
[0367]	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
[0368]	275 280 285
[0369]	Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
[0370]	290 295 300
[0371]	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
[0372]	305 310 315 320
[0373]	Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
[0374]	325 330 335
[0375]	Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
[0376]	340 345 350
[0377]	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
[0378]	355 360 365
[0379]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
[0380]	370 375 380
[0381]	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
[0382]	385 390 395 400
[0383]	Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
[0384]	405 410 415
[0385]	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
[0386]	420 425 430
[0387]	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0388]	435 440
[0389]	<210> 13

[0390] <211> 800
 [0391] <212> PRT
 [0392] <213> 智人
 [0393] <220>
 [0394] <221> MISC_FEATURE
 [0395] <223> 成熟人FGFR2-IIIC
 [0396] <400> 13
 [0397] Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu
 [0398] 1 5 10 15
 [0399] Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala
 [0400] 20 25 30
 [0401] Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val
 [0402] 35 40 45
 [0403] Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr
 [0404] 50 55 60
 [0405] Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp
 [0406] 65 70 75 80
 [0407] Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr
 [0408] 85 90 95
 [0409] Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
 [0410] 100 105 110
 [0411] Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
 [0412] 115 120 125
 [0413] Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
 [0414] 130 135 140
 [0415] Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
 [0416] 145 150 155 160
 [0417] Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
 [0418] 165 170 175
 [0419] Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His
 [0420] 180 185 190
 [0421] Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr
 [0422] 195 200 205
 [0423] Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
 [0424] 210 215 220
 [0425] Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
 [0426] 225 230 235 240
 [0427] Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
 [0428] 245 250 255

[0429]	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Ile	Lys	His
[0430]					260				265					270		
[0431]	Val	Glu	Lys	Asn	Gly	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Asp	Gly	Leu	Pro	Tyr	Leu
[0432]				275				280					285			
[0433]	Lys	Val	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Val	Asn	Thr	Thr	Asp	Lys	Glu	Ile	Glu
[0434]		290					295					300				
[0435]	Val	Leu	Tyr	Ile	Arg	Asn	Val	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	Thr
[0436]	305					310					315				320	
[0437]	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Ser	Ile	Gly	Ile	Ser	Phe	His	Ser	Ala	Trp	Leu
[0438]					325					330					335	
[0439]	Thr	Val	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Glu	Lys	Glu	Ile	Thr	Ala	Ser	Pro
[0440]				340					345					350		
[0441]	Asp	Tyr	Leu	Glu	Ile	Ala	Ile	Tyr	Cys	Ile	Gly	Val	Phe	Leu	Ile	Ala
[0442]			355					360					365			
[0443]	Cys	Met	Val	Val	Thr	Val	Ile	Leu	Cys	Arg	Met	Lys	Asn	Thr	Thr	Lys
[0444]		370					375					380				
[0445]	Lys	Pro	Asp	Phe	Ser	Ser	Gln	Pro	Ala	Val	His	Lys	Leu	Thr	Lys	Arg
[0446]	385					390					395				400	
[0447]	Ile	Pro	Leu	Arg	Arg	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ala	Glu	Ser	Ser	Ser	Ser
[0448]				405						410					415	
[0449]	Met	Asn	Ser	Asn	Thr	Pro	Leu	Val	Arg	Ile	Thr	Thr	Arg	Leu	Ser	Ser
[0450]			420						425				430			
[0451]	Thr	Ala	Asp	Thr	Pro	Met	Leu	Ala	Gly	Val	Ser	Glu	Tyr	Glu	Leu	Pro
[0452]			435					440					445			
[0453]	Glu	Asp	Pro	Lys	Trp	Glu	Phe	Pro	Arg	Asp	Lys	Leu	Thr	Leu	Gly	Lys
[0454]		450					455					460				
[0455]	Pro	Leu	Gly	Glu	Gly	Cys	Phe	Gly	Gln	Val	Val	Met	Ala	Glu	Ala	Val
[0456]	465					470					475				480	
[0457]	Gly	Ile	Asp	Lys	Asp	Lys	Pro	Lys	Glu	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Val	Lys
[0458]				485					490				495			
[0459]	Met	Leu	Lys	Asp	Asp	Ala	Thr	Glu	Lys	Asp	Leu	Ser	Asp	Leu	Val	Ser
[0460]			500						505				510			
[0461]	Glu	Met	Glu	Met	Met	Lys	Met	Ile	Gly	Lys	His	Lys	Asn	Ile	Ile	Asn
[0462]			515					520					525			
[0463]	Leu	Leu	Gly	Ala	Cys	Thr	Gln	Asp	Gly	Pro	Leu	Tyr	Val	Ile	Val	Glu
[0464]		530					535					540				
[0465]	Tyr	Ala	Ser	Lys	Gly	Asn	Leu	Arg	Glu	Tyr	Leu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro
[0466]	545					550					555				560	
[0467]	Pro	Gly	Met	Glu	Tyr	Ser	Tyr	Asp	Ile	Asn	Arg	Val	Pro	Glu	Glu	Gln

[0468]		565		570		575
[0469]	Met Thr Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Thr Tyr Gln Leu Ala Arg Gly					
[0470]		580		585		590
[0471]	Met Glu Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala					
[0472]		595		600		605
[0473]	Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asn Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe					
[0474]		610		615		620
[0475]	Gly Leu Ala Arg Asp Ile Asn Asn Ile Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr					
[0476]	625		630		635	640
[0477]	Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp					
[0478]		645		650		655
[0479]	Arg Val Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Met					
[0480]		660		665		670
[0481]	Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val					
[0482]		675		680		685
[0483]	Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro					
[0484]		690		695		700
[0485]	Ala Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met Arg Asp Cys Trp His					
[0486]	705		710		715	720
[0487]	Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu					
[0488]		725		730		735
[0489]	Asp Arg Ile Leu Thr Leu Thr Thr Asn Glu Glu Tyr Leu Asp Leu Ser					
[0490]		740		745		750
[0491]	Gln Pro Leu Glu Gln Tyr Ser Pro Ser Tyr Pro Asp Thr Arg Ser Ser					
[0492]		755		760		765
[0493]	Cys Ser Ser Gly Asp Asp Ser Val Phe Ser Pro Asp Pro Met Pro Tyr					
[0494]		770		775		780
[0495]	Glu Pro Cys Leu Pro Gln Tyr Pro His Ile Asn Gly Ser Val Lys Thr					
[0496]	785		790		795	800
[0497]	<210> 14					
[0498]	<211> 356					
[0499]	<212> PRT					
[0500]	<213> 智人					
[0501]	<220>					
[0502]	<221> MISC_FEATURE					
[0503]	<223> FGFR2 ECD					
[0504]	<400> 14					
[0505]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu					
[0506]	1	5		10		15

[0507]	Pro	Pro	Thr	Lys	Tyr	Gln	Ile	Ser	Gln	Pro	Glu	Val	Tyr	Val	Ala	Ala
[0508]				20				25					30			
[0509]	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Arg	Cys	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Ala	Val
[0510]			35					40					45			
[0511]	Ile	Ser	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Val	His	Leu	Gly	Pro	Asn	Asn	Arg	Thr
[0512]		50						55				60				
[0513]	Val	Leu	Ile	Gly	Glu	Tyr	Leu	Gln	Ile	Lys	Gly	Ala	Thr	Pro	Arg	Asp
[0514]	65					70					75				80	
[0515]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ala	Cys	Thr	Ala	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Ser	Glu	Thr
[0516]					85					90					95	
[0517]	Trp	Tyr	Phe	Met	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Ala	Ile	Ser	Ser	Gly	Asp	Asp
[0518]				100						105					110	
[0519]	Glu	Asp	Asp	Thr	Asp	Gly	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Ser	Glu	Asn	Ser	Asn
[0520]				115						120					125	
[0521]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Tyr	Trp	Thr	Asn	Thr	Glu	Lys	Met	Glu	Lys	Arg
[0522]		130								135					140	
[0523]	Leu	His	Ala	Val	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Val	Lys	Phe	Arg	Cys	Pro	Ala
[0524]	145					150					155					160
[0525]	Gly	Gly	Asn	Pro	Met	Pro	Thr	Met	Arg	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Glu
[0526]					165					170					175	
[0527]	Phe	Lys	Gln	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Tyr	Lys	Val	Arg	Asn	Gln	His
[0528]				180						185					190	
[0529]	Trp	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr
[0530]			195							200					205	
[0531]	Thr	Cys	Val	Val	Glu	Asn	Glu	Tyr	Gly	Ser	Ile	Asn	His	Thr	Tyr	His
[0532]		210								215					220	
[0533]	Leu	Asp	Val	Val	Glu	Arg	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Ile	Leu	Gln	Ala	Gly
[0534]	225					230					235					240
[0535]	Leu	Pro	Ala	Asn	Ala	Ser	Thr	Val	Val	Gly	Gly	Asp	Val	Glu	Phe	Val
[0536]					245					250					255	
[0537]	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Ile	Lys	His
[0538]				260						265					270	
[0539]	Val	Glu	Lys	Asn	Gly	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Asp	Gly	Leu	Pro	Tyr	Leu
[0540]			275							280					285	
[0541]	Lys	Val	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Val	Asn	Thr	Thr	Asp	Lys	Glu	Ile	Glu
[0542]		290								295					300	
[0543]	Val	Leu	Tyr	Ile	Arg	Asn	Val	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	Thr
[0544]	305					310					315					320
[0545]	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Ser	Ile	Gly	Ile	Ser	Phe	His	Ser	Ala	Trp	Leu

[0546]		325		330		335
[0547]	Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser Pro					
[0548]		340		345		350
[0549]	Asp Tyr Leu Glu					
[0550]		355				
[0551]	<210> 15					
[0552]	<211> 353					
[0553]	<212> PRT					
[0554]	<213> 智人					
[0555]	<220>					
[0556]	<221> MISC_FEATURE					
[0557]	<223> FGFR2 ECD Δ 3					
[0558]	<400> 15					
[0559]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu					
[0560]	1	5		10		15
[0561]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala					
[0562]		20		25		30
[0563]	Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val					
[0564]		35		40		45
[0565]	Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr					
[0566]	50		55		60	
[0567]	Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp					
[0568]	65		70		75	80
[0569]	Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr					
[0570]		85		90		95
[0571]	Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp					
[0572]		100		105		110
[0573]	Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn					
[0574]		115		120		125
[0575]	Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg					
[0576]		130		135		140
[0577]	Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala					
[0578]	145		150		155	160
[0579]	Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu					
[0580]		165		170		175
[0581]	Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His					
[0582]		180		185		190
[0583]	Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr					
[0584]		195		200		205

[0585]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
[0586]	210 215 220
[0587]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
[0588]	225 230 235 240
[0589]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
[0590]	245 250 255
[0591]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His
[0592]	260 265 270
[0593]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu
[0594]	275 280 285
[0595]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu
[0596]	290 295 300
[0597]	Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr
[0598]	305 310 315 320
[0599]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu
[0600]	325 330 335
[0601]	Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser Pro
[0602]	340 345 350
[0603]	Asp
[0604]	<210> 16
[0605]	<211> 352
[0606]	<212> PRT
[0607]	<213> 智人
[0608]	<220>
[0609]	<221> MISC_FEATURE
[0610]	<223> FGFR2 ECD Δ4
[0611]	<400> 16
[0612]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu
[0613]	1 5 10 15
[0614]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala
[0615]	20 25 30
[0616]	Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val
[0617]	35 40 45
[0618]	Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr
[0619]	50 55 60
[0620]	Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp
[0621]	65 70 75 80
[0622]	Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr
[0623]	85 90 95

[0624]	Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
[0625]	100 105 110
[0626]	Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
[0627]	115 120 125
[0628]	Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
[0629]	130 135 140
[0630]	Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
[0631]	145 150 155 160
[0632]	Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
[0633]	165 170 175
[0634]	Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His
[0635]	180 185 190
[0636]	Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr
[0637]	195 200 205
[0638]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
[0639]	210 215 220
[0640]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
[0641]	225 230 235 240
[0642]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
[0643]	245 250 255
[0644]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His
[0645]	260 265 270
[0646]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu
[0647]	275 280 285
[0648]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu
[0649]	290 295 300
[0650]	Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr
[0651]	305 310 315 320
[0652]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu
[0653]	325 330 335
[0654]	Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser Pro
[0655]	340 345 350
[0656]	<210> 17
[0657]	<211> 351
[0658]	<212> PRT
[0659]	<213> 智人
[0660]	<220>
[0661]	<221> MISC_FEATURE
[0662]	<223> FGFR2 ECD Δ5

[0663]	<400> 17
[0664]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu
[0665]	1 5 10 15
[0666]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala
[0667]	20 25 30
[0668]	Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val
[0669]	35 40 45
[0670]	Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr
[0671]	50 55 60
[0672]	Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp
[0673]	65 70 75 80
[0674]	Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr
[0675]	85 90 95
[0676]	Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
[0677]	100 105 110
[0678]	Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
[0679]	115 120 125
[0680]	Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
[0681]	130 135 140
[0682]	Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
[0683]	145 150 155 160
[0684]	Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
[0685]	165 170 175
[0686]	Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His
[0687]	180 185 190
[0688]	Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr
[0689]	195 200 205
[0690]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
[0691]	210 215 220
[0692]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
[0693]	225 230 235 240
[0694]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
[0695]	245 250 255
[0696]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His
[0697]	260 265 270
[0698]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu
[0699]	275 280 285
[0700]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu
[0701]	290 295 300

[0702]	Val	Leu	Tyr	Ile	Arg	Asn	Val	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	Thr
[0703]	305					310					315					320
[0704]	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Ser	Ile	Gly	Ile	Ser	Phe	His	Ser	Ala	Trp	Leu
[0705]					325					330					335	
[0706]	Thr	Val	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Glu	Lys	Glu	Ile	Thr	Ala	Ser	
[0707]				340					345					350		
[0708]	<210>	18														
[0709]	<211>	348														
[0710]	<212>	PRT														
[0711]	<213>	智人														
[0712]	<220>															
[0713]	<221>	MISC_FEATURE														
[0714]	<223>	FGFR2 ECD Δ 8														
[0715]	<400>	18														
[0716]	Arg	Pro	Ser	Phe	Ser	Leu	Val	Glu	Asp	Thr	Thr	Leu	Glu	Pro	Glu	Glu
[0717]	1				5					10					15	
[0718]	Pro	Pro	Thr	Lys	Tyr	Gln	Ile	Ser	Gln	Pro	Glu	Val	Tyr	Val	Ala	Ala
[0719]				20					25					30		
[0720]	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Arg	Cys	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Ala	Val
[0721]			35					40					45			
[0722]	Ile	Ser	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Val	His	Leu	Gly	Pro	Asn	Asn	Arg	Thr
[0723]		50					55					60				
[0724]	Val	Leu	Ile	Gly	Glu	Tyr	Leu	Gln	Ile	Lys	Gly	Ala	Thr	Pro	Arg	Asp
[0725]	65					70					75					80
[0726]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ala	Cys	Thr	Ala	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Ser	Glu	Thr
[0727]					85				90						95	
[0728]	Trp	Tyr	Phe	Met	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Ala	Ile	Ser	Ser	Gly	Asp	Asp
[0729]				100					105					110		
[0730]	Glu	Asp	Asp	Thr	Asp	Gly	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Ser	Glu	Asn	Ser	Asn
[0731]				115				120					125			
[0732]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Tyr	Trp	Thr	Asn	Thr	Glu	Lys	Met	Glu	Lys	Arg
[0733]		130						135					140			
[0734]	Leu	His	Ala	Val	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Val	Lys	Phe	Arg	Cys	Pro	Ala
[0735]	145					150					155					160
[0736]	Gly	Gly	Asn	Pro	Met	Pro	Thr	Met	Arg	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Glu
[0737]					165				170					175		
[0738]	Phe	Lys	Gln	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Tyr	Lys	Val	Arg	Asn	Gln	His
[0739]				180					185					190		
[0740]	Trp	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr

[0741]	195	200	205
[0742]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His		
[0743]	210	215	220
[0744]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly		
[0745]	225	230	235
[0746]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val		
[0747]	245	250	255
[0748]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His		
[0749]	260	265	270
[0750]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu		
[0751]	275	280	285
[0752]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu		
[0753]	290	295	300
[0754]	Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr		
[0755]	305	310	315
[0756]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu		
[0757]	325	330	335
[0758]	Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile		
[0759]	340	345	
[0760]	<210> 19		
[0761]	<211> 347		
[0762]	<212> PRT		
[0763]	<213> 智人		
[0764]	<220>		
[0765]	<221> MISC_FEATURE		
[0766]	<223> FGFR2 ECD Δ9		
[0767]	<400> 19		
[0768]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu		
[0769]	1	5	10
[0770]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala		
[0771]	20	25	30
[0772]	Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val		
[0773]	35	40	45
[0774]	Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr		
[0775]	50	55	60
[0776]	Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp		
[0777]	65	70	75
[0778]	Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr		
[0779]	85	90	95

[0780]	Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
[0781]	100 105 110
[0782]	Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
[0783]	115 120 125
[0784]	Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
[0785]	130 135 140
[0786]	Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
[0787]	145 150 155 160
[0788]	Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
[0789]	165 170 175
[0790]	Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His
[0791]	180 185 190
[0792]	Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr
[0793]	195 200 205
[0794]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
[0795]	210 215 220
[0796]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
[0797]	225 230 235 240
[0798]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
[0799]	245 250 255
[0800]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His
[0801]	260 265 270
[0802]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu
[0803]	275 280 285
[0804]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu
[0805]	290 295 300
[0806]	Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr
[0807]	305 310 315 320
[0808]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu
[0809]	325 330 335
[0810]	Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu
[0811]	340 345
[0812]	<210> 20
[0813]	<211> 346
[0814]	<212> PRT
[0815]	<213> 智人
[0816]	<220>
[0817]	<221> MISC_FEATURE
[0818]	<223> FGFR2 ECD Δ10

[0819]	<400> 20															
[0820]	Arg	Pro	Ser	Phe	Ser	Leu	Val	Glu	Asp	Thr	Thr	Leu	Glu	Pro	Glu	Glu
[0821]	1				5					10					15	
[0822]	Pro	Pro	Thr	Lys	Tyr	Gln	Ile	Ser	Gln	Pro	Glu	Val	Tyr	Val	Ala	Ala
[0823]				20					25					30		
[0824]	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Arg	Cys	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Ala	Val
[0825]			35					40					45			
[0826]	Ile	Ser	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Val	His	Leu	Gly	Pro	Asn	Asn	Arg	Thr
[0827]		50					55					60				
[0828]	Val	Leu	Ile	Gly	Glu	Tyr	Leu	Gln	Ile	Lys	Gly	Ala	Thr	Pro	Arg	Asp
[0829]	65					70					75					80
[0830]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ala	Cys	Thr	Ala	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Ser	Glu	Thr
[0831]					85					90					95	
[0832]	Trp	Tyr	Phe	Met	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Ala	Ile	Ser	Ser	Gly	Asp	Asp
[0833]				100					105					110		
[0834]	Glu	Asp	Asp	Thr	Asp	Gly	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Ser	Glu	Asn	Ser	Asn
[0835]			115					120					125			
[0836]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Tyr	Trp	Thr	Asn	Thr	Glu	Lys	Met	Glu	Lys	Arg
[0837]		130					135					140				
[0838]	Leu	His	Ala	Val	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Val	Lys	Phe	Arg	Cys	Pro	Ala
[0839]	145					150					155					160
[0840]	Gly	Gly	Asn	Pro	Met	Pro	Thr	Met	Arg	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Glu
[0841]					165					170					175	
[0842]	Phe	Lys	Gln	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Tyr	Lys	Val	Arg	Asn	Gln	His
[0843]				180					185					190		
[0844]	Trp	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr
[0845]			195					200					205			
[0846]	Thr	Cys	Val	Val	Glu	Asn	Glu	Tyr	Gly	Ser	Ile	Asn	His	Thr	Tyr	His
[0847]		210					215					220				
[0848]	Leu	Asp	Val	Val	Glu	Arg	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Ile	Leu	Gln	Ala	Gly
[0849]	225					230					235					240
[0850]	Leu	Pro	Ala	Asn	Ala	Ser	Thr	Val	Val	Gly	Gly	Asp	Val	Glu	Phe	Val
[0851]					245					250					255	
[0852]	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Ile	Lys	His
[0853]				260					265					270		
[0854]	Val	Glu	Lys	Asn	Gly	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Asp	Gly	Leu	Pro	Tyr	Leu
[0855]			275					280					285			
[0856]	Lys	Val	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Val	Asn	Thr	Thr	Asp	Lys	Glu	Ile	Glu
[0857]	290						295					300				

[0858]	Val	Leu	Tyr	Ile	Arg	Asn	Val	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	Thr
[0859]	305					310					315					320
[0860]	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Ser	Ile	Gly	Ile	Ser	Phe	His	Ser	Ala	Trp	Leu
[0861]						325					330					335
[0862]	Thr	Val	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Glu	Lys						
[0863]						340					345					
[0864]	<210>	21														
[0865]	<211>	342														
[0866]	<212>	PRT														
[0867]	<213>	智人														
[0868]	<220>															
[0869]	<221>	MISC_FEATURE														
[0870]	<223>	FGFR2 ECD Δ14														
[0871]	<400>	21														
[0872]	Arg	Pro	Ser	Phe	Ser	Leu	Val	Glu	Asp	Thr	Thr	Leu	Glu	Pro	Glu	Glu
[0873]	1				5					10					15	
[0874]	Pro	Pro	Thr	Lys	Tyr	Gln	Ile	Ser	Gln	Pro	Glu	Val	Tyr	Val	Ala	Ala
[0875]					20					25					30	
[0876]	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Arg	Cys	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Ala	Val
[0877]					35					40					45	
[0878]	Ile	Ser	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Val	His	Leu	Gly	Pro	Asn	Asn	Arg	Thr
[0879]					50					55					60	
[0880]	Val	Leu	Ile	Gly	Glu	Tyr	Leu	Gln	Ile	Lys	Gly	Ala	Thr	Pro	Arg	Asp
[0881]	65					70					75					80
[0882]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ala	Cys	Thr	Ala	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Ser	Glu	Thr
[0883]						85					90					95
[0884]	Trp	Tyr	Phe	Met	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Ala	Ile	Ser	Ser	Gly	Asp	Asp
[0885]					100					105					110	
[0886]	Glu	Asp	Asp	Thr	Asp	Gly	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Ser	Glu	Asn	Ser	Asn
[0887]					115					120				125		
[0888]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Tyr	Trp	Thr	Asn	Thr	Glu	Lys	Met	Glu	Lys	Arg
[0889]					130					135				140		
[0890]	Leu	His	Ala	Val	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Val	Lys	Phe	Arg	Cys	Pro	Ala
[0891]	145					150					155					160
[0892]	Gly	Gly	Asn	Pro	Met	Pro	Thr	Met	Arg	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Glu
[0893]					165					170					175	
[0894]	Phe	Lys	Gln	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Tyr	Lys	Val	Arg	Asn	Gln	His
[0895]					180					185					190	
[0896]	Trp	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr

[0897]	195	200	205
[0898]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His		
[0899]	210	215	220
[0900]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly		
[0901]	225	230	235
[0902]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val		
[0903]	245	250	255
[0904]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His		
[0905]	260	265	270
[0906]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu		
[0907]	275	280	285
[0908]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu		
[0909]	290	295	300
[0910]	Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr		
[0911]	305	310	315
[0912]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu		
[0913]	325	330	335
[0914]	Thr Val Leu Pro Ala Pro		
[0915]	340		
[0916]	<210> 22		
[0917]	<211> 341		
[0918]	<212> PRT		
[0919]	<213> 智人		
[0920]	<220>		
[0921]	<221> MISC_FEATURE		
[0922]	<223> FGFR2 ECD Δ15		
[0923]	<400> 22		
[0924]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu		
[0925]	1	5	10
[0926]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala		
[0927]	20	25	30
[0928]	Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val		
[0929]	35	40	45
[0930]	Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr		
[0931]	50	55	60
[0932]	Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp		
[0933]	65	70	75
[0934]	Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr		
[0935]	85	90	95

[0936]	Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
[0937]	100 105 110
[0938]	Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
[0939]	115 120 125
[0940]	Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
[0941]	130 135 140
[0942]	Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
[0943]	145 150 155 160
[0944]	Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
[0945]	165 170 175
[0946]	Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His
[0947]	180 185 190
[0948]	Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr
[0949]	195 200 205
[0950]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
[0951]	210 215 220
[0952]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
[0953]	225 230 235 240
[0954]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
[0955]	245 250 255
[0956]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His
[0957]	260 265 270
[0958]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu
[0959]	275 280 285
[0960]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu
[0961]	290 295 300
[0962]	Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr
[0963]	305 310 315 320
[0964]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu
[0965]	325 330 335
[0966]	Thr Val Leu Pro Ala
[0967]	340
[0968]	<210> 23
[0969]	<211> 340
[0970]	<212> PRT
[0971]	<213> 智人
[0972]	<220>
[0973]	<221> MISC_FEATURE
[0974]	<223> FGFR2 ECD Δ16

[0975]	<400> 23															
[0976]	Arg	Pro	Ser	Phe	Ser	Leu	Val	Glu	Asp	Thr	Thr	Leu	Glu	Pro	Glu	Glu
[0977]	1				5					10					15	
[0978]	Pro	Pro	Thr	Lys	Tyr	Gln	Ile	Ser	Gln	Pro	Glu	Val	Tyr	Val	Ala	Ala
[0979]				20					25					30		
[0980]	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Arg	Cys	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Ala	Val
[0981]			35					40					45			
[0982]	Ile	Ser	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Val	His	Leu	Gly	Pro	Asn	Asn	Arg	Thr
[0983]		50					55					60				
[0984]	Val	Leu	Ile	Gly	Glu	Tyr	Leu	Gln	Ile	Lys	Gly	Ala	Thr	Pro	Arg	Asp
[0985]	65					70					75					80
[0986]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ala	Cys	Thr	Ala	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Ser	Glu	Thr
[0987]				85					90						95	
[0988]	Trp	Tyr	Phe	Met	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Ala	Ile	Ser	Ser	Gly	Asp	Asp
[0989]				100					105					110		
[0990]	Glu	Asp	Asp	Thr	Asp	Gly	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Ser	Glu	Asn	Ser	Asn
[0991]			115					120					125			
[0992]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Tyr	Trp	Thr	Asn	Thr	Glu	Lys	Met	Glu	Lys	Arg
[0993]		130					135					140				
[0994]	Leu	His	Ala	Val	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Val	Lys	Phe	Arg	Cys	Pro	Ala
[0995]	145					150					155					160
[0996]	Gly	Gly	Asn	Pro	Met	Pro	Thr	Met	Arg	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Glu
[0997]				165					170						175	
[0998]	Phe	Lys	Gln	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Tyr	Lys	Val	Arg	Asn	Gln	His
[0999]				180					185					190		
[1000]	Trp	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr
[1001]			195					200					205			
[1002]	Thr	Cys	Val	Val	Glu	Asn	Glu	Tyr	Gly	Ser	Ile	Asn	His	Thr	Tyr	His
[1003]		210					215					220				
[1004]	Leu	Asp	Val	Val	Glu	Arg	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Ile	Leu	Gln	Ala	Gly
[1005]	225					230					235					240
[1006]	Leu	Pro	Ala	Asn	Ala	Ser	Thr	Val	Val	Gly	Gly	Asp	Val	Glu	Phe	Val
[1007]				245					250						255	
[1008]	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Ile	Lys	His
[1009]				260					265					270		
[1010]	Val	Glu	Lys	Asn	Gly	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Asp	Gly	Leu	Pro	Tyr	Leu
[1011]			275					280					285			
[1012]	Lys	Val	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Val	Asn	Thr	Thr	Asp	Lys	Glu	Ile	Glu
[1013]	290						295					300				

[1014]	Val	Leu	Tyr	Ile	Arg	Asn	Val	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	Thr
[1015]	305					310					315					320
[1016]	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Ser	Ile	Gly	Ile	Ser	Phe	His	Ser	Ala	Trp	Leu
[1017]					325					330					335	
[1018]	Thr	Val	Leu	Pro												
[1019]				340												
[1020]	<210>	24														
[1021]	<211>	339														
[1022]	<212>	PRT														
[1023]	<213>	智人														
[1024]	<220>															
[1025]	<221>	MISC_FEATURE														
[1026]	<223>	FGFR2 ECD Δ17														
[1027]	<400>	24														
[1028]	Arg	Pro	Ser	Phe	Ser	Leu	Val	Glu	Asp	Thr	Thr	Leu	Glu	Pro	Glu	Glu
[1029]	1				5				10					15		
[1030]	Pro	Pro	Thr	Lys	Tyr	Gln	Ile	Ser	Gln	Pro	Glu	Val	Tyr	Val	Ala	Ala
[1031]				20					25					30		
[1032]	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Arg	Cys	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Ala	Val
[1033]			35					40					45			
[1034]	Ile	Ser	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Val	His	Leu	Gly	Pro	Asn	Asn	Arg	Thr
[1035]		50					55					60				
[1036]	Val	Leu	Ile	Gly	Glu	Tyr	Leu	Gln	Ile	Lys	Gly	Ala	Thr	Pro	Arg	Asp
[1037]	65					70					75				80	
[1038]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ala	Cys	Thr	Ala	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Ser	Glu	Thr
[1039]					85					90					95	
[1040]	Trp	Tyr	Phe	Met	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Ala	Ile	Ser	Ser	Gly	Asp	Asp
[1041]				100					105					110		
[1042]	Glu	Asp	Asp	Thr	Asp	Gly	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Ser	Glu	Asn	Ser	Asn
[1043]				115					120					125		
[1044]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Tyr	Trp	Thr	Asn	Thr	Glu	Lys	Met	Glu	Lys	Arg
[1045]		130					135						140			
[1046]	Leu	His	Ala	Val	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Val	Lys	Phe	Arg	Cys	Pro	Ala
[1047]	145					150					155				160	
[1048]	Gly	Gly	Asn	Pro	Met	Pro	Thr	Met	Arg	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Glu
[1049]					165					170				175		
[1050]	Phe	Lys	Gln	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Tyr	Lys	Val	Arg	Asn	Gln	His
[1051]				180					185					190		
[1052]	Trp	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr

[1053]	195	200	205
[1054]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His		
[1055]	210	215	220
[1056]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly		
[1057]	225	230	235
[1058]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val		
[1059]	245	250	255
[1060]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His		
[1061]	260	265	270
[1062]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu		
[1063]	275	280	285
[1064]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu		
[1065]	290	295	300
[1066]	Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr		
[1067]	305	310	315
[1068]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu		
[1069]	325	330	335
[1070]	Thr Val Leu		
[1071]	<210> 25		
[1072]	<211> 232		
[1073]	<212> PRT		
[1074]	<213> 人工序列		
[1075]	<220>		
[1076]	<223> Fc C237S		
[1077]	<400> 25		
[1078]	Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
[1079]	1	5	10
[1080]	Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
[1081]	20	25	30
[1082]	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
[1083]	35	40	45
[1084]	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
[1085]	50	55	60
[1086]	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
[1087]	65	70	75
[1088]	Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
[1089]	85	90	95
[1090]	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
[1091]	100	105	110

[1092]	Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
[1093]	115 120 125
[1094]	Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
[1095]	130 135 140
[1096]	Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
[1097]	145 150 155 160
[1098]	Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
[1099]	165 170 175
[1100]	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
[1101]	180 185 190
[1102]	Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
[1103]	195 200 205
[1104]	Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
[1105]	210 215 220
[1106]	Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1107]	225 230
[1108]	<210> 26
[1109]	<211> 228
[1110]	<212> PRT
[1111]	<213> 人工序列
[1112]	<220>
[1113]	<223> Fc
[1114]	<400> 26
[1115]	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
[1116]	1 5 10 15
[1117]	Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
[1118]	20 25 30
[1119]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
[1120]	35 40 45
[1121]	His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
[1122]	50 55 60
[1123]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
[1124]	65 70 75 80
[1125]	Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
[1126]	85 90 95
[1127]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
[1128]	100 105 110
[1129]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
[1130]	115 120 125

[1131]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
[1132]	130 135 140
[1133]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
[1134]	145 150 155 160
[1135]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
[1136]	165 170 175
[1137]	Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
[1138]	180 185 190
[1139]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
[1140]	195 200 205
[1141]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
[1142]	210 215 220
[1143]	Ser Pro Gly Lys
[1144]	225
[1145]	<210> 27
[1146]	<211> 229
[1147]	<212> PRT
[1148]	<213> 人工序列
[1149]	<220>
[1150]	<223> Fc
[1151]	<400> 27
[1152]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
[1153]	1 5 10 15
[1154]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
[1155]	20 25 30
[1156]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
[1157]	35 40 45
[1158]	Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
[1159]	50 55 60
[1160]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
[1161]	65 70 75 80
[1162]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
[1163]	85 90 95
[1164]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
[1165]	100 105 110
[1166]	Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[1167]	115 120 125
[1168]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
[1169]	130 135 140

[1170] Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 [1171] 145 150 155 160
 [1172] Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 [1173] 165 170 175
 [1174] Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 [1175] 180 185 190
 [1176] Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 [1177] 195 200 205
 [1178] Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 [1179] 210 215 220
 [1180] Leu Ser Leu Gly Lys
 [1181] 225
 [1182] <210> 28
 [1183] <211> 8
 [1184] <212> PRT
 [1185] <213> 智人
 [1186] <220>
 [1187] <221> MISC_FEATURE
 [1188] <223> FGFR2 (111-118)
 [1189] <400> 28
 [1190] Asp Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly
 [1191] 1 5
 [1192] <210> 29
 [1193] <211> 8
 [1194] <212> PRT
 [1195] <213> 智人
 [1196] <220>
 [1197] <221> MISC_FEATURE
 [1198] <223> FGFR1 (105-112)
 [1199] <400> 29
 [1200] Glu Asp Asp Asp Asp Asp Asp
 [1201] 1 5
 [1202] <210> 30
 [1203] <211> 356
 [1204] <212> PRT
 [1205] <213> 人工序列
 [1206] <220>
 [1207] <223> R2 (111-118) 由R1 (105-112) 置换的FGFR2 ECD
 [1208] <400> 30

[1209]	Arg	Pro	Ser	Phe	Ser	Leu	Val	Glu	Asp	Thr	Thr	Leu	Glu	Pro	Glu	Glu
[1210]	1				5					10					15	
[1211]	Pro	Pro	Thr	Lys	Tyr	Gln	Ile	Ser	Gln	Pro	Glu	Val	Tyr	Val	Ala	Ala
[1212]				20					25					30		
[1213]	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Arg	Cys	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Ala	Val
[1214]			35					40					45			
[1215]	Ile	Ser	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Val	His	Leu	Gly	Pro	Asn	Asn	Arg	Thr
[1216]		50					55					60				
[1217]	Val	Leu	Ile	Gly	Glu	Tyr	Leu	Gln	Ile	Lys	Gly	Ala	Thr	Pro	Arg	Asp
[1218]	65					70					75				80	
[1219]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ala	Cys	Thr	Ala	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Ser	Glu	Thr
[1220]				85					90						95	
[1221]	Trp	Tyr	Phe	Met	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Ala	Ile	Ser	Ser	Gly	Glu	Asp
[1222]				100					105						110	
[1223]	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Ser	Glu	Asn	Ser	Asn
[1224]				115				120					125			
[1225]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Tyr	Trp	Thr	Asn	Thr	Glu	Lys	Met	Glu	Lys	Arg
[1226]		130					135					140				
[1227]	Leu	His	Ala	Val	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Val	Lys	Phe	Arg	Cys	Pro	Ala
[1228]	145					150					155				160	
[1229]	Gly	Gly	Asn	Pro	Met	Pro	Thr	Met	Arg	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Glu
[1230]				165					170					175		
[1231]	Phe	Lys	Gln	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Tyr	Lys	Val	Arg	Asn	Gln	His
[1232]				180					185					190		
[1233]	Trp	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr
[1234]			195					200					205			
[1235]	Thr	Cys	Val	Val	Glu	Asn	Glu	Tyr	Gly	Ser	Ile	Asn	His	Thr	Tyr	His
[1236]		210					215					220				
[1237]	Leu	Asp	Val	Val	Glu	Arg	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Ile	Leu	Gln	Ala	Gly
[1238]	225					230					235				240	
[1239]	Leu	Pro	Ala	Asn	Ala	Ser	Thr	Val	Val	Gly	Gly	Asp	Val	Glu	Phe	Val
[1240]				245					250					255		
[1241]	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Ile	Lys	His
[1242]				260				265					270			
[1243]	Val	Glu	Lys	Asn	Gly	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Asp	Gly	Leu	Pro	Tyr	Leu
[1244]			275					280				285				
[1245]	Lys	Val	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Val	Asn	Thr	Thr	Asp	Lys	Glu	Ile	Glu
[1246]		290					295					300				
[1247]	Val	Leu	Tyr	Ile	Arg	Asn	Val	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	Thr

[1248]	305	310	315	320
[1249]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu			
[1250]		325	330	335
[1251]	Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser Pro			
[1252]		340	345	350
[1253]	Asp Tyr Leu Glu			
[1254]		355		
[1255]	<210> 31			
[1256]	<211> 588			
[1257]	<212> PRT			
[1258]	<213> 人工序列			
[1259]	<220>			
[1260]	<223> R2 (111-118) 由R1 (105-112) 置换的FGFR2 ECD + Fc			
[1261]	<400> 31			
[1262]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu			
[1263]	1	5	10	15
[1264]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala			
[1265]		20	25	30
[1266]	Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val			
[1267]		35	40	45
[1268]	Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr			
[1269]	50	55	60	
[1270]	Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp			
[1271]	65	70	75	80
[1272]	Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr			
[1273]		85	90	95
[1274]	Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Glu Asp			
[1275]		100	105	110
[1276]	Asp Asp Asp Asp Asp Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn			
[1277]		115	120	125
[1278]	Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg			
[1279]		130	135	140
[1280]	Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala			
[1281]	145	150	155	160
[1282]	Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu			
[1283]		165	170	175
[1284]	Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His			
[1285]		180	185	190
[1286]	Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr			

[1287]	195	200	205
[1288]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His		
[1289]	210	215	220
[1290]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly		
[1291]	225	230	235
[1292]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val		
[1293]	245	250	255
[1294]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His		
[1295]	260	265	270
[1296]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu		
[1297]	275	280	285
[1298]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu		
[1299]	290	295	300
[1300]	Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr		
[1301]	305	310	315
[1302]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu		
[1303]	325	330	335
[1304]	Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser Pro		
[1305]	340	345	350
[1306]	Asp Tyr Leu Glu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro		
[1307]	355	360	365
[1308]	Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe		
[1309]	370	375	380
[1310]	Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		
[1311]	385	390	395
[1312]	Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe		
[1313]	405	410	415
[1314]	Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		
[1315]	420	425	430
[1316]	Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr		
[1317]	435	440	445
[1318]	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val		
[1319]	450	455	460
[1320]	Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala		
[1321]	465	470	475
[1322]	Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
[1323]	485	490	495
[1324]	Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
[1325]	500	505	510

[1326]	Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
[1327]	515 520 525
[1328]	Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
[1329]	530 535 540
[1330]	Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
[1331]	545 550 555 560
[1332]	Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
[1333]	565 570 575
[1334]	Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[1335]	580 585
[1336]	<210> 32
[1337]	<211> 587
[1338]	<212> PRT
[1339]	<213> 人工序列
[1340]	<220>
[1341]	<223> FGFR2 ECD Δ3 + GS接头 + Fc
[1342]	<400> 32
[1343]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu
[1344]	1 5 10 15
[1345]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala
[1346]	20 25 30
[1347]	Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val
[1348]	35 40 45
[1349]	Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr
[1350]	50 55 60
[1351]	Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp
[1352]	65 70 75 80
[1353]	Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr
[1354]	85 90 95
[1355]	Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
[1356]	100 105 110
[1357]	Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
[1358]	115 120 125
[1359]	Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
[1360]	130 135 140
[1361]	Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
[1362]	145 150 155 160
[1363]	Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
[1364]	165 170 175

[1365]	Phe	Lys	Gln	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Tyr	Lys	Val	Arg	Asn	Gln	His
[1366]				180				185					190			
[1367]	Trp	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr
[1368]			195					200					205			
[1369]	Thr	Cys	Val	Val	Glu	Asn	Glu	Tyr	Gly	Ser	Ile	Asn	His	Thr	Tyr	His
[1370]		210						215					220			
[1371]	Leu	Asp	Val	Val	Glu	Arg	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Ile	Leu	Gln	Ala	Gly
[1372]	225					230				235					240	
[1373]	Leu	Pro	Ala	Asn	Ala	Ser	Thr	Val	Val	Gly	Gly	Asp	Val	Glu	Phe	Val
[1374]				245						250					255	
[1375]	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Ile	Lys	His
[1376]			260					265						270		
[1377]	Val	Glu	Lys	Asn	Gly	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Asp	Gly	Leu	Pro	Tyr	Leu
[1378]		275						280					285			
[1379]	Lys	Val	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Val	Asn	Thr	Thr	Asp	Lys	Glu	Ile	Glu
[1380]		290					295					300				
[1381]	Val	Leu	Tyr	Ile	Arg	Asn	Val	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	Thr
[1382]	305					310				315					320	
[1383]	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Ser	Ile	Gly	Ile	Ser	Phe	His	Ser	Ala	Trp	Leu
[1384]				325						330					335	
[1385]	Thr	Val	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Glu	Lys	Glu	Ile	Thr	Ala	Ser	Pro
[1386]			340					345					350			
[1387]	Asp	Gly	Ser	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro
[1388]		355						360					365			
[1389]	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
[1390]		370						375					380			
[1391]	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
[1392]	385					390				395					400	
[1393]	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn
[1394]				405						410				415		
[1395]	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg
[1396]			420					425					430			
[1397]	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val
[1398]			435					440					445			
[1399]	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser
[1400]		450						455					460			
[1401]	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys
[1402]	465					470				475					480	
[1403]	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp

[1404]		485		490		495
[1405]	Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe					
[1406]		500		505		510
[1407]	Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu					
[1408]		515		520		525
[1409]	Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe					
[1410]		530		535		540
[1411]	Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly					
[1412]	545		550		555	560
[1413]	Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr					
[1414]		565		570		575
[1415]	Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
[1416]		580		585		
[1417]	<210> 33					
[1418]	<211> 353					
[1419]	<212> PRT					
[1420]	<213> 人工序列					
[1421]	<220>					
[1422]	<223> R2 (111-118) 由R1 (105-112) 置换的FGFR2 ECD Δ3					
[1423]	<400> 33					
[1424]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu					
[1425]	1	5		10		15
[1426]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala					
[1427]		20		25		30
[1428]	Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val					
[1429]		35		40		45
[1430]	Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr					
[1431]	50		55		60	
[1432]	Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp					
[1433]	65		70		75	80
[1434]	Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr					
[1435]		85		90		95
[1436]	Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Glu Asp					
[1437]		100		105		110
[1438]	Asp Asp Asp Asp Asp Asp Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn					
[1439]		115		120		125
[1440]	Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg					
[1441]	130		135		140	
[1442]	Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala					

[1443]	145	150	155	160
[1444]	Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu			
[1445]		165	170	175
[1446]	Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His			
[1447]		180	185	190
[1448]	Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr			
[1449]		195	200	205
[1450]	Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His			
[1451]		210	215	220
[1452]	Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly			
[1453]	225	230	235	240
[1454]	Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val			
[1455]		245	250	255
[1456]	Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His			
[1457]		260	265	270
[1458]	Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu			
[1459]		275	280	285
[1460]	Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu			
[1461]		290	295	300
[1462]	Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr			
[1463]	305	310	315	320
[1464]	Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu			
[1465]		325	330	335
[1466]	Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser Pro			
[1467]		340	345	350
[1468]	Asp			
[1469]	<210> 34			
[1470]	<211> 587			
[1471]	<212> PRT			
[1472]	<213> 人工序列			
[1473]	<220>			
[1474]	<223> R2 (111-118) 由R1 (105-112) 置换的FGFR2 ECD Δ3 + GS			
[1475]	接头 + Fc (也称作FGFR2ECD (FGFR2 (111-118) :FGFR1 (105-112) :			
[1476]	Δ3) -GS接头-Fc和R2 (111-118) :R1 (105-112))			
[1477]	<400> 34			
[1478]	Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu			
[1479]	1	5	10	15
[1480]	Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala			
[1481]		20	25	30

[1482]	Pro	Gly	Glu	Ser	Leu	Glu	Val	Arg	Cys	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Ala	Val
[1483]			35					40					45			
[1484]	Ile	Ser	Trp	Thr	Lys	Asp	Gly	Val	His	Leu	Gly	Pro	Asn	Asn	Arg	Thr
[1485]			50					55					60			
[1486]	Val	Leu	Ile	Gly	Glu	Tyr	Leu	Gln	Ile	Lys	Gly	Ala	Thr	Pro	Arg	Asp
[1487]	65						70				75					80
[1488]	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ala	Cys	Thr	Ala	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Ser	Glu	Thr
[1489]					85					90					95	
[1490]	Trp	Tyr	Phe	Met	Val	Asn	Val	Thr	Asp	Ala	Ile	Ser	Ser	Gly	Glu	Asp
[1491]					100					105					110	
[1492]	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Ser	Glu	Asn	Ser	Asn
[1493]					115					120					125	
[1494]	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Tyr	Trp	Thr	Asn	Thr	Glu	Lys	Met	Glu	Lys	Arg
[1495]					130					135					140	
[1496]	Leu	His	Ala	Val	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Val	Lys	Phe	Arg	Cys	Pro	Ala
[1497]	145						150				155					160
[1498]	Gly	Gly	Asn	Pro	Met	Pro	Thr	Met	Arg	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly	Lys	Glu
[1499]					165					170						175
[1500]	Phe	Lys	Gln	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Tyr	Lys	Val	Arg	Asn	Gln	His
[1501]					180					185					190	
[1502]	Trp	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr
[1503]					195					200					205	
[1504]	Thr	Cys	Val	Val	Glu	Asn	Glu	Tyr	Gly	Ser	Ile	Asn	His	Thr	Tyr	His
[1505]					210					215					220	
[1506]	Leu	Asp	Val	Val	Glu	Arg	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Ile	Leu	Gln	Ala	Gly
[1507]	225						230				235					240
[1508]	Leu	Pro	Ala	Asn	Ala	Ser	Thr	Val	Val	Gly	Gly	Asp	Val	Glu	Phe	Val
[1509]					245					250					255	
[1510]	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Ile	Lys	His
[1511]					260					265					270	
[1512]	Val	Glu	Lys	Asn	Gly	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Asp	Gly	Leu	Pro	Tyr	Leu
[1513]					275					280					285	
[1514]	Lys	Val	Leu	Lys	Ala	Ala	Gly	Val	Asn	Thr	Thr	Asp	Lys	Glu	Ile	Glu
[1515]					290					295					300	
[1516]	Val	Leu	Tyr	Ile	Arg	Asn	Val	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	Thr
[1517]	305						310				315					320
[1518]	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Ser	Ile	Gly	Ile	Ser	Phe	His	Ser	Ala	Trp	Leu
[1519]					325					330					335	
[1520]	Thr	Val	Leu	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Glu	Lys	Glu	Ile	Thr	Ala	Ser	Pro

[1521]	340	345	350
[1522]	Asp Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro		
[1523]	355	360	365
[1524]	Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro		
[1525]	370	375	380
[1526]	Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr		
[1527]	385	390	395
[1528]	Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn		
[1529]	405	410	415
[1530]	Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg		
[1531]	420	425	430
[1532]	Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val		
[1533]	435	440	445
[1534]	Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser		
[1535]	450	455	460
[1536]	Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys		
[1537]	465	470	475
[1538]	Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp		
[1539]	485	490	495
[1540]	Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe		
[1541]	500	505	510
[1542]	Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu		
[1543]	515	520	525
[1544]	Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe		
[1545]	530	535	540
[1546]	Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly		
[1547]	545	550	555
[1548]	Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr		
[1549]	565	570	575
[1550]	Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[1551]	580	585	
[1552]	<210> 35		
[1553]	<211> 288		
[1554]	<212> PRT		
[1555]	<213> 智人		
[1556]	<220>		
[1557]	<221> MISC_FEATURE		
[1558]	<223> 人PD-1前体(具有信号序列)		
[1559]	<400> 35		

[1560]	Met	Gln	Ile	Pro	Gln	Ala	Pro	Trp	Pro	Val	Val	Trp	Ala	Val	Leu	Gln
[1561]	1				5					10					15	
[1562]	Leu	Gly	Trp	Arg	Pro	Gly	Trp	Phe	Leu	Asp	Ser	Pro	Asp	Arg	Pro	Trp
[1563]				20				25					30			
[1564]	Asn	Pro	Pro	Thr	Phe	Ser	Pro	Ala	Leu	Leu	Val	Val	Thr	Glu	Gly	Asp
[1565]			35					40					45			
[1566]	Asn	Ala	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Phe	Ser	Asn	Thr	Ser	Glu	Ser	Phe	Val
[1567]		50					55					60				
[1568]	Leu	Asn	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr	Asp	Lys	Leu	Ala
[1569]	65				70					75					80	
[1570]	Ala	Phe	Pro	Glu	Asp	Arg	Ser	Gln	Pro	Gly	Gln	Asp	Cys	Arg	Phe	Arg
[1571]				85				90							95	
[1572]	Val	Thr	Gln	Leu	Pro	Asn	Gly	Arg	Asp	Phe	His	Met	Ser	Val	Val	Arg
[1573]				100				105							110	
[1574]	Ala	Arg	Arg	Asn	Asp	Ser	Gly	Thr	Tyr	Leu	Cys	Gly	Ala	Ile	Ser	Leu
[1575]			115				120					125				
[1576]	Ala	Pro	Lys	Ala	Gln	Ile	Lys	Glu	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Leu	Arg	Val
[1577]		130					135					140				
[1578]	Thr	Glu	Arg	Arg	Ala	Glu	Val	Pro	Thr	Ala	His	Pro	Ser	Pro	Ser	Pro
[1579]	145				150					155					160	
[1580]	Arg	Pro	Ala	Gly	Gln	Phe	Gln	Thr	Leu	Val	Val	Gly	Val	Val	Gly	Gly
[1581]				165				170							175	
[1582]	Leu	Leu	Gly	Ser	Leu	Val	Leu	Leu	Val	Trp	Val	Leu	Ala	Val	Ile	Cys
[1583]			180					185					190			
[1584]	Ser	Arg	Ala	Ala	Arg	Gly	Thr	Ile	Gly	Ala	Arg	Arg	Thr	Gly	Gln	Pro
[1585]		195					200					205				
[1586]	Leu	Lys	Glu	Asp	Pro	Ser	Ala	Val	Pro	Val	Phe	Ser	Val	Asp	Tyr	Gly
[1587]		210					215				220					
[1588]	Glu	Leu	Asp	Phe	Gln	Trp	Arg	Glu	Lys	Thr	Pro	Glu	Pro	Pro	Val	Pro
[1589]	225				230					235					240	
[1590]	Cys	Val	Pro	Glu	Gln	Thr	Glu	Tyr	Ala	Thr	Ile	Val	Phe	Pro	Ser	Gly
[1591]				245				250					255			
[1592]	Met	Gly	Thr	Ser	Ser	Pro	Ala	Arg	Arg	Gly	Ser	Ala	Asp	Gly	Pro	Arg
[1593]			260					265					270			
[1594]	Ser	Ala	Gln	Pro	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Gly	His	Cys	Ser	Trp	Pro	Leu
[1595]		275					280					285				
[1596]	<210>	36														
[1597]	<211>	268														
[1598]	<212>	PRT														

[1599]	<213>	智人
[1600]	<220>	
[1601]	<221>	MISC_FEATURE
[1602]	<223>	人PD-1 (成熟,无信号序列)
[1603]	<400>	36
[1604]	Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr	
[1605]	1	5 10 15
[1606]	Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe	
[1607]	20	25 30
[1608]	Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr	
[1609]	35	40 45
[1610]	Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu	
[1611]	50	55 60
[1612]	Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu	
[1613]	65	70 75 80
[1614]	Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn	
[1615]	85	90 95
[1616]	Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala	
[1617]	100	105 110
[1618]	Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg	
[1619]	115	120 125
[1620]	Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly	
[1621]	130	135 140
[1622]	Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser	
[1623]	145	150 155 160
[1624]	Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala	
[1625]	165	170 175
[1626]	Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp	
[1627]	180	185 190
[1628]	Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe	
[1629]	195	200 205
[1630]	Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu	
[1631]	210	215 220
[1632]	Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser	
[1633]	225	230 235 240
[1634]	Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg Ser Ala Gln Pro	
[1635]	245	250 255
[1636]	Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu	
[1637]	260	265

[1638]	<210>	37
[1639]	<211>	290
[1640]	<212>	PRT
[1641]	<213>	智人
[1642]	<220>	
[1643]	<221>	MISC_FEATURE
[1644]	<223>	人PD-L1前体(具有信号序列)
[1645]	<400>	37
[1646]	Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu	
[1647]	1 5 10 15	
[1648]	Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr	
[1649]	20 25 30	
[1650]	Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu	
[1651]	35 40 45	
[1652]	Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile	
[1653]	50 55 60	
[1654]	Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser	
[1655]	65 70 75 80	
[1656]	Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn	
[1657]	85 90 95	
[1658]	Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr	
[1659]	100 105 110	
[1660]	Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val	
[1661]	115 120 125	
[1662]	Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val	
[1663]	130 135 140	
[1664]	Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr	
[1665]	145 150 155 160	
[1666]	Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser	
[1667]	165 170 175	
[1668]	Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn	
[1669]	180 185 190	
[1670]	Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr	
[1671]	195 200 205	
[1672]	Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu	
[1673]	210 215 220	
[1674]	Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His	
[1675]	225 230 235 240	
[1676]	Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr	

[1677]		245		250		255
[1678]	Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys					
[1679]		260		265		270
[1680]	Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu					
[1681]		275		280		285
[1682]	Glu Thr					
[1683]		290				
[1684]	<210> 38					
[1685]	<211> 272					
[1686]	<212> PRT					
[1687]	<213> 智人					
[1688]	<220>					
[1689]	<221> MISC_FEATURE					
[1690]	<223> 人PD-L1 (成熟,无信号序列)					
[1691]	<400> 38					
[1692]	Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser					
[1693]	1	5		10		15
[1694]	Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu					
[1695]		20		25		30
[1696]	Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln					
[1697]		35		40		45
[1698]	Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg					
[1699]		50		55		60
[1700]	Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala					
[1701]	65		70		75	80
[1702]	Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys					
[1703]		85		90		95
[1704]	Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val					
[1705]		100		105		110
[1706]	Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro					
[1707]		115		120		125
[1708]	Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys					
[1709]		130		135		140
[1710]	Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys					
[1711]	145		150		155	160
[1712]	Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr					
[1713]		165		170		175
[1714]	Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr					
[1715]		180		185		190

[1716]	Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile
[1717]	195 200 205
[1718]	Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His Leu Val
[1719]	210 215 220
[1720]	Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr Phe Ile
[1721]	225 230 235 240
[1722]	Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys Gly Ile
[1723]	245 250 255
[1724]	Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu Glu Thr
[1725]	260 265 270
[1726]	<210> 39
[1727]	<211> 119
[1728]	<212> PRT
[1729]	<213> 人工序列
[1730]	<220>
[1731]	<223> 抗FGFR2 Gal-FR22重链可变区
[1732]	<400> 39
[1733]	Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
[1734]	1 5 10 15
[1735]	Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Phe
[1736]	20 25 30
[1737]	Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
[1738]	35 40 45
[1739]	Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Asp Phe Arg
[1740]	50 55 60
[1741]	Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Ile Phe Phe
[1742]	65 70 75 80
[1743]	Lys Met Asn Ser Leu Gln Pro Asp Asp Thr Ile Ala Tyr Cys Ala Asn
[1744]	85 90 95
[1745]	Phe Tyr Tyr Gly Tyr Asp Asp Tyr Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
[1746]	100 105 110
[1747]	Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
[1748]	115
[1749]	<210> 40
[1750]	<211> 5
[1751]	<212> PRT
[1752]	<213> 人工序列
[1753]	<220>
[1754]	<223> 抗FGFR2 Gal-FR22重链CDR1

129

[1794]		85		90		95
[1795]	Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys					
[1796]		100		105		
[1797]	<210> 44					
[1798]	<211> 11					
[1799]	<212> PRT					
[1800]	<213> 人工序列					
[1801]	<220>					
[1802]	<223> 抗FGFR2 Gal-FR22轻链CDR1					
[1803]	<400> 44					
[1804]	Lys Ala Ser Gln Asp Ile Lys Asn Tyr Ile Ala					
[1805]	1	5		10		
[1806]	<210> 45					
[1807]	<211> 7					
[1808]	<212> PRT					
[1809]	<213> 人工序列					
[1810]	<220>					
[1811]	<223> 抗FGFR2 Gal-FR22轻链CDR2					
[1812]	<400> 45					
[1813]	Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro					
[1814]	1	5				
[1815]	<210> 46					
[1816]	<211> 8					
[1817]	<212> PRT					
[1818]	<213> 人工序列					
[1819]	<220>					
[1820]	<223> 抗FGFR2 Gal-FR22轻链CDR3					
[1821]	<400> 46					
[1822]	Leu Gln Tyr Asp Asp Leu Tyr Met					
[1823]	1	5				

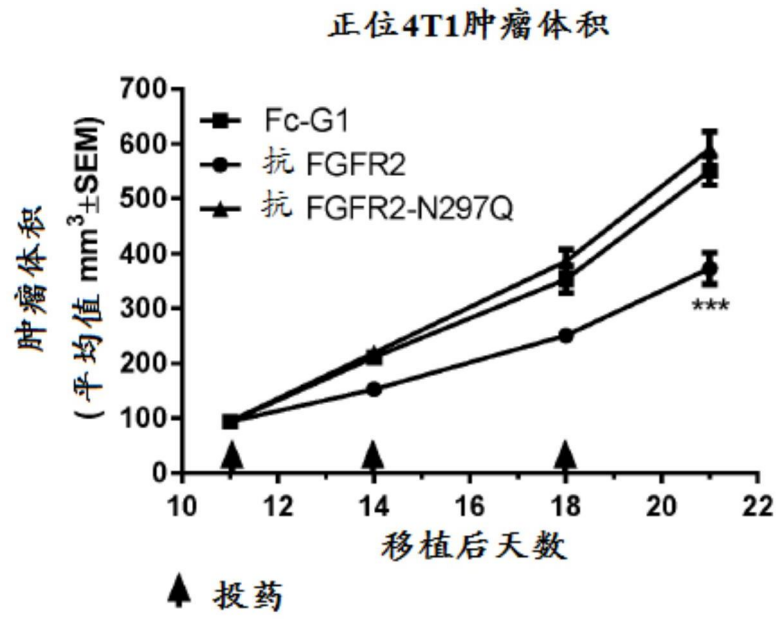


图1a

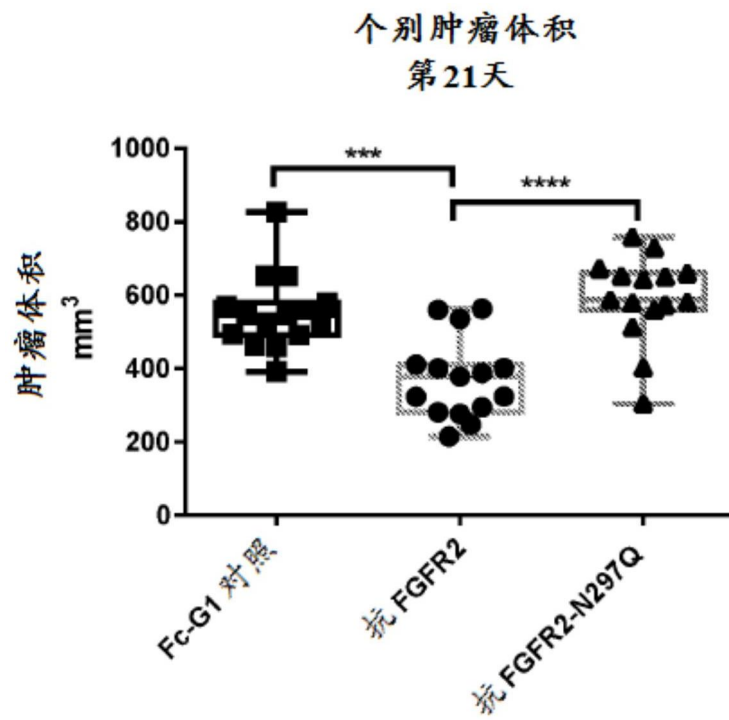


图1b

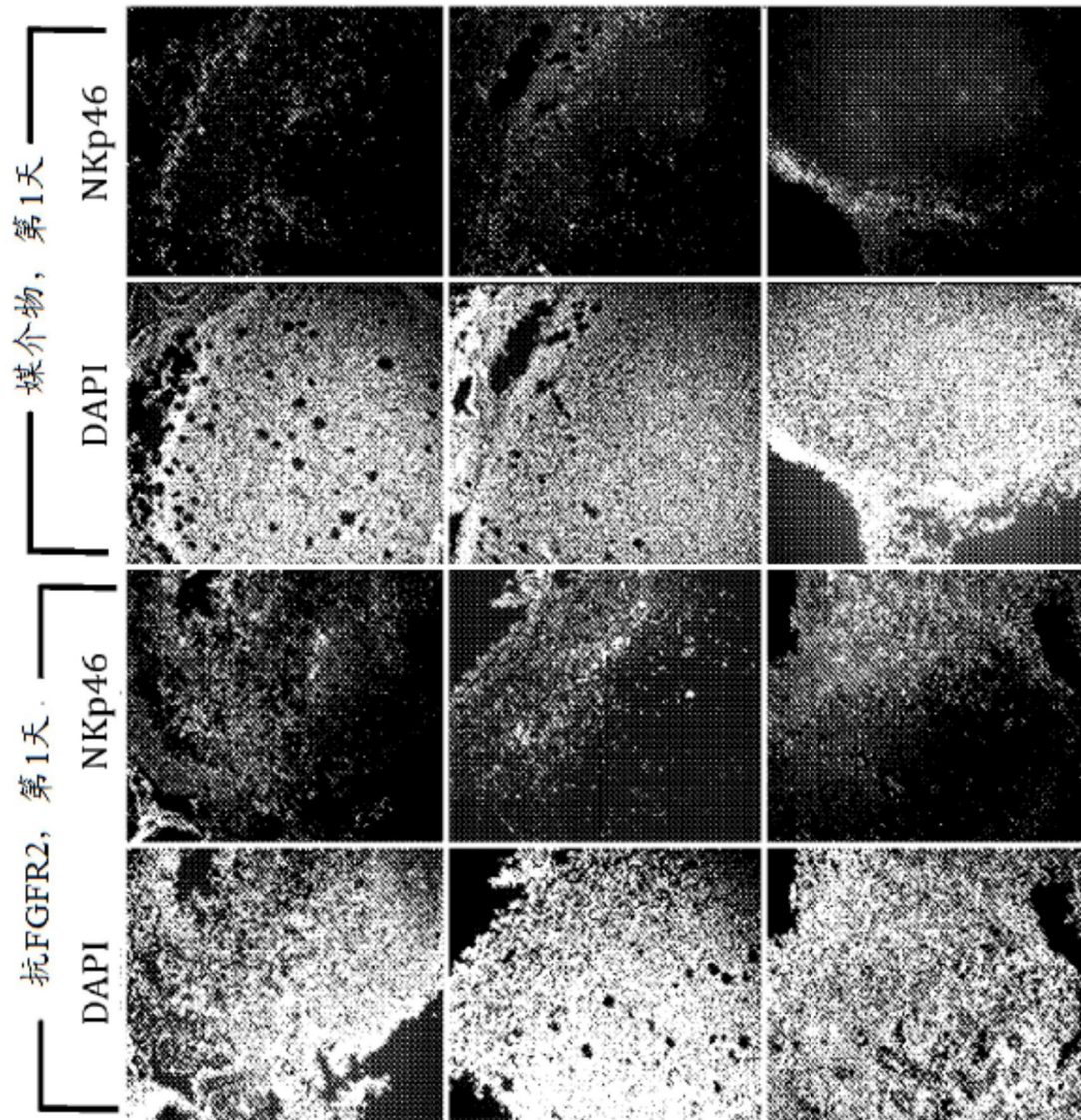


图2a

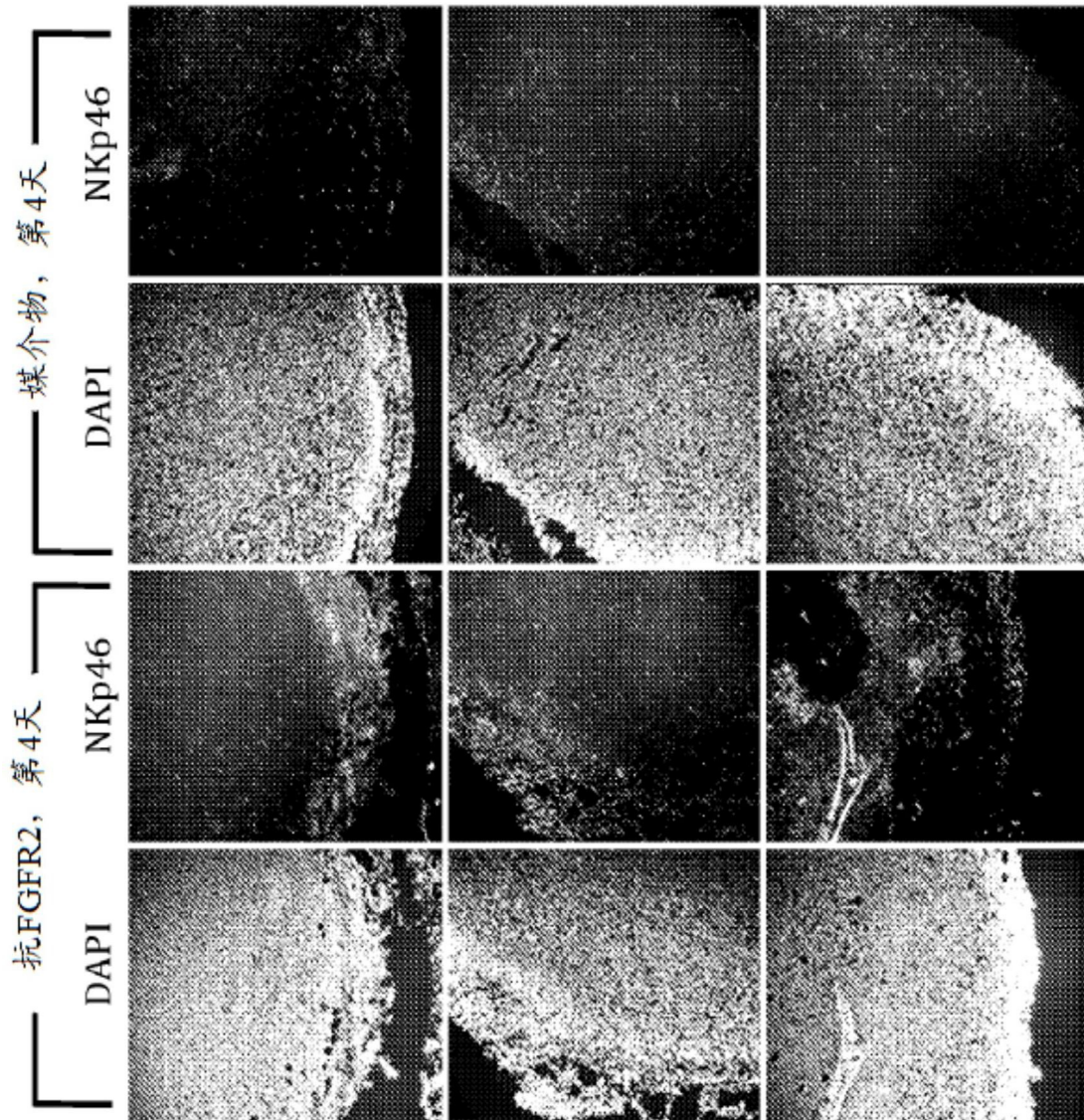


图2b

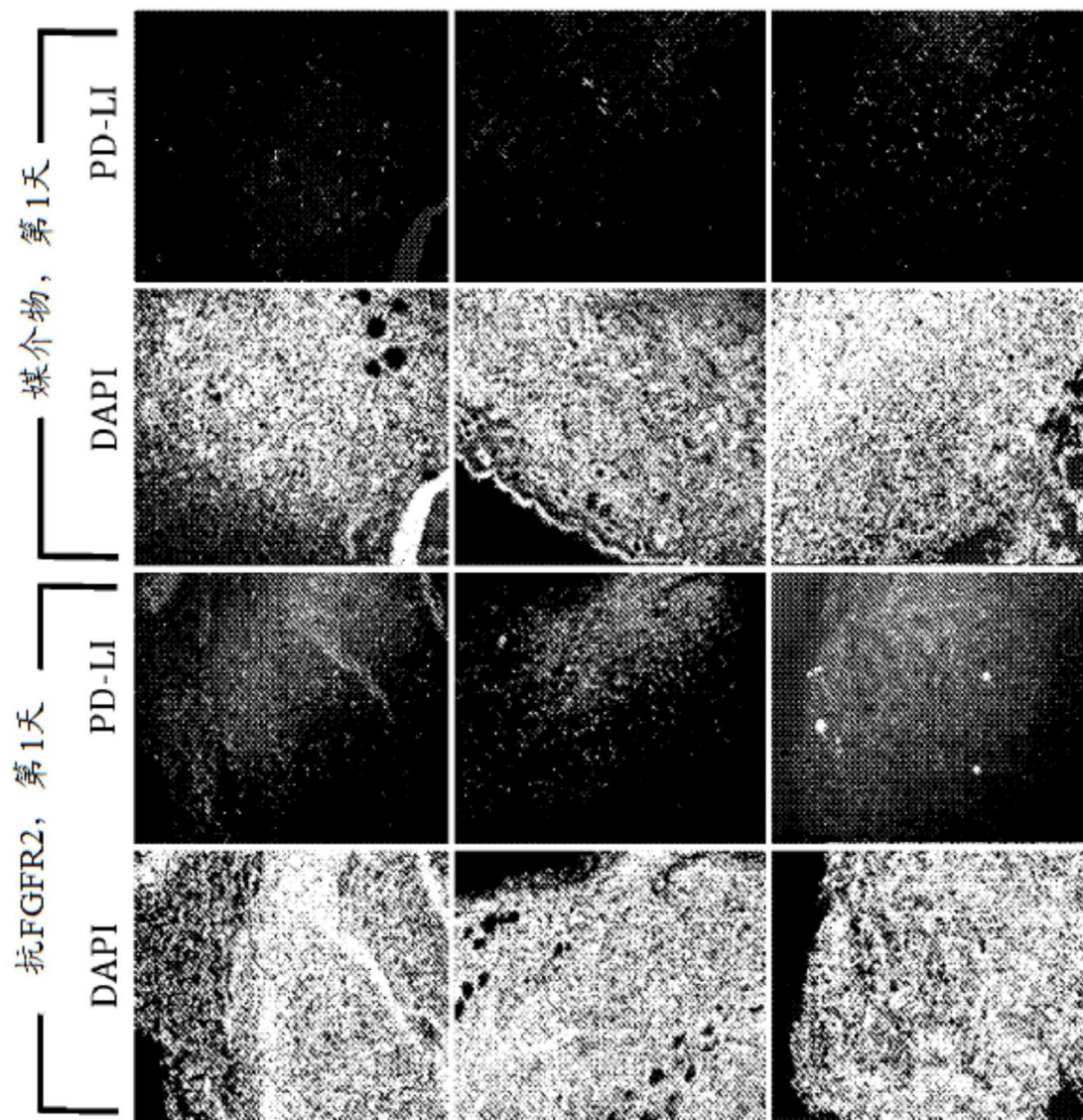


图2c

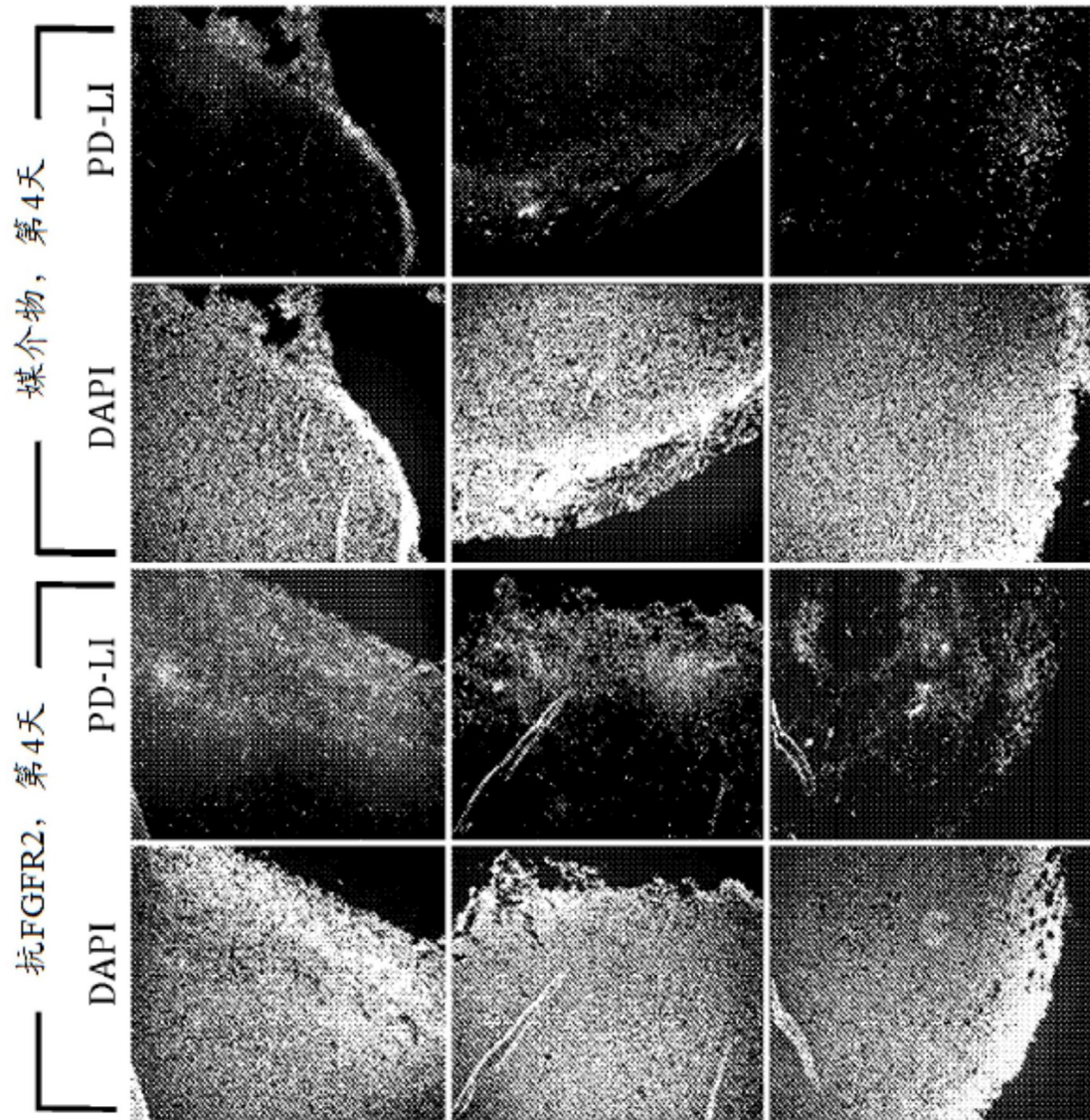


图2d

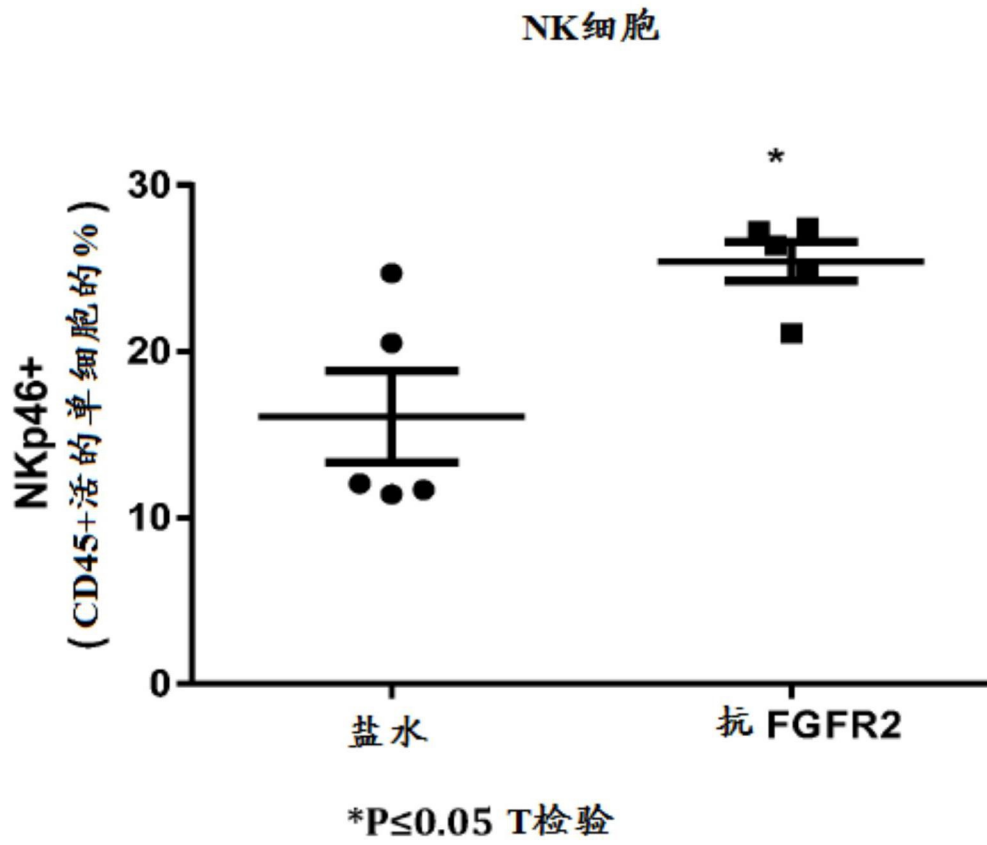


图3

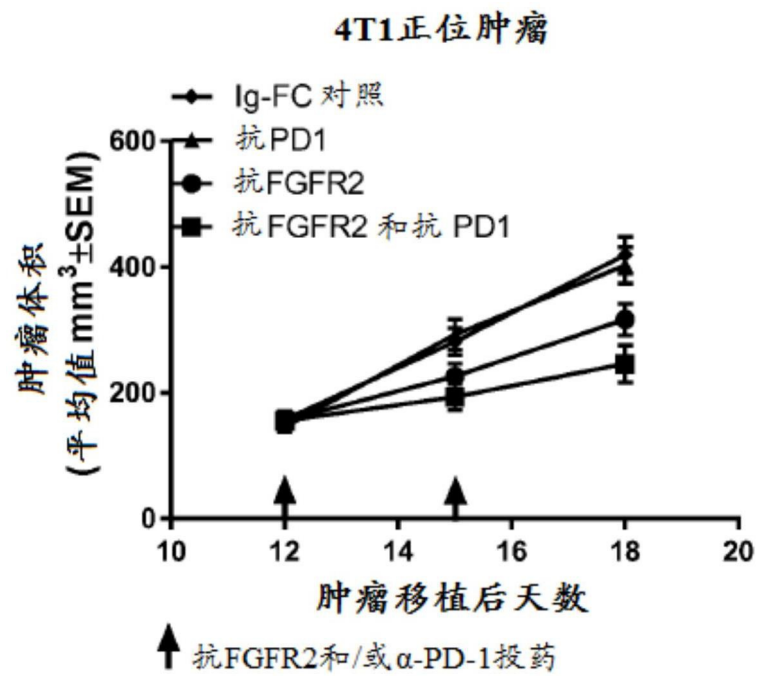


图4a

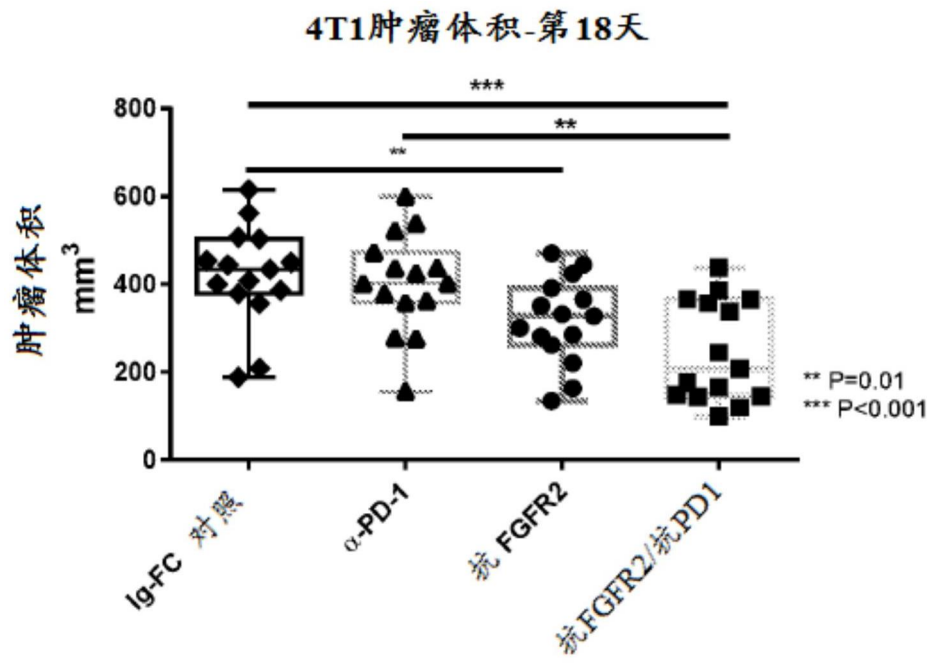


图4b

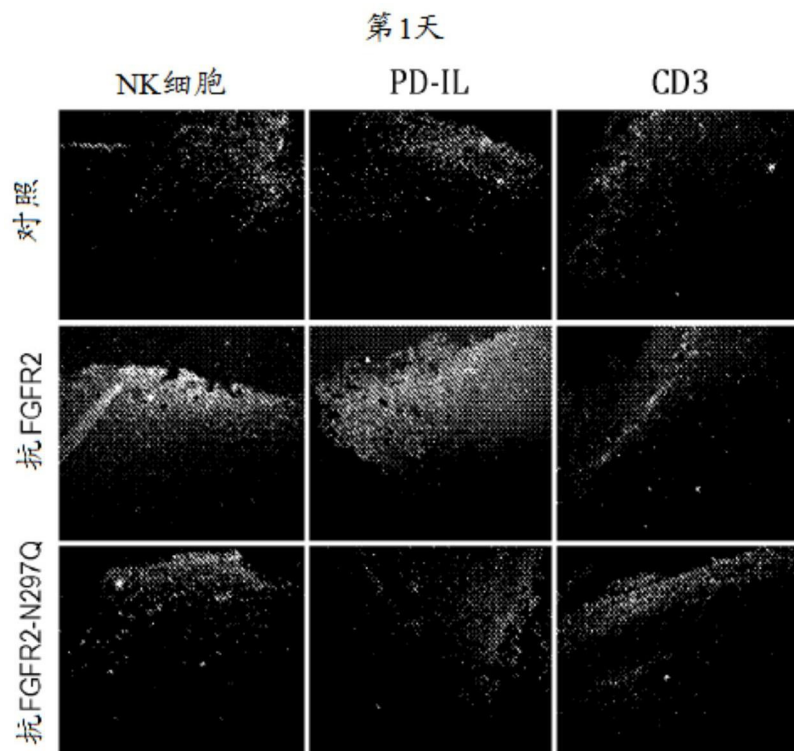


图5a

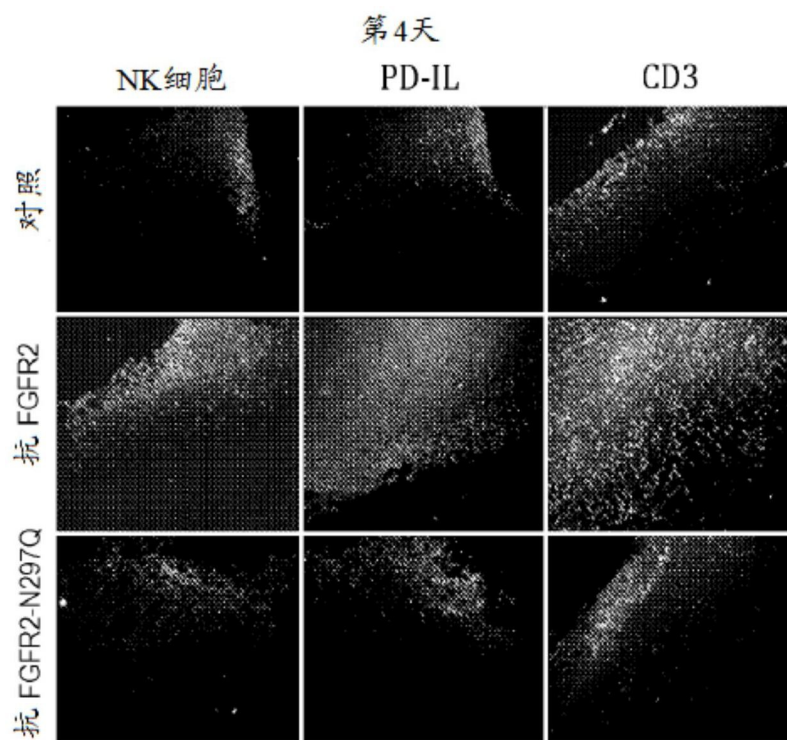


图5b

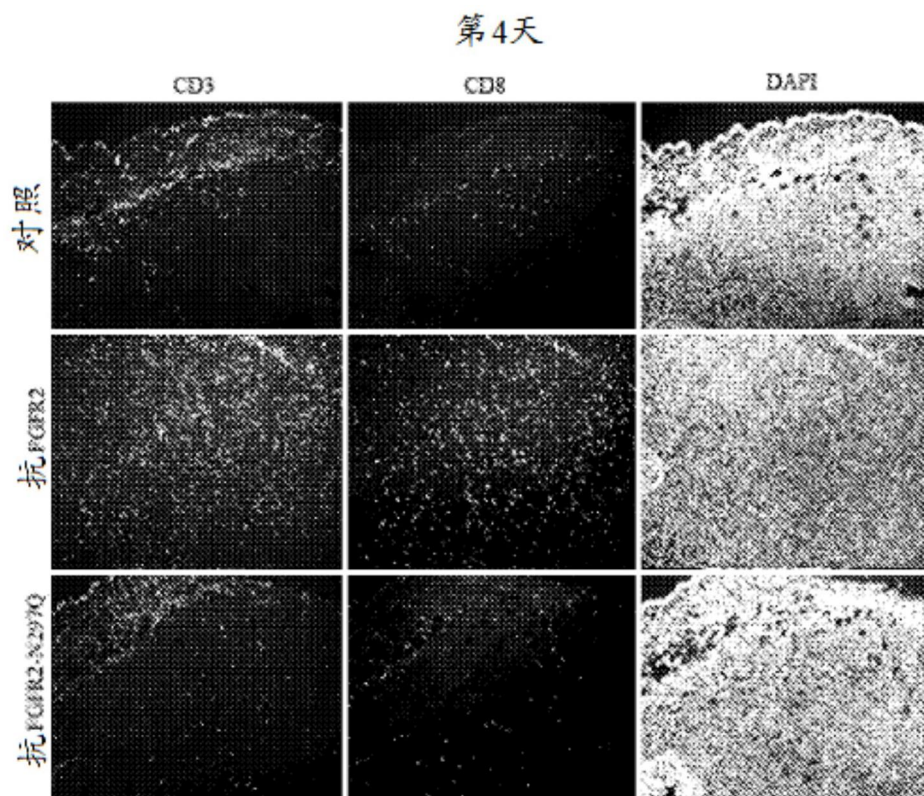


图6a

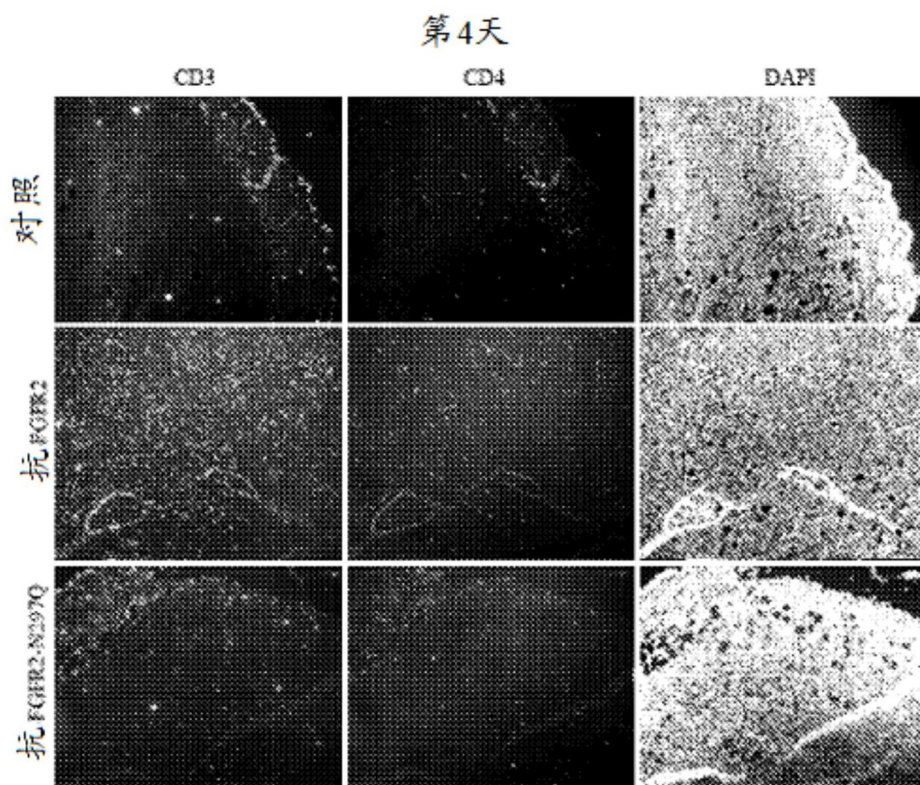


图6b

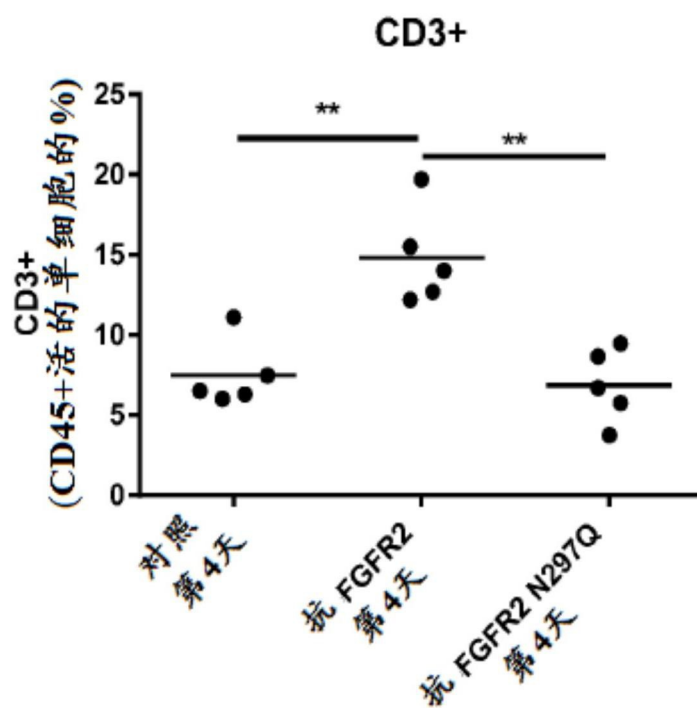


图7a

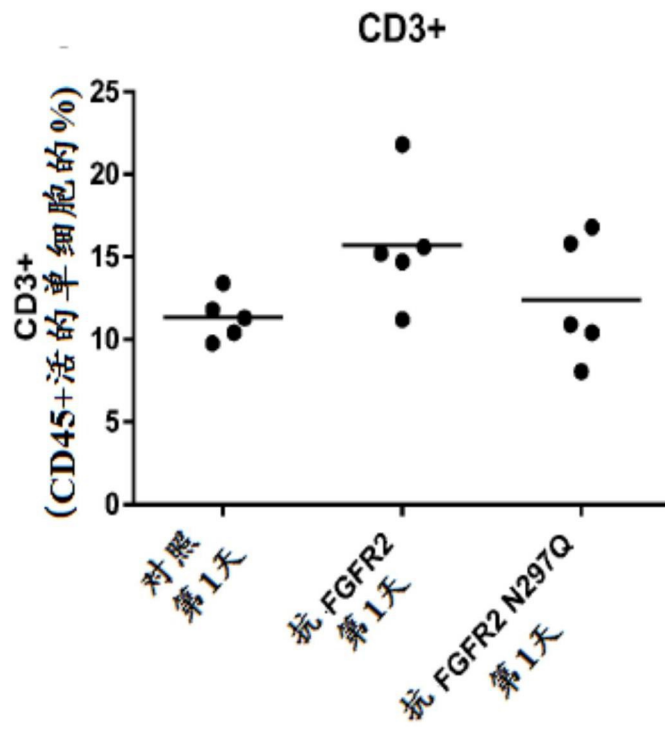


图7b

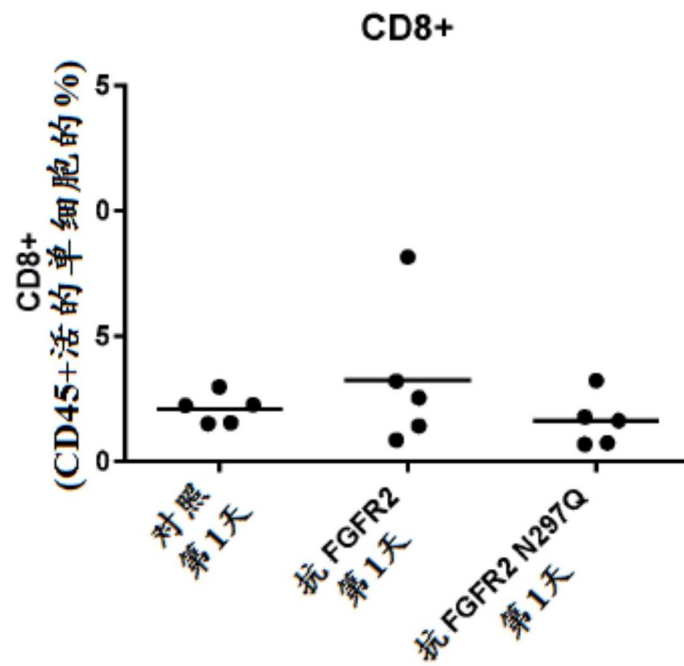


图8a

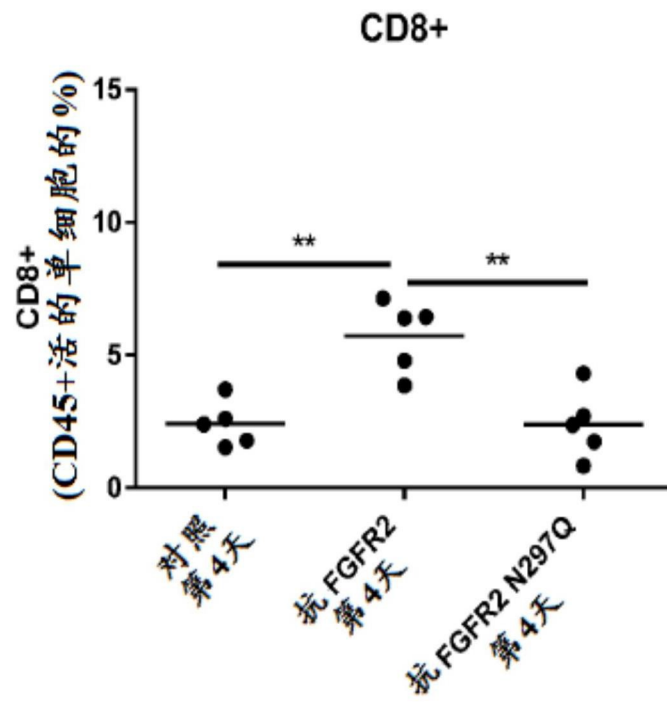


图8b

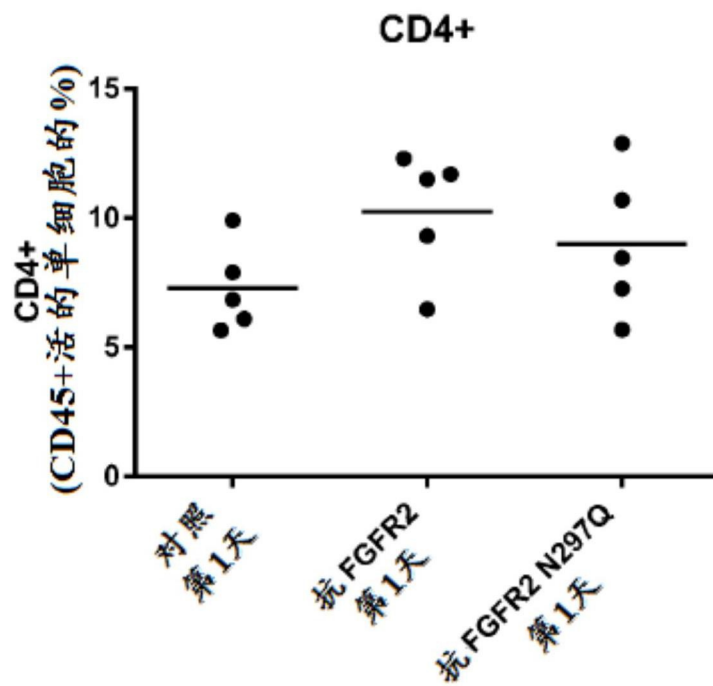


图9a

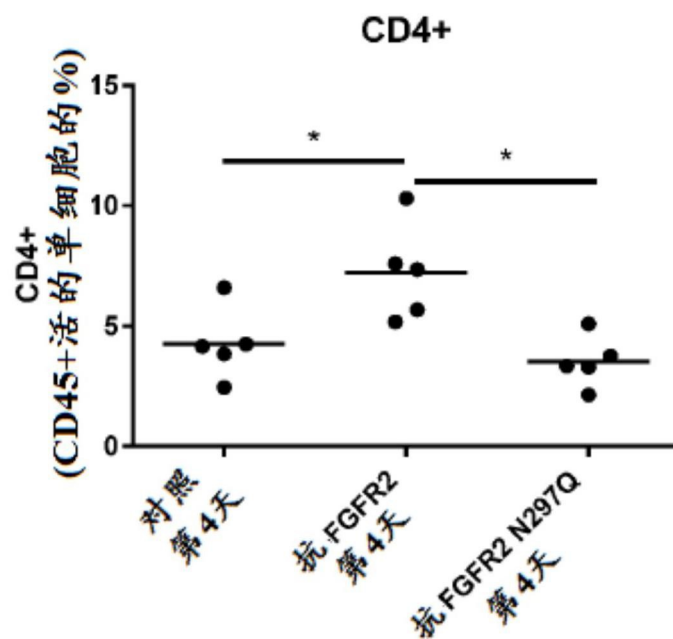


图9b

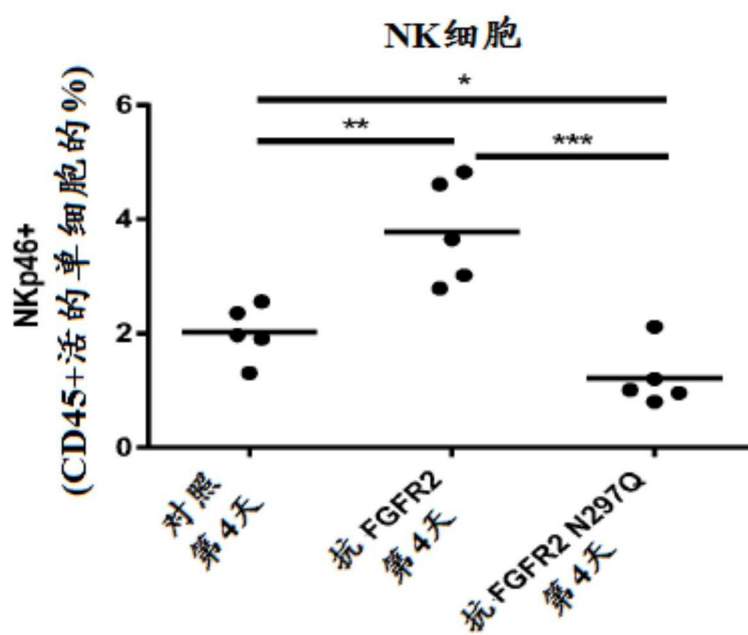


图10a

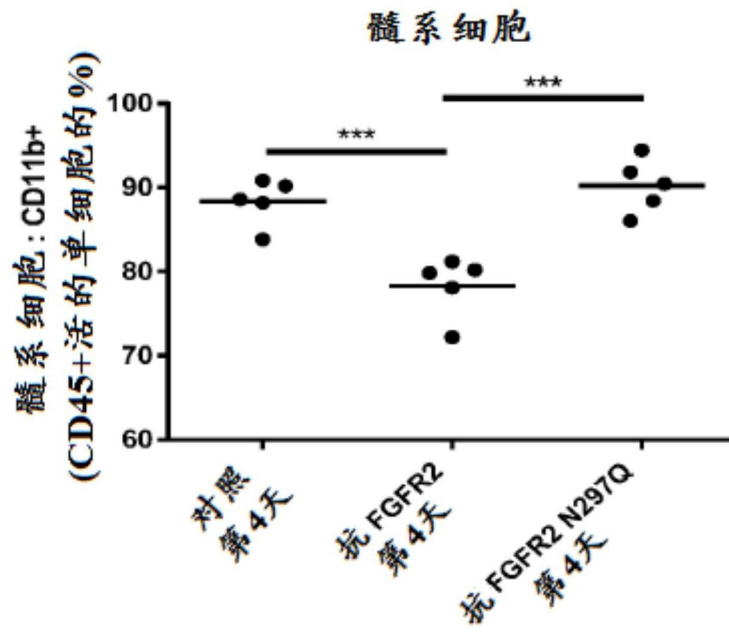


图10b

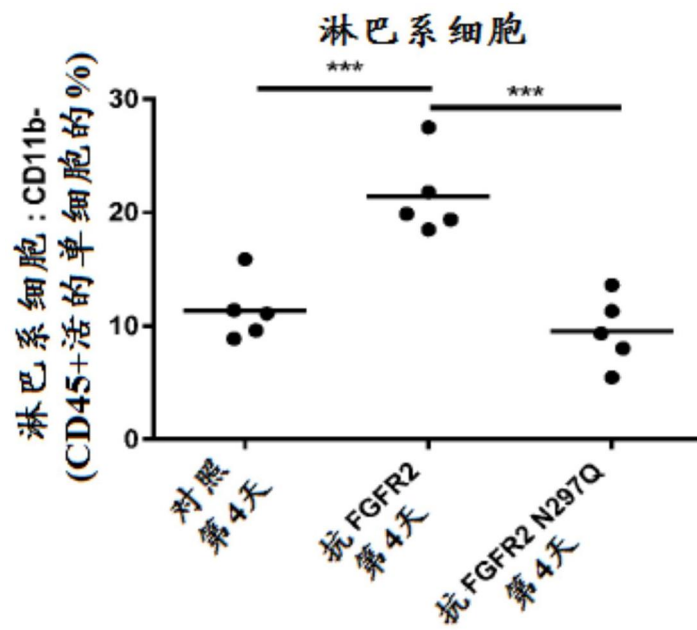


图10c

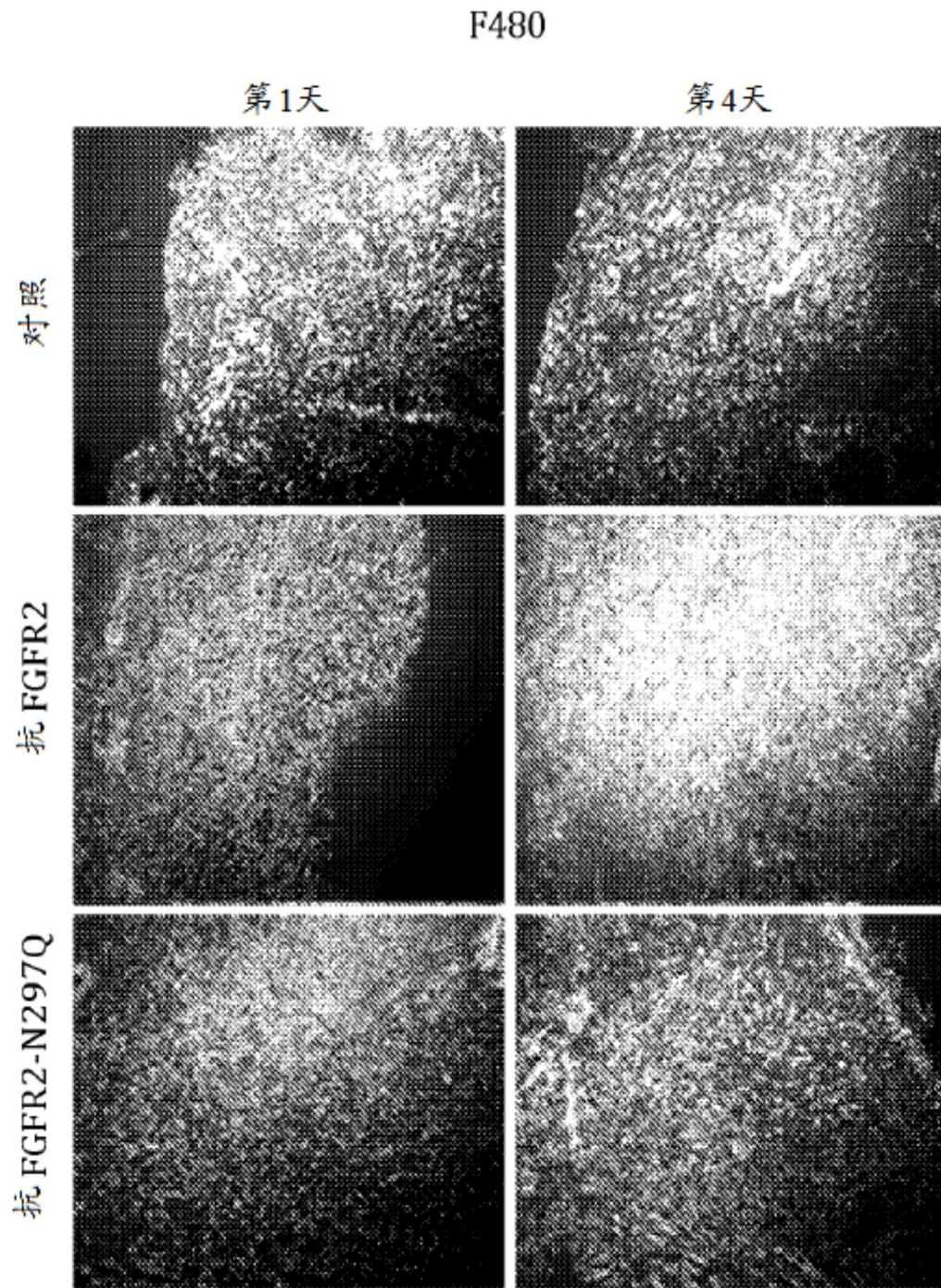


图11

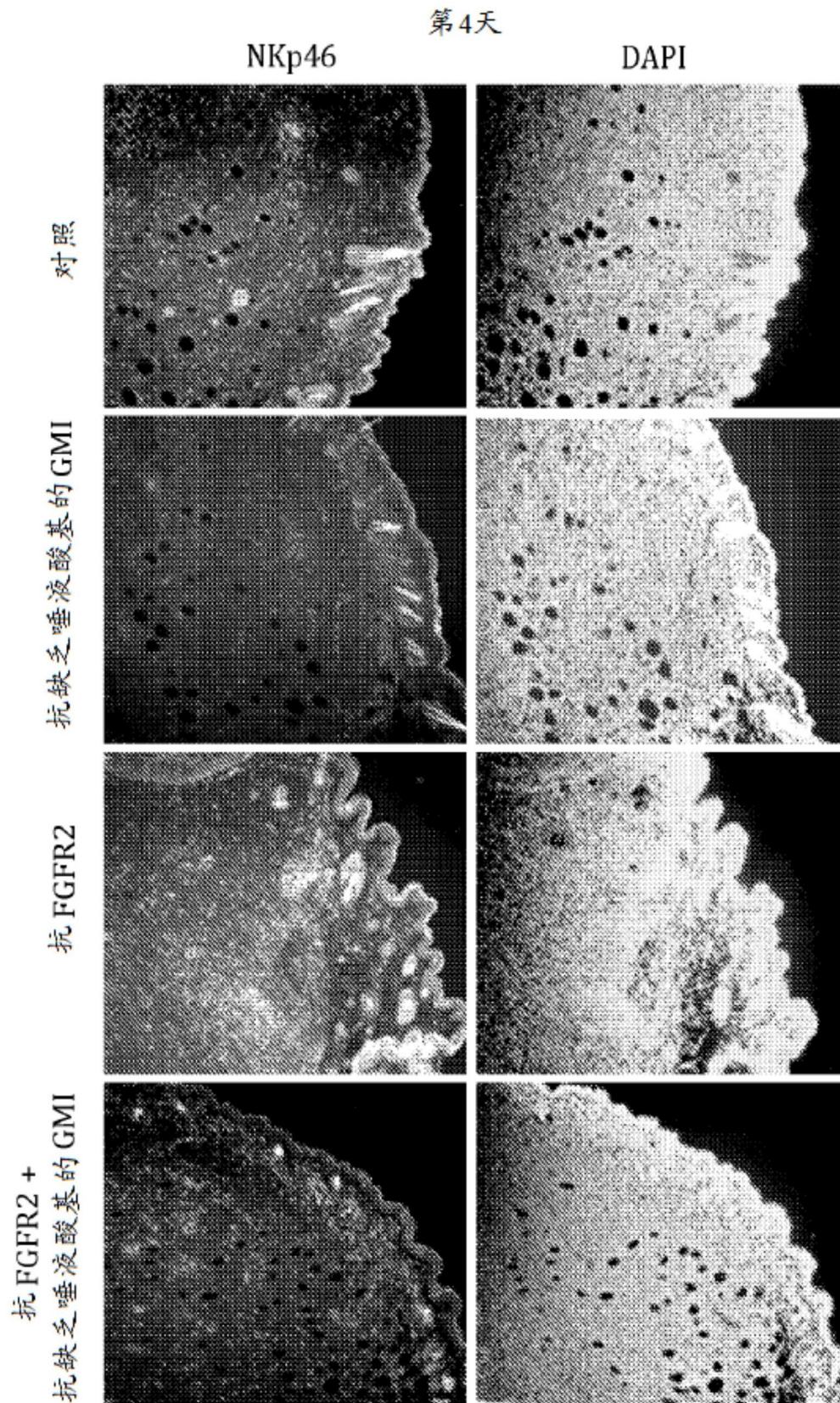


图12

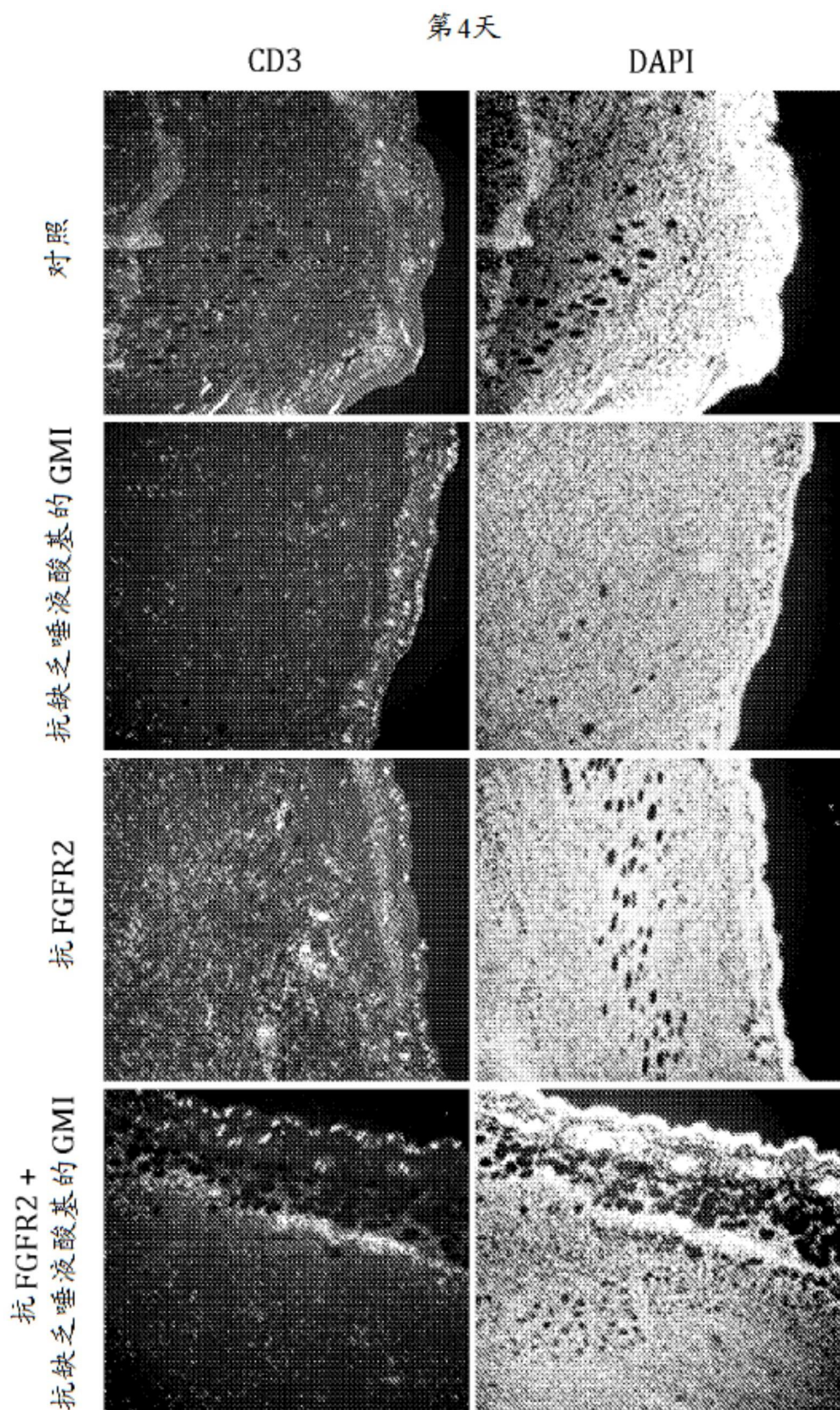


图13

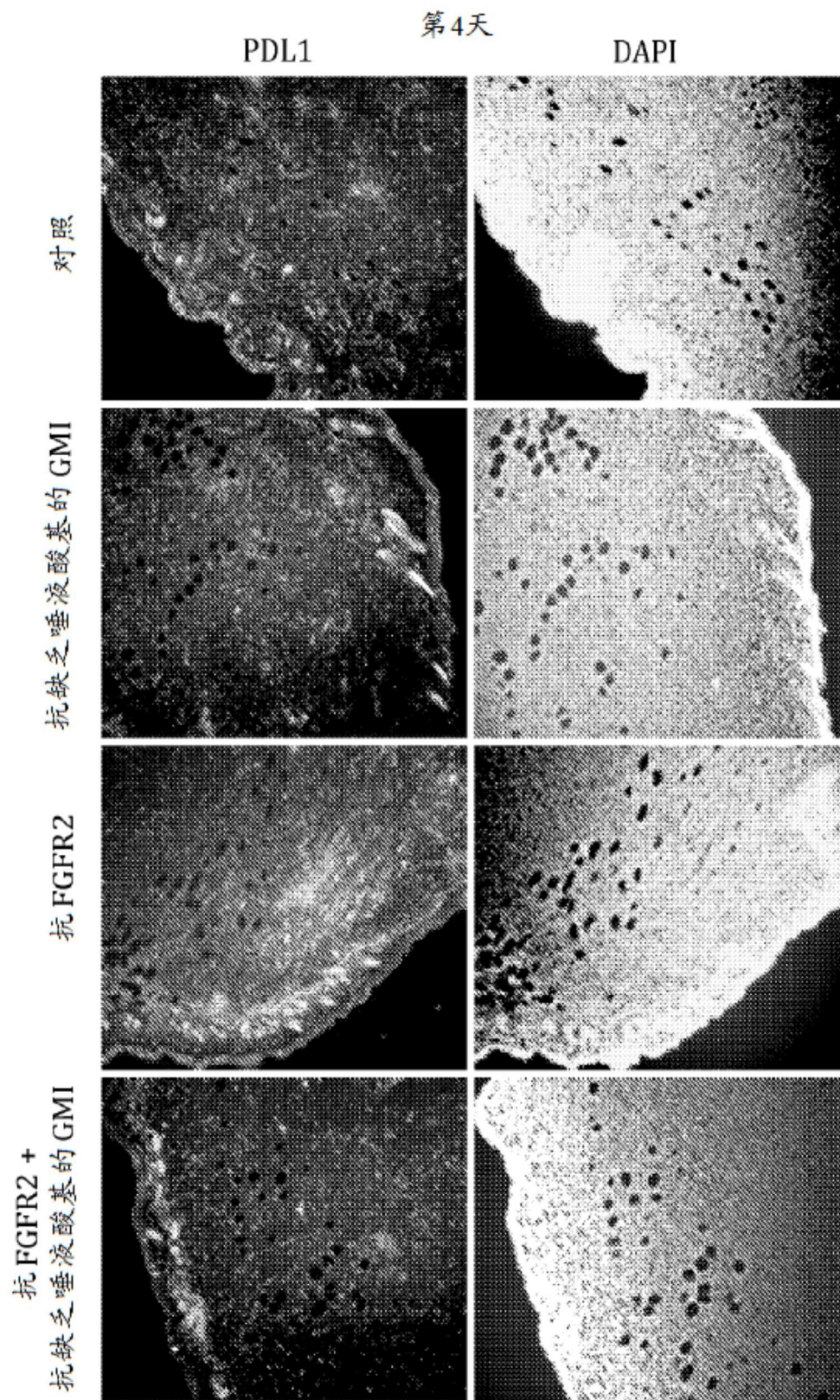


图14

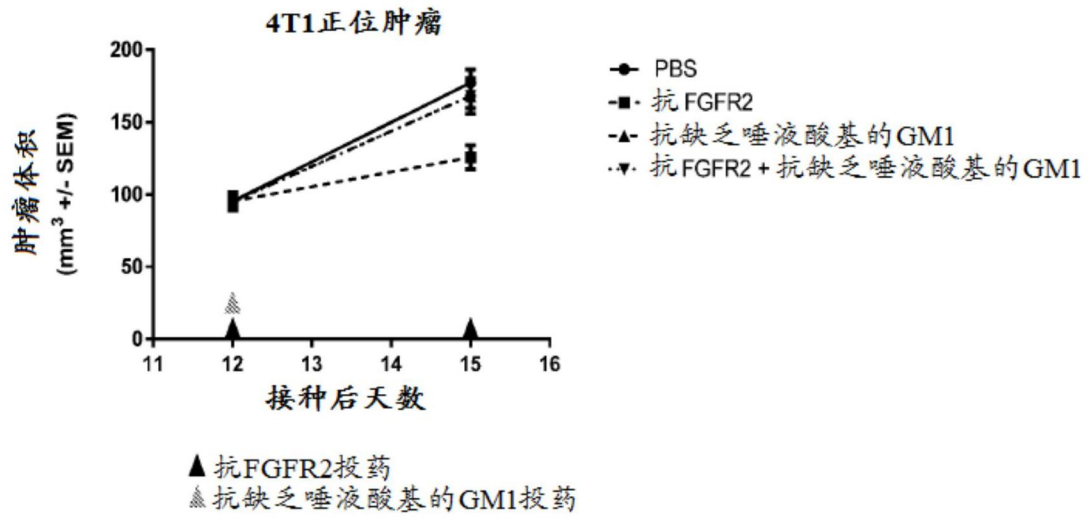


图15a

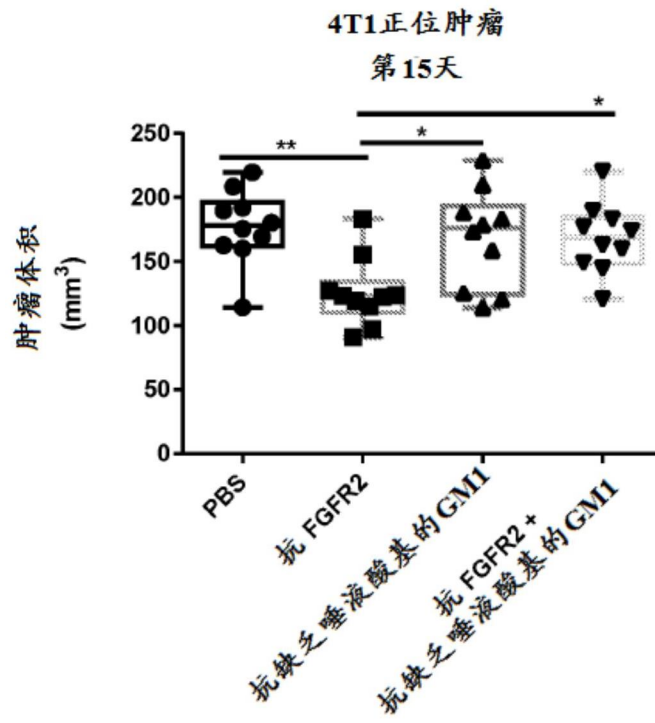


图15b

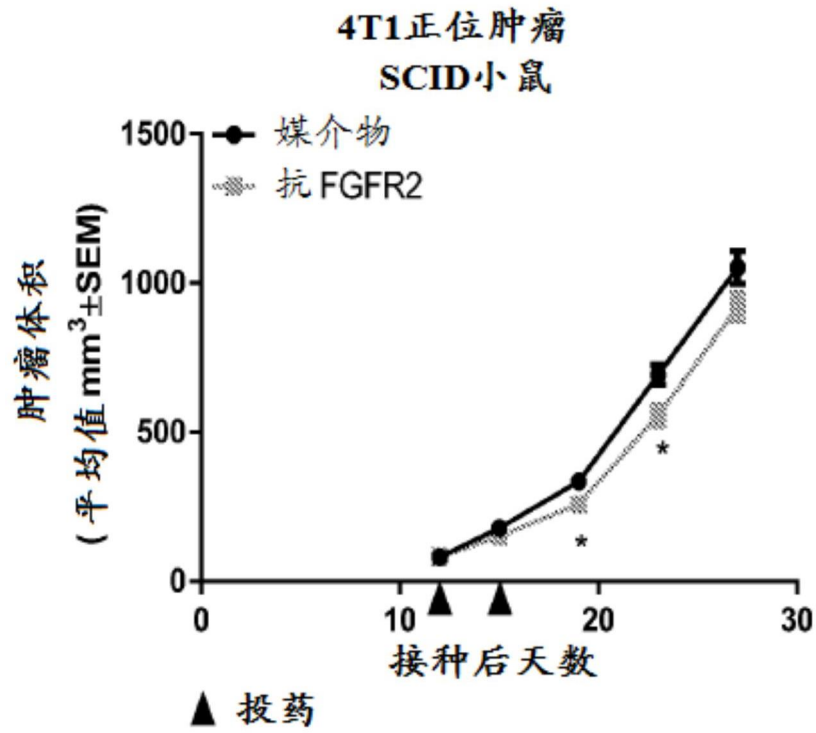


图16a

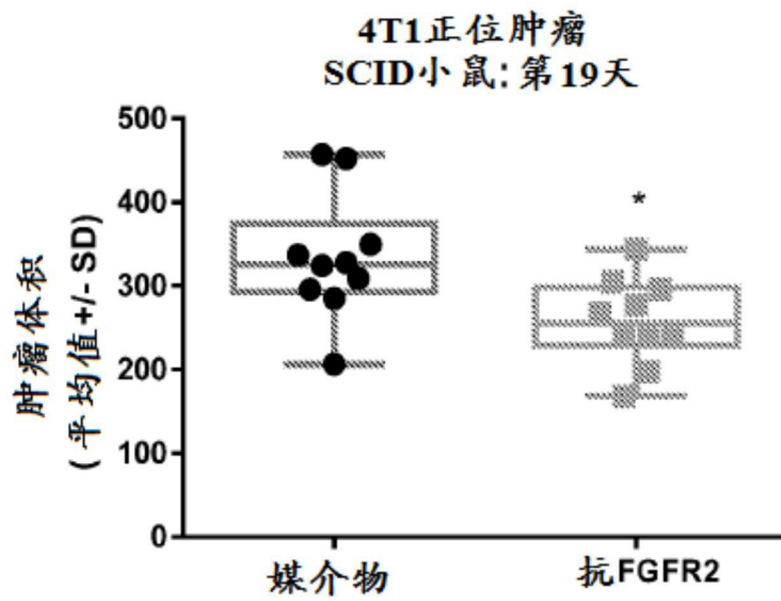


图16b

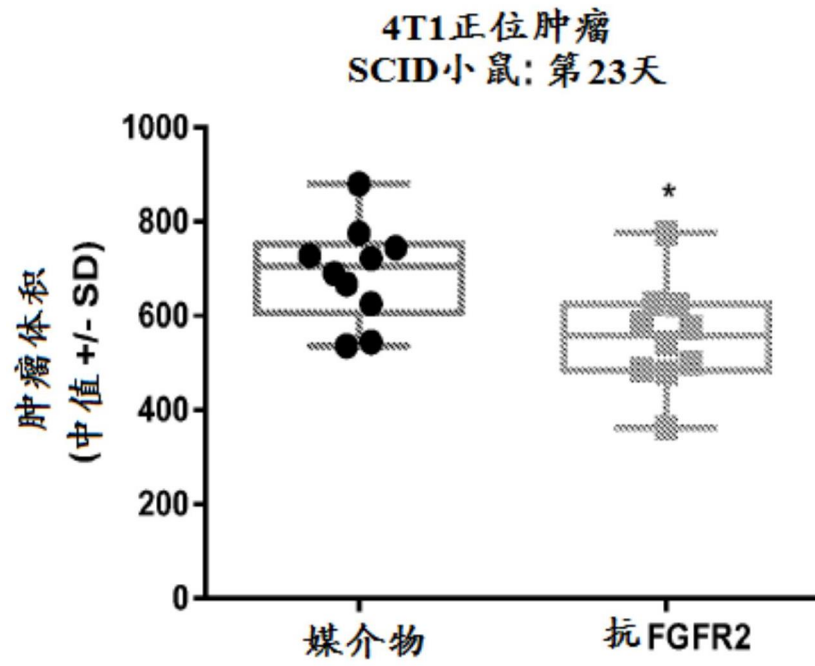


图16c

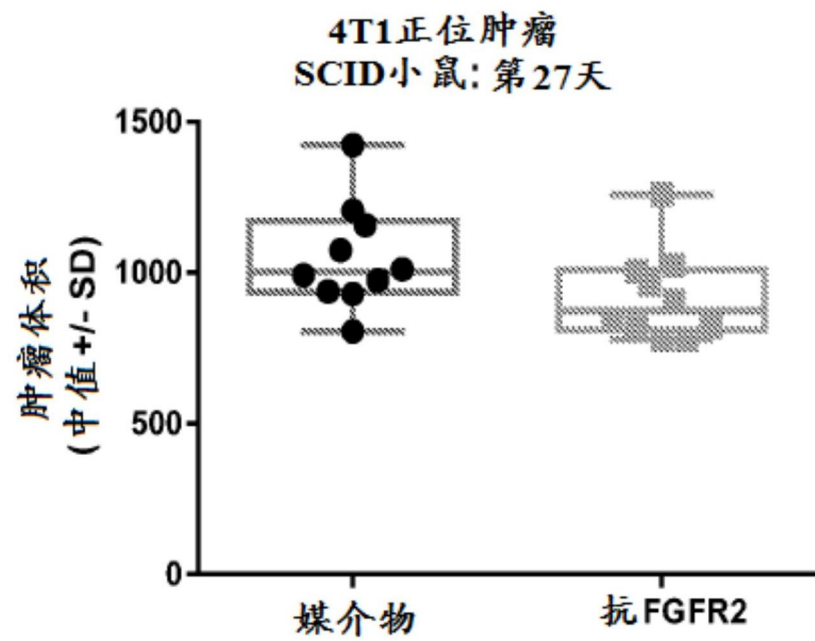


图16d