



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116457016 A

(43) 申请公布日 2023. 07. 18

(21) 申请号 202180076962.3

J·维勒曼·罗杰里奥

(22) 申请日 2021.09.14

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

(30) 优先权数据

11256

63/078,485 2020.09.15 US

专利代理师 陈文平 赵磊

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int.Cl.

2023.05.15

A61K 39/395 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/050143 2021.09.14

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/060678 EN 2022.03.24

(71) 申请人 默沙东有限责任公司

地址 美国新泽西州

申请人 卫材R&D管理有限公司

(72) 发明人 J·A·希利 S·S·贾

权利要求书2页 说明书32页

P·马里内洛 R·F·佩里尼

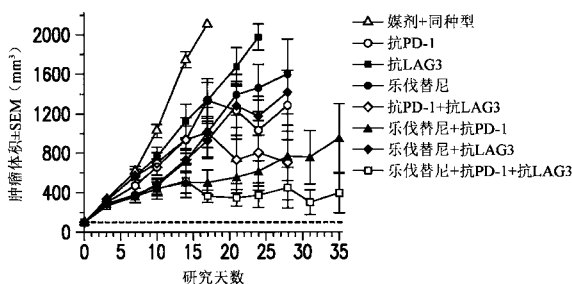
序列表24页 附图3页

(54) 发明名称

用于治疗癌症患者的PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂以及乐伐替尼或其药学上可接受的盐的组合疗法

(57) 摘要

本公开描述了包含程序性死亡1受体(PD-1)的拮抗剂、淋巴细胞活化基因3(LAG3)拮抗剂和乐伐替尼或其药学上可接受的盐的组合疗法以及所述组合疗法用于治疗癌症的用途。



1. 一种用于治疗个体体内癌症的方法,其包含向个体施用PD-1拮抗剂、LAG3拮抗剂和乐伐替尼(lenvatinib)或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是单克隆抗体或其抗原结合片段。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述个体是人,并且所述PD-1拮抗剂是特异地结合至人PD-1并且阻断人PD-L1与人PD-1结合的单克隆抗体或其抗原结合片段。

4. 根据权利要求3所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂还阻断人PD-L2与人PD-1的结合。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是抗体或其抗原结合片段,其包含:(a)分别包含SEQ ID NO:1、2和3的轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,和(b)分别包含SEQ ID NO:6、7和8的重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区。

6. 根据权利要求4所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是包含重链和轻链的抗PD-1抗体,并且其中所述重链包含包含SEQ ID NO:9的重链可变区,并且所述轻链包含包含SEQ ID NO:4的轻链可变区。

7. 根据权利要求4所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是包含两条重链和两条轻链的抗PD-1抗体,并且其中所述重链包含SEQ ID NO:10,并且所述轻链包含SEQ ID NO:5。

8. 根据权利要求4所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是派姆单抗(pembrolizumab)。

9. 根据权利要求4所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是派姆单抗变体。

10. 根据权利要求4所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是纳武利尤单抗(nivolumab)。

11. 根据权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述LAG3拮抗剂是阻断LAG3与MHC II类分子结合的单克隆抗体或其抗原结合片段。

12. 根据权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述LAG3拮抗剂是抗体或其抗原结合片段,其包含:(a)包含SEQ ID NO:26、27和28的轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,和(b)包含SEQ ID NO:29、30和31的重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区。

13. 根据权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述LAG3拮抗剂是包含重链和轻链的抗LAG3单克隆抗体,并且其中所述重链包含包含SEQ ID NO:25的重链可变区,并且所述轻链包含包含SEQ ID NO:24的轻链可变区。

14. 根据权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述LAG3拮抗剂是包含两条重链和两条轻链的抗LAG3抗体,并且其中所述重链包含SEQ ID NO:23,并且所述轻链包含SEQ ID NO:22。

15. 根据权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述LAG3拮抗剂是Ab6变体。

16. 根据权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述LAG3拮抗剂是Ab6抗体。

17. 根据权利要求1所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是包含重链和轻链的人源化抗PD-1抗体,并且其中所述重链包含包含SEQ ID NO:6、7和8的重链CDR的重链可变区,并且所述轻链包含包含SEQ ID NO:1、2和3的轻链CDR的轻链可变区;并且所述LAG3拮抗剂是包含重链和轻链的人源化抗LAG3抗体,并且其中所述重链包含包含SEQ ID NO:29、30和31的重链CDR的重链可变区,并且所述轻链包含包含SEQ ID NO:26、27和28的轻链CDR的轻链可变区。

18. 根据权利要求1所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是包含重链和轻链的抗PD-1抗体,并且其中所述重链包含包含SEQ ID NO:9的重链可变区,并且所述轻链包含包含SEQ ID NO:4的轻链可变区;并且所述LAG3拮抗剂是包含重链和轻链的抗LAG3抗体,并且其中所述

重链包含包含SEQ ID NO:25的重链可变区,并且所述轻链包含包含SEQ ID NO:24的轻链可变区。

19.根据权利要求1所述的方法,其中所述PD-1拮抗剂是包含重链和轻链的抗PD-1抗体,并且其中所述重链包含SEQ ID NO:10,并且所述轻链包含SEQ ID NO:5;并且所述LAG3拮抗剂是包含重链和轻链的抗LAG3抗体,并且其中所述重链包含SEQ ID NO:23,并且所述轻链包含SEQ ID NO:22。

20.根据权利要求1至19中任一项所述的方法,其中共同配制所述PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂。

21.根据权利要求1至19中任一项所述的方法,其中共同施用所述PD-1拮抗剂和所述LAG3拮抗剂。

22.根据权利要求1至21中任一项所述的方法,其中施用甲磺酸乐伐替尼(lenvatinib mesylate)。

23.根据权利要求1所述的方法,其包含每三周经由静脉内输注向所述个体施用包含200mg的派姆单抗和800mg的抗LAG3抗体Ab6的组合物,并且口服施用8至20mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。

24.根据权利要求1所述的方法,其包含在每三周的第1天共同施用200mg派姆单抗和800mg Ab6用于静脉内输注,并且每天口服8至20mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。

25.根据权利要求1所述的方法,其包含在每六周的第1天施用400mg派姆单抗,并且在每三周的第1天施用800mgAb6用于静脉内输注,并且每日口服施用8至20mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。

26.根据权利要求1至25中任一项所述的方法,其中所述个体先前未用抗PD-1或抗PD-L1疗法治疗。

27.根据权利要求1至25中任一项所述的方法,其中所述个体在先前用抗PD-1或抗PD-L1疗法治疗的情况下出现进展。

28.根据权利要求1至25中任一项所述的方法,其中所述个体在先前用PD-1或PD-L1检查点抑制剂与VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂的组合或顺序治疗的情况下出现进展。

29.根据权利要求1至28中任一项所述的方法,其中所述癌症是结肠直肠癌。

30.根据权利要求1至26中任一项所述的方法,其中所述癌症是非微卫星高度不稳定性(非MSI-H)或错配修复完整(pMMR)结肠直肠癌。

31.根据权利要求1至28中任一项所述的方法,其中所述癌症是肾细胞癌。

32.根据权利要求1至28中任一项所述的方法,其中所述癌症是透明细胞肾细胞癌。

用于治疗癌症患者的PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂以及乐伐替尼或其药学上可接受的盐的组合疗法

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗癌症的组合疗法。特别地,本发明涉及一种包含程序性死亡1蛋白(PD-1)的拮抗剂、淋巴细胞活化基因3(LAG3)的拮抗剂和乐伐替尼(lenvatinib)或其药学上可接受的盐的组合疗法。

[0002] 参考电子提交的序列列表

[0003] 本申请含有以ASCII格式电子提交的序列列表,并且在此以全文引用的方式并入。在2021年9月13日创建的所述ASCII副本被命名为25101W0-PCT_SL.txt,并且大小为38千字节。

背景技术

[0004] PD-1被认为是免疫调节和外周耐受维持中的重要分子。PD-1在初始T、B和NKT细胞上适度表达,并且被淋巴细胞、单核细胞和骨髓细胞上的T/B细胞受体信号传导上调(1)。

[0005] PD-1的两种已知配体,PD-L1(B7-H1)和PD-L2(B7-DC),在各种组织中产生的人癌症中表达。在例如卵巢癌、肾癌、结肠直肠癌、胰腺癌、肝癌和黑素瘤的大样本集中,示出了PD-L1表达与不良预后和降低的总存活数相关,而与后续治疗无关(2-13)。类似地,在乳腺癌和黑素瘤中,发现肿瘤浸润性淋巴细胞上的PD-1表达标记功能障碍T细胞(14-15)并且与肾癌中的不良预后相关(16)。因此,已经提出表达PD-L1的肿瘤细胞与表达PD-1的T细胞相互作用以减弱T细胞活化和逃避免疫监督,从而导致针对肿瘤的免疫应答受损。

[0006] 几种抑制PD-1与其配体PD-L1和PD-L2中的一种或两种之间的相互作用的单克隆抗体已被批准用于治疗癌症。派姆单抗(Pembrolizumab)是有效的人源化免疫球蛋白G4(IgG4)mAb,其与程序性细胞死亡1(PD-1)受体具有高结合特异性,因此抑制其与程序性细胞死亡配体1(PD-L1)和程序性细胞死亡配体2(PD-L2)的相互作用。基于临床前体外数据,派姆单抗对PD-1具有高亲和力和有效的受体阻断活性。可瑞达(Keytruda)[®](派姆单抗)适用于治疗多种适应症的患者。

[0007] 淋巴细胞活化基因3(LAG3)是抑制性免疫调节受体,其调节效应T细胞稳态、增殖和活化,并且在调节性T细胞(Treg)的抑制活性中起作用。LAG3在活化的CD8⁺和CD4⁺T细胞、Treg和Tr1调节性T细胞群体上,以及在自然杀伤细胞和致耐受性浆细胞样树突状细胞的亚群上表达。由于其对效应T细胞和Treg的作用,LAG3是几种免疫检查点分子中的一种,其中同时阻断两种细胞群体具有增强抗肿瘤免疫的潜力。

[0008] LAG3在结构上与分化簇(CD)4和免疫球蛋白(Ig)超家族的成员有关。与CD4一样,其配体是主要组织相容性复合体(MHC)II类分子。与其配体的相互作用引起二聚化和信号转导,导致改变的T细胞活化。T细胞活化后,LAG3在细胞表面瞬时表达。在细胞内储存中发现了大部分LAG3分子,并且在T细胞活化后可以快速易位至细胞膜。LAG3表达通过细胞外切割在细胞表面被调节以产生可溶性形式的LAG3(sLAG-3),其可以在血清中被检测到。LAG3的表达被严格地调节,并且代表对抗不受控制的T细胞活性的自限制机制。

[0009] 酪氨酸激酶参与生长因子信号传导的调整,并且因此是癌症治疗的重要靶标。乐伐替尼是选择性抑制血管内皮生长因子(VEGF)受体(VEGFR1(FLT1)、VEGFR2(KDR)和VEGFR3(FLT4))和成纤维细胞生长因子(FGF)受体FGFR1、2、3和4以及参与肿瘤增殖的其它促血管生成和致癌途径相关RTK(包括血小板衍生生长因子(PDGF)受体PDGFR α ;KIT;以及RET原癌基因(RET))的激酶活性的多重RTK(多-RTK)抑制剂。特别地,如通过X射线晶体结构分析所证实的,乐伐替尼具有对VEGFR2的新结合模式(V型),并且根据动力学分析展示出快速并且有效的激酶活性抑制。

[0010] 在美国(US),CRC是男性和女性中第三种最常见的诊断癌症和癌症死亡的第三主要原因。美国癌症协会估计2015中132,640人将被诊断为CRC,并且49,700人将死于该疾病。尽管最新进展,大多数mCRC参与者的治疗意图是姑息治疗,少数患者实现长期存活(5年存活率为13.5%)。用于早线治疗中的mCRC的当前护理标准(SOC)治疗包括基于组合或顺序使用的氟嘧啶(fluoropyrimidine)、奥沙利铂(oxaliplatin)和伊立替康(irinotecan)的化疗,其中任选靶向血管内皮生长因子(VEGF)的单克隆抗体(例如贝伐单抗(bevacizumab)、阿柏西普(ziv-aflibercept))或其受体(例如,雷莫芦单抗(ramucirumab)),和在Ras野生型肿瘤患者中,靶向表皮生长因子(EGF)受体的单克隆抗体(例如,西妥昔单抗(cetuximab)、帕尼单抗(panitumumab))。然而,对于超出二线治疗的重度预治疗患者的治疗选择是特别有限的,并且相关联的毒性可能是严重的。

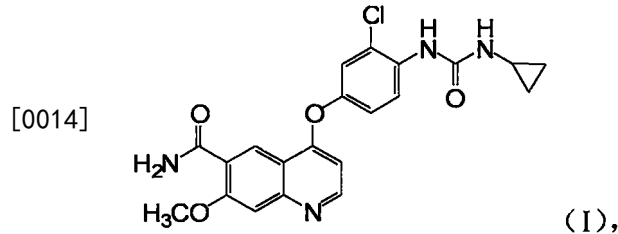
[0011] 林奇(Lynch)综合征是由错配修复缺陷定义的遗传病症,其增加对各种癌症类型,包括CRC,的易感性。诊断可以用两种生物学上不同但诊断上等同的测试中的一种来证实,a)错配修复(MMR)蛋白表达的IHC表征和b)肿瘤组织中遗传微卫星标记的PCR。MMR IHC和基于PCR的MSI测试的结果示出在很大程度上一致(97.80%的一致性,精确的95%CI:96.27至98.82)。Bartley等人《癌症预防研究(Cancer Prev Res)》(费城(Phila))2012:5:320-327。用抗PD-1疗法,包括派姆单抗,的结肠直肠癌(CRC)群体中的抗癌活性已限于具有错配修复缺陷(dMMR)/微卫星高度不稳定性(MSI-H)表型的癌症,其代表少数(约5%)IV期转移性结肠直肠癌(mCRC)群体。抗PD-1疗法在非MSI-H或具有错配修复完整(pMMR)的mCRC肿瘤中已证实几乎没有或没有益处。MSI-H结肠直肠肿瘤主要在近侧结肠中发现,并且与侵袭性低于阶段匹配的微卫星低度不稳定性(MSI-L)或微卫星稳定(MSS)肿瘤的临床病程相关联。由于大约95%的mCRC患者具有非MSI-H或pMMR的肿瘤,因此需要开发将提供持久临床获益的组合方案。虽然在先前未治疗的mCRC群体中用当前标准化疗疗法报道了高应答率,但临床获益的持久性有限。此外,超出二线治疗的重度预治疗患者的治疗选择是有限的,并且相关联的毒性可能是严重的。接受瑞戈非尼(Regorafenib)和TAS-102用于非MSI-H/pMMR的mCRC患者的三线护理标准(SOC)疗法。这些疗法被批准用于已经用含有氟嘧啶、伊立替康、奥沙利铂的化疗、抗VEGF或抗EGFR试剂(如果KRAS野生型)治疗的mCRC患者。尽管监管部门批准了,但瑞格拉非尼(regorafenib)和TAS-102提供极小益处,因为这两种药剂的ORR都 \leq 2%。6个月PFS率为约15%证明临床获益的最低持久性。显然,在开发新型组合方案以改进非MSI-H/pMMR CRC患者的临床结果方面存在高度未满足的医学需要。

[0012] 在结合免疫调制剂和/或VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂(VEGFR-TKI)的一线(1L)晚期肾细胞癌(RCC)的治疗以及现在也可用于治疗二线(2L)RCC患者的多种药剂方面存在最新进展。然而,现有数据示出很少有患者经历这些药剂的完全应答(CR)和几乎所有进展。尽

管这些显著的进展已经导致这些患者的治疗范例的改变,但是仍然存在未满足的需要以使用新型组合方案来改进1L和2L+晚期RCC群体的结果。

发明内容

[0013] 本发明提供了用于治疗个体体内癌症的方法,其包含向个体施用组合疗法,该组合疗法包含PD-1拮抗剂、LAG3拮抗剂和由下式(I)(乐伐替尼)代表的4-[3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基]-7-甲氧基-6-喹啉甲酰胺,



[0015] 或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,癌症是非微卫星高度不稳定性(非MSI-H)或错配修复完整(pMMR)结肠直肠癌(CRC)。在一个实施例中,该癌症是肾细胞癌。在一个实施例中,共同配制PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂。在另一实施例中,共同施用PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂。在一个实施例中,PD-1拮抗剂是阻断PD-1与PD-L1和PD-L2结合的抗PD-1抗体。在另一实施例中,LAG3拮抗剂是阻断LAG3与MHC II类分子结合的抗LAG3抗体。在一个实施例中,使用甲磺酸乐伐替尼(lenvatinib mesylate)。

[0016] 本发明与乐伐替尼、抗PD-1抗体、抗LAG3抗体的三重组合疗法展示出比乐伐替尼和抗PD-1组合疗法更好的肿瘤生长抑制趋势。此外,表明乐伐替尼可以为对抗PD-1和抗LAG3组合疗法不应答的肿瘤提供益处。

附图说明

[0017] 图1A至B:在CT26模型中同时施用乐伐替尼与抗PD-1和抗LAG3的抗肿瘤作用,如每个治疗组(A)中的平均肿瘤体积或每个相应组(B)的Kaplan-Meier存活曲线所示。

[0018] 图2:在KPC-2838模型中同时施用乐伐替尼与抗PD-1和抗LAG3的抗肿瘤作用,如每个治疗组中的平均肿瘤体积所示。

[0019] 图3A至B:CT26(A)和KPC-2838c3(B)特定治疗过程中小鼠体重的变化。

具体实施方式

[0020] 缩写。在本发明的详细描述和实例中,将使用以下缩写:

[0021] BOR:最佳总体应答

[0022] BID:每日两次,每次一剂

[0023] BICR:盲态独立中心放射学

[0024] CBR:临床获益率

[0025] CDR:互补性决定区

[0026] CHO:中国仓鼠卵巢

[0027] CR:完全应答

[0028] DCR:疾病控制率

- [0029] DFS:无病存活率
- [0030] DLT:剂量限制性毒性
- [0031] DOR:应答持续时间
- [0032] DSDR:持久稳定发病率
- [0033] FFPE:福尔马林固定石蜡包埋
- [0034] FR:构架区
- [0035] IgG:免疫球蛋白G
- [0036] IHC:免疫组织化学法或免疫组织化学
- [0037] irRC:免疫相关应答标准
- [0038] IV:静脉内
- [0039] MTD:最大耐受剂量
- [0040] NCBI:国家生物技术信息中心
- [0041] NCI:国家癌症研究所
- [0042] ORR:客观应答率
- [0043] OS:总存活数
- [0044] PD:进行性疾病
- [0045] PD-1:程序性死亡1
- [0046] PD-L1:程序性细胞死亡1配体1
- [0047] PD-L2:程序性细胞死亡1配体2
- [0048] PFS:无进展存活率
- [0049] PR:部分应答
- [0050] Q2W:每两周一次
- [0051] Q3W:每三周一次
- [0052] QD:每天一次
- [0053] RECIST:实体瘤疗效评价标准
- [0054] SD:疾病稳定
- [0055] TPI:毒性概率区间
- [0056] VH:免疫球蛋白重链可变区
- [0057] VK:免疫球蛋白κ轻链可变区
- [0058] I. 定义

[0059] 因此可以更容易地理解本发明,某些技术和科学术语具体定义如下。除非在本文献其它地方特别定义,否则本文所使用的所有其它技术和科学术语具有本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0060] 如本文,包括所附权利要求,中所使用的,词语的单数形式,诸如“一个(a)”、“一种(an)”和“该(the)”,包括其对应的复数参考,除非上下文另有明确规定。

[0061] 如本文所使用的,“Ab6抗体”意指分别由SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:22的两条重链和两条轻链序列组成的单克隆抗体。

[0062] 如本文所使用的,“Ab6变体”意指包含重链和轻链序列的单克隆抗体,该重链和轻链序列与本文所描述的Ab6中的序列基本上相同(如下文和以全文引用的方式并入的国际

专利公开号W02016028672中所描述的),除了在位于轻链CDR外部的的位置具有3、2或1个保守氨基酸取代和在位于重链CDR外部的6、5、4、3、2或1个保守氨基酸取代之外,例如,变体位置位于FR区或恒定区中,并且任选地具有重链的C-末端赖氨酸残基的缺失。换句话说,Ab6和Ab6变体包含相同的CDR序列,但由于分别在它们的全长轻链和重链序列中的不超过3个或6个其它位置具有保守氨基酸取代而彼此不同。Ab6变体在以下特性方面与Ab6基本上相同:对人LAG3的结合亲和力和阻断人LAG3与人MHC II类的结合的能力。

[0063] 当应用于动物、人、实验受试者、细胞、组织、器官或生物流体时,“施用”是指将外源性药物、治疗剂、诊断剂或组合物接触动物、人、受试者、细胞、组织、器官或生物流体。细胞的处理涵盖试剂与细胞的接触,以及试剂与流体的接触,其中流体与细胞接触。术语“受试者”包括任何有机体,优选动物,更优选哺乳动物(例如大鼠、小鼠、狗、猫、兔),并且最优选人。

[0064] 如本文所使用的,术语“抗体”是指表现出期望的生物活性或结合活性的任何形式的抗体。因此,其以最广泛的意义使用并且具体地涵盖但不限于单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、人源化的、完全人抗体、嵌合抗体和骆驼源化的单结构域抗体。“亲本抗体”是通过在修饰抗体之前将免疫系统暴露于抗原而获得的抗体,用于预期用途,诸如用作人治疗的抗体的人源化。

[0065] 一般而言,基本抗体结构单元包含四聚体。每个四聚体包括两对相同的多肽链,每对具有一条“轻”链(约25kDa)和一条“重”链(约50至70kDa)。每条链的氨基末端部分包括主要负责抗原识别的约100至110或更多个氨基酸的可变区。重链的羧基末端部分可以限定主要负责效应子功能的恒定区。通常,人轻链分为 κ 和 λ 轻链。此外,人重链通常分为 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ,并且分别将抗体的同种型定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。在轻链和重链中,可变区和恒定区通过约12个或更多个氨基酸的“J”区连接,其中重链还包括约10多个氨基酸的“D”区。一般参见《基础免疫学(Fundamental Immunology)》第7章(Paul,W.编辑,第2版,纽约Raven出版社(1989))。

[0066] 每个轻链/重链对的可变区形成抗体结合位点。因此,一般而言,完整抗体具有两个结合位点。除了在双功能或双特异性抗体中,两个结合位点一般是相同的。

[0067] 通常,重链和轻链的可变结构域都包含三个高变区,也称为互补决定区(CDR),它们位于相对保守的构架区(FR)内。CDR通常通过构架区排列,使得能够结合特定表位。一般而言,从N-末端到C-末端,轻链和重链可变结构域都包含FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。将氨基酸分配给每个结构域通常是根据《免疫学感兴趣的蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)》的定义,Kabat等人;国立卫生研究院(National Institutes of Health),马里兰州贝塞斯达公式(Bethesda);第5版;NIH出版,第91-3242号(1991);Kabat(1978)《蛋白质化学进展(Adv.Prot.Chem.)》32:1-75;Kabat等人,(1977)《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》252:6609-6616;Chothia等人,(1987)《分子生物学杂志(J Mol.Biol.)》196:901-917或Chothia等人,(1989)《自然(Nature)》342:878-883。

[0068] 除非另有指示,如本文所使用的“抗体片段”或“抗原结合片段”是指抗体的抗原结合片段,即保留与全长抗体结合的抗原特异地结合的能力的抗体片段,例如保留一个或多个CDR区的片段。抗体结合片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段;双抗体;线性抗体;单链抗体分子,例如sc-Fv;由抗体片段形成的纳米抗体和多特异性抗体。

[0069] “特异地结合至”特定靶蛋白的抗体是与其它蛋白相比表现出优先结合至该靶的抗体,但该特异性不需要绝对结合特异性。如果抗体的结合决定了样本中靶蛋白的存在,例如不产生不期望的结果诸如假阳性,则认为该抗体对其预期靶是“特异的”。用于本发明的抗体或其结合片段将以比与非靶蛋白的亲合力大至少两倍,优选地大至少十倍,更优选地大至少20倍,并且最优选地大至少100倍的亲合力结合至靶蛋白。如本文所使用的,如果抗体结合至包含给定氨基酸序列的多肽,但不结合至缺乏该序列的蛋白质,则称为抗体特异地结合至包含给定氨基酸序列的多肽,例如成熟人PD-1或人PD-L1分子的氨基酸序列。

[0070] “嵌合抗体”是指其中重链和/或轻链的一部分与来源于特定物种(例如人)或属于特定抗体种类或亚类的抗体中的对应序列相同或同源,而链的剩余部分与来源于另一物种(例如小鼠)或属于另一抗体种类或亚类的抗体中的对应序列相同或同源的抗体,以及此类抗体的片段,只要它们表现出期望的生物活性。

[0071] 如本文所使用的,对于诸如PD-1拮抗剂或LAG3拮抗剂的药剂的“共同施用”意指施用该药剂以具有重叠的治疗活性,并且不一定同时向受试者施用该药剂。药剂在使用前可以是物理组合或可以不是物理组合。在实施例,将药剂同时或在约同一时间施用于受试者。例如,分开的小瓶中可以含有抗PD-1抗体和抗LAG3抗体,当在液体溶液中时,可以混合到同一静脉内输注袋或注射装置中,并且同时施用于患者。

[0072] 本文所使用的“共同配制的(Co-formulated)”或“共同配制(co-formulation)”或“共同配制(coformulation)”或“共同配制的(coformulated)”是指至少两种不同的抗体或其抗原结合片段,它们一起配制并且作为组合产品储存在单个小瓶或容器(例如注射装置)中,而不是单独配制和储存的,并且然后在施用前混合或分开施用。在一个实施例中,共同配制含有两种不同的抗体或其抗原结合片段。

[0073] “人抗体”是指仅包含人免疫球蛋白蛋白序列的抗体。如果在小鼠、小鼠细胞或来源于小鼠细胞的杂交瘤中产生,则人抗体可以含有鼠糖链。类似地,“小鼠抗体”或“大鼠抗体”分别指仅包含小鼠或大鼠免疫球蛋白序列的抗体。

[0074] “人源化抗体”是指含有来自非人(例如鼠)抗体以及人抗体的序列的抗体形式。此类抗体含有来源于非人免疫球蛋白的最小序列。一般而言,人源化抗体将包含基本上所有的至少一个,并且通常两个可变结构域,其中所有或基本上所有的高变环对应于非人免疫球蛋白的高变环,并且所有或基本上所有的FR区是人免疫球蛋白序列的FR区。人源化抗体还任选地将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白的恒定区。当需要区分人源化抗体和亲本啮齿动物抗体时,将前缀“hum”、“hu”或“h”添加到抗体克隆名称中。啮齿类动物抗体的人源化形式一般包含与亲本啮齿动物抗体相同的CDR序列,尽管可以包括某些氨基酸取代以增加人源化抗体的亲合力、增加稳定性或出于其它原因。

[0075] “抗肿瘤应答”当指用治疗方案,诸如本文所描述的组合疗法,治疗的癌症患者时,意指至少一种积极治疗效果,诸如例如癌细胞数量减少、肿瘤大小减小、癌细胞浸润到外周器官中的速率减小、肿瘤转移或肿瘤生长的速率减小或无进展存活率。在癌症中的积极治疗效果可以以多种方式测量(参见W.A.Weber,《核医学杂志(J.Nucl.Med.)》50:1S-10S(2009);Eisenhauer等人,出处同上)。在一些实施例中,使用RECIST 1.1标准、二维irRC或一维irRC评估对本文所描述的组合疗法的抗肿瘤应答。在一些实施例中,抗肿瘤应答是SD、PR、CR、PFS或DFS中的任一种。

[0076] “二维irRC”是指描述于Wolchok JD等人《实体瘤免疫治疗活性评价指南:免疫相关应答标准(Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors:immune-related response criteria.)》,《临床癌症研究(Clin Cancer Res.)》2009;15(23):7412-7420中的一组标准。这些标准利用靶病变的二维肿瘤测量值,其通过将每个病变的最长直径和最长垂直直径(cm²)相乘而获得。

[0077] “生物治疗剂”意指阻断支持肿瘤维持和/或生长或抑制抗肿瘤免疫应答的任何生物途径中的配体/受体信号传导的生物分子,诸如抗体或融合蛋白。生物治疗剂的种类包括但不限于针对PD-1、LAG3、VEGF、EGFR、Her2/neu、其它生长因子受体、CD20、CD40、CD-40L、CTLA-4、OX-40、4-1BB和ICOS的抗体。

[0078] “CBR”或“临床获益率”意指CR+PR+持久SD

[0079] 本文所使用的“CDR”或“CDRs”意指免疫球蛋白可变区中的互补决定区,使用Kabat编号系统定义,除非另有指示。

[0080] “化疗剂”是可用于治疗癌症的化合物。化疗剂的种类包括但不限于:烷化剂、抗代谢物、激酶抑制剂、纺锤体毒物植物生物碱、细胞毒性/抗肿瘤抗生素、拓扑异构酶抑制剂、光敏剂、抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM)、抗孕酮、雌激素受体下调剂(ERD)、雌激素受体拮抗剂、促黄体生成激素释放激素激动剂、抗雄激素、芳香化酶抑制剂、EGFR抑制剂、VEGF抑制剂和抑制涉及异常细胞增殖或肿瘤生长的基因表达的反义寡核苷酸。可用于本发明治疗方法的化疗剂包括细胞抑制剂和/或细胞毒性剂。

[0081] 如本文所使用的“Chothia”意指描述于Al-Lazikani等人,JMB 273:927-948(1997)的抗体编号系统。

[0082] “包含(Comprising)”或诸如“包含(comprise)”、“包含(comprises)”或“包含(comprised of)”的变体在整个说明书和权利要求中以包括性意义使用,即,用于指定所陈述的特征的存在,但不排除可能实质上增强本发明的任何实施例的操作或效用的其它特征的存在或添加,除非上下文由于表达语言或必要含义而另外要求。

[0083] “组合疗法”或“组合”是指作为治疗方案的一部分施用的两种或更多种生物治疗剂和化疗剂。

[0084] “依次”是指以任何顺序依次施用的两种或更多种治疗方案。

[0085] “保守修饰的变体”或“保守取代”是指用具有类似特征(例如电荷、侧链大小、疏水性/亲水性、主链构象和刚性等)的其它氨基酸取代蛋白质中的氨基酸,使得可以频繁地进行变化而不改变蛋白质的生物活性或其它期望的特性,诸如抗原亲和力和/或特异性。本领域技术人员认识到,一般而言,在多肽的非必需区中的单个氨基酸取代基本上不改变生物活性(参见,例如,Watson等人(1987)《基因的分子生物学(Molecular Biology of the Gene)》,Benjamin/Cummings出版公司,第224页(第4版))。此外,结构或功能类似的氨基酸的取代不太可能破坏生物活性。示范性保守取代列于下表1中。

[0086] 表1. 示范性保守氨基酸取代

[0087]

原始残基	保守取代
ALA (A)	Gly;Set
Arg (R)	Lys;His
Asn (N)	Gln;His

Asp (D)	Glu;Asn
Cys (C)	Ser;Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp;Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn;Gln
Ile (I)	Leu;Val
Leu (L)	Ile;Val
Lys (K)	Arg;His
Met (M)	Leu;Ile;Tyr
Phe (F)	Tyr;Met;Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr;Phe
Tyr (Y)	Trp;Phe
Val (V)	Ile;Leu

[0088] 如在整个说明书和权利要求中使用的，“基本上由……组成 (Consists essentially of)”和变体诸如“基本上由……组成 (consist essentially of)”或“基本上由……组成 (consisting essentially of)”指示包括任何列举的要素或要素组，并且任选地包括与列举的要素具有类似或不同性质的其它要素，这些要素不会实质性地改变指定的给药方案、方法或组合物的基本或新特性。作为非限制性实例，基本上由列举的氨基酸序列组成的PD-1拮抗剂还可以包括一个或多个氨基酸，包括一个或多个氨基酸残基的取代，其不会实质上影响结合化合物的特性。

[0089] “DCR”或“疾病控制率”意指CR+PR+SD。

[0090] “诊断性抗PD-L单克隆抗体”意指特异地结合至在某些哺乳动物细胞表面上表达的指定PD-L (PD-L1或PDL2)的成熟形式的mAb。成熟PD-L缺乏分泌前前导序列，也称为前导肽。术语“PD-L”和“成熟PD-L”在本文中可互换使用，并且应理解为意指相同的分子，除非另有指示或从上下文中显而易见。

[0091] 如本文所使用的，诊断性抗人PD-L1 mAb或抗hPD-L1 mAb是指特异性结合至成熟人PD-L1的单克隆抗体。成熟人PD-L1分子由以下序列的氨基酸19至290组成：

MRI FAVFI FMTYWHL LNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKN
I IQFVHG EEDLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRI

[0092] TVKVNAPYNKINQRILVVDPVTSEHELTCAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEK
LFNVTSTLRINTTTNEI FYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNERTHLVILGAILLCLG
VALTFIFRLRKGRRMMDVKKCGIQDTSKQSDTHLEET (SEQ ID NO:32)。

[0093] 可用作免疫组织化学法 (IHC) 检测福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 肿瘤组织切片中PD-L1表达的诊断性mAb的诊断性抗人PD-L1 mAb的具体实例是抗体20C3和抗体22C3，其描述于W02014/100079中。据报道，另一可用于FFPE组织切片中PD-L1表达的IHC检测 (Chen,

B.J.等人,《临床癌症研究(Clin Cancer Res)》19:3462-3473(2013))的抗人PD-L1 mAb是兔抗人PD-L1 mAb,可从义翘神州科技股份有限公司(Sino Biological, Inc.) (中国北京(Beijing, P.R.China); 目录编号10084-R015)获得。

抗体特征	氨基酸序列	SEQ ID NO
轻链		
CDRL1	KSSQSLHTSTRKNYLA	13
CDRL2	WASTRES	14
CDRL3	KQSYDVVT	15
成熟可变区	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMTCKSSQSLHTSTRKNY LAWYQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGT DFTLTISVQAEDLAVYYCKQSYDVVTFGAGTKLELK	16
重链		
CDRH1 Kabat Defn	SYWIIH	17
CDRH1 Chothia Defn	GYTFTSYWIIH	18
CDRH2	YINPSSGYHEYNQKFDI	19
CDRH3	SGWLIHGDYYDF	20
成熟可变区	XVHLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSYWIIHWI KQRPGQGLEWIGYINPSSGYHEYNQKFDIKATLTADRS SSTAYMHLTSLTSEDSAVYYCARSGWLIHGDYYDFDFW GQGTTLTVSS, 其中 X = Q 或 pE (焦谷氨酸盐)	21

[0094]

[0095] 本文所使用的“PD-L1”或“PD-L2”表达意指细胞表面上指定的PD-L蛋白或细胞或组织内指定的PD-L mRNA的任何可检测水平的表达。PD-L蛋白表达可以用诊断性PD-L抗体在肿瘤组织切片的IHC测定中或通过流式细胞术进行检测。替代地,肿瘤细胞的PD-L蛋白表达可以通过PET成像,使用特异地结合至期望的PD-L靶标,例如,PD-L1或PD-L2,的结合剂(例如,抗体片段、亲和体等)来检测。用于检测和测量PD-L mRNA表达的技术包括RT-PCR、实时定量RT-PCR、RNAseq和Nanostring平台(《临床研究杂志(J.Clin.Invest.)》2017;127(8):2930-2940)。

[0096] 已经描述了在肿瘤组织切片的IHC测定中定量PD-L1蛋白表达的几种方法。参见例如Thompson, R.H.等人,PNAS 101(49):17174-17179(2004);Thompson, R.H.等人,《癌症研究(Cancer Res.)》66:3381-3385(2006);Gadiot, J.,等人,《癌症(Cancer)》117:2192-2201(2011);Taube, J.M.等人,《科学·转化医学(Sci Transl Med)》4,127ra37(2012);和Toplian, S.L.等人,《新英格兰医学杂志(New Eng. J Med.)》366(26):2443-2454(2012)。参见US 20170285037,其描述了病理学家使用的苏木精(Hematoxylin)和伊红染色(Eosin staining)。

[0097] 一种方法采用了PD-L1表达阳性或阴性的简单二元终点,其中阳性结果根据表现出细胞表面膜染色的组织学证据的肿瘤细胞的百分比定义。如果肿瘤组织切片为总肿瘤细胞的至少1%,则其被算作PD-L1表达阳性。

[0098] 在另一方法中,肿瘤组织切片中的PD-L1表达在肿瘤细胞以及主要包含淋巴细胞的浸润性免疫细胞中定量。表现出膜染色的肿瘤细胞和浸润性免疫细胞的百分比分别定量为<5%、5%至9%,并且然后以10%递增直至100%。免疫浸润中的PD-L1表达被报道为半定量测量,该半定量测量被称为调整的炎症评分(AIS),其通过将膜染色细胞的百分比乘以浸润的强度来确定,该浸润的强度被分级为无(0)、轻度(评分为1,罕见淋巴细胞)、中度(评

分为2,肿瘤通过淋巴组织细胞聚集体的局灶性浸润)或重度(评分为3,弥漫性浸润)。如果AIS为 ≥ 5 ,则肿瘤组织切片被算作免疫浸润的PD-L1表达阳性。

[0099] PD-L mRNA表达水平可以与定量RT-PCR中常用的一种或多种参考基因的mRNA表达水平进行比较。

[0100] 在一些实施例中,基于与适当对照的PD-L1表达水平(蛋白质和/或mRNA)的比较,确定肿瘤内恶性细胞和/或浸润性免疫细胞的PD-L1表达水平(蛋白质和/或mRNA)为“过表达”或“升高”。例如,对照PD-L1蛋白或mRNA表达水平可以是在相同类型的非恶性细胞中或在来自匹配的正常组织的切片中定量的水平。在一些优选的实施例中,如果样本中的PD-L1蛋白(和/或PD-L1 mRNA)比对照中的PD-L1蛋白高至少10%、20%或30%,则确定肿瘤样本中的PD-L1表达升高。

[0101] “肿瘤比例评分(TPS)”是指细胞膜上以任何强度(弱、中度或强)表达PD-L1的肿瘤细胞的百分比。线性部分或完全细胞膜染色解释为PD-L1阳性。

[0102] “单核炎性密度评分(MIDS)”是指浸润或邻近肿瘤的表达PD-L1的单核炎性细胞(MIC)(肿瘤巢内的大小淋巴细胞、单核细胞和巨噬细胞以及相邻支持基质)的数量与肿瘤细胞总数相比的比率。MIDS以0至4的标度记录,其中0=无;1=存在,但每100个肿瘤细胞小于一个MIC($< 1\%$);2=每100个肿瘤细胞至少一个MIC,但每10个肿瘤细胞小于一个MIC(1至9%);3=每10个肿瘤细胞至少一个MIC,但比肿瘤细胞的MIC少(10至99%);4=至少与肿瘤细胞一样多的MIC($\geq 100\%$)。

[0103] “组合阳性评分(CPS)”是指肿瘤巢和相邻支持基质(分子)内PD-L1阳性肿瘤细胞和PD-L1阳性单核炎性细胞(MIC)的数量与肿瘤细胞总数(分母;即,PD-L1阳性和PD-L1阴性肿瘤细胞的数量)相比的比率。任何强度的PD-L1表达被认为是阳性的,即弱(1+)、中度(2+)或强(3+)。

[0104] “PD-L1表达阳性”是指至少1%的肿瘤比例评分、单核炎性密度评分或组合阳性评分;AIS为 ≥ 5 ;或与合适的对照相比,肿瘤内恶性细胞和/或浸润性免疫细胞的PD-L1表达(蛋白质和/或mRNA)水平升高。

[0105] “DSDR”或“持久稳定发病率”意指SD ≥ 23 周。

[0106] 本文所使用的“构架区”或“FR”意指除CDR区外的免疫球蛋白可变区。

[0107] 本文所使用的“Kabat”是指由Elvin A.Kabat开创的免疫球蛋白排列和编号系统((1991)《免疫学感兴趣的蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)》,第5版,马里兰州贝塞斯达国家卫生研究院公共卫生署(Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.))。

[0108] “LAG3拮抗剂”意指阻断在免疫细胞(T细胞、Treg或NK细胞等)上表达的LAG3与MHC II类分子结合的任何化学化合物或生物分子。人LAG3包含以下氨基酸序列:

MWEAQFLGLL FLQPLWVAPV KPLQPGAIEVP VVWAQEGAPA QLPCSPTIPL QDLSLLRRAG
 VTWQHQPDSG PPAAAPGHPL APGPHPAAPS SWGPRPRRYT VLSVGPGLR SGRLPLQPRV
 QLDERGRQRG DFSLWLRPAR RADAGEYRAA VHLLDRALSC RLRLRLGQAS MTASPPGSLR
 ASDWVILNCS FSRPDRPASV HWFRNRGQGR VPVRESPHHH LAESFLFLPQ VSPMDSGPWG
 [0109] CILTYRDGFN VSIMYNLTVL GLEPPTPLTV YAGAGSRVGL PCRLPAGVGT RSFLTAKWTP
 PGGGPDLLVT GDNGDFTLRL EDVSAQAGT YTCHIHLEEQ QLNATVTLAI ITVTPKSFGS
 PGS LGKLLCE VTPVSGQERF VWSSLDTPSQ RSFSGPWLEA QEAQLLSQPW QCQLYQGERL
 LGAAVYFTEL SSPGAQRSGR APGALPAGHL LLFLILGVLS LLLLVTGAFG FHLWRRQWRP
 RRFSALEQGI HPPQAQSKIE ELEQEPEPEP EPEPEPEPEP EPEQL

[0110] (SEQ ID NO:33);另参见Uniprot登记号P18627。

[0111] “微卫星不稳定性 (MSI)”是指与肿瘤中DNA错配修复缺陷相关联的基因组不稳定性的形式。参见Boland等人,《癌症研究 (Cancer Research)》58,5258-5257,1998。在一个实施例中,可以使用五个国家癌症研究所 (NCI) 推荐的微卫星标记进行MSI分析:BAT25 (基因库 (GenBank) 登录号9834508)、BAT26 (基因库登录号9834505)、D5S346 (基因库登录号181171)、D2S123 (基因库登录号187953)、D17S250 (基因库登录号177030)。可以使用附加标记,例如BAT40、BAT34C4、TGF- β -RII和ACTC。用于MSI分析的市售试剂盒包括,例如,普洛麦格 (Promega) MSI多重PCR测定、使用从福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 肿瘤组织试样中分离的DNA的基于**FoundationOne®CDx (F1CDx)**下一代测序的体外诊断装置。

[0112] “高频微卫星不稳定性”或“微卫星高度不稳定性 (MSI-H)”是指以上指示的五种NCI标记中的两种或更多种显示出不稳定性或 ≥ 30 至40%的总标记展示出不稳定性(即具有插入/缺失突变)。

[0113] “低频微卫星不稳定性”或“微卫星低度不稳定性 (MSI-L)”是指以上指示的五种NCI标记中的一种显示出不稳定性或 < 30 至40%的总标记表现出不稳定性(即具有插入/缺失突变)。

[0114] 如本文所使用的“非MSI-H结肠直肠癌”是指微卫星稳定 (MSS) 和低频MSI (MSI-L) 结肠直肠癌。

[0115] “微卫星稳定 (MSS)”是指如果以上指示的五个NCI标记中没有显示出不稳定性(即具有插入/缺失突变)。

[0116] “错配修复完整 (pMMR) 结肠直肠癌”是指通过IHC在CRC肿瘤试样中MMR蛋白 (MLH1、PMS2、MSH2和MSH6) 的正常表达。用于MMR分析的市售试剂盒包括Ventana MMR IHC测定。

[0117] “错配修复缺陷 (dMMR) 结肠直肠癌”是指通过IHC在CRC肿瘤试样中一种或多种MMR蛋白 (MLH1、PMS2、MSH2和MSH6) 的低表达。

[0118] 如本文所使用的,“单克隆抗体”或“mAb”或“Mab”是指基本上同质的抗体群体,即,包含该群体的抗体分子在氨基酸序列上是相同的,除了可能以少量存在的可能的天然存在的突变。相反,常规(多克隆)抗体制剂通常包括在其可变结构域,特别是其CDR中具有不同氨基酸序列的多种不同抗体,其通常对于不同表位是特异的。修饰语“单克隆”指示从基本上同质的抗体群体获得的抗体的特征,并且不应被解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,根据本发明使用的单克隆抗体可以通过首次描述于Kohler等人(1975)《自然 (Nature)》256:495的杂交瘤方法制成,也可以通过重组DNA方法制成(例如,参见美国专利

号4,816,567)。“单克隆抗体”也可以使用描述于Claclson等人(1991)《自然》352:624-628和Marks等人(1991)《分子生物学杂志(J Mol.Biol.)》222:581-597,例如还参见Presta(2005)《变态反应与临床免疫学杂志(J.Allergy Clin.Immunol.)》116:731中的技术从噬菌体抗体文库中分离。

[0119] 当指对用本文所描述的组合疗法治疗的特异抗肿瘤应答时,“无应答者患者”意指患者不表现出抗肿瘤应答。

[0120] “ORR”或“客观应答率”在一些实施例中是指CR+PR,并且ORR_(第24周)是指在抗癌治疗24周后使用irRECIST在群组中的每个患者中测量的CR和PR。

[0121] “患者”或“受试者”是指期望的治疗或参与临床试验、流行病学研究或用作对照的任何单个受试者,包括人和哺乳动物兽医患者,诸如牛、马、狗和猫。

[0122] “PD-1拮抗剂”意指阻断癌细胞上表达的PD-L1与免疫细胞(T细胞、B细胞或NKT细胞)上表达的PD-1结合并且优选地还阻断癌细胞上表达的PD-L2与免疫细胞表达的PD-1结合的任何化学化合物或生物分子,其中条件是抗PD-L1抗体不是阿特殊单抗(atezolizumab)。PD-1及其配体的别名或同义词包括:PDCD1、PD1、CD279和SLEB2代表PD-1;PDCD1L1、PDL1、B7H1、B7-4、CD274和B7-H代表PD-L1;以及PDCDI L2、PDL2、B7-DC、Btdc和CD273代表PD-L2。在治疗人个体的本发明的任何治疗方法、药物和用途中,PD-1拮抗剂阻断人PD-L1与人PD-1的结合,并且优选地阻断人PD-L1和PD-L2与人PD-1的结合。人PD-1氨基酸序列可以在NCBI基因座号NP_005009中找到。人PD-L1和PD-L2氨基酸序列可以分别在NCBI基因座号NP_054862和NP_079515中找到。

[0123] 如本文所使用的,“派姆单抗变体”意指包含重链和轻链序列的单克隆抗体,该重链和轻链序列与派姆单抗中的序列基本上相同,除了在位于轻链CDR外部的的位置具有3、2或1个保守氨基酸取代和在位于重链CDR外部的6、5、4、3、2或1个保守氨基酸取代之外,例如变体位置位于FR区或恒定区中,并且任选地具有重链的C-末端赖氨酸残基的缺失。换句话说,派姆单抗和派姆单抗变体包含相同的CDR序列,但由于分别在它们的全长轻链和重链序列中的不超过3个或6个其它位置具有保守氨基酸取代而彼此不同。派姆单抗变体在以下特性方面与派姆单抗基本上相同:对PD-1的结合亲和力和阻断PD-L1和PD-L2各自与PD-1结合的能力。

[0124] 如本文所使用的“RECIST 1.1应答标准”意指阐述于Eisenhauer等人、E.A.等人《欧洲癌症杂志(Eur.J Cancer)》45:228-247(2009)中根据测量响应的上下文针对靶病变或非靶病变视情况而定的定义。

[0125] 当指对用本文所描述的组合疗法治疗的特异抗肿瘤应答时,“应答者患者”意指患者表现出抗肿瘤应答。

[0126] “持续应答”意指在停止用治疗剂或本文所描述的组合疗法治疗之后的持续治疗效果。在一些实施例中,持续应答的持续时间至少与治疗持续时间相同,或比治疗持续时间长至少1.5、2.0、2.5或3倍。

[0127] “组织切片”是指组织样本的单个部分或片段,例如从正常组织或肿瘤的样本切割的组织薄片。

[0128] 如本文所使用的“治疗(Treat)”或“治疗(treating)”癌症意指向患有癌症或被诊断为癌症的受试者施用包含PD-1拮抗剂、LAG3拮抗剂和乐伐替尼的组合疗法以实现至少一

种积极治疗效果,诸如例如癌细胞数量减少、肿瘤大小减小、癌细胞浸润到外周器官中的速率减小、肿瘤转移或肿瘤生长的速率减小。在癌症中的积极治疗效果可以以多种方式测量(参见W.A.Weber,《核医学杂志(J.Nucl.Med.)》50:1S-10S(2009))。例如,关于肿瘤生长抑制,根据NCI标准, $T/C \leq 42\%$ 是抗肿瘤活性的最低水平。 $T/C < 10\%$ 被认为是高抗肿瘤活性水平,其中 $T/C(\%) = \text{治疗的中位肿瘤体积} / \text{对照的中位肿瘤体积} \times 100$ 。在一些实施例中,使用RECIST 1.1标准或irRC(二维或一维)评估对本文所描述的组合疗法的应答,并且通过本发明的组合实现的治疗是PR、CR、OR、PFS、DFS和OS中的任一种。PFS也称为“肿瘤进展时间”,指示治疗期间和之后癌症不生长的时间长度,并且包括患者经历CR或PR的时间量,以及患者经历SD的时间量。DFS是指治疗期间和之后患者保持无疾病的时间长度。OS是指与初始或未治疗的个体或患者相比预期寿命的延长。在一些实施例中,对本发明组合的应答是使用RECIST 1.1应答标准评估的PR、CR、PFS、DFS、OR和OS中的任一种。有效治疗癌症患者的本发明组合的治疗方案可以根据诸如患者的疾病状态、年龄和体重以及治疗在受试者中引发抗癌应答的能力等因素而变化。虽然本发明的任何方面的实施例可能在每个受试者中不能有效地实现积极治疗效果,但是应当在如通过本领域已知的任何统计学测试确定的统计学上显著数量的受试者中这样做,诸如学生t-测试、 χ^2 -测试、根据Mann和Whitney的U-测试、Kruskal-Wallis测试(H-测试)、Jonckheere-Terpstra-测试和Wilcoxon-测试。

[0129] 术语“治疗方案”、“给药协议”和“给药方案”可以互换使用,是指本发明组合中每种治疗剂的施用剂量和时间。

[0130] 当应用于诊断为或怀疑患有癌症的受试者时,“肿瘤”是指任何大小的恶性或潜在恶性肿瘤或组织块,并且包括原发性肿瘤和继发性肿瘤。实体瘤是通常不含囊肿或液体区域的异常生长或组织块。不同类型的实体瘤是以形成它们的细胞类型命名的。实体瘤的实例是肉瘤、癌和淋巴瘤。白血病(血癌)通常不形成实体瘤(国家癌症研究所,癌症术语词典)。

[0131] “肿瘤负荷”也称为“肿瘤负载”,是指遍及身体分布的肿瘤材料的总量。肿瘤负荷是指整个身体,包括淋巴结和骨髓,中癌细胞的总数或肿瘤的总大小。肿瘤负荷可以通过本领域已知的多种方法来确定,诸如例如通过在从受试者中去除时测量肿瘤的尺寸,例如使用卡尺,或在体内时使用成像技术,例如超声、骨扫描、计算机断层扫描(CT)或磁共振成像(MRI)扫描。

[0132] 术语“肿瘤大小”是指肿瘤的总大小,其可以测量为肿瘤的长度和宽度。肿瘤大小可以通过本领域已知的多种方法来确定,诸如例如通过在从受试者中去除时测量肿瘤的尺寸,例如使用卡尺,或在体内时使用成像技术,例如骨扫描、超声、CT或MRI扫描。

[0133] “一维irRC”是指描述于Nishino M, Giobbie-Hurder A, Gargano M, Suda M, Ramaiya NH, Hodi FS的《开发肿瘤对免疫疗法应答的通用语言:使用一维测量的免疫相关应答标准(Developing a Common Language for Tumor Response to Immunotherapy: Immune-related Response Criteria using Unidimensional measurements.)》,《临床癌症研究(Clin Cancer Res.)》2013;19(14):3936-3943中的一组标准。这些标准利用了每个病变的最长直径(cm)。

[0134] 本文所使用的“可变区”或“V区”意指不同抗体之间序列可变的IgG链节段。通常,它延伸至轻链中的Kabat残基109和重链中的113。

[0135] PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂

[0136] 可用于本发明的治疗方法、药物和用途的PD-1拮抗剂包括特异地结合至PD-1或PD-L1,并且优选地特异地结合至人PD-1或人PD-L1的单克隆抗体(mAb)或其抗原结合片段。mAb可以是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体,并且可以包括人恒定区。在一些实施例中,人恒定区选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区,并且在优选的实施例中,人恒定区是IgG1或IgG4恒定区。在一些实施例中,抗原结合片段选自Fab、Fab'-SH、F(ab')₂、scFv和Fy片段。

[0137] 结合人PD-1并且可用于本发明的治疗方法、药物和用途的mAb的实例描述于美国专利号US7488802、US7521051、US8008449、US8354509和US8168757,以及国际专利申请公开号W02004/004771、W02004/072286、W02004/056875和US2011/0271358。在本发明的治疗方法、药物和用途中可用作PD-1拮抗剂的特异抗人PD-1 mAb包括:派姆单抗(也称为MK-3475),具有描述于《WHO药物信息(WHO Drug Information)》,第27卷,第2期,第161至162页(2013)中的结构并且包含表3中所示的重链和轻链氨基酸序列的人源化IgG4 mAb;纳武利尤单抗(nivolumab)(BMS-936558),具有描述于《WHO药物信息》,第27卷,第1期,第68至69页(2013)中的结构并且包含表3中所示的重链和轻链氨基酸序列的人IgG4 mAb;描述于W02008/156712中的人源化抗体h409A11、h409A16和h409A17,以及通过MedImmune开发的AMP-514;西米普利单抗(cemiplimab);卡瑞利珠单抗(camrelizumab);信迪利单抗(sintilimab);替雷利珠单抗(tislelizumab);和特瑞普利单抗(toripalimab)。预期用于本文的附加抗PD-1抗体包括MEDI0680(美国专利号8609089)、BGB-A317(美国专利公开号2015/0079109)、INCSHR1210(SHR-1210)(PCT国际申请公开号W02015/085847)、REGN-2810(PCT国际申请公开号W02015/112800)、PDR001(PCT国际申请公开号W02015/112900)、TSR-042(ANB011)(PCT国际申请公开号W02014/179664)和STI-1110(PCT国际申请公开号W02014/194302)。

[0138] 结合至人PD-L1并且可用于本发明的治疗方法、药物和用途的mAb的实例描述于US8383796中。在本发明的治疗方法、药物和用途中用作PD-1拮抗剂的特异抗人PD-L1mAb包括BMS-936559、MEDI4736和MSB0010718C。

[0139] 可用于本发明的治疗方法、药物和用途的其它PD-1拮抗剂包括特异地结合至PD-1或PD-L1,并且优选地特异地结合至人PD-1或人PD-L1的免疫粘附素,例如含有与恒定区诸如免疫球蛋白分子的Fc区融合的PD-L1或PD-L2的细胞外或PD-1结合部分的融合蛋白。特异地结合至PD-1的免疫粘附分子的实例描述于PCT国际申请公开号W02010/027827和W02011/066342中。在本发明的治疗方法、药物和用途中用作PD-1拮抗剂的特定融合蛋白包括AMP-224(也称为B7-DCIg),其是PD-L2-FC融合蛋白并且结合至人PD-1。

[0140] 在本发明的治疗方法、药物和用途的一些优选实施例中,PD-1拮抗剂是单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含:(a)分别包含SEQ ID NO:1、2和3的轻链CDR1、CDR2和CDR3的轻链可变区,和(b)分别包含SEQ ID NO:6、7和8的重链CDR1、CDR2和CDR3的重链可变区。

[0141] 在本发明的治疗方法、药物和用途的其它优选实施例中,PD-1拮抗剂是特异地结合至人PD-1的单克隆抗体或其抗原结合片段,并且包含(a)包含SEQ ID NO:9或其变体的重链可变区,和(b)包含SEQ ID NO:4或其变体的轻链可变区。重链可变区序列的变体与参考序列相同,除了在构架区中(即,在CDR外部)具有多达六个保守氨基酸取代。轻链可变区序列的变体与参考序列相同,除了在构架区中(即,在CDR外部)具有多达三个保守氨基酸取

代。

[0142] 在本发明的治疗方法、药物和用途的另一优选实施例中,PD-1拮抗剂是特异地结合至人PD-1的单克隆抗体,并且包含(a)包含SEQ ID NO:10的重链,和(b)包含SEQ ID NO:5的轻链。在一个实施例中,PD-1拮抗剂是包含重链和轻链的抗PD-1抗体,并且其中重链和轻链分别包含SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:5中的氨基酸序列。

[0143] 在本发明的治疗方法、药物和用途的又一优选实施例中,PD-1拮抗剂是特异地结合至人PD-1的单克隆抗体,并且包含(a)包含SEQ ID NO:12的重链,和(b)包含SEQ ID NO:11的轻链。

[0144] 在所有以上治疗方法、药物和用途中,PD-1拮抗剂抑制PD-L1与PD-1的结合,并且优选地还抑制PD-L2与PD-1的结合。在以上治疗方法、药物和用途的一些实施例中,PD-1拮抗剂是特异地结合PD-1或PD-L1并且阻断PD-L1与PD-1结合的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0145] 下表3提供了用于本发明的治疗方法、药物和用途的示范性抗PD-1 mAb的氨基酸序列列表。

[0146] 表3. 示范性PD-1抗体序列

抗体特征	氨基酸序列	SEQ ID NO.
派姆单抗轻链		
CDR1	RASKGVSTSGYSYLH	1
CDR2	LASYLES	2
CDR3	QHSRDLPLT	3
可变区	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVY YCQHSRDLPLTFGGGKVEIK	4
轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVY YCQHSRDLPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	5
派姆单抗重链		
CDR1	NYYMY	6
CDR2	GINPSNGGTFNFKFKN	7
CDR3	RDYRFDMGFDY	8
可变区	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTFNFKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELK SLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSS	9
重链	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTFNFKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELK SLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPR	10

[0147]

抗体特征	氨基酸序列	SEQ ID NO.
	EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGSAFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLGK	
纳武利尤单抗轻链		
轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQS SNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	11
纳武利尤单抗重链		
重链	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPG KGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNS LRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSAFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGK	12

[0149] 可用于本发明的治疗方法、药物和用途的LAG3拮抗剂包括特异地结合至LAG3的单克隆抗体 (mAb) 或其抗原结合片段。mAb可以是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体,并且可以包括人恒定区。在一些实施例中,人恒定区选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区,并且在优选的实施例中,人恒定区是IgG1或IgG4恒定区。在一些实施例中,抗原结合片段选自Fab、Fab'-SH、F(ab')₂、scFv和Fv片段。

[0150] 在一个实施例中,该抗LAG3抗体为Ab6:由两条轻链和两条重链组成的抗体,每条轻链和重链由以下氨基酸序列组成:

[0151] 轻链

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSLDYEGSDMNWYLQKPGQPPQLLIYGASNLE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQSTEDPRTFGGGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY
YSLSTLTLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0153] (SEQ ID NO:22);和

[0154] 重链

QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCKASGYTFTDYNVDWVRQARGQRLEWIGDINPNDG
GTIYAQKFQERVITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNYRWFAMDHWGQGT
TVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE
FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVY
TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSAFFLYS
RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0157] (SEQ ID NO:23)。

- [0158] Ab6轻链可变结构域氨基酸序列:
DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSLDYEGDSDMNWYLQKPGQPPQLLIYGASNLE
- [0159] SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQSTEDPRTFGGGTKVEIK
- [0160] (SEQ ID NO:24);和
- [0161] Ab6重链可变结构域氨基酸序列:
QMQLVQSGPEVKKPGTTSVKVSCKASGYTFTDYNVDWVRQARGQRLEWIGDINPNDGGTIYAQK
- [0162] FQERVITITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNYRWFEGAMDHWGQGT'TVTVSS
- [0163] (SEQ ID NO:25)。
- [0164] Ab6CDR:
- [0165] CDR-L1:KASQSLDYEGDSDMN(SEQ ID NO:26);
- [0166] CDR-L2:GASNLES(SEQ ID NO:27);
- [0167] CDR-L3:QQSTEDPRT(SEQ ID NO:28);
- [0168] CDR-H1:DYNVD(SEQ ID NO:29);
- [0169] CDR-H2:DINPNDGGTIYAQKFQE(SEQ ID NO:30);以及
- [0170] CDR-H3:NYRWFEGMDH(SEQ ID NO:31)

[0171] 在本发明的治疗方法、药物和用途的一些优选实施例中,LAG3拮抗剂是单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含:(a)轻链CDR SEQ ID NO:26、27和28和(b)重链CDR SEQ ID NO:29、30和31。

[0172] 在本发明的治疗方法、药物和用途的其它优选实施例中,LAG3拮抗剂是特异地结合至人LAG3的单克隆抗体或其抗原结合片段,并且包含(a)包含SEQ ID NO:25或其变体的重链可变区,和(b)包含SEQ ID NO:24或其变体的轻链可变区。重链可变区序列的变体与参考序列相同,除了在构架区中(即,在CDR外部)具有多达5个保守氨基酸取代。轻链可变区序列的变体与参考序列相同,除了在构架区中(即,在CDR外部)具有多达三个保守氨基酸取代。

[0173] 在本发明的治疗方法、药物和用途的另一优选实施例中,LAG3拮抗剂是特异地结合至入LAG3的单克隆抗体,并且包含(a)包含SEQ ID NO:23的重链,和(b)包含SEQ ID NO:22的轻链。在本发明的治疗方法、药物和用途的另一优选实施例中,LAG3拮抗剂是特异地结合至人LAG3的单克隆抗体,并且包含(a)包含SEQ ID NO:25的重链可变区,和(b)包含SEQ ID NO:24的轻链可变区。

[0174] 结合至人LAG3并且可用于本发明的治疗方法、药物和用途的mAb的其它实例是国际专利申请公开号W02014/008218中公开为LAG3.5(《WHO药物信息》,第32卷,第2期,2018)的联合纳武利尤单抗(relatlimab)、IMP731、IMP701和美国专利申请公开号US2017101472中公开的抗LAG3抗体。可用于本发明的治疗方法、药物和用途的其它LAG3拮抗剂包括结合至人LAG3的免疫粘附素,例如含有与恒定区诸如免疫球蛋白分子的Fc区融合的细胞外LAG3的融合蛋白。

[0175] 在一个实施例中,抗PD-1或抗LAG3抗体或其抗原结合片段中的每一种包含重链恒定区,例如人恒定区,诸如1、2、3或4人重链恒定区或其变体。在另一实施例中,抗PD-1或抗LAG3抗体或其抗原结合片段中的每一种包含轻链恒定区,例如人轻链恒定区,诸如λ或κ人轻链区或其变体。作为实例而非限制,人重链恒定区可以是4,并且人轻链恒定区可以是κ。

在替代实施例中,抗体的Fc区是具有Ser228Pro突变的4 (Schuurman, J等人,《分子免疫 (Mol. Immunol.)》38:1-8,2001)。

[0176] 在一些实施例中,可以将不同的恒定结构域附加到来源于本文提供的CDR的人源化VL和VH区。例如,如果本发明的抗体(或片段)的特定预期用途是要求改变的效应子功能,则可以使用人IgG1以外的重链恒定区,或可以使用杂交IgG1/IgG4。

[0177] 尽管人IgG1抗体提供了长的半衰期和效应子功能,诸如补体激活和抗体依赖性细胞毒性,但此类活性对于抗体的所有用途可能不是期望的。在此类情况下,例如可以使用人IgG4恒定结构域。本发明包括包含IgG4恒定结构域的抗PD-1抗体或抗LAG3抗体及其抗原结合片段的用途。在一个实施例中,IgG4恒定结构域可以在对应于EU系统中位置228和KABAT系统中位置241的位置处不同于天然人IgG4恒定结构域(Swiss-Prot登录号P01861.1),其中天然Ser108被Pro替换,为了防止Cys106与Cys109之间的潜在的链间二硫键(对应于EU系统中的位置Cys 226和Cys 229和KABAT系统中的位置Cys 239和Cys 242),其可能干扰适当的链内二硫键形成。参见Angal等人(1993)《分子免疫》30:105。在其它情况下,可以使用经修饰以增加半衰期或降低效应子功能的修饰的IgG1恒定结构域。

[0178] 方法、用途和药物

[0179] 在一个实施例中,本发明提供了用于治疗个体体内癌症的方法,其包含向个体共同施用PD-1拮抗剂、LAG3拮抗剂和乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在另一实施例中,本发明提供了用于治疗个体体内癌症的方法,其包含向个体施用包含PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂的组合物和包含乐伐替尼或其药学上可接受的盐的组合物。

[0180] 在另一实施例中,本发明提供了包含PD-1拮抗剂的药物,其与LAG3拮抗剂和乐伐替尼或其药学上可接受的盐组合用于治疗癌症。在又一实施例中,本发明提供了包含LAG3拮抗剂的药物,其与PD-1拮抗剂和乐伐替尼或其药学上可接受的盐组合用于治疗癌症。在又一实施例中,本发明提供包含乐伐替尼或其药学上可接受的盐的药物,其与PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂组合用于治疗癌症。

[0181] 在另一实施例中,本发明提供了当与LAG3拮抗剂和乐伐替尼或其药学上可接受的盐组合施用,PD-1拮抗剂在制造用于治疗个体体内癌症的药物中的用途。在一个实施例中,本发明提供了当与PD-1拮抗剂和乐伐替尼或其药学上可接受的盐组合施用,LAG3拮抗剂在制造用于治疗个体体内癌症的药物中的用途。在另一实施例中,本发明提供了当与LAG3拮抗剂和PD-1拮抗剂组合施用,乐伐替尼或其药学上可接受的盐在制造用于治疗个体体内癌症的药物中的用途。

[0182] 其它实施例提供了用于治疗癌症的LAG3拮抗剂,其中该用途是与PD-1拮抗剂和乐伐替尼或其药学上可接受的盐组合;用于治疗癌症的PD-1拮抗剂,其中该用途是与LAG3拮抗剂和乐伐替尼或其药学上可接受的盐组合;用于治疗癌症的乐伐替尼或其药学上可接受的盐,其中该用途是与PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂组合。

[0183] 在更进一步的实施例中,本发明提供了当与乐伐替尼或其药学上可接受的盐组合施用,PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂在制造用于治疗个体体内癌症的药物中的用途。在又一实施例中,本发明提供了包含PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂的药物,其与乐伐替尼或其药学上可接受的盐组合用于治疗癌症。

[0184] 在前述方法、药物和用途中,在一个实施例中,共同配制PD-1拮抗剂和LAG3拮抗

剂,并且经由静脉内输注或皮下注射施用。在另一实施例中,PD-1拮抗剂和LAG3拮抗剂经由静脉内输注或皮下注射共同施用。

[0185] 在一个实施例中,PD-1拮抗剂是阻断PD-1与PD-L1和PD-L2结合的抗PD-1抗体。在一个实施例中,PD-1拮抗剂是抗PD-L1抗体。在一个实施例中,LAG3拮抗剂是阻断LAG3与MHC II类结合的抗LAG3抗体。在一个实施例中,乐伐替尼的药学上可接受的盐是甲磺酸乐伐替尼。

[0186] 可以通过本发明的方法、药物和用途治疗的癌症包括但不限于:心脏癌症:肉瘤(血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤)、粘液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤;肺癌:支气管癌(鳞状细胞、未分化小细胞、未分化大细胞、腺癌)、肺泡(细支气管)癌、支气管腺癌、肉瘤、淋巴瘤、软骨瘤性错构瘤、间皮瘤;胃肠癌症:食管(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤),胃(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰腺(导管腺癌、胰岛素瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤、舒血管肠肽瘤)、小肠(腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波氏肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤)结肠直肠癌;泌尿生殖道癌症:肾(腺癌、肾母细胞瘤(肾胚细胞瘤)、淋巴瘤、白血病)、膀胱和尿道(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤)、睾丸(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎瘤、畸胎瘤、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样肿瘤、脂肪瘤);肝癌症:肝细胞瘤(肝细胞癌)、胆管癌、肝母细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤;骨癌症:骨原发性肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因氏肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨瘤(骨软骨性外生骨疣)、良性软骨瘤、成软骨细胞瘤、软骨粘液纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤;神经系统癌症:颅骨(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄瘤、畸形性骨炎)、脑膜(脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质瘤病)、脑(星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、神经胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤(松果体瘤)、多形性胶质母细胞瘤、少突神经胶质瘤、神经鞘瘤、成视网膜细胞瘤、先天性肿瘤)、脊髓神经纤维瘤、脑膜瘤、神经胶质瘤、肉瘤);妇科癌症:子宫(子宫内膜癌)、子宫颈(宫颈癌、肿瘤前宫颈发育不良)、卵巢(浆液性囊腺癌、粘液性囊腺癌、未分类癌)、粒层泡膜细胞瘤、卵巢塞莱二氏细胞瘤、无性细胞瘤、恶性畸胎瘤)、外阴(鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑素瘤)、阴道(透明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄状肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤)、输卵管(癌)、乳房;血液癌症:血液(骨髓性白血病(急性和慢性),急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、骨髓增殖性疾病、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征);淋巴系造血肿瘤,包括白血病、急性淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、急性成淋巴细胞性白血病、B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、毛细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、骨髓瘤和伯奇氏淋巴瘤;骨髓系造血肿瘤,包括急性和慢性骨髓性白血病、骨髓增生异常综合征和前髓细胞性白血病;间充质来源的肿瘤,包括纤维肉瘤和横纹肌肉瘤;中枢和外周神经系统的肿瘤,包括星形细胞瘤、成神经细胞瘤、神经胶质瘤和神经鞘瘤;和其它肿瘤,包括黑素瘤、皮肤(非黑素瘤)癌、间皮瘤(细胞)、精原细胞瘤、畸胎瘤、骨肉瘤、着色性干皮病、角化棘皮瘤,甲状腺滤泡状癌和卡波氏肉瘤。在一个实施例中,前述癌症是晚期的、不可切除的或转移性的。

[0187] 在一个实施例中,可以通过本发明的方法、药物和用途治疗的癌症包括但不限于:肺癌、胰腺癌、结肠癌、结肠直肠癌、骨髓性白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、

慢性骨髓单核细胞性白血病、甲状腺癌,骨髓增生异常综合征、膀胱癌、表皮癌、黑素瘤、乳腺癌、前列腺癌、头颈癌、卵巢癌、脑癌、间充质来源的癌症、肉瘤、四癌瘤、成神经细胞瘤、肾癌、肝细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤和甲状腺未分化癌。

[0188] 在另一实施例中,可以通过本发明的方法、药物和用途治疗的癌症包括但不限于:头颈部鳞状细胞癌、胃癌、胃和/或胃食管结合处腺癌、肾细胞癌、输卵管癌、子宫内膜癌和结肠直肠癌。在一个实施例中,结肠直肠癌、胃癌、胃和/或胃食管结合处腺癌(GEJ),或子宫内膜癌是非微卫星高度不稳定性(非MSI-H)或错配修复完整(pMMR)。在一个实施例中,癌症是胃癌、胃和/或胃食管结合处腺癌。在一个实施例中,该癌症是肾细胞癌。在一个实施例中,结肠直肠癌是不可切除的或转移性的(IV期)。

[0189] 在另一实施例中,可以通过本发明的方法、药物或用途治疗的癌症包括血液恶性肿瘤,但不限于:典型霍奇金淋巴瘤(cHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、转化的DLBCL、灰区淋巴瘤、双打击淋巴瘤、原发纵隔B细胞淋巴瘤(PMBCL)或惰性非霍奇金淋巴瘤(iNHL)(例如滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、粘膜相关淋巴组织淋巴瘤或小淋巴细胞性淋巴瘤)。

[0190] 在进一步的实施例中,可以通过本发明的方法、药物或用途治疗的癌症包括选自以下组成的组的癌症:肾细胞癌;肾盂、输尿管、膀胱或尿道的尿路上皮癌;胃、GEJ腺癌;非小细胞肺癌和膀胱癌。在另一实施例中,可以治疗的癌症选自以下组成的组:肾细胞癌;胃、GEJ腺癌;非小细胞肺癌;头颈部鳞状细胞癌;输卵管癌;子宫内膜癌和结肠直肠癌。在一个实施例中,该癌症是结肠直肠癌。在另一实施例中,该癌症是微卫星高度不稳定性(MSI-H)结肠直肠癌。在一个实施例中,结肠直肠癌是非微卫星高度不稳定性(非MSI-H)或错配修复完整(pMMR)。在一个实施例中,该癌症是肾细胞癌。在一个实施例中,该癌症是透明细胞肾细胞癌。在一个实施例中,前述癌症是晚期的、不可切除的或转移性的。在一个实施例中,癌症是IV期。在另一实施例中,该癌症是III期。

[0191] 在前述实施例的一个方面,患有癌症的患者在抗PD-1或抗PD-L1治疗后出现进展。在一个实施例中,患有癌症的患者在抗PD-1或抗PD-L1和抗LAG3的组合疗法治疗后出现进展。在一个实施例中,患有癌症的患者未接受先前的抗PD-1或抗PD-L1治疗。在另一实施例中,患者在先前用VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂治疗的情况下出现进展。在另一实施例中,患者在先前PD-L1或PD-1检查点抑制剂治疗与VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂(VEGFR/TKI)组合或顺序治疗的情况下出现进展。VEGFR/TKI的实例包括但不限于阿西替尼(Axitinib)和卡博替尼(Cabozantinib)。在一个实施例中,组合疗法用于一线治疗。在另一实施例中,组合疗法用于二线或三线治疗。

[0192] 本发明的方法、药物和用途还可以包含一种或多种附加治疗剂。附加治疗剂可以是例如化疗剂、生物治疗剂、免疫原性剂(例如,减毒癌细胞、肿瘤抗原、抗原呈递细胞诸如用肿瘤来源的抗原或核酸脉冲的树突细胞、免疫刺激细胞因子(例如IL-2、IFN α 2、GM-CSF)和用编码免疫刺激细胞因子诸如但不限于GM-CSF的基因转染的细胞)。附加治疗剂的具体剂量和剂量时间表可以进一步变化,并且最佳剂量、给药时间表和施用途径将基于所使用的具体治疗剂来确定。

[0193] 根据标准药学实践,本发明的方法、药物和用途中的每种治疗剂可以单独施用或以包含治疗剂和一种或多种药学上可接受的载体、赋形剂和稀释剂的药物(本文也称为药物组合物)施用。

[0194] 本发明的方法、药物和用途中的每种治疗剂可以同时(即,在同一药物中)、并发地(即,在以任何顺序一个紧接着另一个施用的单独药物中)或以任何顺序依次施用。当组合疗法中的治疗剂呈不同剂型(一种药剂为片剂或胶囊并且另一药剂为无菌液体)和/或以不同给药时间表施用,依序施用尤其有用,例如至少每天施用的化疗剂和较不频繁施用的生物治疗剂,诸如每周一次、每两周一次或每三周一次。

[0195] 在一些实施例中,在施用PD-1拮抗剂之前施用LAG3拮抗剂,而在其它实施例中,在施用PD-1拮抗剂之后施用LAG3拮抗剂。在另一实施例中,LAG3拮抗剂与PD-1拮抗剂同时施用。

[0196] 在一些实施例中,本发明的方法、药物和用途中的至少一种治疗剂是使用相同的给药方案(治疗的剂量、频率和持续时间)施用的,当该药剂作为单一疗法用于治疗相同的癌症时,通常采用相同的给药方案。在其它实施例中,患者接受的该方法、药物和用途中的至少一种治疗剂的总量比当该药剂作为单一疗法使用时低,例如较小剂量、较低频率剂量和/或较短治疗持续时间。

[0197] 本发明的方法、药物和用途中的每种小分子治疗剂可以口服或胃肠外施用,包括静脉内、肌内、腹膜内、皮下、直肠、局部和透皮施用途径。

[0198] 本发明的方法、药物和用途可以在手术去除肿瘤之前或之后使用,并且可以在放射治疗之前、期间或之后使用。

[0199] 在一些实施例中,将本发明的组合疗法施用于先前未用生物治疗剂或化疗剂治疗的患者,即未经治疗的患者。在其它实施例中,将组合疗法施用于在用生物治疗剂或化疗剂进行先前疗法后未能实现持续应答的患者,即经历过治疗的患者。

[0200] 本发明的组合疗法通常用于治疗大到足以通过触诊或通过本领域熟知的成像技术诸如MRI、超声或CAT扫描发现的肿瘤。

[0201] 本发明的组合疗法可以施用于患有对PD-L1和PD-L2中的一种或两种测试为阳性,并且优选地对PD-L1表达测试为阳性的癌症的人患者。在一些优选的实施例中,使用诊断性抗人PD-L1抗体或其抗原结合片段,在从患者中去除的肿瘤样本的FFPE或冷冻组织切片上进行IHC测定来检测PD-L1表达。通常,在开始用PD-1拮抗剂、LAG3拮抗剂和/或乐伐替尼治疗之前,患者的医生将要求进行诊断测试以确定从患者中去除的肿瘤组织样本中的PD-L1表达,但设想医生可以在开始治疗之后的任何时间,诸如在治疗周期完成之后,要求进行第一或后续诊断测试。在一个实施例中,通过PD-L1 IHC 22C3 pharmDx测定测量PD-L1表达。在另一实施例中,患者具有PD-L1表达的单核炎性密度评分 ≥ 2 。在另一实施例中,患者具有PD-L1表达的单核炎性密度评分 ≥ 3 。在另一实施例中,患者具有PD-L1表达的单核炎性密度评分 ≥ 4 。在另一实施例中,PD-L1表达的肿瘤比例评分用于选择非小细胞肺癌患者。在另一实施例中,患者具有PD-L1表达的肿瘤比例评分 $\geq 1\%$ 。在另一实施例中,患者具有PD-L1表达的肿瘤比例评分 $\geq 10\%$ 。在另一实施例中,患者具有PD-L1表达的肿瘤比例评分 $\geq 20\%$ 。在另一实施例中,患者具有PD-L1表达的肿瘤比例评分 $\geq 30\%$ 。在另一实施例中,患者具有PD-L1表达的肿瘤比例评分 $\geq 50\%$ 。在进一步的实施例中,患者具有PD-L1表达的组合阳性评分 $\geq 1\%$ 。在进一步的实施例中,患者具有PD-L1表达的组合阳性评分在 1% 至 20% 之间。在进一步的实施例中,患者具有PD-L1表达的组合阳性评分 $\geq 2\%$ 。在进一步的实施例中,患者具有PD-L1表达的组合阳性评分 $\geq 5\%$ 。在又进一步的实施例中,患者具有PD-L1表达的组

合阳性评分 $\geq 10\%$ 。在进一步的实施例中,患者具有PD-L1表达的组合阳性评分 $\geq 15\%$ 。在又进一步的实施例中,患者具有PD-L1表达的组合阳性评分 $\geq 20\%$ 。

[0202] 选择用于本发明组合疗法的给药方案(本文也称为施用方案)取决于几个因素,包括所治疗个体中实体的血清或组织周转率、症状水平、实体的免疫原性和靶细胞、组织或器官的可及性。优选地,剂量方案使递送至患者的每种治疗剂的量最大化,与副作用的可接受水平一致。因此,组合中每种生物治疗剂和化疗剂的给药量和给药频率部分取决于具体治疗剂,所治疗癌症的严重程度和患者特征。选择合适剂量的抗体、细胞因子和小分子的指导是可用的。参见,例如,Wawrzynczak (1996)《抗体疗法(Antibody Therapy)》,英国牛津郡生物科技出版公司(Bios Scientific Pub.Ltd,Oxfordshire,UK);Kresina(编辑)(1991)《单克隆抗体、细胞因子和关节炎(Monoclonal Antibodies,Cytokines and Arthritis)》,纽约州纽约马塞尔·德克尔出版社(Marcel Dekker,New York,NY);Bach(编辑)(1993)《自身免疫疾病中的单克隆抗体和多肽疗法(Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases)》,纽约州纽约马塞尔·德克尔出版社;Baert等人(2003)《新英格兰医学杂志(New Engl.J.Med.)》348:601-608;Milgrom等人(1999)《新英格兰医学杂志》341:1966-1973;Slamon等人(2001)《新英格兰医学杂志》344:783-792;Beniaminovitz等人(2000)《新英格兰医学杂志》342:613-619;Ghosh等人(2003)《新英格兰医学杂志》348:24-32;Lipsky等人(2000)《新英格兰医学杂志》343:1594-1602;《医生桌上参考手册(Physicians' Desk Reference)》2003(《医生桌上参考手册》,第57版);医疗经济公司(Medical Economics Company);ISBN:1563634457;第57版(2002年11月)。临床医生可以例如使用本领域已知或怀疑影响治疗或预测影响治疗的参数或因素来确定适当的给药方案,并且将取决于例如患者的临床史(例如先前的治疗),待治疗的癌症的类型和阶段以及对组合治疗中的一种或多种治疗剂的应答的生物标记。

[0203] 本发明的组合疗法中的生物治疗剂可以通过连续输注或以例如每天、每隔一天、每周三次或每周一次、两周、三周、每月、两月等的间隔给药。每周总剂量通常为至少0.05 μ g/kg、0.2 μ g/kg、0.5 μ g/kg、1 μ g/kg、10 μ g/kg、100 μ g/kg、0.2mg/kg、1.0mg/kg、2.0mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg体重或更大。参见,例如Yang等人(2003)《新英格兰医学杂志》349:427-434;Herold等人(2002)《新英格兰医学杂志》346:1692-1698;Liu等人(1999)《神经病学、神经外科和精神病学杂志(J.Neurol.Neurosurg.Psych.)》67:451-456;Portiellii等人(20003)《癌症免疫学与免疫治疗(Cancer Immunol.Immunother.)》52:133-144。

[0204] 在本发明的方法、药物和用途中采用抗人PD-1 mAb作为PD-1拮抗剂的一些实施例中,给药方案将包含在整个疗程中以约14天(± 2 天)或约21天(± 2 天)或约30天(± 2 天)的间隔施用1、2、3、5或10mg/kg剂量的抗人PD-1 mAb。

[0205] 在本发明的方法、药物和用途中采用抗人PD-1 mAb作为PD-1拮抗剂的其它实施例中,给药方案包含以约0.005mg/kg至约10mg/kg的剂量施用抗人PD-1 mAb,其中在患者内剂量递增。在其它逐步增加剂量的实施例中,剂量之间的间隔将逐渐缩短,例如在第一和第二剂量之间约30天(± 2 天)、在第二和第三剂量之间约14天(± 2 天)。在某些实施例中,对于第二剂量之后的剂量,给药间隔将为约14天(± 2 天)。

[0206] 在某些实施例中,受试者将被施用包含本文所描述的任何PD-1拮抗剂的药物的静脉内(IV)输注或皮下注射。

[0207] 在本发明的一个优选实施例中,组合疗法中的PD-1拮抗剂是纳武利尤单抗,其以选自由以下组成的组的剂量静脉内施用:1mg/kg Q2W、2mg/kg Q2W、3mg/kg Q2W、5mg/kg Q2W、10mg Q2W、1mg/kg Q3W、2mg/kg Q3W、3mg/kg Q3W、5mg/kg Q3W,和10mg/kg Q3W。

[0208] 在本发明的另一优选的实施例中,组合疗法中的PD-1拮抗剂是派姆单抗或派姆单抗变体,其以液体药物形式以选自由以下组成的组的剂量施用:1mg/kg Q2W、2mg/kg Q2W、3mg/kg Q2W、5mg/kg Q2W、10mg/kg Q2W、1mg/kg Q3W、2mg/kg Q3W、3mg/kg Q3W、5mg/kg Q3W、10mg/kg Q3W和任何这些剂量的平剂量当量,即诸如200mg Q3W或400mg Q6W。在一些实施例中,提供派姆单抗作为液体药物,其包含25mg/ml派姆单抗、7% (w/v) 蔗糖、0.02% (w/v) 聚山梨醇酯80于pH 5.5的10mM组氨酸缓冲液中。在其它实施例中,提供派姆单抗作为液体药物,其包含约125至约200mg/mL的派姆单抗或其抗原结合片段;约10mM组氨酸缓冲液;约10mM L-甲硫氨酸,或其药学上可接受的盐;约7% (w/v) 蔗糖;和约0.02% (w/v) 聚山梨醇酯80。

[0209] 在一些实施例中,通过IV输注施用所选择剂量的派姆单抗。在一个实施例中,所选择剂量的派姆单抗在25至40分钟或约30分钟的时间段内通过IV输注施用。在其它实施例中,通过皮下注射施用所选择剂量的派姆单抗。

[0210] 在一些实施例中,患者用组合疗法治疗至少24周,例如8个3周周期。在一些实施例中,继续用组合疗法的治疗直到患者表现出PD或CR的证据。

[0211] 在前述方法、药物和用途中,在另一实施例中,共同配制抗PD-1或抗PD-L1抗体和抗LAG3抗体。在一个实施例中,本发明提供了用于治疗患者中的癌症的方法,其包含在每三周的第1天经由静脉内输注向个体施用包含200mg的派姆单抗或派姆单抗变体和800mg的抗LAG3抗体Ab6或Ab6变体的组合物,并且每天口服施用8mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,本发明提供了用于治疗患者中的癌症的方法,其包含在每三周的第1天经由静脉内输注向个体施用包含200mg的派姆单抗或派姆单抗变体和800mg的抗LAG3抗体Ab6或Ab6变体的组合物,并且每天口服施用10mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在另一实施例中,本发明提供了用于治疗患者中的癌症的方法,其包含在每三周的第1天经由静脉内输注向个体施用包含200mg的派姆单抗或派姆单抗变体和800mg的抗LAG3抗体Ab6或Ab6变体的组合物,并且每天口服施用12mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在另一实施例中,本发明提供了用于治疗患者中的癌症的方法,其包含在每三周的第1天经由静脉内输注向个体施用包含200mg的派姆单抗或派姆单抗变体和800mg的抗LAG3抗体Ab6或Ab6变体的组合物,并且每天口服施用14mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在另一实施例中,本发明提供了用于治疗患者中的癌症的方法,其包含在每三周的第1天经由静脉内输注向个体施用包含200mg的派姆单抗或派姆单抗变体和800mg的抗LAG3抗体Ab6或Ab6变体的组合物,并且每天口服施用20mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。

[0212] 在前述方法、药物和用途中,在另一实施例中,共同施用抗PD-1或抗PD-L1抗体和抗LAG3抗体。在一个实施例中,在每三周的第1天共同施用200mg派姆单抗或派姆单抗变体和800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用8mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,在每三周的第1天共同施用200mg派姆单抗或派姆单抗变体和800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用10mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,在每三周的第1天共同施用200mg派姆单抗或派姆单抗变体和

800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用12mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,在每三周的第1天共同施用200mg派姆单抗或派姆单抗变体和800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用14mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,在每三周的第1天共同施用200mg派姆单抗或派姆单抗变体和800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用20mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。

[0213] 在所述方法、药物和用途中,在一个实施例中,在每六周的第1天施用400mg派姆单抗或派姆单抗变体,并且在每三周的第1天施用800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用8mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,在每六周的第1天施用400mg派姆单抗或派姆单抗变体,并且在每三周的第1天施用800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用10mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在另一实施例中,在每六周的第1天施用400mg派姆单抗或派姆单抗变体,并且在每三周的第1天施用800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用12mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,在每六周的第1天施用400mg派姆单抗或派姆单抗变体,并且在每三周的第1天施用800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用14mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,在每六周的第1天施用400mg派姆单抗或派姆单抗变体,并且在每三周的第1天施用800mg Ab6或Ab6变体用于静脉内输注,并且每天口服施用20mg的乐伐替尼或其药学上可接受的盐。

[0214] 在所述方法、药物和用途中,在一个实施例中,以8、10、12、14、18、20或24mg的日剂量施用乐伐替尼或其药学上可接受的盐。

[0215] 本公开的药学上可接受的赋形剂包括例如溶剂、填充剂、缓冲剂、张力调节剂和防腐剂(参见,例如Pramanick等人,《药学时代(Pharma Times)》,45:65-77,2013)。在一些实施例中,药物组合物可以包含赋形剂,其用作溶剂、填充剂、缓冲剂和张力调节剂中的一种或多种(例如,盐水中的氯化钠可以充当水性媒剂和张力调节剂两者)。

[0216] 在一些实施例中,药物组合物包含水性媒剂作为溶剂。合适的媒剂包括例如无菌水、盐水溶液、磷酸盐缓冲盐水和林格氏溶液。在一些实施例中,该组合物是等渗的。

[0217] 药物组合物可以包含填充剂。当药物组合物在施用前被冻干时,填充剂特别有用。在一些实施例中,填充剂是保护剂,其有助于在冷冻或喷雾干燥期间和/或在储存期间稳定和防止活性剂降解。合适的填充剂为糖(单糖、二糖和多糖),诸如蔗糖、乳糖、海藻糖、甘露醇、山梨醇、葡萄糖和棉子糖。

[0218] 药物组合物可以包含缓冲剂。缓冲剂控制pH以抑制活性剂在加工、储存和任选的重构过程中的降解。合适的缓冲剂包括例如包含乙酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐或硫酸盐的盐。其它合适的缓冲剂包括例如诸如精氨酸、甘氨酸、组氨酸和赖氨酸的氨基酸。缓冲剂可以进一步包含盐酸或氢氧化钠。在一些实施例中,缓冲剂将组合物的pH维持在4至9的范围内。在一些实施例中,pH大于(下限)4、5、6、7或8。在一些实施例中,pH小于(上限)9、8、7、6或5。也就是说,pH在约4至9的范围内,其中下限小于上限。

[0219] 药物组合物可以包含张力调节剂。合适的张力调节剂包括例如右旋糖、丙三醇、氯化钠、甘油和甘露醇。

[0220] 药物组合物可以包含防腐剂。合适的防腐剂包括例如抗氧化剂和抗微生物剂。然

而,在优选的实施例中,药物组合物在无菌条件下制备并且在一次性使用的容器中,并且因此不需要包括防腐剂。

[0221] 在一些实施例中,包含抗PD-1抗体作为PD-1拮抗剂的药物可以作为液体制剂提供或通过使用前用无菌注射用水复原冻干粉末来制备。PCT国际申请公开号W02012/135408描述了适用于本发明的包含派姆单抗的液体和冻干药物的制备。在一些实施例中,包含派姆单抗的药物提供于在4ml溶液中含有约100mg的派姆单抗的玻璃小瓶中。每1mL溶液含有25mg的派姆单抗,并且以以下配制:L-组氨酸(1.55mg)、聚山梨醇酯80(0.2mg)、蔗糖(70mg)和注射用水USP。溶液需要稀释用于IV输注。

[0222] 在一些实施例中,包含抗LAG3抗体作为LAG3拮抗剂的药物可以作为液体制剂提供或通过使用前用无菌注射用水复原冻干粉末来制备。在一个实施例中,液体制剂包含约25mg/mL抗LAG3抗体;约50mg/mL蔗糖;约0.2mg/mL聚山梨醇酯80;约10mM L-组氨酸缓冲液,pH约5.8至6.0;约70mM其L-精氨酸-HCl;和任选的约10mM L-甲硫氨酸。

[0223] 在其它方面,药物是抗LAG3抗体或抗原结合片段和抗PD-1抗体或抗原结合片段与20mg/mL的Ab6或Ab6变体、5mg/mL的派姆单抗或派姆单抗变体、56mM的L-精氨酸HCl、5.4%的蔗糖,8.0mM的甲硫氨酸、0.02%的PS-80和10mM的组氨酸缓冲剂共同配制的。

[0224] 本文所描述的药物可以作为包含第一容器、第二容器和包装说明书或标签的试剂盒提供。本文所描述的药物也可以作为试剂盒提供,其包含第一容器、第二容器和包装说明书或标签。第一容器含有至少一个剂量的包含PD-1拮抗剂的药物和至少一个剂量的包含LAG3拮抗剂的药物,第二容器含有至少一个剂量的包含乐伐替尼的药物,和包装说明书或标签,其包含使用该药物治疗癌症患者的说明书。第一和第二容器可以由相同或不同的形状(例如,小瓶、注射器和瓶子)和/或材料(例如,塑料或玻璃)组成。该试剂盒可以进一步包含可以用于施用药物的其它材料,诸如稀释剂、过滤器、IV袋和管线、针头和注射器。在试剂盒的一些优选实施例中,PD-1拮抗剂是抗PD-1抗体,并且说明书指出药物旨在用于治疗患有癌症的患者,该癌症通过IHC测定检测为PD-L1表达阳性。

[0225] 在本文提供的各种方法、试剂盒或用途的仍又一实施例中,乐伐替尼或其药学上可接受的盐是甲磺酸乐伐替尼。合适的药学上可接受的赋形剂公开于EP2468281和LENVIMA®的处方信息中。用于口服施用的胶囊含有4mg或10mg的乐伐替尼,分别相当于4.90mg或12.25mg的甲磺酸乐伐替尼。在另一实施例中,当施用乐伐替尼的药学上可接受的盐,诸如甲磺酸乐伐替尼,并且待使用的乐伐替尼的剂量为4mg时,执业医师将知道施用4.90mg的甲磺酸乐伐替尼。在另一实施例中,当施用乐伐替尼的药学上可接受的盐,诸如甲磺酸乐伐替尼,并且待使用的乐伐替尼的剂量为10mg时,执业医师将知道施用12.25mg的甲磺酸乐伐替尼。

[0226] 一般方法

[0227] 分子生物学中的标准方法描述于Sambrook,Fritsch和Maniatis(1982和1989第2版、2001第3版)《分子克隆实验室手册(Molecular Cloning,A Laboratory Manual)》,纽约冷泉港冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY);Sambrook和Russell(2001)《分子克隆(Molecular Cloning)》,第3版,纽约冷泉港,冷泉港实验室出版社;Wu(1993)《重组DNA(Recombinant DNA)》,第217卷,加利福尼亚州圣地亚哥学术出版社(Academic Press,San Diego,CA)。标准方法也出现在Ausbel等人

(2001)《即分子生物学实验指南(Current Protocols in Molecular Biology)》,第1至4卷,纽约州纽约,约翰·威利父子出版公司(John Wiley and Sons,Inc.New York,NY),其描述了细菌细胞中的克隆和DNA诱变(第1卷)、哺乳动物细胞和酵母中的克隆(第2卷)、糖缀合物和蛋白质表达(第3卷)和生物信息学(第4卷)。

[0228] 描述了包括免疫沉淀反应、色谱法、电泳、离心和结晶的蛋白质纯化方法(Coligan等人(2000)《即蛋白科学实验指南(Current Protocols in Protein Science)》,第1卷,纽约,约翰·威利父子出版公司(John Wiley and Sons,Inc.,New York))。描述了化学分析、化学修饰、翻译后修饰、融合蛋白的产生、蛋白质的糖基化(参见,例如,Coligan等人(2000)《即蛋白科学实验指南》,第2卷,纽约,约翰·威利父子出版公司;Ausubel等人(2001)《即分子生物学实验指南》,第3卷,纽约州纽约,约翰·威利父子出版公司,16.0.5至16.22.17页;西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich,Co.) (2001)《生命科学研究产品(Products for Life Science Research)》,密苏里州圣路易斯(St.Louis,MO);45至89页;安发玛西亚生物技术公司(Amersham Pharmacia Biotech) (2001)《生物目录(BioDirectory)》,新泽西州皮斯卡塔韦(Piscataway,N.J.),384至391页)。描述了多克隆和单克隆抗体的生产、纯化和片段化(Coligan等人(2001)《即免疫学实验指南(Current Protocols in Immunology)》,第1卷,纽约,约翰·威利父子出版公司;Harlow和Lane(1999)《抗体使用(Using Antibodies)》,纽约冷泉港,冷泉港实验室出版社;Harlow和Lane,出处同上)。用于表征配体/受体相互作用的标准技术是可获得的(参见,例如,Coligan等人(2001)《即免疫学实验指南》,第4卷,纽约,约翰威利公司(John Wiley,Inc.,New York))。

[0229] 可以制备单克隆、多克隆和人源化抗体(参见,例如Sheperd和Dean(编辑)(2000)《单克隆抗体(Monoclonal Antibodies)》,纽约州纽约,牛津大学出版社;Kontermann和Dubel(编辑)(2001)《抗体工程(Antibody Engineering)》,纽约,施普林格出版社(Springer-Verlag);Harlow和Lane(1988)《抗体实验室手册(Antibodies A Laboratory Manual)》,纽约冷泉港,冷泉港实验室出版社,139至243页;Carpenter等人(2000)《免疫学杂志(J.Immunol.)》165:6205;He等人(1998)《免疫学杂志》160:1029;Tang等人(1999)《生物化学杂志》274:27371-27378;Baca等人(1997)《生物化学杂志》272:10678-10684;Chothia等人(1989)《自然》342:877-883;Foote和Winter(1992)《分子生物学杂志》224:487-499;美国专利号6,329,511)。

[0230] 人源化的替代方法是使用展示在噬菌体上的人抗体文库或转基因小鼠中的人抗体文库(Vaughan等人(1996)《自然生物技术(Nature Biotechnol.)》14:309-314;Barbas(1995)《自然医学(Nature Medicine)》1:837-839;Mendez等人(1997)《自然遗传学(Nature Genetics)》15:146-156;Hoogenboom和Chames(2000)《今日免疫学(Immunol.Today)》21:371-377;Barbas等人(2001)《噬菌体展示:实验室手册(Phage Display:A Laboratory Manual)》,纽约冷泉港,冷泉港实验室出版社;Kay等人(1996)《肽和蛋白质的噬菌体展示:实验室手册(Phage Display of Peptides and Proteins:A Laboratory Manual)》,加利福尼亚州圣地亚哥学术出版社;de Bruin等人(1999)《自然生物技术》17:397-399)。

[0231] 抗原的纯化对于抗体的生成不是必需的。可以用携带目的抗原的细胞对动物进行免疫。然后可以从免疫的动物中分离脾细胞,并且该脾细胞可以与骨髓瘤细胞系融合以产生杂交瘤(参见,例如,Meyaard等人(1997)《免疫(Immunity)》7:283-290;Wright等人

(2000)《免疫》13:233-242;Preston等人,出处同上;Kaithamana等人(1999)《免疫学杂志》163:5157-5164)。

[0232] 抗体可以与例如小药物分子、酶、脂质体、聚乙二醇(PEG)缀合。抗体可用于治疗、诊断、试剂盒或其它目的,并且包括与例如染料、放射性同位素、酶或金属,例如胶体金,偶联的抗体(参见,例如Le Doussal等人(1991)《免疫学杂志》146:169-175;Gibellini等人(1998)《免疫学杂志》160:3891-3898;Hsing和Bishop(1999)《免疫学杂志》162:2804-2811;Everts等人(2002)《免疫学杂志》168:883-889)。

[0233] 用于流式细胞术的方法,包括荧光激活细胞分选术(FACS),是可用的(参见,例如,Owens等人(1994)《用于临床实验室实践的流式细胞术原理(Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice)》,新泽西州霍博肯,约翰·威利父子出版公司(John Wiley and Sons,Hoboken,NJ);Givan(2001)《流式细胞术(Flow Cytometry)》,第2版;新泽西州霍博肯,Wiley-Liss;Shapiro(2003)《实用流式细胞术(Practical Flow Cytometry)》,新泽西州霍博肯,约翰·威利父子出版公司)。可获得适用于修饰核酸的荧光试剂,包括核酸引物和探针、多肽和抗体,可用作例如诊断试剂(《分子探针(Molecular Probes)》(2003)《目录册(Catalogue)》,俄勒冈州尤金(Eugene,OR),分子探针公司(Molecular Probes,Inc.);密苏里州圣路易斯(St.Louis,MO),西格玛奥德里奇公司(2003)《目录册》)。

[0234] 描述了免疫系统组织学的标准方法(参见,例如,Muller-Harmelink(编辑)(1986)《人胸腺:组织病理学和病理学(Human Thymus:Histopathology and Pathology)》,纽约州纽约,施普林格出版社;Hiatt等人(2000)《组织学的色谱图(Color Atlas of Histology)》,宾夕法尼亚州费城(Phila,PA),Lippincott Williams和Wilkins公司;Louis等人(2002)《基础组织学:文本和图集(Basic Histology:Text and Atlas)》,纽约州纽约,麦格劳希尔公司(McGraw-Hill))。

[0235] 可获得用于确定例如抗原性片段、前导序列、蛋白质折叠、功能结构域、糖基化位点和序列比对的软件包和数据库(参见,例如基因库(GenBank),VectorNTI®Suite(马里兰州贝塞斯达Informax公司);GCG Wisconsin软件包(加利福尼亚州圣地亚哥Accelrys公司);DeCypher®(内华达州水晶湾(Crystal Bay,Nevada)TimeLogic公司);Menne等人(2000)《生物信息学(Bioinformatics)》16:741-742;Menne等人(2000)《生物信息学应用注释(Bioinformatics Applications Note)》16:741-742;Wren等人(2002)《生物医学的计算机方法与程序(Comput.Methods Programs Biomed.)》68:177-181;von Heine(1983)《欧洲生物化学杂志(Eur.J.Biochem.)》133:17-21;von Heijne(1986)《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》14:4683-4690)。

[0236] 实例

[0237] 实例1:派姆单抗、抗LAG3抗体Ab6和乐伐替尼在结肠直肠癌中的临床研究

[0238] 登记了未经PD-1/PD-L1治疗的非MSI-H或错配修复完整(pMMR)结肠直肠癌受试者,其在二(2)种先前的疗法路线中出现进展。测试了与派姆单抗和乐伐替尼组合施用的Ab6的抗肿瘤功效。TPI设计用于评估该三联体组合在治疗的前14名受试者中的安全性和耐受性。如果TPI要求下降,则乐伐替尼的剂量减少;Ab6和派姆单抗的剂量是固定的。

[0239] 根据源自结肠或直肠的CRC选择受试者,该CRC是局部晚期不可切除的或转移性的

(即, IV期) 并且已经用2种先前的疗法路线治疗但没有用先前的抗PD-1/PD-L1疗法治疗。研究用药物治疗三线(3L) CRC。受试者必须在单独的疗法路线中接受奥沙利铂和伊立替康, 这些通常提供有氟嘧啶(例如, FOLFOX和FOLFIRI)。卡培他滨(Capecitabine)与先前疗法中的氟嘧啶(XOLFOX、XOLFIRI)等同是可接受的。先前接受氟嘧啶、奥沙利铂和伊立替康作为同一和唯一化疗方案的一部分的受试者, 例如FOLFOXIRI或FOLFIRINOX, 被认为是二线(2L)患者, 并且不具有研究资格。如果在化疗的6个月内有记载的疾病进展, 则将辅助化疗视为先前全身治疗的第一线。所有全身性细胞毒性化疗, 包括具有细胞毒性弹头的抗体-药物缀合物, 被认为是先前的疗法路线。具有治愈意图的确定性手术和放射疗法或全身施用的放射性药物疗法不被认为是先前的疗法路线。如果由于任何原因中断治疗方案并且开始不同的方案, 则应将其认为是新的疗法路线。转换(例如, 顺铂到卡铂)将不被认为是疗法路线变化(除非需要延迟治疗 ≥ 2 个月)。如果疗法之间的作用机制有变化, 则因毒性转换被认为是疗法路线变化。中断将不被认为是疗法路线变化(除非中断 ≥ 2 个月)。出于维持治疗后应答的目的而施用的维持方案将不被认为是疗法路线。高温腹膜内化疗(HIPEC)或其它局部区域疗法是允许的, 但将不被视为先前的疗法路线。

[0240] 表4: 给药方案

	Ab6	800 mg	Q3W	IV 输注	每个 21 天周期的第 1 天
	派姆单抗	200 mg	Q3W	IV 输注	每个 21 天周期的第 1 天
[0241]	乐伐替尼	20 mg 14 mg 10 mg 8 mg	QD	口服	每个 21 天周期 QD

[0242] 首先施用派姆单抗, 并且然后间隔30分钟后施用Ab6。乐伐替尼在21天周期中每天大约同时口服。然而, 在同时施用派姆单抗和Ab6的访问日, 乐伐替尼在Ab6输注完成之后0至4小时施用。

[0243] 实例2Ab6A和乐伐替尼在晚期透明细胞肾细胞癌中的I期研究

[0244] 1b/2期研究评价了参考组(派姆单抗加乐伐替尼)和Ab6A(800mg Ab6和200mg派姆单抗的共同配制产品)以及乐伐替尼用于治疗晚期RCC的安全性和功效。根据RECIST1.1, 通过BICR使用ORR评价初步功效。本研究包括年龄至少为18岁, 患有晚期或转移性的具有透明细胞组分的RCC(ccRCC)的男性和女性参与者。

[0245] I. 参与者类型和疾病特征

[0246] 1. 经组织学确诊为局部晚期/转移性ccRCC(有或无肉瘤样特征), 即根据AJCC为IV期RCC。

[0247] 2. 先前未接受过晚期RCC的全身治疗。[1L参与者]。如果在随机化/分配之前 ≥ 12 个月完成, 则可接受针对RCC的先前的新辅助疗法/辅助疗法。

[0248] 3. 根据RECIST 1.1, 通过BICR评估具有可测量的疾病。如果进展在此类病变中已经示出, 则认为位于先前照射区域中的病变是可测量的。

[0249] II. 参与者类型和疾病特征

[0250] 1. 经组织学确诊为局部晚期/转移性ccRCC(有或无肉瘤样特征), 即根据AJCC为IV期RCC。

[0251] 2. 在接受用PD-(L)1检查点抑制剂(依次或与VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂(VEGFR-

TKI)组合)对局部晚期或转移性RCC进行全身治疗时或之后,已经历疾病进展。

[0252] 在该研究中,PD-(L)1检查点抑制剂治疗进展通过满足所有以下标准来定义:已接受至少2剂抗PD-(L)1 mAb;已证实由RECIST 1.1定义的抗PD-(L)1 mAb期间或之后的放射学疾病进展;已在最后一剂抗PD-(L)1 mAb给药后12周内记录了疾病进展;

[0253] 3.在接受用VEGFR-TKI(依次或与PD-[L]1检查点抑制剂组合)对局部晚期或转移性RCC进行全身治疗时或之后,已经历疾病进展。

[0254] VEGFR-TKI治疗进展通过满足以下标准来定义:已证实研究者在用由RECIST 1.1定义的VEGFR-TKI治疗期间或之后放射学疾病进展;根据RECIST 1.1通过BICR评估具有可测量的疾病。如果进展在此类病变中已经证实,则认为位于先前照射区域中的病变是可测量的。

[0255] 表5:药物剂量水平

组 A2	剂量水平 0	剂量水平-1	剂量水平-2
[0256] Ab6A	800 mg 的 Ab6 和 200 mg 的派姆单抗	800 mg 的 Ab6 和 200 mg 的派姆单抗	800 mg 的 Ab6 和 200 mg 的派姆单抗
乐伐替尼	20 mg	14 mg	10 mg

[0257] Ab6A在每三周的第1天以IV输注是方式施用30分钟。乐伐替尼在第1天输注完成之后每天施用30分钟。

[0258] 实例3:研究乐伐替尼和抗PD-1和抗LAG3双重检查点阻断的抗肿瘤益处的小鼠同系肿瘤模型

[0259] 提供使用同系肿瘤模型的临床前小鼠数据以证实VEGF酪氨酸激酶抑制剂乐伐替尼连同抗PD-1和抗LAG3双重检查点阻断的抗肿瘤益处。评价两种肿瘤模型以代表对抗PD-1疗法部分敏感的肿瘤类型(CT26模型)和对抗PD-1固有抗性的肿瘤类型(KPC-2838c3模型)。当作为单一疗法单独施用,使用抗PD-1、抗LAG3和乐伐替尼的组的治疗优于用每种药剂的治疗。

[0260] 在治疗开始之前,将8周龄,重18至21克的雌性BALB/c小鼠(用于CT26研究)或C57BL/6J小鼠(用于KPC-2838c3研究)麻醉,并且将 0.3×10^6 CT26或 0.5×10^6 KPC-2838c3对数期亚汇合细胞皮下注射到后肋腹中。当接种动物的平均肿瘤体积达到大约 100mm^3 时(CT26为11天后,KPC-2838c3为15天后),将小鼠配对为8个治疗组,每组由10只小鼠组成。治疗组由以下组成:1)0.5%甲基纤维素(媒剂)+同种型小鼠IgG1抗体(mIgG1);2)媒剂+抗PD-1 mIgG1抗体(muDX400);3)媒剂+抗LAG3 mIgG1抗体(28G10);4)乐伐替尼+同种型;5)媒剂+抗PD-1+抗LAG3;6)乐伐替尼+抗PD-1;7)乐伐替尼+抗LAG3;8)乐伐替尼+抗PD-1+抗LAG3。媒剂和乐伐替尼以10mg/kg体重每天一次(QD)口服管饲给药。每5天以10mg/kg体重腹膜内给药同种型对照、对同种型IgG1的腺病毒六邻体特异的小鼠单克隆抗体,以及抗PD-1和抗LAG3抗体。治疗的开始被认为是第0天,并且基于所描述的时间表继续给药直至第35天。每周两次采集肿瘤和体重的卡尺测量值。通过学生t测试进行肿瘤生长抑制(TGI)的统计分析,比较治疗组与媒剂组。通过对数秩(Mantel-Cox)测试进行存活分析以确定组间的显著性。存活定义为小鼠退出研究时肿瘤大于 1800mm^3 的时间点,这是动物方案定义的人道端点。

[0261] 如图1A和表6所示,与媒剂对照动物相比,每种单一疗法在CT26结肠直肠模型中具

有部分抗肿瘤功效,导致显著的肿瘤生长抑制(TGI)。用抗PD-1+抗LAG3的双重检查点阻断优于任一单一疗法(表6)。类似地,乐伐替尼+抗PD-1治疗比每种单一药剂具有更好的功效。使用乐伐替尼+抗PD-1+抗LAG3的三重组合疗法具有更多的小鼠存活直至研究结束(图1B和表7)和比乐伐替尼+抗PD-1疗法更好的TGI趋势(无统计学显著性)。

[0262] 在KPC-2838c3胰腺模型中,抗PD-1和抗LAG3检查点阻断均不具有作为单一疗法或组合的显著抗肿瘤功效(图2)。相比之下,乐伐替尼治疗引起显著TGI。这表明乐伐替尼可以为对抗PD-1+抗LAG3双重检查点阻断不应答的肿瘤提供益处。在研究结束时,含有乐伐替尼的双重或三重组合组中没有一个是具有统计学显著性(表8)。

[0263] 如通过体重增加(图3A和3B)、早期死亡率和临床观察结果所评估的,小鼠对所有治疗方案均良好耐受。

[0264] 表6. 总结当来自媒介组的所有动物退出研究时,在第17天时治疗组相对于媒介治疗的动物的CT26研究肿瘤生长抑制(TGI)。

治疗	TGI (p值)
乐伐替尼	54% (p<0.001)
抗PD-1	38% (p=0.011)
抗LAG3	38% (p=0.002)
抗PD-1+抗LAG3	55% (p=0.002)
乐伐替尼+抗PD-1	79% (p<0.001)
乐伐替尼+抗LAG3	58% (p<0.001)
乐伐替尼+抗PD-1+抗LAG3	87% (p<0.001)

[0266] 表7. 对CT26研究对数秩p值进行总结,以确定单一疗法治疗组与三重组合组相比的存活差异。

组存活比较	p 值
乐伐替尼对乐伐替尼+抗 PD-1+抗 LAG3	p=0.014
抗 PD-1 对乐伐替尼+抗 PD-1+抗 LAG3	p=0.012
抗 LAG3 对乐伐替尼+抗 PD-1+抗 LAG3	p<0.001
抗 PD-1+抗 LAG3 对乐伐替尼+抗 PD-1+抗 LAG3	p=0.082
乐伐替尼+抗 PD-1 对乐伐替尼+抗 PD-1+抗 LAG3	p=0.282
抗 PD-1 对抗 PD-1+乐伐替尼	p=0.024
乐伐替尼对抗 PD-1+乐伐替尼	p=0.018

[0269] 表8. 研究结束(第41天)时KPC-2838肿瘤的单向ANOVA分析,仅含有乐伐替尼疗法的组。

组存活比较	p值
乐伐替尼对乐伐替尼+抗PD-1	p=0.819
乐伐替尼对乐伐替尼+抗LAG3	p=0.729
乐伐替尼对乐伐替尼+抗PD-1+抗LAG3	p>0.999
乐伐替尼+抗PD-1对乐伐替尼+抗LAG3	p=0.999
乐伐替尼+抗PD-1对乐伐替尼+抗PD-1+抗LAG3	p=0.793
乐伐替尼+抗LAG3对乐伐替尼+抗PD-1+抗LAG3	p=0.701

[0271] 参考文献

[0272] 1.Sharpe,A.H,Wherry,E.J.,Ahmed R.和Freeman G.J.《程序性细胞死亡1及其配体在调节自身免疫和感染中的功能(The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection.)》,《自然免疫学(Nature Immunology)》(2007);8:239-245。

[0273] 2.Dong H等人《肿瘤相关B7-H1促进T细胞凋亡:免疫逃避的潜在机制(Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis:a potential mechanism of immune evasion.)》,《自然医学(Nat Med.)》2002年8月;8(8):793-800。

[0274] 3.Yang等人《PD-1相互作用有助于在体外对人葡萄膜黑素瘤细胞的T细胞应答的功能性抑制(PD-1 interaction contributes to the functional suppression of T-cell responses to human uveal melanoma cells in vitro.)》,《调查性眼科与视觉科学(Invest Ophthalmol Vis Sci.)》2008年6月;49(6(2008):49:2518-2525。

[0275] 4.Ghebeh等人《B7-H1(PD-L1)T淋巴细胞抑制分子在乳腺癌浸润性导管癌患者中表达:与重要的高危预后因素的相关性(The B7-H1(PD-L1)T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma:correlation with important high-risk prognostic factors.)》,《肿瘤形成(Neoplasia)》(2006)8:190-198。

[0276] 5.Hamanishi J等人《程序性细胞死亡1配体1和肿瘤浸润性CD8+T淋巴细胞是人卵巢癌的预后因子(Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer.)》,《美国国家科学院院刊(Proceeding of the National Academy of Sciences)》(2007):104:3360-3365。

[0277] 6.Thompson RH等人《肾癌中B7-H1过表达的意义(Significance of B7-H1 overexpression in kidney cancer.)》,《临床泌尿生殖系统癌(Clinical genitourin Cancer)》(2006):5:206-211。

[0278] 7.Nomi,T,Sho,M.,Akahori,T.等人《人胰腺癌中程序性死亡-1配体/程序性死亡-1途径的临床意义和治疗潜力(Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer.)》,《临床癌症研究(Clinical Cancer Research)》(2007);13:2151-2157。

[0279] 8.Ohigashi Y等人《人食管癌中程序性死亡-1配体-1和程序性死亡-1配体-2表达的临床意义(Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1ligand 2 expression in human esophageal cancer.)》,《临床癌症研究(Clin.Cancer Research)》(2005):11:2947-2953。

[0280] 9.Inman等人《由膀胱尿路上皮癌和BCG诱导的肉芽肿的PD-L1(B7-H1)表达:与局部阶段进展的关联(PD-L1(B7-H1) expression by urothelial carcinoma of the bladder and BCG-induced granulomata:associations with localized stage progression.)》,《癌症(Cancer)》(2007):109:1499-1505。

[0281] 10.Shimauchi T等人《成人T细胞白血病/淋巴瘤的肿瘤和非肿瘤CD4+T细胞中程序性死亡-1的表达增加(Augmented expression of programmed death-1 in both neoplastic and nonneoplastic CD4+T-cells in adult T-cell Leukemia/

Lymphoma.)》，《国际癌症杂志(Int.J.Cancer)》(2007):121:2585-2590。

[0282] 11.Gao等人《PD-L1的过表达与人肝细胞癌的肿瘤侵袭性和术后复发显著相关(Overexpression of PD-L1 significantly associates with tumor aggressiveness and postoperative recurrence in human hepatocellular carcinoma.)》，《临床癌症研究》(2009)15:971-979。

[0283] 12.Nakanishi J.《B7-H1 (PD-L1)的过表达与人尿路上皮癌的肿瘤分级和术后预后显著相关(Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers.)》，《癌症免疫学与免疫治疗》(2007)56:1173-1182。

[0284] 13.Hino等人《程序性细胞死亡-1的肿瘤细胞表达是恶性黑素瘤的预后因子(Tumor cell expression of programmed cell death-1 is a prognostic factor for malignant melanoma.)》，《癌症》(2010):00:1-9。

[0285] 14.Ghebeh H.《Foxp3+tregs和B7-H1+/PD-1+T淋巴细胞共浸润高危乳腺癌患者的肿瘤组织:对免疫疗法的影响(Foxp3+tregs and B7-H1+/PD-1+T lymphocytes co-infiltrate the tumor tissues of high-risk breast cancer patients:implication for immunotherapy.)》，《BMC癌症(BMC Cancer.)》2008年2月23日;8:57。

[0286] 15.Ahmadzadeh M等人《浸润肿瘤的肿瘤抗原特异性CD8T细胞表达高水平的PD-1并且功能受损(Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired.)》，《血液(Blood)》(2009)114:1537-1544。

[0287] 16.Thompson RH等人《PD-1由肿瘤浸润性细胞表达并且与肾癌患者的不良结果相关(PD-1 is expressed by tumor infiltrating cells and is associated with poor outcome for patients with renal carcinoma.)》，《临床癌症研究》(2007)15:1757-1761。

[0288] 本文引用的所有参考均以引用的方式并入,其程度如同每个单独的出版物、数据库条目(例如基因库序列或GeneID条目)、专利申请或专利被具体地和单独地指明以引用的方式并入,每个单独的出版物、数据库条目(例如基因库序列或GeneID条目)、专利申请或专利,按照37 C.F.R.§1.57 (b) (2)明确标识其中的每一个,即使此类引用不与以引用的方式并入的专用陈述直接相邻。如果有的话,在说明书内包括以引用的方式并入的专用陈述不得以任何方式削弱以引用的方式并入的该一般陈述。本文引用的参考并不旨在承认该参考是相关的现有技术,也不构成对这些出版物或文献的内容或日期的任何承认。就参考提供与本说明书中提供的定义冲突的要求保护的术语的定义而言,本说明书中提供的定义应用于解释要求保护的发明。

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> 派姆单抗轻链CDR3

<400> 3

Gln His Ser Arg Asp Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 4

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>

<223> 派姆单抗轻链可变区

<400> 4

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
20 25 30

[0002]

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 5

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>

<223> 派姆单抗轻链

<400> 5

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

[0003] Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 6
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<220>
 <223> 派姆单抗重链CDR1

<400> 6
 Asn Tyr Tyr Met Tyr
 1 5

<210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<220>
 <223> 派姆单抗重链CDR2

[0004] <400> 7
 Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Asn

<210> 8
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

<220>
 <223> 派姆单抗重链CDR3

<400> 8
 Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 9
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>

<223> 派姆单抗重链可变区

<400> 9

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

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

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

[0005]

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 10

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>

<223> 派姆单抗重链

<400> 10

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

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

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

[0006]

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

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

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

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

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

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

[0007] Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 11
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>
 <223> 纳武利尤单抗轻链

<400> 11

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

[0008]

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 12

<211> 440

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>

<223> 纳武利尤单抗重链

<400> 12

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

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

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

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

[0009] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

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

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

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

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
130 135 140

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
145 150 155 160

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
180 185 190

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 195 200 205
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 210 215 220
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 225 230 235 240
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 245 250 255
 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
 260 265 270
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 275 280 285
 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 290 295 300
 [0010]
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 305 310 315 320
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 325 330 335
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
 340 345 350
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 355 360 365
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 370 375 380
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 385 390 395 400
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
 405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> 22C3轻链CDRL1

<400> 13

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr Ser Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

Ala

[0011]

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> 22C3轻链CDRL2

<400> 14

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>

<223> 22C3轻链CDRL3

<400> 15

Lys Gln Ser Tyr Asp Val Val Thr
 1 5

<210> 16
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 人工序列的描述：合成多肽

 <220>
 <223> 22C3轻链成熟可变区

 <400> 16
 Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15

 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
 20 25 30

 Ser Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

 [0012]
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
 85 90 95

 Ser Tyr Asp Val Val Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

 <210> 17
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 人工序列的描述：合成肽

 <220>
 <223> 22C3重链CDRH1 Kabat

 <400> 17
 Ser Tyr Trp Ile His
 1 5

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>

<223> 22C3重链成熟可变区

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Q或焦谷氨酸盐

<400> 21

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr His Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

[0014] Ile Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met His Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Trp Leu Ile His Gly Asp Tyr Tyr Phe Asp Phe Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 22

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>

<223> Ab6轻链

<400> 22

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Leu Asp Tyr Glu
 20 25 30

Gly Asp Ser Asp Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60

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

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Thr
 85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125

[0015] Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 23
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成多肽

<220>

<223> Ab6重链

<400> 23

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15

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

Asn Val Asp Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asp Gly Gly Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

[0016]

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

Ala Arg Asn Tyr Arg Trp Phe Gly Ala Met Asp His Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

[0017]

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 24
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<220>
 <223> Ab6轻链可变结构域

<400> 24
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Leu Asp Tyr Glu
 20 25 30

Gly Asp Ser Asp Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

[0018] Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60

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

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Thr
 85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 25
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述: 合成多肽

<220>
 <223> Ab6重链可变结构域

<400> 25
 Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15

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

[0019]

<210> 26
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

 <220>
 <223> Ab6 CDR-L1

 <400> 26
 Lys Ala Ser Gln Ser Leu Asp Tyr Glu Gly Asp Ser Asp Met Asn
 1 5 10 15

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

 <220>
 <223> 人工序列的描述: 合成肽

 <220>
 <223> Ab6 CDR-L2

 <400> 27

Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<220>

<223> Ab6 CDR-L3

<400> 28

Gln Gln Ser Thr Glu Asp Pro Arg Thr
1 5

<210> 29

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

[0020]

<220>

<223> Ab6 CDR-H1

<400> 29

Asp Tyr Asn Val Asp
1 5

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<220>

<223> Ab6 CDR-H2

<400> 30

Asp Ile Asn Pro Asn Asp Gly Gly Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Glu

<210> 31

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述: 合成肽

<220>

<223> Ab6 CDR-H3

<400> 31

Asn Tyr Arg Trp Phe Gly Ala Met Asp His
1 5 10

<210> 32

<211> 290

<212> PRT

<213> 智人

<400> 32

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr
20 25 30

[0021] Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu
35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile
50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser
65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val
130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr
145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser
165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn
180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu
210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His
225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr
245 250 255

Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys
260 265 270

[0022]

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
275 280 285

Glu Thr
290

<210> 33
<211> 525
<212> PRT
<213> 智人

<400> 33
Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15

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

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

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

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

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
 85 90 95

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly
 100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln
 115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala
 130 135 140

Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys
 145 150 155 160

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro
 165 170 175

[0023]

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser
 180 185 190

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln
 195 200 205

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser
 210 215 220

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly
 225 230 235 240

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn
 245 250 255

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala
 260 265 270

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val
 275 280 285

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly
 290 295 300

Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu
 305 310 315 320

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His
 325 330 335

Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr
 340 345 350

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu
 355 360 365

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser
 370 375 380

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala
 385 390 395 400

[0024]

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln
 405 410 415

Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr Glu Leu Ser Ser
 420 425 430

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly
 435 440 445

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

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

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

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

[0025]

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

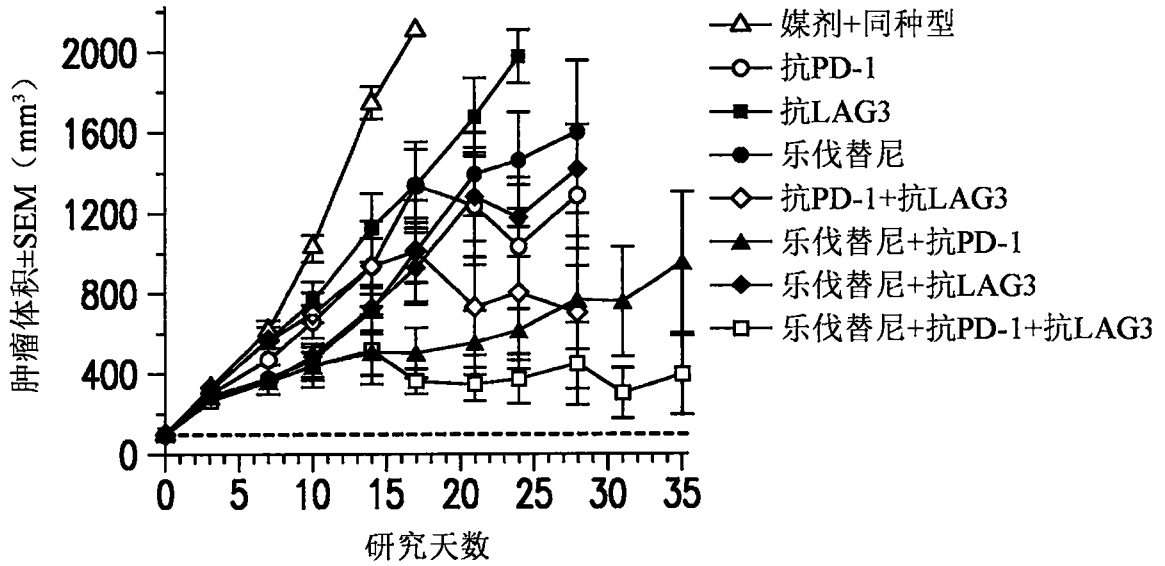


图1A

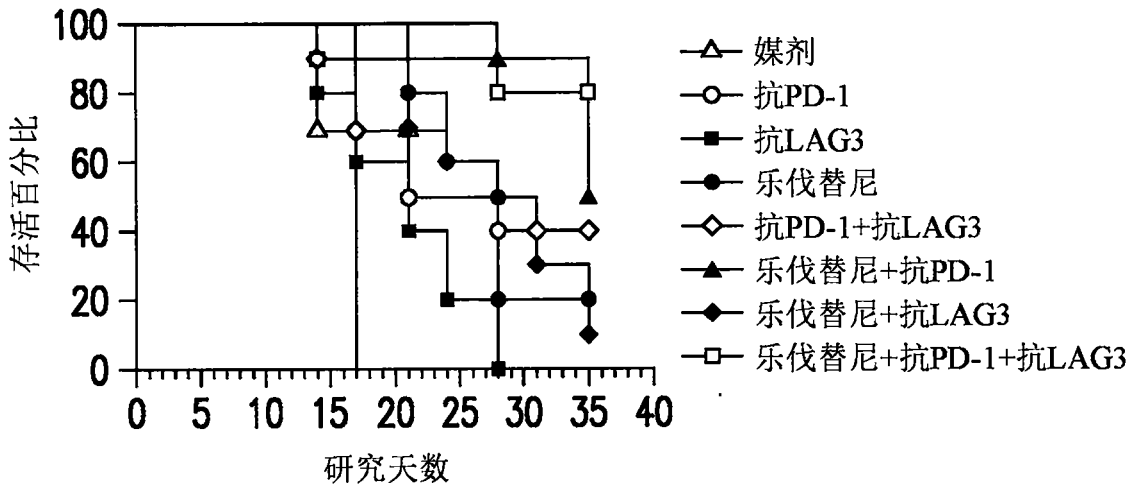


图1B

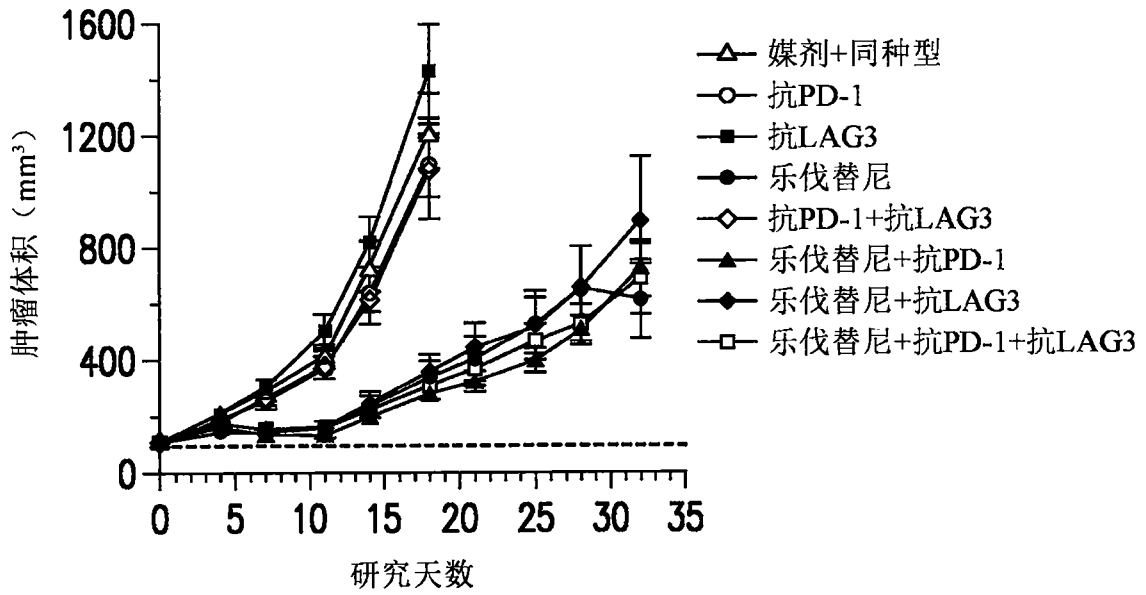


图2

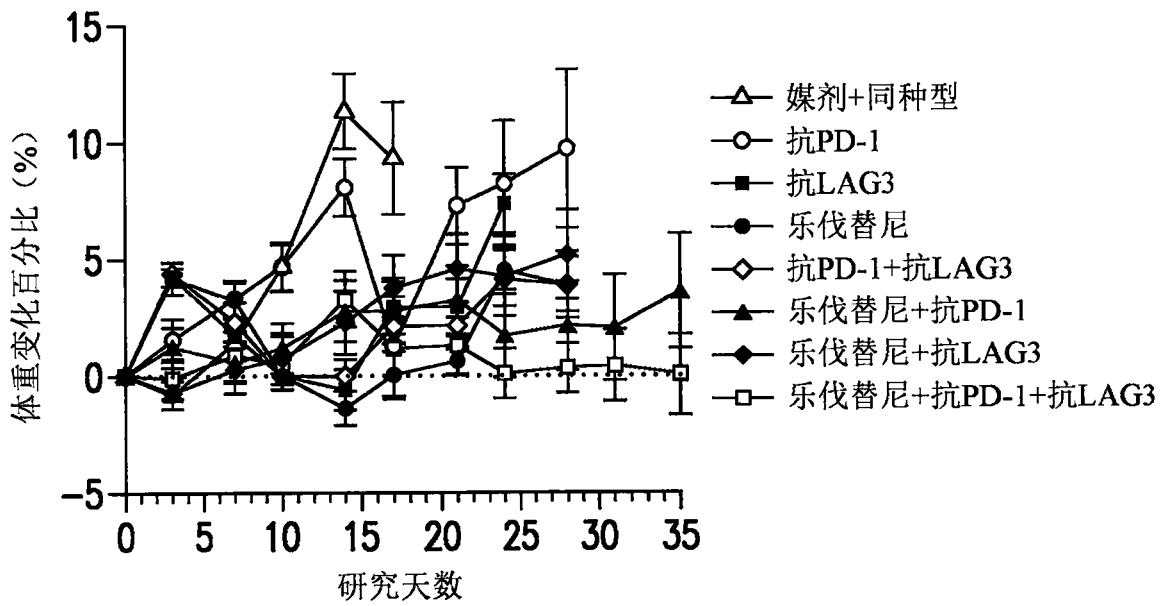


图3A

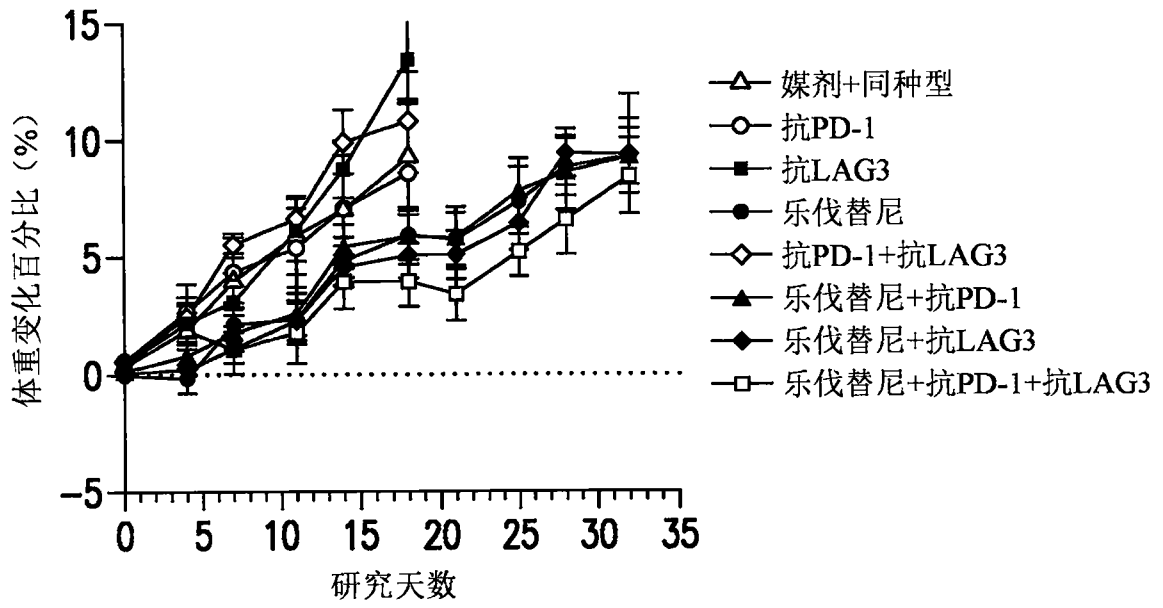


图3B