202138387

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202138387 A

(43)公開日： 中華民國 110 (2021) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：109145572 (22)申請日： 中華民國 109 (2020) 年 12 月 22 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/12/23 美國 62/952,859
2019/12/23 美國 62/952,878
2020/05/04 美國 63/019,857
2020/05/07 美國 63/021,556
2020/05/28 美國 63/031,453
2020/12/10 美國 63/123,581

(71)申請人：美商宏觀基因股份有限公司 (美國) MACROGENICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：蘇姆羅 布萊德利 詹姆士 SUMROW, BRADLEY JAMES (US)；拉莫特莫斯 羅斯 LA MOTTE-MOHS, ROSS (US)；微吉頓 強 瑪克 WIGGINTON, JON MARC (US)；波維尼 愛利歐 BONVINI, EZIO (US)；摩爾 保羅 MOORE, PAUL A. (GB)；寇尼格 史考特 KOENIG, SCOTT (US)；張霄瑜 ZHANG, XIAOYU (CN)

(74)代理人：李文賢；盧建川

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：45 項 圖式數：15 共 244 頁

(54)名稱

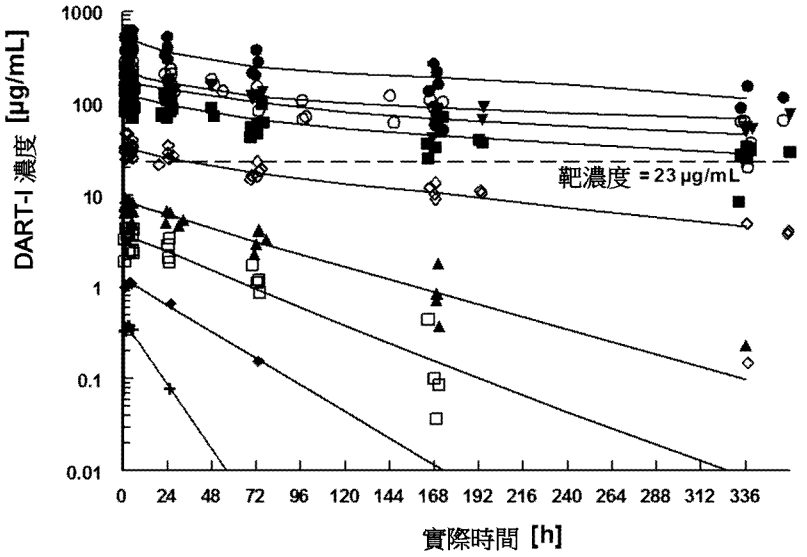
用於治療癌症的療法

(57)摘要

本發明涉及用於單獨或與結合腫瘤抗原(TA)的基於抗體的分子組合施用一種或多種結合 PD-1 或 PD-L1 和 LAG-3 的基於抗體的分子(例如，PD-1 x LAG-3 雙特異性分子)的用於治療癌症的方案。本發明尤其關注結合 PD-1 x LAG-3 雙特異性分子的這種方案的用途。本發明涉及這種分子的用途，以及涉及含有這種分子且促進這種給藥方案在治療癌症中的使用的藥物組合物和藥物試劑盒的用途。

The present invention is directed to regimens for administering one or more Antibody-Based Molecules that bind PD-1 or PD-L1, and LAG-3 (e.g., a PD-1 x LAG-3 bispecific molecule) alone, or in combination with an Antibody-Based Molecule that binds a Tumor Antigen (TA) for the treatment of cancer. The invention particularly concerns the use of such regimens in conjunction with PD-1 x LAG-3 bispecific molecules. The invention is directed to the use of such molecules, and to the use of pharmaceutical compositions and pharmaceutical kits that contain such molecules and that facilitate the use of such dosing regimens in the treatment of cancer.

指定代表圖：



+ 1 MG (N=1); ◆ 3 MG (N=1); □ 10 MG (N=4); ▲ 30 MG (N=5);
◊ 120 MG (N=6); ■ 400 MG (N=9); ○ 600 MG (N=8)
▼ 800 MG (N=7); ● 1200 MG (N=4)

圖 2

202138387

【發明摘要】

【中文發明名稱】　用於治療癌症的療法

【英文發明名稱】　Therapy for the Treatment of Cancer

【中文】

本發明涉及用於單獨或與結合腫瘤抗原(TA)的基於抗體的分子組合施用一種或多種結合PD-1或PD-L1和LAG-3的基於抗體的分子(例如，PD-1 x LAG-3雙特異性分子)的用於治療癌症的方案。本發明尤其關注結合PD-1 x LAG-3雙特異性分子的這種方案的用途。本發明涉及這種分子的用途，以及涉及含有這種分子且促進這種給藥方案在治療癌症中的使用的藥物組合物和藥物試劑盒的用途。

【英文】

The present invention is directed to regimens for administering one or more Antibody-Based Molecules that bind PD-1 or PD-L1, and LAG-3 (*e.g.*, a PD-1 x LAG-3 bispecific molecule) alone, or in combination with an Antibody-Based Molecule that binds a Tumor Antigen (TA) for the treatment of cancer. The invention particularly concerns the use of such regimens in conjunction with PD-1 x LAG-3 bispecific molecules. The invention is directed to the use of such molecules, and to the use of pharmaceutical compositions and pharmaceutical kits that contain such molecules and that facilitate the use of such dosing regimens in the treatment of cancer.

【指定代表圖】　圖2

【代表圖之符號簡單說明】　無

【特徵化學式】　無

【發明說明書】

【中文發明名稱】　用於治療癌症的療法

【英文發明名稱】　Therapy for the Treatment of Cancer

【技術領域】

[相關申請的交叉引用]

【0001】　本申請案主張美國專利申請序號63/031,453 (在2020年5月28日提交；申請中)、63/021,556 (2020年5月7日提交；申請中)、63/019,857 (2020年5月4日提交；申請中)、62/952,878 (2019年12月23日提交；申請中)和62/952,859 (2019年12月23日提交；申請中)的優先權，其中每個申請均通過引用方式全部併入本文。

[序列表的引用]

【0002】　按照37 C.F.R. 1.821以及下面條款，本申請案包括一個或多個序列表，其以電腦可讀介質(檔案名：1301_0166PCT_ST25.txt，創建於2020年12月10日，並且大小為69,999個位元組)公開，該檔通過引用方式全部併入本文。

【0003】　本發明本發明涉及用於單獨或與結合腫瘤抗原(TA)的基於抗體的分子組合施用一種或多種結合PD-1或PD-L1和LAG-3的基於抗體的分子(例如，PD-1 x LAG-3雙特異性分子)的用於治療癌症的方案。本發明尤其關注結合PD-1 x LAG-3雙特異性分子的這種方案的用途。本發明涉及這種分子的用途，以及涉及含有這種分子且促進這種給藥方案在治療癌症中的使用的藥物組合物和藥物試劑盒的用途。

【先前技術】

[本發明的背景]

I. 細胞-介導免疫應答

【0004】 T-細胞最佳介導針對抗原的免疫應答的能力需要兩個不同的信號傳導相互作用(Viglietta, V. 等(2007) "*Modulating Co-Stimulation*," Neurotherapeutics 4:666-675; Korman, A.J.等(2007) "*Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy*," Adv. Immunol. 90:297-339)。首先，已經排列在抗原呈遞細胞(APC)的表面上的抗原必須被呈遞給抗原特異性初始(naïve) $CD4^+$ T-細胞。這種呈遞經T-細胞受體(TCR)遞送信號，其指導T-細胞啟動將對呈遞的抗原具有特異性的免疫應答。其次，通過APC和不同的T-細胞表面分子之間的相互作用介導的一系列刺激和抑制信號首先觸發T-細胞的啟動和增殖並且最終觸發它們抑制。因此，第一信號賦予對免疫應答的特異性而第二信號用於確定反應的特性、強度和持續時間。免疫應答由通常被稱為"免疫檢查點"的共刺激和共抑制配體和受體嚴格控制(Chen *et al.*, (2013) "*Molecular Mechanisms of T Cell Co-Stimulation And Co-Inhibition*," Nature Rev. Immunol. 13:227-242; Pardoll, D.M., (2012) "*The Blockade Of Immune Checkpoints In Cancer Immunotherapy*," Nat. Rev. Cancer 12(4):252-264)。這些分子提供用於T-細胞啟動的第二信號並且提供正和負信號的平衡網路，其調節免疫應答以提供針對感染和癌症的保護。然而，一些癌細胞能夠通過引起T-細胞耗竭的狀態逃避免疫系統，其中T-細胞暴露於持久性抗原和/或炎症性信號(Wherry E.J. (2010) "*T Cell Exhaustion*," Nat. Immunol. 12(6):492-499)。兩個免疫檢查點分子涉及T-細胞耗竭、程式性死亡-1 ("PD-1")和淋巴細胞啟動基因3 ("LAG-3") (Wherry, J.E. (2015) "*Molecular And Cellular*

Insights Into T Cell Exhaustion," Nat. Rev. Immunol. 15(8):486-499)，其在以下更詳細地描述。

II. 程式性死亡-1 ("PD-1")

【0005】 程式性死亡-1 ("PD-1"，也稱為 "CD279")是在啟動的T-細胞、B-細胞和單核細胞的表面上表達的免疫檢查點蛋白質。其是T-細胞調節劑的擴展的CD28/CTLA-4家族的近似31 kD類型I膜蛋白質成員，廣泛地負調節免疫應答(Ishida, Y.等(1992) "*Induced Expression Of PD-1, A Novel Member Of The* Immunoglobulin *Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death*," EMBO J. 11:3887-3895; US Patent Publication Nos. 2007/0202100; 2008/0311117; and 2009/00110667; US Patent Nos. 6,808,710; 7,101,550; 7,488,802; 7,635,757; and 7,722,868; PCT Publication No. WO 01/14557)。PD-1通過結合至跨膜蛋白質配體：程式性死亡-配體1 ("PD-L1"，也稱為 "B7-H1")和程式性死亡-配體12 ("PD-L2"，也稱為 "B7-DC")介導其抑制免疫系統(Flies, D.B.等(2007) "*The New B7s: Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity*," J. Immunother. 30(3):251-260; US Patent Nos. 6,803,192 and 7,794,710; US Patent Publication Nos. 2005/0059051; 2009/0055944; and 2009/0274666; 2009/0313687; PCT Publication Nos. WO 01/39722 and WO 02/086083)。在正常情況下，免疫檢查點蛋白質用作抑制過度啟動的T細胞的作用靶，並且因此用作保護自身免疫損傷。然而，當其配體由腫瘤細胞表達時，結合用於阻止免疫系統細胞接近腫瘤，並且因此減弱免疫系統對識別和破壞腫瘤細胞的能力(Tan, S.等(2020) "*Cancer Immunotherapy: Pros, Cons And Beyond*," Biomed. Pharmacother. 124:109821:1-11)。因此，腫瘤細胞上PD-L1的過度表達通常與不良的預後相關。

【0006】 PD-1配體相互作用在抑制T-細胞啟動和增殖中作用已經提示這些生物分子可用作炎症和癌症的治療的治療靶。因此，已經提出使用對PD-1和其配體，尤其是PD-L1的抗體來治療感染和腫瘤且上調適應性免疫應答(參見Chocarro de Erauso, L. (2020) "*Resistance to PD-L1/PD-1 Blockade Immunotherapy. A Tumor-Intrinsic or Tumor-Extrinsic Phenomenon?*," Front. Pharmacol. 11:441:1-13; Jiang, Y.等(2020) "*Progress and Challenges in Precise Treatment of Tumors With PD-1/PD-L1 Blockade*," Front. Immunol. 11:339:1-7; Han, Y.等(2020) "*PD-1/PD-L1 Pathway: Current Research In Cancer*," Am. J. Cancer Res. 10(3):727-742, US Patent Publication Nos. 2010/0040614; 2010/0028330; 2004/0241745; 2008/0311117; and 2009/0217401; US Patent Nos. 7,521,051; 7,563,869; and 7,595,048; PCT Publication Nos. WO 2004/056875 和 WO 2008/083174)。已經報告了能夠特異性結合至PD-1和PD-L1的抗體 (參見例如Agata, T.等(1996) "*Expression Of The PD-1 Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes*," Int. Immunol. 8(5):765-772; and Berger, R.等(2008) "*Phase I Safety And Pharmacokinetic Study Of CT-011, A Humanized Antibody Interacting With PD-1, In Patients With Advanced Hematologic Malignancies*," Clin. Cancer Res. 14(10):3044-3051; US Patent Nos. 8,008,449和8,552,154; US Patent Publication Nos. 2007/0166281; 2012/0114648; 2012/0114649; 2013/0017199; 2013/0230514 and 2014/0044738; and PCT Patent Publication Nos. WO 2003/099196; WO 2004/004771; WO 2004/056875; WO 2004/072286; WO 2006/121168; WO 2007/005874; WO 2008/083174; WO 2009/014708; WO 2009/073533; WO 2012/135408, WO 2012/145549和WO 2013/014668)。

III. 淋巴細胞啟動基因3 ("LAG-3")

【0007】 淋巴細胞啟動基因3 ("LAG-3"，也稱為 "CD223")是由啟動的$CD4^+$和$CD8^+$ T-細胞和NK細胞表達，並且由漿細胞樣樹突細胞結構性表達的細胞-表面受體蛋白質；LAG-3不由B-細胞、單核細胞或任何其他測試的細胞類型表達(Workman, C.J.等(2009) "*LAG-3 Regulates Plasmacytoid Dendritic Cell Homeostasis*," J. Immunol. 182(4):1885-1891)。

【0008】 研究已經顯示LAG-3在負調節T-細胞增殖、功能和穩態中和在T-細胞耗竭中起重要的作用(Workman, C.J.等(2002) "*Cutting Edge: Molecular Analysis Of The Negative Regulatory Function Of Lymphocyte Activation Gene-3*," J. Immunol. 169:5392-5395; Workman, C.J.等(2003) "*The CD4-Related Molecule, LAG-3 (CD223) Regulates The Expansion Of Activated T-Cells*," Eur. J. Immunol. 33:970-979; Workman, C.J. (2005) "*Negative Regulation Of T-Cell Homeostasis By Lymphocyte Activation Gene-3 (CD223)*," J. Immunol. 174:688-695; Hannier, S.等(1998) "*CD3/TCR Complex-associated Lymphocyte Activation Gene-3 Molecules Inhibit CD3/TCR Signaling*," J. Immunol. 161:4058-4065, Blackburn, S.D.,等(2009) "*Coregulation of CD8+ T Cell Exhaustion By Multiple Inhibitory Receptors During Chronic Viral Infection*" Nature Immunol. 10: 29-37)。

【0009】 研究已經提示通過抗體阻斷抑制LAG-3功能可逆轉LAG-3-介導免疫系統抑制和部分恢復效應子功能(Grosso, J.F.等(2009) "*Functionally Distinct LAG-3 and PD-1 Subsets on Activated and Chronically Stimulated CD8 T-Cells*," J. Immunol. 182(11):6659-6669; Grosso, J.F.等(2007) "*LAG-3 Regulates $CD8^+$ T-Cell Accumulation And Effector Function During Self And Tumor Tolerance*," J. Clin. Invest. 117:3383-3392). Antibodies capable of specifically binding to LAG-3 have

been reported (see, *e.g.*, PCT Publication Nos. WO 2014/140180, WO 2015/138920, WO 2015/116539, WO 2016/028672, WO 2016/126858, WO 2016/200782和WO 2017/015560)。

IV. 雙特異性分子

【0010】 提供雙特異性分子(例如，雙特異性抗體、雙特異性雙抗體等)提供了優於單特異性天然抗體的顯著優勢：共連接和共定位表達不同表位的細胞的能力。因此，雙特異性分子具有包括療法的廣泛應用。雙特異性允許在各種應用中的設計和工程化中有極大靈活性，提供增強對多聚體抗原親和性，不同抗原的交聯，並且依賴於兩種靶抗原存在直接靶向特定的細胞類型。PD-1 x LAG-3雙特異性分子用於癌症和/或與病原體相關的疾病的治療在PCT公開號WO 2015/200119、WO 2017/025498、WO 2018/083087、WO 2018/185043、WO 2018/134279和WO 2018/217940中描述。具體地， PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體具有新的PD-1-和LAG-3-結合結構域和示例性活性在WO 2017/019846中描述。

V. 腫瘤抗原

【0011】 腫瘤抗原(“TA”)包括細胞膜蛋白質，其僅存在於腫瘤細胞和而不存在於任何其他細胞上(即，腫瘤-特異性抗原)，或特徵性存在於腫瘤細胞上，但也存在於某些正常細胞上(即，**腫瘤相關抗原**)。腫瘤抗原可被抗體靶向並且用於刺激免疫系統的細胞以克服腫瘤逃避，並且在腫瘤監視和清除中起新的作用(Tan, S.等(2020) “*Cancer Immunotherapy: Pros, Cons And Beyond*,” Biomed. Pharmacother. 124:109821:1-11; Finn, O.J. (2017) “*Human Tumor Antigens Yesterday, Today, and Tomor Row*,” Cancer Immunol. Res. 5(5):347-354; Barros, L.等(2018) “*Immunological-Based Approaches For Cancer Therapy*,” Clinics 73(suppl

1):e429s:1-11; Smith, C.C.等(2019) "*Alternative Tumour-Specific Antigens*," Nat. Rev. Cancer 19(8):465-478; Ehx, G.等(2019) "*Discovery And Characterization Of Actionable Tumor Antigens*," Genome Med. 11:29:1-3)。

【發明內容】

【0012】 本文提供了能夠更積極地指導身體的免疫系統來攻擊癌細胞的方案。儘管適應性免疫系統可以是針對癌症和疾病的有效的防禦機制，其通常受腫瘤微環境中由PD-1/PD-L1相互作用或由LAG-3抑制活性介導的免疫抑制/逃避機制的阻礙。如本文提供的，這種免疫抑制/逃避機制可通過施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子克服。如本文進一步提供的，PD/PD-L1和LAG-3檢查點途徑的雙重檢查點抑制可與TA-結合分子的的抗腫瘤活性(特別地具有增強ADCC活性的一種)協同作用。

【0013】 本發明本發明涉及用於單獨或與結合腫瘤抗原(TA)的基於抗體的分子組合施用一種或多種結合PD-1或PD-L1和LAG-3的基於抗體的分子(例如，PD-1 x LAG-3雙特異性分子)的用於治療癌症的方案。本發明尤其關注結合PD-1 x LAG-3雙特異性分子的這種方案的用途。本發明涉及這種分子的用途，以及涉及含有這種分子且促進這種給藥方案在治療癌症中的使用的藥物組合物和藥物試劑盒的用途。

【0014】 本發明特別地關注包括施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子給需要其的受試者的治療癌症的方法，其中方法包括以約120 mg至約800 mg的固定劑量施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子給受試者。

【0015】 本發明另外關注這種方法的實施方式，其中癌症特徵在於腫瘤抗原(TA)的表達，並且其中方法進一步包括施用腫瘤抗原(TA)結合分子(TA-結合分子)給受試者。

【0016】 本發明進一步關注治療受試者的癌症的方法，其中癌症特徵在於TA的表達，方法包括施用給受試者TA-結合分子和：

(a) 雙特異性PD-1 x LAG-3雙特異性分子；或

(b) 免疫特異性結合PD-1的分子(PD-1-結合分子)與免疫特異性結合LAG-3的分子(LAG-3-結合分子)組合；或

(c) 免疫特異性結合PD-L1和LAG-3二者的雙特異性分子(PD-L1 x LAG-3雙特異性分子)；或

(d) 免疫特異性結合PD-L1的分子(PD-L1-結合分子)與LAG-3-結合分子組合。

【0017】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中TA-結合分子包括ADCC-增強的Fc結構域。

【0018】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中：

(a) 每個分子在不同的組合物中；或

(b) 每個分子在相同的組合物中；或

(c) PD-1-結合分子和LAG-3-結合分子在相同的組合物中，並且TA-結合分子在不同的組合物中；或

(d) PD-L1-結合分子和LAG-3-結合分子在相同的組合物中，並且TA-結合分子在不同的組合物中。本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中TA-結合分子是抗體。

【0019】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中PD-1-結合分子是抗體、PD-L1-結合分子是抗體和LAG-3-結合分子是抗體。

【0020】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中方法包括施用TA-結合分子和PD-1 x LAG-3雙特異性分子。

【0021】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中ADCC-增強的Fc結構域包括：

(A) 工程化的糖型；和/或

(B) 相對於野生型Fc區的氨基酸替換。

【0022】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中ADCC-增強的Fc結構域包括：

(A) 工程化的糖型，其是不含有岩藻糖的複合的N-糖苷連接的糖鏈，和/或其包括平分O-GlcNAc；和/或

(B) 包括選自由下述組成的組中的氨基酸替換：

(a) 選自由下述組成的組中的一個替換：

F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L；

(b) 選自由下述組成的組中的兩個替換：

(1) F243L和P396L；

(2) F243L和R292P；

(3) R292P和V305I；和

(4) S239D和I332E；

(c) 選自由下述組成的組中的三個替換：

(1) F243L、R292P和Y300L；

(2) F243L、R292P和V305I；

(3) F243L、R292P和P396L；和

(4) R292P、V305I和P396L；

(d) 選自由下述組成的組中的四個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L和P396L；和

(2) F243L、R292P、V305I和P396L；或

(e) 選自由下述組成的組中的五個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L；和

(2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，

其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

【0023】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中ADCC-增強的Fc結構域包括氨基酸替換：L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

【0024】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中：

(A) TA選自**表6A**或**表6B**；和/或

(B) TA-結合分子包括選自**表7**的抗體的VL和VH結構域。

【0025】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中：

(A) PD-1-結合分子是抗體，其包括：

(a) 包括**SEQ ID NO:35**的氨基酸序列的PD-1 VL結構域和包括**SEQ ID NO:39**的氨基酸序列的PD-1 VH結構域；

(b) 選自**表1**的抗PD-1抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表1**的抗PD-1抗體的輕鏈和重鏈；

(B) PD-L1-結合分子是抗體，其包括：

(a) 包括**SEQ ID NO:43**的氨基酸序列的PD-L1 VL結構域和包括**SEQ ID NO:47**的氨基酸序列的PD-L1 VH結構域；

(b) 選自**表2**的抗PD-L1抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表2**的抗PD-L1抗體的輕鏈和重鏈；和

(C) LAG-3-結合分子是抗體，其包括：

(a) 包括**SEQ ID NO:51**的氨基酸序列的LAG-3 VL結構域和包括**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的LAG-3 VH結構域；

(b) 選自**表3**的抗LAG-3抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表3**的抗LAG-3抗體的輕鏈和重鏈。

【0026】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) 包括**SEQ ID NO:35**的氨基酸序列的PD-1 VL結構域和包括**SEQ ID NO:39**的氨基酸序列的PD-1 VH結構域，或選自**表1**的抗PD-1抗體的VH和VL結構域；和/或

(b) 包括**SEQ ID NO:51**的氨基酸序列的LAG-3 VL結構域和包括**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的LAG-3 VH結構域，或選自**表3**的抗LAG-3抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表4-5**的基於雙特異性抗體的分子。

【0027】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) 兩個PD-1-結合結構域；和

(b) 兩個LAG-3-結合結構域。

【0028】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:35**的PD-1 VL結構域、**SEQ ID NO:39**的PD-1 VH結構域、**SEQ ID NO:51**的LAG-3 VL結構域和**SEQ ID NO:55**的LAG-3 VH結構域。

【0029】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中一種PD-1 x LAG-3雙特異性分子或多種PD-L1 x LAG-3雙特異性分子包括Fc區和鉸鏈結構域，和實施方式，其中Fc區和鉸鏈結構域都是IgG4同種型，並且其中鉸鏈結構域包括穩定化突變。

【0030】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中Fc區是變體Fc區，其包括：

(a) 降低變體Fc區對Fc γ R的親和力的一個或多個氨基酸修飾；和/或

(b) 提高變體Fc區的血清半衰期的一個或多個氨基酸修飾。

【0031】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中：

(a) 降低變體Fc區對Fc γ R的親和力的修飾包括L234A；L235A；或L234A和L235A的替換；和

(b) 提高變體Fc區的血清半衰期的修飾包括M252Y；M252Y和S254T；M252Y和T256E；M252Y、S254T和T256E；或K288D和H435K的替換，

其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

【0032】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:59**的兩條多肽鏈和**SEQ ID NO:60**的兩條多肽鏈。

【0033】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中一種PD-1 x LAG-3雙特異性分子或多種PD-L1 x LAG-3雙特異性分子以約300 mg的固定劑量施用，和實施方式，其中一種PD-1 x LAG-3雙特異性分子或多種PD-L1 x LAG-3雙特異性分子以約600 mg的固定劑量施用。

【0034】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中固定劑量以約每2週一次施用，和實施方式，其中約每3週一次施用固定劑量。

【0035】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中以約600 mg的固定劑量約每2週一次施用一種PD-1 x LAG-3雙特異性分子或多種PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

【0036】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中以約600 mg的固定劑量約每3週一次施用一種PD-1 x LAG-3雙特異性分子或多種PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

【0037】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中一種PD-1 x LAG-3雙特異性分子或多種PD-L1 x LAG-3雙特異性分子通過靜脈內(IV)輸注施用。

【0038】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中癌症選自由下述組成的組中：腎上腺癌、AIDS相關的癌、肺泡狀軟組織肉瘤、肛門癌(包括肛管鱗狀細胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、腦和脊髓癌、乳腺癌(包括HER2+乳腺癌或三陰性乳腺癌(TNBC))、頸動脈體瘤、子宮頸癌(包括HPV相關的子宮頸癌)、軟骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性腎細胞癌、透明細胞癌、結腸癌、結直腸癌、增生性小圓形細胞腫瘤、室管膜細胞瘤、子宮內膜癌(包括非選擇性子宮內膜癌、MSI高子宮內膜癌、dMMR子宮內膜癌和/或POLE核酸外切酶結構域突變陽性子宮內

膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液樣軟骨肉瘤、膽囊或膽道癌(包括膽管癌膽道癌)、胃癌、胃食管交界處(GEJ)癌、妊娠滋養細胞疾病、生殖細胞瘤、膠質母細胞瘤、頭頸癌(包括頭頸的鱗狀細胞癌(SCCHN))、血液系統惡性腫瘤、肝細胞癌、胰島細胞瘤、卡波西氏肉瘤、腎癌、白血病(包括、急性髓樣白血病)、脂肪肉瘤/惡性脂肪瘤、肝癌(包括肝細胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小細胞肺癌(SCLC)、非-小細胞肺癌(NSCLC))、成神經管細胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、腦膜瘤、默克爾細胞癌、間皮瘤(包括間皮咽癌)、多發性內分泌腫瘤、多發性骨髓瘤、骨髓增生異常綜合征、成神經細胞瘤、神經內分泌腫瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲狀腺乳頭狀癌、甲狀旁腺腫瘤、兒科癌症、周圍神經鞘腫瘤、咽癌、嗜鉻細胞瘤、垂體腫瘤、前列腺癌(包括轉移性去勢抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜後黑素瘤、腎轉移癌、橫紋肌樣瘤、橫紋肌肉瘤、肉瘤、皮膚癌、童年期的小圓形藍細胞瘤(包括成神經細胞瘤和橫紋肌肉瘤)、軟組織肉瘤、鱗狀細胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲狀腺癌和子宮癌。

【0039】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中癌症選自由下述組成的組中：肛門癌、乳腺癌、膽道癌、子宮頸癌、結直腸癌、子宮內膜癌、胃癌、GEJ癌症、頭頸癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌和前列腺癌。

【0040】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中癌症選自由下述組成的組中：$HER2^+$乳腺癌、TNBC、膽管癌膽道癌、HPV相關的子宮頸癌、SCCHN、HCC、SCLC或NSCLC、NHL、前列腺癌、胃癌和GEJ癌症。

【0041】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中TA-結合分子是HER2-結合分子，其包括包含輕鏈可變結構域(VL_{HER2})和重鏈可變結構域(VH_{HER2})的HER2-結合結構域，其中：

(A) 輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括馬格妥昔單抗(margetuximab)的輕鏈可變結構域，其包括**SEQ ID NO:61的**CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3，和重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括馬格妥昔單抗的重鏈可變結構域，其包括**SEQ ID NO:66的**CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3；

(B) 輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括曲妥珠單抗(trastuzumab)的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3和重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括曲妥珠單抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3；

(C) 輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括培妥珠單抗(pertuzumab)的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3和重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括培妥珠單抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3；或

(D) 輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3和重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

【0042】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中HER2-結合分子是抗HER2抗體。

【0043】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中抗HER2抗體是馬格妥昔單抗，並且方法包括以約6 mg/kg至約18 mg/kg的劑量約每3週一次施用馬格妥昔單抗。

【0044】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中方法進一步包括施用化療劑。

【0045】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中癌症是表達HER2的癌症，和特別地，其中，其中表達HER2的癌症選自由下述組成的組中：乳腺癌、轉移乳腺癌、膀胱癌、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌和胃癌。

【0046】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中TA-結合分子是B7-H3-結合分子，其包括包含輕鏈可變結構域(VL)和重鏈可變結構域(VH)的B7-H3-結合結構域，其中：

VL包括**SEQ ID NO:71**的CDR_L1，CDR_L2和CDR_L3，和VH包括**SEQ ID NO:76**的CDR_H1，CDR_H2和CDR_H3。

【0047】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中TA-結合分子是依諾妥珠單抗(enoblituzumab)，並且方法包括以約6 mg/kg至約18 mg/kg的劑量約每3週一次施用依諾妥珠單抗。

【0048】 如請求項2-33或40-41的任一項的方法，其中癌症是表達B7-H3的癌症，和特別地其中表達B7-H3的癌症選自由下述組成的組中：肛門癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、頭頸癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、前列腺癌和mCRPC。

【0049】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中TA-結合分子通過靜脈內(IV)輸注施用。

【0050】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中在治療之前，癌症的活檢中存在表達LAG-3的細胞，和實施方式，其中在治療之前，癌症的活檢中存在表達PD-1的細胞。

【0051】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中在治療之前，癌症的活檢中LAG-3和PD-1的共表達指示這種患者是這種方法的候選者，和實施方式，其中表達是基因表達。

【0052】 本發明另外關注以上描述的方法的實施方式，其中在治療之前，癌細胞的表面上PD-L1表達如使用聯合陽性評分(CPS)或腫瘤比例評分(TPS)確定的小於1%。

【圖式簡單說明】

【0053】 **圖1**提供了顯示具有由兩對多肽鏈(即，總共四條多肽鏈)組成的四個表位結合位點的代表性共價結合的四價雙抗體的示意圖。每對的一條多肽具有E-螺旋異源二聚體促進結構域和每對的另一多肽具有K-螺旋異源二聚體促進結構域。如顯示，半胱氨酸殘基可存在於連接體中和/或異源二聚體促進結構域中。每對的一條多肽具有連接體，其包括半胱氨酸(該連接體可包括全部或部分鉸鏈區)和CH2和/或CH3結構域，使得相關的鏈形成全部或部分Fc區。識別相同表位元的VL和VH結構域使用相同陰影或填充圖案顯示。在這種實施方式中，其中兩對多肽鏈是相同的並且VL和VH結構域識別不同表位元(如顯示的)，所得分子擁有四個表位結合位點，並且相對於每個結合表位是雙特異性且二價的。可替選地，在這種實施方式中，其中兩個對多肽可是不同的，並且每對多肽的VL和VH結構域識別不同表位元，所得分子擁有四個表位結合位點，並且相對於每個結合表位是四特異性且單價的。

【0054】 **圖2**顯示1 mg至1200 mg的劑量範圍內PD-1 x LAG-3雙特異性分子，DART-I的觀察的和模型擬合的PK圖。符號表示個體患者中觀察的資料並且

實線表示劑量組的模型擬合中值曲線。水準虛線表示基於用其他PD-1靶向劑的臨床經驗的目標閾值濃度。

【0055】 **圖3A-3D**繪製了在第1週期(**圖3A**和**3B**)或第2週期(**圖3C**和**3D**)的第1天，在結束施用DART-I處和在施用那個週期的下一劑量之前，PD-1 x LAG-3雙特異性分子，DART-I對CD4+細胞(**圖3A**和**3C**)和CD8+細胞(**圖3B**和**3D**)的平均(SD)受體佔有率(RO)百分比。EOI = 在施用第1週期或第2週期的第一劑量之後輸注結束。PRE = 在施用第1週期或第2週期的下一劑量之前的預劑量。缺失誤差線指示N=1。

【0056】 **圖4A-4C**顯示使用Q2W (**圖4A**)、Q3W (**圖4B**)和Q4W (**圖3C**)方案，施用400、600、800、1000和1200 mg固定劑量的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，DART-I的模擬的多劑量中值PK圖。頂部水準虛線表示基於用其他PD-1靶向劑的臨床經驗的23 μg/mL的目標閾值穀濃度、中間水準虛線表示RO EC_{50} x 100和底部水準虛線表示RO EC_{50} x 10。

【0057】 **圖5**代表通過腫瘤類型用PD-1 x LAG-3雙特異性分子，DART-I治療的可評估應答的種群(cohort)擴展患者之中靶病灶減少的百分比的瀑布圖(繪製為從基線改變%)。

【0058】 **圖6A-6E**繪製了來自回顧性免疫組織化學測定法的LAG-3和PD-L1評分。來自TNBC、EOC和NSCLC種群的個體患者LAG-3 (**圖6A**)和PD-L1 (**圖6B**)評分從高到低的順序繪製。來自TNBC、EOC和NSCLC種群的聚集LAG-3評分通過臨床應答繪製(**圖6C**)。來自DLBCL種群的個體患者LAG-3 (**圖6D**)評分從高到低的順序繪製，以下提供了PD-L1評分。來自DLBCL種群的聚集LAG-3

通過臨床應答繪製(**圖6E**)。PR=部分應答；SD=穩定疾病；PD=進行性疾病；CR=完全應答。

【0059】 **圖7**繪製了來自回顧性NanoString PanCancer IO 360™測定法的LAG-3與PD-1 (PDCD1)的基因表達。癌症類型如以下指示：圓形(●) = NSCLC；菱形(♦) = P-NSCLC；三角形(▲) = EOC；和正方形(■) = TNBC。臨床應答如以下指示："R" =應答者(部分應答)；"P" =進行性疾病；"S" =穩定疾病；並且單獨的符號指示未知/不確定。

【0060】 **圖8**繪製了通過臨床應答(PR – 部分應答；SD –穩定疾病；PD – 進行性疾病)的來自回顧性NanoString PanCancer IO 360™測定法的IFN-γ基因簽名評分。癌症類型如以下指示：圓形(●) = NSCLC；菱形(♦) = P-NSCLC；三角形(▲) = EOC；和正方形(■) = TNBC。

【0061】 **圖9**代表了比較通過暴露於具有ADCC-增強的Fc結構域或野生型Fc結構域的TA-結合分子調節的NK細胞表面上檢查點分子表達的變化。在緩衝劑(-)、馬格妥昔單抗(具有ADCC-增強的Fc結構域的抗HER2抗體)或曲妥珠單抗(具有野生型Fc結構域的抗HER2)每種以0.005 μg/ml或0.05 μg/ml存在的情況下，來自用N87 HER2+靶細胞孵育的PBMC的NK細胞上CD137 (頂部箭頭)、LAG-3 (第二箭頭)、PD-1 (第三箭頭)和PD-L1 (底部箭頭)的表達的流式細胞術分析。指示了陽性細胞(盒裝的)的百分比。

【0062】 **圖10**顯示通過暴露於具有ADCC-增強的Fc結構域或野生型Fc結構域的TA-結合分子預調節的PMBC的細胞毒性。繪製了主要由用馬格妥昔單抗0.005 μg/ml或0.05 μg/ml (空心和實心方塊)、曲妥珠單抗0.005 μg/ml或0.05 μg/ml

(空心和實心三角形)和緩衝液(實心圈)預調節的NK細胞介導的朝向K562靶細胞的細胞毒性曲線。

【0063】 **圖11**代表了比較通過暴露於具有ADCC-增強的Fc結構域的TA-結合分子調節的NK細胞、單核細胞、$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞表面上檢查點分子表達的變化。在馬格妥昔單抗(具有ADCC-增強的Fc結構域的抗HER2抗體)或對照抗體各自以0.5 μg/ml存在的情況下，用N87 HER2+靶細胞孵育的PBMC中存在不同免疫細胞類型上LAG-3 (頂部箭頭)、PD-1 (第二箭頭)、PD-L1 (第三箭頭)和CD137 (底部箭頭)表達的流式細胞術分析。指示了陽性細胞(盒裝的)的百分比。

【0064】 **圖12**顯示了在針對K562靶細胞的抗PD-1抗體(瑞弗利單抗(retifanlimab))或PD-1 x LAG3雙特異性分子(DART-I) (主要由NK細胞介導的細胞毒性)存在或不存在的情況下，用具有ADCC-增強的Fc結構域(馬格妥昔單抗)或野生型Fc結構域(曲妥珠單抗)的TA-結合分子預調節的PBMC的細胞毒性。

【0065】 **圖13**顯示了在針對K562 (HER2 negative)或N87 ($HER2^{+++}$)靶細胞的PD-1 x LAG3雙特異性分子(DART-I) (主要由NK細胞介導的細胞毒性)存在或不存在的情況下，用ADCC-增強的TA-結合分子(馬格妥昔單抗)或對照預調節的PBMC的細胞毒性。

【0066】 **圖14**顯示了用PD-1 x LAG-3雙特異性分子，DART-I和ADCC-增強的TA-結合分子，馬格妥昔單抗治療的28位可評估的患者的初步臨床結果的瀑布圖。指示了腫瘤類型。實心柱表示接收600 mg DART-I + 15 mg mg/kg的患者的反應；條形柱表示接收300 mg的DART-I + 15 mg/kg的患者的反應。

【0067】 **圖15A-15C**繪製了用馬格妥昔單抗和DART-I治療的種群中來自19種基線活檢樣品的LAG3和PD-1 (PDCD1)的基線基因表達。基線處雙重

LAG3/PDCD1表達在**圖15A**中繪製。繪製了基線與目標病灶的變化%處LAG-3(**圖15B**)和PDCD1 (**圖15C**)表達。CR =完全應答；PR = 部分應答；SD =穩定疾病；PD =進行性疾病。

【實施方式】

【0068】 本發明涉及單獨或與結合腫瘤抗原(TA)的基於抗體的分子組合施用一種或多種結合PD-1或PD-L1和LAG-3的基於抗體的分子(例如，PD-1 x LAG-3雙特異性分子)的用於治療癌症的方案。本發明尤其關注結合PD-1 x LAG-3雙特異性分子的這種方案的用途。本發明涉及這種分子的用途，以及涉及含有這種分子且促進這種給藥方案在治療癌症中的使用的藥物組合物和藥物試劑盒的用途。

I. 抗體和基於抗體的分子

【0069】 抗體是免疫球蛋白分子，其含有能夠通過位於這種免疫球蛋白分子的可變區中的至少一個“**表位元-結合結構域**”免疫特異性結合至分子的靶區域(“**表位元**”) (比如腫瘤抗原**(“TA”)的**表位、PD-1的表位、PD-L1的表位或LAG-3的表位)的表位元-結合結構域。這種分子可以是任何同種型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)，類別(例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1和IgA_2)或亞類。

【0070】 如本文使用的，術語“**抗體**” (“**antibody**”)和“**多種抗體**” (“**antibodies**”)旨在包括單克隆抗體、多特異性抗體、人抗體、人源化抗體、合成抗體、嵌合抗體、多克隆抗體和駱駝源化抗體(camelized antibodies)。如本文使用的，術語“**基於抗體的分子**”旨在指完全的或完整的抗體分子和不完全的或完整的抗體的分子，但包括抗體的表位元-結合結構域(例如，單鏈Fvs (scFv) ，單

鏈抗體，Fab片段，F(ab')片段，二硫鍵連接的雙特異性Fvs (sdFv) ，胞內抗體，雙抗體，包括抗體的VL、VH或VL和VH結構域的分子和包括1個、2個或3個抗體的輕鏈CDR結構域，1個、2個或3個抗體的重鏈CDR結構域，任何1個、2個、3個、4個或5個抗體的輕鏈和重鏈CDR結構域或全部6個抗體的輕鏈和重鏈CDR結構域的分子)。這種基於抗體的分子可以是融合蛋白，其包括另外組分，例如，肽連接體、二聚化結構域等。

【0071】 由於這種表位元-結合結構域的存在，本發明的基於抗體的分子能夠"**免疫特異性結合**"至表位。如本文使用的，如果其相對於可替選的表位(例如含有1個、2個、3個或大於3個氨基酸替換的變體表位，或具有小於50%同一性或不相關的多肽)更頻繁地，更快速地反應或締合、與表位具有更長持續時間和/或具有更大親和力或親合力，則認是抗體或其表位-結合片段"**免疫特異性**"結合另一分子的區域(即，表位元)。還可通過閱讀該定義理解，例如，免疫特異性結合第一靶的基於抗體的分子可以或不可以免疫特異性或優選地結合至第二靶。含有表位的分子可具有免疫原性活性，使得其在動物中引起抗體產生反應；這種分子被稱為"**抗原**"。

【0072】 天然抗體能夠僅結合一個表位種類(即，它們是"**單特異性**")，然而它們可結合那個種類的多個拷貝(即，展示出"**二價**"或"**多價**")。就此而言，天然存在的完全的或完整的IgG抗體的基本結構單元是由四條組裝的多肽鏈：兩條較短的"**輕鏈**"與兩條較長的"**重鏈**"複合組成的四聚物。每條多肽鏈由包括"**可變結構域**"的氨基末端("**N-末端**")部分和包括至少一種"**恆定結構域**"的羧基末端("**C-末端**")部分組成。IgG輕鏈由單個"**輕鏈可變結構域**"("**VL**")和單個"**輕鏈恆定結構域**"("**CL**")組成。因此，IgG抗體的輕鏈的結構是n-VL-CL-c (其中n和c分別

表示多肽鏈的N-末端和C-末端)。IgG重鏈由單個“**重鏈可變結構域**”(“**VH**”)，三個“**重鏈恆定結構域**”(“**CH1**”、“**CH2**”和“**CH3**”)和位於CH1和CH2結構域之間的“**鉸鏈**”區(“**H**”)組成。除非特別地相反指示，本文描述的蛋白質分子的結構域的順序是N-末端至C-末端方向。因此，IgG重鏈的結構是n-VH-CH1-H-CH2-CH3-c (其中n和c分別表示多肽的N-末端和C-末端)。完整的，未修飾的抗體(例如， IgG抗體)結合抗原表位元的能力取決於可變結構域的存在和序列。

A. 恆定結構域

1. 輕鏈恆定結構域

【0073】 一個CL結構域是人IgG CL κ結構域。代表性人CL κ結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:1**)：

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC

【0074】 另一CL結構域是人IgG CL λ結構域。代表性人CL λ結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:2**)：

QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

2. 重鏈CH1結構域

【0075】 代表性CH1結構域是人IgG1 CH1結構域。代表性人IgG1 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:3**)：

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV

【0076】 另一代表性CH1結構域是人IgG2 CH1結構域。代表性人IgG2 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:4**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTV

【0077】 另一代表性CH1結構域是人IgG3 CH1結構域。代表性人IgG3 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:5**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRV

【0078】 另一代表性CH1結構域是人IgG4 CH1結構域。代表性人IgG4 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:6**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRV

3. 重鏈鉸鏈區

【0079】 代表性鉸鏈區是人IgG1鉸鏈區。代表性人IgG1鉸鏈區的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:7**)：

EPKSCDKTHT CPPCP

【0080】 另一代表性鉸鏈區是人IgG2鉸鏈區。代表性人IgG2鉸鏈區的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:8**)：

ERKCCVECPP CP

【0081】 另一代表性鉸鏈區是人IgG3鉸鏈區。代表性人IgG3鉸鏈區的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:9**)：

ELKTPLGDTT HTCPRCPEPK SCDTPPPCPR CPEPKSCDTP PPCPRCPEPK
SCDTPPPCPR CP

【0082】 另一代表性鉸鏈區是人IgG4鉸鏈區。代表性人IgG4鉸鏈區的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:10**)：

ESKYGPPCPS CP

【0083】 如本文描述的，IgG4鉸鏈區可包括穩定化突變比如S228P替換(如通過Kabat中的EU索引所編號)。具體的穩定的IgG4鉸鏈區的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:11**)：

ESKYGPPCPP CP

4. 重鏈CH2和CH3結構域和Fc結構域

【0084】 兩條重鏈的CH2和CH3結構域相互作用以形成由細胞Fc受體識別的IgG抗體的“**Fc區**”，Fc受體包括但不限於Fc γ受體(**FcγR**)。如本文使用的，術語“**Fc區**”用於限定重鏈的C-末端區。Fc區的一部分(包括涵蓋完整的Fc區的部分)在本文中稱為“**Fc結構域**”。如果Fc結構域的氨基酸序列相對於其他IgG同種型與該同種型最同源，則認為Fc結構域是特定的IgG同種型、類別或亞類，然而考慮了包括來自不同同種型的部分的雜交Fc結構域。

【0085】 代表性人IgG1的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:12**)：

```
231     240         250         260         270         280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD

        290         300         310         320         330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA

        340         350         360         370         380
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

        390         400         410         420         430

WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE

        440     447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

其中，**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0086】 代表性人IgG2的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:13**)：

```
231     240         250         260         270         280
APPVA-GPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD

        290         300         310         320         330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA
```

```
       340        350        360        370        380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE

       390        400        410        420        430
WESNGQPENN YKTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE

       440     447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

其中，X是賴氨酸(K)或不存在。

【0087】 代表性人IgG3的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:14**)：

```
231    240        250        260        270        280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD

       290        300        310        320        330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA

       340        350        360        370        380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

       390        400        410        420        430
WESSGQPENN YNTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE

       440     447
ALHNRFTQKS LSLSPGX
```

其中，X是賴氨酸(K)或不存在。

【0088】 代表性人IgG4的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:15**)：

```
231    240        250        260        270        280
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD

       290        300        310        320        330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS

       340        350        360        370        380
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

       390        400        410        420        430
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
```

```
        440     447
ALHNHYTQKS LSLSLGX
```

其中，X是賴氨酸(K)或不存在。

【0089】 遍及本說明書，IgG重鏈的恆定區中的殘基的編號是如Kabat等的SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST，第5版，公共衛生署，NH1，MD (1991)中的EU索引編號，其通過引用明確地併入本文。術語“如Kabat中的EU索引”指人IgG1 EU抗體的編號。

【0090】 在具有抗體恆定區內在許多不同位置(例如，CH1位置，包括但不限於位置192、193和214；Fc位置，包括但不限於通過Kabat中的EU索引所編號的位置270、272、312、315、356和358)已經觀察到多態性，並且因此在所展示出的序列和現有技術中的序列之間可存在輕微差異。已經很好地表徵了人免疫球蛋白的多態性形式。目前，18 Gm同種異型是已知的：G1m (1、2、3、17)或G1m (a、x、f、z)、G2m (23)或G2m (n)、G3m (5、6、10、11、13、14、15、16、21、24、26、27、28)或G3m (b1、c3、b3、b0、b3、b4、s、t、g1、c5、u、v、g5) (Lefranc等“*The Human IgG Subclasses：Molecular Analysis Of Structure，Function And Regulation.*” Pergamon，Oxford，pp. 43-78 (1990)；Lefranc，G.等1979，Hum. Genet.：50，199-211)。具體地，考慮本發明的抗體可併入任何免疫球蛋白基因的任何同種異型(allotype)、異種型(isoallotype)或單體型(haplotype)，並且不限於本文提供的序列的同種異型、異種型或單體型。而且，在一些表達系統中，CH3結構域的C-末端氨基酸殘基(上文粗體)可在翻譯後去除。相應地，本發明的分子中，CH3結構域的C-末端殘基是任選的氨基酸殘基。具體地，本發明涵蓋的是缺少CH3結構域的C-末端殘基的分子。同樣具體地，本發明涵蓋的是包括CH3結構域的C-末端賴氨酸殘基的這種分子。

【0091】 本發明的含有Fc結構域的基於抗體的分子的Fc結構域可以是完全的Fc結構域(例如，完全的IgG Fc區)或僅一部分Fc區。任選地，本發明的含有Fc結構域的分子的Fc結構域缺少野生型IgG CH3結構域的C-末端賴氨酸氨基酸殘基。

【0092】 在傳統的免疫功能中，抗體-抗原複合物與免疫系統的細胞的相互作用導致各種各樣的應答，範圍從效應子功能比如抗體依賴性細胞毒性、大細胞脫粒和吞噬至免疫調節信號比如調節淋巴細胞增殖和抗體分泌。所有這些相互作用通過抗體或免疫複合物的Fc結構域與造血細胞上特有的細胞表面受體的結合被啟動。如以上討論的，通過抗體和免疫複合物觸發的細胞應答的多樣性由三種Fc受體：FcγRI (CD64)、FcγRII (CD32)和FcγRIII (CD16)的結構異質性引起。FcγRI (CD64)、FcγRIIA (CD32A)和FcγRIII (CD16)是啟動性(即，免疫系統增強)受體；FcγRIIB (CD32B)是抑制性(即，免疫系統降低)受體。另外，與新生Fc受體(FcRn)的相互作用介導IgG分子由內體至細胞表面的再迴圈並且釋放至血液。以上呈現了代表性野生型IgG1 (**SEQ ID NO:12**)、IgG2 (**SEQ ID NO:13**)、IgG3 (**SEQ ID NO:14**)和IgG4 (**SEQ ID NO:15**)的CH2-CH3結構域的氨基酸序列。

【0093】 可修飾Fc結構域的氨基酸序列以便提供改變的表型，例如改變的血清半衰期、改變的穩定性、改變的對細胞酶的敏感性，改變的效應子功能或這種表型的組合。具體地，本發明考慮了包括野生型Fc結構域或已經修飾的Fc結構域的基於抗體的分子以增強其相對於由含有不具有這種修飾的Fc結構域的這種基於抗體的分子介導的ADCC的介導抗體依賴性細胞毒性(**ADCC**)的能力。這種修飾的Fc結構域在本文中稱為“**ADCC-增強的Fc結構域**”。本發明也考慮了包括具有很少或沒有ADCC活性的Fc結構域的基於抗體的分子。因此，在某些實

施方式中，本發明的基於抗體的分子可被工程化為包括**ADCC-增強的Fc結構域**或具有很少或沒有ADCC活性的Fc結構域。儘管本發明的基於抗體的分子的Fc結構域可擁有結合一種或多種Fc受體(例如，FcγR)的能力，在某些實施方式中，這種Fc結構域是具有與FcγRIA (CD64)、FcγRIIA (CD32A)、FcγRIIB (CD32B)、FcγRIIIA (CD16a)或FcγRIIIB (CD16b) 改變的結合(相對於由不具有這種修飾的Fc結構域展示的結合)的修飾的Fc結構域。例如這種變體Fc結構域可具有增強的結合至啟動性受體和/或將基本上減小的或沒有結合至抑制性受體的能力並且將展示出增強的ADCC活性。可替選地，這種變體Fc結構域可具有基本上減小或沒有結合至啟動受體和/或將增強的結合至抑制受體的能力並且將展示出很少的或沒有ADCC活性。

【0094】 減少或消除FcγR結合(和ADCC活性)的修飾是本領域熟知的並且其包括位置234和235處的氨基酸替換，位置265處的替換或位置297處的替換，如通過Kabat中的EU索引所編號(參見，例如，美國專利號5,624,821)。在一個實施方式中，本發明的基於抗體的分子包括具有很少或沒有ADCC活性的Fc結構域，其包括下列替換中的1個、2個、3個或4個：L234A、L235A、D265A、N297Q和N297G。在具體的實施方式中，本發明的基於抗體的分子包括具有很少或沒有ADCC活性的Fc結構域，其包括在位置234處用丙氨酸的替換和在位置235處用丙氨酸的替換(234A，235A)，如通過Kabat中的EU索引所編號。可替選地，這種分子可包括天然存在的Fc結構域，其固有地展示處減少(或基本上不)結合至FcγRIIIA (CD16a)和/或減少的效應子功能(相對於由野生型IgG1 Fc結構域展示出的結合和效應子功能)。在具體的實施方式中，本發明的攜帶Fc的分子包括IgG2 Fc結構域(**SEQ ID NO:13**)或IgG4 Fc結構域(**SEQ ID:NO:15**)。當利用IgG4 Fc結構

域時，本發明也涵蓋引入穩定化突變，比如以上描述的鉸鏈區S228P替換(參見，例如，**SEQ ID NO:11**)。

【0095】 本發明的**ADCC-增強的Fc結構域**可包括完全的Fc結構域的一些或所有CH2結構域和/或一些或所有CH3結構域，或可包括變體CH2和/或變體CH3序列(其可包括，例如，相對於完全的Fc結構域的CH2或CH3結構域的一個或多個替換和/或插入和/或一個或多個刪除)。這種Fc結構域可包括非Fc多肽部分，或可包括非天然完全的Fc結構域的部分，或可包括非天然存在的定向的CH2和/或CH3結構域(比如，例如，兩個CH2結構域或兩個CH3結構域，或在N-末端至C-末端方向上，CH3結構域連接至CH2結構域等)。

【0096】 鑒定為改變效應子功能的**ADCC-增強的Fc結構域**(例如，ADCC)在本領域是已知的，其包括相對於抑制Fc受體(例如，FcγRIIB (CD32B))的增加結合至啟動Fc受體(例如，FcγRIIA (CD16A))的修飾(參見，例如，Stavenhagen，J.B.等(2007) "*Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fcgamma Receptors*," Cancer Res. 57(18):8882-8890)。已經描述了增強ADCC活性的許多單重、雙重、三重、四重和五重替換(參見，例如，美國專利號6,737,056、7,317,091、7,355,008、7,960,512、8,217,147、8,652,466)。

【0097】 在一個實施方式中，**ADCC-增強的Fc結構域**包括包含選自下述一種或多種氨基酸替換 (相對於野生型IgG Fc結構域)：S239D、F243L、D270E、R292G、R292P、Y300L、V305I、I332E或P396L替換的Fc結構域，如通過Kabat中的EU索引所編號。這些氨基酸替換可以以任何組合存在於人IgG Fc結構域(例如，IgG1 Fc結構域) 中。在一個實施方式中，變體人IgG Fc結構域含有S239D和

I332E替換。在另一實施方式中，變體人IgG Fc結構域含有F243L、R292P和Y300L替換。在進一步的實施方式中，變體人IgG Fc結構域含有F243L、R292P、Y300L、V305I和P296L替換。在具體的實施方式中，這種人IgG **ADCC-增強的Fc結構域**將包括：

(a) 選自由下述組成的組中的一個替換：

(1) F243L；

(2) R292P；

(3) Y300L；

(4) V305I；

(5) I332E；和

(6) P396L

(b) 選自由下述組成的組中的兩個替換：

(1) F243L和P396L；

(2) F243L和R292P；

(3) R292P和V305I；和

(4) S239D和I332E

(c) 選自由下述組成的組中的三個替換：

(1) F243L、R292P和Y300L；

(2) F243L、R292P和V305I；

(3) F243L、R292P和P396L；和

(4) R292P、V305I和P396L；

(d) 選自由下述組成的組中的四個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L和P396L；和

(2) F243L、R292P、V305I和P396L；或

(e) 選自由下述組成的組中的五個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L；和

(2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，

其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

【0098】 在具體的實施方式中，**ADCC-增強的Fc結構域**將包括：

(1) “**FcMT1**” **ADCC-增強的Fc結構域**，其中這種結構域包括F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L替換。相對於用野生型IgG1 Fc結構域觀察的結合，包括FcMT1變體IgG1 Fc結構域的基於抗體的分子展示出與人CD16A (FcγRIIIA)結合的10倍增加，並且與結合至CD16-158Val比，結合至CD16-158Phe以比例更大的方式增強。

“**FcMT1**” **ADCC-增強的Fc結構域**的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:16**)：

APELLGGPSV FL**L**PPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK P**P**EEQYNST**L** RVVS**I**LTVLH
QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTTP**L**VLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中，**X**是賴氨酸(K)或不存在

(2) “**FcMT2**” **ADCC-增強的Fc結構域**，其中這種結構域包括L235V、F243L、R292P、Y300L，和P396L替換。FcMT2變體IgG1 Fc結構域是進一步改進的FcMT1變體IgG1 Fc結構域，並且具有類似CD16A結合特性，而且在結合至CD32B (FcγRIIB)中具有更有利的減少。

“**FcMT2**” **ADCC-增強的Fc結構域**的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:17**)：

APEL**V**GGPSV FL**L**PPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK P**P**EEQYNST**L** RVVSVLTVLH
QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTTP**L**VLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中，**X**是賴氨酸(K)或不存在

或

(3) "**FcMT3**" **ADCC-增強的Fc結構域**，其中這種結構域包括F243L、R292P和Y300L替換。FcMT3變體IgG1 Fc結構域是進一步改進的FcMT1變體IgG1 Fc結構域，並且具有類似CD16A結合特性，而且在結合至CD32B (FcγRIIB)中具有更有利的減少。"**FcMT3**" **ADCC-增強的Fc結構域**的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:18**)：

APELLGGPSV FL**L**PPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK P**P**EEQYNST**L** RVVSVLTVLH
QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中，**X**是賴氨酸(K)或不存在

【0099】 在可替選的實施方式中，**ADCC-增強的Fc結構域**包括工程化的糖型，其是不含有岩藻糖的複合的N-糖苷連接的糖鏈，和/或其包括平分O-GlcNAc。這種糖型可通過在缺少岩藻糖基轉移酶的細胞系中重組地表達基於抗體的分子獲得(例如，POTELLIGENT® cell lines, BioWa, Inc.; Matsushita, T. (2011) "*Engineered Therapeutic Antibodies With Enhanced Effector Functions: Clinical Application Of The Potelligent® Technology*," Korean J. Hematol. 46(3):148-150), and/or in cell lines that express O-GlcNAc transferase (Roche GlycArt AG; Satoh, M. 等 (2006) "*Non-岩藻糖基ated Therapeutic Antibodies As*

Next-Generation Therapeutic Antibodies," Exp. Opin. Biol. Ther. 6(11):1161-1173)。在某些實施方式中，**ADCC-增強的Fc結構域**包括一種或多種氨基酸替換和工程化的糖型。

【0100】 另外，包括Fc結構域的分子的血清半衰期可通過增加Fc結構域對FcRn的結合親和力而增加。如本文使用的術語"半衰期"意指分子的藥物代謝動力學特性，其是分子在其施用後平均存活時間的度量。半衰期可表示為從受試者(例如，人患者或其他哺乳動物)的身體或其特定區室消除已知量的分子的百分之五十(50%)所需的時間，例如，如在血清中測量的，即迴圈半衰期，或在其他組織中測量的。一般而言，半衰期的增加導致施用的分子在迴圈中的平均停留時間(MRT)的增加。能夠增加含有Fc結構域的分子的半衰期的修飾在本領域是已知的，並且包括，例如氨基酸替換M252Y、S254T、T256E和其組合。例如，參見美國專利號6,277,375、7,083,784、7,217,797和8,088,376；美國公開號2002/0147311和2007/0148164；以及PCT公開號WO 98/23289、WO 2009/058492和WO 2010/033279中描述的修飾)。

【0101】 在一個實施方式中，本發明的基於抗體的分子包括變體Fc結構域，其中這種變體Fc結構域包括在位置252處用酪氨酸的替換、在位置254處用蘇氨酸的替換和在位置256處用谷氨酸的替換(252Y、254T和256E)，如通過Kabat中的EU索引所編號。

【0102】 本發明也涵蓋本發明的基於抗體的分子包括Fc結構域，其中這種Fc結構域包括：

(a) 改變效應子功能和/或FcγR結合的一種或多種突變；和/或

(b) 延長血清半衰期的一種或多種突變。

【0103】 在一個實施方式中，本發明的基於抗體的分子包括Fc結構域，其中這種Fc結構域包括：

(a) 減小或消除ADCC的一種或多種突變；和/或

(b) 延長血清半衰期的一種或多種突變。

【0104】 具有很少或沒有ADCC活性的Fc結構域和延長的血清半衰期的變體的CH2和CH3結構域的代表性IgG1序列包括替換L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E (**SEQ ID NO:19**)：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中X是賴氨酸(K)或不存在。

【0105】 延長半衰期的變體Fc結構域的CH2和CH3結構域的代表性IgG4序列包括替換M252Y/S254T/T256E (**SEQ ID NO:20**)：

APEFLGGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSLG**X**

其中X是賴氨酸(K)或不存在。

5. 可變結構域

【0106】 IgG分子的可變結構域包括三個“**互補決定區**”(“**CDR**”)以及稱為“**框架區**”(“**FR**”)的間插非CDR區段，CDR含有抗體的將與表位接觸的氨基酸殘基，FR大體上保持維持CDR殘基的結構和確定CDR殘基的定位，以允許這種接觸(儘管某些框架殘基也可接觸表位)。因此，VL和VH結構域具有結構**n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-c**。CDR的氨基酸序列確定抗體是否

將能夠結合特定的表位。抗體輕鏈與抗體重鏈的相互作用，並且具體地，它們的VL和VH結構域的相互作用形成抗體的表位元結合結構域。

【0107】 來自免疫球蛋白的成熟的重鏈和輕鏈的可變結構域的氨基酸是通過鏈中氨基酸的位置命名。Kabat (SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST，第5版，公共衛生署，NH1，MD (1991))描述了抗體的許多氨基酸序列、鑒定了每個亞組的氨基酸共有序列並且為每個氨基酸指定了殘基編碼，並且鑒定CDR和FR，如通過Kabat定義(應理解，通過Chothia，C. & Lesk，A. M.((1987) "*Canonical Structures For The Hypervariable Regions Of Immunoglobulins*," J. Mol. Biol. 196:901-917)定義的CDR_H1提前五個殘基開始)。Kabat的編號方案可通過參照保守氨基酸將考慮的抗體與Kabat中的共有序列之一比對而擴展至不包括在其綱要中的抗體。用於指定殘基編號的該方法在本領域中已經變成了標準，並且易於鑒定在包括嵌合或人源化變體的不同抗體中在等同位置處的氨基酸。例如，在人抗體輕鏈的位置50處的氨基酸佔據與小鼠抗體輕鏈的位置50處的氨基酸等同的位置。因此，很好地定義了其CDR開端和末端處的VL和VH結構域內的位置並且可通過VL和VH結構域的序列檢查確定(參見，例如，Martin, C.R. (2010) "*Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*," In: ANTIBODY ENGINEERING VOL. 2 (Kontermann, R. and Dübel, S. (eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Chapter 3 (pages 33-51))。

【0108】 是(或可用作)抗體輕鏈的第一、第二和第三CDR的多肽在本文中分別命名為：**CDR_L1結構域**、**CDR_L2結構域**和**CDR_L3結構域**。類似地，是(或可用作)抗體重鏈的第一、第二和第三CDR的多肽在本文中分別命名為：**CDR_H1結構域**、**CDR_H2結構域**和**CDR_H3結構域**。因此，術語CDR_L1結構域、CDR_L2結構

域、CDR_L3結構域、CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域涉及這種多肽，當併入到蛋白質中時，引起該蛋白質能夠結合特定表位，而無論是否這種蛋白質是具有輕鏈和重鏈的抗體或者是雙抗體或單鏈結合分子(例如，scFv、BiTe等)，或者是另一類型蛋白質。因此，如本文使用的，術語“**表位元結合結構域**”表示能夠免疫特異性結合至表位的本發明的基於抗體的分子的一部分。表位元結合結構域可含有抗體的任何1個、2個、3個、4個或5個CDR結構域，或可含有抗體的全部6個CDR結構域，並且，儘管能夠免疫特異性結合至這種表位，但對不同於這種抗體的表位可展示出免疫特異性、親和力或選擇性。典型地，然而，表位元結合結構域將含有這種抗體的全部6個CDR結構域。

【0109】 表位元結合結構域可包括融合至恆定結構域的完全的可變結構域或僅接枝至合適的框架區的這種可變結構域的互補決定區(CDR)。表位元結合結構域可以是野生型或一個或多個氨基酸替換修飾。

基於抗體的分子的人源化

【0110】 本發明特別地涵蓋包括人源化抗體的VL和/或VH結構域的基於抗體的分子。術語“**人源化**”抗體指通常使用重組體技術製備的嵌合分子，其具有來自非人物種的免疫球蛋白的表位元結合結構域和基於人免疫球蛋白的結構和/或序列的分子的剩餘免疫球蛋白結構。這種抗體的可變結構域的多核苷酸序列可用於遺傳操縱以產生這種衍生物並且改善這種抗體的親和力或其他特徵。已知重鏈和輕鏈二者的可變結構域含有三個互補決定區(CDR)，其根據討論的抗原而變化並且確定結合能力，兩側為四個框架區(FR)，其在給定物種中相對保守並且其假定為CDR提供了支架。當針對特定抗原製備非人抗體時，可變結構域可“重塑”或“人源化”。使抗體人源化的一般原則涉及保留抗體的表位元結合部分的

基本序列，同時用人抗體序列交換該抗體的非人剩餘部分。使單克隆抗體人源化有四個常規步驟。這些是：(1)確定起始抗體輕鏈和重鏈可變結構域的核苷酸和預測的氨基酸序列，(2)設計人源化抗體或犬源化抗體，即決定在人源化或犬源化過程期間使用哪個抗體框架區，(3)實際的人源化或犬源化方法/技術和(4)人源化抗體的轉染和表達。參見，例如，美國專利號4,816,567; 5,807,715; 5,866,692; 以及6,331,415; Lobuglio等(1989) "*Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224 (1989)。其他參考文獻描述了在與合適的人抗體恆定結構域融合之前接枝至人支援框架區(FR)的齧齒動物CDR (參見，例如，Riechmann, L.等(1988) "*Reshaping Human Antibodies for Therapy*," Nature 332:323-327; and Jones等(1986) "*Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse*," Nature 321:522-525. 也可以使用的人源化抗體的其他方法公開在Daugherty等(1991) "*Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting, And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins*," Nucl. Acids Res. 19:2471-2476和美國專利號6,180,377、6,054,297、5,997,867和5,866,692中)。在一些實施方式中，人源化抗體保留全部CDR序列(例如，包含來自小鼠抗體的全部六個CDR的人源化小鼠抗體)。在其他實施方式中，人源化抗體相對於原抗體具有不同的一個或多個CDR (一個、兩個、三個、四個、五個或六個)。

B. 雙特異性分子

【0111】 在一些實施方式中，本發明的基於抗體的分子是雙特異性的比如雙特異性抗體或雙特異性雙抗體。這種基於雙特異性抗體的分子可包括提供的

PD-1和LAG-3的表位元結合結構域(即，PD-1 x LAG-3雙特異性分子)或提供的PD-L1和LAG-3的表位元結合結構域(即，PD-L1 x LAG-3雙特異性分子)。提供這種基於雙特異性抗體的分子提供了超過單特異性抗體的顯著的優勢：在共表達PD-1和LAG-3的細胞上共連接PD-1和LAG-3和/或共定位表達PD-1的細胞和表達LAG-3的細胞的能力，或在共表達PD-L1和LAG-3的細胞上共連接PD-L1和LAG-3和/或共定位表達PD-L1的細胞和表達LAG-3的細胞的能力。在某些實施方式中，這種基於雙特異性抗體的分子可結合兩種不同TA。

1. 雙特異性抗體

【0112】 已經開發各種重組體雙特異性抗體格式(參見，例如，PCT公開號WO 2008/003116，WO 2009/132876、WO 2008/003103、WO 2007/146968、WO 2009/018386、WO 2012/009544、和WO 2013/070565)，其大部分使用連接體肽來將進一步表位-結合片段(例如， scFv、VL、VH等)融合至抗體核或在抗體核內(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)，或將多個表位-結合片段(例如，兩個Fab片段或scFvs)融合。可替選的格式使用連接體肽來將表位-結合片段(例如，scFv、VL、VH等)融合至二聚化結構域比如CH2-CH3結構域或可替選的多肽(PCT公開號WO 2005/070966、WO 2006/107786A、WO 2006/107617A和WO 2007/046893)。PCT公開號WO 2013/174873、WO 2011/133886和WO 2010/136172公開了三特異性抗體，其中CL和CH1結構域從它們各自的天然位置轉變並且VL和VH結構域已經實現多樣化(PCT公開號WO 2008/027236；WO 2010/108127)以允許它們結合一種以上的抗原。PCT公開號WO 2013/163427和WO 2013/119903公開了修飾CH2結構域以含有包括結合結構域的融合蛋白加合物。PCT公開號WO 2010/028797、WO2010028796和WO 2010/028795公開了已經用另外VL和VH結構

域取代其Fc區的重組抗體，以便形成三價結合分子。PCT公開號WO 2003/025018和WO2003012069公開了單個鏈含有scFv結構域的重組雙抗體。PCT公開號WO 2013/006544公開了作為單個多肽鏈合成的多價Fab分子，並且然後進行蛋白水解以產生異源二聚化結構。PCT公開號WO 2014/022540、WO 2013/003652、WO 2012/162583、WO 2012/156430、WO 2011/086091、WO 2008/024188、WO 2007/024715、WO 2007/075270、WO 1998/002463、WO 1992/022583和WO 1991/003493公開了將另外結合結構域或官能團添加至抗體或抗體部分(例如，將雙抗體添加至抗體的輕鏈，或將另外VL和VH結構域添加至抗體的輕鏈和重鏈，或添加異源融合蛋白或連結多個Fab結構域至彼此)。在PCT公開號WO 2015/184207、WO 2015/184203、WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538和WO 2006/113665中描述了且本文提供了包括雙抗體樣結構域的共價結合的雙抗體和三價分子。因此，具體地考慮了本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子可具有任何以上描述的格式的結構且可產生任何以上描述的方法。

2. 雙特異性雙抗體

【0113】 本發明的雙抗體是穩定的，共價結合的異源二聚化非單特異性雙抗體，參見，例如，Chichili, G.R.等(2015) "*A CD3xCD123 Bispecific DART For Redirecting Host T Cells To Myelogenous Leukemia: Preclinical Activity And Safety In Nonhuman Primates*," Sci. Transl. Med. 7(289):289ra82; Veri, M.C. 等 (2010) "*Therapeutic Control Of B Cell Activation Via Recruitment Of Fcgamma Receptor IIB (CD32B) Inhibitory Function With A Novel Bispecific Antibody Scaffold*," Arthritis Rheum. 62(7):1933-1943; Moore, P.A. 等 (2011) "*Application Of Dual Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T cell Killing Of B-Cell*

Lymphoma," Blood 117(17):4542-4551；美國專利公開號2007/0004909; 2009/0060910; 2010/0174053; 20130295121; 2014/0099318; 2015/0175697; 2016/0017038; 2016/0194396; 2016/0200827和2017/0247452。這種雙抗體包括兩個或更多個共價複合的多肽鏈且涉及將一個或多個半胱氨酸殘基工程化入每個採用的多肽種類。例如，將半胱氨酸殘基添加至這種構建體的C-末端已經顯示允許多肽鏈之間的二硫鍵合，穩定化所得異源二聚體而不干擾二價分子的結合特徵。這種雙抗體也包括用於促進多肽鏈的異源二聚化("**異源二聚體促進結構域**")的結構域。

【0114】 本發明的雙抗體構建體是由多肽組成的共價複合的雙抗體，且其可由兩條、三條、四條或大於四條多肽鏈組成。如本文使用的，術語"**包含**"旨在是開放式的，使得由兩條多肽鏈組成的本發明的雙抗體可具有另外的多肽鏈。這種鏈可與雙抗體的另一多肽鏈具有相同序列，或可與雙抗體的任何其他多肽鏈的序列不同。本發明的雙抗體可設計為包括Fc結構域。

【0115】 在某些實施方式中，本發明的雙抗體是四條鏈，含有Fc結構域的雙抗體具有兩個對第一表位具有特異性的結合位點、兩個對第二表位具有特異性的結合位元點、Fc結構域和含有半胱氨酸的E/K-螺旋異源二聚體促進結構域。這種雙抗體的通式結構在**圖1**中提供。

【0116】 本發明的雙特異性雙抗體是工程化的，以便這種第一和第二多肽經半胱氨酸殘基沿著它們的長度共價結合至彼此。這種半胱氨酸殘基可引入間插連接體(**連接體1**；例如，GGGSGGGG (**SEQ ID NO:21**))，其分開多肽的VL和VH結構域。可替選地且更優選地，將包括半胱氨酸殘基(**連接體2**)的第二肽，例如，在這種多肽鏈的N-末端至VL結構域的位置或C-末端至VH結構域的位置處引入

每條多肽鏈。這種**連接體2**的優選的序列是**SEQ ID NO:22**：GGCGGG。另外地或任選地，半胱氨酸殘基可引入其他結構域，以下下提供了其的示例。

【0117】 在某些實施方式中，本發明的異源二聚體促進結構域將包括相反電荷的串聯重複螺旋結構域。因此，在一個實施方式中，一條多肽鏈將被工程化為含有“E-螺旋”結構域(**SEQ ID NO:23**：**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K)，其殘基將在pH 7形成負電荷，而兩條多肽鏈的另一條將被工程化為含有“K-螺旋”結構域(**SEQ ID NO:24**：**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E)，其殘基將在pH 7形成正電荷。存在這種帶電的結構域促進第一和第二多肽之間的締合，且因此促進異源二聚化。提供那個螺旋給第一或第二多肽鏈不重要。

【0118】 在另一實施方式中，利用異源二聚體促進結構域，其中已經修飾**SEQ ID NO:23**的四個串聯“E-螺旋”螺旋結構域之一以含有半胱氨酸殘基(例如，**E**VAA**CE**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K (**SEQ ID NO:25**)。相似地，在另一實施方式中，利用異源二聚體促進結構域，其中已經修飾**SEQ ID NO:24**的四個串聯“K-螺旋”螺旋結構域之一以含有半胱氨酸殘基(例如，**K**VAA**CK**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E (**SEQ ID NO:26**)。有利地組合這種實施方式，以便採用**SEQ ID NO:25的**異源二聚體促進結構域和**SEQ ID NO:26**的異源二聚體促進結構域。

【0119】 因此，工程化這種雙抗體，以便它們的多肽鏈對經沿著它們的長度定位的一個或多個半胱氨酸殘基共價結合至彼此以產生共價締合的分子複合物。這種半胱氨酸殘基可引入將多肽的VL和VH結構域分開的間插連接體。可替選地，一種或多種連接體(例如，連接體2、連接體3等)可含有半胱氨酸殘基。在

具體的實施方式中，含有螺旋的異源二聚體促進結構域的一個或多個螺旋結構域將包括併入如**SEQ ID NO:25**或**SEQ ID NO:26**中的半胱氨酸殘基的氨基酸替換。替代的，缺乏半胱氨酸殘基的**連接體2**序列是**SEQ ID NO:27**：ASTKG，其可與含有異源二聚體促進結構域的半胱氨酸殘基一起採用。

【0120】 優選地工程化本發明的雙特異性雙抗體，使得它們具有能夠絡合在一起以形成Fc區的IgG CH2-CH3結構域。在某些實施方式中，本發明的雙特異性雙抗體包括人IgG CH2-CH3結構域。以上提供了代表性人IgG CH2-CH3結構域且其包括已經工程化的CH2-CH3結構域以調節效應子功能和/或血清半衰期。

【0121】 在某些實施方式中，本發明的雙特異性雙抗體是用間插連接體肽(**連接體3**)將CH2和CH3結構域連接至異源二聚體促進結構域工程化的。優選地**連接體3**在異源二聚體促進結構域的C-末端的位置。本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體中可採用的連接體包括：GGGS (**SEQ ID NO:28**)、LGGGSG (**SEQ ID NO:29**)、ASTKG (**SEQ ID NO:27**)、LEPKSS (**SEQ ID NO:30**)、APSSS (**SEQ ID NO:31**)和APSSSPME (**SEQ ID NO:32**)、GGC和GGG。**連接體3**可包括單獨或除其他連接體序列外的一部分IgG鉸鏈區。代表性鉸鏈區包括：來自IgG1的DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:33**)或EPKSCDKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:7**)，來自IgG2的ERKCCVECPPCP (**SEQ ID NO:8**)，來自IgG4的ESKYGPPCPSCP (**SEQ ID NO:10**)和ESKYGPPCPPCP (**SEQ ID NO:11**)。IgG4鉸鏈變體包括穩定化S228P替換以減少鏈交換((Lu等, (2008) "*The Effect Of A Point Mutation On The Stability Of IgG4 As Monitored By Analytical Ultracentrifugation*," J. Pharmaceutical Sciences 97:960-969)以減少鏈交換的發生率)。在某些實施方式中，**連接體3**可進一步包括GGG，例如GGGDKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:34**)。

II. 結合至PD-1 (或PD-L1)和/或LAG-3的基於抗體的分子

【0122】 本發明具體地考慮包括或採用以下的組合物和方法：

(1) PD-1 x LAG-3雙特異性分子；

(2) 單特異性PD-1-結合分子，和單特異性LAG-3-結合分子；

(3) PD-L1 x LAG-3雙特異性分子；或

(4) 單特異性PD-L1-結合分子，和單特異性LAG-3-結合分子；

其中這種單特異性結合分子是完整的抗體，且這種雙特異性分子是雙抗體或雙特異性抗體。

【0123】 按照本發明可使用的免疫特異性結合至人PD-1的基於抗體的分子 (例如，單特異性PD-1-結合分子或PD-1 x LAG-3雙特異性分子)將包括至少一種免疫特異性結合PD-1的表位的表位元-結合結構域(PD-1-結合結構域)。

【0124】 按照本發明可使用的免疫特異性結合至人PD-L1的基於抗體的分子 (即，單特異性PD-L1-結合分子或PD-L1 x LAG-3雙特異性分子)將包括至少一種免疫特異性結合PD-1的表位的表位元-結合結構域(PD-L1-結合結構域)。

【0125】 按照本發明可使用的免疫特異性結合至人LAG-3 的基於抗體的分子(即，單特異性LAG-3-結合分子，PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子)將包括至少一種免疫特異性結合LAG-3的表位的表位元-結合結構域(LAG-3-結合結構域)。

【0126】 在某些實施方式中，本發明考慮了包括PD-1-結合結構域、PD-L1-結合結構域和/或LAG-3-結合結構域，進一步包括Fc結構域的基於抗體的分子。在一個實施方式中，這種分子的Fc結構域是野生型IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc結構域。

【0127】 本發明考慮了包括PD-1-結合結構域、PD-L1-結合結構域或LAG-3-結合結構域，包括具有很少或沒有ADCC活性的變體Fc結構域的單特異性基於抗體的分子。本發明還考慮了包括對PD-1和LAG-3具有免疫特異性或對PD-L1和LAG-3具有免疫特異性的表位元結合結構域，包括具有很少或沒有ADCC活性的Fc結構域的雙特異性基於抗體的分子(例如，雙抗體)。在一個實施方式中，這種分子包括包含在位置234處用丙氨酸替換和在位置235處用丙氨酸替換(234A，235A)的變體IgG1 Fc結構域，如通過Kabat中的EU索引所編號。在另一實施方式中，這種分子包括IgG4 Fc結構域，和任選地包括穩定的IgG4鉸鏈區(參見，例如，**SEQ ID NO:11**)。

【0128】 在某些實施方式中，包括PD-1-結合結構域、PD-L1-結合結構域和/或LAG-3-結合結構域，包括變體Fc結構域的基於抗體的分子包括一種或多種延長血清半衰期的突變。在一個實施方式中，這種分子包括包含替換在位置252處用酪氨酸、在位置254用蘇氨酸和在位置256用谷氨酸的替換(252Y、254T和256E)的變體Fc結構域，如通過Kabat中的EU索引所編號。

【0129】 本發明也涵蓋了包括PD-1-結合結構域、PD-L1-結合結構域和/或LAG-3-結合結構域的基於抗體的分子，其進一步包括Fc結構域，其中這種工Fc結構域包括：

(a) 一種或多種減少或消除ADCC的突變；和/或

(b) 一種或多種延長血清半衰期的突變。

【0130】 在一個實施方式中，基於抗體的分子包括PD-1-結合結構域、PD-L1-結合結構域和/或LAG-3-結合結構域，包括包含以下替換的變體IgG1 Fc

結構域：L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E (**SEQ ID NO:19**)，如通過Kabat中的EU索引所編號。

【0131】 在另一實施方式中，基於抗體的分子包括PD-1-結合結構域、PD-L1-結合結構域和/或LAG-3-結合結構域，包括包含以下替換的變體IgG4 Fc結構域：M252Y/S254T/T256E (**SEQ ID NO:20**)，如通過Kabat中的EU索引所編號。

A. PD-1-結合結構域和分子

【0132】 在一個實施方式中，PD-1-結合結構域包括**SEQ ID NO:35**和**SEQ ID NO:39**的VL和VH結構域的CDR。在另一實施方式中，PD-1-結合結構域包括**SEQ ID NO:36**和**SEQ ID NO:39**的人源化的VL和VH結構域。

【0133】 這種人源化的VL_{PD-1}結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:35**)：

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSC**RASESVD NYGMSFMN**WF QQKPGQPPKL LIH**AASNQGS** GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FC**QQSKEVPY T**FGGGTKVEI K

【0134】 這種VL_{PD-1}的CDR是：

CDR_L1 **SEQ ID NO:36**: RASESVDNYGMSFMN；

CDR_L2 **SEQ ID NO:37**: AASNQGS；和

CDR_L3 **SEQ ID NO:38**: QQSKEVPYT。

【0135】 這種人源化的VH_{PD-1}結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:39**)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT **SYWMN**WVRQA PGQGLEWIG**V IHPSDSETWL DQKFKD**RVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**EH YGTSPFAY**WG QGTLVTVSS

【0136】 這種VH_{PD-1}結構域的CDR是：

CDR_H1 **SEQ ID NO:40**: SYWMN；

CDR_H2 **SEQ ID NO:41**: VIHPSDSETWLDQKFKD；和

CDR_H3 **SEQ ID NO:42**: EHYGTSPFAY。

【0137】 已經描述了可替選的PD-1-結合結構域和包括其的分子，並且包括但不限於**表1**中呈現的那些，以及這裡通過常用名或INN名稱提及。

表 1
PD-1-結合結構域/分子

名稱	參考
巴替利單抗(Balstilimab) (CAS 註冊號：2148321-77-9，也稱為 AGEN2034，是由 Agenus 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，推薦的 INN：列表 82，33(3)):611-612
布格利單抗(Budigalimab) (CAS 註冊號：2098225-93-3，也稱為 ABBV-181、PR-1648817，是由**開發的 Abbvie)	WHO 藥物資訊 2019，推薦的 INN：列表 81，33(1)：56-57
卡瑞利珠單抗 (Camrelizumab)(CAS 註冊號：1798286-48-2，也稱為 SHR-1210，且上海恆瑞藥物製劑的作為 AiRuiKa™在中國銷售的)	WHO 藥物資訊 2017，推薦的 INN：列表 77，31(1)：73-74
西米普利單抗(Cemiplimab) (CAS 註冊號:1801342-60-8，也稱為 REGN-2810、SAR-439684，且由 Sanofi &Regeneron 藥物製劑作為 LIBTAYO®銷售的)	WHO 藥物資訊 2019，推薦的 INN：列表 81，33(1)：57-58
西利單抗(Cetrelimab) (CAS 註冊號:2050478-92-5，也稱為 JNJ-63723283，是由 Janssen Biotech 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，推薦的 INN：列表 80，32(3)：436-437
多塔利單抗 (Dostarlimab)(CAS 註冊號：2022215-59-2，也稱為 ANB-011、TSR-042，是由 Tesero 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，推薦的 INN：列表 81，33(1)：65-66
埃本利單抗(Ezabenlimab) (CAS 註冊號：2249882-54-8，也稱為 BI754091，是由 Boehringer Ingelheim 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 122，33(4):834-835
洛達利單抗(Lodapolimab) (CAS 註冊號：2118349-31-6，也稱為 LY3300054，是由 Eli Lilly 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 121，33(2)：287-288
尼伏魯單抗(Nivolimab)(CAS 註冊號:946414-94-4，也稱為 5C4、BMS-936558、ONO-4538、MDX-1106，且由 Bristol-Myers Squibb 作為 OPDIVO®銷售的)	WHO 藥物資訊，2013，推薦的 INN：列表 69，27(1):68-69
培布利珠單抗(Pembrolizumab)(已知的之前稱為之前稱為蘭羅利珠單抗(lambrolizumab))，CAS 註冊號:1374853-91-4，也稱為 MK-3475、SCH-900475，且由 Merck 作為 KEYTRUDA®銷售的)	WHO 藥物資訊，2014，推薦的 INN：列表 75，28(3):407
帕洛利單抗(Prolgolimab) (CAS 註冊號：2093956-19-3，也稱為 BCD-100，是由 CJSC Biocad 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，推薦的 INN：列表 81，33(1)：102-103
瑞弗利單抗(Retifanlimab) (CAS 註冊號：2079108-44-2，也稱為 MGA012、INCMGA-00012，	WHO 藥物資訊 2019，推薦的 INN：列表 82，33(1):611-612

表 1 PD-1-結合結構域/分子	
名稱	參考
是由 Incyte 和 MacroGenics 開發的)	
薩善利單抗 (Sasanlimab)(CAS 註冊號：2206792-50-7，也稱為 PF-06801591、mAb7，是由 Pfizer 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 121，33(2):330-331
斯魯利單抗 (Serplulimab)(CAS 註冊號：2231029-82-4，也稱為 HLX10，是由 Henlix 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 121，33(2):332-333
信迪利單抗(Sintilimab) (CAS 註冊號：2072873-06-2，也稱為 IBI-308、IBI308，且由 Innovent Biologics 和 Eli Lilly 作為 TYVYT®在中國銷售的	WHO 藥物資訊 2019，推薦的 INN：列表 81，33(1):112-113
司利珠單抗 (Spartalizumab)(CAS 註冊號：1935694-88-4，也稱為 NPVPDR001、NVS240118、PDR001，是由 Novartis 開發的)	WHO 藥物資訊 2018，推薦的 INN：列表 79，32(1)：161-162
替雷利珠單抗(Tislelizumab) (CAS 註冊號：1858168-59-8，也稱為 BGB-A317，是由 Beigene 開發的)	WHO 藥物資訊 2018，推薦的 INN：列表 79，32(1)：174-175
特瑞普利單抗(Toripalimab) (CAS 註冊號:1924598-82-2，也稱為 JS001，是由上海軍師生物科學開發的)	WHO 藥物資訊 2019，推薦的 INN：列表 81，33(1)：124-125
PD1-17、PD1-28、PD1-33、PD1-35 和 PD1-F2	US 7,488,802
17D8、2D3、4H1、5C4、4A11、7D3 和 5F4	US 8,008,449
hPD-1.08A、hPD-1.09A、109A、K09A、409A、h409A11、h409A16、h409A17、密碼子優化的 109A 和密碼子優化的 409A	US 8,354,509
1B8、20B3.1、7G3、3H4、2.3A9、1G7、1.8A10、28.11、6D10	US 8,168,757
1E3、1E8 和 1H3	US 2014/0044738
9A2、10B11、6E9、APE1922、APE1923、APE1924、APE1950、APE1963 和 APE2058	US 9,815,897
EH12.2H7	US 9,102727
GA1、GA2、GB1、GB6、GH1、A2、C7、H7、SH-A4、SH-A9、RG1H10、RG1H11、RG2H7、RG2H10、RG3E12、RG4A6、RG5D9、RG1H10-H2A-22-1S、RG1H10-H2A-27-2S、RG1H10-3C、RG1H10-16C、RG1H10-17C、RG1H10-19C、RG1H10-21C 和 RG1H10-23C2	US 2014/0356363
H1M7789N、H1M7799N、H1M7800N、H2M7780N、H2M7788N、H2M7790N、H2M7791N、H2M7794N、H2M7795N、H2M7796N、H2M7798N、H4H9019P、H4H7798N、H4xH9034P2、H4xH9035P2、H4xH9037P2、H4xH9045P2、H4xH9048P2、H4H9057P2、H4H9068P2、H4xH9119P2、H4xH9120P2、H4Xh9128p2、H4Xh9135p2、	US 2015/0203579

表 1 PD-1-結合結構域/分子	
名稱	參考
H4Xh9145p2、H4Xh8992p、H4Xh8999p 和 H4Xh9008p、	
mAb1、mAb2、mAb3、mAb4、mAb7、mAb8、mAb9、mAb10、mAb11、mAb12、mAb13、mAb14、mAb15 和 mAb16	US 2016/0159905
246A10、244C8、413D2、393C5、388D4、413E1、244C8-1、244C8-2、244C8-3、388D4-1、388D4-2 和 388D4-3	US 2016/0319019
Mu317、mu326、317-4B6、326-4A3、317-4B2、317-4B5、317-1、326-3B1、326-3G1、326-1、317-3A1、317-3C1、317-3E1、317-3G1、317-3H1、317-3I1、317-4B1、317-4B3、317-4B4、317-4A2、326-3A1、326-3C1、326-3D1、326-3E1、326-3F1、326-3B N55D、326-4A1、326-4A2BGB-A317	US 8,735,553
22A5、6El、lODl，4C1、7D3、13Fl、14A6、15H5、5A8、7A4 和其人源化的版本	US 2017/267762
1E9、hlE9-l、hlE9-2、hlE9-4、hlE9-5、4B10、h4B10-1、h4B10-2、h4B10-3、1B10、10B4、A09、C07、F09、G08、G10、H08、H09 和 1353-G10	US 2018/142022
M136-M13-MHC723、m136-M14-MHC724、m136-M19-MHC725、m245-M3-MHC728、m245-M5-MHC729、A1.0、A1.6、Ba2、Bb2/C1.1、和 D4	US 2017/0044259
PD-1 mAb 1；PD-1 mAb 2；PD-1 mAb 3；PD-1 mAb 4；PD-1 mAb 5；PD-1 mAb 6；PD-1 mAb 7；PD-1 mAb 8；PD-1 mAb 9；PD-1 mAb 10；PD-1 mAb 11；PD-1 mAb 12；PD-1 mAb 13；PD-1 mAb 14；PD-1 mAb 15；和其人源化的版本：hPD-1 mAb 2；hPD-1 mAb 7；hPD-1 mAb 9；hPD-1 mAb 15；	US 2017/019846
PD1B11、PD1B70、PD1B71、PD1B114 和它的親和力-成熟的變體：PD1B149、PD1B160、PD1B162、PD1B164、PD1B183、PD1B184、PD1B185、PD1B187、PD1B192、PD1B175、PD1B177、PD1B194、PD1B195、PD1B196、PD1B197、PD1B198、PD1B199、PD1B200、PD1B201	US 20017/079112
BAP049-hum01、BAP049-hum02、BAP049-hum03、BAP049-hum04、BAP049-hum05、BAP049-hum06、BAP049-hum07、BAP049-hum08、BAP049-hum09、BAP049-huml0、BAP049-huml1、BAP049-huml2、BAP049-huml3、BAP049-huml4、BAP049-huml5、BAP049-huml6、BAP049-克隆-A、BAP049-克隆-B、BAP049-克隆-C、BAP049-克隆-D、或 BAP049-克	US 2018/0371093

表 1 PD-1-結合結構域/分子	
名稱	參考
隆-E、PDR-001	
AGEN-2034、AGEN-2034w、AGEN2033w、AGEN2046w、AGEN2047w、AGEN2001w、AGEN2002w、EPl l_pll_B03、EPl l_pll_B05、EPl l_pll_C02、EPl l_pll_C03	US 2017/081409
m136-M13– MHC723、m136-M19– MHC725、m245-M3– MHC728、m245-M5– MHC729、m136-M14– MHC724 和人源化變體 PD-1 A、PD-1 Ab、PD-1 Ae、PD-1 Af、PD-1 Ba、PD-1 Bb、PD-1 C、PD-1 Ca、PD-1 D、PD-1 1.0、PD-1 1.1、PD-1 1.2、PD-1 1.4、PD-1 1.5、PD-1 1.6、PD-1 1.7、PD-1 1.9、PD-1 1.10、PD-1 2、PD-1 4、CX188	US 2017/044259
244C8、388D4、413E1、246A10、413D2 和人源化變體 D4-HC3+LC1、D4-HC1+LC3、D4-HC3+LC3、C8-HC1+LC1、C8-HC1+LC3、C8-HC2+LC1	US 10,239,942
PRS-332；選自序列編碼：59-84 和 112-117 的 VH 和選自序列編碼：85-111 和 118-123 的 VL	US 2019/010231
H005-1	US 2016/376367
BA08-1	US 2017/210806
R3A1、R3A2、R4B3、R3B7、R3D6、A2_#1、A2_#2	US 2018/244779
BY18.1	WO 2016/180034
抗體 A、抗體 B、抗體 C、抗體 D、抗體 E、抗體 F、抗體 G、抗體 H、抗體 I；11430	US 2017/0044260
SHB-128、SHB-152、SHB-168、SHB-617 和人源化變體 SSI-361	US 2018/346569
E8-3、C2-3、E1-3、F3-3、H8-3、C10-2、G2-1、G3-2、H2-1、H4-2、C8-1、G10-2、135C12、136B4、139D6、136E10、122F10、139D6、137F2	US 9,982,052
AB12M3、AB12M4、AB12M5、AB12M6、AB12M7、AB12M8、AB12M9	US 2018/113258
1.7.3 hAb、1.49.9 hAb、1.103.11 hAb、1.139.15 hAb、1.153.7 hAb	US 2017/024515；US 2017/025051
包括 949 VK1 gL9 gH8b 的 949 和人源化變體	US 9,102,728
948 和人源化變體	US 8,993,731
STM-432	US 2019/077866

【0138】 具體地考慮了，本文呈現的PD-1-結合分子可直接地使用在本發明的方法中，或者序列或多肽鏈可用於構建替選的PD-1-結合分子或PD-1 x LAG-3雙特異性分子的構建體中。

B. PD-L1-結合結構域和分子

【0139】 在一個實施方式中，PD-L1-結合結構域包括**SEQ ID NO:43**和**SEQ ID NO:47**的VL和VH結構域的CDR。在另一實施方式中，PD-L1-結合結構域包括**SEQ ID NO:43**和**SEQ ID NO:47**的人源化的VL和VH結構域。

【0140】 這種人源化的VL_{PD-L1}結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:43**)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**KASQDVN TAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**W ASTRHT**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ HYNTPLT**FGQ GTKVEIK

【0141】 這種VL_{PD-}L1的CDR是：

CDR_L1 **SEQ ID NO:44**: KASQDVNTAVA；

CDR_L2 **SEQ ID NO:45**: WASTRHT；和

CDR_L3 **SEQ ID NO:46**: QQHYNTPLT。

【0142】 這種VH_{PD-L1}人源化的結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:47**)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **SYTMS**WVRQA PGKGLEWVA**Y ISIGGGTTYY PDTVKG**RFTI SRDNAKNTLY LQMNSLKTED TAVYYCAR**QG LPYYFDY**WGQ GTLVTVSS

【0143】 這種VH_{PD-L1}的CDR是：

CDR_H1 **SEQ ID NO:48**: SYTM；

CDR_H2 **SEQ ID NO:49**: YISIGGGTTYYPDTVK；和

CDR_H3 **SEQ ID NO:50**: QGLPYYFDY。

【0144】 已經描述了可替選的PD-L1-結合結構域和包括其的分子，並且包括但不限於**表2**中呈現的那些，以及這裡通過常用名或INN名稱提及。

表 2
PD-L1-結合分子

名稱	參考
阿得貝利單抗(Adebrelimab) (CAS 註冊號：2247114-85-6，也稱為 HTI-1088，SHR-1316，是由 Hengrui Therapeutics 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 122，33(4):804-805
阿特利珠單抗(Atezolizumab) (CAS 註冊號：2118349-31-6，也稱為 MPDL3280A，RG7446，且	WHO 藥物資訊，2015，推薦的 INN：列表 74，29(3):387

表 2 PD-L1-結合分子	
名稱	參考
由 Genentech，Inc.作為 TECENTRIQ®銷售的)	
阿維魯單抗 (CAS 註冊號：2118349-31-6，也稱為 MSB-0010718C、MSB0010682、MSB0010718C，且由 EMD Serono 作為 BAVENCIO®銷售)	WHO 藥物資訊，2016，推薦的 INN：列表 74，30(1):100-101
必特芙普 α(Bintrafusp alfa) (CAS 註冊號：1918149-01-5，具有融合至針對 PD-L1 的人 IgG1 單克隆抗體的 TGF-βRII (TGF-β “捕獲”)的 2 細胞外結構域的雙官能融合蛋白，也稱為 M7824，是由 Merck 和 GSK 開發的)	WHO 藥物資訊，2019，推薦的 INN：列表 81，33(1):52-54
柯希利單抗(Cosibelimab) (CAS 註冊號：2216751-26-5，也稱為 CK-301，由 Checkpoint Therapeutics 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 121，33(2):258-259
度伐魯單抗(Durbalumab) (CAS 註冊號：2118349-31-6，也稱為 MEDI4736，其由 Astrazeneca 作為 IMFINZI®銷售)	WHO 藥物資訊，2015，推薦的 INN：列表 74，29(3):393-394
恩沃利單抗 (Envafolimab)(CAS 註冊號：2102192-68-5，單-結構域抗體也稱為 KN-035，是由 Alphamab Co.開發的)	WHO 藥物資訊，2019，推薦的 INN：列表 82，33(3):634-635
瑪奈利單抗(Manelimab) (CAS 註冊號：2168561-26-8，也稱為 BCD-135，是由 CJSC Biocad 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 121，33(2):289-290
歐可利單抗 (Opucolimab)(CAS 註冊號：2251771-79-4，也稱為 HLX20，是由 Henlix Biotech 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 122，33(4):866-867
派克米利單抗 (Pacmilimab)(CAS 註冊號：2145091-51-4，a PROBODY™也稱為 CX-072，是由 CytomX Therapeutics 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 121，33(2):312-313
索維舒地爾單抗(sugemalimab) (CAS 註冊號：2256084-03-2，也稱為 CS-1001，WBP-315，WBP 3155，是由 CStone Pharmaceuticals 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 122，33(4):892-893
A09-188-1 以及親和力成熟的和優化的變體：A09-204-1、A09-211-1、A09-212-1、A09-213-1、A09-214-1、A09-215-1、A09-216-1、A09-219-1、A09-220-1、A09-221-1、A09-222-1、A09-223-1、A09-202-1、A09-248-2、A09-239-2、A09-240-2、A09-241-2、A09-242-2、A09-243-2、A09-244-2、A09-245-2、A09-246-2、A09-247-2	US 9,624,298
YW243.55.S70、243.55.H1、243.55.H12、243.55.H37、243.55.H70、243.55.H89、243.55.S1、243.55.5、243.55.8、243.55.30、243.55.34、243.55.S37、243.55.49、243.55.51、243.55.62、243.55.84	US 8,217,149

表 2 PD-L1-結合分子	
名稱	參考
2.9D10、2.7A4、2.14H9、3.15G8、2.20A8、3.18G1、2.7A4OPT 或 2.14H9OPT	US 8,779,108B2
1B9.2E11.2、4H1.G10.15、1A8、1E4、8G2、1D11、3A2、3B11、3F4、3H6、4C1、4E1、5A6、9C12、1B4、1B11、1F6、1H8、1H12、2D5、2H11、3D12、4C8、4C9、5E10、5H4、5H5、8A1、9G9、10A7 和 10H6	US 2015/0197571
1D05、84G09、411B08、411C04、411D07、386H03、386A03、385F01、413D08、413G05、413F09、414B06	US 9,617,338
3G10,12A4,10A5、5F8,10H10、1B12、7H1、11E6、12B7 和 13G4	US 9,273,135
A1、C2、C4、H12 和 H12-GL	US 2017/0319690
Ab-14、Ab-16、Ab-22、Ab-30、Ab-31、Ab-32、Ab-38、Ab-42、Ab-46、Ab-50、Ab-52、Ab-55、Ab-56 和 Ab-65	US 9,828,434
R2κA3、R2κA4、R2κA6、R2κF4、R2κH5、R2κH6、R2κH3、sR3κA8、sR3κA9、sR3κB2、sR3κB5、tccR3KA8、tccR3KAl1、tccR3KB7、tccR3KD9、tccKF10、tctR3KA4、tctR3KF8、R2λA7、R2λB12、R2λ12、sR3λD7、*sR3λE1*、tccAF8、tccAD7、tctR3λH4、KD-033 和其他	US 2016/340429
H2M8306N、H2M8307N、H2M8309N、H2M8310N、H2M8312N、H2M8314N、H2M8316N、H2M8317N、H2M8321N、H2M8323N、H2M8718N、H2M8718N2、和 H2M8719N、H1H9323P、H1 H9327P、H1 H9329P、H1H9336P、H1H9344P2、1H9345P2、H1H9351P2、H1H9354P2、H1 H9364P2、H1H9373P2、H1H9382P2、H1H9387P2 和 H1H9396P2	US 9,938,345
克隆 8、克隆 12、克隆 16、克隆 18、克隆 60 及其優化的變體包括：cl、dl、g7、h9、b10、E10、A05、C05、C10、D08、G09、G10、G12、Ell、D01、H06、C5H9、C5B10、C5E10、G12H9、G12B10、G12E10；	US 2016/0311903
BAP058 及其人源化變體包括：BAP058-hum01、BAP058-hum02、BAP058-hum03、BAP058-hum04、BAP058-hum05、BAP058-hum06、BAP058-hum07、BAP058-hum08、BAP058-hum09、BAP058-hum10、BAP058-hum11、BAP058-hum12、BAP058-hum13、BAP058-hum14、BAP058-hum15、BAP058-hum16 和 BAP058-hum17；FAZ-053	US 9,988,452
Mu333、Mu277 及其人源化變體包括：hu333-2B、hu333-3A2、hu333-3C2 和 hu333-3H2	US 2018/215825

表 2 PD-L1-結合分子	
名稱	參考
332M1 及其人源化變體包括：332M7、332M72 和 332M8	US 2018/346571
PDL1.1、PDL1.2	US 8,741,295
13C5、5G9、5G11、8C6、7B4、4D1、4A8、8H4、8H3、15F1 及其人源化變體包括 hu5G11、hu13C5；	US 2017/0204184
PDL1-56 dAb、Hu56V1、Hu56V2、Hu56V3、Hu56V4、Hu56V5 和 KN035	US 2018/0291103
1.4.1、1.14.4、1.20.15 和 1.46.11	WO 2017/020858
CTI-07、CTI-09、CTI-48、CTI-49、CTI-50、CTI-76、CTI-77、CTI-78、CTI-57 或 CTI-58	US 2018/0002424
92、24D5、29H1、9_2-1、9_2-2、9_2-3、9_2-4、9_2-5、9_2-6、9_2-7、9_2-8、9_2-9、9_2-10、24D5-H、HRP00049、HRP-00052	US 2018/0334504
5F10、9F6、5C10 及其人源化變體包括 5C10H1L1、5C10H1L2、5C10H2L1 和 5C10H2L2	US 2018/0305464
4B6、26F5、21F11、23A11、23F11 和 22C9；BM-GT、BM-ME、4B6-H3L4、4B6-H4L3、23F11-H4L4、23F11-H4L6、23F11-H6L4、23F11-H6L6、23A11-H3L3、23A11-H3L5、23A11-H5L3 和 23A11-H5L5；	WO 2017/161976
3C5-2G12 及其人源化變體包括 h3C5H1-h3C5L1、h3C5H2- h3C5L2、h3C5H3- h3C5L2、h3C5H4-h3C5L2、	WO 2017/196867
29E.2A3 和 24F.10C12	US 8,552,154
PD-L1 MAB-1、PD-L1 MAB-2、PD-L1 MAB-3 及其人源化變體包括 hPD-L1 MAB2、hPD-L1-MAB-3	WO 2020/041404

【0145】 具體地考慮了，本文呈現的PD-L1-結合分子可直接地使用在本發明的方法中，或者序列或多肽鏈可用於構建可替選的PD-L1-結合分子，或PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

C. LAG-3-結合結構域和分子

【0146】 在一個實施方式中，LAG-3-結合結構域包括**SEQ ID NO:51**和**SEQ ID NO:55**的VL和VH結構域的CDR。在另一實施方式中，LAG-3-結合結構域包括**SEQ ID NO:51**和**SEQ ID NO:55**的人源化的VL和VH結構域。

【0147】 這種人源化的VL_{LAG-3}結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:51**)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQDVS SVVA**WYQQKP GKAPKLLIY**S ASYRYT**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ HYSTPWT**FGG GTKLEIK

【0148】 這種VL_{LAG-3}結構域的CDR包括：

CDR_L1 **SEQ ID NO:52**: RASQDVSSVVA；

CDR_L2 **SEQ ID NO:53**: SASYRYT；和

CDR_L3 **SEQ ID NO:54**: QQHYSTPWT。

【0149】 這種人源化的VH_{LAG-3}結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:55**)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **DYNMD**WVRQA PGQGLEWMG**D INPDNGVTIY NQKFEG**RVTM TTDTSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCAR**EA DYFYFDY**WGQ GTTLTVSS

【0150】 這種VH_{LAG-3}結構域的CDR包括：

CDR_H1 **SEQ ID NO:56**: DYNMD；

CDR_H2 **SEQ ID NO:57**: DINPDNGVTIYNQKFEG；和

CDR_H3 **SEQ ID NO:58**: EADYFYFDY。

【0151】 已經描述了可替選的LAG-3-結合結構域和包括其的分子，並且包括但不限於**表3**中呈現的那些，以及這裡通過常用名或INN名稱提及。

表 3
LAG-3-結合分子

名稱	參考
瑞拉利單抗 (relatlimab)(CAS 註冊號：1673516-98-7，也稱為 BMS-986016，ONO-4482，是由 Bristol-Myers Squibb 開發的)	WHO 藥物資訊，2019，推薦的 INN：列表 81，33(1):104-105
艾拉利單抗 (ieramilimab)(CAS 註冊號：2137049-37-5，也稱為 LAG-525，IMP-701，是由 Novartis 開發的	WHO 藥物資訊 2018，建議的 INN：列表 120，32(4):601-602
安沙利單抗 (encelimab)(CAS 註冊號：2173096-82-5，也稱為 TSR-033，是由 Anaptysbio/Tessero 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 121，33(2):265-266
弗安利單抗(fianlimab) (CAS 註冊號：2126132-98-5，也稱為 REGN 3767，是由 Regneron 開發的)	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列表 121，33(2):271-272
瑪維澤利單抗(mavezelimab) (CAS 註冊號：	WHO 藥物資訊 2019，建議的 INN：列

表 3 LAG-3-結合分子	
名稱	**參考**
2231068-83-8，也稱為 MK-4280，是由 Merck 開發的	表 121，33(2):290-291

【0152】 具體地考慮了，本文呈現的LAG-3-結合分子可直接地使用在本發明的方法中，或者序列或多肽鏈可用於構建替選的LAG-3-結合分子，或PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子。

D. PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子

【0153】 按照本發明可使用免疫特異性結合至人PD-1(或PD-L1)和人LAG-3二者的基於抗體的分子(即，PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或PD-L1 x LAG-3雙特異性分子)將包括至少一種免疫特異性結合PD-1的表位(或PD-L1)的表位元-結合結構域和至少一種免疫特異性結合LAG-3的表位的表位元-結合結構域。

【0154】 在某些實施方式中，本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(I) PD-1-結合結構域，其包括包含PD-1-特異性CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3結構域的VL結構域(VL_{PD-1})和包含PD-1-特異性CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3結構域的VH結構域(VH_{PD-1})；以及

(II) LAG-3-結合結構域，其包括包含LAG-3-特異性CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3結構域的VL結構域(VL_{LAG-3})和包含LAG-3-特異性CDR_H1、CDR_H2、和CDR_H結構域的VH結構域(VH_{LAG-3})，

其中D-1-結合結構域和AG-3-結合結構域是選自**表1**和**3**中提供的那些。

【0155】 在其他實施方式中，本發明的PD-L1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(I) PD-L1-結合結構域，其包括包含PD-L1-鐵提鄉CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3結構域的VL結構域(VL_{PD-L1})和包含PD-L1-特異性CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3結構域的VH結構域(VH_{PD-L1})；和

(II) LAG-3-結合結構域，其包括包含LAG-3-特異性CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3結構域的VL結構域(VL_{LAG-3})和包含LAG-3-特異性CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3結構域的VH結構域(VH_{LAG-3})，

其中PD-L1-結合結構域和LAG-3-結合結構域是選自**表2**和**3**中提供的那些。

【0156】 本發明的一個實施方式涉及包括Fc結構域的PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子。在一個實施方式中，PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子包括具有很少或沒有ADCC活性的Fc結構域。在一個實施方式中，PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子包括具有很少或沒有ADCC活性的Fc結構域且包括一種或多種延長血清半衰期的突變。

【0157】 在某些實施方式中，本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子是PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體，優選地具有兩個對PD-1具有特異性的結合位點、兩個對LAG-3具有特異性的結合位元點、Fc結構域和含有半胱氨酸的E/K-螺旋異源二聚體促進結構域的四條鏈的、含有Fc結構域的雙抗體。代表性PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體的通式結構在**圖1**中提供。這種分子包括結合至PD-1的抗體的VL和VH結構域(分別為$\mathbf{VL_{PD-1}}$和$\mathbf{VH_{PD-1}}$)和還有結合至LAG-3的抗體的VL和VH結構域(分別為$\mathbf{VL_{LAG-3}}$和$\mathbf{VH_{LAG-3}}$)。因此，這種PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體能夠特異性結合至PD-1的表位和LAG-3的表位。

1. DART-I

【0158】 “DART-I” (也稱為“MGD013”和tebotelimab)是本發明的代表性PD-1 x LAG-3雙特異性分子。DART-I是具有兩個對PD-1具有特異性的結合位點、兩個對LAG-3具有特異性的結合位點、為延長半衰期而工程化的變體IgG4 Fc結構域和含有半胱氨酸的E/K-螺旋異源二聚體促進結構域的的雙特異性的、四條鏈的、含有Fc結構域的雙抗體。DART-I包括具有**表4**中總結的氨基酸序列的四條多肽鏈。以下進一步詳細描述了氨基酸序列。

表 4 – DART-I SEQ ID NOS

DART-I (tebotelimab)	**替換基多肽(在 N-末端至 C-末端方向上)**
第一和第三多肽鏈 **(SEQ ID NO:59)**	**SEQ ID NO:51** **SEQ ID NO:21** **SEQ ID NO:39** **SEQ ID NO:22** **SEQ ID NO:25** **SEQ ID NO:11** **SEQ ID NO:20**
第二和第四多肽鏈 **(SEQ ID NO:60)**	**SEQ ID NO:35** **SEQ ID NO:21** **SEQ ID NO:55** **SEQ ID NO:22** **SEQ ID NO:26**

【0159】 DART-I的第一和第三多肽鏈包括，在N-末端至C-末端方向上：N-末端、能夠結合至LAG-3的單克隆抗體的VL結構域(VL_{LAG-3} **SEQ ID NO:51**)、間插連接體肽(**連接體1：**GGGSGGGG (**SEQ ID NO:21**))、能夠結合至PD-1的單克隆抗體的VH結構域(VH_{PD-1}) (**SEQ ID NO:39**)；含有半胱氨酸的間插連接體肽(**連接體2：**GGCGGG (**SEQ ID NO:22**))、含有半胱氨酸的異源二聚體促進(E-螺旋)結構域(EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (**SEQ ID NO:25**))、包括穩定的IgG4鉸鏈區的間插連接體肽(**連接體3**) (**SEQ ID NO:11**)；包括替換M252Y/S254T/T256E且缺乏C-末端殘基的變體IgG4 CH2-CH3結構域和C-末端(**SEQ ID NO:20**)。

【0160】 DART-I的第一和第三多肽鏈的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:59**)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS SVVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGG
GTKLEIKGGG SGGGGQVQLV QSGAEVKKPG ASVKVSCKAS GYSFTSYWMN
WVRQAPGQGL EWIGVIHPSD SETWLDQKFK DRVTITVDKS TSTAYMELSS
LRSEDTAVYY CAREHYGTSP FAYWGQGTLV TVSSGGCGGG EVAACEKEVA
ALEKEVAALE KEVAALEKES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT
LYITREPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS
DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLG

【0161】 DART-I的第二和第四多肽鏈包括，在N-末端至C-末端方向上：N-末端、能夠結合至PD-1的單克隆抗體的VL結構域(VL_{PD-1}) (**SEQ ID NO:35**)、間插連接體肽(**連接體1**：GGGSGGGG (**SEQ ID NO:21**))、能夠結合至LAG-3的單克隆抗體的VH結構域(VH_{LAG-3}) (**SEQ ID NO:55**)、含有半胱氨酸的間插連接體肽(**連接體2**：GGCGGG (**SEQ ID NO:22**))、含有半胱氨酸的異源二聚體促進 (K-螺旋)結構域(KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (**SEQ ID NO:26**)和C-末端。

【0162】 DART-I的第二和第四多肽鏈的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:60**)：

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI KGGGSGGGGQ VQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKASGYTFTD
YNMDWVRQAP GQGLEWMGDI NPDNGVTIYN QKFEGRVTMT TDTSTSTAYM
ELRSLRSDDT AVYYCAREAD YFYFDYWGQG TTLTVSSGGC GGGKVAACKE
KVAALKEKVA ALKEKVAALK E

【0163】 DART-I的變體可易於通過併入可替選的VH/VL結構域、間插連接體、Fc結構域和/或通過引入一種或多種氨基酸替換、增加或刪除生成。例如，工程化至減少/消除FcγR結合和/或ADCC活性且為了延長半衰期的變體IgG1 Fc結構域易於通過併入包括替換L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E (**SEQ ID NO:19**)而不是**SEQ ID NO:20**的CH2和CH3結構域生成。這種變體的連接體3可包括IgG1鉸鏈(**SEQ ID NO:33**、**SEQ ID NO:35**或**SEQ ID NO:34**)。在本發明的方

法中可使用的的另外連接體和PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體在WO 2015/200119和WO 2017/019846中公開(參見具體的“DART-A”、DART-B”、“DART-C”、“DART-D”、“DART-E”、“DART-F”和“DART-G”，其序列在表14中那裡描述)。

2. 另外PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子

【0164】 已經描述了在本發明的方法中可使用的其他PD-1 x LAG3雙特異性分子，並且其包括但不限於**表5**中呈現的那些和以下進一步描述的。

表 5
PD-1 x LAG-3 (或 PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子

名稱	參考
PD-1 x LAG3 雙特異性分子，包括報導的序列編碼的組合：5 和 4、6 和 4、3 和 4、3 和 7、3 和 8、9 和 4、10 和 4、3 和 11、3 和 12	WO 2017/025498
PD-1 x LAG3 雙特異性分子，名稱為：FS18-7-9/84G09、FS18-7-32/84G09、FS18-7-33/84G09、FS18-7-36/84G09、FS18-7-58/84G09、FS18-7-62/84G09、FS18-7-65/84G09、FS18-7-78/84G09、FS18-7-88/84G09、FS18-7-95/84G09	WO 2017/220569
PD-1 x LAG3 雙特異性分子，名稱為 57E02x51A09-188001 mAbdAb 的；和許多 PD-1 和 LAG-3 表位元結合結構域	WO 2018/083087
PD-1 x LAG3 雙特異性分子，包括報導的序列編碼的組合：74 和 66、61 和 75、85 和 66、61 和 86、78 和 62、65 和 79、65 和 81、78 和 79、65 和 62、61 和 66、76 和 66、61 和 77、80 和 62、65 和 81	WO 2018/134279
PD-1 x LAG3 雙特異性分子，名稱為：0799、0927、0222、0224、8970、8984、9010、8310、8311、1252、8312、8313、1088、0918、0725	WO 2018/185043
PD-1 x LAG3 雙特異性分子，名稱為名稱：A、B、C、E、F、G、H、I、J、K、L、M、N、O、P、Q、R、S、T、U	WO 2018/217940
PD-1 x LAG3 雙特異性分子，名稱為：18ASS、90ASU、33ARK	WO 2019/148412

【0165】 WO 2017/025498和WO 2018/134279中描述了PD-1 x LAG3雙特異性抗體-脂鈣蛋白突變蛋白融合蛋白。這種抗體-脂鈣蛋白突變蛋白融合蛋白的示例包括具有工程化為結合LAG-3的基因融合至重鏈的C-末端的脂鈣蛋白突變蛋白的抗PD-1抗體。

【0166】 WO 2018/083087中描述了PD-1 x LAG-3雙特異性抗體-結構域抗體(抗體-dAb)融合蛋白。這種抗體-dAb融合蛋白的示例包括具有基因融合至重鏈的C-末端的抗PD-1 dAb的抗LAG-3抗體。WO 2018/185043中描述了包括CHl/Ck結構域交換(單獨與VH/VL交換組合)和/或CH1/CL介面的帶電的氨基酸替換的PD-1 x LAG-3雙特異性抗體。這種雙特異性抗體的示例包括四多肽鏈抗體，其具有一個PD-1-結合結構域和一個LAG-3-結合結構域(1+1抗體)包括交叉Fab(與VH/VL結構域交換)，和具有三條不同多肽鏈的三多肽鏈抗體，兩個PD-1-結合結構域和兩個LAG-3-結合結構域(2+2抗體)包含兩個在CH1/CK中具有突變的Fab結構域和兩個在每條重鏈的C-末端處融合的交叉Fab結構域。

【0167】 WO 2018/217944和WO 2018/217940中描述了具有三條多肽鏈Fab x scFvFc結構或兩條多肽鏈scFvFc x scFvFc結構的PD-1 x LAG-3雙特異性抗體。這種雙特異性抗體的示例包括與抗LAG3 scFvFc孔配對的抗PDl scFvFc和與抗LAG3半IgG配對的抗PD1 scFvFc (重鏈+輕鏈)。

【0168】 具體地考慮了，本文呈現的PD-1 x LAG-3雙特異性分子和PD-L1 x LAG-3雙特異性分子可直接使用在本發明的方法中。可生成可替選的PD-1 x LAG-3雙特異性分子和PD-L1 x LAG-3雙特異性分子，其包括本文提供的任何PD-1、PD-L1和LAG-3-結合分子的6個CDR (或VL和VH結構域) (參見，例如，**SEQ ID NOS:35-58**，和**表1-5**)。

III. 結合至TA的基於抗體的分子

【0169】 按照本發明可使用的免疫特異性結合至腫瘤抗原(**TA**)的基於抗體的分子(即，TA-結合分子)將包括至少一種免疫特異性結合這種**TA**的表位的表位元-結合結構域(TA-結合結構域)。

【0170】 在某些實施方式中，本發明考慮了包括TA-結合結構域的基於抗體的分子，其進一步包括Fc結構域。在一個實施方式中，TA-結合分子的Fc結構域是野生型IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc結構域。在另一實施方式中，TA分子的Fc結構域是**ADCC-增強的Fc結構域**。

【0171】 本發明還涵蓋了包括Fc結構域的TA-結合分子，其中這種Fc結構域包括：

(a) 一種或多種增強ADCC的突變和/或修飾；和/或

(b) 一種或多種延長血清半衰期的突變。

【0172】 在一個實施方式中，TA-結合分子包括FcMT1 ADCC-增強的Fc結構域(**SEQ ID NO:16**)、FcMT2 ADCC-增強的Fc結構域(**SEQ ID NO:17**)或FcMT3 ADCC-增強的Fc結構域(**SEQ ID NO:18**)。

A. 腫瘤抗原

【0173】 本發明具體地考慮了包括或採用TA-結合分子和以下的組合物和方法：

(1) PD-1 x LAG-3雙特異性分子；

(2) 單特異性PD-1-結合分子和單特異性LAG-3-結合分子；

(3) PD-L1 x LAG-3雙特異性分子；或

(4) 單特異性PD-L1-結合分子和單特異性LAG-3-結合分子，

其中這種單特異性結合分子是完整的抗體，並且這種雙特異性分子是雙抗體或雙特異性抗體。在某些實施方式中TA-結合分子包括ADCC-增強的Fc結構域。

【0174】 可由這種TA-結合分子結合的腫瘤抗原包括但不限於**表6A-6B**中呈現的那些，並且本文通過常用名、短名和/或基因名稱可提及。

表 6A 腫瘤抗原		
蛋白質腫瘤抗原	**基因名稱**	**UniProtKB ID No.**
α-N-乙醯半乳糖胺 α-2,6-唾液酸轉移酶 6	ST6GALNAC6；CA19-9	Q969X2
5,6-二羥基吲哚-2-羧羧酸羧酸氧化酶	TYRP1、gp75	P17643
啟動的白細胞細胞黏附分子	ALCAM 、CD166	Q13740
α-1,4-N-乙醯葡糖氨基轉移酶	A4GNT	Q9UNA3
B 黑素瘤抗原 1	BAGE、CT2.1	Q13072
Basigin	BSG、CD147	P35613
B-細胞抗原受體複合物-締合的蛋白質 α 鏈	CD79A	P11912
B-細胞抗原受體複合物-締合的蛋白質 β 鏈	CD79B	P40259
B-細胞受體 CD22	BL-CAM、CD22	P20273
B-淋巴細胞抗原 CD19	CD19	P15391
B-淋巴細胞抗原 CD20	MS4A1、CD20	P11836
骨髓基質抗原 2	BST2、CD317	Q10589
campath-1 抗原	CD52	P31358
脫水酶碳酸酐酶 14	CA14	Q9ULX7
羧肽酶 M	CPM	P14384
胚胎抗原-相關的細胞黏附分子 5	CEACAM5、CD66e	P06731
胚胎抗原-相關的細胞黏附分子 6	CEACAM6、CD66c	P40199
連環蛋白 β -1	CTNNB1、β -連環蛋白	P35222
CD27 抗原	CD27	P26842
CD276 抗原	CD276、B7-H3	Q5ZPR3
CD40 配體	CD40LG、CD154	P29965
細胞-表面 A33 抗原	GPA33	Q99795
軟骨蛋白硫酸硫酸軟骨素蛋白聚糖 4	CSPG4	Q6UVK1
C 型凝集素結構域家族成員 4 C	CLEC4C、BDCA2、CD303	Q8WTT0
週期蛋白依賴性激酶 4	CDK4	P11802
細胞毒素 T-淋巴細胞蛋白質 4	CTLA4	P16410
含有解聚素和金屬蛋白酶結構域的蛋白質 9	ADAM-9	Q13443
肝配蛋白 A 型受體 2	EPHA2	P29317
表皮生長因數受體	EGFR、ERBB1、HER1	P00533
上皮細胞黏附分子	EPCAM、CD326	P16422
G 抗原 1	GAGE1、CT4.1	Q13065
G 抗原 2A	GAGE2A	Q6NT46
G 抗原 2B/C	GAGE2B	Q13066
G 抗原 2D	GAGE2D	Q9UEU5
G 抗原 2E	GAGE2E	Q4V326
G2/有絲分裂-特異性週期蛋白-B1	CCNB1	P14635
GDP-L-岩藻糖合酶	TSTA3	Q13630
谷氨酸羧肽酶 2	FOLH1、PSMA	Q04609

表 6A 腫瘤抗原		
蛋白質腫瘤抗原	**基因名稱**	**UniProtKB ID No.**
透明質酸酶-2	HYLA2、LUCA2	Q12891
失活的酪氨酸-蛋白激酶跨膜受體 ROR1	ROR1、NTRKR1	Q01973
整聯蛋白 α-E	ITGAE、CD103	P38570
整聯蛋白 β-6	ITGB6	P18564
白細胞介素-13 受體亞單位 α-2 (CD123、白細胞介素-3 受體的的亞單位)	IL13RA2、CD213a2	Q14627
白細胞介素-2 受體亞單位 α	IL2RA：CD25	P01589
連接黏附分子 C	JAM3	Q9BX67
角質，II 型細胞骨架 8	CK-8、KRT8	P05787
乳凝集素	MFGE8	Q08431
低-親和力免疫球蛋白 ε Fc 受體	FCER2、CD23	P06734
黑素細胞蛋白質 PMEL	PMEL、gp100	P40967
由 T-細胞 1 識別的黑素瘤抗原	MLANA、MART1	Q16655
黑素瘤-締合的抗原 1	MAGEA1、MAGE1	P43355
黑素瘤-締合的抗原 3	MAGEA3、MAGE3	P43357
黑素轉鐵蛋白	MELTF、MAAp97、CD228	P08582
膜輔助因數蛋白質	CD46	P15529
間皮蛋白	MSLN	Q13421
黏蛋白-1	MUC1、PEM	P15941
黏蛋白-16	MUC16、CA-125	Q8WXI7
髓樣細胞-表面抗原 CD33	CD33	P20138
神經細胞黏附分子 1	NCAM1、CD56	P13591
致癌蛋白-M	OSM	P13725
致癌蛋白-M-具體的受體特異性受體亞單位 β	OSMR、IL31RB	Q99650
血小板糖蛋白 4	CD36	P16671
程式設計細胞死亡 1 配體 1	CD274	Q9NZQ7
鞘脂啟動蛋白原受體 GPR37	GPR37	O15354
前列腺-特異性抗原	KLK3、PSA	P07288
前列腺酸性磷酸酶	ACPP	P15309
蛋白質 PML	PML、TRIM19、Myl	P29590
含有 PWWP 結構域的 DNA 修復因數 3A	PWWP3A、MUM1	Q2TAK8
受體酪氨酸-蛋白激酶 erbB-2	ERBB2、HER2、CD340	P04626
受體酪氨酸-蛋白激酶 erbB-3	ERBB3、HER3	P21860
受體酪氨酸-蛋白激酶 erbB-4	ERBB4、HER4	Q15303
受體型酪氨酸-蛋白質磷酸酶 C	PTPRC、CD45	P08575
T-細胞表面糖蛋白 CD5	CD5	P06127
T-細胞-特異性表面糖蛋白 CD28	CD28	P10747
運鐵蛋白受體蛋白質 1	TFRC、CD71	P02786
跨膜 4 L6 家族成員 1	TM4SF1、TAAL6	P30408
滋養層糖蛋白	TPBG、5T4	Q13641

表 6A 腫瘤抗原		
蛋白質腫瘤抗原	**基因名稱**	**UniProtKB ID No.**
腫瘤壞死因數受體超級家族成員 10B	TNFRSF10B、DR5、CD262	O14763
腫瘤壞死因數受體超級家族成員 1A	TNFRSF1A、TNFR1、CD120a	P19438
腫瘤壞死因數受體超級家族成員 1B	TNFRSF1B、TNFR2、CD120b	P20333
腫瘤壞死因數受體超級家族成員 3	LTBR、TNFR3	P36941
腫瘤壞死因數受體超級家族成員 5	CD40	P25942
腫瘤壞死因數受體超級家族成員 6	TNFR6、Apo-1、Fas、CD95	P25445
泛素-共軛酶 E2 K	UBE2K	P61086
泛素-蛋白質連接酶 E3A	UBE3A	Q05086
血管內皮生長因數 A	VEGFA	P15692
血管內皮生長因數 B	VEGFB	P49765
血管內皮生長因數受體 1	FLT1、VEGFR1	P17948
血管內皮生長因數受體 2	KDR、VEGFR2、CD309	P35968
血管內皮生長因數受體 3	FLT4、VEGFR3	P35916
鋅指蛋白質 354C	ZNF354C、KID3	Q86Y25

表 6B 腫瘤抗原	
腫瘤抗原	**引證**
3-岩藻糖基-N-乙醯氨基乳糖	Gooi, H.C. (1983), "*Marker Of Peripheral Blood Granulocytes And Monocytes Of Man Recognized By Two Monoclonal Antibodies VEP8 And VEP9 Involves The Trisaccharide 3-Fucosyl-N-Acetyllactosamine*," Eur. J. Immuno. 13(4):306-12.
血液 A 組抗原	Gooi, H.C.,等(1983) "*Monoclonal Antibody Reactive With The Human Epidermal Growth Factor Receptor Recognizes The Blood Group A Antigen*," Biosci. Rep. 3(11):1045-52.
雙岩藻糖基 1 型鏈(Aleb) 雙岩藻糖基 2 型鏈(ALey)	Dohi, T.等(1989) "*Immunohistochemical Study Of Carbohydrate Antigen Expression In Gastric Carcinoma*," Gastroenterol Jpn. 24(3): 239-45; Yazawa, S.等(1993), "*Aberrant alpha1→2 Fucosyltransferases Found in Human Colorectal Carcinoma Involved in the Accumulation of Leb and Y Antigens in Colorectal Tumors*," Jpn. J. Cancer Res. 84:989-995
神經節苷脂抗原 4.2	Nudelman, E.等(1982) "*Characterization Of A Human Melanoma-Associated Ganglioside Antigen Defined By Monoclonal Antibody*, 4.2," J. Biol. Chem. 257(21): 12752-6.
神經節苷脂抗原 D1.1	Levine, J.M.,等(1984) "*The D1.1 Antigen: A Cell-Surface Marker For Germinal Cells Of The Central Nervous System*," J. Neurosci. 4(3):820-31.
神經節苷脂 GD2/GD3/GM2/GM3	Krengel, U. and Bousquet P.A. (2014), "*Molecular Recognition of Gangliosides and Their Potential for Cancer Immunotherapies*," Front. Immuno. 5(325):1-11.

表 6B 腫瘤抗原	
腫瘤抗原	**引證**
乳糖神經醯胺	Symington, F.W. (1984) "*Monoclonal Antibody Specific for Lactosylceramide*," J. Biol. Chem. 259(9):6008-6012.
Rh 抗原(D、C、c、E 或 e)	Avent, N.D. and Reid, M.E. (2000) "*The Rh Blood Group System: A Review*," Blood 95:375-387.
唾液酸化-Tn	Holmberg, L.A. (2001) "*Theratope Vaccine (STn-KLH)*," Expert Opin. Biol. Ther. 1(5):881-91.

B. TA-結合結構域和分子

【0175】 許多TA-結合分子是本領域已知的或可使用包括本文描述的那些的熟知的方法生成。TA-結合分子可以是單特異性或雙特異性。因此代表性TA-結合分子包括TA-結合結構域，並且其序列或多肽鏈可在本發明的TA-結合分子的構建中採用，或用作本發明的TA-結合分子(例如，ADCC-增強TA-結合分子)，是**表7**中列出的。以下呈現了幾種TA-結合分子的CDR、VH和VL結構域。

表 7 TA-結合分子		
抗體名稱	**腫瘤抗原**	**治療性靶應用**
阿巴伏單抗 (Abagovomab)	CA-125	卵巢癌
阿德木單抗 (Adecatumumab)	Epcam	前列腺和乳腺癌
阿托珠單抗 (Afutuzumab)	CD20	淋巴瘤
阿珠單抗 (Alacizumab)	VEGFR2	癌症
阿妥莫單抗 (Altumomab)	CEA	結直腸癌
阿麥妥單抗 (Amatuximab)	間皮蛋白	癌症
麻安莫單抗 (Anatumomab Mafenatox)	TAG-72	非小細胞肺癌
阿尼魯單抗 (Anifrolumab)	干擾素 A/B 受體	系統性紅斑狼瘡
安盧珠單抗 (Anrukinzumab)	IL-13	癌症
阿泊珠單抗 (Apolizumab)	HLA-DR	血液癌症
阿西莫單抗 (Arcitumomab)	CEA	胃腸癌症腸道癌症

表 7 TA-結合分子		
抗體名稱	**腫瘤抗原**	**治療性靶應用**
阿替奴單抗 (Atinumab)	RTN4	癌症
貝妥莫單抗 (Bectumomab)	CD22	非霍奇金淋巴瘤(檢測)
貝利木單抗 (Belimumab)	BAFF	非霍奇金淋巴瘤
貝伐珠單抗 (Bevacizumab)	VEGF-A	轉移癌，早產兒視網膜病
比伐珠單抗 (Bivatuzumab)	CD44 V6	鱗狀細胞癌
蘭妥莫單抗 (Blinatumomab)	CD19	癌症
維布妥昔單抗 (Brentuximab)	CD30 (TNFRSF8)	血液學癌症
坎妥珠單抗 (Cantuzumab)	MUC1	癌症
瑪托-阿那妥莫單抗 (Cantuzumab Mertansine)	黏蛋白 Canag	結直腸癌
卡普賽珠單抗 (Caplacizumab)	VWF	癌症
卡羅單抗 (Capromab)	前列腺癌細胞	前列腺癌(檢測)
卡蘆單抗 (Carlumab)	MCP-1	腫瘤學/免疫指征
卡妥索單抗 (Catumaxomab)	Epcam，CD3	卵巢癌、惡性的腹水、胃癌
西妥昔單抗 (Cetuximab)	EGFR	轉移結直腸癌和頭頸癌
西他妥珠單抗 (Citatuzumab)	Epcam	卵巢癌和其他實體腫瘤
西妥木單抗 (Cixutumumab)	IGF-1 受體	實體腫瘤
克立瓦妥珠單抗 (Clivatuzumab)	MUC1	胰腺癌
可那木單抗 (Conatumumab)	TRAIL-R2	癌症
達西珠單抗 (Dacetuzumab)	CD40	血液學癌症
達洛妥珠單抗 (Dalotuzumab)	胰島素樣生長因數 I 受體	癌症
達妥木單抗 (Daratumumab)	CD38	癌症
登西珠單抗 (Demcizumab)	DLL4	癌症

表 7 TA-結合分子		
抗體名稱	**腫瘤抗原**	**治療性靶應用**
馬德尼妥組單抗 (Denintuzumab)	CD19	急性淋巴細胞白血病和 B-細胞非霍奇金淋巴瘤
地莫單抗 (Detumomab)	B-淋巴瘤細胞	淋巴瘤
卓齊妥單抗 (Drozitumab)	DR5	癌症
度利戈妥單抗 (Duligotumab)	HER3	癌症
杜氏圖單抗 (Dusigitumab)	ILGF2	癌症
依美昔單抗 (Ecromeximab)	GD3 神經節苷脂	惡性的黑素瘤
依決洛單抗 (Edrecolomab)	Epcam	結直腸癌
依洛珠單抗 (Elotuzumab)	SLAMF7	多發性骨髓瘤
艾西莫單抗 (Elsilimomab)	IL-6	癌症
依納妥珠單抗 (Enavatuzumab)	TWEAK 受體	癌症
恩莫單抗 (Enlimomab)	ICAM-1 (CD54)	癌症
依諾蘇單抗 (Enoticumab)	DLL4	癌症
恩妥昔單抗 (Ensituximab)	5AC	癌症
西依匹莫單抗 (Epitumomab Cituxetan)	上皮唾蛋白	癌症
依帕珠單抗 (Epratuzumab)	CD22	癌症，SLE
厄馬索單抗 (Ertumaxomab)	HER2，CD3	乳腺癌
艾達珠單抗 (Etaracizumab)	整聯蛋白 $A_v\beta_3$	黑素瘤，前列腺癌，卵巢癌
法拉莫單抗 (Faralimomab)	干擾素受體	癌症
法勒珠單抗 (Farletuzumab)	葉酸受體 1	卵巢癌
法西奴單抗 (Fasinumab)	HNGF	癌症
Fbta05 (Bi20) (Fbta05 (Bi20))	CD20	慢性淋巴細胞白血病
非拉妥組單抗 (Ficlatuzumab)	HGF	癌症
芬妥木單抗	IGF-1 受體	腎上腺皮質癌，非小細胞肺癌

表 7 TA-結合分子		
抗體名稱	**腫瘤抗原**	**治療性靶應用**
(Figitumumab)		
夫蘭妥單抗 (Flanvotumab)	TYRP1 (糖蛋白 75)	黑素瘤
伏妥珠單抗 (Flotetuzumab)	CD123	急性髓樣白血病
瑞索利木單抗 (Fresolimumab)	TGF-B	癌症
伏妥昔單抗 (Futuximab)	EGFR	癌症
加利昔單抗 (Galiximab)	CD80	B-細胞淋巴瘤
甘尼妥單抗 (Ganitumab)	IGF-I	癌症
吉妥單抗奧佐米星 (Gemtuzumab Ozogamicin)	CD33	急性骨髓性白血病
吉妥昔單抗 (Girentuximab)	碳酸酐酶 9 (CA-IX)	透明細胞腎細胞癌
格萊木單抗維多汀 (Glembatumumab Vedotin)	GPNMB	黑素瘤，乳腺癌
替伊莫單抗 (Ibritumomab Tiuxetan)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
艾蘆庫單抗 (Icrucumab)	VEGFR-1	癌症
英加妥珠單抗 (Imgatuzumab)	EGFR	癌症
英拉蘇單抗 (Inclacumab)	選擇素 P	癌症
雷英妥昔單抗 (Indatuximab Ravtansine)	SDC1	癌症
伊珠單抗奧佐米星 (Inotuzumab Ozogamicin)	CD22	癌症
英妥木單抗 (Intetumumab)	CD51	實體腫瘤 (前列腺癌、黑素瘤)
伊匹木單抗 (Ipilimumab)	CD152	黑素瘤
伊妥木單抗 (Iratumumab)	CD30 (TNFRSF8)	霍奇金淋巴瘤
伊曲珠單抗 (Itolizumab)	CD6	癌症
拉貝珠單抗 (Labetuzumab)	CEA	結直腸癌
蘭帕利珠單抗 (Lampalizumab)	CFD	癌症
來金珠單抗 (Lebrikizumab)	Il-13	霍奇金淋巴瘤

表 7 TA-結合分子		
抗體名稱	**腫瘤抗原**	**治療性靶應用**
來沙木單抗 (Lexatumumab)	TRAIL-R2	癌症
利格利珠單抗 (Ligelizumab)	IGHE	癌症
林妥株單抗 (Lintuzumab)	CD33	癌症
利瑞魯單抗 (Lirilumab)	KIR2D	癌症
洛妥珠單抗 (Lorvotuzumab)	CD56	癌症
魯卡木單抗 (Lucatumumab)	CD40	多發性骨髓瘤，非霍奇金淋巴瘤，霍奇金淋巴瘤
魯米昔單抗 (Lumiliximab)	CD23	慢性淋巴細胞白血病
馬帕木單抗 (Mapatumumab)	TRAIL-R1	癌症
馬妥珠單抗 (Matuzumab)	EGFR	結直腸癌、肺癌和胃癌
米拉珠單抗 (Milatuzumab)	CD74	多發性骨髓瘤和其他血液學惡性腫瘤
明瑞莫單抗 (Minretumomab)	TAG-72	癌症
克米佐妥單抗 (Mirzotamab clezutoclax)	B7-H3	癌症
米妥莫單抗 (Mitumomab)	GD3 神經節苷脂	小細胞肺癌
莫加木珠單抗 (Mogamulizumab)	CCR4	癌症
莫羅木單抗 (Morolimumab)	獼猴因數	癌症
帕舒托-莫塞妥莫單抗 (Moxetumomab Pasudotox)	CD22	癌症
他那可單抗 (Nacolomab Tafenatox)	C242 抗原	結直腸癌
那米魯單抗 (Namilumab)	CSF2	癌症
他那莫單抗 (Naptumomab Estafenatox)	5T4	非小細胞肺癌、腎細胞癌
納那妥單抗 (Narnatumab)	RON	癌症
那昔妥單抗 (Naxitamab)	GD2	成神經細胞瘤、骨肉瘤
奈昔妥木單抗 (Necitumumab)	EGFR	非小細胞肺癌

表 7 TA-結合分子		
抗體名稱	**腫瘤抗原**	**治療性靶應用**
奈瑞莫單抗 (Nerelimomab)	TNF-A	癌症
耐斯伐庫單抗 (Nesvacumab)	血管生成素 2	癌症
尼妥珠單抗 (Nimotuzumab)	EGFR	鱗狀細胞癌、頭頸癌、鼻咽咽癌、神經膠質瘤
莫坦-諾非妥莫單抗 (Nofetumomab Merpentan)	未確定的	癌症
奧卡拉妥珠單抗 (Ocaratuzumab)	CD20	癌症
奧法妥木單抗 (Ofatumumab)	CD20	慢性淋巴細胞性白血病
奧拉妥單抗 (Olaratumab)	PDGF-R A	癌症
奧洛珠單抗 (Olokizumab)	IL6	癌症
奧博妥單抗 (Omburtamab)	B7-H3	成神經細胞瘤、肉瘤、轉移腦癌
奧納妥珠單抗 (Onartuzumab)	人散射因數受體激酶	癌症
昂妥昔珠單抗 (Ontuxizumab)	TEM1	癌症
莫奧珠單抗 (Oportuzumab Monatox)	Epcam	癌症
奧戈伏單抗 (Oregovomab)	CA-125	卵巢癌
奧替庫單抗 (Orticumab)	Oxldl	癌症
奧樂妥珠單抗 (Otlertuzumab)	CD37	癌症
帕尼單抗 (Panitumumab)	EGFR	結直腸癌
帕尼庫單抗 (Pankomab)	MUC1 的腫瘤特異性糖基化	卵巢癌
巴薩妥珠單抗 (Parsatuzumab)	EGFL7	癌症
帕曲妥單抗 (Patritumab)	HER3	癌症
培妥莫單抗 (Pemtumomab)	MUC1	癌症
培拉珠單抗 (Perakizumab)	IL17A	關節炎
培妥珠單抗 (Pertuzumab)	HER2	癌症

表 7 TA-結合分子		
抗體名稱	**腫瘤抗原**	**治療性靶應用**
皮那妥珠單抗維多汀 (Pinatuzumab Vedotin)	CD22	癌症
平妥莫單抗 (Pintumomab)	腺癌抗原	腺癌
普拉庫魯單抗 (Placulumab)	人 TNF	癌症
泊拉妥珠單抗維多汀 (Polatuzumab Vedotin)	CD79B	癌症
普立托昔單抗 (Pritoxaximab)	大腸桿菌志賀氏毒素類型-1	癌症
普立妥木單抗 (Pritumumab)	波形蛋白	腦癌
奎利珠單抗 (Quilizumab)	IGHE	癌症
雷妥莫單抗 (Racotumomab)	N-羥乙醯神經氨糖酸	癌症
雷得妥單抗 (Radretumab)	纖連蛋白額外結構域-B	癌症
雷莫蘆單抗 (Ramucirumab)	VEGFR2	實體腫瘤
利妥木單抗 (Rilotumumab)	HGF	實體腫瘤
利妥昔單抗 (Rituximab)	CD20	淋巴瘤、白血病、一些自身免疫性病症
羅妥木單抗 (Robatumumab)	IGF-1 受體	癌症
羅度單抗 (Roledumab)	RHD	癌症
沙馬珠單抗 (Samalizumab)	CD200	癌症
沙妥莫單抗噴地肽 (Satumomab Pendetide)	TAG-72	癌症
司裡班妥單抗 (Seribantumab)	ERBB3	癌症
西羅珠單抗 (Sibrotuzumab)	FAP	癌症
司妥昔單抗 (Siltuximab)	IL-6	癌症
索利托單抗 (Solitomab)	Epcam	癌症
松妥珠單抗 (Sontuzumab)	上皮唾蛋白	癌症
他巴魯單抗 (Tabalumab)	BAFF	B-細胞癌症

表 7 TA-結合分子		
抗體名稱	**腫瘤抗原**	**治療性靶應用**
替他珠單抗 (Tacatuzumab Tetraxetan)	甲胎蛋白	癌症
帕他莫單抗 (Taplitumomab Paptox)	CD19	癌症
阿替莫單抗 (Telimomab)	未確定的	癌症
替妥莫單抗 (Tenatumomab)	腱生蛋白 C	癌症
替奈昔單抗 (Teneliximab)	CD40	癌症
替妥木單抗 (Teprotumumab)	CD221	血液腫瘤
替昔木單抗 (Ticilimumab)	CTLA-4	癌症
替加珠單抗 (Tigatuzumab)	TRAIL-R2	癌症
托西莫單抗 (Tositumomab)	CD20	濾泡淋巴瘤
托維妥單抗 (Tovetumab)	CD140a	癌症
曲妥珠單抗 (Trastuzumab)	HER2	乳腺癌
Trbs07 (Ektomab)	Gd2	黑素瘤
曲美木單抗 (Tremelimumab)	CTLA-4	癌症
西莫白介素單抗 (Tucotuzumab Celmoleukin)	Epcam	癌症
優利妥昔單抗 (Ublituximab)	MS4A1	癌症
烏瑞魯單抗 (Urelumab)	4-1BB	癌症
伐妥昔單抗 (Vadastuximab)	CD33	急性髓樣白血病
萬替妥單抗 (Vantictumab)	捲曲受體	癌症
伐利昔單抗 (Vapaliximab)	AOC3 (VAP-1)	癌症
伐特珠單抗 (Vatelizumab)	ITGA2	癌症
維妥珠單抗 (Veltuzumab)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
維森庫單抗 (Vesencumab)	NRP1	癌症
伏洛昔單抗 (Volociximab)	整聯蛋白 A5β1	實體腫瘤

表7 TA-結合分子		
抗體名稱	**腫瘤抗原**	**治療性靶應用**
伏司妥珠單抗 (Vorsetuzumab)	CD70	癌症
伏妥莫單抗 (Votumumab)	腫瘤抗原 CTAA16.88	結直腸腫瘤
紮蘆木單抗 (Zalutumumab)	EGFR	頭頸的鱗狀細胞癌
紮妥昔單抗 (Zatuximab)	HER1	癌症
齊拉木單抗 (Ziralimumab)	CD147	癌症
佐妥昔單抗 (Zolbetuximab)	Cldn18.2	胃腸腺癌和胰腺腫瘤

【0176】 在一個實施方式中，本發明涉及TA-結合分子，其包括**表7**中列出的任何TA-結合分子的CDR結構域(或VL和VH結構域)。在另外實施方式中，本發明使用**表7**中或如以下提供的的任何TA-結合分子。在可替選的實施方式中，本發明涉及ADCC-增強TA-結合分子，其包括**表7**中列出的任何抗體的CDR結構域(或VL和VH結構域)。以下提供了ADCC-增強TA-結合分子的特別的示例。

【0177】 在某些實施方式中，TA-結合分子結合HER2 TA (“HER2-結合分子”)。在一個實施方式中，本發明的HER2-結合分子是抗HER2抗體。結合人HER2的抗體包括“**馬格妥昔單抗**”、“**曲妥珠單抗**”和“**培妥珠單抗**”。馬格妥昔單抗(也稱為MGAH22；CAS註冊號1350624-75-7，KEGG D10446，參見例如，美國專利號8,802,093)是結合HER2且介導增強ADCC活性的Fc-優化的單克隆抗體。以下提供了馬格妥昔單抗的序列。曲妥珠單抗(也稱為rhuMAB4D5，且作為HERCEPTIN®銷售；CAS註冊號180288-69-1；參見，美國專利號5,821,337)是具有IgG1/κ恆定區的人源化抗體。曲妥珠單抗的氨基酸序列見於關於恩特曲妥珠單抗(trastuzumab emtansine)的WHO藥物資訊，2011，推薦的INN：列表65，25(1):89-90中)。培妥珠單抗(也稱為rhuMAB2C4，和且作為PERJETA™銷售；

CAS註冊號380610-27-5；參見例如，PCT公開號WO 2001/000245)是具有IgG1/κ恆定區的另一人源化抗體。培妥珠單抗的Fab結構域的氨基酸序列見於在蛋白質資料庫收錄號1l7i)中。抗體“**8H11**”是結合與由馬格妥昔單抗、曲妥珠單抗和培妥珠單抗識別的表位不同的的HER2的表位的鼠抗HER2單克隆抗體(PCT公開號WO 2001/036005)。描述了抗體**8H11**的人源化變體(標注“**hHER2 MAB-1**”) (見例如，WO 2018/156740)且以下提供了代表性人源化的VH和VL結構域。除了以上-鑒定的HER2-結合分子外，本發明考慮了，任何以下HER2-結合分子的使用：**1.44.1**、**1.140**、**1.43**、**1.14.1**、**1.100.1**、**1.96**、**1.18.1**、**1.20**、**1.39**、**1.24**和**1.71.3** (美國專利號8,350,011；8,858,942和PCT公開號WO 2008/019290中公開的)；**F5**和**C1** (美國專利號7,892,554、8,173,424、8,974,792和PCT公開號WO 99/55367中公開的)；還有美國專利公開號2011/0097323、2013/017114、2014/0328836、2016/0130360和2016/0257761和PCT專利公開WO2011/147986的HER2-結合分子。

【0178】 在某些實施方式中，TA-結合分子結合B7-H3 TA (“B7-H3-結合分子”)。在一個實施方式中，本發明的B7-H3-結合分子是抗B7-H3抗體。結合人B7-H3的抗體包括“**依諾妥珠單抗**”和“**奧博妥單抗**”和“**mirzotamab**”。依諾妥珠單抗(也稱為MGAH22；CAS註冊號1350624-75-7、KEGG D11752，參見例如，美國專利號8,802,093)是結合HER2和介導增強ADCC活性的Fc-優化的單克隆抗體。以下提供了馬格妥昔單抗的序列。奧博妥單抗 (也稱為8H9；CAS註冊號1895083-75-6，參見例如，美國專利號7,737,258)是鼠單克隆抗體。奧博妥單抗的氨基酸序列見於WHO藥物資訊2018，建議的INN：列表119，32(2):339-340中)。8H9的人源化版本在WO 2016/033225中公開。Mirzotamab clezutoclax (也稱為

ABBV-155；CAS註冊號2229859-12-3，參見例如WO 2017/214322)是具有IgG1/κ恆定區的人源化抗體。mirzotamab的氨基酸序列在WHO藥物資訊2019，建議的INN：列表121，33(2)：294-6中發現)。除了以上-鑒定的B7-H3-結合分子，本發明考慮了，任何以下B7-H3-結合分子的使用：BRCA84D、BRCA69D和PRCA157 (WO2011109400中公開的)；L7、L8、L11、M30和M31 (US2013/0078234中公開的)，hmAb-C和B7-H3抗體hmAb-D (WO 2017/180813中公開的)。

C. ADCC增強的TA-結合分子

【0179】 本發明具體地考慮了包括或採用馬格妥昔單抗和以下的組合物和方法：

(1) PD-1 x LAG-3雙特異性分子；

(2) 單特異性PD-1-結合分子和單特異性LAG-3-結合分子；

(3) PD-L1 x LAG-3雙特異性分子；或

(4) 單特異性PD-L1-結合分子和單特異性LAG-3-結合分子，

其中這種單特異性結合分子是完整的抗體，且這種雙特異性分子是雙抗體或雙特異性抗體。

1. 馬格妥昔單抗

【0180】 馬格妥昔單抗包括變體人Fc結構域，其對CD16A受體展示出增加的親和力。已經修飾抗體(IgG κ)的輕鏈(N65S；以下加雙底線)以刪除N-連接的糖基化位點。

【0181】 馬格妥昔單抗的VL結構域具有 **SEQ ID NO:61**的氨基酸序列：

DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITC**KASQDVN TAVA**WYQQKP GHSPKLLIY**S ASFRYT**GVPD RFTG**S**RSGTD FTFTISSVQA EDLAVYYC**QQ HYTTPPT**FGG GTKVEIK

【0182】 馬格妥昔單抗的VL結構域的CDR結構域是：

CDR_L1 **SEQ ID NO:62**: KASQDVNTAVA

CDR_L2 **SEQ ID NO:63**: SASFRYT和

CDR_L3 **SEQ ID NO:64**: QQHYTTPPT。

【0183】 馬格妥昔單抗的輕鏈具有**SEQ ID NO:65**的氨基酸序列：

DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GHSPKLLIYS
ASFRYTGVPD RFTG**S**RSGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQ HYTTPPTFGG
GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV
DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG
LSSPVTKSFN RGEC

【0184】 馬格妥昔單抗的VH結構域具有**SEQ ID NO:66**的氨基酸序列：

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK **DTYIH**WVKQR PEQGLEWIG**R**
IYPTNGYTRY DPKFQDKATI TADTSSNTAY LQVSRLTSED TAVYYCSR**WG**
GDGFYAMDYW GQGASVTVSS

【0185】 馬格妥昔單抗的VH結構域的CDR結構域是：

CDR_H1 **SEQ ID NO:67**: DTYIH

CDR_H2 **SEQ ID NO:68**: RIYPTNGYTRYDPKFQD和

CDR_H3 **SEQ ID NO:69** WGGDGFYAMDY。

【0186】 包括**FcMT2** ADCC-**增強的Fc結構域**(包括L235V、F243L、R292P、Y300L，和P396L 替換；加底線的)的馬格妥昔單抗的重鏈具有**SEQ ID NO:70**的氨基酸序列：

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK DTYIHWVKQR PEQGLEWIGR
IYPTNGYTRY DPKFQDKATI TADTSSNTAY LQVSRLTSED TAVYYCSRWG
GDGFYAMDYW GQGASVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK
DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT
YICNVNHKPS NTKVDKRVEP KSCDKTHTCP PCPAPEL**V**GG PSVFL**L**PPKP
KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKP**P**EEQYN
ST**L**RVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ
VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTP**L**V
LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

【0187】 馬格妥昔單抗的重鏈的變體包括**FcMT1 ADCC-增強的Fc結構域**(包括F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L替換；參見**SEQ ID NO:16**)。馬格妥昔單抗的重鏈的另一變體包括**FcMT3 ADCC-增強的Fc結構域**(包括F243L、R292P和Y300L替換；參見**SEQ ID NO:18**)。

【0188】 本發明具體地考慮了包括或採用依諾妥珠單抗和以下的組合物和方法：

(1) PD-1 x LAG-3雙特異性分子；

(2) 單特異性PD-1-結合分子和單特異性LAG-3-結合分子；

(3) PD-L1 x LAG-3雙特異性分子；或

(4) 單特異性PD-L1-結合分子和單特異性LAG-3-結合分子，

其中這種基於單特異性抗體的分子是完整的抗體，且這種基於雙特異性抗體的分子是雙抗體或雙特異性抗體。

2. 依諾妥珠單抗

【0189】 依諾妥珠單抗的VL結構域具有**SEQ ID NO:71**的氨基酸序列：

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITC**KASQNVD TNVA**WYQQKP GKAPKALIY**S ASYRYS**GVPS RFSG**S**GSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ YNNYPFT**FGQ GTKLEIK

【0190】 依諾妥珠單抗的VL結構域的CDR結構域：

CDR_L1 **SEQ ID NO:72**: KASQNVDTNVA

CDR_L2 **SEQ ID NO:73**: SASYRYS和

CDR_L3 **SEQ ID NO:74**: QQYNNYPFT。

【0191】 依諾妥珠單抗的輕鏈具有**SEQ ID NO:75**的氨基酸序列：

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD TNVAWYQQKP GKAPKALIYS ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ

GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV
DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG
LSSPVTKSFN RGEC

【0192】 依諾妥珠單抗的VH結構域具有**SEQ ID NO:76**的氨基酸序列：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **SFGMH**WVRQA PGKGLEWVA**Y**
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGR**GR**
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL
VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT
QTYICNVNHK PSNTKVDKRV

【0193】 依諾妥珠單抗的VH結構域的CDR結構域是：

CDR_H1 **SEQ ID NO:77**: SFGMH

CDR_H2 **SEQ ID NO:78**: YISSDSSAIYYADTVKG和

CDR_H3 **SEQ ID NO:79**: GRENIYYGSRLDY

【0194】 依諾妥珠單抗的重鏈包括**FcMT2 ADCC-增強的Fc結構域**(包括L235V、F243L、R292P、Y300L，和P396L替換；加底線的)且具有**SEQ ID NO:80**的氨基酸序列：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR
ENIYYGSRLD YWGQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL
VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTVPSSSLGT
QTYICNVNHK PSNTKVDKRV EPKSCDKTHT CPPCPAPEL**V** GGPSVFL**L**PP
KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKP**P**EEQ
YNST**L**RVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP
LVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP
GK

【0195】 依諾妥珠單抗的重鏈的變體包括**FcMT1 ADCC-增強的Fc結構域**(包括F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L替換；參見**SEQ ID NO:16**)。依諾妥珠單抗的重鏈的另一變體包括**FcMT3 ADCC-增強的Fc結構域**(包括F243L、R292P和Y300L替換；參見**SEQ ID NO:18**)。

3. 其他ADCC-增強的Fc TA-結合分子

【0196】 本發明具體地考慮了包括或採用ADCC-增強的TA-結合分子和以下的組合物和方法：

(1) PD-1 x LAG-3雙特異性分子；

(2) 單特異性PD-1-結合分子和單特異性LAG-3-結合分子；

(3) PD-L1 x LAG-3雙特異性分子；或

(4) 單特異性PD-L1-結合分子和單特異性LAG-3-結合分子，

其中這種單特異性結合分子是完整的抗體，且這種雙特異性分子為雙抗體或雙特異性抗體。

【0197】 在一個實施方式中，本發明涉及包括免疫特異性結合**表6A-6B**中列出的任何TA的TA-結合結構域的ADCC-增強的TA-結合分子。

【0198】 在一個實施方式中，本發明涉及包括**表7**中列出的任何抗體的CDR結構域(或VL和VH結構域)的ADCC-增強的TA-結合分子。這種分子可包括如本文提供的或如本領域已知的增強的**ADCC-增強的Fc結構域**。

【0199】 本發明具體地考慮包括或採用其他TA-結合分子的組合物和方法，其他TA-結合分子包括增強的**ADCC-增強的Fc結構域**，其包括但不限於：奧比妥珠單抗(KEGG D0932; Marcus, R.等(2017) "*Obinutuzumab for the First-Line Treatment of Follicular Lymphoma*," N. Engl. J. Med. 377(14):1331-1344) and BAT4306F (Yu, J.-C.等(2018) "*Abstract 3823: Bat4306f, An Anti-CD20 Antibody Devoid Of Fucose Modification, Demonstrates Enhanced ADCC Effect And Potent In Vivo Efficacy*," Cancer Res. 78:(13 Supplement):3823)，其是抗CD20抗體、amivantamab EGFR–cMET雙特異性抗體(KEGG D11894; Yun等(2020) "*Antitumor Activity of Amivantamab (JNJ-61186372), an EGFR–MET Bispecific Antibody, in*

Diverse Models of EGFR Exon 20 Insertion–Driven NSCLC" Cancer Discovery DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-0116)和tafasitamab (MOR208) (KEGG D11601; Kellner, C.等(2013) "*The Fc-Engineered CD19 Antibody MOR208 (Xmab5574) Induces Natural Killer Cell-Mediated Lysis Of Acute Lymphoblastic Leukemia Cells From Pediatric And Adult Patients*," Leukemia 27(7):1595-1598)和奧貝利單抗(KEGG D11496)，其是抗CD19抗體。

IV. 生產的方法

【0200】 本發明的基於抗體的分子可使用產生重組蛋白質的本領域已知的任何方法進行重組製備和表達。例如，可構建編碼這種結合分子的多肽鏈的核酸，將其引入表達載體，且在合適的宿主細胞中表達。結合分子可在細菌細胞(例如，大腸桿菌細胞)或真核細胞(例如，CHO、293E、COS、NS0細胞)中重組產生。另外，結合分子可在酵母細胞比如畢赤酵母屬或酵母菌屬中表達。

【0201】 為了產生本發明的基於抗體的分子，可構建編碼分子的一種或多種多核苷酸，將其引入表達載體，並且然後在合適的宿主細胞中表達。標準分子生物學技術用於製備重組表達載體、轉染宿主細胞、轉化株的選擇、培養宿主細胞和回收分子(參見，例如，Green, M.R等(2012), MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL, 4th Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY and Ausubel 等 ， eds., (1998,) CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, NY中描述的技術)。表達載體應具有允許載體在宿主細胞中複製的特徵。載體還應具有對在宿主細胞中表達必要的啟動子和信號序列。這種序列是本領域熟知的。除了編碼這種結合分子的核酸序列外，重組表達載體可攜帶另外序列，比如調節宿主細胞中載體的複製的

序列(例如，複製的起源)和可選擇的標記基因。可採用的另一方法是在植物(例如，煙草)或轉基因動物中表達基因序列。已經公開了用於在植物或奶(milk)中重組表達這種結合分子的合適的方法(參見，例如，Peeters等(2001) (2001) "*Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants*," Vaccine 19:2756; U.S. Patent No. 5,849,992; 和Pollock等(1999) "*Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies*," J. Immunol Methods 231:147-157)。

【0202】 一旦本發明的基於抗體的分子已經重組表達，其可通過用於多肽或多蛋白的純化領域已知的任何方法從宿主細胞的內側或外側(比如從培養基)純化。用於抗體純化的常用的分離和純化的方法(例如，基於抗原選擇性的抗體純化方案)可用於這種分子的分離和純化，並且不限於任何特別的方法。例如，通過示例，柱色譜、過濾、超濾，鹽析、溶劑沉澱、溶劑提取、蒸餾、免疫沉澱、SDS-聚丙烯醯胺凝膠電泳、等電點聚焦、透析和重結晶。色譜包括，例如，離子交換，親和力，特別地通過特異性抗原(任選地在基於抗體的分子包括Fc區或其蛋白質A結合部分的情況下蛋白質A選擇後)的親和力、分級柱色譜、疏水性、凝膠過濾、逆相和吸附(Marshak等(1996) STRATEGIES FOR PROTEIN PURIFICATION AND CHARACTERIZATION: A LABORATORY COURSE MANUAL. (Eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY)。

V. 藥物組合物

【0203】 本發明的基於抗體的分子，例如結合**TA** (任選地包括ADCC-增強的Fc結構域)的抗體、結合PD-1的抗體、結合PD-L1的抗體、結合LAG-3的抗體、PD-1 x LAG-3雙特異性分子或PD-L1 x LAG-3雙特異性分子，可被配製作為組合物。本發明的組合物包括用在製造用於治療癌症或其他疾病和病況的適於

施用給受試者(例如，人患者或其他哺乳動物)的藥物組合物中的散裝藥物組合物(例如，不純的或非無菌組合物)。這種藥物組合物包括一種或多種基於抗體的分子(例如，結合**TA** (任選地包括ADCC-增強的Fc結構域)的抗體、結合PD-1的抗體、結合PD-L1的抗體、結合LAG-3的抗體、PD-1 x LAG-3雙特異性分子或PD-L1 x LAG-3雙特異性分子)和一種或多種藥學上可接受的載體，並且可任選地包括一種或多種另外治療劑。藥物組合物可以以例如，如特別地適合於與這種藥學上可接受的載體重構或與這種載體重構的水性溶液、乾燥的凍乾粉或無水的濃縮物供應。

【0204】 如本文使用的，術語“藥學上可接受的載體”表示由美國聯邦或州政府監管機構批准的或美國藥典或其他公認的藥典列出的作為適合於施用給動物，且更特別地施用給人的稀釋劑、溶劑、分散介質、抗菌劑和抗真菌劑、賦形劑或媒介物。這種藥學載體可以是無菌液體，比如水和油，包括石油、動物、蔬菜或合成起源的那些。也可採用鹽溶液和水性右旋糖和甘油溶液作為液體載體，特別地用於可注射的溶液。如果需要，組合物也可含有少量的濕潤劑或乳化劑，或pH緩衝劑。這些組合物可採用溶液、懸浮液、乳液、片劑、丸劑、膠囊、粉末、緩釋製劑等的形式。

【0205】 一般而言，本發明的組合物成分以劑量形式單獨或混合在一起供應，例如，在指示活性劑的量的不透氣密封的容器比如小瓶、安瓿或藥囊中以乾燥的凍乾粉或無水濃縮物或以水性溶液。其中組合物通過輸注施用，其可用輸注含有無菌製藥級水或生理鹽水的瓶子分裝。組合物通過注射施用時，可提供用於注射的無菌水的安瓿、生理鹽水或其他稀釋劑以便施用之前可混合成分。

VI. 藥物試劑盒

【0206】 本發明還提供了藥物試劑盒，其包括含有本發明的藥物組合物和指導材料(例如，注意事項、包裝插頁、說明書等)的一種或多種容器。另外，對治療疾病有用的一種或多種其他預防劑或治療劑也可包括在藥物試劑盒中。這種藥物試劑盒的容器可，例如包括一種或多種指示其中含有活性劑的量的不透氣密封的小瓶、安瓿、小袋等。通過輸注施用的組合物時，容器可以是含有無菌製藥級溶液(例如，水、生理鹽水、緩衝液等)的輸注瓶、袋等。通過注射施用的組合物時，藥物試劑盒可含有用於注射的無菌水、生理鹽水或其他稀釋劑的安瓿，以便促進混合施用給受試者(例如，人患者或其他哺乳動物)的藥物試劑盒的組分。

【0207】 在一個實施方式中，這種試劑盒的藥物組合物在不透氣密封的容器中以乾燥滅菌凍乾粉或無水濃縮物供應並且其可以，例如，用水、生理鹽水或其他稀釋劑重構至施用給受試者的合適的濃度。在另一實施方式中，這種試劑盒的藥物組合物在不透氣的密封容器以水性溶液供應和可以，例如，用水，生理鹽水或其他稀釋劑稀釋至施用給受試者的合適的濃度。試劑盒可進一步在一種或多種容器中包括對治療癌症有用的一種或多種其他預防劑和/或治療劑；和/或試劑盒可進一步包括結合一種或多種與癌症相關的癌症抗原的一種或多種細胞毒素抗體。在某些實施方式中，其他預防劑或治療劑是化療劑。在其他實施方式中，預防劑或治療劑是生物或激素治療劑。

【0208】 本發明的藥物試劑盒中包括的指導材料可以是，例如，由管理藥物製劑或生物產品的製造、使用或銷售的政府機關規定的內容和格式，並且可指示由機關批准製造、銷售或使用用於人施用和/或用於人療法的藥物組合物。

指導材料可，例如提供關於藥物組合物的含有劑量、如何施用其的方法等的資訊。

【0209】 因此，例如，本發明的藥物試劑盒包括的指導材料可指導所提供的藥物組合物與在相同的藥物試劑盒中或在分開的藥物試劑盒中可提供的另外試劑組合施用。這種指導材料可指導約每2週一次、約每3週一次或通常更多或更少施用所提供的藥物組合物。這種指導材料可指導所提供的藥物組合物包括，或被重構/稀釋至施用約120 mg，約300 mg、約400 mg、約420 mg、約600 mg、約800 mg或約840 mg或更多的固定劑量，或施用約2 mg/kg、約4 mg/kg、約6 mg/kg、約8 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg、約18 mg/kg或更多的基於體重的劑量。這種指導材料可指導所提供的藥物組合物包括，或被重構/稀釋至包括，單劑量或大於一個劑量(例如，2個劑量、4個劑量、6個劑量、12個劑量、24個劑量等)。這種藥物試劑盒包括的指導材料可組合任何一組這種資訊(例如，其可指導所提供的含有PD-1 x LAG-3雙特異性分子的藥物組合物包括，或被重構/稀釋至包括，約400 mg或約600 mg的劑量，且約每2週一次施用這種劑量；其可指導所提供的藥物組合物包括，或被重構/稀釋至包括，約600 mg或約800 mg的劑量，且約每3週一次施用這種劑量等，和/或其可指導所提供的含有HER2-或B7-H3-結合分子的藥物組合物包括，或被重構至包括，約15 mg/kg的劑量，且約每3週一次施用這種劑量等)。這種指導材料可指導關於包括的藥物組合物的施用模式，例如其通過靜脈內(IV)輸注施用。藥物試劑盒包括的指導材料可指導關於這種施用的持續時間或時機，例如包括的藥物組合物是在30-240分鐘的時間段、30-90分鐘的時間段等內通過靜脈內(IV)輸注施用的組合物。

【0210】 本發明的藥物試劑盒包括的指導材料可指導關於合適的或期望的所包括的藥物組合物的使用，例如指導施用這種藥物組合物(例如，PD-1 x LAG-3雙特異性分子)用於治療癌症。在某些實施方式中，藥物試劑盒所包括的指導材料可指導本發明的PD-1 (或PD-L1)-結合分子和LAG-3-結合分子，或PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子的藥物組合物與**TA**-結合分子(任選地具有ADCC-增強的Fc結構域)組合施用，用於治療其中表達TA (例如，HER2或B7-H3)的癌症。可治療的癌症包括但不限於：腎上腺癌、AIDS相關的癌、肺泡狀軟組織肉瘤、肛門癌(包括肛管鱗狀細胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、腦和脊髓癌、乳腺癌(包括$HER2^+$乳腺癌或三陰性乳腺癌(TNBC))、頸動脈體瘤、子宮頸癌(包括HPV相關的子宮頸癌)、軟骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性腎細胞癌、透明細胞癌、結腸癌、結直腸癌、增生性小圓形細胞腫瘤、室管膜細胞瘤、子宮內膜癌(包括非選擇性子宮內膜癌、MSI高子宮內膜癌、dMMR子宮內膜癌和/或POLE核酸外切酶結構域突變陽性子宮內膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液樣軟骨肉瘤、膽囊或膽道癌(包括膽管癌膽道癌)、胃癌、胃食管交界處(GEJ)癌、妊娠滋養細胞疾病、生殖細胞瘤、膠質母細胞瘤、頭頸癌(包括頭頸的鱗狀細胞癌(SCCHN))、血液系統惡性腫瘤、肝細胞癌、胰島細胞瘤、卡波西氏肉瘤、腎癌、白血病(包括、急性髓樣白血病)、脂肪肉瘤/惡性脂肪瘤、肝癌(包括肝細胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小細胞肺癌(SCLC)、非-小細胞肺癌(NSCLC))、成神經管細胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、腦膜瘤、默克爾細胞癌、間皮瘤(包括間皮咽癌)、多發性內分泌腫瘤、多發性骨髓瘤、骨髓增生異常綜合征、成神經細胞瘤、神經內分泌腫瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲狀腺乳頭狀癌、甲狀旁腺腫瘤、兒科癌症、周圍神

經鞘腫瘤、咽癌、嗜鉻細胞瘤、垂體腫瘤、前列腺癌(包括轉移性去勢抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜後黑素瘤、腎轉移癌、橫紋肌樣瘤、橫紋肌肉瘤、肉瘤、皮膚癌、童年期的小圓形藍細胞瘤(包括成神經細胞瘤和橫紋肌肉瘤)、軟組織肉瘤、鱗狀細胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲狀腺癌和子宮癌。

VII. 本發明的基於抗體的分子的用途

【0211】 如本文提供的，本發明PD-1 x LAG-3雙特異性分子可用於治療或預防包括癌症的各種疾病。另外，本發明的PD-1-結合(或PD-L1-結合)、LAG-3-結合、PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子可用於與本發明**TA**-結合分子(任選地具有ADCC-增強的Fc結構域)組合以治療其中表達這種TA的癌症。

【0212】 因此，本發明提供了治療癌症的方法，這種方法包括施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子給需要其的受試者。

【0213】 另外，本發明提供了治療癌症的方法，其包括施用TA-結合分子和：

(1) PD-1 x LAG-3雙特異性分子；

(2) 單特異性PD-1-結合分子，與單特異性LAG-3-結合分子組合；

(3) PD-L1 x LAG-3雙特異性分子；或

(4) 單特異性PD-L1-結合分子，與單特異性LAG-3-結合分子組合，

其中這種單特異性結合分子是完整的抗體，且這種雙特異性分子是雙抗體或雙特異性抗體，和其中這種癌症表達這種TA。在某些實施方式中這種TA-結合分子包括ADCC-增強的Fc結構域。

【0214】 本文提供了本文提供了施用這種PD-1 x LAG-3雙特異性分子或分子的組合給需要其的受試者的特別的給藥方案。

【0215】 如本文使用的，術語“**組合**”指使用大於一種治療劑(例如，本發明的基於抗體的分子)。術語“組合”的使用不限制施用單獨治療劑給具有疾病或紊亂的受試者(例如，人患者或其他哺乳動物)的順序，也不意味著在完全相同的時間施用或必須施用試劑，而意味著將這些試劑同時地或在時間間隔內依次施用給受試者，使得這些試劑相對於如果以其他方式施用這些試劑提供的益處提供增加的益處。例如，每種基於抗體的分子(例如，a TA-結合分子，a PD-1-結合分子(或PD-L1-結合分子)和LAG-3-結合分子；或TA-結合分子和PD-1 x LAG-3(或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子)可以在相同時間或在時間的不同點以任何順序依次施用；然而，如果不在相同時間施用，它們應在足夠近的時間施用，以便提供期望的治療性或預防性效果。每種施用的試劑可以任何合適的形式且通過任何合適的途徑，例如，一種通過口服途徑和一種通過腸胃外等分開施用。本文提供了施用本發明的基於抗體的分子給需要其的受試者的特別的給藥方案。

【0216】 通過施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子；或TA-結合分子和：PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子；或PD-1-結合(或PD-L1-結合)與LAG-3-結合分子組合可治療的癌症包括但不限於：腎上腺癌、AIDS相關的癌、肺泡狀軟組織肉瘤、肛門癌(包括肛管鱗狀細胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、腦和脊髓癌、乳腺癌(包括$HER2^+$乳腺癌或三陰性乳腺癌(TNBC))、頸動脈體瘤、子宮頸癌(包括HPV相關的子宮頸癌)、軟骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性腎細胞癌、透明細胞癌、結腸癌、結直腸癌、增生性小圓形細胞腫瘤、室管膜細胞瘤、子宮內

膜癌(包括非選擇性子宮內膜癌、MSI高子宮內膜癌、dMMR子宮內膜癌和/或POLE核酸外切酶結構域突變陽性子宮內膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液樣軟骨肉瘤、膽囊或膽道癌(包括膽管癌膽道癌)、胃癌、胃食管交界處(GEJ)癌、妊娠滋養細胞疾病、生殖細胞瘤、膠質母細胞瘤、頭頸癌(包括頭頸的鱗狀細胞癌(SCCHN))、血液系統惡性腫瘤、肝細胞癌、胰島細胞瘤、卡波西氏肉瘤、腎癌、白血病(包括、急性髓樣白血病)、脂肪肉瘤/惡性脂肪瘤、肝癌(包括肝細胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小細胞肺癌(SCLC)、非-小細胞肺癌(NSCLC))、成神經管細胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、腦膜瘤、默克爾細胞癌、間皮瘤(包括間皮咽癌)、多發性內分泌腫瘤、多發性骨髓瘤、骨髓增生異常綜合征、成神經細胞瘤、神經內分泌腫瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲狀腺乳頭狀癌、甲狀旁腺腫瘤、兒科癌症、周圍神經鞘腫瘤、咽癌、嗜鉻細胞瘤、垂體腫瘤、前列腺癌(包括轉移性去勢抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜後黑素瘤、腎轉移癌、橫紋肌樣瘤、橫紋肌肉瘤、肉瘤、皮膚癌、童年期的小圓形藍細胞瘤(包括成神經細胞瘤和橫紋肌肉瘤)、軟組織肉瘤、鱗狀細胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲狀腺癌和子宮癌。

【0217】 在某些實施方式中，本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子可在以下的治療中使用：乳腺癌(包括$HER2^+$乳腺癌和/或TNBC)、膽道癌(包括膽管癌)、子宮頸癌(包括HPV相關的子宮頸癌)、子宮內膜癌(包括非選擇性子宮內膜癌、MSI高子宮內膜癌、dMMR子宮內膜癌和/或POLE核酸外切酶結構域突變陽性子宮內膜癌)、胃癌、GEJ癌症、頭頸癌(包括SCCHN)、肝癌(包括HCC)、肺癌(包括SCLC和/或NSCLC)、淋巴瘤(包括NHL和DLBCL)、卵巢癌、前列腺。

【0218】 在其他實施方式中，本發明的PD-1-結合(或PD-L1-結合)和LAG-3-結合分子，或PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子可與HER2-結合分子(比如馬格妥昔單抗)組合使用以治療HER^+癌症，包括：乳腺癌、轉移乳腺癌、膀胱癌、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌和胃癌。在一個這種實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子與ADCC-增強的HER2-結合分子組合使用。在另一這種實施方式中，DART-I與馬格妥昔單抗組合使用。

【0219】 在其他實施方式中，本發明的PD-1-結合(或PD-L1-結合)和LAG-3-結合分子，或PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子可與B7-H3-結合分子(比如依諾妥珠單抗)組合使用以治療$B7\text{-}H3^+$癌症，包括：肛門癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、頭頸癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、前列腺癌、mCRPC。在一個這種實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子與ADCC-增強的B7-H3-結合分子組合使用。在另一這種實施方式中，DART-I與依諾妥珠單抗組合使用。

【0220】 在某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子；或TA-結合分子和：PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子；或PD-1-結合(或PD-L1-結合)與LAG-3-結合分子組合施用作為治療癌症的一線療法。在其他實施方式中，這種分子在一種或多種先前的療法線之後施用。在其他實施方式中，這種分子進一步與一種或多種另外療法組合施用。在仍其他實施方式中，在外科去除腫瘤的時間時或之後輔助療法可採用這種分子，以便延遲、抑制或預防轉移的發展。在外科手術之前也可施用這種分子(例如，作為新輔助療法)，以便減少腫瘤的大小，因此能夠進行或簡化這種外科手術，在這種外科手術期間使組織不受傷害，和/或減少任何所得外形毀損。

【0221】 在一個實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子與TA-結合分子(例如，HER2或B7-H3)組合施用作為治療癌症的一線療法。在其他實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子在一種或多種先前的療法線之後與TA-結合分子組合施用。在其他實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子與TA-結合分子組合且進一步與一種或多種另外的療法組合施用。在仍其他實施方式中，可在外科去除腫瘤的時間時或之後作為輔助療法與TA-結合分子組合採用本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子。本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子還可與TA-結合分子組合或在外科手術之前施用。在一個這種實施方式中，TA-結合分子是HER2-結合分子或B7-H3-結合分子。

【0222】 本發明具體地涵蓋施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子；或PD-1-結合(或PD-L1-結合)和LAG-3-結合分子，或PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子與TA-結合分子組合，與對那些本領域技術人員已知的用於治療或預防癌症的一種或多種另外的療法組合，所述另外的療法包括但不限於當前標準和實驗化學療法、激素療法、生物療法、免疫療法、輻射療法或外科手術。在一些實施方式中，PD-1-結合(或PD-L1-結合)和LAG-3-結合分子的組合，或PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子與TA-結合分子(例如，ADCC-增強的TA-結合分子)組合施用，進一步與對那些本領域技術人員已知的用於治療和/或預防癌症，尤其是TA-表達癌症(例如，$HER2^+$癌症或$B7\text{-}H3^+$癌症)的治療或預防有效量的一種或多種治療劑組合施用。治療表達HER2的癌症中通常使用的化療劑包括但不限於蒽環類(特別地，柔紅黴素、多柔比星和表柔比星)，卡培他濱，卡鉑，環磷醯胺，亞葉酸，甲氨蝶呤，奧沙利鉑，紫杉烷(特別地，多西他賽和紫杉醇)，5-氟尿嘧啶(5-FU)。

【0223】 本發明的另一方面涉及通過在開始治療之前測量受試者的腫瘤細胞中PD-L1表達的程度來確定受試者對這種治療的順從性的改善方法。已經確定腫瘤細胞中大於10%的PD-L1表達作為用某些PD-1-結合(或PD-L1-結合)分子治療的臨床上相關的截止點。測量PD-L1表達的程度的方法是本領域已知的(de Vicente, J.C. *et al.* (2018) "*PD-L1 Expression in Tumor Cells Is an Independent Unfavorable Prognostic Factor in Oral Squamous Cell Carcinoma*," Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 28(3):546-554; Davis, A.A. *et al.* (2019) "*The Role Of PD-L1 Expression As A Predictive Biomarker: An Analysis Of All US Food And Drug Administration (FDA) Approvals Of Immune Checkpoint Inhibitors*," J. ImmunoTher. Canc.7:278:1-8; Khozin, S. *et al.* (2017) "*Rates Of PD-L1 Expression Testing In US Community-Based Oncology Practices (uSCPS) For Patients With Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer (mNSCLC) Receiving Nivolumab (N) Or Pembrolizumab (P)*," J. Clin. Oncol. 35(15_suppl):11596)。例如，這種測量可以使用通過使用Dako EnVision Flex+視覺化系統(Dako Autostainer)，使用小鼠單克隆PD-L1抗體(克隆22C3，1:200稀釋；PD-L1 IHC 22C3 pharmDx；Dako SK006)完成。在這種測定法中，福馬林固定的，石蠟包埋的腫瘤活檢樣品在單克隆小鼠抗PD-L1抗體(克隆22C3)存在的情況下孵育。PD-L1蛋白質表達通過以下確定：使用腫瘤比例評分(TPS)，其是以任何強度顯示部分或完全膜染色的存活腫瘤細胞的百分數或通過聯合陽性評分(CPS)，其是PD-L1染色細胞(腫瘤細胞，淋巴細胞，巨噬細胞)的數量除以存活腫瘤細胞的總數，乘以一百。

【0224】 發現，在治療之前受試者的腫瘤展示出小於1%的PD-L1表達(如在IHC分析中使用聯合陽性評分(CPS)或腫瘤比例評分(TPS)確定的)表明患者對

本發明的治療方法，特別地涵蓋施用PD-1-結合(或PD-L1-結合)和LAG-3-結合分子，或PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子與ADCC-增強的TA-結合分子組合的方法的順從性。這種順從性也在對至少一種先前治療無應答或應答不足的受試者中提高，先前治療包括用ADCC-增強的TA-結合分子治療不存在的情況下，用PD-1-結合分子或PD-L1-結合分子的先前治療。本發明涵蓋通過施用TA-結合分子和：PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子；或PD-1-結合(或PD-L1-結合)與LAG-3-結合分子組合給受試者治療癌症的方法，其中在這種治療之前，這種癌症的細胞表面上PD-L1表達如使用聯合陽性評分(CPS)或腫瘤比例評分(TPS)確定的小於1%。

VIII. 施用和劑量

【0225】 本發明的基於抗體的分子(例如，PD-1 x LAG-3雙特異性分子)可通過各種方法施用給受試者，例如，需要其的受試者，例如，人患者。對於許多應用，施用的途徑是：靜脈內注射或輸注(IV)、皮下注射(SC)、腹膜內注射(IP)或肌內注射之一。也可能使用關節內遞送。也可使用腸胃外施用的其他模式。這種模式的示例包括：動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、經氣管的、表皮下、關節內、囊下，蛛網膜下、脊柱內和硬膜外和胸骨內注射。

【0226】 本發明的基於抗體的分子可作為固定劑量或作為基於體重的劑量(例如，mg/kg患者體重劑量)施用。還可選擇劑量以減少或避免針對施用的抗體的產生。調整用藥方案以提供期望的應答，例如，治療應答或組合治療效果。一般而言，可使用基於抗體的分子(和任選地其他試劑)的劑量，以便提供受試者以生物利用量的試劑。如本文使用的，術語“**劑量**”(“**dose**”)指一次採用指定量的藥物。術語“**用藥**”(“**dosage**”)指在指定一段時間內施用劑量的具體的量、數量和

頻率；因此，術語用藥包括時序特徵，比如持續時間和週期數。相對於施用劑量(即，用藥)的時機，術語“約”旨在表示所述施用的±3天的範圍。

【0227】 如本文使用的術語“**固定劑量(flat dose)**”指不依賴患者體重的劑量，並且包括適合於作為對待治療的受試者單一劑量使用的施用基於抗體的分子(例如，結合**TA**的抗體、結合PD-1的抗體、結合PD-L1的抗體、結合LAG-3、PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子的抗體)的物理離散單位；其中每個這種單位含有與藥學載體締合，並且任選地與其他試劑締合的預定量的這種基於抗體的分子(計算以產生期望的治療效果)。可給予單個或多個固定劑量。如本文使用的術語“**基於體重的劑量**”指每單位患者體重施用的本發明的分子離散量，例如每千克受試者的體重的毫克藥物(mg/kg體重，本文縮寫為“mg/kg”)。計算的劑量將基於基線處受試者的體重施用。典型地，從基線或確定的穩定水準重量的體重的顯著(≥ 10%)變化將促進重新計算劑量。單個或多個劑量可以以給藥方案施用。包括基於抗體的分子的組合物可經輸注施用給需要其的受試者。

【0228】 在一些實施方式中，根據批准的處方給藥方案，結合至**TA** (特別地，ADCC-增強的TA-結合分子)、PD-1或PD-L1和/或LAG-3的基於抗體的分子施用給需要其的受試者，其可併入固定劑量或體重基礎劑量。描述了這種分子的批准的處方給藥方案(例如，曲妥珠單抗、培妥珠單抗、培布利珠單抗、尼伏魯單抗、阿特利珠單抗、度伐魯單抗、tafasitamab等的包裝插頁可從美國國家醫藥圖書館網站：dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/獲得)。在某些實施方式中，結合至PD-1、或PD-L1，和/或LAG-3的基於抗體的分子以約120 mg至約800 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在某些實施方式中，結合至**TA**的基於抗體的分

子(例如，結合HER2或B7-H3的基於抗體的分子)以約2 mg/kg至約18 mg/kg的基於體重的劑量施用給需要其的受試者。

【0229】 在某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子(例如，DART-I)以約120 mg至約800 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子以約120 mg、約300 mg、約400 mg、約600 mg或約800 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在具體的實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子以約400 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在另一具體的實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子以約600 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在另一具體的實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子以約800 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在某些實施方式中，抗PD-1抗體(例如，瑞弗利單抗)以約120 mg至約750 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在某些實施方式中，抗PD-1抗體以約375 mg、約500 mg或約750 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在具體的實施方式中，抗PD-1抗體以約375 mg的的固定劑量施用給需要其的受試者。在另一具體的實施方式中，抗PD-1抗體以約500 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在某些實施方式中，抗LAG-3抗體(例如，瑞拉利單抗)以約80 mg至約200 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在某些實施方式中，抗LAG-3抗體以約80 mg、約100 mg或約160 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在具體的實施方式中，抗LAG-3抗體以約160 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。相對於固定劑量或固定用藥，術語“約”旨在表示所述劑量的±10%的範圍，使得例如，約600 mg的劑量將在540 mg和660 mg之間。相對於用藥，術語“約”旨在表示所述劑量的±3天的範圍。

【0230】 在某些實施方式中，HER2-或B7-H3-結合分子(例如，抗HER2抗體、抗B7-H3抗體)以約2 mg/kg至約18 mg/kg的基於體重的劑量施用給需要其的受試者。在某些實施方式中，HER2-或B7-H3-結合分子以約2 mg/kg、約4 mg/kg、約6 mg/kg、約8 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg或約18 mg/kg的劑量施用給需要其的受試者。在具體的實施方式中，HER2-或B7-H3-結合分子以約15 mg/kg的劑量施用給需要其的受試者。在其他具體的實施方式在，第一劑量的HER2-結合分子以約8 mg/kg的劑量，隨後一個或多個另外劑量的這種HER2-結合分子以約6 mg/kg的劑量施用給需要其的受試者。在其他具體的實施方式中，第一劑量的HER2-結合分子以約4 mg/kg的劑量，隨後一個或多個另外劑量的這種HER2-結合分子以約2 mg/kg的劑量施用給需要其的受試者。相對於基於體重的劑量，術語“約”旨在表示所述劑量的±10%的範圍，使得例如，約15 mg/kg的劑量將在13.6 mg/kg和16.5 mg/kg之間。

【0231】 在某些實施方式中，HER2-結合分子以約420 mg至約1650 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在具體的實施方式中，HER2-結合分子以約420 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在另一具體的實施方式中，HER2-結合分子以約600 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在其他具體的實施方式中，HER2-結合分子以約840 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在另一具體的實施方式中，HER2-結合分子以約1650 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。在其他具體的實施方式中，第一劑量的HER2-結合分子以約840 mg的固定劑量，隨後一個或多個另外劑量的這種HER2-結合分子以約420 mg的固定劑量施用給需要其的受試者。

【0232】 基於抗體的分子的用藥(例如，結合**TA**的抗體、結合PD-1的抗體、結合PD-L1的抗體、結合LAG-3的抗體、PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子的劑量)可在足以涵蓋至少2個劑量、至少4個劑量、至少6個劑量、至少12個劑量或至少24個劑量(治療的過程)的一段時間內以週期的時間間隔施用。例如，用藥可以以例如，每天一次或兩次或每週約一次至四次施用。在某些實施方式中，可以每週一次(“Q1W”)、每兩週一次(“Q2W”)、每三週一次(“Q3W”)、每四周一次(“Q4W”)等施用用藥。這種週期的施用可持續例如，約1至52周之間或大於52周的一段時間。這種治療過程可分為數個增量，每個本文稱為“週期”例如，2至24周之間、約3至7周之間、約4周、或約6周、或約8周、或約12周、或約24周，在期間施用固定數量的劑量。在每個週期期間，施用的劑量和/或頻率可相同或不同。可影響有效治療受試者所需的用藥和時機的因素包括，例如，疾病或紊亂的嚴重程度、製劑、遞送的途徑、先前的治療、受試者的一般健康和/或年齡和受試者其他疾病的存在。而且，用治療有效量化合物治療受試者可包括單個治療或可包括一系列治療。

【0233】 考慮了，提供受試者多劑量的基於抗體的分子(例如，結合**TA**的抗體、結合PD-1的抗體、結合PD-L1的抗體、結合LAG-3的抗體、PD-1 x LAG-3 (或PD-L1 x LAG-3)雙特異性分子)。每個這種劑量中每種基於抗體的分子的量可相同或可與之前施用的量不同。因此，例如，療法可包括“第一”(或“負載”)劑量的這種基於抗體的分子，隨後較低的“第二”劑量的這種基於抗體的分子的施用。例如，第一劑量的基於抗體的分子是約8 mg/kg時，第二劑量將小於8 mg/kg，(例如，約6 mg/kg)。在一些實施方式中，隨後的劑量以相同濃度作為第二較低劑量施用。在一些實施方式中，基於抗體的分子的相同劑量是在整個治療過程內施

用。在一些實施方式中，結合HER2的TA-結合分子以約4 mg/kg、約8 mg/kg的第一劑量或約840 mg的第一固定劑量施用，隨後施用第二較低劑量，其中施用第一劑量之後約三周施用第二劑量。在一些實施方式中，施用另外的隨後劑量的HER2-結合分子，其中施用第二劑量或先前的隨後劑量之後約三周，隨後劑量施用。

【0234】 “給藥方案”是用藥管理，其中患者以預定的頻率(或一組這種頻率)施用預定的劑量(或一組這種預定的劑量)預定的週期數(或多個週期性)。

【0235】 代表性給藥方案包括以約120 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子(例如，DART-I)。另一代表性給藥方案包括以約300 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子。仍另一代表性給藥方案包括以約300 mg的固定劑量Q3W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子。另一代表性給藥方案包括以約400 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子。另一代表性給藥方案包括以約400 mg的固定劑量Q3W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子。另一代表性給藥方案包括以約600 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子。仍另一代表性給藥方案包括以約600 mg的固定劑量Q3W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子。其他代表性給藥方案包括以約800 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子或以約800 mg的固定劑量Q3W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子。如本文提供的，這種給藥方案可進一步包括施用TA-結合分子。在一個實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子根據本文提供的給藥方案與根據批准的處方給藥方案施用的批准的TA-結合分子(例如，曲妥珠單抗，培妥珠單抗等)組合施用。在一個實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子根據本文提供的給藥方案與根據批准的處方給藥方案施用的批准的ADCC-增強TA-結合分

子(例如，tafasitamab等)組合施用。在以上給藥方案的某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子是DART-I。在一個這種實施方式中，DART-I以約600 mg的固定劑量Q3W施用。在另一這種實施方式中，DART-I以約600 mg的固定劑量Q3W與根據批准的處方給藥方案施用的批准的TA-結合分子(例如，曲妥珠單抗，培妥珠單抗等)組合施用。在另一這種實施方式中，DART-I以約600 mg的固定劑量Q3W與根據批准的處方給藥方案施用的批准的ADCC-增強TA-結合分子(例如，tafasitamab等)組合施用。

【0236】 另一代表性給藥方案包括以約375 mg的固定劑量Q3W施用抗PD-1抗體(例如，瑞弗利單抗)和以約160 mg的固定劑量Q4W施用抗LAG-3抗體(例如，瑞拉利單抗)。另一代表性給藥方案包括以約500 mg的固定劑量Q4W施用抗PD-1抗體和以約160 mg的固定劑量Q4W施用抗LAG-3抗體。仍另一代表性給藥方案包括以約750 mg的固定劑量Q4W施用抗PD-1抗體和以約160 mg的固定劑量Q4W施用抗LAG-3抗體。如本文提供的，這種給藥方案可進一步包括施用TA-結合分子。在一個實施方式中，抗PD-1抗體和抗LAG-3抗體根據本文提供的給藥方案與根據批准的處方給藥方案施用的批准的TA-結合分子(例如，曲妥珠單抗，培妥珠單抗等)組合施用。在一個實施方式中，抗PD-1抗體和抗LAG-3抗體根據本文提供的給藥方案與根據批准的處方給藥方案施用的批准的ADCC-增強TA-結合分子(例如，tafasitamab等)組合施用。在以上給藥方案的某些實施方式中，抗PD-1抗體是瑞弗利單抗且抗LAG-3抗體是瑞拉利單抗。在一個這種實施方式中，瑞弗利單抗以約375 mg的固定劑量Q3W施用、瑞拉利單抗以約160 mg的固定劑量Q4W施用且批准的TA-結合分子(例如，曲妥珠單抗，培妥珠單抗等)根據批准的處方給藥方案施用。在另一這種實施方式中，瑞弗利單抗以約500 mg

的固定劑量Q4W施用、瑞拉利單抗以約160 mg的固定劑量Q4W施用且批准的TA-結合分子(例如，曲妥珠單抗，培妥珠單抗等)根據批准的處方給藥方案施用。在另一這種實施方式中，瑞弗利單抗是以約375 mg的固定劑量Q3W施用、瑞拉利單抗以約160 mg的固定劑量Q4W施用且批准的ADCC-增強TA-結合分子(例如，tafasitamab等)根據批准的處方給藥方案施用。在仍另一這種實施方式中，瑞弗利單抗以約500 mg的固定劑量Q4W施用、瑞拉利單抗以約160 mg的固定劑量Q4W施用且批准的ADCC-增強TA-結合分子(例如，tafasitamab等)根據批准的處方給藥方案施用。

【0237】 在一個實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子根據本文提供的給藥方案與ADCC-增強TA-結合分子組合施用。代表性組合給藥方案包括以約120 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子(例如，DART-I)且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子(例如，馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗)以約2 mg/kg至約18 mg/kg的量，施用Q3W。另一代表性組合給藥方案包括以約120 mg的固定劑量Q3W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子(例如，DART-I)且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子(例如，馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗)以約2 mg/kg至約18 mg/kg的劑量，施用Q3W。另一代表性給藥方案包括以約300 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子以約2 mg/kg至約18 mg/kg的劑量，施用Q3W。仍另一代表性給藥方案包括以約300 mg的固定劑量Q3W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子以約2 mg/kg至約18 mg/kg的劑量，施用Q3W。另一代表性給藥方案包括以約400 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子以約2 mg/kg至約18 mg/kg的劑量，施用Q3W。另

一代表性給藥方案包括以400 mg Q3W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子以約2 mg/kg至約18 mg/kg的劑量，施用Q3W。具體的給藥方案包括以約600 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子以約2 mg/kg至約18 mg/kg的固定劑量，施用Q3W。另一具體的給藥方案包括以約600 mg的固定劑量Q3W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子以約2 mg/kg至約18 mg/kg的劑量，施用Q3W。另一具體的給藥方案包括以約800 mg的固定劑量Q2W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子以約2 mg/kg至約18 mg/kg的劑量，施用Q3W。另一具體的給藥方案包括以約800 mg的固定劑量Q3W施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子且ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子以約2 mg/kg至約18 mg/kg的劑量，施用Q3W。在以上給藥方案的某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子是DART-I。在以上給藥方案的一些實施方式中，ADCC-增強HER2-結合分子是馬格妥昔單抗。在以上給藥方案的一些實施方式中，ADCC-增強B7-H3-結合分子是依諾妥珠單抗。

【0238】 優選地，在以上實施方式中，施用以預定的頻率或週期數，或這種計劃的時間間隔的1-3天內發生，使得施用發生在計劃的劑量的1-3天之前、1-3天之後或當天，例如，每3週一次(±3天)。典型地，在以上實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子和ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子在24-小時週期內通過IV輸注施用。在某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性分子和ADCC-增強HER2-或B7-H3-結合分子根據至少1個月或更多、至少3個月或更多、或至少6個月或更多或至少12個月或更多的持續時間 (即，治療過程)的任何以上給藥方案通過IV輸注施用。特別地考慮了至少6月或更多、或至少12月或更多或直到觀察到

疾病或難以管理的毒性緩解的治療持續時間。在某些實施方式中，在疾病緩解後治療持續一段時間。

【0239】 在某些實施方式中，基於抗體的分子通過IV輸注施用。因此，基於抗體的分子通常稀釋(分開或一起)入包括合適的稀釋劑，例如，0.9%氯化鈉的注輸袋。因為可能發生輸注或過敏反應，預防這種輸注反應的術前用藥是推薦的並且在抗體施用期間應觀察過敏性反應的預防措施。這種IV輸注可在30分鐘和24小時之間的週期內施用給受試者。在某些實施方式中，IV輸注在約30-240分鐘、約30-180分鐘、約30-120分鐘或約30-90分鐘的週期內，或約60-90分鐘的週期內，或約60-75分鐘的週期內，或更小週期內遞送，如果受試者不展示出不利的輸注反應的信號或症狀。

【0240】 儘管，如以上所討論，可採用各種給藥和施用途徑以便按照本發明提供基於抗體的分子給需要其的接受受試者，特別地提供某些組合、給藥和施用途徑在這種治療中使用。特別地本文描述了在這種給藥和施用中本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體(例如，DART-I)與抗HER2或抗B7-H3抗體(例如，馬格妥昔單抗、曲妥珠單抗、培妥珠單抗和/或依諾妥珠單抗)組合使用。

【0241】 因此，這種給藥方案包括以約300 mg至約800 mg的固定劑量施用PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體和以約2 mg/kg至約15 mg/kg的劑量和/或以約420-840 mg的固定劑量施用抗HER2或抗B7-H3抗體，其中這種分子施用Q3W (±3天)。在某些實施方式中，以約300 mg、約400 mg、約600 mg或約800 mg的固定劑量施用PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體且以約2 mg/kg、約4 mg/kg、約6 mg/kg、約8 mg/kg或約15 mg/kg的劑量施用抗HER2或抗B7-H3抗體。在其他實施方式

中，以約300 mg、約400 mg、約600 mg或約800 mg的固定劑量施用PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體且以約420 mg或約840 mg的固定劑量施用抗HER2抗體。

(A) 在某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體以約300 mg的固定劑量施用。在這種實施方式中，如果待施用的抗HER2或抗B7-H3抗體分別是馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗，這種馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗以約15 mg/kg體重的劑量施用。可替選地，如果在這種實施方式中，待施用的抗HER2抗體是曲妥珠單抗，第一劑量的曲妥珠單抗以約8 mg/kg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的曲妥珠單抗每個以約6 mg/kg的劑量施用，或第一劑量的曲妥珠單抗以約4 mg/kg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的曲妥珠單抗每個以約2 mg/kg的劑量施用。可替選地，如果在這種實施方式中，待施用的抗HER2抗體是培妥珠單抗，第一劑量的培妥珠單抗以約840 mg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的培妥珠單抗每個以0約420 mg的劑量施用。

(B) 在某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體以約400 mg的固定劑量與抗HER2或抗B7-H3抗體結合施用。在這種實施方式中，如果待施用的抗HER2或抗B7-H3抗體分別是馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗，這種馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗以約15 mg/kg體重的劑量施用。可替選地，如果在這種實施方式中，待施用的抗HER2抗體是曲妥珠單抗，第一劑量的曲妥珠單抗以約8 mg/kg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的曲妥珠單抗每種以約6 mg/kg的劑量施用，或第一劑量的曲妥珠單抗以約4 mg/kg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的曲妥珠單抗每個以約2 mg/kg的劑量施用。可替選地，如果在這種實施方式中，待施用的抗HER2抗體是培妥珠單抗，

第一劑量的培妥珠單抗以約840 mg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的培妥珠單抗每個以約420 mg的劑量施用。

(C) 在某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體以約600 mg的固定劑量施用。在這種實施方式中，如果待施用的抗HER2或抗B7-H3抗體分別是馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗，這種馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗以約15 mg/kg體重的劑量施用。在這種實施方式中，如果待施用的抗HER2抗體是曲妥珠單抗，第一劑量的曲妥珠單抗以約8 mg/kg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的曲妥珠單抗每個以約6 mg/kg的劑量施用，或第一劑量的曲妥珠單抗以約4 mg/kg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的曲妥珠單抗每個以約2 mg/kg的劑量施用。可替選地，如果在這種實施方式中，待施用的抗HER2抗體是培妥珠單抗，第一劑量的培妥珠單抗以約840 mg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的培妥珠單抗每個以約420 mg的劑量施用。

(D) 在某些實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體以約800 mg的固定劑量施用。在這種實施方式中，如果待施用的抗HER2或抗B7-H3抗體分別是馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗，這種馬格妥昔單抗或依諾妥珠單抗以約15 mg/kg體重的劑量施用。可替選地，如果待施用的抗HER2抗體是曲妥珠單抗，第一劑量的曲妥珠單抗以約8 mg/kg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的曲妥珠單抗每個以約6 mg/kg的劑量施用，或第一劑量的曲妥珠單抗以約4 mg/kg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量額曲妥珠單抗每個以約2 mg/kg的劑量施用。可替選地，如果待施用的抗HER2抗體是培妥珠單抗，

第一劑量的這種培妥珠單抗以約840 mg的劑量施用，隨後一個或多個另外劑量的培妥珠單抗每個以約420 mg的劑量施用。

【0242】 在任何以上實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體和抗HER2或抗B7-H3抗體同時、依次、以交替方式或在不同的時間，在24小時內通過IV輸注施用。在任何以上實施方式中，PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體是DART-I。

【0243】 本發明還提供了給藥方案，其中PD-1 x LAG-3雙特異性雙抗體與兩種不同抗HER2抗體(例如，曲妥珠單抗和培妥珠單抗)組合施用，其中每種分子的施用根據任何以上實施方式或根據批准的處方給藥方案。

IX. 本發明的實施方式

【0244】 現在已經大致地描述了本發明，本發明通過參考以下編號的實施方式(“**EA**”和“**EB**”)將更容易理解本，實施方式通過闡釋的方式提供且除非指定，實施方式不旨在限制本發明：

EA1. 包括施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子給需要其的受試者的治療癌症的方法，其中所述方法包括以約120 mg至約800 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子給所述受試者。

EA2. 根據EA1的方法，其中所述癌症特徵在於腫瘤抗原(TA)的表達，並且其中所述方法進一步包括施用腫瘤抗原(TA)結合分子(TA-結合分子)給所述受試者。

EA3. 治療受試者的癌症的方法，其中所述癌症特徵在於TA的表達，所述方法包括施用TA-結合分子給所述受試者並且進一步包括施用以下給所述受試者：

(a) 雙特異性(PD-1 x LAG-3雙特異性分子)；或

(b) 免疫特異性結合PD-1的分子(PD-1-結合分子)與免疫特異性結合LAG-3的分子(LAG-3-結合分子)組合；或

(c) 免疫特異性結合PD-L1和LAG-3二者的雙特異性分子(PD-L1 x LAG-3雙特異性分子)；或

(d) 免疫特異性結合PD-L1的分子(PD-L1-結合分子)與LAG-3-結合分子組合。

EA4. 根據EA2-EA3的任一項的方法，其中所述TA-結合分子包括ADCC-增強的Fc結構域。

EA5. 根據EA2-EA4的任一項的方法，其中：

(a) 每種分子在分開的組合物中；或

(b) 每種分子在相同的組合物中；或

(c) 所述PD-1-結合分子和所述LAG-3-結合分子在相同的組合物中，且所述TA-結合分子在分開的組合物中；或

(d) 所述PD-L1-結合分子和所述LAG-3-結合分子在相同的組合物中，且所述TA-結合分子在分開的組合物中。

EA6. 根據EA2-EA5的任一項的方法，其中所述TA-結合分子是抗體。

EA7. 根據EA2-EA6的任一項的方法，其中所述PD-1-結合分子是抗體。

EA8. 根據EA2-EA6的任一項的方法，其中所述PD-L1-結合分子是抗體。

EA9. 根據EA2-EA8的任一項的方法，其中所述LAG-3-結合分子是抗體。

EA10. 根據EA3-EA6的任一項的方法，其中所述方法包括施用所述TA-結合分子和所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子。

EA11. 根據EA3-EA9的任一項的方法，其中所述方法包括施用所述TA-結合分子和所述PD-1-結合分子與所述LAG-3-結合分子組合。

EA12. 根據EA3-EA6的任一項的方法，其中所述方法包括施用所述TA-結合分子和所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA13. 根據EA3-EA9的任一項的方法，其中所述方法包括施用所述TA-結合分子和所述PD-L1-結合分子與所述LAG-3-結合分子組合。

EA14. 根據EA4-EA13的任一項的方法，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括：

(a) 工程化的糖型；和/或

(b) 相對於野生型Fc區的氨基酸替換。

EA15. 根據EA14的方法，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括工程化的糖型，其是不含有岩藻糖的複合的N-糖苷連接的糖鏈，和/或其包括平分O-GlcNAc。

EA16. 根據EA14或EA15的方法，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括選自F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L的一種或多種氨基酸替換。

EA17. 根據EA14-EA16的任一項的方法，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括選自由下述組成的組中的氨基酸替換：

(a) 選自由下述組成的組中的一個替換：

F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L；

(b) 選自由下述組成的組中的兩個替換：

(1) F243L和P396L；

(2) F243L和R292P；

(3) R292P和V305I；和

(4) S239D和I332E；

(c) 選自由下述組成的組中的三個替換：

(1) F243L、R292P和Y300L；

(2) F243L、R292P和V305I；

(3) F243L、R292P和P396L；和

(4) R292P、V305I和P396L；

(d) 選自由下述組成的組中的四個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L和P396L；和

(2) F243L、R292P、V305I和P396L；或

(e) 選自由下述組成的組中的五個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L；和

(2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，

其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

EA18. 根據EA14-EA16的任一項的方法，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括氨基酸替換：L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

EA19. 根據EA14-EA16的任一項的方法，其中所述ADCC-增強增強Fc結構域包括氨基酸替換：S239D和I332E，其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

EA20. 根據EA2-EA19的任一項的方法，其中所述TA選自**表6A**或**表6B**。

EA21. 根據EA2-EA19的任一項的方法，其中所述TA-結合分子包括選自**表7**的抗體的VL和VH結構域。

EA22. 根據EA3-EA7、EA9、EA11或EA14-EA21的任一項的方法，其中所述PD-1-結合分子是包括下述的抗體：

(a) 包括**SEQ ID NO:35**的氨基酸序列的PD-1 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:39**的氨基酸序列的PD-1 VH結構域；

(b) 選自**表1**的抗PD-1抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表1**的抗PD-1抗體的輕鏈和重鏈。

EA23. 根據EA3-EA6、EA8-EA9或EA13-EA21的任一項的方法，其中所述PD-L1-結合分子是包括下述的抗體：

(a) 包括**SEQ ID NO:43**的氨基酸序列的PD-L1 VL結構域和包括**SEQ ID NO:47**的氨基酸序列的PD-L1 VH結構域；

(b) 選自**表2**的抗PD-L1抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表2**的抗PD-L1抗體的輕鏈和重鏈。

EA24. 根據EA3-EA9、EA11或EA13-EA23的任一項的方法，其中所述LAG-3-結合分子是包括下述的抗體：

(a) 包括**SEQ ID NO:51**的氨基酸序列的LAG-3 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的LAG-3 VH結構域；

(b) 選自**表3**的抗LAG-3抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表3**的抗LAG-3抗體的輕鏈和重鏈。

EA25. 根據EA1-EA6、EA10或EA14-EA21的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) 包括**SEQ ID NO:35**的氨基酸序列的PD-1 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:39**的氨基酸序列的PD-1 VH結構域，或選自**表1**的抗PD-1抗體的VH和VL結構域；和/或

(b) 包括**SEQ ID NO:51**的氨基酸序列的LAG-3 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的LAG-3 VH結構域，或選自**表3**的抗LAG-3抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表4-5**的基於雙特異性抗體的分子。

EA26. 根據EA1-EA6、EA10或EA14-EA21的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) PD-1-結合結構域，其包括包含**SEQ ID NO:35**的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的輕鏈可變結構域(VL_{PD-1})，和包含**SEQ ID NO:39的**PD-1-特異性CDR_H1，CDR_H2和CDR_H3的重鏈可變結構域(VH_{PD-1})；和

(b) LAG-3-結合結構域，其包括包含**SEQ ID NO:51的**CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的輕鏈可變結構域(VL_{LAG-3})，和包含包括**SEQ ID NO:55**的LAG-3-特異性CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3的重鏈可變結構域(VH_{LAG-3})。

EA27. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA26的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) 兩個所述PD-1-結合結構域；和

(b) 兩個所述LAG-3-結合結構域。

EA28. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA27的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:35**的VL結構域和**SEQ ID NO:39**的VH結構域。

EA29. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA28的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:51**的VL結構域和**SEQ ID NO:55**的VH結構域。

EA30. 根據EA1-EA6、EA10、EA12、EA14-EA21或EA25-EA29的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子包括Fc區。

EA31. 根據EA30的方法，其中所述Fc區是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同種型的。

EA32. 根據EA30或EA31的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子進一步包括鉸鏈結構域。

EA33. 根據EA32的方法，其中所述Fc區和所述鉸鏈結構域都是IgG4同種型的，且其中所述鉸鏈結構域包括穩定化突變。

EA34. 根據EA30-EA33的任一項的方法，其中所述Fc區是包括下述的變體Fc區：

(a) 降低變體Fc區對Fc γ R的親和力的一個或多個氨基酸修飾；和/或

(b) 提高變體Fc區的血清半衰期的一個或多個氨基酸修飾。

EA35. 根據EA34的方法，其中所述降低變體Fc區對 Fc γ R的親和力的修飾包括L234A；L235A；或L234A和L235A的替換，其中所述編號為Kabat中的EU索引的編號。

EA36. 根據EA34或EA35的任一項的方法，其中所述提高變體Fc區的血清半衰期的修飾包括M252Y；M252Y和S254T；M252Y和T256E；M252Y、S254T和T256E；或K288D和H435K的替換，其中所述編號為Kabat中的EU索引的編號。

EA37. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA36的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:59**的兩條多肽鏈和**SEQ ID NO:60**的兩條多肽鏈。

EA38. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一項的方法，其中以約120 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA39. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一項的方法，其中以約300 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA40. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一項的方法，其中以約400 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA41. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一項的方法，其中以約600 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA42. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA37的任一項的方法，其中以約800 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA43. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA42的任一項的方法，其中約每2週一次施用所述固定劑量。

EA44. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21或EA25-EA42的任一項的方法，其中約每3週一次施用所述固定劑量。

EA45. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA37、EA40或EA43的任一項的方法，其中以約400 mg的固定劑量約每2週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA46. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA37、EA41或EA43的任一項的方法，其中以約600 mg的固定劑量約每2週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA47. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA37、EA41或EA44的任一項的方法，其中以約600 mg的固定劑量約每3週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA48. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21E、A25-EA37、EA42或EA44的任一項的方法，其中以約800 mg的固定劑量約每3週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EA49. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA48的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子通過靜脈內(IV)輸注施用。

EA50. 根據EA49的方法，其中所述靜脈內(IV)輸注在30-240分鐘的時間段內。

EA51. 根據EA49的方法，其中所述靜脈內(IV)輸注在約30-90分鐘的時間段內。

EA52. 根據EA1-EA51的任一項的方法，其中所述癌症是腎上腺癌、AIDS相關的癌、肺泡狀軟組織肉瘤、肛門癌(包括肛管鱗狀細胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、腦和脊髓癌、乳腺癌(包括HER2+乳腺癌或三陰性乳腺癌(TNBC))、頸動脈體瘤、子宮頸癌(包括HPV相關的子宮頸癌)、軟骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性腎細胞癌、透明細胞癌、結腸癌、結直腸癌、增生性小圓形細胞腫瘤、室管膜細胞瘤、子宮內膜癌(包括非選擇性子宮內膜癌、MSI高子宮內膜癌、dMMR子宮內膜癌和/或POLE核酸外切酶結構域突變陽性子宮內膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液樣軟骨肉瘤、膽囊或膽道癌(包括膽管癌膽道癌)、胃癌、胃食管交界處(GEJ)癌、妊娠滋養細胞疾病、生殖細胞瘤、膠質母細胞瘤、頭頸癌(包括頭頸的鱗狀細胞癌(SCCHN))、血液系統惡性腫瘤、肝細胞癌、胰島細胞瘤、卡波西氏肉瘤、腎癌、白血病(包括、急性髓樣白血病)、脂肪肉瘤/惡性脂肪瘤、肝癌(包括肝細胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小細胞肺癌(SCLC)、非-小細胞肺癌(NSCLC))、成神經管細胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、腦膜瘤、默克爾細胞癌、間皮瘤(包括間皮咽癌)、多發性內分泌腫瘤、多發性骨髓瘤、骨髓增生異常綜合征、成神經細胞瘤、神經內分泌腫瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲狀腺乳頭狀癌、甲狀旁腺腫瘤、兒科癌症、周圍神經鞘腫瘤、咽癌、嗜鉻細胞瘤、垂體腫瘤、前列腺癌(包括轉移性去勢抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜後黑素瘤、腎轉移癌、橫紋肌樣瘤、橫紋肌肉瘤、肉瘤、皮膚癌、童年期的小圓形藍細胞瘤(包括成神經細

胞瘤和橫紋肌肉瘤)、軟組織肉瘤、鱗狀細胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲狀腺癌或子宮癌。

EA53. 根據EA52的方法，其中所述癌症是肛門癌、乳腺癌、膽道癌、子宮頸癌、結直腸癌、子宮內膜癌、胃癌、GEJ癌症、頭頸癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌或前列腺癌。

EA54. 根據EA52或EA53的任一項的方法，其中所述癌症是$HER2^+$乳腺癌或TNBC。

EA55. 根據EA52或EA53的任一項的方法，其中所述癌症是膽管癌膽道癌。

EA56. 根據EA52或EA53的任一項的方法，其中所述癌症是HPV相關的子宮頸癌。

EA57. 根據EA52或EA53的任一項的方法，其中所述癌症是SCCHN。

EA58. 根據EA52或EA53的任一項的方法，其中所述癌症是HCC。

EA59. 根據EA52或EA53的任一項的方法，其中所述癌症是SCLC或NSCLC。

EA60. 根據EA52或EA53的任一項的方法，其中所述癌症是NHL。

EA61. 根據EA52或EA53的任一項的方法，其中所述癌症是前列腺癌。

EA62. 根據EA52或EA53的任一項的方法，其中所述癌症是胃癌。

EA63. 根據EA2-EA62的任一項的方法，其中所述TA-結合分子是包括包含輕鏈可變結構域(VL_{HER2})和重鏈可變結構域(VH_{HER2})的HER2-結合結構域的HER2-結合分子，其中：

(a) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括包含**SEQ ID NO:61的** CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的馬格妥昔單抗的輕鏈可變結構域，且

所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括包含**SEQ ID NO:66**的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3的馬格妥昔單抗的重鏈可變結構域；

(b) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括曲妥珠單抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3且所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括曲妥珠單抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3；

(c) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括培妥珠單抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3且所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括培妥珠單抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3；或

(d) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3且所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

EA64. 根據EA2-EA63的任一項的方法，其中所述HER2-結合分子是抗HER2抗體。

EA65. 根據EA64的方法，其中所述抗HER2抗體是馬格妥昔單抗，和所述方法包括以約6 mg/kg至約18 mg/kg的劑量約每3週一次施用馬格妥昔單抗。

EA66. 根據EA65的方法，其中以選自由約6 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg和約18 mg/kg組成的組中的劑量約每3週一次施用馬格妥昔單抗。

EA67. EA65或EA66的任一項的方法，其中以約600 mg的固定劑量約每3週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子且以約15 mg/kg的劑量約周每3週一次施用馬格妥昔單抗。

EA68. 根據EA63-EA67的任一項的方法，其中所述方法進一步包括施用化療劑。

EA69. 根據EA63-EA68的任一項的方法，其中所述癌症是表達HER2的癌症。

EA70. 根據EA69的方法，其中所述表達HER2的癌症是乳腺癌、轉移乳腺癌、膀胱、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌或胃癌。

EA71. 根據EA2-EA62的任一項的方法，其中所述TA-結合分子是包括包含輕鏈可變結構域(VL)和重鏈可變結構域(VH)的B7-H3-結合結構域的B7-H3-結合分子，其中：

所述VL包括**SEQ ID NO:71**的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3，且所述VH包括**SEQ ID NO:76**的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

EA72. 根據EA2-EA62或EA71的任一項的方法，其中所述TA-結合分子是依諾妥珠單抗。

EA73. 根據EA72的方法，其中以約6 mg/kg至約18 mg/kg的劑量約每3週一次施用所述依諾妥珠單抗。

EA74. 根據EA73的方法，其中以選自由約6 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg和約18 mg/kg組成的組中的劑量約每3週一次施用依諾妥珠單抗。

EA75. 根據EA73或EA74的任一項的方法，其中以約600 mg的固定劑量約每3週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子和以約15 mg/kg的劑量約周每3週一次施用依諾妥珠單抗。

EA76. 根據EA71-EA75的任一項的方法，其中所述癌症是表達B7-H3的癌症。

EA77. 根據EA76的方法，其中所述表達B7-H3的癌症是肛門癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、頭頸癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、前列腺癌、mCRPC。

EA78. 根據EA2-EA77的任一項的方法，其中所述TA-結合分子通過靜脈內(IV)輸注施用。

EA79. 根據EA78的方法，其中所述IV輸注在約30-240分鐘的時間段內。

EA80. 根據EA78的方法，其中所述IV輸注在約30-90分鐘的時間段內。

EA81. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA80的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子和所述TA-結合分子在分開的藥物組合物中同時施用給所述受試者，其中所述分開的組合物在24小時週期內施用。

EA82. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA80的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子和所述TA-結合分子在分開的藥物組合物中依次施用給所述受試者，其中第二施用組合物在施用第一施用組合物之後至少24小時施用。

EA83. 根據EA1-EA82的任一項的方法，其中所述受試者先前已經用CAR T-細胞療法治療。

EA84. 根據EA1-EA6、EA10、EA14-EA21、EA25-EA82的任一項的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子與CAR T-細胞療法同時施用或在用CAR T-細胞療法治療後施用。

EA85. 根據EA1-EA84的任一項的方法，其中在所述治療之前所述癌症的活檢中存在表達LAG-3的細胞。

EA86. 根據EA1-EA85的任一項的方法，其中在所述治療之前所述癌症的活檢中存在表達PD-1的細胞。

EA87. 根據EA1-EA86的方法，其中在治療之前癌症的活檢中LAG-3和PD-1的共表達指示所述患者是這種方法的候選者。

EA88. 根據EA87的方法，其中表達是基因表達。

EA89. 根據EA1-EA88的任一項的方法，其中在所述治療之前所述癌症的細胞表面上PD-L1表達如使用聯合陽性評分(CPS)或腫瘤比例評分(TPS)確定的小於1%。

EA90. 根據EA1-EA89的任一項的方法，其中所述受試者先前對至少一種先前治療無應答或應答不足。

EA91. 根據EA90的方法，其中至少一種所述先前治療是使用PD-1-結合分子或PD-L1-結合分子的治療。

EB1. 用於治療受試者的癌症的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，其中以約120 mg至約800 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子。

EB2. 根據EB1的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，其中所述癌症特徵在於TA的表達，且其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子與TA-結合分子組合使用。

EB3. 以下的組合：

(I) TA-結合分子；和

(II) (a) PD-1 x LAG-3雙特異性分子；或

(b) PD-1-結合分子與LAG-3-結合分子組合；或

(c) PD-L1 x LAG-3雙特異性分子；或

(d) PD-L1-結合分子與LAG-3-結合分子組合，

來治療特徵在於所述TA的表達的癌症。

EB4. 根據EB2，或EB3的組合，或EB7的組合的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，其中所述TA-結合分子包括ADCC-增強的Fc結構域。

EB5. 根據EB2或EB4的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或EB2-4的任一項的組合，或EB7-8的任一項的組合，其中：

(a) 每種分子在分開的組合物中；或

(b) 每種分子在相同的組合物中；或

(c) 所述PD-1-結合分子和所述LAG-3-結合分子在相同的組合物中，且所述TA-結合分子在分開的組合物中；或

(d) 所述PD-L1-結合分子和所述LAG-3-結合分子在相同的組合物中，且所述TA-結合分子在分開的組合物中。

EB6. 根據EB2或EB4-EB5的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或EB3-5的的任一項的組合，或EB7-EB9的任一項的組合，其中所述TA-結合分子是抗體。

EB7. 根據EB3-EB6的任一項的組合，其中所述PD-1-結合分子是抗體。

EB8. 根據EB3-EB6的任一項的組合，其中所述PD-L1-結合分子是抗體。

EB9. 根據EB3-EB8的任一項的組合，其中所述LAG-3-結合分子是抗體。

EB10. 根據EB3-EB6的任一項的組合，其中使用所述TA-結合分子和所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子。

EB11. 根據EB3-EB9的任一項的組合，其中使用所述TA-結合分子和所述PD-1-結合分子與所述LAG-3-結合分子組合。

EB12. 根據EB3-EB6的任一項的組合，其中使用所述TA-結合分子和所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB13. 根據EB3-EB9的任一項的組合，其中使用所述TA-結合分子和所述PD-L1-結合分子與所述LAG-3-結合分子組合。

EB14. 根據EB4-EB6的任一項PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB4-EB9的任一項的組合，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括：

(a) 工程化的糖型；和/或

(b) 相對於野生型Fc區的氨基酸替換。

EB15. 根據EB14的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB14的組合，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括工程化的糖型，其是不含有岩藻糖的複合的N-糖苷連接的糖鏈，和/或其包括平分O-GlcNAc。

EB16. 根據EB14或EB15的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB14或EB15的組合，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括選自F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L的一種或多種氨基酸替換。

EB17. 根據EB14-EB16的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB14-EB16的任一項的組合，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括選自由下述組成的組中的氨基酸替換：

(a) 選自由下述組成的組中的一個替換：

F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L；

(b) 選自由下述組成的組中的兩個替換：

(1) F243L和P396L；

(2) F243L和R292P；

(3) R292P和V305I；和

(4) S239D和I332E；

(c) 選自由下述組成的組中的三個替換：

(1) F243L、R292P和Y300L；

(2) F243L、R292P和V305I；

(3) F243L、R292P和P396L；和

(4) R292P、V305I和P396L；

(d) 選自由下述組成的組中的四個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L和P396L；和

(2) F243L、R292P、V305I和P396L；或

(e) 選自由下述組成的組中的五個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L；和

(2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，

其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

EB18. 根據EB14-EB16的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB14-EB16的任一項的組合，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括氨基酸替換：L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

EB19. 根據EB14-EB16的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB14-EB16的任一項的組合，其中所述ADCC-增強增強Fc結構域包括氨基酸替換：S239D和I332E，其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

EB20. 根據EB2、EB4-EB6或EB14-EB19的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB19的任一項的組合，其中所述TA選自**表6A**或**表6B**。

EB21. 根據EB2、EB4-EB6或EB14-EB19的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB19的任一項的組合，其中所述TA-結合分子包括選自**表7**的抗體的VL和VH結構域。

EB22. 根據EB3-EB7、EB9、EB11或EB14-EB21的任一項的組合，其中所述PD-1-結合分子是包括下述的抗體：

(a) 包括**SEQ ID NO:35**的氨基酸序列的PD-1 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:39**的氨基酸序列的PD-1 VH結構域；

(b) 選自**表1**的抗PD-1抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表1**的抗PD-1抗體的輕鏈和重鏈。

EB23. 根據EB3-EB6、EB8-EB9或EB13-EB21的任一項的組合，其中所述PD-L1-結合分子是包括下述的抗體：

(a) 包括**SEQ ID NO:43**的氨基酸序列的PD-L1 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:49**氨基酸序列的PD-L1 VH結構域；

(b) 選自**表2**的抗PD-L1抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表2**的抗PD-L1抗體的輕鏈和重鏈。

EB24. 根據EB3-EB9、EB11或EB13-EB23的任一項的組合，其中所述LAG-3-結合分子是包括下述的抗體：

(a) 包括**SEQ ID NO:51**的氨基酸序列的LAG-3 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的LAG-3 VH結構域；

(b) 選自**表3**的抗LAG-3抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表3**的抗LAG-3抗體的輕鏈和重鏈。

EB25. 根據EB2、EB4-EB6或EB14-EB21的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10或EB14-EB21的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) 包括**SEQ ID NO:35**的氨基酸序列的PD-1 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:39**的氨基酸序列的PD-1 VH結構域，或選自**表7**的抗PD-1抗體的VH和VL結構域；和/或

(b) 包括**SEQ ID NO:51**的氨基酸序列的LAG-3 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的LAG-3 VH結構域，或選自**表9**的抗LAG-3抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表4-5**的基於雙特異性抗體的分子。

EB26. EB2、EB4-EB6或EB14-EB21的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10或EB14-EB21的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) PD-1-結合結構域，其包括包含**SEQ ID NO:35**的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的輕鏈可變結構域(VL_{PD-1})，和包含**SEQ ID NO:39**的PD-1-特異性CDR_H1，CDR_H2和CDR_H3的重鏈可變結構域(VH_{PD-1})；和

(b) LAG-3-結合結構域，其包括包含**SEQ ID NO:51**的CDR_L1，CDR_L2和CDR_L3的輕鏈可變結構域(VL_{LAG-3})，和包含**SEQ ID NO:55**的LAG-3-特異性CDR_H1，CDR_H2和CDR_H3的重鏈可變結構域(VH_{LAG-3})。

EB27. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB26的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB26的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) 兩個所述PD-1-結合結構域；和

(b) 兩個所述LAG-3-結合結構域。

EB28. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB27的任一項的，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB27的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:35**的VL結構域和**SEQ ID NO:39**的VH結構域。

EB29. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB28的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB28的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:51**的VL結構域，和**SEQ ID NO:39**的VH結構域。

EB30. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB29的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB2-6、EB10、EB 12、EB14-EB21或EB25-EB29的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子包括Fc區。

EB31. 根據EB30的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB30的組合，其中所述Fc區是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同種型的。

EB32. 根據EB30或EB31的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB30或EB31的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子進一步包括鉸鏈結構域。

EB33. 根據EB32的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB32的組合，其中所述Fc區和所述鉸鏈結構域都是IgG4同種型的，和其中所述鉸鏈結構域包括穩定化突變。

EB34. 根據EB30-EB33的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB30-EB33的任一項的組合，其中所述Fc區是包括下述的變體Fc區：

(a) 降低變體Fc區對Fc γ R的親和力的一個或多個氨基酸修飾；和/或

(b) 提高變體Fc區的血清半衰期的一個或多個氨基酸修飾。

EB35. 根據EB34的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB34的組合，其中所述降低變體Fc區對Fc γ R的親和力的修飾包括L234A；L235A；或L234A和L235A的替換，其中所述編號為Kabat中的EU索引的編號。

EB36. 根據EB34或EB35的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB34或EB35的任一項的組合，其中所述提高變體Fc區的血清半衰期的修飾包括M252Y；M252Y和S254T；M252Y和T256E；M252Y、S254T和T256E；或K288D和H435K的替換，其中所述編號為Kabat中的EU索引的編號。

EB37. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB36的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB36的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:59**的兩條多肽鏈和**SEQ ID NO:60**的兩條多肽鏈。

EB38. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任

一項的組合，其中以約120 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB39. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任一項的組合，其中以約300 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB40. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任一項的組合，其中以約400 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB41. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任一項的組合，其中以約600 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB42. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB37的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB37的任一項的組合，其中以約800 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB43. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB42的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB42的任一項的組合，其中約每2週一次施用所述固定劑量。

EB44. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB42的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21或EB25-EB42的任一項的組合，其中約每3週一次施用所述固定劑量。

EB45. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB37、EB40或EB43的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB37、EB40或EB43的任一項的組合，其中以約400 mg的固定劑量約每2週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB46. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB37、EB41或EB43的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB37、EB41或EB43的任一項的組合，其中以約600 mg的固定劑量約每2週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB47. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB37、EB41或EB44的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB37、EB41或EB44的任一項的組合，其中以約600 mg的固定劑量約每3週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB48. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB37、EB42或EB44的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB37、EB42或EB44的任一項的組合，其中以約800 mg的固定劑

量約每3週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

EB49. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB48的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB48的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子通過靜脈內(IV)輸注施用。

EB50. 根據EB49的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB49的組合，其中所述靜脈內(IV)輸注在30-240分鐘的時間段內。

EB51. 根據EB49的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB49的組合，其中所述靜脈內(IV)輸注在約30-90分鐘的時間段內。

EB52. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB51的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB51的任一項的組合，其中所述癌症是腎上腺癌、AIDS相關的癌、肺泡狀軟組織肉瘤、肛門癌(包括肛管鱗狀細胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、腦和脊髓癌、乳腺癌(包括$HER2^+$乳腺癌或三陰性乳腺癌(TNBC))、頸動脈體瘤、子宮頸癌(包括HPV相關的子宮頸癌)、軟骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性腎細胞癌、透明細胞癌、結腸癌、結直腸癌、增生性小圓形細胞腫瘤、室管膜細胞瘤、子宮內膜癌(包括非選擇性子宮內膜癌、MSI高子宮內膜癌、dMMR子宮內膜癌和/或POLE核酸外切酶結構域突變陽性子宮內膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液樣軟骨肉瘤、膽囊或膽道癌(包括膽管癌膽道癌)、胃癌、胃食管交界處(GEJ)癌、妊娠滋養細胞疾病、生殖細胞瘤、膠質母細胞瘤、頭頸癌(包括頭頸的鱗狀細胞癌(SCCHN))、血液系統惡性腫瘤、肝細胞癌、胰島細胞

瘤、卡波西氏肉瘤、腎癌、白血病(包括、急性髓樣白血病)、脂肪肉瘤/惡性脂肪瘤、肝癌(包括肝細胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小細胞肺癌(SCLC)、非-小細胞肺癌(NSCLC))、成神經管細胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、腦膜瘤、默克爾細胞癌、間皮瘤(包括間皮咽癌)、多發性內分泌腫瘤、多發性骨髓瘤、骨髓增生異常綜合征、成神經細胞瘤、神經內分泌腫瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲狀腺乳頭狀癌、甲狀旁腺腫瘤、兒科癌症、周圍神經鞘腫瘤、咽癌、嗜鉻細胞瘤、垂體腫瘤、前列腺癌(包括轉移性去勢抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜後黑素瘤、腎轉移癌、橫紋肌樣瘤、橫紋肌肉瘤、肉瘤、皮膚癌、童年期的小圓形藍細胞瘤(包括成神經細胞瘤和橫紋肌肉瘤)、軟組織肉瘤、鱗狀細胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲狀腺癌或子宮癌。

EB53. 根據EB52PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52的組合，其中所述癌症肛門癌、乳腺癌、膽道癌、子宮頸癌、結直腸癌、子宮內膜癌、胃癌、GEJ癌症、頭頸癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌或前列腺癌。

EB54. 根據EB52或EB53的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52或EB53的任一項的組合，其中所述癌症是$HER2^+$乳腺癌或TNBC。

EB55. 根據EB52或EB53的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52或EB53的任一項的組合，其中所述癌症是膽管癌膽道癌。

EB56. 根據EB52或EB53的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52或EB53的任一項的組合，其中所述癌症是HPV相關的子宮頸癌。

EB57. 根據EB52或EB53的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52或EB53的任一項的組合，其中所述癌症是SCCHN。

EB58. 根據EB52或EB53的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52或EB53的任一項的組合，其中所述癌症是HCC。

EB59. 根據EB52或EB53的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52或EB53的任一項的組合，其中所述癌症是SCLC或NSCLC。

EB60. 根據EB52或EB53的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52或EB53的任一項的組合，其中所述癌症是NHL。

EB61. 根據EB52或EB53的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52或EB53的任一項的組合，其中所述癌症是前列腺癌。

EB62. 根據EB52或EB53的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB52或EB53的任一項的組合，其中所述癌症是胃癌。

EB63. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB62的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB62的任一項的組合，其中所述TA-結合分子是包括包含輕鏈可變結構域(VL_{HER2})和重鏈可變結構域(VH_{HER2})的HER2-結合結構域的HER2-結合分子，其中：

(a) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括包含**SEQ ID NO:61**的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的馬格妥昔單抗的輕鏈可變結構域，和所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括包含**SEQ ID NO:66**的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3的馬格妥昔單抗的重鏈可變結構域；

(b) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括曲妥珠單抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3和所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括曲妥珠單抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3；

(c) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括培妥珠單抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3和所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括培妥珠單抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3；或

(d) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3和所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

EB64. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB63的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB63的任一項的組合，其中所述HER2-結合分子是抗HER2抗體。

EB65. 根據EB64的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB64的組合，其中所述抗HER2抗體是馬格妥昔單抗，和其中以約6 mg/kg至約18 mg/kg的劑量約每3週一次施用馬格妥昔單抗。

EB66. 根據EB65的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB65的組合，其中以選自由約6 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg和約18 mg/kg組成的組中劑量約每3週一次施用馬格妥昔單抗。

EB67. 根據EB65或EB66的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB65或EB66的任一項的組合，其中以約600 mg的固定劑量約每3週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子和以約15 mg/kg的劑量約周每3週一次施用馬格妥昔單抗。

EB68. 根據EB63-67的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB63-EB67的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述組合與化療劑一起施用。

EB69. 根據EB63-EB68的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB63-EB68的任一項的組合，其中所述癌症是表達HER2的癌症。

EB70. 根據EB69的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB69的組合，其中所述表達HER2的癌症是乳腺癌、轉移乳腺癌、膀胱、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌或胃癌。

EB71. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB62的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB62的任一項的組合，其中所述TA-結合分子是包括包含輕鏈可變結構域(VL)和重鏈可變結構域(VH)的B7-H3-結合結構域的B7-H3-結合分子，其中：

所述VL包括**SEQ ID NO:71**的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3，和所述VH包括**SEQ ID NO:76**的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

EB72. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21、EB25-EB62或EB71的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-62或EB71的任一項的組合，其中所述TA-結合分子是依諾妥珠單抗。

EB73. 根據EB72的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB72的組合，其中以約6 mg/kg至約18 mg/kg的劑量約每3週一次施用所述依諾妥珠單抗。

EB74. 根據EB73的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB73的組合，其中以選自由約6 mg/kg、約10 mg/kg、約15 mg/kg和約18 mg/kg組成的組中的劑量約每3週一次施用依諾妥珠單抗。

EB75. 根據EB73或EB74的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB73或EB74的任一項的組合，其中以約600 mg的固定劑量約每3週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子且以約15 mg/kg的劑量約每3週一次施用依諾妥珠單抗。

EB76. 根據EB71-EB75的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB71-EB75的任一項的組合，其中所述癌症是表達B7-H3的癌症。

EB77. 根據EB76的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB76的組合，其中所述表達B7-H3的癌症肛門癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、頭頸癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、前列腺癌、mCRPC。

EB78. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB77的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB77的任一項的組合，其中所述TA-結合分子通過靜脈內(IV)輸注施用。

EB79. 根據EB78的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB78的組合，其中所述IV輸注在約30-240分鐘的時間段內。

EB80. 根據EB78的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB78的組合，其中所述IV輸注在約30-90分鐘的時間段內。

EB81. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB80的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB80的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子和所述TA-結合分子在分開的藥物組合物中同時施用給所述受試者，其中所述分開的組合物在24小時週期內施用。

EB82. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB80的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB80的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子和所述TA-結合分子在分開的藥物組合物中依次施用給所述受試者，其中第二施用組合物在施用第一施用組合物之後至少24小時施用。

EB83. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB82的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB82的任一項的組合，其中所述受試者先前已經用CAR T-細胞療法治療。

EB84. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB83的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB6、EB10、EB14-EB21、EB25-EB82的任一項的組合，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子與使用CAR T-細胞療法的治療同時或在使用CAR T-細胞療法的治療後施用。

EB85. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB84的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB84的任一項的組合，其中在所述治療之前所述癌症的活檢中存在表達LAG-3的細胞。

EB86. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB85的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB85的任何的組合，其中在所述治療之前所述癌症的活檢中存在表達PD-1的細胞。

EB87. 根據EB1-EB86的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或EB3-EB86的任何的組合，其中在治療之前癌症的活檢中LAG-3和PD-1的共表達指示所述患者是這種方法的候選者。

EB88. 根據EB87的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB87的組合，其中表達是基因表達。

EB89. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB88任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB88的任一項的組合，其中在所述治療之前所述癌症的細胞表面上PD-L1表達如使用聯合陽性評分(CPS)或腫瘤比例評分(TPS)確定的小於1%。

EB90. 根據EB2、EB4-EB6、EB14-EB21或EB25-EB89的任一項的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB3-EB89的任一項的組合，其中所述受試者先前對至少一種先前治療無應答或應答不足。

EB91. 根據EB90的PD-1 x LAG-3雙特異性分子，或根據EB88的組合，其中至少一種所述先前治療是使用PD-1-結合分子或PD-L1-結合分子的治療。

實施例

【0245】 提供以下實施例是以更好地闡釋所要求保護的發明，而不是解釋為限制發明的範圍。在提到具體材料的範圍內，僅僅是為了闡釋的目的，而不旨在限制本發明。本領域技術人員可在不行使發明能力且不偏離本發明範圍的情況下開發出等效的手段或反應物。

實施例1

I階段研究

【0246】 為了確定患者對DART-I (結合PD-1和LAG-3的雙特異性分子，也稱為MGD013和tebotelimab)的耐受性，進行了I階段臨床研究。研究包括劑量遞增階段和種群擴增階段。研究由每個臨床地點的機構審查委員會批准，並且所有患者簽署了書面知情同意書。

【0247】 為了初始劑量遞增和劑量擴增種群，每兩週一次(Q2W)施用DART-I。為了研究的目的，使用八(8)周(56天)週期，其中DART-I從第一週期的每兩周時間段的第1天開始Q2W施用(即，在第1天，和在第15天±1天、第29天±1天和第43天±1天施用)，並且從每個隨後週期的第1天±1天開始Q2W施用。患者可接收多個8周Q2W治療週期，其取決於對研究治療耐受性和應答。

【0248】 在另外擴增種群中，每三週一次(Q3W)施用DART-I。為了研究的目的，使用三(3)周週期(每個為21天)。DART-I在第一週期的第1天和在每個隨後週期的第1天±3天施用。患者可接收多個3周(Q3W)處理週期，其決於取決於對研究治療耐受性和應答。

【0249】 在組合擴增種群中，DART-I和抗HER2抗體馬格妥昔單抗(具有ADCC-增強的Fc結構域的TA-結合分子)都每三週一次(Q3W)施用。為了研究的目的，使用三(3)周週期(每個為21天)，其中DART-I和馬格妥昔單抗在第一週期的第1天和每個隨後週期的第1天±3天施用。患者可接收多個3周Q3W處理週期，其決於取決於對研究治療耐受性和應答。

【0250】 在這些研究中，將DART-I的劑量稀釋至標準生理鹽水的0.12 mg/mL至6.4 mg/mL的濃度範圍且使用商業上可獲得的注射器或輸注泵通過IV線在約60至75分鐘內施用。

【0251】 在這些研究中，將馬格妥昔單抗的劑量稀釋至標準生理鹽水的2.4至7.2 mg/mL的濃度且使用商業上可獲得的注射器或輸注泵通過IV輸注在約30-120分鐘內施用。

【0252】 抗腫瘤活性使用以下評估：常規的實體腫瘤的反應評估標準(RECIST)，版本1.1 (Eisenhauer, E.A.等，(2009) "*New Response Evaluation Criteria*

In Solid Tumours: Revised RECIST Guideline (Version 1.1)" Eur. J. Cancer. 45(2):228-247)；實體腫瘤的免疫相關的反應評估標準(irRECIST) (Wolchok, J.D. 等，(2009) "*Guidelines For The Evaluation Of Immune Therapy Activity In Solid Tumors: Immune-Related Response Criteria*." Clin. Cancer Res, 15:7412-7420)或改進的國際工作組標準(即，the Lugano Classification; Cheson, B.D.等，(2014) "*Recommendations For Initial Evaluation, Staging, And Response Assessment Of Hodgkin And Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification.*" J. Clin. Oncol, 32:3059-3068)，用於應答評估，如果適用的話。

【0253】 在劑量遞增階段中將從1 mg至多達1200 mg依次逐步增加固定劑量在1至6名患者的連續的種群中施用Q2W，評估每個種群(**表8**)。在各種劑量水準中，評估為劑量遞增目的不可評價的患者被替換。還將另外的患者加入多個感興趣的劑量水準，以獲得另外的臨床經驗。在劑量遞增階段中，加入具有任何組織學的不可切除、局部晚期和或轉移實體腫瘤的患者。47名患者(49%檢查點-經驗的)以劑量遞增治療且沒有限定最大耐受劑量。

表 8 - 劑量遞增種群

劑量水準	**DART-I 劑量**	**種群**
劑量水準 1	1 mg	Cohort 1
劑量水準 2	3 mg	Cohort 2
劑量水準 3	10 mg	Cohort 3
劑量水準 4	30 mg	Cohort 4
劑量水準 5	120 mg	Cohort 5
劑量水準 6	400 mg	Cohort 6
劑量水準 7	800 mg	Cohort 7
劑量水準 8	1200 mg	Cohort 8

【0254】 基於包括但不限於觀察的臨床活性、外周受體佔有率和藥物動力學(PK)的來自劑量遞增階段的全部臨床資料，初步選擇600 mg的劑量，Q2W施用作為給藥方案以評估種群擴增階段。

【0255】 具有不同的惡性疾病(包括：NSCLC(先前檢查點治療後和檢查點-初始種群)；SCCHN (先前檢查點治療後和檢查點-初始種群)、SCLC、膽管癌膽管癌、HCC、子宮頸癌、TNBC、上皮卵巢癌(EOC)、DLBCL和胃癌)的患者在種群擴增階段的初始種群中用DART-I以600 mg的固定劑量施用Q2W進行治療。基於以下詳細的部分藥物動力學(PK)和受體佔有率(RO)資料，種群擴增階段(具有胃癌或EOC的最初患者)的另外種群用DART-I以600 mg的固定劑量施用Q3W進行治療。

【0256】 在單獨的種群中，加入的表達HER2腫瘤抗原的晚期或轉移實體腫瘤 (即，HER2+實體腫瘤，特別地HER2+胃或乳腺癌) 的患者接收DART-I和馬格妥昔單抗，在同一天依次施用。施用DART-I (300 mg或600 mg)，隨後施用馬格妥昔單抗 (15 mg/kg) Q3W。該種群遵循常規的3 + 3方式，開始招募的3名患者以DART-I 300 mg劑量水準，隨後患者用DART-I以600 mg劑量水準治療。

藥物動力學(PK)

【0257】 在正在進行的研究中，評估了DART-I以1至1200 mg Q2W的給藥方案範圍的藥物代謝動力學特徵。在1-2週期的第1天第一劑量輸注的開始後的(i)預劑量、(ii)在輸注EOI的結束處和(iii) 2、4、24、72、168小時，收集血清PK樣品。在1-2週期期間施用每個另外劑量的預劑量和EOI，收集另外血清PK樣品，且使用ELISA測量人血清的DART-I濃度。簡言之，測定板用2 μg/mL的捕獲抗體(識別DART-I的LAG-3結構域的抗個體基因型抗體，“抗ID”)塗覆過夜。在用1X

磷酸鹽水磷酸鹽緩衝液(PBS)中的0.5%牛血清白蛋白(BSA)與0.1% Tween-20的阻斷非特異性位點後，用DART-I標準校準器、品質控制和測試樣品孵育板。固定化的抗ID抗體捕獲標準校準器、品質控制和測試樣品中存在的DART-I。捕獲的DART-I通過依次添加0.25 µg/mL 2A5-生物素(生物素化的抗EK螺旋抗體)，隨後1:10,000稀釋的鏈黴抗生物素-HRP得到檢測。結合的HRP活性通過由ELISA PICO底物生成的發光得到量化。使用Victor X4板閱讀器測量發光強度作為相對光單位(RLU)。通過將DART-I標準品與四參數邏輯模型擬合RLU信號產生標準曲線。血清樣品中DART-I的濃度通過從使用將光強度與DART-I濃度$1/y^2$加權相關的四參數曲線擬合的標準曲線插值來確定。

【0258】 初步PK分區建模方式用於分析使用WinNonlin PK分析程式(Phoenix® 64 WinNonlin®，版本8.0，Certara Inc., Princeton, NJ)的數據。使用的模型是開放的一個或兩個分區和加權因數為預測的濃度平方的倒數。擬合模型至用WinNonlin產生的初始評估的第1週期，第1天(C1D1)，第一劑量資料。

【0259】 為了初步PK分析，評估了四十五名受試者(所有給藥Q2W) (1名患者以1和3 mg Q2W用藥，4名患者以10 mg Q2W用藥、5名患者以30 mg Q2W用藥、6名患者以120 mg Q2W用藥、9名患者以400 mg Q2W用藥、8名患者以600 mg Q2W用藥、7名患者以800 mg Q2W用藥和4名患者以1200 mg Q2W用藥)。PK特徵在**圖2**中呈現。

【0260】 PK參數在**表9**中通過處理總結。這些結果指示，第一劑量DART-I暴露以劑量相關方式增加。DART-I C_{max}以劑量比例方式增加(斜率：0.985 [90%置信區間(CI)：0.949 – 1.022])和第一劑量$AUC_{(INF)}$在1至1200 mg的劑量範圍內以大於劑量比例方式增加(斜率：1.345 [90% CI：1.294 – 1.397])。總身體清除(CL)

值隨著劑量增加而減少，並且分佈的穩態容積(V_{ss})和消除半衰期($t_{1/2}$)值二者在1至1200 mg的劑量範圍內隨著劑量增加而增加。然而，CL、V_{ss}和$t_{1/2}$似乎不依賴於400至1200 mg的劑量範圍內的劑量，儘管隨著增加劑量注意到有輕微趨勢。DART-I的平均半衰期是約11天，且分佈的容積指示DART-I分佈僅限於血容量。

表 9：PK 參數

DART-I 用藥 (以 mg 計劑量)	$C_{最大}$ (μg/mL) GeoMean (%CV)	$AUC_{(INF)}$ (μ•h/mL) GeoMean (%CV)	CL (mL/h) 平均值 (SD)	V_{ss} (mL) 平均值 (SD)	$t_{1/2}$ (h) 平均值 (SD)
1 Q2W (n=1)	0.4	6	159.4	2358	10.3
3 Q2W (n=1)	1.2	44	68.5	2470	25.0
10 Q2W (n=4)	3.0 (25)	207 (30)	49.9 (13.7)	2818 (700)	40.4 (10.1)
30 Q2W (n=5)	8.0 (13)	590 (26)	52.2 (12.8)	3756 (505)	51.5 (9.8)
120 Q2W (n=6)	32.9 (20)	5503 (8)	21.9 (1.7)	4442 (975)	152.5 (40.9)
400 Q2W (n=9)	119.7 (26)	26213 (41)	16.5 (7.8)	4857 (1866)	247.3 (157.2)
600 Q2W (n=8)	198.7 (26)	50878 (35)	12.5 (5.4)	4515 (1745)	285.3 (116.0)
800 Q2W (n=7)	201.5 (20)	47393 (50)	18.5 (8.2)	6149 (1854)	285.9 (169.3)
1200 Q2W (n=4)	500.0 (18)	121384 (23)	10.1 (2.3)	3888 (1406)	288.3 (106.3)
400 至 1200 Q2W 總體(n=28)	NR	NR	14.9 (7.1)	4944 (1845)	273.7 (137.0)

【0261】 縮寫：AUC(INF) = 從時間零外推之無限時間的血清濃度時間曲線的線下面積；C1D1 = 第1週期第1天；$C_{最大}$ =最大觀察的血清濃度；CL = 總身體清除；CV = 變異係數；GeoMean = 幾何平均值；N = 患者的數量；NR = 未報到過的；Q2W = 每2週一次；SD =標準差；t1/2 =消除半衰期；Vss = 穩態處的分佈溶劑。

藥效學(PD)

【0262】 評估了在1至1200 mg Q2W的劑量範圍內DART-I的受體佔有率(RO)特徵。每種樣品中DART-I 的RO通過螢光-啟動細胞分選(FACS)確定。簡言之，每個樣品全血的五等分試樣分配至五個12 x 75 mm管。兩個這些等分試樣用DART-I加標–一個加標的樣品是每個RO組的平均值。於室溫(RT)孵育30分鐘後，所有等分試樣於RT在黑暗中用紅色血液細胞裂解緩衝液(BD Biosciences) 處理15分鐘，並且然後以1200 rpm離心5分鐘。去除上清液且用2 ml FBS染色緩衝液(BD Biosciences) 洗滌含有白細胞的細胞小球。在黑暗中於RT，在100 µL的總體積中，兩個等分試樣(一個加標)用抗體組1染色，兩個等分試樣(一個加標)用抗體組2染色(參見**表10**)，且一個等分試樣用合適的同種型對照染色30分鐘。樣品用2 mL FACS緩衝液洗滌兩次。將0.2 µg的鏈黴抗生物素、R-藻紅蛋白綴合物(SAPE，Life Technologies)添加至抗體組2等分試樣，其然後在黑暗中於RT混合且孵育30分鐘，然後用2 mL FACS緩衝液洗滌一次。細胞在200 uL的具有DAPI (0.1 µg/mL) (組1和2樣品)或不具有DAPI (同種型樣品)的染色緩衝液中再懸浮並且在10分鐘後在FACS Canto II上獲取。幾何平均值螢光強度(gMFI)記錄了所有時間點的IgG4或EK通道的CD4+或CD8+群體的全部。第1週期第1天 (C1D1)預劑量樣品被認為是從所有樣品減去的背景(如果C1D1預劑量樣品資料沒有獲得，使用同種型樣品)。作為百分數(%)表達的受體佔有率(RO)使用以下式計算：

$$\text{受體佔有率(RO)EK或IgG4} = \frac{\text{gMFI樣品}_{\text{非加標}} - \text{gMFI背景}}{\text{gMFI樣品}_{\text{加標}} - \text{gMFI背景}}$$

$$\text{受體佔有率(RO)EK或IgG4} = \frac{\text{gMFI樣品}_{\text{非加標}} - \text{gMFI背景}}{\text{gMFI樣品}_{\text{加標}} - \text{gMFI背景}}$$

表 10：抗體組		
螢光示蹤的抗體/來源	**組 1 μL/測試**	**組 2 μL/測試**
Alexafluor 488 (AF488)-綴合抗 PD-1 [非競爭]/MacroGenics	5	-
藻紅蛋白(PE)-Cy7 綴合抗 LAG-3 [克隆 3DS223H] (非競爭)/Ebioscience	-	5
生物素綴合抗 EK [克隆 2A5]/MacroGenics	-	10
PE 綴合抗 IgG4 [克隆 HP6023]/Southern Biotech	2	-
PerCP Cy5.5 綴合抗 CD8 [克隆 RPA-T8]/BD Biosciences	5	5
PE-Cy7 綴合抗 CD45RA [克隆 L48]/BD Biosciences	5	5
APC 綴合抗 CCR7 [克隆 G043H7]/BioLegand	5	5
APC-Cy7 綴合抗 CD4 [克隆 SK3]/BD Biosciences	5	5
V500 綴合抗 CD3 [克隆 SP34-2]/BD Biosciences	5	5
染色緩衝液	68	60

【0263】 為了初步PD分析，評估了五十六名患者(所有給藥Q2W) (1名患者以1和3 mg Q2W 劑量、3名患者以10 mg Q2W劑量、5名患者以30 mg Q2W劑量、7名患者以120 mg Q2W劑量、9名患者以400 mg Q2W劑量、16名患者以600 mg Q2W 劑量、8名患者以800 mg Q2W劑量和6名患者以1200 mg Q2W劑量)。在EOI (在施用第1週期或第2週期的第一劑量後輸注結束)和PRE (在施用下一劑量之前)處CD4+和CD8+細胞的百分比受體佔有率 (RO)在**圖3A-3D**中呈現。DART-I濃度和結合CD4+和CD8+細胞之間的關係使用Emax模型：$E = (E_{最大} x^* C)/(EC50 + C)$檢查；其中E =結合%，$E_{最大}$ =最大結合%，EC50 = 產生一半最大效果的濃度，和C = DART-I的濃度。發現DART-I表現出分別對CD4+和CD8+細胞的0.045和0.011 μg/mL的EC_{50}的有效RO。最大RO在整個Q2W給藥時間間隔內在劑量≥ 120 mg處觀察到，和90%的max RO分別對於CD4+和CD8+細胞在0.6和0.1 μg/mL處實現。

PK和靶標濃度建模

【0264】 基於400 mg至1200 mg Q2W的給藥方案(n=28)給藥的患者的血清濃度資料(參見以上關於資料分析和建模的細節)的另外PK刺激對於1-分區：V和CL和對於2-分區：V1，V2，CL和CLD進行。在**圖4A**、**4B**和**4C**中分別描繪了使用Q2W、Q3W和Q4W (每四周一次)方案的400、600、800、1000和1200 mg劑量模擬的多個劑量中位PK概況。如**圖4A-4C**中顯示的，指示DART-I靶向≥23 μg/mL的穀濃度($C_{穀}$)的中位PK概況可使用Q2W施用≥400 mg且使用DART-I使用Q3W方案施用≥600 mg獲得。另外，所有模擬的DART-I劑量和方案導致DART-I $C_{穀}$ ≥ 4.5 μg/mL的100 x RO EC_{50}。

【0265】 這些研究支持許多劑量和方案以達到靶閾值穀濃度(23 μg/mL)。這些研究成支持包括施大於或等於約400 mg的本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子Q2W的給藥方案的效力，和特別地包括施用約600 mg的本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子Q2W的給藥方案的效力。這些研究還特別地支持包括施用大於或等於約600 mg的本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子Q3W的給藥方案的效力。另外，如以上注意到，在整個Q2W給藥方案內劑量≥ 120 mg處觀察到最大RO。因此，這些研究支撐包括施用≥約120 mg Q2W的給藥方案的效力以提供足以實現最大RO的本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子的靶谷濃度。

初始臨床發現的總結

【0266】 提供了初始188名患者(Q2W劑量遞增中的47名患者(49%檢查點-經驗的)，和Q2W種群擴增中的隨後141名患者(33%檢查點經驗的))的治療後的結果。治療相關的不良事件(TRAE)在117/188 (62.2%)名患者中發生，最常見的是疲勞(n=33)和噁心(n=20)。≥ 3級TRAE的速率是19.7%。免疫相關不良事件與

用抗PD-1抗體觀察到的事件是一致的。平均值半衰期是約11天；外周血液流式細胞術分析確認在劑量≥ 120 mg的治療期間完全且持續靶命中結合。

【0267】 在首批39名用DART-I單療法以以1至1200 mg範圍劑量Q2W治療的應答可評估的劑量遞增患者中，在依照RECIST 1.1具有三陰性乳腺癌(TNBC)、間皮瘤或胃癌的患者中觀察到3名確認部分應答(PR)，而19名患者具有穩定的疾病。儘管研究正在進行中，資料也在逐漸成熟，但**圖5**呈現了瀑布圖，表明了120名接受以600 mg Q2W的DART-I單療法的應答可評估種群擴增患者之中靶病灶減少的百分比。在單療法實體腫瘤擴增種群(即排除彌漫性大B細胞淋巴瘤[DLBCL])之中，迄今已經觀察到依照RECIST 1.1，7名客觀應答(3名確認/4名未確認)，包括6名PR(卵巢、NSCLC和TNBC [每個n=2]和1=名完全應答[CR](NSCLC)。51名患者具有穩定疾病。在TNBC、EOC、NSCLC(檢查點抑制劑(CPI)初始和先期PD-1檢查點後)擴增種群中，75名應答可評估的患者的進一步結果總結在**表11**中。

表 11：應答率(75 名可評估的患者) -單療法的總結

	TNBC	**EOC**	**NSCLC CPI-初始**	**NSCLC PD1 後**
可評估的患者	23	23	14	15
ORR (確認)	4.3% (1/23)	8.7% (2/23)	14.3% (2/14)	0% (0/15
ORR (確認和未確認	17.4% (4/23)	8.7% (2/23)	21.4% (3/14)	13.3% (2/15)
SD	34.8 (8/23)	43.5 (10/23)	50% (7/14)	53.3% (8/15)
DCR	39.1% (9/23)	52.2 (12/23)	64.3% (9/14)	53.3% (8/15)

【0268】 在DLBCL擴增種群中，在2名可評估的患者中，按照Lugano分類已經觀察到1名CR和1名PR。具體地，DLBCL患者狀態-CD19靶向CAR T細胞復發後，在單次DART-I輸注(600 mg)後經歷了CR。檢查點抑制劑初始NSCLC患者(葉切除術和卡鉑+培美曲塞治療後)在8周的週期(四次施用DART-I 600 mg Q2W)後經歷了CR。表12中總結了DLBCL擴增種群中13例應答可評估的患者的進一步

結果。在這個較大的組中，7名患者的應答涵蓋了啟動B-細胞(ABC)、生殖中心B細胞(GCB)和按兩下(MYC/BCL2)分子亞型。應答持續時間從1 (第2次搜索資料待定)至168天的範圍，7名應答者中有6名保持應答。在重度預治療的R/R DLBCL患者中，單療法普遍耐受良好。輸液相關反應可控，並且沒有腫瘤裂解綜合症的證據。這些結果表明了在CAR T經驗和初始R/R DLBCL患者中的抗腫瘤活性，代表了各種分子亞型，初步ORR：53.8%。

表 12：應答率(13 名可評估的患者)-單療法的總結			
	可評估的患者的應答數量(%)†		
	CAR T 後 (N=6)	**CAR T 初始(N=7)**	**總數(N=13)**
最佳總體應答‡			
CR	2 (33.3)	0 (0)	2 (15.4)
PR	0 (0)	5 (71.4)	5 (38.5)
穩定疾病	0 (0)	0 (0)	0 (0)
進行性疾病	4 (66.7)	2 (28.6)	6 (46.2)
ORR，*n* (%)	2 (33.3)	5 (71.4)	7 (53.8)
DCR，*n* (%)	2 (33.3)	5 (71.4)	7 (53.8)

†用至少一種基線後腫瘤評估治療患者，和排除由於死亡(n=2)和不良事件(n=1)首次搜索之前停止治療的 3 名患者
‡依照 Lugano 分類評估腫瘤

【0269】 在用DART-I與抗HER-2抗體(馬格妥昔單抗)組合治療具有HER-2+腫瘤的患者的種群中，在治療的前5名可評估的患者之中，有2名HER2+乳腺癌患者經歷了部分應答(PR)，其中1名確認，1名未確認。具體地，一名重度預治療的乳腺癌患者，具有胸壁廣泛受累且肝和肺的轉移，在單次組合施用後兩周出現了戲劇性的疾病退化，並且在第一次治療的疾病評估中表現出PR。另外，一些患者在先前的抗PD-1療法後也觀察到了客觀應答。以下提供組合種群的其他結果。

【0270】 對治療前的腫瘤活檢樣本進行LAG-3表達和PD-L1表達的評估。簡言之，在Ventana Discovery Ultra平臺上使用LAG-3 Ab克隆EPR4392(2)

(Abcam) IHC測定法檢測LAG-3表達。陽性定義為每40x放大的熱點場(HSF)至少一個LAG-3+ve腫瘤-滲入淋巴細胞(TIL)。PD-L1 TPS/CPS表達是按照Agilent PD-L1 (22C3) pharmDx試劑盒用法說明確定的。如本文使用的，“-ve”表示“陰性”和“+ve”表示“陽性”。

【0271】 進行了回顧性免疫組織化學(IHC)。簡言之，來自TNBC、EOC和NSCLC擴展種群的存檔活檢通過IHC分析LAG-3 (N=46)或PD-L1 (N = 45)。LAG-3 Ab克隆EPR4392(2) (Abcam) IHC測定法在Ventana Discovery Ultra平臺上進行。通過計算每40x場跨越5個LAG-3+熱點的LAG-3+細胞的平均值確定LAG-3得分。PD-L1表達按Agilent PD-L1 (22C3) pharmDx試劑盒確定；TPS (NSCLC)按解釋手冊計算，CPS (EOC，TNBC)計算如下：PD-L1 +細胞(腫瘤和免疫)/存活腫瘤細胞總數x 100。CPS <1或TPS <1%被認為陰性。**圖6A**和**6B**分別繪製了個體患者的LAG-3和PD-L1評分，並指示了臨床應答。**圖6C**繪製了通過臨床應答繪製的LAG-3評分。

【0272】 另外，對從DLBCL患者(CD19靶向CAR T細胞復發後)獲得的活檢樣本進行IHC分析，該患者在單劑量DART-I後展示出完全應答。CAR T-細胞治療前和後的淋巴結活檢樣品(DART-I治療前)通過使用HALO®圖像分析平臺進行多重IF(螢光)染色，評估CD3(T-細胞標誌物)、CD79a(B細胞標誌物)以及PD-1和LAG-3的表達。DAPI染色用於確定總細胞數和每個標誌物的陽性細胞數。單一、雙重和三重陽性細胞的數量，占DAPI染色細胞的百分比在**表13**中呈現，並且顯示PD-1和/或LAG-3和/或CD3陽性細胞的數量在CAR T-細胞治療後顯著增加。LAG-3的表達是該分析中檢查的活檢樣本中觀察到的最高的。

表 13：單、雙和三陽性細胞的總結		
染色	CAR T-細胞前	CAR T-細胞後
	總 DAPI 細胞的%	總 DAPI 細胞的%
PD-1+ve 細胞	0.1	34.0
LAG-3+ve 細胞	0.0	26.7
CD3+ve 細胞	0.0	51.9
CD79a+ve 細胞	12.5	11.3
雙 PD-1+ve/LAG-3+ve 細胞	0.0	19.2
雙 PD-1+ve/CD3+ve 細胞	0.0	28.6
雙 PD-1+ve/CD79a+ve 細胞	0.05	7.1
雙 LAG-3+ve/CD3+ve 細胞	0.0	21.2
雙 LAG-3+ve/CD79a+ve 細胞	0.0	5.1
雙 CD3+ve/CD79a+ve 細胞	0.003	7.9
三 CD3+ve/LAG-3+ve/PD-1+ve 細胞	0.0	16.7
三 CD79a+ve/PD-1+ve/LAG-3+ve 細胞	0.0	4.5

【0273】 從DLBCL擴增種群(N = 11)獲得的另外的預治療活檢樣本，通過IHC分析LAG-3和PD-L1的表達，基本上如以上描述的。結果在**圖6D**和**6E**中顯示。**圖6D**繪製了個體患者LAG-3表達從高到低的順序，右側指示每個LAG-3表達範圍的應答者。另外，圖下方框中指示PD-L1評分(CPS)。**圖6E**按客觀應答繪製了LAG-3表達。這些結果指示，展示出較高LAG-3的基線水準的DLBCL患者似乎顯示出更好的應答。

【0274】 使用NanoString PanCancer IO 360™測定法來查詢基因表達，包括14種免疫細胞類型的豐度和來自EOC (N= 14) NSCLC (N= 25，包括先前檢查點治療後(P-NSCLC))和TNBC (N=13)擴增種群的檔案活檢的32個免疫腫瘤學標誌。**圖7**中繪製了LAG-3與PD-1 (PDCD1)表達，並且顯示應答患者展示出較高的LAG-3和PD-1表達水準(用虛圈表示)。IFN-γ基因簽名(CXCL9、CXCL10、CXC11、STAT1)分數按臨床應答繪製在**圖8**中，並顯示展示出部分應答的患者具有較高的IFN-γ基因簽名分數。這些研究指示，客觀應答與高基線LAG-3/PD-1表達和IFN-γ基因簽名分數有關。

【0275】 這些資料指示，本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子(通過DART-I闡釋)，其被設計為協調阻斷PD-1和LAG-3，表現出可接受的安全性，並且展示出令人鼓舞的抗腫瘤活性證據，特別是在具有展示出較高LAG-3表達水準的腫瘤和具有較高IFN-γ基因簽名分數的患者中。這些資料支援這種分子(特別是DART-I的)的幾種給藥方案，包括施用：約≥400 mg這種分子(特別是DART-I的)Q2W(特別是約400mg Q2W或約600mg Q2W)，以及約≥600mg這種分子(特別是DART-I的)Q3W(特別是約600mg Q3W或約800 mg Q3W)以達到靶$C_{穀}$ ≥ 23 μg/mL。可替選的給藥方案包括：約≥120 mg這種分子Q2W以達到靶$C_{穀}$ ≥ 100 x RO EC_{50}。這些研究進一步支援根據以上任何一種劑量和方案施用本發明的PD-1 x LAG-3雙特異性分子與TA-結合分子，特別是HER2-結合分子(例如，抗HER2抗體)組合，用於治療HER2表達(HER2+)癌症。具體地，使用Q3W方案施用約≥600 mg的這種分子(特別是DART-I)與也可使用Q3W方案施用的TA-結合分子比如HER2-結合分子 (例如，以15 mg/kg Q3W施用的馬格妥昔單抗) 組合。

實施例2

TA-結合分子介導檢查點表達和NK細胞活性的變化

【0276】 在體外評價了包括ADCC-增強的Fc結構域和野生型Fc結構域的TA-結合分子介導免疫效應細胞，特別是NK細胞表面上的檢查點分子表達變化的能力。另外，檢查了對體外細胞毒素活性(特別是NK細胞細胞毒素活性)的影響。簡言之，在馬格妥昔單抗(結合HER2的表位且包括ADCC-增強的Fc結構域的TA-結合分子，即ADCC-增強的TA-結合分子)、曲妥珠單抗的複製品(“rtrastuzumab”，其結合HER2的相同表位但是包括野生型Fc結構域的的)或PBS(磷酸緩衝的鹽水)單獨存在的情況下，PBMC效應細胞(0.5×10^6/ml)與對TA HER2

(HER2^{+++}胃癌細胞細胞系)陽性的N87靶細胞(0.05×10^6/ml) (E:T比例是10:1)共孵育。抗體以0.005 μg/ml和0.05 μg/ml使用，且將20 u/ml IL-2添加入培養物。使用補充有10%FBS，10mM HEPE緩衝液和青黴素-鏈黴素的具有L-穀氨醯胺的RPMI 1640培養基作為培養基。

【0277】 第3天，取出每個樣品的一部分，並且通過螢光啟動細胞分選(FACS)檢查檢查點蛋白的細胞表面表達：在NK細胞上的CD137、LAG-3、PD-1和PD-L1。以下Ab用於定義免疫細胞亞群和細胞表面檢查點蛋白的表達：CD3-V500、CD4-PerCP Cy5.5、CD8-FITC、CD56-PE、Lag-3-PE-Cy7、PDL-1-APC、CD137-BV421、PD-1-BV650。細胞表面染色如下進行：在4°C通過在FACS緩衝液中用Abs的混合物孵育細胞30分鐘，隨後用PBS洗滌，然後將標記的細胞重懸在FACS緩衝液中。使用LSRFortessa流式細胞儀採集FACS樣品，並且使用FlowJo軟體分析。代表性的FACS圖顯示在**圖11**中，框住檢查點陽性的NK細胞並指示百分比。從**圖11**中可見，馬格妥昔單抗上調CD137、LAG-3和PD-L1的表達程度大於曲妥珠單抗。

【0278】 第6天，剩餘樣品的一部分用於供應效應細胞，用於使用PKH26紅色標記的K562細胞(HER2-、骨髓性白血病細胞系)作為靶細胞以0.3:1、1:1、3:1和10:1的E:T比例的細胞毒性測定法。孵育4小時後，收集細胞，根據製造商的使用說明，以7-AAD和Annexin V作為標誌物，通過FACS分析確定細胞毒性，以區分活細胞、凋亡細胞和死亡細胞。**圖12**中繪製了在每個E:T比例下觀察到的細胞毒性百分比。由於K562靶細胞不表達HER2，在該測定法中的殺傷力不直接由抗HER2抗體K562靶細胞的結合介導，而是反映了在TA陽性靶細胞存在的情況下通過事先暴露抗HER2抗體介導的細胞毒素活性(主要是NK細胞)的增強。如

圖12中顯示的，與rtrastuzumb相比，馬格妥昔單抗介導的NK細胞毒素活性增強更強。這些結果指示，包括ADCC-增強的Fc結構域的TA-結合分子是PD-L1和LAG-3表達以及細胞毒性活性(主要是NK細胞)的更有效的介導物。

【0279】 檢查了ADCC-增強的TA-結合分子介導另外免疫細胞類型表面的檢查點分子表達變化的能力。簡言之，在馬格妥昔單抗(0.5 μg/ml)或對照抗體(MGAWN1，0.5 μg/ml)存在的情況下，將PBMC效應細胞(1.5×10^6/ml)與N87靶細胞($HER2^{+++}$胃癌細胞系)以15:1的E:T比例共孵育。使用補充有10%FBS、10mM HEPE緩衝液和青黴素-鏈黴素的具有L-穀氨醯胺的RPMI 1640培養基作為培養基。在第2天和第3天，通過FACS檢查檢查點蛋白的細胞表面表達：CD137、LAG-3、PD-1和PD-L1、在NK細胞(第3天)、單核細胞(第2天)、$CD4^+$(第3天)和$CD8^+$T細胞(第3天)上。以下抗體(Abs)用於定義免疫細胞亞群和細胞表面檢查點蛋白的表達：CD3-V500、CD4-PerCP Cy5.5、CD8-FITC、CD14-FITC、CD56-PE、Lag-3-PE-Cy7、PDL-1-APC、CD137-BV421、PD-1-BV650。細胞表面染色如下進行：在4°C通過在FACS緩衝液中用Ab的混合物孵育細胞30分鐘，隨後用PBS洗滌，然後將標記的細胞重懸在FACS緩衝液中。使用LSRFortessa流式細胞儀採集FACS樣品，並且使用FlowJo軟體分析。代表性的FACS圖顯示在圖13中，框住檢查點陽性免疫細胞且指示百分比。如**圖13**中可見，ADCC-增強的TA-結合分子馬格妥昔單抗介導所有檢查的細胞類型上LAG-3和PD-L1表達的上調，在單核細胞、NK細胞和CD8 T細胞上觀察到最突出的上調。CD137在NK上得到上調，PD-1在$CD4^+$和$CD8^+$T細胞上得到上調。

實施例3

體外組合研究

【0280】 如以上描述的，發現TA-結合分子一般，特別是具有ADCC-增強的Fc結構域的那些有效地介導檢查點分子PD-L1和LAG-3的上調。在體外檢查了TA-結合分子與檢查點抑制劑組合的活性，其阻斷了LAG-3和/或PD-1/PD-L1抑制檢查點途徑。簡言之，在TA-結合分子馬格妥昔單抗(包括ADCC-增強的Fc結構域)或rtrastuzumab(包括野生型Fc結構域)、對照抗體(MGAWN1，包括野生型人IgG1 Fc結構域的抗WNV mAb)或PBS，單獨或與瑞弗利單抗(PD-1-結合分子)、DART-I (結合PD-1和LAG-3二者的雙特異性分子) 組合存在的情況下，將PBMC效應細胞(0.5×10^6/ml)與N87靶細胞($HER2^{+++}$胃癌細胞系)以20:1的比例共孵育。測定法在具有或不具有外源性IL-2 (20 u/ml)的情況下進行(代表最佳和次優條件)。抗HER2抗體以0.005 μg/ml和/或0.05 μg/ml使用，抗PD-1抗體瑞弗利單抗以5 μg/ml使用，PD-1 x LAG-3雙特異性分子DART-I以5 μg/ml使用。第6天，收集細胞作為效應子，並通過FACS測定對K562靶細胞的細胞毒性(E:T=10:1)，其中使用7-AAD和膜聯蛋白V，以區分活細胞、凋亡細胞和死亡細胞，基本上如以上描述的。**圖14**繪製了從代表性供體中觀察到的次優條件的細胞毒性百分比。

【0281】 如**圖14**中顯示的，在該測定法中，觀察到rtrastuzumab與PD-1檢查點抑制劑、瑞弗利單抗或與PD-1 x LAG-3雙檢查點抑制劑DART-I組合時，細胞毒性的最小增強。相反地，PD-1 x LAG-3雙檢查點抑制劑DART-I與具有ADCC-增強的Fc結構域的TA-結合分子、馬格妥昔單抗組合時，細胞毒性增強。在一些供體中，還看見PD-1檢查點抑制劑、retinfanlimab來增強馬格妥昔單抗的細胞毒性。

【0282】 在另一研究中，進一步檢查了ADCC-增強TA-結合分子馬格妥昔單抗單獨或與PD-1 x LAG-3雙檢查點抑制劑DART-I組合的活性。簡言之，在

TA-結合分子馬格妥昔單抗(0.005 μg/ml)或對照抗體(MGAWN1，0.005 μg/ml)單獨或與DART-I (5 μg/ml)組合存在的情況下，將PBMC效應細胞(1×10^6/ml)與N87靶細胞($HER2^{+++}$胃癌細胞系)以15:1的比例共孵育。測定法在具有或不具有外源性IL-2 (20 u/ml)的情況下進行(代表最佳和次優條件)。第7天，收集細胞作為效應子，根據製造商的使用說明，使用用7-AAD和Annexin V作為標記物，通過FACS測定對PKH26紅色標記的K562靶細胞的細胞毒性(E:T=10:1)，以區分活細胞、凋亡細胞和死亡細胞。通過使用Steady-Glo螢光素酶測定法系統(Promega)評估剩餘的細胞螢光素酶活性，確定對表達螢光素酶的N87細胞的細胞毒性(E:T=3:1)。**圖15**中繪製了從代表性的供體觀察到的次優條件的細胞毒性百分比。如**圖15**中顯示的，與以對照Ab調節的PBMC相比，用ADCC-增強的TA-結合分子馬格妥昔單抗調節的PBMC對用馬格妥昔單抗調理的的K562和$HER2^{+++}$ N87細胞表現出更高的細胞毒性活性(主要是NK細胞)。由以上可見，PD-1 x LAG-3雙特異性分子DART-I與DCC-增強TA-結合分子馬格妥昔單抗組合增強了細胞毒性。這些研究共同指示，PD/PD-L1和LAG-3的檢查點途徑的雙檢查點抑制可與TA-結合分子(尤其是具有增強ADCC活性的分子)的抗腫瘤活性起協同作用。

實施例4

I階段臨床研究-HER2+分組

【0283】 如以上描述的，在正在進行的I階段臨床研究具有晚期或轉移HER2+實體腫瘤(特別地HER2+胃或乳腺癌)的患者種群中，患者接受DART-I (結合PD-1和LAG-3的雙特異性分子)和馬格妥昔單抗(結合HER2的TA-結合分子且具有ADCC-增強的Fc結構域)。

【0284】 28名可評估的具有HER2+實體腫瘤的患者(包括以上描述的前5名患者)的臨床結果在**圖16**中總結。客觀應答率(ORR) (包括具有未確定的客觀應答的患者)是28.6% (8/28)，具有50% (14/28)的疾病對照率。**表14**通過癌症類型總結了這些患者之中的應答率。28.65%的ORR比較利於PANACEA研究(Loi，等2019 Lancet Oncol. Mar;20(3):371-382. doi: 10.1016/S1470-2045 (18) 30812-X.)，在HER2+ mBC中培布利珠單抗+曲妥珠單抗的單分組、多中心Ph.1b/2試驗中報導了11.5%的ORR(n=52) (PD-L1陽性中的15% ORR(n=6/40)；和PD-L1陰性中的0% ORR(n=0/12)。治療良好耐受且應答的患者仍然進行療法，並且正在進一步加入HER2+腫瘤-特異性種群。

表 14：應答率(28 名可評估的患者) – 聯合療法的總結

	乳腺	**GEJ 食道**	**結直腸**	**其他**	**總計**
可評估的患者	9	7	4	8	28
ORR (確認的)	22.2% (2/9)	14.3% (1/7)	50% (2/4)	12.5% (1/8)	21.4% (6/28)
ORR (確認的 + 未確認的)	22.2% (2/9)	28.6% (2/7)	50% (2/4)	25% (2/8)	28.6% (8/28)
疾病對照率	44.4% (4/9)	57.1% (4/7)	50% (2/4)	50% (4/8)	50% (14/28)

【0285】 評估可得到的預治療的腫瘤活檢樣品的LAG-3表達和PD-L1表達。簡言之，在Ventana Discovery Ultra平臺上使用LAG-3 Ab克隆EPR4392(2)(Abcam)IHC測定法檢查LAG-3的表達。陽性定義為每40x放大的熱點場(HSF)至少一個腫瘤-滲入淋巴細胞(TIL)。根據Agilent PD-L1（22C3）pharmDx試劑盒用法說明確定PD-L1 TPS/CPS表達。通過IHC的LAG-3表達在患者之中變化，且未發現與應答相關。觀察到大多數應答的患者具有通過IHC的PD-L1陰性(≤1的PD-L1表達)的腫瘤。與已發表的資料(參見，例如，Loi, S. *et al.* (2019) "*Pembrolizumab Plus Trastuzumab In Trastuzumab-Resistant, Advanced, HER2-positive Breast Cancer (PANACEA): a Single-Arm, Multicentre, Phase 1b-2*

Trial," Lancet Oncol. 20(3):371-382)形成鮮明對比，在利用PD-1和LAG-3雙檢查點抑制與具有ADCC-增強的Fc結構域的TA-結合分子的組合的該組合研究中PD-L1陰性患者之中高應答率表明，在用曲妥珠單抗加抗PD-1或抗PD-L1抗體治療的HER2+乳腺癌患者之中，PD-L1陰性患者的應答率為0%，PD-L1陽性患者的應答率僅為15%。高應答可能反映了ADCC-增強TA-結合分子與PD/PD-L1和LAG-3檢查點途徑的雙檢查點抑制組合的協同的活性。

【0286】 使用NanoString PanCancer IO 360™測定法以從用馬格妥昔單抗和DART-I治療的的19個HER2+晚期實體瘤種群的檔案活檢中查詢視基因表達，其包括14種免疫細胞類型和32種免疫腫瘤學標誌的豐度。將LAG-3的標準化表達評分(標準化為0-100)針對PDCD1繪圖(**圖17A**)。**圖17B**和**17C**分別繪製了標準化的LAG-3和PDCD1表達水準與靶病灶從基線開始的最佳變化百分比的相關性。基因表達分析指示，表現出客觀應答的患者在基線活檢樣品中表展示出較高的LAG-3和PDCD1 mRNA表達。

【0287】 在該臨床試驗種群中，雙檢查點抑制劑DART-I與ADCC增強的TA-結合分子馬格妥昔單抗組合通常是與DART-I單療法一致是耐受性良好，安全性。在具有表達HER2腫瘤抗原的各種腫瘤類型(即，HER2+腫瘤)的難治的患者之中觀察到抗腫瘤活性的證據。基線LAG-3和PD-1 mRNA表達似乎與臨床應答相關，但大多數反應患者具有基線PD-L1表達≤1 (通過IHC)。

【0288】 總的來說，用比如DART-I的分子對PD-1/PD-L1和LAG-3檢查點途徑的雙檢查點抑制，可與TA-結合分子(特別是具有增強ADCC活性的分子如馬格妥昔單抗)的抗腫瘤活性協同作用。這種組合似乎比單獨使用TA-結合分子或

僅與PD-1/PD-L1途徑的檢查點抑制組合治療更有效，且可用於PD-L1陰性患者的治療。

【0289】 本說明書中提及的所有出版物和專利以如同每個出版物或專利申請被明確且單獨地指出以其全部內容通過引用併入的程度通過引用併入本文。儘管已經結合其具體實施方式描述了本發明，但是應當理解它能進一步改變，並且本申請案意欲涵蓋總體上遵循本發明的原理並且包括落入本發明所屬領域內的已知或慣常實踐內的並且可適用於前文所提出的實質特徵的這種偏離的本發明的任何變化、應用或調整。

【符號說明】

【0290】 無

【序列表】

<110> 美商宏觀基因股份有限公司 MacroGenics, Inc.

<120> 用於治療癌症的療法

<130> 1301.166PCT

<150> US 63/031,453
<151> 2020-05-28

<150> US 63/021,556
<151> 2020-05-07

<150> US 63/019,857
<151> 2020-05-04

<150> US 62/952,878
<151> 2019-12-23

<150> US 62/952,859
<151> 2019-12-23

<160> 80

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 代表性人 CL κ 結構域

<400> 1

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 2
<211> 104
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(104)
<223> 代表性人 CL κ 結構域

<400> 2

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

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
50 55 60

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
65 70 75 80

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
85 90 95

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100

<210> 3
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 代表性人 IgG1 CH1 結構域

<400> 3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

<210> 4
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 代表性人 IgG2 CH1 結構域

<400> 4

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val

<210> 5
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 代表性人 IgG3 CH1 結構域

<400> 5

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

〈210〉 6
〈211〉 98
〈212〉 PRT
〈213〉 智人

〈220〉
〈221〉 MISC_FEATURE
〈222〉 (1)..(98)
〈223〉 代表性人 IgG4 CH1 結構域

〈400〉 6

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

〈210〉 7
〈211〉 15

<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(15)
<223> 代表性人 IgG1 鉸鏈區

<400> 7

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 8
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(12)
<223> 代表性人 IgG2 鉸鏈區

<400> 8

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 9
<211> 62
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(62)
<223> 代表性人 IgG3 鉸鏈區

<400> 9

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys

1 5 10 15

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu
35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
50 55 60

<210> 10
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(12)
<223> 代表性人 IgG4 鉸鏈區

<400> 10

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 11
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 含有穩定化 S228P 替換的代表性人 IgG4 鉸鏈區

<400> 11

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 12
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(217)
<223> 代表性人 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 12

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

```
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        115                 120                 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
            180                 185                 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
        195                 200                 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
    210                 215
```

〈210〉 13
〈211〉 216
〈212〉 PRT
〈213〉 智人

〈220〉
〈221〉 MISC_FEATURE
〈222〉 (1)..(216)
〈223〉 代表性人 IgG2 CH2-CH3 結構域

〈220〉
〈221〉 MISC_FEATURE
〈222〉 (216)..(216)
〈223〉 Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

〈400〉 13

```
Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1               5                  10                  15

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
            20                  25                  30

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
        35                  40                  45

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
    50                  55                  60

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

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
                85                  90                  95

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
            100                 105                 110

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
        115                 120                 125

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

Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
145                 150                 155                 160

Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
                165                 170                 175

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
            180                 185                 190
```

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
195 200 205

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 14
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(217)
<223> 代表性人 IgG3 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 14

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

〈210〉 15
〈211〉 217
〈212〉 PRT
〈213〉 智人

〈220〉
〈221〉 MISC_FEATURE

<222> (1)..(217)
<223> 代表性人 IgG4 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

<210> 16
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包括 F243、R292P、Y300L、V305I 和 P396L 替換的 ADCC-增強的"FcMT1"變體 IgG1 Fc 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 16

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ile Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 17
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包括 L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L 替換的 ADCC-增強的"FcMT2"變體 IgG1 Fc 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 17

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
        35                  40                  45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
        115                 120                 125
```

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 18
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包括 F243L、R292P 和 Y300L 替換的 ADCC-增強的"FcMT3"變體 IgG1 Fc 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 18

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 19
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包括 L234A、L235A、M252Y、S254T 和 T256E 替換的具有很少或沒有 ADCC 活性的變體 IgG1 Fc 結構域的 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 19

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

```
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        115                 120                 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
            180                 185                 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
        195                 200                 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
    210                 215
```

〈210〉 20
〈211〉 217
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 包括 M252Y、S254T 和 T256E 替換的具有增強的半衰期的變體 IgG4 Fc 結構域的 CH2-CH3 結構域

〈220〉
〈221〉 MISC_FEATURE
〈222〉 (217)..(217)
〈223〉 Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

〈400〉 20

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
        35                  40                  45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
        115                 120                 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175
```

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體 1

<400> 21

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 22
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體 2

<400> 22

Gly Gly Cys Gly Gly Gly
1 5

<210> 23
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體促進"E-螺旋"結構域

<400> 23

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
20 25

<210> 24
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體促進"K-螺旋"結構域

<400> 24

Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 25
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 含有半胱氨酸的異源二聚體促進"E-螺旋"結構域

<400> 25

Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys

20 25

<210> 26
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 含有半胱氨酸的異源二聚體促進"K-螺旋"結構域

<400> 26

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 27
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可替選的連接體 2

<400> 27

Ala Ser Thr Lys Gly
1 5

<210> 28
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 例證性連接體 3

<400> 28

Gly Gly Gly Ser

1

〈210〉 29
〈211〉 6
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 例證性連接體 3

〈400〉 29

Leu Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

〈210〉 30
〈211〉 6
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 例證性連接體 3

〈400〉 30

Leu Glu Pro Lys Ser Ser
1 5

〈210〉 31
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 例證性連接體 3

〈400〉 31

Ala Pro Ser Ser Ser
1 5

〈210〉 32

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 例證性連接體 3

<400> 32

Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Glu
1 5

<210> 33
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(10)
<223> 代表性人鉸鏈區

<400> 33

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 34
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工連接體

<400> 34

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 35
<211> 111

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-1(VLPD-1)的人源化抗體的輕鏈可變結構域

<400> 35

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 Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
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 Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 36
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-1(VLPD-1)的人源化抗體的輕鏈可變結構域的 CDRL1

<400> 36

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Met Ser Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-1(VLPD-1)的人源化抗體的輕鏈可變結構域的 CDRL2

<400> 37

Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser
1 5

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-1(VLPD-1)的人源化抗體的輕鏈可變結構域的 CDRL3

<400> 38

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 39
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-1(VHPD-1)的人源化抗體的重鏈可變結構域

<400> 39

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

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

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

Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp 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 Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

〈210〉 40
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 結合 PD-1(VHPD-1)的人源化抗體的重鏈可變結構域的 CDRH1

〈400〉 40

Ser Tyr Trp Met Asn
1 5

〈210〉 41
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-1(VHPD-1)的人源化抗體的重鏈可變結構域的 CDRH2

<400> 41

Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 42
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-1(VHPD-1)的人源化抗體的重鏈可變結構域的 CDRH3

<400> 42

Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 43
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-L1(VLPD-L1)的人源化抗體的輕鏈可變結構域

<400> 43

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Asn Thr Pro Leu
85 90 95

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

<210> 44
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-L1(VLPD-L1)的人源化抗體的輕鏈可變結構域的 CDRL1

<400> 44

Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-L1(VLPD-L1)的人源化抗體的輕鏈可變結構域的 CDRL2

<400> 45

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-L1(VLPD-L1)的人源化抗體的輕鏈可變結構域的 CDRL3

<400> 46

Gln Gln His Tyr Asn Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 47
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-L1(VHPD-L1)的人源化抗體的重鏈可變結構域

<400> 47

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gln Gly Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 48
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-L1(VHPD-L1)的人源化抗體的重鏈可變結構域的 CDRH1

<400> 48

Ser Tyr Thr Met
1

<210> 49
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 PD-L1(VHPD-L1)的人源化抗體的重鏈可變結構域的 CDRH2

<400> 49

Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys
1 5 10 15

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 結合 PD-L1(VHPD-L1)的人源化抗體的重鏈可變結構域的 CDRH3

<400> 50

Gln Gly Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 51
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 LAG-3(VLLAG-3)的人源化抗體的輕鏈可變結構域

<400> 51

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Ser Val
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 52
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 LAG-3(VLLAG-3)的人源化抗體的輕鏈可變結構域的 CDRL1

<400> 52

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Ser Val Val Ala
1 5 10

<210> 53
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 LAG-3(VLLAG-3)的人源化抗體的輕鏈可變結構域的 CDRL2

<400> 53

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 LAG-3(VLLAG-3)的人源化抗體的輕鏈可變結構域的 CDRL3

<400> 54

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 55
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 LAG3(VHLAG-3)的人源化抗體的重鏈可變結構域

<400> 55

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala 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 Asp Tyr
20 25 30

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

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

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 56
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 LAG3(VHLAG-3)的人源化抗體的重鏈可變結構域的 CDRH1

<400> 56

Asp Tyr Asn Met Asp
1 5

<210> 57
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 LAG3(VHLAG-3)的人源化抗體的重鏈可變結構域的 CDRH2

<400> 57

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

Gly

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 結合 LAG3(VHLAG-3)的人源化抗體的重鏈可變結構域的 CDRH3

<400> 58

Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 59
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DART-I 的第一和第三多肽鏈的氨基酸序列

〈400〉 59

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Ser Val
            20                  25                  30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
    130                 135                 140

Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp
                165                 170                 175
```

Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
180 185 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
195 200 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp
210 215 220

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly
225 230 235 240

Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
245 250 255

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Ser Lys Tyr
260 265 270

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
275 280 285

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr
290 295 300

Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
305 310 315 320

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
325 330 335

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
340 345 350

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
355 360 365

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
370 375 380

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
385 390 395 400

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
405 410 415

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
420 425 430

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
435 440 445

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
450 455 460

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
465 470 475 480

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
485 490 495

<210> 60
<211> 271
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DART-I 的第二和第四多肽鏈的氨基酸序列

<400> 60

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 Glu Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
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 Phe Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly
100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala
115 120 125

Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
130 135 140

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro
145 150 155 160

Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Asp Ile Asn Pro Asp Asn Gly Val
165 170 175

Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp
180 185 190

```
Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp
        195                 200                 205

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
                245                 250                 255

Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265                 270
```

〈210〉 61
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 馬格妥昔單抗的輕鏈可變結構域

〈400〉 61

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
            20                  25                  30

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

Tyr Ser Ala Ser Phe Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
    50                  55                  60
```

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

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

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 馬格妥昔單抗的輕鏈可變結構域的 CDRL1

<400> 62

Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 馬格妥昔單抗的輕鏈可變結構域的 CDRL2

<400> 63

Ser Ala Ser Phe Arg Tyr Thr
1 5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 馬格妥昔單抗的輕鏈可變結構域的 CDRL3

<400> 64

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 65
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 馬格妥昔單抗的輕鏈

<400> 65

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

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

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

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

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

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

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〉 66
〈211〉 120
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 馬格妥昔單抗的重鏈可變結構域

〈400〉 66

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

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

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

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

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

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

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

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

〈210〉 67
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 馬格妥昔單抗的重鏈可變結構域的 CDRH1

〈400〉 67

```
Asp Thr Tyr Ile His
1               5
```

〈210〉 68
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 馬格妥昔單抗的重鏈可變結構域的 CDRH2

<400> 68

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

Asp

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 馬格妥昔單抗的重鏈可變結構域的 CDRH3

<400> 69

Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 70
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 馬格妥昔單抗的輕鏈，其包括 FcMT2 ADCC-增強的 Fc 結構域(包括 L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L 替換)

<400> 70

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

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

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

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

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

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

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

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

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

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Val Gly Gly

225 230 235 240

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg
290 295 300

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

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

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 71
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 依諾妥珠單抗的輕鏈可變結構域

<400> 71

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

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

<210> 72
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 依諾妥珠單抗的輕鏈可變結構域的 CDRL1

<400> 72

Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 73
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 依諾妥珠單抗的輕鏈可變結構域的 CDRL2

<400> 73

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 依諾妥珠單抗的輕鏈可變結構域的 CDRL3

<400> 74

Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe Thr
1 5

〈210〉 75
〈211〉 214
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 依諾妥珠單抗的輕鏈

〈400〉 75

```
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
            20                  25                  30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 76
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 依諾妥珠單抗的重鏈可變結構域

<400> 76

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

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

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

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140

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

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

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

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
    210                 215                 220
```

〈210〉 77
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

<220>
<223> 依諾妥珠單抗的重鏈可變結構域的 CDRH1

<400> 77

Ser Phe Gly Met His
1 5

<210> 78
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 依諾妥珠單抗的重鏈可變結構域的 CDRH2

<400> 78

Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 79
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 依諾妥珠單抗的重鏈可變結構域的 CDRH3

<400> 79

Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 80
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 依諾妥珠單抗的重鏈，其包括 FcMT2 ADCC-增強的 Fc 結構域(包括 L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L 替換)

<400> 80

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

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

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

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

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

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

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

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Val
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

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

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

```
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro Gly Lys
    450
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】　一種包括施用PD-1 x LAG-3雙特異性分子給需要其的受試者的治療癌症的方法，其中所述方法包括以約120 mg至約800 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子給所述受試者。

【請求項2】　如請求項1所述的方法，其中所述癌症特徵在於腫瘤抗原(TA)的表達，並且其中所述方法進一步包括施用腫瘤抗原(TA)結合分子(TA-結合分子)給所述受試者。

【請求項3】　一種治療受試者的癌症的方法，其中所述癌症特徵在於TA的表達，所述方法包括施用給所述受試者TA-結合分子和：

(a)　雙特異性(PD-1 x LAG-3雙特異性分子)；或

(b)　免疫特異性結合PD-1的分子(PD-1-結合分子)與免疫特異性結合LAG-3的分子(LAG-3-結合分子)組合；或

(c)　免疫特異性結合PD-L1和LAG-3二者的雙特異性分子(PD-L1 x LAG-3雙特異性分子)；或

(d)　免疫特異性結合PD-L1的分子(PD-L1-結合分子)與LAG-3-結合分子組合。

【請求項4】　如請求項2-3的任一項所述的方法，其中所述TA-結合分子包括ADCC-增強的Fc結構域。

【請求項5】　如請求項2-4的任一項所述的方法，其中：

(a)　每種分子在分開的組合物中；或

(b)　每種分子在相同的組合物中；或

(c) 所述PD-1-結合分子和所述LAG-3-結合分子在相同的組合物中，且所述TA-結合分子在分開的組合物中；或

(d) 所述PD-L1-結合分子和所述LAG-3-結合分子在相同的組合物中，且所述TA-結合分子在分開的組合物中。

【請求項6】 如請求項2-5的任一項所述的方法，其中所述TA-結合分子是抗體。

【請求項7】 如請求項2-6的任一項所述的方法，其中所述PD-1-結合分子是抗體，所述PD-L1-結合分子是抗體，和所述LAG-3-結合分子是抗體。

【請求項8】 如請求項3-6的任一項所述的方法，其中所述方法包括施用所述TA-結合分子和所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子。

【請求項9】 如請求項4-8的任一項所述的方法，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括：

(A) 工程化的糖型；和/或

(B) 相對於野生型Fc區的氨基酸替換。

【請求項10】 如請求項9所述的方法，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括：

(A) 工程化的糖型，其是不含有岩藻糖的複合的N-糖苷連接的糖鏈，和/或其包括平分O-GlcNAc；和/或

(B) 包括選自由下述組成的組中的氨基酸替換：

(a) 選自由下述組成的組中的一個替換：

F243L、R292P、Y300L、V305I、I332E和P396L；

(b) 選自由下述組成的組中的兩個替換：

(1) F243L和P396L；

(2) F243L和R292P；

(3) R292P和V305I；和

(4) S239D和I332E；

(c) 選自由下述組成的組中的三個替換：

(1) F243L、R292P和Y300L；

(2) F243L、R292P和V305I；

(3) F243L、R292P和P396L；和

(4) R292P、V305I和P396L；

(d) 選自由下述組成的組中的四個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L和P396L；和

(2) F243L、R292P、V305I和P396L；或

(e) 選自由下述組成的組中的五個替換：

(1) F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L；和

(2) L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，

其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

【請求項11】 如請求項9-10的任一項所述的方法，其中所述ADCC-增強的Fc結構域包括氨基酸替換：L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L，其中編號為Kabat中的EU索引的編號。

【請求項12】 如請求項2-11的任一項所述的方法，其中：

(A) 所述TA選自**表6A**或**表6B**；和/或

(B) 所述TA-結合分子包括選自**表7**的抗體的VL和VH結構域。

【請求項13】 如請求項3-7或9-12的任一項所述的方法，其中：

(A) 所述PD-1-結合分子是包括下述的抗體：

(a) 包括**SEQ ID NO:35**的氨基酸序列的PD-1 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:39**的氨基酸序列的PD-1 VH結構域；

(b) 選自**表1**的抗PD-1抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表1**的抗PD-1抗體的輕鏈和重鏈；

(B) 所述PD-L1-結合分子是包括下述的抗體：

(a) 包括**SEQ ID NO:43**的氨基酸序列的PD-L1 VL結構域和包括**SEQ ID NO:47**的氨基酸序列的PD-L1 VH結構域；

(b) 選自**表2**的抗PD-L1抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表2**的抗PD-L1抗體的輕鏈和重鏈；和

(C) 所述LAG-3-結合分子是包括下述的抗體：

(a) 包括**SEQ ID NO:51**的氨基酸序列的LAG-3 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的LAG-3 VH結構域；

(b) 選自**表3**的抗LAG-3抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表3**的抗LAG-3抗體的輕鏈和重鏈。

【請求項14】 如請求項1-6、8或9-12的任一項所述的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) 包括**SEQ ID NO:35**的氨基酸序列的PD-1 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:39**的氨基酸序列的PD-1 VH結構域，或選自**表1**的抗PD-1抗體的VH和VL結構域；和/或

(b) 包括**SEQ ID NO:51**的氨基酸序列的LAG-3 VL結構域，和包括**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的LAG-3 VH結構域，或選自**表3**的抗LAG-3抗體的VH和VL結構域；或

(c) 選自**表4-5**的基於雙特異性抗體的分子。

【請求項15】 如請求項1-6、8、9-12或14的任一項所述的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括：

(a) 兩個所述PD-1-結合結構域；和

(b) 兩個所述LAG-3-結合結構域。

【請求項16】 如請求項1-6、8、9-12或14-15的任一項所述的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:35**的PD-1 VL結構域、**SEQ ID NO:39**的PD-1 VH結構域、**SEQ ID NO:51**的LAG-3 VL結構域和**SEQ ID NO:55**的LAG-3 VH結構域。

【請求項17】 如請求項1-6、8、9-12或14-16的任一項所述的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子包括Fc區和鉸鏈結構域。

【請求項18】 如請求項17所述的方法，其中所述Fc區和所述鉸鏈結構域都是IgG4同種型的，和其中所述鉸鏈結構域包括穩定化突變。

【請求項19】 如請求項17-18的任一項所述的方法，其中所述Fc區是包括下述的變體Fc區：

(a) 降低變體Fc區對Fc γ R的親和力的一個或多個氨基酸修飾；和/或

(b) 提高變體Fc區的血清半衰期的一個或多個氨基酸修飾。

【請求項20】　如請求項19所述的方法，其中所述：

(a)　降低變體Fc區對Fc γ R的親和力的修飾包括L234A；L235A；或L234A和L235A的替換；和

(b)　提高變體Fc區的血清半衰期的修飾包括M252Y；M252Y和S254T；M252Y和T256E；M252Y、S254T和T256E；或K288D和H435K的替換，

其中所述編號為Kabat中的EU索引的編號。

【請求項21】　如請求項1-6、9-12或14-20的任一項所述的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子包括**SEQ ID NO:59**的兩條多肽鏈和**SEQ ID NO:60**的兩條多肽鏈。

【請求項22】　如請求項1-6、9-12或14-21的任一項所述的方法，其中以約300 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

【請求項23】　如請求項1-6、9-12或14-21的任一項所述的方法，其中以約600 mg的固定劑量施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

【請求項24】　如請求項1-6、9-12或14-23的任一項所述的方法，其中約每2週一次施用所述固定劑量。

【請求項25】　如請求項1-6、9-12或14-23的任一項所述的方法，其中約每3週一次施用所述固定劑量。

【請求項26】　如請求項1-6、9-12、14-21、23或24的任一項所述的方法，其中以約600 mg的固定劑量約每2週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

【請求項27】　如請求項1-6、9-12、14-21、23或25的任一項所述的方法，其中以約600 mg的固定劑量約每3週一次施用所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子。

【請求項28】　如請求項1-6、9-12或14-27的任一項所述的方法，其中所述PD-1 x LAG-3雙特異性分子或所述PD-L1 x LAG-3雙特異性分子通過靜脈內(IV)輸注施用。

【請求項29】　如請求項1-28的任一項所述的方法，其中所述癌症選自由下述組成的組中：腎上腺癌、AIDS相關的癌、肺泡狀軟組織肉瘤、肛門癌(包括肛管鱗狀細胞癌(SCAC))、膀胱癌、骨癌、腦和脊髓癌、乳腺癌(包括$HER2^+$乳腺癌或三陰性乳腺癌(TNBC))、頸動脈體瘤、子宮頸癌(包括HPV相關的子宮頸癌)、軟骨肉瘤、脊索瘤、嫌色性腎細胞癌、透明細胞癌、結腸癌、結直腸癌、增生性小圓形細胞腫瘤、室管膜細胞瘤、子宮內膜癌(包括非選擇性子宮內膜癌、MSI高子宮內膜癌、dMMR子宮內膜癌和/或POLE核酸外切酶結構域突變陽性子宮內膜癌)、尤因氏肉瘤、骨骼外黏液樣軟骨肉瘤、膽囊或膽道癌(包括膽管癌膽道癌)、胃癌、胃食管交界處(GEJ)癌、妊娠滋養細胞疾病、生殖細胞瘤、膠質母細胞瘤、頭頸癌(包括頭頸的鱗狀細胞癌(SCCHN))、血液系統惡性腫瘤、肝細胞癌、胰島細胞瘤、卡波西氏肉瘤、腎癌、白血病(包括、急性髓樣白血病)、脂肪肉瘤/惡性脂肪瘤、肝癌(包括肝細胞肝癌(HCC))、淋巴瘤(包括、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、肺癌(包括小細胞肺癌(SCLC)、非-小細胞

肺癌(NSCLC))、成神經管細胞瘤、黑素瘤(包括葡萄膜黑素瘤)、腦膜瘤、默克爾細胞癌、間皮瘤(包括間皮咽癌)、多發性內分泌腫瘤、多發性骨髓瘤、骨髓增生異常綜合征、成神經細胞瘤、神經內分泌腫瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲狀腺乳頭狀癌、甲狀旁腺腫瘤、兒科癌症、周圍神經鞘腫瘤、咽癌、嗜鉻細胞瘤、垂體腫瘤、前列腺癌(包括轉移性去勢抵抗性前列腺癌(mCRPC))、葡萄膜後黑素瘤、腎轉移癌、橫紋肌樣瘤、橫紋肌肉瘤、肉瘤、皮膚癌、童年期的小圓形藍細胞瘤(包括成神經細胞瘤和橫紋肌肉瘤)、軟組織肉瘤、鱗狀細胞癌、胃癌、滑膜肉瘤、睾丸癌、胸腺癌、胸腺瘤、甲狀腺癌和子宮癌。

【請求項30】　如請求項29所述的方法，其中所述癌症選自由下述組成的組中：肛門癌、乳腺癌、膽道癌、子宮頸癌、結直腸癌、子宮內膜癌、胃癌、GEJ癌症、頭頸癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑素瘤、卵巢癌和前列腺癌。

【請求項31】　如請求項28或29的任一項所述的方法，其中所述癌症選自由下述組成的組中：$HER2^+$乳腺癌、TNBC、膽管癌膽道癌、HPV相關的子宮頸癌、SCCHN、HCC、SCLC或NSCLC、NHL、前列腺癌、胃癌和GEJ癌症。

【請求項32】　如請求項2-31的任一項所述的方法，其中所述TA-結合分子是包括包含輕鏈可變結構域(VL_{HER2})和重鏈可變結構域(VH_{HER2})的HER2-結合結構域的HER2-結合分子，其中：

(A)　所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括包含**SEQ ID NO:61**的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3的馬格妥昔單抗的輕鏈可變結構域，且所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括包含**SEQ ID NO:66**的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3的馬格妥昔單抗的重鏈可變結構域；

(B) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括曲妥珠單抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3且所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括曲妥珠單抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3；

(C) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括培妥珠單抗的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3且所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括培妥珠單抗的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3；或

(D) 所述輕鏈可變結構域(VL_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3且所述重鏈可變結構域(VH_{HER2})包括hHER2 MAB-1的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

【請求項33】 如請求項2-32的任一項所述的方法，其中所述HER2-結合分子是抗HER2抗體。

【請求項34】 如請求項33所述的方法，其中所述抗HER2抗體是馬格妥昔單抗，且所述方法包括以約6 mg/kg至約18 mg/kg的劑量約每3週一次施用馬格妥昔單抗。

【請求項35】 如請求項32-34的任一項所述的方法，其中所述方法進一步包括施用化療劑。

【請求項36】 如請求項2-35的任一項所述的方法，其中所述癌症是表達HER2的癌症。

【請求項37】 如請求項36所述的方法，其中所述表達HER2的癌症選自由下述組成的組中：乳腺癌、轉移乳腺癌，膀胱癌、胃癌、GEJ癌症、卵巢癌、胰腺癌和胃癌。

【請求項38】　如請求項2-31的任一項所述的方法，其中所述TA-結合分子是包括包含輕鏈可變結構域(VL)和重鏈可變結構域(VH)的B7-H3-結合結構域的B7-H3-結合分子，其中：

所述VL包括**SEQ ID NO:71**的CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3，且所述VH 包括 **SEQ ID NO:76**的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3。

【請求項39】　如請求項2-31或38的任一項所述的方法，其中所述TA-結合分子是依諾妥珠單抗且所述方法包括以約6 mg/kg至約18 mg/kg的劑量約每3週一次施用依諾妥珠單抗。

【請求項40】　如請求項2-31或38-39的任一項所述的方法，其中所述癌症是表達B7-H3的癌症。

【請求項41】　如請求項40所述的方法，其中所述表達B7-H3的癌症選自由下述組成的組中：肛門癌、SCAC、乳腺癌、TNBC、頭頸癌、SCCHN、肺癌、NSCLC、黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、前列腺癌和mCRPC。

【請求項42】　如請求項2-41的任一項所述的方法，其中所述TA-結合分子通過靜脈內(IV)輸注施用。

【請求項43】　如請求項1-42的任一項所述的方法，其中在所述治療之前所述癌症的活檢中存在表達LAG-3的細胞。

【請求項44】　如請求項1-43的任一項所述的方法，其中在所述治療之前所述癌症的活檢中存在表達PD-1的細胞。

【請求項45】　如請求項2-44的任一項所述的方法，其中所述治療之前所述癌症的細胞表面上PD-L1表達如使用聯合陽性評分(CPS)或腫瘤比例評分(TPS)確定的小於1%。

【發明圖式】

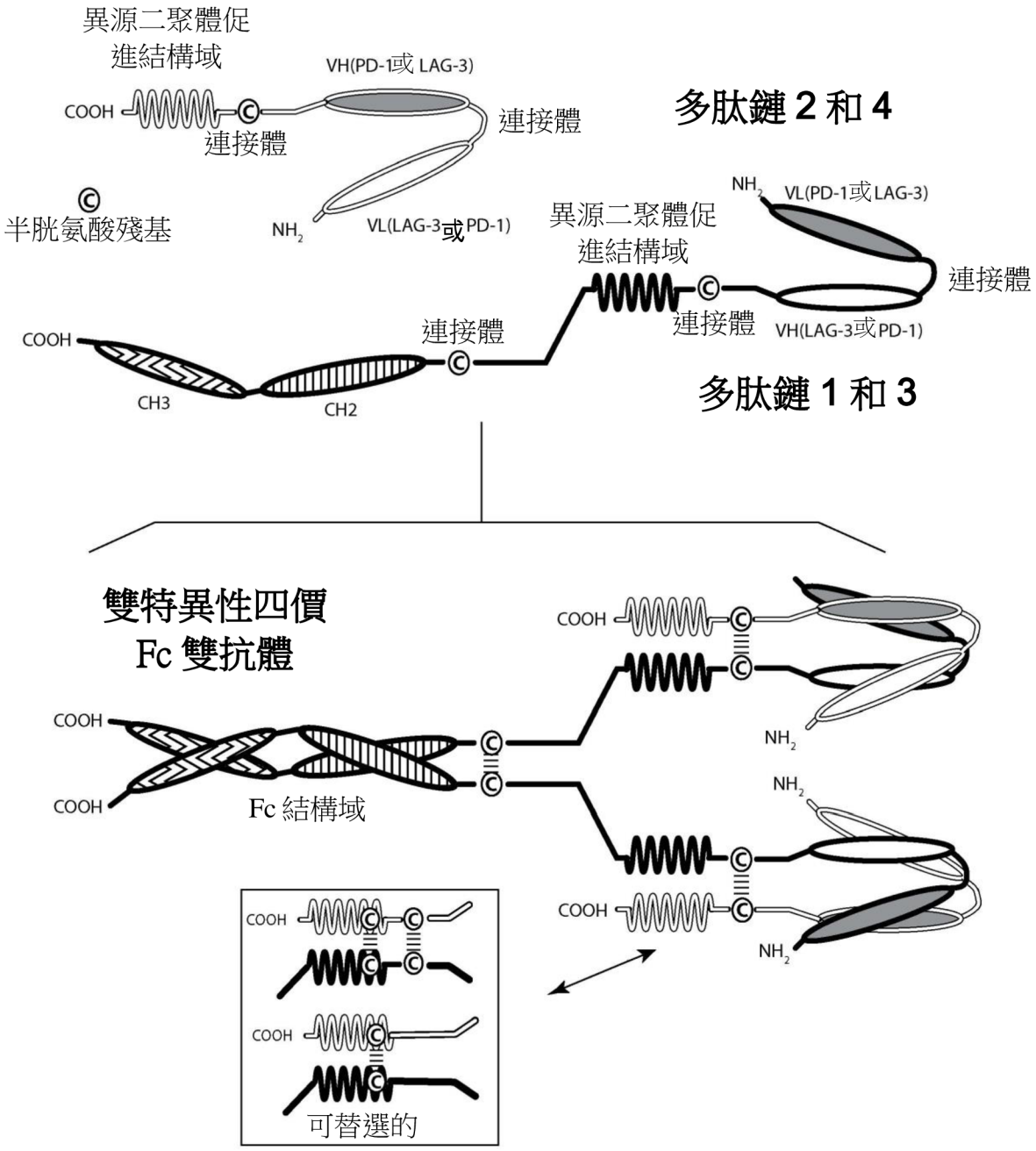
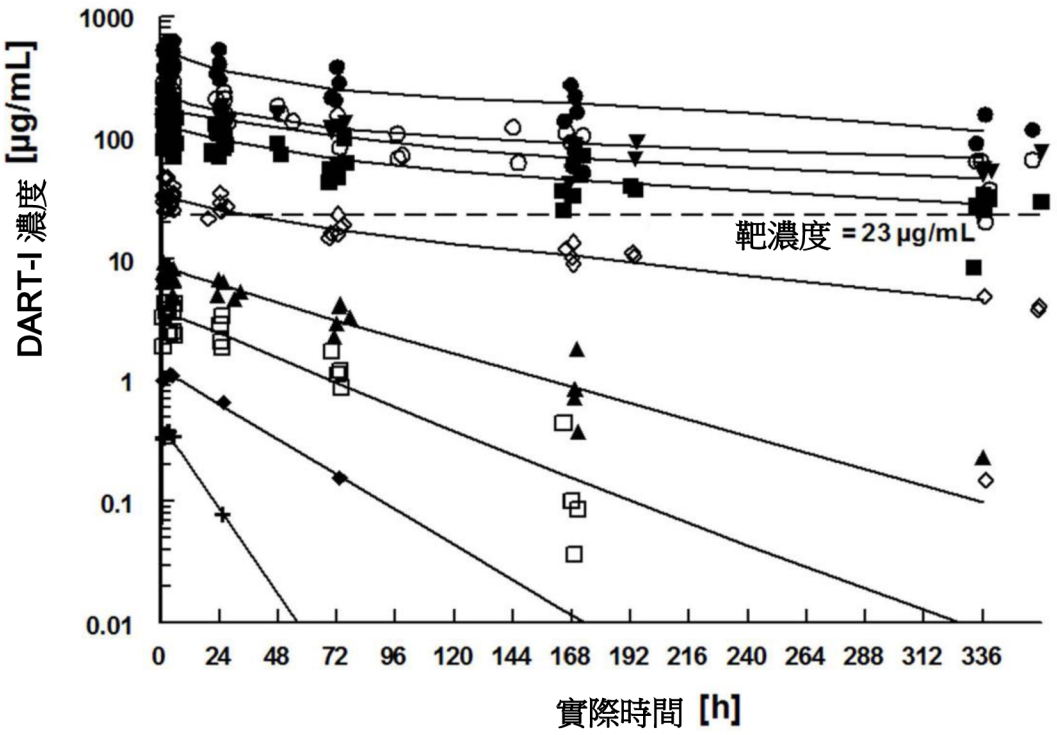

異源二聚體促
進結構域
VH(PD-1或 LAG-3)
COOH
連接體
連接體
多肽鏈 2 和 4
半胱氨酸殘基
NH2
VL(LAG-3或PD-1)
異源二聚體促
進結構域
NH2
VL(PD-1或LAG-3)
連接體
連接體
連接體
VH(LAG-3或PD-1)
COOH
CH3
CH2
多肽鏈 1 和 3
雙特異性四價
Fc 雙抗體
COOH
COOH
Fc 結構域
NH2
NH2
COOH
COOH
可替選的

圖 1



+ 1 MG (N=1); ◆ 3 MG (N=1); □ 10 MG (N=4); ▲ 30 MG (N=5);
◊ 120 MG (N=6); ■ 400 MG (N=9); ○ 600 MG (N=8)
▼ 800 MG (N=7); ● 1200 MG (N=4)

圖 2

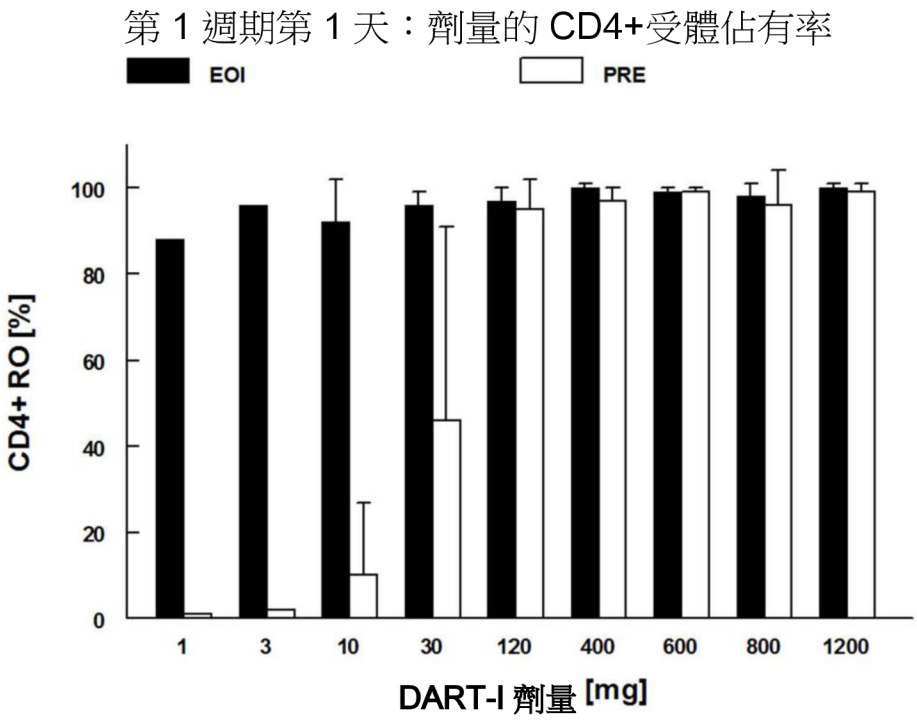

第 1 週期第 1 天：劑量的 CD4+受體佔有率
EOI
PRE
CD4+ RO [%]
100
80
60
40
20
0
1
3
10
30
120
400
600
800
1200
DART-I 劑量 [mg]

圖 3A

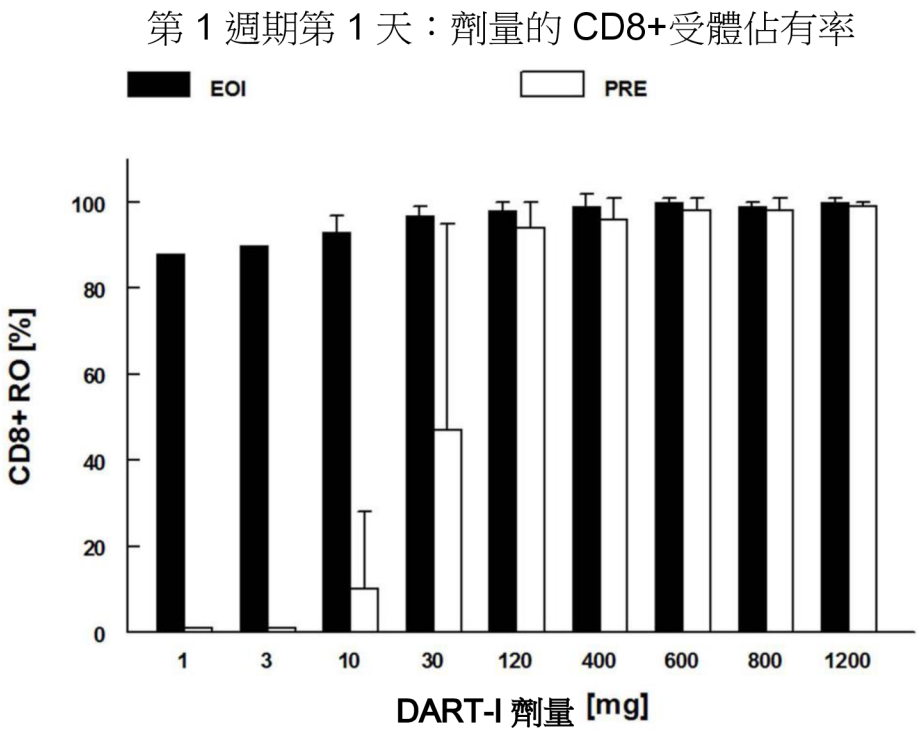

第 1 週期第 1 天：劑量的 CD8+受體佔有率
EOI
PRE
CD8+ RO [%]
100
80
60
40
20
0
1
3
10
30
120
400
600
800
1200
DART-I 劑量 [mg]

圖 3B

第 2 週期第 1 天：劑量的 CD4+受體佔有率

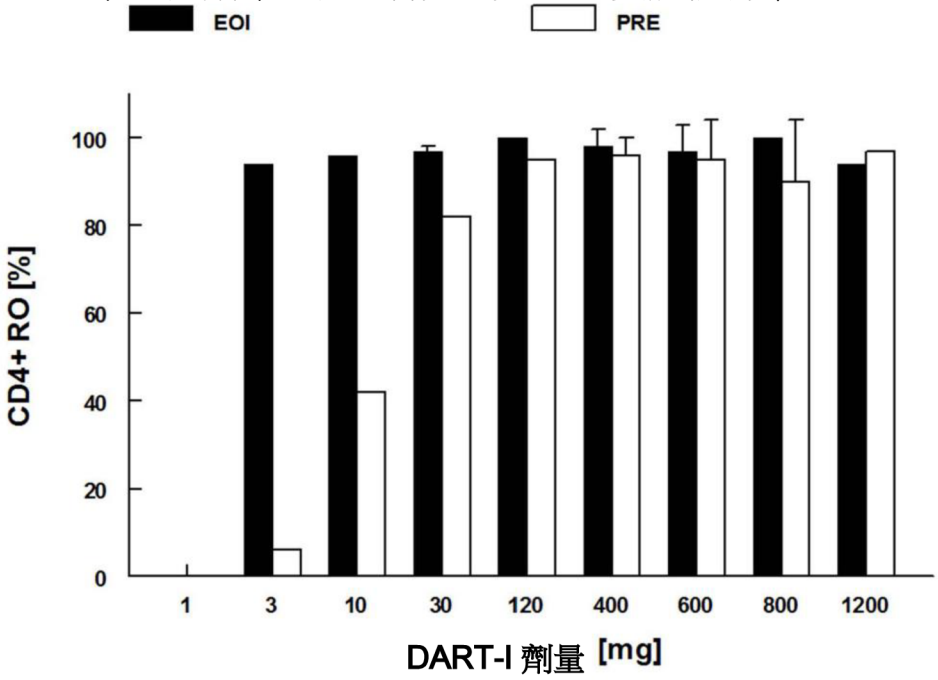


圖 3C

第 2 週期第 1 天：劑量的 CD8+受體佔有率

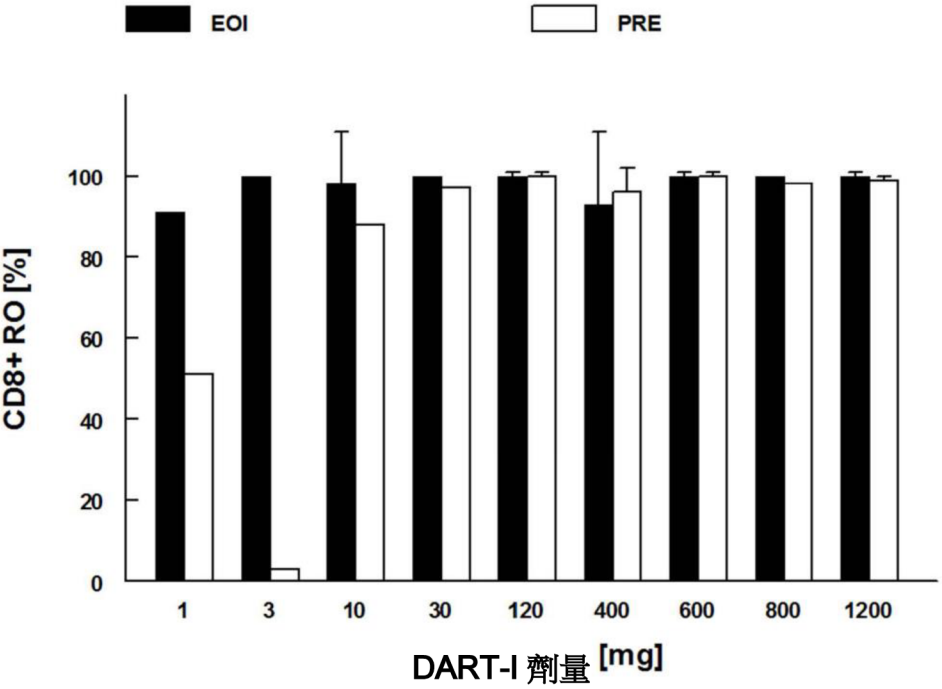


圖 3D

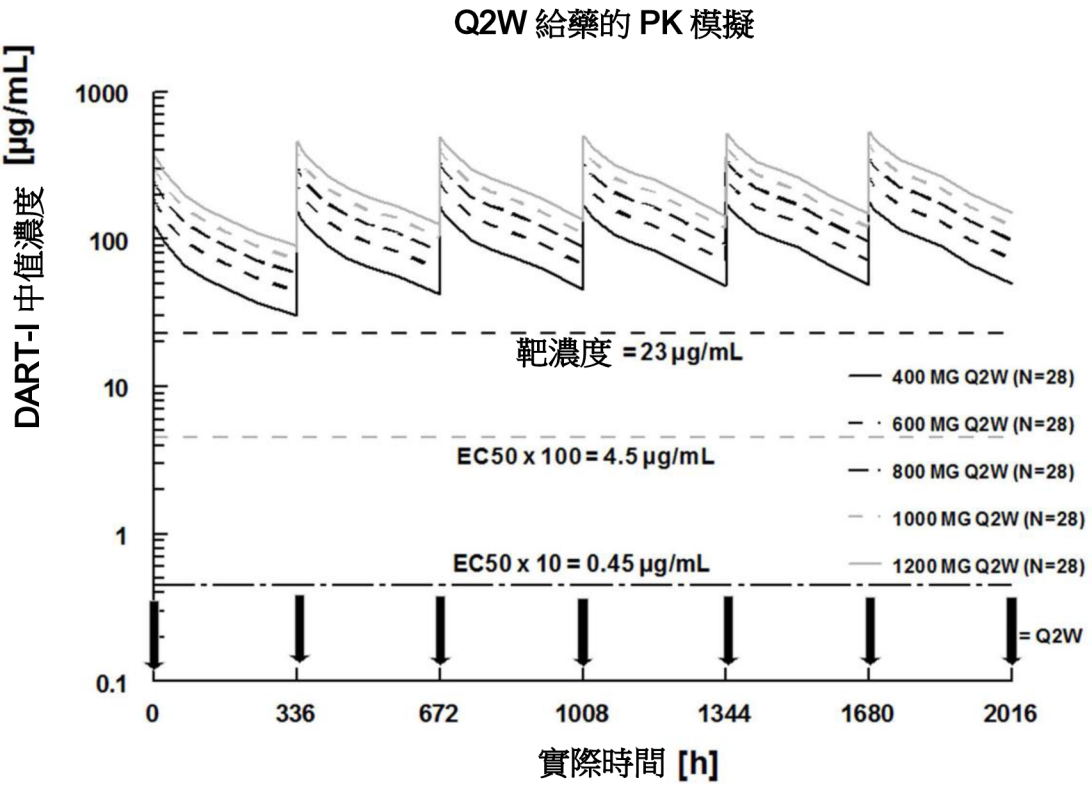

Q2W 給藥的 PK 模擬
DART-I 中值濃度 [μg/mL]
1000
100
10
1
0.1
靶濃度 =23 μg/mL
EC50 x 100 = 4.5 μg/mL
EC50 x 10 = 0.45 μg/mL
400 MG Q2W (N=28)
600 MG Q2W (N=28)
800 MG Q2W (N=28)
1000 MG Q2W (N=28)
1200 MG Q2W (N=28)
= Q2W
0
336
672
1008
1344
1680
2016
實際時間 [h]

圖 4A

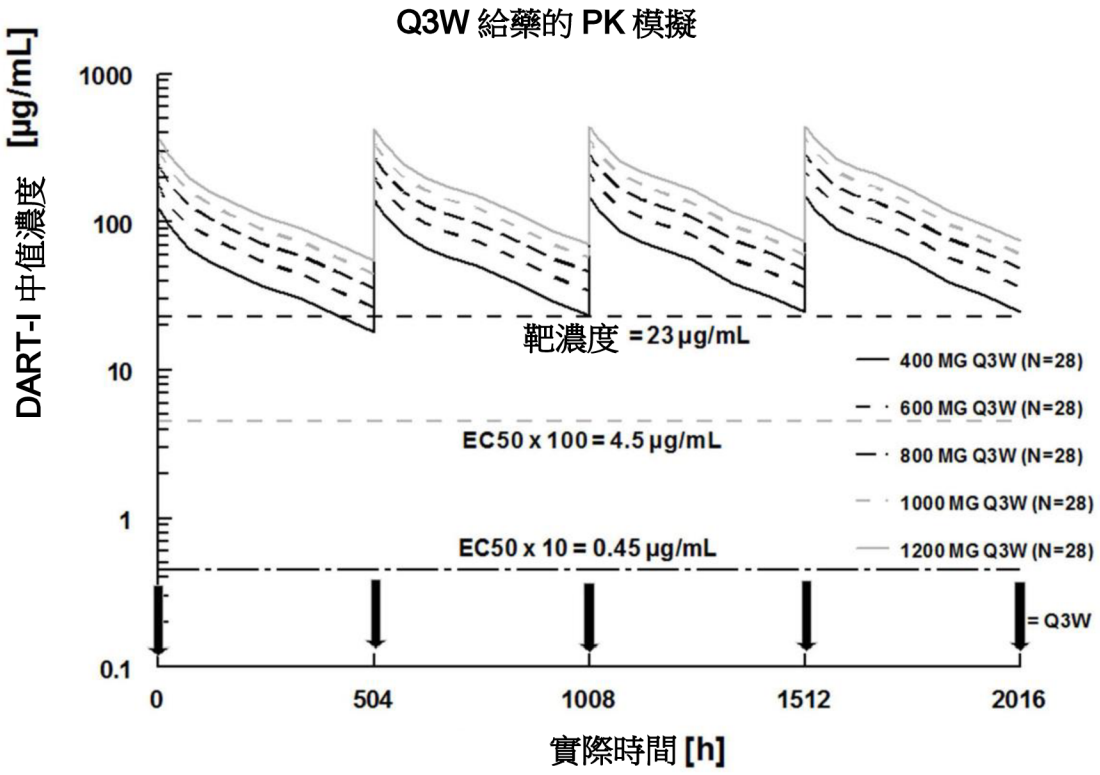

Q3W 給藥的 PK 模擬
DART-I 中值濃度 [µg/mL]
1000
100
10
1
0.1
靶濃度 =23 µg/mL
EC50 x 100 = 4.5 µg/mL
EC50 x 10 = 0.45 µg/mL
400 MG Q3W (N=28)
600 MG Q3W (N=28)
800 MG Q3W (N=28)
1000 MG Q3W (N=28)
1200 MG Q3W (N=28)
= Q3W
0
504
1008
1512
2016
實際時間 [h]

圖 4B

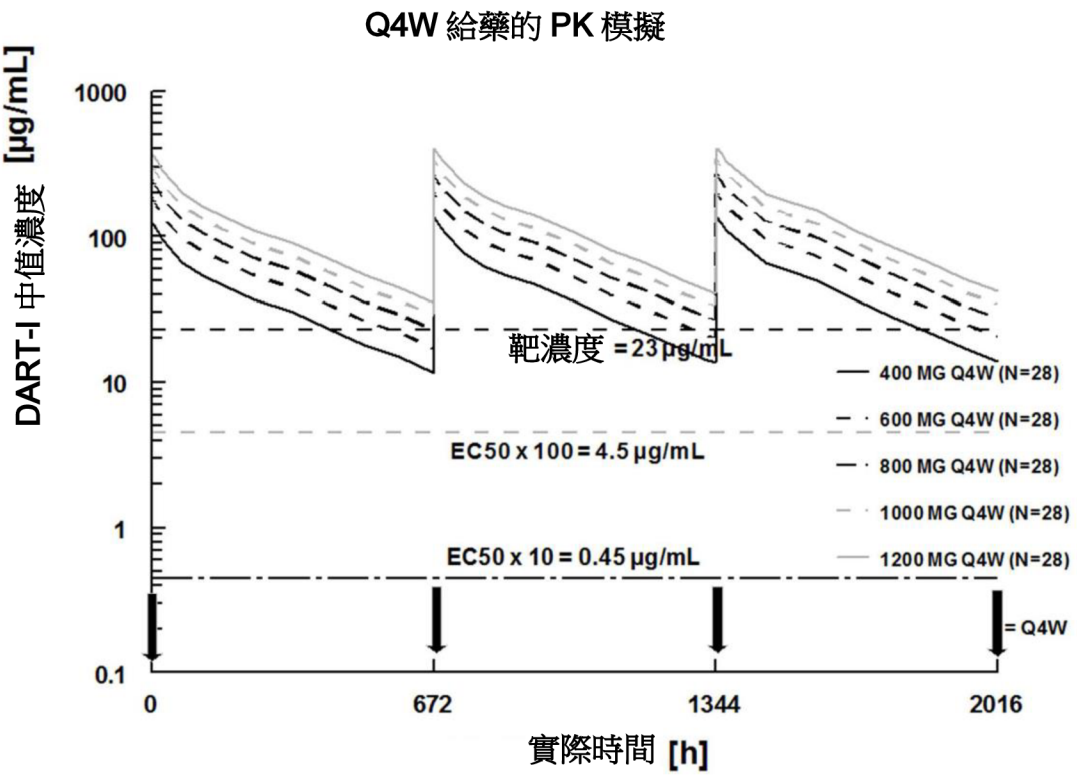

Q4W 給藥的 PK 模擬
DART-I 中值濃度 [μg/mL]
1000
100
10
1
0.1
靶濃度 =23 μg/mL
EC50 x 100 = 4.5 μg/mL
EC50 x 10 = 0.45 μg/mL
400 MG Q4W (N=28)
600 MG Q4W (N=28)
800 MG Q4W (N=28)
1000 MG Q4W (N=28)
1200 MG Q4W (N=28)
= Q4W
0
672
1344
2016
實際時間 [h]

圖 4C

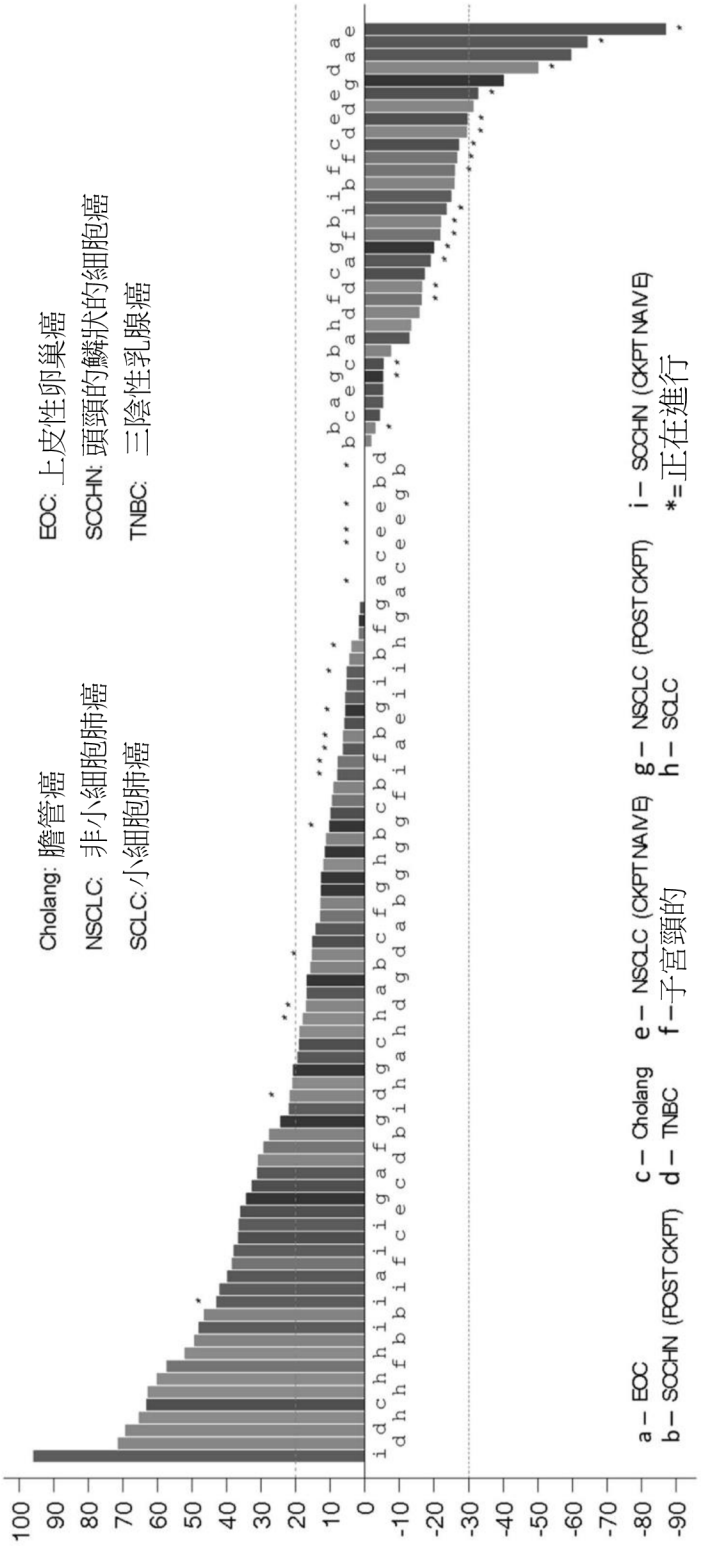
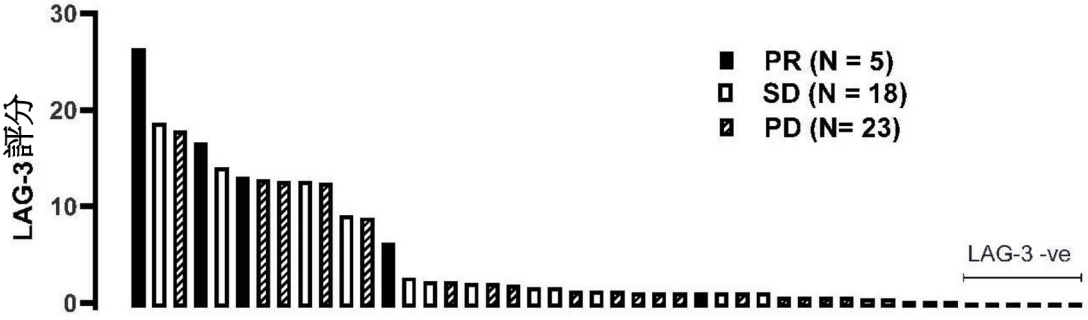
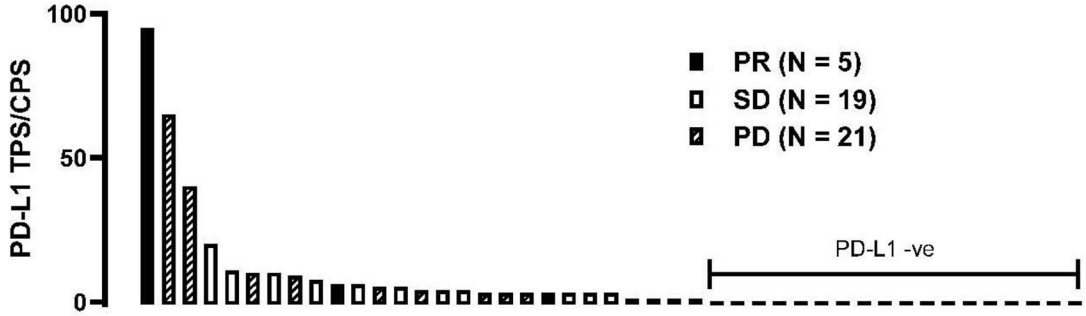

Cholang: 膽管癌
NSCLC: 非小細胞肺癌
SCLC:小細胞肺癌
EOC: 上皮性卵巢癌
SCCHN: 頭頸的鱗狀的細胞癌
TNBC: 三陰性乳腺癌
a – EOC
b – SCCHN (POST CKPT)
c – Cholang
d – TNBC
e – NSCLC (CKPT NAIVE)
f –子宮頸的
g – NSCLC (POST CKPT)
h – SCLC
i – SCCHN (CKPT NAIVE)
*=正在進行
100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 0 -10 -20 -30 -40 -50 -60 -70 -80 -90

圖 5



LAG-3 從高到低排序的個體患者

圖 6A



PD-L1 從高到低排序的個體患者

圖 6B

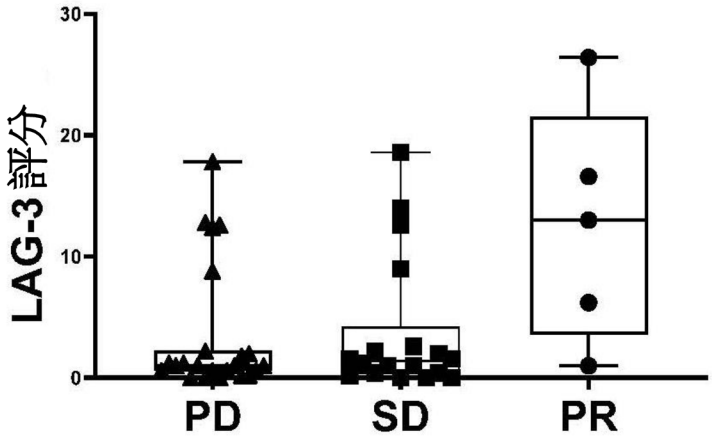


圖 6C

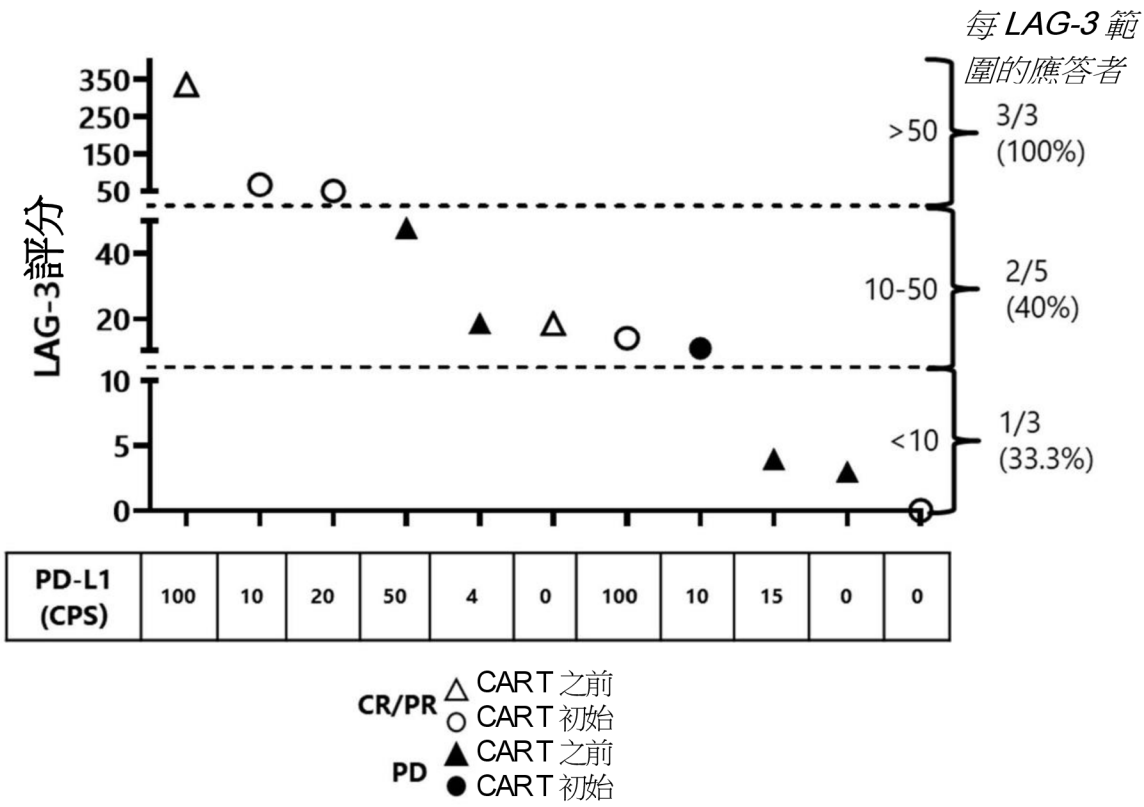

每 LAG-3 範圍的應答者
LAG-3評分
350
250
150
50
40
20
10
5
0
>50
3/3
(100%)
10-50
2/5
(40%)
<10
1/3
(33.3%)
PD-L1 (CPS)
100
10
20
50
4
0
100
10
15
0
0
CR/PR
CAR T 之前
CAR T 初始
PD
CAR T 之前
CAR T 初始

圖 6D

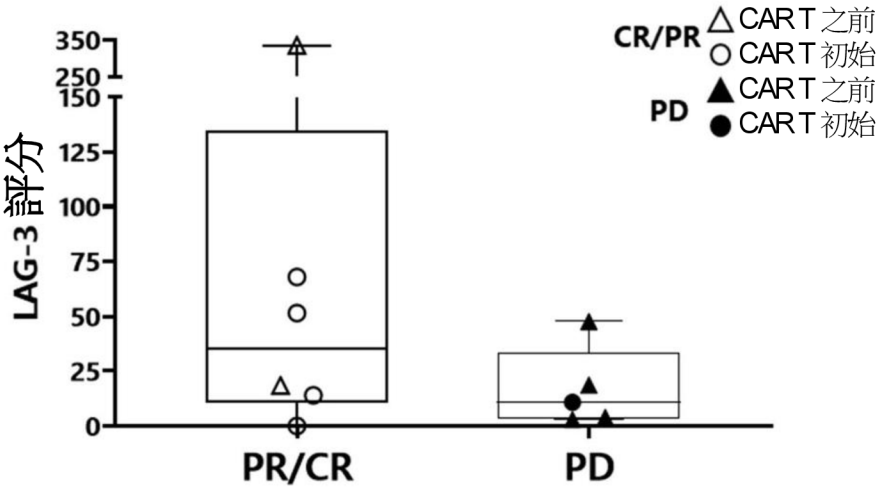

LAG-3 評分
350
250
150
125
100
75
50
25
0
PR/CR
PD
CR/PR
CAR T 之前
CAR T 初始
PD
CAR T 之前
CAR T 初始

圖 6E

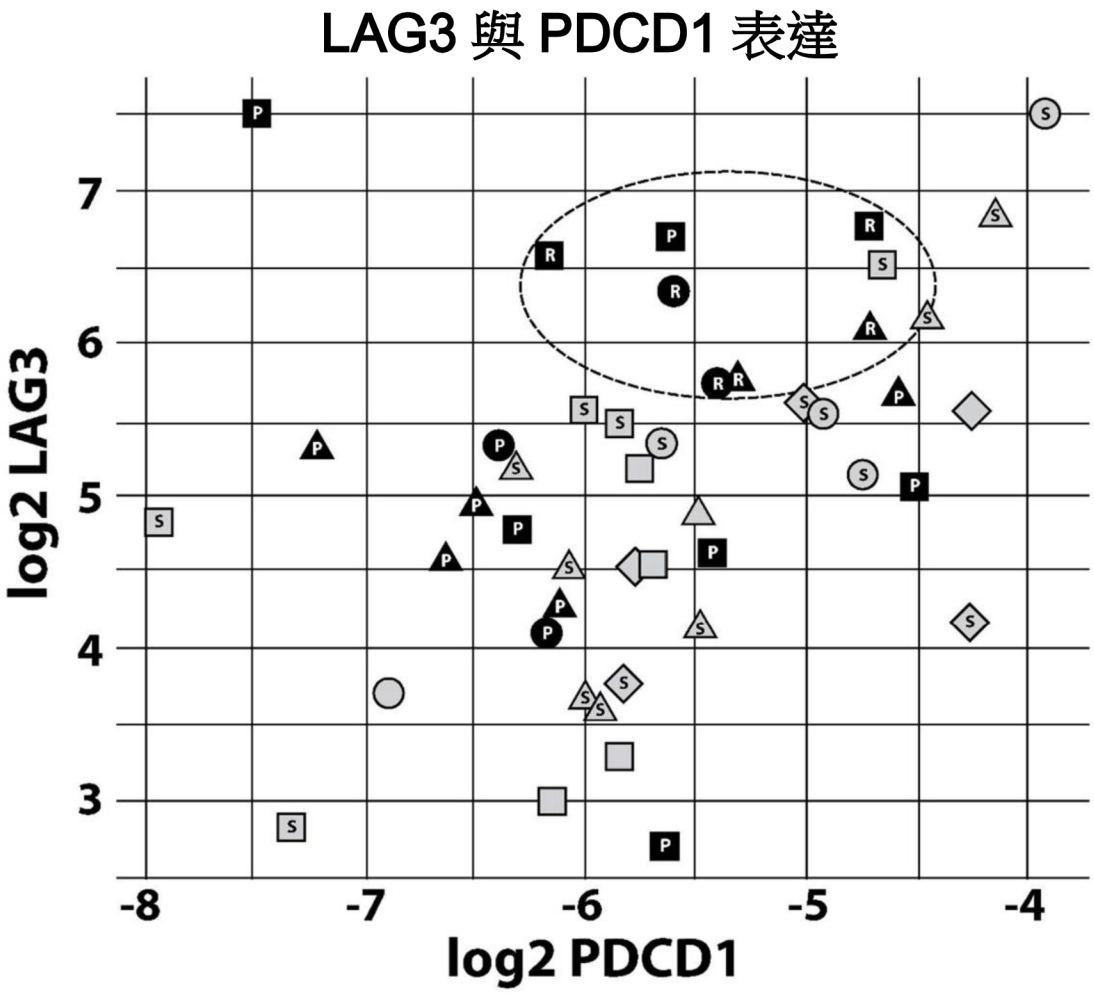


圖 7

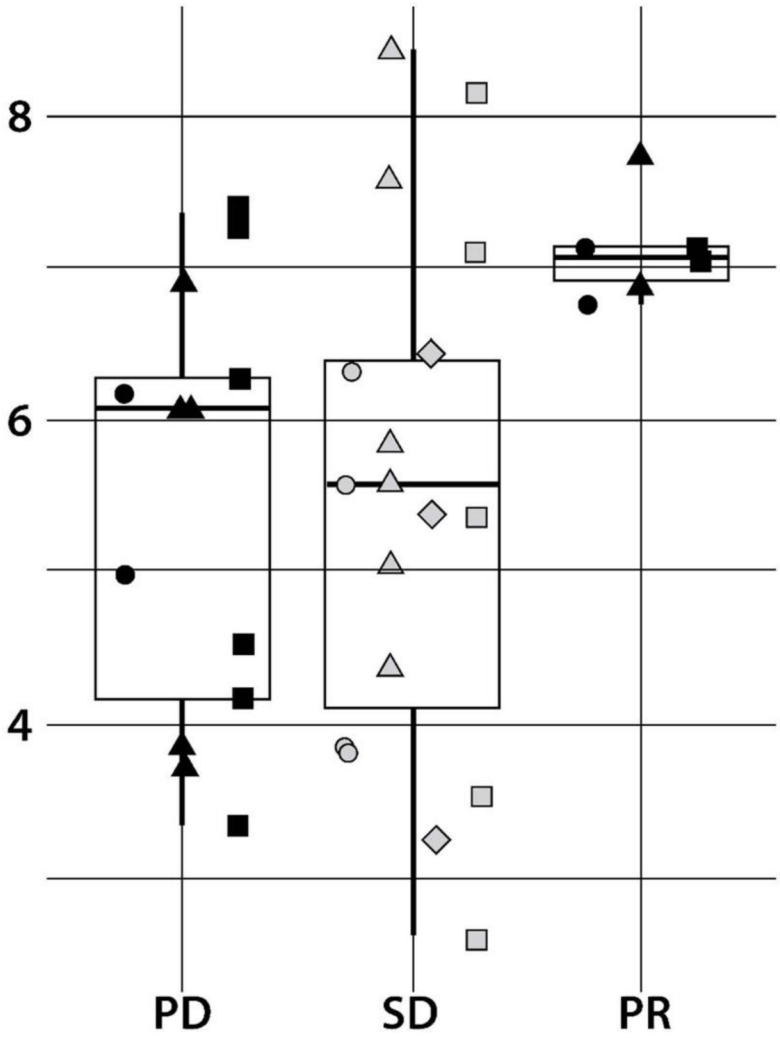


圖 8

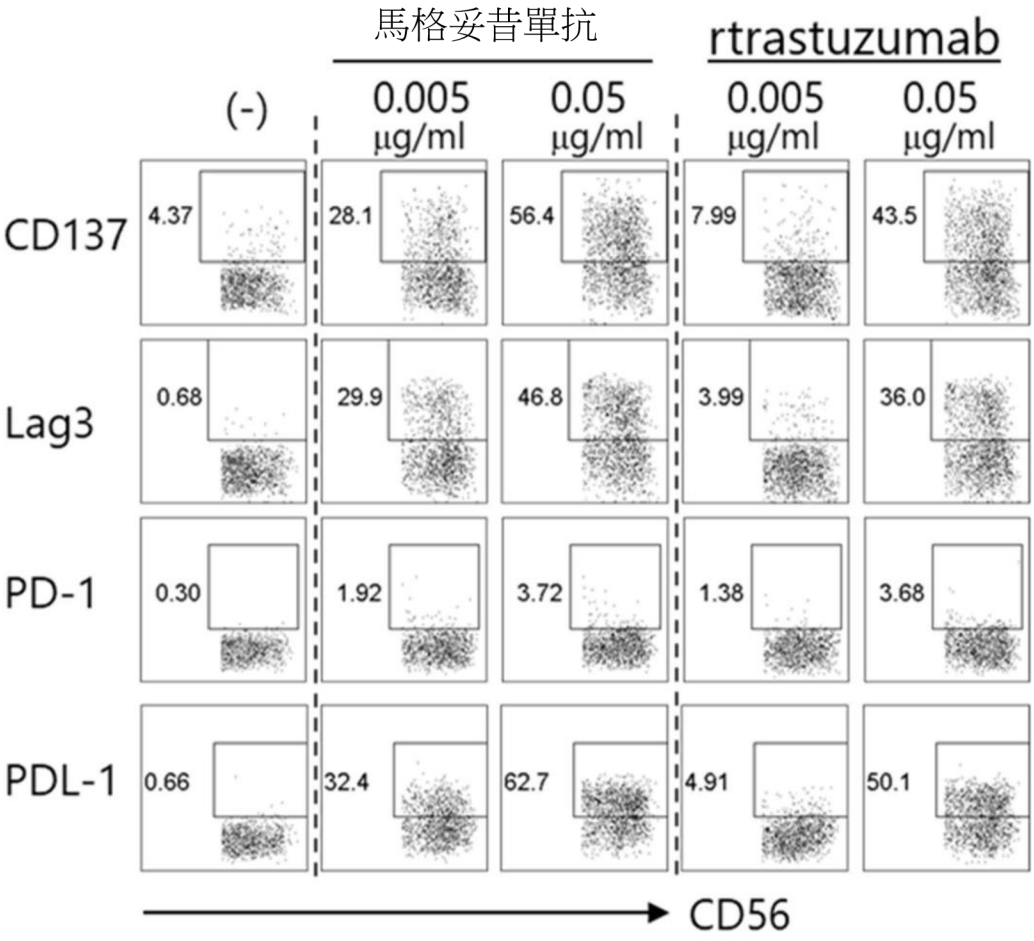

馬格妥昔單抗
rtrastuzumab
(-)
0.005 μg/ml
0.05 μg/ml
0.005 μg/ml
0.05 μg/ml
CD137
Lag3
PD-1
PDL-1
4.37
28.1
56.4
7.99
43.5
0.68
29.9
46.8
3.99
36.0
0.30
1.92
3.72
1.38
3.68
0.66
32.4
62.7
4.91
50.1
CD56

圖 9

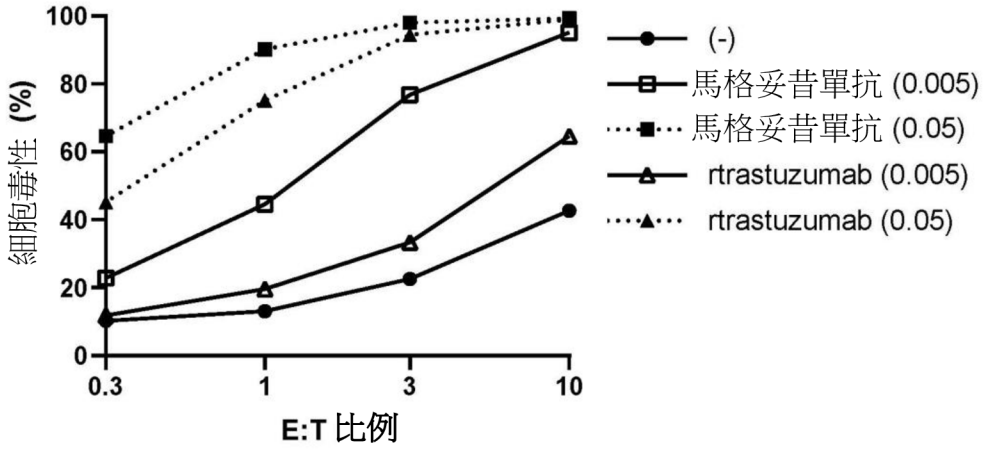

細胞毒性 (%)
100
80
60
40
20
0
0.3
1
3
10
E:T 比例
(-)
馬格妥昔單抗 (0.005)
馬格妥昔單抗 (0.05)
rtrastuzumab (0.005)
rtrastuzumab (0.05)

圖 10

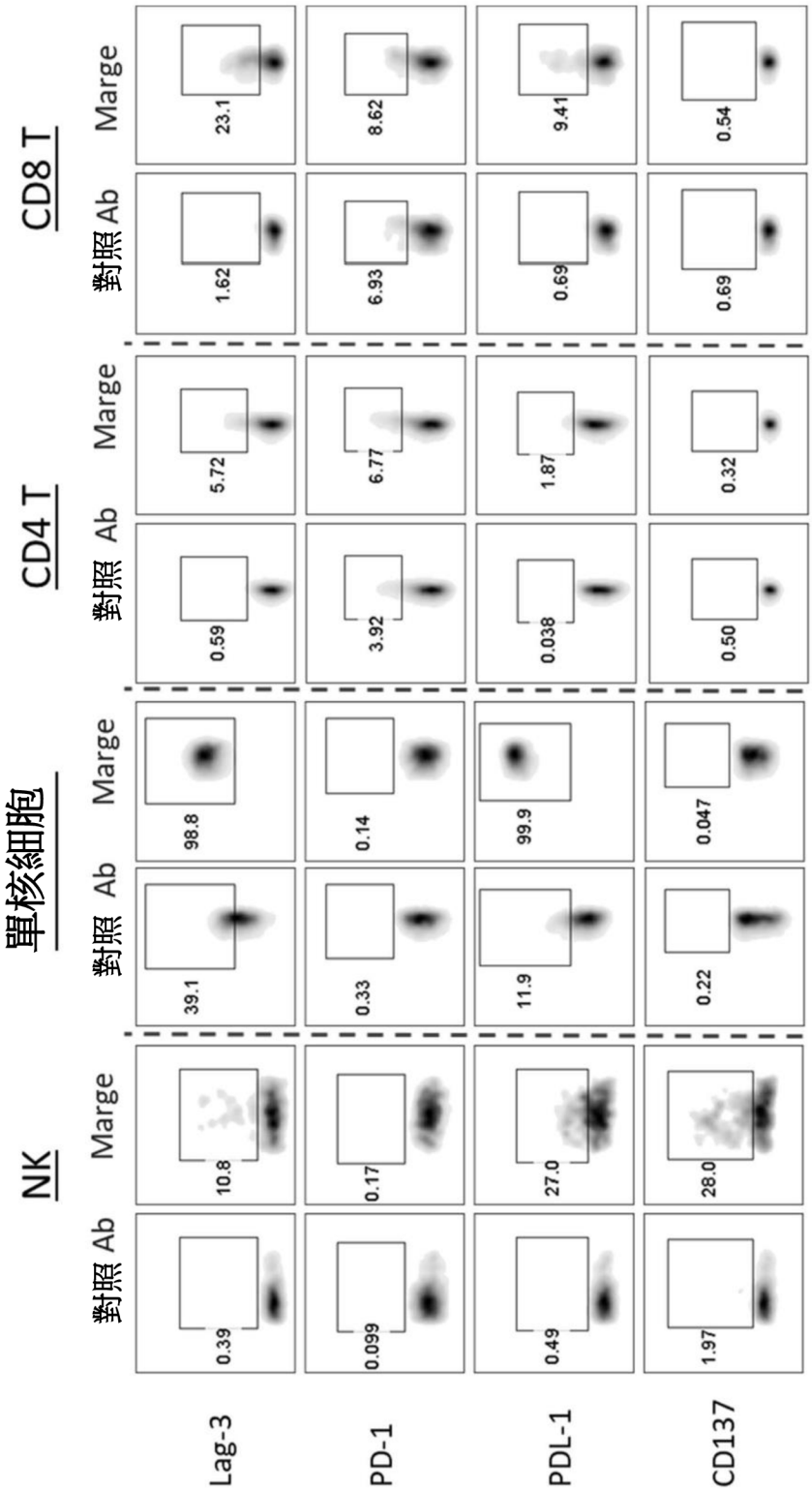

單核細胞
NK
CD4 T
CD8 T
對照 Ab
Marge
Lag-3
PD-1
PDL-1
CD137
0.39
10.8
39.1
98.8
0.59
5.72
1.62
23.1
0.099
0.17
0.33
0.14
3.92
6.77
6.93
8.62
0.49
27.0
11.9
99.9
0.038
1.87
0.69
9.41
1.97
28.0
0.22
0.047
0.50
0.32
0.69
0.54

圖 11

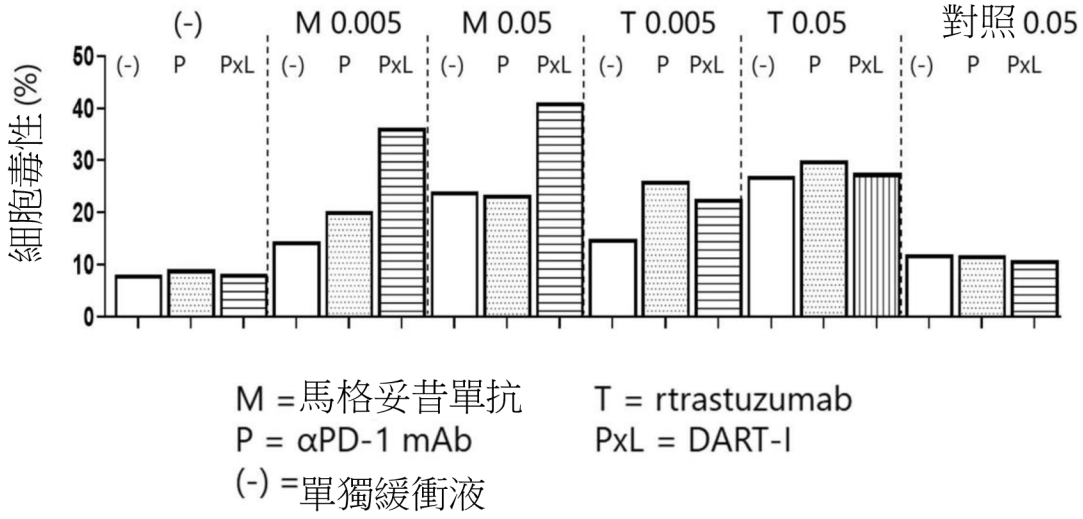

(-)
M 0.005
M 0.05
T 0.005
T 0.05
對照 0.05
(-) P PxL
細胞毒性 (%)
0
10
20
30
40
50
M =馬格妥昔單抗
T = rtrastuzumab
P = αPD-1 mAb
PxL = DART-I
(-) =單獨緩衝液

圖 12

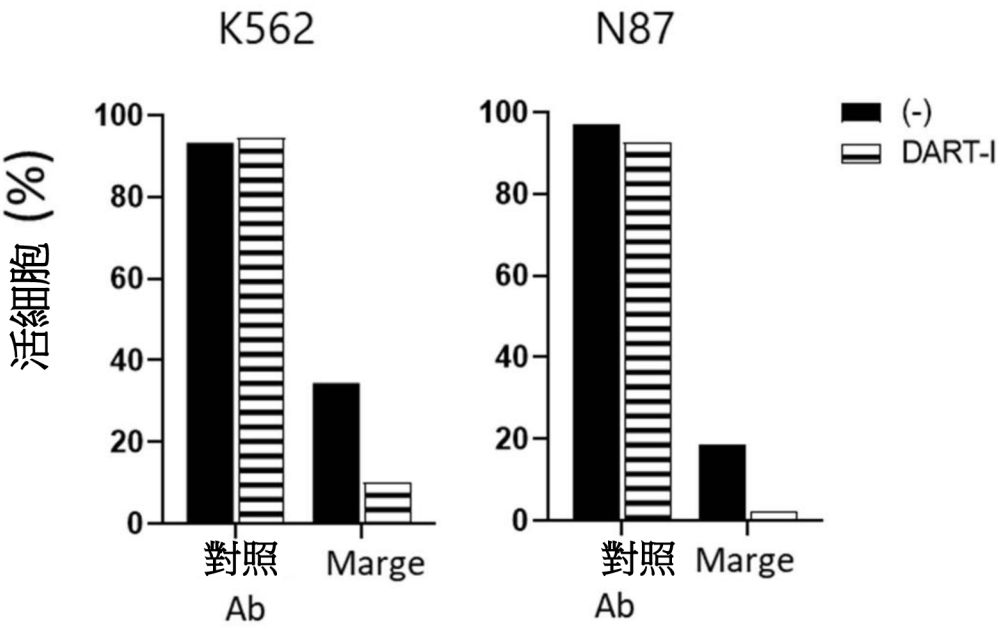
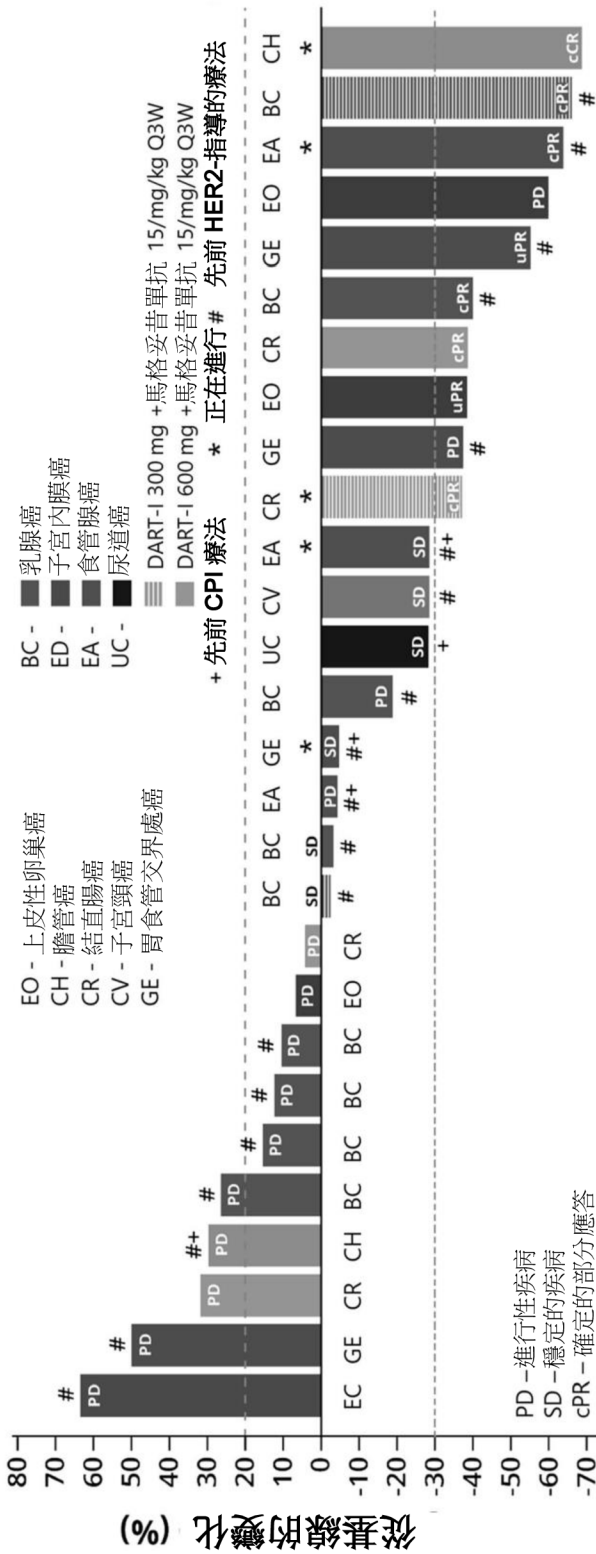

K562
N87
(-)
DART-I
活細胞 (%)
0
20
40
60
80
100
對照 Ab
Marge

圖 13


從基線的變化 (%)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
-70
-80
EC GE CR CH BC BC BC BC BC EO CR BC BC EA GE BC UC CV EA CR GE EO CR BC GE EO EA BC CH
PD SD SD PD SD SD SD SD SD cPR cPR uPR cPR cPR uPR PD cPR cPR cCR
#+ # # # # #+ #+ + # # #+ # # #

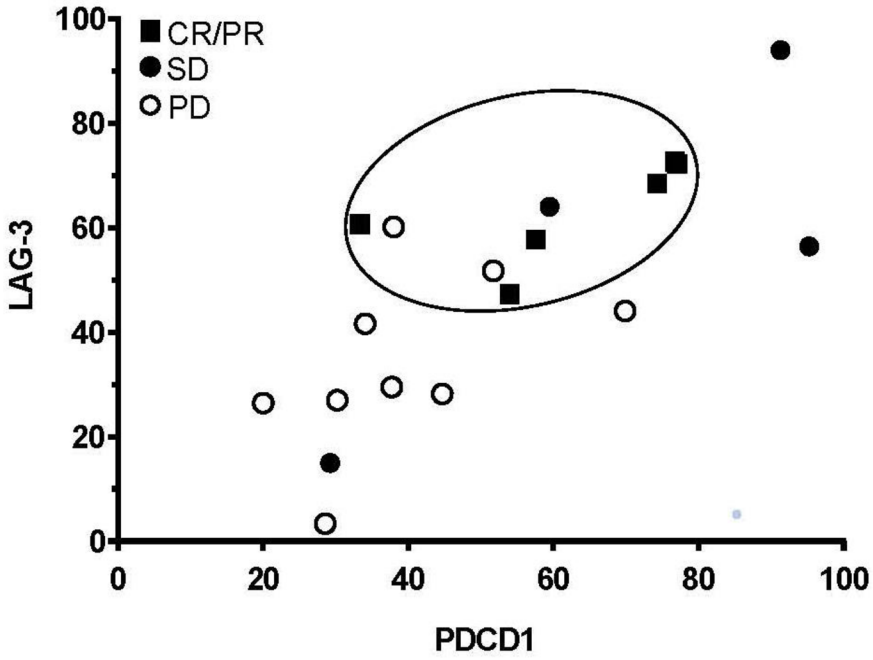

CR/PR
SD
PD
LAG-3
PDCD1
0
20
40
60
80
100

圖 15A

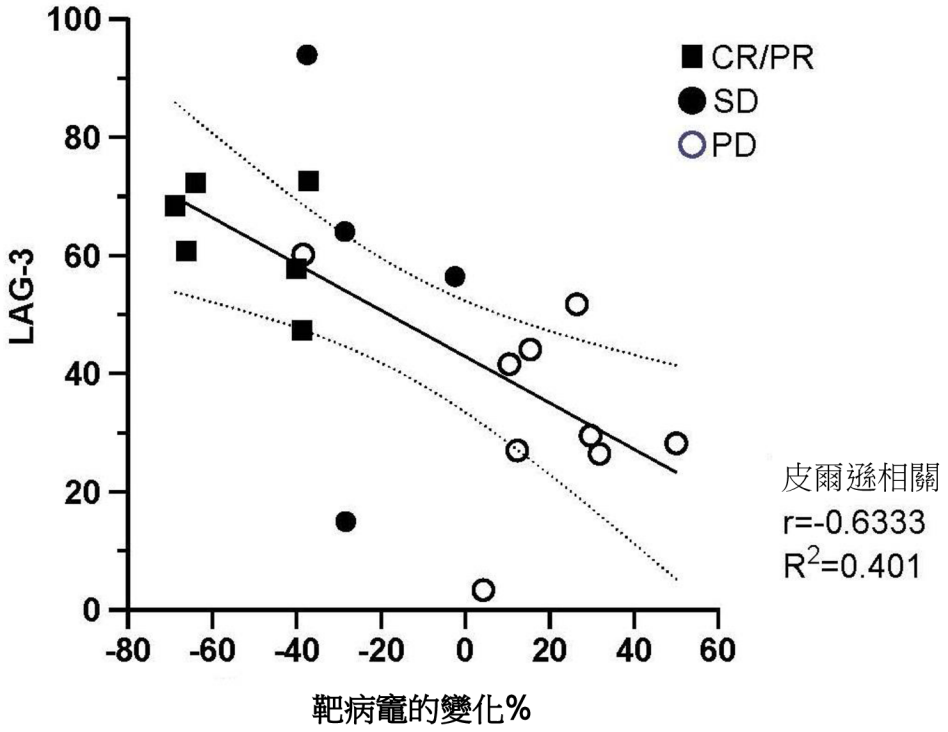

CR/PR
SD
PD
LAG-3
靶病竈的變化%
皮爾遜相關
r=-0.6333
R2=0.401
-80
-60
-40
-20
0
20
40
60
80
100

圖 15B

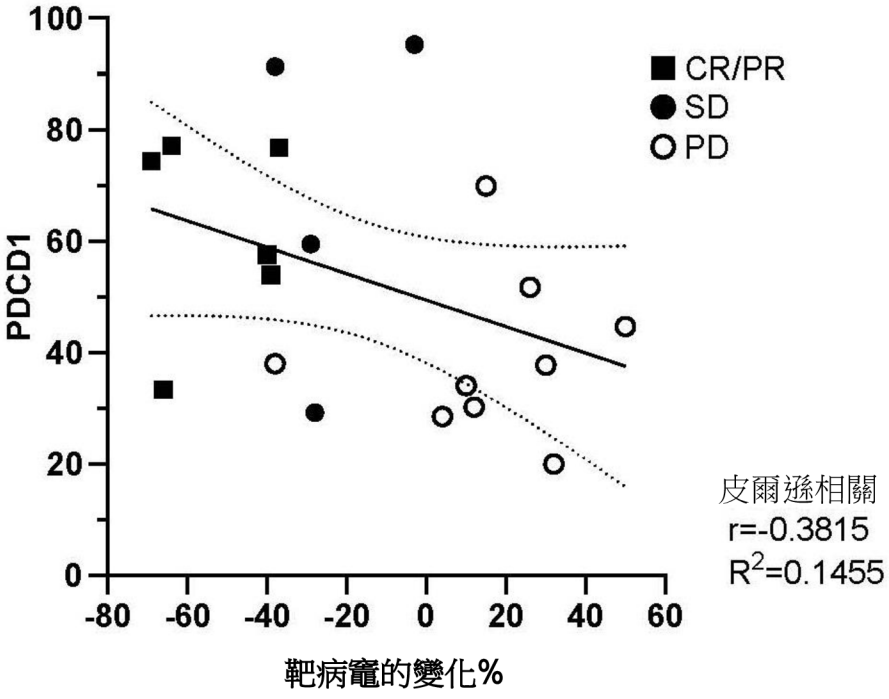

100
80
60
40
20
0
PDCD1
-80
-60
-40
-20
0
20
40
60
靶病竈的變化%
CR/PR
SD
PD
皮爾遜相關
r=-0.3815
R2=0.1455

圖 15C