



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112839644 A

(43) 申请公布日 2021.05.25

(21) 申请号 201980048135.6

(22) 申请日 2019.07.18

(30) 优先权数据

62/700,184 2018.07.18 US

62/734,936 2018.09.21 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.01.18

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/042404 2019.07.18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/018789 EN 2020.01.23

(71) 申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 G·香卡 A·桑德勒 D·S·陈

林伟瑜

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51) Int.Cl.

A61K 31/282 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

G07K 16/28 (2006.01)

权利要求书6页 说明书87页

序列表19页 附图8页

(54) 发明名称

用PD-1轴结合拮抗剂、抗代谢物和铂剂治疗肺癌的方法

(57) 摘要

本公开提供用于治疗个体的肺癌(比如非小细胞肺癌,例如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的方法。所述方法包括向所述个体施用PD-1轴结合拮抗剂(比如抗PD-L1抗体,例如阿特珠单抗)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如顺铂或卡铂)。

1. 一种治疗患有肺癌的个体的方法,其包括向所述个体施用有效量的抗PD-L1抗体、抗代谢物和铂剂,其中所述治疗延长所述个体的无进展生存期(PFS)。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述治疗延长所述个体的总生存期(OS)。

3. 一种治疗患有肺癌的个体的方法,其包括向所述个体施用有效量的抗PD-L1抗体、抗代谢物和铂剂,其中所述治疗延长所述个体的总生存期(OS)。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中所述治疗将所述个体的PFS延长至少约6个月。

5. 根据权利要求2或3所述的方法,其中所述治疗将所述个体的OS延长至少约15个月。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体包括:

(a) 重链可变区(V_H),其包含含有GFTFSDSWIH(SEQ ID NO:1)的氨基酸序列的HVR-H1、含有AWISPYGGSTYYADSVKG(SEQ ID NO:2)的氨基酸序列的HVR-2和含有RHWPGGFDY(SEQ ID NO:3)的氨基酸序列的HVR-3,和

(b) 轻链可变区(V_L),其包含含有RASQDVSTAVA(SEQ ID NO:4)的氨基酸序列的HVR-L1、含有SASFLYS(SEQ ID NO:5)的氨基酸序列的HVR-L2和含有QQYLYHPAT(SEQ ID NO:6)的氨基酸序列的HVR-L3。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体包含含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变区(V_H)和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变区(V_L)。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体为阿特殊单抗。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述抗代谢物为培美曲塞、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿苷、氟达拉滨、羟基脲或甲氨蝶呤。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中所述抗代谢物为培美曲塞。

11. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述铂剂为卡铂。

12. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述铂剂为顺铂。

13. 根据权利要求1-11中任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体以1200mg的剂量施用,其中所述铂剂为卡铂且以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用,并且其中所述抗代谢物为培美曲塞且以500mg/m²的剂量施用。

14. 根据权利要求1-10和权利要求12中任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体以1200mg的剂量施用,其中所述铂剂为顺铂且以75mg/m²的剂量施用,并且其中所述抗代谢物为培美曲塞且以500mg/m²的剂量施用。

15. 根据权利要求1-11和权利要求13中任一项所述的方法,其中在四个21天周期中施用所述抗PD-L1抗体、所述抗代谢物和所述铂剂,并且在第1至第4周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体为阿特殊单抗且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物为培美曲塞且在第1天以500mg/m²的剂量施用,并且其中所述铂剂为卡铂且在第1天以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用。

16. 根据权利要求1-10、权利要求12和14中任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体、所述抗代谢物和所述铂剂在四个21天周期中施用,并且在第1至第4周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体为阿特殊单抗且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物为培美曲塞且在第1天以500mg/m²的剂量施用,并且其中所述铂剂为顺铂且在第1天以75mg/m²的剂量施用。

17. 根据权利要求15-16中任一项所述的方法,其中在第1至第4周期的第1天依次施用

所述抗PD-L1抗体、抗代谢物和所述铂剂。

18. 根据权利要求17所述的方法,其中在第1至第4周期的第1天,在所述抗代谢物之前施用所述抗PD-L1抗体,并且其中在所述铂剂之前施用所述抗代谢物。

19. 根据权利要求15-18中任一项所述的方法,其中在第4周期之后进一步施用所述抗PD-L1抗体和所述抗代谢物,在第4周期后每周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体为阿特殊单抗且在第1天以1200mg的剂量施用,并且其中所述抗代谢物为培美曲塞且在第1天以500mg/m²的剂量施用。

20. 根据权利要求19所述的方法,其中在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天依次施用所述抗PD-L1抗体和所述抗代谢物。

21. 根据权利要求20所述的方法,其中在第4周期后的第1天,在所述抗代谢物之前施用所述抗PD-L1抗体。

22. 根据权利要求1-11和权利要求13中任一项所述的方法,其中在四个21天周期中施用所述抗PD-L1抗体、所述抗代谢物和所述铂剂,并且在第1至第6周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体为阿特殊单抗且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物为培美曲塞且在第1天以500mg/m²的剂量施用,并且其中所述铂剂为卡铂且在第1天以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用。

23. 根据权利要求1-10、权利要求12和14中任一项所述的方法,其中在四个21天周期中施用所述抗PD-L1抗体、所述抗代谢物和所述铂剂,并且在第1至第6周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体为阿特殊单抗且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物为培美曲塞且在第1天以500mg/m²的剂量施用,并且其中所述铂剂为顺铂且在第1天以75mg/m²的剂量施用。

24. 根据权利要求22或23所述的方法,其中在第1至第6周期的第1天依次施用所述抗PD-L1抗体、抗代谢物和所述铂剂。

25. 根据权利要求24所述的方法,其中在第1至第6周期的第1天,在所述抗代谢物之前施用所述抗PD-L1抗体,并且其中在所述铂剂之前施用所述抗代谢物。

26. 根据权利要求22-25中任一项所述的方法,其中在第6周期之后进一步施用所述抗PD-L1抗体和所述抗代谢物,在第6周期后每周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体为阿特殊单抗且在第1天以1200mg的剂量施用,并且其中所述抗代谢物为培美曲塞且在第1天以500mg/m²的剂量施用。

27. 根据权利要求26所述的方法,其中在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天依次施用所述抗PD-L1抗体和所述抗代谢物。

28. 根据权利要求27所述的方法,其中在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天,在所述抗代谢物之前施用所述抗PD-L1抗体。

29. 根据权利要求1-28中任一项所述的方法,其中所述抗PD-L1抗体、所述铂剂和所述抗代谢物抑制剂各自静脉内施用。

30. 根据权利要求1-29中任一项所述的方法,其中所述肺癌为非小细胞肺癌(NSCLC)。

31. 根据权利要求30所述的方法,其中所述NSCLC为IV期非鳞状NSCLC。

32. 根据权利要求31所述的方法,其中所述个体从未接受过对IV期非鳞状NSCLC的治疗。

33. 根据权利要求31所述的方法,其中所述个体从未接受过对IV期非鳞状NSCLC的化疗。

34. 根据权利要求1-33中任一项所述的方法,其中所述个体为亚洲人。

35. 根据权利要求1-34中任一项所述的方法,其中所述个体至少65岁。

36. 根据权利要求1-35中任一项所述的方法,其中所述个体为从不吸烟者。

37. 根据权利要求1-36中任一项所述的方法,其中所述个体为PD-L1高。

38. 根据权利要求1-36中任一项所述的方法,其中所述个体为PD-L1阴性。

39. 一种治疗患有IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的个体的方法,其包括向所述个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,其中所述阿特殊单抗以1200mg的剂量施用,所述培美曲塞以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量施用,并且所述卡铂以足以达到 $\text{AUC}=6\text{mg}/\text{ml}/\text{min}$ 的剂量施用,其中所述治疗延长无进展生存期(PFS)。

40. 根据权利要求39所述的方法,其中治疗延长所述个体的总生存期(OS)。

41. 根据权利要求39或40所述的方法,其中在四个21天周期中施用阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,并且在第4周期后的21天周期中进一步施用阿特殊单抗和培美曲塞;其中在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量施用培美曲塞,并且在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以足以达到 $\text{AUC}=6\text{mg}/\text{ml}/\text{min}$ 的剂量施用卡铂,并且其中在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量进一步施用阿特殊单抗且在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量进一步施用培美曲塞。

42. 根据权利要求41所述的方法,其中在第1至第4周期的第1天依次施用阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂。

43. 根据权利要求42所述的方法,其中在第1至第4周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗,并且其中在卡铂之前施用培美曲塞。

44. 根据权利要求41-43中任一项所述的方法,其中在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天依次施用阿特殊单抗和培美曲塞。

45. 根据权利要求44所述的方法,其中在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗。

46. 根据权利要求39或40所述的方法,其中在六个21天周期中施用阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,并且在第6周期后的21天周期中进一步施用阿特殊单抗和培美曲塞,其中在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量施用培美曲塞,并且在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以足以达到 $\text{AUC}=6\text{mg}/\text{ml}/\text{min}$ 的剂量施用卡铂,并且其中在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量进一步施用阿特殊单抗且在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量进一步施用培美曲塞。

47. 根据权利要求46所述的方法,其中在第1至第6周期的第1天依次施用阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂。

48. 根据权利要求47所述的方法,其中在第1至第6周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗,并且其中在卡铂之前施用培美曲塞。

49. 根据权利要求46-48中任一项所述的方法,其中在第6周期后每周期的每个21天周

期的第1天依次施用阿特殊单抗和培美曲塞。

50. 根据权利要求49所述的方法,其中在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗。

51. 根据权利要求39-50中任一项所述的方法,其中所述阿特殊单抗、所述培美曲塞和所述卡铂各自静脉内施用。

52. 根据权利要求39-41中任一项所述的方法,其中治疗将所述个体的PFS延长至少约6个月。

53. 根据权利要求39-52中任一项所述的方法,其中治疗将所述个体的OS延长至少约15个月。

54. 一种治疗患有IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的个体的方法,其包括向所述个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,其中以1200mg的剂量施用所述阿特殊单抗,以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量施用所述培美曲塞,并且以 $75\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量施用所述顺铂,其中所述治疗延长所述个体的无进展生存期(PFS)。

55. 根据权利要求54所述的方法,其中治疗延长所述个体的总生存期(OS)。

56. 根据权利要求54或55所述的方法,其中在四个21天周期中施用阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,并且在第4周期后的21天周期中进一步施用阿特殊单抗和培美曲塞;其中在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量施用培美曲塞,并且在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以 $75\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量施用顺铂,并且其中在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量进一步施用阿特殊单抗且在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量进一步施用培美曲塞。

57. 根据权利要求56所述的方法,其中在第1至第4周期的第1天依次施用阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂。

58. 根据权利要求57所述的方法,其中在第1至第4周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗,并且其中在顺铂之前施用培美曲塞。

59. 根据权利要求56-58中任一项所述的方法,其中在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天依次施用阿特殊单抗和培美曲塞。

60. 根据权利要求59所述的方法,其中在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗。

61. 根据权利要求54或55所述的方法,其中在六个21天周期中施用阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,并且在第6周期后的21天周期中进一步施用阿特殊单抗和培美曲塞;其中在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量施用培美曲塞,并且在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以 $75\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量施用顺铂,并且其中在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量进一步施用阿特殊单抗且在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天以 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量进一步施用培美曲塞。

62. 根据权利要求61所述的方法,其中在第1至第6周期的第1天依次施用阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂。

63. 根据权利要求62所述的方法,其中在第1至第6周期的第1天,在培美曲塞之前施用

阿特殊单抗,并且其中在顺铂之前施用培美曲塞。

64. 根据权利要求61-63中任一项所述的方法,其中在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天依次施用阿特殊单抗和培美曲塞。

65. 根据权利要求64所述的方法,其中在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗。

66. 根据权利要求54-65中任一项所述的方法,其中所述阿特殊单抗、所述培美曲塞和所述顺铂各自静脉内施用。

67. 根据权利要求54-66中任一项所述的方法,其中治疗将所述个体的PFS延长至少约6个月。

68. 根据权利要求54-67中任一项所述的方法,其中治疗将所述个体的OS延长至少约15个月。

69. 根据权利要求39-68中任一项所述的方法,其中所述个体从未接受过对IV期非鳞状NSCLC的治疗。

70. 根据权利要求39-69中任一项所述的方法,其中所述个体从未接受过对IV期非鳞状NSCLC的化疗。

71. 根据权利要求39-70中任一项所述的方法,其中所述个体为亚洲人。

72. 根据权利要求39-71中任一项所述的方法,其中所述个体至少65岁。

73. 根据权利要求39-72中任一项所述的方法,其中所述个体为从不吸烟者。

74. 根据权利要求39-73中任一项所述的方法,其中所述个体为PD-L1高。

75. 根据权利要求39-74中任一项所述的方法,其中所述个体为PD-L1阴性。

76. 根据权利要求1-75中任一项所述的方法,其中所述个体为人。

77. 一种包含抗PD-L1抗体的试剂盒,所述抗PD-L1抗体用于与抗代谢物和铂剂联合,用于根据权利要求1-38和权利要求76中任一项所述的方法治疗患有肺癌的个体。

78. 一种包含阿特殊单抗的试剂盒,所述阿特殊单抗用于与培美曲塞和卡铂联合,用于根据权利要求39-53和权利要求69-76中任一项所述的方法治疗患有肺癌的个体。

79. 一种包含阿特殊单抗的试剂盒,所述阿特殊单抗用于与培美曲塞和顺铂联合,用于根据权利要求54-76中任一项所述的方法治疗患有肺癌的个体。

80. 一种抗PD-L1抗体,其用于治疗个体的肺癌的方法中,所述方法包括向所述个体施用有效量的抗PD-L1抗体、抗代谢物和铂剂,其中所述治疗延长所述个体的无进展生存期(PFS)和/或总生存期(OS)。

81. 根据权利要求80所述的抗PD-L1抗体,其用于根据权利要求1-38和权利要求76中任一项所述的方法中。

82. 一种包含阿特殊单抗的组合物,所述组合物用于治疗IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的方法中,所述方法包括向所述个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,其中以1200mg的剂量施用所述阿特殊单抗,以500mg/m²的剂量施用所述培美曲塞,并且以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用所述卡铂,并且其中所述治疗延长所述个体的无进展生存期(PFS)和/或总生存期(OS)。

83. 根据权利要求82所述的组合物,其用于根据权利要求39-53和权利要求69-76中任一项所述的方法中。

84. 一种包含阿特殊单抗的组合物,所述组合物用于治疗IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的方法中,所述方法包括向所述个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,其中以1200mg的剂量施用所述阿特殊单抗,以500mg/m²的剂量施用所述培美曲塞,并且以75mg/m²的剂量施用所述顺铂,并且其中所述治疗延长所述个体的无进展生存期(PFS)和/或总生存期(OS)。

85. 根据权利要求84所述的组合物,其用于根据权利要求54-76中任一项所述的方法中。

用PD-1轴结合拮抗剂、抗代谢物和铂剂治疗肺癌的方法

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2018年7月18日提交的美国临时申请号62/700,184和2018年9月21日提交的美国临时申请号62/734,936的权益,其各自的内容在此通过引用全部并入本文。

[0003] 以ASCII文本文件提交序列列表

[0004] 以下提交的ASCII文本文件的内容全文以引用方式并入本文:序列列表的计算机可读格式(CRF)(文件名:146392045140SEQLIST.TXT,记录日期:2019年7月12日,大小:37KB)。

技术领域

[0005] 本公开涉及通过施用PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特珠单抗(Atezolizumab))与抗代谢物(例如培美曲塞(pemetrexed))和铂剂(例如卡铂或顺铂)联合来治疗癌症的方法。

背景技术

[0006] 肺癌仍然是全球癌症死亡的主要原因,它是男性中最常见的癌症,约占2008年所有新癌症的13%(Jemal等人,(2011)CA Cancer J.Clin 61:69-90)。据估计,2012年欧洲有313,000例新肺癌病例和268,000例肺癌死亡(GLOBOCAN(2012))。估计的癌症发病率:2012年全球死亡率和患病率可从以下网站获取:globocan(dot)iarc(dot)fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)。来自美国的类似数据估计,2015年将有221,200例肺癌新病例和158,040例肺癌死亡(Siegel等人,(2015)CA Cancer J Clin.65:5-29)。

[0007] 非小细胞肺癌(NSCLC)是肺癌的主要亚型,约占所有病例的85%(Molina等人,(2008)Mayo Clin Proc 83:584(94);Howlander等人,(2011)SEE R cancer statistics review,1975-2011,National Cancer Institute)。NSCLC可分为两种主要的组织学类型:腺癌和鳞状细胞癌(Travis等人,(2011)J Thorac Oncol 6:244-85)。腺癌组织学占有NSCLC的一半以上,而鳞状细胞组织学约占25%(Langer等人,(2010)J Clin Oncol28:5311-20)。其余的NSCLC病例以大细胞癌、神经内分泌肿瘤、肉瘤样癌和低分化的组织学为代表。

[0008] 根据地理位置的不同,晚期疾病的5年总生存率是2%-4%(Cetin等人,(2011)Clin Epidemiol 3:139-48)。NSCLC患者生存的不良预后因素包括初诊时疾病晚期、状态不佳以及无意减重史。超过一半的NSCLC患者诊断出患有远端疾病,这直接导致生存前景不佳。

[0009] 对于不伴有EGFR突变或ALK基因重排的局部晚期或转移性NSCLC患者,基于铂-的方案仍然是标准一线治疗方案。特别是,对于新诊断的晚期非鳞状NSCLC,护理标准是具有顺铂或卡铂和紫杉烷或培美曲塞含铂双药,有或没有贝伐单抗。但是,当前的治疗方案与大量毒性有关(例如发热性中性粒细胞减少、骨髓抑制、恶心、脱发、肾病和神经病),并且通常老年人和状态不佳的患者对其耐受性差。此外,细胞毒性化疗所带来的生存益处已达到平稳阶段,总应答率约为20%,并且1年生存率范围为31%至36%(Schiller等人,(2002)N Engl J Med.346:92-98)。

[0010] 腺癌和鳞状NSCLC之间在疾病特征方面存在公认的差异。首先,鳞状肿瘤通常存在于中央气道中,并且通常保留定位在支气管上皮中(Hirsch等人,(2008) *J Thorac Oncol.* 3:1468-1481),而非-鳞状肿瘤更常见定位于中央气道远端的肺实质。对NSCLC肿瘤组织的评估通常揭示了鳞状细胞类型(角质化、细胞内桥和中央坏死)和腺癌(腺体结构)之间的细胞学差异。在肿瘤样品分化差或可用组织有限的情况下,免疫组织化学标志物可支持组织学诊断。甲状腺转录因子-1在鳞状细胞中很少表达,在腺癌中强烈表达。相比之下,p63、CK5/6和34 β E12在鳞状细胞癌中强烈表达,而在腺癌中则较少见(Travis等人,(2011) *J Thorac Oncol.* 6:244-85)。

[0011] 在NSCLC中具有预后和/或预测意义的遗传变化包括表皮生长因子受体(EGFR)的突变、间变性淋巴瘤激酶(ALK)基因的重排和GTPase Kras (KRAS)基因的突变。这些突变的发生率在鳞状细胞癌和腺癌之间不同。例如,已有10%-40%的腺癌NSCLC患者报道了EGFR激酶结构域突变,但在鳞状NSCLC患者中很少见到这种突变(Herbst等人,(2008) *N Engl J Med.* 359:1367-80)。类似地,在约7%的腺癌患者中观察到ALK融合癌基因(其被认为是肺肿瘤发生的驱动基因),但是其在鳞状组织学中非常罕见(Herbst等人,(2008) *N Engl J Med.* 359:1367-80;Langer等人(2010) *J Clin Oncol* 28:5311-20)。此外,KRAS突变在鳞状NSCLC中非常罕见,而其在多达30%的腺癌NSCLC病例中可以观察到(Travis等人,(2011) *J Thorac Oncol.* 6:244-85)。

[0012] 以基因型为导向的疗法有潜力显著改善选择的NSCLC患者(主要是非鳞状组织学)的益处和毒性之间的平衡,所述NSCLC的特征在于驱动癌基因的改变,包括致敏的EGFR突变和ALK重排。但是,这些突变在腺癌NSCLC中更为普遍,在鳞状NSCLC中非常罕见。与含铂双药化疗相比,吉非替尼(IPASS)、厄洛替尼(EURTAC)和阿法替尼(LUX-Lung 3)的III期随机研究显示显著改善PFS和ORR(Fukuoka等人,(2011) *J Clin Oncol.* 29:2866-2874;Rosell等人,(2012) *Lancet Oncol.* 13:239-246;Yang等人(2012) *Lancet Oncol.* 13:539-548)。同样,ALK抑制剂克唑替尼和色瑞替尼在ALK重排阳性的NSCLC患者中也显示出了功效,所述ALK重排阳性由荧光原位杂交所定义(Crino等人,(2011) *J Clin Oncol.* 29:Abstract7514;Camidge等人,(2012) *Lancet Oncol.* 13:1011-1019;Shaw等人,(2012) European Society of Medical Oncology Meeting. Abstract LBA1 PR;Shaw等人,(2014) *N Engl J Med.* 370:2537-2539;XALKORI[®]USPI;ZYKADIA[™] USPI)。

[0013] 尽管在新的靶向治疗和新的化疗联合方面取得了进展,但晚期NSCLC疾病的生存率仍然低,并且对靶向试剂获得的抗性是主要的临床问题。因此,在本领域中需要替代治疗选项来改善患有该疾病的患者的预后,例如延长生存率的治疗方法。

[0014] 本文所引用的所有参考文献,包括专利申请、专利公布和UniProtKB/Swiss-Prot登录号以全文引用的方式并入本文中,如同每个个别参考文献特定地和个别地指示为以引用的方式并入一样。

发明内容

[0015] 本文提供了抗PD-L1抗体用于治疗肺癌患者的方法和用途。尤其是,这些方法和用途是基于在未接受过治疗的IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)个体(例如未接受过化疗的个体)的治疗中的阿特殊单抗(TECETRIQ[®])联合培美曲塞和铂剂(例如卡铂或顺铂)的

III期随机临床研究的数据。该研究表明,与只化疗相比,TECENTRIQ®(阿特殊单抗)加化疗(培美曲塞+卡铂或培美曲塞+顺铂)的联合的初始(一线)治疗降低了疾病恶化或死亡(PFS)的风险。此外,与只化疗相比,接受TECENTRIQ®(阿特殊单抗)加化疗(培美曲塞+卡铂或培美曲塞+顺铂)的患者展现出总体生存期的数字改善。TECENTRIQ和化学疗法联合的安全性似乎与单个药物的已知安全性相一致,并且该组合未发现新的安全性信号。

[0016] 一方面,本文提供治疗患有肺癌的个体的方法,包括向该个体施用有效量的抗PD-L1抗体、抗代谢物和铂剂,其中该治疗延长了个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗延长了个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约7.6个月。在一些实施例中,与接受了抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)治疗的患有肺癌(例如非小细胞肺癌,诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的个体相比,该治疗使个体的PFS增加至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。

[0017] 在另一方面,本文提供了治疗患有肺癌的个体的方法,包括向所述个体施用有效量的抗PD-L1抗体、抗代谢物和铂剂,其中所述治疗延长了所述个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,总生存期(OS)被测量为从治疗开始到死亡的时间段。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约18.1个月。在一些实施例中,与患有肺癌(例如非小细胞肺癌,诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)并接受抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)治疗的个体相比,该治疗使个体的OS增加至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5或7个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。

[0018] 在一些实施例中,抗PD-L1抗体包括:(a)重链可变区(VH),其包含含有氨基酸序列GFTFSDSWIH(SEQ ID NO:1)的HVR-H1、含有氨基酸序列AWISPYGGSTYYADSVKG(SEQ ID NO:2)的HVR-2以及含有氨基酸RHWPGGFDY(SEQ ID NO:3)的HVR-3;和(b)轻链可变区(VL),其包含含有氨基酸序列RASQDVSTAVA(SEQ ID NO:4)的HVR-L1、含有氨基酸序列SASFLYS(SEQ ID NO:5)的HVR-L2以及含有氨基酸序列QQYLYHPAT(SEQ ID NO:6)的HVR-L3。在一些实施例中,抗PD-L1抗体包含含有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变区(VH)和含有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变区(VL)。在一些实施例中,抗PD-L1抗体是阿特殊单抗。

[0019] 在一些实施例中,抗代谢物是培美曲塞、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿苷、氟达拉滨、羟基脲或甲氨蝶呤。在一些实施例中,抗代谢物是培美曲塞。在一些实施例中,铂剂是卡铂。在一些实施例中,铂剂是顺铂。

[0020] 在一些实施例中,抗PD-L1抗体以1200mg的剂量施用,其中铂剂是卡铂并且以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用,其中抗代谢物是培美曲塞并且以500mg/m²的剂量施用。在一些实施例中,抗PD-L1抗体以1200mg的剂量施用,其中所述铂剂是顺铂并且以75mg/m²的剂量施用,并且其中所述抗代谢物是培美曲塞并且以500mg/m²的剂量施用。在一些实施例中,在四个21天的周期中施用所述抗PD-L1抗体、所述抗代谢物和所述铂剂,并且在第1至第4周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体是阿特殊单抗并且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物是培美曲塞并且在第1天以500mg/m²的剂量施用,其中所述铂剂

是卡铂并且在第1天以足以达到 $AUC=6\text{mg/ml/min}$ 的剂量施用。在一些实施例中,在四个21天的周期中施用所述抗PD-L1抗体、所述抗代谢物和所述铂剂,并且在第1至第4周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体是阿特殊单抗并且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物是培美曲塞并且在第1天以 500mg/m^2 的剂量施用,其中所述铂剂是卡铂并且在第1天以 75mg/m^2 的剂量施用。在一些实施例中,在第1至第4周期的第1天依次施用抗PD-L1抗体、抗代谢物和铂剂。在一些实施例中,在第1至第4周期的第1天,在所述抗代谢物之前施用所述抗PD-L1抗体,并且其中在所述铂剂之前施用所述抗代谢物。在一些实施例中,在第4周期之后进一步施用所述抗PD-L1抗体和所述抗代谢物,在周期4后每周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体是阿特殊单抗并且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物是培美曲塞并且在第1天以 500mg/m^2 的剂量施用。在一些实施例中,在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天依次施用所述抗PD-L1抗体和所述抗代谢物。在一些实施例中,在第4周期后的第1天,在所述抗代谢物之前施用所述抗PD-L1抗体。

[0021] 在一些实施例中,在四个21天的周期中施用所述抗PD-L1抗体、所述抗代谢物和所述铂剂,并且在第1至第6周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体是阿特殊单抗并且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物是培美曲塞并且在第1天以 500mg/m^2 的剂量施用,其中所述铂剂是卡铂并且以足以在第1天达到 $AUC=6\text{mg/ml/min}$ 的剂量施用。在一些实施例中,在四个21天的周期中施用所述抗PD-L1抗体、所述抗代谢物和所述铂剂,并且在第1至第6周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体是阿特殊单抗并且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物是培美曲塞并且在第1天以 500mg/m^2 的剂量施用,其中所述铂剂是顺铂并且在第1天以 75mg/m^2 的剂量施用。在一些实施例中,在第1至第6周期的第1天依次施用抗PD-L1抗体、抗代谢物和铂剂。在一些实施例中,在第1至第6周期的第1天,在所述抗代谢物之前施用所述抗PD-L1抗体,并且其中在所述铂剂之前施用所述抗代谢物。在一些实施例中,在第6周期之后进一步施用所述抗PD-L1抗体和所述抗代谢物,在周期6后每周期的每个21天周期,其中所述抗PD-L1抗体是阿特殊单抗并且在第1天以1200mg的剂量施用,其中所述抗代谢物是培美曲塞并且在第1天以 500mg/m^2 的剂量施用。在一些实施例中,在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天依次施用所述抗PD-L1抗体和所述抗代谢物。在一些实施例中,在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天,在所述抗代谢物之前施用所述抗PD-L1抗体。

[0022] 在一些实施例中,抗PD-L1抗体、铂剂和抗代谢物抑制剂各自静脉内施用。在一个实施例中,肺癌是非小细胞肺癌(NSCLC)。在一些实施例中,NSCLC是IV期非鳞状NSCLC。在一些实施例中,个体未接受过对IV期非鳞状NSCLC的治疗。在一些实施例中,个体未接受过对IV期非鳞状NSCLC的化疗。在一些实施例中,个体是亚洲人或亚洲人后裔。在一些实施例中,个体至少65岁。在一些实施例中,个体是从不吸烟者。在一些实施例中,个体为PD-L1高。在一些实施例中,个体为PD-L1阴性。在一些实施例中,个体是人。

[0023] 在另一方面,本文提供了一种治疗患有IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的个体的方法,其包括向所述个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,其中所述阿特殊单抗以1200mg的剂量施用,所述培美曲塞以 500mg/m^2 的剂量施用,所述卡铂以足以达到 $AUC=6\text{mg/ml/min}$ 的剂量施用,其中所述治疗延长无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗延长了个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约

5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约7.6个月。在一些实施例中,与接受了培美曲塞和卡铂治疗的患有肺癌(例如非小细胞肺癌,诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的个体相比,该治疗使个体的PFS增加至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗延长个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,总生存期(OS)被测量为从治疗开始到死亡的时间段。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约18.1个月。在一些实施例中,与患有肺癌(例如非小细胞肺癌,诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)并接受培美曲塞和卡铂治疗的个体相比,该治疗使个体的OS增加至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5或7个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,在四个21天周期中施用阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,并且在第4周期后的21天周期中进一步施用阿特殊单抗和培美曲塞;其中在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用卡铂,其中在第4周期后每周的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量进一步施用阿特殊单抗,在第4周期后每周的每个21天周期的第1天以500mg/m²的剂量进一步施用培美曲塞。在一些实施例中,在第1至第4周期的第1天依次施用阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂。在一些实施例中,在第1至第4周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗,其中在卡铂之前施用培美曲塞。在一些实施例中,在第4周期后每周的每个21天周期的第1天依次施用阿特殊单抗和培美曲塞。在一些实施例中,在第4周期后每周的每个21天周期的第1天,在培美曲塞之前施用所述阿特殊单抗。在一些实施例中,在六个21天周期中施用阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,并且在第6周期后的21天周期中进一步施用阿特殊单抗和培美曲塞;其中在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用卡铂,其中在第6周期后每周的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量进一步施用阿特殊单抗,在第6周期后每周的每个21天周期的第1天以500mg/m²的剂量进一步施用培美曲塞。在一些实施例中,在第1至第6周期的第1天依次施用阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂。在一些实施例中,在第1至第6周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗,其中在卡铂之前施用培美曲塞。在一些实施例中,在第6周期后每周的每个21天周期的第1天依次施用阿特殊单抗和培美曲塞。在一些实施例中,在第6周期后每周的每个21天周期的第1天,在所述培美曲塞之前施用所述阿特殊单抗。在一些实施例中,阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂分别静脉内施用。

[0024] 在另一方面,本文了提供一种治疗患有IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的个体的方法,其包括向所述个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,其中所述阿特殊单抗以1200mg的剂量施用,所述培美曲塞以500mg/m²的剂量施用,所述顺铂以75mg/m²的剂量施用,其中所述治疗延长所述个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗延长了个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约5.5、6、

6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约7.6个月。在一些实施例中,与接受了培美曲塞和顺铂治疗的患有肺癌(例如非小细胞肺癌,诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的个体相比,该治疗使个体的PFS增加至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗延长个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,总生存期(OS)被测量为从治疗开始到死亡的时间段。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约18.1个月。在一些实施例中,与接受了培美曲塞和顺铂治疗的患有肺癌(例如非小细胞肺癌,诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的个体相比,该治疗使个体的OS增加至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5或7个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,在四个21天周期中施用阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,并且在第4周期后的21天周期中进一步施用阿特殊单抗和培美曲塞;其中在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,在第1至第4周期的每个21天周期的第1天以75mg/m²的剂量施用顺铂,其中在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量进一步施用阿特殊单抗,在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天以500mg/m²的剂量进一步施用培美曲塞。在一些实施例中,在第1至第4周期的第1天依次施用阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂。在一些实施例中,在第1至第4周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗,其中在顺铂之前施用培美曲塞。在一些实施例中,在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天依次施用阿特殊单抗和培美曲塞。在一些实施例中,在第4周期后每周期的每个21天周期的第1天,在培美曲塞之前施用所述阿特殊单抗。在一些实施例中,在六个21天周期中施用阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,并且在第6周期后的21天周期中进一步施用阿特殊单抗和培美曲塞;其中阿特殊单抗在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量施用,培美曲塞在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以500mg/m²的剂量施用,顺铂在第1至第6周期的每个21天周期的第1天以75mg/m²的剂量施用,其中阿特殊单抗在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天以1200mg的剂量进一步施用,培美曲塞在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天以500mg/m²的剂量进一步施用。在一些实施例中,在第1至第6周期的第1天依次施用阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂。在一些实施例中,在第1至第6周期的第1天,在培美曲塞之前施用阿特殊单抗,其中在顺铂之前施用培美曲塞。在一些实施例中,其中在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天依次施用阿特殊单抗和培美曲塞。在一些实施例中,在第6周期后每周期的每个21天周期的第1天,在培美曲塞之前施用所述阿特殊单抗。在一些实施例中,阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂各自静脉内施用。

[0025] 在一些实施例中,个体未接受过对IV期非鳞状NSCLC的治疗。在一些实施例中,个体未接受过对IV期非鳞状NSCLC的化疗。在一些实施例中,个体是亚洲人或亚洲人后裔。在一些实施例中,个体至少65岁。在一些实施例中,个体是从不吸烟者。在一些实施例中,个体为PD-L1高。在一些实施例中,个体为PD-L1阴性。在一些实施例中,个体是人。

[0026] 在另一方面,提供了一种包含抗PD-L1抗体的试剂盒,所述抗PD-L1抗体用于与抗代谢物和铂剂联合,用于根据本文所述的方法治疗患有肺癌的个体。在一些实施例中,提供

了一种包含阿特殊单抗的试剂盒,所述阿特殊单抗用于与培美曲塞和卡铂联合,用于根据本文所述的方法治疗患有肺癌的个体。在一些实施例中,提供了一种包含阿特殊单抗的试剂盒,所述阿特殊单抗用于与培美曲塞和顺铂联合,用于根据本文所述的方法治疗患有肺癌的个体。

[0027] 在另一方面,本文提供了一种包含抗PD-L1抗体的组合物,用于治疗个体的肺癌的方法,所述方法包括向所述个体施用有效量的抗PD-L1抗体、抗代谢物和铂剂,其中所述治疗延长所述个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗延长个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,包含抗PD-L1抗体的组合物用于根据本文公开的方法。

[0028] 在另一个方面,本文提供了包含阿特殊单抗的组合物,用于治疗IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的方法,所述方法包括向个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,其中阿特殊单抗以1200mg的剂量施用,培美曲塞以500mg/m²的剂量施用,卡铂以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用,并且其中所述治疗延长所述个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗延长个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,组合物用于根据本文公开的方法。

[0029] 在另一个方面,本文提供了包含阿特殊单抗的组合物,用于治疗IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的方法,所述方法包括向个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,其中阿特殊单抗以1200mg的剂量施用,培美曲塞以500mg/m²的剂量施用,顺铂以75mg/m²的剂量施用,并且其中所述治疗延长所述个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗延长个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,组合物用于根据本文公开的方法。

[0030] 应了解,本文所描述的各种实施例的一种、一些或所有特性可组合形成本发明的其它实施例。本发明的这些和其它方面对于本领域技术人员将变得显而易见。通过下面的详细描述进一步描述本发明的这些和其它实施例。

附图说明

[0031] 图1提供了实例1中描述的临床试验的研究设计的示意图。578名患者入选。A组包括292名患者,B组包括286名患者。A组患者接受治疗,直到进展性疾病(PD)或失去临床益处为止;B组患者接受治疗直到PD。

[0032] 图2提供了A组(阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂)对比B组(培美曲塞+卡铂或顺铂)的患者的无进展生存期(PFS)的Kaplan-Meier图。

[0033] 图3提供了A组(阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂)对比B组(培美曲塞+卡铂或顺铂)的患者的总生存期(OS)的Kaplan-Meier图。

[0034] 图4提供了A组对比B组患者确认的总应答率(ORR)的比较(CR=完全应答;CR/PR=完全应答/部分应答;SD=稳定疾病;PD=进展性疾病。)根据RECIST v1.1标准评估了ORR。

[0035] 图5A提供了一个森林图,显示了在A组(APP)对比B组(PP)中具有各种基线风险因素的患者PFS的亚组分析。(APP=阿妥珠单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂;PP=培美曲塞+卡铂或顺铂。)

[0036] 图5B提供了一个森林图,显示了在A组(APP)对比B组(PP)中具有各种基线风险因素的患者PFS的亚组分析。(APP=阿妥珠单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂;PP=培美曲塞+卡铂或顺铂。)

[0037] 图6提供了一个森林图,显示了在A组(APP)对比B组(PP)中具有各种基线风险因素的患者OS的亚组分析。(APP=阿妥珠单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂;PP=培美曲塞+卡铂或顺铂。)

[0038] 图7A提供了A组(阿特珠单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂)对比B组(培美曲塞+卡铂或顺铂)的“PD-L1高”患者的无进展生存期(PFS)的Kaplan-Meier图。

[0039] 图7B提供了A组(阿特珠单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂)对比B组(培美曲塞+卡铂或顺铂)的“PD-L1低”患者的无进展生存期(PFS)的Kaplan-Meier图。

[0040] 图7C是A组(阿特珠单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂)对比B组(培美曲塞+卡铂或顺铂)的“PD-L1阴性”患者的无进展生存期(PFS)的图。

具体实施方式

[0041] I. 定义

[0042] 在详细描述本发明之前,应当理解,本发明不限于特定的组合物或生物学系统,这些组合物或生物学系统当然可以变化。另外应当了解,本文使用的术语只是为了描述特定实施例的目的,并非旨在进行限制。

[0043] 如在本说明书和所附权利要求中所用,单数形式“一个”、“一种”、“该”和“所述”包括复数指代物,除非该内容另外明确规定。因此,例如,对“分子”的提及包括两个或更多此类分子的组合等。

[0044] 如本文所用的术语“约”是指为此技术领域中的技术人员容易知晓的相应值的常见误差范围。在本文中提及“约”值或参数包括(且描述)涉及该值或参数本身的实施例。

[0045] 应理解,本文所述的本发明的方面和实施例包括“包含”、“由以下组成”及“基本上由以下组成”所指的方面和实施例。

[0046] 术语“PD-1轴结合拮抗剂”是指抑制PD-1轴结合配偶体与其一个或多个结合配偶体的相互作用的分子,以消除由PD-1信号传导轴引起的T细胞功能障碍,其结果是恢复或增强T细胞功能(例如增殖、细胞因子产生、靶细胞杀伤)。如本文所用,PD-1轴结合拮抗剂包括PD-1结合拮抗剂、PD-L1结合拮抗剂和PD-L2结合拮抗剂。

[0047] 术语“PD-1结合拮抗剂”是指减少、阻断、抑制、消除或干扰由PD-1与其一个或多个结合配偶体(诸如PD-L1、PD-L2)的相互作用产生的信号传导的分子。在一些实施例中,PD-1结合拮抗剂为抑制PD-1与其一个或多个结合配偶体结合的分子。在具体方面,PD-1结合拮抗剂抑制PD-1与PD-L1和/或PD-L2的结合。例如,PD-1结合拮抗剂包括抗PD-1抗体及其抗原结合片段、免疫粘附素、融合蛋白、寡肽以及其它减少、阻断、抑制、消除或干扰由PD-1与PD-L1和/或PD-L2相互作用产生的信号传导。在一个实施例中,PD-1结合拮抗剂可减少由T淋巴细胞上表达的细胞表面蛋白介导的通过PD-1的信号传导所介导的或通过其的负共刺激信号,从而使功能障碍的T细胞功能障碍较少(例如,提高效应子对抗原识别的应答)。在一些实施例中,PD-1结合拮抗剂为抗PD-1抗体。下文提供了PD-1结合拮抗剂的具体实例。

[0048] 术语“PD-L1结合拮抗剂”是指减少、阻断、抑制、消除或干扰由PD-L1与其一个或多个结合配偶体(诸如PD-1、B7-1)的相互作用产生的信号传导的分子。在一些实施例中,PD-L1结合拮抗剂为抑制PD-L1与其结合配偶体结合的分子。在具体方面,PD-L1结合拮抗剂抑制PD-L1至PD-1和/或B7-1的结合。在一些实施例中,PD-L1结合拮抗剂包括抗PD-L1抗体,其

抗原结合片段、免疫粘附素、融合蛋白、寡肽和其它减少、阻断、抑制、消除或干扰由PD-L1与其一个或多个结合配偶体(诸如PD-1、B7-1)相互作用产生的信号传导。在一个实施例中,PD-L1结合拮抗剂可减少由T淋巴细胞上表达的细胞表面蛋白介导的通过PD-L1的信号传导所介导的或通过其的负共刺激信号,从而使功能障碍的T细胞功能障碍较少(例如,提高效应子对抗原识别的应答)。在一些实施例中,PD-L1结合拮抗剂为抗PD-L1抗体。下文提供了PD-L1结合拮抗剂的具体实例。

[0049] 术语“PD-L2结合拮抗剂”是指减少、阻断、抑制、消除或干扰由PD-L2与其一种或多种结合配偶体(诸如PD-1)的相互作用产生的信号传导的分子。在一些实施例中,PD-L2结合拮抗剂为抑制PD-L2与其一个或多个结合配偶体结合的分子。在具体方面,PD-L2结合拮抗剂抑制PD-L2与PD-1的结合。在一些实施例中,PD-L2拮抗剂包括抗PD-L2抗体,其抗原结合片段、免疫粘附素、融合蛋白、寡肽和其它减少、阻断、抑制、消除或干扰由PD-L2与其一个或多个结合配偶体(诸如PD-1)相互作用产生的信号传导。在一个实施例中,PD-L2结合拮抗剂可减少由T淋巴细胞上表达的细胞表面蛋白介导的通过PD-L2的信号传导所介导的或通过其的负共刺激信号,从而使功能障碍的T细胞功能障碍较少(例如,提高效应子对抗原识别的应答)。在一些实施例中,PD-L2结合拮抗剂为免疫粘附素。

[0050] “持续应答”是指在停止治疗后对减少肿瘤生长的持续作用。例如,与给药阶段开始时的大小相比,肿瘤大小可以保持相同或更小。在一些实施例中,持续应答的持续时间至少与治疗持续时间相同,为治疗持续时间的至少1.5X、2.0X、2.5X或3.0X长度。

[0051] 术语“药物制剂”是指处于允许活性成分的生物学活性有效的形式,并且不含对于将被施用制剂的受试者具有不可接受的毒性的另外组分的制备物。此类制剂为无菌制剂。“药用的”赋形剂(媒介物、添加剂)是指可合理地施用于哺乳动物受试者以提供有效剂量的所用活性成分的赋形剂。

[0052] 如本文所用,术语“治疗”是指设计为在临床病理过程中改变被治疗的个体或细胞的自然过程的临床干预。理想的治疗效果包括降低疾病进展速度、减缓或减轻疾病状态以及缓解或改善预后。例如,如果缓和或消除了与癌症有关的一种或多种症状,包括但不限于减少癌细胞的增殖(或破坏癌细胞)、减轻由疾病引起的症状、增加患有该疾病的人的生活质量、减少治疗该疾病所需的其它药物的剂量和/或延长个体的生存期,则成功地“治疗”了个体。

[0053] 如本文所用,“延迟疾病的进展”是指延缓、阻碍、减缓、延滞、稳定和/或推迟疾病(例如癌症)的发展。这种延迟可以具有不同的时间长度,这取决于病史和/或待治疗的个体。对于本领域技术人员显而易见的是,充分或显著延迟实际上可以涵盖预防,因为个体不会患该病。例如,晚期癌症,诸如转移的发展,可能被延迟。

[0054] “有效量”至少是实现可测量的改善或预防特定病症所需的最小量。本文的有效量可以根据诸如患者的疾病状态、年龄、性别和体重以及抗体在个体中引起预期应答的能力等因素而变化。有效量也是治疗有益作用超过治疗的任何毒性或有害作用的量。对于预防用途、有益或预期结果包括诸如消除或降低风险、减轻严重程度或延迟疾病发作,包括疾病的生化、组织学和/或行为症状、其并发症以及在疾病发展过程中出现的中间病理表型。对于治疗用途、有益或预期结果包括临床结果,诸如减少由疾病引起的一种或多种症状、提高患病者的生活质量、减少治疗该疾病所需的其他药物的剂量、增强其他药物的效果(诸如通

过靶向、延迟疾病进展和/或延长生存期)。在癌症或肿瘤的情况下,有效量的药物可能减少癌细胞的数量;减小肿瘤大小;抑制(即在某种程度上减慢或预期停止)癌细胞浸润进入周围器官中;抑制(即在某种程度上减慢并预期停止)肿瘤转移;在某种程度上抑制肿瘤的生长;以及/或在某种程度上减轻与病症有关的一种或多种症状。有效量可以一次或多次施用。出于本发明的目的,药物、化合物或药物组合物的有效量为足以直接或间接地进行预防或治疗的量。如在临床背景中所理解的,与另一药物、化合物或药物组合物结合可以达到或不能达到有效量的药物、化合物或药物组合物。因此,可以在施用一个或多个治疗剂的情况下考虑“有效量”,并且如果与一个或多个其它试剂结合可以获得或实现预期结果,则可以考虑施用有效量的单一试剂。

[0055] 如本文所用,“与……结合”是指除另一种治疗方式之外还施用一种治疗方式。本身,“与……结合”是指在向个体施用另一种治疗方式之前、之中或之后施用一种治疗方式。

[0056] “病症”是将从治疗获益的任何病状,包括但不限于慢性和急性病症或疾病,包括那些使哺乳动物易患所述病症的病理性病状。

[0057] 术语“细胞增殖性病症”和“增殖性病症”是指与某种程度的异常细胞增殖相关的病症。在一个实施例中,所述细胞增殖性病症为癌症。在一个实施例中,所述细胞增殖性病症为肿瘤。

[0058] 如本文所用,术语“肿瘤”是指所有赘生性细胞生长和增殖(无论是恶性还是良性),以及所有前癌性和癌性细胞和组织。术语“癌症”、“癌性”、“细胞增殖性病症”、“增殖性病症”和“肿瘤”在本文中并不互相排斥。

[0059] 术语“癌症”和“癌性”是指或描述哺乳动物中通常以细胞生长不受控制为特征的生理状况。癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体实例包括但不限于:鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃或胃癌(包括胃肠道癌和胃肠道间质癌)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、泌尿道癌、肝癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾或肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌、黑色素瘤、浅表扩散性黑色素瘤、雀斑样恶性黑色素瘤、肢端雀斑样黑色素瘤、结节性黑色素瘤、多发性骨髓瘤和B细胞淋巴瘤(包括低级/滤泡性非霍奇金淋巴瘤(NHL)、小淋巴细胞(SL)NHL、中级/滤泡性NHL、中级弥散性NHL、高级免疫母细胞性NHL、高级淋巴母细胞性NHL、高级小无裂细胞性NHL、大块状疾病性NHL、套细胞淋巴瘤、AIDS相关淋巴瘤和Waldenstrom's巨球蛋白血症)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、毛细胞白血病、慢性粒细胞性白血病和移植后的淋巴增生性疾病(PTLD)、以及与斑痣性错构瘤病相关的异常血管增生、浮肿(例如与脑肿瘤有关)、Meigs'综合征、脑以及头颈癌、以及相关转移。在某些实施例中,适于通过本发明的抗体治疗的癌症包括乳腺癌、结直肠癌、直肠癌、非小细胞肺癌、胶质母细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、肾细胞癌、前列腺癌、肝癌、胰腺癌、软组织肉瘤、卡波西肉瘤、类癌、头颈癌、卵巢癌、间皮瘤和多发性骨髓瘤。在一些实施例中,所述癌症选自:小细胞肺癌、胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤、黑素瘤、乳腺癌、胃癌、结直肠癌(CRC)和肝细胞癌。

[0060] 如本文所用,术语“细胞毒性剂”是指对细胞有害(例如,引起细胞死亡、抑制增殖或以其它方式阻碍细胞功能)的任何试剂。细胞毒性剂包括但不限于放射性同位素(例如

At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212和Lu的放射性同位素)；化疗剂；生长抑制剂；酶及其片段，例如溶核酶；和毒素，例如细菌、真菌、植物或动物来源的小分子毒素或酶活性毒素，包括其片段和/或变体。示例性细胞毒性剂可以选自抗微管剂、铂配位络合物、烷基化剂、抗生素剂、拓扑异构酶II抑制剂、抗代谢物、拓扑异构酶I抑制剂、激素和激素类似物、信号转导途径抑制剂、非受体酪氨酸激酶血管生成抑制剂、免疫治疗剂、促凋亡剂、LDH-A抑制剂、脂肪酸生物合成抑制剂、细胞周期信号传导抑制剂、HDAC抑制剂、蛋白酶体抑制剂和癌症代谢抑制剂。在一个实施例中，细胞毒性剂是紫杉烷。在一个实施例中，紫杉烷是紫杉醇或多西他赛。在一个实施例中，细胞毒性剂是铂剂。在一个实施例中，细胞毒性剂是EGFR的拮抗剂。在一个实施例中，EGFR的拮抗剂是N-(3-乙炔基苯基)-6,7-双(2-甲氧基乙氧基)喹唑啉-4-胺(例如厄洛替尼)。在一个实施例中，细胞毒性剂是RAF抑制剂。在一个实施例中，RAF抑制剂是BRAF和/或CRAF抑制剂。在一个实施例中，RAF抑制剂是维罗非尼。在一个实施例中，细胞毒性剂是PI3K抑制剂。

[0061] “化疗剂”包括用于治疗癌症的化合物。化疗剂的实例包括厄洛替尼(TARCEVA®，Genentech/OSI Pharm.)、硼替佐米(VELCADE®，Millennium Pharm.)、双硫仑、表没食子儿茶素没食子酸酯、盐孢菌酰胺A(salinosporamide A)、卡非佐米、17-AAG(geldanamycin)、根赤壳菌素、乳酸脱氢酶A(LDH-A)、氟维司群(FASLODEX®，AstraZeneca)、sunitib(SUTENT®，Pfizer/Sugen)、来曲唑(FEMARA®，Novartis)、甲磺酸伊马替尼(GLEEVEC®，Novartis)、finasunate(VATALANIB®，Novartis)、奥沙利铂(ELOXATIN®，Sanofi)、5-FU(5-氟尿嘧啶)、亚叶酸、雷帕霉素(Sirolimus，RAPAMUNE®，Wyeth)、拉帕替尼(TYKERB®，GSK572016，Glaxo Smith Kline)、Lonafamib(SCH 66336)、索拉非尼(NEXAVAR®，Bayer Labs)、吉非替尼(IRESSA®，AstraZeneca)、AG1478、烷基化剂如噻替派和CYTOXAN®环磷酰胺；烷基磺酸盐，例如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡；氮丙啶类，例如苯佐替派(benzodopa)、卡巴醌(carboquone)、美妥替哌(meturedopa)和乌瑞替哌(uredopa)；乙烯亚胺类和甲基蜜胺类，包括六甲蜜胺、三亚乙基蜜胺(triethylenemelamine)、三亚乙基磷酰胺(triethylenephosphoramidate)、三亚乙基硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramidate)和三甲基蜜胺(trimethylmelamine)；acetogenins(特别是bullatacin和bullatacinone)；喜树碱(包括拓扑替康和伊立替康)；苔藓抑素(bryostatin)；callystatin；CC-1065(包括其adozelesin、carzelesin和bizelesin合成类似物)；念珠藻素类(cryptophycin)(尤其是念珠藻素1和念珠藻素8)；肾上腺皮质类固醇(包括泼尼松和泼尼松龙)；醋酸环丙孕酮；5 α -还原酶，包括非那雄胺和度他雄胺)；伏立诺他、罗米地辛、泛比司他、丙戊酸、莫西司他多拉司丁(mocetinostat dolastatin)；阿地白介素、滑石倍癌霉素(包括合成类似物KW-2189和CB1-TM1)；eleutherobin；水鬼蕉碱(pancratistatin)；sarcodictyin；海绵抑制素(spongistatin)；氮芥类，如苯丁酸氮芥、萘氮芥(chlomaphazine)、氯磷酰胺、雌莫司汀、异环磷酰胺、甲氮芥、盐酸甲氧氮芥、美法仑、新霉素、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲洛磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶芥(uracil mustard)；亚硝基脲类，例如卡莫司汀、氯唑霉素、铁莫

司汀、洛莫斯汀、尼莫斯汀和雷莫司汀 (ranimustine); 抗生素类, 例如烯二炔抗生素类 (诸如卡奇霉素 (calicheamicin), 特别是卡奇霉素 γ 1I 和卡奇霉素 ω 1I (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 1994 33:183-186); dynemicin, 包括 dynemicin A; 双膦酸盐类, 例如氯膦酸盐; esperamicin; 以及新制癌菌素发色团和相关的发色团蛋白烯二炔抗生素发色团)、阿克拉霉素 (aclacnomysins)、放线菌素、氨基霉素 (Authramycin)、重氮丝氨酸 (azaserine)、博来霉素 (bleomycins)、cactinomycin、卡拉比星 (carabycin)、洋红霉素 (caminomycin)、嗜癌素 (carzinophilin)、色霉素 (chromomycinis)、更生霉素、道诺霉素、地托比星 (detorubicin)、6-重氮-5-氧代-L-正亮氨酸、**ADRIAMYCIN®** (阿霉素)、吗啉代-阿霉素、氰基吗啉代-阿霉素、2-吡咯烷-阿霉素和脱氧阿霉素)、表柔比星 (epirubicin)、伊索比星 (esorubicin)、伊达比星 (idarubicin)、马赛霉素 (marcellomycin)、丝裂霉素例如丝裂霉素C、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素、培洛霉素 (peplomycin)、泊非罗霉素 (porfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素 (quelamycin)、罗多比星 (rodorubicin)、链黑菌素 (streptonigrin)、链脲霉素、杀结核菌素 (tubercidin)、乌苯美司、净司他丁 (zinostatin)、佐柔比星 (zorubicin); 抗代谢物, 例如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶 (5-FU); 叶酸类似物, 例如二甲叶酸 (denopterin)、甲氨蝶呤、蝶罗呤 (pteropterin)、三甲蝶呤; 嘌呤类似物, 例如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤 (thiamiprine)、硫鸟嘌呤; 嘧啶类似物, 例如安西他滨 (ancitabine)、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫夫 (carmofur)、阿糖胞苷、双脱氧尿苷 (dideoxyuridine)、多西氟啶 (doxifluridine)、恩诺西汀 (enocitabine)、氟尿苷 (floxuridine); 雄激素, 例如钙雌酮、屈他雄酮丙酸酯、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯; 抗肾上腺素, 例如氨基谷氨酰胺、米托坦 (mitotane)、曲洛司坦 (trilostane); 叶酸补充剂, 例如叶酸; 醋葡醛内酯 (aceglatone); 醛磷酰胺糖苷 (aldophosphamide glycoside); 氨基乙酰丙酸 (aminolevulinic acid); 恩尿嘧啶 (eniluracil); 安吡啶 (amsacrine); bestrabucil; 比生群 (bisantrene); edatraxate; defofamine; 地美可辛 (demecolcine); 地吡醌 (diaziquone); elfomithine; 依利醋铵 (elliptinium acetate); 埃博霉素 (epothilone); 乙环氧啶 (etoglucid); 硝酸镓; 羟基脲; 香菇多糖 (lentinan); lonidainine; 美登素类 (maytansinoids), 例如美登素 (maytansine) 和安丝菌素 (ansamitocins); 米托瓜 (mitoguazone); 米托蒽醌 (mitoxantrone); 莫匹丹醇 (mopidamnol); nitraerine; 喷司他丁 (pentostatin); phenamet; 吡柔比星 (pirarubicin); 洛索蒽醌 (losoxantrone); 鬼臼酸 (podophyllinic acid); 2-乙基胍; 甲苄胍; **PSK®** 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); 雷佐生 (razoxane); 根瘤菌素 (rhizoxin); sizofuran; 锗螺胺 (spirogermanium); 细交链格孢酮酸 (tenuazonic acid); 三亚胺醌 (triaziquone); 2,2',2''-三氯三乙胺; 单端孢霉烯族毒素类 (特别是T-2毒素, verracurin A, 漆斑菌素A (roridin A) 和anguidine); 乌拉坦 (urethan); 长春地辛 (vindesine); 达卡巴嗪 (dacarbazine); 甘露莫司汀 (mannomustine); 二溴甘露醇 (mitobronitol); 二溴卫矛醇 (mitolactol); 哌泊溴烷 (pipobroman); gacytosine; 阿糖胞苷 ("Ara-C"); 环磷酰胺; 塞替派 (thiotepa); 紫杉烷类, 例如TAXOL (紫杉醇; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、**ABRAXANE®** (不含克列莫佛)、紫杉醇的白蛋白工程化纳米颗粒制剂 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.) 和

TAXOTERE® (多西他赛、多西他赛; Sanofi-Aventis); 苯丁酸氮芥 (chlorambucil); **GEMZAR®** (吉西他滨); 6-硫鸟嘌呤; 巯嘌呤; 甲氨蝶呤; 铂类似物, 例如顺铂和卡铂; 长春碱; 依托泊苷 (VP-16); 异环磷酰胺; 米托蒽醌; 长春新碱; **NAVELBINE®** (长春瑞滨); 诺消灵 (novantrone); 替尼泊苷; 依达曲塞 (edatrexate); 道诺霉素 (daunomycin); 氨喋呤; 卡培他滨 (**XELODA®**); 伊班膦酸盐 (ibandronate); CPT-11; 拓扑异构酶抑制剂 RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸 (DMFO); 视黄醇类, 例如视黄酸; 以及任何上述的药用盐、酸和衍生物。

[0062] 化疗剂还包括: (i) 起到调节或抑制激素对肿瘤的作用的抗激素剂, 例如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂 (SERM), 包括诸如他莫昔芬 (包括 **NOLVADEX®**; 枸橼酸他莫昔芬)、雷洛昔芬、屈洛昔芬 (droloxifene)、iodoxyfene、4-羟基他莫昔芬、曲奥昔芬 (trioxifene)、雷洛昔芬盐酸盐 (keoxifene)、LY117018、奥那司酮 (onapristone) 和 **FARESTON®** (枸橼酸托米芬 (toremifine citrate)); (ii) 抑制芳香化酶的芳香化酶抑制剂, 该酶可调节肾上腺的雌激素产生, 例如 4(5)-咪唑、氨鲁米特 (aminoglutethimide)、**MEGASE®** (醋酸甲地孕酮)、**AROMASIN®** (依西美坦; Pfizer)、福美司坦 (formestane)、法屈唑 (fadrozole)、**RIVISOR®** (伏洛唑 (vorozole))、**FEMARA®** (来曲唑; Novartis) 和 **ARIMIDEX®** (阿那曲唑; AstraZeneca); (iii) 抗雄激素, 例如氟他胺 (flutamide)、尼鲁米特 (nilutamide)、比卡鲁胺 (bicalutamide)、亮丙瑞林 (leuprolide) 和戈舍瑞林 (goserelin); 布舍瑞林 (buserelin)、曲普瑞林 (tripterelin)、醋酸甲羟孕酮、己烯雌酚、倍美力、氟甲睾酮、所有反式视黄酸、维甲酰酚胺 (fenretinide) 以及曲沙他滨 (1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物); (iv) 蛋白激酶抑制剂; (v) 脂质激酶抑制剂; (vi) 反义寡核苷酸, 特别是那些抑制与异常细胞增殖有关的信号传导途径中的基因表达的寡核苷酸, 例如 PKC- α 、Ralf 和 H-Ras; (vii) 核酶, 例如 VEGF 表达抑制剂 (如 **ANGIOZYME®**) 和 HER2 表达抑制剂; (viii) 疫苗, 例如基因治疗疫苗, 诸如 **ALLOVECTIN®**、**LEUVECTIN®** 和 **VAXID®**; **PROLEUKIN®**、rIL-2; 拓扑异构酶 1 抑制剂, 例如 **LURTOTECAN®**; **ABARELIX®**rmRH; 以及 (ix) 任何上述的药用盐、酸和衍生物。

[0063] 化疗剂还包括抗体, 例如阿仑单抗 (Campath)、贝伐单抗 (**AVASTIN®**, Genentech); 西妥昔单抗 (**ERBITUX®**, Imclone); 帕尼单抗 (**VECTIBIX®**, Amgen)、利妥昔单抗 (rituximab) (**RITUXAN®**, Genentech/Biogen Idec)、帕妥珠单抗 (**OMNITARG®**, 2C4, Genentech)、曲妥珠单抗 (trastuzumab) (**HERCEPTIN®**, Genentech)、托西莫单抗 (tositumomab) (Bexxar, Corixa) 和抗体药缀合物、吉妥珠单抗奥佐米星 (**MYLOTARG®**, Wyeth)。与本发明的化合物联用作为试剂具有治疗潜力的其它人源化单克隆抗体包括: 阿泊珠单抗 (apolizumab)、阿塞珠单抗 (aselizumab)、阿替珠单抗 (atlizumab)、巴匹珠单抗 (bapineuzumab)、莫比伐珠单抗 (bivatuzumab mertansine)、莫坎妥珠单抗 (cantuzumab mertansine)、西地珠单抗 (cedelizumab)、聚乙二醇结合赛妥珠

单抗(certolizumab pegol)、cidfusituzumab、cidtuzumab、达利珠单抗(daclizumab)、依库珠单抗(eculizumab)、依法珠单抗(efalizumab)、依帕珠单抗(epratuzumab)、厄立珠单抗(erlizumab)、泛维珠单抗(felvizumab)、芳妥珠单抗(fontolizumab)、吉妥珠单抗奥佐米星(gemtuzumab ozogamicin)、奥英妥珠单抗奥佐米星(inotuzumab ozogamicin)、伊匹单抗(ipilimumab)、拉贝珠单抗(labetuzumab)、林妥珠单抗(lintuzumab)、马妥珠单抗(matuzumab)、美泊利单抗(mepolizumab)、莫维珠单抗(motavizumab)、motovizumab、那他珠单抗、尼妥珠单抗、nolovizumab、numavizumab、ocrelizumab、奥马珠单抗、帕利珠单抗、帕考珠单抗、pecfusituzumab、帕妥珠单抗(pectuzumab)、培克珠单抗(pexelizumab)、ralivizumab、兰尼单抗(ranibizumab)、reslivizumab、瑞利珠单抗(reslizumab)、resyvizumab、罗维珠单抗(rovelizumab)、卢利珠单抗(ruplizumab)、西罗珠单抗(sibrotuzumab)、西利珠单抗(siplizumab)、索土珠单抗(sontuzumab)、tacatuzumab tetraxetan、他度珠单抗(tadocizumab)、他利珠单抗(talizumab)、替非珠单抗(tefibazumab)、托珠单抗(tocilizumab)、托利珠单抗(toralizumab)、西莫白介素单抗(tucotuzumab celmoleukin)、tucusituzumab、乌玛珠单抗(umavizumab)、乌珠单抗(urtoxazumab)、优特克单抗(ustekinumab)、维西珠单抗(visilizumab)和抗白介素12(ABT-874/J695, Wyeth Research and Abbott Laboratories),这是一种经基因修饰以识别白介素12p40蛋白的重组的专门用于人类序列的全长IgG1 λ 抗体。

[0064] 化疗剂还包括“EGFR抑制剂”,是指与EGFR结合或直接相互作用并阻止或降低其信号传导活性的化合物,或者称为“EGFR拮抗剂”。此类试剂的实例包括与EGFR结合的抗体和小分子。结合EGFR的抗体的实例包括MAb 579(ATCC CRL HB 8506)、MAb 455(ATCC CRL HB8507)、MAb 225(ATCC CRL 8508)、MAb 528(ATCC CRL 8509)(参见美国专利号4,943,533;Mendelsohn等人)及其变体,例如嵌合的225(C225或西妥昔单抗;ERBUTIX®)和重塑的人225(H225)(参见WO 96/40210,Imclone Systems Inc.);IMC-11F8,完全人EGFR靶向的抗体(Imclone);结合II型突变EGFR的抗体(美国专利号5,212,290);如美国专利号5,891,996中所述结合EGFR的人源化和嵌合抗体;结合EGFR的人抗体,例如ABX-EGF或帕尼单抗(Panitumumab)(参见W098/50433,Abgenix/Amgen);EMD 55900(Stragliotto等人,Eur.J.Cancer 32A:636-640(1996));EMD7200(马妥珠单抗),即针对EGFR的人源化EGFR抗体,其与EGF和TGF- α 竞争对EGFR的结合(EMD/Merck);人EGFR抗体,HuMax-EGFR(GenMab);完全人抗体,其称为E1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3和E7.6.3,并在US 6,235,883中进行了描述;MDX-447(Medarex Inc);MAb 806或人源化MAb 806(Johns等人,J.Biol.Chem.279(29):30375-30384(2004))。可以将抗EGFR抗体与细胞毒性剂缀合,从而产生免疫缀合物(参见,例如EP659439A2,Merck Patent GmbH)。EGFR拮抗剂包括小分子,例如美国专利号5,616,582、5,457,105、5,475,001、5,654,307、5,679,683、6,084,095、6,265,410、6,455,534、6,521,620、6,596,726、6,713,484、5,770,599、6,140,332、5,866,572、6,399,602、6,344,459、6,602,863、6,391,874、6,344,455、5,760,041、6,002,008和5,747,498,以及以下PCT出版物:W098/14451、W098/50038、W099/09016和W099/24037中所述描述的化合物。特定的小分子EGFR拮抗剂包括OSI-774(CP-358774、厄洛替尼,TARCEVA®Genentech/OSI Pharmaceuticals);PD 183805(CI1033、2-丙烯酰胺,N-[4-(3-氯-4-氟苯基)氨基]-7-[3-(4-吗啉基)丙氧基]-6-喹唑啉基]-,二盐酸盐,Pfizer

Inc.) ; ZD1839、吉非替尼(**IRESSA®**)4-(3'-氯-4'-氟苯胺基)-7-甲氧基-6-(3-吗啉代丙氧基)喹唑啉, AstraZeneca) ; ZM 105180 (6-氨基-4-(3-甲基苯基-氨基)-喹唑啉, Zeneca) ; BIBX-1382 (N8-(3-氯-4-氟-苯基)-N2-(1-甲基-哌啶-4-基)-嘧啶并[5,4-d]嘧啶-2,8-二胺, Boehringer Ingelheim) ; PKI-166 ((R)-4-[4-[(1-苯乙基)氨基]-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-基]-苯酚) ; (R)-6-(4-羟苯基)-4-[(1-苯乙基)氨基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶 ; CL-387785 (N-[4-[(3-溴苯基)氨基]-6-喹唑啉基]-2-丁炔酰胺) ; EKB-569 (N-[4-[(3-氯-4-氟苯基)氨基]-3-氰基-7-乙氧基-6-喹啉基]-4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰胺 (Wyeth)) ; AG1478 (Pfizer) ; AG1571 (SU5271; Pfizer) ; EGFR/HER2酪氨酸激酶双重抑制剂, 例如拉帕替尼(**TYKERB®**)、GSK572016或N-[3-氯-4-[(3-氟苯基)甲氧基]苯基]-6[5[[[(2-甲基磺酰基)乙基]氨基]甲基]-2-咪唑基]-4-喹唑啉胺)。

[0065] 化疗剂还包括“酪氨酸激酶抑制剂”, 包括前段落所述的EGFR靶向药物; 小分子HER2酪氨酸激酶抑制剂, 例如可从Takeda获得的TAK165; CP-724714, 即ErbB2受体酪氨酸激酶的口服选择性抑制剂 (Pfizer和OSI) ; 双重HER抑制剂, 例如EKB-569 (可从Wyeth获得), 其优先结合EGFR, 但同时抑制HER2和EGFR两者都过表达的细胞; 拉帕替尼 (GSK572016; 可从Glaxo-SmithKline获得), 即口服的HER2和EGFR酪氨酸激酶抑制剂; PKI-166 (可从Novartis获得) ; pan-HER抑制剂, 例如卡奈替尼 (CI-1033; Pharmacia) ; Raf-1抑制剂, 例如可从ISIS Pharmaceuticals获得的反义剂ISIS-5132, 其抑制Raf-1信号传导; 非HER靶向的TK抑制剂, 例如甲磺酸伊马替尼 (**GLEEVEC®**, 可从Glaxo SmithKline获得) ; 多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 例如舒尼替尼 (**SUTENT®**, 可从Pfizer获得) ; VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂, 例如瓦他拉尼 (PTK787/ZK222584, 可从Novartis/Schering AG获得) ; MAPK细胞外调节激酶I抑制剂Ci-1040 (可从Pharmacia获得) ; 喹唑啉, 例如PD153035, 4-(3-氯苯胺基)喹唑啉; 吡啶并嘧啶; 嘧啶并嘧啶; 吡咯并嘧啶, 例如CGP 59326、CGP 60261和CGP 62706; 吡啶并嘧啶、4-(苯氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶; 姜黄素 (diferuloyl methane、4,5-双(4-氟苯胺基)邻苯二甲酰亚胺) ; 含有硝基噻吩部分的酪氨酸; PD-0183805 (Warner-Lamber) ; 反义分子 (例如与HER编码核酸结合) ; 喹啉 (美国专利号5,804,396) ; 酪氨酸磷酸化抑制剂 (tryphostins, 美国专利号5,804,396) ; ZD6474 (Astra Zeneca) ; PTK-787 (Novartis/Schering AG) ; pan-HER抑制剂, 例如CI-1033 (Pfizer) ; Affinitac (ISIS 3521; Isis/Lilly) ; 甲磺酸伊马替尼 (**GLEEVEC®**) ; PKI 166 (Novartis) ; GW2016 (Glaxo SmithKline) ; CI-1033 (Pfizer) ; EKB-569 (Wyeth) ; 司马沙尼 ((Semaxinib) Pfizer) ; ZD6474 (AstraZeneca) ; PTK-787 (Novartis/Schering AG) ; INC-1C11 (Imclone), 雷帕霉素 (西罗莫司, **RAPAMUNE®**) ; 或以下任何专利出版物中所述的: 美国专利号5,804,396、WO 1999/09016 (American Cyanamid)、WO 1998/43960 (American Cyanamid)、WO 1997/38983 (Warner Lambert)、WO 1999/06378 (Warner Lambert)、WO 1999/06396 (Warner Lambert)、WO 1996/30347 (Pfizer, Inc)、WO 1996/33978 (Zeneca)、WO 1996/3397 (Zeneca) 和WO 1996/33980 (Zeneca)。

[0066] 化疗剂还包括地塞米松、干扰素、秋水仙碱、氯苯氨啉 (metoprine)、环孢菌素、两性霉素、甲硝唑、阿仑单抗 (alemtuzumab)、阿利维甲酸 (alitretinoin)、别嘌醇 (allopurinol)、氨磷汀 (amifostine)、三氧化二砷、天冬酰胺酶、活BCG、贝伐珠单抗、贝沙

罗汀 (bexarotene)、克拉屈滨 (cladribine)、克罗拉滨 (clofarabine)、达依泊汀 α (darbepoetin alfa)、地尼白介素 (denileukin)、右雷佐生 (dexrazoxane)、依泊汀 α (epoetin alfa)、厄洛替尼 (elotinib)、非格司亭 (filgrastim)、醋酸组氨瑞林 (histrelin acetate)、替伊莫单抗 (ibritumomab)、干扰素 α -2a、干扰素 α -2b、来那度胺 (lenalidomide)、左旋咪唑、美司钠 (mesna)、甲氧沙林、诺龙 (nandrolone)、奈拉滨 (nelarabine)、诺非妥莫单抗 (nofetumomab)、奥普瑞白介素 (oprelvekin)、帕利夫明 (palifermin)、帕米膦酸钠 (pamidronate)、培加酶 (pegademase)、培门冬酶 (pegaspargase)、培非格司亭 (pegfilgrastim)、培美曲塞二钠 (pemetrexed disodium)、光辉霉素 (plicamycin)、吡吩姆钠 (porfimer sodium)、奎纳克林 (quinacrine)、拉布立酶 (rasburicase)、沙格司亭 (sargramostim)、替莫唑胺 (temozolomide)、VM-26、6-TG、托瑞米芬 (toremifene)、维甲酸 (tretinoin)、ATRA、戊柔比星 (valrubicin)、唑来膦酸盐 (zoledronate) 和唑来膦酸 (zoledronic acid) 及其药用盐。

[0067] 化疗剂还包括氢化可的松 (hydrocortisone)、醋酸氢化可的松 (hydrocortisone acetate)、醋酸可的松 (cortisone acetate)、硫氢可的松 (tixocortol pivalate)、曲安奈德 (triamcinolone acetonide)、曲安奈德醇 (triamcinolone alcohol)、莫米松 (mometasone)、安西奈德 (amcinonide)、布地奈德 (budesonide)、地奈德 (desonide)、氟轻松 (fluocinonide)、醋酸氟轻松 (fluocinolone acetonide)、倍他米松 (betamethasone)、倍他米松磷酸钠 (betamethasone sodium phosphate)、地塞米松 (dexamethasone)、地塞米松磷酸钠 (dexamethasone sodium phosphate)、氟可龙 (fluocortolone)、氢化可的松-17-丁酸酯 (hydrocortisone-17-butyrate)、氢化可的松-17-戊酸酯 (hydrocortisone-17-valerate)、阿氯米松双丙酸酯 (aclometasone dipropionate)、戊酸倍他米松 (betamethasone valerate)、倍他米松二丙酸酯 (betamethasone dipropionate)、泼尼卡酯 (prednicarbate)、氯倍他酮-17-丁酸酯 (clobetasone-17-butyrate)、氯倍他索-17-丙酸酯 (clobetasol-17-propionate)、氟甲龙己酸酯 (fluocortolone caproate)、氟甲龙新戊酸酯 (fluocortolone pivalate) 和醋酸氟泼尼定 (fluprednidene acetate); 免疫选择性抗炎肽 (ImSAID), 例如苯丙氨酸-谷氨酰胺-甘氨酸 (FEG) 及其D-异构体 (feG) (IMULAN BioTherapeutics, LLC); 抗风湿药, 例如硫唑嘌呤、环孢菌素 (环孢菌素A)、D-青霉胺、金盐、羟氯喹、来氟米特米诺环素 (leflunomideminocycline)、柳氮磺吡啶 (sulfasalazine), 肿瘤坏死因子 α (TNF α) 阻断剂, 例如依那西普 (Enbrel)、英夫利昔单抗 (Remicade)、阿达木单抗 (Humira)、赛妥珠单抗 (Cimzia)、戈利木单抗 (Simponi)、白介素1 (IL-1) 阻滞剂例如阿那白滞素 (Kineret)、T细胞共刺激阻滞剂例如阿巴西普 (Orencia)、白介素6 (IL-6) 阻滞剂例如托珠单抗 (**ACTEMERA®**); 白介素13 (IL-13) 阻滞剂例如来瑞珠单抗 (lebrikizumab); 干扰素 α (IFN) 阻滞剂, 例如罗利珠单抗 (Rontalizumab); β 7整联蛋白阻滞剂, 例如rhuMAb β 7; IgE途径阻滞剂, 例如Anti-M1 prime; 分泌的同源三聚体LTa3和膜结合异源三聚体LTa1/ β 2阻滞剂, 例如抗淋巴毒素 α (LTa); 放射性同位素 (例如At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212和Lu的放射性同位素); 杂项研究试剂, 例如硫铂、PS-341、苯丁酸酯、ET-18-OCH₃或法呢基转移酶抑制剂 (L-739749, L-744832); 多酚, 例如槲皮素、白藜芦醇、白皮杉醇、表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechine gallate)、茶黄素、黄烷醇、原花青素、桦木酸及其衍生物; 自噬抑制剂, 例如氯喹; δ -9-四氢

大麻酚 (dronabinol, **MARINOL®**) ; β -拉帕醌 (beta-lapachone) ;拉帕醇;秋水仙碱;桦木酸;乙酰喜树碱、莨菪亭 (scopolectin) 和9-氨基喜树碱);鬼臼毒素;替加氟 (**UFTORAL®**);贝沙罗汀 (**TARGRETIN®**);双膦酸盐,例如氯膦酸盐(诸如 **BONEFOS®**或**OSTAC®**)、依替膦酸盐(**DIDROCAL®**)、NE-58095、唑来膦酸/唑来膦酸盐(**ZOMETA®**)、阿仑膦酸盐(**FOSAMAX®**)、帕米膦酸盐(**AREDIA®**)、替罗膦酸盐 (tiludronate) (**SKELID®**) 或利塞膦酸盐 (**ACTONEL®**);和表皮生长因子受体 (EGF-R);疫苗,例如**THERATOPE®**疫苗;哌氟膦 (perifosine)、COX-2抑制剂(例如塞来昔布或依托昔布)、蛋白体抑制剂(例如PS341);CCI-779;替吡法尼 (Tipifarnib) (R11577);奥拉非尼 (orafenib)、ABT510;Bcl-2抑制剂,例如奥利美森钠 (oblimersen sodium) (**GENASENSE®**);匹杉琼 (pixantrone);法呢基转移酶抑制剂,例如洛那法尼 (lonafarnib) (SCH 6636, SARASARTM);以及上述任何的药用盐、酸或衍生物;以及上述两个或多个的组合,例如CHOP,即环磷酰胺、阿霉素、长春新碱和泼尼松龙的联合疗法的缩写;和FOLFOX,即奥沙利铂 (ELOXATINTM) 联合5-FU和亚叶酸的治疗方案的缩写。

[0068] 化疗剂还包括具有镇痛、解热和抗炎作用的非甾体抗炎药。NSAID包括环氧化酶的非选择性抑制剂。NSAID的具体实例包括阿司匹林、丙酸衍生物(例如布洛芬、非诺洛芬、酮洛芬、氟比洛芬、恶丙嗪 (oxaprozin) 和萘普生)、乙酸衍生物(例如吲哚美辛、舒林酸、依托度酸、双氯芬酸)、烯醇酸衍生物(例如吡罗昔康、美洛昔康、替诺昔康、屈昔康 (droxicam)、氯诺昔康和伊索昔康)、芬那酸 (fenamic acid) 衍生物(例如甲芬那酸、甲氯芬那酸、氟芬那酸、托芬那酸) 和COX-2抑制剂(例如塞来昔布、依托考昔 (etoricoxib)、鲁美昔布 (lumiracoxib)、帕瑞昔布、罗非考昔 (rofecoxib)、罗非考昔和戊地昔布 (valdecoxib))。NSAID可用于缓解病状,例如类风湿性关节炎、骨关节炎、炎性关节炎、强直性脊柱炎、银屑病关节炎、Reiter's综合征、急性痛风、痛经、转移性骨痛、头痛和偏头痛、术后疼痛、由于炎症和组织损伤引起的轻度至中度疼痛、发热、肠梗阻和肾绞痛的症状。

[0069] 在本文中使用时,“生长抑制剂”是指在体外或体内抑制细胞生长的化合物或组合物。在一个实施例中,生长抑制剂是生长抑制抗体,其防止或减少表达该抗体结合的抗原的细胞的增殖。在另一个实施例中,生长抑制剂可以是显著降低S期细胞百分比的抑制剂。生长抑制剂的实例包括阻断细胞周期进程(在S期以外的地方)的试剂,例如诱导G1停滞和M期停滞的试剂。经典的M期阻滞剂包括长春花(长春新碱和长春碱)、紫杉烷类和拓扑异构酶II抑制剂(例如阿霉素、表柔比星、柔红霉素、依托泊苷和博来霉素)。那些阻滞G1的试剂也溢出到S期阻滞中,例如DNA烷化剂,诸如他莫昔芬、泼尼松、达卡巴嗪、甲氧乙胺、顺铂、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶和ara-C。进一步的信息可见于Murakami和Israel编辑的著作《The Molecular Basis of Cancer》的第1章,其题为“Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs”,由Murakami等人所作(W.B. Saunders, Philadelphia, 1995),例如第13页。紫杉烷类(紫杉醇和多西他赛)都是抗癌药,均来源于紫杉。多西他赛 (**TAXOTERE®**, Rhone-Poulenc Rorer) 源自欧洲紫杉,是紫杉醇的半合成类似物 (**TAXOL®**, Bristol-Myers Squibb)。紫杉醇和多西他赛促进微管蛋白二聚体的微管组装,并通过防止解聚作用稳定微管,从而抑制细胞的有丝分裂。

[0070] “放疗”是指使用定向的 γ 射线或 β 射线来诱导对细胞的充分损害,从而限制其正常发挥功能的能力或完全破坏细胞。将理解的是,在本领域中将有许多已知方法可以确定治疗的剂量和持续时间。典型治疗为一次施用,典型剂量范围为每天10到200单位(Gray)。

[0071] 用于治疗目的的“受试者”或“个体”是指被分类为哺乳动物的任何动物,包括人类、家畜和农场动物、以及动物园动物、运动场动物或宠物,例如狗、马、猫、牛等,优选地,哺乳动物是人类。

[0072] 本文的术语“抗体”以最广泛的含义使用,并且具体包括单克隆抗体(包括但不限于全长单克隆抗体)、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)和抗体片段,只要它们表现出所需的生物活性即可。

[0073] “分离的”抗体为已鉴定和分离和/或回收自其自然环境的组分。其自然环境的污染物组分是会干扰抗体研究、诊断或治疗用途的材料,并且可以包括酶、激素和其它蛋白质或非蛋白质溶质。在一些实施例中,将抗体纯化至(1)大于抗体重量的95%(例如通过Lowry方法测定),在一些实施例中,大于99%重量;(2)足以获得N末端或内部氨基酸序列的至少15个残基的程度(例如通过使用旋转杯测序仪),或(3)均质(在还原或非还原条件下进行SDS-PAGE,使用例如考马斯蓝或银染)。分离的抗体包括重组细胞内的原位抗体,因为不会存在抗体的自然环境的至少一种组分。然而,通常,分离的抗体将通过至少一个纯化步骤来制备。

[0074] “天然抗体”通常是约150,000道尔顿的异源四聚体糖蛋白,其由两条相同的轻(L)链和两条相同的重(H)链组成。每条轻链通过一个共价二硫键与重链相连,而二硫键的数目在不同免疫球蛋白同种型的重链之间变化。每条H链和L链还具有规则间隔的链内二硫键。每条重链在一端具有可变结构域(VH),其后是多个恒定结构域。每条轻链在一端(VL)具有可变结构域,在另一端具有恒定结构域;轻链的恒定结构域与重链的第一恒定结构域对齐,并且轻链的可变结构域与重链的可变结构域对齐。据信特定的氨基酸残基在轻链和重链可变结构域之间形成界面。

[0075] 术语“恒定结构域”是指免疫球蛋白分子的一部分,其具有相对于免疫球蛋白的另一部分更保守的氨基酸序列,所述另一部分即可变结构域,其包含抗原结合位点。恒定结构域包含重链的CH1、CH2和CH3结构域(统称为CH)和轻链的CHL(或CL)结构域。

[0076] 抗体的“可变区”或“可变结构域”是指抗体的重链或轻链的氨基末端结构域。重链的可变结构域可称为“VH”。轻链的可变结构域可称为“VL”。这些结构域通常是抗体中变化最大的部分,并且包含抗原结合位点。

[0077] 术语“可变的”是指以下事实:可变结构域的某些部分在抗体之间的序列差异很大,并用于每种特定抗体对其特定抗原的结合和特异性。但是,可变性并非在抗体的可变结构域中均匀分布。它集中在轻链和重链可变结构域中的三个称为高变区(HVR)的区段中。可变结构域中保守性更高的部分称为框架区(FR)。天然重链和轻链的可变结构域各自包含四个FR区,其主要采用 β 折叠结构,由三个HVR连接,这三个HVR形成连接 β 折叠结构的环并且在一些情况下形成 β 折叠结构的一部分。每条链中的HVR通过FR区紧密结合在一起,并且与另一条链中的HVR一起,有助于抗体的抗原结合位点的形成(参见Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,National Institute of Health,Bethesda,Md.(1991))。恒定结构域不直接参与抗体与抗原的结合,但具有各自效

应子功能,诸如抗体参与抗体依赖性细胞毒性作用。

[0078] 根据其恒定结构域的氨基酸序列,可以将来自任何哺乳动物的抗体(免疫球蛋白)的“轻链”分类为两种明显不同的类型之一,称为kappa(“κ”)和lambda(“λ”)。

[0079] 如本文所用,术语IgG“同种型”或“亚类”是指由其恒定区的化学和抗原特性所定义的免疫球蛋白的任何亚类。

[0080] 根据其重链恒定结构域的氨基酸序列,可以将抗体(免疫球蛋白)分为不同的类别。免疫球蛋白主要分为五类:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且它们中的一些可以进一步分为亚类(同种型),例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。对应于不同类别的免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称为α、γ、ε、γ和μ。不同类别的免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是众所周知的,并在例如总体描述于Abbas等人Cellular and Mol.Immunology,4th ed.(W.B.Saunders,Co.,2000)。抗体可以是较大融合分子的一部分,该融合分子是通过抗体与一个或多个其它蛋白质或肽的共价或非共价结合形成的。

[0081] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“整个抗体”在本文中可互换使用,是指基本上完整形式的抗体,而不是如下定义的抗体片段。该术语特别是指具有包含Fc区的重链的抗体。

[0082] 为了本文的目的,“裸抗体”是未与细胞毒性部分或放射性标记缀合的抗体。

[0083] “抗体片段”包含完整抗体的一部分,优选包含其抗原结合区。在一些实施例中,本文所述的抗体片段是抗原结合片段。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段;双抗体(diabodies);线性抗体;单链抗体分子;由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0084] 木瓜蛋白酶消化抗体产生两个相同抗原结合片段,称为“Fab”片段,每个片段都有单个抗原结合位点和残留的“Fc”片段,其名称反映其容易结晶的能力。胃蛋白酶处理产生的F(ab')₂片段具有两个抗原结合位点并且仍能与抗原交联。

[0085] “Fv”是包含完整的抗原结合位点的最小抗体片段。在一个实施例中,双链Fv种类由紧密和非共价结合的一个重链和一个轻链可变结构域的二聚体组成。在单链Fv(scFv)种类中,一个重链可变区结构域和一个轻链可变区结构域可通过柔性肽接头共价连接,使得轻链和重链可缔合成类似于在双链Fv种类中的“二聚体”结构。以此构型,每个可变结构域的三个HVR相互作用以在VH-VL二聚体的表面上限定抗原结合位点。六个HVR共同赋予抗体以抗原结合特异性。但是,即使单个可变结构域(或仅包含三个对抗原具有特异性的HVR的Fv的一半)也具有识别和结合抗原的能力,尽管其亲和力低于完整结合位点。

[0086] “Fab”片段含有重链可变结构域和轻链可变结构域且亦含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH1)。Fab'片段与Fab片段的区别之处在于Fab'片段在重链CH1结构域的羧基末端添加了一些残基,这些残基包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸。Fab'-SH是本文中关于其中恒定结构域的半胱氨酸残基带有游离硫醇基的Fab'的命名。F(ab')₂抗体片段最初是作为在其之间具有铰链半胱氨酸的成对Fab'片段而产生的。抗体片段的其他化学偶合也是已知的。

[0087] “单链Fv”或“scFv”抗体片段包含抗体的VH和VL结构域,其中这些结构域存在于单个多肽链中。一般地,scFv多肽在VH和VL结构域之间进一步包含多肽接头,使scFv形成所需的抗原结合结构。对于scFv的综述参见例如Pluckthün,The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,vol.113,Rosenburg and Moore eds.,(Springer-Verlag,New York,1994),第269-315页。

[0088] 术语“双抗体”是指具有两个抗原结合位点的抗体片段,其片段包含连接至与同一多肽链(VH-VL)中的轻链可变结构域(VL)的重链可变结构域(VH)。通过使用太短以至于不允许同一条链上两个结构域之间配对的接头,这些结构域被迫与另一条链的互补结构域配对并产生两个抗原结合位点。双抗体可为二价抗体或双特异性抗体。双抗体更全面地描述于例如:EP 404,097;WO 1993/01161;Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003);and Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448(1993)。三抗体和四抗体还描述于Hudson等人,Nat.Med.9:129-134(2003)。

[0089] 本文所使用的术语“单克隆抗体”是指从基本上同源的抗体群中获得的抗体,例如,除了可能以少量存在的可能的突变(诸如天然存在的突变)外,构成群体的各个抗体是相同的。因此,修饰语“单克隆”表明抗体的特征不是离散抗体的混合物。在某些实施例中,这样的单克隆抗体通常包括含有结合靶标的多肽序列的抗体,其中靶标结合多肽序列通过包括从多个多肽序列中选择单个靶标结合多肽序列的过程获得。例如,选择过程可以从多个克隆,例如杂交瘤克隆、噬菌体克隆或重组DNA克隆的集合中选择独特的克隆。应当理解,可以进一步改变选择的靶标结合序列,例如,用以提高对靶标的亲和力、用以使靶标结合序列人源化、用以提高其在细胞培养物中的产生、用以降低其在体内的免疫原性、用以产生多特异性抗体等,并且包含改变的靶标结合序列的抗体也是本发明的单克隆抗体。与通常包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制剂相反,单克隆抗体制剂中的每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。除特异性以外,单克隆抗体制剂的优势在于它们通常不受其它免疫球蛋白的污染。

[0090] 修饰语“单克隆”表示抗体的特征是从基本上同源的抗体群体获得的,并且不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。例如,根据本发明使用的单克隆抗体可以通过多种技术制备,包括例如:杂交瘤方法(例如Kohler and Milstein,Nature,256:495-97(1975);Hongo等人,Hybridoma,14(3):253-260(1995),Harlow等人,Antibodies:A Laboratory Manual,(Cold Spring Harbor Laboratory Press,2nd ed.1988);Hammerling等人,in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681(Elsevier,N.Y.,1981))、重组DNA方法(参见例如美国专利号4,816,567)、噬菌体展示技术(参见例如Clackson等人,Nature,352:624-628(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Sidhu等人,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等人,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004);和Lee等人,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004)、以及用于在动物中生产具有部分或全部编码人类免疫球蛋白序列的人类免疫球蛋白基因座或基因的人类或类人抗体的技术(参见例如WO 1998/24893;WO 1996/34096;WO 1996/33735;WO 1991/10741;Jakobovits等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:2551(1993);Jakobovits等人,Nature 362:255-258(1993);Bruggemann等人,Year in Immunol.7:33(1993);U.S.Pat.Nos.5,545,807;5,545,806;5,569,825;5,625,126;5,633,425;和5,661,016;Marks等人,Bio/Technology 10:779-783(1992);Lonberg等人,Nature 368:856-859(1994);Morrison,Nature 368:812-813(1994);Fishwild等人,Nature Biotechnol.14:845-851(1996);Neuberger,Nature Biotechnol.14:826(1996);以及Lonberg和Huszar,Intern.Rev.Immunol.13:65-93(1995)。

[0091] 本文中的单克隆抗体具体地包括“嵌合”抗体,其中重链和/或轻链的一部分与来自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而一条或多条链的其余部分与来自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列以及这些抗体的片段相同或同源,只要它们表现出所需的生物学活性即可(参见例如美国专利号4,816,567和Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855(1984))。嵌合抗体包括 **PRIMATTZED®** 抗体,其中抗体的抗原结合区源自通过例如用目标抗原免疫猕猴产生的抗体。

[0092] 非人(例如鼠)抗体的“人源化”形式是包含衍生自非人免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。在一个实施例中,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体HVR的残基被来自非人类物种(供体抗体)例如小鼠、大鼠、兔或具有所需特异性、亲和力和/或能力的非人灵长类动物的HVR的残基替代。在某些情况下,人免疫球蛋白的FR残基被相应的非人残基代替。此外,人源化抗体可包含受体抗体或供体抗体中不存在的残基。可以进行这些修饰以进一步改善抗体性能。总体上,人源化抗体将基本上包含所有中的至少一个可变结构域,通常是两个可变结构域,其中所有或基本上所有高变环对应于非人免疫球蛋白的高变环,并且所有或基本上所有的FR为人免疫球蛋白序列的FR。人源化抗体还将可选地包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,该免疫球蛋白通常为人免疫球蛋白。更多详情参见例如Jones等人,Nature 321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature 332:323-329(1988);和Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。也参见例如Vaswani和Hamilton,Ann.Allergy,Asthma&Immunol.1:105-115(1998);Harris,Biochem.Soc.Transactions 23:1035-1038(1995);Hurle and Gross,Curr.Op.Biotech.5:428-433(1994);和美国专利号6,982,321和7,087,409。

[0093] “人抗体”是具有对应于由人产生的抗体的氨基酸序列的抗体和/或使用本文所公开的用于制备人抗体的任何技术制得的抗体。人抗体的该定义特别地排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。可以使用本领域已知的各种技术产生人抗体,包括噬菌体展示文库。Hoogenboom和Winter,J.Mol.Biol.,227:381(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581(1991)。还可用于制备人单克隆抗体的方法如以下文献所述:Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,p.77(1985);Boerner等人,J.Immunol.,147(1):86-95(1991)。另参见van Dijk和van de Winkel,Curr Opin Pharmacol.5:368-74(2001)。可以通过向转基因动物施用抗原来制备人抗体,该转基因动物已经修饰以对抗原攻击产生应答而产生此类抗体,但其内源基因座已失效,例如,免疫异种小鼠(参见例如,有关XENOMOUSE™技术的美国专利号6,075,181和6,150,584)。另参见例如关于通过人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体的Li等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,103:3557-3562(2006)。

[0094] “物种依赖性抗体”是对来自第一哺乳动物物种的抗原具有比对来自第二哺乳动物物种的抗原同源物更强的结合亲和力的抗体。通常,物种依赖性抗体与人抗原“特异性结合”(例如,其结合亲和力(Kd)值不超过约 1×10^{-7} M、优选不超过约 1×10^{-8} M、优选不超过约 1×10^{-9} M),但对第二非人类哺乳动物物种的抗原同源物的结合亲和力比其对人类抗原结合亲和力弱至少约50倍、或至少约500倍、或至少约1000倍。物种依赖性抗体可以是如上定义的各种抗体中的任何一种,但是优选地是人源化或人抗体。

[0095] 如本文所用的术语“高变区”、“HVR”或“HV”是指在序列上高变和/或形成结构上限

定的环的抗体可变结构域的区域。通常,抗体包含六个HVR;三个在VH中(H1、H2、H3),并且三个在VL中的(L1、L2、L3)。在天然抗体中,H3和L3在六个HVR中表现出最多的多样性,尤其是H3被认为在赋予抗体精细特异性方面起着独特的作用。参见例如Xu等人,Immunity 13:37-45(2000);Johnson and Wu,in Methods in Molecular Biology 248:1-25(Lo,ed.,Human Press,Totowa,N.J.,2003)。实际上,仅由重链组成的天然存在的骆驼科动物抗体在不存在轻链的情况下是有功能并稳定的。参见例如Hamers-Casterman等人,Nature 363:446-448(1993);Sheriff等人,Nature Struct.Biol.3:733-736(1996)。

[0096] 许多HVR描述得到应用,并且包含于本文中。Kabat互补决定区(CDR)基于序列可变性并且是最常用的(Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991))。相反,Chothia指的是结构环的位置(Chothia and Lesk J.Mol.Biol.196:901-917(1987))。AbM HVR表示Kabat HVR和Chothia结构环之间的折衷,并且被Oxford Molecular的AbM抗体建模软件采用。“接触”HVR基于可用的复合晶体结构的分析。这些HVR中的每个的残基如下文所述。

	环	Kabat	AbM	Chothia	接触
[0097]	L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
	L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
	L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
	H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (Kabat 编号)
[0098]	H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (Chothia 编号)
	H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
	H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0099] HVR可以包括以下“扩展HVR”:VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)和89-97或89-96(L3),以及VH中的26-35(H1)、50-65或49-65(H2)和93-102、94-102或95-102(H3)。对于这些定义中的每一个,可变结构域残基均根据上述Kabat等人的方法进行编号。

[0100] HVR可以包括以下“扩展HVR”:VL中的24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)和89-97或89-96(L3),以及VH中的26-35(H1)、50-65或49-65(H2)和93-102、94-102或95-102(H3)。对于这些定义中的每一个,可变结构域残基均根据上述Kabat等人的方法进行编号。

[0101] “框架”或“FR”残基是除本文定义的HVR残基以外的那些可变结构域残基。

[0102] 术语“Kabat所述的可变结构域残基编号”或“Kabat所述的氨基酸位置编号”及其变体是指上文Kabat等人提出的用于抗体汇编的重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。使用该编号系统,实际线性氨基酸序列可能包含较少或附加的氨基酸,其对应于可变结构域的FR或HVR的缩短或插入。例如,重链可变结构域可在H2的残基52之后包括单个氨基酸插入片段(根据Kabat编号的残基52a)以及重链FR残基82之后的插入残基(例如,根据Kabat编号的残基82a、82b和82c等)。可通过将抗体序列与“标准”Kabat编号序列的同源性区域进行比对来确定给定抗体的残基的Kabat编号。

[0103] 当提及可变结构域中的残基(大约是轻链的残基1-107和重链的残基1-113)时,通

常使用Kabat编号系统(例如Kabat等人, Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。当提及免疫球蛋白重链恒定区中的残基时, 通常使用“EU编号系统”或“EU索引”(例如上文Kabat等人所报道的EU索引)。“Kabat所述的EU索引”是指人IgG1 EU抗体的残基编号。

[0104] 表述“线性抗体”是指Zapata等人描述的抗体(1995 Protein Eng. 8(10):1057-1062)。简而言之, 这些抗体包含一对串联的Fd区段(VH-CH1-VH-CH1), 其与互补的轻链多肽一起形成一对抗原结合区。线性抗体可以是双特异性或单特异性的。

[0105] 如本文所用, 术语“结合”、“特异性结合”或“特异于”是指可测量和可再现的相互作用, 诸如靶标与抗体之间的结合, 在存在分子(包括生物学分子)的异质群体的存在下, 其确定靶标的存在。例如, 与靶标(其可以是表位)结合或特异性结合的抗体是与其结合其它靶标相比具有更大亲和力、亲合力、更容易和/或持续时间更长的结合该靶标的抗体。在一个实施例中, 抗体与无关靶标的结合程度为该抗体与抗原结合的小于约10%, 例如, 通过放射免疫分析(RIA)所测量。在某些实施例中, 与靶标特异性结合的抗体的解离常数(Kd)为 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 或 $\leq 0.1\text{nM}$ 。在某些实施例中, 抗体与蛋白上的表位特异性结合, 该表位在不同物种的蛋白之间具有保守性。在另一实施例中, 特异性结合可以包括但不要求排他结合。

[0106] 如本文所用, 术语“样品”是指获自或衍生自目标受试者和/或个体的组合物, 其包含例如基于物理、生化、化学和/或生理特性待表征和/或鉴定的细胞的和/或其它分子实体。例如, 短语“疾病样品”及其变体是指获自目标受试者的任何样品, 其预期或已知包含待表征的细胞的和/或分子实体。样品包括但不限于原代或培养的细胞或细胞系、细胞上清液、细胞裂解液、血小板、血清、血浆、玻璃体液、淋巴液、滑液、卵泡液、精液、羊水、奶、全血、血源性细胞、尿液、脑脊液、唾液、痰、眼泪、汗液、粘液、肿瘤溶解物和组织培养基、组织提取物例如均质化的组织、肿瘤组织、细胞提取物、及其组合。

[0107] “组织样品”或“细胞样品”是指从受试者或个体的组织获得的相似细胞的集合。组织或细胞样品的来源可以是来自新鲜的、冷冻的和/或保存的器官、组织样品、活组织检查和/或吸出物的实体组织; 血液或任何血液成分, 例如血浆; 体液, 例如脑脊髓液、羊水、腹膜液或间质液; 受试者妊娠或发育中任何时候的细胞。组织样品也可以是原代或培养的细胞或细胞系。可选地, 组织或细胞样品获自疾病组织/器官。组织样品可以包含在自然环境天然不与组织混合的化合物, 例如防腐剂、抗凝剂、缓冲剂、固定剂、营养物、抗生素等。

[0108] 如本文所用, “参考样品”、“参考细胞”、“参考组织”、“对样品”、“对照细胞”或“对照组织”是指用于比较目的样品、细胞、组织、标准或水平。在一个实施例中, 参考样品、参考细胞、参考组织、对样品、对照细胞或对照组织获自相同受试者或个体的健康的和/或未患病身体部分(例如组织或细胞)。例如, 邻近患病细胞或组织的健康和/或未患病的细胞或组织(例如, 邻近肿瘤的组织或细胞)。在另一实施例中, 参考样品获自相同受试者或个体的身体的未经处理的组织和/或细胞。在又一实施例中, 参考样品、参考细胞、参考组织、对样品、对照细胞或对照组织获自不是所述受试者或个体的个体的健康和/或未患病身体部分(例如组织或细胞)。在再一实施例中, 参考样品、参考细胞、参考组织、对样品、对照细胞或对照组织获自不是所述受试者或个体的个体的身体部分的未经处理的组织和/或细胞。

[0109] 患者的“有效应答”或患者对药物治疗的“应答性”和类似措辞是指赋予患有疾病或病症(诸如癌症)或有其患病风险的患者的临床或治疗益处。在一个实施例中,这种益处包括以下一个或多个:延长生存期(包括总生存期和无进展生存期);导致客观应答(包括完全应答或部分应答);或改善癌症的体征或症状。

[0110] 对治疗“没有有效应答”的患者是指没有以下中的任何一个的患者:延长生存期(包括总生存期和无进展生存期);导致客观应答(包括完全应答或部分应答);或改善癌症的体征或症状。

[0111] “功能性Fc区”具有天然序列Fc区的“效应子功能”。示例性的“效应子功能”包括C1q结合;CDC;Fc受体结合;ADCC;吞噬作用;细胞表面受体(例如,B细胞受体;BCR)的下调等。此类效应子功能通常需要Fc区与结合结构域(例如,抗体可变结构域)组合,并且可使用例如本文定义中所公开的各种测定方法进行评估。

[0112] “人效应细胞”是表达一个或多个FcR并且执行效应子功能的白细胞。优选地,这些细胞至少表达Fc γ R1并且执行ADCC效应子功能。介导ADCC的人白细胞包括外周血单核细胞(PBMC)、自然杀伤(NK)细胞、单核细胞、细胞毒性T细胞和嗜中性粒细胞。效应子细胞可从天然来源(例如从血液)中分离得到。

[0113] “具有人效应细胞”的癌症或生物学样品是在诊断测试中样品中存在人效应细胞(例如,浸润人效应细胞)的癌症或生物样品。

[0114] “具有FcR表达细胞”的癌症或生物学样品是在诊断测试中在样品中存在FcR表达(例如,浸润FcR表达细胞)的样品。在一些实施例中,FcR是Fc γ R。在一些实施例中,FcR是活化Fc γ R。

[0115] II.总览

[0116] 本文提供了治疗或延缓个体的肺癌(例如非小细胞肺癌,诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)进展的方法,其包括向所述个体施用有效量的PD-1轴结合拮抗剂(例如抗PD-L1抗体,诸如阿特殊单抗)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)。本文还提供了增强患有肺癌(例如非小细胞肺癌,例如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的个体的免疫功能的方法,该方法包括向该个体施用有效量的PD-1轴结合拮抗剂(例如抗PD-L1抗体,诸如阿特殊单抗)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)。在一些实施例中,治疗延长了个体的无进展生存期(PFS)和/或总生存期(OS)。在一些实施例中,与包括施用抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)的治疗相比,该治疗延长了个体的无进展生存期(PFS)和/或总生存期(OS)。

[0117] 在一些实施例中,该方法包括通过向个体联合施用阿妥珠单抗、培美曲塞和卡铂来治疗患有IV期肺癌(例如IV期非鳞状NSCLC)的个体,其中所述施用包括诱导期和维持期,其中诱导期包括在第1至第4周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,在第1天以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用卡铂;并且其中维持期包括在第4周期后每周的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,和在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞;其中所述个体未接受过治疗并且患有IV期非-鳞状非小细胞肺癌(NSCLC);并且其中所述施用延长了个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施

例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约7.6个月。在一些实施例中,施用延长了个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约18.1个月。

[0118] 在一些实施例中,该方法包括通过向个体联合施用阿妥珠单抗、培美曲塞和顺铂来治疗患有IV期肺癌(例如IV期非鳞状NSCLC)的个体,其中所述施用包括诱导期和维持期,其中诱导期包括在第1至第4周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,在第1天以75mg/m²的剂量施用顺铂;并且其中维持期包括在第4周期后每周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,和在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞;其中所述个体未接受过治疗并且患有IV期非-鳞状非小细胞肺癌(NSCLC);并且其中所述施用延长了个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约7.6个月。在一些实施例中,施用延长了个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约18.1个月。

[0119] 在一些实施例中,该方法包括通过向个体施用阿妥珠单抗联合培美曲塞和卡铂来治疗患有IV期肺癌(例如IV期非鳞状NSCLC)的个体,其中所述施用包括诱导期和维持期,其中诱导期包括在第1至第6周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,和在第1天以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用卡铂;并且其中维持期包括在第6周期后每周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,和在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞;其中所述个体未接受过治疗并且患有IV期非-鳞状非小细胞肺癌(NSCLC);并且其中所述施用延长了所述个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约7.6个月。在一些实施例中,施用延长了个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约18.1个月。

[0120] 在一些实施例中,该方法包括通过向个体施用阿妥珠单抗联合培美曲塞和卡铂来治疗患有IV期非小细胞肺癌(NSCLC)(例如IV期非鳞状NSCLC)的个体,其中所述施用包括诱导期和维持期,其中诱导期包括在第1至第6周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,和在第1天以75mg/m²的剂量施用顺铂;并且其中维持期包括在第6周期后每周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,和在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞;其中所述个体未接受过治疗并且患有IV期非-鳞状非小细胞肺癌(NSCLC);并且其中所述施用延长了个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例

中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约7.6个月。在一些实施例中,施用延长了个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约18.1个月。

[0121] III.PD-1轴结合拮抗剂

[0122] 例如,PD-1轴结合拮抗剂包括PD-1结合拮抗剂、PDL1结合拮抗剂和PDL2结合拮抗剂。“PD-1”的替代名称包括CD279和SLEB2。“PDL1”的替代名称包括B7-H1、B7-4、CD274和B7-H。“PDL2”的替代名称包括B7-DC、Btdc和CD273。在一些实施例中,PD-1、PDL1和PDL2是人PD-1、PDL1和PDL2。

[0123] 在一些实施例中,PD-1结合拮抗剂是抑制PD-1与其配体结合配偶体结合的分子。在一个特定方面,PD-1配体结合配偶体是PDL1和/或PDL2。在另一实施例中,PDL1结合拮抗剂是抑制PDL1与其结合配偶体结合的分子。在一个特定方面,PDL1结合配偶体是PD-1和/或B7-1。在另一实施例中,PDL2结合拮抗剂是抑制PDL2与其结合配偶体结合的分子。在一个特定方面,PDL2结合配偶体是PD-1。拮抗剂可以是抗体、其抗原结合片段、免疫粘附素、融合蛋白或寡肽。

[0124] 在一些实施例中,PD-1结合拮抗剂是抗PD-1抗体(例如,人抗体、人源化抗体或嵌合抗体)。

[0125] 在一些实施例中,抗PD-1抗体是纳武单抗(nivolumab)(CAS登记号:946414-94-4)。纳武单抗(Bristol-Myers Squibb/Ono),也称为MDX-1106-04、MDX-1106、ONO-4538、BMS-936558和**OPDIVO®**,是W02006/121168中所述的抗PD-1抗体。在一些实施例中,抗PD-1抗体包含重链和轻链序列,其中:

[0126] (a)重链包含以下氨基酸序列:

[0127] QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRF
TISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP
PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGLK (SEQ ID
NO:11),和

[0128] (b)轻链包含以下氨基酸序列:

[0129] EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSG
TDFTLTISSELPEDFAVYYCQQSSNWPRFTGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO:12)。

[0130] 在一些实施例中,抗PD-1抗体包含来自SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12的六个HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:11的三个重链HVR和来自SEQ ID NO:12的三个轻链HVR)。在一些实施例中,抗PD-1抗体包含来自SEQ ID NO:11的重链可变结构域和来自SEQ ID NO:12的轻链可变结构域。

[0131] 在一些实施例中,抗PD-1抗体是派姆单抗(Pembrolizumab)(CAS登记号:1374853-

91-4)。派姆单抗 (Merck), 也称为MK-3475、Merck3475、lambrolizumab、**KEYTRUDA®** 和 SCH-900475, 是W02009/114335中所述的抗PD-1抗体。在一些实施例中, 抗PD-1抗体包含重链和轻链序列, 其中:

[0132] (a) 重链包含以下氨基酸序列:

[0133] QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCASGYFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTFNFKFKNRV
TLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVES
KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQ
FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
(SEQ ID NO:13), 和

[0134] (b) 轻链包含以下氨基酸序列:

[0135] EIVLTQSPAT LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAHYLESVGPVRFSS
GSGSGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO:14)。

[0136] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体包含来自SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的六个HVR序列(例如, 来自SEQ ID NO:13的三个重链HVR和来自SEQ ID NO:14的三个轻链HVR)。在一些实施例中, 抗PD-1抗体包含来自SEQ ID NO:13的重链可变结构域和来自SEQ ID NO:14的轻链可变结构域。

[0137] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是MEDI-0680 (AMP-514; AstraZeneca)。MEDI-0680是人源化IgG4抗PD-1抗体。

[0138] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是PDR001 (CAS登记号1859072-53-9; Novartis)。PDR001是人源化IgG4抗PD1抗体, 可阻断PDL1和PDL2与PD-1的结合。

[0139] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是REGN2810 (Regeneron)。REGN2810是人抗PD1抗体。

[0140] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是BGB-108 (BeiGene)。在一些实施例中, 抗PD-1抗体是BGB-A317 (BeiGene)。

[0141] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是JS-001 (Shanghai Junshi)。JS-001是人源化抗PD1抗体。

[0142] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是STI-A1110 (Sorrento)。STI-A1110是人抗PD1抗体。

[0143] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是INCSHR-1210 (Incyte)。INCSHR-1210是人IgG4抗PD1抗体。

[0144] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是PF-06801591 (Pfizer)。

[0145] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是TSR-042 (也称为ANB011; Tesaro/AnaptysBio)。

[0146] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是AM0001 (ARMO Biosciences)。

[0147] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是ENUM 244C8 (Enumeral Biomedical Holdings)。ENUM 244C8是抗PD1抗体, 可抑制PD-1的功能而不阻止PDL1与PD-1的结合。

[0148] 在一些实施例中, 抗PD-1抗体是ENUM 388D4 (Enumeral Biomedical Holdings)。

ENUM 388D4是抗PD1抗体,可竞争性抑制PDL1与PD-1的结合。

[0149] 在一些实施例中,PD-1抗体包含来自下述文献中描述的PD-1抗体的六个HVR序列(例如三个重链HVR和三个轻链HVR)和/或重链可变结构域和轻链可变结构域:W02015/112800(申请人:Regeneron)、W02015/112805(申请人:Regeneron)、W02015/112900(申请人:Novartis)、US20150210769(转让给Novartis)、W02016/089873(申请人:Celgene)、W02015/035606(申请人:Beigene)、W02015/085847(申请人:Shanghai Hengrui Pharmaceutical/Jiangsu Hengrui Medicine)、W02014/206107(申请人:Shanghai Junshi Biosciences/Junmeng Biosciences)、W02012/145493(申请人:Amplimmune)、US9205148(转让给MedImmune)、W02015/119930(申请人:Pfizer/Merck)、W02015/119923(申请人:Pfizer/Merck)、W02016/032927(申请人:Pfizer/Merck)、W02014/179664(申请人:AnaptysBio)、W02016/106160(申请人:Enumeral)和W02014/194302(申请人:Sorrento)。

[0150] 在一些实施例中,PD-1结合拮抗剂是免疫粘附素(例如,包含与恒定区(例如免疫球蛋白序列的Fc区)融合的PDL1或PDL2的细胞外或PD-1结合部分的免疫粘附素)。在一些实施例中,PD-1结合拮抗剂是AMP-224。AMP-224(CAS登记号:1422184-00-6; GlaxoSmithKline/MedImmune),也称为B7-DCIg,是W02010/027827和W02011/066342中所述的PDL2-Fc融合可溶性受体。

[0151] 在一些实施例中,PD-1结合拮抗剂是肽或小分子化合物。在一些实施例中,PD-1结合拮抗剂是AUNP-12(PierreFabre/Aurigene)。参见例如W02012/168944、W02015/036927、W02015/044900、W02015/033303、W02013/144704、W02013/132317和W02011/161699。

[0152] 在一些实施例中,PDL1结合拮抗剂是抑制PD-1的小分子。在一些实施例中,PDL1结合拮抗剂是抑制PDL1的小分子。在一些实施例中,PDL1结合拮抗剂是抑制PDL1和VISTA的小分子。在一些实施例中,PDL1结合拮抗剂是CA-170(也称为AUPM-170)。在一些实施例中,PDL1结合拮抗剂是抑制PDL1和TIM3的小分子。在一些实施例中,小分子是在W02015/033301和W02015/033299中描述的化合物。

[0153] 在一些实施例中,PD-1轴结合拮抗剂是抗PDL1抗体。本文考虑并描述了多种抗PDL1抗体。在本文的任何实施例中,分离的抗PDL1抗体可以结合人PDL1,例如UniProtKB/Swiss-Prot登录号Q9NZQ7.1中所示的人PDL1,或其变体。在一些实施例中,抗PDL1抗体能够抑制PDL1和PD-1之间和/或PDL1和B7-1之间的结合。在一些实施例中,抗PDL1抗体是单克隆抗体。在一些实施例中,抗PDL1抗体是选自Fab、Fab'-SH、Fv、scFv和F(ab')₂片段的抗体片段。在一些实施例中,抗PDL1抗体是人源化抗体。在一些实施例中,抗PDL1抗体是人抗体。可用于本发明方法的抗PDL1抗体的实例及其制备方法在PCT专利申请WO 2010/077634 A1和美国专利号8,217,149中描述,其通过引用并入本文。

[0154] 在一些实施例中,抗PDL1抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中:

[0155] (a) 重链可变区包含HVR-H1、HVR-H2和HVR-H3,序列分别为GFTFSDSWIH(SEQ ID NO:1)、AWISPYGGSTYYADSVKG(SEQ ID No:2)和RHWPGGFDY(SEQ ID NO:3),和

[0156] (b) 轻链可变区包含HVR-L1、HVR-L2和HVR-L3,序列分别为RASQDVSTAVA(SEQ ID NO:4)、SASFLYS(SEQ ID No:5)和QQYLYHPAT(SEQ ID NO:6)的序列。

[0157] 在一些实施例中,抗PDL1抗体是MPDL3280A,也称为阿特殊单抗和TECENTRIQ®(CAS登记号:1422185-06-5)。在一些实施例中,抗PDL1抗体包含重链和轻

链序列,其中:

[0158] (a) 重链可变区序列包含以下氨基酸序列:

[0159] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRF
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:7), 和

[0160] (b) 轻链可变区序列包含以下氨基酸序列:

[0161] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSG
TDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:8)。

[0162] 在一些实施例中,抗PDL1抗体包含重链和轻链序列,其中:

[0163] (a) 重链包含以下氨基酸序列:

[0164] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRF
TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO:9), 和

[0165] (b) 轻链包含以下氨基酸序列:

[0166] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSG
TDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO:10)。

[0167] 在一些实施例中,抗PDL1抗体是阿维鲁单抗 (avelumab) (CAS登记号:1537032-82-8)。阿维鲁单抗,也称为MSB0010718C,是人单克隆IgG1抗PDL1抗体 (Merck KGaA, Pfizer)。在一些实施例中,抗PDL1抗体包含重链和轻链序列,其中:

[0168] (a) 重链包含以下氨基酸序列:

[0169] EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPK
KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO:15), 和

[0170] (b) 轻链包含以下氨基酸序列:

[0171] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGINYSWYQQHPGKAPKLMIDVSNRPSGVS NRFSGSK
SGNTASLTISGLQAEDEADYCYSSYTSSTRVFGTGTKVTVLQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY
PGAIVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ
ID NO:16)。

[0172] 在一些实施例中,抗PDL1抗体包含来自SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16的六个HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:15的三个重链HVR和来自SEQ ID NO:16的三个轻链HVR)。在一

些实施例中,抗PDL1抗体包含来自SEQ ID NO:15的重链可变结构域和来自SEQ ID NO:16的轻链可变结构域。

[0173] 在一些实施例中,抗PDL1抗体是德瓦鲁单抗(durvalumab)(CAS登记号:1428935-60-7)。德瓦鲁单抗,也称为MEDI4736,是W02011/066389和US2013/034559中所述的Fc优化的人单克隆IgG1 κ 抗PDL1抗体(MedImmune,AstraZeneca)。在一些实施例中,抗PDL1抗体包含重链和轻链序列,其中:

[0174] (a) 重链包含以下氨基酸序列:

[0175] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRF
TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
PKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PG(SEQ ID NO:17),和

[0176] (b) 轻链包含以下氨基酸序列:

[0177] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGS
GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC(SEQ
ID NO:18)。

[0178] 在一些实施例中,抗PDL1抗体包含来自SEQ ID NO:17和SEQ ID NO:18的六个HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:17的三个重链HVR和来自SEQ ID NO:18的三个轻链HVR)。在一些实施例中,抗PDL1抗体包含来自SEQ ID NO:17的重链可变结构域和来自SEQ ID NO:18的轻链可变结构域。

[0179] 在一些实施例中,抗PDL1抗体是MDX-1105(Bristol Myers Squibb)。MDX-1105,也称为BMS-936559,是W02007/005874中所述的抗PDL1抗体。

[0180] 在一些实施例中,抗PDL1抗体是LY3300054(Eli Lilly)。

[0181] 在一些实施例中,抗PDL1抗体是STI-A1014(Sorrento)。STI-A1014是人抗PDL1抗体。

[0182] 在一些实施例中,抗PDL1抗体是KN035(Suzhou Alphamab)。KN035是从骆驼噬菌体展示文库生成的单结构域抗体(dAb)。

[0183] 在一些实施例中,抗PDL1抗体包含可切割的部分或接头,当被切割时(例如,通过肿瘤微环境中的蛋白酶),该部分或接头激活抗体抗原结合结构域(例如通过去除非结合的空间部分)以使其结合其抗原。在一些实施例中,抗PDL1抗体是CX-072(CytomX Therapeutics)。

[0184] 在一些实施例中,PDL1抗体包含来自以下文献所述的PDL1抗体的六个HVR序列(例如,三个重链HVR和三个轻链HVR)和/或重链可变结构域和轻链可变结构域:US20160108123(转让给Novartis)、W02016/000619(申请人:Beigene)、W02012/145493(申请人:Amplimmune)、US9205148(转让给MedImmune)、W02013/181634(申请人:Sorrento)和W02016/061142(申请人:Novartis)。

[0185] 在又一特定方面,抗体进一步包含人或鼠恒定区。在另一方面,人恒定区选自IgG1、IgG2、IgG2、IgG3和IgG4。在又一特定方面,人恒定区是IgG1。在另一方面,鼠恒定区选自IgG1、IgG2A、IgG2B和IgG3。在另一方面,鼠恒定区为IgG2A。

[0186] 在又一特定方面,抗体具有降低的或最小的效应子功能。在又一特定方面,最小效应子功能来自“无效应子Fc突变”或去糖基化突变。在另一实施例中,无效应子Fc突变是恒定区中的N297A或D265A/N297A取代。在一些实施例中,分离的抗PDL1抗体是去糖基化的。抗体的糖基化通常是N-连接或O-连接的。N-连接是指碳水化合物部分连接至天冬酰胺残基的侧链。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸,其中X是脯氨酸以外的任何氨基酸,是将碳水化合物部分酶促连接至天冬酰胺侧链的识别序列。因此,多肽中这些三肽序列中任一个的存在产生潜在的糖基化位点。O-联糖基化是指糖N-乙酰基半乳糖胺、半乳糖或木糖中的一个与羟基氨基酸(最通常为丝氨酸或苏氨酸,尽管也可以使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸)的连接。通过改变氨基酸序列以除去上述三肽序列之一(对于N-连接的糖基化位点),可以方便地从抗体上除去糖基化位点。可以通过对在糖基化位点内的天冬酰胺、丝氨酸或苏氨酸残基用另一个氨基酸残基(例如,甘氨酸、丙氨酸或保守取代)取代来进行改变。

[0187] 在又一实施例中,本公开提供了包含任何上述抗PDL1抗体与至少一种药用的载体组合的组合物。

[0188] 在又一实施例中,本公开提供了一种组合物,其包含如本文提供的抗PDL1、抗PD-1或抗PDL2抗体或其抗原结合片段以及至少一种药用的载体。在一些实施例中,施用于个体的抗PDL1、抗PD-1或抗PDL2抗体或其抗原结合片段是包含一种或多种药用的载体的组合物。可以使用本文所述或本领域已知的任何药用的载体。

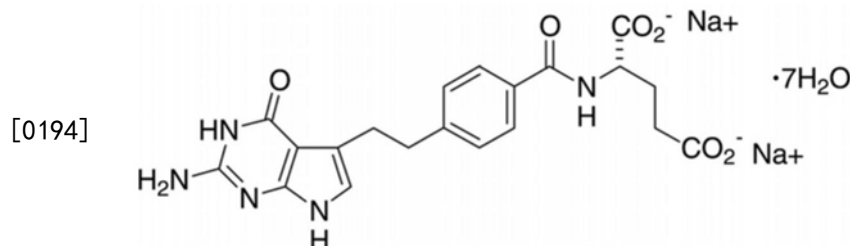
[0189] IV. 抗代谢物和铂剂

[0190] 抗代谢物

[0191] 抗代谢物(例如培美曲塞、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、卡培他滨、阿糖胞苷、氟尿苷、氟达拉滨、羟基脲、甲氨蝶呤等)是广泛使用的抗肿瘤药物,会干扰一种或多种DNA合成所需的酶。抗代谢物通常通过多种机制起作用,包括例如掺入核酸,从而触发细胞凋亡,或例如竞争参与核苷酸合成的酶的结合位点,从而耗尽DNA和/或RNA复制和细胞增殖所需的供给。

[0192] 培美曲塞是在本文所述方法中使用的示例性抗代谢物。培美曲塞是叶酸类似物。药物培美曲塞七水合二钠具有化学名称L-谷氨酸,N-[4-[2-(2-氨基-4,7-二氢-4-氧代-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5基)乙基]苯甲酰基]-二钠盐七水合物,分子式为 $C_{20}H_{19}N_5Na_2O_6 \cdot 7H_2O$,分子量为597.49。

[0193] 培美曲塞七水合二钠具有以下结构:



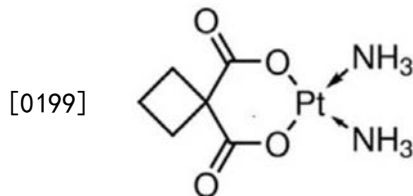
[0195] 培美曲塞抑制胸腺嘧啶和嘌呤合成中使用的多种叶酸依赖性酶,即胸苷酸合酶

(TS), 二氢叶酸还原酶(DHFR)和甘氨酸核糖核苷酸甲酰基转移酶(GARFT)(参见Shih等人, (1997) Cancer Res. 57:1116-23)。培美曲塞通过抑制嘌呤和嘧啶前体核苷酸的形成, 阻止了正常细胞和癌细胞两者的生长和存活所需的DNA和RNA的形成。培美曲塞可以以商品名 **ALIMTA®**、GIOPEM、PEXATE、PEMANAT、PEMEX、PEMMET、PEXATE、RELITREXED、TEMERAN、CIAMBRA等来商购。

[0196] 铂剂

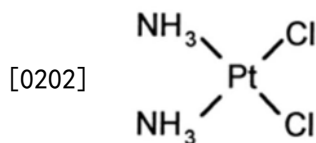
[0197] 铂剂(例如顺铂、卡铂、奥沙利铂和赛特铂(satraplatin))是广泛使用的抗肿瘤药物, 可引起DNA交联, 如单加合物、链间交联、链内交联或DNA蛋白交联。铂剂通常作用于鸟嘌呤的相邻N-7位置, 形成1、2链内交联((Poklar等人, (1996)。) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93(15):7606-11; Rudd等人, (1995). Cancer Chemother. Pharmacol. 35(4):323-6)。所得的交联抑制癌细胞中的DNA修复和/或DNA合成。

[0198] 卡铂是用于本文所述方法中的示例性铂配位化合物。卡铂的化学名称为铂, 二胺[1,1-环丁烷二羧基(2-)-0,0']-, (SP-4-2), 卡铂具有以下结构式:



[0200] 卡铂是分子式为 $C_6H_{12}N_2O_4Pt$ 的晶体粉末, 分子量为371.25。它以约14mg/mL的率溶于水, 1%溶液的pH为5至7。它实际上不溶于乙醇、丙酮和二甲基乙酰胺。卡铂主要产生链间DNA交联, 这种作用是细胞周期非特异性的。卡铂可以以商品名 **PARAPLATIN®**、BIOCARN、BLASTOCARB、BLASTOPLATIN、CARBOKEM、CARBOMAX、CARBOPA、CARBOPLAN、CARBOTEEN、CARBOTINAL、CYTOCARB、DUCARB、KARPLAT、KEMOCARB、NAPROPLAT、NEOPLATIN、NISCARBO、ONCOCARBIN、TEVACARB、WOMASTIN和其它来商购。

[0201] 顺铂是本文所述方法中使用的另一种示例性铂配位化合物。顺铂的化学名称为二氨二氯合铂(dichloroplatinum diammoniate), 顺铂具有以下结构式:



[0203] 顺铂是一种无机水溶性铂络合物, 分子式为 $Pt(NH_3)_2Cl_2$, 分子量为300.046。水解后, 它与DNA反应产生链内和链间交联。这些交联似乎削弱了DNA的复制和转录。顺铂的细胞毒性与细胞周期G2期的细胞停滞有关。顺铂可以以商品名

PLATINOL®、**PLATINOL®-AQ**、CDDP、CISPLAN、CISPLAT、PLATIKEM、PLATIONCO、PRACTICIS、PLATICIS、BLASTOLEM、CISMAX、CISPLAN、CISPLATINUM、CISTEEN、DUPLAT、KEMOPLAT、ONCOPLATIN-AQ、PLATINEX、PLATIN、TEVAPLATIN和其它来商购。

[0204] V. 抗体制备

[0205] 本文所述的抗体是使用本领域可用于产生抗体的技术制备的, 其示例性方法在以下部分中更详细地描述。

[0206] 该抗体针对目标抗原(例如PD-L1, 诸如人PD-L1)。优选地, 抗原是生物学上重要的多肽, 并且向患有病症的哺乳动物施用抗体可以在该哺乳动物中产生治疗益处。

[0207] 在某些实施例中, 本文提供的抗体的解离常数(Kd) $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 150\text{nM}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 50\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 、 $\leq 0.1\text{nM}$ 、 $\leq 0.01\text{nM}$ 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更少、例如 10^{-8}M 到 10^{-13}M 、例如 10^{-9}M 到 10^{-13}M)。

[0208] 在一个实施例中, 通过放射性标记的抗原结合测定(RIA)来测量Kd, 所述放射性标记的抗原结合测定用目标抗体的Fab形式及其抗原进行, 如以下测定所述。通过在一系列未标记的抗原滴定存在下用最小浓度(^{125}I)标记的抗原平衡Fab, 然后用抗Fab抗体包被的板捕获结合的抗原, 来测量Fab对抗原的溶液结合亲和力(参见例如, Chen等人, J.Mol.Biol.293:865-881(1999))。为了确定用于测定的条件, 在50mM碳酸钠(pH 9.6)中用 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 捕获抗Fab抗体(Cappel Labs)包被MICROTITER[®]微孔板(Thermo Scientific)过夜, 随后在室温(约23°C)下在PBS中用2% (w/v)牛血清白蛋白阻断二至五小时。在非吸附板(Nunc#269620)中, 将100pM或26pM [^{125}I]-抗原与目标Fab的系列稀释液混合。然后将目标Fab孵育过夜; 然而, 孵育可以持续更长时间(例如, 约65小时)以确保达到平衡。此后, 将混合物转移至捕获板以在室温下孵育(例如, 一小时)。随后移除溶液并且用在PBS中的0.1%聚山梨酯20(TWEEN-20[®])洗涤该板八次。当板已干燥时, 添加150 μl /孔的闪烁体(MICROSCINT-20[™]; Packard), 并且在TOPCOUNT[™] γ 计数器(Packard)上对板计数十分钟。选择给出小于或等于20%最大结合的各Fab的浓度以用于竞争性结合测定中。

[0209] 根据另一个实施例, 使用表面等离子共振测定法在25°C下使用BIACORE[®]-2000或BIACORE[®]-3000(BIACore, Inc., Piscataway, NJ)在固定的抗体CM5芯片上以约10个响应单位测量Kd(RU)。简而言之, 根据供应商说明书, 用N-乙基-N'-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺盐酸盐(EDC)及N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)激活羧甲基化的葡聚糖生物传感器芯片(CM5, BIACORE, Inc.)。将抗原用10mM醋酸钠pH 4.8稀释至 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ (约0.2 μM), 之后以 $5\mu\text{L}/\text{分钟}$ 的流量进行注射以获得大约10个响应单位(RU)的偶联蛋白。注射抗原之后, 注射1M乙醇胺以阻断未反应的基团。关于动力学测量, 在25°C下, 以约25 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流量, 注射在含有0.05%聚山梨酯20(TWEEN-20[™])表面活性剂(PBST)的PBS中的Fab的两倍连续稀释液(0.78nM至500nM)。通过同时拟合缔合和解离传感图, 使用简单的一对一朗缪尔结合模型(BIACORE[®]评估软件3.2版)计算缔合速率(kon)和解离速率(koff)。平衡解离常数(Kd)计算为比率koff/kon。参见例如Chen等人, J.Mol.Biol.293:865-881(1999)。若通过上述表面等离子体共振测定得出缔合速率超过 $10^6\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, 则可通过使用荧光淬灭技术测定缔合速率, 即如在分光计诸如配备止流装置的分光光度计(Aviv Instruments)或8000系列SLM-AMINCO[™]分光光度计(ThermoSpectronic)中用搅拌比色杯所测得的, 在浓度渐增的抗原存在下, 测量在25°C下PBS pH 7.2中的20nM抗抗原抗体(Fab形式)的荧光发射强度(激发=295nm; 发射=340nm, 16nm带通)的增加或减少。

[0210] (i) 抗原制备

[0211] 可选地与其它分子缀合的可溶性抗原或其片段可以用作产生抗体的免疫原。对于跨膜分子, 例如受体、其片段(例如, 受体的细胞外结构域)可以用作免疫原。可替代地, 可以将表达跨膜分子的细胞用作免疫原。这样的细胞可以源自天然来源(例如癌细胞系), 或者

可以是已经通过重组技术转化以表达跨膜分子的细胞。可用于制备抗体的其它抗原及其形式对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0212] (ii) 示例性基于抗体的方法

[0213] 优选通过多次皮下 (sc) 或腹膜内 (ip) 注射相关抗原和佐剂在动物中产生多克隆抗体。使用双功能或衍生化试剂, 例如马来酰亚胺基苯甲酰磺基琥珀酰亚胺 (maleimidobenzoyl sulfosuccinimide ester) (通过半胱氨酸残基缀合)、N-羟基琥珀酰亚胺 (通过赖氨酸残基缀合)、戊二醛、琥珀酸酐、 SOCl_2 或 $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$ (其中 R 和 R^1 是不同的烷基), 将相关抗原缀合至要免疫的物种中具有免疫原性的蛋白质 (例如匙孔血蓝蛋白 (keyhole limpet hemocyanin)、血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白或大豆胰蛋白酶抑制剂), 可能会很有用。

[0214] 通过将例如 100 μg 或 5 μg 的蛋白质或缀合物 (分别用于兔或小鼠) 与 3 体积的弗氏完全佐剂混合, 并在多个部位皮内注射溶液, 使动物针对抗原、免疫原性缀合物或衍生物进行免疫。一个月后, 通过在多个部位进行皮下注射, 以弗氏完全佐剂中原始量的肽或缀合物的 1/5 至 1/10 的剂量增强动物的免疫力。7 至 14 天后, 给动物放血, 并测定血清的抗体滴度。增强动物直至滴度稳定。优选地, 用相同抗原的缀合物 (但是缀合至不同的蛋白质和/或通过不同的交联剂) 增强动物。缀合物也可以在重组细胞培养物中作为蛋白融合物制备。而且, 聚集剂例如明矾适合用于加强免疫应答。

[0215] 可以使用杂交瘤方法制备本公开的单克隆抗体, 所述杂交瘤方法首先描述于 Kohler 等人, *Nature*, 256:495 (1975), 并且进一步描述于例如 Hongo 等人, *Hybridoma*, 14 (3):253-260 (1995); Harlow 等人, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling 等人, in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) 和关于人-人杂交瘤的 Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26 (4):265-268 (2006)。另外的方法包括例如关于从杂交瘤细胞系生产单克隆人天然 IgM 抗体的美国专利号 7,189,826 中描述的那些。人类杂交瘤技术 (Trioma 技术) 描述于 Vollmers 和 Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20 (3):927-937 (2005) 和 Vollmers 和 Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27 (3):185-91 (2005) 中。

[0216] 对于各种其它杂交瘤技术, 参见例如 US 2006/258841、US 2006/183887 (完全人类抗体)、US 2006/059575、US 2005/287149、US 2005/100546、US 2005/026229 和美国专利号 7,078,492 和 7,153,507。使用杂交瘤方法产生单克隆抗体的示例性方案描述如下。在一个实施例中, 小鼠或其它合适的宿主动物 (例如仓鼠), 被免疫以引发淋巴细胞产生或能够产生特异性结合用于免疫的蛋白质的抗体。通过多次皮下 (sc) 或腹膜内 (ip) 注射本公开内容的多肽或其片段和佐剂 (例如单磷酸脂质 A (MPL) / 海藻糖二硬脂酸酯 (trehalose dicrynomycolate) (TDM) (Ribi Immunochem. Research, Inc., Hamilton, Mont.)) 来在动物中产生抗体。可以使用本领域众所周知的方法, 例如重组方法, 来制备本公开的多肽 (例如抗原) 或其片段, 其中一些在本文中进一步描述。测定来自免疫动物的血清中的抗抗原抗体, 并且可选地进行加强免疫。从产生抗抗原抗体的动物中分离淋巴细胞。可替代地, 可以体外免疫淋巴细胞。

[0217] 免疫之后, 将淋巴细胞分离, 接着使用合适的融合剂 (诸如聚乙二醇) 以形成杂交

瘤细胞参见例如Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59-103 (Academic Press, 1986)。可以使用能有效融合的骨髓瘤细胞, 支持所选抗体产生细胞稳定地高水平产生抗体, 并对诸如HAT培养基之类的培养基敏感。示例性骨髓瘤细胞包括但不限于鼠类骨髓瘤细胞系(例如源自可从Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, Calif. USA获得的MOPC-21和MPC-11小鼠肿瘤, 和源自可从American Type Culture Collection, Rockville, Md. USA获得的SP-2或X63-Ag8-653细胞)。还已经描述了人骨髓瘤和小鼠人异源骨髓瘤细胞系用于人单克隆抗体的产生(Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp.51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

[0218] 将由此制备的杂交瘤细胞接种于并培养于合适的培养基(例如, 含有一种或多种抑制未融合的亲代骨髓瘤细胞的生长或存活的物质的培养基)中。例如, 若亲本骨髓瘤细胞缺乏酶次黄嘌呤鸟嘌呤转磷酸核糖基酶(HGPRT或HPRT), 则用于杂交瘤的培养基通常将包括次黄嘌呤、氨嘌呤及胸苷(HAT培养基), 这些物质阻止缺乏HGPRT的细胞的生长。优选地, 无血清杂交瘤细胞培养方法用于减少动物来源的血清如胎牛血清的使用, 描述于例如Even等人, *Trends in Biotechnology*, 24 (3), 105-108 (2006)。

[0219] 寡肽作为用于提高杂交瘤细胞培养物生产率的工具描述于Franek, *Trends in Monoclonal Antibody Research*, 111-122 (2005)。具体而言, 标准培养基富含某些氨基酸(丙氨酸、丝氨酸、天冬酰胺、脯氨酸)或蛋白质水解物级分, 并且由三到六个氨基酸残基组成的合成寡肽可显著抑制细胞凋亡。肽以毫摩尔或更高浓度存在。

[0220] 可以在杂交瘤细胞生长的培养基中测定与本公开的抗体结合的单克隆抗体的产生。由杂交瘤细胞产生的单克隆抗体的结合特异性可通过免疫沉淀或通过体外结合测定诸如放射免疫测定(RIA)或酶联免疫吸附测定(ELISA)来确定。单克隆抗体的结合亲和力可以通过例如Scatchard分析来确定。参见例如Munson等人, *Anal. Biochem.* 107:220 (1980)。

[0221] 一旦鉴定出产生具有所需特异性、亲和力和/或活性的抗体的杂交瘤细胞, 便可通过有限稀释法对该克隆进行亚克隆并通过标准方法培养。参见例如上文Goding所述。用于此目的合适培养基包括例如D MEM或RPMI-1640培养基。另外, 杂交瘤细胞可以作为动物的腹水肿瘤在体内生长。通过常规免疫球蛋白纯化方法(例如蛋白A-Sepharose、羟磷灰石层析、凝胶电泳、透析或亲和层析), 适当地将亚克隆分泌的单克隆抗体与培养基、腹水或血清分离。从杂交瘤细胞分离蛋白质的一种方法描述于US2005/176122和美国专利号6,919,436。该方法包括在结合过程中使用最少的盐(例如溶致盐), 并且优选在洗脱过程中也使用少量的有机溶剂。

[0222] (iii) 文库衍生抗体

[0223] 可通过筛选组合文库中具有所需活性或多种活性的抗体来分离本公开的抗体。例如, 本领域中已知多种用于产生噬菌体展示文库并筛选此类文库中具有所需结合特性的抗体的方法, 例如实例3中所述的方法。其它方法综述于例如Hoogenboom等人, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2001)中, 并且进一步描述于例如McCafferty等人, *Nature* 348:552-554; Clackson等人, *Nature* 352:624-628 (1991); Marks等人, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, 编辑, Human Press, Totowa, NJ, 2003);

Sidhu等人, *J. Mol. Biol.* 338 (2) :299-310 (2004); Lee等人, *J. Mol. Biol.* 340 (5) :1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (34) :12467-12472 (2004); 和Lee等人, *J. Immunol. Methods* 284 (1-2) :119-132 (2004) 中。

[0224] 在某些噬菌体展示方法中,将VH和VL基因的所有组成成分通过聚合酶链式反应(PCR)单独克隆,并在噬菌体文库中随机重组,然后可以从该噬菌体文库中筛选抗原结合噬菌体,如在Winter等人, *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455 (1994) 中所描述的。噬菌体通常将抗体片段展示为单链Fv (scFv) 片段或Fab片段。来自经免疫的来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体,而无需构建杂交瘤。可替代地,可以克隆所有天然组成成分(例如,来自人的所有天然组成成分)以提供针对广泛的非自身抗原和自身抗原的抗体的单一来源,而无需任何免疫,如Griffiths等人, *EMBO J*, 12:725-734 (1993) 所描述的。最后,还可通过以下方式来制得天然文库:克隆来自干细胞的未重排的V基因区段;以及使用含有随机序列的PCR引物来编码高度可变的CDR3区域并完成体外重排,如由Hoogenboom和Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381-388 (1992) 所述。描述人抗体噬菌体文库的专利出版物包括,例如:美国专利号5,750,373,以及美国专利公开号2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936和2009/0002360。

[0225] 在本文中从人抗体文库分离出的抗体或抗体片段被认为是人抗体或人抗体片段。

[0226] (Iv) 嵌合、人源化和人抗体

[0227] 在某些实施例中,本文提供的抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于,例如,美国专利号4,816,567和Morrison等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984) 中。在一个实例中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,源自小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物(诸如猴)的可变区)和人恒定区。在另一实例中,嵌合抗体为其中类别或亚类已经与亲本抗体的类别或亚类改变的“类别转换”抗体。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0228] 在某些实施例中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以减少对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。通常,人源化抗体包含一个或多个可变结构域,其中HVR,例如CDR(或其部分)源自非人抗体,而FR(或其部分)源自人抗体序列。人源化抗体任选地还将包含人恒定区的至少一部分。在一些实施例中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,HVR残基所来源于的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0229] 人源化抗体及其制备方法综述于例如Almagro和Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008) 中,并且进一步描述于例如Riechmann等人, *Nature* 332:323-329 (1988); Queen等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); 美国专利号5,821,337、7,527,791、6,982,321和7,087,409; Kashmiri等人, *Methods* 36:25-34 (2005) (描述了SDR(a-CDR)移植); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (描述了“表面再塑”); Dall'Acqua等人, *Methods* 36:43-60 (2005) (描述了“FR改组”); 和Osborn等人, *Methods* 36:61-68 (2005) 和Klimka等人, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (描述了用于FR改组的“指导选择”方法)中。

[0230] 可用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合”方法选择的框架区(参见例如Sims等人 *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); 来源于轻链或重链可变区的特定子组的人抗体的共有序列的框架区(参见例如Carter等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285

(1992));以及Presta等人, *J. Immunol.*, 151:2623 (1993));人成熟(体细胞突变)框架区或人类种系框架区(参见例如Almagro和Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008));以及来源于筛选FR文库的框架区(参见例如Baca等人, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)和Rosok等人, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996))。

[0231] 在某些实施例中,本文提供的抗体是人抗体。可以使用本领域已知的各种技术来产生人抗体。人抗体通常如van Dijk和van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74 (2001)和Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)所述。

[0232] 可以通过以下方式来制备人抗体:将免疫原施用于转基因动物,所述转基因动物已被修饰以响应于抗原激发而产生具有人可变区的完整人抗体或完整抗体。此类动物通常含有全部或部分人免疫球蛋白基因座,所述全部或部分人免疫球蛋白基因座替代内源性免疫球蛋白基因座,或者在动物的染色体外存在或随机整合至动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,内源性免疫球蛋白基因座通常已被灭活。关于从转基因动物获得人抗体的方法的综述,参见Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)。还参见例如描述XENOMOUSE™技术的美国专利号6,075,181和6,150,584;描述HUMAB®技术的美国专利号5,770,429;描述K-MOUSE®技术的美国专利号7,041,870,以及描述VELOCIMOUSE®技术的美国专利申请公开号US 2007/0061900)。可以进一步修饰来自此类动物产生的完整抗体的人可变区,例如通过与不同的人恒定区组合。

[0233] 人抗体也可以通过基于杂交瘤的方法制备。已经描述了用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人杂交骨髓瘤细胞系。(参见例如Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp.51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987);和Boerner等人, *J. Immunol.*, 147:86 (1991)。)经由人B细胞杂交瘤技术产生的人抗体也如Li等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)所述。另外的方法包括例如在美国专利号7,189,826(描述了从杂交瘤细胞系产生单克隆人IgM抗体)和Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006)(描述了人-人杂交瘤)中描述的那些方法。人类杂交瘤技术(Trioma技术)也描述于Vollmers和Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005)和Vollmers和Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)中。

[0234] 人抗体还可以通过分离选自人源噬菌体展示文库的Fv克隆可变结构域序列产生。然后将此类可变结构域序列与预期的人恒定结构域结合。从抗体文库中选择人抗体的技术描述如下。

[0235] (V) 抗体片段

[0236] 抗体片段可以通过传统方法(例如酶消化)或通过重组技术产生。在某些情况下,使用抗体片段而不是完整抗体具有优势。片段的较小尺寸允许快速清除,并可以改善对实体瘤的进入。有关某些抗体片段的综述,请参见Hudson等人, (2003) *Nat. Med.* 9:129-134。

[0237] 已经开发了用于产生抗体片段的各种技术。传统上,这些片段通过对完整抗体的蛋白水解消化而获得(参见例如Morimoto等人, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24:107-117 (1992);和Brennan等人, *Science*, 229:81 (1985))。但是,这些片段现在可以直接由重组宿主细胞产生。Fab、Fv和scFv抗体片段均可在大肠杆菌中表达并从大肠杆菌中分泌出来,因此可轻松生产大量这些片段。可以从上述抗体噬菌体

文库中分离抗体片段。可替代地, Fab'-SH片段可以直接从大肠杆菌中回收,并化学偶联形成F(ab')₂片段(Carter等人, Bio/Technology 10:163-167(1992))。根据另一种方案,可以直接从重组宿主细胞培养物中分离F(ab')₂片段。在美国专利号5,869,046中描述了具有增加的体内半衰期的Fab和F(ab')₂片段,其包含补救受体结合表位残基。产生抗体片段的其它技术对熟练技术人员将是显而易见的。在某些实施例中,抗体是单链Fv片段(scFv)。参见WO 93/16185;美国专利号5,571,894和5,587,458。Fv和scFv是仅有的具有完整结合位点没有恒定区的种类。因此,它们可能适合于在体内使用期间减少非特异性结合。可以构建scFv融合蛋白以在scFv的氨基或羧基末端产生效应蛋白的融合。参见上文所述Antibody Engineering, ed. Borrebaeck。抗体片段也可以是“线性抗体”,例如,如美国专利号5,641,870所述。这样的线性抗体可以是单特异性或双特异性的。

[0238] (vi) 多特异性抗体

[0239] 多特异性抗体对至少两个不同的表位具有结合特异性,其中这些表位通常来自不同的抗原。尽管这样的分子通常仅结合两个不同的表位(即双特异性抗体, BsAb),但是当在本文中使用时,该表述包括具有其它特异性的抗体,例如三特异性抗体。可以将双特异性抗体制成全长抗体或抗体片段(例如F(ab')₂双特异性抗体)。

[0240] 制备双特异性抗体的方法是本领域已知的。全长双特异性抗体的传统生产是基于两个免疫球蛋白重链-轻链对的共表达,其中两个链具有不同的特异性(Millstein等人, Nature, 305:537-539(1983))。由于免疫球蛋白重链和轻链的随机多样性,这些杂交瘤(四源杂交瘤)产生10种不同抗体分子的潜在混合物,其中只有一种具有正确的双特异性结构。通常通过亲和层析步骤完成的正确分子的纯化相当麻烦,并且产物产率低。类似的方法公开于WO 93/08829和Traunecker等人, EMBO J., 10:3655-3659(1991)中。

[0241] 用于制备双特异性抗体的本领域已知的一种方法是“杵-入-臼(knobs-into-holes)”或“突起-入-穴(protuberance-into-cavity)”法(参见例如美国专利号5,731,168)。在这种方法中,两个免疫球蛋白多肽(例如,重链多肽)各自包含界面。一个免疫球蛋白多肽的界面与另一免疫球蛋白多肽的相应界面相互作用,从而使两个免疫球蛋白多肽缔合。可以对这些界面进行改造,使得位于一个免疫球蛋白多肽界面上的“杵”或“突起”(这些术语在本文中可以互换使用)对应于位于另一个免疫球蛋白多肽的界面上的“臼”或“穴”(这些术语在本文中可以互换使用)。在一些实施例中,臼具有与杵相同或相似的尺寸,并且适当地定位使得当两个界面相互作用时,一个界面的杵可定位在另一界面的对应臼中。不希望受理论的束缚,认为这使异源多聚体稳定并且比其它种类(例如同源多聚体)更有利于异源多聚体的形成。在一些实施例中,该方法可用于促进两个不同的免疫球蛋白多肽的异源多聚化,产生包含两个对不同表位具有结合特异性的免疫球蛋白多肽的双特异性抗体。

[0242] 在一些实施例中,可通过用较大的侧链替换小的氨基酸侧链来构建杵。在一些实施例中,可以通过将较大的氨基酸侧链替换为较小的侧链来构建臼。杵或臼可以存在于原始界面中,也可以合成引入。例如,可以通过改变编码界面的核酸序列以用至少一个“输入”氨基酸残基替换至少一个“原始”氨基酸残基的方式合成地引入杵或臼。改变核酸序列的方法可以包括本领域众所周知的标准分子生物学技术。下表1中显示了各种氨基酸残基的侧链体积。在一些实施例中,原始残基具有小的侧链体积(例如,丙氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸或缬氨酸),并且形成杵的输入残基是天然存在的氨基酸,并且可以

包括精氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸。在一些实施例中,原始残基具有大的侧链体积(例如,精氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸),并且用于形成白的输入残基是天然存在的氨基酸,并且可以包括丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸和缬氨酸。

[0243] 表1.氨基酸残基的性质

氨基酸	一字母缩写	质量 ^a (道尔顿)	体积 ^b (Å ³)	可及表面面积 ^c (Å ²)
丙氨酸(Ala)	A	71.08	88.6	115
精氨酸(Arg)	R	156.20	173.4	225
天冬酰胺(Asn)	N	114.11	117.7	160
天冬氨酸(Asp)	D	115.09	111.1	150
半胱氨酸(Cys)	C	103.14	108.5	135
谷氨酰胺(Gln)	Q	128.14	143.9	180

氨基酸	一字母缩写	质量 ^a (道尔顿)	体积 ^b (Å ³)	可及表面面积 ^c (Å ²)
谷氨酸(Glu)	E	129.12	138.4	190
甘氨酸(Gly)	G	57.06	60.1	75
组氨酸(His)	H	137.15	153.2	195
异亮氨酸(Ile)	I	113.17	166.7	175
亮氨酸(Leu)	L	113.17	166.7	170
赖氨酸(Lys)	K	128.18	168.6	200
甲硫氨酸(Met)	M	131.21	162.9	185
苯丙氨酸(Phe)	F	147.18	189.9	210
脯氨酸(Pro)	P	97.12	122.7	145
丝氨酸(Ser)	S	87.08	89.0	115
苏氨酸(Thr)	T	101.11	116.1	140
色氨酸(Trp)	W	186.21	227.8	255
酪氨酸(Tyr)	Y	163.18	193.6	230
缬氨酸(Val)	V	99.14	140.0	155

[0246] ^a氨基酸的分子量减去水的分子量。来自Handbook of Chemistry and Physics, 43rd ed. Cleveland, Chemical Rubber Publishing Co., 1961的数值。

[0247] ^b来自A. A. Zamyatin, Prog. Biophys. Mol. Biol. 24:107-123, 1972的数值。

[0248] ^c来自C. Chothia, J. Mol. Biol. 105:1-14, 1975的数值。可及表面面积在该参考文献的图6-20中定义。

[0249] 在一些实施例中,基于异源多聚体的三维结构鉴定用于形成杵或白的原始残基。用于获得三维结构的本领域已知技术可以包括X射线晶体学和NMR。在一些实施例中,界面是免疫球蛋白恒定结构域的CH3结构域。在这些实施例中,人IgG₁的CH3/CH3界面涉及在位于四个反平行β链上的每个结构域上的十六个残基。不希望受理论的束缚,突变残基优选位于两个中央反平行β链上,以使由周围的溶剂而不是由配偶体CH3结构域的互补白容纳杵的风险最小化。在一些实施例中,在两种免疫球蛋白多肽中形成相应的杵和白的突变对应于

表2中提供的一个或多个对。

[0250] 表2. 示例性的相应的杵和白形成突变*的组

	第一免疫球蛋白的 CH3	第二免疫球蛋白的 CH3
[0251]	T366Y	Y407T
	T366W	Y407A
	F405A	T394W
	第一免疫球蛋白的 CH3	第二免疫球蛋白的 CH3
[0252]	Y407T	T366Y
	T366Y:F405A	T394W:Y407T
	T366W:F405W	T394S:Y407A
	F405W:Y407A	T366W:T394S
	F405W	T394S

[0253] *突变表示为原始残基、随后是Kabat编号系统的位置、然后是输入残基(所有残基均以单字母氨基酸代码给出)。多个突变由冒号分隔。

[0254] 在一些实施例中,免疫球蛋白多肽包含CH3结构域,该CH3结构域包含上面表2中列出的一个或多个氨基酸取代。在一些实施例中,双特异性抗体包含第一免疫球蛋白多肽和第二免疫球蛋白多肽,所述第一免疫球蛋白多肽包含在表2的左栏中列出的包含一个或多个氨基酸取代的CH3结构域,所述第二免疫球蛋白多肽包含在表2的右栏中列出的包含一个或多个相应氨基酸取代的CH3结构域。

[0255] 在如上所述的DNA突变之后,可以使用本领域已知的标准重组技术和细胞系统表达和纯化编码具有一个或多个相应的杵或白形成突变的修饰的免疫球蛋白多肽的多核苷酸。参见例如,美国专利号5,731,168、5,807,706、5,821,333、7,642,228、7,695,936、8,216,805;美国公布号2013/0089553;和Spiess等人,Nature Biotechnology 31:753-758,2013。可以使用诸如大肠杆菌的原核宿主细胞或诸如CHO细胞的真核宿主细胞来产生修饰的免疫球蛋白多肽。相应的带有杵和白的免疫球蛋白多肽可以在共培养的宿主细胞中表达,并作为异源多聚体一起纯化,或者它们可以在单一培养物中表达、分别纯化和体外组装。在一些实施例中,使用本领域已知的标准细菌培养技术共培养细菌宿主细胞的两种菌株(一种表达带有杵的免疫球蛋白多肽,另一种表达带有白的免疫球蛋白多肽)。在一些实施例中,可以以特定比例混合两种菌株,例如以在培养物中达到相等的表达水平。在一些实施例中,两个菌株可以50:50、60:40或70:30的比例混合。多肽表达后,可将细胞裂解在一起,并提取蛋白质。本领域已知的允许测量同源多聚体与异源多聚体种类的丰度的标准技术可以包括尺寸排阻色谱法。在一些实施例中,使用标准重组技术分别表达每种修饰的免疫球蛋白多肽,并且它们可以在体外组装在一起。例如,可以通过纯化每种修饰的免疫球蛋白多肽、将它们以等质量混合并一起孵育、还原二硫化物(例如,通过用二硫苏糖醇处理)、浓缩和再氧化多肽来实现组装。形成的双特异性抗体可以使用包括阳离子交换色谱法在内的标准技术进行纯化,并使用包括尺寸排阻色谱法在内的标准技术进行测量。有关这些方法的详细说明,请参见Speiss等人,Nat Biotechnol 31:753-8,2013。在一些实施例中,修

饰的免疫球蛋白多肽可以在CHO细胞中单独表达并使用上述方法在体外组装。

[0256] 根据不同的方法,将具有所需结合特异性的抗体可变结构域(抗体-抗原结合位点)与免疫球蛋白恒定结构域序列融合。融合优选地使用免疫球蛋白重链恒定结构域,包含铰链的至少一部分、CH2和CH3区。通常具有至少一个融合物中存在的包含轻链结合所需位点的第一重链恒定区(CH1)。将编码免疫球蛋白重链融合物和(如果需要)免疫球蛋白轻链的DNA插入单独的表达载体中,并共转染到合适的宿主生物中。当在构建中使用的三个多肽链的不相等比例提供最佳产量时,这在实施例提供了调节三个多肽片段的相互比例的极大灵活性。然而,当至少两个多肽链以相等的比率表达导致高产量或当比率没有特别意义时,有可能在一个表达载体中插入两条或全部三条多肽链的编码序列。

[0257] 在该方法的一个实施例中,双特异性抗体由在一个臂中具有第一结合特异性的杂交免疫球蛋白重链和在另一臂中具有杂交免疫球蛋白重链-轻链对(提供第二结合特异性)组成。已经发现,这种不对称结构促进了所需的双特异性化合物与不需要的免疫球蛋白链组合的分离,因为仅在双特异性分子的一半中存在免疫球蛋白轻链提供了一种简便的分离方式。该方法在W0 94/04690中公开。对于产生双特异性抗体的更多细节,参见例如Suresh等人,Methods in Enzymology,121:210(1986)。

[0258] 根据W096/27011中描述的另一种方法,可以对一对抗体分子之间的界面进行工程化以最大化从重组细胞培养物中回收的异源二聚体的百分比。一个界面包含抗体恒定结构域的C_H3结构域的至少一部分。在该方法中,将来自第一抗体分子界面的一个或多个小氨基酸侧链替换为较大的侧链(例如,酪氨酸或色氨酸)。通过用较小的氨基酸侧链(例如丙氨酸或苏氨酸)代替较大的氨基酸侧链,在第二抗体分子的界面上产生了与较大的侧链相同或相似大小的互补“腔”。这提供了一种机制,可以提高异源二聚体而不是其它不需要的最终产物(例如同二聚体)的产量。

[0259] 双特异性抗体包括交联或“异源缀合”抗体。例如,异源缀合物中的一种抗体可以与抗生物素蛋白偶联,另一种与生物素偶联。例如,已经提出了这样的抗体以将免疫系统细胞靶向不需要的细胞(美国专利号4,676,980),以及用于治疗HIV感染(W0 91/00360、W0 92/200373和EP 03089)。异源缀合物抗体可以使用任何方便的交联方法来制备。合适的交联剂是本领域众所周知的,并在美国专利号4,676,980以及许多交联技术中描述。

[0260] 从抗体片段产生双特异性抗体的技术也已在文献中描述。例如,可以使用化学连接来制备双特异性抗体。Brennan等人,Science,229:81(1985)描述了一种程序,其中完整的抗体被蛋白水解地切割以产生F(ab')₂片段。在二硫醇络合剂亚砷酸钠的存在下还原这些片段,以稳定邻位二硫醇并防止分子间二硫化物的形成。然后将产生的Fab'片段转化为硫代硝基苯甲酸酯(TNB)衍生物。然后通过巯基乙胺还原将其中一种Fab'-TNB衍生物重新转化为Fab'-硫醇,并与等摩尔量的其它Fab'-TNB衍生物混合以形成双特异性抗体。产生的双特异性抗体可以用作选择性固定酶的试剂。

[0261] 最近的进展促进了从大肠杆菌中直接回收Fab'-SH片段,可以将其化学偶联形成双特异性抗体。Shalaby等人,J.Exp.Med.,175:217-225(1992)描述了完全人源化的双特异性抗体F(ab')₂分子的产生。每个Fab'片段分别从大肠杆菌中分泌出来,并在体外进行定向化学偶联以形成双特异性抗体。

[0262] 还已经描述了用于直接从重组细胞培养物中制备和分离双特异性抗体片段的各

种技术。例如,已经使用亮氨酸拉链产生了双特异性抗体。Kostelny等人,J.Immunol.,148(5):1547-1553(1992)。来自Fos和Jun蛋白的亮氨酸拉链肽通过基因融合与两种不同抗体的Fab'部分相连。抗体同源二聚体在铰链区还原形成单体,然后再氧化形成抗体异源二聚体。该方法也可以用于抗体同源二聚体的生产。Hollinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,90:6444-6448(1993)描述的“双抗体”技术提供了制备双特异性抗体片段的替代机制。片段包含通过接头连接至轻链可变结构域(V_L)的重链可变结构域(V_H),该接头太短以至于不允许同一条链上的两个结构域之间配对。因此,一个片段的 V_H 和 V_L 结构域被迫与另一片段的互补的 V_L 和 V_H 结构域配对,从而形成两个抗原结合位点。还已经报道了通过使用单链Fv(sFv)二聚体制备双特异性抗体片段的另一种策略。参见Gruber等人,J.Immunol,152:5368(1994)。

[0263] 考虑了具有两个以上价态的抗体。例如,可以制备三特异性抗体。Tuft等人,J.Immunol.147:60(1991)。

[0264] (vii) 单结构域抗体

[0265] 在一些实施例中,本公开的抗体是单结构域抗体。单结构域抗体为包含抗体的全部或部分重链可变结构域或全部或部分轻链可变结构域的单多肽链。在某些实施例中,单结构域抗体是人单结构域抗体(Domantis,Inc.,Waltham,Mass.;参见例如美国专利号6,248,516B1)。在一个实施例中,单结构域抗体由抗体的全部或部分重链可变结构域组成。

[0266] (viii) 抗体变体

[0267] 在一些实施例中,考虑了本文描述的抗体的氨基酸序列修饰。例如,可能期望改善抗体的结合亲和力和/或其他生物特性。抗体的氨基酸序列变体可以通过向编码抗体的核苷酸序列中引入适当的改变或通过肽合成来制备。此类修饰包括例如抗体氨基酸序列内残基的缺失和/或插入和/或取代。可以进行缺失、插入和取代的任何组合以获得最终构建体,前提条件是所述最终构建体具有所需特性。可以在形成序列时将氨基酸改变引入目标抗体的氨基酸序列中。

[0268] (ix) 取代、插入和缺失变体

[0269] 在某些实施例中,提供了具有一或多个氨基酸取代的抗体变体。取代突变的目标位点包括HVR和FR。保守取代如表3所示。更多实质性改变提供于表1中的“示例性取代”标题下,并且在下文中关于氨基酸侧链类别予以进一步描述。可以将氨基酸取代引入目标抗体中,并对产物进行所需活性(例如保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性,或改善的ADCC或CDC)筛选。

[0270] 表3. 保守取代

原始残基	示例性取代	优选取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp、Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu

[0271]

原始残基	示例性取代	优选取代
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
[0272] Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0273] 可根据共同的侧链特性将氨基酸分组：

[0274] a. 疏水性正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

[0275] b. 中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

[0276] c. 酸性：Asp、Glu；

[0277] d. 碱性：His、Lys、Arg；

[0278] e. 残基，其影响

[0279] 链朝向：Gly、Pro；

[0280] f. 芳香性：Trp、Tyr、Phe。

[0281] 非保守性取代将需要用这些类别中的一个的成员交换另一类别。

[0282] 一种类型的取代变体涉及置换亲本抗体（例如，人源化抗体或人抗体）的一个或多个高可变区残基。通常，为进一步研究而选择的一种或多种所得变体相对于亲本抗体将在某些生物学特性（例如，提高的亲合力、降低的免疫原性）上具有修饰（例如，改善）和/或将具有亲本抗体的基本上保留的某些生物学特性。示例性取代变体是亲合力成熟抗体，其可例如使用诸如本文所述的那些基于噬菌体展示的亲合力成熟技术方便地生成。简而言之，将一个或多个HVR残基突变并且将变体抗体展示在噬菌体上并针对特定生物学活性（例如，结合亲合力）进行筛选。

[0283] 可以在HVR中进行改变（例如取代），例如以改善抗体亲合力。可在HVR“热点”中作出此类改变，亦即，由在体细胞成熟过程期间经历高频突变的密码子编码的残基（参见例如Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)）和/或SDR (a-CDR)，其中对所得变体VH

或VL进行结合亲和力测试。通过构建并自二级文库重新选择而实现的亲和力成熟已描述于例如Hoogenboom等人, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人编辑, Human Press, Totowa, NJ, (2001)) 中。在亲和力成熟的一些实施例中, 通过多种方法(例如, 易错PCR、链改组或寡核苷酸定向突变) 中的任一个将多样性引入出于成熟目的而挑选的可变基因中。接着创建二级文库。随后对该文库进行筛选以鉴别具有所需亲和力的任何抗体变体。引入多样性的另一种方法涉及HVR定向方法, 其中将若干HVR残基(例如, 每次4-6个残基) 随机化。参与抗原结合的HVR残基可例如使用丙氨酸扫描突变或建模来特异性地鉴定。具体而言, 常常靶向CDR-H3和CDR-L3。

[0284] 在某些实施例中, 取代、插入或缺失可出现在一或多个HVR内, 只要此类改变基本上不降低抗体结合抗原的能力。例如, 可在HVR中进行基本上不降低结合亲和力的保守性改变(例如, 如本文提供的保守性取代)。此类改变可在HVR“热点”或SDR之外。在以上提供的变体VH及VL序列的某些实施例中, 各HVR未改变, 或含有不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0285] 可用于鉴别可被靶向诱变的抗体残基或区的方法称作“丙氨酸扫描诱变”, 如Cunningham和Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所述。在此方法中, 鉴别残基或一组靶残基(例如, 带电残基, 诸如arg、asp、his、lys和glu) 并用中性或带负电的氨基酸(例如, 丙氨酸或多丙氨酸) 替换以确定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可在对初始取代展现功能敏感性的氨基酸位置引入其它取代。另选地或另外地, 利用抗原-抗体复合物的晶体结构鉴别抗体与抗原之间的接触点。可靶向或消除作为取代的候选的此类接触残基和相邻残基。可筛选变体以确定它们是否具备期望的特性。

[0286] 氨基酸序列插入包括长度范围为一个残基至含有一百个或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基末端融合, 以及一个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的示例包括具有N-末端甲硫胺酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包括抗体的N末端或C末端与增加抗体的血清半衰期的酶(例如, 对于ADEPT) 或多肽的融合。

[0287] (X) 糖基化变体

[0288] 在某些方面, 改变本文提供的抗体以增加或降低抗体糖基化的程度。抗体添加或缺失糖基化位点可以通过改变氨基酸序列以产生或去除一个或多个糖基化位点来方便地实现。

[0289] 当抗体包含Fc区时, 附接于其上的碳水化合物可以被改变。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含具有支链的双触角寡糖, 所述双触角寡糖通常通过N-连接附接于Fc区的CH2结构域的Asn297。参见例如Wright等人, *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡糖可包括各种碳水化合物, 例如, 甘露糖、N-乙酰基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸、以及附接于双触角寡糖结构的“主干”中的GlcNAc的岩藻糖。在一些实施例中, 可对本公开的抗体中的寡糖进行修饰, 以产生具有某些改善特性的抗体变体。

[0290] 在一个实施例中, 提供了包含Fc区的抗体变体, 其中连接至Fc区的碳水化合物结构具有减少的岩藻糖或缺乏岩藻糖, 这可以改善ADCC功能。具体地, 本文考虑相对于在野生型CHO细胞中产生的相同抗体上的岩藻糖的量, 具有减少的岩藻糖的抗体。也就是说, 它们的特征在于其岩藻糖的量比天然CHO细胞(例如, 产生天然糖基化模式的CHO细胞, 诸如含有天然FUT8基因的CHO细胞) 产生的岩藻糖的量低。在某些实施例中, 该抗体是一种抗体, 其上少于约50%、40%、30%、20%、10%或5%的N-连接聚糖包含岩藻糖。例如, 此类抗体中的岩

藻糖的量可以为1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。在某些实施例中,该抗体是一种抗体,其中其上的N-连接聚糖均不包含岩藻糖,即,其中该抗体完全没有岩藻糖,或没有岩藻糖或被去岩藻糖基化。岩藻糖的量为通过计算糖链中在Asn297处的岩藻糖的平均量确定,相对于通过MALDI-TOF质谱测得的与Asn 297附接的所有糖结构(例如,复合、杂合和高甘露糖结构)的总和,如WO 2008/077546中所述。Asn297是指位于Fc区中约位置297处的天冬酰胺残基(Fc区残基的Eu编号);然而,由于抗体中的微小序列变化,Asn297也可以位于位置297上游或下游大约±3个氨基酸,即在位置294和300之间。此类岩藻糖基化变体可以具有改善的ADCC功能。参见例如美国专利公布号US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。与“脱岩藻糖基化”或“岩藻糖缺陷型”抗体变体有关的出版物的实例包括:US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki等人, *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki等人, *Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004)。能够产生去岩藻糖基化抗体的细胞系的实例包括蛋白岩藻糖基化缺陷的Lec13 CHO细胞 (Ripka等人, *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); 美国专利申请号US 2003/0157108A1, Presta, L; 和WO 2004/056312 A1, Adams等人, 特别是实例11), 和敲除细胞系, 诸如 α -1,6-岩藻糖基转移酶基因 (FUT8) 敲除CHO细胞 (参见例如, Yamane-Ohnuki等人, *Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004); Kanda, Y.等人, *Biotechnol. Bioeng.* 94 (4):680-688 (2006); 和WO2003/085107)。

[0291] 抗体还提供有二等分的寡糖, 例如, 其中附接于抗体的Fc区的双触角寡糖被GlcNAc二等分。此类抗体变体可以具有减少的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体变体的实例描述于例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等人); US Patent No. 6,602,684 (Umana等人); US 2005/0123546 (Umana等人) 和Ferrara等人, *Biotechnology and Bioengineering*, 93 (5):851-861 (2006) 中。还提供了在附接于Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的CDC功能。此类抗体变体描述于例如WO 1997/30087 (Patel等人); WO 1998/58964 (Raju, S.); 以及WO 1999/22764 (Raju, S.) 中。

[0292] 在某些实施例中, 包含本文所述的Fc区的抗体变体能够结合Fc γ RIII。在某些实施例中, 与包含人野生型IgG1 Fc区的其它相同抗体相比, 包含本文所述的Fc区的抗体变体在人效应细胞存在下具有ADCC活性, 或在人效应细胞存在下具有增加的ADCC活性。

[0293] (xi) Fc区变体

[0294] 在某些方面, 一个或多个氨基酸修饰可引入本文提供的抗体的Fc区中, 从而生成Fc区变体。Fc区变体可以包含人Fc区序列 (例如人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区), 其在一个或多个氨基酸位置上包含氨基酸修饰 (例如, 取代)。

[0295] 在某些实施例中, 本公开考虑了具有一些但不是全部效应子功能的抗体变体, 这使其成为应用的期望候选物, 其中体内的抗体的半衰期为重要的而某些效应子功能 (诸如补体和ADCC) 为不必要的或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定, 以确认CDC和/或ADCC活性的降低/消耗。例如, 可以进行Fc受体 (FcR) 结合测定以确保抗体缺乏Fc γ R结合 (因此可能缺乏ADCC活性), 但是保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达Fc

(RIII, 而单核细胞表达Fc (RI、Fc (RII和Fc (RIII。造血细胞上的FcR表达总结在Ravetch和Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991) 的第464页的表3中。用于评估目标分子的ADCC活性的体外测定的非限制性实例描述于美国专利号5,500,362 (参见例如Hellstrom, I. 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) 和Hellstrom, I. 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (参见Bruggemann, M. 等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。可替代地, 可以使用非放射性测定方法 (参见例如, 用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定 (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); 以及CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定 (Promega, Madison, WI))。用于此类测定的有效应细胞包括外周血单核细胞 (PBMC) 和自然杀伤 (NK) 细胞。可替代地或另外地, 目标分子的ADCC活性可以在体内评估, 例如, 在动物模型 (诸如在Clynes等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998) 中所公开的) 中评估。还可以进行C1q结合测定以确认抗体无法结合C1q, 因此缺乏CDC活性。参见例如, WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评定补体活化, 可以执行CDC测定 (参见例如Gazzano-Santoro等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. 等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003); 以及Cragg, M.S. 和M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。FcRn结合和体内清除/半衰期测定也可以使用本领域已知的方法执行 (参见例如Petkova, S.B. 等人, *Int'l. Immunol.* 18 (12):1759-1769 (2006))。

[0296] 具有降低的效应子功能的抗体包括具有一个或多个Fc区残基238、265、269、270、297、327和329的取代的那些 (美国专利No. 6,737,056)。此类Fc突变体包括在第265、269、270、297和327位氨基酸位置中的两个或多个处具有取代的Fc突变体, 包括所谓的“DANA”Fc突变体, 其残基265和297被取代为丙氨酸 (美国专利号7,332,581)。

[0297] 描述了具有改善的或降低的与FcR的结合的某些抗体变体。(参见例如, 美国专利号6,737,056; WO 2004/056312, 以及Shields等人, *J. Biol. Chem.* 9 (2):6591-6604 (2001)。)

[0298] 在某些实施例中, 抗体变体包含具有一个或多个氨基酸取代的Fc区, 其改善ADCC, 例如, 在Fc区的位置298、333和/或334处的取代 (残基的EU编号)。在一个示例性的实施例中, 该抗体在其Fc区中包含以下氨基酸取代: S298A、E333A和K334A。

[0299] 在一些实施例中, 例如在美国专利号6,194,551、WO 99/51642和Idusogie等人, *J. Immunol.* 164:4178-4184 (2000) 中所述, 在Fc区中进行改变, 导致改变 (即, 改善或减少) 的C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性 (CDC)。

[0300] 具有延长的半衰期和改善的新生儿Fc受体 (FcRn) 结合的抗体描述于US2005/0014934A1 (Hinton等人) 中, 该新生儿Fc受体负责将母体IgG转移至胎儿 (Guyer等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976) 和Kim等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))。那些抗体包含Fc区, 该Fc区中具有改善Fc区与FcRn的结合的一个或多个取代。此类Fc变体包括在以下Fc区残基中的一处或多处具有取代的Fc变体: 238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434, 例如对Fc区残基434的取代 (美国专利号7,371,826)。另参见Duncan&Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); 美国专利号5,648,260; 美国专利号5,624,821; 和WO 94/29351关于Fc区变体的其它实例。

[0301] VII. 药物组合物和制剂

[0302] 本文还提供了包含PD-1轴结合拮抗剂 (例如阿特殊单抗)、铂剂 (例如卡铂或顺铂)

和抗代谢物(例如培美曲塞)的药物组合物和制剂,用于例如治疗肺癌(诸如非小细胞肺癌,例如IV期非鳞状非小细胞肺癌)。在一些实施例中,药物组合物和制剂还包含药用的载体。

[0303] 在一些实施例中,本文所述的抗PDL1抗体(例如阿特殊单抗)处于制剂中,所述制剂包含约60mg/mL的量的抗体、约20mM的浓度的乙酸组氨酸、约120mM的浓度的蔗糖和浓度为0.04% (w/v)的聚山梨酯(例如聚山梨酯20),且制剂的pH值为约5.8。在一些实施例中,本文所述的抗PDL1抗体(例如阿特殊单抗)处于制剂中,所述制剂包含约125mg/mL的量的抗体、约20mM的浓度的乙酸组氨酸、约240mM浓度的蔗糖和浓度为0.02% (w/v)的聚山梨酯(例如聚山梨酯20),且制剂的pH值为约5.5。

[0304] 在制备目标抗体之后(例如,产生可以如本文公开配制的抗体的技术已经阐述过了,并且是本领域已知的),制备包含它的药物制剂。在某些实施例中,待配制的抗体未经预先冻干,并且本文目标制剂是水性制剂。在某些实施例中,抗体是全长抗体。在一个实施例中,制剂中的抗体是抗体片段,例如F(ab')₂,在这种情况下,全长抗体可能不会发生的问题(例如将抗体剪接为Fab)需要解决。制剂中存在的抗体的治疗有效量例如通过考虑所需的剂量体积和施用方式来确定。约25mg/mL至约150mg/mL、或约30mg/mL至约140mg/mL、或约35mg/mL至约130mg/mL、或约40mg/mL至约120mg/mL、或约50mg/mL至约130mg/mL、或约50mg/mL至约125mg/mL、或约50mg/mL至约120mg/mL、或约50mg/mL至约110mg/mL、或约50mg/mL至约100mg/mL、或约50mg/mL至约90mg/mL、或约50mg/mL至约80mg/mL、或约54mg/mL至约66mg/mL是制剂中的示例性抗体浓度。

[0305] 制备在pH缓冲溶液中包含抗体的水性制剂。在一些实施例中,本公开的缓冲剂的pH在约5.0至约7.0的范围内。在某些实施例中,pH在约5.0至约6.5的范围内、pH在约5.0至约6.4的范围内、在约5.0至约6.3的范围内、pH在约5.0至约6.2的范围内、pH在约5.0至约6.1的范围内、pH在约5.5至约6.1的范围内、pH在约5.0至约6.0的范围内、pH在约5.0至约5.9的范围内、pH在约5.0至约5.8的范围内、pH在约5.1至约6.0的范围内、pH在约5.2至约6.0的范围内、pH在约5.3至约6.0、pH在约5.4至约6.0的范围内、pH在约5.5至约6.0的范围内、pH在约5.6至约6.0的范围内、pH在约5.7至约6.0的范围内、或pH在约5.8至约6.0的范围内。在一些实施例中,制剂的pH为6.0或约6.0。在一些实施例中,制剂的pH为5.9或约5.9。在一些实施例中,制剂的pH为5.8或约5.8。在一些实施例中,制剂的pH为5.7或约5.7。在一些实施例中,制剂的pH为5.6或约5.6。在一些实施例中,制剂的pH为5.5或约5.5。在一些实施例中,制剂的pH为5.4或约5.4。在一些实施例中,制剂的pH为5.3或约5.3。在一些实施例中,制剂的pH为5.2或约5.2。将pH控制在该范围内的缓冲剂的实例包括组氨酸(例如L-组氨酸)或乙酸钠。在某些实施例中,缓冲剂包含浓度为约15mM至约25mM的乙酸组氨酸或乙酸钠。在一些具体实施例中,缓冲剂包含乙酸组氨酸或乙酸钠,其浓度为约15mM至约25mM、约16mM至约25mM、约17mM至约25mM、约18mM至约25mM、约19mM至约25mM、约20mM至约25mM、约21mM至约25mM、约22mM至约25mM、约15mM、约16mM、约17mM、约18mM、约19mM、约20mM、约21mM、约22mM、约23mM、约24mM或约25mM。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.0。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.1。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.2。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.3。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.4。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.5。在

一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.6。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.7。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.8。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 5.9。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 6.0。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 6.1。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 6.2。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约20mM,pH 6.3。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 5.2。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 5.3。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 5.4。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 5.5。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 5.6。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 5.7。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 5.8。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 5.9。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 6.0。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 6.1。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 6.2。在一实施例中,缓冲剂是乙酸组氨酸或乙酸钠,其量为约25mM,pH 6.3。

[0306] 在一些实施例中,缓冲剂的浓度为约60mM至约240mM。在一些实施例中,制剂中的蔗糖为约60mM至约230mM、约60mM至约220mM、约60mM至约210mM、约60mM至约200mM、约60mM至约190mM、60mM至约180mM、约60mM至约170mM、约60mM至约160mM、约60mM至约150mM、约60mM至约140mM、约80mM至约240mM、约90mM至约240mM、约100mM至约240mM、约110mM至约240mM、约120mM至约240mM、约130mM至约240mM、约140mM至约240mM、约150mM至约240mM、约160mM至约240mM、约170mM至约240mM、约180mM至约240mM、约190mM至约240mM、约200mM至约240mM、约80mM至约160mM、约100mM至约140mM、或约110mM至约130mM。在一些实施例中,制剂中的蔗糖为约60mM、约70mM、约80mM、约90mM、约100mM、约110mM、约120mM、约130mM、约140mM、约150mM、约160mM、约170mM、约180mM、约190mM、约200mM、约210mM、约220mM、约230mM或约240mM。

[0307] 在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约40mg/mL至约125mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约40mg/mL至约120mg/ml、约40mg/mL至约110mg/ml、约40mg/mL至约100mg/ml、约40mg/mL至约90mg/ml、约40mg/mL至约80mg/ml、约40mg/mL至约70mg/ml、约50mg/mL至约120mg/ml、约60mg/mL至约120mg/ml、约70mg/mL至约120mg/ml、约80mg/mL至约120mg/ml、约90mg/mL至约120mg/ml或约100mg/mL至约120mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约60mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约65mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约70mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约75mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约80mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约85mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约90mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约95mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约100mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约110mg/ml。在一些实施例中,制剂中的抗体浓度为约125mg/ml。

[0308] 在一些实施例中,将表面活性剂添加至抗体制剂。示例性表面活性剂包括非离子表面活性剂,例如聚山梨酯(例如聚山梨酯20、80等)或泊洛沙姆(例如泊洛沙姆188等)。加

入的表面活性剂的量应使其减少配制的抗体的聚集和/或使制剂中颗粒的形成最小化和/或减少吸附。例如,表面活性剂可以约0.001%至约0.5% (w/v) 的量存在于制剂中。在一些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)为约0.005%至约0.2%、约0.005%至约0.1%、约0.005%至约0.09%、约0.005%至约0.08%、约0.005%至约0.07%、约0.005%至约0.06%、约0.005%至约0.05%、约0.005%至约0.04%、约0.008%至约0.06%、约0.01%至约0.06%、约0.02%至约0.06%、约0.01%至约0.05%、或约0.02%至约0.04%。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.005%或约0.005%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.006%或约0.006%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.007%或约0.007%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.008%或约0.008%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.009%或约0.009%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.01%或约0.01%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.02%或约0.02%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.03%或约0.03%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.04%或约0.04%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.05%或约0.05%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.06%或约0.06%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.07%或约0.07%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.08%或约0.08%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.1%或约0.1%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.2%或约0.2%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.3%或约0.3%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.4%或约0.4%的量存在于制剂中。在某些实施例中,表面活性剂(例如聚山梨酯20)以0.5%或约0.5%的量存在于制剂中。

[0309] 在一个实施例中,制剂包含上述试剂(例如抗体、缓冲液、蔗糖和/或表面活性剂),并且基本上不含一种或多种防腐剂,例如苯甲醇、苯酚、间甲酚、氯丁醇和苄索氯铵。在另一实施例中,制剂中可以包含防腐剂,特别是当制剂是多剂量制剂时。防腐剂的浓度可以在约0.1%至约2%的范围内,优选约0.5%至约1%。一种或多种其它药用的载体、赋形剂或稳定剂(例如描述于Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)中的那些)可以包含在配方中,前提是它们不会不利地影响配方的所需特性。可接受的载体、赋形剂或稳定剂在使用的剂量和浓度下对受体无毒,并且包括:其它缓冲剂、助溶剂、抗氧化剂(包括抗坏血酸和甲硫氨酸)、螯合剂(如EDTA)、金属络合物(例如锌蛋白络合物)、可生物降解的聚合物(例如聚酯)和/或成盐的抗衡离子。本文的示例性药用的载体还包括间质药物分散剂例如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),诸如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,例如rHuPH20 (HYLENEX[®], Baxter International, Inc.)。某些示例性sHASEGP和使用方法,包括rHuPH20,描述于美国专利公开No. 2005/0260186和2006/0104968中。在一个方面中,将sHASEGP与一种或多种另外的糖胺聚糖酶(诸如软骨素酶)组合。

[0310] 对于所治疗的特定适应症,本文的制剂还可以包含一种以上的蛋白质,优选具有

对其它蛋白质没有不利影响的互补活性的那些蛋白质。例如,当抗体是抗PDL1(例如阿特殊单抗)时,可以与另一种药物(例如化疗剂和抗肿瘤剂)联合使用。

[0311] 本文所述的药物组合和制剂可通过将具有所需纯度的活性成分(例如抗体或多肽)与一种或多种可选的药物的载体(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))混合,以冻干制剂或水溶液的形式来制备。药物的载体在所采用的剂量和浓度下通常对受体无毒,包括但不限于:缓冲剂,例如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲基氯化铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚,丁醇或苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖,二糖和其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐的抗衡离子,例如钠;金属络合物(例如锌蛋白络合物);和/或非离子表面活性剂,例如聚乙二醇(PEG)。本文的示例性药物的载体还包括间质药物分散剂例如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),诸如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,例如rHuPH20(HYLENEX[®], Baxter International, Inc.)。某些示例性sHASEGP和使用方法,包括rHuPH20,描述于美国专利公开No. 2005/0260186和2006/0104968中。在一个方面中,将sHASEGP与一种或多种另外的糖胺聚糖酶(诸如软骨素酶)组合。

[0312] 示例性的冻干抗体制剂描述于美国专利No. 6,267,958中。水性抗体制剂包括在美国专利No. 6,171,586和W02006/044908中描述的那些,后者中的制剂包含组氨酸-乙酸盐缓冲剂。

[0313] 本文的制剂和组合物还可含有多于一种对于所治疗的特定适应症是必需的活性成分,优选是具有不会彼此不利地影响的互补活性的活性成分。此类活性成分适当地以对预期目的有效的量组合存在。

[0314] 活性成分可以包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合而制备的微胶囊(例如分别为羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中;在胶体药物递送系统(例如,脂质体、白蛋白、微球、微乳液、纳米粒子和纳米胶囊)中;或在粗乳液中。此类技术公开于Remington's Pharmaceutical Sciences第16版, Osol, A. 编(1980)。

[0315] 可以制备缓释制备物。缓释制备物的合适示例包括含有抗体的固态疏水聚合物的半透性基质,所述基质是例如膜或微胶囊等成型制品的形式。用于体内施用的制剂通常是无菌的。无菌可以容易地实现,例如通过无菌过滤滤膜。

[0316] 卡铂、顺铂和/或培美曲塞的药物制剂是可商购的。例如,卡铂以包括PARAPLATIN[®]在内的多种商品名(如本文其它地方所述)已知。顺铂以包括PLATINOL[®]在内的多种商品名(如本文其它地方所述)已知。培美曲塞以包括ALIMTA[®]、GIOPEM、PEXATE和CIAMBRA在内的多种商品名(如本文其它地方所述)已知。在一些实施例中,卡铂和/或培美曲塞提供在分开的容器中。在一些实施例中,顺铂和/或培美曲塞提供在分开的容器中。在一些实施例中,如商购产品可获得的处方信息中所述,将卡铂和/或培美曲塞分别用于和/或制备用于施用于个体。在一些实施例中,如商购产品可获得

的处方信息中所述,将顺铂和/或培美曲塞分别用于和/或制备用于施用于个体。

[0317] VIII. 治疗方法

[0318] 本文提供了治疗或延缓个体的癌症(例如肺癌,诸如非小细胞肺癌、诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的进展的方法,包括向所述个体施用有效量的PD-1轴结合拮抗剂(例如抗PD-L1抗体)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)。在一些实施例中,治疗导致在停止治疗后个体的持续应答。在一些实施例中,治疗延长个体的无进展生存期(PFS)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约7.6个月。在一些实施例中,施用延长了个体的总生存期(OS)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约18.1个月。

[0319] 本文描述的方法可用于治疗需要增强免疫原性的病症,例如增加用于治疗癌症的肿瘤免疫原性。本文还提供了增强个体患有(例如肺癌,诸如非小细胞肺癌、诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的个体的免疫功能的方法,包括向所述个体施用有效量的PD-1轴结合拮抗剂(例如抗PD-L1抗体)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)。

[0320] 在一个实施例中,肺癌是非小细胞肺癌(NSCLC)。在一些实施例中,NSCLC是IV期NSCLC。在一些实施例中,IV期NSCLC是非鳞状NSCLC。在一些实施例中,NSCLC是根据或由Union Internationale contre le Cancer/American Joint Committee on Cancer staging system,第7版所述定义,组织学或细胞学上证实的IV期非鳞状非小细胞肺癌(参见例如Detterbeck等人,(2009)Chest 136:-26071)。在一些实施例中,IV期NSCLC具有混合的非小细胞组织学(例如鳞状和非鳞状),并且主要组织学组分是或看起来是非鳞状的。在一些实施例中,如果肿瘤已经生长至附近结构,则将NSCLC分类为IV期。在一些实施例中,如果肿瘤已经生长至附近结构和/或已经到达近端淋巴结,则将NSCLC分类为IV期。在一些实施例中,如果癌症已经从最初受影响的肺扩散到另一肺,则将NSCLC分类为IV期。在一些实施例中,如果在肺周围的流体中发现癌细胞(即恶性胸腔积液),则将NSCLC分类为IV期。在一些实施例中,如果在心脏周围的流体中发现癌细胞(即恶性心包积液(malignant pericardial infusion)),则将NSCLC分类为IV期。在一些实施例中,如果癌症已经作为单个肿瘤扩散到胸部外部,例如扩散到远端淋巴结、肝脏、骨骼和/或大脑,则将NSCLC分类为IV期。在一些实施例中,如果癌症已经在胸部外扩散为多于一种肿瘤,例如扩散至远端淋巴结、肝脏、骨骼和/或大脑,则将NSCLC分类为IV期。在一些实施例中,IV期NSCLC难以治疗。关于NSCLC分期的更多详细信息描述于American Joint Committee on Cancer.Lung.In: AJCC Cancer Staging Manual.8th ed.New York,NY:Springer;2017:431-456。

[0321] 在一些实施例中,个体预后不良。在一些实施例中,个体是未接受过治疗的个体。在一些实施例中,未接受过治疗的个体是未接受过对例如癌症、NSCLC或IV期非鳞状NSCLC的在先治疗的个体。在一些实施例中,未接受过治疗的个体是未接受过对IV期非鳞状NSCLC的在先治疗的个体。在一些实施例中,所述个体是未接受过化疗,例如,未接受过在先化疗来治疗例如癌症、NSCLC和/或IV期非鳞状NSCLC的个体。在一些实施例中,个体未接受过对IV期非鳞状NSCLC的治疗。在一些实施例中,个体未接受过对IV期非鳞状NSCLC的在先系统

治疗。

[0322] 在一些实施例中,个体是亚洲人。在一些实施例中,个体是亚洲人后裔。在一些实施例中,个体至少65岁。在一些实施例中,个体是从不吸烟者。在一些实施例中,从不吸烟者是从未吸烟或在其一生中吸烟少于100支香烟的成年人。在一些实施例中,个体不具有肝转移。

[0323] 在一些实施例中,个体为“PD-L1高”。在一些实施例中,如果来自患者的治疗前样品中表达PD-L1的肿瘤细胞总计 \geq 样品中肿瘤细胞总数的50%,则患者为“PD-L1高”。在一些实施例中,将治疗前样品中 \geq 50%的肿瘤细胞上的PD-L1表达定义/评分为“TC3”。在一些实施例中,如果来自患者的治疗前样品中表达PD-L1的肿瘤浸润免疫细胞总计 \geq 样品中肿瘤浸润免疫细胞总数的10%,则患者为“PD-L1高”。在一些实施例中,将治疗前样品中 \geq 10%的肿瘤浸润免疫细胞上的PD-L1表达定义/评分为“IC3”。在一些实施例中,治疗前样品是新鲜的肿瘤样品。在一些实施例中,治疗前样品是福尔马林固定石蜡包埋的 (FFPE) 肿瘤样品。在一些实施例中,通过免疫组织化学测定法确定在治疗前样品中肿瘤细胞和/或肿瘤浸润免疫细胞上的PD-L1表达水平。在一些实施例中,免疫组织化学测定是VENTANA SP142测定。

[0324] 在一些实施例中,如果来自患者的治疗前样品中表达PD-L1的肿瘤细胞总计为样品中肿瘤细胞的总数的1%至 $<$ 5%,则患者为“PD-L1低”。在一些实施例中,将治疗前样品中1%至 $<$ 5%的肿瘤细胞上的PD-L1表达定义/评分为“TC1”。在一些实施例中,如果来自患者的治疗前样品中表达PD-L1的肿瘤细胞总计为样品中肿瘤细胞的总数的5%至 $<$ 50%,则患者为“PD-L1低”。在一些实施例中,将治疗前样品中5%至 $<$ 50%的肿瘤细胞上的PD-L1表达定义/评分为“TC2”。在一些实施例中,如果来自患者的治疗前样品中表达PD-L1的肿瘤浸润免疫细胞总计为样品中肿瘤浸润免疫细胞总数的1%至 $<$ 5%,则患者为“PD-L1低”。在一些实施例中,将在治疗前样品中1%至 $<$ 5%的肿瘤免疫细胞上PD-L1表达定义/评分为“IC1”。在一些实施例中,如果来自患者的治疗前样品中表达PD-L1的肿瘤浸润免疫细胞总计为样品中肿瘤浸润免疫细胞总数的5%至 $<$ 10%,则患者为“PD-L1低”。在一些实施例中,将在治疗前样品中5%至 $<$ 10%的肿瘤免疫细胞上PD-L1表达定义/评分为“IC2”。在一些实施例中,治疗前样品是新鲜的肿瘤样品。在一些实施例中,治疗前样品是福尔马林固定石蜡包埋的 (FFPE) 肿瘤样品。在一些实施例中,通过免疫组织化学测定法确定在治疗前样品中肿瘤细胞和/或肿瘤浸润免疫细胞上的PD-L1表达水平。在一些实施例中,免疫组织化学测定是VENTANA SP142测定。

[0325] 在一些实施例中,个体为“PD-L1阴性”。在一些实施例中,如果来自患者的治疗前样品中表达PD-L1的肿瘤细胞总计 $<$ 样品中肿瘤细胞总数的1%,则患者为“PD-L1阴性”。在一些实施例中,将在治疗前样品中 $<$ 1%的肿瘤细胞上PD-L1表达定义分为“TC0”。在一些实施例中,如果来自患者的治疗前样品中表达PD-L1的肿瘤浸润免疫细胞总计 $<$ 样品中肿瘤浸润免疫细胞总数的1%,则患者为“PD-L1阴性”。在一些实施例中,将在治疗前样品中 $<$ 1%的肿瘤浸润免疫细胞上PD-L1表达定义分为“IC0”。在一些实施例中,治疗前样品是新鲜的肿瘤样品。在一些实施例中,治疗前样品是福尔马林固定石蜡包埋的 (FFPE) 肿瘤样品。在一些实施例中,通过免疫组织化学测定法确定治疗前样品中肿瘤细胞和/或肿瘤浸润免疫细胞中的PD-L1表达水平。在一些实施例中,免疫组织化学测定是VENTANA SP142测定,其在本文

其它地方进一步详细描述。

[0326] 在一些实施例中,TC0、TC1、TC2、TC3、IC0、IC1、IC2和IC3定义/评分如下表所总结:

[0327] 示例性肿瘤细胞 (TC) 和肿瘤浸润免疫细胞 (IC) 评分定义*

PD-L1 TC 染色标准*		PD-L1 IC 染色标准*	
TC评分	定义	IC评分	定义
[0328] TC0	<1%	IC0	<1%
TC1	≥1% 和 <5%	IC1	≥1% 和 <5%
TC2	≥5% 和 <50%	IC2	≥5% 和 <10%
TC3	≥50%	IC3	≥10%

[0329] *步进方案中TC得分最高,其次是IC

[0330] *请参阅VENTANA PD-L1 (SP142) IHC测定的评估指南:非小细胞肺癌染色通用培训。(参见[www \(dot\) rocheplus \(dot\) es/content/dam/hcp-portals/spain/documents/formaci%C3%B3n/uro-path/PD-L1%20SP142%20Assessment%20%20v2.5 \(dot\) pdf](http://www.rocheplus.es/content/dam/hcp-portals/spain/documents/formaci%C3%B3n/uro-path/PD-L1%20SP142%20Assessment%20%20v2.5.pdf))

[0331] 在一些实施例中,个体具有组织学或细胞学上证实的IV期非鳞状NSCLC(根据国际联合抗癌/美国联合委员会关于癌症分期系统第7版概述的标准,描述于Detterbeck等人,(2009)“The new lung cancer staging system.”Chest.136:26071-)。在一些实施例中,个体具有混合的非小细胞组织学(即鳞状和非鳞状)的NSCLC,并且如果主要组织学组分是或看起来是非鳞状的,则认为该个体具有非鳞状NSCLC。在一些实施例中,个体在EGFR基因中不具有致敏突变。在一些实施例中,个体不具有ALK融合癌基因。在一些实施例中,在治疗之前筛查个体的EGFR和ALK状态。

[0332] 在一些实施例中,个体已经接受过在先新辅助化疗、辅助化疗或治愈非转移性疾病的意图的放化疗,并且自从上一次剂量化疗和/或放疗到开始治疗之前经历了至少6个月的无治疗间隔。在一些实施例中,个体不具有活动性或未经治疗的中枢神经系统(CNS)转移。在一些实施例中,个体已经治疗了无症状的幕上或小脑CNS转移。在一些实施例中,个体没有转移至中脑、脑桥、延髓或脊髓。在一些实施例中,个体患有CNS疾病并且不需要皮质类固醇治疗CNS疾病。在一些实施例中,个体具有新的无症状转移,并且已经接受了针对CNS转移的放疗和/或手术。在一些实施例中,患有CNS转移的个体在开始治疗的7天内未接受立体定向放射。在一些实施例中,患有CNS转移的个体在开始治疗的14天内没有接受全脑放射。在一些实施例中,个体不患有软脑膜疾病。在一些实施例中,个体没有不受控制的肿瘤疼痛。在一些实施例中,个体没有不受控制的胸腔积液。在一些实施例中,个体没有不受控制的心包积液。在一些实施例中,个体在开始治疗前的5年内除NSCLC外没有其它恶性肿瘤。

[0333] 在一些实施例中,个体具有根据/如RECIST v1.1标准所定义(参见例如Eisenhauer等人,(2009)“New response evaluation criteria in solid tumors: Revised RECIST guideline (version 1.1).”Eur.J.Cancer.45:228-247)的可测量的NSCLC(例如,IV期非鳞状NSCLC)。在一些实施例中,个体未接受CD137激动剂或免疫检查点阻断疗法的在先治疗,例如包括但不限于抗PD-1抗体或抗PD-L1抗体。在一些实施例中,患者已经接受了抗细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4 (CTLA-4)的在先治疗,其中所述治疗发生在本文所述的治疗开始之前至少6周。

[0334] 该方法中可以使用本领域已知或本文所述的任何PD-1轴结合拮抗剂、抗代谢物和

铂剂。在一些实施例中，PD-1轴结合拮抗剂是阿特殊单抗，抗代谢物是培美曲塞和/或铂剂是卡铂或顺铂。

[0335] 在一些实施例中，阿特殊单抗以1200mg的剂量施用，卡铂以足以达到AUC=6mg/ml/min的剂量施用，并且培美曲塞以500mg/m²的剂量施用。

[0336] 在一些实施例中，阿特殊单抗以1200mg的剂量施用，顺铂以75mg/m²的剂量施用，并且培美曲塞并以500mg/m²的剂量施用。

[0337] 在一些实施例中，治疗包括诱导期和维持期(或“维持疗法”)。在一些实施例中，诱导期包括在第1至第4周期的每个21天周期，第1天以1200mg的剂量施用PD-1轴结合拮抗剂(例如，抗PD-L1抗体，诸如阿特殊单抗)，在第1天以500mg/m²的剂量施用抗代谢物(例如培美曲塞)，和在第1天以足以达到6mg/mL/min的初始目标曲线下面积(AUC)的剂量施用铂剂(例如卡铂)。在一些实施例中，维持期包括在第4周期后的每个21天周期，在第1天以1200mg的剂量施用PD-1轴结合拮抗剂(例如，抗PD-L1抗体，诸如阿特殊单抗)，和在第1天以500mg/m²的剂量施用抗代谢物(例如培美曲塞)。

[0338] 在一些实施例中，诱导期包括在第1至第4周期的每个21天周期，在第1天以1200mg的剂量施用PD-1轴结合拮抗剂(例如，抗PD-L1抗体，诸如阿特殊单抗)，在第1天以500mg/m²的剂量施用抗代谢物(例如培美曲塞)，和在第1天以75mg/m²的剂量施用铂剂(例如顺铂)。在一些实施例中，维持期包括在第4周期后的每个21天周期，在第1天以1200mg的剂量施用PD-1轴结合拮抗剂(例如，抗PD-L1抗体，诸如阿特殊单抗)，和在第1天以500mg/m²的剂量施用抗代谢物(例如培美曲塞)。

[0339] 在一些实施例中，诱导期包括在第1至第6周期的每个21天周期，在第1天以1200mg的剂量施用PD-1轴结合拮抗剂(例如，抗PD-L1抗体，诸如阿特殊单抗)，在第1天以500mg/m²的剂量施用抗代谢物(例如培美曲塞)，和在第1天以足以达到6mg/mL/min的初始目标曲线下面积(AUC)的剂量施用铂剂(例如卡铂)。在一些实施例中，维持期包括在第6周期后的每个21天周期，在第1天以1200mg的剂量施用PD-1轴结合拮抗剂(例如，抗PD-L1抗体，诸如阿特殊单抗)，和在第1天以500mg/m²的剂量施用抗代谢物(例如培美曲塞)。

[0340] 在一些实施例中，诱导期包括在第1至第6周期的每个21天周期，在第1天以1200mg的剂量施用PD-1轴结合拮抗剂(例如，抗PD-L1抗体，诸如阿特殊单抗)，在第1天以500mg/m²的剂量施用抗代谢物(例如培美曲塞)，和在第1天以75mg/m²的剂量施用铂剂(例如顺铂)。在一些实施例中，维持期包括在第6周期后的每个21天周期，在第1天以1200mg的剂量施用PD-1轴结合拮抗剂(例如，抗PD-L1抗体，诸如阿特殊单抗)，和在第1天以500mg/m²的剂量施用抗代谢物(例如培美曲塞)。

[0341] 下表4A和4B提供了示例性的给药和施用时间表，其中包括诱导周期和维持周期：

[0342] 表4A：示范性给药和施用时间表

药物 (按施用顺序列出)	诱导期	维持期
	第 1 至第 4 周期	> 周期 4*
	第 1 天	第 1 天
[0343] 1) 抗 PD-L1 单抗 (阿特殊单抗)	1200 mg	1200 mg
2) 抗代谢物 (培美曲塞)	500 mg/m ²	500 mg/m ²
3) 铂剂 (卡铂或顺铂)	卡铂: AUC = 6 [□] 或 顺铂: 75 mg/m ²	

[0344] *21天周期

[0345] □mg/ml/min

[0346] 表4B: 示范性给药和施用时间表

药物 (按施用顺序列出)	诱导期	维持期
	第 1 至第 6 周期	> 周期 6*
	第 1 天	第 1 天
[0347] 1) 抗 PD-L1 单抗 (阿特殊单抗)	1200 mg	1200 mg
2) 抗代谢物 (培美曲塞)	500 mg/m ²	500 mg/m ²
3) 铂剂 (卡铂或顺铂)	卡铂: AUC = 6 [□] 或 顺铂: 75 mg/m ²	

[0348] *21天周期

[0349] □mg/ml/min

[0350] 在一些实施例中,1200mg剂量的阿特殊单抗等效于15mg/kg的基于平均体重的剂量。在一些实施例中,根据Calvert公式计算达到6mg/mL/min的AUC所需的卡铂的剂量(参见例如Calvertt等人,(1989)“Carboplatin dosage:prospective evaluation of a simple formula based on renal function.”J.Clin.Oncol.7:1748-56;van Warmerdam等人,(1995)J.Cancer Res.Clin.Oncol.121(8):478-486)。有关更多详细信息,请参见下面的实例1。

[0351] 在一些实施例中,个体的无进展生存期(PFS)根据RECIST v1.1标准测量,所述标准描述于Eisenhauer等人,(2009)“New response evaluation criteria in solid tumors:Revised RECIST guideline (Version 1.1).”Eur J Cancer.45:228-47)。在一些实施例中,PFS被测量为从治疗开始到首次出现疾病进展的时间段,如RECIST v1.1标准所确定。在一些实施例中,PFS被测量为从治疗开始到死亡时的时间。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的无进展生存期(PFS)增加至少约7.6个月。在一些实施例中,与接受了抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)治疗的患有肺癌(例如非小细胞肺癌,诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的个体相比,该治疗使个体的PFS增加至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4个月中的任何一个(包括这

些值之间内的任何范围)。

[0352] 在一些实施例中,总生存期(OS)被测量为从治疗开始到死亡的时间段。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗使个体的OS增加至少约18.1个月。在一些实施例中,与患有肺癌(例如非小细胞肺癌,诸如IV期非鳞状非小细胞肺癌)并接受抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)治疗的个体相比,该治疗使个体的OS增加至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5或7个月中的任何一个(包括这些值之间内的任何范围)。

[0353] 在一些实施例中,个体是人。

[0354] 在一些实施例中,个体患有对一种或多种PD-1轴拮抗剂具有抗性的癌症(已经证明具有抗性)。在一些实施例中,对PD-1轴拮抗剂的抗性包括癌症的复发或难治性癌症。复发可以是指治疗后在原始部位或新部位再次出现癌症。在一些实施例中,对PD-1轴拮抗剂的抗性包括在用PD-1轴拮抗剂治疗期间癌症的进展。在一些实施例中,对PD-1轴拮抗剂的抗性包括对治疗无反应的癌症。癌症可能在治疗开始时具有抗性,或者在治疗期间具有抗性。在一些实施例中,癌症处于早期或晚期。

[0355] 在另一方面,个体患有表达(例如在诊断测试中,已显示出表达)PD-L1生物标志物的癌症。在一些实施例中,患者的癌症表达低PD-L1生物标志物。在一些实施例中,患者的癌症表达高PD-L1生物标志物。在任何方法、测定法和/或试剂盒的一些实施例中,当PD-L1生物标志物占样品的0%时,其不存在于样品中。

[0356] 在任何方法、测定法和/或试剂盒的一些实施例中,当PD-L1生物标志物占样品的0%以上时,其存在于样品中。在一些实施例中,PD-L1生物标志物存在于至少1%的样品中。在一些实施例中,PD-L1生物标志物存在于至少5%的样品中。在一些实施例中,PD-L1生物标志物存在于至少10%的样品中。

[0357] 在任何方法、测定和/或试剂盒的一些实施例中,使用选自FACS、Western印迹、ELISA、免疫沉淀、免疫组织化学、免疫荧光、放射免疫测定、斑点杂交、免疫检测方法、HPLC、表面等离子体共振、光谱、质谱、HPLC、qPCR、RT-qPCR、多重qPCR或RT-qPCR、RNA-seq、微阵列分析、SAGE、MassARRAY技术和FISH及其组合组成的组中的方法,在样品中检测PD-L1生物标志物。

[0358] 在任何方法、测定和/或试剂盒的一些实施例中,通过蛋白质表达在样品中检测PD-L1生物标志物。在一些实施例中,蛋白表达通过免疫组织化学(IHC)确定。在一些实施例中,使用抗PD-L1抗体检测PD-L1生物标志物。在一些实施例中,通过IHC检测PD-L1生物标志物为弱染色强度。在一些实施例中,通过IHC检测PD-L1生物标志物为中等染色强度。在一些实施例中,通过IHC检测PD-L1生物标志物为强染色强度。在一些实施例中,在肿瘤细胞、肿瘤浸润免疫细胞、基质细胞及其任何组合上检测PD-L1生物标志物。在一些实施例中,染色是膜染色、细胞质染色或其组合。

[0359] 在一些实施例中,使用抗PD-L1兔单克隆第一抗体检测PD-L1生物标志物。在一些实施例中,在福尔马林固定石蜡包埋的样品中检测PD-L1。在一些实施例中,用包含可检测标记的第二抗体检测抗PD-L1兔单克隆第一抗体。在一些实施例中,用于检测PD-L1的测定是VENTANA PD-L1 (SP142) 测定(可从VENTANA®商购),其在实例中有更详细的描述。

[0360] 在任何方法、测定和/或试剂盒的一些实施例中,将PD-L1生物标志物的不存在检测为样品中不存在染色或无染色。在任何方法、测定和/或试剂盒的一些实施例中,将PD-L1生物标志物的存在检测为样品中的任何染色。

[0361] 可以以任何顺序施用PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特殊单抗)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)。例如,可以依次(在不同时间)或同时(在相同时间)施用PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特殊单抗)、抗代谢物(如培美曲塞)和铂剂(如卡铂或顺铂)。在一些实施例中,PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特殊单抗)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)在分开的组合物中。在一些实施例中,PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特殊单抗)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)中的一种或多种(或全部三种)在同一组合物中。

[0362] 可以通过相同的施用途径或不同的施用途径来施用PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特殊单抗)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)。在一些实施例中,通过静脉内、肌肉内、皮下、局部、口服、经皮、腹膜内、眶内、植入、吸入、鞘内、心室内或鼻内施用PD-1轴结合拮抗剂。在一些实施例中,通过静脉内、肌肉内、皮下、局部、口服、经皮、腹膜内、眶内、植入、吸入、鞘内、心室内或鼻内施用抗代谢物(例如培美曲塞)。在一些实施例中,通过静脉内、肌肉内、皮下、局部、口服、经皮、腹膜内、眶内、植入、吸入、鞘内、心室内或鼻内施用铂剂(例如卡铂或顺铂)。在一些实施例中,通过静脉内输注施用PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特殊单抗)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)。可以施用有效量的PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特殊单抗)、抗代谢物(例如培美曲塞)和铂剂(例如卡铂或顺铂)以预防或治疗疾病。

[0363] 在一些实施例中,提供了一种治疗个体(例如,未接受过对IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的治疗的个体)的肺癌(例如IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC))的方法,包括向个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,其中施用包括诱导期和维持期,其中诱导期包括在第1至第4周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,和以足以达到6mg/mL/min的初始目标曲线下面积(AUC)的剂量施用卡铂。在一些实施例中,维持期包括在第4周期后的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,和在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞。

[0364] 在一些实施例中,提供了一种治疗个体(例如,未接受过对IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的治疗的个体)的肺癌(例如IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC))的方法,包括向个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,其中施用包括诱导期和维持期,其中诱导期包括在第1至第4周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,和在第1天以75mg/m²的剂量施用顺铂。在一些实施例中,维持期包括在第4周期后的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,和在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞。

[0365] 在一些实施例中,提供了一种治疗个体(例如,未接受过对IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的治疗的个体)的肺癌(例如IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC))的方法,包括向个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和卡铂,其中施用包括诱导期和维持期,其中诱导期包括在第1至第6周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,和在第1天以足以达到6mg/mL/min的初始目标曲线下

面积 (AUC) 的剂量施用卡铂。在一些实施例中,维持期包括在第6周期后的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,和在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞。

[0366] 在一些实施例中,提供了一种治疗个体(例如,未接受过对IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的治疗的个体)的肺癌(例如IV期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC))的方法,包括向个体施用有效量的阿特殊单抗、培美曲塞和顺铂,其中施用包括诱导期和维持期,其中诱导期包括在第1至第6周期的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞,和在第1天以75mg/m²的剂量施用顺铂。在一些实施例中,维持期包括在第6周期后的每个21天周期,在第1天以1200mg的剂量施用阿特殊单抗,和在第1天以500mg/m²的剂量施用培美曲塞。

[0367] 在一些实施例中,方法延长个体的PFS(例如,至少5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10个月中的任何一个,包括这些值之间内的任何范围)和/或个体的OS(例如,至少约14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5或20个月中的任何一个,包括这些值之间内的任何范围)。在一些实施例中,治疗将个体的无进展生存(PFS)增加至少约7.6个月,和/或将个体的OS增加至少约18.1个月。在一些实施例中,与接受了铂剂(例如卡铂或顺铂)和抗代谢物(例如培美曲塞)治疗的患有肺癌(例如非小细胞肺癌,例如IV期非鳞状非小细胞肺癌)的个体相比,该方法延长个体的PFS(例如,至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5或4个月中的任何一个,包括这些值之间内的任何范围)和/或个体的Os(例如,至少约0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5或7个月中的任何一个,包括这些值之间内的任何范围)。

[0368] 在一些实施例中,例如上面的表4A所述,在第1至第4周期的每个21天周期的第1天,在施用阿特殊单抗后接着施用培美曲塞,并在施用培美曲塞之后施用卡铂或顺铂。在一些实施例中,例如上面的表4B所述,在第1至第6周期的每个21天周期的第1天,在施用阿特殊单抗后接着施用培美曲塞,并在施用培美曲塞之后施用卡铂或顺铂。

[0369] 在一些实施例中,在第1至第4周期的每个21天周期的第1天,在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,在约30-60分钟内静脉内施用卡铂。在一些实施例中,在第1周期的第1天,在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,在约30-60分钟内静脉内施用卡铂;在第2至第4周期的第1天,在30(±10)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,在约30-60分钟内静脉内施用卡铂。在一些实施例中,在第4周期之后的每个21天周期的第1天,在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在大约10分钟内静脉内施用培美曲塞。在一些实施例中,在第4周期之后的每个21天周期的第1天,在30(±10)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在约10分钟内静脉内施用培美曲塞。

[0370] 在一些实施例中,在第1至第4周期的每个21天周期,在第1天在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,和在第1天在约1-2小时内静脉内施用顺铂。在一些实施例中,在第1周期,在第1天在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,的第1天在约1-2小时内静脉内施用顺铂;在第2至第4周期,在第1天在30(±10)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,和在第1天在约30-60分钟内静脉内施用。在一些实施例中,在第4周期之后的每个21天周期,在第1天在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,和在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞。在一些实施例中,在第4周期之后的每个21天周期,

在第1天在30(±10)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,和在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞。

[0371] 在一些实施例中,在第1至第6周期的每个21天周期,在第1天在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,和在第1天在约30-60分钟内静脉内施用卡铂。在一些实施例中,在第1周期,在第1天在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,和在第1天在约30-60分钟内静脉内施用卡铂;在第2至第6周期,在第1天在30(±10)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,和在第1天在约30-60分钟内静脉内施用卡铂。在一些实施例中,在第6周期之后的每个21天周期,在第1天在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,和在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞。在一些实施例中,在第6周期之后的每个21天周期,在第1天在30(±10)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,和在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞。

[0372] 在一些实施例中,在第1至第6周期的每个21天周期,在第1天在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,和在第1天在约1-2小时内静脉内施用顺铂。在一些实施例中,在第1周期,在第1天在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,和在第1天在约1-2小时内静脉内施用顺铂;在第2至第6周期,在第1天在30(±10)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞,和在第1天在约30-60分钟内静脉内施用顺铂。在一些实施例中,在第6周期之后的每个21天周期,在第1天在60(±15)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,和在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞。在一些实施例中,在第6周期之后的每个21天周期,在第1天在30(±10)分钟内静脉内施用阿特殊单抗,和在第1天在约10分钟内静脉内施用培美曲塞。

[0373] 作为一般性提议,向人施用的抗体的治疗有效量将在约0.01至约50mg/kg患者体重的范围内,无论通过一次或多次施用。在一些实施例中,使用的抗体以,例如约0.01至约45mg/kg、约0.01至约40mg/kg、约0.01至约35mg/kg、约0.01至约30mg/kg、约0.01至约25mg/kg、约0.01至约20mg/kg、约0.01至约15mg/kg、约0.01至约10mg/kg、约0.01至约5mg/kg或约0.01至约1mg/kg来每日施用。在一些实施例中,抗体以15mg/kg施用。然而,其他剂量方案可能有用。在一个实施例中,将本文所述的抗PDL1抗体在21天周期的第1天以约100mg、约200mg、约300mg、约400mg、约500mg、约600mg、约700mg、约800mg、约900mg、约1000mg、约1100mg、约1200mg、约1300mg或约1400mg的剂量施用于人。该剂量可以以单剂量或多剂量(例如,2或3个剂量)诸如输注的形式施用。与单一治疗相比,在联合治疗中施用的抗体剂量可以减少。疗法的进展可以通过常规技术容易地监测。

[0374] 在一些实施例中,方法可以进一步包括附加疗法。附加疗法可以是放疗、手术(例如,乳房肿瘤切除术和乳房切除术)、化疗、基因疗法、DNA疗法、病毒疗法、RNA疗法、免疫疗法、骨髓移植、纳米疗法、单克隆抗体疗法或前述的组合。附加疗法可以是辅助疗法或新辅助疗法的形式。在一些实施例中,附加疗法是施用小分子酶抑制剂或抗转移剂。在一些实施例中,附加疗法是施用副作用限制剂(例如,旨在减轻治疗副作用的发生和/或严重性的试剂,诸如抗恶心剂等)。在一些实施例中,附加疗法是放疗。在一些实施例中,附加疗法是手术。在一些实施例中,附加疗法是放疗和手术的组合。在一些实施例中,附加疗法是 γ 辐照。

[0375] 在一些实施例中,附加疗法包括CT-011(也称为匹地珠单抗(Pidilizumab)或MDV9300;CAS登记号1036730-42-3;CureTech/Medivation)。CT-011,也称为hBAT或hBAT-1,是WO2009/101611中描述的抗体。在一些实施例中,附加治疗剂包含抗体,该抗体包含重链和轻链序列,其中:

[0376] (a) 重链包含以下氨基酸序列:

[0377] QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYFTFTNYGMNWVRQAPGQGLQWMGWINTDSGESTYAEFEKGRFVFSLDTSVNTAYLQITSLTAEDTGMVFCVRVGYDALDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:19), 和

[0378] (b) 轻链包含以下氨基酸序列:

[0379] EIVLTQSPSSLSASVGDRTITCSARSSVSYMHWFQQKPKGKAPKLWIYRTSNLASGVPSRFSGSGSGT SYCLTINSLQPEDFATYYCQQRSSFPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:20)。

[0380] 在一些实施例中,附加治疗抗体包含来自SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:20的六个HVR序列(例如,来自SEQ ID NO:19的三个重链HVR和来自SEQ ID NO:20的三个轻链HVR)。在一些实施例中,附加治疗抗体包含来自SEQ ID NO:19的重链可变结构域和来自SEQ ID NO:20的轻链可变结构域。

[0381] 考虑用于本文的其它附加治疗抗体包括但不限于:阿伦单抗(Campath)、贝伐单抗(AVASTIN[®], Genentech);西妥昔单抗(ERBITUX[®], Imclone);帕尼单抗(VECTIBIX[®], Amgen)、利妥昔单抗(RITUXAN[®], Genentech/Biogen Idec)、帕妥珠单抗(OMNITARG[®], 2C4, Genentech)、曲妥珠单抗(HERCEPTIN[®], Genentech)、托西单抗(Bexxar, Corixia)、抗体药物缀合物吉妥珠单抗奥佐米星(MYLOTARG[®], Wyeth)、阿泊珠单抗、阿塞珠单抗、阿替珠单抗、巴匹珠单抗、莫比伐珠单抗、莫坎妥珠单抗、西地珠单抗、聚乙二醇结合赛妥珠单抗、cidfusituzumab、cidtuzumab、达利珠单抗、依库珠单抗、依法利珠单抗、依帕珠单抗、厄立珠单抗、泛维珠单抗、芳妥珠单抗、吉妥珠单抗奥佐米星、奥英妥珠单抗奥佐米星、伊匹单抗、拉贝珠单抗、林妥珠单抗、马妥珠单抗、美泊利单抗、莫维珠单抗、motovizumab、那他珠单抗、尼妥珠单抗、nolovizumab、numavizumab、ocrelizumab、奥马珠单抗、帕利珠单抗、帕考珠单抗、pecfusituzumab、帕妥株单抗、培克珠单抗、ralivizumab、兰尼单抗、reslivizumab、瑞利珠单抗、resyvizumab、罗维珠单抗、卢利珠单抗、西罗珠单抗、西利珠单抗、索土珠单抗、tacatuzumab tetraxetan、他克珠单抗、他利珠单抗、替非珠单抗、托珠单抗、托利珠单抗、西莫白介素单抗、tucusituzumab、乌玛珠单抗、乌珠单抗、优特克单抗、维西珠单抗和抗白介素12 (ABT-874/J695, Wyeth Research and Abbott Laboratories)。

[0382] 在一些实施例中,附加疗法是靶向PI3K/AKT/mTOR途径的疗法、HSP90抑制剂、微管

蛋白抑制剂、凋亡抑制剂和/或化辽剂。在一些实施例中,附加疗法是CTLA-4(也称为CD152),例如阻断性抗体、伊匹单抗(也称为MDX-010、MDX-101或**Yervoy®**)、tremelimumab(也称为ticilimumab或CP-675,206),针对B7-H3(也称为CD276)的拮抗剂(例如阻断性抗体MGA271),针对TGFβ的拮抗剂(例如metelimumab(也称为CAT-192)、fresolimumab(也称为GC1008)或LY2157299),包括表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞(例如细胞毒性T细胞或CTL)的过继治疗,包括过继转移包含显性抑制TGFβ受体(例如,显性抑制TGFβII型受体)的T细胞的治疗;包含HERCREEM方案的治疗(参见例如ClinicalTrials.gov Identifier NCT00889954),针对CD137(也称为TNFRSF9、4-1BB或ILA)的激动剂(例如活化抗体,urelumab(也称为BMS-663513)),针对CD40的激动剂(例如活化抗体,CP-870893),针对OX40(也称为CD134)的激动剂(例如活化抗体,与不同的抗OX40抗体(例如AgonOX)联合施用),针对CD27的激动剂(例如活化抗体、CDX-1127、吡啶胺-2,3-双加氧酶(IDO)、1-甲基-D-色氨酸(也称为1-D-MT)),抗体-药物缀合物(在一些实施例中,其包含巯基丙氨酸或单甲基耳他汀E(MMAE))、抗NaPi2b抗体-MMAE偶联物(也称为DNIB0600A或RG7599)、曲妥珠单抗emtansine(也称为T-DM1,ado-曲妥珠单抗emtansine或**KADCYLA®**,Genentech)、DMUC5754A、靶向内皮素B受体(EDNBR)的抗体-药物偶联物(例如,与MMAE缀合针对EDNBR的抗体),针对VEGF的抗体(例如VEGF-A)的抗体、贝伐单抗(也称为**AVASTIN®**,Genentech),针对血管生成素2(也称为Ang2)的抗体、MEDI3617;抗肿瘤药,靶向CSF-1R(也称为M-CSFR或CD115)的药物、抗CSF-1R(也称为IMC-CS4);干扰素,例如干扰素α或干扰素γ、Roferon-A、GM-CSF(也称为重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子、rhu GM-CSF、沙格司亭或**Leukine®**)、IL-2(也称为阿地白介素或**Proleukin®**)、IL-12、靶向CD20的抗体(在某些实施例中,靶向CD20的抗体是obinutuzumab(也称为GA101或**Gazyva®**)或利妥昔单抗)、靶向GITR的抗体(在某些实施例中,靶向GITR的抗体是TRX518);与癌症疫苗联用(在一些实施例中,癌症疫苗是肽癌疫苗,在一些实施例中是个性化的肽疫苗;在一些实施例中,所述肽癌疫苗是多价长肽、多肽、肽混合物、杂合肽或肽冲击的树突细胞疫苗(参见例如Yamada等人,Cancer Sci,104:14-21,(2013));与佐剂联用(TLR激动剂例如Poly-ICLC(也称为**Hiltonol®**)、LPS、MPL或CpG ODN,肿瘤坏死因子(TNF)α,IL-1,HMGB1,IL-10拮抗剂,IL-4拮抗剂,IL-13拮抗剂,HVEM拮抗剂,ICOS激动剂(例如,通过施用ICOS-L或针对ICOS的激动抗体),靶向CX3CL1的治疗,靶向CXCL10的治疗,靶向CCL5的治疗,LFA-1或ICAM1激动剂,选择素激动剂,靶向疗法,B-Raf抑制剂、vemurafenib(也称为**Zelboraf®**)、dabrafenib(也称为**Tafinlar®**)),厄洛替尼(又称**Tarceva®**),MEK抑制剂例如MEK1(也称为MAP2K1)或MEK2(也称为MAP2K2),cobimetinib(也称为GDC-0973或X1-518),曲美替尼(trametinib)(也称为**Mekinist®**),K-Ras抑制剂,c-Met抑制剂、onartuzumab(也称为MetMab),ALK抑制剂、AF802(也称为CH5424802或艾乐替尼(alectinib)),磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)的抑制剂、BKM120,idelalisib(也称为GS-1101或CAL-101),periposine(也称为KRX-0401),Akt、MK2206、GSK690693、GDC-0941,mTOR的抑制剂、西罗莫司(也称为雷帕霉素)、替西罗莫司(也称为CCI-779或**Torisel®**)、依维莫司(也称为RAD001)、ridaforolimus(也称为AP-23573、MK-8669或deforolimus)、OSI-027、AZD8055、INK128,PI3K/mTOR双重抑制剂、XL765、GDC-0980、BEZ235(也称为NVP-BEZ235)、

BGT226、GSK2126458、PF-04691502、PF-05212384 (也称为PKI-587)。所述附加疗法可以是本文描述的一种或多种化疗剂。

[0383] IX. 检测和诊断方法

[0384] 在一些实施例中,在用PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特殊单抗)、铂剂(例如卡铂或顺铂)和抗代谢物(例如培美曲塞)治疗之前获得样品。在一些实施例中,组织样品是福尔马林固定并且石蜡包埋的标本、新鲜的或冷冻的。

[0385] 在一些实施例中,样品是全血。在一些实施例中,全血包含免疫细胞、循环肿瘤细胞及其任何组合。

[0386] 可以基于本领域中已知的任何合适的标准来定性和/或定量地确定生物标志物(例如PD-L1)的存在和/或表达水平/量,包括但不限于DNA、mRNA、cDNA、蛋白质、蛋白质片段和/或基因拷贝数。在某些实施例中,与第二样品中的存在/不存在和/或表达水平/量相比,第一样品中的生物标志物的存在和/或表达水平/量增加或升高。在某些实施例中,与第二样品中的存在和/或表达水平/量相比,第一样品中的生物标志物的存在/不存在和/或表达水平/量减少或降低。在某些实施例中,第二样品是参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织。本文描述了确定基因的存在/不存在和/或表达水平/量的其它公开内容。

[0387] 在任何方法的一些实施例中,表达升高是指,采用标准技术已知方法(例如本文所述方法)检测到,与参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织相比,生物标志物(例如蛋白质或核酸(例如基因或mRNA))水平总体增加约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高中的任何一个。在某些实施例中,表达升高是指样品中生物标志物的表达水平/量的增加,该增加至少为参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织中相应生物标志物的表达水平/量的约1.5X、1.75X、2X、3X、4X、5X、6X、7X、8X、9X、10X、25X、50X、75X或100X中的任何一个。在一些实施例中,表达升高是指与参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞、对照组织或内部对照(例如管家基因)相比,总体增加大于约1.5倍、约1.75倍、约2倍、约2.25倍、约2.5倍、约2.75倍、约3.0倍或约3.25倍。

[0388] 在任何这些方法的一些实施例中,表达降低是指,采用例如本文所述的标准技术已知方法检测到,与参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织相比,生物标志物(例如蛋白质或核酸(例如基因或mRNA))水平总体减少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更高。在某些实施例中,表达降低是指样品中的生物标志物的表达水平/量的减少,该降低至少为参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织中的生物标志物的表达水平/量的约0.9X、0.8X、0.7X、0.6X、0.5X、0.4X、0.3X、0.2X、0.1X、0.05X或0.01X中的任何一个。

[0389] 样品中各种生物标志物的存在和/或表达水平/量可以通过多种方法进行分析,其中许多方法是本领域已知的并且是技术人员所理解的,包括但不限于:免疫组织化学(“IHC”)、Western印迹分析、免疫沉淀、分子结合测定、ELISA、ELIFA、荧光激活细胞分选(“FACS”)、MassARRAY、蛋白质组学、基于血液的定量测定(例如血清ELISA)、生化酶活性测定、原位杂交、Southern分析、Northern分析、全基因组测序、聚合酶链反应(“PCR”)包括定量实时PCR(“qRT-PCR”)和其它扩增类型检测方法,例如分枝DNA、SISBA、TMA等)、RNA-Seq、

FISH、微阵列分析、基因表达谱分析和/或基因表达的系列分析(“SAGE”)、以及可以通过蛋白质、基因和/或组织阵列分析进行的多种分析中的任何一种。用于评估基因和基因产物状态的典型方案可见于例如Ausubel等人编辑,1995,Current Protocols In Molecular Biology,Units 2(Northern Blotting),4(Southern Blotting),15(Immunoblotting)and 18(PCR Analysis)。也可以使用多重免疫测定,例如可从基于Rules Based Medicine或Meso Scale Discovery(“MSD”)获得的那些。

[0390] 在一些实施例中,使用以下方法确定生物标志物的存在和/或表达水平/量:(a)对样品(例如癌症样品)进行基因表达谱分析、PCR(例如rtPCR或qRT-PCR)、RNA-seq、微阵列分析、SAGE、MassARRAY技术或FISH;和b)确定样品中生物标志物的存在和/或表达水平/量。在一些实施例中,微阵列方法包括使用微阵列芯片,所述微阵列芯片具有一种或多种核酸分子的(所述核酸分子可在严格条件下与编码上述基因的核酸分子杂交),或具有可以与上述基因编码的一种或多种蛋白质结合的一种或多种多肽(例如肽或抗体)。在一个实施例中,PCR方法是qRT-PCR。在一个实施例中,PCR方法是多重PCR。在一些实施例中,基因表达通过微阵列测量。在一些实施例中,通过qRT-PCR测量基因表达。在一些实施例中,通过多重PCR测量表达。

[0391] 评价细胞中的mRNA的方法是众所周知的,包括例如使用互补DNA探针的杂交测定(例如使用对一个或多个基因具有特异性的标记核糖核蛋白的原位杂交、Northern印迹和相关技术)和各种核酸扩增测定(例如使用对一个或多个基因具有特异性的互补引物的RT-PCR,以及其它扩增类型检测方法,例如分枝DNA、SISBA、TMA等)。

[0392] 使用Northern印迹、斑点印迹或PCR分析可以方便地对哺乳动物样品进行mRNA测定。另外,这样的方法可以包括一个或多个步骤,该步骤允许方法确定生物学样品中靶标mRNA的水平(例如,通过同时检查“管家”基因(例如肌动蛋白家族成员)的比较对照mRNA序列的水平)。可选地,可以确定扩增的靶标cDNA的序列。

[0393] 可选的方法包括通过微阵列技术检查或检测组织或细胞样品中的mRNA(例如靶标mRNA)的方案。使用核酸微阵列,将来自测试和对照组织样品的测试和对照mRNA样品反转录并标记以产生cDNA探针。然后将探针与固定在固体支持物上的核酸阵列杂交。配置该阵列,以便知道该阵列每个部件的顺序和位置。例如,可以选择基因(其表达与抗血管生成疗法的临床益处的增加或减少相关)排列在固体支持物上。标记的探针与特定阵列部件的杂交表明衍生出该探针的样品表达该基因。

[0394] 根据一些实施例,通过观察前述基因的蛋白质表达水平来测量其存在和/或表达水平/量。在某些实施例中,该方法包括在允许结合生物标志物的条件下,使生物样品与针对本文所述的生物标志物的抗体(例如,抗PD-L1抗体)接触,并检测抗体和生物标志物之间是否形成复合物。此类方法可以是体外或体内方法。在一个实施例中,抗体用于选择适合用PD-L1轴结合拮抗剂进行治疗的受试者(例如针对个体选择的生物标志物)。

[0395] 在某些实施例中,使用IHC和染色方案检查样品中生物标志蛋白的存在和/或表达水平/量。组织切片的IHC染色已被证明是确定或检测样品中蛋白质存在的可靠方法。在任何这些方法、测定法和/或试剂盒的一些实施例中,PD-L1生物标志物是PD-L1。在一些实施例中,通过免疫组织化学检测PD-L1。在一些实施例中,来自个体的样品中PD-L1生物标志物的表达升高是蛋白质表达的升高,并且在进一步的实施例中,使用IHC测定。在一个实施例

中,使用以下方法确定生物标志物的表达水平:(a)用抗体对样品(例如癌症样品)进行IHC分析;和b)确定样品中生物标志物的表达水平。在一些实施例中,相对于参考确定IHC染色强度。在一些实施例中,参考是参考值。在一些实施例中,参考是参考样品(例如,来自非癌患者的对照细胞系染色样品或组织样品)。

[0396] IHC可以与其它技术联合使用,例如形态学染色和/或荧光原位杂交。有两种通用的IHC方法可用:直接和间接测定。根据第一测定,直接确定抗体与靶标抗原的结合。这种直接测定使用标记的试剂,例如荧光标签或酶标记的第一抗体,无需进一步的抗体相互作用即可可视化。在典型的间接测定中,未缀合的第一抗体与抗原结合,然后标记的第二抗体与第一抗体结合。当第二抗体与酶标记物偶联时,添加生色或发荧光底物以提供抗原的可视化。发生信号放大是因为几种第二抗体可能与第一抗体上的不同表位反应。

[0397] 用于IHC的第一抗体和/或第二抗体通常会用可检测的部分标记。许多标记是可获得的,其通常划分成以下类别:(a)放射性同位素,例如³⁵S、¹⁴C、¹²⁵I、³H和¹³¹I;(b)胶体金颗粒;(c)荧光标记,包括但不限于稀土螯合物(钬螯合物)、Texas Red、罗丹明、荧光素、丹磺酰基、丽丝胺、伞形酮、藻红蛋白、藻蓝蛋白,或市售荧光团(例如SPECTRUM ORANGE7和SPECTRUM GREEN7)和/或以上任何一个或多个的衍生物;(d)各种酶-底物标记可获得,并且美国专利号4,275,149提供了其中一些的综合。酶标记的实例包括荧光素酶(例如,荧光虫荧光素酶和细菌荧光素酶;美国专利号4,737,456)、荧光素、2,3-二氢酞嗪酮(2,3-dihydrophthalazinediones)、苹果酸脱氢酶、尿素酶、过氧化酶诸如辣根过氧化物酶(HRPO)、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、葡糖淀粉酶、溶菌酶、糖氧化酶(例如,葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶)、杂环氧化酶(诸如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶)、乳过氧化物酶、微过氧化物酶等。

[0398] 酶-底物组合的实例包括例如:辣根过氧化物酶(HRPO),其以过氧化氢为底物;碱性磷酸酶(AP),其以对硝基苯基磷酸酯为生色底物;和 β -D-半乳糖苷酶(β -D-Gal),其具有生色底物(例如对硝基苯基- β -D-半乳糖苷酶)或发荧光底物(例如4-甲基伞形基- β -D-半乳糖苷酶)。有关这些内容的大致综述,请参见美国专利4,275,149和4,318,980。

[0399] 在任何方法的一些实施例中,使用抗PD-L1诊断抗体(即,第一抗体)通过免疫组织化学检测PD-L1。在一些实施例中,PD-L1诊断抗体特异性结合人PD-L1。在一些实施例中,PD-L1诊断抗体是非人抗体。在一些实施例中,PD-L1诊断抗体是大鼠、小鼠或兔抗体。在一些实施例中,PD-L1诊断抗体是单克隆抗体。在一些实施例中,PD-L1诊断抗体被直接标记。

[0400] 这样制备的标本可以被安装并盖上盖玻片。然后例如使用显微镜确定载玻片评估,并且可以采用本领域常规使用的染色强度标准。在一个实施例中,应理解,当使用IHC检查来自肿瘤的细胞和/或组织时,通常在肿瘤细胞和/或组织中确定或评估染色(与样品中可能存在的基质或周围组织相反)。在一些实施例中,应理解,当使用IHC检查来自肿瘤的细胞和/或组织时,染色包括确定或评估肿瘤浸润免疫细胞,包括肿瘤内或肿瘤周围的免疫细胞。

[0401] 在一些实施例中,在肿瘤或肿瘤样品上评估PDL1表达。如本文所用,肿瘤或肿瘤样品可涵盖被肿瘤细胞占据的部分或全部肿瘤区域。在一些实施例中,肿瘤或肿瘤样品可以进一步涵盖被肿瘤相关的肿瘤内细胞和/或肿瘤相关的基质(例如,相连的肿瘤周围的增生基质)所占据的肿瘤区域。肿瘤相关的肿瘤内细胞和/或肿瘤相关的基质可包括紧邻主要肿

瘤块和/或与其相连的免疫浸润区域(例如,本文所述的肿瘤浸润免疫细胞)。在一些实施例中,在肿瘤细胞上评估PDL1表达。在一些实施例中,如上所述在肿瘤区域内的免疫细胞(例如肿瘤浸润免疫细胞)上评估PDL1表达。

[0402] 在替代方法中,可以在足以形成抗体-生物标志物复合物的条件下,使样品与对所述生物标志物具有特异性的抗体接触,然后检测所述复合物。可以通过多种方式来检测生物标志物的存在,例如通过用于测定多种组织和样品(包括血浆或血清)的Western印迹和ELISA程序。使用这种测定形式的多种免疫测定技术是可用的,参见例如美国专利号4,016,043、4,424,279和4,018,653。这些技术包括非竞争性类型的单位点和双位点或“夹心”测定,以及传统的竞争性结合测定。这些测定还包括标记抗体与靶标生物标志物的直接结合。

[0403] 组织或细胞样品中所选生物标志物的存在和/或表达水平/量也可以通过基于功能或基于活性的测定进行检查。例如,如果生物标志物是酶,则可以进行本领域已知的测定,以确定或检测组织或细胞样品中给定酶活性的存在。

[0404] 在某些实施例中,针对测定的生物标志物的量的差异和所使用的样品的品质的差异以及测定运行之间的差异,将样品归一化。可以通过检测和掺入某些归一化生物标志物的表达来实现这种归一化,包括众所周知的管家基因。可替代地,归一化可以基于所有被测定基因或其大子集的均值或中值信号(全局归一化方法)。在逐个基因的基础上,将测量的受试者肿瘤mRNA或蛋白质的归一化量与参考集中发现的量进行比较。每个受试者每个测试的肿瘤中每种mRNA或蛋白质的归一化表达水平可以表示为在参考集中测量的表达水平的百分比。在待分析的特定受试者样品中测量的存在和/或表达水平/量将落在该范围内的某个百分位数处,这可以通过本领域众所周知的方法来确定。

[0405] 在一个实施例中,样品是临床样品。在另一实施例中,样品用于诊断测定。在一些实施例中,样品获自原发性或转移性肿瘤。组织活检通常用于获得代表性的肿瘤组织块。可替代地,可以以已知或认为含有目标肿瘤细胞的组织或体液形式间接获得肿瘤细胞。例如,可以通过切除、支气管镜检查、细针抽吸、支气管刷洗或从痰液、胸腔液或血液中获得肺癌病变的样品。可以从癌症或肿瘤组织或其它身体样品(如尿液、痰液、血清或血浆)中检测基因或基因产物。上面讨论的用于检测癌性样品中靶基因或基因产物的相同技术可以应用于其它身体样品。癌细胞可能会从癌症病变中脱落下来,并出现在此类身体样品中。通过筛查此类身体样品,可以对这些癌症进行简单的早期诊断。另外,通过测试此类身体样品中的靶基因或基因产物,可以更容易地监测治疗的进展。

[0406] 在某些实施例中,参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织是来自相同受试者或个体的单个样品或组合的多个样品,其是在与获得测试样品不同的一个或多个时间点获得的。例如,在比获得测试样品时更早的时间点从相同受试者或个体获得参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织。如果参考样品是在癌症的初步诊断期间获得的,而后来在癌症转移时获得测试样品,则这种参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织可能是有用的。

[0407] 在某些实施例中,参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织是来自不是该受试者或个体的一个或多个健康个体的组合的多个样品。在某些实施例中,参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织是来自不是该受试者或个体的一个或多个患有疾病或病症(例如癌症)的个体的组合的多个样品。在某些实施例中,

参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织是来自不是该受试者或个体的一个或多个个体的正常组织或合并的血浆或血清样品的合并的RNA样品。在某些实施例中,参考样品、参考细胞、参考组织、对照样品、对照细胞或对照组织是来自不是该受试者或个体的一个或多个患有疾病或病症(例如癌症)的个体的肿瘤组织或合并的血浆或血清样品的合并的RNA样品。

[0408] 在一些实施例中,样品是来自个体的组织样品。在一些实施例中,组织样品是肿瘤组织样品(例如活检组织)。在一些实施例中,组织样品是肺组织。在一些实施例中,组织样品是肾组织。在一些实施例中,组织样品是皮肤组织。在一些实施例中,组织样品是胰腺组织。在一些实施例中,组织样品是胃组织。在一些实施例中,组织样品是膀胱组织。在一些实施例中,组织样品是食道组织。在一些实施例中,组织样品是间皮组织。在一些实施例中,组织样品是乳腺组织。在一些实施例中,组织样品是甲状腺组织。在一些实施例中,组织样品是结直肠组织。在一些实施例中,组织样品是头颈组织。在一些实施例中,组织样品是骨肉瘤组织。在一些实施例中,组织样品是前列腺组织。在一些实施例中,组织样品是卵巢组织、HCC(肝)、血细胞、淋巴结和/或骨/骨髓组织。在一些实施例中,组织样品是结肠组织。在一些实施例中,组织样品是子宫内膜组织。在一些实施例中,组织样品是脑组织(例如,胶质母细胞瘤、神经母细胞瘤等)。

[0409] 在一些实施例中,肿瘤组织样品(术语“肿瘤样品”在本文可互换使用)可涵盖被肿瘤细胞占据的部分或全部肿瘤区域。在一些实施例中,肿瘤或肿瘤样品可以进一步涵盖被肿瘤相关的肿瘤内细胞和/或肿瘤相关的基质(例如,相连的肿瘤周围的增生基质)所占据的肿瘤区域。肿瘤相关的肿瘤内细胞和/或肿瘤相关的基质可包括紧邻主要肿瘤块和/或与其相连的免疫浸润区域(例如,本文所述的肿瘤浸润免疫细胞)。

[0410] 在一些实施例中,使用选自FACS、Western印迹、ELISA、免疫沉淀、免疫组织化学、免疫荧光、放射免疫测定、斑点杂交、免疫检测方法、HPLC、表面等离子体共振、光谱、质谱、HPLC、qPCR、RT-qPCR、多重qPCR或RT-qPCR、RNA-seq、微阵列分析、SAGE、MassARRAY技术和FISH及其组合的方法,在样品中检测PD-L1生物标志物。在一些实施例中,使用FACS分析检测PD-L1生物标志物。在一些实施例中,PD-L1生物标志物是PD-L1。在一些实施例中,在血液样品中检测到PD-L1表达。在一些实施例中,在血液样品中的循环免疫细胞上检测到PD-L1表达。在一些实施例中,循环免疫细胞是CD3+/CD8+T细胞。在一些实施例中,在分析之前,从血液样品中分离免疫细胞。可以使用任何合适的方法来分离/富集这种细胞群,包括但不限于细胞分选。在一些实施例中,在来自对用PD-L1/PD-1轴途径的抑制剂例如抗PD-L1抗体治疗应答的个体的样品中,PD-L1表达升高。在一些实施例中,在血液样品中的循环免疫细胞例如CD3+/CD8+T细胞上,PD-L1表达升高。

[0411] 在一些实施例中,用包含可检测标记的第二抗体检测抗PD-L1兔单克隆第一抗体。在一些实施例中,用于检测PD-L1的测定是VENTANA PD-L1 (SP142) 测定(可从VENTANA®商购),其在实例中有更详细的描述。

[0412] 本公开内容的某些方面涉及样品中一种或多种基因或一种或多种蛋白质的表达水平的测量。在一些实施例中,样品可以包括白细胞。在一些实施例中,样品可以是外周血样品(例如,来自患有肿瘤的患者)。在一些实施例中,样品是肿瘤样品。肿瘤样品可以包括癌细胞、淋巴细胞、白细胞、基质、血管、结缔组织、基底膜以及与肿瘤相关的任何其它细胞

类型。在一些实施例中，样品是含有肿瘤浸润白细胞的肿瘤组织样品。在一些实施例中，可以处理样品以分开或分离一种或多种细胞类型（例如白细胞）。在一些实施例中，可以在不分开或分细胞类型的情况下使用样品。

[0413] 肿瘤样品可以通过本领域已知的任何方法从受试者获得，包括但不限于活检、内窥镜检查或外科手术。在一些实施例中，可以通过诸如冷冻、固定（例如，通过使用福尔马林或类似的固定剂）和/或包埋在石蜡中的方法制备肿瘤样品。在一些实施例中，可以对肿瘤样品进行切片。在一些实施例中，可以使用新鲜的肿瘤样品（即，尚未通过上述方法制备的样品）。在一些实施例中，可以通过在溶液中孵育以保留mRNA和/或蛋白质完整性，来制备肿瘤样品。

[0414] 在一些实施例中，样品可以是外周血样品。外周血样品可以包括白细胞、PBMC等。可以使用本领域已知的从外周血样品中分离白细胞的任何技术。例如，可以抽取血液样品，可以裂解红细胞，并且可以分离白细胞沉淀并将其用于样品。在另一个实例中，可以使用密度梯度分离来将白细胞（例如，PBMC）与红细胞分离。在一些实施例中，可以使用新鲜的外周血样品（即，尚未通过上述方法制备的样品）。在一些实施例中，可以通过在溶液中孵育以保留mRNA和/或蛋白质完整性，来制备外周血样品。

[0415] 在一些实施例中，对治疗的应答性可以指以下任何一个或多个：延长生存期（包括总生存期和无进展生存期）；导致客观应答（包括完全应答或部分应答）；或改善癌症的体征或症状。在一些实施例中，应答可以指一种或多种因素的改善，所述因素根据用于确定癌症患者中的肿瘤状态（即应答，稳定或进展）的RECIST指南公开册。有关这些指南的更详细讨论，请参见Eisenhauer等人，*Eur J Cancer* 2009;45:228-47;Topalian等人，*N Engl J Med* 2012;366:2443-54;Wolchok等人，*Clin Can Res*2009;15:7412-20;and Therasse,P.,等人 *J.Natl.Cancer Inst.*92:205-16 (2000)。应答性受试者可以指例如根据基于RECIST标准的一种或多种因素，其癌症显示出改善的受试者。无应答性受试者可以指例如根据基于RECIST标准的一种或多种因素，其癌症没有显示出改善的受试者。

[0416] 常规的应答标准可能不足以表征免疫治疗剂的抗肿瘤活性，这可能会产生延迟的应答，其可能始于最初的明显放射学进展，包括新病变的出现。因此，已开发出修改后的应答标准，该标准考虑了新病变的可能出现，并允许在随后的评估中证实放射学进展。因此，在一些实施例中，反应性可以指根据免疫相关应答标准2 (irRC) 的一种或多种因素的改善。参见例如Wolchok等人，*Clin Can Res* 2009;15:7412-20。在一些实施例中，将新病变添加到定义的肿瘤负荷中，并随后例如用于随后的放射学进展评估。在一些实施例中，非靶标病变的存在包括在完全应答的评估中，而不包括在放射学进展的评估中。在一些实施例中，放射学进展可以仅基于可测量的疾病来确定和/或可以通过自首次记录之日起 ≥ 4 周的连续评估来确定。

[0417] 在一些实施例中，应答性可以包括免疫活化。在一些实施例中，应答性可以包括治疗功效。在一些实施例中，应答性可以包括免疫活化和治疗功效。

[0418] X. 制品或试剂盒

[0419] 在本发明的另一实施例中，提供了一种制品或试剂盒，其包含PD-1轴结合拮抗剂（例如阿特珠单抗）和/或铂剂（例如卡铂或顺铂）和/或抗代谢物（例如培美曲塞）。在一些实施例中，制品或试剂盒还包括包装插页，该包装插页包含施用PD-1轴结合拮抗剂与铂剂（例

如卡铂或顺铂)和抗代谢物(例如培美曲塞)联用以治疗或延缓个体的癌症(例如肺癌,诸如非小细胞肺癌(NSCLC)包括IV期非鳞状NSCLC)进展或增强患有癌症(例如肺癌,诸如NSCLC,包括IV期非鳞状NSCLC)的个体的免疫功能的说明。在制品或试剂盒中可以包括本领域已知的任何PD-1轴结合拮抗剂、铂剂。在一些实施例中,所述试剂盒包含阿特殊单抗、卡铂或顺铂、和培美曲塞。

[0420] 在一些实施例中,PD-1轴结合拮抗剂(例如阿特殊单抗)、铂剂(例如卡铂或顺铂)和抗代谢物(例如培美曲塞)在相同容器或分开的容器中。合适的容器包括例如瓶、小瓶、袋子和注射器。容器可以由多种材料形成,例如玻璃、塑料(诸如聚氯乙烯或聚烯烃)或金属合金(诸如不锈钢或哈氏合金)。在一些实施例中,容器容纳制剂,容器上或与容器相关的标签可以指示使用说明。制品或试剂盒还可以包括从商业和用户角度出发期望的其它材料,包括其它缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头、注射器和带有使用说明的包装插页。在一些实施例中,制品还包括一种或多种其它试剂(例如化疗剂和抗肿瘤剂)。用于一种或多种试剂的合适容器包括例如瓶、小瓶、袋子和注射器。

[0421] 该说明书被认为足以使本领域技术人员能够实施本发明。除了本文中示出和描述的之外,本发明的各种修改对于根据说明书前文的本领域技术人员而言将变得显而易见,并且落入所附权利要求的范围内。本文引用的所有出版物、专利和专利申请出于所有目的通过引用整体并入本文。

[0422] 实例

[0423] 参考以下实例将更全面地理解本公开。但是,它们不应被解释为限制本发明的范围。应当理解,本文描述的实例和实施例仅用于说明目的,并且鉴于其的各种修改或改变将被建议给本领域技术人员,并且将被包括在本申请的精神和界限内以及本发明所附权利要求的范围内。

[0424] 实例1:对于未接受过化疗且患有IV期非鳞状非小细胞肺癌+(NSCLC)+的患者进行的阿特殊单抗联合卡铂+培美曲塞或顺铂培美曲塞+对比卡铂-培美曲塞或顺铂培美曲塞的III期开放性随机研究

[0425] 这项研究旨在评估阿特殊单抗联合卡铂+培美曲塞+或顺铂+培美曲塞对比卡铂+培美曲塞或顺铂-培美曲塞对未接受过化疗且患有IV期非-鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)的患者的功效、安全性和药代动力学的比较。下位概述了研究的具体目标和相应终点。

[0426] 研究目标

[0427] 该研究的共同主要功效目标如下:

[0428] • 根据RECIST v1.1(例如参见Eisenhauer等人,(2009)“New response evaluation criteria in solid tumors: Revised RECIST guideline (Version 1.1).”*Eur J Cancer*.45:228-47)或任何原因导致的死亡(以先发生的为准),在意向治疗(ITT)人群中用研究者评估的无进展生存期(PFS)来评价阿特殊单抗+卡铂+培美曲塞对比卡铂+培美曲塞的功效、以及阿特殊单抗+顺铂+培美曲塞对比顺铂+培美曲塞的功效)。

[0429] • 以总生存期(OS)(定义为从随机分组到任何原因导致死亡的时间)来评价阿特殊单抗+卡铂+培美曲塞对比卡铂+培美曲塞的功效、以及阿特殊单抗+顺铂+培美曲塞对比顺铂+培美曲塞的功效。

[0430] 这项研究的次要功效目标如下:

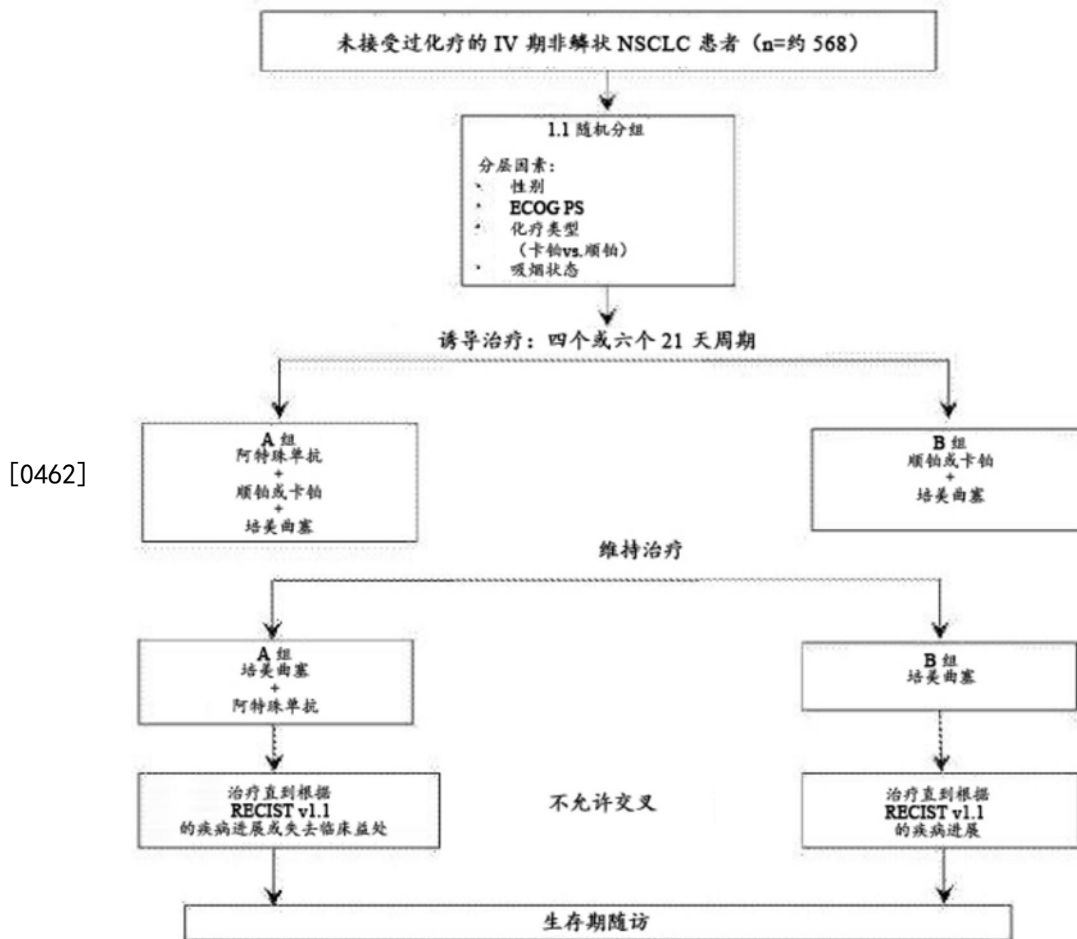
- [0431] • 根据RECIST v1.1,以客观应答率 (ORR) (定义为部分应答 (PR) 或完全应答 (CR)) 来评价阿特殊单抗+卡铂+培美曲塞对比卡铂+培美曲塞的功效、以及阿特殊单抗+顺铂+培美曲塞对比顺铂+培美曲塞的功效。
- [0432] • 根据RECIST v1.1,用研究者-评估的应答持续时间 (DOR) 来评价阿特殊单抗+卡铂+培美曲塞对比卡铂+培美曲塞的功效、以及阿特殊单抗+顺铂+培美曲塞对比顺铂+培美曲塞的功效。
- [0433] • 评估1年和2年的OS率。
- [0434] • 使用欧洲癌症研究和治疗组织 (EORTC) 生命质量问卷-核心30 (QLQ-C30) 和补充肺癌模块 (QLQ-LC13),通过患者-报告的咳嗽、呼吸困难、胸痛或手臂/肩膀疼痛的肺癌症状的从基线的变化的测量来确定阿特殊单抗的影响。
- [0435] • 患者肺癌症状的TTD (至恶化的时间),定义为EORTC QLQ-30和EORTC QLQ-LC13中从随机分组到恶化 (10分变化) 的时间。
- [0436] • 使用肺癌症状 (SILC) 量表症状严重程度评分,通过患者-报告的肺癌症状 (胸痛,呼吸困难和咳嗽) 评分中的从基线的变化来确定阿特殊单抗的影响。
- [0437] 这项研究的安全目标如下:
- [0438] • 国家癌症研究所不良事件通用术语标准 (NCI CTCAE) v 4.0,用不良事件的发生率、性质和严重程度来评估阿特殊单抗+卡铂+培美曲塞或阿特殊单抗+顺铂+培美曲塞的安全性和耐受性。
- [0439] • 在研究治疗施用期间和之后评估生命体征、身体发现和临床实验室结果的变化。评估阿特殊单抗与卡铂+培美曲塞联用、或与顺铂+培美曲塞联用、或只与培美曲塞一起作为维持治疗时的安全性和耐受性。
- [0440] • 评估抗阿特殊单抗的治疗性抗体 (ATA) 的发生率和滴度,并探讨免疫原性应答与药代动力学、安全性和功效之间的潜在关系。这项研究的药代动力学目标是:
- [0441] • 表征阿特殊单抗与卡铂+培美曲塞、顺铂+培美曲塞、或只与培美曲塞联用时的药代动力学。
- [0442] • 表征卡铂与阿特殊单抗+培美曲塞联合时的药代动力学。
- [0443] • 表征顺铂与阿特殊单抗+培美曲塞联合时的药代动力学。
- [0444] • 表征培美曲塞与阿特殊单抗+卡铂联合时或与阿特殊单抗+顺铂联合时的药代动力学
- [0445] • 确定输注后 (A组) 观察到的最大血清阿特殊单抗浓度 (C_{max}) 。
- [0446] • 确定在选定周期输注前、中止治疗以及最后一剂阿特殊单抗 (A组) 后120天 (±30天) 观察到的最小血清阿特殊单抗浓度 (C_{min}) 。
- [0447] • 确定卡铂或顺铂的血浆浓度 (A组) 。
- [0448] • 确定培美曲塞 (A组) 的血浆浓度
- [0449] 这项研究的探索性目标是:
- [0450] • 评估6个月和1年标志性时间点的无进展生存 (PFS) 率。
- [0451] • 评估每个治疗组在3年时的总生存 (OS) 率。
- [0452] • 根据RECIST v1.1,通过OS和研究者-评估的PFS来评价阿特殊单抗在基于人口统计学和基线特征的亚组中的功效。

- [0453] • 通过里程碑生存率评估阿特殊单抗的功效。
- [0454] • 根据免疫组织化学 (IHC)、定量逆转录酶-聚合酶链反应 (qRT-PCR)、下一代测序和/或其他方法和功效测量的定义,评估肿瘤和血液中生物标志物(包括但不限于程序性死亡-配体1 (PD-L1)、程序性死亡1 (PD-1)、体细胞突变等)之间的关系。
- [0455] • 评估标本和/或新鲜肿瘤组织和血液中的预测性、预后性和药效学探索性生物标志物及其与疾病状态、抗性机制和/或对研究治疗的应答的关联。
- [0456] • 评估在用阿特殊单抗治疗之前、期间或之后或者进展中收集的标本和/或新鲜肿瘤组织和血液(或血液衍生物)中的PD-L1-、免疫和NSCLC相关的及其它探索性生物标志物的状态、它们与疾病状态和/或对阿特殊单抗联合化疗的应答的关联。
- [0457] • 根据EuroQoL 5维5级 (EQ-5D-5L) 问卷评估和比较患者的健康状态,以生成效用分数,用于补偿经济模型。
- [0458] • 根据欧洲癌症研究和治疗组织生命质量问卷EORTC QLQ-C30和QLQ-LC13评估,用健康相关生命质量、肺癌相关症状和健康状况的患者报告的结局 (PRO) 的从基线的变化,来确定阿特殊单抗在每种治疗比较中的影响。

[0459] 研究设计

[0460] 下文描述了一项随机、III期、多中心、开放性研究的详细信息,该研究旨在评估 (a) 阿特殊单抗+卡铂+培美曲塞对比卡铂+培美曲塞治疗和 (b) 阿特殊单抗+顺铂+培美曲塞对比顺铂+培美曲塞治疗对未接受过化疗并且患有IV期非鳞状NSCLC的患者的安全性和功效。以下方案1说明了研究设计:

[0461] 方案1



[0463] 在上面的方案1中, ECOG PS指的是“东部肿瘤协作组表现状态”, NSCLC指的是“非小细胞肺癌”, 而RECIST v1.1指的是“实体肿瘤的应答评估标准, 版本1.1”。

[0464] 这项研究在全球招募阶段的所有地点招募了大约568名患者。患者按性别(男性 vs. 女性)、吸烟状态(从不 vs. 现在和/或以前)、ECOG(即东部肿瘤协作组)表现状态(0 vs. 1)和化疗方案(卡铂 vs. 顺铂), 然后按1:1随机分组, 以接受以下表5所示的下述治疗方案之一。有关ECOG表现状态的进一步详细信息提供于Oken等人, (1982) Am J Clin Oncol.5: 649-655)。

[0465] 表5: 治疗组

治疗组	诱导期 (四个或六个 21 天周期)	维持期 (21 天周期)
A	阿特殊单抗 + 卡铂 + 培美曲塞 或 阿特殊单抗 + 顺铂 + 培美曲塞	阿特殊单抗 + 培美曲塞
B	卡铂 + 培美曲塞	培美曲塞
	或 顺铂 + 培美曲塞	

[0468] 诱导期以21天为一个周期施用四个或六个周期。诱导治疗的周期数(即四个或六个)由研究者决定, 并在随机分组之前确定并记录。诱导治疗以21天的周期施用, 直到发生

以下情况(以先发生的为准):1) 四个或六个周期的施用,2) 不可接受的毒性或3) 记录的疾病进展。

[0469] 诱导期后,未经历进展或不可接受毒性的患者继续使用阿特殊单抗+培美曲塞(A组)或只使用培美曲塞(B组)的维持治疗。随机分配到A组或B组的患者继续使用阿特殊单抗+培美曲塞维持的治疗或培美曲塞维持的治疗,直至疾病进展、不可接受毒性或死亡。在诱导或维持期间,随机分组到A组的患者继续使用阿特殊单抗的治疗超过RECIST v1.1的进展性疾病,前提是他们经历了如下所述的研究者评估的临床益处:

[0470] 对于治疗组A:在治疗(诱导或维持)期间,如果满足以下所有条件,则在进展性疾病的RECIST v1.1满足后,允许显示临床益处证据的患者继续使用阿特殊单抗:

[0471] • 研究者评估的临床益处证据。

[0472] • 没有症状和体征(包括实验室值恶化[例如,新的或恶化的高钙血症]),则表明疾病进展明确。

[0473] • 没有可归因于疾病进展的ECOG表现状态下降。

[0474] • 在协议允许的医学干预措施无法解决的关键解剖部位(例如软脑膜疾病)无肿瘤进展。

[0475] • 患者必须提供书面同意书,以承认推迟其他治疗选项以支持在初始进展时继续进行研究治疗。

[0476] 没有显示RECIST v1.1的进展性疾病的证据的所有患者中,均中止使用化疗治疗(A组和B组)。

[0477] 下表6A和6B提供了表5中治疗方案的给药和施用时间表:

[0478] 表6A:4周期诱导期治疗的给药和施用时间表

药物 (按施用顺序列出)	诱导期	维持期
	第1至第4周期	> 周期4*
	第1天	第1天
[0479] 1) 抗PD-L1单抗 (阿特殊单抗)	1200 mg	1200 mg
2) 抗代谢物 (培美曲塞)	500 mg/m ²	500 mg/m ²
[0480] 3) 铂剂 (卡铂或顺铂)	卡铂: AUC = 6 [□] 或 顺铂: 75 mg/m ²	

[0481] *21天周期

[0482] □mg/ml/min

[0483] 表6B:6周期诱导期治疗的给药和施用时间表

药物 (按施用顺序列出)	诱导期	维持期
	第 1 至第 6 周期	> 周期 6*
	第 1 天	第 1 天
[0484] 1) 抗 PD-L1 单抗 (阿特殊单抗)	1200 mg	1200 mg
2) 抗代谢物 (培美曲塞)	500 mg/m ²	500 mg/m ²
3) 铂剂 (卡铂或顺铂)	卡铂: AUC = 6 [□] 或 顺铂: 75 mg/m ²	

[0485] *21天周期

[0486] □mg/ml/min

[0487] 无论剂量延迟如何,在基线和在第1周期第1天后的第一个48周的每6周(±7天)对患者进行肿瘤评估。无论治疗剂量延迟如何,在第48周肿瘤评估完成后,都需要每9周(±7天)进行肿瘤评估。对患者进行肿瘤评估,直到根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展或失去临床获益(对于在根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展之后继续治疗的仅接受阿特殊单抗-治疗的患者而言)、撤回同意、研究被发起人终止、或死亡(以先发生的为准)。因放射影像学疾病进展(例如毒性)以外的原因而中止治疗的患者继续进行计划的肿瘤评估,直到根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展或失去临床益处(对于在根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展之后继续治疗的接受阿特殊单抗-治疗的患者而言)、撤回同意、由研究者终止研究或死亡(以先发生的为准),无论患者是否开始新的抗癌治疗。

[0488] 如果临床可行,建议患者在放射影像学疾病进展时进行肿瘤活检样品收集。这些数据用于探讨放射影像学发现是否与肿瘤的存在一致。此外,分析了这些数据以评估肿瘤组织变化与临床结果之间的关联,并进一步了解与只化疗后的这种机制相比,进展的潜在机制和对阿特殊单抗的抗性。该探索性生物标志物评估未用于任何治疗相关决定。

[0489] 根据RECIST v1.1的放射影像学进展后继续治疗的患者,每6周(±7天)或更快时间(如果出现症状恶化)继续进行肿瘤评估。对于这些患者,无论研究时间如何,每6周(±7天)都会进行肿瘤评估,直到中止研究治疗。

[0490] 因除根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展以外的原因而中止治疗的患者(例如毒性、症状恶化)继续进行计划的肿瘤评估,其评估频率与如果患者继续接受研究治疗的频率相同(即第1周期第1天后的48周的每6周(±7天),然后每9周(±7天),无论治疗剂量是否延迟),直到根据RECIST v1.1的放射影像学进展、撤回同意、发起人终止研究、或死亡(以先到的为准)。

[0491] 在没有根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展的情况下开始新的抗癌疗法的患者,继续进行计划的肿瘤评估,直到根据RECIST v1.1的放射学疾病进展(或失去临床益处,对于在根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展之后继续阿特殊单抗治疗的接受阿特殊单抗治疗的患者而言)、撤回同意、死亡或由发起人终止研究(以先到的为准)。

[0492] 尽管有放射影像学进展的证据,对接受阿特殊单抗治疗且继续具有临床益处的患者继续按照上述计划进行肿瘤评估。

[0493] 患者

[0494] 如果患者未接受过化疗-且患有IV期非鳞状NSCLC,则有资格参加本研究。

[0495] 纳入标准

[0496] 主要的纳入标准包括:18岁或以上;ECOG表现状态为0或1;经组织学或细胞学证实的IV期非鳞状NSCLC(根据国际联合抗癌/美国联合委员会关于癌症分期系统第7版的标准;Detterbeck等人,(2009)“The new lung cancer staging system”Chest 136:260-71);混合性非小细胞组织学(即鳞状和非鳞状)肿瘤的患者,如果主要组织学组分似乎为非鳞状,则有资格;没有对IV期非鳞状NSCLC进行过在先治疗;在先接受过新辅助治疗、辅助化疗、放疗或治愈非转移性疾病意图的化放疗的患者,必须自最后一剂化疗和/或放疗以来从随机分组经历至少6个月的无治疗间隔;有无症状的CNS转移病史的患者只有在以下情况下才有资格:(a)转移是幕上和/或小脑转移(即没有中脑、脑桥、延髓或脊髓转移);(b)患者无需持续接受皮质类固醇激素治疗CNS疾病;(c)患者在随机分组前7天内没有立体定向放射或14天内没有全脑放射;(d)在完成CNS为导向的治疗与放射影响学筛查之间,患者没有中期进展证据;在筛查扫描中发现有新的无症状CNS转移的患者必须接受放射治疗和/或CNS转移手术。在筛查扫描中发现有新的无症状CNS转移的患者必须接受放射治疗和/或CNS转移手术。治疗后,如果满足所有其他标准,这些患者可能有资格,无需在随机分组之前进行额外的脑部扫描。符合RECIST v1.1定义的有资格的患者应表现出可测量的疾病(只有明确地记录了其部位放射后的疾病进展,才认为先前放射过的病变是可测量的疾病,因为先前放射过的病变不是唯一的疾病部位);由随机分组前14天内获得的以下实验室测试结果定义的足够的血液学和末端器官功能:

[0497] ○ANC \geq 1500细胞/ μ L,无粒细胞集落-刺激因子支持。

[0498] ○淋巴细胞计数 \geq 500/ μ L。

[0499] ○未输血时血小板计数 \geq 100,000/ μ L。

[0500] ○血红蛋白 \geq 9.0g/dL。(允许患者输血以满足该标准。)

[0501] ○INR或aPTT \leq 1.5 \times 正常上限(ULN)。(这仅适用于不接受抗凝治疗的患者;接受抗凝治疗的患者必须保持稳定剂量。)

[0502] ○AST、ALT和碱性磷酸酶 \leq 2.5 \times ULN,以下情况除外:

[0503] • 记录有肝转移的患者:AST和/或ALT \leq 5 \times ULN。

[0504] • 记录有肝或骨转移的患者:碱性磷酸酶 \leq 5 \times ULN。

[0505] ○血清胆红素 \leq 1.25 \times ULN。(纳入了患有已知Gilbert病且血清胆红素水平 \leq 3 \times ULN的患者。)

[0506] ○计算的肌酐清除率(CRCL) \geq 45mL/min,或者如果使用顺铂,则计算的CRCL必须为 \geq 60mL/min。

[0507] 鼓励患者提交治疗前肿瘤组织样本(如果有)。如果没有可用的肿瘤组织(例如因在先的诊断测试已耗尽),则患者仍有资格。如果有可用肿瘤组织,则优选使用代表性的石蜡块中的福尔马林固定石蜡包埋(FFPE)肿瘤标本,或未染色的从FFPE肿瘤标本中取出的新鲜切割的连续切片(优选至少10个)。如果没有10个切片,则可以提交更少切片。如果没有上述FFPE标本可用,则任何类型的标本(包括细针抽吸、细胞沉淀(cell pellet)标本[例如来自胸腔积液]和灌洗液标本)也是可以接受的。标本伴有相关的病理报告。入选前或入选后4周内需要提交任何可用的肿瘤组织样品。

[0508] 排除标准

[0509] 关键排除标准包括:EGFR基因或ALK融合癌基因中有致敏突变的患者;在随机分组之前的28天内,以任何其它具有治疗意图的研究试剂进行治疗;在筛查和先前的放射影像学评估期间通过计算机断层扫描(CT)或磁共振成像(MRI)评估确定的活动性或未治疗的CNS转移;没有经过手术和/或放射明确治疗的脊髓压迫症,或者先前经诊断和治疗过的脊髓压迫症但没有证据表明在随机分配之前 ≥ 2 周该病在临床上稳定的;软脑膜疾病;肿瘤相关的无法控制的疼痛(需要止痛药的患者进入研究时必须在接受稳定的治疗方案;需要姑息放疗的症状性病变(例如,骨转移或引起神经冲击(nerve impingement)的转移)应在随机分组之前进行治疗(患者应从放射的影响中恢复,没有需要的最小恢复时间)。对于无症状转移病变的患者,病变的进一步的生长可能会导致功能缺陷或顽固性疼痛(例如,目前与脊柱压迫无关的硬膜外转移),则考虑对患者进行局部区域治疗,如果合适的话,在进行随机分组之前)。排除标准还包括:不受控制的胸腔积液、心包积液或需要反复引流的腹水(每月一次或更频繁,但留置导管(例如PleurX[®])的患者不限引流频率);不受控制的或有症状的高钙血症($> 1.5\text{mmol/L}$ 离子钙或钙 $> 12\text{mg/dL}$ 或校正的血清钙 $> \text{ULN}$);在随机分组之前接受地诺单抗(denosumab)的患者,如果有资格,则在研究中需要将其停用并用双膦酸盐代替);随机分组前5年内除SCLC以外的其他恶性肿瘤,但转移或死亡风险可忽略不计(例如,预期的-5年OS $> 90\%$)的具有预期治愈结果的那些恶性肿瘤例外(例如经充分治疗的子宫颈原位癌、基底或鳞状细胞皮肤癌、经治愈意图的手术治疗的局部前列腺癌、经治愈意图的手术治疗的原位导管癌);通过其它临床研究的IHC分析确定的已知肿瘤PD-L1表达状态(例如,在筛查进入抗PD-1或抗-PD-L1抗体的研究时,确定了PD-L1表达状态的患者,但没有资格者除外);在研究期间怀孕、哺乳或打算怀孕的妇女;自身免疫性疾病的病史,包括但不限于重症肌无力、肌炎、自身免疫性肝炎、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎症性肠病、与抗磷脂综合症相关的血管血栓形成、Wegener's肉芽肿、Sjögren's综合征、Guillain-Barré综合征、多发性硬化、血管炎、或肾小球性肾炎(有自身免疫相关甲状腺功能减退史且接受甲状腺替代激素治疗的患者有资格;接受胰岛素治疗的I型糖尿病受控患者有资格);特发性肺纤维化病史、组织性肺炎(例如闭塞性细支气管炎)、药物性肺炎、特发性肺炎、或胸部CT扫描筛查为活动性肺炎的证据。(允许放射区域有放射性肺炎的历史(纤维化));HIV检测结果阳性;患有活动性乙型肝炎(慢性或急性;定义为筛查时乙型肝炎表面抗原[HBsAg]测试结果阳性)或丙型肝炎病毒(HCV)的患者;活动性肺结核;随机分组前4周内出现严重感染,包括但不限于因住院感染并发症、菌血症或严重肺炎;在随机分组前2周内接受治疗性口服或静脉注射抗生素(接受预防性抗生素治疗(例如,用于预防尿路感染或预防慢性阻塞性肺疾病加重)的患者有资格;重大心血管疾病,例如纽约心脏协会心脏病(II级或更高级别)、心肌梗塞、或随机分组之前3个月内的脑血管意外、不稳定的心律不齐、或不稳定的心绞痛。(患有已知冠状动脉疾病、充血性心力衰竭不符合上述标准的患者或左心室射血分数 $< 50\%$ 的患者应采用稳定的治疗方案,该方案应根据治疗医师的意见进行优化,并且适当时咨询心脏病专家);在研究过程中随机分组或预期需要进行大手术之前的28天内进行的除诊断以外的大手术;在先的同种异体骨髓移植或实体器官移植;任何其它疾病、新陈代谢功能障碍、体格检查发现、或可合理怀疑某种疾病或病状的临床实验室发现,这些疾病或病状均禁止使用研究药物或可能影响结果的解释或使患者处于高治疗并发症风险;

患有疾病或病状而影响其理解、遵循和/或遵守本研究程序的能力的患者；在随机分组之前的28天内，以其它具有治愈意图的研究药物进行治疗；在随机分组或预期研究期间将需要这种减毒活疫苗之前的4周内，施用减毒活疫苗；使用EGFR/ALK抑制剂或ALK抑制剂的在先治疗；在开始研究治疗之前的21天内进行任何批准的抗癌疗法，包括激素疗法；在先使用CD137激动剂或免疫检查点封锁疗法、抗PD-1和抗PD-L1治疗性抗体进行治疗。（在先接受过抗细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4 (CTLA-4) 治疗的患者有资格入组，前提是随机分组前至少6周使用最后一剂抗CTLA-4，并且该患者没有CTLA-4 (NCI CTCAE 3级和4级) 引起的严重的免疫相关不良反应的病史。）关键排除标准还包括：在随机分组之前的28天内使用具有治愈意图的任何其他研究试剂进行治疗、在随机分组前4周或药物的5个半衰期（以较长的为准）内使用全身免疫刺激剂（包括但不限于干扰素和白介素2）进行治疗（允许在先用癌症疫苗治疗）；在随机分组前2周内，使用全身免疫抑制药物（包括但不限于皮质类固醇、环磷酰胺、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、沙利度胺和抗肿瘤坏死因子[抗-TNF]药物）进行治疗。曾接受急性、低剂量（ $\leq 10\text{mg}$ 口服泼尼松或等同物）的全身免疫抑制剂的患者有资格参加研究。此外，允许对慢性阻塞性肺疾病使用皮质类固醇（ $\leq 10\text{mg}$ 口服泼尼松或等同物），对体位性低血压患者使用盐皮质激素（例如氟氢可的松），以及对肾上腺皮质功能不全使用小-剂量补充皮质类固醇。如有以下情况将患者排除在外：对嵌合或人源化抗体或融合蛋白有严重的过敏、敏感或其他超敏反应史；已知对中国仓鼠卵巢细胞产生的生物药物或阿特殊单抗制剂中任何组分超敏或过敏；对卡铂、顺铂或其他含铂化合物的过敏反应史；患者听力障碍（顺铂）；NCI CTCAE v4.0（顺铂）定义的 ≥ 2 级周围神经病变；肌酐清除率 $< 60\text{mL}/\text{min}$ （对于顺铂）或 $< 45\text{mL}/\text{min}$ （对于卡铂）。

[0510] 治疗方法

[0511] 568例患者被随机分组（1:1）以接受阿特殊单抗+卡铂+培美曲塞或阿特殊单抗+顺铂+培美曲塞（A组）或卡铂+培美曲塞或顺铂+培美曲塞（B组）治疗。（A组和B组的详细信息如上表5所示）。

[0512] 在诱导期期间，只要在21天的周期内至少一次施用了至少一种化疗组分，则化疗周期计入诱导化疗周期的预定数量（4或6）。没有给予化疗组分的周期不计入诱导化疗周期的总数。

[0513] 在诱导期中任何时候经历无进一步临床益处（对于加入A组的患者）、或疾病进展（对于纳入B组的患者）的患者中止所有研究治疗。在没有上述标准的情况下，在4或6-周期的诱导期后，患者开始维持治疗（A组阿特殊单抗+培美曲塞或B组培美曲塞）

[0514] 在治疗（诱导或维持）期间，在疾病进展的RECIST v1.1满足后，允许具有临床益处证据的A组患者继续接受阿特殊单抗治疗。但是，中止化疗治疗。

[0515] 根据当地的护理标准和制造商的说明，患者接受了止吐药和静脉补水以进行铂-培美曲塞治疗。然而，由于它们的免疫调节作用，在临床上可行时，用类固醇作术前用药是受限的。此外，如果发生培美曲塞相关的皮疹，建议在临床上可行时局部使用类固醇作为一线治疗。下表7列出了培美曲塞的术前用药。下表Table 8列出了培美曲塞+铂在诱导和维持期的治疗施用的输注时间。

[0516] 表7：培美曲塞的术前用药

术前用药	剂量和途径	定时
[0517] 叶酸	350– 1000 µg PO	每天一次，至少从周期 1 第 1 天前的 5– 7 天开始，一直持续到培美曲塞停药后 3 周
维生素 B12	1000 µg IM	q9w 从第 1 周期第 1 天开始，一直持续到培美曲塞停药后 3 周
地塞米松 (建议)	4 mg PO	每天两次，在培美曲塞施用前一天、当天和后一天

[0518] IM=肌内

[0519] PO=口服

[0520] Q9w=每9周。

[0521] 表8:基于培美曲塞+铂化疗的治疗方案

	研究药物	剂量和途径	诱导期 (四个或六个周期)	维持期 (直到 PD)
[0522] 1	培美曲塞	500 mg/m ² IV	第 1 天约 10 分钟内 q3w	第 1 天约 10 分钟内 q3w
	和			
2	卡铂	AUC 6 IV	第 1 天约 30–60 分钟 q3W	不适用
	或			
	顺铂	75 mg/m	第 1 天 1-2 小时内 q3w	不适用

[0523] 浓度-时间曲线下的AUC=区域

[0524] IV=静脉注射

[0525] PD=进展性疾病

[0526] Q3w=每3周。

[0527] 578名患者(1:1)被随机分组以接受阿特珠单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂(A组)或培美曲塞+卡铂或顺铂(B组)治疗。(治疗组A和B的详细信息如上表5、6A和6B所示)。下表9A和9B显示了患者的人口统计学和基线特征。

[0528] 表9A:患者人口统计学和基线特征

人口统计学/基线		ITT	
		A 组	B 组
[0529] 年龄 (yrs)	<65	153 (52.4%)	167 (58.4%)
性别 IxRS	男	192 (65.8%)	192 (67.1%)
种族	白人	193 (66.1%)	203 (71.0%)
	亚洲人	71 (24.3%)	65 (22.7%)

[0530]	吸烟史	从不	37 (12.7%)	30 (10.5%)
	肝转移	是	37 (12.7%)	36 (12.6%)
	ECOG 评分	0	126 (43.2%)	114 (40.1%)
	4 vs 6 周期	4 周期	197 (67.5%)	190 (66.4%)
	IHC TC3/TC3*	阳性	25 (14.2%)	20 (12.1%)
	IHC TC12/IC12*	阳性	63 (35.8%)	73 (43.5%)

[0531] *患病率是在生物标志物可评估人群中计算的

[0532] 表9B: 基线特征

特征	APP (n = 292)		PP (n = 286)	
中值年龄 (范围), 岁	64.0 (31-85)	63.0 (33-83)	吸烟状态, n (%)	
<65 岁, n (%)	153 (52.4%)	167 (58.4%)	现在或以前	255 (87.3%) 256 (89.5%)
性别, 男性, n (%)	192 (65.8%)	192 (67.1%)	从不	37 (12.7%) 30 (10.5%)
种族, n (%) ^a			肝转移, n (%)	37 (12.7%) 36 (12.6%)
白人	193 (66.1%)	203 (71.0%)	PD-L1 进展, n (%) ^c	n = 176 n = 168
亚洲人	71 (24.3%)	65 (22.7%)	阴性	88 (50.0%) 75 (44.6%)
ECOG PS 0, n (%) ^b	126 (43.2%)	114 (40.1%)	阳性	88 (50.0%) 93 (55.4%)
卡铂, n (%)	177 (60.6%)	175 (61.1%)	PD-L1-低	63 (35.8%) 73 (43.5%)
预期的 4 个周期, n (%)	197 (67.5%)	190 (66.4)	PD-L1-高	25 (14.2%) 20 (11.9%)

[0534] ECOG, 东部肿瘤协作组; PS, 表现状态

[0535] ^a美洲印第安人或阿拉斯加土著人种族 (n=2)、黑人或非裔美国人 (n=6) 和未知种族 (n=38) 未包含在表中。^b 2例患者基线 ECOG PS 缺失。^c 60% 的患者 PD-L1 状态可用。PD-L1-高 (TC3/IC3): PD-L1 在 $\geq 50\%$ 肿瘤细胞或 $\geq 10\%$ 肿瘤浸润免疫细胞中表达的患者; PD-L1-低 (TC12/IC12): PD-L1 在 $\geq 1\%$ 和 $< 50\%$ 肿瘤细胞或 $\geq 1\%$ 和 $< 10\%$ 肿瘤浸润免疫细胞中表达的患者; 和 PD-L1-阴性 (TC0/IC0): PD-L1 在 $< 1\%$ 的肿瘤细胞和 $< 1\%$ 的肿瘤浸润免疫细胞中表达的患者。

[0536] 如果可以, 患者在随机分组当天接受第一剂研究药物。如果不可以, 则在随机分组后的 5 天内进行第一剂量。阿特珠单抗由发起人提供。卡铂、顺铂和培美曲塞是背景治疗, 被视为非-研究性医药产品 (NIMP)。卡铂、顺铂和培美曲塞用于市售制剂。阿特珠单抗药物产品以无菌液体形式提供在 20-mL 玻璃小瓶中。该小瓶设计为可递送 20mL (1200mg) 的阿特珠单抗溶液, 但可能包含的体积超过规定的体积, 从而可以递送全部 20-mL 的体积。

[0537] 该研究的诱导期由阿泰特单抗/安慰剂加化疗的四个或六个周期组成, 每个周期

持续21天。诱导治疗的周期数(四个或六个)由研究者确定,并在随机分组之前记录。前参见上文方案。在每个周期的第1天,按以下顺序向所有有资格的患者施用研究药物:

[0538] A组:阿特殊单抗→培美曲塞→卡铂或顺铂

[0539] B组:培美曲塞→卡铂或顺铂

[0540] 在诱导期,在第1天以以下方式施用研究治疗:

[0541] 1. 在60(±15)分钟内(这是对于第一次输注,对于随后的输注可能缩短至30(±10)分钟)静脉内施用阿特殊单抗(1200mg,相当于基于平均体重的15mg/kg的剂量),随后

[0542] 2. 在约10分钟内静脉内施用培美曲塞(500mg/m²),然后

[0543] 3. 在30-60分钟内静脉内施用卡铂,以达到6mg/mL/min的初始目标浓度-时间曲线下面积(AUC)(Calvert公式给药);

[0544] 或

[0545] 在1-2小时内以75mg/m²的剂量静脉内施用顺铂。

[0546] 使用Calvert公式计算AUC 6的卡铂剂量(Calvert等人,(1989)J Clin Oncol 7:1748-56):

[0547] Calvert公式:

[0548] 总剂量(mg) = (目标AUC) × (肾小球滤过率[GFR]+25)

[0549] Calvert公式中用于计算基于AUC的给药的GFR不得超过125mL/min。出于该协议的目的,GFR被认为等同于肌酐清除率(CRCL)。根据机构准则或Cockcroft和Gault(1976)Nephron 16:31-41中描述的方法,使用以下公式来计算CRCL:

$$[0550] \quad CRCL = \frac{(140 - \text{年龄}) (\text{wt})}{72 \times \text{Scr}} \quad (\times 0.85 \text{ 如果是女性})$$

[0551] 其中:CRCL=肌酐清除率(mL/min)

[0552] 年龄=患者的年龄(岁)

[0553] Wt=患者体重(kg)

[0554] Scr=血清肌酐(mg/dL)

[0555] 对于血清肌酐水平异常低的患者,可以通过使用最小肌酐水平0.8mg/dL来估算GFR或将估算的GFR限制为125mL/min。建议医师将卡铂的剂量限制为所需的暴露量(AUC),以避免因过量给药而引起的潜在毒性。根据卡铂标签中描述的Calvert公式,最大剂量计算如下:

[0556] 卡铂最大剂量(mg) = 目标AUC(mg × min/mL) × (GFR+25mL/min)

[0557] 对于肾功能正常的患者,最大剂量基于GFR估算值,限制为125mL/min。没有使用更高的估算的GFR值。对于目标AUC=6,最大剂量为6 × 150 = 900mg。对于目标AUC=5,最大剂量为5 × 150 = 750mg。对于目标AUC=4,最大剂量为4 × 150 = 600mg。有关卡铂给药的其他详细信息,请参见:[www\(dot\)fda\(dot\)gov/aboutfda/centersoffices/officeofmedicalproductsandtobacco/cder/ucm228974.htm](http://www(dot)fda(dot)gov/aboutfda/centersoffices/officeofmedicalproductsandtobacco/cder/ucm228974.htm)

[0558] 在诱导期期间,只要在21天的周期内至少一次施用了至少一种化疗组分,则化疗周期计入诱导化疗周期的预定数量(4或6)。未给予化疗的周期不计入诱导化疗周期的总数。诱导期后,患者在诱导期后的每21天周期的第1天开始使用阿特殊单抗(即1200mg,静脉输注,如上所述)和培美曲塞(即500mg/m²,如上所述静脉输注)进行维持治疗。见图1和上述

研究方案)。不允许对阿特殊单抗进行剂量修改。

[0559] 允许的疗法

[0560] 对于第1周期后的任何阿特殊单抗输注,可以使用抗组胺药作为术前用药。患者在研究期间应继续以下治疗:

[0561] • 口服避孕药

[0562] • 激素替代治疗

[0563] • 预防性或治疗性抗凝治疗(例如低分子量肝素或稳定剂量水平的华法林)

[0564] • 姑息放疗(例如治疗已知的骨转移),前提是它不干扰对肿瘤靶标病变的评估(例如,受放射的病变不是唯一的疾病部位,因为这会使得根据RECIST v1.1无法评估患者肿瘤的应答)

[0565] • 姑息放疗过程中不需保留阿特殊单抗。

[0566] • 灭活流感疫苗接种

[0567] • 甲地孕酮作为食欲刺激剂

[0568] • 吸入糖皮质激素用于慢性阻塞性肺疾病

[0569] • 盐皮质激素(例如氟氢可的松)

[0570] • 低剂量皮质类固醇用于体位性低血压或肾上腺皮质功能不全的患者

[0571] 一般而言,按照当地标准在临床上对患者的护理采用支持疗法。经历输注相关症状的患者可能已按照标准做法接受对乙酰氨基酚、布洛芬、苯海拉明和/或法莫替丁或另一种H₂受体拮抗剂对症治疗。严重的输注-相关事件表现为呼吸困难、低血压、喘息、支气管痉挛、心动过速、血氧饱和度降低或呼吸窘迫,并根据临床指示采用支持疗法进行治疗(例如补充氧和β₂肾上腺素能激动剂)。

[0572] 对接受阿特殊单抗治疗的患者的预防性治疗

[0573] 众所周知,全身性皮质类固醇和TNF-α抑制剂会减弱用阿特殊单抗治疗的潜在有益免疫学作用。因此,在常规施用全身性皮质类固醇或TNF-α抑制剂的情况下,主治医师首先考虑了包括抗组胺药在内的替代药物。如果替代药物不可行,则应由主治医师酌情给予全身性皮质类固醇和TNF-α抑制剂,对造影剂CT扫描禁忌的患者(即造影剂过敏或肾清除率受损的患者)除外。建议使用全身性皮质类固醇激素,并由主治医师慎重考虑,以治疗与阿特殊单抗治疗相关的特定不良事件。

[0574] 禁止的疗法

[0575] 在开始研究治疗之前的各个时间段(取决于抗癌药),以及在研究治疗期间直至记录到疾病进展且患者已中止研究治疗,禁止任何意图治疗癌症的伴随疗法(无论是经过卫生当局-批准的还是实验性的)。禁止的伴随疗法包括但不限于化疗、激素疗法、免疫疗法、放疗、研究药物或草药疗法(除非另有说明)。

[0576] 除非另有说明,否则患者在研究期间禁止使用以下药物:

[0577] • 地诺单抗;入组前接受地诺单抗的患者必须有意愿并有资格接受双膦酸盐治疗。

[0578] • 任何减毒活疫苗(例如,FluMist®)在随机分组之前4周内或在治疗期间或最后一次阿特殊单抗剂量(对于随机分组到阿特殊单抗的患者)后5个月内。

[0579] • 使用类固醇为对造影剂CT扫描禁忌的患者(即具有造影剂过敏或肾清除率受损

的患者)的术前用药;在此类患者中,进行了胸部的无造影剂CT扫描、和腹部和骨盆的无造影剂CT扫描或MRI。

[0580] 不建议同时使用草药疗法,因为它们的药代动力学、安全性和潜在的药-药相互作用通常是未知的。但是,只要没有与任何研究治疗药物发生已知相互作用,研究人员可酌情决定将其用于本研究中的患者。如上所述,禁止意图用于癌症治疗的草药疗法。

[0581] 肿瘤和应答评估

[0582] 在整个研究过程中,均对患者的安全性和耐受性进行了密切监测,并在每次剂量前评估其毒性。

[0583] 每位患者的医疗史包括具有临床意义的疾病、手术、癌症病史(包括在先的癌症治疗和手术)、生殖状态、吸烟史以及筛查访视前7天内患者使用的所有药物(例如处方药、非处方药、草药或顺势疗法、营养补充剂)。

[0584] NSCLC癌症病史包括在先的癌症治疗、手术以及对肿瘤突变状态的评估(例如,致敏EGFR突变、ALK融合状态)。对于先前未测试过肿瘤突变状态的患者,需要在筛查时进行测试。对于这些患者,在筛查期间要么在本地进行检测,要么进行集中评估。如果未在本地进行EGFR突变或ALK状态测试,则需要额外的肿瘤切片以集中评估这些基因的突变状态。人口统计学数据包括年龄、性别和自我-报告的种族/民族。

[0585] 完整的身体检查包括对头部、眼睛、耳朵、鼻子和喉咙以及心血管、皮肤病学、肌肉骨骼、呼吸道、胃肠道、泌尿生殖道和神经系统的评估。记录在基线处发现的任何异常。

[0586] 在随后的访视(或临床指征)中,进行了有限的、针对症状的身体检查。在患者笔记中记录了从基线的变化异常。新的或恶化的临床显著异常记录为不良事件。

[0587] 生命体征包括在患者坐下时测量温度、脉搏频率、呼吸频率以及收缩压和舒张压。

[0588] 肿瘤和应答评估

[0589] 筛查评估包括胸部和腹部的计算机断层摄影(CT)扫描(除非有禁忌,否则要进行口服/静脉造影)或磁共振图像(MRI)。筛查时需要根据临床指示进行骨盆的CT或MRI扫描,或在随后的应答评估中按照当地-的-护理标准进行。如果可以,可以进行胸部螺旋CT扫描,但这不是必需的。

[0590] 筛查时需要头部进行CT(如果没有禁忌,则用造影剂)或MRI,以评估所有患者的CNS转移情况。如果扫描模糊,则需要对大脑进行MRI扫描以确认或否认基线CNS转移的诊断。患有活动性或未经治疗的CNS转移的患者没有该研究的资格(请参阅排除标准)。

[0591] 如果在正电子发射断层扫描(PET)/CT扫描仪中进行了用于肿瘤评估的CT扫描,则需要进行CT采集以符合全造影剂诊断CT扫描的标准。

[0592] 如果有临床指征,还可以进行颈部的骨扫描和CT扫描。根据研究人员的决定,使用其它根据RECIST v1.1评估可测量疾病的方法。

[0593] 允许在获得知情同意之前且在周期1第1天的28天内使用肿瘤评估作为护理-的标准,而不是重复测试。筛查时需要记录所有已知疾病部位,并在每次随后的肿瘤评估时重新评估记录。除非在临床上有明确的扫描指征,否则在筛查中有放射过的脑转移病史的患者无需在随后的肿瘤评估中接受影像学脑部扫描。在整个研究过程中使用了与筛查时评估疾病部位相同的放射影像学程序(例如,CT扫描的造影协议相同)。研究者使用RECIST v1.1评估了应答(参见Eisenhauer等人,(2009)New response evaluation criteria in solid

tumors:Revised RECIST guideline (Version 1.1).Eur J Cancer.45:228-47)和修改的RECIST标准。修改的RECIST标准源自RECIST v1.1 (Eisenhauer等人;Topalian等人,(2012) N Engl J Med.366:2443-54;和Wolchok等人,(2009) Clin Can Res 15:7412-20)和免疫相关应答标准 (Wolchok等人;Nishino等人,(2014) J Immunother Can.2:17;和Nishino等人,(2013) Clin Can Res.19:3936-43)。如果可以,由同一位评估人员进行评估,以确保访视的内部一致性。在下一周期给药之前,研究人员应审查结果。

[0594] 患者在第1周期第1天后的48周的每6周(±7天)进行肿瘤评估,在48周的肿瘤评估完成后,然后每9周(±7天)进行肿瘤评估,无论治疗延迟如何,直到根据RECIST v1.1的放射影像学进展(失去临床益处,仅对于在根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展之后继续治疗的接受阿特殊单抗治疗的患者而言)、撤回同意、死亡或由发起人终止研究(以先发生的为准)。

[0595] 因除根据RECISTv1.1的放射影像学疾病进展(例如毒性、症状恶化)以外的原因中止治疗的患者,继续进行计划的肿瘤评估,直到根据RECIST v1.1的放射学疾病进展(或失去临床益处,对于在根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展之后继续阿特殊单抗治疗的接受阿特殊单抗治疗的患者而言)、撤回同意、死亡或由发起人终止研究(以先到的为准)。

[0596] 在没有根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展的情况下开始新的抗癌疗法的患者,继续进行计划的肿瘤评估,直到根据RECIST v1.1的放射学疾病进展(或失去临床益处,对于在根据RECIST v1.1的放射影像学疾病进展之后继续阿特殊单抗治疗的接受阿特殊单抗治疗的患者而言)、撤回同意、死亡或由发起人终止研究(以先到的为准)。

[0597] 尽管有放射影像学进展的证据,对接受阿特殊单抗治疗且继续具有临床益处的患者继续按照上述计划进行肿瘤评估。

[0598] 无进展生存期的探索性分析

[0599] 具有里程碑意义的时间点的无进展生存率:使用Kaplan-Meier方法对每个治疗组估计PFS率,其定义为随机分组后(例如,在6个月和1年时)患者存活而无疾病进展的可能性,并使用Greenwood's公式估算95%CI。使用法线近似法估计治疗组之间PFS率差异的95%CI,并使用Greenwood方法计算标准误差。

[0600] 非-协议指定的抗癌疗法:在PFS事件发生前接受非-协议指定抗癌疗法的患者人数,评估非-协议指定抗癌疗法对PFS的影响。如果任何治疗组中有>5%的患者在发生PFS事件之前接受了非-协议指定的抗-癌疗法,则针对接受非-协议指定的抗癌疗法前的最后一个肿瘤评估日期检查PFS事件之前,对接受非-协议指定的抗癌疗法的患者的治疗组之间进行敏感性分析比较。

[0601] 亚组分析:为了评估由人口统计学(例如年龄、性别和种族/民族),基线预后特征(例如ECOG表现状态、吸烟状态和化疗类型)定义的亚组中研究结果的一致性,对这些亚组进行了PFS持续时间检查。针对用于进行治疗组之间比较的分类变量的每个水平分别生成了PFS的总结,包括根据Cox比例风险模型估算的未分层HR和中值PFS的Kaplan-Meier估算。

[0602] 敏感性分析:进行敏感性分析以评估缺少计划的肿瘤评估对PFS的主要分析的潜在影响,这是由研究人员使用PFS事件归因规则确定的。考虑了以下两个归因规则:(1) 如果患者在根据RECIST v1.1的PFS事件日之前错过了两次或更多次计划的肿瘤评估,则患者在第一次错过这些访视之前的最后一次肿瘤评估中被检查。(2) 如果患者在根据RECIST v1.1

的PFS事件日之前错过了两次或更多次计划的肿瘤评估,则患者在第一次错过这些评估的日期被视为出现进展。归因规则适用于两个治疗组的患者。

[0603] 失访-对OS的影响将根据失访患者的数量进行评估。如果在任一治疗组中有>5%的患者因OS失访-,将进行治疗组之间的敏感性分析比较,其中失访的患者将被视为在已知活着的最后一日死亡。

[0604] 总生存期的探索性分析

[0605] 失-访:根据失访患者的人数评估失访-对OS的影响。如果在任一治疗组中有>5%的患者因OS失访-,进行治疗组之间的敏感性分析比较,其中失访的患者被视为在已知活着的最后一日死亡。

[0606] 亚组分析:为了评估由人口统计学(例如年龄、性别和种族/民族),基线预后特征(例如ECOG表现状态、吸烟状态和化疗类型、存在基线肝转移)定义的亚组中研究结果的一致性,对这些亚组进行OS持续时间检查。针对用于进行治疗组之间比较的分类变量的每个水平分别生成了生存期的总结,包括根据Cox比例风险模型估算的未分层HR和中值生存期时间的Kaplan-Meier估算。

[0607] 3年里程碑的总生存率:使用Kaplan-Meier方法估算每个治疗组在3年时的OS率,用Greenwood公式得出的标准误差计算95%CI。两个治疗组之间OS率差异的95%CI是使用正态近似方法估算的。

[0608] 里程碑总体生存期分析:为了评估长期生存和延迟临床效果的影响,进行里程碑式OS分析(Chen(2015)J Natl Cancer Inst.107:djv156)。里程碑OS是在预先指定的时间点进行横截面评估的OS端点。使用与主要OS分析指定的方法相同的方法执行里程碑OS分析

[0609] 非-协议指定的抗癌疗法:根据接受此类疗法的患者人数评估非-协议指定的抗癌疗法对OS的影响。例如,从开始非-协议指定的抗癌疗法到死亡或检查日期的持续时间,可以已根据对随后的非-协议指定的抗癌疗法的OS的一系列可能影响进行了折算(例如10%、20%、30%)。

[0610] 探索性生物标志物分析:进行了探索性生物标志物分析,以了解这些标志物与研究药物应答(包括功效和/或不良事件)的关系。肿瘤生物标志物包括但不限于通过IHC、qRT-PCR或其他方法定义的PD-L1和CD8。适当进行其他药效学分析。

[0611] 使用Ventana抗-PD-L1 (SP142) 兔单克隆第一抗体免疫组化(IHC)测定来确定程序性死亡-配体1(PD-L1) IHC状态。

[0612] 设备说明:Ventana抗-PD-L1 (SP142) 兔单克隆第一抗体旨在用于对在Ventana BenchMark ULTRA自动玻片染色机上染色的福尔马林固定石蜡包埋的非小细胞肺癌(NSCLC)组织中的PD-L1蛋白进行半定量免疫组化评估。它可以帮助选择患有局部晚期或转移性疾病的NSCLC癌患者,这些患者可能会受益于阿特珠单抗的治疗。

[0613] Ventana抗-PD-L1 (SP142) 兔单克隆第一抗体是一种预先稀释的即用型抗体产品,其被优化以用于在Ventana Medical Systems automated BenchMark ULTRA平台上与Ventana Medical Systems OptiView DAB IHC检测试剂盒和OptiView扩增试剂盒一起使用。一个5-mL的抗-PD-L1 (SP142) 兔单克隆第一抗体的分配器包含约36μg针对PD-L1蛋白的兔单克隆抗体,并包含足以进行50次测试的试剂。使用Ventana系统软件(VSS)对试剂和IHC程序进行了优化,以在BenchMark ULTRA自动玻片染色机上使用。

[0614] 评分系统:使用Ventana抗-PD-L1 (SP142) 兔单克隆第一抗体,可在肿瘤细胞和肿瘤-浸润免疫细胞中均观察到在NSCLC中抗-PD-L1 (SP142) 兔单克隆第一抗体对PD-L1染色。

[0615] 结果

[0616] 研究结果列于下表10:

[0617] 表10:主要功效终点的总结

[0618]	INV-PFS	ITT	ARM A (n=292)	ARM B (n=286)
		中值 (月)	7.6 (+2.4m)	5.2
		分层 HR (95% CI)	0.596 (0.494, 0.719)	
		分层的 Log-rank p ($\alpha = 0.002$)	<.0001	
[0619]	OS	中值 (月)	18.1 (+4.5m)	13.6
		分层 HR (95% CI)	0.813 (0.644, 1.025)	
		分层的 Log-rank p ($\alpha = 0.0406$)	0.0797	

[0620] 表10显示,该研究表明,ITT人群的研究者评估的无进展生存期 (PFS) 具有统计学上显著且具有临床意义的改善。此外,研究表明总生存期 (OS) 有所改善。

[0621] 与接受培美曲塞+卡铂或顺铂治疗的患者相比,接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂治疗的患者表现出无进展生存期延长。见图2。接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂的患者的6个月PFS为59.14%,而接受培美曲塞+卡铂或顺铂的患者为40.93%。接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂的患者的12个月PFS为33.71%,而接受培美曲塞+卡铂或顺铂的患者为16.97%。与使用培美曲塞+卡铂或顺铂治疗的患者相比,接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂治疗的患者的总生存期在数字上有所提高。见图3 (NE=FIG未评估)。接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂的患者的6个月OS为59.61%,而接受安慰剂+培美曲塞+卡铂或顺铂的患者为55.39%。接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂的患者的12个月OS为59.6%,而接受安慰剂+培美曲塞+卡铂或顺铂的患者为55.4%。

[0622] 此外,接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂治疗的患者确认的总应答率 (ORR) 为47%,而接受培美曲塞+卡铂或顺铂治疗的患者确认的ORR为32% (CR:A组1.7% vs. B组0.7%; CR/PR:A组46.9% vs. B组32.2%)。见图4。(CR=完全缓解;CR/PR=完全缓解/部分缓解;SD=稳定疾病;PD=进展性疾病。)未确认的ORR在A组中也得到改善。如下表11所示,接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂 (即A组) 的患者的中值确认应答持续时间 (DOR) 为10.1个月,而接受培美曲塞+卡铂或顺铂 (即B组) 治疗的患者中值确认DOR为7.2个月。根据RECIST v1.1标准评估DOR。未确认的DOR在A组中也得到改善。A组中42%的患者表现出持续的应答,而B组中30%的患者表现出持续的应答。

[0623] 表11:治疗组A和B中确认的中值应答持续时间

[0624]	DOR	组	
		B 组	A 组
	中值 DOR (95% CI), 月	7.2 (5.7, 9.0)	10.1 (7.2, 13.3)
	持续应答的数量, n (%)	28 (30.4%)	58 (42.3%)

[0625] 在所有分析的亚组中均观察到了PFS的益处。见图5A。还观察到了OS数值提高。见图6。在各临床亚组中显示出一致的结果。

[0626] 阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂的安全性与单个治疗成分的已知风险相符。没有发现新的安全信号。关键的安全性参数与其他涉及阿特殊单抗联合铂化疗的一线NSCLC研究结果一致。

[0627] 这项研究表明,与单独的化疗(即,培美曲塞+卡铂或顺铂)相比,使用阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂联用进行的初始(一线)治疗降低了疾病恶化或死亡(PFS)的风险。与只接受化疗的患者(即培美曲塞+卡铂或顺铂)相比,使用阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂治疗的患者的总体生存率也有数值上的提高。

[0628] 实例2:阿特殊单抗联合卡铂培美曲塞或顺铂培美曲塞作为一线治疗在+IV+期非鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)患者关键亚组中的功效

[0629] 根据实施例1中所述的结果,对临床相关患者亚组(例如种族、年龄、吸烟史和基线肝转移)中的PFS和中期OS进行了探索性功效分析。

[0630] 578名患者入选。中值随访时间为14.8个月。治疗组之间基线特征基本平衡。参见表12和图5B,其是关键亚组中的PFS和中期OS数据。

[0631] 表12:关键子组中的PFS和中期OS数据

[0632]

人群	APP		PP		HR (95% CI); P 值
	n	中值 PFS (95% CI), 月	n	中值 PFS (95% CI), 月	
ITT	292	7.6 (6.6, 8.5)	286	5.2 (4.3, 5.6)	0.596 (0.494, 0.719); <i>P</i> < 0.0001 ^a
非亚洲人	221	6.9	221	5.0	0.65 (0.53, 0.81)
亚洲人	71	10.2	65	5.3	0.42 (0.028, 0.63)

[0633]

< 65 y	153	6.9	167	4.4	0.63 (0.49, 0.80)
≥ 65 y	139	8.4	119	5.6	0.55 (0.42, 0.73)
从不吸烟者	37	8.6	30	5.5	0.49 (0.28, 0.87)
以前/现在吸烟者	255	7.5	256	5.1	0.61 (0.50, 0.74)
无肝转移	255	8.4	250	5.5	0.56 (0.46, 0.69)
肝转移	37	4.4	36	4.0	0.77 (0.47, 1.25)
人群	APP		PP		
	n	中值 OS (95% CI), 月	n	中值 OS (95% CI), 月	HR (95% CI); P 值
ITT	292	18.1 (13.0, NE)	286	13.6 (11.4, 15.5)	0.813 (0.644, 1.025) P = 0.0797 ^a
非亚洲人	221	13.0	221	11.0	0.82 (0.64, 1.06)
亚洲人	71	NE	65	NE	0.68 (0.37, 1.24)
< 65 y	153	18.8	167	14.2	0.89 (0.62, 1.21)
≥ 65 y	139	18.1	119	12.8	0.71 (0.50, 1.01)
从不吸烟者	37	18.1	30	13.3	0.65 (0.32, 1.30)
以前/现在吸烟者	255	18.8	256	13.6	0.83 (0.65, 1.06)
无肝转移	255	19.9	250	14.2	0.76 (0.59, 0.98)
肝转移	37	10.1	36	6.9	0.99 (0.57, 1.70)
^a 分层。					

[0634] 在卡铂或顺铂+培美曲塞中添加阿特殊单抗可使大多数关键临床亚组的PFS和OS数值提高。在亚洲患者、老年患者和从未吸烟者中,生存益处似乎更为明显。

[0635] 实例3:探索性分析:无进展生存期,通过实例1中生物标志物可评估的患者的PD-L1状态

[0636] 分析了从生物标志物可评估的患者(即,从实例1)获得的基线组织样品中的肿瘤

浸润免疫细胞 (IC) 和肿瘤-细胞 (TC) 上的PD-L1表达水平。肿瘤细胞评分为TC0、TC1、TC2或TC3, 肿瘤浸润性免疫细胞的评分为IC0、IC1、IC2和IC3。

[0637] 针对每个治疗组分析评分为TC3或IC3(即“PD-L1高”); TC1、TC2、IC1或IC2(或“PD-L1低”); 和TC0或IC0(即“PD-L1阴性”) 的患者的总应答率 (ORR) 和无进展生存率 (PFS)。这些分析的结果在图7A、7B和7C中示出。

[0638] 如图7A所示, 接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂的“PD-L1高”患者的ORR为72%。相比之下, 接受培美曲塞+卡铂治疗的“PD-L1高”患者的ORR为55%。接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂的“PD-L1高”患者的中值PFS为10.8个月, 而对照组的“PD-L1高”患者的中值PFS为6.5个月。治疗组“PD-L1高”患者中12个月的PFS为46%, 而对照组“PD-L1高”患者中12个月的PFS为25%。

[0639] 与对照组相比, 治疗组“PD-L1低”患者的ORR或中值PFS没有显著差异。治疗组“PD-L1低”患者的12个月PFS为27%, 对照组“PD-L1低”患者的12个月PFS为20%。见图7B。

[0640] 图7C显示接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂的“PD-L1阴性”患者的ORR为44%。相比之下, 接受培美曲塞+卡铂治疗的“PD-L1阴性”患者的ORR为27%。接受阿特殊单抗+培美曲塞+卡铂或顺铂的“PD-L1阴性”患者的中值PFS为8.5个月, 而对照组“PD-L1阴性”患者的中值PFS为4.9个月。治疗组“PD-L1阴性”患者的12个月PFS为35%, 而对照组“PD-L1阴性”患者的12个月PFS为8%。治疗组“PD-L1阴性”患者的中值应答持续时间 (DOR) 为10.1个月, 而对照组“PD-L1阴性”患者的中值应答时间 (DOR) 为4.2个月。尽管为了清楚理解的目的的先前已经通过说明和实例相当详细地描述了本公开, 但是所述说明和实例不应解释为限制本公开的范围。本文引用的所有专利和科学文献的公开内容的全部内容以引用方式明确地并入。

序列表

<110> 豪夫迈·罗氏有限公司

<120> 用 PD-1 轴结合拮抗剂、抗代谢物和铂剂治疗肺癌的方法

<130> 14639-20451.40

<140> 尚未转让

<141> 与之同时

<150> US 62/734,936

<151> 2018-09-21

<150> US 62/700,184

<151> 2018-07-18

<160> 20

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 1

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Trp Ile His

1 5 10

<210> 2

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 2

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 3

Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 5

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 6

Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr

1 5

<210> 7

<211> 440

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 7

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
 340 345 350
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 355 360 365
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 370 375 380
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 385 390 395 400
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
 405 410 415
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 420 425 430
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440
 <210> 8
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 8
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445
 <210> 10
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

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

<210> 12

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 12

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 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 Ser Ala Ser Phe Leu 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 Leu Tyr His Pro Ala
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 13

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 <210> 14
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 14
 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 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 Ser Ala Ser Phe Leu 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 Leu Tyr His Pro Ala
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 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> 15
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 15
 Glu Val Gln Leu Leu 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
 Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe 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 Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr 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 Pro 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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly
 450
 <210> 18
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 18
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

	405		410		415										
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
	420		425		430										
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	
	435		440		445										
<210>	20														
<211>	213														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	合成构建体														
<400>	20														
Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1			5					10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Ser	Ala	Arg	Ser	Ser	Val	Ser	Tyr	Met
		20						25				30			
His	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Trp	Ile	Tyr
		35					40					45			
Arg	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Gly	Thr	Ser	Tyr	Cys	Leu	Thr	Ile	Asn	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu
65					70					75				80	
Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser	Ser	Phe	Pro	Leu	Thr
			85						90				95		
Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro
			100						105				110		
Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr
		115						120					125		
Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys
		130					135					140			
Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu
145					150						155				160
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser
			165								170				175
Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala
			180								185				190
Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe
		195									200				205
Asn	Arg	Gly	Glu	Cys											

210

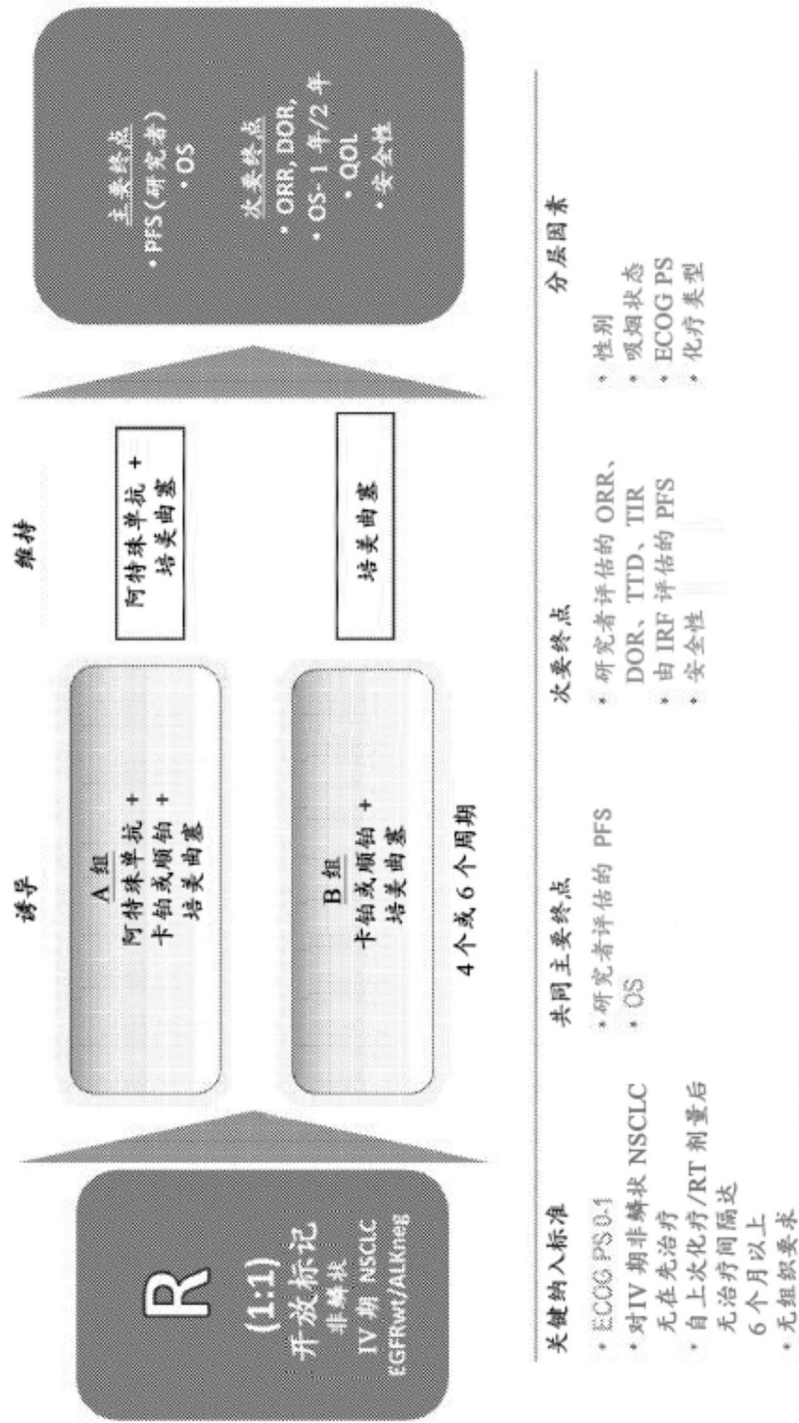


图1

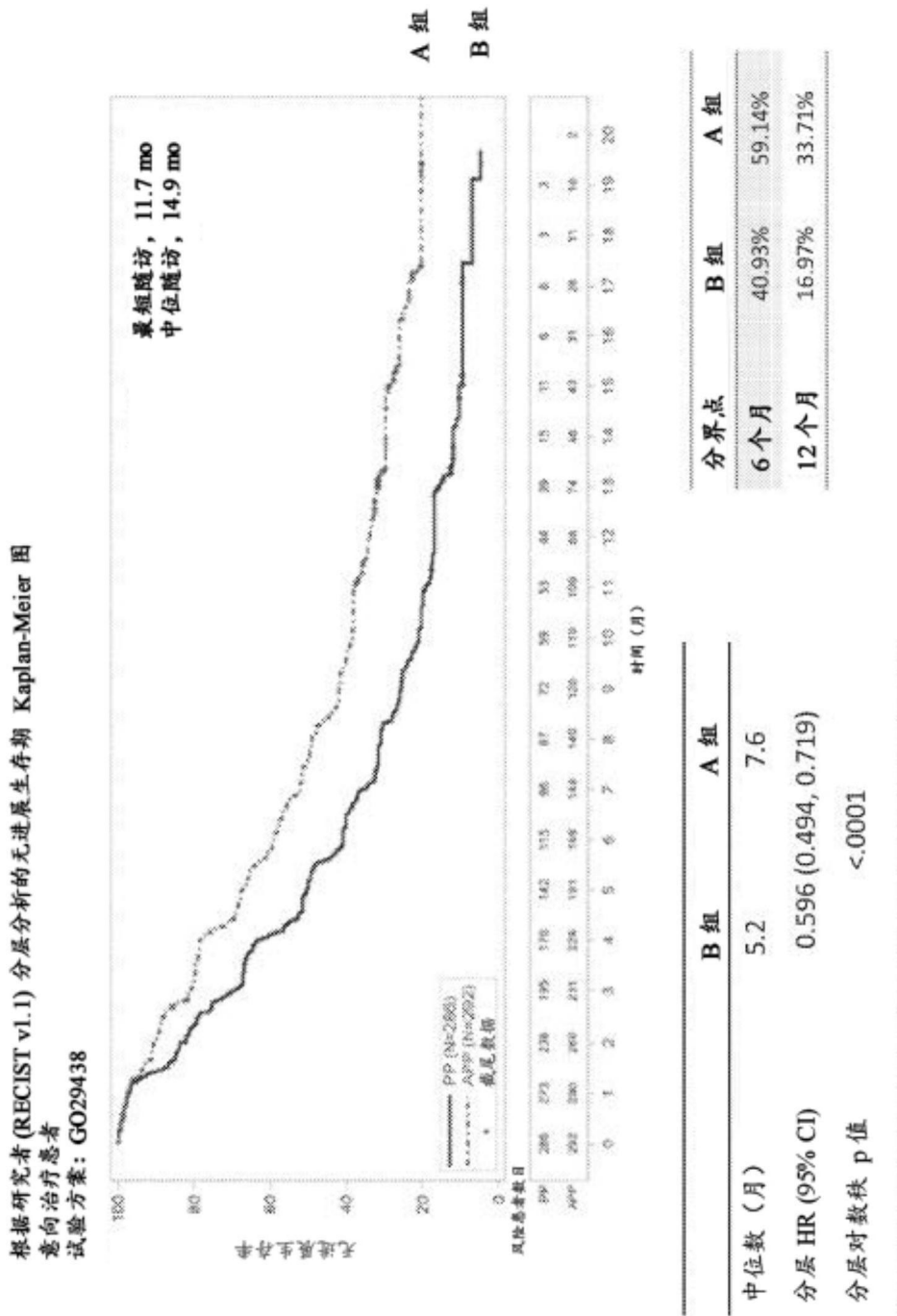


图2

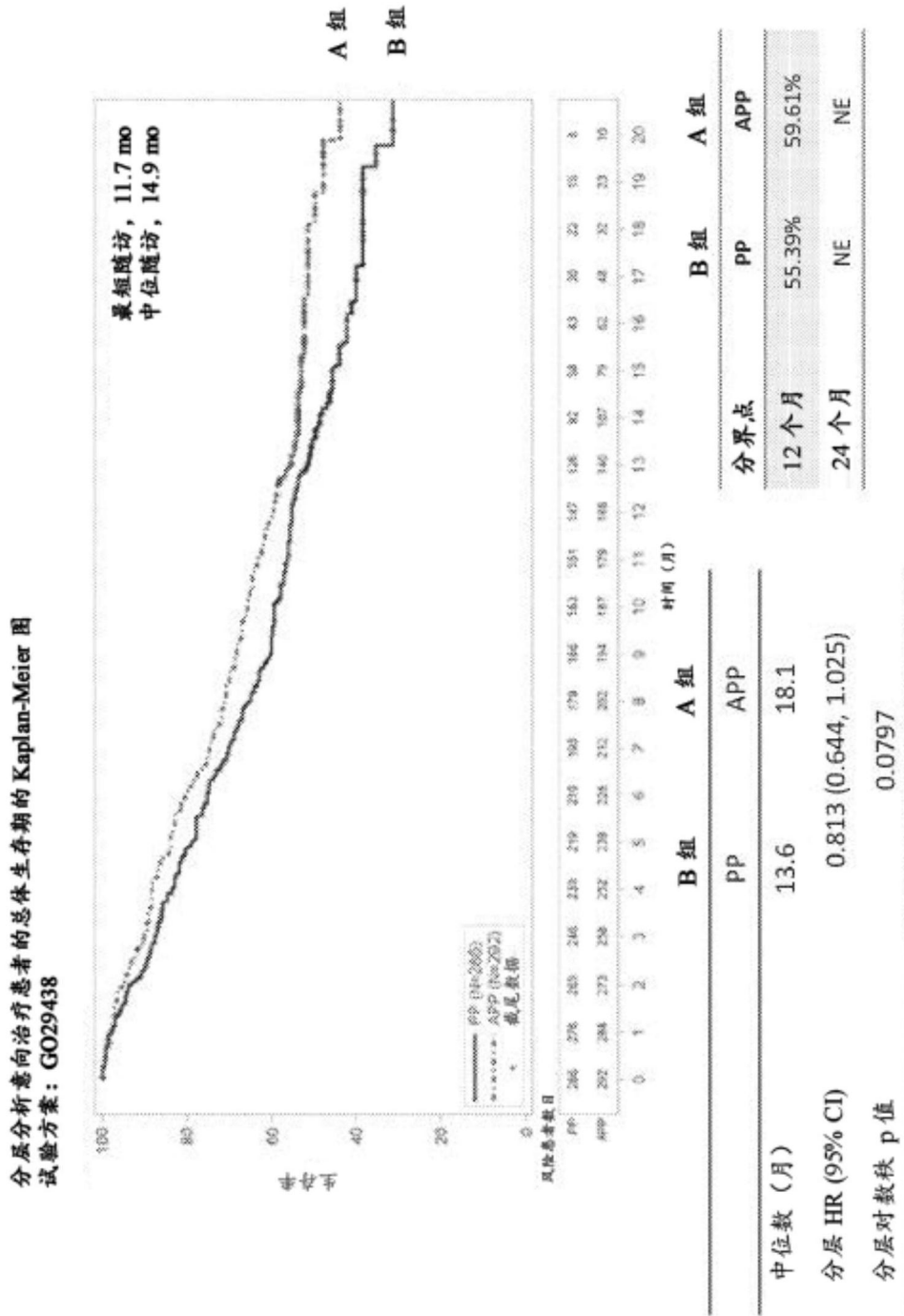


图3

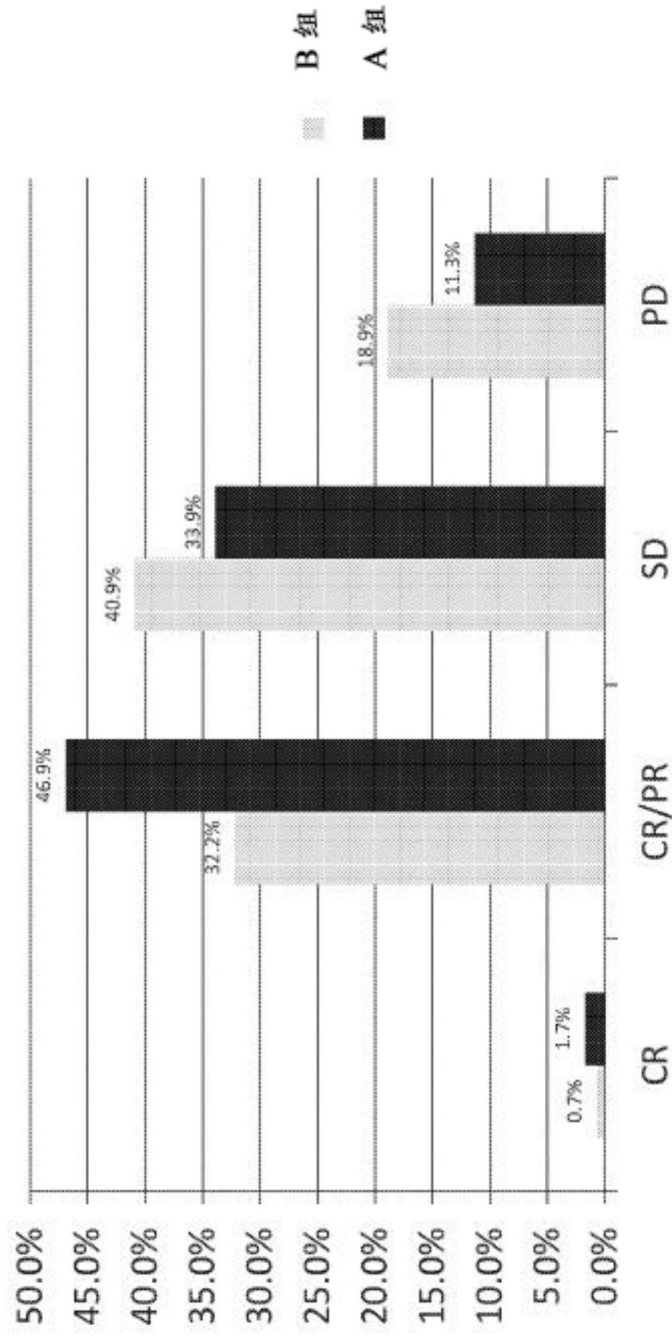


图4

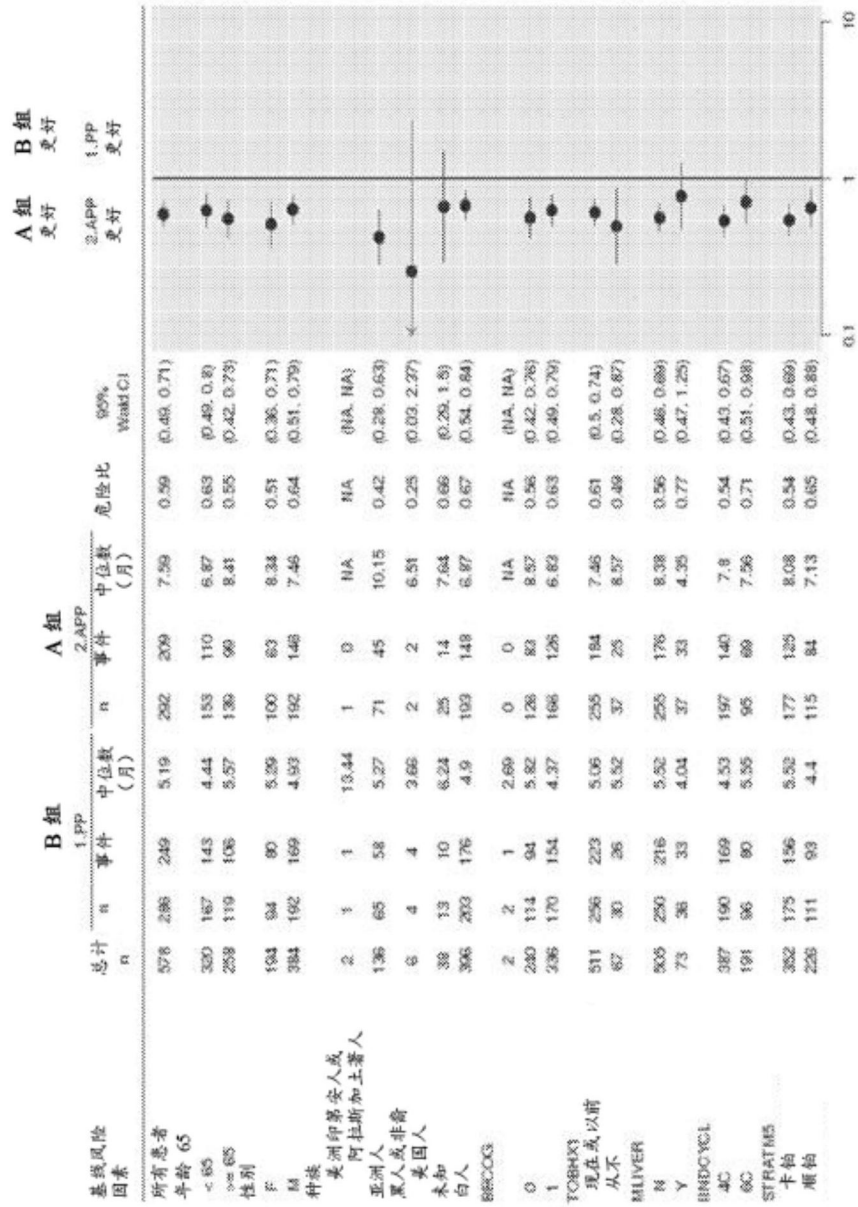
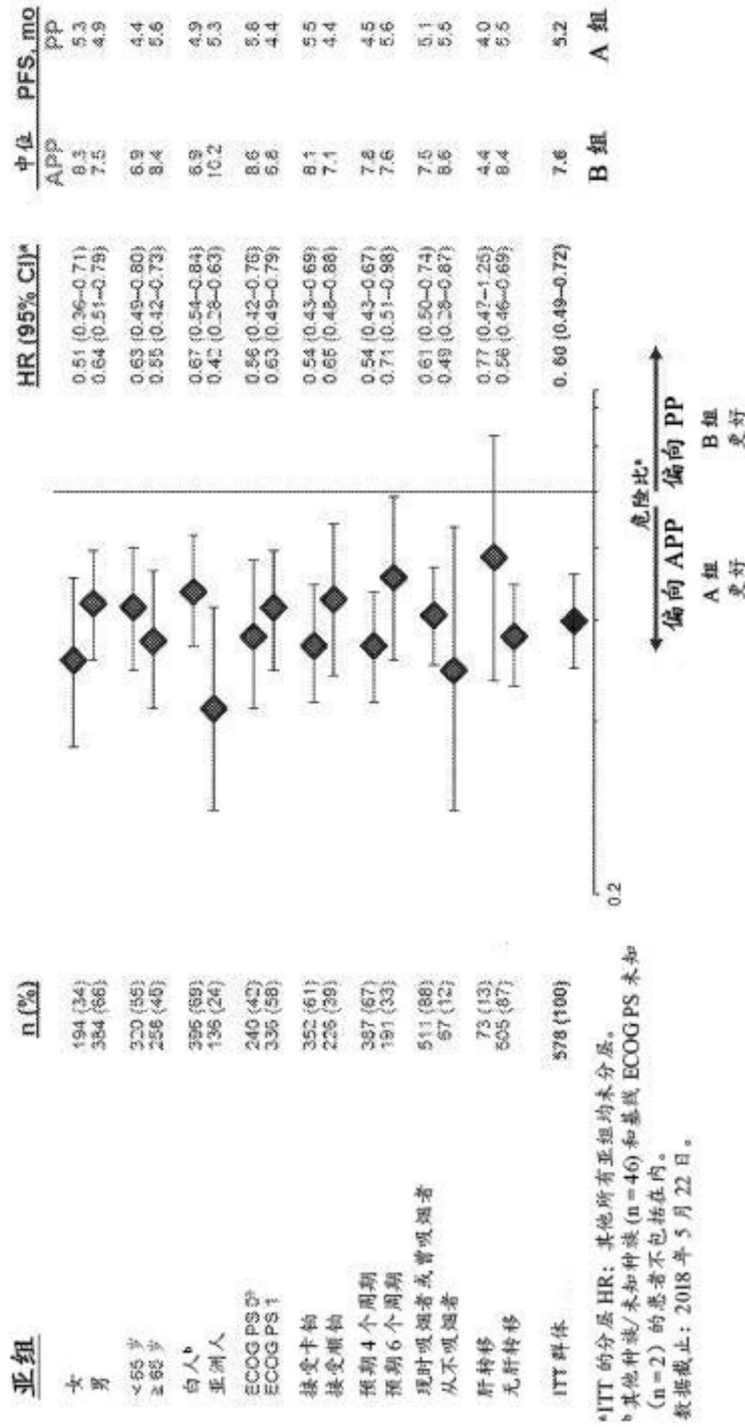


图5A



*ITT 的分层 HR；其他所有亚组均未分层。
^b其他种族/未知种族 (n=46) 和基线 ECOG PS 未知 (n=2) 的患者不包括在内。
 数据截止：2018 年 5 月 22 日。

图5B

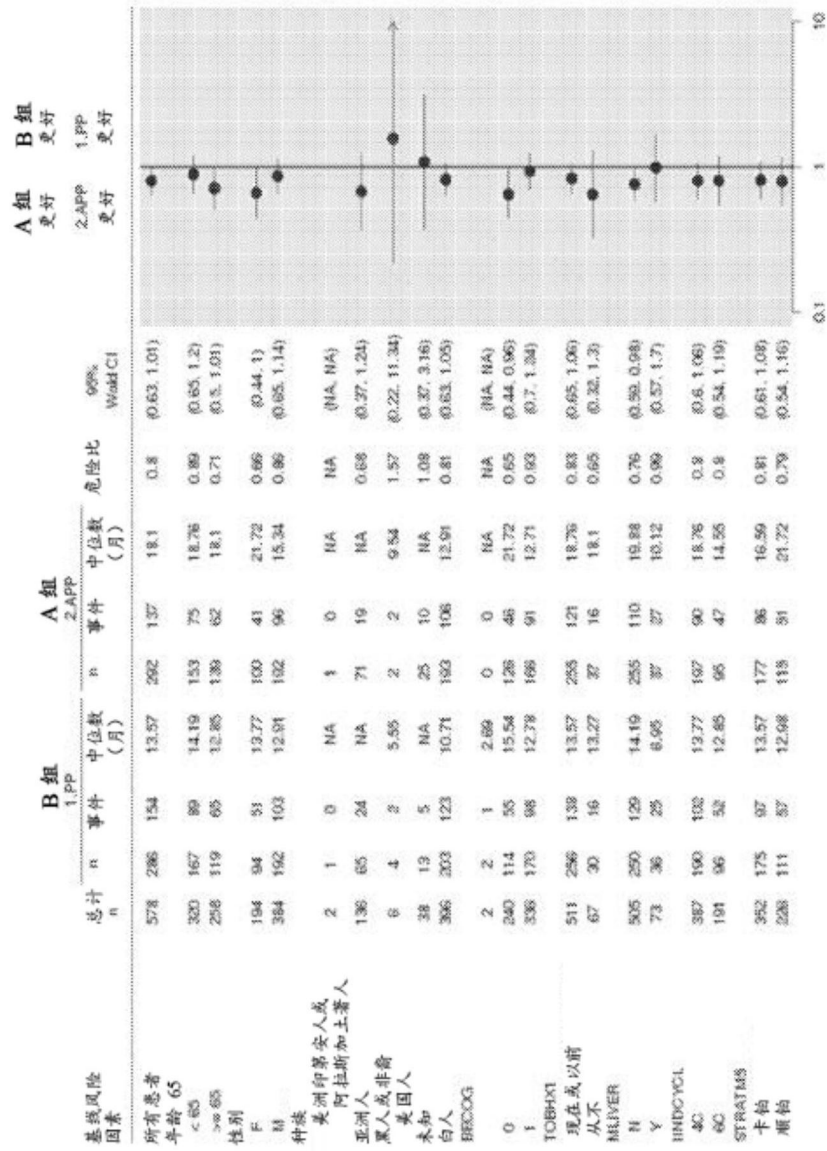
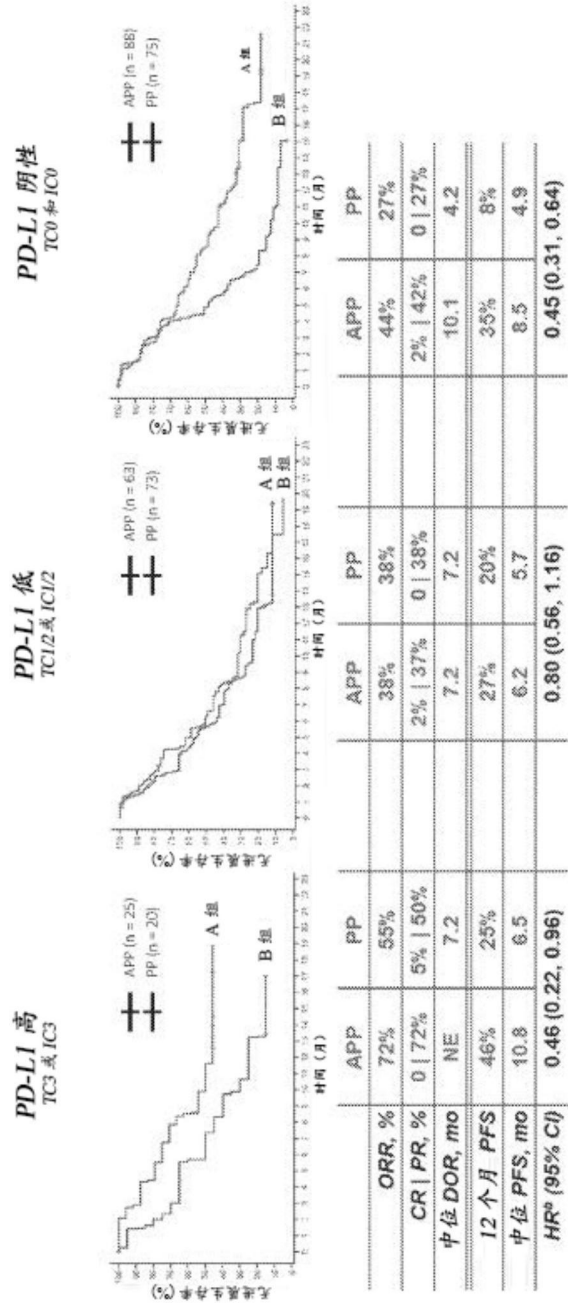


图6



生物标志物可评估的患者 (ITT 的 60%) 的总 HR 为 0.57 (0.45, 0.73)。 未分层 HR。数据截止: 2018 年 5 月 22 日。

APP = A 组; PP = B 组

图 7A

图 7B

图 7C