



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119303076 A

(43) 申请公布日 2025.01.14

---

(21) 申请号 202411475373.4 *A61P 35/04* (2006.01)  
(22) 申请日 2014.09.11 *A61P 29/00* (2006.01)  
(30) 优先权数据 *A61P 19/10* (2006.01)  
13184120.7 2013.09.12 EP *A61P 37/04* (2006.01)  
(62) 分案原申请数据 *A61P 35/02* (2006.01)  
201480045288.2 2014.09.11 *C07K 16/28* (2006.01)  
(71) 申请人 豪夫迈·罗氏有限公司  
地址 瑞士巴塞尔  
(72) 发明人 F·赫廷 C·里斯 K·瓦尔塔  
S·霍维什  
(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494  
专利代理师 岑晓东  
(51) Int.Cl.  
*A61K 39/395* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

权利要求书3页 说明书43页  
序列表(电子公布) 附图9页

---

(54) 发明名称  
针对人CSF-1R的抗体和针对人PD-L1的抗体的组合疗法

(57) 摘要  
本发明涉及结合人CSF-1R的特定抗体与结合人PD-L1的特定抗体的组合疗法。其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,用于治疗癌症,用于预防或治疗转移,用于治疗炎性疾病,用于治疗骨丢失,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展,或用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性。

1. 一种结合人CSF-1R的抗体,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,用于治疗癌症,用于预防或治疗转移,用于治疗炎性疾病,用于治疗骨丢失,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展,或用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性,

其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含

- a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或
- b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或
- c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或
- d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或
- e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的

的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

- a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或
- b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或
- c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或
- d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或
- e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或
- f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或
- g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或
- h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或
- p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。

2. 依照权利要求1的抗体,用于治疗癌症。

3. 依照权利要求2的抗体,用于治疗乳腺癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌、黑素瘤癌、膀胱癌、肾癌(renal cancer)、肾癌(kidney cancer)、肝癌、头和颈癌、结肠直肠癌、胰腺癌、胃癌癌、食道癌、间皮瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤。

4. 依照权利要求1的抗体,用于预防或治疗转移。

5. 依照权利要求1的抗体,用于治疗骨丢失。

6. 依照权利要求1的抗体,用于治疗炎性疾病。

7. 依照权利要求1的抗体,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展。

8. 依照权利要求1的抗体,用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性。

9. 一种结合人CSF-1R的抗体,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,用于

i) 在CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1配体不依赖性CSF-1R表达性肿瘤细胞中抑制细胞增殖;

ii) 在带有CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性CSF-1R表达性巨噬细胞浸润

的肿瘤中抑制细胞增殖；

iii) 在 (CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性) CSF-1R表达性单核细胞和巨噬细胞中抑制细胞存活；和/或

iv) 在 (CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性) CSF-1R表达性单核细胞中抑制细胞分化成巨噬细胞，

其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含

a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或

b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或

c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或

d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或

e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL；且组合疗法中使用的

的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或

b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或

c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或

d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或

e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或

f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或

g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或

h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或

i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或

j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或

k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或

l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或

m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或

n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或

o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或

p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。

10. 一种结合人CSF-1R的抗体,其用于治疗具有CSF-1R表达性肿瘤或带有CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤的患者,其中该肿瘤特征在于CSF-1R配体升高,且其中该抗CSF-1R抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,

其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含

a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或

b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或

c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或

d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或

e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL；且组合疗法中使用的

的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或

- b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或
- c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或
- d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或
- e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或
- f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或
- g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或
- h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或
- p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。

## 针对人CSF-1R的抗体和针对人PD-L1的抗体的组合疗法

[0001] 本申请是申请日为2014年9月11日、中国申请号为201480045288.2、发明名称为“针对人CSF-1R的抗体和针对人PD-L1的抗体的组合疗法”的发明申请的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及结合人CSF-1R的特定抗体与结合人PD-L1的特定抗体的组合疗法。

### 背景技术

[0003] CSF-1R和CSF-1R抗体

[0004] 自1986年起就知道人CSF-1受体(CSF-1R;集落刺激因子1受体;同义词:M-CSF受体;巨噬细胞集落刺激因子1受体,Fms原癌基因,c-fms,SEQ ID NO:62)(Coussens,L.等人,Nature 320(1986)277-280)。CSF-1R是一种生长因子且由c-fms原癌基因编码(综述见例如Roth,P.和Stanley,E.R.,Curr.Top.Microbiol.Immunol.181(1992)141-167)。

[0005] CSF-1R是CSF-1(集落刺激因子1,也称作M-CSF,巨噬细胞集落刺激因子)的受体且介导此细胞因子的生物学效应(Sherr,C.J.等人,Cell 41(1985)665-676)。集落刺激因子-1受体(CSF-1R)(也称作c-fms)的克隆第一次记载于Roussel,M.F.等人,Nature 325(1987)549-552。在该出版物中,显示了CSF-1R具有依赖于该蛋白质的C端尾中的变化(包括抑制性酪氨酸969磷酸化的丧失,其结合Cbl并由此调节受体下调)的转化潜力(Lee,P.S.等人,Embo J.18(1999)3616-3628)。最近,鉴定出CSF-1R的第二种配体,称作白介素-34(IL-34)(Lin,H.等人,Science 320(2008)807-811)。

[0006] 目前知道两种结合CSF-1R胞外域的CSF-1R配体。第一种是CSF-1(集落刺激因子1,也称作M-CSF,巨噬细胞;SEQ ID NO:86),在细胞外作为二硫化物连接的同二聚体找到(Stanley,E.R.等人,Journal of Cellular Biochemistry 21(1983)151-159;Stanley,E.R.等人,Stem Cells 12Suppl.1(1995)15-24)。第二种是IL-34(人IL-34;SEQ ID NO:87)(Hume,D.A.等人,Blood 119(2012)1810-1820)。CSF-1R信号传导的主要生物学效应是造血前体细胞至巨噬细胞谱系(包括破骨细胞)的分化、增殖、迁移、和存活。CSF-1R的活化由其CSF-1R配体CSF-1(M-CSF)和IL-34介导。CSF-1(M-CSF)对CSF-1R的结合诱导同二聚体的形成和激酶通过酪氨酸磷酸化的活化(Li,W.等人,EMBO Journal.10(1991)277-288;Stanley,E.R.等人,Mol.Reprod.Dev.46(1997)4-10)。

[0007] 生物学活性同二聚体CSF-1在CSF-1受体胞外域(CSF-1R-ECD)的亚域D1至D3内结合CSF-1R。CSF-1R-ECD包含五个免疫球蛋白样亚域(命名为D1至D5)。胞外域(CSF-1R-ECD)的亚域D4至D5不涉及CSF-1结合(Wang,Z.等人,Molecular and Cellular Biology 13(1993)5348-5359)。亚域D4涉及二聚化(Yeung,Y-G.等人,Molecular&Cellular Proteomics 2(2003)1143-1155;Pixley,F.J.等人,Trends Cell Biol 14(2004)628-638)。

[0008] 别的信号传导由分别连接PI3K/AKT和Ras/MAPK途径的PI3K之p85亚基和Grb2介导。这两种重要信号传导途径能调节增殖、存活和凋亡。其它结合磷酸化CSF-1R胞内域的信

号传导分子包括STAT1、STAT3、PLCy、和Cbl (Bourette, R.P. 和Rohrschneider, L.R., Growth Factors 17(2000) 155-166)。

[0009] CSF-1R信号传导在免疫应答中、在骨再建中及在生殖系统中具有生理学作用。已经显示了CSF-1 (Pollard, J.W., Mol. Reprod. Dev. 46 (1997) 54-61) 或CSF-1R (Dai, X.M. 等人, Blood 99 (2002) 111-120) 任一敲除的动物具有骨石化、造血、组织巨噬细胞、和生殖表型, 与CSF-1R在各种细胞类型中的作用一致。

[0010] Sherr, C.J. 等人, Blood 73 (1989) 1786-1793涉及一些针对CSF-1R的抗体, 它们抑制CSF-1活性。Ashmun, R.A. 等人, Blood 73 (1989) 827-837涉及CSF-1R抗体。Lenda, D. 等人, Journal of Immunology 170 (2003) 3254-3262涉及CSF-1缺陷小鼠中降低的巨噬细胞募集, 增殖, 和活化, 导致肾炎症期间降低的管凋亡。Kitaura, H. 等人, Journal of Dental Research 87 (2008) 396-400提及一种抗CSF-1抗体, 其抑制正牙牙齿移动。WO 2001/030381提及CSF-1活性抑制剂, 包括反义核苷酸和抗体, 虽然仅仅披露CSF-1反义核苷酸。WO 2004/045532涉及通过CSF-1拮抗剂的转移和骨丢失预防和转移癌治疗, 仅仅披露拮抗性抗CSF-1抗体。WO 2005/046657涉及通过抗CSF-1抗体对炎性肠病的治疗。US2002/0141994涉及集落刺激因子的抑制剂。WO 2006/096489涉及通过抗CSF-1抗体对类风湿性关节炎的治疗。WO 2009/026303和WO 2009/112245涉及某些抗CSF-1R抗体, 它们在胞外域 (CSF-1R-ECD) 的头三个亚域 (D1至D3) 内结合CSF-1R。WO2011/123381 (A1) 涉及针对CSF-1R的抗体。WO2011/070024涉及在二聚化域 (D4至D5) 内结合CSF-1R的某些抗CSF-1R抗体。

[0011] PD-L1和PD-L1抗体

[0012] 对T细胞共刺激或提供两种截然不同的信号是一种关于抗原呈递细胞 (APC) 对静息T淋巴细胞的淋巴细胞活化的广泛公认的模式。Lafferty 等人, Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 53:27-42 (1975)。

[0013] 此模型进一步提供了自身与非自身的辨别和免疫耐受性。Bretscher 等人, Science 169:1042-1049 (1970); Bretscher, P.A., P.N.A.S. USA 96:185-190 (1999); Jenkins 等人, J. Exp. Med. 165:302-319 (1987)。在主要组织相容性复合体 (MHC) 的背景中呈递的外来抗原肽的识别后, 第一信号, 或抗原特异性信号经由T细胞受体 (TCR) 转导。第二或共刺激信号通过抗原呈递细胞 (APC) 上表达的共刺激分子投递至T细胞, 并且诱导T细胞以促进克隆扩充, 细胞因子分泌和效应器功能。Lenschow 等人, Ann. Rev. Immunol. 14:233 (1996)。在缺乏共刺激的情况下, T细胞能对抗原刺激变得不应, 不发起有效的免疫应答, 并且进一步可以导致对外来抗原的耐受性或耗竭。

[0014] 简单的两信号模型可能过度简化, 因为TCR信号的强度实际上对T细胞活化和分化具有定量影响。Viola 等人, Science 273:104-106 (1996); Sloan-Lancaster, Nature 363:156-159 (1993)。而且, 如果TCR信号强度高的话, T细胞活化甚至能在共刺激信号缺失下发生。更为重要的是, T细胞接受正和负第二共刺激信号两者。此类正和负信号的调节对于在维持免疫耐受性和防止自身免疫的同时使宿主的保护性免疫应答最大化是至关重要的。

[0015] 负第二信号对于诱导T细胞耐受性似乎是必需的, 而正信号促进T细胞活化。虽然简单的两信号模型仍然为未免疫淋巴细胞提供有效解释, 但是宿主的免疫应答是一个动态过程, 并且也可以对抗原暴露的T细胞提供共刺激信号。

[0016] 共刺激的机制是治疗学方面感兴趣的, 因为已经显示了共刺激信号的操作提供增

强或终止基于细胞的免疫应答的手段。最近,已经发现了T细胞功能障碍或无反应性与抑制性受体(编程性死亡1多肽(PD-1))的诱导且持续的表达并行发生。因此,靶向PD-1和经由与PD-1的相互作用发信号的其它分子,诸如编程性死亡配体1(PD-L1)和编程性死亡配体2(PD-L2)的治疗剂是强烈感兴趣的领域。已经提出抑制PD-1信号传导作为增强T细胞免疫以治疗癌症(例如肿瘤免疫)和感染(包括急性和慢性感染二者,例如持久的)的手段。然而,既然针对此途径中的靶物的最佳治疗剂仍然有待商品化,那么存在重大的未满足的医疗需求。针对PD-L1的抗体记载于例如WO 2010/077634。

## 发明内容

[0017] 本发明包含结合人CSF-1R的抗体与结合人PD-L1的抗体的组合疗法,用于治疗癌症,用于预防或治疗转移,用于治疗炎性疾病,用于治疗骨丢失,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展,或用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性。

[0018] 本发明进一步包含结合人CSF-1R的抗体制造用于治疗癌症,用于治疗炎性疾病,用于治疗骨丢失,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展,或用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性的药物的用途,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用。

[0019] 组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含

[0020] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或

[0021] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或

[0022] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或

[0023] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或

[0024] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

[0025] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或

[0026] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或

[0027] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或

[0028] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或

[0029] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或

[0030] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或

[0031] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或

[0032] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或

[0033] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或

[0034] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或

[0035] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或

[0036] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或

[0037] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或

[0038] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或

[0039] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或

[0040] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。

[0041] 在一个实施方案中,该抗体用于治疗癌症。

- [0042] 在一个实施方案中,该抗体用于预防或治疗转移。
- [0043] 在一个实施方案中,该抗体用于治疗骨丢失。
- [0044] 在一个实施方案中,该抗体用于治疗炎性疾病。
- [0045] 在一个实施方案中,该抗体用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展。
- [0046] 在一个实施方案中,该抗体用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性。
- [0047] 本发明进一步包含结合人CSF-1R的抗体,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,用于
- [0048] i) 在CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1配体不依赖性CSF-1R表达性肿瘤细胞中抑制细胞增殖;
- [0049] ii) 在带有CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤中抑制细胞增殖;
- [0050] iii) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞和巨噬细胞中抑制细胞存活;和/或
- [0051] iv) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞中抑制细胞分化成巨噬细胞;
- [0052] 其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用;
- [0053] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含
- [0054] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或
- [0055] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或
- [0056] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或
- [0057] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或
- [0058] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含
- [0059] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或
- [0060] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或
- [0061] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或
- [0062] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或
- [0063] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或
- [0064] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或
- [0065] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或
- [0066] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- [0067] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- [0068] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- [0069] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- [0070] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- [0071] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- [0072] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- [0073] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或

- [0074] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。
- [0075] 本发明进一步包含一种结合人CSF-1R的抗体,其用于治疗具有CSF-1R表达性肿瘤或带有CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤的患者,其中该肿瘤特征在于CSF-1R配体升高,且其中该抗CSF-1R抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,
- [0076] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含
- [0077] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或
- [0078] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或
- [0079] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或
- [0080] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或
- [0081] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含
- [0082] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或
- [0083] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或
- [0084] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或
- [0085] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或
- [0086] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或
- [0087] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或
- [0088] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或
- [0089] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- [0090] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- [0091] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- [0092] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- [0093] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- [0094] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- [0095] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- [0096] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或
- [0097] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。
- [0098] 在一个实施方案中,所述抗体属于人IgG1亚类或人IgG4亚类。
- [0099] 本发明进一步包含:
- [0100] A) 一种用于
- [0101] i) 在CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性CSF-1R表达性肿瘤细胞中抑制细胞增殖;
- [0102] ii) 在带有CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤中抑制细胞增殖;
- [0103] iii) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞和巨噬细胞中抑制细胞存活;和/或
- [0104] iv) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞中抑制细胞分化成巨噬细胞的方法,
- [0105] 其中结合人CSF-1R的抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,

[0106] 或

[0107] B) 一种治疗具有CSF-1R表达性肿瘤或带有CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤的方法,其中该肿瘤特征在于CSF-1R配体升高,且其中结合人CSF-1R的抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,

[0108] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含

[0109] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或

[0110] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或

[0111] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或

[0112] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或

[0113] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

[0114] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或

[0115] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或

[0116] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或

[0117] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或

[0118] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或

[0119] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或

[0120] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或

[0121] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或

[0122] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或

[0123] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或

[0124] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或

[0125] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或

[0126] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或

[0127] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或

[0128] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或

[0129] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。

[0130] 如本文中使用的,术语“配体不依赖性”指经由胞外ECD的配体不依赖性信号传导(且不包括由胞内激酶域中的活化性点突变介导的配体不依赖性信号传导)。在一个实施方案中,CSF-1R配体在此语境中指选自人CSF-1 (SEQ ID NO:86) 和人IL-34 (SEQ ID NO:87) 的CSF-1R配体;在一个实施方案中,CSF-1R配体为人CSF-1 (SEQ ID NO:86);在一个实施方案中,CSF-1R配体为人IL-34 (SEQ ID NO:87)。

[0131] 本发明包含具有CSF-1R表达性肿瘤或带有CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤的组合治疗,其中该肿瘤特征在于CSF-1R配体升高(在一个实施方案中,CSF-1R配体选自人CSF-1 (SEQ ID NO:86) 和人IL-34 (SEQ ID NO:87);在一个实施方案中,CSF-1R配体为人CSF-1 (SEQ ID NO:86);在一个实施方案中,CSF-1R配体为人IL-34 (SEQ ID NO:87)) (在血清、尿液或肿瘤活检中检测得到),其中本文所述结合人CSF-1R的抗体与本文所述抗PD-L1抗体组合施用。术语“CSF-1R配体升高”指治疗前的人CSF-1R配体过表达(在一个实施方案中,CSF-1R配体选自人CSF-1 (SEQ ID NO:86) 和人IL-34 (SEQ ID NO:87);在一个实施方

案中,CSF-1R配体为人CSF-1 (SEQ ID NO:86);在一个实施方案中,CSF-1R配体为人IL-34 (SEQ ID NO:87)) (与正常组织相比)或由抗CSF-1R抗体治疗诱导(且与治疗前的表达水平相比)的人CSF-1R配体过表达。在某些实施方案中,术语“升高”或“超出”指超出参照水平的水平或与来自参照样品的CSF-1R配体水平相比,通过本文所述方法检测的CSF-1R配体水平中5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、100%或更多的总体升高。在某些实施方案中,术语升高指CSF-1R配体水平的升高,其中该升高为与CSF-1R配体水平(例如自参照样品预先测定的)相比高至少约1.5、1.75、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、75、80、90、或100倍。在一个优选实施方案中,术语升高的水平涉及处于或超出参照水平的值。

[0132] 本文所述抗体的组合疗法对需要CSF-1R靶向疗法的患者显示好处。依照本发明的特定抗CSF-1R抗体针对不依赖配体的和依赖配体的增殖显示有效抗增殖活性且在与本文所述特定抗PD-L1抗体组合治疗癌症和转移中尤其有用。

### 附图说明

[0133] 图1a-图1b图1a:GM-CSF或CSF-1 (100ng/ml配体)的共培养物,分化成巨噬细胞的人单核细胞。添加hMab 2F11-e7分化6天后。在抗体处理第7天在CTG存活力测定法(CellTiterGlo®Promega)中测量细胞存活力。计算%细胞存活力:来自处理细胞的RLU信号除以来自无抗体的未处理对照的RLU信号(n=4)。图1b:GM-CSF (M1)或M-CSF (M2) 7天,分化成巨噬细胞的人单核细胞。通过间接荧光分析来分析表型-用抗CD163-PE,抗CD80-PE或抗HLA-DR/DQ/DP-Zenon-Alexa647标记染色。每条柱中的数值对应于均值比率荧光强度(MRFI);用选定抗体(空心柱)和相应同种型对照(阴性对照;灰色实心柱)染色的细胞的均值荧光强度(MFI)之间的计算比率(均值±SD;n≥5)。

[0134] 图2a-图2d应用不同剂量的抗CSF-1R抗体hMab 2F11-e7之后猕猴中的CSF-1水平。

[0135] 图3在TAM存在下,由CD3和CD28活化诱导的T细胞扩充受到阻抑:自MC38肿瘤分离TAM并在CD3/CD28刺激存在下以所示比率与CFSE标记的CD8+T细胞一起共培养。3天后使用CFSE<sup>low</sup>分裂细胞的珠量化来分析T细胞增殖。以一式三孔的均值+SEM描绘两项中的一项代表性实验。

[0136] 图4<小鼠CSF1R>抗体/<PD-L1>抗体组合在MC38小鼠CRC体内模型中的抗肿瘤功效(肿瘤体积进展>700mm<sup>3</sup>的Kaplan-Meier曲线图)。

[0137] 图5<小鼠CSF1R>抗体/<PD-L1>抗体组合在皮下同基因CT26.WT结肠癌体内模型中的抗肿瘤功效(肿瘤体积进展>700mm<sup>3</sup>的Kaplan-Meier曲线图)。

### 具体实施方式

[0138] 许多肿瘤特征在于突出的免疫细胞浸润,包括巨噬细胞。最初,认为免疫细胞是针对肿瘤的防御机制的一部分,但是最近的数据支持如下的观念,即数种免疫细胞群(包括巨噬细胞)可能事实上促进肿瘤进展。巨噬细胞特征在于它们的可塑性。取决于细胞因子微环境,巨噬细胞能展现所谓的M1或M2亚型。M2巨噬细胞参与阻抑肿瘤免疫。它们还在组织修复功能诸如血管发生和组织重塑(它们被肿瘤收编来支持生长)中发挥重要作用。与肿瘤促进性M2巨噬细胞相反,M1巨噬细胞经分泌炎性细胞因子和参与抗原呈递和吞噬展现抗肿瘤活

性 (Mantovani, A. 等人, *Curr. Opin. Immunol.* 2 (2010) 231-237)。

[0139] 通过分泌各种各样的细胞因子, 诸如集落刺激因子1 (CSF-1) 和IL-10, 肿瘤细胞能够将巨噬细胞募集和塑造成M2亚型, 而诸如粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、IFN- $\gamma$  等细胞因子将巨噬细胞编程朝向M1亚型。使用免疫组织化学, 有可能区分共表达CD68和CD163的巨噬细胞亚群 (它很可能是富集M2巨噬细胞的) 和显示CD68+/MHC II+、或CD68+/CD80+免疫表型的亚集 (很可能包括M1巨噬细胞)。CD68和CD163阳性巨噬细胞的细胞形状、大小、和空间分布与关于M2巨噬细胞的肿瘤促进作用 (例如它们在肿瘤交叉基质和生命攸关肿瘤区域中的优先定位) 发表的假说一致。相反, 到处找到CD68+/MHC II类+巨噬细胞。它们在吞噬中的假定作用由凋亡细胞和坏死肿瘤区域附近CD68+/MHC II类+但CD163-免疫表型的簇反映。

[0140] 不同巨噬细胞亚群的亚型和标志物表达与它们的功能状态有联系。M2巨噬细胞能够通过下述各项支持肿瘤发生:

[0141] a) 经分泌血管发生性因子诸如VEGF或bFGF增强血管发生,

[0142] b) 经分泌基质金属蛋白酶 (MMP)、生长因子和迁移因子 (引导肿瘤细胞至血流及设立转移小生境) 支持转移形成 (Wyckoff, J. 等人, *Cancer Res.* 67 (2007) 2649-2656),

[0143] c) 通过分泌免疫抑制性细胞因子诸如IL-4、IL-13、IL-1ra和IL-10 (它们继而调节T调节细胞功能) 在建立免疫抑制性环境中发挥作用。相反, 在临床前模型中已显示CD4阳性T细胞增强肿瘤促进性巨噬细胞的活性 (Mantovani, A. 等人, *Eur. J. Cancer* 40 (2004) 1660-1667; DeNardo, D. 等人, *Cancer Cell* 16 (2009) 91-102)。

[0144] 因而, 在数种类型的癌症 (例如乳腺、卵巢、何杰金氏淋巴瘤) 中, M2亚型肿瘤相关巨噬细胞 (TAM) 的流行性已与较差的预后联系起来 (Bingle, L. 等人, *J. Pathol.* 3 (2002) 254-265; Orre, M., 和Rogers, P. A., *Gynecol. Oncol.* 1 (1999) 47-50; Steidl, C. 等人, *N. Engl. J. Med.* 10 (2010) 875-885)。最近的数据显示CD163阳性巨噬细胞浸润在肿瘤和肿瘤分级中的相关性 (Kawamura, K. 等人, *Pathol. Int.* 59 (2009) 300-305)。自患者肿瘤分离的TAM具有耐受表型且对肿瘤细胞不是细胞毒性的 (Mantovani, A. 等人, *Eur. J. Cancer* 40 (2004) 1660-1667)。然而, 在细胞毒性T细胞存在下TAM的浸润与非小细胞肺癌中改善的存活有关且因此反映此肿瘤类型中更加突出的M1巨噬细胞浸润 (Kawai, O. 等人, *Cancer* 6 (2008) 1387-1395)。

[0145] 最近, 包含大量巨噬细胞和CD4阳性T细胞但少量细胞毒性CD8阳性T细胞的一种所谓免疫签名显示出与乳腺癌患者中的总体存活 (OS) 缩短有关联及代表一种独立预后因子 (DeNardo, D. 等人, *Cancer Discovery* 1 (2011) 54-67)。

[0146] 与CSF-1在驱动M2巨噬细胞的促肿瘤发生功能中的作用一致, 罕见肉瘤或局部攻击性结缔组织肿瘤诸如色素沉着绒毛结节性滑膜炎 (PVNS) 和腱鞘巨细胞肿瘤 (TGCT) 中部分由CSF-1基因易位所致的高CSF-1表达引起表达CSF-1的受体 (集落刺激因子1受体 (CSF-1R)) 的单核细胞和巨噬细胞积累, 形成肿瘤块的大部 (West, R. B. 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 3 (2006) 690-695)。随后使用这些肿瘤来通过基因表达序型分析定义CSF-1依赖性巨噬细胞签名。在乳腺癌和平滑肌肉瘤患者肿瘤中, 此CSF-1响应基因签名预测较差的预后 (Espinosa, I. 等人, *Am. J. Pathol.* 6 (2009) 2347-2356; Beck, A. 等人, *Clin. Cancer Res.* 3 (2009) 778-787)。

[0147] CSF-1R属于受体酪氨酸激酶的III类亚家族且由c-fms原癌基因编码。CSF-1或IL-34的结合诱导受体二聚化,接着是自磷酸化和下游信号传导级联激活。CSF-1R的激活调节单核细胞和巨噬细胞的存活、增殖和分化(Xiong,Y.等人,J.Biol.Chem.286(2011)952-960)。

[0148] 除单核细胞谱系的细胞和破骨细胞(它们与巨噬细胞衍生自相同造血前体)以外,还已发现CSF-1R/c-fms由数种人上皮癌诸如卵巢和乳腺癌及在平滑肌肉瘤和TGCT/PVNS中表达,尽管处于与巨噬细胞相比要低的表达水平。对于TGCT/PVNS,卵巢癌患者的腹水以及血清中升高的CSF-1(CSF-1R的配体)水平与较差的预后有关联(Scholl,S.等人,Br.J.Cancer 62(1994)342-346;Price,F.等人,Am.J.Obstet.Gynecol.168(1993)520-527)。而且,CSF-1R的组成性有活性突变体形式能够转化NIH3T3细胞,癌基因的特性之一(Chambers,S.,Future Oncol 5(2009)1429-1440)。

[0149] 临床前模型提供CSF-1R作为肿瘤学靶物的验证。阻断CSF-1以及CSF-1R活性导致TAM募集降低。化疗导致肿瘤细胞中的CSF-1表达升高,引起TAM募集增强。在自发性转基因乳腺癌模型中,阻断CSF-1R与帕利他赛组合导致CD8阳性细胞毒性T细胞激活,引起肿瘤生长和转移性负荷降低(DeNardo,D.等人,Cancer Discovery 1(2011)54-67)。

[0150] 自1986年起就知道人CSF-1R(CSF-1受体;同义词:M-CSF受体;巨噬细胞集落刺激因子1受体,Fms原癌基因,c-fms,SEQ ID NO:22)(Coussens,L.等人,Nature 320(1986)277-280)。CSF-1R是一种生长因子且由c-fms原癌基因编码(综述见例如Roth,P.和Stanley,E.R.,Curr.Top.Microbiol.Immunol.181(1992)141-167)。

[0151] CSF-1R是CSF1R配体CSF-1(巨噬细胞集落刺激因子,也称作M-CSF)(SEQ ID NO:86)和IL-34(SEQ ID NO:87)的受体且介导这些细胞因子的生物学效应(Sherr,C.J.等人,Cell 41(1985)665-676;Lin,H.等人,Science 320(2008)807-811)。集落刺激因子-1受体(也称作c-fms)的克隆第一次记载于Roussel,M.F.等人,Nature 325(1987)549-552。在该出版物中,显示了CSF-1R具有依赖于该蛋白质的C端尾中的变化(包括抑制性酪氨酸969磷酸化的丧失,其结合Cb1并由此调节受体下调)的转化潜力(Lee,P.S.等人,Embo J.18(1999)3616-3628)。

[0152] CSF-1R是一种单链,跨膜受体酪氨酸激酶(RTK)及含有免疫球蛋白(Ig)基序的RTK家族的成员,特征在于该受体的胞外域(ECD)中5个重复的Ig样亚域D1-D5(Wang,Z.等人,Molecular and Cellular Biology 13(1993)5348-5359)。人CSF-1R胞外域(CSF-1R-ECD)(SEQ ID NO:64)包含所有五个胞外Ig样亚域D1-D5。人CSF-1R片段de1D4(SEQ ID NO:65)包含胞外Ig样亚域D1-D3和D5,但是缺失D4亚域。人CSF-1R片段D1-D3(SEQ ID NO:66)包含各个亚域D1-D3。列出了没有信号肽MGSGPGVLLL LLVATAWHGQ G(SEQ ID NO:67)的序列。人CSF-1R片段D4-D3(SEQ ID NO:85)包含相应亚域D4-D3。

[0153] 目前知道两种结合CSF-1R胞外域的CSF-1R配体。第一种是CSF-1(集落刺激因子1,也称作M-CSF,巨噬细胞;人CSF-1,SEQ ID NO:86),在细胞外作为二硫化物连接的同二聚体找到(Stanley,E.R.等人,Journal of Cellular Biochemistry 21(1983)151-159;Stanley,E.R.等人,Stem Cells 12Suppl.1(1995)15-24)。第二种是IL-34(人IL-34;SEQ ID NO:87)(Hume,D.A.等人,Blood 119(2012)1810-1820)。如此,在一个实施方案中,术语“CSF-1R配体”指人CSF-1(SEQ ID NO:86)和/或人IL-34(SEQ ID NO:87)。

[0154] 对于实验,常常使用人CSF-1的活性149个氨基酸(aa)片段(SEQ ID NO:86的aa 33-181)。人CSF-1的这种活性149aa片段(SEQ ID NO:86的aa 33-181)包含在CSF-1的所有3种主要形式中且足以介导对CSF-1R的结合(Hume,D.A.等人,Blood 119(2012)1810-1820)。

[0155] CSF-1R信号传导的主要生物学效应是造血前体细胞至巨噬细胞谱系(包括破骨细胞)的分化、增殖、迁移、和存活。CSF-1R的活化由其CSF-1R配体CSF-1(M-CSF)和IL-34介导。CSF-1(M-CSF)对CSF-1R的结合诱导同二聚体的形成和激酶通过酪氨酸磷酸化的活化(Li,W.等人,EMBO Journal.10(1991)277-288;Stanley,E.R.等人,Mol.Reprod.Dev.46(1997)4-10)。

[0156] 胞内蛋白质酪氨酸激酶域被独特的插入域中断,该插入域也存在于其它相关RTK III类家族成员中,包括血小板衍生生长因子受体(PDGFR)、干细胞生长因子受体(c-Kit)和fms样细胞因子受体(FLT3)。不管这个生长因子受体家族中的结构同源性,它们具有截然不同的组织特异性功能。

[0157] CSF-1R主要在单核细胞谱系的细胞上及在雌性生殖道和胎盘中表达。另外,已经报告了皮肤中的朗格汉斯细胞(一种平滑肌细胞子集)(Inaba,T.等人,J.Biol.Chem.267(1992)5693-5699)、B细胞(Baker,A.H.等人,Oncogene 8(1993)371-378)和小胶质细胞(Sawada,M.等人,Brain Res.509(1990)119-124)中的CSF-1R表达。已知具有突变型人CSF-1R(SEQ ID NO:23)的细胞增殖不依赖配体刺激。

[0158] 如本文中使用的,“结合人CSF-1R”或“特异性结合人CSF-1R”或“抗CSF-1R抗体”指抗体以 $K_D$ 值 $1.0 \times 10^{-8}$  mol/l或更低(在一个实施方案中,以 $K_D$ 值 $1.0 \times 10^{-9}$  mol/l或更低)的结合亲和力特异性结合人CSF-1R抗原。结合亲和力用标准结合测定法测定,诸如表面等离子共振技术(BIAcore®,GE-Healthcare,Uppsala,Sweden)。如此,如本文中使用的,“结合人CSF-1R的抗体”指以 $K_D$   $1.0 \times 10^{-8}$  mol/l或更低(在一个实施方案中, $1.0 \times 10^{-8}$  mol/l- $1.0 \times 10^{-13}$  mol/l),在一个实施方案中,以 $K_D$   $1.0 \times 10^{-9}$  mol/l或更低(在一个实施方案中, $1.0 \times 10^{-9}$  mol/l- $1.0 \times 10^{-13}$  mol/l)的结合亲和力特异性结合人CSF-1R抗原的抗体。

[0159] PD-1/PD-L1/PD-L2途径:

[0160] 一种调节T细胞活化的重要负共刺激信号是由编程性死亡-1受体(PD-1)(CD279)及其配体结合配偶PD-L1(B7-H1,CD274;SEQ ID NO:88)和PD-L2(B7-DC,CD273)提供的。PD-1的负调节作用是通过PD-1敲除(Pdcd1-/-)揭示的,其倾向于自身免疫。Nishimura等人,Immunity 11:141-51(1999);Nishimura等人,Science 291:319-22(2001)。PD-1与CD28和CTLA-4有关,但是缺少容许同二聚化的近膜半胱氨酸。PD-1的胞质域含有基于免疫受体酪氨酸的抑制性基序(ITIM,V/IxYxxL/V)。PD-1只结合PD-L1和PD-L2。Freeman等人,J.Exp.Med.192:1-9(2000);Dong等人,Nature Med.5:1365-1369(1999);Latchman等人,Nature Immunol.2:261-268(2001);Tseng等人,J.Exp.Med.193:839-846(2001)。

[0161] PD-1能在T细胞、B细胞、天然杀伤T细胞、活化的单核细胞和树突细胞(DC)上表达。PD-1由活化的但不由未刺激的人CD4+和CD8+T细胞、B细胞和髓样细胞表达。这与更受局限的CD28和CTLA-4表达形成对比。Nishimura等人,Int.Immunol.8:773-80(1996);Boettler等人,J.Virol.80:3532-40(2006)。已经自活化的人T细胞克隆了PD-1的至少4种变体,包括缺少(i)外显子2,(ii)外显子3,(iii)外显子2和3,或(iv)外显子2至4的转录物。Nielsen等人,Cell.Immunol.235:109-16(2005)。除PD-1  $\Delta$  ex3外,在静息外周血单个核细胞(PBMC)中

所有变体以与全长PD-1相似的水平表达。所有变体的表达在用抗CD3和抗CD28活化人T细胞后显著诱导。PD-1  $\Delta$  ex3变体缺少跨膜域,且类似可溶性CTLA-4,其在自身免疫中发挥重要作用。Ueda等人, *Nature* 423:506-11 (2003)。此变体在具有类风湿性关节炎的患者的滑液和血清中富集。Wan等人, *J. Immunol.* 177:8844-50 (2006)。

[0162] 两种PD-1配体区别在于它们的表达样式。PD-L1在小鼠T和B细胞、CD、巨噬细胞、间充质干细胞和骨髓衍生肥大细胞上组成性表达。Yamazaki等人, *J. Immunol.* 169:5538-45 (2002)。PD-L1在广泛的非造血细胞(例如角膜、肺、血管上皮、肝非实质细胞、间充质干细胞、胰岛、胎盘合胞滋养层、角质形成细胞、等)上表达[Keir等人, *Annu. Rev. Immunol.* 26:677-704 (2008)],而且在活化后在多种细胞类型上上调。I型和II型干扰素IFN均上调PD-L1。Eppihimer等人, *Microcirculation* 9:133-45 (2002); Schreiner等人, *J. Neuroimmunol.* 155:172-82 (2004)。细胞系中的PD-L1表达在MyD88、TRAF6和MEK受到抑制时降低。Liu等人, *Blood* 110:296-304 (2007)。JAK2也已经与PD-L1诱导联系起来。Lee等人, *FEBS Lett.* 580:755-62 (2006); Liu等人, *Blood* 110:296-304 (2007)。磷酸酶和张力蛋白同系物(PTEN)(一种修饰磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)和Akt信号传导的细胞磷酸酶)的丧失或抑制提高癌症中的转录后PD-L1表达。Parsa等人, *Nat. Med.* 13:84-88 (2007)。

[0163] PD-L2表达比PD-L1更受局限。PD-L2在DC、巨噬细胞、和骨髓衍生肥大细胞上可诱导表达。PD-L2还在约二分之一至三分之二的静息腹膜B1细胞上表达,但是不在常规B2 B细胞上表达。Zhong等人, *Eur. J. Immunol.* 37:2405-10 (2007)。PD-L2+B1细胞结合磷脂酰胆碱,而且对于针对细菌抗原的先天免疫应答可能是重要的。IFN- $\gamma$ 对PD-L2的诱导部分依赖于NF- $\kappa$ B。Liang等人, *Eur. J. Immunol.* 33:2706-16 (2003)。PD-L2还可以在单核细胞和巨噬细胞上受GM-CSF、IL-4和IFN- $\gamma$ 诱导。Yamazaki等人, *J. Immunol.* 169:5538-45 (2002); Loke等人, *PNAS* 100:5336-41 (2003)。

[0164] PD-1信号传导通常具有比对细胞增殖要大的对细胞因子生成的影响,对IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-2生成有显著影响。PD-1介导的抑制性信号传导还依赖于TCR信号传导的强度,在低水平的TCR刺激投递较大的抑制。这种降低可以通过经由CD28的共刺激[Freeman等人, *J. Exp. Med.* 192:1027-34 (2000)]或IL-2的存在[Carter等人, *Eur. J. Immunol.* 32:634-43 (2002)]来克服。

[0165] 越来越多的证据说明经由PD-L1和PD-L2的信号传导可能是双向的。就是说,在修饰TCR或BCR信号传导以外,信号传导还可以投递回到表达PD-L1和PD-L2的细胞。虽然用自具有瓦尔登斯特伦(Waldenstrom)氏巨球蛋白血症的患者分离的天然人抗PD-L2抗体处理树突细胞未发现上调MHC II或B7共刺激分子,但是此类细胞确实生成极大量的促炎症细胞因子,特别是TNF- $\alpha$ 和IL-6,且刺激T细胞增殖。Nguyen等人, *J. Exp. Med.* 196:1393-98 (2002)。用这种抗体处理小鼠还(1)增强对移植的b16黑素瘤抗性和快速诱导肿瘤特异性CTL。Radhakrishnan等人, *J. Immunol.* 170:1830-38 (2003); Radhakrishnan等人, *Cancer Res.* 64:4965-72 (2004); Heckman等人, *Eur. J. Immunol.* 37:1827-35 (2007); (2)阻断变应性哮喘小鼠模型中气道炎性疾病发生。Radhakrishnan等人, *J. Immunol.* 173:1360-65 (2004); Radhakrishnan等人, *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:668-74 (2005)。

[0166] 关于逆信号传导入树突细胞(“DC”)的进一步证据源自用可溶性PD-1(与Ig恒定区融合的PD-1EC域-“s-PD-1”)培养的骨髓衍生DC的研究。Kuipers等人, *Eur. J. Immunol.* 36:

2472-82 (2006)。此sPD-1以通过施用抗PD-1可逆的方式抑制DC活化且提高IL-10生成。

[0167] 另外,数项研究显示了PD-L1或PD-L2的一种不依赖于PD-1的受体。B7.1早就鉴定为PD-L1的结合配偶。Butte等人,Immunity 27:111-22 (2007)。化学交联研究提示PD-L1和B7.1能经由它们的IgV样域相互作用。B7.1:PD-L1相互作用能诱导进入T细胞的抑制性信号。通过B7.1连接CD4+T细胞上的PD-L1或通过PD-L1连接CD4+T细胞上的B7.1投递抑制性信号。缺少CD28和CTLA-4的T细胞显示在通过抗CD3加B7.1包被珠刺激时降低的增殖和细胞因子生成。在缺少B7.1的所有受体(即CD28、CTLA-4和PD-L1)的T细胞中,T细胞增殖和细胞因子生成不再受抗CD3加B7.1包被珠抑制。这指示B7.1在CD28和CTLA-4缺失下经由T细胞上的PD-L1特异性起作用。类似地,缺少PD-1的T细胞在抗CD3加PD-L1包被珠存在下刺激时显示降低的增殖和细胞因子生成,证明PD-L1连接T细胞上的B7.1的抑制效果。当T细胞缺少PD-L1的所有已知受体(即没有PD-1和B7.1)时,T细胞增殖不再受抗CD3加PD-L1包被珠削弱。如此,PD-L1能经由B7.1或PD-1任一对T细胞发挥抑制效果。

[0168] B7.1和PD-L1之间的直接相互作用提示当前关于共刺激的理解是不全面的,而且强调对这些分子在T细胞上的表达的意义。关于PD-L1-/-T细胞的研究指出T细胞上的PD-L1能下调T细胞的细胞因子生成。Latchman等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101:10691-96 (2004)。因为PD-L1和B7.1均在T细胞、B细胞、DC和巨噬细胞上表达,所以这些细胞类型上的B7.1和PD-L1之间的定向相互作用是有可能的。另外,非造血细胞上的PD-L1可能与B7.1以及T细胞上的PD-1相互作用,这提出了PD-L1是否参与它们的调节的问题。关于B7.1:PD-L1相互作用的抑制性作用的一种可能的解释是T细胞PD-L1可能诱捕或隔离APC B7.1,不得与CD28相互作用。

[0169] 结果是,拮抗经由PD-L1的信号传导(包括阻断PD-L1与PD-1、B7.1任一或二者相互作用,由此阻止PD-L1将负共刺激信号发送至T细胞和其它抗原呈递细胞)很可能增强响应感染(例如急性和慢性)的免疫和肿瘤免疫。另外,本发明的抗PD-L1抗体可以与PD-1:PD-L1信号传导的其它成分的拮抗剂(例如拮抗性抗PD-1和抗PD-L2抗体)组合。

[0170] 术语“人PD-L1”指人蛋白质PD-L1(SEQ ID NO:88,PD-1信号传导,通常)。如本文中使用的,“结合人PD-L1”或“特异性结合人PD-L1”或“抗PD-L1抗体”指抗体以 $K_D$ 值 $1.0 \times 10^{-8}$  mol/l或更低(在一个实施方案中,以 $K_D$ 值 $1.0 \times 10^{-9}$  mol/l或更低)的结合亲和力特异性结合人PD-L1抗原。结合亲和力用标准结合测定法测定,诸如表面等离子共振技术(BIAcore®,GE-Healthcare,Uppsala,Sweden)。如此,如本文中使用的,“结合人PD-L1的抗体”指以 $K_D$   $1.0 \times 10^{-8}$  mol/l或更低(在一个实施方案中, $1.0 \times 10^{-8}$  mol/l- $1.0 \times 10^{-13}$  mol/l),在一个实施方案中,以 $K_D$   $1.0 \times 10^{-9}$  mol/l或更低(在一个实施方案中, $1.0 \times 10^{-9}$  mol/l- $1.0 \times 10^{-13}$  mol/l)的结合亲和力特异性结合人PD-L1抗原的抗体。

[0171] 在一个实施方案中,本文所述组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体选自下组:hMab 2F11-c11,hMab 2F11-d8,hMab 2F11-e7,hMab 2F11-f12,和hMab 2F11-g1。

[0172] 这些抗体记载于WO 2011/070024且特征在于包含下述本文所述VH和VL序列:

[0173] 表1

抗 CSF-1R 抗体	重链可变域VH 的氨基酸序列, SEQ ID NO:	轻链可变域VL 的氨基酸序列, SEQ ID NO:
[0174] hMab 2F11-c11	23	24
hMab 2F11-d8	31	32
hMab 2F11-e7	39	40
hMab 2F11-f12	47	48
hMab 2F11-g1	55	56

[0175] 在一个实施方案中,本文所述组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体选自下组: 243.55.S70, 243.55.H1, 243.55.H12, 243.55.H37, 243.55.H70, 243.55.H89, 243.55.S1, 243.55.5, 243.55.8, 243.55.30, 243.55.34, 243.55.S37, 243.55.49, 243.55.51, 243.55.62, 和243.55.84。

[0176] 这些抗体记载于W0 2010/77634 (序列显示于W0 2010/77634的图11) 且特征在于包含下述本文所述VH和VL序列:

[0177] 表2

抗PD-L1抗体	重链可变域VH 的氨基酸序列, SEQ ID NO:	轻链可变域VL 的氨基酸序列, SEQ ID NO:
[0178] 243.55.S70	89	92
243.55.H1	90	93
243.55.H12	90	94
243.55.H37	90	95
243.55.H70	90	96
243.55.H89	90	97
243.55.S1	90	98
[0179] 243.55.5	90	99
243.55.8	90	100
243.55.30	90	101
243.55.34	90	102
243.55.S37	90	103
243.55.49	90	104
243.55.51	90	105
243.55.62	90	106
243.55.84	91	107

[0180] 在本发明的一个实施方案中,本文所述组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特

征在于包含

- [0181] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或
- [0182] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或
- [0183] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或
- [0184] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或
- [0185] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中

使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

- [0186] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或
- [0187] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或
- [0188] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或
- [0189] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或
- [0190] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或
- [0191] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或
- [0192] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或
- [0193] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- [0194] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- [0195] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- [0196] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- [0197] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- [0198] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- [0199] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- [0200] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或
- [0201] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。

[0202] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL。

[0203] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL。

[0204] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL。

[0205] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL。

[0206] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL。

[0207] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL。

[0208] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL。

[0209] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL。

[0210] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL。

[0211] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL。

[0212] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL。

[0213] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL。

[0214] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL。

[0215] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL。

[0216] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL。

[0217] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL。

[0218] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL。

[0219] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL。

[0220] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL。

[0221] 在一个实施方案中,组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。

[0222] 在本发明的一个优选实施方案中,本文所述组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL。

[0223] 术语“表位”表示人CSF-1R或PD-L1中能够特异性结合抗体的蛋白质决定簇。表位通常由分子诸如氨基酸或糖侧链的化学活性表面聚组组成,而且表位通常具有特定的三维结构特征,以及特定的电荷特征。构象性和非构象性表位的区别在于对前者而非后者的结合在变性溶剂存在下丧失。

[0224] 如本文中使用的,“可变域”(轻链可变域( $V_L$ ),重链可变域( $V_H$ ))表示轻和重链域对中的每一个,它们直接涉及抗体对抗原的结合。可变轻和重链域具有相同的整体结构,而且每个域包含四个框架(FR)区,它们的序列是广泛保守的,由三个“高变区”(或互补决定区,CDR)连接。框架区采取 $\beta$ -片层构象,而且CDR可以形成连接 $\beta$ -片层结构的环。每条链中的CDR通过框架区保持其三维结构,并且与来自另一条链的CDR一起形成抗原结合位点。抗体的重和轻链CDR3区在依照本发明的抗体的结合特异性/亲和力中发挥特别重要的作用,而且因此提供本发明的又一个目的。

[0225] 术语“抗体的抗原结合部分”在本文中使用时指抗体中负责抗原结合的氨基酸残基。抗体的抗原结合部分包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基。“框架”或“FR”区是可变域中那些与本文中定义的高变区残基不同的区。因此,抗体的轻和重链可变域自N至C端包含域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、和FR4。尤其地,重链的CDR3是对抗原结合贡献最大且限定抗体特性的区。CDR和FR区依照Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) 的标准定义和/或那些来自“高变环”的残基来确定。

[0226] 如本文中使用的,术语“核酸”或“核酸分子”意图包括DNA分子和RNA分子。核酸分子可以是单链的或双链的,但是优选是双链DNA。

[0227] 如本本申请内使用的,术语“氨基酸”表示天然存在的羧基 $\alpha$ -氨基酸组,包括丙氨酸(三字母代码:ala,单字母代码:A)、精氨酸(arg,R)、天冬酰胺(asn,N)、天冬氨酸(asp,D)、半胱氨酸(cys,C)、谷氨酰胺(gln,Q)、谷氨酸(glu,E)、甘氨酸(gly,G)、组氨酸(his,H)、异亮氨酸(ile,I)、亮氨酸(leu,L)、赖氨酸(lys,K)、甲硫氨酸(met,M)、苯丙氨酸(phe,F)、脯氨酸(pro,P)、丝氨酸(ser,S)、苏氨酸(thr,T)、色氨酸(trp,W)、酪氨酸(tyr,Y)、和缬氨酸(val,V)。

[0228] 抗体的“Fc部分”不直接涉及抗体对抗原的结合,但是展现出多种效应器功能。“抗体的Fc部分”是熟练技术人员公知的术语,而且基于木瓜蛋白酶对抗体的切割定义。根据其重链恒定区的氨基酸序列,抗体或免疫球蛋白分成类:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,并且这些中的数种可以进一步分成亚类(同种型),例如IgG1、IgG2、IgG3、和IgG4、IgA1、和IgA2。依照重链恒定区,不同类的免疫球蛋白分别称作 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 、和 $\mu$ 。抗体的Fc部分直接涉及基于补体激活、C1q结合和Fc受体结合的ADCC(抗体依赖性细胞介导的细胞毒性)和CDC(补体依赖性细胞毒性)。补体激活(CDC)是通过补体因子C1q结合大多数IgG抗体亚类的Fc部分启动的。虽然抗体对补体系统的影响依赖于某些条件,但是对C1q的结合是由Fc部分中的限定结合位点引起的。此类结合位点是本领域现有技术中已知的,而且记载于例如Boackle, R. J. 等人, *Nature* 282 (1979) 742-743; Lukas, T. J. 等人, *J. Immunol.* 127 (1981) 2555-2560; Brunhouse, R. 和 Cebra, J. J., *Mol. Immunol.* 16 (1979) 907-917; Burton, D. R. 等人, *Nature* 288 (1980) 338-344; Thommesen, J. E. 等人, *Mol. Immunol.* 37 (2000) 995-1004; Idusogie, E. E. 等人, *J. Immunol.* 164 (2000) 4178-4184; Hezareh, M. 等人, *J. Virology* 75 (2001) 12161-12168; Morgan, A. 等人, *Immunology* 86 (1995) 319-324; EP 0307434。此类结合位点是例如L234、L235、D270、N297、E318、K320、K322、P331和P329(依照Kabat, E. A. 的EU索引的编号方式,参见下文)。亚类IgG1、IgG2和IgG3的抗体通常显示补体激活及C1q和C3结合,而IgG4不激活补体系统,而且不结合C1q和C3。

[0229] 在一个实施方案中,依照本发明的抗体包含自人起源衍生的Fc部分和优选地,人恒定区的所有其它部分。如本文中使用的,术语“自人起源衍生的Fc部分”表示如下的Fc部分,其是属于亚类IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的人抗体的Fc部分,优选来自人IgG1亚类的Fc部分、来自人IgG1亚类的突变型Fc部分(在一个实施方案中具有L234A +L235A上的突变)、来自人IgG4亚类的Fc部分或来自人IgG4亚类的突变型Fc部分(在一个实施方案中具有S228P上的突变)。在一个优选实施方案中,人重链恒定区是SEQ ID NO:58(人IgG1亚类),在另一个优选实施方案中,人重链恒定区是SEQ ID NO:59(具有突变L234A和L235A的人IgG1亚

类),在另一个优选实施方案中,人重链恒定区是SEQ ID NO:60(人IgG4亚类),而在另一个优选实施方案中,人重链恒定区是SEQ ID NO:61(具有突变S228P的人IgG4亚类)。在一个实施方案中,所述抗体具有降低的或最小限度的效应器功能。在一个实施方案中,所述最小限度的效应器功能源自效应器降低性Fc突变。在一个实施方案中,所述效应器降低性Fc突变为L234A/L235A或L234A/L235A/P329G或N297A或D265A/N297A。在一个实施方案中,为每种抗体选择的所述效应器降低性Fc突变彼此独立地选自包含L234A/L235A、L234A/L235A/P329G、N297A和D265A/N297A的组(由L234A/L235A、L234A/L235A/P329G、N297A和D265A/N297A组成的组)。

[0230] 在一个实施方案中,本文所述抗体属于人IgG类(即属于IgG1亚类、IgG2亚类、IgG3亚类或IgG4亚类)。

[0231] 在一个优选实施方案中,本文所述抗体属于人IgG1亚类或人IgG4亚类。在一个实施方案中,本文所述抗体属于人IgG1亚类。在一个实施方案中,本文所述抗体属于人IgG4亚类。

[0232] 在一个实施方案中,本文所述抗体特征在于恒定链是人起源的。此类恒定链是本领域现有技术公知的,而且记载于例如Kabat,E.A.,(参见例如Johnson,G.和Wu,T.T.,*Nucleic Acids Res.*28(2000)214-218)。例如,一种有用的人重链恒定区包含氨基酸序列SEQ ID NO:58。例如,一种有用的人轻链恒定区包含κ轻链恒定区氨基酸序列SEQ ID NO:57。

[0233] 本发明包含用于治疗需要治疗的患者的方法,特征在于对该患者施用治疗有效量的依照本发明的抗体。

[0234] 本发明包含依照本发明的抗体用于所述治疗的用途。

[0235] 本发明的一个优选实施方案是本发明的CSF-1R抗体,其用于治疗“CSF-1R介导的疾病”,或本发明的CSF-1R抗体,其用于制备治疗“CSF-1R介导的疾病”的药物,可以如下描述:

[0236] CSF-1R信号传导有可能通过3种独特机制涉及肿瘤生长和转移。第一种是在源自雌性生殖系统(乳房/乳腺、卵巢、子宫内膜、宫颈)的肿瘤细胞中找到CSF配体和受体的表达(Scholl,S.M.等人,*J.Natl.Cancer Inst.*86(1994)120-126;Kacinski,B.M.,*Mol.Reprod.Dev.*46(1997)71-74;Ngan,H.Y.等人,*Eur.J.Cancer*35(1999)1546-1550;Kirma,N.等人,*Cancer Res*67(2007)1918-1926),而且该表达与乳腺癌异种移植物生长以及乳腺癌患者中的较差预后有关。在一项研究中测试的急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病和脊髓发育不良患者的约10-20%中看到CSF-1R中的两处点突变,而且发现突变之一破坏受体周转(Ridge,S.A.等人,*Proc.Natl.Acad.Sci USA*87(1990)1377-1380)。然而,没能在稍后的研究中确认突变的发生率(Abu-Duhier,F.M.等人,*Br.J.Haematol.*120(2003)464-470)。还在一些肝细胞癌(Yang,D.H.等人,*Hepatobiliary Pancreat.Dis.Int.*3(2004)86-89)和特发性骨髓纤维变性(Abu-Duhier,F.M.等人,*Br.J.Haematol.*120(2003)464-470)病例中发现突变。最近,在骨髓单核母细胞性白血病患者衍生的GDM-1细胞系中鉴定出CSF-1R中的Y571D突变(Chase,A.等人,*Leukemia*23(2009)358-364)。

[0237] 色素沉着绒毛结节性滑膜炎(PVNS)和腱鞘巨细胞瘤(TGCT)可以因使M-CSF基因与

胶原基因COL6A3融合并导致M-CSF过表达的易位而发生(West, R. B. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103(2006)690-695)。有人提出景观效应(landscape effect)负责由受表达M-CSF的细胞吸引的单核细胞组成的所致肿瘤块。TGCT是较小的肿瘤,能相对容易地自指(主要发生处)切除。PVNS更具攻击性,因为它能在大关节中重现,而且不易通过手术来控制。

[0238] 第二种机制基于阻断骨中的转移位点处经由M-CSF/CSF-1R的信号传导,其诱导破骨细胞发生、骨再吸收和溶骨性骨损害。乳腺癌、多发性骨髓瘤和肺癌是已经发现转移至骨并引起溶骨性骨病导致骨骼并发症的癌症的例子。由肿瘤细胞和基质释放的M-CSF与受体活化剂核因子 $\kappa$ -B配体-RANKL合作诱导造血髓样单核细胞祖先分化成成熟破骨细胞。在此过程中,M-CSF通过给予破骨细胞以存活信号来起许可因子的作用(Tanaka, S. 等人, J. Clin. Invest. 91(1993)257-263)。在破骨细胞分化和成熟期间用抗CSF-1R抗体抑制CSF-1R活性有可能预防转移性疾病中引起溶骨性疾病及有关骨骼相关事件的破骨细胞活性失衡。虽然乳腺癌、肺癌和多发性骨髓瘤通常导致溶骨性损害,但是在前列腺癌中,转移至骨最初具有成骨细胞性外观,其中升高的骨形成活性产生与正常骨的典型层状结构不同的“编织骨”。在疾病进展期间,骨损害展示显著的溶骨成分以及高血清水平的骨再吸收,而且提示抗再吸收疗法可能是有用的。二膦酸盐已经显示出抑制溶骨性损害形成及减少骨骼相关事件数目(只在具有激素不应性转移性前列腺癌的男性中),但是在这点上,它们对成骨细胞损害的效果是有争议的,而且二膦酸盐至今未显示在预防骨转移或激素响应性前列腺癌中是有益的。抗再吸收剂在混合型溶骨/成骨细胞前列腺癌中的效果仍在进行临床研究(Choueiri, M. B. 等人, Cancer Metastasis Rev. 25(2006)601-609; Vessella, R. L. 和 Corey, E., Clin. Cancer Res. 12(20Pt 2)(2006)6285s-6290s)。

[0239] 第三种机制基于最近在乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌和宫颈癌的实体瘤中找到的肿瘤相关巨噬细胞(TAM)与较差的预后有关联的观察结果(Bingle, L. 等人, J. Pathol. 196(2002)254-265; Pollard, J. W., Nat. Rev. Cancer 4(2004)71-78)。巨噬细胞被M-CSF和其它趋化因子募集至肿瘤。然后巨噬细胞可经由分泌血管发生性因子、蛋白酶和其它生长因子和细胞因子来促进肿瘤进展,而且可通过抑制CSF-1R信号传导来阻断。最近,Zins等人(Zins, K. 等人, Cancer Res. 67(2007)1038-1045)显示了肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF $\alpha$ )、M-CSF或二者组合的siRNA的表达会在小鼠异种移植模型中在肿瘤内注射相应siRNA后将肿瘤生长降低34%到50%。由人SW620细胞分泌的靶向TNF $\alpha$ 的siRNA降低小鼠M-CSF水平并导致肿瘤中的巨噬细胞减少。另外,用针对M-CSF的抗原结合片段处理MCF7肿瘤异种移植在与化疗剂组合给予时确实导致40%肿瘤生长抑制,逆转对化疗剂的抗性及改善小鼠存活(Paulus, P. 等人, Cancer Res. 66(2006)4349-4356)。

[0240] TAM是慢性炎症和癌症之间出现的联系的唯一例子。炎症和癌症之间的联系有别的证据,如许多慢性病与升高的癌症风险有关,在慢性炎症位点处发生癌症,在许多癌症中发现炎症的化学介导体;消除炎症的细胞或化学介导体则抑制实验性癌症的发生,而且长期使用抗炎剂降低一些癌症的风险。许多炎性状况存在与癌症的联系,其中有幽门螺旋杆菌(*H. pylori*)诱导的胃炎对于胃癌,血吸虫病对于膀胱癌,HHVX对于卡波西(Kaposi)氏肉瘤,子宫内膜异位对于卵巢癌和前列腺炎对于前列腺癌(Balkwill, F. 等人, Cancer Cell 7(2005)211-217)。巨噬细胞是慢性炎症中的关键细胞且有差异地响应其微环境。有两类巨

噬细胞被认为是连续的功能状态的极端:M1巨噬细胞涉及1型反应。这些反应涉及微生物产物引起的激活及因此对致病性微生物的杀伤,产生反应氧中介物。另一个极端是M2巨噬细胞,其涉及2型反应,促进细胞增殖,调节炎症和适应性免疫及促进组织重塑、血管发生和修复(Mantovani,A.等人,Trends Immunol.25(2004)677-686)。导致瘤形成建立的慢性炎症通常与M2巨噬细胞有关。介导炎症反应的一种关键细胞因子是TNF $\alpha$ ,顾名思义能在高剂量刺激抗肿瘤免疫和出血性坏死,但最近还发现由肿瘤细胞表达且起肿瘤促进物的作用(Zins,K.等人,Cancer Res.67(2007)1038-1045;Balkwill,F.,Cancer Metastasis Rev.25(2006)409-416)。仍然需要更好地了解巨噬细胞关于肿瘤的具体作用,包括对其功能的潜在空间和时间依赖性及与特定肿瘤类型的关联。

[0241] 如此,本发明的一个实施方案是本文所述CSF-1R抗体,与本文所述抗PD-L1抗体组合,用于治疗癌症。如本文中使用的,术语“癌症”可以是例如肺癌、非小细胞肺(NSCL)癌、支气管肺泡细胞肺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门区癌、胃癌、胃的癌症、结肠癌、乳腺癌、子宫的癌症、输卵管癌、子宫内膜癌、宫颈癌、阴道癌、阴门癌、何杰金(Hodgkin)氏病、食管癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、前列腺癌、膀胱癌、肾或输尿管癌、肾细胞癌、肾盂癌、间皮瘤、肝细胞癌、胆囊癌、中枢神经系统(CNS)新生物、脊柱轴肿瘤、脑干胶质瘤、多形性成胶质细胞瘤、星形细胞瘤、施旺细胞瘤、室管膜瘤、髓母细胞瘤、脑脊膜瘤、鳞状细胞癌、垂体腺瘤、淋巴瘤、淋巴细胞性白血病,包括任何上述癌症的顽固形式,或一种或多种上述癌症的组合。在一个优选的实施方案中,此类癌症是乳腺癌、结肠直肠癌、黑素瘤、头和颈癌、肺癌或前列腺癌。在一个优选的实施方案中,此类癌症是乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、肺癌或前列腺癌。在一个优选的实施方案中,此类癌症是乳腺癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌、黑素瘤、膀胱癌、肾癌(renal cancer)、肾癌(kidney cancer)、肝癌、头和颈癌、结肠直肠癌、胰腺癌、胃癌、食道癌、间皮瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤。在一个优选的实施方案中,此类癌症进一步特征在于CSF-1或CSF-1R表达或过表达。本发明的又一个实施方案是本发明的CSF-1R抗体,用于同时治疗原发性肿瘤和新转移。如此,本发明的另一个实施方案是本发明的CSF-1R抗体,用于治疗牙周炎、组织细胞增多病X、骨质疏松症、佩吉特(Paget)氏骨病(PDB)、癌症治疗所致骨丢失、假体周围骨质溶解、糖皮质激素诱导的骨质疏松、类风湿性关节炎、银屑病关节炎、骨关节炎、炎性关节病(inflammatory arthritides)、和炎症。

[0242] Rabello,D.等人,Biochem.Biophys.Res.Commun.347(2006)791-796证明了CSF1基因中的SNP展现与攻击性牙周炎(由于牙槽骨的再吸收引起牙丧失的一种牙周组织炎性疾病)的正关联。

[0243] 组织细胞增多病X(也称作朗格汉斯氏细胞组织细胞增多病,LCH)是朗格汉斯树突细胞(其表现出在骨和额外的骨LCH损伤中分化成破骨细胞)的一种增殖性疾病。朗格汉斯细胞衍生自循环中的单核细胞。发现在血清和损伤中测量到的升高的M-CSF水平与疾病严重性有关联(da Costa,C.E.等人,J.Exp.Med.201(2005)687-693)。该疾病主要发生于儿科患者群,而且在该疾病变成系统性或复发时不得不用化疗来治疗。

[0244] 骨质疏松的病理生理学是由形成骨的成骨细胞损失和破骨细胞依赖性骨再吸收升高介导的。支持性数据记载于Cenci等人,显示了抗M-CSF抗体注射在切除了卵巢的小鼠

中保持骨密度且抑制骨再吸收 (Cenci, S. 等人, *J. Clin. Invest.* 105 (2000) 1279-1287)。最近, 鉴定出雌激素缺乏所致绝经后骨丢失之间的一种潜在联系, 而且发现生成TNF $\alpha$ 的T细胞的存在影响骨代谢 (Roggia, C. 等人, *Minerva Med.* 95 (2004) 125-132)。一种可能的机制是在体内TNF $\alpha$ 对M-CSF的诱导。M-CSF在TNF- $\alpha$ 诱导的破骨细胞发生中的重要作用得到了下述效果的证实, 即针对M-CSF的抗体在小鼠中阻断TNF $\alpha$ 诱导的骨质溶解, 由此使得CSF-1R信号传导的抑制剂成为炎性关节炎的潜在靶物 (Kitaura, H. 等人, *J. Clin. Invest.* 115 (2005) 3418-3427)。

[0245] 佩吉特氏骨病 (PDB) 是骨质疏松之后第二位最常见的骨代谢病症, 其中骨周转升高的灶性异常导致并发症诸如骨痛、畸形、病理性骨折和耳聋。已经鉴定了四种基因中的突变调节正常破骨细胞功能且使个体易患PDB及相关病症: 编码核因子 (NF)  $\kappa$ B的受体激活物 (RANK) - (破骨细胞功能的关键调节物) 的TNFRSF11A中的插入突变, 编码骨保护素 (RANK配体的的诱饵受体) 的TNFRSF11B的失活突变, 编码NF $\kappa$ B途径中的一种重要支架蛋白的隔离体 (sequestosome) 1基因 (SQSTM1) 的突变, 和含缬酪肽蛋白 (VCP) 基因中的突变。此基因编码VCP, 其在使NF $\kappa$ B抑制剂靶向蛋白酶体所致降解中具有作用 (Daroszewska, A. 和Ralston, S.H., *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 2 (2006) 270-277)。靶向CSF-1R抑制剂提供机会来间接阻断RANKL信号传导的失调及对当前使用的二膦酸盐添加另外的治疗选项。

[0246] 癌症治疗诱导的骨丢失 (尤其是在乳腺癌和前列腺癌患者中) 是靶向CSF-1R抑制剂能预防骨丢失的另一种适应证 (Lester, J.E. 等人, *Br. J. Cancer* 94 (2006) 30-35)。随着早期乳腺癌的预后改善, 辅助疗法的长期后果变得更加重要, 因为一些疗法 (包括化疗、照射、芳香酶抑制剂和卵巢切除) 通过降低骨矿物质密度而影响骨代谢, 导致骨质疏松及相关骨折风险升高 (Lester, J.E. 等人, *Br. J. Cancer* 94 (2006) 30-35)。与乳腺癌中的辅助芳香酶抑制剂疗法等同的是前列腺癌中的雄激素消融疗法, 其导致骨矿物质密度损失和骨质疏松相关骨折风险显著升高 (Stoch, S.A. 等人, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86 (2001) 2787-2791)。

[0247] CSF-1R信号传导的靶向抑制在其它适应证中以及在靶定细胞类型包括破骨细胞和巨噬细胞 (例如治疗响应类风湿性关节炎所致关节置换术的特定并发症) 时可能是有益的。假体周骨丢失及因此假体松动所致植入失败是关节置换术的一种主要并发症, 而且需要反复手术, 给患者个人和保健系统带来较高的社会经济负担。至今, 没有批准的药物治疗来预防或抑制假体周骨质溶解 (Drees, P. 等人, *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 3 (2007) 165-171)。

[0248] 糖皮质激素诱导的骨质疏松 (GIOP) 是另一种适应证, 其中CSF-1R抑制剂能预防因各种状况 (例如慢性阻塞性肺病、哮喘和类风湿性关节炎) 而给予长期使用糖皮质类固醇后的骨丢失 (Guzman-Clark, J.R. 等人, *Arthritis Rheum.* 57 (2007) 140-146; Feldstein, A.C. 等人, *Osteoporos. Int.* 16 (2005) 2168-2174)。

[0249] 类风湿性关节炎、银屑病关节炎和炎性关节病本身是CSF-1R信号传导抑制剂的潜在适应证, 原因在于它们由巨噬细胞成分组成及不同程度的骨破坏 (Ritchlin, C.T. 等人, *J. Clin. Invest.* 111 (2003) 821-831)。骨关节炎和类风湿性关节炎是由巨噬细胞在结缔组织中积累和巨噬细胞浸润入滑液 (这至少部分是由M-CSF介导的) 引起的炎性自身免疫病。Campbell, I.K. 等人, *J. Leukoc. Biol.* 68 (2000) 144-150证明了M-CSF在体外由人关节组织

细胞(软骨细胞、滑液成纤维细胞)生成,而且发现于类风湿性关节炎患者的滑液,提示它有助于滑膜组织增殖和巨噬细胞浸润,这与该疾病的发病机制有关。抑制CSF-1R信号传导有可能控制关节中的巨噬细胞数目及减轻来自有关骨破坏的疼痛。为了使不利影响最小化及进一步了解CSF-1R信号传导在这些适应证中的影响,一种方法是特异性抑制CSF-1R,而不靶向无数的其它激酶,诸如Raf激酶。

[0250] 最近的文献报告将升高的循环M-CSF与慢性冠状动脉病中的动脉粥样硬化进展和较差的预后关联起来(Saitoh, T. 等人, *J. Am. Coll. Cardiol.* 35 (2000) 655-665; Ikonomidis, I. 等人, *Eur. Heart. J.* 26 (2005) p.1618-1624); M-CSF通过帮助形成表达CSF-1R且代表初始斑的泡沫细胞(摄入了氧化型LDL的巨噬细胞)来影响动脉粥样硬化过程(Murayama, T. 等人, *Circulation* 99 (1999) 1740-1746)。

[0251] 在激活的小胶质中发现M-CSF和CSF-1R的表达和信号传导。小胶质(即中枢神经系统的驻留巨噬细胞)可被多种损伤激活,包括感染和外伤。M-CSF被认为是脑中炎症应答的一种关键调节物,而且M-CSF水平在HIV-1、脑炎、阿尔茨海默氏病(AD)和脑瘤中升高。小胶质增生(microgliosis)(作为通过M-CSF/CSF-1R的自分泌信号传导的后果)导致对炎性细胞因子和氮氧化物释放的诱导,如通过例如使用实验性神经元损害模型证明的(Hao, A. J. 等人, *Neuroscience* 112 (2002) 889-900; Murphy, G. M., Jr. 等人, *J. Biol. Chem.* 273 (1998) 20967-20971)。发现CSF-1R表达升高的小胶质在AD中及在AD的淀粉样前体蛋白V717F转基因小鼠模型中包围斑(Murphy, G. M., Jr. 等人, *Am. J. Pathol.* 157 (2000) 895-904)。另一方面脑中小胶质较少的op/op小鼠导致与正常对照相比A- $\beta$ 的小纤维沉积和神经元损失,提示小胶质确实在op/op小鼠中的AD缺失的发生中具有神经保护功能(Kaku, M. 等人, *Brain Res. Brain Res. Protoc.* 12 (2003) 104-108)。

[0252] M-CSF和CSF-1R的表达和信号传导与炎性肠病(IBD)有关(WO2005/046657)。术语“炎性肠病”指严重的、慢性的肠道病症,特征在于胃肠道中多个位点处的慢性炎症,而且具体包括溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩(Crohn)氏病。

[0253] 如此,本发明的另一个实施方案是特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段的CSF-1R抗体,与特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段的抗PD-L1抗体组合,用于治疗牙周炎、组织细胞增多病X、骨质疏松、Paget氏骨病(PDB)、癌症疗法所致骨丢失、假体周围骨质溶解、糖皮质激素诱发的骨质疏松、类风湿性关节炎、银屑病关节炎、骨关节炎、炎性关节病、和炎症。

[0254] 本发明包含结合人CSF-1R的抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)与抗PD-L1抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)的组合疗法,用于治疗癌症。

[0255] 本发明包含结合人CSF-1R的抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)与抗PD-L1抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)的组合疗法,用于治疗骨丢失。

[0256] 本发明包含结合人CSF-1R的抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)与抗PD-L1抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)的组合疗法,用于预防或治疗转移。

[0257] 本发明包含结合人CSF-1R的抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列

片段)与抗PD-L1抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)的组合疗法,用于治疗炎性疾病。

[0258] 本发明包含结合人CSF-1R的抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)与抗PD-L1抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)的组合疗法,治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展。

[0259] 本发明包含结合人CSF-1R的抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)与抗PD-L1抗体(其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)的组合疗法,用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性。

[0260] 本发明包含抗体(特征在于包含结合人CSF-1R的抗体,其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)用于与本文所述抗PD-L1抗体组合治疗癌症或用于制备与本文所述抗PD-L1抗体组合治疗癌症的药物的用途。

[0261] 本发明包含抗体(特征在于包含结合人CSF-1R的抗体,其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)用于与本文所述抗PD-L1抗体组合治疗骨丢失或用于制备与本文所述抗PD-L1抗体组合治疗骨丢失的药物的用途。

[0262] 本发明包含抗体(特征在于包含结合人CSF-1R的抗体,其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)用于与本文所述抗PD-L1抗体组合预防或治疗转移或用于制备与本文所述抗PD-L1抗体组合预防或治疗转移的药物的用途。

[0263] 本发明包含抗体(特征在于包含结合人CSF-1R的抗体,其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)用于与本文所述抗PD-L1抗体组合治疗炎性疾病或用于制备与本文所述抗PD-L1抗体组合治疗炎性疾病的药物的用途。

[0264] 本发明包含抗体(特征在于包含结合人CSF-1R的抗体,其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)用于与本文所述抗PD-L1抗体组合治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展或用于制备与本文所述抗PD-L1抗体组合治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展的药物的用途。

[0265] 本发明包含抗体(特征在于包含结合人CSF-1R的抗体,其特征在于上文所述氨基酸序列和氨基酸序列片段)用于与本文所述抗PD-L1抗体组合刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性或用于制备与本文所述抗PD-L1抗体组合刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性的药物的用途。

[0266] 在本发明的一个优选实施方案中,上文所述不同疾病中的组合治疗和医药用途中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,且此类组合治疗中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL。

[0267] 优选通过重组手段来生产本文所述抗体。此类方法是现有技术广泛知道的,而且包括原核和真核细胞中的蛋白质表达,随后分离抗体多肽且通常纯化至药学可接受纯度。为了蛋白质表达,通过标准方法将编码轻和重链或其片段的核酸插入表达载体中。在适宜的原核或真核宿主细胞中实施表达,诸如CHO细胞、NS0细胞、SP2/0细胞、HEK293细胞、COS细胞、酵母、或大肠杆菌细胞,并自细胞(自上清液或在细胞裂解后)回收抗体。

[0268] 抗体的重组生产是现有技术公知的,而且记载于例如综述性论文Makrides,S.C., Protein Expr.Purif.17(1999)183-202;Geisse,S.等人,Protein Expr.Purif.8(1996)

271-282; Kaufman, R. J., *Mol. Biotechnol.* 16 (2000) 151-161; Werner, R. G., *Drug Res.* 48 (1998) 870-880。

[0269] 抗体可以存在于完整细胞中、细胞裂解物中、或部分纯化的或实质性纯的形式。通过标准技术实施纯化以消除其它细胞成分或其它污染物,例如其它细胞核酸或蛋白质,标准技术包括碱/SDS处理、CsCl成带、柱层析、琼脂糖凝胶电泳、和本领域公知的其它技术。参见Ausubel, F.等人编, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)。

[0270] NS0细胞中的表达记载于例如Barnes, L. M.等人, *Cytotechnology* 32 (2000) 109-123; Barnes, L. M.等人, *Biotech. Bioeng.* 73 (2001) 261-270。瞬时表达记载于例如Durocher, Y.等人, *Nucl. Acids. Res.* 30 (2002) E9。可变域的克隆记载于Orlandi, R.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 (1989) 3833-3837; Carter, P.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992) 4285-4289; Norderhaug, L.等人, *J. Immunol. Methods* 204 (1997) 77-87。一种优选的瞬时表达系统 (HEK 293) 记载于Schlaeger, E. - J.和Christensen, K., *Cytotechnology* 30 (1999) 71-83, 及Schlaeger, E. - J., *J. Immunol. Methods* 194 (1996) 191-199。

[0271] 将依照本发明的重和轻链可变域与启动子、翻译起始、恒定区、3'非翻译区、聚腺苷酸化、和翻译终止的序列组合以形成表达载体构建物。可以将重和轻链表达构建物组合入单一载体中,共转染,序贯转染,或分开转染入宿主细胞中,然后融合以形成表达双链的单一宿主细胞。

[0272] 适合于原核生物的控制序列包括例如启动子、任选的操纵基因序列、和核糖体结合位点。已知真核细胞利用启动子、增强子和聚腺苷酸化信号。

[0273] 在将核酸放置在与另一种核酸序列的功能性关系中时,它是“可操作连接的”。例如,若前序列或分泌前导的DNA以参与多肽分泌的前蛋白表达,则它与多肽的DNA可操作连接;若启动子或增强子影响序列的转录,则它与编码序列可操作连接;或者若核糖体结合位点定位为使得便于翻译,则它与编码序列可操作连接。一般而言,“可操作连接的”意指所连接的DNA序列是连续的,而且在分泌前导的情况中,是连续的且在读码框中。然而,增强子不必是连续的。通过在方便的限制性位点处的连接来实现连接。若不存在此类位点,则依照常规的实践使用合成的寡核苷酸接头或接头。

[0274] 通过常规免疫球蛋白纯化规程,诸如例如蛋白A-Sepharose、羟磷灰石层析、凝胶电泳、透析、或亲和层析,恰当地将单克隆抗体与培养液分开。使用常规规程,容易分离编码单克隆抗体的DNA和RNA及测序。杂交瘤细胞可充当此类DNA和RNA的来源。一旦分离,可以将该DNA插入表达载体中,然后将该表达载体转染入不另外生成免疫球蛋白蛋白质的宿主细胞(诸如HEK 293细胞、CHO细胞、或骨髓瘤细胞)中,以获得该宿主细胞中重组单克隆抗体的合成。

[0275] 如本文中使用的,表述“细胞”、“细胞系”、和“细胞培养物”可互换使用,而且所有此类名称包括后代。如此,词语“转化子”和“经转化细胞”包括原代受试细胞及自其衍生的培养物,不管转移的次数。还理解,由于有意的或无意的突变,所有后代的DNA内容可以不是精确相同的。包括具有在初始转化细胞所筛选的相同功能或生物学活性的变异后代。

[0276] 在另一个方面,本发明提供含有一种或一组本发明的单克隆抗体或其抗原结合部分,与药学可接受载体一起配制的组合物,例如药物组合物。

[0277] 如本文中使用的,“药学可接受载体”包括任何和所有生理学相容的溶剂、分散介质、涂层、抗菌和抗真菌剂、等张和吸收/再吸收延迟剂、等等。优选地,载体适合于注射或输注。

[0278] 可以通过本领域已知的多种方法来施用本发明的组合物。正如技术人员会领会的,施用的路径和/或模式会随期望的结果而变化。

[0279] 药学可接受载体包括无菌水溶液或分散体和用于制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。此类介质和药剂对药学活性物质的使用是本领域已知的。在水之外,载体可以是例如等张缓冲盐水溶液。

[0280] 不管选择的施用路径,通过本领域技术人员知道的常规方法将可以以合适水合形式使用的本发明的化合物和/或本发明的药物组合物配制成药学可接受剂量形式。

[0281] 本发明的药物组合物中活性组分的实际剂量水平可以变化以获得对特定患者、组合物、和施用模式有效实现期望治疗响应,对患者没有毒性的活性组分量(有效量)。选择的剂量水平会取决于多种药动学因素,包括采用的本发明特定组合物或其酯、盐或酰胺的活性、施用路径、施用时间、采用的特定化合物的排泄速率、与采用的特定组合物组合使用的其它药物、化合物和/或材料、治疗的患者的年龄、性别、重量、状况、一般健康和在先医学史、及医学领域公知的类似因素。

[0282] 术语“治疗方法”或其等同用语在应用于例如癌症时指设计为降低或消除患者中的癌细胞数目,或者减轻癌症症状的规程或作用过程。癌症或另一种增殖性病征的“治疗方法”不必意味着实际上会消除癌细胞或其它病症,实际上会降低细胞数目或病症,或实际上会减轻癌症或其它病症的症状。经常,甚至会实施具有较低的成功概率,但是然而鉴于医学史和估计的患者存活预期认为诱导总体有益的作用过程的治疗方法。

[0283] 术语“与……组合施用”、“共施用”、“组合法”或“组合治疗”指例如作为分开的配制剂/应用(或者作为一种单一配制剂/应用)施用本文所述抗CSF-1R和本文所述抗PD-L1抗体。共施用可以是同时的或者以任意次序序贯的,其中优选地,存在着所有活性剂同时施加其生物学活性的时段。同时或序贯(例如静脉内(i.v.)经由连续输注)共施用所述抗体和所述别的药剂。在序贯共施用这两种治疗剂时,在同一天在两次分开的施用中施用剂量,或者在第1天施用药剂之一,而在第2天至第7天,优选在第2天至第4天共施用第二种。如此,在一个实施方案中,术语“序贯地”意指在第一组分的剂量后7天内,优选在第一组分的剂量后4天内;而术语“同时地”意指同一时间。术语“共施用”就抗CSF-1R抗体和/或抗PD-L1抗体的维持剂量而言意指若治疗周期对于这两种药物都是合适的,例如每周,则可以同时共施用维持剂量。或者,例如,例如每第一至第三天施用别的药剂,而每周施用所述抗体。或者,在一天内或在几天内序贯共施用维持剂量。

[0284] 不证自明的是,以“治疗有效量”(或仅为“有效量”)对患者施用抗体,所述治疗有效量是相应化合物或组合会引发研究人员、兽医、医学医生或其它临床医生寻找的组织、系统、动物或人的生物学或医学应答的量。

[0285] 共施用量和共施用时机取决于所治疗患者的类型(物种、性别、年龄、重量、等)和状况和所治疗疾病或状况的严重性。可以一次或在一系列治疗里,例如在同一天或在次日对患者适当地共施用所述抗CSF-1R抗体和别的药剂。

[0286] 根据疾病的类型和严重性,约0.1mg/kg至50mg/kg(例如0.1-20mg/kg)所述抗CSF-

1R抗体和/或抗PD-L1抗体是将两种药物共施用于患者的初始候选剂量。本发明包括依照本发明的抗体用于治疗罹患癌症(尤其是结肠、肺或胰腺癌)的患者的用途。

[0287] 根据疾病的类型和严重性,约0.1mg/kg至50mg/kg(例如0.1-20mg/kg)所述抗CSF-1R抗体和/或抗PD-L1抗体是将两种药物共施用于患者的初始候选剂量。本发明包括依照本发明的抗体用于治疗罹患癌症(尤其是结肠、肺或前列腺癌)的患者的用途。

[0288] 在与抗PD-L1抗体组合的抗CSF-1R抗体以外,还可以施用化疗剂。

[0289] 在一个实施方案中,此类可以与本文所述抗CSF-1R抗体和本文所述抗PD-L1抗体一起施用的另外的化疗剂包括但不限于抗肿瘤剂,包括烷化剂,包括:氮芥,诸如二氯甲基二乙胺(mechlorethamine)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、异环磷酰胺(ifosfamide)、美法仑(melphalan)和苯丁酸氮芥(chlorambucil);亚硝基脲(nitrosourea),诸如卡莫司汀(carmustine)(BCNU)、洛莫司汀(lomustine)(CCNU)、和司莫司汀(semustine)(methyl-CCNU);Temodal™(替莫唑胺(temozolamide))、乙撑亚胺/甲基蜜胺诸如三乙撑蜜胺(TEM)、三乙烯硫代磷酰胺(塞替派(thiotepa))、六甲基蜜胺(HMM,六甲蜜胺(altretamine));烃基磺酸酯,诸如白消安(busulfan);三嗪,诸如达卡巴嗪(dacarbazine)(DTIC);抗代谢物,包括叶酸类似物,诸如甲氨喋呤(methotrexate)和三甲曲沙(trimetrexate),嘧啶类似物,诸如5-氟尿嘧啶(5FU)、氟脱氧尿苷、吉西他滨(gemcitabine)、胞嘧啶阿拉伯糖苷(AraC,阿糖胞苷(cytarabine))、5-氮胞苷、2,2'-二氟脱氧胞苷,嘌呤类似物,诸如6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、硫唑嘌呤(azathioprine)、T-脱氧柯福霉素(喷司他丁(pentostatin))、erythrohydroxynonyladenine(EHNA)、磷酸氟达拉滨(fludarabine phosphate)、和2-氯脱氧腺苷(克拉屈滨(cladribine),2-CdA);天然产物,包括抗有丝分裂药物,诸如帕利他赛(paclitaxel)、长春花生物碱(包括长春碱(vinblastine)(VLB)、长春新碱(vincristine)、和长春瑞滨(vinorelbine))、泰索帝(taxotere)、雌莫司汀(estramustine)、和磷酸雌莫司汀;表鬼臼毒素(pipodophylotoxin),诸如依托泊苷(etoposide)和替尼泊苷(teniposide);抗生素,诸如放线菌素D(actinomycin D)、道诺霉素(daunomycin)(柔红霉素(rubidomycin))、多柔比星(doxorubicin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、伊达比星(idarubicin)、博来霉素(bleomycin)、普卡霉素(plicamycin)(光辉霉素(mithramycin))、丝裂霉素C(mitomycin C)、和放线菌素(actinomycin);酶,诸如L-天冬酰胺酶;生物学应答改性剂,诸如干扰素- $\alpha$ 、IL-2、G-CSF和GM-CSF;包括铂配位复合物的混杂剂,诸如奥沙利铂(oxaliplatin)、顺铂(cisplatin)和卡铂(carboplatin),葱二酮,诸如米托蒽醌(mitoxantrone),取代的脲,诸如羟基脲、甲基胍衍生物,包括N-甲基胍(MIH)和丙卡巴胍(procabazine)、肾上腺皮质阻抑剂,诸如米托坦(mitotane)(o,p-DDD)和氨鲁米特(aminoglutethimide);激素和拮抗剂,包括肾上腺皮质类固醇拮抗剂,诸如强的松(prednisone)及等效物、地塞米松(dexamethasone)和氨鲁米特(aminoglutethimide);Gemzar™(吉西他滨(gemcitabine))、妊娠素,诸如己酸羟基孕酮(hydroxyprogesterone caproate)、乙酸甲羟孕酮(medroxyprogesterone acetate)和乙酸甲地孕酮(megestrol acetate);雌激素,诸如己烯雌酚(diethylstilbestrol)和乙炔雌二醇等效物;抗雌激素,诸如他莫昔芬(tamoxifen);雄激素,包括丙酸睾酮(testosterone propionate)和氟甲睾酮(flouxymerone)/等效物;抗雄激素,诸如氟他胺(flutamide)、促性腺激素释放激素类似物和亮丙瑞林(leuprolide);和非类固醇抗雄激素,诸如氟他胺(flutamide)。靶向后

成机制的疗法包括但不限于组蛋白脱乙酰基酶抑制剂,脱甲基化剂(例如Vidaza)和释放转录阻抑(ATRA)疗法也可以与抗原结合蛋白质组合。在一个实施方案中,化疗剂选自下组:紫杉烷(像例如帕利他赛(Taxol)、多西他赛(Taxotere)、经修饰的帕利他赛(例如Abraxane和Opaxio)、多柔比星、舒尼替尼(Sutent)、索拉非尼(Nexavar)、和其它多激酶抑制剂、奥沙利铂、顺铂和卡铂、依托泊苷、吉西他滨、和长春碱。在一个实施方案中,化疗剂选自下组:紫杉烷(像例如帕利他赛(Taxol)、多西他赛(Taxotere)、经修饰的帕利他赛(例如Abraxane和Opaxio)。在一个实施方案中,别的化疗剂选自5-氟尿嘧啶(5-FU)、亚叶酸、伊立替康、或奥沙利铂。在一个实施方案中,化疗剂为5-氟尿嘧啶、亚叶酸和伊立替康(FOLFIRI)。在一个实施方案中,化疗剂为5-氟尿嘧啶和奥沙利铂(FOLFOX)。

[0290] 与别的化疗剂的组合疗法的具体例子包括例如与紫杉烷(例如多西他赛或帕利他赛)或经修饰的帕利他赛(例如Abraxane或Opaxio)、多柔比星、卡培他滨和/或贝伐单抗(Avastin)用于治疗乳腺癌的疗法;与卡铂、奥沙利铂、顺铂、帕利他赛、多柔比星(或经修饰的多柔比星(Caelyx或Doxil))、或拓扑替康(Hycamtin)用于卵巢癌的疗法;与多激酶抑制剂MKI(Sutent、Nexavar、或706)和/或多柔比星用于治疗肾癌的疗法;与奥沙利铂、顺铂和/或放射用于治疗鳞状细胞癌的疗法;与Taxol和/或卡铂用于治疗肺癌的疗法。

[0291] 因此,在一个实施方案中,别的化疗剂选自下组:紫杉烷(多西他赛或帕利他赛)或经修饰的帕利他赛(Abraxane或Opaxio)、多柔比星、卡培他滨和/或贝伐单抗(用于治疗乳腺癌)。

[0292] 在一个实施方案中,CSF-1R抗体/PD-L1抗体组合疗法不施用化疗剂。

[0293] 本发明还包含一种用于治疗患有此类疾病的患者的方法。

[0294] 本发明进一步提供一种用于制备包含有效量的依照本发明的抗体以及药学可接受载体的药物组合物的方法及依照本发明的抗体对此类方法的用途。

[0295] 本发明进一步提供有效量的依照本发明的抗体用于制备药物制剂的用途,优选地,与药学可接受载体一起,用于治疗患有癌症的患者。

[0296] 本发明还提供有效量的依照本发明的抗体用于制备药物制剂的用途,优选地,与药学可接受载体一起,用于治疗患有癌症的患者。

[0297] 提供下面的实施例、序列表和附图来帮助理解本发明,所附权利要求书列出本发明的真实范围。理解的是,可以在所列规程中进行更改而不偏离本发明的精神。

[0298] 序列说明

[0299] SEQ ID NO:1重链CDR3,Mab 2F11

[0300] SEQ ID NO:2重链CDR2,Mab 2F11

[0301] SEQ ID NO:3重链CDR1,Mab 2F11

[0302] SEQ ID NO:4轻链CDR3,Mab 2F11

[0303] SEQ ID NO:5轻链CDR2,Mab 2F11

[0304] SEQ ID NO:6轻链CDR1,Mab 2F11

[0305] SEQ ID NO:7重链可变域,Mab 2F11

[0306] SEQ ID NO:8轻链可变域,Mab 2F11

[0307] SEQ ID NO:9重链CDR3,Mab 2E10

[0308] SEQ ID NO:10重链CDR2,Mab 2E10

- [0309] SEQ ID NO:11重链CDR1,Mab 2E10
- [0310] SEQ ID NO:12轻链CDR3,Mab 2E10
- [0311] SEQ ID NO:13轻链CDR2,Mab 2E10
- [0312] SEQ ID NO:14轻链CDR1,Mab 2E10
- [0313] SEQ ID NO:15重链可变域,Mab 2E10
- [0314] SEQ ID NO:16轻链可变域,Mab 2E10
- [0315] SEQ ID NO:17重链CDR3,hMab 2F11-c11
- [0316] SEQ ID NO:18重链CDR2,hMab 2F11-c11
- [0317] SEQ ID NO:19重链CDR1,hMab 2F11-c11
- [0318] SEQ ID NO:20轻链CDR3,hMab 2F11-c11
- [0319] SEQ ID NO:21轻链CDR2,hMab 2F11-c11
- [0320] SEQ ID NO:22轻链CDR1,hMab 2F11-c11
- [0321] SEQ ID NO:23重链可变域,hMab 2F11-c11
- [0322] SEQ ID NO:24轻链可变域,hMab 2F11-c11
- [0323] SEQ ID NO:25重链CDR3,hMab 2F11-d8
- [0324] SEQ ID NO:26重链CDR2,hMab 2F11-d8
- [0325] SEQ ID NO:27重链CDR1,hMab 2F11-d8
- [0326] SEQ ID NO:28轻链CDR3,hMab 2F11-d8
- [0327] SEQ ID NO:29轻链CDR2,hMab 2F11-d8
- [0328] SEQ ID NO:30轻链CDR1,hMab 2F11-d8
- [0329] SEQ ID NO:31重链可变域,hMab 2F11-d8
- [0330] SEQ ID NO:32轻链可变域,hMab 2F11-d8
- [0331] SEQ ID NO:33重链CDR3,hMab 2F11-e7
- [0332] SEQ ID NO:34重链CDR2,hMab 2F11-e7
- [0333] SEQ ID NO:35重链CDR1,hMab 2F11-e7
- [0334] SEQ ID NO:36轻链CDR3,hMab 2F11-e7
- [0335] SEQ ID NO:37轻链CDR2,hMab 2F11-e7
- [0336] SEQ ID NO:38轻链CDR1,hMab 2F11-e7
- [0337] SEQ ID NO:39重链可变域,hMab 2F11-e7
- [0338] SEQ ID NO:40轻链可变域,hMab 2F11-e7
- [0339] SEQ ID NO:41重链CDR3,hMab 2F11-f12
- [0340] SEQ ID NO:42重链CDR2,hMab 2F11-f12
- [0341] SEQ ID NO:43重链CDR1,hMab 2F11-f12
- [0342] SEQ ID NO:44轻链CDR3,hMab 2F11-f12
- [0343] SEQ ID NO:45轻链CDR2,hMab 2F11-f12
- [0344] SEQ ID NO:46轻链CDR1,hMab 2F11-f12
- [0345] SEQ ID NO:47重链可变域,hMab 2F11-f12
- [0346] SEQ ID NO:48轻链可变域,hMab 2F11-f12
- [0347] SEQ ID NO:49重链CDR3,hMab 2F11-g1

- [0348] SEQ ID NO:50重链CDR2,hMab 2F11-g1
- [0349] SEQ ID NO:51重链CDR1,hMab 2F11-g1
- [0350] SEQ ID NO:52轻链CDR3,hMab 2F11-g1
- [0351] SEQ ID NO:53轻链CDR2,hMab 2F11-g1
- [0352] SEQ ID NO:54轻链CDR1,hMab 2F11-g1
- [0353] SEQ ID NO:55重链可变域,hMab 2F11-g1
- [0354] SEQ ID NO:56轻链可变域,hMab 2F11-g1
- [0355] SEQ ID NO:57人κ轻链恒定区
- [0356] SEQ ID NO:58自IgG1衍生的人重链恒定区
- [0357] SEQ ID NO:59L234A和L235A上突变的自IgG1衍生的人重链恒定区
- [0358] SEQ ID NO:60自IgG4衍生的人重链恒定区
- [0359] SEQ ID NO:61S228P上突变的自IgG4衍生的人重链恒定区
- [0360] SEQ ID NO:62人野生型CSF-1R(wt CSF-1R) (包括信号序列)
- [0361] SEQ ID NO:63人突变型CSF-1R L301S Y969F(包括信号序列)
- [0362] SEQ ID NO:64人CSF-1R胞外域(域D1-D5)
- [0363] SEQ ID NO:65人CSF-1R片段de1D4
- [0364] SEQ ID NO:66人CSF-1R片段域D1-D3
- [0365] SEQ ID NO:67信号肽
- [0366] SEQ ID NO:68引物
- [0367] SEQ ID NO:69重链CDR3,Mab 1G10
- [0368] SEQ ID NO:70重链CDR2,Mab 1G10
- [0369] SEQ ID NO:71重链CDR1,Mab 1G10
- [0370] SEQ ID NO:72轻链CDR3,Mab 1G10
- [0371] SEQ ID NO:73轻链CDR2,Mab 1G10
- [0372] SEQ ID NO:74轻链CDR1,Mab 1G10
- [0373] SEQ ID NO:75重链可变域,Mab 1G10
- [0374] SEQ ID NO:76轻链可变域,Mab 1G10
- [0375] SEQ ID NO:77重链CDR3,Mab 2H7
- [0376] SEQ ID NO:78重链CDR2,Mab 2H7
- [0377] SEQ ID NO:79重链CDR1,Mab 2H7
- [0378] SEQ ID NO:80轻链CDR3,Mab 2H7
- [0379] SEQ ID NO:81轻链CDR2,Mab 2H7
- [0380] SEQ ID NO:82轻链CDR1,Mab 2H7
- [0381] SEQ ID NO:83重链可变域,Mab 2H7
- [0382] SEQ ID NO:84轻链可变域,Mab 2H7
- [0383] SEQ ID NO:85人CSF-1R片段域D4-D5
- [0384] SEQ ID NO:86人CSF-1(包括信号序列)
- [0385] SEQ ID NO:87人IL-34(包括信号序列)
- [0386] SEQ ID NO:88人PD-L1(包括信号序列)

- [0387] SEQ ID NO:89重链可变域VH变体1,抗PD-L1 243.55
- [0388] SEQ ID NO:90重链可变域VH变体2,抗PD-L1 243.55
- [0389] SEQ ID NO:91重链可变域VH变体3,抗PD-L1 243.55
- [0390] SEQ ID NO:92轻链可变域VL变体1,抗PD-L1 243.55
- [0391] SEQ ID NO:93轻链可变域VL变体2,抗PD-L1 243.55
- [0392] SEQ ID NO:94轻链可变域VL变体3,抗PD-L1 243.55
- [0393] SEQ ID NO:95轻链可变域VL变体4,抗PD-L1 243.55
- [0394] SEQ ID NO:96轻链可变域VL变体5,抗PD-L1 243.55
- [0395] SEQ ID NO:97轻链可变域VL变体6,抗PD-L1 243.55
- [0396] SEQ ID NO:98轻链可变域VL变体7,抗PD-L1 243.55
- [0397] SEQ ID NO:99轻链可变域VL变体8,抗PD-L1 243.55
- [0398] SEQ ID NO:100轻链可变域VL变体9,抗PD-L1 243.55
- [0399] SEQ ID NO:101轻链可变域VL变体10,抗PD-L1 243.55
- [0400] SEQ ID NO:102轻链可变域VL变体11,抗PD-L1 243.55
- [0401] SEQ ID NO:103轻链可变域VL变体12,抗PD-L1 243.55
- [0402] SEQ ID NO:104轻链可变域VL变体13,抗PD-L1 243.55
- [0403] SEQ ID NO:105轻链可变域VL变体14,抗PD-L1 243.55
- [0404] SEQ ID NO:106轻链可变域VL变体15,抗PD-L1 243.55
- [0405] SEQ ID NO:107轻链可变域VL变体16,抗PD-L1 243.55

[0406] 在本发明的下述实施方案中,描述了:

[0407] 1.A) 一种结合人CSF-1R的抗体,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,用于治疗癌症,用于预防或治疗转移,用于治疗炎性疾病,用于治疗骨丢失,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展,或用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性;或

[0408] B) 结合人CSF-1R的抗体制造用于治疗癌症,用于预防或治疗转移,用于治疗炎性疾病,用于治疗骨丢失,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展,或用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性的药物的用途,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用;

[0409] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含

[0410] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或

[0411] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或

[0412] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或

[0413] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或

[0414] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

[0415] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或

[0416] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或

[0417] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或

[0418] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或

[0419] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或

- [0420] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或
- [0421] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或
- [0422] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- [0423] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- [0424] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- [0425] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- [0426] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- [0427] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- [0428] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- [0429] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或
- [0430] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。
- [0431] 2.A) 包含
- [0432] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或
- [0433] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或
- [0434] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或
- [0435] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或
- [0436] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL的结合人CSF-1R的抗体
- [0437] 和
- [0438] B) 包含
- [0439] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或
- [0440] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或
- [0441] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或
- [0442] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或
- [0443] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或
- [0444] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或
- [0445] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或
- [0446] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- [0447] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- [0448] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- [0449] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- [0450] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- [0451] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域
- [0452] VL,或
- [0453] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域
- [0454] VL,或
- [0455] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域
- [0456] VL,或
- [0457] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL的结合人PD-

L1的抗体的组合制造用于治疗癌症,用于预防或治疗转移,用于治疗炎性疾病,用于治疗骨丢失,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展,或用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性的药物的用途,其中结合人CSF-1R的抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用。

[0458] 3. 依照实施方案1或2任一项的抗体或用途,用于治疗癌症。

[0459] 4. 依照实施方案3的抗体或用途,用于治疗乳腺癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌、黑素瘤癌、膀胱癌、肾癌(renal cancer)、肾癌(kidney cancer)、肝癌、头和颈癌、结肠直肠癌、胰腺癌、胃癌、食管癌、间皮瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤。

[0460] 5. 依照实施方案1或2任一项的抗体或用途,用于预防或治疗转移。

[0461] 6. 依照实施方案1或2任一项的抗体或用途,用于治疗骨丢失。

[0462] 7. 依照实施方案1或2任一项的抗体或用途,用于治疗炎性疾病。

[0463] 8. 依照实施方案1或2任一项的抗体或用途,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展。

[0464] 9. 依照实施方案1或2任一项的抗体或用途,用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性。

[0465] 10. A) 一种结合人CSF-1R的抗体,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,用于

[0466] i) 在CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1配体不依赖性CSF-1R表达性肿瘤细胞中抑制细胞增殖;

[0467] ii) 在带有CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤中抑制细胞增殖;

[0468] iii) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞和巨噬细胞中抑制细胞存活;和/或

[0469] iv) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞中抑制细胞分化成巨噬细胞;

[0470] 或

[0471] B) 结合人CSF-1R的抗体制造用于

[0472] i) 在CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1配体不依赖性CSF-1R表达性肿瘤细胞中抑制细胞增殖;

[0473] ii) 在带有CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤中抑制细胞增殖;

[0474] iii) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞和巨噬细胞中抑制细胞存活;和/或

[0475] iv) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞中抑制细胞分化成巨噬细胞的药物的用途,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用;

[0476] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含

[0477] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或

[0478] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或

[0479] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或

[0480] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或

[0481] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

[0482] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或

[0483] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或

[0484] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或

[0485] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或

[0486] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或

[0487] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或

[0488] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或

[0489] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或

[0490] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或

[0491] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或

[0492] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或

[0493] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或

[0494] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或

[0495] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或

[0496] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或

[0497] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域

[0498] VL。

[0499] 11.A) 一种结合人CSF-1R的抗体,其用于治疗具有CSF-1R表达性肿瘤或带有CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤的患者,其中该肿瘤特征在于CSF-1R配体升高,且其中该抗CSF-1R抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,

[0500] 或

[0501] B) 结合人CSF-1R的抗体制造用于治疗具有CSF-1R表达性肿瘤或带有CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤的患者,其中该肿瘤特征在于CSF-1R配体升高,且其中该抗CSF-1R抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,

[0502] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含

[0503] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或

[0504] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或

[0505] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或

[0506] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或

[0507] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

[0508] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或

[0509] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或

[0510] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或

[0511] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或

[0512] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或

[0513] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或

- [0514] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或
- [0515] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- [0516] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- [0517] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- [0518] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- [0519] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- [0520] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- [0521] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- [0522] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或
- [0523] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域
- [0524] VL。
- [0525] 12. 依照前述实施方案任一项的抗体或用途,
- [0526] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含
- [0527] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,且其中组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含
- [0528] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL。
- [0529] 13. 依照前述实施方案任一项的抗体或用途,特征在于所述抗体属于人IgG1
- [0530] 亚类或人IgG4亚类。
- [0531] 14. 依照前述实施方案任一项的抗体或用途,特征在于所述抗体具有降低的或最小限度的效应器功能。
- [0532] 15. 依照前述实施方案任一项的抗体或用途,其中所述最小限度的效应器功能源自效应器降低性Fc突变。
- [0533] 16. 依照前述实施方案任一项的抗体或用途,其中所述效应器降低性Fc突变为L234A/L235A或L234A/L235A/P329G或N297A或D265A/N297A。
- [0534] 17. A) 一种用于
- [0535] i) 在CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1配体不依赖性CSF-1R表达性肿瘤
- [0536] 细胞中抑制细胞增殖;
- [0537] ii) 在带有CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤中抑制细胞增殖;
- [0538] iii) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞和巨噬细胞中抑制细胞存活;和/或
- [0539] iv) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞中抑制细胞分化成巨噬细胞的方法,
- [0540] 其中结合人CSF-1R的抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,或
- [0541] B) 一种治疗具有CSF-1R表达性肿瘤或带有CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤的方法,其中该肿瘤特征在于CSF-1R配体升高,且其中结合人CSF-1R的抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,
- [0542] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含
- [0543] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或

[0544] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或  
[0545] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或  
[0546] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或  
[0547] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

[0548] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或  
[0549] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或  
[0550] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或  
[0551] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或  
[0552] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或  
[0553] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或  
[0554] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或  
[0555] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或  
[0556] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或  
[0557] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或  
[0558] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或  
[0559] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或  
[0560] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或  
[0561] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或  
[0562] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或  
[0563] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。

[0564] 实施例

[0565] 实施例1

[0566] 对NIH3T3-CSF-1R重组细胞中由CSF-1诱导的CSF-1R磷酸化的抑制

[0567]  $4.5 \times 10^3$ 个用全长CSF-1R的表达载体以逆转录病毒方式感染的NIH 3T3细胞在DMEM (PAA, 产品目录号E15-011)、2mM L-谷氨酰胺 (Sigma, 产品目录号G7513)、2mM丙酮酸钠、1x非必需氨基酸、10% FKS (PAA, 产品目录号A15-649) 和100 $\mu$ g/ml PenStrep (Sigma, 产品目录号P4333 [10mg/ml]) 中培养至它们达到汇合。此后用补充有亚硒酸钠 [5ng/ml] (Sigma, 产品目录号S9133)、运铁蛋白 [10 $\mu$ g/ml] (Sigma, 产品目录号T8158)、BSA [400 $\mu$ g/ml] (Roche Diagnostics GmbH, 产品目录号10735078)、4mM L-谷氨酰胺 (Sigma, 产品目录号G7513)、2mM丙酮酸钠 (Gibco, 产品目录号11360)、1x非必需氨基酸 (Gibco, 产品目录号11140-035)、2-巯基乙醇 [0.05mM] (Merck, 产品目录号M7522)、100 $\mu$ g/ml和PenStrep (Sigma, 产品目录号P4333) 的无血清DMEM培养基 (PAA, 产品目录号E15-011) 清洗细胞并在30 $\mu$ l相同培养基中温育16小时以使受体上调。将10 $\mu$ l的已稀释抗CSR-1R抗体加至细胞中1.5小时。然后用10 $\mu$ l的100ng/ml huCSF-1 (人CSF-1的活性149aa片段 (SEQ ID NO:86的aa 33-181); Biomol, DE, 产品目录号60530) 刺激细胞5分钟。温育后, 去除上清液, 将细胞用80 $\mu$ l的冰冷PBS清洗2次并加入50 $\mu$ l新鲜制备的冰冷裂解缓冲液 (150mM NaCl/20mM Tris pH7.5/1mM EDTA/1mM EGTA/1% Triton X-100/1片蛋白酶抑制剂片剂 (Roche Diagnostics GmbH, 产品目录号1836170) 每10ml缓冲液/10 $\mu$ l/ml磷酸酶抑制剂混合物1

(Sigma, 产品目录号P-2850, 100x储液)/10 $\mu$ l/ml蛋白酶抑制剂1 (Sigma, 产品目录号P-5726, 100x储液)/10 $\mu$ l/ml 1M NaF)。冰置30分钟后, 将平板在平板摇床上剧烈振荡3分钟, 然后以2200rpm离心10分钟(Heraeus Megafuge 10)。

[0568] 用ELISA分析细胞裂解物中磷酸化的和总的CSF-1受体的存在。使用来自R&D Systems (产品目录号DYC3268-2) 的试剂盒依照供应商的说明书检测磷酸化的受体。为了检测总的CSF-1R, 用试剂盒中所包含的捕捉抗体将10 $\mu$ l的裂解物固定化在平板上。之后加入1:750稀释的生物素化抗CSF-1R抗体BAF329 (R&D Systems) 和1:1000稀释的链霉亲合素-HRP缀合物。60分钟后将平板用新鲜制备的ABTS®溶液显色并检测吸光度。数据计算为无抗体下阳性对照的百分比和所表达的磷酸化/总受体比率值。阴性对照限定为不加入M-CSF-1。使用抑制配体-受体相互作用的抗CSF-1R SC 2-4A5 (Santa Cruz Biotechnology, US, 也可参阅Sherr, C.J. 等人, Blood 73 (1989) 1786-1793) 作为参照对照。

[0569] 表3: 对CSF-1受体磷酸化的抑制的IC<sub>50</sub>计算值。

[0570]	CSF-1R Mab	IC <sub>50</sub> CSF-1R磷酸化[ng/ml]
	Mab 2F11	219.4
	Mab 2E10	752.0
[0571]	Mab 2H7	703.4
	Mab 1G10	56.6
	SC-2-4A5	1006.6

[0572] 实施例2

[0573] 在用抗CSF-1R单克隆抗体处理下对3D培养中的NIH3T3-CSF-1R重组细胞的生长抑制(CellTiterGlo测定法)

[0574] 将用全长野生型CSF-1R (SEQ ID NO:62) 或突变型CSF-1R L301S Y969F (SEQ ID NO:63) 的表达载体经逆转录病毒感染的NIH 3T3细胞在poly-HEMA (聚甲基丙烯酸-2-羟乙酯, poly (2-hydroxyethylmethacrylate)) (Polysciences, Warrington, PA, USA) 包被 (以防止粘附至塑料表面) 的平皿上培养于补充有2mM L-谷氨酰胺、2mM丙酮酸钠和非必需氨基酸和10%胎牛血清 (Sigma, Taufkirchen, Germany) 的DMEM高葡萄糖培养基 (PAA, Pasching, Austria) 中。细胞接种于用5ng/ml亚硒酸钠、10mg/ml运铁蛋白、400 $\mu$ g/ml BSA和0.05mM 2-巯基乙醇替换血清的培养基中。在用100ng/ml huCSF-1 (人CSF-1的活性149aa片段 (SEQ ID NO:86的aa 33-181); Biomol, DE, 产品目录号60530) 处理时, 表达wtCSF-1R的细胞形成三维生长的密集椭球体, 被称为停泊独立的特性。这些椭球体近似于原位实体肿瘤的三维结构和组织。突变型CSF-1R重组细胞能够不依赖于CSF-1配体而形成椭球体。调查依照本发明的抗CSF-1R抗体hMab 2F11-e7和抗CSF-1R抗体1.2.SM (WO 2009/026303中所述的配体置换性CSF-1R抗体)、CXIIG6 (WO 2009/112245中所述的配体置换性CSF-1R抗体)、山羊多克隆抗CSF-1R抗体ab10676 (abcam)、和SC 2-4A5 (Santa Cruz Biotechnology, US-还可参见Sherr, C.J. 等人, Blood 73 (1989) 1786-1793) 和Mab R&D-Systems 3291。参照对照Mab R&D-Systems 3291未显示对突变型CSF-1R重组细胞增殖的抑制。

[0575] 在不同浓度的抗体存在下将椭球体培养物温育3天以测定IC<sub>30</sub> (细胞生存能力被

30%抑制的浓度)。最大浓度为20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。用CellTiterGlo测定法通过测量细胞的ATP含量来检测细胞的生存能力。

[0576] 表4

[0577]	CSF-1R Mab	野生型CSF-1R	突变型CSF-1R
		IC <sub>30</sub> [ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]	IC <sub>30</sub> [ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]
	hMab 2F11-e7	4.91	0.54
	1.2.SM	1.19	> 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (在20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 有-19%抑制 = 19%刺激)
[0578]	CXIIG6	> 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (在20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 有21%抑制)	> 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (在20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 有-36%抑制 = 36%刺激)
	ab10676	14.15	> 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (在20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 有0%抑制)
	SC 2-4A5	16.62	2.56

[0579] 实施例3

[0580] 在用抗CSF-1R单克隆抗体处理下对人巨噬细胞分化的抑制(CellTiterGlo测定法)

[0581] 使用RosetteSep™人单核细胞富集混合物(Stemcell Tech.-产品目录号15028)从外周血中分离人单核细胞。将富集的单核细胞群在37°C和5% CO<sub>2</sub>的增湿气氛中接种于96孔微量滴定板(2.5x10<sup>4</sup>个细胞/孔)内补充了10% FCS(GIBCO-产品目录号011-090014M)、4mM L-谷氨酰胺(GIBCO-产品目录号25030)和1x PenStrep(Roche产品目录号1074440)的100 $\mu\text{l}$  RPMI 1640(Gibco-产品目录号31870)中。当在培养基中加入150ng/ml huCSF-1时,可观察到清楚地分化成粘附性巨噬细胞。此分化通过添加抗CSF-1R抗体可被抑制。此外,单核细胞的生存受影响并可通过CellTiterGlo(CTG)分析进行分析。从抗体处理对单核细胞生存的浓度依赖性抑制,计算IC<sub>50</sub>(见下表)。

[0582] 表5

[0583]	CSF-1R Mab	IC <sub>50</sub> [ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]
	Mab 2F11	0.08
	Mab 2E10	0.06
	Mab 2H7	0.03
	Mab 1G10	0.06
	SC 2-4A5	0.36

[0584] 在分开的测试中,系列人源化形式的Mab 2F11,例如hMab 2F11-c11、hMab 2F11-d8、hMab 2F11-e7、hMab 2F11-f12,显示了0.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$  (hMab2F11-c11)、0.07 $\mu\text{g}/\text{ml}$  (hMab 2F11-d8)、0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$  (hMab 2F11-e7)和0.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$  (hMab 2F11-f12)的IC50值。

[0585] 实施例4

[0586] 在用抗CSF-1R单克隆抗体处理下对人巨噬细胞分化的抑制(CellTiterGlo测定

法)

[0587] 使用RosetteSep™人单核细胞富集混合物(Stemcell Tech.-产品目录号15028)从外周血中分离人单核细胞。将富集的单核细胞群在37°C和5% CO<sub>2</sub>的增湿气氛中接种于96孔微量滴定板(2.5x10<sup>4</sup>个细胞/孔)内补充了10% FCS(GIBCO-产品目录号011-090014M)、4mM L-谷氨酰胺(GIBCO-产品目录号25030)和1x PenStrep(Roche产品目录号1074440)的100μl RPMI 1640(Gibco-产品目录号31870)中。当在培养基中加入150ng/ml huCSF-1时,可观察到清楚地分化成粘附性巨噬细胞。此分化通过添加抗CSF-1R抗体可被抑制。此外,单核细胞的生存受影响并可通过CellTiterGlo(CTG)分析进行分析。从抗体处理对单核细胞生存的浓度依赖性抑制,计算IC<sub>50</sub>。人源化形式的Mab 2F11,例如hMab 2F11-c11、hMab 2F11-d8、hMab 2F11-e7、hMab2F11-f12,显示了0.07μg/ml(hMab 2F11-c11)、0.07μg/ml(hMab 2F11-d8)、0.04μg/ml(hMab 2F11-e7)和0.09μg/ml(hMab 2F11-f12)的IC50值。

#### [0588] 实施例5

[0589] 在抗CSF-1R单克隆抗体处理下对人M1和M2巨噬细胞分化的抑制(CellTiterGlo测定法)

[0590] 使用RosetteSep™人单核细胞富集混合物(StemCell Tech.-产品目录号15028)自外周血分离人单核细胞。在增湿气氛中于37°C和5% CO<sub>2</sub>在100μl补充有10% FCS(GIBCO-产品目录号011-090014M)、4mM L-谷氨酰胺(GIBCO-产品目录号25030)和1x PenStrep(Roche-产品目录号1 074 440)的RPMI 1640(Gibco-产品目录号31870)中将富集的单核细胞群接种入96孔微量滴定板(2.5x10<sup>4</sup>个细胞/孔)。在将100ng/ml huCSF-1添加至培养基达6天时,能清楚地观察到分化成贴壁的具有伸长的形态的M2巨噬细胞。在将100ng/ml huGM-CSF添加至培养基达6天时,能清楚地观察到分化成贴壁的具有圆形形态的M1巨噬细胞。这种分化与某些标志物的表达有关,诸如对于M2巨噬细胞而言的CD163和对于M1巨噬细胞而言的CD80或高的II类MHC,如通过流式细胞术评估的。用PBS清洗细胞,并且如果贴壁的话,使用PBS中的5mM EDTA溶液解离(于37°C达20分钟)。然后好好重悬浮细胞,用染色缓冲液(含5% FCS的PBS)清洗,并以300xg离心5分钟。在1ml染色缓冲液中重悬浮团粒,并在Neubauer槽中对细胞计数。在每个FACS管中转移大约1x10<sup>5</sup>个细胞,以300xg离心5分钟,并在染色缓冲液中重悬浮。通过与1μg人IgG/2.5x10<sup>4</sup>个细胞(JIR产品目录号009-000-003)一起在冰上在染色缓冲液中温育20分钟来封闭Fc γ受体。然后对于CD80和CD163检测而言将细胞与1.5μl抗体/2.5x10<sup>4</sup>个细胞混合,而对于II类MHC检测而言使用5μl抗体/2.5x10<sup>4</sup>个抗体:PE标记的小鼠抗人CD163(BD Bioscience产品目录号556018)、PE标记的小鼠抗人CD80(BD Bioscience产品目录号557227)和Alexa 647标记的小鼠抗人II类MHC(Dako产品目录号M0775)。通过使用Zenon Alexa 647小鼠IgG标记试剂盒(Invitrogen产品目录号Z25008)将Alexa647标记物缀合至抗体。在冰上温育1小时后,用染色缓冲液清洗细胞两次,重悬浮,并于FACS Canto II进行测量。

[0591] 独有地,特征在于CD163表达、CD80缺失和II类MHC表达低的M2巨噬细胞分化能通过添加人源化抗CSF-1R抗体hMab 2F11-e7来抑制。而且,M2而非M1巨噬细胞存活受到影响,而且能通过CellTiterGlo(CTG)分析来分析。抗体处理7天对巨噬细胞存活的浓度依赖性抑制描绘于图1a。通过流式细胞术评估的M1和M2巨噬细胞标志物表达显示于图1b。

#### [0592] 实施例6

[0593] 猕猴中CSF-1R抑制期间CSF-1水平升高

[0594] 血清CSF-1水平提供了抗人CSF-1R二聚化抑制物hMab 2F11-e7之CSF-1R中和活性的药效标志。对每一剂量组(1和10mg/kg)一只雄性和一只雌性猕猴静脉内施用抗CSF1R抗体hMab 2F11-e7。在处理前(用药前)1周、用药后2、24、48、72、96、168小时以及另外再两周的每周收集血液样品,供分析CSF-1水平。用商品化的ELISA试剂盒(Quantikine®人M-CSF)依照制造商的说明书(R&D Systems,UK)测定CSF-1水平。通过与试剂盒中所提供的CSF-1标准曲线样品进行比较来确定猴CSF-1水平。

[0595] 施用hMab 2F11-e7诱导CSF-1显著升高约1000倍,这取决于施用的剂量持续48小时(1mg/kg)或15天(10mg/kg)。因此,与配体置换性抗体相反,针对CSF-1R的二聚化抑制物提供的优势在于不直接与显著上调的配体竞争对受体的结合(结果显示于图2)。

[0596] 实施例7

[0597] M2亚型肿瘤相关巨噬细胞(TAM)和T细胞之间的相关性-组合抗CSF-R1抗体和T细胞衔接剂的原理

[0598] 为了调查TAM和T细胞之间的功能相关性,我们自MC38肿瘤分离TAM并将它们与CD8+T细胞一起共培养。

[0599] TAM阻抑测定法

[0600] 酶促消化后使用两步方案自MC38肿瘤的单细胞悬浮液富集TAM:用CD11b-FITC(克隆M1/70)对单细胞染色,并通过抗FITC珠(Miltenyi)在MACS柱上正富集。自柱取出后,使用制造商提供的释放缓冲液方案解离抗FITC珠。最后,通过添加抗Ly6G和抗Ly6C正选择珠以自TAM制备物去除粒细胞和单核细胞的细胞来分离TAM。分析最终的细胞纯度,通常>90%。随后,在用抗CD3包被的U底板中以所示的对用CFSE标记的总CD3+T细胞的比率滴定TAM,并添加可溶性抗CD28。温育3天后如先前所述使用空白Sphero珠自CFSE<sub>low</sub>细胞测定细胞增殖(Hoves,S.等人,Monocyte-derived human macrophages mediate anergy in allogeneic T cells and induce regulatory T cells.J.Immunol.177,2691-2698(2006))。在TAM存在下,由CD3和CD28活化诱导的T细胞扩充受到阻抑(见图3)。

[0601] 实施例8

[0602] 在皮下同基因MC38结肠癌模型中在与PD-L1抗体组合的抗CSF-1R单克隆抗体处理下对肿瘤生长的抑制

[0603] 于37°C和5% CO<sub>2</sub>在水饱和气氛中在补充有10% FCS和2mM L-谷氨酰胺的Dulbecco氏改良Eagle培养基(DMEM,PAN Biotech)中培养鼠结肠直肠腺癌细胞系MC-38(得自Beckman Research Institute of the City of Hope,California,USA)的细胞。在接种那天,用PBS自培养瓶收获MC38肿瘤细胞并转移入培养基,离心,清洗一次,并在PBS中重悬浮。对于细胞注射,将最终的滴度调节至1x10<sup>7</sup>个细胞/ml。随后将100μl此悬浮液(1x10<sup>6</sup>个细胞)皮下接种入7-9周龄雌性C57BL/6N小鼠(得自Charles River,Sulzfeld,Germany)。在肿瘤建立并达到100mm<sup>3</sup>的平均尺寸之后开始用对照抗体(MOPC-21;Bio X Cell,West Lebanon)、抗鼠CSF-1R单抗<小鼠CSF1R>抗体处理,每周剂量30mg/kg,腹膜内,单独的或与小鼠交叉反应性抗PD-L1抗体(10mg/kg,腹膜内,6x q3d)组合。平行地一周两次测量肿瘤体积并监测动物重量。

[0604] 在第一项实验中,与对照抗体处理相比,<小鼠CSF1R>抗体的单一疗法未抑制原发

性肿瘤生长 (TGI:0%, TCR:1.07, CI:0.80-1.43, 中值>700mm<sup>3</sup>进展前时间:21天)。抗PD-L1单一疗法对MC38原发性肿瘤生长有影响 (TGI:83%, TCR:0.27, CI:0.09-0.49, 中值>700mm<sup>3</sup>进展前时间:32天)。将<小鼠CSF1R>抗体添加至抗PD-L1疗法导致抗肿瘤功效与单独的抗PD-L1处理相比略有改善 (TGI:83%, TCR:0.28, CI:0.19-0.51, 中值>700mm<sup>3</sup>进展前时间:37天) (见下表)。

[0605] 表6:

[0606] 在MC38小鼠CRC体内模型中

[0607] <小鼠抗CSF1R>抗体/<抗PD-L1>抗体组合的抗肿瘤功效

组	TGI (第21天)	TCR (第12天)	对第1组 的95% CI	中值 TV>700mm <sup>3</sup> 进展前时间
[0608] 对照 (小鼠IgG1)	-	-	-	21
<小鼠CSF1R>	0%	1.07	(1.43-0.80)	21
<抗PD-L1>	83%	0.27	(0.49-0.09)	32
<小鼠CSF1R> /<抗PD-L1>	83%	0.28	(0.51-0.09)	37

[0609] 用对照 (小鼠IgG1) 处理的动物的中值>700mm<sup>3</sup>进展前时间为21天。与对照抗体处理相比, <小鼠CSF1R>抗体的单一疗法未抑制原发性肿瘤生长 (中值>700mm<sup>3</sup>进展前时间:21天)。抗PD-L1单一疗法对MC38原发性肿瘤生长有影响 (中值>700mm<sup>3</sup>进展前时间:32天)。将<小鼠CSF1R>抗体添加至抗PD-L1疗法导致抗肿瘤功效与单独的PD-L1处理相比略有改善 (中值>700mm<sup>3</sup>进展前时间:37天) (见下表和图4)。

[0610] 表7:

[0611] 在MC38小鼠CRC体内模型中

[0612] <小鼠抗CSF1R>抗体/<抗PD-L1>抗体组合的抗肿瘤功效

[0613] (中值>700mm<sup>3</sup>进展前时间)

组	中值TV>700mm <sup>3</sup> 进展前时间
[0614] 对照 (小鼠IgG1)	21
<小鼠CSF1R>	21
[0615] <抗PD-L1>	32
<小鼠CSF1R>/<抗PD-L1>	37

[0616] 在类似但在不同肿瘤尺寸开始处理 (例如在肿瘤达到100mm<sup>3</sup>以上和以下的体积时开始处理) (评估不同组) 的实验中及在另一项还使用表2中所述不同PD-L1抗体的实验中, 评估在皮下同基因MC38结肠癌模型中在抗CSF-1R单克隆抗体与抗PD-L1抗体组合处理下对肿瘤生长的抑制。

[0617] 实施例9

[0618] 在皮下同基因CT26.WT结肠癌模型中在与PD-L1抗体组合的抗CSF-1R单克隆抗体处理下对肿瘤生长的抑制

[0619] 于37°C和5% CO<sub>2</sub>在水饱和气氛中在补充有10% FCS和2mM L-谷氨酰胺的Dulbecco氏改良Eagle培养基(DMEM,PAN Biotech)中培养鼠结肠直肠癌细胞系CT26.WT肿瘤细胞(得自ATCC)的细胞。在接种那天,用PBS自培养瓶收获CT26.WT肿瘤细胞并转移入培养基,离心,清洗一次,并在PBS中重悬浮。对于细胞注射,将最终的滴度调节至1x10<sup>7</sup>个细胞/ml。随后将100μl此悬浮液(1x10<sup>6</sup>个细胞)皮下接种入11-13周龄雌性Balb/c小鼠(得自Charles River,Sulzfeld,Germany)。在肿瘤建立并达到150mm<sup>3</sup>的平均尺寸之后开始用对照抗体(MOPC-21;Bio X Cell,West Lebanon)、抗鼠CSF-1R单抗<小鼠CSF1R>抗体处理,每周剂量30mg/kg,腹膜内,单独的或与小鼠交叉反应性PD-L1抗体(10mg/kg,腹膜内,6x q3d)组合。虽然单一疗法组中的处理在肿瘤细胞接种后第9天开始,但是组合组中的处理是相继的(第9天:开始用抗鼠CSF-1R单抗处理;第11天:开始用抗PD-L1抗体处理)。平行地一周两次测量肿瘤体积并监测动物重量。结果显示于图

[0620] IgG对照处理组的中值≥700mm<sup>3</sup>进展前时间为17天,而<小鼠抗CSF1R>抗体单一疗法组为16天,<抗PD-L1>抗体单一疗法组为18天,而<小鼠抗CSF1R>/<抗PD-L1>抗体组合组为18天。

[0621] 虽然对照或单一疗法组中的所有动物因进行性肿瘤负荷而需要终结,但是<小鼠抗CSF1R>/<抗PD-L1>抗体组合组的一只动物经历肿瘤收缩且直至肿瘤接种后第79天研究结束仍然是没有肿瘤的。

[0622] 本公开涉及下述实施方案:

[0623] 1.一种结合人CSF-1R的抗体,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,用于治疗癌症,用于预防或治疗转移,用于治疗炎性疾病,用于治疗骨丢失,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展,或用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性,

[0624] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含

[0625] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或

[0626] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或

[0627] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或

[0628] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或

[0629] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含

[0630] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或

[0631] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或

[0632] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或

[0633] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或

[0634] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或

[0635] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或

[0636] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或

[0637] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或

[0638] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或

- [0639] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- [0640] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- [0641] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- [0642] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- [0643] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- [0644] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或
- [0645] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。
- [0646] 2. 依照项1的抗体,用于治疗癌症。
- [0647] 3. 依照项2的抗体,用于治疗乳腺癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌、黑素瘤癌、膀胱癌、肾癌(renal cancer)、肾癌(kidney cancer)、肝癌、头和颈癌、结肠直肠癌、胰腺癌、胃癌瘤癌、食道癌、间皮瘤、前列腺癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤。
- [0648] 4. 依照项1的抗体,用于预防或治疗转移。
- [0649] 5. 依照项1的抗体,用于治疗骨丢失。
- [0650] 6. 依照项1的抗体,用于治疗炎性疾病。
- [0651] 7. 依照项1的抗体,用于治疗免疫相关疾病诸如肿瘤免疫力或延迟其进展。
- [0652] 8. 依照项1的抗体,用于刺激免疫应答或功能,诸如T细胞活性。
- [0653] 9. 一种结合人CSF-1R的抗体,其中该抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,用于
- [0654] i) 在CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1配体不依赖性CSF-1R表达性肿瘤细胞中抑制细胞增殖;
- [0655] ii) 在带有CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤中抑制细胞增殖;
- [0656] iii) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞和巨噬细胞中抑制细胞存活;和/或
- [0657] iv) 在(CSF-1R配体依赖性和/或CSF-1R配体不依赖性)CSF-1R表达性单核细胞中抑制细胞分化成巨噬细胞,
- [0658] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含
- [0659] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或
- [0660] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或
- [0661] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或
- [0662] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或
- [0663] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含
- [0664] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或
- [0665] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或
- [0666] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或
- [0667] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或
- [0668] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或
- [0669] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或
- [0670] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或

- [0671] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- [0672] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- [0673] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- [0674] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- [0675] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- [0676] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- [0677] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- [0678] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或
- [0679] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。
- [0680] 10. 一种结合人CSF-1R的抗体,其用于治疗具有CSF-1R表达性肿瘤或带有CSF-1R表达性巨噬细胞浸润的肿瘤的患者,其中该肿瘤特征在于CSF-1R配体升高,且其中该抗CSF-1R抗体与结合人PD-L1的抗体组合施用,
- [0681] 其中组合疗法中使用的结合人CSF-1R的抗体特征在于包含
- [0682] a) SEQ ID NO:23的重链可变域VH和SEQ ID NO:24的轻链可变域VL,或
- [0683] b) SEQ ID NO:31的重链可变域VH和SEQ ID NO:32的轻链可变域VL,或
- [0684] c) SEQ ID NO:39的重链可变域VH和SEQ ID NO:40的轻链可变域VL,或
- [0685] d) SEQ ID NO:47的重链可变域VH和SEQ ID NO:48的轻链可变域VL,或
- [0686] e) SEQ ID NO:55的重链可变域VH和SEQ ID NO:56的轻链可变域VL;且组合疗法中使用的结合人PD-L1的抗体特征在于包含
- [0687] a) SEQ ID NO:89的重链可变域VH和SEQ ID NO:92的轻链可变域VL,或
- [0688] b) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:93的轻链可变域VL,或
- [0689] c) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:94的轻链可变域VL,或
- [0690] d) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:95的轻链可变域VL,或
- [0691] e) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:96的轻链可变域VL,或
- [0692] f) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:97的轻链可变域VL,或
- [0693] g) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:98的轻链可变域VL,或
- [0694] h) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:99的轻链可变域VL,或
- [0695] i) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:100的轻链可变域VL,或
- [0696] j) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:101的轻链可变域VL,或
- [0697] k) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:102的轻链可变域VL,或
- [0698] l) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:103的轻链可变域VL,或
- [0699] m) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:104的轻链可变域VL,或
- [0700] n) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:105的轻链可变域VL,或
- [0701] o) SEQ ID NO:90的重链可变域VH和SEQ ID NO:106的轻链可变域VL,或
- [0702] p) SEQ ID NO:91的重链可变域VH和SEQ ID NO:107的轻链可变域VL。
- [0703] 11. 依照前述项任一项的抗体,特征在于所述抗体属于人IgG1亚类或人IgG4亚类。
- [0704] 12. 依照前述项任一项的抗体,特征在于所述抗体具有降低的或最小限度的效应器功能。
- [0705] 13. 依照前述项任一项的抗体,特征在于所述最小限度的效应器功能源自效应器

降低性Fc突变。

[0706] 14. 依照前述项任一项的抗体, 特征在于所述效应器降低性Fc突变为L234A/L235A或L234A/L235A/P329G或N297A或D265A/N297A。

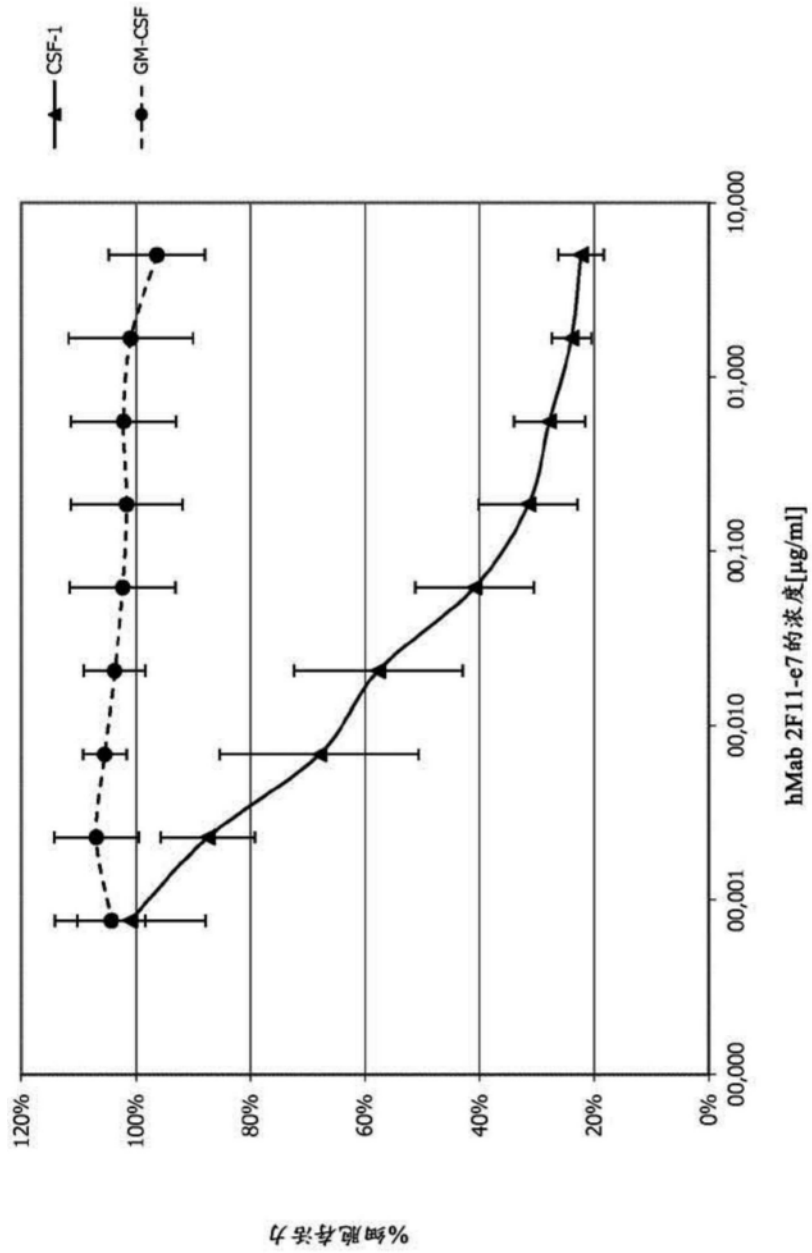


图1a

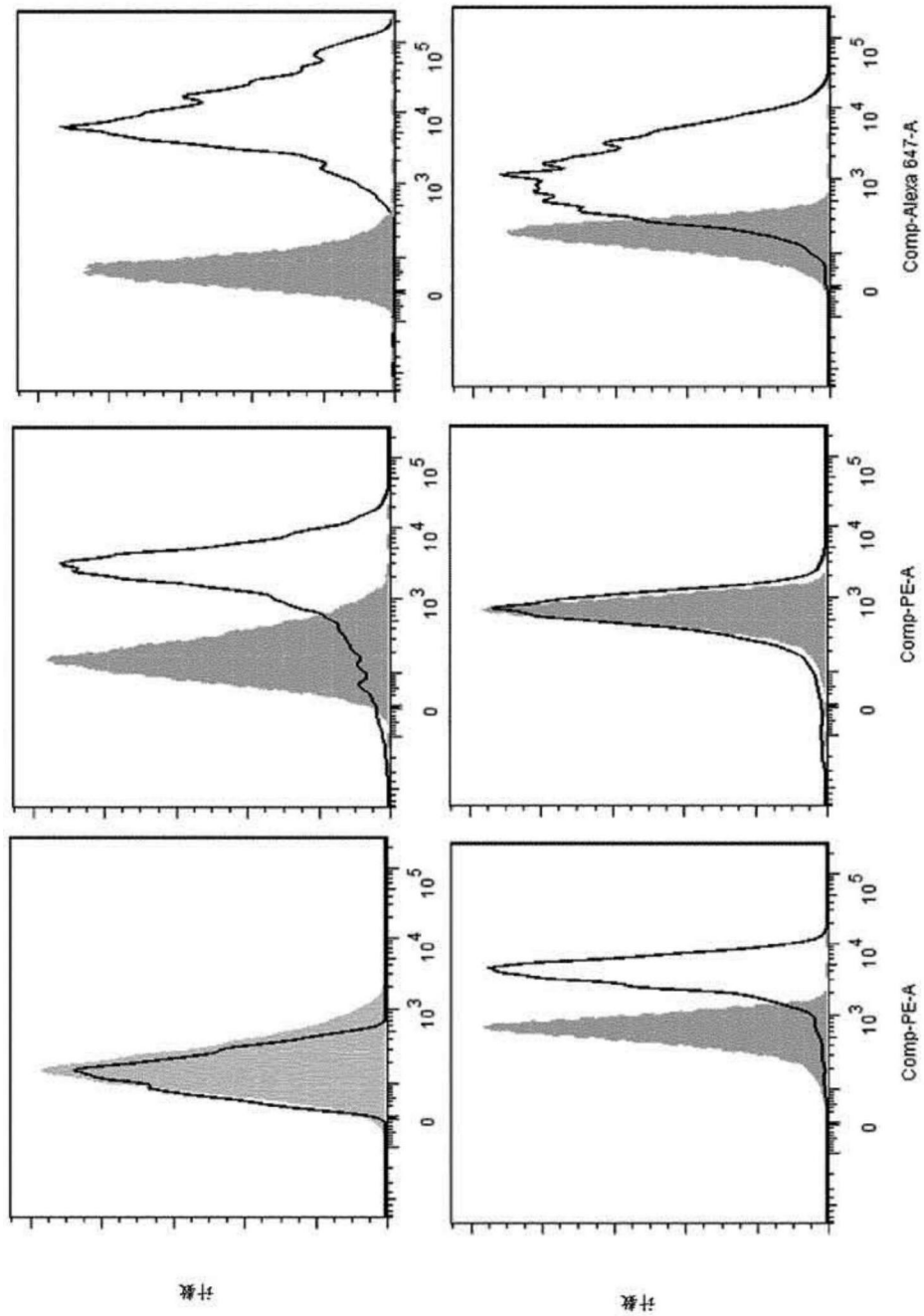


图1b

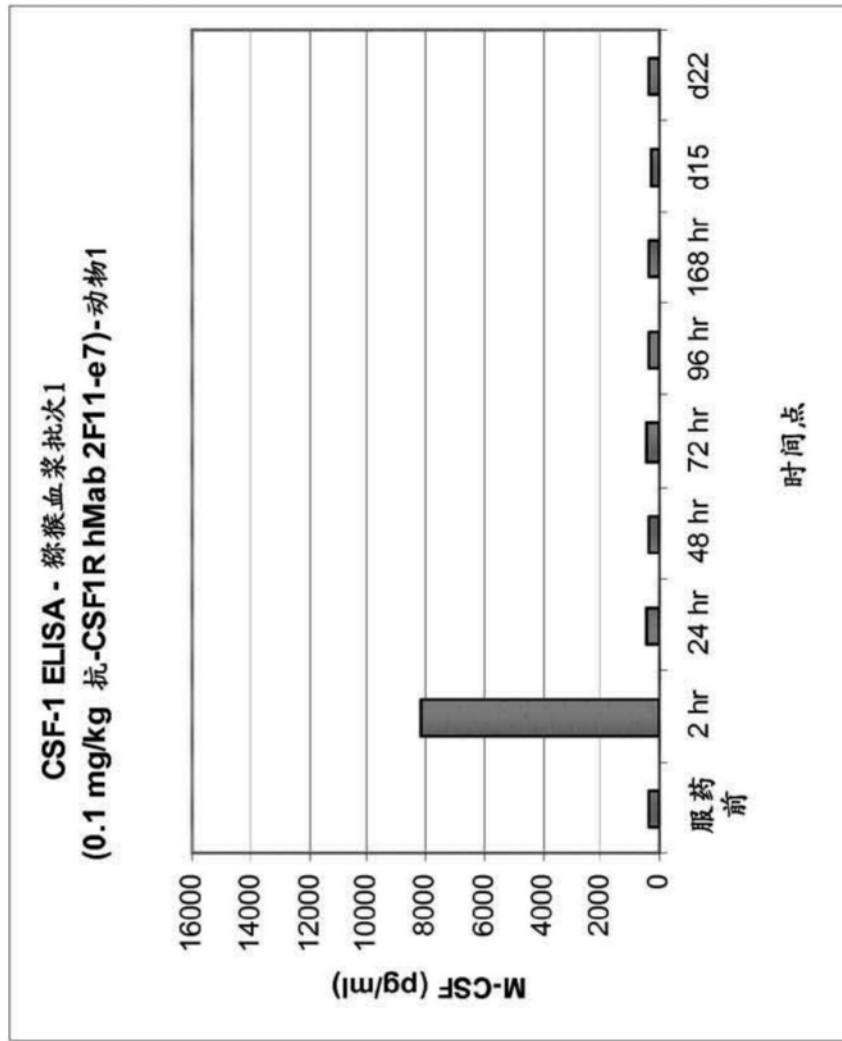


图2a

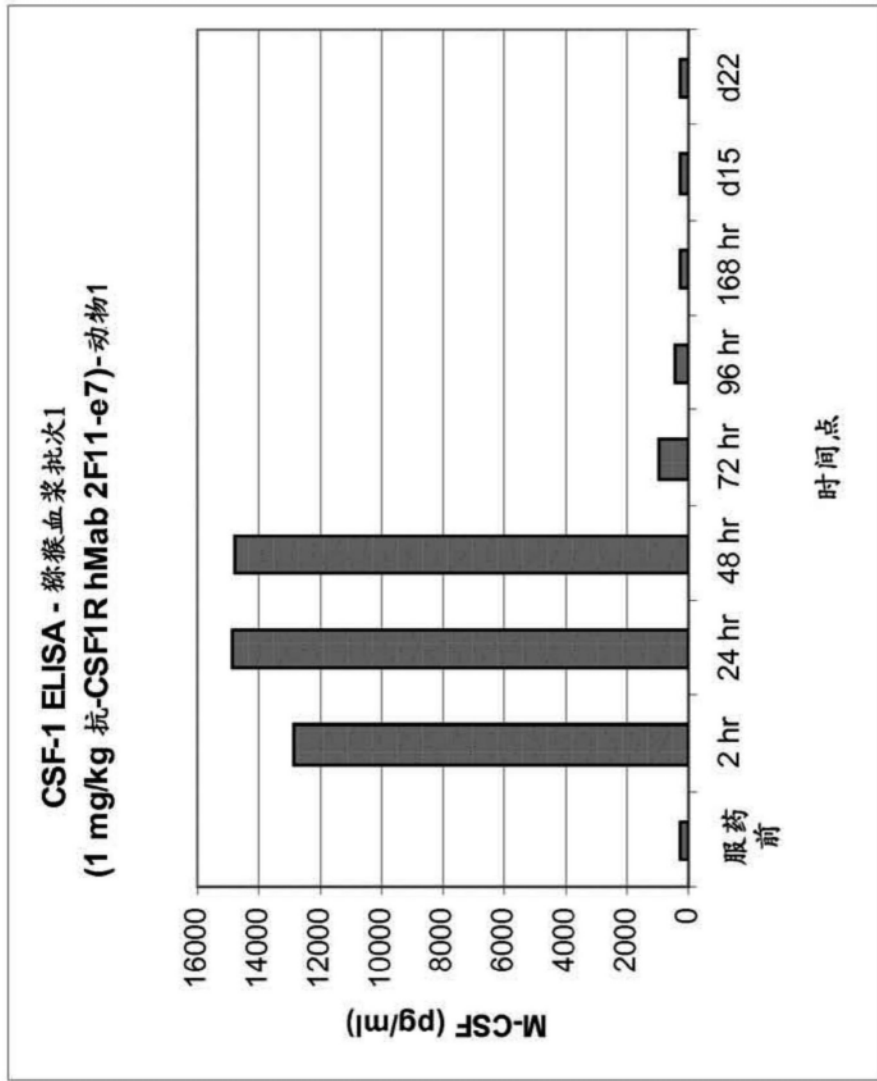


图2b

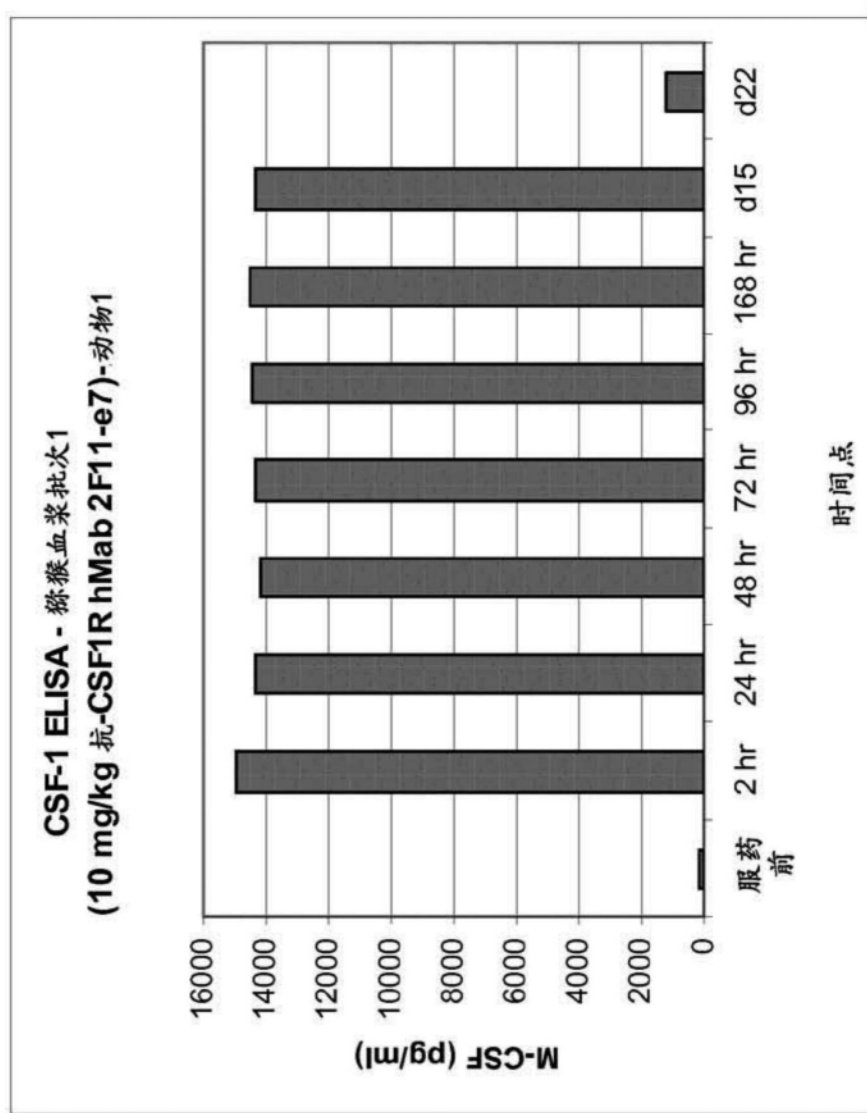


图2c

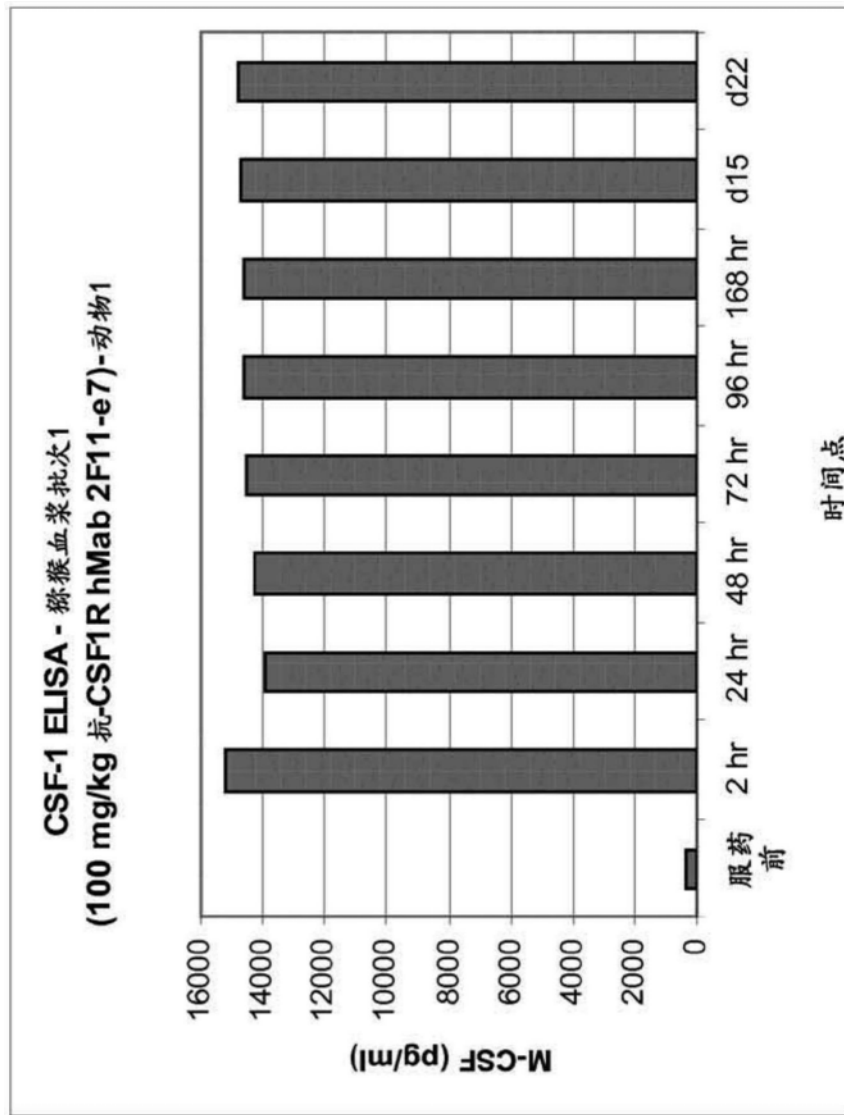


图2d

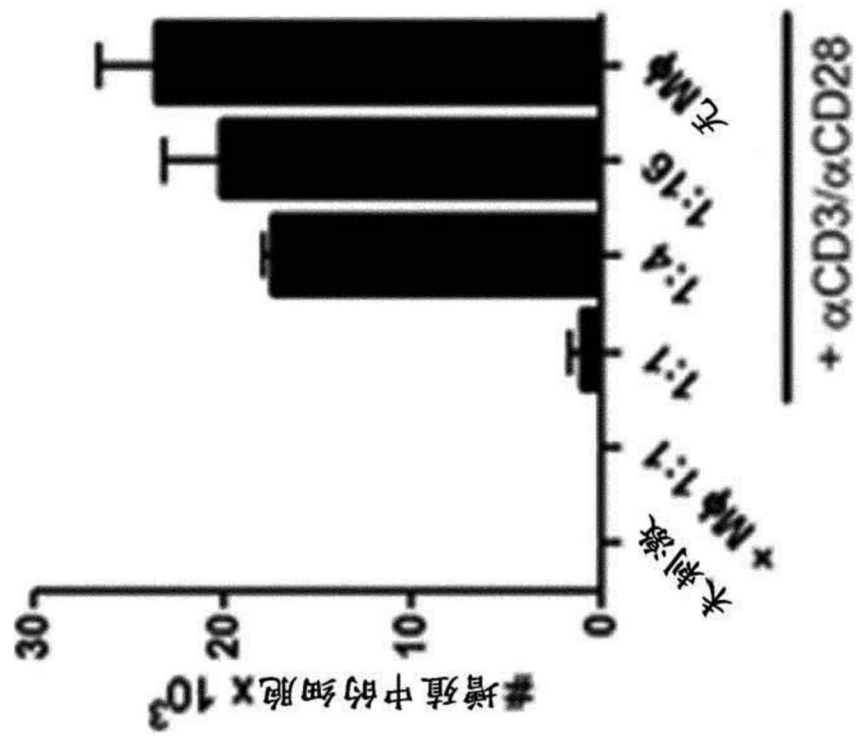


图3

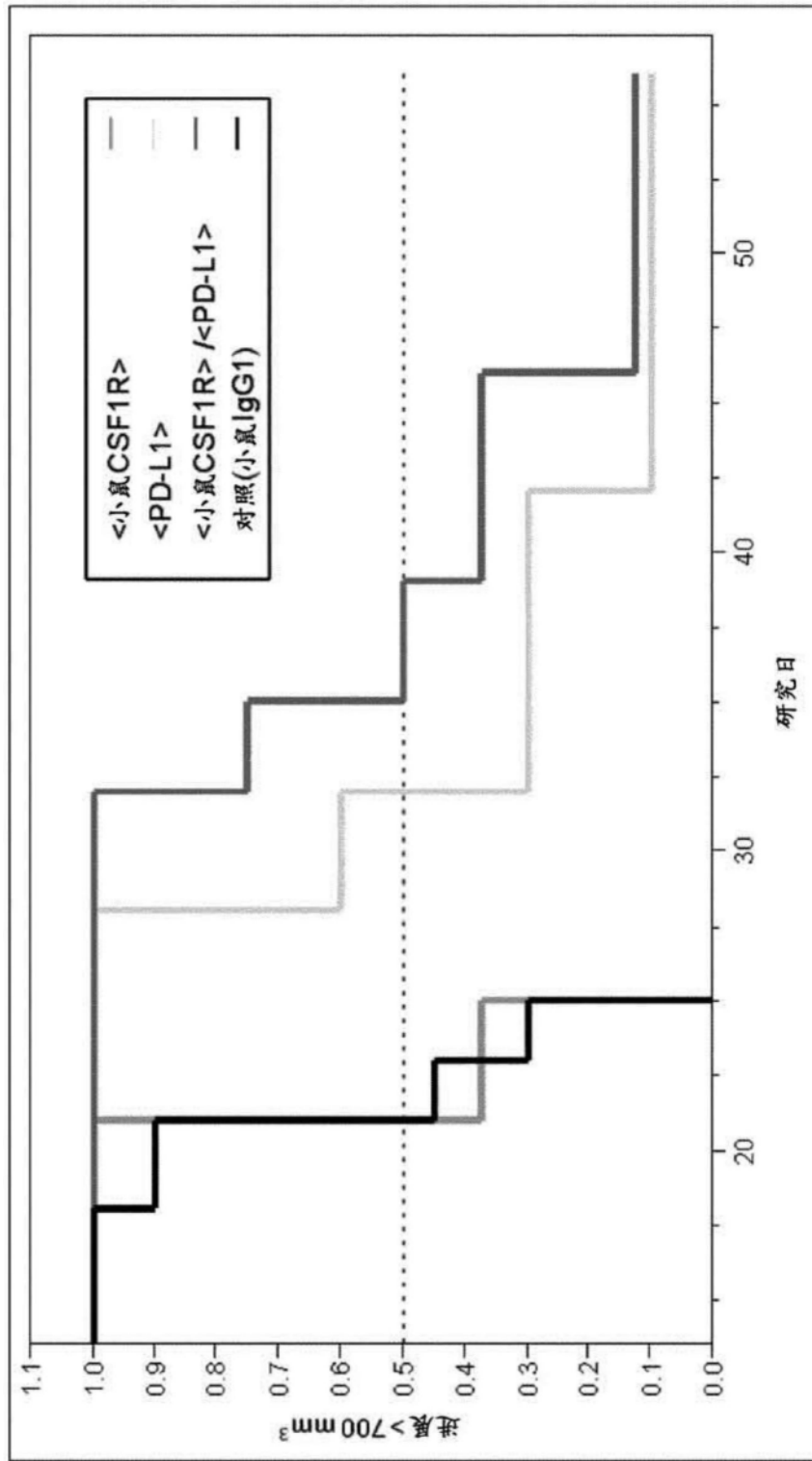


图4

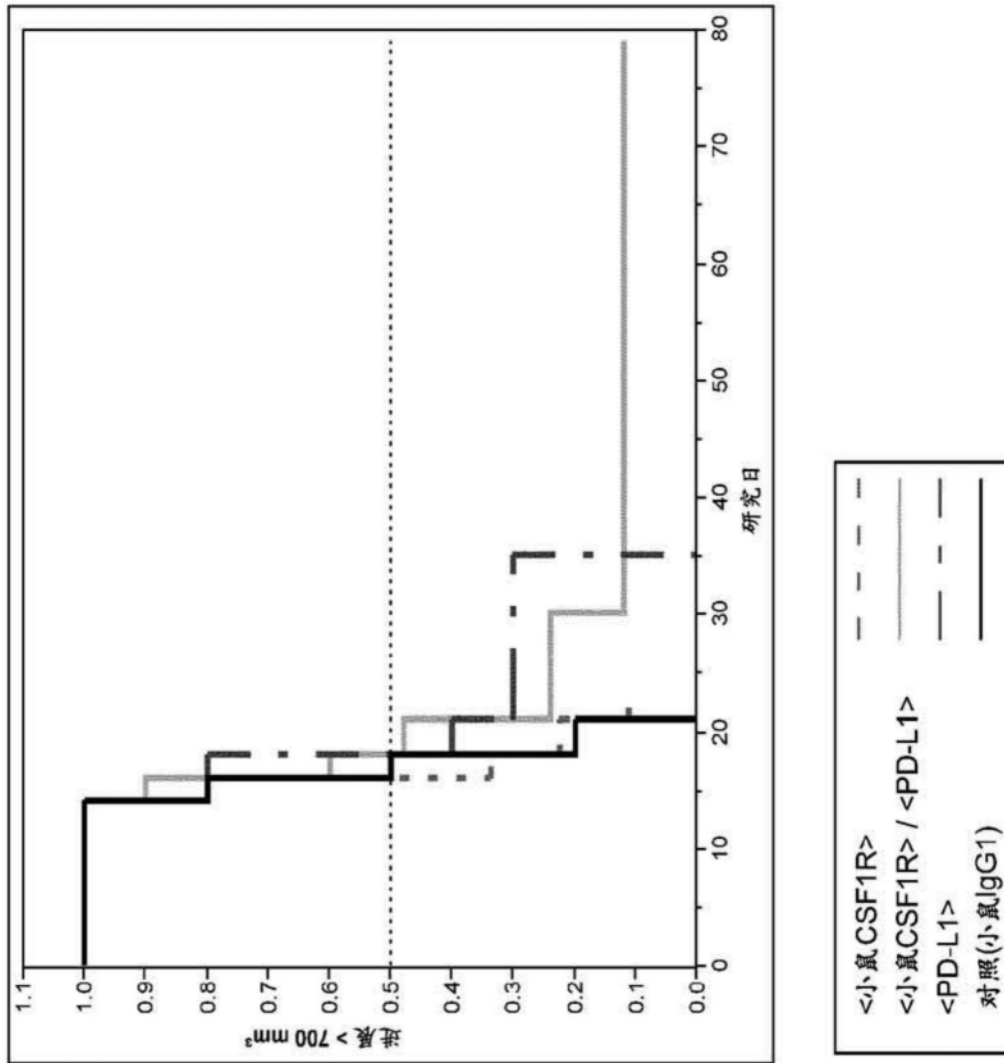


图5