



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119792515 A

(43) 申请公布日 2025.04.11

(21) 申请号 202510115562.9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2019.02.08

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(30) 优先权数据

C07K 16/28 (2006.01)

62/630,038 2018.02.13 US

62/732,828 2018.09.18 US

62/740,741 2018.10.03 US

(62) 分案原申请数据

201980013384.1 2019.02.08

(71) 申请人 默沙东有限责任公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 M·拉拉 L·贾因 李梦瑶

R·A·阿尔图拉 A·N·c·谢

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 陈文平 毛云贝

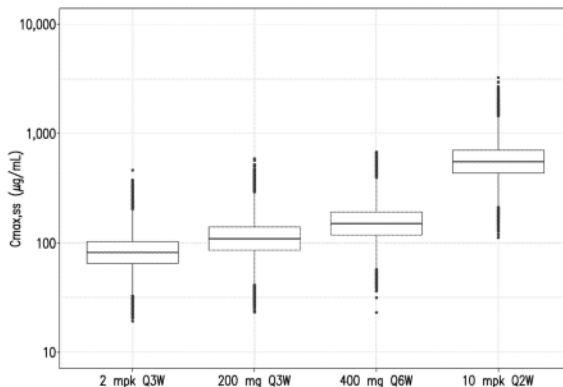
权利要求书3页 说明书45页  
序列表(电子公布) 附图5页

(54) 发明名称

用抗PD-1抗体和抗CTLA-4抗体治疗癌症的方法

(57) 摘要

本发明涉及用于治疗患者的癌症的方法,其包括每约六周向所述患者施用特定量的抗PD-1抗体或其抗原结合片段,结合每约六周向所述患者施用抗CTLA4抗体。在某些实施方式中,所述PD-1拮抗剂是派姆单抗或其抗原结合片段。还提供的是包含一定剂量的抗PD-1抗体或其抗原结合片段和一定剂量的抗CTLA4抗体或其抗原结合片段的组合物,及其用于治疗癌症的用途。



1. 一种治疗人类患者的癌症的方法,其包括每约六周向所述患者施用约400mg的抗PD-1抗体或其抗原结合片段,和每六周向所述患者施用约25mg、约50mg、约75mg、或约100mg的抗CTLA4抗体或其抗原结合片段,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 含有SEQ ID NO:1、2和3所示氨基酸序列的轻链互补决定区(CDR);和含有SEQ ID NO:6、7和8所示氨基酸序列的重链CDR;或

(b) 含有SEQ ID NO:11、12和13所示氨基酸序列的轻链CDR;和含有SEQ ID NO:14、15和16所示氨基酸序列的重链CDR;

且其中所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段包含:

(c) 含有SEQ ID NO:39、40和41所示氨基酸序列的轻链CDR;和含有SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列的重链CDR;

(d) 含有SEQ ID NO:39、40和42所示氨基酸序列的轻链CDR;和含有SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列的重链CDR;或

(e) 含有SEQ ID NO:39、40和43所示氨基酸序列的轻链CDR;和含有SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列的重链CDR。

2. 权利要求1所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 重链可变区,其含有SEQ ID NO:9或SEQ ID NO:9的变体所示氨基酸序列,和

(b) 轻链可变区,其包含:

(i) SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:4的变体所示氨基酸序列,

(ii) SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:22的变体所示氨基酸序列,或

(iii) SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:23的变体所示氨基酸序列。

3. 权利要求1或2所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:9所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的轻链可变区。

4. 权利要求1或2所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体,其包含:

(a) 重链,其含有SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:10的变体所示氨基酸序列,和

(b) 轻链,其含有SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:5的变体,SEQ ID NO:24,SEQ ID NO:24的变体;SEQ ID NO:25,或SEQ ID NO:25的变体所示氨基酸序列。

5. 权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段是包含含有SEQ ID NO:10所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:5所示氨基酸序列的轻链的单克隆抗体。

6. 权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体,其包含:

(a) 重链可变区,其含有SEQ ID NO:44所示氨基酸序列;和轻链可变区,其含有SEQ ID NO:45所示氨基酸序列;

(b) 重链可变区,其含有SEQ ID NO:46所示氨基酸序列;和轻链可变区,其含有SEQ ID NO:47所示氨基酸序列;

(c) 重链可变区,其含有SEQ ID NO:48所示氨基酸序列;和轻链可变区,其含有SEQ ID NO:49所示氨基酸序列;

(d) 重链可变区,其含有SEQ ID NO:50所示氨基酸序列;和轻链可变区,其含有SEQ ID

N0:49所示氨基酸序列;

(e) 重链可变区,其含有SEQ ID N0:51所示氨基酸序列;和轻链可变区,其含有SEQ ID N0:52所示氨基酸序列;

(f) 重链可变区,其含有SEQ ID N0:53所示氨基酸序列;和轻链可变区,其含有SEQ ID N0:54所示氨基酸序列;或

(g) 重链可变区,其含有SEQ ID N0:55所示氨基酸序列;和轻链可变区,其含有SEQ ID N0:56所示氨基酸序列。

7. 权利要求6所述的方法,其中所述单克隆抗体包含含有SEQ ID N0:50所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID N0:49所示氨基酸序列的轻链可变区。

8. 权利要求7所述的方法,其中所述单克隆抗体包含含有SEQ ID N0:57所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID N0:58所示氨基酸序列的轻链。

9. 一种治疗人类患者的癌症的方法,其包括每六周向所述患者各自施用约400mg的抗PD-1抗体和约25mg、约50mg、约75mg、或约100mg的抗CTLA4抗体,其中所述抗PD-1抗体包含(i)含有SEQ ID N0:10所示氨基酸序列的重链和(ii)含有SEQ ID N0:5所示氨基酸序列的轻链,且其中所述抗CTLA4抗体包含(iii)含有SEQ ID N0:57所示氨基酸序列的重链和(iv)含有SEQ ID N0:58所示氨基酸序列的轻链。

10. 权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述癌症是PD-1/PD-L1难治性黑素瘤。

11. 权利要求1-19中任一项所述的方法,其中所述癌症选自黑素瘤,非小细胞肺癌,头颈癌,尿路上皮癌,乳腺癌,胃肠癌,多发性骨髓瘤,肝细胞癌,非霍奇金淋巴瘤,肾癌,霍奇金淋巴瘤,间皮瘤,卵巢癌,小细胞肺癌,食道癌,肛门癌,胆道癌,结直肠癌,宫颈癌,甲状腺癌,唾液腺癌,胰腺癌,脑肿瘤,胶质母细胞瘤,肉瘤,骨肿瘤或默克尔细胞癌。

12. 权利要求1-11中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段通过静脉内或皮下施用而施用给所述患者。

13. 权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段是派姆单抗。

14. 权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体和所述抗CTLA4抗体被共同施用。

15. 权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述抗PD-1抗体和所述抗CTLA4抗体被共配制。

16. 权利要求1-15中任一项所述的方法,其包括施用25mg的所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

17. 权利要求1-15中任一项所述的方法,其包括施用50mg的所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

18. 权利要求1-15中任一项所述的方法,其包括施用75mg的所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

19. 权利要求1-15中任一项所述的方法,其包括施用100mg的所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

20. 一种用于治疗具有癌症的患者的试剂盒,所述试剂盒包括:

(a) 约400mg的抗PD-1抗体或其抗原结合片段,

(b) 约25mg、50mg、75mg、或100mg的抗CTLA4抗体或其抗原结合片段；和

(c) 用于在权利要求1-19中任一项所述的方法中使用所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段和所述抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段的说明书。

21. 权利要求20所述的试剂盒,其中所述抗PD-1抗体是派姆单抗。

22. 权利要求20或21所述的试剂盒,其中所述抗CTLA4抗体是包含含有SEQ ID NO:39、40和41所示氨基酸序列的轻链CDR和含有SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列的重链CDR的单克隆抗体。

23. 权利要求20-22中任一项所述的试剂盒,其中所述抗CTLA4抗体是包含含有SEQ ID NO:50所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:49所示氨基酸序列的轻链可变区的单克隆抗体。

24. 权利要求20-23中任一项所述的试剂盒,其中所述抗CTLA4抗体是包含含有SEQ ID NO:57所示氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:58所示氨基酸序列的轻链的单克隆抗体。

25. 权利要求20-24中任一项所述的试剂盒,其包括约25mg的所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

26. 权利要求20-25中任一项所述的试剂盒,其包括约50mg的所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

27. 权利要求20-25中任一项所述的试剂盒,其包括约75mg的所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

28. 权利要求20-25中任一项所述的试剂盒,其包括约100mg的所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

29. 权利要求20-28中任一项所述的试剂盒用于治疗患有癌症的个体的用途。

30. 权利要求29所述的用途,其中所述癌症是PD-1/PD-L1难治性黑素瘤。

31. 权利要求29所述的用途,其中所述癌症是黑素瘤,非小细胞肺癌,头颈癌,尿路上皮癌,乳腺癌,胃肠癌,多发性骨髓瘤,肝细胞癌,非霍奇金淋巴瘤,肾癌,霍奇金淋巴瘤,间皮瘤,卵巢癌,小细胞肺癌,食道癌,肛门癌,胆道癌,结直肠癌,宫颈癌,甲状腺癌,唾液腺癌,胰腺癌,脑肿瘤,胶质母细胞瘤,肉瘤,骨肿瘤或默克尔细胞癌。

## 用抗PD-1抗体和抗CTLA-4抗体治疗癌症的方法

[0001] 本申请是申请日为2019年2月8日、申请号为201980013384.1、名称为“用抗PD-1抗体和抗CTLA-4抗体治疗癌症的方法”的专利申请的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及可用于治疗癌症的疗法。特别地,本发明涉及用于治疗癌症的方法,其包括使用本文规定的剂量方案,向有需要的患者施用抗PD-1抗体或其抗原结合片段与抗CTLA4抗体或其抗原结合片段的组合。

### [0003] 相关申请的交叉引用

[0004] 该申请要求2018年2月13日提交的美国临时申请号62/630,038,2018年9月18日提交的美国临时申请号62/732,838,和2018年10月3日提交的美国临时申请号62/740,741的权益,其各自的内容通过引用全文并入本文。

### [0005] 电子提交的序列表的引用

[0006] 本申请的序列表通过EFS-Web作为ASCII格式的序列表电子提交,文件名为“24695WOPCT-SEQLIST-06FEB2019.TXT”,创建日期为2019年2月6日,且大小为56.0kb。该通过EFS-Web提交的序列表是说明书的一部分,通过引用全文并入本文。

### 发明背景

[0008] PD-1被认为是免疫调节和外周耐受维持中的重要参与者。PD-1被适度表达于幼稚T、B和NKT细胞上,并通过淋巴细胞、单核细胞和骨髓细胞上的T/B细胞受体信号传导上调(Sharpe et al.,The function of programmed cell death and its ligands in regulating autoimmunity and infection.Nature Immunology(2007);8:239-245)。

[0009] PD-1的两种已知配体:PD-L1(B7-H1)和PD-L2(B7-DC),在各种各样组织中产生的人类癌症中表达。在例如卵巢癌、肾癌、结直肠癌、胰腺癌、肝癌和黑素瘤的大型样本集中,显示PD-L1表达与不良预后和降低的总生存率相关,无论是什么后续治疗(Dong et al.,Nat Med.8(8):793-800(2002);Yang et al.Invest Ophthalmol Vis Sci.49:2518-2525(2008);Ghebeh et al.Neoplasia 8:190-198(2006);Hamanishi et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 104:3360-3365(2007);Thompson et al.,Cancer 5:206-211(2006);Nomi et al.,Clin.Cancer Research 13:2151-2157(2007);Ohigashi et al.,Clin.Cancer Research11:2947-2953(2005);Inman et al.,Cancer 109:1499-1505(2007);Shimauchi et al.Int.J.Cancer 121:2585-2590(2007);Gao et al.Clin.Cancer Research 15:971-979(2009);Nakanishi J.Cancer Immunol Immunother.56:1173-1182(2007);and Hino et al.,Cancer 00:1-9(2010))。

[0010] 类似地,在肿瘤浸润淋巴细胞上的PD-1表达被发现标记乳腺癌和黑素瘤中的功能失调T细胞(Ghebeh et al,BMC Cancer.20088:5714-15(2008);Ahmadzadeh et al.,Blood 114:1537-1544(2009)),并与肾癌的不良预后相关(Thompson et al.,Clinical Cancer Research15:1757-1761(2007))。因此,已经提出表达PD-L1的肿瘤细胞与表达PD-1的T细胞

相互作用以减弱T细胞激活且逃避免疫监视,从而贡献于受损的针对该肿瘤的免疫应答。

[0011] 靶向PD-1轴的免疫检查点疗法已导致在多种人类癌症中的临床应答的突破性改善(Brahmer et al.,N Engl J Med 2012,366:2455-65;Garon et al.N Engl J Med 2015,372:2018-28;Hamid et al.,N Engl J Med 2013,369:134-44;Robert et al.,Lancet 2014,384:1109-17;Robert et al.,N Engl J Med 2015,372:2521-32;Robert et al.,N Engl J Med 2015,372:320-30;Topalian et al.,N Engl J Med 2012,366:2443-54;Topalian et al.,J Clin Oncol 2014,32:1020-30;Wolchok et al.,N Engl J Med 2013,369:122-33)。靶向PD-1轴的免疫疗法包括被引导到PD-1受体的单克隆抗体(KEYTRUDA™(派姆单抗,pembrolizumab),Merck and Co.,Inc.,Kenilworth,NJ,USA,和OPDIVO™(nivolumab),Bristol-Myers Squibb Company,Princeton,NJ,USA),以及与PD-L1配体结合的那些(MPDL3280A;TECENTRIQ™(atezolizumab),Genentech,San Francisco,CA,USA;IMFINZI™(durvalumab),AstraZeneca Pharmaceuticals LP,Wilmington,DE;BAVENCIO™(avelumab),Merck KGaA,Darmstadt,Germany)。两种治疗方法已在众多癌症类型中展示抗肿瘤作用。

[0012] 已经提出,如果与其他批准的或实验性的癌症疗法,例如放射,外科手术,化学治疗剂,靶向疗法,抑制肿瘤中失调的其他信号传导途径的药剂,和其他免疫增强剂联合施用,这样的抗体的功效可能得到增强。已经与PD-1的拮抗剂组合测试的一种这样的试剂是细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(缩写CTLA4)的拮抗剂。

[0013] CTLA4在基因结构、染色体位置、序列同源性和基因表达方面与CD28分子具有非常密切的关系。两者都是共刺激分子B7的受体,主要在激活的T细胞的表面上表达。与B7结合后,CTLA4可以抑制小鼠和人类T细胞的激活,在T细胞的激活中起负调控作用。

[0014] CTLA4 mAb或CTLA4配体可以阻止CTLA4结合其天然配体,从而阻断CTLA4转导T细胞负调节信号和增强T细胞对各种各样抗原的响应性。在这方面,体内和体外研究的结果基本上一致。目前,有一些CTLA4 mAb正在临床试验中测试用于治疗前列腺癌、膀胱癌、结直肠癌、胃肠道癌、肝癌、恶性黑素瘤等(Grosso et al.,CTLA-4blockade in tumor models:an overview of preclinical and translational research.Cancer Immun.13:5(2013))。

[0015] 作为影响T细胞的功能的重要因素,CTLA4和CTLA4 mAb可以通过干扰体内免疫微环境而对疾病产生特定治疗效果。它们具有高功效且弥补传统药物的不足,开辟了基因疗法的新途径。CTLA4和CTLA4 mAb正在实验中和临床试验的各个阶段进行测试。例如,在自身免疫性疾病中,它们已显示在哮喘动物模型中有效抑制气道高反应性,防止发展风湿性疾病,介导对体内同种异体移植物的免疫耐受,等等。另一方面,尽管生物基因疗法在短期临床试验中未显示任何不良反应,但应注意在长期应用后的潜在作用。例如,通过CTLA4 mAb过度阻断CTLA4-B7信号传导可导致自身免疫疾病的发展。由于抗体可特异性结合其抗原并诱导靶细胞的裂解或阻断病理的进展,开发和利用基于抗体特别是人源化抗体的药物在人类的恶性肿瘤和其他免疫疾病的临床治疗中具有重要意义。

[0016] 开发对于患者更方便的、允许单独或与抗CTLA4抗体组合施用安全有效剂量的抗PD-1抗体的另外的给药方案将是有益的。开发通过使用本文提供的给药方案施用抗PD-1抗体和抗CTLA4抗体来治疗PD-1/PD-L1难治性癌症的方法将是有益的。

## 发明内容

[0017] 本发明提供了用抗PD-1抗体或其抗原结合片段治疗癌症患者的供选择的、较低频率的给药方案,其中该给药方案被预期提供安全有效剂量的抗PD-1抗体或其抗原结合片段。它还提供了用抗PD-1抗体或其抗原结合片段与抗CTLA4抗体或其抗原结合片段组合治疗癌症患者的供选择的、较低频率的给药方案。具体而言,本发明提供了一种治疗人类患者的癌症的方法,其包括每六周向所述患者施用约400mg的抗PD-1抗体或其抗原结合片段,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含:(a)含有SEQ ID NO:1、2和3所示氨基酸序列的轻链互补决定区(CDR);和含有SEQ ID NO:6、7和8所示氨基酸序列的重链CDR;或(b)含有SEQ ID NO:11、12和13所示氨基酸序列的轻链CDR;和含有SEQ ID NO:14、15和16所示氨基酸序列的重链CDR。在本发明的优选实施方式中,所述抗体或抗原结合片段是派姆单抗。

[0018] 还提供的是一种治疗人类患者的癌症的方法,其包括向所述患者施用约400mg的抗PD-1抗体或其抗原结合片段和约25mg,50mg,75mg或100mg的抗CTLA4抗体或其抗原结合片段,其中所述抗PD-1抗体和所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段各自被每六周施用于所述患者,其中所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含:(a)含有SEQ ID NO:1、2和3所示氨基酸序列的轻链互补决定区(CDR)和含有SEQ ID NO:6、7和8所示氨基酸序列的重链CDR;(b)含有SEQ ID NO:11、12和13所示氨基酸序列的轻链CDR;和含有SEQ ID NO:14、15和16所示氨基酸序列的重链CDR;且其中所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:39、40和41所示氨基酸序列的轻链CDR和含有SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列的重链CDR。

[0019] 在一个实施方式中,所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:1、2和3所示氨基酸序列的轻链CDR和含有SEQ ID NO:6、7和8所示氨基酸序列的重链CDR;且所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:39、40和41所示氨基酸序列的轻链CDR和含有SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列的重链CDR。

[0020] 在另一个实施方式中,所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:9所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:4所示氨基酸序列的轻链可变区;且所述抗CTLA4抗体包含含有SEQ ID NO:50所示氨基酸序列的重链可变区和含有SEQ ID NO:49所示氨基酸序列的轻链可变区。

[0021] 在所有上述实施方式中,施用于所述患者的所述抗PD-1抗体或其抗原结合片段的量为约350mg至约450mg。在进一步的实施方式中,所述抗PD-1抗体或抗原结合片段的量为约400mg。在进一步的实施方式中,所述抗PD-1抗体或抗原结合片段的量为400mg。

[0022] 在所有本文上述治疗方法、组合物和用途中,所述PD-1抗体或抗原结合片段抑制PD-L1与PD-1结合,优选还抑制PD-L2与PD-1结合。在本发明的治疗方法、组合物和用途的一些优选实施方式中,所述PD-1抗体或抗原结合片段是单克隆抗体,其特异性结合PD-1且阻断PD-L1与PD-1结合。在一个特定的实施方式中,所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,并且其中所述重链和轻链包含图1所示氨基酸序列(SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:10)。在另一个实施方式中,所述抗PD-1抗体包含重链和轻链,并且其中所述重链和轻链包含图1所示氨基酸序列(SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:10),且所述抗CTLA4抗体包含重链和轻链,其中所述重链和轻链包含SEQ ID NO:57和58所示氨基酸序列。

[0023] 在本发明的治疗方法、组合物和用途的一些优选实施方式中,所述抗CTLA4抗体或

抗原结合片段是与CTLA4特异性结合的单克隆抗体。在一个实施方式中,所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:39、40和41所示氨基酸序列的轻链CDR;和含有SEQ ID NO:36,37和38所示氨基酸序列的重链CDR。在一个特定的实施方式中,所述抗CTLA-4抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中所述重链和轻链可变区分别包含SEQ ID NO:50和49所示氨基酸序列。在另一个实施方式中,所述抗CTLA抗体是包含重链和轻链的单克隆抗体,其中所述重链包含SEQ ID NO:57所示氨基酸序列,且所述轻链包含SEQ ID NO:58所示氨基酸序列。

[0024] 在上述治疗方法、组合物和用途中任一者的一些实施方式中,所述癌症表达PD-L1和PD-L2中的一者或两者。在一些实施方式中,PD-L1表达在所述癌症中升高。在进一步的实施方式中,所述癌症是PD-1/PD-L1难治性的(例如,其是尚未响应于采用抗PD-1或抗PD-L1剂的之前的治疗的癌症)。在进一步的实施方式中,所述癌症是PD-1/PD-L1难治性黑素瘤。

### 附图说明

[0025] 图1显示了可用于本发明的示例性抗PD-1单克隆抗体的轻链和重链的氨基酸序列(分别为SEQ ID NO:5和10)。轻链和重链可变区用下划线示出(SEQ ID NO:4和9),而CDR以粗体和方框标出。

[0026] 图2显示了400mg Q6W的在稳态的派姆单抗C<sub>max</sub>在2mg/kg Q3W和200mg Q3W至10mg/kg Q2W的范围内。

[0027] 图3显示了在稳态的派姆单抗暴露(C<sub>avg</sub>和C<sub>min</sub>)对于400mg Q6W相对于2mg/kg Q3W和200mg Q3W是类似的。

[0028] 图4A和4B显示了对于400mg Q6W给药方案相比于200mg平坦给药方案(顶部)和Q3W、基于2mg/kg体重的给药方案(底部),在稳态的派姆单抗药代动力学曲线。结果提供为对数标度浓度(图4A)和线性标度浓度(图4B)。

### 具体实施方式

[0029] I. 定义和缩写

[0030] 如整个说明书和所附权利要求书中使用的,以下缩写适用:

[0031] AE 不良事件

[0032] AUC<sub>ss</sub> 稳态时的浓度-时间曲线下面积

[0033] BICR 遮盲独立中心回顾

[0034] C<sub>avg,ss</sub> 稳态时的时间平均浓度

[0035] CDR 互补决定区

[0036] CI 置信区间

[0037] C<sub>max,ss</sub> 稳态时的峰浓度

[0038] C<sub>min,ss</sub> 稳态时的谷浓度

[0039] CPS 综合阳性评分

[0040] CTLA4 细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4

[0041] DOR 响应持续时间

[0042] ECG 心电图

- [0043] ECOG Eastern Cooperative Oncology Group
- [0044] E-R 暴露(浓度)响应
- [0045] FFPE 福尔马林固定石蜡嵌入
- [0046] FR 框架区
- [0047] GM 几何均值
- [0048] HCC 肝细胞癌
- [0049] HNSCC 头颈鳞状细胞癌
- [0050] HL 霍奇金淋巴瘤
- [0051] IgG 免疫球蛋白G
- [0052] IHC 免疫组织化学或免疫组织化学的
- [0053] IV 静脉内
- [0054] LPS 淋巴瘤比例评分
- [0055] mAb 单克隆抗体
- [0056] MCC 默克尔细胞癌
- [0057] MEL 黑素瘤
- [0058] MMR 错配修复
- [0059] MPS 改良比例评分
- [0060] MRI 磁共振成像
- [0061] MSI-H 微卫星不稳定性高
- [0062] NCI CTCAE 国家癌症研究所-不良事件的通用术语标准
- [0063] NSCLC 非小细胞肺癌
- [0064] ORR 客观反应率
- [0065] OS 整体生存
- [0066] PD 进行性疾病
- [0067] PD-1 程序性死亡1(又名程序性细胞死亡1和程序性死亡受体1)
- [0068] PD-L1 程序性细胞死亡1配体1
- [0069] PD-L2 程序性细胞死亡1配体2
- [0070] PFS 无进展生存
- [0071] PK 药代动力学
- [0072] Q2W 每两周一剂
- [0073] Q3W 每三周一剂
- [0074] Q6W 每六周一剂
- [0075] RCC 肾细胞癌
- [0076] SAE 严重不良事件
- [0077] SC 皮下
- [0078] TPS 肿瘤比例评分
- [0079]  $V_H$  免疫球蛋白重链可变区
- [0080]  $V_L$  免疫球蛋白轻链可变区
- [0081] 下面具体定义了某些技术和科学术语,使得更容易理解本发明。除非在本文的其

他地方特别定义,否则本文中使用的所有其他技术和科学术语具有本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0082] 除非上下文清楚地指出了所指示的可能性之一,否则对“或”的引用表示任一或两种可能性。在某些情况下,使用“和/或”来突出任一或两种可能性。

[0083] 如本文所使用的,包括所附权利要求,单词的单数形式,例如“一个/种(a/an)”和“该/所述(the)”,包括其相应的复数引用,除非上下文另外明确指出。

[0084] 术语“约”当在修饰物质或组合物的量(例如,mg),或表征方法中的步骤的参数的值,等等时,是指数值量的变化,其可以例如通过与物质或组合物的制备、表征和/或使用有关的典型测量、处理和取样程序,通过这些程序中的无意错误,通过制造或使用组合物或执行程序所用成分的制造、来源或纯度中的差异等等而发生。在某些实施方式中,“约”可以表示 $\pm 0.1\%$ , $\pm 0.5\%$ , $\pm 1\%$ , $\pm 2\%$ , $\pm 3\%$ , $\pm 4\%$ , $\pm 5\%$ , $\pm 6\%$ , $\pm 7\%$ , $\pm 8\%$ , $\pm 9\%$ 或 $\pm 10\%$ 的变化。当提及“约400mg”的剂量时,剂量可以是360mg至440mg,370mg至430mg,380mg至420mg,390mg至410mg,395mg至405mg,400mg至440mg,或390mg至440mg。在替代实施方式中,剂量可以是360mg,365mg,370mg,375mg,380mg,385mg,390mg,395mg,400mg,405mg,410mg,415mg,420mg,425mg,430mg,435mg或440mg。当提到治疗性治疗方案中施用之间的时间的量时(即,抗PD-1抗体或其抗原结合片段与抗CTLA4抗体或其抗原结合片段的施用之间的时间的量,例如“约6周”,其在本文中与“每约六周”可互换使用),“约”是指规定时间 $\pm$ 变化,其可以由于围绕6周目标日期的患者/临床医生日程安排和可用性而发生。例如,“约6周”可以指6周 $\pm$ 5天,6周 $\pm$ 4天,6周 $\pm$ 3天,6周 $\pm$ 2天或6周 $\pm$ 1天,或者可以指5周2天至6周5天。

[0085] 药代动力学“稳态”是一段期间,在其期间归因于多个剂量的任何药物浓度积累已经最大化,且全身性药物暴露在施用每个后续剂量后被认为是均匀的;在派姆单抗的特定情况下,在施用约16周时和之后达到稳定状态。

[0086] AUC<sub>ss</sub>,C<sub>avg,ss</sub>和C<sub>min,ss</sub>是药物施用后在人类中对药物(例如派姆单抗)的全身性暴露的药代动力学度量,通常被认为是药物功效的驱动力。AUC<sub>ss</sub>和C<sub>avg,ss</sub>代表在给药间隔上的平均暴露,但单位不同。“C<sub>min,ss</sub>”代表在给药间隔结束时,即将在施用下一个剂量之前,观察到的最小或最低(谷)药物浓度。

[0087] “C<sub>max,ss</sub>”是药物施用后不久观察到的最大或最高(峰)药物浓度。在派姆单抗的特定情况下,其作为静脉输注液施用,峰浓度在输注结束后立即出现。C<sub>max,ss</sub>是通常被认为是驱动力安全性的驱动力的度量标准。

[0088] “施用”和“治疗”在其适用于动物、人类、实验受试者、细胞、组织、器官或生物流体时是指外源性药物、治疗剂、诊断剂或组合物与动物、人类、受试者、细胞、组织、器官或生物体液的接触。“治疗”或“治疗”癌症,如本文所用,是指向患有癌症或诊断患有癌症的受试者施用抗PD-1抗体或其抗原结合片段,单独或与抗CTLA4抗体或其抗原结合片段组合,以实现至少一种积极治疗作用,例如,减少癌细胞的数目,减小肿瘤大小,减少肿瘤细胞浸润到周围器官中的速率,或减小肿瘤转移或肿瘤生长的速率。“治疗”可包括以下一种或多种:诱导/增加抗肿瘤免疫反应,减少一种或多种肿瘤标志物的数量,中止或延迟肿瘤或血液癌的生长或与结合其配体PD-L1和/或PD-L2的PD-1有关的疾病(“PD-1相关疾病”)例如癌症的进展,PD-1相关疾病的稳定化,抑制肿瘤细胞的生长或存活,消除或减少一种或多种癌变病变

或肿瘤的大小,降低一种或多种肿瘤标志物的水平,改善或消除PD-1相关疾病的临床表现,降低PD-1相关疾病例如癌症的临床症状的严重程度或持续时间,相对于类似未治疗患者的预期生存期延长患者的生存期,和诱导癌症病状或其他PD-1相关疾病的完全或部分缓解。

[0089] 癌症的积极治疗效果可通过多种方式进行衡量(参见W.A.Weber、J.Nucl.Med.50:1S-10S(2009))。例如,关于肿瘤生长抑制,根据NCI标准, $T/C \leq 42\%$ 是抗肿瘤活性的最低水平。 $T/C < 10\%$ 被认为是高抗肿瘤活性水平, $T/C(\%) = \frac{\text{经治疗的肿瘤体积中值}}{\text{对照的肿瘤体积中值}} \times 100$ 。在一些实施方式中,由治疗有效量实现的治疗为无进展生存(PFS)、无疾病生存(DFS)或总生存(OS)中的任何一种。PFS,也称为“到肿瘤进展的时间(Time to Tumor Progression)”,是指治疗期间和之后癌症不生长的时间的长度,包括患者经历完全反应或部分反应的时间量,以及患者经历稳定疾病的时间量。DFS是指患者在治疗期间和之后保持无疾病的时间的长度。OS是指与未接受治疗或未经治疗的个体或患者相比,寿命预期延长。虽然本发明的治疗方法、组合物和用途的实施方式可能无法有效地在每个患者中实现积极的治疗效果,但这应在通过本领域已知的任何统计测试(例如学生t检验、 $\chi^2$ 检验、根据Mann and Whitney的U检验、Kruskal-Wallis检验(H检验)、Jonckheere-Terpstra检验和Wilcoxon检验)确定的统计显著数量的受试者中这样做。

[0090] 术语“患者”(在本申请中也称为“受试者”或“个体”)指能够用本发明的方法和组合物治疗的哺乳动物(例如,大鼠、小鼠、狗、猫、兔),最优选人。在一些实施方式中,患者是成年患者。在其他实施例中,患者是儿童患者。

[0091] 术语“抗体”指表现出所需生物或结合活性的任何形式的抗体。因此,其在最广泛的意义上被使用,并且具体包括但不限于单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多克隆抗体、人源化的、全人的抗体、和嵌合抗体。“亲代抗体”是指在为预期用途,例如用于人类治疗的抗体的人源化,而对抗体进行修饰之前,通过将免疫系统暴露于抗原而获得的抗体。

[0092] 通常,基本抗体结构单元包含四聚体。每个四聚体包括两对相同的多肽链,每对具有一条“轻”链(约25kDa)和一条“重”链(约50-70kDa)。每条链的氨基末端部分包括主要负责抗原识别的约100至110个或更多个氨基酸的可变区。重链的羧基末端部分可以定义主要负责效应子功能的恒定区域。通常,人的轻链分为kappa轻链和lambda轻链。此外,人重链通常分为mu、delta、gamma、alpha或epsilon,并将抗体的同种型分别定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。在轻链和重链中,可变区和恒定区由约12个或更多个氨基酸的“J”区连接,重链还包括约10个以上氨基酸的“D”区。一般参见Fundamental Immunology Ch.7(Paul,W.,ed.,2nd ed.Raven Press,N.Y.(1989))。

[0093] 每个轻/重链对的可变区形成抗体结合部位。因此,一般而言,完整的抗体具有两个结合部位。除双功能或双特异性抗体外,这两个结合部位通常是相同的。

[0094] 通常,重链和轻链的可变区均包含三个高变区,也称为互补决定区,位于相对保守的框架区内。CDR通常通过框架区对齐,从而能够结合特定的表位。一般而言,从N端到C端,轻链和重链可变域均包括FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。氨基酸分配到每个结构域通常符合以下的定义:Sequences of Proteins of Immunological Interest,Kabat,et al.;National Institutes of Health,Bethesda,Md.;5th ed.;NIH Publ.No.91-3242(1991);Kabat(1978)Adv.Prot.Chem.32:1-75;Kabat,et al.,(1977)J.Biol.Chem.252:6609-6616;Chothia,et al.,(1987)J Mol.Biol.196:901-917or Chothia,et al.,(1989)

Nature 342:878-883。

[0095] 术语“高变区”指负责抗原结合的抗体的氨基酸残基。高变区包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(即轻链可变区中的L1、CDRL2和CDRL3以及重链可变区中的CDRH1、CDRH2和CDRH3)。参见Kabat et al.(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (按序列定义抗体的CDR区域);另见Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917 (按结构定义抗体的CDR区域)。术语“框架”或“FR”残基指除了在此定义为CDR残基的高变区残基之外的可变区残基。

[0096] 除非另有说明,“抗体片段”或“抗原结合片段”指抗体的抗原结合片段,即保留与全长抗体结合的抗原特异性结合的能力的抗体片段,例如保留一个或多个CDR区域的片段。抗体结合片段的例子包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>和Fv片段。

[0097] “特异性结合”特定目标蛋白的抗体是与其他蛋白相比表现出优先结合该目标的抗体,但该特异性不要求绝对结合特异性。如果抗体的结合决定了样品中目标蛋白的存在,例如而不产生假阳性等不希望的结果,则该抗体被视为对其预期目标具有“特异性”。用于本发明的抗体或其结合片段将以比与非目标蛋白的亲和力高至少两倍、优选高至少十倍、更优选高至少20倍、最优选高至少100倍的亲和力与目标蛋白结合。如本文所用,如果抗体与包含给定氨基酸序列的多肽结合,例如成熟人PD-1或人PD-L1分子的氨基酸序列,但不与缺少该序列的蛋白质结合,则该抗体被称为与包含该序列的多肽特异性结合。

[0098] “嵌合抗体”指其中重链和/或轻链的一部分与源自特定物种(例如人类)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,而链的其余部分与源自另一物种(例如小鼠)或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源的抗体,以及该等抗体的片段,只要其表现出所需的生物活性。

[0099] “人抗体”指仅包含人免疫球蛋白序列的抗体。如果在小鼠、小鼠细胞或来源于小鼠细胞的杂交瘤中产生,人抗体可包含鼠糖链。类似地,“小鼠抗体”或“大鼠抗体”分别指仅包含小鼠或大鼠免疫球蛋白序列的抗体。

[0100] “人源化抗体”指包含来自非人类(例如鼠)抗体以及人类抗体的序列的抗体的形式。这样的抗体包含源自非人类免疫球蛋白的最小序列。一般而言,人源化抗体将包含至少一个(通常为两个)可变区的基本上全部,其中所有或基本上全部的高变环对应于非人类免疫球蛋白的高变环,并且所有或基本上全部的FR区是人类免疫球蛋白序列的FR区。人源化抗体还可选择地包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白的恒定区。必要时,在抗体克隆名称中添加前缀“hum”、“hu”或“h”,以区分人源化抗体和亲代啮齿动物抗体。啮齿动物抗体的人源化形式通常包含与亲代啮齿动物抗体相同的CDR序列,尽管某些氨基酸置换可被包含以提高亲和力、提高人源化抗体的稳定性或出于其他原因。

[0101] 术语“癌症”、“癌性”或“恶性”指或描述哺乳动物的生理状况,其典型特征为细胞生长不受控制。癌症的例子包括但不限于癌症、淋巴瘤、白血病、胚细胞瘤和肉瘤。这样的癌症的更具体的例子包括但不限于,鳞状细胞癌、骨髓瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、神经胶质瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、急性髓细胞性白血病(AML)、多发性骨髓瘤、胃肠道癌、肾癌(renal cancer)、卵巢癌、肝癌、成淋巴细胞性白血病、淋巴细胞性白血病、结肠直肠癌、子宫内膜癌、肾癌(kidney cancer)、前列腺癌、甲状腺癌、黑色素瘤、软骨瘤、成神

经细胞瘤、胰腺癌、多形性成胶质细胞瘤、子宫颈癌、脑癌、胃癌、膀胱癌、肝细胞癌、乳腺癌、结肠癌和头颈癌。可根据本发明治疗的另外的癌症包括以测试组织样品中PD-L1和PD-L2中的一种或两种表达升高为特征的那些。

[0102] “生物治疗剂”指阻断支持肿瘤维持和/或生长或抑制抗肿瘤免疫反应的任何生物途径中的配体/受体信号传导的生物分子,例如抗体或融合蛋白。

[0103] “CDR”或“CDR”指免疫球蛋白可变区中的互补决定区,通常使用Kabat编号系统定义。

[0104] “含铂化学疗法”(也称为platin)指使用化学治疗剂治疗癌症,该化学治疗剂是铂的配位化合物。含铂化学治疗剂是使DNA发生交联,导致无效DNA错配修复并通常导致细胞凋亡的烷化剂。铂的例子包括顺铂、卡铂和奥沙利铂。

[0105] “化学治疗剂”是用于治疗癌症的化合物。化学治疗剂的种类包括但不限于:烷化剂、抗代谢物、激酶抑制剂、纺丝体毒素植物生物碱、细胞毒性/抗肿瘤抗生素、拓扑异构酶抑制剂、光敏剂、抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM)、抗黄体酮、雌激素受体下调剂(ERD)、雌激素受体拮抗剂、黄体生成素释放激素激动剂、抗雄激素、芳香酶抑制剂、EGFR抑制剂、VEGF抑制剂、抑制异常细胞增殖或肿瘤生长相关基因表达的反义寡核苷酸。可用于本发明治疗方法的化学治疗剂包括细胞抑制剂和/或细胞毒性剂。

[0106] “Chothia”指Al-Lazikani et al., JMB 273:927-948(1997)中描述的抗体编号系统。

[0107] “保守修饰的变体”或“保守置换”指蛋白质中的氨基酸被具有类似特征(例如电荷、侧链大小、疏水性/亲水性、主链构象和刚性等)的其他氨基酸置换,使得可以在不改变蛋白质的生物活性或其他所需性质(例如抗原亲和力和/或特异性)的情况下频繁进行改变。本领域技术人员认识到,一般而言,多肽的非必需区域的单个氨基酸置换不显著改变生物活性(参见Watson et al. (1987) Molecular Biology of the Gene, The Benjamin/Cummings Pub.Co., p.224(4thEd.))。另外,结构或功能相似的氨基酸的置换不太可能破坏生物活性。示例性保守置换列于表1。

[0108] 表1. 示例性保守氨基酸置换

[0109]

原始残基	保守置换
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His

Met (M)	Leu;Ile;Tyr
Phe (F)	Tyr;Met;Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr;Phe
Tyr (Y)	Trp;Phe
Val (V)	Ile;Leu

[0110] 在整个说明书和权利要求书中使用的“基本上由……组成”和诸如“基本上由……组成”或“基本上由……组成”之类的变化表示包括任何所述要素或要素组,以及任选地包括与所记载的要素性质类似或不同的其他要素,这些要素不实质性地改变特定给药方案、方法或组合物的基本或新性质。作为非限制性实例,基本上由所记载的氨基酸序列组成的PD-1抗原结合片段也可包括不实质性影响该结合化合物的性质的一个或多个氨基酸,包括一个或多个氨基酸残基的置换。

[0111] “包含”或诸如“包含”、“包含”或“包含”之类的变型在整个说明书和权利要求书中以包含性的含义使用,即,指定所述特征的存在,但不排除可实质上影响本发明任何实施方式的操作或用途的进一步特征的存在或添加,除非上下文因明确的语言或必要的含义而另有要求。

[0112] 本文中使用的“共配制”或“共制剂”或“共制剂”或“共配制”指至少两种不同的抗体或其抗原结合片段,其一起配制并作为组合产品储存在单个瓶或容器(例如注射装置)中,而不是单独配制和储存,然后在给药前混合或单独给药。在一个实施方式中,共制剂包含抗PD-1抗体和抗CTLA4抗体。

[0113] “诊断性抗PD-L单克隆抗体”指特异性结合某些哺乳动物细胞的表面上表达的指定PD-L(PD-L1或PD-L2)的成熟形式的mAb。成熟PD-L缺乏前分泌前导序列,也称为前导肽。术语“PD-L”和“成熟PD-L”在本文中可互换使用,除非上下文中另有说明或显而易见,否则应理解为指同一分子。

[0114] 如本文所用,诊断性抗人PD-L1 mAb或抗hPD-L1 mAb指特异性结合成熟人PD-L1的单克隆抗体。成熟人PD-L1分子由以下序列的19-290个氨基酸组成:

[0115] MRIFAVFIFMTYWHLNNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNI

[0116] IQFVHGEEEDLVQHSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITV

[0117] KVNAPYNKINQRILVVDPVTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFN

[0118] VTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET (SEQ ID NO:17)。

[0119] 可用作免疫组织化学(IHC)检测福尔马林固定的、石蜡包埋的(FFPE)肿瘤组织切片中的PD-L1表达的诊断性抗人PD-L1 mAb的具体例子为抗体20C3和抗体22C3,其在WO 2014/100079中描述。这些抗体包含下表2所示的轻链和重链可变区氨基酸序列:

表 2. 单克隆抗体 20C3 和 22C3	
20C3 轻链成熟可变区	
[0120]	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQQ KPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLA VYYCQQSYDVVTFGAGTKLELK <span style="float: right;">SEQ ID NO:18</span>
20C3 重链成熟可变区	
	QVQVQQSGAELAEPGASVKMSCKASGYIFTSYWMHWLQRPQG GLEWIGYINPSSDYNEYSEKFMDKATLTADKASTTAYMQLISLTS <span style="float: right;">SEQ ID NO:19</span>
EDSAVYYCARGWL VHGDYYFDYWGQGTTLTVSS	
22C3 轻链成熟可变区	
[0121]	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMTCKSSQSLLHTSTRKKNYLAWYQQ KPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLA VYYCKQSYDVVTFGAGTKLELK <span style="float: right;">SEQ ID NO:20</span>
22C3 重链成熟可变区	
	QVHLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTSYWIHWIKRPGQG LEWIGYINPSSGYHEYNQKFIDKATLTADRSSSTAYMHLTSLTSED SAVYYCARGWLIHGDYYFDYWGQGTTLTVSS <span style="float: right;">SEQ ID NO:21</span>

[0122] 据报道可用于 IHC 检测 FFPE 组织切片中的 PD-L1 表达的另一种抗人 PD-L1 mAb (Chen, B. J. et al., Clin Cancer Res 19:3462-3473 (2013)) 是可从 Sino Biological, Inc. 公开获得的兔抗人 PD-L1 mAb (中国北京; 目录编号 10084-R015)。

[0123] 如本文使用的“框架区”或“FR”指除 CDR 区以外的免疫球蛋白可变区。

[0124] “分离的抗体”和“分离的抗体片段”指纯化状态,在该上下文中指提到的分子基本上不含其他生物分子,例如核酸、蛋白质、类脂、碳水化合物或其他材料,例如细胞碎片和生长介质。通常,术语“分离的”不旨在指完全不存在这样的材料或不存在水、缓冲液或盐,除非其存在的量实质性干扰本文所述结合化合物的实验或治疗用途。

[0125] 本文中使用的“Kabat”指 Elvin A. Kabat ((1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.) 首创的免疫球蛋白比对和编号系统。

[0126] “单克隆抗体”或“mAb”或“Mab”,如本文所用,指基本均一的抗体群体,即构成该群体的抗体分子在氨基酸序列上是相同的,但可能存在少量的自然发生的突变除外。相比之下,常规(多克隆)抗体制剂通常包括多种不同的抗体,其可变区具有不同的氨基酸序列,尤其是其 CDR,其通常对不同的表位具有特异性。修饰词“单克隆”表示从基本上均一的抗体群体中获得的抗体的特征,不应被解释为需要通过任何特定方法生产抗体。例如,根据本发明使用的单克隆抗体可以通过 Kohler et al. (1975) Nature 256:495 首次描述的杂交瘤方法制备,或者可以通过重组 DNA 方法制备(参见例如 U.S. Pat. No. 4,816,567)。“单克隆抗体”也可以使用例如 Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628 和 Marks et al. (1991) J. Mol. Biol. 222:581-597 描述的技术从噬菌体抗体文库分离。另见 Presta (2005)

J.Allergy Clin.Immunol.116:731。

[0127] 可用于本发明的任何治疗方法、组合物、试剂盒和用途的“抗CTLA4抗体”包括单克隆抗体 (mAb) 或其抗原结合片段,其特异性结合人CTLA4并阻断CTLA4与其配体CD80 (B7.1) 和CD 86 (B7.2) 的相互作用。抗CTLA4抗体可以是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体,并且可以包括人恒定区。在一些实施方式中,人恒定区选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区,并且在优选实施方式中,人恒定区为IgG1或IgG4恒定区。在一些实施方式中,抗原结合片段选自Fab、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、scFv和Fv片段。

[0128] 在本发明的任何治疗方法、组合物、试剂盒和用途中有用的“抗PD-1抗体”包括单克隆抗体 (mAb) 或其抗原结合片段,其与人PD-1特异性结合。PD-1及其配体的替代名称或同义词包括:PD-1的PDCD1、PD1、CD279和SLEB2;PD-L1的PDCD1L1、PDL1、B7H1、B7-4、CD274和B7H;以及PD-L2的PDCD1L2、PDL2、B7-DC、Bt dc和CD273。在本发明治疗人个体的任何治疗方法、组合物和用途中,PD-1抗体或其抗原结合片段是PD-1拮抗剂,其阻断人PD-L1与人PD-1的结合,或阻断人PD-L1和PD-L2与人PD-1两者的结合。人PD-1氨基酸序列可在NCBI座位号:NP\_005009中找到。人PD-L1和PD-L2氨基酸序列可分别在NCBI座位号:NP\_054862和NP\_079515中找到。抗PD-1抗体可以是人抗体、人源化抗体或嵌合抗体,并且可以包括人恒定区。在一些实施方式中,人恒定区选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区,并且在优选实施方式中,人恒定区为IgG1或IgG4恒定区。在一些实施方式中,抗原结合片段选自Fab、Fab'-SH、F(ab')<sub>2</sub>、scFv和Fv片段。

[0129] “PD-L1”或“PD-L2”表达指细胞表面上的指定PD-L蛋白或细胞或组织内的指定PD-L mRNA的任何可检测水平的表达,除非另有定义。PD-L蛋白表达可在肿瘤组织切片的IHC分析中用诊断性PD-L抗体或通过流式细胞术检测。或者,肿瘤细胞的PD-L蛋白表达可通过PET成像检测,使用与所需PD-L靶(例如PD-L1或PD-L2)特异性结合的结合剂(例如,抗体片段、affibody等)。检测和测量PD-L mRNA表达的技术包括RT-PCR和实时定量RT-PCR。

[0130] 已经描述了几种在肿瘤组织切片的IHC分析中量化PD-L1蛋白表达的方法。参见,例如,Thompson et al.,PNAS101(49):17174-17179(2004);Thompson et al.,Cancer Res.66:3381-3385(2006);Gadiot et al.,Cancer 117:2192-2201(2011);Taube et al.,Sci Transl Med 4,127ra37(2012);和Toplian et al.,New Eng.J Med.366(26):2443-2454(2012)。

[0131] 一种方法采用PD-L1表达为阳性或阴性的简单二元终点,阳性结果根据显示细胞表面膜染色的组织学证据的肿瘤细胞百分比确定。肿瘤组织切片被视为PD-L1表达阳性是占肿瘤细胞总数的至少1%,优选5%。

[0132] 在另一种方法中,肿瘤组织切片中的PD-L1表达在肿瘤细胞和主要包含淋巴细胞的浸润性免疫细胞中被定量。表现出膜染色的肿瘤细胞和浸润性免疫细胞的百分比分别量化为<5%、5%至9%,然后以10%递增至100%。对于肿瘤细胞,PD-L1表达如果评分<5%评分计为阴性,如果评分≥5%计为阳性。免疫浸润物中PD-L1表达被报告为半定量测量,称为调整后的炎性评分(AIS),其通过将膜染色细胞的百分比乘以浸润强度来确定,浸润强度分为无(0)、轻度(1分,罕见淋巴细胞)、中度(2分,淋巴组织细胞聚集体对肿瘤的局部浸润)或严重(3分,弥漫性浸润)。如果AIS≥5,则肿瘤组织切片对于免疫浸润物的PD-L1表达计为阳性。

[0133] 通过使用评分方法评估PD-L1在肿瘤细胞和组织切片中的浸润性免疫细胞两者中的表达,也可以对已被IHC用诊断性PD-L1抗体染色的肿瘤组织切片进行PD-L1蛋白表达评分。参见WO 2014/165422。一个PD-L1评分过程包括检查组织切片中的每个肿瘤巢以进行染色,并向组织切片分配一个或两个改良H评分(MHS)和改良比例评分(MPS)。为分配MHS,对所有受检肿瘤巢中所有活的肿瘤细胞和染色的单核炎性细胞分别进行了四个百分比的评估:(a)无染色的细胞(强度=0)、(b)弱染色的细胞(强度=1+)、(c)中等染色的细胞(强度=2+)、(d)强染色的细胞(强度=3+)。细胞必须至少有部分膜染色才能被纳入弱、中或强染色百分比。然后将估算的百分比(总和为100%)输入公式 $1x$ (弱染色细胞百分比)+ $2x$ (中等染色细胞百分比)+ $3x$ (强染色细胞百分比),并将结果分配给组织切片作为MHS。MPS通过估算所有被检查肿瘤巢中所有活的肿瘤细胞和染色的单个核炎性细胞中具有任何强度的至少部分膜染色的细胞的百分比来分配,所得百分比被分配给组织切片作为MPS。在一些实施方式中,如果MHS或MPS为阳性,则肿瘤被指定为PD-L1表达阳性。

[0134] 对肿瘤中PD-L1表达进行评分/量化的另一种方法是“组合阳性评分”或“CPS”,其指从患者的肿瘤样本中确定PD-L1表达评分的算法。CPS可用于选择采用特定治疗方案(包括给予抗PD-1抗体的治疗方法)进行治疗的患者,其中PD-L1的表达与特定患者群体相对于不表达PD-L1的相同患者群体的较高反应率相关。通过确定患有肿瘤的患者肿瘤组织中活的PD-L1阳性肿瘤细胞的数量、活的PD-L1阴性肿瘤细胞的数量和活的PD-L1阳性单个核炎性细胞(MIC)的数量并使用以下公式计算CPS来确定CPS:

$$[0135] \quad \frac{(\# \text{PD-L1 阳性肿瘤细胞}) + (\# \text{PD-L1 阳性 MIC})}{(\# \text{PD-L1 阳性肿瘤细胞}) + (\text{PD-L1 阴性肿瘤细胞})} \times 100\%$$

[0136] 在特定实施方式中,所使用的PD-L1表达评分方法是“淋巴瘤比例评分”。淋巴瘤的特征是均匀的融合细胞群,其消除了淋巴结的结构或转移部位的结构。“LPS”或“淋巴瘤比例评分”指表达PD-L1的细胞群的百分比。在确定LPS时,不试图区分真正的肿瘤细胞和反应性细胞。PD-L1表达的特征是部分或完全的膜染色强度。

[0137] PD-L1表达的另一种评分方法是“TPS”或“肿瘤比例评分”,即在细胞膜上表达PD-L1的肿瘤细胞的百分比。TPS通常包括以任何强度(弱、中或强)表达PD-L1的肿瘤细胞的百分比,该百分比可通过使用诊断性抗人PD-L1 mAb(例如上文所述的抗体20C3和抗体22C3)的免疫组织化学分析来确定。如果存在膜染色,包括部分膜染色的细胞,细胞被认为表达PD-L1。

[0138] PD-L mRNA表达水平可与定量RT-PCR中常用的一个或多个参考基因(如泛素c)的mRNA表达水平进行比较。

[0139] 在一些实施方式中,基于与适当对照的PD-L1表达水平(蛋白质和/或mRNA)的比较,恶性细胞和/或肿瘤内浸润免疫细胞的PD-L1表达水平(蛋白质和/或mRNA)被确定为“过表达”或“升高”。例如,对照PD-L1蛋白或mRNA表达水平可以是在相同类型的非恶性细胞中或在匹配的正常组织切片中量化的水平。在一些优选实施方式中,如果肿瘤样品中的PD-L1蛋白(和/或PD-L1 mRNA)比对照样品中的PD-L1-蛋白(和/或PD-L1 mRNA)高至少10%、20%或30%,则确定肿瘤样品中的PD-L1表达升高。

[0140] “组织切片”指组织样本的单个部分或片段,例如从正常组织或肿瘤样本中切下的

组织薄片。

[0141] “肿瘤”适用于被诊断为或疑似患有癌症的受试者,指任何大小的恶性或潜在恶性肿瘤或组织块,包括原发性肿瘤和继发性肿瘤。实体肿瘤是指通常不含囊肿或液体区域的异常生长或组织块。不同类型的实体肿瘤以形成实体肿瘤的细胞类型命名。实体瘤的例子有肉瘤、癌和淋巴瘤。白血病(血癌)通常不形成实体肿瘤(美国国家癌症研究所,癌症术语词典)。

[0142] 本文中使用的“可变区”或“V区”指不同抗体之间顺序可变的IgG链片段。它延伸至轻链中的Kabat残基109和重链中的113。

[0143] 本文中使用的“RECIST 1.1响应标准”,视情况而定,基于其中测量反应的上下文,指Eisenhauer, E.A. et al., Eur. J. Cancer 45:228-247 (2009) 针对目标损害或非目标损害所述的定义。

[0144] II. 可用于本发明的PD-1抗体和抗原结合片段

[0145] 美国专利7,521,051、8,008,449和8,354,509中描述了可用于本发明的治疗方法、组合物和用途的与人PD-1结合的mAb的例子。在本发明的治疗方法、组合物和用途中用作PD-1拮抗剂的特定抗人PD-1mAb包括:派姆单抗(以前称为MK-3475、SCH 900475和lambrolizumab),其是具有WHO Drug Information第27卷第2期第161-162页(2013)中所述结构的人源化IgG4 mAb,其包含图1所示的重链和轻链氨基酸序列,以及人源化抗体h409A11、h409A16和h409A17,其在W02008/156712和表3中描述。

[0146] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的一些实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含:(a)包含SEQ ID NO:1、2和3所述氨基酸序列的轻链CDR和包含SEQ ID NO:6、7和8所述氨基酸序列的重链CDR;或(b)包含SEQ ID NO:11、12和13所述氨基酸序列的轻链CDR和包含SEQ ID NO:14、15和16所述氨基酸序列的重链CDR。在本发明的一些实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段是人抗体。在其他实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段是人源化抗体。在其他实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段是嵌合抗体。在特定实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体。

[0147] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的其他实施方式中,PD-1抗体或其抗原结合片段与人PD-1特异性结合,并包含(a)包含SEQ ID NO:9或其变体所述氨基酸序列的重链可变区,和(b)包含选自SEQ ID NO:4或其变体;SEQ ID NO:22或其变体;和SEQ ID NO:23或其变体的氨基酸序列的轻链可变区。

[0148] 重链可变区序列或全长重链序列的变体与参考序列相同,除了在框架区(即CDR之外)具有最多17个保守氨基酸置换,并且优选在框架区具有少于10个、9个、8个、7个、6个或5个保守氨基酸置换。轻链可变区序列或全长轻链序列的变体与参考序列相同,除了在框架区(即CDR之外)具有最多五个保守氨基酸置换,并且优选在框架区具有少于四个、三个或两个保守氨基酸置换。

[0149] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的另一个实施方式中,PD-1抗体或其抗原结合片段是与PD-1特异性结合的单克隆抗体,并且包含(a)包含或由SEQ ID NO:10或其变体所述氨基酸序列组成的重链;和(b)包含或由SEQ ID NO:5或其变体;SEQ ID NO:24或其变体;或SEQ ID NO:25或其变体所述氨基酸序列组成的轻链。

[0150] 在本发明的治疗方法、组合物和用途的另一个实施方式中,PD-1抗体或其抗原结

合片段是与人PD-1特异性结合的单克隆抗体,并且包含(a)包含或由SEQ ID NO:10所述氨基酸序列组成的重链和(b)包含或由SEQ ID NO:5所述氨基酸序列组成的轻链。

[0151] 下表3列出了用于本发明治疗方法、组合物、试剂盒和用途的示例性抗PD-1mAb的氨基酸序列。

表 3. 示例性抗人 PD-1 抗体	
A. 包含 WO2008/156712 中的 hPD-1.09A 的轻和重链 CDR (派姆单抗的轻和重链 CDR)	
CDRL1	SEQ ID NO:1
CDRL2	SEQ ID NO:2
CDRL3	SEQ ID NO:3
CDRH1	SEQ ID NO:6
CDRH2	SEQ ID NO:7
CDRH3	SEQ ID NO:8
B. 包含 WO2008/156712 中的 hPD-1.08A 的轻和重链 CDR	
CDRL1	SEQ ID NO:11
CDRL2	SEQ ID NO:12
CDRL3	SEQ ID NO:13
CDRH1	SEQ ID NO:14
CDRH2	SEQ ID NO:15
CDRH3	SEQ ID NO:16
C. 包含 WO 2008/156712 中的成熟 h109A 重链可变区 (V <sub>H</sub> ) 和成熟 K09A 轻链可变 (V <sub>L</sub> ) 区之一	
重链 V <sub>H</sub>	SEQ ID NO:9 (派姆单抗的 V <sub>H</sub> )
轻链 V <sub>L</sub>	SEQ ID NO:4 (派姆单抗的 V <sub>L</sub> )或 SEQ ID NO:22 或 SEQ ID NO:23
D. 包含 WO 2008/156712 中的成熟 409 重链和成熟 K09A 轻链之一	
重链	SEQ ID NO:10 (派姆单抗的重链)
轻链	SEQ ID NO:5 (派姆单抗的轻链)或 SEQ ID NO:24 或 SEQ ID NO:25

[0154] III. 可用于本发明的抗CTLA4抗体和抗原结合片段

[0155] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的一个实施方式中,抗CTLA-4抗体是人单克隆抗体10D1,现称为伊匹单抗,并作为Yervoy™上市,公开于US Patent No.6,984,720和WHO Drug Information 19(4):61(2005)。在另一个实施方式中,抗CTLA-4抗体是 tremelimumab,也称为CP-675,206,其是在美国专利申请公开号2012/263677或PCT国际申请公开号WO 2012/122444或WO 2007/113648A2中描述的IgG2单克隆抗体。

[0156] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的进一步实施方式中,抗CTLA4抗体或其抗原结合片段包含:包含SEQ ID NO:26、27和28所述氨基酸序列的轻链CDR和包含SEQ ID NO:29、30和31所述氨基酸序列的重链CDR。

[0157] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的其他实施方式中,抗CTLA4抗体是

单克隆抗体或其抗原结合片段,其与人CTLA4结合,并包含(a)重链可变区,其包含SEQ ID NO:32所述氨基酸序列,和(b)轻链可变区,其包含SEQ ID NO:33所述氨基酸序列。

示例性抗人 CTLA4 抗体	
A. 包含伊匹单抗的轻和重链 CDR	
[0158] CDRL1	RASQSVGSSYLA (SEQ ID NO: 26)
CDRL2	GAFSRAT (SEQ ID NO: 27)
CDRL3	QQYGSSPWT (SEQ ID NO: 28)
CDRH1	SYTMH (SEQ ID NO: 29)
CDRH2	FISYDGNNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 30)
CDRH3	TGWLGPFDY (SEQ ID NO: 31)
C. 包含伊匹单抗的成熟重链可变区和成熟轻链可变区	
[0159] 重链 VR	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQA PGKGLEWVTFISYDGNNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 32)
轻链 VR	EIVLTQSPGT LSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLISRLE PEDFAVYYCQQYGSSPWFQGGTKVEIK (SEQ ID NO: 33)
D. 包含伊匹单抗的成熟重链和成熟轻链	
重链	SEQ ID NO:34
轻链	SEQ ID NO:35

[0160] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的一个实施方式中,抗CTLA-4抗体是单克隆抗体,其包含具有SEQ ID NO:34所述氨基酸序列的重链和包含SEQ ID NO:35所述氨基酸序列的轻链。在一些实施方式中,抗CTLA4抗体是SEQ ID NO:34和/或SEQ ID NO:35的抗原结合片段,其中该抗原结合片段与CTLA4特异性结合。

[0161] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的一个实施方式中,抗CTLA-4抗体是国际申请公开号W0 2016/015675 A1中公开的任何抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。在一个实施方式中,抗CTLA4抗体是包含以下CDR的单克隆抗体:

[0162] CDRH1,包含氨基酸序列GFTFSDNW(SEQ ID NO:36);

[0163] CDRH2,包含氨基酸序列IRNKPYNYET(SEQ ID NO:37);

[0164] CDRH3,包含氨基酸序列TAQFAY(SEQ ID NO:38)

[0165] 和/或

[0166] CDRL1,包含氨基酸序列ENIYGG(SEQ ID NO:39);

[0167] CDRL2,包含氨基酸序列GAT(SEQ ID NO:40);和

[0168] CDRL3,包含选自以下的氨基酸序列:QNVLRSPFT(SEQ ID NO:41);QNVLSRHPG(SEQ ID NO:42);或QNVLSSRPG(SEQ ID NO:43)。

[0169] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的一个实施方式中,抗CTLA4抗体为8D2/8D2(RE)或其变体、8D2H1L1或其变体、8D2H2L2或其变体、8D3H3L3或其变体、8D2H2L15或其变体、或8D2H2117或其变体。

抗体	V <sub>H</sub>	V <sub>L</sub>
8D2/8D2 (RE)	EVKLDDEGGGLVQPGRPMKLSVAS GFTFSDNWMNWVRQSPKGLEWLA QIRNKPYNYETYYSVSKGRFTISR DSKSSVYLQMNNLRGDMGIYYCTA QFAYWGQGLVTVSA (SEQ ID NO:44)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCGT SENIYGGLNHWYQRKQKSPQLLIF GATNLADGMSSRFSGSGSRQYSL KISSLHPDDVATYYCQNVLRSPFTF GSGTKLEI (SEQ ID NO:45)
8D2H1L 1	EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAAS GFTFSDNWMNWVRQAPKGLEWLA QIRNKPYNYETYYSVSKGRFTISR DSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTA QFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:46)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRT SENIYGGLNHWYQRKQKSPKLLIY GATNLASGMSSRFSGSGSDTYTL KISSLHPDDVATYYCQNVLRSPFTF GSGTKLEIK (SEQ ID NO:47)
8D2H2L 2	EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAAS GFTFSDNWMNWVRQAPKGLEWLA QIRNKPYNYETYYSASVSKGRFTISR DSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTA QFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:48)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRT SENIYGGLNHWYQRKPGKSPKLLIY GATNLASGVSSRFSGSGSDTYTL TISSLQPEDVATYYCQNVLRSPFTF GSGTKLEIK (SEQ ID NO:49)
8D2H2L 2 VARIANT 1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSDNWMNWVRQAPKGLEWLAQ IRNKPYNYETYYSASVSKGRFTISR DSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTA QFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 50)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRT SENIYGGLNHWYQRKPGKSPKLLIY GATNLASGVSSRFSGSGSDTYTL TISSLQPEDVATYYCQNVLRSPFTF GSGTKLEIK (SEQ ID NO:49)
8D3H3L 3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSDNWMNWVRQAPKGLEWVAQ IRNKPYNYETEYAASVSKGRFTISR DSKNSAYLQMNSLKTEDTAVYYCTA QFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:51)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRA SENIYGGLNHWYQKPGKAPKLLIY GATSLASGVPSRFSGSGSDTYTLT ISSLQPEDFATYYCQNVLRSPFTFG SGTKLEIK (SEQ ID NO:52)
8D2H2L 15	EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAAS GFTFSDNWMNWVRQAPKGLEWLA QIRNKPYNYETYYSASVSKGRFTISR DSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTA QFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:53)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRT SENIYGGLNHWYQRKPGKSPKLLIY GATNLASGVSSRFSGSGSDTYTL TISSLQPEDVATYYCQNVLSRHPGF GSGTKLEIK (SEQ ID NO:54)
8D2H2L	EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCAAS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRT
17	GFTFSDNWMNWVRQAPKGLEWLA QIRNKPYNYETYYSASVSKGRFTISR DSKNSVYLQMNSLKTEDTGVYYCTA QFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:55)	SENIYGGLNHWYQRKPGKSPKLLIY GATNLASGVSSRFSGSGSDTYTL TISSLQPEDVATYYCQNVLSRHPGF GSGTKLEIK (SEQ ID NO:56)

[0172] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的另一个实施方式中,抗CTLA4抗体是8D2/8D2 (RE) 的变体、8D2H1L1的变体、8D2H2L2的变体、8D2H2L15的变体或8D2H2L17的变体,其中V<sub>H</sub>链氨基酸序列第18位的甲硫氨酸 (Met) 独立地被选自亮氨酸 (Leu)、缬氨酸 (Val)、异亮氨酸 (Ile) 或丙氨酸 (Ala) 的氨基酸置换。在本发明的实施方式中,抗CTLA4抗体包含上表中所列的8D2H2L2变体1的序列。

[0173] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的另一个实施方式中,抗CTLA4抗体为8D2H2L2变体1,具有SEQ ID NO:57所示全重链氨基酸序列和SEQ ID NO:58所示全轻链序列。

抗体	全重链	全轻链
8D2H2L2 变体1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSDNWMNWVRQAPGKGLEWLAQ IRNKPYNYETYYSASVKGRFTISRDD SKNSVYLQMNSLKTEDTGVIYCTAQ FAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 57)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRT SENIYGGLNHWYQRKPGKSPKLLIY GATNLAGSVSSRFSGSGSDTYTL TISSLQPEDVATYYCQNVLRSPFTF GSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 58)

[0175] 在本发明的治疗方法、组合物、试剂盒和用途的一个实施方式中,抗CTLA4抗体是2018年3月1日公布的国际申请公开号W02018/035710A1中公开的任何抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

#### [0176] IV. 本发明的方法和用途

[0177] 本发明提供了一种治疗人类患者癌症的方法,其包括每约六周一次向患者施用约400mg抗PD-1抗体或其抗原结合片段,其中抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含:(a)包含SEQ ID NO:1、2和3所示氨基酸序列的轻链互补决定区(CDR)和包含SEQ ID NO:6、7和8所示氨基酸序列的重链CDR;或(b)包含SEQ ID NO:11、12和13所示氨基酸序列的轻链CDR和包含SEQ ID NO:14、15和16所示氨基酸序列的重链CDR。在特定实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段为派姆单抗。

[0178] 本发明还提供了一种治疗人类患者癌症的方法,其包括每六周一次向患者施用约400mg抗PD-1抗体或其抗原结合片段,其中抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含:(a)包含SEQ ID NO:1、2和3所示氨基酸序列的轻链互补决定区(CDR)和包含SEQ ID NO:6、7和8所示氨基酸序列的重链CDR;或(b)包含SEQ ID NO:11、12和13所示氨基酸序列的轻链CDR和包含SEQ ID NO:14、15和16所示氨基酸序列的重链CDR;并且其中所述抗CTLA4抗体或其抗原结合片段包含:(c)包含SEQ ID NO:39、40和41所示氨基酸序列的轻链CDR和包含SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列的重链CDR;(d)包含SEQ ID NO:39、40和42所示氨基酸序列的轻链CDR和包含SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列的重链CDR;或(e)包含SEQ ID NO:39、40和43所示氨基酸序列的轻链CDR和包含SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列的重链CDR。

[0179] 在一些实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段包含轻链CDR和重链CDR,所述轻链CDR包含SEQ ID NO:1、2和3所示氨基酸序列,所述重链CDR包含SEQ ID NO:6、7和8所示

氨基酸序列;并且抗CTLA4抗体或其抗原结合片段包含轻链CDR和重链CDR,所述轻链CDR包含SEQ ID NO:39、40和43所示氨基酸序列,所述重链CDR包含SEQ ID NO:36、37和38所示氨基酸序列。

[0180] 在本发明的一些实施方式中,在12周或更长时间,抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段向患者每约六周施用一次。在其他实施方式中,在18周或更长时间、24周或更长时间、30周或更长时间、36周或更长时间、42周或更长时间、48周或更长时间、54周或更长时间、60周或更长时间、66周或更长时间、72周或更长时间、78周或更长时间、84周或更长时间或90周或更长时间,每六周一次向患者施用抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。在一个实施方式中,施用发生在同一天。在一个子实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段在同一天同时施用(例如,以单一制剂或作为单独制剂同时)。在另一个实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段在同一天按任一顺序顺序施用(例如,作为单独制剂)。在同一天顺序施用的一个实施方式中,首先施用抗PD-1抗体或其抗原结合片段。在同一天顺序施用的另一个实施方式中,首先施用抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

[0181] 在第一实施方式(实施方式E1)中,本发明包括一种治疗人类患者癌症的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。在(实施方式1)的另一实施方式中,本发明进一步包括每约六周一次向患者施用25mg、50mg、75mg或100mg的抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。在一个实施方式中,每约六周施用25mg抗CTLA4抗体一次。在一个实施方式中,大约每六周施用50mg抗CTLA4抗体一次。在另一个实施方式中,约每六周施用75mg抗CTLA4抗体一次。在另一个实施方式中,每约六周施用100mg抗CTLA4抗体一次。在进一步的实施方式中,所述癌症为PD-1/PD-L1难治性(例如,其为对先前使用抗PD-1或抗PD-L1试剂的治疗无反应的癌症)。在进一步的实施方式中,癌症为PD-1/PD-L1难治性黑素瘤。在另一个实施方式中,所述癌症为黑素瘤、非小细胞肺癌、头颈癌、尿路癌、乳腺癌、胃肠癌、多发性骨髓瘤、肝细胞癌、非霍奇金淋巴瘤、肾癌、霍奇金淋巴瘤、间皮瘤、卵巢癌、小细胞肺癌、食道癌、肛门癌、胆道癌、结直肠癌、子宫颈癌、甲状腺癌、唾液腺癌、胰腺癌、脑瘤、成胶质细胞瘤、肉瘤、骨肿瘤或默克尔细胞癌。

[0182] 在第二实施方式(实施方式E2)中,本发明包括一种治疗人类患者中不可切除的或转移的黑素瘤的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0183] 在第三实施方式(实施方式E3)中,本发明包括一种治疗人类患者的转移性非小细胞肺癌(NSCLC)的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0184] 在实施方式E3的子实施方式(实施方式E3-A)中,患者患有PD-L1高表达的肿瘤[ (肿瘤比例评分(TPS)  $\geq 50\%$  ) ],且之前未接受含铂化学治疗。

[0185] 在实施方式E3的另一个子实施方式(实施方式E3-B)中,患者患有PD-L1表达(TPS  $\geq 1\%$ )的肿瘤,并且之前接受了含铂化学治疗。在实施方式E3-B的特定实施方式中,患者在接受含铂化学治疗时或之后具有疾病进展。

[0186] 在实施方式E3的另一个子实施方式(实施方式E3-C)中,患者患有PD-L1表达(TPS  $\geq 1\%$ )的肿瘤,且之前未接受含铂化学治疗。

[0187] 在实施方式E3的另一个子实施方式(实施方式E3-D)中,不对患者的肿瘤测试PD-L1表达。在该实施方式中,用抗PD-1抗体或其抗原结合片段治疗患者,无论PD-L1表达如何。在特定实施方式中,患者先前未接受含铂化学治疗。

[0188] 在实施方式E3的某些实施方式(包括实施方式E3-A、E3-B和E3-C)中,PD-L1 TPS由FDA批准的测试确定。

[0189] 在实施方式E3的某些实施方式(包括实施方式E3-A、E3-B、E3-C和E3-D)中,患者的肿瘤没有EGFR或ALK基因组异常。

[0190] 在实施方式E3的某些实施方式(包括实施方式E3-A、E3-B、E3-C和E3-D)中,患者的肿瘤具有EGFR或ALK基因组异常,并在接受抗PD-1抗体或其抗原结合片段之前接受EGFR或ALK异常治疗时或之后具有疾病进展。

[0191] 在第四实施方式(实施方式E4)中,本发明包括一种治疗人类患者的转移性非小细胞肺癌(NSCLC)的方法,该方法包括:(1)每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段,以及(2)向患者施用培美曲塞和卡铂。在实施方式E4的子实施方式中,在开始抗PD-1抗体或其抗原结合片段、培美曲塞和卡铂的联合治疗方案之前,患者未接受过抗癌治疗。

[0192] 在实施方式E3和E4的某些实施方式(包括其子实施方式)中,患者患有非鳞状非小细胞肺癌。

[0193] 在实施方式E4的子实施方式中,培美曲塞以500mg/m<sup>2</sup>的量施用于患者。

[0194] 在实施方式E4的子实施方式中,培美曲塞每21天通过静脉输注施用于患者。在特定实施方式中,输注时间为约10分钟。

[0195] 在实施方式E4的子实施方式(实施方式E4-A)中,本发明进一步包括从向患者施用培美曲塞前约7天开始并持续至向患者施用最后一剂培美曲塞后约21天,每天一次向患者施用约400μg至约1000μg的叶酸。在某些实施方式中,叶酸是口服施用的。

[0196] 在实施方式E4和E4-A的子实施方式(实施方式E4-B)中,本发明进一步包括在首次施用培美曲塞前约1周和每3个周期的培美曲塞施用(即约每9周)向患者施用约1mg维生素B<sub>12</sub>。在某些实施方式中,维生素B<sub>12</sub>肌内施用。

[0197] 在实施方式E4、E4-A和E4-B的子实施方式(实施方式E4-C)中,本发明进一步包括在培美曲塞施用的前一天、当天和后一天每天两次向患者施用约4mg地塞米松。在某些实施方式中,地塞米松经口施用。

[0198] 在第五个实施方式(实施方式E5)中,本发明包括一种治疗人类患者的复发性或转移性头颈鳞状细胞癌(HNSCC)的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0199] 在实施方式E5的子实施方式中,患者先前用含铂化学治疗治疗。在某些实施方式中,患者在含铂化学治疗时或之后具有疾病进展。

[0200] 在第六实施方式(实施方式E6)中,本发明包括一种治疗人类患者的难治性典型霍奇金淋巴瘤(cHL)的方法,其包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0201] 在第七实施方式(实施方式E7)中,本发明包括一种治疗人类患者的典型霍奇金淋巴瘤(cHL)的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如,派姆单

抗)或其抗原结合片段,其中患者在(a)cHL的一线或更多线治疗,(b)cHL的二线或更多线治疗,或(c)cHL的三线或更多线治疗后复发。

[0202] 在实施方式E6和E7的子实施方式中,患者是成年患者。

[0203] 在实施方式E6和E7的替代子实施方式中,患者是儿童患者。

[0204] 在第八实施方式(实施方式E8)中,本发明包括一种治疗人类患者局部晚期或转移性尿路上皮癌的方法,其包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0205] 在实施方式E8的子实施方式中,患者不适格于含顺铂化学治疗。

[0206] 在实施方式E8的子实施方式中,患者在含铂化学治疗期间或之后或在含铂化学治疗的新辅助或辅助治疗后12个月内具有疾病进展。

[0207] 在实施方式E8的子实施方式中,患者的肿瘤表达PD-L1(CPS $\geq$ 10)。

[0208] 在第九实施方式(实施方式E9)中,本发明包括一种治疗人类患者中不可切除或转移的、微卫星不稳定性高(MSI-H)或错配修复(MMR)缺陷实体肿瘤的方法,其包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0209] 在实施方式E9的子实施方式中,患者在先前的抗癌治疗后具有疾病进展。

[0210] 在第十实施方式(实施方式E10)中,本发明包括一种治疗人类患者中不可切除的或转移的、MSI-H或MMR缺陷结直肠癌的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0211] 在实施方式E10的子实施方式中,患者在先前使用氟嘧啶、奥沙利铂和伊立替康治疗后具有疾病进展。

[0212] 在第十一实施方式(实施方式E11)中,本发明包括一种治疗人类患者的复发性局部晚期或转移性胃癌的方法,其包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如,派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0213] 在第十二实施方式(实施方式E12)中,本发明包括一种治疗人类患者的复发性局部晚期或转移性胃食管结合部腺癌的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0214] 在实施方式E11和E12的子实施方式中,患者的肿瘤表达PD-L1[综合阳性评分(CPS) $\geq$ 1]。

[0215] 在实施方式E11和E12的子实施方式中,患者在一线或更多线治疗时或之后具有疾病进展。在特定实施方式中,先前的治疗线包括含氟嘧啶和铂的化学疗法。

[0216] 在实施方式E11和E12的子实施方式中,患者在包括含氟嘧啶和铂的化学疗法的二线或更多线的先前治疗时或之后具有疾病进展。

[0217] 在实施方式E11和E12的子实施方式中,患者在包括HER2/neu靶向治疗的一线或更多线的先前治疗时或之后具有疾病进展。

[0218] 在实施方式E11和E12的子实施方式中,患者在包括HER2/neu靶向治疗的二线或更多线的先前治疗时或之后具有疾病进展。

[0219] 在第十三实施方式(实施方式E13)中,本发明包括一种治疗人类患者癌症的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段,其中患者患有选自以下的癌症:黑素瘤、肺癌、头颈癌、膀胱癌、乳腺癌、胃肠癌、多发性

骨髓瘤、肝细胞癌、淋巴瘤、肾癌、间皮瘤、卵巢癌、食道癌、肛门癌、胆道癌、结直肠癌、子宫颈癌、甲状腺癌和唾液腺癌。

[0220] 在第十四实施方式(实施方式E14)中,本发明包括一种治疗人类患者癌症的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段,其中患者患有小细胞肺癌。

[0221] 在第十五实施方式(实施方式E15)中,本发明包括一种治疗人类患者非霍奇金淋巴瘤的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0222] 在实施方式E15的子实施方式中,非霍奇金淋巴瘤为原发性纵隔大B细胞淋巴瘤(PMBCL)。在某些实施方式中,当患者患有PMBCL时,患者患有难治性PMBCL。在一些实施方式中,患者在一线或更多线的前治疗复发。在一些实施方式中,患者在二线或更多线的前治疗复发。在一些实施方式中,患者先前未用另外线的治疗来治疗。

[0223] 在第十六实施方式(实施方式E16)中,本发明包括一种治疗人类患者转移性鳞状NSCLC的方法,其包括:(1)每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如,派姆单抗)或其抗原结合片段,和(2)向患者施用(i)卡铂和紫杉醇或(ii)卡铂和Inab-紫杉醇。

[0224] 在第十七实施方式(实施方式E17)中,本发明包括一种治疗人类患者的默克尔细胞癌(MCC)的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。在实施方式E17的特定子实施方式中,癌症是复发性局部晚期MCC。在实施方式E17的特定子实施方式中,癌症为转移性MCC。

[0225] 在实施方式E17的子实施方式中,患者是成年患者。在实施方式E17的替代子实施方式中,患者是儿童患者。

[0226] 在第十八实施方式(实施方式E18)中,本发明包括一种辅助治疗人类患者黑素瘤的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如,派姆单抗)或其抗原结合片段,其中该患者先前已切除一个或多个黑素瘤损伤。在实施方式E18的子实施方式中,该方法包括治疗切除的高风险III期黑素瘤。

[0227] 在第十九实施方式(实施方式E19)中,本发明包括一种治疗人类患者的肝细胞癌(HCC)的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。在实施方式E19的一些实施方式中,患者先前用索拉非尼治疗。

[0228] 在第二十实施方式(实施方式E20)中,本发明包括一种治疗人类患者肾细胞癌(RCC)的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0229] 在实施方式E20的子实施方式中,癌症为晚期透明细胞RCC。

[0230] 在实施方式E20的子实施方式中,患者患有晚期或转移性肾细胞癌(RCC)。

[0231] 在实施方式E20的子实施方式(实施方式E20A)中,进一步用阿西替尼治疗患者。在本发明的子实施方式中,阿西替尼是口服的。

[0232] 在实施方式E20A的特定实施方式中,患者大约每12小时或一天两次服用5mg阿西替尼。

[0233] 在实施方式E20A的替代实施方式中,阿西替尼剂量为每天两次2.5mg、3mg、7mg或10mg。

[0234] 在第二十一实施方式(实施方式E21)中,本发明包括一种治疗人类患者乳腺癌的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0235] 在实施方式E21的子实施方式中,乳腺癌是三阴性乳腺癌。

[0236] 在实施方式E21的子实施方式中,乳腺癌为ER+/HER2-乳腺癌。

[0237] 在第二十二实施方式(实施方式E22)中,本发明包括一种治疗人类患者的鼻咽癌的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0238] 在第二十三实施方式(实施方式E23)中,本发明包括一种治疗人类患者甲状腺癌的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0239] 在第二十四实施方式(实施方式E24)中,本发明包括一种治疗人类患者的唾液腺癌的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0240] 在第二十五实施方式(实施方式E25)中,本发明包括一种治疗人类患者癌症的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如,派姆单抗)或其抗原结合片段,其中所述癌症选:黑素瘤、非小细胞肺癌、复发性或难治性经典霍奇金淋巴瘤、原发性纵膈大B细胞淋巴瘤、头颈鳞状细胞癌、尿路上皮癌、食道癌、胃癌、子宫颈癌、PMBCL、MSI-H癌症、肝细胞癌和默克尔细胞癌。

[0241] 在第二十六实施方式(实施方式E26)中,本发明包括一种治疗人类患者癌症的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段,其中所述癌症为血红素恶性肿瘤。

[0242] 在实施方式E26的子实施方式中,血红素恶性肿瘤选自:急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、弥漫性大B细胞性淋巴瘤(DLBCL)、EBV阳性的DLBCL、原发性纵膈大B细胞性淋巴瘤、T细胞/组织细胞丰富的大B细胞性淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤(HL)、套细胞性淋巴瘤(MCL)、多发性骨髓瘤(MM)、髓细胞性白血病-1蛋白(MCL-1)、髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、和小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL)。

[0243] 在第二十七实施方式(实施方式E27)中,本发明包括一种治疗人类患者癌症的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如,派姆单抗)或其抗原结合片段,其中该患者具有具有高突变负荷的肿瘤。

[0244] 在特定实施方式中,高突变负荷是每兆碱基的被检查基因组至少约10个突变,每兆碱基的被检查基因组至少约11个突变,每兆碱基的被检查基因组至少约12个突变,或每兆碱基的被检查基因组至少约13个突变。

[0245] 在第二十八实施方式(实施方式E28)中,本发明包括一种治疗人类患者食道癌的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。

[0246] 在实施方式E28的子实施方式中,在接受抗PD-1抗体或其抗原结合片段之前,患者进行了一线在先标准治疗。在另一个实施方式中,患者在接受抗PD-1抗体或其抗原结合片

段之前进行了一线或更多线标准治疗。在另一个实施方式中,患者在接受抗PD-1抗体或其抗原结合片段之前进行了二线或更多线标准治疗。在特定实施方式中,标准治疗包括以下一种或多种:紫杉醇、多西他赛或伊立替康。

[0247] 在实施方式E28的子实施方式中,患者患有食道的晚期或转移腺癌或鳞状细胞癌。

[0248] 在实施方式E28的子实施方式中,患者患有食管胃结合部的晚期或转移Siewert I型腺癌。

[0249] 在实施方式E28的子实施方式中,患者的肿瘤表达PD-L1(组合阳性评分[CPS]  $\geq$  10)。

[0250] 在第二十九实施方式(实施方式E29)中,本发明包括一种治疗人类患者高风险非肌层浸润性膀胱癌(NMIBC)的方法,该方法包括每约六周一次向患者施用400mg抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段。在一些实施方式中,患者患有伴有原位癌(CIS)或CIS加乳头病的NMIBC。

[0251] 在实施方式E29的子实施方式中,在用抗PD-1抗体或其抗原结合片段治疗之前,患者先前已用标准治疗来治疗。在一些实施方式中,先前的治疗是卡介苗(BCG)治疗。在特定实施方式中,患者对卡介苗治疗无反应。在一些实施方式中,患者不适格于根治性膀胱切除术或选择不进行根治性膀胱切除术。

[0252] 在上述本发明的任何方法(包括实施方式E1-E29)中,PD-1抗体或抗原结合片段是本发明详述第二节“可用于本发明的PD-1抗体和抗原结合片段”所示的任何抗体或抗原结合片段。

[0253] 上述本发明任何方法的实施方式(包括实施方式E1-E29)可进一步包括每约六周施用约25mg、50mg、75mg或100mg抗CTLA4抗体或其抗原结合片段一次。在一个实施方式中,每约六周施用25mg抗CTLA4抗体一次。在一个实施方式中,每约六周施用50mg抗CTLA4抗体一次。在另一个实施方式中,约每六周施用75mg抗CTLA4抗体一次。在另一个实施方式中,每约六周施用100mg抗CTLA4抗体一次。在一个实施方式中,每六周施用25mg抗CTLA4抗体一次。在一个实施方式中,每六周施用50mg抗CTLA4抗体一次。在另一个实施方式中,每六周施用75mg抗CTLA4抗体一次。在另一个实施方式中,每六周施用100mg抗CTLA4抗体一次。在任何上述方法的一些实施方式中,抗CTLA4抗体和抗PD-1抗体共同施用。在其他实施方式中,抗CTLA4抗体和抗PD-1抗体共配制在一起。在上述本发明的任何方法中,抗CTLA4抗体或抗原结合片段是本发明详述第三节“可用于本发明的抗CTLA4抗体和抗原结合片段”所示的任何抗体或抗原结合片段。

[0254] 在一些实施方式中,抗PD-1抗体是派姆单抗或其抗原结合片段,或与派姆单抗交叉竞争的抗体。在一些实施方式中,抗PD-1抗体是派姆单抗的变体;即具有轻链CDR和重链CDR的抗体或抗原结合片段,所述轻链CDR包含SEQ ID NO:1、2和3所示氨基酸序列,所述重链CDR包含SEQ ID NO:6、7和8所示氨基酸序列。

[0255] 在上述任何方法中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段每约六周向患者施用一次。在特定实施方式中,每六周、每六周 $\pm$ 5天、 $\pm$ 4天、 $\pm$ 3天、 $\pm$ 2天或 $\pm$ 1天向患者施用抗PD1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

[0256] 在本发明任何方法的实施方式中,向患者静脉(IV)输注包含任何抗PD-1抗体或其抗原结合片段或任何抗CTLA4抗体或其抗原结合片段的药物,各自均如本发明所述。在一个

实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段通过IV输注同时施用(例如,以单一制剂或以单独制剂同时)。

[0257] 在另一个实施方式中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段在同一天通过静脉输注以任何顺序顺序施用(例如,作为单独制剂)。在一个子实施方式中,首先施用抗PD-1抗体或其抗原结合片段。在另一个实施方式中,首先施用抗CTLA4抗体或其抗原结合片段。

[0258] 在替代实施方式中,皮下向患者施用(例如,由临床医生)或施用任何抗PD-1抗体或其抗原结合片段,或任何抗CTLA4抗体或其抗原结合片段,各自均在此描述。

[0259] 在本文所述的任何方法中,包括实施方式E1-E29及其子实施方式,该方法可进一步包括一种或多种“额外治疗剂”(如本文所用,“额外治疗剂”指相对于PD-1拮抗剂和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段的额外治疗剂)。额外的治疗剂可以是,例如,除抗PD-1抗体或抗CTLA4抗体之外的化学治疗剂、生物治疗剂(包括但不限于针对血管内皮生长因子、EGFR、Her2/neu、血管内皮生长因子受体、其他生长因子受体、CD20、CD40、CD-40L、OX-40、4-1BB和ICOS的抗体)、免疫原性试剂(例如,减毒的癌细胞、肿瘤抗原、抗原提呈细胞,例如用肿瘤衍生抗原或核酸脉冲的树状细胞、免疫刺激细胞因子(例如,IL-2、IFN $\alpha$ 2、GM-CSF),和用编码免疫刺激细胞因子例如但不限于GM-CSF的基因转染的细胞)。

[0260] 如上所述,在本发明方法的一些实施方式中,该方法进一步包括施用额外的治疗剂。在特定实施方式中,额外的治疗剂为抗LAG3抗体或其抗原结合片段、抗GITR抗体或其抗原结合片段、抗TIGIT抗体或其抗原结合片段、抗CD27抗体或其抗原结合片段。在一个实施方式中,额外的治疗剂是表达IL-12的新城疫病毒载体。在进一步的实施方式中,额外的治疗剂为地那西利。

[0261] 化学治疗剂的例子包括烷化剂,例如硫替派和环磷酰胺;烷基磺酸盐,如busulfan、improsulfan和piposulfan;氮丙啶,例如benzodopa、卡波醌、meturedopa和uredopa;亚乙基胺和甲基戊胺,包括奥曲美胺、三亚乙基胺、三亚乙基磷胺、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲基三聚氰胺;acetogenin(尤其是bullatacin和bullatacinone);喜树碱(包括合成类似物拓扑替康);苔藓抑制素;callystatin;CC-1065(包括其adozelesin、carzelesin和bizelesin合成类似物);念珠藻素(特别是念珠藻素1和念珠藻素8);多司他丁;多卡霉素(包括合成类似物,KW-2189和CBI-TMI);eleutherobin;pancratistatin;sarcodictyin;spongistatin;氮芥,例如苯丁酸氮芥、chlornaphazine、cholophosphamide、estramustine、ifosfamide、mechlorethamine、mechlorethamine oxide hydrochloride、melphalan、novembichin、phenesterine、prednimustine、trofosfamide、尿嘧啶芥子;亚硝基脲,例如卡莫司汀、氯唑托星、福替莫司汀、洛莫司汀、宁莫司汀、拉莫司汀;抗生素,例如二炔类抗生素(例如刺孢霉素,尤其是刺孢霉素gammaII和刺孢霉素phiII,参见,例如Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186(1994); dynemicin, 包括dynemicin A; 双磷酸盐,例如氯磷酸盐;esperamicin;以及neocarzinostatin发色团和相关的色蛋白烯二炔类抗生素发色团)、阿克拉霉素、放线霉素、authramycin、azaserine、布莱霉素、cactinomycin、carabycin、carzinophilin、色敏素、dactinomycin、柔红霉素、去柔比星、6-重氮-5-氧代-L-norleucine、多柔比星(包括吗啉代多柔比星、氰基吗啉代多柔比星、2-吡咯里诺多柔比星和抗代谢物,如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物,如

去甲蝶呤、甲氨蝶呤、翼龙蝶呤、曲美曲酯；嘌呤类似物，例如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫胺、硫鸟嘌呤；嘧啶类似物，例如安西他滨、氮杂胞苷、6-氮杂尿苷、carmofur、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、doxifluridine、依诺西他滨、氟尿苷；雄激素类，如钙乌司酮、丙氧他诺龙、表噻烷醇、美皮他丁、丁内酯；抗肾上腺素类，如氨基谷氨酰胺、米托坦、三叶甾烷；叶酸补充剂，如叶酸；aceglatone；醛磷酰胺糖苷；氨基乙酰丙酸；eniluracil；安吡丁；bestrabucil；bisantrene；edatraxate；defofamine；demecolcine；diaziquone；elformithine；elliptinium acetate；埃坡霉素；etoglucid；硝酸镓；羟基脲；香菇多糖；氯尼达明；美登木素类，如美登木素和安丝菌素；米托瓜区；米托蒽醌；mopidamol；nitracrine；pentostatin；phenamet；吡柔比星；losoxantrone；鬼臼酸；2-乙基酰肼；丙卡巴嗪；razoxane；rhizoxin；sizofuran；螺喹胺；podophyllinic acid；triaziquone；2,2',2''-三氯三乙基胺；单端孢菌属(尤其是T-2毒素、verracurin A、roridin A和anguidine)；urethan；vindesine；达卡巴嗪；甘露醇氮芥；二溴甘露醇；二溴卫矛醇；哌泊溴烷；gacytosine；阿拉伯糖苷(“Ara-C”)；环磷酰胺；噻替派；紫杉烷类，例如紫杉醇和doxetaxel；苯丁酸氮芥；吉西他滨；6-硫代鸟嘌呤；巯基嘌呤；甲氨蝶呤；铂类似物，例如顺铂和卡铂；长春碱；铂；依托泊苷(VP-16)；异环磷酰胺；米托蒽醌；长春新碱；长春瑞滨；米托蒽醌；替尼泊苷；依达曲沙；柔红霉素；氨基蝶呤；希罗达；伊班膦酸盐；CPT-11；拓扑异构酶抑制剂RFS2000；二氟甲基鸟氨酸(DMFO)；类视黄醇，例如视黄酸；卡培他滨；以及任何上述物质的可药用盐、酸或衍生物。还包括用于调节或抑制肿瘤激素作用的抗激素药物，例如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM)，包括例如他莫昔芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬、4-羟基他莫昔芬、丙西芬、keoxifene、LY117018、onapristone和托瑞米芬(Fareston)；抑制调节肾上腺中雌激素产生的芳香酶的芳香酶抑制剂，例如4(5)-咪唑、氨基谷氨酰胺、醋酸甲地孕酮、依西美坦、福美司坦、法曲唑、沃罗唑、来曲唑和阿那曲唑；以及抗雄激素，例如氟他胺、尼鲁他胺、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林；以及任何上述物质的可药用盐、酸或衍生物。

[0262] 在包括施用额外治疗剂(即，在抗PD-1抗体(例如，派姆单抗)或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段之外)的步骤的一些实施方式中，联合治疗中的额外治疗剂可以使用当该治疗剂用作治疗相同癌症的单一疗法时通常使用的相同剂量方案(剂量、频率和治疗持续时间)施用。在其他实施方式中，患者在联合治疗中接受的额外治疗剂的总量低于单独治疗时的总量，例如，更小的剂量、更少的频率剂量和/或更短的治疗持续时间。

[0263] 联合治疗中的额外治疗剂可经口、肿瘤内或非经肠施用，包括静脉内、肌内、腹膜内、皮下、直肠、局部和经皮施用途径。例如，联合治疗可包括抗PD-1抗体或其抗原结合片段、抗CTLA4抗体或其抗原结合片段，两者均可通过静脉内或皮下施用，以及可通过口服施用的化学治疗剂。

[0264] 本发明的联合治疗可在手术前或手术后用于移除肿瘤，并且可在放射治疗前、期间或之后使用。当患者的肿瘤不可切除时，也可使用本发明的联合治疗。

[0265] 在一些实施方式中，本发明的联合治疗被施用先前未用生物治疗剂或化学治疗剂治疗的患者，即治疗无效的患者。在其他实施方式中，将联合治疗施用在先前使用生物治疗剂或化学治疗剂进行治疗后未能获得持续反应的患者，即具有治疗经验的患者。

[0266] 本发明的组合疗法可用于治疗通过触诊或本领域众所周知的成像技术(例如，磁共振成像、超声波或计算机断层扫描)发现的足够大的肿瘤。在一些实施方式中，本发明的

联合治疗用于治疗尺寸至少约为200mm<sup>3</sup>、300mm<sup>3</sup>、400mm<sup>3</sup>、500mm<sup>3</sup>、750mm<sup>3</sup>或高达1000mm<sup>3</sup>的晚期肿瘤。

[0267] 在一些实施方式中,对患有表达PD-L1的癌症的人类患者施用本发明的联合治疗。在一些实施方式中,在对从患者体内取出的肿瘤样品的FFPE或冷冻组织切片进行的IHC试验中,使用诊断性抗人PD-L1抗体或其抗原结合片段检测PD-L1表达。患者的医生可以在开始使用抗PD-1抗体或其抗原结合片段进行治疗前,命令进行诊断测试,以确定从患者体内取出的肿瘤组织样品中PD-L1的表达,但是可以预见,医生可以在开始治疗后的任何时间命令进行第一次或后续诊断测试,例如在治疗周期结束后。

[0268] 选择额外治疗剂的剂量取决于几个因素,包括实体的血清或组织周转率、症状水平、实体的免疫原性以及受治疗个体中目标细胞、组织或器官的可及性。额外治疗剂的剂量应达到可接受的副作用水平。因此,每种额外治疗剂(例如生物治疗剂或化学治疗剂)的剂量和给药频率将部分取决于特定治疗剂、所治疗癌症的严重程度和患者特征。我们提供了选择适当剂量的抗体、细胞因子和小分子的指南。参见,例如,Wawrzynczak(1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub.Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, NY; Baert et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608; Milgrom et al. (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973; Slamon et al. (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Beniaminovitz et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619; Ghosh et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24-32; Lipsky et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602; *Physicians' Desk Reference 2003 (Physicians' Desk Reference, 57th Ed)*; Medical Economics Company; ISBN:1563634457; 57th edition (November 2002)。临床医生可确定适当的给药方案,例如使用本领域已知或怀疑影响治疗或预计影响治疗的参数或因素,并且将取决于例如患者的临床病史(例如先前的治疗)、待治疗癌症的类型和分期以及联合治疗中对一种或多种治疗剂的反应生物标记。

#### [0269] V. 组合物和试剂盒

[0270] 本发明还涉及包含一定剂量的抗PD-1抗体(例如派姆单抗)或其抗原结合片段和药学上可接受的载体或赋形剂的组合物,其中该剂量为约400mg。抗PD-1抗体可使用常规细胞培养和回收/纯化技术在例如CHO细胞中产生。

[0271] 在本发明的实施方式中,组合物进一步包含约pH 5.0至pH 6.0的组氨酸缓冲液。在特定实施方式中,组氨酸的浓度约为10mM。

[0272] 在本发明的实施方式中,组合物进一步包含蔗糖。在特定实施方式中,蔗糖以约70mg/mL的浓度存在。

[0273] 在本发明的实施方式中,组合物进一步包含聚山梨醇酯80。在特定实施方式中,聚山梨醇酯80以约0.2mg/mL的浓度存在。

[0274] 在一些实施方式中,该组合物包含10mM组氨酸、pH 5.5、7%蔗糖、0.02%聚山梨醇酯80和400mg抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0275] 在本发明的实施方式中,组合物是液体。

[0276] 在替代实施方式中,组合物被冷冻干燥。

[0277] 在本发明的组合中,抗PD-1抗体或其抗原结合片段可以是本文所述的任何抗体和抗原结合片段,即本发明详述第二节“可用于本发明的PD-1抗体和抗原结合片段”(例如派姆单抗)所示的任何抗体和抗原结合片段。

[0278] 在一些实施方式中,包含作为PD-1拮抗剂的抗PD-1抗体的组合物可作为液体制剂提供,或通过使用前用注射用无菌水重构冷冻干燥粉末而制备。WO 2012/135408描述了适用于本发明的包含派姆单抗的液体和冷冻干燥药物的制备。

[0279] 在一些实施方式中,抗CTLA4抗体如WO 2018/204343 (PCT/us2018/030420) 所示进行配制。在一些实施方式中,抗CTLA4抗体和抗PD-1抗体如WO 2018/204343所示共配制。

[0280] 本发明还涉及用于治疗癌症患者的试剂盒,该试剂盒包括:(a) 400mg抗PD-1抗体或其抗原结合片段,和(b) 在本文所述的任何癌症治疗方法中使用抗PD-1抗体或其抗原结合片段的说明。

[0281] 本发明还涉及用于治疗癌症患者的试剂盒,该试剂盒包括:(a) 约400mg抗PD-1抗体或其抗原结合片段,(b) 约25mg、50mg、75mg或100mg抗CTLA4抗体或其抗原结合片段,和(c) 在本文所述的任何癌症治疗方法中使用抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA抗体或其抗原结合片段的说明。在一个实施方式中,试剂盒包含25mg抗CTLA4抗体。在一个实施方式中,试剂盒包含50mg抗CTLA4抗体。在另一个实施方式中,试剂盒包含75mg抗CTLA4抗体。在进一步的实施方式中,试剂盒包含100mg抗CTLA4抗体。

[0282] 在本发明的任何试剂盒中,PD-1抗体或抗原结合片段可以是本发明详述第二节“可用于本发明的PD-1抗体和抗原结合片段”所示的任何抗体或抗原结合片段。此外,在本发明的任何试剂盒中,CTLA4抗体或抗原结合片段可以是本发明详述第三节中描述的任何抗体或抗原结合片段,标题为“可用于本发明的抗CTLA4抗体和抗原结合片段”。

[0283] 本发明的试剂盒可在单独的容器中提供抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4或其抗原结合片段以及包装插页。本发明的试剂盒可将抗PD-1抗体或其抗原结合片段和抗CTLA4抗体或其抗原结合片段一起提供在同一制剂中(例如,作为共制剂)。试剂盒的容器包含至少一剂(即约400mg)包含抗PD-1抗体或其抗原结合片段的药物和至少一剂(例如约25mg、约50mg、约75mg、约100mg)包含抗CTLA4抗体或其抗原结合片段的药物以及包装插页或标签,包装插页或标签包含使用其中包含的药物治疗癌症患者的说明。容器可由相同或不同的形状(例如瓶、注射器和瓶)和/或材料(例如塑料或玻璃)组成。药盒还可包括其他可用于给药的材料,例如稀释剂、过滤器、静脉注射袋和管线、针和注射器。在试剂盒的一些优选实施方式中,说明书声明药物旨在用于治疗患有肿瘤的患者,其中肿瘤通过例如IHC试验确定表达PD-L1。在一些实施方式中,肿瘤具有 $\geq 1\%$  PD-L1的肿瘤比例分数(TPS)。在另一个实施方式中,肿瘤具有 $\geq 50\%$  PD-L1的TPS。PD-L1 TPS指表达PD-L1的样品中肿瘤细胞的数量。在进一步的实施方式中,肿瘤具有 $\geq 5\%$  PD-L1、 $\geq 10\%$  PD-L1、 $\geq 15\%$  PD-L1、 $\geq 20\%$  PD-L1、 $\geq 25\%$  PD-L1、 $\geq 30\%$  PD-L1、 $\geq 35\%$  PD-L1、 $\geq 40\%$  PD-L1或 $\geq 45\%$  PD-L1的TPS。在另一个实施方式中,患者的肿瘤表达PD-L1,CPS $\geq 10\%$ 。在另一个实施方式中,患者的肿瘤表达PD-L1,CPS $\geq 5\%$ 。在另一个实施方式中,患者的肿瘤表达PD-L1,CPS $\geq 1\%$ 。

[0284] 本发明的这些和其他方面,包括下面列出的示例性具体实施方式,将从这里包含的教导中变得明显。

[0285] 一般方法

[0286] 分子生物学的标准方法描述于Sambrook,Fritsch and Maniatis(1982&1989 2<sup>nd</sup> Edition,2001 3<sup>rd</sup> Edition)Molecular Cloning,ALaboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY;Sambrook and Russell(2001)Molecular Cloning,3<sup>rd</sup> ed.,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY;Wu(1993)Recombinant DNA,Vol.217,Academic Press,San Diego,CA)。标准方法还见于Ausbel,et al.(2001)Current Protocols in Molecular Biology,Vols.1-4,John Wiley and Sons,Inc.New York,NY,其描述了细菌细胞中的克隆和DNA突变产生(第1卷),哺乳动物和酵母中的克隆(第2卷),糖缀合物和蛋白表达(第3卷),和生物信息学(第4卷)。

[0287] 用于蛋白纯化的方法,包括免疫沉淀、色谱、电泳、离心和结晶描述于(Coligan,et al.(2000)Current Protocols in Protein Science,Vol.1,John Wiley and Sons,Inc.,New York)。化学分析、化学修饰、翻译后修饰、融合蛋白的产生、蛋白的糖基化描述于(参见,例如,Coligan,et al.(2000)Current Protocols in Protein Science,Vol.2,John Wiley and Sons,Inc.,New York;Ausubel,et al.(2001)Current Protocols in Molecular Biology,Vol.3,John Wiley and Sons,Inc.,NY,NY,pp.16.0.5-16.22.17;Sigma-Aldrich,Co.(2001)Products for Life Science Research,St.Louis,MO;pp.45-89;Amersham Pharmacia Biotech(2001)BioDirectory,Piscataway,N.J.,pp.384-391)。多克隆和单克隆抗体的产生、纯化和片段化描述于(Coligan,et al.(2001)Current Protocols in Immunology,Vol.1,John Wiley and Sons,Inc.,New York;Harlow and Lane(1999)Using Antibodies,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY;Harlow and Lane,supra)。表征配体/受体相互作用的标准技术是可用的(参见,例如,Coligan,et al.(2001)Current Protocols in Immunology,Vol.4,John Wiley, Inc.,New York)。

[0288] 可以制备单克隆、多克隆和人源化抗体(参见,例如,Sheperd and Dean(eds.)(2000)Monoclonal Antibodies,Oxford Univ.Press,New York,NY;Kontermann and Dubel(eds.)(2001)Antibody Engineering,Springer-Verlag,New York;Harlow and Lane(1988)Antibodies ALaboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY,pp.139-243;Carpenter,et al.(2000)J.Immunol.165:6205;He, et al.(1998)J.Immunol.160:1029;Tang et al.(1999)J.Biol.Chem.274:27371-27378;Baca et al.(1997)J.Biol.Chem.272:10678-10684;Chothia et al.(1989)Nature 342: 877-883;Foote and Winter(1992)J.Mol.Biol.224:487-499;U.S.Pat.No.6,329,511)。

[0289] 人源化的替代方式是使用在噬菌体上展示的人抗体文库或转基因小鼠中的人抗体文库(Vaughan et al.(1996)Nature Biotechnol.14:309-314;Barbas(1995)Nature Medicine 1:837-839;Mendez et al.(1997)Nature Genetics 15:146-156;Hoogenboom and Chames(2000)Immunol.Today 21:371-377;Barbas et al.(2001)Phage Display:ALaboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,New York;Kay et al.(1996)Phage Display of Peptides and Proteins:A Laboratory Manual,Academic Press,San Diego,CA;de Bruin et al.(1999)Nature Biotechnol.17: 397-399)。

[0290] 抗原的纯化对于抗体的产生不是必要的。可以用携带感兴趣的抗原的细胞对动物进行免疫。然后可以从免疫化动物分离脾细胞,脾细胞可以与骨髓瘤细胞系融合以产生杂交瘤(参见,例如,Meyaard et al. (1997) *Immunity* 7:283-290;Wright et al. (2000) *Immunity* 13:233-242;Preston et al., supra;Kaithamana et al. (1999) *J. Immunol.* 163: 5157-5164)。

[0291] 抗体可以缀合例如至小药物分子、酶、脂质体、聚乙二醇(PEG)。抗体可用于治疗性、诊断性、试剂盒或其他目的,且包括偶联例如至染料、放射性同位素、酶或金属例如胶体金的抗体(参见,例如,Le Doussal et al. (1991) *J. Immunol.* 146:169-175;Gibellini et al. (1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898;Hsing and Bishop (1999) *J. Immunol.* 162:2804-2811;Everts et al. (2002) *J. Immunol.* 168:883-889)。

[0292] 用于流式细胞术的方法,包括荧光激活细胞分选(FACS),是可用的(参见,例如,Owens, et al. (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ;Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2<sup>nd</sup> ed.;Wiley-Liss, Hoboken, NJ;Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ)。适用于修饰用作例如诊断试剂的包括核酸引物和探针的核酸、多肽、和抗体的荧光试剂是可用的(Molecular Probes (2003) *Catalogue*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) *Catalogue*, St. Louis, MO)。

[0293] 描述了免疫系统的组织学的标准方法(参见,例如,Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt, et al. (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis, et al. (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY)。用于确定例如抗原片段、前导序列、蛋白质折叠、功能结构域、糖基化位点和序列比对的软件包和数据库是可用的(参见,例如,GenBank, Vector **NTI**® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); **DeCypher**® (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne, et al. (2000) *Bioinformatics* 16:741-742; Menne, et al. (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742; Wren, et al. (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68:177-181; von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21; von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14: 4683-4690)。

[0294] 为了描述和公开可能用于本发明的方法和材料,在此提及的所有出版物均通过引用并入本说明书。

[0295] 在此已经参考附图描述了本发明的不同实施方式,应当理解,本发明不限于这些精确的实施方式,并且本领域技术人员可以在不脱离所附权利要求书中定义的本发明的范围或精神的情况下对其进行各种改变和修改。

[0296] 实施例1

[0297] 基于使用建模和模拟的评估的在多种肿瘤类型中的派姆单抗的六周(Q6W)给药方案

[0298] 派姆单抗是一种目前被批准用于多种癌症适应症的抗PD-1检查点抑制剂,以200mg或2mg/kg Q3W的剂量给药时已显示出安全性和有效性。替代的延长给药方案将为患

者和开药者两者提供方便性和灵活性的益处。派姆单抗药代动力学 (PK) 和暴露 (浓度) - 反应 (E-R) 关系在有效性和安全性方面的稳健特性允许使用基于模型的方法支持派姆单抗的替代给药方案。

[0299] 在达到PK稳态后,通过将暴露与经批准的Q3W (200mg和2mg/kg) 方案相匹配,选择派姆单抗的Q6W方案的剂量;基于对E-R的了解,两种治疗方案之间的有效性和安全性建立了桥梁。使用已建立的派姆单抗的群体PK模型 (具有时间依赖性消除) 模拟了长达24周的给药的PK暴露,以确保所有受试者处于稳定状态,该模型充分描述了在多种肿瘤类型中的PK。使用稳态时的暴露指标AUC<sub>ss</sub>或时间平均浓度 (C<sub>avg,ss</sub>) 和谷浓度 (C<sub>min,ss</sub>) 对疗效建立了桥梁,其在方案之间进行比较。通过确保稳态时的预测峰浓度 (C<sub>max,ss</sub>) 低于10mg/kg Q2W的最大临床给药剂量和良好耐受剂量的那些,建立了派姆单抗在Q6W时间表中的安全性概况的桥梁。

[0300] 派姆单抗在400mg Q6W给药后的PK被预测遵循与批准的200mg Q3W和2mg/kg Q3W给药方案下的PK相似的概况 (见图4)。表4总结了方案之间比较的暴露指标。派姆单抗的400mg Q6W给药方案是基于与200mg Q3W (见图3) 实现的那些相比相似的预测暴露 (C<sub>avg,ss</sub>或AUC<sub>ss</sub>,几何平均值 (GM) 高约1%) 选择的。少于1%的受试者被预测其C<sub>min,ss</sub>低于200mg Q3W和2mg/kg Q3W的那些 (图3)。400mg Q6W的预测C<sub>max,ss</sub>远低于10mg/kg Q2W实现的 (GM低约65%),这已被证明在多种肿瘤类型中具有可接受的安全性 (见图2)。鉴于派姆单抗在临床测试剂量下的相似暴露概况和已建立的平E-R关系,400mg Q6W实现的临床结果被预期与200mg Q3W在肿瘤类型中的那些相似。

[0301] 基于本文使用的建模和模拟方法,预期派姆单抗的400mg Q6W给药方案将导致与经批准的200mg Q3W和2mg/kg给药方案类似的PK暴露。PK模拟证明,就派姆单抗暴露而言,400mg Q6W时的给药间隔 (C<sub>avg</sub>) (或曲线下面积 [AUC]) 下的平均浓度与经批准的200mg Q3W剂量时的相似,因此对给药方案之间的效力建立了桥梁。400mg Q6W时的谷浓度 (C<sub>min</sub>) 通常在大多数患者 (大于99%) 中在2mg/kg或200mg Q3W实现的那些的范围内。400mg Q6W时的峰浓度 (C<sub>max</sub>) 远低于最高临床测试剂量10mg/kg Q2W的C<sub>max</sub>,支持了400mg Q6W的安全性应概况与派姆单抗的已建立的安全性概况相当。派姆单抗的暴露-反应 (E-R) 证明在适应证中是平稳的,且黑素瘤和NSCLC中的OS预测证明,考虑到类似的暴露,400mg Q6W的效果预期与200mg或2mg/kg Q3W的那些相似;因此,预期400mg Q6W在适应症中有效。

[0302] 表4. 基于模拟的400mg Q6W给药方案的派姆单抗PK暴露指标的总结

替代给药方案	Q6W 400 mg
[0303] <b>C<sub>avg,ss</sub></b>	
相对于 200 mg Q3W,	0.7%

	稳态时的 GM 的差异%	
	<b><u>Cmin, ss</u></b>	
	相对于 2 mpk Q3W, 稳态时的 GM 的差异%	-12.6%
[0304]	稳态时低于 200 mg 和 2 mpk Q3W 的范围的下限的患者的%	< 1%
	<b><u>Cmax, ss</u></b>	
	相对于 10 mpk Q2W, 稳态时的 GM 的差异%	-65.6%

[0305] 实施例2

[0306] 派姆单抗的一期随机临床研究,评估400mg派姆单抗Q6W的静脉输注在晚期黑素瘤参与者中的安全性和耐受性

[0307] 本研究旨在评估派姆单抗每6周(Q6W)给药时的药代动力学(PK)、安全性和耐受性。一组100名受试者接受400mg派姆单抗Q6W。从这组参与者中收集PK、有效性和安全性数据。至少18岁的男性/女性晚期黑素瘤参与者被纳入研究。本研究未使用基于年龄、性别或其他特征的分层。

[0308] 参与者在第1至第18周期接受400mg派姆单抗Q6W的IV注射。从这些参与者处收集PK、有效性和安全性数据。结果提供了派姆单抗在Q6W给药时的初步PK、有效性和安全性数据。基于对派姆单抗临床药理学及其完善E-R概况的深入了解,预期这样的给药方案变更在所有批准200mg Q3W派姆单抗的治疗环境(包括单一治疗和与其他试剂联合使用)中产生类似的疗效和安全性。因此,基于建模和模拟分析,400mg Q6W方案与200mg Q3W(作为派姆单抗临床使用中频率较低的给药方案)具有类似的利益-风险概况(参见实施例1)。

[0309] 研究设计

[0310] 本研究是一项随机、交叉、多中心、开放标签的派姆单抗在晚期黑素瘤参与者中的安全性研究,按照《良好临床规范》(GCP)进行。本一期研究针对无法切除或转移的黑素瘤患者。治疗期每42天持续18个周期(约2年)。只要参与者从治疗中获益且未具有疾病进展或符合任何研究退出标准,治疗将继续进行。更详细地说,研究由以下构成:(1)长达28天的筛查期,以确保参与者有资格参与研究;(2)约104周的派姆单抗治疗干预期。参与者通过静脉输注接受派姆单抗,30分钟Q6W,至多18个周期,以及(3)随访期,在此期间参与者接受不良事件监测30天,严重不良事件(SAE)监测90天(如果参与者开始新的抗癌治疗,则为30天)。在停止治疗时具有持续性不良事件的参与者被跟踪,直至问题得到解决、稳定、事件得到其他解释或该参与者无法继续跟踪。

[0311] 因射线照相疾病进展以外的原因而中断的参与者具有疾病状态的治疗后随访成像,直至根据RECIST 1.1对疾病进展进行射线照相记录,并在临床上适当时根据iRECIST由网点确认,开始非研究癌症治疗、撤回同意、随访丢失或研究结束。所有参与者在生存随访期内通过电话随访以获得总体生存,直至死亡、参与者撤回同意、变得随访丢失或研究结束。

[0312] 参与本研究的所有参与者均将被诊断为晚期黑素瘤。本研究的结果将有助于理解派姆单抗以Q6W给药方案给药时的PK特征。通常用于评估研究性系统性抗癌治疗的安全参数被包括为安全终点,包括但不限于不良事件(AE)/严重不良事件(SAE)的发生率、因果关系和结果;以及生命体征和实验室值的变化。不良事件将按照美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准[NCI CTCAE]第4.0版的定义进行评估。

[0313] 本试验的一个目的是表征派姆单抗在静脉注射Q6W给药后的PK概况。在所有参与者完成第5个周期后,对PK数据进行分析。PK参数包括AUC、Cmax和Cmin。抗药物抗体(ADA)的形成可以潜在地混淆治疗剂量下的药物暴露,并引发后续的输注相关毒性。在第一、第二、第四和第五周期各自开始时,确定对派姆单抗的抗药物抗体反应。探讨了ADA的存在对派姆单抗暴露的任何影响。

[0314] 本研究使用基于RECIST 1.1标准的由盲法独立中心审查(BICR)评估的ORR作为主要终点。客观反应率是一项可接受的临床益处衡量标准,用于证明新的抗肿瘤治疗的优势的后期研究,尤其是在效果幅度较大且该治疗具有可接受的风险/效益概况的情况下。图像被提交给成像CRO(iCRO)并由独立中央审查机构阅读,该审查机构无视治疗分配,以最小化反应评估中的偏差。

[0315] 总生存(OS)是次要终点,已被公认为在随机临床研究中展示新的抗肿瘤治疗的优势的金标准。当评估图像的有效性测量时由BICR使用RECIST 1.1,当确定适格性时由本地网点使用。RECIST工作组在业界和学术界领先专家的参与下,在美国食品药品监督管理局和欧洲药品管理局的参与下,制定并发布了用于基于免疫的治疗学(iRECIST)评估的改良RECIST 1.1。目标损害的一维测量、非目标损害的定性评估和反应类别与RECIST 1.1相同,直至通过RECIST 1.1看到进展。但是,如果参与者临床稳定,则可进行额外成像以确认放射学进展。研究人员使用iRECIST评估肿瘤反应和进展,并作出治疗决定,以及在规定的情况下进行探索性疗效分析。

[0316] 纳入标准

[0317] 仅当以下所有标准均适用时,参与者才有资格被纳入研究:

[0318] ●参与者经组织学或细胞学确认诊断为晚期黑素瘤。

[0319] ●根据美国癌症联合委员会(AJCC)的分期系统,参与者患有不可切除的III期或IV期黑素瘤,不适于局部治疗。

[0320] ●参与者未接受晚期或转移疾病的治疗,但以下情况除外:

[0321] BRAF V600突变型黑素瘤可以已接受标准的针对性治疗(例如,单独或联合使用BRAF/MEK抑制剂),并符合本研究的资格。

[0322] ●如果在随机分组前至少4周完成,且所有相关不良事件均已恢复至基线或稳定(最近一次先前治疗的毒性效应消除至1级或更低[除脱发外]),则允许进行先前的辅助或新辅助黑素瘤治疗。如果参与者接受了大于30Gy的大手术或放射治疗,其必须已从干预的毒性和/或并发症中康复。

[0323] 如果女性参与者未怀孕、未哺乳,并且同意在治疗期间和至少120天内遵循特定的避孕指导或提供知情同意,则有资格参与。

[0324] 参与者应具有东方合作肿瘤学小组(ECOG)表现状态0(完全活跃,能够不受限制地进行所有疾病前的表现)或1(受限于剧烈运动但可以走动,并且能够进行轻微或久坐性质

的工作,例如轻松的室内工作、办公室工作),并且应具有表5中定义的充分的器官功能。在研究干预开始前72小时内收集样本。

[0325] 表5.充分的器官功能实验室值

系统	实验室值
血液学	
中性粒细胞绝对计数 (ANC)	$\geq 1500/\mu\text{L}$
血小板	$\geq 100\ 000/\mu\text{L}$
血红蛋白	$\geq 9.0\ \text{g/dL}$ 或 $\geq 5.6\ \text{mmol/L}^1$
肾	
肌酸酐或 测量或计算的 <sup>2</sup> 肌酐清除率 (GFR 也可用于替代肌酸酐或 CrCl)	$\leq 1.5 \times \text{ULN}$ 或 对于肌酐水平 $> 1.5 \times$ 机构 ULN 的 参与者, $\geq 30\ \text{mL/min}$
肝	
总胆红素	$\leq 1.5 \times \text{ULN}$ 或对于总胆红素水平 $> 1.5 \times \text{ULN}$ 的参与者, 直接胆红素 $\leq$ ULN
AST (SGOT) 和 ALT (SGPT)	$\leq 2.5 \times \text{ULN}$ (对于具有肝转移的参与 者, $\leq 5 \times \text{ULN}$ )
凝结	
国际标准化比率 (INR) 或凝 血酶原时间 (PT) 激活的部分促凝血酶原激酶 时间 (aPTT)	$\leq 1.5 \times \text{ULN}$ , 除非参与者正在接受抗 凝血治疗, 只要 PT 或 PTT 在抗凝 血剂的预期使用的治疗范围内
[0327]	<sup>1</sup> 必须在过去 2 周内满足标准, 且不依赖促红细胞生成素, 也不进行红 细胞压积 (pRBC) 输注。 <sup>2</sup> 应根据机构标准计算肌酸酐清除率 (CrCl)。 ALT (SGPT) = 丙氨酸转氨酶 (血清谷丙转氨酶); AST (SGOT) = 天冬氨酸转氨酶 (血清谷氨酸草酰乙酸转氨酶); GFR = 小球过滤速率; ULN = 正常上限。

[0328] 排除标准

[0329] 如果符合以下任何标准,参与者被排除在研究之外:

[0330] ● 参与者是有生育能力的女性 (WOCBP), 在随机分组或治疗分配前72小时内尿妊娠试验呈阳性。如果尿检呈阳性或无法确认为阴性,则需要进行血清妊娠试验。

[0331] ● 参与者之前接受过不可切除或转移的黑素瘤的系统性治疗(上述纳入标准中注明的除外)。

[0332] ●参与者之前接受过抗PD-1、抗PD-L1或抗PD-L2的治疗,或接受过针对另一种刺激或共抑制性T细胞受体(例如OX-40和CD137)的药剂的治疗,或接受过专门针对检查点路径的任何其他抗体或药物的治疗,除了辅助治疗中允许的抗CTLA-4。

[0333] ●参与者在研究治疗开始2周内接受过放射治疗。参与者必须已从所有辐射相关毒性中恢复,不需要皮质类固醇,且未发生放射性肺炎。

[0334] ●参与者在第一剂研究药物前30天内接受了活疫苗。活疫苗的例子包括但不限于:麻疹、流行性腮腺炎、风疹、水痘/带状疱疹(水痘)、黄热病、狂犬病、卡介苗(BCG)和伤寒疫苗。注射用季节性流行性感疫苗通常是灭活病毒疫苗,是允许的;但是,鼻内流行性感疫苗(例如,FluMist®)是减毒活疫苗,是不允许的。

[0335] ●参与者目前正在参与或已经参与研究药物的研究,或在第一剂研究干预前4周内使用了研究装置。

[0336] ●参与者在第一剂研究药物前7天内被诊断为免疫缺陷或正在接受长期系统性类固醇治疗(剂量超过每日10mg强的松当量)或任何其他形式的免疫抑制治疗。

[0337] ●参与者在过去2年内有已知的正在发展或需要积极治疗的其他恶性肿瘤。注:已接受潜在治疗的皮肤基底细胞癌、皮肤鳞状细胞癌或原位癌(如乳腺癌、原位癌)参与者不排除在外。

[0338] ●参与者已知存在CNS转移和/或癌性脑膜炎。先前接受过脑转移治疗的参与者可以参与,条件是他们通过重复成像(请注意,重复成像应在研究筛查期间进行)放射稳定(即无进展迹象)至少4周、临床稳定且在第一剂研究干预前至少14天无需类固醇治疗。

[0339] ●参与者对派姆单抗和/或其任何辅料具有严重过敏(≥3级)。●参与者患有眼部黑色素瘤。

[0340] ●参与者患有活动性自身免疫疾病,其需要在过去2年进行系统性治疗(即使用疾病调节剂、皮质类固醇或免疫抑制药物)。替代治疗(例如,甲状腺素、胰岛素或用于肾上腺或垂体功能不全的生理性皮质类固醇替代治疗)不被视为系统性治疗的一种形式,并且是允许的。

[0341] ●参与者有需要类固醇的(非传染性)肺炎史或当前有肺炎。●参与者存在主动感染,需要系统治疗。

[0342] ●参与者具有已知的人类免疫缺陷病毒(HIV)感染史。

[0343] ●参与者具有已知的乙肝(定义为乙肝表面抗原[HBsAg]反应性)史或已知的活动性丙型肝炎病毒(定义为检测到HCVRNA(定性))感染。

[0344] ●参与者有可能混淆研究结果、干扰参与者在整个研究期间的参与,或治疗研究者认为不符合参与者参与的最佳利益的任何疾病、治疗或实验室异常的历史或当前证据。

[0345] ●参与者存在已知的精神疾病或物质滥用障碍,其会干扰对研究要求的配合。

[0346] ●参与者在研究的预期持续时间内(从筛查拜访开始至最后一剂研究干预后的120天)怀孕或哺乳,或预期怀孕或生育子女。

[0347] 研究干预的中止和参与者退出

[0348] 中止研究干预不代表退出研究。由于研究干预中止后的关于临床事件的某些数据对研究可能很重要,因此必须通过参与者的最后一次计划的随访收集这些数据,即使参与者已中止研究干预。因此,在方案规定的治疗期结束前中止研究干预的所有参与者仍将继

续参与研究。

[0349] 参与者可随时因任何原因停止研究干预,或在发生任何不良反应时,由研究者自行决定退出研究干预。在另外,如果研究干预不适当、违反研究计划或出于行政和/或其他安全原因,研究人员可停止参与者的研究干预。

[0350] 由于以下任何原因,参与者必须中止研究干预,但继续在研究中接受监测:

[0351] ●参与者或其法律上可接受的代表要求中止研究干预。

[0352] ●参与者中断研究干预给药超过连续12周,或有3次累计漏服剂量。

[0353] ●研究人员认为,参与者的医学状况或个人情况使其面临因持续进行研究干预而产生的不必要风险。

[0354] ●参与者经确认血清妊娠试验呈阳性。

[0355] ●参与者已确认射线照相疾病进展。

[0356] ●参与者出现任何恶性肿瘤的进展或复发,或出现需要积极治疗的其他恶性肿瘤。

[0357] ●参与者有不可接受的不利经历。

[0358] ●参与者患有除上述另一种恶性肿瘤之外的并发症,这样的疾病妨碍了进一步的治疗。

[0359] ●研究者决定停止治疗。

[0360] ●参与者具有复发性二级肺炎。

[0361] ●参与者已完成35次派姆单抗治疗(约2年)。

[0362] 如果参与者或其法律上可接受的代表撤回对研究的同意,则该参与者退出研究。如果参与者退出研究,他们将不再接受研究治疗或在计划的方案访问中被跟踪。

[0363] 知情同意

[0364] 在参与临床研究前,研究人员或具有医学资格的指定人员应获得每位潜在参与者或每位参与者的合法可接受代表的书面同意。如果研究过程中参与者的状态发生变化(例如,健康或成年年龄要求),研究人员或具有医学资格的指定人员应确保获得适当的同意。

[0365] 效力/评估

[0366] 肿瘤评估包括所有已知或疑似疾病部位。成像可包括基线时以及怀疑疾病进展或脑转移时的胸部、腹部和骨盆计算机断层扫描(CT)或磁共振成像。强烈优选通过CT获取肿瘤影像。对于胸部、腹部和骨盆,当禁止含碘对比剂的CT时,或当当地实践要求时,可使用造影增强MRI。对于大脑,MRI是强烈优选的成像方式。

[0367] 在整个研究过程中,参与者使用相同的成像方式技术(理想情况下使用相同的扫描仪,和造影的一致使用)。持续使用成像技术将有助于优化现有和新的肿瘤负荷的评估的可重复性,并提高反应或进展的评估的准确性。所有研究参与者的所有预定图像均由研究人员审查疾病进展情况。在另外,在非计划时间点获得的用于确定疾病进展的图像(包括通过其他方式获得的图像)(以及因其他原因获得,但基于研究人员评估捕捉放射进展的图像)也应在研究现场存档。

[0368] BICR在筛查时基于RECIST 1.1对可测量疾病的确认将用于确定参与者资格。在分配参与者之前,需要BICR确认参与者的影像显示至少有一处损伤适合根据RECIST 1.1选择为目标损伤。

[0369] 初始肿瘤成像

[0370] 筛查时的初始肿瘤成像在首次给药前28天内进行。第1周期第1天治疗后获得的任何影像均不包括在筛查评估中。根据RECIST 1.1,现场研究小组审查筛查图像以确认参与者存在可测量的疾病。如果进行脑成像以记录现有转移的稳定性,则在可能的情况下使用MRI。如果MRI在医学上被禁止,则采用造影的CT是可接受的替代方案。

[0371] 研究期间的肿瘤成像

[0372] 第一次研究中成像评估在第一剂后12周(84天±7天)进行。后续的肿瘤成像每9周(63天±7天)进行,或者如有临床表现,则频率更高。52周(365天±7天)后,继续接受治疗的参与者将每12周(84天±7天)进行成像。

[0373] 通过重复成像评估确认客观反应。在观察到首次反应迹象后至少4周进行肿瘤成像以确认PR或CR。然后,参与者将从下一个计划成像时间点开始返回规律计划成像。接受额外影像检查以确认的参与者,如果是之后不到4周,则无需进行下一次计划肿瘤成像;肿瘤成像可在随后的计划成像时间点恢复。

[0374] 根据改良iRECIST,在临床稳定的参与者的进展性疾病(PD)的首次放射学证据后4至8周,现场确认疾病进展。未确认疾病进展的参与者可根据研究人员的判断继续接受治疗,直至现场确认进展。接受确认性成像的参与者,如果是之后不到4周,则无需进行下一次计划肿瘤成像;如果临床稳定,肿瘤成像可在随后的计划成像时间点恢复。根据现场评估,经iRECIST确认疾病进展的参与者将中止研究治疗。

[0375] 治疗结束和跟踪肿瘤成像

[0376] 对于中止研究干预的参与者,在治疗中止时(±4周窗口)进行肿瘤成像。如果之前的影像是在中止日期前4周内获得的,则治疗中止时的影像不是强制性的。对于因记录的疾病进展而中止研究干预的参与者,如果研究人员选择不实施iRECIST,这是最终要求的肿瘤成像。

[0377] 对于在未记录疾病进展的情况下中止研究干预的参与者,应尽一切努力继续使用每12周(±7天)治疗时使用的相同成像时间表通过肿瘤成像监测疾病状态,直至开始新的抗癌治疗、疾病进展、怀孕、死亡、撤回同意或研究结束(以较早发生者为准)。

[0378] RECIST 1.1疾病评估

[0379] RECIST 1.1被用作评估肿瘤反应、疾病进展日期的主要指标,并作为与疾病状态相关的所有方案指南(例如中止研究干预)的基础。尽管RECIST 1.1提及总共最多5个目标损害,每个器官2个,但该方案允许总共最多10个目标损害,每个器官5个,如果在临床上相关的话,使得能够对肿瘤负荷进行更广泛的取样。

[0380] iRECIST疾病评估

[0381] iRECIST是基于RECIST 1.1,但适用于说明从免疫治疗药物看到的独特肿瘤反应。研究者将使用iRECIST评估肿瘤反应和进展,并作出治疗决定。当临床稳定时,参与者在研究人员与当地放射部门合作确认进展前不中止。尽管存在初始放射性PD,这种允许继续治疗考虑到一些参与者在免疫治疗开始后的最初几个月内可出现短暂的肿瘤爆发,然后出现后续疾病反应的观察。

[0382] 任何被认为临床不稳定的参与者在现场评估PD的第一个放射证据时中止研究干预,且无需重复进行肿瘤成像以由iRECIST确认PD。如果研究人员决定继续治疗,参与者可

继续接受研究干预,且应在4至8周后重复进行肿瘤评估,以根据研究人员的评估通过iRECIST确认PD。如果经研究人员评估,重复成像未确认根据iRECIST的PD,且参与者继续临床稳定,则研究干预将继续进行并遵循常规成像时间表。如果PD得到确认,参与者中止研究干预。

[0383] 如果参与者已确认放射学进展 (iCPD), 则中止研究干预;但是,如果参与者获得了有临床意义的利益,则考虑继续研究干预的例外情形。在这种情况下,如果继续进行研究干预,则继续进行肿瘤成像。表6总结了进展的首次放射学证据后的成像和治疗要求。

[0384] 表6. 进行性疾病的首次放射学证据后的成像和治疗

	临床稳定		临床不稳定	
	成像	处理	成像	处理
根据研究者评估,通过RECIST 1.1 确认的首次放射学证据	在4至8周重复成像以确认PD	经研究人员评估并经参与者同意后,可继续研究治疗	每4至8周重复成像,仅根据研究者的判断确认PD	中止治疗
[0385] 通过 RECIST 1.1 确认的 PD 的首次放射学证据	在4至8周重复成像以确认PD。	在等待 iRECIST 现场确认肿瘤成像的同时,在研究者判断时可以继续研究干预	在4至8周重复成像,仅根据研究者的判断确认PD	中止治疗
根据研究人员评估,通过iRECIST 重复肿瘤成像确认 PD (iCPD)	无需额外成像	中止治疗	无需额外成像	不适用
根据研究人	在4至8周重	在研究者判	在4至8周重	中止治疗

	<p>员评估,通过 iRECIST 重复肿瘤成像显示 iUPD</p>	<p>复成像以确认 PD。可在下一次定期安排的成像拜访时发生。</p>	<p>断时继续研究干预</p>	<p>复成像,仅根据研究者的判断确认 PD</p>	
<p>[0386]</p>	<p>根据研究者的评估,通过 iRECIST 重复肿瘤成像显示 iSD、iPR 或 iCR</p>	<p>继续定期安排的影像评估</p>	<p>在研究者判断时继续研究干预</p>	<p>继续定期安排的影像评估</p>	<p>如果情况有所改善和/或根据研究者的判断临床稳定,可重新开始研究干预。下一次肿瘤成像应按照常规成像时间表进行</p>
<p>缩写: iCPD=iRECIST 确认的进行性疾病; iCR=iRECIST 完整响应; iPR=iRECIST 确认的部分响应; iRECIST =用于基于免疫的治疗学的改良实体瘤中反应评估标准 1.1; iSD=iRECIST 稳定疾病; iUPD=iRECIST 未确认的进行性疾病; PD=进行性疾病; RECIST 1.1 =实体瘤中反应评估标准 1.1; VOP=进展的验证</p>					

[0387] 安全性评估

[0388] 安全性评估包括AE和SAE的收集、生命体征的监测和实验室评估(包括妊娠测试)、心电图(ECG)和体检的表现,以及同时使用的药物的验证。

[0389] 不良事件

[0390] 研究人员或合格的指定人员对每名参与者进行评估,以评估是否存在潜在的新的或恶化的AE,如有临床迹象,评估频率更高。AE的评估包括但不限于类型、发生率、严重程度(由美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准[NCI CTCAE]第4.0版分级)、时机、严重程度、和与研究药物的相关性。记录研究期间发生的不良事件,包括基线迹象和症状。

[0391] 全面体检

[0392] 调查人员或合格指定人员在筛查期间进行全面体检。临床显著的异常发现被记录为病史。在第一剂的研究干预后,新的临床显著的异常发现被记录为AE。

[0393] 定向体检

[0394] 对于不需要全面体检的周期,研究者或合格的指定人员在施用研究干预前进行临床指示的直接体检。新的临床显著的异常发现被记录为AE。

[0395] 生命迹象

[0396] 在休息5分钟后,以半仰卧位测量生命体征,包括温度、收缩和舒张压、呼吸频率、脉率和体重。身高仅在筛查时收集。

[0397] 心电图

[0398] 使用当地标准程序进行标准12导联心电图。筛查时的临床显著的异常发现被记录

为病史。临床需要时，在研究中进行额外的ECG。在后续ECG中发现的临床显著的发现被记录为AE。

[0399] 临床安全性实验室评估

[0400] 表7中详述的测试由当地实验室进行。在研究过程中，研究者确定必要时，可随时进行额外测试。

[0401] 表7方案要求的安全性实验室评估

实验室评估	参数			
血液学	血小板计数	RBC 指数: MCV MCH 网织红细胞%	有差异的 WBC 计数: 中性粒细胞 淋巴细胞 单核细胞 嗜酸粒细胞 嗜碱粒细胞	
	RBC 计数			
	血红蛋白			
	血细胞比容			
化学	血尿素氮 (BUN)	钾	天冬氨酸转氨酶 (AST) / 血清谷氨酸草酰乙酸转氨酶 (SGOT)	总胆红素 (以及直接胆红素, 如果总胆红素高于正常上限)
	白蛋白	碳酸氢盐	氯化物	磷
	肌酸酐	钠	丙氨酸转氨酶 (ALT) / 血清谷丙转氨酶 (SGPT)	总蛋白质
	葡萄糖	钙	碱性磷酸酶	TSH 总 T3 (或游离 T3) 总 T4 (或游离 T4) a
常规尿分析	比重 通过量油计测量 pH、葡萄糖、蛋白质、血液、酮、[胆红素、尿胆素原、亚硝酸盐、白细胞酯酶] 显微镜检查 (如果血液或蛋白质异常)			
其他筛查	卵泡刺激激素和雌二醇 (仅非生育能力的女性需要)			

测试	<p>[血清或尿][酒精和药物筛查(至少包括:安非他命、巴比妥酸盐、可卡因、阿片剂、大麻素和苯二氮卓类药物)(如适用)]</p> <p>[血清或尿]<math>\beta</math>-人绒毛膜促性腺激素(<math>\beta</math>-hCG)妊娠试验(WOCBP需要)</p> <p>[血清学[(HIV抗体、乙肝表面抗原[HBsAg]和丙型肝炎病毒抗体)][或指定其他测试][如适用]</p>
----	---

[0403]

注:

aT3 和 T4 优先; 如果不可用, 可测试游离 T3 和游离 T4。

缩写:  $\beta$ -hCG =  $\beta$ -人绒毛膜促性腺激素; ALT = 丙氨酸转氨酶; AST = 天冬氨酸转氨酶; BUN = 血尿素氮; HBsAg = 乙型肝炎表面抗原; HIV = 人体免疫缺陷病毒; MCH = 平均血球血红蛋白; MCV = 平均血球体积; RBC = 红细胞; SGOT = 血清谷氨酸草酰乙酸转氨酶; SGPT = 血清谷丙转氨酶; HST = 甲状腺刺激激素; WBC = 白血球; WOCBP = 有生育能力的女性。

[0404] 收集AE、SAE和其他可报告安全性事件信息的时间段和频率

[0405] 如果参与者正在接受安慰剂预激治疗或其他预激治疗, 如果该事件导致参与者被排除在研究之外, 或者是方案特定干预(包括但不限于常规治疗、饮食或程序的清除或中止)的结果, 在签署知情同意表之后但在治疗分配/随机化之前发生的所有AE、SAE和其他可报告安全性事件必须由研究人员报告。从治疗分配/随机化时起至研究干预中止后30天内的所有AE必须由研究人员报告。

[0406] 从治疗分配/随机化时起至研究干预中止后90天或研究干预中止后30天(如果参与者启动新的抗癌治疗)(以较早者为准), 所有符合严重标准的AE必须由研究人员报告。此外, 如果该事件被视为与药物相关, 则立即报告在上述规定时间段之外的任何时间提请研究人员注意的任何SAE。

[0407] 功效分析的统计方法

[0408] 客观反应率(ORR) - ORR计算为报告已实现经BICR验证的已确认CR或PR的参与者数量除以APaT群中包含的参与者数量的比率。无ORR评估的APaT分析群中的参与者将被视为无反应者。根据Clopper和Pearson 1934年的方法, 计算95%精确二项式CI用于真实ORR。

[0409] 无进展生存(PFS) - 非参数Kaplan-Meier方法用于估计PFS分布。将计算自研究治疗第一天起的不同随访时间的中值PFS和PFS点估计值的95%CI。由于疾病进展是定期评估的, PD可发生在最后一次未记录PD的评估和记录PD的评估之间的时间间隔中的任何时间。PD的真实日期将与BICR根据RECIST 1.1客观记录PD的第一次评估日期大致相同。死亡始终被视为PFS事件。未经历PFS事件的参与者将在最后一次疾病评估时接受审查。就PFS分析而言, 如果事件(PD或死亡)是在一次以上的遗漏疾病评估之后即刻, 则在遗漏拜访之前的最后一次疾病评估中对数据进行审查。此外, 新的抗癌治疗后的数据将在新的抗癌治疗开始前的最后一次疾病评估中进行审查。如果参与者满足多项审查标准, 将适用最早出现的审查标准。

[0410] 整体生存(OS) - 使用非参数Kaplan-Meier方法估算OS分布。计算从研究治疗第一

天起的不同随访时间的中值OS和OS点估计值的95%CI。

[0411] 响应持续时间 (DOR) - DOR采用非参数Kaplan-Meier方法进行描述性总结。本分析仅包括显示CR或PR的参与者的子集。

[0412] 关键功效终点的分析策略

[0413] 表8总结了关键功效终点的主要分析方法。

[0414] 表8.关键功效终点的分析策略

端点	统计方法	分析群体	缺失数据方法
主要终点			
BICR 根据 RECIST 1.1 的	基于二项式分布的精确方法	APaT	未经评估的参与者被视为无响应
ORR	( Clopper-Pearson 方法 )		者, 保守地被纳入分母
关键次要终点			
BICR 根据 RECIST 1.1 的 PFS	使用 Kaplan-Meier 方法的总结统计	APaT	主要审查规则
OS	使用 Kaplan-Meier 方法的总结统计	APaT	在最后一个已知有效日期被审查
BICR 根据 RECIST 1.1 的 DOR	使用 Kaplan-Meier 方法的总结统计	APaT	无响应者被排除在分析之外。响应者被根据审查规则审查
a 统计模型在正文中有更详细的描述。 缩写: APaT=被治疗的所有参与者; BICR=盲法独立中央审查; DOR=反应持续时间; ORR=客观反应率; OS=总体生存; PFS=无进展生存; RECIST=实体瘤中反应评估标准			

[0417] 安全性分析的统计方法

[0418] 安全性和耐受性通过对所有相关参数 (包括不利经验和实验室参数) 的临床审查进行评估。通过具有95%CI的点估计值,总结了广泛的AE类别,包括具有任何AE、药物相关AE、严重AE、与药物相关且严重的AE以及因AE而中止的参与者的百分比 (表9)。

[0419] 表9.安全性参数的分析策略

	安全性终点	在 95% CI 组内	描述统计学
[0420]	任何 AE	X	X
	任何严重 AE	X	X
	任何与药物相关的 AE	X	X
	任何严重且与药物相关的 AE	X	X
[0421]	因 AE 而中止	X	X
	特定 AE、SOC 或 PDLC		X
	与基线结果（实验室、生命迹象）的差异		X
注：95%CI 将使用 Clopper Pearson 方法计算 X = 提供了结果 缩写：SOC = 系统器官类别；PDLC = 预定变化限定			

[0422] AE是指临床研究参与者中与使用研究干预暂时相关的任何不良医疗事件,无论是否被视为与研究干预相关。因此,AE可以是与药物使用暂时相关的任何不利和意外的迹象(包括实验室异常发现)、症状或疾病(新的或恶化的)。以下作为AE包括:

[0423] ●任何异常的实验室测试结果(血液学、临床化学或尿分析)

[0424] 或其他安全性评估(例如ECG、放射扫描、生命体征测量),包括从基线开始恶化的那些,或在研究者的医学和科学判断中被认为临床显著。

[0425] ●慢性或间歇性先前存在的状况的恶化,包括状况的频率和/或强度的提高。

[0426] ●在研究干预给药后检测或诊断的新情况,即使其可以在研究开始前已存在。

[0427] ●疑似药物相互作用的迹象、症状或临床后遗症。

[0428] ●疑似研究干预或伴随药物过量的迹象、症状或临床后遗症。

[0429] ●研究期间恶性肿瘤的迹象和症状的恶化被报告为AE。通过拍射线照片或其他方法测量恶性病变而评估的疾病进展不被报告为AE,除非该事件导致住院或死亡。

[0430] 以下事件不符合本研究目的的AE的定义:

[0431] ●医疗或外科手术(如内镜检查、阑尾切除术):导致这样的手术的情况为AE。

[0432] ●未发生不良医疗事件的情况(社会的和/或方便住院)。

[0433] ●未恶化的,在研究开始时存在或检测到的先前存在的疾病或状况的预期日常波动。

[0434] ●在知情同意前计划的手术以治疗尚未恶化的先前存在的状况。

[0435] 如果事件不是根据上述定义的AE,则即使满足严重条件,也不可以是SAE。SAE被定义为在任何剂量下发生的任何不良医疗事件,其:

[0436] ●导致死亡

[0437] ●危及生命。“严重”定义中的“危及生命”一词指参与者在事件发生时面临死亡风险的事件。它并未提及如果其更严重,假设可能导致死亡的事件。

[0438] ●需要住院病人住院治疗或延长现有住院治疗时间。住院治疗被定义为住院病人入院,无论停留时间长短,即使住院治疗是持续观察的预防措施。治疗尚未恶化的先前存在的状况的选择性手术的住院治疗并非SAE。先前存在的状况是指在使用MSD产品前诊断并记录在参与者的病史中的临床状况。

[0439] ●导致持续或严重残疾/丧失工作能力。残疾一词指对人进行正常生活功能的能力的实质性破坏。该定义不旨在包括具有相对次要医学意义的经历,例如简单头痛、恶心、呕吐、腹泻、流行性感冒和可以干扰或妨碍日常生活功能但不构成实质性破坏的意外创伤(例如扭伤的脚踝)。

[0440] ●是服用该产品的参与者的子女的先天异常/出生缺陷,无论何时诊断。

[0441] 在决定SAE报告是否适用于其他情况(例如可能不立即危及生命或导致死亡或住院治疗但可能危及参与者或可能需要医疗或手术干预以防止上述定义所示其他结果之一的重要医疗事件)时,运用医学或科学判断。这些事件通常被视为是严重的。这样的事件的例子包括侵入性或恶性肿瘤、在急救室或家中对不导致住院治疗的过敏性支气管痉挛、血液障碍或抽搐进行强化治疗、或发展成药物依赖或药物滥用。

[0442] 人口统计和基线特征

[0443] 显示筛查、分配的受试者的数量和百分比、筛查失败的主要原因以及中止的主要原因。通过所有入选受试者的描述性统计或分类表总结人口统计学变量(例如年龄、性别)、基线特征、一级和二级诊断以及先前和伴随的治疗。

[0444] 亚组分析

[0445] 为确定响应率在各个亚组中是否一致,主要终点的响应率(具有标称95%CI)的估计值在以下各类分类变量中估计:

[0446] ●年龄类别(<65岁vs≥65岁)

[0447] ●性别(女性vs男性)

[0448] ●种族(白人vs非白人)

[0449] ●疾病阶段(III期vs IVM1a vs IVM1b vs IVM1c)

[0450] ●脑转移(是vs否)

[0451] ●ECOG状态(0vs 1)

[0452] ●PD-L1状态(阳性vs阴性)

[0453] ●BRAF野生型vs BRAF突变型(无先前治疗)vs BRAF突变型(先前治疗)

[0454] 生成了森林图,其提供了上述各类亚组中的治疗效果的估计点估计值和CI。参与者少于10人的任何特定亚组均排除在分析之外。

[0455] 实施例3

[0456] 对PD-1难治性黑素瘤患者给予400mg Q6W派姆单抗联合抗CTLA4抗体。

[0457] 研究组1和研究组2将探索抗CTLA4抗体(例如,抗体8D2H2L2变体1)伴有或不伴有派姆单抗在对于抗PD1/L1为难治性的晚期黑素瘤参与者中的抗肿瘤活性。

[0458] 第I组:在第1周期第1天及随后的所有周期,参与者将接受25mg抗CTLA4抗体(例如,抗体8D2H2L2变体1)与400mg派姆单抗组合。抗CTLA4抗体和派姆单抗均将按Q6W日程连续给药最多2年。

[0459] 当首批6名DLT可评估参与者完成其DLT评估时,将进行安全性中期分析。如果观察

到的DLT率高于25%，则可以在新招募的参与者中用派姆单抗200mg Q3W替代400mg Q6W派姆单抗给药。

[0460] 第II组 (n=最多40) :在第1周期第1天及随后的所有周期,参与者将按Q6W日程连续接受25mg抗CTLA4抗体 (例如,抗体8D2H2L2变体1) 作为单一治疗最多2年。

[0461] 本文引用的所有参考文献均通过引用并入本文,如同每份单独的出版物、数据库条目 (例如,Genbank序列或GeneID条目)、专利申请或专利均通过引用被明确且单独引入。本通过引用并入的声明是旨在由申请人根据37C.F.R. §1.57(b) (1) 关联到每份单独的出版物、数据库条目 (例如,Genbank序列或GeneID条目)、专利申请或专利,其各自均按照37C.F.R. §1.57 (b) (2) 明确标识,即使这样的引用并非与专门的通过引用并入的声明直接相邻。本文对参考文献的引用并不旨在承认该参考文献是相关的现有技术,也不构成对这些出版物或文件的内容或日期的任何承认。

## 派姆单抗轻链

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASKGVSTSGYSYLH**WYQQKPGQAPRLLIY**LA**  
**SYLES**GVPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYC**QHSRDLPLT**IFGGGTKVEIK  
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASWCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQE  
SVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC  
(SEQ ID NO:5).

## 派姆单抗重链

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYFT**NYYMY**WVRQAPGQGLEWM**GI**  
**NPSNGGTNFNEKFKN**RVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCAR**RDYRFD**  
**MGFDY**WGQGTITVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT  
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTK  
VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWDVSEQE  
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNGKLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI  
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE  
ALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO:10),

图1

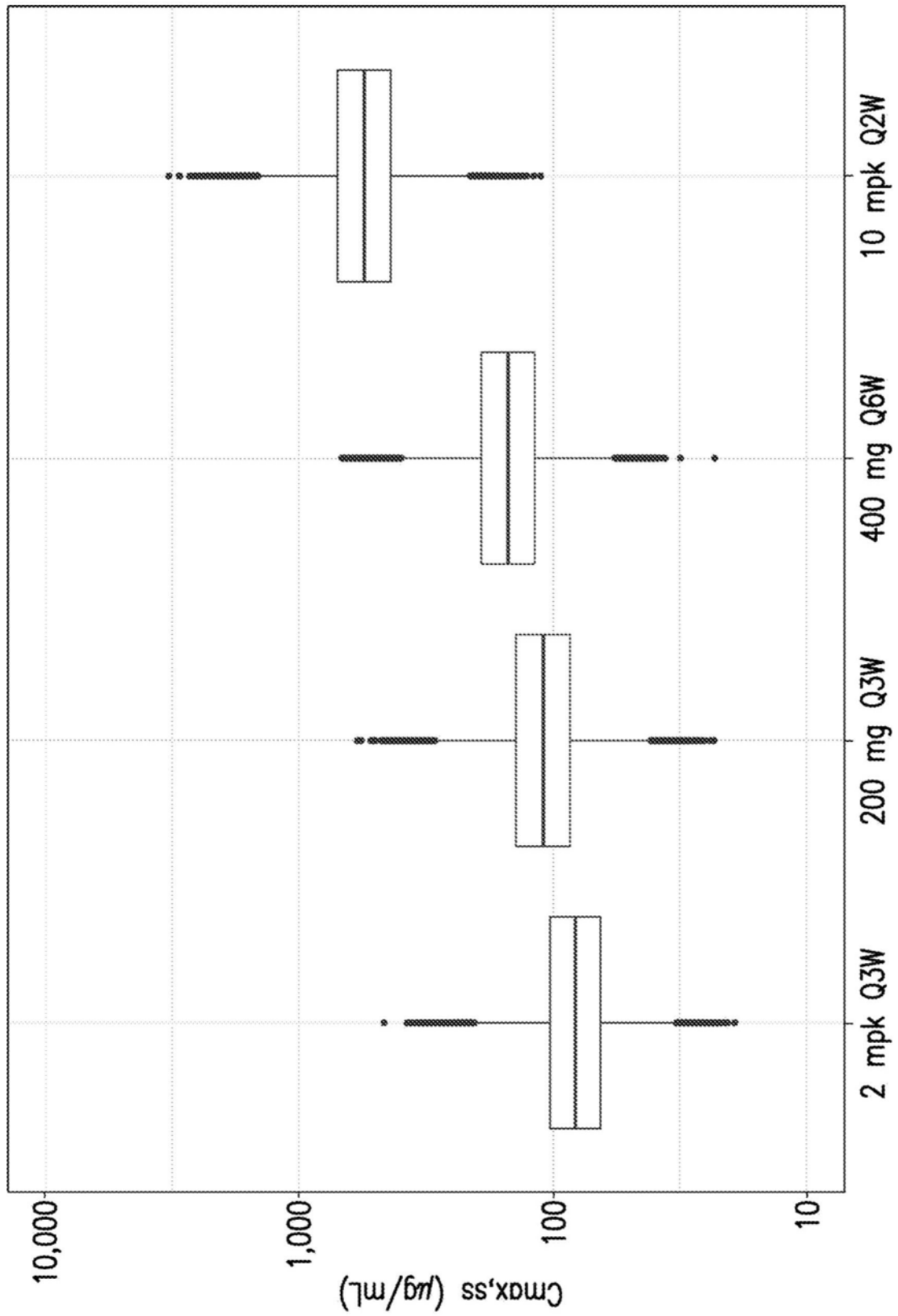


图2

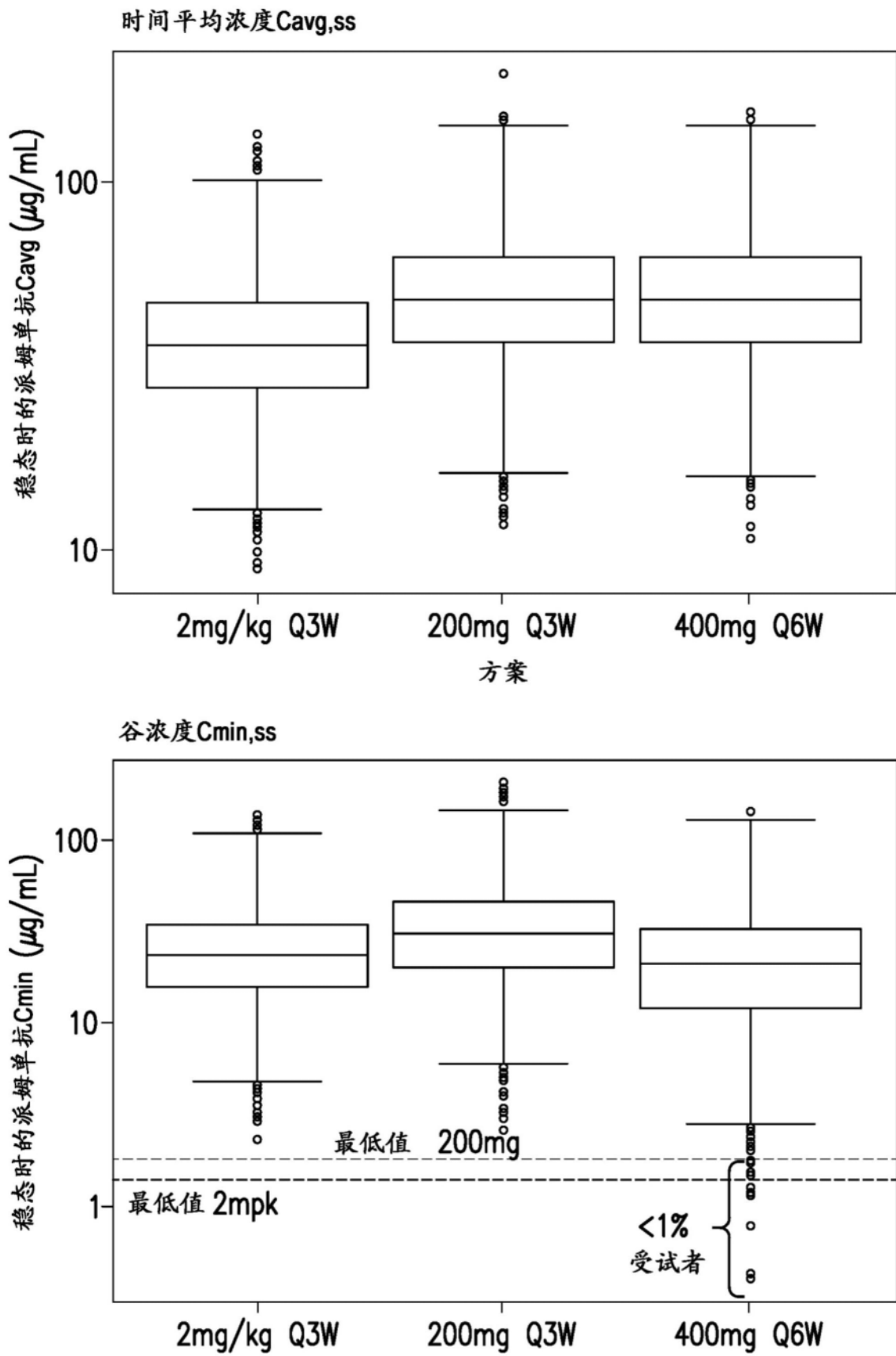


图3

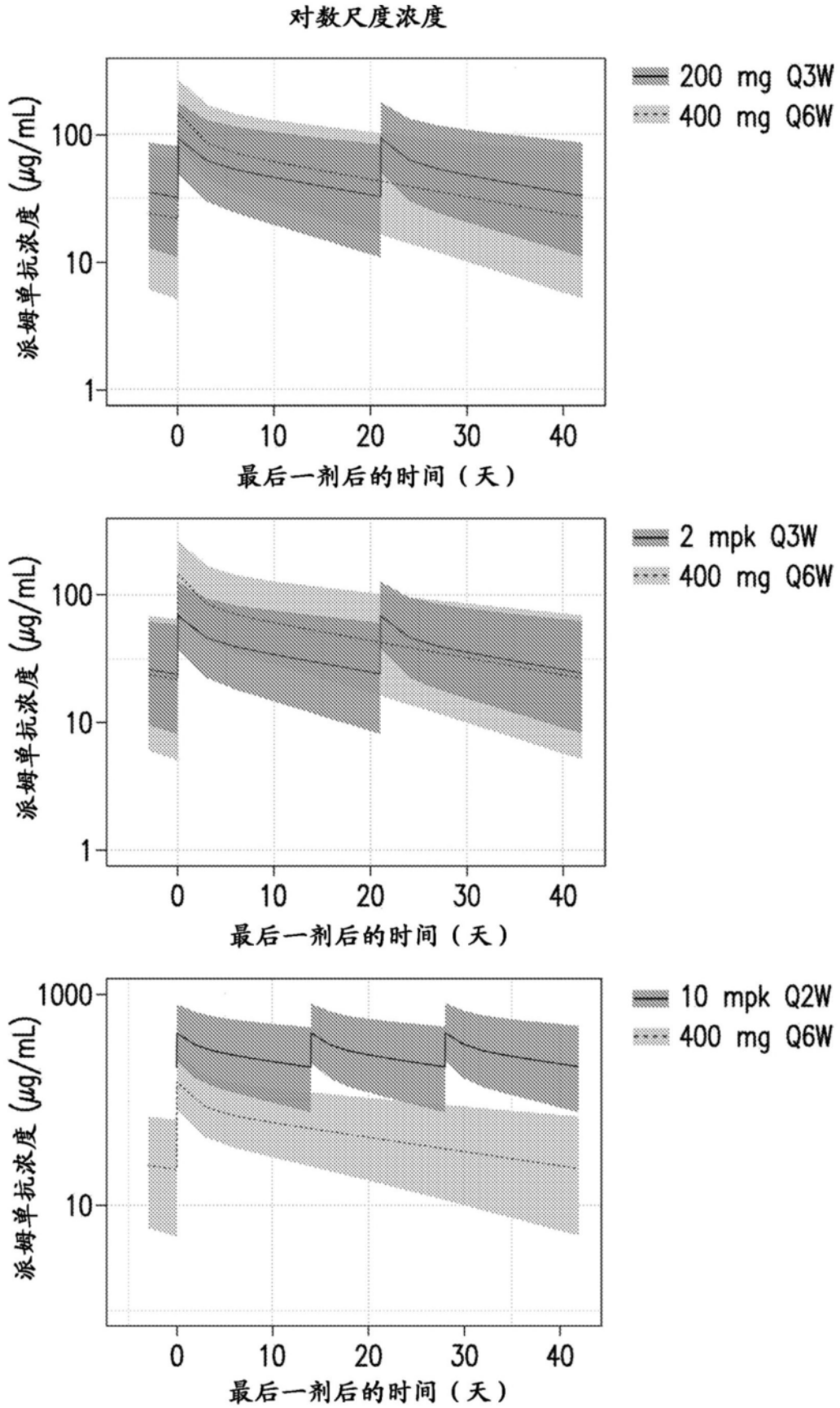


图4A

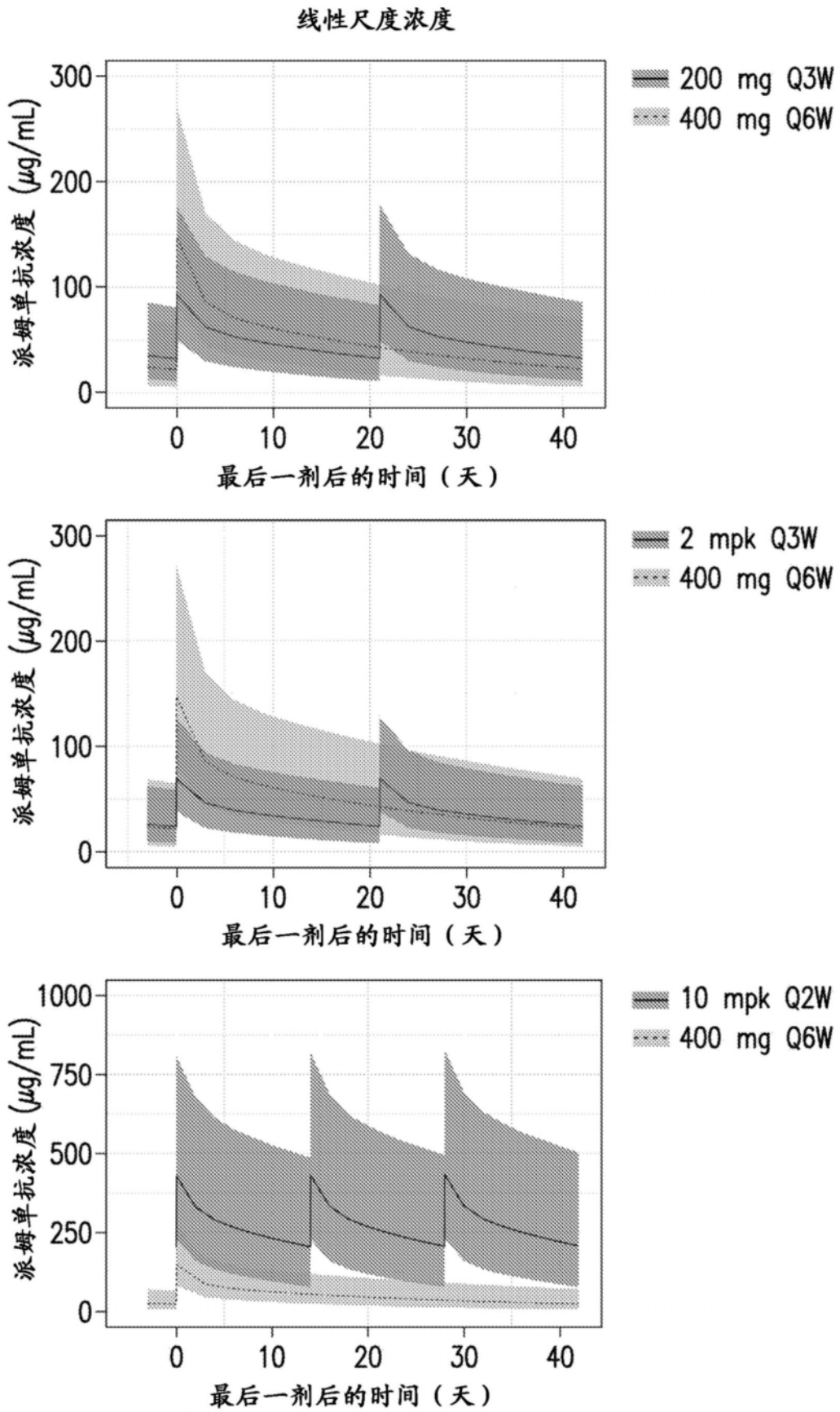


图4B