



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109562189 B

(45) 授权公告日 2021.12.31

(21) 申请号 201780044009.4

(22) 申请日 2017.05.17

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109562189 A

(43) 申请公布日 2019.04.02

(30) 优先权数据
62/337796 2016.05.17 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.01.11

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/033176 2017.05.17

(87) PCT国际申请的公布数据
WO2017/201204 EN 2017.11.23

(73) 专利权人 艾伯维生物制药股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州
专利权人 艾伯维公司

(72) 发明人 E.B.雷利 L.璎莫夫斯基
C.B.阿伦 J.王 M.G.安德森
D.E.阿法

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 任晓华 周齐宏

(51) Int.Cl.
A61K 47/68 (2006.01)

(56) 对比文件
US 2015110815 A1, 2015.04.23
US 2015071950 A1, 2015.03.12
Svetlana O Doronina et al.,
“Development of potent monoclonal
antibody auristatin conjugates for cancer
therapy”.《NATURE BIOTECHNOLOGY》.2003, 第21
卷(第7期), 第778-784页.

Scott C. Jeffrey et al., “A Potent
Anti-CD70 Antibody-Drug Conjugate
Combining a Dimeric Pyrrolobenzodiazepine
Drug with Site-Specific Conjugation
Technology”.《BIOCONJUGATE CHEMISTRY》
.2013, 第24卷第1256-1263页.

审查员 王斯婷

权利要求书1页 说明书123页
序列表96页 附图32页

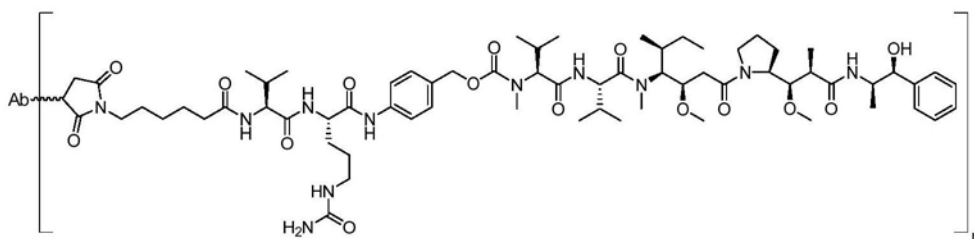
(54) 发明名称

抗cMet抗体药物偶联物及其使用方法

(57) 摘要

本披露提供了结合人cMET的抗体药物偶联物、其制备方法、及其用于治疗患有癌症的患者的用途。

1. 一种抗cMet抗体药物偶联物(“ADC”),其中所述药物偶联物是单甲基溴瑞他汀E(“MMAE”),并且所述ADC具有以下结构:



其中Ab是抗cMet抗体,其包含含有三个CDR即 V_H CDR#1 (SEQ ID NO:112)、 V_H CDR#2 (SEQ ID NO:113) 和 V_H CDR#3 (SEQ ID NO:114) 的 V_H 链;含有三个CDR即 V_L CDR#1 (SEQ ID NO:115)、 V_L CDR#2 (SEQ ID NO:116) 和 V_L CDR#3 (SEQ ID NO:117) 的 V_L 链;以及SEQ ID NO:170 的经修饰的铰链区,n具有范围在2-8的值,并且与所述Ab的连接是经由半胱氨酸残基的巯基基团形成的硫醚键。

2. 权利要求1的ADC,其中n是2。
3. 权利要求1的ADC,其中n是4。
4. 一种药物组合物,其包含权利要求1的ADC。
5. 权利要求4的药物组合物,其中n是2和4。
6. 权利要求4的药物组合物,其具有约3.1的药物抗体比率(“DAR”)。
7. 权利要求4的药物组合物,其中所述ADC具有约1:1的E2/E4比率。
8. 权利要求4的药物组合物,其中所述ADC富集到至少95%E2/E4纯度。
9. 权利要求1的ADC,其包含SEQ ID NO:78的 V_H 链;和SEQ ID NO:79的 V_L 链。
10. 权利要求1的ADC,其包含SEQ ID NO:86的重链和SEQ ID NO:87的轻链。
11. 权利要求10的ADC,其中n是2。
12. 权利要求10的ADC,其中n是4。
13. 一种药物组合物,其包含权利要求10的ADC。
14. 权利要求13所述的药物组合物,其中n是2和4。
15. 权利要求13的药物组合物,其具有约3.1的药物抗体比率(“DAR”)。
16. 权利要求13的药物组合物,其中所述ADC具有约1:1的E2/E4比率。
17. 权利要求13的药物组合物,其中所述ADC富集到至少95%E2/E4纯度。

抗cMet抗体药物偶联物及其使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2016年5月17日提交的美国临时申请号 62/337,796的优先权权益,将该申请的内容通过引用以其整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含已经以ASCII格式电子提交的序列表,并且将所述序列表通过引用以其整体特此并入。创建于2017年5月17日的所述ASCII副本名称为12252_0206-00304_SL.TXT并且大小是98,306 字节。

1. 技术领域

[0005] 本申请尤其涉及抗cMet抗体药物偶联物(“ADC”)、包含ADC的组合物、制备ADC的方法、选择用抗cMet ADC进行癌症治疗的特定患者群体的方法、以及使用ADC治疗癌症的方法。

2. 背景技术

[0006] 致癌蛋白激酶如cMet代表了一类用于癌症干预的生物学重要靶标。cMet是由MET原癌基因编码的充分表征的受体酪氨酸激酶,是肝细胞生长因子(HGF;Gherardi E, Birchmeier W, Birchmeier C等人Targeting MET in cancer:rationale and progress.[靶向癌症中的 MET:基本原理和进展]Nat Rev Can.[癌症自然评论]2012;12:89-103) 的细胞表面受体。cMet过表达发生在大约30%-50%的实体瘤中,包括非小细胞肺癌(NSCLC)、结肠直肠癌(CRC)和晚期胃食管癌(AGEC)(Spigel DR,Ervin TJ,Ramlau RA,等人Randomized Phase II trial of onartuzumab in combination with erlotinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer.[奥纳妥珠单抗组合埃罗替尼在晚期非小细胞肺癌患者中的随机II期试验]J Clin Oncol.[临床肿瘤学杂志]2013;31(32):41054114;Resnick MB,Routhier J,Konkin T等人 Epidermal growth factor receptor,cMET,B-catenin,and p53 expression as prognostic indicators in stage II colon cancer:a tissue microarray study.[表皮生长因子受体cMET、B-连环蛋白和p53的表达作为II期结肠癌的预后指标:组织微阵列研究]Clin Can Res.[临床癌症研究]2004;10:3069-3075;Lee HE,Kim MA, Lee HS,等人MET in gastric carcinomas: comparison between protein express and gene copy number and impact on outcome.[胃癌中的MET:蛋白质表达和基因拷贝数之间的比较以及对结果的影响]Br J Can.[英国癌症杂志] 2012;107(2):325-333)。

[0007] cMet的过表达与患者预后不良相关。因此,仍然需要靶向以cMet过表达为特征的实体瘤癌症的癌症治疗剂。

3. 发明内容

[0008] 本文描述的疗法靶向实体瘤癌症,其中cMet在至少10%的患有癌症的患者群体中

过表达。cMet (细胞间质-上皮转换因子) 是细胞表面受体酪氨酸激酶,其通过与肝细胞生长因子/HGF配体结合而将信号从细胞外基质转导到细胞质中。在胚胎发生和成年期间,此细胞表面受体在许多器官(包括肝脏、胰腺、前列腺、肾、肌肉和骨髓) 的上皮细胞中表达。cMet调节许多生理过程,包括细胞增殖和存活、迁移和分散(细胞-细胞排斥)、组织形态发生、器官再生和组织重塑。在癌症和其他病理过程中,cMet通常经由突变、扩增或蛋白质过表达而被异常激活。

[0009] 其中cMet在至少10%的患者群体中过表达的实体瘤癌症包括肺癌、结肠直肠癌、头颈癌、胰腺癌、胃癌、胶质母细胞瘤、卵巢癌、乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌和食管癌。本文提供的证据首次证明,特异性靶向cMet过表达的抗体药物偶联物(“ADC”)已经在诊断患有非小细胞肺癌的患者中表现出抗肿瘤活性。在实例10-14和16以及图8-12和14-18中提供了表明以单一疗法或组合施用的抗cMet ADC的体内抗肿瘤疗效的数据。

[0010] 当根据实例17的测定法测量时,cMet过表达可以通过大于或等于150的免疫组织化学(IHC)H-评分来定义。简而言之,已经使用Ventana cMet CONFIRM(SP44)试剂盒开发了用于cMet过表达的IHC染色方案。用Ventana抗体染色组织样品,然后通过确定在低到高的各种强度水平下染色的靶组织细胞的百分比进行评分。图20 描绘了使用实例17中描述的测定法的代表性H-评分。

[0011] 可替代地,实例17中描述了使用0至3+的IHC评分的过表达cMet的肿瘤组织。图19和21描绘了使用实例17中描述的测定法的代表性IHC评分。

[0012] 抗cMet ADC可以作为单一治疗剂(单一疗法)或者辅助有或辅助其他抗癌治疗和/或治疗剂(通常但不一定是用于治疗所治疗的癌症类型的那些)施用。实际上,本文提供的证据证明对其他靶向性或非靶向性化学疗法表现出抗性的肿瘤保持对抗cMet ADC的敏感性(参见例如,实例14和图12A-C)。因此,本文所述的抗cMet ADC 对于治疗过表达cMet的实体瘤癌症提供了超过目前靶向性和非靶向性方法的显著益处。辅助疗法和/或治疗剂通常将以其批准的剂量、施用途径和施用频率使用,但可以较低剂量和/或较低频率使用。当作为单一疗法施用时,抗cMet ADC通常将按照提供治疗益处的时间表施用。预期每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每五周一次、每六周一次、每七周一次或每八周一次施用的抗cMet ADC将提供治疗益处,虽然更高或更低频繁的施用可能是有益的。当辅助或辅助有另一种疗法和/或药剂施用时,抗cMet ADC可以在另一疗法或药剂之前、之后或同时施用。

[0013] 抗cMet ADC可以经由多种施用途径或方式进行施用,包括但不限于静脉内输注和/或注射和皮下注射。施用的量将取决于施用途径、给药时间表、所治疗的癌症类型、所治疗的癌症的阶段、以及如本领域熟知的其他参数,例如患者的年龄和体重。在具体实施方式中提供了预期提供治疗益处的具体示例性给药时间表。通常,当以周为单位每周静脉内施用一次至(并且包括)每八周施用一次时,在约 0.005至15mg/kg的范围内的抗cMet ADC的量预期提供治疗益处。

[0014] 因此,在一个方面,本披露提供了特异性结合cMet的ADC (“抗cMet ADC”)。抗cMet ADC包含通过接头与特异性结合cMet 的抗原结合部分连接的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂。在一些实施例中,抗原结合部分是抗体和/或抗原结合片段。

[0015] 构成抗cMet ADC的抗体和/或结合片段通常包含重链和轻链,所述重链包含可变

区 (V_H)，所述可变区具有三个本文称为(以 $N \rightarrow C$ 的顺序) V_H CDR#1、 V_H CDR#2 和 V_H CDR#3 的互补决定区 (CDR)，所述轻链包含可变区 (V_L)，所述可变区具有三个本文称为(以 $N \rightarrow C$ 的顺序) V_L CDR#1、 V_L CDR#2 和 V_L CDR#3 的互补决定区。本文提供了示例性 CDR 的氨基酸序列、以及可构成抗 cMet ADC 的示例性抗 cMet 抗体和/或结合片段的重链和轻链的 V_H 和 V_L 区的氨基酸序列。抗 cMet ADC 的具体实施例包括但不限于 ABT-700 和 STI-0602。

[0016] 对于治疗用途，可能需要利用以至少 100nM 的亲和力结合 cMet 的抗 cMet ADC。因此，在一些实施例中，抗 cMet ADC 包含以至少约 100nM 或甚至更高 (例如至少约 90nM、80nM、70nM、60nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、15nM、10nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.1nM、0.01nM 或更高) 的亲和力结合 cMet 的抗 cMet 和/或抗 cMet 结合片段。可使用本领域熟知的或本文所述的技术 (例如像 ELISA、等温滴定量热法 (ITC)、表面等离子体共振、流式细胞术或荧光偏振测定法) 来确定抗 cMet 抗体和/或结合片段的亲和力。在一些实施例中，亲和力是指根据实例 5 测量的表观亲和力 EC_{50} 值。在一个实施例中，如根据实例 5 确定的，抗体的表观亲和力 EC_{50} 值从低于约 10 纳摩尔/L、优选约 1 皮摩尔/L 至 10 纳摩尔/L、优选约 0.3 纳摩尔/L。

[0017] 抗体可以呈全长抗体、双特异性抗体、双可变结构域抗体、多链或单链抗体、替代体 (surrobody) (包括替代轻链构建体)、单结构域抗体、骆驼化抗体、scFv-Fc 抗体等的形式。它们可以属于或源自任何同种型，包括例如 IgA (例如 IgA_1 或 IgA_2)、IgD、IgE、IgG (例如 IgG_1 、 IgG_2 、 IgG_3 或 IgG_4)、IgM 或 IgY。在一些实施例中，抗 cMet 抗体是 IgG (例如 IgG_1 、 IgG_2 、 IgG_3 或 IgG_4)。抗体可以是人或非人起源的。非人起源的实例包括但不限于哺乳动物起源 (例如，猿猴、啮齿动物、山羊和兔) 或禽类起源 (例如，鸡)。在具体的实施例中，构成抗 cMet ADC 的抗体适合于向人施用，例如像人源化抗体和/或全人抗体。

[0018] 构成抗 cMet ADC 的抗原结合片段可包括能够特异性结合 cMet 的抗体的任何片段。可包含在抗 cMet ADC 中的抗体结合片段的具体实例包括但不限于 Fab、Fab'、 $(Fab')_2$ 、Fv 和 scFv。

[0019] 构成抗 cMet ADC 的抗体和/或结合片段可包括改变所述抗体和/或片段的性质的修饰和/或突变，例如如本领域已知的增加半衰期、增加或减少 ADCC 等的那些。

[0020] 构成抗 cMet ADC 的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂可以是已知抑制细胞生长和/或复制和/或杀死细胞的任何药剂。许多具有细胞毒性和/或细胞生长抑制性质的药剂是文献中已知的。细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的类别的非限制性实例包括 (通过举例而非限制的方式) 细胞周期调节剂、细胞凋亡调节剂、激酶抑制剂、蛋白质合成抑制剂、烷化剂、DNA 交联剂、嵌入剂、线粒体抑制剂、核输出抑制剂、拓扑异构酶 I 抑制剂、拓扑异构酶 II 抑制剂、RNA/DNA 抗代谢物和抗有丝分裂剂。

[0021] 在一个具体实施例中，构成抗 cMet ADC 的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂是细胞渗透性抗有丝分裂剂，例如像澳瑞他汀。细胞渗透性澳瑞他汀的具体实例包括但不限于多拉司他汀 (dolastatin) -10 和单甲基澳瑞他汀 E (“MMAE”)。在另一个具体实施例中，构成抗 cMet ADC 的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂是细胞渗透性 DNA 交联剂，例如细胞渗透性小沟结合 DNA 交联剂。细胞渗透性 DNA 小沟结合剂的具体实例包括但不限于吡咯并苯并二氮杂萘 (“PBD”) 和 PBD 二聚体。

[0022] 将细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与抗 cMet ADC 的抗原结合部分进行连接的接

头可以本质上是长的、短的、柔性的、刚性的、亲水的或疏水的,或者可以包括具有不同特征的区段,例如柔性区段、刚性区段等。接头对于细胞外环境可以是化学上稳定的,例如,在血流中是化学上稳定的,或者可以包括不稳定的键并在细胞外环境中释放细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂。在一些实施例中,接头包含被设计以用于在细胞内抗cMet ADC内化时释放细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的键。在一些具体实施例中,接头包含被设计以用于在细胞内部特异性或非特异性地裂解和/或消亡或以其他方式分解的键。用于将药物与抗原结合部分(例如在ADC背景下的抗体)进行连接的多种接头是本领域已知的。任何这些接头以及其他接头可用于将细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与本文所述的抗cMet ADC的抗原结合部分进行连接。

[0023] 与抗cMet ADC的抗原结合部分连接的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的数量(称为“药物与抗体的比率”或“DAR”)可以变化,并且将仅受抗原结合部分上的可用附着位点的数量和与单个接头连接的药剂的数量的限制。通常,接头将单一细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与抗cMet ADC的抗原结合部分进行连接。在包含多于一种细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的抗cMet ADC的实施例中,每种药剂可以相同或不同。只要抗cMet ADC在使用和/或存储条件下不表现出不可接受的聚集水平,就可考虑DAR为二十或甚至更高的抗cMet ADC。在一些实施例中,本文所述的抗cMet ADC可具有范围为约1-10、1-8、1-6或1-4的DAR。在某些具体实施例中,抗cMet ADC 可具有2、3或4的DAR。在其他具体实施例中,抗cMet ADC可具有3.1的平均DAR。

4. 附图说明

[0024] 本专利或申请文件含有至少一幅彩色附图。在请求并支付必要的费用后,官方将会提供带有一幅或多幅彩色附图的本专利或专利申请公开物的副本。

[0025] 图1A-E显示了几种cMet抗体的氨基酸序列。

[0026] 图2A-B说明了ABBV-399过程1。

[0027] 图3A-B说明了ABBV-399过程2。

[0028] 图4A-D 描绘了在表达cMet的细胞系中的ABBV-399细胞毒性。

[0029] 图5提供了使用ABBV-399和ABT-700 PBD的增殖抑制结果。

[0030] 图6A-B显示了ABT-700 PBD在结肠直肠癌细胞系中的体外活性。

[0031] 图7显示了ABT-700 PBD在脑癌细胞系中的体外活性。

[0032] 图8显示了SW48异种移植物中的ABT-700 PBD活性。

[0033] 图9A-C显示了ABT-700 PBD和ABBV-399在NSCLC患者异种移植物中的活性。

[0034] 图10A-B使用卡普兰-迈耶(Kaplan-Meier)图显示了ABBV-399在NSCLC患者异种移植物中的活性。

[0035] 图11A-B比较了在人类肿瘤异种移植物中ABT-700与 ABBV-399的活性;图11C显示了单独的或与FOLFIRI组合的 ABBV-399的活性。

[0036] 图12A-C描绘了ABBV-399在ABT-700难治性人类异种移植物模型中的活性。

[0037] 图13提供了用于单一疗法I期试验的ABBV-399剂量递增方案。

[0038] 图14提供了显示靶标病变的最佳百分比变化的瀑布图。

[0039] 图15提供了显示使用ABBV-399单一疗法的靶标病变 /cMet水平的最佳百分比变

化的瀑布图。

[0040] 图16显示了在用ABBV-399治疗的16名患者中在临床进展前的周数。

[0041] 图17是显示使用ABBV-399组合埃罗替尼的靶标病变的最佳百分比变化的瀑布图。

[0042] 图18显示了在用ABBV-399和埃罗替尼治疗的6名患者中在临床进展前的周数。

[0043] 图19说明了Ventana的SP44评分指南。

[0044] 图20说明了基于cMet过表达的患者选择。

[0045] 图21提供了使用实例17的方法的示例性IHC评分。

5. 具体实施方式

[0046] 5.1. 缩写

[0047] 在许多实施例中,本文所述的抗体、结合片段、ADC和多核苷酸通过它们各自的多肽或多核苷酸序列进行描述。除非另有说明,多肽序列以N→C方向提供;多核苷酸序列以5'→3'方向提供。对于多肽序列,可以使用基因编码的氨基酸的常规三字母或单字母缩写,如下表1中所记录的。

[0048]

表1 编码的氨基酸缩写		
氨基酸	三字母缩写	单字母缩写
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酸	Glu	E
谷氨酰胺	Gln	Q
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
缬氨酸	Val	V

[0049] 某些序列由结构式定义,所述结构式指定属于某些类别(例如,脂肪族的、疏水性的等)的氨基酸残基。如本文所使用的基因编码的氨基酸所属的各种类别记录在下表2中。一些氨基酸可能属于多于一种类别。没有指定含有巯基基团的半胱氨酸和构象受限的脯氨酸的类别。

[0050]

表2 编码的氨基酸类别	
类别	氨基酸
脂肪族的	A、I、L、V
芳香族的	F、Y、W
非极性的	M、A、I、L、V
极性的	N、Q、S、T
碱性的	H、K、R
酸性的	D、E
小的	A、G

[0051] 5.2. 定义

[0052] 除非本文另外定义,结合本披露使用的科学和技术术语应具有本领域的普通技术人员通常所理解的含义。

[0053] 5.3. 与cMet结合的抗体药物偶联物和cMet过表达测定

[0054] 本披露涉及特异性结合人cMet的抗体药物偶联物,包含所述ADC的组合物,可包含所述ADC的抗cMet抗体和/或结合片段,编码包含所述ADC的抗cMet抗体和/或结合片段的多核苷酸,能够产生所述抗体和/或结合片段的宿主细胞,用于制备所述抗体、结合片段和ADC的方法和组合物,以及在癌症治疗中使用所述ADC的各种方法。

[0055] 本文提供的的数据首次证明,特异性靶向cMet的抗体药物偶联物(“ADC”)针对过表达cMet的实体瘤(特别是当通过用SP44 抗体进行的免疫组织化学测量时IHC评分为2+和3+的那些)表现出有效的抗肿瘤作用,单独地以及与其他靶向性和非靶向性抗肿瘤疗法组合。在实例中提供了如下数据,所述数据证明了作为单一疗法施用的ABBV-399的体内抗肿瘤疗效。

[0056] 出于本申请(包括权利要求书)的目的,本文所述的研究中使用的特定测定法被称为“cMet ABBV-ADC染色方案”。此方案在实例17中详细描述,并且结果以H-评分表示且也能以IHC评分或本领域熟知的其他评分系统表示。

[0057] H-评分方法为确定肿瘤类型之内和之间染色的强度和肿瘤百分比的变化提供了最佳数据分辨率。它还为确定阳性染色的阈值提供了很好的工具。在此方法中,提供了染色强度范围为0-3+的肿瘤内细胞的百分比(0-100)。此方案导致细胞质中和细胞表面/膜中cMet 蛋白的染色。确定处理的肿瘤活检的固定视野(通常为100个细胞) 中的每个细胞的染色强度,并且根据细胞表面/膜染色,如下将单个值归于每个细胞:

[0058] 0= 没有染色

[0059] 1+= 弱染色

[0060] 2+= 中度染色

[0061] 3+= 强染色

[0062] 为了获得H-评分,将肿瘤细胞的百分比乘以每个强度并加在一起。如果100%的肿瘤细胞标记3+强度,则最大H-评分为300。如下计算H-评分:

[0063] $H\text{-评分} = [1x(\%1+\text{细胞}) + 2x(\%2+\text{细胞}) + 3x(\%3+\text{细胞})]$

[0064] 此方案导致细胞质和膜cMet染色。对于本文提及的H-评分计算,使用膜染色。最终的肿瘤H-评分(0-300)为更高强度的膜染色给予更多的相对权重(3+细胞>2+细胞>1+细胞)。图20显示了用“cMet ABBV-ADC染色方案”获得的不同肿瘤H-评分(15、90、180和290)的示例性染色结果。

[0065] 每个肿瘤还可以给出IHC 0、IHC 1+、IHC 2+或IHC 3+的 IHC评分。虽然IHC和H评分都涉及0、1+、2+和3+值,但不要混淆它们。对于H-评分,0、1+、2+和3+值是指单个细胞的染色强度。对于IHC评分,0、1+、2+和3+值是指肿瘤样品的特定区域的整体染色。图21显示了用“cMet ABBV-ADC染色方案”获得的不同肿瘤IHC 0/1+/2+/3+评分的示例性染色结果。

[0066] 出于本披露的目的,并且遵循本文所述的方案,如果固定视野中没有细胞被染色,则归于肿瘤的值IHC 0。如果固定视野中的整体染色水平较低,则所归的值为IHC 1+。如果固定视野中的大多数细胞表现出中度染色,则所归的值为IHC 2+。如果固定视野中的大多数细胞表现出强染色,则所归的值为IHC 3+。

[0067] 在另一个实施例中,并且出于本披露的目的,并且遵循本文所述的方案,如果固定视野中没有细胞被染色,则归于肿瘤的值IHC 0。如果固定视野中的整体染色水平较低,则所归的值为IHC 1+。如果固定视野中的至少15%的细胞表现出中度染色,则所归的值为IHC 2+。如果固定视野中的至少15%的细胞表现出强染色,则所归的值为IHC 3+。

[0068] 出于本披露的目的,150和224之间的H-评分等于2+的IHC 评分,并且225及以上的H-评分等于3+的IHC评分。

[0069] 因此,在一个方面,本披露提供了特异性结合cMet的ADC (“抗cMet ADC”)。抗cMet ADC包含通过接头与特异性结合cMet 的抗原结合部分连接的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂。在 ABBV-399的情况下,抗原结合部分(ABT-700)在人cMet的IPT结构域1处结合cMet。在其他抗cMet ADC中,抗原结合部分可以是能够特异性结合cMet的任何部分。在一些实施例中,抗原结合部分是抗体和/或抗体结合片段。

[0070] 在一个具体实施例中,构成抗cMet ADC的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂是细胞渗透性抗有丝分裂剂,例如像澳瑞他汀。细胞渗透性澳瑞他汀的具体实例包括但不限于多拉司他汀-10和单甲基澳瑞他汀E (“MMAE”)。在另一个具体实施例中,构成抗cMet ADC 的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂是细胞渗透性DNA交联剂,例如细胞渗透性小沟结合DNA交联剂。细胞渗透性DNA小沟结合剂的具体实例包括但不限于吡咯并苯并二氮杂萘 (“PBD”) 和PBD二聚体。

[0071] 如熟练技术人员所理解的,抗体和/或结合片段本质上是“模块化的”。在整个披露中,描述了构成抗体和/或结合片段的各种“模块”的各种具体实施例。作为具体的非限制性实例,描述了 V_H CDR、 V_H 链、 V_L CDR和 V_L 链的各种具体实施例。所有的具体实施例旨在可以彼此组合,就好像每个具体组合被单独地明确描述一样。

[0072] 本文披露的ADC本质上也是“模块化的”。在整个披露中,描述了构成ADC的“模块”的各种具体实施例。作为非限制性实例,描述了可构成ADC的抗体、接头以及细胞毒性剂和/

或细胞生长抑制剂的具体实施例。描述的所有的具体实施例旨在可以彼此组合,就好像每个具体组合被单独地明确描述一样。

[0073] 熟练技术人员还应理解,本文所述的各种ADC可以呈盐的形式,并且在一些具体的实施例中,可以呈药学上可接受的盐的形式。本披露的具有足够酸性的官能团、足够碱性的官能团或这两种官能团的ADC可以与许多无机碱以及无机酸和有机酸中的任一种反应,以形成盐。可替代地,固有地带电荷的化合物(例如具有季氮的那些)可以与适当的抗衡离子(例如卤化物,如溴化物、氯化物或氟化物)形成盐。

[0074] 通常用于形成酸加成盐的酸是无机酸(例如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、磷酸等)和有机酸(例如对甲苯磺酸、甲磺酸、草酸、对溴苯基-磺酸、碳酸、琥珀酸、柠檬酸等)。碱加成盐包括衍生自无机碱的那些,例如铵和碱金属或碱土金属氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等。

[0075] 5.4. 针对cMet的抗体

[0076] 在具体的示例性实施例中,抗原结合部分是抗体或抗原结合片段。

[0077] 如本文所使用的,术语“抗体”(Ab)是指特异性结合特定抗原(此处为cMet)或与其进行免疫反应的免疫球蛋白分子。抗体包含在轻链和重链可变结构域中的互补决定区(CDR),还称作高变区。可变结构域的更高保守性的部分称为框架区(FR)。如本领域已知的,描绘抗体的高变区的氨基酸位置/边界可以根据上下文和本领域已知的各种定义而变化。可变结构域内的一些位置可以被视为杂合高变位置,因为这些位置可以被认为是在一组标准下的高变区之内,而被认为在不同组的标准下的高变区之外。这些位置中的一个或多个也可以在延伸的高变区中找到。天然重链和轻链的可变结构域各自包含主要通过采用 β -片层构型的四个FR区,其通过三个CDR连接,这三个CDR形成连接 β -片层结构的环,并且在一些情况下形成 β -片层结构的一部分。每条链中的CDR由FR区紧密靠近地保持在一起,与来自另一条链的CDR促成了抗体的抗原结合位点的形成。参见Kabat 等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*[免疫学感兴趣的蛋白质的序列](国立卫生研究院(National Institute of Health), 贝塞斯达(Bethesda), 马里兰州(Md.) 1987)。如本文所使用的,除非另有说明,根据Kabat等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统进行免疫球蛋白氨基酸残基的编号。

[0078] 构成抗cMet ADC的抗体和/或结合片段通常包含重链和轻链,所述重链包含可变区(V_H),所述可变区具有三个本文称为(以N \rightarrow C的顺序) V_H CDR#1、 V_H CDR#2和 V_H CDR#3的互补决定区(CDR),所述轻链包含可变区(V_L),所述可变区具有三个本文称为(以N \rightarrow C的顺序) V_L CDR#1、 V_L CDR#2和 V_L CDR#3的互补决定区。本文提供了示例性CDR的氨基酸序列、以及可包含在构成抗 cMet ADC的抗原结合部分中的示例性抗cMet抗体和/或结合片段的重链和轻链的 V_H 和 V_L 区的氨基酸序列。抗cMet ADC的具体实施例包括但不限于包含含有这些示例性CDR和/或 V_H 和/或 V_L 序列的抗体和/或结合片段、以及与此类抗体和/或结合片段竞争结合cMet的抗体和/或结合片段的那些。

[0079] 抗体可以呈全长抗体、双特异性抗体、双可变结构域抗体、多链或单链抗体、替代体(包括替代轻链构建体)、单结构域抗体、骆驼化抗体、scFv-Fc抗体等的形式。它们可以属于或源自任何同种型,包括例如IgA(例如IgA₁或IgA₂)、IgD、IgE、IgG(例如IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄)、IgM或IgY。在一些实施例中,抗cMet抗体是 IgG(例如IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄)。抗体

可以是人或非人起源的。非人起源的实例包括但不限于哺乳动物起源(例如,猿猴、啮齿动物、山羊和兔)或禽类起源(例如,鸡)。在具体的实施例中,构成抗cMet ADC的抗体适合于向人施用,例如像人源化抗体和/或全人抗体。

[0080] 构成抗cMet ADC的抗体可以是多克隆的、单克隆的、基因工程化的和/或本质上另外修饰的,包括但不限于嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、灵长化抗体、单链抗体、双特异性抗体、双可变结构域抗体等。在各种实施例中,抗体包含抗体恒定区的全部或一部分。在一些实施例中,恒定区是选自以下的同种型:IgA(例如IgA₁或 IgA₂)、IgD、IgE、IgG(例如IgG₁、IgG₂、IgG₃或IgG₄)、IgM和 IgY。在具体的实施例中,构成抗cMet ADC的抗体包含IgG₁恒定区同种型。

[0081] 如本文所使用的术语“单克隆抗体”不限于通过杂交瘤技术产生的抗体。单克隆抗体通过本领域可用的或已知的任何方法从单个克隆(包括任何真核、原核或噬菌体克隆)衍生。可以使用本领域已知的各种技术制备可用于本披露的单克隆抗体,所述技术包括使用杂交瘤、重组体及噬菌体展示技术或其组合。在本披露的许多用途(包括在人中包含抗cMet抗体的ADC的体内用途)中,可适当地使用嵌合、灵长化、人源化或人抗体。

[0082] 如本文所使用的术语“嵌合”抗体是指具有衍生自非人免疫球蛋白(例如大鼠或小鼠抗体)的可变序列和人免疫球蛋白恒定区(通常选自人免疫球蛋白模板)的抗体。用于产生嵌合抗体的方法是本领域已知的。参见例如,Morrison,1985,Science[科学] 229(4719):1202-7;Oi等人,1986,BioTechniques[生物技术]4:214-221; Gillies等人,1985, J.Immunol.Methods[免疫学方法杂志] 125:191-202;美国专利号5,807,715、4,816,567和4,816,397;将这些文献通过引用以其整体并入本文。

[0083] 非人(例如,鼠)抗体的“人源化”形式是包含从非人免疫球蛋白衍生的最少序列的嵌合免疫球蛋白。通常,人源化抗体将包含基本上全部的至少一个、通常是两个可变结构域,其中全部或基本上全部的CDR区与非人免疫球蛋白的CDR区对应,并且全部或基本上全部的FR区与人免疫球蛋白序列的FR区对应。人源化抗体还可以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共有序列的一部分。抗体人源化的方法是本领域已知的。参见例如, Riechmann等人,1988,Nature[自然]332:323-7;Queen等人的美国专利号:5,530,101、5,585,089、5,693,761、5,693,762和6,180,370; EP239400;PCT公开W0 91/09967;美国专利号5,225,539;EP592106; EP519596;Padlan,1991,Mol.Immunol.[分子免疫学],28:489-498; Studnicka等人,1994,Prot.Eng.[蛋白质工程]7:805-814;Roguska等人,1994,Proc.Natl.Acad.Sci.[美国国家科学院院刊]91:969-973;以及美国专利号5,565,332;将所有这些文献通过引用以其整体特此并入。

[0084] “人抗体”是具有人免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体,并且包括从人免疫球蛋白文库或从针对一种或多种人免疫球蛋白转基因的且不表达内源性免疫球蛋白的动物分离的抗体。人抗体可以通过本领域已知的多种方法来制备,所述方法包括使用衍生自人免疫球蛋白序列的抗体文库的噬菌体展示方法。参见美国专利号4,444,887和 4,716,111;以及PCT公开W0 98/46645、W0 98/50433、W0 98/24893、W0 98/16654、W0 96/34096、W0 96/33735和W0 91/10741;将这些文献各自通过引用以其整体并入本文。人抗体还可以使用转基因小鼠来产生,所述转基因小鼠不能表达功能内源性免疫球蛋白,但是可以表达人免疫球蛋白基因。参见例如,PCT公开W0 98/24893、W0 92/01047、W0 96/34096、W0 96/33735;美

国专利号5,413,923、5,625,126、5,633,425、5,569,825、5,661,016、5,545,806、5,814,318、5,885,793、5,916,771和5,939,598;将以上文献通过引用以其整体并入本文。此外,梅达雷克斯公司(Medarex)(普林斯顿(Princeton),新泽西州(NJ))、阿斯泰来制药公司(Astellas Pharma)(迪尔菲尔德(Deerfield),伊利诺伊州(IL))、安进公司(Amgen)(千橡市(Thousand Oaks),加利福尼亚州(CA))和再生元公司(Regeneron)(柏油村(Tarrytown),纽约州(NY))等公司能够参与使用类似于上述的技术提供针对所选抗原的人抗体。识别所选表位的全人抗体可以使用称为“指导选择”的技术来产生。在此方法中,将所选的非人单克隆抗体(例如小鼠抗体)用于引导对于识别相同表位的全人抗体的选择(参见,Jespersen等人,1988,Biotechnology[生物技术]12:899-903)。

[0085] “灵长化抗体”包含猴可变区和人恒定区。用于产生灵长化抗体的方法是本领域已知的。参见例如,美国专利号5,658,570、5,681,722和5,693,780,将以上专利通过引用以其整体并入本文。

[0086] 抗cMet ADC可包含全长(完整)抗体分子以及能够特异性结合cMet的抗原结合片段。抗体结合片段的实例包括(通过举例而非限制的方式)Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、单链Fv片段和单结构域片段。

[0087] Fab片段含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH₂)。Fab'片段与Fab片段的区别在于在包含来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸的重链CH₂结构域的羧基末端加入几个残基。通过裂解F(ab')₂胃蛋白酶消化产物的铰链半胱氨酸处的二硫键产生F(ab')₂片段。抗体片段的另外的化学偶联是本领域普通技术人员已知的。Fab和F(ab')₂片段缺少完整抗体的Fc片段(从动物循环中更快地清除),并且可以具有比完整抗体更少的非特异性组织结合(参见例如,Wahl等人,1983,J.Nucl.Med.[核医学杂志]24:316)。

[0088] “Fv”片段是包含完整靶标识别和结合位点的最小抗体片段。此区域由紧密非共价缔合的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域的二聚体(V_H-V_L二聚体)组成。正是在这种构型中,每一个可变结构域的三个CDR相互作用以限定在V_H-V_L二聚体的表面上的抗原结合位点。通常,这六个CDR为抗体赋予抗原结合特异性。然而,在一些情况下,甚至单个可变结构域(或仅包含三个对靶标有特异性的CDR的半个Fv)可具有识别并结合抗原的能力,虽然以比完整结合位点更低的亲和力进行。

[0089] “单链Fv”或“scFv”抗体结合片段包含抗体的V_H和V_L结构域,其中这些结构域存在于单条多肽链中。通常,Fv多肽进一步包含在V_H和V_L结构域之间的多肽接头,所述多肽接头使得scFv形成所希望的用于抗原结合的结构。

[0090] 构成抗cMet ADC的抗体和/或结合片段可包括改变所述抗体和/或片段的性质的修饰和/或突变,例如如本领域已知的增加半衰期、增加或减少ADCC等的那些。

[0091] “单结构域抗体”由单个V_H或V_L结构域组成,所述单结构域抗体对cMet表现出足够的亲和力。在一个具体实施例中,单结构域抗体是骆驼化抗体(参见例如,Riechmann,1999,Journal of Immunological Methods[免疫学方法杂志]231:25-38)。

[0092] 构成抗cMet ADC的抗体还可以是双特异性抗体。双特异性抗体包含对相同或不同抗原上的两个不同表位具有结合特异性的单克隆抗体(通常是人或人源化抗体)。在本披露中,结合特异性之一可以针对cMet,另一个可以针对任何其他抗原,例如针对细胞表面蛋白、受体、受体亚基、组织特异性抗原、病毒衍生的蛋白、病毒编码的包膜蛋白、细菌衍生的

蛋白或细菌表面蛋白等。

[0093] 可以对构成抗cMet ADC的抗体进行衍生。衍生的抗体通常可以通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、由已知的保护基团/阻断基团衍生化、蛋白水解裂解、连接到细胞配体或其他蛋白而被修饰。可以通过已知技术(包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、衣霉素的代谢合成等)进行许多化学修饰中的任何一种。另外,衍生物可以例如使用ambrx技术含有一种或多种非天然氨基酸。参见例如,Wolfson,2006,Chem.Biol.[生物化学] 13(10):1011-2。

[0094] 构成抗cMet ADC的抗体或结合片段可以是其序列已被修饰以改变至少一种恒定区介导的生物效应子功能的抗体或片段。例如,在一些实施例中,可以修饰抗cMet抗体以相对于未修饰的抗体降低至少一种恒定区介导的生物效应子功能,例如降低与Fc受体(Fc γ R)的结合。可以通过在Fc γ R相互作用所必需的特定区域使抗体的免疫球蛋白恒定区区段突变来降低Fc γ R结合(参见例如,Canfield和Morrison,1991,J.Exp.Med.[实验医学杂志]173:1483-1491;以及Lund等人,1991,J.Immunol.[免疫学杂志]147:2657-2662)。降低Fc γ R结合还可以降低依赖于Fc γ R相互作用的其他效应子功能,如调理作用、吞噬作用和抗原依赖性细胞毒性(“ADCC”)。

[0095] 包含在抗cMet ADC中的抗体可具有低水平的岩藻糖或缺乏岩藻糖。缺乏岩藻糖的抗体与ADCC活性增强相关,尤其在低剂量的抗体下。参见Shields等人,2002,J.Biol.Chem.[生物化学杂志] 277:26733-26740;Shinkawa等人,2003,J.Biol.Chem.[生物化学杂志] 278:3466-73。制备更少岩藻糖的抗体的方法包括在大鼠骨髓瘤YB2/0细胞(ATCC CRL 1662)中的生长。YB2/0细胞表达低水平的FUT8 mRNA,其编码 α -1,6-岩藻糖基转移酶(多肽的岩藻糖基化所必需的酶)。

[0096] 构成抗cMet ADC的抗体或结合片段可包含例如通过在参与FcRn相互作用的特定区域使免疫球蛋白恒定区区段突变而增加或降低其对新生儿Fc受体FcRn的结合亲和力的修饰(参见例如,WO 2005/123780)。在特定实施例中,使IgG类的抗cMet抗体突变,使得重链恒定区的氨基酸残基250、314和428中的至少一个被单独取代,或以其任何组合,例如在位置250和428处、或在位置250和314处、或在位置314和428处、或在位置250、314和428处被取代,其中在位置250和428处的取代是特定组合。对于位置250,取代氨基酸残基可以是除苏氨酸以外的任何氨基酸残基,包括但不限于丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸。对于位置314,取代氨基酸残基可以是除亮氨酸以外的任何氨基酸残基,包括但不限于丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸。对于位置428,取代氨基酸残基可以是除甲硫氨酸以外的任何氨基酸残基,包括但不限于丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸。在美国专利号7,217,797的表1中鉴定了合适的氨基酸取代的特定组合,将该专利通过引用并入本文。这类突变增加与FcRn的结合,FcRn保护抗体免于降解并增加其半衰期。

[0097] 抗cMet抗体和/或结合片段可具有一个或多个插入其一个或多个高变区中的氨基

酸,例如如以下文献中描述的:Jung和 Plückthun,1997,Protein Engineering[蛋白质工程]10:9,959-966; Yazaki等人,2004,Protein Eng.Des Sel.[蛋白质工程设计与选择]17(5):481-9;以及美国专利申请号2007/0280931。

[0098] 对cMet具有高亲和力的抗cMet抗体和/或结合片段可能是治疗用途所需要的。因此,本披露预期了包含对cMet具有高结合亲和力的抗cMet抗体和/或结合片段的ADC。在具体的实施例中,抗体和/或结合片段以至少约100nM的亲合力结合cMet,但可表现出更高的亲合力,例如至少约90nM、80nM、70nM、60nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、15nM、10nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.1nM、0.01nM或甚至更高。在一些实施例中,抗体以范围为约1pM至约100nM的亲合力或者范围在任何前述值之间的亲合力结合cMet。

[0099] 可使用本领域熟知的或本文所述的技术(例如像(但不通过限制的方式)ELISA、等温滴定量热法(ITC)、表面等离子体共振、流式细胞术或荧光偏振测定法)来确定抗体和/或结合片段对cMet的亲合力。在一个实施例中,亲合力是指根据实例5测量的表观亲合力EC50值。

[0100] 在本披露的上下文中,抗cMet抗体可以用于至少两种不同的目的。在一些实施例中,出于诊断目的,抗cMet抗体用于辅助并指导患者选择。例如,这些抗cMet抗体可用于从待治疗或治疗中的患者获得的肿瘤活检的免疫组织化学测定。本领域普通技术人员熟悉出于诊断目的选择特定抗体的技术,以测定肿瘤活检中cMet蛋白表达的水平。通常,在一个或多个评分指南(包括0/1+/2+/3+的IHC评分、或H-评分)下对样品进行评分。本披露详述了可从温塔纳公司(Ventana)商购的这种诊断测定的一个实例。可以制备Ventana抗体 SP44和具有相似特性的抗体或从其他供应商获得,并且调整方案以便所述方法具有与Ventana测定法相同或更好的诊断能力。此外,除SP44以外的抗cMet抗体也可用于此目的。本领域普通技术人员将知道如何针对新抗体适当地调整所述方案以获得针对cMet表达水平的诊断测试。对于多种其他FDA批准的癌症治疗,存在伴随诊断,并且所述伴随诊断在普通技术人员的水平内。FDA例如在www.fda.gov/下维护着FDA批准的伴随诊断测试的清单。

[0101] 可以使用的抗cMet抗体的实例包括例如美国专利号 8,673,302(224D10和221C9)和美国专利号9,120,852(227D3和205A5)中披露的诊断性抗体。将这些专利中的每一个的披露(包括CDR、重链(全长区和可变区)以及轻链(全长区和可变区)的氨基酸序列)通过引用全部并入本文。在一个实施例中,抗体是227D3。

[0102] 227D3由2009年11月18日保藏在CNCM的杂交瘤(编号I-4247)分泌。

[0103]

抗体	CDR 编号	重链	轻链	SEQ ID NO.
227D3	IMGT		CDR-L1	159
			CDR-L2	160
			CDR-L3	161
		CDR-H1		162
		CDR-H2		163
		CDR-H3		164
抗体	CDR 编号	重链	轻链	SEQ ID NO.
227D3	Kabat		CDR-L1	165
			CDR-L2	166
			CDR-L3	161
		CDR-H1		167
		CDR-H2		168
		CDR-H3		169

[0104] 在其他实施例中,出于治疗目的,作为抗体药物偶联物 (ADC) 的组分或在施用ADC之前/之后/同时施用抗cMet抗体。

[0105] 5.6.1用于治疗目的的ABT-700和相关抗体

[0106] 出于此部分的抗体的目的,已根据IMGT编号系统鉴定了 CDR。

[0107] ABBV-399是由靶向cMet的抗体ABT-700 (PR-1266688, h224G11) 通过缬氨酸瓜氨酸 (vc) 接头与强效细胞毒素MMAE偶联而组成的ADC。ADC与肿瘤细胞表面的cMet结合,内化,然后释放 MMAE,导致微管功能的抑制和关键细胞过程的破坏以及死亡。ABBV-399对具有过表达的cMet或扩增的MET的癌细胞具有有效的细胞毒性,并且在人肿瘤异种移植中表现出抗肿瘤活性。还证明了 ABBV-399对ABT-700难治性肿瘤的活性 (参见例如实例14)。

[0108] ABT-700

[0109] ABT-700是小鼠单克隆抗体224G11的人源化形式,其首次披露并体现在美国专利号8,329,173中。ABT-700是“人源化”重组 IgG1 κ (在美国专利号8,741,290中披露为224G11 [TH7 Hz3]),其靶向位于免疫球蛋白-丛状蛋白-转录因子同源 (IPT) 结构域1内的cMet 的独特表位,导致HGF依赖性和HGF非依赖性cMet信号传导的阻断。ABT-700与针对SEMA叶片 (blade) 5的抗体竞争结合cMet (反之亦然),但不与针对叶片1-3或IPT 2-3的抗体竞争结合cMet。相比之下,5D5 (单臂奥纳妥珠单抗的二价祖先,在下文讨论) 与SEMA 结构域的叶片5结合。

[0110] 本披露的cMet-ADC涵盖包含重链和轻链的任何抗体,所述重链包含分别含有氨基酸序列SEQ ID No. 1、2和3的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3,所述轻链包含分别含有氨基酸序列SEQ ID No. 5、6和7的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3,根据美国专利号8,741,290。这些是如基于

IMGT编号系统所定义的原始鼠224G11抗体的CDR。

[0111] 如在IMGT命名法下所定义的,ABT-700的CDR序列包含以下序列:

[0112] CDR-H1:GYIFTAYT (SEQ ID NO:72)

[0113] CDR-H2:IKPNGLA (SEQ ID NO:73)

[0114] CDR-H3:ARSEITTEFDY (SEQ ID NO:74)

[0115] CDR-L1:ESVDSYANSF (SEQ ID NO:75)

[0116] CDR-L2:RAS (SEQ ID NO:76)

[0117] CDR-L3:QQSKEDPLT (SEQ ID NO:77)

[0118] 在一个实施例中,224G11[TH7 Hz3]的重链可变区包含美国专利号8,741,290的SEQ ID No.4:

[0119] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTAYTM

HWVRQAPGQGLEWMG WIKPNNGLANYAQKFQGRVTMTRDTSI

STAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEITTEFDYWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 78) ;

[0120] 并且轻链可变区包含美国专利号8,741,290的SEQ ID No.10:DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSESVDYANSFLHW YQQKPGQPPK LLIYRASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE DVAVYYCQQSKED PLTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO:79)

[0121] 在另一个实施例中,224G11[TH7 Hz3]的重链可变区包含:

[0122] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTAYTMH

WVRQAPGQGLEWMG WIKPNNGLANYAQKFQGRVTMTRDTSIS

TAYMELSRLRSDDTAVYYCAR SEITTEFDYWGQGTLVTVSS (SEQ

ID NO: 80) ;

[0123] 并且轻链可变区包含: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSESVDYANSFLHWYQQKPG QPPK LLIYRASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE DVAVYY CQQSKED PLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:81)

[0124] 在另一个实施例中,抗体[224G11][TH7 Hz3]包含完整重链和完整轻链,所述完整重链包含美国专利号8,741,290的氨基酸序列SEQ ID No.37,所述完整轻链包含美国专利号8,741,290的氨基酸序列SEQ ID No.40。经修饰的铰链区具有SEQ ID NO:170的序列。

[0125] 在一些实施例中,抗cMet抗体包含与任何重链恒定区连接的重链可变区,所述重链可变区包含美国专利号8,741,290的SEQ ID No.4:

[0126] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTAYTM

HWVRQAPGQGLEWMG WIKPNNGLANYAQKFQGRVTMTRDTSIS

TAYMELSRLRSDDTAVYYCAR SEITTEFDYWGQGTLVTVSS (SEQ

ID NO: 78) ;

[0127] 和与任何轻链恒定区连接的轻链可变区,所述轻链可变区包含美国专利号8,741,

290的SEQ ID No.10: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSESVD SYANSFLHWYQQKPG QPPK LLIYRA STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQSKED PLTFGGG TKVEIKR (SEQ ID NO:79)。下文提供了合适的重链恒定区和轻链恒定区的实例。

[0128] 在一些实施例中,抗cMet抗体包含与任何重链恒定区连接的重链可变区,所述重链可变区包含美国专利号8,741,290的SEQ ID No.4:

[0129] QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYIFTAYTMH
WVRQAPGQGLEWMG WIKPNNGLANYAQKFQGRVTMTRDTSIST
AYMELSRLRSDDTAVYYCAR SEITTEFDYWGQGT LVTVSS (SEQ
ID NO: 80) ;

[0130] 和与任何轻链恒定区连接的轻链可变区,所述轻链可变区包含: DIVMTQSPDSLAV SLGERATINCKSSESVD SYANSFLHWYQQKPG QPPK LLIYRA STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDV AVY YCQQSKED PLTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:81)。下文提供了合适的重链恒定区和轻链恒定区的实例。

[0131] 在一些实施例中,构成抗cMet ADC的抗cMet抗体和/ 或结合片段是IgG₁。

[0132] 在一些实施例中,构成抗cMet ADC的抗cMet抗体包含具有恒定区的重链,所述恒定区包含或由以下组成:

[0133] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDCHCPPCPAPELLGGPSVF LFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 82)

[0134] 在一些实施例中,构成抗cMet ADC的抗cMet抗体包含具有恒定区的轻链,所述恒定区包含或由以下组成:

[0135] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTL SKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 83)

[0136] 在一些实施例中,构成抗cMet ADC的抗cMet抗体包含具有恒定区的重链,所述恒定区包含或由以下组成:

[0137] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDFPEPVT

VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
 VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDCHCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
 SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
 MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 84)

[0138] 和具有恒定区的轻链,所述恒定区包含或由以下组成:

[0139] TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA
 KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLISKADYE
 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 85)

[0140] 在一些实施例中,构成抗cMet ADC的抗cMet抗体 (ABT-700) 的重链包含或由以下组成(恒定区是粗体;CDR是加下划线的(Kabat编号的CDR序列,按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 112-114)):

[0141] QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT AYTMHWVRQA PGQGLEWMGW 050
 IKPNNGLAN Y AQKFQGRVTM TRDTSISTAY MELSRRLSDD TAVYYCARSE 100
 ITTEFDYWGQ GTLVTVSSAS **TKGPSVFPLA** **PSSKSTSGGT** AALGCLVKDY 150
FPEPVTVSWN **SGALTSGVHT** **FPAVLQSSGL** **YSLSSVVTVP** **SSSLGTQTYI** 200
CNVNHKPSNT **KVDKRVEPKS** **CDCHCPPCPA** **PELLGGPSVF** **LFPPKPKDTL** 250
MISRTPEVTC **VVVDVSHEDP** **EVKFNWYVDG** **VEVHNAKTKP** **REEQYNSTYR** 300
VVSVLTVLHQ **DWLNGKEYKC** **KVSNKALPAP** **IEKTISKAKG** **QPREPQVYTL** 350
 [0142] **PPSREEMTKN** **QVSLTCLVKG** **FYPSDIAVEW** **ESNGQPENNY** **KTTTPVLDSD** 400
GSFFLYSKLT **VDKSRWQQGN** **VFSCSVMHEA** **LHNHYTQKSL** **SLSPG** 445

[0143] (全长序列披露为SEQ ID NO:86)

[0144] 并且轻链包含或由以下组成(CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 115-117):

[0145] DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSESVD SYANSFLHWY QQKPGQPPKL 050
 LIYRASTRES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQSKEDPL 100
TFGGGTKVEI **KRTVAAPSVF** **IFPPSDEQLK** **SGTASVVCLL** **NNFYPREAKV** 150
QWKVDNALQS **GNSQESVTEQ** **DSKDSTYSLS** **STLTLISKADY** **EKKVYACEV** 200
THQGLSSPVT **KSFNRGEC** 218

[0146] (全长序列披露为SEQ ID NO:87)

[0147] 在一些实施例中,构成抗cMet ADC的抗cMet抗体的重链包含可变区(SEQ ID NO: 88的氨基酸1-118)、恒定区(以粗体显示)和CDR(加下划线;CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 118-120)或由其组成:

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT AYTMHWVRQA PGQGLEWMGW 050
IKPNNGLANY AQKFQGRVTM TRDTSISTAY MELSRRLSDD TAVYYCARSE 100
ITTEFDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY 150
 FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI 200
 [0148] CNVNHKPSNT KVDKRVEPKS CDCHCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL 250
 MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR 300
 VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL 350
 PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSD 400
 GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK 446

[0149] (全长重链序列披露为SEQ ID NO:88)

[0150] 并且轻链包含可变区(SEQ ID NO:89中的氨基酸 1-110)、恒定区(以粗体显示)和 CDR序列(加下划线并按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 121-123)或由其组成:

DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSESVD SYANSFLHWY QQKPGQPPKL 050
 LIYRASTRES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQSKEDPL 100
 [0151] TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV 150
 QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSL S TLTLKADY EKHKVYACEV 200
 THQGLSSPVT KSFNRGEC 218

[0152] (全长轻链序列披露为SEQ ID NO:89)

[0153] 在一个实施例中,抗体是ABT-700并且重链由以下核苷酸序列编码(全长序列披露为SEQ ID NO:90):

ATGGGATGGTCTTGGATCTTTCTGCTGTTTCTGTCTGGTACT
GCTGGTGTGCTGAGCcaggtccagctggtgcaatccggcgcagaggtgaagaagcca
 ggcgctccgtgaaggtagctgtaaggcctctggctacatcttcacagcatacaccatgcactgggtga
 ggcaagctcctgggcagggactggagtggtatgggatggattaaaccaacaatgggctggccaactac
 gccagaaattccagggtagggtcactatgacaaggataaccagcatcagcaccgcataataggagctg
 agcaggctgaggtctgacgacactgctgtctattattgcgccaggagcgaaattacaacagaattcgatta
 ctggggggcagggcaccctggtgaccgtgtcctctgccagcaccaagggcccaagcgtgttccccctg
 gccccagcagcaagagcaccagcggcgccacagccgcctgggctgcctgggtgaaggactact
 tccccagccccgtgaccgtgtcctggaacagcggagccctcacttctggagttcatacttcccagc
 agtattgcagagcagtggtgctgtattcactgtcttccgtcgtaacagttccatcctccagcctcgga
 cacagacttacatttgaacgtgaatcacaagcctagcaacaccaaggtcgacaagagagttgaa
 [0154] ccaaagagttgtgattgccactgtcctccctgccagctcctgagctgcttggcggtgccagtgctt
 ctgtttccccctaaaccaaaagacaccctgatgatctcaaggactcccgaggtgacatgcgtgggtg
 gtggatgtgtctcatgaggaccagaggtgaagttcaactgggtacgtggacggcggtggaggtgca
 caacgccaagaccaagcccagagaggagcagtfacaacagcacctacaggggtgggtgtccgtgctg
 accgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaaggtgtccaacaaggccct
 gccagccccaatcgaaaagaccatcagcaaggccaagggccagccaagagagccccaggtgta
 caccctgccaccagcagggaggagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgtctggtgaagg
 gcttctacccaagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaacggccagccccagagaacaactacaa
 gaccacccccccagtgctggacagcgcagcagcttcttctgtacagcaagctgaccgtggaca
 agagcagatggcagcagggcaacgtgttcagctgtctccgtgatgcacgagggccctgcacaaccac
 tacaccagaagagcctgagcctgtccccaggctga

[0155] 分泌信号肽以粗体大写字母表示。

[0156] 包括最终终止密码子 (TGA)

[0157] 恒定区为粗体

[0158] CDR是加下划线的 (CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 124-126)

[0159] 在一个实施例中,抗体是ABT-700并且轻链由以下核苷酸序列编码 (全长序列披露为SEQ ID NO:91):

[0160] **ATGGAACTGATACTGCTGCTGTGGGTCC**
TGCTGCTGTGGGTCCCTGGAAGCACAGGG*gacattgtgatgacccagtct*
cccgatagcctggcgtgtccctgggcgagagggctaccatcaactgtaaaagctccgaatctgtggact
cttacgcaaacagctttctgcactgggtatcagcaaaagccaggccaacctccaaagctgctgatttacagg
gcttctaccagggagagcggcgtgcccgataggttcagcggatctggcagcggcaccgactttactg
accatctccagcctgcaggccgaagatgtggcagtctattactgccagcagtccaaggaggaccccctg
actttcgggggtgttactaaagtggagatcaagcgtaagggtggccgctcccagcgtgttcatcttcccc
ccaagcgacgagcagctgaagagcggcaccgccagcgtggtgtgtctgctgaacaacttctacc
cagggaggccaaggtgcagtgggaaggtggacaacgcctgcagagcggcaacagccaggaga
gctcaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcacctgacctgagcaa
ggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccccg
tgaccaagagcttcaacaggggcgagtgtga

[0161] 分泌信号肽以粗体大写字母表示。

[0162] 包括最终终止密码子 (tga)

[0163] 恒定区为粗体

[0164] CDR是加下划线的 (CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 127-129)

[0165] 在一个实施例中,本文称为ABBV399,抗体重链序列由SEQ ID NO:88表示,轻链序列由SEQ ID NO:89表示,通过缬氨酸瓜氨酸 (vc) 接头与单甲基溴瑞他汀E (MMAE) 偶联。

[0166] 根据Kabat编号,包含携带S238C突变的ABT-700的序列的ABT-700 PBD (本文也称为ABT-700 (S238C) -PBD) 的序列如下 (CDR是加下划线的;编号系统是Kabat;并且S238C突变由C (粗体,斜体,并且加下划线) 表示):

[0167] 氨基酸序列 (每组10个氨基酸,每行5组)

[0168] 重链 (SEQ ID NO:171) (加下划线的CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 173-175):

[0169] QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT AYTMHWVRQA PGQGLEWMGW 50

IKPNNGGLANY AQKFQGRVTM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARSE 100
 ITTEFDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY 150
 FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI 200
 [0170] CNVNHKPSNT KVDKRVEPKS CDCHCPPCPA PELLGGPCVF LFPPKPKDTL 250
 MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR 300
 VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL 350
 PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPDSIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSD 400
 GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG 445

[0171] 轻链 (SEQ ID NO:172) (加下划线的CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 176-178):

DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSESVD SYANSFLHWY QQKPGQPPKL 50
 LIYRASTRES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQSKEDPL 100
 [0172] TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV 150
 QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLKADY EKHKVYACEV 200
 THQGLSSPVT KSFNRGEC 218

[0173] 因此,抗体ABT-700 PBD包含两个与cys工程化的mAb ABT-700 (S238C) 偶联的PBD 药物-接头分子,并且具有SEQ ID NO: 171的重链和SEQ ID NO:172的轻链。

[0174] 在一个实施例中,对224G11[TH7 Hz3]的重链上的C-末端赖氨酸氨基酸进行工程化以消除由于赖氨酸的不完全裂解而造成的C-末端的异质性。在ABT-700中,通过向天冬酰胺-296添加N-连接的聚糖对重链进行翻译后修饰。主要聚糖是含有零个、一个或两个半乳糖残基的岩藻糖基化的双触角寡糖。此外,在重链的N-末端是谷氨酰胺残基,其可以经历自发环化以形成焦谷氨酸残基。

[0175] 原始的鼠224G11抗体已进一步嵌合且人源化。在美国专利号8,741,290中详细描述了嵌合化和人源化过程,并且将这些过程通过引用以其整体并入本文,对其中所述的所有抗体的生物特性和结构特性的描述也是如此。在鼠224G11抗体的人源化过程中,224G11 Mab的嵌合形式(224G11chim/IgG1)意指来自m224G11的可变结构域(VH+VL)与人恒定结构域IgG1/κ结合,产生与拮抗剂疗效降低(与产生HGF最大效应的75%抑制的m224G11相比,HGF最大效应的54%抑制)相关的强(最大HGF效应的17%)激动剂活性。还在人IgG1/κ骨架上构建三种人源化形式的224G11 Mab,即 [224G11]Hz1/IgG1、[224G11]Hz2/IgG1和 [224G11]Hz3/IgG1,与小鼠 224G11相比也产生了降低的拮抗剂疗效和显著的激动剂活性(最大 HGF水平的11%至24%)。

[0176] 一些人源化形式的224G11抗体的铰链被修饰,如美国专利号8,741,290中详细描述,并且将所述专利通过引用并入本文。所得抗体(其ADC也在本披露的范围内)包括224G11[TH7Hz3]。

[0177] 抗体h224G11/ABT-700是指人源化形式224G11[TH7 Hz3]。此抗体代表为本披露的ABBV-399的一部分的ABT-700抗体。在美国专利号8,741,290中广泛地表征了抗体ABT-700或h224G11的生物活性。将其中的生物学表征通过引用以其整体并入本文。将对美国专利号8,741,290的全部描述通过引用并入本文。

[0178] 落入本披露范围内的224G11抗体药物偶联物的其他嵌合和人源化形式的示例性

形式是在美国专利号8,741,290中称为抗体 [224G11] [IgG2Hz1]、[224G11] [IgG2Hz2]、[224G11] [IgG2Hz3]、[224G11] [TH7Hz1]、[224G11] [TH7z2]、[224G11] [TH7Hz3]、[224G11] [IgG2chim]、[224G11] [TH7chim]、[224G11] [C1]、[224G11] [C2]、[224G11] [C3]、[224G11] [C5]、[224G11] [C6]、[224G11] [C7]、[224G11] [C8]和[224G11] [C9]的那些。

[0179] 其他实例包括抗体[224G11] [Δ 1-3]、[224G11] [C7 Δ 6]、[224G11] [C6 Δ 9]、[224G11] [C2 Δ 5-7]、[224G11] [C5 Δ 2-6]、[224G11] [C9 Δ 2-7]、[224G11] [Δ 5-6-7-8]、[224G11] [IgG1/IgG2]、[224G11] [IgG2Hz1]、[224G11] [IgG2Hz2]、[224G11] [IgG2Hz3]、[224G11] [TH7Hz1]、[224G11] [TH7Hz2]、[224G11] [TH7Hz3]、[224G11] [TH7chim]、[224G11] [MHchim]、[224G11] [MUP9Hchim]和[224G11] [MMCHchim]。

[0180] 在这两个系列的抗体中,第一个括号是指被修饰的抗体(即224G11)的名称,第二个括号标识抗体的特定修饰,其中大部分对应于铰链区的变化,根据针对C-结构域的IMGT独特编号。符号Δ表示缺失。每种修饰的具体细节可以在美国专利号8,741,290中找到。

[0181] 因此,在一些实施例中,构成抗cMet ADC的抗cMet 抗体和/或结合片段适用于向人施用。在一个具体实施例中,抗cMet 抗体是人源化的。

[0182] 在一些实施例中,在参考抗体的体外测定中,在固相中,构成抗cMet ADC的抗cMet 抗体和/或结合片段竞争结合表达cMet 的细胞上的cMet、或免疫球蛋白-丛状蛋白-转录因子同源(IPT)的人cMet、或Met-Fc或工程化/重组的cMet。参考抗体可以是特异性结合免疫球蛋白-丛状蛋白-转录因子同源(IPT)的人cMet的任何抗体。在一个具体实施例中,参考抗体是小鼠224G11。在另一个具体实施例中,参考抗体是ABT-700。

[0183] 竞争测定包括但不限于放射性物质标记的免疫测定(RIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、夹心ELISA、流式细胞术测定法和表面等离子体共振测定法。优选的方法是在以下文献中描述的方法:Basilico C,Hultberg A,Blanchetot C,de Jonge N,Festjens E,Hanssens V,Osepa SI,De Boeck G,Mira A,Cazzanti M,Morello V, Dreier T,Saunders M,de Haard H,Michieli P.Four individually druggable MET hotspots mediate HGF-driven tumor progression.[四个可单独药化的MET热点介导HGF驱动的肿瘤进展]J Clin Invest.[临床研究杂志]2014年7月;124(7):3172-86.doi:10.1172/JCI72316.2014年 5月27日电子出版。

[0184] 在进行参考抗体和测试抗体(不管种类或同种型)之间的抗体竞争测定的一个示例性实施例中,可以先用可检测标记(如荧光团、生物素或者酶学标记或放射性标记)标记参考抗体使得能够进行后续检测。在这种情况下,将表达cMet的细胞或cMet的胞外结构域(或其子部分)与未标记的测试抗体一起孵育,加入标记的参考抗体,并测量所结合的标记的强度。如果测试抗体通过与相同的、近端的或重叠的表位结合而与标记的参考抗体竞争,则相对于在没有测试抗体的情况下进行的对照反应,检测信号的强度将降低。

[0185] 在此测定的一个具体实施例中,首先在测定条件(例如,指定的细胞密度或cMet/cMet胞外结构域或其子部分的指定浓度)下确定产生最大结合的80%的标记的参考抗体的浓度("conc_{80%}"),并用10X的浓度_{80%}的未标记的测试抗体和conc_{80%}的标记的参考抗体进行竞争测定。

[0186] 在进行流式细胞术竞争测定的另一个示例性实施例中,将表达cMet的细胞与滴定系列的抗体一起孵育,所述滴定系列的抗体包括浓度增加的未标记的测试抗体与荧光标记

的抗cMet参考抗体。标记的参考抗cMet抗体以固定浓度X(例如, $X=1\mu\text{g}/\text{ml}$) 使用, 未标记的测试抗体以一系列浓度(例如, $10^{-4}X$ 至 $100X$) 使用。将细胞或cMet/cMet胞外结构域或其子部分与未标记的测试抗体和标记的参考抗体一起孵育。流式细胞术数据相对于仅荧光标记的参考抗体进行标准化, 其中将在没有未标记的测试抗体的情况下进行的样品的荧光强度指定为100%结合。如果测试抗体与标记的参考抗体竞争结合 cMet, 则使用等浓度的每种(例如, $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 未标记的测试抗体和 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 标记的参考抗体) 进行的测定将产生当与100%对照相比时降低大约50%的荧光强度, 这表明大约50%结合。使用浓度为X的标记的参考抗体和浓度为 $10X$ 的竞争结合cMet的未标记的测试抗体将产生当与100%对照相比时降低大约90%的结合, 这表明大约10%结合。

[0187] 抑制可以表示为根据以下公式计算的抑制常数或 K_i :

[0188] $K_i = IC_{50} / (1 + [\text{参考Ab浓度}] / K_d)$,

[0189] 其中 IC_{50} 是使参考抗体的结合降低50%的测试抗体的浓度, K_d 是参考抗体的解离常数, 即参考抗体对cMet的亲力的量度。与参考cMet抗体竞争的抗体在本文所述的测定条件下可具有10pM 至100nM的 K_i 。

[0190] 在各种实施例中, 在所使用的具体测定条件下为最大结合的80%的参考抗体浓度下和比参考抗体浓度高10倍的测试抗体浓度下, 如果测试抗体使参考抗体与表达cMet的细胞或cMet/cMet胞外结构域或其子部分的结合降低至少约20%或更多, 例如至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或甚至更多或者范围在任何前述值之间的百分比, 则认为测试抗体与参考抗体竞争。

[0191] 在流式细胞术竞争测定的各种实施例中, 在比参考抗体浓度高10倍的测试抗体浓度下, 如果测试抗体使参考抗体与表达cMet 的细胞的结合降低至少约20%或更多, 例如至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或甚至更多或者范围在任何前述值之间的百分比, 则认为测试抗体与参考抗体竞争。

[0192] 检测cMet的表达通常涉及使生物样品(个体的细胞、组织或体液) 与一种或多种抗cMet抗体(任选地与可检测部分偶联) 接触, 并检测所述样品是否对cMet表达呈阳性, 或与对照样品相比, 所述样品是否已经改变(例如, 减少或增加) 表达。用于这样做的方法是本领域普通技术人员所熟知的, 包括实例中描述的那些。

[0193] 5.6.2. 一些其他示例性cMet抗体

[0194] 可根据本披露使用的另一种抗cMet抗体已命名为 227H1, 包含分别含有美国专利号8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No. 4、5和6的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的重链和分别含有美国专利号8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No.13、11和14的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的轻链(分别为本申请的SEQ ID NO 4、5、6、13、11和14)。已在美国专利号8,329,173中详细描述了这些抗体, 并且将它们的描述通过引用以其整体并入本文。与本申请同时提交的序列表包括来自美国专利8,329,173的作为SEQ ID NO 1-71的SEQ ID NO 1-71。

[0195] 在一个实施例中, 抗体227H1包含含有美国专利号 8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No.19的重链和含有美国专利号 8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No.22的轻链(分别为本申请的SEQ ID NO 19和20)。已在美国专利号8,329,173中详细描述了这些抗体, 并且将它们的描述通过引用以其整体并入本文。

[0196] 可根据本披露使用的另一种抗cMet抗体已命名为 223C4, 包含分别含有美国专利

号8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No. 7、8和9的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的重链和分别含有美国专利号8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No.15、16和17的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的轻链(分别为本申请的SEQ ID NO 7、8、9、15、16和17)。已在美国专利号8,329,173中详细描述了这些抗体,并且将它们的描述通过引用以其整体并入本文。

[0197] 在一个实施例中,抗体223C4包含含有美国专利号 8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No.20的重链和含有美国专利号 8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No.23的轻链(分别为SEQ ID NO 20 和23)。已在美国专利号8,329,173中详细描述了这些抗体,并且将它们的描述通过引用以其整体并入本文。

[0198] 可根据本披露使用的另一种抗cMet抗体已命名为 11E1,包含分别含有美国专利号8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No. 56、57和58的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的重链和分别含有美国专利号8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No.59、60和61的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的轻链(分别为SEQ ID NO 56、57、58、59、60 和61)。已在美国专利号8,329,173中详细描述了这些抗体,并且将它们的描述通过引用以其整体并入本文。

[0199] 在一个实施例中,抗体11E1包含含有美国专利号 8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No.62的重链和含有美国专利号 8,329,173的氨基酸序列SEQ ID No.63的轻链(分别为SEQ ID NO 62 和63)。已在美国专利号8,329,173中详细描述了这些抗体,并且将它们的描述通过引用以其整体并入本文。

[0200] 以上披露的这些第一单克隆抗体、或其功能片段或衍生物之一的特征在于,所述抗体由在03/14/2007在国家微生物培养物保藏中心(Collection Nationale de Cultures de Microorganismes,CNCM, National Collection of Microorganism Cultures)(法国巴黎巴斯德研究所(Institut Pasteur,Paris,France))保藏的编号为CNCM I-3724(对应于11E1)、I-3731(对应于224G11)、I-3732(对应于227H1)和在07/06/2007保藏的编号为I-3786(对应于223C4)的杂交瘤分泌。这些杂交瘤由导致免疫小鼠脾细胞与骨髓瘤细胞系(Sp20 Ag14)的细胞融合的鼠杂交瘤组成。

[0201] 因此将这些第一抗体(所有这些抗体最初都在美国专利号8,329,173中披露并且由若干专利涵盖)总结如下(SEQ ID NO在‘173专利和本申请中是相同的):

[0202]		224G11		227H1		223C4		11E1	
		I-3731		I-3732		I-3786		I-3724	
		蛋白质	核酸	蛋白质	核酸	蛋白质	核酸	蛋白质	核酸
		SEQ	SEQ	SEQ	SEQ	SEQ	SEQ	SEQ	SEQ
		ID	ID	ID	ID	ID	ID	ID	ID
		NO:	NO:	NO:	NO:	NO:	NO:	NO:	NO:
	CDR-H1	1	24	4	27	7	30	56	64
	CDR-H2	2	25	5	28	8	31	57	65
	CDR-H3	3	26	6	29	9	32	58	66
	H 链	18	41	19	42	20	43	62	70
	CDR-L1	10	33	13	36	15	38	59	67
	CDR-L2	11	34	11	34	16	39	60	68
	CDR-L3	12	35	14	37	17	40	61	69
	L 链	21	44	22	45	23	46	63	71

[0203] 抗体224G11、227H1和223C4不结合cMet受体的SEMA 结构域。11E1能够结合SEMA结构域。

[0204] 在一个实施例中,抗cMet抗体包含抗体STI-D0602或 STI-0602(索伦托治疗剂公司(Sorrento Therapeutics))的CDR。在另一个实施例中,抗cMet抗体是STI-D0602或STI-0602,如在以下文献中描述的:Lingna Li,Cathrine Fells,Julia Guo,Pia Muyot,Edwige Gros,Yanliang Zhang,Yingqing Sun,Hong,Zhang,Yanwen Fu,Tong Zhu,Jian Cao,Gunnar Kaufmann,Gang Chen,Zhenwei Miao,A novel cMet targeting antibody drug conjugate for NSCLC[针对NSCLC的新型靶向cMet的抗体药物偶联物],摘要号3897,AACR Annual Meeting [美国癌症研究协会年会],4月16-20日,新奥尔良(New Orleans),美国。

[0205] 在一个实施例中,抗cMet抗体包含抗体5D5(基因泰克公司(Genentech))或单臂(单价)衍生物奥纳妥珠单抗的CDR。在一个实施例中,抗cMet抗体是抗体5D5(基因泰克公司)或单臂(单价)衍生物奥纳妥珠单抗(图1B)。关于奥纳妥珠单抗的其他信息如下:

[0206] 重链(SEQ ID NO:92):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSTSYWLHWVRQAPGKGL
EWVGMIDPSNSDTRFNPENFKDRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED
TAVYYCATYRSYVTPLDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
[0207] LYSLSVSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
[0208] 轻链 (SEQ ID NO:93) :
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLLYTSSQKNYLAWYQQK
[0209] PGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFA
TYYCQQYYAYPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
[0210] ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
[0211] 铰链-CH2-CH3 (SEQ ID NO:94) :
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
[0212] EEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

[0213] 在一个实施例中,抗cMet抗体包含抗体艾米妥珠单抗 (emibetuzumab) / LY2875358的CDR。在一个实施例中,抗cMet抗体是艾米妥珠单抗/LY2875358 (礼来公司 (Eli Lilly and Company), CAS号1365287-97-3) (图1A)。关于艾米妥珠单抗的其他信息如下:

[0214] 重链 (SEQ ID NO:95) :

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGL
EWMGRVNPNNRRGTTYNQKFEGRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDD
TAVYYCARANWLDYWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE
STAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCP
[0215] APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

[0216] 轻链 (SEQ ID NO:96) :

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSVSSSVSSIYLHWYQQKPGKAP
KLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ
[0217] VYSGYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL
TLISKADYEKKHVVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0218] 在一个实施例中,抗cMet抗体包含抗体AbF46或SAIT301(三星电子公司(Samsung Electronics))的CDR。在一个实施例中,抗体是AbF46(图1C)。在另一个实施例中,抗cMet抗体是SAIT301(图1E)。

[0219] 在一个实施例中,抗cMet抗体包含抗体ARGX-111 (36C4) (arGEN-X BV)的CDR。在另一个实施例中,抗cMet抗体是ARGX-111(图1D)。

[0220] 在一个实施例中,抗cMet抗体包含Sym015 (Hu9006、Hu9338) (SymphogenA/S) 中的抗体之一的CDR。在另一个实施例中,抗cMet抗体是Hu9006。在另一个实施例中,抗cMet抗体是Hu9338。在W0 2016042412中披露了这些抗体(包括它们的CDR) 的氨基酸序列。

[0221] 5.5. 制备抗体的表达系统和方法

[0222] 抗cMet抗体可以通过本领域普通技术人员熟知的方法通过在宿主细胞中重组表达免疫球蛋白轻链和重链基因来制备。为了重组表达抗体,用一种或多种携带编码免疫球蛋白抗体轻链和重链的DNA片段的重组表达载体转染宿主细胞,使得轻链和重链在宿主细胞中表达,并且任选地分泌到培养宿主细胞的培养基中,从所述培养基中可回收抗体。标准重组DNA方法用来获得抗体重链和轻链基因,将这些基因整合到重组表达载体中并将载体引入宿主细胞中,如在Molecular Cloning: A Laboratory Manual [分子克隆: 实验室手册], 第二版(Sambrook, Fritsch和Maniatis (编辑), 冷泉港实验室(Cold Spring Harbor), 纽约, 1989); Current Protocols in Molecular Biology [当前分子生物学方案] (Ausubel

等人编辑,格林出版联合公司(Greene Publishing Associates),1989);以及在美国专利号4,816,397中描述的那些。

[0223] 为了产生编码这样的抗cmet抗体的核酸,首先获得编码轻链和重链可变区的DNA片段。这些DNA可以通过例如使用聚合酶链式反应(PCR)来扩增和修饰编码轻链和重链可变序列的种系DNA或cDNA而获得。人重链和轻链可变区基因的种系DNA序列是本领域已知的(参见例如,“VBASE”人类种系序列数据库;还参见Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学感兴趣的蛋白质的序列],第五版,美国卫生和公共服务部(U.S. Department of Health and Human Services),NIH公开号91-3242;Tomlinson等人,1992,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]22T:116-198;以及Cox等人,1994,Eur.J.Immunol.[欧洲免疫学杂志]24:827-836;将这些文献各自的内容通过引用并入本文)。已在美国专利号8,329,173中详细描述了编码抗体224G11、227H1、223C4和11E11的核苷酸,并且将它们的描述通过引用以其整体并入本文。

[0224] 一旦获得编码抗cMet抗体相关的 V_H 和 V_L 区段的DNA片段,就可以通过标准重组DNA技术进一步操纵这些DNA片段,例如以将可变区基因转化成长抗体链基因、Fab片段基因、或scFv基因。在这些操纵中,编码 V_L 或 V_H 的DNA片段可操作地连接至编码另一种蛋白质的另一个DNA片段,例如抗体恒定区或柔性接头。如本上下文中使用的术语“可操作地连接”旨在意指连接两个DNA片段,使得由这两个DNA片段编码的氨基酸序列保留在框内。

[0225] 可以通过将编码 V_H 的DNA可操作地连接至编码重链恒定区(CH_1 、 CH_2 、 CH_3 以及任选地 CH_4)的另一种DNA分子来将编码 V_H 区的分离的DNA转化为全长重链基因。人重链恒定区基因的序列是本领域已知的(参见例如,Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学感兴趣的蛋白质的序列],第五版,美国卫生和公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH公开号91-3242),并且通过标准PCR扩增可以获得涵盖这些区域的DNA片段。重链恒定区可以是IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA、IgE、IgM或IgD恒定区,但在某些实施例中是IgG₁或IgG₄恒定区。对于Fab片段重链基因而言,编码 V_H 的DNA可以可操作地连接至只编码重链 CH_1 恒定区的另一种DNA分子。

[0226] 可以通过将编码 V_L 的DNA可操作地连接至编码轻链恒定区CL的另一种DNA分子来将编码 V_L 区的分离的DNA转化为全长轻链基因(以及Fab轻链基因)。人轻链恒定区基因的序列是本领域已知的(参见例如,Kabat等人,1991,Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学感兴趣的蛋白质的序列],第五版,美国卫生和公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),NIH公开号91-3242),并且通过标准PCR扩增可以获得涵盖这些区域的DNA片段。轻链恒定区可以是 κ 或 λ 恒定区,但在某些实施例中是 κ 恒定区。为了产生scFv基因,可以将编码 V_H 和 V_L 的DNA片段可操作地连接至编码柔性接头(例如编码氨基酸序列(Gly₄~Ser)₃(SEQ ID NO:97))的另一个片段,使得 V_H 和 V_L 序列可以表达为连续的单链蛋白质,其中通过柔性接头连接 V_L 和 V_H 区(参见例如,Bird等人,1988,Science[科学]242:423-426;Huston等人,1988,Proc. Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]85:5879-5883;McCafferty等人,1990,Nature[自然]348:552-554)。

[0227] 为了表达抗cMet抗体,将如上所述获得的编码部分或全长轻链和重链的DNA插入到表达载体中,使得基因可操作地连接至转录和翻译控制序列。在此上下文中,术语“可操作地连接”旨在意指将抗体基因连接至载体中,使得载体内的转录和翻译控制序列起调节

抗体基因的转录和翻译的预期功能。选择表达载体和表达控制序列以与所使用的表达宿主细胞是相容的。可以将抗体轻链基因和抗体重链基因插入到单独的载体中,或更通常地,将这两种基因插入到同一表达载体中。

[0228] 通过标准方法(例如,抗体基因片段和载体上的互补限制位点的连接,或如果不存在限制位点,平端连接)将抗体基因插入到表达载体中。在插入抗cMet抗体相关轻链或重链序列之前,表达载体可能已经携带抗体恒定区序列。例如,将抗cMet单克隆抗体相关 V_H 和 V_L 序列转化成长抗体基因的一种方法是将它们插入已经分别编码重链恒定区和轻链恒定区的表达载体中,使得 V_H 区段可操作地连接至载体内的一个或多个CH区段,并且 V_L 区段可操作地连接至载体内的CL区段。另外或可替代地,重组表达载体可以编码促进从宿主细胞分泌抗体链的信号肽。可以将抗体链基因克隆至载体中,使得信号肽被框内地连接至抗体链基因的氨基末端。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即来自非免疫球蛋白的信号肽)。

[0229] 除抗体链基因以外,重组表达载体还携带控制抗体链基因在宿主细胞中的表达的调节序列。术语“调节序列”旨在包括控制抗体链基因的转录或翻译的启动子、增强子以及其他表达控制元件(例如,多腺苷酸化信号)。这样的调节序列例如描述于Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology[基因表达技术:酶学方法]185,学术出版社(Academic Press),圣地亚哥(San Diego),加利福尼亚州(CA),1990中。本领域技术人员应理解,表达载体的设计(包括调节序列的选择)可能取决于有待转化的宿主细胞的选择、所希望的蛋白质的表达水平等因素。用于哺乳动物宿主细胞表达的合适的调节序列包括在哺乳动物细胞中引导高水平的蛋白质表达的病毒元件,例如衍生自巨细胞病毒(CMV)(例如CMV启动子/增强子)、猿猴病毒40(SV40)(例如SV40启动子/增强子)、腺病毒(例如腺病毒主要晚期启动子(AdMLP))以及多瘤病毒的启动子和/或增强子。对于病毒调节元件及其序列的进一步描述,参见例如Stinski 的美国专利号5,168,062、Bell等人的美国专利号4,510,245和Schaffner 等人的美国专利号4,968,615。

[0230] 除了抗体链基因和调节序列之外,本披露的重组表达载体还可以携带如下序列,例如调节载体在宿主细胞中的复制的序列(例如,复制起点)和选择性标记基因。选择性标记基因有利于选择已经引入载体的宿主细胞(参见例如,全部属于Axel等人的美国专利号4,399,216、4,634,665和5,179,017)。例如,通常,选择性标记基因赋予已经引入载体的宿主细胞对药物(如G418、潮霉素或甲氨蝶呤)的抗性。合适的选择性标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR) 基因(用于在用甲氨蝶呤选择/扩增的DHFR⁻宿主细胞中使用)和neo 基因(用于G418选择)。为了表达轻链和重链,通过标准技术将编码重链和轻链的一种或多种表达载体转染至宿主细胞中。不同形式的术语“转染”旨在涵盖多种通常用于将外源DNA引入原核或真核宿主细胞中的技术,例如电穿孔、脂质转染、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染等。

[0231] 在原核或真核宿主细胞中表达构成抗cMet ADC的抗 cMet抗体是可能的。在某些实施例中,在最佳分泌正确折叠的且有免疫活性的抗体的真核细胞(例如,哺乳动物宿主细胞)中进行抗体的表达。用于表达本披露的重组抗体的示例性哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO细胞)(包括在Urlaub和Chasin,1980,Proc.Natl. Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]77:4216-4220中描述的DHFR⁻ CHO细胞,与例如在Kaufman和Sharp,1982, Mol.Biol.[分子生物学] 159:601-621中描述的DHFR选择性标记一起使用)、NS0骨髓瘤细

胞、COS细胞和SP2细胞。当将编码抗体基因的重组表达载体引入哺乳动物宿主细胞中时,通过培养宿主细胞一段时间来产生抗体,所述时间段足以允许抗体在宿主细胞中表达或者抗体分泌到宿主细胞所生长的培养基中。可使用标准蛋白质纯化方法从培养基中回收抗体。宿主细胞还可以用来产生完整抗体的部分,如Fab片段或scFv分子。应理解以上方法的变化在披露的范围内。例如,可能需要用编码抗 cMet抗体的轻链或重链(但并非两者)的DNA转染宿主细胞。

[0232] 重组DNA技术还可以用来去除对于结合cMet不必需的编码轻链或重链之一或两者的一些或全部DNA。本披露的抗体还涵盖由此类截短的DNA分子表达的分子。

[0233] 对于重组表达抗cMet抗体,宿主细胞可用两种表达载体共转染,编码重链衍生的多肽的第一载体和编码轻链衍生的多肽的第二载体。这两种载体可含有相同的选择性标记,或者它们可以各自含有单独的选择性标记。可替代地,可以使用编码重链多肽和轻链多肽两者的单一载体。

[0234] 一旦获得编码抗cMet抗体的一个或多个部分的核酸,就可以将进一步的改变或突变引入编码序列中,例如以产生编码具有不同CDR序列的抗体的核酸、对Fc受体具有降低的亲力的抗体、或不同亚类的抗体。

[0235] 构成抗cMet ADC的抗体和/或结合片段还可以通过化学合成而产生(例如通过在Solid Phase Peptide Synthesis[固相肽合成],第2版,1984皮尔斯化学公司(The Pierce Chemical Co.),罗克福德(Rockford),伊利诺伊州(Ill)中描述的方法)。还可以使用无细胞平台产生变体抗体,参见例如Chu等人,Biochemia[生物化学]第2期,2001(罗氏分子生物公司(Roche Molecular Biologicals))以及Murray 等人,2013,Current Opinion in Chemical Biology[化学生物学新见],17:420-426。

[0236] 一旦通过重组表达产生了抗cMet抗体和/或结合片段,就可以通过本领域已知的用于纯化免疫球蛋白分子的任何方法进行纯化,例如通过色谱法(例如,离子交换色谱、亲和色谱、和尺寸分级柱色谱)、离心、差别溶解度、或通过用于蛋白质纯化的任何其他标准技术。另外,抗cMet抗体和/或结合片段可以与本文所述的或本领域另外已知的异源多肽序列融合以促进纯化。

[0237] 一旦分离,如果需要,可以进一步纯化抗cMet抗体和/或结合片段,例如通过柱色谱法(参见例如,Fisher,Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology[生物化学和分子生物学实验室技术],Work和Burdon编辑,爱思唯尔出版公司(Elsevier),1980)、或通过在SuperdexTM 75柱(法玛西亚生物技术公司(Pharmacia Biotech AB),乌普萨拉(Uppsala),瑞典)上的凝胶过滤色谱法。

[0238] 5.6. 特异性抗cMet抗体药物偶联物

[0239] 如前所述,抗cMet ADC通常包含抗cMet抗原结合部分(如抗cMet抗体和/或结合片段),其与一种或多种可以相同或不同的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂通过一个或多个也可以相同或不同的接头连接。可以将多种不同的细胞毒性剂/细胞生长抑制剂附接到每种Ab上以制备ADC。这些药剂可靶向两种或更多种途径以杀死肿瘤细胞或阻止肿瘤细胞的生长,靶向同一途径的多个节点,或叠加(double up)在同一靶标上(即,通过两种或更多种不同机制抑制生长和/或杀死细胞)。

[0240] 在具体的实施例中,抗cMet ADC是根据结构式(I)的化合物:

[0254] 在一个具体实施例中,n的平均值范围为2-4,并且Ab 是全长抗cMet抗体。

[0255] 5.6.1.细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂

[0256] 细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂可以是已知抑制细胞生长和/或细胞复制和/或杀死细胞(并且特别是癌细胞和/或肿瘤细胞)的任何药剂。许多具有细胞毒性和/或细胞生长抑制性质的药剂是文献中已知的。细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的类别的非限制性实例包括(通过举例而非限制的方式)放射性核素、烷化剂、DNA交联剂、DNA嵌入剂(例如沟结合剂,如小沟结合剂)、细胞周期调节剂、细胞凋亡调节剂、激酶抑制剂、蛋白质合成抑制剂、线粒体抑制剂、核输出抑制剂、拓扑异构酶I抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、RNA/DNA抗代谢物和抗有丝分裂剂。

[0257] 下文提供了这些不同类别中的某些类别内的药剂的具体非限制性实例。

[0258] 烷化剂:亮氨酸溶肉瘤素(asaley)(L-亮氨酸,N-[N-乙酰基-4-[双-(2-氯乙基)氨基]-DL-苯丙氨酰基]-,乙酯);AZQ(1,4-环己二烯-1,4-二氨基甲酸,2,5-双(1-吡啶基)-3,6-二氧代-,二乙酯);BCNU(N,N'-双(2-氯乙基)-N-亚硝基脲);白消安(1,4-丁二醇二甲磺酸酯);(羧基邻苯二甲酸)铂;CBDCA(顺式-(1,1-环丁烷二甲酸)二氨铂(II));CCNU(N-(2-氯乙基)-N'-环己基-N-亚硝基脲);CHIP(异丙铂(iproplatin);NSC 256927);苯丁酸氮芥;氯脲霉素(2-[[[(2-氯乙基)亚硝基氨基]羰基]氨基]-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖);顺铂(cis-platinum)(顺铂(cisplatin));氯乙砒(clomesone);氰基吗啉代多柔比星;甲基二磺酸乙二醇脂(cyclodisone);二去水卫矛醇(5,6-二环氧卫矛醇);氟多潘(fluorodopan)(5-[(2-氯乙基)-(2-氟乙基)氨基]-6-甲基-尿嘧啶);海普撒凡(hepsulfam);海恩酮;二氢吡啶基苯并二氮杂萘二聚体DGN462;美法仑;甲基CCNU(1-(2-氯乙基)-3-(反式-4-甲基环己烷)-1-亚硝基脲);丝裂霉素C;米托唑胺(mitozolamide);氮芥(双(2-氯乙基)甲胺盐酸盐);PCNU(1-(2-氯乙基)-3-(2,6-二氧代-3-哌啶基)-1-亚硝基脲);哌嗪烷化剂(1-(2-氯乙基)-4-(3-氯丙基)-哌嗪二盐酸盐);哌嗪二酮;哌泊溴烷(N,N'-双(3-溴丙酰基)哌嗪);泊非霉素(N-甲基丝裂霉素C);螺乙内酰脲芥;替罗昔隆(三缩水甘油基异氰脲酸酯);四铂;噻替派(N,N',N''-三-1,2-乙烷二基硫代磷酸胺);曲他胺;尿嘧啶氮芥(去甲多潘);Yoshi-864(双(3-甲磺酰氧基丙基)胺盐酸盐)。

[0259] DNA烷化样剂:顺铂;卡铂;奈达铂;奥沙利铂;赛特铂(Satraplatin);四硝酸三铂;丙卡巴肼;六甲蜜胺;达卡巴嗪;米托唑胺;替莫唑胺。

[0260] 烷化抗肿瘤剂:卡波醌;卡莫司汀;氮芥;氯脲霉素;多卡米辛(Duocarmycin);艾伏磷酰胺(Evofosfamide);福莫司汀;葡磷酰胺;洛莫司汀;甘露舒凡;尼莫司汀;菲铂(Phenanthriplatin);哌泊溴烷;雷莫司汀;司莫司汀;链脲佐菌素;噻替派;苏消安;三亚胺醌;曲他胺;四硝酸三铂。

[0261] DNA复制和修复抑制剂:六甲蜜胺;博来霉素;达卡巴嗪;更生霉素;二溴甘露醇;丝裂霉素;平阳霉素;普卡霉素;丙卡巴肼;替莫唑胺;ABT-888(维利帕尼(veliparib));奥拉帕尼;KU-59436;AZD-2281;AG-014699;BSI-201;BGP-15;INO-1001;ONO-2231。

[0262] 细胞周期调节剂:紫杉醇;白蛋白结合型紫杉醇(Nab-Paclitaxel);多西他赛;长春新碱;长春碱;ABT-348;AZD-1152;MLN-8054;VX-680;极光A特异性激酶抑制剂;极光B特异性激酶抑制剂和全极光激酶抑制剂;AZD-5438;BMI-1040;BMS-032;BMS-387;CVT-2584;夫拉平度(flavopyridol);GPC-286199;MCS-5A;PD0332991;PHA-690509;塞利西利

(seliciclib) (CYC-202, R-roscovitine); ZK-304709; AZD4877; ARRY-520; GSK923295A。

[0263] 细胞凋亡调节剂: AT-101 ((-)- 棉子酚); G3139 或 奥利默森 (靶向 Bcl-2 的反义寡核苷酸); IPI-194; IPI-565; N-(4-(4-((4'-氯(1,1'-联苯)-2-基)甲基)哌嗪-1-基)苯甲酰基)-4-(((1R)-3-(二甲基氨基)-1-((苯基硫烷基)甲基)丙基)氨基)-3-硝基苯磺酰胺); N-(4-(4-((2-(4-氯苯基)-5,5-二甲基-1-环己-1-烯-1-基)甲基)哌嗪-1-基)苯甲酰基)-4-(((1R)-3-(吗啉-4-基)-1-((苯基硫烷基)甲基)丙基)氨基)-3-((三氟甲基)磺酰基)苯磺酰胺; GX-070 (**Obatoclax®**); 1H-吡啶, 2-(2-((3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-3-甲氧基-2H-吡咯-5-基)-); HGS1029; GDC-0145; GDC-0152; LCL-161; LBW-242; 温托克拉 (venetoclax); 靶向 TRAIL 或 死亡受体 (例如 DR4 和 DR5) 的药剂, 如 ETR2-ST01、GDC0145、HGS-1029、LBY-135、PRO-1762; 靶向 半胱天冬酶、半胱天冬酶调节剂、BCL-2 家族成员、死亡结构域蛋白、TNF 家族成员、Toll 家族成员、和/或 NF- κ -B 蛋白的药物。

[0264] 血管生成抑制剂: ABT-869; AEE-788; 阿西替尼 (AG-13736); AZD-2171; CP-547, 632; IM-862; 哌加他尼 (pegaptamib); 索拉非尼; BAY43-9006; 帕唑帕尼 (GW-786034); 瓦他拉尼 (PTK-787; ZK-222584); 舒尼替尼; SU-11248; VEGF trap; 凡德他尼; ABT-165; ZD-6474; DLL4 抑制剂。

[0265] 蛋白酶体抑制剂: 硼替佐米; 卡非佐米; 环氧霉素 (Epoxomicin); 伊沙佐米 (Ixazomib); Salinosporamide A。

[0266] 激酶抑制剂: 阿法替尼; 阿西替尼; 博舒替尼; 克唑替尼; 达沙替尼; 埃罗替尼; 福他替尼 (Fostamatinib); 吉非替尼; 依鲁替尼; 伊马替尼; 拉帕替尼; 乐伐替尼; 木利替尼 (Mubritinib); 尼罗替尼; 帕唑帕尼; 哌加他尼; 索拉非尼; 舒尼替尼; SU6656; 凡德他尼; 威罗菲尼; CEP-701 (来他替尼 (lesaurtinib)); XL019; INCB018424 (鲁索利替尼); ARRY-142886 (司美替尼 (selemetinib)); ARRY-438162 (比尼替尼 (binimetinib)); PD-325901; PD-98059; AP-23573; CCI-779; 依维莫司; RAD-001; 雷帕霉素; 西罗莫司; ATP 竞争性 TORC1/TORC2 抑制剂, 包括 PI-103、PP242、PP30、Torin 1; LY294002; XL-147; CAL-120; ONC-21; AEZS-127; ETP-45658; PX-866; GDC-0941; BGT226; BEZ235; XL765。

[0267] 蛋白质合成抑制剂: 链霉素; 双氢链霉素; 新霉素; 新霉素 B; 巴龙霉素; 核糖霉素; 卡那霉素; 阿米卡星; 阿贝卡星; 卡那霉素 B; 地贝卡星; 妥布霉素; 大观霉素; 潮霉素 B; 巴龙霉素; 庆大霉素; 奈替米星; 西索米星; 异帕米星; 威大霉素 (Verdamycin); 阿司米星; 四环素; 多西环素; 金霉素; 氯莫环素; 地美环素; 赖甲环素; 甲氯环素; 美他环素; 米诺环素; 土霉素; 青派环素; 罗利环素; 四环素; 甘氨酸环素; 替加环素; 噁唑烷酮; 依派唑胺; 利奈唑胺; 泼斯唑来 (Posizolid); 雷得唑来 (Radezolid); 兰贝唑来 (Ranbezolid); 苏特唑来 (Sutezolid); 特地唑胺 (Tedizolid); 肽基转移酶抑制剂; 氯霉素; 叠氮氯霉素; 甲砒霉素; 氟苯尼考; 截短侧耳素; 瑞他莫林; 泰妙菌素; 沃尼妙林; 阿奇霉素; 克拉霉素; 地红霉素; 红霉素; 氟红霉素; 交沙霉素; 麦迪霉素; 美地霉素; 竹桃霉素; 罗他霉素; 罗红霉素; 螺旋霉素; 醋竹桃霉素; 泰乐菌素; 酮内酯; 泰利霉素; 喹红霉素; 索利霉素 (Solithromycin); 克林霉素; 林可霉素; 吡利霉素; 链阳性菌素; 普那霉素; 奎奴普丁/达福普丁; 维吉霉素。

[0268] 组蛋白脱乙酰酶抑制剂: 伏立诺他; 罗米地辛; 西达本胺; 帕比司他; 丙戊酸; 贝利司他; 莫西司他 (Mocetinostat); 阿贝西司他 (Abexinostat); 恩替司他 (Entinostat); SB939 (普拉克司他 (pracinostat)); 瑞米司他 (Resminostat); 吉维司他 (Givinostat); 奎

西司他 (Quisinostat); 硫脲基丁腈 (KevetrimTM); CUDC-10; CHR-2845 (特非司他 (tefinostat)); CHR-3996; 4SC-202; CG200745; ACY-1215 (罗西林司他 (rocilinostat)); ME-344; 萝卜硫素。

[0269] 拓扑异构酶I抑制剂: 喜树碱; 各种喜树碱衍生物和类似物 (例如, NSC 100880、NSC 603071、NSC 107124、NSC 643833、NSC 629971、NSC 295500、NSC 249910、NSC 606985、NSC 74028、NSC 176323、NSC 295501、NSC 606172、NSC 606173、NSC 610458、NSC 618939、NSC 610457、NSC 610459、NSC 606499、NSC 610456、NSC 364830 和 NSC 606497); 吗啉异氧柔比星 (morpholinisoxorubicin); SN-38。

[0270] 拓扑异构酶II抑制剂: 多柔比星; 氨茶非特 (苯并异喹啉二酮); m-AMSA (4'-(9-吡啶基氨基)-3'-甲氧基甲磺酰苯胺); 蒽吡唑衍生物 (NSC 355644); 依托泊苷 (VP-16); 吡唑并吡啶 (吡唑并[3,4,5-k1]吡啶-2(6H)-丙胺, 9-甲氧基-N,N-二甲基-5-硝基-, 单甲磺酸盐); 盐酸比生群; 柔红霉素; 去氧多柔比星; 米托蒽醌; 美诺立尔; N,N-二苄基道诺霉素; 氧化蒽唑 (oxanthrazole); 正定苯酰肼 (rubidazone); 替尼泊苷。

[0271] DNA嵌入剂: 安曲霉素; 芝加霉素 (chicamycin) A; 富山霉素 (tomaymycin); DC-81; 西伯利亚霉素; 吡咯并苯并二氮杂萘衍生物; SGD-1882 ((S)-2-(4-氨基苯基)-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-2-(4-甲氧基苯基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基)氧基)丙氧基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-5(11aH)-酮); SG2000 (SJG-136; (11aS,11a'S)-8,8'-(丙烷-1,3-二基双(氧基))双(7-甲氧基-2-亚甲基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-5(11aH)-酮))。

[0272] RNA/DNA抗代谢物: L-阿拉诺新; 5-氮杂胞苷; 5-氟尿嘧啶; 阿西维辛; 氨基蝶呤衍生物 N-[2-氯-5-[[(2,4-二氨基-5-甲基-6-喹唑啉基) 甲基]氨基]苯甲酰基]L-天冬氨酸 (NSC 132483); 氨基蝶呤衍生物 N-[4-[[(2,4-二氨基-5-乙基-6-喹唑啉基) 甲基]氨基]苯甲酰基]L-天冬氨酸; 氨基蝶呤衍生物 N-[2-氯-4-[[(2,4-二氨基-6-蝶啶基) 甲基]氨基]苯甲酰基]L-天冬氨酸一水合物; 抗叶酸剂 PT523 (N^a-(4-氨基-4-脱氧蝶酰基)-N^y-半邻苯二甲酰基-L-鸟氨酸); 贝克氏 (Baker's) 可溶性抗叶酸剂 (NSC 139105); 二氯烯丙基指甲花醌 (2-(3,3-二氯烯丙基)-3-羟基-1,4-萘醌); 布喹那; 呋氟尿嘧啶 (ftorafur) (前药; 5-氟-1-(四氢-2-呋喃基)-尿嘧啶); 5,6-二氢-5-氮杂胞苷; 甲氨蝶呤; 甲氨蝶呤衍生物 (N-[[4-[[(2,4-二氨基-6-蝶啶基) 甲基]甲基氨基]-1-萘基]羰基]L-谷氨酸); PALA (N-(膦酰基乙酰基)-L-天冬氨酸酯); 吡唑呋喃菌素 (pyrazofurin); 三甲曲沙。

[0273] DNA抗代谢物: 3-HP; 2'-脱氧-5-氟尿苷; 5-HP; α -TGDR (α -2'-脱氧-6-硫鸟苷); 甘氨酸阿非迪霉素; ara C (胞嘧啶阿拉伯糖苷); 5-氮杂-2'-脱氧胞苷; β -TGDR (β -2'-脱氧-6-硫鸟苷); 环胞苷; 胍唑; 羟基脲; 肌苷糖二醛 (inosine glycodialdehyde); 麦克菌素 (macbecin) II; 吡唑并咪唑; 硫鸟嘌呤; 硫嘌呤。

[0274] 线粒体抑制剂: 水鬼蕉碱 (pancratistatin); 芬潘他汀 (phenpanstatin); 罗丹明-123; 依地福新; d- α -生育酚琥珀酸酯; 化合物 11 β ; 阿司匹林; 玫瑰树碱; 小檗碱; 浅蓝菌素; GX015-070 (Obatoclax®; 1H-吡啶, 2-(2-((3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-3-甲氧基-2H-吡咯-5-基)-); 南蛇藤醇 (雷公藤红素); 二甲双胍; 亮绿; ME-344。

[0275] 抗有丝分裂剂: 别秋水仙碱; 澳瑞他汀, 如 MMAE (单甲基澳瑞他汀 E) 和 MMAF (单甲基

澳瑞他汀F);软海绵素B;西马多丁;秋水仙碱;秋水仙碱衍生物(N-苯甲酰基-脱乙酰苯甲酰胺);多拉司他汀-10;多拉司他汀-15;美登素;美登木素生物碱,如DM1 (N₂'-脱乙酰基-N₂'-(3-巯基-1-氧代丙基)-美登素);rhoxoxin;紫杉醇;紫杉醇衍生物(2'-N-[3-(二甲基氨基)丙基]谷氨酸紫杉醇);多西他赛;硫代秋水仙碱;三苯甲基半胱氨酸;硫酸长春碱;硫酸长春新碱。

[0276] 核输出抑制剂:卡利他汀(callystatin)A;脱内酯霉素(delactonmycin);KPT-185(丙烷-2-基(Z)-3-[3-[3-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基]-1,2,4-三唑-1-基]丙-2-烯酸酯);上总霉素(kazusamycin)A;莱普他汀(leptolstatin);莱普呋喃新(leptofuranin)A;细霉素B;ratjadone;Verdinexor((Z)-3-[3-[3,5-双(三氟甲基)苯基]-1,2,4-三唑-1-基]-N'-吡啶-2-基丙-2-烯酰肼)。

[0277] 激素疗法:阿那曲唑;依西美坦;阿佐昔芬;比卡鲁胺;西曲瑞克;地加瑞克;地洛瑞林;曲洛司坦;地塞米松;氟他胺;雷洛昔芬;法屈唑;托瑞米芬;氟维司群;来曲唑;福美坦;糖皮质激素;度骨化醇;碳酸司维拉姆;拉索昔芬;醋酸亮丙瑞林;甲地孕酮;米非司酮;尼鲁米特;柠檬酸他莫昔芬;阿巴瑞克;强的松;非那雄胺;瑞洛司坦(rilostane);布舍瑞林;促黄体激素释放激素(LHRH);组氨瑞林;曲洛司坦或莫达司坦(modrastane);伏司瑞林(fosrelin);戈舍瑞林。

[0278] 包含或可以被修饰以包含衔接抗体和/或结合片段的位点的任何这些药剂可以包含在抗cMet ADC中。

[0279] 熟练技术人员还将理解,以上作用机制不是相互排斥的,并且在一些实施例中,可能需要利用能够经由多于一种作用机制对表达cMet的肿瘤(本文称为cMet+肿瘤)或过表达cMet的肿瘤发挥抗肿瘤活性的抗cMet ADC。作为具体实例,这种抗cMet ADC可以包含通过可裂解的接头与抗cMet抗体连接的细胞渗透性细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂,其对cMet+/过表达肿瘤以及cMet阴性肿瘤细胞具有细胞毒性和/或细胞生长抑制性。

[0280] 因此,在一些实施例中,包含在抗cMet ADC中的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂在裂解ADC时将能够穿过细胞膜(“细胞可渗透性细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂”)。可以使用本领域技术人员已知的常规方法测试具体的目标细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂、和/或包含此类药剂的ADC的裂解产物的穿过细胞膜的能力。穿过膜的分子的渗透性(P)可表示为 $P = KD / \Delta x$,其中K是分配系数,D是扩散系数,并且 Δx 是细胞膜的厚度。扩散系数(D)是进入细胞质的速率的量度,这取决于分子的分子量或大小。K是物质在脂质中的溶解度的量度。低K值描述了像水一样不溶于脂质的分子。在图形上,当D和 Δx 是常数时,预计作为分配系数(K)的函数的渗透性(P)将线性增加。(Walter和Gutknecht,1986,“Permeability of small nonelectrolytes through lipid bilayer membranes[小非电解质通过脂质双层膜的渗透性]”,Journal of Membrane Biology[膜生物学杂志] 90:207-217;Diamond和Katz,1974,“Interpretation of nonelectrolyte partition coefficients between dimyristoyl lecithin and water[二肉豆蔻酰基卵磷脂与水之间的非电解质分配系数的解释]”,Journal of Membrane Biology[膜生物学杂志]17:121-154)。

[0281] 在一个具体实施例中,细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂是细胞可渗透性抗有丝分裂剂。

[0282] 在另一个具体实施例中,细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂是细胞可渗透性澳瑞

他汀,例如像多拉司他汀-10或MMAE。

[0283] 在另一个具体实施例中,细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂是细胞可渗透性小沟结合DNA交联剂,例如像吡咯并苯并二氮杂萘(“PBD”)二聚体。

[0284] 5.6.2. 接头

[0285] 在本文所述的抗cMet ADC中,细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂通过接头与抗原结合部分连接。接头可以是短的、长的、疏水的、亲水的、柔性的或刚性的,或者可以由各自独立地具有一种或多种上述性质的区段组成,使得接头可以包含具有不同性质的区段。接头可以是多价的,使得它们将多于一种的药剂共价连接到抗体上的单个位点;或是单价的,使得它们共价地将单一药剂连接到抗体上的单个位点。

[0286] 如熟练技术人员所理解的,接头通过在一个位置与细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂形成共价键并在另一个位置与抗原结合部分形成共价键而将细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与抗原结合部分连接。由接头上的官能团与药剂和抗原结合部分上的官能团之间的反应形成共价键。如本文所使用的,表述“接头”旨在包括(i)接头的未偶联形式,所述接头包含能够将接头共价连接到细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的官能团和能够将接头共价连接到抗原结合部分(如抗体)的官能团;(ii)接头的部分偶联形式,所述接头包含能够将接头共价连接到抗原结合部分(如抗体)的官能团并且共价连接到细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂,或反之亦然;和(iii)接头的完全偶联形式,所述接头共价连接到细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂以及抗原结合部分(如抗体)。在本文所述的接头和ADC、以及用于将接头-药剂与抗体偶联的合成子的一些具体的实施例中,包含接头上的官能团的部分以及在接头与抗体之间形成的共价键分别被具体阐明为 R^x 和XY。

[0287] 将细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与抗cMet ADC的抗原结合部分进行连接的接头可以本质上是长的、短的、柔性的、刚性的、亲水的或疏水的,或者可以包括具有不同特征的区段,例如柔性区段、刚性区段等。接头对于细胞外环境可以是化学上稳定的,例如,在血流中是化学上稳定的,或者可以包括不稳定的键并在细胞外环境中释放细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂。在一些实施例中,接头包含被设计以用于在细胞内抗cMet ADC内化时释放细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的键。在一些具体实施例中,接头包含被设计以用于在细胞内部特异性或非特异性地裂解和/或消亡或以其他方式分解的键。用于将药物与抗原结合部分(例如在ADC背景下的抗体)进行连接的多种接头是本领域已知的。任何这些接头以及其他接头可用于将细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与本文所述的抗cMet ADC的抗原结合部分进行连接。

[0288] 与抗cMet ADC的抗原结合部分连接的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的数量(称为“药物与抗体的比率”或“DAR”)可以变化,并且将仅受抗原结合部分上的可用附着位点的数量和与单个接头连接的药剂的数量的限制。通常,接头将单一细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与抗cMet ADC的抗原结合部分进行连接。在包含多于一种细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的抗cMet ADC的实施例中,每种药剂可以相同或不同。只要抗cMet ADC在使用和/或存储条件下不表现出不可接受的聚集水平,就可考虑DAR为二十或甚至更高的抗cMet ADC。在一些实施例中,本文所述的抗cMet ADC可具有范围为约1-10、1-8、1-6或1-4的DAR。在某些具体实施例中,抗cMet ADC可具有2、3或4的DAR。在某些实施例中,抗cMet ADC具有3.1的平均DAR。

[0289] 接头优选但不必对细胞外的条件是化学稳定的,并且可以设计成在细胞内特异性裂解、消亡和/或以其他方式降解。可替代地,可以使用未设计为在细胞内特异性裂解或降解的接头。稳定与不稳定接头的选择可取决于细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的毒性。用于将药物与在ADC背景下的抗体进行连接的多种接头是本领域已知的。任何这些接头以及其他接头可用于将细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与本文所述的ADC的抗体进行连接。

[0290] 可用于将许多细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与单个抗体分子连接的示例性多价接头描述于例如WO 2009/073445、WO 2010/068795、WO 2010/138719、WO 2011/120053、WO 2011/171020、WO 2013/096901、WO 2014/008375、WO 2014/093379、WO 2014/093394、WO 2014/093640中,将这些文献的内容通过引用以其整体并入本文。例如,由Mersana等人开发的Fleximer接头技术有可能使高DAR ADC具有良好的物理化学性质。如下所示,Mersana技术基于经由一系列酯键将药物分子掺入增溶的聚缩醛主链中。所述方法提供高负载的ADC (DAR高达20),同时保持良好的物理化学性质。

[0291] 树突型接头的其他实例可以在以下文献中找到:US 2006/116422;US 2005/271615;de Groot等人(2003) Angew. Chem. Int. Ed. [德国应用化学国际版] 42:4490-4494; Amir等人(2003) Angew. Chem. Int. Ed. [德国应用化学国际版] 42:4494-4499; Shamis等人(2004) J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志] 126:1726-1731; Sun等人(2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters [生物有机化学与药物化学通讯] 12:2213-2215; Sun等人(2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry [生物有机化学与药物化学] 11:1761-1768; King等人(2002) Tetrahedron Letters [四面体通讯] 43:1987-1990; 将这些文献中的每一个通过引用并入本文。

[0292] 可使用的示例性单价接头描述于例如以下文献中: Nolting, 2013, Antibody-Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology [抗体药物偶联物: 分子生物学方法] 1045:71-100; Kitson等人, 2013, CROs/CMOs-Chemica Oggi-Chemistry Today [CRO/CMO-今日化学] 31(4):30-38; Ducry等人, 2010, Bioconjugate Chem. [生物偶联物化学] 21:5-13; Zhao等人, 2011, J. Med. Chem. [医药化学杂志] 54:3606-3623; 美国专利号7,223,837; 美国专利号8,568,728; 美国专利号8,535,678; 以及WO 2004010957; 将这些文献中的每一个通过引用并入本文。

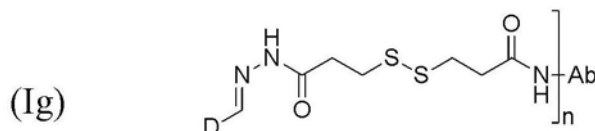
[0293] 通过举例而非限制的方式,下文描述了可包含在本文所述的抗cMet ADC中的一些可裂解和不可裂解的接头。

[0294] 5.6.2.1. 可裂解的接头

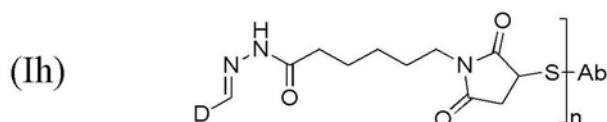
[0295] 在某些实施例中,接头在体内是可裂解的。可裂解的接头可以包含化学地或酶促地不稳定或可降解的键。可裂解的接头通常依赖于细胞内的过程(例如细胞质的减少、溶酶体中的酸性条件的暴露、或被细胞内特定蛋白酶或其他酶裂解)来释放药物。可裂解的接头通常包含一个或多个可化学裂解或可酶促裂解的化学键,而接头的其余部分是不可裂解的。在某些实施例中,接头包含化学不稳定基团,例如脰和/或二硫化物基团。包含化学不稳定基团的接头利用血浆和一些细胞质区室之间的差异性质。促进含脰接头的药物释放的细胞内条件是内体和溶酶体的酸性环境,而含有二硫化物的接头在含有高硫醇浓度(例如谷胱甘肽)的细胞溶质中被还原。在某些实施例中,可以通过使用化学不稳定基团附近的取代基引入位阻来增加包含化学不稳定基团的接头的血浆稳定性。

[0296] 酸性不稳定基团(如脞)在血液中性pH环境(pH 7.3-7.5) 中在体循环期间保持完整,并在一旦ADC内化进细胞的轻度酸性内体(pH 5.0-6.5) 区室和溶酶体(pH 4.5-5.0) 区室之后进行水解并释放药物。这种pH依赖性释放机制与药物的非特异性释放有关。为了增加接头的脞基团的稳定性,可以通过化学修饰(例如取代)改变接头,所述化学修饰允许调节以在溶酶体中实现更有效的释放,同时使循环中的损失最小化。

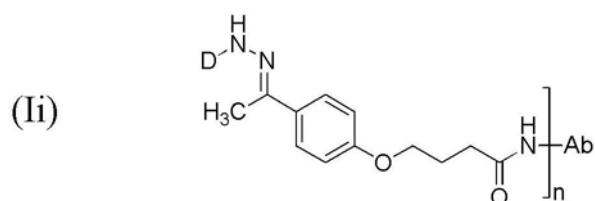
[0297] 含脞接头可含有其他裂解位点,例如另外的酸不稳定裂解位点和/或酶促不稳定裂解位点。包含示例性含脞接头的ADC包含以下结构:



[0298]



[0299]

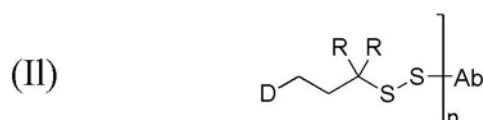
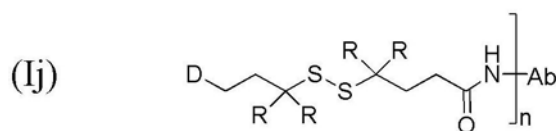


[0300] 其中D和Ab分别表示细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂(药物)和抗体,并且n表示与抗体连接的药物-接头的数量。在某些接头如接头(Ig)中,接头包含两个可裂解的基团-二硫化物和脞部分。对于这类接头,未修饰的游离药物的有效释放需要酸性pH或二硫化物还原和酸性pH。接头如(Ih)和(Ii)已经显示出对单个脞裂解位点有效。

[0301] 可以包含在接头中的其他酸不稳定基团包括含有顺式-乌头酰基(aconityl)的接头。顺式-乌头酰基化学使用与酰胺键并置的羧酸以加速酰胺在酸性条件下的水解。

[0302] 可裂解的接头还可包含二硫化物基团。二硫化物在生理 pH下是热力学稳定的,并且被设计成在细胞内部内化时释放药物,其中细胞溶质与细胞外环境相比提供明显更具还原性的环境。二硫键的断裂通常需要存在细胞质硫醇辅因子,例如(还原的)谷胱甘肽(GSH),使得含二硫化物的接头在循环中相当稳定,选择性地释放细胞溶质中的药物。胞内酶蛋白质二硫化物异构酶或能够裂解二硫键的类似酶也可能有助于优先裂解细胞内的二硫键。据报道,GSH以 0.5-10mM的浓度范围存在于细胞中,而循环中的GSH或半胱氨酸(最丰富的低分子量硫醇)的浓度显著低于大约5μM。肿瘤细胞(其中不规则的血流导致缺氧状态)导致还原酶的活性增强,因此导致甚至更高的谷胱甘肽浓度。在某些实施例中,含二硫化物的接头的体内稳定性可以通过对接头进行化学修饰(例如使用与二硫键相邻的位阻)来增强。

[0303] 包含示例性含二硫化物接头的ADC包含以下结构:



[0305] 其中D和Ab分别表示药物和抗体，n表示与抗体连接的药物-接头的数量，并且R在每次出现时例如独立地选自氢或烷基。在某些实施例中，增加与二硫键相邻的位阻增加了接头的稳定性。当一个或多个R基团选自低级烷基如甲基时，结构如(Ij)和(Il)显示出增加的体内稳定性。

[0306] 可以使用的另一种类型的可裂解的接头是被酶特异性裂解的接头。此类接头通常是基于肽的或包含充当酶的底物的肽区。基于肽的接头在血浆和细胞外环境中比化学不稳定接头倾向于更稳定。肽键通常具有良好的血清稳定性，因为溶酶体蛋白水解酶由于内源性抑制剂而具有非常低的血液活性，并且具有与溶酶体相比不利地较高血液pH值。具体地由于溶酶体蛋白酶（例如组织蛋白酶和纤溶酶）的作用而发生从抗体释放药物。这些蛋白酶能以升高的水平存在于某些肿瘤细胞中。

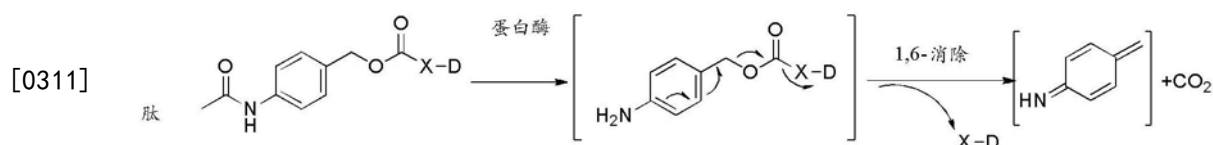
[0307] 在示例性实施例中，可裂解的肽选自四肽（如 Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:98)、Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO:99)）或二肽（如Val-Cit、Val-Ala、Met- (D) Lys、Asn- (D) Lys、Val- (D) Asp、Phe-Lys、Ile-Val、Asp-Val、His-Val、NorVal- (D) Asp、Ala- (D) Asp、Met-Lys、Asn-Lys、Ile-Pro、Me3Lys-Pro、PhenylGly- (D) Lys、Met- (D) Lys、Asn- (D) Lys、Pro- (D) Lys、Met- (D) Lys、Asn- (D) Lys、Met- (D) Lys、Asn- (D) Lys）。在某些实施例中，由于较长肽的疏水性，二肽比较长的多肽是优选的。

[0308] 已经描述了多种基于二肽的可裂解的接头，所述接头用于将药物（如多柔比星、丝裂霉素、喜树碱、他利霉素和澳瑞他汀/ 澳瑞他汀家族成员）与抗体连接（参见，Dubowchik等人，1998，J.Org. Chem. [有机化学杂志] 67:1866-1872；Dubowchik等人，1998，Bioorg. Med.Chem.Lett. [生物有机化学与药物化学通讯] 8 (21) :3341-3346；Walker等人，2002，Bioorg.Med.Chem.Lett. [生物有机化学与药物化学通讯] 12:217-219；Walker等人，2004，Bioorg.Med.Chem.Lett. [生物有机化学与药物化学通讯] 14:4323-4327；以及Francisco等人，2003，Blood [血液] 102:1458-1465；Dornina等人，2008，Bioconjugate Chemistry [生物偶联物化学] 19:1960-1963；将这些文献中的每一个通过引用并入本文）。所有这些二肽接头或这些二肽接头的修饰形式可用于本文所述的ADC中。可使用的其他二肽接头包括在ADC（例如西雅图基因技术公司 (Seattle Genetics) 的本妥昔单抗 (Brentuximab

Vendotin) SGN-35 (AdcetrisTM)、西雅图基因技术公司的SGN-75 (抗 CD-70, Val-Cit-MMAF)、Celldex Therapeutics的格雷巴土木单抗 (glembatumumab) (CDX-011) (抗NMB, Val-Cit-MMAE) 和 Cytogen的PSMA-ADC (PSMA-ADC-1301) (抗PSMA, Val-Cit-MMAE)) 中发现的那些。

[0309] 酶促可裂解的接头可以包括自消 (self-immolative) 间隔子, 以在空间上将药物与酶促裂解位点分开。药物与肽接头的直接附接可导致药物的氨基酸加合物的蛋白水解释放, 从而损害其活性。使用自消间隔子允许在酰胺键水解时消除完全活性的化学未修饰的药物。

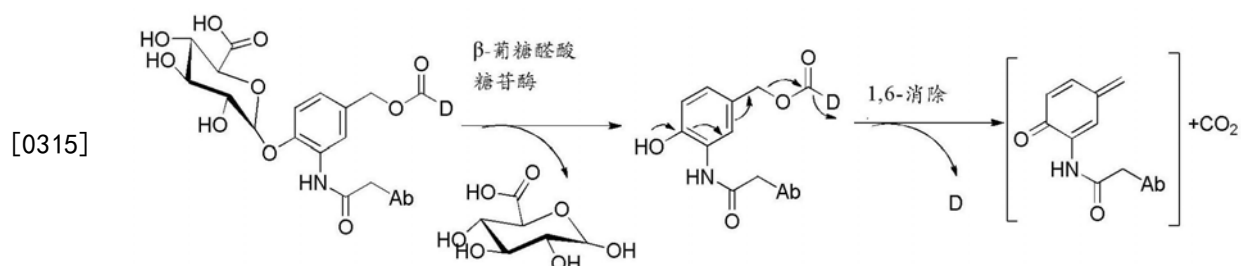
[0310] 一种自消间隔子是双功能的对氨基苯甲醇基团 (PABC), 其通过氨基基团与肽连接, 形成酰胺键, 而含胺的药物可通过氨基甲酸酯官能团附接至接头的苄基羟基基团。所得前药在蛋白酶介导的裂解后被激活, 导致释放未修饰的药物、二氧化碳和连接基团的残余物的1,6-消除反应。以下方案描绘了对氨基苄基醚的片段化和药物的释放:



[0312] 其中X-D表示未修饰的药物。

[0313] 还描述了这种自消基团的杂环变体。参见例如US 7,989,434, 将其通过引用并入本文。

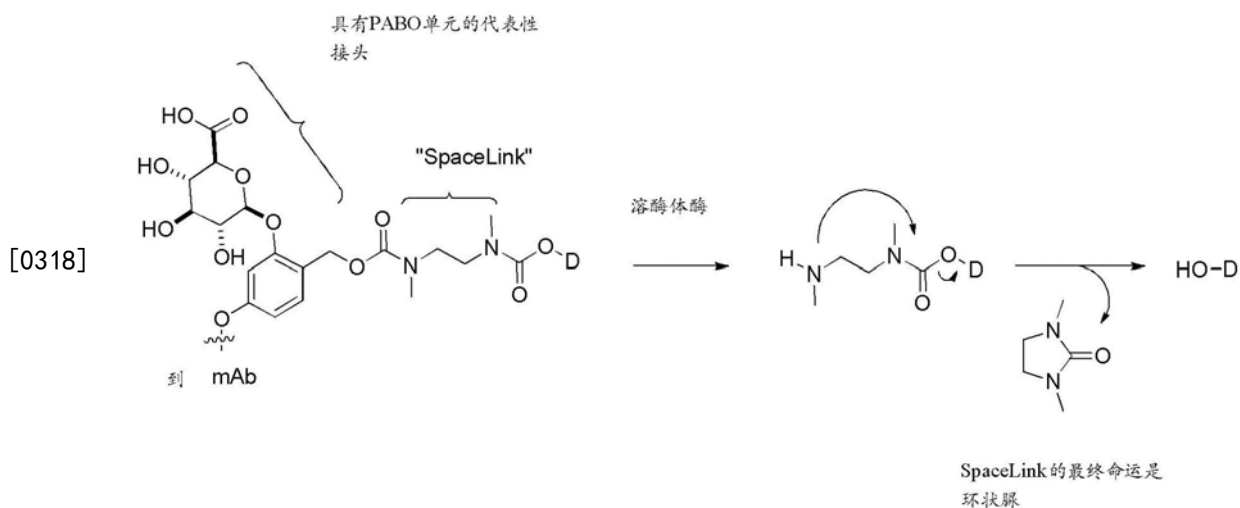
[0314] 在一些实施例中, 酶促可裂解的接头是基于 β -葡萄糖醛酸的接头。通过溶酶体酶 β -葡萄糖醛酸糖苷酶裂解 β -葡萄糖苷酸糖苷键可以实现药物的轻松释放。此酶大量存在于溶酶体内, 并且在一些肿瘤类型中过表达, 而细胞外的该酶活性较低。基于 β -葡萄糖醛酸的接头可用于避免由于 β -葡萄糖苷酸的亲水性而导致的ADC发生聚集的趋势。在一些实施例中, 基于 β -葡萄糖醛酸的接头优选作为ADC的与疏水性药物连接的接头。以下方案描绘了药物从含有基于 β -葡萄糖醛酸的接头的 ADC的释放:



[0316] 已经描述了多种可裂解的基于 β -葡萄糖醛酸的接头, 所述接头用于将药物 (如澳瑞他汀、喜树碱和多柔比星类似物、CBI小沟结合剂、以及皮司姆贝林 (psymberin)) 与抗体连接 (参见, Nolting, Chapter 5 "Linker Technology in Antibody-Drug Conjugates [抗体-药物偶联物中的接头技术, 第5章]," 在: Antibody-Drug Conjugates: Methods in Molecular Biology [抗体药物偶联物: 分子生物学方法], 第1045卷, 第71-100页, Laurent Ducry (编辑), 施普林格科学与商业医学有限责任公司 (Springer Science&Business Medica, LLC), 2013; Jeffrey等人, 2006, Bioconjug. Chem. [生物偶联物化学] 17:831-840; Jeffrey等人, 2007, Bioorg. Med. Chem. Lett. [生物有机化学与药物化学通讯] 17:2278-2280; 以及Jiang等人, 2005, J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志] 127:11254-11255; 将这

些文献中的每一个通过引用并入本文)。所有这些基于 β -葡萄糖醛酸的接头可用于本文所述的抗cMet ADC中。

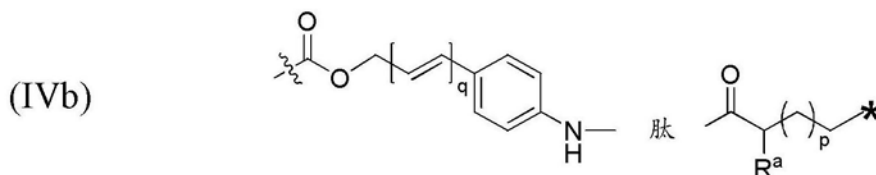
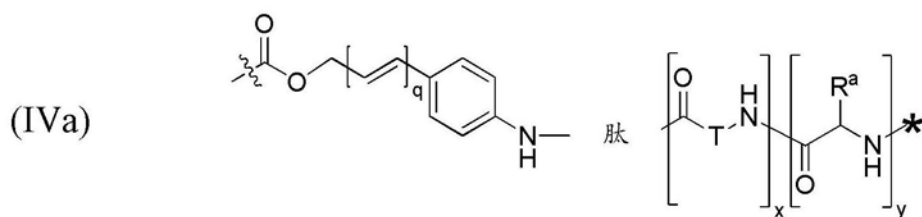
[0317] 另外,含有苯酚基团的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂可以通过酚氧与接头共价键合。在WO 2007/089149中描述的一种这样的接头依赖于以下方法,其中将二氨基-乙烷“SpaceLink”与传统的基于“PABO”的自消基团结合使用以递送苯酚。下面示意性地描绘了接头的裂解,其中D表示具有酚羟基基团的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂。



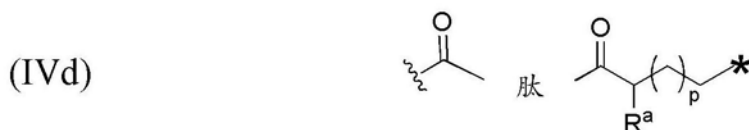
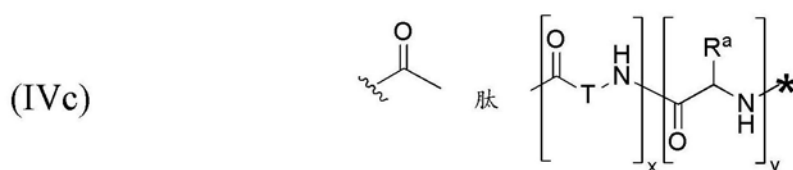
[0319] 可裂解的接头可以包含不可裂解的部分或区段,和/或可裂解的区段或部分可以包含在其他不可裂解的接头中以使其可裂解。仅举例来说,聚乙二醇(PEG)及相关聚合物在聚合物主链中可包含可裂解的基团。例如,聚乙二醇或聚合物接头可包含一个或多个可裂解的基团,如二硫化物、脘或二肽。

[0320] 可用于接头中的其他可降解的键包括但不限于通过 PEG羧酸或活化的PEG羧酸与生物活性剂上的醇基反应形成的酯键,其中此类酯基通常在生理条件下水解以释放生物活性剂。可水解降解的键包括但不限于碳酸酯键;由胺和醛反应得到的亚胺键;通过醇与磷酸基团反应形成的磷酸酯键;为醛和醇的反应产物的缩醛键;为甲酸酯和醇的反应产物的原酸酯键;以及由亚磷酰胺基团与寡核苷酸的 5'-羟基基团在包括但不限于聚合物的末端处形成的寡核苷酸键。

[0321] 在某些实施例中,接头包含酶促可裂解的肽部分,例如包含结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)、或(IVd)的接头:



[0322]



[0323] 或其盐,其中:

[0324] 肽表示可被溶酶体酶裂解的肽(以C→N图示且未显示羧基和氨基“末端”);

[0325] T表示包含一个或多个乙二醇单元或亚烷基链或其组合的聚合物;

[0326] R^a选自氢、烷基、磺酸酯和磺酸甲酯;

[0327] p是范围为0至5的整数;

[0328] q是0或1;

[0329] x是0或1;

[0330] y是0或1;

[0331] ξ 表示接头与细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的附接点;并且

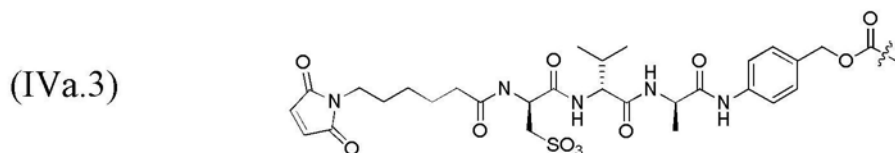
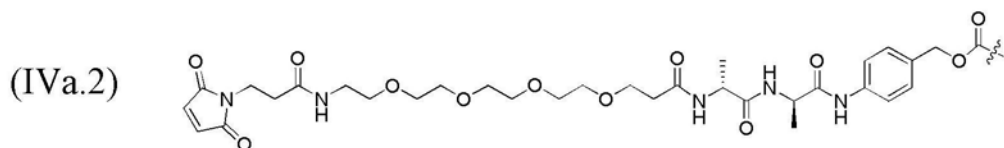
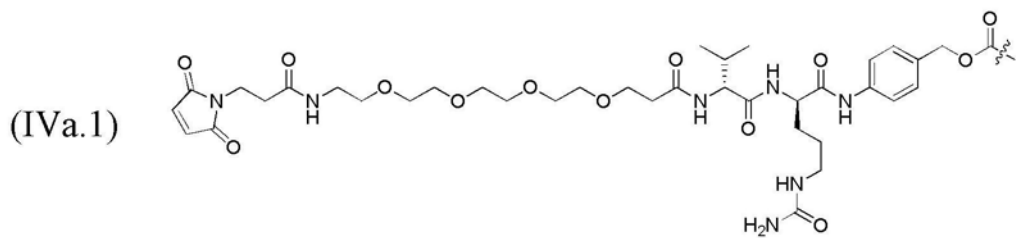
[0332] *表示与接头的其余部分的附接点。

[0333] 在某些实施例中,溶酶体酶选自组织蛋白酶B和 β -葡萄糖醛酸糖苷酶。

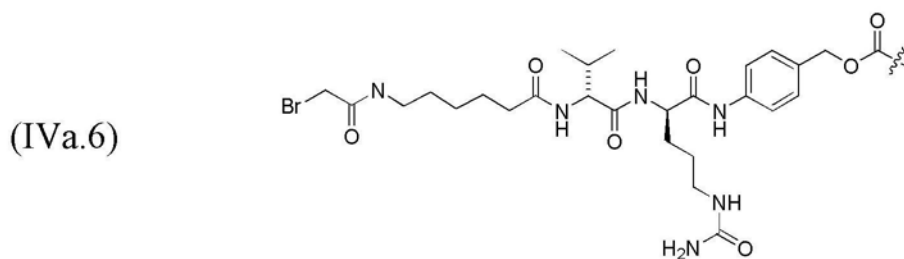
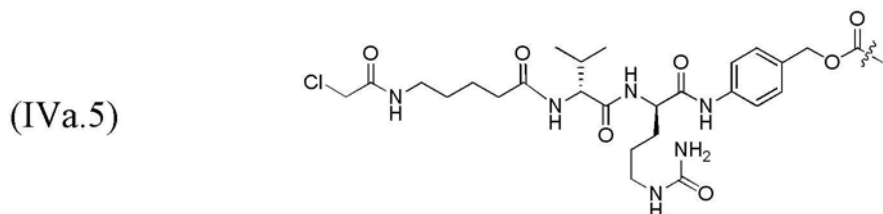
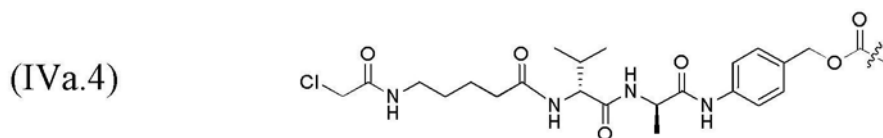
[0334] 在某些实施例中,肽选自三肽或二肽。在特定实施例中,二肽选自:Val-Cit;Cit-Val;Ala-Ala;Ala-Cit;Cit-Ala;Asn-Cit;Cit-Asn;Cit-Cit;Val-Glu;Glu-Val;Ser-Cit;Cit-Ser;Lys-Cit;Cit-Lys;Asp-Cit;Cit-Asp;Ala-Val;Val-Ala;Phe-Lys;Val-Lys;Ala-Lys;Phe-Cit;Leu-Cit;Ile-Cit;Phe-Arg;和Trp-Cit。在某些实施例中,肽选自:Val-Cit;Cit-Val;Ala-Ala;Ala-Cit;Cit-Ala;Asn-Cit;Cit-Asn;Cit-Cit;Val-Glu;Glu-Val;Ser-Cit;Cit-Ser;Lys-Cit;Cit-Lys;Asp-Cit;Cit-Asp;Ala-Val;和Val-Ala;及其盐。

[0335] 可包含在本文所述的ADC中的根据结构式(IVa)的接头的具体示例性实施例包括

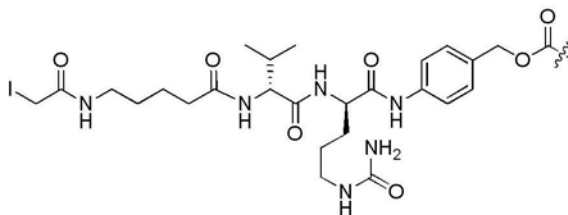
下文所示的接头(如图所示,接头包含适用于将接头与抗体共价连接的基团):



[0336]

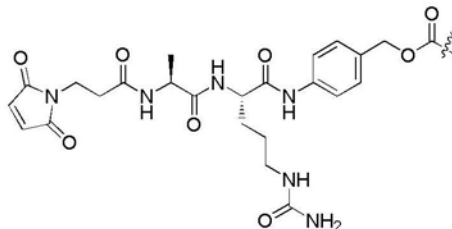


[0337] (IVa.7)

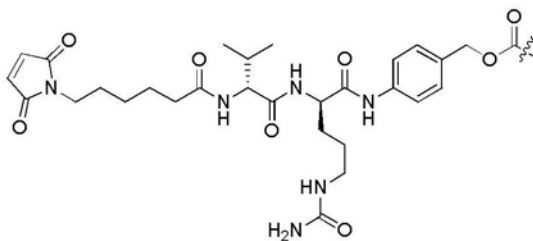


[0338] 可包含在本文所述的ADC中的根据结构式 (IVb) 的接头的具体示例性实施例包括下文所示的接头 (如图所示, 接头包含适用于将接头与抗体共价连接的基团):

(IVb.1)

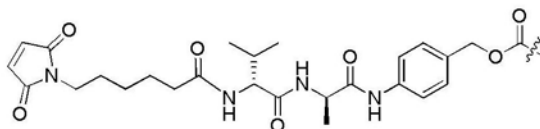


(IVb.2)

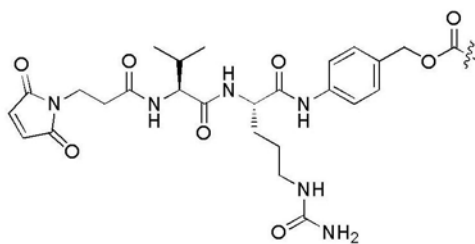


[0339]

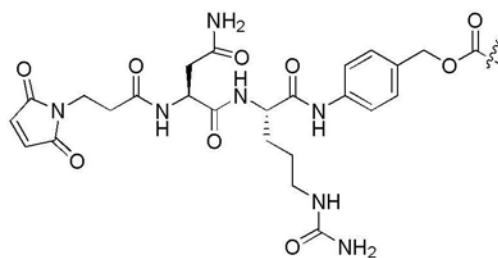
(IVb.3)



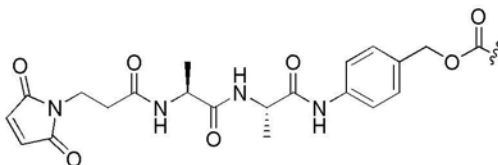
(IVb.4)



(IVb.5)

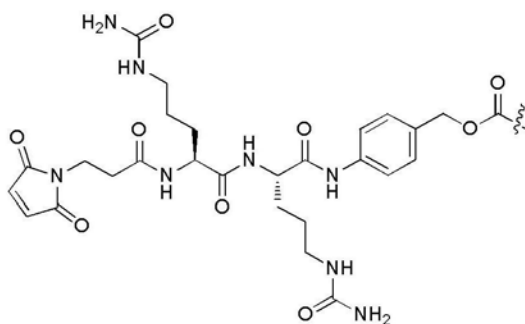


(IVb.6)

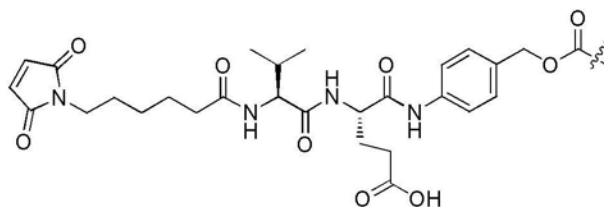


[0340]

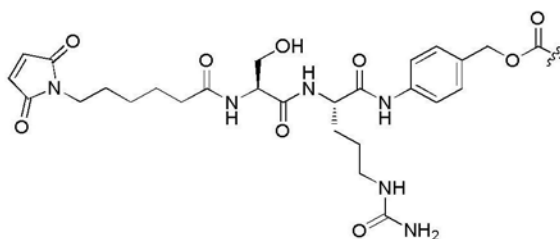
(IVb.7)



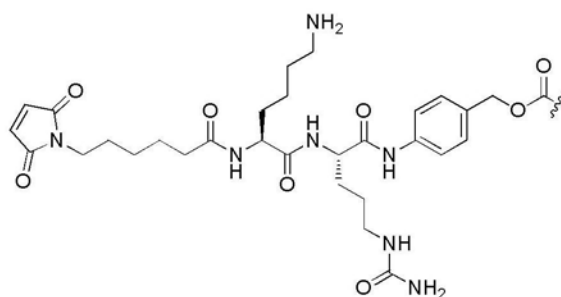
(IVb.8)



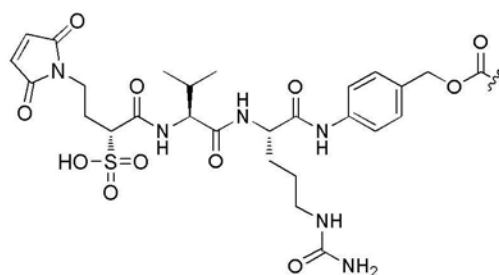
(IVb.9)



(IVb.10)

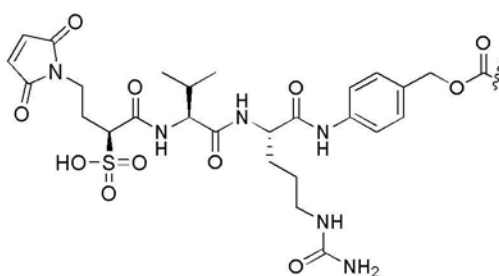


(IVb.11)

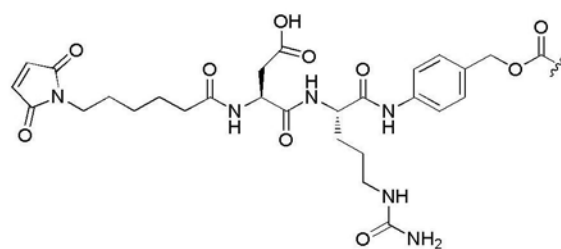


[0341]

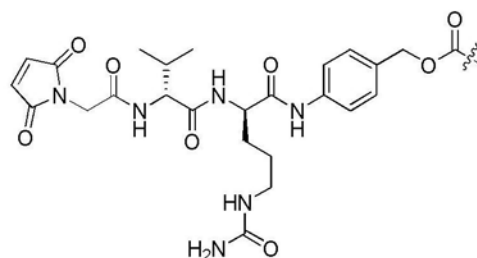
(IVb.12)



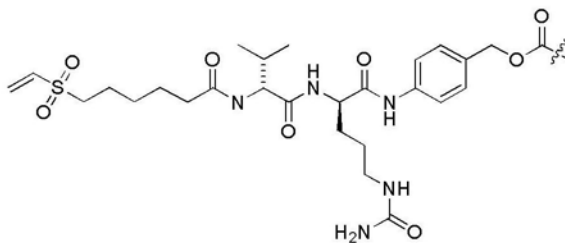
(IVb.13)



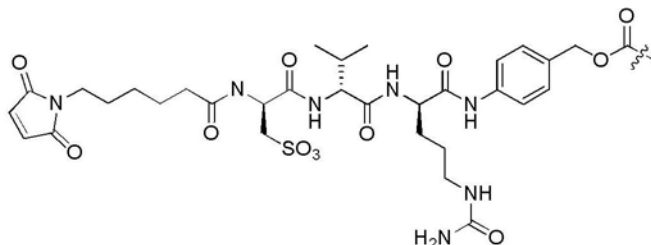
(IVb.14)



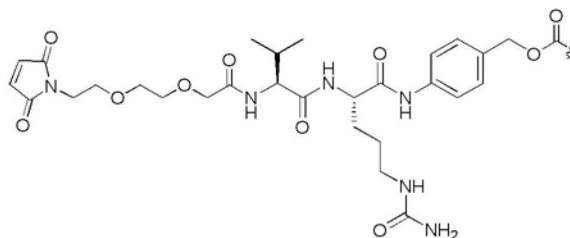
(IVb.15)



[0342] (IVb.16)

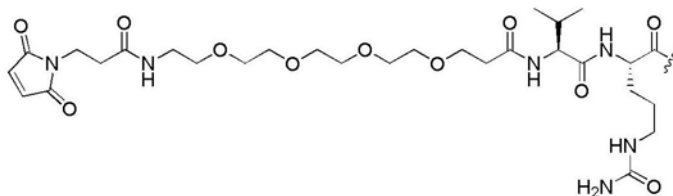


(IVb.17)



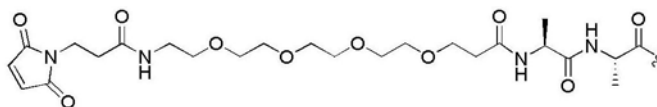
[0343] 可包含在本文所述的ADC中的根据结构式(IVc)的接头的具体示例性实施例包括下文所示的接头(如图所示,接头包含适用于将接头与抗体共价连接的基团):

(IVc.1)

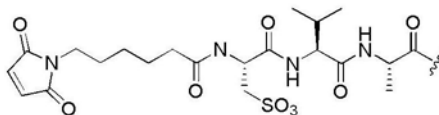


[0344]

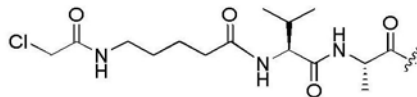
(IVc.2)



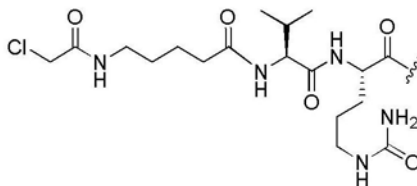
(IVc.3)



(IVc.4)

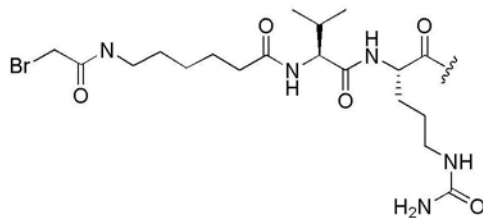


(IVc.5)

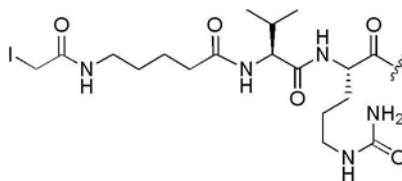


[0345]

(IVc.6)

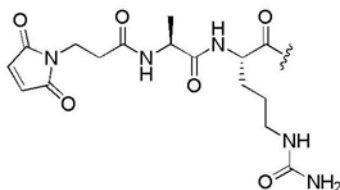


(IVc.7)

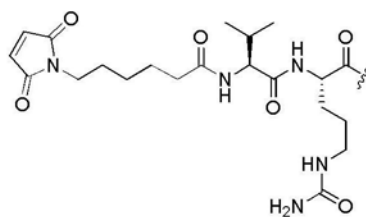


[0346] 可包含在本文所述的ADC中的根据结构式(IVd)的接头的具体示例性实施例包括下文所示的接头(如图所示,接头包含适用于将接头与抗体共价连接的基团):

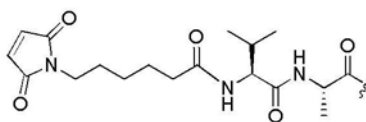
[0347] (IVd.1)



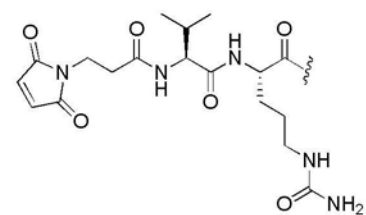
(IVd.2)



(IVd.3)

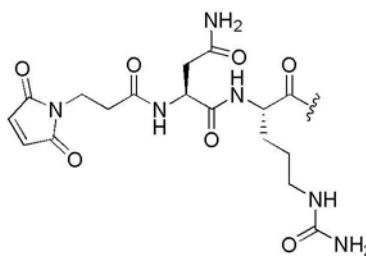


(IVd.4)

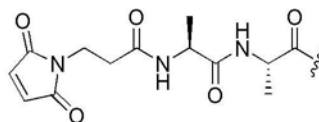


[0348]

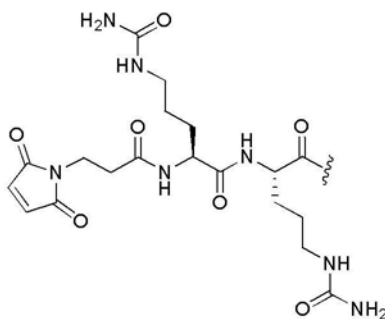
(IVd.5)



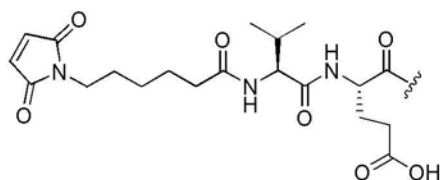
(IVd.6)



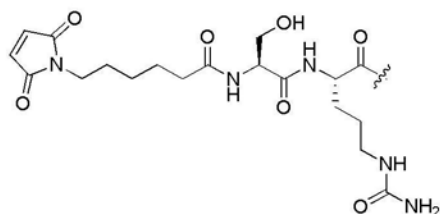
(IVd.7)



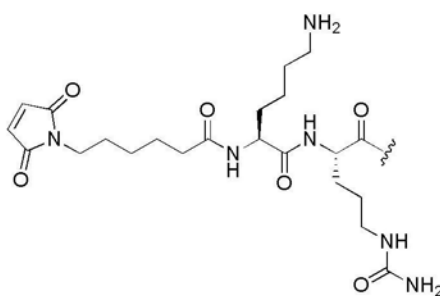
(IVd.8)



(IVd.9)

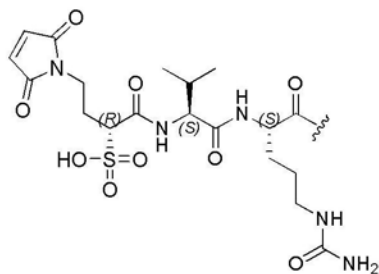


(IVd.10)

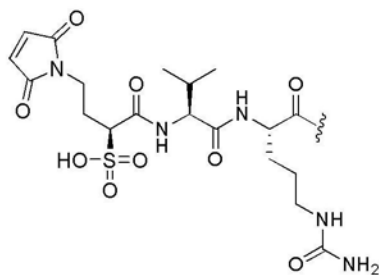


[0349]

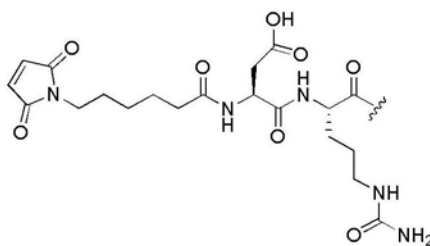
(IVd.11)



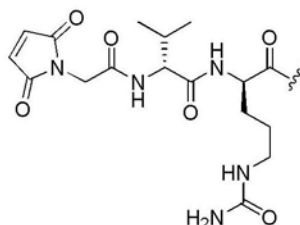
(IVd.12)



(IVd.13)

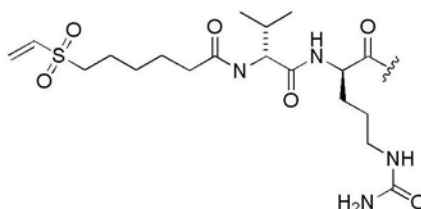


(IVd.14)

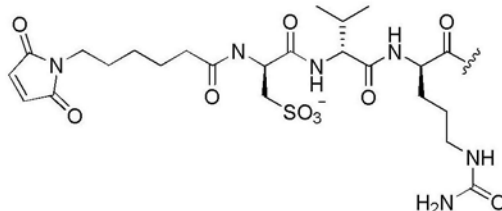


[0350]

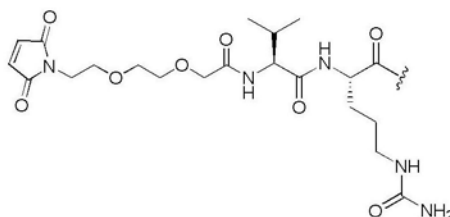
(IVd.15)



(IVd.16)



(IVd.17)



[0351] 在某些实施例中,包含结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)、或(IVd)的接头进一步包含通过暴露于酸性介质可裂解的碳酸酯部分。在特定实施例中,接头通过氧附接至细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂。

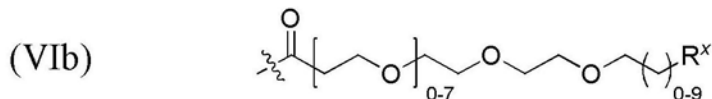
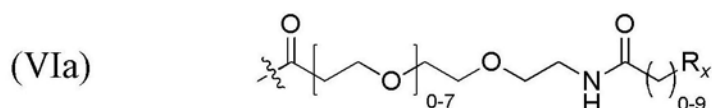
[0352] 5.6.2.2.不可裂解的接头

[0353] 尽管可裂解的接头可以提供某些优点,但构成本文所述的ADC的接头不必是可裂解的。对于不可裂解的接头,药物的释放不依赖于血浆与一些细胞质区室之间的差异性质。假定药物的释放在 ADC经由抗原介导的内吞作用内化并递送至溶酶体区室之后发生,在其

中抗体通过细胞内蛋白水解降解而被降解至氨基酸水平。此过程释放药物衍生物,所述药物衍生物由药物、接头以及接头共价附接的氨基酸残基形成。来自具有不可裂解的接头的偶联物的氨基酸药物代谢物更亲水并且通常膜可渗透性更低,与具有可裂解的接头的偶联物相比,这导致更少的旁观者效应和更少的非特异性毒性。通常,具有不可裂解的接头的ADC比具有可裂解的接头的ADC在循环中具有更高的稳定性。不可裂解的接头可以是亚烷基链,或者可以本质上是聚合的,例如像基于聚亚烷基乙二醇聚合物、酰胺聚合物的那些,或者可以包含亚烷基链、聚亚烷基乙二醇聚合物和/或酰胺聚合物的区段。

[0354] 已经描述了用于将药物与抗体连接的多种不可裂解的接头。参见,Jeffrey等人,2006,Bioconjug.Chem.[生物偶联物化学] 17:831-840;Jeffrey等人,2007,Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与药物化学通讯]17:2278-2280;以及Jiang等人,2005,J.Am.Chem. Soc.[美国化学学会杂志]127:11254-11255;将这些文献中的每一个通过引用并入本文。所有这些接头都可以包含在本文所述的ADC中。

[0355] 在某些实施例中,接头在体内是不可裂解的,例如根据结构式(VIa)、(VIb)、(VIc)或(VId)的接头(如图所示,接头包含适用于将接头与抗体共价连接的基团):



[0356]



[0357] 或其盐,其中:

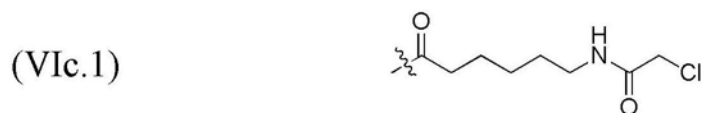
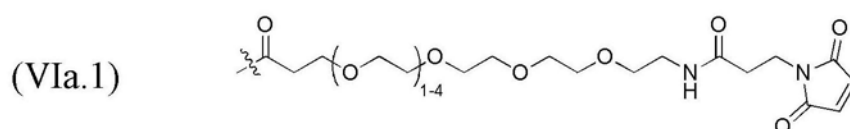
[0358] R^a 选自氢、烷基、磺酸酯和磺酸甲酯;

[0359] R^x 是包含能够将接头与抗体共价连接的官能团的部分;并且

[0360] \sim 表示接头与细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的附接点。

[0361] 可包含在本文所述的ADC中的根据结构式(VIa)-(VId)的接头的具体示例性实施例包括下文所示的接头(如图所示,接头包含适用于将接头与抗体共价连接的基团,并且

“”表示与细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的附接点)：



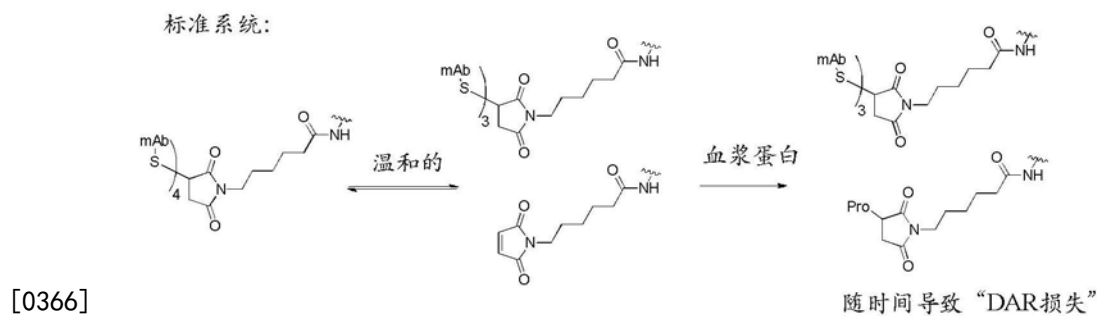
[0362]



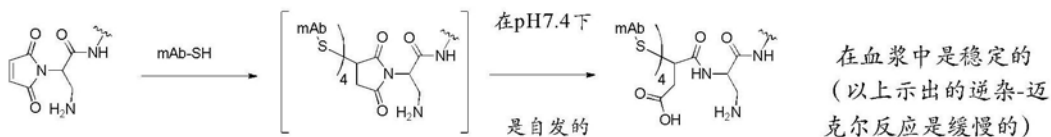
[0363] 5.6.2.3. 用于将接头与抗体附接的基团

[0364] 可以使用多种基团将接头-药物合成子与抗体附接以产生ADC。附接基团本质上可以是亲电子的并且包括：马来酰亚胺基团、活化的二硫化物、活性酯(如NHS酯和HOBt酯)、卤代甲酸酯、酸性卤化物、烷基和苄基卤化物(如卤代乙酰胺)。如下所讨论的，还存在与可以根据本披露使用的“自稳定性”马来酰亚胺和“桥接二硫化物”相关的新兴技术。使用的具体基团将部分取决于与抗体附接的位点。

[0365] 在下面的示意图中描绘了在抗体偶联条件下自发水解以给出具有改善的稳定性的ADC物质的“自稳定性”马来酰亚胺基团的一个实例。参见US 20130309256 A1；以及Lyon等人，在线公开的Nature Biotech[自然生物技术]，doi:10.1038/nbt.2968。

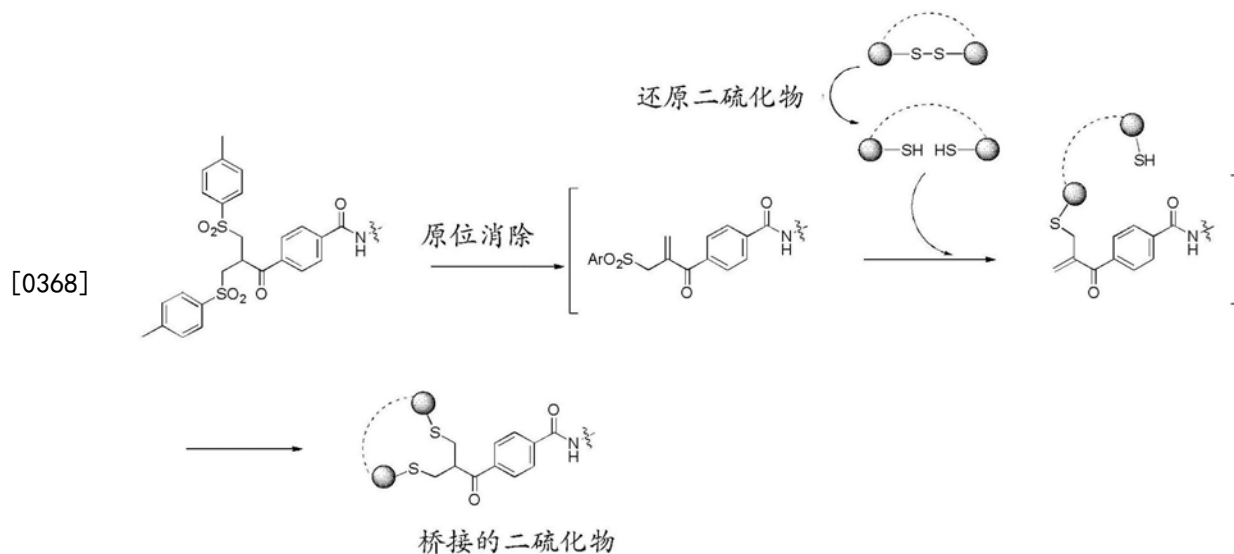


SGN MalDPR (马来酰亚胺基二丙基氨基) 系统:

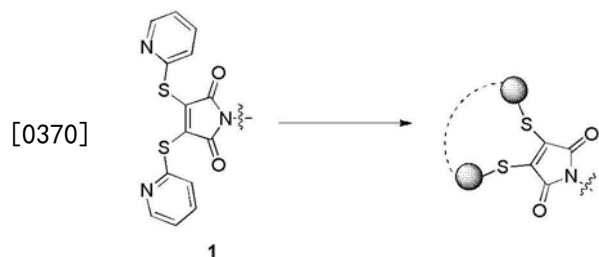


US20130309256A1

[0367] Polytherics披露了用于桥接一对巯基基团的方法,所述巯基基团衍生自天然较链二硫键的还原。参见,Badescu等人,2014, Bioconjugate Chem. [生物偶联物化学]25: 1124-1136。在下面的示意图中描绘了所述反应。此方法的一个优点是具有通过完全还原IgG (以给出4对巯基) 然后与4当量的烷化剂反应而合成均质DAR4 ADC 的能力。含有“桥连二硫化物”的ADC也体现为具有增强的稳定性。



[0369] 类似地,如下所描绘的,已经开发了能够桥接一对巯基基团的马来酰亚胺衍生物 (下面的1)。参见W0 2013/085925。



[0371] 5.6.2.4. 接头选择注意事项

[0372] 如熟练技术人员所知的,针对特定ADC选择的接头可能受多种因素的影响,包括但不限于与抗体附接的位点(例如Lys、Cys或其他氨基酸残基)、药物药效团的结构限制以及药物的亲脂性。针对ADC选择的特定接头应寻求平衡特异性抗体/药物组合的这些不同因素。有关受ADC中接头的选择影响的因素的综述,参见Nolting, Chapter 5“Linker Technology in Antibody-Drug Conjugates[抗体药物偶联物中的接头技术,第5章],”在: Antibody-Drug Conjugates:Methods in Molecular Biology[抗体药物偶联物:分子生物学方法],第1045卷,第71-100页,Laurent Ducry(编辑),施普林格科学与商业医学有限责任公司(Springer Science&Business Medica,LLC),2013。

[0373] 例如,抗cMet ADC可以实现对存在于表达cMet的癌细胞附近的旁观者cMet阴性肿瘤细胞的杀伤。ADC对旁观者细胞的杀伤机制表明,ADC的细胞内加工期间形成的代谢产物可能起作用。在表达cMet的细胞中由ADC代谢产生的细胞渗透性细胞毒性和/或细胞生长抑制性代谢物似乎在旁观者细胞杀伤中起作用,而不能穿过细胞膜并扩散到培养基中的非细胞渗透性代谢物不能实现旁观者杀伤。在某些实施例中,选择接头以实现、增强或增加抗cMet ADC的旁观者杀伤作用。

[0374] 接头的性质还可能影响在使用和/或储存条件下ADC的聚集。通常,文献中报道的ADC的每个抗原结合部分(例如,每个抗体分子)含有不超过3-4个药物分子(参见例如,Chari,2008,Acc Chem Res[化学研究报告]41:98-107)。由于ADC的聚集,尝试获得更高的药物-抗体比率(“DAR”)通常是失败的,特别是如果药物和接头都是疏水的话(King等人,2002,J Med Chem[医药化学杂志] 45:4336-4343;Hollander等人,2008,Bioconjugate Chem[生物偶联物化学]19:358-361;Burke等人,2009Bioconjugate Chem[生物偶联物化学] 20:1242-1250)。在许多情况下,高于3-4的DAR作为增加效力的手段可能是有益的。在细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂本质上是疏水性的情况下,可能需要选择相对亲水的接头作为减少ADC聚集的手段,尤其是在需要大于3-4的DAR的情况下。因此,在某些实施例中,接头掺入化学部分,所述化学部分减少ADC在储存和/或使用期间的聚集。接头可以掺入极性或亲水基团,例如带电基团或在生理pH下变为带电的基团,以减少ADC的聚集。例如,接头可以掺入带电基团,例如在生理pH下使例如羧酸盐去质子化或使例如胺质子化的盐或基团。

[0375] 已报道可产生高达20的DAR的可用于将许多细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂与抗体连接的示例性多价接头描述于WO 2009/073445、WO 2010/068795、WO 2010/138719、WO 2011/120053、WO 2011/171020、WO 2013/096901、WO 2014/008375、WO 2014/093379、WO 2014/093394、WO 2014/093640中,将这些文献的内容通过引用以其整体并入本文。

[0376] 在特定实施例中,ADC在储存或使用期间的聚集小于约 10%,如通过尺寸排阻色谱法(SEC)确定的。在特定实施例中,ADC 在储存或使用期间的聚集小于10%,例如小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2%、小于约1%、小于约0.5%、小于约0.1%、或甚至更低,如通过尺寸排阻色谱法(SEC)确定的。

[0377] 5.6.3.ABBV-399

[0378] 如整个说明书中所述,ABBV-399是由靶向cMet的抗体ABT-700(PR-1266688,h224G11)通过缬氨酸瓜氨酸(vc)接头与强效细胞毒素单甲基澳瑞他汀E(MMAE)偶联而组成的ADC。ABBV-399已用于DAR为3.1的1期临床试验(参见实例16)。

[0379] 在替代性实施例中, ABBV-399能以1:1的E2/E4比率 (其对应于3.0的平均DAR) 使用。换句话说, 将ABBV-399用作包含1:1比率的抗体-药物偶联物的E2和E4纯化级分的组合。

[0380] 5.6.4. ABT-700 PBD

[0381] ABT-700 (S238C) -PBD (Kabat编号) 与ABT-700 (S239C) -PBD (Eu编号) 相同, 并且由与cys工程化mAb ABT-700 偶联的两个PBD药物-接头分子组成。偶联过程由工程化二硫化物和链间二硫化物的定量还原组成。然后纯化还原混合物以去除过量的试剂及其副产物, 然后定量氧化链间二硫化物, 然后与过量的PBD药物-接头偶联。猝灭后, 将反应混合物纯化并进行缓冲液交换, 以产生 ABT-700 (S238C) -PBD。已经鉴定了反应参数以提供具有>80% DAR2 载药量的偶联物。

[0382] 携带S238C突变 (Kabat编号) (相当于Eu编号中的 S239C突变) 的ABT-700 PBD的序列如下 (CDR是加下划线的; 编号系统是Kabat; 并且S238C突变由C (粗体, 加下划线, 并且斜体) 表示:

[0383] 氨基酸序列 (每组10个氨基酸, 每行5组)

[0384] 重链 (SEQ ID NO: 171) (加下划线的CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 173-175):

```
QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYIFT AYTTMHWRQA PGQGLEWMGW 50
IKPNNGGLANY AOKFQGRVTM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARSE 100
ITTEFDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY 150
FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI 200
[0385] CNVNHKPSNT KVDKRVEPKS CDCHCPCPA PELLGGPCVF LFPPKPKDTL 250
MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR 300
VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL 350
PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD 400
GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG 445
```

[0386] 轻链 (SEQ ID NO: 172) (加下划线的CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 176-178):

```
DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSESVD SYANSFLHWY QQKPGQPPKL 50
LIYRASTRES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQSKEDPL 100
[0387] TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVCLL NNFYPREAKV 150
QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV 200
THQGLSSPVT KSFNRGEC 218
```

[0388] 5.7. 制备抗cMet抗体药物偶联物的方法

[0389] 可以使用众所周知的化学物质来合成本文所述的ADC。所选的化学物质将尤其取决于一种或多种细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂、接头以及用于使接头与抗体连接的基团的特性。通常, 根据式 (I) 的ADC可以根据以下方案制备:

[0390] $D-L-R^x + Ab-R^y \rightarrow (I) [D-L-XY]_n - Ab$

[0391] 其中D、L、Ab、XY和n如先前所定义, 并且如上所讨论的, R^x 和 R^y 表示能够彼此形成共价键的互补基团。

[0392] 基团 R^x 和 R^y 的特性将取决于用于使合成子D-L- R^x 与抗体连接的化学物质。通常,所使用的化学物质不应改变抗体的完整性,例如其结合其靶标的能力。优选地,偶联抗体的结合特性将与未偶联抗体的结合特性非常相似。用于将分子与生物分子(例如抗体)偶联的多种化学物质和技术是本领域已知的,并且特别地对于抗体是众所周知的。参见例如,Amon等人,“Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy[用于癌症治疗中药物的免疫靶向的单克隆抗体],”在:Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy[单克隆抗体及癌症治疗],Reisfeld等人编辑,Alan R.Liss,Inc., 1985; Hellstrom等人,“Antibodies For Drug Delivery[用于药物递送的抗体],”在:Controlled Drug Delivery[受控药物递送],Robinson等人编辑,马赛尔德克股份有限公司(Marcel Dekker,Inc.),第2版1987; Thorpe,“Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy:A Review[在癌症治疗中的细胞毒性剂的抗体载体:综述],”在: Monoclonal Antibodies '84:Biological And Clinical Applications[单克隆抗体'84:生物学和临床应用],Pinchera等人编辑,1985;“Analysis, Results,and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy [放射性标记的抗体在癌症治疗中的治疗用途的分析、结果和未来前景],”在:Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy[用于癌症检测和治疗的单克隆抗体],Baldwin 等人编辑,学术出版社(Academic Press),1985;Thorpe等人,1982, Immunol.Rev.[免疫学综述]62:119-58;PCT公开WO 89/12624。这些化学物质中的任何一种都可用于将合成子与抗体连接。

[0393] 许多用于将合成子与可及的赖氨酸残基连接的官能团 R^x 和化学物质是已知的,并且包括(通过举例而非限制的方式)NHS- 酯和异硫氰酸酯。

[0394] 许多用于将合成子与半胱氨酸残基的可及游离巯基基团连接的官能团 R^x 和化学物质是已知的,并且包括(通过举例而非限制的方式)卤代乙酰基和马来酰亚胺。

[0395] 然而,偶联化学物质不限于可用的侧链基团。侧链(如胺)可以通过将适当的小分子与胺连接而转化为其他有用的基团,例如羟基。此策略可用于通过将多功能小分子与抗体的可及氨基酸残基的侧链偶联来增加抗体上可用的连接位点的数量。然后合成子中包含适用于将合成子与这些“转化的”官能团共价连接的官能团 R^x 。

[0396] 还可以将抗体工程化为包含用于偶联的氨基酸残基。Axup等人,2012,Proc Natl Acad Sci U S A.[美国国家科学院院刊] 109(40):16101-16106描述了用于工程化抗体的方法,以包含可用于在 ADC的背景下偶联药物的非基因编码的氨基酸残基,对用于将合成子与非编码的氨基酸连接的化学物质和官能团也进行了描述。

[0397] 通常,合成子与抗体的氨基酸残基的侧链(包括例如可及的赖氨酸残基的伯氨基基团或可及的半胱氨酸残基的巯基基团)连接。通过还原链间二硫键可以获得游离的巯基基团。

[0398] 对于其中 R^y 是巯基基团的键(例如当 R^x 是马来酰亚胺时),通常首先完全或部分还原抗体以破坏半胱氨酸残基之间的链间二硫键。可以被还原以用于将药物-接头合成子(其包含适合于偶联的基团)与示例性抗体ABT-700的巯基基团附接的特定半胱氨酸残基和链间二硫键包括(通过举例而非限制的方式)本文披露的ABT-700的人IgG₁重链上的残基C221、C223、C225和C228以及人Ig κ 轻链上的残基C218。

[0399] 可以通过使一个或多个密码子突变,将不参与二硫键的用于合成子附接的半胱氨酸残基工程化到抗体中。这些未配对的半胱氨酸提供适用于偶联的巯基基团。用于掺入工程化的半胱氨酸的优选位置包括(通过举例而非限制的方式)人IgG₁重链上的位置S112C、S113C、A114C、S115C、A176C、S180C、S252C、V286C、V292C、S357C、A359C、S398C、S428C (Kabat编号)以及人Igκ轻链上的位置V110C、S114C、S121C、S127C、S168C、V205C (Kabat编号)(参见例如,美国专利号7,521,541、美国专利号7,855,275和美国专利号8,455,622)。

[0400] 如熟练技术人员所理解的,与抗体分子连接的细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的量可以变化,使得ADC制剂在本质上可以是异质的,其中制剂中的一些抗体含有一个连接剂,一些含有两个连接剂,一些含有三个连接剂等等(并且一些不含有连接剂)。异质性程度将尤其取决于用于连接细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的化学物质。例如,在抗体被还原以产生用于附接的巯基基团的情况下,通常产生每个分子具有0、2、4、6或8个连接剂的抗体的异质混合物。此外,通过限制附接化合物的摩尔比,通常产生每个分子具有0、1、2、3、4、5、6、7或8个连接剂的抗体。因此,应理解,根据上下文,所述药物抗体比率(DAR)可以是抗体集合的平均值。例如,“DAR4”是指如下ADC制剂:未经过纯化以分离特定DAR峰,并且包含每个抗体附接有不同数量的细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂(例如,每个抗体0、2、4、6、8个药剂)的ADC分子的异质混合物,但平均药物与抗体的比率为4。类似地,“DAR8”是指其中平均药物与抗体的比率为8的异质ADC制剂。

[0401] 可以例如通过疏水相互作用色谱法(“HIC”)处理异质ADC制剂,以产生富含具有指定的目标DAR(或两个或更多个指定DAR的混合物)的ADC的制剂。此类富集的制剂在本文中被称作“EX”,其中“E”表示ADC制剂已被处理并富含具有特定DAR的ADC,并且“X”表示每个ADC分子连接的细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂的数量。富含具有两个特定DAR的ADC的混合物的制剂被称为“EX/EY”,富含具有三个特定DAR的ADC的混合物的制剂被称为“EX/EY/EZ”等,其中“E”表示已被处理以富集指定的DAR的ADC制剂,并且“X”、“Y”和“Z”表示富集的DAR。作为具体实例,“E2”是指如下ADC制剂,其已经被富集以主要包含每个ADC分子连接有两个细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂的ADC。“E4”是指如下ADC制剂,其已经被富集以主要包含每个ADC分子连接有四个细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂的ADC。“E2/E4”是指如下ADC制剂,其已经被富集以主要包含两个ADC群,一个群每个ADC分子连接有两个细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂,另一个群每个ADC分子连接有四个细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂。

[0402] 如本文所使用的,富集的“E”制剂在所述DAR ADC中通常会至少约80%纯的,尽管更高水平的纯度(例如至少约85%、90%、95%、98%或甚至更高的纯度)可能是可获得的。例如,在每个ADC分子连接有X个细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂的ADC中,“EX”制剂通常会至少约80%纯的。对于“更高级”富集的制剂,例如像“EX/EY”制剂,每个ADC分子连接有X个和Y个细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂的ADC的总和通常会占制剂中总ADC的至少约80%。类似地,在富集的“EX/EY/EZ”制剂中,每个ADC分子连接有X个、Y个和Z个细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂的ADC的总和将占制剂中总ADC的至少约80%。

[0403] 可以通过如本领域已知的多种方法评估纯度。作为具体实例,可以经由HPLC或其他色谱法分析ADC制剂,并通过分析所得峰的曲线下面积来评估纯度。在实例6中提供了可用于评估ADC制剂的纯度的具体色谱方法。

[0404] 图2示出了过程I,其用于获得3.1的DAR。图3示出了过程II,其用于获得1:1的E2/E4比率。

[0405] 在实例部分中提供了用于获得包含平均DAR为4的人源化抗体huM25的ADC的异质混合物、以及含有2个和4个连接剂的高纯度制剂的具体方法。可以使用常规技能修改这些具体方法以获得包含其他抗cMet抗体、接头和/或细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的异质和/或均质ADC。

[0406] 在将vcMMAE与ABT-700偶联后,使用另外的加工步骤将平均药物与抗体比率(DAR)从大约5降低至大约3,这导致更均质的药物产物,伴随更少的MMAE分子与抗体偶联。实施此策略是以减少与ABBV-399附接的药物分子的数量,这可能会改善其耐受性,因为高级药物分子可能不相称地导致毒性。

[0407] 5.8. 组合物

[0408] 本文所述的ADC可以呈包含ADC以及一种或多种载体、赋形剂和/或稀释剂的组合物的形式。可以配制组合物用于特定用途,例如用于兽医用途或人类的药物用途。组合物的形式(例如,干粉、液体配制品等)和所使用的赋形剂、稀释剂和/或载体将取决于抗体和/或ADC的预期用途,并且对于治疗用途,将取决于施用方式。

[0409] 对于治疗用途,组合物可以作为包含药学上可接受的载体的无菌药物组合物的一部分提供。此组合物可以呈任何合适的形式(取决于将其施用于患者的所需方法)。药物组合物可通过多种途径施用于患者,例如口服、透皮、皮下、鼻内、静脉内、肌肉内、肿瘤内、鞘内、局部(topically)或局部(locally)。在任何给定的情况下,最合适的施用途径将取决于具体的抗体和/或ADC、受试者、以及疾病的性质和严重程度、以及受试者的身体状况。通常,将静脉内或皮下施用药物组合物。

[0410] 药物组合物可以方便地以每剂量含有预定量的本文所述的抗体和/或ADC的单位剂型提供。单位剂量中包含的抗体和/或ADC的量将取决于所治疗的疾病、以及如本领域熟知的其他因素。这样的单位剂量可以呈含有适于单次施用的量的抗体和/或ADC的冻干干粉形式,或者呈液体形式。干粉单位剂型可以包装在试剂盒中,所述试剂盒具有注射器、适量的稀释剂和/或其他可用于施用的组分。液体形式的单位剂量能以预先填充有适于单次施用的量的抗体和/或ADC的注射器的形式方便地提供。

[0411] 药物组合物还能以含有适于多次施用的量的ADC的散装形式提供。

[0412] 通过将具有所需纯度水平的抗体和/或ADC与本领域通常使用的任选的药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂(所有这些均在本文中称为“载体”,即缓冲剂、稳定剂、防腐剂、等渗剂、非离子洗涤剂、抗氧化剂和其他各种添加剂)混合,可以制备药物组合物用于作为冻干配制品或水溶液储存。参见,Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学],第16版(0sol编辑1980)以及Remington: The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药物科学与实践],第22版(由Allen,Loyd V.Jr.编辑,2012)。这类添加剂在所用的剂量和浓度下应对接受者无毒。

[0413] 缓冲剂有助于将pH保持在使蛋白质稳定的范围内。它们能以多种浓度存在,但通常会以范围为约2mM至约50mM的浓度存在。用于与本披露一起使用的合适的缓冲剂包括有机酸和无机酸两者及其盐,如柠檬酸盐缓冲液(例如,柠檬酸一钠-柠檬酸二钠混合物、柠檬酸-柠檬酸三钠混合物、柠檬酸-柠檬酸一钠混合物等)、琥珀酸盐缓冲液(例如,琥珀酸-琥

珀酸一钠混合物、琥珀酸-氢氧化钠混合物、琥珀酸-琥珀酸二钠混合物等)、酒石酸盐缓冲液(例如,酒石酸-酒石酸钠混合物、酒石酸-酒石酸钾混合物、酒石酸-氢氧化钠混合物等)、富马酸盐缓冲液(例如,富马酸-富马酸一钠混合物、富马酸-富马酸二钠混合物、富马酸一钠-富马酸二钠混合物等)、葡糖酸盐缓冲液(例如,葡糖酸-葡糖酸钠混合物、葡糖酸-氢氧化钠混合物、葡糖酸-葡糖酸钾混合物等)、草酸盐缓冲液(例如,草酸-草酸钠混合物、草酸-氢氧化钠混合物、草酸-草酸钾混合物等)、乳酸盐缓冲液(例如,乳酸-乳酸钠混合物、乳酸-氢氧化钠混合物、乳酸-乳酸钾混合物等)以及乙酸盐缓冲液(例如,乙酸-乙酸钠混合物、乙酸-氢氧化钠混合物等)。另外,可以使用磷酸盐缓冲液、组氨酸缓冲液和三甲胺盐(如Tris)。

[0414] 可以添加防腐剂以阻碍微生物生长,并且能以0.2%-1% (w/v) 范围的量添加。用于与本披露一起使用的合适的防腐剂包括苯酚、苯甲醇、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、十八烷基二甲基苄基氯化铵、苄烷铵卤化物(例如,氯化物、溴化物和碘化物)、氯化六烃季铵和对羟基苯甲酸烷基酯(如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯)、儿茶酚、间苯二酚、环己醇以及3-戊醇。可以添加有时被称为“稳定剂”的等渗剂以确保本披露的液体组合物的等渗性,并且等渗剂包括多羟基糖醇,例如三羟基糖醇或更高级糖醇,如甘油、赤藓糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇和甘露糖醇。稳定剂是指广泛类型的赋形剂,其就功能而言范围从膨胀剂到溶解治疗剂或者有助于防止变性或粘附到容器壁的添加剂。典型的稳定剂可以是多羟基糖醇(上面列举的);氨基酸,如精氨酸、赖氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、丙氨酸、鸟氨酸、L-亮氨酸、2-苯丙氨酸、谷氨酸、苏氨酸等;有机糖或糖醇,如乳糖、海藻糖、水苏糖、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、核糖醇、肌醇(myoinositol)、半乳糖醇、甘油等,包括环醇如肌醇(inositol);聚乙二醇;氨基酸聚合物;含硫还原剂,如尿素、谷胱甘肽、硫辛酸、硫代乙醇酸钠、硫代甘油、 α -一硫代甘油和硫代硫酸钠;低分子量多肽(例如,具有10个残基或更少残基的肽);蛋白质,如人血清白蛋白、牛血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮单糖,如木糖、甘露糖、果糖、葡萄糖;二糖,如乳糖、麦芽糖、蔗糖和海藻糖;以及三糖,如棉子糖;以及多糖,如葡聚糖。稳定剂能以0.5至10重量%/重量ADC的范围的量存在。

[0415] 可以添加非离子表面活性剂或洗涤剂(也称为“润湿剂”)以减少对表面的吸附、以及以帮助溶解糖蛋白、以及以保护糖蛋白对抗搅拌引起的聚集,这也允许配制品暴露于剪切表面应力而不引起蛋白质的变性。合适的非离子表面活性剂包括聚山梨醇酯(20、80等)、泊洛沙姆(184、188等)和普朗尼克(pluronic)多元醇。非离子表面活性剂能以约0.05mg/mL至约1.0mg/mL、例如约0.07 mg/mL至约0.2mg/mL的范围存在。

[0416] 其他各种赋形剂包括膨胀剂(例如淀粉)、螯合剂(例如EDTA)、抗氧化剂(例如抗坏血酸、甲硫氨酸、维生素E)和助溶剂。

[0417] 适于通过静脉内输注而施用的水性组合物的具体示例性实施例包含20mg/mL抗cMet ADC、10mM组氨酸缓冲液(pH 6.0)、7% (w/v) 蔗糖、0.03% (w/v) 聚山梨醇酯80。组合物可以呈冻干粉末的形式,其在用5.2mL无菌水或者适于注射或输注的其他溶液(例如0.9%盐水、林格氏溶液、乳酸林格氏溶液等)重构后提供上述水性组合物。组合物或组合物的其他实施例也可以呈预先填充有适于单次施用抗cMet ADC的量的组合物的注射器或适于注射和/或输注的其他装置的形式。

[0418] 在一个实施例中,组合物包含1:1比率的纯化的E1和 E4级分的ABBV-399。这类级分可通过本领域已知的用于纯化ADC 的任何方法获得,包括实例2和3中的方法。在一个实施例中,组合物包含DAR在0-10范围内的ABBV-399。在另一个实施例中,组合物包含DAR在1-4范围内的ABBV-399。在另一个实施例中,组合物包含DAR在2-4范围内的ABBV-399。在另一个实施例中,组合物包含DAR为约3.1的ABBV-399。在另一个实施例中,组合物包含DAR 为约3.0的ABBV-399。

[0419] 5.9. 使用方法

[0420] 如先前所讨论的,对于多种实体瘤,cMet被表达/过表达。本文提供的数据表明,抗cMet ADC在体内对这些表达/过表达 cMet的肿瘤发挥强效的抗肿瘤活性。因此,ADC和/或包含ADC的药物组合物可以治疗性地用于治疗表达cMet的肿瘤(即cMet+肿瘤) 和过表达cMet的肿瘤(即cMet+/过表达肿瘤)。

[0421] 通常,所述方法包括向具有表达cMet的肿瘤或过表达 cMet的肿瘤的人类患者施用有效提供治疗益处的量的抗cMet ADC。可以使用本领域普通技术人员已知的用于评估细胞中cMet受体蛋白的存在和/或表达水平的任何方法。在一个实施例中,cMet水平是膜cMet水平。在另一个实施例中,cMet水平是细胞质cMet水平。在另一个实施例中,测量总体cMet表达水平。在实例17中详细描述了用于确定cMet表达水平的优选方法,并且其在本文中称为“cMet ABBV-ADC染色方案”。基于本领域普通技术病理医师已知的方法评估H-评分(0-300)和IHC评分(0、1+、2+和3+)。在一个实施例中,选择H-评分<150和/或IHC评分为0和1+的患者进行治疗。在一个实施例中,选择H-评分≥150和/或IHC评分为2+和3+的患者进行治疗。

[0422] 所选的进行本披露的ADC治疗的患者包括具有表达 cMet的肿瘤的那些和具有过表达cMet的肿瘤的那些,所述肿瘤包括但不限于任何实体瘤(还包括过表达HGF和/或具有HGF/cMet信号传导或表达的异常活化的那些)。更具体的实例包括:肺癌;乳腺癌(例如浸润性导管癌);头颈癌;胰腺癌;胃癌(gastric carcinomas);结肠直肠癌(包括结肠直肠癌肺转移);卵巢癌(例如浆液性腺癌);胃癌(stomach cancer);肾癌(例如肾细胞癌,如乳头状肾细胞癌、透明细胞癌、遗传性乳头状肾细胞癌);肾上腺癌;胃/食管癌;髓母细胞瘤;胶质瘤;肝癌(例如肝细胞癌(包括晚期不可切除的HCC));前列腺癌(转移性或非转移性);黑色素瘤;唾液腺肿瘤;肉瘤;宫颈癌;粘液样脂肪肉瘤;甲状旁腺腺癌;子宫内膜癌;上皮样间皮瘤;阑尾癌;杯状细胞癌;具有印戒特征的转移性弥漫型胃腺癌;间变性大细胞淋巴瘤(ALCL);任何晚期恶性肿瘤,包括但不限于本文所列的晚期、复发性、难治性亚型的癌症。

[0423] 可以使用不同的系统对肺癌进行分类。在一个系统中,肺癌包括腺癌(混合型、腺泡性、乳头状、实性、微乳头状、鳞屑状非粘液性和鳞屑状粘液性)、鳞状细胞癌、大细胞癌(例如非小细胞肺癌或NSCLC(例如晚期或非晚期的LCNEC、LCNEM、未另行指定(NOS)的NSCLC/腺鳞癌、肉瘤样癌、腺鳞癌和大细胞神经内分泌癌))、以及小细胞肺癌(cancer/carcinoma)或SCLC))。

[0424] 可替代地,在不同的系统中,肺癌可分为侵袭前病变、微创性腺癌和侵袭性腺癌(侵袭性粘液性腺癌、粘液性BAC、胶样癌、胚胎(低级和高级)癌和肠癌)。

[0425] 更经常地,肺癌可以分类为小细胞肺癌(“SCLC”)或非小细胞肺癌(“NSCLC”)。NSCLC可进一步分类为鳞状或非鳞状。非鳞状NSCLC的实例是腺癌。

[0426] 癌症可以是新诊断的并且对于治疗是初试的,或者可以是复发的、难治的、或者是复发且难治的,或者是表达cMet的肿瘤或过表达cMet的肿瘤的转移或转移形式。如本披露的实例14中所证明的,对其他靶向性或非靶向性化学疗法表现出抗性的过表达cMet 的肿瘤保持对ABBV-399的敏感性。

[0427] 此外,如图12C所示,在用抗cMet抗体ABT-700治疗后最终再生长的过表达cMet的肿瘤仍然对用抗cMet ADC(即 ABBV-399)进行的再治疗具有敏感性。因此,本文所述的抗cMet ADC 对于治疗过表达cMet的肿瘤提供了超过目前靶向性和非靶向性方法的显著益处。

[0428] 抗cMet ADC可以单独施用(单一疗法)或者辅助或辅助有其他抗癌疗法和/或靶向性或非靶向性抗癌剂施用。当以抗cMet ADC单一疗法施用,可以使用一种或多种抗cMet ADC。在某些实施例中,将抗cMet ADC与抗cMet抗体结合施用,所述抗cMet抗体识别cMet上的不同表位而不是识别被ADC识别的表位。例如,这可以做到刺激cMet受体的内化。可替代地,可以在ABBV-399(或另一种抗cMet ADC)之前给予ABT-700,以“阻断”正常组织上的内源性cMet,以试图降低与ABBV-399活性相关的对正常组织的可能毒性。

[0429] 在另一个实施例中,抗cMet ADC识别cMet内的两个不同的非重叠表位。这类ADC(也称为携带二价双旁原位抗体的 ADC)可以具有优于单价抗体的若干优点。例如,它们可以诱导cMet 受体聚簇,这反过来可以促进强烈的内化、溶酶体运输和降解,从而改善ADC的药物部分释放到细胞质中以及其旁观者效应的可用性。

[0430] 无论是作为单一疗法施用还是辅助或辅助有其他疗法或药剂施用,施用一定量的抗cMet ADC使得总体治疗方案提供治疗益处。治疗益处意味着与未治疗(适当时)或已知的护理标准相比,使用抗cMet ADC治疗患者的癌症产生任何展现的临床益处。可以通过本领域普通技术人员已知的任何方法评估临床益处。在一个实施例中,基于客观响应率(ORR)(使用RECIST 1.1版确定)、响应持续时间(DOR)、无进展存活(PFS)和/或总体存活(OS)来评估临床益处。在一些实施例中,完全响应表明治疗益处。在一些实施例中,部分响应表明治疗益处。在一些实施例中,稳定的疾病表明治疗益处。在一些实施例中,总体存活的增加表明治疗益处。在一些实施例中,治疗益处可以构成疾病进展时间的改善和/或症状或生活质量的改善。在其他实施例中,治疗益处可能不会转变为疾病控制期的增加,而是显著减少的症状负担,这导致生活质量得以改善。对于本领域技术人员显而易见的是,可以单独使用抗cMet ADC(单一疗法)或者辅助或辅助有其他抗癌疗法和/或靶向性或非靶向性抗癌剂来观察治疗益处。如在用ABBV-399进行的1期临床试验中所使用的,优先的用于评估治疗益处的方法在实例中进行了详细描述。

[0431] 通常,使用旨在测量对癌症新疗法的响应的标准临床测试来评估治疗益处。为了评估本文所述的抗cMet ADC的治疗益处,可以使用以下测试中的一种或组合:(1)实体瘤的响应评价标准(Response Evaluation Criteria In Solid Tumors,RECIST)1.1版(详情参见实例16),(2)东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group,ECOG)体能状态,(3)免疫相关响应标准(irRC),(4)通过评估肿瘤抗原可评价的疾病,(5)经验证的患者报告的结果量表,和/或(6)总体存活和无进展存活的卡普兰-迈耶估计值。

[0432] 将表3中所示的ECOG体能状态量表用于描述患者在其自身照顾能力、日常活动和体能方面的功能水平。该量表由东部肿瘤协作组(ECOG)开发并于1982年公布,该协作组现

在是ECOG-ACRIN 癌症研究组的一部分。

[0433]

表3	
等级	ECOG体能状态
0	完全活跃，能够不受限地进行所有疾病前的表现
1	费力的体能活动受限，但能走动并能够进行轻度或久坐性质的工作，例如轻度家务、办公室工作
	能走动并能够进行所有自我护理但无法开展任何工作活动；起床并约超过50%的醒着的时间
3	只能进行有限的自我护理；超过50%的醒着的时间被限制于床或椅子
4	完全残废；不能进行任何自我护理；完全被限制于床或椅子
5	死亡

[0434] 评估肿瘤负荷的变化是临床评价癌症治疗剂的重要特征。肿瘤缩小(客观响应)和疾病进展发展的时间都是癌症临床试验的重要终点。2000年公布了标准化的响应标准，称为RECIST(实体瘤的响应评价标准)。2009年发布了更新版(RECIST 1.1)。RECIST 标准通常用于客观响应是主要研究终点的临床试验中、以及进行稳定疾病、肿瘤进展或进展时间分析的评估的试验中，因为这些结果测量基于对解剖学肿瘤负荷及其在试验过程中的变化的评估。表4提供了用于确定对研究药物(例如本文所述的抗cMet ADC)的客观肿瘤响应的响应标准的定义。

[0435]

表4	
响应	标准
完全响应 (CR)	所有靶标病变消失。任何病理学淋巴结（无论是靶标还是非靶标）的短轴必须减小至< 10 mm。
部分响应 (PR)	以基线总直径为参考，靶标病变的直径的总和减小至少30%；

[0436]

表4	
响应	标准
进行性疾病 (PD)	以研究中的最小总和（如果基线总和在研究中是最小的，则这包括基线总和）为参考，靶标病变的直径的总和增加至少20%。除了20%的相对增加以外，总和还必须展示出至少5 mm的绝对增加。（注意：一个或多个新病变的出现也被认为是进展。）
稳定的疾病 (SD)	以研究时的最小总直径为参考，既没有足够的缩小以符合PR，又没有足够的增加以符合PD。

[0437] 可用于确定本文所述的抗cMet ADC的治疗益处的次要结果测量包括客观响应率

(ORR)、无进展存活 (PFS)、总体响应持续时间 (DOR) 和响应深度 (DpR)。ORR 定义为实现完全响应 (CR) 或部分响应 (PR) 的参与者的比例。PFS 定义为从抗 cMet ADC 的第一剂量日期到疾病进展或死亡 (以先发生者为准) 的时间。DOR 定义为从参与者的初始 CR 或 PR 到疾病进展时间之间的时间。DpR 定义为与基线肿瘤负荷相比在最大响应点观察到的肿瘤缩小的百分比。可以根据上述 RECIST 1.1 标准确定 ORR 和 PFS 的临床终点。

[0438] 可用于完全表征和确定对免疫治疗剂 (例如基于抗体的癌症疗法) 的响应的另一组标准是免疫相关响应标准 (irRC), 其是在 2009 年为实体瘤的测量而开发的并在 2013 年更新 (Wolchok 等人 Clin.Cancer Res.[临床癌症研究]2009;15 (23):7412-7420; 以及 Nishino 等人 Clin.Cancer Res.[临床癌症研究]2013;19 (14):3936-3943; 将这些文献中的每一个通过引用以其整体并入)。更新的 irRC 标准通常用于评估免疫治疗剂 (例如抗 PD1 抗体) 的效果, 并且其根据表 5 定义响应。

[0439]	表 5	
	响应	标准
	完全响应 (CR)	所有靶标病变在间隔不少于 4 周的两次连续观察中消失
	部分响应 (PR)	以基线总直径为参考, 靶标病变的最长直径的总和减小至少 30%。

[0440]	表 5	
	响应	标准
	进行性疾病 (PD)	以研究中的最小总和 (如果基线总和在研究中是最小的, 则这包括基线总和) 为参考, 靶标病变的直径的总和增加至少 20%。(注意: 一个或多个新病变的出现不被认为是进展。新病变的测量值包括在测量值的总和中)。
	稳定的疾病 (SD)	以研究时的最小总直径为参考, 既没有足够的缩小以符合 PR, 又没有足够的增加以符合 PD。

[0441] 可用于评价本文所述的抗 cMet ADC 的治疗益处的肿瘤抗原包括 ApoE、CD11c、CD40、CD45 (PTPRC)、CD49D (ITGA4)、CD80、CSF1R、CTSD、GZMB、Ly86、MS4A7、PIK3AP1、PIK3CD、CD74、CCL5、CCR5、CXCL10、IFNG、IL10RA1、IL-6、ACTA2、COL7A1、LOX、LRRC15、MCPT8、MMP10、NOG、SERPINE1、STAT1、TGFB1、CTSS、PGF、VEGFA、C1QA、C1QB、ANGPTL4、EGLN、ANGPTL4、EGLN3、BNIP3、AIF1、CCL5、CXCL10、CXCL11、IFI6、PLOD2、KISS1R、STC2、DDIT4、PFKFB3、PGK1、PDK1、AKR1C1、AKR1C2、CADM1、CDH11、COL6A3、CTGF、HMOX1、KRT33A、LUM、WNT5A、IGFBP3、MMP14、CDP1、PDGFRA、TCF4、TGF、TGFB1、TGFB2、CD11b、ADGRE1 (EMR1、F4/80)、CD86、CD68、MHC-II 类、CD3、HLA-DR、CD4、CD3、CD5、CD19、CD7、CD8、CD16、TCR $\alpha\beta$ 、TCR $\gamma\delta$ 、PD-1、PDL-1、CTLA-4、酸性磷酸酶、ACTH、碱性磷酸酶、甲胎蛋白 CA-125、CA15-3、CA19-9、CA-195、C-212、CA-549、降钙素、儿茶酚胺、组织蛋白酶-D、CEA、ERBB2 (HER2/neu)、嗜铬粒蛋白-A、c-Myc、EGFR、ERA (雌激素受体测定)、铁蛋白、胃泌素、5-HIAA、hCG、 α -HCG、 β -HCG、HVA、LDH1-5、NSE (神经元特异性烯醇化酶)、胰多肽、PLAP、PLP、PRA (孕酮受体

A)、胰岛素原C-肽、PSA、SMA、SCC、甲状腺球蛋白、TDT、TPA和 α -TSH。可以使用如本领域专家已知的DNA测序技术、RNA测序技术、基因芯片微阵列、基于PCR的方法、流式细胞术或免疫组织化学方法在DNA、RNA或蛋白质水平上评估这些抗原。

[0442] 使用本文所述的抗cMet ADC治疗表达cMet的肿瘤和过表达cMet的肿瘤(无论是作为单一疗法施用还是辅助或辅助有其他疗法或药剂施用)所产生的一个示例性治疗益处是完全响应。将本文所述的抗cMet ADC用于过表达cMet的肿瘤(无论是作为单一疗法施用还是辅助或辅助有其他疗法或药剂施用)所产生的另一个示例性治疗益处是部分响应。

[0443] 经验证的患者报告的结果量表还可用于表示每位患者通过特定报告系统提供的响应。这类结果量表不是以疾病为焦点,而是与管理慢性病症时的保留的功能有关。经验证的患者报告的结果量表的一个非限制性实例是来自美国国立卫生研究院(United States National Institutes of Health)的PROMIS®(患者报告的结果测量信息系统(Patient Reported Outcomes Measurement Information System))。例如,用于成年癌症患者的PROMIS®身体机能仪器可以评价上肢(例如灵活性)、下肢(例如行走或移动)和中心区域(例如颈部、背部移动)的机能的自我报告能力,并且其还包括例行的日常活动,如跑步差事。

[0444] 卡普兰-迈耶曲线(Kaplan和Meier, J. Am. Stat. Assoc. [美国统计学会杂志] 1958;53(282):457-481)也可用于估计与标准护理相比接受抗cMet抗体或ADC疗法的癌症患者的总体存活和无进展存活。

[0445] 5.9.1. 辅助疗法

[0446] 抗cMet ADC可以辅助或辅助有具有抗癌特性的其他药剂或治疗而使用。当辅助使用时,抗cMet和其他一种或多种药剂可以一起配制在单一药物配制品中,或者可以在单一协调的给药方案或不同给药方案中分开配制并施用。与抗cMet ADC辅助施用的药剂通常会具有与抗cMet ADC互补的活性,使得ADC和其他药剂彼此不会产生不利影响。

[0447] 可以与抗cMet ADC辅助使用的药剂包括但不限于烷化剂、血管生成抑制剂、抗体、抗代谢物、抗有丝分裂剂、抗增生剂、抗病毒剂、极光激酶抑制剂、ALK激酶抑制剂(例如克里唑蒂尼(XALKORI®)、色瑞替尼(ZYKADIA®)和艾乐替尼(alectinib)(ALECENSA®)、细胞凋亡促进剂(例如,Bcl-2家族抑制剂)、死亡受体途径活化剂、Bcr-Abl激酶抑制剂、BiTE(双特异性T细胞接合剂)抗体、抗体药物偶联物、生物反应调节剂、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂、细胞周期抑制剂、环氧合酶-2抑制剂、DVD、白血病病毒致癌基因同系物(ErbB2)受体抑制剂、生长因子抑制剂、热休克蛋白(HSP)-90抑制剂、组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂、激素疗法、免疫剂、细胞凋亡蛋白抑制剂(IAP)、嵌入抗生素、激酶抑制剂、驱动蛋白抑制剂、Jak2抑制剂、哺乳动物雷帕霉素靶标抑制剂、微小RNA、有丝分裂原活化的细胞外信号调节的激酶抑制剂、多价结合蛋白、非甾体抗炎药(NSAID)、聚ADP(二磷酸腺苷)-核糖聚合酶(PARP)抑制剂、铂化学疗法、polo样激酶(Plk)抑制剂、磷酸肌醇-3激酶(PI3K)抑制剂、蛋白酶体抑制剂、嘌呤类似物、嘧啶类似物、受体酪氨酸激酶抑制剂、类视黄醇/德尔托伊德(deltoids)植物生物碱、小抑制性核糖核酸(siRNA)、拓扑异构酶抑制剂、泛素连接酶抑制剂等、以及这些药剂中的一种或多种的组合。

[0448] BiTE抗体是通过同时结合两种细胞来引导T细胞攻击癌细胞的双特异性抗体。然

后T细胞攻击靶癌细胞。BiTE抗体的实例包括阿德木单抗 (adecatumumab) (Micromet MT201)、博纳吐单抗 (blinatumomab) (BLINCYTO®, 安进和奥尼克斯制药公司 (Amgen and Onyx Pharmaceuticals)) 等。不受理论限制, T细胞引发靶癌细胞凋亡的机制之一是细胞溶解性颗粒组分 (其包括穿孔素和颗粒酶B) 的胞吐作用。

[0449] siRNA是具有内源性RNA碱基或经化学修饰的核苷酸的分子。所述修饰不会消除细胞活性, 反而可赋予增强的稳定性和/或增加的细胞效力。化学修饰的实例包括硫代磷酸酯基、2'-脱氧核苷酸、含有2'-OCH₃的核糖核苷酸、2'-F-核糖核苷酸、2'-甲氧基乙基核糖核苷酸、其组合等。siRNA可以具有不同长度 (例如, 10-200bp) 和结构 (例如, 发夹、单/双链、凸起、切口/缺口、错配) 并且在细胞中被加工以提供活性基因沉默。双链siRNA (dsRNA) 可以在各链上具有相同数目的核苷酸 (钝端) 或具有不对称末端 (突出端)。具有1-2个核苷酸的突出端可以存在于有义链和/或反义链上、以及存在于给定链的5'-端和/或3'-端。

[0450] 多价结合蛋白是包含两个或更多个抗原结合位点的结合蛋白。多价结合蛋白被工程化以具有三个或更多个抗原结合位点并且通常不是天然存在的抗体。术语“多特异性结合蛋白”意指能够结合两种或更多种相关或不相关靶标的结合蛋白。双可变结构域 (DVD) 结合蛋白是包含两个或更多个抗原结合位点的四价或多价结合蛋白。此类DVD可以是单特异性的 (即, 能够结合一种抗原) 或多特异性的 (即, 能够结合两种或更多种抗原)。包含两种重链DVD多肽和两种轻链DVD多肽的DVD结合蛋白被称作DVD Ig。DVD Ig的每一半都包含一种重链DVD多肽、一种轻链DVD多肽以及两个抗原结合位点。每个结合位点都包含重链可变结构域和轻链可变结构域, 其中每个抗原结合位点总计6个CDR参与抗原结合。

[0451] 烷化剂包括但不限于六甲蜜胺、AMD-473、AP-5280、阿帕兹醌 (apaziquone)、苯达莫司汀、布洛利辛 (brostallicin)、白消安、卡波醌、卡莫司汀 (BCNU)、苯丁酸氮芥、CLORETAZINE® (拉莫司汀 (laromustine)、VNP 40101M)、环磷酰胺、达卡巴嗪、雌莫司汀、福莫司汀、葡磷酰胺、异环磷酰胺、KW-2170、洛莫司汀 (CCNU)、马磷酰胺、美法仑、二溴甘露醇、二溴卫矛醇、尼莫司汀、氮芥N-氧化物、雷莫司汀、替莫唑胺、噻替派、TREANDA® (苯达莫司汀)、苏消安、以及曲磷胺。

[0452] 血管生成抑制剂包括但不限于内皮特异性受体酪氨酸激酶 (Tie-2) 抑制剂、表皮生长因子受体 (EGFR) 抑制剂、胰岛素生长因子-2受体 (IGFR-2) 抑制剂、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 抑制剂、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 抑制剂、血小板衍生的生长因子受体 (PDGFR) 抑制剂、血小板反应蛋白类似物、以及血管内皮生长因子受体酪氨酸激酶 (VEGFR) 抑制剂。

[0453] 抗代谢物包括但不限于 ALIMTA® (培美曲塞二钠, LY231514, MTA)、5-阿扎胞苷、XELODA® (卡培他滨)、卡莫氟、LEUSTAT® (克拉屈滨)、氟达拉滨、阿糖胞苷、阿糖胞苷十八烷基磷酸盐、胞嘧啶阿拉伯糖苷、地西他滨、去铁胺、去氧氟尿苷、依氟鸟氨酸 (eflornithine)、EICAR (5-乙炔基-1-β-D-呋喃核糖基咪唑-4-甲酰胺)、依诺他滨、乙炔胞苷 (ethnylcytidine)、氟达拉滨、单独或与甲酰四氢叶酸组合的5-氟尿嘧啶、GEMZAR® (吉西他滨)、羟基脲、ALKERAN® (美法仑)、巯基嘌呤、6-巯基嘌呤核苷、甲胺喋呤、霉酚酸、奈拉滨、诺拉曲特、十八烷基磷酸盐、培利曲索 (pelitrexol)、喷司他汀、雷替曲塞、病毒唑、三安平 (triapine)、三甲曲沙、S-1、噻唑呋林 (tiazofurin)、替加氟、TS-

1、阿糖腺苷、以及UFT。

[0454] 抗病毒剂包括但不限于利托那韦、阿昔洛韦、西多福韦、更昔洛韦、膦甲酸、齐多夫定、病毒唑和羟氯喹。

[0455] 极光激酶抑制剂包括但不限于ABT-348、AZD-1152、MLN-8054、VX-680、极光A特异性激酶抑制剂、极光B特异性激酶抑制剂以及全极光激酶抑制剂。

[0456] Bcl-2蛋白抑制剂包括但不限于AT-101((-)-棉子酚)、GENASENSE®(G3139或奥利默森(oblimersen))(靶向Bcl-2的反义寡核苷酸)、IPI-194、IPI-565、N-(4-(4-(4'-氯(1,1'-联苯)-2-基)甲基)哌嗪-1-基)苯甲酰基)-4-(((1R)-3-(二甲基氨基)-1-((苯基硫烷基)甲基)丙基)氨基)-3-硝基苯磺酰胺)、N-(4-(4-(2-(4-氯苯基)-5,5-二甲基-1-环己-1-烯-1-基)甲基)哌嗪-1-基)苯甲酰基)-4-(((1R)-3-(吗啉-4-基)-1-((苯基硫烷基)甲基)丙基)氨基)-3-((三氟甲基)磺酰基)苯磺酰胺、温托克拉(venetoclax)以及GX-070(奥巴克拉(obatoclax))。

[0457] Bcr-Abl激酶抑制剂包括但不限于DASATINIB®(BMS-354825)和GLEEVEC®(伊马替尼)。

[0458] CDK抑制剂包括但不限于AZD-5438、BMI-1040、BMS-032、BMS-387、CVT-2584、夫拉平度、GPC-286199、MCS-5A、PD0332991、PHA-690509、塞利西利(CYC-202、R-roscovitine)、以及ZK-304709。

[0459] COX-2抑制剂包括但不限于ABT-963、ARCOXIA®(依托考昔)、BEXTRA®(伐地考昔)、BMS347070、CELEBREX®(塞来昔布)、COX-189(罗美昔布)、CT-3、DERAMAXX®(地拉考昔)、JTE-522、4-甲基-2-(3,4-二甲基苯基)-1-(4-氨磺酰基苯基-1H-吡咯)、MK-663(依托考昔)、NS-398、帕瑞考昔、RS-57067、SC-58125、SD-8381、SVT-2016、S-2474、T-614、以及VIOXX®(罗非考昔)。

[0460] EGFR抑制剂包括但不限于阿法替尼(GILOTRIF®)、ABX-EGF、抗EGFR免疫脂质体、EGF疫苗、EMD-7200、ERBITUX®(西妥昔单抗)、HR3、IgA抗体、IRESSA®(吉非替尼)、TARCEVA®(埃罗替尼或OSI-774)、TP-38、EGFR融合蛋白、PORTRAZZA®(耐昔妥珠单抗(necitumumab))、TAGRISSO®(奥斯替尼(osimertinib))、TYKERB®(拉帕替尼)、TARCEVA®(埃罗替尼)、以及TAGRISSO®(奥斯替尼)。

[0461] ErbB2受体抑制剂包括但不限于CP-724-714、CI-1033(卡那替尼)、HERCEPTIN®(曲妥珠单抗)、TYKERB®(拉帕替尼)、OMNITARG®(2C4,帕妥珠单抗)、TAK-165、GW-572016(洛那法尼(ionafarnib))、GW-282974、EKB-569、PI-166、dHER2(HER2疫苗)、APC-8024(HER-2疫苗)、抗HER/2neu双特异性抗体、B7.her2IgG3、AS HER2三功能双特异性抗体、mAB AR-209、以及mAB 2B-1。

[0462] 组蛋白脱乙酰酶抑制剂包括但不限于缩酚酸肽、LAQ-824、MS-275、曲普欣(trapoxin)、辛二酰苯胺异羟肟酸(SAHA)、TSA、以及丙戊酸。

[0463] HSP-90抑制剂包括但不限于17-AAG-nab、17-AAG、CNF-101、CNF-1010、CNF-2024、

17-DMAG、格尔德霉素、IPI-504、KOS-953、**MYCOGRAB®** (针对HSP-90的人重组抗体)、NCS-683664、PU24FC1、PU-3、根赤壳菌素、SNX-2112、STA-9090、以及VER49009。

[0464] 细胞凋亡蛋白抑制剂包括但不限于HGS1029、GDC-0145、GDC-0152、LCL-161、以及LBW-242。

[0465] 死亡受体途径活化剂包括但不限于TRAIL, 靶向TRAIL 或死亡受体 (例如DR4和DR5) 的抗体或其他药剂, 如阿扑单抗 (Apomab)、可那木单抗 (conatumumab)、ETR2-ST01、GDC0145 (来沙木单抗)、HGS-1029、LBY-135、PRO-1762以及曲妥珠单抗。

[0466] 驱动蛋白抑制剂包括但不限于Eg5抑制剂, 如 AZD4877、ARRY-520; 以及CENPE抑制剂, 如GSK923295A。

[0467] JAK-2抑制剂包括但不限于CEP-701 (来他替尼 (lesaurtinib))、XL019和INCB018424。

[0468] MEK抑制剂包括但不限于ARRY-142886、ARRY-438162、PD-325901、PD-98059、以及曲美替尼。

[0469] mTOR抑制剂包括但不限于AP-23573、CCI-779、依维莫司、RAD-001、雷帕霉素、西罗莫司 (temsirolimus)、ATP竞争性 TORC1/TORC2抑制剂 (包括PI-103、PP242、PP30和Torin 1)。

[0470] 非甾体抗炎药包括但不限于 **AMIGESIC®** (双水杨酯)、**DOLOBID®** (二氟尼柳)、**MOTRIN®** (布洛芬)、**ORUDIS®** (酮洛芬)、**RELAFEN®** (萘丁关酮)、**FELDENE®** (吡罗昔康)、布洛芬乳膏、**ALEVE®** (萘普生) 和 **NAPROSYN®** (萘普生)、**VOLTAREN®** (双氯芬酸)、**INDOCIN®** (吲哚美辛)、**CLINORIL®** (舒林酸)、**TOLECTIN®** (托美汀)、**LODINE®** (依托度酸)、**TORADOL®** (酮咯酸)、以及 **DAYPRO®** (奥沙普秦)。

[0471] PDGFR抑制剂包括但不限于C-451、CP-673和 CP-868596。

[0472] 铂化学治疗剂包括但不限于顺铂、**ELOXATIN®** (奥沙利铂)、依铂、洛铂、奈达铂、**PARAPLATIN®** (卡铂)、赛特铂和吡铂。

[0473] Polo样激酶抑制剂包括但不限于BI-2536。

[0474] BRAF抑制剂包括但不限于威罗菲尼、达拉菲尼、考比替尼 (cobimetinib)。

[0475] 磷酸肌醇-3激酶 (PI3K) 抑制剂包括但不限于渥曼青霉素、LY294002、XL-147、CAL-120、ONC-21、AEZS-127、ETP-45658、PX-866、GDC-0941、BGT226、BEZ235、以及XL765。

[0476] 血小板反应蛋白类似物包括但不限于ABT-510、ABT-567、ABT-898、以及TSP-1。

[0477] VEGFR抑制剂包括但不限于 **AVASTIN®** (贝伐单抗)、ABT-869、AEE-788、**ANGIOZYME™** (抑制血管生成的核酶 (核酶制药公司 (Ribozyme Pharmaceuticals) (博尔德 (Boulder), 科罗拉多州 (CO)) 和凯龙公司 (Chiron) (埃默里维尔 (Emeryville), 加利福尼亚州))、阿西替尼 (AG-13736)、AZD-2171、CP-547,632、IM-862、**MACUGEN®** (哌加他尼)、**NEXAVAR®** (索拉非尼, BAY43-9006)、帕唑帕尼 (GW-786034)、伐他拉尼 (PTK-

787, ZK-222584)、**SUTENT®** (舒尼替尼, SU-11248)、VEGF trap、以及ZACTIMA™ (凡德他尼, ZD-6474)、卡赞替尼 (cabozantinib) (VEGFR2和cMet抑制剂)、雷莫芦单抗 (ramucirumab) (抗VEGFR2 抑制性mAb)。

[0478] 抗生素包括但不限于嵌入抗生素阿柔比星、放线菌素D、氨柔比星、脂质体蒽环霉素 (annamycin)、阿霉素、**BLENOXANE®** (博莱霉素)、柔红霉素、**CAELYX®** 或 **MYOCET®** (脂质体多柔比星)、依沙芦星 (elsamitrucin)、表柔比星 (epirubicin)、格拉比星 (glarubicin)、**ZAVEDOS®** (伊达比星)、丝裂霉素C、奈莫柔比星、新制癌菌素、培洛霉素、吡柔比星、蝴蝶霉素、司替拉姆 (stimulamer)、链脲霉素、**VALSTAR®** (戊柔比星)、以及净司他汀。

[0479] 拓扑异构酶抑制剂包括但不限于阿柔比星、9-氨基喜树碱、氨茶非特、安吡啶、贝克唑啉 (becatecarin)、贝洛替康 (belotecan)、BN-80915、**CAMPTOSAR®** (盐酸伊立替康)、喜树碱、**CARDIOXANE®** (右雷佐生 (dexrazoxine))、二氟替康、艾特唑啉 (edotecarin)、**ELLENC®** 或 **PHARMORUBICIN®** (表柔比星)、依托泊苷、依喜替康 (exatecan)、10-羟基喜树碱、吉马替康、勒托替康、米托蒽醌、Onivyde™ (脂质体伊立替康)、奥拉塞星 (orathecin)、吡柔比星 (pirarubicin)、匹克生琼、卢比替康、索布佐生、SN-38、他弗泊苷 (tafluposide)、以及拓扑替康。

[0480] 抗体包括但不限于 **AVASTIN®** (贝伐单抗)、CD40特异性抗体、chTNT-1/B、地诺单抗、**ERBITUX®** (西妥昔单抗)、**HUMAX-CD4®** (扎木单抗 (zanolimumab))、IGF1R特异性抗体、林妥珠单抗、**PANOREX®** (依决洛单抗)、**RENCAREX®** (WX G250)、**RITUXAN®** (利妥昔单抗)、替西木单抗 (ticilimumab)、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、**VECTIBIX®** (帕尼单抗) 以及I型和II型CD20抗体。

[0481] 激素疗法包括但不限于 **ARIMIDEX®** (阿那曲唑)、**AROMASIN®** (依西美坦)、阿佐昔芬、**CASODEX®** (比卡鲁胺)、**CETROTIDE®** (西曲瑞克)、地加瑞克、地洛瑞林、**DESOPAN®** (曲洛司坦)、地塞米松、**DROGENIL®** (氟他胺)、**EVISTA®** (雷洛昔芬)、AFEMA™ (法屈唑)、**FARESTON®** (托瑞米芬)、**FASLODEX®** (氟维司群)、**FEMARA®** (来曲唑)、福美司坦、糖皮质激素、**HECTOROL®** (度骨化醇)、**RENAGEL®** (碳酸司维拉姆)、拉索昔芬、醋酸亮丙瑞林、**MEGACE®** (甲地孕酮 (megesterol))、**MIFEPREX®** (米非司酮)、NILANDRON™ (尼鲁米特)、**NOLVADEX®** (柠檬酸他莫昔芬)、PLENAXIS™ (阿巴瑞克)、强的松、**PROPECIA®** (非那雄胺)、瑞洛司坦、**SUPREFACT®** (布舍瑞林)、**TRELSTAR®** (促黄体激素释放激素 (LHRH))、**VANTAS®** (组氨瑞林植入物)、**VETORYL®** (曲洛司坦或莫达司坦)、**XTANDI®** (恩杂鲁胺)、**ZOLADEX®** (伏司瑞林, 戈舍瑞林)、以及 **ZYTIGA®** (阿比特龙

(abiratenone))。

[0482] 德耳托伊德和类视黄醇包括但不限于西奥骨化醇 (EB1089、CB1093)、来沙骨化醇 (lexacalcitrol) (KH1060)、芬维A胺 (fenretinide)、**PANRETIN®** (阿利维A酸 (aliretinoin))、**ATRAGEN®** (脂质体维甲酸)、**TARGRETIN®** (贝沙罗汀)、以及 LGD-1550。

[0483] PARP抑制剂包括但不限于ABT-888 (维利帕尼)、奥拉帕尼、KU-59436、AZD-2281、AG-014699、BSI-201、BGP-15、INO-1001、以及ONO-2231。

[0484] 植物生物碱包括但不限于长春新碱、长春碱、长春地辛、以及长春瑞滨。

[0485] 蛋白酶体抑制剂包括但不限于 **VELCADE®** (硼替佐米)、**KYPROLIS®** (卡非佐米)、MG132、NPI-0052、以及PR-171。

[0486] 免疫剂的实例包括但不限于干扰素、免疫检查点抑制剂、共刺激剂、以及其他免疫增强剂。干扰素包括干扰素 α 、干扰素 α -2a、干扰素 α -2b、干扰素 β 、干扰素 γ -1a、**ACTIMMUNE®** (干扰素 γ -1b) 或干扰素 γ -n1、其组合等。免疫检查点抑制剂包括靶向PD-1 的抗体 (例如派姆单抗、纳武单抗和皮立珠单抗 (pidilizumab))、靶向PD-L1的抗体 (例如德瓦鲁单抗 (durvalumab)、阿特珠单抗 (atezolizumab)、阿维鲁单抗 (avelumab)、MEDI4736、MSB0010718C 和MPDL3280A)、以及靶向CTLA4 (细胞毒性淋巴细胞抗原4) 的抗体 (例如伊匹单抗、曲美木单抗 (tremelimumab))。共刺激剂包括但不限于针对CD3、CD40、CD40L、CD27、CD28、CSF1R、CD137 (例如尤瑞单抗 (urelumab))、B7H1、GITR、ICOS、CD80、CD86、OX40、OX40L、CD70、HLA-DR、LIGHT、LIGHT-R、TIM3、A2AR、NKG2A、TIGIT (具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体)、VISTA (T细胞活化的V-结构域Ig抑制子)、B7-H3、B7-H4、CD47、CD73、CD39、KIR (例如利瑞单抗 (lirilumab))、TGF- β (例如夫苏木单抗 (fresolimumab)) 的抗体及其组合。

[0487] 其他药剂包括但不限于 **ALFAFERONE®** (IFN- α)、BAM-002 (氧化型谷胱甘肽)、**BEROMUN®** (他索纳明)、**BEXXAR®** (托西莫单抗)、**CAMPATH®** (阿仑单抗)、达卡巴嗪、地尼白介素 (denileukin)、依帕珠单抗、**GRANOCYTE®** (来格司亭)、香菇多糖、白细胞 α 干扰素、咪喹莫特、黑色素瘤疫苗、米妥莫单抗 (mitumomab)、莫拉司亭、MYLOTARGTM (吉妥珠单抗奥佐米星)、**NEUPOGEN®** (非格司亭)、OncovAC-CL、**OVAREX®** (奥戈伏单抗 (oregovomab))、潘图莫单抗 (pemtumomab) (Y-muHMFg1)、**PROVENGE®** (西普鲁塞-T (sipuleucel-T))、沙格司亭 (sargaramostim)、裂裯多糖 (sizofilan)、替西白介素、**THERACYS®** (卡介苗 (Bacillus Calmette-Guerin))、乌苯美司、**VIRULIZIN®** (免疫治疗剂, 洛斯制药公司 (Lorus Pharmaceuticals))、Z-100 (丸山特异性物质 (Specific Substance of Maruyama, SSM))、WF-10 (四氯十氧化物 (TCDO))、**PROLEUKIN®** (阿地白介素)、**ZADAXIN®** (胸腺法新)、**ZINBRYTA®** (达利珠单抗高产方法)、以及 **ZEVALIN®** (⁹⁰Y-替伊莫单抗 (⁹⁰Y-Ibritumomab tiuxetan))。

[0488] 生物反应调节剂是调节活生物体的防御机制或组织细胞的生物反应 (如存活、生

长或分化)以指导其具有抗肿瘤活性的药剂,并且包括但不限于云芝多糖、香菇多糖、西佐喃、毕西巴尼(picibanil)、PF-3512676(CpG-8954)、以及乌苯美司。

[0489] 嘧啶类似物包括但不限于阿糖胞苷(ara C或阿拉伯糖苷C)、胞嘧啶阿拉伯糖苷、去氧氟尿苷、FLUDARA®(氟达拉滨)、5-FU(5-氟尿嘧啶)、氟尿苷、GEMZAR®(吉西他滨)、TOMUDEX®(雷替曲塞(ratitrexed))、以及TROXATYL™(三乙酰尿苷曲沙他滨)。

[0490] 嘌呤类似物包括但不限于LANVIS®(硫鸟嘌呤)和PURI-NETHOL®(巯基嘌呤)。

[0491] 抗有丝分裂剂包括但不限于巴他布林(batabulin)、埃博霉素D(KOS-862)、N-(2-((4-羟基苯基)氨基)吡啶-3-基)-4-甲氧基苯磺酰胺、伊沙匹隆(BMS 247550)、TAXOL®(紫杉醇)、TAXOTERE®(多西他赛)、PNU100940(109881)、帕妥匹隆(patupilone)、XRP-9881(拉洛他赛(larotaxel))、长春氟宁、以及ZK-EP0(合成埃博霉素)。

[0492] 泛素连接酶抑制剂包括但不限于MDM2抑制剂(如努特林(nutlins)) and NEDD8抑制剂(如MLN4924)。

[0493] 酪氨酸激酶抑制剂包括伊马替尼(GLEEVEC®)、达沙替尼(SPRYCE®)、尼罗替尼(TASIGNA®)、博舒替尼(BOSULIF®)、帕纳替尼(ICLUSIG®)、阿法替尼(GIOTRIF®)、阿西替尼(INLYTA®)、克唑替尼(XALKORI®)、埃罗替尼(TARCEVA®)、吉非替尼(IRESSA®)、拉帕替尼(TYVERB®)、尼罗替尼(TASIGNA®)、帕唑帕尼(VOTRIENT®)、瑞格非尼(STIVARGA®)、索拉非尼(NEXAVAR®)、舒尼替尼(SUTENT®)、托西尼布(toceranib)(PALLADIA®)、伐他拉尼、以及拉多替尼(radotinib)(SUPECT®)。

[0494] 抗cMet ADC还可用于增强放射疗法的疗效。放射疗法的实例包括外部光束放射疗法、内部放射疗法(即,近距离放射疗法)和全身放射疗法。

[0495] 抗cMet ADC可以辅助或辅助有其他化学治疗剂施用,所述化学治疗剂是例如ABRAXANE™(ABI-007)、ABT-100(法呢基转移酶抑制剂)、ADVEXIN®(Ad5CMV-p53疫苗)、ALTOCOR®或MEVACOR®(洛伐他汀)、AMPLIGEN®(poly I:poly C12U,一种合成RNA)、APTOSYN®(依昔舒林)、AREDIA®(帕米膦酸)、阿加来必(arglabin)、L-天冬酰胺酶、阿他美坦(1-甲基-3,17-二酮-雄甾-1,4-二烯)、AVAGE®(他扎罗汀)、AVE-8062(康普瑞汀(combreastatin)衍生物)、BEC2(米妥莫单抗)、恶病质素或恶病质蛋白(cachexin)(肿瘤坏死因子)、康维辛(canvaxin)(疫苗)、CEAVAC®(癌症疫苗)、CELEUK®(西莫白介素)、CEPLENE®(组胺二盐酸盐)、CERVARIX®(人乳头瘤病毒疫苗)、CHOP®(C: CYTOXAN®(环磷酰胺), H: ADRIAMYCIN®(羟基多柔比星), O: 长春新碱(ONCOVIN®), P: 强的松)、CYPAT™(醋酸环丙孕酮)、康普

瑞汀A4P、DAB (389) EGF (经由His-Ala接头融合于人类表皮生长因子的白喉毒素的催化和转运结构域) 或 TransMID-107RTM (白喉毒素)、达卡巴嗪、更生霉素、5,6-二甲基咕吨酮-4-乙酸 (DMXAA)、恩尿嘧啶、EVIZONTM (乳酸角鲨胺)、**DIMERICINE®** (T4N5脂质体洗剂)、圆皮海绵内酯 (discodermolide)、DX-8951f (甲磺酸依喜替康)、恩扎妥林 (enzastaurin)、EP0906 (埃博霉素 (epithilone) B)、**GARDASIL®** (四价人乳头瘤病毒 (6、11、16、18型) 重组疫苗)、**GASTRIMMUNE®**、**GENASENSE®**、GMK (神经节苷脂偶联疫苗)、**GVAX®** (前列腺癌疫苗)、卤夫酮、组氨瑞林、羟基尿素、伊班膦酸、IGN-101、IL-13-PE38、IL-13-PE38QQR (辛曲德开贝舒托 (cintredekin besudotox))、IL-13-假单胞菌外毒素、干扰素- α 、干扰素- γ 、JUNOVANTM或MEPACTTM (米伐木肽 (mifamurtide))、洛那法尼、5,10-亚甲基四氢叶酸、米替福新 (十六烷基磷酸胆碱)、**NEOVASTAT®** (AE-941)、**NEUTREXIN®** (葡糖醛酸三甲曲沙)、**NIPENT®** (喷司他汀)、**ONCONASE®** (核糖核酸酶)、**ONCOPHAGE®** (黑色素瘤疫苗治疗)、**ONCOVAX®** (IL-2 疫苗)、ORATHECINTM (鲁比替康)、**OSIDEM®** (基于抗体的细胞药物)、**OVAREX®** MAb (鼠单克隆抗体)、紫杉醇、PANDIMEXTM (来自人参的包含20 (S) 原人参二醇 (aPPD) 和20 (S) 原人参三醇 (aPPT) 的糖苷配基皂素)、帕尼单抗、**PANVAC®**-VF (研究性癌症疫苗)、培门冬酶、PEG干扰素A、苯妥帝尔 (phenoxodiol)、丙卡巴肼、瑞马司他 (rebimastat)、**REMOVAB®** (卡妥索单抗)、**REVLIMID®** (来那度胺)、RSR13 (乙丙昔罗 (efaproxiral))、**SOMATULINE®** LA (兰瑞肽)、**SORIATANE®** (阿曲汀)、星形孢菌素 (链霉菌属星状孢子 (Streptomyces staurospore))、塔拉司他 (talabostat) (PT100)、**TARGRETIN®** (贝沙罗汀)、**TAXOPREXIN®** (DHA-紫杉醇)、**TELCYTA®** (坎磷酰胺 (canfosfamide), TLK286)、替米利芬 (temilifene)、**TEMODAR®** (替莫唑胺)、替米利芬、沙利度胺、**THERATOPE®** (STn-KLH)、赛米他 (thymitaq) (2-氨基-3,4-二氢-6-甲基-4-氧代-5-(4-吡啶基硫代) 喹唑啉二盐酸盐)、TNFERADETM (腺病毒载体: 含有肿瘤坏死因子- α 的基因的DNA载体)、**TRACLEER®**或**ZAVESCA®** (波生坦)、维甲酸 (Retin-A)、粉防己碱、**TRISENOX®** (三氧化二砷)、**VIRULIZIN®**、伍克兰 (ukrain) (来自白屈菜植物的生物碱的衍生物)、维他欣 (vitaxin) (抗- $\alpha\text{v}\beta 3$ 抗体)、**XCYTRIN®** (莫特沙芬钆 (motexafin gadolinium))、XINLAYTM (阿曲生坦)、XYOTAXTM (聚谷氨酸紫杉醇 (paclitaxel poliglumex))、**YONDELIS®** (曲贝替定)、ZD-6126、**ZINECARD®** (右雷佐生)、**ZOMETA®** (唑来膦酸 (zoledronic acid)) 和佐柔比星、以及任何这些药剂的组合。

[0496] 辅助疗法和/或治疗剂通常将以其批准的剂量、施用途径和施用频率使用,但可以较低剂量和/或较低频率使用。当作为单一疗法施用,抗cMet ADC通常将按照产生治疗益处的时间表施用。预期每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每五周一次、每六周一次、每七周一次或每八周一次施用的抗cMet ADC将提供治疗益处,虽然更高或更低频

繁的施用可能是有益的。当辅助或辅助有另一种疗法和/或药剂施用时,抗cMet ADC可以在另一疗法或药剂治疗的治疗之前、治疗之后或同时施用。

[0497] 5.10. 剂量和施用方案

[0498] 施用的抗cMet ADC的量将取决于多种因素,包括但不限于所治疗的cMet+/过表达肿瘤的特定类型、所治疗的cMet+/过表达肿瘤的阶段、施用方式、施用频率、期望的治疗益处、ADC的药物组分(例如MMAE与PBD)以及其他参数(如患者的年龄、体重和其他特征等)。确定有效提供针对具体施用模式和频率的治疗益处的剂量在本领域技术人员的能力范围内。

[0499] 最初可以从体内动物模型或临床中估计有效提供治疗益处的剂量。针对多种疾病合适的动物模型是本领域已知的。

[0500] 可以通过适于要治疗的病症的任何途径施用抗cMet ADC。抗cMet ADC通常会通过肠胃外(即输注)、皮下、肌肉内、静脉内(IV)、皮内、鞘内、推注、肿瘤内注射或硬膜外施用(Shire 等人,2004,J.Pharm.Sciences[药物科学杂志]93(6):1390-1402)。在一个实施例中,抗cMet ADC作为小瓶中的冻干粉末提供。所述小瓶可含有例如0.5mg、1mg、5mg、10mg、50mg、100mg或200mg 的抗cMet ADC。在一个实施例中,在施用之前,将冻干粉末用无菌注射用水(SWFI)或其他合适的介质重构,以提供含有20mg/mL抗 cMet ADC的溶液。将所得的重构溶液进一步用盐水或其他合适的介质稀释,并经由静脉内输注而每7天施用一次、每14天施用一次、每21天施用一次或每28天施用一次。在一些实施例中,对于第一周期,输注发生在180分钟内,随后的输注在90分钟内。在其他实施例中,输注发生在60分钟内。在一些实施例中,每个循环的所有输注都发生在30分钟内。

[0501] 在一个示例性实施例中,将抗cMet ADC以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.8mg/kg、1.9mg/kg、2.1mg/kg、2.2mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、或6.0mg/kg受试者体重每14天施用一次。在一个实施例中,将抗cMet ADC以1.6mg/kg每14天施用一次。在一个实施例中,将抗cMet ADC以1.9mg/kg每14天施用一次。在一个实施例中,将抗cMet ADC以2.2mg/Kg每14天施用一次。在一个实施例中,将抗cMet ADC以2.5mg/Kg每14天施用一次。在一个实施例中,进行施用直至疾病进展或不可接受的毒性。

[0502] 在一个实施例中,癌症是NSCLC腺癌,抗cMet ADC 是ABBV-399(每14天以1.6或1.9mg/kg施用),并且患者的H-评分为225及以上或IHC评分为3+。在另一个实施例中,癌症是NSCLC 鳞状细胞癌,抗cMet ADC是ABBV-399(每14天以1.6或1.9mg/kg 施用),并且患者的H-评分在150至224之间或IHC评分为2+。

[0503] 在另一个示例性实施例中,将抗cMet ADC以0.15 mg/kg、0.3mg/kg、0.45mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5 mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg或3.0mg/kg每7 天施用一次。在一个实施例中,进行施用直至疾病进展或不可接受的毒性。

[0504] 在另一个示例性实施例中,将抗cMet ADC以0.15 mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8 mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6 mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4 mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每28天施用一次。在一个实施例中,进行施用直至疾病进展或不可接受的毒性。

[0505] 在另一个示例性实施例中,将抗cMet ADC以2.7mg/kg 每28天施用一次。在一个实施例中,进行施用直至疾病进展或不可接受的毒性。

[0506] 在另一个示例性实施例中,将抗cMet ADC以0.15 mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8 mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6 mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4 mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每21天施用一次。在一个实施例中,进行施用直至疾病进展或不可接受的毒性。

[0507] 在另一个示例性实施例中,将抗cMet ADC(例如 ABBV-399)以2.7mg/kg每21天施用一次。在一个实施例中,进行施用直至疾病进展或不可接受的毒性。在一个实施例中,癌症是 NSCLC腺癌,抗cMet ADC是ABBV-399(每21天以2.7mg/kg施用),并且患者的H-评分为225及以上或IHC评分为3+。在另一个实施例中,癌症是NSCLC鳞状细胞癌,抗cMet ADC是ABBV-399(每21 天以2.7mg/kg施用),并且患者的H-评分为至少150或更高且至少 IHC评分为2+。

[0508] 在另一个示例性实施例中,将抗cMet PBD ADC(例如, ABT-700 PBD)以1.0μg/kg至1.0mg/kg、1.0μg/kg至500.0μg/kg、或5.0μg/kg至200.0μg/kg之间的受试者体重的剂量每14天施用一次、每21天施用一次、或每28天施用一次。对于任何其他ADC,剂量取决于例如施用频率、患者状况和对先前治疗(如果有的话)的响应。液体配制品中ADC的浓度可以是例如0.01-10mg/ml,如1.0mg/ml。

[0509] 在一个实施例中,将抗cMet PBD ADC(例如,ABT-700 PBD)以10μg/kg、50μg/kg、75 μg/kg、100μg/kg、110μg/kg、120μg/kg、130μg/kg、140μg/kg、150μg/kg、160μg/kg、170μg/kg、180μg/kg、190μg/kg、200μg/kg、250μg/kg、300μg/kg、350μg/kg、400μg/kg、450μg/kg或500μg/kg每14天施用一次、每21天施用一次、或每28 天施用一次。在一个实施例中,将抗cMet PBD ADC(例如,ABT-700 PBD)以100μg/kg施用。在一个实施例中,将抗cMet PBD ADC(例如,ABT-700 PBD)以200μg/kg施用。在一个实施例中,将抗cMet PBD ADC(例如,ABT-700 PBD)以300μg/kg施用。在一个实施例中,将抗cMet PBD ADC(例如,ABT-700 PBD)以400μg/kg施用。

[0510] 当辅助或辅助有其他药剂(例如其他化学治疗剂)施用,ADC可以按照与其他一种或多种药剂相同的时间表、或按照不同的时间表施用。当按照相同的时间表施用时,ADC可以在其他药剂之前、之后或同时施用。在ADC辅助或辅助有标准护理施用的一些实施例中,可以在标准疗法开始之前启动ADC,例如在标准护理疗法开始之前的一天、几天、一周、几周、一个月或甚至几个月。

[0511] 在一组示例性实施例中,其他抗癌剂选自自由卡巴他赛、秋水仙酰胺、秋水仙碱、念珠藻素(cryptophycin)、脱羧秋水仙碱(democolcine)、多西他赛、诺考达唑、紫杉醇、箭根薯酮内酯(taccalonolide)、紫杉烷和长春碱组成的组。

[0512] 在一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助阿法替尼(GILOTRIF®)来治疗NSCLC。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2 mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0 mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8 mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一

次。每日一次口服施用40mg的 **GILOTRIF®**,直至疾病进展或患者不再耐受。在一个实施例中,基于肿瘤样本中EGFR外显子19缺失或外显子21 (L858R) 取代突变的存在来选择患者用于用**GILOTRIF®**进行转移性 NSCLC的一线治疗。

[0513] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助**TARCEVA®** (埃罗替尼) 来治疗非小细胞肺癌 (NSCLC)。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg 或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg 每21天施用一次。埃罗替尼的推荐剂量和时间表为口服150mg,每日一次。持续进行辅助性抗cMet ADC/埃罗替尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0514] 在一个实施例中,癌症是NSCLC,抗cMet ADC是 ABBV-399 (每21天以2.7mg/kg施用),并且每日一次口服施用150 mg的埃罗替尼。持续进行辅助性抗cMet ADC/埃罗替尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。在一个实施例中,癌症是NSCLC EGFR突变型腺癌,抗cMet ADC是ABBV-399 (每21天以2.7mg/kg施用),每日一次口服施用150mg的埃罗替尼,并且患者的H-评分为225及以上或IHC评分为3+。

[0515] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助**IRESSA®** (吉非替尼) 来治疗非小细胞肺癌 (NSCLC)。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6 mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4 mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2 mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0 mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21 天施用一次。吉非替尼的推荐剂量和时间表为口服250mg,每日一次。持续进行辅助性抗cMet ADC/吉非替尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0516] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助阿法替尼来治疗非小细胞肺癌 (NSCLC)。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。阿法替尼的推荐剂量和时间表为口服40mg,每日一次。持续进行辅助性抗cMet ADC/阿法替尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0517] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助**OPDIVO®** (纳武单抗) 来治疗非小细胞肺癌 (NSCLC)。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6 mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4 mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2 mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0 mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21 天施用一次。每两周在60分钟内以3mg/kg静脉内输注来施用纳武单抗。持续进行辅助性抗cMet ADC/纳武单抗治疗直至疾病进展或患者不再耐受。

[0518] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助**OPDIVO®** (纳武单抗) 和

YERVOY[®] (伊匹单抗) 来治疗非小细胞肺癌 (NSCLC)。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次, 优选以2.7mg/kg每21天施用一次, 还有四个剂量的伊匹单抗, 然后每14天以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg施用抗cMet ADC而不施用伊匹单抗。每两周在60分钟内以3mg/kg静脉内输注来施用纳武单抗。在前四个剂量中, 每三周在90分钟内以3mg/kg静脉内施用伊匹单抗。持续进行辅助性抗cMet ADC/纳武单抗治疗直至疾病进展或患者不再耐受。

[0519] 在仍另一个示例性实施例中, 可以使用抗cMet ADC辅助派姆单抗 (**KEYTRUDA[®]**) 来治疗NSCLC。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次, 优选以2.7mg/kg每21天施用一次。每3周在30分钟内以2mg/kg静脉内输注来施用派姆单抗。持续进行辅助性抗cMet ADC和派姆单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0520] 在仍另一个示例性实施例中, 使用抗cMet ADC辅助顺铂来治疗NSCLC。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5 mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3 mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1 mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次, 优选以2.7mg/kg每21天施用一次。以20mg/m²或更高施用顺铂, 每3至4周一次。持续进行辅助性抗cMet ADC/顺铂疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0521] 在仍另一个示例性实施例中, 使用抗cMet ADC辅助卡铂来治疗NSCLC。将抗cMet ADC经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3 mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1 mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9 mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7 mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次。以300mg/m²或更高施用卡铂, 每4周一次。持续进行辅助性抗cMet ADC/卡铂疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0522] 在仍另一个示例性实施例中, 使用抗cMet ADC辅助维利帕尼来治疗NSCLC。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次, 优选以2.7mg/kg每21天施用一次。口服施用维利帕尼, 每日两次。持续进行辅助性抗cMet ADC/维利帕尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0523] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助维利帕尼和培美曲塞来治疗NSCLC。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2 mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0 mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8 mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。口服施用维利帕尼,每日两次。每21天以500mg/m²静脉内施用培美曲塞。持续进行辅助性抗cMet ADC/维利帕尼/培美曲塞疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0524] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助西妥昔单抗来治疗NSCLC。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。以400mg/m²的初始剂量经120分钟的静脉内输注来施用西妥昔单抗,然后在60分钟内每周一次输注250mg/m²。持续进行辅助性抗cMet ADC/西妥昔单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0525] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助伊匹单抗(YERVOY®)来治疗NSCLC。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。每3周在90分钟内以3mg/kg静脉内施用伊匹单抗,持续3个月。持续进行抗cMet ADC疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0526] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助辐射来治疗NSCLC。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5 mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3 mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1 mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。通常,每周应用外部光束放射疗法几分钟至5天,持续5到7周,但这将根据所使用的外部光束放射疗法的类型而变化。持续进行辅助性抗cMet ADC/放射疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0527] 在又另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助AVASTIN®(贝伐单抗)来治疗NSCLC。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。贝伐单抗的推荐剂量和时间表为每14天10mg/kg或每21天15mg/kg。持续进行辅助性抗cMet ADC/贝伐单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0528] 在一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助吉西他滨(GEMZAR®)用于NSCLC癌症。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2 mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0

mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8 mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。在每4 周的时间表内的第1天、第8天和第15天,以1000mg/m²的剂量在 30分钟内通过静脉内输注来施用吉西他滨。在输注吉西他滨后第1天,以100mg/m²静脉内施用顺铂。在另一个实施例中,在每3周的时间表内的第1天和第8天,以1250mg/m²的剂量在30分钟内通过静脉内输注来施用吉西他滨。在输注吉西他滨后第1天,以100mg/m²静脉内施用顺铂。如果观察到骨髓抑制,则可以使用如在吉西他滨的处方信息中提供的剂量修改。持续进行辅助性抗cMet ADC/吉西他滨疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0529] 在一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助吉西他滨(GEMZAR®)来治疗胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌或NSCLC癌。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3 mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1 mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9 mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7 mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7 mg/kg每21天施用一次。在治疗胰腺癌中,每周一次以1000mg/m²的剂量在30分钟内通过静脉内输注来施用吉西他滨长达7周,然后从治疗中休息一周。在第8周后:在28天的周期的第1天、第8天和第15天每周给药。在治疗卵巢癌中,在每个21天的周期的第1天和第8天以1000mg/m²的剂量在30分钟内通过静脉内输注来施用吉西他滨,并且在每个21天的周期的第1天施用Gemzar之后与卡铂 AUC 4组合静脉内施用。有关其他信息,请参阅卡铂处方信息。在治疗乳腺癌中,在包括紫杉醇的每个21天的周期的第1天和第8天,以1250mg/m²静脉内剂量在30分钟内通过静脉内输注来施用吉西他滨。在施用Gemzar之前,紫杉醇应在第1天以175mg/m²以3小时的静脉内输注来施用。如果观察到骨髓抑制,则可以使用如在吉西他滨的处方信息中提供的剂量修改。随后的周期应由每周一次的输注组成,持续每4周中的连续3周。持续进行辅助性抗cMet ADC/吉西他滨疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0530] 在另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品(ABRAXANE®)来治疗乳腺癌或肺癌。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以 2.7mg/kg每21天施用一次。紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品的推荐剂量和时间表是在每个28天的周期的第1天、第8天和第15天在30-40分钟内以静脉内输注施用的125mg/m²。持续进行辅助性抗 cMet ADC/ABRAXANE®疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0531] 在另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品(ABRAXANE®)加上吉西他滨(GEMZAR®)来治疗胰腺癌。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2 mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0 mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8 mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14

天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品的推荐剂量和时间表是在每个28天的周期的第1天、第8天和第15天在30-40分钟内以静脉内输注施用的 $125\text{mg}/\text{m}^2$ 。每周一次以 $1000\text{mg}/\text{m}^2$ 的剂量在30分钟内通过静脉内输注来施用吉西他滨长达7周(或直至毒性降低或者保持剂量),然后从治疗中休息一周。随后的周期应由每周一次的输注组成,持续每4周中的连续3周。持续进行辅助性抗cMet ADC/**ABRAXANE®**/**GEMZAR®**疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0532] 在又一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助 **AVASTIN®**(贝伐单抗)来治疗结肠直肠癌或肺癌或卵巢癌。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg 或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg 每21天施用一次。贝伐单抗的推荐剂量和时间表为每14天10mg/kg 或每21天15mg/kg。持续进行辅助性抗cMet ADC/贝伐单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0533] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助 FOLFIRINOX(或FOLFIRI或FOLFOX或伊立替康或5-FU或卡培他滨)来治疗结肠直肠癌。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。FOLFIRINOX 是以下四种化疗剂的组合:氟尿嘧啶[5-FU]、甲酰四氢叶酸、伊立替康和奥沙利铂。在一些实施例中,如下施用FOLFIRINOX:奥沙利铂, $85\text{mg}/\text{m}^2$;伊立替康, $180\text{mg}/\text{m}^2$;甲酰四氢叶酸, $400\text{mg}/\text{m}^2$;以及氟尿嘧啶,每2周以推注给予 $400\text{mg}/\text{m}^2$,然后以46小时的连续输注给予 $2400\text{mg}/\text{m}^2$ 。持续进行辅助性抗cMet ADC/FOLFIRINOX疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0534] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助 **Onivyde®**来治疗胰腺癌。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。**Onivyde®**是一种脂质体伊立替康配制品。在一些实施例中,每2周以 $70\text{mg}/\text{m}^2$ 在90分钟内通过静脉内输注来施用 **Onivyde®**。持续进行辅助性抗cMet ADC/**Onivyde®**疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0535] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助 **Onivyde®**、氟尿嘧啶和甲酰四氢叶酸来治疗胰腺癌。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6 mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4 mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2 mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0 mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以

2.7mg/kg每21 天施用一次。**Onivyde®**是一种脂质体伊立替康配制品。在一些实施例中，每2周以70mg/m²在90分钟内通过静脉内输注来施用**Onivyde®**，并且每2周在46小时内施用甲酰四氢叶酸400mg/m²和氟尿嘧啶2400 mg/m²。持续进行辅助性抗cMet ADC/**Onivyde®**/甲酰四氢叶酸/氟尿嘧啶疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0536] 在仍另一个示例性实施例中，使用抗cMet ADC辅助纳武单抗(**OPDIVO®**)来治疗肺癌以及利用纳武单抗的其他癌症。将抗 cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3 mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1 mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9 mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7 mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次，优选以2.7 mg/kg每21天施用一次。每两周在60分钟内以3mg/kg静脉内输注来施用纳武单抗。持续进行辅助性抗cMet ADC/纳武单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0537] 在仍另一个示例性实施例中，可以使用抗cMet ADC辅助派姆单抗(**KEYTRUDA®**)来治疗结肠直肠癌。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次，优选以2.7mg/kg每21天施用一次。每3周在30分钟内以2mg/kg静脉内输注来施用派姆单抗。持续进行辅助性抗cMet ADC/派姆单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0538] 在一个实施例中，癌症是胰腺癌，抗cMet ADC是 ABBV-399 (每21天以2.7mg/kg施用)，并且每日一次口服施用150 mg的埃罗替尼。持续进行辅助性抗cMet ADC/埃罗替尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0539] 在仍另一个示例性实施例中，使用抗cMet ADC辅助多柔比星来治疗乳腺癌。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次，优选以2.7mg/kg每21天施用一次。当与其他药物辅助使用时，最常用的多柔比星的剂量为每21至28天作为单次静脉内注射而给予的40至60mg/m²。持续进行辅助性抗cMet ADC/多柔比星疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0540] 在又另一个示例性实施例中，使用抗cMet ADC辅助**AVASTIN®** (贝伐单抗) 来治疗乳腺癌。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次，优选以2.7mg/kg每21天施用一次。贝伐单抗的推荐剂量和时间表为每14天10mg/kg或每21天15mg/kg。持续进行辅助性抗cMet ADC/贝伐单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0541] 在仍另一个示例性实施例中，使用抗cMet ADC辅助吉西他滨来治疗乳腺癌。将抗

cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以 0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg 或 6.0mg/kg 每 14 天施用一次或每 21 天施用一次, 优选以 2.7mg/kg 每 21 天施用一次。每周一次以 1000 mg/m² 的剂量在 30 分钟内通过静脉内输注来施用吉西他滨长达 7 周 (或直至毒性降低或者保持剂量), 然后从治疗中休息一周。随后的周期应由每周一次的输注组成, 持续每周中的连续 3 周。持续进行辅助性抗 cMet ADC/吉西他滨疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0542] 在仍另一个示例性实施例中, 使用抗 cMet ADC 辅助曲妥珠单抗 (HERCEPTIN[®]) 来治疗乳腺癌。将抗 cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以 0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg 或 6.0mg/kg 每 14 天施用一次或每 21 天施用一次, 优选以 2.7mg/kg 每 21 天施用一次。推荐的曲妥珠单抗的初始负荷剂量为以 90 分钟的输注施用的 4 mg/kg。推荐的曲妥珠单抗的每周维持剂量为 2mg/kg, 如果初始负荷剂量耐受良好, 则能以 30 分钟的输注施用每周维持剂量。持续进行辅助性抗 cMet ADC/曲妥珠单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0543] 在仍另一个示例性实施例中, 使用抗 cMet ADC 辅助卡培他滨 (XELODA[®]) 来治疗乳腺癌。将抗 cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以 0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2 mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0 mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8 mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg 或 6.0mg/kg 每 14 天施用一次或每 21 天施用一次, 优选以 2.7mg/kg 每 21 天施用一次。能以 1250 mg/m² 每天两次施用卡培他滨持续 2 周, 然后在 3 周的周期中有一周的休息期。持续进行辅助性抗 cMet ADC/卡培他滨疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0544] 在仍另一个示例性实施例中, 使用抗 cMet ADC 辅助纳武单抗 (OPDIVO[®]) 来治疗乳腺癌。将抗 cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以 0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2 mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0 mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8 mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg 或 6.0mg/kg 每 14 天施用一次或每 21 天施用一次, 优选以 2.7mg/kg 每 21 天施用一次。每两周在 60 分钟内以 3mg/kg 静脉内输注来施用纳武单抗。持续进行辅助性抗 cMet ADC/纳武单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0545] 在仍另一个示例性实施例中, 可以使用抗 cMet ADC 辅助派姆单抗 (KEYTRUDA[®]) 来治疗乳腺癌。将抗 cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以 0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg 或 6.0mg/kg 每 14 天施用一次或每 21 天施用一次, 优选以 2.7mg/kg 每 21 天施用一次。每 3 周在 30 分钟内以 2mg/kg 静脉内输注来施用派姆单抗。

持续进行辅助性抗cMet ADC/派姆单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0546] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助 **TARCEVA[®]** (埃罗替尼) 来治疗头颈癌。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。埃罗替尼的推荐剂量和时间表为口服150mg,每日一次。持续进行辅助性抗cMet ADC/埃罗替尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0547] 在一个实施例中,癌症是头颈癌,抗cMet ADC是 ABBV-399 (每21天以2.7mg/kg施用),并且每日一次口服施用150 mg的埃罗替尼。持续进行辅助性抗cMet ADC/埃罗替尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0548] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助放射来治疗头颈癌。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。通常,每周应用外部光束放射疗法几分钟至5天,持续5到7周,但这将根据所使用的外部光束放射疗法的类型而变化。持续进行辅助性抗cMet ADC/放射疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0549] 在又另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助 **AVASTIN[®]** (贝伐单抗) 来治疗头颈癌。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。贝伐单抗的推荐剂量和时间表为每14天10mg/kg或每21天 15mg/kg。持续进行辅助性抗cMet ADC/贝伐单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0550] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助西妥昔单抗来治疗头颈癌。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。以400mg/m²的初始剂量经120分钟的静脉内输注来施用西妥昔单抗,然后在60分钟内每周一次输注250mg/m²。持续进行辅助性抗cMet ADC/西妥昔单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0551] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助卡铂来治疗头颈癌。将抗cMet ADC (例如, ABBV-399) 经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。以300mg/m²或更高施用卡铂,每4周一次。持续进行辅助性抗cMet ADC/卡铂疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0552] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助纳武单抗(OPDIVO®)来治疗头颈癌。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2 mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0 mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8 mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。每两周在60分钟内以3mg/kg静脉内输注来施用纳武单抗。持续进行辅助性抗cMet ADC/纳武单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0553] 在仍另一个示例性实施例中,可以使用抗cMet ADC辅助派姆单抗(KEYTRUDA®)来治疗头颈癌。将抗cMet ADC(例如, ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。每3周在30分钟内以2mg/kg静脉内输注来施用派姆单抗。持续进行辅助性抗cMet ADC/派姆单抗疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0554] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助顺铂来治疗头颈癌。将抗cMet ADC(例如,ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。持续进行辅助性抗LRRC15 ADC/顺铂疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0555] 在仍另一个示例性实施例中,使用抗cMet ADC辅助TARCEVA®(埃罗替尼)来治疗头颈癌。将抗cMet ADC(例如, ABBV-399)经由静脉内输注以0.15mg/kg、0.3mg/kg、0.6mg/kg、0.9mg/kg、1.2mg/kg、1.5mg/kg、1.8mg/kg、2.1mg/kg、2.4mg/kg、2.7mg/kg、3.0mg/kg、3.3mg/kg、3.6mg/kg、3.9mg/kg、4.2mg/kg、4.5mg/kg、4.8mg/kg、5.1mg/kg、5.4mg/kg、5.7mg/kg或6.0mg/kg 每14天施用一次或每21天施用一次,优选以2.7mg/kg每21天施用一次。埃罗替尼的推荐剂量和时间表为口服150mg,每日一次。持续进行辅助性抗cMet ADC/埃罗替尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0556] 在一个实施例中,癌症是头颈癌,抗cMet ADC是 ABBV-399(每21天以2.7mg/kg施用),并且每日一次口服施用150 mg的埃罗替尼。持续进行辅助性抗cMet ADC/埃罗替尼疗法直至疾病进展或患者不再耐受。

[0557] 如本领域技术人员所理解的,可能需要调节上述各种药剂的推荐剂量以优化患者响应并使治疗益处最大化。

[0558] 在替代性实施例中,本披露中使用的表示成分的量、%纯度等的所有数字均由术语“约”修饰。

[0559] 5.11. 患者选择

[0560] 所选的进行本披露的ADC治疗的患者包括具有表达 cMet的肿瘤的那些和具有过表达cMet的肿瘤的那些,所述肿瘤包括但不限于任何实体瘤(还包括过表达HGF和/或具有HGF/cMet信号传导或表达的异常活化的那些)。可以基于患者的cMet水平选择用于用本披

露的ADC疗法进行治疗的患者,将cMet水平依据免疫组织化学(IHC)H-评分进行分类。在具体实施方式(第5.3节)和实例 17中提供了关于如何量化和限定cMet过表达水平的细节。cMet过表达可以通过当根据实例17的测定法“cMet ABBV-ADC染色方案”测量时大于或等于150的IHC H-评分来定义。简而言之,已经使用 Ventana cMet CONFIRM(SP44)试剂盒开发了用于cMet过表达的IHC 染色方案。用Ventana抗体染色组织样品,然后通过确定在低到高的各种强度水平下染色的靶组织细胞的百分比进行评分。图20描绘了使用实例17中描述的测定法的代表性H-评分。可替代地,实例21中描述了使用0至3+的IHC评分的过表达cMet的肿瘤组织。图19描绘了使用实例21中描述的测定法的代表性IHC评分。

[0561] 出于本披露的目的,150和224之间的H-评分等于2+ 的IHC评分,并且225及以上的H-评分等于3+的IHC评分。在一个实例中,可以选择其癌症的H-评分至少在150和224之间或IHC评分为2+时的NSCLC鳞状细胞癌患者进行治疗。在另一个实例中,可以选择其癌症的H-评分为225及以上或IHC评分为3+时的NSCLC 腺癌患者进行治疗。

[0562] 癌症可以是新诊断的并且对于治疗是初试的,或者可以是复发的、难治的、或者是复发且难治的,或者是表达cMet的肿瘤(本文称为cMet+肿瘤)或过表达cMet的肿瘤(即cMet+/过表达肿瘤)的转移或转移形式。如本披露的实例中所证明的,对其他靶向性或非靶向性化学疗法表现出抗性的cMet+/过表达肿瘤保持对 ABBV-399的敏感性。

[0563] 抗cMet ADC具有无数用途,并且在一个实施例中在治疗上用于治疗人中过表达cMet的肿瘤、MET基因已被扩增的肿瘤、以及在MET基因的外显子14中或其周围携带突变的肿瘤等。在另一个实施例中,抗cMet ADC在治疗上用于治疗人中表达cMet的肿瘤,其中cMet没被过表达但仍被表达。

[0564] 携带EGFR外显子19缺失或EGFR外显子21突变(L858R)的肿瘤也在本披露的范围内。MET基因的扩增被认为是 EGFR突变型NSCLC中获得性抗性的更常见原因之一。

[0565] 对本文披露的ABBV-399及其他cMet-ADC的响应可以与蛋白质水平和基因组水平二者下的cMet表达(例如,扩增、外显子14突变)相关。在实例中详细描述了测量这两种生物标记的优先方法。然而,本领域普通技术人员将知道如何使用其他方法来评估它们,并且那些方法在本披露的范围内。

[0566] 如果用不同方法获得了不同的结果,则用实例中描述的方法获得的结果是那些用于确定特定实施例是否落入实施例范围内的结果。例如,为了评价cMet蛋白的表达,可以使用“cMet ABBV-ADC 染色方案”。如果此方案中使用的Ventana试剂不再可用,则可以使用另一种FDA批准的用于通过IHC评估cMet表达水平的方案。为了评价MET基因拷贝数,将使用“MET/CEP7 cMET扩增方法”。

[0567] MET经受可变剪接。已经在人细胞系和组织中鉴定了具有不同大小的多种MET转录物。已经描述了至少三种8-kb的变体,并且推测它们是通过可变剪接产生的。描述了cMet同种型,其在胞外区(外显子10)中缺少18个氨基酸并且是多种组织和细胞系中最丰富的形式。外显子14的可变剪接产生另一种变体,其在受体的近膜细胞质结构域中具有47个氨基酸的框内缺失。可变剪接的可能机制可能是在恶性肌-骨骼肿瘤中发现的85kDa的N-末端截短形式的 MET的起源,尽管这种短形式也可以源自可变转录起始或蛋白水解裂解。

[0568] 已经证明涉及外显子14缺失的MET突变体稳定了cMet 受体,导致功能活性的增加。MET外显子14含有酪氨酸残基1003(Y1003)上的Cbl泛素连接酶位点,其中泛素通常另

外与酪氨酸残基附接并导致cMet蛋白的溶酶体降解。因此,Y1003残基的错义突变或由MET外显子14编码的蛋白质区域的“跳跃”导致MET蛋白的相对过表达、增强的cMet活化和随后的肿瘤发生。MET酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的抑制可以在至少携带这些MET外显子14改变的NSCLC患者中产生临床益处。携带任何这些突变的患者可受益于本文披露的治疗。

[0569] 因此,如果患者携带在MET基因的外显子14中具有突变(其结果是这些癌细胞中cMet蛋白水平增加)的细胞,则也可以选择这些患者进行治疗。实例还提供了用于评估此生物标记的各种方法。

[0570] MET扩增被认为是EGFR突变型NSCLC对EGFR-TKI 的获得性抗性的潜在分子机制之一。关于是否选择特定患者进行用本文披露的ADC的治疗的决定还可以涵盖确定患者的癌症是否携带表皮生长因子受体(EGFR)的外显子19中的缺失、外显子21中的取代(L858R)、或两者。优先选择其癌症在其至少一些细胞中携带这些基因组改变中的一种或两种的患者进行用本文披露的ABBV-399或任何其他ADC的治疗。下面的实例提供了用于评估这两种生物标记的方法。

[0571] 6.实例

[0572] 出于说明而非限制的目的提供了以下实例,所述实例突出了抗cMet ADC的示例性实施例的某些特征和性质以及使用这些 ADS治疗患者的方法。

[0573] 实例1.ABT-700的制备

[0574] ABBV-399 (ABT-700-vcMMAE) 是抗体药物偶联物 (ADC),其由抗体ABT-700通过可裂解的缬氨酸-瓜氨酸(vc)接头与细胞毒性微管抑制剂单甲基澳瑞他汀E (MMAE) 偶联而组成。ABT-700是靶向cMet的独特表位的“人源化”重组免疫球蛋白G κ (IgG $_{1\kappa}$),其导致HGF依赖性和HGF非依赖性cMet信号传导的阻断。

[0575] ABT-700是针对cMet的人源化重组单克隆抗体。所述抗体由2条相同的具有445个氨基酸的IgG1重链与2条相同的具有 218个氨基酸的轻链配对而组成。工程化重链以在223位引入额外的半胱氨酸并且使在Cys-223之前的赖氨酸残基缺失以及使在His-224 侧翼的2个苏氨酸残基缺失。此外,对重链上的C-末端赖氨酸氨基酸进行工程化以消除由于赖氨酸的不完全裂解而造成的C-末端的异质性。所述抗体在每条重链的天冬酰胺296处被糖基化。

[0576] 重链含有12个半胱氨酸残基,并且轻链含有5个半胱氨酸残基。每条重链含有4个链内二硫键,并且每条轻链含有2个链内二硫键。此外,2条重链通过3个链间二硫键共价连接。每条轻链与重链分享1个二硫键。

[0577] 通过基本上如美国专利号8,741,290中所述的常规技术制备用于下述体外研究的ABT-700。简而言之,使悬浮适应的HEK293 EBNA细胞(英杰公司(InVitrogen),美国)常规地生长在定轨摇床(110rpm旋转速度)上的250ml烧瓶中的50ml补充有6mM谷氨酰胺的无血清培养基Excell 293 (SAFC生物科学公司(SAFC Biosciences))中。使用在水中制备的线性25kDa聚乙烯亚胺(PEI,混合终浓度为1mg/ml) (Polysciences公司)和质粒DNA(对于1:1 的重链与轻链质粒比率,终浓度为1.25 μ g/ml),以 2×10^6 个细胞/ml 进行瞬时转染。在转染后4小时,用一体积的新鲜培养基稀释培养物,以达到 10^6 个细胞/ml的最终细胞密度。基于细胞活力和Mab产生来监测培养过程。通常,将培养物维持4至5天。使用常规色谱方法在蛋白A树脂(通用电气医疗集团(GE Healthcare),美国)上纯化 ABT-700。

[0578] 基本上如下所述制备用于下述临床研究的ABT-700。首先,使用谷氨酰胺合成酶

GS-CHO技术构建质粒 pConPlus γ 1f Δ K/ κ -hz224G11[TH7],用于在CHO细胞中高水平表达ABT-700单克隆抗体。将重链和轻链序列分别克隆到载体 pConPlus γ 1f Δ K-hz224G11/TH7VH0和 pConPlus κ 2-hz224G11/VL4(4-39-84)中,产生单基因载体(SGV)。然后将含有重链和轻链基因的SGV与谷氨酰胺合成酶(GS)选择基因一起组合,以产生最终的双基因载体(DGV):pConPlus γ 1f Δ K/ κ -

[0579] hz224G11[TH7]。pConPlus γ 1f Δ K/ κ -hz224G11[TH7]的主要组分包括按以下顺序的以下基因或调节元件:hCMV-MIE启动子、具有内含子的5'UTR、ABT-700轻链编码序列[224G11(HzVL)],SV40多腺苷酸化序列、hCMV-MIE启动子、具有内含子的5'UTR、ABT-700重链编码序列[224G11(HzVH)],SV40多腺苷酸化序列、质粒复制起点、 β -内酰胺、以及具有其调节序列的谷氨酰胺合成酶cDNA。

[0580] 用于产生ABT-700药物物质的表达系统是龙沙生物制品公司(Lonza Biologics)的在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中的专有谷氨酰胺合成酶(GS)基因表达系统。宿主细胞系衍生自称为269-W3的CHO-K1SV宿主工作细胞库(由宿主主细胞库269-M制备)。

[0581] 通过电穿孔将双基因载体 pConPlus γ 1f Δ K/ κ -hz224G11[TH7]转染到CHO-K1SV细胞中,然后分配到96孔板中。通过无蛋白质且无谷氨酰胺的培养基中生长来选择表达GS的细胞,并因此选择含有表达载体的那些细胞。孵育板直至经转染的细胞的病灶开始出现。仅使来自含有单菌落的孔(如通过视觉评估所确定的)的细胞系进化。使用针对组装抗体的ELISA筛选来自含有单菌落的孔的培养物上清液的抗体产生。建立几种克隆细胞系,并选择显示最始终如一性能的克隆细胞系进行ABT-700生产。测试细胞以确认mRNA的质量和编码转录物的保真度。

[0582] 通过摇床培养或细胞袋扩增单个冷冻小瓶的细胞。将较大体积的培养基接种上扩增的培养物并将培养物在5%CO₂、36℃培养箱中的生物反应器(包括补充有甲硫氨酸亚磺酰亚胺(methionine sulfoximine)的生长培养基)中进一步扩增。收获培养物并过滤以去除细胞和碎片。将ABT-700通过蛋白A柱进行纯化,然后进行阴离子交换膜色谱、阳离子交换柱色谱、病毒过滤、超滤和最终粗过滤。所有溶液均根据cGMP制备。

[0583] 实例2.异质DAR ABT700-vcMMAE ADC的制备

[0584] ABBV-399是由ABT-700(抗cMet IgG1抗体)通过vc接头与MMAE偶联而组成的ADC。

[0585] ABBV399衍生自在轻度还原成巯基基团后,vcMMAE与ABT-700中的链间二硫键的偶联。在去除更高级DAR种类的其他加工步骤之后,ABBV-399的平均DAR大约为3。

[0586] 两种不同的过程即过程I(图2A和2B)和过程II(图3A和3B)用于制备ABBV-399异质DAR组合物。

[0587] 通过两步化学过程制备具有不均匀DAR的ABBV399组合物:ABT-700的二硫化物还原,然后用马来酰亚胺基己酰基缬氨酸-瓜氨酸("val-cit")对氨基苯甲醇("PABA")单甲基溴瑞他汀E(本文称为"vcMMAE")烷基化(偶联),如下所示:

[0588] 在第一步中,用三(2-羧乙基)膦("TCEP")(≥ 0.8 当量)还原ABT700的有限数目的链间二硫键。然后将部分还原的ABT700与vcMMAE(≥ 1.8 当量)在DMSO中偶联。将残留的未反应的vcMMAE用N-乙酰基-L-半胱氨酸猝灭。

[0589] 图2A和3A显示了从过程I(图2A)或过程II(图3A)获得的所得粗制ADC制剂的色谱拆分。可以看出,所得的ADC制剂是含有如下抗体的异质混合物,所述抗体附接有零个MMAE

分子 (“E0”峰)、附接有两个MMAE分子 (“E2”峰)、附接有四个 MMAE分子 (“E4”峰)、附接有六个MMAE分子 (“E6”峰)、附接有八个MMAE分子 (“E8”峰)、附接有十个MMAE分子 (“E10”峰)。对于过程I,粗产物制剂的平均DAR大约为4.3。对于过程II,粗产物制剂的平均DAR大约为3.2。

[0590] 实例3.以DAR 3.1富集的ABT700-vcMMAE ADC和以1:1的E2/E4 比率富集的ABBV-399的制备

[0591] 使用过程I制备以DAR 3.1富集的ABBV-399

[0592] 为了获得3.1的平均DAR,如图2B所描绘的,使用批量色谱方法。将ABBV-399粗产物溶液(图2A)用磷酸钾缓冲液稀释并用HIC树脂处理以将DAR降低至大约为3。通过过滤去除HIC 树脂,用磷酸盐缓冲盐水溶液洗涤,并任选地将洗涤液与ABBV-399 DAR 3.1产物溶液混合。

[0593] 图2B显示了用HIC树脂处理后来自过程I的最终产物的分析型HIC色谱图(可以看出,所得ADC制剂是平均DAR为3.1 的含有如下抗体的异质混合物,所述抗体附接有零个MMAE分子 (“E0”峰)、附接有两个MMAE分子 (“E2”峰)、附接有四个 MMAE分子 (“E4”峰)、附接有六个MMAE分子 (“E6”峰)。

[0594] 以1:1的E2/E4比率富集的ABBV-399的制备

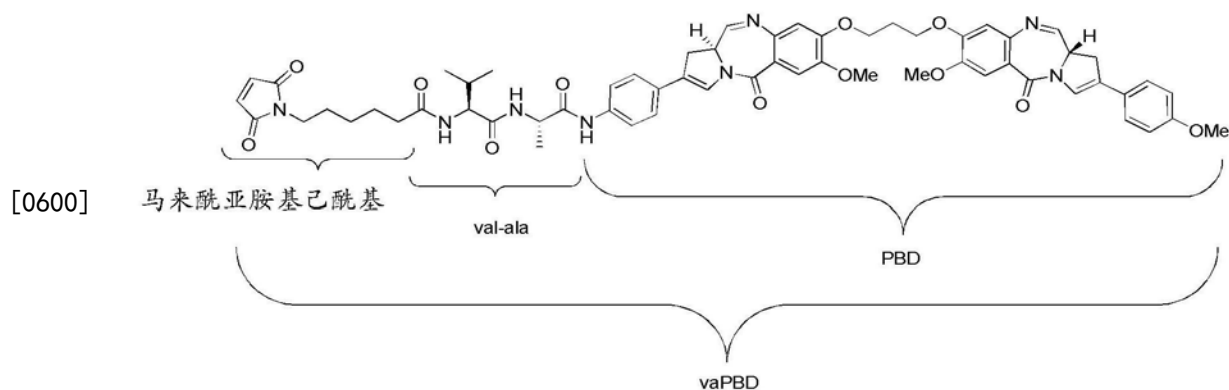
[0595] 为了获得1:1的E2/E4比率,如图3B 所描绘的,使用柱色谱法。将ABBV-399粗产物溶液(图3A)用硫酸铵/磷酸钠溶液稀释至目标结合浓度。将此物质加载到柱上并与HIC树脂结合。将使用硫酸铵/磷酸钠缓冲液进行的逐步梯度洗脱用于富集抗体药物偶联物并分离附接有两个或四个vcMMAE分子的ADC物质。它们在一个峰中从柱上洗脱下来。

[0596] 图3B显示了使用HIC色谱柱富集后来自过程II的最终产物的分析型HIC色谱图。可以看出,所得的ADC制剂是平均DAR 为3.0的含有如下抗体的异质混合物,所述抗体附接有零个MMAE分子 (“E0”峰)、附接有两个MMAE分子 (“E2”峰)、附接有四个MMAE分子 (“E4”峰)。

[0597] 如下文实例16中所示,ABBV-399在I期临床试验中在 2.7mg/kg Q3W的剂量下显示出抗癌作用。本文还提出了剂量递增至 3mg/kg,以确定II期研究的最大耐受剂量,牢记本妥昔单抗 (brentuximab vedotin)和DCDT2980S(靶向CD22的MMAE ADC) 已分别耐受1.8和2.4mg/kg但分别不耐受2.7或3.2mg/kg。基于药物抗体比率(DAR;MMAE加载量/抗体分子)的考虑,DAR为3.1的 ABBV-399可能比DAR大约为4的本妥昔单抗具有更大的耐受性。

[0598] 实例4.ABT700-PBD抗体药物偶联物的制备

[0599] ABT-700 (S238C) -PBD由两个PBD药物-接头分子与 cys工程化的mAb ABT-700偶联而组成。PBD合成子vaPBD与 ABT-700 (S238C,如果使用Kabat;S239C,如果使用EU编号系统)抗体偶联。偶联过程由工程化二硫化物和链间二硫化物的定量还原组成。这通过减少链间二硫化物、定量氧化以及与过量PBD药物接头的偶联来进行。然后纯化还原混合物以去除过量的试剂及其副产物,然后定量氧化链间二硫化物,然后与过量的PBD药物-接头偶联。猝灭后,将反应混合物纯化并进行缓冲液交换,以产生ABT-700 (S238C) -PBD。已经鉴定了反应参数以提供具有>80%DAR2载药量的偶联物。



[0601] 实例5.ABBV-399在体外与重组和细胞cMet结合

[0602] 结合ELISA、细胞结合测定和荧光活化细胞分选 (FACS) 分析

[0603] 将96孔板 (科斯塔公司 (Costar) #3369) 用100 μ L/ 孔的1 μ g/mL的小鼠抗His抗体 (英杰公司#37-2900) 在PBS (pH 7.4) 中在4 $^{\circ}$ C下包被过夜,然后在室温下使用Superblock (皮尔斯公司 (Pierce), #37535) 封闭,持续一小时。将板用PBST洗涤4次,然后在室温下与PBST中的10%Superblock中的2 μ g/mL的100 μ L重组人cMet胞外结构域 (rh-cMet ECD-6His) (“6His”披露为SEQ ID NO: 100) 一起孵育1小时。将板用PBST洗涤4次,然后在室温下在一式三份孔中与在10%Superblock中连续稀释的ABT-700或对照人IgG 一起孵育1小时。将板用PBST洗涤4次,然后在室温下与100 μ L的 1:15,000山羊抗人IgG-HRP (赛默科技公司·皮尔斯公司 (Thermo-scientific Pierce), 目录号31412) 一起孵育1小时。将板在PBST中洗涤4次,并向每个孔中添加100 μ L的TMB (皮尔斯公司, #34028), 并在室温下孵育直至显色 (大约10分钟)。通过添加2N硫酸 (马林克罗特化学品公司 (Mallinckrodt chemicals), 目录号H381-05) 终止反应,并在450nm处读取光密度 (OD)。

[0604] 通过荧光辅助细胞分选 (FACS) 分析来确定ABBV-399 与一组人癌细胞上的表面cMet的结合。对于细胞cMet结合研究,当使用细胞解离缓冲液 (英杰公司#13151-014或#13150-016) 得到大约 80%融合时,从烧瓶中收获细胞。将细胞在PBS/1%FBS (FACS缓冲液) 中洗涤一次,以1.5-2 \times 10⁶个细胞/mL重悬于FACS缓冲液中,并以100 μ L/孔转移至圆底96孔板 (BD Falcon#3910) 中。添加10 μ L 的10倍浓度的ABT-700、ABBV-399、或对照,并将板在4 $^{\circ}$ C孵育两小时。将孔用FACS缓冲液洗涤两次,并重悬于50 μ L的稀释于FACS 缓冲液中的1:500抗人IgG Ab (AlexaFluor 488, 英杰公司#11013) 中。将板在4 $^{\circ}$ C孵育一小时,用FACS缓冲液洗涤两次。将细胞重悬于100 μ L的PBS/1%甲醛中,并在Becton Dickinson LSRII流式细胞仪上进行分析。

[0605] 如通过酶联免疫吸附测定 (ELISA) 所确定的,使用如本领域普通技术人员已知且可用的常规方法进行表观亲和力测量, ABBV-399与人cMet胞外结构域 (ECD, 残基25-932) 的重组形式反应。ABBV-399以0.30nM的表观亲和力 (EC₅₀) (表6) 结合人 cMet ECD,类似于ABT-700 (EC₅₀为0.22nM) (表6)。

[0606] ABBV-399显示出与肿瘤细胞 (包括NCI-H441、NCI-H292和NCI-H1650肺癌细胞,以及Hs746T、IM-95和SNU-5 胃癌系) 的0.2至1.5nM的结合亲和力 (表6)。通过如本领域普通技术人员已知且可行的用于表观亲和力测量的程序进行此测定。

[0607] 表6.ABBV-399与重组和细胞cMet的结合亲和力

	ABBV-399 (EC ₅₀ nmol/L)	ABT-700 (EC ₅₀ nmol/L)
通过ELISA ^b 测得的cMet ECD ^a	0.30	0.22
通过FACS ^c 测得的细胞 cMet		
[0608] Hs746T	0.4 +/- 0.1	0.4 +/- 0.1
SNU-5	1.4 +/- 0.4	1.6 +/- 1.1
IM-95	1.5 +/- 0.9	1.8 +/- 0.4
NCI-H820	0.2 +/- 0.1	0.3 +/- 0.2
NCI-H441	1.0 +/- 0.6	1.1 +/- 1.1
NCI-H1573	0.6 +/- 0.1	0.4 +/- 0.1
NCI-H1650	0.3 +/- 0.2	0.4 +/- 0.2

[0609] ^a胞外结构域 (cMet的残基25-932)

[0610] ^bEC₅₀ 值源自ELISA, 其中经由His标签在板上捕获cMet ECD。值是六次实验的平均值。

[0611] ^cEC₅₀ 值源自对癌细胞系的ABBV-399 FACS分析。值是至少两次实验的平均值+/-标准差。

[0612] 实例6.ABBV-399对肿瘤细胞系的体外效力

[0613] 细胞毒性测定

[0614] 将肿瘤细胞以2000-5000个细胞/孔铺板在96孔板中的含有10%FBS的180μL生长培养基中,并在37℃下在含有5%CO₂ 的潮湿培养箱中培养。第二天,添加20μL的抗体或ADC的滴定物,并将细胞孵育6天。根据制造商的说明书,使用CellTiter-Glo发光细胞活力测定(普洛麦格公司(Promega))来确定细胞活力。在所有测定中还包括与MMAE偶联的非结合性不相关阴性对照ADC,以确认细胞杀伤是抗原依赖性的。

[0615] ABBV-399抑制过表达cMet的癌细胞(包括MET扩增的细胞系Hs746T和SNU-5胃癌细胞)的增殖(图4)。作为比较,ABT-700抑制具有MET扩增的细胞的增殖(图4A和图4B),但不抑制没有MET扩增的细胞系,即NCI-H820和NCI-H441(图4C和图4D)。

[0616] 受体密度的确定

[0617] 通过使用QIFIKIT (Dako) 对培养的细胞上的细胞表面抗原进行的间接免疫荧光染色来确定cMet细胞表面密度(每个细胞的抗原结合能力)。简而言之,如上针对FACS分析所述从培养烧瓶中收获细胞,以100μL/孔添加到圆底96孔板中,并在4℃与3μg/mL cMet抗体m224G11一起孵育。包括用3μg/mL相同同种型mIgG1的无关小鼠单克隆抗体处理的孔作为对照。与一抗孵育一小时后,将细胞以300x g离心3分钟,用FACS缓冲液洗涤两次,并在4℃与100 μL的QIFIT提供的在FACS缓冲液中以1:50稀释的FITC偶联抗体一起孵育一小时。将细胞以300x g离心3分钟,用FACS缓冲液洗涤两次,并用100μL/孔的在PBS中的1%甲醛固定。对于QIFIKIT 珠的间接免疫荧光染色,将来自小瓶1和小瓶2的100μL重悬的珠添加到分开的孔中,以300x g离心3分钟,用FACS缓冲液洗涤一次并用100μL/孔的在PBS中的1%甲醛固

定。在Becton Dickinson LSRII 流式细胞仪上采集数据,并记录5个珠群的几何平均值并用于根据每个珠的批次特异性抗体分子计算标准曲线。标准曲线用于将ABC (抗体结合能力或受体数量) 分配给染色的细胞样品。

[0618] ABBV-399对过表达cMet的癌细胞具有细胞毒性。为了确定cMet表达水平与对ABBV-399的敏感性的相关性,将体外分析扩展至包括一组16个细胞系。这些细胞系包括6个NSCLC系 (A549、NCI-H1573、NCI-H820、NCI-H441和NCI-H1650)、4个胃食管癌系 (Hs746T、SNU-5、SNU-620和IM-95)、2个CRC系 (SW-48 和HT-29)、2个乳腺癌系 (MDA-MB-231和MCF-7)、KP4胰腺癌系、以及U-87 MG胶质母细胞瘤癌系。还测试了其他NSCLC细胞系 (EBC-1、NCI-H226、SW900、HCC15、SK-MES-1和NCI-H1702), 并显示在表7A中。

[0619] 表7A

NSCLC细胞系	cMet受体/细胞	细胞毒性, C_{50} (nM)		
		ABBV-399	ABT 700-PBD	MMAE/PBD
H820 (腺性)	320,000	0.1	0.02	5
H441 (腺性)	197,000	0.06	0.003	20
H1573 (腺性)	116,000	18.3	0.07	261
H1650 (腺性)	55,000	47.9	0.4	120
A549 (腺性)	43,000	1.6	0.1	16
EBC-1 (鳞状, amp)	233,000	0.06	0.095	0.6
H226 (鳞状)	114,000	与对照相同	0.04	n/a
SW900 (鳞状)	63,000	7.5	0.02	375
[0620] HCC15 (鳞状)	59,000	与对照相同	0.003	n/a
SK-MES-1 (鳞状)	39,000	与对照相同	0.17	n/a
H1703 (鳞状)	23,000	与对照相同	0.7	n/a
其他细胞系				
Hs746T (Ga, amp)	350,000	0.11	0.018	6.1
BT-20 (Br)	41,000	0.23	0.1	2.3
U87MG (GBM)	22,000	1.9	0.21	9
M059J (GBM)	87,000	3.6	0.03	120
U118MG (GBM)	12,500	0.54	0.2	2.7
KP4 (Pa)	15,000	2.9	0.02	145
SW48 (CRC)	26,000	与对照相同	0.0029	>1000
NHBE (正常支气管上皮的)	40,000	无	无	n/a

[0621] FACS分析表明这些细胞系具有一系列cMet表达水平,如通过表示细胞表面cMet分子数量的cMet抗体结合能力所定量的 (表7B)。将细胞增殖测定中对ABBV-399的敏感性定量为最大杀伤和 IC_{50} (表7B)。这些数据表明,存在由ABBV-399造成显著杀伤所需的cMet表达的阈值水平。对此的例外是已知具有自分泌HGF环的细胞系,例如IM 95、KP4和U-87 MG,其中较低的cMet表达水平足以使ABBV-399发挥显著的细胞毒性。

[0622] 表7B. 体外肿瘤细胞上的cMet表达和对ABBV-399的敏感性

	cMet表达 ^a	最大杀伤 ^b	ABBV-399 IC ₅₀ ^c	
肺癌				
	A549	43,000	22%	1.6 +/- 1.1
	NCI-H1573	115,667	18%	18 +/- 14
	NCI-H820	320,000	87%	0.20 +/- 0.07
	NCI-H441	197,000	56%	0.06 +/- 0.05
	NCI-H1650	4,500	13%	47.9 +/- 8.5
	EBC-1	233,231	96%	0.06 +/- 0.03
胃癌				
	Hs746T	350,000	87%	0.11 +/- 0.06
	SNU-620	230,000	80%	0.17 +/- 0.08
	SNU-5	291,000	85%	0.28 +/- 0.07
[0623]	IM-95	21,500	53%	1.7 +/- 0.9
结肠直肠癌				
	SW48	25,500	0%	NA
	HT-29	161,438	70%	9.0 +/- 1.4
乳腺癌				
	MDA-MB-231	30,500	0%	NA
	MCF-7	8,300	0%	NA
胰腺癌				
	KP4	15,300	53%	2.9 +/- 1.9
胶质母细胞瘤				
	U-87MG	22,000	30%	1.9 +/- 0.1
非肿瘤细胞系				
	NHBE（支气管上皮）	40,085	10%	NA
	HUVEC（血管内皮）	15,790	6%	NA
	HMEC（乳腺上皮）	ND	0%	NA
[0624]	PrEC（前列腺上皮）	64,853	0%	NA
	NHDF（真皮成纤维细胞）	1,602	0%	NA

[0625] ^a通过FACS分析所确定的细胞表面上的cMet分子的近似数目,作为以10μg/mL结合

的m224G11 (ABT-700的鼠亲本)的抗体结合能力。

[0626] ^b在六天的增殖中相对于 $\leq 1\mu\text{g/mL}$ 的未处理的对照。

[0627] 实例7.ABT700-PBD ADC抑制一大组细胞系中的肿瘤细胞增殖

[0628] 将肿瘤细胞以2000-5000个细胞/孔铺板在96孔板中的含有10%FBS的180 μL 生长培养基中,并在37 $^{\circ}\text{C}$ 下在含有5%CO₂ 的潮湿培养箱中培养。第二天,添加20 μL 的ADC的滴定物,并将细胞孵育6天。根据制造商的说明书,使用CellTiter-Glo发光细胞活力测定(普洛麦格公司(Promega))来确定细胞活力。在所有测定中还包括与MMAE偶联的非结合性不相关阴性对照ADC,以确认细胞杀伤是抗原依赖性的。

[0629] 结果示于图5中。两种cMet ADC均对多种肿瘤类型(具有不同水平的cMet表达(高/低)和基因扩增(amp))具有活性。MMAE/PBD柱表明需要多得多的MMAE ADC才能提供与用PBD ADC获得的相同的细胞毒性活性。在大多数细胞系中,PBD ADC明显比MMAE偶联物更具效力。

[0630] 实例8.ABT700-PBD ADC在体外对人结肠直肠癌细胞系具有活性

[0631] 将肿瘤细胞以2000-5000个细胞/孔铺板在96孔板中的含有10%FBS的180 μL 生长培养基中,并在37 $^{\circ}\text{C}$ 下在含有5%CO₂ 的潮湿培养箱中培养。第二天,添加20 μL 的ADC和游离药物(PBD 和MMAE)的滴定物,并将细胞孵育6天。根据制造商的说明书,使用CellTiter-Glo发光细胞活力测定(普洛麦格公司(Promega))来确定细胞活力。在所有测定中还包括与MMAF (Ab095 MMAF)偶联的非结合性不相关阴性对照ADC,以确认细胞杀伤是抗原依赖性的。西妥昔单抗-MMAE ADC是阳性对照。如实例6中所述计算受体密度水平。

[0632] 结果示于图6A和6B中。ABT700-PBD对多种结肠直肠癌细胞系(包括在细胞表面上具有低水平cMet受体的那些(例如,SW48,图6B))具有活性。cMet基因扩增的细胞系平均每个细胞具有200-300K个受体。还出于比较目的显示了ABBV-399 ADC的活性。在未输入结果的情况下,观察不到活性。通常,ABT700-PBD在结肠直肠癌细胞系中比ABBV-300更具活性。

[0633] 实例9.ABT700-PBD ADC在体外对人脑癌细胞系具有活性

[0634] 将肿瘤细胞以2000-5000个细胞/孔铺板在96孔板中的含有10%FBS的180 μL 生长培养基中,并在37 $^{\circ}\text{C}$ 下在含有5%CO₂ 的潮湿培养箱中培养。第二天,添加20 μL 的ADC和游离药物(PBD 和MMAE)的滴定物,并将细胞孵育6天。根据制造商的说明书,使用CellTiter-Glo发光细胞活力测定(普洛麦格公司(Promega))来确定细胞活力。在所有测定中还包括与MMAF (Ab095 MMAF)偶联的非结合性不相关阴性对照ADC,以确认细胞杀伤是抗原依赖性的。如实例6中所述计算受体密度水平。cMet基因扩增的细胞系平均每个细胞具有200-300K个受体。

[0635] 结果示于图7中。ABT700-PBD对多种脑癌细胞系(包括在细胞表面上具有低水平cMet受体的那些(例如,SW48,图6B))具有活性。还出于比较目的显示了ABBV-399 ADC的活性。在未输入结果的情况下,观察不到活性。通常,ABT700-PBD在脑癌细胞系中比ABBV-300更具活性。

[0636] 实例10.ABT700-PBD ADC在体内对人结肠直肠肿瘤异种移植物具有活性

[0637] 在移植了SW-48结肠直肠细胞(cMet IHC 1+)的小鼠中评价了ABT-700、ABBV-399和ABT-700 PBD的体内疗效。基本上如下面实例13中所述进行实验。

[0638] 每七天以所示剂量(mg/kg)施用ADC或抗体。ABT-700 PBD在低cMet表达子SW-48异

种移植植物中优于ABBV-399。参见图 8。

[0639] 实例11.ABBV-399和ABT700-PBD ADC在体内对人NSCLC患者衍生的异种移植植物具有活性

[0640] 在衍生自非小细胞肺癌和结肠直肠癌患者的异种移植植物中测定了ABBV-399和ABT700-PBD ADC的疗效。用套针将第3代(P3)的3至5mm³的肿瘤碎片皮下植入NSG小鼠(杰克逊实验室(The Jackson Laboratory))的右后侧腹中。每七天施用ABBV-399 和ABT-700 PBD,持续总共六个剂量。括号中的数字表示以mg/kg施用的剂量。对于所有组,仅在使全部动物保持研究的持续时间内绘制肿瘤体积。如果必须使动物从研究中离开,则监测剩余的动物的肿瘤生长直至它们达到确定的终点。肿瘤生长延迟(TGD)结果示于表8中。

[0641]

#	适应症 ¹	PDX 模型	TGD ¹ (%) ABBV-399	TGD (%) ABT-700 PBD
1	结肠直肠癌	CTG-0440	12	0
2	结肠直肠癌	CTG-0084	0	0
3	结肠直肠癌	CTG-0419	54	54
4	结肠直肠癌	CTG-0117	0	54
5	结肠直肠癌	CTG-0387	0	63
6	结肠直肠癌	CTG-0058	71	80
7	结肠直肠癌	CTG-0115	114	114
8	结肠直肠癌	CTG-0796	78	122
9	结肠直肠癌	CTG-0382	126	126
10	结肠直肠癌	CTG-0062	0	186
11	结肠直肠癌	CTG-0358	94	250
12	结肠直肠癌	CTG-0406	0	271
13	结肠直肠癌	CTG-0652	350	350
14	NSCL	CTG-0176	71	79
15	NSCL	CTG-0363	0	125
16	NSCL	CTG-0164	25	136
17	NSCL	CTG-0165	170	170
18	NSCL	CTG-0178	0	200
19	NSCL	CTG-0162	88	288
20	NSCL	CTG-0159	288	288
21	NSCL	CTG-0170	336	336
22	NSCL	CTG-0167	0	445

[0642] ¹以百分比表示的肿瘤生长延迟(TGD)是与对照组相比,测试物品处理组肿瘤达到1cm³的中值时间的差异。

[0643] 示出了三种不同的具有相对低的(CTG-0363)、中间的(CTG-0159)和高的(CTG-0170)cMet mRNA表达水平的人肿瘤异种移植植物的图表(分别为图9A、9B和9C),cMet mRNA是细胞表面上cMet蛋白水平的替代物。肿瘤对每种ADC的响应依赖于cMet 水平。在剂量的约1/10下,ABT700-PBD ADC比ABBV-399更具活性。

[0644] 实例12.ABBV-399在体内对人NSCLC患者衍生的异种移植植物具有活性

[0645] 对于LG0703和LG1049患者衍生的异种移植模型(杰克逊实验室,萨克拉门托(Sacramento),加利福尼亚州),在衍生自非小细胞肺癌患者的异种移植植物中测定了ABBV-

399的疗效。用套针将第3代(P3)的3至5mm³的肿瘤碎片皮下植入NSG小鼠(杰克逊实验室)的右后侧腹中。对于所有组,仅在使全部动物保持研究的持续时间内绘制肿瘤体积。如果必须使动物从研究中离开,则监测剩余的动物的肿瘤生长直至它们达到确定的终点。在卡普兰-迈耶图上描绘了(A) LG0703和(B) LG1049模型的疗效,作为在治疗后达到指示的肿瘤体积的分数。在两种模型中,每四天施用ABBV-399和对照剂,持续总共六个剂量。在LG1049模型中,每七天施用ABT-700,持续总共六个剂量。括号中的数字表示以mg/kg施用的剂量。

[0646] ABBV-399 ADC比单独的ABT-700更具活性。参见图 10。

[0647] 实例13. 单独的和组合的ABBV399抑制动物模型中过表达cMet的肿瘤的肿瘤生长

[0648] ABBV-399在多种异种移植模型(包括胃癌、NSCLC和多形性胶质母细胞瘤模型)中显示出强大且可再现的抗肿瘤效果。肿瘤中的活性部分基于MMAE细胞毒性有效载荷的递送。此外, ABBV-399还可通过抑制HGF依赖性和非依赖性cMet信号传导以及抗体介导的效应子功能而具有抗肿瘤活性。

[0649] 在移植了(图11A) Hs746T胃癌细胞、(图11B) NCI-H441肺癌细胞和(图11C) SW-40结肠直肠癌细胞的小鼠中评价了ABBV-399的体内疗效。雌性SCID、米色SCID和裸小鼠获得自查尔斯河公司(Charles River)(威明顿(Wilmington), 马萨诸塞州(MA)), 并且每笼饲养十只小鼠。抵达时的体重为20-22g。可随意获得食物和水。在实验开始之前使小鼠适应动物设施至少一周的时间。在12小时光照:12小时黑暗时间表的光照阶段测试动物(在06:00点钟开灯)。所有实验均按照艾伯维公司(AbbVie)的机构动物护理和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee)以及实验动物护理和使用指南的国立卫生研究院指南(National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals Guidelines), 在实验动物护理评估和认证协会(Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care)认可的设施中进行。

[0650] 为了产生异种移植植物,将与等量Matrigel(BD生物科学公司(BD Biosciences))混合的活肿瘤细胞的悬浮液皮下注射到6至8周龄小鼠的侧腹中。注射体积为0.2mL,由1:1的S-MEM和 Matrigel的混合物(BD生物科学公司)组成。除非另有说明,使肿瘤进行大小匹配,为大约200-250mm³。在大小匹配肿瘤后的当天或24 小时开始治疗。在治疗开始时,小鼠重大约25g。每个实验组包括8-10 只动物。每周测量肿瘤两到三次。通过电子卡尺获得肿瘤长度(L)和宽度(W)的测量值,并根据以下等式计算体积: $V=L \times W^2/2$ 。当肿瘤体积达到最大3,000mm³时或者在表现出皮肤溃疡或其他发病时(以先发生者为准),对小鼠实施安乐死。对于Hs746T,每七天施用ABT-700,同时每四天施用ABBV-399。对于NCI-H441异种移植植物,均每四天施用ABT-700和ABBV-399,持续总共六个剂量。括号中的数字表示以mg/kg施用的剂量,并且箭头表示施用天数。在两种癌症类型中,ABBV-399 ADC比单独的ABT-700更具活性,并且效果是剂量依赖性的(图11A和11B)。

[0651] (图11C)使用SW-48人结肠直肠癌异种移植植物来确定 ABBV-399和FOLFIRI的组合作用。获得呈溶液的5-氟尿嘧啶(APP 药物公司(APP Pharmaceuticals), 绍姆堡(Schaumburg), 伊利诺伊州(IL))、伊立替康(赫士睿公司(Hospira), 森林湖(Lake Forest), 伊利诺伊州), 并用0.9%注射用氯化钠(USP)稀释,并且获得呈盐的甲酰四氢叶酸钙(福禄克化学品公司(Fluka Chemical Corp.), 密尔沃基(Milwaukee), 威斯康星州(WI))并在给药前用盐水重构。静脉内施用标准护理剂5-氟尿嘧啶(50mg/kg)和伊立替康(30 mg/

kg),并且在Q7Dx5方案(FOLFIRI)上口服施用甲酰四氢叶酸(25mg/kg)。每七天腹膜内施用IgG对照、Ig MMAE和ABBV-399。括号中的数字表示以mg/kg施用的剂量,并且箭头表示施用天数。ABBV-399+FOLFIRI组合在SW-48结肠癌异种移植物中是有效的。

[0652] 实例14. ABBV-399对ABT-700难治的人肿瘤异种移植模型的疗效

[0653] 在仅异种移植了亲本Hs746T的小鼠中(图12B)或用ABT-700处理后复发后(图12A和12B)评价ABBV-399疗效。图12C评价了在移植了EBC-1异种移植肿瘤的小鼠异种移植物中在用ABT-700处理后复发的情况下ABBV-399的疗效。括号中的数字表示以mg/kg施用的剂量,并且箭头表示施用天数。肿瘤体积被描述为平均值±S.E.M。

[0654] 在胃癌模型(Hs746T)和肺鳞状细胞癌模型(EBC-1)中评价ABBV-399的疗效,所述模型通过在体内反复暴露于ABT-700而变得对于该抗体而言是难治性的(Hs746T ABT-700R和EBC-1 ABT-700R)。最初,用ABT-700处理源自亲本Hs746T的异种移植物导致肿瘤停滞然后复发(图12A;蓝线)。用ABBV-399治疗这些复发的肿瘤(红线)导致消退(图12A,红线)。相比之下,Hs746T ABT-700R异种移植物对于ABT-700治疗而言是难治性的,在治疗时肿瘤快速生长(图12B;蓝线)。当这些难治性肿瘤达到大约1,000mm³的平均群组大小时,使用ABBV-399的治疗导致肿瘤消退(图12B;红线),随后最终生长。用ABBV-399处理大约300mm³的Hs746T ABT-700R导致肿瘤完全消退(图12B)。在用ABT-700然后用ABBV-399处理ABT-700抗性细胞系EBC-1后观察到类似的结果。这些结果表明,ABBV-399的疗效不依赖于对ABT-700的响应,至少对于具有扩增的cMet的细胞系而言。

[0655] 实例15. 用于临床用途的ABBV-399的配制品

[0656] 提供呈无菌冻干粉末的ABBV-399药物产品,用于重构。每个小瓶含有100mg的ABBV-399。在用5.0mL无菌注射用水重构后,ABBV-399的最终浓度为20mg/mL。除ABBV-399以外,配制品还含有蔗糖、聚山梨醇酯80,并且处于组氨酸缓冲液中。在施用之前,将ABBV-399进一步在生理盐水中稀释至1-10mg/mL之间的浓度范围,这取决于受试者的体重。

[0657] 实例16. 在晚期实体瘤患者(pt)中,ABBV-399(一种靶向cMet的抗体药物偶联物(ADC))的I期开放标签、剂量递增和扩展研究

[0658] 16.1. 概述

[0659] 进行的1/1b期开放标签研究正在评价ABBV-399在晚期实体瘤患受试者中的安全性、药代动力学(PK)和初步疗效。该研究由两期组成:(1)剂量递增/扩展期(单一疗法)和组合治疗期。具有cMet过表达、MET外显子14突变或MET扩增的晚期实体瘤(包括但不限于NSCLC、食管癌/胃癌、CRC或头颈癌)的受试者可以纳入该研究的剂量扩展期和组合治疗期。

[0660] 该研究的单一疗法期评价了当按照图13所描绘的剂量递增方案在大约24至42名受试者中静脉内施用时,ABBV-399的安全性和药代动力学曲线。在21天的给药周期中,以从0.15mg/kg开始的递增剂量水平施用ABBV-399。根据来自每21天给药的安全性和PK数据,也将按照28天的时间表每14天施用一次ABBV-399。3至6名受试者将纳入每个群组,并且每21天(每21天的周期一个剂量)或14天(每28天的周期2个剂量)给药一次直至疾病进展或不可接受的毒性,以确定最大耐受剂量(MTD)或最大施用剂量(MAD)。剂量限制性毒性(DLT)的定义将用于做出关于剂量递增的决定。基于可用的安全性、PK和药效动力学(PD_x)数据,多达40名受试者将纳入扩展群组中,所述扩展群组将以等于或低于MTD或MAD的剂量水平进一步评价ABBV-399。在剂量扩展时,将纳入具有cMet过表达、MET外显子14突变或MET扩增

的晚期实体瘤受试者。

[0661] 在组合治疗期中,如下所述,多达18名受试者将纳入每个组合治疗组:

- [0662] • 组合群组A:有资格接受ABBV-399加埃罗替尼的受试者
- [0663] • 组合群组B:有资格接受ABBV-399加西妥昔单抗的受试者
- [0664] • 组合群组C:有资格接受ABBV-399加贝伐单抗的受试者
- [0665] • 组合群组D:有资格接受ABBV-399加纳武单抗的受试者

[0666] 将针对方案的安全性和耐受性、ABBV-399的PK曲线和疗效的初步证据来评价所有受试者。在组合治疗组中,可以纳入具有cMet过表达、MET外显子14突变或MET扩增的晚期实体瘤受试者。组合组A、B或C中的受试者将被分配到14天或21天的ABBV-399 给药时间表,而组D中的受试者将根据14天的时间表接受ABBV-399,以与每14天的纳武单抗给药相一致。

[0667] 此研究需要纳入入库肿瘤组织。将分析肿瘤组织的cMet 蛋白、MET拷贝数和其他生物标记。将通过免疫组织化学测定来确定 cMet的表达;将通过荧光原位杂交 (FISH) 或者肿瘤或循环肿瘤DNA 的DNA测序来确定MET的扩增。

[0668] 16.2. 患者选择:用于入选/排除的诊断标准和主要标准

[0669] 用于ABBV-399单一疗法剂量递增/扩展的一些入选标准:

- [0670] • 受试者必须 ≥ 18 岁
- [0671] • 受试者患有晚期实体瘤,包括但不限于非小细胞肺癌 (NSCLC)、结肠直肠癌、乳腺癌、卵巢癌、食管癌/胃癌以及头颈癌。

[0672] • 受试者必须具有不适合手术切除的晚期实体瘤或具有其他批准的已经证明有临床益处的治疗选择。

[0673] o对于剂量扩展:受试者必须拥有具有cMet过表达、MET 外显子14突变或MET扩增的肿瘤。

[0674] • 受试者的东部肿瘤协作组 (ECOG) 体能状态为0至2。

[0675] • 根据RECIST 1.1版,受试者必须具有可测量的疾病

[0676] 对于在组合治疗期纳入的受试者的其他入选标准

[0677] • 组合治疗组中的受试者必须符合以上入选标准,并且有资格根据最新的处方信息或由研究者自行决定接受埃罗替尼、西妥昔单抗、贝伐单抗或纳武单抗。

[0678] 主要排除标准:

[0679] 对于所有群组:

[0680] • 受试者在第一剂量的ABBV-399之前的21天内接受了抗癌疗法,包括化学疗法、免疫疗法、放射疗法、免疫疗法、生物制剂或任何研究性疗法,或在第一剂量的ABBV-399 之前的7天内接受了草药疗法。

[0681] • 对于10分或更少的疼痛的骨、皮肤或皮下转移的姑息性放射疗法不会经历清除期。

[0682] • 对于批准的靶向性小分子,5个半衰期的清除期是足够的 (目前埃罗替尼的受试者不需要清除期)。

[0683] • 受试者具有已知的到中枢神经系统 (CNS) 的不受控制的转移。具有脑转移的受试者在确定性治疗后是有资格的,其条件是他们在第一剂量的ABBV-399之前的至少2周无症状地脱离类固醇和抗惊厥药。

[0684] • 受试者具有尚未解决的来自先前抗癌治疗的 ≥ 2 级的临床显著不良事件,除了脱发或贫血。

[0685] • 受试者在第一剂量的ABBV-399之前的21天内进行了大手术。

[0686] 对于在组合治疗期纳入的受试者的其他排除标准

[0687] • 纳入组合治疗期的受试者必须满足以上排除标准以及以下标准:

[0688] o如果受试者有任何以下研究者认为将受试者置于来自组合的毒性的不可接受的高风险之下的医疗状况,则受试者可能不会接受ABBV-399组合埃罗替尼、西妥昔单抗、贝伐单抗或纳武单抗。

[0689] • 如果受试者有K-ras突变,则受试者可能不会接受西妥昔单抗。

[0690] • 如果受试者患有鳞状NSCLC,则受试者可能不会接受贝伐单抗。

[0691] 还计划在本文披露的抗cMet ADC的某些研究中及对于其将来临床使用,基于它们的cMet表达水平(基因扩增,膜cMet) 和MET外显子14突变来选择患者。下面提供了用于评估这些标记中的每一种的方法。

[0692] 16.3. 给药方案

[0693] 剂量递增/扩展期:

[0694] 每21天以静脉内输注施用ABBV-399一次,直至疾病进展或不可耐受的毒性。剂量开始于0.15mg/kg,并且在随后的群组中随着耐受性递增至0.3、0.6、1.2、1.8、2.4、3.0和3.3mg/kg。可以基于临床安全性和PK数据采用替代剂量(中间的或更高的)或给药方案。基于临床安全性和PK数据,还使用2.7mg/kg的剂量。根据来自每21天给药的安全性和PK数据,也将按照28天的时间表每14天施用一次ABBV-399(起始剂量为1.6mg/kg)。在 30 ± 10 分钟内给予ABBV-399。它不以静脉推注(push或bolus)而施用。

[0695] 组合治疗期:

[0696] ABBV-399将与标准剂量的埃罗替尼、西妥昔单抗、贝伐单抗或纳武单抗组合,开始时ABBV-399剂量水平低于MTD或 MAD,然后递增但不高于单一疗法剂量递增/扩展中确定的MTD或 MAD剂量。剂量限制性毒性的定义将适用于每种组合的剂量递增部分。

[0697]	研究性产品:	ABBV-399
	剂量:	当前剂量为 2.7 mg/kg 的 ABBV-399, 每 21 天给药一次 1.6 mg/kg 起始剂量的 ABBV-399, 每 14 天给药一次 体重 > 100 kg 的受试者的剂量应针对 100 kg 而计算
	施用模式:	静脉内输注
	施用频率	每 21 天 (21 天的周期) 或 每 14 天 (28 天的周期)
	参考疗法:	埃罗替尼
[0698]	剂量:	150 mg
	施用模式:	口服
	施用频率	每天
	参考疗法:	西妥昔单抗
	剂量:	在 120 分钟内 400 mg/m ² 初始剂量; 然后在 60 分钟内 250 mg/m ²
	施用模式:	静脉内输注
	施用频率	每 7 天
	参考疗法:	贝伐单抗
	剂量:	10 – 15 mg/kg
	施用模式:	静脉内输注
	施用频率	每 21 天 (15 mg/kg) 或每 14 天 (10 mg/kg)
	参考疗法:	纳武单抗
	剂量:	3 mg/kg
	施用模式:	静脉内输注
	施用频率	每 14 天
[0699]	治疗的持续时间: 具有临床益处 (CR、PR 或 SD) 的受试者将被允许继续使用 ABBV-399 进行研究治疗, 直至疾病进展、不可耐受的副作用或长达 24 个月。具有超过 24 个月的临床益处并能够耐受药物的受试者可以继续扩展研究中进行治疗。	

[0699] 16.4. 评估

[0700] 研究访视和评价将在筛选时进行, 并且在第一个周期期间的至少每周和每个后续周期的第1天进行。在所有研究药物给药之前和最终访视时, 评估将包括有限的体格检查、血液学、和化学测试将在筛选、第1周期第1天、第2周期第1天和最后访视时收集ECG。将在整个研究中评估不良事件、实验室数据和生命体征。

[0701] 将在第1周期第1天之前的不超过28天获得对头部、胸部、腹部和骨盆的CT (或MRI)

的基线放射照相肿瘤评估。然后会在治疗开始后大约每6周重复进行CT扫描(或MRI)以评价肿瘤负荷的程度。放射照相肿瘤评估将持续到通过成像记录的疾病进展、开始新的抗癌治疗、死亡或撤回同意书。响应评价将基于RECIST 1.1 版。此外,研究者将在每次访视时评价受试者的临床疾病进展证据。

[0702] 16.4.1.生物标记评估

[0703] 此研究需要纳入入库肿瘤组织(最近的样本是优选的)。如果受试者具有显示cMet 过表达、MET外显子14突变或MET扩增的局部或中心实验室数据而没有可用的入库肿瘤组织,则在与医学监查员讨论后所述受试者可能是合格的。任选的治疗前和治疗中活检(治疗开始后的任何时间)可以从自愿同意的受试者获得,只要在研究者的判断中这样做是安全的。应遵循制度性程序将新收集的組織固定并嵌入石蜡中。将分析肿瘤组织的cMet蛋白、MET拷贝数和其他生物标记。

[0704] 将通过免疫组织化学测定来确定cMet的表达(参见实例17);将通过荧光原位杂交(FISH)或者肿瘤或循环肿瘤DNA的 DNA测序来确定MET的扩增(参见实例18)。将在整个研究的指定时间点收集生物样本以进行研究,目的是鉴定与主题结果相关的生物标记或更好地表征疾病。

[0705] 16.4.2用于评价的标准

[0706]

<p>疗效: 疗效终点包括客观响应率 (ORR) (使用 RECIST 1.1 版确定)、无进展存活 (PFS) 和总体响应持续时间 (DOR)。放射学评估将由 CT 扫描(或不能耐受造影剂的受试者中的 MRI) 组成, 并且在治疗开始后大约每 6 周进行一次以评价肿瘤负荷的程度。放射照相肿瘤评估将持续到通过成像记录的疾病进展、开始新的抗癌治疗、死亡或撤回同意书。响应评价将基于实体瘤的响应评价标准 (RECIST) 1.1。Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts B 等人 New response evaluation criteria in solid tumors: Revised RECIST guideline (version 1.1).[实体瘤的新响应评价标准: 修订的 RECIST 指南 (1.1 版)] Eur J Cancer. [欧洲癌症杂志] 2009;45:228-47。</p> <p>药代动力学: 用于测定 ABBV-399、总 ABT-700 和游离 MMAE 药物水平的血液样品将用于评价 PK 参数。将在整个研究的指定时间点收集抗药物抗体 (ADA) 和中和 ADA (nADA) 的血液样品, 并且 ADA/nADA 将与 PK 和安全性结果相关联。</p>
<p>安全性: 将在整个研究中评估不良事件、实验室概况、体格检查和生命体征。不良事件将根据美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准 (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events, NCI CTCAE) 4.03 版进行分级。</p>
<p>统计方法:</p> <p>疗效: 将对所有可评价的给药受试者进行 ORR、PFS 和 DOR 的分析。</p> <p>药代动力学: 将针对每名受试者和每个方案将 ABBV-399 的血清浓度和 PK 参数值制成表格, 并且将针对每个采样时间和每个参数计算汇总统计量。</p> <p>安全性: ABBV-399 的安全性将通过评价研究药物暴露、不良事件、严重不良事件、全部死亡以及实验室测定和生命体征参数的变化来评估。</p>

[0707] 疗效

[0708] 所有疗效分析本质上都是探索性的。探索性疗效终点包括客观响应率 (ORR) (使用 RECIST 1.1版确定)、无进展存活 (PFS) 和响应持续时间 (DOR)。

[0709] 客观响应率

[0710] 客观响应率 (ORR) 定义为对治疗有确认的部分或完全响应的受试者的比例。每个治疗群组的ORR将用所有合并的基地进行估算。将根据Clopper-Pearson (精确) 方法提供 ORR以及CR率和 PR率的双侧80%置信区间。

[0711] 无进展存活

[0712] 对于每名受试者,PFS时间定义为从受试者第一剂量的 ABBV-399到受试者疾病进展或死亡(以先发生者为准)的时间。在没有事件发生的情况下,将在最后一次疾病评估之日对PFS时间进行审查。对于那些继续研究药物的受试者,所有受试者都将被跟踪疾病进展或被跟踪长达24个月。

[0713] 卡普兰-迈耶估计值将汇总治疗群组的PFS时间。将计算具有双侧80%置信区间的平均时间和中值时间以描述时间与事件的分布。

[0714] 响应持续时间

[0715] 受试者的响应持续时间 (DOR) 定义为从受试者对研究药物治疗的初始客观响应到疾病进展或死亡(以先发生者为准)的时间。如果无法获得疾病进展或死亡的日期,则将在最后一次肿瘤评估之日对DOR进行审查。将以与PFS相同的方式分析DOR。

[0716] 肿瘤评估

[0717] 基线放射照像肿瘤评估必须在第1周期第1天之前的28 天内进行,并且其将由头部、胸部、腹部和骨盆(以及如临床指示的其他包含肿瘤的区域)的CT(或不能耐受造影剂的受试者中的MRI 或非造影CT)组成。通常,在用ABBV-399治疗时的成像会在大约每6周发生一次(成像可在下一剂量的药物之前最长7天获得)。对于ABBV-399组合纳武单抗,首次计划的治疗成像会在大约9周时发生,随后大约每6周进行一次成像。必须在施用下一次预定剂量的 ABBV-399之前完成成像。因为通过成像而证实的进行性疾病以外的任何原因而中断研究药物的受试者将被跟踪,直到他们具有通过成像记录的进行性疾病或开始新的抗癌疗法、死亡或撤回同意书。如果有临床保证,对于没有通过RECIST 1.1标准而记录的放射照相进展的受试者,也将在最终访视时进行成像。如果研究者怀疑肿瘤进展,也可以在其他时间进行成像。只要有临床指示,就能重复对转移性疾病的脑部进行成像。如果可能,应在整个研究中使用同一成像技术。在筛选时进行的肿瘤评估将作为临床评估的基线。如下所述,将使用 RECIST 1.1版评估治疗过程中可测量的病变的变化。

[0718] 针对肿瘤响应的RECIST (1.1版) 标准

[0719] 将使用RECIST (1.1版) 评估响应标准。必须使用下面列出的标准评价治疗过程中可测量的病变的变化。

[0720] a. 合格性

[0721] 在基线处具有可测量的疾病的受试者可以具有通过 RECIST标准评价的客观肿瘤响应。通过至少一个可测量的病变的存在来定义可测量的疾病。如果可测量的疾病仅限于孤立性病变,则应尽可能通过细胞学/组织学确认其肿瘤性质。

[0722] b. 可测量性

[0723]	可测量的病变	在至少一个维度上精确测量的病变,其最小尺寸为: <ul style="list-style-type: none">最长直径$\geq 10\text{ mm}$ (CT扫描切片厚度不大于5 mm)10 mm卡尺测量, 通过临床检查
	不可测量的病变	所有其他病变, 包括小病变 (最长直径 $< 10\text{ mm}$) 以及真正不可测量的病变。被认为真正无法衡量的病变包括: 柔脑膜疾病、腹水、胸膜/心包积液、炎性乳腺疾病、皮肤或肺的淋巴管受累、以及未确诊并由成像技术跟踪的腹部肿块。
[0724]	可测量的恶性淋巴结	为了被认为是病理上扩大的且可测量的, 淋巴结的短轴必须在通过CT扫描 (CT扫描切片厚度建议不大于 5 mm) 评估时 $\geq 15\text{ mm}$ 。在基线和随访中, 将只测量并跟踪短轴。
	不可测量的恶性淋巴结	病理性淋巴结短轴 ≥ 10 至 $< 15\text{ mm}$ 。

[0725] 以度量符号进行并记录所有测量值, 如果进行临床评估, 请使用卡尺。进行所有基线评价应尽可能接近治疗开始, 并且在治疗开始前不超过4周。

[0726] 应使用相同的评估方法和相同的技术来表征基线处和随访期间每个已识别且报告的病变。

[0727] 临床病变仅在其位于表面 (例如, 皮肤结节和可触及的淋巴结) 并且如使用卡尺评估的直径 $\geq 10\text{mm}$ 时将被认为是可测量的。对于皮肤病变的情况, 建议通过包括用于估计病变大小的尺子的彩色摄影进行记录。

[0728] c. 测量方法

[0729] 常规的CT应该以切片厚度为 5mm 或更小的切口连续进行。这适用于胸部和腹部的肿瘤。应将刻度并入所有射线照相测量值。

[0730] 细胞学和组织学可用于区分稀有病例中的部分响应 (PR) 和完全响应 (CR)。

[0731] d. “靶标”和“非靶标”病变的基线记录

[0732] 代表所有受累的器官中所有可测量的病变 (每个器官最多2个病变, 总共5个病变) 应被鉴定为靶标病变并在基线处记录和测量。位于先前辐照的区域或经受其他局部区域治疗的区域中的肿瘤病变通常不被认为是可测量的, 除非已经证明病变进展。

[0733] 淋巴结值得特别提及, 因为它们是正常的解剖结构, 即使不受肿瘤所累也可通过成像看到。被定义为可测量的且可被鉴定为靶标病变的病理性节点 (node) 必须符合通过CT扫描的短轴 $\geq 15\text{mm}$ 的标准。只有这些节点的短轴才会对基线总和产生影响。节点的短轴是直径, 其被放射科医师通常用来判断节点是否受实体瘤所累。通常将节点尺寸报告为在获得图像的平面 (对于CT扫描, 这几乎总是轴向平面) 中的两个维度。这些量度中较小者是短轴。例如, 报告为 $20\text{ mm} \times 30\text{mm}$ 的腹部节点具有 20mm 的短轴并且有资格成为恶性的可测量的节点。在此实例中, 应将 20mm 记录为节点测量值。所有其他病理性节点 (短轴 $\geq 10\text{mm}$ 但 $<$

15mm的那些)应被认为是非靶标病变。短轴<10mm的节点被认为是非病理性的,且不应被记录或跟踪。

[0734] 将计算所有靶标病变的直径总和并报告为基线直径总和。如果总和中包括淋巴结,则如上提到的,仅将短轴加到总和中。基线总和直径将用作表征客观肿瘤响应的参考。

[0735] 包括病理性淋巴结的所有其他病变(或疾病部位)应被鉴定为非靶标病变,也应在基线处记录。不需要对这些病变进行测量,但在随访期间应注意每个病变的存在(稳定、增加或减少)或不存在。

[0736] e. 靶标病变的评价

[0737] 完全响应(CR):

[0738] 所有靶标病变消失。任何病理学淋巴结(无论是靶标还是非靶标)的短轴必须减小至<10mm。

[0739] 部分响应(PR):

[0740] 以基线总直径为参考,靶标病变的直径的总和减小至少 30%;

[0741] 进行性疾病(PD):

[0742] 以从治疗开始(基线或之后)记录的最小直径总和或一个或多个新病变的出现为参考,靶标病变的直径总和至少增加20%。除了20%的相对增加以外,总和还必须展示出至少5mm的绝对增加。

[0743] 稳定疾病(SD):

[0744] 以从治疗开始(基线或之后)的最小直径总和为参考,既没有足够的缩小以符合PR,又没有足够的增加以符合PD。

[0745] 对靶标病变的评估:

[0746] 被鉴定为靶标病变的淋巴结应始终记录实际的短轴测量值(在与基线检查相同的解剖平面中测量),即使节点在研究时消退到10mm以下。这意味着当包括淋巴结作为靶标病变时,即使满足完全响应标准,病变的“总和”也可能不为零,因为正常淋巴结被定义为具有<10mm的短轴。对于PR、SD和PD,节点的实际短轴测量值应包括在靶标病变的总和中。

[0747] 在基线处记录的所有病变(淋巴结和非淋巴结)应在每次随后的评价中记录其实际测量值,即使非常小(<5mm)。然而,有时靶标病变或淋巴结变得太小而无法测量。如果放射科医师认为病变可能已消失,则应将测量值记录为0mm。如果认为病变存在但是太小而无法测量,则应指定5mm的默认值(如源自5mm CT切片厚度)。这些病变的测量可能是不可重复的;因此,提供此默认值将防止基于测量误差的错误响应或进展。

[0748] f. 非靶标病变的评价

[0749] 完全响应(CR):

[0750] 所有非靶标病变消失并且肿瘤标记物水平正常化。所有淋巴结的大小必须是非病理性的(短轴<10mm)。

[0751] 非CR/非PD:

[0752] 一个或多个非靶标病变的持续和/或肿瘤标记物水平维持在正常限值之上。

[0753] 进行性疾病(PD):

[0754] 现有非靶标病变的明确进展。

[0755] 在这种情况下,为了在非靶标疾病的基础上实现“明确进展”,在非靶标疾病中必

须存在总体水平的实质性恶化,使得即使靶标疾病中存在SD或PR,但总体肿瘤负荷已经充分增加至值得中断治疗。一个或多个非靶标病变的大小适度“增加”通常不足以符合明确的进展状态。因此,面对靶标疾病的SD或PR,仅基于非靶标疾病的变化而指定总体进展将极为罕见。

[0756] 注意:如果受试者因症状恶化而中断治疗,则应尽一切努力记录客观进展,即使在中断治疗后。

[0757] 新病变

[0758] 新的恶性病变的出现表示疾病进展。虽然没有用于鉴定新的放射照像病变的具体标准,但新病变的发现应该是明确的,即不能归因于以下的差异:扫描技术、扫描时间、造影剂施用阶段、成像方式改变、或认为代表肿瘤以外的东西的发现(例如,一些‘新的’骨病变可能只是预先存在的病变的治愈或加剧)。在随访研究中未在基线处扫描的解剖部位中鉴定的病变被认为是新的病变并且将指示疾病进展。这种情况的实例是在基线处具有内脏疾病并且在研究中具有揭示转移的有序CT或MRI脑的受试者。受试者的脑转移被认为是进行性疾病的证据,即使他/她在基线处没有进行脑成像。

[0759] 如果新的病变是可疑的(即太小而不能测量),则持续的治疗和随访评价将阐明它是否代表真正的新疾病。如果重复扫描确认存在新病变,则应使用初始扫描日期来宣布进展。

[0760] 16.5. 结果

[0761] 16.5.1. ABBV-399单一疗法剂量递增/扩展期(1期):

[0762] 在3+3剂量递增设计中,每21天将ABBV-399以0.15 至3.3mg/kg范围的剂量向转移性实体瘤患者施用一次(NCT02099058)。如图13所描绘的,每21天以静脉内输注施用ABBV-399一次,直至疾病进展或不可耐受的毒性。剂量开始于0.15 mg/kg,并且在随后的群组中随着耐受性递增至0.3、0.6、1.2、1.8、2.4、3.0和3.3mg/kg。还评价了每21天给予一次的2.7mg/kg的 ABBV-399剂量,并且基于安全性和PK,选择其作为扩展群组的剂量。根据来自每21天给药的安全性和PK数据,也将按照28天的时间表每14天施用一次ABBV-399(起始剂量为1.6mg/kg至2.5mg/kg,以 0.3mg/kg增量增加,即1.6、1.9、2.2和2.5mg/kg)。对于14或21 天的施用,将在30±10分钟内给予ABBV-399。它不以静脉推注(push 或bolus)而施用。

[0763] 截至2016年3月31日,48名患者至少接受了1个剂量的ABBV-399。在单剂量施用后观察到ABBV-399和总抗体的曲线下面积的剂量比例增加。ABBV-399和总抗体的半衰期大约为2-4天。发热性中性粒细胞减少症的剂量限制性毒性发生在3mg/kg下的1名患者和3.3mg/kg下的1名患者(具有败血性休克)中。在进行至少1 次基线后肿瘤评估的患者中的靶标病变的最佳百分比变化示于图14 中。如图14(以及图中未显示的数据)所示,在所有经治疗的患者中对ABBV-399单一疗法的最佳响应是:3/40(7.5%)部分响应,20/40(50%)患者患有稳定疾病,以及17/40(42.5%)患者患有进行性疾病。由于临床进展(4)、不良事件(2)、撤回同意书(1)和肺炎致死(1),因此没有针对这八名患者可用的RECIST数据。具有部分响应的这三名患者患有过表达cMet的非小细胞肺癌(NSCLC)。

[0764] 主要根据安全性和耐受性,选择2.7mg/kg的剂量用于剂量扩展。对于这一期研究中的纳入,使用利用购自温塔纳公司(REF #790-4430)的CONFIRM抗总cMet(SP44)兔单克隆

一抗试剂盒的 IHC测定来针对cMet过表达筛选NSCLC受试者。通过确定在低至高的各种强度水平下染色的靶组织细胞的百分比来对组织样品进行评分,即IHC评分为0、1+、2+或3+,或者H-评分为0-149、150-224、或225-300。评分可以手动完成、或借助于计算机完成。实例17中描述了IHC测定和评分的细节。下表显示了前瞻性筛选的NSCLC患者的数量和用于评估cMet过表达的H-评分:

[0765]	经筛选的	H-评分0-149 N (%)	H- 评 分 150-224 N (%)	H- 评 分 225-300 N (%)	总 cMet H- 评 分 ≥ 150 N (%)
	91	39 (43%)	35 (38%)	17 (19%)	52 (57%)

[0766] 没有与治疗相关的死亡。 $\geq 10\%$ 的患者(包括所有剂量水平和所有等级)中发生的治疗相关不良事件为疲劳(22.9%)、恶心(20.8%)、神经病(14.6%)、食欲下降(12.5%)、呕吐(12.5%)和低白蛋白血症(10.4%)。在用ABBV-399治疗的cMet+NSCLC的16名患者中,来自11名患者的结果显示于图15中。图15是基于放射照相数据,显示响应于ABBV-399单一疗法的靶标病变的最佳百分比变化的瀑布图。如图15(以及图中未显示的数据)所示,3/16治疗的患者具有部分响应(19%),6/16治疗的患者患有稳定疾病(37.5%),2/16治疗的患者患有放射照相进展性疾病(12.5%),并且5名患者因临床进展(3)、撤回同意书(1)和肺炎致死(1)而无法获得成像。

[0767] 图16显示了16名患者在临床进展前进行研究的周数。

[0768] 16.5.2.组合治疗期(1b期):

[0769] 图17和18中显示了使用每21天一次的2.7mg/kg的 ABBV-399和每天口服施用的150mg埃罗替尼的NSCLC组合治疗试验的结果。图17是显示用ABBV-399和埃罗替尼治疗的6名患者的靶标病变的最佳百分比变化的瀑布图。如图17所示,2/6患者获得部分响应,1/6患有如新病变所证明的进展性疾病。图18显示了6名患者在临床进展前进行研究的周数。

[0770] 16.5.3.对携带具有IHC 2+/3+评分或H-评分 ≥ 150 的cMet+肿瘤的患者的治疗前选择可以显著改善治疗结果

[0771] 细胞系和异种移植模型的临床前结果表明,那些具有 cMet IHC 2+/IHC 3+评分的患者比那些患有IHC 0/1+的患者更具响应性。使用伴随诊断来帮助那些具有cMet IHC 2/3+或H-评分 ≥ 150 的癌症的患者的治疗前选择将显著改善总体治疗结果并使患者免于预测无效的治疗。如本文所使用的,术语cMet+涵盖表达cMet的所有肿瘤,无论cMet是否过表达。在一些cMet+实施例中,cMet是过表达的。在一些cMet+实施例中,cMet不是过表达的。

[0772] 类似地,这项正在进行的1期临床试验的结果表明,H- 评分为150及以上与对使用抗cMet ADC(包括ABBV-399)的治疗的响应相关并可预测对所述治疗的响应。

[0773] 不受任何理论束缚,初步结果表明肿瘤异质性可能是 ABBV-399的疗效的限制因素。在那些具有IHC 2+和IHC 3+评分的cMet+肿瘤中,存在显示无cMet表达至低cMet表达的癌细胞。其中,至少一些未被“旁观者效应”杀死的细胞可以重新使肿瘤入住并阻碍肿瘤响应。ABBV-399可以与抑制或杀死低cMet表达肿瘤细胞的标准护理治疗(不限于靶向剂如埃罗替尼和免疫治疗剂如纳武单抗)、以及标准护理化学疗法(优选具有非重叠毒性)组合。

[0774] 表9提供了正在进行的1期试验的临床结果,其与用 ABBV-399作为单一疗法每两周一次 (Q2W) 或每三周一次 (Q3W) 或用ABBV-399组合埃罗替尼治疗的NSCLC患者的H评分的总体响应相关.使用实例17中描述的方案获得IHC评分。

[0775] 表9

[0776]

受试者	施用剂量 (mg/kg) 和频率	肿瘤组织学	IHC评分	总体响应
1	2.7 Q3W加埃罗替尼 (150 mg QD)	腺癌	295	PR
2	2.7 Q3W加埃罗替尼 (150 mg QD)	腺癌	250	PR
3	2.7 Q3W加埃罗替尼 (150 mg QD)	腺癌	270	PR
4	1.6 Q2W	腺癌	280	PR
5	1.9 Q2W	腺癌	250	CR
6	2.7 Q3W加埃罗替尼 (150 mg QD)	腺癌	250	PR
7	2.7 MG/KG Q3W	鳞状细胞癌	165	PR
8	2.7 MG/KG Q3W	鳞状细胞癌	185	PR
9	2.7 MG/KG Q3W	鳞状细胞癌	170	PR

[0777] 如表9所示,IHC评分为225或更高的用2.7mg/kg ABBV-399每3周一次 (Q3W) 和埃罗替尼治疗的四名NSCLC腺癌患者获得了部分响应 (PR) 。IHC评分为225或更高的用ABBV-399每两周一次治疗的两名NSCLC腺癌患者获得了部分响应或完全响应。IHC评分在150至224之间的用2.7mg/kg ABBV-399每3周一次治疗的三名NSCLC鳞状细胞癌患者获得了部分响应。

[0778] 实例17.cMet免疫组织化学测定和H-评分:“cMet ABBV-ADC染色方案”

[0779] 本领域存在多种可用于通过免疫组织化学 (IHC) 评价 cMet蛋白表达水平的方法。本领域普通技术人员将常规地知道如何使用它们并使它们适应于他们的特定研究。一些供应商按照有偿服务提供cMet染色 (参见例如,旗舰生物科学公司 (Flagship Biosciences L.L.C.)、奥雅纳实验室 (ARUP Laboratories)、路径组公司 (PathGroup Inc.))。在这一I期研究中,使用来自温塔纳医疗系统公司 (Ventana Medical Systems) 的SP44抗cMet mAb,更具体地是温塔纳公司的 CONFIRM®抗总cMet兔单克隆抗体 (温塔纳医疗系统公司;目录号 790-4430),组合 Ventana® 自动载玻片染色器 (BenchMark ULTRA®) 和Ventana ultraView®通用DAB检测试剂盒 (目录号760-500) 来评价cMet表达水平。由旗舰生物科学公司与奥雅纳实验室合作来处理染色和结果。阳性对照组织包括结肠腺癌和肺腺癌。阴性对照组织包括乳腺ER100对照、乳腺ER13781对照和霍奇金淋巴瘤CD15-5对照。出于本申请 (包括权利要求书) 的目的,这一1期研究中使用的特定测定法在本文中被称作“cMet ABBV-

ADC染色方案”。

[0780] 将患者肿瘤活检固定在PBS中的福尔马林中并包埋在石蜡中。将载玻片切成4微米,使其干燥,然后在60℃烘烤60分钟。在切割后2周内使用载玻片。将载玻片转移至BenchMarkULTRA®仪器上并选择以下参数:

[0781] 程序:ultraView®DAB

[0782] 名称:cMetCONFIRM®

[0783] 石蜡[已选择]

[0784] 去石蜡化[已选择]

[0785] 细胞调节[已选择]

[0786] 调节器#1[已选择]

[0787] [短-8分钟调节]

[0788] 温和的CC1[已选择]

[0789] [苛刻-95分钟调节]

[0790] Ab孵育温度[已选择]

[0791] 36℃Ab[已选择]

[0792] 抗体[已选择]

[0793] PREP试剂盒#[4430]**0小时16分钟

[0794] 复染[已选择]

[0795] 苏木色素[2021]4分钟

[0796] 后复染[已选择]

[0797] 发蓝试剂[2037]4分钟

[0798] 染色完成后,从仪器中取出载玻片并用自来水冲洗。使载玻片如下进行脱水:

[0799] 将载玻片浸入70%乙醇中,更换2次,每次1-2分钟。

[0800] 将载玻片浸入95%乙醇中,1-2分钟。

[0801] 将载玻片浸入99%(或无水)乙醇中,3-5分钟。

[0802] 用二甲苯清除,更换3次,每次3-5分钟。

[0803] 脱水后,将载玻片使用玻璃盖玻片用非水性封固剂盖住。

[0804] 在此自动化系统中使用以下试剂:

[0805] **Ventana® cMet CONFIRM®** 目录号790-4430 (在36℃孵育大约 16分钟)

[0806] 一个5ml的 **CONFIRM®** 抗总cMet的分配器含有大约 48.75µg的重组兔单克隆抗体SP44(也可从其他商业供应商获得)。将抗体在含1%载体蛋白和0.10%ProClin 300®(防腐剂)的0.05M Tris-HCl中稀释。试剂的总蛋白质浓度大约为10mg/mL。特异性抗体浓度大约为9.75µg/mL。在此产品中未观察到已知的非特异性抗体反应性。

[0807] Ventana Ultra CC1缓冲液目录号950-224

[0808] 在64℃在Ultra CC1溶液中进行95分钟细胞调节。

[0809] Ventana ultra**View®**通用检测试剂盒目录号760-500

[0810] Ventana苏木精II目录号760-2021

[0811] Ventana发蓝试剂目录号760-2037

[0812] H-评分和IHC评分确定

[0813] 由经委员会认证的MD病理学家对处理过的载玻片进行分析。如制造商所提供的，使用评分指南(参见例如，图19)。每个载玻片的10-12个代表性区域用于推断评分。在评价cMet染色后，确定H-评分方法将是用于定量cMet表达的最佳方法。H-评分方法为确定肿瘤类型之内和之间染色的强度和肿瘤百分比的变化提供了最佳数据分辨率。它还为确定阳性染色的阈值提供了很好的工具。在此方法中，提供了染色强度范围为0-3+的肿瘤内细胞的百分比(0-100)。此方案导致细胞质中和细胞表面/膜中cMet蛋白的染色。确定处理的肿瘤活检的固定视野中的每个细胞的染色强度，并且根据细胞表面/膜染色，如下将单个值归于每个细胞：

[0814] 0= 没有染色

[0815] 1+= 弱染色

[0816] 2+= 中度染色

[0817] 3+= 强染色

[0818] 为了获得H-评分，将肿瘤细胞的百分比乘以每个强度并加在一起。如果100%的肿瘤细胞标记3+强度，则最大H-评分为300。如下计算H-评分：

[0819] $H\text{-评分} = [1 \times (\%1+\text{细胞}) + 2 \times (\%2+\text{细胞}) + 3 \times (\%3+\text{细胞})]$

[0820] 此方案导致细胞质和膜cMet染色。对于本文提及的H-评分计算，使用膜染色。最终的肿瘤H-评分(0-300)为更高强度的膜染色给予更多的相对权重(3+细胞>2+细胞>1+细胞)。

[0821] 图20显示了用“cMet ABBV-ADC染色方案”获得的不同肿瘤H-评分(15、90、180和290)的示例性染色结果。

[0822] 每个肿瘤还可以给出IHC 0、IHC 1+、IHC 2+或IHC 3+的IHC评分。虽然IHC评分涉及0、1+、2+和3+值，但不要混淆它们。对于H-评分，0、1+、2+和3+值是指特定单个细胞的染色强度。对于IHC评分，0、1+、2+和3+值是指肿瘤样品的特定区域的整体染色。图21显示了用“cMet ABBV-ADC染色方案”获得的不同肿瘤IHC 0/1+/2+/3+评分的示例性染色结果。

[0823] 出于本披露的目的，并且遵循本文所述的方案，如果固定视野中没有细胞被染色，则归于肿瘤的值为IHC 0。如果固定视野中的整体染色水平较低，则所归的值为IHC 1+。如果固定视野中的大多数细胞表现出中度染色，则所归的值为IHC 2+。如果固定视野中的大多数细胞表现出强染色，则所归的值为IHC 3+。

[0824] 在另一个实施例中，并且出于本披露的目的，并且遵循本文所述的方案，如果固定视野中没有细胞被染色，则归于肿瘤的值为IHC 0。如果固定视野中的整体染色水平较低，则所归的值为IHC 1+。如果固定视野中的至少15%的细胞表现出中度染色，则所归的值为IHC 2+。如果固定视野中的至少15%的细胞表现出强染色，则所归的值为IHC 3+。

[0825] 实例18. 测量MET基因拷贝数扩增

[0826] MET基因的扩增可以改善患者对cMet抑制剂(包括本文披露的治疗)的响应。本领域已经描述了多种用于测量MET基因扩增的方法。参见例如，Cappuzzo F, Marchetti A, Skokan M, Rossi E, Gajapathy S, Felicioni L等人 Increased MET gene copy number negatively affects survival of surgically resected non-small-cell lung cancer

patients[增加的MET基因拷贝数对手术切除的非小细胞肺癌患者的存活产生负面影响].J Clin Oncol[临床肿瘤学杂志] 2009;27:1667-74;Koeppen H,Yu W,Zha J,Pandita A, Penuel E, Rangell L等人Biomarker analyses from a placebo-controlled phase II study evaluating erlotinib{+/-}onartuzumab in advanced non-small-cell lung cancer:MET expression levels are predictive of patient benefit[来自评价晚期非小细胞肺癌中的埃罗替尼{+/-}奥纳妥珠单抗的安慰剂对照的II期研究的生物标记分析:MET表达水平可预测患者益处].Clin Cancer Res[临床癌症研究]2014;20:4488-98。

[0827] 优选的方法描述如下,并在本文中称为“MET/CEP7 cMET扩增方法”。简而言之,福尔马林固定的石蜡包埋的组织块可以使用用MET DNA(RP 11-95I20 BAC克隆)探针制备的MET/CEP7 探针混合物、或使用由3个细菌人工染色体(BAC)克隆构建的用 SpectrumRed和 SpectrumGreen CEP7(雅培分子公司(Abbott Molecular))标记的319kb探针(其跨越7q31.1上的整个MET基因) 进行双色FISH测定。FISH测定可以例如根据先前描述的方案(Cappuzzo F,Hirsch FR,Rossi E等人(2005)Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small cell lung cancer[表皮生长因子受体基因和蛋白质以及吉非替尼对非小细胞肺癌的敏感性].J Natl Cancer Inst[美国国立癌症研究所杂志] 97:643-655) 进行,所述方案包括在75℃用2×氯化钠-柠檬酸钠缓冲液预处理并用蛋白酶K各消化7至15分钟,在85℃共变性15分钟,杂交大约36小时,并且用2×氯化钠-柠檬酸钠缓冲液/0.4壬基-苯氧基-聚乙氧基乙醇进行快速后杂交洗涤。使用具有用于绿色(FITC)、红色(德克萨斯红)和蓝色(DAPI)以及双重(红色/绿色)和三重(蓝色、红色、绿色)带通滤波器的单个干涉滤光片组的落射荧光显微镜,在每个核心至少50个肿瘤细胞核中计数信号。对于每个核心,每个测试的DNA序列的每个细胞的拷贝数的平均值和标准差,具有 ≤ 2 个、3个和 ≥ 4 个MET基因拷贝的细胞的百分比,以及MET/CEP7 (位于同一染色体的中心体附近的基因)的比率。当在三个测试的核心中检测到异质结果时,具有最高平均拷贝数的核心用于在统计分析中代表患者。对于记录,使用CCD相机捕获图像并使用专用软件(CytoVision;美国Genetix公司,波士顿,马萨诸塞州)合并图像。当MET:CEP7信号比率 ≥ 2.0 时、或当此比率 < 2.0 但在超过10%的计数的肿瘤细胞核中有 > 20 个拷贝的MET信号时,根据由MD安德森病理科(MD Anderson Pathology Department)基于以前的研究而确定的标准,MET可以被认为是扩增的。Zeng,ZS,Weiser MR,Kuntz E, Chen CT,Khan SA,Forslund A等人cMet gene amplification is associated with advanced stage colorectal cancer and liver metastases [cMet基因扩增与晚期结肠直肠癌和肝转移相关].Cancer Lett[癌症通讯]2008;265:258-69。在一些研究中,据报道,与CEP7有关的MET 基因的拷贝数的范围从2.05至16.14(中位数3.48)。

[0828] 另一项cMET扩增测试是基于血液的测试。这可以通过多种市售试剂中的任何一种来完成,例如像Biocept液体活检MET扩增测试(Biocept公司)、MET *Detect-R*®(私人基因组诊断剂公司(Personal Genome Diagnostics)) 和 *Guardant360*®(Guardant Health®)。

[0829] 实例19. 评估外显子14突变/MET基因的跳跃的存在

[0830] MET外显子14含有酪氨酸残基1003(Y1003)上的Cbl 泛素连接酶位点,其中泛素通

常另外与酪氨酸残基附接并导致cMet 蛋白的溶酶体降解。因此,Y1003残基的错义突变或由MET外显子 14编码的蛋白质区域的“跳跃”导致MET蛋白的相对过表达、增强的cMet活化和随后的肿瘤发生。MET酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的抑制可以在至少携带这些MET外显子14改变的NSCLC患者中产生临床益处。携带任何这些突变的患者可受益于本文披露的治疗。

[0831] 几种方法是本领域普通技术人员可用的,以检测MET 基因中的突变。因为突变是存在或不存在的(即,它是绝对值而不是程度问题),所以其检测不是测定依赖性的,并且任何方法都可用于在肿瘤样品中检测到它。已经描述了MET基因的外显子14中的多个突变,其中许多突变已经汇总在Impaired cMet Receptor Degradation Mediated by MET Exon 14 Mutations in Non-Small-Cell Lung Cancer [非小细胞肺癌中MET外显子14突变介导的cMet受体降解受损], Mark M.Awad, JCO[临床肿瘤学杂志]2016年3月10日:879-881; 2016年1月19日在线公布;10.1200/JCO.2015.64.2777中。将此方法和其中引用的参考文献中用于鉴定癌症样品的外显子14中的其他突变的方法通过引用以其整体并入本文。这些方法可用于鉴定癌症样品中的那些特定突变。此外,本披露涉及外显子14基因中的任何已知突变,并且不限于本文中例示的那些突变。

[0832] 已经在肺腺癌中鉴定了外显子14的几个剪接突变。例如:

[0833] MET amplification, protein expression, and mutations in pulmonary adenocarcinoma[肺腺癌中的MET扩增、蛋白质表达和突变]. Park S, Koh J, Kim DW, Kim M, Keam B, Kim TM, Jeon YK, Chung DH, Heo DS. Lung Cancer. [肺癌]2015年12月;90(3):381-7. doi: 10.1016/j.lungcan.2015.10.022. 2015年10月27日电子出版. PMID: 26791796. 将此方法和其中引用的参考文献中用于鉴定癌症样品的外显子14中的其他突变的方法通过引用以其整体并入本文。这些方法可用于鉴定癌症样品中的那些特定突变。

[0834] Responses to the multitargeted MET/ALK/ROS1 inhibitor crizotinib and co-occurring mutations in lung adenocarcinomas with MET amplification or MET exon 14 skipping mutation[对多靶向性 MET/ALK/ROS1抑制剂克唑替尼和具有MET扩增或MET外显子14 跳跃突变的肺腺癌中的共同发生的突变的响应]. Jorge SE, Schulman S, Freed JA, VanderLaan PA, Rangachari D, Kobayashi SS, Huberman MS, Costa DB. Lung Cancer. [肺癌]2015年12月;90(3):369-74. doi: 10.1016/j.lungcan.2015.10.028. 2015年10月31日电子出版。将此方法和其中引用的参考文献中用于鉴定癌症样品的外显子14中的其他突变的方法通过引用以其整体并入本文。这些方法可用于鉴定癌症样品中的那些特定突变。

[0835] NSCLC中的其他外显子14突变可通过以下参考文献中描述的方法检测:

[0836] Next-Generation Sequencing of Pulmonary Sarcomatoid Carcinoma Reveals High Frequency of Actionable MET Gene Mutations Exon 14[对肺部肉瘤样癌的新一代测序揭示了高频率可行的MET基因突变外显子14] Xuwen Liu, Yuxia Jia, Mark B. Stoopler, Yufeng Shen, Haiying Cheng, Jinli Chen, Mahesh Mansukhani, Sanjay Koul, Balazs Halmos 和 Alain C. Borczuk, JCO[临床肿瘤学杂志]2016年3月 10日:794-802; 2015年7月27日在线公布。将此方法和其中引用的参考文献中用于鉴定癌症样品的外显子14中的其他突变的方法通过引用以其整体并入本文。这些方法可用于鉴定癌症样品中的那些特定突变。

[0837] MET Exon 14 Mutations in Non-Small-Cell Lung Cancer Are Associated With Advanced Age and Stage-Dependent MET Genomic Amplification and cMet Overexpression[非小细胞肺癌中的MET外显子14突变与晚期和阶段依赖性MET基因组扩增和cMet过表达相关]. Awad MM,Oxnard GR,Jackman DM,Savukoski DO,Hall D, Shivdasani P,Heng JC,Dahlberg SE,Jänne PA,Verma S,Christensen J, Hammerman PS,Sholl LM.J Clin Oncol.[临床肿瘤学杂志]2016年3月 1日;34(7):721-30.doi: 10.1200/JCO.2015.63.4600.2016年1月4日电子公布。将此方法和其中引用的参考文献中用于鉴定癌症样品的外显子 14中的其他突变的方法通过引用以其整体并入本文。这些方法可用于鉴定癌症样品中的那些特定突变。

[0838] 另一种MET外显子14缺失已经报道于gastrointestinal malignancies[胃肠道恶性肿瘤].Oncotarget[肿瘤靶标].2015年9月29 日;6(29):28211-22.doi:10.18632/oncotarget.4721;Gastrointestinal malignancies harbor actionable MET exon 14 deletions.[具有可控告 MET外显子14缺失的胃肠道恶性肿瘤]Lee J,Ou SH3, Lee JM, Kim HC5,Hong M6, Kim SY1,JangJ1,Ahn S6,Kang SY6, Lee S1, Kim ST1, Kim B4,Choi J4, Kim KA4, Lee J, Park C Park SH, Park JO, Lim HY, Kang WK, Park K, Park YS, Kim KM中。将此方法和其中引用的参考文献中用于鉴定癌症样品的外显子14中的其他突变的方法通过引用以其整体并入本文。这些方法可用于鉴定癌症样品中的那些特定突变。

[0839] 实例20. 评估在癌症患者的EGFR基因中的外显子19缺失和外显子 21 (L858R) 取代的存在

[0840] 两种最常见的EGFR体细胞突变(即外显子19缺失和 L858R错义突变)与对用EGFR酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI) 吉非替尼和埃罗替尼治疗的体外和体内敏感性相关。这两种不同类型的突变构成NSCLC患者中鉴定的所有EGFR体细胞突变的约85%。在具有外显子19缺失和外显子21 L858R取代的患者中可以观察到本文披露的治疗的益处。

[0841] 本领域已经描述了几种用于检测癌症样品中外显子19 缺失的方法。下面提供了本领域普通技术人员可获得的此类方法的实例。因为突变是存在或不存在的(即,它是绝对值而不是程度问题),所以其检测不是测定依赖性的,并且任何方法都可用于在肿瘤样品中检测到它。

[0842] 就这些突变在癌症患者中的影响做出报道的最近文献综述是,EGFR-TKIEGFR-tyrosine kinase inhibitor treatment in a patient with advanced non-small cell lung cancer and concurrent exon 19 and 21 EGFR mutations:A case report and review of the literature[在具有晚期非小细胞肺癌和同时的外显子19和21 EGFR突变的患者中的 EGFR-TKIEGFR-酪氨酸激酶抑制剂治疗:案例报告和文献综述].Yang Y,Zhang B,Li R,Liu B,Wang L.Oncol Lett.[肿瘤学通讯]2016年5 月;11(5):3546-3550.2016年4月5日电子公布。将此报告中使用的方法和其中引用的参考文献中用于鉴定患者癌症样品中EGFR基因中的外显子19缺失和外显子21 (L858R) 取代的方法通过引用以其整体并入本文。

[0843] 据报道,与那些具有L858R突变的患者相比,具有 NSCLC和EGFR外显子19缺失的患者在用吉非替尼或埃罗替尼治疗后存活时间更长。Jackman DM,Yeap BY,Sequist LV等人(2006)Exon 19 deletion mutations of epidermal growth factor receptor are

associated with prolonged survival in non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib or erlotinib[表皮生长因子受体的外显子19缺失突变与用吉非替尼或埃罗替尼治疗的非小细胞肺癌患者的延长存活相关].Clin Cancer Res[临床癌症研究]12:3908-3914.此参考文献提供了用于检测EGFR外显子19缺失和L858R突变的两种不同的方法。将这些方法和其中引用的参考文献中用于鉴定患者癌症样品中EGFR基因中的外显子19缺失和外显子21 (L858R) 取代的方法通过引用以其整体并入本文。

[0844] 在本申请中引用的所有出版物、专利、专利申请和其他文献出于所有目的通过引用以其整体特此并入,在程度上就像每个单独的出版物、专利、专利申请或其他文献被单独地指出以出于所有目的通过引用而并入一般。

[0845] 尽管已经对各种具体实施例进行了说明和描述,且下面一些是具代表性的,但是应当理解在不背离本发明的精神和范围的情况下可以对其进行各种改变。

[0846] 1.一种治疗过表达cMet的实体瘤癌症的方法,所述方法包括向患有所述癌症的人类受试者施用足以提供治疗益处的量的抗cMet抗体药物偶联物(“ADC”)并持续足以提供治疗益处的时间。

[0847] 2.如实施例1所述的方法,其中所述过表达cMet的癌症属于在患有癌症类型的患者群体的至少约10%中过表达cMet的癌症类型。

[0848] 3.如实施例1所述的方法,其中来自所述受试者的过表达cMet的肿瘤组织的活检在根据cMet ABBV-ADC染色方案测量时具有2+的IHC评分和/或150至224的H-评分。

[0849] 4.如实施例1所述的方法,其中来自所述受试者的过表达cMet的肿瘤组织的活检在根据cMet ABBV-ADC染色方案测量时具有3+的IHC评分和/或大于225的H-评分。

[0850] 5.如实施例1-4中任一项所述的方法,其中所述过表达 cMet的癌症是非小细胞肺癌(“NSCLC”)。

[0851] 6.如实施例5所述的方法,其中所述NSCLC是非鳞状 NSCLC。

[0852] 7.如实施例5所述的方法,其中所述NSCLC是鳞状 NSCLC。

[0853] 8.如实施例5所述的方法,其中所述NSCLC的组织学是未另行指定的NSCLC (NSCLC-NOS)。

[0854] 9.如实施例1所述的方法,其中所述癌症是结肠直肠癌(“CRC”)。

[0855] 10.如实施例9所述的方法,其中未指定所述CRC的组织学。

[0856] 11.如实施例10所述的方法,其中所述CRC是腺癌。

[0857] 12.如实施例1所述的方法,其中所述癌症是头颈(“H &N”)癌。

[0858] 13.如实施例12所述的方法,其中未指定头颈癌的组织学。

[0859] 14.如实施例1所述的方法,其中所述癌症是胰腺癌。

[0860] 15.如实施例14所述的方法,其中所述胰腺癌是腺癌。

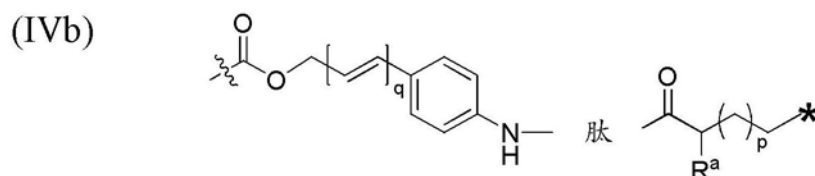
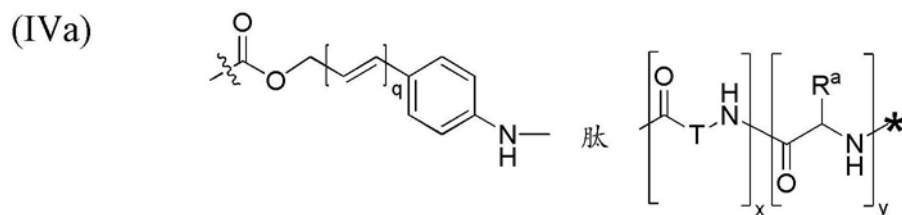
[0861] 16.如实施例5所述的方法,其中所述过表达cMet的癌症具有如通过FDA批准的测试所检测的表皮生长因子受体(“EGFR”) 外显子19缺失或外显子21 (L858R) 取代。

[0862] 17.如实施例1所述的方法,其中所述过表达cMet的癌症对用靶向性和/或非靶向性化学疗法的先前治疗具有抗性。

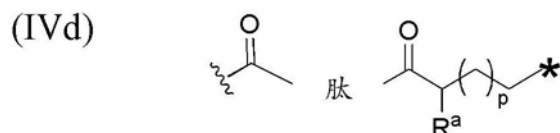
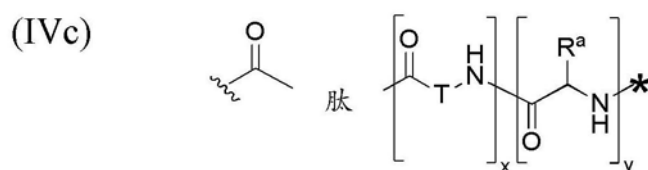
[0863] 18.如实施例1所述的方法,其中所述过表达cMet的癌症对用抗cMet抗体的先前治疗具有抗性。

- [0864] 19.如实施例1所述的方法,其中以单一疗法施用所述抗cMet ADC。
- [0865] 20.如实施例1所述的方法,其中所述抗cMet ADC辅助其他抗癌剂施用,其中根据FDA批准的其给药方案施用所述其他药剂。
- [0866] 21.如实施例20所述的方法,其中所述其他抗癌剂是表皮生长因子受体(“EGFR”)抑制剂。
- [0867] 22.如实施例21所述的方法,其中所述其他抗癌剂是埃罗替尼。
- [0868] 23.如实施例20所述的方法,其中所述过表达cMet的癌症具有如通过FDA批准的测试所检测的EGFR外显子19缺失或外显子21(L858R)取代,并且所述其他抗癌剂是具有这样的缺失或取代的EGFR抑制剂。
- [0869] 24.如实施例23所述的方法,其中所述其他抗癌剂是阿法替尼。
- [0870] 25.如实施例20所述的方法,其中所述癌症是NSCLC。
- [0871] 26.如实施例25所述的方法,其中所述其他抗癌剂选自伊马替尼(GLEEVEC®)、达沙替尼(SPRYCE®)、尼罗替尼(TASIGNA®)、博舒替尼(BOSULIF®)、帕纳替尼(ICLUSIG®)、阿法替尼(GIOTRIF®)、阿西替尼(INLYTA®)、克唑替尼(XALKORI®)、埃罗替尼(TARCEVA®)、吉非替尼(IRESSA®)、拉帕替尼(TYVERB®)、尼罗替尼(TASIGNA®)、帕唑帕尼(VOTRIENT®)、瑞格非尼(STIVARGA®)、索拉非尼(NEXAVAR®)、舒尼替尼(SUTENT®)、托西尼布(PALLADIA®)、伐他拉尼、以及拉多替尼(SUPECT®)。
- [0872] 27.如实施例26所述的方法,其中所述其他抗癌剂是PD1抑制剂。
- [0873] 28.如实施例27所述的方法,其中所述PD1抑制剂是抗PD1抗体。
- [0874] 29.如实施例28所述的方法,其中所述抗PD1抗体是纳武单抗。
- [0875] 30.如实施例1-29中任一项所述的方法,其中每三周一次以约0.15mg/kg至约3.3mg/kg范围的量施用所述抗cMet ADC。
- [0876] 31.如实施例30所述的方法,其中以约2.7mg/kg的量施用所述抗cMet ADC。
- [0877] 32.如实施例1-29中任一项所述的方法,其中每两周一次以约0.15mg/kg至约3.3mg/kg范围的量施用所述抗cMet ADC。
- [0878] 33.如实施例32所述的方法,其中每两周一次以约1.6 mg/kg的量施用所述抗cMet ADC。
- [0879] 34.如实施例32所述的方法,其中每两周一次以约1.9 mg/kg的量施用所述抗cMet ADC。
- [0880] 35.如实施例1-34中任一项所述的方法,其中所述抗cMet ADC包含通过接头与细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂连接的抗cMet抗体。
- [0881] 36.如实施例35所述的方法,其中所述抗cMet抗体是全长抗体。
- [0882] 37.如实施例35所述的方法,其中所述抗cMet抗体被内化并具有低于约10纳摩尔/L、优选约1皮摩尔/L至10纳摩尔/L的表观亲和力 EC_{50} 值。
- [0883] 38.如实施例35所述的方法,其中所述抗cMet抗体在体外以约0.3nmol/L的表观亲和力和 EC_{50} 值结合人cMet。

- [0884] 39.如实施例35至38中任一项所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含含有三个CDR即V_H CDR#1 (SEQ ID NO:112)、V_H CDR#2 (SEQ ID NO:113)和V_H CDR#3 (SEQ ID NO:114)的V_H链;含有三个CDR即V_L CDR#1 (SEQ ID NO:115)、V_L CDR#2 (SEQ ID NO:116)和V_L CDR#3 (SEQ ID NO:117)的V_L链;以及具有SEQ ID NO:170的经修饰的铰链区。
- [0885] 40.如实施例39所述的方法,其中所述抗cMet抗体是 IgG1。
- [0886] 41.如实施例38所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含具有SEQ ID NO:78的V_H链;具有SEQ ID NO:79的V_L链;以及具有SEQ ID NO:170的经修饰的铰链区。
- [0887] 42.如实施例41所述的方法,其中所述抗cMet抗体是 IgG1。
- [0888] 43.如实施例39所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含具有SEQ ID NO:86的重链和具有SEQ ID NO:87的轻链。
- [0889] 44.如实施例39所述的方法,其中所述抗cMet抗体是 ABBV399。
- [0890] 45.如实施例39所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含具有SEQ ID NO:171的重链和具有SEQ ID NO:172的轻链。
- [0891] 46.如实施例39所述的方法,其中所述抗cMet抗体是 ABT-700 (S238C) -PBD。
- [0892] 47.如实施例38所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含抗体STI-D0602/STI-0602的六个CDR。
- [0893] 48.如实施例47所述的方法,其中所述抗cMet抗体是 IgG1。
- [0894] 49.如实施例35所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含STI-D0602/STI-0602的V_H链和STI-D0602/STI-0602的V_L链。
- [0895] 50.如实施例49所述的方法,其中所述抗cMet抗体是 IgG1。
- [0896] 51.如实施例35所述的方法,其中所述接头可被溶酶体酶裂解。
- [0897] 52.如实施例51所述的方法,其中所述溶酶体酶是组织蛋白酶B。
- [0898] 53.如实施例52所述的方法,其中所述接头包含根据结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)和(IVd)中的一个或多个的区段:



[0899]



[0900] 或其盐,其中:

[0901] 肽表示可被组织蛋白酶B裂解的肽(以C→N图示且未显示羧基和氨基“末端”);

[0902] T表示包含一个或多个乙二醇单元或亚烷基链或其组合的聚合物;


[0903] R^a选自氢、烷基、磺酸酯和磺酸甲酯;

[0904] p是范围为0至5的整数;

[0905] q是0或1;

[0906] x是0或1;

[0907] y是0或1;

[0908]  表示所述接头与所述细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂的附接点;并且

[0909] *表示与所述接头的其余部分的附接点。

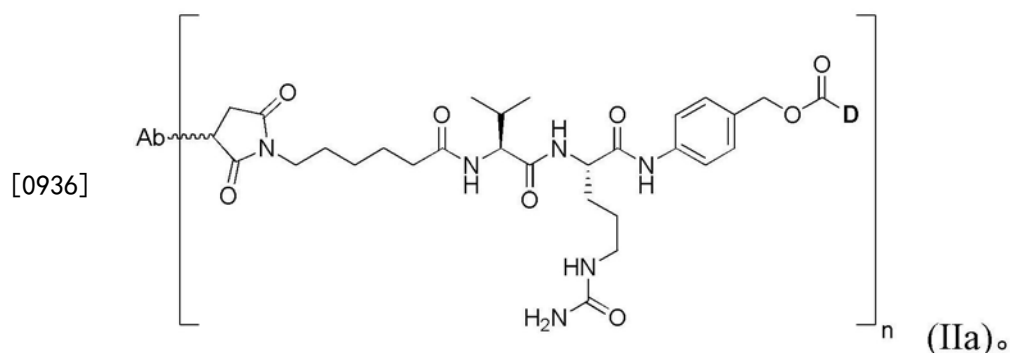
[0910] 54.如实施例53所述的方法,其中肽选自由以下组成的组:Val-Cit;Cit-Val;Ala-Ala;Ala-Cit;Cit-Ala;Asn-Cit;Cit-Asn; Cit-Cit;Val-Glu;Glu-Val;Ser-Cit;Cit-Ser;Lys-Cit;Cit-Lys;Asp-Cit; Cit-Asp;Ala-Val;和Val-Ala;及其盐。

[0911] 55.如实施例51所述的方法,其中所述溶酶体酶是β-葡糖醛酸糖苷酶。

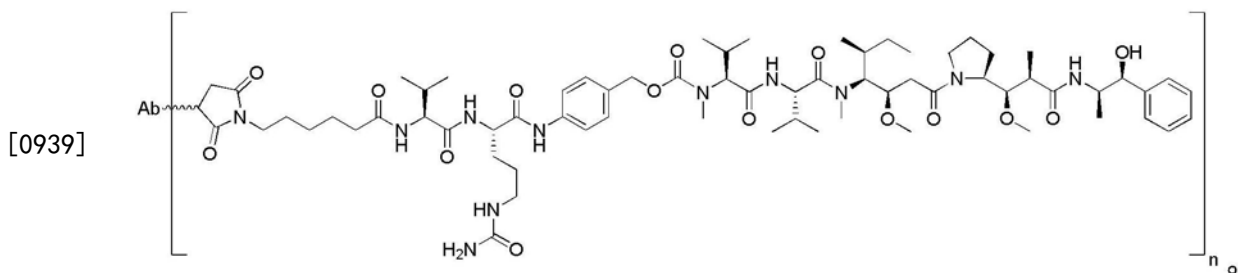
[0912] 56.如实施例35所述的方法,其中所述抗cMet ADC具有范围为0-10的平均药物抗体比率(“DAR”)。

[0913] 57.如实施例35所述的方法,其中所述抗cMet ADC具有范围为1-4的平均药物抗体比率(“DAR”)。

- [0914] 58.如实施例57所述的方法,其中所述抗cMet ADC具有范围为2-4的DAR。
- [0915] 59.如实施例57所述的方法,其中所述抗cMet ADC具有约3.1的DAR。
- [0916] 60.如实施例57所述的方法,其中所述抗cMet ADC具有约1:1比率的E2和E4ADC。
- [0917] 61.如实施例57所述的方法,其中所述抗cMet ADC具有3.0的DAR。
- [0918] 62.如实施例35所述的方法,其中所述细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂是微管抑制剂。
- [0919] 63.如实施例62所述的方法,其中所述微管抑制剂是澳瑞他汀。
- [0920] 64.如实施例63所述的方法,其中所述澳瑞他汀是 MMAE或MMAF。
- [0921] 65.如实施例63所述的方法,其中所述澳瑞他汀是 MMAE。
- [0922] 66.如实施例35所述的方法,其中所述抗cMet ADC是根据结构式(I)的化合物:
- [0923] (I) $[D-L-XY-]_n - Ab$
- [0924] 或其盐,其中:
- [0925] D是所述细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂;
- [0926] L是所述接头;
- [0927] Ab是所述抗cMet抗体;
- [0928] XY表示连接接头L与抗体Ab的共价键;并且
- [0929] n的值的范围为2至8。
- [0930] 67.如实施例66所述的方法,其中n的值为2、3或4。
- [0931] 68.如实施例66所述的方法,其中XY是与抗cMet抗体Ab上的氨基基团形成的键。
- [0932] 69.如实施例66所述的方法,其中XY是酰胺或硫脲。
- [0933] 70.如实施例66所述的方法,其中XY是与抗cMet抗体Ab上的巯基基团形成的键。
- [0934] 71.如实施例66所述的方法,其中XY是硫醚。
- [0935] 72.如实施例66所述的方法,其中根据结构式(I)的所述化合物具有式(IIa)的结构:

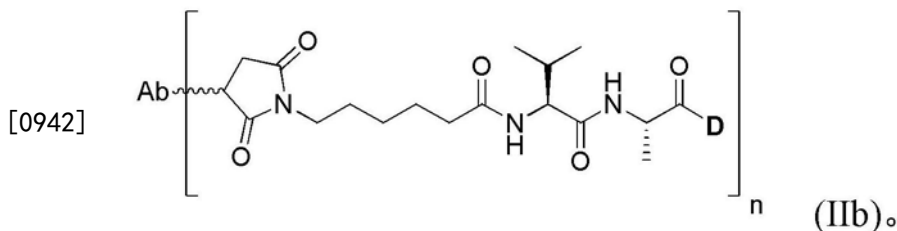


- [0937] 73.如实施例72所述的方法,其中抗cMet抗体Ab是 ABT-700。
- [0938] 74.如实施例66所述的方法,其中具有结构式(I)的所述化合物具有以下结构:



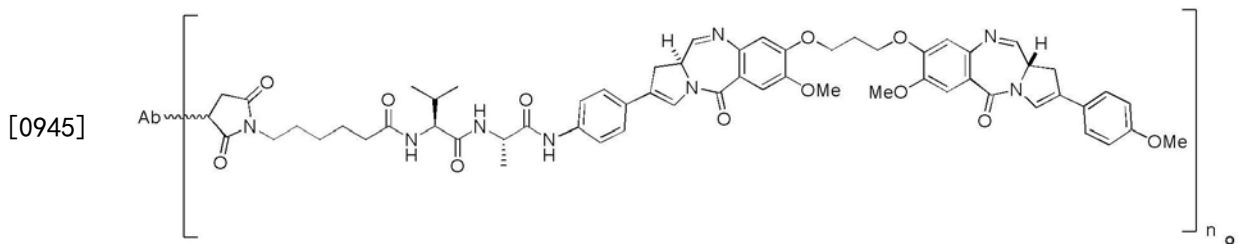
[0940] 75. 如实施例74所述的方法, 其中抗cMet抗体Ab是 ABT-700。

[0941] 76. 如实施例66所述的方法, 其中根据结构式(I)的所述化合物具有式(IIb)的结构:



[0943] 77. 如实施例76所述的方法, 其中抗cMet抗体Ab是 ABT-700。

[0944] 78. 如实施例66所述的方法, 其中根据结构式(I)的所述化合物具有以下结构:



[0946] 79. 如实施例78所述的方法, 其中抗cMet抗体Ab是 ABT-700。

[0947] 80.一种治疗被诊断为患有非小细胞肺癌(“NSCLC”)的人类患者的方法,所述方法包括向所述患者施用足以提供治疗益处的量的抗cMet抗体药物偶联物(“ADC”)并持续足以提供治疗益处的时间。

[0948] 81. 如实施例80所述的方法, 其中所述NSCLC肿瘤组织具有在根据cMet ABBV-ADC染色方案测量时大于或等于150的免疫组织化学 (“IHC”) H-评分或2+的IHC评分。

[0949] 82. 如实施例80所述的方法, 其中所述NSCLC肿瘤组织具有在根据cMet ABBV-ADC染色方案测量时大于225的免疫组织化学(“IHC”)H-评分或3+的IHC评分。

[0950] 83. 如实施例80所述的方法, 其中所述NSCLC肿瘤组织在根据cMet ABBV-ADC染色方案测量时具有2+的IHC评分和/或 150至224的H-评分。

[0951] 84.如实施例80所述的方法,其中所述NSCLC肿瘤组织在根据cMet ABBV-ADC染色方案测量时具有3+的IHC评分和/或大于225的H-评分。

[0952] 85. 如实施例80、81和94中任一项所述的方法,其中所述NSCLC是非鳞状细胞癌。

[0953] 86.如实施例80、81和83中任一项所述的方法,其中所述NSCLC是鳞状细胞癌。

[0954] 87. 如实施例80所述的方法, 其中所述NSCLC的组织学是未另行指定的NSCLC (NSCLC-NOS)。

[0955] 88. 如实施例80所述的方法,其中所述NSCLC肿瘤具有如通过FDA批准的测试如

cobas® EGFR突变测试v2或 theascreen® EGFR RGQ PCR试剂盒所检测的表皮生长因子受体 (“EGFR”) 外显子19缺失或外显子21 (L858R) 取代。

[0956] 89. 如实施例80至88中任一项所述的方法, 其中所述 NSCLC肿瘤对用微管抑制剂的先前治疗具有抗性。

[0957] 90. 如实施例80至89中任一项所述的方法, 其中所述 NSCLC肿瘤对用抗cMet抗体的先前治疗具有抗性。

[0958] 91. 如实施例80至90中任一项所述的方法, 其中以单一疗法施用所述抗cMet ADC。

[0959] 92. 如实施例80至91中任一项所述的方法, 其中所述抗cMet ADC辅助其他抗癌剂施用, 其中根据FDA批准的其给药方案施用所述其他药剂。

[0960] 93. 如实施例92所述的方法, 其中所述其他抗癌剂是表皮生长因子受体 (“EGFR”) 抑制剂。

[0961] 94. 如实施例93所述的方法, 其中所述其他抗癌剂是埃罗替尼, 每日施用一次。

[0962] 95. 如实施例92所述的方法, 其中所述NSCLC肿瘤具有如通过FDA批准的测试所检测的EGFR外显子18缺失或外显子21 (L858R) 取代, 并且所述其他抗癌剂是具有这样的缺失或取代的 EGFR抑制剂。

[0963] 96. 如实施例95所述的方法, 其中所述其他抗癌剂是阿法替尼。

[0964] 97. 如实施例92所述的方法, 其中所述其他抗癌剂是微管抑制剂。

[0965] 98. 如实施例97所述的方法, 其中所述其他抗癌剂选自由卡巴他赛、秋水仙酰胺、秋水仙碱、念珠藻素、脱羧秋水仙碱、多西他赛、诺考达唑、紫杉醇、箭根薯酮内酯、紫杉烷和长春碱组成的组。

[0966] 99. 如实施例92所述的方法, 其中所述其他抗癌剂是 PD1抑制剂。

[0967] 100. 如实施例99所述的方法, 其中所述PD1抑制剂是抗PD1抗体。

[0968] 101. 如实施例100所述的方法, 其中所述抗PD1抗体是纳武单抗。

[0969] 102. 如实施例80至101中任一项所述的方法, 其中每3周一次以约0.15mg/kg至约3.3mg/kg范围的量施用所述抗cMet ADC。

[0970] 103. 如实施例102所述的方法, 其中每3周一次以约 2.7mg/kg的量施用所述抗cMet ADC。

[0971] 104. 如实施例80至101中任一项所述的方法, 其中每2周一次以约0.15mg/kg至约3.3mg/kg范围的量施用所述抗cMet ADC。

[0972] 105. 如实施例104所述的方法, 其中每2周一次以约 1.6mg/kg的量施用所述抗cMet ADC。

[0973] 106. 如实施例104所述的方法, 其中每2周一次以约 1.9mg/kg的量施用所述抗cMet ADC。

[0974] 107. 如实施例80至105中任一项所述的方法, 其中所述抗cMet ADC包含通过接头与细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂连接的抗cMet抗体。

[0975] 108. 如实施例107所述的方法, 其中所述抗cMet抗体是全长抗体。

[0976] 109. 如实施例109所述的方法, 其中所述抗cMet抗体被内化并具有低于约10纳摩尔/L、优选约1皮摩尔/L至10纳摩尔 /L的表观亲和力 EC_{50} 值。

[0977] 110. 如实施例109所述的方法, 其中所述抗cMet抗体在体外以约0.3nmol/L的表观

亲和力和 EC_{50} 值结合人cMet。

[0978] 111.如实施例107至110中任一项所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含含有三个CDR即 V_H CDR#1 (SEQ ID NO:112)、 V_H CDR#2 (SEQ ID NO:113) 和 V_H CDR#3 (SEQ ID NO:114) 的 V_H 链;含有三个CDR即 V_L CDR#1 (SEQ ID NO:115)、 V_L CDR#2 (SEQ ID NO:116) 和 V_L CDR#3 (SEQ ID NO:117) 的 V_L 链;以及具有SEQ ID NO:170的经修饰的铰链区。

[0979] 112.如实施例111所述的方法,其中所述抗cMet抗体是IgG1。

[0980] 113.如实施例111所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含具有SEQ ID NO:78的 V_H 链;具有SEQ ID NO:79的 V_L 链;以及具有SEQ ID NO:170的经修饰的铰链区。

[0981] 114.如实施例113所述的方法,其中所述抗cMet抗体是IgG1。

[0982] 115.如实施例111所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含具有SEQ ID NO:86的重链和具有SEQ ID NO:87的轻链。

[0983] 116.如实施例111所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含具有SEQ ID NO:171的重链和具有SEQ ID NO:172的轻链。

[0984] 117.如实施例110所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含抗体STI-D0602/STI-0602的六个CDR。

[0985] 118.如实施例117所述的方法,其中所述抗cMet抗体是IgG1。

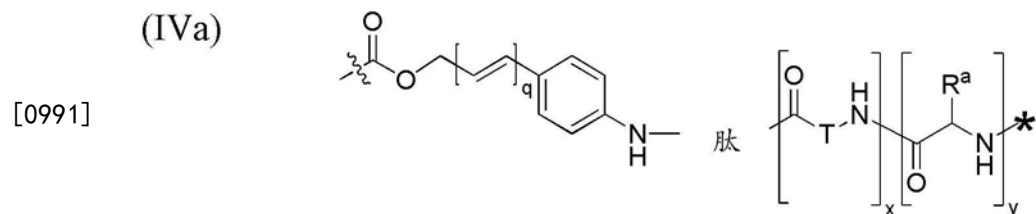
[0986] 119.如实施例104所述的方法,其中所述抗cMet抗体包含STI-D0602/STI-0602的 V_H 链和STI-D0602/STI-0602的 V_L 链。

[0987] 120.如实施例119所述的方法,其中所述抗cMet抗体是IgG1。

[0988] 121.如实施例107所述的方法,其中所述接头可被溶酶体酶裂解。

[0989] 122.如实施例121所述的方法,其中所述溶酶体酶是组织蛋白酶B。

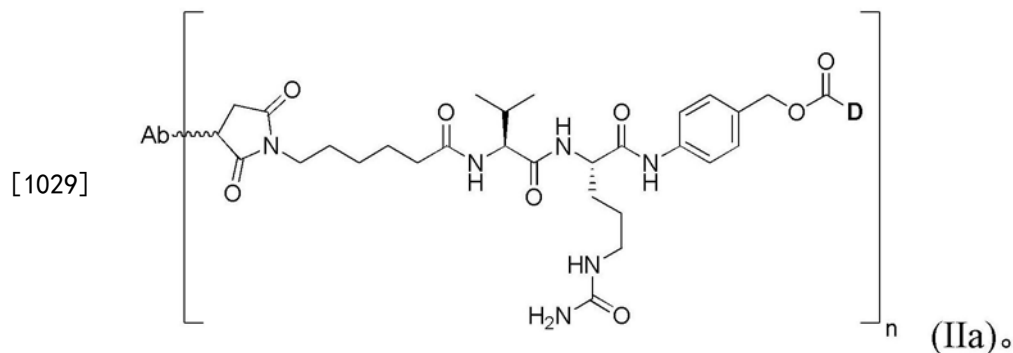
[0990] 123.如实施例122所述的方法,其中所述接头包含根据结构式(IVa)、(IVb)、(IVc)和(IVd)中的一个或多个的区段:



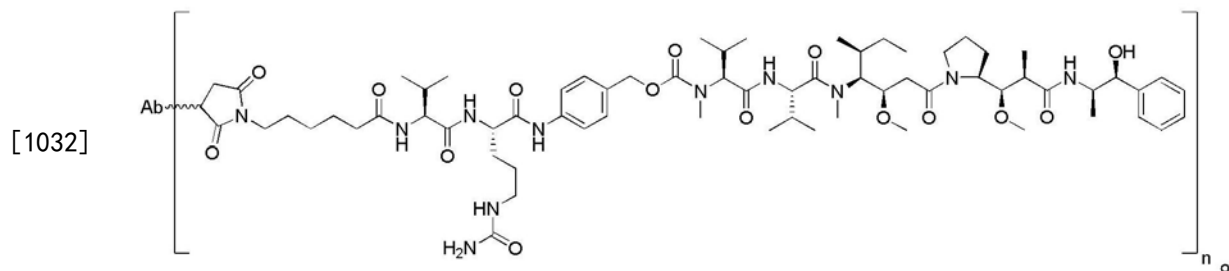
(IVb)

The structure (IVb) shows a polymer chain with a benzylidene-protected amino group. The polymer chain consists of a repeating unit with a benzylidene-protected amino group. The structure is shown as a polymer chain with a benzylidene-protected amino group. The structure is shown as a polymer chain with a benzylidene-protected amino group. The structure is shown as a polymer chain with a benzylidene-protected amino group.

- [1012] 133.如实施例132所述的方法,其中所述微管抑制剂是澳瑞他汀。
- [1013] 134.如实施例133所述的方法,其中所述澳瑞他汀是 MMAE或MMAF。
- [1014] 135.如实施例134所述的方法,其中所述澳瑞他汀是 MMAE。
- [1015] 136.如实施例107至135中任一项所述的方法,其中所述抗cMet ADC是根据结构式(I)的化合物:
- [1016] (I) $[D-L-XY-]_n-Ab$
- [1017] 或其盐,其中:
- [1018] D是所述细胞毒性剂和/或细胞生长抑制剂;
- [1019] L是所述接头;
- [1020] Ab是所述抗cMet抗体;
- [1021] XY表示连接接头L与抗体Ab的共价键;并且
- [1022] n的值的范围为2至8。
- [1023] 137.如实施例136所述的方法,其中n的值为2、3 或4。
- [1024] 138.如实施例136所述的方法,其中XY是与抗cMet 抗体Ab上的氨基基团形成的键。
- [1025] 139.如实施例136所述的方法,其中XY是酰胺或硫脲。
- [1026] 140.如实施例136所述的方法,其中XY是与抗cMet 抗体Ab上的巯基基团形成的键。
- [1027] 141.如实施例136所述的方法,其中XY是硫醚。
- [1028] 142.如实施例136所述的方法,其中根据结构式(I) 的所述化合物具有式(IIa)的结构:

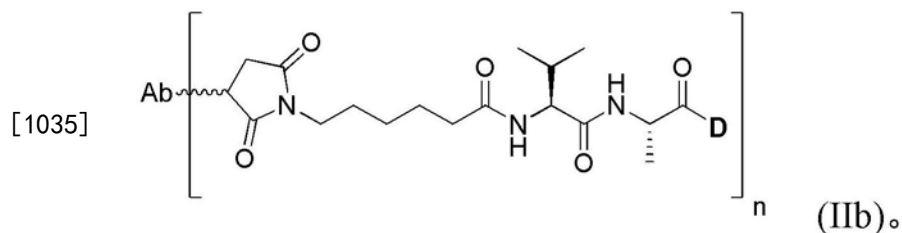


- [1030] 143.如实施例142所述的方法,其中抗cMet抗体Ab 是ABT-700。
- [1031] 144.如实施例136所述的方法,其中具有结构式(I) 的所述化合物具有以下结构:



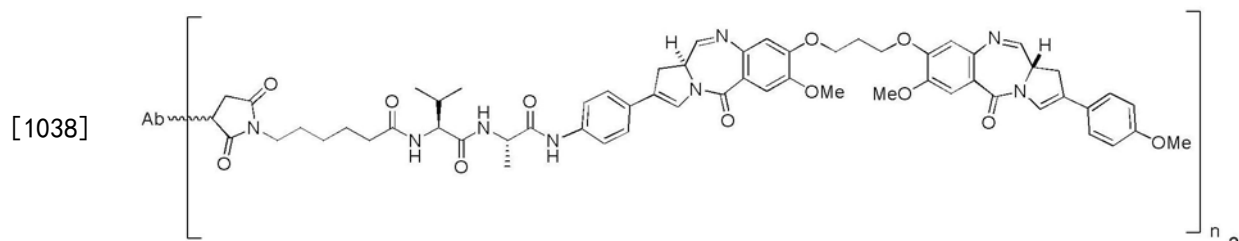
- [1033] 145.如实施例144所述的方法,其中抗cMet抗体Ab 是ABT-700。
- [1034] 146.如实施例136所述的方法,其中根据结构式(I) 的所述化合物具有式(IIb)的

结构:



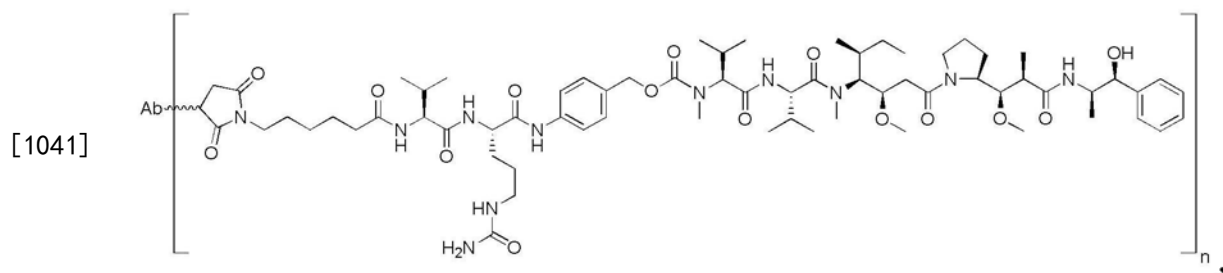
[1036] 147. 如实施例146所述的方法, 其中抗cMet抗体Ab 是ABT-700。

[1037] 148. 如实施例136所述的方法, 其中根据结构式(I) 的所述化合物具有以下结构:



[1039] 149. 如实施例148所述的方法, 其中抗cMet抗体Ab 是ABT-700。

[1040] 150. 一种治疗患有NSCLC肿瘤的人类受试者的方法, 所述NSCLC肿瘤在来自所述受试者的至少一个肿瘤活检中具有至少2+的IHC评分, 所述方法包括向所述受试者每两周一次或每3 周一次以约2.7mg/kg的量施用抗cMet ADC, 其中所述抗cMet ADC 是根据以下结构的化合物:



[1042] 或其药学上可接受的盐, 其中n的值的范围为2-4, 并且Ab是全长抗cMet抗体。

[1043] 151. 如实施例150所述的方法, 其中所述抗cMet抗体是ABT-700。

[1044] 152. 如实施例151所述的方法, 其中以单一疗法施用所述抗cMet ADC。

[1045] 153. 如实施例150所述的方法, 其中将所述抗cMet ADC辅助其他抗癌剂施用。

[1046] 154. 如实施例153所述的方法, 其中所述其他抗癌剂是埃罗替尼。

[1047] 155. 如实施例153所述的方法, 其中所述其他抗癌剂是纳武单抗。

[1048] 156. 如实施例153所述的方法, 其中所述NSCLC肿瘤具有如通过FDA批准的测试所检测的EGFR外显子19缺失或外显子21 (L858R) 取代, 并且所述其他抗癌剂是阿法替尼。

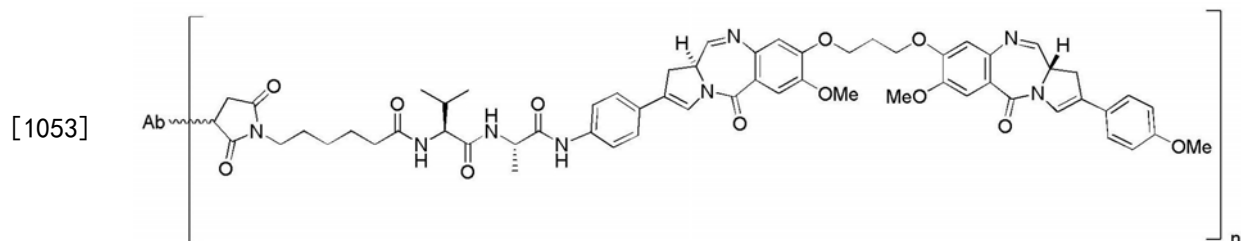
[1049] 157. 如实施例1-34中任一项所述的方法, 其中所述药物是吡咯并苯并二氮杂萘 (PBD), 优选PBD ((S)-2-(4-氨基苯基)-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-2-(4-甲氧基苯基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-8-基)氧基)丙氧基)-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂萘-5(11aH)-酮); SG2000 (SJG-136; (11aS,11a'S)-8,8'-(丙烷-1,3-二基双(氧基))双(7-甲氧基-2-亚甲基-2,3-二氢-1H-苯并[e]吡咯并

[1,2-a][1,4]二氮杂萆-5(11aH)-酮)) (或 SGD-1882)。

[1050] 158.如实施例35至56和62中任一项所述的方法,其中所述药物是吡咯并苯并二氮杂萆(PBD),优选SGD-1882。

[1051] 159.如实施例66至71和76至78中任一项所述的方法,其中所述药物是吡咯并苯并二氮杂萆(PBD),优选SGD-1882。

[1052] 160.如实施例66所述的方法,其中具有式I的所述化合物具有以下结构:



[1054] 其中Ab是所述抗体且n是2。

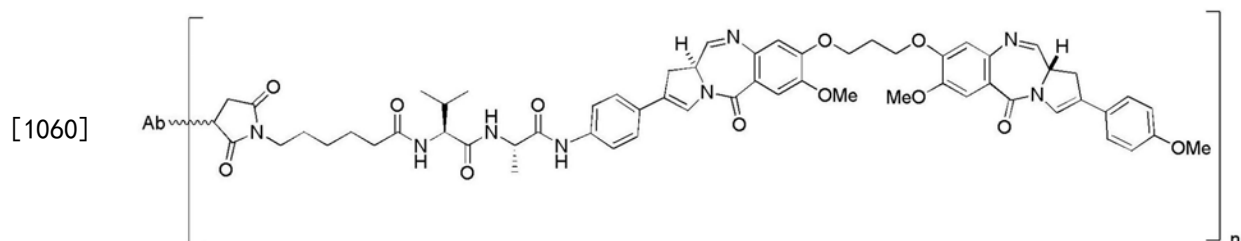
[1055] 161.如实施例160所述的方法,其中所述抗体是 ABT-700或ABT-700 (S238C)。

[1056] 162.如实施例80至131中任一项所述的方法,其中所述药物是吡咯并苯并二氮杂萆(PBD),优选SGD-1882。

[1057] 163.如实施例107所述的方法,其中所述细胞生长抑制剂和/或细胞毒性剂是DNA小沟结合交联剂。

[1058] 164.如实施例163所述的方法,其中所述DNA小沟结合交联剂是吡咯并苯并二氮杂萆(PBD),优选SGD-1882。

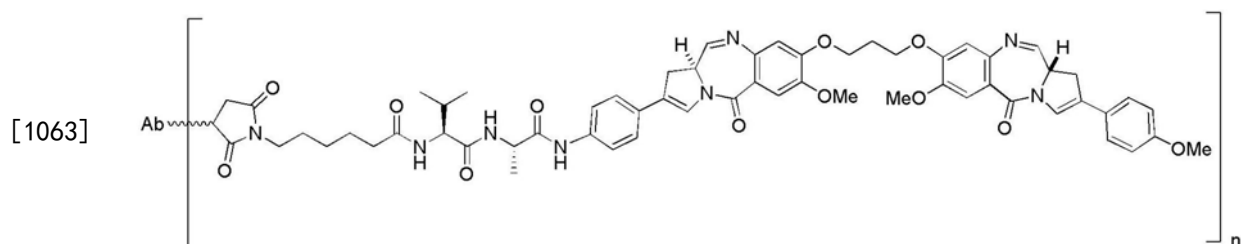
[1059] 165.如实施例107所述的方法,其中所述cMet ADC 是具有式



的化合物

[1061] 其中Ab是ABT-700或ABT-700 (S238C),且n是2。

[1062] 166.一种治疗患有NSCLC肿瘤的人类受试者的方法,所述NSCLC肿瘤在来自所述受试者的至少一个肿瘤活检中具有至少2+的IHC评分,所述方法包括向所述受试者每两周一次或每3 周一次以约2.7mg/kg的量施用抗cMet ADC,其中所述抗cMet ADC 是根据以下结构的化合物:



- [1064] 或其药学上可接受的盐,其中n为2且Ab是全长抗cMet 抗体。
- [1065] 167.如实施例166所述的方法,其中所述抗cMet抗体是ABT-700或ABT-700 (S238C)。
- [1066] 168.如实施例167所述的方法,其中以单一疗法施用所述抗cMet ADC。
- [1067] 169.如实施例166所述的方法,其中将所述抗cMet ADC辅助其他抗癌剂施用。
- [1068] 170.如实施例169所述的方法,其中所述其他抗癌剂是埃罗替尼。
- [1069] 171.如实施例169所述的方法,其中所述其他抗癌剂是纳武单抗。
- [1070] 172.如实施例169所述的方法,其中所述NSCLC肿瘤具有如通过FDA批准的测试所检测的EGFR外显子19缺失或外显子21 (L858R) 取代,并且所述其他抗癌剂是阿法替尼。
- [1071] 173.一种治疗患有NSCLC腺癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每3周一次以约2.7mg/kg的量施用 ABBV-399,其中所述腺癌具有至少225的H-评分。
- [1072] 174.一种治疗患有NSCLC腺癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每3周一次以约2.7mg/kg的量施用 ABBV-399,其中所述腺癌具有3+的IHC评分。
- [1073] 175.如实施例173和174中任一项所述的方法,其中将ABBV-399辅助埃罗替尼施用,其中每日一次以150mg施用埃罗替尼。
- [1074] 176.一种治疗患有NSCLC鳞状细胞癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每2周一次以约1.6mg/kg的量施用ABBV-399,其中所述鳞状细胞癌具有150至224的H-评分。
- [1075] 177.一种治疗患有NSCLC腺癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每2周一次以约1.6mg/kg的量施用 ABBV-399,其中所述腺癌具有2+的IHC评分。
- [1076] 178.一种治疗患有NSCLC鳞状细胞癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每2周一次以约1.9mg/kg的量施用ABBV-399,其中所述鳞状细胞癌具有150至224的H-评分。
- [1077] 179.一种治疗患有NSCLC鳞状细胞癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每2周一次以约1.9mg/kg的量施用ABBV-399,其中所述鳞状细胞癌具有2+的IHC评分。
- [1078] 180.一种治疗患有NSCLC腺癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每3周一次以约2.7mg/kg的量施用 ABT-700 (S238C) -PBD,其中所述腺癌具有至少225的H-评分。
- [1079] 181.一种治疗患有NSCLC腺癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每3周一次以约2.7mg/kg的量施用 ABT-700 (S238C) -PBD,其中所述腺癌具有3+的IHC评分。
- [1080] 182.如实施例180和181中任一项所述的方法,其中将ABT-700 (S238C) -PBD辅助埃罗替尼施用,其中每日一次以150 mg施用埃罗替尼。
- [1081] 183.一种治疗患有NSCLC鳞状细胞癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每2周一次以约1.6mg/kg的量施用ABT-700 (S238C) -PBD,其中所述鳞状细胞癌具有150至224 的H-评分。
- [1082] 184.一种治疗患有NSCLC鳞状细胞癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每2周一次以约1.6mg/kg的量施用ABT-700 (S238C) -PBD,其中所述鳞状细胞癌具有2+的IHC 评分。

[1083] 185. 一种治疗患有NSCLC鳞状细胞癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每2周一次以约1.6mg/kg的量施用ABT-700 (S238C) -PBD,其中所述鳞状细胞癌具有150至224 的H-评分。

[1084] 186. 一种治疗患有NSCLC鳞状细胞癌的人类受试者的方法,所述方法包括向所述受试者每2周一次以约1.9mg/kg的量施用ABT-700 (S238C) -PBD,其中所述鳞状细胞癌具有2+的IHC 评分。

序列表

<110> 艾伯维生物制药公司 (ABBVIE BIOTHERAPEUTICS INC.)
艾伯维公司 (ABBVIE INC.)

<120> 抗cMet抗体药物偶联物及其使用方法

<130> 12252.0206-00304

<140>

<141>

<150> 62/337,796

<151> 2016-05-17

<160> 178

<170> PatentIn 版本3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 1

Gly Tyr Ile Phe Thr Ala Tyr Thr

1 5

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 2

Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala

1 5

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

[0001]

<213> 小家鼠

<400> 3

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 4

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Thr

1 5

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

[0002] <213> 小家鼠

<400> 5

Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Gly Thr

1 5

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 6

Ala Arg Glu Glu Ile Thr Lys Asp Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 7

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn

1 5

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 8

Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr

1 5

<210> 9

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠

[0003]

<400> 9

Ala Arg Gly Arg Tyr Val Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 10

Glu Ser Val Asp Ser Tyr Ala Asn Ser Phe

1 5 10

<210> 11

<211> 3

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 11

Arg Ala Ser

1

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 12

Gln Gln Ser Lys Glu Asp Pro Leu Thr

1

5

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 13

Glu Ser Ile Asp Thr Tyr Gly Asn Ser Phe

[0004]

1

5

10

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 14

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Phe Thr

1

5

<210> 15

<211> 6

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 15

Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

1

5

<210> 16
<211> 3
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 16
Ala Ala Thr
1

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 17
Gln His Phe Trp Gly Pro Pro Tyr Thr
1 5

[0005]

<210> 18
<211> 118
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 18
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ser Leu Gly Glu Ser Leu Asp Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ala Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 19

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

[0006]

<400> 19

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

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

Thr Leu Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Thr Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

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

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 20

<211> 121

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 20

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

[0007]

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

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Met Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Gly Arg Tyr Val Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 21

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

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

[0008]

Ala Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
85 90 95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105 110

<210> 22

<211> 111

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 22

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

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

Gly Asn Ser Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

[0009]

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105 110

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 23

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly

1	5	10	15	
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn	20	25	30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val	35	40	45	
Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser	65	70	75	80
Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Pro Pro Tyr	85	90	95	
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	100	105		

[0010]

<210> 24
<211> 24
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 24
ggatacatat tcactgcata cacc

24

<210> 25
<211> 24
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 25

	attaaaccaa acaatgggtct tgct	24
	<210> 26	
	<211> 33	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 26	
	gcaagatctg agattacgac ggaatttgac tac	33
	<210> 27	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 27	
	ggttattcat tcaactgacta cacc	24
[0011]	<210> 28	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 28	
	attaatcctt acaatgggtg tact	24
	<210> 29	
	<211> 33	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 29	
	gcaagagagg aaattacgaa ggactttgat ttc	33
	<210> 30	
	<211> 24	
	<212> DNA	

	<213> 小家鼠	
	<400> 30	
	ggatacacat tcactgacta caac	24
	<210> 31	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 31	
	attaatccta acaatggtgg tact	24
	<210> 32	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
[0012]	<400> 32	
	gcaagaggga ggtatggtgg ttactactat gctatggact ac	42
	<210> 33	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 33	
	gaaagtgttg atagttatgc caatagtttt	30
	<210> 34	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 34	
	cgtgcatcc	9

	<210> 35	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 35	
	cagcaaagta aggaggatcc tctcacg	27
	<210> 36	
	<211> 30	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 36	
	gaaagtattg atacttatgg caatagtttt	30
	<210> 37	
	<211> 27	
	<212> DNA	
[0013]	<213> 小家鼠	
	<400> 37	
	cagcaaagta atgaggatcc attcacg	27
	<210> 38	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 38	
	gagaatattt acagtaat	18
	<210> 39	
	<211> 9	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 39	

	gctgcaaca	9
	<210> 40 <211> 27 <212> DNA <213> 小家鼠	
	<400> 40 caacattttt ggggtcctcc gtacacg	27
	<210> 41 <211> 354 <212> DNA <213> 小家鼠	
	<400> 41 gagggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata	60
[0014]	tcctgcaaga cttctggata catattcact gcataacca tgcactgggt gaggcagagc	120
	cttgagaga gccttgactg gattggaggt attaaaccaa acaatgggtc tgctaactac	180
	aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac	240
	atggacctcc gcagcctgac atctgaggat tctgcagtct attactgtgc aagatctgag	300
	attacgacgg aattgacta ctggggccaa ggcaccgctc tcacagtctc ctca	354
	<210> 42 <211> 354 <212> DNA <213> 小家鼠	
	<400> 42 gagggtccagc tgcaacagtc tggacctgaa ctggtgaagc ctggagcttc aatgaagatt	60
	tcctgcaagg cttctggta ttattcact gactacccc tgaactgggt gaagcagagc	120
	catggaaaga cccttgagtg gattggactt attaaccctt acaatgggtg tactacctac	180

	aaccagaagt tcaagggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac	240
	atggagctcc tcagtctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagaggaa	300
	attacgaagg actttgattt ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca	354
	<210> 43	
	<211> 363	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 43	
	gaggtcctgc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata	60
	ccctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tggactgggt gaagcagagc	120
	catggaatga gccttgagtg gattggagat attaactcta acaatgggtg tactatcttc	180
[0015]	aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac	240
	atggagctcc gcagcctgac atctgaggac actgcagtct attactgtgc aagagggagg	300
	tatgttggtt actactatgc tatggactac tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc	360
	tca	363
	<210> 44	
	<211> 333	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 44	
	gacattgtgc tgaccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc	60
	atatcctgca gagccagtga aagtgttgat agttatgcca atagttttat gcactggtac	120
	cagcagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc gtgcatccaa ctagaatct	180
	gggatccctg ccagggtcag tggcagtggg tctaggacag acttcaccct caccattaat	240

	cctgtggagg ctgatgatgt tgcaacctat tactgtcagc aaagtaagga ggatcctctc	300
	acgttcggct cggggacaaa attggaaatg aaa	333
	<210> 45	
	<211> 333	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 45	
	ggcattgtgt tgaccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctaggaca gagggccacc	60
	atatcctgca gagtcagtga aagtattgat acttatggca atagttttat acactggtac	120
	cagcagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc gtgcatccaa cctagaatct	180
	gggatccctg ccaggttcag tggcagtggg tctaggacag acttcaccct caccattaat	240
	cctgtggagg ctgatgattc tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatccattc	300
[0016]	acgttcggct cggggacaaa gttggaaatg aaa	333
	<210> 46	
	<211> 321	
	<212> DNA	
	<213> 小家鼠	
	<400> 46	
	gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc	60
	atcacatgtc gagcaagtga gaatatttac agtaatttag catggtatca gcagaaacag	120
	ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagtagatgg tgtgccatca	180
	aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattccctca agatcaacag cctgcagtct	240
	gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttgggggtc ctccgtacac gttcggaggg	300
	gggaccaagc tggagataaa g	321

<210> 47
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
管家基因核糖体蛋白的合成引物，
大的，P0 (RPL0)"

<400> 47
gaaactctgc attctcgctt cctg 24

<210> 48
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

[0017]

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
管家基因核糖体蛋白的合成引物，
大的，P0 (RPL0)"

<400> 48
aggactcggtt tgtacccggtt ga 22

<210> 49
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
管家基因核糖体蛋白的合成引物，
大的，P0 (RPL0)"

	<p><400> 49 tgcagattgg ctacccaact gttgca</p>	26
	<p><210> 50 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注释= “人工序列的描述： HGF的合成引物”</p>	
	<p><400> 50 aacaatgcct ctggttcc</p>	18
[0018]	<p><210> 51 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注释= “人工序列的描述： HGF的合成引物”</p>	
	<p><400> 51 cttgtagctg cgtcctttac</p>	20
	<p><210> 52 <211> 27 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注释= “人工序列的描述： HGF的合成探针”</p>	

	<p><400> 52 ccttcaatag catgtcaagt ggagtga</p>	27
	<p><210> 53 <211> 28 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注释= "人工序列的描述： c-Met的合成引物"</p>	
	<p><400> 53 cattaaagga gacctcacca tagctaata</p>	28
[0019]	<p><210> 54 <211> 22 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注释= "人工序列的描述： c-Met的合成引物"</p>	
	<p><400> 54 cctgatcgag aaaccacaac ct</p>	22
	<p><210> 55 <211> 25 <212> DNA <213> 人工序列</p>	
	<p><220> <221> 来源 <223> /注释= "人工序列的描述： c-Met的合成探针"</p>	

<400> 55
catgaagcga ccctctgatg tccca 25

<210> 56
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 56
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
1 5

<210> 57
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠

[0020] <400> 57
Ile Asn Pro Thr Thr Gly Ser Thr
1 5

<210> 58
<211> 11
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 58
Ala Ile Gly Gly Tyr Gly Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 59
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 59
Ser Ser Val Ser Ser Thr Tyr

1 5

<210> 60

<211> 3

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 60

Thr Thr Ser

1

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 61

His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Phe Thr

1

5

[0021]

<210> 62

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 62

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys Pro Gly Ala

1

5

10

15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20

25

30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35

40

45

Gly Tyr Ile Asn Pro Thr Thr Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Gln Lys Leu

50 55 60

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

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

Ala Ile Gly Gly Tyr Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

[0022] <210> 63
<211> 108
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 63
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu

65 70 75 80

Thr Glu Asp Ala Ala Ser Tyr Phe Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys

100 105

<210> 64
<211> 24
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 64
ggctacactt ttacttccta ctgg 24

[0023]

<210> 65
<211> 24
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 65
attaacccta ccactgggtc tact 24

<210> 66
<211> 33
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 66
gcaataggag gatatgggtc ctggtttgct tac 33

<210> 67
<211> 21
<212> DNA
<213> 小家鼠

	<400> 67 tcaagtgtaa gttccaccta c	21
	<210> 68 <211> 9 <212> DNA <213> 小家鼠	
	<400> 68 accacatcc	9
	<210> 69 <211> 27 <212> DNA <213> 小家鼠	
[0024]	<400> 69 catcagtgga gtagttaccc attcacg	27
	<210> 70 <211> 354 <212> DNA <213> 小家鼠	
	<400> 70 cagggtccagc ttcagcagtc tggggctgaa ctggcaaaac ctggggcctc agtgaagatg	60
	tcctgcaagg cttctggcta cacttttact tcctactgga tgaactgggt gaaacagagg	120
	cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaacccta ccactgggtc tactgactac	180
	aatcagaagt taaaggacaa ggccacattg actgcagaca aatcctcaa cacagcctac	240
	atgcaactga gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aataggagga	300
	tatgggtcct ggtttgctta ctggggccaa gggactctgg tcactgtctc tgca	354

<210> 71
<211> 324
<212> DNA
<213> 小家鼠

<400> 71
caaattgttc tcaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctctgggga gaaggtcacc 60
ttgacctgca gtgccagctc aagtgttaagt tccacctact tgtactggta ccagcagaag 120
ccaggatcct ccccaaaact ctggatttat accacatcca tcctggcttc tggagtcctt 180
gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagcatggag 240
actgaagatg ctgcctctta tttctgcat cagtggagta gttaccatt cacgttcggc 300
tcggggacaa agttggacat aaaa 324

[0025] <210> 72
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 72
Gly Tyr Ile Phe Thr Ala Tyr Thr
1 5

<210> 73
<211> 8
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 73
Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala
1 5

<210> 74
<211> 11
<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 74

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 75

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 75

Glu Ser Val Asp Ser Tyr Ala Asn Ser Phe

1 5 10

<210> 76

<211> 3

<212> PRT

[0026] <213> 小家鼠

<400> 76

Arg Ala Ser

1

<210> 77

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 77

Gln Gln Ser Lys Glu Asp Pro Leu Thr

1 5

<210> 78

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 78

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ala Tyr

20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

[0027]

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 79

<211> 112

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 79

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

[0028]

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

<210> 80

<211> 118

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 80

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

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

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

Gly Trp Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

[0029]

<210> 81
<211> 111
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 81
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 82

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

[0030]

<400> 82

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

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

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

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

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Cys His Cys Pro Pro Cys Pro Ala
100 105 110

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
115 120 125

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
130 135 140

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
145 150 155 160

[0031]

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
165 170 175

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
180 185 190

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
195 200 205

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
210 215 220

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
225 230 235 240

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
245 250 255

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
260 265 270

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
275 280 285

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
290 295 300

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
305 310 315 320

[0032] Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 83

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成多肽"

<400> 83

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

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

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

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

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

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

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

[0033] <210> 84
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释= "人工序列的描述：
 合成多肽"

<400> 84
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Cys His Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

[0034]

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

[0035] Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 85
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成多肽"

<400> 85

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

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

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

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

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

[0036]

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

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

<210> 86

<211> 445

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成多肽"

<400> 86

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

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

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

Gly Trp Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

[0037]

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

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

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

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

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

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

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

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Cys His
210 215 220

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

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

[0038]

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[0039]

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

<210> 87

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

<400> 87

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr

20 25 30

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

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

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

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

[0040] Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 88

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成多肽"

<400> 88

[0041] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

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

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

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

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

[0042]

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

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

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Cys His
210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

[0043]

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

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

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

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

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

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

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

<210> 89

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

<400> 89

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

[0044]

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105 110

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

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

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

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

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

[0045]

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

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

<210> 90
<211> 1395
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成多核苷酸"

<400> 90

atgggatggt cttgatctt tctgctgtt ctgtctggt ctgctggtgt gctgagccag 60
gtccagctgg tgcaatccgg cgagaggtg aagaagccag gcgcttccgt gaaggtgagc 120
tgtaaggcct ctggctacat cttcacagca tacaccatgc actgggtgag gcaagctcct 180
gggcagggac tggagtggat gggatggatt aaaccaaca atgggctggc caactacgcc 240
cagaaattcc agggtagggt cactatgaca agggatacca gcatcagcac cgcatatatg 300
gagctgagca ggctgaggtc tgacgacact gctgtctatt attgcgccag gagcgaaatt 360
acaacagaat tcgattactg ggggcagggc accctggtga cctgtctc tgccagcacc 420
aagggcccaa gctgttccc cctggcccc agcagcaaga gcaccagcg cggcacagcc 480
gccctgggt gctggtgaa ggactactc ccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 540
ggagccctca cttctggagt tcatacttc ccagcagtat tgacagagcagg tggcctgtat 600
[0046] tcactgtctt ccgtcgtaac agttccatcc tccagcctcg ggacacagac ttacatttgt 660
aacgtgaatc acaagcctag caacaccaag gtcgacaaga gaggtaacc aaagagttgt 720
gattgccact gtctccctg ccagctcct gagctgctg gcgggccag tgtctcttg 780
ttcccccta aaccaaaga caccctgatg atctcaagga ctccgaggt gacatgcgtg 840
gtggtggatg tgtctcatga ggaccagag gtgaagtca actggtacgt ggacggcgtg 900
gaggcgcaca acgccaagac caagcccaga gaggagcagt acaacagcac ctacaggggtg 960
gtgtccgtgc tgaccgtgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgtgag 1020
gtgtccaaca aggccctgcc agcccaatc gaaaagacca tcagcaaggc caagggccag 1080
ccaagagagc ccaggtgta caccctgcca ccagcaggg aggagatgac caagaaccag 1140
gtgtccctga cctgtctggt gaagggttc taccaagcg acatgccgt ggagtgggag 1200
agcaacggcc agccgagaa caactacaag accaccccc cagtgtgga cagcgacggc 1260

	agcttcttcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagagca gatggcagca gggcaacgtg	1320
	ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acaccagaa gagcctgagc	1380
	ctgtccccag gctga	1395
	<210> 91	
	<211> 717	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<221> 来源	
	<223> /注释= "人工序列的描述: 合成多核苷酸"	
	<400> 91	
	atggaaactg atacactgct gctgtgggtc ctgctgctgt gggtccttg aagcacaggg	60
[0047]	gacattgtga tgaccagtc tccgatagc ctggccgtgt ccctgggcga gagggtacc	120
	atcaactgta aaagctccga atctgtggac tcttacgaa acagcttct gcactggtat	180
	cagcaaaagc caggccaacc tcaaagctg ctgattaca gggcttctac caggagagc	240
	ggcgtgcccg atagggtcag cggatctggc agcggcaccg actttacact gaccatctcc	300
	agcctgcagg ccgaagatgt ggcagtctat tactgccagc agtccaagga ggacccctg	360
	actttcgggg gtggtactaa agtggagatc aagcgtacgg tggccgctcc cagcgtgttc	420
	atcttcccc caagcgacga gcagctgaag agcggcaccg ccagcgtggt gtgtctgctg	480
	aacaacttct accccaggga ggccaagggt cagtggaagg tggacaacgc cctgcagagc	540
	ggcaacagcc aggagagcgt caccgagcag gacagcaagg actccaccta cagcctgagc	600
	agcacctga ccctgagcaa ggccgactac gagaagcaca aggtgtacgc ctgtgaggtg	660
	accaccagg gcctgtccag ccccgtagc aagagcttca acaggggcga gtgctga	717

<210> 92
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

<400> 92
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

[0048]

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

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

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

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

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

[0049]

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

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

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

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

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

[0050] Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

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

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

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

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

Lys

<210> 93
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

<400> 93
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr
20 25 30

[0051] Ser Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
35 40 45

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

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

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ala Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

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

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

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

[0052]

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 94
<211> 227
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成多肽"

<400> 94
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

[0053] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 95
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

[0054]

<400> 95
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Arg Val Asn Pro Asn Arg Arg Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65	70	75	80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Ala Asn Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr			
100	105	110	
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro			
115	120	125	
Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val			
130	135	140	
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala			
145	150	155	160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly			
165	170	175	
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly			
180	185	190	
Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys			
195	200	205	
Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys			
210	215	220	
Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
225	230	235	240

[0055]

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
275 280 285

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

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

[0056] Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

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

405

410

415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

420

425

430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435

440

<210> 96

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述:

合成多肽"

[0057]

<400> 96

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile

20

25

30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu

35

40

45

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser

50

55

60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

65

70

75

80

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

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

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

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

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

[0058]

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 97

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成肽”

<400> 97

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 98

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成肽”

<400> 98

[0059] Gly Phe Leu Gly
1

<210> 99

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成肽”

<400> 99

Ala Leu Ala Leu
1

<210> 100

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成6xHis标签"

<400> 100

His His His His His His
1 5

<210> 101

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成多肽"

[0060]

<400> 101

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

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

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

Gly Arg Val Asn Pro Asn Arg Arg Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 102

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

[0061]

<400> 102

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile
20 25 30

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

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

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

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

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 103

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

<400> 103

[0062]

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

85 90 95

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 104
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

[0063]

<400> 104
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr
20 25 30

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

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

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

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ala Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg

<210> 105

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述:

[0064] 合成多肽”

<400> 105

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Asn Trp Phe Ala Tyr Val Val Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 106

<211> 114

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

[0065]

<400> 106

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Ser
20 25 30

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

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

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

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

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

Lys Arg

<210> 107

<211> 127

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

[0066] <223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

<400> 107

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Thr Thr Asn
20 25 30

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

Trp Met Gly Val Ile Ala Tyr Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Thr Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65	70	75	80
Ser Leu Gln Leu Ser Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr			
	85	90	95

Cys Ala Arg Asp Val Arg Val Ile Ala Thr Gly Trp Ala Thr Ala Asn
100 105 110

Ala Leu Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 108
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0067]

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释= “人工序列的描述：
 合成多肽”

<400> 108			
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Lys			
1 5 10 15			

Thr Val Thr Ile Ser Cys Ala Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Tyr Gly
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Phe Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Tyr Arg Ser Ser
 85 90 95

Asn Asn Ala Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr His Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 109

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述:

[0068]

合成多肽"

<400> 109

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

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

Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala
 50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Asp Asn Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 110

<211> 115

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 110

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

[0069]

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

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

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

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

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

Ser Tyr Ser Arg Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr
115

<210> 111
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

[0070] <400> 111
Gln Gln Ser Tyr Ser Arg Pro Tyr Thr
1 5

<210> 112
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 112
Gly Tyr Ile Phe Thr Ala Tyr Thr Met His
1 5 10

<210> 113
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 113

Trp Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

[0071]

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 114

Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 115

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 115

Lys Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Ala Asn Ser Phe Leu His
1 5 10 15

<210> 116
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 116
Arg Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

[0072]

<210> 117
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 117
Gln Gln Ser Lys Glu Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 118
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：

合成肽”

<400> 118

Gly Tyr Ile Phe Thr Ala Tyr Thr Met His

1 5 10

<210> 119

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述:

合成肽”

<400> 119

Trp Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

[0073]

Gly

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述:

合成肽”

<400> 120

Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr

1 5

<210> 121

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 121
Lys Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Ala Asn Ser Phe Leu His
1 5 10 15

<210> 122
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

[0074] <220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 122
Arg Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 123
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 123
Gln Gln Ser Lys Glu Asp Pro Leu Thr
1 5

	<p><210> 124 <211> 30 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <221> 来源 <223> /注释= "人工序列的描述： 合成寡核苷酸"</p> <p><400> 124 ggctacatct tcacagcata caccatgcac</p>	30
	<p><210> 125 <211> 51 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <221> 来源 <223> /注释= "人工序列的描述： 合成寡核苷酸"</p> <p><400> 125 tggattaaac ccaacaatgg gctggccaac tacgcccaga aattccaggg t</p>	51
[0075]	<p><210> 126 <211> 27 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <221> 来源 <223> /注释= "人工序列的描述： 合成寡核苷酸"</p> <p><400> 126 agcgaaatta caacagaatt cgattac</p>	27

	<p><210> 127 <211> 45 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <221> 来源 <223> /注释= "人工序列的描述： 合成寡核苷酸"</p> <p><400> 127 aaaagctccg aatctgtgga ctcttacgca aacagcttc tgcac</p>	45
	<p><210> 128 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <221> 来源 <223> /注释= "人工序列的描述： 合成寡核苷酸"</p> <p><400> 128 agggcttcta ccagggagag c</p>	21
[0076]	<p><210> 129 <211> 27 <212> DNA <213> 人工序列</p> <p><220> <221> 来源 <223> /注释= "人工序列的描述： 合成寡核苷酸"</p> <p><400> 129 cagcagtcca aggaggaccc cctgact</p>	27

<210> 130
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 130
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 131
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

[0077]

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 131
Arg Val Asn Pro Asn Arg Arg Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 132
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 132
Ala Asn Trp Leu Asp Tyr
1 5

<210> 133
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

[0078] <400> 133
Ser Val Ser Ser Ser Val Ser Ser Ile Tyr Leu His
1 5 10

<210> 134
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 134
Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 135
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 135

Gln Val Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 136

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

[0079] <223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 136

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Leu His
1 5 10

<210> 137

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 137

Met Ile Asp Pro Ser Asn Ser Asp Thr Arg Phe Asn Pro Asn Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 138

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 138

Ala Thr Tyr Arg Ser Tyr Val Thr Pro Leu Asp Tyr
1 5 10

[0080]

<210> 139

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 139

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

Ala

<210> 140

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 140

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

[0081]

<400> 141

Gln Gln Tyr Tyr Ala Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 142

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 142

Asp Tyr Tyr Met Ser
1 5

<210> 143

<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 143
Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser
1 5 10

<210> 144
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

[0082] <220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 144
Arg Asp Asn Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 145
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 145
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Ser Gly Asn
1 5 10

<210> 146
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 146
Trp Ala Ser Thr Arg Val Ser
1 5

<210> 147
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

[0083]

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 147
Gln Gln Ser Tyr Ser Ala Pro Leu Thr
1 5

<210> 148
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 148
Thr Asn Tyr Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 149

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<400> 149

Val Ile Ala Tyr Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 150

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<400> 150

Asp Val Arg Val Ile Ala Thr Gly Trp Ala Thr Ala Asn Ala Leu Asp
1 5 10 15

[0084] Ala

<210> 151

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 151

Ala Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Tyr Gly Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 152

Ala Val Ser Tyr Arg Ala Ser
1 5

<210> 153
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 153
Ala Ser Tyr Arg Ser Ser Asn Asn Ala Ala Val
1 5 10

<210> 154
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

[0085]

<400> 154
Asp Tyr Tyr Ile Ser
1 5

<210> 155
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 155
Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Tyr Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 156

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 156

Asp Asn Trp Phe Ala Tyr

1 5

[0086]

<210> 157

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 157

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Ala Trp Ser Asn Gln Asn Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 158

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 158

Trp Ala Ile Thr Arg Val Gly

1 5

<210> 159

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 159

Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr

1 5 10

[0087]

<210> 160

<211> 3

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 160

Gln Met Ser

1

<210> 161

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 161

Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 162

<211> 8

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 162

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 163

<211> 7

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 163

Ile Met Gly Gly Gly Thr Thr

1 5

<210> 164

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 164

Ala Arg Gly Arg Asp Tyr Gly Ile Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 165

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 165

Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr

1 5 10 15

<210> 166

<211> 7

<212> PRT

[0088]

<213> 小家鼠

<400> 166

Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 167

<211> 4

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 167

Ser Tyr Ala Met

1

<210> 168

<211> 16

<212> PRT

[0089] <213> 小家鼠

<400> 168

Ser Ile Met Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 169

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠

<400> 169

Gly Arg Asp Tyr Gly Ile Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 170

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成的衍生自IgG1的铰链肽”

<400> 170

Pro Lys Ser Cys Asp Cys His Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 171

<211> 445

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

[0090]

<400> 171

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

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

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

Gly Trp Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

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

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

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

[0091] Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

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

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

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Cys His
210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

[0092] Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

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

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

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

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

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

420

425

430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435

440

445

<210> 172

<211> 218

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成多肽”

<400> 172

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1

5

10

15

[0093]

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr

20

25

30

Ala Asn Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp

50

55

60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65

70

75

80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys

85

90

95

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

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

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

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

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

[0094] Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

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

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

<210> 173

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= “人工序列的描述：
合成肽”

<400> 173

Gly Tyr Ile Phe Thr Ala Tyr Thr Met His

1 5 10

<210> 174

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 174

Trp Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

[0095]

Gly

<210> 175

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 175

Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr

1 5

<210> 176

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 176

Lys Ser Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr Ala Asn Ser Phe Leu His
1 5 10 15

<210> 177

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

[0096] <223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 177

Arg Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 178

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释= "人工序列的描述：
合成肽"

<400> 178

Gln Gln Ser Lys Glu Asp Pro Leu Thr
1 5

艾米妥珠单抗（人源化的IgG4）
（来自US 8217148的SEQ ID NO: 17和5）
氨基酸序列（每组10个氨基酸，每行5组）

重链可变区（全长序列披露为SEQ ID NO: 101）：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYMHWVRQA PGQGLEWMGR 050
VNPNNRGTTY NQKFEGRVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARAN 100
WLDYWGQGT VTVSS 115

轻链可变区（全长序列披露为SEQ ID NO: 102）：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCSVSSSVS SIYHLHWYQQK PGKAPKLLIY 050
STSNLASGVP SRFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFATYYCQ VYSGYPLTFG 100
GGTKVEIKR 109

CDR是加下划线的（CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 130-135）

图1A

奥纳妥珠单抗（人源化的IgG1/κ，单臂的）
（来自专利US 7476724的SEQ ID NO: 14和12）
氨基酸序列（每组10个氨基酸，每行5组）

重链可变区（全长序列披露为SEQ ID NO: 103）：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT SYWLHWVRQA PGKGLEWVGM 050
IDPSNSDTRF NPNFKDRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCATYR 100
SYVTPLDYWG QGTLVTVSS 119

轻链可变区（全长序列披露为SEQ ID NO: 104）：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKSSQSLL YTSSQKNYLA WYQQKPGKAP 050
KLLIYWASTR ESGVPSRFSG SSGTDFTLT ISSLPEDFA TYCQQYYAY 100
PWTFGQGTKV EIKR 114

CDR是加下划线的（CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 136-141）

图1B

huAbF46-H4 (人源化的IgG1/ κ)
(来自US20130089557的SEQ ID NO: 83和84)
氨基酸序列 (每组10个氨基酸, 每行5组)

重链可变区 (全长序列披露为SEQ ID NO: 105) :

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFT DYYMSWVRQA PGKGLEWLGF 050
IRNKANGYTT EYSASVKGRF TISRDN SKNT LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR 100
DNWFAYVVGQ GTLVTVSS 118

轻链可变区 (全长序列披露为SEQ ID NO: 106) :

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKSSQSL ASGNQNNYLA WHQQKPGKAP 050
KMLIIWASTR VSGVPSRFSG SSGTDFTLT ISSLPEDFA TYQCQSYSA 100
PLTFGQGTKV EIKR 114

CDR是加下划线的 (CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 142-147)

图1C

ARGX-111 (36C4) (人IgG1/ λ)
(来自US 8,637,027的SEQ ID NO: 51和55)
氨基酸序列 (每组10个氨基酸, 每行5组)

重链可变区 (全长序列披露为SEQ ID NO: 107) :

QVQLVESGPG LVKPSQTL SL TCAVSGGSIT TNYYYWSWIR QSPGKGLEWM 050
GVIAYDGSTD YSPSLKSRTS ISRDT SKNQF SLQLSSVTPE DTAVYYCARD 100
VRVIATGWAT ANALDAWGQG TLVTVSS 127

轻链可变区 (全长序列披露为SEQ ID NO: 108) :

QSVLTQPPSV SGSPGKTVTI SCAGTSSDVG YGNVSWYQQ LPGTAPKLLI 050
FAVSYRASGI PDRFSGSKSG NTAFLTISGL QSEDEADYYC ASYRSSNNAA 100
VFGGGTHLTV L 111

CDR是加下划线的 (CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 148-153)

图1D

SAIT-301

氨基酸序列 (每组10个氨基酸, 每行5组)

重链可变区 (全长序列披露为SEQ ID NO: 109) :

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFT DYYISWVRQA PGKGLEWVGF 050
 IRNKANGYTT EYSASVKGRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCAR 100
 DNWFAYWGQG TLVTVSS 117

轻链可变区 (全长序列披露为SEQ ID NO: 110) :

DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCKSSQSL LAWSNQNNYLA WYLQKPGQSP 050
 QMLIIWAITR VGGVPDRFSG SGSGTDFTLK ISRVEAEDVG VYYCQQSYSR 100
 PYTFGQGTKL EIIRT 115

CDR是加下划线的 (CDR序列按出现的顺序分别披露为SEQ ID NO 154-158)

图1E

ABBV-399过程I: 粗偶联反应混合物与批量HIC处理的物质的比较

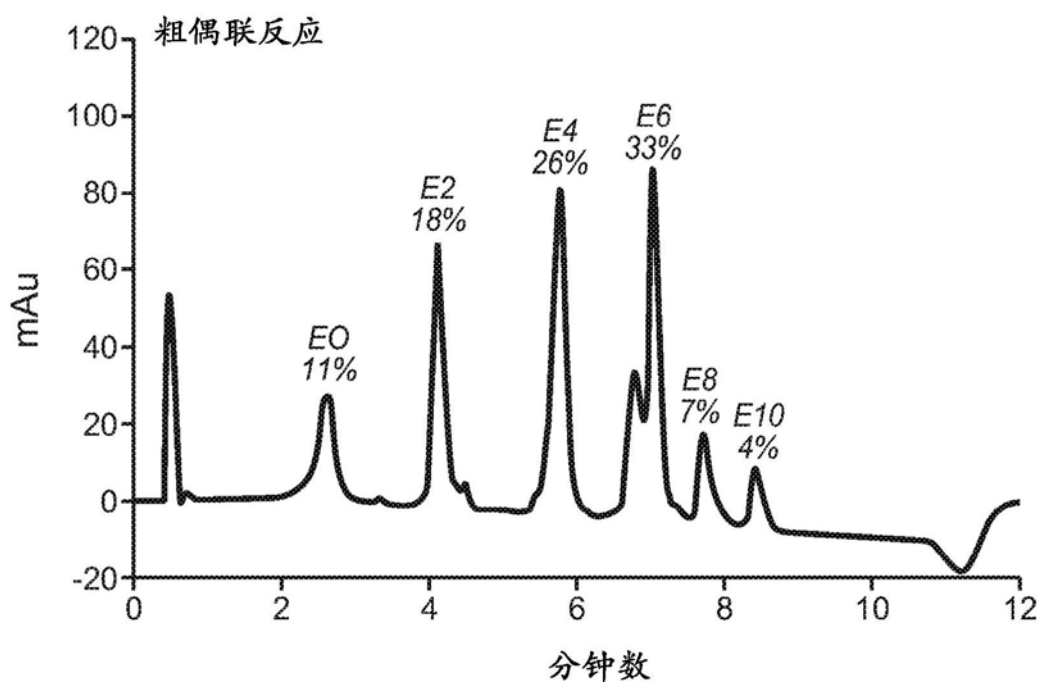


图2A

ABBV-399过程I: 粗偶联反应混合物与批量HIC处理的物质的比较

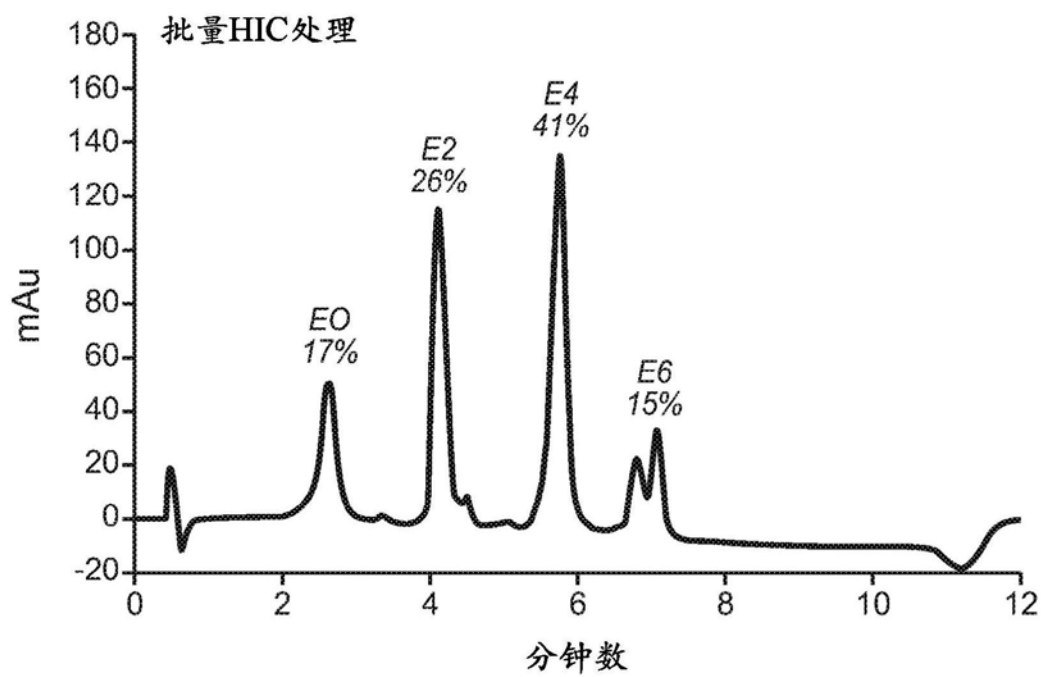


图2B

ABBV-399过程II：粗偶联反应混合物与柱HIC处理的物质的比较

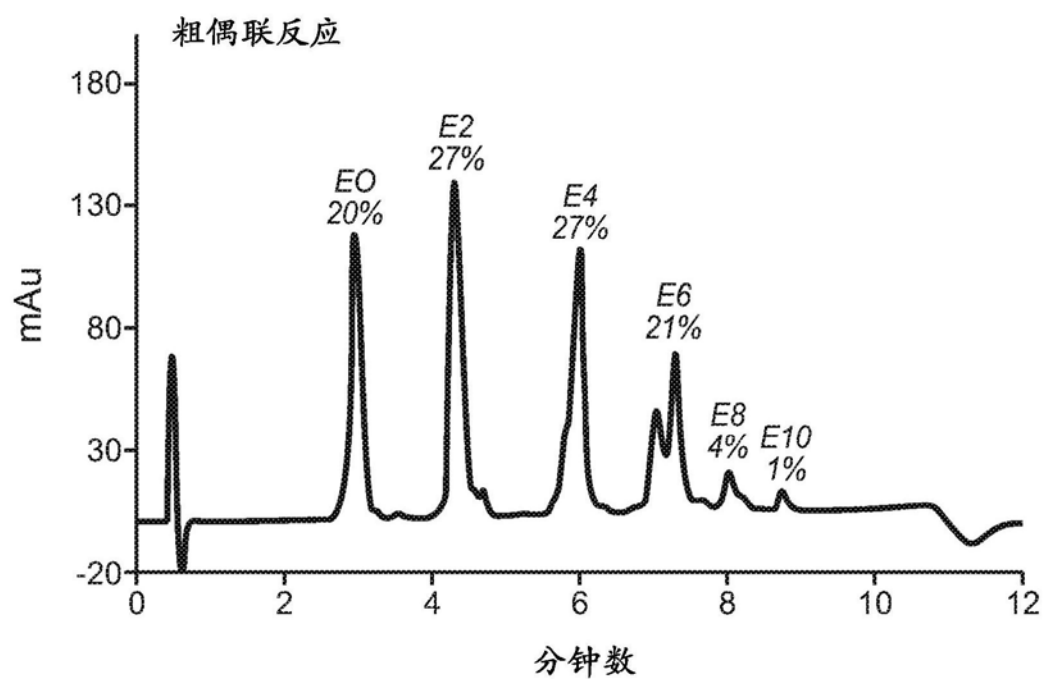


图3A

ABBV-399过程II：粗偶联反应混合物与柱HIC处理的物质的比较

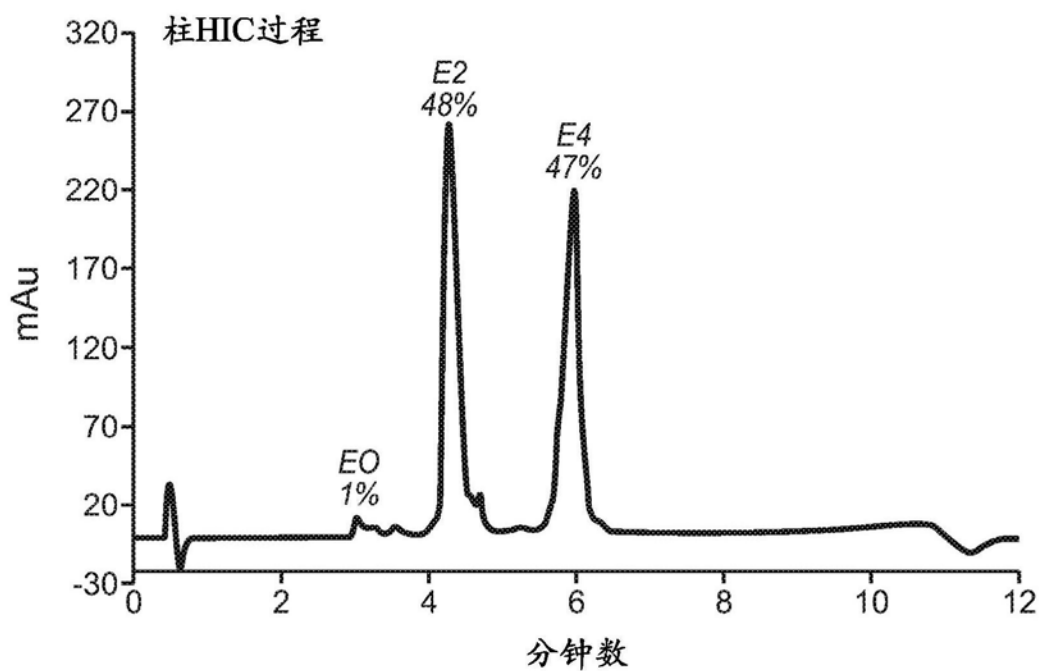


图3B

ABBV-399对表达c-Met的肿瘤细胞系的细胞毒性

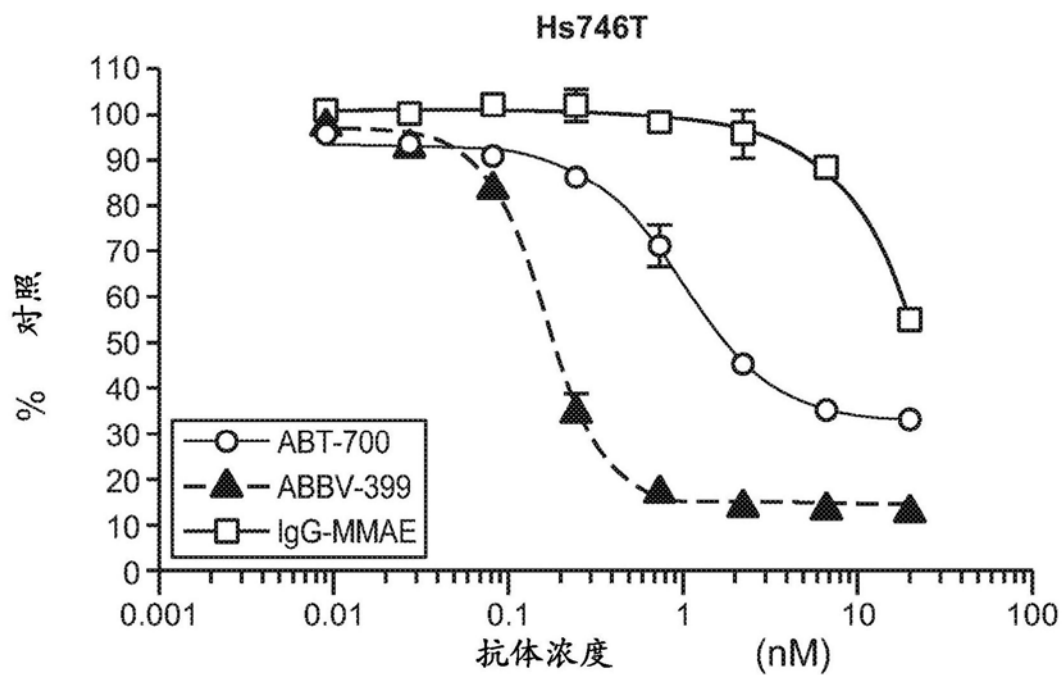


图4A

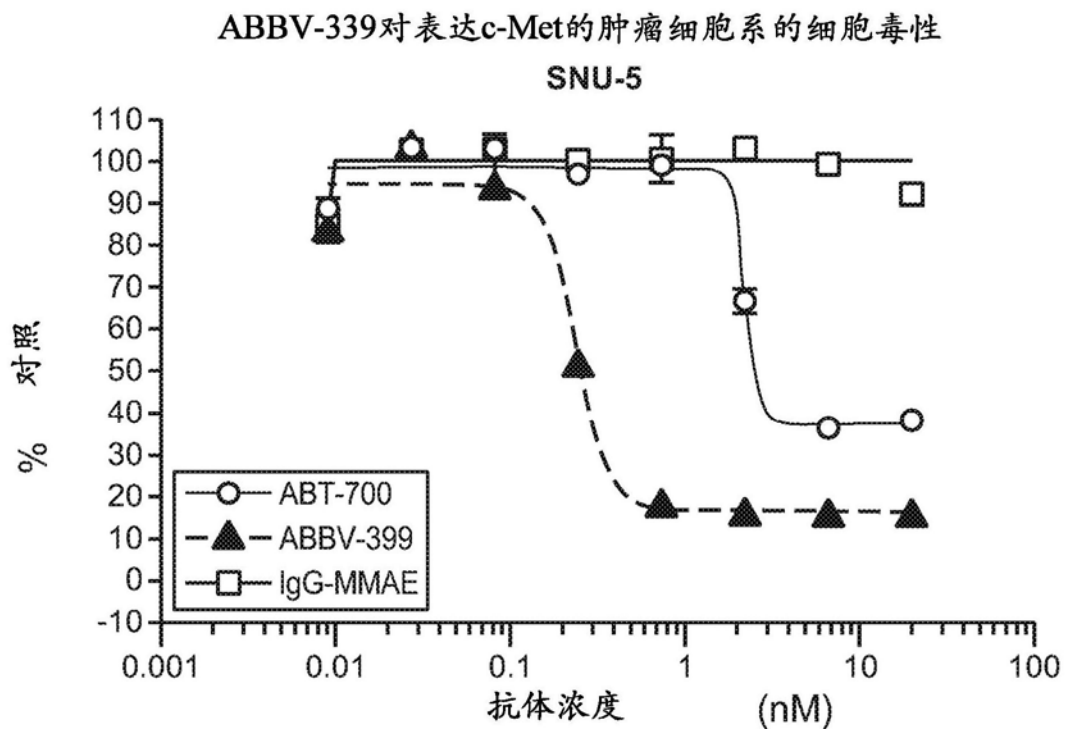


图4B

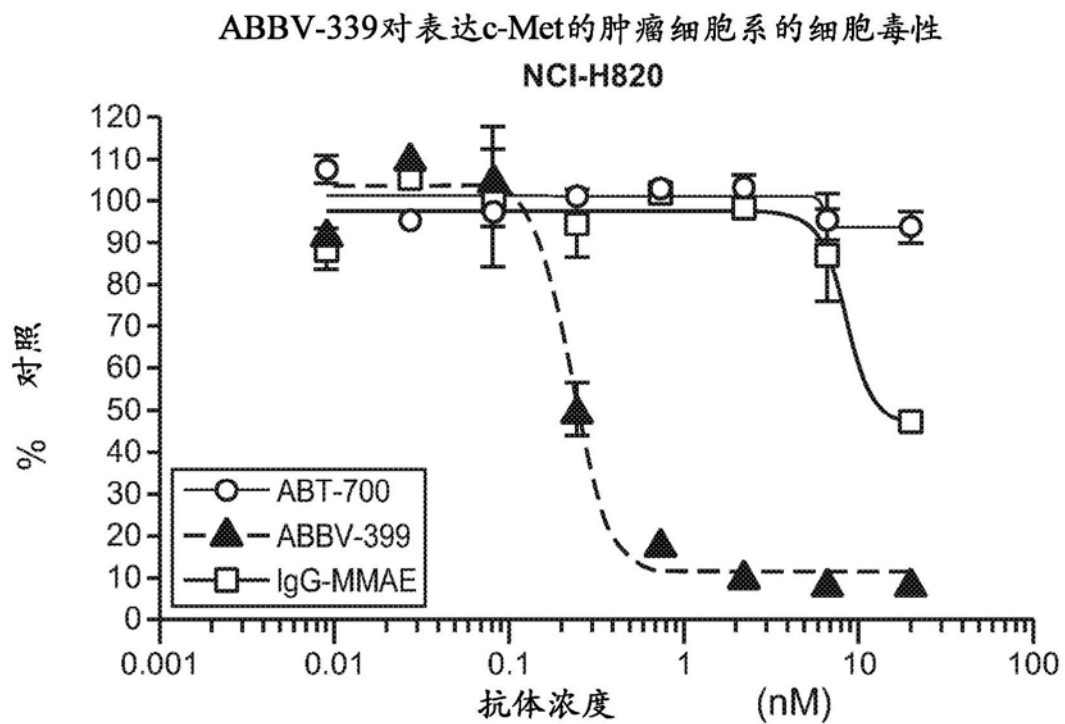


图4C

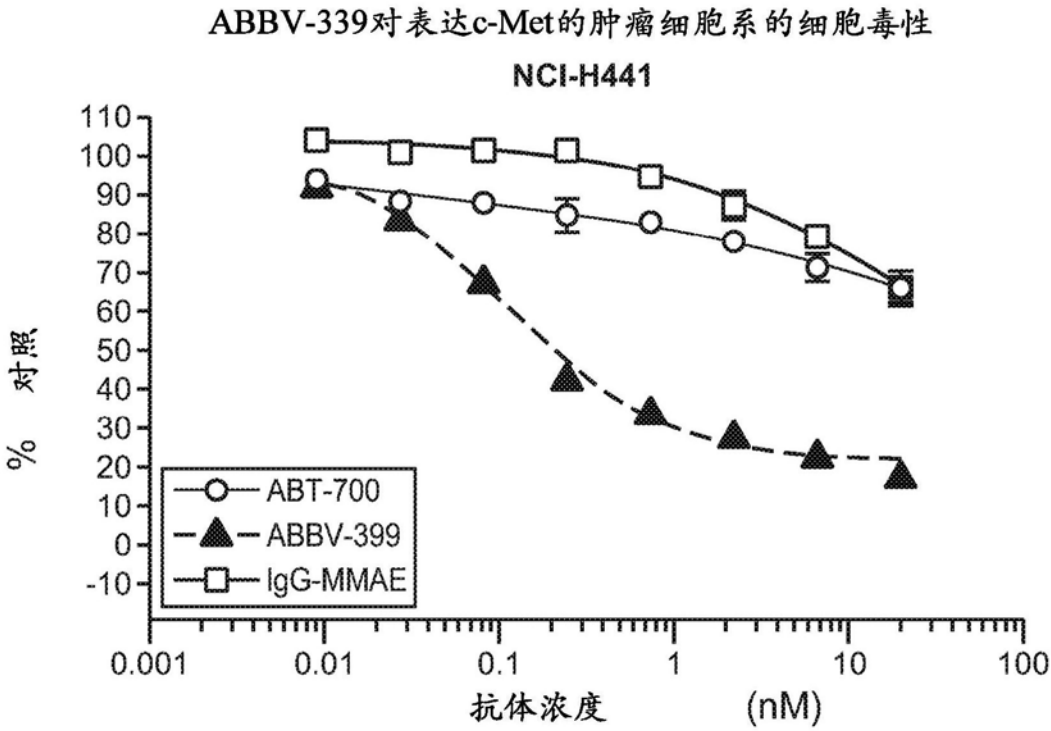


图4D

使用ABT-700-PBD的增殖抑制结果

细胞系	细胞毒性 IC ₅₀ (nM)		
	ABBV-339	ABT-700-PBD	MMAE/PBD
Hs746T (Ga, amp, 高)	0.073	0.018	4.1
EBC -1 (Lu, amp, 高)	0.079	0.095	0.8
H441 (Lu, 高)	0.09	0.01	9
BT-20 (Br, 低)	0.23	0.1	2.3
A549 (Lu, 低)	1.36	0.1	13.6
U87MG (GBM, 低)	18.76	0.21	89.3
M059J (GBM, 低)	3.6	0.02	180
U118MG (GBM, 低)	0.54	0.2	2.7
KP4 (Pa, 低)	3.84	0.02	192
SW48 (CRC, 低)	>20	0.0029	>1000
NHEK (角质细胞)	无	无	n/a

图5

ABT-700 PBD在结肠直肠癌系中的体外活性

CRC 系	ADC和游离药物IC ₅₀ (nM)					ABBV-399 结果		
	ABT-700 PBD	Ab095 PBD	Ab095 MMAF	PBD	MMAE	最大抑制 (20 nM)	IC ₅₀ (nM)	受体/细胞
SW1116	0.03	37.4	> 133	0.78	9.92	与对照相同		~75K
HCT-116	0.005	42.6	> 133	0.49	4.81	与对照相同		68K
LoVo	0.074	41.2	> 133	0.09	2.25	与对照相同		
SK-CO-1	~0.001	9.85	> 133	0.02	0.54	与对照相同		~100K
SW620	0.005	21.3	> 133	~0.008	0.92	与对照相同		
CaCO2	ambig	41.1	> 133	0.42	2.64	与对照相同		43K
DLD-1	0.004	21.3	> 133	0.14	46.2	与对照相同		
Colo 201	0.007	19	> 133	~0.12	1.4	与对照相同		105K
HCT-15	> 67 (不确定的)	> 133	> 133	0.12	> 100	与对照相同		4k
RKO	0.01	28.1	> 133	~0.006	0.67	与对照相同	9	161K
HT-29	0.004	26.2	> 133	~0.01	1.1	70%		
Colo 205	0.02	27.4	> 133	< 0.001	1.18			
T84	0.1	53	> 133	0.037	7.64			
SW403	0.006	11.4	> 133	< 0.001	0.65			
SW1463	0.013	10.3	> 133	0.011	1.1			
LS1034	0.04	43.6	> 133	0.32	~32			
Colo320 DM	0.02	58.1	> 133	0.029	33.9			
Colo320 HSR	0.04	> 133	> 133	0.05	33			
LS174T	0.001	4.6	> 133	1.15	3			
SW48	< 0.001	1.9	~46	< 0.001	0.24	与对照相同		24K
SW480	26	56.4	> 133	0.02	2			
WiDr	0.01	34.8	> 133	0.012	0.5			

图6A

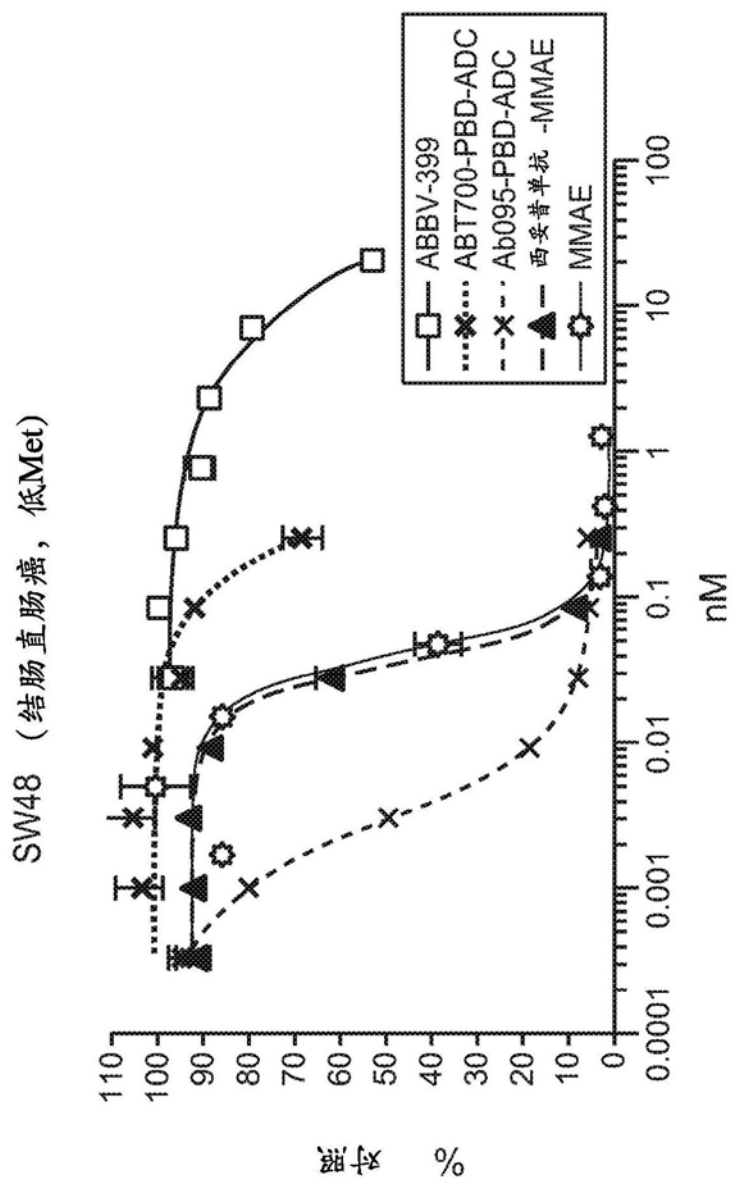


图6B

ABT-700 PBD在脑肿瘤系中的体外活性

脑癌系	ADC和游离药物IC ₅₀ (nM)					ABBV-399 结果		
	ABT-700 PBD	PBD	MMAE	Ab095 PBD	Ab095 MMAF	最大抑制 (20 nM)	IC ₅₀ (nM)	受体/细胞
U87MG	0.08	0.13	1.2	32.9	54.4	60%	18	21K
U138MG	< 0.001	0.18	0.54	23.3	22.8	90%	0.1	31K
T98G	141	0.34	2.1	> 133	> 133	与对照相同		
U251	< 0.007	< 0.002	1.47	9.2	> 133	与对照相同		
MO59J	< 0.001	0.05	2.3	26	> 133	60%	3.6	87K
MO59K	< 0.001	0.072	3.5	12.2	> 133	与对照相同		
A172	> 67 (不确定的)	0.41	2.1	36.4	49.7	与对照相同		
PFSK-1	2.45	0.2	0.68	4.64	48.7	与对照相同		
DBTRG-05MG	< 0.001	0.21	2.1	26	> 133	与对照相同		
SNB-19	0.006	0.017	1.5	39.2	59.3	65%	8	66K
SNB-75	28.2	0.015	1.8	42.6	91.9	与对照相同		
SF-539	0.035	0.015	3.8	50	> 133	与对照相同		
SF-264	0.005	0.023	3	24.3	103			
CHLA-03-AA	0.97	0.045	2.8	14.8	51.5			

图7

ABT-700-PBD在SW-48异种移植瘤中的体内活性 (CRC, IHC 1+)

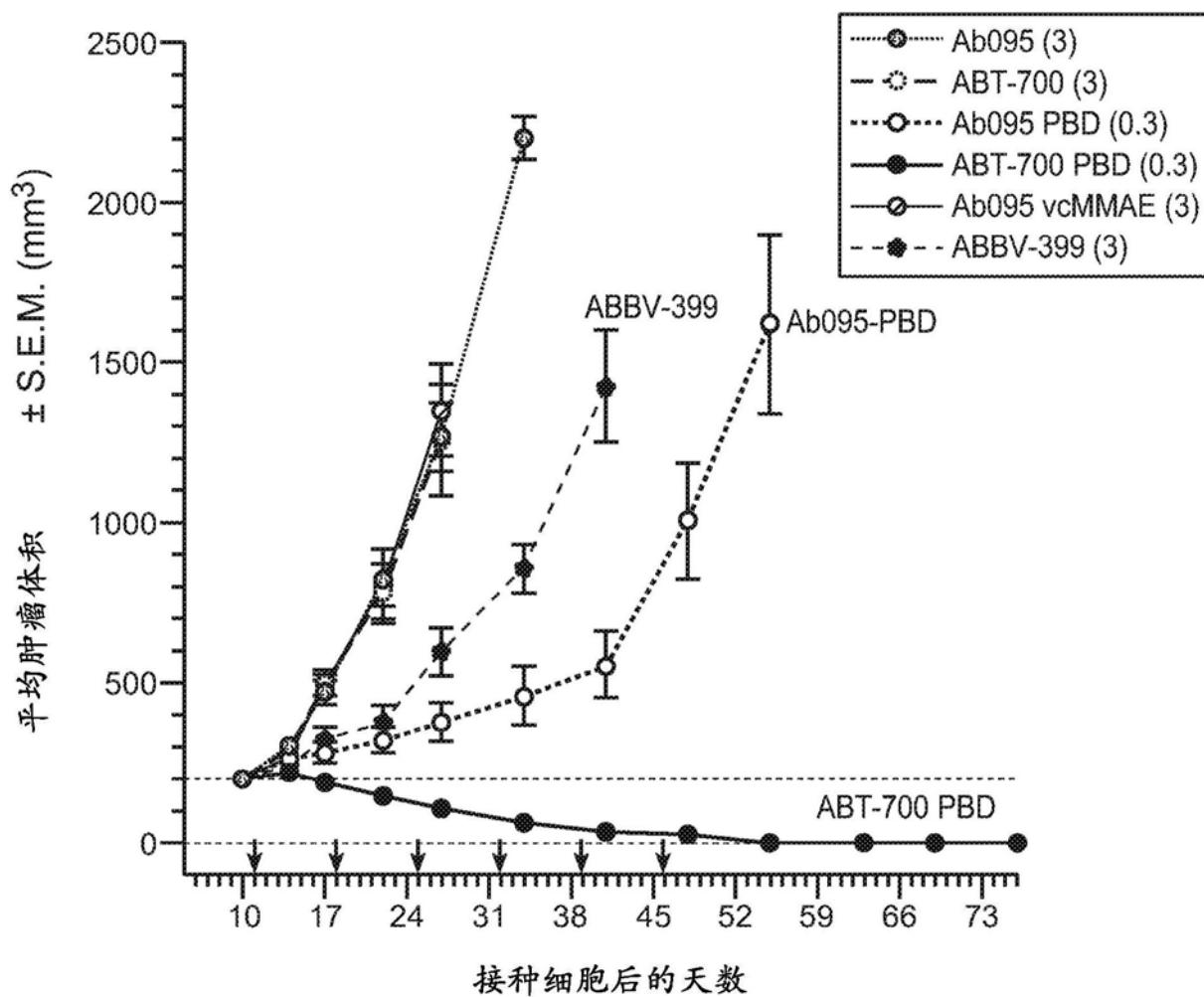


图8

NSCLC PDX模型：ABBV-399和
ABT-700 PBD的评价

CTG-0363

NSCLC: c-Met 表达 (105.52)

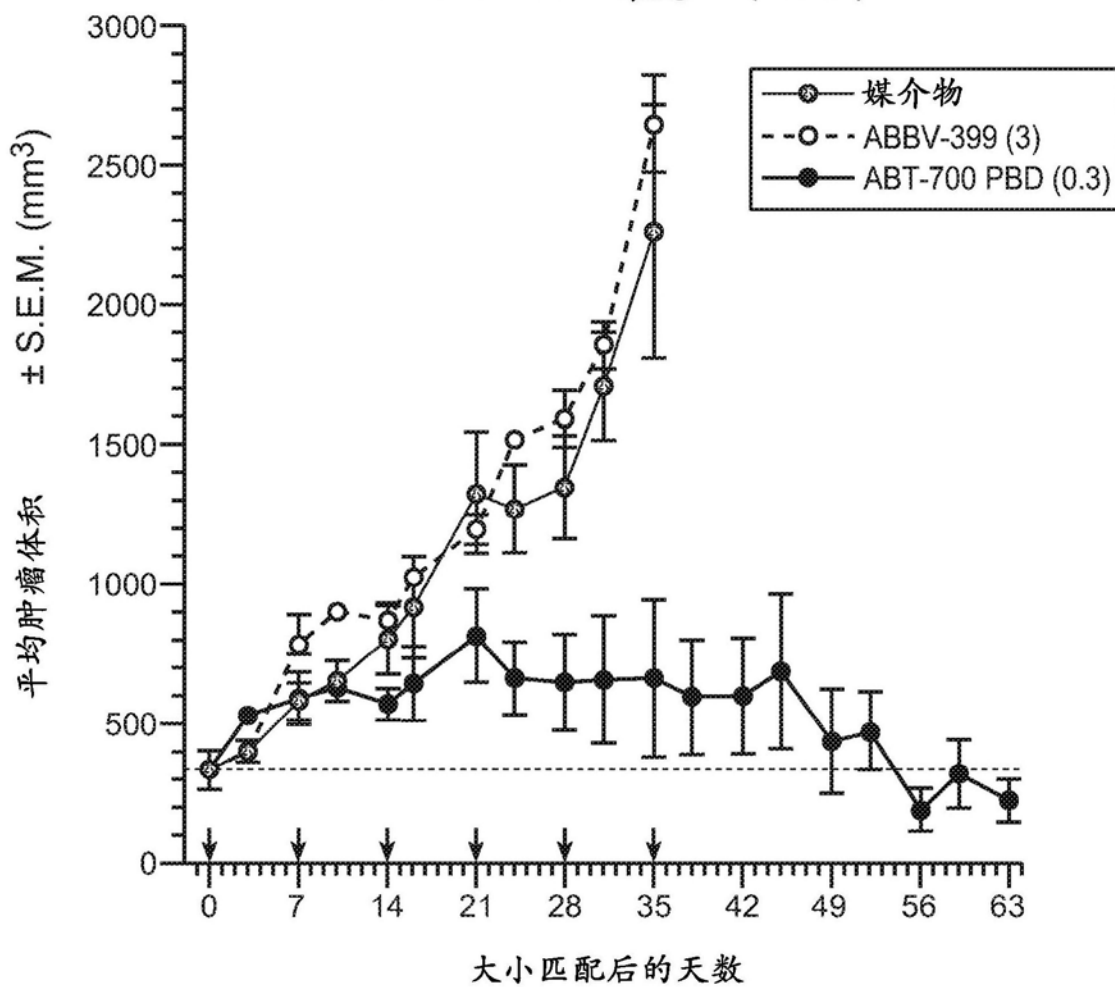


图9A

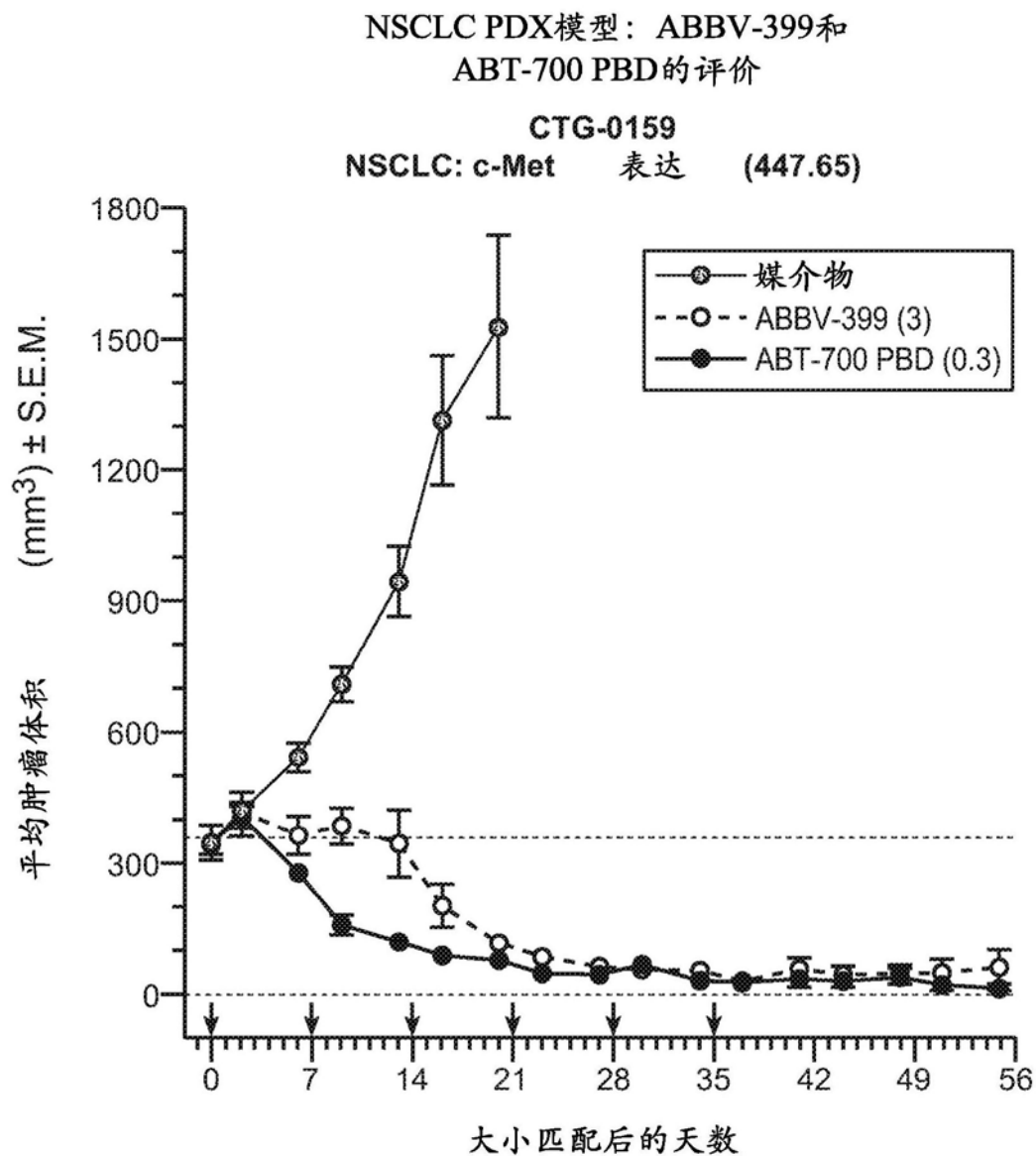


图9B

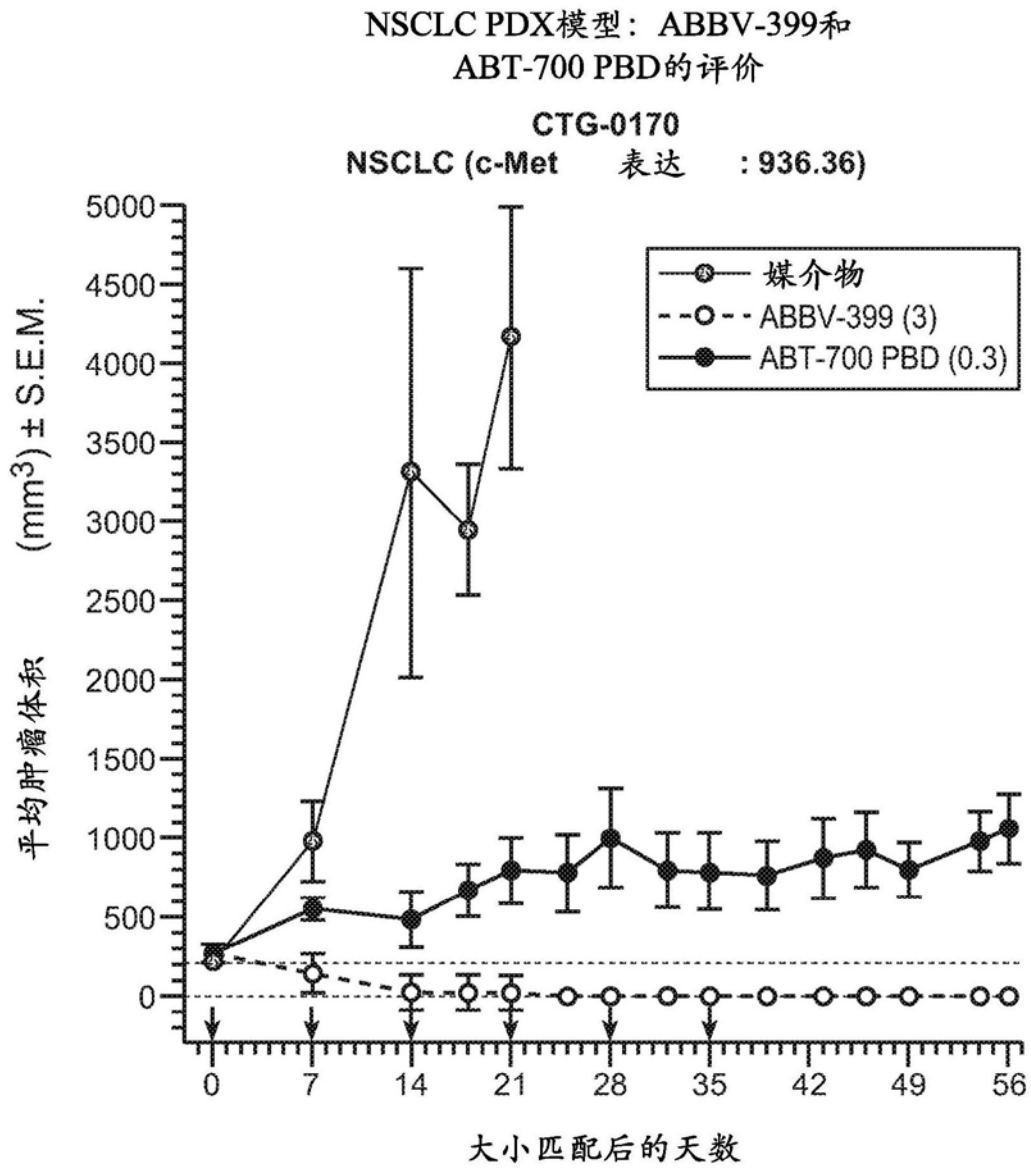


图9C

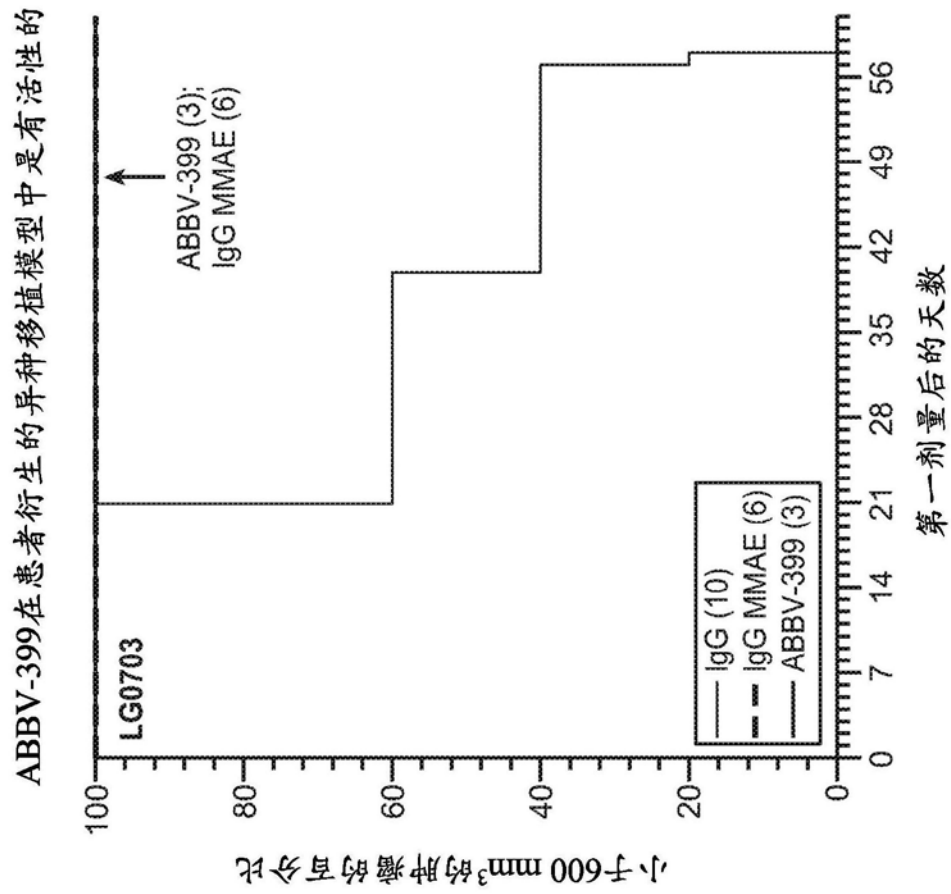


图10A

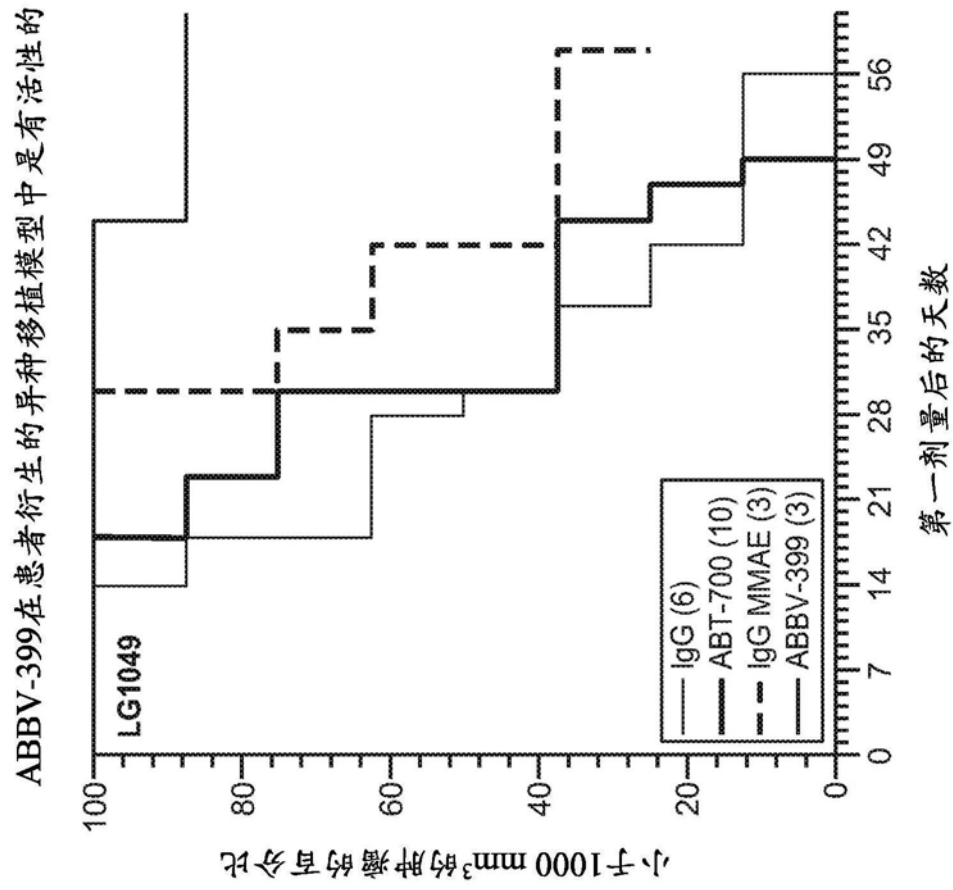


图10B

单独地以及组合地，ABBV-399对人肿瘤异
种移植模型的疗效

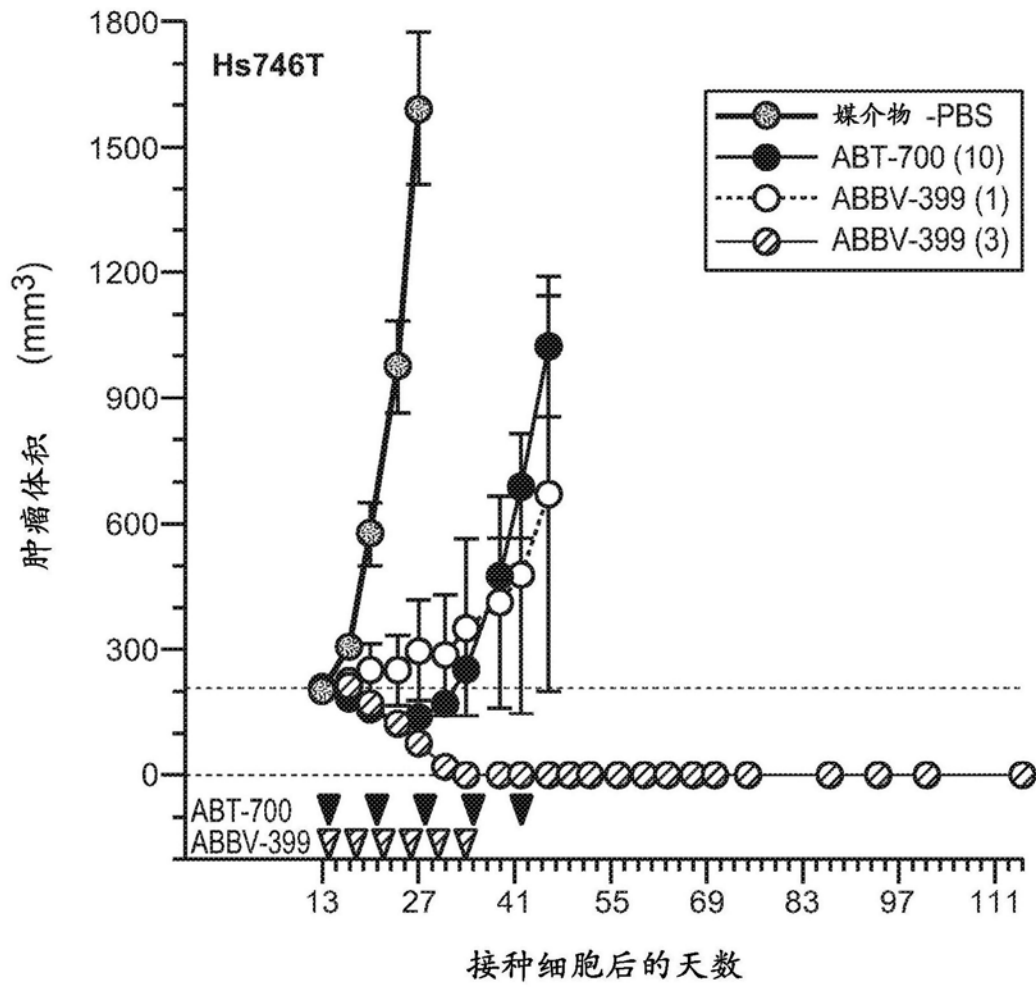


图11A

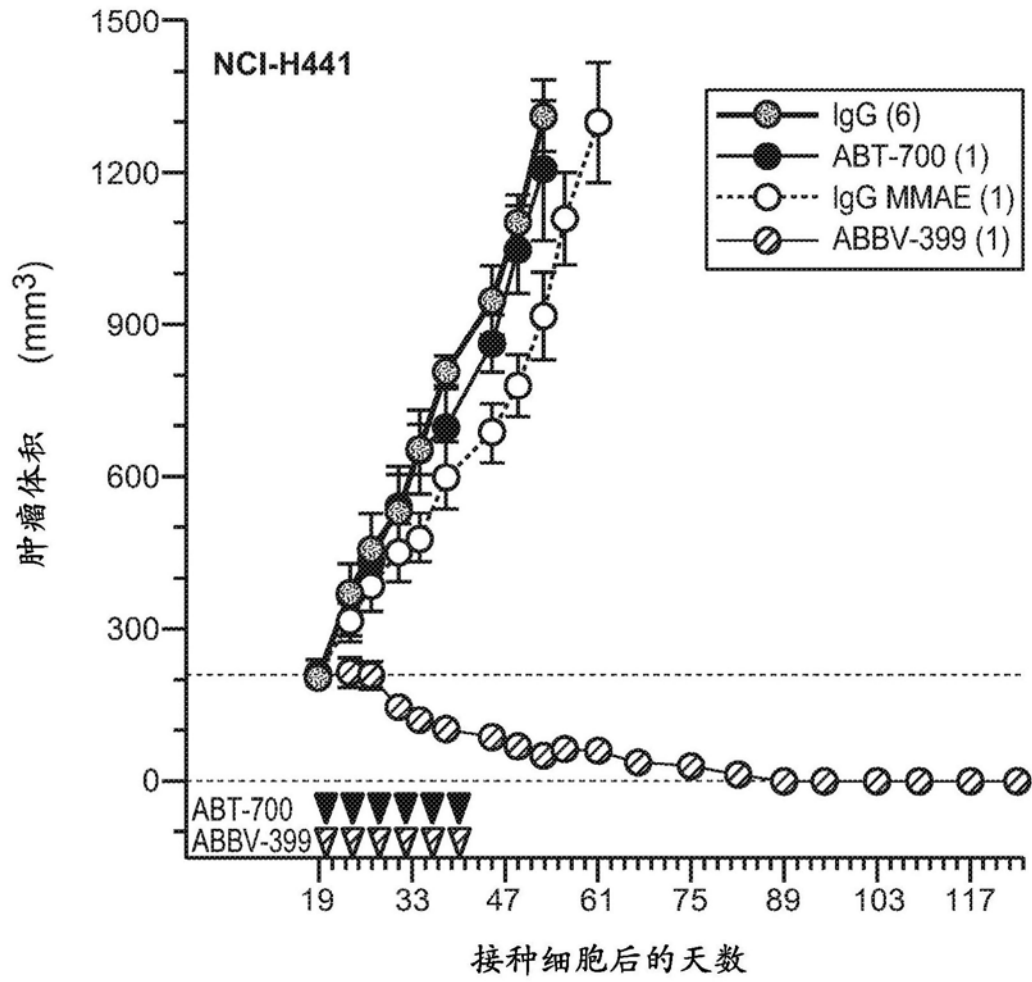


图11B

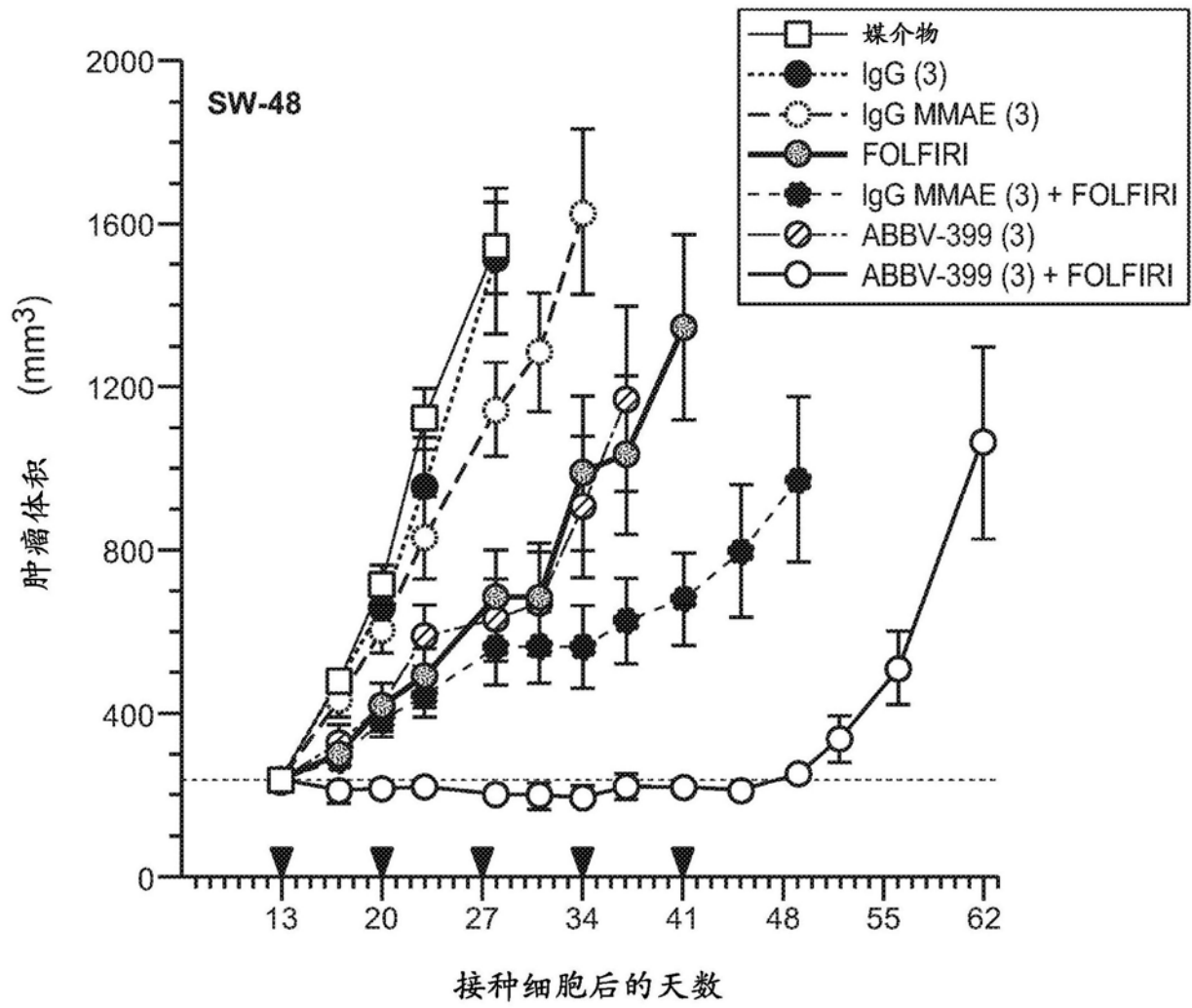


图11C

ABBV-399对ABT-700难治性人肿瘤异
种移植模型的疗效

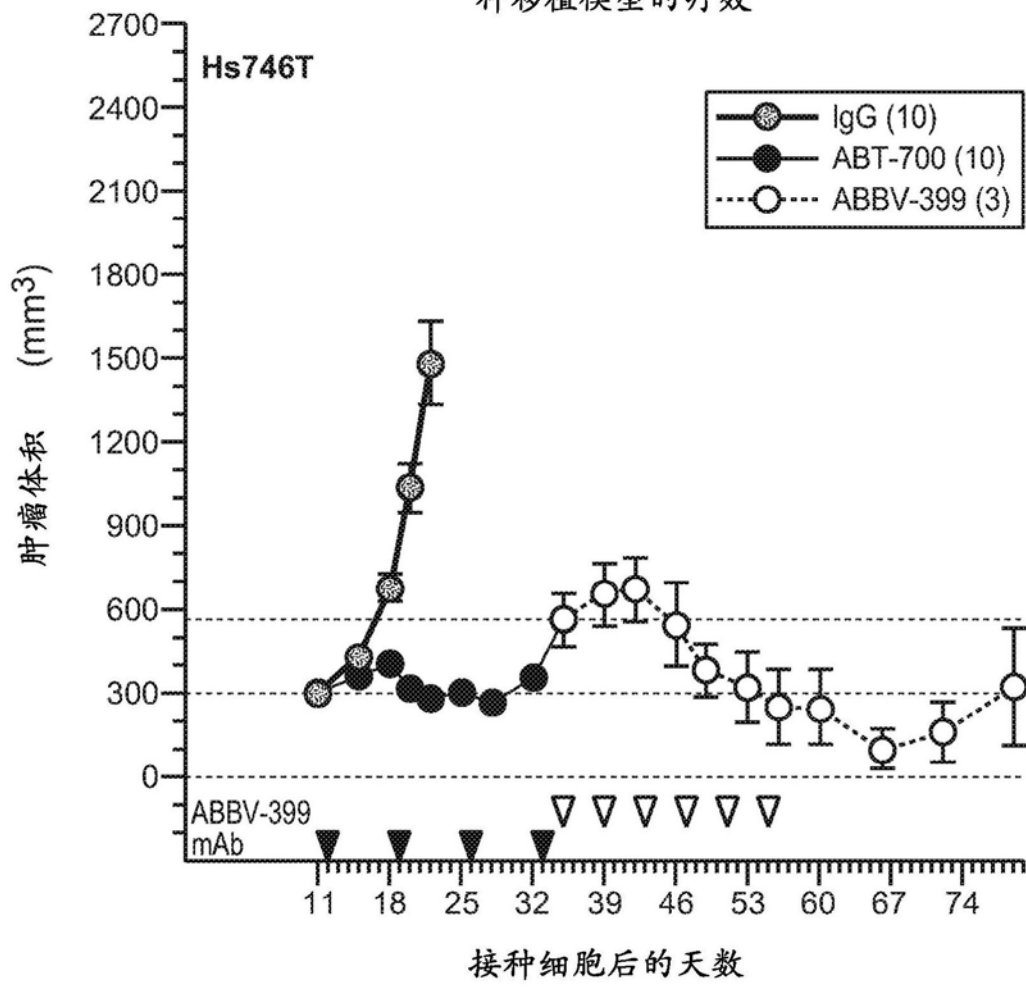


图12A

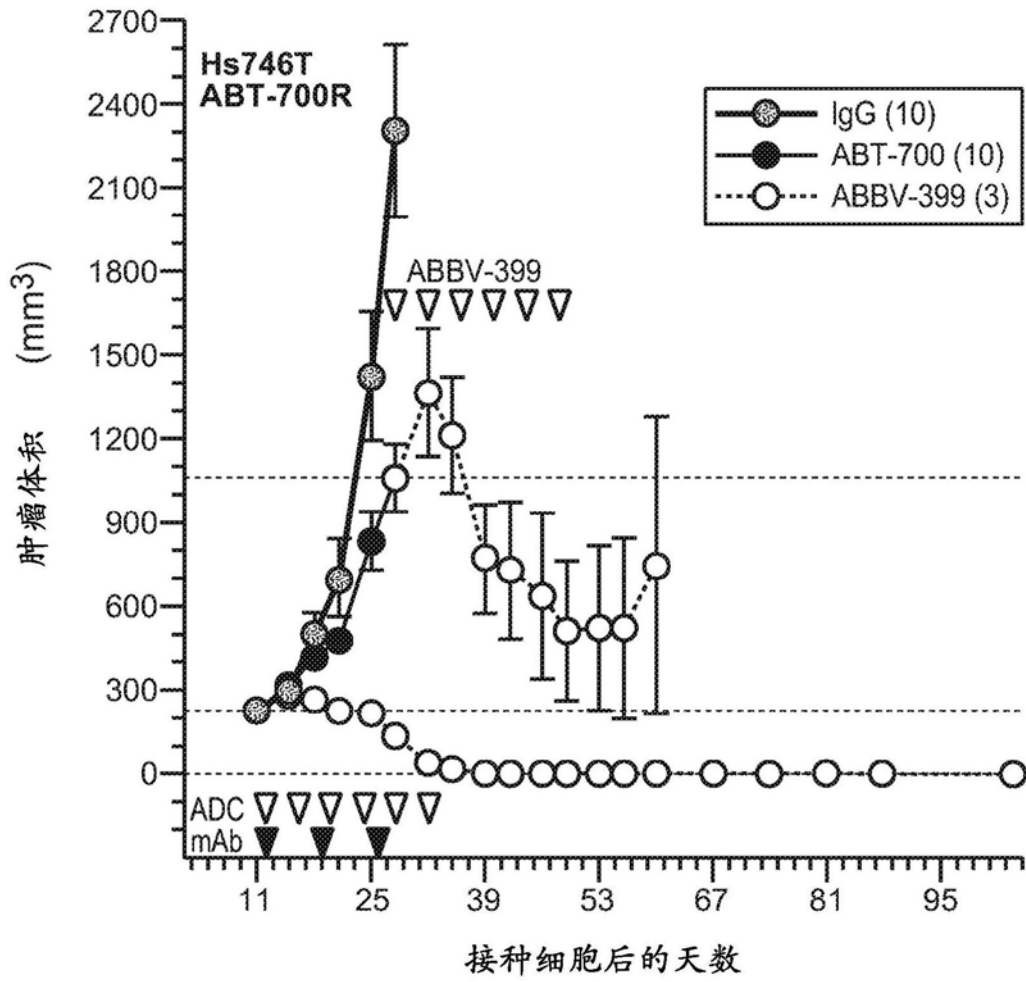


图12B

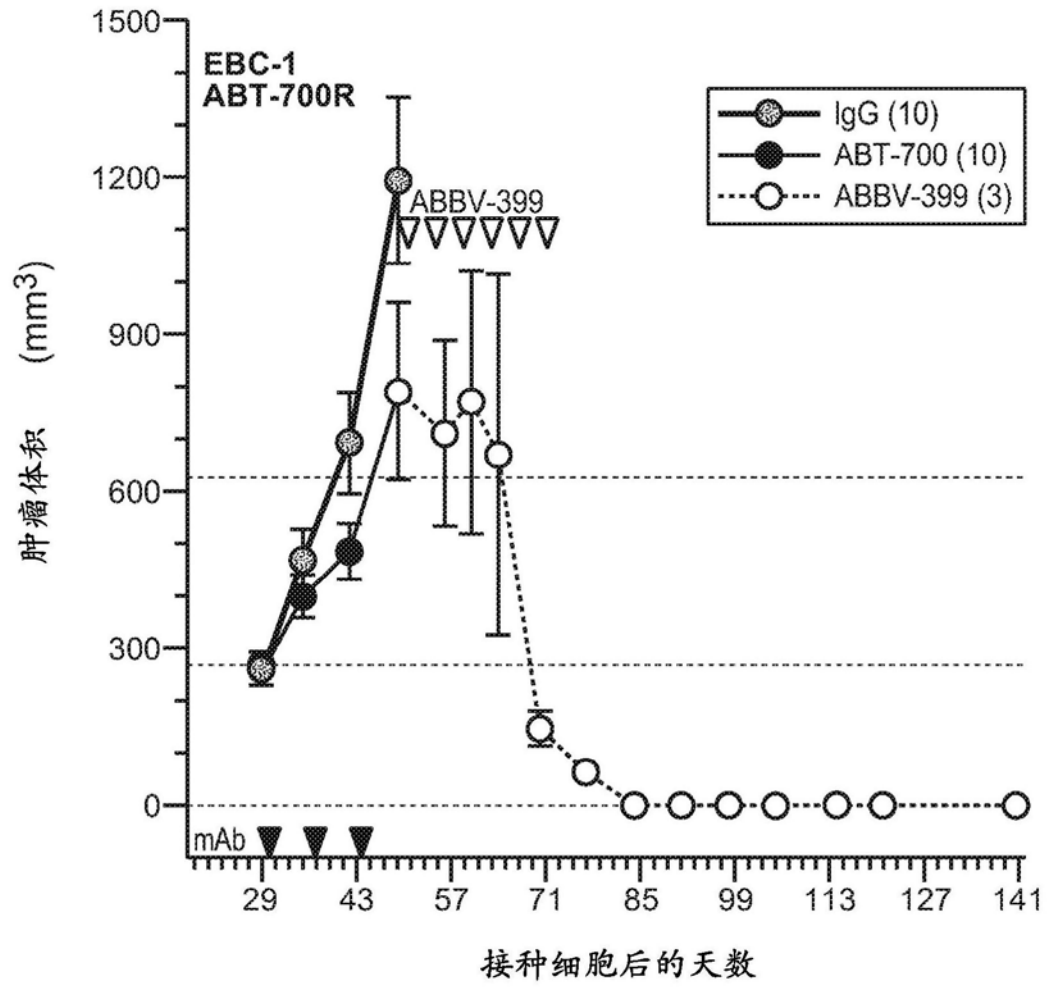
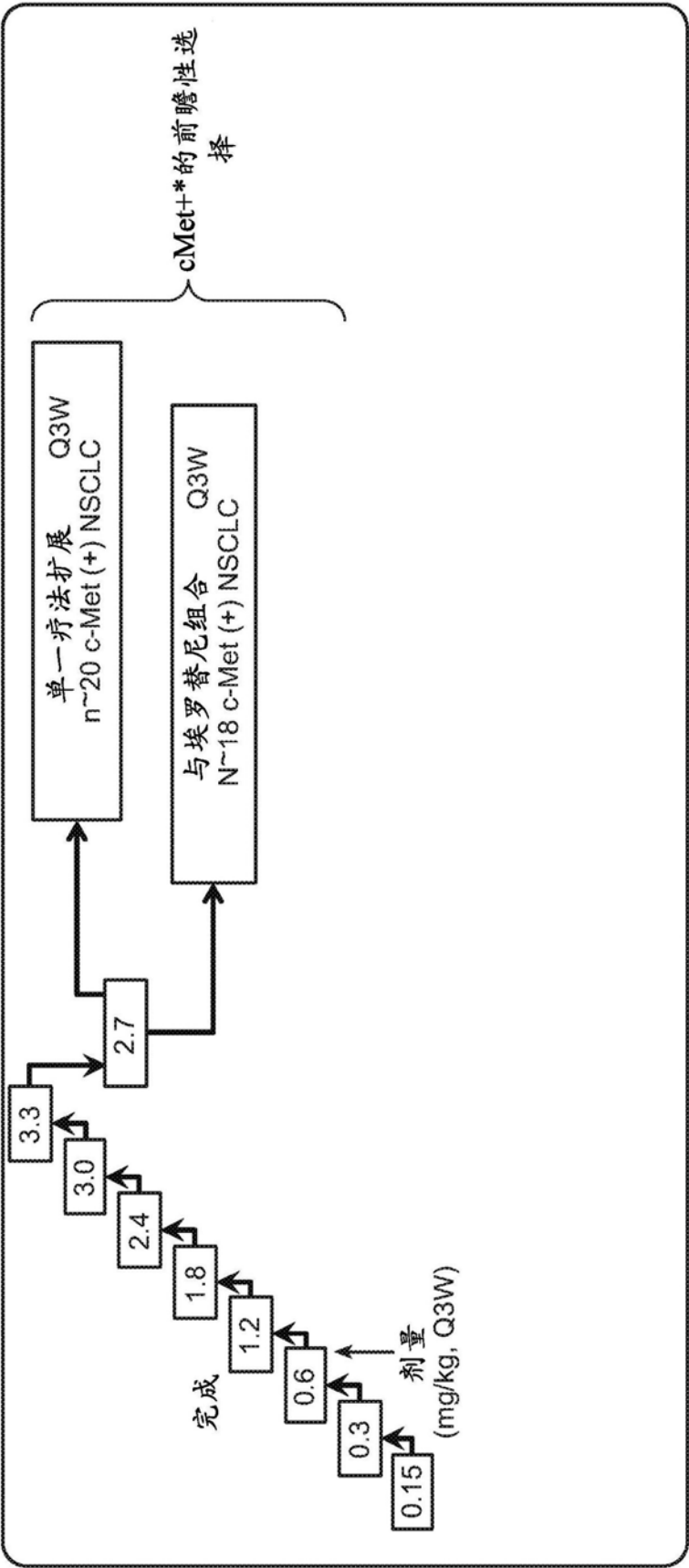


图12C

ABBV-399的1期数据评审



* c-Met+ = H-评分 ≥ 150

图13

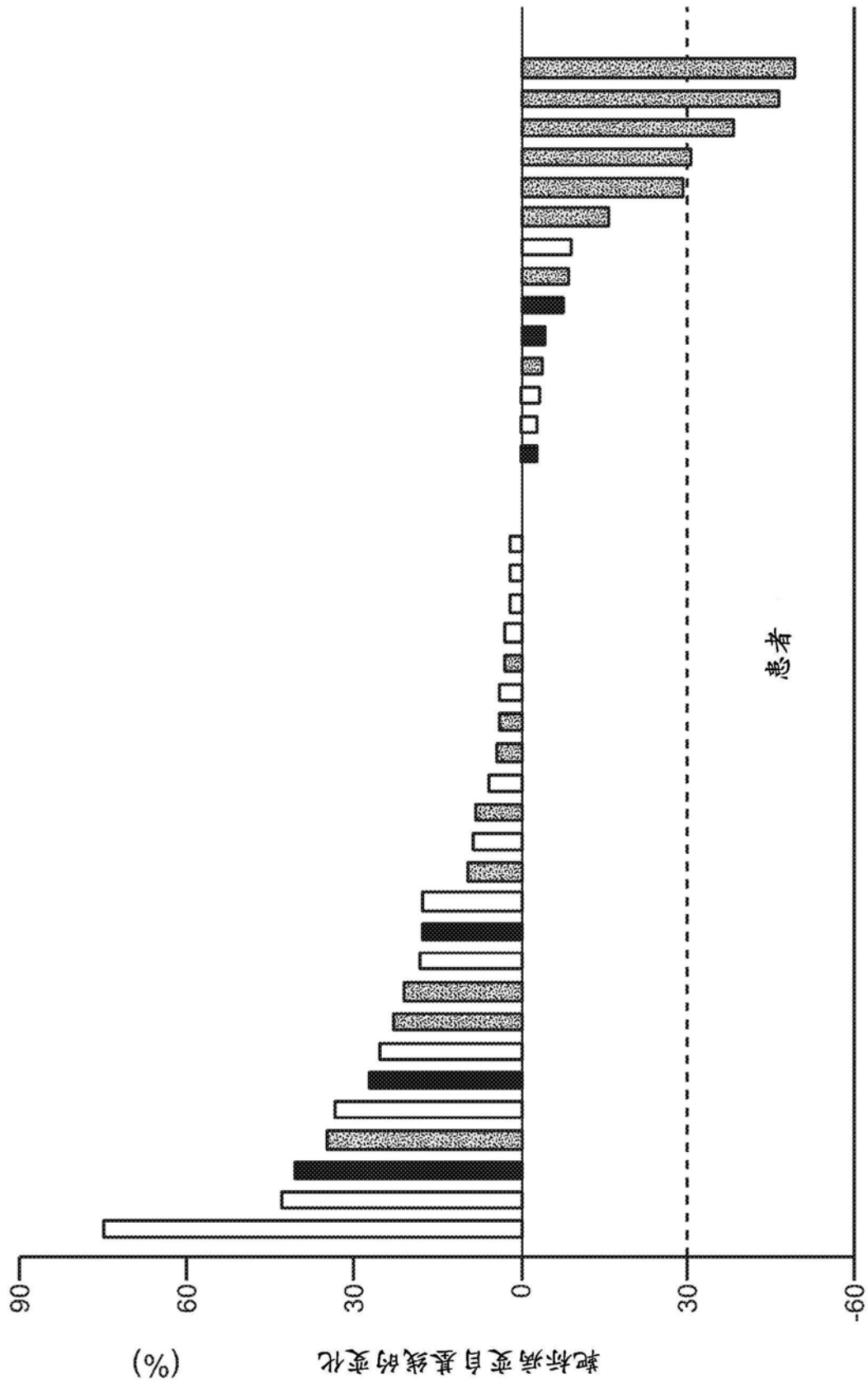


图14

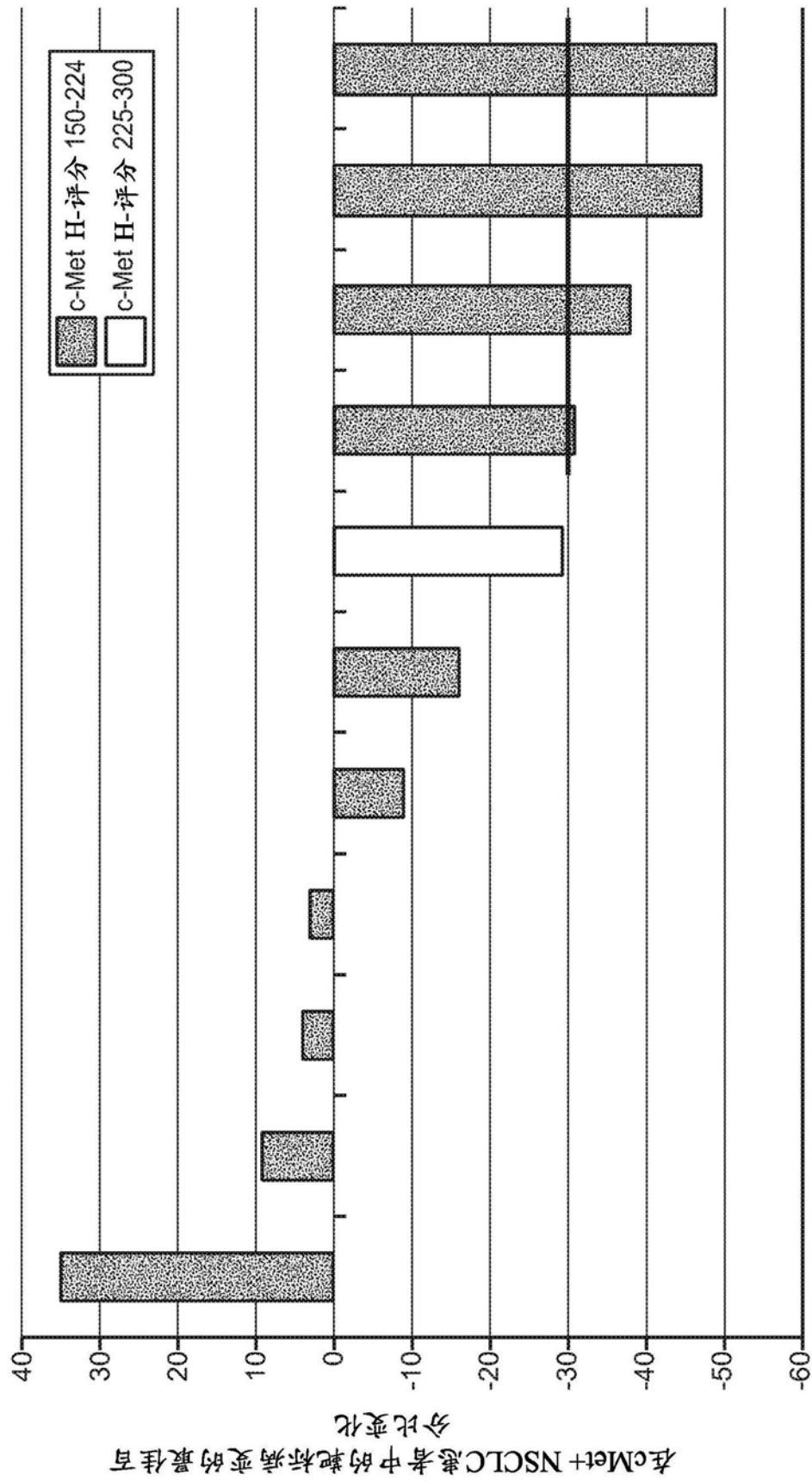


图15

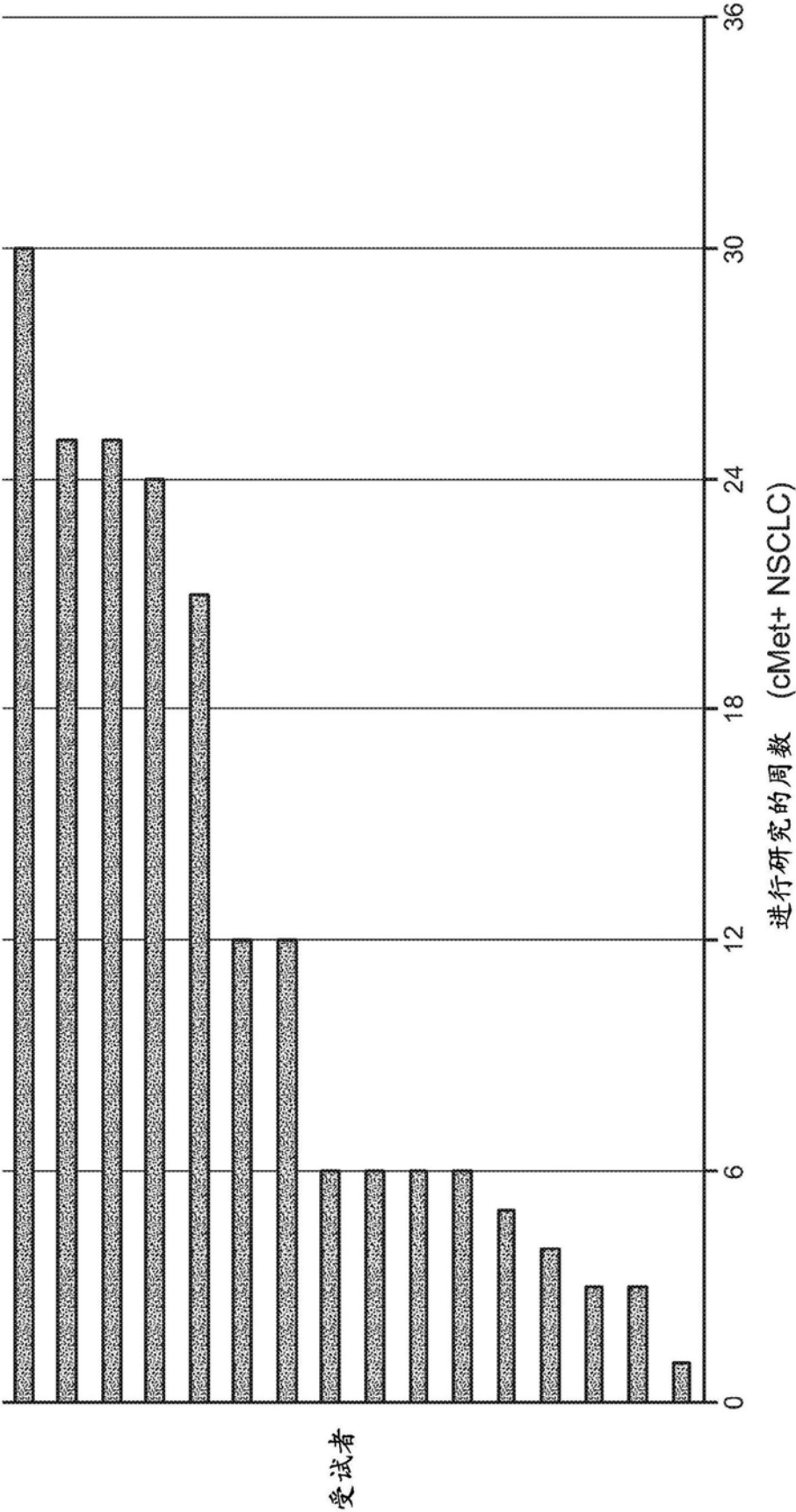


图16

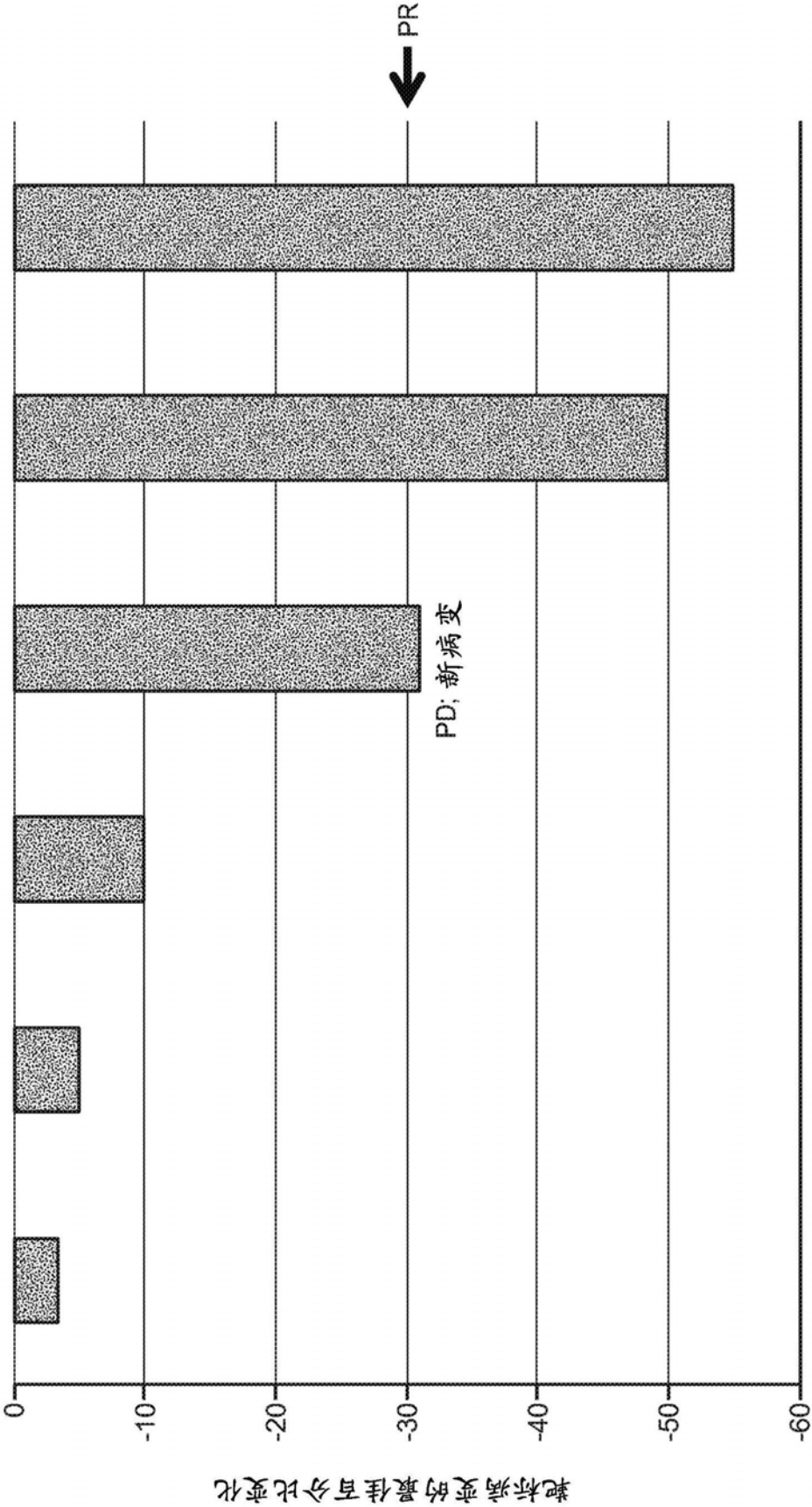


图17

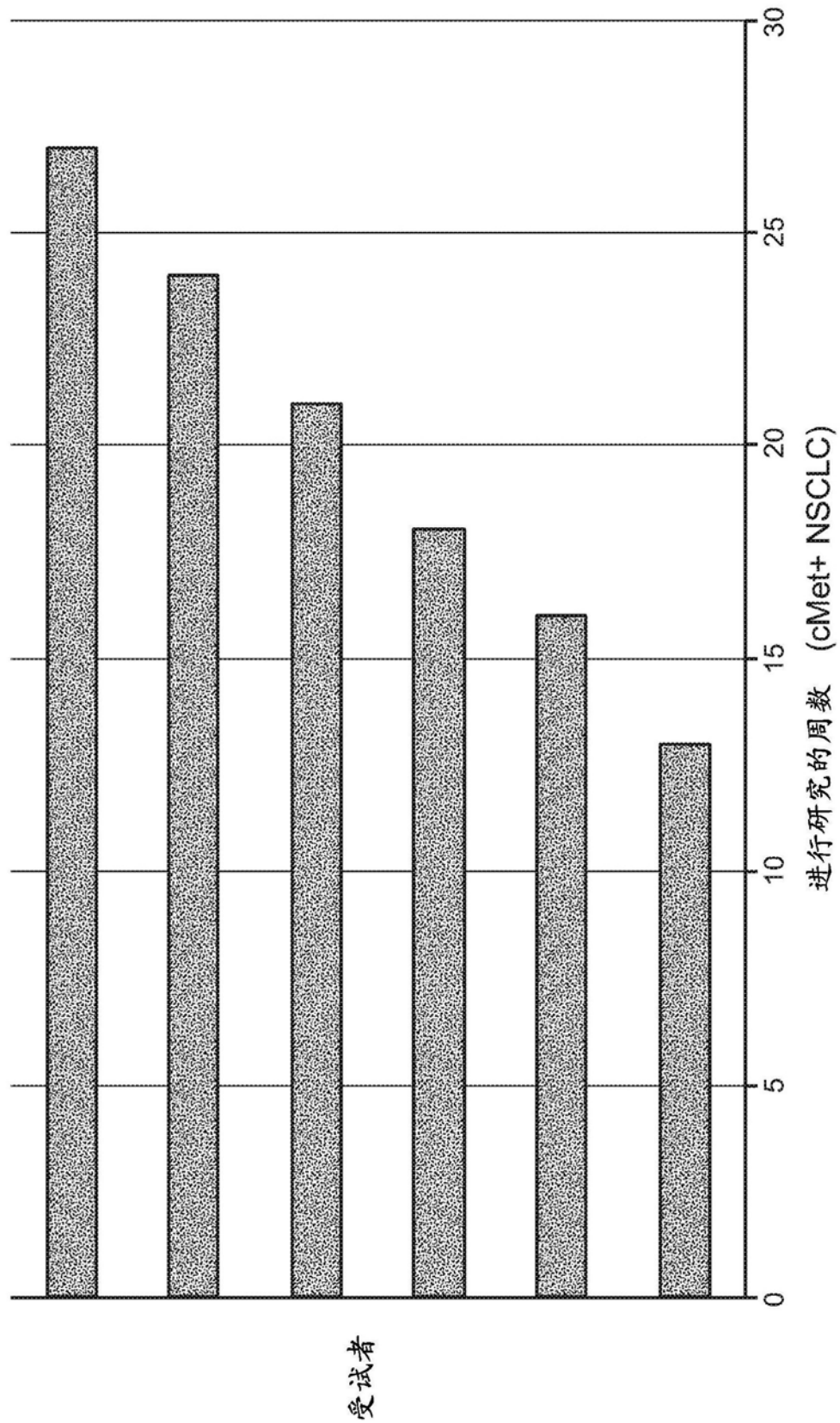


图18

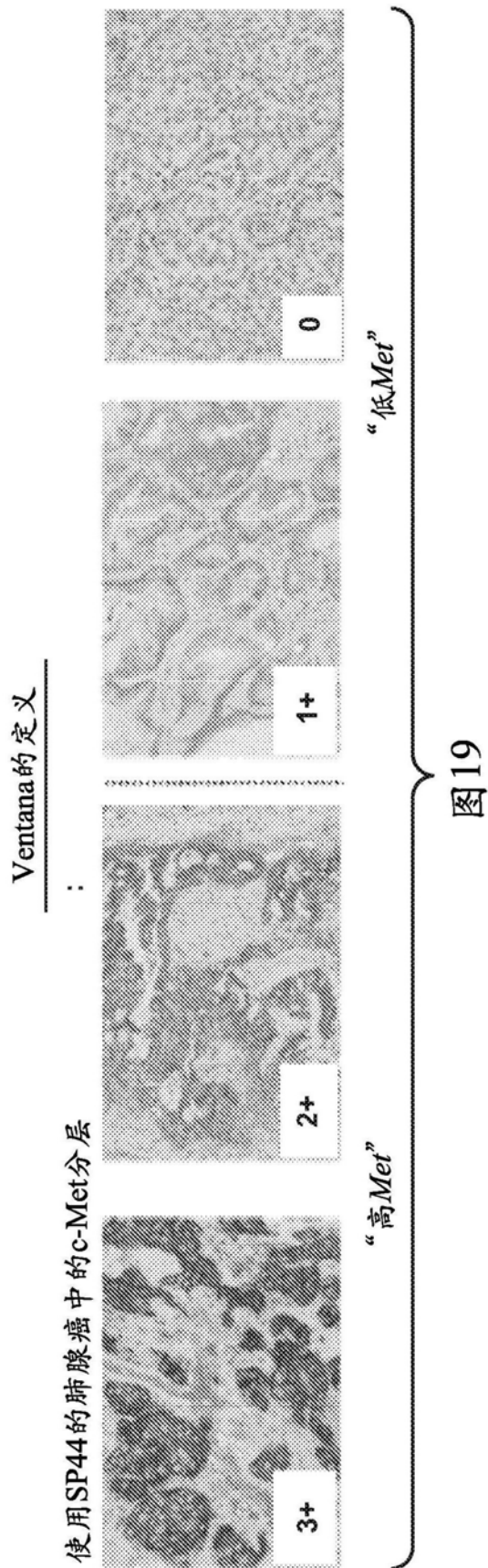


图19

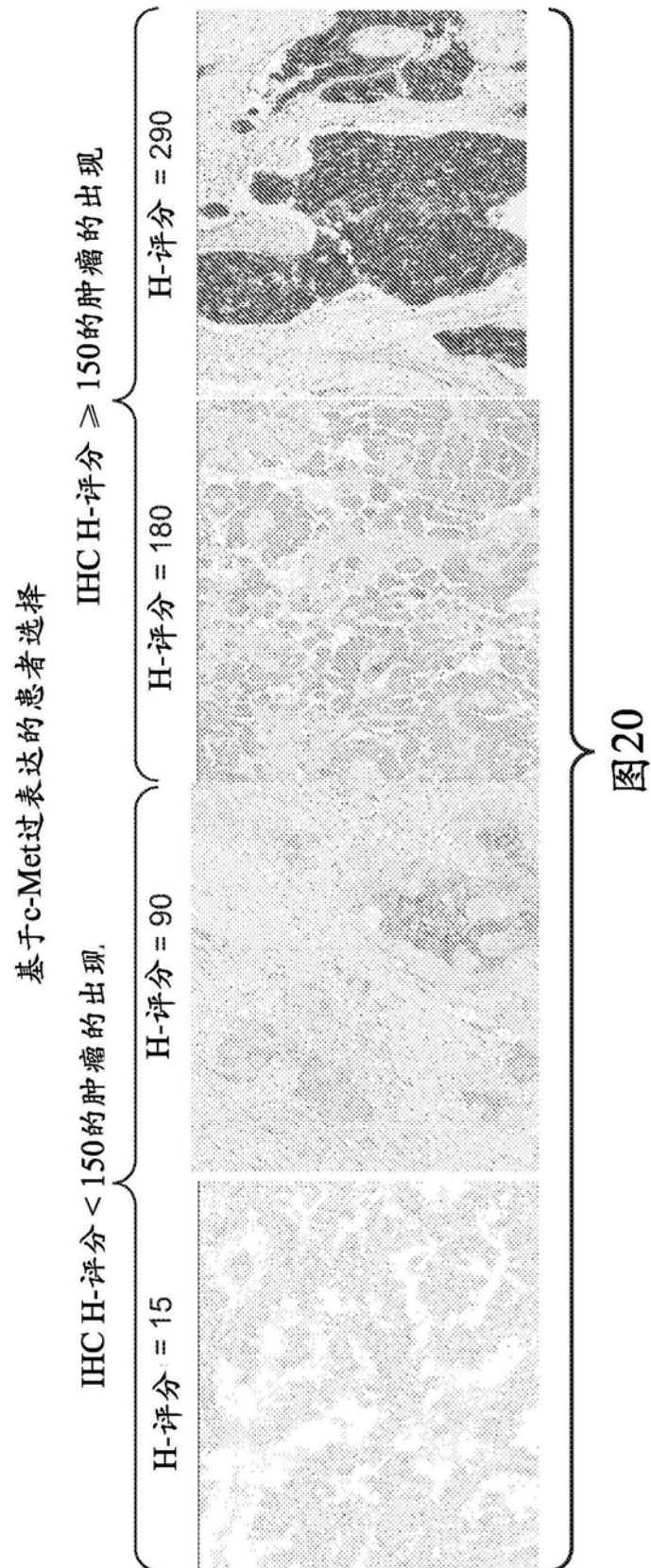


图20

用“cMet ABBV-ADC染色方案”获得的代表性IHC评分。

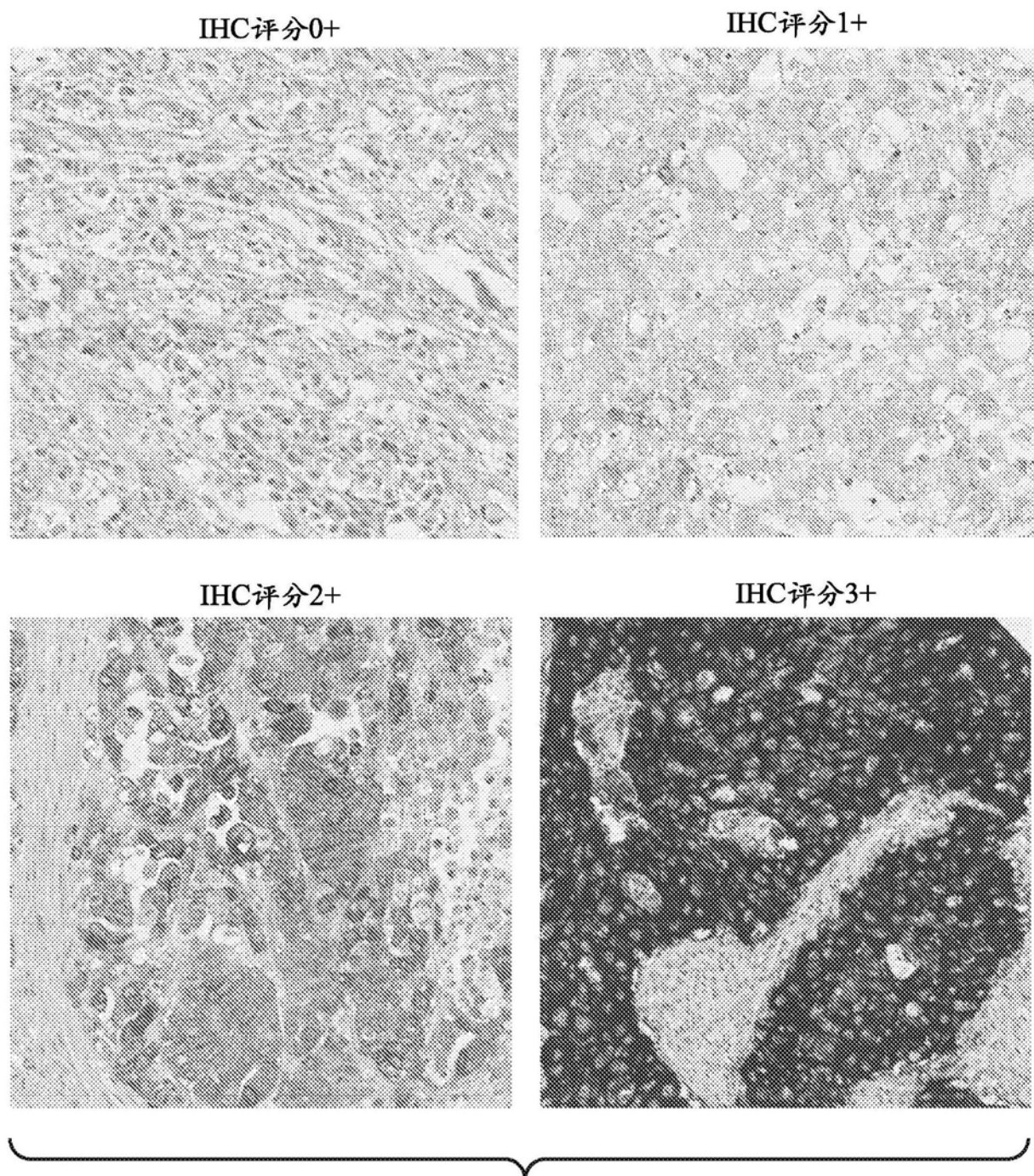


图21

图21