

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2022 年 5 月 27 日 (27.05.2022)



(10) 国际公布号
WO 2022/105839 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61K 39/395 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2021/131542
- (22) 国际申请日: 2021 年 11 月 18 日 (18.11.2021)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
202011301761.2 2020 年 11 月 19 日 (19.11.2020) CN
- (71) 申请人: 百奥泰生物制药股份有限公司 (BIO-THERA SOLUTIONS, LTD.) [CN/CN]; 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A6 栋第五层刘艳丽, Guangdong 510530 (CN)。
- (72) 发明人: 梁世忠 (LIANG, Shizhong); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A6 栋第五层刘艳丽, Guangdong 510530 (CN)。梁炳辉 (LIANG, Binghui); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A6 栋第五层刘艳丽, Guangdong 510530 (CN)。俞金泉 (YU, Jin-Chen); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A6 栋第五层刘艳丽,

Guangdong 510530 (CN)。李骁 (LI, Xiao); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A6 栋第五层刘艳丽, Guangdong 510530 (CN)。宋述强 (SONG, Shuqiang); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A6 栋第五层刘艳丽, Guangdong 510530 (CN)。李胜峰 (LI, Shengfeng); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道 11 号 A6 栋第五层刘艳丽, Guangdong 510530 (CN)。

- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,

(54) Title: USE OF ANTI-OX40 ANTIBODY FOR TREATING TUMORS OR CANCERS

(54) 发明名称: 抗 OX40 抗体在治疗肿瘤或癌症中的应用

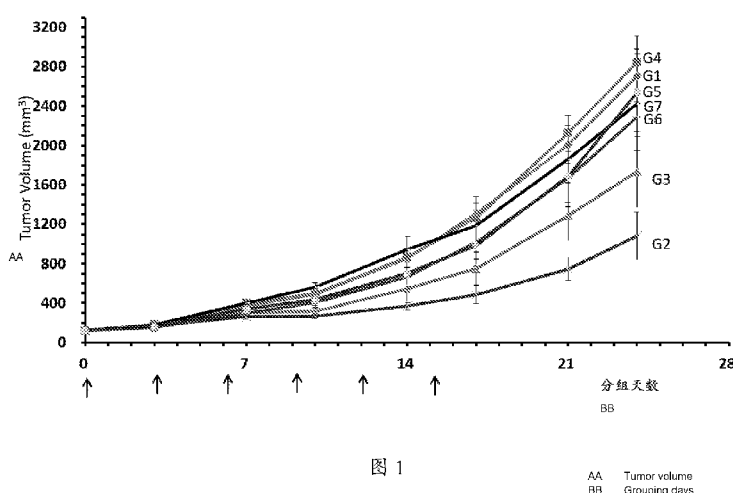


图 1

AA Tumor volume
BB Grouping days

(57) Abstract: Disclosed is the use of an anti-OX40 antibody for treating tumors or cancers. The treatment method comprises administering an effective amount of the anti-OX40 antibody to a patient in need thereof.

(57) 摘要: 本发明公开了抗 OX40 抗体在治疗肿瘤或癌症中的应用, 治疗方法包括向有需要的患者给药有效量的抗 OX40 抗体。

[见续页]

NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布：

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

抗 OX40 抗体在治疗肿瘤或癌症中的应用

技术领域

本发明属于生物医药领域，尤其涉及抗 OX40 抗体在治疗肿瘤或癌症中的应用。

背景技术

免疫系统的检查点有两类，一类是抑制性的，如 PD-1，一类是激活性的，如 OX40。而免疫系统中 T 细胞的充分激活，需要两级信号。第一信号由 T 细胞抗原受体识别抗原产生，经由 CD3 分子将激活信号转至细胞内；而第二信号被称为共刺激信号，由抗原呈递细胞或者靶细胞表面的共刺激分子与激活的 T 细胞表面的共刺激分子受体相互作用而产生。共刺激信号促进抗原特异性 T 细胞增殖和分化为效应 T 细胞 (Lindsay K 等 Immunity 2016, 44(5):1005-1019)。

OX40，也称为 TNFRSF4、ACT35、CD134 等，属于肿瘤坏死因子受体超家族 (TNFRSF)，其是一种 I 型跨膜糖蛋白。OX40 不在静息的 T 细胞上表达，而是表达于被激活的 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、NK 细胞和 NKT 细胞上 (Paterson DJ 等 Mol. Immunol. 1987; 24:1281-1290)。T 细胞被抗原激活后，会在 1-3 天内高表达 OX40 分子。而 OX40 信号的激活会进一步增强 T 细胞的激活信号，以增强免疫系统的反应 (Gramaglia I 等 J. Immunol. 2000; 165:3043-3050)。

目前，普遍认为，抗 OX40 抗体主要通过以下三种细胞生理机制，激活免疫系统和抑制肿瘤。一是，通过直接激活 CD4⁺和 CD8⁺的效应 T 细胞，促进它们的增殖和生存，以及分泌相关的炎性因子；二是，通过抑制 Treg 的信号和活性，从而减弱其对免疫系统的抑制效果；三是，通过 ADCC 或 ADCP 等，耗竭 Treg 细胞，减少其对效应 T 细胞的抑制 (J. Willoughby 等 Molecular Immunology 83, 2017, 13-22)。

OX40 是肿瘤免疫疗法中的一个非常有潜力的激活性靶点，能为肿瘤免疫治疗提供新的手段。

发明内容

本发明公开了抗 OX40 抗体或抗原结合片段用于治疗肿瘤或癌症的方法或用途。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体或抗原结合片段剂用于治疗肿瘤或癌症。

在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段至少包含 SEQ ID NO:1 所示的 HCDR1、SEQ ID NO:2 所示的 HCDR2、SEQ ID NO:3 所示的 HCDR3、SEQ ID NO:4

所示的 LCDR1、SEQ ID NO:5 所示的 LCDR2、SEQ ID NO:6 所示的 LCDR3 中一个或多个。

在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段包含 SEQ ID NO:1 所示的 HCDR1、SEQ ID NO:2 所示的 HCDR2、SEQ ID NO:3 所示的 HCDR3、SEQ ID NO:4 所示的 LCDR1、SEQ ID NO:5 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:6 所示的 LCDR3。

在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段的重链可变区包含 SEQ ID NO:7 所示的序列，或与 SEQ ID NO:7 所示序列具有至少 80% 同一性的序列，或与 SEQ ID NO:7 所示序列相比具有一或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列；和/或

所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段的轻链可变区包含 SEQ ID NO:8 所示的序列，或与 SEQ ID NO:8 所示序列具有至少 80% 同一性的序列，或与 SEQ ID NO:8 所示序列相比具有一或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段的重链可变区包含 SEQ ID NO:7 所示的序列，所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段的轻链可变区包含 SEQ ID NO:8 所示的序列。

在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体的重链包含 SEQ ID NO:9 所示的序列，或与 SEQ ID NO:9 所示序列具有至少 80% 同一性的序列，或与 SEQ ID NO:9 所示序列相比具有一或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列；和/或

所述抗 OX40 抗体的轻链包含 SEQ ID NO:10 所示的序列，或与 SEQ ID NO:10 所示序列具有至少 80% 同一性的序列，或与 SEQ ID NO:10 所示序列相比具有一或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体为抗体 M 或 M-KF，抗体 M 或 M-KF 的重链包含如 SEQ ID NO:9 所示序列，所述抗体 M 或 M-KF 的轻链包含如 SEQ ID NO:10 所示序列；抗体 M 或 M-KF 含有两条序列相同的重链和两条序列相同的轻链。

在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体（例如抗体 M-KF）或抗原结合片段的岩藻糖基化水平为 0-10%。在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体（例如抗体 M-KF）或抗原结合片段的岩藻糖基化水平为 0-5%。在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体（例如抗体 M-KF）或抗原结合片段的岩藻糖基化水平为约 0、约 0.1%、约 0.5%、约 0.8%、约 1%、约 1.3%、约 1.6%、约 2.1%、2.9%、约 3%、约 3.3%、3.8%、约 4%、约 4.2%、4.3%、约 4.6%、约 5%，或这些数值中任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值。在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体（例如抗体 M-KF）或抗原结合片段没有结合岩藻糖。在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体（例如抗体 M-KF）或抗原结合片段具有增强的 ADCC 效应（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity）。

抗 OX40 抗体或抗原结合片段可以通过基因工程在 CHO 细胞或 HEK293 细胞中表达，并通过纯化获得；纯化可以采用常规方法进行，例如先离心细胞悬液并收集上清液，再次离心进一步去除杂质。Protein A 亲和柱和离子交换柱等方法可以用于纯化抗体蛋白。

在一些实施方案中，抗 OX40 抗体或抗原结合片段由 α -(1,6)-岩藻糖基转移酶基因敲除的细胞系表达，如 PCT/CN2018/100008 公开的 CHO-BAT-KF 细胞系。在一些实施方案中，抗体 M-KF 由 CHO-BAT-KF 细胞系表达。

在一些实施方案中，所述方法或用途包括：向有需要的患者施用有效量的抗 OX40 抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体为抗体 M-KF。在一些实施方案中，抗体 M-KF 由 α -(1,6)-岩藻糖基转移酶基因敲除细胞系表达。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体施用的有效剂量为每剂约 0.6 mg 至 900 mg。

在一些实施方案中，患者患有肿瘤或癌症。在一些实施方案中，肿瘤和癌症包括但不限于血液癌症、实体瘤。在一些实施方案中，血液癌症包括但不限于白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。在一些实施方案中，白血病包括急性淋巴细胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病 (CML)和骨髓性增生疾病/肿瘤(MPDS)。在一些实施方案中，淋巴瘤包括霍奇金淋巴瘤、无痛性和侵袭性非霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤和滤泡性淋巴瘤(小细胞和大细胞)。在一些实施方案中，骨髓瘤包括多发性骨髓瘤(MM)、巨细胞骨髓瘤、重链骨髓瘤和轻链或本斯-琼斯骨髓瘤。在一些实施方案中，实体瘤包括乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、黑色素瘤、结直肠癌、肺癌、头颈癌、膀胱癌、食道癌、肝癌和肾癌。在一些实施方案中，肿瘤和癌症为尚无有效治疗手段的经病理学确诊的局部晚期或转移性恶性实体肿瘤。在一些实施方案中，本发明公开了一种用于治疗有需要患者的肿瘤或癌症的方法，其包括施用有效量的抗 OX40 抗体或抗原结合片段，其中抗 OX40 抗体或抗原结合片段施用的有效量为约 0.6 mg 至 900 mg 每个治疗周期。在一些实施方案中，一个治疗周期为 1 周、2 周、3 周、4 周、1 个月、5 周、6 周、7 周，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值。在一些实施方案中，所述抗 OX40 抗体为抗体 M-KF。在一些实施方案中，抗体 M-KF 由 α -(1,6)-岩藻糖基转移酶基因敲除的细胞系表达。

在一些实施方案中，可以将抗 OX40 抗体配制成药物组合物，并以适合于所选给药途径的多种形式向患者给药，给药途径例如肠胃外、静脉内（iv）、肌肉内、局部或皮下。在一些实施方案中，可以将抗 OX40 抗体静脉输注。抗 OX40 的给药量将取决于药物的性质、细胞表面触发药物的内在化、运输和释放的程度，以及所治疗的疾病和患者的状况（如年龄、性别、体重等）。

在一些实施方案中，每次施用的抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）约 0.01 mg/kg 至 25 mg/kg 或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂。在一些实施方案中，每次施用的抗 OX40 抗体为约 0.01 mg/kg、约 0.02 mg/kg、约 0.03 mg/kg、约 0.06 mg/kg、约 0.08 mg/kg、约 0.1 mg/kg、约 0.2 mg/kg、约 0.3 mg/kg、约 0.5 mg/kg、约 0.9 mg/kg、约 1 mg/kg、约 2 mg/kg、约 2.5 mg/kg、约 3 mg/kg、约 4 mg/kg、约 5 mg/kg、约 6 mg/kg、约 7 mg/kg、约 8 mg/kg、约 9 mg/kg、约 10 mg/kg、约 11 mg/kg、约 12 mg/kg、约 13 mg/kg、约 14 mg/kg、约 15 mg/kg、约 16 mg/kg、约 17 mg/kg、约 18 mg/kg、约 19 mg/kg、约 20 mg/kg、约 21 mg/kg、约 22 mg/kg、约 23 mg/kg、约 24 mg/kg、约 25 mg/kg，或这些数值中任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂。在一些实施方案中，约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周给药 1 次。

在一些实施方案中，本发明公开了一种用于治疗肿瘤或癌症的方法，所述方法包括：每 3 周向有需要的患者给予约 0.01 mg/kg、约 0.02 mg/kg、约 0.03 mg/kg、约 0.06 mg/kg、约 0.08 mg/kg、约 0.1 mg/kg、约 0.2 mg/kg、约 0.3 mg/kg、约 0.5 mg/kg、约 0.9 mg/kg、约 1 mg/kg、约 2 mg/kg、约 2.5 mg/kg、约 3 mg/kg、约 4 mg/kg、约 5 mg/kg、约 6 mg/kg、约 7 mg/kg、约 8 mg/kg、约 9 mg/kg、约 10 mg/kg、约 11 mg/kg、约 12 mg/kg、约 13 mg/kg、约 14 mg/kg、约 15 mg/kg、约 16 mg/kg、约 17 mg/kg、约 18 mg/kg、约 19 mg/kg、约 20 mg/kg、约 21 mg/kg、约 22 mg/kg、约 23 mg/kg、约 24 mg/kg、约 25 mg/kg 的抗 OX40 抗体，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂。

在一些实施方案中，本发明公开了一种用于治疗肿瘤或癌症的方法，所述方法包括：每 3 周向有需要的患者给予约 0.01 mg/kg、约 0.02 mg/kg、约 0.03 mg/kg、约 0.06 mg/kg、约 0.08 mg/kg、约 0.1 mg/kg、约 0.2 mg/kg、约 0.3 mg/kg、约 0.5 mg/kg、约 0.9 mg/kg、约 1 mg/kg、约 2 mg/kg、约 2.5 mg/kg、约 3 mg/kg、约 4 mg/kg、约 5 mg/kg、约 6 mg/kg、约 7 mg/kg、约 8 mg/kg、约 9 mg/kg、约 10 mg/kg、约 11 mg/kg、约 12 mg/kg、约 13 mg/kg、约 14 mg/kg、约 15 mg/kg、约 16 mg/kg、约 17 mg/kg、约 18 mg/kg、约 19 mg/kg、约 20 mg/kg、约 21 mg/kg、约 22 mg/kg、约 23 mg/kg、约 24 mg/kg、约 25 mg/kg 的抗 OX40 抗体 M，或含此剂量抗 OX40 抗体 M 的制剂。

在一些实施方案中，本发明公开了一种用于治疗肿瘤或癌症的方法，所述方法包括：每 3 周向有需要的患者给予约 0.01 mg/kg、约 0.02 mg/kg、约 0.03 mg/kg、约 0.06 mg/kg、约 0.08 mg/kg、约 0.1 mg/kg、约 0.2 mg/kg、约 0.3 mg/kg、约 0.5 mg/kg、约 0.9 mg/kg、约 1 mg/kg、约 2 mg/kg、约 2.5 mg/kg、约 3 mg/kg、约 4 mg/kg、约 5 mg/kg、约 6 mg/kg、约 7 mg/kg、约 8 mg/kg、约 9 mg/kg、约 10 mg/kg、约 11 mg/kg、约 12 mg/kg、约 13 mg/kg、约 14 mg/kg、约 15 mg/kg、约 16 mg/kg、约 17 mg/kg、约 18 mg/kg、约 19 mg/kg、约 20 mg/kg、约 21 mg/kg、约 22 mg/kg、约 23 mg/kg、约 24 mg/kg、约 25 mg/kg 的抗 OX40 抗体 M-KF，或含此剂量抗 OX40 抗体 M-KF 的制剂。

在一些实施方案中，本发明公开了一种治疗肿瘤或癌症的方法，其包括向有需要的患者施用有效量的抗 OX40 抗体（或制剂）；其中，抗 OX40 抗体的有效量为单次给药约 0.6 mg 至 900 mg（或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂）。剂量时间表和给药方式取决于某些患者群中的抗 OX40 抗体（或制剂）的获益风险评估和一般临床实践指南。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内抗 OX40 抗体施用的有效量为约 0.6 mg 至 900 mg（或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂）。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 0.6 mg、约 1 mg、约 1.8 mg、约 6 mg、约 10 mg、约 18 mg、约 30 mg、约 60 mg、约 100 mg、约 120 mg、约 180 mg、约 200 mg、约 250 mg、约 290 mg、约 300 mg、约 330 mg、约 380 mg、约 400 mg、约 434 mg、约 480 mg、约 500 mg、约 567 mg、约 580 mg、约 600 mg、约 700 mg、约 800 mg、约 900 mg，或这些数值中任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂。在一些实施方案中，一个治疗周期为 1 周至 7 周给药 1 次。在一些实施方案中，每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 0.6 mg 至 600 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周、约 4 周、约 5 周、约 6 周、约 7 周，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值。在一些实施方案中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 0.6 mg 至约 6 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周、或约 4 周。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 0.6 mg、约 1 mg、约 1.5 mg、约 1.8 mg、约 2 mg、约 2.9 mg、约 3.6 mg、约 4 mg、约 4.3 mg、约 5 mg、约 5.5 mg、约 6 mg，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 60 mg 至 600 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周、或约 4 周。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 60 mg、约 80 mg、约 90 mg、约 100 mg、约 120 mg、约 160 mg、约 180 mg、约 200 mg、约 243 mg、约 290 mg、约 355 mg、约 400 mg、约 425 mg、约 480 mg、约 500 mg、约 565 mg、约 600 mg，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 600 mg 至 900 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 600 mg、约 680 mg、约

700 mg、约 750 mg、约 780 mg、约 800 mg、约 820 mg、约 900 mg，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 0.5 mg 至 1 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；比如约 0.6 mg 给药 1 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 0.6 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 1.5 mg 至 2.2 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；比如约 1.8 mg 给药 1 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 1.8 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 4 mg 至 8 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；比如约 6 mg 给药 1 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 6 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 50 mg 至 76 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；比如约 60 mg 给药 1 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 60 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 167 mg 至 189 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；比如约 180 mg 给药 1 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 180 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 390 mg 至 410 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；比如约 400 mg 给药 1 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 400 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3

周或约 4 周。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 493 mg 至 512 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；比如约 500 mg 给药 1 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 500 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 588 mg 至 606 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；比如约 600 mg 给药 1 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 600 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体（如抗体 M 或 M-KF）的有效量为约 882 mg 至 916 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；比如约 900 mg 给药 1 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期内施用抗 OX40 抗体的有效量为约 900 mg，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂；其中，一个治疗周期为约 1 周、约 2 周、约 3 周或约 4 周。

在一些实施方案中，抗 OX40 抗体施用的有效量为约 0.6 mg 至 600 mg 每 3 周一次。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体施用的有效量为约 0.6 mg、约 1.8 mg、约 6 mg、约 18 mg、约 60 mg、约 100 mg、约 180 mg、约 200 mg、约 300 mg、约 400 mg、约 500 mg 或约 600 mg 每 3 周一次。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体施用的有效量为约 18 mg、约 60 mg 或约 180 mg 每 3 周一次。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体施用的有效量为约 600 mg 至 900 mg 每 3 周一次。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体施用的有效量为约 700 mg、约 800 mg 或约 900 mg 每 3 周一次。

在一些实施方案中，患者每个治疗周期内给药一次抗 OX40 抗体（或制剂）。在一些实施方案中，每个治疗周期内多次给药抗 OX40 抗体（或制剂），例如 2 次、3 次、4 次或 5 次。在一些实施方案中，患者每个治疗周期只能给药 1 次或 4 次。

在一些实施方案中，患者接受一个治疗周期治疗。在一些实施方案中，患者接受多个（例如 2 个、3 个或 4 个）治疗周期治疗。在一些实施方案中，患者接受治疗直至病症得到缓解而不再需要治疗。

在一些实施方案中，本发明公开了一种用于治疗肿瘤或癌症的方法，所述方法包括：每 3 周向有需要的患者给予约 0.6 mg 至 6 mg、约 6 mg 至 60 mg、约 60 mg 至 180 mg、约 180 mg 至 600 mg、约 600 mg 至 900 mg，比如约 0.6 mg、约 1.8 mg、约 6 mg、

约 18 mg、约 60 mg、100 mg、约 180 mg、约 200 mg、约 300 mg、约 400 mg、约 500 mg、约 600 mg 或约 900 mg 的抗 OX40 抗体，或含此剂量抗 OX40 抗体的制剂。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体为抗体 M。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体为抗体 M-KF。

在一些实施方案中，每 3 周一次给药抗 OX40 抗体约 0.6 mg。在一些实施方案中，每 3 周一次给药抗 OX40 抗体约 1.8 mg。在一些实施方案中，每 3 周一次给药抗 OX40 抗体约 6 mg。在一些实施方案中，每 3 周一次给药抗 OX40 抗体约 18 mg。在一些实施方案中，每 3 周一次给药抗 OX40 抗体约 60 mg。在一些实施方案中，每 3 周一次给药抗 OX40 抗体约 180 mg。在一些实施方案中，每 3 周一次给药抗 OX40 抗体约 600 mg。在一些实施方案中，每 3 周一次给药抗 OX40 抗体约 900 mg。

在一些实施方案中，单剂量给药后，患者的症状得到缓解。在一些实施方案中，单剂量给药后，患者后的症状未得到预期缓解，再对患者给药约 0.6 mg 至 900 mg 抗 OX40 抗体，直至患者的症状得到缓解。

在一些实施方案中，抗 OX40 抗体（或制剂）是通过皮下（s.c.）注射、腹膜内（i.p.）注射、肠胃外注射、动脉内注射或静脉内（i.v.）注射等方式进行给药。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体（或制剂）是输液方式进行给药。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体（或制剂）是推注方式进行给药。

在一些实施方案中，抗 OX40 抗体（或制剂）是通过静脉内（i.v.）输液方式（即静脉输注）进行给药。在一些实施方案中，静脉内输液持续时间为约 50 分钟、约 55 分钟、约 60 分钟、约 65 分钟、约 70 分钟、约 75 分钟、约 81 分钟、约 87 分钟、约 90 分钟、约 95 分钟，或这些数值中任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值。在一些实施方案中，静脉输液持续时间 ≥ 60 分钟。

在一些实施方案中，抗 OX40 抗体（或制剂）与其他治疗方法联合用于治疗肿瘤或癌症，例如化疗、放疗、免疫治疗、激素治疗、靶向治疗、生物治疗和手术治疗等。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体（或制剂）与其他肿瘤或癌症治疗剂联合治疗肿瘤或癌症，如激素、治疗肿瘤或癌症的抗体等。

另一方面，本发明公开了抗 OX40 抗体在制备用于治疗肿瘤或癌症的药物中的应用。在一些实施方案中，用于治疗肿瘤或癌症的药物包括抗 OX40 抗体。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体为抗体 M。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体为抗体 M-KF。在一些实施方案中，抗体 M-KF 由 α -(1,6)-岩藻糖基转移酶基因敲除的细胞系表达。

另一方面，本发明还公开了一种试剂盒，试剂盒包含抗 OX40 抗体（或制剂）和用于指导有需要患者给药抗 OX40 抗体（或制剂）的说明书。在一些实施方案中，抗

OX40 抗体为抗体 M。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体为抗体 M-KF。在一些实施方案中，抗体 M-KF 由 α -(1,6)-岩藻糖基转移酶基因敲除的细胞系表达。

另一方面，本发明还公开了包含抗 OX40 抗体的适合注射用的药物组合物，如推注型药物组合物或输液（滴注）型药物组合物。适于注射用途的药物组合物包括无菌水性溶液（在此是水溶性的）或分散体以及用于即时制备无菌注射液或分散体的无菌粉末。对于静脉内施用，合适的载体包括生理盐水、抑菌水或磷酸盐缓冲盐水(PBS)、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等）的溶剂或分散介质，及其适宜的混合物。在一些实施方案中，药物组合物还包括药学可接受的载体。在一些实施方案中，药学上可接受的载体可以包含抗菌剂和/或抗真菌剂，如对羟基苯甲酸酯、氯代丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等来实现。在一些实施方案中，药学上可接受的载体可以包含等渗剂，如糖、多元醇（诸如甘露糖醇、山梨醇）、氯化钠。在一些实施方案中，药物组合物至少包含 0.1% 的抗 OX40 抗体。抗体的百分比可以变化，并且为给定剂型重量的约 2% 至 90% 之间。这种治疗上有用的药物组合物中抗 OX40 抗体的量可以为给药的有效量。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体为抗体 M。在一些实施方案中，抗 OX40 抗体为抗体 M-KF。在一些实施方案中，抗体 M-KF 由 α -(1,6)-岩藻糖基转移酶基因敲除的细胞系表达。

另一方面，本发明还公开了上述药物组合物的制备方法：分别将本文所述的抗 OX40 抗体与药学上可接受的适合注射用的载体（例如注射用水，生理盐水等）混合。上述抗 OX40 抗体与药学上可接受的载体的混合方法是本领域通常已知的。

本发明抗 OX40 抗体（或制剂）可用于肿瘤或癌症的治疗。

附图说明

图 1 显示抗 OX40 抗体 M-KF 抑制肿瘤细胞的增殖；纵坐标表示肿瘤体积。

术语

除非另作说明，否则下列的每一个术语应当具有下文所述的含义。

定义

应当注意的是，术语“一种”实体是指一种或多种该实体，例如“一种抗体”应当被理解一种或多种抗体，因此，术语“一种”（或“一个”）、“一种或多种”和“至少一种”可以在本文中互换使用。

术语“多肽”旨在涵盖单数的“多肽”以及复数的“多肽”，并且是指由通过酰胺键（也称为肽键）线性连接的氨基酸单体组成的分子。术语“多肽”是指两个或更多个氨基酸的任何单条链或多条链，并且不涉及产物的特定长度。因此，“多肽”的定义中包括肽、二肽、三肽、寡肽、“蛋白质”、“氨基酸链”或用于指两个或多个氨基酸链的任何其他

术语，并且术语“多肽”可以用来代替上述任何一个术语，或者与上述任何一个术语交替使用。术语“多肽”也意在指多肽表达后修饰的产物，包括但不限于糖基化、乙酰化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/封闭基团衍生化、蛋白水解切割或非天然发生的氨基酸修饰。多肽可以源自天然生物来源或通过重组技术产生，但其不必从指定的核酸序列翻译所得，它可能以包括化学合成的任何方式产生。

“氨基酸”是指既含氨基又含羧基的有机化合物，比如 α -氨基酸，其可直接或以前体的形式由核酸编码。单个氨基酸由三个核苷酸(所谓的密码子或碱基三联体)组成的核酸编码。每一个氨基酸由至少一个密码子编码。相同氨基酸由不同密码子编码称为“遗传密码的简并性”。氨基酸包括天然氨基酸和非天然氨基酸。天然氨基酸包括丙氨酸(三字母代码: ala, 一字母代码: A)、精氨酸(arg, R)、天冬酰胺(asn, N)、天冬氨酸(asp, D)、半胱氨酸(cys, C)、谷氨酰胺(gln, Q)、谷氨酸(glu, E)、甘氨酸(gly, G)、组氨酸(his, H)、异亮氨酸(ile, I)、亮氨酸(leu, L)、赖氨酸(lys, K)、甲硫氨酸(met, M)、苯丙氨酸(phe, F)、脯氨酸(pro, P)、丝氨酸(ser, S)、苏氨酸(thr, T)、色氨酸(trp, W)、酪氨酸(tyr, Y)和缬氨酸(val, V)。

“保守氨基酸取代”是指一个氨基酸残基被另一个含有化学性质(例如电荷或疏水性)相似的侧链(R基团)的氨基酸残基所取代。一般而言,保守氨基酸取代不大会在实质上改变蛋白质的功能性质。含有化学性质相似侧链的氨基酸类别的实例包括: 1) 脂族侧链: 甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸; 2) 脂族羟基侧链: 丝氨酸和苏氨酸; 3) 含酰胺的侧链: 天冬酰胺和谷氨酰胺; 4) 芳族侧链: 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸; 5) 碱性侧链: 赖氨酸、精氨酸和组氨酸; 6) 酸性侧链: 天冬氨酸和谷氨酸。

“VL、VH的保守氨基酸取代”的氨基酸数目可为约1个、约2个、约3个、约4个、约5个、约6个、约8个、约9个、约10个、约11个、约13个、约14个、约15个保守氨基酸取代,或这些数值中的任何两个值之间的范围(包括端点)或其中任何值。“重链或轻链的保守氨基酸取代”的氨基酸数目可为约1个、约2个、约3个、约4个、约5个、约6个、约8个、约9个、约10个、约11个、约13个、约14个、约15个、约18个、约19个、约22个、约24个、约25个、约29个、约31个、约35个、约38个、约41个、约45个保守氨基酸取代,或这些数值中的任何两个值之间的范围(包括端点)或其中任何值。

术语“编码”应用于多聚核苷酸时,是指被称为“编码”多肽的多聚核苷酸,在其天然状态或当通过本领域技术人员公知的方法操作时,经转录和/或翻译可以产生该多肽和/或其片段。

术语“重组”涉及多肽或多聚核苷酸,意指天然不存在的多肽或多聚核苷酸的形式,

不受限制的实施例可以通过组合产生通常并不存在的多聚核苷酸或多肽。

“同一性”是指两个肽之间或两个核酸分子之间的序列相似性。可以通过比较每个序列中可以比对的位置来确定同源性。当被比较的序列中的位置被相同的碱基或氨基酸占据时，则分子在该位置是同源的。序列之间的同源程度是由序列共有的匹配或同源位置的数目组成的一个函数。

“至少 80% 同一性”为约 80% 同一性、约 81% 同一性、约 82% 同一性、约 83% 同一性、约 85% 同一性、约 86% 同一性、约 87% 同一性、约 88% 同一性、约 90% 同一性、约 91% 同一性、约 92% 同一性、约 94% 同一性、约 95% 同一性、约 98% 同一性、约 99% 同一性，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括端点）或其中任何值。

多聚核苷酸或多聚核苷酸序列（或多肽或抗体序列）与另一序列有具有一定百分比（例如 90%、95%、98% 或者 99%）的“同一性”或“序列同一性”是指当序列比对时，所比较的两个序列中该百分比的碱基（或氨基酸）相同。可以使用目测或本领域已知的软件程序来确定该比对同一性百分比或序列同一性，比如 Ausubel *et al.* eds. (2007) 在 Current Protocols in Molecular Biology 中所述的软件程序。优选使用默认参数进行比对。其中一种比对程序是使用默认参数的 BLAST，例如 BLASTN 和 BLASTP，两者使用下列默认参数：Geneticcode=standard；filter=none；strand=both；cutoff=60；expect=10；Matrix=BLOSUM62；Descriptions=50sequences；sortby=HIGHSCORE；Databases=non-redundant；GenBank+EMBL+DDBJ+PDB+GenBankCDStranslations+SwissProtein+SPupdate+PIR。生物学上等同的多聚核苷酸是具有上述指定百分比的同一性并编码具有相同或相似生物学活性的多肽的多聚核苷酸。

“抗体”、“抗原结合片段”是指特异性识别和结合抗原的多肽或多肽复合物。抗体可以是完整的抗体及其任何抗原结合片段或其单链。因此术语“抗体”包括分子中含有具有与抗原结合的生物学活性的免疫球蛋白分子的至少一部分的任何蛋白质或肽。抗体和抗原结合片段包括但不局限重链或轻链或其配体结合部分的互补决定区（CDR）、重链可变区（VH）、轻链可变区（VL）、重链恒定区（CH）、轻链恒定区（CL）、框架区（FR）或其任何部分，或结合蛋白的至少一部分。CDR 区包括轻链的 CDR 区（LCDR1-3）和重链的 CDR 区（HCDR1-3）。

术语“抗体”包括可以在生物化学上区分各种广泛种类的多肽。本领域技术人员将会理解，重链的类别包括 gamma、mu、alpha、delta 或 epsilon（ γ 、 μ 、 α 、 δ 、 ϵ ），其中还有一些亚类（例如 $\gamma 1$ - $\gamma 4$ ）。该链的性质决定了抗体的“种类”分别为 IgG、IgM、IgA、IgG 或 IgE。免疫球蛋白亚类（同种型），例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgG5 等已被充分表征并且赋予的功能特异性也已知。所有的免疫球蛋白种类都在本发明公开的保护范围内。在一些实施方案中，免疫球蛋白分子为 IgG 种类。这四条链通过二

硫键以“Y”构型连接，其中轻链从“Y”口开始并延续通过可变区包围重链。

本发明公开的抗体、抗原结合片段或衍生物包括但不限于多克隆、单克隆、多特异性、全人源、人源化、灵长类化、嵌合抗体、单链抗体、表位结合片段（例如类 Fab、类 Fab' 和类 F(ab')₂）、类单链 Fvs（scFv）。

轻链可以分为 kappa（ κ ）或 lambda（ λ ）。每个重链可以与 κ 或 λ 轻链结合。一般来说，当由杂交瘤，B 细胞或基因工程宿主细胞生产免疫球蛋白时，其轻链和重链通过共价键结合，两条重链的“尾巴”部分通过共价二硫键或非共价键结合。在重链中，氨基酸序列从 Y 构型的叉状末端的 N 末端延伸至每条链底部的 C 末端。免疫球蛋白 κ 轻链可变区为 V κ ；免疫球蛋白 λ 轻链可变区为 V λ 。

轻链和重链都分成结构和功能同源性的区域。术语“恒定的”和“可变的”根据功能被使用。轻链（VL）和重链（VH）链部分的可变区决定了抗原识别和特异性。轻链的恒定区（CL）和重链的恒定区（CH）赋予重要的生物学性质，如分泌、经胎盘移动、Fc 受体结合、补体结合等。按照惯例，恒定区的编号随着它们变得更远离抗体的抗原结合位点或氨基末端而增加。N 端部分是可变区，C 端部分是恒定区；CH3 和 CL 结构域实际上分别包含重链和轻链的羧基端。

在本领域中使用和/或接受的术语有两个或多个定义的情况下，除非明确地对立指出，否则本文使用的术语的定义包括所有这些含义。一个具体的例子是使用“互补决定区”（“CDR”）一词来描述在重链和轻链多肽的可变区内发现的非连续的抗原结合位点。这一特定区域在 Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983) 和 Chothia 等在 *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987) 有相关描述，其通过引用全部并入本文。

根据 Kabat 和 Chothia 定义的 CDR 包括相互比较时的氨基酸残基的重叠或子集。尽管如此，应用任一定义来指代抗体或其变体的 CDR 都在本发明范围内。包含特定 CDR 的确切残基编号将根据 CDR 的序列和大小而变化。本领域技术人员通常可以根据抗体的可变区氨基酸序列确定出 CDR 包含哪些特定的残基。

Kabat 等人还定义了适用于任何抗体的可变区序列的编号系统。本领域普通技术人员可以不依赖于序列本身以外的其他实验数据将该“Kabat 编号”系统应用到任何可变区序列。“Kabat 编号”是指由 Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services 在“Sequence of Proteins of Immunological Interest” (1983) 提出的编号系统。抗体还可以用 EU 或 Chothia 编号系统。

“治疗”是指治疗性治疗和预防性或防治性措施，其目的是预防、减缓、改善和停止不良的生理改变或紊乱，例如疾病的进程，包括但不限于以下无论是可检测还是不可检测。

可检测的结果，症状的缓解、疾病程度的减小、疾病状态的稳定（即不恶化）、疾病进展的延迟或减缓、疾病状态的改善或缓和，减轻或消失（无论是部分还是全部）、延长与不接受治疗时预期的生存期限等。需要治疗的患者包括已经患有病症或紊乱的患者，容易患有病症或紊乱的患者，或者需要预防该病症或紊乱的患者，可以或预期从施用本发明公开的抗体或组合物用于检测、诊断过程和/或治疗中受益的患者。

“患者”指需要诊断、预后或治疗的任何哺乳动物，包括人类、狗、猫、豚鼠、兔子、大鼠、小鼠、马、牛等。

“约”指相关技术领域技术人员容易知道的相应数值的常规误差范围。在一些实施方式中，本文中提到的“约”指所描述的数值及其 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 或 $\pm 1\%$ 的范围。

“有效量”是指活性化合物或药剂的量，其能引起组织、系统、动物、个体或人类的生物学或医学反应；有效量由研究人员、兽医、医生或其他临床医生寻求的。

如本文所用，术语“有需要”是指已将患者鉴定为需要特定方法或治疗。在一些实施例中，可以通过任何诊断方式进行识别。在本文描述的任何方法和治疗中，患者可能需要该方法和治疗。

可以按常规方法根据本文所述抗体氨基酸序列设计合成编码抗体的 DNA，将其置入表达载体中，然后转染宿主细胞，在培养基中培养被转染的宿主细胞产生单克隆抗体。在一些实施方案中，表达抗体载体包括至少一个启动子元件，抗体编码序列，转录终止信号和 polyA 尾。其他元件包括增强子，Kozak 序列及插入序列两侧 RNA 剪接的供体和受体位点。可以通过 SV40 的前期和后期启动子，来自逆转录病毒的长末端重复序列如 RSV、HTLV1、HIV1 及巨细胞病毒的早期启动子来获得高效的转录，也可应用其它一些细胞的启动子如肌动蛋白启动子。合适的表达载体可包括 pIRES1neo，pRetro-Off，pRetro-On，PLXSN，或者 Plncx，pcDNA3.1 (+/-)，pcDNA/Zeo(+/-)，pcDNA3.1/Hygro (+/-)，PSVL，PMSG，pRSVcat，pSV2dhfr，pBC12MI 和 pCS2 等。常使用的哺乳动物细胞包括 293 细胞，Cos1 细胞，Cos7 细胞，CV1 细胞，鼠 L 细胞和 CHO 细胞等。

具体实施方式

以下通过具体的实施例进一步说明本发明的技术方案，具体实施例不代表对本发明保护范围的限制。其他人根据本发明理念所做出的一些非本质的修改和调整仍属于本发明的保护范围。

下述实施例中所用的材料、试剂等，如无特殊说明，均可从商业途径得到。

实施例 1 抗体的制备方法

根据抗体的重链和轻链氨基酸序列构建轻链和重链的 DNA 序列。用 PCR 引物修饰 DNA 序列的 5' 和 3' 端，所述引物设计成为各链增加合适的前导序列，再克隆到现有重组抗体表达载体中，通过测序分析验证重组质粒的正确构建。将上述重组质粒转入表达细胞中进行表达，收集上清液、纯化获得抗体蛋白样品，并用于下面各种实施例。

其中，1) 抗体 M-KF 制备过程中，采用的表达载体为 pCDNA3.1TM(+)(Invitrogen 公司，货号为 V79020)，表达细胞为 CHO-BAT-KF 细胞，经测试岩藻糖基化水平为 0；2) 阳性对照抗体 11D4 的重链和轻链的序列来自专利 US8236930B2，采用的表达载体为 pCHO1.0 质粒（购自 Invitrogen），表达细胞为 CHO-S 细胞（购自 Invitrogen）。抗体 M-KF 的氨基酸序列见表 1，抗体 M-KF 的核酸序列见表 2，表 2 中框内为前导肽的序列（即前导序列）。

表 1 抗体 M 及抗体 M-KF 的氨基酸序列（按 kabat 进行划分）

名称	SEQ ID NO	氨基酸序列
HCDR1	1	SYGMH
HCDR2	2	VIWEDGSNQYYADSVKG
HCDR3	3	DNQDTSPDVGIDY
LCDR1	4	RASQNISPFLN
LCDR2	5	AAVGLQS
LCDR3	6	QQYTDYPLT
VH	7	QVQLVESGGGVVQPGESLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVAVIWEDGSNQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKDNQDTSPDVGIDYWGQGTLVTVSS
VL	8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNISPFLNWKYQQKPGKAPK LLIYAAVGLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYT DYPLTFGGGTKVEIK
重链	9	QVQLVESGGGVVQPGESLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVAVIWEDGSNQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKDNQDTSPDVGIDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY

		TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
轻链	10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQNIPLNFWYQQKPGKAPK LLIYAAVGLQSGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQY DYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLS KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC

表 2 抗体 M 及抗体 M-KF 的核酸序列

名称	SEQ ID NO	核酸序列
重链	11	atggagttcggactgagctgggtgttctggtggccattctgaaaggcgtgcagtgc caagtgcagctg gtggagagcggaggaggtggtgcaaccggcgagtcctcagactgagctgtgccgccagcggc ttcaccttcagctcctacggcatgactgggtgagacaagccccggcaaggactggagtgggtggc cgtgatctgggaggtggtccaaccagtactatgccgacagcgtgaagggaagattcacatctctag agacaactccaagaacacactgtatctgcagatgaactctctgagggccgaggacaccggcgtgacta ctgcgccaaggacaaccaagacaccagccccgacgtgggcacgtatttggggccagggtacctg gttaccgttagcagcgcgagcaccaaaggccgagcgtgttccgctggccccgagcagcaaaagca ccagcgggtggcaccgcagcgtggtggtgctgaaagattatttccgggaaccggtgacggtgctgt ggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctcccggtgtcctacagtctcaggactctact ccctcagcagcgtggtgacctgacctccagcagcttgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatc acaagcccagcaacaccaagggtggacaagaaagttgagccaaatctgtgacaaaactcacatgc ccaccgtgcccagcactgaactcctggggggaccgtcagttctcttccccccaaaacccaaggac accctcatgatctcccggaccttgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacctga ggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccgcgggaggag cagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtctgcaccaggactggctgaatggcaag gagtacaagtgcaggtctccaacaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaa agggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatccgggatgagctgaccaagaacca ggtcagcctgacctgctggtcaaaggttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatg ggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcttctctctaca gcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatcatgag gctctgcacaaccactacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

轻链	12	atggacatgagagtgtctggctcagctgtctgggactgtctgtgtgtctttccggcgccagatgcgac atccagatgaccagagccctagctctgtctcgctagcgtgggagatagagtaccatcatatgcaga gccagccagaacatctcccccttctgaattggtatcagcagaagccccggcaaggccccctaaagtgtg atctatgccgtgtgggactgcagagcggagtgccttccagattctccggcagcggcagcgggaaccga cttcacactgaccatcagctctctgcagcccaggacttcgccactactactgccagcagtataccgact accctctgaccttcggagggcgccaccaagggtggagatcaagcgtacgggtggtgcaccatctgtcttcat cttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgtctaataacttctatccc agagaggccaaaagtacagtggaagggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcac agagcaggacagcaaggacagcaccttacagcctcagcagcacccctgacgctgagcaaagcagacta cgagaaacacaaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagct tcaacaggggagagtgt
----	----	---

实施例2 体外药效试验

1) 肿瘤接种

在 OX40 人源化小鼠模型(购自百奥赛图)中研究本发明的抗体 M-KF 的抗肿瘤功效。将 MC38 肿瘤细胞以 5×10^5 个/0.1mL 浓度接种于 OX40 人源化雌性小鼠的右侧皮下。

2) 分组和给药

待肿瘤生长到 119 mm³ 时按肿瘤体积随机分组, 每组 6 只。分组当天定义为 D0 天, 并于 D0 天开始给药; 分组给药方案见表 3, 给药日期为: 第 0 天、第 3 天、第 6 天、第 9 天、第 12 天、第 15 天。抗体腹腔给药, 按 Q3D (每 3 天 1 次) 的频率, 三个剂量组 1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.04 mg/kg, 共给药 6 次。给药方案如表 3 所示。

3) 实验观察和数据采集

细胞接种后，每周常规监测肿瘤对动物正常行为的影响；具体指标包括小鼠的活动性，摄食和饮水情况，体重增加或降低情况，眼睛、被毛及其它异常情况。在整个研究期间每周测量两次肿瘤和体重，当肿瘤达到端点时或当小鼠具有 20% 体重减轻时使小鼠安乐死。肿瘤体积(mm^3)为 $0.5 \times (\text{肿瘤长径} \times \text{肿瘤短径}^2)$ 。

4) 统计

各组小鼠的肿瘤体积、小鼠体重、肿瘤重量等实验结果以平均值 $\pm$ 标准误差(mean $\pm$ SEM)表示。数据采用 SPSS 进行分析。P $<$ 0.05 为具有显著性差异。

TGI_{tv} (相对肿瘤体积的抑制率) 计算公式:

$$\text{TGI}(\%) = (1 - (\text{mean RTV}_{\text{给药组}} / \text{mean RTV}_{\text{对照组}})) \times 100\%;$$

mean RTV_{给药组}: 给药组 RTV 平均值, mean RTV_{对照组}: 对照组 RTV 平均值;

其中, $RTV_n = V_{nt}/V_{n0}$; V_{nt} : 编号为 n 的小鼠在第 t 天的肿瘤体积, V_{n0} : 编号为 n 的小鼠在第 0 天的肿瘤体积, RTV_n : 编号为 n 的小鼠在第 t 天的肿瘤相对体积。

表 3 给药方案

组别	N	给药组	剂量(mg/kg)	途径	频率	实际给药次数
G1	6	hIgG (义翘神州, 货号: HG1K)	1	i.p.	Q3D	6 次
G2	6	抗体 M-KF	1	i.p.	Q3D	6 次
G3	6	抗体 M-KF	0.2	i.p.	Q3D	6 次
G4	6	抗体 M-KF	0.04	i.p.	Q3D	6 次
G5	6	抗体 11D4	1	i.p.	Q3D	6 次
G6	6	抗体 11D4	0.2	i.p.	Q3D	6 次
G7	6	抗体 11D4	0.04	i.p.	Q3D	6 次

备注: N 为动物只数。

如图 1 和表 4 所示, 抗体 M-KF 的中、高剂量能明显抑制肿瘤的生长($P<0.05$), 且效果明显好于抗体 11D4 的高剂量; 各组之间的小鼠体重未发现明显差异, 表明小鼠对抗体 M-KF 的药物耐受性良好。

表 4 第 24 天的肿瘤体积的抑制率

组别	肿瘤体积(mm ³)	TGI _{tv} (%)	P 值
G1 (对照)	2708±269	--	--
G2	1083±242	62.8	0.001
G3	1732±361	37.7	0.048
G4	2844±271	-5.2	0.728
G5	2536±394	6.6	0.724
G6	2291±344	16.1	0.356
G7	2422±291	11.0	0.483

实施例 3 药代动力学和毒理试验

1) 试验设计: 抗体 M-KF 给药剂量为 0.5 mg/kg、2.5 mg/kg 和 10 mg/kg, 每组 6 只食蟹猴, 雌雄各 3 只, 共 18 只; 单次静脉输注。

a) 药代动力学

于给药前 (0 h), 给药后 2 min、2 h、6 h、12 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、

168 h、240 h、336 h、408 h、504 h 和 672 h 采集全血，分离血清；使用经过验证的 ELISA 方法分析各样本中药物的浓度，定量下限为 30 ng/mL。

各组动物血清中药物代谢动力学参数统计如表 5 所示，静脉输注抗体后，血清中抗体 M-KF 的浓度迅速达到峰值并以大致双相的方式下降；抗体 M-KF 的暴露量（平均 C_{max} 和平均 AUC_{0-t} ）随剂量增加而增加，增加比近似剂量增加比例。

表 5 单次给药后，各组动物血清中药物代谢动力学参数

剂量 (mg/kg)	性别		$t_{1/2}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	AUC_{0-t} ($\text{h}\cdot\mu\text{g/mL}$)	V_d (mL/kg)	CL (mL/h/kg)
0.5	Female	Mean	213	0.033	15.3	2320	64.7	0.238
		SD	135	0	0.529	778	26.8	0.0988
	Male	Mean	216	0.689	10.7	1460	108	0.347
		SD	35.6	1.14	2.61	175	26.2	0.0389
	All	Mean	215	0.361	13	1890	86.6	0.292
		SD	88	0.803	3.04	691	33.7	0.0898
2.5	Female	Mean	219	0.033	72.9	11900	79.1	0.226
		SD	119	0	1.89	3960	67.9	0.0761
	Male	Mean	409	0.033	88.6	12000	127	0.21
		SD	207	0	18.6	1210	71	0.0201
	All	Mean	314	0.033	80.7	12000	103	0.218
		SD	183	0	14.6	2620	67.5	0.0506
10	Female	Mean	182	0.689	305	57900	49.3	0.185
		SD	55.6	1.14	28	17500	25.6	0.061
	Male	Mean	188	0.689	335	48900	60.4	0.208
		SD	177	1.14	54.7	7720	62.1	0.0307
	All	Mean	185	0.689	320	53400	54.8	0.196
		SD	117	1.02	42.2	13100	42.9	0.045

b) 毒性评价

所有动物在第 30 天进行解剖观察。试验期间，各组动物均未见死亡或濒死现象，各组动物的临床观察、体重、耗食量、血凝和血浆生化均未见明确与供试品相关的异

常改变。

食蟹猴单次静脉输注抗体 M-KF (0.5、2.5 或 10 mg/kg)，各剂量组均能很好耐受，未见明显毒性反应，最大耐受剂量 (MTD) 大于 10 mg/kg。

c) 免疫原性

静脉输注抗体 M-KF (0.5、2.5 或 10 mg/kg) 后，个体阳性率分别为 100% (6/6)、100% (6/6) 和 83.3% (5/6)，食蟹猴的总体阳性率为 94.4% (17/18)。

d) 受体占位

于第-1 天 (0h)、第 2 天 (给药后 24h ± 1h)、第 8 天和第 29 天各采血 1 次。采用流式分析方法对样品进行分析。

各剂量组 T 淋巴细胞 (CD3⁺和 CD3⁺CD4⁺) 的 OX40 受体占位在第 2 天均接近饱和 (RO 率 > 80%)，第 8 天仍维持饱和状态；第 29 天时，2.5 mg/kg 和 10 mg/kg 剂量组仍维持受体占位饱和状态，而 0.5 mg/kg 剂量组降低至 20% 左右，与给药前 (第-1 天) 基本持平。

2) 试验设计：给药方式为静脉输注抗体 M-KF (1、5 和 30 mg/kg) 或溶媒，每周给药 1 次，共 5 次，停药恢复 4 周；给药的时间为第 1 天、第 8 天、第 15 天、第 22 天、第 29 天；每组 10 只食蟹猴，雌雄各 5 只，共 40 只；给药结束后将 24 只食蟹猴 (每组雌雄各 3 只) 进行安乐死，剩余的 16 只食蟹猴 (每组雌雄各 2 只) 于恢复期结束后进行安乐死。试验期间，对下列指标进行评价：临床观察、眼科检查、体重、耗食量、体温、血液学、血凝、血浆生化、免疫球蛋白、淋巴细胞免疫表型、尿液、肉眼形态学观察、脏器重量和病理组织学检查。

a) 毒性评价

食蟹猴每周 1 次连续 5 次静脉输注抗体 M-KF (1、5 或 30 mg/kg)，各剂量下雌雄动物均能较好耐受，各给药组主要可见 NEUT (中性粒细胞百分率) 下降、IL-6 一过性升高以及脾脏/肝脏的轻微组织学改变；因此认为本试验的最高非严重毒性剂量 (HNSTD) 为 30 mg/kg。

b) 毒代动力学

所有需分析的样品均使用已验证的 ELISA 方法进行分析。如表 6 所示，除个别动物外，各剂量组绝大多数动物在第 1 天和第 22 天给药后血清药物浓度迅速达峰 (给药后 2 min)；第 1 天雌雄动物平均 C_{max} 和平均 AUC_{0-t} 均随给药剂量增加而增加，增加比例与给药剂量增加比相当，雌雄动物无明显差别。

表 6 重复给药的毒代动力学参数

剂量 (mg/kg)	性别	第 1 天 (首次给药)					第 22 天 (第 4 次给药)			AR
		Mean T _{max} (h)	Mean C _{max} (ng/mL)	C _{max} Ratio	Mean AUC _{0-t} (h*ng/mL)	AUC _{0-t} Ratio	Mean T _{max} (h)	Mean C _{max} (ng/mL)	Mean AUC _{0-t} (h*ng/mL)	
1	M	0.0333	27200	1.0	2850000	1.0	0.0333	1430	1550	-
	F	0.827	25800	1.0	2930000	1.0	0.0333	15100	1460000	-
	All	0.430	26500	1.0	2890000	1.0	0.0333	8240	728000	-
5	M	0.0333	147000	5.4	14500000	5.1	1.62	166000	17900000	-
	F	0.0333	140000	5.4	13800000	4.7	0.0333	56400	1220000	-
	All	0.0333	144000	5.4	14200000	4.9	0.827	111000	9570000	-
30	M	0.827	910000	33.5	93100000	32.7	3.22	1560000	178000000	1.9
	F	0.0333	862000	33.4	86800000	29.6	0.0333	1730000	213000000	2.5
	All	0.430	886000	33.4	90000000	31.1	1.62	1650000	195000000	2.2

注: C_{max}ratio=平均 C_{max}/1mg/kg 剂量组中对应的平均 C_{max}; AUC_{0-t} ratio=平均 AUC_{0-t}/1mg/kg 剂量组中对应的 AUC_{0-t}; 蓄积比 AR=第 22 天的平均 AUC_{0-t}/第 1 天的平均 AUC_{0-t}。

c) 免疫原性

采集血清样品, 采用已验证的 ECLA 分析方法 (电化学发光免疫分析疫原性): 重复静脉输注抗体 M-KF (1、5 或 30 mg/kg) 后, 个体阳性率分别为 90.0% (9/10)、80.0% (8/10) 和 20.0% (2/10), 给药后动物的总体阳性率为 63.3% (19/30)。

d) 给药局部刺激

食蟹猴连续 4 周静脉输注抗体 M-KF (1、5 或 30 mg/kg) 后, 各给药组动物给药部位均未见受试物相关的局部刺激反应。

实施例 3 体外溶血实验和组织交叉反应试验

采用人血红细胞作为试验模型, 当抗体 M-KF 注射液 (浓度为 25.8 mg/mL) 稀释超过 10 倍时, 在体外不会引起人红细胞的溶血或凝集。

采用生物素标记的抗体 M-KF 和链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶 (SP) 的免疫组化法, 5 和 40 µg/mL 的抗体 M-KF 不与人和食蟹猴的组织发生组织交叉反应。

实施例 4 抗体 M-KF 的临床研究

本研究是一项评价抗体 M-KF 注射液在晚期恶性实体肿瘤患者中的安全性、耐受性、药代动力学 (PK) 特征和初步临床有效性的多中心、开放性、剂量递增的 I 期临床试验; 探索最大耐受剂量 (MTD) 或最大给药剂量 (MAD), 并为 II 期或后续临床研究提供推荐剂量及合理的给药方案。

本剂量递增研究采用基于“3+3”的剂量递增规则来探索安全剂量范围。第1阶段：0.01 mg/kg 组、0.03 mg/kg 组、0.1 mg/kg 组采用加速滴定方法进行剂量递增；第2阶段，0.3 mg/kg 组、1 mg/kg 组、3 mg/kg 组按标准“3+3”规则进行剂量递增研究。

三组采用加速滴定的剂量递增方案即队列规模=1。首先纳入1例受试者，在DLT评估期内如果未观察到DLT事件，则可直接进入下一组组进行剂量递增，以此规则（“1+1”）类推，加速递增至（0.1 mg/kg）剂量组。在加速递增过程中，若在某一组别观察到与研究药物相关的2级及以上毒性反应，则停止加速剂量递增，转为标准“3+3”剂量递增（即队列规模=3）规则。

每3周以静脉输注给药1次，为1个周期（疗程），输注时长可 ≥ 60 分钟。如果患者出现输液相关反应并能够继续治疗，可基于临床实际情况可以使用苯海拉明或对乙酰氨基酚等进行预防给药。持续治疗直到出现：疾病进展、或不可耐受的毒性而退出、或因无疗效获益而接受新的抗肿瘤治疗、或撤回知情同意等其它原因主动退出、或最长34个周期（约2年），以先出现的为准。DLT评估期：为第1个治疗周期（从首次给药至给药后21天）。

耐受性评价指标涉及：剂量限制性毒性（DLT）事件及其发生率；安全性评价指标涉及：生命体征与体格检查、实验室检查（血常规、血生化、甲状腺功能、凝血常规、尿常规、便常规、妊娠试验）、心电图、不良事件（包括免疫相关不良事件）等。

所有剂量组的受试者在治疗期间（前4个治疗周期）的规定时间点需要收集血样，每个时间点计划采2 mL血样，检测血清药物的浓度水平，研究药代动力学（PK）特征。PK涉及的参数有：单次给药时，参数包括 C_{max} 、 T_{max} 、 $T_{1/2}$ 、CL、Vd、Ke、MRT、 $AUC_{(0-\tau)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ ；多次给药时，参数包括 $C_{max,ss}$ 、 $C_{avg,ss}$ 、 $C_{min,ss}$ 、 $AUC_{(0-\tau),ss}$ 、 $AUC_{(0-\infty),ss}$ 、 $T_{max,ss}$ 、 $T_{1/2,ss}$ 、CL、Vss、Ke、MRT、蓄积指数（Rac）、波动指数DF。

临床有效性评价：客观缓解率（Objective Response Rate, ORR）：为完全缓解（CR）和部分缓解（PR）的受试者的比例。缓解持续时间（Duration of Response, DOR）：DOR定义为肿瘤第一次评估为客观缓解（Objective Response, OR）至第一次评估为PD或PD（Progressive Disease）前任何原因死亡的时间，反映ORR的持续时间。无进展生存期（Progression-Free Survival: PFS）：为从首次给药至出现肿瘤客观进展或全因死亡的时间（以先发生者为准）。“MTD”为某一剂量组在DLT评估期内观察到 $\leq 1/6$ 的受试者中探索到的DLT的最高剂量水平。

“剂量限制性毒性（DLT）”为在DLT观察期发生的不良事件（AE）并被认为至少可能与研究药物相关，具体如下：

■血液学毒性：

- 4 级血液学毒性;
- 4 级血小板减少症; 有出血倾向的或需要输注血小板的 3 级血小板减少症;
- ≥ 3 级的中性粒细胞减少伴发热;

■非血液学毒性:

- 4 级非血液学毒性;
- 非临床实验室检查发现的: 3 级非血液学毒性, 包括 3 级的持续时间 > 3 天的皮疹、恶心、呕吐或腹泻;
- 临床实验室检查发现的、满足以下条件之一的 3、4 级非血液学毒性: 1) 需要临床干预, 2) 异常并导致住院治疗的程度, 3) 异常持续超过 1 星期导致受试者在第 1 周期停止治疗的任何药物相关 AE, 4) 导致第 2 周期治疗延迟 ≥ 2 周的任何药物相关 AE。

权 利 要 求 书

1、一种用于治疗肿瘤或癌症的方法，其特征在于，所述方法包括：向有需要的患者给药有效量的抗 OX40 抗体或抗原结合片段；

所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段包含 SEQ ID NO:1 所示的 HCDR1、SEQ ID NO:2 所示的 HCDR2、SEQ ID NO:3 所示的 HCDR3、SEQ ID NO:4 所示的 LCDR1、SEQ ID NO:5 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:6 所示的 LCDR3。

2、如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段包含 SEQ ID NO:7 所示的重链可变区，或与 SEQ ID NO:7 所示序列具有至少 80% 同一性的序列，或与 SEQ ID NO:7 所示序列相比具有一或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列；和/或

所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段包含 SEQ ID NO:8 所示的轻链可变区，或与 SEQ ID NO:8 所示序列具有至少 80% 同一性的序列，或与 SEQ ID NO:8 所示序列相比具有一或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列。

3、如权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，所述抗 OX40 抗体的重链包含 SEQ ID NO:9 所示的序列，或与 SEQ ID NO:9 所示序列具有至少 80% 同一性的序列，或与 SEQ ID NO:9 所示序列相比具有一或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列；和/或

所述抗 OX40 抗体的轻链包含 SEQ ID NO:10 所示的序列，或与 SEQ ID NO:10 所示序列具有至少 80% 同一性的序列，或与 SEQ ID NO:10 所示序列相比具有一或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列。

4、如权利要求 1-3 任一项所述的方法，其特征在于，所述抗 OX40 抗体的岩藻糖基化水平为 0-10%。

5、如权利要求 1-3 任一项所述的方法，其特征在于，所述抗 OX40 抗体由 α -(1,6)-岩藻糖基转移酶基因敲除的细胞表达。

6、如权利要求 1-5 任一项所述的方法，其特征在于，所述肿瘤或癌症包括急性淋巴细胞性白血病、急性骨髓性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性骨髓性白血病、骨髓性增生疾病/肿瘤、霍奇金淋巴瘤、无痛性和侵袭性非霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、巨细胞骨髓瘤、重链骨髓瘤、轻链或本斯-琼斯骨髓瘤、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、黑素瘤、结直肠癌、肺癌、头颈癌、膀胱癌、食道癌、肝癌和肾癌。

7、如权利要求 1-6 任一项所述的方法，其特征在于，每个治疗周期内抗 OX40 抗体给药的有效量为 0.6 mg 至 900 mg。

8、如权利要求 7 所述的方法，其特征在于，一个治疗周期为 1 周、2 周、3 周、或 4 周。

9、如权利要求 1-8 任一项所述的方法，其特征在于，所述抗 OX40 抗体的每次给药量为 0.01 mg/kg-25 mg/kg。

10、如权利要求 1-9 任一项所述的方法，其特征在于，给药方式为静脉注射或皮下注射。

11、一种试剂盒，其特征在于，包含抗 OX40 抗体或抗原结合片段和用于指导有需要患者给药抗 OX40 抗体或抗原结合片段的说明书；

所述抗 OX40 抗体或抗原结合片段包含 SEQ ID NO:1 所示的 HCDR1、SEQ ID NO:2 所示的 HCDR2、SEQ ID NO:3 所示的 HCDR3、SEQ ID NO:4 所示的 LCDR1、SEQ ID NO:5 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:6 所示的 LCDR3。

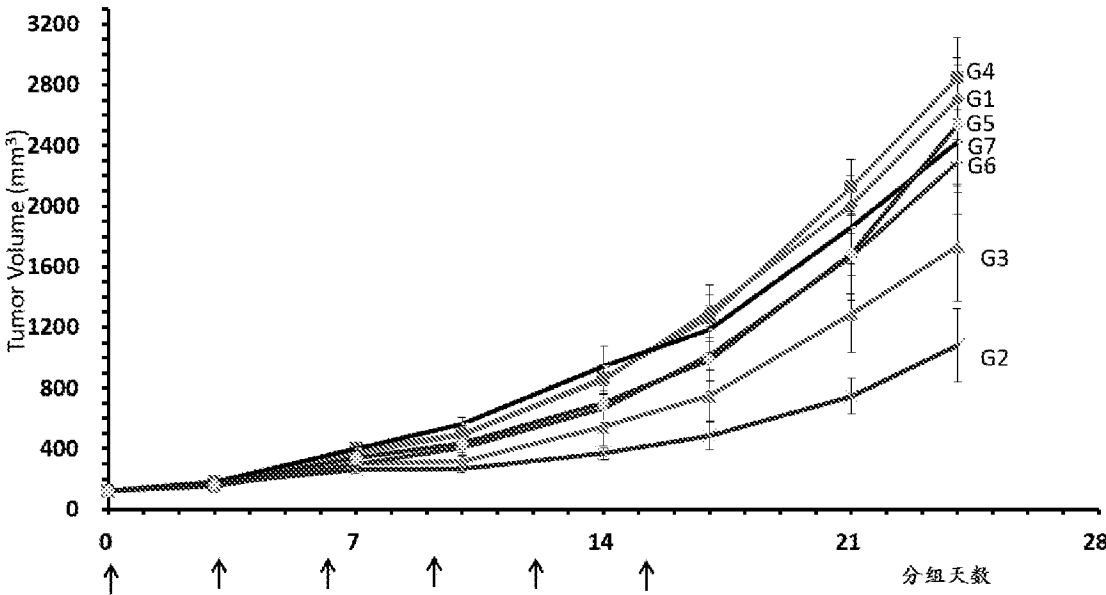


图 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/131542

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNKI, 百度搜索, WEB OF SCIENCE, PubMed: OX40, TNFRSF4, ACT35, CD134, 抗体, 瘤, 癌, antibody, cancer, tumor, carcinomatosis, carcinosis, carcinoma GenBank, EMBL, 中国专利生物序列检索系统: search based on SEQ ID NOs: 1-10

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2017130076 A1 (PFIZER) 03 August 2017 (2017-08-03) see entire document	1-11
A	WO 2020063660 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO.) 02 April 2020 (2020-04-02) see entire document	1-11
A	US 2017182156 A1 (AUGUSTA UNIV RES INST INC) 29 June 2017 (2017-06-29) see entire document	1-11
A	Kuang Zhihui et al. "Development and characterization of a novel anti-OX40 antibody for potent immune activation" <i>Cancer Immunology, Immunotherapy</i> , Vol. 69, No. 6, 11 June 2020 (2020-06-11), pp. 939-950	1-11
A	Sarah L Buchan et al. "The immunobiology of CD27 and OX40 and their potential as targets for cancer immunotherapy" <i>Blood</i> , Vol. 131, No. 1, 08 November 2017 (2017-11-08), pp. 39-48	1-11



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

08 February 2022

Date of mailing of the international search report

18 February 2022

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088, China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/131542

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/131542

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **1-10**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

[1] Claims 1-10 relate to a method that belongs to treatment methods practiced on the human or animal body (PCT Rule 39.1(iv)), however, the examiner has still performed a search on the basis of "uses of an anti-OX40 antibody or an antigen binding fragment in preparing a drug for treating tumors or cancer, wherein said anti-OX40 antibody.....comprising SEQ ID NO:.....".
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/131542

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2017130076	A1	03 August 2017	RU	2018127164	A3	28 February 2020
				RU	2018127164	A	28 February 2020
				RU	2748949	C2	02 June 2021
				JP	2019506403	A	07 March 2019
				JP	6783312	B2	11 November 2020
				CN	108473587	A	31 August 2018
				BR	112018014016	A2	05 February 2019
				HK	1259253	A1	29 November 2019
				EP	3408294	A1	05 December 2018
				AU	2020210145	A1	13 August 2020
				US	2019031765	A1	31 January 2019
				AU	2017211540	A1	19 July 2018
				AU	2017211540	B2	30 April 2020
				KR	20180103150	A	18 September 2018
				CA	2955184	A1	25 July 2017
				MX	2018008995	A	10 January 2019
				KR	20210013777	A	05 February 2021
WO	2020063660	A1	02 April 2020	BR	112021005169	A2	15 June 2021
				CA	3113541	A1	02 April 2020
				US	2021355229	A1	18 November 2021
				KR	20210069058	A	10 June 2021
				EP	3858857	A1	04 August 2021
				AU	2019347934	A1	08 April 2021
				CN	112513088	A	16 March 2021
US	2017182156	A1	29 June 2017	TW	202035455	A	01 October 2020
				WO	2015153857	A1	08 October 2015
				WO	2015153857	A8	13 October 2016
				KR	20170002410	A	06 January 2017
				JP	2017511320	A	20 April 2017
				JP	6612252	B2	27 November 2019
				IL	248079	D0	30 November 2016
				SG	11201608181 Y	A	28 October 2016
				SG	10201808746 Q	A	29 November 2018
				ES	2774381	T3	20 July 2020
				US	10478491	B2	19 November 2019
				EP	3126007	A1	08 February 2017
				EP	3126007	A4	25 October 2017
				EP	3126007	B1	11 December 2019
				CA	2948054	A1	08 October 2015
				AU	2015240727	A1	10 November 2016
				CN	106457001	A	22 February 2017
				RU	2016142210	A	04 May 2018
				RU	2016142210	A3	13 November 2018
				RU	2689162	C2	24 May 2019

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2021/131542

A. 主题的分类

A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNKI, 百度学术搜索, WEB OF SCIENCE, PubMed; 0X40, TNFRSF4, ACT35, CD134, 抗体, 瘤, 癌, antibody, cancer, tumor, carcinomatosis, carcinosis, carcinoma
GenBank, EMBL, 中国专利生物序列检索系统: 基于SEQ ID NOs:1-10的检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	WO 2017130076 A1 (PFIZER) 2017年8月3日 (2017 - 08 - 03) 参见全文	1-11
A	WO 2020063660 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO) 2020年4月2日 (2020 - 04 - 02) 参见全文	1-11
A	US 2017182156 A1 (AUGUSTA UNIV RES INST INC) 2017年6月29日 (2017 - 06 - 29) 参见全文	1-11
A	Kuang Zhihui et al. "Development and characterization of a novel anti-0X40 antibody for potent immune activation" Cancer Immunology, Immunotherapy, 第69卷, 第6期, 2020年6月11日 (2020 - 06 - 11), 第939-950页	1-11
A	Sarah L Buchan et al. "The immunobiology of CD27 and 0X40 and their potential as targets for cancer immunotherapy" Blood, 第131卷, 第1期, 2017年11月8日 (2017 - 11 - 08), 第39-48页	1-11

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2022年2月8日

国际检索报告邮寄日期

2022年2月18日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

授权官员

赵彦豪

电话号码 62411043

第I栏

核苷酸和/或氨基酸序列 (续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列表进行的:

a. ☒ 作为国际申请的一部分提交的:

☒ 附件C/ST. 25文本文件形式

☐ 纸件或图形文件形式

b. ☐ 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:

c. ☐ 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:

☐ 附件C/ST. 25文本文件形式 (细则13之三. 1(a))

☐ 纸件或图形文件形式 (细则13之三. 1(b) 和行政规程第713段)

2. ☐ 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围 (如适用) 的所需声明。

3. 补充意见:

第II栏

某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☒ 权利要求： 1-10
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求1-10涉及的方法属于人体/动物体上实施的治疗方法（PCT实施细则39.1 (iv)），但审查员还是基于“抗OX40抗体或抗原结合片段在制备治疗肿瘤或癌症的药物中的用途，其中所述抗OX40抗体……包含SEQ ID NO:……”进行检索。
2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/131542

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2017130076	A1	2017年8月3日	RU	2018127164	A3	2020年2月28日
				RU	2018127164	A	2020年2月28日
				RU	2748949	C2	2021年6月2日
				JP	2019506403	A	2019年3月7日
				JP	6783312	B2	2020年11月11日
				CN	108473587	A	2018年8月31日
				BR	112018014016	A2	2019年2月5日
				HK	1259253	A1	2019年11月29日
				EP	3408294	A1	2018年12月5日
				AU	2020210145	A1	2020年8月13日
				US	2019031765	A1	2019年1月31日
				AU	2017211540	A1	2018年7月19日
				AU	2017211540	B2	2020年4月30日
				KR	20180103150	A	2018年9月18日
				CA	2955184	A1	2017年7月25日
				MX	2018008995	A	2019年1月10日
				KR	20210013777	A	2021年2月5日
WO	2020063660	A1	2020年4月2日	BR	112021005169	A2	2021年6月15日
				CA	3113541	A1	2020年4月2日
				US	2021355229	A1	2021年11月18日
				KR	20210069058	A	2021年6月10日
				EP	3858857	A1	2021年8月4日
				AU	2019347934	A1	2021年4月8日
				CN	112513088	A	2021年3月16日
US	2017182156	A1	2017年6月29日	TW	202035455	A	2020年10月1日
				WO	2015153857	A1	2015年10月8日
				WO	2015153857	A8	2016年10月13日
				KR	20170002410	A	2017年1月6日
				JP	2017511320	A	2017年4月20日
				JP	6612252	B2	2019年11月27日
				IL	248079	D0	2016年11月30日
				SG	11201608181Y	A	2016年10月28日
				SG	10201808746Q	A	2018年11月29日
				ES	2774381	T3	2020年7月20日
				US	10478491	B2	2019年11月19日
				EP	3126007	A1	2017年2月8日
				EP	3126007	A4	2017年10月25日
				EP	3126007	B1	2019年12月11日
				CA	2948054	A1	2015年10月8日
				AU	2015240727	A1	2016年11月10日
				CN	106457001	A	2017年2月22日
				RU	2016142210	A	2018年5月4日
				RU	2016142210	A3	2018年11月13日
				RU	2689162	C2	2019年5月24日