



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119735682 A

(43) 申请公布日 2025. 04. 01

(21) 申请号 202411950244.6

(22) 申请日 2020.03.31

(30) 优先权数据

62/827,744 2019.04.01 US

(62) 分案原申请数据

202080040939.4 2020.03.31

(71) 申请人 库里亚知识产权控股有限责任公司

地址 美国纽约州

申请人 特里安尼股份有限公司

(72) 发明人 B·A·扎贝尔 J·A·利平科特

Y·郑 M·V·饶 M·谭

D·P·迈宁格

(74) 专利代理机构 深圳市百瑞专利商标事务所

(普通合伙) 44240

专利代理师 金辉

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

权利要求书3页 说明书56页 附图7页

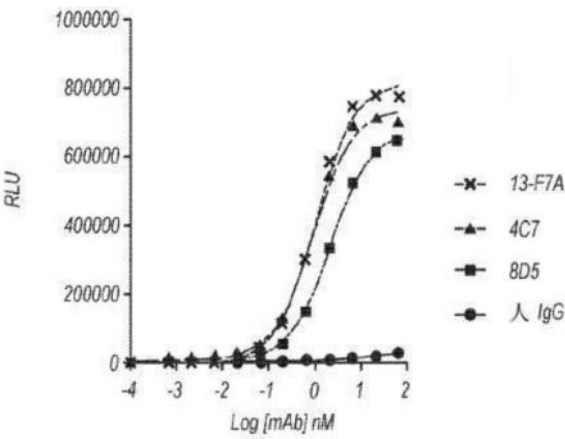
(54) 发明名称

用于调节免疫应答和治疗疾病的BTLA结合

(CD272) 抗体

(57) 摘要

本发明提供了新型的抗BTLA抗体,包含这种抗体的药物组合物,以及使用这种抗体和药物组合物治疗疾病(例如癌症或自身免疫性疾病)的治疗方法。



1. 一种结合人和/或食蟹猕猴BTLA的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含:

a) 包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的vLCDR1、包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的vLCDR2和包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的vLCDR3;

b) 包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的vLCDR1、包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的vLCDR2和包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的vLCDR3;

c) 包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的vLCDR1、包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的vLCDR2和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的vLCDR3;

d) 包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的vLCDR1、包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的vLCDR2和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的vLCDR3;或者

e) 包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的vLCDR1、包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的vLCDR2和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的vLCDR3。

2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中:

a) 包含以下的所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区:包含SEQ ID NO:149的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:151的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列的vLCDR1、包含SEQ ID NO:153的氨基酸序列的vLCDR2和包含SEQ ID NO:154的氨基酸序列的vLCDR3,所述重链可变区包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列;

b) 包含以下的所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区:包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列的vLCDR1、包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列的vLCDR2和包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列的vLCDR3,所述重链可变区包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列;

c) 包含以下的所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区:包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列的vLCDR1、包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列的vLCDR2和包含SEQ ID NO:124的氨基酸序列的vLCDR3,所述重链可变区包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列;

d) 包含以下的所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区:包含SEQ ID

NO:131的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:132的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:133的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:134的氨基酸序列的v1CDR1、包含SEQ ID NO:135的氨基酸序列的v1CDR2和包含SEQ ID NO:136的氨基酸序列的v1CDR3,所述重链可变区包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;或者

e) 包含以下的所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区:包含SEQ ID NO:137的氨基酸序列的vhCDR1、包含SEQ ID NO:138的氨基酸序列的vhCDR2、包含SEQ ID NO:139的氨基酸序列的vhCDR3、包含SEQ ID NO:140的氨基酸序列的v1CDR1、包含SEQ ID NO:141的氨基酸序列的v1CDR2和包含SEQ ID NO:142的氨基酸序列的v1CDR3,所述重链可变区包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列,所述轻链可变区包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的抗体或其抗原结合片段,其中:所述抗体或其抗原结合片段作为BTLA拮抗剂并且促进激活的T细胞的IL-2分泌;或者所述抗体或其抗原结合片段作为BTLA激动剂并且抑制促炎性T细胞功能。

4. 根据权利要求3所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段抑制HVEM介导的T细胞功能抑制。

5. 根据权利要求1或权利要求2所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段包含人源化IgG恒定区,所述人源化IgG恒定区选自由IgG1、IgG2、IgG3或IgG4组成的组。

6. 根据权利要求1或权利要求2所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗原结合片段选自Fv、Fab和scFv片段。

7. 一种编码根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的核酸组合物。

8. 根据权利要求7所述的核酸组合物,所述核酸组合物包含:

- a) 包含SEQ ID NO:219的第一核酸和包含SEQ ID NO:220的第二核酸;
- b) 包含SEQ ID NO:205的第一核酸和包含SEQ ID NO:206的第二核酸;
- c) 包含SEQ ID NO:209的第一核酸和包含SEQ ID NO:210的第二核酸;
- d) 包含SEQ ID NO:213的第一核酸和包含SEQ ID NO:214的第二核酸;或者
- e) 包含SEQ ID NO:215的第一核酸和包含SEQ ID NO:216的第二核酸。

9. 一种表达载体组合物,所述表达载体组合物包含根据权利要求8所述的核酸组合物,其中第一核酸包含在第一表达载体中,并且第二核酸包含在第二表达载体中。

10. 一种表达载体组合物,所述表达载体组合物包含根据权利要求8所述的核酸组合物,其中第一核酸和第二核酸包含在单一表达载体中。

11. 一种宿主细胞,所述宿主细胞包含表达载体组合物,所述表达载体组合物包含根据权利要求8所述的核酸组合物,其中(i) 第一核酸包含在第一表达载体中,并且第二核酸包含在第二表达载体中;或者(ii) 所述第一核酸和所述第二核酸包含在单一表达载体中。

12. 一种制备抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在表达所述抗体或其抗原结合片段的条件下培养根据权利要求11所述的宿主细胞并且回收所述抗体或其抗原结合片段。

13. 一种组合物,所述组合物包含根据权利要求1至6中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,以及药学上可接受的载剂或稀释剂。

14. 权利要求1至6中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制备用于调节受试者中的免疫应答的药物中的用途。

15. 根据权利要求14所述的抗体或其抗原结合片段的用途, 其中所述抗体或抗原结合片段作为BTLA拮抗剂。

16. 根据权利要求14所述的抗体或其抗原结合片段的用途, 其中所述抗体或抗原结合片段作为BTLA激动剂。

17. 权利要求1至6中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制备用于治疗受试者中的癌症的药物中的用途。

18. 根据权利要求17所述的抗体或其抗原结合片段的用途, 其中所述抗体或抗原结合片段作为BTLA拮抗剂。

19. 根据权利要求17所述的抗体或其抗原结合片段的用途, 其中所述抗体或抗原结合片段作为BTLA激动剂。

20. 权利要求1至6中任一项所述的抗体或其抗原结合片段在制备用于治疗受试者中的自身免疫性疾病的药物中的用途。

21. 根据权利要求20所述的抗体或其抗原结合片段的用途, 其中所述抗体或抗原结合片段作为BTLA激动剂。

22. 根据权利要求21所述的抗体或其抗原结合片段的用途, 其中所述受试者在驻留在自身免疫性疾病发展位点的自身反应性T细胞上表达低水平的HVEM。

23. 根据权利要求20所述的抗体或其抗原结合片段的用途, 其中所述自身免疫性疾病是多发性硬化症。

用于调节免疫应答和治疗疾病的BTLA结合 (CD272) 抗体

[0001] 本申请是申请号为202080040939.4,申请日为2020年3月31日,发明名称为“用于调节免疫应答和治疗疾病的BTLA结合 (CD272) 抗体”的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求于2019年4月1日提交的美国临时专利申请号62/827,744的优先权,其通过引用全部并入本文中。

技术领域

[0004] 本公开涉及新型抗BTLA抗体和包括这类抗体的药学组合物,用于调节免疫应答和治疗疾病,例如癌症或自身免疫性疾病。

背景技术

[0005] 通过诱导、增强或抑制免疫应答来治疗疾病被称为免疫疗法。免疫疗法已经表现出在治疗癌症中有效性越来越高。一般地,肿瘤微环境使得癌细胞能够逃避免疫系统的检测,例如,通过上调由肿瘤细胞自身表达的免疫抑制蛋白(例如,PDL1、HVEM)。白细胞对这些抑制蛋白表达特定的受体(也被称为免疫检查点受体)(例如PDL1的PD1和HVEM的BTLA),因此,肿瘤细胞可以结合免疫检查点受体来抑制针对自身的免疫反应。

[0006] 许多成功治疗癌症的免疫疗法是基于靶向免疫检查点CTLA-4和PD-1/PD-L1的免疫调节抗体的使用。然而,许多FDA批准的阻止免疫检查点配对的抗体仅对约20%的癌症患者有效。对于应答者,治疗是高度有效和持久的。然而,对于剩下80%的非应答者的癌症患者,需要靶向其他免疫检查点的新型免疫疗法。

[0007] BTLA(B和T淋巴细胞衰减因子)是一种跨膜蛋白,在T细胞激活过程中被诱导表达。BTLA还在B细胞和树突状细胞上表达。类似PD1和CTLA4,BTLA与B7同系物BTH4相互作用。然而,不像PD-1和CTLA-4,BTLA还与肿瘤坏死因子受体家族(tumor necrosis family receptors)相互作用。一种这类受体是肿瘤坏死因子(受体)超家族成员14(TNFRSF14),也称为疱疹病毒侵入介质(HVEM)。HVEM是针对涉及病毒进入的HSV糖蛋白D的受体,在造血细胞(包括B和T细胞)以及非造血细胞(nonhematopoietic cell)(实质细胞(parenchymal cell))中表达。另外,HVEM在各种血液肿瘤和实体瘤中表达。BTLA-HVEM相互作用下调T细胞应答,例如CD8+T细胞应答。上调BTLA和/或HVEM是肿瘤细胞为逃避免疫识别和破坏而施加的一种机制。例如,BTLA和HVEM在B细胞慢性淋巴细胞白血病和胃癌中高度表达;以及上调BTLA在霍奇金淋巴瘤、B细胞非霍奇金淋巴瘤和一些T细胞非霍奇金淋巴瘤以及肝细胞癌患者的外周血中细胞毒性CD8+T细胞中的表达。另外,缺乏HVEM-BTLA信号传导会放大免疫应答,导致炎症失调(dysregulated inflammation)和自身免疫性疾病。因此,BTLA信号传导的调节可以同时靶向癌症和自身免疫性疾病。

发明内容

[0008] 在一方面,本发明涉及新型的抗BTLA抗体。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含

SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的轻链可变区。

[0009] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:47的vhCDR1、包含SEQ ID NO:48的vhCDR2、包含SEQ ID NO:49的vhCDR3、包含SEQ ID NO:50的v1CDR1、包含SEQ ID NO:51的v1CDR2和包含SEQ ID NO:52的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:53的vhCDR1、包含SEQ ID NO:54的vhCDR2、包含SEQ ID NO:55的vhCDR3、包含SEQ ID NO:56的v1CDR1、包含SEQ ID NO:57的v1CDR2和包含SEQ ID NO:58的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:59的vhCDR1、包含SEQ ID NO:60的vhCDR2、包含SEQ ID NO:61的vhCDR3、包含SEQ ID NO:62的v1CDR1、包含SEQ ID NO:63的v1CDR2和包含SEQ ID NO:64的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:65的vhCDR1、包含

SEQ ID NO:66的vhCDR2、包含SEQ ID NO:67的vhCDR3、包含SEQ ID NO:68的v1CDR1、包含SEQ ID NO:69的v1CDR2和包含SEQ ID NO:70的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:71的vhCDR1、包含SEQ ID NO:72的vhCDR2、包含SEQ ID NO:73的vhCDR3、包含SEQ ID NO:74的v1CDR1、包含SEQ ID NO:75的v1CDR2和包含SEQ ID NO:76的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:77的vhCDR1、包含SEQ ID NO:78的vhCDR2、包含SEQ ID NO:79的vhCDR3、包含SEQ ID NO:80的v1CDR1、包含SEQ ID NO:81的v1CDR2和包含SEQ ID NO:82的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:83的vhCDR1、包含SEQ ID NO:84的vhCDR2、包含SEQ ID NO:85的vhCDR3、包含SEQ ID NO:86的v1CDR1、包含SEQ ID NO:87的v1CDR2和包含SEQ ID NO:88的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:89的vhCDR1、包含SEQ ID NO:90的vhCDR2、包含SEQ ID NO:91的vhCDR3、包含SEQ ID NO:92的v1CDR1、包含SEQ ID NO:93的v1CDR2和包含SEQ ID NO:94的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:95的vhCDR1、包含SEQ ID NO:96的vhCDR2、包含SEQ ID NO:97的vhCDR3、包含SEQ ID NO:98的v1CDR1、包含SEQ ID NO:99的v1CDR2和包含SEQ ID NO:100的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:101的vhCDR1、包含SEQ ID NO:102的vhCDR2、包含SEQ ID NO:103的vhCDR3、包含SEQ ID NO:104的v1CDR1、包含SEQ ID NO:105的v1CDR2和包含SEQ ID NO:106的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:107的vhCDR1、包含SEQ ID NO:108的vhCDR2、包含SEQ ID NO:109的vhCDR3、包含SEQ ID NO:110的v1CDR1、包含SEQ ID NO:111的v1CDR2和包含SEQ ID NO:112的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:113的vhCDR1、包含SEQ ID NO:114的vhCDR2、包含SEQ ID NO:115的vhCDR3、包含SEQ ID NO:116的v1CDR1、包含SEQ ID NO:117的v1CDR2和包含SEQ ID NO:118的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:119的vhCDR1、包含SEQ ID NO:120的vhCDR2、包含SEQ ID NO:121的vhCDR3、包含SEQ ID NO:122的v1CDR1、包含SEQ ID NO:123的v1CDR2和包含SEQ ID NO:124的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:125的vhCDR1、包含SEQ ID NO:126的vhCDR2、包含SEQ ID NO:127的vhCDR3、包含SEQ ID NO:128的v1CDR1、包含SEQ ID NO:129的v1CDR2和包含SEQ ID NO:130的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:131的vhCDR1、包含SEQ ID NO:132的vhCDR2、包含SEQ ID NO:133的vhCDR3、包含SEQ ID NO:134的v1CDR1、包含SEQ ID NO:135的v1CDR2和包含SEQ ID NO:136的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:137的vhCDR1、包含SEQ ID NO:138的vhCDR2、包含SEQ ID NO:139的vhCDR3、包含SEQ ID NO:140的v1CDR1、包含SEQ ID NO:141的v1CDR2和包含SEQ ID NO:142的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:143的vhCDR1、包含SEQ ID NO:144的vhCDR2、包含SEQ ID NO:145的vhCDR3、包含SEQ ID NO:146的v1CDR1、包含SEQ ID NO:147的v1CDR2和包含SEQ ID NO:148的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:149的vhCDR1、包含SEQ ID NO:150的vhCDR2、包含SEQ ID NO:151的vhCDR3、包含SEQ ID NO:152的v1CDR1、包含SEQ ID NO:153的v1CDR2和包含SEQ ID NO:154的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:155的vhCDR1、包含SEQ ID NO:156的vhCDR2、包含SEQ ID NO:157的vhCDR3、包含SEQ ID NO:158的v1CDR1、包含SEQ ID NO:159的v1CDR2和包含SEQ ID NO:160的v1CDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:161的vhCDR1、包含SEQ ID NO:

162的vhCDR2、包含SEQ ID NO:163的vhCDR3、包含SEQ ID NO:164的vLCDR1、包含SEQ ID NO:165的vLCDR2和包含SEQ ID NO:166的vLCDR3。在一些实施例中,抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:167的vhCDR1、包含SEQ ID NO:168的vhCDR2、包含SEQ ID NO:169的vhCDR3、包含SEQ ID NO:170的vLCDR1、包含SEQ ID NO:171的vLCDR2和包含SEQ ID NO:172的vLCDR3。

[0010] 在一些实施例中,本文所述的抗BTLA抗体结合人和/或食蟹猕猴BTLA。

[0011] 在一些实施例中,抗BTLA抗体作为BTLA拮抗剂,阻止BTLA与HVEM的结合和HVEM介导的T细胞功能抑制。这类抗体的示例包括以下抗体:包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链可变区;包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区;包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的轻链可变区;包含SEQ ID NO:101的vhCDR1、包含SEQ ID NO:102的vhCDR2、包含SEQ ID NO:103的vhCDR3、包含SEQ ID NO:104的vLCDR1、包含SEQ ID NO:105的vLCDR2和包含SEQ ID NO:106的vLCDR3;包含SEQ ID NO:107的vhCDR1、包含SEQ ID NO:108的vhCDR2、包含SEQ ID NO:109的vhCDR3、包含SEQ ID NO:110的vLCDR1、包含SEQ ID NO:111的vLCDR2和包含SEQ ID NO:112的vLCDR3;或包含SEQ ID NO:119的vhCDR1、包含SEQ ID NO:120的vhCDR2、包含SEQ ID NO:121的vhCDR3、包含SEQ ID NO:122的vLCDR1、包含SEQ ID NO:123的vLCDR2和包含SEQ ID NO:124的vLCDR3。

[0012] 在一些实施例中,抗BTLA抗体作为BTLA激动剂,抑制促炎性免疫细胞(pro-inflammatory immune cell)功能。这类抗体的示例包括以下抗体:包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的轻链可变区;包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的轻链可变区;包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的轻链可变区;包含SEQ ID NO:131的vhCDR1、包含SEQ ID NO:132的vhCDR2、包含SEQ ID NO:133的vhCDR3、包含SEQ ID NO:134的vLCDR1、包含SEQ ID NO:135的vLCDR2和包含SEQ ID NO:136的vLCDR3;包含SEQ ID NO:137的vhCDR1、包含SEQ ID NO:138的vhCDR2、包含SEQ ID NO:139的vhCDR3、包含SEQ ID NO:140的vLCDR1、包含SEQ ID NO:141的vLCDR2和包含SEQ ID NO:142的vLCDR3;或包含SEQ ID NO:149的vhCDR1、包含SEQ ID NO:150的vhCDR2、包含SEQ ID NO:151的vhCDR3、包含SEQ ID NO:152的vLCDR1、包含SEQ ID NO:153的vLCDR2和包含SEQ ID NO:154的vLCDR3。

[0013] 在一些实施例中,本文所述的抗BTLA抗体包括氨基酸序列与人IgG至少90%相同的恒定区。在一些实施例中,IgG选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施例中,IgG是IgG2。

[0014] 在另一方面,本发明涉及编码本文所述的抗BTLA抗体中的任一种的核酸组合物。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:185的第一核酸和包含SEQ ID NO:186的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:187的第一核酸和包含SEQ ID NO:188的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:189的第一核酸和包含SEQ ID NO:190的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:191的第一核酸和包含SEQ ID NO:192的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:193的第一核酸和包含SEQ ID NO:194的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:195的第一核酸和包含SEQ ID NO:196的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:197的第一核酸和包含SEQ ID NO:198的第二核酸。在一些实施例

中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:199的第一核酸和包含SEQ ID NO:200的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:201的第一核酸和包含SEQ ID NO:202的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:203的第一核酸和包含SEQ ID NO:204的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:205的第一核酸和包含SEQ ID NO:206的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:207的第一核酸和包含SEQ ID NO:208的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:209的第一核酸和包含SEQ ID NO:210的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:211的第一核酸和包含SEQ ID NO:212的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:213的第一核酸和包含SEQ ID NO:214的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:215的第一核酸和包含SEQ ID NO:216的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:217的第一核酸和包含SEQ ID NO:218的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:219的第一核酸和包含SEQ ID NO:220的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:221的第一核酸和包含SEQ ID NO:222的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:223的第一核酸和包含SEQ ID NO:224的第二核酸。在一些实施例中,核酸组合物包括包含SEQ ID NO:225的第一核酸和包含SEQ ID NO:226的第二核酸。

[0015] 本发明的另一方面涉及包括本文所述的核酸组合物中的任一种的表达载体组合物。在一些实施例中,第一核酸包含于第一表达载体中,第二核酸包含于第二表达载体中。在一些实施例中,第一核酸和第二核酸包含于单一表达载体中。

[0016] 本发明的另一方面涉及包括本文所述的表达载体中的任一种的宿主细胞。还提出了一种用于制备抗BTLA抗体的方法,该方法包括在其中抗体表达的条件下培养宿主细胞并回收抗体。

[0017] 在另一方面,本发明涉及包括本文所述的抗BTLA抗体中的任一种的组合物和药学上可接受的载剂或稀释剂。

[0018] 还描述了一种调节受试者的免疫应答的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本文所述的抗BTLA抗体中的任一种或本文所述的组合物中的任一种。在一些实施例中,该方法刺激受试者的免疫应答,并且该方法包括向受试者施用有效量的起BTLA拮抗剂作用的抗BTLA抗体或其药学组合物。在一些实施例中,该方法抑制受试者的免疫应答,并且该方法包括向受试者施用有效量的起BTLA激动剂作用的抗BTLA抗体或其药学组合物。

[0019] 在一些实施例中,该方法刺激受试者的免疫应答,并且该方法包括向受试者施用有效量的抗BTLA抗体,其中抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的轻链可变区;和/或包含SEQ ID NO:107的vhCDR1、包含SEQ ID NO:108的vhCDR2、包含SEQ ID NO:109的vhCDR3、包含SEQ ID NO:110的vLCDR1、包含SEQ ID NO:111的vLCDR2和包含SEQ ID NO:112的vLCDR3。

[0020] 在一些实施例中,该方法刺激受试者的免疫应答,并且该方法包括向受试者施用有效量的抗BTLA抗体,其中抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的轻链可变区;和/或包含SEQ ID NO:101的vhCDR1、包含SEQ ID NO:102的vhCDR2、包含SEQ ID NO:103的vhCDR3、包含SEQ ID NO:104的vLCDR1、包含SEQ ID NO:105的vLCDR2和包含SEQ ID NO:106的vLCDR3。

[0021] 在一些实施例中,该方法刺激受试者的免疫应答,并且该方法包括向受试者施用有效量的抗BTLA抗体,其中抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列的轻链可变区;和/或包含SEQ ID NO:119的vhCDR1、包含SEQ ID NO:120的vhCDR2、包含SEQ ID NO:121的vhCDR3、包含SEQ ID NO:122的vLCDR1、包含SEQ ID NO:123的vLCDR2和包含SEQ ID NO:124的vLCDR3。

[0022] 在一些实施例中,该方法抑制受试者的免疫应答,并且该方法包括向受试者施用有效量的抗BTLA抗体,其中抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列的轻链可变区;和/或包含SEQ ID NO:137的vhCDR1、包含SEQ ID NO:138的vhCDR2、包含SEQ ID NO:139的vhCDR3、包含SEQ ID NO:140的vLCDR1、包含SEQ ID NO:141的vLCDR2和包含SEQ ID NO:142的vLCDR3。

[0023] 在一些实施例中,该方法抑制受试者的免疫应答,并且该方法包括向受试者施用有效量的抗BTLA抗体,其中抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的轻链可变区;和/或包含SEQ ID NO:149的vhCDR1、包含SEQ ID NO:150的vhCDR2、包含SEQ ID NO:151的vhCDR3、包含SEQ ID NO:152的vLCDR1、包含SEQ ID NO:153的vLCDR2和包含SEQ ID NO:154的vLCDR3。

[0024] 在一些实施例中,该方法抑制受试者的免疫应答,并且该方法包括向受试者施用有效量的抗BTLA抗体,其中抗BTLA抗体包括:包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列的重链可变区和包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列的轻链可变区;和/或包含SEQ ID NO:131的vhCDR1、包含SEQ ID NO:132的vhCDR2、包含SEQ ID NO:133的vhCDR3、包含SEQ ID NO:134的vLCDR1、包含SEQ ID NO:135的vLCDR2和包含SEQ ID NO:136的vLCDR3。

[0025] 在另一方面,本发明涉及一种在受试者中治疗癌症的方法,并且该方法包括向受试者施用有效量的本文所述的抗BTLA抗体或其组合物,其中抗BTLA抗体作为BTLA拮抗剂。在一些实施例中,与相应的非癌组织(non-cancerous tissue)相比,待治疗的癌症上调HVEM。在一些实施例中,待治疗的受试者在T细胞上表达高水平的BTLA。待治疗的癌症可以是胃癌。在一些实施例中,抗BTLA抗体结合一种或多种另外的治疗试剂一起使用以治疗癌症。在一些实施例中,这类抗癌治疗试剂是其他免疫检查点抑制剂,例如伊匹单抗(Ipilimumab)、纳武单抗(Nivolumab)、派姆单抗(Pembrolizumab)、阿维单抗(Avelumab)、度伐鲁单抗(Durvalumab)和阿特珠单抗(Atezolizumab)。

[0026] 在另一方面,本发明涉及一种在受试者中治疗自身免疫性疾病的方法,并且该方法包括向受试者施用有效量的本文所述的抗BTLA抗体或其组合物,其中抗BTLA抗体作为BTLA激动剂。在一些实施例中,待治疗的受试者在驻留在自身免疫性疾病发展位点的自身反应性T细胞上具有低水平的HVEM。在一些实施例中,自身免疫性疾病是多发性硬化。

附图说明

[0027] 在结合附图阅读时,最好从以下详细描述中理解本发明。其中包括以下附图:

[0028] 图1通过ELISA示出了抗BTLA抗体13-F7A与人BTLA的结合。抗BTLA抗体4C7和8D5作为对照使用。人IgG作为阴性对照使用。计算相对光单位(RLU)。

[0029] 图2A-2C为通过FACS分析显示抗BTLA抗体13-F7A与BTLA的结合的柱状图。图2A示出了13-F7A与在HEK-293细胞上表达的人BTLA的结合。图2B示出了13-F7A与在HEK-293细胞

上表达的食蟹猕猴BTLA的结合。图2C是显示13-F7A与HEK-293细胞结合的阴性对照。10 μ g/ml和1 μ g/ml的抗体与仅第二抗体对照一起进行测试。

[0030] 图3通过ELISA示出了抗BTLA抗体13-F7A抑制人BTLA/HVEM相互作用。抗BTLA抗体4C7和8D5以及人IgG作为对照使用。

[0031] 图4通过生物膜层干涉技术测量了抗BTLA抗体13-F7A与人BTLA的结合亲和力。将13-F7A固定在生物传感器尖端上,测试166.7、55.6、18.5和6.17nM的重组人BTLA。所测得的解离常数 K_D 是 5.4×10^{-9} M。

[0032] 图5A-5F示出了在抗BTLA抗体下,通过原代T细胞刺激IL-2分泌的EB的剂量-反应曲线。人IgG2和IgG4用作对照。图5A-5C示出了抗BTLA抗体16-I20A、15-C19A和16-H16A及其在T细胞功能上的拮抗剂作用。图5D-5F示出了抗BTLA抗体12-I8A、8-M23A和13-F7A及其在T细胞功能上的激动剂作用。

具体实施方式

[0033] 本公开提供新型抗BTLA抗体。本文所述的抗BTLA抗体与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。在一些实施例中,抗BTLA抗体与人和/或食蟹猕猴BTLA的结合具有高亲和力。在一些实施例中,抗BTLA抗体作为功能性BTLA拮抗剂,在与BTLA结合时,抗BTLA抗体阻止BTLA与HVEM的相互作用并阻止HVEM介导的T细胞功能抑制。在一些实施例中,抗BTLA抗体作为功能性BTLA激动剂,在与BTLA结合时,抗BTLA抗体抑制T细胞功能。本公开还提供了使用这类抗体以调节受试者的免疫应答的方法,并且例如,用于治疗癌症或自身免疫性疾病。另外,本公开描述了编码这些抗体的核酸以及包括这种核酸的宿主细胞。

[0034] 为了便于理解本发明,下面定义了许多术语和词语。

[0035] 如本文所使用的,下列术语中的每个都与本节中的含义相关。

[0036] 本文所使用的冠词“一(a)”和“一个(an)”是指一个或多个(例如,至少一个)文章中的语法对象。例如,“元素(an element)”是指一个元素或多个元素。

[0037] 本文所使用的“约”是指可测量的变量,例如数量、延续时间等,是指包括与指定值 $\pm 20\%$ 或 $\pm 10\%$ 的变化,更优选地 $\pm 5\%$,甚至更优选地 $\pm 1\%$,并且仍然更优选地 $\pm 0.1\%$,这种变化适于执行本公开的方法。

[0038] 本文中“消除(ablation)”是指降低或移除活性。因此,例如,“消除Fc γ R结合”是指与不含特异性变体的Fc区相比,Fc区氨基酸变体具有少于50%起始结合,优选具有少于70-80-90-95-98%的活性损失,一般地,活性低于在Biacore分析中可检测的结合水平。

[0039] 本文所使用的“ADCC”或“抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity)”是指细胞介导的反应,其中表达Fc γ R的非特异性细胞毒性细胞识别在靶细胞上的结合抗体并接着引起靶细胞溶解。ADCC是与结合Fc γ R1IIa相关的;与Fc γ R1IIa结合的提高导致ADCC活性的增加。如本文所讨论的,本发明中许多实施例完全消除ADCC活性。

[0040] 本文所使用的“ADCP”或抗体依赖的细胞介导的吞噬作用(antibody dependent cell-mediated phagocytosis)是指细胞介导的反应,其中表达Fc γ R的非特异性细胞毒性细胞识别在靶细胞上的结合抗体并接着引起靶细胞吞噬。

[0041] 本文中“抗原结合结构域”或“ABD”是指一组六个互补决定区(CDR),当作为多肽序

列的部分存在时,特异性结合目标抗原如本文所讨论的。因此,“抗原结合结构域”结合本文所述的目标抗原。如本领域已知的,这些CDR一般作为第一组可变重CDR(vhCDR或VHCDR或CDR-HC)和第二组可变轻CDR(vlCDR或VLCDR或CDR-LC),每个包含三个CDR:重链的vhCDR1、vhCDR2、vhCDR3和轻链的vlCDR1、vlCDR2和vlCDR3。CDR分别存在于可变重结构域和可变轻结构域,并一起形成Fv区。因此,在一些情况下,抗原结合结构域的六个CDR由可变重链和可变轻链组成。在“Fab”形式中,一组6个CDR由两个不同的多肽序列、可变重结构域(vh或VH;包含vhCDR1、vhCDR2和vhCDR3)和可变轻结构域(vl或VL;包含vlCDR1、vlCDR2和vlCDR3)组成,vh结构域的C-末端连接到重链的CH1结构域的N-末端,vl结构域的C-末端连接到恒定轻结构域的N-末端(并因此形成轻链)。在scFv形式中,一般地通过使用如本文所述的接头,VH和VL结构域共价连接到单个多肽序列,其可以是(从N-末端开始)vh-接头-vl或vl-接头-vh,一般优选地是前者(包括每侧上可选的结构域接头),取决于所使用的形式。如本领域所了解的,通过可变重结构域和可变轻结构域中的每个中的骨架区分离CDR:对于轻可变区,这些是FR1-vlCDR1-FR2-vlCDR2-FR3-vlCDR3-FR4,对于重可变区,这些是FR1-vlCDR1-FR2-vlCDR2-FR3-vlCDR3-FR4,骨架区显示对于人类胚系序列(human germline sequence)具有高同一性。本发明的抗原结合结构域包括Fab、Fv和scFv。

[0042] 本文中的“接头”是指在scFv和/或其他抗体结构中所使用的接头。一般地,有很多适合的可以使用的scFv接头,包括由重组技术产生的传统的肽键。接头肽可主要包括以下氨基酸残基:Gly、Ser、Ala或Thr。接头肽应该具有足够连接两个分子的长度,使他们相对于彼此呈现出正确的构象以保留所需要的活性。在一个实施例中,接头的长度为约1到约50个氨基酸,优选地长度为约1到约30个氨基酸。在一个实施例中,可以使用长度为1到20个氨基酸的接头,在一些实施例中,可以发现使用长度为约5到约10个氨基酸的接头。有用的接头包括甘氨酸-丝氨酸聚合物,包括例如(GS)_n、(GSGGS)_n、(GGGGS)_n和(GGGGS)_n(其中n是至少1的整数(并且一般地从3到4))、甘氨酸-丙氨酸聚合物、丙氨酸-丝氨酸聚合物和其他柔性接头。或者,各种非蛋白质聚合物,包括但不限于聚乙二醇(PEG)、聚丙烯乙二醇、polyoxyalkylenes或聚乙二醇和聚丙烯乙二醇的共聚物,可以找到作为接头的用途,即可以找到用作接头。其他接头序列可包括CL/CH1结构域的任何长度的任何序列但不是CL/CH1结构域的所有残基;例如CL/CH1结构域的前5-12个氨基酸残基。接头可衍生自免疫球蛋白轻链,例如C_κ或C_λ。接头可衍生自任何同种型抗原的免疫球蛋白重链,包括例如C_γ1、C_γ2、C_γ3、C_γ4、C_α1、C_α2、C_δ、C_ε和C_μ。接头序列也可以是衍生自其他蛋白(例如Ig样蛋白(例如,TCR、FcR、KIR))、铰链区衍生序列和来自于其他蛋白的其他天然序列。在一些实施例中,接头是“结构域接头”,用于将任何两个如本文所述的结构域连接在一起。当可以使用任何适合的接头时,许多实施例利用甘氨酸-丝氨酸聚合物,包括例如(GS)_n、(GSGGS)_n、(GGGGS)_n和(GGGGS)_n(其中n是至少1的整数(并且一般地从3到4到5))以及任何肽序列,其允许具有足够长度和柔性的两个结构域的重组连接以允许每个结构域保持其生物功能。

[0043] 术语“抗体”在最广义上使用并包括例如,完整的免疫球蛋白或抗原结合部分。抗原结合部分可以通过重组DNA技术或完整抗体的酶促或化学裂解而产生。因此,术语抗体包括两个重链和两个轻链的传统四聚体抗体,以及抗原结合片段,例如Fv、Fab和scFv。在一些情况下,本发明提供双特异性抗体,其包括至少一个如本文所述的抗原结合结构域。

[0044] 本文中的“修饰”是指多肽序列中的氨基酸替换、插入和/或缺失或化学连接到蛋

白的部分的改变。例如,修饰可以是连接到蛋白质的碳水化合物或PEG结构的改变。本文中的“氨基酸修饰”是指多肽序列中的氨基酸替换、插入和/或缺失。为了清晰明了,除非另有说明,氨基酸修饰通常是通过DNA编码的氨基酸,例如DNA和RNA中具有密码子的20种氨基酸。

[0045] 本文中“氨基酸替换”或“替换”是指在具有不同的氨基酸的亲系多肽序列中的特定位置的氨基酸取代。尤其是,在一些实施例中,氨基酸的替换不是在特定位置自然发生,也不是在生物体内或任何生物体中自然发生。例如,M252Y替换是指变体多肽,在这种情况下,是指Fc变体,在252位的甲硫氨酸被酪氨酸取代。为了清晰明了,被设计成核酸编码序列但不改变起始氨基酸的蛋白质(例如将CGG(编码精氨酸)换成CGA(仍然编码精氨酸)以提高宿主生物体的表达水平)不是“氨基酸替换”;也就是说,尽管创造了编码相同蛋白质的新基因,如果蛋白质在特定位置具有起始时相同的氨基酸,就不是氨基酸替换。

[0046] 本文所用“变体蛋白质”或“蛋白质变体”或“变体”是指通过至少一个氨基酸的修饰区别于亲系蛋白质的蛋白质。蛋白质变体可以是指蛋白质本身、包含蛋白质的组合物或编码该蛋白质的氨基酸序列。优选地,与亲系蛋白质相比,蛋白质变体具有至少一个氨基酸修饰,例如,与亲系蛋白质相比,从约1到70个氨基酸修饰,优选地从约1到约5个氨基酸修饰。如下文所述,在一些实施例中,亲系多肽,例如Fc亲系多肽,是人野生型序列,例如来自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的Fc区。本文中蛋白质变体序列会优选地与亲系蛋白质序列具有至少约80%的同一性,最优选地至少约90%的同一性,更优选地至少约95%-98%-99%的同一性。变体蛋白质可以是指变体蛋白质本身、包含蛋白质变体的组合物或编码该蛋白质的DNA序列。

[0047] 因此,如本文所使用的“抗体变体”或“变体抗原”是指通过至少一个氨基酸修饰区别于亲系抗体的抗体,如本文所使用的“IgG变体”或“变体IgG”是指通过至少一个氨基酸修饰区别于亲系IgG(同样,在许多情况下,区别于人IgG序列)的抗体,如本文所使用的“免疫球蛋白变体”或“变体免疫球蛋白”是指通过至少一个氨基酸修饰区别于亲系免疫球蛋白序列的免疫球蛋白序列。如本文所使用的“Fc变体”或“变体Fc”是指包含在Fc结构域内氨基酸修饰的蛋白质。本发明中的Fc变体根据构成该Fc变体的氨基酸修饰来定义。因此,例如M252Y或252Y是相对于亲系Fc多肽具有在252位取代的酪氨酸的Fc变体,其中编号是根据EU索引。同样,M252Y/S254T/T256E限定相对于亲系Fc多肽具有取代M252Y、S254T和T256E的Fc变体。野生型氨基酸的同一性可能没有指定,其中前述提及的变体被称为252Y/254T/256E。应注意,提供的替代的顺序是任意的,也就是说,例如,252Y/254T/256E是和254T/252Y/256E相同的Fc变体等。本发明中所讨论的所有涉及抗体的位置,除非另有说明,氨基酸的位置编号是根据Kabat对可变区进行编号,根据EU索引对恒定区(包括Fc区域)进行编号。EU索引或如在Kabat中的EU索引或EU编号方案是指EU抗体的编号(Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85,在此通过引用全部并入本文)。修饰可以是增加、缺失或替换。替换可以包括天然的氨基酸,以及在一些情况下,合成的氨基酸。

[0048] 如本文所使用的,本文中“蛋白质”是指至少两个共价连接的氨基酸,其中包括蛋白质、多肽、寡肽和肽。肽基基团可包括天然的氨基酸和肽键。

[0049] 如本文所使用的“Fab”或“Fab区”是指多肽,其包括VH、CH1、VL和CL免疫球蛋白结构域。Fab可以指分离的这个区域,或在全长抗体、抗体片段或Fab融合蛋白背景下的这个区

域。

[0050] 如本文所使用的“Fv”或“Fv片段”或“Fv区域”是指多肽,其包含单个抗原结合结构域(ABD)的VL和VH结构域。如本领域人员会了解的,这些通常由两条链组成,或可以结合(一般地使用本文所讨论的接头)以形成scFv。

[0051] 本文所使用的“氨基酸”和“氨基酸同一性”是指由DNA和RNA编码的20个天然的氨基酸中的一个。

[0052] 本文所使用的“效应子功能”是指由抗体Fc区域和Fc受体或配体的相互作用而产生的生物化学事件。效应子功能包括但不限于ADCC、ADCP和CDC。

[0053] 本文所使用的“Fc γ 受体”、“Fc γ R”或“Fc γ gammaR”是指结合IgG抗体Fc区域和由Fc γ R基因编码的蛋白质家族的任何成员。在人类中,这一家族包括但不限于Fc γ RI (CD64),包括亚型Fc γ RIa、Fc γ RIb和Fc γ RIc;Fc γ RII (CD32),包括亚型Fc γ RIIa(包括同种异型H131和R131)、Fc γ RIIb(包括Fc γ RIIb-1和Fc γ RIIb-2)和Fc γ RIIC;以及Fc γ RIII (CD16),包括亚型Fc γ RIIIa(包括同种异型V158和F158)和Fc γ RIIIb(包括同种异型Fc γ RIIb-NA1和Fc γ RIIb-NA2) (Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65, 通过引用全部并入),以及任何未发现的人Fc γ R或Fc γ R亚型或同种异型。在一些情况下,如本文所述的,减少或消除与一个或多个Fc γ R受体的结合。例如,与Fc γ RIIIa结合的减少降低ADCC,在一些情况下,需要减少与Fc γ RIIIa和Fc γ RIIb的结合。

[0054] 本文所使用的“FcRn”或“新生Fc受体”是指结合IgG抗体和至少部分由FcRn基因编码的蛋白质。FcRn可以来自任何生物体,包括但不限于人类、小鼠、大鼠、兔子和猴子。如本领域已知的,功能性FcRn蛋白质包括通常称为重链和轻链的两个多肽。轻链是 β -2-微球蛋白,重链是由FcRn基因编码的。除非本文另有说明,FcRn或FcRn蛋白是指FcRn重链与 β -2-微球蛋白的复合物。

[0055] 如本文所使用的“亲系多肽”是指起始多肽,其随后修饰以产生变体。亲系多肽可以是天然多肽或变体或天然多肽的工程版本。亲系多肽可以指多肽本身、包含亲系多肽的组合物或编码该多肽的氨基酸序列。因此,本文所使用的“亲系免疫球蛋白”是指未修饰的免疫球蛋白多肽,其被修饰以生成变体,本文所使用的“亲系抗体”是指未修饰的抗体,其被修饰以生成变体抗体。应理解的是,“亲系抗体”包括如下文所述的已知的商业的重组产生的抗体。

[0056] 本文中“重链恒定区”是指抗体的CH1-铰链-CH2-CH3部分,一般来自人IgG1、IgG2或IgG4。

[0057] 如本文所使用的“目标抗原”是指通过给定的抗体的可变区特异性结合的分子。在本案中,目标抗原是BTLA蛋白质。

[0058] 如本文所使用的“靶细胞”是指表达目标抗原的细胞。

[0059] 如本文所使用的“可变区”是指包含一个或多个Ig结构域的免疫球蛋白的区域,其大体上由分别构成 κ 、 λ 和重链免疫球蛋白遗传基因座的V κ 、V λ 和/或VH基因的任一种编码。

[0060] 本文中“野生型”或“WT”是指在自然中发现的氨基酸序列或核苷酸序列,包括等位变异。WT蛋白质具有未有意地进行修饰的氨基酸序列或核苷酸序列。

[0061] 如本文所使用的“位置(position)”是指在蛋白质的序列中的位置。可以依次对位置进行编号,或根据已建立的格式,例如用于抗体编号的EU索引。

[0062] 如本文所使用的“残基”是指蛋白质中的位置或其相关的氨基酸同一性。例如,天冬酰胺297(也称为Asn297或N297)是在人抗体IgG1中297位的残基。

[0063] 本发明中的抗体一般是重组的。“重组”是指在外源宿主细胞中使用重组核酸技术生成抗体。

[0064] 关于蛋白质序列的“氨基酸序列同一性百分比(%)”定义为与特定(亲系)序列氨基酸残基相同的候选序列中氨基酸残基的百分比,在比对氨基酸序列并引入间隔后,如果必要,以实现序列同一性的最大百分比,并不考虑任何保守的替换作为序列同一性的一部分。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对(alignment)可以以本领域技术内的各种方式实现,例如,使用公用计算机软件,例如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于测量比对的合适参数,包括在被比较的序列全长的实现最大比对所需的算法。一个特定的程序是在US公开号20160244525中第[0279]-[0280]段中所述的ALIGN-2程序,在此通过引用并入本文。另一个用于核酸序列的合适比对是由Smith and Waterman, *Advances in Applied Mathematics*, 2:482-489 (1981) 的局部同源算法提供的。通过使用由Dayhoff, *Atlas of Protein Sequences and Structure*, M.O. Dayhoff ed., 5suppl.3:353-358, National Biomedical Research Foundation, Washington, D.C., USA研发的和由Gribskov, *Nucl. Acids Res.* 14(6):6745-6763 (1986) 归一化的评分矩阵,可以将这种算法应用于氨基酸序列。

[0065] 执行这种算法以确定序列的百分比同一性的示例是由在“BestFit”实用程序中的遗传学计算机小组(Genetics Computer Group, Madison, WI)提供的。用于这种方法的默认值参数描述于Wisconsin Sequence Analysis Package Program Manual, Version 8 (1995) (可从遗传学计算机小组, Madison, WI 获得)。在本发明的背景下建立百分比同一性的另一方法是使用版权归爱丁堡大学的MPSRCH程序包,该程序由John F. Collins和Shane S. Sturrok研发,由IntelliGenetics, Inc. (Mountain View, CA) 发行。从这套程序包,可以采用Smith-Waterman算法,其中默认值参数用于评分表(例如,空位开放罚分12分,空位扩展罚分1分,空位为6)。从所生成的数据,“匹配(Match)”数值反应“序列同一性(sequence identity)”。其他合适的用于计算序列之间的百分比同一性或相似性通常为本领域已知的,例如,另一比对程序是与默认值参数使用的BLAST。例如,BLASTN和BLASTP可以使用下列默认值参数:基因序列(genetic code) = 标准(standard);过滤(filter) = 无(none);链(strand) = 两者;截止(cut off) = 60;预期 = 10;矩阵 = BLOSUM62;描述(Descriptions) = 50个序列;分类(sort by) = 高分(HIGH SCORRE);数据库(Databases) = 非冗余(non-redundant), GenBank+EMBL+DDBJ+PDB+GenBank CDS翻译+Swiss蛋白质+Spupdate+PIR。这些程序的细节可以在互联网上找到,地址为<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>。

[0066] 本发明的氨基酸序列(“本发明序列”)和亲系氨基酸序列之间的同一性程度计算为两个序列比对的确切匹配数目除以“本发明序列”的长度或亲系序列的长度,以最短的为准。该结果以百分比同一性表达。

[0067] 在一些实施例中,两个或多个氨基酸序列为至少50%、60%、70%、80%或90%相同。在一些实施例中,两个或多个氨基酸序列为至少95%、97%、98%、99%或甚至100%相同。

[0068] “特异性结合(specific binding)”或“特异性地结合(specifically binds to)”

或“特异性结合于 (specific for)”特定的抗原或表位是指与非特异性相互作用显著不同的结合。可以测量特异性结合,例如,通过确定与对照分子的结合相比的分子结合,对照分子通常具有相似的分子结构,不具有结合亲和力。例如,可以通过与目标类似的对照分子的竞争来确定特异性结合。

[0069] 本文所使用的术语“kassoc”或“Ka”旨在是指特定抗体-抗原相互作用的结合速率,而本文所使用的术语“Kdis”或“Kd”旨在是指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。本文所使用的术语“ K_D ”旨在是指解离常数,由Kd与Ka的比率(Kd/Ka)获得,并表示为摩尔浓度(M)。抗体的 K_D 值可以使用本领域已建立的方法来确定。在一些实施例中,用于确定抗体的 K_D 值的方法是通过使用表面等离子共振技术(surface plasmon resonance),例如,通过使用生物传感器系统,例如BIACORE®系统。在一些实施例中,通过生物膜层表面干涉技术来确定抗体的 K_D 。在一些实施例中, K_D 值是使用固定化物质来测量的。在其他实施例中, K_D 值是使用固定化抗体(例如,亲系小鼠抗体、嵌合抗体或人源化抗体变体)来测量的。在某些实施例中, K_D 值是使用双价结合模式(bivalent binding mode)来测量的。在其他实施例中, K_D 值是使用单价结合模式(monovalent binding mode)来测量的。

[0070] “疾病”包括动物(包括人)的健康状态,其中动物不能维持内稳态(homeostasis),并且其中如果疾病没有得到改善,动物的健康状态会继续恶化。

[0071] 相反,动物(包括人)中的“病症”包括健康状态,其中动物能够维持内稳态,但其中动物的健康状态不如没有病症时那么好。不进行治疗,病症不会必然地导致动物健康状态的进一步恶化。

[0072] 术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”、“治疗(treat)”等是指获得所需的药理作用和/或生理作用。该作用在完全或部分地预防疾病或其症状或减少疾病或其症状的可能性方面可能是预防性的和/或在部分或完全治愈疾病和/或由疾病引起的副作用方面可能是治疗性的。本文所使用的“治疗(treatment)”覆盖了哺乳动物中(尤其是人类中)任何疾病的治疗,包括:(a)预防疾病在可能易患疾病但没有被诊断为患有该疾病的受试者中发生;(b)抑制疾病,即阻止其发展或进展;以及(c)缓解疾病,即导致疾病的消退(regression)和/或一种或多种疾病症状的缓解。“治疗”还指包含药剂的递送以提供药理作用,即使在没有疾病或病况(condition)的情况下。例如,“治疗”包含组合物的递送,该组合物可以在没有疾病病况的情况下引起免疫应答或赋予免疫力,例如,在疫苗的情况下。

[0073] 如本文所使用的术语“哺乳动物”是指任何哺乳动物,包括但不限于啮齿目哺乳动物,例如小鼠和仓鼠,以及兔形目(order Logomorpha)哺乳动物,例如兔子。在一些实施例中,哺乳动物是食肉目动物,包括猫科动物(猫)和犬科动物(狗)。在一些实施例中,哺乳动物是偶蹄目动物,包括牛科动物(奶牛)和猪科动物(猪),或奇蹄目,包括马科动物(马)。最优选的是,哺乳动物是灵长目、新大陆猴(Ceboids)或Simoids(猴子)或类人猿亚目(人和猿)。在一些实施例中,哺乳动物是人。在一些实施例中,哺乳动物是食蟹猴(cynomolgus monkey)。

[0074] 本文所使用的术语“消退”以及源自该术语的词不是必然地意味着100%或完全消退。相反,存在着不同程度的消退,其中本领域普通技术人员认识到具有潜在效益或治疗效果。在这个方面,公开的方法可以提供哺乳动物中癌症的任何量的任何水平的消退。而且,由本发明方法提供的消退可以包括疾病(例如,癌症)的一种或多种病况或症状的消退。还

有,出于本文的目的,“消退”可以包含延迟疾病的发作(onset)、延迟症状的发作和/或延迟其病况的发作。关于进展性疾病或病症,“消退”可以包含减缓疾病或病症的进展、减缓疾病或病症的症状的进展和/或减缓其病况的进展。

[0075] 组合物的“有效量”或“治疗有效量”包括足以给已施用组合物的受试者提供有益的效果的组合物含量。递送工具(delivery vehicle)的“有效量”包括足以有效地结合或递送组合物的含量。

[0076] “个体”或“宿主”或“受试者”或“患者”是需要诊断、治疗或疗法的任何哺乳动物受试者,尤其是人。其他受试者可以包括食蟹猕猴、牛、狗、猫、豚鼠、兔子、大鼠、小鼠、马等。

[0077] 如本文所使用的术语“与……结合”是指以下用途,例如,其中,在施用第二疗法的整个过程中施用第一疗法;其中,施用第一疗法的时间段与施用第二疗法的重叠,例如,其中,在施用第二疗法前开始施用第一疗法和在施用第二疗法结束前结束施用第一疗法;其中,在施用第一疗法开始前开始施用第二疗法和在施用第一疗法结束前结束施用第二疗法;其中,在施用第二疗法开始前开始施用第一疗法和在第一疗法结束前结束施用第二疗法;其中,在施用第一疗法开始前开始施用第二疗法和在施用第二疗法结束前结束施用第一疗法。如此,“与……结合”还可以是指涉及施用两种或多种疗法的方案。如本文所使用的“与……结合”还可以是指施用两种或多种疗法,其可以施用相同或不同的制剂,通过相同或不同的途径,以相同或不同的剂量类型。

[0078] “编码”包括在多核苷酸(例如,基因、cDNA或mRNA)中核苷酸的特定序列的固有性质,多核苷酸作为在生物过程中合成其他聚合物和大分子的模板具有限定的核苷酸序列(即,rRNA、tRNA和mRNA)或限定的氨基酸序列及由此产生的生物学性质。因此,基因编码蛋白质,例如,mRNA的转录和翻译对应于在细胞或其他生物学系统中基因生成蛋白质。与mRNA序列具有相同核苷酸序列并经常由序列表提供的编码链和作为基因或cDNA转录的模板使用的非编码链可以是指编码该基因或cDNA的蛋白质或其他产物。

[0079] 术语“核酸”包括RNA或DNA分子,其具有多于一个以任何形式的核苷酸,包括单链、双链、寡核苷酸或多核苷酸。术语“核苷酸序列”包括在单链形式的核酸中寡核苷酸或多核苷酸中的核苷酸排序。

[0080] “核酸构建体”是指核酸序列,其构造为包含一个或多个在自然中没有发现在一起的功能单元。示例包括环状、线性、双链、染色体外DNA分子(质粒)、粘粒(包含来自 λ 噬菌体的COD序列的质粒)、包含非天然核酸序列的病毒基因组等。

[0081] 本文所使用的术语“可操作地连接”包括与第二多核苷酸具有功能关系的多核苷酸,例如包含以这样的方式排列在核酸部分内的两个多核苷酸的单链或双链核酸部分,该方式为两个多核苷酸中的至少一个能够通过其特征对其他多核苷酸施加生理效应。通过示例方式,可操作地连接到基因编码区的启动子能够启动编码区的转录。在指示可操作连接时,指定顺序是不重要的。例如,词组:“启动子可操作地连接到核苷酸序列”和“核苷酸序列可操作地连接到启动子”在本文中互换使用并认为是相等的。在一些情况下,当编码所需蛋白质的核酸还包括启动子/调控序列,启动子/调控序列位于所需蛋白质编码序列的5'端,使得其驱动细胞中所需蛋白质的表达。

[0082] 本文中可互换使用的术语“寡核苷酸”、“多核苷酸”和“核酸分子”是指任何长度核苷酸的聚合物形式(核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸)。因此,该术语包括但不限于单链、双链

或多链DNA或RNA、基因组DNA、cDNA、DNA-RNA杂合子或聚合物,该聚合物包含嘌呤碱基和嘧啶碱基或其他天然、化学或生物化学修饰、非天然或衍生的核苷酸碱基。多核苷酸的骨架可以包含糖基或磷酸基团(通常在RNA或DNA中找到)或修饰的或取代的糖基或磷酸基团。

[0083] 应用于多核苷酸的术语“重组”是指多核苷酸是各种克隆、限制或连接步骤和其他步骤的组合物,产生的构建体区别和/或不同于在自然中发现的多核苷酸。该术语分别包括原始核苷酸构建体的重复和原始病毒构建体的子代(progeny)。

[0084] 本文中所使用的术语“启动子”包括可操作地连接到待转录的核酸序列(例如核编码所需分子的核酸序列)的DNA序列。一般地,启动子位于待转录的核酸序列的上游并提供RNA聚合酶和其他转录因子的特异性结合位点。

[0085] “载体”能够将基因序列转运到靶细胞。通常,“载体构建体”、“表达载体”和“基因转运载体”是指能够导向感兴趣的基因的表达的核酸构建体,并且其能够将基因序列转运到靶细胞,通过全部或部分载体的基因组整合或作为染色体外元素的载体的瞬时或遗传维护来完成。因此,该术语包括克隆和表达载体,以及整合载体。

[0086] 本文所使用的术语“调控元件”包括控制核酸序列的表达的一些方面的核苷酸序列。调控元件的示例说明性地包括增强子、内部核糖体进入位点(IRES)、内含子、复制原点、多腺苷酸化信号(pA)、启动子、增强子、转录终止序列和上游调控区域,其有助于核酸序列的复制、转录和/或转录后加工。在一些情况下,调控元件还可以包括顺式调控元件以及转位因子(TE)。本领域普通技术人员能够不超过常规实验,在表达构建体中选择和使用这些和其他调控元件。使用基因重组方法或使用已知的方法合成可以产生表达构建体。

[0087] “控制元件”或“控制序列”是涉及分子相互作用的核苷酸序列,其有助于多核苷酸的功能调控,包括多核苷酸的复制、剪接、翻译或降解。调控可能会影响处理的频率、速度或特异性,并且可能实质上是提高性或抑制性。本领域已知的控制元件包括,例如转录调控序列,例如启动子和增强子。启动子是在某些条件下能够结合RNA聚合酶并启动经常位于启动子下游(在3'方向)的编码区转录的DNA区域。

[0088] 本文所使用的氨基酸残基是“磷酸化的”的陈述是指磷酸基团酯连接(ester-link)到氨基酸残基的侧链。可以被磷酸化的典型氨基酸残基包括丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)和酪氨酸(Tyr)。

[0089] 如本文所使用的,术语“药学组合物”是指活性剂与惰性或活性载剂的组合,使得组合物特别适合于体内或离体的诊断或治疗用途。

[0090] 如本文所使用的,术语“药学上可接受的载剂”是指任何标准药学载剂,例如磷酸盐缓冲盐溶液、水、乳液(例如,水包油或油包水乳液)和各自类型的润湿剂。该组合物还可包括稳定剂和防腐剂。对于载剂、稳定剂和佐剂的示例,参见例如,Martin,Remington's Pharmaceutical Sciences,15th Ed.,Mack Publ.Co.,Easton,PA[1975]。

[0091] 在说明书中,当组合物被描述为具有、包括或包含特定组分时,或当过程和方法被描述为具有、包括或包含特定步骤时,设想,另外,存在基本上由该组分组成或由该组分组成的本发明的组合物,并且存在基本上由该加工步骤组成或由该加工步骤组成的根据本发明的过程和方法。

[0092] 一般情况下,除非另有说明,否则指定百分比的组合物按重量计。而且,如果变量没有定义,则按先前的变量定义。

[0093] 本发明的各个方面在以下部分阐述；然而，在一个特定部分描述的本发明的方面不限于任何特定部分。

[0094] I. 抗体

[0095] 本公开提供一种新型抗BTLA抗体。这类抗体可以结合人和/或食蟹猕猴BTLA。表1列出了重链可变区和轻链可变区(并且如表1所指定)的肽序列,可以结合人和/或食蟹猕猴BTLA。在一些实施例中,重链可变区和轻链可变区以Fab格式排列。在一些实施例中,重链可变区和轻链可变区融合在一起以形成scFv。

[0096]

表 1		
克隆	重链可变区氨基酸序列	轻链可变区氨基酸序列
18-E7A	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTSSGYAMSWVRQAPGK GLEWVSGISGSGGGTTYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNNLR AEDTAVYYCAKGDYYGSGSYPL FDYWGQGTLVIVSSX SEQ ID NO: 1 CDR1 (SEQ ID NO: 47) – GFTSSGYA CDR2 (SEQ ID NO: 48) –	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQGISSALAWYQQKPGK APKLLISDASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATF YCQQFNYPPTFGPGTKVDIK SEQ ID NO: 2 CDR1 (SEQ ID NO: 50) – QGISSA CDR2 (SEQ ID NO: 51) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 52) –

[0097]

	ISGSGGGT CDR3 (SEQ ID NO: 49) – AKGDYYGSGSYPLFDY	QQFNYPPT
3-A18A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCT VSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGTTNYPNPSLKSRVTI SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARVVLYSTGWSFDYWGQG TLVTVSSX SEQ ID NO: 3 CDR1 (SEQ ID NO: 53) – GGSISSYY CDR2 (SEQ ID NO: 54) – IYYSGTT CDR3 (SEQ ID NO: 55) – ARVVLYSTGWSFDY	EIVMTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSSYLSWYQQRPG QAPRLLIYGTSTRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFAV YYCQQDYNLPLTFGGGKVEI K SEQ ID NO: 4 CDR1 (SEQ ID NO: 56) – QSVSSSY CDR2 (SEQ ID NO: 57) – GTS CDR3 (SEQ ID NO: 58) – QQDYNLPLT
10-P12A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCT VSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARVVLYSSGWSFDYWGQG TLVTVSSX SEQ ID NO: 5 CDR1 (SEQ ID NO: 59) – GGSISSYY CDR2 (SEQ ID NO: 60) – IYYSGST CDR3 (SEQ ID NO: 61) – ARVVLYSSGWSFDY	EIVMTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSFSSSYLSWYQQKPG QAPRLLIYGASTRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFAV YYCQQDYNLPLTFGGGKVEI K SEQ ID NO: 6 CDR1 (SEQ ID NO: 62) – QSFSSSY CDR2 (SEQ ID NO: 63) – GAS CDR3 (SEQ ID NO: 64) – QQDYNLPLT
2-M12A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCT VSGGSISHYYWSWIRQPPGKGL EWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARVVLYSSGWSFDYWGQ	EIVMTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSSYLSWYQQKPG QAPRLLIYGASTRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFAV YYCQQDYNLPLTFGGGKVEI

[0098]

	GTLTVVSSX SEQ ID NO: 7 CDR1 (SEQ ID NO: 65) – GGSISHYY CDR2 (SEQ ID NO: 66) – IYYSGST CDR3 (SEQ ID NO: 67) – ARVVLYSSGWSFDY	K SEQ ID NO: 8 CDR1 (SEQ ID NO: 68) – QSVSSSY CDR2 (SEQ ID NO: 69) – GAS CDR3 (SEQ ID NO: 70) – QQDYNLPLT
1-G20A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCT VSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARVMVFSSGWYFDYWGGG TLTVVSSX SEQ ID NO: 9 CDR1 (SEQ ID NO: 71) – GGSISSYY CDR2 (SEQ ID NO: 72) – IYYSGST CDR3 (SEQ ID NO: 73) – ARVMVFSSGWYFDY	EIVMTQSPATLSLSPGERATLS CRASQNITSSYLSWYQQKPG QSPRLLIYDASTRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFAV YYCQQDYNLPLTFGGGKVEI K SEQ ID NO: 10 CDR1 (SEQ ID NO: 74) – QNITSSY CDR2 (SEQ ID NO: 75) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 76) – QQDYNLPLT
12-F16A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCT VSGGSISSHYWSWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGNTKYNPSLKSRVTI SVDTSKNQFSLKLTSVTAADTAV YYCARVGPGSHYNPHNWFDPW GQGTLTVVSSX SEQ ID NO: 11 CDR1 (SEQ ID NO: 77) – GGSISSHY CDR2 (SEQ ID NO: 78) – IYYSGNT CDR3 (SEQ ID NO: 79) – ARVGPGSHYNPHNWFDP	EIVMTQSPATLSLSPGERATLS CRASQTVTSSYLSWYQQKPG QAPRLLIYGASTRATGFARFS VSGSGTDFTLTISLQPEDFAV YYCQQDYNLPWTFGQGTKV EIK SEQ ID NO: 12 CDR1 (SEQ ID NO: 80) – QTVTSSY CDR2 (SEQ ID NO: 81) – GAS CDR3 (SEQ ID NO: 82) – –QQDYNLPWT
11-N12A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC	QLVLTQSPSASASLGASVKLT

[0099]

	KASGYTFTNYGIIWVRQAPGQG LEWMGWISAYNGNTNYAQKLQ GRVTMTTDTSTSTAYMELRTLRS DDTAVYYCARDYYSSGSYGGW FDPWGQGTTLTVSSX SEQ ID NO: 13 CDR1 (SEQ ID NO: 83) – GYTFTNYG CDR1 (SEQ ID NO: 83) – GYTFTNYG CDR3 (SEQ ID NO: 85) – ARDYYSSGSYGGWFDP	CTLSSGHSSYAIAWHQQQPEK GPRYLMKLNSDGSLSKGDGIP DRFSGSSSGAERYLTISLQSV DEADYYCQWTWGTGIRVFGGG TKLTVL SEQ ID NO: 14 CDR1 (SEQ ID NO:86) – SGHSSYA CDR2 (SEQ ID NO:87) – LNSDGS CDR3 (SEQ ID NO:88) – QWTWGTGIRV
18-K8A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTNYGIIWVRQAPGQG LEWMGWISAYNGNTNYAQKLQ GRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDYYSSGSYGGW FDPWGQGTTLTVSS SEQ ID NO: 15 CDR1 (SEQ ID NO: 89) – GYTFTNYG CDR2 (SEQ ID NO: 90) – ISAYNGNT CDR3 (SEQ ID NO: 91) – ARDYYSSGSYGGWFDP	QLVLTQSPSASASLGASVKLT CTLSSGHSSYAIAWHQQQPEK GPRYLMKLNSDGSLSKGDGIP DRFSGSSSGAERYLTISLQSV DEADYYCQWTWGTGIRVFGGG TKLTVL SEQ ID NO: 16 CDR1 (SEQ ID NO:92) – SGHSSYA CDR2 (SEQ ID NO:93) – LNSDGS CDR3 (SEQ ID NO:94) – QWTWGTGIRV
17-L17A	EVQLLESQGGLVQPGGSLRLSC AASGFTSSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSGISGSGDSTYYADSVKG RFIISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKGDYYGSGSYPLFD YWGQGTRVTVSSX SEQ ID NO: 17 CDR1 (SEQ ID NO: 95) –	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGISSALAWYQQKPGK APKLLISDASSLESGVPSRFSG GGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQFYNYPTFGPGTKVDII SEQ ID NO: 18 CDR1 (SEQ ID NO: 98) – QGISSA

[0100]

	GFTSSSYA CDR2 (SEQ ID NO: 96) – ISGSGDST CDR3 (SEQ ID NO: 97) – AKGDYYGSGSYPLFDY	CDR2 (SEQ ID NO: 99) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 100) – QQFYNYPPPT
16-I20A	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISYYYWSWIRQPPGTGLE WIGYIYYSGSTKYNPSLKRRVTI SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARIRGDSYGWDFDYWGQG TLVTVSSX SEQ ID NO: 19 CDR1 (SEQ ID NO: 101) – GGSISYYY CDR2 (SEQ ID NO: 102) – IYYSGST CDR3 (SEQ ID NO: 103) – ARIRGDSYGWDFDY	EIVMTQSPATLSLSPGERATLS CRASQGISNNYLFWYQQKPG QAPRLLIYGASTRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFAV YYCQQDYNFPLTFGGGTKVEI K SEQ ID NO: 20 CDR1 (SEQ ID NO: 104) – QGISNNY CDR2 (SEQ ID NO: 105) – GAS CDR3 (SEQ ID NO: 106) – QQDYNFPLT
15-C19A	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLE WIGYISYSGSTNYNPSLKSRVTIS ADTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARDFYYGMDVWGQGTTV TVSS SEQ ID NO: 21 CDR1 (SEQ ID NO: 107) – GGSISSYY CDR2 (SEQ ID NO: 108) – ISYSGST CDR3 (SEQ ID NO: 109) – ARDFYYGMDV	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQGISSALAWYQQKPGK APKLLIYDASSLESVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCHQFDYYPTFGGGGTKVEIK SEQ ID NO: 22 CDR1 (SEQ ID NO: 110) – QGISSA CDR2 (SEQ ID NO: 111) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 112) – HQFDYYPT
15-E14A	EVQLLESGGGSEQPGGSLRLSCA ASGFTSSSYAMSWVRLAPGKGL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQGISSALAWYQQKPGK

[0101]

	EWVSGISGSGGGTTYADSVKGR FTTSRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCTKGDYYGSGSYPLFD YWGQGTTLTVSSX SEQ ID NO: 23 CDR1 (SEQ ID NO: 113) – GFTSSSYA CDR2 (SEQ ID NO: 114) – ISGSGGGT CDR3 (SEQ ID NO: 115) – TKGDYYGSGSYPLFDY	APKLLISDASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQFNYPPTFGPGTKVDIK SEQ ID NO: 24 CDR1 (SEQ ID NO: 116) – QGISSA CDR2 (SEQ ID NO: 117) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 118) – QQFNYPPT
16-H16A	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGDSISSSGYYWGWIRQPPGK GLEWIGSIYYSGSTHYNPSLKSR VTISVDSSKSQFSLKLSSVTAADT AVYCCARHKVDSSGWPLDYWG QGTTLTVSSX SEQ ID NO: 25 CDR1 (SEQ ID NO: 119) – GDSISSSGYY CDR2 (SEQ ID NO: 120) – IYYSGST CDR3 (SEQ ID NO: 121) – ARHKVDSSGWPLDY	EIVMTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSISSSCLSWYQQKPGQ APRLLIYDTSTRATGIPARFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFAVY YCQQDYNLPLTFGGGKTKVEIK SEQ ID NO: 26 CDR1 (SEQ ID NO: 122) – QSISSC CDR2 (SEQ ID NO: 123) – DTS CDR3 (SEQ ID NO: 124) – QQDYNLPLT
12-O8A	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVAVIWYNGSNRYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARDVVRYFDWPL DYWGQGTTLTVSSX SEQ ID NO: 27 CDR1 (SEQ ID NO: 125) – GFTFSSYG	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRNDLGWYQQKPGK APKVLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQDYNYPWTFGQGKTKVEI K SEQ ID NO: 28 CDR1 (SEQ ID NO: 128) – QGIRND

[0102]

	CDR2 (SEQ ID NO: 126) – IWYNGSNR CDR3 (SEQ ID NO: 127) – ARDDVVRYPFDWPLDY	CDR2 (SEQ ID NO: 129) – AAS CDR3 (SEQ ID NO: 130) – LQDYNYPWT
12-I8A	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTFSNYGMHWVRQAPGK GLEWVAWIWYNGSNKYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDDVVRYPFDWP LDYWGQGTLVTVSSX SEQ ID NO: 29 CDR1 (SEQ ID NO: 131) – GFTFSNYG CDR2 (SEQ ID NO: 132) – IWYNGSNK CDR3 (SEQ ID NO: 133) – ARDDVVRYPFDWPLDY	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRNDLGWYQQKPGK APKVLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQDYNYPWTFGQGTKVEI K SEQ ID NO: 30 CDR1 (SEQ ID NO: 134) – QGIRND CDR2 (SEQ ID NO: 135) – AAS CDR3 (SEQ ID NO: 136) – LQDYNYPWT
8-M23A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCT VSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARVILYSSGWSFDYWGQGT LVTVSSX SEQ ID NO: 31 CDR1 (SEQ ID NO: 137) – GSGSISSYY CDR2 (SEQ ID NO: 138) – IYYSGST CDR3 (SEQ ID NO: 139) – ARVILYSSGWSFDY	EIVMTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSSYLSWYQQKPG QAPRLLIYGASTRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFAV YYCQQDYNLPLTFGGGKVEI K SEQ ID NO: 32 CDR1 (SEQ ID NO: 140) – QSVSSSY CDR2 (SEQ ID NO: 141) – GAS CDR3 (SEQ ID NO: 142) – QQDYNLPLT
1-F23A	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCT VSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLE WIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRTIS	EIVMTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSSYLSWYQQKPG QAPRLLIYDASTRATGIPARFS

[0103]

	VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARVILYSSGWSFDYWGQGT LTVVSSX SEQ ID NO: 33 CDR1 (SEQ ID NO: 143) – GGSISSYY CDR2 (SEQ ID NO: 144) – IYYSGST CDR3 (SEQ ID NO: 145) – ARVILYSSGWSFDY	GSGSGTDFTLTISLQPEDFAV YYCQQDYNLPLTFGGGKVEI K SEQ ID NO: 34 CDR1 (SEQ ID NO: 146) – QSVSSSY CDR2 (SEQ ID NO: 147) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 148) – QQDYNLPLT
13-F7A	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSC AASGFTSSSYGMSWVRQAPGK GLEWVSGISGSGGGTTYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKGDYYGSGSYPLF DYWGQGT LTVVSSX SEQ ID NO: 35 CDR1 (SEQ ID NO: 149) – GFTSSSYG CDR2 (SEQ ID NO: 150) – ISGSGGGT CDR3 (SEQ ID NO: 151) – AKGDYYGSGSYPLFDY	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQDISSALAWYQQKPGK APKLLISDASSLESGVPSRFSG S GSGTDFTLTISLQPEDFATF YCQQFN NYPPTFGPGTKVDIK SEQ ID NO: 36 CDR1 (SEQ ID NO: 152) – QDISSA CDR2 (SEQ ID NO: 153) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 154) – QQFN NYPPT
11-F3A	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LKWVSGISGSGGGTTYADSVKG RFTLSRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYFCAKGDYYGSGSYPLF DFWGQGT LTVVSS SEQ ID NO: 37 CDR1 (SEQ ID NO: 155) – GFTFSSYA CDR2 (SEQ ID NO: 156) –	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQGISSALAWYQQKPGK APKLLIFDASSLESGVPSRFSG S GSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQFN DYPTFGPGTKLDIK SEQ ID NO: 38 CDR1 (SEQ ID NO: 158) – QGISSA CDR2 (SEQ ID NO: 159) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 160) –

[0104]

	ISGSGGGT CDR3 (SEQ ID NO: 157) – AKGDYYGSGSYPLDFD	QQFNDYPPT
20-E16A	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSYYWTWIRQPPGKGLE WIGHISYSGSTHYNPSLKSRTIS ADTSKNRFSCLKSSVTAADTAVY YCARDGYALDVWGQGTTVTV SS SEQ ID NO: 39 CDR1 (SEQ ID NO: 161) – GGSISSYY CDR2 (SEQ ID NO: 162) – ISYSGST CDR3 (SEQ ID NO: 163) – ARDGYALDV	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNTVAWYQQNPGK APKLLIYDASSLESGVSSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQFNPNYPYTFGQGTKLEIK SEQ ID NO: 40 CDR1 (SEQ ID NO: 164) – QDISNT CDR2 (SEQ ID NO: 165) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 166) – QQFNPNYPY
16-K19A	EVQLLESGGGLEQPGGSLRLSC AASGFTSSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSGISGSGGGTYADSVKG RFSTSRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKGDYYGSGSYPLF DYWGQGTTLVTVSS SEQ ID NO: 41 CDR1 (SEQ ID NO: 167) – GFTSSSYA CDR2 (SEQ ID NO: 168) – ISGSGGGT CDR3 (SEQ ID NO: 169) – AKGDYYGSGSYPLFDY	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGISSALAWYQQKPGK PPKLLISDASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQFNPNYPPTFGPGTKVDIK SEQ ID NO: 42 CDR1 (SEQ ID NO: 170) – QGISSA CDR2 (SEQ ID NO: 171) – DAS CDR3 (SEQ ID NO: 172) – QQFNPNYPPT

[0105] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO: 1至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO: 2至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0106] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO: 47的vhCDR1、包含SEQ ID NO:

48的vhCDR2、包含SEQ ID NO:49的vhCDR3、包含SEQ ID NO:50的v1CDR1、包含SEQ ID NO:51的v1CDR2和包含SEQ ID NO:52的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0107] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:3至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:4至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0108] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:53的vhCDR1、包含SEQ ID NO:54的vhCDR2、包含SEQ ID NO:55的vhCDR3、包含SEQ ID NO:56的v1CDR1、包含SEQ ID NO:57的v1CDR2和包含SEQ ID NO:58的v1CDR3。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0109] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:5至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:6至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0110] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:59的vhCDR1、包含SEQ ID NO:60的vhCDR2、包含SEQ ID NO:61的vhCDR3、包含SEQ ID NO:62的v1CDR1、包含SEQ ID NO:63的v1CDR2和包含SEQ ID NO:64的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0111] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:7至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:8至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0112] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:65的vhCDR1、包含SEQ ID NO:66的vhCDR2、包含SEQ ID NO:67的vhCDR3、包含SEQ ID NO:68的v1CDR1、包含SEQ ID NO:69的v1CDR2和包含SEQ ID NO:70的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0113] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:9至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可

变区,其具有与SEQ ID NO:10至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0114] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:71的vhCDR1、包含SEQ ID NO:72的vhCDR2、包含SEQ ID NO:73的vhCDR3、包含SEQ ID NO:74的v1CDR1、包含SEQ ID NO:75的v1CDR2和包含SEQ ID NO:76的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0115] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:11至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:12至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0116] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:77的vhCDR1、包含SEQ ID NO:78的vhCDR2、包含SEQ ID NO:79的vhCDR3、包含SEQ ID NO:80的v1CDR1、包含SEQ ID NO:81的v1CDR2和包含SEQ ID NO:82的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0117] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:13至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:14至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0118] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:83的vhCDR1、包含SEQ ID NO:84的vhCDR2、包含SEQ ID NO:85的vhCDR3、包含SEQ ID NO:86的v1CDR1、包含SEQ ID NO:87的v1CDR2和包含SEQ ID NO:88的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0119] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:15至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:16至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0120] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:89的vhCDR1、包含SEQ ID NO:90的vhCDR2、包含SEQ ID NO:91的vhCDR3、包含SEQ ID NO:92的v1CDR1、包含SEQ ID NO:93的v1CDR2和包含SEQ ID NO:94的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、

2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0121] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:17至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:18至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0122] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:95的vhCDR1、包含SEQ ID NO:96的vhCDR2、包含SEQ ID NO:97的vhCDR3、包含SEQ ID NO:98的v1CDR1、包含SEQ ID NO:99的v1CDR2和包含SEQ ID NO:100的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0123] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:19至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:20至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0124] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:101的vhCDR1、包含SEQ ID NO:102的vhCDR2、包含SEQ ID NO:103的vhCDR3、包含SEQ ID NO:104的v1CDR1、包含SEQ ID NO:105的v1CDR2和包含SEQ ID NO:106的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0125] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:21至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:22至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0126] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:107的vhCDR1、包含SEQ ID NO:108的vhCDR2、包含SEQ ID NO:109的vhCDR3、包含SEQ ID NO:110的v1CDR1、包含SEQ ID NO:111的v1CDR2和包含SEQ ID NO:112的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0127] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:23至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:24至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、

87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0128] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:113的vhCDR1、包含SEQ ID NO:114的vhCDR2、包含SEQ ID NO:115的vhCDR3、包含SEQ ID NO:116的vLCDR1、包含SEQ ID NO:117的vLCDR2和包含SEQ ID NO:118的vLCDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0129] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:25至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:26至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0130] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:119的vhCDR1、包含SEQ ID NO:120的vhCDR2、包含SEQ ID NO:121的vhCDR3、包含SEQ ID NO:122的vLCDR1、包含SEQ ID NO:123的vLCDR2和包含SEQ ID NO:124的vLCDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0131] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:27至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:28至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0132] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:125的vhCDR1、包含SEQ ID NO:126的vhCDR2、包含SEQ ID NO:127的vhCDR3、包含SEQ ID NO:128的vLCDR1、包含SEQ ID NO:129的vLCDR2和包含SEQ ID NO:130的vLCDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0133] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:29至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:30至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0134] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:131的vhCDR1、包含SEQ ID NO:132的vhCDR2、包含SEQ ID NO:133的vhCDR3、包含SEQ ID NO:134的vLCDR1、包含SEQ ID NO:135的vLCDR2和包含SEQ ID NO:136的vLCDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修

饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0135] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO: 31至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:32至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0136] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:137的vhCDR1、包含SEQ ID NO: 138的vhCDR2、包含SEQ ID NO:139的vhCDR3、包含SEQ ID NO:140的v1CDR1、包含SEQ ID NO:141的v1CDR2和包含SEQ ID NO:142的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0137] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO: 33至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:34至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0138] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:143的vhCDR1、包含SEQ ID NO: 144的vhCDR2、包含SEQ ID NO:145的vhCDR3、包含SEQ ID NO:146的v1CDR1、包含SEQ ID NO:147的v1CDR2和包含SEQ ID NO:148的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0139] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO: 35至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:36至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0140] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:149的vhCDR1、包含SEQ ID NO: 150的vhCDR2、包含SEQ ID NO:151的vhCDR3、包含SEQ ID NO:152的v1CDR1、包含SEQ ID NO:153的v1CDR2和包含SEQ ID NO:154的v1CDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0141] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO: 37至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:38至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一

性的氨基酸序列。

[0142] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:155的vhCDR1、包含SEQ ID NO:156的vhCDR2、包含SEQ ID NO:157的vhCDR3、包含SEQ ID NO:158的vLCDR1、包含SEQ ID NO:159的vLCDR2和包含SEQ ID NO:160的vLCDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0143] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:39至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:40至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0144] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:161的vhCDR1、包含SEQ ID NO:162的vhCDR2、包含SEQ ID NO:163的vhCDR3、包含SEQ ID NO:164的vLCDR1、包含SEQ ID NO:165的vLCDR2和包含SEQ ID NO:166的vLCDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0145] 在一些实施例中,本公开中的抗BTLA抗体包括:重链可变区,其具有与SEQ ID NO:41至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其具有与SEQ ID NO:42至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。

[0146] 在一些实施例中,抗BTLA抗体包括包含SEQ ID NO:167的vhCDR1、包含SEQ ID NO:168的vhCDR2、包含SEQ ID NO:169的vhCDR3、包含SEQ ID NO:170的vLCDR1、包含SEQ ID NO:171的vLCDR2和包含SEQ ID NO:172的vLCDR3。在一些实施例中,这6个CDR的一个或多个具有1、2、3、4或5个氨基酸修饰。在其他实施例中,单个CDR含有1或2个氨基酸替换,并且修饰后的抗BTLA抗体仍然与人和/或食蟹猕猴BTLA结合。

[0147] 除了本文所述的重链和轻链可变区和/或CDR中的序列变体,还可以改变重链和/或轻链可变区的骨架区。在一些实施例中,骨架区中的变体(例如,除了CDR)保持与胚系序列具有至少约80、85、90或95%的同一性。表2列出了编码本文所述的抗BTLA抗体的胚系基因等位基因。变体可以保持与轻链V-GENE、轻链J-GENE、重链V-GENE、重链J-GENE和重链D-GENE等位基因中的任一项具有至少约80、85、90或95%的同一性。

[0148]

表 2					
克隆	轻 链	轻 链	重 链	重 链	重 链
	V-GENE	J-GENE 等	V-GENE 等	J-GENE 等	D-GENE

[0149]

	等位基因	位基因	位基因	位基因	等位基因
18-E7A	IGKV1D-1 3*01 F	IGKJ3*01 F	IGHV3-23* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD3-10* 01 F
3-A18A	IGKV3D-7 *01 F	IGKJ4*01 F	IGHV4-59* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD6-19* 01 F
10-P12A	IGKV3D-7 *01 F	IGKJ4*01 F	IGHV4-59* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD6-19* 01 F
2-M12A	IGKV3D-7 *01 F	IGKJ4*01 F	IGHV4-59* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD6-19* 01 F
1-G20A	IGKV3D-7 *01 F	IGKJ4*01 F	IGHV4-59* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD6-19* 01 F
12-F16A	IGKV3D-7 *01 F	IGKJ1*01 F	IGHV4-59* 01 F	IGHJ5*02 F	IGHD3-10* 01 F
11-N12A	IGLV4-69* 01 F	IGLJ3*02 F	IGHV1-18* 01 F	IGHJ5*02 F	IGHD3-10* 01 F
18-K8A	IGLV4-69* 01 F	IGLJ3*02 F	IGHV1-18* 01 F	IGHJ5*02 F	IGHD3-10* 01 F
17-L17A	IGKV1D-1 3*01 F	IGKJ3*01 F	IGHV3-23* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD3-10* 01 F
16-I20A	IGKV3D-7 *01 F	IGKJ4*01 F	IGHV4-59* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD5-18* 01 F
15-C19A	IGKV1D-1 3*01 F	IGKJ4*01 F	IGHV4-59* 03 F	IGHJ6*02 F	NA
15-E14A	IGKV1D-1 3*01 F	IGKJ3*01 F	IGHV3-23* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD3-10* 01 F
16-H16A	IGKV3D-7 *01 F	IGKJ4*01 F	IGHV4-39* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD6-19* 01 F
12-O8A	IGKV1-6* 01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-33* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD3-9*0 1 F
12-I8A	IGKV1-6* 01 F	IGKJ1*01 F	IGHV3-33* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD3-9*0 1 F
8-M23A	IGKV3D-7 *01 F	IGKJ4*01 F	IGHV4-59* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD6-19* 01 F

[0150]

1-F23A	IGKV3D-7 *01 F	IGKJ4*01 F	IGHV4-59* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD6-19* 01 F
13-F7A	IGKV1D-1 3*01 F	IGKJ3*01 F	IGHV3-23* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD3-10* 01 F
11-F3A	IGKV1D-1 3*01 F	IGKJ3*01 F	IGHV3-23* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD3-10* 01 F
20-E16A	IGKV1D-1 3*01 F	IGKJ2*01 F	IGHV4-59* 01 F	IGHJ6*02 F	NA
16-K19A	IGKV1D-1 3*01 F	IGKJ3*01 F	IGHV3-23* 01 F	IGHJ4*02 F	IGHD3-10* 01 F

[0151] 在一些实施例中,在保持与表2所述的胚系基因序列具有至少80、85、90或95%的同一性的骨架区中进行变异,同时保持6个CDR不变。

[0152] 在一些实施例中,在保持与表2所述的胚系基因序列具有至少80、85、90或95%的同一性的骨架区和6个CDR中进行变异。CDR可具有氨基酸修饰(例如,在一组CDR中有1、2、3、4或5个氨基酸修饰(即只要一组6个CDR中的变化总数量少于6个氨基酸修饰,就可以对CDR进行修饰,改变CDR的任何组合;例如,可以是v1CDR1存在1个变化、v1CDR2存在2个变化, v1CDR3没有变化等))。

[0153] 通过选择CDR和/或那些来自本文所述的重链和轻链可变区的氨基酸序列并适当地将其与抗体的重链和轻链的骨架区和/或恒定区的氨基酸序列结合,本领域技术人员将能够设计根据本发明的抗BTLA抗体。描述于本发明的抗体骨架区和/或恒定区(Fc结构域)可以源自于任何物种的抗体,例如来自人、兔子、狗、猫、小鼠、马或猴子。

[0154] 在一些实施例中,恒定区源自于人,包括源自那些IgG、IgA、IgM、IgE和IgD亚型或其变体的重链恒定区和源自于 κ 或 λ 亚型或其变体的轻链恒定区。在一些实施例中,重链恒定区源自人IgG,包括IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。在一些实施例中,重链恒定区的氨基酸序列与人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4恒定区与至少80%、85%、90%或95%相同。在一些其他实施例中,恒定区的氨基酸序列与另一种哺乳动物(例如兔子、狗、猫、小鼠、马或猴子)的抗体恒定区至少80%、85%、90%或95%相同。在一些实施例中,抗体恒定区包括铰链、CH2结构域、CH3结构域和可选地CH1结构域。

[0155] 在一些实施例中,本文所述的抗体可源自于不同物种的混合物,例如,形成嵌合抗体和/或人源化抗体。一般地,“嵌合抗体”和“人源化抗体”都是指结合来自多于一个物种的区域的抗体。例如,“嵌合抗体”通常包含来自小鼠(或在一些情况下,大鼠)的可变区和来自人的恒定区。“人源化抗体”一般是指非人类抗体,其已经有与在人类抗体中发现的序列交换的可变结构域骨架区。一般地,在人源化抗体中,除了CDR之外的整个抗体由人类起源的多核苷酸编码,或与这类抗体(除了其CDR内)相同。一些或全部CDR由源自非人类生物体的核酸编码,移植到人类抗体可变区 β 片层骨架区以产生抗体,该抗体的特异性由所移植的CDR确定。这类抗体的产生描述于,例如WO 92/11018; Jones, 1986, Nature 321:522-525,

Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-1536, 通过引用全部并入本文。选定的受体骨架残基的“回复突变”到相对应的供体残基通常需要恢复在初始移植构建体损失的亲和力 (US 5530101; US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 6180370; US 5859205; US 5821337; US 6054297; US 6407213, 所有文献都通过引用全部并入本文)。人源化抗体最佳地还包含至少一部分免疫球蛋白恒定区, 通常是人免疫球蛋白恒定区, 并因此通常包含人 Fc 区域。还可以使用具有基因工程免疫系统 (如描述于例如, Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20:639-654, 通过引用全部并入本文) 的小鼠产生人源化抗体。各种用于人源化和改造非人类抗体的技术和方法是本领域已知的 (参见, Tsurushita & Vasquez, 2004, Humanization of Monoclonal Antibodies, Molecular Biology of B Cells, 533-545, Elsevier Science (USA)) 及其引用的参考文献, 所有文献都通过引用全部并入本文)。人源化方法包括但不限于描述于以下的方法: Jones et al., 1986, Nature 321:522-525; Riechmann et al., 1988; Nature 332:323-329; Verhoeyen et al., 1988, Science, 239:1534-1536; Queen et al., 1989, Proc Natl Acad Sci, USA 86:10029-33; He et al., 1998, J. Immunol. 160:1029-1035; Carter et al., 1992, Proc Natl Acad Sci, USA 89:4285-9; Presta et al., 1997, Cancer Res. 57 (20):4593-9; Gorman et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4181-4185; O' Connor et al., 1998, Protein Eng 11:321-8, 所有文献都通过引用全部并入本文。人源化或用于减少非人类抗体可变区的免疫原性的其他方法可包括重塑表面的方法, 如描述于例如 Roguska et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973, 通过引用全部并入本文。其他人源化方法可涉及仅部分 CDR 的移植, 包括但不限于描述于以下的方法: Tan et al., 2002, J. Immunol. 169:1119-1125; De Pascalis et al., 2002, J. Immunol. 169:3076-3084, 所有文献都通过引用全部并入本文。

[0156] 在一些实施例中, 本发明的抗体包括源自特定人胚系重链免疫球蛋白基因的重链可变区和/或源自特定人胚系轻链免疫球蛋白基因的轻链可变区。与人胚系序列相比, 这类抗体可包含氨基酸差异, 例如, 由于自然发生的体细胞突变或有意引入的定点突变。然而, 与其他物种 (例如小鼠胚系序列) 的胚系免疫球蛋白氨基酸序列相比, 人源化抗体通常是至少与由人胚系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列至少 80% 相同的氨基酸序列, 并包含识别源自于人类序列的抗体的氨基酸残基。在某些情况下, 人源化抗体可以是与由人胚系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列具有至少 95%、96%、97%、98 或 99% (或甚至至少 96%、97%、98% 或 99%) 同一性的氨基酸序列。通常, 源自于特定的人胚系序列的人源化抗体会显示出与由人胚系免疫球蛋白编码的氨基酸序列的不多于 10-20 个氨基酸的差异。在某些情况下, 人源化抗体可显示出与由人胚系免疫球蛋白编码的氨基酸序列的不多于 5 个, 或甚至不多于 4、3、2 或 1 个氨基酸的差异。

[0157] 在一些实施例中, 本公开的抗体是人源化的和亲和力成熟的, 如本领域已知的。可以采用基于结构的方法用于人源化和亲和力成熟化, 例如, 如 US 专利号 7,657,380 所描述的。可以采用基于选择的方法以对抗体可变区进行人源化和/或亲和力成熟化, 包括但不限于描述于以下的方法: Wu et al., 1999, J. Mol. Biol. 294:151-162; Baca et al., 1997, J. Biol. Chem. 272(16):10678-10684; Rosok et al., 1996, J. Biol. Chem. 271(37):22611-22618; Rader et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:8910-8915; Krauss et al.,

2003, Protein Engineering 16(10):753-759, 所有文献都通过引用全部并入本文。

[0158] II. 抗体的特征

[0159] 在一些实施例中, 本文所述的抗BTLA抗体与人和/或食蟹猕猴BTLA抗体结合。在一些实施例中, 抗BTLA抗体与人和/或食蟹猕猴BTLA的结合由ELISA测量, 如示例1中描述的示例性分析。在这些实施例中, 本文所述的抗体显示由这些分析测量的EC₅₀, 其范围可以为0.1-20nM。在一些实施例中, 抗BTLA抗体与人和/或食蟹猕猴BTLA的结合由FACS测量, 如示例2中描述的示例性分析。在这些实施例中, 本文所述的抗体显示由FACS测量的EC₅₀, 其范围可以为0.1-20nM。在其他实施例中, 本文所述的抗体的由ELISA或FACS测量的EC₅₀的范围为约0.1-30、1-28、2-26、3-24、4-22、5-20、6-18、7-16、8-14或9-12nM。

[0160] 在一些实施例中, 本文所述的抗BTLA抗体与人和/或食蟹猕猴BTLA的结合具有高亲和力。可以使用抗原固定化或抗体固定化测量K_D值。还可以在单价结合模式或双价结合模式中测量K_D值。例如, 当通过生物膜层干涉技术测量时, 抗体和人BTLA之间的K_D值可以是1×10⁻⁶M或更小、5×10⁻⁷M或更小、2.5×10⁻⁷M或更小、1×10⁻⁷M或更小、5×10⁻⁸M或更小、1×10⁻⁸M或更小、1×10⁻⁹M或更小、或1×10⁻¹⁰M或更小。抗体和食蟹猕猴BTLA之间的K_D值可以是1×10⁻⁶M或更小、5×10⁻⁷M或更小、2.5×10⁻⁷M或更小、1×10⁻⁷M或更小、5×10⁻⁸M或更小、2.5×10⁻⁸M、1×10⁻⁸M或更小、5×10⁻⁹M或更小、1×10⁻⁹M或更小、5×10⁻¹⁰M或1×10⁻¹⁰M或更小。在一些实施例中, 抗体和人BTLA之间的K_D值范围为0.1nM-1μM、0.25nM-500nM、0.5nM-250nM、1nM-100nM M或2nM-50nM。在一些实施例中, 抗体和食蟹猕猴BTLA之间的K_D值范围为0.1nM-1μM、0.25nM-500nM、0.5nM-250nM、1nM-100nM M或2nM-50nM。

[0161] 本文所述的抗BTLA抗体的结合亲和力与描述于US专利号8,563,694中的BTLA单克隆抗体4C7进行比较。在一些实施例中, 本文所述的抗BTLA抗体与人BTLA抗体的结合亲和力高于4C7。在一些实施例中, 本文所述的抗BTLA抗体与食蟹猕猴BTLA的结合亲和力高于4C7。表7列出了一些抗体克隆以及4C7的示例性K_D。具有比4C7更高的结合亲和力的一个优势是本文所述的抗体可以在调节免疫应答和/或参与抗肿瘤免疫应答中更有效。与4C7相比, 与食蟹猕猴BTLA具有更高结合亲和力的另一优势是与使用4C7的研究相比, 源自这些抗体的猴子临床研究(例如, 药物动力学、药效动力学、安全性、毒性研究)可以具有更好的预测能力。

[0162] 在一些实施例中, 当施用到人类受试者时, 抗BTLA抗体显示低免疫原性。这些抗体可以包含源自人IgG1、人IgG2或人IgG3的Fc结合域。在一些实施例中, 使用源自人免疫球蛋白的骨架区对这些抗体进行人源化。

[0163] 可以使用各种本领域已知和本文所述的方法(包括例如, 通过示例5描述的方法)测定抗BTLA抗体在T细胞功能上的效果。因此, 抗BTLA抗体可以作为BTLA拮抗剂或BTLA激动剂。

[0164] 在一些实施例中, 所述的抗BTLA抗体作为BTLA拮抗剂, 阻断BTLA与HVEM的相互作用以及HVEM介导的T细胞功能抑制。因此, 这类抗BTLA抗体刺激免疫应答。这类抗BTLA抗体的示例包括含有以下的抗体: 重链可变区, 其包含与SEQ ID NO:19具有至少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列, 以及轻链可变区, 其包含与SEQ ID NO:20具有至少80%(例如, 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:101的vhCDR1、包含SEQ ID NO:102的vhCDR2、包含SEQ ID NO:103的vhCDR3、包含SEQ ID NO:104的vLCDR1、包含SEQ ID NO:105的vLCDR2和包含SEQ ID NO:106的vLCDR3。或者,这类作为拮抗剂的抗BTLA抗体可包括:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:21具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:22具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:107的vhCDR1、包含SEQ ID NO:108的vhCDR2、包含SEQ ID NO:109的vhCDR3、包含SEQ ID NO:110的vLCDR1、包含SEQ ID NO:111的vLCDR2和包含SEQ ID NO:112的vLCDR3。或者,这类作为拮抗剂的抗BTLA抗体可包括:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:25具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:26具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:119的vhCDR1、包含SEQ ID NO:120的vhCDR2、包含SEQ ID NO:121的vhCDR3、包含SEQ ID NO:122的vLCDR1、包含SEQ ID NO:123的vLCDR2和包含SEQ ID NO:124的vLCDR3。

[0165] 在一些其他实施例中,本文所述的抗BTLA抗体作为BTLA激动剂,抑制免疫细胞功能,包括促炎性T细胞功能。因此,这类抗BTLA抗体抑制免疫应答。例如,这类抗BTLA抗体可包括:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:29具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:30具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:131的vhCDR1、包含SEQ ID NO:132的vhCDR2、包含SEQ ID NO:133的vhCDR3、包含SEQ ID NO:134的vLCDR1、包含SEQ ID NO:135的vLCDR2和包含SEQ ID NO:136的vLCDR3。或者,这类抗BTLA抗体可包括:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:31具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:32具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:137的vhCDR1、包含SEQ ID NO:138的vhCDR2、包含SEQ ID NO:139的vhCDR3、包含SEQ ID NO:140的vLCDR1、包含SEQ ID NO:141的vLCDR2和包含SEQ ID NO:142的vLCDR3。或者,这类作为激动剂的抗BTLA抗体可包括:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:35具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:36具有至少80%(例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)

同一性的氨基酸序列；和/或包含SEQ ID NO:149的vhCDR1、包含SEQ ID NO:150的vhCDR2、包含SEQ ID NO:151的vhCDR3、包含SEQ ID NO:152的vlCDR1、包含SEQ ID NO:153的vlCDR2和包含SEQ ID NO:154的vlCDR3。

[0166] III. 本发明的核酸

[0167] 还提供编码本文所述的抗BTLA抗体的核酸,以及含有这类核酸的表达载体和用这类核酸和/或表达载体转化的宿主细胞。本领域人员会知道,由于基因密码子的简并性,本文所述的蛋白质序列可以由任何数量的可能核酸序列编码。表3给出了编码本文所述的抗体的重链可变区和轻链可变区的示例性核酸。

[0168]

表 3		
克隆	重链可变区核酸序列	轻链可变区核酸序列
18-E7A	GAGGTGCAGTTGTTGGAGTCTG GGGGAGGCTTGGTACAGCCTGG GGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTCTAGC GGCTATGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTG GAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGG TAGTGGTGGTGGCACATACTACG CAGACTCCGTGAAGGGCCGGTT CACCATCTCCAGAGACAATTCCA AGAACACACTGTATCTGCAAATG AACAACCTGAGAGCCGAGGACA CGGCCGTATATTACTGTGCGAAA GGGGATTACTATGGTTCGGGGAG TTATCCGCTTTTTGACTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCATCGTCT CCTCAG SEQ ID NO: 185	GCCATCCAGTTGACCCAGTCT CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCA TTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAG CTCCTAAGCTCCTGATCTCTGA TGCCTCCAGTTTGGAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTTCAGCGG CAGTGGATCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCT GCAACCTGAAGATTTTGCAAC TTTTACTGTCAACAGTTTAAT AATTACCCTCCCACTTTCGGCC CTGGGACCAAAGTGGATATCA AA SEQ ID NO: 186
3-A18A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA	GAAATTGTAATGACACAGTCT CCAGCCACCCTGTCTTTGTCTC CAGGGGAAAGAGCCACCCTCT

[0169]

	CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT AGTTACTACTGGAGCTGGATCCG GCAGCCCCCAGGGAAGGGACTG GAGTGGATTGGGTATATCTATTAC AGTGGGACCACCAACTACAACC CCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACC ATATCAGTAGACACGTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCT CTGTGACCGCTGCGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGTAG TCCTGTATAGCACTGGCTGGTCC TTCGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTCTCCTCAG SEQ ID NO: 187	CCTGCAGGGCCAGTCAGAGTG TTAGCAGCAGCTACTTATCCTG GTACCAGCAGAGACCTGGGCA GGCTCCCAGGCTCCTCATCTAT GGTACGTCCACCAGGGCCACT GGCATCCCAGCCAGGTTTCAGT GGCAGTGGGTCTGGGACAGA CTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AGTTTATTACTGTCAGCAGGAT TATAACTTACCGCTCACTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAG ATCAAA SEQ ID NO: 188
10-P12A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT AGTTACTACTGGAGCTGGATCCG GCAGCCCCCAGGGAAGGGACTG GAGTGGATTGGGTATATCTATTAC AGTGGGAGCACCAACTACAACC CCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACC ATATCAGTAGACACGTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCT CTGTGACCGCTGCGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGTAG TCCTGTATAGCAGTGGCTGGTCC TTCGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTCTCCTCAG SEQ ID NO: 189	GAAATTGTAATGACACAGTCT CCAGCCACCCTGTCTTTGTCTC CAGGGGAAAGAGCCACCCTCT CCTGCAGGGCCAGTCAGAGTT TTAGCAGCAGCTACTTATCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGGCA GGCTCCCAGGCTCCTCATCTAT GGTGCATCCACCAGGGCCACT GGCATCCCAGCCAGGTTTCAGT GGCAGTGGGTCTGGGACAGA CTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AGTTTATTACTGTCAGCAGGAT TATAACTTACCGCTCACTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAG ATCAAA SEQ ID NO: 190
2-M12A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC	GAAATTGTAATGACACAGTCT CCAGCCACCCTGTCTTTGTCTC

[0170]

	GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT CATTACTACTGGAGCTGGATCCG GCAGCCCCCAGGGAAGGGACTG GAGTGGATTGGGTATATCTATTAC AGTGGGAGCACCAACTACAACC CCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACC ATATCAGTAGACACGTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCT CTGTGACCGCTGCGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGTAG TCCTGTATAGCAGTGGCTGGTCC TTCGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTCTCCTCAG SEQ ID NO: 191	CAGGGGAAAGAGCCACCCTCT CCTGCAGGGCCAGTCAGAGTG TTAGCAGCAGCTACTTATCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGGCA GGCTCCCAGGCTCCTCATCTAT GGTGCATCCACCAGGGCCACT GGCATCCCAGCCAGGTTTCAGT GGCAGTGGGTCTGGGACAGA CTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AGTTTATTACTGTCAGCAGGAT TATAACTTACCGCTCACTTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAG ATCAAA SEQ ID NO: 192
1-G20A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT AGTTACTACTGGAGCTGGATCCG GCAGCCCCCAGGGAAGGGACTG GAGTGGATTGGGTATATCTATTAC AGTGGGAGCACCAACTACAACC CCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACC ATATCAGTTGACACGTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCT CTGTGACCGCTGCGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGTAA TGGTGTTTAGCAGTGGCTGGTAC TTTGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTCTCCTCAG SEQ ID NO: 193	GAAATTGTAATGACACAGTCT CCAGCCACCCTGTCTTTGTCTC CAGGGGAAAGAGCCACCCTCT CCTGCAGGGCCAGTCAAAATA TTACCAGCAGCTACTTATCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGGCA GTCTCCCAGGCTCCTCATTTAT GATGCATCCACCAGGGCCACT GGCATCCCAGCCAGGTTTCAGT GGCAGTGGGTCTGGGACAGA CTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AGTTTATTACTGTCAGCAGGAT TATAACTTACCGCTCACTTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAG ATCAAA SEQ ID NO: 194
12-F16A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG 	GAAATTGTAATGACACAGTCT

[0171]

	GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT AGTCACTACTGGAGCTGGATCCG GCAGCCCCCAGGGAAGGGACTG GAGTGGATTGGGTATATCTATTAC AGTGGGAATACCAAGTACAACCC CTCCTCAAGAGTCGAGTCACCA TTTCAGTCGACACGTCCAAGAAC CAGTTCTCCCTGAAGCTGACCTC TGTGACCGCTGCGGACACGGCC GTGTATTACTGTGCGAGAGTGGG CCCGGGGAGTCATTATAACCCTC ACAACTGGTTCGACCCCTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCT CCTCAG SEQ ID NO: 195	CCAGCCACCCTGTCTTTGTCTC CAGGGGAAAGAGCCACCCTCT CCTGCAGGGCCAGTCAGACTG TTACCAGCAGCTACTTATCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGGCA GGCTCCCAGGCTCCTCATCTAT GGTGCATCCACCAGGGCCACT GGCTTCCCAGCCAGGTTTCAGT GTCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGAAGATTTTGCA GTTTATTACTGTCAGCAGGATT ATAACTTACCGTGGACGTTTCG GCCAAGGGACCAAGGTGGAA ATCAAA SEQ ID NO: 196
11-N12A	CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGG AGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG GCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAA GGCTTCTGGTTACACCTTTACCA ACTATGGTATCATCTGGGTGCGA CAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGATGGATCAGCGCT TACAATGGTAACACAACTATGC ACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTC ACCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTG AGGACCCTGAGATCTGACGACA CGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA GATTACTATAGTTCGGGGAGTTAT GGGGGCTGGTTCGACCCCTGGG GCCAGGGAACCCTGGTCACCGT	CAGCTTGTGCTGACTCAATCG CCCTCTGCCTCTGCCTCCCTGG GAGCCTCGGTCAAGCTCACCT GCACTCTGAGCAGTGGGCACA GCAGCTACGCCATCGCATGGC ATCAGCAGCAGCCAGAGAAG GGCCCTCGGTACTTGATGAAG CTTAACAGTGATGGCAGCCAC AGCAAGGGGGACGGGATCCCT GATCGCTTCTCAGGCTCCAGC TCTGGGGCTGAGCGCTACCTC ACCATCTCCAGCCTCCAGTCT GTGGATGAGGCTGACTATTAC TGTCAGACCTGGGGCACTGGC ATTCGGGTGTTCGGTGGAGGA ACCAAACTGACTGTCCTA

[0172]

	CTCCTCAG SEQ ID NO: 197	SEQ ID NO: 198
18-K8A	CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGG AGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG GCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAA GGCTTCTGGTTACACCTTTACCA ACTATGGTATCATCTGGGTGCGA CAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGATGGATCAGCGCT TACAATGGTAACACAACTATGC ACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTC ACCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTG AGGAGCCTGAGATCTGACGACA CGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA GATTACTATAGTTCGGGGAGTTAT GGGGGCTGGTTCGACCCCTGGG GCCAGGGAACCCTGGTCACCGT CTCCTC SEQ ID NO: 199	CAGCTTGTGCTGACTCAATCG CCCTCTGCCTCTGCCTCCCTGG GAGCCTCGGTCAAGCTCACCT GCACTCTGAGCAGTGGGCACA GCAGCTACGCCATCGCATGGC ATCAGCAGCAGCCAGAGAAG GGCCCTCGGTACTTGATGAAG CTTAACAGTGATGGCAGCCAC AGCAAGGGGGACGGGATCCCT GATCGTTTCTCAGGCTCCAGC TCTGGGGCTGAGCGCTACCTC ACCATCTCCAGCCTCCAGTCT GTGGATGAGGCTGACTATTAC TGTCAGACCTGGGGCACTGGC ATTCGGGTGTTCCGTGGAGGA ACCAACTGACTGTCCTA SEQ ID NO: 200
17-L17A	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTG GGGGAGGCTTGGTACAGCCGGG GGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTCACGTCTAGT AGCTATGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTG GAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGG TAGTGGTGATAGTACATATTACGC AGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ATTATTTCCAGAGACAATTCCAA GAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACAC GGCCGTATATTACTGTGCGAAAG	GCCATCCAGTTGACCCAGTCT CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCA TTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTA TCAGCAAAAACCAGGGAAAG CTCCTAAGCTCCTGATCTCTGA TGCCTCCAGTTTGGAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTTCAGCGG CGGTGGATCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCT GCAGCCTGAAGATTTTGCTAC TTATTACTGTCAACAGTTTAT

[0173]

	GGGATTACTATGGTTCGGGGAGT TATCCCCTTTTTGACTACTGGGG ACAGGGAACCCGGGTCACCGTC TCCTCAG SEQ ID NO: 201	AATTACCCTCCCACCTTTCGGCC CTGGGACCAAAGTGGATATCA TA SEQ ID NO: 202
16-I20A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT TATTACTACTGGAGCTGGATCCG GCAGCCCCCAGGGACGGGACTG GAGTGGATTGGGTATATCTATTAT AGTGGGAGCACCAATAACAACC CCTCCCTCAAGAGGCGAGTCAC CATATCAGTAGACACGTCCAAGA ACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGC TCTGTGACCGCTGCGGACACGG CCGTGTATTACTGTGCGAGAATA CGTGGGGACAGCTATGGTTGGGA TTTTGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTCTCCTCAG SEQ ID NO: 203	GAAATTGTAATGACACAGTCT CCAGCCACCCTGTCTTTGTCTC CAGGGGAAAGAGCCACCCTCT CCTGCAGGGCCAGTCAGAGTA TTAGCAACAACCTATTATTCTG GTACCAGCAGAAACCTGGGCA GGCTCCCAGGCTCCTCATCTAT GGTGCTTCCACCAGGGCCACT GGCATCCCAGCCAGGTTTCAGT GGCAGTGGGTCTGGGACAGA CTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AGTTTATTACTGTCAGCAGGAT TATAACTTTCCTCTCACTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAG ATCAAA SEQ ID NO: 204
15-C19A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT AGTTACTACTGGAGTTGGATCCG GCAGCCCCCAGGGAAGGGACTG GAGTGGATTGGATATATCTCTTAT AGTGGGAGCACCAACTACAACC CCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACC ATATCAGCAGACACGTCCAAGAA CCAATTCTCCCTGAAGCTGAGCT	GCCATCCAGTTGACCCAGTCT CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCA TTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAG CTCCTAAACTCCTGATCTATGA TGCCTCCAGTTTGGAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTTCAGCGG CAGTGGATCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCT

[0174]

	CTGTGACCGCTGCGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGACT TTTACTACGGTATGGACGTCTGG GGCCAAGGGACCACGGTCACCG TCTCCTCA SEQ ID NO: 205	GCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCACCAGTTTGAT TATTACCCTACTTTCGGCGGAG GGACCAAGGTGGAGATCAAA SEQ ID NO: 206
15-E14A	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTG GGGGAGGCTCGGAACAGCCGGG GGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTCTAGC AGCTATGCCATGAGCTGGGTCCG CCTGGCTCCAGGGAAGGGGCTG GAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGG GAGTGGTGGTGGCACATACTACG CAGACTCCGTGAAGGGCCGGTT CACCATTCCAGAGACAATTCCA AGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACA CGGCCGTATATTACTGTACGAAA GGGGATTACTATGGTTCGGGGAG TTATCCCCTTTTTGACTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCT CCTCAG SEQ ID NO: 207	GCCATCCAGTTGACCCAGTCT CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCA TTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAG CTCCTAAACTCCTGATCTCTGA TGCCTCCAGTTTGGAAGTGG GGTCCCATCTAGGTTTCAGCGG CAGTGGCTCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCT GCAACCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCAACAATTTAAT AACTACCCTCCCCTTTCGGC CCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA SEQ ID NO: 208
16-H16A	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCC ATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGC CGGGCAAGTCAGGGCATTAGCA GTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAG AAACCAGGGAAAGCTCCTAAAC TCCTGATCTCTGATGCCTCCAGTT TGGAAGTGGGGTCCCATCTAGG TTCAGCGGCAGTGGCTCTGGGA	GAAATTGTAATGACACAGTCT CCAGCCACCCTGTCTTTGTCTC CAGGGGAAAGAGCCACCCTCT CCTGCAGGGCCAGTCAGAGTA TTAGCAGCAGCTGCTTGTCTC GGTACCAGCAGAAACCTGGGC AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTA TGATACATCCACCAGGGCCAC TGGCATCCCAGCCAGGTTTCAG

[0175]

	CAGATTTCACCTCTCACCATCAGC AGCCTGCAACCTGAAGATTTTGC AACTTATTACTGTCAACAATTTAA TAACTACCCTCCCCTTTTCGGCC CTGGGACCAAAGTGGATATCAAA SEQ ID NO: 209	TGGCAGTGGGTCTGGGACAGA CTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AGTTTATTACTGTCAGCAGGAT TATAACTTACCGCTCACTTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAG ATCAAA SEQ ID NO: 210
12-O8A	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTG GGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGG GAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCGTCTGGATTACCTTCAGT AGCTATGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATGGTA TAATGGAAGTAATAGATACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAA GAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACAC GGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATGACGTAGTACGATATTTTACT GGCCCCTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC AG SEQ ID NO: 211	GCCATCCAGATGACCCAGTCT CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCA TTAGAAATGATTTAGGCTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGGTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTTACAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTTCAGCGG CAGTGGATCTGGCACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCT GCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCTACAAGATTAC AATTACCCGTGGACGTTTCGGC CAAGGGACCAAGGTGGAAAT CAAA SEQ ID NO: 212
12-I8A	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTG GGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGG GAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCGTCTGGATTACCTTCAGT AACTATGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATGGTA	GCCATCCAGATGACCCAGTCT CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCA TTAGAAATGATTTAGGCTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGGTCCTGATTTATGC

[0176]

	TAATGGAAGTAATAAAATACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAA GAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACAC GGCTGTGTATTACTGTGCGAGAG ATGACGTCGTACGATATTTGACT GGCCCCTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC AG SEQ ID NO: 213	TGCATCCAGTTTACAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTTCAGCGG CAGTGGATCTGGCACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCT GCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCTACAAGATTAC AATTACCCGTGGACGTTTCGGC CAAGGGACCAAGGTGGAAAT CAAA SEQ ID NO: 214
8-M23A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT AGTTACTACTGGAGCTGGATCCG GCAGCCCCCAGGGAAGGGACTG GAGTGGATTGGGTATATCTATTAC AGTGGGAGCACCAACTACAACC CCTCCCTCAAGAGTCGAATCACC ATATCAGTAGACACGTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCT CTGTGACCGCTGCGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGTAA TCCTGTATAGCAGTGGCTGGTCC TTCGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTCTCCTCAG SEQ ID NO: 215	GAAATTGTAATGACACAGTCT CCAGCCACCCTGTCTTTGTCTC CAGGGGAAAGAGCCACCCTCT CCTGCAGGGCCAGTCAGAGTG TTAGCAGCAGCTACTTATCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGGCA GGCTCCCAGGCTCCTCATCTAT GGTGCATCCACCAGGGCCACT GGCATCCCAGCCAGGTTTCAGT GGCAGTGGGTCTGGGACAGA CTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AGTTTATTACTGTCAGCAGGAT TATAACTTACCGCTCACTTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAG ATCAAA SEQ ID NO: 216
1-F23A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT AGTTACTACTGGAGCTGGATCCG	GAAATTGTAATGACACAGTCT CCAGCCACCCTGTCTTTGTCTC CAGGGGAAAGAGCCACCCTCT CCTGCAGGGCCAGTCAGAGTG TTAGCAGCAGCTACTTATCCTG

[0177]

	GCAGCCCCCAGGGAAGGGACTG GAGTGGATTGGGTATATCTATTAC AGTGGGAGCACCAACTACAACC CCTCCCTCAAGAGTCGAATCACC ATATCAGTAGACACGTCCAAGAA CCAGTTCTCCCTGAAACTGAGCT CTGTGACCGCTGCGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCGAGAGTAA TCCTGTATAGCAGTGGCTGGTCC TTCGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTCTCCTCAG SEQ ID NO: 217	GTACCAACAGAAGCCTGGGCA GGCTCCCAGGCTCCTCATCTAT GATGCATCCACCAGGGCCACT GGCATCCCAGCCAGGTTCACT GGCAGTGGGTCTGGGACAGA CTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AGTTTATTACTGTCAGCAGGAT TATAACTTACCGCTCACTTTCG GCGGAGGGACCAAGGTGGAG ATCAAA SEQ ID NO: 218
13-F7A	GAGGTGCAGTTGTTGGAGTCTG GGGGAGGCTTGGTACAGCCTGG GGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTCTAGC AGCTATGGCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTG GAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGG TAGTGGTGGTGGCACATACTACG CAGACTCCGTGAAGGGCCGGTT CACCATCTCCAGAGACAATTCCA AGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACA CGGCCGTATATTACTGTGCGAAA GGGGATTACTATGGTTCGGGGAG TTATCCCCTTTTTGACTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCT CCTCAG SEQ ID NO: 219	GCCATCCAGTTGACCCAGTCT CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGACA TTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAG CTCCTAAGCTCCTGATCTCTGA TGCCTCCAGTTTGGAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTTCAGCGG CAGTGGATCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCT GCAACCTGAAGATTTTGCAAC TTTTTACTGTCAACAGTTTAAT AATTACCCTCCCACTTTCGGCC CTGGGACCAAAGTGGATATCA AA SEQ ID NO: 220
11-F3A	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTG GGGGAGGCTTGGTACAGCCTGG GGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG	GCCATCCAGTTGACCCAGTCT CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCA

[0178]

	CAGCCTCTGGATTACCTTTAGC AGCTATGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTG AAATGGGTCTCAGGTATTAGTGG TAGTGGTGGTGGCACATACTACG CAGACTCCGTGAAGGGCCGGTT CACCTCTCCAGAGACAATTCCA AGAACACACTATATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACA CGGCCGTATATTTCTGTGCGAAA GGGGATTACTATGGTTCGGGGAG TTATCCCCTTTTTGACTTCTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCT CCTCA SEQ ID NO: 221	CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCA TTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTA TCAACAGAAACCAGGGAAAG CTCCTAAGCTCCTGATCTTTGA TGCCTCCAGTTTGGAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTTCAGCGG CAGTGGATCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCT GCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCAACAGTTTAAT GATTACCCTCCCACTTTTCGGCC CTGGGACCAAACCTGGATATCA AA SEQ ID NO: 222
20-E16A	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGT AGTTACTACTGGACCTGGATCCG GCAGCCCCCAGGGAAGGGACTG GAGTGGATTGGACATATCTCTTA CAGTGGGAGCACCCACTACAAC CCCTCCCTCAAGAGTCGATTCAC CATATCAGCAGACACGTCCAAGA ACCGGTTCTCCCTGAAGCTGAGC TCTGTGACCGCTGCGGACACGG CCGTGTATTACTGTGCGGAGAT GGCTACTACGCTTTGGACGTCTG GGGCCAAGGGACCACGGTCACC GTCTCCTCA SEQ ID NO: 223	GCCATCCAGTTGACCCAGTCT CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGACA TTAGCAATACTGTAGCCTGGTA TCAGCAGAACCCAGGGAAAG CTCCTAAGCTCCTGATCTATGA TGCCTCCAGTTTGGAAAGTGG GGTCTCATCAAGGTTTCAGCGG CAGTGGATCGGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCT GCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCAACAGTTTAAT AATTACCCGTACACTTTTGGCC AGGGGACCAAGCTGGAGATC AAA SEQ ID NO: 224
16-K19A	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCC	GCCATCCAGTTGACCCAGTCT

[0179]

ATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG	CCATCCTCCCTGTCTGCATCTG
GAGACAGAGTCACCATCACTTGC	TAGGAGACAGAGTCACCATCA
CGGGCAAGTCAGGACATTAGCA	CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCA
ATACTGTAGCCTGGTATCAGCAG	TTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTA
AACCCAGGGAAAGCTCCTAAGC	TCAGCAGAAACCAGGGAAAC
TCCTGATCTATGATGCCTCCAGTT	CTCCTAAGCTCCTGATCTCTGA
TGGAAAGTGGGGTCTCATCAAG	TGCCTCCAGTTTGGAAAGTGG
GTTCAGCGGCAGTGGATCGGGG	GGTCCCATCTAGGTTTCAGCGG
ACAGATTTCACTCTCACCATCAG	CAGTGGCTCTGGGACAGATTT
CAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG	CACTCTCACCATCAGCAGCCT
CAACTTATTACTGTCAACAGTTT	GCAGCCTGAAGATTTTGCAAC
AATAATTACCCGTACACTTTTGCG	TTATTACTGTCAACAGTTTAAT
CAGGGGACCAAGCTGGAGATCA	AACTACCCTCCCCTTTCGGC
AA	CCTGGGACCAAAGTGGATATC
SEQ ID NO: 225	AAA
	SEQ ID NO: 226

[0180] 还提供编码抗BTLA抗体和/或BTLA结合结构域的核酸组合物。本领域人员会知道,在抗原结合结构域的情况下,核酸组合物一般包括编码重链可变区的第一核酸和编码轻链可变区的第二核酸。在scFv的情况下,可以制备编码重链可变区和轻链可变区的单个核酸,其通过本文所述的接头分离。在常规抗体的情况下,核酸组合物一般包括编码重链可变区的第一核酸和编码轻链可变区的第二核酸,在细胞中表达时,自发地组装成两条重链和两条轻链的“常规的”四聚体格式。

[0181] 如本领域已知,编码本发明的元件的核酸可以并入表达载体,并取决于宿主细胞,用于产生本发明的抗体。这两个核酸可以并入单个表达载体中或并入两个不同的表达载体中。一般地,核酸能够可操作地连接到在表达载体中任何数量的调控元件(启动子、复制原点、可选标记、核糖体结合位点、诱导因子等)。表达载体可以是染色体外载体或整合载体。

[0182] 本发明的核酸和/或表达载体可以引入到任何类型的本领域已知的宿主细胞,包括哺乳动物细胞、细菌细胞、酵母细胞、昆虫细胞和真菌细胞。在转染后,可以使用本领域已知的方法(例如,有限稀释、ELISA、FACS、显微镜或Clonepix)分离单细胞克隆,用于细胞库生成。在适于生物反应器规模扩大和保持抗体表达的条件下,可以培养克隆。可以使用本领域已知的方法(包括离心、深层过滤、细胞裂解、均质化、冻融、亲和纯化、凝胶过滤、离子交换层析、疏水作用交换层析和混合模式层析)分离和纯化抗体。

[0183] IV. 治疗应用

[0184] 本公开提供了一种调节受试者中免疫应答的方法,该方法包括向受试者施用有效量的本文所述的抗BTLA抗体或包含抗BTLA抗体的药物组合物。

[0185] 在一些实施例中,本公开所包含的调节免疫应答的方法包括刺激受试者中的免疫应答,在其他实施例中,这种方法包含向受试者施用有效量的作为BTLA拮抗剂的抗BTLA抗

体,或施用含有拮抗作用的抗BTLA抗体的药物组合物。

[0186] 在一些实施例中,本公开所包含的方法包含刺激受试者中的免疫应答的方法,例如,通过施用包括以下的抗BTLA抗体:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:21具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:22具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:107的vhCDR1、包含SEQ ID NO:108的vhCDR2、包含SEQ ID NO:109的vhCDR3、包含SEQ ID NO:110的vLCDR1、包含SEQ ID NO:111的vLCDR2和包含SEQ ID NO:112的vLCDR3。

[0187] 在一些实施例中,本文所述的方法刺激受试者中的免疫应答,例如,通过施用包括以下的抗BTLA抗体:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:19具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:20具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:101的vhCDR1、包含SEQ ID NO:102的vhCDR2、包含SEQ ID NO:103的vhCDR3、包含SEQ ID NO:104的vLCDR1、包含SEQ ID NO:105的vLCDR2和包含SEQ ID NO:106的vLCDR3。

[0188] 在一些实施例中,本文所述的方法刺激受试者中的免疫应答,例如,通过施用包括以下的抗BTLA抗体:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:25具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:26具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:119的vhCDR1、包含SEQ ID NO:120的vhCDR2、包含SEQ ID NO:121的vhCDR3、包含SEQ ID NO:122的vLCDR1、包含SEQ ID NO:123的vLCDR2和包含SEQ ID NO:124的vLCDR3。

[0189] 在一些实施例中,本公开提供一种抑制受试者中的免疫应答的方法,例如,通过向受试者施用有效量的作为BTLA激动剂的抗BTLA抗体,或通过向受试者施用含有这类激动作用的抗BTLA抗体的药物组合物。

[0190] 在一些其他实施例中,本文所述的方法抑制受试者中的免疫应答,例如,通过施用包括以下的抗BTLA抗体:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:31具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:32具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:137的vhCDR1、包含SEQ ID NO:138的vhCDR2、包含SEQ ID NO:139的vhCDR3、包含SEQ ID NO:140的vLCDR1、包含SEQ ID NO:141的vLCDR2和包含SEQ ID NO:142

的v1CDR3。

[0191] 在一些其他实施例中,本文所述的方法抑制受试者中的免疫应答,例如,通过施用包括以下的抗BTLA抗体:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:35具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:36具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:149的vhCDR1、包含SEQ ID NO:150的vhCDR2、包含SEQ ID NO:151的vhCDR3、包含SEQ ID NO:152的v1CDR1、包含SEQ ID NO:153的v1CDR2和包含SEQ ID NO:154的v1CDR3。

[0192] 在一些其他实施例中,本文所述的方法抑制受试者中的免疫应答,例如,通过施用包括以下的抗BTLA抗体:重链可变区,其包含与SEQ ID NO:29具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列,以及轻链可变区,其包含与SEQ ID NO:30具有至少80% (例如,80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列;和/或包含SEQ ID NO:131的vhCDR1、包含SEQ ID NO:132的vhCDR2、包含SEQ ID NO:133的vhCDR3、包含SEQ ID NO:134的v1CDR1、包含SEQ ID NO:135的v1CDR2和包含SEQ ID NO:136的v1CDR3。

[0193] 本公开还提供治疗受试者中的癌症的方法,这种方法包括向受试者施用有效量的作为BTLA拮抗剂的抗BTLA抗体或含有这种抗BTLA抗体的药物组合物。在一些实施例中,待治疗的癌症在癌症细胞表面表达HVEM和/或BTLA。在一些实施例中,与相应的非癌组织相比,待治疗的癌症上调HVEM和/或BTLA。在一些实施例中,待治疗的受试者在T细胞上(例如,在CD8+和/或CD4+T细胞上)表达HVEM和/或BTLA。在一些实施例中,待治疗的受试者在一种或多种免疫细胞上表达高水平的HVEM和/或BTLA,该免疫细胞包括:CD4+T细胞、CD8+T细胞、B细胞、自然杀伤T细胞、自然杀伤细胞、巨噬细胞和树突状细胞。在一些实施例中,待治疗的癌症使用BTLA-HVEM通路以下调T细胞应答和/或逃避免疫识别和破坏(destruction)。在一些实施例中,待治疗的癌症对靶向其他免疫检查点(例如,CTLA-4、PD-1或PD-L1)的现有免疫调节抗体没有应答。

[0194] 在一些实施例中,癌症是实体瘤,例如胃癌、结直肠癌、肝细胞癌、黑色素瘤或食管鳞状细胞癌。在一些实施例中,癌症是B细胞慢性淋巴细胞性白血病、霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)、B细胞非霍奇金淋巴瘤或T细胞非霍奇金淋巴瘤。

[0195] 在一些其他实施例中,癌症是脑癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、食道癌、白血病、肺癌、肝癌、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、直肠癌、肾癌、睾丸癌或子宫癌。在其他实施例中,癌症是血管瘤、鳞状细胞癌、腺癌、小细胞癌、神经母细胞瘤、肉瘤(例如,血管肉瘤或软骨肉瘤)、喉癌、腮腺癌、胆道癌、甲状腺癌、肢端黑色素瘤、日光性角化病、急性淋巴细胞白血病、急性骨髓性白血病、腺样囊性癌、腺瘤、腺肉瘤、腺鳞癌、肛管癌、肛门癌、肛管直肠癌、星形胶质细胞瘤、巴氏腺癌、基底细胞癌、胆管癌、骨癌、骨髓癌、支气管癌、支气管腺体癌、类癌、胆管癌(cholangiocarcinoma)、软骨肉瘤、脉络丛乳头状瘤/癌、慢性

淋巴细胞白血病、慢性骨髓性白血病、透明细胞癌、结缔组织癌、囊腺瘤、消化系统癌、十二指肠癌、内分泌系统癌、内胚窦瘤、子宫内膜增生、子宫内膜基质肉瘤、子宫内膜样腺癌、内皮细胞癌、室管膜癌、上皮细胞癌、尤文氏肉瘤 (Ewing's sarcoma)、眼眶癌 (eye and orbit cancer)、女性生殖器癌、肝局灶性结节增生、胆囊癌、胃窦癌、胃底癌、胃泌素瘤、胶质母细胞瘤、高血糖素瘤、心脏癌、血管母细胞瘤、血管内皮瘤、血管瘤、肝腺瘤、肝腺瘤病、肝胆管癌、肝细胞癌、霍奇金病、回肠癌、胰岛素瘤、上皮内瘤变、上皮内鳞状细胞瘤 (interepithelial squamous cell neoplasia)、肝内胆管癌、浸润性鳞状细胞癌、空肠癌 (jejunum cancer)、关节癌、卡波西氏肉瘤 (Kaposi's sarcoma)、盆腔癌、大细胞癌、大肠癌、平滑肌肉瘤、雀斑型恶性黑色素瘤、淋巴瘤、男性生殖器癌、恶性黑色素瘤、恶性间皮瘤、髓母细胞瘤、髓上皮瘤、脑膜癌、间皮癌、转移癌、口癌、粘液表皮样癌、多发性骨髓瘤、肌肉癌、鼻道癌、神经系统癌、神经上皮细胞腺癌结节性黑色素瘤 (neuroepithelial adenocarcinoma nodular melanoma)、非上皮性皮肤癌、燕麦细胞癌、少突胶质细胞癌、口腔癌、骨肉瘤、乳头状浆液性腺癌、阴茎癌、喉咽癌 (pharynx cancer)、垂体瘤、浆细胞瘤、假性肉瘤、肺母细胞瘤、直肠癌、肾细胞癌、呼吸系统癌、眼癌、横纹肌肉瘤、肉瘤、浆液性癌、鼻窦癌、皮肤癌、小细胞癌、小肠癌、平滑肌肉癌、软组织癌、生长抑素分泌肿瘤 (somatostatin-secreting tumor)、脊柱癌、鳞状细胞癌、横纹肌肉癌 (striated muscle cancer)、间皮下癌 (submesothelial cancer)、浅表扩散型黑色素瘤、T细胞白血病、舌癌、未分化癌、输尿管癌、尿道癌、尿膀胱癌、泌尿系统癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、葡萄膜黑色素瘤、阴道癌、疣状癌、血管活性肠肽瘤、外阴癌、高分化癌或威尔姆斯瘤 (Wilms tumor)。

[0196] 在一些其他实施例中,待治疗的癌症是非霍奇金淋巴瘤,例如B细胞淋巴瘤或T细胞淋巴瘤。在某些实施例中,非霍奇金淋巴瘤是B细胞淋巴瘤,例如弥漫性大B细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤、滤泡型淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴瘤、结外边缘区B细胞淋巴瘤、结内边缘区B细胞淋巴瘤、脾边缘区B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤 (Burkitt lymphoma)、淋巴浆细胞淋巴瘤、毛细胞白血病或原发性中枢神经系统 (CNS) 淋巴瘤。在某些其他实施例中,非霍奇金淋巴瘤是T细胞淋巴瘤,例如前体T淋巴细胞淋巴瘤、外周T细胞淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、结外自然杀伤性/T细胞淋巴瘤、肠病型T细胞淋巴瘤、皮下脂膜炎样T细胞淋巴瘤、间变性大细胞淋巴瘤或外周T细胞淋巴瘤。

[0197] 本公开还提供了治疗受试者中的自身免疫性或炎症性病症的方法,该方法包括向受试者施用有效量的作为BTLA激动剂的抗BTLA抗体,或含有这种抗BTLA抗体的药物组合物。在一些实施例中,HVEM和/或BTLA在待治疗的受试者的一种或多种类型的免疫细胞(包括T细胞、B细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞、内皮细胞和巨噬细胞)中低水平表达。在一些实施例中,HVEM和/或BTLA在受试者中驻留在自身免疫性疾病发生位点(例如,患有多发性硬化症的受试者的淋巴结和中枢神经系统、患有类风湿关节炎的受试者的关节、患有乳糜泻的受试者的胃肠道)的自体免疫细胞(例如T细胞、B细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞、内皮细胞和巨噬细胞)上低水平表达。施用作为BTLA激动剂的抗BTLA抗体可以抑制促炎性免疫反应,包括促炎性T细胞反应,并调节患有自身免疫性或炎症性病症的受试者的免疫反应。

[0198] 在一些实施例中,待治疗的自身免疫性或炎症性病症是多发性硬化症、艾迪森氏

病(Addison's disease)、肌萎缩侧索硬化、克罗恩氏病(Crohn's disease)、库欣综合征(Cushing's Syndrome)、1型糖尿病、移植物抗宿主病、Graves病、吉兰-巴雷综合征(Guillain-Barré syndrome)、红斑狼疮、银屑病、牛皮癣性关节炎、类风湿性关节炎、结节病、硬皮病、系统性红斑狼疮、移植排斥反应或血管炎。

[0199] 在一些其他实施例中,待治疗的自身免疫性疾病包括但不限于,急性播散性脑脊髓炎(ADEM)、丙种球蛋白缺乏症、斑秃、强直性脊柱炎、抗磷脂综合征、抗合成酶综合征、特应性过敏、特应性皮炎、自身免疫性再生障碍性贫血、自身免疫性心肌病、自身免疫性肠病、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴细胞增生综合征、自身免疫性胰腺炎、自身免疫性周围神经病、自身免疫性多内分泌腺病综合征、自身免疫性孕酮性皮炎、自身免疫性血小板减少性紫癜、自身免疫性荨麻疹、自身免疫性葡萄膜炎、巴洛病/巴洛同心圆性硬化、贝赫切特综合征(Behcet's disease)、伯格氏病(Berger's disease)、Bickerstaff脑干脑炎、Blau综合征、大疱性类天疱疮、癌症、巨淋巴结增生症(Castleman's disease)、乳糜泻、查加斯病(Chagas disease)、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、慢性阻塞性肺疾病、慢性复发性多病灶性骨髓炎、Churg-Strauss综合征、瘢痕性类天疱疮、Cogan综合征、冷凝集素病、补体成分2缺乏(Complement component 2 deficiency)、接触性皮炎、颅动脉炎、CREST综合征、皮肤白细胞碎裂性血管炎、Dego病、Dercum病、疱疹样皮炎、皮炎、弥漫性皮肤系统性硬化、盘状红斑狼疮、Dressler综合征、药物性红斑狼疮、湿疹、子宫内膜异位症、嗜酸性筋膜炎、嗜酸性胃肠炎、嗜酸性肺炎、获得性大疱性表皮松解症、结节性红斑、胎儿成红细胞增多症、原发性混合型冷球蛋白血症、埃文斯综合征(Evan's syndrome)、进行性骨化性纤维发育不良、纤维性肺炎(或特发性肺纤维化)、胃炎、胃肠道类天疱疮(Gastrointestinal pemphigoid)、肾小球肾炎、Goodpasture综合征、桥本氏脑病(Hashimoto's encephalopathy)、桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、Henoch-Schönlein紫癜、妊娠性疱疹又称妊娠期类天疱疮(Herpes gestationis aka Gestational Pemphigoid)、化脓性汗腺炎、Hughes-Stovin综合征、低丙种球蛋白血症、特发性炎性脱髓鞘疾病、特发性肺纤维化、特发性血小板减少性紫癜、IgA肾病、包涵体肌炎、间质性膀胱炎、幼年特发性关节炎又称幼年类风湿性关节炎、川崎病、Lambert-Eaton无力综合征、白细胞增生性血管炎、扁平苔藓、硬化性苔藓、线性IgA病、狼疮性肝炎又称自身免疫性肝炎、Majeed综合征、显微镜下结肠炎、显微镜下多血管炎、Miller-Fisher综合征、混合结缔组织病、Morphea、Mucha-Habermann病又称苔藓样糠疹和尖锐湿疹、多发性硬化、重症肌无力、肌炎、梅尼埃病(Ménière's disease)、发作性睡病(Narcolepsy)、视神经脊髓炎、神经肌强直、眼部瘢痕性类天疱疮、眼阵挛-肌阵挛综合征、Ortner甲状腺炎(Ortner's thyroiditis)、复发性风湿病、PANDAS(与链球菌相关的儿童自身免疫性神经精神病)、副肿瘤性小脑变性、阵发性夜间血红蛋白尿(PNH)、Parry Romberg综合征、扁平部炎、Parsonage-Turner综合征、寻常型天疱疮、静脉周围脑脊髓炎、恶性贫血、POEMS综合征、结节性多动脉炎、风湿性多肌痛、多发性肌炎、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、进行性炎性神经病、纯红细胞再生障碍、坏疽性脓皮病、Rasmussen脑炎、雷诺现象、Reiter综合征、复发性多软骨炎、不宁腿综合征、腹膜后纤维化、风湿热、精神分裂症、Schmidt综合征、Schnitzler综合征、巩膜炎、血清病、Sjögren综合征、脊椎关节病、僵硬人综合征、Still病、亚急性细菌性心内膜炎(SBE)、Susac综合征、Sweet综合征、Sydenham舞蹈

病、交感眼炎、Takayasu动脉炎、颞动脉炎、血小板减少症、Tolosa-Hunt综合征、横断性脊髓炎、溃疡性结肠炎、未分化脊柱关节病、荨麻疹性血管炎、白癜风、韦格纳肉芽肿(Wegener's granulomatosis)。

[0200] V. 联合治疗

[0201] 本文所述的抗BTLA抗体可与其他治疗剂联合使用,以治疗癌症或自身免疫性疾病。

[0202] 可作为联合治疗的一部分用于治疗癌症的示例性治疗剂包括,例如,放射、丝裂霉素、维A酸、ribomustin、吉西他滨、长春新碱、依托泊苷、克拉屈滨、mitobronitol、甲氨蝶呤、多柔比星、卡波醌(carboquone)、喷司他丁、二胺硝吡啶(nitracrine)、净司他丁(zinostatin)、西曲瑞克、来曲唑、雷替曲塞、柔红霉素、法屈唑、福莫司汀、胸腺法新、索布佐生(sobuzoxane)、奈达铂、阿糖胞苷、比卡鲁胺、长春瑞滨、维司力农(vesnarinone)、氨鲁米特(aminogluthetimide)、安吡啶、丙谷胺(proglumide)、依利醋铵、酮舍林、去氧氟尿苷、阿维A酯、罗可坦(isotretinoin)、链脲霉素、尼莫司汀、长春地辛、氟他胺(flutamid)、drogenil、butocin、卡莫氟、雷佐生(razoxane)、sizofilan、卡铂、二溴卫矛醇(mitolactol)、替加氟(tegafur)、异环磷酰胺、泼尼莫司汀、picibanil、左旋咪唑、替尼泊苷、英丙舒凡(improsulfan)、依诺他滨(enocitabine)、麦角新碱(lisuride)、羟甲基烯龙、他莫昔芬(tamoxifen)、黄体酮、美雄烷(mepitiostane)、环硫雄醇(epitiostanol)、福美司坦(formestane)、干扰素- α 、干扰素-2 α 、干扰素- β 、干扰素- γ 、集落刺激因子-1、集落刺激因子-2、地尼白介素(denileukindiftitox)、白细胞介素-2、促黄体激素释放因子和可能表现出与其同源受体的不同结合并增加或减少血清半衰期的上述药剂的变体。

[0203] 另外一类可作为联合治疗的一部分用于治疗癌症的药剂是免疫检查点抑制剂。示例性的免疫检查点抑制剂包括抑制以下一项或多项的药剂:(i) 细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA4), (ii) 程序性细胞死亡蛋白1(PD1), (iii) PDL1, (iv) LAG3, (v) B7-H3, (vi) B7-H4, 和(vii) TIM3, 例如伊匹单抗(Ipilimumab)、纳武单抗(Nivolumab)、派姆单抗(Pembrolizumab)、阿维单抗(Avelumab)、度伐鲁单抗(Durvalumab)和阿特珠单抗(Atezolizumab)。

[0204] 然而,其他可作为联合治疗的一部分用于治疗癌症的药剂是针对非检查点目标的单克隆抗体药剂(例如赫赛汀)和非细胞毒性药剂(例如酪氨酸激酶抑制剂)。

[0205] 然而,其他类别的抗癌剂包括,例如:(i) 选自以下的抑制剂:ALK抑制剂、ATR抑制剂、A2A拮抗剂、碱基切除修复抑制剂、Bcr-Abl酪氨酸激酶抑制剂、Bruton酪氨酸激酶抑制剂的、CDC7抑制剂、CHK1抑制剂、周期蛋白依赖性激酶抑制剂、DNA-PK抑制剂、DNA-PK和mTOR抑制剂、DNMT1抑制剂、DNMT1抑制剂加2-氯脱氧腺苷、HDAC抑制剂、刺猬信号通路抑制剂、IDO抑制剂、JAK抑制剂、mTOR抑制剂、MEK抑制剂、MELK抑制剂、MTH1抑制剂、PARP抑制剂、磷酸肌醇3-激酶抑制剂、PARP1和DHODH抑制剂、蛋白酶体抑制剂、拓扑异构酶-II抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、VEGFR抑制剂和WEE1抑制剂;(ii) OX40、CD137、CD40、GITR、CD27、HVEM、TNFRSF25或ICOS的激动剂;以及(iii) 选自IL-12、IL-15、GM-CSF和G-CSF的细胞因子。

[0206] 本发明的抗体也可作为从原发病灶手术切除癌的辅助手段。

[0207] 可作为与本文所公开的抗BTLA抗体联合治疗的一部分,用于治疗、延缓进展、防止复发或缓解自身免疫性或炎症性疾病的症状的示例性治疗剂包括,例如,本领域已知的和

本文描述的任何抗炎和/或免疫抑制疗法。在一些实施例中,抗炎和/或免疫抑制疗法包括但不限于甲氨蝶呤、环孢素A(包括例如,环孢素微乳剂(cyclosporin microemulsion))、他克莫司、皮质类固醇、他汀类药物、干扰素 β 、非甾体抗炎药和6-MP(巯基嘌呤,也称为6-巯基嘌呤或Purinethol)。

[0208] 在一些实施例中,与本文所公开的于抗BTLA抗体相结合的抗炎和/或免疫抑制疗法包括,但不限于TOPK抑制剂(例如,OTS964((R)-9-(4-(1-(二甲氨基)丙烷-2-基)苯基)-8-羟基-6-甲基噻吩[2,3-c]喹啉-4(5H)-酮)(Oncotherapy Science))、酪氨酸激酶抑制剂(例如,阿昔替尼、达沙替尼、埃克替尼)、拓扑异构酶抑制剂(例如拓扑替康)、鞘氨醇-1-磷酸受体激动剂(例如芬戈莫德、KRP-203)、抗T细胞免疫球蛋白(例如AtGam)、抗IL-2受体抗体(例如达利珠单抗)、酰胺类(CTX)、异环磷酰胺(IFO)、阿霉素(ADM)、柔红霉素(DNR)、长春新碱(VCR)、长春花碱(VBL)、依托泊苷(VP16)、vermeer(Vumon)、卡铂(CBP)、他克莫司、西罗莫司、依维莫司、硫唑嘌呤、布列奎钠(brequinar)、来氟米特、LEA-29Y、抗CD3抗体(例如OKT3)、阿司匹林、B7-CD28阻断分子(例如belatacept、abatacept)、CD40-CD154阻断分子(抗CD40抗体)、对乙酰氨基酚、布洛芬、萘普生、吡罗昔康和抗炎类固醇(例如泼尼松龙或地塞米松)。

[0209] 在一些实施例中,本文所公开的与抗BTLA抗体相结合的抗炎和/或免疫抑制疗法包括消除自身免疫细胞,例如,通过给予TNF- α 、CFA、白细胞介素-1(IL-1)、蛋白酶体抑制剂、NF κ B抑制剂、抗炎药、组织型纤溶酶原激活剂(TPA)、脂多糖、紫外线和TNF- α 信号传导途径的细胞内介质。这类药物通过中断TNF- α 受体信号传导的下游途径或在TNF- α 受体结合的下流发挥作用,诱导自体淋巴细胞凋亡。(Baldwin et al., Ann.Rev.Immunol. (1996) 12: 141; Baltimore, Cell (1996) 87: 13)。

[0210] 在一些实施例中,本文所公开的抗BTLA抗体与治疗或以其他方式缓解自身免疫性疾病的手术方法结合使用。

[0211] 例如,为了治疗、延缓多发性骨质疏松症的进展、防止其复发或减轻其症状,作为BTLA激动剂的抗BTLA抗体可以与任何现有的治疗多发性硬化的疗法相结合,例如,皮质类固醇(例如,口服泼尼松和静脉注射甲泼尼龙)、血浆分离术、奥瑞珠单抗(Orelizumab)、 β 干扰素、醋酸格拉替雷(Glatiramer acetate)、富马酸二甲酯、芬戈莫德、Feriflunomide、那他珠单抗(Natalizumab)、阿仑单抗(Alemtuzumab)和/或米托蒽醌(Mitoxantrone)。

[0212] 可以选择抗体和附加治疗剂的数量以及相对的施用时间,以达到理想的联合治疗效果。例如,当向需要这种施用的患者施用联合治疗时,组合中的治疗剂或药物组合物或包括治疗剂的组合物可以以任何顺序施用,例如,依次地、并行地(concurrently)、一起地、同时地等。此外,例如,多特异性结合蛋白可以在额外的治疗剂发挥其预防或治疗作用时施用,或者反之亦然。

[0213] VI. 药物组合物和施用

[0214] 本公开的内容还包括含有治疗有效量的本文所述抗BTLA抗体的药物组合物/制剂。该组合物可以被配制用于各种药物递送系统。一种或多种生理学上可接受的赋形剂或载剂也可以包括在组合物中,以便适当配制。用于本公开内容的合适制剂可在Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985中找到。关于药物递送方法的简要回顾,参见,例如Langer (Science 249:

1527-1533,1990)。

[0215] 本公开的抗体可以存在于冻干制剂或液体水性药物制剂中。本文感兴趣的水性载剂是药学上可接受的(对人来说安全无毒),并可用于制备液体制剂。说明性的载剂包括无菌注射用水(SWFI)、抑菌注射用水(BWFI)、pH缓冲溶液(例如磷酸盐缓冲盐溶液)、无菌盐水、林格氏液(Ringer's solution)或葡萄糖溶液。

[0216] 本公开的抗体可以存在于冻干制剂中,包括蛋白质和冻干剂。冻干保护剂可以是糖,例如二糖。在某些实施例中,冻干保护剂是蔗糖或麦芽糖。冻干制剂还可以包括缓冲剂、表面活性剂、膨胀剂和/或防腐剂中的一种或多种。

[0217] 本发明的药物组合中活性成分的实际剂量水平可以变化,以便获得有效的活性成分含量,以达到特定患者、组合物和施用方式所需的治疗应答,而不对患者产生毒性。可以在0.1mg到1g的范围内施用,最好是给成人每次施用0.5mg到500mg范围内的活性抗体。或者,患者的剂量可以根据患者的大致体重或表面积来确定。确定适当剂量的其他因素可包括待治疗或预防的疾病或病况、疾病的严重程度、施用途径以及患者的年龄、性别和身体状况。本领域技术人员通常会对确定治疗的适当剂量所需的计算进行进一步细化,特别是考虑到本文所公开的剂量信息和分析方法。剂量也可以通过使用与适当的剂量反应数据一起使用的确定剂量的已知检测方法来确定。随着对疾病进展的监测,个别患者的剂量可以得到调整。可以测量患者血液中的可靶向构建物或复合物的水平,以了解是否需要调整剂量以达到或维持有效浓度。药物基因组学可用于确定哪些可靶向构建体和/或复合物及其剂量对特定个体最可能有效(Schmitz et al.,Clinica Chimica Acta 308:43-53,2001; Steimer et al.,Clinica Chimica Acta 308:33-41,2001)。

[0218] 剂量可能是每天给予一次或多次,每周一次或多次,每月一次或多次或每年一次或多次,或甚至每2到20年一次。本领域普通技术人员可以根据测量的停留时间和可靶向构建体或复合物在体液或组织中的浓度,很容易地估计给药剂量的重复率。本发明的施用可以是静脉内、动脉内、腹膜内、肌肉内、皮下的、胸膜内的、鞘内的、腔内的、通过导管灌注或直接病灶内注射。这可能是每天施用一次或多次,每周一次或多次,每月一次或多次,每年一次或多次。

[0219] 示例

[0220] 现在对本发明进行一般性描述,通过参考以下示例,将更容易理解本发明,这些示例仅仅是为了说明本发明的某些方面和实施方式,并不打算限制本发明。

[0221] 示例1-抗BTLA抗体与重组BTLA结合

[0222] 通过ELISA检测抗BTLA抗体与人或食蟹猕猴BTLA的结合情况。板(384孔)用20 μ l BTLA(ECD)-HIS(1 μ g/ml)在4 $^{\circ}$ C下涂覆过夜。然后用PBS洗孔,然后用55 μ l阻断缓冲液在室温下阻断1小时。然后用PBS洗孔,将本发明的抗BTLA抗体以及抗BTLA抗体4C7和8D5(描述于美国专利号8,563,694中)和人IgG对照以不同浓度(67、22、7.4、2.5、0.8、0.3、0.09、0.03、0.01、0.004、0.001nM)加入孔中,在室温下培养1h。然后用PBS洗孔,再将20 μ l稀释的HRP结合的第二抗人IgG抗体加入孔中,在室温下孵育45分钟。在移除多余的HRP结合的第二抗体后,在孔中加入底物溶液以形成化学发光信号。使用Omegastar平板阅读器测定光子发射,并计算相对光单位(RLU)。图1示出了抗BTLA抗体13-F7A与人BTLA结合并与4C7和8D5抗体对比的示例性结合曲线。人IgG作为阴性对照使用。表4总结了通过ELISA测定的各种抗BTLA抗

体与人和食蟹猕猴BTLA的结合EC50。

[0223] 表4

[0224]	克隆	人 BTLA (RLU) EC50 (nM)	Cyno BTLA (RLU) EC50 (nM)
	16-I20A	0.7	0.8
	15-C19A	0.8	1.4
	16-H16A	0.9	1.9
	12-I8A	1.4	4.2
	8-M23A	0.8	4.2
	13-F7A	1.0	1.0
	4C7 比较仪	0.9	12.6

[0225] 示例2-与细胞上表达的BTLA结合的抗BTLA抗体

[0226] 用表达人或食蟹猕猴BTLA的HEK 293细胞来评估抗BTLA抗体与BTLA的结合。将不同浓度的抗BTLA抗体 (67、22、7.4、2.5、0.8、0.3、0.09、0.03、0.01、0.004和0.001nM) 与细胞在室温下孵育1小时。然后加入荧光体结合的抗人IgG第二抗体,并通过流式细胞仪分析细胞。图2A-2B显示抗BTLA抗体13-F7A与表达人或食蟹猕猴BTLA的HEK293细胞的结合曲线。与对照组HEK 293细胞相比 (图2C), 13-F7A与人类BTLA和食蟹猕猴BTLA都结合。表5总结了通过FACS测量的各种抗BTLA抗体与人和食蟹猕猴BTLA的结合EC50。

[0227] 表5

[0228]	克隆	人 BTLA (MFI) EC50 (nM)	Cyno BTLA (MFI) EC50 (nM)
	16-I20A	5.0	6.9
	15-C19A	5.5	4.4
	16-H16A	4.7	4.4
[0229]	12-I8A	2.9	5.0
	8-M23A	3.4	4.5
	13-F7A	1.5	2.6
	4C7 比较仪	2.3	4.4

[0230] 示例3-抗BTLA抗体抑制BTLA/HVEM相互作用

[0231] 基于ELISA的生物功能分析被用来检测抗BTLA抗体对BTLA/HVEM相互作用的影响。384孔的ELISA板的每个孔都涂有20 μ l的5 μ g/ml的人HVEM-大鼠IgG2a,在37 $^{\circ}$ C下1小时 (或在4 $^{\circ}$ C下过夜)。涂覆后,用Molecular Devices Aquamax 2000洗板机用洗涤液 (含有0.05% Tween-20的PBS) 清洗两次,然后用封闭液 (含有3% BSA的PBS) 在室温 (RT) 下封闭1小时。在封闭步骤中,将1 μ g/ml的人BTLA-人Fc或0.5 μ g/ml的食蟹猕猴BTLA-人Fc与不同浓度 (67、

22、7.4、2.5、0.8、0.3、0.09、0.03、0.01、0.004、0.001nM)的抗BTLA抗体、4C7、8D5或人IgG2对照混合。封闭步骤完成后,用洗板机洗板两次。然后将20 μ l蛋白质/抗体混合物加入平板,在RT下孵育1小时。舍弃未结合的材料,用洗板机洗板四次。然后在每个孔中加入20 μ l第二抗体(抗人Fc-HRP)并在RT下孵育45分钟。舍弃未结合的材料,用洗板机洗板8次。然后在每个孔中加入20 μ l化学发光底物,在增益3600处读取发光值,并计算相对光单位(RLU)。图3示出了抗BTLA抗体13-F7A的示例性曲线。13-F7A对人BTLA与人HVEM相互作用的抑制程度与4C7相似。然而,8D5和人IgG对照对人BTLA和HVEM之间的相互作用没有什么影响。表6显示了不同的抗BTLA抗体抑制人类BTLA和HVEM之间的相互作用以及食蟹猕猴BTLA和HVEM之间的相互作用的IC₅₀总结。

[0232] 表6

克隆	人 BTLA/HVEM 结合抑制 IC ₅₀ (nM)	Cyno BTLA/HVEM 结合抑制 IC ₅₀ (nM)
16-I20A	2.9	2.5
15-C19A	3.5	2.4
16-H16A	3.0	2.3
12-I8A	4.4	4.6
8-M23A	3.3	3.2
13-F7A	2.5	1.8
4C7 比较仪	2.2	2.0

[0234] 示例4-抗BTLA抗体与具有高亲和力的BTLA结合

[0235] 通过生物膜层干涉技术(来自FortéBIO的Octet®系统)测量抗BTLA抗体与人类和食蟹猕猴BTLA的结合亲和力。10 μ g/ml的每个抗BTLA抗体通过抗人Fc(AHC)捕获固定在生物传感器尖端表面。人或食蟹猕猴BTLA被稀释在PBS中,并以3倍的连续稀释浓度从166.7nM到6.17nM加载。使用Octet®系统提供的分析软件将结合曲线拟合为1:1的相互作用模型。图4示出了抗BTLA抗体13-F7A和不同浓度(166.7nM、55.6nM、18.5nM和6.17nM)下的人BTLA之间的示例性结合和解离曲线。表7显示了通过生物膜层干涉技术测量的不同抗BTLA抗体与人和食蟹猕猴BTLA的结合解离常数(K_D)的总结。

[0236] 表7

[0237]

克隆	人 BTLA K _D (nM)	Cyno BTLA K _D (nM)
16-I20A	14.9	16.6
15-C19A	144.0	0.1
16-H16A	13.9	4.1
12-I8A	25.2	23.2
8-M23A	101.0	37.3
13-F7A	5.4	3.9
4C7 比较仪	14.2	76.5

[0238] 示例5-抗BTLA抗体调节T细胞功能

[0239] 检测抗BTLA抗体对T细胞功能的影响。外周血单个核细胞 (PBMC) 是通过密度梯度离心法从人类捐赠者的肝素化全血中分离出来的。将PBMC以 1×10^6 /ml重新悬浮于完全的RPMI 1640 (RPMI 1640, 10% FCS, 1-谷氨酰胺, 青霉素和链霉素), 并在96孔细胞培养群板中每孔种植100 μ l细胞。将1ng/ml葡萄球菌肠毒素B (SEB) 和每个抗BTLA抗体一起加入孔中。在37°C、5%的二氧化碳条件下, 将细胞培养48小时, 并收集上清液。使用抗IL2捕获抗体 (R&D系统MAB602) 通过ELISA检测上清液中IL-2的浓度。

[0240] 图5A-5F示出了在不同抗BTLA抗体和SEB的存在下, 原代T细胞释放的IL-2的剂量-反应曲线。人IgG2和IgG4用作检测的对照, 因为在这个示例中, 抗BTLA抗体包括来自人IgG2的Fc结构域, 8D5和4C7各包括来自人IgG4的Fc结构域。抗BTLA抗体16-I20A、15-C19A和16-H16A增强了SEB诱导的T细胞的IL-2分泌, 因此可作为BTLA拮抗剂。此外, 与4C7抗体相比, 它们显示出更高的最大拮抗活性。计算了每个测试抗体的EC50, 与4C7抗体相比, 16-I20A显示了类似的EC50, 即拮抗T细胞功能的效力。抗BTLA抗体12-I8A、8-M23A和13-F7A抑制了SEB诱导的T细胞分泌IL-2, 因此可作为BTLA激动剂。

[0241] 通过引用并入

[0242] 出于所有目的, 本文提及的每份专利文件和科学文章的全部公开内容均通过引用而并入本文。

[0243] 等效物

[0244] 本发明可以在不背离其精神或基本特征的情况下以其他具体形式体现出来。因此, 上述实施例在所有方面都应被视为说明性的, 而不是限制本文所述的发明。因此, 本发明的范围是由所附的权利要求书而不是由前述的说明书来表示的, 所有在权利要求书的含义和等价范围内的变化都旨在包含于本文中。

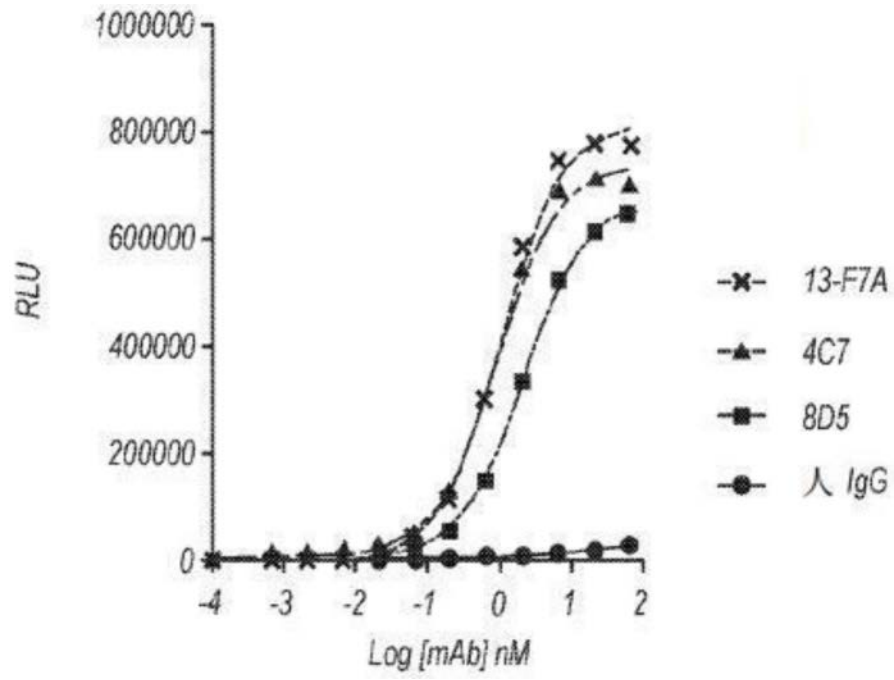


图1

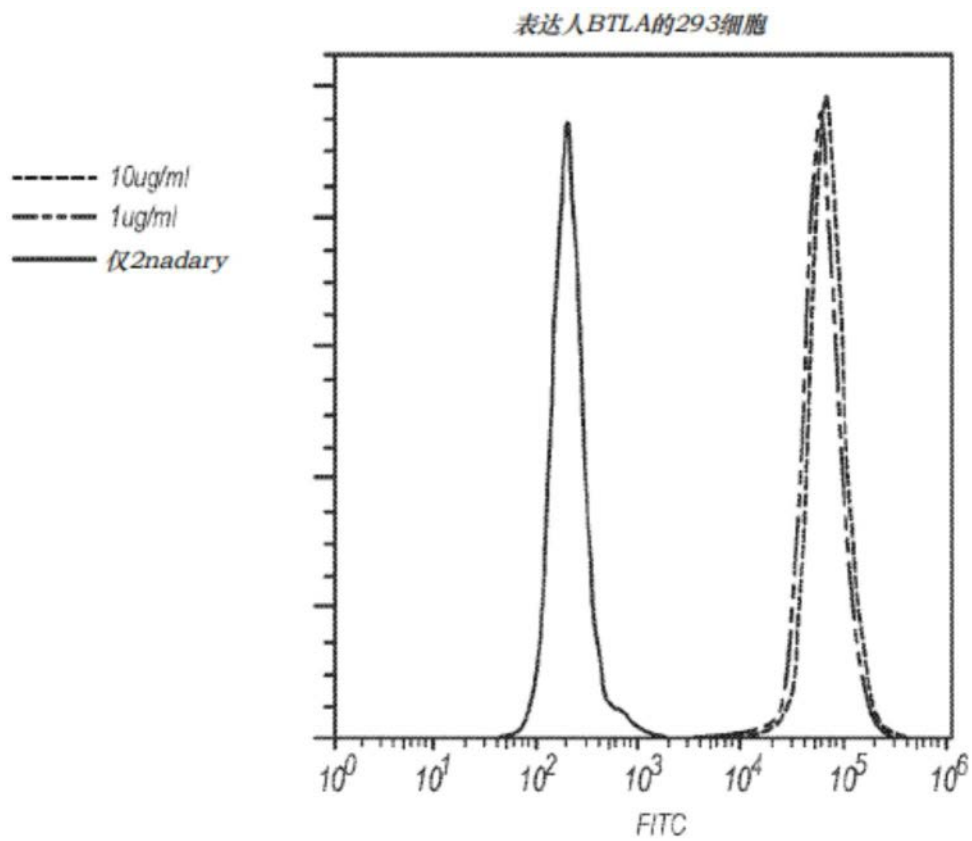


图2A

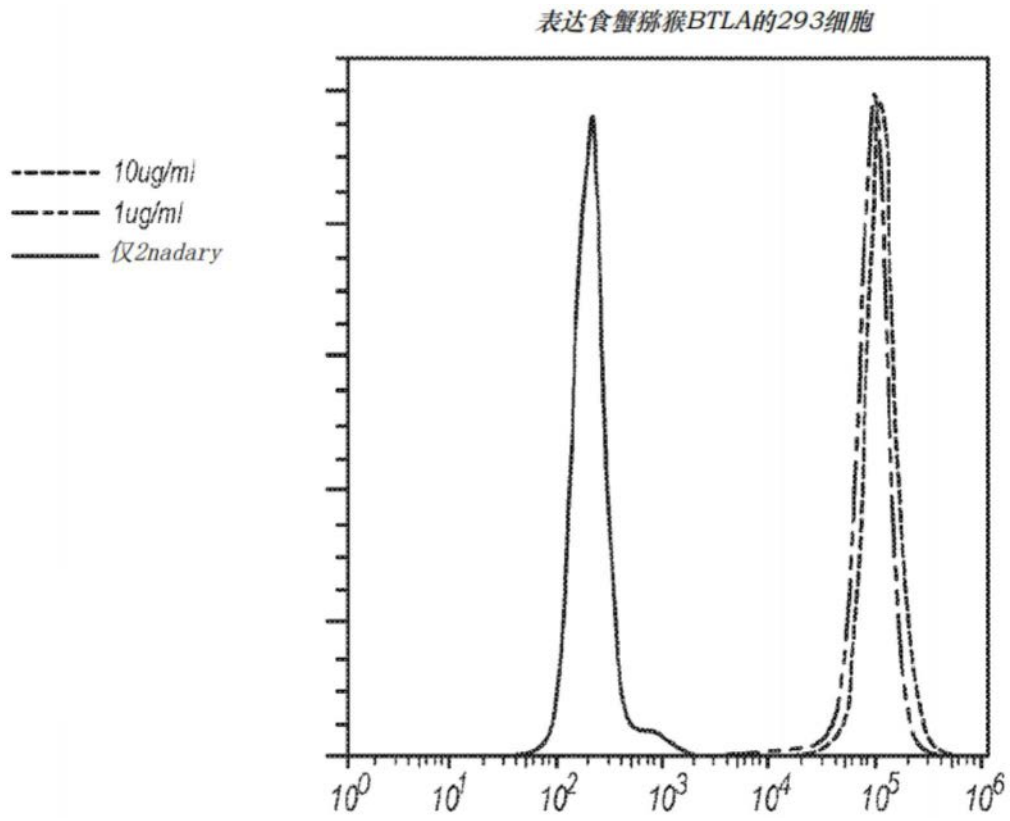


图2B

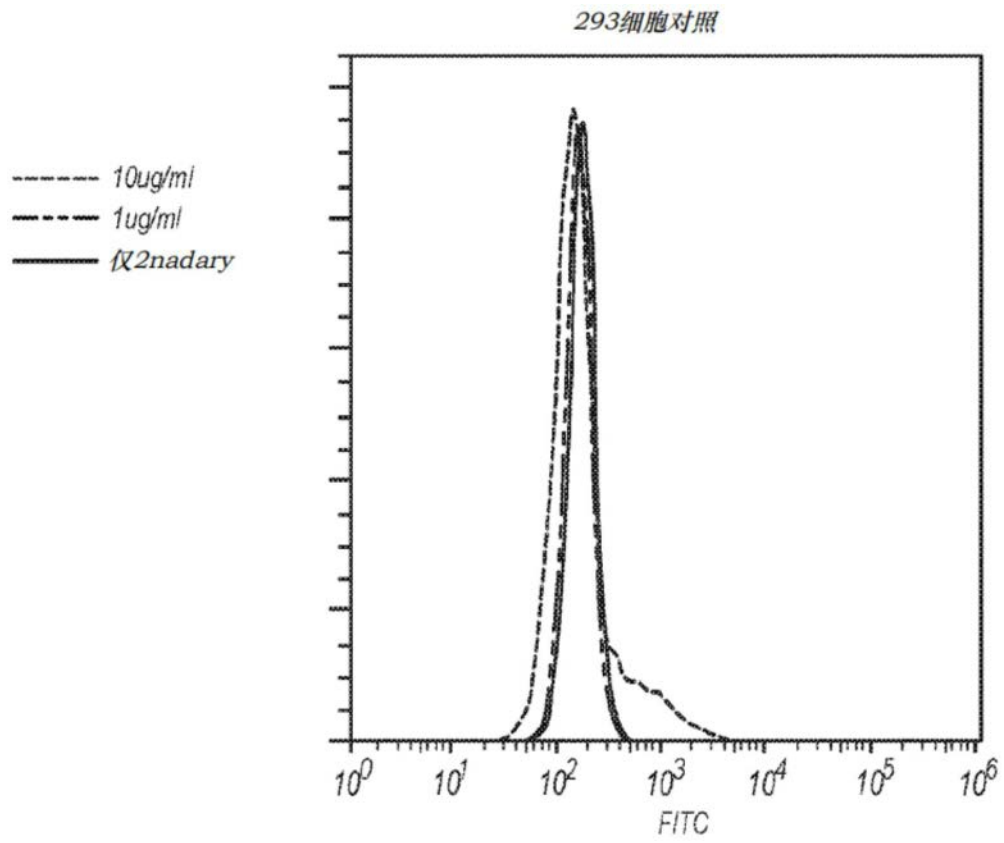


图2C

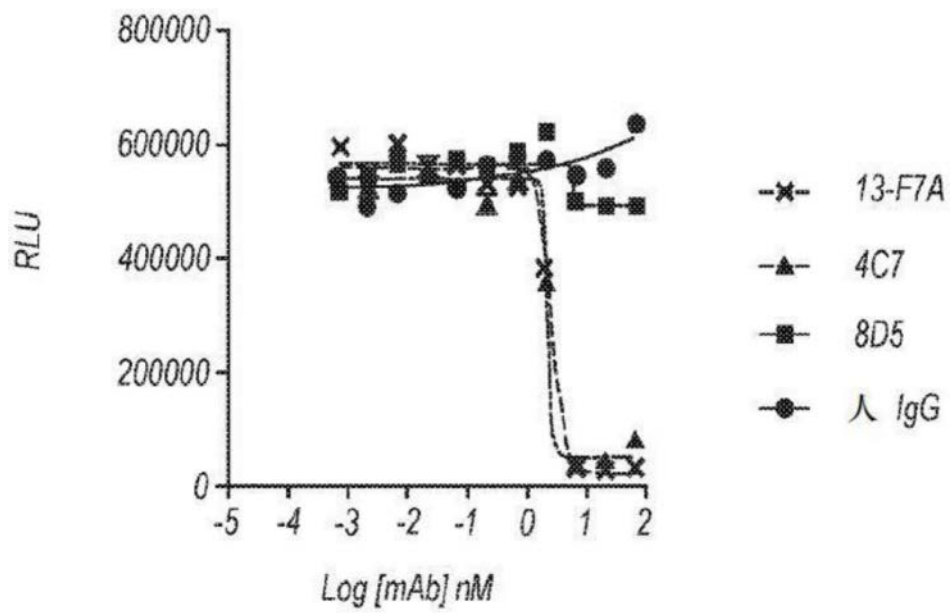


图3

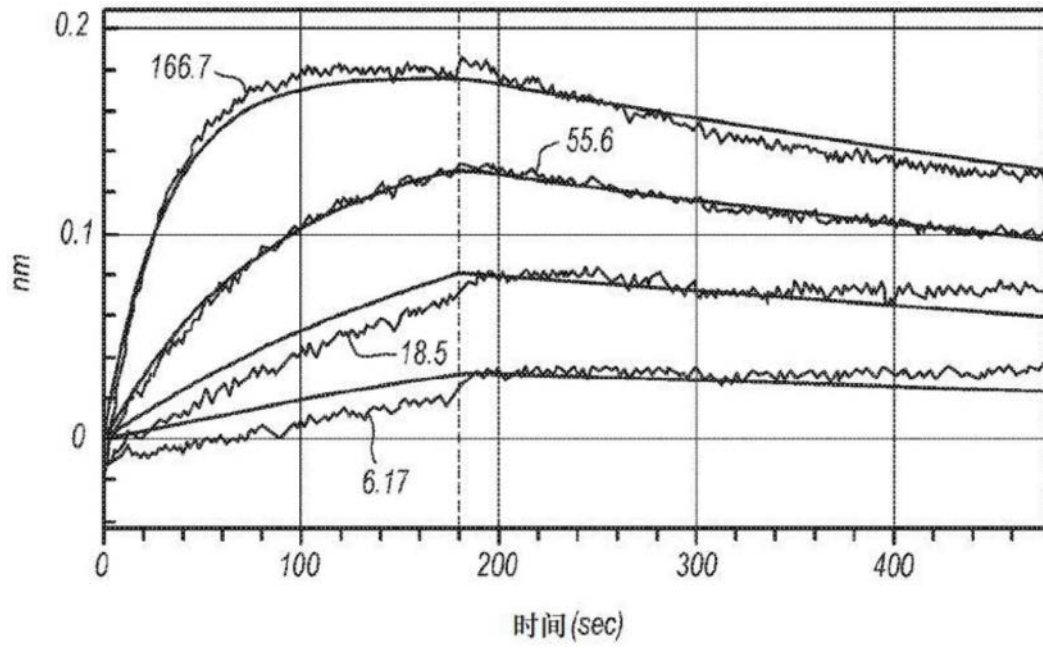


图4

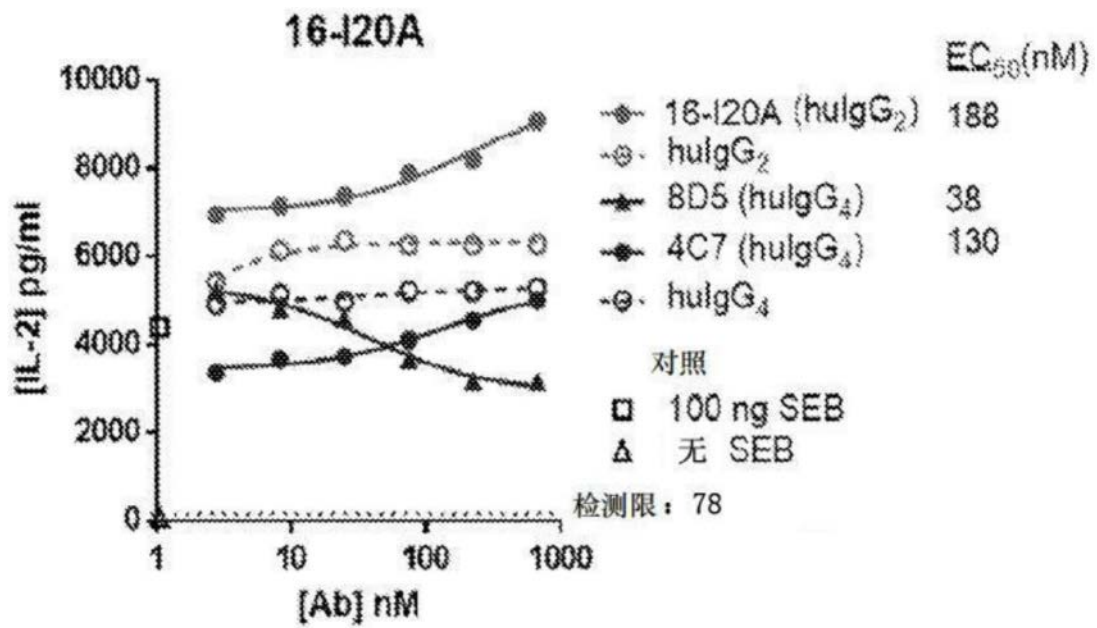


图5A

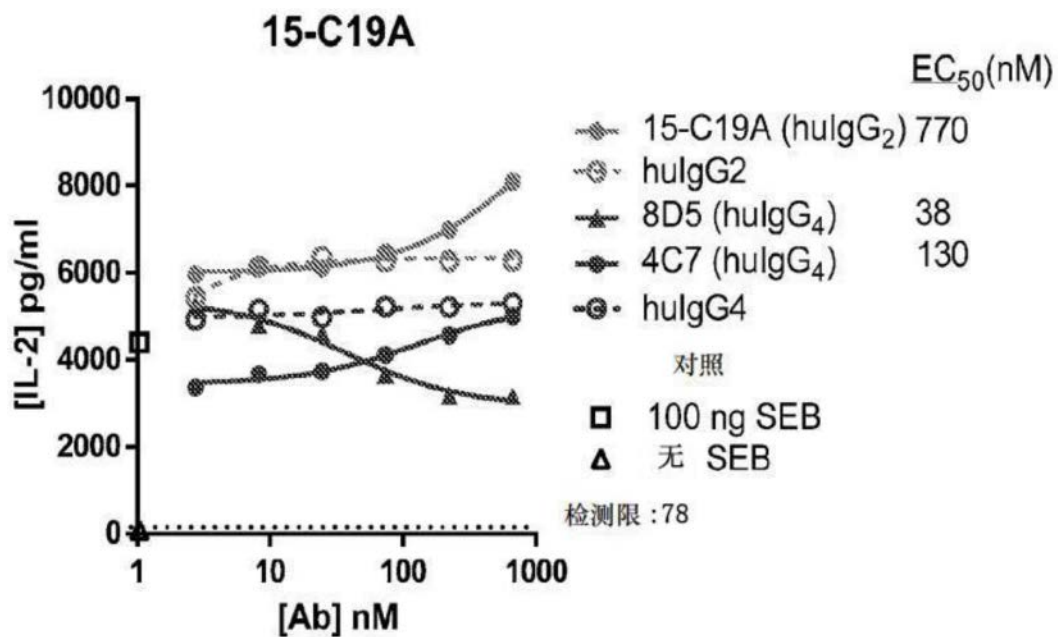


图5B

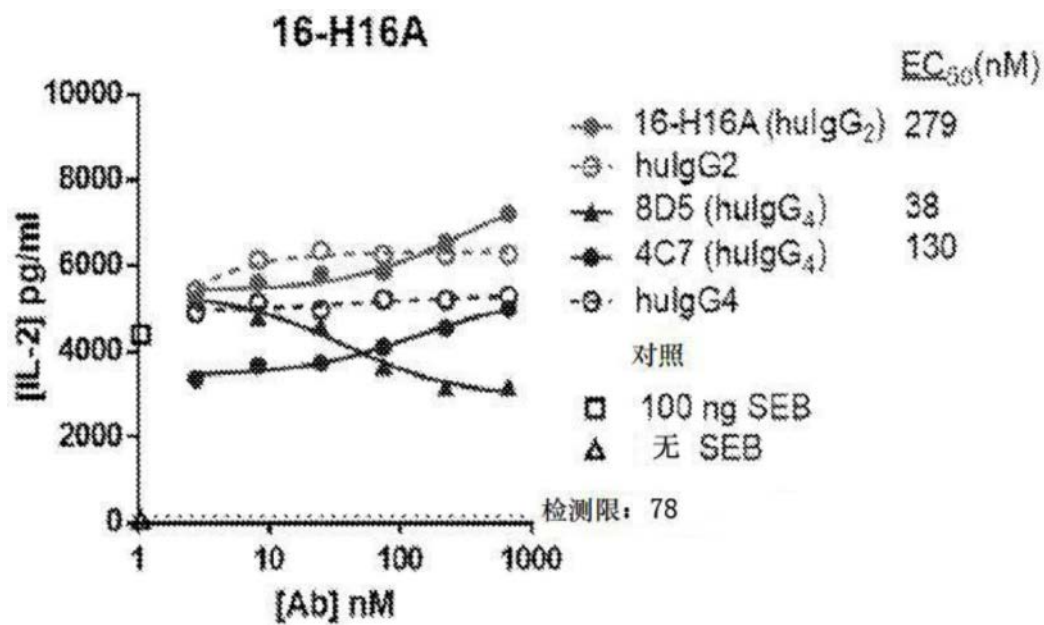


图5C

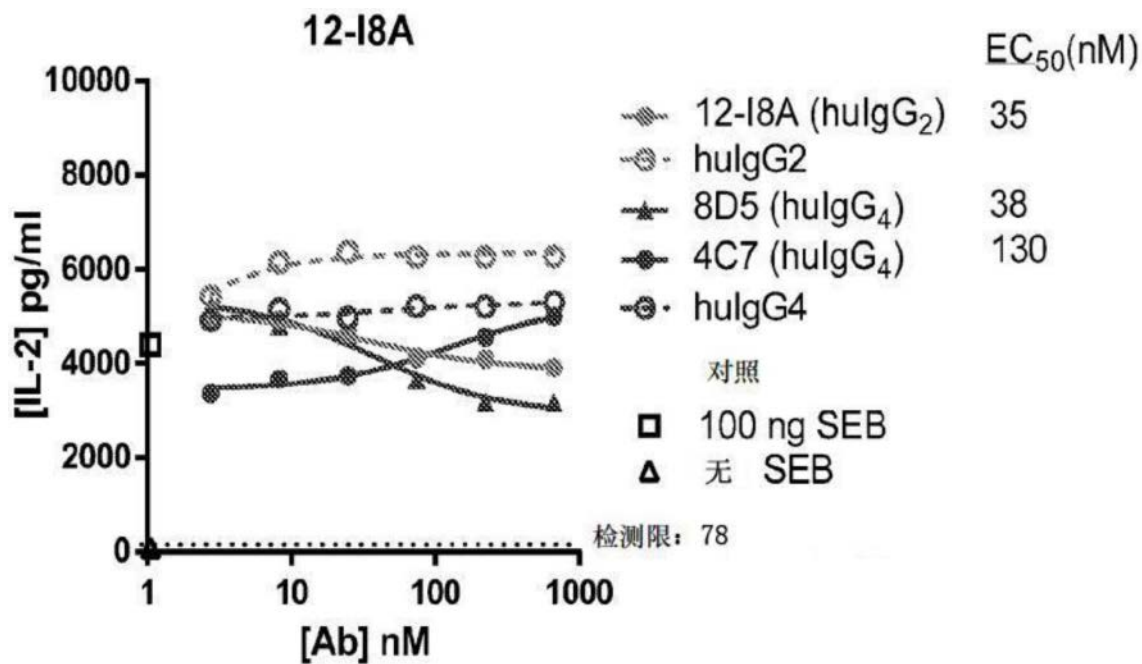


图5D

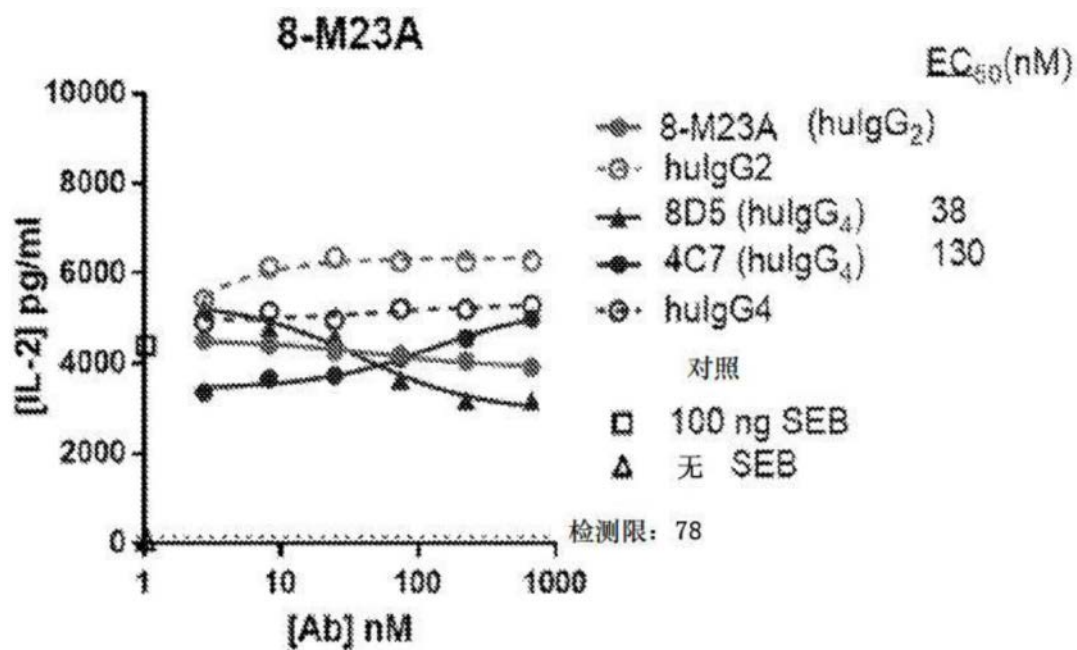


图5E

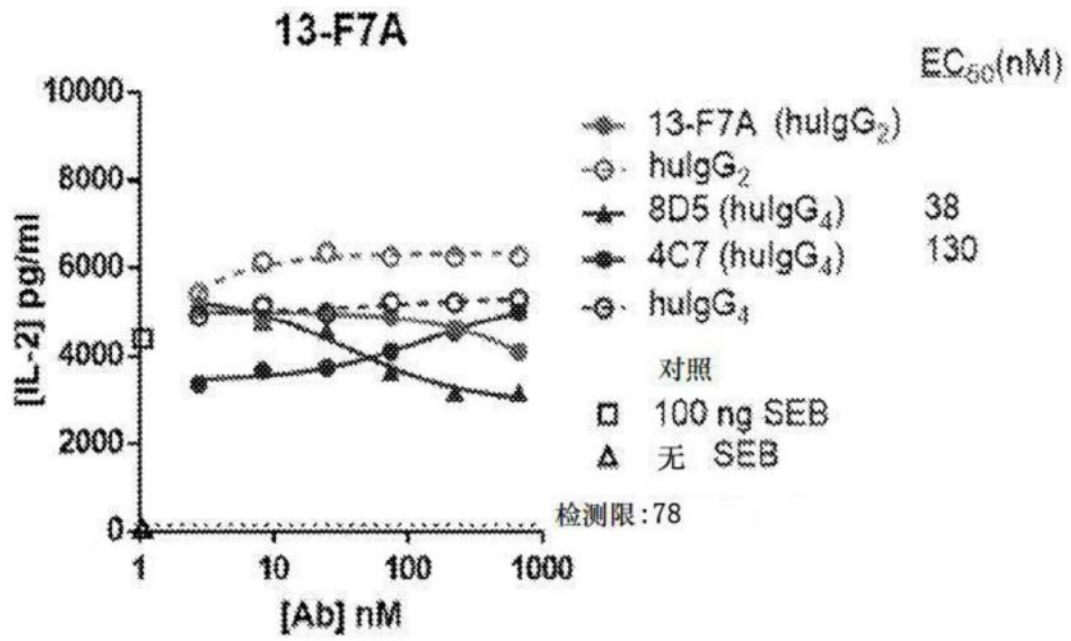


图5F