



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107106590 B

(45) 授权公告日 2022.10.18

(21) 申请号 201580057882.8

(73) 专利权人 阿斯利康(瑞典)有限公司

(22) 申请日 2015.10.20

地址 瑞典南泰利耶

(65) 同一申请的已公布的文献号

(72) 发明人 R.维斯纳 P.E.麦库恩 P.D.莱恩

申请公布号 CN 107106590 A

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

(43) 申请公布日 2017.08.29

专利代理人 李唐

(30) 优先权数据

(51) Int.CI.

62/068141 2014.10.24 US

A61K 31/7088 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 39/395 (2006.01)

2017.04.24

A61P 35/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

审查员 张起

PCT/EP2015/074271 2015.10.20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02016/062722 EN 2016.04.28

权利要求书2页 说明书37页

序列表27页 附图7页

(54) 发明名称

组合

(57) 摘要

本发明特征在于治疗癌症的方法,该方法在对其有需要的受试者中使用一种免疫调节剂诸如一种抗PD-L1抗体或其抗原结合片段以及靶向STAT3的一种反文化合物来治疗癌症。

1. (i) 免疫调节剂和 (ii) 靶向STAT3的反义化合物作为活性成分在制备用于治疗癌症的药物中的用途,所述药物用于对其有需要的患者的治疗方法中;

其中所述靶向STAT3的反义化合物是一种单链反义寡核苷酸;

其中所述免疫调节剂是MEDI4736,其中靶向STAT3的该反义化合物是AZD9150,并且其中所述癌症选自肺癌和弥漫性大B细胞淋巴瘤。

2.根据权利要求1所述的用途,其中该患者患有癌症。

3.根据权利要求2所述的用途,其中该癌症是非小细胞肺癌(NSCLC)。

4.根据权利要求3所述的用途,其中该癌细胞表达PD-L1。

5.根据权利要求1所述的用途,其中对其有需要的该患者被鉴定为患有PD-L1阳性的癌症。

6.根据权利要求1所述的用途,其中向对其有需要的患者给予1 mg/kg与20 mg/kg之间的MEDI4736,以及1 mg/kg与10 mg/kg之间的AZD9150。

7.根据权利要求6所述的用途,其中每周、每2周、每3周或每4周给予该治疗。

8.根据权利要求1所述的用途,其中向该患者给予靶向STAT3的该反义化合物,然后给予该免疫调节剂。

9.根据权利要求8所述的用途,其中在将该免疫调节剂给予该患者之前至少一天,将靶向STAT3的该反义化合物给予该患者。

10.根据权利要求6所述的用途,其中每剂量给予10 mg/kg MEDI4736,以及3 mg/kg AZD9150。

11.根据权利要求6所述的用途,其中每剂量给予20 mg/kg MEDI4736或其抗原结合片段,以及3 mg/kg AZD9150。

12.根据权利要求6所述的用途,其中该方法导致与仅给予该MEDI4736或该AZD9150相比,无进展存活期和/或总存活期增加。

13.根据权利要求1所述的用途,其中同时或在不同时间给予AZD9150和MEDI4736。

14.一种用于治疗癌症的试剂盒,该试剂盒包含免疫调节剂和靶向STAT3的反义化合物作为活性成分,其中所述靶向STAT3的反义化合物是一种单链反义寡核苷酸;

其中所述免疫调节剂是MEDI4736,其中靶向STAT3的该反义化合物是AZD9150,并且其中所述癌症选自肺癌和弥漫性大B细胞淋巴瘤。

15.一种药物组合物,该药物组合物包含活性成分和药学上可接受的稀释剂或载体,其中所述活性成分为免疫调节剂和靶向STAT3的反义化合物,其中所述靶向STAT3的反义化合物是一种单链反义寡核苷酸;

其中所述免疫调节剂是MEDI4736,其中靶向STAT3的该反义化合物是AZD9150,并且其中所述癌症选自肺癌和弥漫性大B细胞淋巴瘤。

16.根据权利要求15所述的药物组合物,其中配制该药物组合物以提供1 mg/kg至20 mg/kg剂量的MEDI4736,以及1 mg/kg至10 mg/kg剂量的AZD9150。

17.根据权利要求15所述的药物组合物,其中配制该药物组合物以提供10 mg/kg剂量的MEDI4736,以及3 mg/kg剂量的AZD9150。

18.MEDI4736和AZD9150在制备药物中的用途,所述药物用于调节温血动物的免疫浸润细胞的方法,该方法包括在向所述动物给予有效量的AZD9150之前、之后或同时,给予有效

量的MEDI4736。

19. 权利要求18的用途,其中所述温血动物是人。

组合

[0001] 序列表

[0002] 本申请连同电子格式的序列表一起提交。该序列表被提供为创建于2015年10月19日的、标题为200252_ST25PCT.txt的文件,其大小是65kb。电子格式的序列表的信息通过引用以其全部内容结合在此。

[0003] 领域

[0004] 在某些实施例中,在此提供用于通过给予能够抑制STAT3 mRNA或蛋白质的表达的药剂和免疫调节剂来治疗动物的癌症(例如,B细胞淋巴瘤)的方法、化合物以及组合物。在具体实施例中,能够抑制STAT3 mRNA或蛋白质的表达的药剂对抑制STAT3 mRNA或蛋白质的表达是有选择性的。在具体实施例中,该组合疗法涉及向对其有需要的患者给予靶向STAT3的反义化合物以及能够抑制PD-L1配体结合到其受体的药剂(诸如抗体)。这些方法、化合物以及组合物对于治疗、防止或改善B细胞淋巴瘤以及易受与免疫检查点抑制剂的应答影响的其他癌症是有用的。

[0005] 发明背景

[0006] 免疫系统,特别是T细胞介导的细胞毒性,在肿瘤控制中的作用是公认的。有越来越多的证据表明T细胞在癌症患者中控制肿瘤生长和存活,无论是在该疾病的早期和晚期阶段。然而,肿瘤特异性T细胞应答很难在癌症患者中装配和维持。

[0007] 目前受到大量关注的T细胞通路通过细胞毒性T淋巴细胞抗原-4(CTLA-4,CD152)、程序性死亡配体1(PD-L1,又称B7-H1或CD274)以及OX40(CD134;TNFRSF4)进行信号传导。

[0008] CTLA-4在活化的T细胞上表达,并且充当共抑制剂以在T细胞活化之后保持检查CD28介导的T细胞应答。CTLA-4被认为在TCR结合之后,调节初始T细胞和记忆T细胞的早期活化的幅度,并且是影响抗肿瘤免疫性和自身免疫性的中枢抑制性通路的一部分。CTLA-4专门地在T细胞上表达,并且其配体CD80(B7.1)和CD86(B7.2)的表达主要限于抗原呈递细胞、T细胞以及其他免疫介导的细胞。CTLA-4属于已知为免疫检查点蛋白的一类分子。已经报道了阻断CTLA-4信号传导通路的拮抗性抗CTLA-4抗体增强T细胞活化。一种此类抗体,伊匹木单抗在2011年被FDA批准用于治疗转移性黑素瘤。另一个抗CTLA4抗体曲美木单抗,在III期临床试验中测试了对于晚期黑素瘤的治疗,但相比当时的标准治疗(替莫唑胺或达卡巴嗪)没有显著增加患者的整体存活率。

[0009] PD-L1和PD1属于已知为免疫检查点蛋白的一类分子。这些蛋白质是在健康个体中,阻抑免疫应答以防止免疫系统的过度反应的细胞表面结合配体-受体对。癌细胞通常通过表达配体PD-L1(其结合到效应子CD8T细胞上的PD1)抢夺正常的PD-L1-PD1免疫检查点机制,从而防止T细胞建立对肿瘤的免疫应答。PD-L1在宽范围的癌症中高频率地表达。肿瘤PD-L1过表达与许多癌症的预后不良相关(参见例如哈米德(Hamid)和卡瓦哈尔(Carvajal)生物治疗专家意见(Expert Opin.Biol.Ther.)13(6):847-861,2013)。

[0010] 阻断PD-L1与它的受体之间的相互作用的抗体能够在体外解除PD-L1依赖性免疫抑制效应并且增强抗肿瘤T细胞的细胞毒性活性。MEDI4736(又称德瓦露单抗(durvalumab))是针对人PD-L1的能够阻断PD-L1与PD-1和CD80受体两者的结合的人单克隆

抗体。

[0011] 抗PD-L1和抗PD1治疗性阻断抗体正在试验中,并且已经在许多肿瘤类型(包括肺癌、黑素瘤、肾细胞癌、膀胱癌、胃癌、头颈癌等)中显示出临床益处;但是仅少数患者对这些疗法有应答(例如参见布拉默(Brahmer)等人,新英格兰医学杂志(New Engl. J. Med.)366(26):2455-2465,2012;哈维(Harvey)临床药理学和治疗剂(Clinical Pharmacology & Therapeutics)96(2):214-223,2014)。这种应答的缺少已经被归因于使PD1/PD-L1效应无效的其他免疫抑制模式,并且正在考虑涉及免疫抑制的组合方法(多兰(Dolan)等人,癌症控制(Cancer Control)21(3)231-237)。

[0012] OX40是主要见于活化CD4+和CD8+T细胞、调节T细胞(Treg)以及自然杀伤(NK)细胞上的一种肿瘤坏死因子受体(TNFR)。在活化的CD4+和CD8+T细胞上通过OX40发信号导致细胞因子产生的增强、颗粒酶和穿孔素释放、以及效应和记忆T细胞池的扩增。此外,在Treg细胞上的OX40信号传导抑制Treg的扩增,关闭对Treg的诱导并且阻断Treg抑制功能。

[0013] 尽管免疫调节剂或免疫检查点抑制剂具有用于治疗癌症的潜力,但是本领域中仍然存在改善对用于治疗癌症的这些药剂的应答的需要。

[0014] 发明概述

[0015] 如以下所述,本发明的特征在于在对其有需要的受试者中使用一种免疫调节剂(诸如免疫检查点抑制剂)以及靶向STAT3的一种反义混合物来治疗癌症(例如淋巴瘤)的方法。特定的免疫调节剂包括一种抗PD-L1抗体(或其抗原结合片段)、一种抗PD1抗体(或其抗原结合片段)、一种抗CTLA-4抗体(或其抗原结合片段)以及一种OX40激动剂(例如,OX40配体融合蛋白或OX40激动剂抗体或其抗原结合片段)。该受试者可以是任何哺乳动物。在一个实施例中,该受试者是人类。还提供组合产品和试剂盒,各自包含一种免疫调节剂和靶向STAT3的一种反义化合物,以用于治疗一种或多种类型的癌症。在具体实施例中,靶向STAT3的该反义化合物是单链反义寡核苷酸(ASO)。

[0016] 选择性结合CTLA-4、PD-L1或PD-1或者抑制CTLA-4、PD-L1或PD-1的结合或活化的抗体在本发明的这些方法中是有用的。选择性结合并活化OX40的抗体在本发明的这些方法中是有用的。

[0017] 抗PD-L1抗体在本领域中是已知的。示例性抗PD-L1抗体包括:MEDI4736(德瓦露单抗)、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714以及MDX-1105。

[0018] 抗PD-1抗体在本领域中是已知的。示例性抗PD-1抗体包括:纳武单抗、派姆单抗、皮迪力单抗(pidilizumab)以及MPDL3280A。

[0019] 抗CTLA-4抗体在本领域中是已知的。示例性抗CTLA-4抗体包括:曲美木单抗和伊匹木单抗,也称作MDX-010(或BMS-734016)。

[0020] OX-40激动剂在本领域中是已知的。示例性OX-40激动剂包括:OX40L FP。AZD9150是反义寡核苷酸,并且是靶向STAT3的反义化合物的

[0021] 一个实例。

[0022] 在一个实施例中,该组合涉及该反义寡核苷酸AZD9150和选自下组的至少一种免疫调节剂,该组由以下各项组成:MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714、MDX-1105、纳武单抗、派姆单抗、皮迪力单抗、MPDL3280A、曲美木单抗、伊匹木单抗以及OX40L FP。

[0023] 在一个实施例中,该组合涉及该抗PD-L1抗体MEDI4736和该反义寡核苷酸AZD9150。

[0024] 在一个实施例中,该组合涉及反义寡核苷酸AZD9150、抗PD-L1抗体MEDI4736(德瓦露单抗)以及抗CTLA-4抗体曲美木单抗。

[0025] PD-L1已涉及帮助各种癌症躲避身体的免疫监视。由此,预测本发明在治疗任何癌症中是有益处的。

[0026] 针对其提出该组合治疗的癌症类型的实例包括:肺癌,包括非小细胞肺癌(NSCLC);乳腺癌,包括三阴性乳腺癌;卵巢癌,包括浆液性卵巢癌;胰腺癌;结肠直肠癌;肝细胞癌(HCC);头颈癌,包括头颈部鳞状细胞癌(HNSCC);以及淋巴瘤,包括弥漫性大B细胞瘤(DLBCL)。

[0027] 定义

[0028] 除非另外定义,在此所使用的所有技术和科学术语具有本发明所属领域的技术人员通常理解的含义。以下参考文献为本领域技术人员提供本发明中所使用的许多术语的一般定义:辛格尔顿(Singleton)等人,微生物学和分子生物学词典(Dictionary of Microbiology and Molecular Biology)(第2版,1994);剑桥科技词典(The Cambridge Dictionary of Science and Technology)(沃克(Walker)编著,1988);遗传学词汇(The Glossary of Genetics),第5版,R.雷格(R.Rieger)等人(编著),施普林格·维拉格(Springer Verlag)(1991);以及黑尔(Hale)和马汉姆(Marham),哈珀科林斯生物学词典(The Harper Collins Dictionary of Biology)(1991)。标准技术可以用于化学合成和化学分析。在允许的情况下,所有专利、申请、所公开的申请和其他出版物、GENBANK登录号和通过数据库(诸如美国国家生物技术信息中心(NCBI))可获得的相关联的序列信息以及在此在整个本披露中所提及的其他数据通过引用以文件在此所讨论的部分及其全部内容结合在此。

[0029] 除非另外指明,以下术语具有以下含义:

[0030] “2’-脱氧核苷”意指包含2’-H呋喃糖部分的核苷,如在天然存在的脱氧核糖核苷(DNA)中所发现的。在某些实施例中,2’-脱氧核苷可以包括修饰的核碱基或者可以包括RNA核碱基(例如,尿嘧啶)。

[0031] “2’-取代核苷”意指在2’-位置包含取代基而不是H或OH的核苷。除非另外指明,2’-取代核苷不是双环核苷。

[0032] “5’-甲基胞嘧啶”意指使用附接至5’位置的甲基基团修饰的胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶是修饰的核碱基。

[0033] 如在此所用,术语“约”在本领域中理解成在正常公差范围内,并且通常意指在±10%内,诸如所陈述的值的9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%或0.01%内。例如,如果指出“这些化合物影响STAT3的至少约70%抑制”,那么暗示STAT3水平被抑制在63%和77%的范围内。如果陈述了以约20mg/kg使用该化合物,那么其覆盖18-22mg/kg(包括端值)的范围。除非从上下文显而易见,在此提供的所有数值被该术语约修饰。

[0034] “同时给予”是指以任何方式共给予两种药剂,以此方式两种药剂的药理效应在患者体内同时显现。同时给予不要求以单个药物组合物、以相同剂型、或通过相同给予途径给

予两种药剂。两种药剂的效应本身不需要同时显现出来。这些效应仅需重叠一段时间并且不需同延。

[0035] “药剂”是指一种物质,诸如能够产生效应的化合物、反义寡核苷酸或抗体(等等)。

[0036] “动物”是指人或非人动物,包括但不限于小鼠、大鼠、兔、狗、猫、猪以及非人灵长类动物(包括但不限于猴和黑猩猩)。

[0037] 如在本披露中所用,术语“抗体”是指免疫球蛋白或其片段或衍生物,并且涵盖包含抗原结合位点的任何多肽,无论它在体外或在体内产生。该术语包括但不限于多克隆、单克隆、单特异性、多特异性、非特异性、人源化、单链、嵌合、合成、重组、杂交、突变以及接合的抗体。除非用术语“完整”另外修饰,如在“完整抗体”中,出于本披露的目的,术语“抗体”还包括抗体片段诸如Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、Fd、dAb以及保留抗原结合功能(即,特异性结合例如CTLA-4、PD-L1的能力)的其他抗体片段。典型地,这些片段将包含抗原结合结构域。

[0038] “抗CTLA-4抗体”意指选择性结合CTLA-4多肽的抗体。示例性抗CTLA-4抗体例如在以下专利中有所描述:美国专利号6,682,736;7,109,003;7,123,281;7,411,057;7,824,679;8,143,379;7,807,797;以及8,491,895(在此,曲美木单抗是11.2.1),这些专利通过引用结合在此。曲美木单抗(美国专利号6,682,736)是示例性抗CTLA-4抗体。

[0039] 曲美木单抗序列:

[0040] VL-SEQ ID NO:13。

[0041] VH-SEQ ID NO:14。

[0042] VH CDR1-SEQ ID NO:15; VH CDR2-SEQ ID NO:16; VH CDR3-SEQ ID NO:17。

[0043] VL CDR1-SEQ ID NO:18; VL CDR2-SEQ ID NO:19; VL CDR3-SEQ ID NO:20。

[0044] “抗PD-L1抗体”意指选择性结合PD-L1多肽的抗体。示例性抗PD-L1抗体例如在W0 2011/066389、US20130034559/US8779108以及US20140356353处有所描述,这些专利通过引用结合在此。MEDI4736是示例性抗PD-L1抗体。在以下的序列表中提供这些序列(例如,SEQ ID NO.3-10)。其他抗PD-L1抗体包括BMS-936559(百时美施贵宝(Bristol-Myers Squibb))和MPDL3280A(罗氏(Roche))。

[0045] 术语“抗原结合结构域”、“抗原结合片段”和“结合片段”是指包含负责抗体与抗原之间特异性结合的氨基酸的抗体分子的一部分。在抗原很大的情况下,抗原结合结构域可以仅结合到该抗原的一部分。负责与抗原结合结构域特异性相互作用的抗原分子的一部分被称为“表位”或“抗原决定簇”。抗原结合结构域典型地包含抗体轻链可变区(V_L)和抗体重链可变区(V_H),然而,它不一定必须包含两者。例如,所谓的Fd抗体片段仅由V_H结构域组成,但是仍然保留完整抗体的一些抗原结合功能。

[0046] 抗体的结合片段通过重组DNA技术或通过完整抗体的酶促或化学裂解来产生。结合片段包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv以及单链抗体。除了“双特异性”或“双功能”抗体以外,抗体应理解为其每个结合位点是相同的。使用酶(木瓜蛋白酶)来消化抗体导致两个相同的抗原结合片段,也被称为“Fab”片段和“Fc”片段,它们不具有抗原结合活性,但是具有结晶的能力。用酶(胃蛋白酶)来消化抗体的结果是F(ab')₂片段,其中该抗体分子的两个臂保持连接并且包含两个抗原结合位点。该F(ab')₂片段具有交联抗原的能力。当在此使用时,“Fv”是指保留了抗原识别和抗原结合位点两者的抗体的最小片段。当在此使用时,“Fab”是指包含轻链的恒定结构域和重链的CH1结构域的抗体的片段。

[0047] 术语“mAb”是指单克隆抗体。本发明的抗体包括但不限于全天然抗体、双特异性抗体；嵌合抗体；Fab、Fab'、单链V区片段(scFv)、融合多肽以及非常规抗体。

[0048] “反义化合物”意指能够通过氢键合进行杂交到靶核酸的低聚化合物。反义化合物的实例包括单链化合物和双链化合物，诸如反义寡核苷酸、siRNA、shRNA、snoRNA、miRNA、双链(meroduplex) (mdRNA) 以及卫星重复序列。

[0049] “靶向STAT3的反义化合物”意指能够通过氢键合进行杂交到STAT3靶核酸的低聚化合物。

[0050] “反义寡核苷酸”意指具有允许杂交到靶核酸的对应区域或片段的核碱基序列的单链寡核苷酸。

[0051] “抗肿瘤活性”意指减少或稳定肿瘤细胞的增殖或存活的任何生物活性。在一个实施例中，该抗肿瘤活性是抗肿瘤免疫应答。

[0052] “二环糖”意指通过两个原子的桥接修饰的呋喃环。二环糖是修饰的糖。

[0053] “癌症”意指特征在于过度增殖或细胞凋亡减少的疾病或病症。本发明可用于的例示性癌症包括但不限于白血病(例如急性白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、急性成髓细胞性白血病、急性早幼粒细胞性白血病、急性粒单核细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、急性红白血病、慢性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病)、真性红细胞增多症、淋巴瘤(霍奇金氏病、非霍奇金氏病、DLBCL)、沃尔丹斯特伦氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、重链病以及实体瘤诸如肉瘤和癌(例如，纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、骨原性肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤(lymphangioendotheliosarcoma)、滑膜瘤、间皮瘤、尤文氏瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、威尔姆氏肿瘤(Wilms' tumor)、子宫颈癌、子宫癌、睾丸癌、肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、多形性胶质细胞瘤、星形细胞瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、听神经瘤、少突胶质细胞瘤、神经鞘瘤、脑膜瘤、黑素瘤、成神经细胞瘤以及成视网膜细胞瘤)。

[0054] “嵌合反义化合物”意指具有至少两个化学上不同的区域的反义化合物。

[0055] “共给予”意指向个体给予两种或更多种药学试剂。这些两种或更多种药学试剂可以在单个药物组合物中，或者可以在单独的药物组合物中。这些两种或更多种药学试剂中的每一种可以通过相同或不同的给予途径来给予。共给予涵盖平行或顺序给予。在一个实施例中，实施该共给予以便基于药品的药代动力学使得患者同时暴露于两种药品。

[0056] “受约束的乙基核苷”(也是cEt核苷)意指包含二环糖部分的核苷，该二环糖部分包含4'-CH(CH₃)₂-O-2'桥。

[0057] “连续核碱基”意指彼此直接相邻的核碱基。

[0058] “疾病”意指损害或干扰细胞、组织或器官的正常功能或使其失调的任何病状或病症。在疾病中，诸如癌症(例如，肺癌)中，细胞组织或器官的正常功能被破坏，从而实现免疫逃避和/或逃离。

[0059] “CTLA-4多肽”意指与GenBank登录号AAL07473.1或其片段具有至少85%氨基酸序

列一致性的多肽,具有T细胞抑制性活性。AAL07473.1的序列在此在SEQ ID NO:21中披露。

[0060] “CTLA-4核酸分子”意指编码CTLA-4多肽的多核苷酸。示例性CTLA-4多核苷酸以GenBank登录号AAL07473提供。

[0061] “稀释剂”意指组合物中缺少药理活性,但是在药学上是必需的或所希望的成分。例如,注射组合物中的稀释剂可以是液体,例如盐水溶液。

[0062] “剂量”意指在单次给予中、或在指定的时间段内提供的药学试剂的指定量。在某些实施例中,剂量可以按一个、两个或更多个大丸剂、片剂或注射剂给予。例如,在希望皮下给予的某些实施例中,所希望的剂量要求不是通过单次注射容易地提供的体积,因此,两次或更多次注射可以用于实现所希望的剂量。在某些实施例中,经延长的时间段或连续地通过输注给予该药学试剂。可以将剂量指明为每小时、每天、每周或每月的药剂的量。

[0063] “有效量”意指足以在对药剂有需要的个体体内实现所希望的生理学结果的活性药学试剂的量。有效量在个体之间可以取决于有待治疗的个体的健康和身体状况、有待治疗的个体的分类群、组合物的配方、个体的医学症状的评估、以及其他相关因素而变化。

[0064] “缺口体(gapmer)”意指嵌合的反义化合物,在该反义化合物中具有多个支持RNase H切割的核苷的内部区域被定位在具有一个或多个核苷的外部区域之间,其中这些包含内部区域的核苷在化学上不同于包含外部区域的该核苷或这些核苷。内部区域可以被称为“缺口(gap)”并且外部区域可以被称为“翼(wing)”。

[0065] “杂交”意指互补核酸分子的退火。在某些实施例中,互补核酸分子包括反义化合物和靶核酸。

[0066] “免疫检查点抑制剂”意指抑制CTLA-4或PD-1通路的药剂,特定的检查点抑制剂包括抑制PD-1、PD-L1或CTLA-4的抗体。

[0067] “免疫调节剂”意指增强免疫应答(例如,抗肿瘤免疫应答)的药剂。本发明的示例性免疫调节剂包括抗体,诸如一种抗CTLA-4抗体、一种抗PD-L1抗体、一种抗PD-1抗体以及这些抗体中的任一种的抗原片段以及OX-40激动剂,包括蛋白质类,诸如OX-40配体融合蛋白或其片段。在一个实施例中,该免疫调节剂是免疫检查点抑制剂。

[0068] “抑制STAT3”意指与STAT3反义化合物(诸如反义寡核苷酸)不存在的情况下STAT3 mRNA的表达和/或蛋白水平相比,STAT3反义化合物(包括STAT3反义寡核苷酸)存在的情况下STAT3 mRNA的表达和/或蛋白水平降低。

[0069] “个体”意指选择用于治疗或疗法的人或非人动物。

[0070] “核苷间键联”是指核苷之间的化学键。

[0071] “连接的核苷”意指键合在一起的相邻的核苷。

[0072] “修饰的核苷间键联”是指来自天然存在的核苷间键(即,磷酸二酯核苷间键)的取代或任何改变。

[0073] “修饰的核碱基”是指除腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸苷或尿嘧啶以外的任何核碱基。“未修饰的核碱基”意指嘌呤碱基类腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G)以及嘧啶碱基类胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。

[0074] “修饰的核苷”意指独立地具有修饰的糖部分、修饰的核苷间键联或修饰的核碱基的核苷。“修饰的核苷”意指独立地具有修饰的糖部分或修饰的核碱基的核苷。

[0075] “修饰的寡核苷酸”意指包含修饰的核苷间键联、修饰的糖和/或修饰的核碱基的

寡核苷酸。

[0076] “修饰的糖”是指来自天然糖的取代或改变。

[0077] “天然存在的核苷间键联”意指3'至5' 磷酸二酯键联。

[0078] “核酸”是指由单体核苷酸组成的分子。核酸包括核糖核酸(RNA)、脱氧核糖核酸(DNA)、单链核酸、双链核酸、小干扰核糖核酸(siRNA)以及微RNA(miRNA)。

[0079] “核碱基”意指能够与另一个核酸的碱基配对的杂环部分。

[0080] “核碱基序列”意指独立于任何糖、键联或核碱基修饰的连续核碱基的顺序。

[0081] “核苷”意指连接到糖的核碱基。

[0082] “核苷酸”意指具有共价地连接到核苷的糖部分的磷酸基团的核苷。

[0083] “低聚化合物”或“低聚物”意指连接的单体亚单元的聚合物,该聚合物能够杂交到核酸分子的至少一个区域。

[0084] “寡核苷酸”意指连接的核苷的聚合物,这些核苷中的每一个核苷均可以彼此独立地被修饰或不被修饰。

[0085] “总存活期”意指从治疗疾病(诸如癌症)开始诊断患有该疾病的患者仍然生存的时间的长度。总存活期数字典型地确定为来自适当大小的临床试验的平均值。

[0086] “OX40多肽”意指与NCBI登录号NP_003318具有至少约85%氨基酸一致性的多肽或其片段。OX40是受体TNFR超家族中的在抗原活化的哺乳动物CD4+和CD8+T淋巴细胞的表面上表达的成员。参见,例如,帕特森(Paterson)等人,分子免疫学(Mol Immunol)24,1281-1290(1987);马利特(Mallett)等人,欧洲分子生物学学会杂志(EMBO J.)9,1063-1068(1990);以及考尔德黑德(Calderhead)等人,免疫学杂志(J Immunol)151,5261-5271(1993)。OX40还被称为CD134、ACT-4以及ACT35。OX40受体序列是本领域中已知的并且例如以Genbank登录号:AAB33944或CAE11757提供。示例性人OX40氨基酸序列在此以SEQ ID NO:22披露。

[0087] “OX40配体”意指与NCBI登录号NP_003317具有至少约85%氨基酸一致性并且特异性结合OX40受体的多肽或其片段。参见,例如,鲍姆P.R.(Baum P.R.)等人欧洲分子生物学学会杂志(EMBO J.)13:3992-4001(1994)。术语OX40L包括整个OX40配体、可溶性OX40配体、以及包含OX40配体的共价地连接到第二部分例如蛋白结构域的功能活性部分的融合蛋白。还包括在OX40L的定义内的是与天然存在的OX40L在氨基酸序列上不同但是保留特异性结合到OX40受体的能力的变体。还包括在OX40L的定义内的是增强OX40的生物活性的变体。OX40配体序列在本领域中是已知的并且例如以Genbank登录号:NP_003318提供。

[0088] 示例性人OX40配体氨基酸序列在此在SEQ ID NO:23中披露。

[0089] “OX40激动剂”意指与OX40受体特异性地相互作用并且增加OX40受体的生物活性的OX40配体。令人希望的是,该生物活性增加至少约10%、20%、30%、50%、70%、80%、90%、95%或甚至100%。在某些方面中,如在此所披露的OX40激动剂包括OX40结合多肽,诸如抗OX40抗体(例如,OX40激动剂抗体)、OX40配体、或这些分子的片段或衍生物。

[0090] “OX40抗体”意指特异性结合OX40的抗体。OX40抗体包括对OX40具有特异性的单克隆抗体和多克隆抗体以及其抗原结合片段。在某些方面中,如在此所述的抗OX40抗体是单克隆抗体(或其抗原结合片段),例如鼠类、人源化或全人单克隆抗体。在一个具体实施例中,该OX40抗体是OX40受体激动剂,诸如由温伯格(Weinberg)等人,免疫学治疗杂志(J

Immunother) 29, 575-585 (2006) 所描述的小鼠抗人OX40单克隆抗体 (9B12)。在其他实施例中,特异性地结合OX40的抗体或其抗原结合片段与mAb 9B12结合相同OX40表位。

[0091] “OX40配体融合蛋白”意指特异性结合OX40受体并且增加免疫应答的蛋白。在一个实施例中,OX40配体融合蛋白结合到OX40受体通过加强T细胞识别来增强肿瘤抗原特异性免疫应答。示例性OX40配体融合蛋白在标题为“三聚体OX40免疫球蛋白融合蛋白和使用方法” (“Trimeric OX40 Immunoglobulin Fusion Protein and Methods of Use”) 的美国专利7,959,925中有所描述。参见,例如,美国专利7,959,925,SEQ ID NO.8。此序列在此再现为SEQ ID NO:24。其他OX40配体融合蛋白例如在美国专利6,312,700中有所描述。在一个实施例中,OX40配体融合蛋白增强肿瘤特异性T细胞免疫性。在具体实施例中,该OX40配体融合蛋白具有在SEQ ID NO:32、34或36中所披露的氨基酸序列(这些变体在此被称作OX40L FP)。

[0092] “胃肠外给予”意指通过注射(例如,大丸剂注射)或输注给予。胃肠外给予包括皮下给予、静脉内给予、肌内给予、动脉内给予、腹膜内给予或颅内给予(例如鞘内或脑室内给予)。

[0093] “PD-L1多肽”意指与NCBI登录号NP_001254635具有至少约85%氨基酸一致性并且具有PD-1和CD80结合活性的多肽或其片段。

[0094] “PD-L1核酸分子”意指编码PD-L1多肽的多核苷酸。示例性PD-L1核酸分子序列以NCBI登录号NM_001267706提供。

[0095] “PD-L1阳性”在免疫组织化学的情况下意指癌症样品中的细胞对PD-L1表现出染色。在生物学上重要的阳性的水平可以基于肿瘤类型和肿瘤环境的免疫状态而变化。

[0096] “肽”意指通过由酰胺键连接至少两个氨基酸而形成的分子。肽是指多肽和蛋白质类。

[0097] “药物组合物”意指适于向个体给予的物质的混合物。例如,药物组合物可以包含一种或多种活性药学试剂和无菌水溶液。在某些实施例中,药物组合物在某些细胞系的自由摄取测定中显示出活性。

[0098] “硫代磷酸酯键联”意指核苷之间的键联,其中磷酸二酯键通过用硫原子替换非桥氧原子之一而被修饰。硫代磷酸酯键联(P=S)是修饰的核苷间键联。

[0099] “部分”意指核酸的限定数量的连续(即,连接的)核碱基。在某些实施例中,一个部分是靶核酸的限定数目的连续核碱基。在某些实施例中,一个部分是反义化合物的限定数目的连续核碱基。

[0100] “防止”是指在从数分钟到无限期的时间段内,延迟或预先阻止疾病、病症或病状的发病或发展。防止还意指降低发展疾病、病症或病状的风险。

[0101] “无进展存活期”意指在治疗疾病(诸如癌症)过程中和之后,患者带病生存但疾病并未恶化的时间的长度。无进展存活期数字典型地确定为来自适当大小的临床试验的平均值。

[0102] 在此所提供的范围被理解成对该范围内的所有值的简写。例如,一个1到50的范围应当理解为包括来自下组的任何数字、数字的组合或子范围,该组由以下各项组成:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50。

- [0103] “参比”意指用于比较的标准。
- [0104] “应答性”在治疗学的情况下意指易受治疗的影响。
- [0105] “信号转导子和转录激活因子3核酸”或“STAT3核酸”意指编码STAT3的任何核酸。例如,在某些实施例中,STAT3核酸包括编码STAT3的DNA序列、从编码STAT3的DNA(包括包含内含子和外显子的基因组DNA)转录的RNA序列、以及编码STAT3的mRNA序列。“STAT3 mRNA”意指编码STAT3蛋白的mRNA。
- [0106] “单链寡核苷酸”意指不杂交到互补链的寡核苷酸。
- [0107] “特异性结合”意指识别并结合一种分子(例如,多肽),但是基本上不识别和不结合样品例如生物样品中的其他分子的化合物(例如,抗体)。例如,特异性结合的两个分子形成在生理条件下相对稳定的复合物。特异性结合的特征在于高亲和力和区别于非特异性结合的低等至中等容量,非特异性结合通常具有中等至高等容量的低亲和力。典型地,当亲和力常数 K_A 高于 $10^6 M^{-1}$,或更优选地高于 $10^8 M^{-1}$ 时,结合被认为是特异的。如果需要的话,可以通过改变结合条件来减少非特异性结合,基本上不影响特异性结合。如抗体浓度、溶液的离子强度、温度、允许结合的时间、封闭剂(例如,血清白蛋白、乳酪蛋白)的浓度等适当的结合条件,可被熟练的技术人员使用常规技术来优化。
- [0108] “特异性可杂交的”是指在特异性结合是所希望的条件下,即,在体内测定和治疗性治疗情况的生理条件下,反义化合物具有在反义寡核苷酸与靶核酸之间的足够程度的互补性(核碱基之间的配对)来诱导所希望的效应,同时对非靶核酸表现出最小效应或不表现出效应。
- [0109] “受试者”意指哺乳动物,包括但不限于人或非人哺乳动物,诸如牛、马、犬、羊或猫。
- [0110] “靶向”或“所靶向的”意指针对。关于抗体,它是指结合到参比蛋白的能力。关于反义化合物,它是指特异性杂交到靶核酸并诱导所希望的效应的能力。
- [0111] “靶核酸”、“靶RNA”、“靶mRNA”以及“靶RNA转录物”均是指能够被反义化合物靶向的核酸。
- [0112] “靶片段”意指反义化合物所靶向的靶核酸的核苷酸序列。“5' 靶位点”是指靶区段的最5' -核苷酸。“3' 靶位点”是指靶区段的最3' -核苷酸。
- [0113] “治疗有效量”意指向个体提供治疗性益处的药学试剂的量。
- [0114] “治疗(treat)”、“治疗(treating)”、“治疗(treatment)”等等是指给予药物组合物,以减少或改善疾病、病症或病状和/或与其相关联的任何症状。将被理解的是,尽管不能排除,但是治疗病症或病状并不要求完全地消除该病症、病状或与其相关联的症状。
- [0115] “未修饰的核苷酸”意指由天然存在的核碱基、糖部分以及核苷间键联组成的核苷酸。在某些实施例中,未修饰的核苷酸是RNA核苷酸(即, β -D-核糖核苷)或DNA核苷酸(即, β -D-脱氧核糖核苷)。
- [0116] 除非明确声明或从上下文显而易见,如在此所使用的,术语“或”被理解为包括在内。除非明确声明或从上下文显而易见,如在此所使用的,术语“一种”、“一个”和“该(the)”被理解为单数的或复数的。
- [0117] 在本披露中,“包括(comprises、comprising)”、“包含(containing)”和“具有(having)”等可以具有美国专利法赋予它们的意义并且可以意味着“包括/includes、

including)" 等;"基本上由…组成 (consisting essentially of 或 consists essentially)"同样具有美国专利法赋予的意义并且该术语是开放性的,允许超出所叙述的存在,只要所叙述的基本或新特征不被超过叙述的存在改变,但是排除现有技术实施例。

[0118] 如在此使用的术语"确定"、"评定"、"测定"、"测量"和"检测"是指定量和定性确定,并且正因如此,术语"确定"在此可以与"测定"、"测量"等等互换使用。其中定量测定为目的时,使用短语"确定分析物和类似物的量"。其中定性和/或定量测定为目的时,使用短语"确定分析物的水平"或"检测"分析物。

[0119] 术语"分离的 (isolated)"、"纯化的 (purified)"或"生物上纯的 (biologically pure)"是指在不同程度上不含如同在其天然状态中所发现的通常伴随它的组分。"分离 (isolate)"表示与原始来源或周围物分开的程度。"纯化 (purify)"表示高于分离的分开程度。"纯化的"或"生物上纯的"蛋白质充分不含其他材料,这样使得任何杂质不实质上影响蛋白质的生物特性或导致其他不利后果。即,如果当本发明的核酸或肽通过重组DNA技术产生时,基本上不含有细胞材料、病毒材料或培养基,或者当本发明的核酸或肽化学合成时,基本上不含有化学前体或其他化学物,那么它是纯化的。纯度和均质性典型地使用分析化学技术来确定,例如,聚丙烯酰胺凝胶电泳或高效液相色谱法。术语"纯化的"可以表示核酸或蛋白质在电泳凝胶中基本上产生一条带。对于可经受修饰(例如,磷酸化或糖基化)的蛋白质,不同修饰可以产生不同的分离蛋白质,这些蛋白质可以单独纯化。

[0120] 发明详细说明

[0121] 如以下所述,本发明的特征在于在对其有需要的受试者中使用一种免疫调节剂诸如抗PD-L1抗体,像MEDI4736以及靶向STAT3的一种反义化合物诸如AZD9150来治疗癌症(例如,肺癌,诸如非小细胞肺癌 (NSCLC);乳腺癌,包括三阴性乳腺癌;卵巢癌,包括浆液性卵巢癌;胰腺癌;结肠直肠癌;淋巴瘤,诸如弥漫性大B细胞肺癌 (DLBCL) 或霍奇金淋巴瘤;或头颈癌,诸如头颈部鳞状细胞癌 (HNSCC)) 的方法。

[0122] 抗PD-L1抗体

[0123] 特异性结合并抑制PD-L1的抗体可用于本发明。

[0124] MEDI4736是对PD-L1多肽有选择性并且阻断PD-L1结合到PD-1和CD80受体的一种示例性抗PD-L1抗体。MEDI4736可以在体外解除PD-L1介导的对人T细胞活化的抑制,并且通过T细胞依赖性机制在异种移植物模型中抑制肿瘤生长。

[0125] 关于用于在此所提供的这些方法中的MEDI4736(或其片段)的信息可见于美国专利号8,779,108,其披露内容通过引用以其全部内容结合在此。MEDI4736的片段可结晶 (Fc) 结构域在IgG1重链的恒定结构域中含有三重突变,该三重突变使与负责介导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 的补体组分C1q和Fc γ 受体的结合减少。

[0126] 用于在此所提供的这些方法中的MEDI4736和其抗原结合片段包含重链和轻链或者重链可变区和轻链可变区。在一个特定方面中,用于在此所提供的这些方法中的MEDI4736或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,该轻链可变区包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列,该重链可变区包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一个特定方面中,用于在此所提供的这些方法中的MEDI4736或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特 (Kabat) 定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列。本领域的普

通技术人员将能够容易地鉴定对于本领域的普通技术人员而言已知的乔西亚(Chothia)定义的、Abm定义的或其他CDR定义。在一个特定方面中,用于在此所提供的这些方法中的MEDI4736或其抗原结合片段包含如在WO 2011/066389 A1中所披露的2.14H90PT抗体的可变重链和可变轻链CDR序列,该专利通过引用以其全部内容结合在此。

[0127] 在所公开的文献中存在可以在本发明中表征的许多抗PD-L1抗体,包括在开发中和/或在临床试验中的化合物,诸如:MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714以及MDX-1105。披露可用于本发明的抗PD-L1抗体的专利说明书包括:WO2007/005874 (BMS/美达克斯(Medarex))、W001/14556 (达纳法伯(Dana Farber))、US2011/0271358 (达纳法伯)、W02010/036959 (达纳法伯)、W02010/077634 (基因泰克(Genentech)),包括发表的美国专利号8,217,149、US2012/0039906 (法国国家健康与医学研究院(INSERM))、W02012/145493 (安普蒙(Amplimmune))、美国专利号8,779,108 (美的蒙(MedImmune) -针对MEDI4726和2.7A4)、US20140044738 (安普蒙-针对AMP-714) 以及W02009/089149 (约翰霍普金斯大学)。这些披露中的每一个通过引用以其全部内容结合在此。

[0128] 抗CTLA-4抗体

[0129] 特异性结合CTLA-4并抑制CTLA-4活性的抗体可用于增强抗肿瘤免疫应答。关于用于在此所提供的这些方法中的曲美木单抗(或其抗原结合片段)的信息可以见于美国6,682,736(其中它被称为11.2.1),该专利的披露内容通过引用以其全部内容结合在此。曲美木单抗(也称为CP-675、206、CP-675、CP-675206、以及益气力木单抗(ticilimumab))是一种人IgG₂单克隆抗体,该单克隆抗体对于CTLA-4有高度选择性并且阻断CTLA-4结合到CD80(B7.1)和CD86(B7.2)。它已被证明导致体外免疫活化,并且使用曲美木单抗治疗的一些患者已表现出肿瘤消退。

[0130] 用于在此所提供的这些方法中的曲美木单抗包含重链和轻链或者重链可变区和轻链可变区。在一个特定方面中,用于在此所提供的这些方法中的曲美木单抗或其抗原结合片段包含轻链可变区和重链可变区,该轻链可变区包含以上在此所示的氨基酸序列,该重链可变区包含以上在此所示的氨基酸序列。在一个特定方面中,用于在此所提供的这些方法中的曲美木单抗或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含以上在此所示的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含以上在此所示的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列。本领域的普通技术人员将容易地能够鉴定对于本领域的普通技术人员而言已知的乔西亚定义的、Abm定义的或其他CDR定义。在一个特定方面,用于在此所提供的方法中的曲美木单抗或其抗原结合片段包含如在美国6,682,736中所披露的11.2.1抗体的可变重链和可变轻链CDR序列,该专利通过引用以其全部内容结合在此。

[0131] 其他抗CTLA-4抗体例如在美国20070243184中有所描述。在一个实施例中,该抗CTLA-4抗体是伊匹木单抗,也称作MDX-010;BMS-734016。

[0132] OX40激动剂

[0133] 在通过抗原引发过程中或在该引发后不久,OX40激动剂与CD4⁺T细胞上的OX40受体相互作用,从而导致CD4⁺T细胞对该抗原的应答增加。与对单独抗原的应答相比,OX40激动剂与抗原特异性CD4⁺T细胞上的OX40受体相互作用可以增加T细胞增殖。与OX40激动剂不存在的情况相比,对抗原的升高的应答可以维持实质上更长的时间段。因此,经由OX40激动

剂的刺激通过加强抗原例如肿瘤细胞的T细胞识别来增强抗原特异性免疫应答。OX40激动剂例如在美国专利号6,312,700、7,504,101、7,622,444以及7,959,925中有所描述,这些专利通过引用以其全部内容结合在此。在癌症治疗中使用这些激动剂的方法例如在WO/2013/119202中和在WO/2013/130102中有所描述,这些专利中的每一个通过引用以其全部内容结合在此。

[0134] OX40激动剂包括但不限于OX40结合分子,例如结合多肽,例如OX40配体(“OX40L”)或OX40结合片段、变体或其衍生物(诸如可溶性细胞外配体结构域和OX40L融合蛋白)以及抗OX40抗体(例如,单克隆抗体诸如人源化单克隆抗体)或其抗原结合片段、变体或衍生物。抗OX40单克隆抗体的实例例如在美国专利号5,821,332和6,156,878中有所描述,这些专利的披露内容通过引用以其全部内容结合在此。在某些实施例中,该抗OX40单克隆抗体是9B12或其抗原结合片段、变体或衍生物,如温伯格,A.D.等人,免疫学治疗杂志29,575-585(2006)中所描述,该文献通过引用以其全部内容结合在此。

[0135] 在此所披露的不同方面的某些实施例中,该OX40激动剂是包含抗体VH和抗体VL的人源化抗OX40抗体或其抗原结合片段,其中该VL包含的氨基酸序列与以下参考氨基酸序列至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%相同:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISN YLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSKLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:25)或DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSKLHSGVPS RFSGSGSRTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:26)。

[0136] 在一个实施例中,该人源化抗OX40抗体或其抗原结合片段包含抗体VH和抗体VL,其中该VL包含氨基酸序列DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSKL HSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:25),并且该VH包含氨基酸序列QVQLQESGPGLVKPSQLSLTCAVYGGSFSSGYWNWIRKHPKGLEYIGYISYNGITYHNPS LKSRITINRDTSKNQYSLQLNSVPEDTAVYYCARYKYDYDGGHAMDYWGQGTLTVSS (SEQ ID NO:27)。

[0137] 在某些其他实施例中,该人源化抗OX40抗体或其抗原结合片段包含抗体重链或其片段以及和抗体轻链或其片段,其中该重链包含在此在SEQ ID NO:28中所披露的氨基酸序列,并且该轻链包含在此在SEQ ID NO:29中所披露的氨基酸序列。

[0138] 在其他实施例中,特异性结合到OX40的抗体或其抗原结合片段结合到与mAb 9B12相同的OX40表位。

[0139] 示例性人源化OX40抗体在莫里斯(Morris)等人,分子免疫学2007年5月;44(12):3112-3121有所描述,并且具有在此在SEQ ID NO:30中所披露的序列。

[0140] 9B12是鼠类IgG1,针对人OX40 (CD134) 的细胞外结构域的抗OX40mAb(温伯格,A.D.等人,免疫学治疗杂志29,575-585(2006))。由于9B12引发对于OX40信号传导的激动剂应答的能力、稳定性以及其通过杂交瘤的高水平产生,所以从一系列抗OX40单克隆抗体中选择9B12。对于在临床应用中的使用,将9B12mAb用磷酸盐缓冲盐水(pH 7.0)平衡,并且通过渗透将它的浓度调节至5.0mg/ml。

[0141] “OX40配体”(“OX40L”) (也不同地称作肿瘤坏死因子配体超家族成员4、gp34、TAX转录活化糖蛋白-1以及CD252)在很大程度上被发现于抗原呈递细胞(APC)上,并且可以在活化的B细胞、树突细胞(DC)、朗格汉斯细胞、浆细胞样DC以及巨噬细胞上被诱导(克罗夫特·M. (Croft, M.) , (2010) 免疫学年鉴(Ann Rev Immunol) 28:57-78)。其他细胞,包括活化

的T细胞、NK细胞、肥大细胞、内皮细胞以及平滑肌细胞可以响应于炎性细胞因子(Id.)中表达OX40L。OX40L特异性结合到OX40受体。人蛋白在美国专利6,156,878中有所描述。小鼠OX40L在美国专利5,457,035中有所描述。OX40L表达于细胞的表面上,并包括细胞内、跨膜和细胞外受体结合结构域。OX40L的功能活性可溶形式可以通过缺失细胞内和跨膜结构域来产生,如例如在以下专利中所描述的:美国专利号5,457,035;6,312,700;6,156,878;6,242,566;6,528,055;6,528,623;7,098,184;以及7,125,670,这些专利的披露内容出于所有目的结合在此。OX40L的功能活性形式是保留特异性结合到OX40的能力的形式,即具有OX40“受体结合结构域”的形式。一个实例是人OX40L的氨基酸51至183。确定OX40L分子或衍生物特异性结合到OX40的能力的方法在以下进行讨论。制备和使用OX40L以及其衍生物(诸如包含OX40L结合结构域的衍生物)的方法在以下专利中有所描述:美国专利号6,156,878;6,242,566;6,528,055;6,528,623;7,098,184;以及7,125,670,这些专利还描述包含连接到其他肽的OX40L可溶形式的蛋白质,诸如人免疫球蛋白(“Ig”)Fc区,这些蛋白质可以产生来促进OX40配体从培养细胞的纯化,或者增强在体内给予给哺乳动物之后分子的稳定性(还参见,美国专利号5,457,035和7,959,925,这两者均通过引用以其全部内容结合在此)。

[0142] 如在此所用,术语“OX40L”包括整个OX40配体、可溶性OX40配体和OX40配体的功能活性部分。在OX40L的定义内还包括的是OX40配体变体,它的氨基酸序列与天然存在的OX40配体分子不同,但是它保留特异性结合到OX40受体的能力。这些变体在以下专利中有所描述:美国专利号5,457,035;6,156,878;6,242,566;6,528,055;6,528,623;7,098,184;以及7,125,670。在相关的实施例中,使用已经丧失特异性结合到OX40的能力的OX40L的突变体,例如氨基酸51至183,其中人OX40L的受体结合结构域的位置180处的苯丙氨酸已被替换为丙氨酸(F180A)。

[0143] OX40激动剂包括融合蛋白,在该融合蛋白中,OX40L的一个或多个结构域共价地连接到一个或多个另外的蛋白结构域。可用作OX40激动剂的示例性OX40融合蛋白在美国专利号6,312,700中有所描述,该专利的披露内容通过引用以其全部内容结合在此。在一个实施例中,OX40激动剂包括自组装成多聚体(例如,三聚体或六聚体)OX40L融合蛋白的OX40L融合多肽。这些融合蛋白例如在美国专利号7,959,925中有所描述,该专利通过引用以其全部内容结合在此。该多聚体OX40L融合蛋白在增强受试者(尤其是人受试者)的抗原特异性免疫应答方面表现出增加的效力,这是由于其自发地组装成高度稳定的三聚体和六聚体的能力。

[0144] 在另一个实施例中,能够组装成多聚体形式的OX40激动剂包括在N末端至C末端方向上包含以下各项的融合多肽:免疫球蛋白结构域,其中该免疫球蛋白结构域包括Fc结构域、三聚化结构域,其中该三聚化结构域包括卷曲螺旋三聚化结构域;以及受体结合结构域,其中该受体结合结构域是OX40受体结合结构域,例如OX40L或OX40结合片段、其变体或衍生物,其中该融合多肽可以自组装成三聚体融合蛋白。在一个方面中,能够组装成多聚体形式的OX40激动剂能够结合到OX40受体并且刺激至少一种OX40介导的活性。在某些方面中,该OX40激动剂包含OX40配体的细胞外结构域。

[0145] 能够组装成多聚体形式的OX40激动剂的三聚化结构域用于促进单个OX40L融合多肽分子自组装成三聚体蛋白。因此,具有三聚化结构域的OX40L融合多肽自组装成三聚体OX40L融合蛋白。在一个方面中,该三聚化结构域是异亮氨酸拉链结构域(zipper domain)

或其他卷曲螺旋多肽结构。示例性卷曲螺旋三聚化结构域包括:TRAF2 (GENBANK®登录号Q12933,氨基酸299-348);血小板反应蛋白1 (登录号P07996,氨基酸291-314);母系蛋白-4 (登录号095460,氨基酸594-618);CMP (母系蛋白-1) (登录号NP—002370,氨基酸463-496);HSF1 (登录号AAX42211,氨基酸165-191);以及库比林 (Cubilin) (登录号NP—001072,氨基酸104-138)。在某些特定方面中,三聚化结构域包括TRAF2三聚化结构域、母系蛋白-4三聚化结构域或其组合。

[0146] OX40L FP是特异性结合到人OX40受体 (TNFR家族成员) 并通过人OX40受体触发信号传导的人OX40配体IgG4P融合蛋白。OX40L FP可以具有在SEQ ID N0s:31、33和35中的任一个中所披露的核酸,并且相应地分别编码SEQ ID N0:32、34和36中所披露的氨基酸序列。OX40L FP还在PCT/US2015/032598中披露,该专利通过引用以其全部内容结合在此。OX40L FP由三个不同结构域构成:(1)形成同源三聚体并结合OX40受体的人OX40配体细胞外受体结合结构域 (RBD);(2)使OX40配体RBD的同源三聚体结构稳定的从TNFR相关联因子2衍生的异亮氨酸拉链三聚化结构域;以及(3)人IgG4片段可结晶 γ (Fc γ) 结构域,该结构域促进融合蛋白在结合到OX40受体时的Fc γ 受体聚集,并且在铰链区 (IgG4P) 的位置228 (根据EU编号) 处包含丝氨酸对脯氨酸取代,以提升两组OX40配体RBD同源三聚体的稳定性。该IgG4P Fc结构域直接融合到从人肿瘤坏死因子2 (TRAF2) 的氨基酸残基310-349衍生的异亮氨酸拉链三聚化结构域。融合到TRAF2域的C-末端的是人OX40L (基因名称TNFSF4) 的细胞外受体结合结构域 (RBD) 的氨基酸残基51-183。该TRAF2结构域使OX40L RBD的同源三聚体结构稳定,以使得OX40能够结合和活化,而该IgG4P Fc结构域赋予血清稳定性、OX40L三聚体的二聚化,并且促进六聚体融合蛋白的Fc γ 受体聚集。一种此类OX40L FP具有在SEQ ID N0:31和32中披露的序列。一种OX40L FP变体在对应于OX40L的位置180的氨基酸处具有苯丙氨酸 (F) 到丙氨酸 (A) 突变 (SEQ ID N0:33和34)。另一种OX40L FP变体用人IgG1Fc结构域替换IgG4P Fc结构域 (SEQ ID N0:35和36)。在具体实施例中,用于本发明中的OX40激动剂是这些OX40L FP变体中的一种。

[0147] 在具体实施例中,用于本发明中的OX40激动剂已经被修饰以增加它的血清半衰期。例如,OX40激动剂的血清半衰期可以通过与异源分子诸如血清白蛋白、抗体Fc区或PEG缀合来增加。在某些实施例中,OX40激动剂可以与其他治疗剂或毒素缀合以形成免疫缀合物和/或融合蛋白。在某些实施例中,OX40激动剂可以进行配制以便促进给予并提升活性剂的稳定性。

[0148] 衍生物

[0149] 用于在本发明中使用的抗体 (例如,抗CTLA-4、抗PD-L1、抗PD-1、抗OX40) 可以包括这些序列的保留特异性结合它们的靶标的变体。这些变体可以由熟练的技术人员使用本领域中熟知的技术从这些抗体的序列衍生而来。例如,可以在FR和/或在CDR中进行氨基酸取代、缺失或添加。在FR中的改变一般被设计来改善抗体的稳定性和免疫原性,而在CDR中的改变典型地被设计来增加抗体对它的靶标的亲和力。FR的变体还包括天然存在的免疫球蛋白同种异型。这些亲和力增加的变化可以凭经验通过涉及改变CDR和测试抗体对它的靶标的亲和力的常规技术来确定。例如,可以在所披露的CDR中的任何一个中进行保守的氨基酸取代。可以根据《抗体工程》(Antibody Engineering),第2版,牛津大学出版社,波利巴克 (Borrebaeck) 编著,1995年中描述的方法进行不同的改变。这些包括但不限于由在序列内

编码功能上等同的氨基酸残基的不同密码子的取代改变的核苷酸序列,从而产生“沉默”的变化。例如,非极性氨基酸包括丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸以及蛋氨酸。极性中性氨基酸包括甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺以及谷氨酰胺。带正电荷的(碱性)氨基酸包括精氨酸、赖氨酸以及组氨酸。带负电荷的(酸性)氨基酸包括天冬氨酸和谷氨酸。

[0150] 本发明的抗体的衍生物和类似物可以通过本领域中熟知的不同技术来产生,这些技术包括重组和合成方法(马尼阿蒂斯(Maniatis) (1990)《分子克隆,实验室手册》(Molecular Cloning, A Laboratory Manual),第2版,冷泉港实验室,冷泉港,纽约;以及博丹斯基(Bodansky)等人(1995)《肽合成的实践》(The Practice of Peptide Synthesis),第2版,施普林格出版社,柏林,德国(Spring Verlag, Berlin, Germany))。施特默尔(Stemmer) (自然(Nature) (1994) 370:389-391)还披露了类似改组或组合技术,施特默尔描述了与 β -内酰胺酶基因有关的技术但观察到该方法可以用于生成抗体。

[0151] 可以使用一个或多个选择的VH和/或VL基因的随机诱变来生成携带从在此所披露的序列衍生的一个或多个序列的新的VH或VL区。一种此类技术易错PCR由格兰母(Gram)等人(美国科学院院刊(Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.) (1992) 89:3576-3580)进行描述。

[0152] 可以使用的另一种方法是将诱变引导至VH或VL基因的CDR。这些技术由巴巴斯(Barbas)等人(美国科学院院刊(Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.) (1994) 91:3809-3813)以及希尔(Schier)等人(生物学杂志(J. Med. Biol.) (1996) 263:551-567)进行描述。

[0153] 类似地,一个或多个或所有三个CDR可以接合至VH或VL结构域的谱系中,然后针对对CTLA-4或PD-L1特异的抗原结合片段对这些结构域进行筛选。

[0154] 免疫球蛋白可变结构域的一部分将包含基本上如在此所阐述的CDR中的至少一个,以及任选地,来自如在此所阐述的scFv片段的干预框架区。该部分可以包括FR1和FR4中的一个或两个的至少约50%,该50%是FR1的C-末端50%和FR4的N-末端50%。可变结构域的实质性部分的N-末端或C-末端端部的另外残基可以是通常不与天然存在的可变结构域区域相关联的那些残基。例如,通过重组DNA技术构建抗体可以导致由所引入的接头编码的N-或C-末端残基的引入,以便促进克隆或其他操纵步骤。其他操纵步骤包括引入接头以便将可变结构域接合到另外的蛋白质序列,这些蛋白质序列包含免疫球蛋白重链恒定区、其他可变结构域(例如在双抗体的产生中)、或蛋白质标记,如在以下更详细地讨论的。

[0155] 熟练的技术人员将认识到,用于本发明中的抗体可以包含仅含有来自VL或VH结构域的单个CDR的抗原结合片段。这些单链特异性结合结构域中的任一个可以用于筛选能够形成一个双结构域特异性抗原结合片段的互补结构域,该抗原结合片段能够例如结合到CTLA-4和PD-L1。

[0156] 用于在此所描述的发明中的抗体可以连接至另一功能性分子,例如另一种肽或蛋白质(白蛋白、另一种抗体等)。例如,这些抗体可以通过化学交联或通过重组方法连接。这些抗体还可以按以下专利中所列出的方式连接至多种非蛋白质聚合物例如,聚乙二醇、聚丙二醇或聚氧化烯中的一种:美国专利号4,640,835;4,496,689;4,301,144;4,670,417;4,791,192;或4,179,337。这些抗体可以通过共价缀合至一种聚合物而被化学地修饰,例如来增加它们的循环半衰期。附接这些抗体的示例性聚合物和方法还在美国专利号4,766,106;4,179,337;4,495,285以及4,609,546中示出。

[0157] 这些抗体还可以改变以具有不同于天然模式的糖基化模式。例如,一个或多个碳水化合物部分可以被删除和/或一个或多个糖基化位点可以被添加到原始抗体。将糖基化位点添加到当前披露的抗体可以通过改变氨基酸序列以包含本领域中已知的糖基化位点共有序列来实现。在抗体上增加碳水化合物部分的数量的另一种方式是通过使糖苷与抗体的氨基酸残基进行化学或酶促偶联。这些方法在WO 87/05330和在阿普林(Aplin)等人(1981)化学橡胶公司生物化学关键评论(CRC Crit.Rev.Biochem.),22:259-306中有所描述。可化学地或酶促地实现将任何碳水化合物部分从抗体中去除,例如,如由哈吉马丁(Hakimuddin)等人(1987)生物化学生物物理档案(Arch.Biochem.Biophys.),259:52;以及埃奇(Edge)等人(1981)分析生物化学(Anal.Biochem.),118:131并且由托塔库拉(Thotakura)等人(1987)酶学方法(Meth.Enzymol.),138:350所描述的。抗体还可以用可检测或功能标记来加标签。可检测标记包括放射性标记,诸如¹³¹I或⁹⁹Tc,可以使用常规化学来将它们附接至抗体。可检测标记还包括酶标记,诸如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶。可检测标记进一步包括化学部分,诸如生物素,该化学部分可以经由结合到特异性同源可检测部分(例如标记的抗生物素蛋白)来检测。

[0158] 其中CDR序列仅非实质性地不同于在此所列出的那些CDR序列的抗体涵盖在本发明的范围内。典型地,一个氨基酸被具有类似电荷、疏水性或立体化学特征的相关氨基酸取代。这些取代将在技术人员的普通技能之内。不像在CDR中,可以在FR中进行更多实质性的改变,而不对抗体的结合特性造成不利影响。对FR的改变包括但不限于人源化非人衍生的或工程化某些框架残基,这些框架残基对于抗原接触或对于稳定结合位点是重要的,例如,改变恒定区的类或亚类,改变可改变效应子功能(诸如Fc受体结合)的特定氨基酸残基(例如,如在美国专利号5,624,821和5,648,260以及伦德(Lund)等人(1991)免疫学杂志(J.Immun.)147:2657-2662和摩根(Morgan)等人(1995)免疫学(Immunology)86:319-324中所描述的)或改变恒定区衍生的物种。

[0159] 本领域的技术人员将理解,以上所述的改变不是全部详尽的,并且由于本披露的传授内容,许多其他的改变将对熟练的技术人员是显而易见的。

[0160] 包括反义寡核苷酸的STAT3反义化合物

[0161] 特异性结合到STAT3 mRNA并抑制STAT3 mRNA或蛋白质表达的靶向STAT3的反义化合物(包括反义寡核苷酸)可用于本发明。

[0162] STAT3抑制性反义寡核苷酸在本领域中是已知的。

[0163] WO2000/061602和WO2005/083124(均为伊西丝制药公司(Isis Pharmaceuticals Inc.))披露了可以在本发明中表征的大量STAT3抑制性反义寡核苷酸。

[0164] WO2012/135736(伊西丝制药公司)还披露了可以在本发明中表征的大量STAT3抑制性反义寡核苷酸。适用于在此所提供的实施例中的反义寡核苷酸包括但不限于在WO2012/135736中所描述的SEQ ID NO:9-426、430-442、445-464、471-498、500-1034以及1036-1512。这些中的一个(在此识别为ISIS481464)是还已知为AZD9150的分子。它是具有3-10-3构型的缺口体分子,中心缺口区段包含十个2'-脱氧核苷,在两侧(在5'和3'方向上)各自侧接包含三个核苷的翼。5'翼区段中的每个核苷和3'翼区段中的每个核苷均具有cEt糖修饰。遍及每个缺口体的核苷间键联均是硫代磷酸酯(P=S)键联。该缺口体中的所有胞嘧啶残基均是5' - 甲基胞嘧啶。AZD9150/ISIS481464的完整16聚体核碱基序列是

CTATTGGATGTCAGC (在此披露为SEQ ID NO:2)。翼区段加下划线。AZD9150互补于GENBANK登录号NM 139276.2的STAT3序列(以SEQ ID NO:1结合在此)中的核碱基3016-3031。

[0165] WO 2014/070868 (伊西丝制药公司)披露了AZD9150的特定剂量和使用其治疗特定癌症的方法。

[0166] AZD9150目前正在I期临床试验中测试,并且已经以耐受剂量在DLBCL和HCC中显示出临床应答。

[0167] 靶向STAT3的其他反义化合物披露在例如WO2008109494 (其披露STAT3双链核糖核酸分子(mdRNA))

[0168] 以及US20100298409 (其披露STAT3siRNA分子) 中。

[0169] 这些披露中的每一个通过引用以其全部内容结合在此。

[0170] 某些实施例。

[0171] 在一个方面中,本发明提供一种包括向对其有需要的患者给予一种免疫调节剂和靶向STAT3的一种反义化合物的方法。在一个实施例中,同时地、单独地或顺序地给予这些药剂((i)抗PD-L1抗体或其抗原结合片段;以及(ii)靶向STAT3的反义化合物)。

[0172] 在一个方面中,本发明提供一种治疗方法,该治疗方法涉及向对其有需要的患者给予:(i)至少一种免疫调节剂;以及(ii)靶向STAT3的一种反义化合物。在一个实施例中,同时地、单独地或顺序地给予这些药剂。

[0173] 在一个方面中,本发明提供用于在治疗对其有需要的患者中使用的一种免疫调节剂和靶向STAT3的一种反义化合物。在一个实施例中,同时地、单独地或顺序地给予这两种药剂。

[0174] 在一个方面中,本发明提供用于在治疗对其有需要的患者中使用的至少一种免疫调节剂和靶向STAT3的一种反义化合物。在一个实施例中,同时地、单独地或顺序地给予这些药剂。

[0175] 在一个方面中,本发明提供一种用于在治疗对其有需要的患者中使用的免疫调节剂,其中所述患者还使用靶向STAT3的一种反义化合物来治疗。在一个实施例中,同时地、单独地或顺序地给予这些药剂。

[0176] 在一个方面中,本发明提供一种用于在治疗对其有需要的患者中使用的靶向STAT3的反义化合物,其中所述患者还使用一种免疫调节剂来治疗。在一个实施例中,同时地、单独地或顺序地给予这些药剂。

[0177] 在一个方面中,本发明提供免疫调节剂在制造用于治疗患有癌症的患者的药物中的用途,该患者还使用靶向STAT3的一种反义化合物来治疗。

[0178] 在一个方面中,本发明提供免疫调节剂在制造用于治疗患有癌症的患者的药物中的用途,其中该免疫调节剂与靶向STAT3的一种反义化合物同时地、单独地或顺序地给予给对其有需要的患者。

[0179] 在一个方面中,本发明提供靶向STAT3的反义化合物在制造用于治疗患有癌症的患者的药物中的用途,该患者还使用一种免疫调节剂来治疗。

[0180] 在一个方面中,本发明提供靶向STAT3的反义化合物在制造用于治疗患有癌症的患者的药物中的用途,其中靶向STAT3的该反义化合物与一种免疫调节剂同时地、单独地或顺序地给予。

[0181] 在一个方面中,本发明提供以下药剂在制造用于治疗患有癌症的患者的药物中的用途: (i) 一种免疫调节剂; 以及 (ii) 靶向STAT3的一种反义化合物。在一个实施例中, 同时地、单独地或顺序地给予这两种药剂(反义化合物和免疫调节剂)。

[0182] 在一个方面中,本发明提供一种用于在治疗患有癌症的患者中使用的免疫调节剂, 该患者还使用靶向STAT3的一种反义化合物来治疗。

[0183] 在一个方面中,本发明提供一种用于在治疗患有癌症的患者中使用的免疫调节剂, 其中该免疫调节剂与靶向STAT3的该反义化合物同时地、单独地或顺序地给予。

[0184] 在一个方面中,本发明提供一种用于在治疗患有癌症的患者中使用的靶向STAT3的反义化合物, 该患者还使用一种免疫调节剂来治疗。

[0185] 在一个方面中,本发明提供一种用于在治疗患有癌症的患者中使用的靶向STAT3的反义化合物, 其中靶向STAT3的该反义化合物与一种免疫调节剂同时地、单独地或顺序地给予。

[0186] 在一个方面中,本发明提供: (i) 一种免疫调节剂; 以及 (ii) 靶向STAT3的一种反义化合物; 以用于在治疗患有癌症的患者中使用, 其中该免疫调节剂和靶向STAT3的该反义化合物中的每一种同时地、单独地或顺序地给予给该患者。

[0187] 在此所披露的不同方面中,当我们提及使用一种免疫调节剂来治疗患者时, 它还涵盖使用多于一种免疫调节剂的治疗。

[0188] 在此所披露的这些方面中的任一个的具体实施例中, 该免疫调节剂是免疫检查点抑制剂。

[0189] 在此所披露的这些方面中的任一个的具体实施例中, 该免疫调节剂是: 抗PD-L1抗体或其抗原结合片段。

[0190] 在此所披露的这些方面中的任一个的具体实施例中, 该免疫调节剂是: 抗PD-1抗体或其抗原结合片段。

[0191] 在此所披露的这些方面中的任一个的具体实施例中, 该免疫调节剂是: 抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段。

[0192] 在此所披露的这些方面中的任一个的具体实施例中, 该免疫调节剂是: OX-40激动剂。在具体实施例中, 该OX-40激动剂选自: 抗OX40激动剂抗体或其抗原结合片段、OX40配体或其片段或衍生物或OX40配体融合蛋白。

[0193] 在此所披露的这些方面中的任一个的具体实施例中, 该免疫调节剂选自下组, 该组由以下各项组成: MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714、MDX-1105、纳武单抗、派姆单抗、皮迪力单抗、MPDL3280A、曲美木单抗、伊匹木单抗以及OX40L FP。

[0194] 在此所披露的这些方面中的任一个的一个实施例中, 该STAT3是人STAT3, 因此治疗的组合和方法等等利用靶向人STAT3的反义化合物。

[0195] 某些方面涉及靶向STAT3的反义化合物和一种或多种免疫调节剂的组合。在某些方面中, 靶向STAT3的反义化合物和一种或多种免疫调节剂的这种组合包括AZD9150和一种或多种药剂, 该一种或多种药剂选自: 抗PD-L1抗体、抗PD1抗体以及抗CTLA-4抗体和OX-40激动剂。在某些实施例中, 这种组合包含作为靶向STAT3的反义化合物的AZD9150和选自下组的一种或多种免疫调节剂, 该组由以下各项组成: MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714、MDX-1105、纳武单抗、派姆单抗、皮迪力单抗、MPDL3280A、曲美木单抗、伊匹

木单抗以及OX40L FP。

[0196] 在此所披露的治疗方面的第一或第二医疗用途或方法中的任一个的具体实施例中,两种或更多种免疫调节剂可以与靶向STAT3的反义化合物组合给予。例如,该组合治疗可以涉及STAT3 ASO、抗PD-L1抗体以及抗CTLA-4抗体,诸如AZD9150、MEDI4736以及曲美木单抗。一个替代方案将涉及STAT3 ASO、抗PD-L1抗体以及OX40激动剂,诸如AZD9150、MEDI4736以及OX40L FP。另一个替代方案将涉及STAT3 ASO、抗PD-L1抗体以及CTLA-4抗体,诸如AZD9150、MEDI4736以及曲美木单抗。

[0197] 在此所披露的治疗方面的第一或第二医疗用途或方法中的任一个的具体实施例中,该免疫调节剂是抗PD-L1抗体或其抗原结合片段,该抗PD-L1抗体或其抗原结合片段选自:MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714以及MDX-1105或这些中的任一个的抗原结合片段。

[0198] 在以上涉及抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的治疗方面的第一或第二医疗用途或方法中的任一个的具体实施例中,该抗PD-L1抗体是MEDI4376或其抗原结合片段。

[0199] 在以上涉及抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的治疗方面的第一或第二医疗用途或方法中的任一个的具体实施例中,该抗PD-L1抗体或其抗原结合片段阻断PD-L1结合到PD-1和CD80受体。

[0200] 在以上治疗方面的第一或第二医疗用途或方法中的任一个的具体实施例中,向患者给予靶向STAT3的该反义化合物,然后给予该免疫调节剂。在具体实施例中,靶向STAT3的该反义化合物与该免疫调节剂的给予之间的时间段是至少:10分钟、1小时、2小时、6小时、12小时、18小时、24小时、36小时、48小时、5天、7天、10天或14天。在一个具体实施例中,首先向患者给予靶向STAT3的该反义化合物,并且然后在不同的时间点和在不同的访问给予该免疫调节剂。在此情况下,不同的访问可以意指向患者供给或给予该免疫调剂药品的保健提供者在与提供/给予靶向STAT3的该反义化合物的访问不同的访问下,向患者供给或给予该免疫调剂药品。清楚地,该访问的地点是不重要的。患者可以访问保健提供者或反之亦然。

[0201] 在以上治疗方面的第一或第二医疗用途或方法中的任一个的具体实施例中,向患者给予该免疫调节剂,然后给予靶向STAT3的该反义化合物。

[0202] 在具体实施例中,(i)该免疫调节剂;与(ii)靶向STAT3的该反义化合物的给予之间的持续时间是至少:10分钟、1小时、2小时、6小时、12小时、18小时、24小时、36小时、48小时、5天、7天、10天或14天。

[0203] 在以上治疗方面的不同第一或第二医疗用途或方法中的每一个中,靶向STAT3的该反义化合物可以是反义寡核苷酸。

[0204] 在以上治疗方面的第一或第二医疗用途或方法中的任一个的具体实施例中,靶向STAT3的该反义化合物可以是AZD9150。

[0205] 在某些实施例中,靶向STAT3的该反义化合物不抑制STAT1、STAT4或STAT6。

[0206] 在某些实施例中,该患者患有癌症。在一个实施例中,该患者患有癌症,该癌症选自:头颈癌症(包括鳞状细胞癌(HNSCC))、淋巴瘤(包括弥漫性大B细胞癌(DLBCL)或霍奇金淋巴瘤)、乳腺癌(包括三阴性乳腺癌)、卵巢癌(包括浆液性卵巢癌)、胰腺癌、结肠直肠癌、肺癌(包括非小细胞肺癌(NSCLC))以及肝细胞癌(HCC)。

[0207] 在某些实施例中,这些癌细胞表达PD-L1。

[0208] 在某些实施例中,对其有需要的该患者被鉴定为患有PD-L1阳性的癌症。在具体实施例中,当使用免疫化学评定时,该患者的肿瘤细胞中至少以下百分比的细胞是PD-L1阳性的:20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或更高。

[0209] 在一个实施例中,该肺癌是小细胞肺癌或非小细胞肺癌(例如,鳞状细胞癌、腺癌、大细胞癌、腺鳞癌以及肉瘤样癌)。

[0210] 在一个实施例中,该头颈癌是HNSCC。

[0211] 在一个实施例中,该淋巴瘤是DLBCL。

[0212] 在另一个方面中,本发明提供一种涉及向鉴定为患有癌症的患者给予MEDI4736或其抗原结合片段以及AZD9150的治疗的方法。在此特定方面的一个实施例中,该癌症选自:HNSCC、DLBCL、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、NSCLC以及HCC。

[0213] 在另一个方面中,本发明提供一种涉及向鉴定为患有癌症的患者给予约0.5-20mg/kg/wk之间的MEDI4736或其抗原结合片段以及约0.3-5mg/kg/wk之间的AZD9150的治疗的方法。在一个具体实施例中,除该AZD9150和MEDI4736之外,还向该患者给予约1-10mg/kg/wk之间的曲美木单抗。在某些实施例中,该受试者的体重使用迪瓦恩公式(Devine formula) (派(Pai) M.P. 和帕洛切克(Paloucek) F.P. 药理学年鉴(Ann. Pharmacol.) 2000.34:1066-1069) 计算为理想体重:针对男性(单位为kg)=50+2.3kg/超过5英尺的英寸;针对女性(单位为kg)=45.5+2.3kg/超过5英尺的英寸。

[0214] 在某些实施例中,由于所观察到的治疗效应,该免疫调节剂和/或靶向STAT3的该反义化合物可以低于当用作单一疗法时的相同药剂的剂量来给予。在某些实施例中,在此所提供的靶向STAT3的该反义化合物以每周每千克受试者的体重约0.3至0.5毫克该反义化合物的范围(0.3-5mg/kg/wk)给予给受试者。这些剂量范围对于治疗癌症而言是出乎意料地低的。通过比较,对于LY2275796(靶向帽结合蛋白真核起始因子4E(eIF-4E)的一种反义寡核苷酸)的1期研究推断:在负荷和维持剂量方案下,LY2275796的最大可耐受剂量(MTD)和生物有效剂量(BED)是1,000mg,但是甚至在1,000mg剂量下,也没有观察到肿瘤应答。(洪D.S. (Hong D.S.) 等人,临床癌症研究(Clin Cancer Res.) 201117 (20) :6582-91)。在某些实施例中,该免疫调节剂以每周每千克受试者的体重约1至20毫克该抗体化合物的范围(1-20mg/kg/wk)给予给受试者。

[0215] 在涉及抗PD-L1抗体或其抗原结合片段的在此所描绘的本发明的以上方面或任何方面中的任一个的不同实施例中,该抗PD-L1抗体或其抗原结合片段选自:MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714以及MDX-1105或这些中的任一个的抗原结合片段。

[0216] 在涉及抗PD1抗体或其抗原结合片段的在此所描绘的本发明的以上方面或任何方面中的任一个的不同实施例中,该抗PD1抗体或其抗原结合片段选自:纳武单抗、派姆单抗、皮迪力单抗以及MPDL3280A。

[0217] 在涉及一种抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段的在此所描绘的本发明的以上方面或任何方面中的任一个的不同实施例中,该抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段选自:曲美木单抗和伊匹木单抗。

[0218] 在涉及一种OX40激动剂的在此所描绘的本发明的以上方面或任何方面中的任一个的不同实施例中,该OX40激动剂是:OX40L FP。

[0219] 在此所描绘的本发明的以上方面或任何方面中的任一个的不同实施例中,靶向STAT3的该反义化合物是AZD9150。

[0220] 在某些实施例中,该反义化合物可以杂交到其的STAT3核酸是在GENBANK登录号NM_139276.2中所列出的序列(以SEQ ID NO:1结合在此)或从核苷酸4185000至4264000截短的GENBANK登录号NT_010755.14的互补序列(在W02012/135736中称为SEQ ID NO:2)中的任何序列。在某些实施例中,适于在此使用的反义寡核苷酸包括但不限于在W02012/135736中所描述的SEQ ID NO:9-426、430-442、445-464、471-498、500-1034以及1036-1512。在某些实施例中,用于本发明中的反义寡核苷酸包括由12至30个连接的核苷组成的修饰的寡核苷酸,该修饰的寡核苷酸具有包含互补于SEQ ID NO:1的核碱基3008至3033的相等长度部分的至少12个连续核碱基的一部分的核碱基序列,并且其中该核碱基序列互补于SEQ ID NO:1。在某些实施例中,该反义寡核苷酸是AZD9150。

[0221] 关于用于在此所提供的方法中使用的AZD9150(即ISIS 481464)的信息可见于W02012/135736,诸如在实例1中,该专利的披露内容通过引用以其全部内容结合在此。AZD9150是包含十个连接的脱氧核苷(缺口区段)、由3个连接的核苷组成的5'翼区段以及由3个连接的核苷组成的3'翼区段的单链修饰的寡核苷酸。缺口区段位于5'翼区段与3'翼区段之间,并且每个翼区段的每个核苷均包括受约束的乙基核苷。该寡核苷酸的每个核苷间键联是硫代磷酸酯键联,并且该寡核苷酸的每个胞嘧啶是5'-甲基胞嘧啶。AZD9150的完整16聚体核碱基序列是CTATTTGGATGTCAGC(在此披露为SEQ ID NO:2),翼区段加下划线。在某些实施例中,靶向STAT3的该反义化合物是包含修饰的寡核苷酸的化合物,该修饰的寡核苷酸由12至30个连接的核苷组成,并且具有包含SEQ ID NO:2的核碱基序列的至少12个连续核碱基的核碱基序列。

[0222] 在某些实施例中,靶向STAT3的该修饰的寡核苷酸由单链修饰的寡核苷酸组成。

[0223] 在某些实施例中,靶向STAT3的该修饰的寡核苷酸的至少一个核苷间键联是修饰的核苷间键联。

[0224] 在某些实施例中,靶向STAT3的该修饰的寡核苷酸的每个核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。

[0225] 在某些实施例中,靶向STAT3的该修饰的寡核苷酸的至少一个核苷包含修饰的糖。

[0226] 在某些实施例中,靶向STAT3的该修饰的寡核苷酸的至少一个修饰的糖是二环糖。

[0227] 在某些实施例中,靶向STAT3的该修饰的寡核苷酸的该二环糖包含4'-CH₂-O-2'桥接或4'-CH(CH₃)-O-2'桥接。

[0228] 在某些实施例中,靶向STAT3的该修饰的寡核苷酸的该修饰的糖包含2'-O(CH₂)₂-OCH₃基团或2'-O-CH₃基团。

[0229] 在某些实施例中,靶向STAT3的该修饰的寡核苷酸的至少一个核苷包含修饰的核碱基。在某些实施例中,所述修饰的核碱基是5'-甲基胞嘧啶。

[0230] 在某些实施例中,靶向STAT3的该修饰的寡核苷酸包含:

[0231] 由1至5个连接的核苷组成的5'翼;

[0232] 由1至5个连接的核苷组成的3'翼;

[0233] 在该5'翼与该3'翼之间的由8至12个连接的2'-脱氧核苷组成的缺口;并且

[0234] 其中该5'翼和该3'翼中的至少一个包含至少一个双环核苷或2'取代的核苷。

[0235] 在某些实施例中,靶向STAT3的该反义化合物具有核碱基序列,该核碱基序列当按5'至3'方向编写时,包括所靶向的靶核酸的靶片段的反向互补序列。

[0236] 应当理解,在此包含的每个SEQ ID NO中所列出的并且如应用到反义分子/化合物的序列独立于对糖部分、核苷间键联或核碱基的任何修饰。由此,由SEQ ID NO定义的反义化合物可以独立地包含对糖部分、核苷间键联或核碱基的一种或多种修饰。

[0237] 修饰

[0238] 核苷是碱基-糖组合。该核苷的核碱基(又称碱基)通常是杂环碱基部分。核苷酸是进一步包含共价地连接到核苷的糖部分的磷酸基团的核苷。对于包含戊呋喃糖的那些核碱基,该磷酸基团可以连接到糖的2'、3'或5'羟基部分。寡核苷酸通过相邻的核苷共价地连接到彼此来形成,以形成线性聚合寡核苷酸。在该寡核苷酸结构内,该磷酸基团通常被称为形成该寡核苷酸的核苷间键联。

[0239] 对反义化合物的修饰涵盖对核苷间键联、糖部分或核碱基的取代或改变。由于所希望的特性,例如像增强的细胞摄取、对核酸靶标的增强的亲和力、在核酸酶存在下增加的稳定性或增加的抑制性活性,修饰的反义化合物相对于天然形式通常是优选的。

[0240] 化学修饰的核苷还可以用于增加缩短或截短的反义寡核苷酸对其靶核酸的结合亲和力。因此,使用具有这些化学修饰的核苷的较短反义化合物通常可获得可比较的结果。

[0241] 修饰的核苷间键联

[0242] RNA和DNA的天然存在的核苷间键联是3'至5'磷酸二酯键联。由于所希望的特性,例如像增强的细胞摄取、对靶核酸的增强的亲和力以及在核酸酶存在下增加的稳定性,具有一个或多个修饰的(即非天然存在的)核苷间键联的反义化合物通常被选择为优于具有天然存在的核苷间键联的反义化合物。

[0243] 具有修饰的核苷间键联的寡核苷酸包含保留磷原子的核苷间键联以及不具有磷原子的核苷间键联。代表性的含磷核苷间键联包括但不限于磷酸二酯、磷酸三酯、甲基膦酸酯、氨基磷酸酯以及硫代磷酸酯。制备含磷键联和非含磷键联的方法是熟知的。

[0244] 在某些实施例中,靶向STAT3核酸的反义化合物包含一个或多个修饰的核苷间键联。在某些实施例中,这些修饰的核苷间键联是硫代磷酸酯键联。在某些实施例中,反义化合物的每个核苷间键联均为硫代磷酸酯核苷间键联。

[0245] 修饰的糖部分

[0246] 在此所提供的反义化合物可以任选地含有一个或多个核苷,其中糖基团已经被修饰。此类糖修饰的核苷可以赋予这些反义化合物以增强的核酸酶稳定性、增加的结合亲和力或一些其他有益的生物学特性。在某些实施例中,核苷包含化学修饰的呋喃核糖环部分。化学修饰的呋喃核糖环的实例包括但不限于增加取代基团(包括5'和2'取代基团);桥接非季位环原子以形成双环核酸(BNA);用S、N(R)或C(R1)(R)2(R=H、C₁-C₁₂烷或保护基团)替换核糖环氧原子;以及其组合。化学修饰的糖的实例包括2'-F-5'-甲基取代的核苷(参见,针对其他披露的5',2'-双取代核苷的PCT国际申请WO 2008/101157)、在2'位置处使用另外的取代来替换具有S的核糖环氧原子(参见,所公开的美国专利申请US2005/0130923)或可替代地,BNA的5'取代(参见,PCT国际申请WO 2007/134181,其中LNA使用例如5'-甲基或5'-乙烯基基团取代)。

[0247] 具有修饰的糖部分的核苷的实例包括但不限于包含5'-乙烯基、5'-甲基(R或S)、

4'-S、2'-F、2'-OCH₃以及2'-O(CH₂)₂OCH₃取代基团的核昔。在2'位置处的取代还可以选自：烯丙基、氨基、叠氮基、硫基、0-烯丙基、0-C₁-C₁₀烷基、OCF₃、0(CH₂)₂SCH₃、0(CH₂)₂-O-N(Rm)(Rn)以及0-CH₂-C(=O)-N(Rm)(Rn)，其中每个Rm和Rn独立地是H或取代或未取代的C₁-C₁₀烷基。

[0248] 缀合的反义化合物

[0249] 反义化合物可以共价地连接到一个或多个部分或缀合物，该或这些部分或缀合物增强得到的反义寡核苷酸的活性、细胞分布或细胞摄取。典型的缀合物基团包括胆固醇部分和脂质部分。另外的缀合物基团包括烃类、磷脂类、生物素、吩嗪、叶酸、菲啶、蒽醌、吖啶、荧光素、玫瑰精、香豆素以及染料。

[0250] 配制品

[0251] 一种或多种免疫调节剂和靶向STAT3核酸的反义化合物可以通过将该一种或多种化合物与适合的药学上可接受的稀释剂或载体结合来在药物组合物中使用。药学上可接受的稀释剂包括磷酸盐缓冲溶液(PBS)。载体的适合的实例包括生理盐水、聚乙二醇、乙醇、植物油、肉豆蔻酸异丙酯等，但不限于它们。

[0252] 用于治疗性用途的可接受的载体或稀释剂在制药领域是熟知的，并且例如在雷明登氏药学全书(Remington's Pharmaceutical Sciences)，马克出版公司(Mack Publishing Co.)，A.R热纳罗(A.R Gennaro)编著，1985中有所描述。

[0253] 包含免疫调节剂和/或反义化合物的药物组合物涵盖任何药学上可接受的盐、酯、或此类酯的盐，它们在给予给动物(包括人)之后能够提供(直接地或间接地)生物活性的代谢物或其残余物。

[0254] 在某些实施例中，分别配制这两种药剂(免疫调节剂和STAT3反义化合物)。

[0255] 根据一个方面，提供一种药物组合物，该药物组合物包含一种免疫调节剂和靶向STAT3的一种反义化合物以及一种或多种药学上可接受的载体或稀释剂。

[0256] 本发明的这些药剂可以配制用于胃肠外给予(例如，通过注射，例如大丸剂注射或连续注射)，并且可以单位剂型存在于安瓿、预装注射器、小体积输注中或在具有添加的防腐剂的多剂量容器中。这些组合物可以呈现此类形式：在油性或水性媒介物中的溶液、悬浮液或乳液，例如在水性聚乙二醇中的溶液。油性或非水性载体、稀释剂或媒介物的实例包括丙二醇、聚乙二醇、植物油(例如，橄榄油)以及可注射有机酯(例如，油酸乙酯)。这些组合物还可以含有其他制剂，诸如润湿剂、乳化剂或悬浮剂、防腐剂、稳定剂以及/或分散剂。可替代地，活性成分可以呈粉末的形式，然后与适合的媒介物(例如，无菌、无热原水)一起使用，该粉末的形式通过对无菌固体的无菌分离或通过针对组成从溶液冻干来获得。

[0257] 在一个实施例中，该抗PD-L1抗体MEDI4736在26mM组氨酸/组氨酸-HCl、275mM海藻糖二水合物、0.02% (重量/体积[w/v])聚山梨醇酯80中配制成50mg/mL，pH 6.0。该产物然后可以作为在透明玻璃小瓶(例如，10R小瓶)(例如，用弹性体塞子和翻盖密封件密闭)中的白色至灰白色冻干粉末供给。每个小瓶包含200mg(标称)的活性产物。然后使用无菌技术，用4.0mL无菌注射用水(WFI)重新组成MEDI4736，以得到50mg/mL的最终浓度。然后使用0.9% (w/v)盐水稀释该重新组成的溶液，以用于使用例如注射器或袋进行IV输注。

[0258] 治疗方案

[0259] 在以上方面中的任一个的不同实施例中，每1、2、3或4周给予治疗。在不同实施例

中,首先给予患者一个或一系列负荷剂量的免疫调节剂(例如,抗PD-L1抗体MEDI4736)。这可能需要在治疗的早期(负荷阶段)多次投配药剂,例如在第1周的第1、3和5天。

[0260] 发明人已发现,首先使用STAT3抑制剂,随后接着使用免疫调节剂治疗患者产生更好的抗癌结果。在不同实施例中,首先给予患者一个或一系列一种或多种负荷剂量的靶向STAT3核酸的反义化合物(例如,AZD9150)。这可能需要在治疗的早期多次投配药剂,例如在第1周的第1、3以及5天。

[0261] 负荷剂量阶段的目的在于更快达到药剂的稳定状态或有效水平(如在血液中所测量的),之后是治疗的“维持”阶段,例如,每周一次。

[0262] 使用STAT3选择性抑制剂的预治疗还可以用于提供肿瘤浸润性CD45+细胞的增加,以及可能地提供肿瘤浸润性巨噬细胞的减少,从而提供较易受到使用免疫调节剂的有效治疗影响的肿瘤环境。

[0263] 在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,向患者给予约1mg/kg与20mg/kg(包括端值)之间的免疫调节剂和约1mg/kg与15mg/kg(包括端值)之间的靶向STAT3核酸的反义化合物。

[0264] 在涉及MEDI4736或其抗原结合片段的以上这些方面中的任一个的不同实施例中,给予约2mg/kg与10mg/kg(包括端值)之间的MEDI4736或其抗原结合片段和约1mg/kg与3mg/kg(包括端值)之间的AZD9150。在涉及MEDI4736或其抗原结合片段的以上这些方面中的任一个的不同实施例中,给予约1mg/kg MEDI4736和约1mg/kg AZD9150,给予约1mg/kg MEDI4736和约2mg/kg AZD9150,给予约1mg/kg MEDI4736和约3mg/kg AZD9150;给予约1mg/kg MEDI4736和约10mg/kg AZD9150,给予约3mg/kg MEDI4736和约1mg/kg AZD9150;给予约3mg/kg MEDI4736和约2mg/kg AZD9150;给予约3mg/kg MEDI4736和约10mg/kg AZD9150;给予约10mg/kg MEDI4736和约1mg/kg AZD9150;给予约10mg/kg MEDI4736和约2mg/kg AZD9150;给予约10mg/kg MEDI4736和约10mg/kg AZD9150,给予约15mg/kg MEDI4736和约1mg/kg AZD9150;给予约15mg/kg MEDI4736和约2mg/kg AZD9150;给予约15mg/kg MEDI4736和约3mg/kg AZD9150,或给予约15mg/kg MEDI4736和约10mg/kg AZD9150。在某些实施例中,使用迪瓦恩公式将受试者的体重计算为理想体重。

[0265] 在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,该方法导致与单独给予免疫调节剂(例如,MEDI4736或其抗原结合片段)或AZD9150相比,总存活期增加(例如,增加数周、数月或数年)。具体地,存活期的增加大于约4-6周、1-2个月、3-4个月、5-7个月、6-8个月或9-12个月。在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,约每4周重复给予免疫调节剂(例如,MEDI4736或其抗原结合片段)一次。在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,约每4周重复给予AZD9150。在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,约每12周重复给予AZD9150。在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,约每4周给予AZD9150,持续给予7次,并且然后每12周给予AZD9150。在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,给予免疫调节剂(例如,MEDI4736或其抗原结合片段)是通过静脉内输注。在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,给予AZD9150是通过静脉内输注。在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,同时或在不同时间给予AZD9150和MEDI4736或其抗原结合片段。在以上这些方面中的任一个的不同实施例中,相隔24、48或72小时、相隔1、2或3周或相隔1、2或3个月之间给予

AZD9150和MEDI4736或其抗原结合片段。

[0266] 还考虑涉及三种药剂的组合。在此所披露的这些方面中的任一个的具体实施例中,在组合和/或治疗中使用AZD9150、MEDI4736以及曲美木单抗。这些药剂的特定剂量包括2mg/kg或3mg/kg的AZD9150、5mg/kg、10mg/kg或20mg/kg的MEDI4736以及1mg/kg或2mg/kg的曲美木单抗。

[0267] 本发明的其他特征和优点将根据详细说明以及根据权利要求书变得明显。

[0268] 在某些方面中,以药学有效量给予患有癌症/肿瘤的患者以下药剂: (i) 至少一种免疫调节剂; 以及 (ii) 靶向STAT3的反义化合物。

[0269] 在某些方面中,以药学有效量给予患有癌症/肿瘤的患者以下药剂: (i) MEDI4736或其抗原结合片段; 以及 (ii) AZD9150。在此方面的具体实施例中,还给予患者曲美木单抗或其抗原结合片段。MEDI4736或其抗原结合片段以及AZD9150可以仅被给予一次或偶尔给予,而仍然向患者提供益处。在另外的方面中,该患者被给予另外的后继剂量。可以取决于患者的年龄、体重、临床评定、肿瘤负荷和/或其他因素(包括主治医师的判断),在不同时间间隔给予后续剂量。

[0270] 免疫调节剂(例如,MEDI4736或其抗原结合片段和/或曲美木单抗或其抗原结合片段)的剂量与靶向STAT3的反义化合物(例如,AZD9150)的剂量之间的间隔可以是每一、二、三、四、五或六周。MEDI4736或其抗原结合片段与AZD9150的剂量之间的间隔可以是每4周,持续6个周期,并且然后每12周。在某些方面中,MEDI4736或其抗原结合片段以AZD9150约2倍的频率给予。在某些方面中,MEDI4736或其抗原结合片段以AZD9150约6倍的频率给予。在某些方面中,AZD9150以MEDI4736或其抗原结合片段约2倍的频率给予。在某些方面中,AZD9150以MEDI4736或其抗原结合片段约6倍的频率给予。

[0271] 在一些实施例中,可以向患者给予每种药剂的至少三个剂量、至少四个剂量、至少五个剂量、至少六个剂量、至少七个剂量、至少八个剂量、至少九个剂量、至少十个剂量或至少十五个剂量或更多。在一些实施例中,在两周治疗期内、在四周治疗期内、在六周治疗期内、在八周治疗期内、在十二周治疗期内、在二十四周治疗期内或在一年或更长治疗期内给予免疫调节剂(例如,MEDI4736或其抗原结合片段)。在一些实施例中,在两周治疗期内、四周治疗期内、在八周治疗期内、在十二周治疗期内、在二十四周治疗期内或在一年或更长治疗期内给予AZD9150。

[0272] 待向个体患者给予的 (i) 免疫调节剂和 (ii) 靶向STAT3的反义化合物的量可以取决于不同参数,诸如患者的年龄、体重、临床评定、肿瘤负荷和/或其他因素(包括主治医师的判断)。待向患者给予的免疫调节剂(例如,抗PD-L1抗体或其抗原结合片段)和靶向STAT3核酸的反义化合物(例如,AZD9150)的量可以根据这些药剂在患者群体中的综合临床试验来确定。

[0273] 在涉及抗PD-L1抗体MEDI4736的某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约0.3mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约1mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约3mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约10mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约

15mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约20mg/kg。在某些实施例中,MEDI4736或其抗原结合片段的这些剂量中的每一个相隔至少一周给予,诸如每周、每两周、每三周、每四周、每八周以及每十二周。在某些实施例中,使用迪瓦恩公式将受试者的体重计算为理想体重。

[0274] 在涉及已知为AZD9150的靶向STAT3的反义化合物的某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的AZD9150,其中该剂量是约0.3mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的AZD9150,其中该剂量是约1mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的AZD9150,其中该剂量是约3mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的AZD9150,其中该剂量是约10mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的AZD9150,其中该剂量是约15mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的AZD9150,其中该剂量是约20mg/kg。在某些实施例中,AZD9150的这些剂量中的每一个相隔至少一周给予。在某些实施例中,AZD9150的这些剂量中的每一个相隔2周给予(2QW)。在某些实施例中,AZD9150的这些剂量中的每一个相隔3周给予(3QW)。在某些实施例中,AZD9150的这些剂量中的每一个相隔4周给予(4QW)。在某些实施例中,AZD9150的这些剂量中的每一个相隔8周给予(8QW)。在某些实施例中,AZD9150的这些剂量中的每一个相隔12周给予(12QW)。

[0275] 在涉及抗CTLA-4抗体曲美木单抗或伊匹木单抗或任一种的抗原结合片段的某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段,其中该剂量是约1mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段,其中该剂量是约3mg/kg。在某些实施例中,给予患者一个或多个剂量的抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段,其中该剂量是约10mg/kg。

[0276] 在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段,其中该剂量是约1mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段,其中该剂量是约3mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段,其中该剂量是约10mg/kg。在一些实施例中,相隔约四周给予该至少两个剂量。在一些实施例中,相隔约十二周给予该至少两个剂量。

[0277] 在某些实施例中,给予患者至少三个剂量的抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段,其中该剂量是约1mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少三个剂量的抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段,其中该剂量是约3mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少三个剂量的抗CTLA-4抗体或其抗原结合片段,其中该剂量是约10mg/kg。在一些实施例中,相隔约四周给予该至少三个剂量。在一些实施例中,相隔约十二周给予该至少三个剂量。

[0278] 在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约1mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约3mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约10mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约15mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,其中该剂量是约20mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的AZD9150,其中该剂量是约1mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的AZD9150,其中该剂量是约2mg/kg。在某些实施例中,给予患者至少两个剂量的AZD9150,其中该剂量是约3mg/kg。在某些实施例中,使用迪瓦恩公式将受试者的体重计算为理想体重。

[0279] 在一些实施例中,相隔约四周给予该至少两个剂量。在一些实施例中,相隔约十二周给予该至少两个剂量。

[0280] 在某些实施例中,根据在此所提供的这些方法给予这些药剂诸如MEDI4736或其抗原结合片段和/或AZD9150是通过肠胃外给予的。例如,一种或两种药剂可以通过静脉内输注或通过皮下注射给予。在一些实施例中,该给予是通过静脉内输注。

[0281] 使用免疫调节剂(诸如抗CTLA-4抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-1抗体以及OX40激动剂)和靶向STAT3的反义化合物(诸如AZD9150)的组合的有效治疗包括例如在原发性肿瘤部位处或一个或多个转移中,降低癌症的进展速率、阻滞或稳定肿瘤或转移生长、肿瘤收缩和/或肿瘤消退。在一些方面中,肿瘤生长的降低或阻滞可以是统计学上显著的。可以通过与基线处的患者肿瘤的生长、针对预期的肿瘤生长、针对基于大的患者群体的预期肿瘤生长或针对对照群体的肿瘤生长进行比较来测量肿瘤生长的减少。在其他实施例中,本发明的这些方法增加存活。

[0282] 对给予免疫调节剂(诸如抗CTLA-4抗体、抗PD-L1抗体、抗PD-1抗体以及OX40激动剂)和靶向STAT3的反义化合物(诸如AZD9150)的临床应答可以使用临床医生已知的诊断技术来评定,这些诊断技术包括但不限于磁共振成像(MRI)扫描、x-射线照相成像、计算机断层照相(CT)扫描、流式细胞术或荧光激活的细胞分选器(FACS)分析、组织学、宏观病理学以及血液化学,临床应答包括但不限于通过ELISA、RIA以及色谱法可检测到的变化。

[0283] 在此所提供的这些方法可以减少或阻滞肿瘤生长。在一些情况中,该减少或阻滞可以是统计学上显著的。可以通过将基线处的患者肿瘤的生长、针对预期的肿瘤生长、针对基于大的患者群体的预期肿瘤生长、或针对对照群体的肿瘤生长进行比较来测量肿瘤生长的减少。

[0284] 在某些实施例中,给予该剂量的靶向STAT3的反义化合物和免疫调节剂减小受试者的肿瘤大小或肿瘤体积。在某些实施例中,给予该剂量的反义化合物和免疫调节剂延长受试者的存活。在某些实施例中,给予该剂量的靶向STAT3的反义化合物和免疫调节剂在受试者中治疗癌症,诸如B细胞淋巴瘤。在某些实施例中,该方法在受试者中治疗癌症是有效的,并且是可接受地耐受的。

[0285] 在某些实施例中,肿瘤应答使用免疫相关应答准则(irRc)来测量。在某些实施例中,肿瘤应答使用实体瘤应答评价准则(RECIST)来测量。

[0286] 在某些实施例中,肿瘤应答在第7周或其之后是可检测的,诸如在第13周、在第25周、在第41周、在第52周。

[0287] 在某些实施例中,患者实现了疾病控制(DC)。疾病控制可以是完全应答(CR)、部分应答(PR)或稳定疾病(SD)。

[0288] “完全应答”(CR)是指所有病灶(无论是可测量的或不可测量的)消失,并且没有新的病灶。可以使用自第一次记载日期起不小于四周的重复连续评定来获得确认。新的不可测量的病灶排除CR。

[0289] “部分应答”(PR)是指相对于基线,肿瘤负荷减小 $\geq 30\%$ 。可使用自第一次记载日期起至少4周的连续重复评定来获得确认。

[0290] “稳定疾病”(SD)指示无法建立相对于基线小于约30%的肿瘤负荷的减小,并且无法建立与最低点相比20%或更大的增加。

[0291] 在某些实施例中,给予免疫调节剂和靶向STAT3的反义化合物可以增加无进展存活期(PFS)。

[0292] 在某些实施例中,给予免疫调节剂和靶向STAT3的反义化合物可以增加总体存活期(OS)。

[0293] 在某些实施例中,给予MEDI4736或其抗原结合片段和AZD9150可以增加无进展存活期(PFS)。

[0294] 在某些实施例中,给予MEDI4736或其抗原结合片段和AZD9150可以增加总存活期(OS)。

[0295] 在一些实施例中,患者先前已经接受了使用至少一种化学治疗剂进行的治疗。在一些实施例中,患者先前已经接受了使用至少两种化学治疗剂进行的治疗。该化学治疗剂可以是例如并且不限于威罗菲尼、吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、西妥昔单抗、卡铂、贝伐珠单抗和/或培美曲塞。

[0296] 在一些实施例中,该癌症是至少一种化学治疗剂难治愈的或对至少一种化学治疗剂有抗性。在一些实施例中,该癌症是至少两种化学治疗剂难治愈的或对至少两种化学治疗剂有抗性。该癌症可以是以下各项中的一种或多种难治愈的或对以下各项中的一种或多种有抗性:例如并且不限于威罗菲尼、吉非替尼、厄洛替尼、阿法替尼、西妥昔单抗、卡铂、贝伐珠单抗和/或培美曲塞。

[0297] 在一些实施例中,患者在给予MEDI4736或其抗原结合片段以及AZD9150之前,具有0、1或2的东部肿瘤协作组(ECOG)(奥肯MM(Ok en MM)等人,美国临床肿瘤杂志(Am.J.Clin.Oncol.)5:649-55(1982))行为状态。

[0298] 如在此所提供的,MEDI4736或其抗原结合片段还可以降低游离(可溶的)PD-L1水平。游离(可溶的)PD-L1是指没有结合(例如,通过MEDI4736)的PD-L1。在一些实施例中,在给予MEDI4736或其抗原结合片段和AZD9150之后,sPD-L1水平降低和/或是不可检测的。在一些实施例中,与例如在给予之前的游离(可溶的)PD-L1水平的增加速率相比,给予MEDI4736或其抗原结合片段和AZD9150降低游离(可溶的)PD-L1水平的增加速率。

[0299] 如在此所提供的使用(i)免疫调节剂诸如MEDI4736或其抗原结合片段;以及(ii)靶向STAT3的反义化合物诸如AZD9150两者治疗患有癌症的患者(即,共治疗)可以导致辅助和/或协同效应。如在此所用,术语“协同”是指比单一疗法的辅助效应更加有效的组合疗法(例如,MEDI4736或其抗原结合片段与AZD9150的组合)。

[0300] 组合疗法(例如,MEDI4736或其抗原结合片段与AZD9150的组合)的协同效应可以允许使用更低剂量的一种或多种治疗剂和/或向患有癌症的患者以更小的频率给予所述治疗剂。利用更低剂量的治疗剂和/或以更小频率给予所述疗法的能力减少与向受试者给予所述疗法相关联的毒性而不减少所述疗法在癌症治疗中的效力。此外,协同效应可以导致治疗剂在癌症的管理、治疗或改善中的效力提高。治疗剂的组合的协同效应可以避免或减少与使用任一单一疗法相关联的不良或不需要的副作用。治疗剂的组合的协同效应还可以自身显现为肿瘤块减小(或肿瘤消退)。治疗剂的组合的协同效应还可以自身显现为肿瘤生长速率持续减小。

[0301] 在共治疗中,免疫调节剂(诸如MEDI4736或其抗原结合片段)可以任选地包含在与靶向STAT3的反义化合物(诸如AZD9150)相同的药物组合物中,或者可以包含在单独的药物

组合物中。在后一种情况下,包含免疫调节剂的药物组合物适于在给予包含靶向STAT3的反义化合物的药物组合物之前、同时或之后给予。在某些情况下,免疫调节剂在与靶向STAT3的反义化合物重叠的时间以单独的组合物给予。

[0302] 试剂盒

[0303] 在另一个方面中,本发明提供用于治疗癌症的试剂盒,该试剂盒包含:(i)靶向STAT3的一种反义化合物(诸如AZD9150);以及(ii)一种免疫调节剂(诸如抗PD-L1抗体或其抗原结合片段)。在一个实施例中,该试剂盒包括一种治疗组合物,该治疗组合物包含免疫调节剂(诸如抗PD-L1抗体或其抗原结合片段)和靶向STAT3的反义化合物(诸如AZD9150)的,各自以单位剂量型呈现。在某些实施例中,靶向STAT3的反义化合物可以是AZD9150并且/或者免疫调节剂选自下组,该组由以下各项组成:MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714、MDX-1105、纳武单抗、派姆单抗、皮迪力单抗、MPDL3280A、曲美木单抗、伊匹木单抗以及OX40L FP。

[0304] 当免疫调节剂是抗PD-L1抗体时,它可以选自:MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714以及MDX-1105或这些中的任一个的抗原结合片段。

[0305] 在一些实施例中,该试剂盒包括含有一种或多种治疗组合物的无菌容器;这些容器可以是盒子、安瓿、瓶子、小瓶、管、袋、小袋、泡罩包装或本领域已知的其他适合的容器形式。这些容器可由塑料、玻璃、层压纸、金属箔、或适于容纳药物的其他材料制成。

[0306] 若需要,该试剂盒进一步包括用于向患有癌症的受试者给予免疫调节剂(例如抗PD-L1抗体或其抗原结合片段)和靶向STAT3的反义化合物(例如AZD9150)的说明书。在具体实施例中,这些说明书包括以下各项中的至少一个:对该一种或多种治疗剂的描述;用于治疗或防止癌症或其症状的剂量时间表和给予;预防措施;警告;适应症;反向适应症;超剂量信息;不良反应;动物药理学;临床研究;和/或参考文献。这些说明书可以直接打印在容器(当存在时)上,或作为标记应用于容器,或作为单独的页、小册子、卡片、或在容器中或一起提供的文件夹。

[0307] 在另一个方面中,提供有含有靶向STAT3的反义化合物和免疫调节剂的产品,作为用于在治疗癌症中同时、单独或顺序使用的组合制剂。

[0308] 在这种产品中,靶向STAT3的反义化合物是或可以是AZD9150并且/或者免疫调节剂是或可以选自:MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714、MDX-1105、纳武单抗、派姆单抗、皮迪力单抗、MPDL3280A、曲美木单抗、伊匹木单抗以及OX40L FP。

[0309] 在其他实施例中,在这种产品中,靶向STAT3的反义化合物是或可以是AZD9150并且/或者抗PD-L1抗体或其抗原结合片段是或可以选自:MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714以及MDX-1105或这些中的任一个的抗原结合片段。

[0310] 除非另外指明,否则本发明的实施采用很好地处在熟练业内人士的见识范围之内的分子生物学(包含重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学免疫组织化学以及免疫学的常规技术。这些技术在文献中被充分阐明,诸如,“分子克隆:实验室手册(Molecular Cloning:A Laboratory Manual)”,第二版(萨姆布鲁克(Sambrook),1989);“寡核苷酸合成(Oligonucleotide Synthesis)”(盖特(Gait),1984);“动物细胞培养(Animal Cell Culture)”(弗雷谢尼(Freshney),1987);“酶学方法(Methods in Enzymology)”“实验免疫学手册(Handbook of Experimental Immunology)”(维尔(Weir),1996);“哺乳动物细胞的

基因转移载体(Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells)" (米勒(Miller) 和卡洛斯(Calos), 1987) ; "当代分子生物学实验技术(Current Protocols in Molecular Biology)" (奥苏贝尔(Ausubel), 1987) ; "PCR:聚合酶链反应(PCR:The Polymerase Chain Reaction)" , (穆利斯(Mullis), 1994) ; "当代免疫学实验技术(Current Protocols in Immunology)" (科里根(Coligan) 等人, 1991)。这些技术适用于本发明的多核苷酸和多肽的生产, 并且按照这样, 可以被考虑用于制作和实施本发明。对具体实施例特别有用的技术将在下面的部分进行讨论。

[0311] 给出以下的实例和附图以便为本领域普通技术人员提供如何制作和使用本发明的不同方面的完整的披露和说明, 并且不旨在限制诸位发明人认为是自己的发明的范围。

[0312] 图例

[0313] 图1来自使用小鼠STAT3 ASO治疗的小鼠的CT-26肿瘤的肿瘤浸润性白细胞(相对于媒介物对照, 总活细胞的%)。

[0314] 图2使用小鼠STAT3 ASO作为单个药剂以及与靶向PD-L1的抗体组合的治疗之后的CT-26肿瘤体积(平均值+/-SEM (2a) 和个体小鼠 (2b) 和 (2c))。

[0315] 图3使用小鼠STAT3 ASO作为单个药剂以及与PD-L1 Ab、CTLA-4 Ab或OX4-配体融合蛋白组合的治疗之后的CT-26肿瘤体积。

[0316] 图4使用AZD9150、PD-L1 Ab或同种型对照Ab作为单个药剂或AZD9150加PD-L1 Ab的组合的治疗之后的CT-26肿瘤体积。

[0317] 图5来自使用JAK1选择性抑制剂治疗的小鼠的CT-26肿瘤的肿瘤浸润性白细胞(相对于媒介物对照, 总活细胞的%)。

[0318] 图6使用AZ-JAK1、抗PD-L1 Ab的治疗或两种治疗的组合之后的CT-26肿瘤体积。平均值±SEM。

[0319] 图7来自使用STAT3 ASO、抗PD-L1 Ab的治疗或两种治疗的组合之后的CT-26荷瘤小鼠的肿瘤和血液样品中的STAT3 mRNA水平。来自每个治疗组的4个样品的平均值+/-SEM。

[0320] 实例:

[0321] 实例1. 临床前研究显示在小鼠中使用ASO的STAT3抑制支持免疫系统。

[0322] 所使用的反义寡聚物:

[0323] 所使用的两种ASO均是具有cET化学和硫代磷酸酯键联的3-10-3缺口体, 所有碱基均是2'-脱氧核苷。翼部分如下划线。

[0324] 小鼠STAT3 ASO:GAAATTCATTCTTCCA (SEQ ID NO:11)

[0325] 对照ASO:GGCTACTACGGCGTCA (SEQ ID NO:12)

[0326] 寡聚物可以根据标准技术合成, 诸如赛斯(Seth) 等人(药物化学杂志(J MedChem.) 52 (1):10-13, 2009) 中所描述的技术。

[0327] 将CT-26小鼠结肠肿瘤细胞(5x10⁵个/小鼠)皮下植入雌性BALB/c小鼠中。将这些小鼠随机化分成8个小组(基于体重), 并且使用50mg/kg的PBS媒介物、非靶向对照反义寡核苷酸(ASO) (SEQ ID NO:12) 或靶向小鼠STAT3的ASO (SEQ ID NO:11) 进行治疗。在PBS中配制所有ASO, 并且从肿瘤植入之后2天开始, 以50mg/kg, 每天一次(QD), 5天实施/2天停止的时间表进行皮下投配。在初始投配后的第12天和第26天, 从每组中选择4只小鼠, 并且收获肿瘤并进行处理以用于流式细胞术分析。由于小的肿瘤大小, 将来自第12天(第2周)收获的肿

瘤的细胞集中在一起,然后进行分析,而对在第26天(第4周)收获的肿瘤进行单个分析。在第2周和第4周对CD45+细胞定量。在第4周对巨噬细胞定量。通过免疫染色以及使用BD FACS Canto II流式细胞仪和FlowJo软件的流式细胞术分析来鉴定并定量不同细胞。

[0328] 除非另外指明,否则本发明的实施采用很好地处在熟练业内人士的见识范围之内的细胞生物学、免疫组织化学以及免疫学的常规技术。这些技术在文献中被充分阐明,诸如“实验免疫学手册 (Handbook of Experimental Immunology)”(维尔(Weir),1996) 和“当代免疫学实验技术 (Current Protocols in Immunology)”(科里根(Coligan)等人,1991)。

[0329] 使用STAT3 ASO的治疗导致相对于使用媒介物和对照ASO治疗的小鼠的肿瘤免疫浸润的改变(图1)。在第2周(149%) 和第4周(353%) 观察到相对于使用媒介物和对照ASO治疗的小组,使用小鼠STAT3 ASO治疗的小组的总免疫浸润(CD45+白细胞) 增加。肿瘤中的巨噬细胞(CD45+F4/80+) 在第4周较低(降低65%)。

[0330] 肿瘤浸润性CD45+细胞的升高连同肿瘤浸润性巨噬细胞的降低共同指示与STAT3 ASO治疗相关联的免疫调节和增强的抗肿瘤免疫应答。

[0331] 实例2. 预治疗相对于使用小鼠STAT3 ASO与抗PD-L1抗体治疗组合的并行治疗提供增强的抗肿瘤活性。

[0332] 将CT-26小鼠结肠肿瘤细胞(5×10^5 个/小鼠) 皮下植入雌性BALB/c小鼠中。使用PBS媒介物、小鼠STAT3 ASO(与在实例1中使用的相同)、抗PD-L1抗体(抗小鼠PD-L1、克隆10F.9G2、大鼠IgG2b同种型,购自新罕布什尔西黎巴嫩的博鑫盛公司(BioXCell, West Lebanon, NH))、同种型对照Ab(大鼠IgG2b、产品LTF-2, 购自新罕布什尔西黎巴嫩的博鑫盛公司)或小鼠STAT3 ASO+PD-L1抗体的组合治疗这些小鼠。在随机化分成治疗小组(植入后第2天)之前或在随机化的时候(植入后第9天)开始ASO治疗。在随机化的时候,接受ASO治疗的小鼠的肿瘤体积并没有显著不同于未接受ASO治疗的小鼠的肿瘤体积。在每个治疗小组中有十只小鼠。在PBS中配制ASO,并且进行皮下投配。也在PBS中配制Ab,并且进行腹膜内投配。在实验过程中,用卡尺测量肿瘤长度和宽度,并且使用公式体积= $(\text{长} \times \text{宽}^2) * \pi / 6$ 来计算肿瘤体积。

[0333] 如在图2a中所示,使用对照Ab的治疗对肿瘤生长没有显著影响。使用小鼠STAT3 ASO和抗PD-L1 Ab作为单个药剂的治疗对肿瘤生长具有适度影响。使用STAT3 ASO+抗PD-L1 Ab组合的治疗比单个药剂治疗具有更大抗肿瘤活性。

[0334] 当在使用抗PD-L1 Ab的治疗之前,开始使用STAT3 ASO的治疗时(ASO治疗在第2天开始,并且Ab治疗在第9天开始),在6/10小鼠(60%) 中观察到肿瘤消退,而当两种治疗均在第9天开始时,在仅1/10小鼠(10%) 中观察到肿瘤消退。图2a示出了平均值+/-SEM。图2b示出了用于并行投配时的组合的个体动物。图2c示出了用于以ASO提前投配时的组合的个体动物。

[0335] 这些结果指示在检查点抑制剂治疗之前开始STAT3 ASO治疗提供较大抗肿瘤活性。因此,似乎使得STAT3 ASO治疗的免疫刺激效应在检查点抑制剂治疗的时候已经在进展中是有益的。

[0336] 实例3. 增加小鼠STAT3 ASO治疗增强小鼠同基因肿瘤模型中的靶向PD-L1和CTLA-4的抗体以及OX40配体融合蛋白的抗肿瘤活性

[0337] 所使用的检查点抑制剂或免疫刺激剂:

[0338] 抗小鼠CTLA-4:克隆9D9、小鼠IgG2b同种型。购自新罕布什尔西黎巴嫩的博鑫盛公司

[0339] 抗小鼠PD-L1:克隆10F.9G2、大鼠IgG2b同种型。购自新罕布什尔西黎巴嫩的博鑫盛公司

[0340] 在室内生成小鼠OX40配体融合蛋白 (mIgG1Fc mTF2mOX40L或OX40FP)。DNA和氨基酸序列分别表示为SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:38。

[0341] 在以下三个小鼠同基因肿瘤模型中评价与靶向PD-L1或CTLA-4抗体组合或与OX40配体融合蛋白组合的小鼠STAT3 ASO的抗肿瘤效力:CT-26(结肠直肠)、4T1(乳腺)以及A20(淋巴瘤)。每一个模型的肿瘤植入和治疗时间表的细节在以下表中。STAT3 ASO(与实例1中所使用的相同ASO)的投配时间表QDx5/wk是治疗5天,接着不治疗2天。抗体的投配时间表2X/wk是在一周的过程中平均间隔的每周2次治疗(例如,周一和周四,或周二和周五等)。ASO治疗在随机化分成治疗小组之前开始。在随机化的时间,接受ASO治疗的小鼠的肿瘤体积并没有显著不同于未接受ASO治疗的小鼠的肿瘤体积。在每个治疗小组中有十只小鼠。

	CT-26	4T1	A20
植入	50万个细胞, 皮下右 胁腹中	40万个细胞, 乳腺脂 肪垫中	1百万个细胞, 皮下 右胁腹中

[0342]	随机化下肿瘤体积	平均值: 147 mm ³ 范围: 58-248 mm ³	平均值: 123 mm ³ 范围: 70-182 mm ³	平均值: 218 mm ³ 范围: 122-277 mm ³
	ASO治疗的时间表	Ab或FP治疗之前7天 开始, QDx5/wk持续 4周, 皮下投配	Ab或FP治疗之前5天 开始, QDx7/wk持续 1周, 接着QDx5/wk 持续3周, 皮下投配	Ab或FP治疗之前4天 开始, QDx5/wk持续 3周, 皮下投配
[0343]	随机化 (植入后天数)	7	5	13
	PD-L1和CTLA-4抗体的投配时间表 (随机化后一天开始)	2X/wk 持续3周, 腹膜内投配	2X/wk 持续1周, 腹膜内投配	2X/wk 持续2周, 腹膜内投配
	OX40融合蛋白的投配时间表 (随机化后一天开始)	2X/wk 持续1周, 腹膜内投配	2X/wk 持续1周, 腹膜内投配	2X/wk 持续1周, 腹膜内投配

[0344] 在PBS中配制小鼠STAT3 ASO,并且进行皮下投配。也在PBS中配制Ab和FP,并且进行腹膜内投配。在实验过程中,用卡尺测量肿瘤长度和宽度,并且使用公式体积=(长 \times 宽²)*π/6来计算肿瘤体积。

[0345] 结果示于图3中。以在此实验中给予的剂量和时间表,抗PD-L1和抗CTLA-4 Ab、OX40配体FP以及靶向小鼠STAT3的ASO具有弱至适度的单个药剂抗肿瘤活性。增加小鼠STAT3 ASO治疗在很多情况下显著增强抗体和FP治疗的抗肿瘤活性。在某些情况下,该效应看起来是协同的。向PD-L1 Ab、CTLA-4 Ab或OX40配体FP增加小鼠STAT3 ASO导致意味着CT-26和A20模型中的肿瘤停滞或消退。在4T1模型中,小鼠STAT3 ASO加CTLA-4抗体的组合导致

肿瘤消退。此外,这些组合治疗在一些个体小鼠中导致长期完全应答(在治疗结束后数周没有可测量的肿瘤),包括在CT-26、4T1以及A20模型中的使用小鼠STAT3 ASO+CTLA-4 Ab组合的小鼠中的30% (3/10);在A20模型中的使用PD-L1组合的小鼠中的20% (2/10)、以及在A20模型中的使用OX40组合的小鼠中的50% (5/10)。

[0346] 在这些模型中的组合治疗相对于单个药剂的增强的抗肿瘤活性指示:使用靶向STAT3的反义分子的治疗具有潜力在多种肿瘤类型中增强所使用的检查点抑制剂或免疫刺激剂(包括靶向PD-L1、CTLA-4的药剂以及OX40)的活性。组合活性与借此使用STAT3 ASO的治疗导致肿瘤的抗肿瘤免疫浸润增加(实例1)的机制一致,这使得当免疫检查点被使用靶向PD-L1和CTLA-4的治疗剂的治疗阻断时,或者当使用免疫刺激剂诸如OX40激动剂时,对肿瘤生长的抑制增强。

[0347] 实例4.在带有CT-26肿瘤的小鼠中使用对照ASO和对照抗体未观察到抗肿瘤活性

[0348] 实例3中的CT-26实验包括使用对照ASO (AZD9150) 和同种型对照抗体(大鼠IgG2b、产品LTF-2,购自新罕布什尔西黎巴嫩的博鑫盛公司)作为阴性对照的治疗。靶向人STAT3的ASO分子AZD9150可以在鼠肿瘤模型中用作对照,因为AZD9150并不与小鼠STAT3序列交叉反应。如在图4中所示,并且相比于实例2和实例3中所述的靶向小鼠STAT3的ASO的活性,使用对照ASO的治疗未导致抗PD-L1抗体的活性增强。这些结果与小鼠STAT3 ASO和抗PD-L1抗体的活性一致,这是由于这些药剂的靶向活性。

[0349] 实例5.使用小分子JAK1抑制剂的STAT3抑制抑制免疫系统

[0350] 将CT-26小鼠结肠肿瘤细胞(5×10^5 个/小鼠)皮下植入雌性BALB/c小鼠中。植入之后十天,将这些小鼠随机化分成4个小组,其中平均肿瘤体积为 122mm^3 ,并且使用JAK1选择性小分子抑制剂(AZ-3;韦斯纳(Woessner)等人,美国癌症研究会会刊(Proc. Am. Assoc. Cancer Res.) 54:931,2013)或媒介物来治疗。AZ-3以下在此称为AZ-JAK1。在水中配制AZ-JAK1,并且以100mg/kg进行口服投配,每天两次,持续11天。在第11天,收获肿瘤并处理以用于流式细胞术分析。将来自每组的肿瘤集中在一起,然后进行分析,以便通过流式细胞术能够检测到低百分比的细胞群体。对CD45+白细胞、CD4+和CD8+T细胞、CD11c+MHCII+树突细胞以及CD11b+Gr1+骨髓抑制性细胞定量。

[0351] 使用JAK1选择性抑制剂的治疗导致T细胞、树突细胞以及骨髓抑制性细胞的减少(图5),从而指示相比于使用STAT3 ASO的治疗(图1),该治疗是广泛免疫抑制性的。数据指示:使用靶向STAT3反义寡核苷酸的对STAT3的选择性抑制可以增强抗肿瘤免疫应答,而对JAK1的抑制(其抑制通过若干种STAT(包括STAT3,还包括STAT1、4和6)的信号传导)是广泛免疫抑制性的。

[0352] 实例6.JAK1抑制拮抗带有建立的CT-26肿瘤的小鼠中的抗PD-L1和抗CTLA-4 Ab的抗肿瘤活性

[0353] 将CT-26小鼠结肠肿瘤细胞(5×10^5 个/小鼠)皮下植入雌性BALB/c小鼠中。在植入后第14天,将这些小鼠随机化分成10个小组(基于肿瘤体积),并且使用PBS媒介物、100mg/kg的JAK1选择性小分子(AZ-JAK1)、2.5mg/kg的抗PD-L1抗体(克隆10F.9G2)以每周两次、1mg/kg的抗CTLA-4抗体(克隆9D9)以每周两次、或者AZ-JAK1+抗PD-L1 Ab或AZ-JAK1+抗CTLA-4Ab的组合来治疗。在水中配制AZ-JAK1,并且进行口服投配。在PBS中配制抗体,并且进行皮下投配。在治疗开始时的平均肿瘤大小为 $\sim 140\text{mm}^3$ 。在实验过程中,用卡尺测量肿瘤

长度和宽度,并且使用公式体积=(长x宽²)*π/6来计算肿瘤体积。

[0354] 结果示于图6中。使用抗PD-L1和抗CTLA-4抗体作为单个药剂的治疗导致对肿瘤生长的抑制。相对于媒介物对照,使用AZ-JAK1的治疗导致平均肿瘤生长速率适度增加。向抗PD-L1 Ab或向抗CTLA-4 Ab添加AZ-JAK1拮抗这些抗体的抗肿瘤活性,从而导致与单个药剂AZ-JAK1的肿瘤生长速率类似的肿瘤生长速率。在治疗过程中,所有治疗耐受性良好,没有观察到显著的外在体征。在所有小组中,治疗结束时的平均小鼠体重大于治疗开始时的体重。

[0355] 通过添加STAT3 ASO而使得抗PD-L1或抗CTLA-4 Ab活性的增强(图2和图3)相对于通过添加JAK1抑制剂而使得抗体活性的拮抗(图6),指示依赖于STAT3抑制的机制的差别效应(通过STAT3 ASO治疗而引起的STAT3蛋白的选择性减少相对于通过JAK1抑制剂治疗而引起的由多种STAT(包括STAT1、3、4和6)介导的信号传导的抑制))。

[0356] STAT3 ASO治疗的免疫刺激和抗肿瘤活性(图1-图3)相对于使用AZ-JAK1的抗PD-L1和抗CTLA-4 Ab活性的免疫抑制和拮抗(图5和图6),指示STAT3 ASO+抗PD-L1 Ab治疗的组合活性依赖于直接的选择性STAT3抑制,并且不可以通过抑制JAK/STAT信号传导的其他方法(诸如JAK1抑制)复制(并且实际上被这些方法拮抗)。

[0357] 实例7.数据显示使用STAT3 ASO治疗的CT-26肿瘤和血液中的STAT3敲低

[0358] 为了确认通过靶向STAT3的ASO而引起的STAT3 mRNA的敲低,使用媒介物、小鼠STAT3 ASO(与实例1中所使用的相同ASO;每天一次,50mg/kg,持续3.5周)、抗PD-L1 Ab(抗小鼠PD-L1:克隆10F.9G2、大鼠IgG2b同种型;2X/wk,2.5mg/kg,持续3.5周)、或STAT3 ASO加抗PD-L1Ab的组合治疗带有皮下CT-26肿瘤的小鼠,并且在实验结束时采集血液和肿瘤样品并分析STAT3 mRNA的水平。采集每个治疗小组中的4只小鼠的样品并处理以用于qRT-PCR分析。根据试剂盒指导,在Paxgene试剂中采集血液并制备RNA(凯杰(Qiagen),目录号762164)。根据试剂盒指导,在RNAlater(凯杰)中采集肿瘤并处理成RNA以用于qRT-PCR分析(凯杰,目录号74104)。将由qRT-PCR测量的STAT3 mRNA水平标准化成每个样品中的GAPDH mRNA的量。引物/探针组购自美国应用生物系统公司(ABI):针对小鼠STAT3目录号4331182,针对小鼠GAPDH目录号4352339E。

[0359] 在STAT3 ASO治疗之后,血液和肿瘤中的STAT3 mRNA敲低分别是53%和70%(图7)。使用PD-L1 Ab+STAT3 ASO治疗的小鼠中的STAT3 mRNA敲低没有显著不同于仅使用STAT3 ASO治疗的小鼠中的STAT3 mRNA敲低。

[0360] 实例8.使用AZD9150治疗的DLBCL患者的基因表达变化

[0361] 在治疗开始之前和在治疗开始之后4-6周,在I期临床试验中从使用AZD9150治疗的癌症患者采集肿瘤活组织检查样品。在第一周的第1、3和5天期间,患者接受三次负荷剂量2或3mg/kg AZD9150,接着每周一次剂量。活组织检查样品组中的九个来自患有弥漫性大B细胞淋巴瘤的患者,两个来自患有滤泡性淋巴瘤的患者,并且一个来自患有非小细胞肺癌的患者。对这些活组织检查样品进行福尔马林固定和石蜡包埋并切片。从每个活组织检查样品的六个五微米切片分离RNA,并且使用代表594个免疫相关基因的nCounter人类免疫学编码组对RNA进行NanoString基因表达谱分析。根据维德曼-琼斯(Veldman-Jones)等人(癌症研究(Cancer Research),75:2587,2015)对原始数据进行校准,并且分析与基线预治疗样品相比的治疗变化。生成代表DLBCL中的最大和在统计学上最相关的基因表达变化的非

监督聚类的热图。AZD9150上调基因中的是六个基因中包含“干扰素 γ 基因标志”的五个基因,这些基因被报道与派姆单抗(靶向PD1的治疗性抗体)相关(普立马克(Plimack)等人,临床肿瘤学杂志(J Clin Oncol)33,2015(增刊;摘要4502))。这五个AZD9150上调基因“干扰素 γ 基因标志”基因是:STAT1、IFN- γ 、CXCL9、CXCL10以及IDO。这些数据指示在患者的AZD9150治疗之后肿瘤微环境的免疫调节,并且暗示AZD9150治疗可以使患者的肿瘤对PD(L)1轴线疗法更有应答性。

[0362] 实例9.前瞻性组合试验

[0363] 计划在头或颈部的鳞状细胞癌(SCCHN)和弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)中进行MEDI4736和AZD9150组合的临床试验,以建立该组合的安全剂量以及为相对于任何单一疗法的优异的临床应答率进行测试。基于在先前的临床试验中证实对SCCHN的单一疗法MEDI4736和对DLBCL的AZD9150或抗PD1疗法的临床应答来选择适应症。

[0364] 将在盐水中配制AZD9150,并且在治疗的第1、3、5天并且之后每周一次经由输注给予。将在盐水中配制MEDI4736,并且每两周一次经由静脉内输注给予(无论是与第一次AZD9150给予同一时间开始,或是在AZD9150给予1、2或更多周之后开始)以便允许AZD9150负荷剂量阶段。

[0365] 实例9a:头或颈部的鳞状细胞癌(SCCHN)试验

[0366] 此研究中的受试者被要求年龄为18岁或以上并患有组织学或细胞学确认的SCCHN,根据实体瘤应答评价准则(RECIST)方针v1.1,该SCCHN具有至少一个可测量的病灶。

[0367] SCCHN试验的设计

[0368] 该研究是对抗PD-L1抗体(MEDI4736)和STAT3 ASO(AZD9150)的组合相对于仅AZD9150的开放标记1/2期研究,以使用RECIST准则建立该组合相对于单一疗法的剂量、安全性和优异的效力。

[0369] 1a期:为了建立安全性和1b期剂量,小群组的受试者(例如,6名受试者)将接受多至3mg/kg AZD9150(以3mg/kg开始,并且如果存在安全性问题,降低剂量)以及3或10mg/kg MEDI4736的组合。

[0370] 1b期:多至五十名患者将接受在1a期中建立的AZD9150+MEDI4736剂量,并且多至五十名患者将仅接受与该组合中所使用的剂量相同的AZD9150。来自SCCHN的MEDI4736的先前临床试验的MEDI4736单一疗法应答率将用作对该组合疗法的另一个比较。

[0371] 将获得所有受试者的PD-L1肿瘤表达的基线水平,以便与临床应答相关。此外,将通过免疫分型监测一些循环白细胞群体(例如,骨髓衍生的抑制性细胞MDSC),以评定对临床应答的相关性。

[0372] 成功被定义为在整个患者群体中或在生物标志物限定的亚组中,AZD9150和MEDI4736组合相对于以其推荐的单一疗法剂量的任一药品具有优异的应答率或存活益处。

[0373] 实例9b:弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)试验

[0374] 此研究中的受试者被要求年龄为18岁或以上并患有组织学或细胞学确认的DLBCL,根据国际工作小组(IWG)准则,该DLBCL具有至少一个可测量的病灶。合格的患者必须在自体干细胞移植(ASCT)中失败,或者已经具有至少两个先前的多药剂化疗方案,并且不是ASCT候选者。

[0375] DLBCL试验的设计

[0376] 该研究是对抗PD-L1抗体(MEDI4736)和AZD9150的组合相对于仅MEDI4736的开放标记1/2期研究,以使用IWG准则建立该组合相对于单一疗法的剂量、安全性以及优异的效力。

[0377] 1a期:为了建立安全性和1b期剂量,小群组的受试者(例如,6名受试者)将接受多至3mg/kg AZD9150(以3mg/kg开始,并且如果存在安全性问题,降低剂量)以及3或10mg/kg MEDI4736的组合。

[0378] 1b期:多至五十名患者将接受在1a期中建立的AZD9150+MEDI4736剂量,并且多至五十名患者将仅接受与该组合中所使用的剂量相同的MEDI4736。来自DLBCL的AZD9150的先前临床试验的AZD9150单一疗法应答率将用作对该组合疗法的另一个比较。

[0379] 将获得所有受试者的PD-L1肿瘤表达的基线水平,以便与临床应答相关。此外,将通过免疫分型监测一些循环白细胞群体(例如,骨髓衍生的抑制性细胞MDSC),以评定对临床应答的相关性。

[0380] 成功被定义为在整个患者群体中或在生物标志物限定的亚组中,AZD9150和MEDI4736组合相对于以其推荐的单一疗法剂量的任一药品具有优异的应答率或存活益处。

[0381] 其他实施例

[0382] 从前述说明中,将显而易见的是,可以对在此所述的发明作出变更和修改以使其适应于各种用途和状况。这样的实施例也在下述权利要求的范围内。

[0383] 在变量的任何定义中对要素清单的叙述在本文中包括将该变量定义为任何单个要素或所列要素的组合(或次组合)。在此的实施例的叙述包括作为任何单个实施例或与任何其他实施例或其部分结合的实施例。

[0384] 本说明书中提及的全部专利和出版物通过引用方式以相同的程度结合在此,如同每份单独的专利和出版物具体地且个别地指出通过引用的方式结合。

[0385] 提供了以下另外的方面:

[0386] 1. 一种治疗方法,该治疗方法包括向对其有需要的患者给予:(i)抗PD-L1抗体或其抗原结合片段;以及(ii)靶向STAT3的反义化合物。

[0387] 2. 如方面1所述的方法,其中该抗PD-L1抗体选自:MEDI4736、MPDL3280A、BMS936559、2.7A4、AMP-714以及MDX-1105。

[0388] 3. 如方面2所述的方法,其中该抗PD-L1抗体是MEDI4736。

[0389] 4. 如方面1所述的方法,其中靶向STAT3的该反义化合物不抑制STAT1、STAT4或STAT6。

[0390] 5. 如方面1所述的方法,其中靶向STAT3的该反义化合物是一种反义寡核苷酸。

[0391] 6. 如方面1或方面5所述的方法,其中靶向STAT3的该反义化合物是AZD9150。

[0392] 7. 如方面1所述的方法,其中该患者患有癌症。

[0393] 8. 如方面7所述的方法,其中该癌症选自:肺癌;包括非小细胞肺癌(NSCLC);乳腺癌,包括三阴性乳腺癌;卵巢癌,包括浆液性卵巢癌;胰腺癌;结肠直肠癌;肝细胞癌(HCC);头颈癌,包括头颈部鳞状细胞癌(HNSCC);以及淋巴瘤,包括弥漫性大B细胞癌(DLBCL)。

[0394] 9. 如方面8所述的方法,其中该癌细胞表达PD-L1。

[0395] 10. 如方面1所述的方法,其中对其有需要的该患者被鉴定为患有PD-L1阳性的癌症。

[0396] 11. 如前述方面中任一个所述的方法,其中该抗PD-L1抗体是MEDI4736,并且靶向STAT3的该反义化合物是AZD9150。

[0397] 12. 如方面11所述的方法,其中向对其有需要的患者给予约1mg/kg与20mg/kg之间的MEDI4736或其抗原结合片段,以及约1mg/kg与10mg/kg之间的AZD9150。

[0398] 13. 如方面12所述的方法,其中每周、每2周、每3周或每4周给予该治疗。

[0399] 14. 如方面1-13中任一个所述的方法,其中每剂量给予约1mg/kg MEDI4736或其抗原结合片段,以及约3mg/kg AZD9150。

[0400] 15. 如方面1-14中任一个所述的方法,其中该方法导致与仅给予该MEDI4736或该AZD9150相比,无进展存活期和/或总存活期增加。

[0401] 16. 如方面2-15中任一个所述的方法,其中MEDI4736或其抗原结合片段的该给予是通过静脉内输注。

[0402] 17. 如方面4-16中任一个所述的方法,其中AZD9150的该给予是通过静脉内输注。

[0403] 18. 如方面2-15中任一个所述的方法,其中同时或在不同时间给予AZD9150和MEDI4736或其抗原结合片段。

[0404] 19. 一种用于治疗癌症的试剂盒,该试剂盒包含MEDI4736或其抗原结合片段和AZD9150。

[0405] 20. 一种药物组合物,该药物组合物包含与药学上可接受的稀释剂或载体相关的MEDI4736或其抗原结合片段和AZD9150。

[0406] 21. 如方面20所述的药物组合物,其中配制该药物组合物以提供约1mg/kg至约20mg/kg剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,以及约1mg/kg至约10mg/kg剂量的AZD9150。

[0407] 22. 如方面21所述的药物组合物,其中配制该药物组合物以提供约1mg/kg剂量的MEDI4736或其抗原结合片段,以及约3mg/kg剂量的AZD9150。

[0408] 23. 一种用于调节温血动物诸如人的免疫浸润细胞的方法,该方法包括在向所述动物给予有效量的AZD9150之前、之后或同时,给予有效量的MEDI4736或其抗原结合片段。

[0001] <110> 阿斯利康制药有限公司(AstraZeneca AB)
[0002] <120> 组合
[0003] <130> 200252-WO-PCT
[0004] <160> 38
[0005] <170> PatentIn版本3.5
[0006] <210> 1
[0007] <211> 4978
[0008] <212> DNA
[0009] <213> 智人
[0010] <400> 1
[0011] ggtttccgga gctgcggcgg cgca gactgg gagggggagc cgggggttcc gacgtcgcag 60
[0012] ccgagggAAC aagccccAAC cggatcctgg acaggcacCC cggcttggcg ctgtctctcc 120
[0013] ccctcggctc ggagaggccc ttccgcctga gggagcctcg ccgcCcgtcc ccggcacacg 180
[0014] cgcagccccg gcctctcgGC ctctgcggga gaaacagttg ggaccCCTGA tttagcagg 240
[0015] atggcccaat ggaatcagct acagcagctt gacacacggT acctggagca gctccatcag 300
[0016] ctctacagtG acagcttccc aatggagctg cggcagttc tggcccTTG gattgagagt 360
[0017] caagattggg catatgcggc cagcaaagaa tcacatGCCA ctgggtgtt tcataatctc 420
[0018] ctgggagaga ttgaccagca gtatagccgc ttccTGcaag agtcaatgt tctctatcag 480
[0019] cacaatctac gaagaatcaa gcagtttctt cagagcaggT atcttgagaa gccaatggag 540
[0020] attgcccggA ttgtggcccg gtgcctgtgg gaagaatcac gccttctaca gactgcagcc 600
[0021] actgcggcccc agcaaggggg ccaggccAAC cacCCcacAG cagccgtggT gacggagaag 660
[0022] cagcagatgc tggagcagca cttcaggat gtccggaaAGA gagtcaggA tctagaacAG 720
[0023] aaaatgaaAG tggtagagaa tctccaggat gactttgatt tcaactataa aaccctcaag 780
[0024] agtcaaggAG acatgcAAAGA tctgaatggA aacaaccAGT cagtgaccAG gcagaAGATg 840
[0025] cagcagctgg aacagatgt cactgcgctg gaccagatgc ggagaAGcat cgtgagtGAG 900
[0026] ctggcggggc ttttgcAGc gatggagtac gtgcagaaaa ctctacggA cgaggAGctG 960
[0027] gctgactggA agaggcggcA acagattGCC tgcattggag gcccGCCAA catctgccta 1020
[0028] gatcggtAG aaaaACTggAT aacgtcatta gcagaatCTC aacttcAGAC ccgtcaacAA 1080
[0029] attaagAAAC tggaggAGTT gcagcaaaaa gtttccTACA aaggGGACCC cattgtacAG 1140
[0030] caccggccgA tgctggagGA gagaatcgtG gagctgttA gaaacttaat gaaaAGTgCC 1200
[0031] tttgtggTgg agcggcAGcc ctgcattGCC atgcattcTG accggccCT cgtcatcaAG 1260
[0032] accggcgtcc agttcaCTAC taaagtCAGG ttgctggTCA aattccCTGA gttgaatttA 1320
[0033] cagctaaaaA ttaaAGTGTG cattgacAAA gactctgggg acgttgcAGC tctcAGAGGA 1380
[0034] tcccgaaat ttaacattCTT gggcacAAAC acaAAAGtGA tgaacatggA agaATCCAAc 1440
[0035] aacggcAGCC tctctgcAGA attcaAAACAC ttgaccCTGA gggagcAGAG atgtggGAAT 1500
[0036] gggggccgAG ccaattgtGA tgcttccCTG attgtgactG aggAGctGC cctgatcacc 1560
[0037] ttgagaccG aggtgtatCA ccaaggcCTC aagattGACC tagagacCCa ctccttGCCA 1620
[0038] gtgtggTGA tctccAAcat ctgtcAGATG ccaaATGCTT gggcgTCCat cctgtggTAC 1680
[0039] aacatgctGA ccaacaATCC caagaatgtA aacttttTA ccaagcccc aattggAAcC 1740
[0040] tgggatcaAG tggccgaggT cctgagctgg cagttctcCT ccaccacCAA gcgaggactG 1800
[0041] agcatcgAGC agctgactAC actggcAGAG aaactcttgg gacctggTGT gaattattCA 1860

[0042]	gggtgtcaga tcacatggc taaatttcgc aaagaaaaaca tggctggcaa gggcttctcc 1920
[0043]	tctgggtct ggctggacaa tatttcgc cttgtaaaaa agtacatcct gccccttgg 1980
[0044]	aacgaagggt acatcatggc cttatcgt aaggagcggg agcggccat cttgagcact 2040
[0045]	aagcctccag gcaccccttgc gctaagattc agtgaagca gcaaagaagg aggccgtact 2100
[0046]	ttcacttggg tggagaagga catcagcgt aagacccaga tccagtcgt ggaaccatac 2160
[0047]	acaaaggcgc agctgaacaa catgtcattt gctgaaatca tcatggcttta agatcatg 2220
[0048]	gatgctacca atatccttgc gtctccactg gtctatctt atcctgacat tcccaaggag 2280
[0049]	gaggcattcg gaaagtattt tcggccagag agccaggagc atcctgaagc tgacccagg 2340
[0050]	agcgctgccc catacctgaa gaccaagttt atctgtgtt caccaacgac ctgcagcaat 2400
[0051]	accattgacc tgccgatgtc ccccccactt ttagattcat ttagtcgtt tggaaataat 2460
[0052]	ggtaaggtt ctgaaccctc agcaggaggg cagtttgat ccctcacctt tgacatggag 2520
[0053]	ttgacctcg agtgcgtac ctccccatg tgaggagctg agaacggaa ctgcagaaag 2580
[0054]	atacgactga ggcccttacc tgcattctgc caccctcac acagccaaac cccagatcat 2640
[0055]	ctgaaactac taacttgcgtt gttccagatt ttttttaatc tcctacttct gctatcttgc 2700
[0056]	agcaatctgg gcactttaa aaatagagaa atgagtgaat gtgggtgatc tgctttatc 2760
[0057]	taaatgcataa taaggatgtt ttctctgaga cccatgatca gggatgtgg cgggggtgg 2820
[0058]	ctagaggag aaaaaggaaa tgcttgcgtt tgtttgcctt ccctgcctc ctttcgtac 2880
[0059]	agcttttgtt tattgtgtt gttttctta gacaagtgc tcctgggcc tgcggcatcc 2940
[0060]	ttctgcctgt ttctgttaagc aaatgccaca ggccacctat agctacatac tcctggcatt 3000
[0061]	gcactttta accttgcgtc catccaaata gaagatagga ctatctaagc cctagtttc 3060
[0062]	tttttaaattt aagaataat aacaattttt gggcaaaaaa cactgtatca gcatagcctt 3120
[0063]	tctgtatcca agaaactaa gcagccggc atggcggctc acgcctgttcc tcccaagca 3180
[0064]	ttgggaggcc gaggcggatc ataaggctcgtt gaccaatggc ccatccgttcc taacacgggt 3240
[0065]	aaacccgtc tctactaaaaa gtacaaaaaa ttagctgggt gtgggtggg ggcctgttag 3300
[0066]	tcccagctac tcgggaggct gaggcaggag aatgcgttgc acctgagagg cggaggttgc 3360
[0067]	agtgcacca aattgcacca ctgcacactg cactccatcc tggcgcacag tctgagactc 3420
[0068]	tgtctcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagaaa cttcgtttaa cagcccttgc ggtctttaa 3480
[0069]	gcattcagct tccttcaggc tgtaatttata tataatccct gaaacggct tcaggtcaaa 3540
[0070]	cccttaagac atctgaagct gcaacctggc ctgggtgtt gaaataggaa gtttaagga 3600
[0071]	gaatctaagc attttagact ttttttata aatagactta ttttccttgc taatgtattt 3660
[0072]	gccttttagt gagtaaggct gggcagaggg tgcttacaac ctgtactccc tttctccctg 3720
[0073]	gacttgcgtt gctgtttcgtt aggttaggtt gtttctgtgg gtgccttac agggctggg 3780
[0074]	tacttctgtat tctggcttcc ttccctcccc accctcccgaa ccccgatccc cctgatcctg 3840
[0075]	ctagaggcat gtctccctgc gtgtctaaag gtccctcatc ctgtttgttt taggaatcc 3900
[0076]	ggtctcagga cctcatggaa gaagaggggg agagagttac aggttggaca tgatgcacac 3960
[0077]	tatggggccc cagcgacgtg tctgggttagt ctcaggaaat atggttcttta gccagtttc 4020
[0078]	tgtgtatc cagtggtact tgtaatggcg tcttcattca gttcatgcgtt ggcacaaaggct 4080
[0079]	tactgataaa cttgagtcgt ccctcgatc aggggtata cctggctcc ctctgaggct 4140
[0080]	ggtgactcct ccctgctggg gccccacagg tgaggcagaa cagctagagg gcctccccgc 4200
[0081]	ctgccccct tggctggctt gctgcctct cctgtgcgtt tggttacacc tagcacgtgc 4260
[0082]	tggatggct gcctctgact cagaggcatg gccggatttgc gcaactcaaa accacccatgc 4320
[0083]	ctcagctgtat cagagtttgcgtt gtttgcgtt tcaatttgcgtt tggctctgc 4380

[0084]	attaaggggg agacgaccc ttcttaagatg aacagggttc gccccagtc tcctgcctgg	4440
[0085]	agacagttga tgtgtcatgc agagctctt cttctccagc aacactctt agtacataat	4500
[0086]	aagcttaact gataaaacaga atattttagaa aggtgagact tgggcttacc attgggttta	4560
[0087]	aatcataggg accttagggcg agggttcagg gcttctctgg agcagatatt gtcaagttca	4620
[0088]	tggccttagg tagcatgtat ctggcttaa ctctgattgt agcaaaagtt ctgagaggag	4680
[0089]	ctgagccctg ttgtggcca ttaaagaaca gggcctcag gccctgccc cttcctgtcc	4740
[0090]	actgccccct ccccatcccc agcccagccg aggaaatccc gtgggttgct tacctaccta	4800
[0091]	taaggtggtt tataagctgc tgtcctggcc actgcattca aattccaaatg tgtacttcat	4860
[0092]	agtgtaaaaa tttatattat tgtgaggtt tttgtcttt tttttttttt ttttttttgg	4920
[0093]	tatattgctg tatctacttt aactccaga aataaacgtt atataggaac cgtaaaaaa	4978
[0094]	<210> 2	
[0095]	<211> 16	
[0096]	<212> DNA	
[0097]	<213> 人工序列	
[0098]	<220>	
[0099]	<223> 合成寡核苷酸(AZD9150)	
[0100]	<400> 2	
[0101]	ctatttggat gtcagc	16
[0102]	<210> 3	
[0103]	<211> 108	
[0104]	<212> PRT	
[0105]	<213> 智人	
[0106]	<223> MEDI4736 VL;来自PCT/US2010/058007的序列77	
[0107]	<400> 3	
[0108]	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly	
[0109]	1 5 10 15	
[0110]	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser	
[0111]	20 25 30	
[0112]	Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu	
[0113]	35 40 45	
[0114]	Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser	
[0115]	50 55 60	
[0116]	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu	
[0117]	65 70 75 80	
[0118]	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro	
[0119]	85 90 95	
[0120]	Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
[0121]	100 105	
[0122]	<210> 4	
[0123]	<211> 121	
[0124]	<212> PRT	
[0125]	<213> 智人	

- [0126] <223> MEDI4736 VH;来自PCT/US2010/058007的序列72
- [0127] <400> 4
- [0128] Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
- [0129] 1 5 10 15
- [0130] Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
- [0131] 20 25 30
- [0132] Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
- [0133] 35 40 45
- [0134] Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
- [0135] 50 55 60
- [0136] Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
- [0137] 65 70 75 80
- [0138] Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
- [0139] 85 90 95
- [0140] Ala Arg Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
- [0141] 100 105 110
- [0142] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
- [0143] 115 120
- [0144] <210> 5
- [0145] <211> 5
- [0146] <212> PRT
- [0147] <213> 智人
- [0148] <223> MEDI4736 VH CDR1;来自PCT/US2010/058007的序列73
- [0149] <400> 5
- [0150] Arg Tyr Trp Met Ser
- [0151] 1 5
- [0152] <210> 6
- [0153] <211> 17
- [0154] <212> PRT
- [0155] <213> 智人
- [0156] <223> MEDI4736 VH CDR2;来自PCT/US2010/058007的序列74
- [0157] <400> 6
- [0158] Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
- [0159] 1 5 10 15
- [0160] Gly
- [0161] <210> 7
- [0162] <211> 12
- [0163] <212> PRT
- [0164] <213> 智人
- [0165] <223> MEDI4736 VH CDR3;来自PCT/US2010/058007的序列75
- [0166] <400> 7
- [0167] Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr

[0168]	1	5	10	
[0169]	<210>	8		
[0170]	<211>	12		
[0171]	<212>	PRT		
[0172]	<213>	智人		
[0173]	<223>	MEDI4736 VL CDR1;来自PCT/US2010/058007的序列78		
[0174]	<400>	8		
[0175]	Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala			
[0176]	1	5	10	
[0177]	<210>	9		
[0178]	<211>	7		
[0179]	<212>	PRT		
[0180]	<213>	智人		
[0181]	<223>	MEDI4736 VL CDR2;来自PCT/US2010/058007的序列79		
[0182]	<400>	9		
[0183]	Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr			
[0184]	1	5		
[0185]	<210>	10		
[0186]	<211>	9		
[0187]	<212>	PRT		
[0188]	<213>	智人		
[0189]	<223>	MEDI4736 VL CDR3;来自PCT/US2010/058007的序列80		
[0190]	<400>	10		
[0191]	Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro Trp Thr			
[0192]	1	5		
[0193]	<210>	11		
[0194]	<211>	16		
[0195]	<212>	DNA		
[0196]	<213>	人工序列		
[0197]	<223>	合成寡和昔酸(鼠STAT3 ASO)		
[0198]	<400>	11		
[0199]	gaaattcatt cttcca			16
[0200]	<210>	12		
[0201]	<211>	16		
[0202]	<212>	DNA		
[0203]	<213>	人工序列		
[0204]	<223>	合成寡核昔酸(鼠对照ASO)		
[0205]	<400>	12		
[0206]	ggctactacg ccgtca			16
[0207]	<210>	13		
[0208]	<211>	139		
[0209]	<212>	PRT		

- [0210] <213> 智人
- [0211] <223> 曲美木单抗VL
- [0212] <400> 13
- [0213] Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
- [0214] 1 5 10 15
- [0215] Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asp Trp Tyr Gln Gln Lys
- [0216] 20 25 30
- [0217] Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
- [0218] 35 40 45
- [0219] Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
- [0220] 50 55 60
- [0221] Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
- [0222] 65 70 75 80
- [0223] Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys
- [0224] 85 90 95
- [0225] Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
- [0226] 100 105 110
- [0227] Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
- [0228] 115 120 125
- [0229] Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
- [0230] 130 135
- [0231] <210> 14
- [0232] <211> 167
- [0233] <212> PRT
- [0234] <213> 智人
- [0235] <223> 曲美木单抗VH
- [0236] <400> 14
- [0237] Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
- [0238] 1 5 10 15
- [0239] Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
- [0240] 20 25 30
- [0241] Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn
- [0242] 35 40 45
- [0243] Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
- [0244] 50 55 60
- [0245] Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
- [0246] 65 70 75 80
- [0247] Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Arg Gly Ala Thr Leu
- [0248] 85 90 95
- [0249] Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
- [0250] 100 105 110
- [0251] Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

[0252]	115	120	125
[0253]	Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu		
[0254]	130	135	140
[0255]	Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly		
[0256]	145	150	155
[0257]	Ala Leu Thr Ser Gly Val His		
[0258]	165		
[0259]	<210> 15		
[0260]	<211> 10		
[0261]	<212> PRT		
[0262]	<213> 智人		
[0263]	<223> 曲美木单抗VH CDR1		
[0264]	<400> 15		
[0265]	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His		
[0266]	1 5	10	
[0267]	<210> 16		
[0268]	<211> 15		
[0269]	<212> PRT		
[0270]	<213> 智人		
[0271]	<223> 曲美木单抗VH CDR2		
[0272]	<400> 16		
[0273]	Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
[0274]	1 5	10	15
[0275]	<210> 17		
[0276]	<211> 16		
[0277]	<212> PRT		
[0278]	<213> 智人		
[0279]	<223> 曲美木单抗VH CDR3		
[0280]	<400> 17		
[0281]	Asp Pro Arg Gly Ala Thr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val		
[0282]	1 5	10	15
[0283]	<210> 18		
[0284]	<211> 11		
[0285]	<212> PRT		
[0286]	<213> 智人		
[0287]	<223> 曲美木单抗VL CDR1		
[0288]	<400> 18		
[0289]	Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asp		
[0290]	1 5	10	
[0291]	<210> 19		
[0292]	<211> 7		
[0293]	<212> PRT		

[0294]	<213> 智人		
[0295]	<223> 曲美木单抗VL CDR2		
[0296]	<400> 19		
[0297]	Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser		
[0298]	1	5	
[0299]	<210> 20		
[0300]	<211> 9		
[0301]	<212> PRT		
[0302]	<213> 智人		
[0303]	<223> 曲美木单抗VL CDR3		
[0304]	<400> 20		
[0305]	Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr		
[0306]	1	5	
[0307]	<210> 21		
[0308]	<211> 223		
[0309]	<212> PRT		
[0310]	<213> 智人		
[0311]	<223> CTLA-4多肽-GenBank登录号AAL07473.1		
[0312]	<400> 21		
[0313]	Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Gln Leu Asn Leu Ala		
[0314]	1	5	10
[0315]	Thr Arg Thr Trp Pro Cys Thr Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Ile Pro		
[0316]	20	25	30
[0317]	Val Phe Cys Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala		
[0318]	35	40	45
[0319]	Ser Ser Arg Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly		
[0320]	50	55	60
[0321]	Lys Ala Thr Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln		
[0322]	65	70	75
[0323]	Val Thr Glu Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr		
[0324]	85	90	95
[0325]	Phe Leu Asp Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val		
[0326]	100	105	110
[0327]	Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile		
[0328]	115	120	125
[0329]	Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly		
[0330]	130	135	140
[0331]	Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser		
[0332]	145	150	155
[0333]	Asp Phe Leu Leu Trp Ile Leu Ala Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe		
[0334]	165	170	175
[0335]	Tyr Ser Phe Leu Leu Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys		

[0336]	180	185	190
[0337]	Arg Ser Pro Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu		
[0338]	195	200	205
[0339]	Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn		
[0340]	210	215	220
[0341]	<210> 22		
[0342]	<211> 277		
[0343]	<212> PRT		
[0344]	<213> 智人		
[0345]	<223> OX40多肽		
[0346]	<400> 22		
[0347]	Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu		
[0348]	1 5 10 15		
[0349]	Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val		
[0350]	20 25 30		
[0351]	Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro		
[0352]	35 40 45		
[0353]	Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys		
[0354]	50 55 60		
[0355]	Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro		
[0356]	65 70 75 80		
[0357]	Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys		
[0358]	85 90 95		
[0359]	Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly		
[0360]	100 105 110		
[0361]	Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys		
[0362]	115 120 125		
[0363]	Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp		
[0364]	130 135 140		
[0365]	Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn		
[0366]	145 150 155 160		
[0367]	Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro		
[0368]	165 170 175		
[0369]	Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr		
[0370]	180 185 190		
[0371]	Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu		
[0372]	195 200 205		
[0373]	Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val		
[0374]	210 215 220		
[0375]	Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu		
[0376]	225 230 235 240		
[0377]	Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly		

[0378]	245	250	255
[0379]	Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser		
[0380]	260	265	270
[0381]	Thr Leu Ala Lys Ile		
[0382]	275		
[0383]	<210> 23		
[0384]	<211> 183		
[0385]	<212> PRT		
[0386]	<213> 智人		
[0387]	<223> OX40配体		
[0388]	<400> 23		
[0389]	Met Glu Arg Val Gln Pro Leu Glu Glu Asn Val Gly Asn Ala Ala Arg		
[0390]	1 5 10 15		
[0391]	Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln		
[0392]	20 25 30		
[0393]	Gly Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Thr Tyr Ile Cys Leu His Phe Ser		
[0394]	35 40 45		
[0395]	Ala Leu Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val		
[0396]	50 55 60		
[0397]	Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln		
[0398]	65 70 75 80		
[0399]	Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn		
[0400]	85 90 95		
[0401]	Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu		
[0402]	100 105 110		
[0403]	Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln		
[0404]	115 120 125		
[0405]	Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr		
[0406]	130 135 140		
[0407]	Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu		
[0408]	145 150 155 160		
[0409]	Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn		
[0410]	165 170 175		
[0411]	Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu		
[0412]	180		
[0413]	<210> 24		
[0414]	<211> 410		
[0415]	<212> PRT		
[0416]	<213> 人工序列		
[0417]	<223> OX40配体蛋白; 对应于美国专利7,959,925中的SEQ ID NO: 8		
[0418]	<400> 24		
[0419]	Leu Ala Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		

[0420]	1	5	10	15
[0421]	Leu	Leu	Gly	Gly
	Pro	Ser	Val	Phe
				Leu
				Phe
				Pro
				Pro
				Lys
				Pro
				Lys
				Asp
[0422]		20	25	30
[0423]	Thr	Leu	Met	Ile
	Ser	Arg	Thr	Pro
				Glu
				Val
				Thr
				Cys
				Val
				Val
				Asp
[0424]		35	40	45
[0425]	Val	Ser	His	Glu
	Asp	Pro	Glu	Val
				Lys
				Phe
				Asn
				Trp
				Tyr
				Val
				Asp
				Gly
[0426]		50	55	60
[0427]	Val	Glu	Val	His
	Asn	Ala	Lys	Thr
				Lys
				Pro
				Arg
				Glu
				Gln
				Tyr
				Asn
[0428]		65	70	75
[0429]	Ser	Thr	Tyr	Arg
	Val	Val	Ser	Val
				Leu
				Thr
				Val
				Leu
				His
				Gln
				Asp
				Trp
[0430]		85	90	95
[0431]	Leu	Asn	Gly	Lys
	Glu	Tyr	Lys	Cys
				Lys
				Val
				Ser
				Asn
				Lys
				Ala
				Leu
				Pro
[0432]		100	105	110
[0433]	Ala	Pro	Ile	Glu
				Lys
				Thr
				Ile
				Ser
				Ala
				Lys
				Gly
				Gln
				Pro
				Arg
				Glu
[0434]		115	120	125
[0435]	Pro	Gln	Val	Tyr
				Thr
				Leu
				Pro
				Pro
				Ser
				Arg
				Glu
				Glu
				Met
				Thr
				Lys
				Asn
[0436]		130	135	140
[0437]	Gln	Val	Ser	Leu
	Thr	Cys	Leu	Val
				Lys
				Gly
				Phe
				Tyr
				Pro
				Ser
				Asp
				Ile
[0438]		145	150	155
[0439]	Ala	Val	Glu	Trp
				Glu
				Ser
				Asn
				Gly
				Gln
				Pro
				Glu
				Asn
				Asn
				Tyr
				Lys
				Thr
[0440]		165	170	175
[0441]	Thr	Pro	Pro	Val
				Leu
				Asp
				Ser
				Asp
				Gly
				Ser
				Phe
				Leu
				Tyr
				Ser
				Lys
[0442]		180	185	190
[0443]	Leu	Thr	Val	Asp
				Lys
				Ser
				Arg
				Trp
				Gln
				Gln
				Gly
				Asn
				Val
				Phe
				Ser
				Cys
[0444]		195	200	205
[0445]	Ser	Val	Met	His
				Glu
				Ala
				Leu
				His
				Asn
				His
				Tyr
				Thr
				Gln
				Lys
				Ser
[0446]		210	215	220
[0447]	Ser	Leu	Ser	Pro
				Gly
				Lys
				Glu
				Leu
				Leu
				Gly
				Gly
				Ser
				Ile
				Lys
				Gln
[0448]		225	230	235
[0449]	Ile	Glu	Asp	Lys
	Ile	Glu	Glu	Ile
				Leu
				Ser
				Lys
				Ile
				Tyr
				His
				Ile
				Glu
[0450]		245	250	255
[0451]	Asn	Glu	Ile	Ala
				Arg
				Ile
				Lys
				Leu
				Ile
				Gly
				Glu
				Arg
				Gly
				His
				Gly
[0452]		260	265	270
[0453]	Gly	Gly	Ser	Asn
				Ser
				Gln
				Val
				Ser
				His
				Arg
				Tyr
				Pro
				Arg
				Phe
				Gln
				Ser
[0454]		275	280	285
[0455]	Ile	Lys	Val	Gln
				Phe
				Thr
				Glu
				Tyr
				Lys
				Glu
				Lys
				Gly
				Phe
				Ile
				Leu
[0456]		290	295	300
[0457]	Thr	Ser	Gln	Lys
				Glu
				Asp
				Glu
				Ile
				Met
				Lys
				Val
				Gln
				Asn
				Asn
				Ser
				Val
[0458]		305	310	315
[0459]	Ile	Ile	Asn	Cys
				Asp
				Gly
				Phe
				Tyr
				Leu
				Ile
				Ser
				Leu
				Lys
				Gly
				Tyr
				Phe
[0460]		325	330	335
[0461]	Ser	Gln	Glu	Val
				Asn
				Ile
				Ser
				Leu
				His
				Tyr
				Gln
				Lys
				Asp
				Glu
				Pro

[0462]	340	345	350
[0463]	Leu Phe Gln Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala		
[0464]	355	360	365
[0465]	Ser Leu Thr Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn		
[0466]	370	375	380
[0467]	Thr Ser Leu Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile		
[0468]	385	390	395
[0469]	His Gln Asn Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu		
[0470]	405	410	
[0471]	<210> 25		
[0472]	<211> 107		
[0473]	<212> PRT		
[0474]	<213> 智人		
[0475]	<223> 人源化抗OX40抗体VL		
[0476]	<400> 25		
[0477]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[0478]	1 5 10 15		
[0479]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr		
[0480]	20 25 30		
[0481]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
[0482]	35 40 45		
[0483]	Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
[0484]	50 55 60		
[0485]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[0486]	65 70 75 80		
[0487]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Trp		
[0488]	85 90 95		
[0489]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
[0490]	100 105		
[0491]	<210> 26		
[0492]	<211> 107		
[0493]	<212> PRT		
[0494]	<213> 智人		
[0495]	<223> 人源化抗OX40抗体VL		
[0496]	<400> 26		
[0497]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
[0498]	1 5 10 15		
[0499]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr		
[0500]	20 25 30		
[0501]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Val Lys Leu Leu Ile		
[0502]	35 40 45		
[0503]	Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		

[0504]	50	55	60
[0505]	Ser Gly Ser Arg Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
[0506]	65	70	75
[0507]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Trp		
[0508]		85	90
[0509]	95	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
[0510]	100	105	
[0511]	<210> 27		
[0512]	<211> 121		
[0513]	<212> PRT		
[0514]	<213> 智人		
[0515]	<223> 人源化抗OX40抗体VH		
[0516]	<400> 27		
[0517]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln		
[0518]	1	5	10
[0519]	15	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Ser Phe Ser Ser Gly	
[0520]	20	25	30
[0521]	Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Lys His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile		
[0522]	35	40	45
[0523]	Gly Tyr Ile Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Tyr His Asn Pro Ser Leu Lys		
[0524]	50	55	60
[0525]	Ser Arg Ile Thr Ile Asn Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu		
[0526]	65	70	75
[0527]	80	Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala	
[0528]	85	90	95
[0529]	Arg Tyr Lys Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly His Ala Met Asp Tyr Trp Gly		
[0530]	100	105	110
[0531]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
[0532]	115	120	
[0533]	<210> 28		
[0534]	<211> 451		
[0535]	<212> PRT		
[0536]	<213> 智人		
[0537]	<223> 人源化抗OX40抗体重链		
[0538]	<400> 28		
[0539]	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln		
[0540]	1	5	10
[0541]	15	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Ser Phe Ser Ser Gly	
[0542]	20	25	30
[0543]	Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Lys His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile		
[0544]	35	40	45
[0545]	Gly Tyr Ile Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Tyr His Asn Pro Ser Leu Lys		

[0546]	50	55	60
[0547]	Ser Arg Ile Thr Ile Asn Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu		
[0548]	65	70	75
[0549]	Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
[0550]	85	90	95
[0551]	Arg Tyr Lys Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly His Ala Met Asp Tyr Trp Gly		
[0552]	100	105	110
[0553]	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
[0554]	115	120	125
[0555]	Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
[0556]	130	135	140
[0557]	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
[0558]	145	150	155
[0559]	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
[0560]	165	170	175
[0561]	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
[0562]	180	185	190
[0563]	Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
[0564]	195	200	205
[0565]	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys		
[0566]	210	215	220
[0567]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
[0568]	225	230	235
[0569]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
[0570]	245	250	255
[0571]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
[0572]	260	265	270
[0573]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
[0574]	275	280	285
[0575]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
[0576]	290	295	300
[0577]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
[0578]	305	310	315
[0579]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
[0580]	325	330	335
[0581]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
[0582]	340	345	350
[0583]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
[0584]	355	360	365
[0585]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
[0586]	370	375	380
[0587]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		

[0588]	385	390	395	400
[0589]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val			
[0590]		405	410	415
[0591]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
[0592]		420	425	430
[0593]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser			
[0594]		435	440	445
[0595]	Pro Gly Lys			
[0596]		450		
[0597]	<210> 29			
[0598]	<211> 214			
[0599]	<212> PRT			
[0600]	<213> 智人			
[0601]	<223> 人源化抗OX40抗体轻链			
[0602]	<400> 29			
[0603]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
[0604]	1 5 10 15			
[0605]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr			
[0606]		20 25 30		
[0607]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
[0608]		35 40 45		
[0609]	Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
[0610]		50 55 60		
[0611]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
[0612]		65 70 75 80		
[0613]	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Trp			
[0614]		85 90 95		
[0615]	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala			
[0616]		100 105 110		
[0617]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly			
[0618]		115 120 125		
[0619]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala			
[0620]		130 135 140		
[0621]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln			
[0622]		145 150 155 160		
[0623]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser			
[0624]		165 170 175		
[0625]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr			
[0626]		180 185 190		
[0627]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser			
[0628]		195 200 205		
[0629]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys			

[0630]	210		
[0631]	<210>	30	
[0632]	<211>	412	
[0633]	<212>	PRT	
[0634]	<213>	智人	
[0635]	<223>	人源化抗OX40抗体	
[0636]	<400>	30	
[0637]	Ala Pro Leu Ala Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
[0638]	1	5	10
			15
[0639]	Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
[0640]		20	25
			30
[0641]	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
[0642]		35	40
			45
[0643]	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
[0644]		50	55
			60
[0645]	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
[0646]		65	70
			75
[0647]	Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
[0648]		85	90
			95
[0649]	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
[0650]		100	105
			110
[0651]	Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
[0652]		115	120
			125
[0653]	Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr		
[0654]		130	135
			140
[0655]	Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
[0656]		145	150
			155
[0657]	160		
[0658]	Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
[0659]		165	170
			175
[0660]	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
[0661]		180	185
			190
[0662]	Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
[0663]		195	200
			205
[0664]	Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		
[0665]		210	215
			220
[0666]	Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ile		
[0667]		225	230
			235
[0668]	Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His		
[0669]		245	250
			255
[0670]	Ile Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly		
[0671]		260	265
			270
[0672]	His Gly Gly Gly Ser Asn Ser Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Phe		

[0672]	275	280	285
[0673]	Gln Ser Ile Lys Val Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe		
[0674]	290	295	300
[0675]	Ile Leu Thr Ser Gln Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn		
[0676]	305	310	315
[0677]	Ser Val Ile Ile Asn Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly		
[0678]	325	330	335
[0679]	Tyr Phe Ser Gln Glu Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu		
[0680]	340	345	350
[0681]	Glu Pro Leu Phe Gln Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met		
[0682]	355	360	365
[0683]	Val Ala Ser Leu Thr Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr		
[0684]	370	375	380
[0685]	Asp Asn Thr Ser Leu Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile		
[0686]	385	390	395
[0687]	Leu Ile His Gln Asn Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu		
[0688]	405	410	
[0689]	<210> 31		
[0690]	<211> 1206		
[0691]	<212> DNA		
[0692]	<213> 智人		
[0693]	<223> huIgG4FcPTF20X40L的DNA序列(5'至3'可读框)		
[0694]	<400> 31		
[0695]	gagagcaagt acggccctcc ctgccccct tgccctgccc ccgagttcct gggcggacct	60	
[0696]	agcgtgttcc tggccccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag aaccccccag	120	
[0697]	gtgacctgctg tgggtggtaa cgtgtccctg gaggaccccg aggtccagtt taattggtaa	180	
[0698]	gtggacggcg tggaaagtgc taacgccaag accaagccca gagaggagca gttcaacagc	240	
[0699]	acctacagag tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa	300	
[0700]	tacaagtgc aaggctccaa caagggcctg cctagcagca tcgagaagac catcagcaag	360	
[0701]	gcacaaggccc agccacggga gccccagggt tacaccctgc cacctagcca agaggagatg	420	
[0702]	accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaaaggct tctatcccag cgatatcgcc	480	
[0703]	gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg	540	
[0704]	gacagcgacg gcagcttctt cctgtactcc agactgaccg tggacaagtc cagatggcag	600	
[0705]	gagggcaacg tcttcagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag	660	
[0706]	aagtccctga gcctgagccct gggcaaggac caggataaga tcgaggctct gtcctccaag	720	
[0707]	gtgcagcagc tggaaacggtc catggccctg aaggacctgg ccatggctga cctggAACAG	780	
[0708]	aaagtgcgtgg aaatggaaagc ctccacacag gtgtcacaca gatacccccg gatccagtcc	840	
[0709]	attaaggtgc agttcaccga gtacaagaaa gagaaggct ttatcctgac ctcccaagaaa	900	
[0710]	gaggacgaga tcatgaaggt gcagaacaac tccgtgatca tcaactgcga cgggttctac	960	
[0711]	ctgatctccc tgaagggtcta cttcagccag gaagtgaaca tctccctgca ctaccagaag	1020	
[0712]	gacgaggaac ccctgttcca gctgaagaaa gtgcggagcg tgaactccct gatggtgccc	1080	
[0713]	tctctgacct acaaggacaa ggtgtacctg aacgtgacca ccgacaacac ctccctggac	1140	

[0714]	gacttccacg	tgaacggcgg	cgagctgatc	ctgatccacc	agaaccctgg	cgagttctgc	1200											
[0715]	gtgctg						1206											
[0716]	<210>	32																
[0717]	<211>	402																
[0718]	<212>	PRT																
[0719]	<213>	智人																
[0720]	<223>	huIgG4FcPTF20X40L的氨基酸序列(N至C端)																
[0721]	<400>	32																
[0722]	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe		
[0723]	1				5				10						15			
[0724]	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr		
[0725]						20				25					30			
[0726]	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val		
[0727]						35				40					45			
[0728]	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val		
[0729]						50			55						60			
[0730]	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser		
[0731]						65			70			75			80			
[0732]	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu		
[0733]						85				90					95			
[0734]	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser		
[0735]						100				105					110			
[0736]	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro		
[0737]						115			120						125			
[0738]	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln		
[0739]						130			135			140						
[0740]	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala		
[0741]						145			150			155			160			
[0742]	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr		
[0743]						165				170					175			
[0744]	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu		
[0745]						180			185			190						
[0746]	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser		
[0747]						195			200			205						
[0748]	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser		
[0749]						210			215			220						
[0750]	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Asp	Gln	Asp	Lys	Ile	Glu	Ala	Leu	Ser	Ser	Lys		
[0751]						225			230			235			240			
[0752]	Val	Gln	Gln	Leu	Glu	Arg	Ser	Ile	Gly	Leu	Lys	Asp	Leu	Ala	Met	Ala		
[0753]						245				250					255			
[0754]	Asp	Leu	Glu	Gln	Lys	Val	Leu	Glu	Met	Glu	Ala	Ser	Thr	Gln	Val	Ser		
[0755]						260			265			270						

[0756] His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val Gln Phe Thr Glu Tyr
 [0757] 275 280 285
 [0758] Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln Lys Glu Asp Glu Ile
 [0759] 290 295 300
 [0760] Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn Cys Asp Gly Phe Tyr
 [0761] 305 310 315 320
 [0762] Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu Val Asn Ile Ser Leu
 [0763] 325 330 335
 [0764] His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln Leu Lys Lys Val Arg
 [0765] 340 345 350
 [0766] Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr Tyr Lys Asp Lys Val
 [0767] 355 360 365
 [0768] Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu Asp Asp Phe His Val
 [0769] 370 375 380
 [0770] Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn Pro Gly Glu Phe Cys
 [0771] 385 390 395 400
 [0772] Val Leu
 [0773] <210> 33
 [0774] <211> 1206
 [0775] <212> DNA
 [0776] <213> 智人
 [0777] <223> huIgG4FcPTF20X40L F180A的DNA序列(5'至3'可读框)
 [0778] <400> 33
 [0779] gagagcaagt acggccctcc ctgccccct tgccctgccc ccgagttcct gggcggacct 60
 [0780] aacgtgttcc tggccccccc caagcccaag gacaccctga tgatcagcag aaccccccag 120
 [0781] gtgacctgctg tgggtggtaa cgtgtccctg gaggaccccg aggtccagtt taattggtaa 180
 [0782] gtggacggcg tggaaatgtca taacgccaag accaagccca gagaggagca gttcaacagc 240
 [0783] acctacagag tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300
 [0784] tacaagtgc aaggctccaa caagggcctg cctagcagca tcgagaagac catcagcaag 360
 [0785] gccaaggggcc agccacggga gccccaggc tacaccctgc cacctagcca agaggagatg 420
 [0786] accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaaaggct tctatcccag cgatatcgcc 480
 [0787] gtggagtggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 540
 [0788] gacagcgacg gcagcttctt cctgtactcc agactgaccg tggacaagtc cagatggcag 600
 [0789] gagggcaacg tcttcagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 660
 [0790] aagtccctga gcctgagccct gggcaaggac caggataaga tcgaggctct gtcctccaag 720
 [0791] gtgcagcagc tggaaacggc catggccctg aaggacctgg ccatggctga cctggaaacag 780
 [0792] aaagtgtctgg aaatggaaagc ctccacacag gtgtcacaca gatacccccg gatccagtcc 840
 [0793] attaaggtgc agttcaccga gtacaagaaa gagaaggct ttatcctgac ctcccaagaaa 900
 [0794] gaggacgaga tcatgaaggt gcagaacaac tccgtgatca tcaactgcga cgggttctac 960
 [0795] ctgatctccc tgaagggtcta cttcagccag gaagtgaaca tctccctgca ctaccagaag 1020
 [0796] gacgaggaac ccctgttcca gctgaagaaa gtgcggagcg tgaactccct gatggtgccc 1080
 [0797] tctctgacct acaaggacaa ggtgtacctg aacgtgacca ccgacaacac ctccctggac 1140

[0798]	gacttccacg	tgaacggcgg	cgagctgatc	ctgatccacc	agaaccctgg	cgaggcctgc	1200									
[0799]	gtgctg						1206									
[0800]	<210>	34														
[0801]	<211>	1206														
[0802]	<212>	PRT														
[0803]	<213>	智人														
[0804]	<223>	huIgG4PFcTF20X40L F180A的氨基酸序列(N至C端)														
[0805]	<400>	34														
[0806]	Gly	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Cys	Cys					
[0807]	1		5			10				15						
[0808]	Cys	Thr	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Cys	Thr	Thr	Gly	
[0809]			20			25				30						
[0810]	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Gly	Ala	Gly	Thr	Thr	Cys	
[0811]			35			40				45						
[0812]	Cys	Thr	Gly	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Gly	Cys	Gly
[0813]			50			55				60						
[0814]	Thr	Gly	Thr	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly	Thr	Thr	Cys	Cys	Cys	Cys	Cys	Cys
[0815]			65			70			75		80					
[0816]	Cys	Ala	Ala	Gly	Cys	Cys	Cys	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Ala	Cys	Cys
[0817]				85			90				95					
[0818]	Cys	Thr	Gly	Ala	Thr	Gly	Ala	Thr	Cys	Ala	Gly	Cys	Ala	Gly	Ala	Ala
[0819]				100			105				110					
[0820]	Cys	Cys	Cys	Cys	Cys	Gly	Ala	Gly	Gly	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Thr	Gly
[0821]				115			120				125					
[0822]	Cys	Gly	Thr	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly
[0823]			130			135				140						
[0824]	Thr	Cys	Cys	Cys	Ala	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Cys	Cys	Cys	Gly
[0825]			145			150			155		160					
[0826]	Ala	Gly	Gly	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Thr	Thr	Thr	Ala	Ala	Thr	Thr	Gly
[0827]				165			170				175					
[0828]	Gly	Thr	Ala	Cys	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Cys	Gly	Gly	Cys	Gly	Thr	Gly
[0829]				180			185				190					
[0830]	Gly	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Ala	Thr	Ala	Ala	Cys	Gly	Cys	Cys	Ala
[0831]				195			200				205					
[0832]	Ala	Gly	Ala	Cys	Cys	Ala	Ala	Gly	Cys	Cys	Cys	Ala	Gly	Ala		
[0833]			210			215				220						
[0834]	Gly	Gly	Ala	Gly	Cys	Ala	Gly	Thr	Thr	Cys	Ala	Ala	Cys	Ala	Gly	Cys
[0835]			225			230			235		240					
[0836]	Ala	Cys	Cys	Thr	Ala	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Thr	Gly	Gly	Thr	Gly	Thr
[0837]				245			250				255					
[0838]	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Cys	Thr
[0839]				260			265				270					

[0840]	Gly Cys Ala Cys Cys Ala Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Gly		
[0841]	275	280	285
[0842]	Ala Ala Cys Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Thr Ala Cys Ala		
[0843]	290	295	300
[0844]	Ala Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala		
[0845]	305	310	315
[0846]	Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Thr Gly Cys Cys Thr Ala Gly Cys		
[0847]	325	330	335
[0848]	Ala Gly Cys Ala Thr Cys Gly Ala Gly Ala Ala Cys Cys Ala		
[0849]	340	345	350
[0850]	Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Ala Ala Gly Gly Gly		
[0851]	355	360	365
[0852]	Cys Cys Ala Gly Cys Cys Ala Cys Gly Gly Ala Gly Cys Cys Cys		
[0853]	370	375	380
[0854]	Cys Ala Gly Gly Thr Cys Thr Ala Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys		
[0855]	385	390	395
[0856]	Cys Ala Cys Cys Thr Ala Gly Cys Cys Ala Ala Gly Ala Gly Gly Ala		
[0857]	405	410	415
[0858]	Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Ala Gly		
[0859]	420	425	430
[0860]	Gly Thr Gly Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys Cys Thr Gly Thr Cys		
[0861]	435	440	445
[0862]	Thr Gly Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Ala		
[0863]	450	455	460
[0864]	Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Gly Ala Thr Ala Thr Cys Gly Cys Cys		
[0865]	465	470	475
[0866]	Gly Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Gly Ala Gly Cys Ala		
[0867]	485	490	495
[0868]	Ala Cys Gly Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Ala Gly Ala Ala		
[0869]	500	505	510
[0870]	Cys Ala Ala Cys Thr Ala Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Ala Cys Cys		
[0871]	515	520	525
[0872]	Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Ala		
[0873]	530	535	540
[0874]	Gly Cys Gly Ala Cys Gly Gly Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr		
[0875]	545	550	555
[0876]	Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Cys Thr Gly		
[0877]	565	570	575
[0878]	Ala Cys Cys Gly Thr Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Thr Cys Cys Ala		
[0879]	580	585	590
[0880]	Gly Ala Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Ala Gly Gly Cys Ala Ala		
[0881]	595	600	605

[0882]	Cys Gly Thr Cys Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Cys Cys		
[0883]	610	615	620
[0884]	Gly Thr Gly Ala Thr Gly Cys Ala Cys Gly Ala Gly Gly Cys Cys Cys		
[0885]	625	630	635
[0886]	640		
[0887]	Thr Gly Cys Ala Cys Ala Ala Cys Cys Ala Cys Thr Ala Cys Ala Cys		
[0888]	645	650	655
[0889]	Cys Cys Ala Gly Ala Ala Gly Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys		
[0890]	660	665	670
[0891]	Gly Thr Gly Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly		
[0892]	675	680	685
[0893]	Ala Cys Cys Ala Gly Gly Ala Thr Ala Ala Gly Ala Thr Cys Gly Ala		
[0894]	690	695	700
[0895]	Gly Gly Cys Thr Cys Thr Gly Thr Cys Cys Thr Cys Cys Ala Ala Gly		
[0896]	705	710	715
[0897]	720		
[0898]	Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Cys		
[0899]	725	730	735
[0900]	Gly Gly Thr Cys Cys Ala Thr Cys Gly Gly Cys Cys Thr Gly Ala Ala		
[0901]	740	745	750
[0902]	Gly Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys Cys Ala Thr Gly Gly Cys Thr		
[0903]	755	760	765
[0904]	Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Gly Gly Ala Ala Gly		
[0905]	770	775	780
[0906]	Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Gly Gly Ala Ala Gly Cys		
[0907]	785	790	795
[0908]	800		
[0909]	Cys Thr Cys Cys Ala Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Thr Cys Ala		
[0910]	805	810	815
[0911]	Cys Ala Cys Ala Gly Ala Thr Ala Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala		
[0912]	820	825	830
[0913]	830		
[0914]	Thr Cys Cys Ala Gly Thr Cys Cys Ala Thr Thr Ala Ala Gly Gly Thr		
[0915]	835	840	845
[0916]	Gly Cys Ala Gly Thr Thr Cys Ala Cys Cys Gly Ala Gly Thr Ala Cys		
[0917]	850	855	860
[0918]	865		
[0919]	Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Cys Thr		
[0920]	870	875	880
[0921]	Thr Thr Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Cys Cys Thr Cys Cys Ala		
[0922]	885	890	895
[0923]	Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys		
[0924]	900	905	910
[0925]	Ala Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Ala Ala Cys Ala		
[0926]	915	920	925
[0927]	Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly Ala Thr Cys Ala Thr Cys Ala Ala		
[0928]	930	935	940

[0924]	Cys Thr Gly Cys Gly Ala Cys Gly Gly Thr Thr Cys Thr Ala Cys			
[0925]	945	950	955	960
[0926]	Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly			
[0927]	965	970	975	
[0928]	Gly Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys Ala Gly Cys Cys Ala Gly Gly Ala			
[0929]	980	985	990	
[0930]	Ala Gly Thr Gly Ala Ala Cys Ala Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly			
[0931]	995	1000	1005	
[0932]	Cys Ala Cys Thr Ala Cys Cys Ala Gly Ala Ala Gly Gly Ala Cys			
[0933]	1010	1015	1020	
[0934]	Gly Ala Gly Gly Ala Ala Cys Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Cys			
[0935]	1025	1030	1035	
[0936]	Cys Ala Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Thr Gly			
[0937]	1040	1045	1050	
[0938]	Cys Gly Gly Ala Gly Cys Gly Thr Gly Ala Ala Cys Thr Cys Cys			
[0939]	1055	1060	1065	
[0940]	Cys Thr Gly Ala Thr Gly Gly Thr Gly Gly Cys Cys Thr Cys Thr			
[0941]	1070	1075	1080	
[0942]	Cys Thr Gly Ala Cys Cys Thr Ala Cys Ala Ala Gly Gly Ala Cys			
[0943]	1085	1090	1095	
[0944]	Ala Ala Gly Gly Thr Gly Thr Ala Cys Cys Thr Gly Ala Ala Cys			
[0945]	1100	1105	1110	
[0946]	Gly Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Cys Gly Ala Cys Ala Ala Cys			
[0947]	1115	1120	1125	
[0948]	Ala Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Gly Ala Cys Gly Ala Cys			
[0949]	1130	1135	1140	
[0950]	Thr Thr Cys Cys Ala Cys Gly Thr Gly Ala Ala Cys Gly Gly Cys			
[0951]	1145	1150	1155	
[0952]	Gly Gly Cys Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala Thr Cys Cys Thr Gly			
[0953]	1160	1165	1170	
[0954]	Ala Thr Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Ala Ala Cys Cys Cys Thr			
[0955]	1175	1180	1185	
[0956]	Gly Gly Cys Gly Ala Gly Gly Cys Cys Thr Gly Cys Gly Thr Gly			
[0957]	1190	1195	1200	
[0958]	Cys Thr Gly			
[0959]	1205			
[0960]	<210> 35			
[0961]	<211> 1200			
[0962]	<212> DNA			
[0963]	<213> 智人			
[0964]	<223> huIgG1TF20X40L的DNA序列(5'至3' 可读框)			
[0965]	<400> 35			

[0966] gataagaccc acacctgtcc cccttgcctt gcccctgaac tgctggcgg accttccgt 60
 [0967] ttccctgtcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc 120
 [0968] tgcgtggtgg tggatgtgtc ccacgaggac cctgaagtga agttaattt gtacgtggac 180
 [0969] ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cccagagagg aacagtacaa ctccacctac 240
 [0970] cgggtggtgtt ccgtgctgac cgtgctgcac caggattggc tgaacggcaa agagtacaag 300
 [0971] tgcaagggtgtt ccaacaaggc cctgcgtcc cccatcgaaa agaccatctc caaggccaag 360
 [0972] gcccagccccc gggaaacccca ggtgtacaca ctgcccccta gccggaga gatgaccaag 420
 [0973] aaccaggtgtt ccctgacactg tctcgtaag ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 480
 [0974] tgggagtcca acggccagcc tgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc 540
 [0975] gacggctcat tcttcctgtt ctccaagctg acagtggaca agtcccgtg gcagcaggc 600
 [0976] aacgtgttct cctgtccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 660
 [0977] ctgtccctga gccccggcaa ggaccaggat aagatcgagg ctctgtcctc caaggtgcag 720
 [0978] cagctggAAC ggtccatcggt cctgaaggac ctggccatgg ctgacctgga acagaaagtgg 780
 [0979] ctggaaatgg aagcctccac acaggtgtca cacagatacc cccgatcca gtccattaag 840
 [0980] gtgcagttca ccgagtacaa gaaagagaag ggctttatcc tgacccctt gaaagaggac 900
 [0981] gagatcatga aggtgcagaa caactccgtt atcatcaact gcacgggtt ctacctgatc 960
 [0982] tccctgaagg gctacttcag ccaggaagtgt aacatctccc tgactacca gaaggacgag 1020
 [0983] gaaccctgtt tccagctgaa gaaagtgcgg agcgttaact ccctgtatggt ggcctctctg 1080
 [0984] acctacaagg acaaggtgtt cctgaacgtt accacccgaca acaccctt ggacgacttc 1140
 [0985] cacgtgaacg gcggcgagct gatcctgtt caccagaacc ctggcgagtt ctgcgtgtt 1200
 [0986] <210> 36
 [0987] <211> 400
 [0988] <212> PRT
 [0989] <213> 智人
 [0990] <223> huIgG1FcTF20X40L的氨基酸序列(N至C端)
 [0991] <400> 36
 [0992] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 [0993] 1 5 10 15
 [0994] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 [0995] 20 25 30
 [0996] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 [0997] 35 40 45
 [0998] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 [0999] 50 55 60
 [1000] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 [1001] 65 70 75 80
 [1002] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 [1003] 85 90 95
 [1004] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 [1005] 100 105 110
 [1006] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 [1007] 115 120 125

[1008]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser						
[1009]	130	135	140				
[1010]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu						
[1011]	145	150	155				
[1012]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro						
[1013]	165	170	175				
[1014]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val						
[1015]	180	185	190				
[1016]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met						
[1017]	195	200	205				
[1018]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser						
[1019]	210	215	220				
[1020]	Pro Gly Lys Asp Gln Asp Lys Ile Glu Ala Leu Ser Ser Lys Val Gln						
[1021]	225	230	235				
[1022]	Gln Leu Glu Arg Ser Ile Gly Leu Lys Asp Leu Ala Met Ala Asp Leu						
[1023]	245	250	255				
[1024]	Glu Gln Lys Val Leu Glu Met Glu Ala Ser Thr Gln Val Ser His Arg						
[1025]	260	265	270				
[1026]	Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys						
[1027]	275	280	285				
[1028]	Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys						
[1029]	290	295	300				
[1030]	Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile						
[1031]	305	310	315				
[1032]	Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu Val Asn Ile Ser Leu His Tyr						
[1033]	325	330	335				
[1034]	Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln Leu Lys Lys Val Arg Ser Val						
[1035]	340	345	350				
[1036]	Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu						
[1037]	355	360	365				
[1038]	Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu Asp Asp Phe His Val Asn Gly						
[1039]	370	375	380				
[1040]	Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu						
[1041]	385	390	395				
[1042]	<210>	37					
[1043]	<211>	1248					
[1044]	<212>	DNA					
[1045]	<213>	小家鼠					
[1046]	<223>	小鼠构建体mIgG1mTF2mOX40L的DNA序列(5'至3'可读框)					
[1047]	<400>	37					
[1048]	gtgcctagag	attgcggctg	caagccctgc	atctgcacccg	tgcccgaggt	gtccagcgtg	60
[1049]	ttcatcttcc	cacccaagcc	caaggacgtg	ctgaccatca	ccctgacccc	caaagtgacc	120

[1050] tgcgtggtgg tggacatcg caaggacgac cccgaggtgc agttcagttg gttcgtggac 180
 [1051] gacgtgaaag tgcacacccgc ccagacccag cccagagagg aacagttcaa cagcaccttc 240
 [1052] agaagcgtgt ccgagctgcc catcatgcac caggactggc tgaacggcaa agaattcaag 300
 [1053] tgcagagtga acagcgccgc ctccctgcc cccatcgaga aaaccatcg caagaccaag 360
 [1054] ggcagaccca aggccccca ggtgtacacc atccccccac ccaaagaaca gatggccaag 420
 [1055] gacaagggtgt ccctgacctg catgatcacc gatttcttcc cagaggacat caccgtggaa 480
 [1056] tggcagtggc acggccagcc cgccgagaac tacaagaaca cccagccat catggacacc 540
 [1057] gacggcagct acttcgtgtc cagcaagctg aacgtgcaga agtccaactg ggaggccggc 600
 [1058] aacacccctca cctgttagcgt gctgcacgag ggcctgcaca accaccacac cgagaagtcc 660
 [1059] ctgagccaca gccccggcaa gcggctggac caggacaaga tcgaggccct gagcaacaag 720
 [1060] gtgcagcagc tggaaacggtc tatcggcctg aaggacctgg ctatggccga cctggaacag 780
 [1061] aaagtgtctg agctggaaagt gtcaccagc agccccggca aggaccctcc catccagaga 840
 [1062] ctgagaggcg ccgtgaccag atgcgaggac ggccagctgt tcatacgcag ctacaagaac 900
 [1063] gagtaccaga ccatggaaagt gcagaacaac agcgtggtca tcaagtgcga cggcctgtac 960
 [1064] atcatctacc tcaagggcag cttttccag gaagtgaaga tcgacctgca cttcagagag 1020
 [1065] gaccacaacc ccatcagcat ccccatgctg aacgacggca gacggatcgt gttcaccgtg 1080
 [1066] gtggctagcc tggccttcaa ggacaaagt tatctgaccg tgaacgcccc cgacaccctg 1140
 [1067] tgcgagcatc tgcagatcaa cgacggcggag ctgatcggtt tgcagctgac cccggctac 1200
 [1068] tgtgcccctg agggcagcta ccacagcacc gtgaaccagg tgccctg 1248
 [1069] <210> 38
 [1070] <211> 416
 [1071] <212> PRT
 [1072] <213> 小家鼠
 [1073] <223> 小鼠构建体mIgG1FcmtF2m0X40L的氨基酸序列(N至C端)
 [1074] <400> 38
 [1075] Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu
 [1076] 1 5 10 15
 [1077] Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr
 [1078] 20 25 30
 [1079] Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys
 [1080] 35 40 45
 [1081] Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val
 [1082] 50 55 60
 [1083] His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
 [1084] 65 70 75 80
 [1085] Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 [1086] 85 90 95
 [1087] Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile
 [1088] 100 105 110
 [1089] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val
 [1090] 115 120 125
 [1091] Tyr Thr Ile Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser

[1092]	130	135	140
[1093]	Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu		
[1094]	145	150	155
[1095]	Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro		160
[1096]	165	170	175
[1097]	Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val		
[1098]	180	185	190
[1099]	Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu		
[1100]	195	200	205
[1101]	His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser		
[1102]	210	215	220
[1103]	Pro Gly Lys Arg Leu Asp Gln Asp Lys Ile Glu Ala Leu Ser Asn Lys		
[1104]	225	230	235
[1105]	Val Gln Gln Leu Glu Arg Ser Ile Gly Leu Lys Asp Leu Ala Met Ala		240
[1106]	245	250	255
[1107]	Asp Leu Glu Gln Lys Val Ser Glu Leu Glu Val Ser Thr Ser Ser Pro		
[1108]	260	265	270
[1109]	Ala Lys Asp Pro Pro Ile Gln Arg Leu Arg Gly Ala Val Thr Arg Cys		
[1110]	275	280	285
[1111]	Glu Asp Gly Gln Leu Phe Ile Ser Ser Tyr Lys Asn Glu Tyr Gln Thr		
[1112]	290	295	300
[1113]	Met Glu Val Gln Asn Asn Ser Val Val Ile Lys Cys Asp Gly Leu Tyr		
[1114]	305	310	315
[1115]	Ile Ile Tyr Leu Lys Gly Ser Phe Phe Gln Glu Val Lys Ile Asp Leu		320
[1116]	325	330	335
[1117]	His Phe Arg Glu Asp His Asn Pro Ile Ser Ile Pro Met Leu Asn Asp		
[1118]	340	345	350
[1119]	Gly Arg Arg Ile Val Phe Thr Val Val Ala Ser Leu Ala Phe Lys Asp		
[1120]	355	360	365
[1121]	Lys Val Tyr Leu Thr Val Asn Ala Pro Asp Thr Leu Cys Glu His Leu		
[1122]	370	375	380
[1123]	Gln Ile Asn Asp Gly Glu Leu Ile Val Val Gln Leu Thr Pro Gly Tyr		
[1124]	385	390	395
[1125]	Cys Ala Pro Glu Gly Ser Tyr His Ser Thr Val Asn Gln Val Pro Leu		400
[1126]	405	410	415

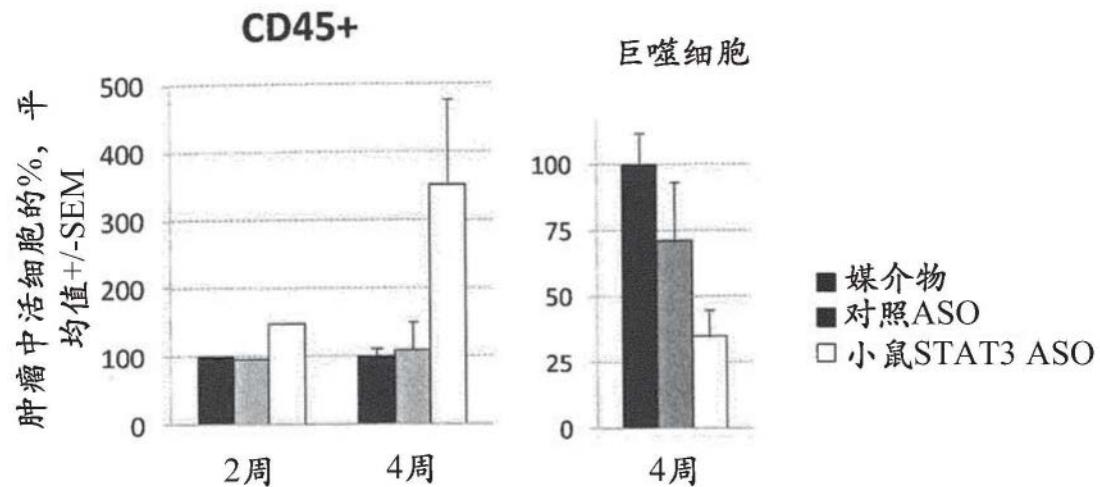


图1

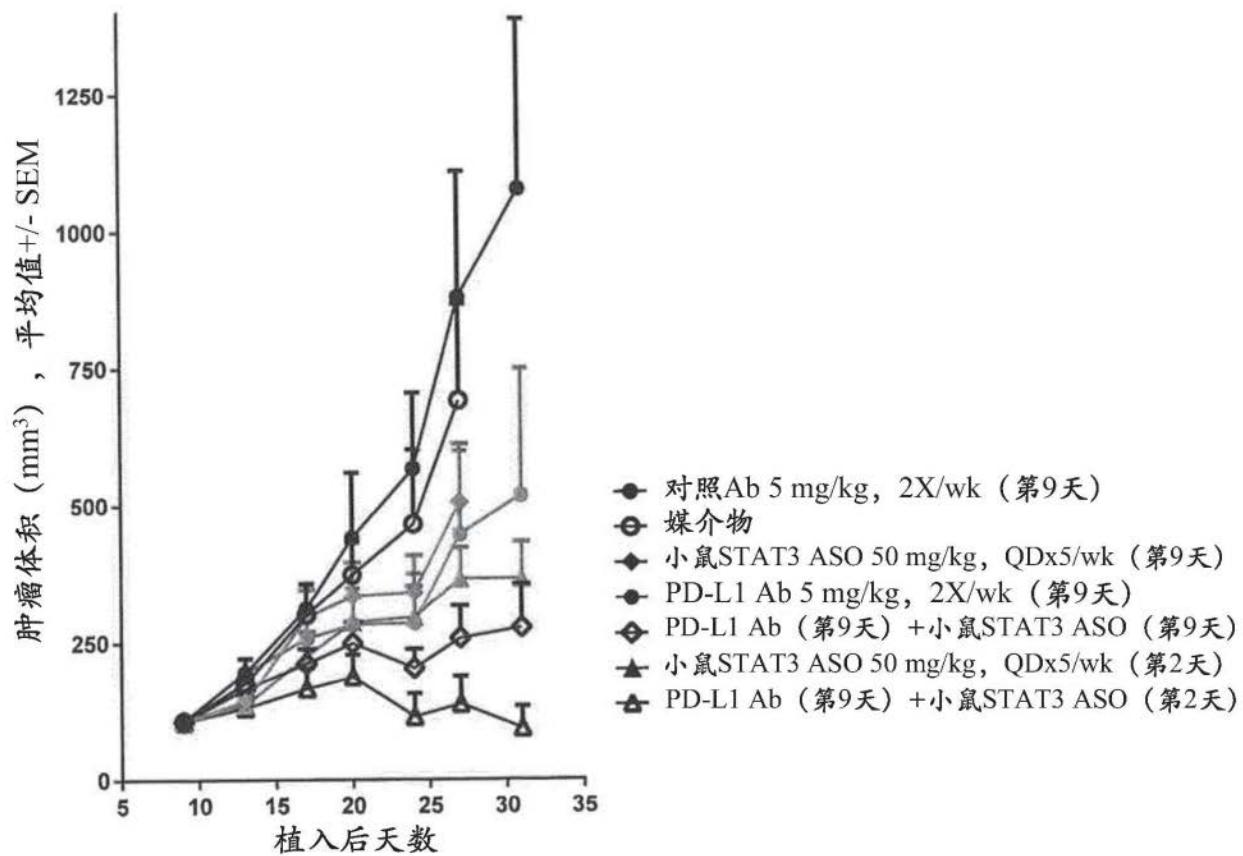


图2a

PD-L1, 5 mg/kg, 2X/wk (第9天) + 小鼠
STAT3 ASO, 50 mg/kg, QDx5/wk (第9天)

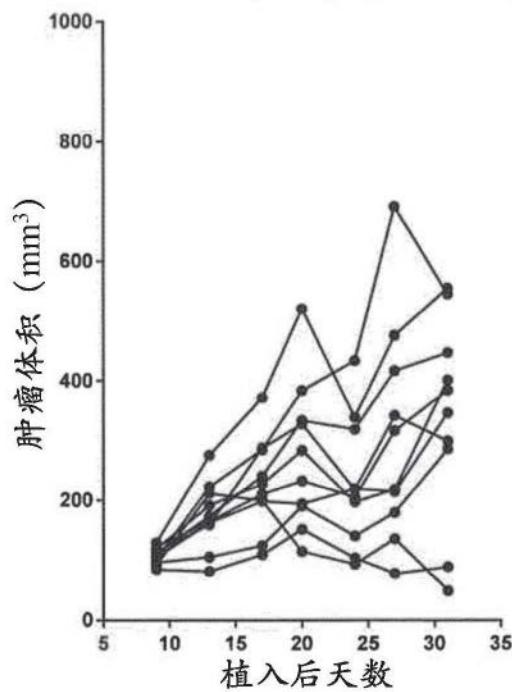


图2b

PD-L1, 5 mg/kg, 2X/wk (第9天) + 小鼠
STAT3 ASO, 50 mg/kg, QDx5/wk (第2天)

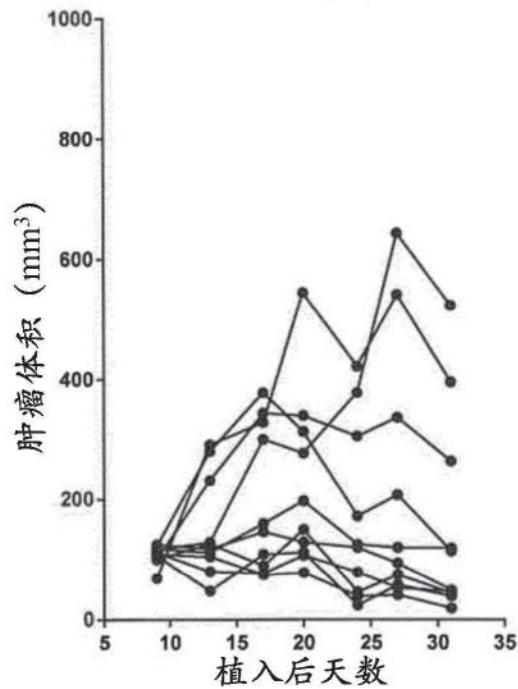


图2c

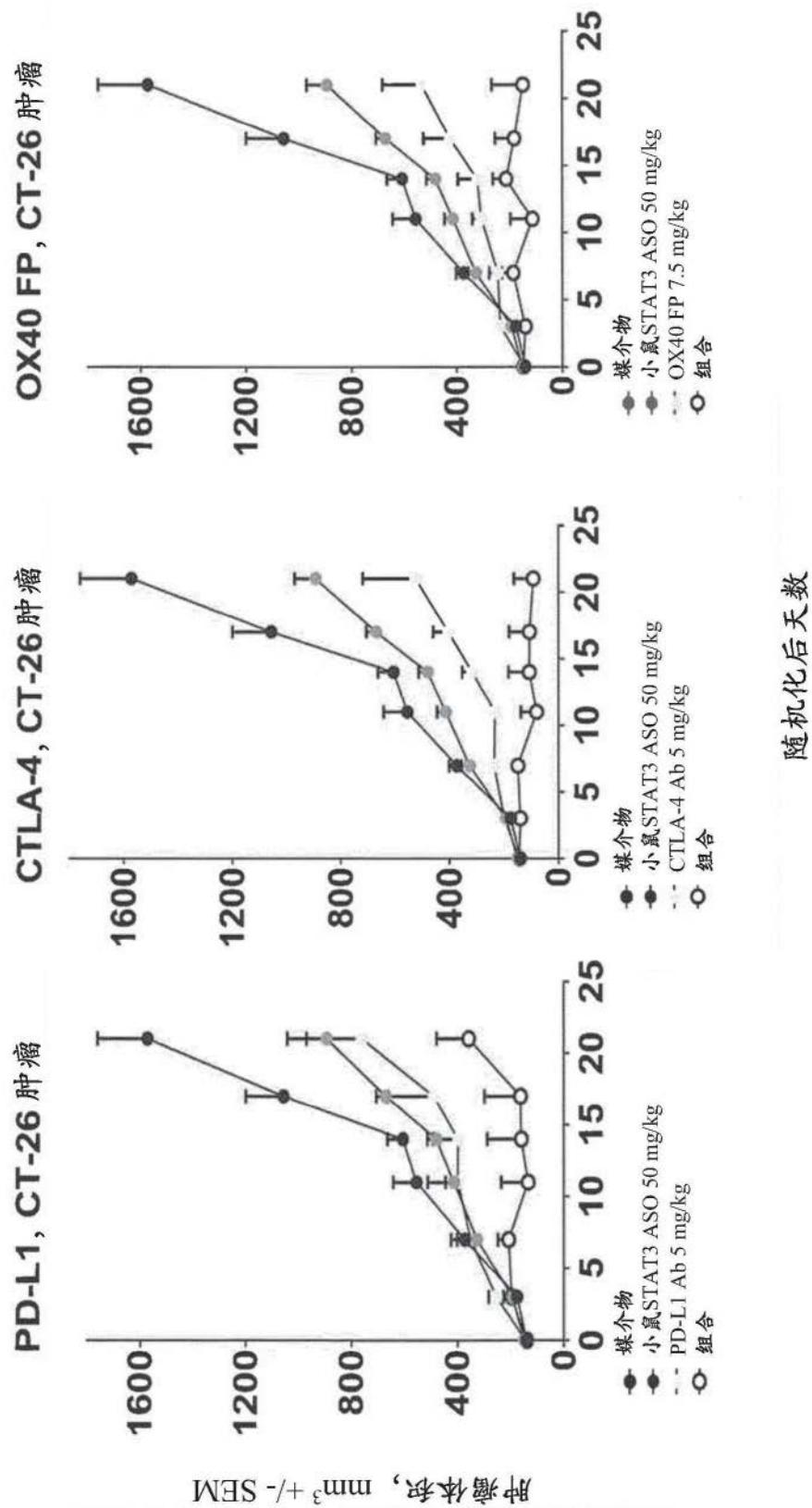


图3a

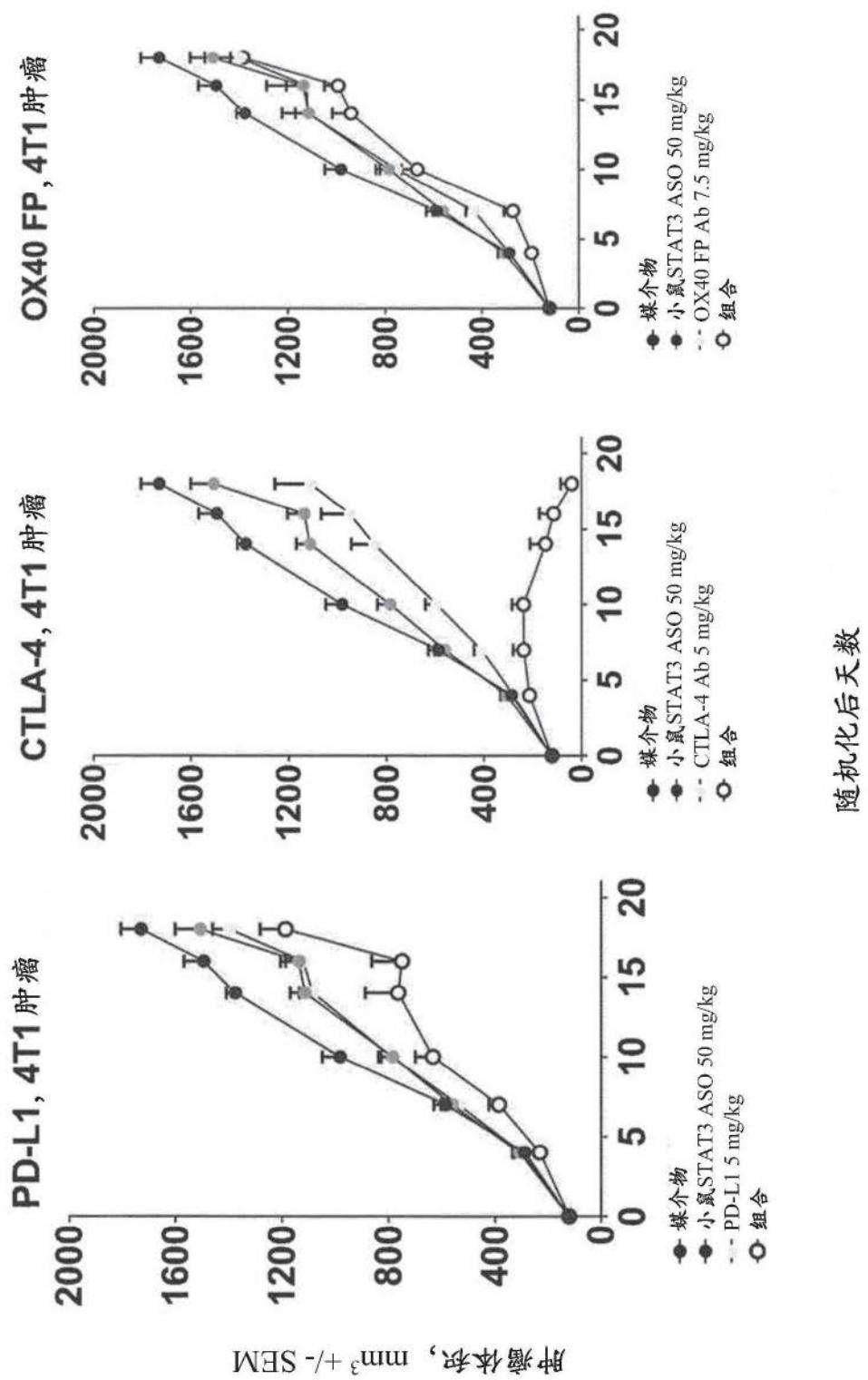


图3b

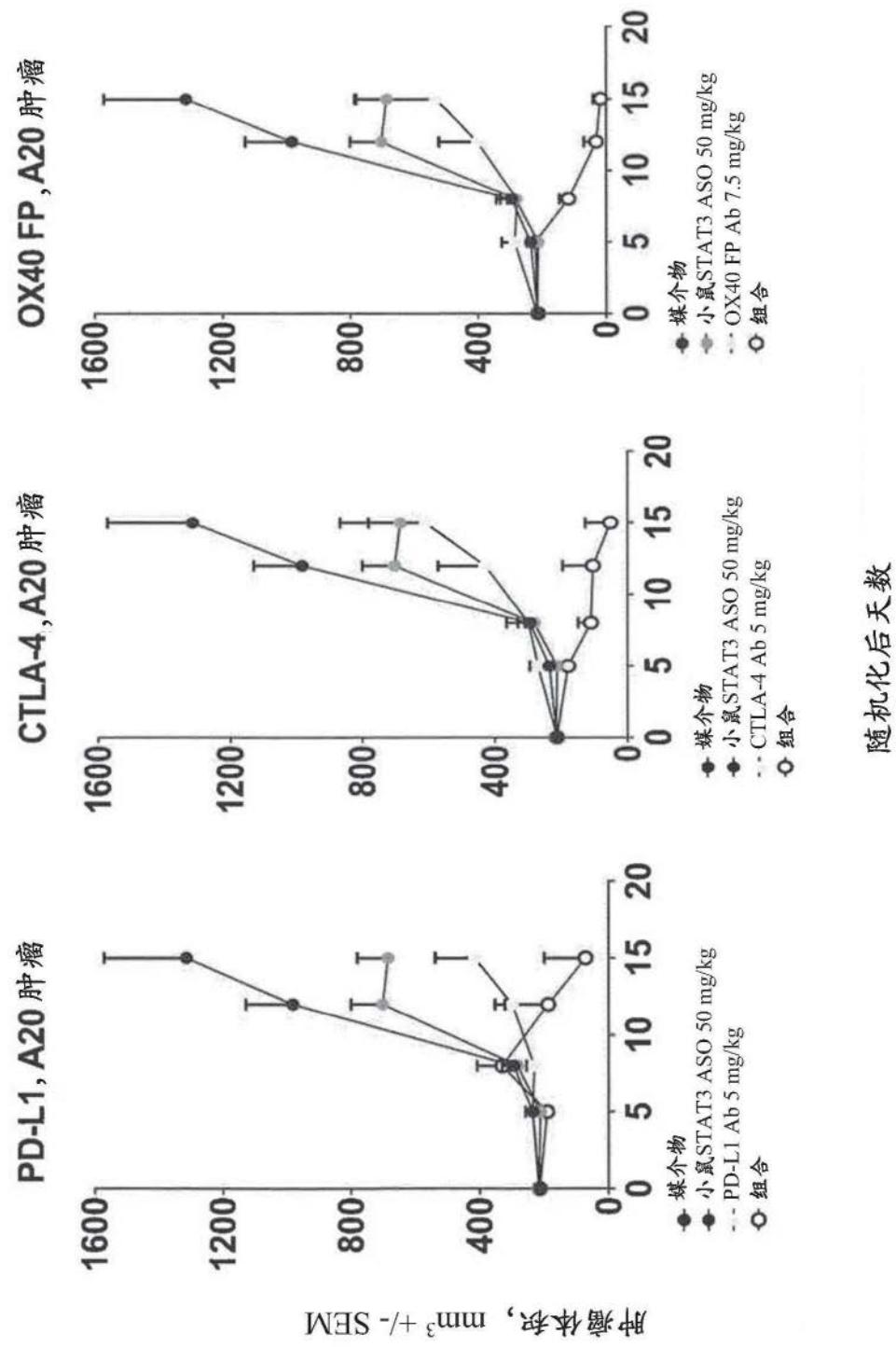


图3c

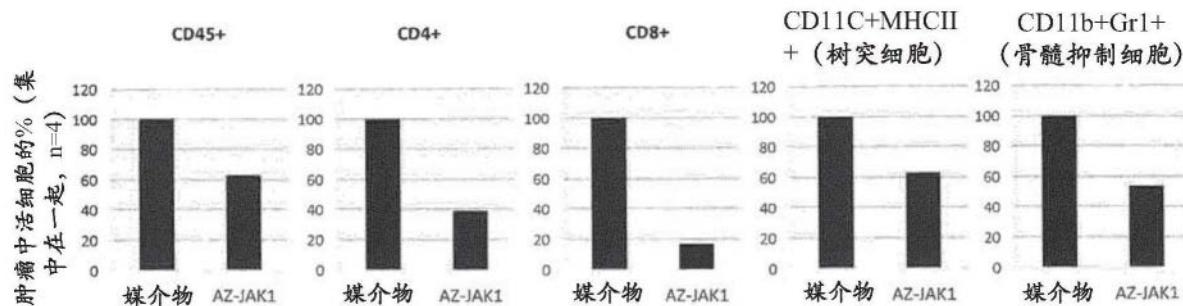
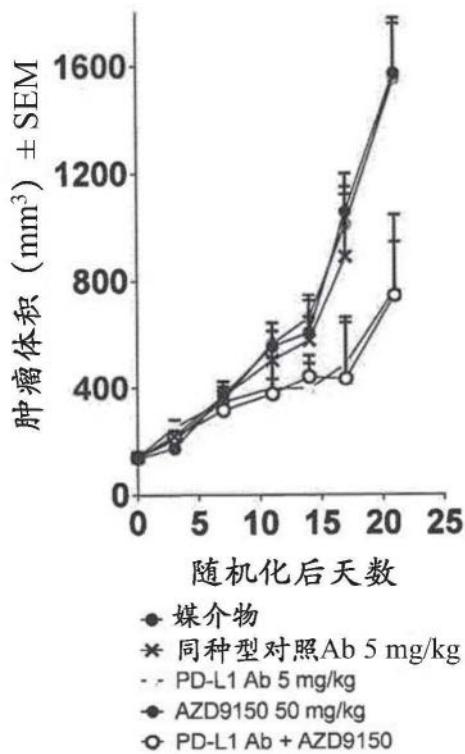


图5

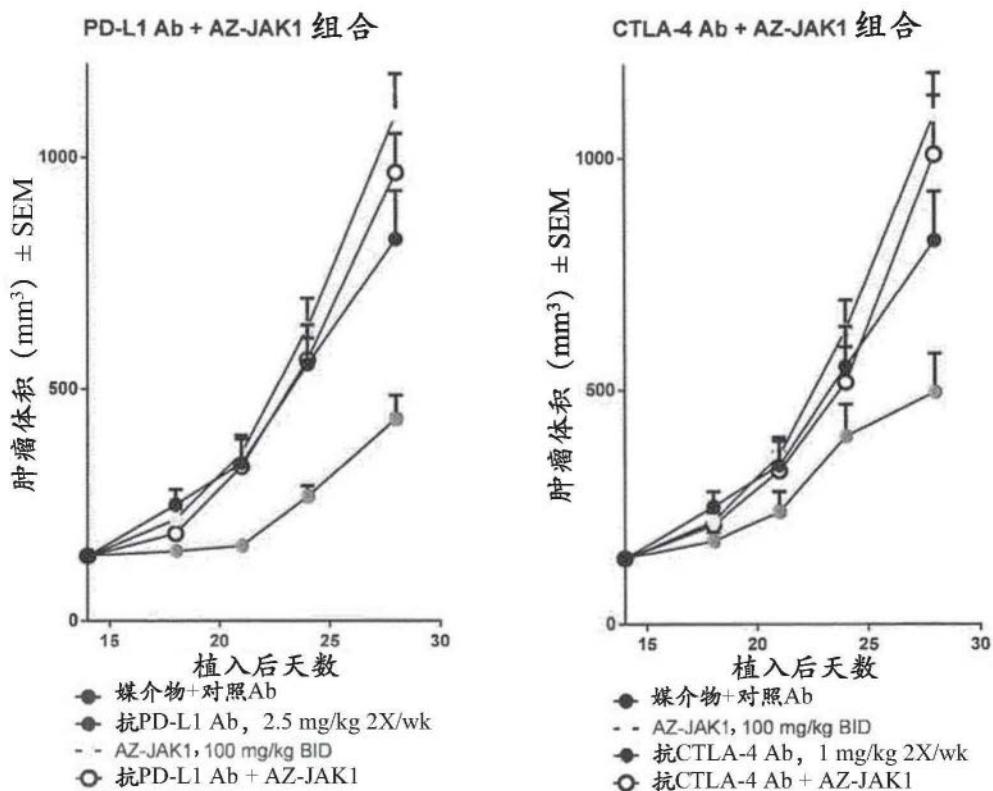


图6

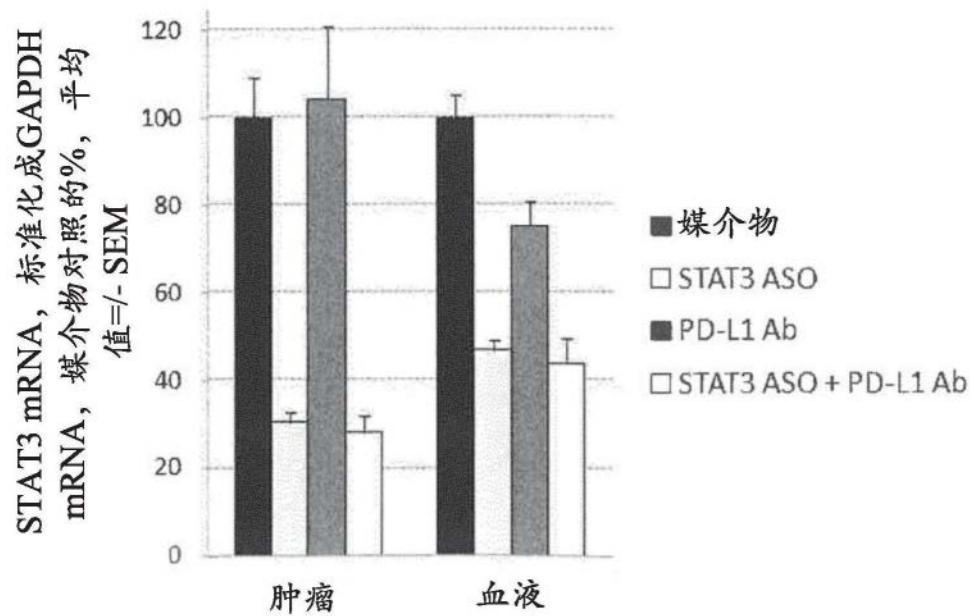


图7